

TARTU ÜLIKOOL  
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND

Keemia Instituut  
Analüütilise keemia õppetool

Juhan Luik

**MÕNINGATE INDIKAATORAINETE HAPPELIS-ALUSELISTE OMADUSTE  
UURIMINE ATSETONITRIILIS**

Bakalaureusetöö (6 EAP)

Materjaliteadus

Juhendajad: Jaan Saame, MSc

Prof. Ivo Leito, PhD

Tartu 2019

## Sisukord

Kasutatud Lühendid .....	4
1. Sissejuhatus .....	5
2. Kirjanduse ülevaade .....	6
2.1. Happelis-aluselised tasakaalud lahustes.....	6
2.2. Lahusti roll happelis-aluselistes tasakaaludes .....	8
2.3. Ainete happelis-aluseliste omaduste määramise keskkonnad.....	8
2.4. Ainete happelis-aluseliste omaduste määramine lahustes.....	10
2.4.1. Spektrofotomeetria .....	10
2.4.2. Teised meetodid .....	11
2.5. Indikaatormaterjalid .....	11
3. Eksperimentaalne osa .....	13
3.1. Aparatuur.....	13
3.1.1. Kuivkapp .....	13
3.1.2. UV-Vis spektromeetrid .....	13
3.1.3. Muud töövahendid.....	14
3.2. Kasutatud kemikaalid.....	14
3.3. Happelis-aluseliste tasakaalude uurimine spektrofotomeetrilisel meetodil .....	17
3.3.1. Töolahuste valmistamine.....	17
3.3.2. Spektrofotomeetriline tiitrimine .....	17
3.4. Andmetöötlus .....	18
3.4.1. Üldine meetod .....	18
3.4.2. Lihtsustatud arvutuskäik .....	19
4. Tulemused ja arutelu .....	20
4.1. Fluorestseerivad indikaatorained.....	20
4.2. Fluoraani tüüpi värvained.....	21

4.3. Nitrofenoolid ja trinitroaniliin .....	23
5. Kokkuvõte .....	27
6. Summary .....	28
7. Kasutatud kirjandus:.....	29
8. Lisa. Uuritud ainete UV-Vis spektrid. ....	32

## Kasutatud Lühendid

AN	atsetonitriil
THF	tetrahüdrofuraan
DMSO	dimetüülsulfoksiid
$K_{\text{auto}}$	autoprotolüüsikonstant
$K_{\text{a}}$	dissotsiatsioonikonstant
$\text{p}K_{\text{a}}$	dissotsiatsioonikonstandi negatiivne kümnendlogaritm $-\log(K_{\text{a}})$
NMR	tuumamagnetresonantspektroskoopia
HPLC	kõrgefektiivne vedelikkromatograafia
PTFE	polütetrafluoroetüleen
$\alpha$	aktiivsus
$A^{\lambda}$	neelduvus lainepikkusel $\lambda$
$\epsilon_{\text{r}}$	keskkonna suhteline dielektriline läbitavus
UV	ultraviolettkiirgus
Vis	nähtav valgus
$\alpha$	dissotsiatsioonimäär
TfOH	trifluorometaansulfoonhape
EtP <sub>2</sub> (dma)	etüül-pentakis(dimetüülamino)difosforaan
t-BuP <sub>1</sub> (pyrr)	tert-butüülimino-tris(pürrolidino)fosforaan

## 1. Sissejuhatus

Aine happelis-aluselised omadused mõjutavad oluliselt tema käitumist keemilistes protsessides. Paljude ainete rakendustes on need omadused määrava tähtsusega ning seetõttu on uute sünteesitud ainete puhul nende aluselisust-happelisust vaja määrata.

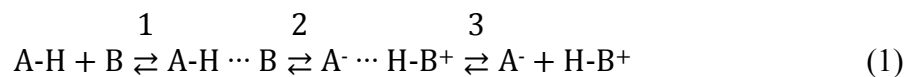
Käesolevas töös uuritud ainete hulka kuulub kolm indikaatorainete gruppi. Esimene neist koosneb neljast 7-amino-4-(trifluorometüül)kumariinil põhinevast lipofiilsest fluorestseerivast aineist. Teine ainete grupp on Fluoraani-põhised värvained. Kolmas grupp aineid on kolm dinitrofenooli ja trinitroaniliin.

Kõigi nende ainete uurimine on huvipakkuv, kuna nad võiksid sobida erinevates pH piirkondades pH-tundlike indikaatormaterjalide loomiseks. Esimese grupi ainete fluorestsentsi-omadused muudavad nad huvipakkuvateks indikaatormaterjalideks, kuna fluorestsentsi abil saadud signaal on intensiivne ning need molekulid on inertsed. Fluoraani-põhised värvained pakuvad oma intensiivse värvi poolest samuti huvi indikaatormaterjalina ning on huvipakkuvad ka värvainetena, mille abil oleks võimalik teha klaasi, mille läbipaistvust saab reguleerida. Nitrofenoolid (anioonses vormis) on samuti nähtavas spektrialas intensiivse neeldumisega ained, mis on indikaatorainetena huvipakkuvad, kuna tegemist on odavalt sünteesitavate ainetega. Samuti on nende puhul teiseks eesmärgiks leida uusi lihtsalt kättesaadavaid ja heade spektriomadustega referentsaineid edaspidisteks  $pK_a$  mõõtmisteks atsetonitriilis. Kõigi nende ainete puhul on  $pK_a$  väärtuse määramine oluline, kuna see annab meile infot, millises pH-vahemikus me neid aineid keskkonna pH-d mõõta saame. Värvainete puhul annab see meile lisaks veel infot selle kohta, millistel tingimustel saab tehtavat reguleeritava läbipaistvusega klaasi tumendada.

## 2. Kirjanduse ülevaade

### 2.1. Happelis-aluselised tasakaalud lahustes

Lahustes esinevad lahustunud ainete vahelistele vastasmõjudele lisaks ka lahusti ja lahustunud ainete vahelised vastasmõjud. Brønsted-Lowry definitsiooni kohaselt on happed prootoni doonorid ja alused prootoni aktseptorid[1]. Kui prooton läheb happelt AH alusele B, tekib selle happe konjugeeritud alus  $A^-$  ja vastava aluse konjugeeritud hape  $BH^+$ . Siinkohal on vastav tasakaal toodud neutraalse happe näitel. Töös kasutatakse ka katioonseid happeid ning nende puhul toimib protsess analoogselt. See üleminekuprotsess toimub lihtsustatult vaadeldes kolmes etapis:



Skeemil 1 on näha kolme tasakaalu teket. Esimene tasakaal kirjeldab happe ja aluse vahelise kompleksi teket. Üldiselt on selline kompleks seotud vesiniksidemega, kuid selle võimaluse puudumisel võib tegemist olla ka van der Waalsi jõududega. Teine tasakaal kirjeldab prootoni ülekannet kompleksisiseselt, mille tagajärjel tekib kontaktioonpaar. Kolmas tasakaal kirjeldab tekkinud ionipaari dissotsiatsiooni ning solvateeritud ionide tekkimist. Tervet reaktsiooni kirjeldab tasakaalukonstant  $K_a = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3$ . [2]

Üldisemalt saab skeemi 1 kokku võtta:



Brønsted-Lowry teooria järgi on skeemil 2 olev HA hape,  $A^-$  on tema konjugeeritud alus, S on alus ja  $HS^+$  on tema konjugeeritud hape. Happelise dissotsiatsiooni tasakaalukonstant  $K_a$  avaldub järgmiselt:

$$K_a = \frac{a(HS^+) \cdot a(A^-)}{a(HA)} \quad (3)$$

Lahusti S aktiivsuse võib valemist välja jätta, kuna eeldame et lahusti on suures ülehulgas ning tema aktiivsus on konstantne ja see liidetakse tasakaalukonstandi koosseisu.

$K_a$  väärtused varieeruvad väga laias vahemikus ning seetõttu on mõistlik kasutada logaritmilist skaalat. Üldiselt kasutatakse ainete  $K_a$  väärtuste võrdlemiseks negatiivset kümnendlogaritmi:

$$pK_a = -\log K_a = -\log \frac{a(\text{HS}^+) \cdot a(\text{A}^-)}{a(\text{HA})} \quad (4)$$

Mittevesikeskkondades on solvateeritud prootoni aktiivsust raske määrata, seetõttu on eelistatud mõõtemetodid, mille puhul solvateeritud prootoni aktiivsust pole vaja mõõta. Käesolevas töös kasutati prootoni jaotumise hindamiseks kahe happe vahel järgmist eksperimendiskeemi:



Selle reaktsiooni tasakaalukonstandi negatiivne logaritmi näitab vaadeldavate ainete happelisuse erinevust vastavas keskkonnas ning seda võib väljendada  $\Delta pK_a$  väärtusena:

$$-\log K = \Delta pK_a = pK_a(\text{HA}_2) - pK_a(\text{HA}_1) = -\log \frac{a(\text{A}_1^-) \cdot a(\text{HA}_2)}{a(\text{HA}_1) \cdot a(\text{A}_2^-)} \quad (6)$$

Lahjade lahuste korral võime teha eelduse, et ainete neutraalsete ja ioonsete vormide aktiivsuste suhted on võrdsed. Sel juhul saame kasutada aktiivsuste asemel ainete tasakaalulisi kontsentratsioone[3]:

$$-\log K = \Delta pK_a = pK_a(\text{HA}_2) - pK_a(\text{HA}_1) = -\log \frac{[\text{A}_1^-] \cdot [\text{HA}_2]}{[\text{HA}_1] \cdot [\text{A}_2^-]} \quad (7)$$

Valemitest 6 ja 7 järeldub, et kui mõõta ühe aine suhtelist happelisust teise suhtes, siis ei ole vaja teada keskkonna happelisust, kuna vastav liige  $a(\text{HS}^+)$  taandub valemist välja. Valemi 7 põhjal saab ainete happelisuste erinevusi kvantitatiivselt mõõta paljudes vähepolaarsetes keskkondades, kasutades vaid hapete anioonide ja neutraalide tasakaalulisi kontsentratsioone ning jättes välja keskkonna üldise happelisuse mõõtmise.

Lisaks eelmainitule on võimalik, et lahusesse tekivad ka assotsiaadid, konjugaadid või ioonpaarid, mis kõik on ka tasakaalulised protsessid. Käesolevas töös olevate ainete eripära ning kasutatud madalate kontsentratsioonide tõttu nende teket ei täheldatud.

## 2.2. Lahusti roll happelis-aluselistes tasakaaludes

Ainete happelis-aluselised omadused sõltuvad alati ka keskkonnast, kus me neid vaatleme. Lahusti omadustest sõltub, kui hästi ained selles lahustuvad ja dissotsieeruvad, kas nad moodustavad assotsiaate jne.[4]

Ka lahustil on happelis-aluselised omadused, mida kujutab skeem 8 ja kirjeldab kvantitatiivselt valem 9:



$$K_{\text{auto}} = a(\text{S}^-) \cdot a(\text{SH}_2^+) \quad \text{p}K_{\text{auto}} = -\log K_{\text{auto}} \quad (9)$$

Autoprotolüüsikonstant  $K_{\text{auto}}$  kirjeldab kui suures vahemikus saab keskkonna happelisuus vastavas lahustis varieeruda. Tugevaim võimalik hape vastavas lahustis saab olla lüoniumioon  $\text{SH}_2^+$  ja tugevaim alus lüaatioon  $\text{S}^-$ . Kõik lüoniumioonist tugevamad happed ja lüaatioonist tugevamad alused nivelleeritakse vastavatele tasemetele. Mida madalam on  $K_{\text{auto}}$  väärtus, seda laiemas  $\text{p}K_{\text{a}}$  väärtuste vahemikus saab selles lahustis ainete happelis-aluselisi omadusi mõõta. Lahustid jaotatakse tinglikult protoonseteks ( $\text{p}K_{\text{auto}} < 20$ ) ja aprotoonseteks ( $\text{p}K_{\text{auto}} > 20$ ).[4]

Lahusteid saab jagada ka suhtelise dielektrilise läbitavuse järgi polaarseteks ( $\epsilon_r > 15$ ) ja apolaarseteks ( $\epsilon_r < 15$ ).[2,5]

Lahusti polaarsus on oluline, kuna polaarsemates lahustites on elektrostaatilisid jõud ionide vahel nõrgemad ning happed dissotsieeruvad paremini (tasakaal 3 skeemil 1). Nõrgemad jõud ionide vahel muudavad ka ionpaaride tekkimise oluliselt vähemtõenäoliseks.

## 2.3. Ainete happelis-aluseliste omaduste määramise keskkonnad

Ainete happelis-aluselised omadused sõltuvad oluliselt keskkonnast. Samuti on uurimiseks vajalik valida sobiv keskkond, sest kõigis keskkondades kõiki aineid uurida ei saa. Järgnevalt vaadeldakse ainete happelis-aluseliste omaduste määramiseks võimalikke keskkondi.

Ainete tõelised happelis-aluselised omadused tulevad välja gaasifaasis, sest seal ei mõjuta tulemusi interaktsioonid lahusti või teiste ainetega ning ei teki assotsiaate. Paljudele hapetele on ka leitud eksperimentaalsed gaasifaasilised happelised ning alustele eksperimentaalsed gaasifaasilised aluselised. Gaasifaasist saadud andmete põhjal saab kõige täpsemini teha

järeldusi molekulide struktuuri ja omaduste seoste kohta ning selle erinevate osade mõjust aine happelis-aluseliste omadustele. Paljude ainete puhul on gaasifaasilised mõõtmised tehnilised keerulised või koguni võimatud ning tihti on huvipakkuv just lahusti mõju aine omadustele. Samuti toimub valdav osa praktiliselt olulisi protsesse kondenseeritud faasis.

Vedelfaasi keskkondade puhul on lahusti valiku puhul peamisteks kriteeriumiks lahusti  $pK_{\text{auto}}$  väärtus ning lahusti happelisus ja aluselisisus. Lahusti  $pK_{\text{auto}}$  väärtus määrab ära kui laias vahemikus on antud lahustis võimalik happelis-aluselisi omadusi mõõta. Lahusti happelisusest ja aluselisusest sõltub, millises happelisuse ja aluselisuse vahemikus aineid mõõta on võimalik. Teine oluline kriteerium on ainete lahustuvus vaadeldavas lahustis. Kui aine neutraalne vorm ei lahustu, on mõõtmisi väga raske läbi viia ning kui ioonsed vormid ei lahustu hästi või tekivad assotsiaadid, siis võib tulemuste interpreteerimine olla väga keeruline. Viimase vastu aitab ka väga madalate kontsentratsioonide kasutamine, kuid ka sel juhul kannatab täpsus.

Enim kasutatud lahusti on vesi, kuna paljud protsessid toimuvad vees ja tihti huvitab meid just ainete käitumine veekeskkonnas. Vesi solvateerib efektiivselt ioone ning assotsiaatide teke on seetõttu vähetõenäoline. Samas on vesi nivelleeriv lahusti, kuna tema  $pK_{\text{auto}} = 14$  ning vees on  $pK_a$  skaala kokku surutud. Vesi on ka polaarne ning paljud madala polaarsusega ained lahustuvad vees halvasti. Alkoholid on vähepolaarsetele ainetele oluliselt sobivamad lahustid kui vesi, kuid ka alkoholidel on nivelleerivad omadused. Madala suhtelise dielektrilise läbitavusega lahustites (eetrid, alifaatsed ja aromaatsed süsivesinikud ning nende halogeenderivaadid) moodustavad ioonid assotsiaate, mis võivad välja sadestuda ja tulemusi mõjutada.[2]

Neist probleemidest möödapääsemiseks tasub uurida tugevaid happeid ja aluseid nõrgalt väljendunud happelis-aluseliste omadustega polaarsetes ja vähepolaarsetes lahustites. Sellisteks lahustiteks sobivad hästi näiteks tetrahüdrofuraan (THF), dimetüülsulfoksiid (DMSO) või atsetonitril (AN).

THF on diferentseeriv lahusti ( $pK_{\text{auto}} = 34,7$ )[6], mis sobib hästi tugevate aluste uurimiseks oma aluseliste omaduste tõttu. Madala dielektrilise konstandi tõttu ( $\epsilon_r = 7,47$ )[7] esinevad ioonsed ühendid THF keskkonnas põhiliselt ioonpaaridena. Kuna THF ei solvateeri ioone väga hästi, siis on selles ka mingil määral assotsiaate.

DMSO on samuti diferentseeriv lahusti ( $pK_{\text{auto}} = 35,1$ )[6], mis sobib hästi aluste uurimiseks oma nõrgalt happeliste omaduste tõttu. Kõrge dielektriline konstant ( $\epsilon_r = 46,71$ )[7] tähendab, et

ioonpaaride teke on vähemtõenäoline. DMSO kasutamist ainete happelis-aluseliste ainete mõõtmisel piirab tema madal optiline läbilaskvus lainepikkustel alla 270 nm.

AN on diferentseerivate omadustega lahusti ( $pK_{\text{auto}} \approx 40$ )[8], mis sobib hästi tugevamate hapete uurimiseks oma madala aluselise tõttu. Talle on omane kõrge dielektriline konstant ( $\epsilon_r = 35,94$ )[7], mistõttu on ionipaaride tekkimise tõenäosus madal.[4] AN on ilmselt enimkasutatud mittevseskeskkond mõõdukalt tugevate hapete ja aluste uurimiseks ning võimaldab uurimistööd läbi viia spektrofotomeetriliselt. Seetõttu kasutati seda ka käesolevas töös.

#### 2.4. Ainete happelis-aluseliste omaduste määramine lahustes

Ainete happelis-aluselisi omadusi saab uurida erinevate meetoditega. Keskkonnast, aine omadustest ja soovitatavast informatsioonist sõltuvalt tuleb valida nendest sobivaim.  $pK_a$  väärtuste määramise meetodid jagunevad absoluutseteks (potentsiomeetria) ja suhtelisteks (spektrofotomeetria, vedelik-kromatograafia, tuumamagnetresonants-spektroskoopia). Absoluutsete meetodite puhul leitakse keskkonna üldine happelisus ja aine dissotsiatsioonimäär ning nende põhjal arvutatakse  $K_a$ . Suhteliste meetodite puhul mõõdetakse kahe aine dissotsiatsioonimäärad ühes lahuses ja määratakse selle põhjal nende happelisuste erinevus,  $\Delta pK_a$ . Teades ühe aine  $K_a$  väärtust, on võimalik välja arvutada ka teise happe vastav väärtus.

##### 2.4.1. Spektrofotomeetria

Spektrofotomeetria põhineb aine neutraalse ja ioonse vormi erinevatel neelduvustel UV-Vis spektrialas. Ainele omase  $pK_a$  väärtuse leidmiseks vaja registreerida tema neutraalse ja ioonse vormi spektrid ning mõned vahepealsed spektrid, mille korral lahuses on mõlemad vormid tasakaalus. Kui meil on kasutada sobiv referentsaine ja on olemas selle spektrid ning  $pK_a$  väärtus, siis on võimalik kahe aine segude spektrite ning ainete hulkade põhjal leida uuritava aine  $pK_a$  väärtus referentsaine suhtes. Meetodi eeliseks on võimalus töötada madalate kontsentratsioonide juures, mis lubab kasutada ka nõrgalt solvateerivate omadustega lahusteid. Meetodi eeliseks on ka see, et mõõdetakse ainete suhtelist aluselisust või happelisust. Seetõttu on lahuses olevate lisandite mõju tulemustele väiksem, kuna need (näiteks vesi) mõjutavad sarnaselt nii uuritavat ainet kui ka referentsainet. On ka vajalik et uuritava aine neutraalse ja ioonse vormi spektrid oleksid erinevad ning ka uuritava aine ning referentsaine spektrid ei oleks liiga sarnased. Samuti on vaja uuritavas spektrialas mitteneelavat lahustit ning titrante.

#### 2.4.2. Teised meetodid

**Potentsiomeetria** -  $pK_a$  väärtuste määramisel on potentsiomeetria laialdaselt kasutatud, eriti mõõtmisel vesilahustes. Mittevesilahustes on potentsiomeetria kasutamine keeruline – võrreldes spektrofotomeetriaga tuleb kasutada kontsentreeritumaid lahuseid, mis võivad tekitada probleeme lahustumise ja assotsiaatidega. Samuti on vaja kalibreerimiseks kasutada standardpuhverlahuseid, mis on valmistatud samas mittevesikeskkonnas. Lisaks sellele esineb mittevesikeskkondades pH-tundlike elektrodide potentsiaali ebastabiilsust, mis oluliselt alandab tulemuste usaldusväärsust.[5,9,10]

**Tuumamagnetresonants-spektroskoopia (NMR)** – NMR meetodi puhul vaadeldakse uuritavate ainete mõnede struktuurifragmentide koosseisu kuuluvate NMR-aktiivsete tuumade (enamasti  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  või  $^{19}\text{F}$ ) keemiliste nihete muutusi tiitrimisel happe ja/või alusega. Käesoleva uurimuse seisukohast oli NMR meetodi puuduseks vajadus kasutada suhteliselt kontsentreeritud lahuseid, mis võiks põhjustada assotsiaatide teket ning alandada tulemuste kvaliteeti.[10]

**Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia (HPLC)** – elueerides ainet erineva happelisusega eluendiga muutub aine retentsiooniaeg ning selle põhjal saab arvutada  $pK_a$  väärtuse. Atsetonitriilis  $pK_a$  väärtuste mõõtmine on HPLC meetodil probleemne, kuna erineva happelisusega eluendi tegemiseks kasutatavad puhverlahuse komponendid võivad mõjutada saadavaid tulemusi, sest me ei tee mõõtmisi puhtas AN keskkonnas.[10,11]

#### 2.5. Indikaatormaterjalid

Keskkonna happelisust saab mõõta elektrokeemiliselt[12] ja optiliste meetoditega[13]. Optiliste sensorite puhul on happelisuse määramisel oluline roll indikaatormaterjalil, mille optilised omadused sõltuvad keskkonna pH-st. Sensorite ehitus varieerub küllalt suurel määral ning see seab ka teatud nõudmisi indikaatormaterjalile.[14]

Indikaatormaterjalidelt saab keskkonna happelisuse kohta signaali selle põhjal, kuidas nad valgusega interakteeruvad. Üheks signaali saamise mehhanismiks on mõõta valguse neelduvust – neutraalses ja ioonses vormis neelavad ained erinevalt. Teine signaali saamise mehhanism on fluorestsents – teatud ained fluorestseerivad ning lisaks valguse neelamisele kiirgavad valgust mingil kindlal lainepikkusel ning ka seda saab mõõta.[14]

Ajalooliselt on lihtsaimad pH-indikaatorid olnud tavalised paberiribad, millele on kantud indikaatormaterjali, mis on sageli kovalentsete sidemetega paberi külge kinnitatud. Nende valmistamine on lihtne, kuid nendega ei ole võimalik täpseid mõõtmisi teha ning mõõtmisel on vaja ligipääsu uuritavale keskkonnale. Tegemist on lihtsate ning odavate indikaatoritega, mida kasutatakse rakendustes, kus pH väärtuse mõõtmise täpsus ei ole oluline.

Indikaatormaterjali mitmekordseks kasutamiseks on vajalik teda mingil viisil tugistruktuuri külge kinnitada. Selleks on erinevates lahendustes kasutatud adsorptsiooni, lõksustamist[15], kovalentselt molekulide kinnitamist[16] ning erinevaid polümeerseid maatrikseid indikaatormaterjali ümber.[17]

Indikaatorite disainis on oluliseks edasiarenduseks olnud ka optiliste fiibrite kasutuselevõtt. Seade koosneb optilisest fiibrist, mille otsa on kinnitatud indikaatormaterjal.[18] Indikaatormaterjali fiibri otsa kinnitamise meetodist oleneb sensori tundlikkus, reaktsiooniaeg, pikaajaline stabiilsus ja mehaaniline püsivus. Sensori otsa konstruktsioon sõltub kasutatavast indikaatormaterjalist ning varieerub oluliselt. Samuti mõjutavad oluliselt saadava signaali tugevust indikaatormaterjali ja analüüdi vahele jäävad materjalid – näiteks indikaatormaterjali ümber olev polümeermembraan.[19]

Optilise fiibri kaudu valgustatakse indikaatormaterjali ning tagasipeegeldunud või fluoretsentsist tekkinud valguse intensiivsuse põhjal määratakse keskkonna pH. See edasiareng muudab optilise meetodi oluliselt tõhusamaks, kuna inimesilma võime värve eristada on oluliselt kehvem kui mõõteseadme võime mõõta valguse intensiivsust mingil kindlal lainepikkusel. Sellise sensori suureks eeliseks on võimalus mõõta pH-d raskesti ligipääsetavates kohtades nagu näiteks inimkehas või elektriliselt mürarikkas keskkonnas. Fiibri abil saab valgussignaali viia vaatluskohast eemale ning seejärel lasta suuremate mõõtmetega seadmel signaali töödelda.[14]

Osades rakendustes on oluline, et indikaatormaterjal oleks hüdrofiilne/polaarne ning võimeline teatud vastasmõjudest osa võtma. Teistes rakendustes on aga eelistatud vastupidine olukord, kus soovitakse näha, et indikaatormaterjal oleks võimalikult mittepolaarne nii neutraalses kui ioonses vormis ning ei osaleks süsteemis toimuvates protsessides rohkem kui signaali edastajana keskkonna pH kohta.[20]

### 3. Eksperimentaalne osa

#### 3.1. Aparatuur

##### 3.1.1. Kuivkapp

Eksperiment viidi läbi MBraun UNILab tüüpi kuivkappides, sest õhus leiduv hapnik ning eriti niiskus mõjutaks saadavaid tulemusi. Kasutati kahte sarnast tüüpi kuivkappi, kuna kasutatud spektromeetrid olid ühendatud erinevate kuivkappidega. Kuivkapid on 3 mm paksusest roostevabast terasest korpusega ning 10 mm paksuse mineraalklaasist aknaga. Kapid olid erinevad selle poolest, et ühel oli töötamiseks kaks butüülkautšukist kinnast, teisel kolm.

Kappides oli interne atmosfäär, milleks oli 99,999% puhtusega argoon. Keskkond püsis sellisena, kuna argoon oli pidevas ringluses läbi puhastite, kus aktiivsöefilter, molekulaarsõelad ning aktiveeritud vask eemaldasid keskkonnast vastavalt lenduvaid orgaanilisi ühendeid, veeauru ja hapnikku.

Töövahendite kappidesse viimiseks on mõlemal kapil kaks erineva suurusega lüüsi. Lüüsidel olid küljes vaakumpumbad ja manomeetrid lüüsi vakumeerimiseks, täitmiseks ning lüüsi rõhu jälgimiseks. Lüüside kaudu töövahendite kappi viimisel vakumeeriti lüüsi kolm korda ning täideti kuivkapi töögaasiga. Sellega vähendati töökeskkonna saastumist õhuhapniku ning niiskusega.

Kuivkapi keskkonna parameetreid oli võimalik jälgida kontrollpaneeli abil, kus kuvati keskkonna rõhk, hapniku ning veeauru sisaldus. Kontrollpaneelil sai valida ka töökeskkonna rõhuvahemiku. Kui rõhk seatud vahemikust väljus, viis kuivkapi juhtimissüsteem rõhu tagasi soovitud vahemikku, suunates kuivkappi argooni juurde või imades kuivkapist argooni välja. Töö ajal kasutati rõhkude vahemikku -3,0 kuni 6,0 mbar. Hapniku ja niiskuse sisalduse jälgimiseks on kuivkappidel hapnikusensor MB-OX-SE-1 ja niiskusemõõtja MB-MO-SE-1. Töö jooksul olid hapniku ja niiskuse sisaldused enamasti 1-10 ppm kandis ning alati alla 50 ppm.

##### 3.1.2. UV-Vis spektromeetrid

Mõlemad kapid olid ühendatud UV-Vis spektromeetritega. Suurema kuivkapi küljes oli Perkin-Elmer UV-Vis spektrofotomeeter Lambda 12. Väiksema kuivkapiga oli ühenduses algselt Perkin-Elmer UV Vis spektrofotomeeter Lambda 40 ning hiljem Agilent Cary 60. Kõik kolm spektromeetrit asusid kuivkapist väljaspool. Mõõtmiste läbiviimiseks oli kuivkapis küvetikamber, mis oli ühendatud spektromeetritega kvartskiududest fiibrите abil.

Spektromeetreid juhiti ja andmeid koguti arvuti kaudu, kuhu oli selleks paigaldatud spektromeetritega kaasa tulnud tarkvara.

Perkin-Elmeri spektromeetritel oli pilulaius 2 nm ja spektri skaneerimiskiirus 240 nm/min, Cary spektromeetril oli pilulaius 1 nm ja spektri skaneerimiskiirus 600 nm/min.

### 3.1.3. Muud töövahendid

Mõõteküvetid olid 1 cm optilise teepikkusega kvartsist küvetid, mis olid teflonkorgiga suletavad. Korgis oli ava PTFE-kattega septumi jaoks. Küvettides olid sees ka PTFE-ga kaetud magnetsegajad lahuste segamiseks.

Töölahused valmistati 4 ml viaalidesse, mis olid plastkorkidega suletavad. Lahusti lisamiseks töölahustele või küveti kasutati 2.5 ml Hamilton *Gastight* süstalt. Uuritavate ainete ning referentsainete lahuste küveti viimiseks kasutati 0.1 ml Hamilton *Gastight* süstlaid. Titranti lisati küveti Hamiltoni *Gastight* süstaldega, mille küljes olid automaatdosaatorid, mille abil sai titranti küveti lisada 2 mikrolitri kaupa.

Töölahuste tegemisel kasutati tahkete ainete viaali viimiseks spaatlit ning vedelate ainete viaali viimiseks Pasteur'i pipette, mida oli enne töö alustamist vähemalt 24 tundi kuumutatud, et vältida pipettidele adsorbeerunud niiskuse sattumist kuivkappi. Aineid, lahusti koguseid ning mõõdetavate lahuste koguseid kaaluti Sartorius CP2225D analüütilise kaaluga, mille lahutusvõime on 0.00001 g.

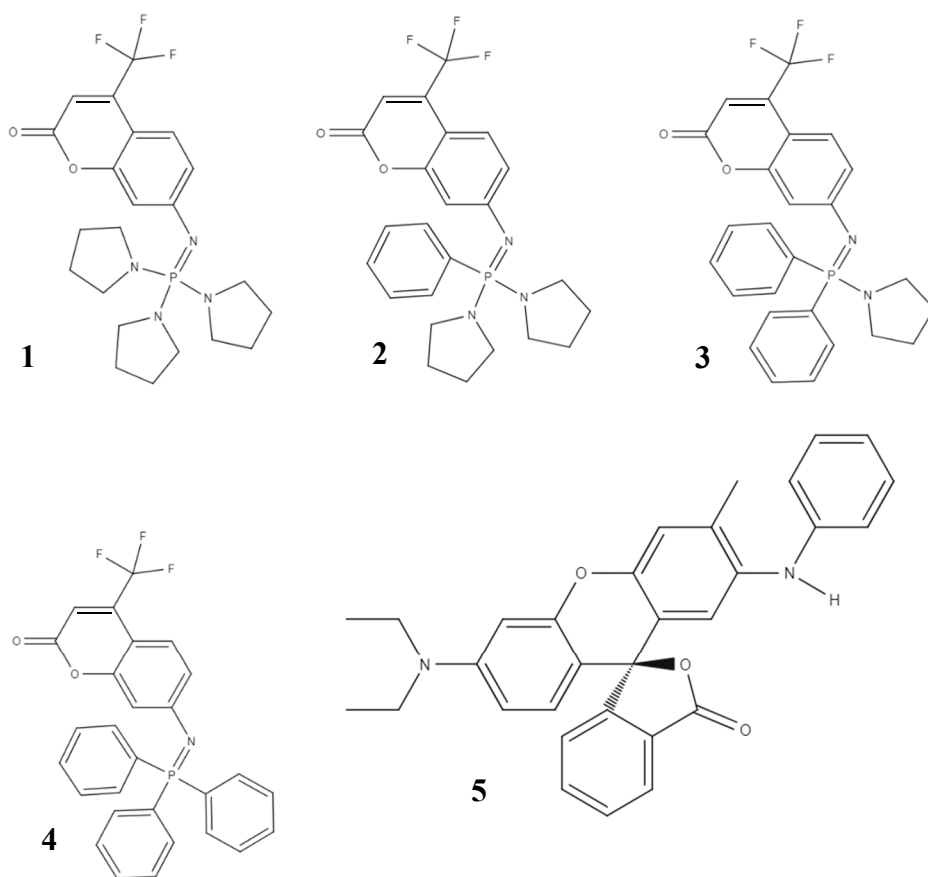
### 3.2. Kasutatud kemikaalid

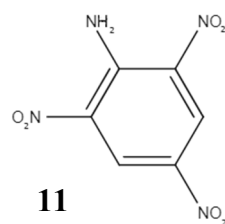
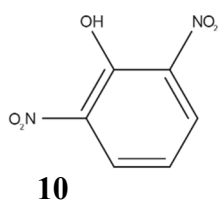
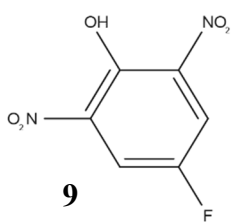
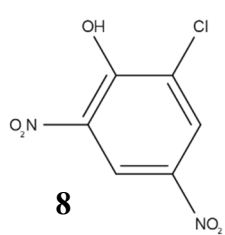
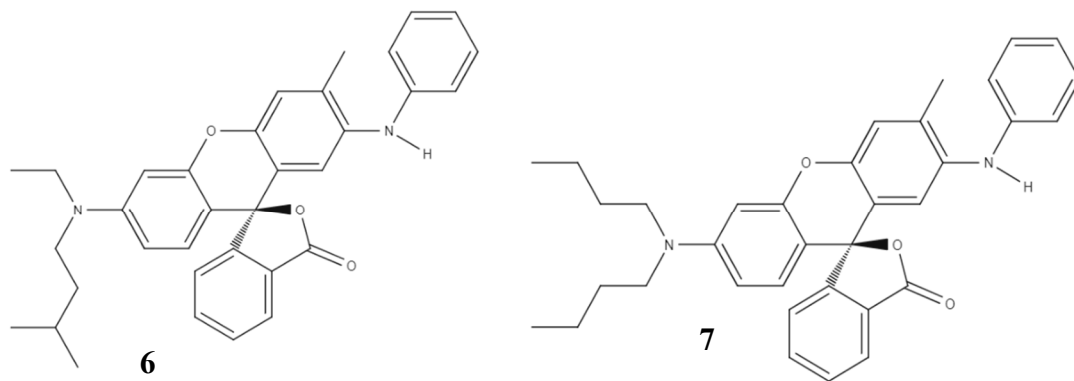
**Atsetonitriil** – eksperimentides kasutati firma Romil poolt toodetud atsetonitriili, mille tootja poolt lubatud puhtus on 99,9%. Täiendavaks puhastamiseks lisati AN-i vähemalt kaks päeva enne kasutamist 3Å molekulaarsõelasid, et veesisaldust veelgi vähendada. Selliselt töödeldud AN veesisaldus oli vahemikus 1 kuni 5 ppm (määratud kulonomeetrilise KF tiitrimise meetodil).

**Titrandid** – töös kasutatud happeliseks titrandiks oli trifluorometaansulfoonhape (Aldrich, 99+%) lahus atsetonitriilis. Aluselise titrandina kasutati tert-butüül-imino-tris(pürrolidino)fosforaani ehk *t*-BuP<sub>1</sub>(pyrr) fosfaseeni (Aldrich, 97+%) või etüül-pentakis(dimetüülamino)difosforaani (Aldrich, 98+%) lahuseid atsetonitriilis. Happelise titrandi kontsentratsioon jäi eksperimentidel vahemikku  $4,8 \cdot 10^{-3}$  M kuni  $1,8 \cdot 10^{-2}$  M ning aluseliste titrantide kontsentratsioonid jäid vahemikku  $3,6 \cdot 10^{-3}$  kuni  $8,6 \cdot 10^{-3}$  M. Titrantide valikul olid olulisteks kriteeriumiteks UV kiirguse neeldumise puudumine huvipakkuvas

lainepikkuste vahemikus. Kasutatud titrantide neelduvus kasutatud kontsentratsioonide juures meid huvitavas lainepikkuste vahemikus oli madal. Titrandid neelasid kiirgust lühematel lainepikkustel kui 225 nm, samas kui töös kasutati lainepikkuste vahemikku 230-710 nm. Samuti oli oluline, et titrantidena kasutatavad happed ja alused oleksid piisavalt tugevad, et vastavalt protoneerida või deprotoneerida uuritavaid aineid.

**Uuritavad ained ja referentsained.** Uuriti kolme ainegruppi. Esimeses grupis oli neli fluorestseerivat ainet, mis on sünteesitud Tartu Ülikoolis Sigrid Selbergi poolt eesmärgiga valmistada lipofiilseid fluorestsentsindikaatoreid (struktuurid 1-4).[21] Teine grupp aineid on asendatud fluoraanid (struktuurid 5-7), mis saadeti meile Elizabeth Bairdi grupist (Dresdeni Tehnikaülikoolist) palvega määrata nende  $pK_a$  väärtused. Need ained on loodud kasutamiseks elektrokroomsete materjalidena, kuid on erinevas vormis erineva neelduvusspektri tõttu ka potentsiaalsed indikaatormaterjalid. Kolmas grupp aineid on neli nitroasendajatega fenooli, mis on sünteesitud Tartu Ülikoolis (struktuurid 8-11) ja mis on kasulikud referentsainetena atsetonitriili keskkonnas  $pK_a$  väärtuste mõõtmiseks.





*Joonis 1. Uuritud ühendite struktuurid.*

Referentsaineteks kasutati teadaolevate ja uuritvatele ainetele lähedaste  $pK_a$  väärtustega ühendeid.[3]

### 3.3. Happelis-aluseliste tasakaalude uurimine spektrofotomeetrilisel meetodil

#### 3.3.1. Töölahuste valmistamine

Töölahused valmistati kuivkapis 4 ml viaalidesse. Tahked ained kanti viaali spaatliga, vedelad klaasist Pasteur'i pipetiga. Ainekogused jäid vahemikku 0,3 – 5 mg ning neile lisati lahustina 0,5 – 3,5 ml atsetonitriili. Titrandid tehti sarnaselt töölahustega kuivkapis 4 ml viaalidesse. Viaali viidi 0,7 – 10 mg ainet ning lisati 0,5 – 4 ml atsetonitriili. Trifluorometaansulfoonhapet hoiti kuivkapis olevas külmkapis, seega osadel mõõtmistel tehti happelise titrandi lahus valmis külmkapiiga kuivkapis ning viidi üle teise kuivkappi.

Lahuseid kasutati maksimaalselt kuni kolme päeva jooksul pärast nende valmistamist, et vältida nende saastumist või ainete lagunemist. Juhul kui lahused ei olnud samal päeval tehtud, võrreldi lahuse spektrit varasemate sama aine lahuste spektritega, veendumaks et lahuse koostis ei olnud vahepeal muutunud.

#### 3.3.2. Spektrofotomeetriline tiitrimine

Esmalt viidi tühja küvetiga spektrofotomeetril läbi baasjoone korrektsioon. Seejärel lisati küvette 1,75 ml puhast lahustit ning registreeriti lahusti spekter, et veenduda lahusti puhtuses. Seejärel tehti puhta lahustiga küvetiga baasjoone korrektsioon.

Lahustile lisati 10 – 50 µl uuritava aine lahust. Lisatud lahuse kogus sõltus lahuse neelduvusest – lahust lisati sellisel hulgal, et spektrite maksimaalne neelduvus meid huvitavas lainepikkuste vahemikus jääks vahemikku 0,4 – 1,2 AU. Seejärel segati lahust magnetsegajaga, kaaluti ning koguti lahuse spekter. Uuritavale aluse lahusele lisati aluselist titranti ning registreeriti järgmine spekter. Aluselist titranti lisati, kuni jõuti välja aluselise piirvormini, mil aluse lisamine enam registreeritavaid spektreid ei muutnud. Seejärel lisati happelist titranti ning mõõdeti iga lisamise järel spekter kuni jõuti happelise piirvormini. Aluselise piirvormina vaadeldakse käesolevas töös aine vormi, kus aine on lahuses vaid protoneerimata olekus ning happelise piirvormi all seda, kus aine on lahuses vaid protoneeritud olekus. Puhastest ainetest koguti 7 – 20 spektrit, kusjuures nende hulgas olid kindlasti mõlema piirvormi ja mõnede vahepealsete vormide spektrid. Spektrid registreeriti erinevates lainepikkuste vahemikes olenevalt sellest, millises vahemikus ained kiirgust neelasid. Mõõtmist alustati erinevatelt lainepikkustelt olenevalt sellest, kui kõrge lainepikkuse juures nad neelama hakkasid. Osade ainete puhul mõõdeti alates lainepikkusest 800 nm, osade puhul alates 500 nm. Mõõtmine lõpetati 190 nm juures.

Pärast puhta uuritava aine ja puhta referentsaine spektrite kogumist tehti küvette lahus kahe aine segust. Algselt kanti küvette 1,75 ml puhast lahustit ning tehti baasjoone korrektsioon. Seejärel

lisati lahustile ainete lahuseid sellisel hulgal, et spektri maksimaalne neelduvus jääks meile huvipakkuvatel lainepikkustel vahemikku 0,5 – 1,2 AU. Seejärel registreeriti segu spektreid sarnaselt puhaste ainete spektritele. Ainus erinevus seisnes lisatud titrandihulga kogustes – kui puhaste ainete spektrite registreerimisel lisati titranti tihti 4 – 10 µl kaupa, siis segu lahuse uurimisel lisati titranti enamasti 2 µl haaval. Segu lahuse spektrid olid väga tähtsaks osaks arvutusel ning andmepunktide rohkus parandas tulemuste täpsust. Segu lahustest registreeriti 15 – 35 spektrit.

Mõõtmiste puhul oli oluline, et võrreldavate ainete  $pK_a$  väärtused ei erineks üksteisest liiga palju. Kui uuritava aine ja referentsaine vaheline  $\Delta pK_a$  väärtus on suur (mõõtmiste põhjal selgus, et suureks võib pidada  $\Delta pK_a$  väärtusi, mis on suuremad kui 1.5), siis tekib olukord, kus üks aine juba põhiosas protoneerunud/deprotoneerunud, samas kui teine alles alustab seda protsessi. Andmetöötlusel on oluline leida protoneeritud ja deprotoneeritud vormide suhe ning juhul kui üks neist väärtustest on väga väike, omab see väga suurt mõju nende suhtele. Seega omavad ka mõõtmise mistahes ebatäpsused sellise andmepunkti juures suurt rolli.

Kuna me algselt uuritava aine  $pK_a$  väärtust täpselt ei tea, tuleb igale ainele enne mõõtmist umbkaudselt ennustada  $pK_a$  väärtust ning selle põhjal valida referentsained. See ennustamine on aga ebatäpne ning seetõttu viidi läbi ka hulk mõõtmisi, mille korral  $\Delta pK_a$  väärtused olid liiga suured. Saadud tulemused ei olnud usaldusväärsed ning need jäeti lõpptulemustest välja.

### 3.4. Andmetöötlus

#### 3.4.1. Üldine meetod

Lambert-Beer'i seaduse järgi avaldub kahe neutraalse happe  $HA_1$  ja  $HA_2$  lahuse summaarne neelduvus lainepikkusel  $\lambda$  järgmiselt:

$$A^\lambda = \varepsilon_{A_1^-}^\lambda \times [A_1^-] \times l + \varepsilon_{HA_1}^\lambda \times [HA_1] \times l + \varepsilon_{A_2^-}^\lambda \times [A_2^-] \times l + \varepsilon_{HA_2}^\lambda \times [HA_2] \times l \quad (10)$$

Kus  $\varepsilon_x^\lambda$  on vastava aine  $x$  vormi neelduvustegur lainepikkusel  $\lambda$ ,  $l$  on optilise tee pikkus ning  $[x]$  on vastava vormi tasakaaluline kontsentratsioon. Kuna happe neutraalse ja anioonse vormi suhteliste kontsentratsioonide summa on 1, siis on võimalik avaldada neutraalsete vormide tasakaalulised kontsentratsioonid kujul  $[HA_1] = 1 - [A_1^-]$  ja  $[HA_2] = 1 - [A_2^-]$  ning valem 10 on võimalik viia kujule:

$$A^\lambda = l \times [\varepsilon_{HA_1}^\lambda + \varepsilon_{HA_2}^\lambda + [A_1^-] \times (\varepsilon_{A_1^-}^\lambda - \varepsilon_{HA_1}^\lambda) + [A_2^-] \times (\varepsilon_{A_2^-}^\lambda - \varepsilon_{HA_2}^\lambda)] \quad (11)$$

Valemit 11 veidi korrastades on võimalik see esitada järgmisel viisil:

$$A^\lambda - l \times (\varepsilon_{HA_1}^\lambda + \varepsilon_{HA_2}^\lambda) = l \times ([A_1^-] \times (\varepsilon_{A_1^-}^\lambda - \varepsilon_{HA_1}^\lambda) + [A_2^-] \times (\varepsilon_{A_2^-}^\lambda - \varepsilon_{HA_2}^\lambda)) \quad (12)$$

Ümberkorramise tulemusena avaldub valem, millest on võimalik regressioonianalüüsiga leida  $[A_1^-]$  ja  $[A_2^-]$ . Siin on võrrandid toodud neutraalse happe kohta, töös kasutati ka katioonseid happeid ning Lambert-Beer'i seadus kehtib neile analoogselt.

Olles leidnud  $[A_1^-]$  ja  $[A_2^-]$ , tekib võimalus rakendada valemit 6, leidmaks uuritava aine ja referentsaine vahelise  $\Delta pK_a$  väärtus. Lisaks on vaja arvestada sellega, et puhaste ainete mõõtmisel ning seguspektri uurimisel on keeruline kasutada täpselt sama ainekogust. Seega tuleb arvutustes, kus kasutatakse nii puhaste ainete spektreid kui ka nende segu spektreid, vastavad neelduvused kasutatud ainekoguste suhtes normeerida.

$$\Delta pK_a = pK_a(HA_2) - pK_a(HA_1) = -\log \frac{[A_1^-] \cdot (1 - [A_2^-])}{[A_2^-] \cdot (1 - [A_1^-])} = -\log \frac{\alpha_1(1 - \alpha_2)}{\alpha_2(1 - \alpha_1)} \quad (13)$$

Valemi 13 abil saab leida kõigi ainete vahelist  $\Delta pK_a$  väärtust, eeldusel et see ei ole liiga suur ning ainete spektrid ei ole liiga sarnased.

#### 3.4.2. Lihtsustatud arvutuskäik

Teatud juhtudel on võimalik  $\Delta pK_a$  väärtust leida lihtsustatud meetodil. Kui ainetel on isosbestilisi punkte ja/või spektrialasid, kus üks aine ei neela ja teine neelab kiirgust, saab leida ainete dissotsiatsioonimäärad segu spektritest ilma puhaste ainete lahuste spektreid ja kaalumisanandmeid otseselt kasutamata. Sellise meetodi puhul jääb ära osa määramatuse allikaid, mis tekivad puhaste ainete ja segu spektrite registreerimisel erinevatest ainete kontsentratsioonidest.

Meetodit saab kasutada, kui mõlema aine jaoks on võimalik leida lainepikkus, mille korral ühe aine piirvormide neelduvused on konstantsed ja teise aine piirvormide neelduvused muutuvad. Kui lainepikkusel  $\lambda$  on aine 1 piirvormide neelduvused konstantsed, avaldub aine 2 jaoks dissotsiatsioonimäär  $\alpha_2$  järgmiselt:

$$\alpha_2 = \frac{[A_2^-]}{[HA_2] + [A_2^-]} = \frac{A^\lambda - A_{HA_1+HA_2}^\lambda}{A_{A_1^-+A_2^-}^\lambda - A_{HA_1+HA_2}^\lambda} \quad (14)$$

Dissotsiatsioonimäär  $\alpha_1$  saadakse analoogselt, kasutades lainepikkust, kus aine 2 piirvormide neelduvused on konstantsed. Seejärel on võimalik rakendada valemit 13 ning avaldada  $\Delta pK_a$  väärtus.

## 4. Tulemused ja arutelu

Käesolevas töös määrati nelja fluorestseeriva indikaatoraine ja kolme fluoraanil põhineva värvaine aluselisust ning nelja nitroühendi happelisust atsetonitriili keskkonnas. Ainete happelis-aluselisi omadusi mõõdeti selleks, et leida millises atsetonitriili pH väärtuste piirkonnas saaks neid indikaatorainetena kasutada. Fluoraani põhiste värvainete aluselisuse mõõtmisel oli muuhulgas eesmärgiks leida, millise ainega koos nad peaks lahuses olema, et see suudaks neid värvaineid pinge rakendamisel protoneerida. Nitroühendite happelisust uuriti muuhulgas ka selleks, et leida uusi referentsaineid edasisteks  $pK_a$  mõõtmisteks mittevesilahustes. Kokku viidi läbi umbes 38  $pK_a$  väärtuste mõõteseeriad, millest usaldusväärseid tulemusi andsid 30 mõõtmist. Uuritud ainete UV-Vis spektrid on toodud Lisas.

### 4.1. Fluorestseerivad indikaatorained

Käesolevas töös määrati nelja fluorestseeriva indikaatoraine  $pK_a$  väärtused atsetonitriilis (molekulid 1-4, vt Joonis 1). Struktuuri osas olid uuritavad ained küllaltki sarnased, 7-amino-4-(trifluorometüül)kumariinil põhinevad molekulid, kus aminorühm on asendatud fosfaseeni fragmendiga, mille küljes olevad kolm asendusrühma on ainetes erinevad. Esimesel ainel on kolm pürrolidiinorühma, teisel kaks pürrolidiinorühma ja üks fenüülrühm, kolmandal üks pürrolidiinorühm ja kaks fenüülrühma ning neljandal kolm fenüülrühma. Kõik neli ainet neelasid protoneeritud vormis kõige intensiivsemalt 400 nm juures ning deprotoneeritud vormis ~330nm juures. Kõigi nelja aine protoneeritud vormi sisaldavad lahused olid neonkollast värvi ning deprotoneeritud vormi sisaldavad lahused läbipaistvad.

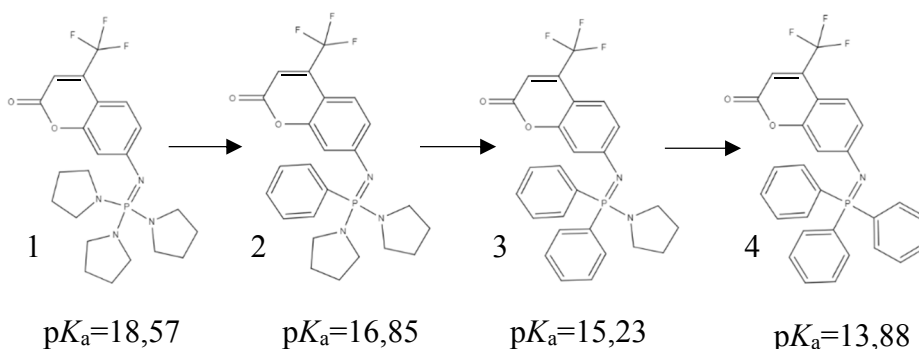
Tabel 1. Kumariinil põhinevate ainete leitud  $pK_a$  väärtused.

Uuritav alus	Referentsalus	Referents-aluse $pK_a$ <sup>a</sup>	$\Delta pK_a$	Uuritava aluse $pK_a$	Uuritava aluse lõplik $pK_a$ hinnang
Aine 1	4-NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	18,51	-0,09	18,60	18,57
	2,6-Cl <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	18,56	-0,01	18,57	
	2-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -N=P <sub>1</sub> (dma)	19,07	0,52	18,55	
Aine 2	4-NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -M=P <sub>1</sub> (pyrr)	18,51	1,60	16,91	16,85
	2-NO <sub>2</sub> -4-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	17,68	0,85	16,83	
	2-NH <sub>2</sub> -akridiin	16,39	-0,42	16,81	

Aine 3	2-NO <sub>2</sub> -4-CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	16,54	1,33	15,21	15,23
	2,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	14,12	-1,08	15,20	
	3-aminoakридиin.	16,39	1,13	15,26	
Aine 4	2,4-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	14,88	0,98	13,90	13,88
	2,6-Cl <sub>2</sub> -4-NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	14,43	0,52	13,91	
	2,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -N=P <sub>1</sub> (pyrr)	14,12	0,28	13,84	

<sup>a</sup> Väärtused allikast [22]

Tabelist on näha, et iga uuritava aine kohta tehti kolm mõõtmist erinevate referentsainete suhtes ning need mõõtmistulemused langesid hästi kokku. Sellest võib järeldada, et saadud  $pK_a$  väärtused on usaldusväärsed. Ainetele 2 ja 4 tehti lisaks üks lõplikest tulemustest välja jäänud mõõtmine ning ainele 3 tehti kaks lõpptulemustest välja jäetud mõõtmist. Edukateks mõõtmisteks on vaja, et  $\Delta pK_a$  väärtus jääks alla 2 ühiku. Väljajäänud mõõtmistel oleks  $\Delta pK_a$  väärtus jäänud kõigil neljal juhul üle kahe ühiku ning sellistest mõõtmistest on keeruline saada usaldusväärseid tulemusi.



Joonis 2. Kumariinil põhinevate aluste struktuuride ja aluseliste võrdlus.

Joonisel 2 on kujutatud uuritud ainegrupi aluselise võrdlev skeem. Fosfaseenil iga pürrolidinorühma asendamine fenüülrühmaga alandab  $pK_a$  väärtust 1,3 kuni 1,7 ühikut. Pürrolidinorühmade lisandudes muutuvad molekulid aluseliseks, kuna pürrolidinorühmad on elektrondonoorsemad kui fenüülrühmad.

#### 4.2. Fluoraani tüüpi värvained

Teine grupp uuritavaid aineid oli kolm värvainet, mille neelduvus protoneeritud piirvormis oli väga kõrge lainepikkuste vahemikus 190-650 nm. Deprotoneeritud piirvormis need ained lainepikkuste vahemikus 360-800 nm kiirgust ei neelanud. Seega on tegemist ainetega, mille

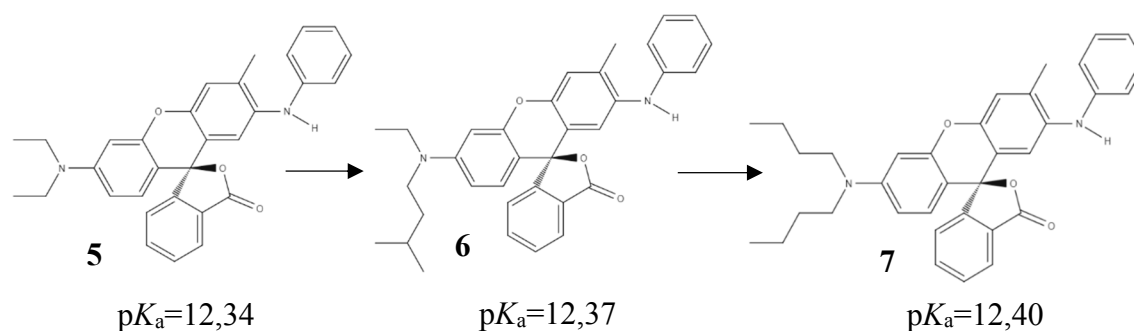
protoneeritud vormi sisaldav lahus on nähtavas spektrialas sisuliselt läbipaistmatu ning deprotoneeritud vormi sisaldav lahus on läbipaistev. Nende ainete struktuur on küllalt sarnane, erinedes vaid aminorühma alküülasendajate poolest.

Tabel 2. Värvainete leitud  $pK_a$  väärtused.

Uuritav alus	Referentsalus	Referentsaluse $pK_a$ <sup>a</sup>	$\Delta pK_a$	Uuritava aluse $pK_a$	Uuritava aluse lõplik $pK_a$ hinnang
Aine 5	4-MeO-aniliin	11,86	-0,40	12,26 <sup>c</sup>	12,34
	2-Me-püridiin	13,32	0,89	12,43	
	2-metüülkinoliin-8-amiin	11,54	-0,80	12,34	
Aine 6	4-MeO-aniliin	11,86	-0,44	12,30 <sup>c</sup>	12,37
	Akridiin	12,67 <sup>b</sup>	0,28	12,39 <sup>c</sup>	
	2-metüülpüridiin	13,32	0,95	12,37	
Aine 7	Akridiin	12,67 <sup>b</sup>	0,24	12,43 <sup>c</sup>	12,40
	2-metüülpüridiin	13,32	0,90	12,42	
	2-metüülkinoliin-8-amiin	11,54	-0,73	12,27	

<sup>a</sup> Väärtused allikast [22], kui pole märgitud teisiti. <sup>b</sup> Väärtus allikast [23]. <sup>c</sup> Mõõtmised teostas Märt Lõkov.

Tabel 2 näitab, et erinevate referentsainetega saadud mõõtmistulemused langevad üksteisega väga hästi kokku ning seetõttu võib järeldada, et tulemused on usaldusväärsed.



Joonis 3. Värvainete struktuuride ja  $pK_a$ -de väärtuste skeem.

Värvainete skeemilt on näha, et nii struktuur kui ka  $pK_a$  väärtused on kolmel ainel sarnased. Struktuur erineb vaid aminorühma küljes olevate alküülrühmade poolest ning kuna nende

indkutsiooniefekti mõju aluselisele on ligilähedane, on ka ainete aluselised väga sarnased. Tulenevalt väga väikesest aluseliste erinevusest ei saa siiski üheselt väita, et nende ühendite aluselise kasvab skeemil toodud reas.

### 4.3. Nitrofenoolid ja trinitroaniliin

Kolmas uuritud ainegrupp oli kolm nitrofenooli ning nendega struktuurilt lähedane trinitroaniliin. Nende ainete spektrid erinesid üksteisest oluliselt rohkem kui eelnevate ainegruppide omad, kus ainegruppide siseselt olid ainete spektrid üsna sarnased. 2-Kloro-4,6-dinitrofenooli deprotoneeritud vormi sisaldav lahus neelas 350-450 nm vahel ning protoneeritud vormi sisaldav lahus neelas märkimisväärselt lainepikkustel alla 300 nm. 4-Fluoro-2,6-dinitrofenooli deprotoneeritud vormi sisaldav lahus neelas lainepikkustel 420-540 nm ning protoneeritud vormi sisaldav lahus lainepikkustel 330-380 nm. 2,6-Dinitrofenooli deprotoneeritud vormi sisaldav lahus neelas lainepikkustel 400-500 nm ning protoneeritud vormi sisaldav lahus lainepikkustel 320-370 nm. Trinitroaniliini deprotoneeritud vormi sisaldav lahus neelas intensiivselt lainepikkustel all 600 nm ning protoneeritud vormi sisaldav lahus lainepikkustel alla 450 nm. Kõik deprotoneeritud vormi sisaldavad lahused olid kollaka värvusega. Nitrofenoolide protoneeritud vorme sisaldavad lahused olid läbipaistvad ning trinitroaniliin protoneeritud vormi sisaldav lahus intensiivse punase värvusega.

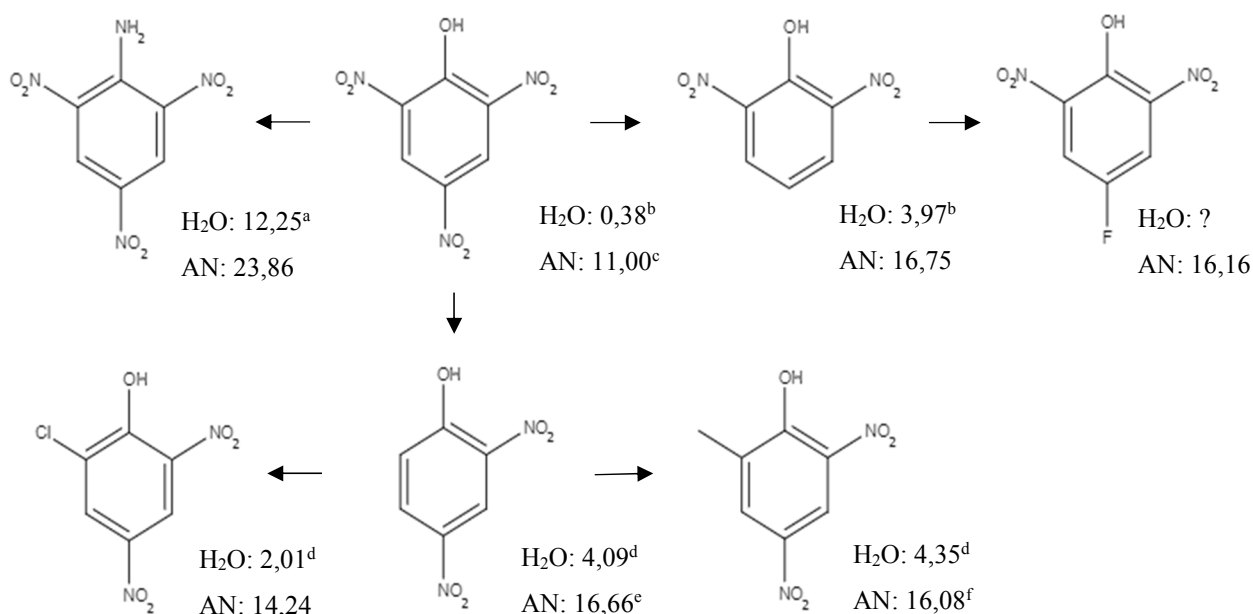
Tabel 3. Nitrofenoolide ja trinitroaniliini leitud  $pK_a$  väärtused.

Uuritav hape	Referentshape	Referents-happe $pK_a$ <sup>a</sup>	$\Delta pK_a$	Uuritava happe $pK_a$	Uuritava happe lõplik $pK_a$ hinnang
2-Cl-4,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -fenool <sup>d</sup>	3-CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -CH(CN) <sub>2</sub>	14,72	-0,64	14,08	14,24
	(4-CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> F <sub>4</sub> )-CH(CN)COOEt	16,08	-1,68	14,40	
	4-F-2,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -fenool	16,16 <sup>b</sup>	-1,92	14,24	
4-F-2,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -fenool <sup>e</sup>	3-CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -CH(CN) <sub>2</sub>	14,72	1,41	16,13	16,16
	2-Cl-4,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -fenool	14,24 <sup>b</sup>	1,92	16,16	
	(4-CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> F <sub>4</sub> )-CH(CN)COOEt	16,08	0,07	16,15	
	2,4-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -fenool	16,66	-0,46	16,20	

2,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> - fenool <sup>f</sup>	2,4-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -fenool	16,66	0,21	16,87	16,75
	4-F-2,6-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -fenool	16,16 <sup>b</sup>	0,46	16,62	
	(4-CF <sub>3</sub> - C <sub>6</sub> F <sub>4</sub> )CH(CN)COOEt	16,08	0,69	16,77	
	C <sub>6</sub> F <sub>5</sub> CH(CN)COOEt	17,75	-1,01	16,74	
Trinitroaniliin <sup>c</sup>	(C <sub>6</sub> F <sub>5</sub> )CH(COOEt) <sub>2</sub>	22,85	0,97	23,82	23,86
	(4-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> F <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CHCN	22,80	1,08	23,88	
	9-COOMe-Fluoreen	23,53	0,34	23,87	

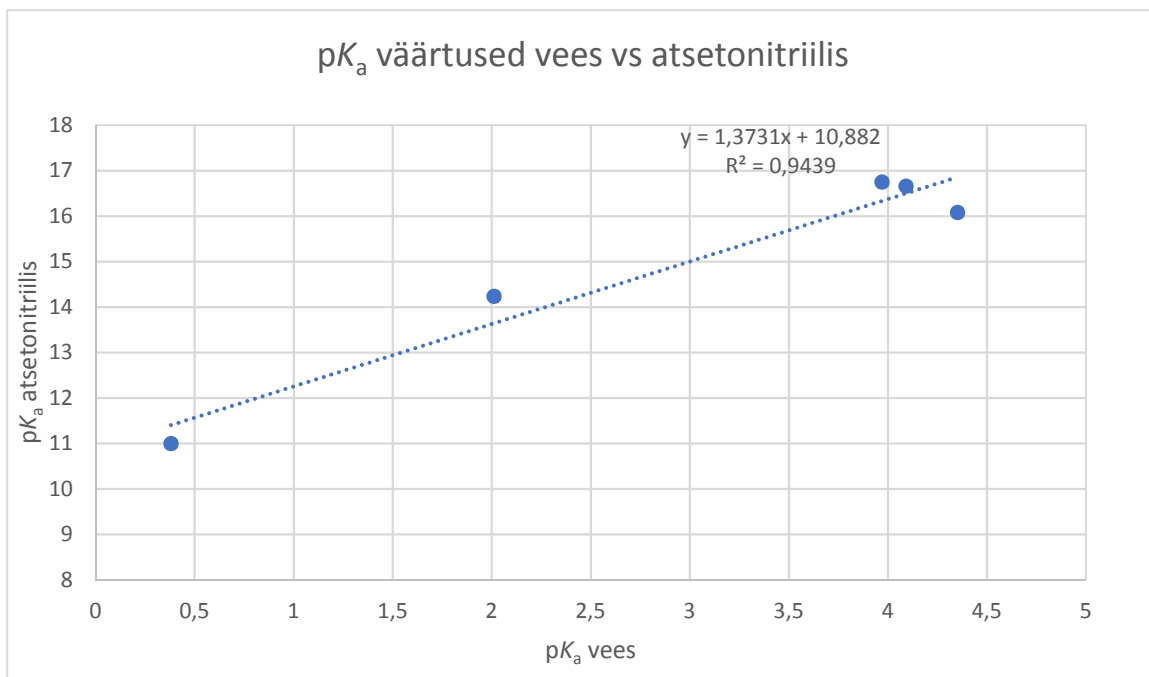
<sup>a</sup> Väärtused allikast [3], kui pole öeldud teisiti. <sup>b</sup> Käesolev töö, Tabel 3. <sup>c</sup>Mõõtmised teostas doktorant Jaan Saame, Joonisel 1 aine 11. <sup>d</sup> Joonisel 1 aine 8. <sup>e</sup> Joonisel 1 aine 10. <sup>f</sup> Joonisel 1 aine 9.

Tabel 3 näitab, et nitrofenoolide korral langevad erinevate referentsainetega saadud tulemused mõistlikult hästi kokku, mistõttu võib neid tulemusi usaldusväärseteks hinnata. Kirjanduses on nendest ainetest varem uuritud 2,6-dinitrofenooli, mille puhul on saadud potentsiomeetriliste mõõtmistega  $pK_a$  väärtuseks 16,45.[24] Võib hinnata, et saadud tulemused on kirjanduses esitatutest usaldusväärsemad, kuna spektrofotomeetriline meetod on atsetonitriilis mõõtmiseks sobivam. Potentsiomeetriliselt mõõtes tuleb kasutada kõrgemaid kontsentratsioone ning see suurendab oluliselt assotsiaatide tekke tõenäosust. Samuti võimaldab spektrofotomeetria vahetult jälgida lahuses toimuvaid protsesse samas kui potentsiomeetriliselt mõõtes seda teha ei saa.



Joonis 4. Nitroühendite  $pK_a$  väärtuste skeem. Struktuuride juures vastavate ainete  $pK_a$  väärtused vees ja atsetonitriilis. Väärtused leitud käesolevas töös, kui pole muudmoodi märgitud. <sup>a</sup>Väärtus allikast [25]. <sup>b</sup>Väärtus allikast [26]. <sup>c</sup>Väärtus allikatest [3,27]. <sup>d</sup>Väärtus allikast [28]. <sup>e</sup>Väärtus allikast [3]. <sup>f</sup>Väärtus allikast [29].

Joonis 4 näitab uuritud nitroühendite ning mõnede sarnase struktuuriga ühendite  $pK_a$  väärtusi atsetonitriilis ning vesikeskkonnas. Skeemil on nooltega näidatud, millised molekulid erinevad teistest vaid ühe erineva asendusrühma võrra. Kuigi käesolevas töös uuriti ainete happelis-aluselisi omadusi atsetonitriili keskkonnas, on huvipakkuv võrrelda saadud tulemusi ka uuritavate ainete  $pK_a$  väärtustega vesikeskkonnas, kuna paljudele ainetele saab rakendusi leida ka vesikeskkonnas. Samuti pakub huvi atsetonitriili  $pK_a$  skaala ja vesikeskkonna  $pK_a$  skaala võrdlus. Üldiselt ühes lahustis koostatud  $pK_a$  skaala pealt teises lahustis koostatud  $pK_a$  skaalale üle minna ei saa, kuna lahusti ja lahustatava aine molekulide ja/või ioonide vahelised vastasmõjud on erineva tugevusega ning mõjutavad oluliselt ka ainete happelis-aluselisi omadusi. Skeemilt on näha, et üksikud asendajad muudavad sarnase struktuuriga nitrofenoolidel ja trinitroaniliinil happelisi omadusi märkimisväärselt.



Joonis 5. Joonisel 4 kujutatud ainete  $pK_a$  väärtused vees ja atsetonitriilis. Joonisel on dinitrofenoolid, mille puhul mõlemad väärtused on Joonisel 4 Joonis 4 oleval skeemil toodud.

Kui vaadelda  $pK_a$  väärtuste ülekantavust atsetonitriili mõõtmistelt veekeskkonda, siis Joonis 5 näitab, et sarnase struktuuriga ainete puhul saab teatud täpsusega ainete  $pK_a$  väärtusi ühes lahustis teise lahusti mõõtmisandmete põhjal ennustada. Kirjandusest leitud  $pK_a$  väärtused vesikeskkonnas ja mõõdetud  $pK_a$  väärtused atsetonitriilis on küllalt heas korrelatsioonis. Uuritud ainetest ei olnud 4-F-2,6-(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-fenooli  $pK_a$  väärtust vees mõõdetud. Ülaltoodud (vt Joonis 5) lähendussirge abil võib ennustada, et 4-F-2,6-(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-fenooli  $pK_a$  väärtus vees on ligikaudu 3,8.

Mõningate indikaatorainete happelis-aluseliste omaduste uurimine atsetonitriilis.

Juhan Luik

## 5. Kokkuvõte

Käesolevas töös määrati kolme grupi ainete  $pK_a$  väärtused atsetonitriilis, et kirjeldada nende sobivust indikaatormaterjalideks ning määrata, milliste pH väärtuse piirkonnas nende abil keskkonna happelisust määrata saab. Uuritavaid aineid mõõdeti UV-Vis spektrofotomeetilise meetodil veevabas argoonikeskkonnas atsetonitriili lahuses. Kokku määrati 11 aine  $pK_a$  väärtused.

Fluorestseerivate indikaatormaterjalide puhul oli näha selge tendents, et pürrolidinorühmade lisandumine muutis aineid aluselisemaks. Kõigi nelja aine puhul olid spektrid indikaatormaterjali jaoks väga sobivad – mõlemas vormis oli selgelt eristuva lainepikkuse juures intensiivne neelduvuse maksimum ning esinesid ka isosbestilised punktid, mille olemasolu lubaks ühes sensoris vajadusel kasutada korraga mitut indikaatormaterjali.

Fluoraanipõhiste värvainete puhul olid kolme aine  $pK_a$  väärtused üksteisele sarnased. Need ained võiks sobida hästi indikaatormaterjalideks oma intensiivse neeldumise tõttu kogu nähtavas spektriosas, mistõttu nende puhul oleks nii mõõteseadme kui ka silmaga väga lihtne pH muutust näha.

Dinitrofenoolide  $pK_a$  väärtused jäid fluorestseerivate indikaatormaterjalidega võrreldavasse vahemikku ning trinitroaniliin oli neist aluselisem. Spektritest on näha, et tegemist on intensiivselt neelavate ainetega. Lisaks sellele on tegemist lihtsalt sünteesitavate ainetega ning see kombinatsioon muudab nad huvipakkuvateks indikaatormaterjalideks.

## 6. Summary

In this paper the  $pK_a$  values of three groups of compounds were determined to describe their suitability as indicator materials and to determine in which part of the pH scale one could determine the acidity of the medium. The  $pK_a$  values of the compounds were measured with the spectrophotometric method in an anhydrous argon environment. Altogether the  $pK_a$  values of 11 compounds were determined.

For the fluorescent indicator materials it was seen that the addition of pyrrolidino groups increased the basicity of the compound. All four of the investigated compounds had spectra that are suitable for an indicator material – they all had a distinct intensive absorption maximum for both the acidic and basic forms at different wavelengths and they also had isosbestic points, which would allow using two or more indicator compounds in one pH sensor.

The three fluoran based dyes had very similar  $pK_a$  values. They could all work very well as an indicator material because of their intense absorption throughout the whole of the visible spectrum, which would make it very easy for a measuring device or the human to see the change in pH.

The  $pK_a$  values of the dinitrophenols were in the same range as the fluorescent indicator materials while trinitroaniline was significantly more basic. The spectra show that these materials have an intense absorption. They're also quite simple molecules to synthesize and that combination makes them interesting as indicator materials.

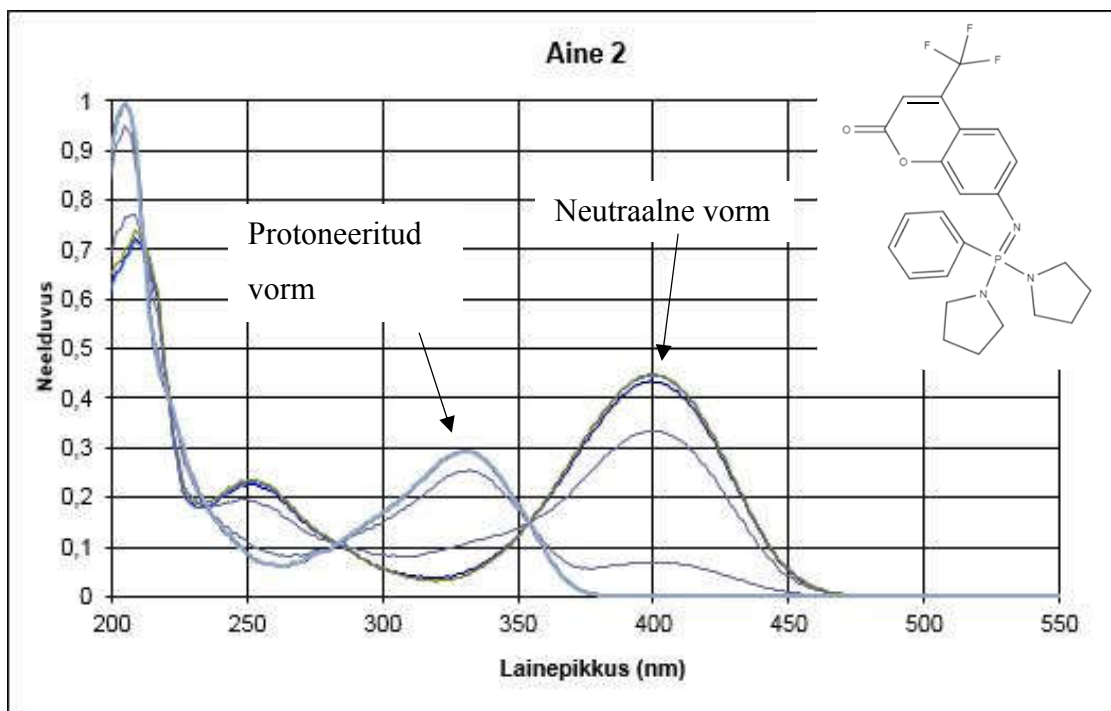
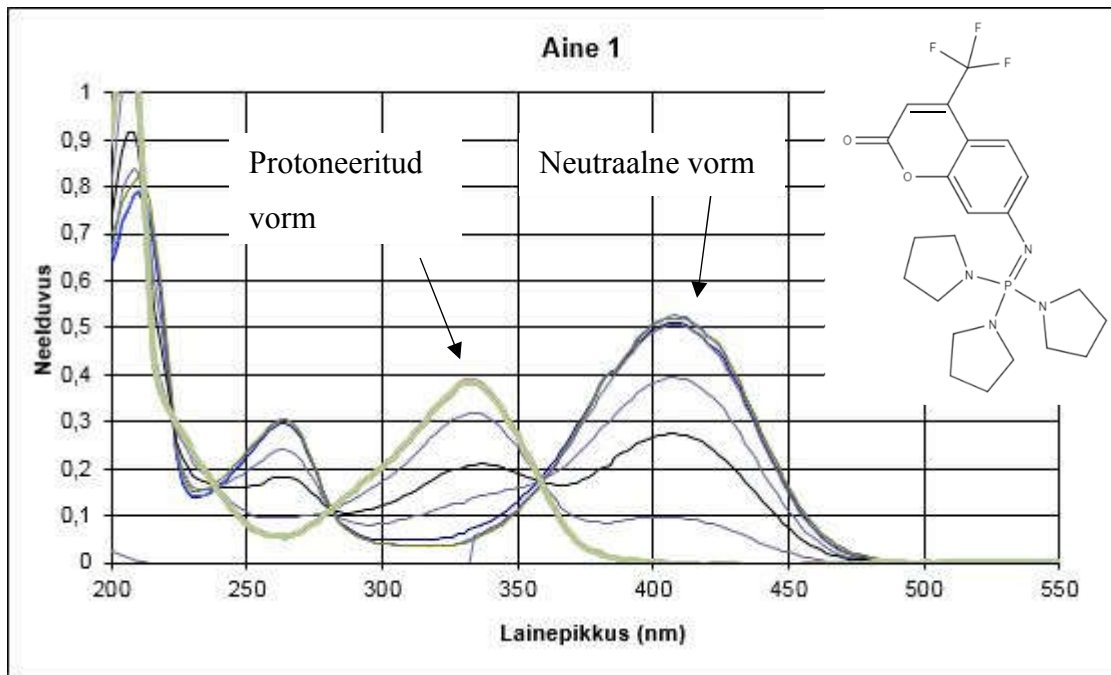
## 7. Kasutatud kirjandus:

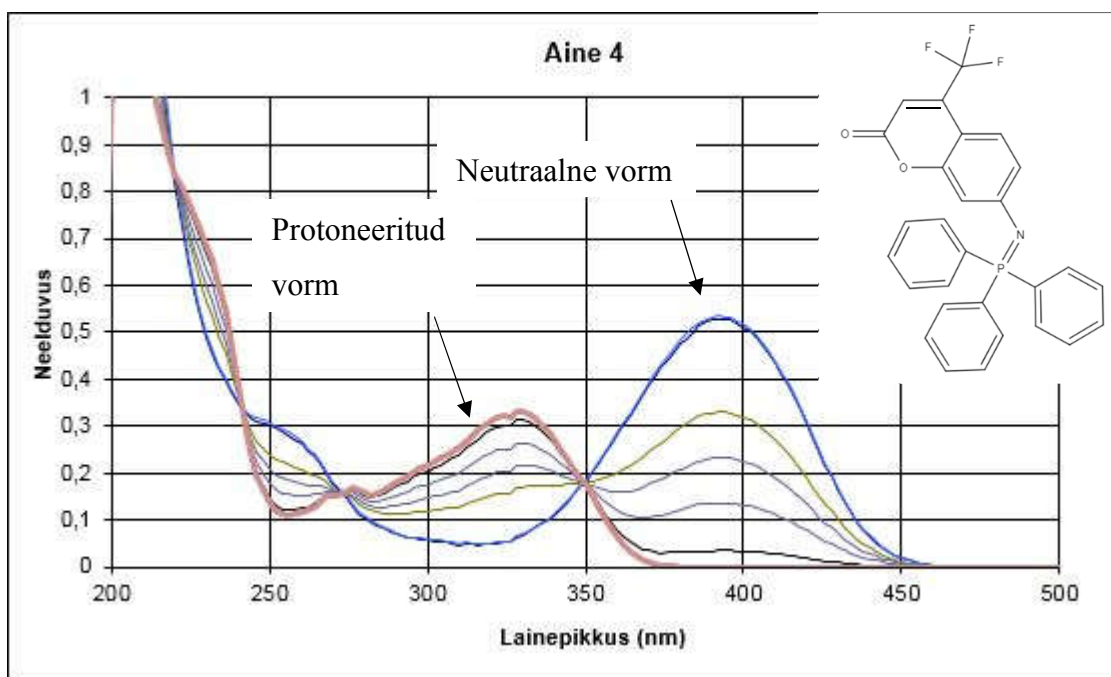
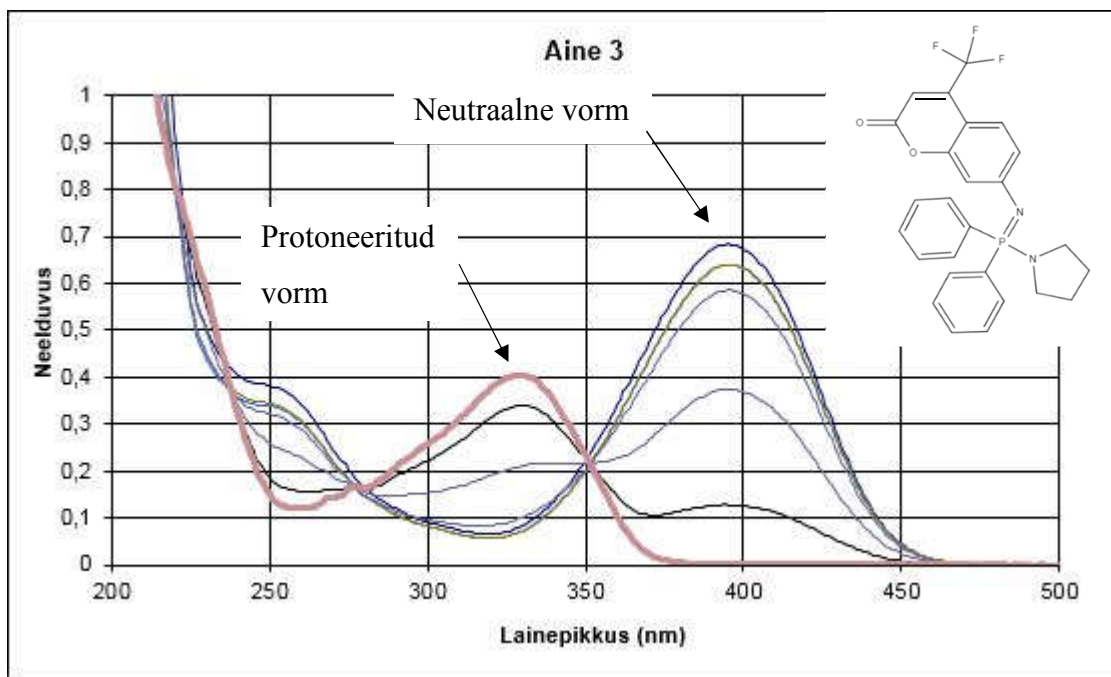
- (1) Carey, F. A.; Giuliano, R. M. *Organic Chemistry*; McGraw-Hill Education, 2013.
- (2) Reichardt, C.; Welton, T. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 4th tr; Wiley-VCH, 2010.
- (3) Kütt, A.; Leito, I.; Kaljurand, I.; Sooväli, L.; Vlasov, V. M.; Yagupolskii, L. M.; Koppel, I. A. A Comprehensive Self-Consistent Spectrophotometric Acidity Scale of Neutral Brønsted Acids in Acetonitrile. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (7), 2829–2838. <https://doi.org/10.1021/jo060031y>.
- (4) Kütt, A.; Selberg, S.; Kaljurand, I.; Thepelevitsh, S.; Heering, A.; Darnell, A.; Kaupmees, K.; Piirsalu, M.; Leito, I. pKa values in organic chemistry – Making maximum use of the available data. *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59* (42), 3738–3748. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.08.054>.
- (5) Izutsu, K. *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*; John Wiley & Sons, 2009.
- (6) Cox, B. G. *Acids and Bases: Solvent Effects on Acid-Base Strength*; OUP Oxford, 2013.
- (7) Abboud, J.-L. M.; Notari, R. Critical compilation of scales of solvent parameters. Part I. Pure, non-hydrogen bond donor solvents. *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71* (4), 645–718. <https://doi.org/https://doi.org/10.1351/pac199971040645>.
- (8) Himmel, D.; Koll, S. K.; Leito, I.; Krossing, I. A Unified pH Scale for All Phases. *Angew. Chemie* **2010**, *49* (38), 6885–6888. <https://doi.org/10.1002/anie.201000252>.
- (9) Crouch, S. R.; Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J. *Skoog and West's Fundamentals of Analytical Chemistry*, 9. tr; Cengage Learning, 2013.
- (10) Reijenga, J.; van Hoof, A.; van Loon, A.; Teunissen, B. Development of Methods for the Determination of pKa Values. *Anal. Chem. Insights* **2013**, *8*. <https://doi.org/10.4137/ACI.S12304>.
- (11) Wiczling, P.; Markuszewski, M.; Kaliszan, R. Determination of pKa by pH Gradient Reversed-Phase HPLC. *Anal. Chem.* **2004**, *76* (11), 3069–3077. <https://doi.org/10.1021/ac049807q>.
- (12) Buck, R. P.; Rondinini, S.; Covington, A. K.; Baucke, F. G. K.; Brett, Christopher, M.

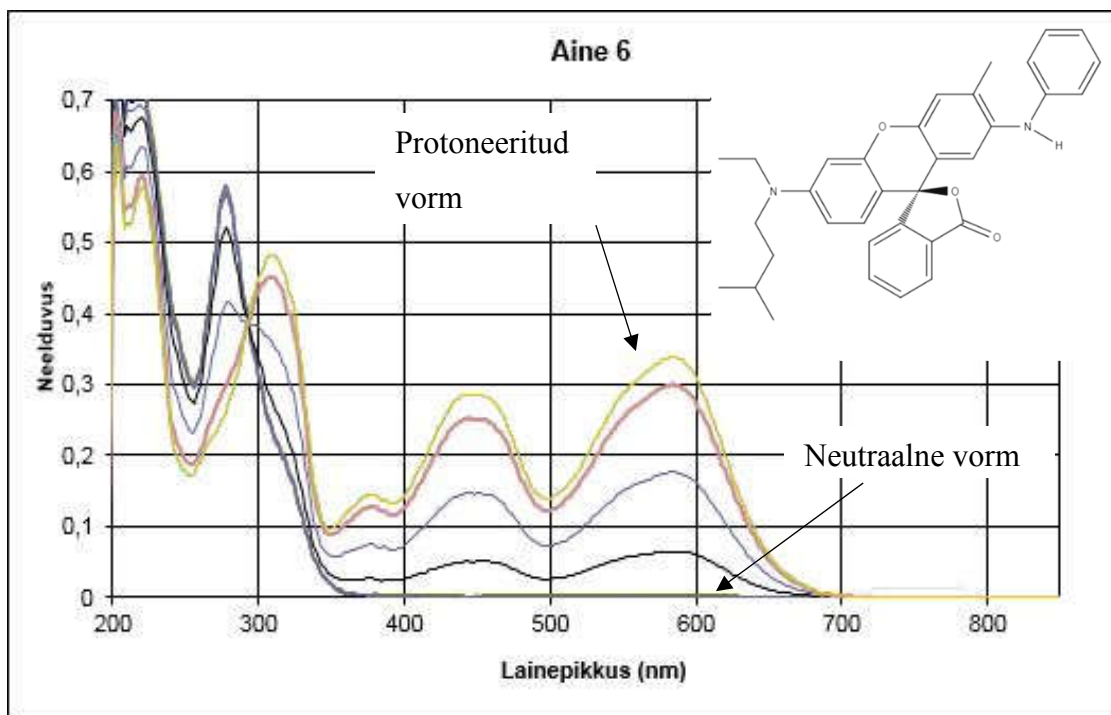
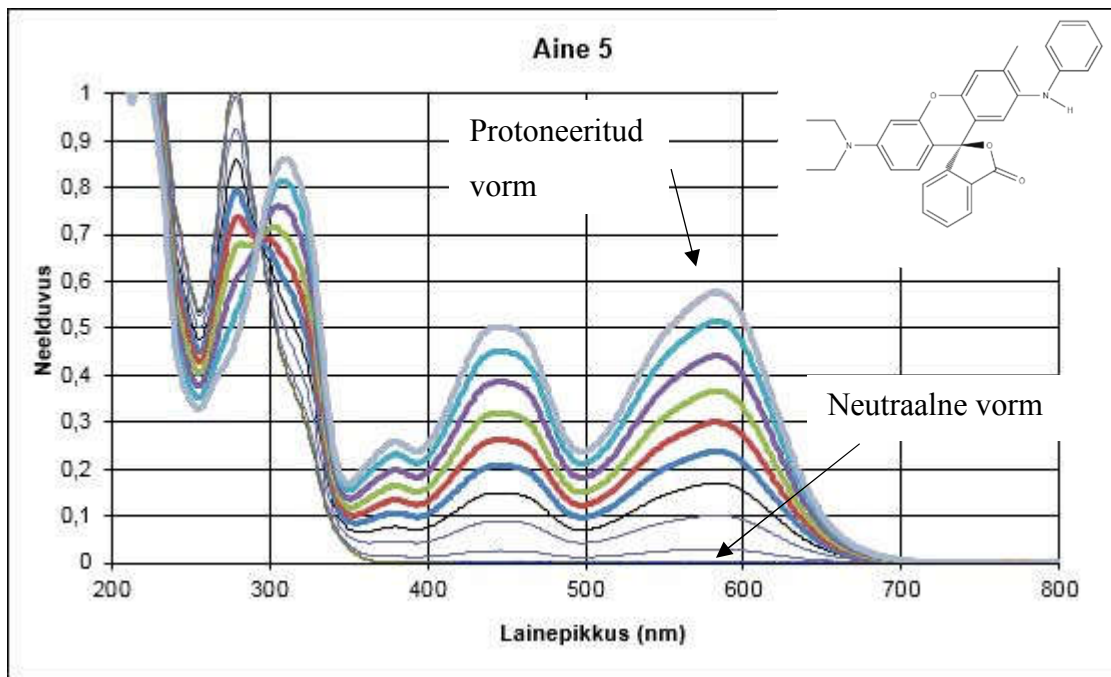
- A.; Camoes, M. F.; Milton, M. J. T.; Mussini, T.; Naumann, R.; Pratt, K. W.; et al. Measurement of pH. Definition, standards, and procedures (IUPAC Recommendations 2002). *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74* (11), 2169–2200. <https://doi.org/https://doi.org/10.1351/pac200274112169>.
- (13) Dickson, A. G.; Camões, M. F.; Spitzer, P.; Fiscaro, P.; Stoica, D.; Pawlowicz, R.; Feistel, R. Metrological challenges for measurements of key climatological observables. Part 3: seawater pH. *Metrologia* **2015**, *53* (1). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1088/0026-1394/53/1/R26>.
- (14) Webster, J. G.; Eren, H. *Measurement, Instrumentation, and Sensors Handbook: Electromagnetic, Optical, Radiation, Chemical and Biomedical Measurement*, Second Edi.; CRC Press, 2014.
- (15) Lin, J.; Liu, D. An optical pH sensor with a linear response over a broad range. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *408* (1–2), 49–55. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00840-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00840-5).
- (16) Trupp, S.; Alberti, M.; Carofiglio, T.; Lubian, E.; Lehmann, H.; Heuermann, R.; Yacoub-George, E.; Bock, K.; Mohr, G. J. Development of pH-sensitive indicator dyes for the preparation of micro-patterned optical sensor layers. *Sensors Actuators B Chem.* **2010**, *150* (1), 206–210. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.07.015>.
- (17) Ramaier, N.; Wolfbeis, O. S. *Optical Sensors: Industrial Environmental and Diagnostic Applications*; Springer Science & Business Media, 2013.
- (18) Baldini, F.; Chester, A. N.; Homola, J.; Martellucci, S. *Optical Chemical Sensors*; Springer Science & Business Media, 2006.
- (19) Tian, Y.; Fuller, E.; Klug, S.; Lee, F.; Su, F.; Zhang, L.; Chao, S.; Meldrum, D. R. A fluorescent colorimetric pH sensor and the influences of matrices on sensing performances. *Sensors Actuators B Chem.* **2013**, *188*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.06.098>.
- (20) Selberg, S.; Rodima, T.; Lõkov, M.; Tshepelevitsh, S.; Haljasorg, T.; Chhabra, S.; Kadam, S. A.; Toom, L.; Vahur, S.; Leito, I. Synthesis and properties of highly lipophilic phosphazene bases. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58* (22), 2098–2102. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.04.039>.
- (21) Selberg, S.; Pagano, T.; Tshepelevitsh, S.; Haljasorg, T.; Vahur, S.; Luik, J.; Saame, J.;

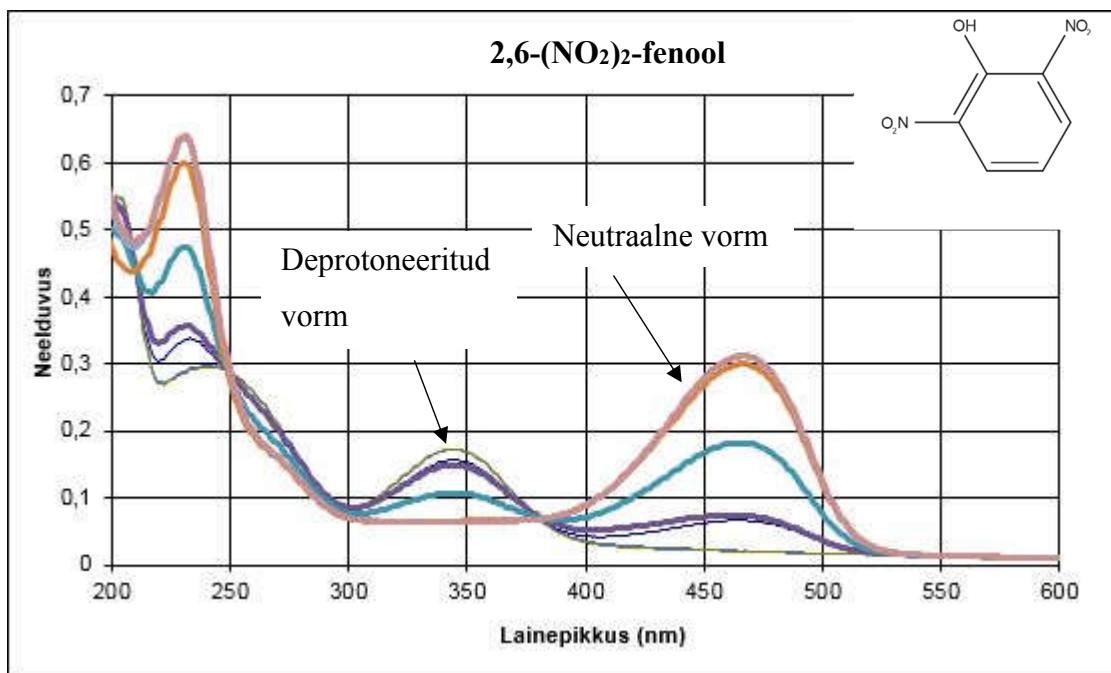
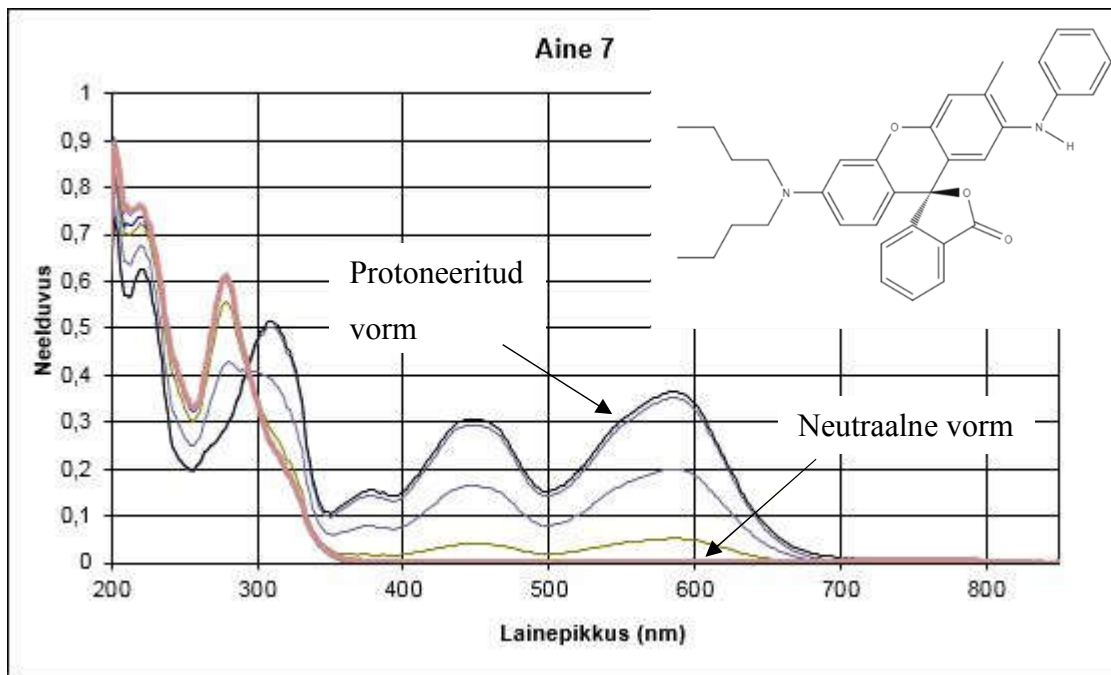
- Leito, I. Synthesis and photophysics of a series of lipophilic phosphazene - based fluorescent indicators. *J. Phys. Org. Chem.* **2019**. <https://doi.org/10.1002/poc.3950>.
- (22) Kaljurand, I.; Kütt, A.; Sooväli, L.; Rodima, T.; Mäemets, V.; Leito, I.; Koppel, I. A. Extension of the self-consistent spectrophotometric basicity scale in acetonitrile to a full span of 28 p K a units: unification of different basicity scales. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (3), 1019–1028. <https://doi.org/10.1021/jo048252w>.
- (23) Lõkov, M.; Tshepelevitsh, S.; Heering, A.; Plieger, P. G.; Vianello, R.; Leito, I. On the Basicity of Conjugated Nitrogen Heterocycles in Different Media. *European J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (30), 4475–4489. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201700749>.
- (24) Kolthoff, I. M.; Miran K. Jr, C.; Bhowmik, S. Dissociation constants of uncharged and monovalent cation acids in dimethyl sulfoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90* (1), 23–28. <https://doi.org/10.1021/ja01003a005>.
- (25) Stewart, R.; O'Donnell, J. P. Strongly basic systems: III. The H- function for various solvent systems. *Can. J. Chem.* **1964**, *42* (7), 1681–1693. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/v64-251>.
- (26) McDougall, A. O.; Long, F. A. Relative hydrogen bonding of deuterium. II. Acid ionization constants in H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O. *J. Phys. Chem.* **1962**, *66* (3), 429–433. <https://doi.org/10.1021/j100809a012>.
- (27) Coetzee, J. F.; Padmanabhan, G. R. Dissociation and homoconjugation of Certain Phenols in Acetonitrile. *J. Phys. Chem.* **1965**, *69* (9), 3193–3196. <https://doi.org/10.1021/j100893a516>.
- (28) Pearce, P. J.; Simkins, R. J. J. Acid strengths of some substituted picric acids. *Can. J. Chem.* **1968**, *46* (2), 241–248. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/v68-038>.
- (29) Kirm, H. U. Mõnede katalüsaatorite ja neile lähedaste ainete happelisuse uurimine atsetonitriilis, bakalaureusetöö, 2017.

## 8. Lisa. Uuritud ainete UV-Vis spektrid.











# INFOLEHT

## **Mõningate indikaatorainete happelis-aluseliste omaduste uurimine atsetonitriilis**

Käesolevas töös määrati 11 aine  $pK_a$  väärtused atsetonitriilis. Määrati nelja fluorestseeriva indikaatormaterjali, kolme värvaine ning kolme dinitrofenooli ning trinitroaniliini  $pK_a$  väärtused. Mõõtmised tehti veevabas keskkonnas suhtelisel UV-Vis spektrofotomeetrilisel meetodil. Tulemustest selgub, et uuritavate ainete spektrid on rakendusteks indikaatorainetena head. Fluorestseerivatel ainetel on selgelt eristuvad neelduvusmaksimumid erinevatel lainepikkustel eri vormides ning ka mitu isosbestilist punkti. Värvainetel on intensiivne neelduvus kogu nähtavas spektrialas ühes vormis ning olematu neeldumine nähtavas spektrialas teises vormis. Dinitrofenoolidel ning trinitroaniliinil on intensiivne neeldumine mõlemas vormis erinevatel lainepikkustel.

Märksõnad:  $pK_a$ , atsetonitriil, UV-Vis spektrofotomeetria, indikaatormaterjalid, fluorescent materials.

## **Study of the acidic-basic characteristics of some indicator materials in acetonitrile**

In the current paper the  $pK_a$  values of 11 compounds were determined in acetonitrile. Among those were four fluorescent indicator materials, three dyes, three dinitrophenols and trinitroaniline. The measurements were carried out in anhydrous argon atmosphere with the UV-Vis spectrophotometric method. The results show that the spectra of these compounds suit the proposed application as indicator materials. The fluorescent materials had clearly distinct absorbance maxima for the protonated and deprotonated forms and sharp isosbestic points. The dyes had an intense absorbance throughout the visible spectrum in one form and no absorbance in the other form. The dinitrophenols and trinitroaniline had intense absorbance maxima for both forms at different wavelengths.

Keywords:  $pK_a$ , acetonitrile, UV-Vis spectrophotometry, indicator materials, fluorescent materials.

CERCS: P300 Analüütiline keemia/Analytical Chemistry

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Juhan Luik

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Mõningate indikaatorainete happelis-aluseliste omaduste uurimine atsetonitriilis“, mille juhendajad on Jaan Saame ja Ivo Leito, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu alates 01.06.2022 kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Juhan Luik

31.05.2019