

Η Εργαλειοθήκη του Αναλυτή

ΚΕΦΑΛΑΙΟ

1

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

- 1.1 Εισαγωγή
- 1.2 Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού
- 1.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου
- 1.4 Φασματομετρία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού
- 1.5 Φασματομετρία Μάζας
- 1.6 Χρωματογραφία
- 1.7 Ασκήσεις

13

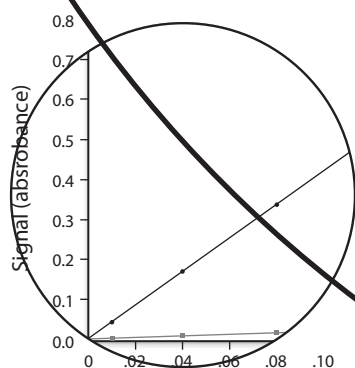
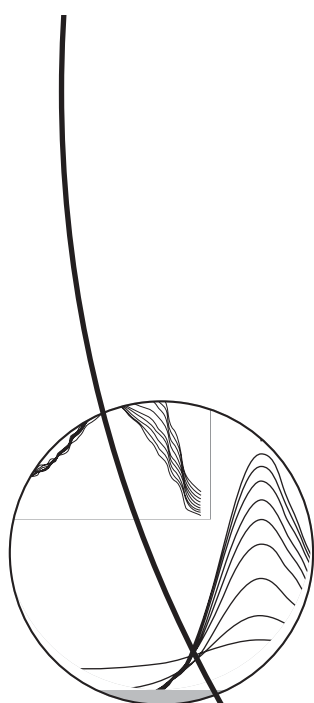
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Προφίλ

- Μελέτη περίπτωσης
- Σύνοψη

Συγκρίνετε και Αντιπαραθέστε

- Η Υπεριώδης-Ορατή έναντι της Υπέρυθρης Φασματοσκοπίας με Μετασχηματισμό Fourier στην Ποσοτική Ανάλυση



oscopy is all suited for
kinetic studies.
e detector in chromatography

NMR
tural determination

arly useful in determining the
within a molecular structure

Chron

Separates
into 'h



ΠΡΟΦΙΛ

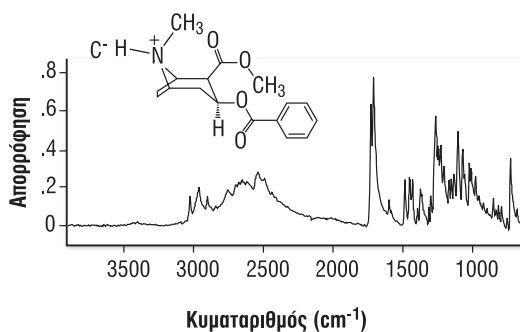
Μελέτη περίπτωσης

Ένας άντρας βρίσκεται νεκρός στο πάτωμα του καθιστικού του, με λευκή σκόνη στο άνω χείλος του. Ο συγγάτοικος του άνδρα έχει προηγούμενη σύλληψη για κατοχή κοκαΐνης. Ωστόσο, υπάρχει επίσης ένα κουτί από πασπαλισμένα, με ζάχαρη, ντόνατς στον πάγκο της κουζίνας. Το έργο σας είναι να καθορίσετε (1) αν η σκόνη στο χείλος του ανθρώπου είναι κοκαΐνη, (2) εάν πρόκειται για κοκαΐνη, εάν η κοκαΐνη είναι στην μορφή HCl ή στη μορφή ελεύθερης βάσης (οι κυρώσεις για την κατοχή των δύο μορφών είναι διαφορετικές) και (3) εάν πρόκειται για κοκαΐνη, αν ο άνθρωπος πέθανε από υπερβολική δόση (δηλαδή ποια είναι η συγκέντρωση κοκαΐνης στο αίμα του;).

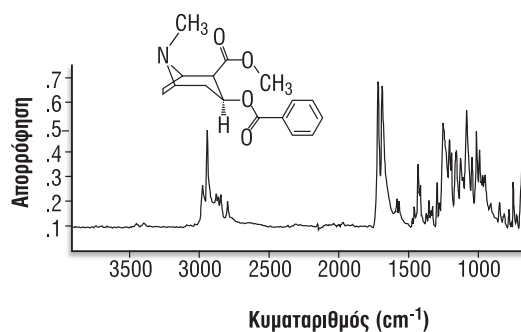
Για να απαντηθούν αυτές οι ερωτήσεις, θα χρειαστεί να χρησιμοποιηθούν πολλά διαφορετικά εργαλεία. Για παράδειγμα, ένα απλό φάσμα Υπέρυθρης Φασματοσκοπίας με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR) της λευκής σκόνης, θα μπορούσε να την προσδιορίσει ως κοκαΐνη, βασισμένο στην αναγνώριση των δομικών στοιχείων αυτού του μορίου. Η FTIR θα σας επιτρέψει επίσης να προσδιορίσετε τη μορφή (ελεύθερη βάση ή άλας HCl) της ένωσης. Το σχήμα 1.1 δείχνει την FTIR της HCl-κοκαΐνης και της κοκαΐνης ελεύθερης βάσης. Αυτά τα δύο μόρια είναι δομικά σχεδόν πανομοιότυπα και όμως διαφοροποιούνται εύκολα με FTIR φασματική ανάλυση. Εάν διαπιστώσετε ότι η σκόνη είναι κοκαΐνη, θα μετρούσατε στη συνέχεια τη συγκέντρωση της κοκαΐνης στο αίμα του άνδρα. Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) θα μπορούσε επίσης να χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση της κοκαΐνης και η HPLC θα μπορούσε να συνδυαστεί με ένα φασματόμετρο υπεριώδους-ορατού (UV-vis) για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό της κοκαΐνης. Μια άλλη επιλογή θα ήταν να εκχυλιστεί η κοκαΐνη σε οργανικό διαλύτη και να χρησιμοποιηθεί αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) για την απομόνωση της κοκαΐνης. Η GC θα μπορούσε να συνδυαστεί με ένα φασματόμετρο μάζας ως ανιχνευτή, το οποίο επίσης θα ανίχνευε και θα ποσοτικοποιούσε την κοκαΐνη.

Αυτό που καταδεικνύει αυτό το σενάριο είναι η σημασία της γνώσης και της εκτίμησης των διαφόρων δυνατοτήτων και περιορισμών κάθε τεχνικής, που έχετε στη διάθεσή σας. Για παράδειγμα, όπως φαίνεται από το Σχήμα 1.1, η φασματοσκοπία FTIR είναι εξαιρετικά αποτελεσματική στην ποιοτική ανάλυση. Ωστόσο, είναι πολύ κατώτερη από τη φασματοσκοπία UV-vis για ποσοτική ανάλυση. Από την άλλη πλευρά, το φασματόμετρο UV-vis είναι σχεδόν άχρηστο για τη διεξαγωγή ποιοτικής ανάλυσης και γι' αυτό απομονώσαμε την κοκαΐνη, με HPLC, πριν διεξαγάγουμε ποσοτική ανάλυση με φασματοσκοπία UV-vis του δείγματος. Καθώς περνάτε μέσα από τα κεφάλαια αυτού του βιβλίου, θα μπορείτε να εκτιμήσετε τις δυνατότητες και τους περιορισμούς ενός μεγάλου αριθμού αναλυτικών τεχνικών. ■

A FTIR φάσμα της κοκαΐνης HCL



B FTIR φάσμα της κοκαΐνης ελεύθερης βάσης



Σχήμα 1.1. FTIR της κοκαΐνης HCL (**A**) και της κοκαΐνης ελεύθερης βάσης (**B**).

1.1 Εισαγωγή

Οι Ενόργανες Μέθοδοι Χημικής Ανάλυσης προέρχονται ουσιαστικά από τις προσπάθειες επέκτασης των ανθρώπινων αισθήσεων. Σε αυτό το κείμενο θα περιγράψουμε, με μεγάλη λεπτομέρεια, ένα αρκετά μεγάλο φάσμα οργάνων και τις μεθόδους που πλαισιώνουν το καθένα από αυτά. Καθώς εισάγουμε νέες τεχνικές, είναι σημαντικό να τις ενσωματώσετε στο πλαίσιο των τεχνικών, με τις οποίες είστε ήδη εξοικειωμένοι. Σκοπός αυτού του κεφαλαίου είναι να παρουσιάσει πέντε συνήθεις ενόργανες τεχνικές. Παρόλο που είναι πιθανό μεγάλο μέρος της εργαστηριακής σας εμπειρίας μέχρι σήμερα να έχει επικεντρωθεί σε μία τεχνική κάθε φορά, στην πραγματικότητα ένας αναλυτής πρέπει να αξιοποιήσει ένα εύρος γνώσεων για να επιτύχει τους στόχους του στο εργαστήριο. Κάθε μία από τις πέντε τεχνικές που παρουσιάζονται σε αυτό το κεφάλαιο, καθώς και πολλές άλλες, θα καλυφθούν με περισσότερες λεπτομέρειες στα επόμενα κεφάλαια.

Για τα περισσότερα προβλήματα ή εφαρμογές στη χημεία εφαρμόζονται πέντε σημαντικά είδη οργάνων. Αυτά περιλαμβάνουν τη *φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-vis)*, τη *φασματοσκοπία Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier¹ (FTIR)*, τη *φασματομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)*, τη *φασματομετρία μάζας (MS)* και τη *χρωματογραφία (υγρή χρωματογραφία [LC] και αέρια χρωματογραφία [GC])*. Επισκεφθείτε οποιαδήποτε εξειδικευμένη χημική μονάδα (ακαδημαϊκή ή βιομηχανική) και αναμφισβήτητα θα βρείτε μια έκδοση καθενός από αυτά τα όργανα.

Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι, αν και τέσσερις από τους τύπους οργάνων που συζητήθηκαν εδώ είναι φασματοσκοπικοί (UV-vis, FTIR, NMR και MS), μόνο δύο (UV-vis και FTIR) θεωρούνται *οπτικές μέθοδοι*.² Η φασματοσκοπία UV-vis μελετάει τις ηλεκτρονικές μεταπτώσεις μέσα σε ένα μόριο,³ ενώ η φασματοσκοπία FTIR μελετάει τις δονητικές συχνότητες που συνδέονται με κάθε τύπο δεσμού.⁴ Και οι δύο αυτές μέθοδοι είναι μέθοδοι απορρόφησης, που σημαίνει ότι εισάγεται ενέργεια στο σύστημα και παρακολουθούμε τη μεταβολή αυτής της ενέργειας. Στις UV-vis και FTIR, η πηγή αυτής της ενέργειας είναι μέσα και έξω από το ορατό εύρος (υπεριώδης μέχρι υπέρυθρη ακτινοβολία). Η φασματοσκοπία NMR περιλαμβάνει επίσης απορρόφηση. Ωστόσο, η ενέργεια εισάγεται στο σύστημα από ένα εξωτερικά εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο. Αυτές οι φασματομετρικές μέθοδοι επεκτείνουν την ικανότητά μας να «βλέπουμε» τα μόρια και να ανιχνεύουμε μοριακές αλληλεπιδράσεις που είναι έξω από τις φυσιολογικές ανθρώπινες αισθήσεις μας.

Οι όροι *φάσμα* και *φασματομετρία* αναφέρονται, ιστορικά, στην παρατήρηση του φωτός, σε ένα εύρος μηκών κύματος. Εντούτοις, η Φασματομετρία Μάζας (MS) δεν ασχολείται καθόλου με το φως ή τα φωτόνια- αντ' αυτού, η MS μετρά ένα «φάσμα μάζας» ή ένα ποσοστό του αριθμού των ιόντων συγκεκριμένων αναλογιών μάζας προς φορτίο, σε ένα εύρος τιμών. Η MS επεκτείνει, μέχρι το ατομικό επίπεδο, την ικανότητά μας να ζυγίζουμε αντικείμενα. Αν και η MS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της γραμμομοριακής μάζας συγκεκριμένων ισοτόπων, με υψηλό βαθμό ακρίβειας, η μεγάλη πλειοψηφία των φασματομέτρων μάζας που χρησιμοποιούνται στη μοριακή ανάλυση είναι για τον προσδιορισμό δομής και σύνθεσης.

Από τις πέντε τεχνικές που αναφέρθηκαν, η πιο περίεργη είναι η χρωματογραφία, η οποία ασχολείται με τον αποτελεσματικό διαχωρισμό των συστατικών ενός μείγματος. Η χρωματογραφία δεν είναι μια φασματομετρική μέθοδος και δεν είναι αυτόνομη ως αναλυτική μέθοδος, χωρίς να χρησιμοποιηθεί κάποιος άλλος τύπος οργάνου ως ανιχνευτής, για να παρατηρήσει το αποτέλεσμα του πειράματος. Αλλά η χρωματογραφία μας επιτρέπει να απομονώσουμε διακριτές ουσίες από σύνθετα μίγματα και συχνά προηγείται άλλων αναλυτικών τεχνικών. Η χρωματογραφία είναι απολύτως απαραίτητη για τον αναλυτή και κάθε αναλυτικός χημικός πρέπει να αποκτήσει ουσιαστική εμπειρία στις μεθόδους χρωματογραφικού διαχωρισμού.

¹Η φασματοσκοπία Raman πιθανότατα θα ξεπεράσει την FTIR τις επόμενες δεκαετίες.

²Με τη λέξη *οπτική* εννοούμε ότι η μέθοδος περιλαμβάνει τη μέτρηση της ισχύος του φωτός από μια πηγή (P), ακολουθούμενη από μέτρηση της ισχύος του φωτός αφού έχει περάσει από ένα απορροφητικό υλικό (P).

³Αν και πολλές ατομικές φασματοσκοπικές μέθοδοι (κεφάλαια 7 και 9) περιλαμβάνουν την απορρόφηση και/ή την εκπομπή υπεριώδους/ορατού φωτός, ο όρος UV-vis εννοείται ότι σημαίνει μοριακή φασματοσκοπία, συνήθως σε διάλυμα.

⁴Η φασματοσκοπία υπέρυθρων είναι αποκλειστικά μοριακή τεχνική. Ένα μόνο άτομο δεν μπορεί να υποβληθεί σε δονητική διεγερση.

1.2 Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού

Η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-vis spectroscopy, UV-vis), περιλαμβάνει την απορρόφηση φωτονίων στην υπεριώδη περιοχή από 195 έως 400 nm και την ορατή περιοχή από 400 έως 900 nm του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (ElectroMagnetic Spectrum, EMS). Πιο συγκεκριμένα, η περιοχή από 700 έως 900 nm είναι η περιοχή του εγγύς υπερύθρου του EMS. Ωστόσο, απλά αναφερόμαστε στην τεχνική ως φασματοσκοπία UV-vis. Ειδικές λεπτομέρειες σχετικά με τα όργανα UV-vis καλύπτονται στο Κεφάλαιο 6. Εδώ εισάγουμε τη φασματοσκοπία UV-vis στο πλαίσιο ενός από τα πολλά εργαλεία που μπορεί να χρησιμοποιήσει ένας αναλυτής για να λύσει ένα πρόβλημα. Η απορρόφηση φωτονίων στο φάσμα UV-vis του EMS σχετίζεται με τη μετάβαση ηλεκτρονίων από δεσμικά μοριακά τροχιακά σε υψηλότερης ενέργειας (συνήθως αντιδεσμικά) μοριακά τροχιακά.⁵ Αναμένεται να δούμε απορρόφηση φωτός όταν η ενέργεια του προσπίπτοντος φωτονίου ισούται με την ενέργεια που απαιτείται για την ανύψωση του ηλεκτρονίου από την θεμελιώδη κατάσταση (E_0) στην κατάσταση διέγερσης (E_1).

Αν η απορρόφηση ήταν το μοναδικό συμβάν, θα περίμενε κανείς να δει ένα γραμμικό φάσμα για όλες τις απορροφήσεις στην περιοχή UV-vis. Ωστόσο, γνωρίζετε από την εμπειρία στα προηγούμενα μαθήματα χημείας, ότι οι κορυφές απορρόφησης UV-vis είναι συνήθως ευρείες. Το Κεφάλαιο 6 παρέχει τη θεωρητική εξήγηση για αυτή την εμπειρική παρατήρηση, την οποία συνοψίζουμε εδώ ως:

1. Υπάρχουν πολλαπλές δονητικές και περιστροφικές μεταπτώσεις που συνδέονται με κάθε ηλεκτρονιακή μετάπτωση.
2. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των απορροφούντων ειδών και του διαλύτη προκαλούν αλλαγές στις θεμελιώδεις και τις διεγερμένες καταστάσεις, για όλες τις μεταπτώσεις.

Αυτές οι συνθήκες δημιουργούν ένα σχετικά ευρύ φάσμα, πολύ κοντινών μεταξύ τους, ενεργειακών επιπέδων, για κάθε ονομαστικό επίπεδο τροχιακής ενέργειας του μορίου. Το ευκρινές αποτέλεσμα είναι οι τυπικά ευρείες κορυφές απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας που εμφανίζουν πλάτη γραμμής βάσης που κυμαίνεται από 20% έως 50% του ονομαστικού μήκους κύματος της μέγιστης απορρόφησης. Είναι η ευρεία φύση της κορυφής UV-vis που καθιστά την UV-vis φασματοσκοπία μια κακή επιλογή για να κάνει ποιοτική ανάλυση και παρόλα αυτά είναι το ίδιο χαρακτηριστικό που κάνει το UV-vis μια καλή επιλογή για ποσοτική ανάλυση (θα εξηγήσουμε γιατί στο τμήμα Συγκρίνετε και Αντιπαραθέστε μετά την ενότητα 1.3).

Κατά κανόνα, λαμβάνουμε τα φάσματα UV-vis ως απορρόφηση (τεταγμένη ή άξονας y) σε σχέση με το μήκος κύματος σε νανόμετρα (τετμημένη ή άξονας x). Προκειμένου να μετρηθεί η απορρόφηση, είναι απαραίτητο να μετρηθεί πρώτα η ένταση του μη απορροφημένου σήματος (το τυφλό) και να ακολουθήσει αυτό με τη μέτρηση του δείγματος. Ο υπολογιστής θα υπολογίσει και θα αποδώσει το φάσμα απορρόφησης για εμάς, αλλά βασικά το όργανο μετρά τη διέλευση φωτός σε κάθε μήκος κύματος και καθορίζει τον λόγο διαπερατότητας. (Το Κεφάλαιο 6 παρέχει περισσότερες λεπτομέρειες.)⁵

Ένας από τους λόγους για τους οποίους η φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας προσφέρεται για ποσοτική ανάλυση είναι το γεγονός ότι τα φωτόνια που εμπλέκονται στην φασματοσκοπία UV-vis έχουν επαρκή ενέργεια ώστε να μπορούν να ξεπεράσουν την ενέργεια δέσμευσης των ηλεκτρονίων, σε ορισμένα φωτοεκπέμποντα υλικά,⁶ και με αυτό τον τρόπο να γίνεται δυνατή η εκμετάλλευση μερικών από τους πιο ευαίσθητους ανιχνευτές φωτονίων, όπως φωτοπολλαπλασιαστές και φωτοδίοδοι «καταρράκτη». Θα εξετάσουμε την κατασκευή ορισμένων από αυτούς τους ανιχνευτές στο Κεφάλαιο 6.

Ένα τυπικό φάσμα UV-vis παρουσιάζει πολύ λίγες κορυφές, συχνά μία μοναδική κορυφή, και το φυσικό πλάτος αυτών των κορυφών συχνά καθιστά αδύνατο το διαχωρισμό τους. Αυτή η κακή ανάλυση καθιστά τη φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας ένα ανεπαρκές εργαλείο για τη διεξαγωγή ποιοτικής ανάλυσης, αλλά όπως θα δούμε σύντομα, αυτή η κακή ανάλυση μπορεί να αξιοποιηθεί. Παραδόξως, τα ευρεία πλάτη κορυφής που συναντούνται στα φάσματα UV-vis είναι κατάλληλα για ανάλυση υψηλής ακρίβειας. Το Σχήμα 1.2 δείχνει τη δομή (ένθετο) και φάσμα UV-vis της δι-2-πυριδυλοκετόνης (DPK) σε ακετονιτρίλιο.⁷ Στο Σχήμα 1.2 (Α) βλέπουμε δύο ισχυρές, δυσδιάκριτες κορυφές σε 240 και 272 nm και μια

⁵Η φασματοσκοπία ορατού- υπεριώδους διακριτών ατόμων είναι μια τεχνική που ονομάζεται φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (βλέπε κεφάλαιο 7).

⁶Αυτή είναι μια εφαρμογή του φωτοηλεκτρικού φαινομένου.

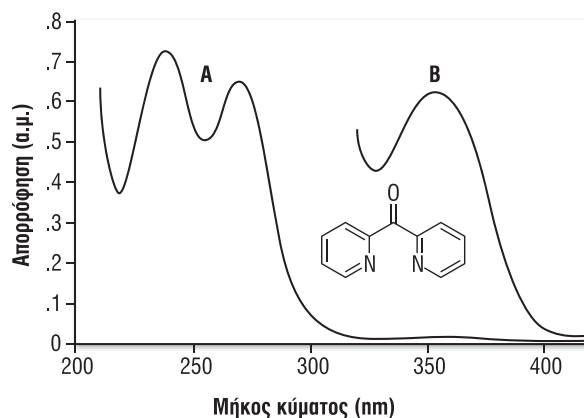
⁷Sienerth, K. D. ; Granger, R. M. ; et al. *Inorg. Chem.* **2004**, 43, 72-78.

τρίτη πολύ ασθενή κορυφή στα 356 nm. Χωρίς πρόσθετες πληροφορίες, αυτό το φάσμα δεν θα μας έλεγε ουσιαστικά τίποτα ποιοτικό σχετικά με την αναλυόμενη ουσία, εκτός από ότι πιθανά επιδεικνύει π-δεσμούς και/ή μη δεσμικά ζεύγη ηλεκτρονίων. Ωστόσο, οι κορυφές UV-vis συχνά εμφανίζουν υψηλές μοριακές απορροφητικότητες,⁸ οι οποίες αυξάνουν σημαντικά την ευαισθησία των μεθόδων που βασίζονται στη φασματοσκοπία UV-vis.

Αν και η άμεση ποσοτική ανάλυση χρησιμοποιώντας το νόμο του Beer⁹ είναι η πιο συνηθισμένη εφαρμογή της UV-vis, δεν πρέπει να αγνοούμε πλήρως τις ποιοτικές εφαρμογές της UV-vis. Η υψηλή ευαισθησία επιτρέπει στους αναλυτές να διακρίνουν πολύ μικρές αλλαγές στη συγκέντρωση και σε μια περίεργη καμπή, η ικανότητα αυτή προσφέρεται για ποιοτική εφαρμογή: κινητικές μελέτες. Οι κινητικές μετρήσεις χρησιμοποιούνται για να κατανοηθούν οι θεμελιώδεις μοριακές αλληλεπιδράσεις που εμπλέκονται σε πιο σύνθετες χημικές αντιδράσεις. Προκειμένου να πραγματοποιηθούν με επιτυχία τέτοιες μετρήσεις, είναι συχνά απαραίτητο να καταγραφούν μικρές μεταβολές στη μοριακή συγκέντρωση σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα, ένας παράγοντας που υποστηρίζεται από την ταχεία απόκριση και την επαναφορά των περισσότερων ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται στη φασματοσκοπία UV-vis. Σε μια αναφορά που περιγράφει την έρευνα των διαζιρινών,¹⁰ οι ερευνητές μπόρεσαν να παρατηρήσουν το φάσμα UV-vis ακτινοβολίας ενός μεταβατικού είδους με διάρκεια ζωής μικρότερη από ένα νανοδευτερόλεπτο, γεγονός που απαιτούσε τη μέτρηση των μικρομοριακών μεταβολών στην κλίμακα χρόνου των πικοδευτερολέπτων.¹¹ Η φασματοσκοπία UV-vis παρέχει επίσης πολύτιμα ποιοτικά αποτελέσματα σε πολλές βιοχημικές μελέτες. Επειδή οι βιοχημικές αντιδράσεις απαιτούν συχνά υδατικά μέσα και περιλαμβάνουν μεγάλα και σύνθετα μόρια (τα οποία, αμφότερα, παρουσιάζουν σημαντικές προκλήσεις για τις μεθόδους FTIR και NMR), η φασματοσκοπία UV-vis χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση αλλαγών στα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης, που προκύπτουν από την αλληλεπίδραση μεγάλων βιομορίων με άλλα είδη. Πρόσφατα, οι Matera και Clark χρησιμοποίησαν την UV-vis φασματοσκοπία για να μελετήσουν την οξειδωση των λιπαρών οξέων (ως ανάλογα των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας) από το ένζυμο μυελοπεροξειδάση (myeloperoxidase), το οποίο έχει συσχετιστεί ως πιθανός παράγοντας στην έναρξη της αθηροσκλήρωσης (Σχήμα 1.3)

Ένα φασματοφωτόμετρο καλής ποιότητας, για ερευνητική χρήση, μπορεί τυπικά να επιτύχει διακριτική ικανότητα 1 έως 2 nm στην περιοχή από 190 έως 1.100 nm και το 2016 κόστιζε λιγότερο από \$10.000. Ένα φασματοφωτόμετρο βασικού επιπέδου, που είναι κατάλληλο για πολλά εργαστηριακά πειράματα, μπορεί να αποκτηθεί με λιγότερο από \$ 3.000, αλλά αυτά τα όργανα συνήθως απαιτούν από το χρήστη να επιλέξει ένα σταθερό μήκος κύματος για κάθε μέτρηση, αντί να παρέχουν ένα πλήρες φάσμα σε μια περιοχή μηκών κύματος.^{2*}

Χ ΠΡΟΒΛΗΜΑ 1.1 Η απορρόφηση φωτονίων υπεριώδους ακτινοβολίας συνήθως σχετίζεται με ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις - δηλαδή, τέτοιες απορροφήσεις προκαλούν τη μετακίνηση των ηλεκτρονίων από το ένα ενεργειακό επίπεδο σε ένα άλλο. Στο μάθημα της γενικής χημείας, μάθατε ότι τα επίπεδα ενέρ-



Σχήμα 1.2. Φάσμα υπεριώδους-ορατού της DpK (η δομή στο ένθετο) σε ξηρό ακετονιτρίλιο. Η συγκέντρωση της DpK είναι 0,0828 mM (A) και 4,17 mM (B). Το μήκος διαδρομής της κυψελίδας ήταν 1,0 cm.

⁸Η γραμμομοριακή απορροφητικότητα είναι ο συντελεστής αναλογίας, που συσχετίζει την απορρόφηση με τη γραμμομοριακή συγκέντρωση και το μήκος διαδρομής. Στον νόμο του Beer (που συζητείται περαιτέρω στο κεφάλαιο 6), βλέπουμε ότι $A = \epsilon bc$, όπου ϵ είναι ο συντελεστής γραμμομοριακής απορροφητικότητας.

⁹Δείτε το τμήμα Συγκρίνετε και αντιπαραθέστε, αργότερα σε αυτό το κεφάλαιο και το νόμο του Beer στο Κεφάλαιο 6.

¹⁰Σημαντικοί πρόδρομοι σε βιοχημικές και οργανομεταλλικές μελέτες.

¹¹Platz, M. S. ; et al. *J. Amer. Chem. Soc.*, **2009**, 13 (38), 13784-13790.

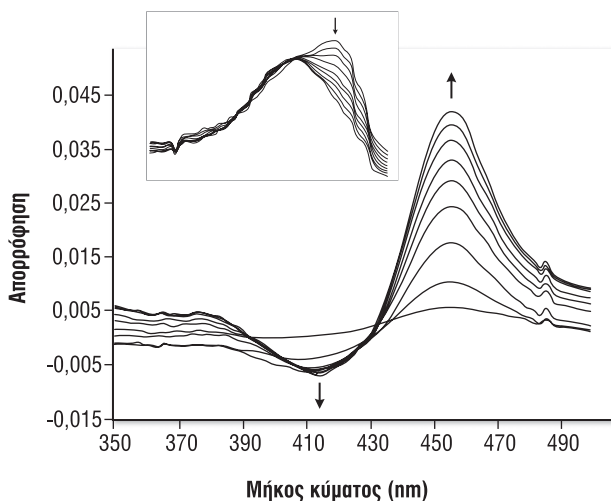
γειας είναι κβαντισμένα. Βασιζόμενοι σε αυτή την πληροφορία, τι τύπο κορυφών (ευρείες ή οξείες) θα αναμένατε να δείτε σε ένα φάσμα UV-vis; Εξηγήστε την απάντησή σας. Προτείνετε μερικούς λόγους για την παρατήρηση συνήθως ομαλών, ευρείων κορυφών στην φασματοσκοπία UV-vis;

Χ ΠΡΟΒΛΗΜΑ 1.2 Ο νόμος του Beer δηλώνει ότι η απορρόφηση ορίζεται ως $A = \epsilon bc$. Σε αυτή την εξίσωση, ϵ είναι η γραμμομοριακή απορροφητικότητα (σε μονάδες $\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$), b είναι το μήκος της διαδρομής απορρόφησης σε cm και c είναι η συγκέντρωση σε γραμμομοριακότητα κατ' όγκο. Εκτιμήστε το ϵ για την κορυφή DPK, που παρατηρείται στα 272 nm στο Σχήμα 1.2.

Χ ΠΡΟΒΛΗΜΑ 1.3 Χρησιμοποιώντας τη γραμμομοριακή απορροφητικότητα, που υπολογίστηκε στο Πρόβλημα 1.2, ποια είναι η συγκέντρωση του DPK, που απαιτείται για να παραχθεί απορρόφηση 0,433 στα 272 nm;

Χ ΠΡΟΒΛΗΜΑ 1.4 Δείγμα 13,50 mg ακάθαρτου DPK διαλύθηκε σε 50,00 mL ακετονιτρίλιο και τοποθετήθηκε σε κυψελίδα δείγματος, με μήκος διαδρομής 0,05 cm. Η απορρόφηση βρέθηκε να είναι 0,513 σε μήκος κύματος 272 nm. Ποια ήταν η εκατοστιαία καθαρότητα του δείγματος DPK; *Υπόδειξη:* Χρησιμοποιήστε τη γραμμομοριακή απορροφητικότητα που υπολογίστηκε στο Πρόβλημα 1.2.

Χ ΠΡΟΒΛΗΜΑ 1.5 Ποια είναι η υποκείμενη βάση για τη σχέση μεταξύ της απορροφητικότητας (ένταση ή ύψος) της κορυφής και της ποσοτικής ευαισθησίας;



Σχήμα 1.3. Φάσματα διαφοράς της αποσύνθεσης ενός προϊόντος αντίδρασης του ενζύμου μυελοϋπεροξειδάσης (MrO). Κάθε φάσμα διαφοράς δημιουργήθηκε με αφαίρεση του λαμβανόμενου φάσματος από το αρχικό φάσμα της MrO, σε χρονικά διαστήματα 20 δευτερολέπτων. Το ένθετο δείχνει τις πραγματικές φασματικές αλλαγές. Το σχήμα χρησιμοποιήθηκε με την άδεια του εκδότη: Matera, K. M.; Clark, A. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20 (19), 5643-5648.

1.3 Φασματοσκοπία υπέρυθρου

Όταν ένα μόριο αναλυόμενης ουσίας απορροφά φωτόνια στην υπέρυθη περιοχή (IR), το μόριο μεταβαίνει από τη θεμελιώδη δονητική κατάσταση σε μια διεγερμένη δονητική κατάσταση. Κάθε διεγερμένη δονητική κατάσταση έχει μια συγκεκριμένη ενέργεια (συχνότητα ή μήκος κύματος) που σχετίζεται με αυτήν. Επειδή οι δονήσεις είναι αποτέλεσμα των δεσμών που υπάρχουν στα μόρια που μελετώνται, παρατηρώντας την απορρόφηση της ενέργειας υπέρυθρου, σε συγκεκριμένες συχνότητες, καθιστά δυνατή την εξαγωγή συμπεράσματος για τον τύπο των δεσμών που υπάρχουν στο μόριο. Η συχνότητα της δόνησης μας επιτρέπει επίσης να κάνουμε κρίσεις σχετικά με τους τύπους των ατόμων ή των λειτουργικών ομάδων που εμπλέκονται στους δεσμούς. Για παράδειγμα, το μόριο DPK (δομή που φαίνεται στο Σχήμα 1.2) παρουσιάζει μία κορυφή απορρόφησης στα 1690 cm^{-1} ($\lambda = 5,92 \mu\text{m}$ ή $\nu = 5,36 \times 10^{13} \text{ Hz}$),¹² η οποία είναι χαρακτηριστική της δόνησης τάσης του δεσμού μεταξύ άνθρακα και οξυγόνου, στην ομάδα καρβονυλίου ($\text{C} = \text{O}$). Σε αυτό το κεφάλαιο θα συζητήσουμε την υπέρυθη φασματοσκοπία - τόσο την παραδοσιακή υπέρυθη όσο και τις πιο σύγχρονες τεχνικές FTIR - στο πλαίσιο του ρόλου της, ως ένα από τα εργαλεία της εργασιοθήκης ενός αναλυτή. Οι ειδικές λεπτομέρειες σχετικά με τη φασματοσκοπία υπέρυθρου καλύπτονται στο Κεφάλαιο 10.

¹²Η μονάδα cm^{-1} αναφέρεται ως κυματριθμός (είναι το αντίστροφο του μήκους κύματος, όταν το μήκος κύματος εκφράζεται σε εκατοστά και συνηθίζεται να χρησιμοποιείται στην υπέρυθη φασματοσκοπία).