

Zur spektroskopischen Analyse von Assoziationsgleichgewichten am Beispiel Eosin

J. Polster

Lehrstuhl für Allgemeine Chemie und Biochemie der TU München,
Freising-Weihenstephan

Z. Naturforsch. **42a**, 636–640 (1987); eingegangen am 15.Januar 1987

Spectroscopic Analysis of Association Equilibria as Shwon by Eosin

By means of absorbance diagrams dimer equilibria $2B \rightleftharpoons C$ can be analysed by nonlinear regression. As an example, the procedure is demonstrated for the association of eosin.

1. Einleitung

Dimerisierungsgleichgewichte vom Typ $2B \rightleftharpoons C$ werden üblicherweise mit Hilfe der UV-VIS-Spektroskopie untersucht, indem die Farbstoffmenge durch Titration sukzessive erhöht wird. Dabei werden für die Auswertung bevorzugt nicht-lineare Regressionsverfahren eingesetzt [1–3]. Trotz des damit verbundenen Rechenaufwandes können sich die Ergebnisse von ein und demselben System deutlich unterscheiden, wie z.B. im Fall des Farbstoffs Acridinorange [1–4]. Unter diesem Aspekt ist es wünschenswert, möglichst viele Verfahren zur Bestimmung der Bindungskonstanten und Extinktionskoeffizienten von Dimerisierungsgleichgewichten bereitzustellen [5]. Im nachfolgenden wird am Meßbeispiel Eosin gezeigt, wie dazu Extinktions-Diagramme [6] herangezogen werden können.

2. Theorie

2.1 Bestimmung der Bindungskonstante des Titrationssystems $2B \rightleftharpoons C$ mit Hilfe von Extinktions-Diagrammen

Die Lage des Dimerengleichgewichtes



kann z.B. dadurch verschoben werden, daß die (molare) Gesamtmenge b_0 des Farbstoffes in der

Sonderdruckanforderungen an Priv.-Doz. Dr. J. Polster,
Lehrstuhl für Allgemeine Chemie und Biochemie TUM,
D-8050 Freising-Weihenstephan.

Lösung durch Titration sukzessive erhöht wird (sog. b_0 -Titration). Es gilt dann (wobei b_0 Variable ist)

$$b_0 = b + 2c. \quad (2)$$

Zur Bestimmung der Bindungskonstanten β

$$\beta = c/b^2 \quad (3)$$

wird zunächst das charakteristische Konzentrationsdiagramm [6–9] b vs. c betrachtet (s. Abbildung 1). Aus (2) folgt, daß in Abb. 1 alle Konzentrationswerte bei konstantem b_0 aber beliebigen β -Werten auf einer Geraden liegen (s. Punkt P). Wird demnach b_0 variiert, haben alle resultierenden Geraden die gleiche Steigung. Bei $\beta=0$ ist nur B vorhanden (s. Punkt B), im Grenzfall $\beta \rightarrow \infty$ dagegen nur C (s. Punkt C).

Diese geometrischen Zusammenhänge gelten auch im Extinktions-Diagramm (vgl. [7–9]). Unter Voraussetzung der Gültigkeit des Lambert-Beer-Bouguerschen Gesetzes gilt für die Extinktion A_λ des Systems (1)

$$A_\lambda = d(\varepsilon_{\lambda B} b + \varepsilon_{\lambda C} c) \quad (4)$$

mit d = Schichtdicke der Küvette, $\varepsilon_{\lambda B}$ = Extinktionskoeffizient von B (entsprechend $\varepsilon_{\lambda C}$).

Die Extinktionskoeffizienten $\varepsilon_{\lambda B}$ können nur dann durch Messung direkt bestimmt werden, wenn die Dimerenbildung in hoch verdünnten Lösungen praktisch vollständig unterdrückt ist, wenn also β nicht zu groß ist. Andererseits kann $\varepsilon_{\lambda C}$ nur dann näherungsweise direkt ermittelt werden, wenn in hoch konzentrierten Lösungen keine höheren Assoziate (z. B. Trimere) entstehen.

0932-0784 / 87 / 0600-0636 \$ 01.30/0. – Please order a reprint rather than making your own copy.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

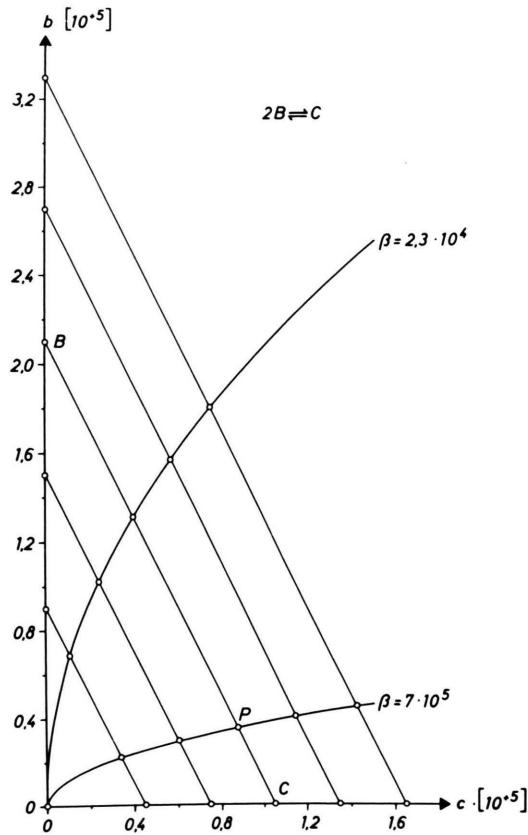


Abb. 1. Konzentrationsdiagramm (b vs. c) des Systems $2B \rightleftharpoons C$.

Wie unten gezeigt wird, können die Quotienten $\varepsilon_{1B}/\varepsilon_{2B}$ bzw. $\varepsilon_{1C}/\varepsilon_{2C}$ im Extinktions-Diagramm A_1 vs. A_2 durch nicht-lineare Regression bestimmt werden (s. Abb. 2). Diese Quotienten geben die Steigungen der Nullpunktsgesetzen an, auf denen die Extinktionen des „reinen“ Monomeren bzw. Dimeren liegen (s. Punkte B und C in Abbildung 2). Kennt man die Extinktionskoeffizienten einer Komponente (B bzw. C) und die bei den Meßpunkten P vorgelegten Mengen b_0 , so können die zu P gehörenden Punkte B (bzw. C) berechnet und mit diesen die entsprechende Parallelenschar \overline{BP} (bzw. \overline{PC}) konstruiert werden. Diese Parallelenschar braucht dann nur mit der Nullpunktsgesetze von C (bzw. B) zum Schnitt gebracht zu werden, um die noch fehlenden Punkte C (bzw. B) eindeutig zu lokalisieren.

Zur Bestimmung von $\varepsilon_{1B}/\varepsilon_{2B}$ bzw. $\varepsilon_{1C}/\varepsilon_{2C}$ wird (4) für die Wellenlängen 1 und 2 aufgestellt. Eliminiert man hieraus unter Berücksichtigung von (3)

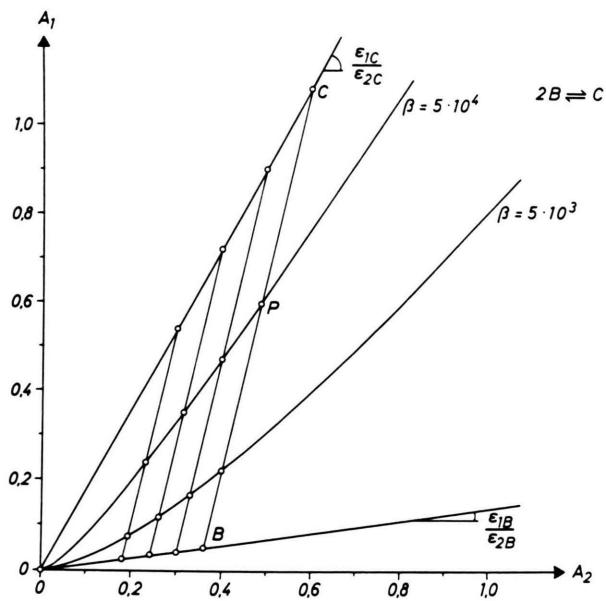


Abb. 2. Extinktions-Diagramm des Systems $2B \rightleftharpoons C$. Die geometrischen Zusammenhänge der Abb. 1 gelten auch hier, da beide Diagramme durch affine Transformation ineinander überführt werden können.

die Konzentrationen b und c , so erhält man für die Kurve im Extinktions-Diagramm die Gleichung

$$A_1^2 + \alpha_1 A_2^2 + \alpha_2 A_1 A_2 + \alpha_3 A_1 + \alpha_4 A_2 = 0 \quad (5)$$

mit

$$\alpha_1 = \left(\frac{\varepsilon_{1C}}{\varepsilon_{2C}} \right)^2, \quad \alpha_2 = -2 \left(\frac{\varepsilon_{1C}}{\varepsilon_{2C}} \right),$$

$$\alpha_3 = - \left(\frac{d}{\beta} \frac{\varepsilon_{2B}}{\varepsilon_{2C}^2} \right) \cdot (\varepsilon_{2B} \varepsilon_{1C} - \varepsilon_{1B} \varepsilon_{2C}) \quad \text{und}$$

$$\alpha_4 = \left(\frac{d}{\beta} \frac{\varepsilon_{1B}}{\varepsilon_{2C}^2} \right) \cdot (\varepsilon_{2B} \varepsilon_{1C} - \varepsilon_{1B} \varepsilon_{2C}).$$

Hieraus folgt durch Koeffizientenvergleich

$$\alpha_1 = \alpha_2^2/4 \quad \text{und} \quad (6a)$$

$$\alpha_3/\alpha_4 = -\varepsilon_{2B}/\varepsilon_{1B}. \quad (6b)$$

Damit kann (5) auch in die Form

$$(A_1 + (\alpha_2/2) A_2)^2 + \alpha_3 A_1 + \alpha_4 A_2 = 0 \quad (7)$$

überführt werden. Die Koeffizienten α_2 , α_3 und α_4 können durch nicht-lineare Regression bestimmt

werden und damit auch die Quotienten $\varepsilon_{1B}/\varepsilon_{2B}$ bzw. $\varepsilon_{1C}/\varepsilon_{2C}$.

Die Konzentrationen b und c können aus einfachen Streckenverhältnissen ermittelt werden, wenn in Abb. 2 die Punkte P, B und C bekannt sind. Es gelten die Beziehungen

$$b = \frac{\overline{PC}}{\overline{BC}} b_0 \quad \text{und} \quad c = \frac{\overline{BP}}{\overline{BC}} \cdot \frac{b_0}{2}. \quad (8)$$

Damit ist auch die gesuchte Bindungskonstante β zugänglich.

2.2 Exzeß-Extinktions- und reduzierte Extinktions-Diagramme

Mit Hilfe dieser Diagramme kann auf graphischem Weg in einfacher Weise geprüft werden, ob das Titrationssystem aus nur *einem* Assoziationsgleichgewicht besteht. Dazu wird nachfolgend die Exzeß-Extinktion A_λ^E [10, 11] durch die Differenz

$$A_\lambda^E = A_\lambda - d b_0 \varepsilon_{\lambda B} \quad (9)$$

definiert. Aus (2) und (4) folgt dann für A_λ^E :

$$A_\lambda^E = d(\varepsilon_{\lambda C} - 2\varepsilon_{\lambda B}) c. \quad (10)$$

Stellt man diese Gleichung für die Wellenlängen 1 und 2 auf und dividiert beide Gleichungen durcheinander, so erhält man nach Umstellung

$$A_1^E = \frac{\varepsilon_{1C} - 2\varepsilon_{1B}}{\varepsilon_{2C} - 2\varepsilon_{2B}} A_2^E. \quad (11)$$

Im Exzeß-Extinktions-Diagramm A_1^E vs. A_2^E liegen demnach alle Punkte des Titrationssystems $2B \rightleftharpoons C$ auf einer Nullpunktsgrenzen. Bei der Konstruktion dieses Diagrammes wird $\varepsilon_{\lambda B}$ als bekannt vorausgesetzt.

Ist $\varepsilon_{\lambda B}$ unbekannt, so kann das reduzierte Extinktions-Diagramm herangezogen werden. Durch Umstellen von (11) erhält man

$$\frac{A_1}{d b_0} = \gamma_1 \frac{A_2}{d b_0} + \gamma_2 \quad (12)$$

mit

$$\gamma_1 = \frac{\varepsilon_{1C} - 2\varepsilon_{1B}}{\varepsilon_{2C} - 2\varepsilon_{2B}} \quad \text{und} \quad \gamma_2 = \frac{\varepsilon_{2B} \varepsilon_{1C} - \varepsilon_{1B} \varepsilon_{2C}}{2\varepsilon_{2B} - \varepsilon_{2C}}.$$

Demnach liegen auch im reduzierten Extinktions-Diagramm $\frac{A_1}{d b_0}$ vs. $\frac{A_2}{d b_0}$ alle Titrationspunkte des

Systems $2B \rightleftharpoons C$ auf einer Geraden. Die Titrationspunkte liegen dabei zwischen zwei Grenzpunkten mit den Koordinaten

$$\left. \frac{A_\lambda}{d b_0} \right|_{b_0 \rightarrow 0} = \varepsilon_{\lambda B}, \quad \left. \frac{A_\lambda}{d b_0} \right|_{b \rightarrow \infty} = \frac{\varepsilon_{\lambda C}}{2}, \quad (13)$$

wie man zeigen kann. – Das reduzierte Extinktions-Diagramm wurde ursprünglich von H. Mauser für die kinetische Analyse von Reaktionen eingeführt [6].

3. Meßbeispiel Eosin

In Abb. 3 sind Spektren von Eosin im Konzentrationsintervall $2,5 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ M in 0,1 N NaOH dargestellt. Mit zunehmender Eosinkonzentration (b_0 -Titration) wird neben dem Maximum der Monomerenbande bei 520 nm eine Schulter zwischen 480–510 nm zunehmend deutlicher beobachtet, die vom Dimerenmaximum herrührt [12]. Das aus den bei verschiedenen b_0 -Werten konstruierte Extinktions-Diagramm zeigt Abb. 4. Die Meßpunkte (P) liegen auf einer deutlich gekrümmten Kurve. Da $\varepsilon_{\lambda B}$ bei kleinen Konzentrationen ($1 \cdot 10^{-5}$ M) bestimmt werden kann, können die zu den verschiedenen b_0 -Werten gehörenden Punkte B berechnet werden, die man erhalten würde, wenn kein Dimer gebildet würde. Die konstruierten Geraden BP sind nahezu parallel – in Übereinstimmung zum Kap. 2.1.

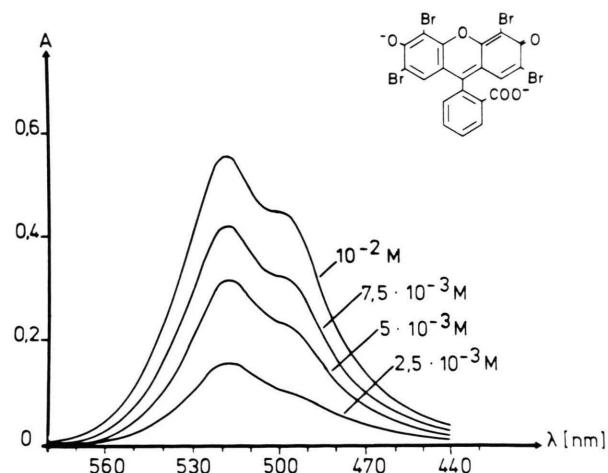


Abb. 3. Absorptionsspektren von Eosin in 0,1 N NaOH ($d = 0,001$ cm, Zimmertemperatur).

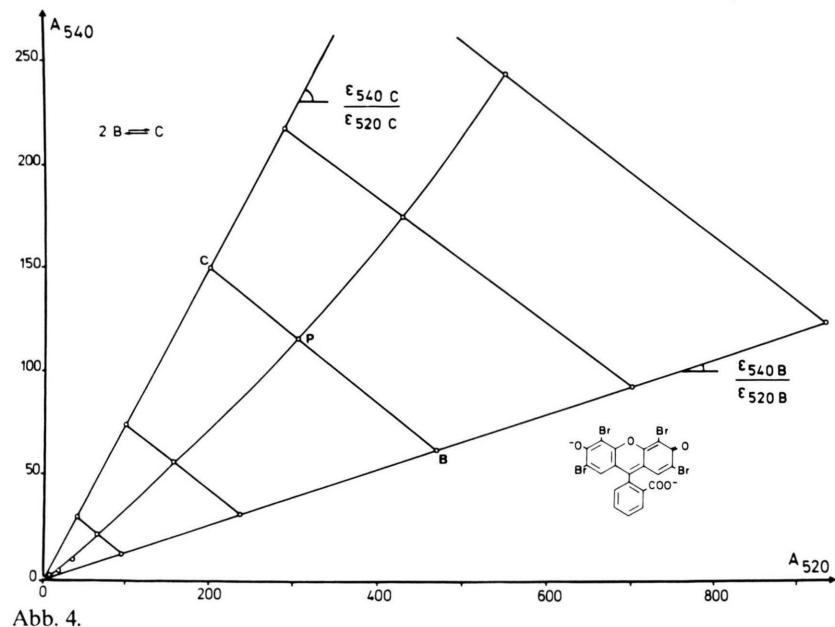


Abb. 4.

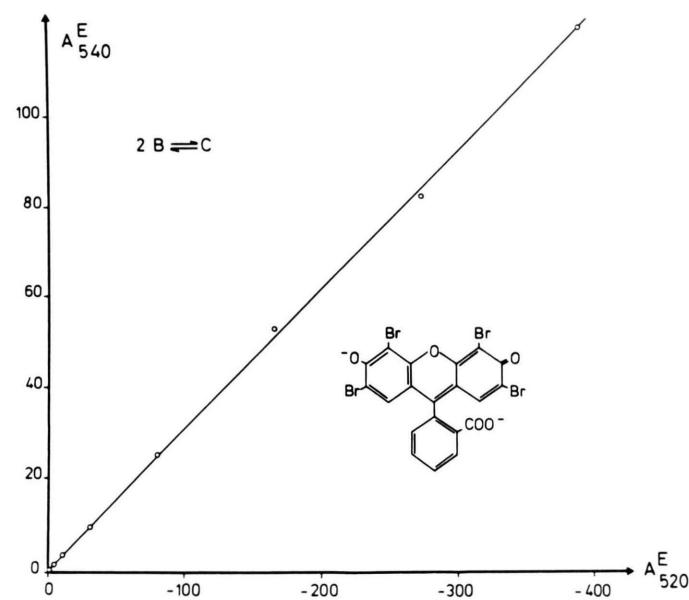


Abb. 5.

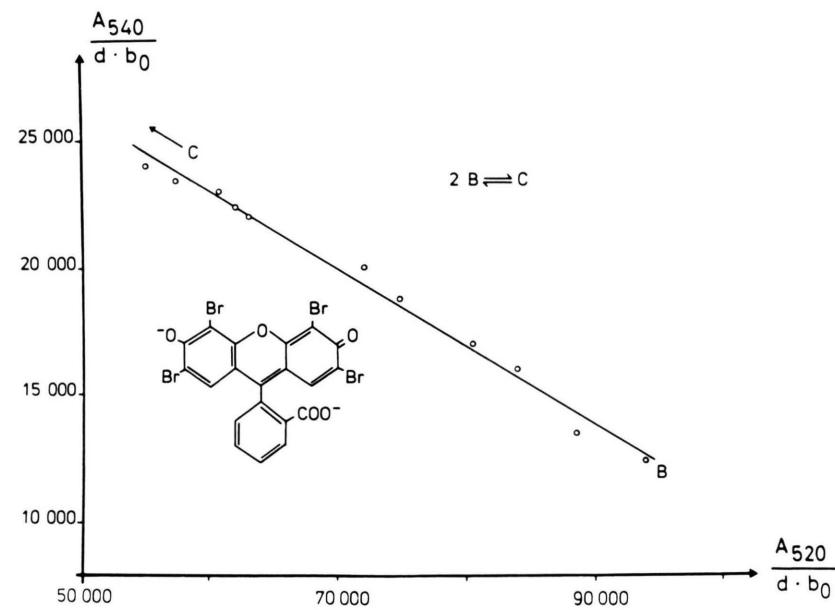


Abb. 6.

Abb. 4. Extinktionsdiagramme der b_0 -Titration von Eosin in 0,1 N NaOH (untersuchter Konzentrationsbereich: $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ M; Küvettenschichtdicken: 1; 0,1; 0,01; 0,001 cm; Zimmertemperatur; die Extinktion ist hier auf die Schichtdicke $d = 1$ cm bezogen).

Abb. 5. Exzeß-Extinktions-Diagramm der b_0 -Titration von Eosin in 0,1 N NaOH (bezogen auf $d = 1$ cm).

Abb. 6. Reduziertes Extinktions-Diagramm der b_0 -Titration von Eosin in 0,1 N NaOH.

Zur Bestimmung von β wurde von der Gleichung

$$A_1 = \frac{\varepsilon_{1B}}{\varepsilon_{2B}} A_2 - \frac{1}{\alpha_3} \left(A_1 - \frac{\varepsilon_{1C}}{\varepsilon_{2C}} A_2 \right)^2 \quad (14)$$

ausgegangen. Die Koeffizienten α_3 und α_2 ($= -2\varepsilon_{1C}/\varepsilon_{2C}$) wurden durch nicht-lineare Regression mit Hilfe des SPSS 8 Statistik-Programm-Systems [13] ermittelt. Dabei wurden ε_{1B} und ε_{2B} als bekannte Größen eingesetzt.

Die Schnittpunkte der Parallelenschar \overline{BP} mit der Nullpunktsgeraden (der Steigung $\varepsilon_{1C}/\varepsilon_{2C}$) liefern die Punkte C (s. Abbildung 4). Damit können die Konzentrationen b und c nach (8) und somit auch β bestimmt werden. Als Mittelwert für β findet man so den Wert

$$\beta = 400 \text{ l/Mol.}$$

Den gleichen Wert finden auch Förster und König [12].

In den Abb. 5 und 6 sind die entsprechenden Exzeß-Extinktions- bzw. reduzierten Extinktions-Diagramme dargestellt. Wie man sieht, machen sich im reduzierten Extinktions-Diagramm Meßfehler stärker bemerkbar als im Exzeß-Extinktions-

Diagramm. Dies hat Bedeutung für die Konstruktion der sog. reduzierten Extinktionsdifferenzen-Quotienten- sowie der Exzeß-Extinktions-Quotienten-Diagramme, die für die Analyse höherer Assoziationsgleichgewichte in Betracht kommen [7].

4. Experimenteller Teil

Eosin G (reinst, Serva); 0,1 N NaOH (Titrisol Merck). Die spektrophotometrischen Messungen wurden mit einem Zeiss-Spektralphotometer (DMR 21, am Inst. für Physikalische und Theoretische Chemie der Univ. Tübingen) sowie mit einem Spektralphotometer der Fa. Perkin Elmer (Modell 555) durchgeführt. Küvetten (Fa. Hellma): 1; 0,1; 0,01; 0,001 cm.

Die nicht-lineare Regressionsanalyse wurde am Leibniz-Rechenzentrum der Bayerischen Akademie der Wissenschaften an der TU München durchgeführt. Dazu wurde das SPSS 8 Statistik-Programm-System eingesetzt.

Frau J. Konstanczak sowie Frau G. Roth habe ich für technische Hilfleistungen sehr herzlich zu danken.

- [1] M. E. Lamm u. M. Neville, *J. Phys. Chem.* **69**, 3872–3877 (1965).
- [2] T. Kurucsev u. U. P. Strauss, *J. Phys. Chem.* **74**, 3081–3085 (1970).
- [3] R. E. Ballard u. C. H. Park, *J. Chem. Soc.* **1970 A**, 1340–1343.
- [4] C. A. Brignoli u. H. Devoe, *J. Phys. Chem.* **82**, 2570 (1978).
- [5] P. Hampe u. D. Fassler, *Z. Phys. Chem. Leipzig* **23**, 111–116 (1982).
- [6] H. Mauser, *Formale Integration*, Bertelsmann Universitätsverlag, Düsseldorf 1974.
- [7] J. Polster u. H. Lachmann, *Spectrometric Titration*, Verlagsgesellschaft VCH, Weinheim, vorauss. 1987.
- [8] J. Polster, *Talanta* **31**, 113–116 (1984).
- [9] J. Konstanczak u. J. Polster, *Z. Naturforsch.* **41a**, 1352 (1986).
- [10] P. Job, *Ann. Chim. Paris* **9**, 113 (1928).
- [11] H. L. Schäfer, *Komplexbildung in Lösung*, Springer-Verlag, Berlin 1961.
- [12] Th. Förster u. E. König, *Z. Elektrochem.* **61**, 344–348 (1957).
- [13] N. H. Nie u. H. Hull, *SPSS 8, Statistik-Programm-System für die Sozialwissenschaften*. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1980.