

Praktikum z experimentálních metod biofyziky a chemické fyziky I.

Vypracoval: Martin Kříž, Vít Marek.

Dne: 23.10.2002

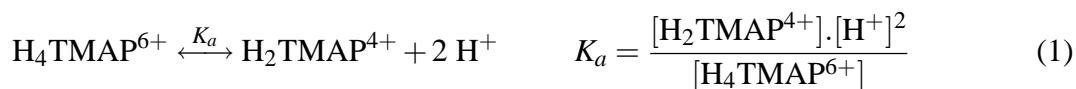
Úloha: 9

Určení termodynamických parametrů termálně indukovaného acidobazického přechodu porfyrinu pomocí absorpční spektroskopie

Teoretický úvod:

Některé tetraarylporfiriny se chovají jako termochromní látky. Může to být projevem teplotní závislosti acido-bazické rovnováhy mezi různými protonačními stavy tetrapyrrolového cyklu, které se vyznačují odlišnými absorpčními spektry. Mezi takovéto látky patří kationický vodorozpustný tetraarylporfyrin 5,10,15,20-tetrakis(4-N-trimethylphenyl anilium) porfyrin. Ten může v závislosti na pH existovat jako tetrakationt ($\text{H}_2\text{TMAP}^{4+}$) nebo jako sextakationt ($\text{H}_4\text{TMAP}^{6+}$). Tyto dvě formy se pak odlišují absorpčními spektry v oblasti viditelného světla (Q - pásy: 480 – 700 nm) a v oblasti Soteroва pásu (350 – 480 nm).

Rovnovážný stav mezi oběma formami popisuje rovnice (1):



K_a je rovnovážná konstanta acido-bazického přechodu. Určíme ji z pH, při kterém jsou koncentrace obou forem TMAP stejné. Konstanta K_a souvisí se stavovými veličinami vztahem:

$$\Delta G = -RT \ln K_a \quad (2)$$

kde R je plynová konstanta ($R = 8.31415 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) a T absolutní teplota. Dosadíme-li do rovnice (2) vztah

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (3)$$

kde ΔH je změna entalpie a ΔS změna entropie, získáme rovnost:

$$\Delta G = \frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (4)$$

Ze známé teplotní závislosti pak můžeme určit ΔH a ΔS a s pomocí *tabulky 1* zjistit i charakter disociace.

Absorbci vypočteme podle vztahu:

$$A = \epsilon c l \quad (5)$$

kde je ϵ je molární absorpční koeficient ($\epsilon_{412 \text{ nm}} \sim 3.5 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), c je koncentrace a l tloušťka květy.

Tabulka 1: Změny samovolnosti reakce se změnami znamének ΔH a ΔS

ΔH	ΔS	$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$
–	+	Reakce je výhodná jak entalpicky (je exotermní) tak entropicky. Probíhá samovolně (je exergonická) při všech teplotách.
–	–	Reakce je entalpicky výhodná, ale entropicky nevýhodná. Probíhá samovolně jen při teplotách nižších než $T = \Delta H / \Delta S$.
+	+	Reakce je entalpicky nevýhodná (endotermní), ale je entropicky výhodná. Probíhá samovolně jen při teplotách vyšších než $T = \Delta H / \Delta S$.
+	–	Reakce je nevýhodná jak entalpicky, tak entropicky. Proto neprobíhá samovolně při žádné teplotě. Je vždy endergonická.

Výsledky měření

- Při pokojové teplotě ($T_0 = 23^\circ\text{C}$) jsme proměřili pH osmnácti připravených pufovaných vzorků TMAP o koncentraci $c_{\text{TMAP}} \sim 2.8 \times 10^{-6}\text{M}$. Jako pufrы byly použity roztoky 0.01M kyseliny citrónové a 0.02M Na_2HPO_4 . Výsledky měření jsou zaznamenány v *tabulce 2*. Pro 3 vzorky (1, 8, 18) jsme dále určovali závislost pH na teplotě. Změřili jsme

Tabulka 2: Naměřená pH jednotlivých vzorků při teplotě $T_0 = 23^\circ\text{C}$

Vzorek	pH
1	2.717
2	2.913
3	3.051
4	3.209
5	3.385
6	3.519

Vzorek	pH
7	3.741
8	3.941
9	4.129
10	4.327
11	4.525
12	4.795

Vzorek	pH
13	5.043
14	5.343
15	5.667
16	5.971
17	6.269
18	6.713

pH při teplotách $T_1 = 1^\circ\text{C}$ a $T_2 = 49^\circ\text{C}$. Výsledky jsou zapsány v *tabulce 3*. Z výsledků je vidět, že závislost není lineární. Oba pufrы jsou různě teplotně závislé.

Tabulka 3: Naměřená pH vzorků 1, 8 a 18 při teplotách $T_1 = 1^\circ\text{C}$, $T_0 = 23^\circ\text{C}$ a $T_2 = 49^\circ\text{C}$

Vzorek	$T_1 = 1^\circ\text{C}$ pH	$T_0 = 23^\circ\text{C}$ pH	$T_2 = 49^\circ\text{C}$ pH
1	2.655	2.717	2.733
8	3.915	3.941	3.945
18	6.745	6.713	6.719

- Změřili jsme absorpční spektra vzorků pro teploty $T_3 \sim 9^\circ\text{C}$ a $T_4 \sim 35^\circ\text{C}$. Použili jsme 1 cm absorpční kyvety. Jako referenci jsme použili destilovanou vodu. Pro teplotu $T_3 \sim 9^\circ\text{C}$

jsme naměřili prvních 16 vzorků. Dále se spektra již neměnila. Z měření jsme vyloučili vzorek 15, protože jeho absorpce v maximu překračovala hodnotu jedné (roztok byl pravděpodobně koncentrovanější než ostatní). Pro teplotu $T_4 \sim 35^\circ\text{C}$ jsme proměřili prvních 14 vzorků.

3. Ze zaznamenaných spekter jsem vybral velikosti absorbance na pH pro vlnové délky 412 a 432 nm. Závislosti absorbancí pro obě teploty na pH jsme vynesli do *grafu 1* a 2. Zde jsme využili poznatku o tepelné závislosti pufrů z bodu 1. Díky tomuto jevu neznáme přesné škálování pH pro různé teploty. Ale na základě získaných výsledků v bodě 1 jsme použili škálu pH při pokojové teplotě a chybu jsme odhadli na základě největší odchylky od pokojové teploty na 0,05. Závislosti jsme nafitovali sigmoidální funkcí (viz. příložený model). Odtud lze odečíst pH, při kterém mají obě formy stejnou koncentraci. Konstanta K_a lze pak dopočítat podle vztahu (1).

Konstanta K_a lze určit také pomocí faktorové analýzy. Po provedení FA lze vidět, že jsou v roztocích dvě různě teplotně závislé formy (viz. *singular values*). Nafitováním koeficientů koncentrace c_2 sigmoidou jsme získali pH, při kterém mají obě formy stejnou koncentraci.

Porovnáním výsledků pouhého nafitování extrémů absorbancí (odečítáme hodnoty při stejných koncentracích obou forem) a výsledků FA jsme zjistili, že hledaná pH jsou u obou metod stejná. Pro další výpočty použijeme výsledky faktorové analýzy. Dosazením do vztahu (1) získáme příslušné rovnovážné konstanty:

$$K_a\ 9^\circ\text{C} = 1.05 \times 10^{-7} \quad (6)$$

$$K_a\ 35^\circ\text{C} = 3.98 \times 10^{-6} \quad (7)$$

Z fitu *grafu 1* lze určit i koncentraci TMAP v roztoku. Asymptota sigmoidy pro 412 nm má hodnotu (a tedy absorbanci) $A = 0.97 \pm 0.01$. Dosazením do vztahu (5) jsme získali koncentraci roztoku TMAP $c = (2.78 \pm 0.03) \times 10^{-6}\text{M}$.

4. Do *grafu 3* jsme vynesli závislost $\ln K_a$ jako funkci $1/T$. Porovnáním lineárního fitu se vztahem (4) jsme zjistili, že při disocii $\text{H}_4\text{TMAP}^{6+}$ se jedná o reakci entalpicky nevýhodnou, ale entropicky výhodnou.
5. Dosazením výsledku lineárního fitu *grafu 3* do vztahu z *tabulky 1* získáme $T = 179^\circ\text{C}$ (teplota, od které probíhá reakce samovolně). Při nižších teplotách leží porfyrin i aniliové substituenty v jedné rovině. To umožňuje interakci π - elektronů obouaromatických částí. V místě dusíku v porfyrinovém cyklu dochází ke zvýšení elektronové hustoty a ten pak snáze poskytne svůj volný elektronový pár k vazbě s protonem. Při zvyšování teploty se však zvyšuje pravděpodobnost, že aniliniové substituenty rotují kolem spojky s porfyrinem. Tím se však ruší interakce π - elektronových systémů a tedy i schopnost vázat proton.