Neue Methoden zur spektrophotometrischen pK-Wertbestimmung, I
Einstufige Titrationssysteme sowie deren Simultantitration

New Methods for Spectrophotometric Determination of pK-Values, I
Titration and Simultaneous Titration of Monovalent Protolytes

RÜDIGER BLUME, HEINRICH LACHMANN und HEINZ MAUSER

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Tübingen
und

FRIEDHELM SCHNEIDER

Physiologisch-chemisches Institut II der Universität Marburg

Herrn Prof. Dr. G. KORTÜM zum 70. Geburtstag gewidmet

(Z. Naturforsch. **29b**, 500–513 [1974]; eingegangen am 7. Mai 1974)

Spectrophotometric titration, Uniformity, Absorbance-difference diagrams,
Simultaneous titration, pK-Values

By means of a spectrophotometric titration at many wavelengths it is possible to determine the uniformity („Einheitlichkeit“) of the system, respectively, the number and kind of dissociable groups. Isosbestic points, absorbance-, absorbance-difference diagrams and other graphs are used for the analysis of spectrophotometric titration data. Different methods for determination of absolute pK-values of one-step titration systems are compared critically. To avoid the problems of electrometric pH-measurements some new methods are proposed to evaluate relative pK-values (Δ pK-values) by means of a simultaneous titration of a protolyte together with a standard substance. The efficiency of these relative methods is demonstrated using two compounds with a very small pK-difference (*o*- and *p*-nitrophenol, Δ pK = 0.1). The results are controlled by simulation with a digital computer.

1. Einführung

Viele chemische und biochemische Reaktionssysteme hängen stark vom Dissoziationszustand der beteiligten Komponenten ab. Das gängigste Verfahren zur Bestimmung von Dissoziationskonstanten bzw. pK-Werten ist die potentiometrische Titration. Bei photometrisch verfolgbaren Dissoziationsvorgängen bedient man sich häufig der spektrophotometrischen Titration. In diesem Zusammenhang versteht man unter einer spektrophotometrischen Titration die Untersuchung der Extinktion E_λ bei einer geeigneten Wellenlänge in Abhängigkeit vom Dissoziationszustand des Titrationssystems (z. B. $E_\lambda = f(\text{pH})^{1-3}$). Dagegen wird die Ermittlung des

Äquivalenzpunktes mit Hilfe vom Diagrammen $E_\lambda = g(\text{ml Titrierreagens})$ meist als photometrische Titration bezeichnet^{4,5}. Mit steigender Zahl der dissoziablen Gruppen in einem System wird es immer schwieriger, mit Hilfe der bisher bekannten Verfahren verschiedene Dissoziationskonstanten eindeutig zu erkennen, der betreffenden molekularen Spezies zuzuordnen und ihren genauen Wert zu ermitteln.

Im Rahmen dieser und der folgenden Arbeiten werden verschiedene Methoden dargestellt, bei denen der Dissoziationszustand eines Titrationssystems in einem möglichst großen Wellenlängenbereich spektrometrisch untersucht wird.

Korreliert man die Dissoziationsabhängigkeit der Spektren und die spektrophotometrischen Titrationsdaten bei vielen Wellenlängen miteinander, so werden wesentlich mehr Informationen als bisher in

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. MAUSER,
Physikal.-chem. Institut der Universität Tübingen,
D-7400 Tübingen, Morgenstelle 8.

die Auswertung einbezogen. Hierdurch werden auch bei mehreren dissoziablen Gruppen Aussagen über die Anzahl, Zuordnung und die genauen Werte der verschiedenen Dissoziationskonstanten ermöglicht.

Sämtliche Verfahren werden in dieser Arbeit nur am Beispiel verschiedener Säure-Base-Titrationen demonstriert, sie können jedoch auch bei anderen Titrationen oder beliebigen Veränderungen eines Reaktionssystems durch Variation irgendeines äußeren Systemparameters angewandt werden. Die Art der spektrometrischen Meßtechnik bzw. der Spektralbereich sind prinzipiell nicht eingeschränkt.

2. Theoretische Grundlagen der spektrophotometrischen Titration

Definiert man eine Titration als ein gesteuertes Verschieben eines sich schnell einstellenden Reaktionsgleichgewichts, so kann man sie als Spezialfall

Reaktionstyp:	Reaktionsachse:	Reaktionsschema:
Dunkelreaktion (Spontane Reaktion)	Reaktionszeit (seit dem Mischvorgang)	$A \xrightarrow{(t)} B$ (1a)
Photoreaktion	Bestrahlungszeit	$A \xrightarrow{(h\nu)} B$ (1b)
Spektrophotometrische Titration	Menge an Titrierreagens R (spektroskopisch nicht beobachtbar)	$A \xrightarrow{(R)} B$ (1c)

Auf Grund dieser Analogie liegt es nahe, verschiedene Methoden der kinetischen Analyse auch bei spektrophotometrischen Titrationen anzuwenden. In den letzten Jahren wurden in unserem Arbeitskreis verschiedene neue Verfahren zur Ermittlung der Art, Zahl und Verknüpfung spektroskopisch beobachtbarer Teilschritte bei Photo- und Dunkelreaktionen entwickelt⁸⁻¹¹. Diese Untersuchungsmethoden (Reaktionsspektren, E-, ED, EDQ-Diagramme, s.u.) können mit geringfügigen Änderungen auf spektrophotometrische Titrationen übertragen werden. Die theoretischen Grundlagen wurden bereits in mehreren Publikationen hergeleitet⁸⁻¹⁰, daher sollen nur die Ergebnisse zusammengefaßt und für Titrationen modifiziert werden.

Ist bei der spektrophotometrischen Untersuchung eines chemischen Vielkomponentensystems das Lambert-Beersche Gesetz stets erfüllt, so gilt für jede beliebige Wellenlänge

$$E_{\lambda} = d \cdot \sum_{i=1}^{i=n} \epsilon_{\lambda i} \cdot c_i \quad (2),$$

eines chemischen Reaktionssystems auffassen⁶. Als unabhängiger Reaktionsparameter tritt nicht – wie in der Kinetik – die Zeit auf, sondern die beliebig variierbare Zugabe eines Titrierreagens (Titrators) R. Ein solches thermodynamisch offenes System kann im Falle einer spektrophotometrischen Titration formal wie ein geschlossenes Reaktionssystem behandelt werden, falls das Titrierreagens R im gesamten untersuchten Spektralbereich nicht meßbar absorbiert* und der Verdünnungsfehler durch Zugabe von R rechnerisch eliminiert wird⁷. Der Zufluß an R wirkt dann lediglich als spektroskopisch nicht beobachtbare Steuergröße. Die folgende Gegenüberstellung der einfachsten Reaktionssysteme vom Typ $A \rightarrow B$ macht die formale Analogie zwischen Dunkelreaktionen, Photoreaktionen und spektrophotometrischen Titrationen unter den genannten Voraussetzungen deutlich:

d = Schichtdicke (cm), $\epsilon_{\lambda i}$ = dekadischer Extinktionskoeffizient der Komponente i , n = Zahl der absorbierenden Komponenten des Systems (mit Ausnahme des Titriermittels R), c_i = Konzentration der Komponente i .

Bei der spektrophotometrischen Titration variiert man die Konzentrationen verschiedener Komponenten des Systems durch Zugabe eines Titrierreagens R. Ist dieses, wie oben vorausgesetzt, im gesamten untersuchten Spektralbereich optisch leer, d. h.

$$\epsilon_{\lambda R} = 0 \text{ für alle } \lambda \quad (3),$$

so beträgt die Extinktionsänderung, bezogen auf den Beginn der Titration ($R=0$) mit $\Delta c_i(R) = c_i(R) - c_i(R=0)$

$$\Delta E_{\lambda}(R) \equiv E_{\lambda}(R) - E_{\lambda}(R=0) = d \cdot \sum_{i=1}^{i=n} \epsilon_{\lambda i} \cdot \Delta c_i(R) \quad (4).$$

* Eine allgemeinere Behandlung, bei der auf diese Einschränkung verzichtet wird, folgt in einer späteren Arbeit.

Für den einfachsten Fall einer einstufigen Säure-Base-Titration

gilt unter Berücksichtigung der stöchiometrischen Randbedingung

$$c_0 = c_{\text{AH}} + c_{\text{A}^-} \quad (6)$$

$$\begin{aligned} E_{\lambda}(\text{R}) &= d \cdot (\varepsilon_{\lambda\text{AH}} \cdot c_{\text{AH}} + \varepsilon_{\lambda\text{A}^-} \cdot c_{\text{A}^-}) + E_{\lambda\text{L}} \\ &= d \cdot (\varepsilon_{\lambda\text{A}^-} - \varepsilon_{\lambda\text{AH}}) \cdot c_{\text{A}^-} + d \cdot \varepsilon_{\lambda\text{AH}} \cdot c_0 + E_{\lambda\text{L}} \end{aligned} \quad (7)$$

In $E_{\lambda\text{L}}$ sind sämtliche Extinktionsbeiträge zusammengefaßt, die sich während der Titration nicht ändern (Lösungsmittel etc.). Falls zu Beginn der Titration nur die reine Säure vorliegt, so gilt

$$E_{0\lambda\text{AH}} \equiv d \cdot \varepsilon_{\lambda\text{AH}} \cdot c_0 + E_{\lambda\text{L}} \quad (8)$$

Führt man den Dissoziationsgrad α der Säure AH ein, so ergibt sich die Extinktionsänderung, bezogen auf den Beginn der Titration, aus (4)–(8)

$$\begin{aligned} \Delta E_{\lambda}(\text{R}) &\equiv E_{\lambda}(\text{R}) - E_{0\lambda\text{AH}} \\ &= d \cdot (\varepsilon_{\lambda\text{A}^-} - \varepsilon_{\lambda\text{AH}}) \cdot c_{\text{A}^-}(\text{R}) \\ &= Q_{\lambda} \cdot c_{\text{A}^-}(\text{R}) \\ &= Q_{\lambda} \cdot c_0 \cdot \alpha(\text{R}) \end{aligned} \quad (9)$$

Hierbei sind sämtliche konzentrationsunabhängigen Größen als Q_{λ} zusammengefaßt.

Die Extinktionsänderung $\Delta E_{\lambda}(\text{R})$ während einer einstufigen Säure-Base-Titration wird also unter den angegebenen Voraussetzungen durch eine einzige Konzentrationsvariable (c_{AH} oder c_{A^-} oder α) eindeutig beschrieben. Man bezeichnet ein derartiges Reaktions- bzw. Titrationssystem als „spektroskopisch einheitlich“⁸. Finden in einem Titrationssystem verschiedene Dissoziationsvorgänge statt, so können mehrere linear unabhängige Konzentrationsvariable c_k auftreten. Allgemein gilt für s linear unabhängige Dissoziationsvorgänge

$$E(\text{R}) = \sum_{k=1}^{k=s} Q_{\lambda k} \cdot c_k(\text{R}) \quad (10)$$

3. Experimentelle Prüfung der spektroskopischen Einheitlichkeit einer Titration

Um experimentell zu ermitteln, ob ein Titrationssystem spektroskopisch einheitlich ist oder aus mehreren linear unabhängigen Titrationstufen be-

steht, stehen verschiedene Meß- und Auswertungsverfahren⁸ zur Verfügung:

- a) Um das Auftreten isosbestischer Punkte zu untersuchen, registriert man zu Beginn der Titration und nach jeder Zugabe an Titriermittel repetierend das Spektrum der Titrationsmischung. Diese stets im selben $E(\lambda)$ -Koordinatensystem registrierten Spektren werden im folgenden „Titrationsspektren“ genannt und ermöglichen folgende Aussagen:
 - a) Eine Titration ist mit großer Wahrscheinlichkeit einheitlich ($s=1$), falls sich die Titrationsspektren mehrfach schneiden und jeweils scharfe isosbestische Punkte bilden.
 - b) Existiert mindestens ein Überschneidungsbereich der Spektren, bei dem kein scharfer isosbestischer Punkt gebildet wird, so ist die Reaktion mit Sicherheit nicht-einheitlich ($s>1$).
 - c) Schneiden sich die Spektren überhaupt nicht, so ist auf Grund der Titrationsspektren keine Aussage möglich.
- b) In jedem Fall geben die *Extinktionsdifferenzendiagramme* (abgekürzt *ED-Diagramme*) darüber Aufschluß, ob eine Titration spektroskopisch einheitlich abläuft oder nicht. Hierzu mißt man bei jedem Titrationsschritt die Extinktionen bei möglichst vielen Wellenlängen aus dem gesamten Bereich der Titrationsspektren. Wendet man Gl. (9) auf zwei beliebige Wellenlängen λ_1 und λ_2 an und dividiert eine Gleichung durch die andere, so folgt für eine spektroskopisch einheitliche Titration

$$\Delta E_{\lambda_1}(\text{R}) = \frac{Q_{\lambda_1}}{Q_{\lambda_2}} \cdot \Delta E_{\lambda_2}(\text{R}) \quad (11)$$

Trägt man die jeweils zum gleichen Titrationsschritt R_i gehörigen Wertepaare ΔE_{λ_1} und ΔE_{λ_2} gegeneinander auf, so erlaubt dieses ED-Diagramm (vgl. Abb. 2) folgende Aussagen:

- a) Bei einer einheitlichen Titration ($s=1$) erhält man bei beliebiger Wahl der Wellenlängen stets Nullpunktsgerechten mit der Steigung $Q_{\lambda_1}/Q_{\lambda_2}$.
- b) Bei nicht-einheitlichen Systemen ($s>1$) treten mehrere linear unabhängige Konzentrationsvariable c_i auf, die sich beim Dividieren nicht herauskürzen. Daher treten entsprechend der Zahl der Titrationstufen und den zugehörigen Extinktionskoeffizienten verschieden stark gekrümmte Kurven im ED-Diagramm auf.

c) Statt der Extinktionsdifferenzen $\Delta E_\lambda(R)$ kann man auch unmittelbar die Extinktions-Meßwerte $E_\lambda(R)$ bei zwei verschiedenen Meßwellenlängen gegeneinander auftragen. Diese *Extinktions-Diagramme* (*E-Diagramme*) ergeben bei einer einheitlichen Titration ebenfalls Geraden, wegen der additiven Konstanten in Gl. (8) gehen diese jedoch nicht durch den Koordinatennullpunkt; vgl. Teil II¹².

d) Will man bei einem nicht-einheitlichen Titrationssystem entscheiden, ob zwei oder mehr linear unabhängige Teilsysteme vorliegen, benutzt man eine weitere graphische Darstellung, das *Extinktionsdifferenzen - Quotienten - Diagramm* (*EDQ-Diagramm*); s. Teil II.

e) Häufig existieren Wellenlängenbereiche, in denen nicht alle Komponenten des Systems absorbieren. Gl. (10) kann in diesen Bereichen so vereinfacht sein, daß auch bei nicht-einheitlichen Titrationssystemen ($s > 1$) lineare ED- bzw. E-Diagramme sowie isosbestische Punkte auftreten. In einem solchen Fall dürfen die Methoden zur pK-Wertbestimmung einer einzelnen dissoziablen Gruppe (Abschnitt 4.) nur unter speziellen Voraussetzungen angewandt werden (s. Teil II). Man sollte daher die ED- bzw. die E-Diagramme

stets für viele Wellenlängen aus einem möglichst großen Spektralbereich auftragen.

Beispiele:

a) Bei der spektrophotometrischen Titration von *p*-Nitrophenol mit Natronlauge⁶ zeigen die Titrations-

spektren (Abb. 1) bei pH-Werten ≤ 9 sechs scharfe isosbestische Punkte, d. h. die Titration verläuft mit großer Wahrscheinlichkeit spektroskopisch einheitlich. In stärker alkalischer Lösung macht sich unterhalb 240 nm die Eigenabsorption des Titrimittels (OH^- -Bande¹³) bemerkbar. Damit ist die Grundvoraussetzung (3) nicht mehr erfüllt. Die Spektren weichen mit steigendem pH-Wert zunehmend von den isosbestischen Punkten ab.

Die ED-Diagramme (Abb. 2) sind bei pH-Werten unter 9 bei allen Meßwellenlängen streng linear. Bei 205 nm dagegen ist oberhalb pH 9 die Eigenabsorption der OH^- -Ionen überlagert; die Gerade biegt daher ab.

b) Die spektrophotometrische Titration von *o*-Nitrophenol mit Natronlauge⁶ verläuft – von der Eigenabsorption des Titrimittels abgesehen – ebenfalls spektroskopisch einheitlich. Die Titrationspektren (Abb. 3) zeigen unterhalb pH 9 vier scharfe isosbestische Punkte, die ED-Diagramme bei Wellenlängen oberhalb 230 nm sind streng linear⁶ (nicht abgebildet).

Abb. 1. Titrationspektren einer Titration von *p*-Nitrophenol mit 0,1 N Natronlauge (25,0 °C; $c_0 = 5 \cdot 10^{-5}$ M). Die kleinen Registrierzacken oberhalb 450 nm sind Lampenartefakte (s. Anhang).

Abb. 2. ED-Diagramm einer Titration von *p*-Nitrophenol mit 0,1 N Natronlauge (25,0 °C; $c_0 = 5 \cdot 10^{-5}$ M).

Abb. 3. Titrationsspektren einer Titration von *o*-Nitrophenol mit 0,1 N Natronlauge (25,0 °C; $c_0 = 5 \cdot 10^{-5}$ M).

4. Bestimmung der Dissoziationskonstante eines einstufigen Titrationssystems

Bei den bisher üblichen Methoden zur photometrischen pK-Wertbestimmung einzelner dissoziabler Gruppen (z. B. durch Wendepunktsanalyse; s. u.) ist stets implizit vorausgesetzt, daß das Titrationssystem einheitlich ist. Diese Grundvoraussetzung wurde jedoch bisher kaum experimentell geprüft. Mit Hilfe der Titrationsspektren und ED- bzw. E-Diagramme ist es möglich, zunächst durch

Analyse der photometrischen Meßwerte bei verschiedenen Wellenlängen die (spektroskopische) Einheitlichkeit eines Titrationssystems zu untersuchen und erst anschließend das geeignete Verfahren zur pK-Wertbestimmung auszuwählen.

Für die in Gl. (5) angegebene Säure-Base-Titration einer einzelnen dissoziablen Gruppe liegt in jedem Punkt der Titrationskurve das (schnelle) protolytische Gleichgewicht vor

Unter den Bedingungen einer spektrophotometrischen Titration ($c_0 < 10^{-3}$ M) setzt man üblicherweise die Aktivitätskoeffizienten f_{AH} und f_{A^-} sowie die Aktivität des Lösungsmittels gleich eins. Auf die Problematik dieser und anderer Näherungen kann im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen werden^{14–16}. Damit folgt für die Dissoziationskonstante

$$K_{\text{A}} = a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot \frac{c_{\text{A}^-}}{c_{\text{AH}}} = a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot \frac{a}{1-a} \quad (14).$$

$$\text{p}K_{\text{A}} = \text{pH} - \log \frac{c_{\text{A}^-}}{c_{\text{AH}}} = \text{pH} - \log \frac{a}{1-a} = \text{pH} - \log \frac{E_{\lambda}(\text{R}) - E_{0\lambda\text{AH}}}{E_{0\lambda\text{A}^-} - E_{\lambda}(\text{R})} \quad (16).$$

Bei sämtlichen Methoden zur spektrophotometrischen pK-Wertbestimmung einheitlicher protolytischer Reaktionen geht man von verschiedenen Umformungen der Gl. (14)–(16) aus. Hierzu benötigt man außer photometrischen Meßwerten stets noch eine Information über die Hydroniumionen-Aktivität $a_{\text{H}_3\text{O}^+}$ am pK-Wert.

Die bisher bekannten Verfahren wurden bereits mehrfach zusammenfassend dargestellt^{15–20}. Sie sollen daher nur unter dem Aspekt diskutiert werden, ob eine Auswertung mittels ED- bzw. E-Diagrammen hierbei vorteilhaft ist.

Präzisionsbestimmungen von Dissoziationskonstanten sind im Rahmen dieser methodischen Übersicht nicht geplant. Sie werden zusammen mit einem kritischen Vergleich der Leistungsfähigkeit der verschiedenen Verfahren in einer späteren Arbeit publiziert. Die verschiedenen Verfahren zur Berücksichtigung der Aktivitätskoeffizienten^{14–16} werden daher hier nicht behandelt.

4.1. Absolutbestimmung von pK-Werten

Die benötigten pH-Werte werden wie bei der potentiometrischen Titration direkt gemessen – meistens mit Hilfe einer Glaselektrode. Sämtliche auf diese Weise ermittelten pK-Werte hängen daher von der Genauigkeit dieser elektrochemischen Meßtechnik ab.

4.1.1. Wendepunkt der spektrophotometrischen Titrationskurve

Zwischen den Meßgrößen E_{λ} und pH besteht nach Gl. (16) ein logarithmischer Zusammenhang (Abb. 4a). Bei der meistens angewandten graphischen Wendepunktsbestimmung^{18–20} geht das mittlere Stück der spektrophotometrischen Titrationskurve $E_{\lambda} = f(\text{pH})$ besonders stark in die Auswertung ein.

Führt man statt a bzw. statt c_{A^-} und c_{AH} die gemessenen Extinktionen ein, so folgt mit Gl. (7)

$$K_{\text{A}} = a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot \frac{a}{1-a} = a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot \frac{E_{\lambda}(\text{R}) - E_{0\lambda\text{AH}}}{E_{0\lambda\text{A}^-} - E_{\lambda}(\text{R})} \quad (15)$$

oder logarithmiert (sog. Henderson-Hasselbalchsche Gleichung¹⁷)

Dasselbe gilt für die Untersuchung der 1. Ableitung der Titrationskurve (sog. Differentialmethoden^{14,19,21}). Da die Meßstreuung bei einer Geraden besonders einfach zu beurteilen ist, sind die ED- bzw. die E-Diagramme (Abb. 4b) nicht nur zur Prüfung der Einheitlichkeit des Titrationssystems, sondern auch zur kritischen Untersuchung der Meß-

Abb. 4a–d. Spektrophotometrische Titrationskurven, E-Diagramm und doppelt logarithmische Darstellung einer Titration von *p*-Nitrophenol mit 0,1 N Natronlauge (25,0 °C; $c_0 = 5 \cdot 10^{-5}$ M).

streuung und zur Analyse eventueller grober und systematischer Fehler besonders geeignet.

4.1.2. Halbierung der gesamten Extinktionsänderung ($\alpha = 1/2$)

Die logarithmischen Ausdrücke in Gl. (16) werden gleich Null, falls

$$E_{\lambda}(R) = \frac{E_{o\lambda A^-} + E_{o\lambda AH}}{2} \text{ oder } \alpha = 1 - \alpha = 0,5 \quad (17)$$

ist. Halbiert man bei einer spektrophotometrischen Titrationskurve (Abb. 4a; E_{400} vs pH) die Summe aus Anfangs- und Endextinktion, so ist der zugehörige Wert auf der pH-Skala gleich dem pK-Wert¹⁸⁻²⁰. Für diese und die folgenden Methoden müssen die genauen Endwerte $E_{o\lambda A^-}$ und $E_{o\lambda AH}$ bekannt sein.

Um die Titrationsendwerte hinreichend genau zu ermitteln, muß ein großer Überschuß des jeweiligen Titrierreagens zugesetzt werden. Durch derartige starke Veränderungen des Lösungsmittelsystems können Abweichungen vom Lambert-Beerschen Gesetz auftreten (sog. Mediumeffekte^{15,18,22,23}). Außerdem treten viele Störeffekte (Absorption des Titriermittels, Oxidation oder andere zeitabhängige Nebenreaktionen usw.) besonders stark bei extremen pH-Werten in Erscheinung^{6,24}.

Die Linearität der ED- bzw. E-Diagramme muß daher im Bereich der Endwerte besonders sorgfältig geprüft werden. Im ED- bzw. E-Diagramm entspricht der pK-Wert dem Halbierungspunkt der gesamten, bei der Titration durchlaufenen Strecke (Abb. 4b). In Abb. 4c ist eine zweite Titrationskurve (E_{320} vs pH) mit um 90° gedrehten Koordinaten dargestellt. Hierdurch wird unmittelbar einsichtig, wie aus zwei verschiedenen $E_{\lambda}(\text{pH})$ -Diagrammen ein lineares E- bzw. ED-Diagramm entsteht. Abb. 4a-c entspricht einer Projektion des dreidimensionalen Diagramms der Größen E_{400} , E_{320} und pH auf die drei Koordinatenebenen (vgl. Teil II).

4.1.3. Linearisierung der spektrophotometrischen Titrationsdaten

Trägt man entsprechend Gl. (16) den Ausdruck

$$\log \frac{E_{\lambda}(R) - E_{o\lambda AH}}{E_{o\lambda A^-} - E_{\lambda}(R)} = \log \frac{\alpha}{1 - \alpha}$$

gegen den pH-Wert auf, so erhält man bei einer einheitlichen Titration eine Gerade mit der Steigung 1

(Abb. 4d). Der Schnittpunkt mit der Abszisse entspricht dem pK_A-Wert^{18-20,25}. Diese linearisierte Darstellung ist zugleich ein sehr empfindliches Kriterium für die Gültigkeit der Gl. (16) und damit auch für die Einheitlichkeit der Titration²⁴. Im Gegensatz zu den ED-Diagrammen werden nicht nur die photometrischen, sondern auch die elektrochemischen Meßwerte für die Prüfung herangezogen. Kombiniert man beide Diagramme (Abb. 4b-d), so kann man zunächst mit Hilfe der ED- bzw. E-Diagramme die Einheitlichkeit der Titration und die Meßstreuung der photometrischen Meßwerte allein prüfen und anschließend mit Hilfe des doppelt logarithmischen Diagramms die pH-Werte kritisch beurteilen. Beide Diagramme ergänzen sich also in günstiger Weise.

Statt der doppelt logarithmischen Form (16) kann man auch Lineardarstellungen von Gl. (15) verwenden^{26,27}:

$$(E_{\lambda}(R) - E_{o\lambda AH}) \cdot a_{H_3O^+} = -K_A \cdot E_{\lambda}(R) + K_A \cdot E_{o\lambda A^-} \quad (18a)$$

$$(E_{\lambda}(R) - E_{o\lambda A^-}) \cdot \frac{1}{a_{H_3O^+}} = -\frac{1}{K_A} \cdot E_{\lambda}(R) + \frac{1}{K_A} \cdot E_{o\lambda A^-} \quad (18b)$$

Hierbei wird zur Auswertung entweder nur der Anfangswert oder nur der Endwert der Titration benötigt; der andere Wert kann jeweils aus den Achsenabschnitten ermittelt werden. Aus der Steigung der Geraden der Gl. (18a, b) läßt sich K_A bestimmen. Das Verfahren wird in Teil III dieser Serie ausführlich besprochen.

Falls weder $E_{o\lambda AH}$ noch $E_{o\lambda A^-}$ experimentell exakt bestimmt werden können, kann man für jeweils drei $E_{\lambda}(\text{pH})$ -Meßpunkte drei simultane Gl. (15) mit den drei Unbekannten K_A , $E_{o\lambda AH}$ und $E_{o\lambda A^-}$ aufstellen und diese mittels Determinanten lösen²⁸.

4.1.4. Auswertung des gesamten

Dissoziations-Diagramms α vs pH

Falls die Endwerte $E_{o\lambda AH}$ und $E_{o\lambda A^-}$ hinreichend genau bekannt sind, kann man aus den Meßwerten $E_{\lambda}(\text{pH})$ nach der Formel

$$\alpha(R) = \frac{E_{\lambda}(R) - E_{o\lambda AH}}{E_{o\lambda A^-} - E_{o\lambda AH}} = \frac{\Delta E_{\lambda}(R)}{\Delta E_{\lambda}(\text{gesamt})} \quad (19)$$

den Dissoziationsgrad für jeden Punkt der Titration berechnen. Die spektrophotometrische Titrationskurve E_{λ} vs pH (Abb. 4a) geht damit durch einfache Maßstabsänderung (lineare Transformation) in das

Dissoziationsdiagramm¹⁹ α vs pH über. Der pK-Wert kann bei $\alpha=0,5$ unmittelbar abgelesen werden (vgl. 4.1.2.). Man kann jedoch auch die gesamte Information einer spektrophotometrischen Titrationskurve zur pK-Bestimmung heranziehen. Hierzu berechnet man nach Gl. (15) bzw. (16) für jeden Titrationschritt aus den zueinander gehörigen Größen α , $(1-\alpha)$ und pH einen Wert für K_A bzw. pK_A . Es ist zu erwarten, daß diese pK-Werte für den mittleren Teil der Titrationskurve gut übereinstimmen, während an den Enden der relative Fehler entweder für α oder für $(1-\alpha)$ sehr groß wird (vgl. 4.2.3.).

Beispielsweise beträgt bei der Auswertung der oben beschriebenen spektrophotometrischen Titration von *p*-Nitrophenol im mittleren pH-Bereich (sechs Titrationschritte zwischen pH 5,6 und 7,5) die maximale Abweichung vom arithmetischen Mittelwert für $pK_A \pm 0,015$ pH-Einheiten. Für pH-Werte <5 bzw. >8 dagegen treten größere Abweichungen ($>0,2$) von diesem Wert auf.

4.2. Relative pK-Bestimmung mittels Standardsubstanzen

Bestimmt man mit Hilfe der spektrophotometrischen Titration nicht den absoluten Wert einer Dissoziationskonstanten, sondern deren relativen Wert, bezogen auf den pK-Wert einer Standardsubstanz, so ist keine direkte pH-Messung notwendig. Die zu untersuchende Substanz und die Standardsubstanz werden zusammen spektrophotometrisch titriert (Simultantitration). Mittels verschiedener neu entwickelter Auswerteverfahren ist es möglich, aus den Titrationsdaten die Differenz der pK-Werte oder den Quotienten der beiden Dissoziationskonstanten zu ermitteln.

4.2.1. Auswertung von Simultantitrationen

Titriert man eine Mischung aus zwei verschiedenen Substanzen AH und BH, die jeweils nur eine dissoziierbare Gruppe enthalten, so liegen an jedem Punkt der Titrationskurve zwei protolytische Gleichgewichte vor:

und

Verwendet man für die Gleichgewichtskonstante die bei Gl. (14) angegebene Näherung und führt zugleich die stöchiometrischen Randbedingungen

$$c_{oAH} = c_{AH} + c_{A^-} \quad (21a)$$

und

$$c_{oBH} = c_{BH} + c_{B^-} \quad (21b)$$

ein, so folgt

$$K_A = a_{H_3O^+} \cdot \frac{c_{A^-}}{c_{AH}} = a_{H_3O^+} \cdot \frac{c_{A^-}}{c_{oAH} - c_{A^-}} \quad (22a)$$

und

$$K_B = a_{H_3O^+} \cdot \frac{c_{B^-}}{c_{BH}} = a_{H_3O^+} \cdot \frac{c_{B^-}}{c_{oBH} - c_{B^-}} \quad (22b).$$

Eliminiert man aus den Gl. (22a, b) die gemeinsame Größe $a_{H_3O^+}$, so erhält man nach einigen Umformungen^{6,24}

$$c_{A^-} = \frac{K_A \cdot c_{oAH} \cdot c_{B^-}}{K_B \cdot c_{oBH} + (K_A - K_B) \cdot c_{B^-}} \quad (23).$$

Diese Gleichung gibt den funktionalen Zusammenhang zwischen c_{A^-} und c_{B^-} für jeden Punkt der Simultantitration an. Die graphische Darstellung c_{A^-} vs c_{B^-} bezeichnet man als Konzentrations-Diagramm. Führt man die Dissoziationsgrade $\alpha = c_{A^-}/c_{oAH}$ und $\beta = c_{B^-}/c_{oBH}$ als reduzierte Variable ein, so folgt

$$\alpha = \frac{K_A \cdot \beta}{K_B + (K_A - K_B) \cdot \beta} = \frac{\beta}{K_B/K_A + (1 - K_B/K_A) \cdot \beta} \quad (24).$$

In Abb. 5 ist die graphische Darstellung α vs β (Dissoziationsgrad-Diagramm) für verschiedene pK-

Abb. 5. Simulierte Dissoziationsgrad-Diagramme α vs β von Simultantitrationen mit verschiedenen ΔpK -Werten als Parameter.

Wertdifferenzen als Parameter dargestellt. Da die beiden Dissoziationsgrade α und β linear unabhängig sind, verlaufen derartige Simultantitrationen nicht einheitlich ($s=2$). Die Dissoziationsgrad-Diagramme sind daher ebenso wie die Konzentrations-Diagramme gekrümmt; eine Ausnahme bildet die Grenzgerade für $\Delta pK=0$, hier entartet die Simultantitration zu einem einheitlichen Titrations-system ($s=1$)⁶.

Die Steigung in jedem Punkt des Dissoziations-

$$\begin{aligned} \Delta E_{\lambda}(R) &= d \cdot (\varepsilon_{\lambda A^-} - \varepsilon_{\lambda AH}) \cdot c_{A^-}(R) + d \cdot (\varepsilon_{\lambda B^-} - \varepsilon_{\lambda BH}) \cdot c_{B^-}(R) \\ &= Q_{\lambda A} \cdot c_{A^-}(R) + Q_{\lambda B} \cdot c_{B^-}(R) \\ &= Q_{\lambda A} \cdot c_{0A} \cdot \alpha(R) + Q_{\lambda B} \cdot c_{0B} \cdot \beta(R) \end{aligned} \quad (26).$$

Da die Extinktionsänderung von $s=2$ linear unabhängigen Variablen c_{A^-} und c_{B^-} (bzw. α und β) abhängt, kürzen sich diese im ED-Diagramm nicht heraus; vgl. Abschn. 3.2. Die ED-Diagramme der Simultantitration sind daher im allgemeinen (wie die Konzentrations- und Dissoziationsgrad-Diagramme) gekrümmt.

Im Gegensatz zur einstufigen Titration (vgl. 4.1.4.) ist es bei einer Simultantitration nicht ohne weiteres möglich, den Dissoziationsgrad α bzw. β direkt aus den Meßkurven $\Delta E_{\lambda}(pH)$ oder den ED-Diagrammen zu entnehmen, da in jeden Meßpunkt beide linear unabhängige Variable α und β eingehen. Häufig

grad-Diagramms (Abb. 5) wird durch die Ableitung $da/d\beta$ angegeben

$$\frac{da}{d\beta} = \frac{K_A \cdot K_B}{[K_B + (K_A - K_B) \cdot \beta]^2} \quad (25).$$

Die Extinktionsänderung bei einer spektrophotometrischen Simultantitration beträgt, falls zu Beginn der Titration nur die undissoziierten Formen AH und BH vorliegen, entsprechend Gl. (4) ff.⁶

existieren jedoch bestimmte Wellenlängen oder Wellenlängenbereiche, bei denen jeweils nur eines der beiden Teilsysteme der Simultantitration sichtbar ist. In diesem Fall können die beiden Größen $\alpha(pH)$ und $\beta(pH)$ und damit auch das Dissoziationsgrad-Diagramm α vs β aus ausgewählten $E_{\lambda}(pH)$ -Kurven bzw. ED-Diagrammen der Simultantitration ermittelt werden (s. u.).

Eine Möglichkeit zur Bestimmung des Dissoziationsgrad-Diagramms aus zwei $E_{\lambda}(pH)$ -Kurven bei zwei beliebigen Wellenlängen ist durch Vielkomponentenanalyse²⁹⁻³¹ nach Gl. (26) gegeben; hierauf kann im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen werden.

Abb. 6. Titrationspektren einer Simultantitration von *o*- und *p*-Nitrophenol mit 0,1 N Natronlauge (25,0 °C; $c_0(oNP) = 5 \cdot 10^{-5}$ M, $c_0(pNP) = 2,5 \cdot 10^{-5}$ M); um die Verschiebung der Schnittpunkte zu verdeutlichen, wurde der Schreibstift teilweise abgehoben.

Abb. 7. ED-Diagramm der Simultantitration von *o*- und *p*-Nitrophenol mit Natronlauge (Abb. 6).**Beispiel:**

Bei der spektrophotometrischen Simultantitration einer Mischung von *o*- und *p*-Nitrophenol mit Natronlauge⁶ zeigen die Titrationsspektren (Abb. 6) zwischen 200 und 600 nm vier Überschneidungsbereiche. Diese sehen bei flüchtiger Betrachtung wie scharfe isosbestische Punkte aus; eine genauere Untersuchung zeigt jedoch, daß sich alle Schnittpunkte während der Titration leicht verschieben. Viel klarer als die Titrationsspektren zeigen die ED-Diagramme (Abb. 7) bei sämtlichen Meßwellenlängen, daß die Titration nicht spektroskopisch einheitlich verläuft ($s > 1$); sämtliche Diagramme sind – zumindest schwach – gekrümmt. Bedenkt man, daß die Differenz beider pK-Werte kleiner als 0,1 ist (s. später), so demonstriert Abb. 7 sehr deutlich, daß die Linearität der ED- bzw. E-Diagramme ein äußerst empfindliches Prüfkriterium für die Einheitlichkeit einer Titration ist.

Zur Ermittlung des Dissoziationsgrad-Diagramms α vs β wurden die isosbestischen Punkte (IP) der beiden Teilsysteme herangezogen (vgl. Abb. 1 und 3); die entsprechenden Wellenlängen sind auf der Abszisse in Abb. 6 markiert. Am isosbestischen Punkt eines Teilsystems wird die Extinktionsänderung in der Mischung nur durch die Titration des anderen Teilsystems verursacht:

$$\Delta E_{IPB}(R) = Q_{\lambda A} \cdot c_{oAH} \cdot \alpha(R), \text{ da } Q_{\lambda B} = 0 \quad (27a)$$

$$\Delta E_{IPA}(R) = Q_{\lambda B} \cdot c_{oBH} \cdot \beta(R), \text{ da } Q_{\lambda A} = 0 \quad (27b).$$

Mit Hilfe derartiger ausgewählter $E_{\lambda}(pH)$ -Kurven ist es also möglich, die Dissoziationsgrade α und β in der Mischung getrennt zu bestimmen. Trägt man beispielsweise die Extinktionsänderungen bei 370 nm (isosbestischer Punkt des *o*-Nitrophenolsystems) und 231,8 nm (isosbestischer Punkt des *p*-Nitrophenolsystems) gegeneinander auf (Abb. 8), so entspricht dieses Diagramm bis auf die konstan-

Abb. 8. ED-Diagramm der Simultantitration (Abb. 6 u. 7) bei zwei isosbestischen Punkten der Teilsysteme. Die durchgezogene Linie entspricht der simulierten Kurve α vs β für $K_{o-}/K_{p-} = 0,80$.

ten Achsenfaktoren $Q_{\lambda A} \cdot c_{0AH}$ bzw. $Q_{\lambda B} \cdot c_{0BH}$ (Gln. 27 a, b) dem gesuchten Dissoziationsgrad-Diagramm. Nach Gl. (27) sind diese Faktoren jeweils gleich der gesamten Extinktionsänderung bis zum Titrationsende ($\alpha = \beta = 1$). Sind die Endwerte bei beiden Wellenlängen hinreichend genau bekannt, so können alle Wertepaare α vs β des Dissoziationsgrad-Diagramms berechnet werden.

Um aus dem so ermittelten Dissoziationsgrad-

Diagramm einer Simultantitration die Differenz der pK-Werte oder den Quotienten der Dissoziationskonstanten K_A und K_B zu ermitteln, wurden mehrere Verfahren hergeleitet und erprobt:

4.2.2. Halbierungspunkte des Dissoziationsgrad-Diagramms

Aus Gl. (24) folgt

$$\text{für } \alpha = 0,5: \quad \beta(\alpha=0,5) = \frac{K_B}{K_A + K_B} = \frac{1}{1 + K_A/K_B} \quad (28a),$$

$$\text{für } \beta = 0,5: \quad \alpha(\beta=0,5) = \frac{K_A}{K_A + K_B} = \frac{1}{1 + K_B/K_A} \quad (28b).$$

Am pK-Wert eines jeden Teilsystems ($\alpha = 0,5$ bzw. $\beta = 0,5$) kann man also aus den Dissoziationsgrad-Diagrammen (Abb. 5 und 8) den Quotienten der Dissoziationskonstanten nach Gl. (28) unmittelbar entnehmen.

4.2.3. Endsteigungen des Dissoziationsgrad-Diagramms

Für die Steigung in den Endpunkten des Diagramms α vs β ergibt sich aus Gl. (25):

$$\left. \frac{d\alpha}{d\beta} \right|_{\beta=0} = \frac{K_A}{K_B} \equiv X \quad (29a),$$

$$\left. \frac{d\alpha}{d\beta} \right|_{\beta=1} = \frac{K_B}{K_A} \equiv Y \quad (29b).$$

Die Abschnitte X und Y auf den Achsen des Dissoziationsgrad-Diagramms (Abb. 8) geben unmittelbar den Quotienten der Dissoziationskonstanten an.

4.2.4. Auswertung des gesamten Dissoziationsgrad-Diagramms

Während bei den Verfahren 4.2.2. und 4.2.3. einzelne, ausgezeichnete Punkte des Diagramms α vs β ausgewertet werden, wird bei der folgenden Methode die gesamte Information des Dissoziationsgrad-Diagramms zur pK-Wertbestimmung herangezogen. Dividiert man die beiden Gl. (22 a, b) durcheinander, so folgt*

$$\frac{K_A}{K_B} = \frac{c_{A^-}}{c_{AH}} \cdot \frac{c_{BH}}{c_{B^-}} \quad (30).$$

* In anderem Zusammenhang (kolorimetrische Aciditätsbestimmung mittels Farbindikatoren) wurde ein ähnlicher Ansatz angewandt^{14,23,32}.

Für jeden Punkt der Simultantitration gilt daher

$$\frac{\alpha}{1-\alpha} = \frac{K_A}{K_B} \cdot \frac{\beta}{1-\beta} \quad (31).$$

Damit erhält man für jeden Meßpunkt der Abb. 8 einen Wert für den Quotienten K_A/K_B (n simultane Gleichungen). Dieses Verfahren stellt die zu 4.1.4. zugehörige Relativmethode dar. Für $\alpha = 1 - \alpha = 0,5$ bzw. $\beta = 1 - \beta = 0,5$ geht Gl. (31) in (28) über.

4.2.5. Seitenhalbierende des Dissoziationsgrad-Diagramms

Ein weiterer ausgezeichnete Punkt des Dissoziationsgrad-Diagramms ist der Schnittpunkt der Kurve α vs β mit der Seitenhalbierenden (Abb. 5). Setzt man die zugehörige Bedingung $\alpha + \beta = 1$ in Gl. (31) ein, so folgt

$$\left. \frac{\alpha}{1-\alpha} \right|_{\alpha=1-\beta} = \pm \sqrt{K_A/K_B} \quad (32a),$$

$$\left. \frac{\beta}{1-\beta} \right|_{\beta=1-\alpha} = \pm \sqrt{K_B/K_A} \quad (32b).$$

Die Projektion dieses Schnittpunktes auf die α - und β -Achse ergibt also zwei weitere Werte für K_A/K_B .

4.2.6. Vergleich der verschiedenen Relativmethoden

Das Dissoziationsgrad-Diagramm der Simultantitration von *o*- und *p*-Nitrophenol (Abb. 8) wurde mit Hilfe der verschiedenen Relativmethoden 4.2.2. bis 4.2.5. ausgewertet; die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle. Auswertung des Diagramms α vs β (Abb. 8).

Verfahren 4.2.2. (Halbierungspunkte):

$$\alpha = 0,5, \quad K_{o-}/K_{p-} = 0,81,$$

$$\beta = 0,5, \quad K_{o-}/K_{p-} = 0,80.$$

Verfahren 4.2.3. (Endsteigungen):

$$\alpha = \beta = 0, \quad K_{o-}/K_{p-} = 0,82,$$

$$\alpha = \beta = 1, \quad K_{o-}/K_{p-} = 0,77.$$

Der zweite Wert ist fehlerhaft, da die Extinktion bei 231,8 nm bereits durch die Absorption des Titriermittels leicht gestört ist.

Verfahren 4.2.4. (10 Einzelwerte zwischen pH 6,2 und 7,6):

Arithm. Mittel: $K_{o-}/K_{p-} = 0,80 \pm 0,02$.

Außerhalb dieses pH-Intervalls ergeben sich stärkere Abweichungen durch die größeren relativen Fehler der Extinktionswerte; s. Gln. (15) und (31).

Verfahren 4.2.5. (Schnittpunkt mit der Seitenhalbierenden):

$$\alpha = 1 - \beta, \quad K_{o-}/K_{p-} = 0,80,$$

$$\beta = 1 - \alpha, \quad K_{o-}/K_{p-} = 0,80.$$

Um die Richtigkeit der ermittelten Quotienten K_{o-}/K_{p-} zu überprüfen, wurden diese in Gl. (24) eingesetzt; mit Hilfe eines Digitalrechners wurde die Kurve α vs β für den Wert $K_{o-}/K_{p-} = 0,80$ simuliert und im Maßstab der Abb. 8 geplottet (durchgezogene Linie). Wie man sieht, stimmt die simulierte Kurve sehr gut mit den Meßwerten überein.

Damit ergibt sich folgende Bewertung der verschiedenen Verfahren: Die Halbierungspunkte (4.2.2.), der Schnittpunkt mit der Seitenhalbierenden (4.2.5.) und die (anderen) Einzelwerte (4.2.4.) im mittleren Teil des Dissoziationsgrad-Diagramms führen zu gleich guten Ergebnissen. Dieses ist naheliegend, da die Gln. (28) und (32) Spezialfälle von (31) sind. Ein Unterschied besteht jedoch darin, daß bei der Methode 4.2.4. die einzelnen Meßpunkte direkt zur Auswertung verwendet werden, während bei den Verfahren 4.2.2. und 4.2.5. in der Regel die interpolierte Kurve α vs β benötigt wird (Abb. 8). Die Endsteigungsmethode (4.2.3.) liefert meistens schlechtere Ergebnisse. Falls einer der Endwerte mit einem systematischen Fehler behaftet ist, wird dieses deutlich erkennbar (s. o.). Da das Einzelwertverfahren in den Endbereichen prinzipiell versagt, sollte man die Endsteigungsmethoden auf jeden Fall zur Konsistenzprüfung und Diagnostik mit heranziehen.

Die kombinierte Anwendung der vier Auswertungsverfahren ermöglicht also eine sinnvolle Auswertung des gesamten Dissoziationsgrad-Diagramms.

Den günstigsten Anwendungsbereich und die Grenzen der verschiedenen Relativmethoden erkennt man aus Abb. 5: Wird die Differenz der beiden pK-Werte größer als etwa 1,2–1,5, so ist es nicht mehr möglich, die Tangentenextrapolation 4.2.3. anzuwenden. Für $\Delta pK \geq 1,5$ wird auch die Halbierungsmethode 4.2.2. zu ungenau, da die zugehörigen Werte auf der anderen Achse nahe bei 1 liegen und nach Gl. (15) mit großen relativen Fehlern behaftet sind. Bei ΔpK -Werten bis maximal 2,5 können zumindest noch die Werte in der Umgebung der Seitenhalbierenden nach den Methoden 4.2.4. und 4.2.5. ausgewertet werden.

Der Anwendungsbereich der Relativmethoden erstreckt sich damit insgesamt etwa über das Intervall $0,1 \leq \Delta pK \leq 2$. Diese Aussage gilt zunächst nur für das Diagramm α vs β . Bei der Auswertung der ED- bzw. E-Diagramme, d. h. der eigentlichen Meßgrößen (vgl. Abb. 8), können die Achsen durch die Faktoren $Q_{\lambda A} \cdot c_{oAH}$ und $Q_{\lambda B} \cdot c_{oBH}$ unterschiedlich gespreizt sein. Dann treten bei der Berechnung von α und β sehr verschiedene relative Fehler auf, und die obigen Betrachtungen müssen entsprechend modifiziert werden; vgl. Teil II.

5. Zusammenfassung

Durch kombinierte Untersuchung von Titrationspektren und Extinktions- bzw. Extinktionsdifferenzen-Diagrammen kann die Einheitlichkeit eines spektrophotometrischen Titrationssystems mit hoher Empfindlichkeit und Signifikanz geprüft werden.

Mit Hilfe der linearen E- bzw. ED-Diagramme einer einstufigen spektrophotometrischen Titration kann man außerdem die Meßstreuung der photometrischen Meßdaten bei mehreren Wellenlängen unabhängig von elektrochemischen Meßgrößen kritisch prüfen.

Zur Bestimmung des absoluten pK-Wertes einer einstufigen Titration aus einer einzelnen $E_{\lambda}(\text{pH})$ -Kurve werden verschiedene Verfahren vergleichend gegenübergestellt. Da hierbei photometrische und elektrochemische Meßwerte eingehen, wird die Genauigkeit der so ermittelten pK-Werte meistens durch die theoretische und meßtechnische Problematik der konventionellen pH-Skala begrenzt.

Die Schwierigkeiten der elektrochemischen pH-Messung können (*in praxi*) umgangen werden, indem man nicht den absoluten pK-Wert bestimmt,

sondern einen relativen pK-Wert bezogen auf eine Standardsubstanz.

Falls man die Dissoziationskonstanten einiger geeigneter einwertiger Protolyte sehr exakt bestimmt, so kann man – wie bei pH-Eichpuffern – eine Skala von (photometrischen) pK-Standardwerten aufstellen. Die Dissoziationskonstanten vieler anderer Substanzen können dann durch spektrophotometrische Simultantitrationen bestimmt werden. Im Gegensatz zu den Absolutmethoden ergibt die Auswertung unmittelbar die Gleichgewichtskonstanten und nicht deren negativen Logarithmus. Hierbei werden nur photometrische, keine elektrochemischen Meßwerte verwandt. Letztere sind nur noch für die Präzisionsvermessung der Standardwerte notwendig und können Spezialinstituten überlassen werden. Da die problematische Meßgröße $a_{H_3O^+}$ nicht unmittelbar für die Auswertung benötigt wird, sollten die Relativmethoden auch für die Untersuchung von Dissoziationsvorgängen in nicht wäßrigen Lösungsmitteln oder Mischphasen vorteilhaft sein. Weiterhin sind sie auch bei anderen als Protolyse-Gleichgewichten anwendbar (z.B. Redox-, Komplexbildungsreaktionen etc.).

In weiteren Publikationen werden analoge Verfahren zur Untersuchung von Titrationsystemen mit zwei und mehr dissoziablen Gruppen dargestellt.

6. Anhang⁶

Geräte

Die Titrationspektren wurden mit einem registrierenden Spektralphotometer DMR WL (Fa. Zeiss) mit temperierbaren Küvettenhaltern aufgenommen. Teilweise wurde von 500–200 nm nur die Deuterium-Lampe verwandt (vgl. Abb. 1); dadurch ergaben sich kleine Banden bei 450–490 nm als Lampenartefakte. Spreizung: 5 nm/mm im Sichtbaren, 0,5 nm/mm im UV-Bereich; Registriergeschwindigkeit: 120 nm/min.

Für spektrophotometrische Titrations bei mehreren Wellenlängen wurde ein Zeiss-Spektralphotometer PMQ II mit Doppelmonochromator und temperierbaren Küvettenhaltern verwandt. Die Meßwerte wurden über einen Zeiss-TK-Rechner digitalisiert und mit einem Kienzle-Stanzer D 224 auf Lochstreifen gestanzt. Der pH-Wert wurde mit einem Knick-pH-Meter 350 mit Einstabmeßkette (Metrohm EA 120 NS) gemessen. Zur Eichung dienten Metrohm-Puffer pH 4,0, 7,0 und 9,0.

Als Küvetten wurden 1 cm-Thunbergküvetten (Fa. Hellma Nr. 190) mit einem speziellen Durchflußansatz (s. Abb. 9) verwandt. Die Vergleichs-

küvette (mit bidest. Wasser) enthielt zugleich ein geeichtes Schlifftthermometer zur Temperatur-Kontrolle ($25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$).

Abb. 9. Titrationsapparatur zur spektrophotometrischen Titration unter Schutzgas.

Meßvorgang und Titrationsapparatur (Abb. 9)

Das Titriergefäß TG (Metrohm EA 880–500 mit Einstab-Glaselektrode E, s.o.) wurde mit 500 ml bidest. Wasser gefüllt, mit Stickstoff gründlich gespült und die eingewogene Substanz schnell eingeworfen. Zur Titration wurde eine Multibürette (Metrohm E 485 G/5) mit Quickfit-Dichtung am Titriergefäß verwandt, die Wechseleinheiten wurden zur Spülung mit Stickstoff leicht modifiziert. Vor Beginn der Titration wurde die Lösung durch die Küvette K über die Leitungen 6, 4, 2, 1 mit Stickstoff gespült; während der Titration wurde Stickstoff über die Lösung geleitet (Leitung 5, 6). Sobald der jeweilige pH-Wert eingestellt war, wurde die Lösung über einen Teflonschlauch mit Hilfe der Spritze S langsam in die Küvette gesaugt. Durch dreimaliges Hin- und Herpumpen wurde die Küvette jeweils gründlich mit der neuen Lösung gespült. Damit keine Luft von hinten in die Spritze eintrat, wurde die Kammer hinter dem Stempel ebenfalls mit Stickstoff gefüllt.

Die gesamte Titrationsapparatur ist leicht transportabel und wurde abwechselnd an beiden Spektralphotometern (s.o.) angebaut. Zur Durchleitung der Schläuche wurden spezielle Hauben auf dem Küvettenhaus verwandt.

Der Verdünnungsfehler wurde unterhalb 1% vernachlässigt, darüber rechnerisch eliminiert.

Substanzen

p-Nitrophenol

(Merck, Indikator, umkrist. aus Wasser),

o-Nitrophenol

(Merck, Indikator, umkrist. aus Wasser),

0,1 N NaOH
(Fixanal-Ampullen),
0,1 N HCl
(Fixanal-Ampullen).

Dest. Wasser: Aus einer Ionenaustauscheranlage des Instituts, unter Stickstoff in einer Quarz-Glas-Apparatur destilliert.

Auswertungsprogramme (in CDC-Fortran).

DIGIMESS: Übersetzt Meßreihen vom Lochstreifen und puncht Lochkarten für die weiteren Programme.

EDPLOT: Plottet ED- und E-Diagramme bei bis zu 10 Wellenlängen mit jeweils ≤ 99 Meßpunkten.

EPHLOT: Plottet E (pH)-Diagramme bei bis zu 10 Wellenlängen mit jeweils ≤ 99 Meßpunkten.

Die Auswertungen wurden auf der CDC 3300-Anlage des Zentrums für Datenverarbeitung und dem HP 9820-Rechner des Inst. f. Theoretische Chemie der Universität Tübingen durchgeführt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

- ¹ J. L. CRAMMER u. A. NEUBERGER, *Biochem. J.* **37**, 302–310 [1943].
- ² R. BENESCH u. R. E. BENESCH, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 5877–5881 [1955].
- ³ C. TANFORD, *Adv. in Protein Chem.* **17**, 69–82 [1962].
- ⁴ R. F. GODDU u. D. N. HUME, *Anal. Chem.* **26**, 1679–1684, 1740–1746 [1954].
- ⁵ J. B. HEADRIDGE, *Photometric Titrations*, Pergamon Press, N. Y. 1961.
- ⁶ H. LACHMANN, *Dissertation*, Tübingen 1973.
- ⁷ J. N. BUTLER, *J. Chem. Educ.* **40**, 66–69 [1963].
- ⁸ H. MAUSER, *Z. Naturforsch.* **23b**, 1021–1024, 1025–1030 [1968].
- ⁹ H. LACHMANN, H. MAUSER, F. SCHNEIDER u. H. WENCK, *Z. Naturforsch.* **26b**, 629–638 [1971].
- ¹⁰ H. MAUSER, J. NIEMANN u. R. KRETSCHMER, *Z. Naturforsch.* **27b**, 1349–1353 [1972].
- ¹¹ H. MAUSER, J. POLSTER u. H. WENCK, *Chimia* **26**, 361–365 [1972].
- ¹² Teil II, ds. Ztschr., in Vorbereitung.
- ¹³ LANDOLT-BÖRNSTEIN, *Zahlenwerte und Funktionen, Band 1/3*, S. 231, 272, Springer-Verlag, Berlin 1951.
- ¹⁴ G. KORTÜM, *Lehrbuch der Elektrochemie*, Verlag Chemie, Weinheim 1966.
- ¹⁵ G. KORTÜM, *Kolorimetrie, Photometrie und Spektrometrie*, Springer-Verlag, Berlin 1962.
- ¹⁶ G. KORTÜM, W. VOGEL u. K. ANDRUSSOW, *Pure and Appl. Chem.* **1**, 190–229 [1960].
- ¹⁷ L. J. HENDERSON u. M. TENNENBAUM, *Blut, seine Pathologie und Physiologie*, Th. Steinkopf, Dresden 1932.
- ¹⁸ J. EGGERS, R. POSSE u. G. SCHEIBE, *Z. El. Chem.* **58**, 731–743 [1954].
- ¹⁹ H. H. PERKAMPUS u. Th. RÖSSEL, *Z. El. Chem.* **60**, 1102–1111 [1956].
- ²⁰ H. H. PERKAMPUS u. Th. RÖSSEL, *Z. El. Chem.* **62**, 94–105 [1958].
- ²¹ E. CINGOLANI u. A. GANDIANO, *Rend. Ist. Super. Sanita* **17**, 601 [1954].
- ²² L. A. FLEXSER, L. P. HAMMET u. A. DINGWELL, *J. Amer. chem. Soc.* **57**, 2103–2115 [1935].
- ²³ I. GYENES, *Titrationen in nichtwäßrigen Medien*, F. Enke-Verlag, Stuttgart 1970.
- ²⁴ R. BLUME, *Diplomarbeit*, Tübingen 1973.
- ²⁵ J. L. IRVIN u. E. M. IRVIN, *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 1091–1099 [1947].
- ²⁶ J. H. BAXENDALE u. H. R. HARDY, *Trans. Faraday Soc.* **49**, 1140–1144 [1953].
- ²⁷ V. BÖHMER, R. WAMSSER u. H. KÄMMERER, *Monatsh. Chem.* **104**, 1315–1324 [1973].
- ²⁸ D. H. ROSENBLATT, *J. Phys. Chem.* **58**, 40–42 [1954].
- ²⁹ J. C. STERNBERG, H. S. STILLO u. R. H. SCHWENDEMAN, *Anal. Chem.* **32**, 84–90 [1960].
- ³⁰ H. A. BARNETT u. A. BARTOLI, *Anal. Chem.* **32**, 1153–1156 [1960].
- ³¹ M. E. MAGAR, *Data Analysis in Biochemistry and Biophysics*, S. 258ff., Acad. Press, N. Y. 1972.
- ³² R. G. BATES, *Determination of pH*, John Wiley and Son Inc., N.Y. 1964.