11. Seminář

Spektrofotometrie

Rovnováhy v roztocích

Obsah:

1. Stanovení pK
2. Určení stechiometrie a stability komplexu
3. Metoda poměru směrnic
4. Metoda molárních poměrů
5. Metoda Jobových křivek
6. Přímé a nepřímé fotometrické titrace

Teoretická část z Vláčilovy sbírky příkladů:

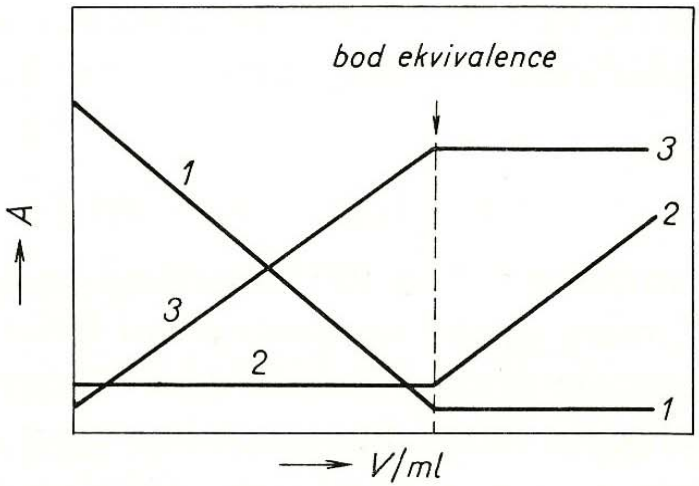
22.1.6 Spektrofotometrická titrace

Velké přesnosti stanovení látky lze dosáhnout při spektrofotometrickém zjišťování bodu ekvivalence při titracích. Titrace se sleduje při vhodně zvolené vlnové délce záření, jež prochází kyvetou s titrovaným roztokem. Měří se jeho absorbance v závislosti na přidávaném objemu titračního činidla – titrační křivka. Konec titrace je určován zlomem na této závislosti.

Jako příklad jsou uvedeny typy titračních křivek pro titraci založenou na reakci

$$X + Y = P$$

kde X je molekula stanovované látky, Y – účinná částice titračního činidla a P – produkt reakce. Průběh titrace se sleduje měřením nebo automatickou registrací absorbance roztoku při takové vlnové délce, při níž absorbuje pouze jedna z uvedených reagujících částic. Probíhá-li tato reakce kvantitativně až k bodu ekvivalence

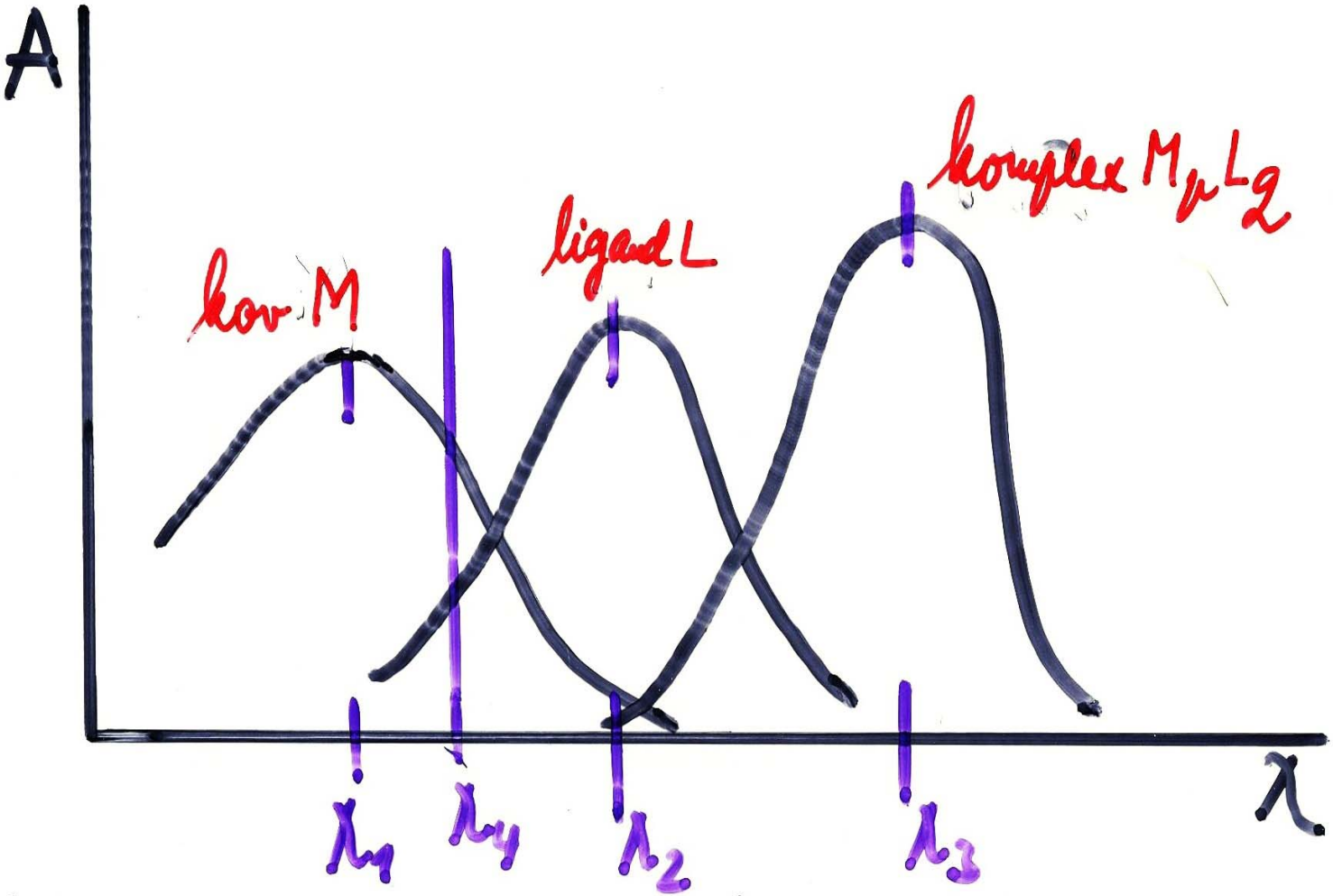


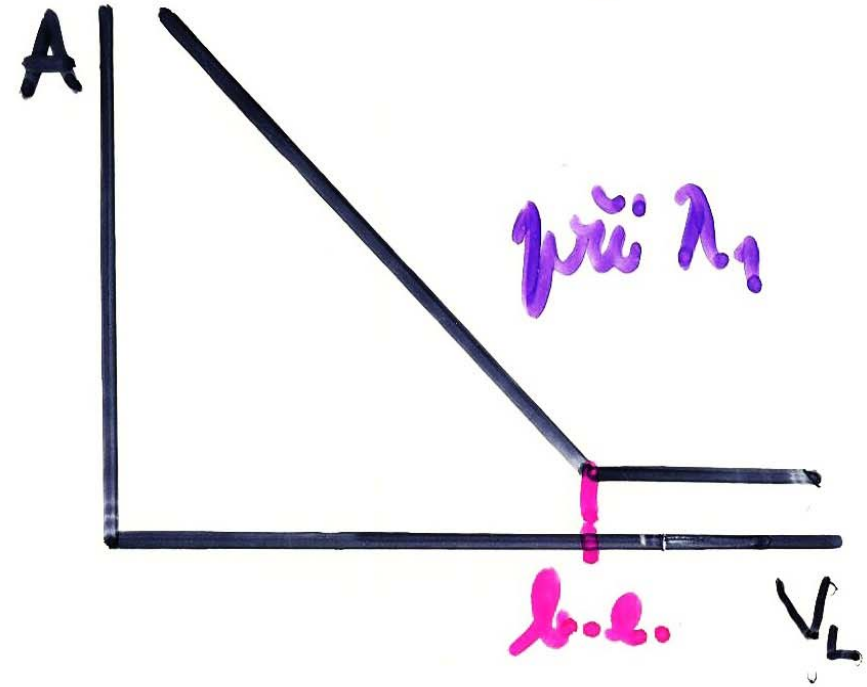
Obr. 30 Fotometrické titrační křivky
V – objem přidávaného titračního činidla,
A – absorbance; číslicemi 1 až 3 je označen tvar křivky

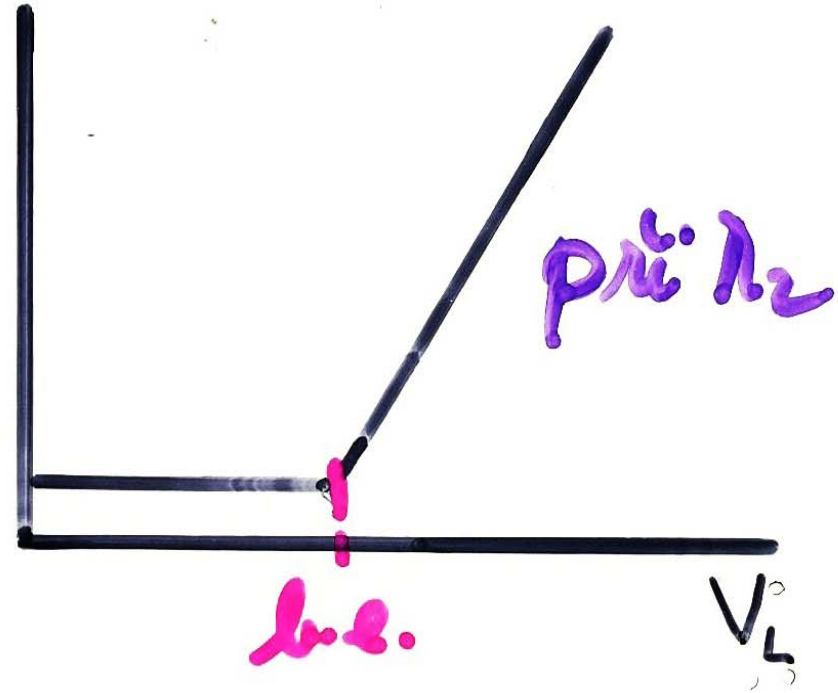
(rovnovážná konstanta reakce je značně velká) a platí-li v celém průběhu Beerův zákon, je možný trojí průběh ideální titrační křivky podle toho, která z částic absorbuje (viz obr. 30). Bod ekvivalence je určen průsečíkem přímkových částí křivek před bodem ekvivalence a za ním. Dostáváme tedy podobný průběh, s jakým se setkáváme např. u titrace konduktometrické či polarometrické; při všech těchto titracích je měřená veličina přímo úměrná koncentraci aktivní částice. Naměřenou absorbanci roztoku je třeba v obecném případě korigovat na změnu objemu spojenou s přídavkem titračního činidla. Není-li činidlo mimořádně koncentrované, aby tato změna byla zanedbatelná, je třeba násobit nalezenou absorbanci tzv. zřeďovacím faktorem $f = (V_0 + V_Y)/V_0$, kde V_0 je počáteční objem titrovaného roztoku a V_Y – příslušný objem přidaného činidla. K sestrojení uvedených titračních křivek stačí znát několik hodnot A a V_Y před bodem ekvivalence a několik za ním.

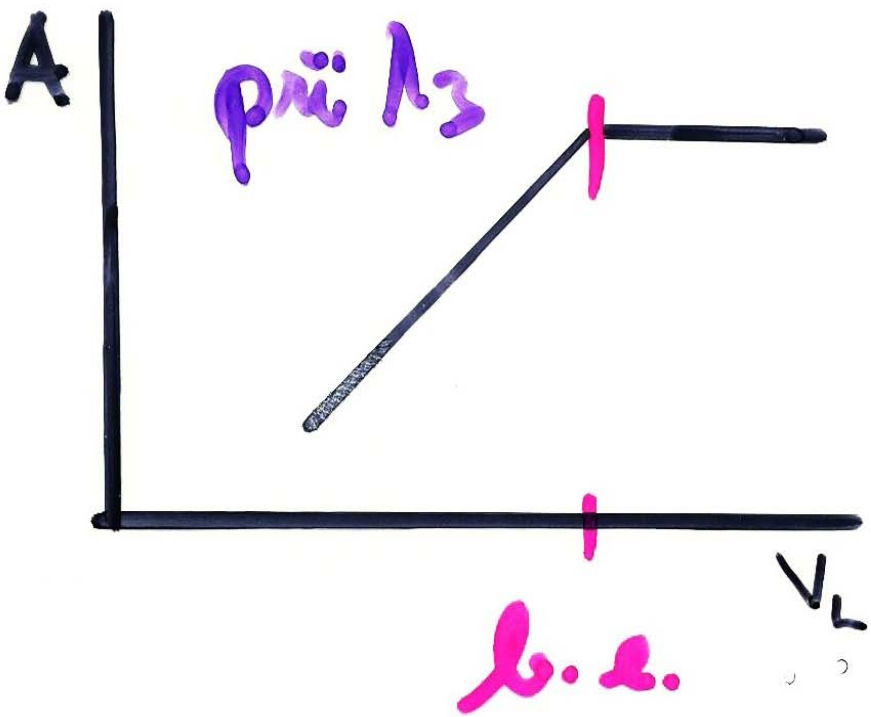
FOTOMETRICKÁ TITRACE BEZ INDIK.

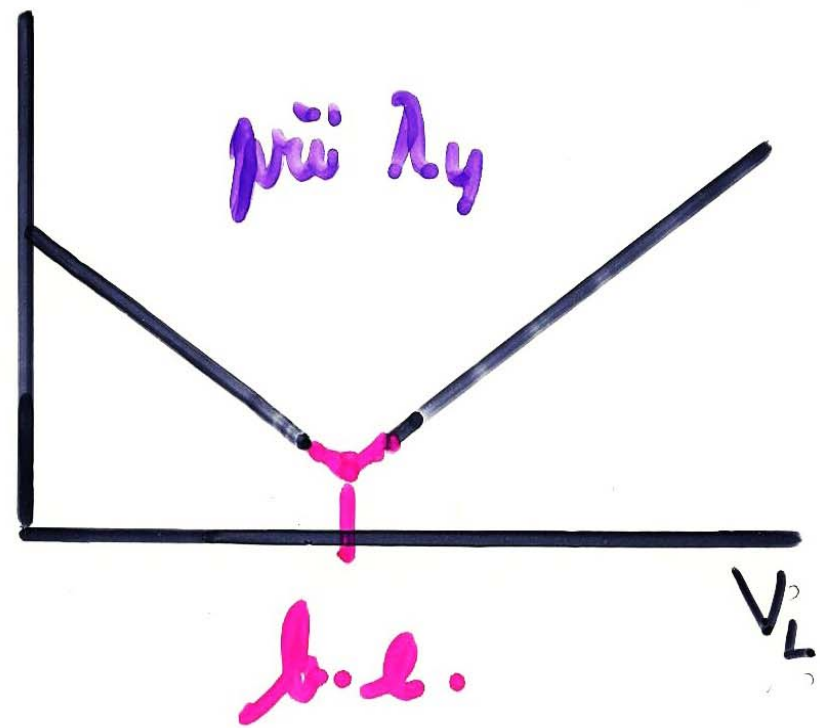
$$pM + qL \rightleftharpoons M_pL_q$$




A
při λ_1
b.e.
V_L

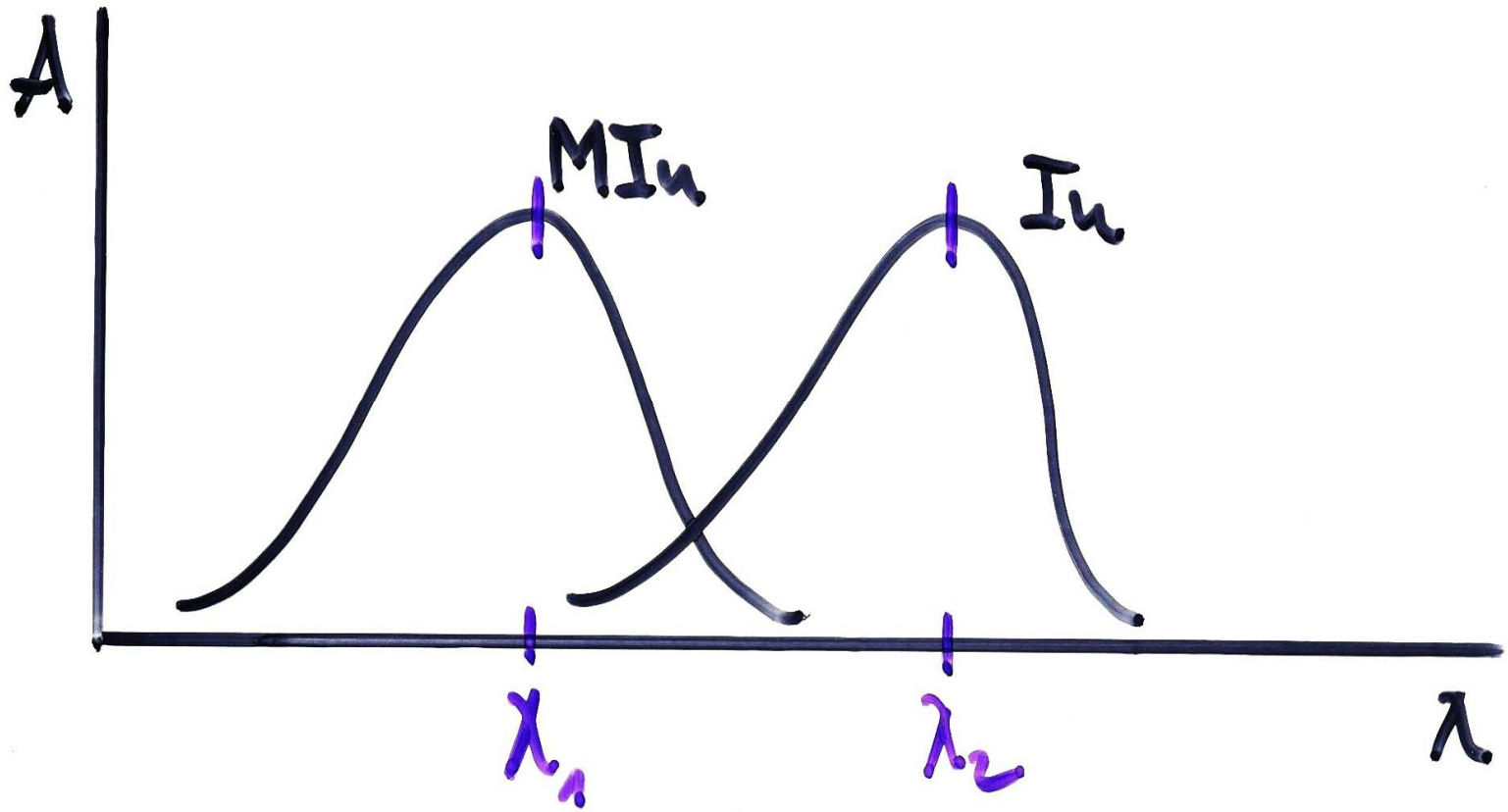

při λ_2
b.e.
V_L

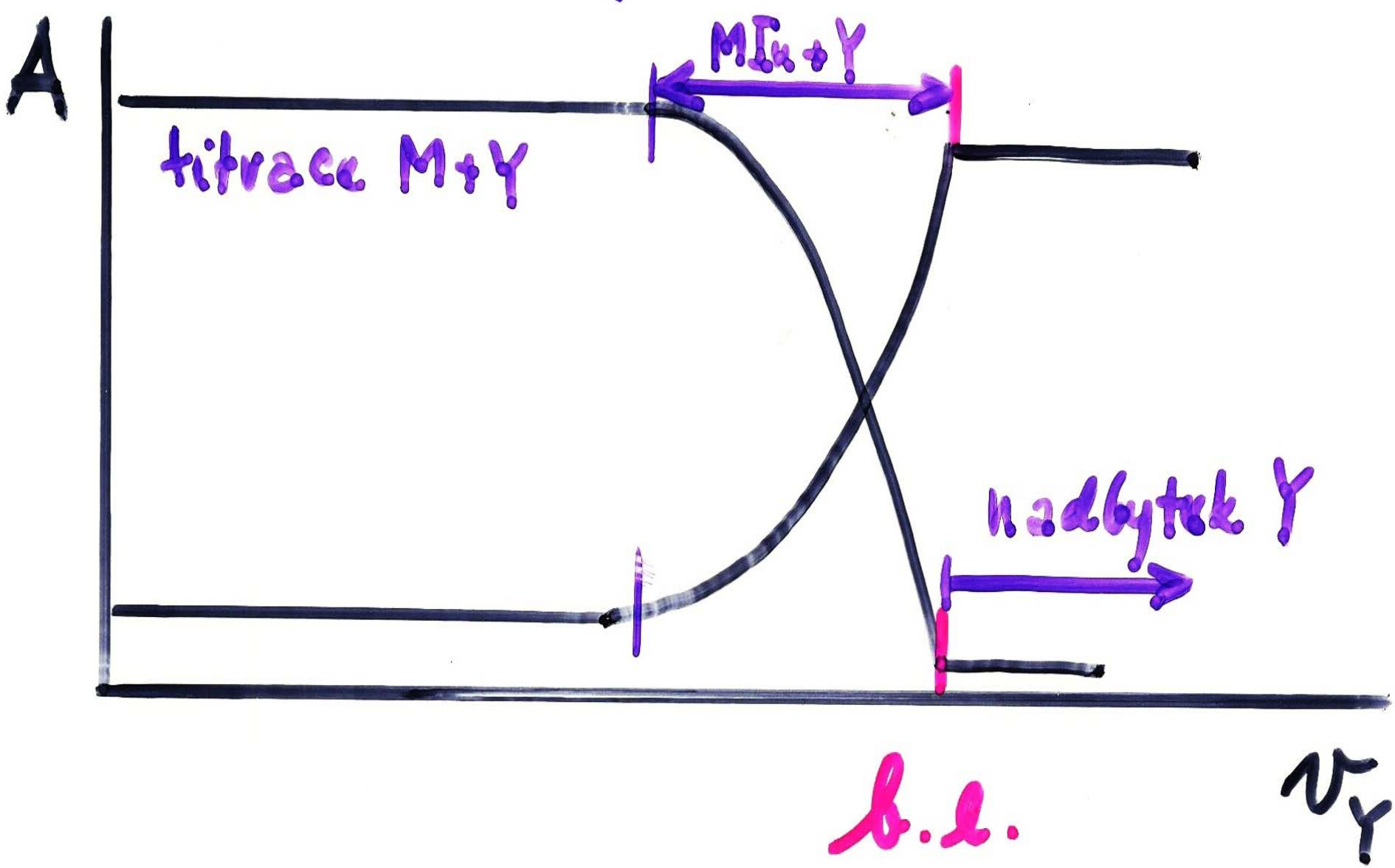

A
při λ_3
V_L
b.e.


při λ_4
V_L
b.e.

FOTOMETRICKÁ TITRACE S INDIKÁTOREM (CHELATOMETRICKÁ)

$$MIn + Y = MY + In \quad , \quad Y = EDTA$$




A
MIn + Y
titrace M+Y
nadbytek Y
b.l.
v_Y

22.1.10 Stanovení rovnovážných konstant reakcí v roztoku

22.1.10.1 Disociační konstanta slabé kyseliny nebo slabé zásady

Princip výpočtu z fotometrických dat si ukážeme na slabé jednosytné kyselině HB. Disociační konstanta K_a kyseliny HB, tj. rovnovážná konstanta reakce

$$\mathrm{HB} = \mathrm{H}^+ + \mathrm{B}^-$$

je dána výrazem (význam symbolů viz kap. 6):

$$K_a(\mathrm{HB}) = a_{\mathrm{H}^+} \frac{[\mathrm{B}^-]\, y_{\mathrm{B}^-}}{[\mathrm{HB}]\, y_{\mathrm{HB}}} \tag{22.39}$$

K_a a a_{H^+} se zpravidla vyjadřují pomocí jejich záporných logaritmů, tj. hodnot $\mathrm{p}K_a$ a pH. Potom je

$$\mathrm{p}K_a(\mathrm{HB}) = \mathrm{pH} - \log \frac{[\mathrm{B}^-]}{[\mathrm{HB}]} - \log \frac{y_{\mathrm{B}^-}}{y_{\mathrm{HB}}} \tag{22.40}$$

Při určování pK_a spektrofotometricky se touto metodou vlastně stanovuje poměr $[B^-]/[HB]$. Hodnota pH se určuje potenciometricky nebo se nastaví pomocí standardního tlumiče. Hodnotu y_{HB} lze považovat v přiblížení za rovnu jedné. Hodnotu $-\log y_{B^-}$ je možno počítat pro zředěné roztoky o známé iontové síle ($I < 0{,}1$) podle vztahu (6.2). Vykazují-li buď obě, nebo alespoň jedna z částic B^- a HB charakteristické absorpční spektrum, lze poměr $[B^-]/[HB]$ stanovit měřením absorbancí vhodně připravených roztoků při vhodných vlnových délkách. Jestliže ani B^-, ani HB neabsorbují, musí se pro spektrofotometrické stanovení pK_a použít vhodný barevný acidobazický indikátor. Uvedeme příklady obou případů.

1. Protolyt absorbuje

Ukážeme si dva numerické a jeden grafický postup, jak určit pK_a na základě rovnice (22.40).

a) Výpočet pK_a *z měření absorbance při jedné vlnové délce*

Zvolíme kyselinu HB a alternativu, že absorbují současně obě formy, tj. HB i B^-. Pro roztok kyseliny o látkové koncentraci c platí látková bilance $c = [HB] + [B^-]$. Absorbance roztoku v kyvetě o $b = 1$ cm při vlnové délce λ je

$$A = A_{HB} + A_{B^-} = \varepsilon_{HB}[HB] + \varepsilon_{B^-}[B^-] = \varepsilon c \tag{22.41}$$

kde $\varepsilon = A/c$ je celkový molární absorpční koeficient směsi HB + B^-. Po dosazení za c z látkové bilance do (22.41) a po úpravě vyjádříme poměr $[B^-]/[HB]$ potřebný k výpočtu pK_a vztahem

$$\frac{[B^-]}{[HB]} = \frac{(A/c) - \varepsilon_{HB}}{\varepsilon_{B^-} - (A/c)} \tag{22.42}$$

Neznáme-li hodnoty molárních absorpčních koeficientů v této rovnici, postupujeme tak, že (předpokládáme stále $b = 1$) při stejné celkové koncentraci $c(\mathrm{HB})$ proměříme:

1. absorbanci A_1 okyseleného roztoku HB, aby jeho $\mathrm{pH} \leq \mathrm{p}K_a(\mathrm{HB}) - 3$; disociační rovnováha se tím posune tak, že $[\mathrm{HB}] = c$, a tedy $A_1 = \varepsilon_{\mathrm{HB}} c$;

2. absorbanci A_2 tak zalkalizovaného roztoku HB, aby jeho $\mathrm{pH} \geq \mathrm{p}K_a(\mathrm{HB}) + 3$; rovnováha se tím posune tak, že $[\mathrm{B}^-] = c$, a tedy $A_2 = \varepsilon_{\mathrm{B}} c$;

3. absorbanci A_3 roztoku HB upraveného přídavkem vhodného tlumiče na přesnou hodnotu pH, přibližně odpovídající hodnotě $\mathrm{p}K_a(\mathrm{HB})$ ($[\mathrm{B}^-] \approx [\mathrm{HB}]$).

Po dosazení za $A = A_3$, $\varepsilon_{\mathrm{HB}} = A_1/c$ a $\varepsilon_{\mathrm{B}} = A_2/c$ do (22.42) a dále pak do (22.40) získáme vztah pro výpočet smíšené hodnoty $\mathrm{p}K_a(\mathrm{HB})$ z experimentálních hodnot pH, A_1, A_2, A_3:

$$\mathrm{p}K_a(\mathrm{HB}) = \mathrm{pH} - \log \frac{A_3 - A_1}{A_2 - A_3} \tag{22.43}$$

Zcela analogický postup se používá pro stanovení K_b, protolytické konstanty slabé fáze B

$$\mathrm{B} + \mathrm{H_2O} = \mathrm{BH^+} + \mathrm{OH^-}$$

pro kterou platí

$$\mathrm{p}K_b(\mathrm{B}) = \mathrm{pOH} - \log \frac{[\mathrm{BH^+}]}{[\mathrm{B}]} \tag{22.44}$$

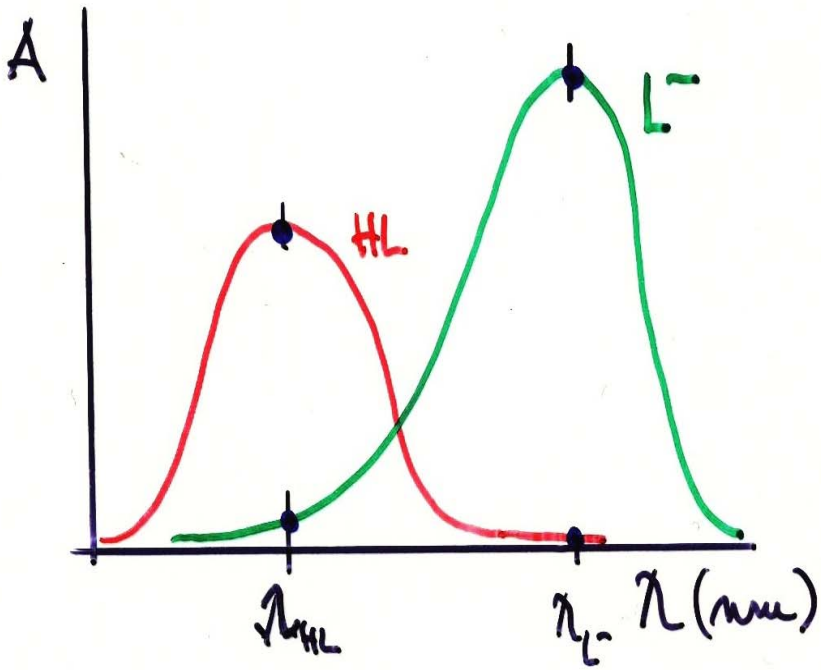
c) *Grafická metoda stanovení disociační konstanty* K_a

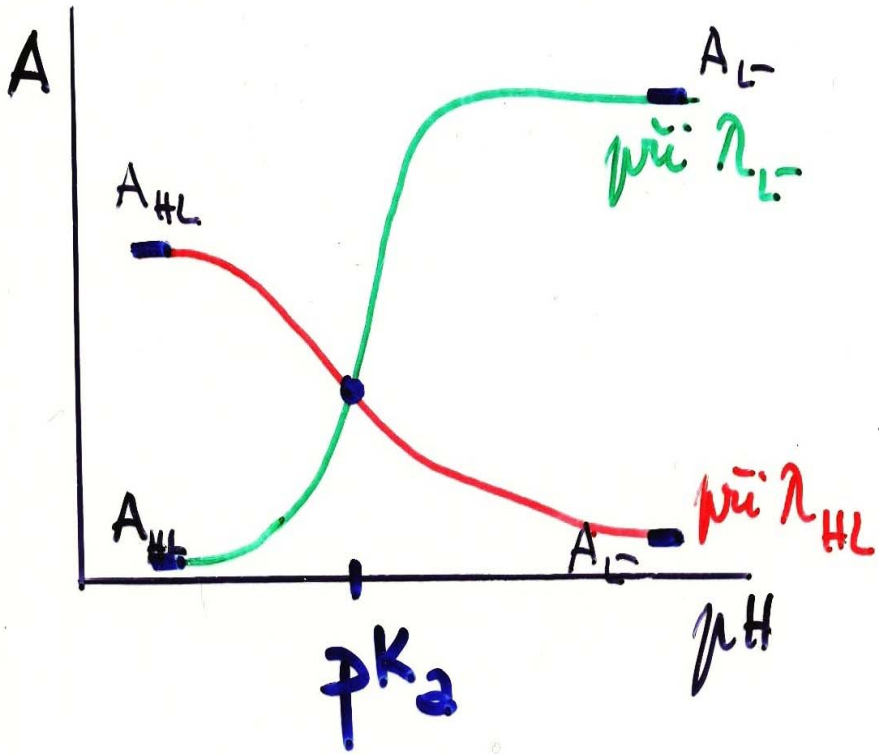
Hodnotu K_a lze též zjistit graficky (viz např. [7]), aniž je třeba znát hodnotu ε_{B^-}, jejíž stanovení někdy bývá obtížné. Po dosazení za poměr $[B^-]/[HB]$ z rovnice (22.42) do (22.39) a po úpravě (vliv aktivitních koeficientů zanedbán) získáme výraz vhodný ke grafickému zpracování:

$$\frac{1}{(A/c) - \varepsilon_{HB}} = [H^+] \frac{1}{K_a(HB)\,[\varepsilon_{B^-} - \varepsilon_{HB}]} + \frac{1}{\varepsilon_{B^-} - \varepsilon_{HB}} \tag{22.47}$$

Vynášíme-li do grafu $1/[(A/c) - \varepsilon_{HB}]$ proti $[H^+]$, dostaneme přímku, která vytne na ose $1/[(A/c) - \varepsilon_{HB})]$ úsek odpovídající hodnotě $1/(\varepsilon_{B^-} - \varepsilon_{HB})$. Hodnotu $K_a(HB)$ odečteme na ose x při takové hodnotě $[H^+]$, které odpovídá na ose y dvojnásobek úseku $1/(\varepsilon_{B^-} - \varepsilon_{HB})$.

STANOVENÍ pK_a FOTOMETRICKY: $HL \rightleftharpoons L^- + H^+$





$$K_a = \frac{[H^+][L^-]}{[HL]}$$

$$\log K_a = \log [H^+] + \log \frac{[L^-]}{[HL]}$$

$$pK_a = pH + \log \frac{[HL]}{[L^-]}$$ (Henderson-Hasselbachova rovnice)

$$A = A_{HL} + A_{L^-} = \varepsilon_{HL} \cdot [HL] + \varepsilon_{L^-} [L^-], \quad d = 1\,cm$$

$$c_L = [HL] + [L^-]$$

$$A = \varepsilon_{HL}[HL] + \varepsilon_{L^-}\left(c_L - [HL]\right) = \left(\varepsilon_{HL} - \varepsilon_{L^-}\right)\underline{\underline{[HL]}} + \varepsilon_{L^-} \cdot c_L$$

$$A = \varepsilon_{HL}\left(c_L - [L^-]\right) + \varepsilon_{L^-}[L^-] = \left(\varepsilon_{L^-} - \varepsilon_{HL}\right)\underline{\underline{[L^-]}} + \varepsilon_{HL} \cdot c_L$$

$$\left.\begin{aligned} [HL] &= \frac{A - \varepsilon_{L^-} \cdot c_L}{\varepsilon_{HL} - \varepsilon_{L^-}} \\ [L^-] &= \frac{\varepsilon_{HL} \cdot c_L - A}{\varepsilon_{HL} - \varepsilon_{L^-}} \end{aligned}\right\} \quad pK_a = pH + \log \frac{A - \overbrace{\varepsilon_{L^-} \cdot c_L}^{A_L}}{\underbrace{\varepsilon_{HL} \cdot c_L}_{A_{HL}} - A} \quad \text{při } n_{HL}$$

nebo

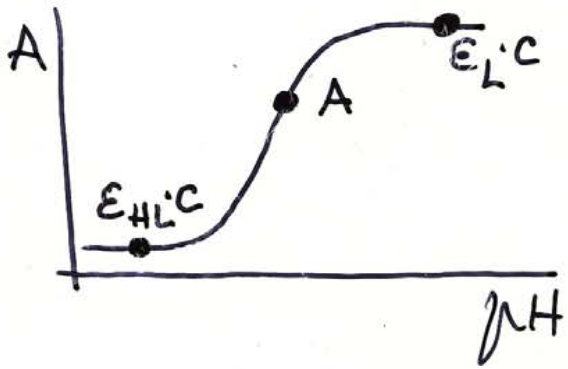
$$pK_a = pH + \log \frac{A_L - A}{A - A_{HL}} \quad \text{při } n_{L^-}$$

Příklad 22.43 Z následujících fotometrických hodnot při 292 nm vypočtěte pK_a acetylacetonu (slabé kyseliny) ve vodném roztoku. Molární absorpční koeficient nedisociované kyselé formy je $9{,}5 \cdot 10^2$ l mol^{-1} cm^{-1}, molární absorpční koeficient aniontu je $2{,}31 \cdot 10^4$ l mol^{-1} cm^{-1}. Absorbance roztoku o látkové koncentraci $3{,}0 \cdot 10^{-5}$ mol l^{-1} a pH = 9,18 byla 0,450. Aktivitní koeficienty při výpočtu považujte za jednotkové. [pK_a = 8,94]

PŘÍKLAD: pK_a ANALÝZOU A – pH KŘIVKY

ZADANÍ: acetylaceton $\varepsilon_{HL} = 950$ l · mol^{-1} cm^{-1}; $\varepsilon_L = 23100$ l · mol^{-1} · cm^{-1}; při pH = 9.18 je A = 0.450; c = 3.0×10^{-5} mol/l; pK_a = ?

ROZBOR:



$$pK_a = pH + \log \frac{\varepsilon_L \cdot c - A}{A - \varepsilon_{HL} \cdot c}$$

$d = 1$ cm

ŘEŠENÍ: $$pK_a = 9.18 + \log \frac{23100 \cdot 3{,}0 \cdot 10^{-5} - 0{,}450}{0{,}450 - 950 \cdot 3{,}0 \cdot 10^{-5}} = \underline{\underline{8.94}}$$

ODPOVĚĎ: pK_a acetylacetonu je 8.94.

Příklad 22.44 Vypočtěte pK_a fenolu z absorbancí jeho vodných roztoků, měřených v kyvetě o tloušťce 1 cm při 287 nm pro celkovou koncentraci fenolu $2{,}00 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1} a tato prostředí: 1. HCl 0,01 mol l^{-1}, $A_1 = 0{,}001$; 2. NaOH 0,1 mol l^{-1}, $A_2 = 0{,}512$; 3. tlumič o pH = 10,02, $A_3 = 0{,}285$. Vliv aktivitních koeficientů zanedbejte. [pK_a(fenol) = 9,92]

NÁZEV: VÝPOČET pK_a FENOLU FOTOMETRICKY

ZADÁNÍ: 22.44, Vypočtěte pK_a fenolu fotometricky z dat:
(1) v 0,01M-HCL: $A_{HL} = 0.001$, (2) v 0,1M-NaOH: $A_L = 0.512$;
(3) při pH = 10,02 je $A = 0{,}285$.

ROZBOR:

$$pK_a = pH + \log \frac{A_L - A}{A - A_{HL}}$$

ŘEŠENÍ:

$$pK_a = 10{,}02 + \log \frac{0{,}512 - 0{,}285}{0{,}285 - 0{,}001} = 9.923$$

ODPOVĚĎ: pK_a fenolu je 9.923

Příklad 22.45 *a*) Odvoďte vztah analogický rovnici (22.43) pro pK_b slabé zásady B. *b*) Vypočtěte pK_b anilinu (slabé zásady), znáte-li při $\lambda = 279{,}1$ nm hodnoty: $\varepsilon_{BH^+} = 0{,}00$, $\varepsilon_B = 1{,}48 \,.\, 10^3$ l mol^{-1} cm^{-1}, absorbance $A = 0{,}348$ pro roztok anilinu o koncentraci $5{,}00 \,.\, 10^{-4}$ mol l^{-1} při pH = 4,75 v kyvetě o tloušťce 1 cm.

$$\left[a)\ pK_b(B) = 14 - pH - \log \frac{\varepsilon_B - (A/c)}{(A/c) - \varepsilon_{BH^+}}\ ;\ b)\ pK_b(\text{anilin}) = 9{,}20\right]$$

b) *Výpočet* pK_a *z měření absorbancí při dvou vlnových délkách*

Podobně jako u předchozího postupu zjišťujeme i zde poměr $[B^-]/[HB]$. Využíváme k tomu měření absorbancí roztoku kyseliny obvykle v maximech pásu aniontu B^- a pásu volné kyseliny HB. Jde o zvláštní případ analýzy dvousložkového systému, která byla popsána v odd. 22.1.8. Vztahy uvádíme opět pro jednosytnou slabou kyselinu a kyvetu o tloušťce 1 cm. Pro absorbance roztoků platí:

při λ_1 $$A_1 = \varepsilon_{1,HB}[HB] + \varepsilon_{1,B^-}[B^-] \tag{22.45}$$

při λ_2 $$A_2 = \varepsilon_{2,HB}[HB] + \varepsilon_{2,B^-}[B^-] \tag{22.46}$$

Z těchto rovnic vyčíslíme hodnoty $[HB]$ a $[B^-]$. Hodnoty ε potřebné k výpočtu lze zjistit podobně, jak bylo popsáno u předchozího postupu, tj. z měření absorbancí dostatečně okyselených resp. dostatečně zalkalizovaných roztoků kyseliny o známé koncentraci při obou vlnových délkách.

Pro roztok, jehož A_1 a A_2 jsou změřeny při známé hodnotě pH a popř. i iontové síle (počítáme-li s aktivitními koeficienty), získáme pak pK_a dosazením do vztahu (22.40).

Příklad 22.46 Maximum absorbce kyselé formy methylové červeně je při 528 nm, alkalické formy při 400 nm. Okyselený $1{,}22 \cdot 10^{-3}$M roztok methylové červeně měl absorbanci $A_{528} = 1{,}738$, $A_{400} = 0{,}077$. Alkalický $1{,}09 \cdot 10^{-3}$M roztok methylové červeně měl absorbanci $A_{400} = 0{,}753$, kdežto při 528 nm neabsorboval. Malé množství methylové červeně bylo rozpuštěno v tlumivém roztoku o pH = 4,31; tento roztok jevil při 528 nm absorbanci 1,401 a při 400 nm absorbanci 0,166. Při všech měřeních byla použita kyveta o tloušťce 1 cm. Vypočtěte disociační konstantu methylové červeně.

Řešení: Dílčí výsledky pro hodnoty ε (l mol^{-1} cm^{-1}) jsou $\varepsilon_{528,\mathrm{HB}} = 1\,424{,}6$; $\varepsilon_{528,\mathrm{B}} = 0$; $\varepsilon_{400,\mathrm{HB}} = 63{,}11$; $\varepsilon_{400,\mathrm{B}} = 690{,}8$. Disociační konstanta methylové červeně je $7{,}4 \cdot 10^{-6}$.

NAZEV: 22.46 pK_a METHYL. ČERVENÉ JAKO DVOUSLOŽKOVÉHO SYSTÉMU

ZADÁNÍ: Standard HL a L^- poskytují následující absorbance:

při $\lambda_1 = 528$ nm $1{,}22 \times 10^{-3}$M-HL $A_{1S} = 1.738$, $1{,}09 \times 10^{-3}$M-L^- $A_{1S} = 0$

při $\lambda_2 = 400$ nm $A_{2S} = 0.077$, $A_{2S} = 0{,}753$

Neznámý roztok pH = 4,31 dává $A_{1X} = 1{,}401$ a $A_{2X} = 0{,}166$ v 1cm kyvetě. Vypočtěte pK_a = ?

ROZBOR + ŘEŠENÍ:

(1) Vypočtěte ε:

$$\lambda_1 \text{ ---- } \varepsilon_{HL,1} = \frac{1{,}738}{0{,}00122} = 1424{,}6 \,, \quad \varepsilon_{L,1} = 0$$

$$\lambda_2 \text{ ---- } \varepsilon_{HL,2} = \frac{0{,}077}{0{,}00122} = 63{,}11 \,, \quad \varepsilon_{L,2} = \frac{0{,}753}{0{,}00109} = 690{,}8$$

(2) Výpočet [HL] a [L⁻]:

$$\left.\begin{aligned} \lambda_1 \cdots\cdots 1{,}401 &= 1424{,}6\,[HL] + 0\cdot[L^-] \\ \lambda_2 \cdots\cdots 0{,}166 &= 63{,}11\,[HL] + 690{,}8\,[L^-] \end{aligned}\right\}$$

$$[HL] = 9{,}8343 \times 10^{-4}\,M$$

$$[L^-] = 1{,}5046 \times 10^{-4}\,M$$

(3) Výpočet pK_a (Henderson–Hasselbachova rovnice):

$$pK_a = 4{,}31 + \log \frac{9{,}8343 \times 10^{-4}}{1{,}5046 \times 10^{-4}} = 5{,}125$$

ODPOVĚĎ: Disociační konstanta methylčervené je $7{,}5 \times 10^{-6}$

Příklad 22.48 10,0 mg slabé jednosytné a neabsorbující organické kyseliny, $M_r = 297$, bylo odváženo do kyvety o tloušťce 1 cm a rozpuštěno v 5 ml 0,1M-$NaClO_4$ pro úpravu iontové síly. Pak bylo přidáno přesně 150 μl 0,1M-NaOH a kapka roztoku methylové červeně. Po promíchání byla změřena absorbance roztoku při 528 nm, $A_{528} = 0{,}927$, a při 400 nm, $A_{400} = 0{,}464$. S použitím dat z příkladu 22.46 vypočtěte K_a studované kyseliny. $[K_a = 6{,}41 \,.\, 10^{-6}]$

22.1.9.2 Určování stechiometrického složení komplexních sloučenin v roztoku

Z řady postupů navržených pro tuto spektrofotometrickou aplikaci uvedeme tři nejběžnější, s grafickým zpracováním výsledků. Budeme předpokládat, že při tvorbě komplexu ML_n z kationtu kovu M^{n+} a ligandu L (náboj částic nebude dále značen)

$$M + nL = ML_n$$

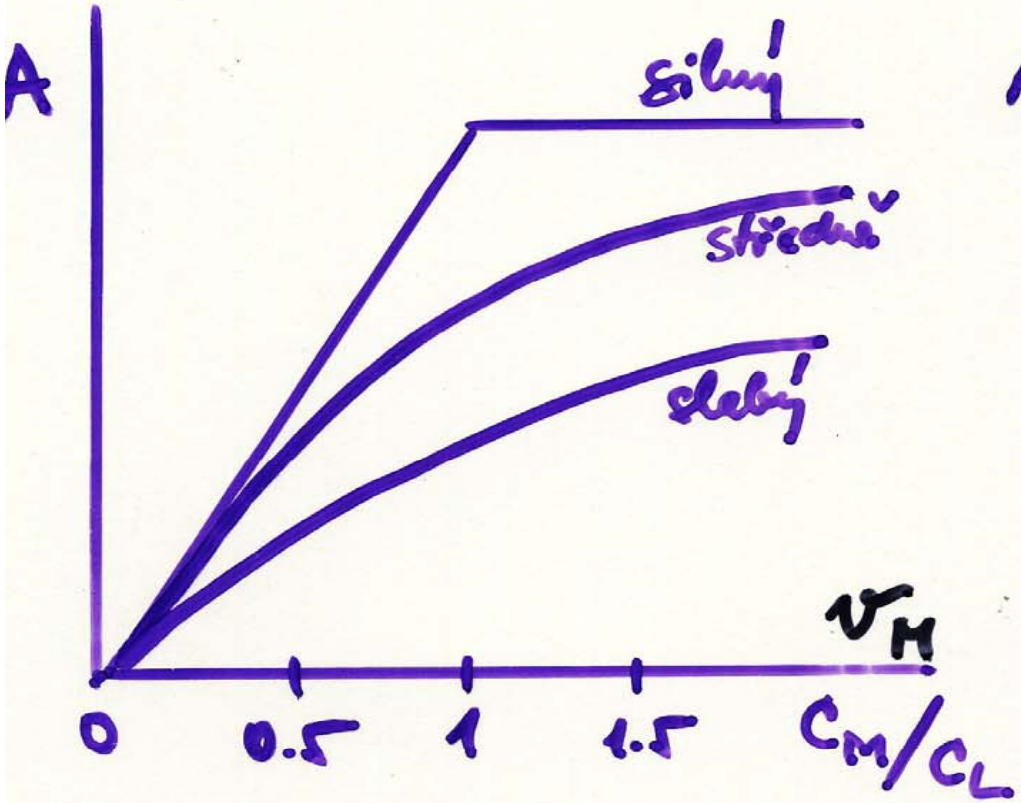
vzniká jedině tento komplex, a to při jakémkoli výchozím poměru látkových množství M a L; komplex je stálý a je jedinou absorbující částicí v systému při λ_{max} komplexu ML_n. Absorbance rovnovážné směsi je pak přímo úměrná rovnovážné koncentraci komplexní částice ML_n.

a) Metoda molárních poměrů [4]

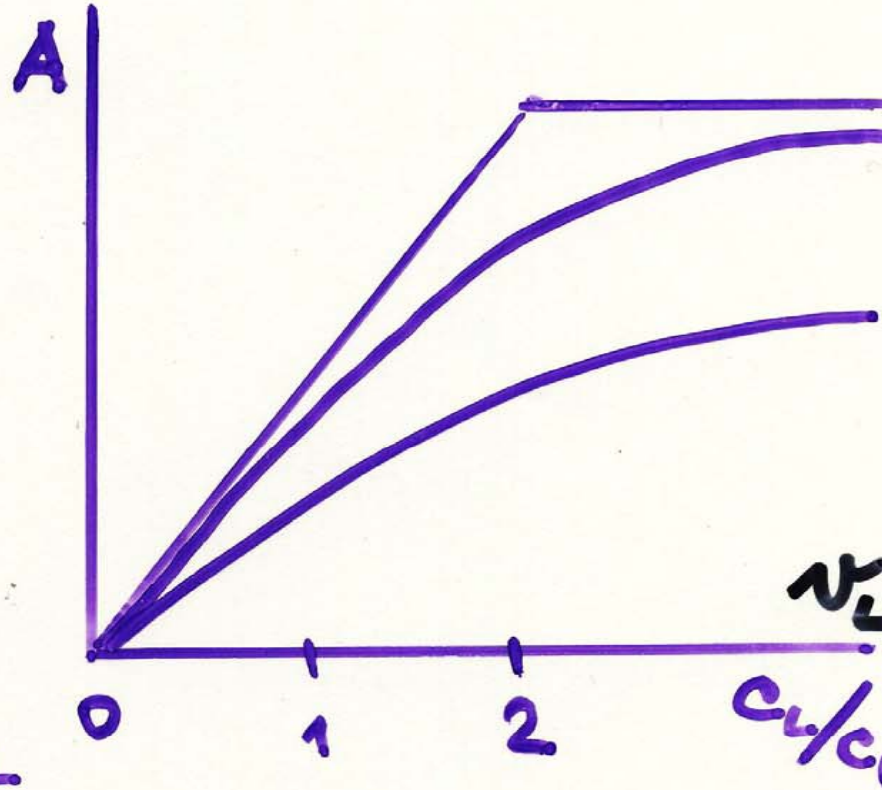
Připraví se řada roztoků o stejné látkové koncentraci M a rozdílné látkové koncentraci L, při čemž poměr c_L/c_M se mění asi od 0,1 do 10 až 20. Absorbance těchto roztoků, změřené při dvou nebo třech různých vlnových délkách, kde absorbuje jen ML_n, se vynesou do grafu proti hodnotám c_L/c_M. Vzniká-li ML_n kvantitativně, získá se graf podobný křivce *3* na obr. 31 s průsečíkem přímkových částí u poměru c_L/c_M, který je roven číslu n v komplexu ML_n. Není-li tento poměr stálý pro všechny sledované λ, tvoří se současně komplex jiného složení. Je-li konstanta stability komplexu malá, neprobíhají přímkové větve až k jejich průsečíku (zlomu); ten se musí určit po jejich extrapolaci, takže nalezená hodnota n je méně jistá. Metoda je proto zvlášť vhodná pro stabilní komplexy.

METODA MOLÁRNÍCH POMĚRŮ (MR)

$$pM + qL = M_pL_q \,, \qquad \text{obyčejně } p = 1$$



MRMCH



MRLCH

b) Metoda poměru směrnic [5]

Připraví se dvě řady roztoků: Prvá řada obsahuje konstantní velkou koncentraci L a rostoucí koncentraci c_M. Druhá řada má naopak $c_M = \text{konst} \gg c_L$, a c_L se postupně zvětšuje. V obojím případě se předpokládá, že částice s malou, rostoucí koncentrací c_M resp. c_L prakticky úplně zreaguje na částici ML_n; absorbance roztoků jsou proto přímo úměrné výchozím látkovým koncentracím c_M resp. c_L. Pro prvou řadu roztoků (pro $b = 1$) platí

$$A_1 = \varepsilon_{ML_n}[ML_n] \approx \varepsilon_{ML_n} c_M \tag{22.31}$$

Vyneseme-li A_1 proti c_M, dostaneme přímku se směrnicí $k_1 = \varepsilon_{ML_n}$. Pro druhou řadu roztoků platí obdobně

$$A_2 = \varepsilon_{ML_n}[ML_n] \approx \varepsilon_{ML_n} c_L/n \tag{22.32}$$

Směrnice této závislosti je $k_2 = \varepsilon_{ML_n}/n$.
Číslo n se vypočítá z poměru směrnic

$$n = k_1/k_2 \tag{22.33}$$

Metoda je vhodná i pro méně stabilní komplexy, protože pracuje s přebytkem jedné z reagujících částic, takže se rovnováha posouvá ve prospěch tvorby ML_n.

METODA POMĚRU SMĚRNIC

(dle Harveye a Manninga)

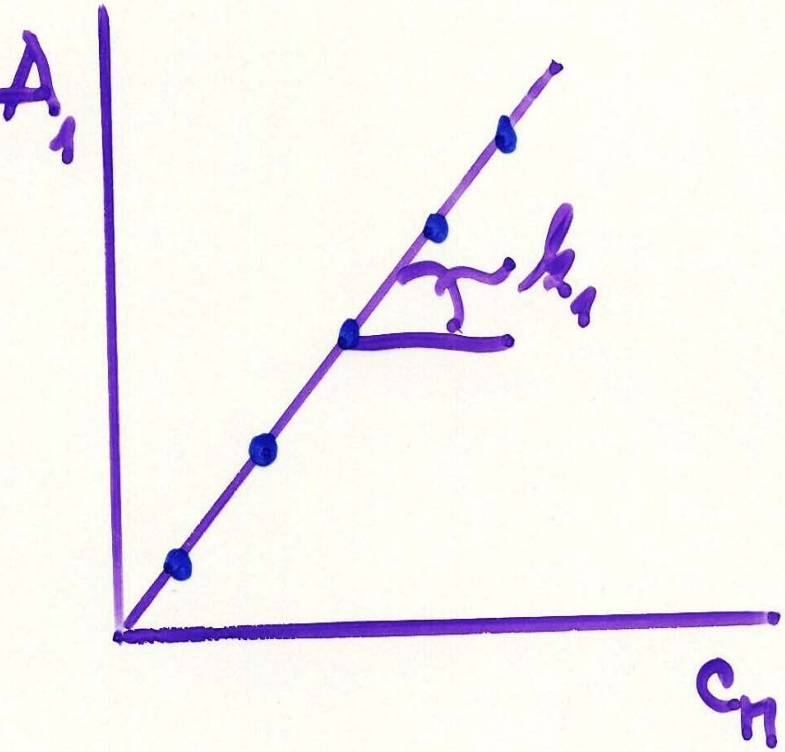
$$M + gL = ML_g$$

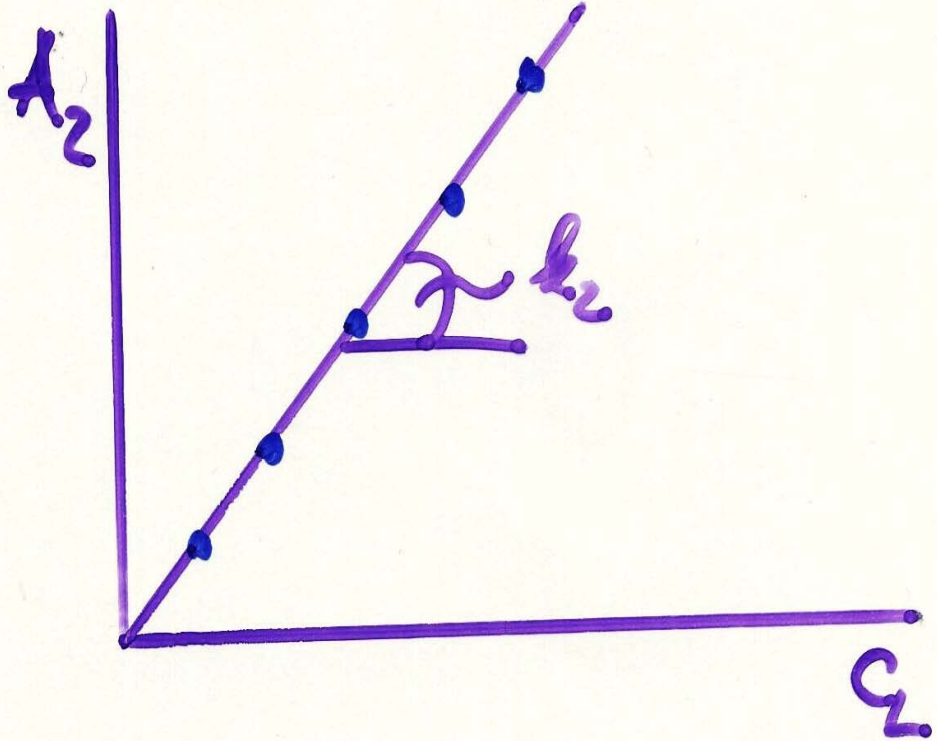
<u>1. řada</u>: $c_L \gg c_M$, změna c_M

$$A_1 = \varepsilon_{ML_g} \cdot [ML_g] \approx k_1 \cdot c_M \approx \varepsilon_{ML_g} \cdot c_M$$

<u>2. řada</u>: $c_M \gg c_L$, změna c_L

$$A_2 = \varepsilon_{ML_g} \cdot [ML_g] \approx k_2 \cdot c_L \approx \frac{\varepsilon_{ML_g}}{2} \cdot c_L$$





$$Q = \frac{k_1}{k_2} = \frac{\varepsilon_{m,2}}{\frac{\varepsilon_{m,2}}{Q}}$$

Příklad 22.41 Metodou poměru směrnic bylo studováno složení komplexu Be^{2+} s thorinem [trisodnou solí 2-(2′hydroxy-3′,6′-disulfo-1′-naftylazo)benzenarsonové kyseliny]. Absorbance komplexu byla sledována v maximu jeho pásu při 470 nm, kdy ani thorin, ani Be^{2+} neabsorbují. Pro první řadu roztoků s přebytkem thorinu a rostoucí $c_{Be^{2+}}$ byly naměřeny v kyvetě o tloušťce 1 cm tyto absorbance:

$c_{Be^{2+}} \cdot 10^5/\text{mol l}^{-1}$	0	4,00	8,00	12,0	16,0
A	0,000	0,102	0,201	0,299	0,402

Pro druhou řadu roztoků s přebytkem Be^{2+} a rostoucí koncentrací thorinu byly za stejných podmínek měření zjištěny absorbance:

$c_{thorin} \cdot 10^5/\text{mol l}^{-1}$	0	4,00	8,00	12,0	16,0
A	0,000	0,092	0,184	0,274	0,364

Jaké je složení komplexu? [Be^{2+} : thorin = 1 : 1]

NÁZEV: METODA POMĚRU SMĚRNIC DLE HARVEYE A MANNINGA

ZADÁNÍ: 22.41 Komplex Be^{2+} s thorinem absorbuje při 470 nm, Be^{2+} a thorin neabsorbují světlo; $d = 1$ cm;

1. řada: $c_L \gg c_M$, c_L = konst.

$c_M \cdot 10^5$ [mol/l] :	0	4,00	8,00	12,0	16,0
A :	0	0,102	0,201	0,299	0,402

2. řada: $c_M \gg c_L$, c_M = konst.

$c_L \cdot 10^5$ [mol/l] :	0	4,00	8,00	12,0	16,0
A :	0	0,092	0,184	0,274	0,364

Jaké je složení komplexu? ML_q

ROZBOR: 1. řada: $A = k_1 \cdot c_M$
2. řada: $A = k_2 \cdot c_L$ $\Big\}$ $q = \frac{k_1}{k_2}$

ŘEŠENÍ: grafické řešení: $k_1 = 2502.3$, $k_2 = 2275.0$ $\Big\}$ $q = \frac{2502.3}{2275.0} \doteq 1$

ODPOVĚĎ: Poměr $p:q$ ve komplexu M_pL_q je 1:1 čili ML.

c) *Metoda kontinuálních variací čili Jobova metoda* [6]

Tato nejpoužívanější metoda vychází z měření řady roztoků částic M a L, v nichž součet výchozích látkových koncentrací obou částic je konstantní, $c_M + c_L = c =$ konst, ale poměr se mění, takže

$$c_M/c_L = x/(1 - x); \qquad c_M = xc; \qquad c_L = (1 - x)\,c \tag{22.34}$$

kde hodnota x se mění v řadě roztoků od nuly do $x = 1$. Pro danou hodnotu x platí pro rovnovážné koncentrace [M] a [L]

$$[M] = xc - [ML_n]; \qquad [L] = (1 - x)\,c - n[ML_n] \tag{22.35}$$

Hodnota $[ML_n]$ se tedy mění s hodnotou x, přičemž pro krajní body x (0 a 1) je nulová.

Vztah mezi [M], [L] a $[ML_n]$ určuje dále konstanta stability částice ML_n, β_n:

$$\beta_n = [ML_n]/[M]\,[L]^n \tag{22.36}$$

Vyjádříme-li nyní z tohoto výrazu $[ML_n]$ a dosadíme-li za [M] a [L] z rovnice (22.35), dostaneme vztah mezi $[ML_n]$ a x:

$$[ML_n] = \beta_n(xc - [ML_n])\,\{(1 - x)\,c - n[ML_n]\}^n \tag{22.37}$$

Funkce $[ML_n] = f(x)$ má maximum v bodě, kdy

$$x = \frac{1}{1 + n} \tag{22.38}$$

Graficky tedy zjistíme hodnotu n tak, že změřené absorbance roztoků o různém x vyneseme proti x a body proložíme křivku. Z maxima této křivky zjistíme podle výrazu (22.38) číslo n.

Metoda kontinuálních variací je vhodná i pro méně stálé komplexy. Je-li $n > 3$, roste nejistota jeho stanovení.

METODA KONTINUÁLNÍCH VARIACÍ (JOBOVY KŘIVKY)

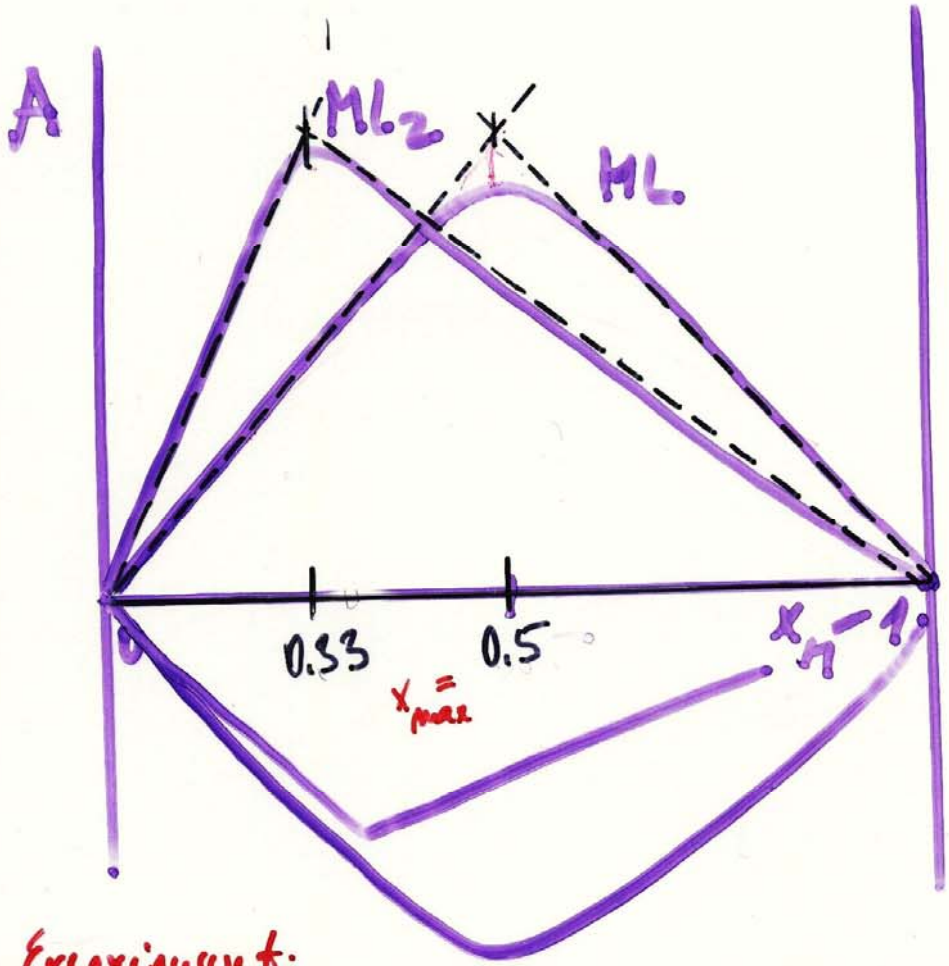
$$\mu M + qL = M_\mu L q \quad , \quad \mu = 1$$

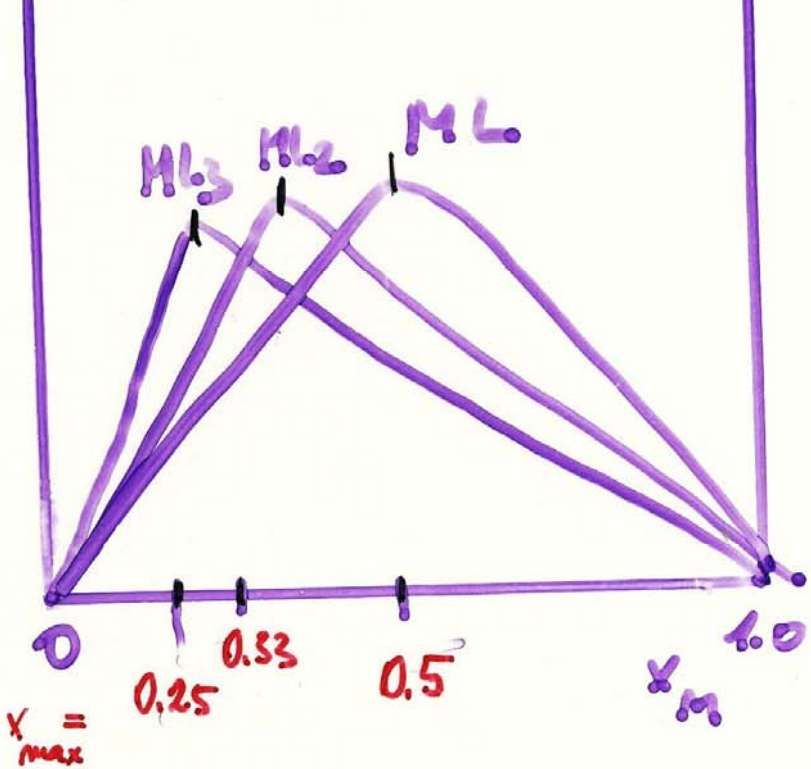
$$c_M + c_L = \text{konst} = c \quad ; \quad x_M = \frac{c_M}{c_M + c_L}$$

$$c_M = x \cdot c$$

$$c_L = (1 - x) \cdot c$$

$$x_{max} = \frac{1}{1 + q}$$





Experiment:

Zásobní roztok c_M (díly)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zásobní roztok c_L (díly)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Molární zlomek x_M	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
Naměřené absorbance A	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..

Příklad 22.49 Z dat v příkladu 22.42 vypočtěte β_1 komplexu Fe^{3+} se salicylovou kyselinou. $[\beta_1 = 1{,}22 \,.\, 10^5]$

Příklad 22.42 Metodou kontinuálních variací bylo určováno složení komplexu Fe^{3+} se salicylovou kyselinou při pH = 3. Červený komplex byl fotometrován při 525 nm. Celková koncentrace reagujících složek byla $c = c_{Fe^{3+}} + c_{sal} = 2{,}5 \,.\, 10^{-4}$ mol l^{-1}. Iontová síla roztoku byla upravena na $3{,}5 \,.\, 10^{-3}$. Při 525 nm absorbuje jen komplex. Jeho hodnota $\varepsilon = 3{,}2 \,.\, 10^3$ l mol^{-1} cm^{-1}. Byly zjištěny tyto absorbance roztoků v kyvetě o tloušťce 1 cm pro různé poměry koncentrací vyjádřené jako $x_{Fe^{3+}}$:

$x_{Fe^{3+}}$	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	1,0
A	0,000	0,070	0,147	0,225	0,285	0,310	0,282	0,221	0,072	0,000

Sestrojte křivku $A = f(x)$ a určete stechiometrii komplexu.

[Maximum pro $x_{Fe} = 0{,}5$; $n = 1$; Fe^{3+} : sal = 1 : 1]

PŘÍKLAD: 22.49 KONSTANTA STABILITY Z JOBOVÝCH KŘIVEK

ZADÁNÍ: $c = c_{Fe} + c_{Sal} = 0{,}0025$ mol/l ; $\varepsilon_{ML} = 3200$; $A_{0.5} = 0.310$, $x_M = 0.5$, $n = 1$ pro ML_n, t.j. ML , $\beta_{11} = ?$

ROZBOR:

$$\frac{c_{Fe}}{c_{Sal}} = \frac{x}{1-x} \quad ; \quad c_{Fe} = x \cdot c$$
$$c_{Sal} = (1-x) \cdot c$$

$$[Fe] = x \cdot c - [FeSal]$$
$$[Sal] = (1-x) \cdot c - 1 \cdot [FeSal]$$

$$\beta_{11} = \frac{[FeSal]}{[Fe][Sal]}$$

$$[FeSal] = \beta_{11}\left(x \cdot c - [FeSal]\right)\left((1-x) \cdot c - 1 \cdot [FeSal]\right)$$

pro $x_{max} = 0.5$ bude

$$[FeSal] = \beta_{11}\left(0{,}5c - [FeSal]\right)^2$$

ŘEŠENÍ: $[FeSal] = \frac{A_{0.5}}{\varepsilon_{FeSal}} = \frac{0.310}{3200} = 9.6875 \times 10^{-5}$

$$\beta_{11} = \frac{9.6875 \times 10^{-5}}{(0{,}5 \cdot 2{,}5 \cdot 10^{-4} - 9{,}6875 \times 10^{-5})^2} = \underline{\underline{1{,}2247 \times 10^{5}}}$$

ODPOVĚĎ: Konstanta stability komplexu FeSal je $1{,}2247 \times 10^{5}$.

Příklad 22.50 Částice M tvoří s ligandem L jediný komplex ML. Při zvolené vlnové délce absorbuje pouze částice ML. Bylo zjištěno, že při této vlnové délce má roztok o výchozích koncentracích $c_M = 1{,}00$ mol l^{-1} a $c_L = 1{,}00 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1} stejnou absorbanci jako roztok s výchozími koncentracemi $c_M = c_L = 5{,}00 \cdot 10^{-3}$ mol l^{-1}. Jaká je hodnota β_1? $[\beta_1 = 3{,}12]$

PŘÍKLAD: 22.50 KONSTANTA STABILITY

ZADÁNÍ: ML, komplex absorbuje pouze světlo; má stejnou A pro $c_M = 1\ mol \cdot l^{-1}$, $c_L = 0{,}0001\ mol \cdot l^{-1}$ jako pro $c_M = 5 \cdot 10^{-3}\ mol/l$ a $c_L = 5 \cdot 10^{-3}\ mol/l$; $\beta_{11} = ?$

ROZBOR:

$$\beta_{11} = \frac{[ML]}{[M][L]} \qquad c_M = [L] + [ML] \qquad c_L = [M] + [ML]$$

$$\beta_{11} = \frac{[ML]}{(c_M - [ML])(c_L - [ML])}$$

ŘEŠENÍ:

$$\beta_{11} = \frac{[ML]}{(1 - [ML])(10^{-4} - [ML])} = \frac{[ML]}{(5 \cdot 10^{-3} - [ML])(5 \cdot 10^{-3} - [ML])}$$

$$[ML] = 7{,}575 \times 10^{-5}$$

$$\beta_{11} = \frac{7{,}575 \times 10^{-5}}{(1 - 7{,}575 \times 10^{-3})(10^{-4} - 7{,}575 \times 10^{-5})} = \underline{\underline{3{,}1239}}$$

ODPOVĚĎ: Konstanta stability je 3,12.

Příklad 22.51 Kation M^{2+} tvoří s molekulou ligandu L komplexní kation ML_2^{2+}, který má v maximu absorpčního pásu hodnotu $\varepsilon_{max} = 2{,}0 \,.\, 10^3\ \mathrm{l\,mol^{-1}\,cm^{-1}}$. Ostatní složky roztoku neabsorbují. Byly-li výchozí koncentrace roztoku $c_M = c_L = 1{,}00 \,.\, 10^{-3}\ \mathrm{mol\ l^{-1}}$, byla naměřena v kyvetě o tloušťce 1 cm $A = 0{,}800$. Vypočtěte hodnotu β_2. $[\beta_2 = 1{,}67 \,.\, 10^7]$

22.1.10.2 Konstanta stability komplexu a asociační konstanta

Reaguje-li částice M (např. kation kovu) s ligandem L (např. organickou molekulou) za tvorby komplexní částice ML_n podle rovnice

$$M + nL = ML_n$$

platí pro reakci probíhající ve zředěném roztoku po dosažení rovnovážného stavu bilanční vztahy pro celkové látkové koncentrace a rovnovážné koncentrace jednotlivých částic:

$$c_M = [M] + [ML_n]; \qquad c_L = [L] + n[ML_n] \tag{22.49}$$

Konstanta stability tohoto děje je

$$\beta_n = [ML_n]/[M]\,[L]^n \tag{22.50}$$

Spektrofotometrie umožňuje jednoduché stanovení β_n, absorbuje-li při vhodné vlnové délce pouze komplexní částice a platí-li pro ni Beerův zákon. Potom

$$[ML_n] = A/\varepsilon_{ML_n} \qquad [\lambda,\ b = 1\ \text{cm}] \tag{22.51}$$

K výpočtu se používají rovnice (22.49) až (22.51) a známé hodnoty c_M a c_L a fotometricky zjištěné ε_{ML_n} a A.

2. *Protolyt neabsorbuje*

Uvedeme jednoduchý postup, dnes již málo užívaný, který v podstatě spočívá ve fotometrickém stanovení pH pomocí dvoubarevného acidobazického indikátoru. Studovaná kyselina HB se asi zpoloviny, ale přesně, převede alkalickým hydroxidem na sůl. Vznikne tak tlumivý roztok o známém poměru koncentrací c_{B^-}/c_{HB}, jehož $pH = pK_a(HB) + \log c_{B^-}/c_{HB}$. Přídavek stopy indikátoru, který je rovněž slabou kyselinou HInd a jehož $pK_a(HInd)$ má být blízké hodnotě $pK_a(HB)$, neovlivní poměr c_{B^-}/c_{HB}. Podle hodnoty pH roztoku se v roztoku vytvoří poměr rovnovážných koncentrací $[HInd] : [Ind^-]$, tj. různě barevných a absorbujících forem indikátoru. Tento poměr se zjistí fotometricky měřením při dvou vlnových délkách, jak již bylo uvedeno (viz příklad 22.46). Známe-li dále hodnotu $pK_a(HInd)$, je tím určeno pH roztoku a lze i vypočítat hodnotu $pK_a(HB)$ ze vztahu

$$pK_a(HB) = pK_a(HInd) - \log (c_{B^-}/c_{HB}) ([HInd]/[Ind^-]) \qquad (22.48)$$

Příklad 22.52 Ionty Fe^{3+} a Hg^{2+} tvoří s činidlem L cheláty o složení FeL_3^{3+} a HgL_2^{2+}. Roztok o výchozích koncentracích $c_{Fe} = c_L = 1{,}0 \,.\, 10^{-3}$ mol l^{-1} má při vlnové délce, při které absorbuje jen komplex s železem, nikoli komplex se rtutí ani volné činidlo, v kyvetě o tloušťce 1 cm absorbanci $A = 0{,}740$. Druhý roztok, obsahující všechny tři složky o výchozí koncentraci $c_{Fe} = c_{Hg} = c_L = 1{,}0 \,.\, 10^{-3}$ mol l^{-1}, měl za stejných podmínek měření absorbanci $A = 0{,}530$. Vypočtěte $\beta_2(Hg)$, je-li známa $\beta_3(Fe) = 3{,}23 \,.\, 10^{19}$. $[\beta_2(Hg) = 4{,}1 \,.\, 10^{12}]$

Příklad 22.53 Fenol (F) se v tetrachlormethanovém roztoku asociuje volnou skupinou OH s acetonem (A) podle rovnice

$$C_6H_5OH + (CH_3)_2CO = C_6H_5OH \ldots OC(CH_3)_2$$

s asociační konstantou $K_{as} = [F.A]/[F][A]$. Koncentraci volného fenolu lze sledovat na pásu valenční vibrace volné skupiny OH při 3613 cm^{-1}. Vypočtěte K_{as} z těchto dat: absorbance volného fenolu v nepřítomnosti acetonu při koncentraci $c_F = 3{,}06 . 10^{-3}$ mol l^{-1} je $A_0 = 0{,}711$ (měřeno metodou základní linie); roztok fenolu stejné celkové koncentrace, avšak v přítomnosti acetonu o celkové koncentraci $c_A = 1{,}93 . 10^{-2}$ mol l^{-1}, měl za stejných podmínek měření a vyhodnocení absorbanci $A = 0{,}571$. Předpokládejte platnost Beerova zákona.

Řešení: Z látkové bilance pro aceton vychází se zřetelem k přebytku acetonu proti fenolu $A_0 = c_A - [F.A] \approx c_A$. Rovnovážná koncentrace volného fenolu $[F] = c_F - [F.A]$. Dosazením do vztahu pro K_{as} dostáváme $K_{as} \approx (c_F - [F])/[F]\, c_A$. Zde $c_F = A_0/b\varepsilon_F$ a $[F] = A/b\varepsilon_F$; po dosazení bude $K_{as} \approx (A_0 - A)/Ac_A = 12{,}7$. Nezanedbáme-li [F.A] proti c_A, vyjde správnější hodnota 13,1.

Příklad 22.55 Stanovení vitamínu B_1 (thiaminu) je založeno na měření fluorescence produktu jeho oxidace. Z dále uvedených údajů vypočtěte, kolik mikrogramů vitamínu B_1 je v gramu vzorku biologického materiálu: Ze 2 g vzorku byl vitamín extrahován a po odstranění rušivých látek byl extrakt doplněn na 100 ml; 3 ml tohoto roztoku byly dány do odměrky na 10 ml, přidáno oxidační činidlo a roztok doplněn po značku (roztok A); pro slepý pokus byly odměřeny 3 ml stejného roztoku rovněž do odměrky na 10 ml a doplněno po značku (roztok B). Pro měření standardu byl připraven roztok obsahující 3 μg vitamínu v 15 ml. Tento roztok byl před doplněním zpracován stejně jako původní roztok vzorku. Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny dva roztoky: 5 ml zásobního roztoku po přídavku oxidačního činidla (jako u roztoku A) bylo doplněno na 10 ml (roztok C); pro slepý pokus bylo rovněž 5 ml zásobního roztoku doplněno na 10 ml (roztok D). U všech roztoků byla změřena za stejných podmínek intenzita fluorescence:

Roztok	A	B	C	D
I_F v dílcích	52,0	8,0	62,4	7,0

Kalibrační křivka I_F proti koncentraci thiaminu je za uvedených podmínek lineární.

[13,24 μg vitamínu v gramu vzorku]

Příklad 22.56 Vápenatý kation tvoří s organickým činidlem „Calcein" (Fluorexon) fluoreskující komplex. Intenzita fluorescence je přímo úměrná koncentraci vápníku. Do kyvety bylo odměřeno 5 ml roztoku činidla a výchylka fluorimetru byla nastavena na nulu. Potom se k tomuto roztoku v kyvetě přidalo přesně 1,00 ml roztoku s Ca^{2+}. Po promíšení a dvacetiminutovém stání se změřila intenzita fluorescence $I_F = 38{,}0$ dílků. Nakonec bylo do roztoku v kyvetě přidáno 100 μl standardního roztoku Ca^{2+} o koncentraci Ca 200 μg ml^{-1}; výchylka fluorimetru činila 73,2 dílků. Vypočtěte koncentraci vápníku v roztoku vzorku v mg l^{-1}.

[20,87 mg l^{-1}]