

Χειρισμός Δείγματος (1)

- Η φασματοφωτομετρία IR χρησιμοποιείται για την εξέταση δειγμάτων σε κατάσταση:
 - Αέρια
 - Υγρή
 - Στερεή
- Χειρισμός δείγματος ποικιλότροπα ανάλογα με φύση δείγματος

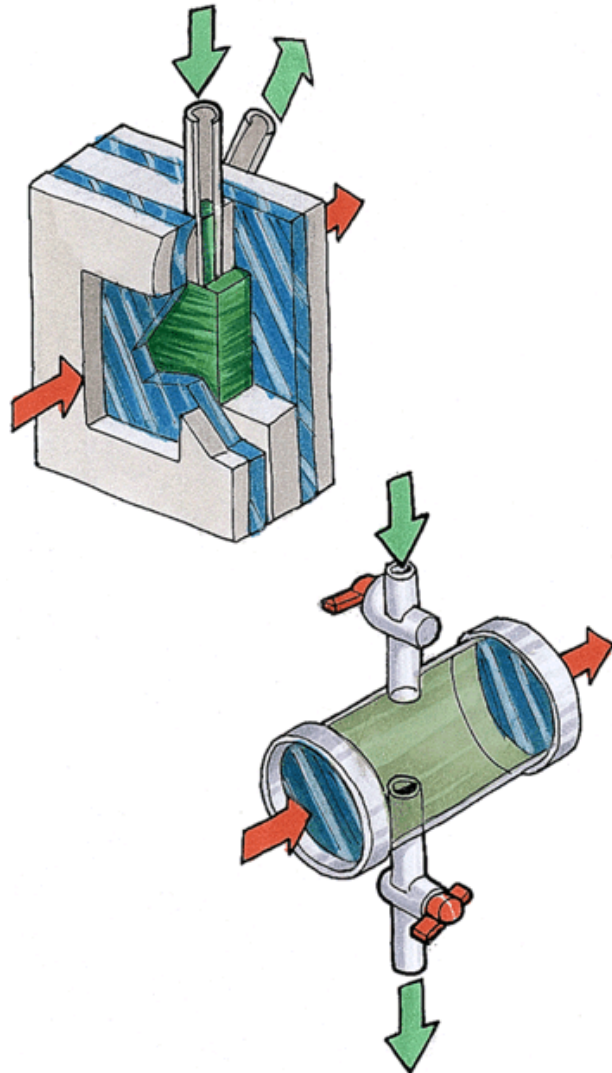
Χειρισμός Δείγματος (2)

- Παρουσιάζει πολλά προβλήματα
 - Σχεδόν όλες οι ουσίες απορροφούν στο IR (εκτός από τα μονοατομικά και διατομικά – ομοιοπολικά μόρια, π.χ. Ne, He, O₂, H₂)
Προσοχή: το O₃ (όζον) απορροφά στο IR γιατί η διπολική ροπή μεταβάλλεται κατά τη δόνηση
 - Περιορισμοί στην επιλογή
 - Υλικού κατασκευής κυψελίδας
 - Εύρους κυψελίδας
 - Διαλύτη

Χειρισμός Αέριων Δειγμάτων

- Το φάσμα λαμβάνεται σε κυψελίδες ποικίλου μήκους υπό πίεση από λίγα mm Hg μέχρι μερικές ατμόσφαιρες, ανάλογα με μοριακή απορροφητικότητα
- Οπτική διαδρομή δέσμης στις κυψελίδες από μερικά cm μέχρι 100 cm (σε κυψελίδες με κατάλληλα κάτοπτρα για πολλαπλές ανακλάσεις)

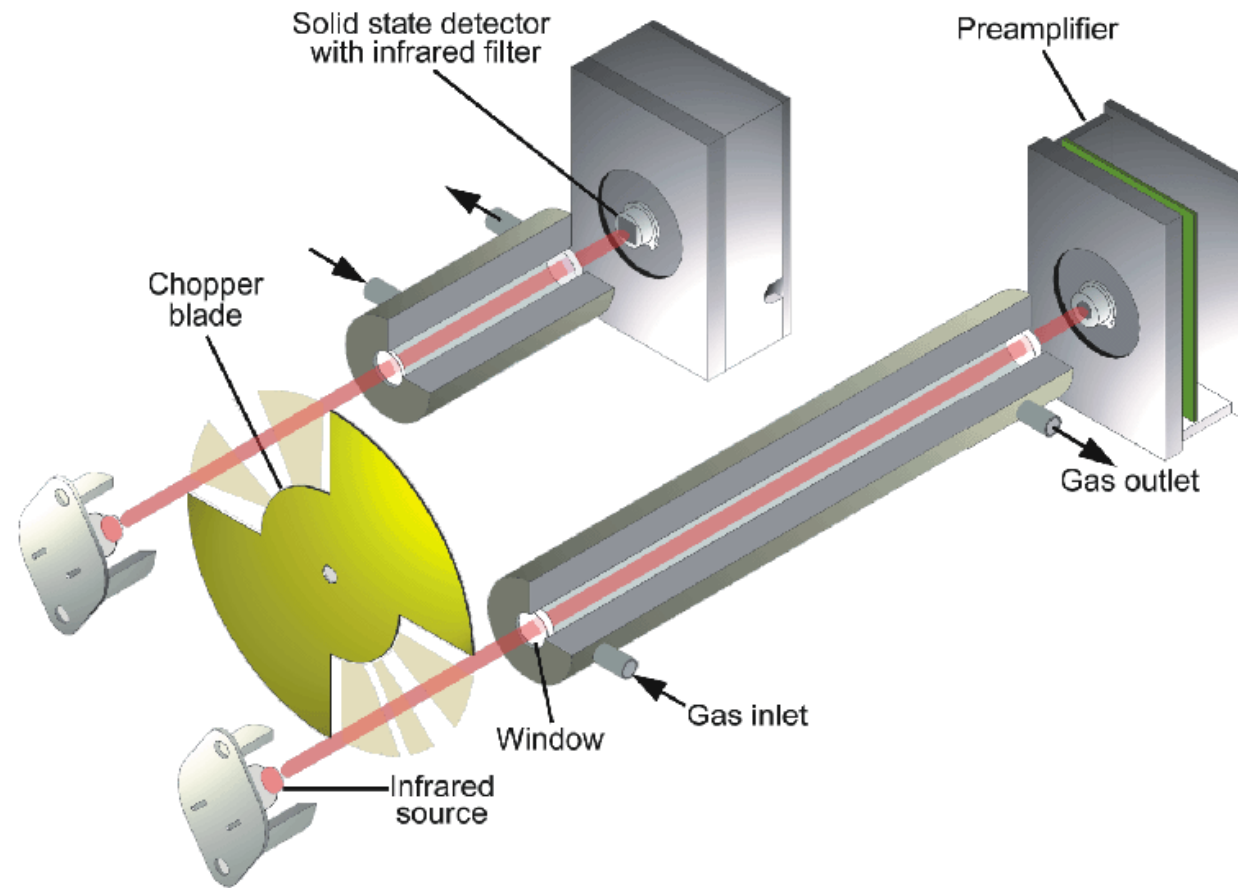
Κυψελίδες Αερίων Δειγμάτων για Λήψη Φάσματος IR



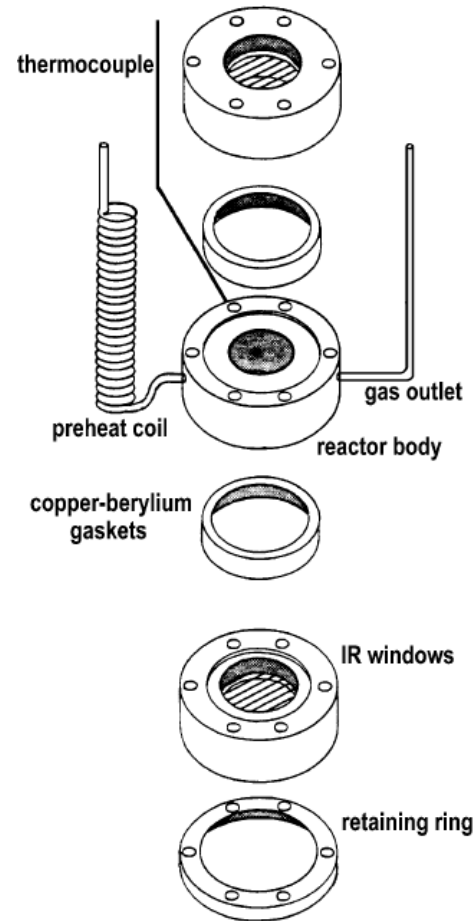
Κυψελίδα Αερίων Δειγμάτων για Λήψη Φάσματος IR



Κυψελίδες IR Αερίων



Θερμαινόμενη Κυψελίδα IR για Αέρια



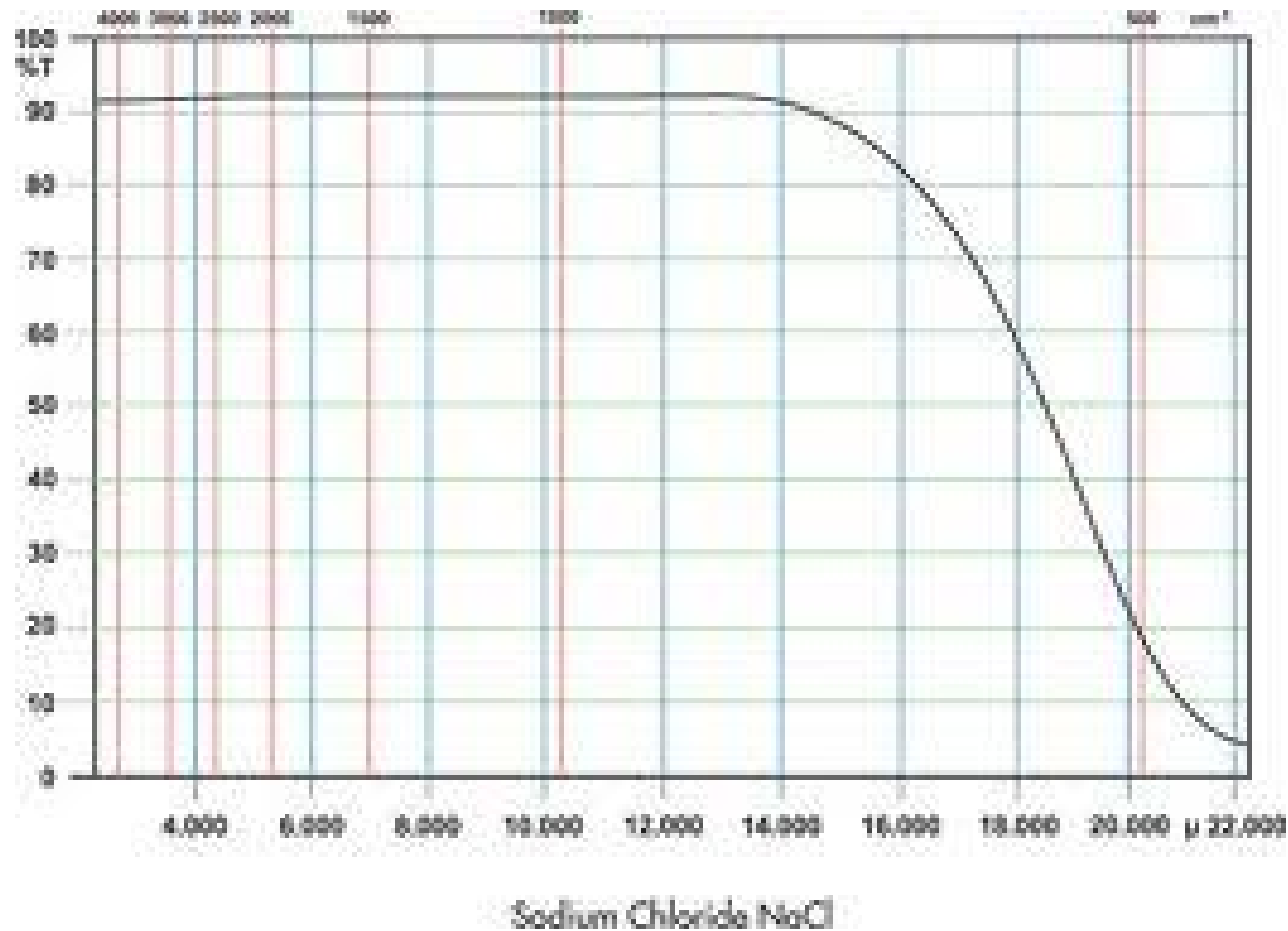
Χειρισμός Υγρού Δείγματος

- Προηγείται απομόνωση συστατικού από πολύπλοκο δείγμα, λόγω της πολυπλοκότητας των φασμάτων IR
- Ανάλυση υγρού δείγματος:
 - Ως έχουν υπό μορφή υμενίου μεταξύ πλακιδίων από NaCl
 - Υπό μορφή διαλύματος, συνήθως 0,05 – 10% σε CCl_4 ή CHCl_3 ή άλλο κατάλληλο διαλύτη σε κυψελίδα NaCl πάχους 0,1 – 1 mm.

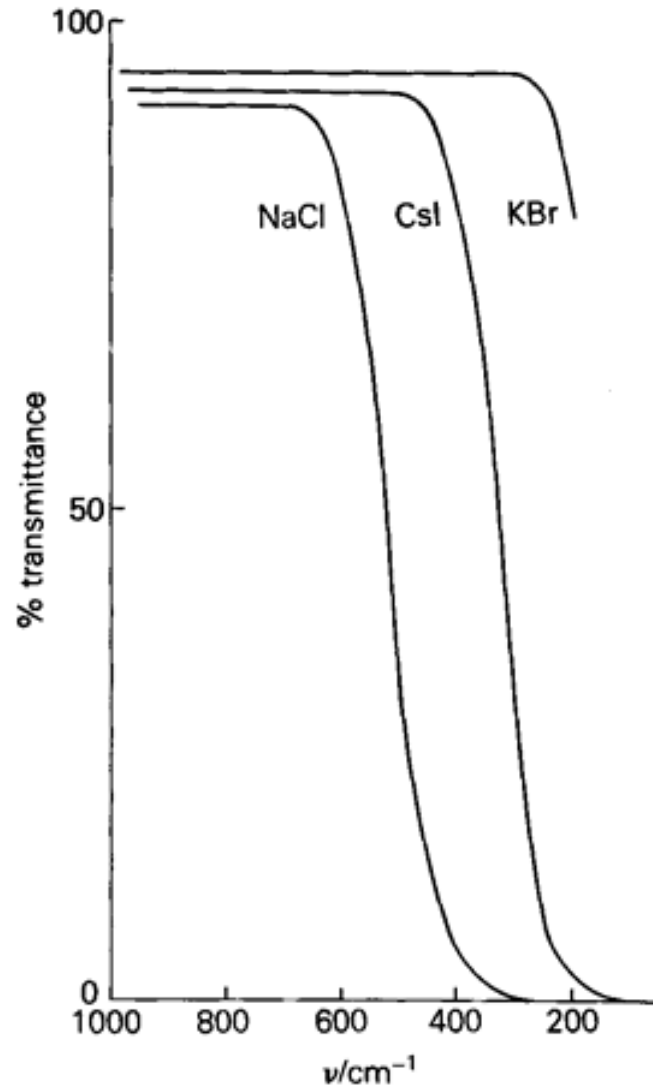
Κυψελίδα IR για υγρά δείγματα

- Γενικά αποτελείται από δύο πλακίδια (παράθυρα) κρυσταλλικού NaCl ή άλλου υλικού περατού στο IR
 - Συγκρατούνται σε σταθερή απόσταση μεταξύ τους με τη βοήθεια ρυθμιστών πάχους (spacers)
 - Το υγρό δείγμα τοποθετείται μεταξύ των πλακιδίων με τη βοήθεια συρίγγων

Φάσμα διαπερατότητας NaCl



Φάσματα Διαπερατότητας Υλικών Περαιτών στο IR



Πλακίδια κρυσταλλικού NaCl

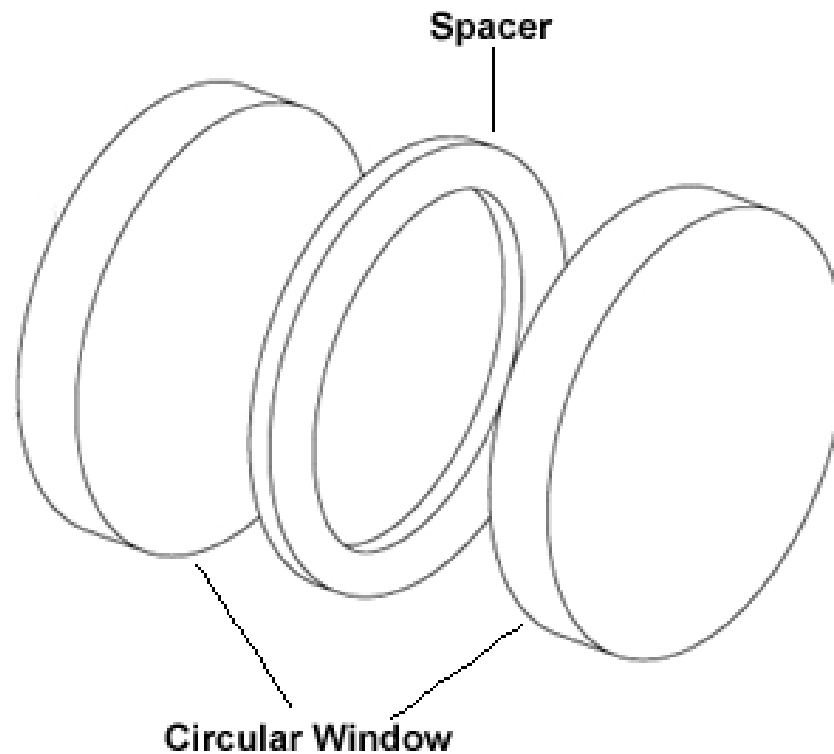


Ορθογώνια Πλακίδια NaCl, Ρυθμιστές Πάχους και Αποσυνδεόμενες Κυψελίδες IR

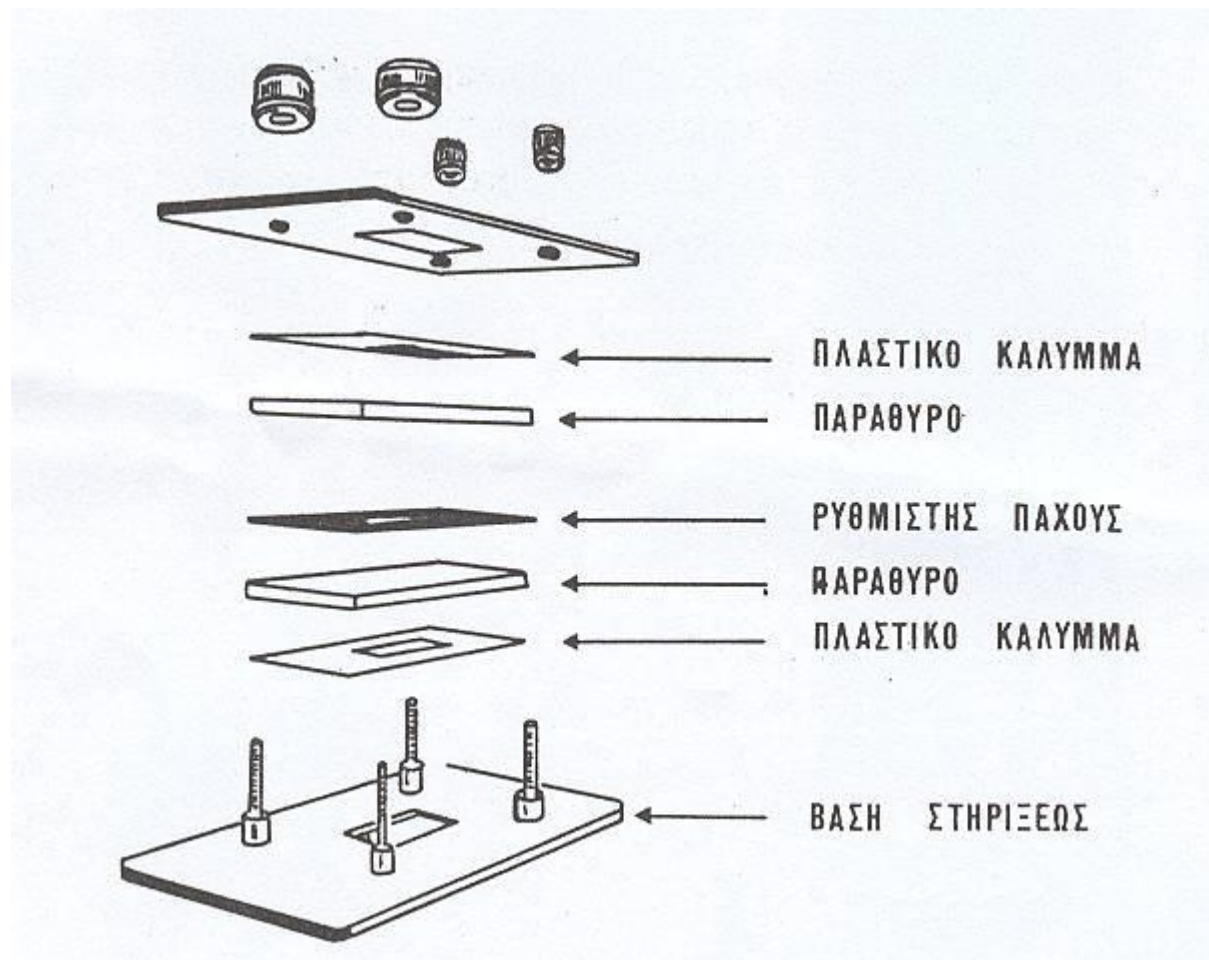


Σφαιρικά Πλακίδια NaCl και Ρυθμιστής Πάχους (Spacer)

Demountable Cell



Διάγραμμα Αποσυνδεόμενης Κυψελίδας IR



Τρόπος πλήρωσης κυψελίδας IR

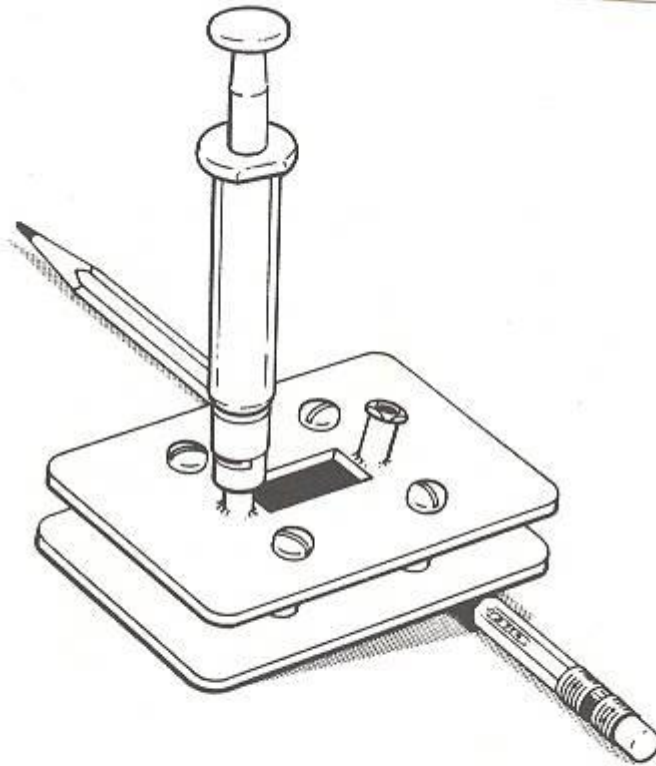


Fig. 4-1 - Correct way to fill a sealed cell

Τρόπος πλήρωσης κυψελίδας IR

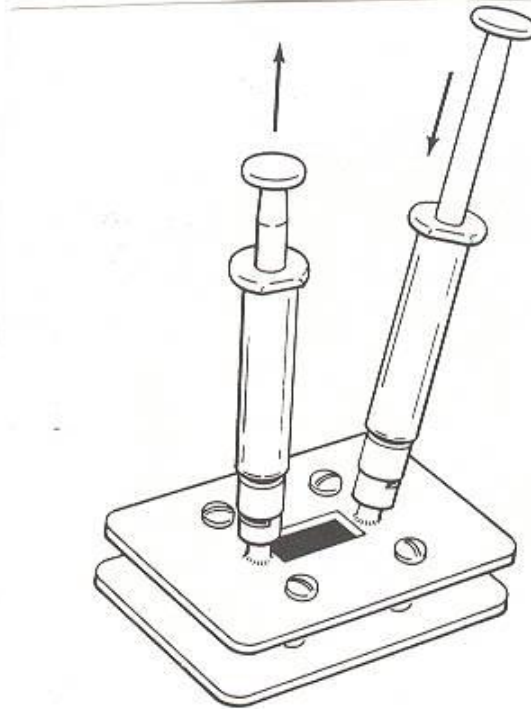
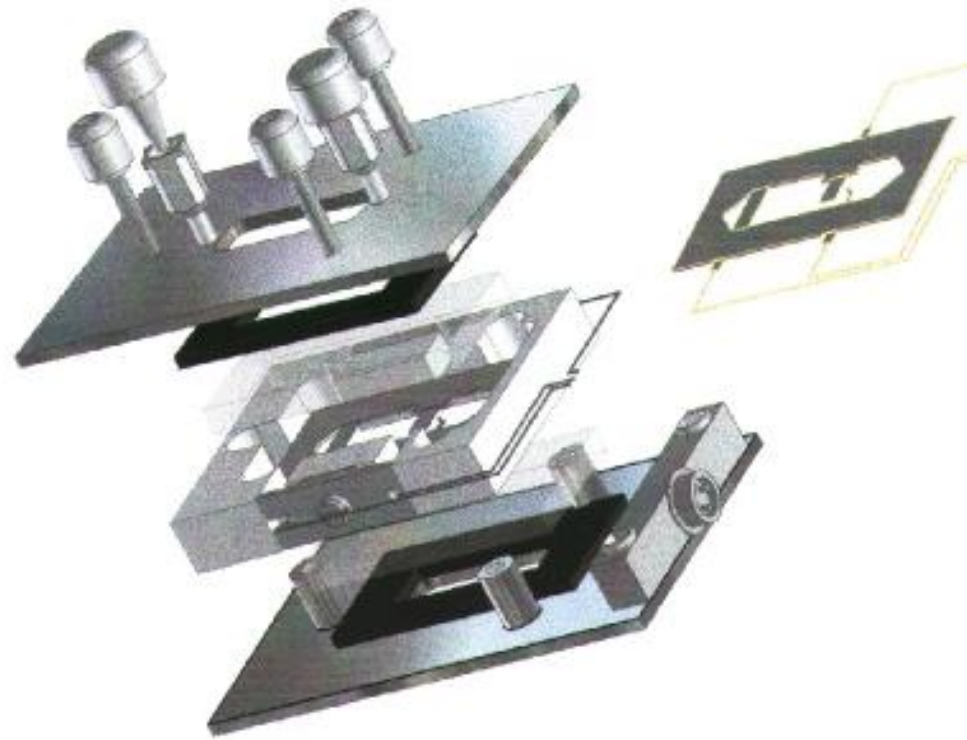


Fig. 4-4 - Use of two syringes to clean cells less than 0.075 mm thick

Αποσυνδεόμενη Κυψελίδα IR για Υγρά



Κυψελίδες IR για Υγρά



Κυψελίδες IR για Υγρά



Κυψελίδες IR για Υγρά



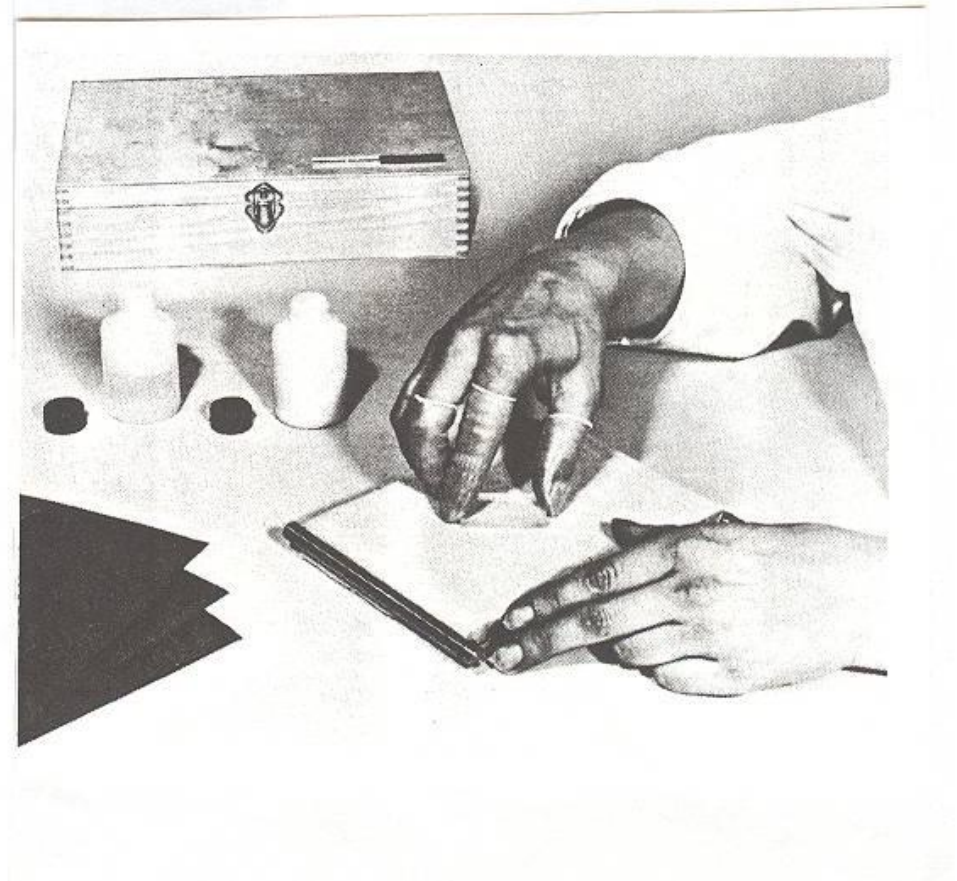
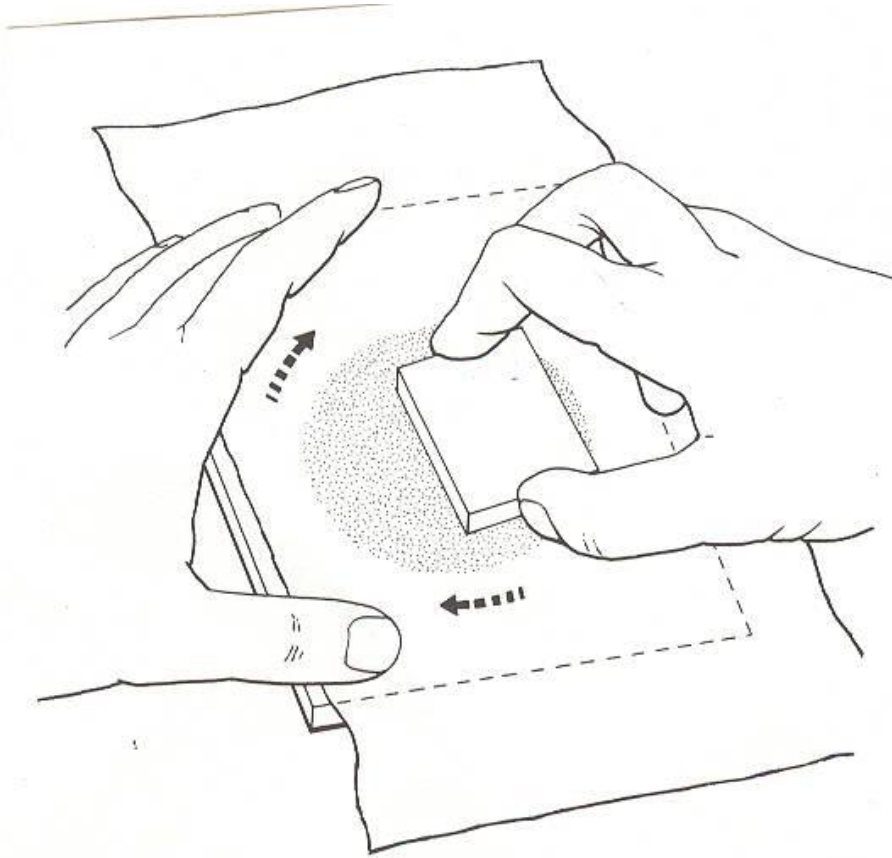
Χειρισμός Κυψελίδων NaCl (1)

- Εξαιτίας του υλικού κατασκευής οι κυψελίδες προσβάλλονται εύκολα από την υγρασία
- Κανόνες χειρισμού - Προφυλάξεις:
 1. Ουδέποτε αγγίζουμε τις επιφάνειες των κυψελίδων
 2. Φυλάσσονται εντός ξηραντήρα σε κλιματιζόμενο χώρο σταθερής θερμοκρασίας

Χειρισμός Κυψελίδων NaCl (2)

3. Μη χρήση υγροσκοπικών υγρών και διαλυμάτων
 - Για υγροσκοπικά δείγματα χρησιμοποιούνται πλακίδια CaF_2 , BaF_2 , ZnS , AgCl
4. Για τον καθαρισμό γίνεται έκπλυση με κατάλληλο διαλύτη και ξήρανση με διαβίβαση αζώτου και όχι αέρα

Χειρισμός Πλακιδίων NaCl



Χειρισμός Στερεών Δειγμάτων

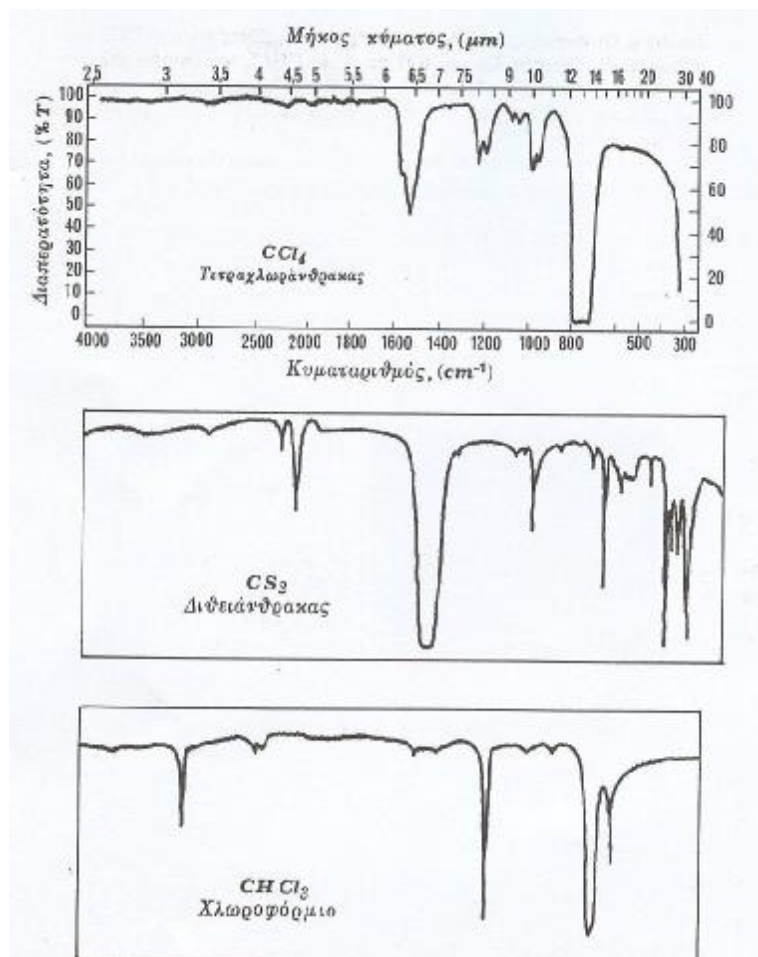
Λήψη Φάσματος

- Υπό μορφή διαλύματος με χρήση αποσυνδεόμενης κυψελίδας, όπως για τα υγρά δείγματα
- Σε στερεή μορφή υπό μορφή πιεσμένων δισκίων KBr
- Υπό μορφή γλισχράσματος (αλοιφή, mull)
- Υπό μορφή υμενίου σε πλακίδιο NaCl μετά από εξάτμιση οργανικού διαλύτη που προκύπτει από τη διάλυση του στερεού (πλαστικοί περιέκτες φαρμάκων)

Διαλυτοποίηση Στερεών Δειγμάτων

- Χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες, που απορροφούν στην περιοχή του IR
- Επιλογή διαλύτη:
 - Με βάση τη διαλυτότητα του δείγματος
 - Χαρακτηριστικά απορροφήσεως διαλύτη
- Συχνότερα χρησιμοποιούμενοι διαλύτες:
 - CCl_4 (απορροφά ισχυρά σε 830 και 670 cm^{-1})
 - CHCl_3 (απορροφά ισχυρά σε 3030, 1220 και 830-670 cm^{-1})
 - CS_2 (απορροφά ισχυρά σε 2160, και 1500 cm^{-1})

Φάσματα IR συνηθέστερων διαλυτών



Τεχνική Πιεσμένου Δισκίου (1)

- Κονιοποίηση δείγματος σε σωματίδια μικρότερα από το μήκος κύματος ακτινοβολίας IR για ελαχιστοποίηση σκέδασης ακτινοβολίας
- 1 mg κονιοποιηθέντος δείγματος αναμειγνύεται με περίπου 300 mg KBr, αποξηραμένου και υψηλής καθαρότητας
- Συμπιέζεται το μείγμα σε ειδική μήτρα πιεστηρίου υπό κενό και πίεση μέχρι 10 tn
- Λαμβάνεται δισκίο υψηλής διαπερατότητας
- Τοποθετείται σε ειδική υποδοχή του φασματοφωτομέτρου IR

Τεχνική Πιεσμένου Δισκίου (2)

- Καλή τεχνική για ποιοτική ανάλυση (το φάσμα οφείλεται μόνο στην εξεταζόμενη ουσία)
- Όχι ακριβή αποτελέσματα στην ποσοτική ανάλυση
 - Δυσκολία λήψεως δισκίου σταθερού και γνωστού πάχους
 - Σκεδασμός ακτινοβολίας από σωματίδια μεγάλων διαστάσεων

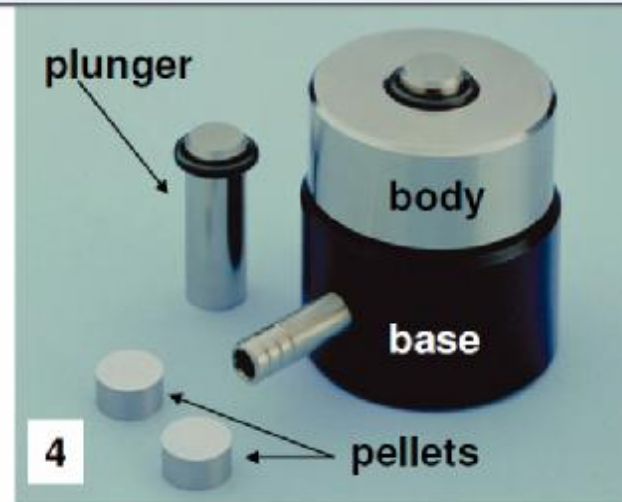
Παρασκευή πιεσμένου δισκίου (1)

Η ερυθρή εξεταζόμενη ουσία προστίθεται σε
κονιοποιημένο KBr

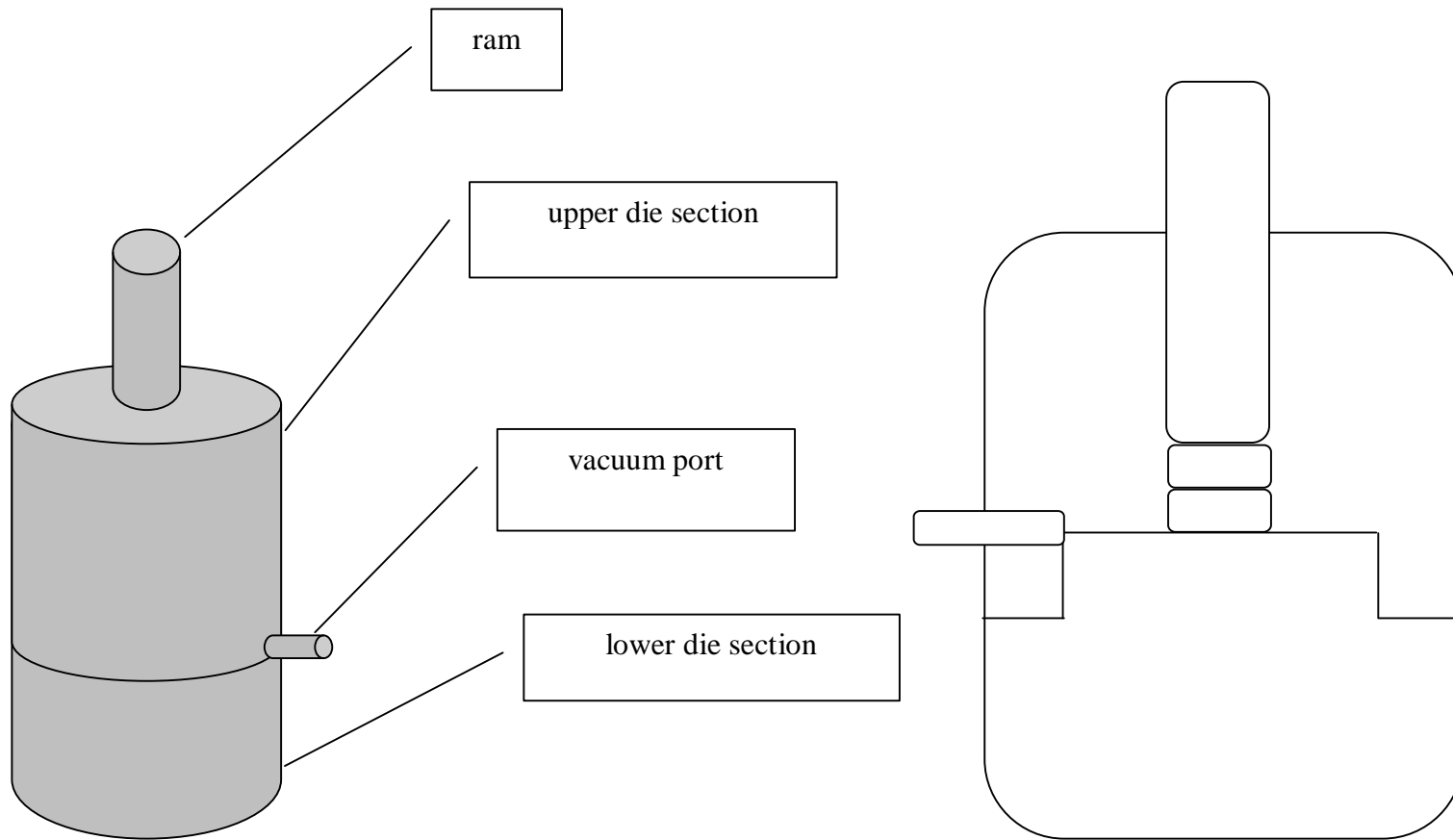


Παρασκευή πιεσμένου δισκίου (2)

Το μείγμα πιέζεται εντός ειδικής μήτρας



Ειδική μήτρα για την παρασκευή δισκίων KBr



Ειδικές μήτρες για την παρασκευή δισκίων KBr



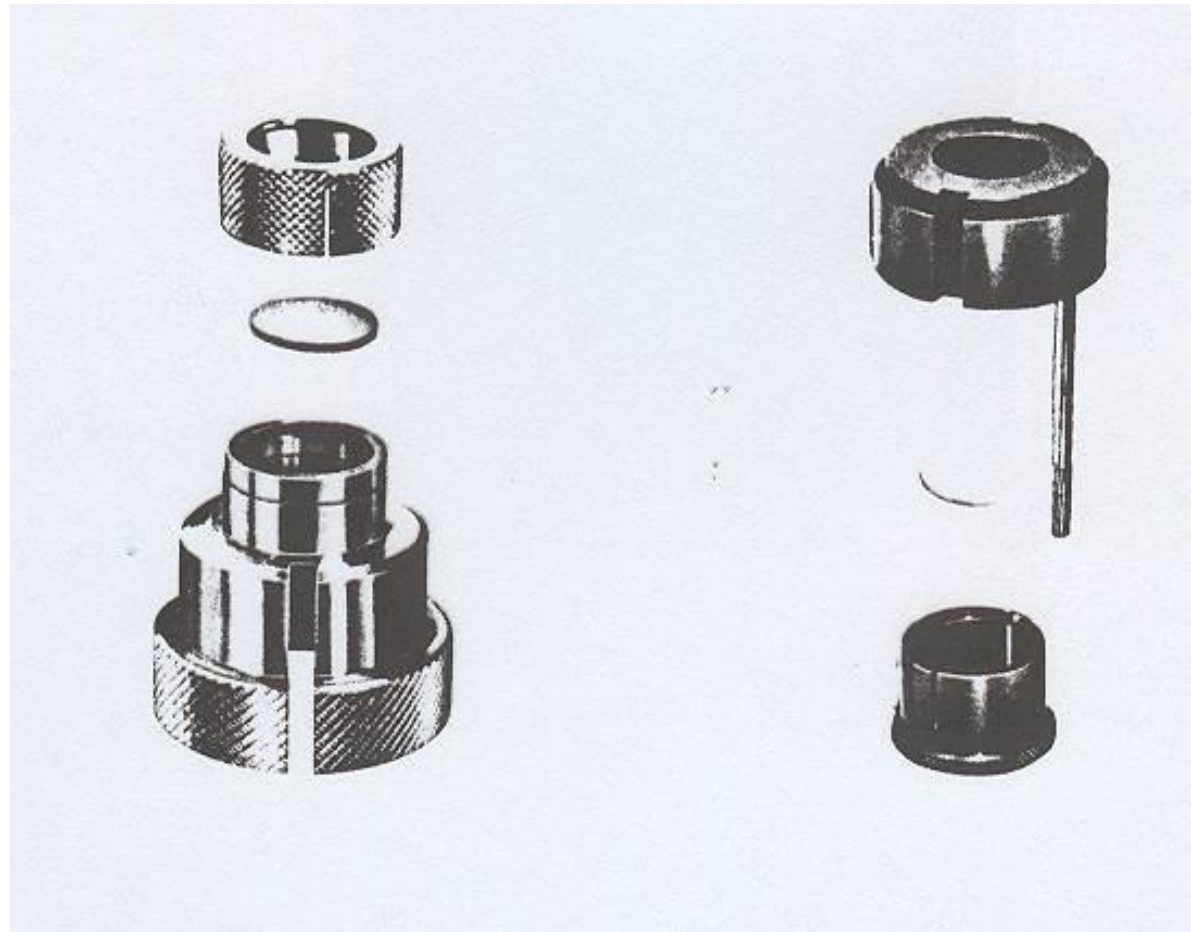
Πιεστήριο (πρέσα) για την παρασκευή δισκίων KBr



Πιεστήριο ελεγχόμενης πίεσης για την παρασκευή δισκίων KBr



Υποδοχείς πιεσμένων δισκίων KBr



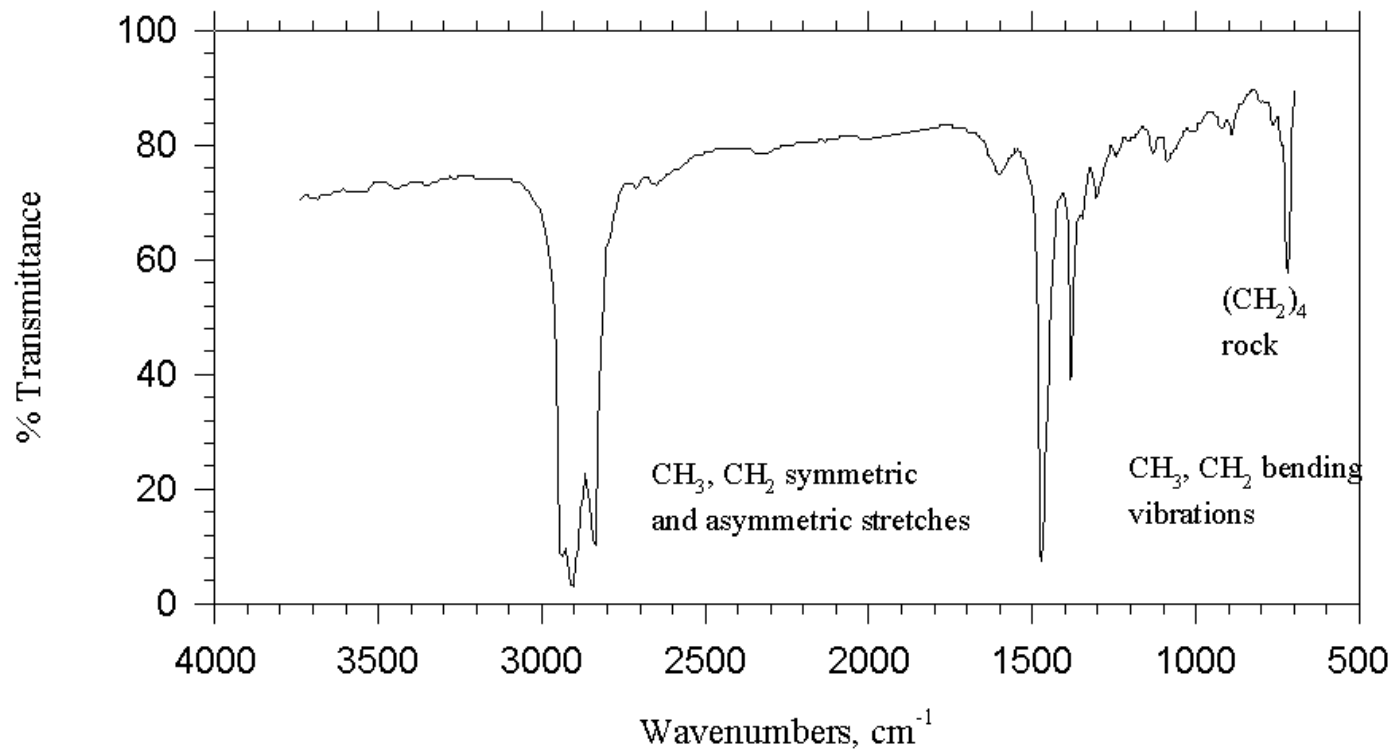
Ειδική υποδοχή πιεσμένων δισκίων KBr για τη λήψη φάσματος IR



Τεχνική γλισχράσματος (αλοιφής, mull)

- Η σκόνη του δείγματος αναμειγνύεται και λειοτριβείται με ιξώδες υγρό, διαπερατό στο IR
 - Nujol (παραφινέλαιο)
 - Fluorolube (κορεσμένος φθοράνθρακας)
- Σχηματίζεται ομοιογενής αλοιφή
- Τοποθετείται μεταξύ των δύο πλακιδίων NaCl της κυψελίδας
- Περιορισμένης ακρίβειας ποσοτικά αποτελέσματα

Φάσμα IR λεπτής στοιβάδας Nujol



Λήψη φάσματος πολυμερών

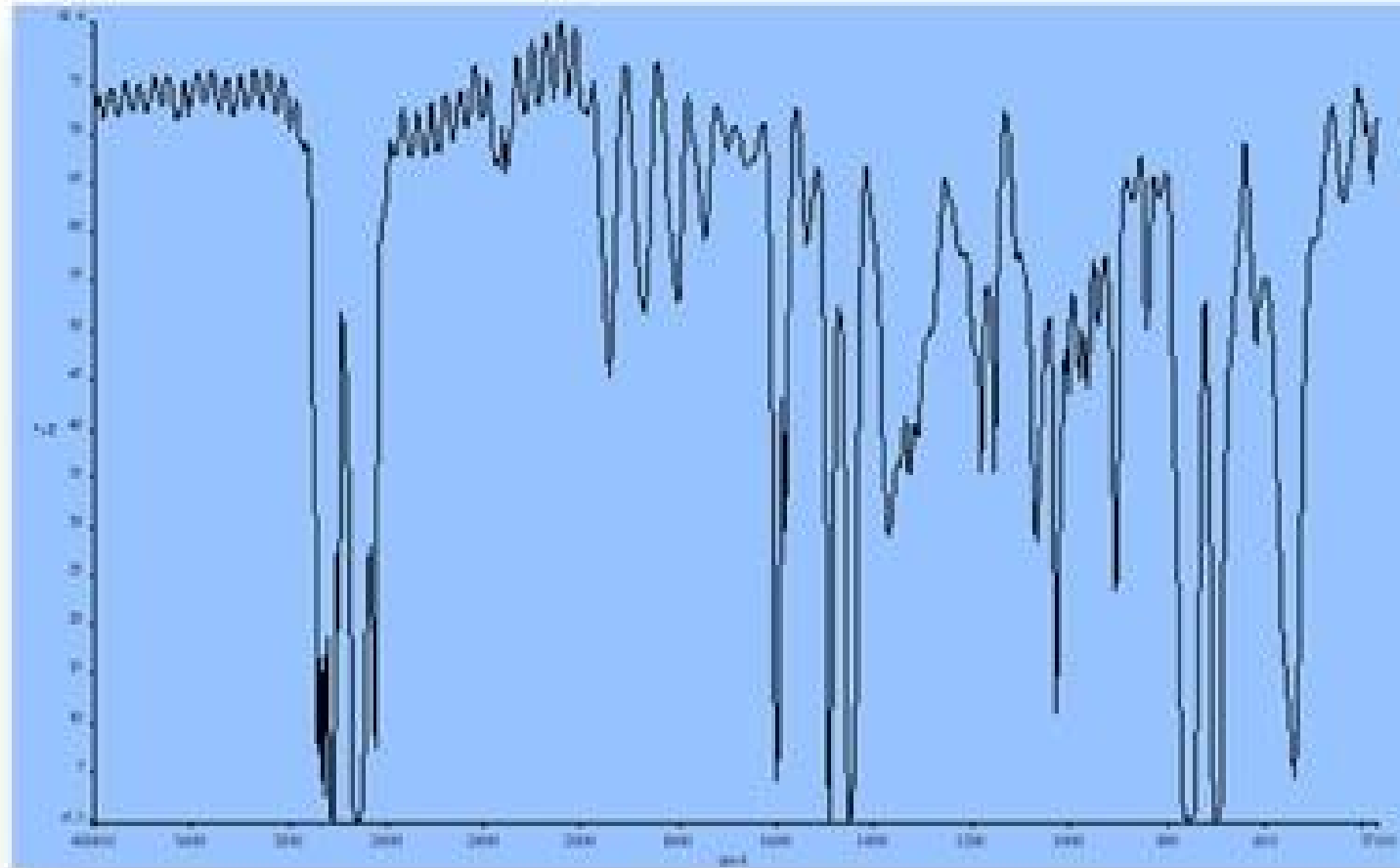
- Το πολυμερές διαλύεται με βρασμό με κάθετο ψυκτήρα σε τολουόλιο
- Μέρος του διαλυμένου πολυμερούς απλώνεται σε πλακίδιο NaCl, και τοποθετείται σε πυριατήριο
- Ο διαλύτης εξατμίζεται και σχηματίζεται λεπτό υμένιο του πολυμερούς στο πλακίδιο και λαμβάνεται το φάσμα
- Διαφορετικά το πολυμερές τίθεται σε ειδική συσκευή, θερμαίνεται και σχηματίζεται λεπτή μεμβράνη

Συσκευή σχηματισμού μεμβρανών πολυμερών για τη λήψη φάσματος



Φάσμα IR πολυστυρενίου

Χρησιμοποιείται για βαθμονόμηση



Φάσμα IR πολυστυρενίου

Χρησιμοποιείται για βαθμονόμηση

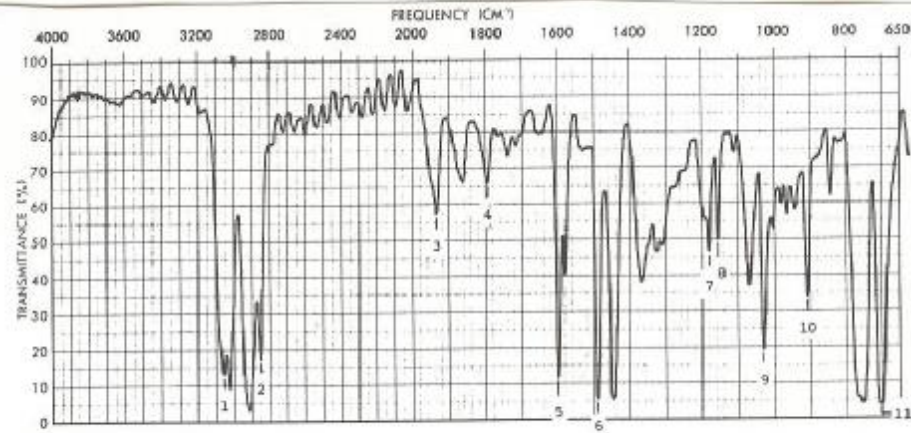


Fig. 1-2 - Polystyrene calibration sample spectrum (0.05 mm film)

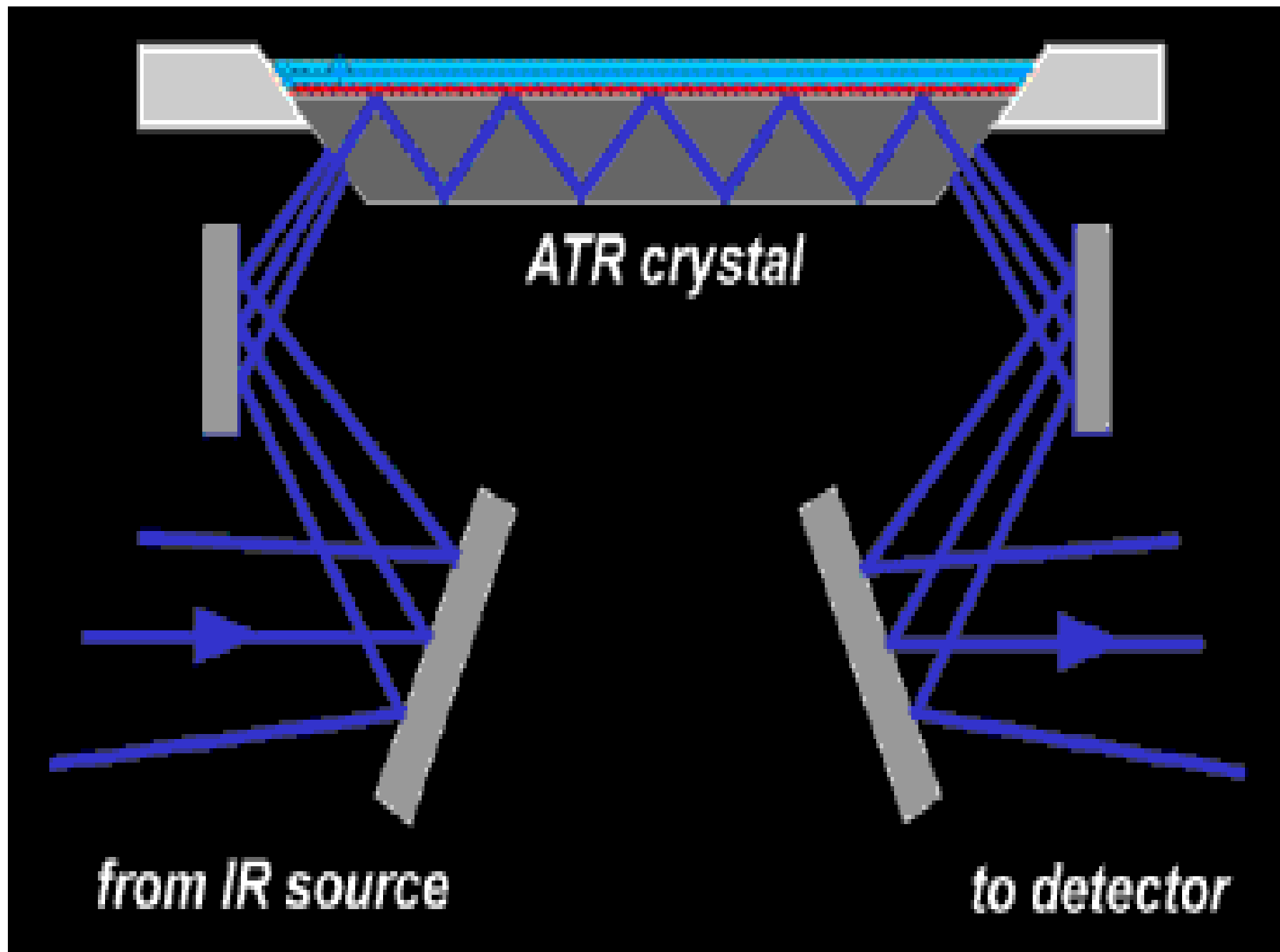
<u>PEAK #</u>	<u>FREQUENCY, cm⁻¹</u>	<u>WAVELENGTH, μ</u>
1	3027	3.30
2	2851	3.51
3	1944	5.14
4	1802	5.55
5	1601	6.25
6	1495	6.69
7	1181	8.47
8	1154	8.67
9	1028	9.73
10	907	11.02
11	699	14.31

Τεχνική εξασθενημένης ολικής ανάκλασης Attenuated Total Reflectance, ATR (1)

- Πρόσφατη πρόοδος φασματοφωτομετρίας IR
- Το εξεταζόμενο στερεό δείγμα:
 - Φιλμς πολυμερών
 - βαμμένες επιφάνειες
 - άλλα μη διαπερατά υλικά
- Τοποθετείται σε μονόπλευρη ή αμφίπλευρη επαφή με διαπερατό υλικό (κρύσταλλος ATR) υψηλότερου δείκτη διάθλασης

Τεχνική εξασθενημένης ολικής ανάκλασης Attenuated Total Reflectance, ATR (2)

- Η ακτινοβολία IR υφίσταται ολική ανάκλαση στο περατό υλικό του κρυστάλλου ATR
- Κατά την ανάκλαση, η ακτινοβολία εισέρχεται στο δείγμα σε βάθος ίσο με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας IR (λίγα μm), και υφίσταται μικρή απορρόφηση
- Η ακτινοβολία εισέρχεται υπό κατάλληλη γωνία και υφίσταται πολλαπλές ανακλάσεις και η απορρόφηση αυξάνεται σημαντικά
- Μετά τις πολλαπλές ανακλάσεις η ακτινοβολία προσπίπτει στον ανιχνευτή



Χρησιμοποιούμενοι κρύσταλλοι στην τεχνική ATR

- Zinc Selenide (ZnSe)
- Germanium (Ge)
- Zinc Sulfide (ZnS)
- Silicon (Si)
- Diamond
- AMTIR: Germanium, Arsenic, Selenium (GeAsSe)

Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας Υπερύθρου

1. Προσδιορισμός δομής (συντάξεως) οργανικών (κυρίως) και ανόργανων ουσιών
2. Ταυτοποίηση οργανικών (κυρίως) και ανόργανων ουσιών
3. Ποσοτική ανάλυση (περιορισμένη εφαρμογή)

Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR

Προσδιορισμός δομής (1)

- Η ένωση πρέπει να είναι τελείως απαλλαγμένη από προσμείξεις
- Καταλληλότερη περιοχή φάσματος η περιοχή χαρακτηριστικών ομάδων
- Ερμηνεία ή αποτίμηση φάσματος:
 - Απόδοση ταινιών απορρόφησης στις αντίστοιχες δονήσεις
 - Αντιστοίχιση με χαρακτηριστικές ομάδες

Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR Προσδιορισμός δομής (2)

- Γίνεται με τη βοήθεια ειδικών πινάκων
 - Περιοχές εμφάνισης των ταινιών απορρόφησης διαφόρων χαρακτηριστικών ομάδων
- Σήμερα γίνεται με τη βοήθεια λογισμικού υπολογιστών, στη μνήμη των οποίων υπάρχουν καταχωρισμένα φάσματα χιλιάδων γνωστών ενώσεων
 - Ερμηνεία φάσματος on-line ή off-line

Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR

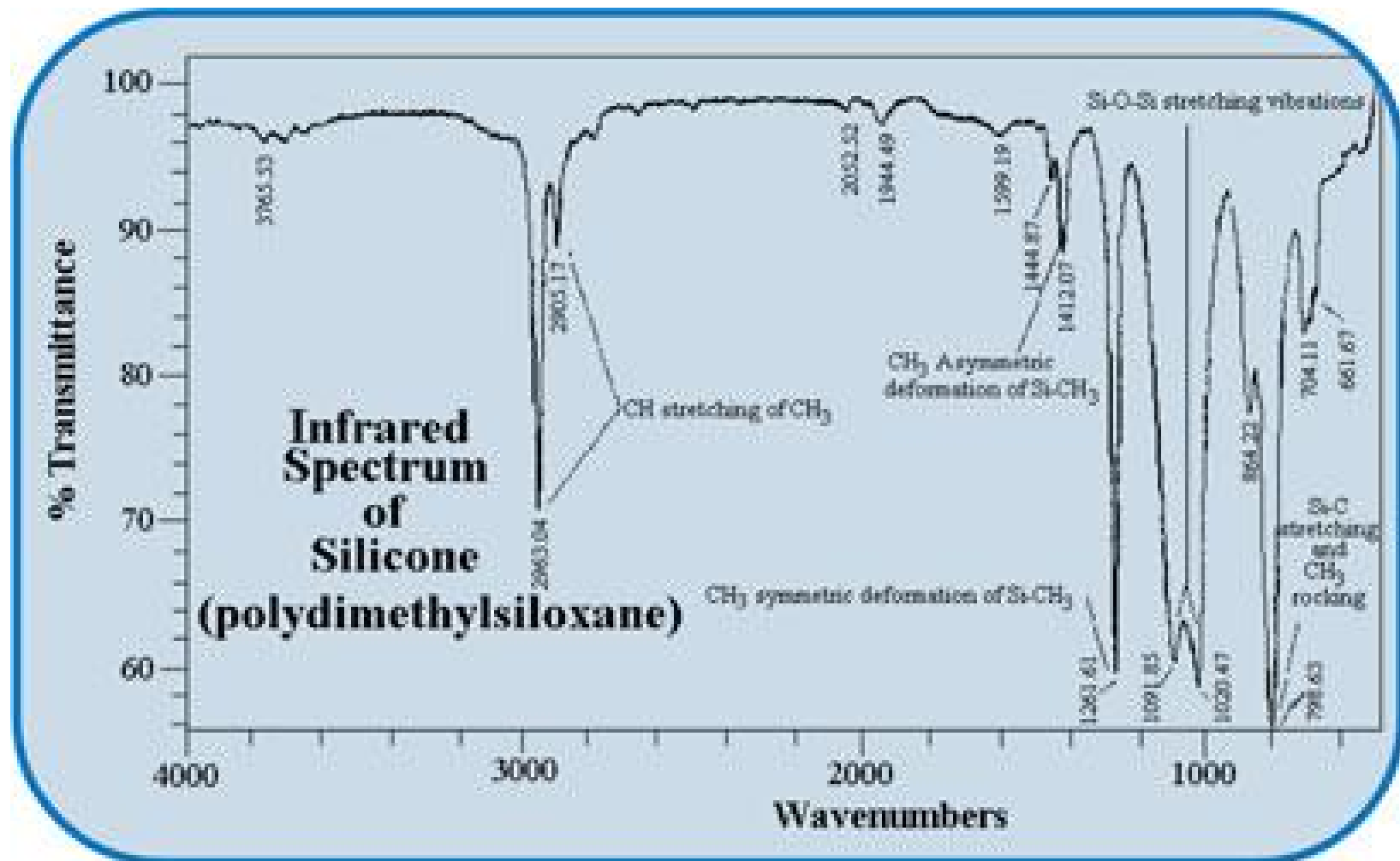
Προσδιορισμός δομής (3)

- Διευκρίνιση δομής απαραίτητη
 - Σύνθεση νέων φαρμακευτικών ενώσεων
 - Μελέτη σταθερότητας
 - Απομόνωση και μελέτη φαρμακευτικών ενώσεων από δρόγες (φαρμακογνωσία)
 - Απομόνωση και μελέτη δηλητηρίων από τοξικολογικά δείγματα
- Συνδυασμός φασματοφωτομετρίας IR με άλλες αναλυτικές τεχνικές:
 - Φασματοφωτομετρία UV
 - Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)
 - Φασματομετρία μαζών (MS)

Χαρακτηριστικές Συχνότητες Απορρόφησης

CHARACTERISTIC INFRARED ABSORPTION FREQUENCIES		
Bond	Compound type	Frequency range cm ⁻¹
C—H	Alkanes	2850–2960
		1350–1470
C—H	Alkenes	3020–3080
		675–1000
C—H	Aromatic rings	3000–3100
		675–870
C—H	Alkynes	3300
C=C	Alkenes	1640–1680
C≡C	Alkynes	2100–2260
C=C	Aromatic rings	1500, 1600
C—O	Alcohols, ethers, carboxylic acids, esters	1080–1300
C=O	Aldehydes, ketones, carboxylic acids, esters	1690–1760
O—H	Monomeric alcohols, phenols	3610–3640
	Hydrogen-bonded alcohols, phenols	3200–3600
	Carboxylic acids	2500–3000
N—H	Amines	3300–3500
C—N	Amines	1180–1360
C≡N	Nitriles	2210–2260
—NO ₂	Nitro compounds	1515–1560
		1345–1385

Ερμηνεία Φάσματος Πολυδιμεθυλοσιλοξανίου



Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR

Ταυτοποίηση (1)

- Φάσμα IR καλύτερο μέσο ταυτοποίησης μιας ενώσεως
 - Δακτυλικό αποτύπωμα (υπογραφή) της ένωσης
- Ταυτοποίηση γίνεται με:
 - Σύγκριση του φάσματος της άγνωστης ουσίας προς το φάσμα γνωστής ουσίας (πρότυπης ή αναφοράς)
 - Επίθεση φασμάτων
 - Βοήθεια μικροϋπολογιστή

Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR

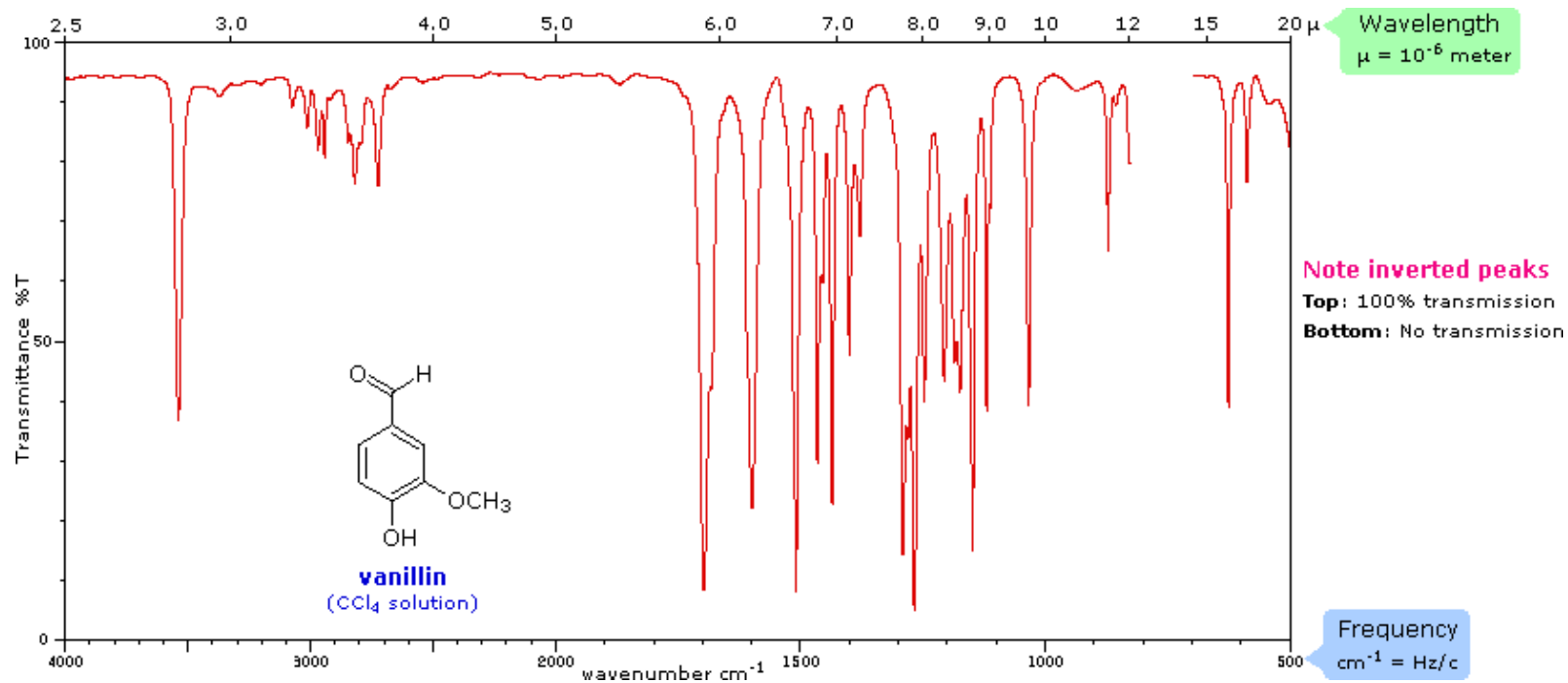
Ταυτοποίηση (2)

- Δύο ουσίες θεωρούνται **ταυτόσημες**, εάν τα φάσματα IR συμφωνούν στα χαρακτηριστικά:
 - Θέση ταινιών απορρόφησης
 - Μορφή ταινιών
 - Σχετική ένταση
- Στις μονογραφίες των Φαρμακοποριών, το φάσμα IR αποτελεί την κυριότερη δοκιμασία ταυτοποίησης των φαρμάκων. Δίνονται για τις ζώνες απορρόφησης:
 - Θέσεις
 - Σχετική ένταση (ασθενής, μέση, ισχυρή)
 - Μορφή (ευρεία, στενή, εμφάνιση ώμου)

Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR Ταυτοποίηση (3)

- Κατά τη λήψη φασμάτων σε στερεή μορφή (δισκία, γλισχράσματα), ο πολυμορφισμός των ενώσεων μπορεί να δυσκολέψει τη σύγκριση των φασμάτων
- Η δοκιμασία επαναλαμβάνεται με ανακρυστάλλωση των άγνωστων ουσιών και των ουσιών αναφοράς από τον ίδιο διαλύτη

Φάσμα IR βανιλίνης



Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR

Ποσοτική ανάλυση (1)

- Περιορισμένη εφαρμογή
 1. Συχνές αποκλίσεις από νόμο Beer
 - Μεγάλο εύρος σχισμής γιατί μικρής ισχύος ακτινοβολία IR και μικρής ευαισθησίας ανιχνευτής
 - Μεγάλη παράσιτη ακτινοβολία
 - Έντονες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις στα σχετικά πυκνά διαλύματα
 - Μη γραμμικές καμπύλες αναφοράς

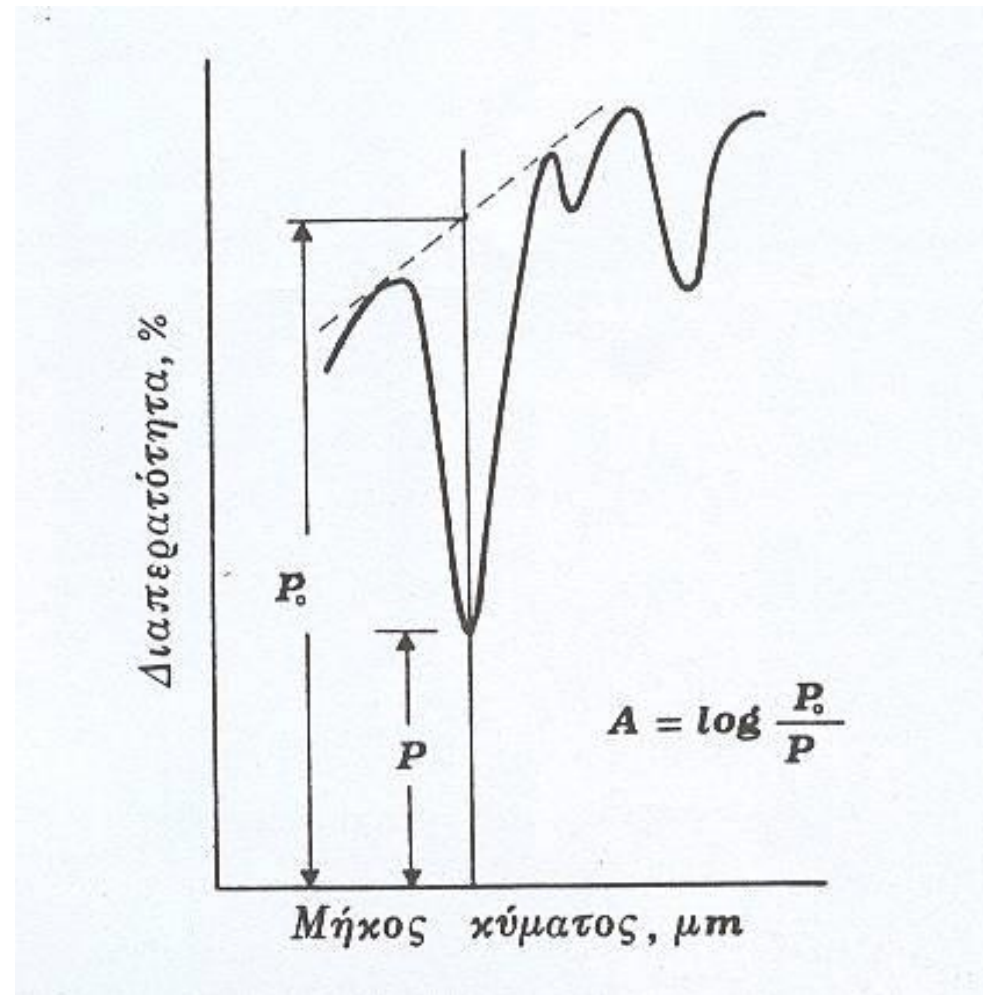
Εφαρμογές Φασματοφωτομετρίας IR Ποσοτική ανάλυση (2)

2. Αβεβαιότητα στη θέση του μηδενός της κλίμακας (0 %T) του φασματοφωτομέτρου IR της τάξεως 1%
3. Αβεβαιότητα στην ακριβή θέση της γραμμής βάσεως (θέση 100 %T)
4. Μικρή ευαισθησία της τεχνικής ($\epsilon < 100$, εκτός από καρβονυλικές ενώσεις με $\epsilon < 1300$)

Εκτέλεση ποσοτικού προσδιορισμού (περιορισμένης εφαρμογής)

- Λαμβάνονται φάσματα προτύπων και αγνώστων σε κατάλληλο διαλύτη:
 - Συγκεντρώσεις 1-10%
 - Σε αποσυνδεόμενες κυψελίδες, πάχους 0,025 – 0,1 mm
- Υπολογισμός απορρόφησης στο επιθυμητό μήκος κύματος με μέθοδο γραμμής βάσης
- Προσδιορίζεται φαινόμενη απορροφητικότητα $\epsilon_{\text{φαιν}}$ εξαρτώμενη από πειραματικές συνθήκες

Μέθοδος γραμμής βάσης για υπολογισμό απορρόφησης στη φασματοφωτομετρία IR



Μέθοδος γραμμής βάσης για υπολογισμό απορρόφησης στη φασματοφωτομετρία IR

