

Závěr

Vláknový vodivostní detektor popsáný v této práci je charakteristický atypickým přístupem k řešení problému negativního vlivu separačního pole na vlastní signál vodivostního detektoru. Vlastnosti tohoto detektoru lze shrnout v několika bodech:

Detektor umožňuje vodivostní detekci přímo u ústí separační kapiláry a to při běžně užívaných hodnotách separačního napětí i při použití separačních kapilár o velkém vnitřním průměru i.d. > 70 μm , které jsou užívány pro rutinní analýzy.

Z provedených měření je zřejmé, že detektor nepřispívá k deformaci tvaru píku.

Vliv detektoru na snížení účinnosti separace je charakteristickým jevem u detektorů eliminujících vliv pole, u nichž je větší geometrický objem nutnou podmínkou.

Odezva detektoru byla ve studovaném oboru lineární funkcí koncentrace a její závislost na délce detekčního vlákna i průtokové rychlosti mobilní fáze vykazovaly očekávaný charakter.

Umístění detektoru ke konci kapiláry je velice snadné a délka detekčního vlákna je nastavena pomocí mikrometrického šroubu. V případě poškození separační kapiláry je snadná možnost přemístění detektoru ke kapiláře jiné. Též konstrukce detektoru je jednoduchá, neklade nároky na volbu speciálních materiálů, konstrukčních pomůcek ani schopnosti konstruktéra.

Autoři děkují za finanční podporu Fondu rozvoje vysokých škol, grant č. 1363/1998.

LITERATURA

1. Li S. F. Y.: *Capillary Electrophoresis — Principles, Practice and Applications*. Elsevier, Amsterdam 1992.
2. Ewing A. G., Mesáros J. M., Gavin P. F.: *Anal. Chem.* 66, 527A (1994).
3. Jandík P., Bonn G.: *Capillary Electrophoresis of Small Molecules and Ions*. VCH, Linz 1993.

P. Tůma, F. Opekar, and I. Jelínek (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague*): **Conductometric Detector for Capillary Electrophoresis Based on a Hydrophilic Strip**

A thin hydrophilic strip of cellophane is attached to the tip of the separation capillary so that the solution flowing from the capillary passes through the strip to the solution in the outlet vial. The conductivity of the strip is measured between a metallic contact to the strip and an auxiliary platinum electrode placed in the outlet vial solution. An interference of the measured signal with a separation electric field coming out from the capillary is eliminated in this arrangement. The detector was employed in determining potassium and sodium ions in mineral waters.

POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ KONSTANT STABILITY*

MARTIN KRONČÁK, VLADIMÍR KRÁL, TAŤANA V. ŠIŠKANOVÁ a RADKO VOLF

Ústav analytické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Došlo dne 12.III.1999

Klíčová slova: konstanty stability, potenciometrické stanovení

Úvod

Supramolekulární chemie, obor zabývající se studiem nekovalentních komplexů molekul, představuje novou interdisciplinární oblast na pomezí analytické chemie, organické chemie, fyzikální chemie a biochemie. Inspirována přírodou s jejím jedinečným souborem molekul, jež specificky komplexují se svými substráty na principu zámku a klíče, či nověji dle teorie indukovaného přizpůsobení, se snaží vytvářet receptory (ligandy), které jsou schopny selektivně komplexovat pouze jeden typ substrátu (analytu).

Pro takovéto látky se nabízí využití jako selektivní léčiva, či nosiče léků, při separaci složitých směsí látek a v neposlední řadě při detekci látek v analytické chemii. Různé ligandy zde nacházejí uplatnění v kapalinové chromatografii jako specifické stacionární fáze vzniklé fixací ligandu na vhodný polymerní sorbent. V optických metodách se využívá princip tzv. optod, kdy ligand fixovaný na nosiči mění v přítomnosti substrátu své optické vlastnosti. V neposlední řadě jsou to elektrochemické aplikace supramolekulárních ligandů, ty se zde využívají jako ionofory v membránových elektrodách¹, nebo jsou fixovány na povrch kovu v elektropolymerních iontově selektivních elektrodách² (ISE).

Membránové ISE sestávají ze svodové, většinou argenticchloridové elektrody, která je od vnějšího měřeného roztoku oddělena tenkou membránou. Ta je složena z PVC nosiče a vysokomolekulárního nepolárního rozpustidla (*orto*-nitrofenylloktylether, dioktylfthalát, dibutylsebakát a další), které tvoří prostředí komplexace. Kromě aktivního ligandu je též v malém množství v membráně přítomen lipofilní přídavek, který zlepšuje parametry elektrody.

Pro návrh optimálně fungující elektrody je třeba znát způsob a parametry komplexace systému ligand–substrát. Jedním z těchto parametrů je konstanta stability takového komplexu. Pro optimální funkci ISE nesmí být konstanta stability příliš malá, protože by nedocházelo ke komplexaci a ke vzniku měřeného potenciálu. A nesmí být též příliš velká, neboť by se ligand v membráně napevno vázal se substrátem a došlo by k jeho pasivaci³.

Vzhledem k významu konstant stability bylo vyvinuto mnoho metod pro jejich stanovení⁴. Nejobvyklejší jsou, kromě potenciometrického stanovení, NMR spektroskopie, UV/VIS spektrofotometrie, fluorimetrie, konduktometrie.

* Tato práce získala 3. cenu v soutěži odborných prací studentů analytické chemie 20. listopadu 1998 na VŠCHT v Praze

Pro výzkum ligandů pro ISE je vhodné zvolit potenciometrickou metodu stanovení, neboť ta umožňuje zjišťovat konstanty stability za stejných podmínek, či podmínek velice blízkým těm pro které byl daný ligand navržen a aplikován.

Určování konstant stability přímou potenciometrií a potenciometrickou titrací

Potenciometrie je metoda pomocí níž se zjišťuje potenciál elektrody, který je funkcí koncentrace substrátu v měřeném roztoku. Je-li substrát značen M a volná forma ligandu je protonovaná (HL^+), pak pro rovnováhu:

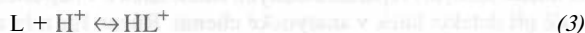


kde ML je komplex substrátu a ligandu, platí pro konstantu stability komplexu β vztah:

$$\beta = \frac{[ML] \cdot [H^+]}{[M] \cdot [HL^+]} \quad (2)$$

kde β je konstanta stability komplexu ML a M, HL^+ , ML a H^+ jsou rovnovážné koncentrace substrátu, protonovaného ligandu, komplexu a vodíkových iontů.

Analogicky platí obdobná rovnováha pro tvorbu protonované formy ligandu



a pro konstantu stability této protonované formy k_a platí:

$$k_a = \frac{[HL^+]}{[L] \cdot [H^+]} = \frac{1}{K_a} \quad (4)$$

kde L je koncentrace deprotonovaného ligandu a K_a je disociační konstanta. Dále je možno napsat hmotnostní bilanci:

$$c(M) = [M] + [ML] \quad (5)$$

$$c(L) = [L] + [ML] + [HL^+] \quad (6)$$

$$c(H^+) = [H^+] + [HL^+] \quad (7)$$

ve kterých je $c(M)$ celková koncentrace substrátu, $c(L)$ celková koncentrace ligandu a $c(H^+)$ celková koncentrace vodíkových iontů v roztoku. Z rovnic 2, 4, 5, 6, 7 je možno explicitně vyjádřit konstantu stability, případně lze tyto vztahy upravit pro jiný stechiometrický poměr. Tyto rovnice pro přímé měření jsou použitelné pro zjišťování konstant stability komplexu, ale výsledek je zpravidla zatížen značnou experimentální chybou. V případě neznámého poměru substrát-ligand obdržíme soustavu rovnic, jejíž řešení je výrazně složitější, zejména po numerické stránce a je potřeba naměřit více bodů, nejlépe titrační metodou. V literatuře je tento algoritmus podrobně popsán a k dispozici je specializovaný software, jenž je jeho aplikací.⁵

Přímé potenciometrické měření je vhodné pro pomalu se ustavující rovnováhy, kdežto titrace pro systémy, kde se rovnováha ustanovuje relativně rychle.

Výše popsané potenciometrické stanovení bylo použito na mnoho různých systémů ligand-substrát-referentní ion. Jeví se jako vhodná metoda pro stanovení za různých podmínek, zejména při použití iontově selektivních elektrod. Tyto elektrody jsou dostupné pro mnoho iontů, které je možno s výhodou použít jako referentní ionty (z kationtů např. H^+ , NH_4^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , z aniontů: Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}). Metoda je dále velice vhodná i pro stanovení konstant stability supramolekulárních komplexů. V literatuře je popsáno mnoho různých aplikací např. komplexace morfolinu a formaldehydu⁶, komplexace ATP různými organickými aminy a aminokyselinami lysinem a histidinem⁷.

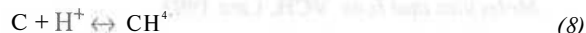
Metoda membrány se dvěma kompetitivními ionofory

Metoda měření konstant stability pomocí membránových ISE s membránou obsahující dva kompetitivní (soutěživé) ionofory⁸, je metodou, jejíž nespornou výhodou je snadnost měření zejména pro systémy s dobře známým mechanismem komplexace.

Tato metoda je založena na měření napětí článku sestávajícího z referentní a membránové iontově selektivní elektrody, jejíž membrána obsahuje dva ionofory. Hlavní ionofor komplexuje substrát z roztoku a vytváří zkoumaný komplex. Druhý referentní ionofor je selektivní pouze na referentní ionty. Potenciál výše uvedené elektrody se porovnává s iontově selektivní elektrodou, jejíž membrána obsahuje pouze referentní ionofor. Z rozdílu těchto potenciálů při konstantní koncentraci substrátu i referentního iontu je možno vypočítat konstantu stability.

U této metody je velice důležitý výběr vhodné dvojice referentní ion-referentní ionofor. Musí být splněna podmínka, že referentní ionofor nesmí vázat substrát. V literatuře⁸ jsou popsány následující ionofory citlivé na H^+ : ETH 5350, ETH 2458, ETH 5418 a ETH 2439 (vyvinuty na ETH Zurich, Švýcarsko).

Pro rovnováhu referentní ionofor-referentní ion:



kde C značí referentní ionofor, H^+ je vodíkový kation, který je zde použitý jako referentní ion a CH^+ je protonovaný referentní ionofor.

Pro tuto rovnováhu pak platí vztah:

$$E_H = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{[C] \cdot a_{H^+}}{[CH^+]} \quad (9)$$

kde E_H je potenciál ISE s referentním ionoforem, E^0 zahrnuje všechny konstantní příspěvky potenciálů, C a CH^+ jsou koncentrace neprotonované a protonované formy referentního ionoforu, a_{H^+} je aktivita vodíkových iontů a R, T a F jsou plynová konstanta, absolutní teplota a Faradayova konstanta.

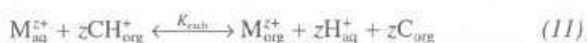
Po vložení nábojových a hmotnostních bilancí do rov. 9 pak vzniká vztah:

$$E_H = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{(c_C - c_{LP}) \cdot a_{H^+}}{c_{LP}} \quad (10)$$

kde c_C a c_{LP} jsou celkové koncentrace referentního ionoforu a lipofilní látky za předpokladu, že koncentrace volných protonů v organické fázi membrány je zanedbatelně malá v porovnání s koncentrací protonované formy referentního ionoforu, což je oprávněný předpoklad při přebytku referentního ionoforu nad lipofilní látkou.

Membrána s referentním ionoforem

V této membráně probíhá následující děj:



kde M^{z+} je substrát ve vodné či organické fázi.

K_{exch} je rovnovážná konstanta výměnné reakce (11). Pokud ji dosadíme do vztahu (9) obdržíme:

$$E_M = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_M}{[M^{z+}]} \cdot K_{exch} \right) \quad (12)$$

Po dosažení podmínky neutrality:

$$c_{LP} = z[M^{z+}] \quad (13)$$

pak platí vztah:

$$E_M = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{z \cdot a_M}{c_{LP}} \cdot K_{exch} \right) \quad (14)$$

Odezva pro membránu obsahující měřený a referentní ionofor

Je-li možný pouze jeden stechiometrický poměr, pak podmínka elektroneutality má tvar:

$$c_{LP} = z [ML_n^{z+}] \quad (15)$$

Po dosažení vztahu pro konstantu stability a podmínky neutrality (rov. 15) do rov. 12 dostaneme vztah:

$$E_M = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[L]^n \cdot a_M}{[ML_n^{z+}]} \cdot \beta_{ML_n} \cdot K_{exch} \right) \quad (16)$$

a po dosažení z příslušných hmotnostních bilancí:

$$E_M = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{z \cdot \left(c_L - \frac{nc_L}{z} \right)^n \cdot a_M}{c_{LP}} \cdot \beta_{ML_n} \cdot K_{exch} \right) \quad (17)$$

kde c_L je celková koncentrace měřeného ionoforu v membráně.

Hodnota konstanty stability se získá odečtením potenciálu membrány s a bez měřeného ionoforu, tj. odečtením rovnic (17) a (14)

$$\Delta E_M = \frac{RT}{zF} \ln \left(\left(c_L - \frac{nc_L}{z} \right)^n \cdot \beta_{ML_n} \right) \quad (18)$$

explicitně vyjádřeno:

$$\beta_{ML_n} = \frac{1}{\left(c_L - \frac{nc_L}{z} \right)^n} \cdot \exp \left(\frac{\Delta E_M \cdot zF}{RT} \right) \quad (19)$$

Závěr

Potenciometrické stanovení konstant stability se dvěma kompetitivními ionofory je vhodná a rychlá metoda pro výzkum komplexací. Další její výhodou je malá experimentální náročnost. Je použitelná zejména pro stanovování konstant stability v řadách chemicky podobných látek a pro jejich porovnávání. Potenciometrické stanovení je dále výhodné pro stanovování konstant stability komplexů ligand-substrát, kde ligand je potenciometrickým receptorem. Umožňuje také studium chování ligandů v podmínkách blízkých podmínkám pro něž byl tento ligand navržen a aplikován.

Autoři tímto děkují Grantové agentuře ČR (grant č. 203/96/0740 a 203/97/1099) a Ministerstvu školství ČR (grant VS 97135) za finanční podporu.

LITERATURA

1. Bakker E., Bühlmann P., Pretsch E.: Chem. Rev. 97, 3083 (1997).
2. Inzelt G.: Electrochim. Acta 34, 83 (1989).
3. Amman D., Morf W. E., Anker P., Meier P. C., Pretsch E., Simon W.: ISE Rev. 5, 3 (1983).
4. Connors K. A.: *Binding Constants - The Measurement of Molecular Complex Stability*. Wiley, New York 1987.
5. Sabatini A., Vacca A., Gans P.: Talanta 21, 53 (1974).
6. Taylor P. D.: Talanta 42, 243 (1995).
7. De Stefano C., Foti C., Gianguzza A., Giuffrè O., Sammartano S.: J. Chem. Soc., Faraday Trans. 92, 1511 (1996).
8. Bakker E., Pretsch E.: Anal. Chem. 70, 295 (1998).

M. Křondák, V. Král, T. V. Šiškanová, and R. Volf
(Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague): **Potentiometric Determination of Stability Constants**

The article summarizes potentiometric methods for determining stability constants, in particular in supramolecular chemistry applications. Potentiometric titrations using an ion-selective electrode with a membrane containing one or two competitive ionophores were used.