

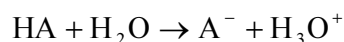
WYZNACZANIE STAŁYCH KWASOWOŚCI P-NITROFENOLU I GLICYNY METODĄ pH-METRYCZNĄ

1. Cel ćwiczenia

Celem pomiarów jest ilościowe scharakteryzowanie właściwości kwasowo - zasadowych aminokwasu poprzez wyznaczenie odpowiednich stałych kwasowości na podstawie wyników miareczkowania pehametrycznego.

2. Podstawy teoretyczne

Opierając się na teorii kwasów i zasad Brönsteda i Lowry'ego, dla wody jako rozpuszczalnika i obojętnego kwasu, równowagę kwasowo - zasadową można zapisać równaniem:



gdzie: HA i A⁻ - sprzężony kwas i zasada.

Termodynamiczna stała równowagi tej reakcji zdefiniowana w asymetrycznym układzie odniesienia (aktywność rozpuszczalnika - wody - równa jedności) przyjmuje następującą postać:

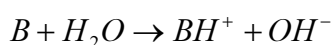
$$K_a = \frac{a_{\text{A}^-} \cdot a_{\text{H}_3\text{O}^+}}{a_{\text{HA}}} \quad \text{skąd:}$$

$$pK_a \equiv -\log K_a = \log \left(\frac{a_{\text{HA}}}{a_{\text{A}^-}} \right) - \log a_{\text{H}_3\text{O}^+} \quad (1)$$

tak zdefiniowana **stała kwasowości** K_a (stała dysocjacji) jest termodynamicznie znacząca jako powiązana ze standardową funkcją Gibbsa (entalpią swobodną) reakcji jonizacji:

$$\Delta G_a^0 \equiv -RT \ln(K_a)$$

Miarą właściwości zasadowych jest stała równowagi reakcji protonowania zasady, **stała zasadowości** K_b :



$$K_b = \frac{a_{\text{BH}^+} \cdot a_{\text{OH}^-}}{a_{\text{B}}} \quad \text{i} \quad pK_b \equiv -\log(K_b)$$

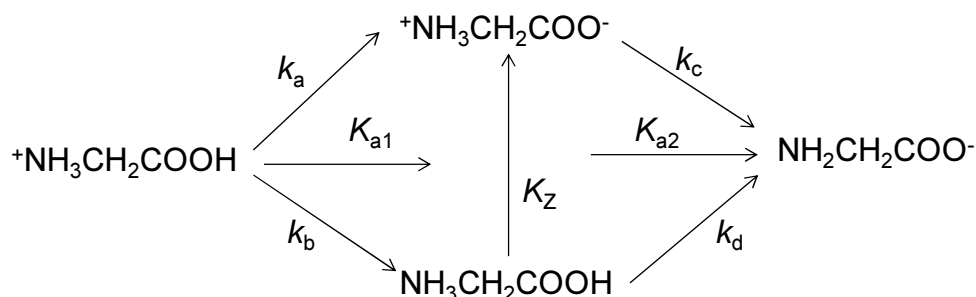
Właściwości zasadowe coraz powszechniej charakteryzowane są poprzez podanie stałej równowagi reakcji odwrotnej, to jest stałej kwasowości protonowego kwasu BH^+ sprzężonego z daną zasadą B. Zależność pomiędzy tymi dwoma stałymi jest oczywista:

$$pK_a = pK_{H_2O} - pK_b$$

pK_{H_2O} jest ujemnym logarytmem stałej autoprotanowania wody (rozpuszczalnika), tzw. iloczyn jonowy wody (w temperaturze 25°C równy 14,00).

3. Równowagi kwasowo - zasadowe aminokwasów

W cząsteczce aminokwasu występują jednocześnie grupa aminowa o charakterze zasadowym i karboksylowa o właściwościach kwasowych. W rezultacie w roztworze wodnym niezależnie od wymiany protonu pomiędzy cząsteczkami rozpuszczalnika a cząsteczką aminokwasu, występuje przenoszenie protonu pomiędzy grupą karboksylową a aminową aminokwasu. Rozpatrzmy odpowiednie równowagi na przykładzie glicyny:



(dla uzyskania większej czytelności rysunku pominięto cząsteczki rozpuszczalnika; kierunek strzałek wskazuje która z molekuł traktowana jest jako produkt w definicji stałych równowagi).

Stałe równowagi opisywane są czterema stałymi równowagi kwasowo - zasadowej (nazwijmy je *mikroskopowymi*, oznaczając wyjątkowo symbolem k), powiązanymi warunkiem $k_a \cdot k_c = k_b \cdot k_d$ (wykazać). Wyznaczone poprzez miareczkowanie potencjometryczne stałe kwasowości (nazwijmy je *makroskopowymi*) formy protonowanej, K_{a1} i formy obojętnej, K_{a2} powiązane są ze stałymi *mikroskopowymi* następującymi relacjami: (udowodnić)

$$K_{a1} = k_a + k_b \quad \text{ i } \quad K_{a2} = \frac{k_c \cdot k_d}{(k_c + k_d)}$$

Na podstawie informacji z innych pomiarów stwierdzono, że glicyna (podobnie jak inne aminokwasy alifatyczne) występuje w roztworze głównie w postaci podwójnego jonu (jon obojnaczy, jon dipolowy) - stosunek aktywności formy dipolowej i obojętnej w roztworze wodnym (a więc stałej równowagi przeniesienia protonu pomiędzy

grupą karboksylową, a aminową, oznaczana zazwyczaj K_Z) jest rzędu 260 000 (ale w przypadku kwasu *p*-aminobenzoesowego $K_Z \approx 0,16$).

Zatem w przypadku glicyny:

$$k_a \gg k_b \text{ i } k_c \gg k_d, \text{ a więc } K_{a1} \approx k_a \text{ i } K_{a2} \approx k_c$$

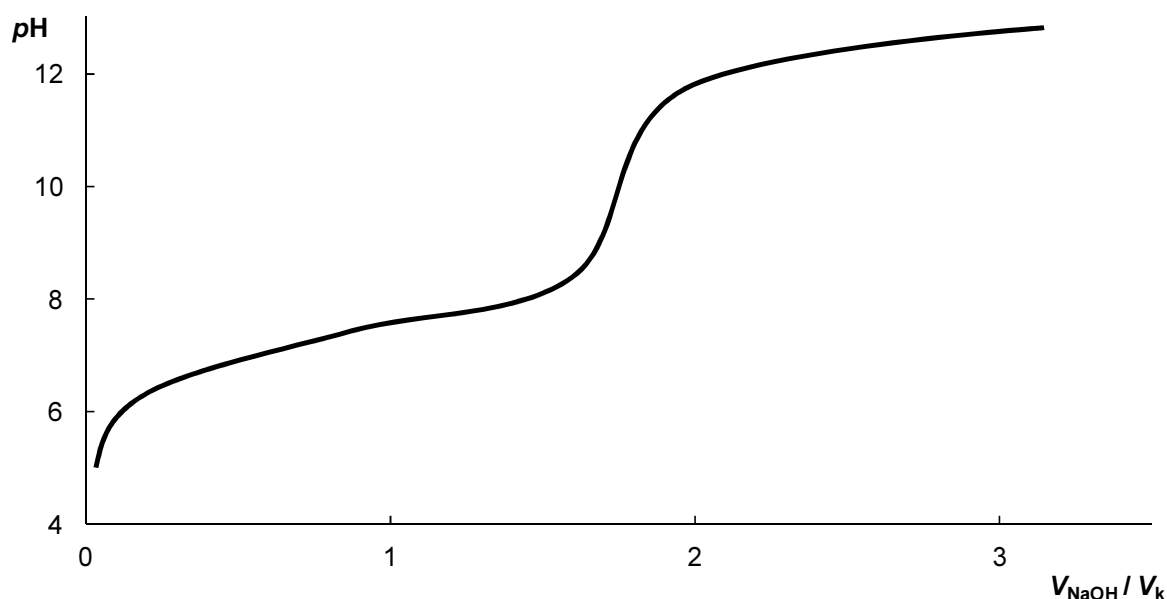
4. Metodyka pomiarów

Wyznaczanie stałej kwasowości na podstawie wyników miareczkowania pehametrycznego jest najprostszym wariantem metody potencjometrycznej. Odwołując się do równania (1) można wykazać, że w punkcie połowicznego zobojętnienia kwasu miareczkowanego zasadą, *pH* miareczkowanego roztworu równe jest w przybliżeniu *pK_a* tego kwasu:

$$pK_a = \log\left(\frac{a_{HA}}{a_{A^-}}\right) - \log(a_{H_3O^+}) = \log\left(\frac{m_{HA}}{m_{A^-}}\right) + \log\left(\frac{\gamma_{HA}}{\gamma_{A^-}}\right) - \log(a_{H_3O^+}) \approx \log\left(\frac{m_{HA}}{m_{A^-}}\right) + pH$$

gdzie przyjęto, że w rozcieńczonych roztworach odpowiedni iloraz współczynników aktywności jest równy jedności i utożsamiono *pH* z ujemnym logarytmem aktywności jonów wodorowych.

Ponieważ w punkcie połowicznego zobojętnienia $m_{HA} = m_{A^-}$ zatem rzeczywiście $pK_a = pH_{1/2}$. Można również wykazać analitycznie, że w punkcie tym na krzywej zależności $pH = f(V_{NaOH})$ występuje punkt przegięcia i krzywa miareczkowania słabego kwasu roztworem mocnej zasady ma następujący kształt ($pK_a = 7,5$):



Z powyższego można zauważyć, że w przypadku bardzo słabego kwasu ($pK_a > 9$) oba punkty przebiegu (odpowiadające połowicznemu i całkowitemu zobojętnieniu kwasu) staną się niewidoczne, co naturalnie nie uniemożliwia określenia wartości pK_a (konieczna jest znajomość liczby moli miareczkowanego kwasu i stężenia zasady).

Podobne rozumowanie przeprowadzone w przypadku miareczkowania słabej zasady roztworem mocnego kwasu doprowadzi do wniosku, że w punkcie połowicznego zobojętnienia pH równa się $pK_a = pK_{H_2O} - pK_b$, zatem równa się stałej kwasowości kwasu protonowego sprzężonego z daną zasadą.

5. Zestaw pomiarowy

Zestaw pomiarowy jest typowym układem przeznaczonym do miareczkowania pH - metrycznego, składa się z następujących elementów:

aparatura: - pH - metr z zespoloną elektrodą szklaną;

- termostатовane naczynie z mieszadłem magnetycznym;

- ultratermostat;

odczynniki: - roztwór HCl o stężeniu $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$;

- roztwór $NaOH$ o stężeniu ok. $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (dokładne stężenie należy wyznaczyć)

- wzorcowe roztwory buforowe: fosforanowy i boraksowy (wartości pH podano w załączonej tabeli)

6. Wykonanie pomiarów i opracowanie wyników

6.1. Przygotowanie układu do pracy

a) włączyć termostat, ustalając wskazaną przez prowadzącego temperaturę (instrukcja obsługi ultratermostatu znajduje się przy stanowisku pomiarowym);

b) włączyć pH -metr, posługując się dostępną przy stanowisku pomiarowym instrukcją obsługi przeprowadzić kalibrację w oparciu o bufor fosforanowy (korekcja "zera") i boraksowy (korekcja nachylenia charakterystyki). Roztwory buforowe umieszczać w termostатовanym naczyniu w minimalnej ilości niezbędnej do zanurzenia elektrody. *Pamiętać o tym jak krucha jest szklana membrana elektrody !*

6.2. Wyznaczanie stężenia NaOH, wyznaczanie wartości pK_a *p*-nitrofenolu:

- odważyć dokładnie 50 - 60 mg *p*-nitrofenolu, rozpuścić w naczynku wagowym w minimalnej ilości etanolu i przenieść do termostowanego naczynia. Dodać możliwie jak najmniejszą ilość wody destylowanej, wystarczającą do zanurzenia elektrody;
- wstępnie oszacować wielkość porcji jakimi powinien być dodawany roztwór zasady, aby możliwe było dokładne określenie zależności $pH = f(V_{\text{NaOH}})$, zwłaszcza w pobliżu przewidywanego punktu połowicznego i całkowitego zobojętnienia;
- zmiareczkować sporządzony roztwór roztworem NaOH, notując wskazania przyrządu. Miareczkowanie kontynuować do osiągnięcia asymptotycznie zmiennych wartości pH ;
- sporządzić wykres zależności pH od objętości dodawanej zasady, a następnie wyznaczyć punkt końcowy miareczkowania i znając masę miareczkowanego *p*-nitrofenolu ($M = 139,11 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) obliczyć stężenie roztworu NaOH;
- wyznaczyć pK_a *p*-nitrofenolu na podstawie współrzędnych punktu połowicznego zobojętnienia.

6.3. Wyznaczanie stałych kwasowości pK_{a1} i pK_{a2} glicyny:

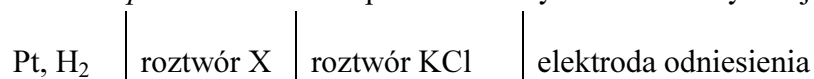
- odważyć dokładnie 70 - 80 mg glicyny i przenieść do termostowanego naczynia. Dodać 10 cm^3 roztworu HCl i uzupełnić minimalną ilością wody destylowanej, wystarczającą do zanurzenia elektrody;
- wstępnie oszacować wielkość porcji jakimi powinien być dodawany roztwór zasady, aby możliwe było dokładne określenie zależności $pH = f(V_{\text{NaOH}})$, zwłaszcza w pobliżu przewidywanego punktu połowicznego i całkowitego zobojętnienia;
- zmiareczkować sporządzony roztwór roztworem NaOH notując wskazania przyrządu;
- sporządzić wykres zależności pH od objętości dodawanej zasady i wyznaczyć objętość roztworu NaOH, V_k , potrzebną do całkowitego zobojętnienia roztworu;
- znając masę miareczkowanej glicyny obliczyć objętość roztworu NaOH, $V_{1/2}$, potrzebną do połowicznego zobojętnienia glicyny;
- wyznaczyć na podstawie wykresu wartość pK_{a1} , jako równą wartości pH odpowiadającej objętości roztworu NaOH, $V = V_k - V_{1/2}$ i pK_{a2} , jako równą wartości pH odpowiadającej objętości roztworu NaOH, $V = V_k + V_{1/2}$
- po skończonych pomiarach przemyj biuretę wodą destylowaną

Tabela 1.

Wartości pH wzorcowych roztworów buforowych

$T / ^\circ\text{C}$	Szczawianowy $0,05 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$	Ftalanowy $0,05 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$	Fosforanowy $0,025 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$	Boraksowy $0,01 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$
5	1,668	3,999	6,951	9,395
10	1,670	3,998	6,923	9,332
15	1,672	3,999	6,900	9,276
20	1,675	4,002	6,881	9,225
25	1,679	4,008	6,865	9,180
30	1,683	4,015	6,853	9,139
35	1,688	4,024	6,844	9,102
40	1,694	4,035	6,838	9,068
45	1,700	4,047	6,834	9,038
50	1,707	4,060	6,833	9,011

Powyższa tabela stanowi podstawę operacyjnej definicji pH , opierającej wyznaczenie wartości pH roztworu X na pomiarach siły elektromotorycznej SEM ogniw:



i



przy czym temperatura obu ogniw jest jednakowa, elektroda odniesienia i roztwór KCl ($m \geq 3,5 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) są identyczne w obu ogniwach (zazwyczaj te same). Roztwór S jest jednym z wzorcowych roztworów buforowych.

Mierzona wartość $pH(X)$ związana jest z $pH(S)$ (wartości przypisane podaje powyższa tabela) następującym równaniem:

$$pH(X) = pH(S) - (E_X - E_S) / (RT \ln(10)F)$$

Tak zdefiniowana wielkość pH równa jest ujemnemu logarytmowi dziesiętnemu z aktywności jonów wodorowych z dokładnością większą od 0,02, gdy siła jonowa roztworu $I \leq 0,1 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$.

W przypadku stosowania elektrody szklanej pomiar należy przeprowadzić względem dwóch roztworów wzorcowych S_1 i S_2 , zakładając liniowość pH w funkcji zmierzonych wartości SEM, z nachyleniem różnym od $1/(RT\ln(10)F)$.