

PRÀCTICA 2

Determinació espectrofotomètrica del pK d'un indicador

Material

2 matrassos aforats de 500 mL	1 vareta de vidre/ 1 pesasubstàncies/ 1 comptagotes/ 1 embut
5 matrassos aforats de 25 mL	4 cubetes d'espectrofotòmetre
3 matrassos d'Erlenmeyer de 250 mL	1 propipeta/1 flascó rentador
2 vasos de precipitats de 100 mL	
1 pipeta graduada de 25 mL	Productes
1 pipeta aforada de 10 mL	Hidròxid de sodi
1 pipeta graduada de 10 mL	Dissolució d'hidròxid de sodi 2M
1 pipeta graduada de 2 mL	Dissolució de taronja de metil al 0.002%
1 bureta de 50 mL	Àcid clorhídric
1 espectrofotòmetre	Àcid fòrmic
	Indicador fenolftaleïna

Objectius

1. Obtenir l'espectre d'absorció del taronja de metil a diferents pHs.
2. Comprovar que es compleix la llei de Lambert-Beer (absorbància \propto [taronja de metil]).
3. Determinar el coeficient d'absorció molar del taronja de metil.
4. Localitzar el punt isobèstic.
5. Preparar dissolucions amortidores a partir d'àcid fòrmic i NaOH i determinar-ne el pH.
6. Determinar el pK del taronja de metil a partir de mesures d'absorbància.

Fonaments teòrics

En general, es pot considerar que els indicadors àcid-base són compostos (àcid o bases **febles**) que en dissolució presenten una forma àcida (protonada) de distint color que la seua forma bàsica (desprotonada). El canvi d'estructura, que implica el canvi de color, té lloc en un interval de pH petit (1–2 unitats de pH al voltant del pK de l'indicador), denominat "*pH de viratge*". En aquest interval estan presents simultàniament les dues formes de l'indicador, l'àcida i la bàsica.

L'equilibri d'ionització d'un indicador es pot representar mitjançant l'equació :



en la qual HIn representa la molècula d'indicador en la forma àcida i In⁻ la molècula d'indicador en la forma bàsica. La constant d'ionització aparent (en funció de concentració) està expressada per:

$$K_{\text{HIn}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]} \quad (2)$$

Se suposa que les dissolucions són prou diluïdes perquè tots els coeficients d'activitat implicats siguem molt pròxims a la unitat. En aquestes condicions és aplicable l'equació **d'Henderson-Hasselbalch** (prendre logaritmes en equació 2):

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{HIn}} + \log \frac{[\text{In}^-]}{[\text{HIn}]} \quad (3)$$

Així, si disposem del valor de la relació $[\text{In}^-]/[\text{HIn}]$ per a un pH determinat, podem conèixer el valor del pK de l'indicador.

En el cas que ens ocupa, és a dir, la determinació del pK del taronja de metil, el mètode seguit per al càlcul del quocient de concentracions consisteix en el registre de l'espectre electrònic d'absorció d'una sèrie de dissolucions mitjançant espectroscòpia d'absorció molecular en l'espectre de radiació visible.

Quan un feix de llum monocromàtica (fotons a una longitud d'ona) travessa una dissolució que conté una substància amb un grup cromòfor, part de la radiació pot ser absorbida per aquest grup d'àtoms de la substància. Aquest procés d'absorció de la radiació electromagnètica monocromàtica està regulat per la **lleï de Lambert-Beer**.

Segons la lleï de Lambert, la intensitat del feix de llum que travessa la dissolució disminueix a mesura que la travessa perquè part dels fotons són absorbits pels grups cromòfors que va trobant en el seu camí. Per tant, l'absorbància és proporcional a la longitud de mostra que travessa.

Segons la lleï de Beer, la intensitat del feix de llum que travessa la dissolució disminueix a mesura que augmenta la quantitat de substància absorbent en dissolució perquè augmenta la probabilitat que els fotons siguin absorbits pels grups cromòfors presents. Per tant, l'absorbància és proporcional a la concentració de substància.

La combinació de totes dues lleis dóna com a resultat la lleï de Lambert-Beer:

$$A^\lambda = \varepsilon^\lambda \ell c \quad (4)$$

on A^λ és la mesura d'absorbància que ens dóna l'equip d'espectroscòpia a una longitud d'ona donada (λ), ε^λ és el coeficient d'absorció molar a aquesta longitud d'ona que ens indica la probabilitat que té aquesta substància d'absorbir fotons (en $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$), ℓ és el camí òptic que és la distància que recorre el feix de llum a través de la mostra (l'ample de la cubeta en cm) i c és la concentració molar de la substància.

Un exemple del registre dels espectres d'absorbància que podem obtenir en esta pràctica es mostra en la figura 1, que es correspondrien a:

a) Una dissolució que conté, exclusivament, l'indicador en la forma àcida HIn (roja), per a la qual cosa és necessari que el pH de la dissolució siga molt baix, $\text{pH} \approx 1$.

b) Una dissolució que conté, exclusivament, l'indicador en la forma bàsica In^- (groga). Per garantir-ho, cal preparar una dissolució en un medi fortament bàsic, $\text{pH} \approx 13$.

c) Dissolucions que contenen l'indicador en ambdues formes simultàniament, cosa que s'aconsegueix amb dissolucions amortidores, amb uns pH que han de situar-se en l'interval en què té lloc el canvi de color de l'indicador taronja de metil: 3.2 – 4.4.

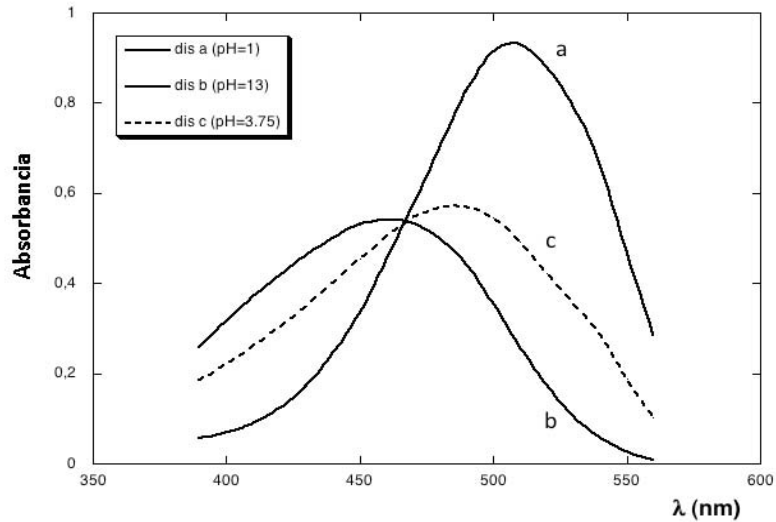


Figura 1.- Espectres d'absorbància per a dissolucions de distints pH.

La relació del quocient de concentracions es relaciona amb l'absorbància del taronja de metil aplicant la llei de Lambert-Beer a cada una de les dissolucions i a la mateixa longitud d'ona, λ :

$$\text{pH} = 1 \quad A_{\text{HIn}} = \varepsilon_{\text{HIn}} \ell c_o \quad (5)$$

$$\text{pH} = 13 \quad A_{\text{In}^-} = \varepsilon_{\text{In}^-} \ell c_o \quad (6)$$

$$\text{pH} = 3.8 \quad A = \varepsilon_{\text{HIn}} \ell [\text{HIn}] + \varepsilon_{\text{In}^-} \ell [\text{In}^-] \quad (7)$$

on A_{HIn} i A_{In^-} representen les absorbàncies de dissolucions en què només està present la forma àcida o bàsica de l'indicador, respectivament. A és l'absorbància de la dissolució en què coexisteixen ambdues formes de l'indicador (en el nostre cas, la dissolució amortidora). ε_{HIn} i $\varepsilon_{\text{In}^-}$ representen els coeficients d'absorció molar de les formes àcida i bàsica de l'indicador, respectivament. A més, en les dissolucions amortidores es compleix que: $c_o = [\text{In}^-] + [\text{HIn}]$.

Finalment, a partir de les expressions (5) a (7) es pot deduir que:

$$\text{pH} = \text{p}K_{\text{HIn}} + \log \left(\frac{A_{\text{HIn}} - A}{A - A_{\text{In}^-}} \right) \quad (8)$$

Dissolucions

1. 500 mL de dissolució d'àcid fòrmic 0.1 M, a partir del comercial (en vitrina).
2. 500 mL de dissolució de NaOH 0.1 M, a partir del sòlid.

Procediment experimental

- 1) Connecteu l'espectrofotòmetre tot just començar la sessió de pràctiques o almenys 15 minuts abans de mesurar.
- 2) Prepareu les dissolucions d'àcid fòrmic i d'hidròxid de sodi.
- 3) Valoreu 25 mL de la dissolució 0.1 M d'àcid fòrmic amb NaOH 0.1 M, usant fenolftaleïna com a indicador. Repetiu la valoració almenys tres vegades.

Nota: Recordeu que existeixen recipients per a rebutjar els residus.

Totes les mesures d'absorbància s'han de realitzar a temperatura constant de 25 °C.

- 4) Registreu els espectres d'absorció de taronja de metil en dissolucions on estiga (estiguen) present (s):
 - Majoritàriament la forma àcida de l'indicador.
 - Majoritàriament la forma bàsica de l'indicador.
 - Totes dues formes, àcida i bàsica, en proporcions similars; a partir de dissolucions tampó.

A) REGISTRE DELS ESPECTRES ON NOMÉS ES TROBA PRESENT MAJORITÀRIAMENT UNA DE LES FORMES DE L'INDICADOR.

Es registrarà l'absorbància de la forma bàsica, A_{In-} , i de la forma àcida, A_{HI_n} , en aquest cas per a diferents concentracions d'indicador; això permetrà comprovar la validesa de la llei de Lambert-Beer i determinar coeficients d'absorció molar.

Per a això es preparen dissolucions d'indicador de diferent concentració, en la qual predomine bé la forma àcida (pH ~1) o la bàsica (pH ~13) i es registra l'absorbància d'aquestes dissolucions, A_{HI_n} i A_{In-} .

a) Preparació de les dissolucions de taronja de metil i del blanc.

- Preparació del blanc

Es prepara un únic blanc, àcid o bàsic, per al registre de l'absorbància de totes les dissolucions d'indicador on predomine una de les seves formes, àcida o bàsica.

Introduïu, en un aforat de 25 mL, en l'ordre indicat els següents components:

- Una petita quantitat d'aigua desionitzada.
- 4 gotes de HCl concentrat (forma àcida) o 24 gotes de NaOH 2 M (forma bàsica).
- Aigua fins a la línia d'aforament.

Amb aquesta dissolució **renteu** i ompliu una cubeta de l'espectrofotòmetre.

- Preparació de la dissolució problema de taronja de metil.

Introduïu, en un aforat de 25 mL, en l'ordre indicat els següents components:

- El volum de dissolució 0.002% de taronja de metil (TM) indicat en la taula 1 (**mesurat amb una pipeta**).

- 4 gotes de HCl concentrat (forma àcida) o 24 gotes de NaOH 2 M (forma bàsica).
- Aigua fins a la línia d'aforament.

Amb aquesta dissolució **renteu** i ompliu una cubeta de l'espectrofotòmetre.

b) **Registre de l'espectre.**

Després de preparar la dissolució de taronja de metil i el blanc corresponent, es registra l'absorbància en funció de la longitud d'ona seguint les **Instruccions de l'Espectrofotòmetre Jenway73**. La longitud d'ona inicial i final es fixa, respectivament, a **350 nm** i **600 nm**.

Per a major claredat es recomana etiquetar els fitxers de dades de les mostres "*Sample name*" de manera clara i sistemàtica. Per exemple: NAME_A_V i NAME_B_V, on NAME farà referència als integrants del grup, A i B a la dissolució àcida o bàsica i V al volum de taronja de metil (taula 1).

Notes i precaucions:

- La cubeta de l'espectrofotòmetre ha d'estar neta; no s'han de tocar les parets amb els dits i no s'ha d'omplir fins a la vora sinó a uns $\frac{3}{4}$ de la seva capacitat.
- Per a un mitjà donat, àcid o bàsic, la LÍNIA BASE (blanc) és la mateixa, per tant, una vegada registrat el primer espectre en cada mitjà, per a registrar els següents introduïu la nova dissolució en l'espectrofotòmetre i pressioneu, en el programa Jenway73, *repeat*.
- Per a l'obtenció de les taules de dades emmagatzemades en l'espectrofotòmetre seguïu les instruccions.

Taula 1. Volums de taronja de metil TM, HCl, NaOH, i aigua utilitzats en la preparació de les dissolucions de taronja de metil quan sol és present una de les formes de l'indicador, àcida (HIn) o bàsica (In⁻).

Forma de TM	V(TM) mL	gotes (HCl conc.)	gotes (NaOH 2M)	V(H₂O)
HIn	10	4	--	Aforeu
HIn	8	4	--	Aforeu
HIn	6	4	--	Aforeu
HIn	4	4	--	Aforeu
In ⁻	10	--	24	Aforeu
In ⁻	8	--	24	Aforeu
In ⁻	6	---	24	Aforeu
In ⁻	4	---	24	Aforeu

B) REGISTRE DELS ESPECTRES DE DISSOLUCIONS ON ES TROBA, EN PROPORCIIONS SIMILARS, TOTES DUES FORMES DE L'INDICADOR.

En una dissolució d'indicador, per a garantir que les concentracions de totes dues formes de l'indicador són similars, la dissolució es prepara en un medi amb un pH pròxim al pK de l'indicador. Aquests pH s'aconsegueixen, i es garanteix la seva estabilitat, preparant les dissolucions d'indicador en un medi tamponat, en aquest cas, utilitzant dissolucions tampó d'un àcid feble (àcid fòrmic) amb un pK pròxim al del taronja de metil. D'aquesta manera: $\text{pH} \sim \text{pK}_{\text{HFor}} \sim \text{pK}_{\text{HIn}}$

Es preparen cinc dissolucions tampó i es registraran els espectres corresponents.

a) Preparació de les dissolucions tampó.

Les dissolucions tampó es preparen en un Erlenmeyer de 250 mL neutralitzant, parcialment amb sosa, els mols d'àcid fòrmic valorat.

Introduïu en l'Erlenmeyer 25 mL d'àcid fòrmic, **mesurat amb una pipeta**, i afegiu, **des de la bureta**, el volum de NaOH corresponent per a cada tampó (taula 2).

Previ a la preparació de les dissolucions tampó, determineu els volums de sosa (taula 2) corresponents als percentatges del volum d'equivalència determinat en la valoració de l'àcid fòrmic. Completeu, en el vostre quadern, aquesta taula. Recolliu en aquesta taula també el pH teòric de cada dissolució; posteriorment el calculareu.

b) Preparació de les dissolucions de taronja de metil i blanc

Per a cadascuna de les dissolucions tampó, introduïu en un aforat de 25 mL, en l'ordre indicat, els següents components per al blanc i per a la dissolució de taronja de metil.

- Preparació del Blanc.

- 10 mL d'aigua desionitzada (**mesurats amb una pipeta**).
- **Dissolució tampó** fins a la línia d'aforament.

Amb aquesta dissolució renteu i ompliu una cubeta de l'espectrofotòmetre.

Taula 2. Percentatge del volum de sosa del punt d'equivalència. Volum de sosa utilitzat en la preparació de la dissolució tampó i pH de la dissolució tampó.

TAMPÓ	Percentatge $V_{\text{Equivalència}}$	V_{NaOH} (mL)	pH
1	20		3.15
2	30		3.38
3	40		3.57
4	50		3.75
5	60		3.93

- **Preparació de la dissolució problema de taronja de metil.**

- 10 mL (**mesurats amb una pipeta**) de dissolució 0.002 % de taronja de metil.
- **Dissolució tampó** fins a la línia d'aforament.

Amb aquesta dissolució renteu i ompliu una cubeta de l'espectrofotòmetre.

c) Registre de l'espectre

Una vegada preparada cada dissolució d'indicador i el seu blanc, es registrarà el seu espectre seguint les Instruccions de l'Espectrofotòmetre Jenway73 (passos 5 a 11).

Es recomana etiquetar els fitxers de dades de les mostres "*Sample name*" de manera clara i sistemàtica. Per exemple: NAME_T_N, on N (1 a 5) farà referència al tampó utilitzat (taula 2).

Nota: Una vegada finalitzada l'experiència assegureu-vos de què heu guardat totes les taules de dades i apagueu els equips seguint les instruccions.

Resultats experimentals: presentació de les dades

1. Tabuleu les dades (masses o volums) necessàries per a la preparació de les dissolucions d'àcid fòrmic i sosa, tant calculades com reals.
2. Tabuleu en una taula les dades de la valoració de l'àcid fòrmic amb sosa i calculeu el valor mitjà del volum d'equivalència amb el seu error aleatori.
3. Tabuleu els volums d'indicador assenyalats en la taula 1 juntament amb la concentració molar d'indicador corresponent.
4. Presenteu en el quadern la taula 2 del guió amb els volums de sosa corresponents als percentatges del volum d'equivalència indicats en aquesta taula.
5. Tabuleu les absorbàncies registrades, forma àcida, A_{HI_n} , i bàsica, $A_{I_n^-}$, en funció de la longitud d'ona per a les diferents concentracions d'indicador (taula 1).
6. Tabuleu les absorbàncies registrades en funció de la longitud d'ona per a les dissolucions amb la mateixa concentració d'indicador ($V(TM) = 10$ mL) on està present només una de les formes d'indicador, A_{HI_n} , i $A_{I_n^-}$, o estan totes dues (dissolucions tampó), A.

Tractament i discussió de resultats

1. Construiu una taula amb les absorbàncies en funció de la longitud d'ona, per a la forma bàsica ($pH = 13$; $A_{I_n^-}$) i àcida ($pH = 1$; A_{HI_n}) per a diferent concentració d'indicador.

Representeu i analitzeu aquests espectres.

2. Construiu una taula amb les absorbàncies en funció de la longitud d'ona, per a la forma bàsica (pH = 13; A_{In^-}) i àcida (pH = 1; A_{HIn}) i per a les dissolucions tampó, A, per a la mateixa concentració d'indicador; $V(TM) = 10$ mL.

Representeu i analitzeu aquests espectres.

3. Indiqueu la longitud d'ona del punt isosbètic, λ_{Isosb} i demostru que en aquest punt els coeficients d'absorció molar de les formes àcides i bàsiques de l'indicador tenen el mateix valor.

4. Analitzeu la validesa de la llei de Lambert-Beer.

Si es compleix la llei de Lambert-Beer s'ha d'observar un comportament lineal de l'absorbància en termes de la concentració i , per a una cubeta unitat d'1 cm de base i la concentració expressada en concentració molar, el pendent proporciona el coeficient d'extinció molar a una longitud d'ona donada, ϵ^λ .

$$A^\lambda = \epsilon^\lambda \ell c$$

Per a totes dues formes de l'indicador, àcida i bàsica, construiu una taula amb la seva absorbància, a la longitud d'ona del seu màxim, $A_{HIn}^{\lambda_{maxHIn}}$ i $A_{In^-}^{\lambda_{maxIn^-}}$ en funció de la concentració molar d'indicador.

Per a determinar la concentració molar de l'indicador teniu en compte que les seves dissolucions es preparen en un aforat de 25 mL i s'utilitza el volum de taronja de metil (0.002% (m/V)) indicat en la taula 1; $M_r(TM) = 327.33$.

Representeu, per a totes dues formes de l'indicador, l'absorbància en funció de la concentració molar d'indicador.

Analitzeu si s'observa un comportament lineal en el rang de concentracions d'indicador.

5. Determineu coeficients d'absorció molar.

A partir de l'equació de l'ajust lineal de les representacions de l'absorbància en funció de la concentració molar d'indicador realitzades en l'apartat anterior, determineu els coeficients d'absorció molar de la forma àcida i bàsica de l'indicador a la longitud d'ona dels seus màxims, $\epsilon_{HIn}^{\lambda_{maxHIn}}$ i $\epsilon_{In^-}^{\lambda_{maxIn^-}}$.

6. Determineu el pK de l'indicador.

A partir dels espectres registrats, **per a una mateixa concentració d'indicador ($V(TM) = 10$ mL)** i diferent pH, el pK del taronja de metil pot determinar-se mitjançant procediments analítics o gràfics.

A) Procediment analític.

Conegudes, **a una determinada longitud d'ona**, les absorbàncies de dissolucions d'indicador, **amb igual concentració**, que continguen exclusivament, bé la forma àcida A_{HIn} (pH=1), la bàsica A_{In^-} (pH=13) o, simultàniament, totes dues formes de l'indicador A(pH tampó), l'equació (8) permet determinar el pK de l'indicador.

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{HIn}} + \log \left(\frac{A_{\text{HIn}} - A}{A - A_{\text{In}^-}} \right)$$

Teniu en compte l'anàlisi realitzada dels espectres en el punt 2 en el càlcul el pK.

Presenteu en una taula, els valors de pK obtinguts per a cada dissolució tampó a diferents longituds d'ona. Compareu, i comenteu, els valors de pK obtinguts a longituds d'ona pròximes al màxim d'absorbància de la dissolució àcida amb els valors de pK obtinguts en altres zones de l'espectre, per exemple, en les proximitats del punt isobèstic.

A partir d'aquesta anàlisi, expresseu el valor mitjà del pK amb el seu error.

B) Procediment gràfic 1.

A partir de l'equació (3)

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{HIn}} + \log \frac{[\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

s'infereix que quan $[\text{HIn}] = [\text{In}^-]$, el pK coincideix amb el pH de la dissolució, $\text{pK}_{\text{HIn}} = \text{pH}$.

L'aplicació d'aquesta condició en l'equació (8)

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{HIn}} + \log \left(\frac{A_{\text{HIn}} - A}{A - A_{\text{In}^-}} \right)$$

implica que $\log \left(\frac{A_{\text{HIn}} - A}{A - A_{\text{In}^-}} \right) = 0$

La determinació analítica del pK del taronja de metil, ens haurà permès concloure que la zona òptima per a determinar el pK és en les proximitats del màxim d'absorbància de la forma àcida de l'indicador, ($\lambda_{\text{HIn}}^{\text{max}}$).

De la taula dels espectres registrats (vore punt 2) extraieu, per a $\lambda_{\text{HIn}}^{\text{max}}$, les dades d'absorbàncies en funció del pH: A_{HIn} (pH=1), A_{In^-} (pH=13) i A (tampó 1 a 5) i construïu amb ells una taula que continga també la columna $\log \left(\frac{A_{\text{HIn}} - A}{A - A_{\text{In}^-}} \right)$.

Representeu $\log \left(\frac{A_{\text{HIn}} - A}{A - A_{\text{In}^-}} \right)$ en funció del pH i a partir de la recta ajustada ($y = a x + b$), obtingueu el valor del pH que es correspon amb: $y = 0 = a x + b$

C) Procediment gràfic 2. (opcional)

Al pH en què coincideixen les absorbàncies registrades a les longituds d'ona dels màxims d'absorbància de la forma àcida i de la forma bàsica de l'indicador [$A(\lambda_{\text{HIn}}^{\text{max}}) = A(\lambda_{\text{In}^-}^{\text{max}})$] es compleix que $\text{pH} = \text{pK}$, i, per tant, ens permet determinar el pK de l'indicador.

De la taula dels espectres registrats (vore punt 2) extraieu, per a $\lambda_{\text{HIn}}^{\text{max}}$ i $\lambda_{\text{In}^-}^{\text{max}}$ les dades d'absorbància en funció del pH per a les diferents dissolucions tampó A (tampó 1 a 5) i construïu amb elles una taula.

Representeu $A(\lambda_{\text{HIn}}^{\text{max}})$ i $A(\lambda_{\text{In}^-}^{\text{max}})$ en funció del pH i realitzeu, per a cada longitud d'ona, un ajust lineal amb les dades que presenten una tendència lineal en la zona d'encreuament.

Igualau aquestes equacions i determineu el valor de x (pH) del punt d'intersecció de les rectes que es correspon amb $\text{pK} = \text{pH}$.

7. Compareu i analitzeu els valors de pK obtinguts analíticament i gràficament en la qüestió anterior. Compareu aquests valors amb el pK teòric del taronja de metil.
8. Calculeu els pH de les dissolucions amortidores i comproveu que coincideixen amb els indicats en el text. Amb aquesta finalitat, busqueu el valor bibliogràfic del pK de l'àcid fòrmic a 25 °C.
9. Quines condicions s'han de complir perquè siga aplicable l'equació (3)? Indiqueu les aproximacions realitzades per a deduir-la.
10. Demostreu l'equació (8).