

УДК 543.42.062+544.77+547.633.6

**ПРОТОЛИТИЧЕСКИЕ РАВНОВЕСИЯ  
2,7–ДИХЛОРФЛУОРЕСЦЕИНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ  
ПРИ ВЫСОКОЙ ИОННОЙ СИЛЕ**

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

Изучены протолитические равновесия 2,7–дихлорфлуоресцеина в водном растворе при ионной силе 4.0 М (KCl). Определены значения брутто-констант и микроконстант кислотно–основного равновесия, получены спектры поглощения сопряженных форм индикатора. Установлено, что протолитические свойства и таутомерные превращения форм индикатора не претерпевают значительных изменений по сравнению с водными растворами при низкой ионной силе.

Ксантеновые индикаторы находят широкое применение в самых различных областях химии, в частности, в качестве зондов при исследованиях различных коллоидных объектов. Так, их часто применяют для изучения свойств мицелл коллоидных поверхностно-активных веществ (ПАВ) различной природы, а также капель микроэмульсий и мембран фосфолипидов [1–6]. При этом актуальным является вопрос о характере локализации различных форм красителя, связанных псевдофазой. Согласно современным представлениям о строении мицелл ионогенных ПАВ, слой Штерна можно рассматривать как концентрированный солевой раствор [6]. Таким образом, все эффекты, наблюдаемые для красителей в мицеллярных растворах (например, смещение полос в спектрах поглощения и изменение констант протолитического равновесия по сравнению с водой), могут быть обусловлены как значением локального электрического потенциала и взаимодействием с собственно ионами ПАВ, так и высокой локальной концентрацией электролита. 2,7–Дихлорфлуоресцеин относится к типу наиболее распространенных «молекулярных проб» [1,4–6]. Ранее были изучены протолитические равновесия 2,7–дихлорфлуоресцеина в мицеллярных растворах бромиды цетилтриметиламмония (ЦТАБ) и хлорида цетилпиридиния (ЦПХ) при высоком и низком содержании электролита (4.0 и 0.05 М, KCl) в объемной фазе [4, 6]. Поэтому представлялось целесообразным изучить поведение 2,7–дихлорфлуоресцеина в водном растворе с высокой ионной силой в отсутствие мицелл ПАВ. Сведения о положении кислотно-основного равновесия и таутомерных превращениях сопряженных форм красителя в этой системе позволят выяснить характер влияния электролита на его свойства. Возможные структуры 2,7–дихлорфлуоресцеина в растворах представлены на схеме 1.

Значения показателей констант кислотно–основного равновесия ( $pK_a$ ) 2,7–дихлорфлуоресцеина были получены нами спектрофотометрическим методом с потенциометрическим контролем pH водной фазы по методике, описанной ранее [7].

Использовали 2,7–дихлорфлуоресцеин фирмы Apolda, Германия, без дополнительной очистки. Концентрацию красителя устанавливали по спектрам водных растворов, для которых значение молярного коэффициента поглощения двухзарядного аниона  $R^{2-}$  (VII), измеренное при pH 12, составляет  $E = 75.02 \times 10^3$  л моль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup> [4]. Хлорид калия (KCl) был квалификации «х.ч.». Различные значения pH в ходе исследования спектров создавали с помощью фосфатных и ацетатных буферных растворов, а также растворов соляной кислоты и гидроксида натрия. Ионную силу ( $I$ ) поддерживали равной 4.0 М (KCl + буферный раствор). Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре СФ-46. Значения pH определяли при  $25.0 \pm 0.1$  °С со стандартным отклонением  $\pm(0.01–0.02)$  в ячейке с жидкостным соединением (1 М KCl), со стеклянным электродом ЭСЛ-63-07 и электродом сравнения  $Cl|AgCl|Ag$ , при помощи потенциометра П 37-1. В качестве нуля-инструмента использовали pH-метр pH-121. Градуировку ячейки проводили с использованием стандартных буферных растворов (pH 1.68, 4.01, 6.86 и 9.18). Все рабочие растворы готовили и измерения проводили при 25 °С.

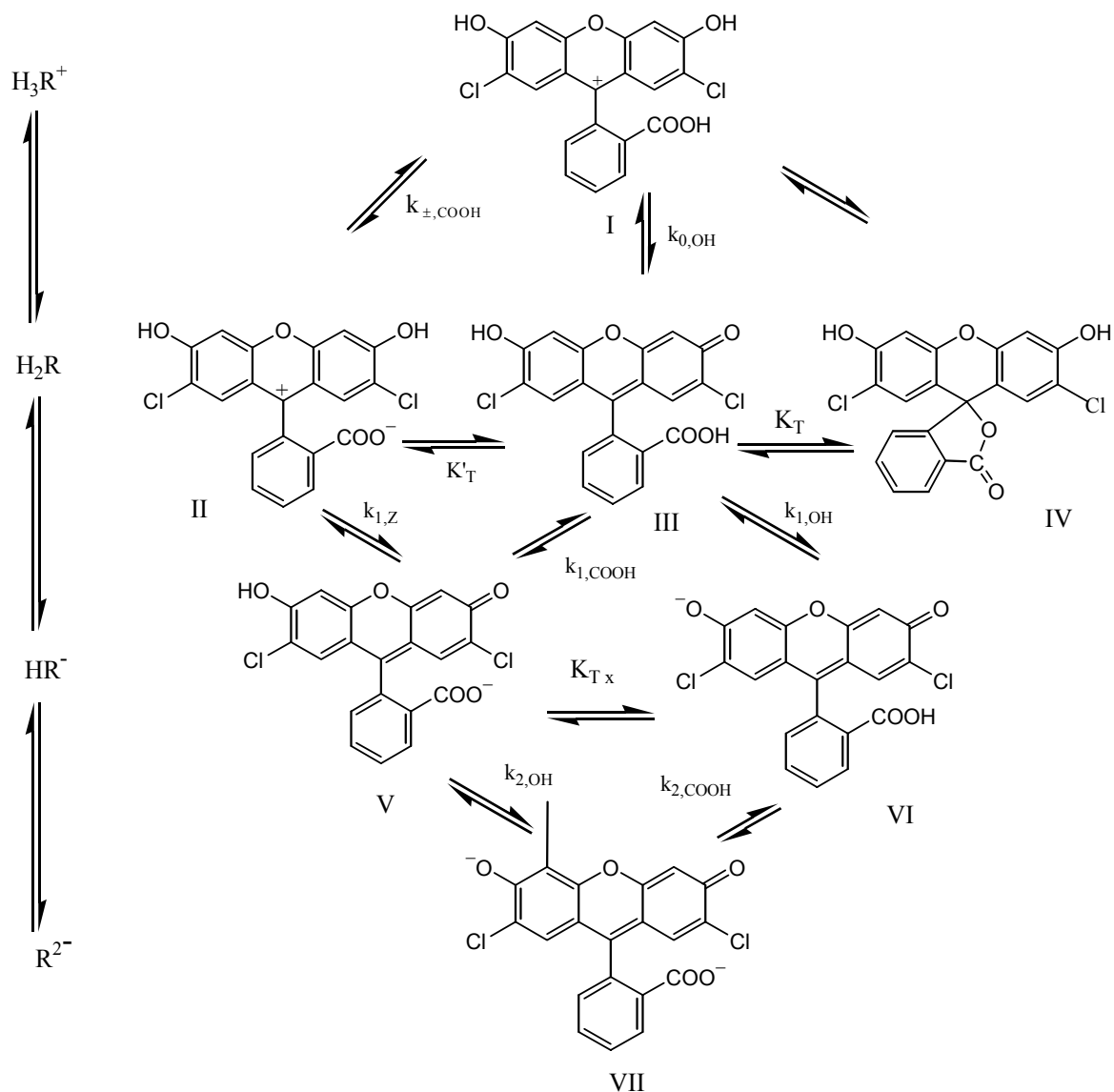


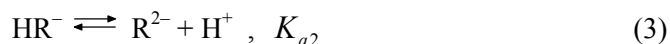
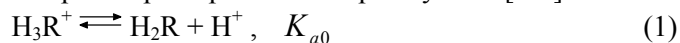
Схема 1. Протолитические равновесия 2,7 – дихлорфлуоресцеина [4, 6].

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

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

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

Диссоциация 2,7–дихлорфлуоресцеина в растворах протекает в три ступени [4-8]:

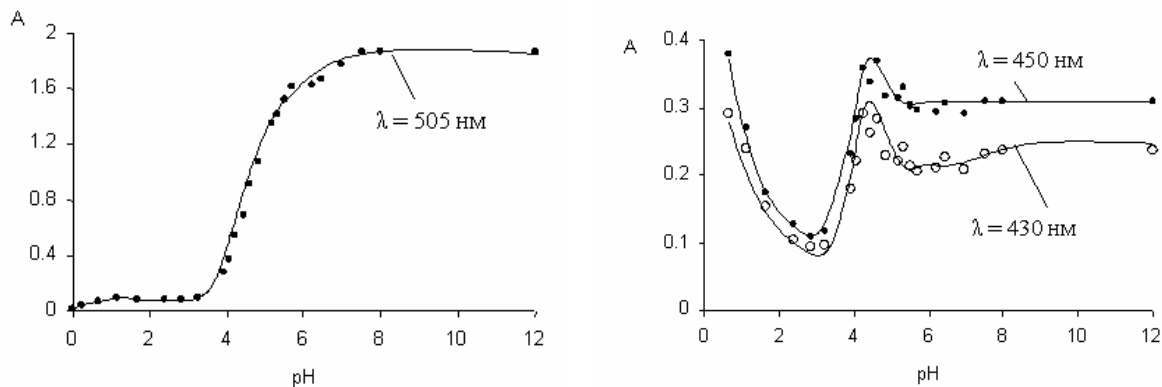


Мы определили величины  $pK_{a1}$  и  $pK_{a2}$  на основании зависимости оптической плотности ( $A$ ) от рН (рис.1) согласно методике, описанной в работах [4, 7]:

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

где  $A_{H_2R}$ ,  $A_{HR^-}$ ,  $A_{R^{2-}}$  - оптические плотности растворов, в которых 2,7-дихлорфлуоресцеин находится полностью в виде нейтральной формы, моно- и дианиона соответственно.

Значения pH рабочих растворов варьировали от 2.83 до 12.00 (всего 17 растворов). Расчеты констант  $K_{a1}$  и  $K_{a2}$  с использованием значений  $A$  были проведены в диапазоне длин волн 450–540 нм с помощью программы CLINP [9]. Спектр катиона  $H_3R^+$  (I) был получен в растворах серной кислоты с концентрацией от 0.5 до 3.0 М. О 100% выходе формы судили по совпадению спектров при концентрации кислоты 1.0 и 3.0 М соответственно. Равновесие (1) рассматривали изолированно, и величину  $pK_{a0}$  определяли в области pH = -0.5 до 1.88 независимо от  $pK_{a1}$  и  $pK_{a2}$ , с использованием концентрационной шкалы pH. При этом  $C_{HCl} + C_{KCl} = 4.0$  М.



**Рис. 1.** Зависимость оптической плотности растворов 2,7-дихлорфлуоресцеина ( $4.55 \times 10^{-6}$  М, длина поглощающего слоя 5 см) от pH при разных длинах волн.

При pH < 0.5 использована концентрационная шкала pH.

Спектры поглощения различных форм индикатора представлены на рис. 2. Спектр  $R^{2-}$  и (в первом приближении) спектр  $H_2R$  были получены непосредственно при pH = 11.00 и 2.83 соответственно. Спектр  $HR^-$  был рассчитан совокупно с величинами  $pK_{a1}$  и  $pK_{a2}$ , а затем уточнен наряду со спектром  $H_2R$  по хорошо известным формулам [4]:

$$A_{H_2R} = A + (A - A_{H_3R^+})10^{-pH} (K_{a0})^{-1} + (A - A_{HR^-})10^{-pH} K_{a1} + (A - A_{R^{2-}})10^{2pH} K_{a1}K_{a2} \quad (5)$$

$$A_{HR^-} = A + (A - A_{H_2R})10^{-pH} (K_{a1})^{-1} + (A - A_{R^{2-}})10^{pH} K_{a2} \quad (6)$$

Спектральные характеристики сопряженных форм индикатора представлены в таблице 1.

Как видно из рисунка 2 и таблицы 1, положения максимумов полос поглощения сопряженных форм практически такие же, как в водном растворе с малой ионной силой. Однако интенсивности спектров  $H_2R$  заметно различаются. Такие эффекты обычно наблюдаются для формы  $H_2R$  при переходе от воды к органическим растворителям [6] или к мицеллярным растворам ПАВ [4] и объясняются смещением положения таутомерного равновесия в сторону лактона IV, бесцветного вследствие  $sp^3$ -гибридизации центрального атома углерода (см. схему 1).

Небольшие изменения полос поглощения частиц  $R^{2-}$  и  $HR^-$  существенно меньше, чем наблюдаемые в мицеллах ПАВ и других организованных средах [1-7]. Малые сдвиги максимумов отражают слабые сольватохромные эффекты, обусловленные изменением характера гидратации анионов красителя при высокой концентрации соли.

Для получения представления о структурах сопряженных форм индикатора обычно используется достаточно обоснованное экстратермодинамическое допущение о том, что ионизация орто-карбоксифенильного фрагмента ксантеновых красителей ( $COOH \rightarrow COO^-$ ) мало влияет на длинноволновую полосу поглощения [6]. С учетом этого обстоятельства рассмотрим возможные таутомерные превращения моноаниона и нейтральной формы 2,7-дихлорфлуоресцеина. Так, согласно принятой модели, полоса таутомера II подобна полосе частицы I, спектр тауто-

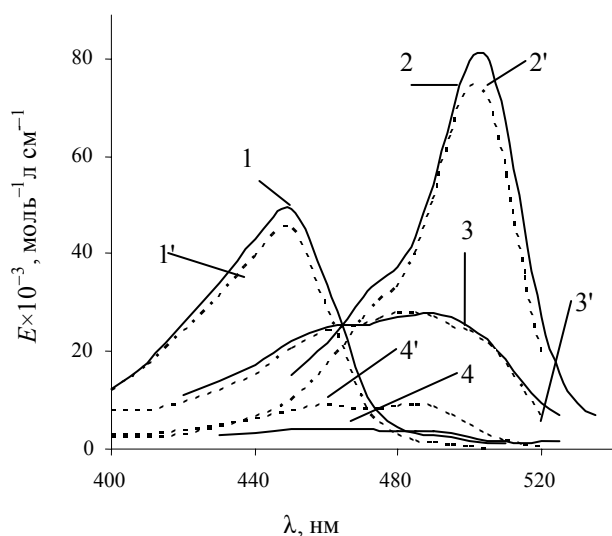
мера III имеет форму, характерную для спектра частицы V, а полоса частицы VI подобна спектру дианиона VII, но смещена на несколько нанометров в красную область [4-8].

**Таблица 1.** Спектральные характеристики сопряженных форм 2,7-дихлорфлуоресцеина в воде при высокой и низкой ионных силах, а также в мицеллах катионного ПАВ при высокой ионной силе

Форма индикатора	$\lambda_{\max}$ , нм ( $E_{\max} \times 10^{-3}$ , л моль <sup>-1</sup> см <sup>-1</sup> )		
	Вода, $I = 4.0$ М (KCl)	Вода, $I = 0.05$ М [4]	$C_{\text{ЦТАБ}} = 3 \times 10^{-3}$ М, $I = 4.0$ М (KCl),
$R^{2-}$	503 (81.6)	502 (75.02)	515 (80.1)
$HR^-$	470 (25.6), 490 (27.8)	465–470 (24.1), 490(28.3)	525 (57.4)
$H_2R$	460, (4.18) 485 (3.9)	460 (8.96), 485 (8.70)	470 (0.882), 500 (0.766)
$H_3R^+$	448 (49.0)*	450 (44.95)**	–

\*  $C_{H_2SO_4} = 3.0$  М (без добавок KCl)

\*\* ионная сила превышает 0.05 М.



**Рис.2.** Спектры поглощения различных форм 2,7-дихлорфлуоресцеина в водном растворе с ионной силой 4 М (KCl) (сплошная линия) и в водном растворе с ионной силой 0.05 М, по данным [7] (пунктирная линия): 1, 1'– $H_3R^+$ ; 2, 2'– $R^{2-}$ ; 3, 3'– $HR^-$ ; 4, 4'– $H_2R$ .

Снижение  $E_{\max}$  формы  $H_2R$  по сравнению с водным раствором с низкой ионной силой (хотя и не столь резкое, как в мицеллярных растворах ЦТАБ) свидетельствует о значительности доли бесцветного лактона IV, находящегося в равновесии с хиноидом III. Частица II присутствует лишь в незначительной степени, что характерно для галогенпроизводных гидроксисантеновых индикаторов [6].

Спектр формы  $HR^-$  по форме напоминает спектр нейтральной формы, его максимум смещен в коротковолновую область относительно спектра двухзарядного аниона. Это говорит о преобладании таутомера V. В неводных растворах и организованных средах спектр моноаниона обычно смещается на несколько нанометров в красную область относительно спектра дианиона, что связано со смещением таутомерного равновесия в сторону образования частицы VI [4,5]. Важно отметить, что в данном случае этот эффект не наблюдается.

Перейдем к количественному описанию равновесий.

Полученные значения  $pK_a$  2,7-дихлорфлуоресцеина сопоставлены в таблице 2 со значениями  $pK_a$  в водных растворах при низкой ионной силе, а также в мицеллах ЦТАБ при высокой и низкой ионных силах (в этом случае приведены «кажущиеся» константы кислотно-основного равновесия,  $pK_a^a$ ).

Что касается изменения величин  $pK_a$  при переходе от растворов с низкой ионной силой к растворам с высоким содержанием соли, то незначительность различия этих величин может быть объяснена следующим образом. Известно, что зависимость констант кислотно-основного равновесия электролитов, в том числе и красителей, от ионной силы имеет U-образный характер [10]. В связи с этим при больших ионных силах кислотно-основное равновесие может характеризоваться такими же значениями параметров, что и в растворах с малой ионной силой.

Как известно, величины  $pK_a$  являются брутто-константами [4, 6]. Для детального описания протолитических равновесий рассчитываются дополнительные параметры ионного равновесия. В нашем случае это доли таутомеров  $\alpha$ , микроконстанты  $pk_{2,OH}$ ,  $pk_{1,COOH}$ ,  $pk_{0,OH}$  и константа таутомеризации  $K_T$  (схема 1).

**Таблица 2.** Показатели констант кислотно–основного равновесия 2,7–дихлорфлуоресцеина в водных растворах и в мицеллярных растворах катионных ПАВ, при высокой и низкой ионных силах

$pK_a$	Вода, $I = 4.0 \text{ M (KCl)}$	Вода, $I = 0.05 \text{ M [7]}$	$C_{\text{ЦТАБ}} = 3 \times 10^{-3} \text{ M},$ $I = 4.0 \text{ M (KCl)},$	$C_{\text{ЦПХ}} = 3 \times 10^{-3} \text{ M},$ $I = 0.05 \text{ M (KCl)},$
$pK_{a0}$	$0.25 \pm 0.04$	$0.35^*$	$< -0.5^{**}$	–
$pK_{a1}$	$4.00 \pm 0.06$	$4.00 \pm 0.10$	$5.50 \pm 0.05$	3.58
$pK_{a2}$	$5.09 \pm 0.09$	$5.19 \pm 0.06$	$5.79 \pm 0.06$	3.70

\* ионная сила превышает 0.05 M; использована шкала  $H_0$ .

\*\* шкала  $pH_c = -\lg C_{\text{HCl}}$ .

Расчет долей таутомеров формы  $H_2R$  проводился по уравнению (7) [4]:

$$E(H_2R) = \alpha(II) \times E(H_3R^+) + \alpha(III) \times E(HR^-) \quad (7)$$

Решение системы уравнений при двух длинах волн (485 и 490 нм) дает величины долей таутомеров II и III. В нашем случае они составили 0.000186 и 0.133 соответственно. Так как  $\alpha(IV) = 1 - \alpha(II) - \alpha(III)$ , то  $\alpha(IV) = 0.867$ . Константа таутомерного равновесия вычисляется следующим образом:

$$K_T = \frac{\alpha(IV)}{\alpha(III)} \quad (8)$$

При условии, что  $K_T \ll K_T$  и  $K_{Tx} \ll 1$ , справедливы уравнения (9)-(11).

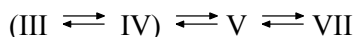
$$pK_{a0} = pk_{0,OH} - \lg(1 + K_T) \quad (9)$$

$$pK_{a1} = pk_{1,COOH} + \lg(1 + K_T) \quad (10)$$

$$pK_{a2} = pk_{2,OH} \quad (11)$$

Как видно из схемы 1, расчет  $pk_{\pm,COOH}$ ,  $pk_{1,Z}$  и  $K'_T$  не имеет смысла из-за практического отсутствия частицы II. Такие параметры как  $pk_{1,OH}$ ,  $pk_{2,COOH}$  и  $K_{Tx}$  также не принимались во внимание ввиду смещения таутомерного равновесия моноаниона в сторону частицы V.

Таким образом, значение  $K_T$  составляет 6.52. В водном растворе с низкой ионной силой эта величина равна 2.0, а в мицеллярном растворе ЦТАБ с ионной силой 4 M она составляет 28.4. Показатели микроконстант  $pk_{1,COOH}$ ,  $pk_{2,OH}$  и  $pk_{0,OH}$  составляют соответственно 3.12, 5.09 и 1.13. В водном растворе с низкой концентрацией соли значения этих параметров равны 3.50, 5.19 и 0.83 [4], а в мицеллярном растворе с высокой ионной силой – соответственно 4.68, 5.14 и 0.97 [4]. Заметим, что все полученные константы относятся к определенной ионной силе раствора. Таким образом, полученные данные являются свидетельством того, что в изучаемой системе, как и в водном растворе с низкой ионной силой, преобладающими являются равновесия:



Увеличение значения константы таутомеризации  $K_T$  в описанной системе по сравнению с водным раствором с малой ионной силой, в свою очередь, говорит о дополнительном сдвиге таутомерного равновесия в сторону лактона IV, что отражает изменение свойств воды как растворителя при высоких концентрациях электролита.

Можно заключить, что высокая концентрация хлорида калия в целом незначительно влияет на кислотно-основные свойства данного красителя. Однако электролит другой природы может оказать существенное влияние на положение протолитических равновесий 2,7 – дихлорфлуоресцеина. С целью проверки этой гипотезы мы измерили спектры поглощения индикатора в растворах иодида цезия с концентрацией 1 M. Выбор этого электролита продиктован тем, что оба его иона «отрицательно» гидратированы [11], что может повлечь за собой изменение свойств воды и смещение таутомерного равновесия форм  $H_2R$  и  $HR^-$ . Были получены спектры поглощения красителя при pH, соответствующих максимальному выходу сопряженных форм: 12.00, 4.52 и 3.19 соответственно. Максимум полосы двухзарядного аниона в этой системе на-

ходится при 503 нм. При рН 4.52 значение  $\lambda_{\max}$  составляет 502 нм. Отсутствие батохромного сдвига полосы поглощения моноаниона относительно полосы дианиона говорит о преобладании иона V над таутомером VI. Измерения при низких рН осложнены протеканием побочных окислительно – восстановительных процессов.

Таким образом, выяснено, что концентрированные солевые растворы электролитов различной природы мало влияют на протолитические свойства 2,7-дихлорфлуоресцеина. На этом основании можно сделать вывод о том, что смещение кислотно-основных равновесий данного индикатора, наблюдаемое в мицеллах ПАВ [4], не связано с наличием большого количества ионов в слое Штерна, а обусловлено специфическим взаимодействием с псевдофазой.

#### Литература

1. Bardez E., Larrey B., Zhu X.X., Valeur B. Chem. Phys. Lett. 1990. V. 171. No. 4. P. 362-368.
2. Song A. Zhang J., Zhang M, Shen T., Tang J. Colloids Surfaces. A: Physicochem. and Eng. Aspect. 2000. V. 167. P. 253.
3. Kibblewhite J., Drummond C.J., Grieser F., Thistlethwaite P.J. J. Phys. Chem. 1989. V. 93. No. 21. P. 7464-7473.
4. Mchedlov – Petrossyan N.O., Kleshchevnikova V.N. J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1994. V.90. № 4. P. 629 – 640.
5. Мchedlov – Петросян Н.О. Вестник Харьк. нац. университета. 2004. № 626. Химия. Вып. 11(34). С.221 – 312.
6. Мchedlov-Петросян Н.О. Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах. Харьков: Издательство Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина, 2004. 326 с..
7. Mchedlov – Petrossyan N.O., Rubtsov M.I., Lukatskaya L.L. Dyes and Pigments. 1992. V. 18. P. 179 – 198.
8. Мchedlov – Петросян Н.О., Васецкая Л.В. Журнал общ. химии. 1989. Т.59. Вып. 3. С. 691 – 703.
9. <http://www.bestnet.kharkov.ua/kholin/clinp.html>
10. Meloun M., Kotrly S. Collection Czechoslov. Chem. Commun. 1977. V.42. P.2115 –2125.
11. Кесслер Ю.М., Зайцев А.Л. Сольвофобные эффекты. Л.:Химия. 1989. 312с.

*Поступила в редакцию 22 июля 2006 г.*

Kharkov University Bulletin. 2006. №731. Chemical Series. Issue 14(37). E. Yu. Bryleva, N. A. Vodolazkaya, N. O. Mchedlov–Petrossyan. The Protolytic Equilibria of 2,7 – Dichlorofluorescein in Aqueous Solution at High Ionic Strength.

The protolytic equilibria of 2,7 – dichlorofluorescein were investigated in water solution at ionic strength 4.0 M (KCl). The values of acid-base equilibrium constants and microconstants as well as absorption spectra of conjugated indicator forms have been obtained. It was found that protolytic properties and tautomeric transformations of indicator dye forms did not undergo significant changes as compared with water solutions at low ionic strength.