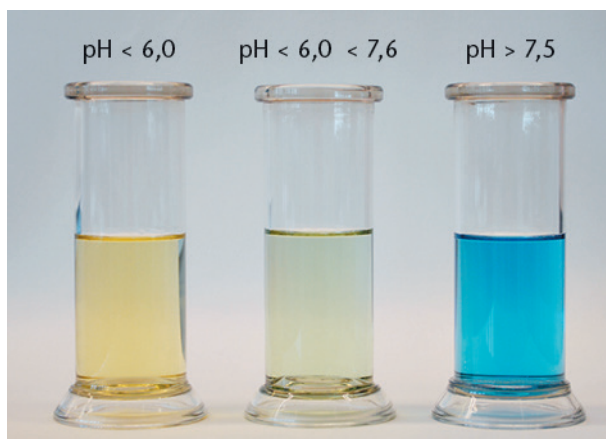




Øvelse: Bjerrumdiagram for syre-base indikatoren bromthymolblåt

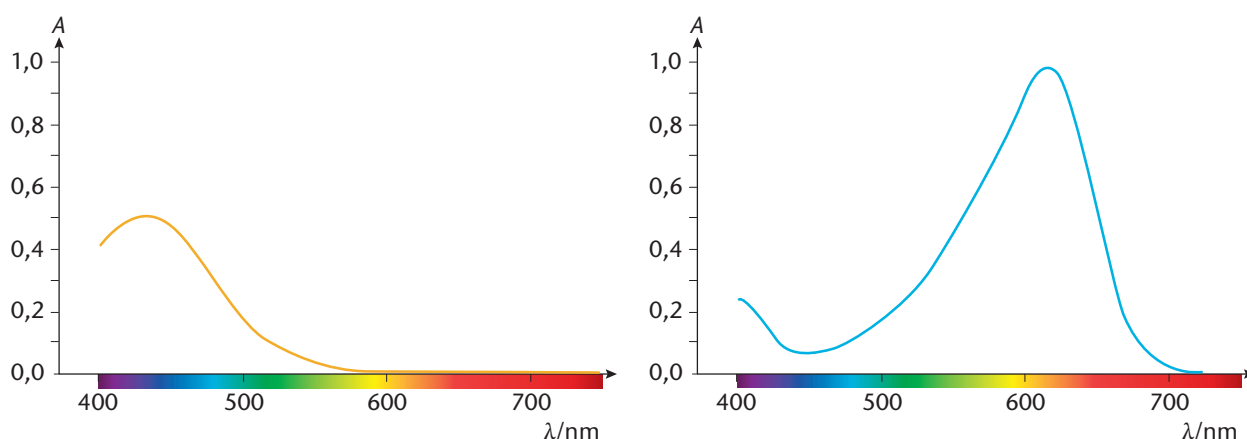
En syre-baseindikator er et korresponderende syre-basepar hvor syreformen har en anden farve end baseformen. Bromthymolblåt (BTB) anvendes ofte som syre-baseindikator. BTB er gul i sure opløsninger og blå i basiske opløsninger. I omslagsområdet der ligger mellem pH 6,0 og 7,6, er BTB en blanding af gul og blå, nemlig grøn, se figur 1.



Figur 1. BTB's farve i forskellige pH-intervaller.

Kilde: Figur 143b, side 102
Bioteknologi A bind 2.

Syreformen (BTB_s) og baseformen (BTB_b) har forskellig farve fordi de absorberer lys i forskellige bølglængdeområder. BTB_s har absorptionsmaksimum omkring 430 nm i en opløsning med lav pH, mens BTB_b har absorptionsmaksimum ved 615 nm i en opløsning med høj pH. Absorptionsspektrene for BTB_s og BTB_b er vist i figur 2.



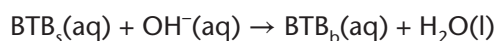
Figur 2. Absorptionsspektre for BTB i a) stærk sur opløsning b) stærk basisk opløsning.

Syreformens og baseformens forskellige absorptionsspektre kan udnyttes til optegning af et bjerrumdiagram for BTB.

Formålet med dette eksperiment er derfor at optegne et bjerrumdiagram for BTB ved hjælp af en spektrofotometrisk analyse af BTB ved forskellige pH-værdier.



Der anvendes en opløsning af BTB der er gjort sur ved tilsætning af kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4). Derefter tilsættes dråbevis en opløsning af 1,0 M NaOH. Følgende reaktion sker:



For hver tilsat dråbe NaOH måles pH i opløsningen.

Desuden måles opløsningens absorbans ved 615 nm. Ved denne bølgelængde absorberes kun BTB_b . Derfor gælder følgende:

$$A = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot [\text{BTB}_b] \quad (\text{Lambert-Beers lov})$$

Når der måles ved en fast bølgelængde og konstant lysvej, er der ligefrem proportionalitet mellem absorbans og den aktuelle stofmængdekonzentration af BTB_b :

$$A = k \cdot [\text{BTB}_b]$$

Efterhånden som pH vokser, øges den aktuelle stofmængdekonzentration af BTB_b , og derfor stiger absorbansen. Når stort set alle BTB-molekyler findes som BTB_b , ophører absorbansen med at stige, og sammenhængen mellem absorbans og koncentration kan udtrykkes således:

$$A_{\text{slut}} = k \cdot [\text{BTB}_b]_{\text{slut}}$$

Summen af $[\text{BTB}_s]$ og $[\text{BTB}_b]$ er konstant under hele forsøget idet der ses bort fra den lille volumenændring, der sker ved tilsætning af NaOH.

Derfor gælder:

$$[\text{BTB}_s] + [\text{BTB}_b] = [\text{BTB}_s]_{\text{slut}} + [\text{BTB}_b]_{\text{slut}} \approx [\text{BTB}_b]_{\text{slut}}$$

På det grundlag kan indikatorsystemets basebrøk x_b udledes:

$$x_b = \frac{[\text{BTB}_b]}{[\text{BTB}_s] + [\text{BTB}_b]} \approx \frac{[\text{BTB}_b]}{[\text{BTB}_b]_{\text{slut}}} = \frac{A}{A_{\text{slut}}}$$

Ud fra basebrøken kan syrebrøken beregnes:

$$x_s = 1 - x_b$$

I eksperimentet indsamles data for sammenhørende værdier af absorbans A og pH. Værdierne for absorbans anvendes til at beregne syrebrøken. Efterfølgende kan bjerrumdiagrammet optegnes med syrebrøken y_s som funktion af pH.

Materialer

- | | |
|---|--------------------------------------|
| ○ Dataopsamlingsprogram | ○ Stativ |
| ○ Spektrofotometer med tilhørende kuvetter | ○ Vægt |
| ○ pH-elektrode | ○ Demineraliseret vand |
| ○ Bægerglas (250 mL) | ○ 0,04 % BTB(aq) |
| ○ Måleglas (250 mL) | ○ 1,0 M NaOH(aq) |
| ○ 5 mL pipette (fuldpipette eller mikropipette) | ○ $\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{s})$ |
| ○ Engangspipetter | ○ 2 pufferopløsninger, fx pH 4 og 8 |
| ○ Magnetomrører og magnet | |



Klargøring af måleudstyr

1. Åbn databehandlingsprogram på pc.
2. Tilslut spektrofotometer. Vælg bølgelængden 615 nm og kalibrer med en kuvette med vand.
3. Tilslut pH-elektrode. Lav en to-punkts-kalibrering ved hjælp af de to pufferopløsninger.
4. Afmål 150 mL demineraliseret vand i måleglasset og overfør det til bægerglasset.
(På bogens hjemmeside findes en vejledning til et Vernier spektrofotometer med tilhørende dataopsamlingsprogram.)
5. Tilsæt magnet og anbring det til omrøring på magnetomrøreren.
6. Tilsæt 5,0 mL 0,04 % BTB ved hjælp af en pipette.
7. Afvej 0,10 g $\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{s})$ og tilsæt det til opløsningen.
8. Fastspænd pH-elektroden i et stativ så den er neddyppet i opløsningen, dog uden af røre ved magneten.

Når kaliumdihydrogenphosphat er opløst, kan eksperimentet begynde.

Dataopsamling

1. Konstruer et skema til sammenhørende værdier af absorbans, pH, opløsningens farve, x_b og x_s .
2. Overfør med dråbepipette ca. 2 mL af opløsningen til en kuvette og mål absorbansen. Hæld indholdet tilbage i opløsningen. Notér opløsningens pH-værdi og farve.
3. Tilsæt en dråbe 1,0 M NaOH.
4. Mål igen opløsningens pH og absorbans og notér opløsningens farve. Hæld indholdet tilbage i opløsningen.
5. Gentag punkt 3 og 4 indtil absorbansen ikke ændrer sig mere.

Efterbehandling

1. Anvend de målte absorbanser til at beregne basebrøken x_b .
2. Beregn syrebrøken x_s .
3. Tegn bjerrumdiagrammet og kommentér dets udseende.
4. Aflæs pK_s på bjerrumdiagrammet. Sammenlign med tabelværdi og kommentér evt. forskelle.
5. Hvordan stemmer indikatorens farve overens med de forventede farver ved forskellige pH-værdier?
6. Forklar ved opskrivning af reaktionsskema hvad der sker med dihydrogenphosphat H_2PO_4^- ved tilsætning af base (OH^-).
7. Forklar hvad formålet er med tilsætning af kaliumdihydrogenphosphat KH_2PO_4 . Inddrag pK_s -værdien for H_2PO_4^- i forklaringen.
8. Angiv og diskuter fejlkilder i forsøget.
9. Udarbejd en konklusion hvor der tages stilling til om eksperimentets formål er opfyldt.