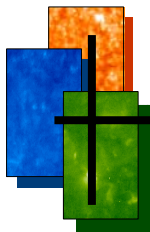


RESULTATS I DISCUSSIÓ





CAPÍTOL II

Estimació de la variació del pH de fases mòbils acetonitril/tampó aquós i metanol/tampó aquós en funció del contingut de modificador orgànic

2.1 INTRODUCCIÓ

El control acurat del pH i la seva correcta mesura a la fase mòbil és fonamental per obtenir bones separacions cromatogràfiques d'anàlits ionitzables, ja que l'estat d'ionització de l'anàlit, i conseqüentment el seu grau de retenció en la columna cromatogràfica, depèn de la seva constant d'acidesa i del pH de la fase mòbil en què es troba dissolt.

El treball descrit en aquest capítol es fonamenta en la investigació duta a terme per Espinosa i col. en què s'estudiava la variació del pH de solucions aquoses amortidores en addicionar MeCN com a modificador orgànic [1]. En aquell treball es plantejava un model incipient que permetia estimar la variació de pH de mescles MeCN/tampó aquós fins al 60% en volum de modificador orgànic, per a diferents tampons (amoníac, àcid ftàlic, àcid acètic, àcid fosfòric i àcid cítric) a una concentració aquosa de solució amortidora de $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Durant el transcurs de la tesi aquest model s'ha anat desenvolupant i validant experimentalment, fins permetre l'estimació del pH per a qualsevol concentració aquosa compresa entre 0.001 i $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. D'aquesta forma es cobreix l'interval de concentracions de solucions tampó més habituals per a les fases mòbils en cromatografia de líquids en fase invertida. A més, s'ha desenvolupat un model anàleg a l'anterior per mescles MeOH/tampó aquós, que permet estimar els valors de pH en aquest tipus de fases mòbils hidroorgàniques que continguin fins a un 80% en volum de MeOH .

En aquest capítol es descriu la metodologia emprada pel desenvolupament d'aquests dos models i per a la seva posterior validació.

2.2 PROCEDIMENT EXPERIMENTAL

2.2.1 APARELLS

Les mesures potenciomètriques de pH en l'estudi de les fases mòbils MeCN/aigua s'han dut a terme amb un elèctrode combinat de vidre Ross Orion 8102 de Thermo Electron Corporation (Waltham, MA, EUA) emprant un pHmetre MicropH 2002 de Crison (Barcelona, Espanya). En el cas de les fases mòbils MeOH/aigua, l'elèctrode emprat ha estat un elèctrode combinat de vidre Crison 5014, unit a un potenciòmetre Crison GLP22. Tots dos elèctrodes, per tal de minimitzar el potencial d'unió líquida, contenen una solució aquosa de KCl de $3.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ que actua com a pont salí. I ambdós pHmetres mesuren el potencial amb una precisió de $\pm 0.1 \text{ mV}$ (± 0.002 unitats de pH). Les solucions a mesurar han estat termostatitzades externament en una cel·la amb camisa d'aigua a $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

2.2.2 REACTIUS

L'acetonitril i el metanol, de qualitat HPLC, han estat subministrats per Merck (Darmstadt, Alemanya), i l'aigua utilitzada ha estat purificada mitjançant l'equip Milli-Q Plus a $18\text{M}\Omega$ de Millipore (Bedford, MA, EUA). Els sistemes amortidors estudiats han estat preparats a partir d'àcid acètic (glacial, per anàlisi, Merck), acetat de sodi (99%, Carlo Erba - Milà, Itàlia-), àcid fosfòric (85%, p.a., Merck), dihidrogenfosfat de potassi (p.a., Merck) hidrogenfosfat de sodi (p.a., Merck), àcid cítric (p.a., Fluka -Steinheim, Alemanya-), dihidrogencitrat de potassi (>99%, Fluka), citrat de sodi (p.a., Merck), amoníac (25%, p.a., Merck) i clorur d'amoni (p.a., Merck), usant àcid clorhídric (25%, p.a., Merck) i hidròxid de potassi (p.a., Panreac -Barcelona, Espanya-) per, quan ha estat necessari, acabar d'ajustar el pH al valor adequat.

2.2.3 PROCEDIMENT EXPERIMENTAL DE MESURA DEL pH

Les concentracions aquoses d'àcid i de base necessàries per aconseguir un determinat pH s'han calculat abans de la preparació de la solució amortidora. Si ha estat necessari, un

cop preparada la solució tampó, el pH s'ha acabat d'ajustar al valor desitjat mitjançant l'addició de petits volums (de l'ordre de μL) de solucions concentrades d'àcid clorhídric o hidròxid de potassi. Les espècies amortidores sòlides s'han assecat a l'estufa a uns 105°C abans de la seva utilització, per tal d'eliminar la humitat que pogués contenir. La mesura del pH s'ha dut a terme amb un elèctrode combinat de vidre, mantenint la solució termostatitzada mitjançant una cel·la amb camisa d'aigua.

2.2.4 CÀLCUL DELS VALORS DE pH

L'interval estudiat de mescles MeCN/aigua i MeOH/aigua ha arribat fins al 60% i 80% (v/v) de modificador orgànic, respectivament. En aquest medi de relativament elevat contingut en aigua i elevada constant dielèctrica (Taula 2.1), l'homoconjugació i la formació de parells iònics pot ser negligida. Per tant, l'equilibri àcid/base que té lloc és similar al que es produeix en medi aquós, i podem seguir els mateixos procediments que s'usen en aigua per calcular el pH d'una solució.

En el càlcul del pH, en l'escala ${}^s\text{pH}$, s'ha usat un programa informàtic desenvolupat pel Dr. Martí Rosés, escrit en Basic, que segueix un procediment similar al descrit per De Levie per a valoracions àcid/base de mescles arbitràries [2]. El programa té en compte el coeficient d'activitat molar per a cada espècie, calculat a partir de la força iònica i els paràmetres A i a_0B de l'equació de Debye-Hückel, així com les constants d'autoprotòlisi (${}^s\text{p}K_{\text{ap}}$) i els valors de les constants d'acidesa de les espècies amortidores (${}^s\text{p}K_{\text{a}}$) per a cadascuna de les mescles MeCN/aigua i MeOH/aigua estudiades. Els valors de pH obtinguts en aquesta escala, poden convertir-se a l'escala ${}^w\text{pH}$ mitjançant el paràmetre δ (Eqs. 1.23 i 1.25-26). A la Taula 2.1 es mostren les propietats d'interès en la mesura del pH d'aquestes mescles hidroorgàniques, i a la Figura 2.1 es representa gràficament la variació de δ en funció de la fracció en volum de solvent orgànic en la mescla.

Taula 2.1 Propietats d'interès a 25°C en la mesura del pH en mescles MeCN/aigua [3] i MeOH/aigua [4,5].

% (v/v)	MeCN					MeOH				
	x_{MeCN}	ϵ_r	A	a_0B	${}^s_pK_{\text{ap}}$	x_{MeOH}	ϵ_r	A	a_0B	${}^s_pK_{\text{ap}}$
0	0.000	76.6	0.528	1.52	14.00	0.000	78.1	0.53	1.50	14.00
10	0.040	73.2	0.566	1.55	14.24	0.047	74.9	0.56	1.53	14.08
20	0.079	70.1	0.604	1.59	14.47	0.100	71.5	0.59	1.57	14.08
30	0.130	66.4	0.655	1.63	14.74	0.160	67.8	0.64	1.61	14.07
40	0.186	62.8	0.712	1.68	15.08	0.229	63.7	0.70	1.66	14.09
50	0.260	58.6	0.791	1.74	15.48	0.308	59.3	0.77	1.72	14.14
60	0.339	54.7	0.877	1.80	15.90	0.400	54.6	0.87	1.79	14.23
70	0.440	50.4	0.992	1.87	16.42	0.509	49.5	1.01	1.88	14.39
80	0.578	45.5	1.156	1.97	17.14	0.640	44.1	1.20	1.99	14.63
90	0.755	40.4	1.378	2.09	17.13	0.800	38.5	1.48	2.13	15.04
100	1.000	35.1	1.707	2.24	34.40	1.000	33.2	1.87	2.31	16.77

x_{MeCN} , x_{MeOH} : fracció molar d'acetonitril o metanol en la mescla; ϵ_r : permitivitat relativa; A i a_0B : paràmetres de l'equació de Debye-Hückel; ${}^s_pK_{\text{ap}}$: constant d'autoprotòlisi de la mescla solvent orgànic/aigua

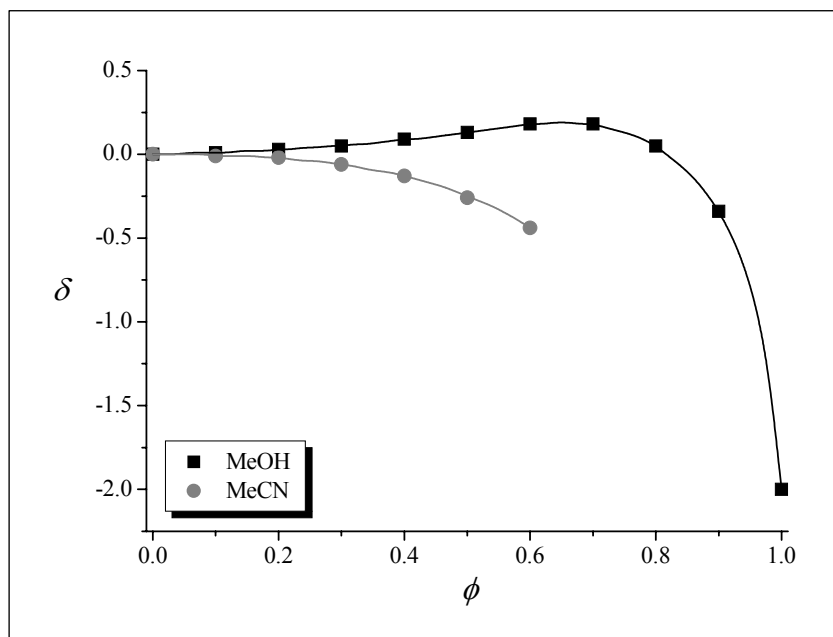


Figura 2.1

Representació gràfica de la variació dels valors de δ en funció de la fracció en volum (ϕ) de MeOH o MeCN en la mescla hidroorgànica.

2.3 ESTIMACIÓ DEL pH EN FASES MÒBILS ACETONITRIL/TAMPÓ **AQUÓS**

2.3.1 VARIACIÓ DEL pK_a DELS ÀCIDS I LES BASES QUE INTEGREN LA SOLUCIÓ **AMORTIDORA DE pH**

En treballs previs a la tesi s'ha observat que els valors de pK_a dels àcids i bases utilitzats per preparar les solucions amortidores de pH varien força linealment en augmentar la fracció de MeCN en la mescla [6-8], especialment si els valors de pK_a es troben expressats en l'escala ${}^s pK_a$. Aquesta variació, fins al 60% en volum de MeCN, es pot descriure aproximadament mitjançant l'equació [1]:

$${}^s pK_a - {}^w pK_a = m_{pK} \phi_{MeCN} \quad (2.1)$$

on ${}^s pK_a$ és el valor de pK_a de l'àcid en la mescla hidroorgànica, ${}^w pK_a$ és el valor de pK_a en aigua, m_{pK} és el valor del pendent, i ϕ_{MeCN} és la fracció en volum de MeCN en la mescla. A la Taula 2.2 es mostren els valors de ${}^s pK_a$ dels àcids estudiats com a solucions amortidores en aquest tipus de mescles, i a la Figura 2.2 la variació d'aquests valors en les escales ${}^s pK_a$ i ${}^w pK_a$ en funció de la composició de la mescla. La conversió entre aquestes dues escales es pot dur a terme mitjançant el paràmetre δ (Eq. 1.26):

$${}^s pK_a - {}^w pK_a = \delta \quad (2.2)$$

Tal i com es pot observar a la Figura 2.2 els valors de m_{pK} són positius pels àcids que no tenen càrrega o neutres (àcid acètic, àcid fosfòric i àcid cítric) i pels àcids amb càrrega negativa o aniònics (dihidrogenfosfat, hidrogenfosfat, dihidrogencitrat, hidrogencitrat), mentre que és negatiu per l'àcid catiònic (amoni).

Aquest comportament de l'amoni coincideix amb el descrit per Pawlak en estudiar l'efecte del solvent en la constant d'acidesa de piridines substituïdes protonades (BH^+ , B: 4-amino-, 2-amino-, 4-metil-, 3-metil-, 2-metil-, 3-hidroxi-, 3-acetil-, i piridina) en mescles MeCN/aigua [9]. En aquest treball es va observar que el ${}^s pK_a$ d'aquests àcids catiònics va disminuint en

augmentar la fracció de MeCN en la mescla, fins arribar a un valor mínim de pK_a corresponent, aproximadament, al 45% (p/p) de solvent orgànic. A continuació, en addicionar més MeCN, el ${}^s pK_a$ tornava a augmentar fins superar el valor de ${}^w pK_a$, cap allà al 80% (p/p) de solvent orgànic. Un comportament anàleg al descrit per Pawlak ha estat observat recentment per Espinosa i col., en relació a l'anilina, piridina, amoníac, etanolamina i trietilamina [6]. Contràriament als àcids catiónics, els àcids neutre i aniònics incrementen el seu valor de pK_a amb la fracció de MeCN [10].

Taula 2.2 Valors de ${}^s pK_a$ dels àcids estudiats com a components de la solució amortidora en mescles MeCN/aigua [1].

Tampó	${}^s pK_a$ (% v/v) de MeCN						
	0	10	20	30	40	50	60
Àcid acètic	4.74	4.94	5.17	5.44	5.76	6.15	6.62
Àcid fosfòric	2.21	2.39	2.62	2.80	3.11	3.42	3.75
Dihidrogenfosfat	7.23	7.40	7.60	7.82	8.08	8.38	8.73
Àcid cítric	3.16	3.31	3.49	3.68	3.90	4.16	4.45
Dihidrogencitrat	4.79	4.95	5.14	5.35	5.60	5.91	6.28
Hidrogencitrat	6.42	6.62	6.85	7.11	7.40	7.74	8.13
Amoni	9.29	9.27	9.21	9.17	9.19	9.21	9.34

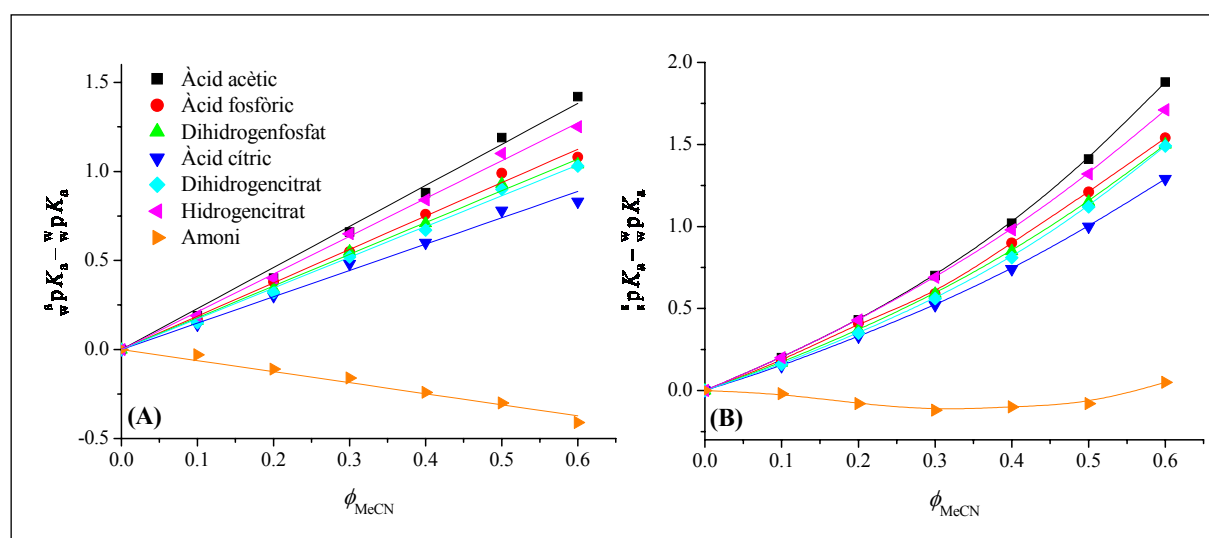


Figura 2.2 Representació gràfica de la variació del pK_a dels sistemes amortidors estudiats en mescles MeCN/aigua en l'escala ${}^s pK_a$ (A) i ${}^w pK_a$ (B).

Aquest comportament diferent dels àcids neutres i aniónics en relació amb els catiónics s'explica segons la teoria establerta per Izmailov i col. [11,12], que relaciona la constant d'acidesa d'un àcid HA de càrrega z en un solvent s (${}^s\text{p}K_a$) amb la constant d'acidesa d'aquest mateix àcid en el buit (${}^{\text{vac}}\text{p}K_{\text{HA}}$), la constant d'acidesa del solvent protonat en el buit (${}^{\text{vac}}\text{p}K_{\text{HS}^+}$), la permitivitat relativa del solvent (${}^s\epsilon_r$) i les energies específiques de solvatació de les diferents espècies que participen en equilibri ($\sum_s {}^s G_{\text{SOLV}}^0$). L'equació es pot escriure com:

$${}^s\text{p}K_a = {}^{\text{vac}}\text{p}K_{\text{HA}} - {}^{\text{vac}}\text{p}K_{\text{HS}^+} - \frac{e^2(z-1)}{2.303r({}^s\epsilon_r)kT} - \frac{\sum_s {}^s G_{\text{SOLV}}^0}{2.303RT} \quad (2.3)$$

on e , k , R i T són la càrrega de l'electró, la constant de Boltzmann i dels gasos ideals, i la temperatura absoluta, respectivament. r és el radi mitjà de totes les espècies iòniques involucrades en equilibri. Per a un àcid neutre o aniónic ($z \leq 0$) el terme electrostàtic $-e^2(z-1)/2.303r({}^s\epsilon_r)kT$ és positiu, i contribueix a l'increment de ${}^s\text{p}K_a$ quan la constant dielèctrica del medi disminueix. Tal i com es mostra a la Taula 2.1, la permitivitat relativa de mescles MeCN/aigua disminueix en augmentar la concentració de solvent orgànic en el medi. Per altra banda, un àcid catiónic ($z = +1$) fa nul el terme electrostàtic, i només la variació de la basicitat del solvent (${}^{\text{vac}}\text{p}K_{\text{HS}^+}$) i els efectes específics de solvatació ($\sum_s {}^s G_{\text{SOLV}}^0/2.303RT$) determinen la variació del ${}^s\text{p}K_a$ en augmentar la fracció de MeCN en la mescla. Per més detalls en l'explicació dels termes de l'Eq. 2.3, consulteu [13].

No entrarem a valorar el complex fenomen de la solvatació preferencial en solvents binaris, segons la qual el solut interacciona preferentment amb un dels components de la mescla binària i, d'aquesta manera, l'esfera de solvatació del solut es troba enriquida en el solvent preferent en relació a la mescla binària no influïda pel solut. A la bibliografia trobem alguns models que impliquen la solvatació preferencial que relacionen el $\text{p}K_a$ d'àcids i bases amb la composició del solvent [10,13], però en el nostre cas són difícils d'aplicar donat el reduït nombre de composicions estudiades.

2.3.2 MODEL DE VARIACIÓ DEL pH AMB LA COMPOSICIÓ DE LA MESCLA ACETONITRIL/TAMPÓ AQUÓS

2.3.2.1 Variació del pH amb àcids forts

La variació del pH d'una solució aquosa preparada a partir d'un àcid monopròtic fort de concentració c_a respon a l'equació:

$${}^w\text{pH} = -\log a_{\text{H}} = -\log c_a - \log {}^w\gamma_{\text{H}} \quad (2.4)$$

on ${}^w\gamma_{\text{H}}$ és el coeficient d'activitat de l'ió hidrogen en solució aquosa. El coeficient d'activitat, com hem vist en el Capítol I, es pot calcular mitjançant l'equació de Debye-Hückel:

$$\log \gamma_{\text{H}} = \frac{-AI^{1/2}}{1 + a_0BI^{1/2}} \quad (2.5)$$

on I és la força iònica de la solució, i A i a_0B són els paràmetres de Debye-Hückel (Taula 2.1). En addicionar MeCN a la solució amortidora aquosa diluïm el tampó. Llavors, si no tenim en compte la contracció del volum que es produeix en mesclar aigua amb un solvent orgànic, la concentració de l'àcid fort passa a ser $\phi_{\text{H}_2\text{O}} c_a$, i podem reescriure l'Eq. 2.4 en una escala pròpia de les mescles hidroorgàniques (${}^s\text{pH}$) com:

$${}^s\text{pH} = -\log c_a - \log \phi_{\text{H}_2\text{O}} - \log {}^s\gamma_{\text{H}} \quad (2.6)$$

on $\phi_{\text{H}_2\text{O}}$ és la fracció en volum d'aigua a la mescla hidroorgànica i ${}^s\gamma_{\text{H}}$ n'és el corresponent coeficient d'activitat. Per tant, la variació del pH es pot escriure com:

$${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH} = -\log \phi_{\text{H}_2\text{O}} - (\log {}^s\gamma_{\text{H}} - \log {}^w\gamma_{\text{H}}) \quad (2.7)$$

La variació en els valors dels coeficients d'activitat és molt petita, donat que l'increment en el paràmetre A de l'Eq. 2.5 (Taula 2.1) en augmentar la fracció de MeCN en la mescla es compensa amb la disminució de la força iònica a causa de l'efecte de dilució. Per exemple, una concentració aquosa inicial d'un àcid fort de $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ presenta un valor de $\log {}^w\gamma_{\text{H}} = -0.11$, i aquesta mateixa solució diluïda al 50% amb MeCN té un $\log {}^s\gamma_{\text{H}} = -0.12$. Per tant, d'ara endavant, no tindrem en compte la contribució de $\Delta\log\gamma_{\text{H}}$.

Si expressem la variació de pH en l'escala ${}^s\text{pH}$ per a un àcid fort, tenim (Eqs. 1.23 i 2.7):

$${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH} = \delta - \log \phi_{\text{H}_2\text{O}} \quad (2.8)$$

En mescles MeCN/aigua fins al 60% (v/v) de solvent orgànic la diferència de pH expressada per l'Eq. 2.8 pren valors que oscil·len entre -0.6 i 0.11, sense mostrar una tendència determinada, el valor mitjà dels quals és 0.05 ± 0.06 . Per aquest motiu, arbitràriament, prenem que la variació de pH d'un àcid fort en addicionar MeCN és nul·la.

2.3.2.2 Variació del pH amb bases fortes

El pH d'una solució preparada amb una base forta depèn de la constant d'autoprotòlisi del medi (K_{ap}), perquè és a través d'aquesta constant ($a_{\text{H}} = K_{\text{ap}}/a_{\text{s}}$ [14]) que es pot relacionar l'activitat de l'ió hidrogen (a_{H}) amb l'activitat de l'ió liat del solvent (a_{s} en general, a_{OH} en aigua). Així, el pH aquós d'una solució que contingui una base forta de concentració c_{b} es pot expressar com:

$${}^w\text{pH} = -\log {}^w K_{\text{ap}} + \log c_{\text{b}} + \log {}^w\gamma_{\text{s}} \quad (2.9)$$

I en addicionar-hi MeCN el pH de la mescla hidroorgànica pot expressar-se com:

$${}^s\text{pH} = -\log {}^s K_{\text{ap}} + \log c_{\text{b}} + \log \phi_{\text{H}_2\text{O}} + \log {}^s\gamma_{\text{s}} \quad (2.10)$$

Si restem l'Eq. 2.9 a la 2.10, i anàlogament al cas d'àcids forts negligim la contribució de $\Delta \log \gamma_s$, la variació de pH és:

$${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH} = \log {}^w K_{\text{ap}} - \log {}^s K_{\text{ap}} + \log \phi_{\text{H}_2\text{O}} \quad (2.11)$$

I si tenim en compte que la contribució de δ sobre el pH i la $\text{p}K_{\text{ap}}$ és equivalent, la variació del pH en l'escala ${}^s\text{pH}$ es pot expressar en termes de:

$${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH} = \log {}^w K_{\text{ap}} - \log {}^s K_{\text{ap}} + \log \phi_{\text{H}_2\text{O}} \quad (2.12)$$

Entre els valors de $({}^s\text{pH} - {}^w\text{pH})$ calculats a partir de l'Eq. 2.12 i la fracció en volum de MeCN (ϕ_{MeCN}) en la mescla hidroorgànica s'estableix la següent relació lineal [1]:

$${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH} = (1.81 \pm 0.03) \phi_{\text{MeCN}} \quad (2.13)$$

segons la qual 1.81 és el pendent de la variació del pH en l'escala ${}^s\text{pH}$ en addicionar MeCN per a una base forta.

2.3.2.3 Variació del pH amb àcids i bases febles

En els estudis desenvolupats [1,15] s'ha observat que la variació dels valors de ${}^s\text{pH}$ en mescles MeCN/tampó aquós en addicionar el solvent orgànic respon a una equació força lineal, anàloga a l'Eq. 2.1:

$${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH} = m_{\text{pH}} \phi_{\text{MeCN}} \quad (2.14)$$

on ${}^w\text{pH}$ és el valor de pH de la solució amortidora aquosa (abans d'afegir-hi el solvent orgànic), ϕ_{MeCN} és la fracció en volum de MeCN en la mescla, i m_{pH} és el coeficient de proporcionalitat entre la variació del pH i els canvis en la composició de la mescla

hidroorgànica. La variació de pH es deu a la variació del pK_a de les espècies amb propietats àcid/base que formen la solució amortidora i a l'efecte de dilució de la solució tampó en addicionar-hi el MeCN. Els valors de m_{pH} depenen de la naturalesa del tampó utilitzat i del valor inicial en aigua de w_pH , tal i com s'exemplifica a la Figura 2.3. Pels àcids aniònics i neutres els valors de pH augmenten en incrementar-se la fracció de modificador orgànic en la mescla hidroorgànica, mentre que pels àcids catiònics s'observa el comportament contrari (excepte en el cas de l'amoniac i per valors elevats de pH en aigua).

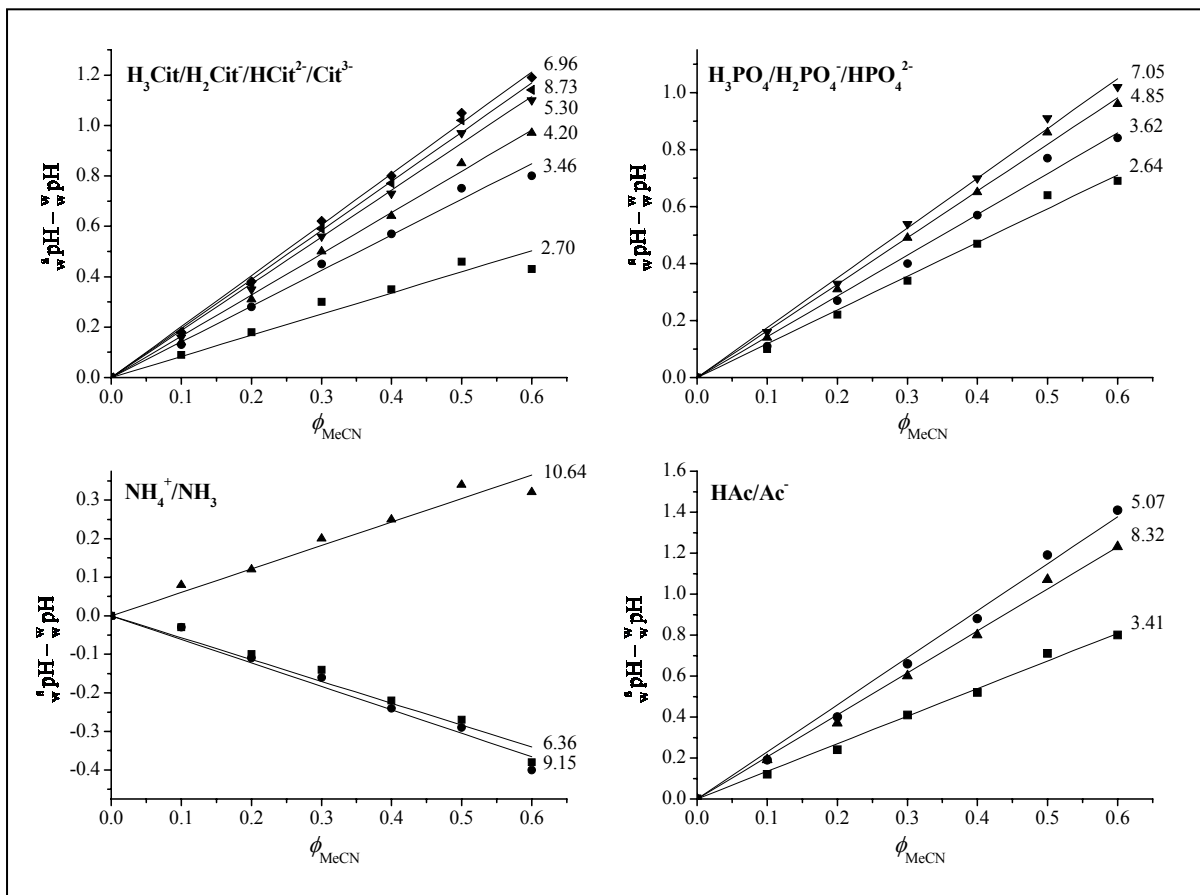


Figura 2.3 Representació gràfica de la variació del pH (${}^s_pH - {}^w_pH$) en funció de la fracció en volum de MeCN (ϕ_{MeCN}) i el pH inicial en aigua (w_pH) per a diferents solucions amortidores de concentració inicial en aigua 0.01 mol·L⁻¹.

La variació dels valors de m_{pH} en funció de w_pH per a un determinat tampó respon a l'equació [1]:

$$m_{\text{pH}} = \frac{a_0 + \sum_{i=1}^n a_i 10^{s(i \text{ }^w\text{pH} - b_i)} + a_{n+1} 10^{s[(n+1) \text{ }^w\text{pH} - b_{n+1}]} }{1 + \sum_{i=1}^n 10^{s(i \text{ }^w\text{pH} - b_i)} + 10^{s[(n+1) \text{ }^w\text{pH} - b_{n+1}]} } \quad (2.15)$$

on el terme a_0 en el numerador i el valor 1 en el denominador predominen sobre la resta de termes a pH molt àcid, quan el pH de la solució està controlat per àcids forts, i a a_0 en mescles MeCN/aigua té un valor assignat de 0. Per contra, el terme $n+1$ predomina a valors molt bàsics de pH, corresponent a solucions de bases fortes. A a_{n+1} li assignem un valor de 1.81. Els termes intermedis prevalen en zones de pH properes a les corresponents a l'equilibri àcid/base conjugada del sistema amortidor, representats pels seus n valors de pK_a . Aquesta equació és semblant a l'utilitzada per ajustar els temps de retenció i l'índex cromatogràfic d'hidrofobicitat (CHI) als valors de ^wpH en l'elució en gradient [16,17]. Una altra equació similar amb només dos termes i $s = 1$ ha estat emprada per ajustar la variació dels valors de ^spH de solucions amortidores d'acetat d'amoni en fases mòbils MeOH/aigua [16].

Els sistemes amortidors estudiats en aquesta tesi per fases mòbils MeCN/aigua han estat:

- ✓ Àcid acètic/acetat (HAc/Ac^-)
- ✓ Àcid cítric/dihidrogenocitrat/hidrogenocitrat/citrat ($\text{H}_3\text{Cit}/\text{H}_2\text{Cit}^-/\text{HCit}^{2-}/\text{Cit}^{3-}$)
- ✓ Àcid fosfòric/dihidrogenfosfat/hidrogenfosfat ($\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$)
- ✓ Amoni/amoniac ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$)

Aquests tampons són els que s'usen més habitualment en cromatografia de líquids en fase invertida. Els tres sistemes primers estan integrats per àcids neutres i aniònics, i el darrer per un àcid catiònic (o base neutra). Val a dir que també es va estudiar la trietilamina com substància amortidora de pH de tipus àcid catiònic, però els resultats experimentals de mesura de pH no concordaven en la mesura desitjable amb els seus corresponents valors estimats.

Per a cada tampó se seleccionava un pH inicial en aigua, i a partir d'aquest valor es calculava la variació del pH al 10, 20, 30, 40, 50 i 60% en volum de MeCN, obtenint així 7 valors de pH que s'ajustaven a l'Eq. 2.14 per tal d'obtenir el valor del pendent m_{pH} . Anomenem *sèrie* a aquests 6 valors de ^spH corresponents a un mateix valor inicial de ^wpH . Per a cada concentració es calculaven un bon nombre de sèries.

L'interval de concentracions estudiades a estat el comprès entre 0.001 i 0.1 mol·L⁻¹, donat que es tracta de les concentracions més habituals en cromatografia de líquids en fase invertida. Concentracions menors a les estudiades presenten una capacitat amortidora molt reduïda, i concentracions més elevades poden introduir una quantitat massa elevada de sals en el sistema cromatogràfic que pugui danyar la bomba o la columna. Les concentracions estudiades, per tots els sistemes amortidors, han estat 0.001, 0.003, 0.005, 0.007, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.0625, 0.075, 0.0875 i 0.1 mol·L⁻¹. Cal tenir en compte que aquests valors fan referència a les concentracions de la solució amortidora en la fase aquosa, abans de la dilució que suposa l'addició d'un determinat volum de solvent orgànic.

S'ha observat que la variació dels paràmetres s , a_i i b_i de l'Eq. 2.15 varien linealment en funció del logaritme decimal de la concentració de la solució amortidora en aigua ($\log c_T$), abans d'addicionar-hi el MeCN. S'ha triat la regressió lineal logarítmica perquè el pH de la solució es troba directament relacionat amb el logaritme de la concentració del tampó. Aquest tipus d'aproximació és millor que no pas els ajustaments directes amb la concentració de la solució amortidora.

2.3.2.3.1 Sistema amortidor de l'àcid acètic

Pel sistema amortidor àcid acètic/acetat s'han calculat 45 sèries de valors de pH, partint de valors de ^wpH compresos aproximadament entre 2.5 i 9. Tenint en compte tot l'interval de concentracions estudiades, això implica que s'han calculat més de 4000 valors de pH. Per aquest sistema amortidor monoprotic l'equació general del nostre model (Eq. 2.15) esdevé:

$$m_{\text{pH(HA)}} = \frac{a_1 10^{s(^w\text{pH}-b_1)} + 1.81 \cdot 10^{s(2^w\text{pH}-b_2)}}{1 + 10^{s(^w\text{pH}-b_1)} + 10^{s(2^w\text{pH}-b_2)}} \quad (2.15a)$$

Si representem tots els valors de m_{pH} obtinguts (Eq. 2.14), i els ajustem a l'Eq. 2.15a, obtenim la representació que es mostra a la Figura 2.4. Els valors s , a_i i b_i de tres concentracions significatives i els corresponents paràmetres estadístics de l'ajustament a l'Eq. 2.15a es troben detallats a la Taula 2.3. El paràmetre a_0 de l'Eq. 2.15, que com ja s'ha dit anteriorment es

correspon al valor estimat de m_{pH} per a un àcid fort, té un valor nul a l'Eq. 2.15a ($a_0 \approx 0.00$), i el valor 1.81 al numerador és el valor estimat de m_{pH} per a una base forta ($a_2 \approx 1.81$). Aquestes consideracions relatives a $a_0 \approx 0.00$ i $a_{n+1} \approx 1.81$ són aplicables a tots els sistemes amortidors estudiats. a_1 és el valor màxim de m_{pH} en solucions d'àcid acètic/acetat, i s és un paràmetre d'ajustament relacionat amb el pendent de les transicions entre els diferents valors de a_i . b_1 és el valor de ${}^w\text{pH}$ corresponent al punt d'inflexió de la corba ascendent de la representació, i equival al valor de ${}^w\text{pH}$ d'una solució que només contingui àcid acètic. $b_2 - b_1$ fa referència al valor de ${}^w\text{pH}$ corresponent al punt d'inflexió de la corba descendent, i és el valor de ${}^w\text{pH}$ d'una solució que només contingui acetat.

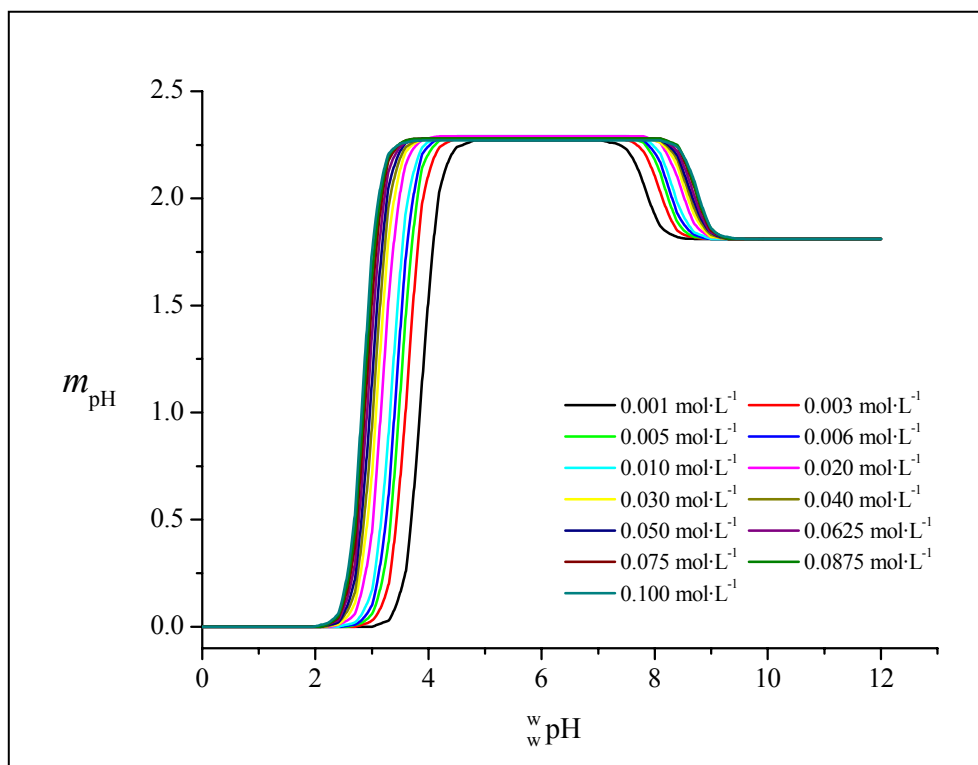


Figura 2.4 Representació de la variació dels valors de m_{pH} de les sèries estudiades del sistema amortidor àcid acètic/acetat en funció del ${}^w\text{pH}$ i la concentració inicial en aigua del tampó.

Els paràmetres s , a_1 , b_1 i $b_2 - b_1$ presenten una variació força lineal en ser representats en funció del logaritme decimal de la concentració de la solució tampó aquosa, abans

d'addicionar-hi el MeCN, tal i com es mostra a la Taula 2.4. a_1 és pràcticament constant per a totes les concentracions estudiades.

Taula 2.3 Paràmetres d'ajustament de l'Eq. 2.15a pel sistema amortidor de l'àcid acètic.

Paràmetre	Àcid acètic/acetat		
	0.001 mol·L ⁻¹	0.01 mol·L ⁻¹	0.1 mol·L ⁻¹
s	3.06	3.07	3.48
a_0	*0.00	*0.00	*0.00
a_1	2.27	2.29	2.27
a_2	*1.81	*1.81	*1.81
b_1	3.89	3.36	2.85
b_2	11.73	11.68	11.59
b_2-b_1	7.84	8.32	8.74
N	45	45	45
SD	0.021	0.017	0.014
r^2	0.998	0.998	0.998

*: paràmetres fixats en fer l'ajustament

N : nombre de valors de m_{pH} usats en l'ajustament

SD: desviació estàndard de l'ajustament

r^2 : coeficient de correlació de l'ajustament

Taula 2.4 Variacions lineals dels paràmetres s , a_i i b_i de l'Eq. 2.15a pel sistema amortidor de l'àcid acètic en funció del logaritme de la concentració del tampó (c_T).

Paràmetre	Àcid acètic/acetat		
	Equació	N	SD
s	$0.20 \log c_T + 3.56$	13	0.085
a_0	0.00	-	-
a_1	2.28	13	0.007
a_2	1.81	-	-
b_1	$-0.52 \log c_T + 2.33$	13	0.005
b_2-b_1	$0.45 \log c_T + 9.20$	13	0.012

2.3.2.3.2 Sistema amortidor de l'àcid cítric

Pel sistema amortidor àcid cítric/dihidrogencitrat/hidrogencitrat/citrat s'han calculat més d'un centenar de sèries de valors de pH, partint de valors de w_{pH} compresos aproximadament entre 2.5 i 8. Així, doncs, per tal de cobrir tot l'interval de concentracions estudiades s'han calculat més de 11000 valors de pH. Per aquest sistema amortidor tripròtic l'equació general del nostre model (Eq. 2.15) esdevé:

$$m_{\text{pH}(\text{H}_3\text{A})} = \frac{a_1 10^{s(\text{pH}-b_1)} + a_2 10^{s(2\text{pH}-b_2)} + a_3 10^{s(3\text{pH}-b_3)} + 1.81 \cdot 10^{s(4\text{pH}-b_4)}}{1 + 10^{s(\text{pH}-b_1)} + 10^{s(2\text{pH}-b_2)} + 10^{s(3\text{pH}-b_3)} + 10^{s(4\text{pH}-b_4)}} \quad (2.15b)$$

on a_1 fa referència al pendent m_{pH} de solucions d'àcid cítric/dihidrogenicitrat, a_2 a dihidrogenicitrat/hidrogenicitrat i a_3 a hidrogenicitrat/citrat. Donat l'elevat nombre de variables existents en aquesta equació (s , a_1 , a_2 , a_3 , b_1 , b_2 , b_3 i b_4 ; $a_0 \approx 0.00$ i $a_4 \approx 0.00$), el valor del paràmetre b_4 ha estat fixat per a cada concentració de solució amortidora abans del procés d'ajustament a l'Eq. 2.15b. Aquest paràmetre pot calcular-se amb facilitat, donat que $b_4 - b_3$ coincideix amb el valor de pH corresponent a solucions que només continguin citrat. De la mateixa manera, $b_3 - b_2$ correspon a solucions que només continguin hidrogenicitrat, $b_2 - b_1$ a dihidrogenicitrat i b_1 a àcid cítric. La representació gràfica de les corbes de variació de m_{pH} a diferents concentracions i valors de pH es mostra a la Figura 2.5, i els valors s , a_i i b_i de tres concentracions significatives i els corresponents paràmetres estadístics de l'ajustament a l'Eq. 2.15b es troben detallats a la Taula 2.5.

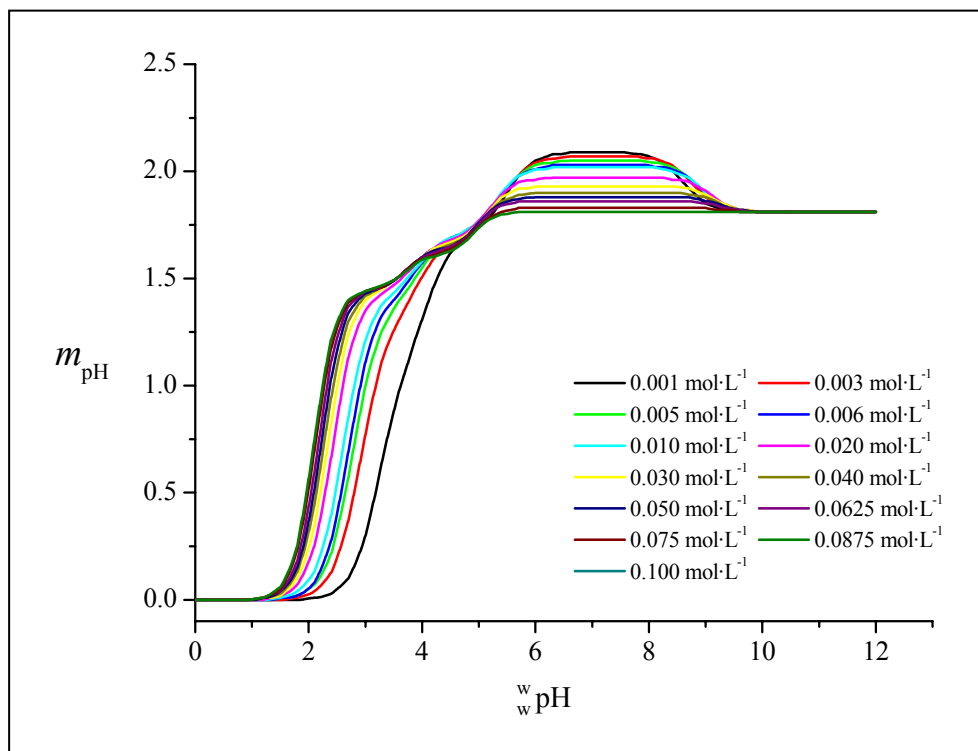


Figura 2.5 Representació de la variació dels valors de m_{pH} de les sèries estudiades del sistema amortidor de l'àcid cítric en funció del pH i la concentració inicial en aigua del tampó.

Els paràmetres s , a_i i $b_{n+1}-b_n$ presenten una variació força lineal en funció del logaritme decimal de la concentració de la solució tampó aquosa, abans d'addicionar-hi el MeCN, tal i com es mostra a la Taula 2.6.

Taula 2.5 Paràmetres d'ajustament de l'Eq. 2.15b pel sistema amortidor de l'àcid cítric.

Àcid cítric/dihidrogencitrat/hidrogencitrat/citrat			
Paràmetre	0.001 mol·L ⁻¹	0.01 mol·L ⁻¹	0.1 mol·L ⁻¹
s	1.87	1.94	2.40
a_0	*0.00	*0.00	*0.00
a_1	1.09	1.42	1.45
a_2	1.71	1.70	1.61
a_3	2.09	2.02	1.80
a_4	*1.81	*1.81	*1.81
b_1	3.23	2.61	2.06
b_2	7.33	6.54	5.74
b_3	12.83	11.83	10.61
b_4	*21.44	*20.78	*19.96
b_2-b_1	4.10	3.93	3.68
b_3-b_2	5.50	5.29	4.87
b_4-b_3	8.61	8.95	9.35
N	112	118	122
SD	0.003	0.004	0.004
r^2	1.000	1.000	1.000

*: paràmetres fixats en fer l'ajustament
 N : nombre de valors de m_{pH} usats en l'ajustament
 SD: desviació estàndard de l'ajustament
 r^2 : coeficient de correlació de l'ajustament

Taula 2.6 Variacions lineals dels paràmetres s , a_i i b_i de l'Eq. 2.15b pel sistema amortidor de l'àcid cítric en funció del logaritme de la concentració del tampó (c_T).

Àcid cítric/dihidrogencitrat/hidrogencitrat/citrat			
Paràmetre	Equació	N	SD
s	$0.29 \log c_T + 2.59$	13	0.067
a_0	0.00	-	-
a_1	$0.14 \log c_T + 1.63$	13	0.057
a_2	$-0.06 \log c_T + 1.56$	13	0.015
a_3	$-0.16 \log c_T + 1.67$	13	0.027
a_4	1.81	-	-
b_1	$-0.58 \log c_T + 1.47$	13	0.015
b_2-b_1	$-0.21 \log c_T + 3.47$	13	0.014
b_3-b_2	$-0.34 \log c_T + 4.58$	13	0.054
b_4-b_3	$0.38 \log c_T + 9.72$	13	0.030

2.3.2.3.3 Sistema amortidor de l'àcid fosfòric

En el càlcul dels valors de pH del sistema amortidor de l'àcid fosfòric només hem tingut en compte la contribució de l'àcid fosfòric, del dihidrogenfosfat i de l'hidrogenfosfat, sense comptar amb l'efecte del fosfat. Aquesta decisió ha estat motivada per l'absència en la bibliografia de valors de ${}^s_p K_{a_3}$ en mescles MeCN/aigua per a aquest àcid, la baixa solubilitat del fosfat a fraccions elevades de MeCN en la mescla, i la manca d'estabilitat de les columnes cromatogràfiques tradicionals de suport de sílice a valors tan bàsics de pH. D'aquesta forma, els valors calculats de pH seran més fiables com més contribució en el sistema amortidor tinguin les espècies àcid fosfòric, dihidrogenfosfat i, en menor mida, hidrogenfosfat. Per desenvolupar el model de variació del pH en aquest sistema amortidor s'han calculat per a cada concentració els valors de m_{pH} compresos, aproximadament, entre ${}^w\text{pH}$ 2 i 9.5. En total, doncs, s'han calculat més de 7500 valors de pH.

L'aplicació del model (Eq. 2.15) al cas particular del sistema de l'àcid fosfòric (considerat dipròtic) dóna lloc a la següent equació:

$$m_{\text{pH}(\text{H}_2\text{A})} = \frac{a_1 10^{s({}^w\text{pH}-b_1)} + a_2 10^{s(2{}^w\text{pH}-b_2)} + 1.81 \cdot 10^{s(3{}^w\text{pH}-b_3)}}{1 + 10^{s({}^w\text{pH}-b_1)} + 10^{s(2{}^w\text{pH}-b_2)} + 10^{s(3{}^w\text{pH}-b_3)}} \quad (2.15c)$$

Anàlogament a les consideracions realitzades pel sistema de l'àcid cítric, per tal d'aconseguir un millor ajust en el procés iteratiu de l'Eq. 2.15c els paràmetres b_3 i b_2 han estat fixats. Podem calcular el valor d'aquests paràmetres tenint en compte que b_3-b_2 es correspon al valor de ${}^w\text{pH}$ de solucions que només continguin hidrogenfosfat, b_2-b_1 a dihidrogenfosfat i b_1 a àcid fosfòric. La Figura 2.6 i la Taula 2.7 mostren que per concentracions aquoses del tampó superior a $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ el valor de a_1 és major que el de a_2 , fenomen que podria ser atribuïble a la impossibilitat de considerar la contribució de l'espècie fosfat al sistema amortidor de l'àcid fosfòric.

A la Taula 2.8 es mostra la variació lineal dels paràmetres s , a_i i $b_{n+1}-b_n$ en funció del logaritme decimal de la concentració de la solució tampó aquosa, abans d'addicionar-hi el MeCN.

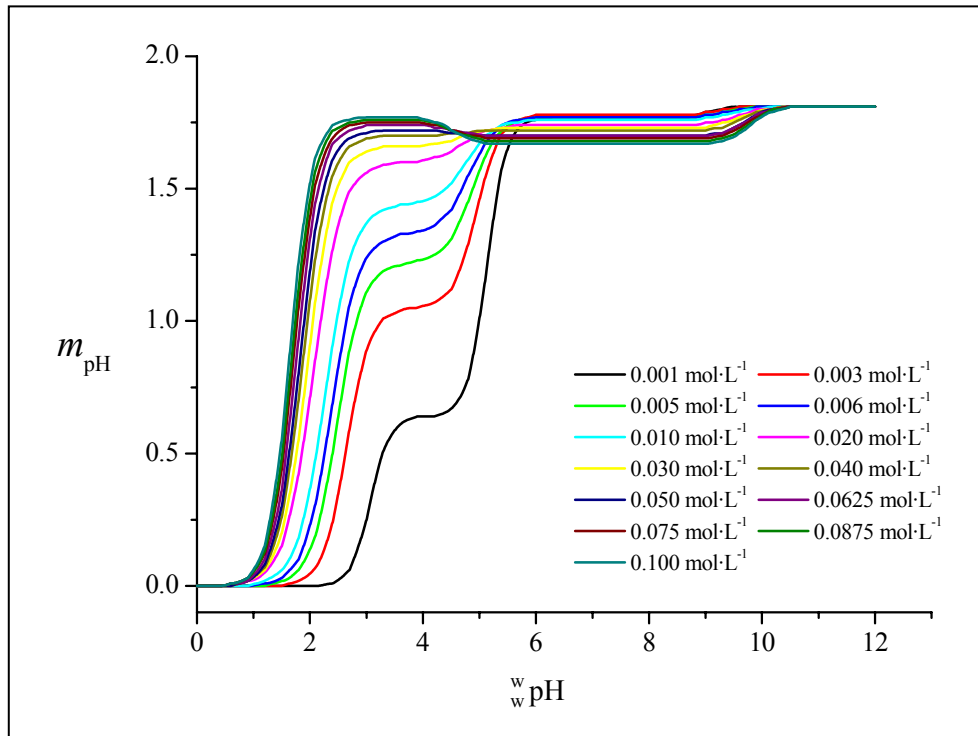


Figura 2.6 Representació de la variació dels valors de m_{pH} de les sèries estudiades del sistema amortidor de l'àcid fosfòric en funció del ${}^w\text{pH}$ i la concentració inicial en aigua del tampó.

Taula 2.7 Paràmetres d'ajustament de l'Eq. 2.15c pel sistema amortidor de l'àcid fosfòric.

Paràmetre	Àcid fosfòric/dihidrogenfosfat/hidrogenfosfat		
	0.001 mol·L ⁻¹	0.01 mol·L ⁻¹	0.1 mol·L ⁻¹
s	2.60	1.80	2.26
a_0	*0.00	*0.00	*0.00
a_1	0.64	1.44	1.77
a_2	1.77	1.76	1.67
a_3	*1.81	*1.81	*1.81
b_1	3.07	2.27	1.65
b_2	*8.20	*7.04	*6.18
b_3	*17.26	*16.51	*15.98
b_2-b_1	5.13	4.77	4.53
b_3-b_2	9.06	9.47	9.80
N	54	60	81
SD	0.008	0.014	0.021
r^2	1.000	0.997	0.995

*: paràmetres fixats en fer l'ajustament

N : nombre de valors de m_{pH} usats en l'ajustament

SD: desviació estàndard de l'ajustament

r^2 : coeficient de correlació de l'ajustament

Taula 2.8 Variacions lineals dels paràmetres s , a_i i b_i de l'Eq. 2.15c pel sistema amortidor de l'àcid fosfòric en funció del logaritme de la concentració del tampó (c_T).

Àcid fosfòric/dihidrogenfosfat/hidrogenfosfat			
Paràmetre	Equació	N	SD
s	$-0.04 \log c_T + 1.99$	13	0.243
a_0	0.00	-	-
a_1	$0.53 \log c_T + 2.40$	13	0.086
a_2	$-0.06 \log c_T + 1.63$	13	0.015
a_3	1.81	-	-
b_1	$-0.69 \log c_T + 0.93$	13	0.036
b_2-b_1	$-0.29 \log c_T + 4.22$	13	0.022
b_3-b_2	$0.36 \log c_T + 10.18$	13	0.014

2.3.2.3.4 Sistema amortidor de l'amoni

Pel sistema amortidor de l'amoni/amoniac es poden fer les mateixes consideracions que pel de l'àcid acètic/acetat, amb l'excepció que es tracta d'un àcid de tipus catiònic i, conseqüentment, els pendents m_{pH} prenen valors negatius.

La variació del pendent m_{pH} en funció de la concentració del sistema amortidor i el pH inicial en solució aquosa es mostren a la Figura 2.7, els paràmetres d'ajustament a l'Eq. 2.15a a la Taula 2.9 i la relació lineal dels paràmetres en funció del logaritme de la concentració aquosa, a la Taula 2.10.

Taula 2.9 Paràmetres d'ajustament de l'Eq. 2.15a pel sistema amortidor de l'amoni.

Paràmetre	Amoni/amoniac		
	0.001 mol·L ⁻¹	0.01 mol·L ⁻¹	0.1 mol·L ⁻¹
s	3.19	3.22	3.60
a_0	*0.00	*0.00	*0.00
a_1	-0.58	-0.60	-0.59
a_2	*1.81	*1.81	*1.81
b_1	6.23	5.73	5.31
b_2	16.35	16.38	16.47
b_2-b_1	10.12	10.65	11.16
N	45	45	45
SD	0.025	0.020	0.018
r^2	0.998	0.998	0.998

*: paràmetres fixats en fer l'ajustament
 N : nombre de valors de m_{pH} usats en l'ajustament
 SD: desviació estàndard de l'ajustament
 r^2 : coeficient de correlació de l'ajustament

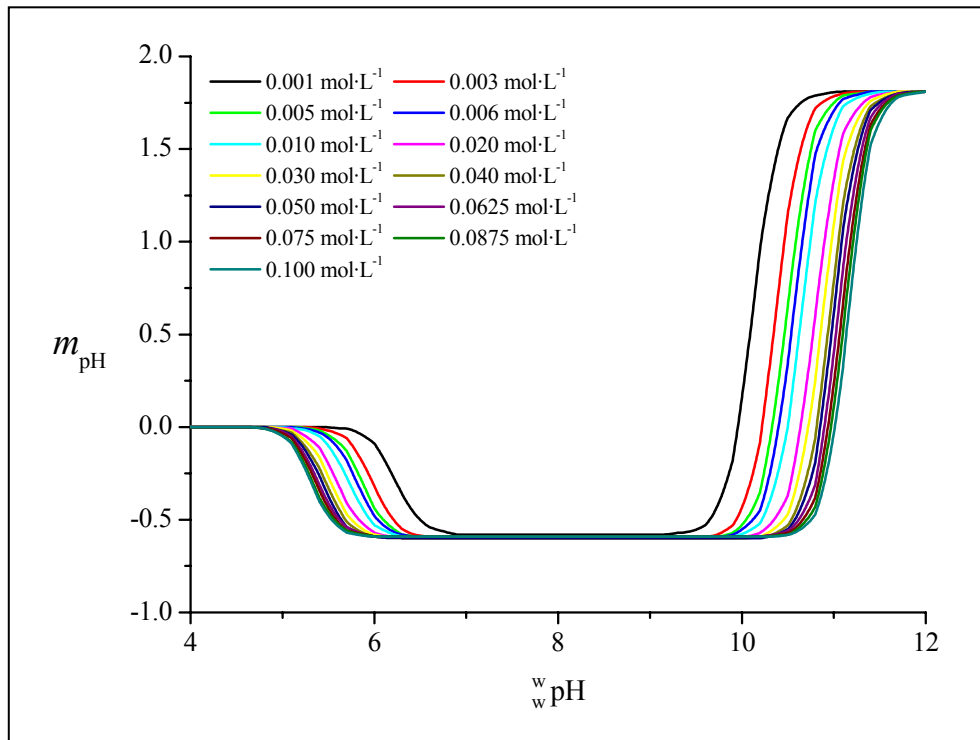


Figura 2.7 Representació de la variació dels valors de m_{pH} de les sèries estudiades del sistema amortidor amoni/amoníac en funció del ${}^w\text{pH}$ i la concentració inicial en aigua del tampó.

Taula 2.10 Variacions lineals dels paràmetres s , a_i i b_i de l'Eq. 2.15a pel sistema amortidor de l'amoni en funció del logaritme de la concentració del tampó (c_T).

Amoni/amoníac			
Paràmetre	Equació	N	SD
s	$0.20 \log c_T + 3.71$	13	0.086
a_0	0.00	-	-
a_1	-0.60	13	0.007
a_2	1.81	-	-
b_1	$-0.45 \log c_T + 4.84$	13	0.014
$b_2 - b_1$	$0.52 \log c_T + 11.67$	13	0.005

2.3.3 AVALUACIÓ EXPERIMENTAL DEL MODEL DE VARIACIÓ DEL pH

Per tal d'avaluar el model d'estimació de la variació del pH de mescles MeCN/tampó aquós amb la fracció de solvent orgànic en la mescla hidroorgànica, s'ha mesurat el ^s_wpH de diferents sistemes amortidors de diferent concentració, composició i ^w_wpH . Aquests valors mesurats s'han comparat amb els valors de pH estimats seguint el model proposat. Per tal d'estimar la variació del pH s'ha de calcular primer el valor dels paràmetres s , a_i i b_i en funció de la concentració del sistema amortidor en fase aquosa, abans de mesclar-lo amb el MeCN (Taulas 2.4, 2.6, 2.8 i 2.10). A continuació, un cop fixats aquests paràmetres, s'estima el valor de m_{pH} en funció del ^w_wpH inicial de la solució amortidora aquosa (Eq. 2.15). Finalment, mitjançant el valor calculat del pendent m_{pH} , podem estimar el valor de ^s_wpH corresponent a qualsevol mescla MeCN/tampó aquós que contingui fins a un 60% en volum de modificador orgànic (Eq. 2.14). A la Figura 2.8 es mostra un esquema d'aquest procés.

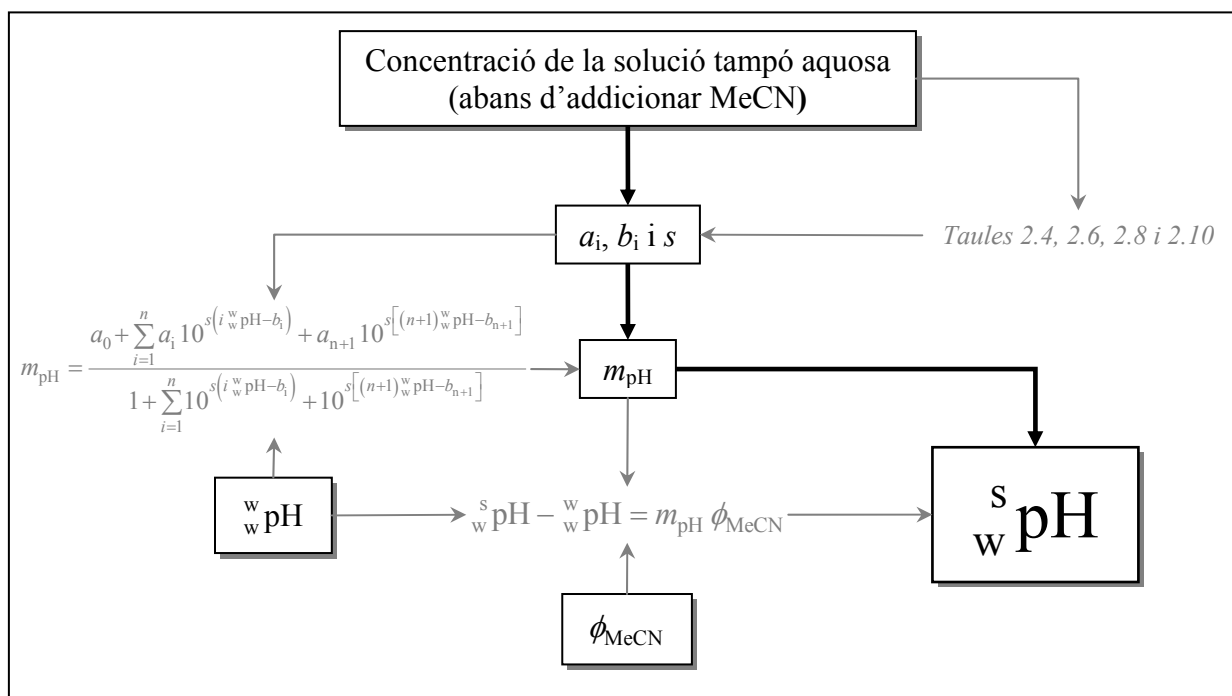


Figura 2.8 Esquema del procés d'estimació dels valors de pH en fases mòbils MeCN/tampó aquós.

La Figura 2.9 representa gràficament els valors estimats de ^s_wpH , a l'eix d'ordenades, i els seus corresponents valors mesurats de ^w_wpH , a l'eix d'abscisses, per a tots els sistemes

amortidors estudiats. Si la correspondència entre els dos grups de valors fos total, tots els punts de les representacions es trobarien situats sobre la línia de pendent unitari i nul·la ordenada a l'origen, que també es troba representada a la figura. Observem que, en línies generals, hi ha una bona concordança entre els valors experimentals de pH, els mesurats i la recta de pendent 1 i ordenada a l'origen 0.

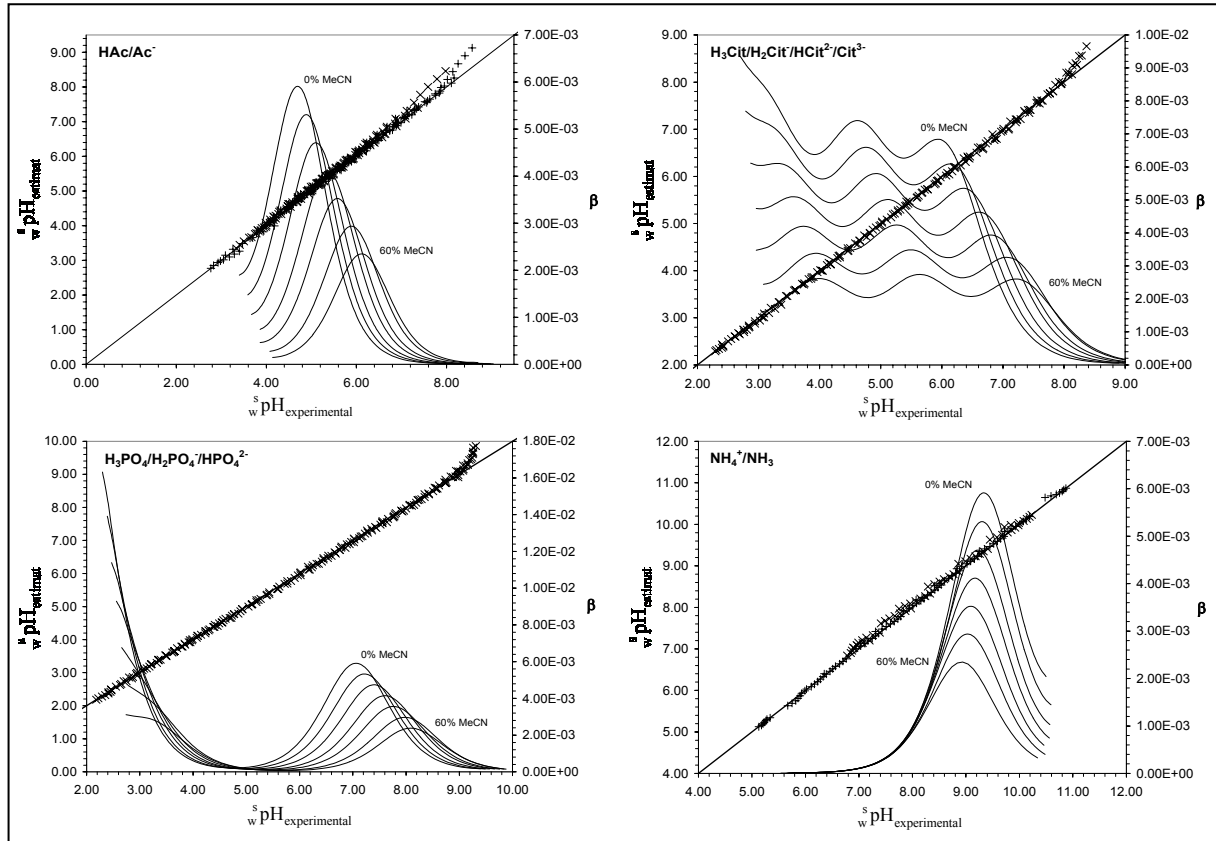


Figura 2.9 Representació dels valors estimats i mesurats de pH pels sistemes amortidors estudiats. També es mostra una línia recta de pendent 1 i nul·la ordenada a l'origen, i la variació de la capacitat amortidora a 0, 10, 20, 30, 40, 50 i 60% (v/v) de MeCN corresponents a una concentració inicial del tampó en aigua de 0.01 mol·L⁻¹. Els símbols per a les concentracions aquoses inicials de solució amortidora són: (*) 0.001 mol·L⁻¹, (×) 0.01 mol·L⁻¹ i (+) 0.1 mol·L⁻¹.

A la Figura 2.9 també es mostra la *capacitat amortidora* (β), que ens indica la mesura quantitativa de l'acció amortidora d'una determinada solució tampó. Es calcula amb l'equació diferencial següent [14,18]:

$$\beta = \frac{dc_b}{d(\text{pH})} \tag{2.16}$$

és a dir, la quantitat de base forta (expressada en equivalents) necessària per produir un canvi d'una unitat en el pH inicial de la solució amortidora. Aquesta pot ser calculada fàcilment amb l'algoritme usat per determinar el pH de la solució amortidora, només calculant la variació del pH del tampó quan s'augmenta en una petita quantitat (p.ex. 0.1%) la concentració de la base conjugada (c_b). La capacitat amortidora d'un protòlit és màxima quan la concentració de la seva base és igual a la concentració de l'àcid conjugat. A la Figura 2.9 podem observar que la capacitat amortidora en les mescles hidroorgàniques estudiades disminueix en augmentar la fracció de MeCN, degut a l'efecte de dilució en addicionar el solvent orgànic i la conseqüent disminució de la concentració del tampó. Per altra banda, l'addició de MeCN produeix un desplaçament dels valors màxims de la capacitat amortidora cap a valors més bàsics de ^spH pels àcids neutres i aniònics (HAc/Ac^- , $\text{H}_3\text{Cit}/\text{H}_2\text{Cit}^-$, $\text{H}_2\text{Cit}^-/\text{HCit}^{2-}$, $\text{HCit}^{2-}/\text{Cit}^{3-}$, $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{PO}_4^-$, $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$), i cap a valors més àcids de ^spH pel sistema amortidor de tipus àcid catiònic ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$). També cal destacar pel sistema amortidor de l'àcid fosfòric l'ampli interval de baixa capacitat amortidora comprès entre el primer i el segon $\text{p}K_a$, al voltant de ^wpH 5, i pel sistema de l'àcid cítric l'ampli interval d'elevada capacitat amortidora fins, aproximadament, a ^wpH 7.

Pel sistema amortidor de l'àcid acètic la màxima diferència entre els valors de pH estimats i els mesurats s'observa a l'interval més bàsic ($^s\text{pH} > 7.5$), probablement degut a l'escassa capacitat amortidora que presenta aquest tampó en aquest interval de pH. Tal i com s'ha comentat anteriorment, el valor màxim de capacitat amortidora té lloc quan el pH és igual al $\text{p}K_a$, i el $^w\text{p}K_a$ de l'àcid acètic és 4.74 i el $^s\text{p}K_a$ al 60% de MeCN és 6.16. Com a norma general, se sol considerar que un sistema amortidor presenta una bona capacitat reguladora fins a valors de pH una unitat superior i inferior del corresponent valor de $\text{p}K_a$ de l'àcid que la integra.

La correspondència entre els valors estimats i mesurats de ^spH en el sistema amortidor és realment bona per totes les sèries de pH fins a valors de ^wpH al voltant de 8. Per sobre d'aquest valor de pH, quan disminueix la capacitat amortidora del sistema, els valors de pH

mesurats potenciomètricament són lleugerament inferiors als estimats. Aquesta tendència va fent-se més acusada a mesura que augmenta la fracció de MeCN en la mescla hidroorgànica.

El sistema amortidor de l'àcid fosfòric presenta una àmplia concordança entre els valors estimats de ${}^s_w\text{pH}$ i els valors experimentals, si bé és cert que s'observa una certa dispersió a valors de ${}^s_w\text{pH}$ superiors a 9, probablement deguda a la contribució de l'espècie fosfat que nosaltres no hem tingut en compte en el desenvolupament del model.

En tots els casos comentats fins ara, malgrat la bona correspondència dels valors de pH, s'observen desviacions positives a la franja alta dels valors bàsics de pH. Aquest fenomen ha estat atribuït a l'absorció de CO_2 ambiental per part de la solució tampó.

Pel tampó amoni/amoníac observem una concordança satisfactòria entre els valors estimats i mesurats de ${}^s_w\text{pH}$. Les majors desviacions, encara que poc significatives, es produeixen a fraccions elevades de MeCN en la mescla, probablement degudes a la volatilitat de l'amoníac. A més, s'ha de tenir en compte que la variació dels valors de ${}^s_w\text{p}K_a$ i ${}^s_w\text{pH}$ en augmentar la fracció de MeCN pels tampons de tipus àcid catiónic (BH^+/BH) són menys propers a la linealitat que els de tipus àcid neutre o aniónic (HA/A^- , $\text{HA}^-/\text{A}^{2-}$, $\text{HA}^{2-}/\text{A}^{3-}$).

2.4 ESTIMACIÓ DEL pH EN FASES MÒBILS METANOL/TAMPÓ AQUÓS

2.4.1 VARIACIÓ DEL pK_a DELS ÀCIDS I LES BASES QUE INTEGREN LA SOLUCIÓ AMORTIDORA DE pH

En mescles acetonitril/aigua s'ha vist que la variació dels valors de pK_a dels àcids i les bases que integren la solució amortidora de pH és lineal en funció de la fracció de d'acetonitril en la mescla hidroorgànica (Eq. 2.1). En dur a terme un estudi anàleg en mescles metanol/aigua s'ha observat que la variació del pK_a en funció de la fracció en volum de metanol no és tan lineal com en el cas del metanol. A la Taula 2.11 es troben els valors de ${}^s pK_a$ pels sistemes amortidors estudiats, i a la Figura 2.10 la representació gràfica de la variació del pK_a (${}^s pK_a - {}^w pK_a$) en funció de la fracció en volum de metanol. La conversió entre l'escala ${}^s pK_a$ i la ${}^w pK_a$ es pot dur a terme mitjançant el valor δ .

Taula 2.11 Valors de ${}^s pK_a$ dels àcids estudiats com a components de la solució amortidora en mescles MeOH/aigua [19].

Tampó	${}^s pK_a$ (% v/v) de MeOH					
	0	20	40	50	60	80
Àcid acètic	4.76	5.02	5.34	5.53	5.74	6.41
Àcid fosfòric	2.11	2.60	3.00	3.22	3.50	4.25
Dihidrogenfosfat	7.20	7.52	7.95	8.23	8.57	9.53
Àcid cítric	3.13	3.41	3.75	3.94	4.12	4.72
Dihidrogencitrat	4.76	5.09	5.44	5.67	5.92	6.59
Hidrogencitrat	6.40	6.80	7.30	7.53	7.78	8.55
Amoni	9.24	9.08	8.88	8.76	8.64	8.58

Així, s'ha proposat una nova equació que descriu millor aquest comportament curvilini de la variació del pK_a pels tampons estudiats:

$${}^s pK_a - {}^w pK_a = m_{pK} \phi_{MeOH}^{d_{pK}} \quad (2.17)$$

on ϕ_{MeOH} és la fracció en volum de metanol en la mescla, i m_{pK} i d_{pK} són paràmetres empírics d'ajustament. m_{pK} ha de ser positiu per àcids neutres (acètic, fosfòric, cítric) i aniónics

(dihidrogenfosfat, dihidrogencitrat, hidrogencitrat) i negatiu per l'àcid catiònic (amoni), donat que el pK_a dels àcids neutres i aniònics augmenta amb la fracció de metanol mentre que per l'àcid catiònic, disminueix. Els valors dels paràmetres m_{pK} i d_{pK} pels sistemes estudiats es troben a la Taula 2.12. El fonament d'aquestes tendències ja ha estat explicat en el cas de mescles acetonitril/aigua. Anàlogament al cas de l'acetonitril, la variació del tercer valor de pK_a de l'àcid fosfòric no s'ha estudiat.

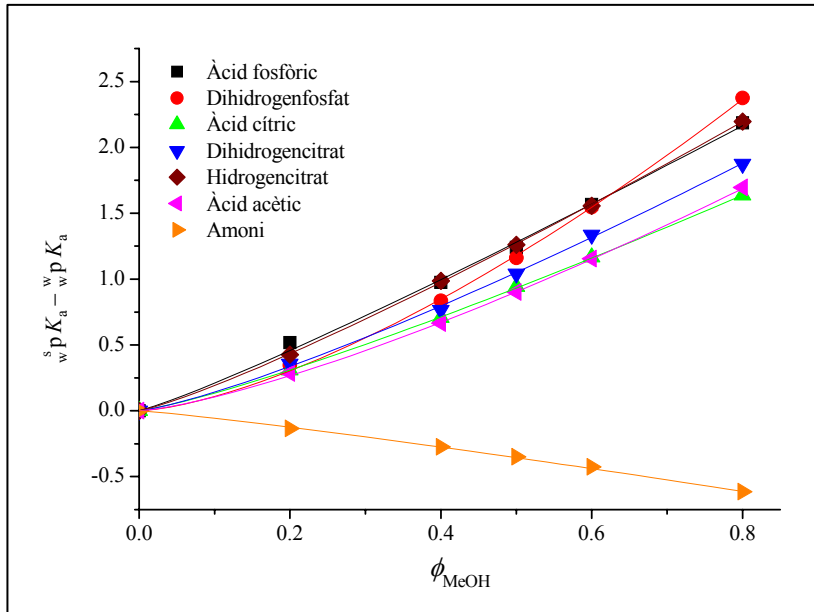


Figura 2.10
Variació dels valors de pK_a dels sistemes amortidors estudiats en variar la fracció del modificador orgànic en mescles metanol/aigua.

Taula 2.12 Valors dels paràmetres m_{pK} i d_{pK} de l'Eq. 2.17.

Sistema amortidor	m_{pK}	d_{pK}
Àcid fosfòric/dihidrogenfosfat	2.78	1.12
Dihidrogenfosfat/hidrogenfosfat	3.29	1.48
Àcid cítric/dihidrogencitrat	2.14	1.20
Dihidrogencitrat/hidrogencitrat	2.48	1.24
Hidrogencitrat/citrat	2.85	1.17
Àcid acètic/acetat	2.27	1.33
Amoni/amoníac	-0.79	1.15

2.4.2 MODEL DE VARIACIÓ DEL pH AMB LA COMPOSICIÓ DE LA MESCLA METANOL/TAMPÓ AQUÓS

Anàlogament al cas del acetonitril, per a diferents valors aquosos inicials de ${}^w\text{pH}$ i concentració del tampó, s'ha calculat el valor de ${}^s\text{pH}$ en addicionar 20, 40, 50, 60 i 80% (v/v) de metanol. Per fer aquests càlculs s'ha tingut en compte el coeficient de dilució corresponent, el coeficient d'activitat molar calculat mitjançant l'equació de Debye-Hückel, els valors de ${}^s\text{p}K_a$ de cada parella àcid/base i les constants d'autoprotòlisi (${}^s\text{p}K_{ap}$) per a cada mescla hidroorgànica estudiada. Aquests càlculs s'han dut a terme per a 14 concentracions aquoses inicials: 0.001, 0.003, 0.005, 0.007, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 i 0.1 mol·L⁻¹. Finalment els valors de ${}^s\text{p}K_a$ han estat convertits a l'escala ${}^w\text{p}K_a$ mitjançant els valors de δ . Com a resultat, s'ha trobat que la variació del pH en funció de la fracció de modificador orgànic és anàloga a la del $\text{p}K_a$:

$${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH} = m_{\text{pH}} \phi_{\text{MeOH}}^{d_{\text{pH}}} \quad (2.18)$$

on m_{pH} és un coeficient de proporcionalitat, d_{pH} és un paràmetre empíric que optimitza l'ajustament, i ϕ_{MeOH} és la fracció en volum de metanol. Els valors de d_{pH} i m_{pH} han estat calculats mitjançant l'Eq. 2.18, utilitzant els valors de variació del pH (${}^s\text{pH} - {}^w\text{pH}$) obtinguts per a cada sistema amortidor en tot l'interval de concentracions i valors inicials de ${}^w\text{pH}$ estudiats. S'observa que per a un sistema amortidor els valors de d_{pH} són prou coincidents, gairebé independents de la concentració del tampó i els valors inicials de pH. Els valors de d_{pH} , calculats conjuntament per a totes les concentracions (0.001-0.1 mol·L⁻¹) i valors de ${}^w\text{pH}$ estudiats pel sistema de l'àcid acètic, àcid fosfòric, àcid cítric i amoni són, respectivament, 1.32±0.03 ($N=630$), 1.29±0.10 ($N=1232$), 1.23±0,05 ($N=1848$) i 0.99±0.02 ($N=560$). Aquests resultats permeten diferenciar clarament els valors de d_{pH} dels sistemes d'àcids neutres i aniònics (HAc/Ac⁻, H₃PO₄⁻/H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻, H₃Cit/H₂Cit/HCit²⁻/Cit³⁻) dels de l'àcid catiònic (NH₄⁺/NH₃). La mitjana de tots els valors de d_{pH} pels sistemes del primer tipus és 1.27±0.08 ($N=3710$). Així, doncs, amb l'objectiu de simplificar els càlculs considerem que d_{pH} pren un valor de 1 pels àcids catiònics, i 5/4 pels aniònics i neutres.

La variació del pendent (m_{pH}) de l'Eq. 2.18 en funció del ${}^{\text{w}}\text{pH}$ aquós inicial del tampó respon a una equació molt similar a l'Eq. 2.15:

$$m_{\text{pH}} = \frac{a_0 + \sum_{i=1}^n a_i 10^{s_i(i \text{ } {}^{\text{w}}\text{pH} - b_i)} + a_{n+1} 10^{s_i((n+1) \text{ } {}^{\text{w}}\text{pH} - b_{n+1})}}{1 + \sum_{i=1}^n 10^{s_i(i \text{ } {}^{\text{w}}\text{pH} - b_i)} + 10^{s_i((n+1) \text{ } {}^{\text{w}}\text{pH} - b_{n+1})}} \quad (2.19)$$

L'única diferència rau en la utilització d'un valor diferent del paràmetre s per a cada transició entre les zones de pH tamponades per diferents parelles àcid/base conjugada. En el model d'acetonitril/aigua es pren un valor constant de s per a totes les transicions d'un mateix sistema amortidor ($s_1 = s_2 = s_3 = \dots = s_n$). La descripció de la resta de paràmetres és anàloga a la del model que té l'acetonitril com a modificador orgànic.

Les consideracions dutes a terme per la variació del pH d'un àcid fort en mescles acetonitril/aigua són vàlides per al cas del metanol. Així, fins al 80% en volum de metanol, existeix una bona relació lineal entre el terme $\delta - \log \phi_{\text{H}_2\text{O}}$ (Eq. 2.18) i la fracció en volum de metanol en la mescla solvent (ϕ_{MeOH}):

$${}^{\text{s}}\text{pH} - {}^{\text{w}}\text{pH} = (0.91 \pm 0.05) \phi_{\text{MeOH}} \quad (r = 0.995; \text{SD} = 0.05; F = 773) \quad (2.20)$$

Si representem aquesta variació del pH en funció de la fracció del modificador orgànic elevat a 5/4 ($\phi_{\text{MeOH}}^{5/4}$), la correlació millora lleugerament:

$${}^{\text{s}}\text{pH} - {}^{\text{w}}\text{pH} = (1.03 \pm 0.02) \phi_{\text{MeOH}}^{5/4} \quad (r = 0.999; \text{SD} = 0.02; F = 2895) \quad (2.21)$$

Així dependent de l'exponent en el terme de la fracció en volum de metanol, el valor del pendent m_{pH} per a un àcid fort de tipus catiònic (ϕ_{MeOH}) serà 0.91, mentre que el d'un àcid neutre o aniònic ($\phi_{\text{MeOH}}^{5/4}$) serà 1.03. Per tant, el paràmetre a_0 de l'Eq. 2.19 prendrà els valors de 0.91 o 1.03 en funció del tipus d'àcid que constitueixi el sistema amortidor.

Anàlogament al cas de l'acetonitril, la variació del pH d'una base forta en mescles metanol/aigua es pot descriure mitjançant l'Eq. 2.12. En addicionar metanol a l'aigua la variació del pK_{ap} queda compensada pel terme $\log \phi_{H_2O}$, de tal forma que la mitjana de la variació del pH fins al 80% de metanol és 0.00 ± 0.03 . Així, considerarem que la variació del pendent m_{pH} per a una base forta, i conseqüentment el valor de a_{n+1} de l'Eq. 2.19, és 0.00.

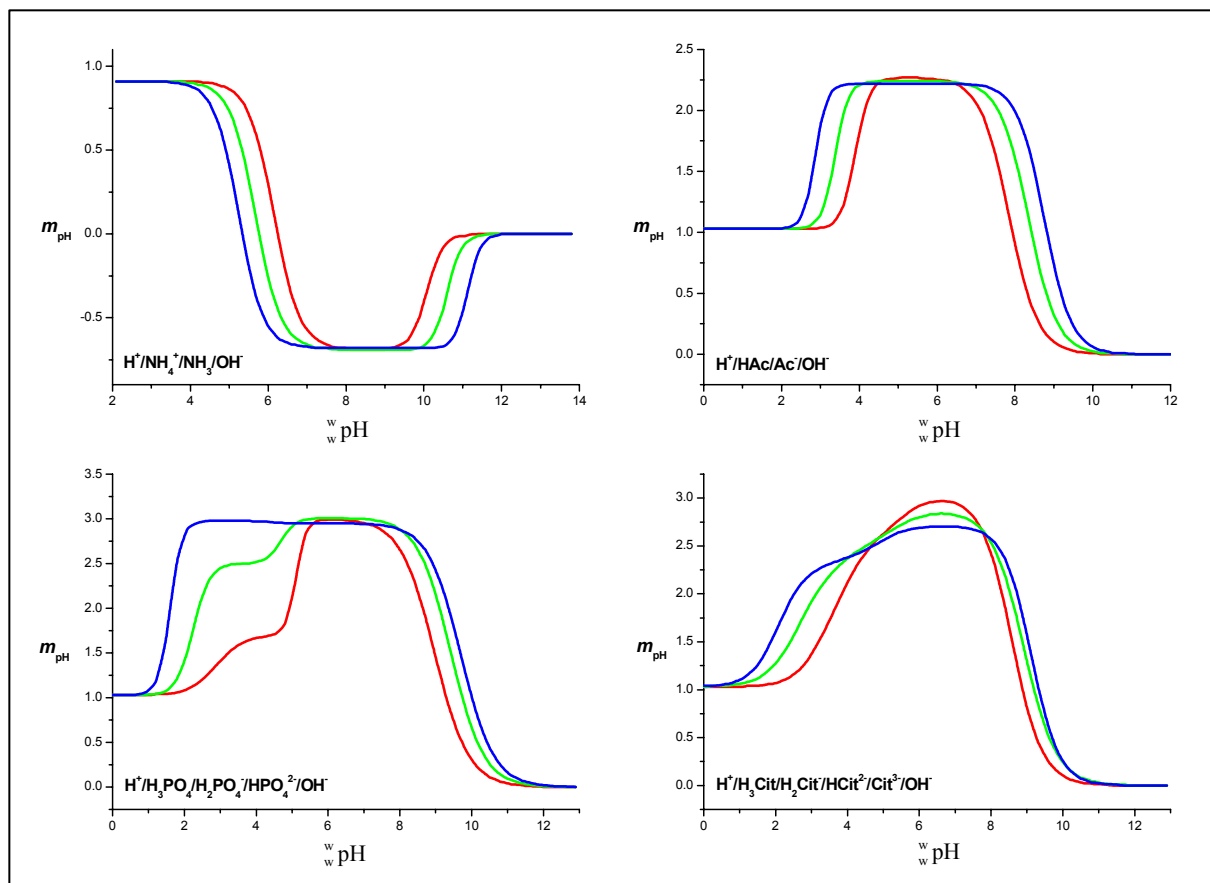


Figura 2.11 Variació de m_{pH} (Eqs. 2.18-19) en funció del pH del tampó abans d'addicionar el metanol per al sistemes amortidors de l'àcid acètic, àcid fosfòric, àcid cítric i amoni. Concentracions aquoses del tampó: (vermell) $0.001 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, (verd) $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ i (blau) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

La Figura 2.11 mostra la variació calculada del pendent m_{pH} (Eqs. 2.19) en funció del $w_w \text{pH}$ inicial del tampó aquós (abans d'addicionar el metanol) per a tres concentracions representatives (0.001 , 0.01 i $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) dels sistemes amortidors estudiats. La Taula 2.13 mostra els paràmetres a_i , b_i i s_i corresponents als tampons estudiats a dues concentracions representatives (0.01 i $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). En el cas del sistema de l'àcid cítric comptem amb un elevat nombre de paràmetres ($s_1, s_2, s_3, s_4, a_1, a_2, a_3, a_4, b_1, b_2, b_3, b_4; a_0 \approx 1.03$ and $a_4 \approx 0.00$).

Per tal d'evitar la sobreparametrització i simplificar l'ajustament, s'ha considerat un únic valor mitjà de s ($s=s_1=s_2=s_3=s_4$), i els valors de b_i han estat prèviament calculats i fixats abans d'iniciar el procés iteratiu d'ajustament. Pel sistema amortidor de l'àcid fosfòric per concentracions de tampó superiors a $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ el sistema es troba sobreparametritzat, i els resultats obtinguts en l'ajustament a l'Eq. 2.19 no tenen sentit químic.

Tal i com succeïa en mescles acetonitril/aigua, s'observa pel metanol una tendència lineal en les representacions gràfiques dels paràmetres s_i , a_i i b_i en funció del logaritme decimal de la concentració aquosa de la solució amortidora (abans d'addicionar el modificador orgànic). Per a cada sistema amortidor, els resultats d'aquestes regressions lineals es troben a la Taula 2.14.

Taula 2.13 Paràmetres de l'Eq. 2.19 per a l'estimació del pendent m_{pH} (Eq. 2.18) de la variació del pH en addicionar metanol a dos concentracions representatives.

Paràmetre	Àcid acètic		Àcid cítric		Àcid fosfòric		Amoni	
	10mM	50mM	10mM	50mM	10mM	50mM	10mM	50mM
s_1	2.59	2.75	0.96	0.99	1.91	2.40	1.34	1.39
s_2	1.89	2.00	0.96	0.99	2.03	2.11	1.85	1.96
s_3	-	-	0.96	0.99	1.67	1.72	-	-
s_4	-	-	0.96	0.99	-	-	-	-
a_0	*1.03	*1.03	*1.03	*1.03	*1.03	*1.03	*0.91	*0.91
a_1	2.24	2.23	2.21	2.29	2.50	2.80	-0.69	-0.68
a_2	*0.00	*0.00	2.51	2.43	3.01	2.96	*0.00	*0.00
a_3	-	-	2.92	2.78	*0.00	*0.00	-	-
a_4	-	-	*0.00	*0.00	-	-	-	-
b_1	3.38	3.02	*2.62	*2.24	2.25	1.80	5.68	5.37
b_2	9.89	9.55	*6.49	*6.00	7.09	5.85	17.65	17.98
b_3	-	-	*11.78	*11.06	13.98	12.45	-	-
b_4	-	-	*20.70	*20.13	-	-	-	-
N	45	45	132	132	88	88	45	45
SD	0.011	0.006	0.029	0.033	0.011	0.014	0.005	0.002
r^2	0.998	0.999	0.994	0.990	0.999	0.999	0.999	1.000

*: paràmetres fixats en fer l'ajustament

Taula 2.14 Variacions lineals dels paràmetres s_i , a_i i b_i de l'Eq. 2.19 pels sistemes amortidors estudiats en funció del logaritme de la concentració del tampó.

Sistema amortidor	Paràmetre	Equació	N	SD
Àcid acètic/acetat	s_1	$0.22 \log c_T + 3.07$	14	0.055
	s_2	$0.13 \log c_T + 2.19$	14	0.029
	a_0	1.03	-	-
	a_1	$-0.03 \log c_T + 2.18$	14	0.010
	a_2	0.00	-	-
	b_1	$-0.51 \log c_T + 2.35$	14	0.004
	b_2	$-0.50 \log c_T + 8.86$	14	0.051
Àcid cítric/dihidrogencitrat	s	$0.03 \log c_T + 1.05$	14	0.047
Dihidrogencitrat/hidrogencitrat	a_0	1.03	-	-
Hidrogencitrat/citrat	a_1	$0.18 \log c_T + 2.52$	14	0.047
	a_2	$-0.10 \log c_T + 2.30$	14	0.006
	a_3	$-0.15 \log c_T + 2.57$	14	0.048
	a_4	0.00	-	-
	b_1	$-0.57 \log c_T + 1.51$	14	0.015
	b_2	$-0.73 \log c_T + 5.05$	14	0.024
	b_3	$-1.02 \log c_T + 9.73$	14	0.012
	b_4	$-0.76 \log c_T + 19.13$	14	0.029
Àcid fosfòric/dihidrogenfosfat	s_1	$0.73 \log c_T + 3.38$	12	0.027
Dihidrogenfosfat/hidrogenfosfat	s_2	$0.02 \log c_T + 2.11$	12	0.041
	s_3	$0.02 \log c_T + 1.73$	12	0.025
	a_0	1.03	-	-
	a_1	$0.57 \log c_T + 3.55$	12	0.076
	a_2	$-0.00 \log c_T + 2.91$	12	0.014
	a_3	0.00	-	-
	b_1	$-0.64 \log c_T + 0.97$	12	0.005
	b_2	$-1.89 \log c_T + 3.32$	12	0.063
	b_3	$-2.12 \log c_T + 9.64$	12	0.110
	Amoni/amoniac	s_1	$0.05 \log c_T + 1.45$	14
s_2		$0.16 \log c_T + 2.18$	14	0.019
a_0		0.91	-	-
a_1		$0.01 \log c_T - 0.67$	14	0.003
a_2		0.00	-	-
b_1		$-0.45 \log c_T + 4.79$	14	0.012
b_2		$0.53 \log c_T + 18.68$	14	0.126

2.4.3 AVALUACIÓ EXPERIMENTAL DEL MODEL

Per tal d'avaluar el model d'estimació de valors de pH en fases mòbils metanol/aigua s'han mesurat, a partir de solucions aquoses de diferent concentració i ^wpH , els valors de ^spH obtinguts a diferents fraccions de modificador orgànic fins al 80% en volum. Aquests valors experimentals s'han comparat amb els estimats mitjançant el model proposat (Figura 2.12).

La Figura 2.13 representa els valors estimats de ^spH en funció dels seus corresponents valors experimentals pels sistemes amortidors estudiats i a tres concentracions diferents (0.001, 0.01 i 0.1 mol·L⁻¹). S'observa una bona correspondència entre aquests valors de pH i l'esperada línia teòrica de pendent unitari i nul·la ordenada a l'origen, que també es mostra a la figura. Excepte en el cas dels sistemes amortidors de l'amoní i de l'àcid fosfòric, i per la concentració més baixa, les desviacions estàndard associades a les regressions lineals obtingudes per les parelles de valors de pH és inferior a 0.1, i les desviacions estàndard associades als valors del pendent d'aquestes regressions no són superiors a 0.002. En tots els casos el pendent de les regressions lineals és molt proper al valor teòric de 1, confirmant una bona correspondència entre els valors de ^spH mesurats i estimats.

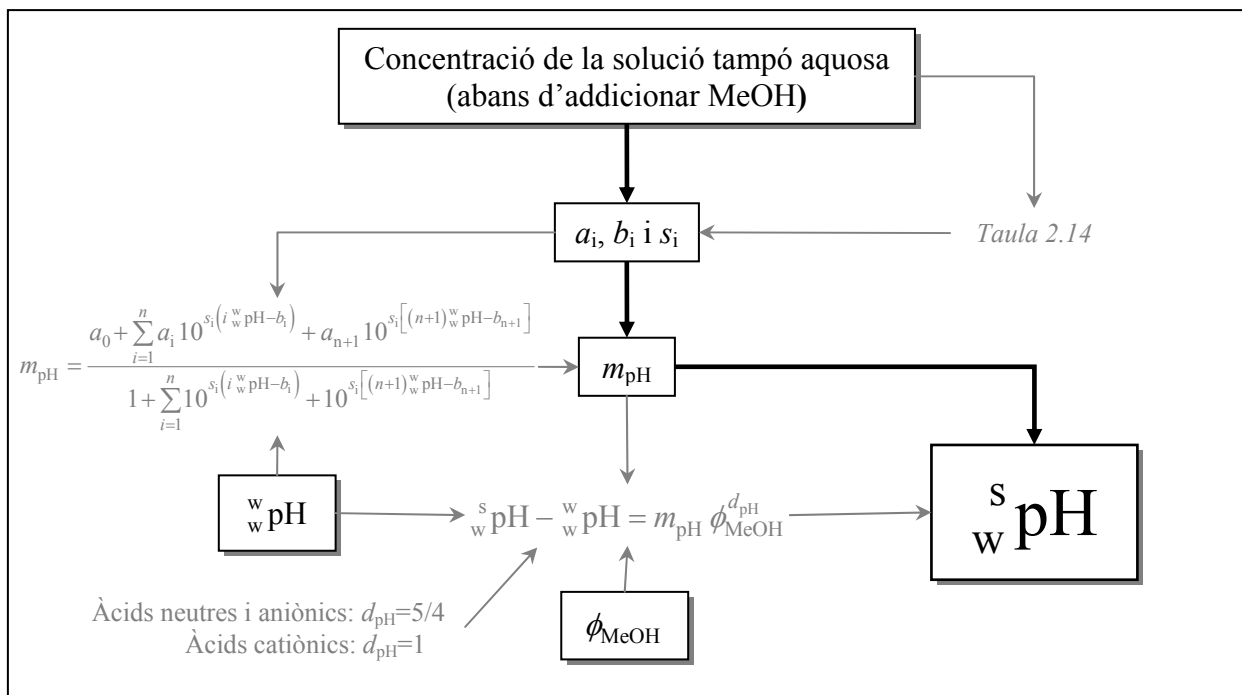


Figura 2.12 Esquema del procés d'estimació dels valors de pH en fases mòbils MeOH/tampó aquós.

Ja s'ha esmentat que la correspondència entre els valors experimentals i els estimats per l'amoni/amoníac a baixa concentració no és satisfactòria. Els pendents mesurats (m_{pH}) són inferiors als estimats, indicant que la solució mesurada és més àcida del que s'estimava, probablement a causa de la baixa concentració del tampó i la volatilitat de l'amoniac. En el cas de l'àcid fosfòric, també a baixa concentració, s'observa una dispersió superior a la mitjana, especialment per valors de ^spH compresos entre 6 i 8. Aquesta dispersió es pot atribuir a la minsa capacitat amortidora del sistema amortidor $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ a elevades fraccions de metanol en la mescla. A la Figura 2.14 es mostra la variació de la capacitat amortidora pels sistemes estudiats en augmentar la fracció de metanol.

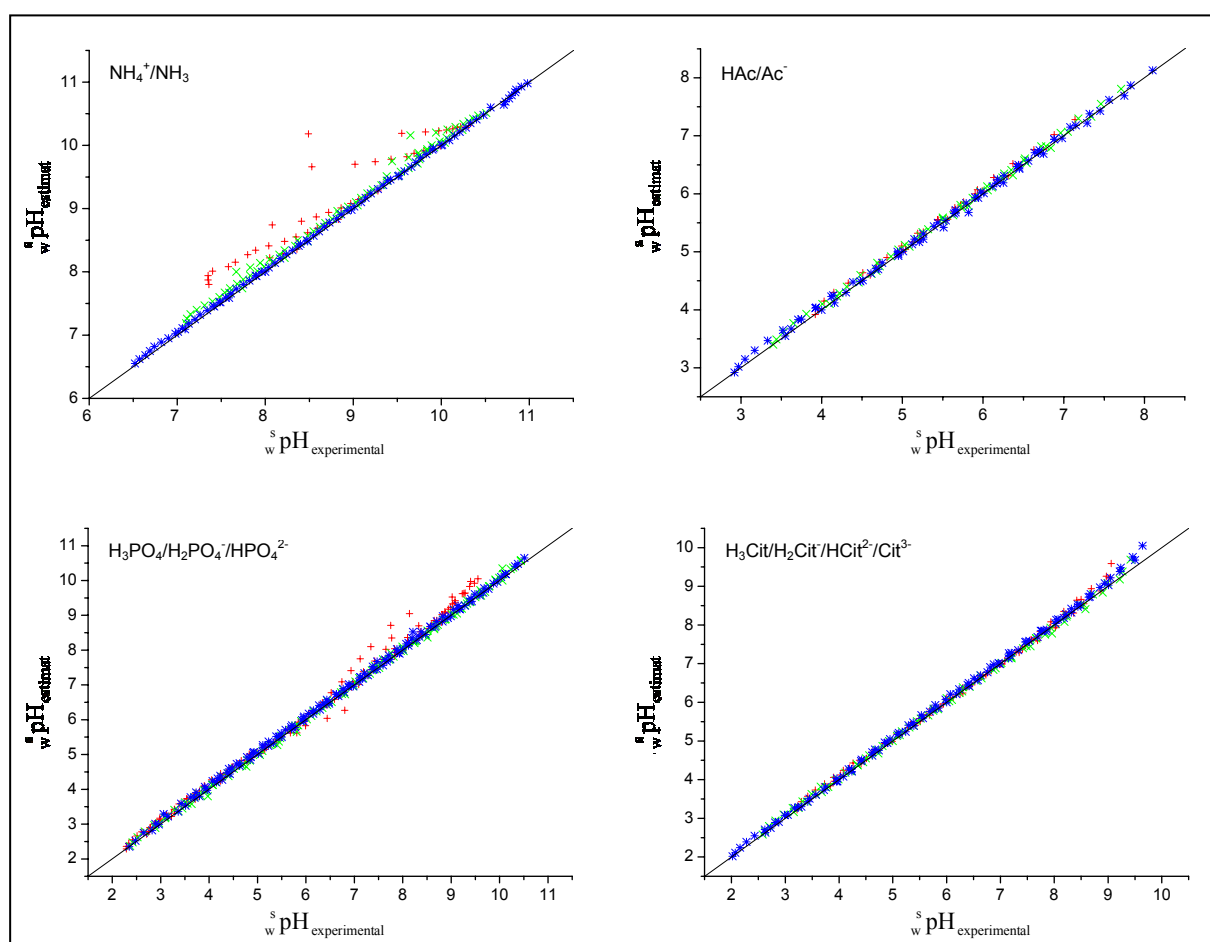


Figura 2.13 Correspondència entre els valors estimats de pH (eix d'ordenades) i els mesurats (eix d'abscisses) en la mescla metanol/tampó aquós. També es mostra una línia recta de pendent 1 i nul·la ordenada a l'origen. Els símbols per les concentracions aquoses inicials són: (+) $0.001 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, (x) $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and (*) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

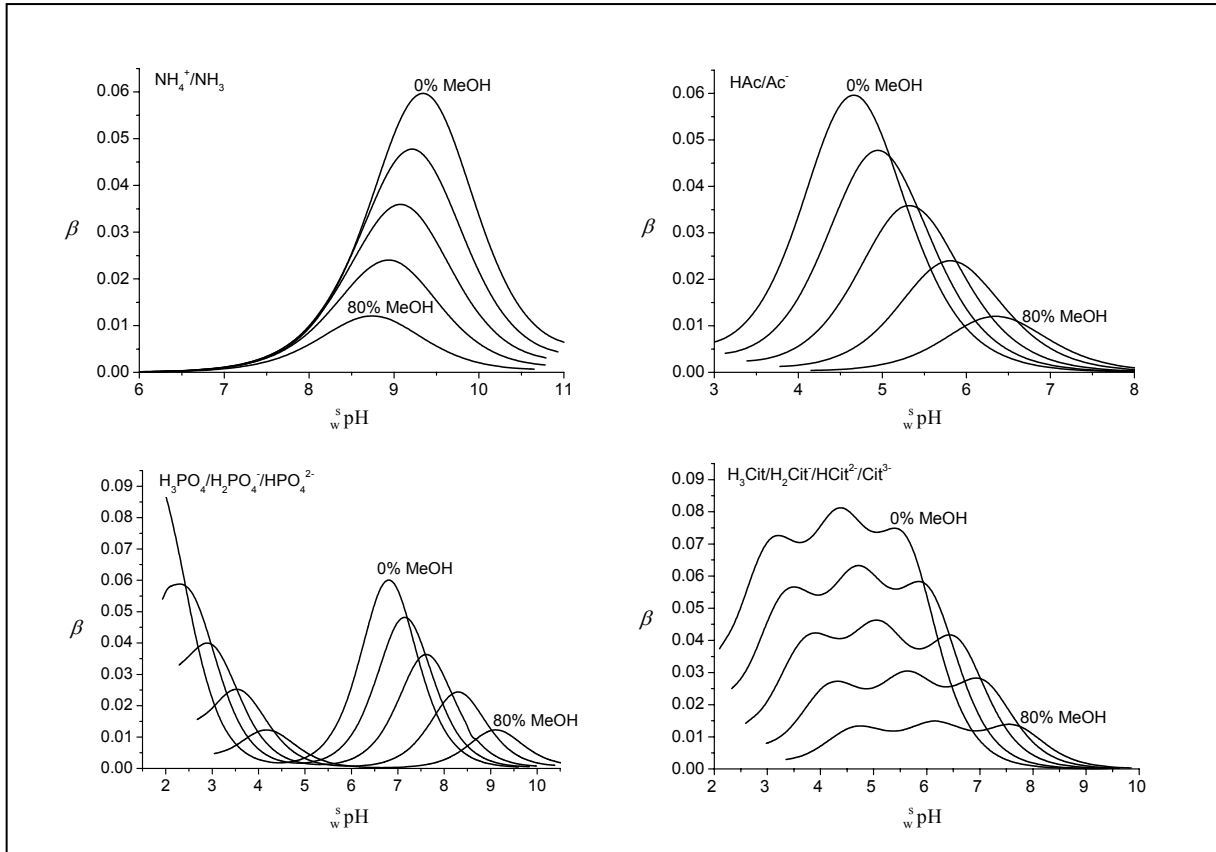


Figura 2.14 Variació de la capacitat amortidora pels sistemes estudiats en mesclures metanol/aigua al 0, 20, 40, 60 i 80% (v/v) de modificador orgànic. La concentració inicial en aigua del tampó és $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

2.5 REFERÈNCIES

- [1] S. Espinosa, E. Bosch, M. Rosés, *Anal. Chem.* 74 (2002) 3809.
- [2] R. De Levie, *Anal. Chem.* 68 (1996) 585.
- [3] S. Espinosa, E. Bosch, M. Rosés, *Anal. Chem.* 72 (2000) 5193.
- [4] P.S. Albright, L.J. Gosting, *J. Am. Chem. Soc.* 68 (1946) 1061.
- [5] I. Canals, J.A. Portal, E. Bosch, M. Rosés, *Anal. Chem.* 72 (2000) 1802.
- [6] S. Espinosa, E. Bosch, M. Rosés, *Anal. Chim. Acta* 454 (2002) 157.
- [7] S. Espinosa, E. Bosch, M. Rosés, *J. Chromatogr. A* 945 (2002) 83.
- [8] S. Espinosa, E. Bosch, M. Rosés, *J. Chromatogr. A* 947 (2002) 47.
- [9] Z. Pawlak, *J. Chem. Thermodynam.* 19 (1987) 443.
- [10] E. Bosch, S. Espinosa, M. Rosés, *J. Chromatogr. A* 824 (1998) 137.
- [11] N.A. Izmailov, V.N. Izmailova, *Zh. Fiz. Khim.* 29 (1955) 1050.
- [12] N.A. Izmailov, *Electrokhimiya rastvorov (Electroquímica de solucions)*, Universitat de l'Estat, Kharkov, 1959.
- [13] F. Rived, I. Canals, E. Bosch, M. Rosés, *Anal. Chim. Acta* 439 (2001) 315.
- [14] L. Šůcha, S. Kotrlý, *Solution Equilibria in Analytical Chemistry*, Van Nostrand Reinhold, London, 1972.
- [15] X. Subirats, E. Bosch, M. Rosés, *J. Chromatogr. A* 1059 (2004) 33.
- [16] I. Canals, K. Valkó, E. Bosch, A.P. Hill, M. Rosés, *Anal. Chem.* 73 (2001) 4937.
- [17] K. Valkó, S. Espinosa, C.M. Du, E. Bosch, M. Rosés, C. Bevan, M.H. Abraham, *J. Chromatogr. A* 933 (2001) 73.
- [18] R.G. Bates, *Determination of pH: Theory and Practice*, second ed., Wiley, New York, 1973.
- [19] I. Canals, F.Z. Oumada, M. Rosés, E. Bosch, *J. Chromatogr. A* 911 (2001) 191.