

# Bestimmung der Säuredissoziationskonstante



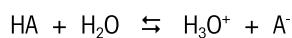
C. De Caro

Die Bestimmung der Säuredissoziationskonstante bedeutet einen wichtigen Schritt in der Entwicklung neuer pharmazeutischer Produkte, da dieser physikochemische Parameter ihre Wirksamkeit stark beeinflussen kann. Die potentiometrische Titration ist eine leistungsstarke Methode zur exakten Bestimmung der Säuredissoziationskonstante. Die METTLER TOLEDO Titratoren in Kombination mit der LabX Titrations-Software erlauben, Messungen routinemässig durchzuführen und die Daten gemäss GLP zu dokumentieren und zu exportieren.

## Was ist der $pK_s$ -Wert?

Säuren gehören zu den bekanntesten und wichtigsten chemischen Verbindungen, die unser tägliches Leben beeinflussen. Essigsäure ist zum Beispiel verantwortlich für den sauren Geschmack von Essig, während Zitronensäure den spezifischen Geschmack von Zitronen, Apfelsinen und anderen Zitrusfrüchten bestimmt. Säuren sind aggressive Chemikalien, die in industriellen Produktionsprozessen (Kunststoffe, Galvanik,...) gebraucht werden, wobei Schwefelsäure weltweit die wichtigste chemische Verbindung in diesen Segmenten ist.

Was sind die charakteristischen Eigenschaften einer Säure? Wenn die Säure HA in Wasser,  $H_2O$ , gelöst wird, dissoziiert sie, indem sie ein Wasserstoffion,  $H^+$ , freisetzt:



Nicht jede Säure dissoziiert vollständig in wässriger Lösung, d.h. die Dissoziationsstärke von Säuren ist verschieden. Salz- und Salpetersäuren sind zum Beispiel stärkere Säuren als Essigsäure, weil diese, im Gegensatz zur Essigsäure, vollständig dissoziiert sind. Das Ausmass der Dissoziation kann quantitativ durch folgende Gleichung beschrieben werden

$$K = \frac{a_{H_3O^+} \cdot a_{A^-}}{a_{HA} \cdot a_{H_2O}}$$

Wobei K die Gleichgewichtskonstante,  $a_x$  die Aktivitäten der Produkte  $H_3O^+$ ,  $A^-$  und der Edukte HA und  $H_2O$  darstellen.

In verdünnten Lösungen sind die Aktivitäten  $a_x$  der Reaktionspartner in guter Näherung gleich der Konzentrationen [X]. Außerdem bleibt die Wasserkon-

zentration  $[H_2O]$ , verglichen mit anderen Reaktionspartnern, konstant. Deshalb kann sie in K einbezogen werden, wodurch die Gleichung vereinfacht wird:

$$K \cdot [H_2O] = K_s = \frac{[H_3O^+] \cdot [A^-]}{[HA]} \quad [1]$$

$K_s$  ist die Dissoziationskonstante einer Säure und ein Mass für ihre Säurestärke. Starke Säuren haben grosse Dissoziationskonstanten, schwache Säuren kleine. Normalerweise wird der negative Logarithmus der Dissoziationskonstante,  $pK_s$ , anstatt des numerischen Werts verwendet:

$$pK_s = -\log(K_s)$$

Starke Säuren haben dementsprechend niedrige  $pK_s$ -Werte, während ein hoher  $pK_s$ -Wert schwache Säuren kennzeichnet. Wenn eine Säure mehr als ein dissozierbares Proton hat, wie zum Beispiel Schwefelsäure ( $H_2SO_4$ , zwei Protonen) oder Phosphorsäure ( $H_3PO_4$ , drei Protonen), ist jede Dissoziationsstufe in wässriger Lösung durch ihre eigene Dissoziationskonstante oder ihren eigenen  $pK_s$ -Wert gekennzeichnet. Einige Bei-

spiele von  $pK_s$ -Werten bei 25 °C [\*] stehen in Tabelle 1 [2]:

[\*] Hinweis: Der  $pK_s$ -Wert und die Dissoziationskonstante  $K_s$  sind temperaturabhängig.

Säure	$pK_s$
CH <sub>3</sub> COOH	4.76
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COOH	4.20
HCOOH	3.74

Tabelle 1:  
Beispiele von  $pK_s$ -Werten organischer Säuren

Die Anwendung des negativen Logarithmus der Dissoziationskonstanten  $K_s$  führt zu folgender Beziehung zwischen dem  $pK_s$ -Wert einer Säure und dem pH-Wert einer wässrigen Lösung dieser Säure:

$$\begin{aligned} pK_s &= -\log(K_s) \\ &= -\log([H_3O^+]) - \log \frac{[A^-]}{[HA]} \\ &= pH - \log \frac{[A^-]}{[HA]} \end{aligned}$$

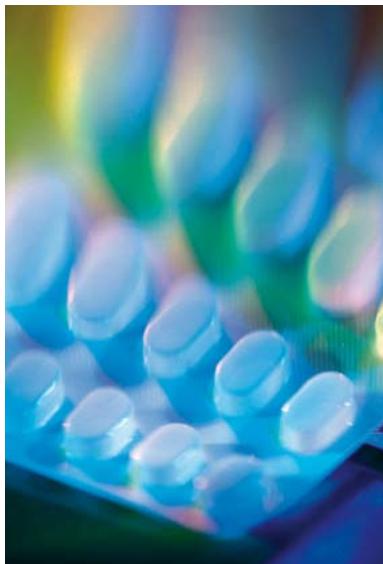
Demnach ist der  $pK_s$ -Wert einer Säure der pH-Wert, bei dem 50% der Säure (HA) zu  $A^-$  dissoziiert ist, das heisst, wenn  $[A^-] = [HA]$ . Diese Bedingung kann durch eine Titration mit einer starken Base, zum Beispiel Natrium- oder Kalii-



umhydroxid erreicht werden. Die Gleichung kann für die Berechnung des  $pK_s$ -Werts benutzt werden, vorausgesetzt, dass die Konzentration aller Reaktionspartner 0.01 mol/L nicht überschreitet, nur Ionen mit einer elektrischen Ladung von +1 oder -1 vorhanden sind und dass sich die Aktivitäten der elektrisch neutralen Spezies nicht zu sehr von ihren Konzentrationen unterscheiden [3].

### Warum messen wir den $pK_s$ -Wert?

Der  $pK_s$ -Wert gibt die Säurestärke eines spezifischen Lösungsmittels an. Diese Grösse ist nicht nur wichtig für die Klassifizierung einer Säure, sondern legt auch die Eigenschaften einer Substanz in der Natur oder ihre mögliche Nutzung als Wirkstoff fest. Die Bestimmung des  $pK_s$ -Werts ist deshalb von grosser Bedeutung in der pharmazeutischen und agrochemischen Industrie (siehe zum Beispiel [4]).



In der Arzneimittelforschung werden synthetisierte Verbindungen zum Beispiel auf ihre Fähigkeit geprüft, ob sie sich spezifisch an biologische Makromoleküle wie Enzyme, Proteine oder Zellen binden. Nur die Verbindungen, welche die gewünschte biologische Aktivität zeigen, d.h. die erfolgreich absorbiert und an die Makromoleküle, bzw. Zellen gebunden werden, sind aussichtsreiche Kandidaten für neue Medikamente. Fast alle Wirkstoff-Moleküle bilden ionisierte Spezies

in wässriger Lösung durch die Freisetzung von Wasserstoffionen  $H^+$ . Aufgrund der Beziehung zwischen  $pK_s$ - und pH-Wert (siehe oben), weist der  $pK_s$ -Wert auf die Form des Moleküls hin, die bei einem gegebenen pH-Wert existieren wird.

Der  $pK_s$ -Wert trägt somit zum Verständnis bei, wie ein elektrisch geladenes Wirkstoff-Molekül mit einem Rezeptor in einer spezifischen biologischen Umgebung interagiert. Die Absorption eines Wirkstoff-Moleküls hängt besonders vom pH-Wert der biologischen Umgebung, von ihrer Beschaffenheit (d.h. eine wässrige oder lipophile Umgebung, usw) ab sowie von der Struktur des Wirkstoff-Moleküls.

Der  $pK_s$ -Wert bestimmt schliesslich auch die Rezeptur des Medikaments (Galenik), welche zum Beispiel für die Wahl geeigneter Gegenionen und zusätzlicher Inhaltsstoffe (z.B. Bindemittel) relevant ist. Ebenso muss auch der  $pK_s$ -Wert von Wirkstoff-Molekülen bestimmt werden, um den pharmazeutischen Verordnungen zu entsprechen.

### Bestimmung des $pK_s$ -Werts

Die Bestimmung des genauen  $pK_s$ -Werts [3] einer schwachen Säure durch Titration mit einer starken Base kann eine anspruchsvolle Aufgabe sein. Das korrekte Vorgehen verlangt

- 1) die genaue Kenntnis der Elektroden-Parameter (besonders des Referenzpotentials  $E_0$  in der Nernst-Gleichung,  $(E = E_0 - s \cdot pH)$ ),
- 2) Aktivitäten anstatt Konzentrationswerte für die benutzten Spezies einzusetzen ( $a = f \cdot c$ , wobei  $c$  die nominale Konzentration in mol/L und  $f$  der Aktivitätskoeffizient ist), und
- 3) das genaue Ionenprodukt des Wassers,  $K_w$  zu verwenden (Dissoziation des Wassers).

Diese Parameter müssen unter kontrollierten Bedingungen bestimmt werden [3], d.h. bei einem bestimmtem Druck, einer bestimmten Temperatur und Ionenstärke und in inerter Atmosphäre (um die Aufnahme von  $CO_2$  durch die starke Base und damit die Bildung von

Carbonat zu verhindern). Deshalb ist es vorteilhaft, Methoden zu benutzen, die die Aufgabe erleichtern, den  $pK_s$ -Wert genau zu bestimmen.

### Halbneutralisationswert (HNV)

Der direkte Weg, den  $pK_s$ -Wert einer schwachen Säure HA in wässriger Lösung zu erhalten, ist die Bestimmung des sogenannten Halbneutralisationswerts, HNV ([1] Abb. 1): Wenn 50% der schwachen Säure neutralisiert ist, ist die Konzentration  $[HA]$  der nicht-dissozierten Säure ungefähr gleich der Konzentration  $[A^-]$  der dissozierten Säure, d.h.  $[A^-] \approx [HA]$ .

Entsprechend der folgenden Gleichung ist der pH-Wert an diesem Punkt derselbe wie der  $pK_s$ -Wert :

$$pK_s = pH - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Der Halbneutralisationswert, HNV, kann mit den METTLER TOLEDO Titration Excellence T50, T70 und T90 und den DL5x- und DL7x Titratoren automatisch bestimmt werden, indem der EHNV-Parameter als Resultat ( $R = EHNV$ ) in der Methodenfunktion „Berechnung“ definiert wird. Dieser Parameter liefert den berechneten Halbneutralisationswert (Potential bei  $VEQ/2$ ) bezüglich des Verbrauchs in mL bis zum Äquivalenzpunkt  $VEQ$ .

Für Säuren mit  $pK_s$ -Werten zwischen 4 und 10 ist der HNV eine ausgezeichnete Näherung des  $pK_s$ -Werts. Für starke Säuren ( $pK_s < 4$ ), ist der HNV jedoch höher als der wahre  $pK_s$ -Wert, während für schwache Säuren ( $pK_s > 10$ ) der HNV tiefer als der wahre Wert ist [1].

### Potentiometrische Titration: Schnelle Annäherung an den $pK_s$ -Wert

Die Bestimmung des  $pK_s$ -Werts für schwache einprotonige Säuren (d.h. mit  $pK_s > 4$ ) bezieht sich auf die pH-Messung während der Titration mit einer starken Base bei konstanter Ionenstärke. Zuerst wird die pH-Glas-Kombinationselektrode mit pH-Pufferlösungen, die im Bereich

des erwarteten  $pK_s$ -Werts liegen, kalibriert. Wenn zum Beispiel der  $pK_s$ -Wert von Essigsäure bestimmt werden soll, der in wässrigen Lösungen bei 25 °C 4.76 beträgt, muss die pH-Glaselektrode mit pH 4 und pH 7 Pufferlösungen kalibriert werden. Genaue pH-Messungen werden im allgemeinen für pH-Werte zwischen 2 und 10 erhalten, d.h. in diesem Bereich sind die Alkali- und Säurefehler der Elektrode minimal.

Sowohl die Kalibrierung als auch die Titration werden in einem thermostatierten Titriergefäß durchgeführt, das mit einem externen Wasserbad verbunden ist, dessen Temperatur auf 20 oder 25 °C gesetzt ist. Stickstoff wird eingesetzt, um eine CO<sub>2</sub>-Absorption aus der Luft und jegliche Störung bei der Messung zu verhindern. Die Titration wird durchgeführt, indem konstante Inkremente (INC) von zum Beispiel  $\Delta V = 0.2$  mL des Titriermittels zugegeben werden und der pH-Wert nach je einem fixen Zeitintervall ( $T_{\text{FIX}}$ ) von zum Beispiel  $\Delta t = 45$  s gemessen wird. Während dieser Zeit hat die Reaktion ein Gleichgewicht erreicht und das Signal ist sehr stabil. Ein stabiles Signal ist zwangsläufig erforderlich, um genaue Resultate zu erhalten. Am Ende erhält man eine vollständige Titrierkurve, die aus mehreren Paaren von Messwerten besteht (Titriermittelvolumen, pH).

Mit Hilfe der Beziehung

$$pK_s = \text{pH} - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

wird der  $pK_s$ -Wert bei zum Beispiel 10 verschiedenen Messwerten im Pufferbereich der Titrierkurve gemessen, d.h. im flachen Teil der Kurve. Die geeigneten Messpunkte können einfach in diesem Bereich gewählt werden, indem die 1. Ableitung der Kurve,  $\Delta \text{pH}/\Delta V$ , geprüft wird, welche die Steilheit der Titrierkurve anzeigt. In den Pufferbereichen ist die Signaländerung zwischen den Messpunkten sehr klein, so dass ein  $pK_s$ -Mittelwert berechnet werden kann [3,4]. Die gemessenen pH-Werte können direkt für die  $pK_s$ -Berechnung benutzt werden, wo-

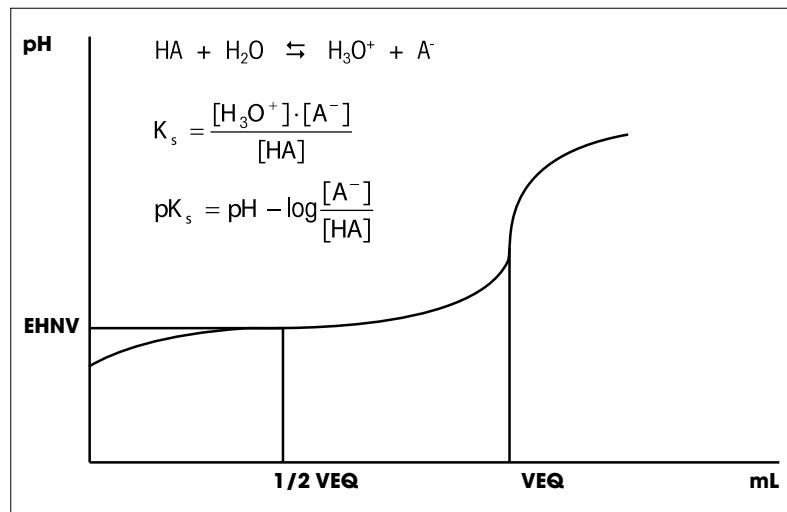


Abbildung 1:  
Titriekurve einer schwachen Säure mit einer starken Base, woraus der EHNV bzw. HNV (Halbneutralisationswert) bestimmt wird

bei die Gleichgewichtskonzentrationen der nicht-dissoziierten und dissoziierten schwachen Säure [HA] und [A<sup>-</sup>] berechnet werden müssen.

Im sauren Pufferbereich der Titriekurve vor dem Äquivalenzpunkt ist die Säurekonzentration zum Beispiel höher als die Konzentration der zugegebenen starken Base, das heißt, [HA] > [OH<sup>-</sup>]. Deshalb können die Gleichgewichtskonzentrationen als [HA] ≈ [HA]<sub>0</sub> - [OH<sup>-</sup>]<sub>add</sub>, und [A<sup>-</sup>] ≈ [OH<sup>-</sup>]<sub>add</sub>, formuliert werden, wobei [HA]<sub>0</sub> die Anfangskonzentration der schwachen Säure [HA] ist und [OH<sup>-</sup>]<sub>add</sub> die Konzentration der starken Base in der Probelösung nach jeder Titriermittelzugebung. Die Titrationsdaten können danach im PC gespeichert und mit Hilfe der LabX Titrations-Software in Excel®-Tabellen exportiert werden, um den  $pK_s$ -Wert zu berechnen.

## Schlussfolgerungen

Die Dissoziationskonstante  $K_s$  von Säuren ist ein physikochemischer Parameter von grosser Bedeutung in der pharmazeutischen und agrochemischen Industrie. Ihre Bestimmung ist ein Teil von Analysemethoden, die für die Synthese und Charakterisierung der Wirkstoffe notwendig sind, welche für die Produktion von pharmazeutischen Produkten eingesetzt werden.

Die Titration Excellence T50, T70 oder T90 sowie die DL5x- und DL7x Titratoren erlauben eine benutzerfreund-

liche, automatische Bestimmung des  $pK_s$ -Werts von schwachen Säuren in wässrigen Lösungen auf zwei Wegen. Erstens, die Bestimmung und Berechnung des Halbneutralisationswerts (HNV), ist ein schneller Weg, um genaue  $pK_s$ -Werte zwischen 4 bis 10 zu erhalten. Zweitens erlaubt die potentiometrische Titration einer schwachen Säure mit einer starken Base, den  $pK_s$ -Wert nach der Fachliteratur zu bestimmen. Des Weiteren unterstützt die LabX Titrations-Software die Dokumentation und den Export der Messdaten gemäss GLP-Anforderungen.

## Literatur

- [1] "Fundamentals of titration", METTLER TOLEDO publication ME-704153A, 1998.
- [2] D.C. Harris, "Quantitative Chemical Analysis", 5th Edition, 1999, W.H. Freeman and Co.
- [3] A. Albert, E.P. Serjeant, "The Determination of Ionization Constants: A Laboratory Manual", 3rd Edition, 1984, Chapman and Hall.
- [4] US Environmental Protection Agency, EPA Products Properties Test Guidelines, "OPPTS 830.7370 Dissoziation constants in water", EPA-712-C-96-036, August 1996.