

# Spektrofotometrijsko određivanje konstante disocijacije

---

Orešković, Patrik

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:264173>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-18**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Patrik Orešković

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidat Patrik Orešković

Predao je izrađen završni rad dana: 2. rujna 2021.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Sandra Babić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu  
Prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu  
Prof. dr. sc. Irena Škorić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu  
Dr. sc. Lidija Furač, viša predavačica, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, zamjena

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 7. rujna 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Patrik Orešković

**SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE KONSTANTE DISOCIJACIJE**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Sandra Babić

Članovi ispitne komisije: prof. dr. sc. Sandra Babić

prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

prof. dr. sc. Irena Škorić

Zagreb, rujan 2021.

*Zahvaljujem se najprije svojoj mentorici, prof. dr. sc. Sandri Babić na ukazanom povjerenju i pruženoj mogućnosti za izradu završnoga rada pod njezinim mentorstvom te na velikoj pomoći, mnogobrojnim savjetima i strpljenju prilikom izrade ovoga rada.*

*Želim se zahvaliti i asistentu Alanu Badrovu, mag. ing. oecoing. na pomoći tijekom izvođenja eksperimentalnog djela rada i trudu koji je uložio te na mnogim savjetima koji su pridonijeli da rezultati ovoga rada budu još bolji.*

*Također se želim zahvaliti i tehničarkama Zavoda za analitičku kemiju, Tanji Ivančić i Slavici Kos, koje su tijekom izvođenja eksperimentalnog djela rada u svakom trenutku bile spremne pomoći sa priborom i kemikalijama.*

*Na kraju, želim se posebno zahvaliti svojoj obitelji koja mi je svojom neizmjernom podrškom u studiranju omogućila da danas budem ovdje gdje jesam.*

## SAŽETAK

Vrijednost konstante disocijacije kiseline nam govori o stupnju disocijacije kiseline, odnosno o odnosu ravnotežnih koncentracija disociranog i nedisociranog oblika molekule. Kako fizikalno-kemijska svojstva disociranog i nedisociranog oblika mogu biti bitno drugačija, poznavanje vrijednosti  $pK_a$  je značajano za istraživanje u raznim znanstvenim područjima. Poznavanje konstante disocijacije kiseline važno je i kod kiselobaznih indikatora koji su široko korišteni u kemijskoj analizi za praćenje kemijskih reakcija. Cilj ovoga rada bio je razmotriti spektrofotometrijsko određivanje konstante disocijacije te odrediti pouzdanost određivanja ovom metodom. Pri tome su korištene dvije računске i dvije grafičke metode za određivanja konstante disocijacije na temelju spektrofotometrijskih mjerenja. Spektrofotometrijski su određene konstante disocijacije tri kiselobazna indikatora: bromfenol plavog, bromtimol plavog te fenolftaleina. Otopine indikatora pripremljene su u puferima tako da je pokriven široki raspon pH-vrijednosti. Praćena je ovisnost apsorbancije o pH-vrijednosti pri konstantnoj valnoj duljini te su iz dobivenih rezultata, primjenom Henderson-Hasselbachove jednadžbe, određene konstante disocijacije ispitivanih indikatora. Za indikator bromfenol plavo određene su  $pK_a$  vrijednosti u rasponu od 3.21 – 3.77, za indikator bromtimol plavo  $pK_a$  vrijednosti su u rasponu od 6.61 – 7.37 te za indikator fenolftalein  $pK_a$  vrijednosti su u rasponu od 7.85 – 9.70. Nakon određivanja apsolutnih i relativnih pogrešaka izračunatih  $pK_a$  vrijednosti, utvrđeno je da prva grafička metoda daje slične  $p$ -vrijednosti konstante disocijacije kao i obje računске metode, dok druga grafička metoda pokazuje najveća odstupanja, dajući najmanje  $pK_a$  vrijednosti.

**Ključne riječi:** *konstanta disocijacije, spektrofotometrija, puferi, indikator, bromfenol plavo, bromtimol plavo, fenolftalein*

## ABSTRACT

The acid dissociation constant gives us information about the acid dissociation degree, but also information about the concentration ratio between dissociated and undissociated species of the molecule. Since numerous physicochemical properties of dissociated and undissociated species may vary, knowing the  $pK_a$  value has a great significance in various scientific fields. Knowing the value of the acid dissociation constant is also very important in the use of acid-base indicators, which are widely used in chemical analysis to observe chemical reactions. The aim of this research was to consider the spectrophotometric determination of the dissociation constant value and to determine the reliability of this method. Two computational and two graphical methods were used to determine the dissociation constant based on spectrophotometric measurements. Three acid-base indicators were analyzed spectrophotometrically, and those are: bromophenol blue, bromothymol blue and phenolphthalein. Samples of indicators were prepared in buffer solutions that covered a wide pH range. The dependence of the absorption on the pH value at a constant maximum wavelength of absorption was monitored, and the dissociation constant was determined from the obtained results using the Henderson-Hasselbach equation. For indicator bromophenol blue determined  $pK_a$  values were in the range of 3.21 – 3.77, for indicator bromothymol blue  $pK_a$  values were in the range of 6.61 – 7.37, and for the indicator phenolphthalein  $pK_a$  values were in the range of 7.85 – 9.70. After determining the absolute and relative errors for the calculated  $pK_a$  values, it was found that the first graphical method gives similar p-values of the dissociation constant as the both computational methods, while the second graphical method shows the largest deviation giving the smallest  $pK_a$  values.

**Keywords:** *the dissociation constant, spectrophotometry, buffers, indicator, bromophenol blue, bromothymol blue, phenolphthalein*

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Kiselo-bazne ravnoteže .....	2
2.2. Konstanta disocijacije ( $K_a$ ).....	3
2.3. Metode određivanja konstante disocijacije .....	4
2.3.1. Potenciometrijska titracija .....	4
2.3.2. Tekućinska kromatografija .....	5
2.3.3. Spektrofotometrijska metoda.....	6
2.4. Kiselo-bazni indikatori.....	7
2.4.1. Fenolftalein .....	8
2.4.2. Bromfenol plavo .....	9
2.4.3. Bromtimol plavo.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	11
3.1. Kemikalije i materijali.....	11
3.2. Instrumenti .....	12
3.2.1. Uređaj za pročišćavanje vode .....	12
3.2.2. Analitička vaga .....	13
3.2.3. pH-metar .....	14
3.2.4. UV/VIS spektrofotometar.....	15
3.2.5. Magnetska miješalica s grijačem.....	16
3.3. Metode rada.....	17
3.3.1. Priprema otopina indikatora .....	17
3.3.2. Priprema otopina pufera .....	17
3.3.3. Priprema otopina indikatora za analizu .....	18
3.3.4. Spektrofotometrijska analiza .....	18
4. REZULTATI I DISKUSIJA .....	20
4.1. Grafičke metode određivanja konstante disocijacije.....	25
4.1.1. Prva grafička metoda .....	25
4.1.1.1. Prva grafička metoda za indikator bromfenol plavo.....	26
4.1.1.2. Prva grafička metoda za indikator bromtimol plavo.....	28



4.1.1.3. Prva grafička metoda za indikator fenolftalein .....	30
4.1.2. Druga grafička metoda .....	32
4.1.2.1. Druga grafička metoda za indikator bromfenol plavo .....	32
4.1.2.2. Druga grafička metoda za indikator bromtimol plavo .....	34
4.1.2.3. Druga grafička metoda za indikator fenolftalein .....	36
4.2. Računske metode određivanja konstante disocijacije .....	38
4.2.1. Prva računska metoda .....	38
4.2.1.1. Prva računska metoda za indikator bromfenol plavo .....	38
4.2.1.2. Prva računska metoda za indikator bromtimol plavo .....	39
4.2.1.3. Prva računska metoda za indikator fenolftalein .....	40
4.2.2. Druga računska metoda .....	41
4.2.2.1. Druga računska metoda za indikator bromfenol plavo .....	42
4.2.2.2. Druga računska metoda za indikator bromtimol plavo .....	43
4.2.2.3. Druga računska metoda za indikator fenolftalein .....	44
4.3. Analiza rezultata .....	45
5. ZAKLJUČAK .....	47
6. LITERATURA .....	48
ŽIVOTOPIS .....	48

## 1. UVOD

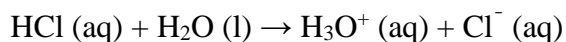
Konstanta disocijacije ( $K_a$ ) je konstanta čija vrijednost nam govori o odnosu disociranog i nedisociranog oblika neke molekule. Što je vrijednost konstante disocijacije veća, veći je udio disociranog oblika molekule. Poznavanje vrijednosti konstante disocijacije ili njene p-vrijednosti ( $pK_a = -\log K_a$ ) je značajno jer se mnoga kemijska, fizikalna i biološka svojstva raznih prirodnih i sintetičkih spojeva razlikuju u ovisnosti radi li se o disociranom ili nedisociranom obliku. Iako se vrijednost konstante disocijacije naziva konstanta, treba imati na umu da na njezinu vrijednost utječu čimbenici poput temperature, ionske jakosti te vrijednosti dielektrične konstante spoja. Indikatori su u pravilu kompleksni organski spojevi koji postoje u dva ravnotežna i različito obojena oblika, a položaj ravnoteže može ovisiti o koncentraciji vodikovih iona tj. o pH-vrijednosti ukoliko se radi o kiselo-baznom indikatoru. O položaju ravnoteže nam govori konstanta disocijacije indikatora, stoga je za primjenu indikatora u kiselo-baznim titracijama, važno poznavanje vrijednosti konstante disocijacije [1]. Spektrofotometrijska metoda kao jedna od metoda određivanja konstante disocijacije odlikuje se jednostavnošću izvedbe te lakom primjenjivošću. Da bi metoda bila primjenjiva, potrebno je da ispitivani spoj sadrži UV aktivne kromofore. Mjeri se apsorbancija otopina indikatora pripremljenih u otopinama pufera poznatih pH-vrijednosti te se na taj način prati apsorbancija oba oblika indikatora: protoniranog i deprotoniranog, što je moguće pratiti i po promjeni boje [2]. Poznavanje konstante disocijacije omogućuje nam predviđanje zastupljenosti protoniranog tj. neprotoniranog oblika indikatora, a time i praćenje kemijskih reakcija kod kojih koristimo određeni indikator što je posebno korisno u titracijskim određivanjima koja često susrećemo u analitičkoj kemiji [1].

## 2. TEORIJSKI DIO

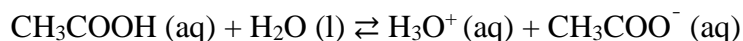
### 2.1. Kiselo-bazne ravnoteže

Definiciju kiselina i baza su 1923. godine uveli Johannes Brønsted i Thomas Lowry. U Brønsted-Lowryjevoj definiciji kiselina i baza, kiseline su proton donori, a baze proton akceptori. Važno je imati na umu da su te dvije definicije međusobno povezane, što znači da kako bismo imali bazu koja je po definiciji proton akceptor, mora postojati dostupna kiselina koja će osigurati proton.

Kiseline općenito možemo podijeliti na slabe i jake kiseline. Na temelju jakosti kiseline možemo predvidjeti koliko će lako kiselina donirati svoj proton. Ukoliko se radi o jakoj kiselini, primjerice klorovodičnoj kiselini, dolazi do potpunog prelaska protona s kiseline na molekulu vode:

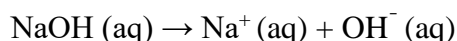


Nastali hidronijev ion je kiselina vrsta u otopini te će njegova koncentracija određivati kiselost dobivene otopine. Važno je naglasiti kako se koristi jednostruka strelica ( $\rightarrow$ ) umjesto dvostrukih strelica ( $\rightleftharpoons$ ) kako bismo naznačili da HCl potpuno disocira u vodenim otopinama. Konkretno bi to značilo da disocijacijom 0,10 M otopine HCl nastaje 0,10 M  $\text{H}_3\text{O}^+$  i 0,10 M  $\text{Cl}^-$  iona. Slabe kiseline, čiji je predstavnik octena kiselina, ne mogu u potpunosti donirati svoje protone otapalu tj. disocirati. Stoga, veći dio kiseline ostaje nedisociran te je prisutan manji dio konjugirane baze.

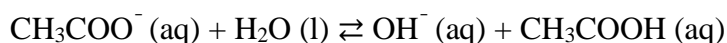


Važno je spomenuti da postoje monoprotone i poliprotone kiseline. Monoprotone slabe kiseline, čiji je predstavnik octena kiselina, imaju samo jedan proton te posjeduju jednu konstantu disocijacije kiseline. S druge strane, neke kiseline poput fosforne kiseline, mogu donirati više od jednog protona i nazivaju se poliprotone slabe kiseline. Takve kiseline su opisane nizom koraka disocijacije, od kojih svaki korak posjeduje posebnu konstantu disocijacije kiseline, pri čemu je teže ukloniti svaki sljedeći proton.

S druge strane, osim kiselina postoje i baze koje možemo također podijeliti na slabe i jake baze. Baš kao što je koncentracija hidronijeva iona ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) mjera kiselosti vodene otopine, koncentracija hidroksidnog iona ( $\text{OH}^-$ ) je mjera bazičnosti vodene otopine [1]. Najpoznatiji primjeri jakih baza su hidroksidi alkalijskih metala, poput natrijeva hidroksida, koji potpuno disociraju na hidroksidni ion.

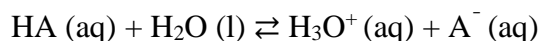


Slabe baze, čiji je predstavnik acetatni ion, samo djelomično prihvaćaju proton iz otapala



## 2.2. Konstanta disocijacije ( $K_a$ )

U pravilu promatramo specifične konstante ravnoteže za reakcije disocijacije kiselina, pri čemu ona sadrži samo one komponente čije se koncentracije mijenjaju značajnije. Općenito za disocijaciju neke slabe kiseline, HA, možemo zapisati:



Pri čemu konstanta gornje ravnoteže glasi:

$$K_c = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}][\text{H}_2\text{O}]} \quad (1)$$

No, kako je koncentracija vode vrlo velika ( $\sim 55.5 \text{ M}$ ) i ne mijenja se tijekom ionizacije kiseline, može se izostaviti iz gornje jednadžbe te možemo definirati novu ravnotežnu konstantu, a to je konstanta disocijacije kiseline (ili konstanta ionizacije kiseline),  $K_a$ :

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (2)$$

Konstanta disocijacije kiseline poput ostalih ravnotežnih konstanti ovisi o temperaturi te nam govori koliko je reakcija pomaknuto u desno kako bi se postignulo ravnotežno stanje. Općenito možemo zaključiti da što je veća vrijednost konstante disocijacije kiseline, to je jača kiselina te je veća koncentracija  $\text{H}_3\text{O}^+$  iona u ravnotežnome stanju. Također je važno napomenuti da što kiselina posjeduje manju vrijednost konstante disocijacije, to ima manji stupanj disocijacije te ju smatramo slabijom kiselinom.

Govoreći o jakosti kiselina moramo imati na umu da jakost kiseline zapravo govori o njezinoj sposobnosti da prebaci, odnosno donira proton drugoj tvari. Mnogo je više slabih kiselina nego što ima jakih, a vrijednosti konstante disocijacije slabe kiseline su u rasponu od  $10^{-2}$  do  $10^{-10}$ . Također možemo mnogo kiselina, ali i baza klasificirati jakim ili slabima na temelju njihovih kemijskih formula, primjerice organske kiseline koje sadrže  $-\text{COOH}$  skupinu mogu otpustiti samo proton koji se veže na kisikov atom, dok se protoni vezani za ugljikov atom ne otpuštaju.

Već je spomenuto kako glasi izraz za konstantu disocijacije kiseline, jednadžba (2), no također vrlo često koristimo logaritmirani oblik te jednadžbe koja, nakon preuređivanja glasi:

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log_{10} \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \quad (3)$$

Ova jednadžba je također poznata pod nazivom Henderson-Hasselbachova jednadžba. Ona dovodi u odnos vrijednost pH s  $\text{p}K_a$  vrijednosti otopine i logaritmom omjera koncentracija kiseline (HA) i njezine konjugirane baze ( $\text{A}^-$ ) [3].

### 2.3. Metode određivanja konstante disocijacije

Vrlo je važno poznavati vrijednost konstante disocijacije kako bismo predvidjeli ponašanje kemijskog spoja. Postoje razne metode kojima je moguće odrediti  $\text{p}K_a$  vrijednost od kojih su najznačajnije: potenciometrijska titracija, tekućinska kromatografija te spektrofotometrijska metoda [4].

#### 2.3.1. Potenciometrijska titracija

Potenciometrijska titracija koristi se kao standardna metoda za određivanje  $\text{p}K_a$  vrijednosti. Metoda se izvodi na način da ispitivani kemijski spoj titriramo kiselinom ili bazom i korištenjem elektrode pratimo tijek reakcije titracije. Vrijednost konstante disocijacije računamo iz točke infleksije krivulje titracije. Ovu metodu karakterizira visoka preciznost te se vrlo često koristi upravo zbog njezine preciznosti, dostupnosti te brzim i automatiziranim instrumentima koji ju čine povoljnom za korištenje. No, važno je također naglasiti da su za izvedbu ove metode potrebni spojevi visoke čistoće, relativno visoke koncentracije te vodene otopine pufera [4].

### 2.3.2. Tekućinska kromatografija

Određivanje  $pK_a$  vrijednosti metodom tekućinske kromatografije temelji se na odnosu između faktora zadržavanja te pH-vrijednosti pokretne faze. Za svaki spoj i za sastav pokretne faze uz poznatu pH-vrijednost, potrebno je odrediti vrijeme zadržavanja otopljene komponente,  $t_R$ , ali i zadržano vrijeme,  $t_M$ . Faktor zadržavanja računamo iz izraza:

$$k = \frac{(t_R - t_M)}{t_M} \quad (4)$$

Promatrajući monoprotanske kiseline, faktor zadržavanja pri određenoj pH-vrijednosti funkcija je neutralne i anionske vrste te možemo općenito zapisati da vrijedi odnos:

$$k = \sum_i x_i k_i \quad (5)$$

Molarne udjele možemo iskazati kao funkcije  $pK_a$  i pH-vrijednosti

$$x_{HA} = \frac{10^{(pK_a - pH)}}{1 + 10^{(pK_a - pH)}} \quad (6)$$

$$x_{A^-} = \frac{1}{1 + 10^{(pK_a - pH)}} \quad (7)$$

Uvrštavanjem dobivenih izraza u jednadžbu (5) dobivamo:

$$k = \frac{k_{HA} \cdot 10^{-pH} + k_{A^-} \cdot 10^{-pK_a}}{10^{-pH} + 10^{-pK_a}} \quad (8)$$

Jednadžba povezuje kromatografsko zadržavanje te pH-vrijednost pokretne faze i koristi se za određivanje  $pK_a$  vrijednosti, ali i za predviđanje kromatografskog ponašanja tvari. Tekućinska kromatografija je vrlo korisna tehnika za određivanje konstante disocijacije te zahtjeva malu količinu ispitivane tvari, nije potrebna visoka čistoća za već poznate uzorke te loša topljivost u vodi ne predstavlja veliki problem [4].

### 2.3.3. Spektrofotometrijska metoda

Još jedna korištena metoda za određivanje konstante disocijacije je UV-VIS spektrofotometrija, kojom možemo analizirati slabo topljive spojeve u vrlo malim koncentracijama ( $>10^{-6}$  M). Uvjet da bi se spoj mogao analizirati spektrofotometrijski je da molekula sadrži UV aktivne kromofore. Apsorbancija uzorka se mijenja promjenom pH-vrijednosti, što je posljedica promjene u koncentraciji neutralne i ionske vrste u otopini. Spektrofotometrijska metoda daje vrlo precizne rezultate, no za izvođenje je potrebna odgovarajuća instrumentalna oprema, odgovarajući spektar za različite tvari te uzorak treba karakterizirati visok stupanj čistoće. Promatrajući indikator koji postoji u kiselom obliku (HIn) i baznom obliku (In<sup>-</sup>) zaključujemo da svaka vrsta ima drugačije obojenje, a time i odgovarajuću  $\lambda_{\max}$  na određenoj valnoj duljini pri kojoj ta vrsta maksimalno apsorbira [5].

Analogno tome uz uvjet da je duljina puta konstantna, možemo izvesti sljedeću jednadžbu:

$$\frac{[\text{HIn}]}{[\text{In}^-]} = \frac{A_i - A_{\text{In}^-}}{A_{\text{HIn}} - A_i} \quad (9)$$

Pri čemu je:

$A_i$  apsorbancija indikatora pri radnoj pH-vrijednosti

$A_{\text{HIn}}$  apsorbancija indikatora u kiselom mediju pri čemu je prisutan protonirani oblik

$A_{\text{In}^-}$  apsorbancija indikatora u lužnatom mediju pri čemu je prisutan deprotonirani oblik

Uvrštavajući dobiveni izraz (9) u Henderson-Hasselbachovu jednadžbu (3), dobivamo izraz koji nam omogućava određivanje vrijednosti konstante disocijacije spoja dvjema analognim metodama, računskom i grafičkom:

$$\log_{10} \left( \frac{A_i - A_{\text{In}^-}}{A_{\text{HIn}} - A_i} \right) = \text{p}K_a - \text{pH} \quad (10)$$

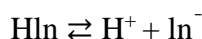
Korištenje ove metode, odnosno UV-VIS spektrofotometrije je vrlo pogodno i lako izvedljivo za analiziranje indikatora jer na temelju mjerenja apsorbancije uzorka na određenoj pH-vrijednosti te poznavajući vrijednost apsorbancije kiselog i baznog oblika indikatora, možemo korištenjem Henderson-Hasselbachove jednadžbe dobiti rezultate visoke točnosti [6].

Spektrofotometrijska metoda se također temelji i na Beer-Lambertovu zakonu (11) koji nam daje funkcijski odnos između izmjerene veličine apsorbancije ( $A$ ) i veličine koja se određuje, koncentracije ( $c$ ). Posljedica međudjelovanja fotona i čestica koje apsorbiraju jest smanjenje intenziteta ulaznoga snopa svjetlosti.  $\varepsilon$  je molarni apsorpcijski koeficijent te je ovisan o valnoj duljini svjetlosti, dok je  $b$  duljina puta svjetlosti kroz uzorak [7].

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (11)$$

#### 2.4. Kiselo-bazni indikatori

Indikatori su općenito govoreći obojeni spojevi čija nam promjena boje signalizira krajnju točku titracije. Kiselo-bazni indikatori su slabe organske kiseline ( $\text{HIn}$ ) čija se boja razlikuje od njihove konjugirane baze ( $\text{In}^-$ ), a do promjene boje dolazi u uskom području pH-vrijednosti. Takvi spojevi imaju barem jednu konjugiranu kiselinsko-baznu vrstu koja je obojena, a njihovom titracijom dolazi do promjene pH-vrijednosti i boje. Promjena boje do koje dolazi prilikom titracije može poslužiti za određivanje točke završetka titracije, pod uvjetom da se događa u blizini točke ekvivalencije. Kako bismo odredili pH-vrijednost pri kojoj kiselo-bazni indikator mijenja boju, potrebno je poznavati njegovu konstantu disocijacije kiseline. Promatramo li monoprotonski indikator koji se nalazi u nekoj otopini, možemo promatrati njegov kiseli oblik ( $\text{HIn}$ ) i bazni oblik ( $\text{In}^-$ ) koji se nalaze u ravnoteži [8].



Koristeći njihove koncentracije, možemo analogno primijeniti jednadžbu (2) koja poprima oblik:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]} \quad (12)$$

Odnosno logaritmiranjem dobijemo:

$$\text{p}K_a = \text{pH} + \log_{10} \frac{[\text{HIn}]}{[\text{In}^-]} \quad (13)$$

Iz jednadžbe (13) u kojoj je  $\text{p}K_a$  konstantna vrijednost, zaključujemo da omjer  $[\text{HIn}] / [\text{In}^-]$  ovisi isključivo o vrijednosti koncentraciji  $\text{H}_3\text{O}^+$  iona tj. pH-vrijednosti. Dva oblika indikatora,  $\text{HIn}$  i  $\text{In}^-$  imaju različite boje, stoga se boja otopine koja sadrži indikator kontinuirano mijenja kako se koncentracija  $\text{HIn}$  smanjuje, a koncentracija  $\text{In}^-$  povećava i obrnuto.



Ukoliko se HIn i In<sup>-</sup> mogu jednako lako detektirati, prijelaz između dvije boje postiže svoju središnju točku kada su njihove koncentracije jednake ili kada je pH-vrijednost jednaka pK<sub>a</sub> vrijednosti indikatora. Stoga, možemo zaključiti da dolazi gotovo do poklapanja točke ekvivalencije i točke završetka titracije ukoliko odaberemo indikator čija je pK<sub>a</sub> vrijednost jednaka pH-vrijednosti u točki ekvivalencije [9].

Moguće je odrediti raspon pH-vrijednosti u kojemu će biti vidljiva promjena boje ako pretpostavimo da je boja otopine indikatora vrste HIn vidljiva ako je njegova koncentracija deset puta veća od koncentracije In<sup>-</sup>, a boja za vrstu In<sup>-</sup> je vidljiva ako je koncentracija HIn deset puta manja od koncentracije In<sup>-</sup>. Uvrštavanjem ovih uvjeta u jednadžbu (13) dobivamo:

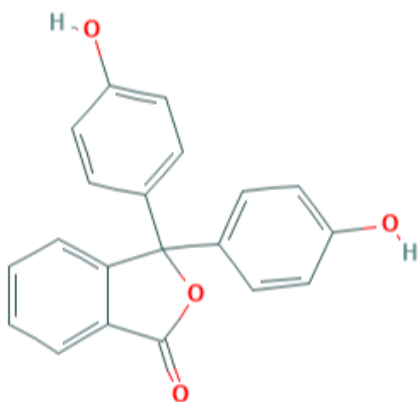
$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log_{10} \frac{1}{10} = \text{p}K_a - 1$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log_{10} \frac{10}{1} = \text{p}K_a + 1$$

Iz izraza zaključujemo da indikator mijenja boju u rasponu pH-vrijednosti od pK<sub>a</sub> ± 1. Dakle, indikator će biti boje HIn kada je pH manji od pK<sub>a</sub> - 1, a boje In<sup>-</sup> za pH veći od pK<sub>a</sub> + 1. Važno je imati na umu da raspon pH-vrijednosti indikatora ne mora biti jednako raspodijeljen na jednu i drugu stranu pK<sub>a</sub> vrijednosti indikatora. Da bi indikator bio prikladan za korištenje u titracijskoj analizi, cjelokupni prijelaz boje indikatora trebao bi ležati unutar oštrog prijelaza pH-vrijednosti koji se javlja u blizini točke ekvivalencije [10].

#### 2.4.1. Fenolftalein

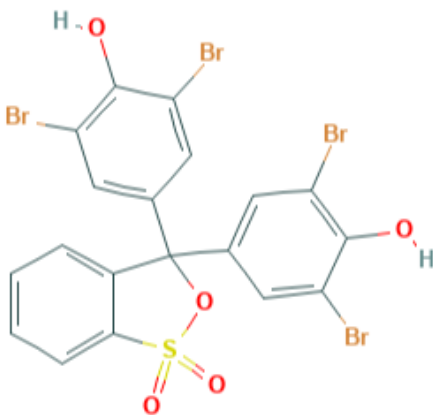
3,3-bis(4-hidroksifenil)-2-benzofuran-1-jedan (**Slika 1**), poznatiji pod nazivom fenolftalein, je organski spoj koji se koristi kao laboratorijski reagens i indikator pH-vrijednosti. Kemijska formula fenolftaleina je C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>. Fenolftalein ima laksativno djelovanje, međutim više se ne koristi kao laksativ zbog sumnje na njegovu kancerogenost. Fenolftalein je bijeli ili žućkasto-bijeli kristalni prah bez mirisa. U vodenim otopinama je bezbojan do pH-vrijednosti 8.50, a ružičast iznad pH-vrijednosti 9.00. Vrijednost konstante disocijacije kiseline (pK<sub>a</sub>) fenolftaleina iznosi 9.70 (pri 25 °C) [11].



**Slika 1.** Struktura fenolftaleina [11]

#### 2.4.2. Bromfenol plavo

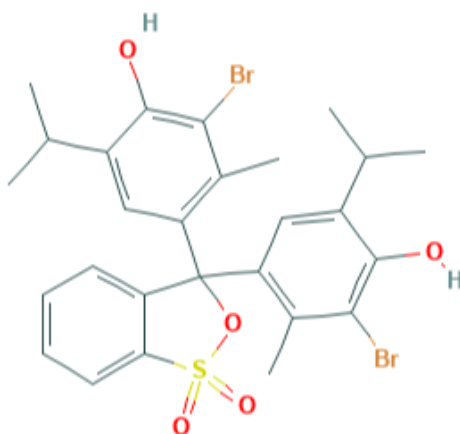
2,6-dibrom-4-[3-(3,5-dibromo-4-hidroksifenil)-1,1-diokso-2,1λ<sup>6</sup>-benzoksatiol-3-il]fenol (**Slika 2**) je indikator poznatiji pod nazivom bromfenol plavo, kemijske formule C<sub>19</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S. Koristi se kao kemijski indikator koji mijenja boju iz žute koja je prisutna ispod pH-vrijednosti 3.00, u ljubičastu koja je prisutna iznad pH-vrijednosti 4.60. Koristi se i kao marker za praćenje napretka procesa elektroforeze u agaroznom i poliakrilamidnom gelu te se također koristi i kao industrijsko bojilo. Vrijednost konstante disocijacije kiseline (pK<sub>a</sub>) bromfenol plavog indikatora iznosi 4.00 (pri 25 °C) [12].



**Slika 2.** Struktura bromfenol plavog indikatora [12]

### 2.4.3. Bromtimol plavo

2-brom-4-[3-(3-bromo-4-hidroksi-2-metil-5-propan-2-ilfenil)-1,1-dioksa-2,1λ<sup>6</sup>-benzoksatiol-3-il]-3-metil-6-propan-2-ilfenol (**Slika 3**), kemijski je indikator poznatiji pod nazivom bromtimol plavo, kemijske formule C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>Br<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S. Bromtimol plavo je kiselo-bazni indikator koji koristimo za određivanju pH-vrijednosti i praćenje kemijskih reakcija. Bromtimol plavo je slaba organska kiselina čija vrijednost konstante disocijacije (pK<sub>a</sub>) iznosi 7.10 (pri 25 °C). Indikator je žute boje u kiselim otopinama, plave boje u baznim otopinama i zelene boje u neutralnoj otopini. Bromtimol plavo se također koristi u industriji boja i pigmenata [13].



**Slika 3.** Struktura bromtimol plavog indikatora [13]

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Kemikalije i materijali

U **Tablici 1** popisane su sve kemikalije korištene za izvođenje eksperimentalnog dijela, njihova čistoća te njihovi proizvođači.

**Tablica 1.** Popis svih korištenih kemikalija

NAZIV	MOLEKULSKA FORMULA	ČISTOĆA	PROIZVOĐAČ
Borna kiselina	$H_3BO_3$	p. a.	Zorka Šabac, Srbija
Bromfenol plavo	$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$	p. a.	Kemika, Hrvatska
Bromtimol plavo	$C_{27}H_{28}Br_2O_5S$	p. a.	Kemika, Hrvatska
Etanol (volumni udio 96%)	$C_2H_5OH$	p. a.	Kefo, Slovenija
Fenolftalein	$C_{20}H_{14}O_4$	p. a.	Kemika, Hrvatska
Kalijev klorid	KCl	p. a.	Lach-Ner, Češka
Limunska kiselina	$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	p. a.	Gram-mol, Hrvatska
Natrijev dihidrogenfosfat	$NaH_2PO_4$	p. a.	Acros Organics, Belgija
Natrijev hidroksid (1.0 mol dm <sup>-3</sup> )	NaOH	p. a.	Agilent Technologies, Njemačka

## 3.2. Instrumenti

### 3.2.1. Uređaj za pročišćavanje vode

Za pripremu otopina pufera korištena je ultračista (Milli-Q) voda pripremljena na uređaju *Millipore Simplicity* (**Slika 4**). Postupak pročišćavanja vode uključuje njezinu filtraciju i deionizaciju korištenjem membranskih filtera te UV lampe koja smanjuje razinu organskih tvari u vodi, a koncentracija iona u vodi određuje se mjerenjem električnog otpora vode. Ultračista voda posjeduje određene karakteristike među kojima je i vrijednost električnog otpora veća od  $10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$  [14].



**Slika 4.** Uređaj za pročišćavanje vode Millipore Simplicity

### 3.2.2. Analitička vaga

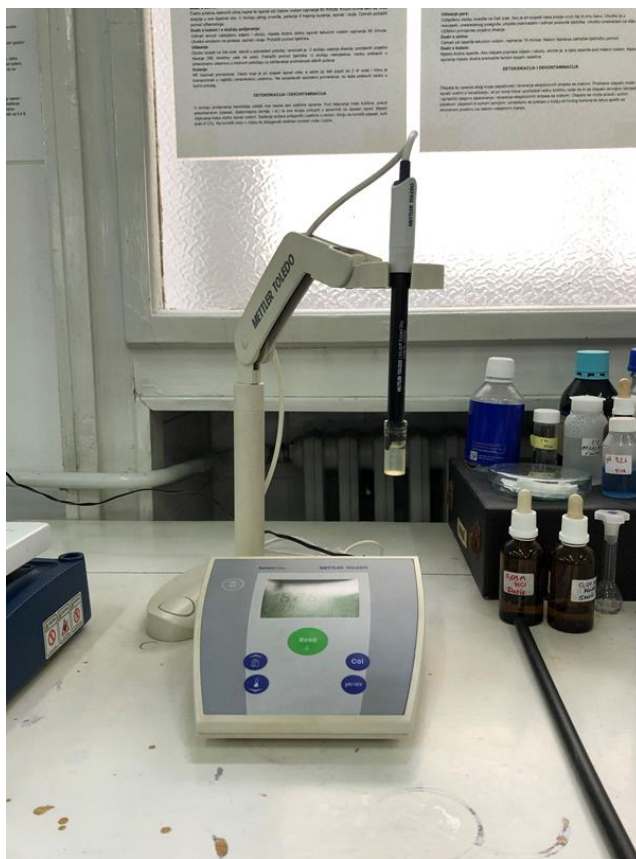
Korištenje analitičke vage važno je radi što preciznijeg mjerenja mase uzorka ili standarda, a time i pripreme otopina točno određenih koncentracija što je jedan od važnih čimbenika za izvođenje kemijske analize. Analitička vaga je instrument koji služi za precizno određivanje mase tvari. Najrašireniji tip analitičke vage jest vaga nosivosti 100 g i osjetljivosti 0.1 mg. Možemo zapravo reći da niti jednu kvantitativnu kemijsku analizu nije moguće napraviti bez upotrebe vage jer uvijek treba odvagati uzorak za analizu i potrebnu količinu reagensa za pripravu otopina. Analitičke vage su smještene unutar staklenih ormarića koji ih štite od prašine i zraka koji bi mogli poremetiti ravnotežu sustava. Ležajevi analitičkih vaga najodgovorniji su za ravnotežu te ih treba čuvati od oštećenja i pažljivo stavljati uzorke za vaganje na njih. Za izvođenje eksperimentalnog dijela korištena je analitička vaga *XS105 DualRange* (Slika 5) tvrtke *Mettler Toledo* (Greifensee, Švicarska) [15].



**Slika 5.** Analitička vaga XS105 DualRange, Mettler Toledo

### 3.2.3. pH-metar

Za pH-metar možemo reći da je elektronski instrument kojim određujemo kiselost ili bazičnost uzorka mjerenjem pH-vrijednosti. pH-metar je zapravo voltmetar koji prikazuje pH-jedinice umjesto volti. Uzorke koje analiziramo na pH-metru većinom su u tekućem agregatnom stanju, no također postoje i posebne sonde koje nam omogućuju mjerenje pH-vrijednosti i u polučvrstim uzorcima. Svaki pH-metar sastoji se od sonde za mjerenje, odnosno staklene elektrode koja proizvodi malen napon (oko 0,06 V po jedinici pH) i određuje pH-vrijednost kao aktivitet vodikovih iona koji okružuju njezin okrugli završetak. Staklena je elektroda spojena na elektronski metar koji mjeri i prikazuje izmjerenu pH-vrijednost. Za određivanje i podešavanje pH-vrijednosti puferskih otopina korišten je pH-metar S20 SevenEasy (Slika 6), tvrtke Mettler Toledo (Greifensee, Švicarska) [16].



**Slika 6.** pH-metar S20 SevenEasy, Mettler Toledo

#### 3.2.4. UV/VIS spektrofotometar

Za snimanje apsorpcijskih spektara ispitivanih indikatora korišten je *Lambda 35 UV/VIS Spectrometer* (**Slika 7**), tvrtke *Perkin Elmer* (Waltham, SAD). Instrument omogućava snimanje u rasponu valnih duljina od 190 do 1100 nm. Uređaj možemo koristiti za snimanje spektara raznih krutina, praškastih uzoraka te uzoraka u obliku paste, ali i kapljevina. Softver koji instrument koristi je *UV WinLab™*. Instrument odlikuje izuzetna stabilnost te jednostavnost za korištenje. Uređaj sadrži halogene lampe koje služe kao izvori elektromagnetskog zračenja te ih možemo lako zamijeniti [17].



**Slika 7.** Lambda 35 UV/VIS spectrometer, PerkinElmer



### 3.2.5. Magnetska miješalica s grijačem

Za pripremu otopina pufera točno određenih pH-vrijednosti korištena je magnetska miješalica *WiseStir MSH-20D* (slika 8), tvrtke *Witeg* (Wertheim, Njemačka). Magnetska miješalica je zapravo pločica za miješanje koju koristimo za postizanje što većeg stupnja homogenosti reakcijske smjese ili otopine. Miješanjem, osim osiguravanja povoljnih uvjeta u otopini, pospješujemo i otapanje krutih reaktanata te na taj način uspješno pripremamo zadane otopine pufera. Pošto magnetska miješalica ne koristi motor, idealna je za primjenu u istraživačkim, analitičkim i biološkim laboratorijima [18].



**Slika 8.** Magnetska miješalica *WiseStir MSH-20D*, *Witeg*

### 3.3. Metode rada

#### 3.3.1. Priprema otopina indikatora

Ispitivanja su provedena s otopinama indikatora bromfenol plavo i bromtimol plavo, stoga je prvi korak eksperimentalnog djela bio njihova priprema. Otopine indikatore pripremljene su na način da su na analitičkoj vagi odvagane potrebne količine indikatora. Odvage indikatora prenesene su u odmjerne tikvice, otopljene u etanolu i nadopunjene do oznake etanolom. Otopina indikatora bromfenol plavo pripremljena je tako da je odvagano 669,99 mg krutog indikatora koji je zatim otopljen u 10 mL etanola. Otopina indikatora bromtimol plavo pripremljena je na isti način da je odvagano 624,40 mg krutog indikatora koji je otopljen u 10 mL etanola. Pripremljene otopine indikatora su koncentracije  $0,10 \text{ mol dm}^{-3}$ . Indikator fenolftalein korišten u eksperimentalnom djelu, koncentracije je  $0,10 \text{ mol dm}^{-3}$ . Pripremljeni indikatori čuvani su na sobnoj temperaturi.

#### 3.3.2. Priprema otopina pufera

Za izvođenje eksperimentalnog djela potrebno je uz otopine indikatora pripremiti i otopine pufera čije će pH-vrijednosti pokrivati čitavo pH-područje. Otopine pufera pripremljene su prema uputama danima u literaturi [7, 19]. Najprije je pripremljen citratni pufer na način da je na analitičkoj vagi odvagano 4,2028 g limunske kiseline koja je zatim otopljena u 200 mL ultračiste (Milli-Q) prethodno dobivene iz uređaja *Millipore Simplicity*. Pripremljena otopina limunske kiseline, koncentracije  $0,10 \text{ mol dm}^{-3}$ , zatim je postavljena na magnetsku miješalicu te je miješana pomoću magnetića uz paralelno dokapavanje otopine natrijeva hidroksida koncentracije  $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ . Otopina natrijeva hidroksida dokapavana je kapalicom uz istovremeno mjerenje pH-vrijednosti pomoću pH-metra. Otopina natrijeva hidroksida dokapavana je sve dok nije postignuta željena pH-vrijednost citratnog pufera i to u rasponu vrijednosti  $pK_a \pm 1$ , odnosno  $3,13 \pm 1$ . Osim citratnog pufera pripremljen je i fosfatni pufer. Pripremljen je na način da je na analitičkoj vagi odvagano 2,3996 g natrijeva dihidrogenfosfata koji je otopljen u 200 mL Milli-Q vode. Pripremljena otopina natrijeva dihidrogenfosfata, koncentracije  $0,10 \text{ mol dm}^{-3}$ , zatim je miješana na magnetskoj miješalici uz paralelno dokapavanje otopine natrijeva hidroksida koncentracije  $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ . Otopina natrijeva hidroksida dokapavana je sve dok nije postignuta željena pH-vrijednost i to u rasponu vrijednosti  $pK_a \pm 1$ , odnosno  $7,21 \pm 1$ , što je praćeno također pomoću pH-metra.

Kako bi bilo pokriveno cijelo područje pH-vrijednosti, pripremljen je i boratni pufer. Boratni pufer pripremljen je tako da su najprije pripremljene otopine kalijeva klorida i borne kiseline, obje koncentracija  $0,20 \text{ mol dm}^{-3}$ . Otopina borne kiseline pripremljena je tako da je na analitičkoj vagi izvagano 2,4732 g borne kiseline i otopljeno u 200 mL Milli-Q vode. Otopina kalijeva klorida pripremljena je otapanjem 2,9824 g kalijeva klorida u 200 mL Milli-Q vode. Nakon pripreme otopina borne kiseline i kalijeva klorida, pomiješano je po 100 mL svake otopine, stavljeno na magnetsku miješalicu te je dokapavana otopina natrijeva hidoksida, uz istovremeno praćenje pH-vrijednosti pH-metrom. Otopina natrijeva hidoksida dokapavana je sve dok nije postignuta željena pH-vrijednost i to u rasponu vrijednosti  $\text{p}K_a \pm 1$ , odnosno  $9,24 \pm 1$ . Kako su tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela otopine pufera stajale određeno vrijeme, došlo je do promjene njihove pH-vrijednosti pa se zato neposredno prije svakog mjerenja apsorbancije provjeravala njihova pH-vrijednost.

### 3.3.3. Priprema otopina indikatora za analizu

Otopine indikatora različitih pH-vrijednosti za spektrofotometrijsku analizu pripremljene su na način da je uzeto po 25 mL svake otopine pufera različitih pH-vrijednosti i svakoj toj pripremljenoj otopini dodano je po 3 kapi otopine indikatora. Pripremljene su tri serije otopina istih pH-vrijednosti koje pokrivaju čitavo pH-područje, ali zasebno za svaki indikator. Na taj način bilo je moguće za svaki indikator pratiti promjenu koncentracije disociranog i nedisociranog oblika. Nakon dokapavanja indikatora u puferske otopine, dobivene otopine dobro su promiješane kako bismo ih homogenizirali i nakon toga su spremne za spektrofotometrijsku analizu.

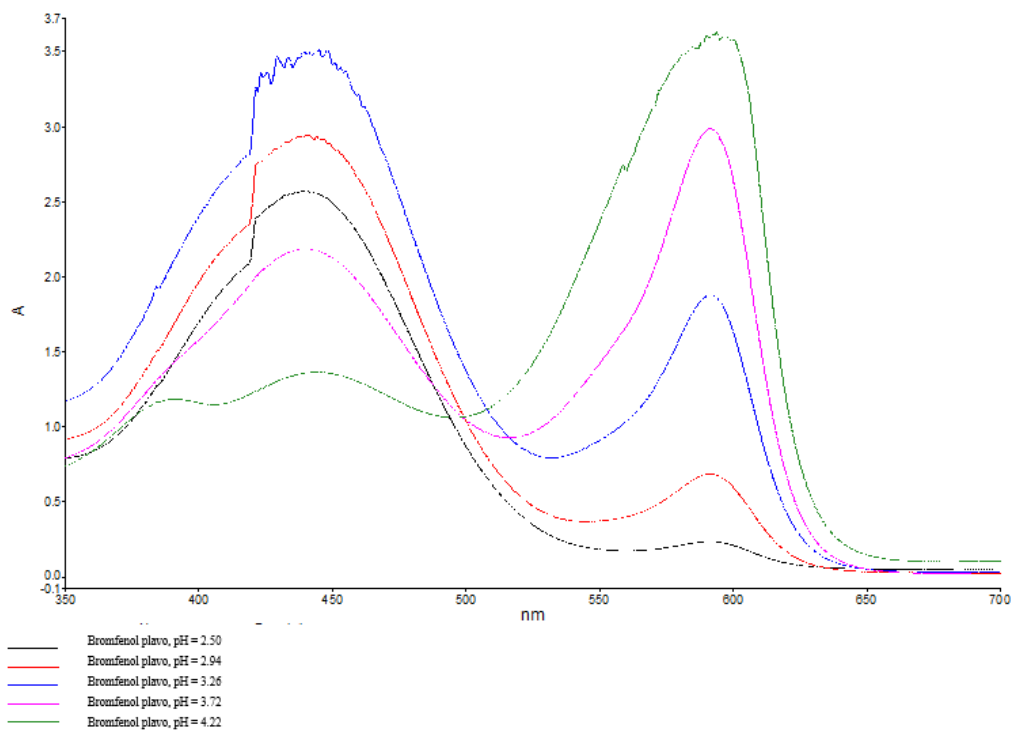
### 3.3.4. Spektrofotometrijska analiza

Pripremljene otopine analizirane su na spektrofotometru. Najprije je na spektrofotometru analizirana slijepa proba, a zatim pripremljene otopine indikatora različitih pH-vrijednosti. Za analizu rezultata mjerenja korišten je softver *UV WinLab*<sup>TM</sup>. Otopine indikatora stavljane su u kvarcne kivete koje su postavljene u spektrofotometar. Uključivanjem spektrofotometra kroz njih prolazi snop zračenja te je mjerena apsorbancija zračenja. Prvo su snimljeni apsorpcijski spektri

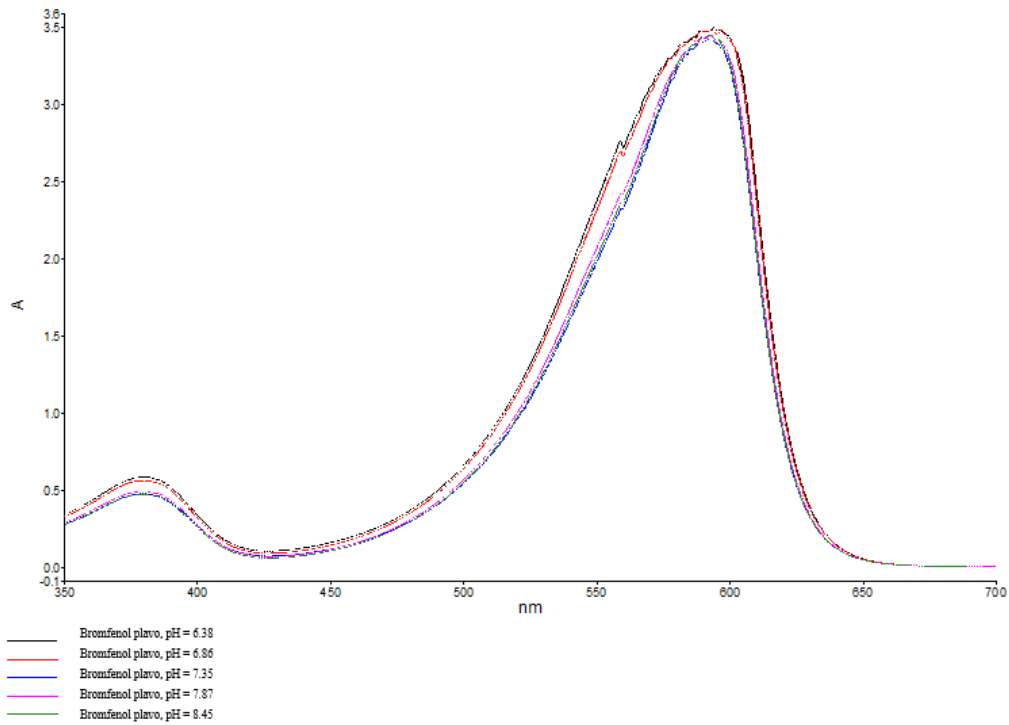
svakog ispitivanog indikatora u rasponu valnih duljina od 350 nm do 700 nm (vidljivo područje elektromagnetskoga zračenja). Iz dobivenih apsorpcijskih spektara određena je valna duljina pri kojoj uzorak maksimalno apsorbira. Kako su ispitivane otopine indikatora različitih pH-vrijednosti pri čemu su u otopinama prisutni disocirani i nedisocirani oblik indikatora u različitim omjerima, valne duljine pri maksimumu apsorpcije očitane su za oba oblika. Nakon dobivenog apsorpcijskog spektra za svaki indikator i očitavanja valnih duljina pri kojima indikator maksimalno apsorbira, provedena su snimanja pri točno određenim valnim duljinama, onima koje odgovaraju maksimumu apsorpcije. Spektrofotometar je podešen da snima pri konstantnim valnim duljinama te ponovno mjerimo apsorbanciju svih uzoraka pri različitim pH-vrijednostima. Rezultati snimanja su vrijednosti apsorbancije za otopine indikatora pri različitim pH-vrijednostima.

#### 4. REZULTATI I DISKUSIJA

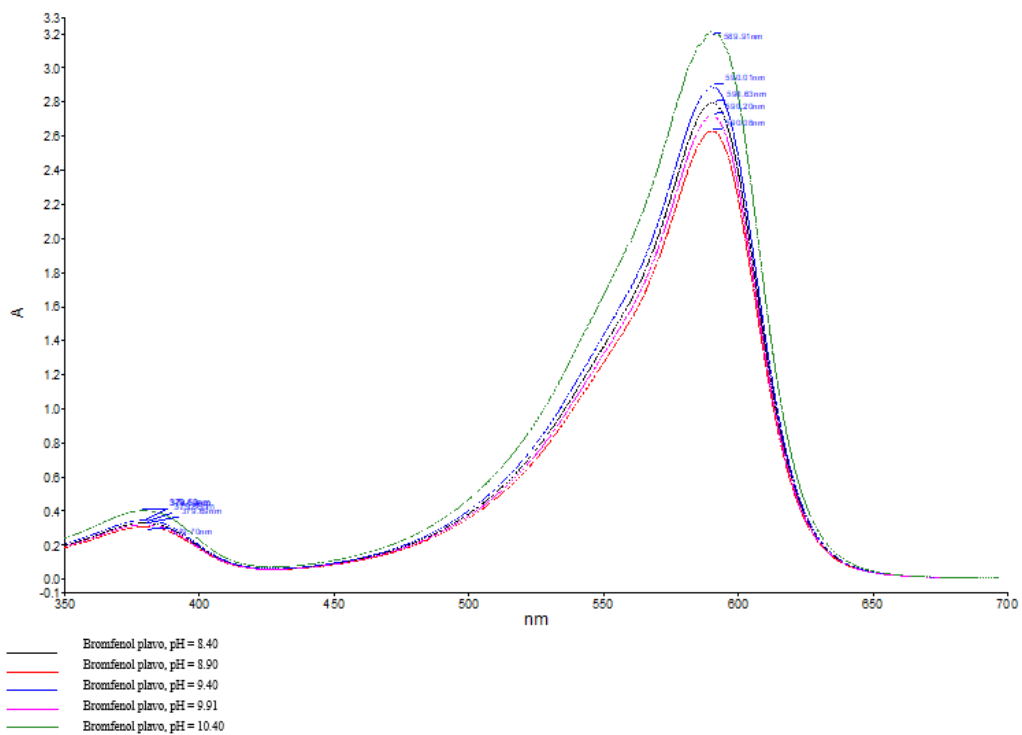
U ovom radu provedeno je spektrofotometrijsko određivanje konstante disocijacije indikatora: bromfenol plavo, brotmimol plavo te fenolftaleina. Spektrofotometrijska mjerenja provedena su pri različitim pH-vrijednostima otopina indikatora kako bi bilo moguće pratiti promjene za svaki indikator zasebno i to u kiselom, neutralnom te lužnatom području. Kako bismo odredili valnu duljinu pri kojoj indikator maksimalno apsorbira, i to u disociranom i nedisociranom obliku, snimljeni su apsorpcijski spektri za svaki indikator u pripremljenim otopinama pufera. Apsorpcijski spektri prikazani su na **Slikama 9 – 17**.



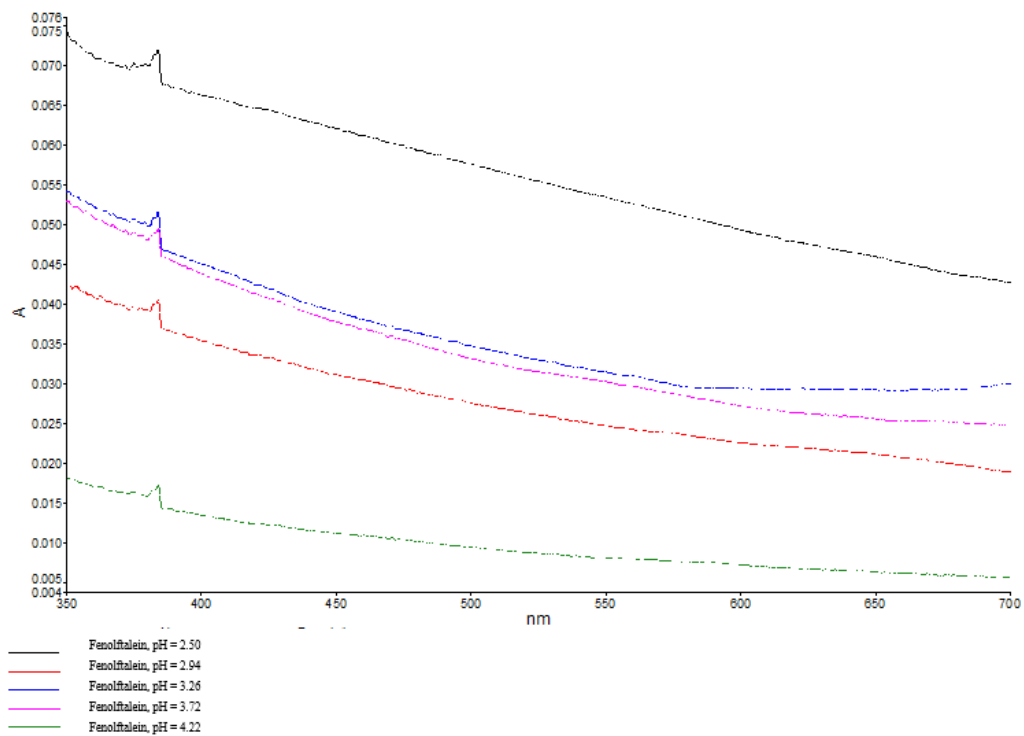
**Slika 9.** Apsorpcijski spektar indikatora bromfenol plavo u citratnom puferu



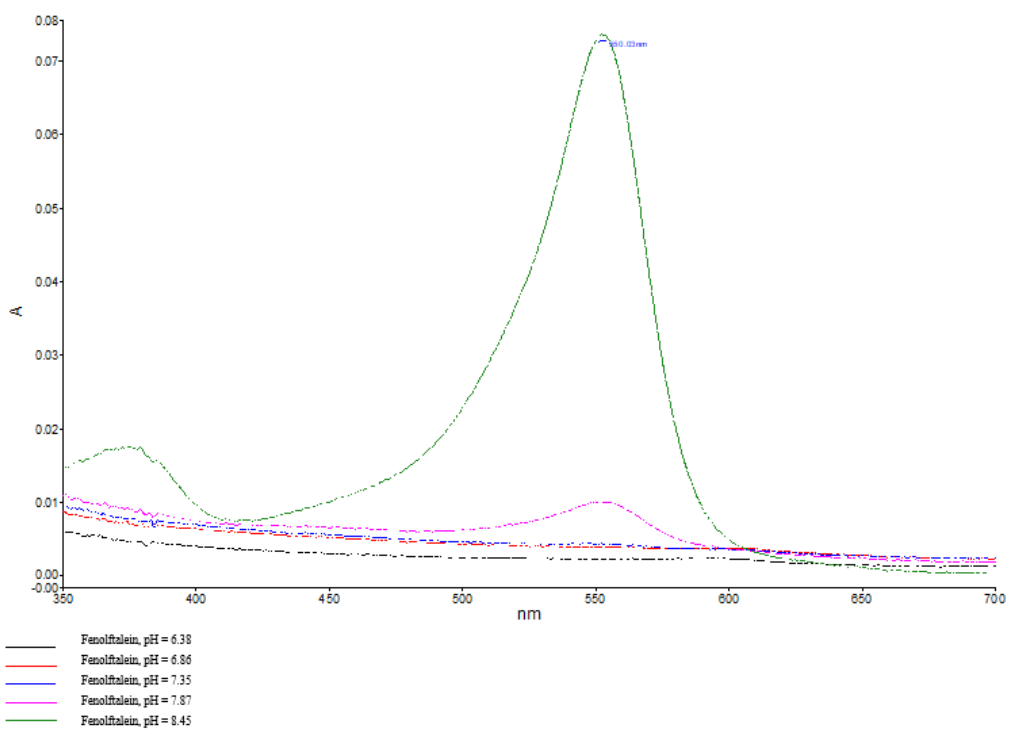
**Slika 10.** ApSORPCIJSKI SPEKTAR indikatora bromfenol plavo u fosfatnom puferu



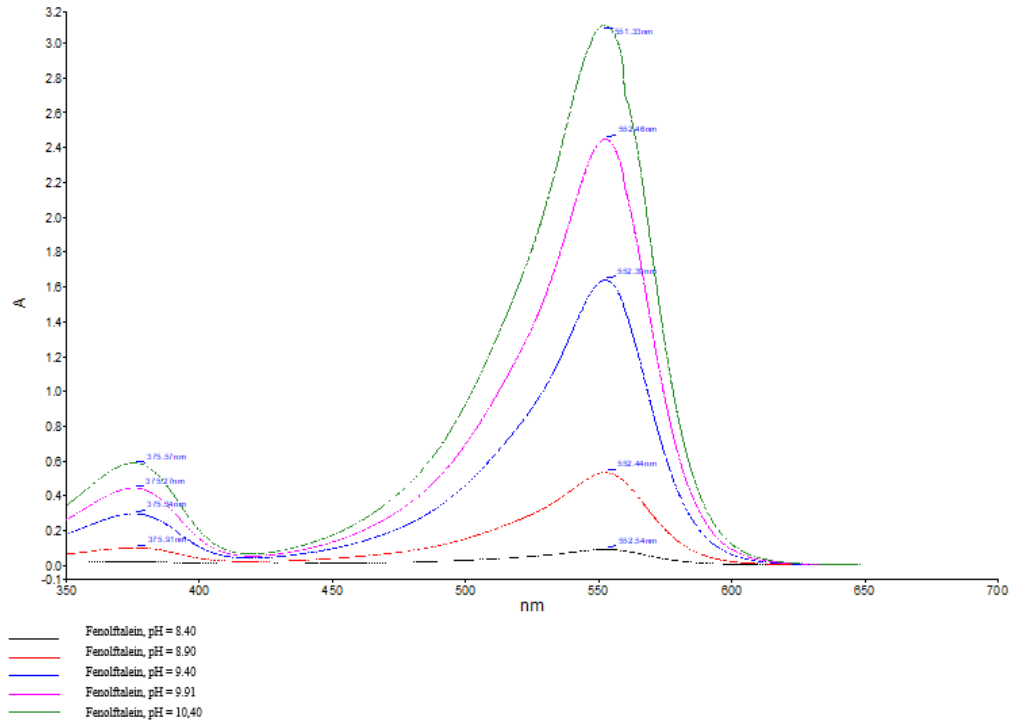
**Slika 11.** ApSORPCIJSKI SPEKTAR indikatora bromfenol plavo u boratnom puferu



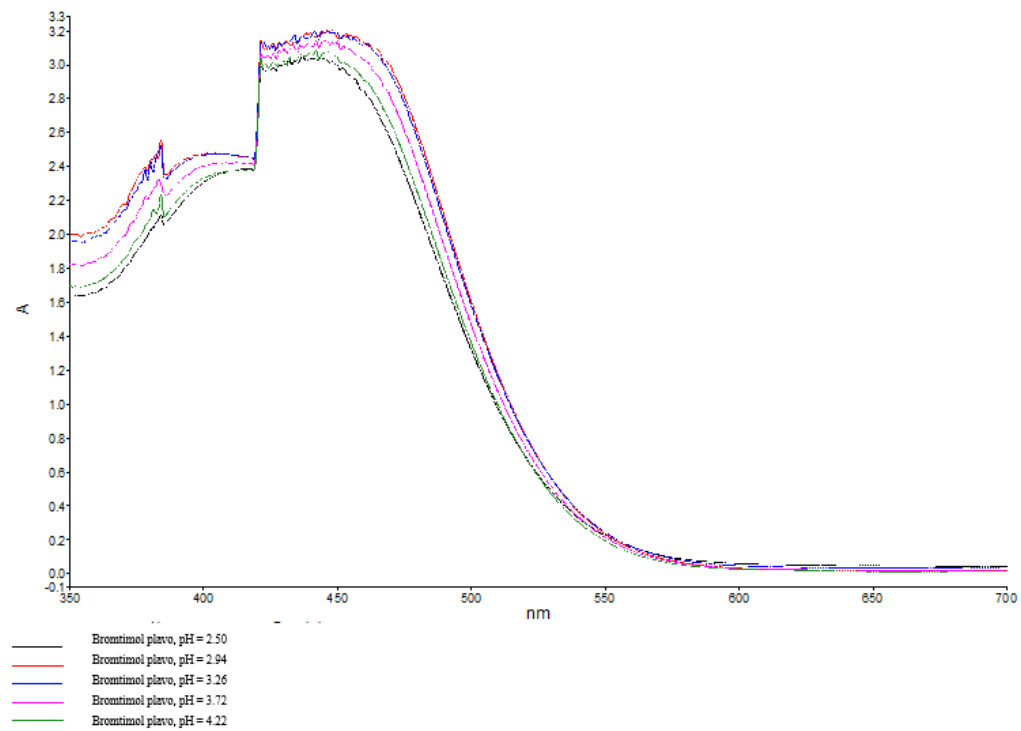
**Slika 12.** Absorpcijski spektar indikatora fenolftalein u citratnom puferu



**Slika 13.** Absorpcijski spektar indikatora fenolftalein u fosfatnom puferu

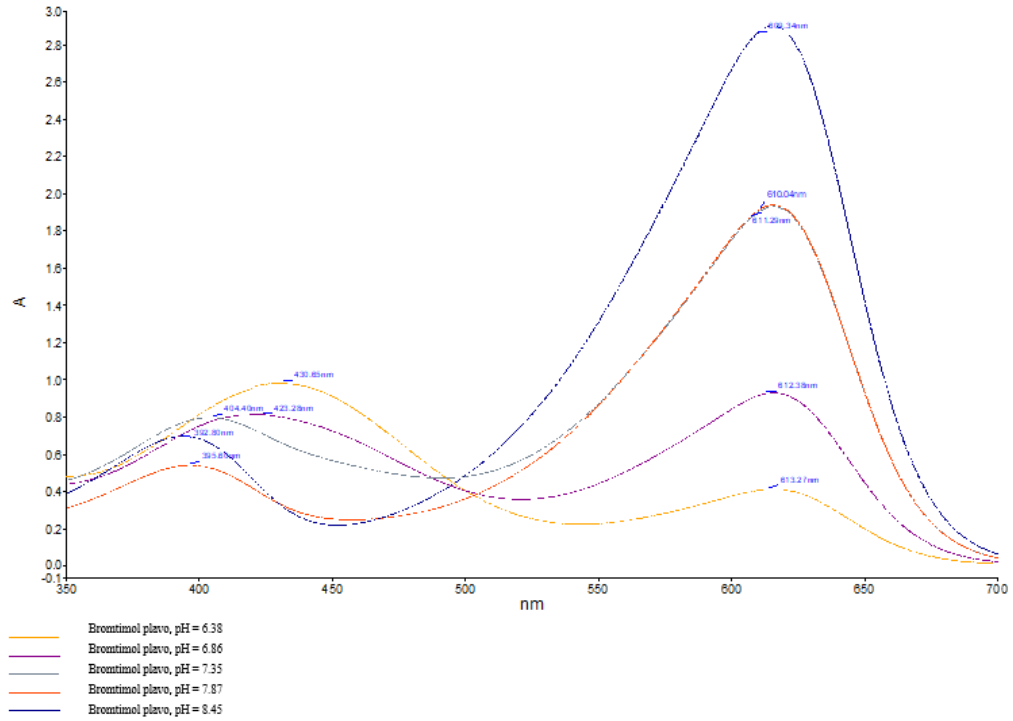


**Slika 14.** Absorpcijski spektar indikatora fenolftalein u boratnom puferu

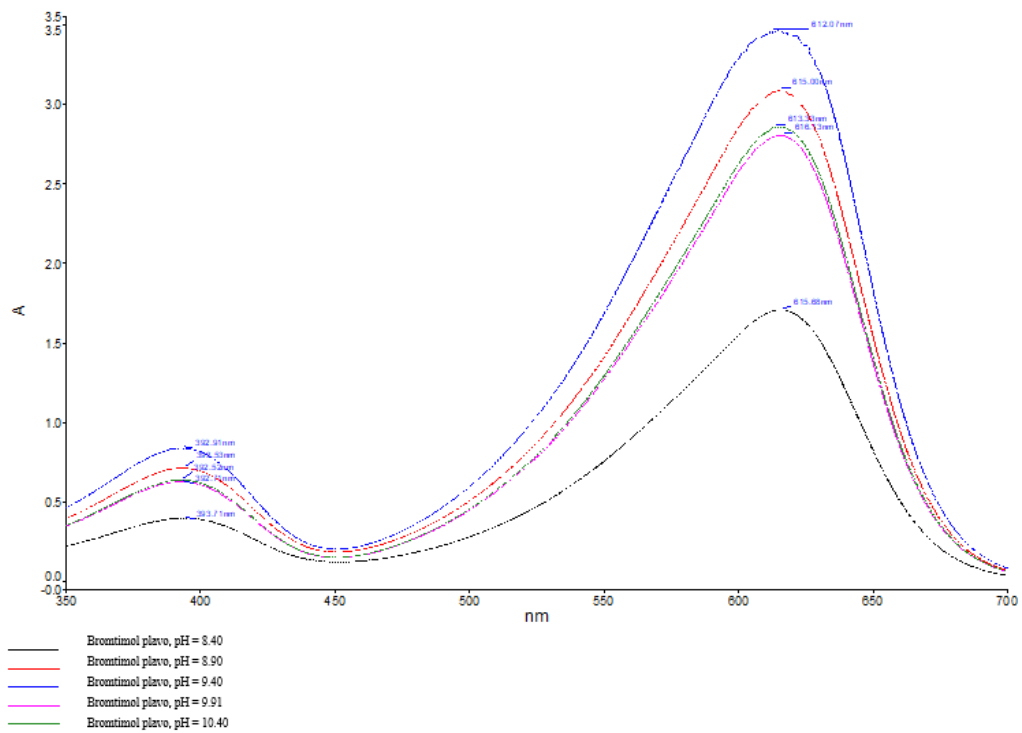


**Slika 15.** Absorpcijski spektar indikatora bromtimol plavo u citratnom puferu





**Slika 16.** Apsorpcijski spektar indikatora bromtimol plavo u fosfatnom puferu



**Slika 17.** Apsorpcijski spektar indikatora bromtimol plavo u boratnom puferu

Snimanjem apsorpcijskih spektara određene su valne duljine maksimuma apsorpcije koje iznose 441 nm i 590 nm za indikator bromfenol plavo, 375 nm i 522 nm za indikator fenolftalein te 431 nm i 615 nm za indikator bromtimol plavo. Iz dobivenih vrijednosti valnih duljina pri kojima dolazi do maksimalne apsorpcije, uočavamo da se nalaze u vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra, što znači da indikatori apsorbiraju vidljivo zračenje. Pri dobivenim valnim duljinama kod kojih dolazi do maksimalne apsorpcije, provedena su mjerenja apsorpcije u otopinama indikatora pri pH-vrijednostima karakterističnima za svaki indikator. Kako su mjerenja provedena pri konstantnim valnim duljinama, dobivena vrijednost apsorpcije direktno ovisi o stupnju disocijacije ispitivanog indikatora pri različitim pH-vrijednostima. Za spektrofotometrijsko određivanje konstante disocijacije primijenjene su četiri metode, od kojih dvije grafičke i dvije računske metode.

#### 4.1. Grafičke metode određivanja konstante disocijacije

Za grafičko određivanje konstante disocijacije spektrofotometrijski, u ovome radu su primijenjene dvije metode koje su zasebno analizirane. Metode se temelje na mjerenju apsorpcije potpuno disociranog i nedisociranog oblika indikatora te mjerenju vrijednosti apsorpcije u otopinama pH-vrijednosti koje korespondiraju području u kojem dolazi do promjene udjela disociranog i nedisociranog oblika indikatora.

##### 4.1.1. Prva grafička metoda

Prva grafička metoda zasniva se na Henderson-Hasselbachovoj jednadžbi (3), pri čemu postoji linearna ovisnost  $\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In-}}$  o pH-vrijednosti. U točki u kojoj dobiveni pravac presijeca apscisu vrijedi da je  $pK_a = pH$ , stoga za vrijednost te točke možemo reći da predstavlja  $pK_a$  vrijednost indikatora.

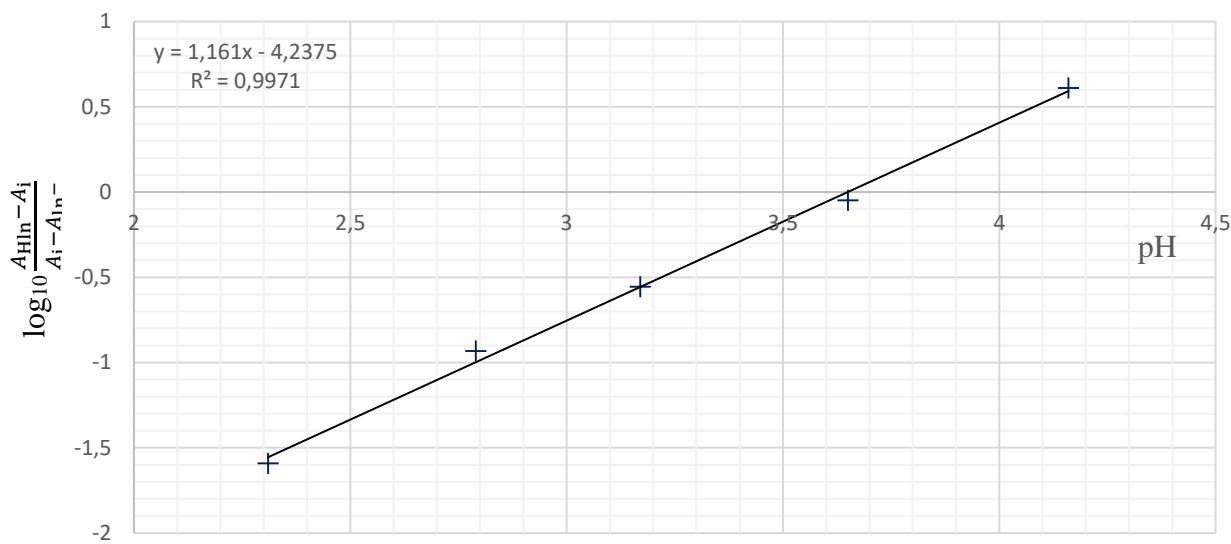
#### 4.1.1.1. Prva grafička metoda za indikator bromfenol plavo

U **Tablici 2** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopina bromfenol plavog pri različitim pH-vrijednostima.

**Tablica 2.** Apsorbancija bromfenol plavog pri različitim pH-vrijednostima

pH	Apsorbancija	$\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In^-}}$
2,31	0,113	-1,591
2,79	0,374	-0,933
3,17	0,745	-0,556
3,65	1,580	-0,048
4,16	2,664	0,610

$A_{HIn}$  predstavlja apsorbanciju indikatora u kiselom području (pH = 2.00) gdje se on nalazi u protoniranom obliku, i za bromfenol plavo iznosi  $A_{HIn} = 0,031$ .  $A_{In^-}$  predstavlja apsorbanciju indikatora u lužnatom području (pH = 12.00) gdje se indikator nalazi u deprotoniranom obliku i za bromfenol plavo ona iznosi  $A_{In^-} = 3,311$ . Na **Slici 18** grafički je prikazana ovisnost  $\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In^-}}$  o pH-vrijednosti za indikator bromfenol plavo.



**Slika 18.** Grafički prikaz ovisnosti  $\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In^-}}$  o pH-vrijednosti za indikator bromfenol plavo

Iz jednadžbe pravca (**Slika 18**):

$$y = 1.161 \cdot x - 4.2375$$

odnosno:

$$A = 1.161 \cdot \text{pH} - 4.2375$$

za vrijednost apsorbancije  $A = 0$  slijedi:

$$0 = 1.161 \cdot \text{pH} - 4.2375$$

iz čega je moguće izračunati da je  $\text{pH} = 3.65$ .

Grafičkom metodom određena je p-vrijednost konstante disocijacije ( $\text{p}K_a$ ) za indikator bromfenol plavo koja iznosi 3.65.

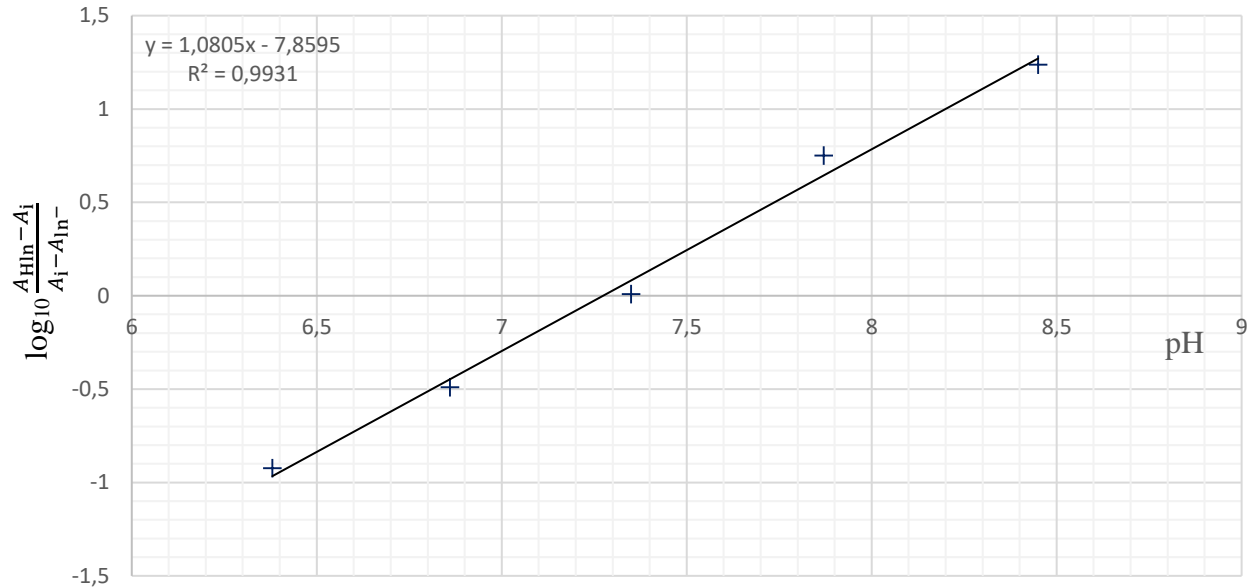
#### 4.1.1.2. Prva grafička metoda za indikator brotmimol plavo

U **Tablici 3** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopina brotmimol plavog pri različitim pH-vrijednostima.

**Tablica 3.** Apsorbancija brotmimol plavog pri različitim pH-vrijednostima

pH	Apsorbancija	$\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In^-}}$
6,38	0,407	-0,924
6,86	0,926	-0,490
7,35	1,907	0,008
7,87	3,205	0,751
8,45	3,566	1,238

$A_{HIn}$  predstavlja apsorbanciju indikatora u kiselom području (pH = 2.00) gdje se on nalazi u protoniranom obliku, i za brotmimol plavo iznosi  $A_{HIn} = 0,006$ .  $A_{In^-}$  predstavlja apsorbanciju indikatora u lužnatom području (pH = 12.00) gdje se indikator nalazi u deprotoniranom obliku i za brotmimol plavo ona iznosi  $A_{In^-} = 3,722$ . Na **Slici 19** grafički je prikazana ovisnost  $\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In^-}}$  o pH-vrijednosti za indikator brotmimol plavo.



**Slika 19.** Grafički prikaz ovisnosti  $\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In^-}}$  o pH-vrijednosti za indikator bromtimol plavo

Iz jednadžbe pravca (**Slika 19**):

$$y = 1.0805 \cdot x - 7.8595$$

odnosno:

$$A = 1.0805 \cdot \text{pH} - 7.8595$$

za vrijednost apsorbancije  $A = 0$  slijedi:

$$0 = 1.0805 \cdot \text{pH} - 7.8595$$

iz čega dobivamo da je  $\text{pH} = 7.27$ .

Grafičkom metodom određena je p-vrijednost konstante disocijacije ( $\text{p}K_a$ ) za indikator bromtimol plavo koja iznosi 7.27.

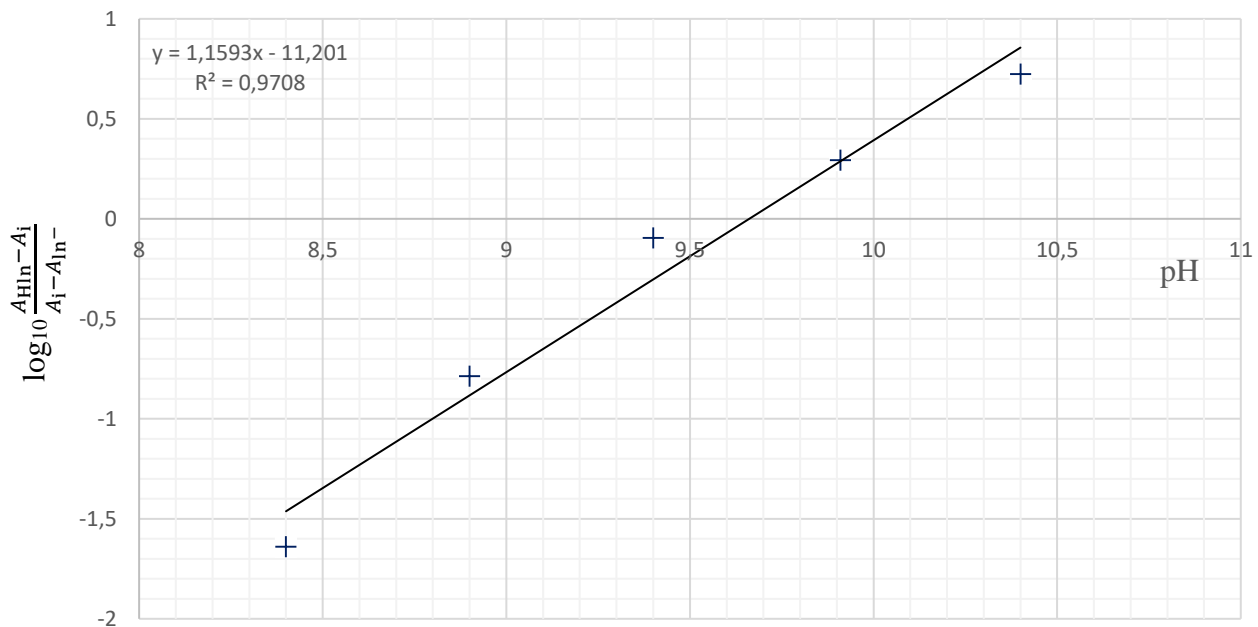
#### 4.1.1.3. Prva grafička metoda za indikator fenolftalein

U **Tablici 4** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopina fenolftaleina pri različitim pH-vrijednostima.

**Tablica 4.** Apsorbancija fenolftaleina pri različitim pH-vrijednostima

pH	Apsorbancija	$\log_{10} \frac{A_{\text{HIn}} - A_i}{A_i - A_{\text{In}^-}}$
8,40	0,088	-1,640
8,90	0,522	-0,786
9,40	1,637	-0,096
9,91	2,437	0,294
10,40	3,090	0,724

$A_{\text{HIn}}$  predstavlja apsorbanciju indikatora u kiselom području (pH = 2.00) gdje se on nalazi u protoniranom obliku, i za fenolftalein iznosi  $A_{\text{HIn}} = 0,006$ .  $A_{\text{In}^-}$  predstavlja apsorbanciju indikatora u lužnatom području (pH = 12.00) gdje se indikator nalazi u deprotoniranom obliku i za fenolftalein ona iznosi  $A_{\text{In}^-} = 3,672$ . Na **Slici 20** grafički je prikazana ovisnost  $\log_{10} \frac{A_{\text{HIn}} - A_i}{A_i - A_{\text{In}^-}}$  o pH-vrijednosti za indikator fenolftalein.



**Slika 20.** Grafički prikaz ovisnosti  $\log_{10} \frac{A_{HIn} - A_i}{A_i - A_{In^-}}$  o pH-vrijednosti za indikator fenolftalein

Iz jednadžbe pravca (**Slika 20**):

$$y = 1.1593 \cdot x - 11.201$$

odnosno:

$$A = 1.1593 \cdot \text{pH} - 11.201$$

za vrijednost apsorbancije  $A = 0$  slijedi:

$$0 = 1.1593 \cdot \text{pH} - 11.201$$

iz čega dobivamo da je  $\text{pH} = 9.66$ .

Grafičkom metodom određena je p-vrijednost konstante disocijacije ( $\text{p}K_a$ ) za indikator fenolftalein koja iznosi 9.66.



#### 4.1.2. Druga grafička metoda

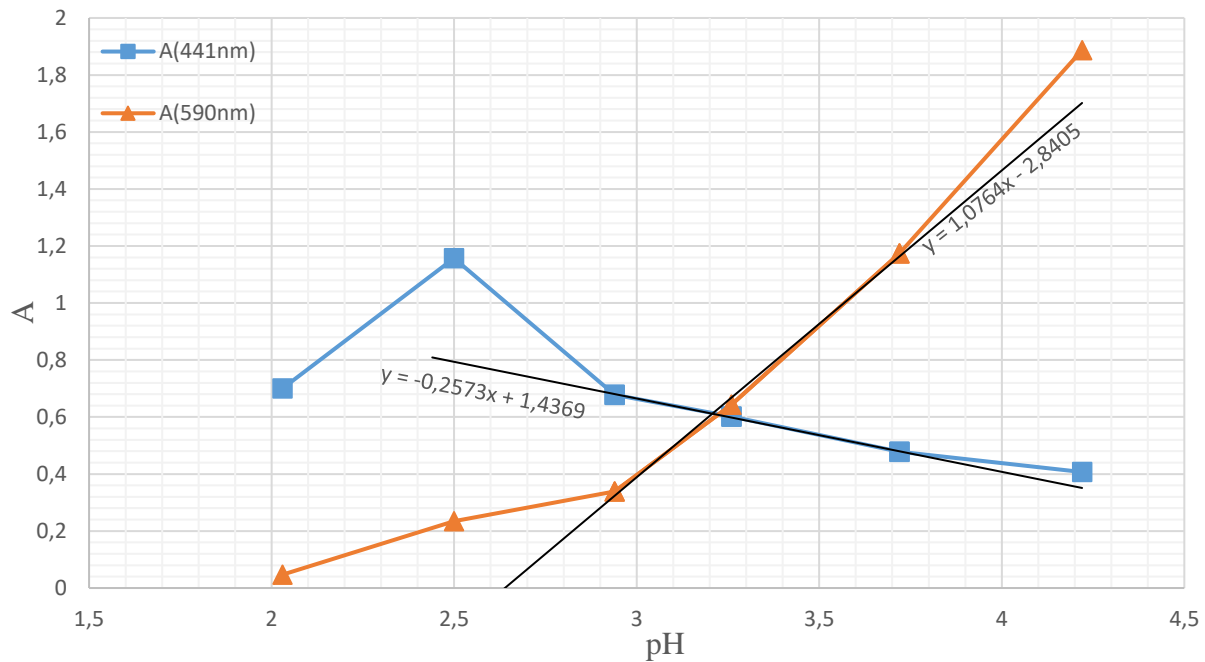
Druga grafička metoda temelji se na mjerenju apsorbancije indikatora pri dvjema valnim duljinama i to onima kod kojih dolazi do maksimalne apsorpcije disociranog tj. nedisociranog indikatora. Prikazujući ovisnost apsorbancije o pH-vrijednosti za dvije različite valne duljine, dobivamo dva seta podataka iz kojih određujemo vrijednost konstante disocijacije. Vrijednost konstante disocijacije dobivamo određujući pH-vrijednost u točki u kojoj dolazi do presijecanja pravaca koje provlačimo kroz dobivene podatke za određene valne duljine. Pravce provlačimo kroz točke koje su najbliže sjecištu dviju dobivenih krivulja za svaku krivulju zasebno te linearnom regresijom određujemo njihovu jednadžbu, a potom i sjecište. U točki sjecišta vrijedi da je  $pK_a = \text{pH}$ , stoga iz te relacije određujemo vrijednost konstante disocijacije.

##### 4.1.2.1. Druga grafička metoda za indikator bromfenol plavo

U **Tablici 5.** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopine indikatora bromfenol plavog pri različitim pH-vrijednostima i pri valnim duljinama maksimuma apsorpcije disociranog ( $\lambda = 590 \text{ nm}$ ) i nedisociranog oblika indikatora ( $\lambda = 441 \text{ nm}$ ).

**Tablica 5.** Apsorbancija bromfenol plavog na maksimalnim valnim duljinama disociranog i nedisociranog oblika pri različitim pH-vrijednostima

pH	$A(\lambda=441\text{nm})$	$A(\lambda=590\text{nm})$
2,03	0,700	0,047
2,50	1,157	0,234
2,94	0,678	0,339
3,26	0,602	0,643
3,72	0,478	1,174
4,22	0,407	1,887
6,38	0,327	2,664
6,84	0,645	3,502
7,30	0,334	3,042
7,79	0,355	2,919
8,33	0,617	3,490



**Slika 21.** Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije pri različitim valnim duljinama o pH-vrijednosti za indikator bromfenol plavo

U točki sjecišta pravaca vrijedi:

$$A_{441} = A_{590}$$

iz čega slijedi:

$$-0.2573 \cdot \text{pH} + 1.4369 = 1.0764 \cdot \text{pH} - 2.8405$$

$$\text{pH} = 3.21$$

Kako u točki sjecišta pravaca vrijedi da je  $\text{pH} = \text{p}K_a$ , slijedi da je vrijednost konstante disocijacije ( $\text{p}K_a$ ) za indikator bromfenol plavo:

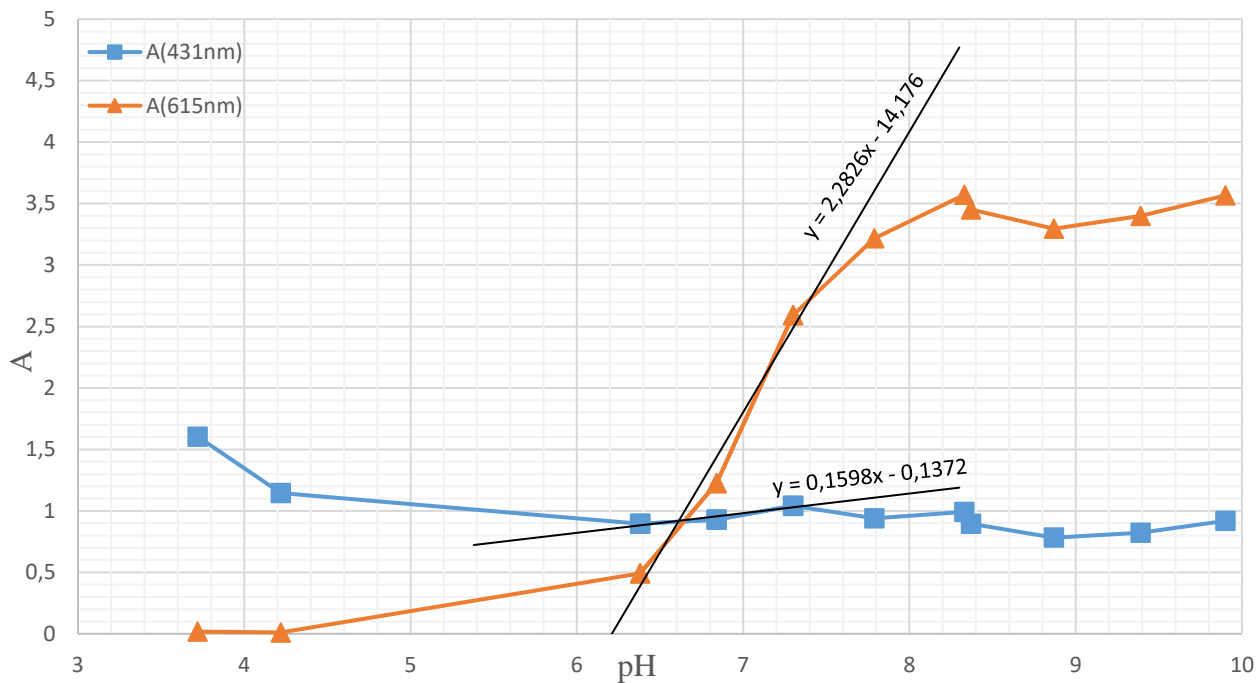
$$\text{p}K_a = 3.21$$

#### 4.1.2.2. Druga grafička metoda za indikator bromtimol plavo

U **Tablici 6.** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopine indikatora bromtimol plavog pri različitim pH-vrijednostima i pri valnim duljinama maksimuma apsorpcije disociranog ( $\lambda = 615 \text{ nm}$ ) i nedisociranog oblika indikatora ( $\lambda = 431 \text{ nm}$ ).

**Tablica 6.** Apsorbancija bromtimol plavog na maksimalnim valnim duljinama disociranog i nedisociranog oblika pri različitim pH-vrijednostima

pH	$A(\lambda=431\text{nm})$	$A(\lambda=615\text{nm})$
3,72	1,604	0,018
4,22	1,146	0,011
6,38	0,895	0,493
6,84	0,930	1,225
7,30	1,042	2,593
7,79	0,939	3,216
8,33	0,992	3,571
8,37	0,896	3,452
8,87	0,782	3,295
9,39	0,822	3,400
9,90	0,919	3,566



**Slika 22.** Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije pri različitim valnim duljinama o pH-vrijednosti za indikator bromtimol plavo

U točki sjecišta pravaca vrijedi:

$$2.2826 \cdot \text{pH} - 14.176 = 0.1598 \cdot \text{pH} - 0.1372$$

$$\text{pH} = 6.61$$

Kako u točki sjecišta pravaca vrijedi da je  $\text{pH} = \text{p}K_a$ , slijedi da je vrijednost konstante disocijacije ( $\text{p}K_a$ ) za indikator bromtimol plavo:

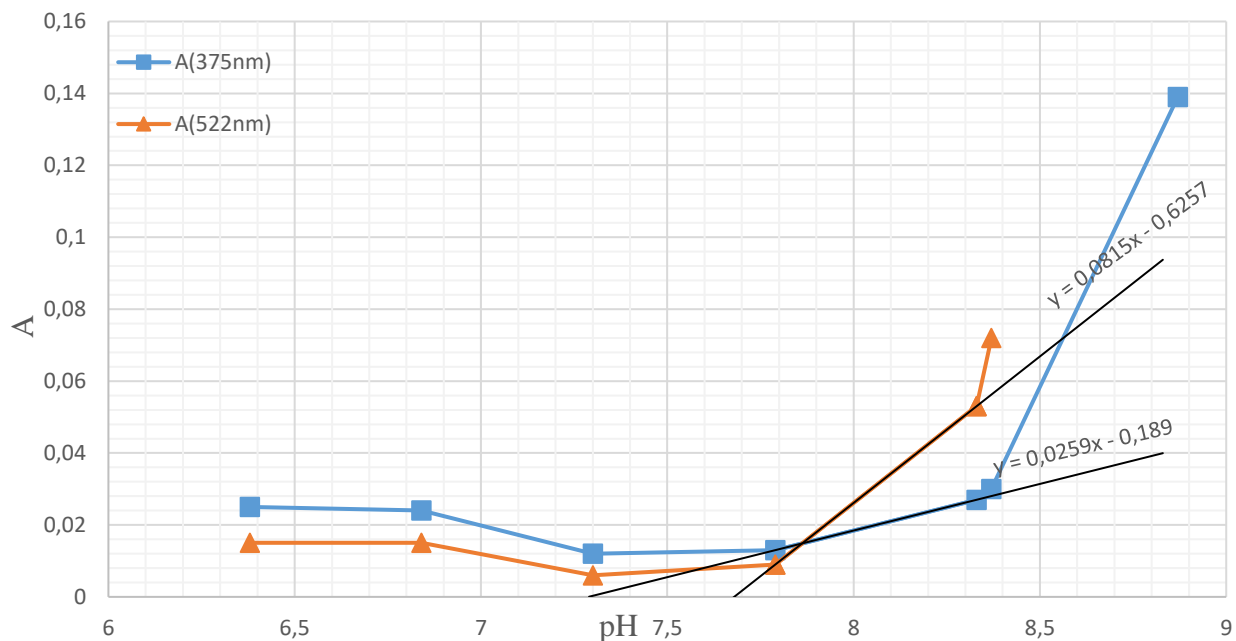
$$\text{p}K_a = 6.61$$

#### 4.1.2.3. Druga grafička metoda za indikator fenolftalein

U **Tablici 7.** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopine indikatora fenolftaleina pri različitim pH-vrijednostima i pri valnim duljinama maksimuma apsorpcije disociranog ( $\lambda = 552 \text{ nm}$ ) i nedisociranog oblika indikatora ( $\lambda = 375 \text{ nm}$ ).

**Tablica 7.** Apsorbancija fenolftaleina na maksimalnim valnim duljinama disociranog i nedisociranog oblika pri različitim pH-vrijednostima

pH	$A(\lambda=375\text{nm})$	$A(\lambda=552\text{nm})$
6,38	0,025	0,015
6,84	0,024	0,015
7,30	0,012	0,006
7,79	0,013	0,009
8,33	0,027	0,053
8,37	0,030	0,072
8,87	0,139	0,379
9,39	0,478	1,352
9,90	0,634	1,810
10,34	0,654	1,870
11,97	0,866	2,456



**Slika 23.** Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije pri različitim valnim duljinama o pH-vrijednosti za indikator fenolftalein

U točki sjecišta pravaca vrijedi:

$$0.0815 \cdot \text{pH} - 0.6257 = 0.0259 \cdot \text{pH} - 0.0189$$

$$\text{pH} = 7.85$$

Kako u točki sjecišta pravaca vrijedi da je  $\text{pH} = \text{p}K_a$ , slijedi da je vrijednost konstante disocijacije ( $\text{p}K_a$ ) za indikator fenolftalein:

$$\text{p}K_a = 7.85$$

## 4.2. Računske metode određivanja konstante disocijacije

Za računsko određivanje konstante disocijacije spektrofotometrijski, u ovome radu su primijenjene također dvije računске metode koje su zasebno analizirane. Obje metode temelje se na mjerenju vrijednosti apsorbancije otopina indikatora pri pH-vrijednostima koje korespondiraju području u kojem dolazi do promjene omjera koncentracija disociranog i nedisociranog oblika indikatora.

### 4.2.1. Prva računska metoda

Prva računska metoda zasniva se na Henderson-Hasselbachovoj jednadžbi (3), pri čemu vrijednost konstante disocijacije računamo iz vrijednosti  $\log_{10} \frac{A_{\text{HIn}} - A_i}{A_i - A_{\text{In}^-}}$  pri različitim pH-vrijednostima. Za svaku pH-vrijednost računa se konstanta disocijacije, a konačna vrijednost konstante disocijacije računa se kao srednja vrijednost dobivenih rezultata pri različitim pH-vrijednostima.

#### 4.2.1.1. Prva računska metoda za indikator bromfenol plavo

U **Tablici 8** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopine bromfenol plavog pri različitim pH-vrijednostima za vrijednosti konstante disocijacije pri svakoj pH-vrijednosti. Vrijednosti konstante disocijacije izračunate su prema jednadžbi (10) uz  $A_{\text{HIn}} = 0,031$  i  $A_{\text{In}^-} = 3,331$ .

**Tablica 8.** Apsorbancija i  $pK_{a,i}$  vrijednosti pri različitim pH-vrijednostima za indikator bromfenol plavo

pH	2,31	2,79	3,17	3,65	4,16
$A_i$	0,113	0,374	0,745	1,580	2,664
$pK_{a,i}$	3,90	3,72	3,73	3,70	3,56

Srednja vrijednost svih  $pK_{a,i}$ , odnosno konstanta disocijacije bromfenol plavog iznosi  $pK_a = 3.72$ .

#### 4.2.1.2. Prva računaska metoda za indikator bromtimol plavo

U **Tablici 9** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopine bromtimol plavog pri različitim pH-vrijednostima za vrijednosti konstante disocijacije pri svakoj pH-vrijednosti. Vrijednosti konstante disocijacije izračunate su prema jednadžbi (10) uz  $A_{HIn} = 0,006$  i  $A_{In^-} = 3,772$ .

**Tablica 9.** Apsorbancija i  $pK_a$  vrijednosti pri različitim pH-vrijednostima za indikator bromtimol plavo

pH	6,38	6,86	7,35	7,87	8,45
$A_i$	0,407	0,926	1,907	3,205	3,556
$pK_{a,i}$	7,30	7,35	7,34	7,12	7,23

Srednja vrijednost svih  $pK_{a,i}$ , odnosno konstanta disocijacije bromtimol plavog iznosi  $pK_a = 7,27$ .



#### 4.2.1.3. Prva računaska metoda za indikator fenolftalein

U **Tablici 10** prikazani su rezultati mjerenja apsorbancije otopine fenolftaleina pri različitim pH-vrijednostima za vrijednosti konstante disocijacije pri svakoj pH-vrijednosti. Vrijednosti konstante disocijacije izračunate su prema jednadžbi (10) uz  $A_{HIn} = 0,006$  i  $A_{In^-} = 3,672$ .

**Tablica 10.** Apsorbancija i  $pK_a$  vrijednosti pri različitim pH-vrijednostima za indikator fenolftalein

pH	8,40	8,90	9,40	9,91	10,40
$A_i$	0,088	0,522	1,637	2,437	3,090
$pK_{a,i}$	10,04	9,68	9,50	9,62	9,68

Srednja vrijednost svih  $pK_{a,i}$ , odnosno konstanta disocijacije fenolftaleina iznosi  $pK_a = 9,70$ .

#### 4.2.2. Druga računaska metoda

Druga računaska metoda slična je prvoj računskoj metodi te se temelji na apsorbanciji otopina indikatora pri tri različite pH-vrijednosti i pri istoj valnoj duljini. p-vrijednost konstante disocijacije računa se prema jednadžbi (14):

$$pK_a = I - \log \frac{(10^b - 10^a)A_1 + (1 - 10^b)A_2 + (10^a - 1)A_3}{(10^a - 10^b)A_1 + (10^{a+b} - 10^a)A_2 + (10^b - 10^{a+b})A_3} \quad (14)$$

gdje je:

$I$  - najmanja pH-vrijednost

$a$  - razlika srednje i najmanje pH-vrijednosti

$b$  - razlika najveće i najmanje pH-vrijednosti

$A_1$  - apsorbancija pri niskoj pH-vrijednosti

$A_2$  - apsorbancija pri srednjoj pH-vrijednosti

$A_3$  - apsorbancija pri visokoj pH-vrijednosti

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  mjere se pri istoj valnoj duljini

#### 4.2.2.1. Druga računska metoda za indikator bromfenol plavo

Mjerni podaci dani su u **Tablici 8**. Vrijednosti pojedinih parametara su sljedeći:

$$I = 2,31$$

$$a = 3,17 - 2,31 = 0,86 \text{ (razlika srednje i najmanje pH-vrijednosti)}$$

$$b = 4,16 - 2,31 = 1,85 \text{ (razlika najveće i najmanje pH-vrijednosti)}$$

$$A_1 = 0,113$$

$$A_2 = 0,745$$

$$A_3 = 2,664$$

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  mjere se pri 590 nm

Primjenom jednadžbe (14) izračunata je vrijednost  $pK_a$  te je dobiveno da konstanta disocijacije za bromfenol plavo iznosi  $pK_a = 3,77$ .

#### 4.2.2.2. Druga računaska metoda za indikator bromtimol plavo

Mjerni podaci dani su u **Tablici 9**. Vrijednosti pojedinih parametara su sljedeći:

$$I = 6,38$$

$$a = 7,35 - 6,38 = 0,97 \text{ (razlika srednje i najmanje pH-vrijednosti)}$$

$$b = 8,45 - 6,38 = 2,07 \text{ (razlika najveće i najmanje pH-vrijednosti)}$$

$$A_1 = 0,407$$

$$A_2 = 1,907$$

$$A_3 = 3,556$$

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  mjere se pri 615 nm

Primjenom jednadžbe (14) izračunata je vrijednost  $pK_a$  te je dobiveno da konstanta disocijacije za bromtimol plavo iznosi  $pK_a = 7,37$ .

#### 4.2.2.3. Druga računska metoda za indikator fenolftalein

Mjerni podaci dani su u **Tablici 10**. Vrijednosti pojedinih parametara su sljedeći:

$$I = 8,40$$

$$a = 9,40 - 8,40 = 1,00 \text{ (razlika srednje i najmanje pH-vrijednosti)}$$

$$b = 10,40 - 8,40 = 2,00 \text{ (razlika najveće i najmanje pH-vrijednosti)}$$

$$A_1 = 0,088$$

$$A_2 = 1,637$$

$$A_3 = 3,090$$

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  mjere se pri 552 nm

Primjenom jednadžbe (14) izračunata je vrijednost  $pK_a$  te je dobiveno da konstanta disocijacije za fenolftalein iznosi  $pK_a = 9,37$ .

### 4.3. Analiza rezultata

Grafički određene i izračunate p-vrijednosti konstanti disocijacije bromfenol plavog, bromtimol plavog i fenolftaleina te literaturne pK<sub>a</sub> vrijednosti preuzete s PubChem stranice [11, 12, 13] prikazne su u **Tablici 11**.

**Tablica 11.** pK<sub>a</sub> vrijednosti za sve indikatore svim provedenim metodama sa njihovim literaturnim vrijednostima te izračunate apsolutne i relativne pogreške

	BFP	BTP	FF	Apsolutna pogreška			Relativna pogreška (%)		
				BFP	BTP	FF	BFP	BTP	FF
Literaturne vrijednosti	4.00	7.10	9.70						
Prva grafička metoda	3.65	7.27	9.66	0.35	0.17	0.04	8.75	2.39	0.41
Druga grafička metoda	3.21	6.61	7.85	0.79	0.49	1.85	19.75	6.90	19.07
Prva računaska metoda	3.72	7.27	9.70	0.28	0.17	0.00	7.00	2.39	0.00
Druga računaska metoda	3.77	7.37	9.37	0.23	0.27	0.33	5.75	3.80	3.40

BFP – bromfenol plavo  
 BTP – bromtimol plavo  
 FF – fenolftalein

$$\text{Apsolutna pogreška} = |pK_a - pK_{a,T}|$$

$$\text{Relativna pogreška (\%)} = \frac{\text{Apsolutna pogreška}}{pK_{a,T}} \cdot 100 = \frac{|pK_a - pK_{a,T}|}{pK_{a,T}} \cdot 100$$

Prva grafička metoda daje rezultate čije su vrijednosti slične računskim metodama. Druga grafička metoda daje najlošije rezultate, s najvećim pogreškama i najmanjim vrijednostima  $pK_a$  za sva tri indikatora, što možemo pripisati provlačenju dva pravca kroz relativno mali broj točaka. U prvoj grafičkoj metodi linearna regresija primijenjena je samo jednom i to kroz veći broj točaka što pogoduje dobivanju točnijih rezultata. Poboljšanje u drugoj grafičkoj metodi moglo bi se postići povećanjem broja mjerenja u blizini  $pK_a$  vrijednosti čime bi se dobili pravci koji bolje opisuju eksperimentalne podatke.

Iz dobivenih rezultata uočavamo da računске metode općenito daju točnije p-vrijednosti konstante disocijacije ( $pK_a$ ) od grafičkih metoda, što je posljedica linearne regresije koju primjenjujemo u grafičkim metodama. Uspoređujući prvu grafičku metodu i obje računске metode, možemo zaključiti da daju rezultate sličnih vrijednosti. Također vrijednosti konstante disocijacije ovise o temperaturi, stoga odstupanja možemo pripisati i radu pri drugačijoj temperaturi od one na kojoj su dane literaturne vrijednosti konstante disocijacije (25 °C).

Snimanjem apsorpcijskih spektara ispitivanih indikatora uočavamo da su prisutna dva oblika indikatora: protonirani i deprotonirani oblik pri čemu svaki apsorbira elektromagnetsko zračenje pri različitim valnim duljinama, što je posljedica promjene u strukturi ovisno o pH-vrijednosti.

Rezultati određivanja p-vrijednosti konstanti disocijacija indikatora pokazuju da će indikator bromfenol plavo mijenjati boju u kiselom području tj. pri nižim pH-vrijednostima. Indikator bromtimol plavo mijenja boju u neutralnom području tj. pri srednjim pH-vrijednostima. Dok indikator fenolftalein mijenja boju u blago lužnatom području tj. pri višim pH-vrijednostima.

## 5. ZAKLJUČAK

U ovome radu spektrofotometrijski su određene vrijednosti konstanti disocijacije indikatora: bromfenol plavo, bromtimol plavo te fenolftaleina. Spektrofotometrijska mjerenja ispitivanih indikatora provedena su u otopinama pufera točno poznatih pH-vrijednosti. Snimljeni su apsorpcijski spektri i određene su valne duljine pri kojima indikatori najviše apsorbiraju elektromagnetsko zračenje i pri kojima je mjerena apsorbancija. Izmjerene vrijednosti apsorbancija otopina indikatora korištene su u računskim i grafičkim metodama određivanja p-vrijednosti konstante disocijacije indikatora. Za određivanje p-vrijednosti konstanti disocijacije korištene su dvije grafičke i dvije računske metode. Iz dobivenih rezultata možemo izvesti sljedeće zaključke:

- Indikatori se u otopinama pojavljuju u dva oblika, protoniranom i deprotoniranom
- Računske metode određivanja p-vrijednosti konstante disocijacije općenito daju točnije i pouzdanije vrijednosti
- Prva grafička metoda daje p-vrijednosti konstante disocijacije sličnih vrijednosti kao i računske metode
- Druga grafička metoda pokazuje najveća odstupanja od literaturnih  $pK_a$  vrijednosti i daje najmanje vrijednosti
- p-vrijednost konstante disocijacije indikatora bromfenol plavo nalazi se u kiselom području ( $pK_a = 3.21 - 3.77$ ), indikatora bromtimol plavo u neutralnom području ( $pK_a = 6.61 - 7.37$ ), dok za p-vrijednost konstante disocijacije fenolftaleina zaključujemo da se nalazi u lužnatom području ( $pK_a = 7.85 - 9.70$ )



## 6. LITERATURA

- [1] P. W. Atkins, L. L. Jones, Chemical principles: The quest for insight, 5. izdanje, Wh Freeman, New York, 2012, str. 423-494.
- [2] Spektrofotometrijska metoda, URL.: <https://tipbiosystems.com/blog/spectrophotometry/> (pristup 30.03.2021.)
- [3] P. Amateis, M. Silberberg, Chemistry: The molecular nature of matter and change, 7. izdanje, McGraw Hill, New York, 2015, str. 777-797.
- [4] S. Babić, A. J. M. Horvat, D. Mutavdžić Pavlović, M. Kaštelan-Macan, Determination of  $pK_a$  values of active pharmaceutical ingredients, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(11) (2007) 1043-1061.
- [5] J. H. Berkhout, A. H. N. Ram, Recent advancements in spectrophotometric  $pK_a$  determinations: a review, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 4 (2019) 475-478.
- [6] G. V. Patterson, A simplified method for finding the  $pK_a$  of an acid-base indicator by spectrophotometry, *Journal of Chemical Education*, 3 (1999) 395-398.
- [7] L. E. V. Salgado, C. Vargas-Hernández, Spectrophotometric determination of the  $pK_a$ , isobestic point and equation of absorbance vs. pH for a universal pH indicator, *American Journal of Analytical Chemistry*, 5 (2014) 1290-1301.
- [8] Indikatori, URL.: <https://enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=27314> (pristup 29.03.2021.)
- [9] D. Dabić, D. Petrin, Puferi u nastavi. I. Mjerenje vrijednosti pH i osnove teorije pufera, *Kemija u industriji*, 69 (3-4) (2020) 183-194.
- [10] D. T. Harvey, Modern analytical chemistry, 1. izdanje, McGraw Hill, Boston, 2000, str. 140-143.; 288-290.; 369-392.
- [11] Indikator fenolftalein, URL.: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenolphthalein> (pristup 28.03.2021.)
- [12] Indikator bromfenol plavo, URL.: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bromophenol-blue> (pristup 28.03.2021.)

[13] Indikator bromtimol plavo, URL.:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bromothymol-blue> (pristup 28.03.2021.)

[14] Uređaj za pročišćavanje vode, URL.: <https://conquerscientific.com/wp-content/product-images/2011/08/Simplicity-System-User-Manual.pdf> (pristup 10.04.2021.)

[15] Analitička vaga, URL.:

<https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=analiti%C4%8Dka+vaga> (pristup 10.04.2021.)

[16] pH-metar, URL.: <https://www.britannica.com/technology/pH-meter> (pristup 10.04.2021.)

[17] Spektrofotometar, URL.: [https://www.perkinelmer.com/cmsresources/images/44-74448bro\\_lambda.pdf](https://www.perkinelmer.com/cmsresources/images/44-74448bro_lambda.pdf) (pristup 10.04.2021.)

[18] Magnetska miješalica s grijačem, URL.: <https://ru-ve.hr/proizvod/magnetske-mje-scaron-alice-sa-i-bez-grijanja-39-51> (pristup 31.07.2021.)

[19] OECD Test 111: Hydrolysis as a function of pH, OECD Guidelines for the testing of chemicals, OECD Publishing, Paris, 2004, <https://doi.org/10.1787/9789264069701-en>.

## ŽIVOTOPIS

Zovem se Patrik Orešković [REDACTED]. Od 2005.-2007. pohađao sam osnovnu školu A. G. Matoša u Zagrebu, a od 2007.-2013. pohađao sam osnovnu školu dr. Ante Starčevića u Zagrebu. Nakon završetka osnovne škole, 2013. godine upisao sam XVIII. Jezičnu gimnaziju u Zagrebu. Po završetku srednje škole 2017. godine te polaganjem državne mature upisujem preddiplomski studij Kemija i inženjerstvo materijala na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Na trećoj godini preddiplomskog studija odradio sam stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković na Zavodu za fizičku kemiju. 2021. godine sam radio kao demonstrator na Zavodu za analitičku kemiju. Tijekom tog perioda stekao sam praktično iskustvo te usavršio primjenu teorijskog znanja u svakodnevnoj struci. Od stranih jezika govorim engleski i španjolski jezik.