

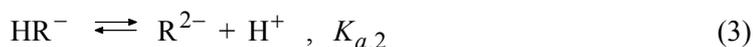
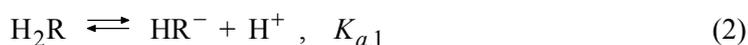
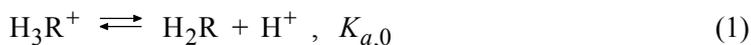
УДК 547.633.6

**ПРОТОЛИТИЧЕСКИЕ РАВНОВЕСИЯ
3',4',5',6'-ТЕТРАХЛОРФЛУОРЕСЦЕИНА
В СМЕСИ ВОДА-ЭТАНОЛ С МАССОВОЙ ДОЛЕЙ СПИРТА 50%**

© 2006 Ю. А. Гурина, Н. А. Водолазкая, Н. О. Мчедлов-Петросян

Определены значения констант ступенчатой ионизации 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50%. Получены и обсуждены электронные спектры поглощения молекулярной и ионных форм.

Продолжив исследования протолитических равновесий гидроксиксантеновых красителей в различных средах [1-5], мы изучили ступенчатую ионизацию, спектральные свойства и таутомерные превращения 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50%. Значения pK_a , отвечающие равновесиям ступенчатой ионизации красителей:



были определены при помощи спектрофотометрического метода, с потенциометрическим контролем рН объемной фазы стеклянным электродом в цепи с переносом. Значения рН, стандартизованные с использованием представления о гипотетическом растворе в данном растворителе с активностью иона лиония, равной единице, и со свойствами бесконечно разбавленного раствора ($ra_{H^+}^*$), оценивали, внося поправку в инструментальное значение ($pH_{инстр}$):

$ra_{H^+}^* = pH_{инстр} - 0.20$ [6-8]. Использование в качестве растворителя смеси вода-этанол позволило, как и ранее [7,8], повысить растворимость нейтральной формы. Схема 1 описывает детальное протолитическое равновесие 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в растворах [5].

Нами использован препарат 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина, очищенный перекристаллизацией. Хлорид калия, фосфорная, уксусная и хлороводородная кислоты были квалификации ХЧ, серная кислота — квалификации Ч. Для приготовления буферных растворов использовался раствор NaOH, защищенный от CO₂. Растворы этилового спирта готовились из перегнанного 96%-ного азеотропа высокой чистоты; отсутствие альдегидов контролировали по ультрафиолетовым спектрам. Значения $ra_{H^+}^*$ варьировали при помощи ацетатных и фосфатных буферных растворов, а также растворов HCl и NaOH. При этом ионная сила рабочих растворов поддерживалась постоянной и равной 0.05 моль/л (KCl + компоненты буферных растворов).

Спектры поглощения измеряли в НИИ Химии при ХНУ им. В.Н. Каразина на приборе Hitachi U 3210. Спектрофотометрическое определение значений pK_a проводили при длине кюветы $l = 1$ см и рабочей концентрации красителя $C = 2.72 \cdot 10^{-5}$ моль/л (25°C). При этом исходный раствор красителя готовился в 96%-ном этаноле. Спектры поглощения 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в изученной системе при варьировании значений $ra_{H^+}^*$ представлены на рис. 1.

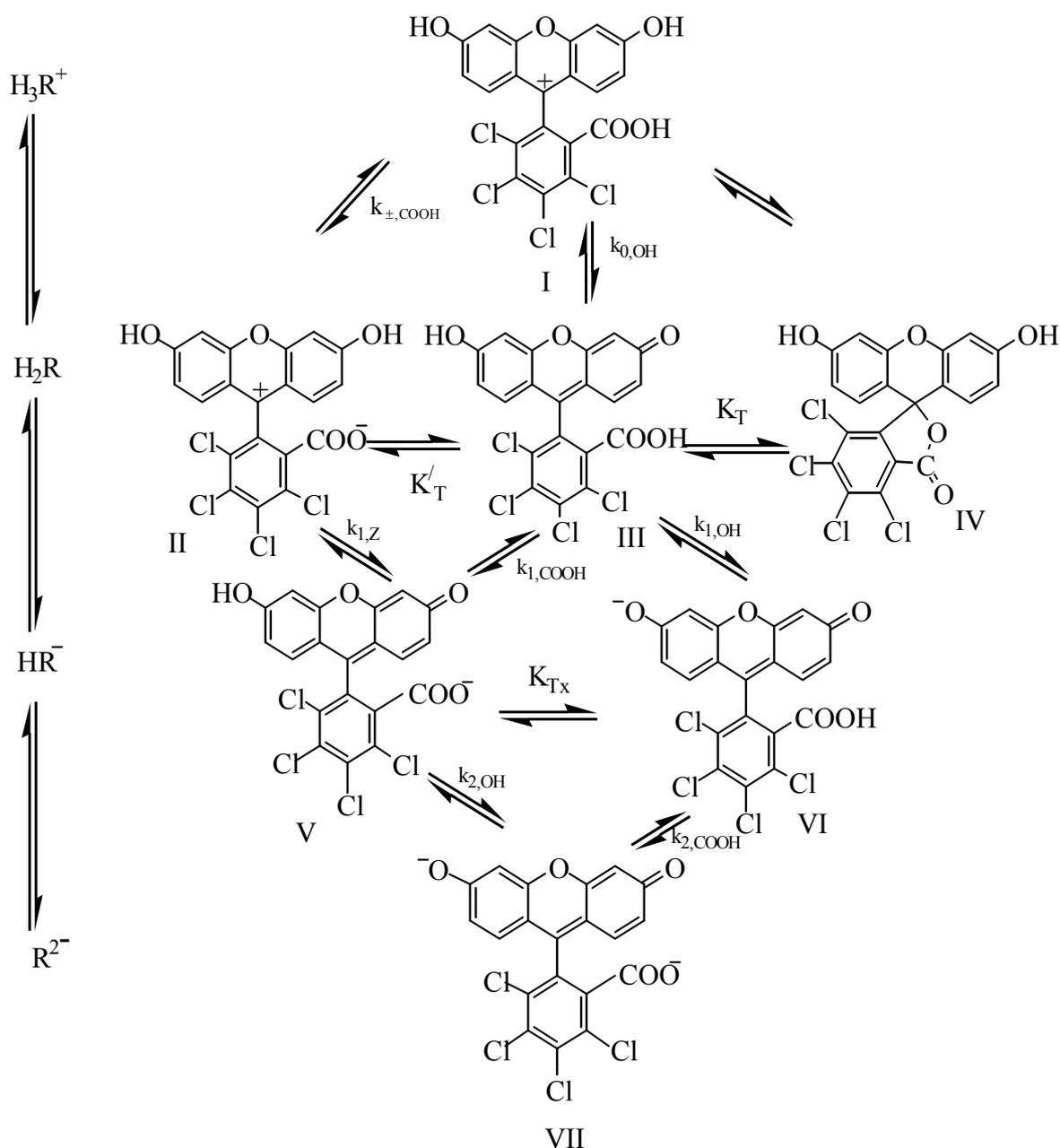


Схема 1. Протолитические равновесия 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина.

$$K_T = [IV]/[III]; K_T' = [II]/[III]; K_T'' = K_T / K_T' = [IV]/[II]; K_{Tx} = [VI]/[V];$$

$$k_{\pm,COOH} = a_{H^+} a_{II} / a_I; k_{0,OH} = a_{H^+} a_{III} / a_I; k_{1,Z} = a_{H^+} a_V / a_{II}; k_{1,COOH} = a_{H^+} a_V / a_{III};$$

$$k_{1,OH} = a_{H^+} a_{VI} / a_{III}; k_{2,OH} = a_{H^+} a_{VII} / a_V; k_{2,COOH} = a_{H^+} a_{VII} / a_{VI}$$

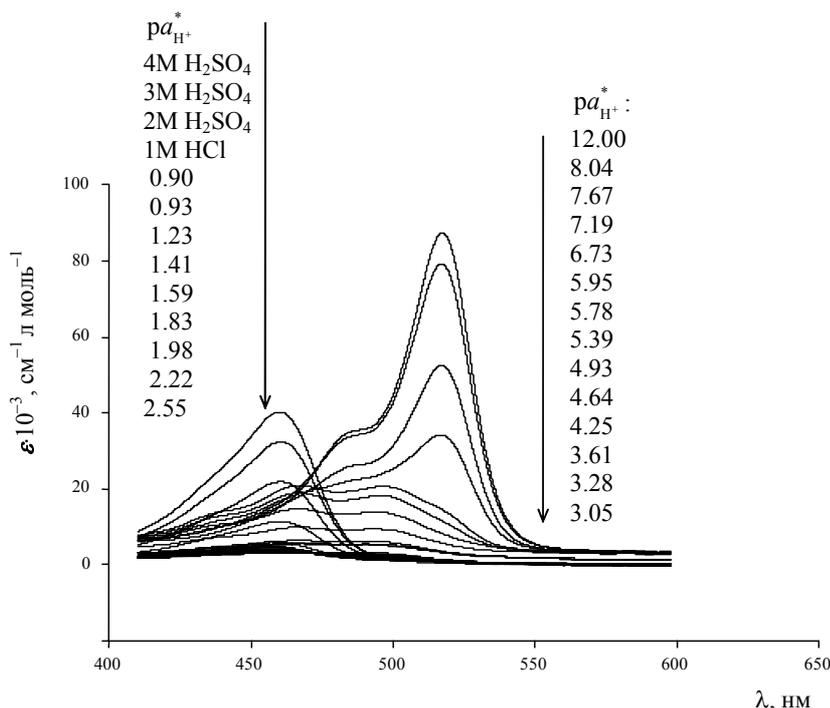


Рис. 1. Спектры поглощения 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% при варьировании значений pK_{a1}^* .

Для расчета значений pK_{a1}^a и pK_{a2}^a использовали оптические плотности 10 растворов (в области pK_{a1}^* 3.61–8.04) при 20 длинах волн ($\lambda = 438$ –514 нм). Значения pK_a рассчитывали из зависимостей оптической плотности A от pK_{a1}^* (рис.2) при постоянных значениях C и l по уравнению (4) [5,8] с использованием программы CLINP [9]:

$$A = \frac{A_{H_2R} 10^{pK_{a1} - pK_{a1}^*} + A_{HR^-} + A_{R^{2-}} 10^{pK_{a1}^* - pK_{a2}}}{10^{pK_{a1} - pK_{a1}^*} + 1 + 10^{pK_{a1}^* - pK_{a2}}}, \quad (4)$$

где A_{H_2R} , A_{HR^-} и $A_{R^{2-}}$ – значения A при полном превращении красителя в соответствующую форму. В случае необходимости измерения проводились при различных значениях концентрации красителя, а затем результаты пересчитывались к выбранным условиям. Значения A_{H_2R} и $A_{R^{2-}}$ измеряли непосредственно в условиях доминирования соответствующих форм при pK_{a1}^* 3.05 и 12.00 соответственно. Дополнительные расчеты с помощью найденных значений pK_a подтверждают пренебрежимо малый вклад интенсивно окрашенных ионных форм в спектр поглощения в условиях измерения спектров форм H_2R . Определение значения pK_{a0} 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина проводили в растворах HCl + KCl, рассматривая равновесие (1) изолированно от равновесий (2) и (3), из измерений в области pK_{a1}^* 1.23 – 0.00 при 6 длинах волн ($\lambda = 450$ –470 нм). Спектр катиона H_3R^+ был получен в растворах серной кислоты с концентрацией от 2.0 до 4.0 моль/л. О полном превращении красителя в форму H_3R^+ суди-

ли по совпадению спектров при концентрации кислоты 3.0 и 4.0 моль/л соответственно. При измерении спектров в растворах HCl и H₂SO₄ при $pa_{H^+}^* < 1.3$ ионная сила превышала 0.05 моль/л. После определения значений констант ионизации с использованием наиболее информативных длин волн полные спектры ионов HR⁻ находили из спектров растворов со значениями $pa_{H^+}^*$, отвечающими максимальному выходу моноанионов. Расчет A_{HR^-} вели при помощи уравнения (5):

$$A_{HR^-} = (A - A_{H_2R})10^{pK_{a1} - pa_{H^+}^*} + A + (A - A_{R^{2-}})10^{pa_{H^+}^* - pK_{a2}} \quad (5)$$

Для расчета термодинамических значений pK_a , представленных в табл.1, использовали второе приближение Дебая–Хюккеля для коэффициентов активности ионов, ионный параметр принимали равным 5. Коэффициенты активности молекул считали равными единице. Поэтому значения pK_{a1} и pK_{a2} , приведенные в табл.1, превышают рассчитанные из экспериментальных данных “смешанные” значения pK_{a1} и pK_{a2} , на 0.16 и 0.47 единиц, соответственно.

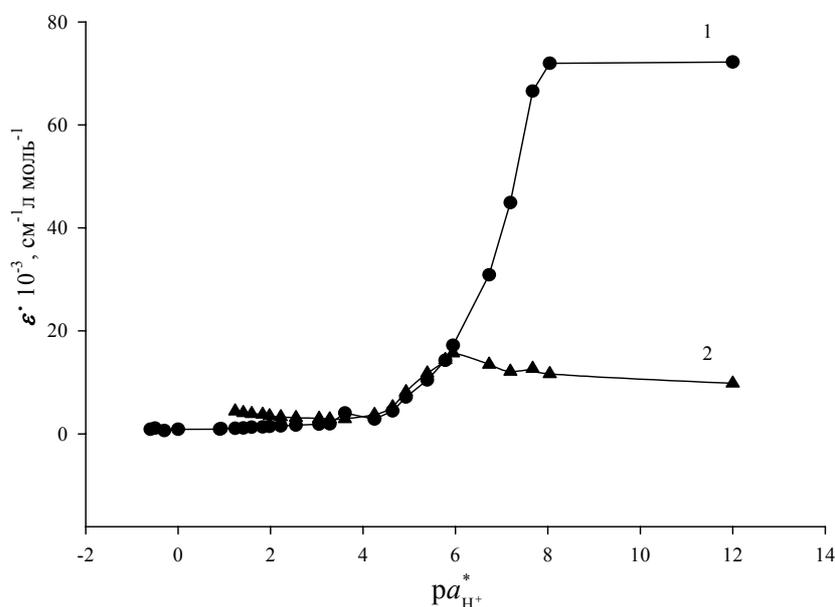


Рис. 2. Зависимость коэффициента молярного поглощения 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% от кислотности растворов: 1 - $\lambda = 510$ нм; 2 - $\lambda = 450$ нм.

Табл. 1. Значения параметров протолитических равновесий Флуоресцеина и 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50%, 25 °С

Константа	Флуоресцеин [10]	3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеин
pK_{a0}	0.91	$-0.79 \pm 0.05^*$
pK_{a1}	6.82	5.40 ± 0.06
pK_{a2}	7.66	7.49 ± 0.02
K_T	30	4.5
$pk_{o,OH}$	2.43	-0.05^*
$pk_{1,COOH}$	5.33	4.66
$pk_{2,OH}$	7.66	7.49

* в концентрационной шкале pH

Спектры поглощения молекулярной и ионных форм 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% представлены на рис. 3. В таблице 2 приведены спектральные характеристики 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в изученной системе.

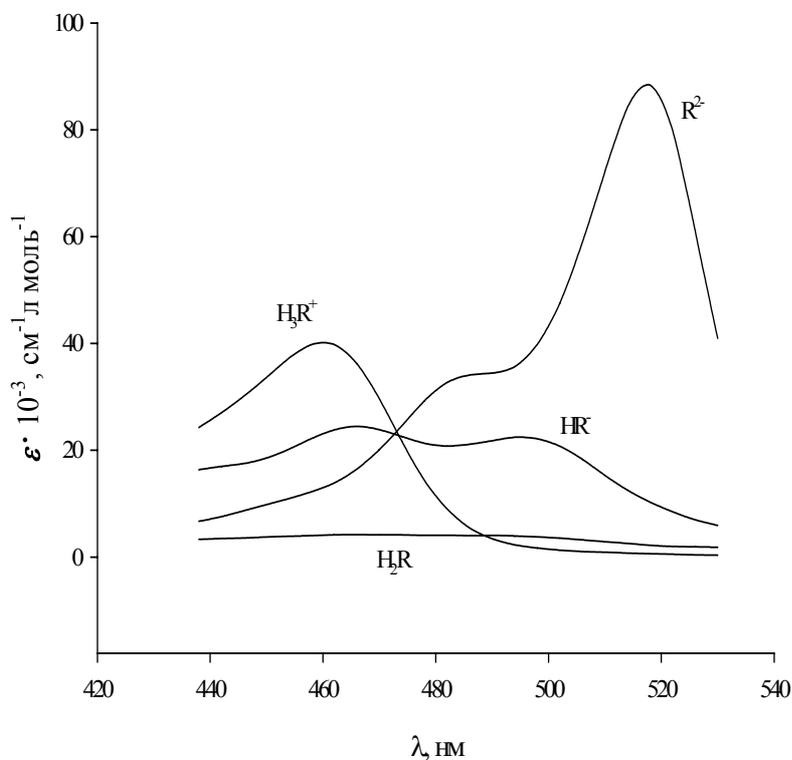


Рис. 3. Спектры поглощения сопряженных форм 3',4',5',6'- Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50%.

Табл. 2. Спектральные характеристики Флуоресцеина и 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50%, 25 °С

Индикатор	λ_{\max} , нм ($\epsilon \cdot 10^{-3}$, см ⁻¹ л моль ⁻¹)			
	H ₃ R ⁺	H ₂ R	HR ⁻	R ²⁻
Флуоресцеин [10]	445 (62.4)	455 (0.978)	455 (34.3)	495 (88.5)
3',4',5',6'- Тетрахлорфлуоресцеин	462 (39.8)	466 (4.2); 490 (4.0)	466 (24.5); 494 (22.4)	518 (88.4)

На основании представленных на рис.3 спектров поглощения 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% можно утверждать, что моноанион в растворе находится преимущественно в виде структуры V (схема 1), так как не наблюдается батохромного смещения полосы поглощения HR⁻ относительно полосы R²⁻, характерного для таутомера VI вследствие протонирования карбоксильной группы (COO⁻ → COOH) [5]. Такой характер таутомерии моноаниона присущ и Флуоресцеину [5].

Давно известно, что для Флуоресцеина (и, в несколько меньшей мере, для его галогенпроизводных) характерен заметный сдвиг положения таутомерного равновесия H₂R (нейтральной

формы) в сторону лактона (структура IV, схема 1) при переходе от воды к спиртам, диоксану, ацетону, ДМСО [5].

В нашем случае наблюдается резкое снижение интенсивности поглощения света при переходе от анионных и катионных форм к нейтральным (рис. 3, табл. 2). Это позволяет считать вполне правдоподобным образование бесцветных молекулярных форм — лактонов, для которых узловой атом углерода находится в состоянии sp^3 -гибридизации.

Характерным является также исчезновение цвиттер-иона (структура II) из равновесной смеси таутомеров как для Флуоресцеина, так и для 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в изученной системе. Этот факт находит объяснение с учетом типов зарядов [5,8]. Цвиттер-ион для этих соединений наблюдается лишь в водных растворах или в водно-органических смесях с высоким содержанием воды [5]. В исследованной системе в качестве сосуществующей с бесцветным лактоном окрашенной фракции молекулярной формы H_2R рассматриваем лишь хиноид III. Иными словами, предполагаем, что $K'_T \ll 1$ и $K_T \ll K_T$.

Термодинамические значения pK_a 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в воде составляют: $pK_{a0} = -0.29$ (в шкале H_0); $pK_{a1} = 3.65$; $pK_{a2} = 6.55$ [5]. При переходе от воды к водно-органическим средам, в частности, к смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% наблюдается снижение величины pK_{a0} и возрастание pK_{a1} и pK_{a2} индикаторов (табл. 1; $\Delta pK_a = pK_a - pK_a$ (в H_2O), что обусловлено типом заряда кислотно-основной пары [5] (+/0; 0/- и -/2- соответственно). В изученной системе сохраняются аналогичные закономерности в изменении кислотно-основных характеристик при переходе от воды к водно-этанольной среде, как и в случае Флуоресцеина [5]: 1) сближение значений pK_{a1} , pK_{a2} и расхождение pK_{a0} , pK_{a1} , что обусловлено выполнением условий $\Delta p k_{1,COOH} > \Delta p k_{2,OH}$ и $\Delta p k_{1,COOH} > \Delta p k_{0,OH}$ соответственно и ростом величины K_T ; 2) ΔpK_a наименьшее для катионной кислоты, а для карбоновой кислоты выше, чем для фенола. Так, значения ΔpK_a для 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина при переходе от смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% к воде составляют: $\Delta pK_{a0} = -0.50$; $\Delta pK_{a1} = 1.75$ и $\Delta pK_{a2} = 0.94$.

Непосредственное сравнение значений pK_a и микроконстант pk (алгоритм расчета значений pk будет дан ниже) Флуоресцеина и 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в изученной системе приводит к следующим выводам. Введение в остаток фталевой кислоты Флуоресцеина четырех сильно электроотрицательных атомов хлора приводит к усилению диссоциации карбоксильной группы, что сказывается на значительном уменьшении значений pK_{a1} и $pK_{1,COOH}$ 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина. Усиление диссоциации катиона (уменьшение значений pK_{a0} и $pK_{0,OH}$) хлорзамещенного красителя по сравнению с Флуоресцеином в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% связано с возрастанием положительного заряда на центральном атоме углерода, что приводит к стабилизации хиноидной структуры III (схема 1). Значение $pK_{a2} = pk_{2,OH}$, отвечающее диссоциации гидроксигруппы, в данном случае изменяется мало (табл. 1).

Расчет долей таутомеров (α) формы H_2R проводится по уравнению [2,5,8] (6):

$$\varepsilon(H_2R) = \alpha(\text{II}) \cdot \varepsilon(H_3R^+) + \alpha(\text{III}) \cdot \varepsilon(HR^-), \quad (6)$$

которое превращается в систему уравнений при использовании спектральных данных, полученных на различных длинах волн. Это уравнение справедливо, если приравнять значения ε таутомеров (II) и (III) значениям ε форм H_3R^+ (структура I) и HR^- (структура V). При этом $\alpha(\text{IV}) = 1 - \alpha(\text{II}) - \alpha(\text{III})$. Если считать, как было уже сказано выше, $K'_T \ll K_T$, то доля таутомера (II) статистически незначима, то есть $\alpha(\text{II}) = 0$, тогда согласно уравнению (6) доли таутомеров III и IV соответственно равны 0.183 и 0.817. Отсюда легко рассчитать значения обозначенных на схеме микроконстант диссоциации и константы таутомерного равновесия. Связь этих параметров с константами K_a выражается соотношениями ($K'_T \ll K_T$):

$$pK_{a0} = pk_{0,OH} - \lg(1 + K_T) \quad (7)$$

$$pK_{a1} = pk_{1,COOH} + \lg(1 + K_T) \quad (8)$$

$$pK_{a2} = pk_{2,OH} \quad (9)$$

Значения pk и K_T Флуоресцеина и 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина приведены в таблице 1. Для Флуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% значение K_T , характеризующее равновесие хиноид (III) \rightleftharpoons лактон (IV), в 6.5 раз больше, чем для 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина. Резкое усиление кислотности карбоксильной группы изученного нами красителя приводит к дестабилизации лактонной структуры по сравнению с Флуоресцеином.

Таким образом, в ходе ступенчатой диссоциации 3',4',5',6'-Тетрахлорфлуоресцеина в смеси вода-этанол с массовой долей спирта 50% реально существуют следующие частицы:



Литература

1. Мчедлов-Петросян Н.О., Клещевникова В.Н. Журн. общ. химии. 1990. Т.60. №4. С. 900-911.
2. Mchedlov-Petrossyan N.O., Kleshchevnikova V.N. J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1994. V.90. No.4. P.629-640.
3. Mchedlov-Petrossyan N.O., Tychina O.N., Berezhnaya T.A., Alekseeva V.I., Savvina L.P. Dyes and Pigments. 1999. Vol.43. P.33-46.
4. Саламанова Н.В., Водолазкая Н.А., Мчедлов-Петросян Н.О. Вестник Харьк. нац. университета. 2003. Химия. №596. Вып.10(33). С. 137-141.
5. Мчедлов – Петросян Н.О. Вестник Харьк. нац. университета. 2004. № 626. Химия. Вып. 11(34). С.221 – 312.
6. Бейтс Р. Определение рН. Л.: Химия, 1972. 400 с.
7. Самойлов Д.В., Мчедлов-Петросян Н.О., Мартынова В.П., Ельцов А.В. Журн. общ. химии. 2000. Т.70. Вып.8. С. 1343-1357.
8. Мчедлов-Петросян Н.О., Водолазкая Н.А., Мартынова В.П., Самойлов Д.В., Ельцов А.В. Журн. общ. химии. 2002. Т.72. Вып.5. С. 839-847.
9. <http://www.bestnet.kharkov.ua/kholin/clinp.html>
10. Мчедлов-Петросян Н.О. Межвузовский сборник “Теоретические методы описания свойств растворов”. 1987. Иваново. С.93-103.

Поступила в редакцию 7 июля 2006 г.

Kharkov University Bulletin. 2006. №731. Chemical Series. Issue 14(37). Yu. A. Gurina, N. A. Vodolazkaya, N. O. Mchedlov-Petrossyan. Protolytic equilibria of 3',4',5',6'-Tetrachlorofluorescein in water-ethanol mixture with 50 mass % alcohol.

The stepwise ionization constants of 3',4',5',6'-Tetrachlorofluorescein in water-ethanol mixture with 50 mass % alcohol have been determined. Thermodynamic pK_a values in this system are as follows: $pK_{a0} = -0.79$ (in the pH_c scale); $pK_{a1} = 5.40$; $pK_{a2} = 7.49$. The electronic absorption spectra of molecular and ionic forms of 3',4',5',6'-Tetrachlorofluorescein have been recorded and analyzed.