

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Analüütilise keemia õppetool

Markus Lahe

Vedelikkromatograafia mobiilfaaside üldistatud pH väärtused

Bakalaureusetöö

Keemia

Juhendajad:

Agnes Heering, PhD

Ivo Leito, PhD

Tartu 2022

Infoleht

Vedelikkromatograafia mobiilfaaside üldistatud pH väärtused

Töös mõõdeti kahe meetodikaga 23 mobiilfaasile $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused. $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused oleksid võimalik alternatiiv teistele pH mõõtemetoditele ($^{\text{w}}\text{pH}$ ja $^{\text{s}}\text{pH}$) vedelik-kromatograafias retentsiooni kirjeldamiseks. Saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused olid aluselised kui $^{\text{w}}\text{pH}$ ja $^{\text{s}}\text{pH}$ väärtused ning erinesid varem saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ tulemustest. Mõõtemetoodika edasiarenduse tõttu on põhjust arvata, et töös saadud tulemused on usaldusväärsemad kui varasemad tulemused. Esmakordselt kasutati $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste mõõtmiseks soolasillaga kombineeritud klaaselektroodi ning seda meetodikat saab kasutada rutiinlaboris.

Märksõnad: pH, üldistatud happelisus, mobiilfaas, atsetonitril, metanool

CERCS: P300, Analüütiline keemia; P400 Füüsikaline keemia; P401 Elektrokeemia

Unified pH values of liquid chromatography mobile phases

The $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values of 23 mobile phases were determined. The $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements are a possible alternative to other more commonly used pH measuring methods ($^{\text{w}}\text{pH}$ and $^{\text{s}}\text{pH}$). The measured $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values were more basic than $^{\text{w}}\text{pH}$ and $^{\text{s}}\text{pH}$ values. The $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values achieved in this work differed from previously known values. Due to the development of measurement methodology, it is believed that the results obtained from this work are more reliable than the previous results. $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements were also conducted with two different combined electrodes, which had their outer solution replaced with a salt bridge. Those measurements showed that the composition of the combined electrode is essential in $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements.

Keywords: pH, unified acidity, mobile phase, acetonitrile, methanol

CERCS: P300, Analytical chemistry; P400 Physical chemistry; P401 Electrochemistry

Sisukord

1. Sissejuhatus.....	4
2. Kirjanduse ülevaade	5
2.1. pH mõiste	5
2.2. pH_{abs} ja $pH_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõiste	5
2.3. pH potentsiomeetiline määramine	6
2.4. pH mõõtmiseks kasutatud elektrodid.....	8
2.5. Pöördfaas-vedelikkromatograafia	9
2.6. pH mõõtmine mobiilfaasides	10
2.7. Vedelik-vedelik piirpinna potentsiaal.....	11
3. Eksperimentaalne osa	12
3.1. Kemikaalid ja aparatuur	12
3.2. Mobiilfaaside valmistamine.....	13
3.3. Klaaselektroodide kalibreerimine	13
3.4. Suhteline mõõtemetoodika	14
3.5. Mõõtmiskiiruse optimeerimine Keysight elektromeetril.....	15
3.6. $w^w\text{pH}$ ja $w^s\text{pH}$ mõõtmine	15
3.7. Soolasillaga kombineeritud klaaselektroodidega mõõtmised	15
4. Tulemused ja arutelu	17
4.1. Klaaselektroodide tõusude arvutamine.....	17
4.2. Mõõtmiskiiruse seadistus Keysight elektromeetril	18
4.3. Suhtelise mõõtemetoodika valideerimine.....	18
4.4. Suhtelise mõõtemetoodikaga saadud mobiilfaaside pH väärtused.....	19
4.5. Võrdlus varasemate andmetega	23
4.6. Kombineeritud elektroodidega mõõtmiste tulemused	25
5. Kokkuvõte	29
6. Summary	30
7. Kasutatud kirjandus	31
8. Lisad	35

1. Sissejuhatus

Mobiilfaasid koosnevad orgaanilistest solventidest või segudest, mille koostises on peale orgaanilise solvendi vesi või puhverlahus ning neid kasutatakse vedelikkromatograafias.^{1,2}

pH on keskkonna happelisuse iseloomustaja. Paljude keemiliste protsesside juures on pH üks olulisemaid mõjutajaid, mistõttu on oluline jälgida ja kontrollida keskkonna pH väärtust. pH mõjutab vedelikkromatograafia mobiilfaasides uuritavate ainete omadusi. Kui analüüdil on happe või aluse omadused, siis sõltub keskkonna pH-st, missugusel kujul analüüt on. Siin töös lähtutakse Brønsted'i hapete-aluste teooriast. Nimelt on madala pH korral hape protoneerunud vormis ning on neutraalne ja madalama polaarsusega. Alused on samuti protoneerunud vormis madala pH keskkonnas, kuid on laenguga ja kõrge polaarsusega. Olenevalt analüüdi vormist, võib analüüdil olla erinev retentsiooniaeg kromatograafi kolonnis.

pH mõõtmist vedelikkromatograafia mobiilfaasides muudab keerulisemaks see, et erinevatest solventidest valmistatud mobiilfaaside pH väärtused on võrreldamatud erinevate nullpunktide tõttu pH skaalal. Üldistatud pH skaala ($\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$)³ võimaldab võrrelda mobiilfaaside pH väärtuste erinevust isegi siis kui mobiilfaasid on valmistatud erinevatest solventidest või kui mobiilfaasid on valmistatud erinevate massi osakaaludega. Kõiki pH_{abs} väärtuseid nihutatakse konstandi võrra nii, et need oleksid võrreldavad tavalisel vee pH skaalal. Selle nihkega saadakse mobiilfaasidele $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused.^{2,4} $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused saadakse potentsiomeetriliselt, mõõtes klaaselektroodidega potentsiaali erinevust elektrokeemilise raku eri ruumides olevate lahuste vahel. Ei saa eeldada, et kromatografistid hakkavad kasutama sellist eksperimentaalselt nõudlikku $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtemetodit. Seega pakub huvi, kas on võimalik luua kromatografistidele käepärane võimalus mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste mõõtmiseks, kasutades soolasillaga kombineeritud klaaselektroode.

Töö eesmärk on mõõta ja määrata erinevate atsetonitriilil (MeCN) ja metanoolil (MeOH) põhinevate vedelikkromatograafia mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused ning võrrelda saadud tulemusi tavalistel meetoditel mõõdetud pH väärtustega (^wpH ja ^spH) ja varem mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtustega. Töös püstitatakse hüpotees, et sobiva koostisega soolasillaga kombineeritud klaaselektroode kasutades on võimalik mõõta vesi-orgaanika segude $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtusi, kasutades tavapärasest pH mõõteaparatuuri ja tavalisi vesilahuse baasil valmistatud kalibreerimispuhvleid.

2. Kirjanduse ülevaade

2.1. pH mõiste

pH on lahuse happelisuse näitaja. Konventsionaalne pH, st pH vastavalt IUPAC'i definitsioonile, on lahustes defineeritud solvateeritud vesinik-iooni aktiivsuse kaudu.⁵

$$\text{pH} = -\log a_{\text{H}^+, \text{S}} = -\log \left(\frac{m_{\text{H}^+, \text{S}}}{m^\ominus} \right) \quad (1)$$

kus $a_{\text{H}^+, \text{S}}$ on solvateeritud prootoni suhteline aktiivsus lahustis S molaalsusskaalas, m_{H^+} prootoni molaalsus, $\gamma_{\text{H}^+, \text{S}}$ prootoni aktiivsuskoeffitsient molaalsusskaalal ja m^\ominus standardmolaalsus. Standardolekuks on ühikulise molaalsusega vesinikiooni kontsentratsioon 25 °C ja 1 atm juures. Igal lahustil või lahustite segul on oma individuaalne pH skaala, sest vesinikioonide keemiline potentsiaal eelmainitud standardolekus sõltub lahusti omadustest, eeskätt vesinikiooni solvatatsiooni-vabaenergiast vastavas lahustis.⁶ Selle tõttu pole need skaalad erinevates lahustites omavahel võrreldavad.⁷

2.2. pH_{abs} ja $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõiste

Eelmise alajaotuse lõpus mainitud mittevõrreldavus on tülikas. Selle vastu on pikalt otsitud lahendust ja üldistatud pH ehk pH_{abs} võibki selle jaoks olla sobiv lahendus. Lahuse olemusliku happelisuse määrab solvateeritud prootoni termodünaamiline aktiivsus, mida väljendab solvateeritud prootoni keemiline potentsiaal. pH_{abs} skaala põhineb solvateeritud vesinikiooni absoluutsel keemilisel potentsiaalil.² Standardolekuks kasutatakse teoreetilist ideaalset prootongaasi rõhul 1 bar 25 °C juures. Vesinikiooni aktiivsus lahustes väheneb solvatatsiooni tõttu ja prootoni absoluutne keemiline potentsiaal nähtub selle võrrandi kaudu:

$$\mu_{\text{abs}}(\text{H}^+, \text{solv}) = \Delta_{\text{solv}}G^\circ(\text{H}^+) - [\text{pH} \times RT \ln 10] \quad (2)$$

kus $\mu_{\text{abs}}(\text{H}^+, \text{solv})$ on solvateeritud prootoni absoluutne keemiline potentsiaal uuritud solvendis, $\Delta_{\text{solv}}G^\circ(\text{H}^+)$ on prootoni solvatatsiooni Gibbsi vabaenergia, pH on „tavapärane“, st lahustist sõltuv pH, R on universaalne gaasikonstant ja T on absoluutne temperatuur. Eelnevast võrrandist nähtub, et tavapärane pH sõltub H^+ solvatatsioonivabaenergiast vastavas lahustis, mis ongi erinevate lahustite pH skaalade mittevõrreldavuse põhjuseks. Seevastu pH_{abs} väärtus on defineeritud võrrandiga, mis on lahustist sõltumatu:

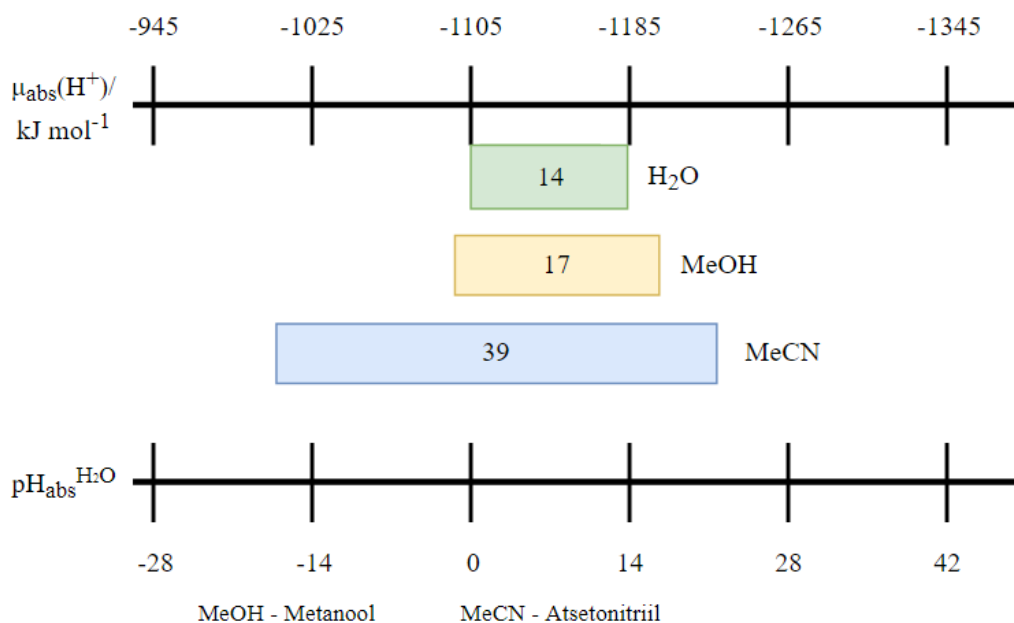
$$\text{pH}_{\text{abs}} = -\frac{\mu_{\text{abs}}(\text{H}^+, \text{solv})}{RT \ln 10} \quad (3)$$

Tulenevalt pH_{abs} skaala standardolekust on võrrandist (3) saadud pH_{abs} väärtused harjumatud, näiteks pH 7 vesilahuse pH_{abs} väärtus on umbes 200. pH_{abs} mugavamaks kasutamiseks on otstarbekas nihutada pH_{abs} skaala kohakuti vee pH skaalaga, mille tulemusena saadakse $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ skaala. Seega, kui mistahes keskkonnas on $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ näiteks 7,00, siis on selles keskkonnas prootoni termodünaamiline aktiivsus sama, mis vesilahuses, mille tavapärase pH on 7,00. Selle saavutamiseks nihutatakse pH_{abs} väärtused konstandi võrra:

$$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}} = \text{pH}_{\text{abs}} + \frac{\Delta_{\text{solv}}G^\circ(\text{H}^+, \text{H}_2\text{O})}{RT \ln 10} \quad (4)$$

kus $\Delta_{\text{solv}}G^\circ(\text{H}^+, \text{H}_2\text{O})$ on prootoni solvatatsiooni Gibbsi vabaenergia vees.

Selle nihke tulemusena on $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused otse võrreldavad veefaasi pH skaalal esitatud väärtustega (Joonis 1).^{2,7}



Joonis 1: Prootoni absoluutse keemilise potentsiaali $\mu_{\text{abs}}(\text{H}^+, \text{solv})$ ja $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ skaala. Kastidega on näidatud pH skaalade ulatused mõnedes lahustites.

2.3. pH potentsiomeetriline määramine

Potentsiomeetrilised pH mõõtmised põhinevad potentsiaalide vahe mõõtmisel elektrokeemilises rakus. Potentsiomeetriline rakk koosneb kahest elektroodist, mõõtevahendist, näiteks pH-meetrist, ja uuritavast lahusest. Enamasti on üks elektroodidest võrdluselektrood, tavaliselt hõbe-hõbekloriidelektrood, mille potentsiaal ei sõltu lahuse koostisest ja mille

potentsiaal on uuritavas lahuses konstantne. Teine elektrood on indikaatorelektrood, mille potentsiaal sõltub määratava iooni aktiivsusest lahuses. pH mõõtmiste juures on selleks enamasti klaaselektrood, mille potentsiaal sõltub lahuses olevate vesinikioonide aktiivsusest. Mõlemad elektroodid on ühendatud mõõtevahendiga, mis mõõdab elektroodide potentsiaalide vahet. Sellised pH mõõtmised töötavad vesikeskkonnas hästi.^{1,7}

Potentsiomeetria mitte-vesilahustes on teatud piirangutega võrreldes vesilahustega. Mitte-vesilahuste mõõtmistes püstitub stabiilne näit aeglaselt ja mõõtmiste korratavus on halvem võrreldes vesilahustega. Kui mitte-vesilahustes mõõtmiste juures kasutatakse vesilahustes kasutusel olevat võrdluselektroodi, siis peab mõõtmiste juurde arvestama vedelik-vedelik piirpinna potentsiaaliga vesilahuse ja mitte-vesilahuse vahel. Kui ühe iooni ülekandekiirus erineb teise iooni omast või kui erinevad ionide solvatatsiooni-vabaenergiad eri lahustites või erinevad nende lahustite molekulide polaarsused, siis kokkupuutekohas toimub laengute eraldumine ja tekib potentsiaalide erinevus. Seda potentsiaalide erinevust nimetatakse vedelik-vedelik piirpinna potentsiaaliks (LJP). Lisaks ei ole mitte-vesilahustes head võrdluselektroodi, mis töötaks igas lahuses.^{8,9}

Võrdluselektroodist tulenevate probleemide vältimiseks on mittevesilahustes $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõdetud suhtelisel meetodil – vahetult mõõdeti potentsiaalide vahet kahe klaaselektroodi vahel, mis olid sukeldatud omavahel soolasillaga ühendatud lahustesse. Saadud potentsiaalide vahe kaudu leiti lahuste $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevus.⁷

Elektroodi potentsiaali sõltuvust ionide kontsentratsioonist lahuses kirjeldab matemaatiliselt Nernsti võrrand:

$$E = E_0 - \frac{RT}{nF} \ln Q \quad (5)$$

kus E on elektroodi potentsiaal, E_0 on elektroodi standardpotentsiaal, R on universaalne gaasikonstant, F on Faraday konstant, T on absoluutne temperatuur, n on reaktsioonis osalevate elektronide arv ja Q on elektroodil toimuv poolreaktsioon. Kui muuta konstandid numbrilisteks väärtusteks, teisendada naturaallõgaritm kümnendlõgaritmiks ja temperatuuri tingimuseks määrata 25 °C, saame Nernsti võrrandi kujul:¹

$$E = E_0 - \frac{0,0592}{n} \log Q \quad (6)$$

2.4. pH mõõtmiseks kasutatud elektroodid

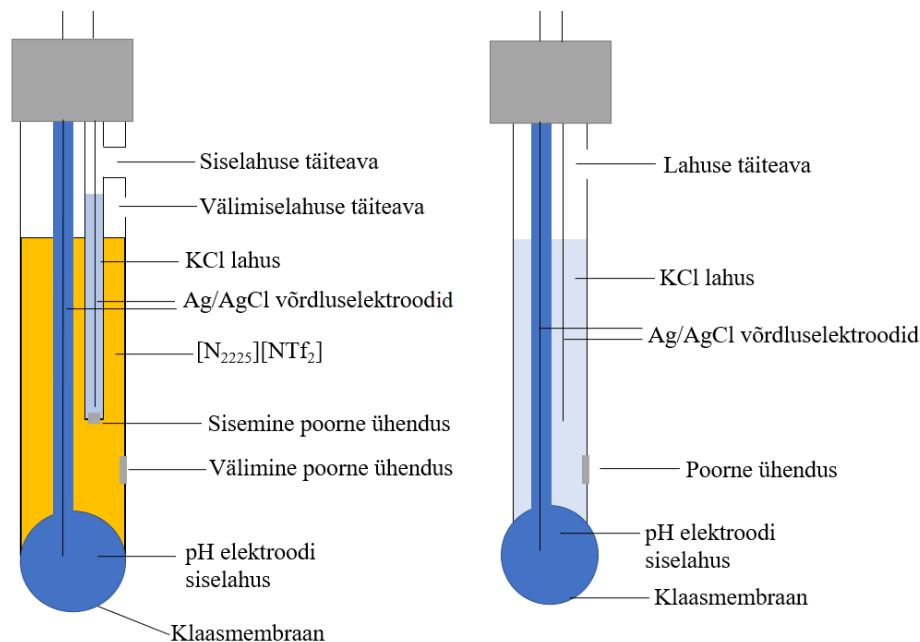
Klaaselektrood

Klaaselektrood on ioonselektiivne elektrood (ISE), mis on tundlik H^+ -ioonide suhtes. Klaaselektroodi pH-tundlik osa on õhukese klaasmembraaniga kuul. Kõige levinumate klaaselektroodide seas on muutumatu pH-ga lahuse. Tüüpiliselt kasutatakse selleks lahuseks HCl lahust. Muutumatu pH-ga lahuse sisse on sukeldatud Ag/AgCl elektrood. Potentsiaali mõõdetakse klaaselektroodis asuva sisemise ja eraldiseisva välise võrdluselektroodi vahel. Sisuliselt mõõdab klaaselektrood potentsiaalihüpet klaasmembraani sisemise ja välimise pinna vahel.^{1,8,10}

Klaaselektroodi puhul on vesinikioonide kontsentratsioon ja aktiivsus membraani sees konstantne. Vesinikioonide kontsentratsioon väljaspool membraani määrab vesinikioonide aktiivsuse uuritavas lahuses. See kontsentratsioonide erinevus põhjustab potentsiaalide erinevuse, mida mõõdetakse pH-meetriga.^{1,8,10}

Kombineeritud klaaselektrood

Kombineeritud klaaselektrood koosneb indikaator-klaaselektroodist (koos sisemise hõbe-hõbekloriidelektroodiga) ja välisest hõbe-hõbekloriid võrdluselektroodist, mis on paigutatud samasse kesta. Väline võrdluselektrood on ühendatud uuritava lahusega klaasist poorse ühenduse kaudu (Joonis 2, parem).¹



Joonis 2: Soolasillaga kombineeritud klaaselektroodi (vasak) ja tavalise kombineeritud klaaselektroodi (parem) skeem.

Soolasillaga kombineeritud klaaselektrood

Soolasillaga kombineeritud klaaselektrood erineb tavalisest kombineeritud klaaselektroodist sellepoolest, et lisatud on soolasild sisemise võrdluselektroodi ja uuritava lahuse vahele (Joonis 2, vasak). Soolasilla elektrolüüdi lahus moodustab ühe piirpinna võrdluselektroodi lahusega ja teise uuritava lahusega. Kummagi piirpinna juures esineb LJP. Siselahuse ja soolasilla vaheline LJP on konstantne, sest KCl kontsentratsioon ei muutu. Kui kasutada soolasillasioonset vedelikku, sõltub uuritava lahuse ja soolasilla piirpinna LJP vaid ioonset vedelikust.¹¹ Uuritavad lahused võivad olla erinevad niikaua, kui nende ioontugevused on oluliselt madalamad kui on ioonvedeliku ioontugevus (käesolevas töös kasutatud ioonset vedelikku ioontugevus on ligikaudu 3 mol/l). Sellisel juhul on ioonset vedeliku ja uuritava lahuse vaheline LJP sama, mis ioonset vedeliku ja kalibreerimislahuste vaheline LJP ning see võimaldab kasutada tavapärasest kalibreerimisgraafiku meetodit.^{1,8,9}

2.5. Pöördfaas-vedelikkromatograafia

Kromatograafia on meetodite grupp, millega eraldatakse segude komponente üksteisest.¹² Vedelikkromatograafia on kromatograafia eriliik, mille puhul eraldatavad ained elueeritakse vedeliku voolus läbi sorbendiga täidetud kolonni. See eraldusprotsess põhineb proovi komponentide erineva tugevusega interaktsioonidel mobiilse ja statsionaarse faasiga. Komponentid, mille vastasmõjud statsionaarse faasiga on tugevamad ja mobiilfaasiga nõrgemad, viibivad kolonnis kauem ning vastupidisel juhul viibivad komponendid kolonnis lühemat aega. Ideaalsel juhul väljuvad komponendid kolonnist üksteise järel eraldi ja detekteerimisel ei kattu üksteisega. Pöördfaas-vedelikkromatograafias on statsionaarne faas mittepolaarne ja mobiilfaas on polaarne lahusti või lahustite segu. Kolonnis elueeruvad polaarset ühendid enne mittepolaarseid.¹

Levinuim on nn C₁₈ statsionaarne faas, mis koosneb mõne mikromeetrilise keskmise läbimõõduga poorsetest silikageeli terakestest, mille pinnale on keemiliselt seotud oktadetsüülrühmad.¹³ Levinuimad mobiilfaasid on metanooli või atsetonitriili segud vesipuhvriga, millele on pH stabiliseerimiseks lisatud mõnda nõrka hapet, nõrka alust või soola.¹⁴

pH võib vedelikkromatograafias mõjutada protsesse mitmel viisil. Olenevalt analüüdist võib pH mõjutada selektiivsust, piigi kuju ja retentsiooniaega. Kui analüüt on hape või alus, siis sõltub keskkonna pH-st, kas uuritav ühend on mobiilfaasis neutraalsel või ioniseeritud kujul.

Madala pH korral on hape põhiosas neutraalse molekuli kujul ja seega madalama polaarsusega kui kõrge pH korral, mil hape on põhiosas aniooni kujul. Alused on madala pH korral põhiosas protoneerunud vormis, mis tänu laengule on kõrge polaarsusega. Olenevalt ühendi polaarsusest muutub selle retentsiooniaeg kolonnis.^{1,15,16}

Reaalselt lahutuses ideaalset olukorda just tihti ei esine ja piikide kattumine on sagedane. Selle vältimiseks modifitseeritakse kas statsionaarset faasi (tülikam) või mobiilset faasi (lihtsam). Ja mobiilfaasi modifitseerimise üheks tavapäraseks võimaluseks on mobiilfaasi pH muutmine. Selline modifitseerimine eeldab võimalust mobiilfaasi pH korrektseks mõõtmiseks. Vajadus selliste mõõtmiste järgi ongi põhjus, miks käesolevat tööd on vaja.

2.6. pH mõõtmine mobiilfaasides

Vedelikkromatograafias on mobiilfaasid vee ja orgaaniliste lahustite segud, mis muudab neis pH mõõtmise keeruliseks. Keerukus tuleneb sellest, et erinevatest lahustitest valmistatud lahuste pH väärtused on võrreldamatud erinevate nullpunktide tõttu pH skaalal.²

Tabel 1: Vedelikkromatograafia mobiilfaasides pH mõõtmise võimalused.

Mõõtmise tüüp	Kalibreerimine	Mõõtmine
^wpH	Vesilahus	Mobiilfaasi vesilahuses
^spH	Vesilahus	Mobiilfaasis koos orgaanilise lahustiga
^spH	Vesilahuse-orgaanilise solvendi segu	Mobiilfaasis koos orgaanilise lahustiga
$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$	Vesilahus	Mobiilfaasis koos orgaanilise lahustiga

Vedelikkromatograafia mobiilfaaside pH väärtusi mõõdetakse ja väljendatakse neljal viisil (Tabel 1):^{7,17}

- 1) ^wpH mõõtmine, kus pH mõõdetakse ainult vesipuhvris enne orgaanilise faasi lisamist. Orgaanilise faasi lisamist ei võeta kuidagi arvesse. pH elektrood kalibreeritakse standardsete vesipuhvritega.
- 2) ^spH mõõtmine, kus pH mõõdetakse mobiilfaasis, kus vesipuhvrile on lisatud orgaaniline faas. pH elektrood kalibreeritakse standardsete vesipuhvritega.
- 3) ^spH mõõtmine, kus pH mõõdetakse mobiilfaasis peale pH elektroodi kalibreerimist standardlahustega, mis on valmistatud samas lahustis ja samas massisuhtes kui uuritav mobiilfaas.

- 4) $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmine, kus mõõdetakse kahe poolraku vahelist potentsiaalide erinevust ning kasutades vähimruutude meetodit, määratakse mobiilfaasidele $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus.

Eelnimetatud meetoditest kasutatakse rutiinlaborites peamiselt esimest kahte, sest need mõõtemetodid on lihtsad ja kiired, kuid nendel on teatud puudused. pH_{w} mõõtmistel mõõdetakse pH väärtus korrektselt vesipuhvris, aga lahuse koostis ja pH muutub märgatavalt kui lisatakse orgaaniline lahusti. pH_{s} mõõtmistel toimub kalibreerimine erinevates tingimustes kui mobiilfaasi pH väärtuse mõõtmine, mille tõttu pole mõõtmised korrektsed: pH_{w} mõõtmiste juures ei arvestata vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali.²

pH_{s} mõõtmised on korrektsed, sest kalibreerimine ja mõõtmine toimuvad samades tingimustes. Samas pH_{s} mõõtmiste jaoks on vähe sobivaid standardlahuseid, millega mõõtesüsteemi kalibreerida.¹⁸

$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmiste puhul on saadud pH väärtused omavahel võrreldavad ka juhul, kui mobiilfaasid on valmistatud erinevate koostistega lahustite segudes, kuna nende mõõtmiste puhul põhineb skaalal solvateeritud vesinikiooni absoluutsel keemilisel potentsiaalil. $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmised on uuemad ning seni veel vähe levinud.^{19,20} Samuti on mõõtesüsteem keerulisem ning vähem käepärasem ning mõõtmised võtavad rohkem aega.^{2,21}

2.7. Vedelik-vedelik piirpinna potentsiaal

Kui kaks erineva ioonse koostisega ja/või kontsentratsiooniga ja/või erinevatest lahustitest koosnevat elektrolüüdilahust puutuvad piirpinnal üksteisega kokku, toimub ionide ülekannet lahuste kokkupuute kohas. Izutsu teooria järgi koosneb vedelik-vedelik piirpinna potentsiaal kolmest komponendist (A, B ja C). Komponenti A põhjustab elektrolüütide kontsentratsioonide erinevus piirpinna vastaspooltel ja erinevus katiooni ning aniooni liikuvuse vahel. Komponenti B põhjustab ionide erinev solvatatsiooni vabaenergia piirpinna eripooltel, kui tegemist on kahe erineva lahustiga. Komponenti C põhjustab lahustimolekulide omavaheline vastasmõju piirpinnal.⁹

Vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali vähendatakse tavaliselt kasutades soolasilda. Soolasilla lahus peab olema kordades kontsentreeritum kui katsealune lahus. Sellisel juhul on piirpinna potentsiaal põhiliselt määratud soolasilla ionide poolt.⁹

Käesolevas töös kasutatud soolasillaks on ioonvedelik $[\text{N}_{2225}][\text{NTf}_2]$, mille juures võib eeldada, et vedelik-vedelik piirpinna potentsiaal taandub välja.²²⁻²⁴

3. Eksperimentaalne osa

3.1. Kemikaalid ja aparatuur

Töös kasutati vesipuhvritena klaaselektroodide kalibreerimisgraafiku valmistamiseks kindla pH-ga lahuseid: pH $2,00 \pm 0,02$ (tootja: Merck), pH $4,01 \pm 0,02$ (tootja: Mettler Toledo; Honeywell), pH $7,00 \pm 0,02$ (tootja: Mettler Toledo; Honeywell), pH $9,00 \pm 0,02$ (tootja: Hach), pH $10,01 \pm 0,02$ (tootja: Mettler Toledo). Soolasilla elektrolüüdina kasutati ioonvedelikku trietüülpentüülammooniumbis(trifluorometüülsulfonüül)imiidi ($[N_{2225}][NTf_2]$), tootja: Iolitec, puhtus: >99%). Orgaanilise faasina kasutati töös metanooli (tootja: Sigma-Aldrich, puhtus: >99%) ja atsetonitriili (tootja: Sigma-Aldrich, puhtus: >99%).

Töös kasutati viit vesinikioonitundlikku klaaselektroodi poolrakku (Izmeritel'naja tehnika, EST 0601, Pilt L4). Kasutatud klaaselektroodi poolrakud on tahkekontaktilised, ilma siselahuseta ja on ettenähtud mittevsesikeskkondade jaoks.²⁵ Lisaks kasutati kahte soolasillaga kombineeritud pH elektroodi (Oakton pH probe, refillable, flushable PTFE DJ, 35805-09 (Pilt L6) ja Metrohm 6.0269.100 EtOH-trode (Pilt L5). Need ühendati Elmetron CP-411 pH-meetriga. Klaaselektroodide poolrakkude kalibreerimiseks kasutati võrdluselektroodi, milleks oli küllastunud kalomelelektrood (Radiometer, K401 SCE). Elektroodide kalibreerimisel kasutati Metrohm 713 pH-meetrit ja Keysight B2987A elektromeetrit. EST 0601 elektroodide kalibreerimisel Metrohmi pH-meetriga ühendati elektriabelaga jadamisi kolme normaalelementi: 5703 (1,0152 V), 5723 (1,0170 V), 6080 (1,0134 V). Normaalelemente kasutati klaaselektroodide kalibreerimisel, et nihutada potentsiaal Metrohm 713 pH-meetri mõõtealasse.

^spH mõõtmisel kasutati pH-meeterit (Elmetron CP-411) ja kombineeritud pH-elektroodi (Elmetron EPP-1). Kombineeritud elektroodi kasutati ^wpH ja ^spH mõõtmisteks, et mõõtmine oleks võimalikult sarnane rutiinlabori meetodikaga.

$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmised viidi läbi Faraday kapis (Vistashield, Gamry Instruments) termostateeritud klaasrakus ($25,0 \pm 0,5$) °C juures. $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmised tehti Faraday kapis, et vähendada ümbritsevast keskkonnast tulevaid elektrilisi häireid. Rakk (tootja: Rettberg) oli ühendatud termostaadiga (tüüp U2C, tootja MLW). Meetodika valideerimisel ja mobiilfaaside potentsiaalide erinevuse mõõtmisel kasutati Metrohm 713 pH-meetrit ja Keysight B2987A elektromeetrit. pH-Meetri andmete kogumiseks kasutati Pythoni programmi (https://github.com/S11mh33r1ng/Metrohm_713) ja elektromeetri andmete kogumiseks Quick

IV Measurement Software. Vajalike kemikaalide kaalumiseks kasutati A&D Company Limited 4-kohalist analüütilist kaalu.

3.2. Mobiilfaaside valmistamine

Mobiilfaasid valmistati vesipuhvri ja orgaanilise lahusti seguna mahu järgi. Orgaanilisteks lahustiteks olid käesolevas töös metanool ja atsetonitriil. Mahu-, mitte massiprotsentide kasutamine mobiilfaaside koostise juures on tingitud sellest, et tavapärasel kromatograafia praktikal valmistavad binaarsed pumbad mobiilfaasi samuti mahu-, mitte massiprotsentide järgi.

0,1 % metaanhappe (HCOOH) vesilahus valmistati ruumala järgi, võttes 100 µl HCOOH 100 ml mõõtekolbi ning täites kolb destilleeritud veega. 0,1 % HCOOH lahuse pH väärtus jääb vahemikku 2,6-2,7 ühikut.

Happe baasil tehti vesipuhverlahused pH väärtustega 4,0; 4,5; 5,0 ja 5,5 metaanhappe 0,1 % lahusest, millele lisati 25 % NH₃ vesilahust, kuni saadi soovitud pH väärtus.

Etanaatpuhverlahus pH väärtusega 5,0 valmistati kasutades ammooniumatsetaati. Ammooniumatsetaadist valmistati 5 mM lahus, mille pH jääb vahemikku 6,4-6,5 ühikut. Sellele lahusele lisati metaanhapet, kuni saadi pH 5,0 väärtusega lahus.

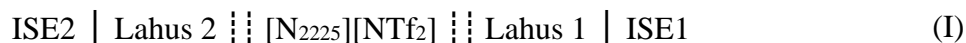
1 mM NH₃ lahus valmistati kasutades ammoniaagi 25 % vesilahust. Kui saadud NH₃ lahus oli madalama pH väärtusega kui 9,75 lisati ammoniaagi lahust kuni väärtuse saavutamiseni.

3.3. Klaaselektroodide kalibreerimine

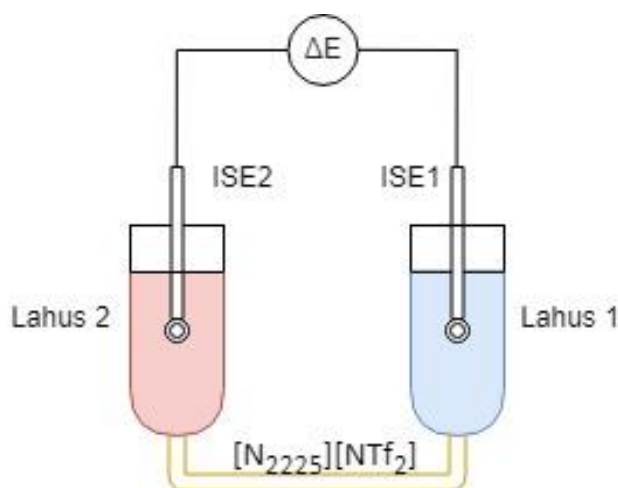
Kalibreeriti viis sama tüüpi tahkekontaktset klaaselektroodi poolrakku ning nendest valiti kaks elektroodi, mille tõusud ja algordinaadid olid võimalikult sarnased (Tabel L1). Kasutatud klaaselektroodide tõusud leiti katseliselt, mõõtes lahuste potentsiaali võrdluselektroodi suhtes. Potentsiaali mõõtmised viidi läbi 25 °C juures, kasutades pH-meetrit või elektromeetrit. Klaaselektroodide kalibreerimiseks mõõdeti lahuste potentsiaale standardpuhverlahustes pH väärtustega 4,01; pH 7,00; pH 9,00 ja pH 10,01 puhverlahustes 30 minutit (kasutades pH meetrit) või 1 tund (kasutades elektromeetrit). Suhteliselt pikk mõõtmisaeg tuleneb sellest, et klaaselektroodi membraani ja vesinikioonide vahel peab püstituma tasakaal ning temperatuur peab rakus peale elektroodide sukeldumist ühtlustuma. Mõõdetud potentsiaalide väärtustest koostati kalibreerimisgraafik ning leiti elektroodi tõusu ja vabaliikme väärtused. Elektromeetriga tehtud mõõtmised on hilisemad ja tehtud pärast suhtelise mõõtemetoodika mõõteaja muutmist MeCN lahustest tulenevate probleemide tõttu.

3.4. Suhteline mõõtemetoodika

Ekspriimendid viidi läbi termostateeritud rakus (Joonis 3 ja Pilt L1), milles olid uuritavad lahused ja soolasillas ionvedelik [N₂₂₂₅][NTf₂]. Potentsiomeetriselid mõõtmised (rakk I) viidi läbi 25 °C juures kasutades mõõtevahendit, mille külge oli ühendatud kaks kalibreeritud klaaselektroodi (ISE1 ja ISE2).



Mõõteraku soolasilda lisati süstlaga ionvedelik (ligikaudu 55 µl). Töös kasutatud ionvedeliku korral on kindlaks tehtud vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali välja taandumine erinevate lahustite korral.^{22–24} Mõõterakku valati võrdne kaal kumbagi uuritavat lahust, et ionvedelik püsiks kapillaaris. Lahuseid võeti ligikaudu 20 ml, võttes arvesse lahuste tiheduste erinevust. Kontrolliti, kas ionvedeliku ja uuritavate lahuste vahele on tekkinud õhumull ning vajadusel mull eemaldati süstlaga. Kasutatavad klaaselektroodid puhastati deioniseeritud veega ja loputati läbi uuritavate lahustega ning elektroodid asetati mõõterakus olevatesse lahustesse.



Joonis 3: Kahe klaaselektroodi potentsiaalide vahe mõõtmiseks kasutatud mõõteraku skeem.

Kui elektroodid olid raku kinnitatud, käivitati arvutis mõõteprogramm. Iga katse kestis algselt 30 min ja hiljem 1 h, et potentsiaalide erinevus kahe elektroodi vahel jõuaks stabiliseeruda. Katse aega pikendati, sest MeCN lahused vajasisid rohkem aega stabiliseerumiseks. Potentsiaalide erinevust registreeriti 10-sekundiliste intervallidega. Peale mõõtmist viidi andmetöötlus läbi MS Exceli keskkonnas. Andmepunktidest valiti lineaarne ala (kestusega 15 min), kus potentsiaal oli stabiilne ning arvutati potentsiaali erinevuse keskmine väärtus ning standardhälve. $\Delta\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste arvutamiseks kasutati ainult mõõtmisi, mille andmepunkte

standardhälve oli alla 1 mV. Mõõtmistel saadakse $\Delta\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused ja $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ saadakse vähimruutude meetodiga, millest on täpsemalt juttu peatükis 4.3.

Selline meetodika on nii-öelda standardmeetodika ja väikeste varieeruvustega on kasutusel mitmes laboris.⁷

Mõõtmisi teostati esialgu Metrohm 713 pH-meetriga. Hiljem võeti kasutusele Keysight B2987A elektromeeter. Vahetus tehti, kuna Keysight elektromeetril on kõrgem sisendtakistus ja võimalus koguda andmeid lühemate intervallidega, mis võimaldab paremini detekteerida süsteemis esinevat müra.

3.5. Mõõtmiskiiruse optimeerimine Keysight elektromeetril

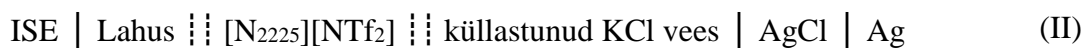
Mõõtmiste läbiviimiseks optimeeriti mõõtepunktide kogumise kiirust ehk mõõtepunktide keskmistamise aega, katsetades läbi mõõteprogrammi erinevad režiimid. Mõõtmised viidi läbi 25 °C juures kasutades elektromeetrit. Mõõtmised viidi läbi lahustega pH 4,01 ja pH 7,00 ning mõõtmised kestsid 10 minutit. Katsetati läbi mõõteprogrammi režiimid *Short*, *Medium*, *Normal*, *Long*, *Auto*, kus keskmistati mõõtepunkte vastavalt ajavahemikes: 0,0002 s; 0,002 s; 0,02 s; 0,2 s ja 0,02 s. *Auto* režiim valib ise mõõtmiskiiruse ning antud katsetes pidas elektromeeter kõige sobivamaks just 0,002 s vahemikku.

3.6. ${}^w\text{pH}$ ja ${}^s\text{pH}$ mõõtmine

${}^w\text{pH}$ ja ${}^s\text{pH}$ mõõtmiste jaoks kalibreeriti kombineeritud pH-elektrood ja pH-meeter vesipuhvritega, mille pH väärtused olid 4,01 ja 7,00. Peale vesilahustes kalibreerimist sukeldati pH-elektrood vesilahusesse (${}^w\text{pH}$) või mobiilfaasi (${}^s\text{pH}$), oodati kuni pH-meetri näit stabiliseerus (umbes 30 s) ja pH väärtus märgiti laboripäevikusse. Selliste ${}^w\text{pH}$ ja ${}^s\text{pH}$ mõõtmiste puhul pole vajadust oodata tund aega näidu stabiliseerimist nagu tehti klaaselektroodide vahelistel mõõtmistel, sest klaaselektroodi ja võrdluselektroodi vaheline potentsiaal stabiliseerub kiiremini kui kahe klaaselektroodi vahel. Samuti on Elmetron pH meetri mõõtetäpsus (1 mV) halvem kui on Metrohm pH meetril (0,1 mV) või Keysight elektromeetril (0,001 mV). ${}^w\text{pH}$ ja ${}^s\text{pH}$ puhul saadud väärtused olid üksikud katsepunktid.

3.7. Soolasillaga kombineeritud klaaselektroodidega mõõtmised

Soolasillaga kombineeritud klaaselektroodidega mõõtmistel (rakk (II)) sukeldati kombineeritud klaaselektrood mobiilfaasi ning oodati ligikaudu 90 s näidu stabiliseerimiseni. Antud mõõtmiste puhul pole vajadust oodata tund aega näidu stabiliseerimist nagu tehti klaaselektroodide vahelistel mõõtmistel, sest mõõtmised on võrdluselektroodi suhtes.



Soolasillaga kombineeritud klaaselektroodidega mõõtmiste puhul saadud väärtused olid üksik katsepunktid. Soolasillaga kombineeritud klaaselektroodidega mõõtmiste tulemuste arvutamise jaoks valmistati kalibreerimisgraafik kasutades standardvesipuhvreid. Kalibreerimisgraafik koostati kolmest kuni viiest punktist. Mõõtmised tehti mV režiimis, sest potentsiaalid olid väljaspool pH-meetri sisseehitatud kalibreerimise piire. Kalibreerimisgraafikult saadud tõusu ja vabaliikme kaudu arvutati kombineeritud klaaselektroodidega mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ tulemused.

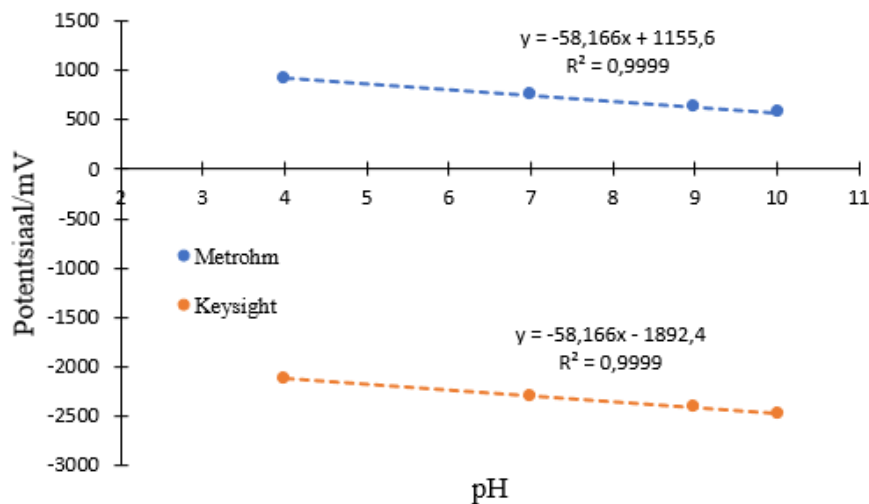
Kahe erineva soolasillaga kombineeritud klaaselektroodidega mõõtmistel on ioonvedeliku lekkivus elektroodidel erinev. Tootja andmetel on Metrohm EtOH-trode elektrolüüdi lekkivus läbi klaaslihv 5 $\mu\text{l/h}$ kuni 30 $\mu\text{l/h}$ kui võtta 10 cm kõrgune veesammas.²⁶ Ioonse vedeliku lekkivus on teadmata, aga see on arvatavasti väiksem, kuna viskoossus on suurem kui veel. Oakton pH probe teflonlihv on uuendatav (*flushable PTFE*) elektroodi korgile vajutades ja seega on suurema lekkivusega kui Metrohm'i klaaslihv ning võimaldab stabiilsemaid mõõtmisi.²⁷

4. Tulemused ja arutelu

4.1. Klaaselektroodide tõusude arvutamine

Kasutatud klaaselektroodide tõusud (Tabel L1) leiti mõõtes nende potentsiaalid standardlahustes küllastatud kalomel-võrdluselektroodi vastu. Kasutatud standardlahuste pH väärtused olid 4,01; 7,00; 9,00 ja 10,01. Mõõdetud potentsiaalide väärtustest koostati graafik (Joonis 4) ning arvutati elektroodi tõus. Erinevate masinatega mõõtes saadi elektroodi EST 0601 (02865) keskmiseks tõusuks -58,2 mV ning elektroodi EST 0601 (03171) keskmiseks tõusuks -58,2 mV. Vabaliikmete erinevus pH meetri ja elektromeetriga mõõdetud tulemuste vahel tuleb sellest, et pH meetril kasutati normaalelemente, et nihutada potentsiaal pH-meetri mõõtealasse. Kahe kasutatud klaaselektroodi vabaliikmete erinevus oli 2 mV. Kahe elektroodi tõusude keskmist väärtust (-58,2) kasutati pH erinevuste arvutamiseks. Tõusud on väga stabiilsed ja on kahe aasta jooksul muutunud ainult 0,02%.

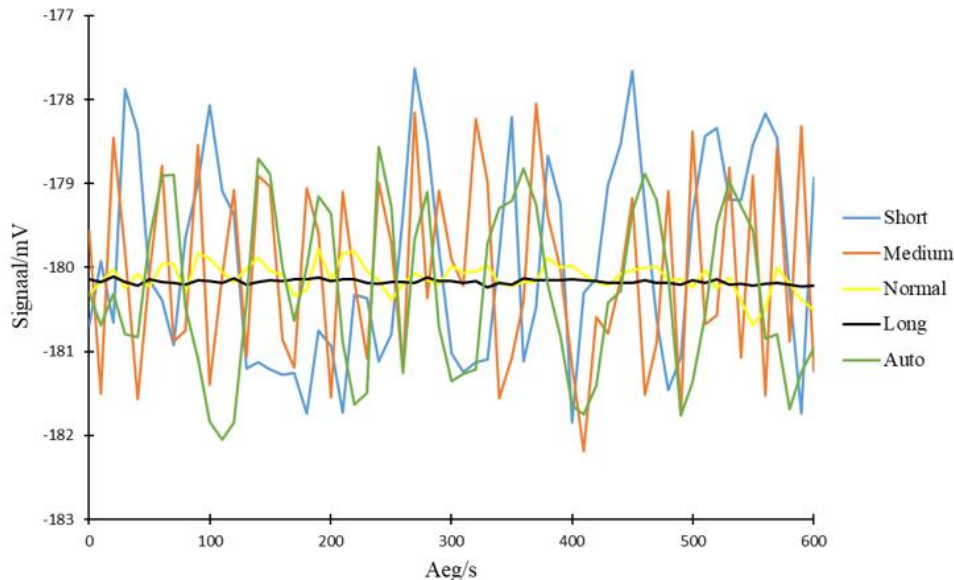
Saadud elektroomide tõusud erinevad Nernsti ehk teoreetilistest tõusudest umbes 1 mV võrra. See erinevus võib tuleneda sellest, et raku sees polnud temperatuur täpselt 25 °C või Donnani efektist, mis seisneb selles, et klaaselektroodi pinnal on membraan lisaks uuritavale ioonile mõnevõrra tundlik ka vastasmärgilise iooni suhtes.^{28,29}



Joonis 4: Elektroodi 02865 kalibreerimisgraafikud erinevate masinatega.

4.2. Mõõtmiskiiruse seadistus Keysight elektromeetril

Elektromeetril on 5 erinevat mõõtmiskiiruse seadistust, mis keskmistavad mõõdetud potentsiaali erineva aja vältel. Mida kauem potentsiaali keskmistatakse, seda stabiilsem on näit (Joonis 5). Edasistes mõõtmistes kasutati elektromeetrit režiimis *Long*.



Joonis 5: Keysight elektromeetril mõõdetud potentsiaali sõltuvus keskmistamise ajast (Short – lühim; Long – pikim).

4.3. Suhtelise mõõtemetoodika valideerimine

Kasutatud suhtelise mõõtemetoodika valideerimiseks mõõdeti $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ skaala kasutades teadaolevate pH väärtustega (pH 4,01; 7,00; 9,00; 10,01) vesipuhvreid. Vähimruutude meetodit kasutades minimiseeriti esimest korda erinevate lahuste vahel mõõdetud pH erinevused (Tabel 2), määrates mõõdetud vesipuhvrite $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste omavahelised erinevused ehk tabelis esitatud „redeli pulkade“ omavahelised kaugused.² Teise minimiseerimise käigus määrati uuritud lahustele $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused „nihutades“ saadud „redelit“ sedasi, et referentsväärtuste (referentsväärtused on lahuste teadaolevad pH väärtused) ja määratud väärtuste erinevuste ruutude summa oleks vähim võimalik. Tulemused (Tabel 2) näitavad, et mõõtemetoodika toimib vesilahuses hästi, mis nähtub kooskõlalise standardhälbe (0,03) ja referentsväärtuste suhtes arvutatud ruutkeskmise hälbe (0,05) väärtustest.

Tabel 2: Suhtelise mõõtemetoodika valideerimise andmestik.^a

pH referents	pH määratud	Möödetud pH erinevus
10,01	10,07	1,11
9,00	8,97	1,98
7,00	7,02	3,10
4,01	3,95	3,05

^a Skaala kooskõlalise standardhälve on 0,03 pH ühikut ja saadud väärtuste ruutkeskmine hälve referentsväärtuste suhtes on 0,05 pH ühikut.

4.4. Suhtelise mõõtemetoodikaga saadud mobiilfaaside pH väärtused

Kasutades potentsiomeetrilist mõõtmist, mõõdeti 69 $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ erinevust ($\Delta\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtust) 23 mobiilfaasi vahel (Tabel 3), koostamaks mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste skaala. Igale mobiilfaasile on mõõdetud vähemalt kolm $\Delta\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtust muude lahuste (teiste mobiilfaaside või standardpuhverlahuste) suhtes.

Mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused määrati sarnaselt valideerimisele kaheetapilist vähimruutude meetodit kasutades. Esmalt leiti mobiilfaaside $\Delta\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevused minimiseerides vahetult mõõdetud $\Delta\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste ja skaalalt leitavate $\Delta\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevuste ruutude summat. Teise minimiseerimise käigus leiti absoluutsed $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused minimiseerides standardpuhvrite referentsväärtuste ja neile määratud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevuste ruutude summat. Kahetasemelise minimiseerimise² järel saadi kõigile mobiilfaasidele $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused (Tabel 3). Skaala kooskõlalise standardhälve on 0,08 pH ühikut ja saadud standardpuhvrite $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste ruutkeskmine hälve referentsväärtuste suhtes on 0,05 pH ühikut. Skaalal olevate standardpuhvrite määratud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste ja nende standardpuhvrite tegelike referentsväärtuste kokkulangevus näitab, et elektroodide tõusud on samad nii vesilahustes kui ka orgaanilise lahusti ja vesilahuste segudes.

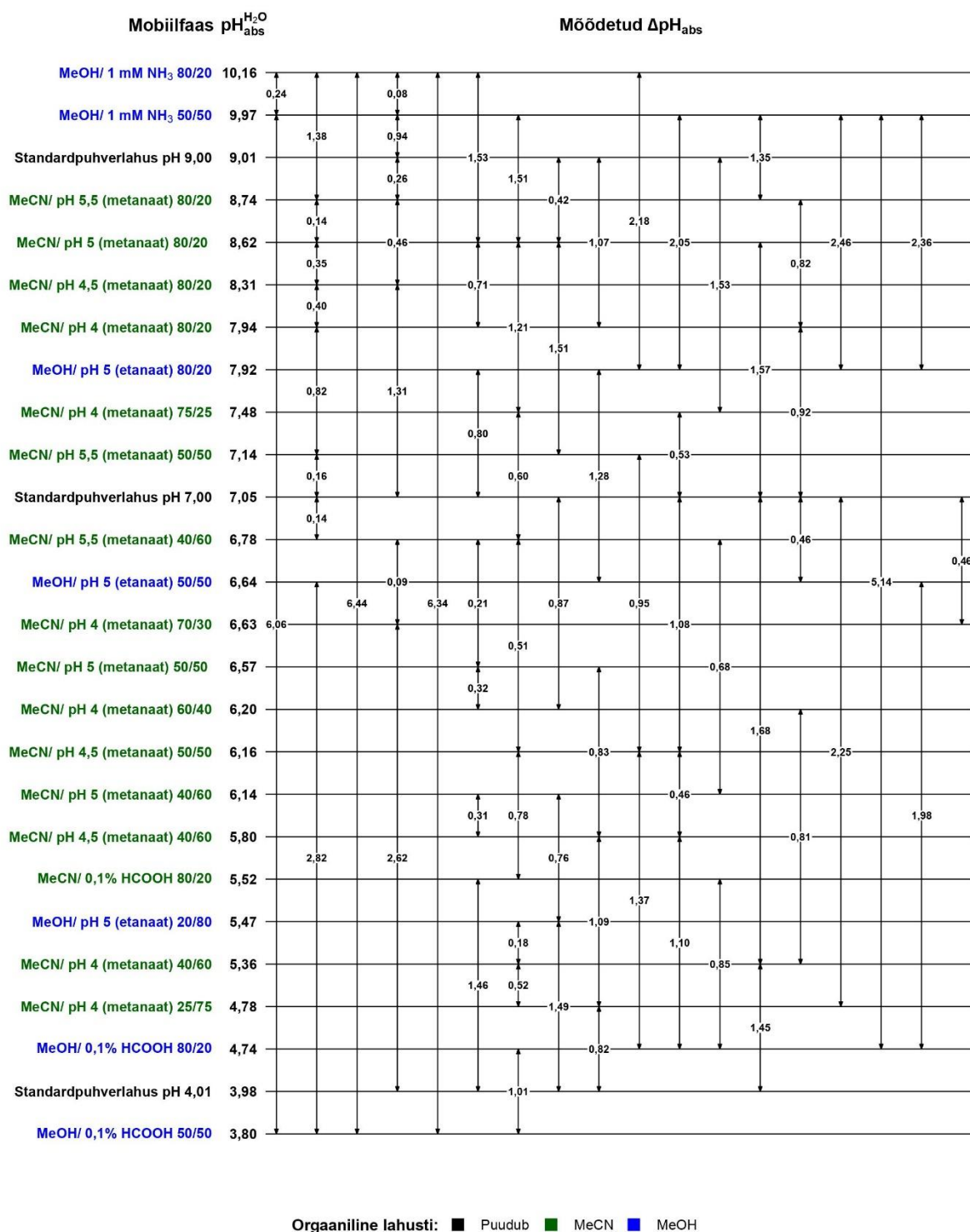
Tulemused näitavad selgelt, et käesolevas töös saadud suhtelise mõõtmise ja minimiseerimise kaudu saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused on usaldusväärsed. Peale kaheastmelist minimiseerimist on mõõdetud standardpuhvrite $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused ja referentsväärtused lähedase kooskõlaga.

$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused on aluselised kui ${}^w\text{pH}$ ja ${}^s\text{pH}$ väärtused (Tabel 4). Nii atsetonitriilil kui ka metanoolil põhinevate mobiilfaaside juures on näha, et mida kõrgem on orgaanilise lahusti ruumalaprotsent, seda rohkem erineb $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus ${}^s\text{pH}$ väärtusest. Metanoolil põhinevatel mobiilfaasidel, kus orgaanilist lahustit ja puhvrit on sama palju (50/50), erineb $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus ja ${}^s\text{pH}$ väärtus ligikaudu 0,5 pH ühiku võrra. Kui aga metanooli ruumala osakaal on 80 %, siis $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ ja ${}^s\text{pH}$ väärtused erinevad umbes 1 pH ühiku võrra. Atsetonitriilil põhinevatel mobiilfaasidel on näha sarnast käitumist nagu metanoolil, kui orgaanilise lahusti ja vesipuhvri ruumalasuhe on võrdne (50/50), mil pH erinevus on umbes 0,6 pH ühikut $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ ja ${}^s\text{pH}$ väärtuste vahel. Atsetonitriili puhul on aga palju järsem $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ ja ${}^s\text{pH}$ väärtuste vaheline erinevus kui atsetonitriili sisaldus on 80 %. Sel juhul on $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ ja ${}^s\text{pH}$ erinevus ligi 1,8 pH ühikut. Selle tõenäoliseks põhjuseks on, et atsetonitriil on oma omaduste poolest veest märksa rohkem erinev lahusti kui metanool.

Saadud tulemustega on võimalik iseloomustada sama vesipuhvri ja orgaanilise lahusti $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ sõltuvust olenevalt orgaanilise lahusti ruumalaprotsendist mobiilfaasis. Varasemates töödes pidi arvestama mõõtetulemustele juurde vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali, sest ei olnud võimalik kasutada sellist soolasilda, mis vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali välja taandaks.

Koos teiste töögrupis tehtud mõõtmistega (Tabel L2) saab lisaks teha järeldusi veefaasi koostise mõju $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtustele, kui veefaasi pH on muutmatu (etanaat vs metanaat).

Tabel 3: Mobiilfaaside pH_{abs}^{H₂O} skaala.



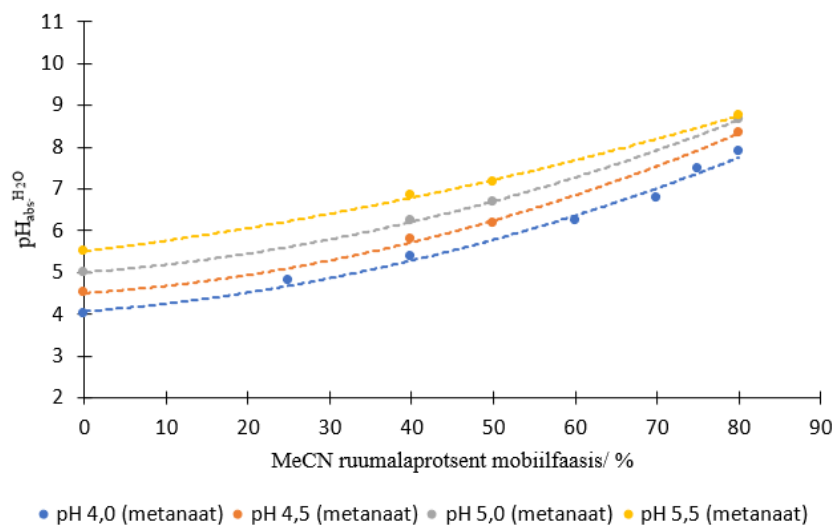
Tabel 4: Erinevate meetoditega saadud mobiilfaaside pH väärtuste võrdlus.

Mobiilfaas	$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ (ISE1 vs ISE2)	$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ ^a	$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ (Oakton) ^b	$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ (Metrohm) ^b	spH^c	wpH^c
MeOH/ 1 mM NH ₃ 80/20	10,16	8,89	9,82	8,77	9,05	9,75
MeOH/ 1 mM NH ₃ 50/50	9,97	8,70	9,93	9,11	9,49	9,75
MeCN/ pH 5,5 (metanaat) 80/20	8,74	8,59	8,49	6,92	6,91	5,50
MeCN/ pH 5 (metanaat) 80/20	8,62	8,43	8,37	6,76	6,88	4,99
MeCN/ pH 4,5 (metanaat) 80/20	8,31	8,10	8,12	6,44	6,51	4,51
MeCN/ pH 4 (metanaat) 80/20	7,94	7,64	7,61	5,95	6,17	3,99
MeOH/ pH 5 (etanaat) 80/20	7,92	7,49	7,54	6,62	6,76	5,01
MeCN/ pH 4 (metanaat) 75/25	7,48	7,32	7,20	5,70	5,86	3,99
MeCN/ pH 5,5 (metanaat) 50/50	7,14	7,49	7,41	6,37	6,45	5,50
MeCN/ pH 5,5 (metanaat) 40/60	6,78	7,11	7,13	6,20	6,22	5,50
MeOH/ pH 5 (etanaat) 50/50	6,64	6,47	6,33	5,71	5,98	5,50
MeCN/ pH 4 (metanaat) 70/30	6,63	7,03	6,96	5,49	5,62	3,99
MeCN/ pH 5 (metanaat) 50/50	6,57	7,05	6,96	5,92	5,93	5,01
MeCN/ pH 4 (metanaat) 60/40	6,20		6,37	5,06	5,17	3,99
MeCN/ pH 4,5 (metanaat) 50/50	6,16	6,56	6,52	5,40	5,48	4,51
MeCN/ pH 5 (metanaat) 40/60	6,14	6,62	6,60	5,72	5,71	5,01
MeCN/ pH 4,5 (metanaat) 40/60	5,80	6,14	6,13	5,16	5,26	4,51
MeCN/ 0.1 % HCOOH 80/20	5,52	5,37	5,32	4,23	3,50	2,60
MeOH/ pH 5 (etanaat) 20/80	5,47		5,39	5,06	5,20	5,02
MeCN/ pH 4 (metanaat) 40/60	5,36		5,67	4,63	4,75	3,99
MeCN/ pH 4 (metanaat) 25/75	4,78		5,05	4,29	4,40	3,99
MeOH/ 0.1 % HCOOH 80/20	4,74	4,79	4,55	3,67	3,62	2,64
MeOH/ 0.1 % HCOOH 50/50	3,80	3,89	3,60	3,03	3,14	2,64

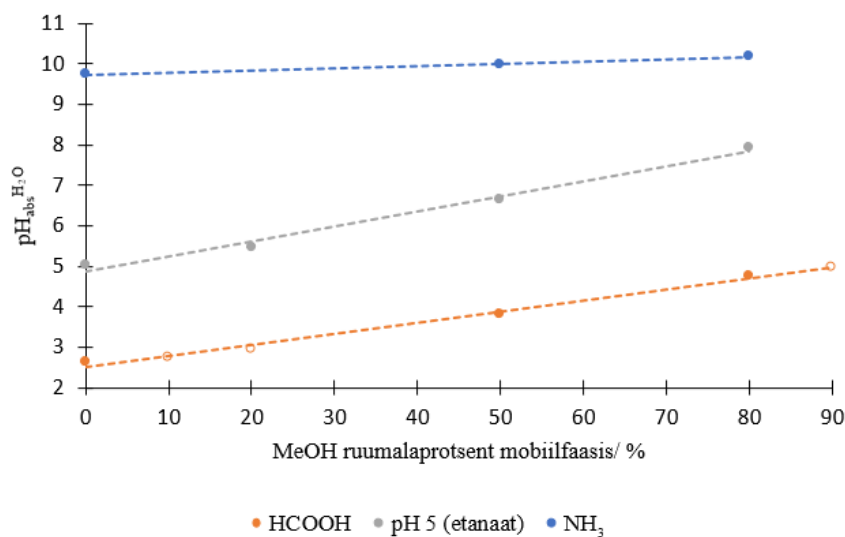
^a Tulemused võetud allikast 30. ^b Vastavalt firmade Oakton ja Metrohm valmistatud soolasillaga kombineeritud klaaselektroodid. ^c Mõõdetud firma Elmetron valmistatud kombineeritud elektroodiga.

Atsetonitriilil põhinevate mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ sõltuvus orgaanilise lahusti sisaldusest on mittelineaarne (Joonis 6), kusjuures $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus tõuseb atsetonitriili lisamisel. 70 % atsetonitriili sisalduse juurest alates $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ sõltuvuse tõus kasvab järsemalt. 70 % atsetonitriili sisaldusega mobiilfaasidega tehtud mõõtmised olid problemaatilised. Paljudel katseseeriatel, kus sellist ruumalasuhet kasutati, ei püstitunud tasakaal 1-tunnise mõõtmise jooksul ning sooritatud katseseeria andmed polnud andmeanalüüsiks kasutatavad. Mõõtmiste stabiilsus paranes kui soolasilda lisati väiksem kogus ioonset vedelikku. Ioonvedelik ei lahustu vees, aga

lahustub atsetonitriilis. 70 % juures tekib ionvedeliku tilgastumine ja need tilgad hakkavad liikuma, põhjustades potentsiaali muutuse.



Joonis 6: Metanaatpuhvrite $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ sõltuvus MeCN osakaalust.



Joonis 7: $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ sõltuvus MeOH osakaalust. Tähistused: ● – autori tulemused, ○ – mõõtis Agnes Heering.

Metanoolil põhinevate mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ sõltuvus orgaanika sisaldusest on lineaarne (Joonis 7). Tulemustest on näha, et metanooli sisalduse suurenedes kasvab mobiilfaasi $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus enam-vähem lineaarselt.

4.5. Võrdlus varasemate andmetega

Käesolevas töös saadud mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused erinevad allikas 30 saadud tulemustest ning uute tulemuste skaala ulatus on laiem. Ammoniaaki sisaldavate mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$

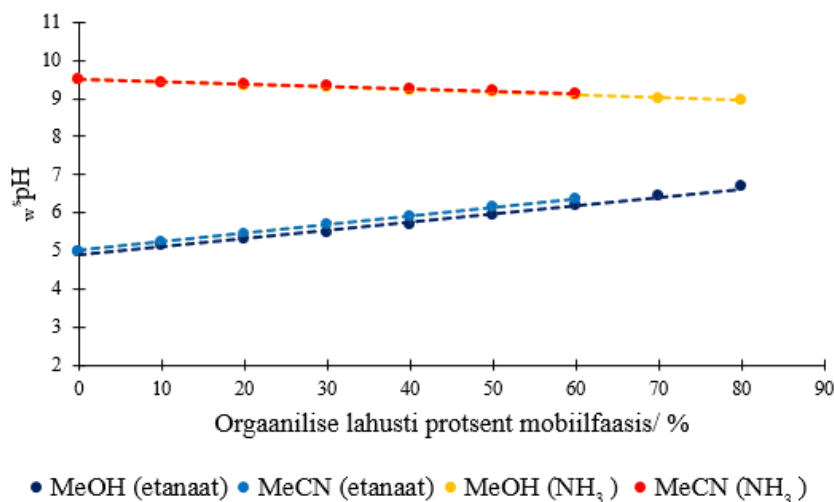
väärtused on käesolevas töös tunduvalt kõrgemad varasemate mõõtmistulemustega võrreldes. Metanoolil põhinevate metaanhapet sisaldavate mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused on seevastu varasemate tulemustega võrreldes madalamad. Atsetonitriili ja 0.1 % metaanhappe vesilahust sisaldava mobiilfaasi $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus ei erine oluliselt varasemast tulemusest. Samuti on erinevused praeguste ja varasemate tulemuste vahel ebaolulised etanaatvesipuhvri (pH 5) baasil valmistatud mobiilfaaside korral. Atsetonitriili ja metanaadi vesilahust sisaldavate mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused on happelisemad või aluselisemad olenevalt atsetonitriili ruumalaprotsendist. Mobiilfaasides, kus atsetonitriili sisaldus on väiksem kui 75 %, on kõik mõõdetud väärtused happelisemad kui varem mõõdetud tulemused. Mobiilfaasid, mis sisaldavad vähemalt 75 % atsetonitriili, on aga aluselisemate väärtustega kui varasemalt mõõdetud tulemused.

Erinevused ammoniaaki sisaldavate mobiilfaaside käesolevas töös saadud tulemuste ja varasemate tulemuste vahel^{2,30} võivad tuleneda sellest, et varasemate mõõtmiste käigus mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtustel võis vedelik-vedelik piirpinna potentsiaal olla ebatäpselt juurde arvestatud. Mõõtetemethodikad olid mõlemal juhul sarnased. Ainukesed erinevused on soolasilla koostises ja vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali arvestamise mooduses. Varasemas töös vedelik-vedelik piirpinna potentsiaal hinnati Izutsu teooriale tuginedes.⁹ Kuna kõiki selle jaoks vajalikke sisendandmeid polnud saada, oli vajalik kasutada erinevaid eeldusi vajalike sisendsuuruste hindamiseks, mis võis oluliselt alandada hinnangute täpsust. Vastavalt Radtke-Ermantraut'i töödele²²⁻²⁴, taandub käesolevas töös kasutatud ionvedeliku korral vedelik-vedelik piirpinna potentsiaal välja. Neid teadmisi arvestades on alust arvata, et käesolevas töös on vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali paremini kontrolli all ja tulemused on usaldusväärsemad.

McCalley artiklis kasutatud arvutusmeetodiga leitakse, et ξpH väärtuste muutus ei ole lineaarne kui mobiilfaasis suurendatakse MeCN mahuprotsenti.³¹ Metanaadi puhul leitakse, et ξpH väärtus kasvab järsult kui MeCN mahuprotsent mobiilfaasis on 60 %.³¹ See tulemus langeb kokku käesolevas töös saadud tulemusega.

Subirats'i artiklis kasutatud arvutusmeetodiga leitakse, et ξpH väärtused muutuvad lineaarselt kui mobiilfaasis suurendatakse MeOH mahuprotsenti (Joonis 8).³² MeCN puhul leitakse, et muutus on samuti lineaarne kuni, atsetonitriili mahuprotsent mobiilfaasis on kuni 60 %. Kõrgemaid MeCN sisaldusi kasutatud arvutusmeetod ei võimaldanud arvutada.³² MeOH lineaarne muutus langeb kokku käesolevas töös saadud tulemusega. MeCN sõltuvuse

kokkulangevust ei saa lõplikult hinnata, sest artiklis kasutatud arvutusmeetod ei hinda pH_w^s muutust kõrgematel MeCN mahuprotsentidel mobiilfaasis.

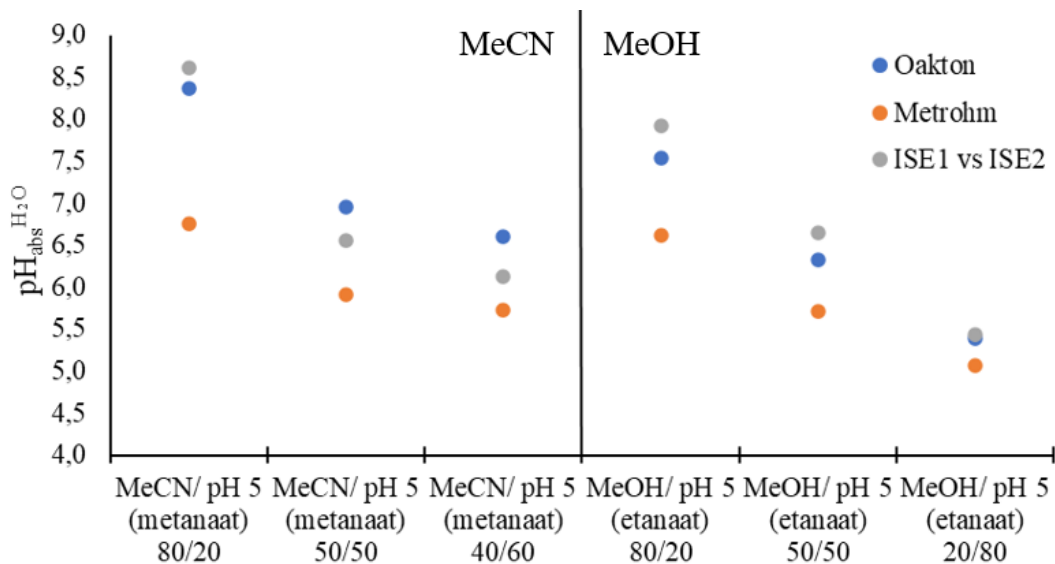


Joonis 8: pH_w^s sõltuvus orgaanilise faasi sisaldusest. Tulemused on võetud allikast 32.

4.6. Kombineeritud elektroodidega mõõtmiste tulemused

Selgitamaks välja, kas mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus on võimalik rahuldava täpsusega mõõta lihtsamalt kui ülalkirjeldatud suhtelise mõõtemetoodikaga, viidi läbi mõõtmised kahe erineva – toodetud firmade Oakton ja Metrohm poolt – soolasillaga kombineeritud elektroodiga (Joonis 2 vasak), mille välimine lahus oli asendatud $[\text{N}_{2225}][\text{NTf}_2]$ ioonvedelikuga, ja ühe tavalise ilma soolasillata kombineeritud klaaselektroodiga (Joonis 2 parem). Elektroodid kalibreeriti tavapärase vesilahuse baasil valmistatud standardpuhverlahustega. Soolasillaga kombineeritud klaaselektroodidega mõõdeti mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused (Tabel 4). Tavalise pH elektroodiga saadi võrdluseks pH_w^s väärtused. Tulemused on toodud Tabelis 4. Iga tabelis esitatud väärtus on saadud keskmisena 3 mõõteseriast kestusega 90 s, mis viidi läbi erinevatel nädalatel ja/või kuudel. Mõõtmiste summaarne ajavahemik oli 6 kuud. Esimesed mõõtmised tehti paar tundi peale välise lahuse vahetamist kombineeritud elektroodides. Need esimesed mõõtmised andsid suurema erinevusega tulemusi kui järgmised. See näitab, et elektroodid pole kohe peale lahuse vahetamist täielikult töövalmis.

Soolasillaga kombineeritud elektroodidega mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused erinevad suhtelise mõõtemetoodikaga mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtustest (Tabel 4, Joonis 9).

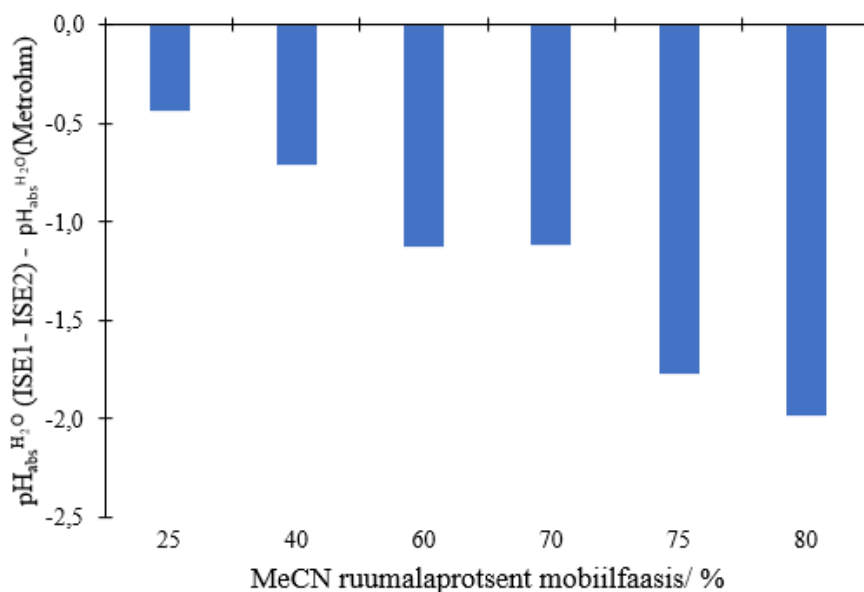


Joonis 9: $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevused kombineeritud elektroodide ja ISE1 vs ISE2 mõõtmiste vahel.

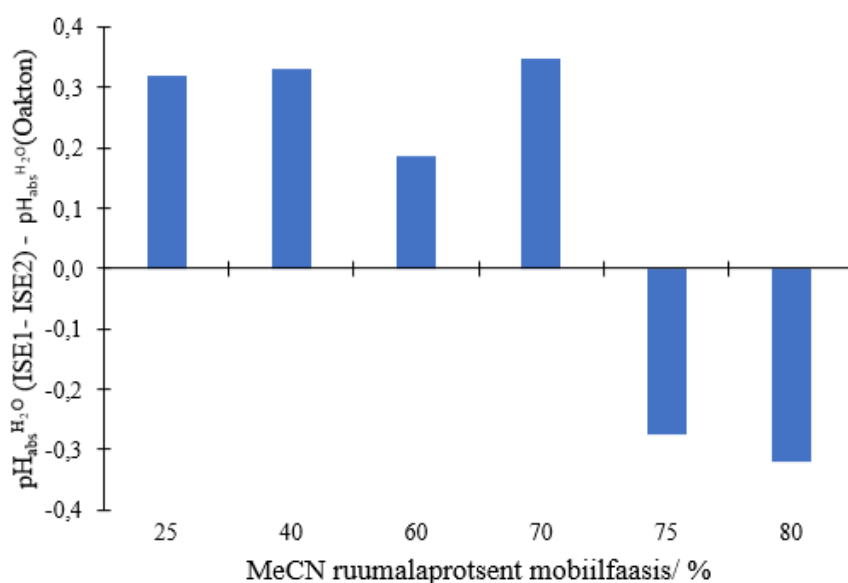
Oaktoni kombineeritud elektroodiga saadud tulemused erinevad suhtelise mõõtemetoodikaga saadud tulemustest umbes 0,3 – 0,4 ühiku võrra, ruutkeskmisehällbega 0,30. Erinevused suhtelise mõõtemetoodikaga saadud tulemustest on mõlemasuunalised. Kui suurema osa mobiilfaasist moodustab MeCN (75 % kuni 80 %), siis Oaktoni kombineeritud elektroodiga mõõdetud väärtused on umbes 0,2 – 0,3 pH ühiku võrra happelisemad kui suhtelise mõõtemetoodikaga mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused. Madalamate MeCN osakaalude puhul on Oaktoni kombineeritud elektroodiga mõõdetud väärtused aluselisemad. MeOH baasil valimistatud mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused on kõik happelisemad kui suhtelise mõõtemetoodikaga mõõtmiste teel saadud väärtused.

Metrohmi kombineeritud elektroodiga saadud tulemused erinevad oluliselt rohkem suhtelise mõõtemetoodikaga saadud tulemustest. Metrohmi kombineeritud elektroodiga saadud tulemused on ruutkeskmisehällbega 1,20 ning erinevus on süstemaatiline. Kõik Metrohmi kombineeritud elektroodiga mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused on madalamad kui suhtelise mõõtemetoodikaga mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ tulemused. Mida suurem on vesipuhvri osakaal mobiilfaasis, seda vähem erineb Metrohmi kombineeritud elektroodiga saadud mõõtetulemus suhtelise mõõtemetoodikaga mõõdetud tulemusest (Joonis 10). Oaktoni kombineeritud elektroodiga sellist nähtust ei esine ja erinevus suhtelise mõõtemetoodikaga mõõdetud tulemustest on sarnane igal mõõdetul ruumalasuhtel (Joonis 11). Metrohmi elektroodiga saadud

tulemused on väga sarnased nendega, mis saadi tavalise kombineeritud pH-elektroodiga ($s_w\text{pH}$ väärtused).



Joonis 10: Metrohm soolasillaga kombineeritud klaaselektroodi $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevus ISE1 vs ISE2 väärtustest pH 4 (metanaat) puhvri näitel.



Joonis 11: Oakton soolasillaga kombineeritud klaaselektroodi $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevus ISE1 vs ISE2 väärtustest pH 4 (metanaat) puhvri näitel.

See erinevus kombineeritud elektroodide tulemuste juures näitab, et $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmiste juures kombineeritud elektroodidega on tähtis elektroodide ehitus. Metrohmi elektrood on klaaslihviga ning selle sillalahus lekitab vähem kui Oaktoni elektrood, mille lihv on valmistatud teflonist ja mille püripinda saab soovi korral uuendada. Kombineeritud elektroodidega tehtud

mõõtmiste tulemused näitavad, et $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmisi saaks teha ka rutiinlaborites lihtsama süsteemiga, kuigi need tulemused on ikkagi märgatava erinevusega suhtelise mõõtemetoodikaga mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ tulemustest. Soolasillaga kombineeritud elektrodidega mõõtmiste suur eelis on see, et need ei nõua pikemat ajakulu, sümmeetrilist rakku ega keerulist metoodikat.

Kromatografistide jaoks pole ideaalne, et kombineeritud elektrodiga (Oakton) saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ tulemused erinevad suhtelise mõõtemetoodikaga saadud täpsematest tulemustest 0,3 – 0,4 ühiku võrra, sest selline pH erinevus võib oluliselt mõjutada mobiilfaasi omadusi. Sobiva kombineeritud elektrodiga saadud tulemused on aga siiski selgelt adekvaatsemad kui ^spH tulemused, mille väärtused võivad erineda rohkem kui 1 pH ühiku võrra võrreldes suhtelise mõõtemetoodikaga saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtustest. Rääkimata ^wpH väärtustest, mis võivad erineda isegi kuni 4 pH ühiku võrra suhtelise mõõtemetoodikaga saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtustest.

5. Kokkuvõte

Käesolevas töös määrati suhtelise mõõtemetoodikat kasutades 23 mobiilfaasile $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused. $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused on võimalik alternatiiv teistele pH väljendamise meetoditele vedelik-kromatograafias (${}^w\text{pH}$ ja ${}^s\text{pH}$). $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmiste puhul on ka erinevates lahustisegudes saadud pH väärtused omavahel võrreldavad, kuna $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ põhineb solvateeritud vesinikiooni keemilisel potentsiaalil. Mobiilfaasidega sooritati mõõtmisi kasutades potentsiomeetrist pH mõõtmist, mis põhines kahe klaaselektroodi vahelise potentsiaalide vahe mõõtmisel elektrokeemilises rakus. Klaaselektroodid olid sukeldatud omavahel soolasillaga ühendatud lahustesse. Uuriti ka võimalust mõõta $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtusi kasutades soolasillaga kombineeritud klaaselektroodi. Selliselt läbi viidud soolasillaga kombineeritud klaaselektroodiga mõõtmised on esmakordsed $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ määramiseks ning mõõtemetoodika on oluliselt lihtsam võrreldes varasema kahe klaaselektroodi vahelise mõõtmisega.

Saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused olid aluselised kui ${}^w\text{pH}$ ja ${}^s\text{pH}$ väärtused. Nii metanoolil kui atsetonitriilil põhinevate mobiilfaasidega selgus, et mida suurem on orgaanilise lahusti sisaldus mobiilfaasis, seda rohkem erineb $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtus ${}^s\text{pH}$ väärtusest. Atsetonitriili ja metanooli mõju mobiilfaasi $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtusele oli sarnane kui orgaanilise lahusti mahuprotsent oli kuni 50 %. Aluselisus järsult kasvas atsetonitriilil põhinevates mobiilfaasides, kui mobiilfaasist moodustas enamuse orgaaniline lahusti. Metanoolil põhinevate mobiilfaaside aluselisus kasvas lineaarses trendis.

Käesolevas töös saadud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtused erinesid mõnevõrra varasemalt saadud tulemustest. Käesolevas töös kasutati $[\text{N}_{2225}][\text{NTf}_2]$ ioonvedelikuga täidetud soolasilda, mis tagab heas lähenduses vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali väljataandumise. Seevastu varasemates töödes kasutati vedelik-vedelik piirpinna potentsiaali hindamiseks mitmeid eeldusi. See lubab kõrge tõenäosusega väita, et käesoleva töö tulemused on varasematest usaldusväärsemad.

Mobiilfaaside $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmisi tehti ka kahe erineva soolasillaga kombineeritud elektrodiga, mille välimine lahus oli asendatud $[\text{N}_{2225}][\text{NTf}_2]$ ioonvedelikuga. Kombineeritud elektrodidega mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtuste erinevus suhtelise mõõtemetoodikaga mõõdetud $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ väärtustest oleneb elektroodist. See erinevus kombineeritud elektrodide tulemuste juures näitab, et $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ mõõtmiste juures kombineeritud elektrodidega on tähtis elektrodide ehitus.

6. Summary

In this work, the $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values of 23 different liquid chromatography mobile phases were determined. The $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements are a possible alternative to other more commonly used pH measuring methods ($^{\text{w}}\text{pH}$ and $^{\text{s}}\text{pH}$) in liquid chromatography. With $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements, the pH values obtained in different solvents or solvent mixtures are comparable since $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values are based on the chemical potential of the solvated hydrogen ion. Measurements with mobile phases were conducted using potentiometry. The potentiometric method was based on measuring the potential difference between two glass electrodes in an electrochemical cell. The glass electrodes were immersed in solutions which were connected by a salt bridge. $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements were also conducted with two different combined electrodes, which had their outer solution replaced with a salt bridge. These measurements were conducted for the first time and the measurement methodology is considerably simpler compared to the measurements between two glass electrodes.

The measured $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values were higher than $^{\text{w}}\text{pH}$ and $^{\text{s}}\text{pH}$ values. It was found with both methanol and acetonitrile based mobile phases that the higher the percentage of the organic solvent in the mobile phase the more the $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ value differs from the $^{\text{s}}\text{pH}$ value. The effect on the mobile phase was similar with both acetonitrile and methanol when the volume percentage of organic solvent was up to 50 %. Basicity sharply increased in mobile phases based on acetonitrile if most of the mobile phase consisted of the organic solvent. The basicity of methanol based mobile phases increased in a linear trend.

The $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values obtained in this work differed from previously published values. In this work, the ionic liquid $[\text{N}_{2225}][\text{NTf}_2]$ was used as a salt bridge which ensures that the effects of liquid junction potential are cancelled out. Due to the development of measurement methodology, it can be stated with high probability that the results obtained from this work are more reliable than the previous results.

$\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements were also conducted with two different double junction combined electrodes, which had their salt bridge solution replaced with the same ionic liquid. The $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values measured with combined electrodes differed from the $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ values measured with the relative measurement method. Those measurements showed that the design of the combined electrode is essential in $\text{pH}_{\text{abs}}^{\text{H}_2\text{O}}$ measurements.

7. Kasutatud kirjandus

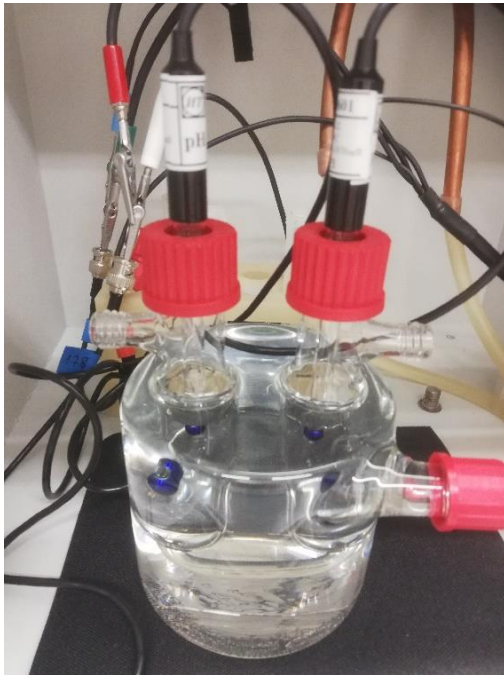
- (1) Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. *Fundamentals of Analytical Chemistry / Douglas A. Skoog, Donald M. West, F. James Holler, Stanley R. Crouch.*, Ninth edition.; Brooks/Cole, Cengage Learning: Belmont, CA, 2014.
- (2) Suu, A.; Jalukse, L.; Liigand, J.; Kruve, A.; Himmel, D.; Krossing, I.; Rosés, M.; Leito, I. Unified pH Values of Liquid Chromatography Mobile Phases. *Anal. Chem.* **2015**, *87* (5), 2623–2630. <https://doi.org/10.1021/ac504692m>.
- (3) Himmel, D.; Goll, S. K.; Leito, I.; Krossing, I. A Unified pH Scale for All Phases. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49* (38), 6885–6888. <https://doi.org/10.1002/anie.201000252>.
- (4) Heering, A.; Bastkowski, F.; Seitz, S. Glass Electrode Half-Cells for Measuring Unified pH in Ethanol–Water Mixtures. *J. Sens. Sens. Syst.* **2020**, *9* (2), 383–389. <https://doi.org/10.5194/jsss-9-383-2020>.
- (5) Buck, R. P.; Rondinini, S.; Covington, A. K.; Baucke, F. G. K.; Brett, C. M. A.; Camoes, M. F.; Milton, M. J. T.; Mussini, T.; Naumann, R.; Pratt, K. W.; Spitzer, P.; Wilson, G. S. Measurement of pH. Definition, Standards, and Procedures (IUPAC Recommendations 2002). *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74* (11), 2169–2200. <https://doi.org/10.1351/pac200274112169>.
- (6) Himmel, D.; Goll, S. K.; Leito, I.; Krossing, I. Anchor Points for the Unified Brønsted Acidity Scale: The RCCC Model for the Calculation of Standard Gibbs Energies of Proton Solvation in Eleven Representative Liquid Media. *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17* (21), 5808–5826. <https://doi.org/10.1002/chem.201003164>.
- (7) Heering, A.; Stoica, D.; Camões, F.; Anes, B.; Nagy, D.; Nagyné Szilágyi, Z.; Quendera, R.; Ribeiro, L.; Bastkowski, F.; Born, R.; Nerut, J.; Saame, J.; Lainela, S.; Liv, L.; Uysal, E.; Roziková, M.; Vičarová, M.; Snedden, A.; Deleebeeck, L.; Radtke, V.; Krossing, I.; Leito, I. Symmetric Potentiometric Cells for the Measurement of Unified pH Values. *Symmetry* **2020**, *12* (7), 1150. <https://doi.org/10.3390/sym12071150>.
- (8) *Handbook of Electrochemistry*; Elsevier, 2007. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-51958-0.X5000-9>.
- (9) Izutsu, K. *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2002.

- (10) Bakker, E. Ion-Selective Electrodes. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*; Elsevier, 2018; p B9780124095472144000. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14364-1>.
- (11) Kakiuchi, T. Ionic Liquid Salt Bridge — Current Stage and Perspectives: A Mini Review. *Electrochem. Commun.* **2014**, *45*, 37–39. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2014.05.016>.
- (12) *12: Chromatographic and Electrophoretic Methods*. Chemistry LibreTexts. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Analytical_Chemistry_2.1_\(Harvey\)/12%3A_Chromatographic_and_Electrophoretic_Methods](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Analytical_Chemistry_2.1_(Harvey)/12%3A_Chromatographic_and_Electrophoretic_Methods) (accessed 2022-05-22).
- (13) Borges, E. M. Silica, Hybrid Silica, Hydride Silica and Non-Silica Stationary Phases for Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* **2015**, *53* (4), 580–597. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmu090>.
- (14) Sarker, S. D.; Nahar, L. Applications of High Performance Liquid Chromatography in the Analysis of Herbal Products. In *Evidence-Based Validation of Herbal Medicine*; Elsevier, 2015; pp 405–425. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800874-4.00019-2>.
- (15) Schoenmakers, P. J.; van Molle, S.; Hayes, C. M. G.; Uunk, L. G. M. Effects of pH in Reversed-Phase Liquid Chromatography. *Anal. Chim. Acta* **1991**, *250*, 1–19. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(91\)85058-Z](https://doi.org/10.1016/0003-2670(91)85058-Z).
- (16) *Analytical Separation Science*; Pino, V., Anderson, J. L., Berthod, A., Stalcup, A. M., Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2015. <https://doi.org/10.1002/9783527678129>.
- (17) Rosés, M. Determination of the pH of Binary Mobile Phases for Reversed-Phase Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1037* (1–2), 283–298. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.12.063>.
- (18) Radtke, V.; Stoica, D.; Leito, I.; Camões, F.; Krossing, I.; Anes, B.; Roziková, M.; Deleebeeck, L.; Veltzé, S.; Näykki, T.; Bastkowski, F.; Heering, A.; Dániel, N.; Quendera, R.; Liv, L.; Uysal, E.; Lawrence, N. A Unified pH Scale for All Solvents: Part I – Intention and Reasoning (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **2021**, *93* (9), 1049–1060. <https://doi.org/10.1515/pac-2019-0504>.
- (19) Veigure, R.; Lossmann, K.; Hecht, M.; Parman, E.; Born, R.; Leito, I.; Herodes, K.; Kipper, K. Retention of Acidic and Basic Analytes in Reversed Phase Column Using Fluorinated and Novel Eluent Additives for Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2020**, *1613*, 460667. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460667>.

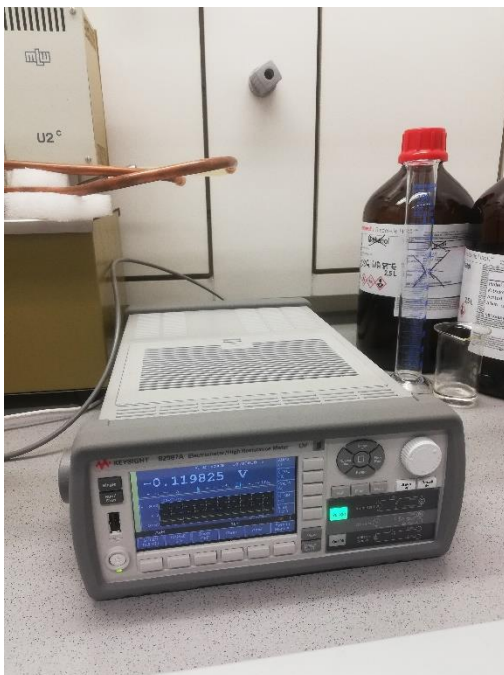
- (20) Lossmann, K.; Hecht, R.; Saame, J.; Heering, A.; Leito, I.; Kipper, K. Retention Mechanisms of Acidic and Basic Analytes on the Pentafluorophenyl Stationary Phase Using Fluorinated Eluent Additives. *J. Chromatogr. A* **2022**, *1666*, 462850. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462850>.
- (21) Canals, I.; Valkó, K.; Bosch, E.; Hill, A. P.; Rosés, M. Retention of Ionizable Compounds on HPLC. 8. Influence of Mobile-Phase pH Change on the Chromatographic Retention of Acids and Bases during Gradient Elution. *Anal. Chem.* **2001**, *73* (20), 4937–4945. <https://doi.org/10.1021/ac0101454>.
- (22) Radtke, V.; Ermantraut, A.; Himmel, D.; Koslowski, T.; Leito, I.; Krossing, I. The Ideal Ionic Liquid Salt Bridge for the Direct Determination of Gibbs Energies of Transfer of Single Ions, Part I: The Concept. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (9), 2344–2347. <https://doi.org/10.1002/anie.201707333>.
- (23) Ermantraut, A.; Radtke, V.; Gebel, N.; Himmel, D.; Koslowski, T.; Leito, I.; Krossing, I. The Ideal Ionic Liquid Salt Bridge for Direct Determination of Gibbs Energies of Transfer of Single Ions, Part II: Evaluation of the Role of Ion Solvation and Ion Mobilities. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (9), 2348–2352. <https://doi.org/10.1002/anie.201707334>.
- (24) Radtke, V.; Gebel, N.; Priester, D.; Ermantraut, A.; Bäuerle, M.; Himmel, D.; Stroh, R.; Koslowski, T.; Leito, I.; Krossing, I. Measurements and Utilization of Consistent Gibbs Energies of Transfer of Single Ions: Towards a Unified Redox Potential Scale for All Solvents. *Chem. – Eur. J.* **2022**, chem.202200509. <https://doi.org/10.1002/chem.202200509>.
- (25) Beliustin, A. A.; Pisarevsky, A. M.; Lepnev, G. P.; Sergeyev, A. S.; Shultz, M. M. Glass Electrodes: A New Generation. *Sens. Actuators B Chem.* **1992**, *10* (1), 61–66. [https://doi.org/10.1016/0925-4005\(92\)80012-M](https://doi.org/10.1016/0925-4005(92)80012-M).
- (26) *EtOH-Trode*. https://www.metrohm.com/en_gb/products/6/0269/60269100.html (accessed 2022-05-22).
- (27) *Oakton pH Probe, Refillable, Flushable PTFE DJ, Epoxy, BNC from Cole-Parmer*. <https://www.coleparmer.com/i/oakton-ph-probe-refillable-flushable-ptfe-dj-epoxy-bnc/3580509> (accessed 2022-05-23).
- (28) Ogawara, S.; Carey, J. L.; Zou, X. U.; Bühlmann, P. Donnan Failure of Ion-Selective Electrodes with Hydrophilic High-Capacity Ion-Exchanger Membranes. *ACS Sens.* **2016**, *1* (1), 95–101. <https://doi.org/10.1021/acssensors.5b00128>.
- (29) Baucke, F. G. K. Thermodynamic Origin of the Sub-Nernstian Response of Glass Electrodes. *Anal. Chem.* **1994**, *66* (24), 4519–4524. <https://doi.org/10.1021/ac00096a019>.

- (30) Heering, A. Experimental Realization and Applications of the Unified Acidity Scale. Thesis, 2017.
- (31) McCalley, D. V. Effect of Mobile Phase Additives on Solute Retention at Low Aqueous pH in Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1483*, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.035>.
- (32) Subirats, X.; Rosés, M.; Bosch, E. On the Effect of Organic Solvent Composition on the pH of Buffered HPLC Mobile Phases and the pK_a of Analytes—A Review. *Sep. Purif. Rev.* **2007**, *36* (3), 231–255. <https://doi.org/10.1080/15422110701539129>.

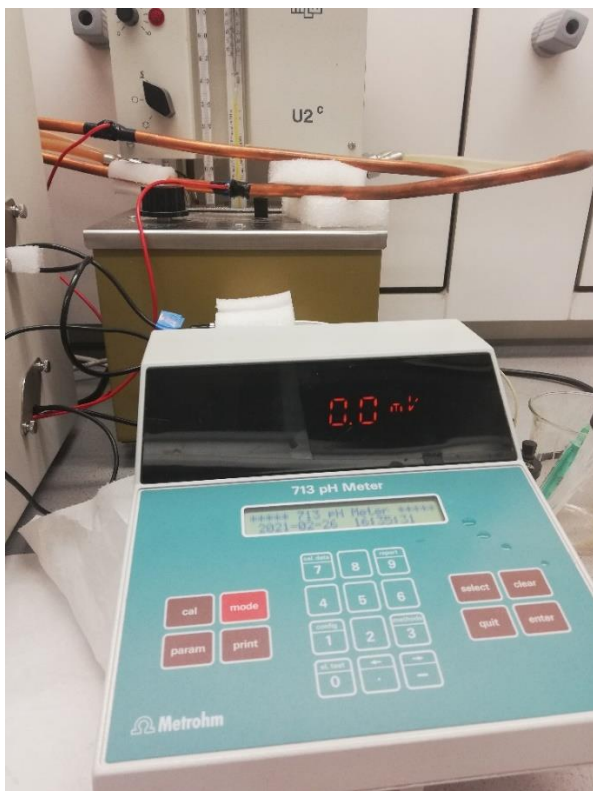
8. Lisad



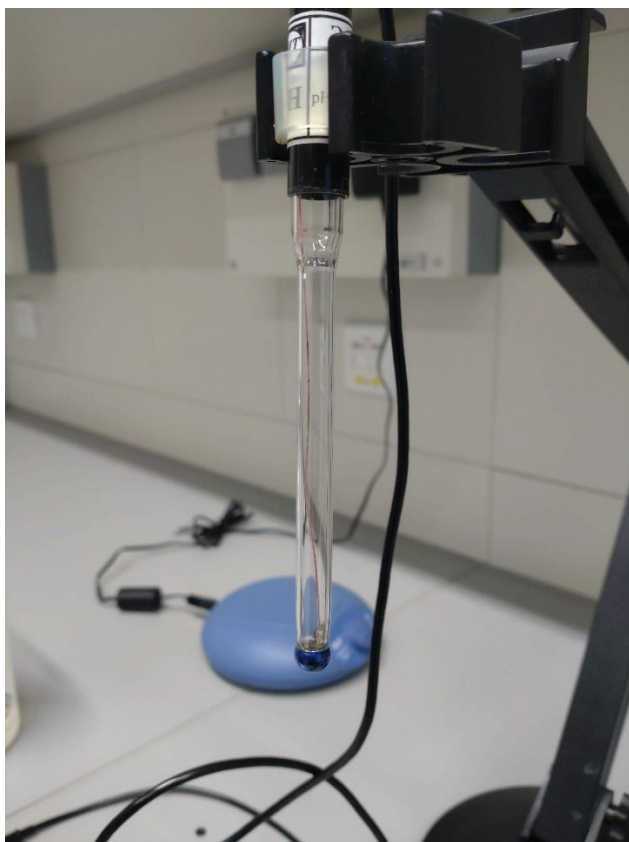
Pilt L1: Termostateeritud Rettbergi klaasrakk.



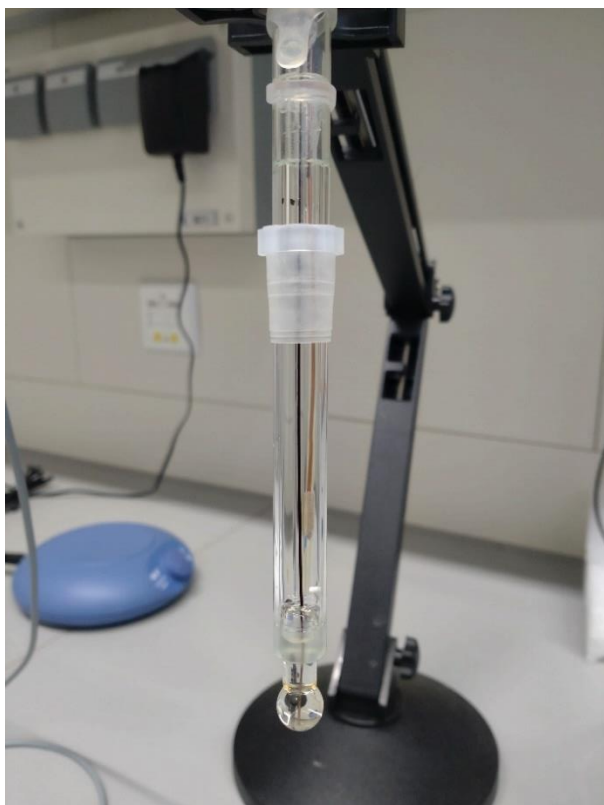
Pilt L2: Keysight B2987A elektromeeter.



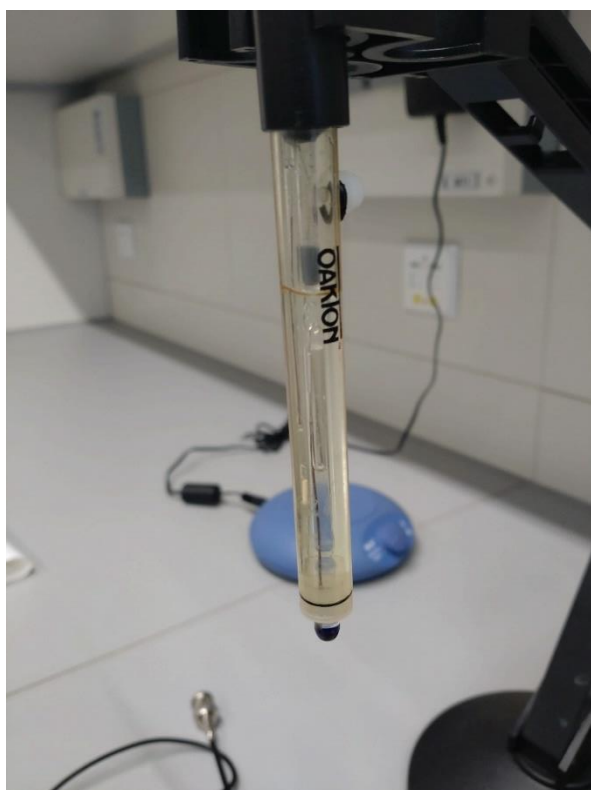
Pilt L3: Metrohm 713 pH-meeter.



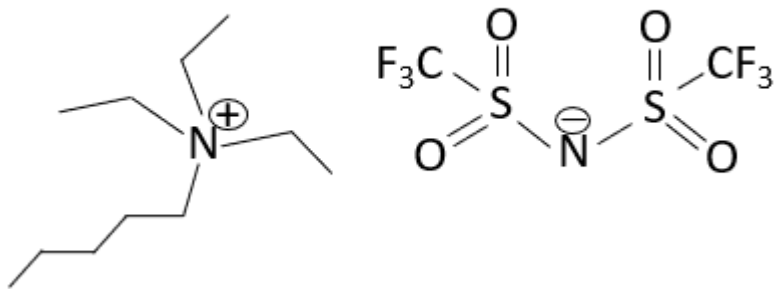
Pilt L4: Tahkekontaktiline ilma siselahuseta vesinikioonitundlik klaaselektrood Izmeritelnaja tehnika, EST 0601.



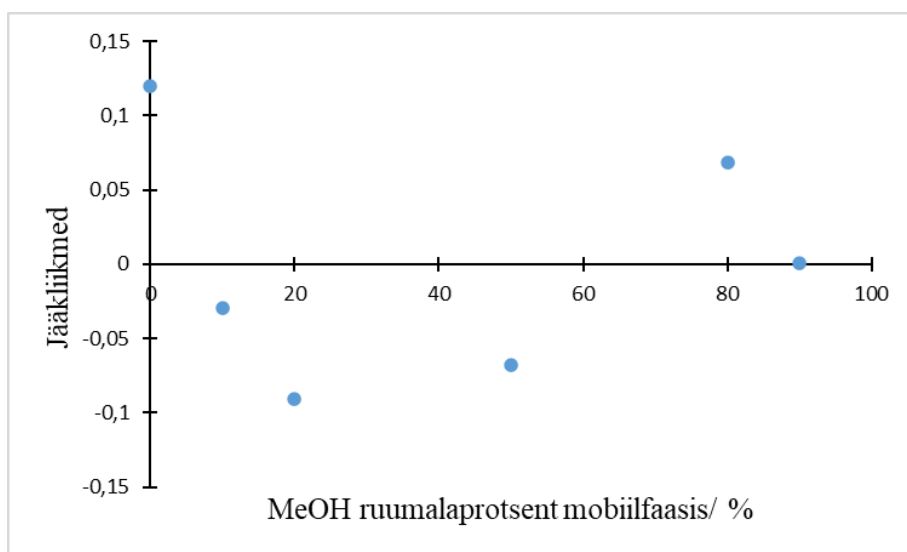
Pilt L5: Soolasillaga kombineeritud elektrood Metrohm 6.0269.100 *EtOH-trode*.



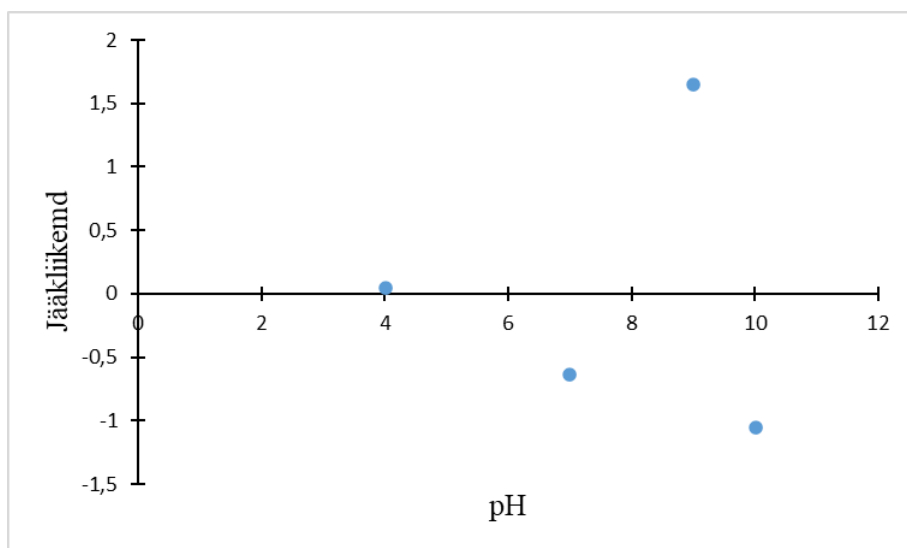
Pilt L6: Soolasillaga kombineeritud elektrood Oakton *pH probe, refillable, flushable PTFE DJ*, 35805-09.



Joonis L1: Ioonse vedeliku [N₂₂₂₅][NTf₂] struktuur.



Joonis L2: Joonis 7 esitatud HCOOH korrelatsiooni jätkliikmete analüüs.

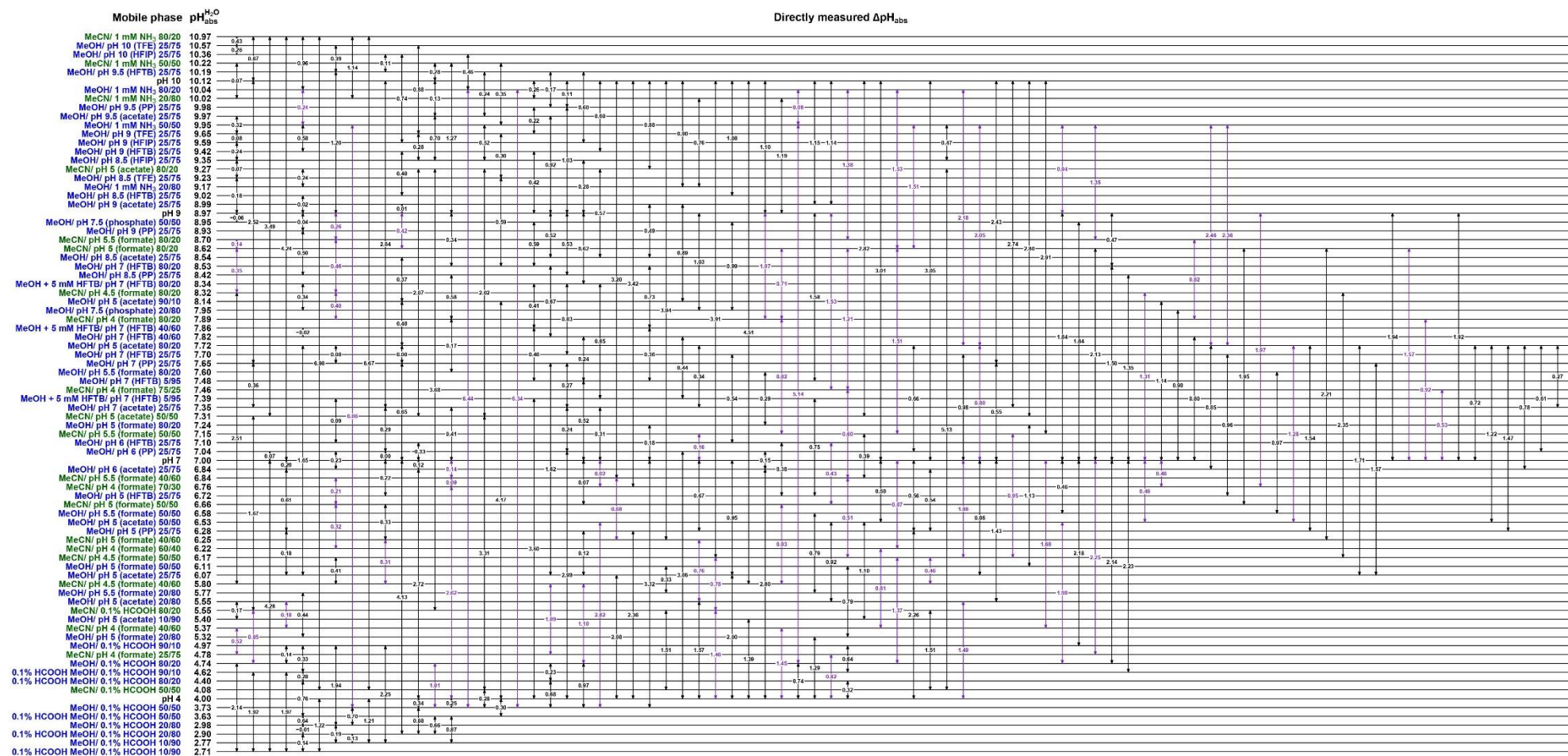


Joonis L3: Joonis 4 esitatud 02865 elektroodi kalibreerimisgraafiku (Keysight) jätkliikmete analüüs.

Tabel L1: Klaaselektrood poolrakkude kalibreerimisel Metrohm 713 pH meeteriga ja Keysight B2987A elektromeeteriga saadud tõusude ja vabaliikmete väärtused.

Kuupäev	Klaaselektrood poolrakk	Tõus / mV	Vabaliige / mV
09.12.2020	EST 0601 (02866)	-58,6	1159,3
09.12.2020	EST 0601 (02864)	-58,6	1158,5
09.12.2020	EST 0601 (03168)	-58,6	1155,5
09.12.2020	EST 0601 (03171)	-58,6	1161,8
17.02.2021	EST 0601 (03171)	-58,3	1155,5
20.04.2022	EST 0601 (03171)	-58,2	-1890,4
09.12.2020	EST 0601 (02865)	-58,6	1160,9
17.02.2021	EST 0601 (02865)	-58,2	1155,6
20.04.2022	EST 0601 (02865)	-58,2	-1892,4

Tabel L2: Kõikide töögruppis tehtud mobiilfaaside pH_{abs}^{H₂O} mõõtmiste tabel. Autori mõõtmised on toodud lilla värviga.



Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks:

Mina, Markus Lahe

1. Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Vedelikkromatograafia mobiilfaaside üldistatud pH väärtused, mille juhendajad on Prof Ivo Leito ja PhD Agnes Heering, reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja 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, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2.1 Üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **25.05.2024** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

3. Olen teadlik, et punktis 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Markus Lahe

25.05.2022