

Ćwiczenie 3

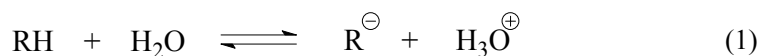
WYZNACZANIE STAŁYCH DYSOCJACJI KWASÓW (pK_A^*) WE WZBUDZONYM STANIE SINGLETOWYM

Zagadnienia: procesy dezaktywacji stanów wzbudzonych (diagram Jabłońskiego), prawo Stokesa, stała dysocjacji kwasu, termodynamiczny cykl Förstera, schemat blokowy spektrofotometru i spektrofluorymetru, prawa absorpcji Lamberta–Beera.

Wstęp

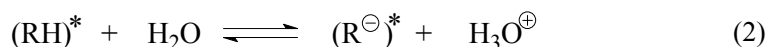
Cząsteczki w stanach wzbudzonych elektronowo odznaczają się innymi własnościami fizycznymi i chemicznymi niż cząsteczki w stanach podstawowych. Z własności fizycznych należy wymienić przede wszystkim różny rozkład gęstości elektronowej, moment dipolowy, strukturę przestrzenną. Natomiast różnice we własnościach chemicznych polegają na tym, że cząsteczki w stanach wzbudzonych mogą ulegać innym reakcjom chemicznym niż cząsteczki w stanie podstawowym. W przypadku, kiedy cząsteczki w różnych stanach elektronowych uczestniczą w tych samych reakcjach różnice mogą występować w wartościach stałych szybkości reakcji, a dla reakcji odwracalnych w stałych równowagi. Przykładem tych ostatnich są równowagi kwasowo-zasadowe. Szczególnie dokładnie zostały one przebadane dla związków organicznych posiadających heteroatomy z wolnymi parami elektronowymi, dla związków z grupami NH_2 lub OH , zdolnymi oddysocjować proton.

Rozpatrzmy na wstępie równowagę kwasowo-zasadową w stanie podstawowym:

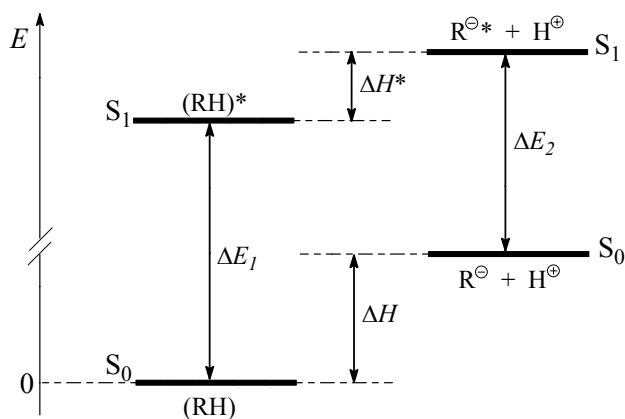


Stałą równowagi tej reakcji oznaczać będziemy przez K_a , natomiast $-\log K_a$ jako pK_a .

W stanie wzbudzonym elektronowo równowagę opisywać będzie reakcja (2) scharakteryzowana przez stałą równowagi K_a^* ($-\log K_a^* = pK_a^*$).



Ze względu na czasy życia najbardziej interesujące dla chemików są najniższe stany wzbudzone elektronowo, tzn. najniższy stan singletowy (S_1) oraz najniższy stan trypletowy (T_1), dlatego też w dalszej części ćwiczenia zajmować się będziemy tylko wymienionymi stanami.



Rys. 1. Termodynamiczny cykl Förstera przedstawiający schemat poziomów elektronowych dla formy kwasowej i zasadowej; ΔH , ΔH^* oznaczają entalpię molową dla reakcji w stanie podstawowym i wzbudzonym; ΔE_1 , ΔE_2 oznaczają różnicę energii pomiędzy stanem podstawowym a wzbudzonym stanem singletowym dla formy kwasowej i zasadowej

Stany singletowe

Stosunkowo prostym i uniwersalnym sposobem wyznaczania stałych dysocjacji kwasów w ich wzbudzonych stanach singletowych (pK_a^*) jest metoda spektroskopowa oparta na tzw. **termodynamicznym cyklu Förstera**, polegająca na dokładnym pomiarze różnicy energii spektralnych formy kwasowej (RH) i zasadowej (R^-). Rozpatrzmy schemat poziomów elektronowych dla przypadku, kiedy w stanie podstawowym i wzbudzonym występuje równowaga kwasowo–zasadowa.

Rysunek 1 dotyczy przypadku, w którym wartość entalpii molowej reakcji w stanie podstawowym jest większa niż w stanie wzbudzonym. Przykładem związku spełniającego ten warunek jest **2-naftol**, dla którego w pierwszej części ćwiczenia oznaczać będziemy wartość pK_a^* . Wartość pK_a dla 2-naftolu w stanie podstawowym wynosi 9,46.

Ze schematu przedstawionego na rysunku 1 wyprowadzić możemy następującą zależność:

$$\Delta E_1 - \Delta E_2 = \Delta H - \Delta H^* \quad (3)$$

Znając wyrażenie $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, i podstawiając je do równania (3) otrzymujemy

$$\Delta E_1 - \Delta E_2 = (\Delta G + T\Delta S) - (\Delta G^* + T\Delta S^*) \quad (4)$$

gdzie: ΔG , ΔG^* – zmiany entalpii swobodnej dla reakcji dysocjacji odpowiednio w stanie podstawowym i wzbudzonym; ΔS , ΔS^* – zmiany entropii dla reakcji dysocjacji w stanie podstawowym i wzbudzonym.

Zakładając, że zmiany entropii dla reakcji w stanie podstawowym i wzbudzonym są sobie równe ($\Delta S = \Delta S^*$), oraz korzystając z wyrażenia $\Delta G = -RT \ln K$, równanie (4) przybierze postać:

$$\Delta G - \Delta G^* = -RT(\ln K - \ln K^*) = \Delta E_1 - \Delta E_2 \quad (5)$$

Przekształcając dalej równanie (5) otrzymujemy:

$$\text{p}K_a - \text{p}K_a^* = \frac{\Delta E_1 - \Delta E_2}{2,303 RT} \quad (6)$$

Różnice energii pomiędzy stanem podstawowym a stanem wzbudzonym dla formy kwasowej (ΔE_1) oraz dla formy zasadowej (ΔE_2), najprościej można oszacować na podstawie widm absorpcji i fluorescencji zarejestrowanych dla roztworów o takich wartościach pH, w których występuje tylko forma kwasowa lub tylko forma zasadowa. Dla 2-naftolu były to wartości pH równe 1,0 (forma kwasowa, 0,1 mol/dm³ roztwór HCl) i 13,0 (forma zasadowa, 0,1 mol/dm³ roztwór NaOH). Różnice energii obliczono na podstawie danych spektralnych, korzystając ze wzorów:

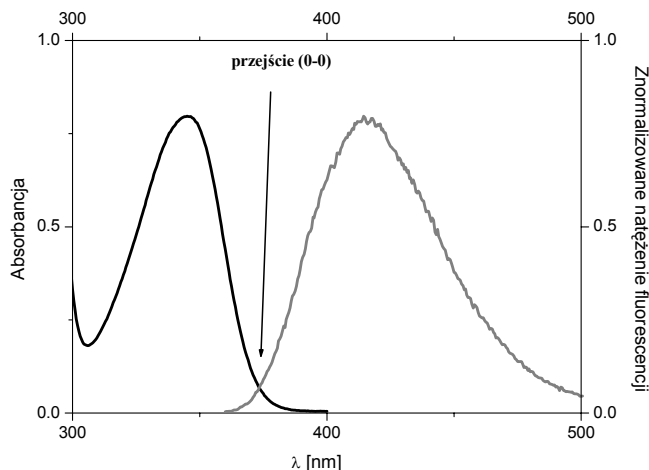
$$\Delta E_1 = N_A hc \frac{\nu_1^{\text{abs}} + \nu_1^{\text{flr}}}{2} \quad (7)$$

$$\Delta E_2 = N_A hc \frac{\nu_2^{\text{abs}} + \nu_2^{\text{flr}}}{2} \quad (8)$$

gdzie:

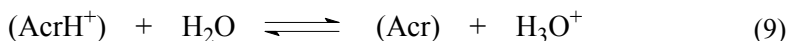
- ν_1^{abs} – liczba falową (w cm⁻¹) odpowiadającą maksimum najbardziej długofalowego pasma absorpcji formy kwasowej (sprotonowanej);
- ν_1^{flr} – liczba falową odpowiadającą maksimum pasma fluorescencji formy kwasowej;
- ν_2^{abs} – liczba falową odpowiadającą maksimum najbardziej długofalowego pasma absorpcji formy zasadowej (niesprotonowanej);
- ν_2^{flr} – liczba falową odpowiadającą maksimum pasma fluorescencji formy zasadowej;
- N_A – liczba Avogadro ($6,022 \times 10^{23}$ mol⁻¹);
- h – stała Plancka ($6,626 \times 10^{-34}$ J s);
- c – prędkość światła w próżni ($2,998 \times 10^{10}$ cm s⁻¹).

Różnice energii pomiędzy stanem podstawowym a stanem wzbudzonym dla formy kwasowej (ΔE_1) oraz dla formy zasadowej (ΔE_2), można dokładnie wyznaczyć z punktu przecięcia wzajemnie znormalizowanych widm absorpcji i fluorescencji dla obu form (rys. 2.).



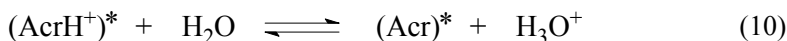
Rys. 2. Znormalizowane widma absorpcji i fluorescencji zarejestrowane w wodnych roztworach 2-naftolu.

W drugiej części ćwiczenia oznaczamy wartość pK_a^* dla **akrydyny**. Rozpatrzmy teraz równowagę kwasowo zasadową akrydyny w jej stanie podstawowym:



Stałą równowagi tej reakcji oznaczamy przez K_a , natomiast $-\log K_a = pK_a = 5,5$.

W najniższym elektronowo wzbudzonym stanie singletowym, równowagę opisywać będzie następująca reakcja:



gdzie równowagę charakteryzuje stała K_a^* ($-\log K_a^* = pK_a^*$).

Termodynamiczny cykl Förstera dla akrydyny przedstawia się w sposób podobny jak dla przypadku 2-naftolu, jednakże dla akrydyny wartość entalpii molowej reakcji w stanie wzbudzonym jest większa niż w stanie podstawowym ($\Delta H^* > \Delta H$).

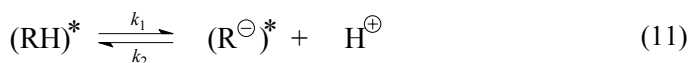
Stosując opisaną wyżej metodę pomiarów pK_a^* należy wykonać widma absorpcji i fluorescencji roztworów wodnych akrydyny przy wartościach pH równych 3,5 oraz 8,5, czyli dla warunków, w których w stanie podstawowym, występuje wyłącznie forma kwasowa lub zasadowa badanego związku (pK_a dla akrydyny wynosi 5,5).

W przypadku, kiedy widma absorpcji i fluorescencji posiadają strukturę oscylacyjną, liczby falowe występujące we wzorach (7) i (8) odpowiadają przejściom 0–0 dla absorpcji i fluorescencji. Jeżeli zaś rozpatrywane widma nie mają struktury oscylacyjnej, wykorzystujemy wówczas maksima najbardziej długofalowego pasma absorpcji oraz maksimum pasma fluorescencji. Możemy także dokładnie wyznaczyć energie stanu wzbudzonego (energie przejścia 0–0) z punktu przecięcia wzajemnie znormalizowanych widm absorpcji i fluorescencji. Znając wartość stałej równowagi

w stanie podstawowym (pK_a) oraz korzystając z wyrażenia (6) możemy obliczyć stałą równowagi w stanie wzbudzonym elektronowo pK_a^* .

Stosując opisaną wyżej metodę pomiarów pK_a^* wykonuje się widma fluorescencji dla roztworów o takich wartościach pH, dla których występuje tylko forma kwasowa lub zasadowa. Dla pośrednich wartości pH w roztworze istnieją obie formy, tzn. (RH) i (R^-), a po wzbudzeniu, w zależności od czasów życia stanów wzbudzonych obu form oraz szybkości ustalania się równowagi w stanie wzbudzonym, różne stężenia (RH)* i (R^-)*. Oznaczenie pK_a^* może więc w pewnych przypadkach polegać na zmierzeniu zależności intensywności fluorescencji od pH i odczytaniu z otrzymanych krzywych stałej równowagi w stanie wzbudzonym.

Oprócz omówionych wyżej sposobów, pK_a^* można oznaczyć jeszcze za pomocą tzw. **metody kinetycznej** zaproponowanej przez **Wellera**. Autor ten dla reakcji (11),



przy założeniu stanu stacjonarnego wyprowadził następującą zależność (12):

$$\frac{1}{\frac{\Phi}{\Phi_0} - 1} = \frac{1}{\tau k_1} + \frac{k_2 \tau [H^{\oplus}]}{k_1 \tau} \quad (12)$$

gdzie: Φ/Φ_0 oznacza względną wydajność kwantową fluorescencji formy kwasowej, τ – czas życia formy kwasowej (RH)*, τ' – czas życia formy zasadowej (R^-)*.

Korzystając z liniowej zależności $1/(\Phi/\Phi_0 - 1)$ od stężenia jonów wodorowych można obliczyć stałe szybkości k_1 , k_2 oraz stałą równowagi $K_a^* = k_1/k_2$. Równanie (12) jest spełnione tylko w szczególnych przypadkach. Dokładne oznaczenie pK_a^* wymaga uwzględnienia jeszcze pewnych dodatkowych poprawek.

W poniższej tabeli przedstawiono przykładowe wartości stałych równowagi kwasowo–zasadowej¹ dla stanu podstawowego (pK_a) oraz singletowego ($pK_{a\ s}^*$).

Związek	pK_a	$pK_{a\ s}^*$
Kation akrydyniowy	5,5	10,6
2-Naftol	9,46	2,8 – 3,1
Fenol	10,0	5,7
2-Naftyloamina	~14	~14
Kation 2-naftyloaminy	4,1	~2
Kwas 1-naftoesowy	3,7	7,7

¹ wartości literaturowe

Jak wynika z tabeli, stałe równowagi dla stanów podstawowych i trypletowych mają porównywalne wartości. Znaczne różnice w wartościach stałych równowagi występują natomiast pomiędzy wzbudzonymi stanami singletowymi i stanami podstawowymi. Świadczą one o tym, że po wzbudzeniu elektronowym mamy do czynienia z zupełnie „inną cząsteczką”, która może być silniejszym kwasem lub silniejszą zasadą niż cząsteczka w stanie podstawowym.

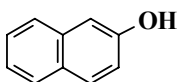
Cel ćwiczenia

Celem niniejszego ćwiczenia jest oznaczenie wartości stałej dysocjacji (pK_{aS}^*) dla a) 2-naftolu oraz b) akrydyny, we wzbudzonym stanie singletowym S_1 za pomocą metody spektroskopowej. Ponadto należy wykonać widma wzbudzenia fluorescencji dla obydwu związków i porównać je z ich widmami absorpcji w celu sprawdzenia, czy obserwowana przez nas fluorescencja faktycznie pochodzi od badanych związków.

Wykonanie ćwiczenia

Wykonanie ćwiczenia polega na zmierzeniu widm fluorescencji i absorpcji roztworów a) 2-naftolu oraz b) akrydyny, przy wartościach pH odpowiadających tylko formie kwasowej lub zasadowej. Pomiar absorpcji należy wykonać na jednym z dwóch spektrofotometrów UV-Vis: Varian Cary 300 Bio (dwuwiązkowy) lub Varian Cary 50 (jednowiązkowy), natomiast widma fluorescencji na spektrofluorymetrze PERKIN-ELMER typu LS 50B lub JASCO 6200.

a) Oznaczanie (pK_{aS}^*) dla 2-naftolu



Stosowane roztwory

- roztwór (1) 2-naftolu w 0,1 M HCl o stężeniu $c = 2 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$
- roztwór (2) 2-naftolu w 0,1 M HCl o stężeniu $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$
- roztwór (3) 2-naftolu w 0,1 M NaOH o stężeniu $c = 1,5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$
- roztwór (4) 2-naftolu w 0,1 M NaOH o stężeniu $c = 1,5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$

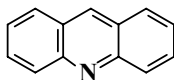
Kolejność czynności:

1. Zmierzyć widma absorpcji roztworów (1) i (3) w zakresie 240–400 nm w kuwetach 1 cm, stosując wodę jako odnośnik.
2. Wyznaczyć maksima absorpcji dla najbardziej długofalowych pasm (wyniki przeliczyć na cm^{-1}).
3. Zmierzyć widmo fluorescencji roztworu (2) w zakresie 330–500 nm w kuwecie 1 cm (długość fali światła wzbudzającego $\lambda = 325 \text{ nm}$).
4. Zmierzyć widmo fluorescencji roztworu (4) w zakresie 360–600 nm w kuwecie 1 cm (długość fali światła wzbudzającego $\lambda = 350 \text{ nm}$).

- Zmierzyć widma fluorescencji rozpuszczalników w identycznych warunkach, tzn. takich jak dla roztworów (2) i (4).
- Wyznaczyć maksima fluorescencji (wyniki przeliczyć na cm^{-1}).
- Korzystając ze wzorów (7) i (8) obliczyć różnice energii pomiędzy stanem podstawowym a stanem wzbudzonym dla formy kwasowej (ΔE_1) oraz dla formy zasadowej (ΔE_2).
- Uzyskane wyniki przedstawić w tabeli.
- Korzystając ze wzoru (6) obliczyć ($\text{p}K_{\text{a}}^*$ s).

Forma związku	λ_{abs} (nm)	ν^{abs} (cm^{-1})	λ_{flr} (nm)	ν^{flr} (cm^{-1})	ΔE (J/mol)
RH					
R [⊖]					

(b) Oznaczanie ($\text{p}K_{\text{a}}^*$ s) dla akrydyny



Stosowane roztwory

- roztwór (5) akrydyny w 0,1 M HCl o stężeniu $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$
- roztwór (6) akrydyny w 0,1 M NaOH o stężeniu $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$

Kolejność czynności

- Zmierzyć widma absorpcji roztworów (5) i (6) w zakresie 280–450 nm w kuwetach 1 cm stosując wodę jako odnośnik.
- Wyznaczyć maksima absorpcji dla najbardziej długofalowych pasm (wyniki przeliczyć na cm^{-1}).
- Zmierzyć widmo fluorescencji roztworu (5) w zakresie 410–650 nm w kuwecie 1 cm (długość fali światła wzbudzającego $\lambda = 400 \text{ nm}$).
- Zmierzyć widmo fluorescencji roztworu (6) w zakresie 370–650 nm w kuwecie 1 cm (długość fali światła wzbudzającego $\lambda = 354 \text{ nm}$).
- Zmierzyć widma fluorescencji rozpuszczalników w identycznych warunkach, tzn. takich jak dla roztworów (5) i (6).
- Wyznaczyć maksima fluorescencji (wyniki przeliczyć na cm^{-1}).
- Korzystając ze wzorów (7) i (8) obliczyć różnice energii pomiędzy stanem podstawowym a stanem wzbudzonym dla formy kwasowej (ΔE_1) oraz dla formy zasadowej (ΔE_2).
- Uzyskane wyniki przedstawić w tabeli.
- Korzystając ze wzoru (6) obliczyć ($\text{p}K_{\text{a}}^*$ s).

Forma związku	λ_{abs} (nm)	ν^{abs} (cm^{-1})	λ_{flr} (nm)	ν^{flr} (cm^{-1})	ΔE (J/mol)
RH					
R [⊖]					

(c) **Wykonanie widm wzbudzenia fluorescencji 2-naftolu oraz akrydyny**

Zmierzyć widma wzbudzenia fluorescencji roztworów (2), (4), (5) oraz (6) przemiatając monochromatorem wzbudzenia w zakresie $\lambda = 240\text{--}450\text{ nm}$ oraz ustawiając długość fali emisji na maksimum odpowiedniego pasma fluorescencji, w kuwecie 1 cm.

(d) **Porównanie widm wzbudzenia fluorescencji z odpowiadającymi im widmami absorpcji.** Określić, czy obserwowana przez nas fluorescencja faktycznie pochodzi od badanych związków.

LITERATURA

- [1] S. Paszyc, *Podstawy fotochemii*, PWN, Warszawa 1992.
- [2] B. Marciniak (praca zbiorowa), *Metody badania mechanizmów reakcji fotochemicznych*, Wyd. Nauk. UAM, Poznań 1999.
- [3] P. Suppan, *Chemia i światło*, PWN, Warszawa 1997.
- [4] A. Barltrop, J.D. Coyle, *Fotochemia – podstawy*, PWN, Warszawa 1987.
- [5] B. Marciniak, H. Kozubek, S. Paszyc, *J. Chem. Education*, **69**, 247–249 (1992).
- [6] C.A. Parker, *Fotoluminescencja roztworów*, Mir, Moskwa 1972.
- [7] J.R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, wyd. 2, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 1999.