

Ćwiczenie nr 10

WYZNACZANIE STAŁEJ DYSOCJACJI BŁĘKITU BROMOTYMOŁOWEGO METODĄ SPEKTROFOTOMETRII ABSORPCYJNEJ

I. Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest wyznaczenie przy pomocy metody spektrofotometrycznej stałej dysocjacji słabo dysocjującego związku barwnego będącego zarówno w formie zdysocjowanej i niezdisocjowanej oraz jego punktu izozbestycznego.

II. Zagadnienia wprowadzające

1. Właściwości optyczne substancji.
2. Absorpcja promieniowania elektromagnetycznego.
3. Oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z materią.
4. Prawa Lamberta-Beera.
5. Odchylenia od prawa Lamberta-Beera.

Literatura obowiązuująca:

1. E. Szyszko, „*Instrumentalne metody analityczne*”, PZWL, 1982.
2. J. Minczewski, Z. Marczenko, „*Chemia analityczna*”, PWN, 1987.
3. Praca zbiorowa, „*Chemia fizyczna*”, PWN, 1980.
4. G.M. Barrow, „*Chemia fizyczna*”, PWN, 1973.
5. E. Szymański, „*Ćwiczenia laboratoryjne z chemii fizycznej*”, cz.1, Wyd. UMCS Lublin 1991.

III. Część teoretyczna

III. 1. Wprowadzenie

Oddziaływanie światła (rozumianego tu jako strumień fotonów) z materią (czyli zbiorem atomów lub cząsteczek) opisujemy przy pomocy następujących procesów:

- emisji spontanicznej, w wyniku, której foton emitowany jest samorzutnie przez wzbudzony atom,
- emisji wymuszonej, w wyniku, której foton oddziałujący ze wzbudzonym atomem wymusza emisję identycznego fotonu przez ten atom,
- absorpcji, w wyniku, której foton zostaje pochłonięty przez atom, a ten przechodzi w stan wzbudzony.

Aby światło było absorbowane przez materię energia fotonów musi odpowiadać różnicy energii poziomów energetycznych w atomach lub cząsteczkach, z którymi oddziałuje (energia fotonów jest bezpośrednio związana z długością fali światła lub, inaczej mówiąc, z jego barwą). Wykorzystuje się to do identyfikacji nieznanymi substancji, poprzez badanie absorpcji światła o różnych długościach fali w próbkach tych substancji – jest to tzw. absorpcyjna analiza spektroskopowa.

Pierwszy czynnik opisywany jest tzw. współczynnikiem absorpcji a , natomiast drugi – tzw. koncentracją c , czyli liczbą atomów lub cząsteczek znajdujących się w określonej objętości. Możemy to sobie wyobrazić na przykładzie barwnika rozpuszczonego w bezbarwnej cieczy (np. wodzie) – roztwór taki będzie tym ciemniejszy (czyli tym bardziej będzie absorbował światło) im silniej sam barwnik będzie absorbował światło oraz im więcej barwnika rozpuścimy. Fakt ten pozwala mierzyć stężenia różnych substancji rozpuszczonych w cieczach (np. zanieczyszczeń wody) poprzez badanie absorpcji takiego roztworu.

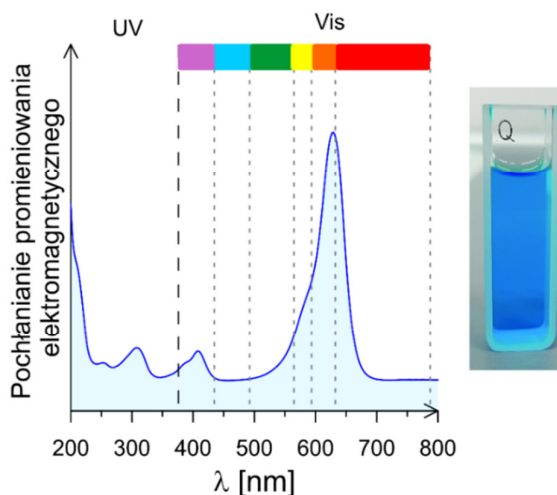
Ilość materii, z którą oddziałuje światło, zależy oczywiście również od drogi, którą światło przebywa w ośrodku. Jeśli światło przechodzi przez ośrodek o pewnej grubości, to im grubszy jest ten ośrodek, tym więcej światła zostanie zaabsorbowane. W tym miejscu potrzebujemy wielkości, która pozwoli jednoznacznie określać „ilość światła”. Nazywamy ją natężeniem światła, a definiujemy jako moc fali świetlnej padającej na jednostkę powierzchni.

Zazwyczaj (to jest, nie przy bardzo dużych natężeniach światła) mamy do czynienia z tzw. liniową absorpcją światła, to znaczy – natężenie światła zaabsorbowanego przez ośrodek o danej grubości jest wprost proporcjonalne do natężenia światła padającego na ten ośrodek.

Analiza kolorymetryczna wykorzystuje zjawisko pochłaniania, (czyli absorpcji) światła przez roztwory do ilościowego oznaczania substancji barwnych,

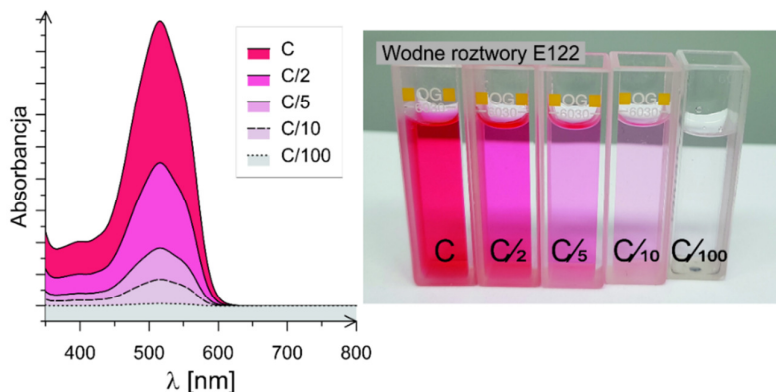


które mogą powstać w wyniku reakcji oznaczanego składnika z odpowiednim odczynnikiem. Jeżeli światło pochłaniane odpowiada długości fali z zakresu 400-760 nm. to roztwór pochłaniający je jest barwny. Obserwowany kolor roztworu, jest kolorem dopełniającym z tzw. koła barw. Przykładowo wodny roztwór błękitu brylantowego FCF (dodatek spożywczy oznaczany jako E133) pochłania głównie „pomarańczową składową” światła białego, stąd jego kolor postrzegany jest jako niebieski (rys. 1.)



Rys. 1. Widmo absorpcyjne wodnego roztworu E133.

Intensywność zabarwienia zależy od stężenia roztworu i jest wykorzystywana do oznaczania ilości substancji rozpuszczonej w badanym roztworze (rys. 2.).



Rys. 2. Widmo absorpcyjne wodnego roztworu azorubiny (E122). Im wyższe stężenie barwnika, tym intensywniejszy kolor roztworu, tym większe (wyższe) pasma na widmie absorpcyjnym. Należy zwrócić uwagę, że wielkość absorbancji w zakresie od 450 nm do 600 nm, zmienia się proporcjonalnie do stężenia substancji absorbującej. Najczęściej w analitycznych zastosowaniach wybiera się λ , przy którym $A = A_{\max}$, taki wybór korzystnie wpływa na czułość metody.





Istnieje wiele sposobów pomiaru intensywności zabarwienia roztworów. We wszystkich tych przypadkach wykorzystuje się te same prawa absorpcji światła przez roztwór.

III. 2. Prawa absorpcji

Podczas badania pochłaniania światła przez roztwór, ten ostatni umieszcza się w przezroczystym naczyniu zwanym kuwetą. Najczęściej kuweta ma przekrój prostokątny, a jej ścianki są do siebie równoległe. Jeżeli założymy, że na jedną ze ścianek kuwety pada strumień światła o natężeniu I_0 , to światło to zostaje częściowo odbite od powierzchni kuwety (I_r), częściowo zaabsorbowane przez substancję, rozpuszczoną w roztworze znajdującym się w kuwecie (I_a), a pozostała jego część przechodzi przez kuwetę z roztworem. Tak więc możemy przyjąć, że:

$$I_0 = I_r + I_a + I \quad (1)$$

Ponieważ kuwety są wykonane z bardzo przezroczystych materiałów (szkło lub kwarc), to odbicie światła od powierzchni kuwet jest bardzo małe i można założyć, że $I_r = 0$, wówczas równanie (1) można uprościć:

$$I_0 = I_a + I \quad (2)$$

Z wielkości występujących w tym równaniu, zmierzyć można I_0 i I . Część światła, które zostało zaabsorbowane, można obliczyć z różnicy $I_0 - I$.

Jest rzeczą oczywistą, że pochłanianie światła zależy od grubości warstwy pochłaniającej. Podstawowym prawem formułującym tę zależność jest prawo podane przez Lamberta.

Zgodnie z tym prawem, warstwy takiego samego roztworu o jednakowej grubości w identycznych warunkach pochłaniają zawsze taką samą część padającego na nie promieniowania. Prawo Lamberta wyrażamy wzorem:

$$I = I_0 e^{-al} \quad (3)$$

gdzie: I – oznacza natężenie promieniowania przepuszczonego, I_0 – natężenie promieniowania padającego, l – grubość warstwy absorbującej, a – współczynnik absorpcji charakterystyczny dla substancji pochłaniającej światło, e – podstawę logarytmów naturalnych.

Jednakże absorpcja światła zależy również od stężenia substancji absorbującej w roztworze. Beer, obserwując absorpcję światła przez roztwory barwne o różnym stężeniu, stwierdził, że absorpcja światła jest proporcjonalna do stężenia substancji pochłaniającej w roztworze.

Zależność między natężeniem światła padającego na warstwę roztworu o grubości l i stężeniu c można przedstawić wzorem:



$$I = I_0 e^{-\varepsilon' cl} \quad (4)$$

W równaniu tym natężenie światła przechodzącego uzależnione jest od grubości warstwy pochłaniającej, od stężenia substancji pochłaniającej oraz od natężenia promieniowania padającego. Równanie to jest znane jako prawo Lamberta-Beera.

Po przekształceniu powyższej zależności otrzymujemy:

$$\ln \frac{I}{I_0} = -\varepsilon' cl \quad (5)$$

czyli:

$$\ln \frac{I_0}{I} = \varepsilon' cl \quad (6)$$

Wprowadzając logarytm dziesiętny otrzymujemy:

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon cl = A \quad (7)$$

Wielkość A nazywamy absorpcją roztworu lub absorbcją, zaś współczynnik ε – molowym współczynnikiem absorbcji, jeśli stężenie c wyrażone jest w molach/dm³.

Molowy współczynnik absorbcji można, zatem zdefiniować jako absorpcję w warstwie 1cm roztworu o stężeniu 1 mol/dm³.

Stosunek natężenia promieniowania przepuszczonego przez roztwór do natężenia promieniowania padającego nazywamy transmitancją (przepuszczalnością) i oznaczamy przez T . Z definicji tej wynika, że:

$$A = -\log T \quad (8)$$

Prawo Lamberta-Beera odnosi się do przypadku, gdy w roztworze znajduje się jedna substancja absorbująca.

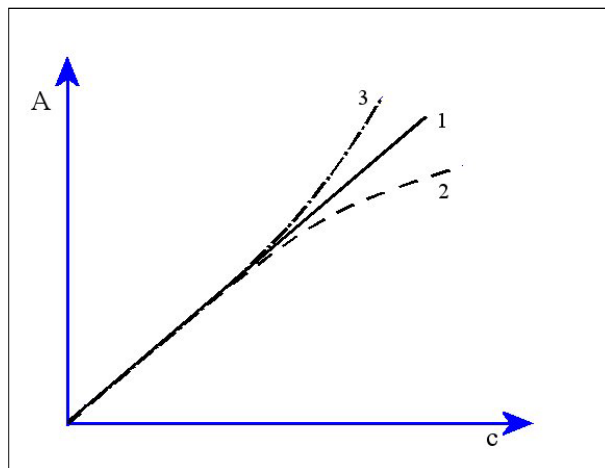
Prawo addytywności absorpcji dotyczy przypadku, gdy w próbce znajduje się n różnych substancji, charakteryzujących się odpowiednio stężeniami c_1, c_2, \dots, c_n oraz molowymi współczynnikami absorpcji $\varepsilon_1, \varepsilon_2, \dots, \varepsilon_n$.

Absorpcja próbki jest wtedy równa sumie absorpcji poszczególnych składników:

$$A = \varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 + \dots + \varepsilon_n c_n \quad (9)$$

Prawa absorpcji w odniesieniu do roztworów są spełniane tylko wtedy, kiedy w tych roztworach nie zachodzą żadne reakcje między substancją absorbującą a rozpuszczalnikiem oraz między cząsteczkami substancji absorbującej.





Rys. 3. Krzywe $A = f(c)$ w zależności od stosowania lub niestosowania się układu do prawa Lamberta-Beera.

Gdy układ absorbujący spełnia prawo Lamberta-Beera, zależność między absorpcją A i stężeniem roztworu c przedstawia linia prosta, przechodząca przez początek układu współrzędnych (linia prosta 1 na rys. 3.). Otrzymanie w wyniku pomiarów krzywych typu 2 lub 3 wskazuje, że układ w danych warunkach pomiarowych nie stosuje się do prawa Lamberta-Beera.

Odstępstwa od tego prawa mogą być spowodowane albo zmianami chemicznymi roztworu, zachodzącymi w miarę zmian stężenia, albo warunkami pomiaru wykonanego za pomocą mało precyzyjnego przyrządu.

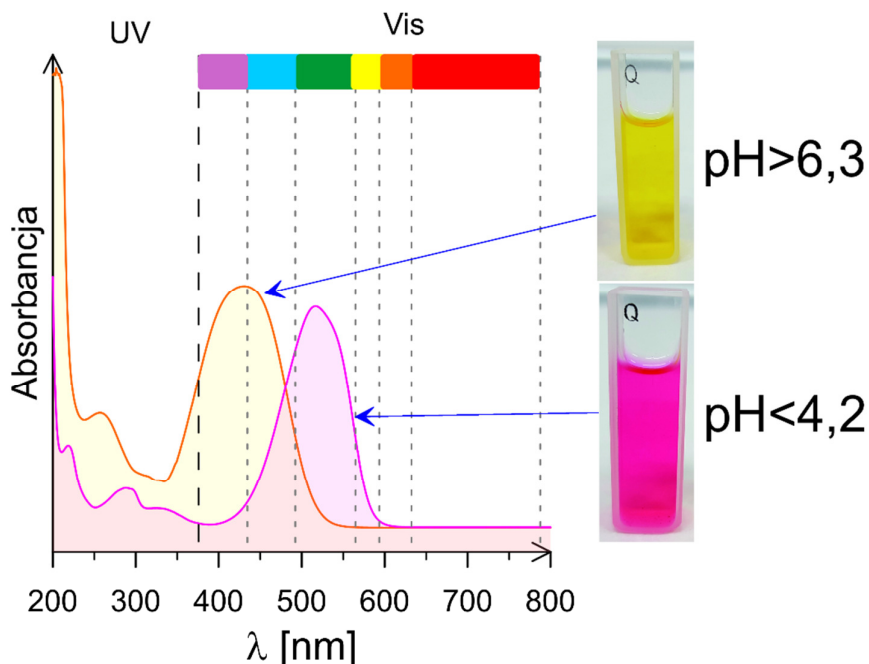
Chemiczne odstępstwa wynikają z reakcji przebiegających w roztworze absorbującym w miarę wzrostu stężenia składnika oznaczanego. Zachodzą wtedy reakcje polimeryzacji lub kondensacji cząsteczek lub jonów absorbujących (zmienia się zatem stężenie składnika), reakcje między jonem (cząsteczką) absorbującym i rozpuszczalnikiem albo, w przypadku układów wieloskładnikowych, dodatkowe reakcje między poszczególnymi składnikami.

Odstępstwa od prawa Lamberta-Beera wynikające ze sposobu przeprowadzania pomiaru absorpcji są spowodowane stosowaniem nie wystarczająco monochromatycznego promieniowania. Współczynnik ϵ zależy w istotny sposób od monochromatyczności promieniowania, dlatego na ogół pomiary absorpcyjometryczne wykonane za pomocą fotokolorymetrów z filtrami są mniej czułe niż pomiary za pomocą spektrofotometrów, w których wykorzystuje się bardzo wąską, praktycznie monochromatyczną wiązkę promieniowania.

III. 3. Widma absorpcji wskaźników pH

Mianem wskaźnika pH lub wskaźnika kwasowo-zasadowego (wskaźnika alkacymetrycznego) najczęściej określa się substancje chemiczne z grupy słabych organicznych kwasów lub zasad, które w wyniku reakcji z jonami hydroksylowymi

lub wodorowymi (hydroniowymi) w roztworze wodnym zmieniają swój kolor (a dokładniej, w wyniku reakcji zmienia się kolor ich roztworu). Zmieniający się kolor roztworu wskaźnika, pozwala łatwo określić charakter kwasowo-zasadowy badanej cieczy. Przykładem takiego wskaźnika jest czerwień metylowa. Kwaśny roztwór tego związku chemicznego ma barwę czerwoną, zaś roztwór zasadowy jest żółty. Jak już wcześniej wspomniano obserwowana barwa jest ściśle związana z zakresem w jakim promieniowanie elektromagnetyczne jest pochłaniane przez daną substancję (rys. 4.)



Rys. 4. Widmo absorpcji w zakresie UV-Vis czerwieni metylowej w pH kwaśnym oraz w pH zasadowym. Roztwór kwaśny pochłania „zieloną składową” światła białego i stąd jego kolor jest postrzegany jako czerwony lub malinowy.

Należy przy tym zauważyć, że o ile wykresy $A = f(c)$ dla rozcieńczonych roztworów substancji wykazujących absorpcję w zakresie UV-Vis zgodnie z prawem Lamberta-Beera mają charakter liniowy, o tyle wykresy $A = f(\lambda)$ dla tych samych substancji w całym zakresie UV-Vis (tj. od 200 nm do 800 nm) nigdy nie mają kształtu funkcji liniowej. Wykreślone zależności $A = f(\lambda)$ noszą nazwę widm lub krzywych absorpcji i zależą od struktury chemicznej substancji absorbujących obecnych w roztworze.

Postrzeganie barw i kolorów może znacząco zależeć od obserwatora. Stąd wykorzystanie spektrofotometru UV-Vis, przyrządu, który w sposób obiektywny i powtarzalny określi pochłanianie promieniowania elektromagnetycznego z danego zakresu jest bardzo cenne i ma charakter uniwersalny.





IV Część doświadczalna

A. Aparatura i odczynniki

1. Aparatura:

- spektrofotometr Vis METASH V-5000
- kuwety o grubości $d = 10$ mm – 2 szt.,
- kolby miarowe (lub erlenmajerki ze szlifem) o poj. 50 cm^3 – 8 szt.,
- pipety miarowe 2 cm^3 – 1 szt.,
- pipety miarowe 20 cm^3 – 7 szt.

2. Odczynniki:

- roztwór podstawowy błękitu bromotymolowego (tymolosulfoftaleiny) ($200\text{ mg}/500\text{ cm}^3$, $M_{\text{mol}} = 624,39\text{ g/mol}$),
- bufony o $\text{pH} = 2,02; 4,80; 5,90; 6,90; 7,60; 8,68; 10,17$.

B. Obsługa spektrofotometru Vis METASH V-5000

Włączyć zasilanie przyrządu na 20 minut przed rozpoczęciem serii pomiarów. Przycisk znajduje się w prawym dolnym rogu na tylnej obudowie aparatu.



Rys. 5. Spektrofotometr Vis METASH V-5000



C. Przygotowanie roztworów

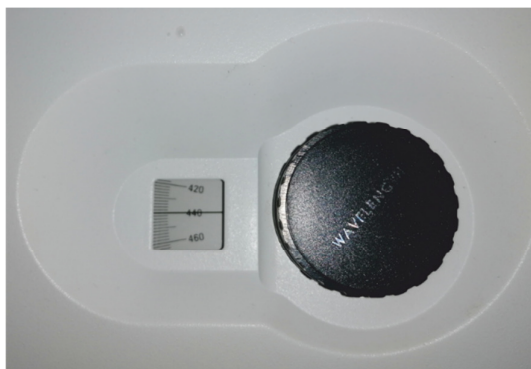
Przygotować 7 roztworów błękitu bromotymolowego w przedziale pH od około 2 do 10 wg załączonej tabeli.

Tabela 1. Skład badanych roztworów

nr roztworu	objętość wyjściowego roztworu błękitu bromotymolowego [cm ³]	objętość roztworu buforowego [cm ³]	pH roztworu buforowego
1	2	18	2,02
2	2	18	4,80
3	2	18	5,90
4	2	18	6,90
5	2	18	7,60
6	2	18	8,68
7	2	18	10,17

D. Przeprowadzenie pomiarów absorbancji dla wybranych długości fal

1. Wymyć bardzo starannie (kolejno: wodą z detergentem, wodą z kranu, wodą destylowaną) 8 kuwet. Jedną z nich napełnić wodą destylowaną, a pozostałe kuwety napełnić sporządzonymi roztworami 1 – 7, uprzednio przepłukując kuwetkę badanym roztworem.
2. Pomiary dla każdego roztworu należy przeprowadzić w zakresie długości fal $\lambda = 440 \text{ nm} - 700 \text{ nm}$ co 10 nm w celu uzyskania widma absorpcji dla roztworów o danym pH oraz wyznaczenia punktu izozbestycznego. Do ustawienia żądanej długości fali służy czarne pokrętło znajdujące się na przednim panelu aparatu (Rys. 6).



Rys. 6. Pokrętło do regulacji długości fali.





3. Po ustawieniu odpowiedniej długości fali, kuwetę z wodą oraz kuwetę z trzema roztworami o nr. od 1 do 3 należy umieścić w celi pomiarowej w której znajdują się cztery stanowiska (Rys. 7). Czarny uchwyt znajdujący się po lewej stronie aparatu służy do ustawienia wybranej kuwety w drodze optycznej wiązki światła.



Rys. 7. Cella pomiarowa i jej wnętrze z zaznaczoną drogą optyczną wiązki światła (biała przerywana linia).

4. Po zamknięciu celi pomiarowej należy na panelu spektrofotometru wcisnąć przycisk MODE do czasu podświetlenia czerwonej diody przy literce A (Rys. 8). Po upewnieniu się, że w drodze optycznej znajduje się kuweta z wodą należy jednokrotnie wcisnąć przycisk 0ABS/100%T (przycisk z grotem skierowanym w dół).



Rys. 8. Przedni panel spektrofotometru z przyciskami funkcyjnymi.

5. Urządzenie jest gotowe do pracy gdy na wyświetlaczu LCD pojawi się wartość zero z dokładnością do trzech miejsc po przecinku.
6. Nie zmieniając ustawień aparatu, należy zmierzyć absorbancję dla wszystkich sporządzonych roztworów umieszczając je kolejno w drodze optycznej aparatu,



a otrzymany wynik zapisać. Po wykonaniu pomiarów dla 3 pierwszych roztworów, kolejne cztery należy umieścić w celi pomiarowej, odczytać wartość absorbancji dla każdego z nich (nie zmieniając ustawień spektrofotometru) oraz zapisać otrzymane wyniki.

- Po zakończeniu pomiarów dla danej długości fali, należy powtórzyć kolejno wszystkie czynności od punktu 2 do 6, zmieniając co 10 nm długość fali przy której prowadzone są pomiary.

F. Opracowanie wyników

Błękit bromotymolowy przybiera w zależności od pH różne zabarwienia. Poniżej pH 4 występuje praktycznie jego niezdysocjowana forma kwasowa zabarwiona na żółto, natomiast dla pH > 10 występuje on praktycznie w zdysocjowanej formie soli o zabarwieniu niebieskim. Przy pośrednich wartościach pH obecne są w roztworze obie wymienione formy błękitu bromotymolowego, przy czym ich stosunek ilościowy (a więc i barwa roztworu) zależy od wartości pH roztworu.

Schematycznie dysocjację błękitu bromotymolowego, który jest słabym kwasem możemy przedstawić przy pomocy równania:



Stałą dysocjacji można wyrazić przy pomocy równania:

$$K_c = \frac{c_{A^-} \cdot c_{H^+}}{c_{HA}} \quad (11)$$

Stężenie jonów wodorowych jest znane i jest równe stężeniu jonów wodorowych w stosowanych roztworach buforowych. Po zlogarytmowaniu równania (11) otrzymujemy wyrażenie:

$$\log K = -pH + \log \left(\frac{c_{A^-}}{c_{HA}} \right) \quad (12)$$

Do wyznaczenia stosunku $\left(\frac{c_{A^-}}{c_{HA}} \right)$ wykorzystuje się pomiary spektrofotometryczne.

Absorpcja promieniowania przez roztwór zależy między innymi od długości fali przechodzącej przez roztwór. Miarą absorpcji promieniowania jest absorbancja A. Wielkość tę możemy obliczyć z prawa Lamberta Beera (równanie 7). Ponieważ w naszych pomiarach $l = 1$ równanie (7) redukuje się do prostego wyrażenia:

$$A = \varepsilon \cdot c \quad (13)$$

Wartość współczynnika ε zależy od doboru jednostek stężenia oraz od długości absorbującej się fali. Dlatego też wartość A zmienia się wraz ze zmianą długości fali. Zależność $A = f(\lambda)$ nazywamy widmem absorpcyjnym danego związku.





W kwaśnych roztworach błękitu bromotymolowego (dla $\text{pH} < 4$) w roztworze istnieje praktycznie tylko forma kwasowa HA badanego związku. Wartość absorbancji jest więc równa:

$$A = \varepsilon_{HA} \cdot c_{HA} \quad (14)$$

gdzie: ε_{HA} – molowy współczynnik absorpcji dla kwasowej formy błękitu bromotymolowego, c_{HA} – stężenie błękitu bromotymolowego [mol/dm^3].

Wraz ze zmianą pH roztworu zmienia się charakter widma absorpcyjnego barwnika w związku ze zmianą stężeń jego formy kwasowej i zasadowej. Dla błękitu bromotymolowego pomiędzy wartościami pH 4 – 10 współistnieje forma kwasowa i zasadowa związku. Absorbancja takiego roztworu jest równa w myśl trzeciego prawa Lamberta Beera sumie absorbancji formy kwasowej i zasadowej:

$$A = A_{HA} + A_{A^-} \quad (15)$$

gdzie:

$$A_{HA} = \varepsilon_{HA} \cdot c_{HA} \quad (16a)$$

$$A_{A^-} = \varepsilon_{A^-} \cdot c_{A^-} \quad (16b)$$

a więc:

$$A = \varepsilon_{HA} \cdot c_{HA} + \varepsilon_{A^-} \cdot c_{A^-} \quad (17)$$

Wartość ε_{HA} i ε_{A^-} możemy obliczyć na podstawie równania 7 i z pomiarów absorbancji o $\text{pH} = 2,02$ (wartość ε_{HA}) i $\text{pH} = 10,17$ (wartość ε_{A^-}). W roztworach tych jak nadmieniono wcześniej istnieje tylko jedna forma barwnika.

Otrzymana z pomiaru spektrofotometrycznego wartość absorbancji roztworów o różnym pH jest równa:

$$A = \varepsilon_r \cdot c \quad (18)$$

gdzie: $c = c_{HA} + c_{A^-}$ - jest równe stężeniu roztworu błękitu bromotymolowego w kolbce, ε_r - jest molowym współczynnikiem absorpcji badanego roztworu. Jego wartość uzależniona jest od stosunku stężeń formy kwasowej do zasadowej.

Z równania 17 i 18 otrzymujemy:

$$\varepsilon_{HA} c_{HA} + \varepsilon_{A^-} c_{A^-} = \varepsilon_r (\varepsilon_{HA} - \varepsilon_r) \quad (19a)$$

a po przekształceniu otrzymujemy wyrażenie:

$$c_{A^-} (\varepsilon_r - \varepsilon_{A^-}) = c_{HA} (\varepsilon_{HA} - \varepsilon_r) \quad (19b)$$

Z równań 20 i 19a wynika, że:

$$\frac{c_{A^-}}{c_{HA}} = \frac{\varepsilon_{HA} - \varepsilon_r}{\varepsilon_r - \varepsilon_{A^-}} \quad (20)$$



a więc wzór (12) na stałą dysocjacji można przedstawić na podstawie równania (11) przy pomocy wyrażenia:

$$\log K = -pH + \log \frac{\varepsilon_{HA} - \varepsilon_r}{\varepsilon_r - \varepsilon_{A^-}} \quad (21)$$

Tak więc na podstawie badań spektrofotometrycznych można w prosty sposób obliczyć wartości stałej dysocjacji błękitu bromotymolowego. Badania spektrofotometryczne mogą nam również dostarczyć informacji o rodzaju równowagi w roztworze słabego kwasu. Jeżeli krzywe widma absorpcyjnego zmierzonego dla różnych pH przetną się w jednym punkcie, który nazywamy punktem izobestycznym to fakt ten stanowi dowód, że pomiędzy obydwoma komponentami układu absorpcyjnego ustala się prosta równowaga, tzn. powstaje tylko jeden produkt końcowy. Wyjaśnienie tego zjawiska jest bardzo proste. Wartości ε_{HA} i ε_{A^-} zależą od długości fali i przybierają wartości zawarte pomiędzy zerem a pewną wartością maksymalną. Musi więc istnieć taka długość fali dla której wartości ε_{HA} i ε_{A^-} będą sobie równe, a więc wielkość A będzie niezależna od stosunku stężeń formy kwasowej i zasadowej błękitu bromotymolowego.

Wyniki pomiarów $A = f(\lambda)$ dla roztworów błękitu bromotymolowego o różnym pH przedstawić w formie tabeli:

dł. fali	pH = 2,02		pH = 4,80		pH = 5,90		pH = 6,90	
[nm]	A	ε_r	A	ε_r	A	ε_r	A	ε_r	
440									
450									
460									
(...)									
$\lambda_i - 40$									
$\lambda_i - 20$									
λ_i									
$\lambda_i + 40$									
$\lambda_i + 20$									
(...)									
700									

stężenie błękitu bromotymolowego =[mol/dm³]

Graficznie znajdujemy współrzędne punktu izobestycznego. W tym celu na jednym wykresie wykreślamy krzywe zależności $A = f(\lambda)$ dla różnych wartości pH. Punkt przecięcia się tych krzywych jest szukanym punktem izobestycznym.

Obliczamy wartości ε_r dla długości fali punktu izobestycznego (λ_i) oraz w zakresie od $\lambda_i - 40$ i $\lambda_i - 20$ nm do $\lambda_i + 20$ do $\lambda_i + 40$ nm zaś wartości K i pK dla: $\lambda = \lambda_i + 40$ nm, $\lambda_i + 20$ nm i $\lambda = \lambda_i - 40$ nm, $\lambda_i - 20$ nm.

Wartości ε_{A^-} i ε_{HA} obliczamy z równań (16a) i (16b) dla roztworów o pH równym pH = 2,02 i pH = 10,17.



Na podstawie uzyskanych wartości stałej dysocjacji dla danej długości fali obliczyć wartość średnią i porównać ją z wartościami K dla $\lambda = \lambda_i + 40$ nm i $\lambda = \lambda_i - 40$ nm oraz dla wartości $\lambda_i + 20$ nm i $\lambda_i - 20$ nm.

Uzyskaną wartość stałej dysocjacji błękitu bromotymolowego porównaj również z danymi dostępnymi w Internecie lub w księgozbiornicy biblioteki wydziałowej. Porównując stałe równowagi reakcji szczególną uwagę należy zwrócić na rząd wielkości porównywanych liczb.

W sprawozdaniu z przeprowadzonego eksperymentu należy zamieścić równanie reakcji dysocjacji błękitu bromotymolowego.

