

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Analüütilise keemia õppetool

Annaliisa Männik

**Mõnede indikaatorainete happe-aluse omaduste määramine
atsetonitriilis**

Bakalaureusetöö (6 EAP)

Keemia

Juhendajad: Ivo Leito, PhD

Märt Lõkov, PhD

Tartu 2022

INFOLEHT

Mõnede indikaatorainete happe-aluse omaduste määramine atsetonitriilis

Ainete happe-aluselisi omadusi kirjeldab nende pK_a väärtus, mis sõltub konkreetset lahustist. Käesolevas uurimistöös leiti 9 katioonse happe pK_a väärtusi atsetonitriili keskkonnas suhtelisel UV/Vis-spektrofotomeetria meetodil. Uuritud ainete pK_a väärtused varieeruvad vahemikus 23.9 kuni 30.3 ning nende spektraalsed omadused UV/Vis spektrialas on väga sobivad pK_a väärtuste mõõtmiseks ja võimaldavad neid kasutada referentsainetena edasistel pK_a väärtuste määramistel samal meetodil.

Märksõnad: pK_a , tugevad alused, UV/Vis-spektrofotomeetria, atsetonitriil

CERCS:P400

Measuring the acidic-basic properties of certain indicator substances

The acidic-basic properties of substances are described by their pK_a value, which is determined by the solvent. In this thesis the pK_a values of 9 cationic acids were found in acetonitrile using the relative UV/Vis-spectrophotometrical method. The pK_a values of these compounds varied between the values 23.9 and 30.3 and their spectral properties in the UV/Vis wavelength range grant them to be used as reference substances for measuring further pK_a values using the same method.

Keywords: pK_a , strong bases, UV/Vis-spectrophotometry, acetonitrile

CERCS:P400

Sisukord

Kasutatud lühendid	4
1. Sissejuhatus.....	5
2. Kirjanduse ülevaade.....	7
2.1 Happe-aluse tasakaalud lahustes	7
2.2 Solvendi roll happe-aluse tasakaaludes.....	8
2.3 Keskkonnad happe-aluse tasakaalude määramiseks	9
2.4 Meetodid ainete happeliste ja aluseliste omaduste määramiseks lahustes	10
3. Eksperimentaalne osa.....	13
3.1 Kasutatud töövahendid.....	13
3.2 Kasutatud kemikaalid.....	14
3.3 Happe-aluse tasakaalude uurimine spektrofotomeetrilisel meetodil.....	17
3.4 Andmetöötlus	18
4. Tulemused ja arutelu.....	22
Kokkuvõte.....	25
Summary	27
Kasutatud kirjandus	28
Lisad.....	31

Kasutatud lühendid

A^λ	- fotomeetriline neelduvus lainepikkusel λ
a	- aktiivsus
α	- dissotsiatsioonimäär
f	- aktiivsuskoefitsient
Z	- laeng
K_a	- dissotsiatsioonikonstant
pK_a	- dissotsiatsioonikonstandi negatiivne kümnendlogaritm $-\log(K_a)$
UV	- ultraviolet
Vis	- nähtav
NMR	- tuumamagnetresonantspektroskoopia
ϵ_r	- dielektriline konstant
pK_{auto}	- autoprotolüüsikonstant

1. Sissejuhatus

Ainete ühed olulisemad omadused on nende happelisus ja/või aluselisus. Need mõjutavad ainete käitumist keemilistes reaktsioonides ning ainete katalüütilisi omadusi, samuti määravad happe-aluselised tasakaalud ainete osalemise bioloogilistes protsessides. Ainete happe-aluseliste omaduste teadmine on vajalik nende kasutamisel nii uuringutes kui ka tööstuses.

Ainete happelisust või aluselisust on laialdaselt uuritud vesikeskkonnas, kus on ka põhjalikult kirjeldatud hape-alus omaduste seaduspärasusi. Mittevesikeskkondades on ainete vastavad omadused sageli oluliselt erinevad, ning reeglina sõltuvad konkreetsest keskkonnast.

Mittevesikeskkonnas happe-aluse omaduste uurimine osutub vajalikuks, kui vastavat ainet on vaja kasutada mittevesikeskkonnas või kui vees pole võimalik aine happe-aluse omadusi adekvaatselt uurida. Näiteks võib huvipakkuv aine olla ülitugevate happe-aluseliste omadustega või vees lahustumatu, samuti võivad toimuda protsessid või reaktsioonid, kus aine happe või alusena käitub, ainult kindlas mittevesikeskkonnas.

Aine happeliste omaduste tugevust iseloomustab happelise dissotsiatsiooni konstant K_a , mis väljendab aine dissotsieerumise ulatust. Enamasti on ainete võrdlemiseks kasutusel suurus pK_a , mis on negatiivne kümnendlogaritm dissotsiatsioonikonstandist.

Mittevesikeskkondades on hapete ja aluste tugevuste mõõtmine raskendatud, sest neis esinevad segavad faktorid nagu homokonjugatsioon ja ioonpaardumine. Mainitud probleemid tekivad eeskätt juhul, kui lahusti on madala polaarsusega, sest mida madalama polaarsusega on lahusti, seda tugevamini väljenduvad selles lahustunud ainete molekulide ja/või ionide vahelised vastastikmõjud. Oluline on lisada, et peaaegu kõik mittevesilahustid on madalama polaarsusega kui vesi.

Mittevesikeskkondades, sealhulgas atsetonitriilis, kus puudub selgelt välja kujunenud pH skaala, on ainete happe-aluselisi omadusi otstarbekas mõõta võrreldes uuritavaid aineid olemasolevate referentsainetega, mille pK_a väärtused on usaldusväärset teada. Atsetonitriilis on loodud ulatuslik aluseliste referentsainete pK_a skaala, mis sisaldab üle 270 aine pK_a väärtuse alates 1,28 (Ph_3N) kuni 33,14 ($\text{Ph-CH=P(-NMe-CH}_2\text{-CH}_2\text{)}_3\text{N}$).¹ Tundmatu aine pK_a väärtuse leidmiseks ei tohi selle pK_a olla referentsaine pK_a väärtusest liialt erinev. Seetõttu peab see skaala olema piisavalt tihedalt ainetega täidetud. Skaalas leidub piirkondi, mis ei ole mugavateks ja usaldusväärseteks mõõtmisteks piisavalt tihedalt täidetud. Lisaks on probleemiks mitmete skaalal olevate ainete ebasobivad spektraalomadused, ebapiisav

stabiilsus või halb kättesaadavus. Seetõttu on vaja väljatöötatud skaalat uute ainete lisamisega täiendada ja seeläbi selle kasutatavust parandada.

Uurimistöö katselises osas solvendina kasutatud atsetonitriil on happe-aluseliste omaduste uurimiseks mitmete soodsate omadustega lahusti. Atsetonitriili keskkonnas on olemas kooskõlaline aluselisuse skaala, mis on usaldusväärne tööriist uute ainete pK_a väärtuste määramiseks atsetonitriilis. Töö eesmärgiks oli lisada olemasolevate referentsainete skaalale uusi aineid, mille pK_a on kindlaks määratud ning mis paiknevad skaalal vahemikes, kus hetkel pole piisavalt referentsaineid või on need ebasobivate omadustega. Uued ained võiksid olla võimalikult heade spektraalomadustega, lihtsad sünteesida ning keemiliselt stabiilsed.

2. Kirjanduse ülevaade

2.1 Happe-aluse tasakaalud lahustes

Brønsted-Lowry hapete teooria defineerib happeid kui prootoni doonoreid ning aluseid kui prootoni aktseptoreid. Reaktsioonis hape HA ja aluse B vahel toimub prootoni ülekannet happelt alusele²⁻⁴:



Prootoni loovutanud hape anioon A^- on hape HA konjugeeritud vorm ning käitub vastassuunalises reaktsioonis prootoni aktseptori ehk alusena.

Prootoni ülekandumisel võib eristada kaht protsessi – ionisatsioon ja dissotsiatsioon. Ionisatsiooni tasakaalu lahustis määravad peamiselt lahusti ioniseerivad omadused, mis omakorda sõltuvad lahusti elektrondonoorsetest ja -aktseptoorsetest võimetest. Dissotsiatsiooni tasakaalu määrab peamiselt lahusti ja selle dissotsieeriv võime^{2,5,6}.

Happelise dissotsiatsiooni korral püstitub solvendis S tasakaal lahustunud aine happelise ja aluselise vormi vahel. Vastavas reaktsioonis käitub solvent alusena:



Laenguarvu z väärtus näitab tasakaalus osalevate ainete definitsioonid. Kui $z = -1$, on võrrandis HB^{z+1} neutraalne hape ning B^z sellele vastav anioonne konjugeeritud alus. Kui $z = 0$, on B^z neutraalne alus, millele vastab selle konjugeeritud katioonne hape HB^{z+1} . SH^+ väljendab protoneeritud lahusti molekuli, mille aktiivsus iseloomustab keskkonna happelisust.

Võrrandis (2) näidatud happe dissotsieerumise tasakaalu kirjeldab happelise dissotsiatsiooni konstant K_a :

$$K_a = \frac{a(\text{SH}^+) \cdot a(\text{B}^z)}{a(\text{HB}^{z+1})} \quad (3)$$

kus väärtused $a(\text{B}^z)$ ja $a(\text{HB}^{z+1})$ on aine happelise ja aluselise vormi aktiivsused ning $a(\text{SH}^+)$ keskkonna aktiivsus ehk keskkonna happelisus.

Dissotsiatsioonikonstantide väärtused võivad olenevalt ainetest erineda mitmete suurusjärkude ulatuses. Seetõttu on praktikas mugavam kasutada K_a negatiivset kümnendlogaritmi, pK_a väärtust:

$$pK_a = -\log(K_a) = -\log \frac{a(\text{SH}^+) \cdot a(\text{B}^z)}{a(\text{HB}^{z+1})} \quad (4)$$

Hape on seda tugevamate happeliste omadustega, mida madalam on selle pK_a väärtus. Vastavalt on tugevam alus aine, mille pK_a väärtus on kõrgem. Selleks, et hapete ja aluste tugevusi saaks omavahel võrrelda, arvutatakse aluste pK_a väärtused neile vastavate konjugeeritud katioonsete hapete kaudu.

Mittevesilahustes on solvateeritud prootoni aktiivsuse $a(\text{SH}^+)$ usaldusväärne mõõtmine raskendatud ning mõõtmisel selle leidmist sageli välditakse. Selle asemel kasutatakse sageli suhtelisi mõõtmismeetodeid ning mõõtmisel leitakse kahe aluse või happe suhteline aluselisisus või happelisisus ΔpK_a . Selleks uuritakse tasakaalu nende hapete/aluste ja nende konjugeeritud vormide vahel:



Nende kahe aine happelisuste erinevust antud keskkonnas väljendab ΔpK_a :

$$\Delta pK_a = pK_a(\text{HB}_1^+) - pK_a(\text{HB}_2^+) = \log \frac{a(\text{HB}_2^+) \cdot a(\text{B}_1)}{a(\text{HB}_1^+) \cdot a(\text{B}_2)} \quad (6)$$

2.2 Solvendi roll happe-aluse tasakaaludes

Lahusti mõjutab oluliselt ainete happe-aluseliste omaduste avaldumise määra. Peamised väärtused solvendi rolli kirjeldamiseks happe-aluselistes tasakaaludes on dielektriline läbitavus ning autoprotolüüsi konstant.

Dielektriline läbitavus ϵ_r kirjeldab solvendi polaarsust. Piisavalt kõrge dielektrilise läbitavuse väärtusega lahustid suudavad vähendada elektrostaatilisi jõude ionipaaride vahel, mis võimaldab vabade ionide tekke lahusesse happe ja aluse vaheliste reaktsioonide vahel⁷.

Lahustil on sellele omane aluselisisus ja happelisisus, mille erinevust kirjeldab autoprotolüüsi konstandi negatiivne kümnendlogaritm pK_{auto} . Lahusti autoprotolüüsi kirjeldab järgnev tasakaal:



Autoprotolüüsi konstant on arvutatav valemist:

$$K_{\text{auto}} = a(\text{S}^-) \cdot a(\text{SH}_2^+) \quad (8)$$

$$pK_{\text{auto}} = -\log[a(\text{S}^-) \cdot a(\text{SH}_2^+)]$$

Autoprotolüüsi konstant näitab solvendis usaldusväärsest mõõdetavate pK_a väärtuste vahemikku, näiteks vees on võimalik usaldusväärsest mõõta pK_a väärtusi ligikaudu vahemikus 0...14.

Lahusteid on võimalik liigitada aprotoonseteks ja amfiprotoonseteks vastavalt nende dissotsieerumisele. Amfiprotoonsed lahustid dissotsieeruvad suuremal määral ning neil on nii aluselised kui ka happelised omadused. Aprotoonsed lahustid dissotsieeruvad vähemal määral, nende pK_{auto} väärtus on suurem kui 20.^{2,8,9}

2.3 Keskkonnad happe-aluse tasakaalude määramiseks

2.3.1 Vesi

Vesi on polaarne protoonne lahusti ning üks levinumaid keskkondi ainete happelis-aluseliste tasakaalude uurimiseks. Vee kõrge polaarsus ($\epsilon_r = 78,36$) võimaldab selles lahustada paljusid polarseid aineid.² Vesinikioonide aktiivsust on võimalik määrata lihtsatel ja korratavatel meetoditel tänu vesilahuste usaldusväärsele pH skaalale¹⁰.

Ainete happe-aluseliste tasakaalude vees uurimise peamiseks puudusteks on vee tugevad happelised ja aluselised omadused ($pK_{\text{auto}} = 14,00$), mis ei võimalda selles mõõta tugevaid aluseid ja happeid, ning kõrge polaarsuse tõttu raskendatud mittepolaarsete ainete lahustamine.¹¹

2.3.2 Atsetonitriil

Atsetonitriil on nõrkade aluseliste omadusetega ja küllaltki kõrge polaarsusega aprotoonne solvent. Tänu kõrgele dielektrilisele konstandi väärtusele ($\epsilon_r = 35,94$)¹² on vabade ionide tekkimine atsetonitriili lahuses soodustatud. Madal autoprotolüüsi konstant annab atsetonitriilile head diferentseerivad omadused ($pK_{\text{auto}} = 33,6$)¹³ ning võimaldab atsetonitriilis mõõta nii happeid kui aluseid. Nõrkade aluseliste omaduste tõttu on atsetonitriil sobiv eelkõige keskmise tugevusega ja tugevate hapete ning nõrkade ja keskmise tugevusega aluste uurimiseks. Atsetonitriil on kättesaadav kõrge puhtusega ja on keemiliselt küllaltki inertne. Atsetonitriil sobib hästi spektrofotomeetristeks mõõtmisteks, kuna neelab UV kiirgust alles alla 190 nm seega jääb lahusti neeldumine tavapärasest mõõtmisalast välja.¹⁴

2.3.3 Muud solvendid

Tetrahüdrofuraan (THF) on aprotoonne ning madala aluselise ja dielektrilise konstandiga ($\epsilon_r=7.47$)¹². Madala polaarsuse tõttu moodustuvad ioonpaarid juba väikestel kontsentratsioonidel, mille tõttu on selles solvendis ionide uurimine raskendatud. THF on suhteliselt kõrge aluselise ning struktuurselt püsiv ka tugevalt aluselises keskkonnas, mistõttu sobib see tugevate aluste uurimiseks.¹¹ Selle autoprotolüüsikonstant $pK_{\text{auto}} = 34,7$ ¹⁵.

Dimetüülsulfoksiid (DMSO) on võimeline lahustama nii polaarset kui mittepolaarseid aineid. See on heade diferentseerivate omadustega polaarne aprotoonne solvent¹². Selles on mõõdetud laialdaselt pK_a väärtusi¹⁶. DMSO neelab intensiivselt valgust kuni lainepikkuseni 268, mis takistab UV-Vis spektrofotomeetria meetodi kasutamist pK_a määramiseks. DMSO sobib eelkõige tugevate aluste ja nõrkade hapete uurimiseks oma aluseliste omaduste tõttu. DMSO autoprotolüüsikonstant $pK_{\text{auto}} = 33,3$.^{17,18}

2.4 Meetodid ainete happeliste ja aluseliste omaduste määramiseks lahustes

Ainete happelisuse määramiseks on välja töötatud rohkelt meetodeid¹⁹. Laiemalt saab uurimismeetodid jagada absoluutseteks ja suhtelisteks.

Absoluutsed meetodid töötavad ilma referentsaineteta, dissotsiatsioonikonstant arvutatakse lahuse pH väärtusest ja aine dissotsiatsioonimäärast. Absoluutsed meetodid annavad tulemuseks vahetult happelisuse absoluutse väärtuse. Seda võimaldavad näiteks potentsiomeetria, kapillarelektroforees, kõrgefektiivse vedelikkromatograafia meetod ja konduktromeetria.^{19,20}

Suhtelised meetodid võimaldavad happelisuse määrata mõne referentsaine suhtes. Leitakse kahe lahuses oleva aine, uuritava aine ja referentsaine, dissotsiatsioonimäärad ning arvutatakse ainete pK_a väärtuste erinevus. Ka suhtelised meetodid annavad tulemuseks absoluutse pK_a väärtuse. Suhteliselt on happelisust võimalik mõõta kasutades näiteks spektrofotomeetria, tuumamagnetresonantspektroskoopia ning kapillaarelektroforeesi.

2.4.1 Spektrofotomeetria

Spektrofotomeetria on suhteline meetod pK_a väärtuste arvutamiseks. Meetodika näeb ette kahest alusest või hapest koosneva segu tiitrimist ja spektrometrist mõõtmist keskkonna happelisuse muutudes, mis võimaldab arvutada nende pK_a väärtuste erinevuse ainete

dissotsiatsioonimäärast ehk protoneeritud ja deprotoneeritud vormide kontsentratsioonide suhtest.¹⁹

Spektrofotomeetria võimaldab mõõtmisi läbi viia võrdlemisi madalatel kontsentratsioonidel, kasutades igaks mõõtmiseks väikesi aine- ja solvendikoguseid. Meetodi puhul on määramatus väike, kuna ainete kontsentratsioone ei ole ΔpK_a arvutustes vaja kasutada, ei ole vajalik keskkonna pH mõõtmine ning mõõtelahustesse sattunud lisandid või vesi mõjutavad mõlema aine hape-alus omadusi samas suunas. Varasemalt on sellega mõõdetud ulatuslikud pK_a skaalad atsetonitriili, tetrahüdrofuraani ning dimetüülsulfoksiidi keskkondades^{21,22}.

Spektrofotomeetrilise mõõtmise jaoks on tarvilik, et kasutatavad ained oleksid soodsate spektraalomadustega. Heade spektraalomadustega aineteks saab lugeda aineid, mille neeldumine toimub võrdlemisi pikas lainelas, sealjuures on neeldumisi lühematel lainepikkustel vähe, protoneeritud ja deprotoneeritud aine spektrid on märgatavalt erineva neelduvusega, esineb isosbestilisi punkte ning ühel piirvormidest neeldumine kindlas lainepikkuste vahemikus puudub.²³

2.4.4 Muud meetodid

Tuumamagnetresonantspektroskoopia (NMR) meetodi korral jälgitakse keemilise nihke muutust, mis toimub protoneerumistsentri läheduses protoneerumise või deprotoneerumise käigus. Erinevalt UV-Vis spektrofotomeetriast vajab meetod suhteliselt kõrgeid ainete kontsentratsioone. Samuti põhjustab lahuse kõrgem kontsentratsioon mittevsesikeskkondades assotsiaatide teket, mis vähendab tulemuste usaldusväärsust.¹⁹

Potentsiomeetria korral mõõdetakse vesinikiooni aktiivsus lahuses erinevate teadaolevate protoneeritud ja deprotoneeritud aine vormide suhete korral. Ka selle meetodi puhul on vajalik suhteliselt kõrgete kontsentratsioonide kasutamine. Potentsiomeetria on eelkõige sobilik vesilahustes mõõtmiseks, kuna mittevsesilahustes võib esineda indikaatorelektroodi potentsiaali triiv ja lisandite segav mõju.^{20,21,24}

Kõrgefektiivse vedelikkromatograafia meetod põhineb ainete retentsiooniaegade sõltuvusel keskkonna happelisusest. Muutes puhverlahuse pH-d muutub ka elueeritava aine retentsiooniaeg selle pK_a väärtusele vastavalt. Vaja on väikesi ainekoguseid, kuid tulemusi mõjutab statsionaarse faasi valik.^{17,25}

Kapillaarelektroforeetiline meetod põhineb aine elektroforeetilise liikuvuse sõltuvusel selle dissotsiatsioonimäärast, mida on võimalik mõjutada keskkonna happelisusega. Aine pK_a leitakse seosest dissotsiatsioonimäärast ja keskkonna happelisuse vahel.^{26,27}

3. Eksperimentaalne osa

3.1 Kasutatud töövahendid

3.1.1 Kuivkapp

Aine pK_a määramiseks on vajalik veevaba keskkond, et vältida niiskuse mõju lahuses toimuvatele protsessidele. See tagati MBrauni UNILab tüüpi kuivkapi kasutamisega, mis võimaldas mõõtmised läbi viia argooni keskkonnas. Kapi seinad on valmistatud 3 mm paksusest roostevabast terasest ning aken 10 mm paksusest mineraalklaasist. Kuivkapi ruumala on 0,8 m³. Kapis töötamiseks on kapi aknas olevate ümmarguste avade külge õhkthedalt kinnitatud butüülkautšukist valmistatud kindad, mis ulatuvad kapi sisemusse.

Kuivkapis on atmosfääriks argoon puhtusega 99,999%, mis tagab inertse vee- ja hapnikuvaba keskkonna. Argoon ringleb pidevalt läbi puhastite, et vältida veeauru või muu saaste kogunemist kappi. Puhastites on puhastavateks agentideks aktiveeritud vask, molekulaarsõelad ja aktiivsõega filter, mis seovad vastavalt hapnikku, veeauru ja lenduvaid orgaanilisi ühendeid.

Kuivkapil on kaks lüüsi töövahendite ja ainete kappi viimiseks, käesolevas töös kasutati neist väiksemat, 3-liitriste ruumalaga lüüsi. Töövahendite kappi viimisel vakumeeriti lüüsi sisu kolm korda ning iga vakumeerimise järel täideti lüüs töögaasiga.

Kapis oleva töögaasi rõhku ning vee- ja hapnikusisaldust oli võimalik katsete ajal pidevalt jälgida kuivkapi kontrollpaneelilt. Selle võimaldamiseks olid kapiga ühendatud niiskuse mõõtja Moisture Probe MB-MO-SE-1 ning hapniku mõõtja Oxygen Probe MB-OX-SE-1. Katsete käigus oli nii niiskuse kui hapniku sisaldus kuivkapis vahemikus alati <10 ppm.

3.1.2 UV-Vis spektrofotomeeter

Uuritavate ainete UV-Vis spektrite registreerimiseks kasutati UV-Vis spektrofotomeetrit Agilent Cary 60. Spektrofotomeetri pilulaius oli 1,5 nm ja skaneerimiskiiruseks 240 nm/min. Spektrid registreeriti silumisteguriga 4. Spektrid registreeriti lainepikkuste vahemikus 190...800 nm.

Spektrite registreerimiseks argooni keskkonnas asus kuivkapis väline küvetikamber, mis oli spektrofotomeetriga ühendatud kahe kvartskiust optilise kaabli abil. Spektrofotomeeter paiknes kuivkapist väljas. Spektrofotomeetri tööd juhiti läbi arvuti programmiga Cary

WinUV Scan Application (versioon 5.1.0.1016). Andmetöötlus viidi läbi programmis MS Excel, kus teostati ka pK_a arvutused.

3.2 Kasutatud kemikaalid

3.2.1 Uuritavad ained

Potentsiaalsete referentsainetena olid mõõtmisel 10 indikaatorainet (Tabel 1), mis on saadud professor Reinhard Schwesinger'i grupist Freiburgi ülikoolist. Lihtsamaks käsitlemiseks ja eristamiseks ained nummerdati. Uuritavad ained olid valdavalt asendatud hüdrasoonid ja sarnase struktuuriga. Ained on soolade kujul protoneeritud alused ehk käituvad katioonsete hapetena ning eeldati sobivat referentsaineteks aluste pK_a mõõtmisel, sealjuures just tugevate aluste mõõtmiseks. Ainete protoneeritud vormides paikneb „+“ laeng protoneerumis/deprotoneerumitsentrist eemal ning kuna protoneeritud vormis H^+ ei eemaldu positiivse laenguga rühmalt, siis ei ole prootoni eemaldumine soodustatud, mis lubab eeldada kõrget pK_a väärtust. Deprotoneeritud kujul on molekul kaksikioon ehk tsvitterioon.

Tegemist on indikaatorainetega, mis sisaldavad kromofoorseid rühmi, mistõttu oli oodata intensiivseid UV-Vis spektreid.

Tabel 1. Uuritavad ained

Aine ^a	Struktuur	Vastasioon		Aine	Struktuur	Vastasioon
S_2		PF ₆ ⁻		S_16		PF ₆ ⁻
S_3		PF ₆ ⁻		S_17		PF ₆ ⁻
S_10		PF ₆ ⁻		S_19		PF ₆ ⁻
S_11		PF ₆ ⁻		S_20		BPh ₄ ⁻
S_12		PF ₆ ⁻		S_23		BPh ₄ ⁻
S_14		PF ₆ ⁻				

^a Ainetel on säilitatud algupärane numeratsioon.

3.2.2 Atsetonitriil

Töös kasutati lahustina firma Romil poolt toodetud UV-Vis piirkonnas töötamiseks sobivat atsetonitriili, mille veesisaldus oli tootja andmetel $\leq 0,005\%$. Atsetonitriili hoiti enne kasutamist 3Å molekulaarsõeltel, et seda täiendavalt kuivatada ning tagada võimalikult madal veesisaldus. Lahusti veesisaldust monitooriti regulaarselt Karl Fischeri tiitrimise teel ning see jäi mõõtmiste ajal vahemikku 3...10 ppm.

3.2.3 Titrandid

Töös kasutatavad titrandid ei tohi põhjustada UV-Vis piirkonnas neeldumist ega lagundada uuritavaid aineid või solventi. Happeline titrant peab olema piisavalt tugevate happeliste omadustega, et täielikult protoneerida kõiki uuritavaid aluseid. Aluseline titrant peab olema

uuritavast ainest tugevamate aluseliste omadustega, et olla võimeline täielikult deprotoneerima uuritavaid aluseid. Selle tagamiseks on vajalik, et titrandi pK_a erineks vähemalt 2 ühikut uuritava aine omast.

Happelise titrandina kasutati töös trifluorometaansulfoonhapet (TfOH) (Aldrich, 99+%), $pK_a = 0,70$. Aluselisi titrante oli kaks: nõrgemate aluste puhul kasutati *tert*-butüülimino-tris(pürrolidino)fosforaani (tBuP₁(pyrr)₃) (Fluka, 98+%), $pK_a = 28,42$, ning aine S_17 korral etüülimino-bis(dimetüülamino[tris(dimetüülamino)fosforanülideen]fosforaan (EtP₂(dma)₅) (Aldrich, 98.0+%), $pK_a = 32,94$. Titrantidest valmistati lahused atsetonitriilis, mille kontsentratsioonid jäid vahemikku $1,5 \cdot 10^{-3}$ kuni $7 \cdot 10^{-3}$ M.

3.2.4 Referentsained

Referentsainetena kasutati aineid, mille protoneeritud vormide pK_a atsetonitriili keskkonnas on varasemalt usaldusväärselt määratud.¹

Tabel 2. Referentsained

Referentsaine	Protoneeritud vormi pK_a
PhP ₁ (pyrr) ₃	22,32
4-MeO-C ₆ H ₄ P ₁ (pyrr) ₃	23,86
2-Cl-C ₆ H ₄ P ₂ (dma) ₅	24,23
4-CF ₃ -C ₆ H ₄ P ₂ (pyrr) ₅	25,27
2-Cl-C ₆ H ₄ P ₂ (pyrr) ₅	25,40
4-Br-C ₆ H ₄ P ₂ (pyrr) ₅	26,30
PhP ₂ (dma) ₅	26,44
2,5-Cl ₂ -C ₆ H ₃ P ₃ (pyrr) ₆ NEt ₂	29,15
2-Cl-C ₆ H ₃ P ₃ (pyrr) ₆ NEt ₂	30,14

3.3 Happe-aluse tasakaalude uurimine spektrofotomeetrilisel meetodil

3.3.1 Üldine põhimõte

Käesolevas töös kasutati uuritavate ainete pK_a määramiseks spektrofotomeetrilist meetodit, mille eelisteks on keskkonna pH väärtuse mõõtmise vajalikkuse puudumine, mõõtmis- ja töölahuste madalad kontsentratsioonid, millega kaasneb väike aine- ja solvendikulu, ning võimalus UV-Vis spektrite abil lahuses toimuvaid protsesse mõõtmise ajal jälgida. Kasutati meetodikat, mis oli varasemalt õppegrupis välja töödeldud ning laboris kasutuses.

Spektrofotomeetriline meetod on suhteline ning tulemustest arvutatakse kahe aine aluselise erinevus ΔpK_a . Seetõttu on oluline, et ühe aine pK_a on varasemalt usaldusväärselt teada, et selle kaudu arvutada uuritava aine pK_a väärtus. Spektrofotomeetriliselt määratakse mõlema aine protoneeritud ja deprotoneeritud piirvormide kontsentratsioonide suhe, seejuures on meetodi seisukohalt oluline, et piirvormide spektrid oleksid erinevate intensiivsuste või neelduvuspiirkondadega. Piirvormide saavutamiseks muudetakse lahuse keskkonda happelise või aluselise titrandi lisamisega.

Registreeritud puhaste ainete lahuste spektrite ning kahe aine segu lahuse spektritest leitakse ainete dissotsiatsioonimäärad erinevate keskkondade happelisuste juures, mida kasutatakse ainete ΔpK_a arvutamiseks.

3.3.2 Lahuste valmistamine

Ainete emalahused valmistati kuivkapis 4 ml viaalidesse. Tahkete ainete viaali kandmiseks kasutati spaatlit, vedelate titrantide korral Pasteur'i pipetti. Madalate kontsentratsioonide saavutamiseks kaaluti viaali uuritavaid ja referentsina kasutatavaid aineid vahemikus 0,5 kuni 2 mg, millele lisati ligikaudu 1,5 ml atsetonitriili. Lahuste kontsentratsioonid jäid vahemikku $5 \cdot 10^{-4} \dots 3 \cdot 10^{-3}$ M.

Titrandide lahuste valmistamiseks kanti viaali 1...3 mg ainet, millele lisati 1,5 kuni 2,5 ml atsetonitriili. Titrandilahuste kontsentratsioonid jäid vahemikku $1,5 \cdot 10^{-3} - 7 \cdot 10^{-3}$ M.

Happelise titrandi lahuse valmistamiseks kaaluti vastav aine kõrval asuvas kuivkapis, kus hoiti jahedas trifluorometaansulfoonhapet. Lahuseid kasutati kuni 3 päeva.

3.3.3 Spektrofotomeetriline tiitrimine

Enne mõõtmise alustamist kanti küveti ligikaudu 1,8 ml puhast atsetonitriili ning registreeriti lahusti spekter, et kontrollida selle puhust. Kui solvendi spekter ei näidanud lisandite sisaldust, teostati sellega baasijoone korrektsioon.

Solvendile lisati uuritava aine või referentsaine lahus (kontsentratsioon vahemikus $1 \cdot 10^{-4}$ - $9 \cdot 10^{-3}$ M) ning mõõdeti puhta aine spekter. Aine lahust tiitriti seejärel happelise titrandiga protoneeritud piirvormi saavutamiseks, kuni aine spekter enam oluliselt ei muutunud. Seejärel tiitriti ainet aluselise titrandiga sarnaselt deprotoneeritud piirvormi registreerimiseks. Pärast iga titrandi lisamiskorda kaaluti lisatud titrandi kogus ning segati küvetis olevat lahust magnetsegajal. Samuti registreeriti pärast iga lisamiskorda lahuse UV-Vis laineala spekter. Kõik lahused viidi küveti süstlaga, mis oli vastava lahusega eelnevalt 3 korda läbi loputatud. Pärast iga mõõtmise lõpetamist loputati küveti 3 korda ligikaudu 1 ml atsetonitriiliga ning kuivatati lüüsis alandatud rõhul.

Seejärel registreeriti 15-40 spektrit lahusest, mis sisaldas uuritava aine ja referentsaine segu (ainete kontsentratsioonid olid vahemikus $1,5 \cdot 10^{-3}$ - $7 \cdot 10^{-6}$ M), tiitrides mõlemad ained samuti nii protoneeritud kui deprotoneeritud piirvormi, kuid registreerides ka piisava hulga üleminekuspektreid, kus ained olid ainult osaliselt deprotoneerunud. Nende spektrite põhjal leiti ainete dissotsiatsioonimäärad ja arvutati ΔpK_a . Segu valmistamisel tuli arvestada ainete kontsentratsioone, et spektrite kattumisel ei ületaks summaarne maksimaalne neeldumine 1 AU.

3.4 Andmetöötlus

3.4.1 Suhteline happelisus ja aluselisus

Lahuses oleva kahe aluse HB_1^+ ja HB_2^+ suhteline happelisus või aluselisus ΔpK_a on leitav nende pK_a väärtuste vahest: $\Delta pK_a = pK_{a2} - pK_{a1}$. Teades, et $\Delta pK_a = \log(K_a)$, saame kirjutada suhtelise happelisuse või aluselisuse kujul

$$\Delta pK_a = \log \frac{K_{a1}}{K_{a2}} = \log K \quad (9)$$

Dissotsiatsioonikonstandid avalduvad kui

$$K_a = \frac{a(H^+) \cdot a(B)}{a(HB^+)} \quad (10)$$

Seega saame valemi (9) ümber kirjutada kujul

$$K = \frac{K_{a1}}{K_{a2}} = \frac{a(B_1) \cdot a(HB_2^+)}{a(HB_1^+) \cdot a(B_2)} = \frac{f(B_1) \cdot [B_1] \cdot f(HB_2^+) \cdot [HB_2^+]}{f(HB_1^+) \cdot [HB_1^+] \cdot f(B_2) \cdot [B_2]} \quad (11)$$

Kuna aktiivsuskoefitsientide suhe $\frac{f(A^-)}{f(HA)} = \text{const}^{29}$, võib aktiivsused võrrandis asendada tasakaaluliste kontsentratsioonidega.

$$K = \frac{[B_1] \cdot [HB_2^+]}{[HB_1^+] \cdot [B_2]} \quad (12)$$

Kuna happe üldkontsentratsioon lahuses väljendub kui $c(HB^+) = [HB^+] + [B]$ (13), saame võrrandis (12) asendada dissotsieerumata happemolekulide kontsentratsiooni võrrandi teiste liikmete kaudu.

$$K = \frac{[B_1] \cdot (c(HB_2^+) - [HB_2^+])}{(c(HB_1^+) - [B_1]) \cdot [B_2]} = \frac{\frac{[B_1]}{c(HB_1^+)} \cdot \frac{c(HB_2^+) - [B_2]}{c(HB_2^+)}}{\frac{c(HB_1^+) - [B_1]}{c(HB_1^+)} \cdot \frac{[B_2]}{c(HB_1^+)}} \quad (14)$$

Asendades võrrandisse happe dissotsiatsioonimäära lahuses seosega

$$\alpha = \frac{[B]}{c(HB^+)} \quad (15)$$

lihtsustub võrrand kujule:

$$K = \frac{\alpha_1 \cdot (1 - \alpha_2)}{(1 - \alpha_1) \cdot \alpha_2} \quad (16)$$

Lahuse neelduvust kirjeldab Lambert-Beeri seadus:

$$A^\lambda = \varepsilon^\lambda \cdot l \cdot c \quad (17)$$

kus A^λ on valguse neelduvus lahuses lainepikkusel λ , ε^λ on ainele ja lainepikkusele iseloomulik konstant ehk molaarne neeldumistegur, l on valguse poolt läbitud optiline teepikkus ning c lahuse kontsentratsioon.

Kahe osaliselt dissotsieerunud alusega lahuses avaldub summaarne neeldumine järgnevalt:

$$A^\lambda = \varepsilon_{B_1}^\lambda \cdot l \cdot [B_1] + \varepsilon_{HB_1^+}^\lambda \cdot l \cdot [HB_1^+] + \varepsilon_{B_2}^\lambda \cdot l \cdot [B_2] + \varepsilon_{HB_2^+}^\lambda \cdot l \cdot [HB_2^+] \quad (18)$$

Avaldades võrrandis (18) protoneeritud vormi tasakaalulise kontsentratsiooni aine analüütilise kontsentratsiooni ja tasakaalulise kontsentratsiooni deprotoneeritud vormi kaudu ning rühmitades liikmed, saame:

$$A^\lambda = \varepsilon_{HB_1^+}^\lambda \cdot l \cdot c(HB_1^+) + \varepsilon_{HB_2^+}^\lambda \cdot l \cdot c(HB_2^+) + [B_1] \cdot l \cdot (\varepsilon_{B_1}^\lambda - \varepsilon_{HB_1^+}^\lambda) + [B_2] \cdot l \cdot (\varepsilon_{B_2}^\lambda - \varepsilon_{HB_2^+}^\lambda) \quad (19)$$

Lahustest, kuhu on lisatud ainult ühte alust korraga, on võimalik arvutada selle aluse vormidele omased neelduvustegurid, mis avalduvad kujul:

$$\varepsilon_{\text{HB}^+}^\lambda = \frac{A_{\text{HB}^+}^\lambda}{c^0(\text{HB}^+)}, \varepsilon_{\text{B}}^\lambda = \frac{A_{\text{B}}^\lambda}{c^0(\text{HB}^+)} \quad (20)$$

Asendades need seosed võrrandisse (19) ja koondades liikmed, saame:

$$A^\lambda = A_{\text{HB}_1^+}^\lambda \cdot \frac{A_{\text{HB}_1^+}^\lambda}{c^0(\text{HB}_1^+)} - A_{\text{HB}_2^+}^\lambda \cdot \frac{A_{\text{HB}_2^+}^\lambda}{c^0(\text{HB}_2^+)} = \frac{[\text{A}_1^-]}{c^0(\text{HB}_1^+)} \cdot (A_{\text{A}_1^-}^\lambda A_{\text{HB}_1^+}^\lambda) + \frac{[\text{A}_2^-]}{c^0(\text{HB}_2^+)} \cdot (A_{\text{A}_2^-}^\lambda A_{\text{HB}_2^+}^\lambda) \quad (21)$$

Võrrandis (21) esinevad jagatised $\frac{[\text{B}]}{c(\text{HB}^+)}$ on aluste dissotsiatsioonimäärad α , nagu see on välja kirjutatud võrrandis (15).

$$A^\lambda - A_{\text{HB}_1^+}^\lambda \cdot \frac{A_{\text{HB}_1^+}^\lambda}{c^0(\text{HB}_1^+)} - A_{\text{HB}_2^+}^\lambda \cdot \frac{A_{\text{HB}_2^+}^\lambda}{c^0(\text{HB}_2^+)} = \alpha_1 \cdot (A_{\text{B}_1}^\lambda A_{\text{HB}_1^+}^\lambda) + \alpha_2 \cdot (A_{\text{B}_2}^\lambda A_{\text{HB}_2^+}^\lambda) \quad (22)$$

Saadud võrrand on ülesehitusega kui $y = a_1x_1 + a_2x_2$. Dissotsiatsioonimäärade väärtused, mis on võrrandis kordajad, leitakse regressioonianalüüsil. Saadud dissotsiatsioonimäärade kaudu arvutatakse ΔpK_a :

$$\Delta pK_a = -\log \frac{\alpha_1 \cdot (1 - \alpha_2)}{(1 - \alpha_1) \cdot \alpha_2} \quad (23)$$

Kõik arvutused viidi läbi programmis MS Excel, kasutades töögrupis varem valmistatud Exceli töölehe malli.

3.4.2 Lihtsustatud arvutuskäik

Lihtsustatud arvutusmeetodit on võimalik kasutada juhtudel, kui ainete dissotsiatsioonimäärad α_1 ja α_2 on leitavad otse segu spektrist, puhaste ainelahuste spektreid kasutamata. Lisaks arvutuste lihtsustumisele jäävad sel juhul kasutamata suhtelised kontsentratsioonid, mis vähendab määramatuse allikate arvu.

Eeldusteks lihtsustatud meetodi kasutamiseks on mõlema aine jaoks esinev lainepikkus, kus ühel uuritavatest ainetest neelduvus dissotsieerudes ei muutu, ehk esineb isosbestiline punkt või aine sellel lainepikkusel ei neela üldse valgust.

Sel juhul saab leida aine dissotsiatsioonimäära α seosega:

$$\alpha_1 = \frac{[\text{HB}_1^+]}{[\text{B}_1]} = \frac{A^\lambda - A_{\text{HB}_1^+ + \text{HB}_2^+}^\lambda}{A_{\text{B}_1 + \text{B}_2}^\lambda - A_{\text{HB}_1^+ + \text{HB}_2^+}^\lambda} \quad (24)$$

Teise happe dissotsiatsioonimäär α_2 leitakse vastavalt lainepikkusel, kus selle neeldumine protneerudes/deprotoneerudes muutub ning esimesel alusel mitte. Seejärel on võimalik leida ΔpK_a võrrandi 23 abil.

4. Tulemused ja arutelu

Uuritavate ainete UV-Vis spektrid on rikkalikud – neil esineb neeldumisribasid ja isosbestilisi punkte laias lainepikkuste vahemikus. Kõigi uuritud ainete protoneeritud piirvormide neeldumismaksimumid paiknevad üldjoontes lühematel lainepikkustel kui deprotoneeritud piirvormi neeldumismaksimumid.

Indikaatorainete deprotoneerumise käigus tekib tsvitterioon positiivse laenguga amiinrühmast ning negatiivse laenguga prootoni loovutanud lämmastikust asorühmas. Tsvitteriooni tekkimisel suureneb molekuli spektri intensiivsus ning neeldumine toimub pikematel lainepikkustel. Seda põhjustab praktiliselt terve molekuli ulatuses tekkiv delokaliseerunud laenguga π -süsteem. Ka protoneerunud vormis leidub molekulis UV-Vis spektrite intensiivsust tagavaid π -süsteeme, kuid kuna need ei moodusta ühtset suurt π -süsteemi vaid on üksteisest eraldatud asorühma poolt, siis asuvad neeldumismaksimumid keskeltläbi lühematel lainepikkustel. Enamiku ainete deprotoneeritud vormidel ulatub neeldumisriba ligikaudu 700 nanomeetrini, spektritel on mitmeid isosbestilisi punkte ja ainete protoneeritud piirvormi neeldumine on alates ligikaudu 550 nm nullilähedane. Ainete spektraalsed omadused on iseloomustatud Tabelis 3.

Tabel 3. Uuritud ainete spektrilised omadused.

Aine	Isosbestilised punktid (nm)	Protoneeritud vormi maksimum (nm)	Deprotoneeritud vormi maksimum (nm)
S_2	251, 298, 438	352	560
S_10	366, 473	314, 420	580
S_11	293, 351	320, 420	410, 555
S_12	289, 337, 423, 487	313, 440	393, 570
S_14	293, 349, 441, 477	323, 430	412, 560
S_16	290, 313, 446	395	570
S_17	284, 390	355	492
S_19	474, 368, 298, 278, 260	432, 287, 250	557, 330, 265
S_23	300, 357, 473, 450	330, 430	412, 560

Ülalmainitud omadused on referentsainete puhul kasulikud, sest pikal lainepikkusel toimuv neeldumine ja arvukate isosbestiliste punktide olemasolu võimaldab kasutatava uurimismeetodiga leida sobiva lainepikkusega vahemiku väga erinevate ainete mõõtmiseks. Vahemik spektril, kus on arvukalt isosbestilisi punkte, on kasulik, et mõõdetava aine neeldumise muutumised oleksid spektrist jälgitavad ilma, et seda segaks referentsaine neeldumise muutumine. Isosbestiliste punktide olemasolu võimaldab saavutada kõrgemat tulemuste täpsust ning kasutada arvutustes lihtsustatud meetodit. Protoneeritud piirvormi neeldumise puudumine sellises lainepikkuste vahemikus, kus deprotoneeritud piirvorm neelab, aitab protoneeritud piirvormi saavutamist usaldusväärsemalt tuvastada ning parandab samuti saadavate tulemuste täpsust ning soodustab aine kasutamist referentsainena.

Neeldumismaksimumide asumine ainult küllaltki lühikesel lainepikkusel, <350 nm, on probleemiks enamikule hetkel olemasolevatele referentsainetele selles pK_a väärtuste piirkonnas. Käesolevas töös uuritud ainete neeldumismaksimumid seevastu asuvad nähtava spektriala pikkadel lainepikkustel, mis tõstab nende väärtust referentsainetena nende laia neeldumisvahemiku tõttu.

Mõõdetud pK_a väärtused loeti usaldusväärseteks, kui puhaste ainete spektrites väljendusid selgelt isosbestilised punktid, ainetele oli võimalik registreerida konkreetne piirvormi spekter, segude spektrid muutusid oodatavalt ja loogiliselt titrantide lisamisel ning eri referentsainete suhtes leitud ΔpK_a väärtused ei erinenud üksteisest oluliselt.

Iga aine esmakordsel mõõtmisel viidi läbi ka tagasitiitrimine, mis tähendab, et pärast mõlema piirvormi spektri salvestamist viidi aine uuesti ühest piirvormist teise, et kontrollida protoneerumise ja deprotoneerumise pöörduvust. Pöörduva deprotoneerumise korral läbib spekter uuesti samad punktid sama dissotsiatsioonimäära juures ning lõppvormi spektrid kattuvad. Kui aine piirvormid graafikul tagasitiitrimisel ei kattu või spekter ei läbi enam isosbestilisi punkte, tähendab see, et aine pole võimeline pöörduvalt deprotoneeruma või on aine hakanud mõõtmistingimustes lagunema.

Mõõtmiste käigus leiti, et mitte kõik alguses uurimiseks võetud ained ei deprotoneeru pöörduvalt. Ainete S_3 ja S_20 tagasitiitrimisel ilmnes, et spektrid ei läbinud enam isosbestilisi punkte ega lähenenud varasematele piikidele, mistõttu need ei sobinud potentsiaalseteks referentsaineteks ning jäeti mõõtmistest välja.

Mõõdetud pK_a väärtused (Tabel 4) paiknevad atsetonitriilis aluste pK_a skaalal piirkonnas 23.9 kuni 30.3. Tabelis on illustreeritud referentsainete ja uuritud ainete pK_a väärtuste erinevused.

Ainete lõplikud pK_a väärtused on arvatud ΔpK_a -de keskmisest väärtusest ning referentsainete pK_a väärtustest.

Tabel 4. Ainete mõõdetud pK_a väärtused.

Aine	pK_a	ΔpK_a
2-Cl-C ₆ H ₃ P ₃ (pyrr) ₆ NEt ₂	31.17	↑ 0.92
S_17	30.26	↑ 1.11
2,5-Cl ₂ -C ₆ H ₃ P ₃ (pyrr) ₆ NEt ₂	29.15	↓
S_19	26.74	↑ 0.29
PhP ₂ (dma) ₅	26.44	↑ 0.45
4-Br-C ₆ H ₄ P ₂ (pyrr) ₅	26.30	↑ 0.79
S_2	25.73	↑ 0.51
S_12	25.61	↑ 0.10
S_23	25.41	↑ 0.02
2-Cl-C ₆ H ₄ P ₂ (pyrr) ₅	25.40	↑ 0.10
4-CF ₃ -C ₆ H ₄ P ₂ (pyrr) ₅	25.27	↑ 1.43
S_14	24.73	↑ 0.54
S_16	24.64	↑ 0.49
2-Cl-C ₆ H ₄ P ₂ (dma) ₅	24.23	↑ 0.08
S_11	24.15	↑ 0.28
S_10	23.94	↑ 1.02
4-MeO-C ₆ H ₄ P ₁ (pyrr) ₃	23.11	↑ 0.85
PhP ₁ (pyrr) ₃	22.32	↑ 1.59

Tulemuste usaldusväärsust tõstab skaala katmine vähemalt kahekordselt, mis tähendab, et kõiki uuritud aluseid mõõdeti korduvalt, erinevate referentsainete suhtes. Usaldusväärsust aitab hinnata mõõtmiste kooskõlalisuse standardhälve, mis arvutatakse valemiga:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_m} (s_i)^2}{n_m - n_c}} \quad (24)$$

milles s_i on individuaalse ΔpK_a mõõtmistulemuse erinevus absoluutsete pK_a väärtuste vahest, n_m läbi viidud ΔpK_a mõõtmiskatsete arv ning n_c tulemuseks saadud pK_a väärtuste arv.

Käesolevate mõõtmiste kooskõlalise standardhälve $s = 0,05$ väärtus kinnitab tulemuste usaldusväärsust.

Uuritud ained on võrdlemisi tugevad alused. Neid iseloomustab aluselise piirvormi saavutamisel tsvitteriooni tekkimine ja laengu delokalisatsioon ehk ulatusliku konjugeeritud süsteemi tekkimine üle molekuli.

Ainete aluselisus on kõrgem nende molekulide puhul, mille struktuurid võimaldavad laialdasemat konjugeeritud süsteemi tekkimist, mis sisaldavad rohkem π -süsteeme, nagu fenüülrühm, ning milles aluselisust alandavad rühmad paiknevad molekuli aluselisuse tsentrist kaugemal.

Uuritud ainetest tugevaim alus on S_17, mille aluselisus asub atsetonitriili eksperimentaalselt kasutatava pKa skaala ülemise piiri lähedal. Erinevalt teistest indikaatorainetest puuduvad selle molekuli struktuuris elektronaktseptorsed ja elektronegatiivsed rühmad, nagu nitrorühm või halogenorühm, mistõttu protoneeritud vormi deprotoneerumine on vähem soodustatud. See annab ainele konjugeeritud happena väga nõrgad happelised omadused.

Kokkuvõte

Käesoleva töö raames määrati rühma potentsiaalsete referentsainete pK_a väärtused atsetonitriilis, kasutades UV-Vis spektrofotomeetriat suhtelise pK_a leidmiseks. Mõõtmised viidi läbi veevabas atsetonitriilis argooni keskkonnas, et vältida vee võimalikke segavaid mõjusid hape-alus tasakaalude mõõtmisel. Kokku leiti 9 aine pK_a väärtused. Kaks esialgselt valitud ainet jäeti mõõtmistest välja nende pöördumatu deprotoneerumise tõttu, mis ei võimalda neid kasutada edasiste referentsainetena atsetonitriilis.

Uuritud ained on võrdlemisi tugevad alused, mille pK_a väärtused jäid vahemikku 23,94 kuni 30,26. Kõiki aineid iseloomustab deprotoneerumisel tsivitteriooni ja ulatusliku π -elektronsüsteemi tekkimine molekulis. Tsvitteriooni laengu delokaliseerumine molekulis ning konjugeeritud π -elektronsüsteemi moodustumine võimaldab niigi intensiivsete UV-Vis spektritega indikaatorainetele neeldumist veelgi pikematel lainepikkustel ning tänu sellele on protoneeritud ja deprotoneeritud piirvormid märgatavalt erinevate spektritega.

Olemasolevat pK_a väärtuste tabelit täiendati ainetega piirkonnas, kus siiani oli soodsate spektraalsete omadustega ainetest puudus. Ühendid olid kromofoore sisaldavad indikaatorained, mis andis neile intensiivsed spektrid UV-Vis lainelas. Nende kasutamist referentsainetena edasisteks pK_a väärtuste määramiseks samal meetodil toetavad nende soodsad spektriomadused nagu neeldumine laial lainepikkuste vahemikus, isosbestiliste punktide olemasolu ning protoneeritud ja deprotoneeritud vormi erinevad neeldumisspektrid.

Summary

In the present thesis, pKa values were determined for a group of potential reference compounds in acetonitrile using the relative UV-Vis spectrophotometric measurement method. The experiments were conducted in anhydrous acetonitrile in argon atmosphere to avoid potential disturbing influences of water on acid-base reactions. Altogether, the pKa values for 9 compounds were found. Two of the compounds selected at first were discarded due to their irreversible deprotonation, which would not allow them to be used as further reference compounds in acetonitrile.

The investigated substances are rather strong bases, their measured pKa values are between 23.94 to 30.26. All the compounds, when deprotonated, form a zwitterion and an extensive π -electron system. The delocalization of the charge in the zwitterion and the creation of a conjugated π electron system ensures that the indicator compounds with an already intensive UV-Vis spectrum absorb light at even longer wavelengths, which creates noticeably different spectrum for protonated and deprotonated molecules.

The measured pKa values were added to the previously developed pKa scale in acetonitrile in an area with currently few compounds with good spectral properties. The compounds were indicator substances containing chromophores, which granted them intensive spectra in the UV-Vis wavelength. Using them as reference compounds for measuring pKa values with them same method is supported by their favourable spectral properties, such as absorbing light in a wide range in the UV-Vis wavelength, the existence of isosbestic points in spectra and the different spectra for protonated and deprotonated forms.

Kasutatud kirjandus

- (1) Tshepelevitsh, S.; Kütt, A.; Lõkov, M.; Kaljurand, I.; Saame, J.; Heering, A.; Plieger, P. G.; Vianello, R.; Leito, I. On the Basicity of Organic Bases in Different Media. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 2019 (40), 6735–6748. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900956>.
- (2) Reinhardt, C.; Welton, T. Solvent Effects on the Rates of Homogeneous Chemical Reactions. In *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, 2010; pp 165–357. <https://doi.org/10.1002/9783527632220.ch5>.
- (3) Jones, L.; Atkins, P. *Chemical Principles: The Quest for Insight*; W. H. Freeman: New York, 2007.
- (4) Carey, F. A.; Giuliano, R. M. *Organic Chemistry*; McGraw-Hill: Cambridge, 2011.
- (5) Chan, L. L.; Smid, J. Contact and Solvent-Separated Ion Pairs of Carbanions. V. The Role of Solvent Structure in Alkali Ion Solvation. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, No. 90, 4654–4661.
- (6) Hogen-Esch, T. E.; Smid, J. Studies of Contact and Solvent-Separated Ion Pairs of Carbanions. I. Effect of Temperature, Counterion, and Solvent. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, No. 88, 307–318.
- (7) Reichardt, C.; Welton, T. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*; John Wiley & Sons: Weinheim, 2011.
- (8) Atkins, P.; de Paula, J. *Physical Chemistry*; OUP Oxford: Oxford, 2007.
- (9) Isaacs, N. S. *Physical Organic Chemistry*; Longman Scientific & Technical: Harlow.
- (10) Wilson, M. F.; Buck, R. P.; Rondinini, S.; Covington, A. K.; Baucke, F. G.; Brett, C. M. A. *Measurement of PH. Definition, Standards, and Procedures*; 2002.
- (11) Kaljurand, I.; Rodima, T.; Pihl, I.; Mäemets, V.; Leito, I.; Koppel, I. A.; Mishima, M. Acid–Base Equilibria in Nonpolar Media. 4. Extension of the Self-Consistent Basicity Scale in THF Medium. Gas-Phase Basicities of Phosphazenes. *J. Org. Chem.* No. 68, 9988–9993. <https://doi.org/10.1021/jo034537h>.
- (12) 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/10.1351/pac199971040645>.
- (13) Bosch, E.; Fonrodona, G.; Ràfols, C.; Rosés, M. Autoprotolysis in Aqueous Organic Solvent Mixtures. Water/Dipolar Protophilic Solvent Binary Systems. *Anal. Chim. Acta* **1997**, 349 (1), 367–376. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00191-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00191-8).
- (14) Coetsee, J. F. Ionic Reactions in Acetonitrile. In *Progress in Physical Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, 2007; pp 45–92. <https://doi.org/10.1002/9780470171837.ch2>.
- (15) Barbosa, J.; Barrón, D.; Butí, S. Autoprotolysis Constants and Standardization of PH Measurements in Tetrahydrofuran-Water Mixtures. *Electroanalysis* **1999**, 11 (9), 637–631.
- (16) F. G Bordwell. Equilibrium Acidities in Dimethyl Sulfoxide Solution. *Acc. Chem. Res.* **1998**, 21, 456–463.
- (17) Cox, B. G. *Acids and Bases: Solvent Effects on Acid-Base Strength*; OUP Oxford: Oxford, 2013.

- (18) Anslyn, E. V.; Dougherty, D. A. *Modern Physical Organic Chemistry*; University Science Books: Sausalito, 2006.
- (19) Reijenga, J.; van Hoof, A.; van Loon, A.; Teunissen, B. Development of Methods for the Determination of PKa Values. *Anal. Chem. Insights* **2013**, No. 53. <https://doi.org/10.4137/ACI.S12304>.
- (20) Cookson, R. F. Determination of Acidity Constants. *Chem. Rev.* **1974**, No. 74, 5–28.
- (21) Skoog, D. A. *Fundamentals of Analytical Chemistry*; Thomson-Brooks/Cole: Belmont, 2004.
- (22) Trummal, A.; Lipping, L.; Kaljurand, I.; Koppel, I. A.; Leito, I. Acidity of Strong Acids in Water and Dimethyl Sulfoxide. *J. Phys. Chem.* **2016**, No. 120, 3663–3669. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.6b02253>.
- (23) Kütt, A.; Selberg, S.; Kaljurand, I.; Tshepelevitsh, 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>.
- (24) Kirchner, B. *Electronic Effects in Organic Chemistry*; Topics in Current Chemistry; Springer: Berlin, 2014.
- (25) Wiczling, P.; Markuszewski, M. J.; Kaliszan, R. Determination of p K a by PH Gradient Reversed-Phase HPLC. *Anal. Chem.* **2004**, No. 76, 3069–3077. <https://doi.org/doi:10.1021/ac049807q>.
- (26) Matoga, M.; Laborde-Kummer, E.; Langlois, E.; Dallet, M. H.; Bosc, J. J.; Jarry, C.; Dubost, J. P. Determination of PKa Values of 2-Amino-2-Oxazolines by Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **2003**, No. 984, 253–260.
- (27) Fuguet, E.; Rafolds, C.; Bosch, E.; Roses, M. Fast High-Throughput Method for the Determination of Acidity Constants by Capillary Electrophoresis I. Monoprotic Weak Acids and Bases. *J. Chromatogr. A* **2009**, No. 1216, 3646–3651.
- (28) Lõkov, M. Mõnede Aineperekondade Esindajate Aluselised Atsetonitriili Keskkonnas. Magistritöö, Tartu Ülikool, Tartu, 2014.
- (29) Mortimer, R. G. *Physical Chemistry*; Elsevier Academic Press: Burlington, 2008.
- (30) Kütt, A.; Tshepelevitsh, S.; Saame, J.; Lõkov, M.; Kaljurand, I.; Selberg, S.; Leito, I. Strengths of Acids in Acetonitrile. *2021* **2021**, 1407. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001649>.

Lihtlitsents lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ja reprodutseerimiseks

Mina, Annaliisa Männik,

1. Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„Mõnede indikaatorainete happe-aluse omaduste määramine atsetonitriilis“, mille juhendajad on Ivo Leito ja Märt Lõkov,

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 Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, alates 01.05.2024 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.

Annaliisa Männik

Lisad

Lisa 1. Uuritavate referentsainete tiitrimise UV-Vis spektrid









