

## Ćwiczenie nr 10

# WYZNACZANIE STAŁEJ DYSOCJACJI BŁĘKITU BROMOTYMOLOWEGO METODĄ SPEKTROFOTOMETRII ABSORPCYJNEJ

### I. Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest wyznaczenie przy pomocy metody spektrofotometrycznej stałej dysocjacji słabo dysocjującego związku barwnego będącego zarówno w formie zdysocjowanej i niezdisocjowanej oraz jego punktu izozbestycznego.

### II. Zagadnienia wprowadzające

1. Właściwości optyczne substancji.
2. Absorpcja promieniowania elektromagnetycznego.
3. Oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z materią.
4. Prawa Lamberta-Beera.
5. Odchylenia od prawa Lamberta-Beera.

#### Literatura obowiązuująca:

1. E. Szyszko, *Instrumentalne metody analityczne*, PZWL, 1982.
2. J. Minczewski, Z. Marczenko, *Chemia analityczna*, PWN, 1987.
3. Praca zbiorowa, *Chemia fizyczna*, PWN, 1980.
4. G.M. Barrow, *Chemia fizyczna*, PWN, 1973.
5. E. Szymański, *Ćwiczenia laboratoryjne z chemii fizycznej*, cz.1, Wyd. UMCS Lublin 1991.

## III. Część teoretyczna

### III. 1. Wprowadzenie

Oddziaływanie światła (rozumianego tu jako strumień fotonów) z materią (czyli zbiorem atomów lub cząsteczek) opisujemy przy pomocy następujących procesów:

- emisji spontanicznej, w wyniku, której foton emitowany jest samorzutnie przez wzbudzony atom,
- emisji wymuszonej, w wyniku, której foton oddziałujący ze wzbudzonym atomem wymusza emisję identycznego fotonu przez ten atom,
- absorpcji, w wyniku, której foton zostaje pochłonięty przez atom, a ten przechodzi w stan wzbudzony.

Aby światło było absorbowane przez materię energia fotonów musi odpowiadać różnicy energii poziomów energetycznych w atomach lub cząsteczkach, z którymi oddziałuje (energia fotonów jest bezpośrednio związana z długością fali światła lub, inaczej mówiąc, z jego barwą). Wykorzystuje się to do identyfikacji nieznanymi substancji, poprzez badanie absorpcji światła o różnych długościach fali w próbkach tych substancji – jest to tzw. absorpcyjna analiza spektroskopowa.

Pierwszy czynnik opisywany jest tzw. współczynnikiem absorpcji  $a$ , natomiast drugi – tzw. koncentracją  $c$ , czyli liczbą atomów lub cząsteczek znajdujących się w określonej objętości. Możemy to sobie wyobrazić na przykładzie barwnika rozpuszczonego w bezbarwnej cieczy (np. wodzie) – roztwór taki będzie tym ciemniejszy (czyli tym bardziej będzie absorbował światło) im silniej sam barwnik będzie absorbował światło oraz im więcej barwnika rozpuścimy. Fakt ten pozwala mierzyć stężenia różnych substancji rozpuszczonych w cieczach (np. zanieczyszczeń wody) poprzez badanie absorpcji takiego roztworu.

Ilość materii, z którą oddziałuje światło, zależy oczywiście również od drogi, którą światło przebywa w ośrodku. Jeśli światło przechodzi przez ośrodek o pewnej grubości, to im grubszy jest ten ośrodek, tym więcej światła zostanie zaabsorbowane. W tym miejscu potrzebujemy wielkości, która pozwoli jednoznacznie określać „ilość światła”. Nazywamy ją natężeniem światła, a definiujemy jako moc fali świetlnej padającej na jednostkę powierzchni.

Zazwyczaj (to jest, nie przy bardzo dużych natężeniach światła) mamy do czynienia z tzw. liniową absorpcją światła, to znaczy – natężenie światła zaabsorbowanego przez ośrodek o danej grubości jest wprost proporcjonalne do natężenia światła padającego na ten ośrodek.

Analiza kolorymetryczna wykorzystuje zjawisko pochłaniania, (czyli absorpcji) światła przez roztwory do ilościowego oznaczania substancji barwnych,

które mogą powstać w wyniku reakcji oznaczanego składnika z odpowiednim odczynnikiem. Jeżeli światło pochłaniane odpowiada długości fali z zakresu 400-760 nm. to roztwór pochłaniający je jest barwny. Intensywność zabarwienia zależy od stężenia roztworu i jest wykorzystywana do oznaczania ilości substancji rozpuszczonej w badanym roztworze.

Istnieje wiele sposobów pomiaru intensywności zabarwienia roztworów. We wszystkich tych przypadkach wykorzystuje się te same prawa absorpcji światła przez roztwór.

### III. 2. Prawa absorpcji

Podczas badania pochłaniania światła przez roztwór, ten ostatni umieszcza się w przezroczystym naczynku zwanym kuwetą. Najczęściej kuweta ma przekrój prostokątny, a jej ścianki są do siebie równoległe. Jeżeli założymy, że na jedną ze ścianek kuwety pada strumień światła o natężeniu  $I_0$ , to światło to zostaje częściowo odbite od powierzchni kuwety ( $I_r$ ), częściowo zaabsorbowane przez substancję, rozpuszczoną w roztworze znajdującym się w kuwecie ( $I_a$ ), a pozostała jego część przechodzi przez kuwetę z roztworem. Tak więc możemy przyjąć, że:

$$I_0 = I_r + I_a + I \quad (1)$$

Ponieważ kuwety są wykonane z bardzo przezroczystych materiałów (szkło lub kwarc), to odbicie światła od powierzchni kuwet jest bardzo małe i można założyć, że  $I_r = 0$ , wówczas równanie (1) można uprościć:

$$I_0 = I_a + I \quad (2)$$

Z wielkości występujących w tym równaniu, zmierzyć można  $I_0$  i  $I$ . Część światła, które zostało zaabsorbowane, można obliczyć z różnicy  $I_0 - I$ .

Jest rzeczą oczywistą, że pochłanianie światła zależy od grubości warstwy pochłaniającej. Podstawowym prawem formułującym tę zależność jest prawo podane przez Lamberta.

Zgodnie z tym prawem, warstwy takiego samego roztworu o jednakowej grubości w identycznych warunkach pochłaniają zawsze taką samą część padającego na nie promieniowania. Prawo Lamberta wyrażamy wzorem:

$$I = I_0 e^{-al} \quad (3)$$

gdzie:  $I$  – oznacza natężenie promieniowania przepuszczonego,  $I_0$  – natężenie promieniowania padającego,  $l$  – grubość warstwy absorbującej,  $a$  – współczynnik absorpcji charakterystyczny dla substancji pochłaniającej światło,  $e$  – podstawę logarytmów naturalnych.

Jednakże absorpcja światła zależy również od stężenia substancji absorbującej w roztworze. Beer, obserwując absorpcję światła przez roztwory

barwne o różnym stężeniu, stwierdził, że absorpcja światła jest proporcjonalna do stężenia substancji pochłaniającej w roztworze.

Zależność między natężeniem światła padającego na warstwę roztworu o grubości  $l$  i stężeniu  $c$  można przedstawić wzorem:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon'cl} \quad (4)$$

W równaniu tym natężenie światła przechodzącego uzależnione jest od grubości warstwy pochłaniającej, od stężenia substancji pochłaniającej oraz od natężenia promieniowania padającego. Równanie to jest znane jako prawo Lamberta-Beera.

Po przekształceniu powyższej zależności otrzymujemy:

$$\ln \frac{I}{I_0} = -\varepsilon'cl \quad (5)$$

czyli:

$$\ln \frac{I_0}{I} = \varepsilon'cl \quad (6)$$

Wprowadzając logarytm dziesiętny otrzymujemy:

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon cl = A(E) \quad (7)$$

Wielkość  $A(E)$  nazywamy absorpcją roztworu lub absorbcją, zaś współczynnik  $\varepsilon$  – molowym współczynnikiem absorbcji, jeśli stężenie  $c$  wyrażone jest w molach/dm<sup>3</sup>.

Molowy współczynnik absorbcji można zdefiniować jako absorpcję w warstwie 1cm roztworu o stężeniu 1 mol/dm<sup>3</sup>.

Stosunek natężenia promieniowania przepuszczonego przez roztwór do natężenia promieniowania padającego nazywamy transmitancją (przepuszczalnością) i oznaczamy przez  $T$ . Z definicji tej wynika, że:

$$A = -\log T \quad (8)$$

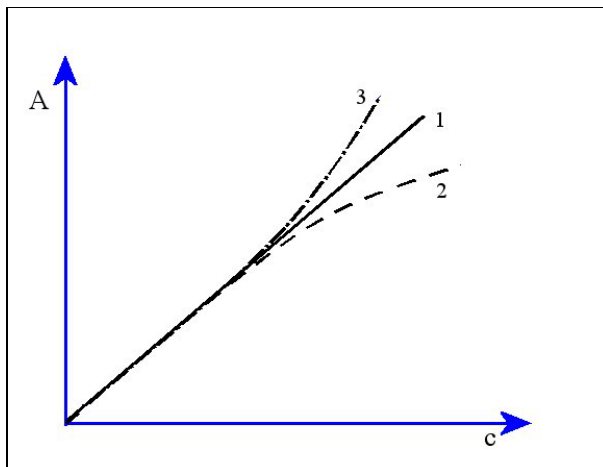
Prawo Lamberta-Beera odnosi się do przypadku, gdy w roztworze znajduje się jedna substancja absorbująca.

Prawo addytywności absorpcji dotyczy przypadku, gdy w próbce znajduje się  $n$  różnych substancji, charakteryzujących się odpowiednio stężeniami  $c_1, c_2, \dots, c_n$  oraz molowymi współczynnikami absorpcji  $\varepsilon_1, \varepsilon_2, \dots, \varepsilon_n$ .

Absorpcja próbki jest wtedy równa sumie absorpcji poszczególnych składników:

$$A = \varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 + \dots + \varepsilon_n c_n \quad (9)$$

Prawa absorpcji w odniesieniu do roztworów są spełniane tylko wtedy, kiedy w tych roztworach nie zachodzą żadne reakcje między substancją absorbującą a rozpuszczalnikiem oraz między cząsteczkami substancji absorbującej.



**Rys. 1.** Krzywe  $A = f(c)$  w zależności od stosowania lub niestosowania się układu do prawa Lamberta-Beera.

Gdy układ absorbujący spełnia prawo Lamberta-Beera, zależność między absorpcją  $A$  i stężeniem roztworu  $c$  przedstawia linia prosta, przechodząca przez początek układu współrzędnych (linia prosta 1 na rys.1). Otrzymanie w wyniku pomiarów krzywych typu 2 lub 3 wskazuje, że układ w danych warunkach pomiarowych nie stosuje się do prawa Lamberta-Beera.

Odstępstwa od tego prawa mogą być spowodowane albo zmianami chemicznymi roztworu, zachodzącymi w miarę zmian stężenia, albo warunkami pomiaru wykonanego za pomocą mało precyzyjnego przyrządu.

Chemiczne odstępstwa wynikają z reakcji przebiegających w roztworze absorbującym w miarę wzrostu stężenia składnika oznaczanego. Zachodzą wtedy reakcje polimeryzacji lub kondensacji cząsteczek lub jonów absorbujących (zmienia się zatem stężenie składnika), reakcje między jonem (cząsteczką) absorbującym i rozpuszczalnikiem albo, w przypadku układów wieloskładnikowych, dodatkowe reakcje między poszczególnymi składnikami.

Odstępstwa od prawa Lamberta-Beera wynikające ze sposobu przeprowadzania pomiaru absorpcji są spowodowane stosowaniem nie wystarczająco monochromatycznego promieniowania. Współczynnik  $\epsilon$  zależy w istotny sposób od monochromatyczności promieniowania, dlatego na ogół pomiary absorpcyjometryczne wykonane za pomocą fotokolorymetrów z filtrami są mniej czułe niż pomiary za pomocą spektrofotometrów, w których wykorzystuje się bardzo wąską, praktycznie monochromatyczną wiązkę promieniowania.

## IV. Część doświadczalna

### A. Aparatura i odczynniki

#### 1. Aparatura:

- spektrofotometr UV-Vis SEMCO S91E
- kuwety o grubości  $d = 10 \text{ mm}$  – 2 szt.,
- kolby miarowe (lub erlenmajerki ze szlifem) o poj.  $50 \text{ cm}^3$  – 7 szt.,
- pipety miarowe  $2 \text{ cm}^3$  – 1 szt.,
- pipety miarowe  $20 \text{ cm}^3$  – 7 szt.

#### 2. Odczynniki:

- roztwór podstawowy błękitu bromotymolowego (tymolosulfoftaleiny) ( $200 \text{ mg}/500 \text{ cm}^3$ ,  $M_{\text{mol}} = 624,39 \text{ g/mol}$ ),
- bufony o  $\text{pH} = 2,02; 4,80; 5,90; 6,90; 7,60; 8,68; 10,17$ .

### B. Obsługa spektrofotometru UV-Vis SEMCO S91E

Włączyć zasilanie przyrządu na 15 minut przed rozpoczęciem serii pomiarów. Przycisk znajduje się w prawym górnym rogu na tylnej obudowie aparatu.



Rys. 2. Spektrofotometr UV-Vis SEMCO S91E

### C. Przygotowanie roztworów

Przygotować 7 roztworów błękitu bromotymolowego w przedziale pH od około 2 do 10 wg załączonej tabeli.

**Tabela 1.** Skład badanych roztworów

nr roztworu	objętość wyjściowego roztworu błękitu bromotymolowego [cm <sup>3</sup> ]	objętość roztworu buforowego [cm <sup>3</sup> ]	pH roztworu buforowego
1	2	18	2,02
2	2	18	4,80
3	2	18	5,90
4	2	18	6,90
5	2	18	7,60
6	2	18	8,68
7	2	18	10,17

### D. Przeprowadzenie pomiarów absorbancji dla wybranych długości fal

1. Wymyć bardzo starannie 8 kuwet. Jedną z nich napełnić wodą destylowaną, a pozostałe kuwety napełnić sporządzonymi roztworami 1 – 7.
2. Pomiary dla każdego roztworu przeprowadzamy w zakresie długości fal  $\lambda = 440\text{--}700$  nm, co 10 nm, w celu uzyskania widma absorpcji dla roztworów o danym pH oraz wyznaczenia punktu izobestycznego. Do ustawienia żądanej długości fali służy pokrętło znajdujące się na przedniej ścianie aparatu (Rys. 3).



**Rys. 3.** Pokrętło do regulacji długości fali.

3. Po ustawieniu odpowiedniej długości fali, kuwetę z wodą należy umieścić w celi pomiarowej (Rys. 4). Na rysunku zaznaczono drogę optyczną wiązki światła (biała strzałka).



Rys. 4. Cella pomiarowa.

4. Po zamknięciu celi pomiarowej należy wcisnąć przycisk ENT, a następnie szybko ZERO na przednim panelu (Rys. 5). Na wyświetlaczu „WYNIK” pojawią się **cztery małe kółeczka**, a w okienku KOMUNIKATY pojawi się napis **Autokalibracja**.



Rys. 5. Przedni panel spektrofotometru z przyciskami funkcyjnymi.

5. Urządzenie jest gotowe do pracy gdy w okienku **WYNIK** pojawią się **cztery zera**, a w okienku **KOMUNIKATY** pojawi się napis **ABS**.
6. Nie zmieniając ustawień aparatu, należy zmierzyć absorbancję dla wszystkich przygotowanych roztworów, a otrzymany wynik zapisać w tabeli 2. W tym celu w celi pomiarowej należy umieścić kolejno kuwety napełnione roztworami 1 – 7.
7. Po zakończeniu pomiarów dla danej długości fali, należy powtórzyć kolejno wszystkie czynności od punktu 2 do 6, zmieniając co 10 nm długość fali, przy której prowadzone są pomiary absorbancji.



## F. Opracowanie wyników

Błękit bromotymolowy przybiera w zależności od pH różne zabarwienia. Poniżej pH 4 występuje praktycznie jego niezdisocjowana forma kwasowa zabarwiona na żółto, natomiast dla pH > 10 występuje on praktycznie w zdysocjowanej formie soli o zabarwieniu niebieskim. Przy pośrednich wartościach pH obecne są w roztworze obie wymienione formy błękitu bromotymolowego, przy czym ich stosunek ilościowy (a więc i barwa roztworu) zależy od wartości pH roztworu.

Schematycznie dysocjację błękitu bromotymolowego, który jest słabym kwasem, możemy przedstawić przy pomocy równania:



Stałą dysocjacji można wyrazić przy pomocy równania:

$$K_c = \frac{c_{\text{A}^-} \cdot c_{\text{H}^+}}{c_{\text{HA}}} \quad (11)$$

Stężenie jonów wodorowych jest znane i jest równe stężeniu jonów wodorowych w stosowanych roztworach buforowych. Po zlogarytmowaniu równania (11) otrzymujemy wyrażenie:

$$\log K = -\text{pH} + \log (c_{\text{A}^-} / c_{\text{HA}}) \quad (12)$$

Do wyznaczenia stosunku  $c_{\text{A}^-} / c_{\text{HA}}$  wykorzystuje się pomiary spektrofotometryczne.

Absorpcja promieniowania przez roztwór zależy między innymi od długości fali przechodzącej przez roztwór. Miarą absorpcji promieniowania jest absorbancja A. Wielkość tę możemy obliczyć z prawa Lamberta Beera (równanie 7). Ponieważ w naszych pomiarach  $l = 1$  równanie (7) redukuje się do prostego wyrażenia:

$$A = \varepsilon c \quad (13)$$

Wartość współczynnika  $\varepsilon$  zależy od doboru jednostek stężenia oraz od długości absorbującej się fali. Dlatego też wartość A zmienia się wraz ze zmianą długości fali. Zależność  $A = f(\lambda)$  nazywamy widmem absorpcyjnym danego związku. W kwaśnych roztworach błękitu bromotymolowego (dla pH < 4) w roztworze istnieje praktycznie tylko forma kwasowa HA badanego związku. Wartość absorbancji jest więc równa:

$$A = \varepsilon_{\text{HA}} c_{\text{HA}} \quad (14)$$

gdzie:  $\varepsilon_{\text{HA}}$  – molowy współczynnik absorpcji dla kwasowej formy błękitu bromotymolowego,  $c_{\text{HA}}$  – stężenie błękitu bromotymolowego [mol/dm<sup>3</sup>].

Wraz ze zmianą pH roztworu zmienia się charakter widma absorpcyjnego barwnika w związku ze zmianą stężeń jego formy kwasowej i zasadowej. Dla błękitu

bromotymolowego pomiędzy wartościami pH 4–10 współistnieje forma kwasowa i zasadowa związku. Absorbancja takiego roztworu jest równa, w myśl trzeciego prawa Lamberta Beera, sumie absorbancji formy kwasowej i zasadowej:

$$A = A_{HA} + A_{A^-} \quad (15)$$

gdzie:

$$A_{HA} = \varepsilon_{HA} c_{HA} \quad (16a)$$

$$A_{A^-} = \varepsilon_{A^-} c_{A^-} \quad (16b)$$

a więc:

$$A = \varepsilon_{HA} c_{HA} + \varepsilon_{A^-} c_{A^-} \quad (17)$$

Wartość  $\varepsilon_{HA}$  i  $\varepsilon_{A^-}$  możemy obliczyć na podstawie równania (7) i z pomiarów absorbancji o pH = 2,02 (wartość  $\varepsilon_{HA}$ ) i pH = 10,17 (wartość  $\varepsilon_{A^-}$ ). W roztworach tych jak nadmieniono wcześniej istnieje tylko jedna forma barwnika.

Otrzymana z pomiaru spektrofotometrycznego wartość absorbancji roztworów o różnym pH jest równa:

$$A = \varepsilon_r c \quad (18)$$

gdzie:  $c = c_{HA} + c_{A^-}$  = stężeniu błękitu bromotymolowego,  $\varepsilon_r$  – jest molowym współczynnikiem absorpcji badanego roztworu. Jego wartość uzależniona jest od stosunku stężeń formy kwasowej do zasadowej.

Z równania (17) i (18) otrzymujemy:

$$\varepsilon_{HA} c_{HA} + \varepsilon_{A^-} c_{A^-} = \varepsilon_r (c_{HA} + c_{A^-}) \quad (19)$$

a po przekształceniu otrzymujemy wyrażenie:

$$c_{A^-} (\varepsilon_r - \varepsilon_{A^-}) = c_{HA} (\varepsilon_{HA} - \varepsilon_r) \quad (19a)$$

Z równań (20) i (19a) wynika, że:

$$\frac{c_{A^-}}{c_{HA}} = \frac{\varepsilon_{HA} - \varepsilon_r}{\varepsilon_r - \varepsilon_{A^-}} \quad (20)$$

a więc wzór (12) na stałą dysocjacji można przedstawić na podstawie równania (11) przy pomocy wyrażenia:

$$\log K = -pH + \log \frac{\varepsilon_{HA} - \varepsilon_r}{\varepsilon_r - \varepsilon_{A^-}} \quad (21)$$

Tak więc na podstawie badań spektrofotometrycznych można w prosty sposób obliczyć wartości stałej dysocjacji błękitu bromotymolowego. Badania spektrofotometryczne mogą nam również dostarczyć informacji o rodzaju równowagi w roztworze słabego kwasu. Jeżeli krzywe widma absorpcyjnego

zmierzonego dla różnych pH przetną się w jednym punkcie, który nazywamy punktem izobestycznym to fakt ten stanowi dowód, że pomiędzy obydwoma komponentami układu absorpcyjnego ustala się prosta równowaga, tzn. powstaje tylko jeden produkt końcowy. Wyjaśnienie tego zjawiska jest bardzo proste. Wartości  $\varepsilon_{HA}$  i  $\varepsilon_{A^-}$  zależą od długości fali i przybierają wartości zawarte pomiędzy zerem a pewną wartością maksymalną. Musi więc istnieć taka długość fali, dla której wartości  $\varepsilon_{HA}$  i  $\varepsilon_{A^-}$  będą sobie równe, a więc wielkość  $A$  będzie niezależna od stosunku stężeń formy kwasowej i zasadowej błękitu bromotymolowego.

Wyniki pomiarów  $A = f(\lambda)$  dla roztworów błękitu bromotymolowego o różnym pH przedstawić w formie tabeli:

**Tabela 2.** Otrzymane wyniki

dł. fali [nm]	pH = 2,02		pH = 4,80		pH = 5,90		pH = 6,90		.....
	A	$\varepsilon_r$	A	$\varepsilon_r$	A	$\varepsilon_r$	A	$\varepsilon_r$	
440									
450									
460									
.									
$\lambda_i - 40$									
$\lambda_i - 20$									
$\lambda_i$									
.									
$\lambda_i + 40$									
$\lambda_i + 20$									
700									

stężenie błękitu bromotymolowego =

Graficznie znajdujemy współrzędne punktu izobestycznego. W tym celu na jednym wykresie wykreślamy krzywe zależności  $A = f(\lambda)$  dla różnych wartości pH. Punkt przecięcia się tych krzywych jest szukanym punktem izobestycznym.

Obliczamy wartości  $\varepsilon_r$  dla długości fali punktu izobestycznego ( $\lambda_i$ ) oraz w zakresie od  $\lambda_i - 40$  i  $\lambda_i - 20$  nm do  $\lambda_i + 20$  do  $\lambda_i + 40$  nm zaś wartości  $K$  i  $pK$  dla:  $\lambda = \lambda_i + 40$  nm,  $\lambda_i + 20$  nm i  $\lambda = \lambda_i - 40$  nm,  $\lambda_i - 20$  nm.

Wartości  $\varepsilon_A$  i  $\varepsilon_{HA}$  obliczamy z równań (7a) i (7b) dla roztworów o pH równym pH = 2,02 i pH = 10,17.

Na podstawie uzyskanych wartości stałej dysocjacji dla danej długości fali obliczyć wartość średnią i porównać ją z wartościami  $K$  dla  $\lambda = \lambda_i + 40$  nm i  $\lambda = \lambda_i - 40$  nm oraz dla wartości  $\lambda_i + 20$  nm i  $\lambda_i - 20$  nm.