

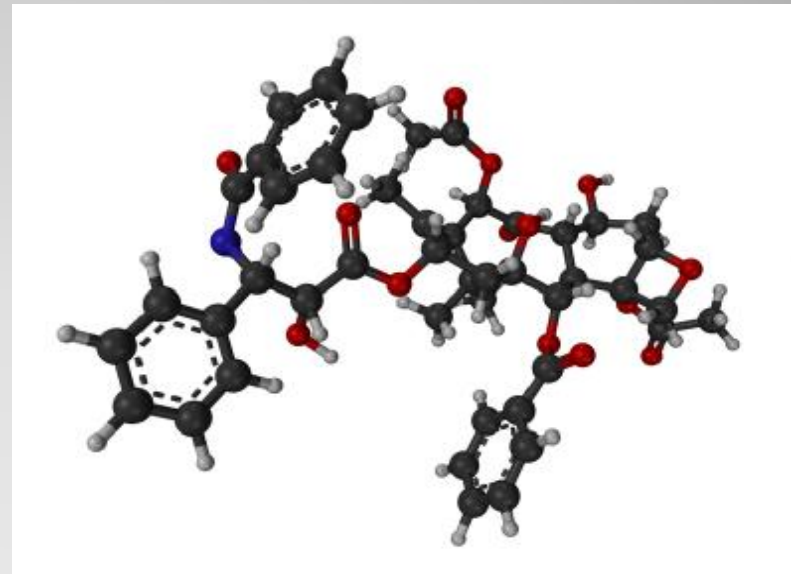
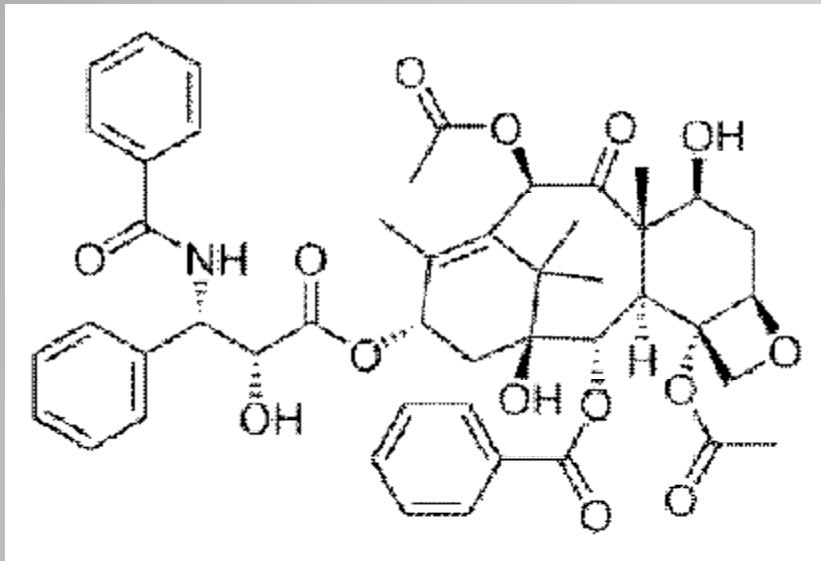
Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας Ι

Δρ. Νικόλας Φωκιαλάκης

Επίκουρος Καθηγητής

Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων

Ταυτοποίηση

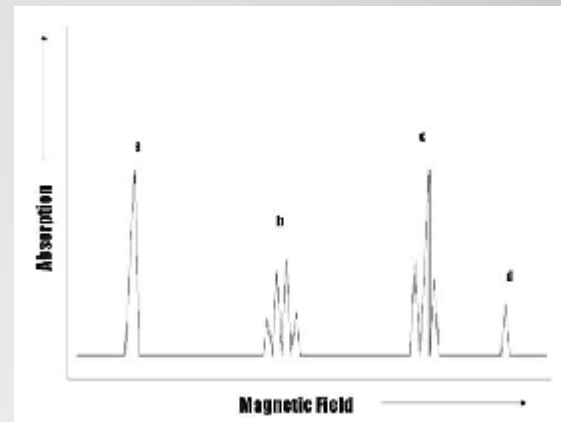


Ταξινόμηση ενόργανων τεχνικών

- Προσδιορισμός σημείου τήξεως (σ.τ)
- Προσδιορισμός σημείου ζέσεως (σ.ζ).
- Προσδιορισμός δείκτη διάθλασης (n_D).
- Προσδιορισμός στροφικής ικανότητας ($[a]_D$)
- Φασματοσκοπικές τεχνικές

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

- Φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis)
- Φασματοσκοπία Κυκλικού διχρωϊσμού (CD)
- Φασματοφωτομετρία υπερύθρου (IR)
- Φασματομετρία μάζας (MS)
- Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)



Συζευγμένες χρωματογραφικές-φασματοσκοπικές μέθοδοι

GC-MS

GC-IR

HPLC-UV

HPLC-MS

HPLC-NMR



Προσδιορισμός σημείου τήξεως (σ.τ) (melting point m.p.)

ΟΡΙΣΜΟΣ: Σημείο τήξεως είναι η θερμοκρασία στην οποία μια ουσία μεταπίπτει από τη στερεή στην υγρή κατάσταση. Το σημείο τήξεως αποτελεί μια φυσική σταθερά η οποία είναι χαρακτηριστική για κάθε ουσία (υπό σταθερές συνθήκες πίεσης).

ΣΗΜΑΣΙΑ-ΧΡΗΣΗ: Η μέθοδος αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για τον έλεγχο της καθαρότητας μιας στερεάς ουσίας καθώς η παρουσία προσμίξεων προκαλεί μείωση στο σημείο τήξεως, η οποία γίνεται πολύ εύκολα αντιληπτή. Πρόκειται για μια φθηνή και γρήγορη μέθοδο.

Προσδιορισμός σημείου ζέσεως (σ.ζ) (boiling point b.p.)

Όλα όσα αναφέρθηκαν προηγουμένως εφαρμόζονται στην περίπτωση στερεών ουσιών. Στην περίπτωση υγρών ουσιών η αντίστοιχη σταθερά η οποία προσδιορίζεται είναι το σημείο ζέσεως.

ΟΡΙΣΜΟΣ: Σημείο ζέσεως είναι η θερμοκρασία στην οποία μια ουσία μεταπίπτει από την υγρή στην αέρια κατάσταση. Το σημείο ζέσεως αποτελεί και αυτό μια φυσική σταθερά η οποία είναι χαρακτηριστική για κάθε ουσία (υπό σταθερές συνθήκες πίεσης). Η μέθοδος αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για τον έλεγχο της καθαρότητας μιας υγρής ουσίας.

Προσδιορισμός δείκτη διάθλασης Refractive Index

Μια ακόμα φυσική σταθερά που προσδιορίζεται σε υγρές ουσίες είναι ο δείκτης διάθλασης. Ενώ οι προηγούμενες σταθερές (σ.τ., σ.ζ.) αφορούσαν καθαρές ουσίες, ο δείκτης διάθλασης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να χαρακτηρίσει και καθαρές ουσίες αλλά και ολόκληρες δρόγες (πχ αιθέρια έλαια).

Προσδιορισμός δείκτη διάθλασης



Όταν μια δέσμη φωτός διέλθει υπό γωνία (όχι κάθετα) από τη μεσεπιφάνεια δυο μέσων διαφορετικής πυκνότητας τότε διαθλάται. Αυτό συμβαίνει διότι αλλάζει η ταχύτητα του φωτός από το ένα μέσο στο άλλο.

Σαν δείκτης διάθλασης ορίζεται:

$$n = \frac{\eta \mu \theta_i}{\eta \mu \theta_r} = \frac{CA}{CB}$$

όπου θ_i = γωνία προσπτώσεως, θ_r = γωνία διαθλάσεως και CA = ταχύτητα του φωτός στο πρώτο μέσο, CB = ταχύτητα του φωτός στο δεύτερο μέσο.

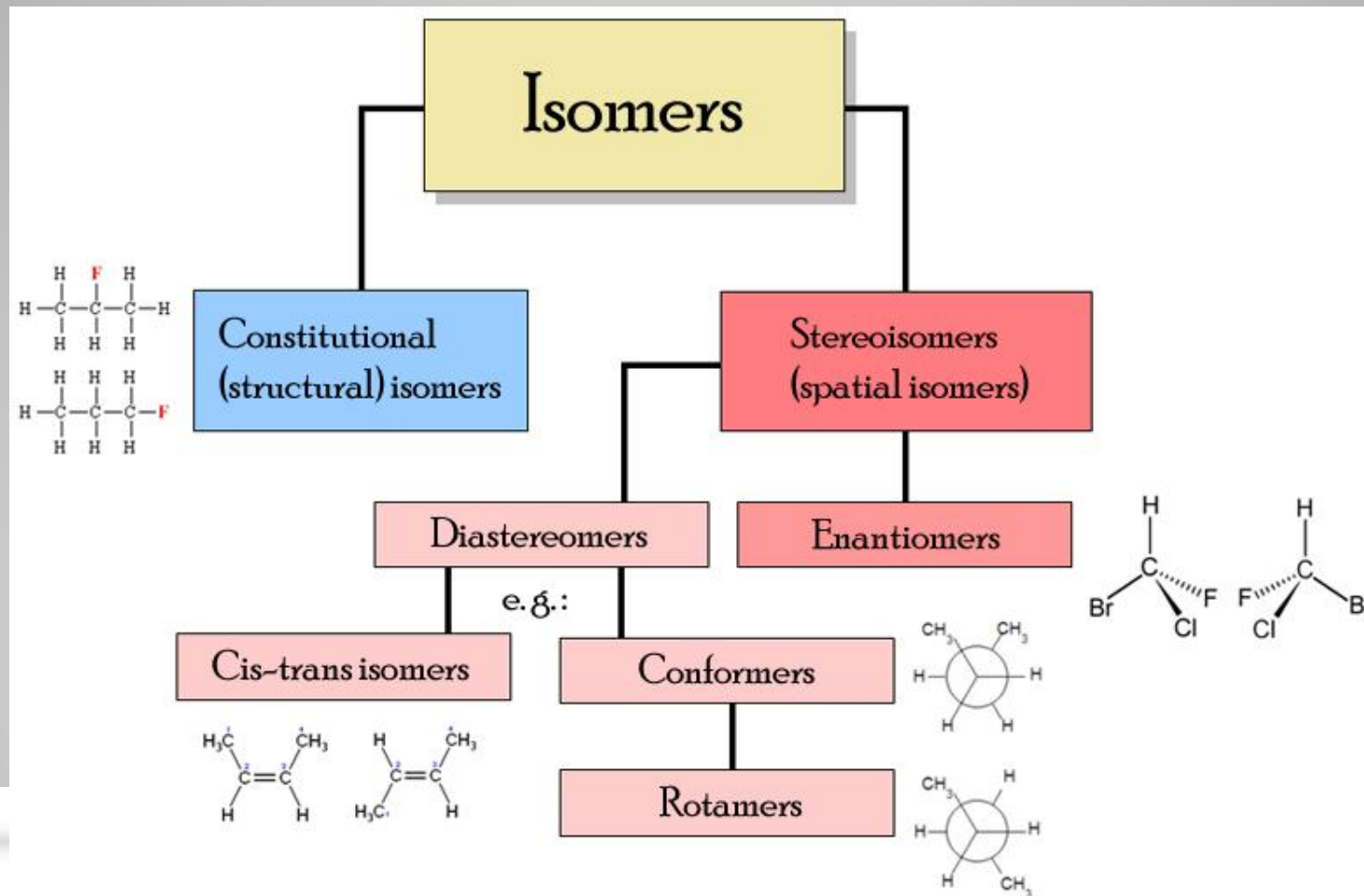
Προσδιορισμός της στροφικής ικανότητας $[\alpha]_D$.

Ορισμένες ουσίες, τις οποίες αποκαλούμε οπτικά ενεργές, έχουν την ικανότητα να στρέφουν το επίπεδο του πολωμένου φωτός κατά μια συγκεκριμένη γωνία. Αυτό ονομάζεται στροφική ικανότητα και είναι μια χαρακτηριστική σταθερά όλων των ουσιών που δεν διαθέτουν κέντρο ή επίπεδο συμμετρίας. Στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλεται στην ύπαρξη τουλάχιστον ενός ασύμμετρα υποκατεστημένου ατόμου άνθρακα.

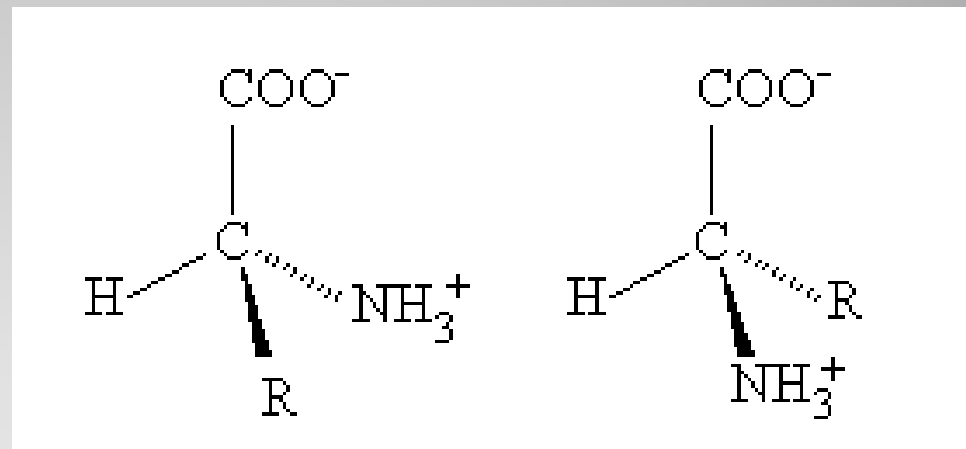
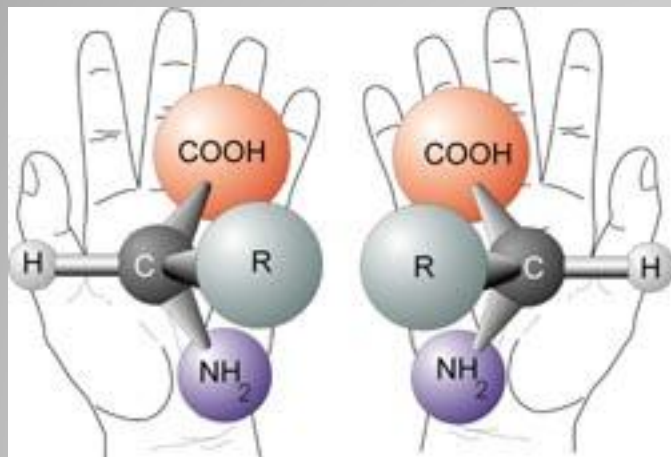
Η στροφική ικανότητα μετράται με το πολωσίμετρο.

Προσοχή πρέπει να δίδεται στις περιπτώσεις που ενώ υπάρχουν ασύμμετρα άτομα άνθρακα, η ύπαρξη επιπέδου συμμετρίας καθιστά τις ουσίες οπτικά ανενεργές (πχ. μεσομορφές).

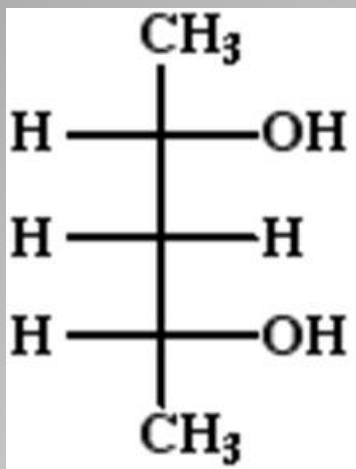
Normally, the two enantiomers of a molecule behave identically to each other. For example, they will migrate with identical R_f in **thin layer chromatography** and have identical retention time in **HPLC**. Their **NMR** and **IR** spectra are identical.



Εναντιομερή

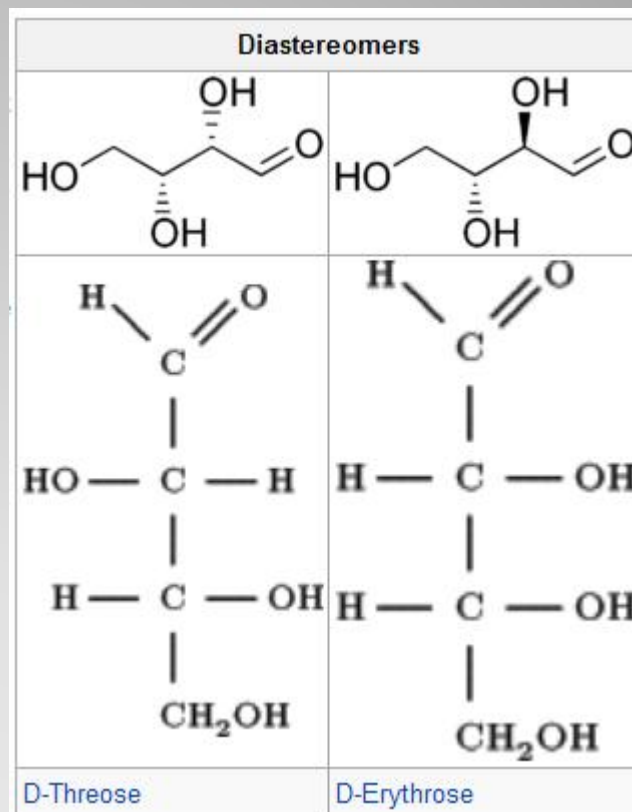


Ρακεμικό μείγμα: μείγμα δυο εναντιομερών της ίδιας ένωσης σε ποσοστό 50%R+50%S και με $[\alpha]=0$

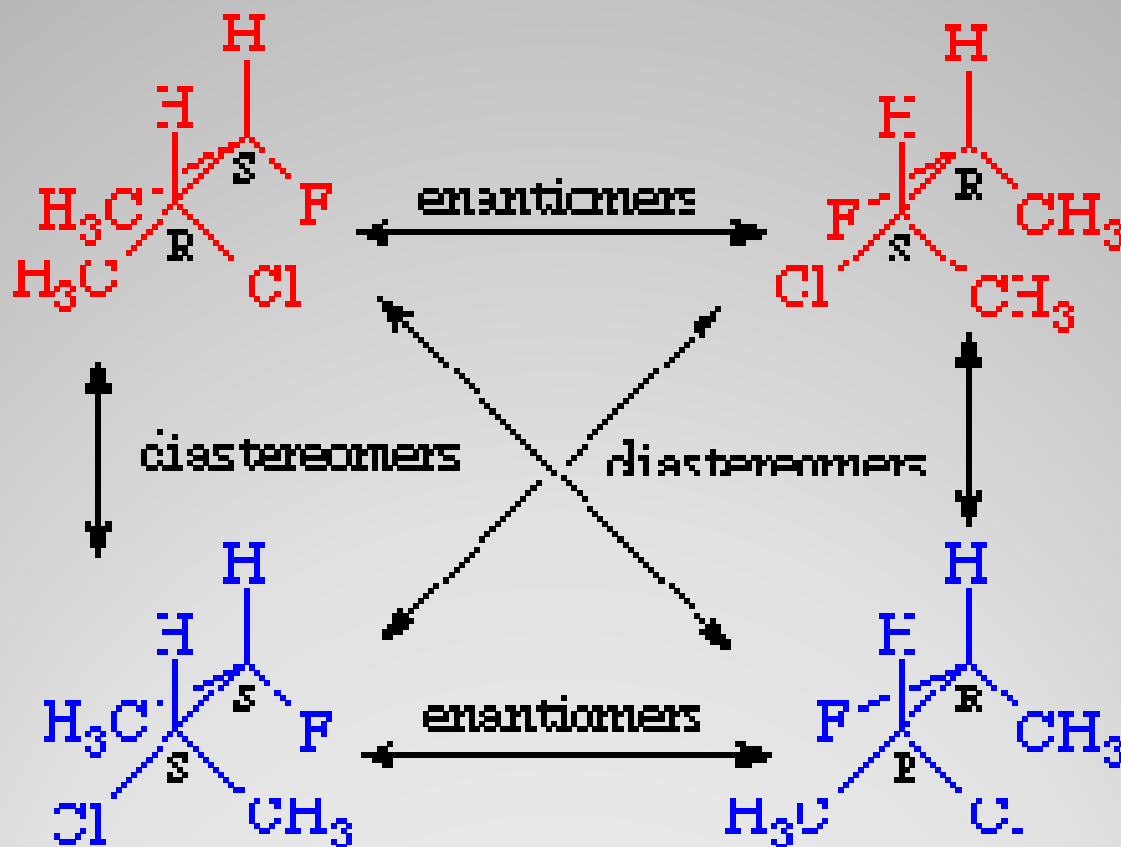


Μεσομορφή

Μεσομορφή: ένωση με περισσότερα του ενός ασύμμετρα άτομα C που έχει εσωτερικό πεδίο συμμετρίας και εμφανίζει $[\alpha]=0$ δηλ είναι μια μη χειρόμορφη ένωση

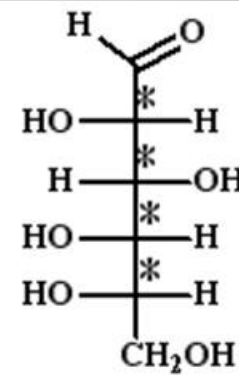
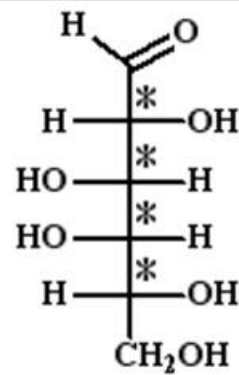
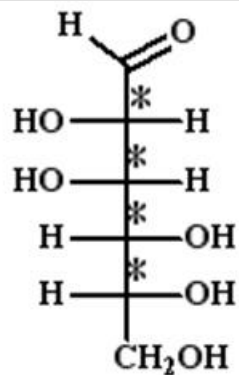
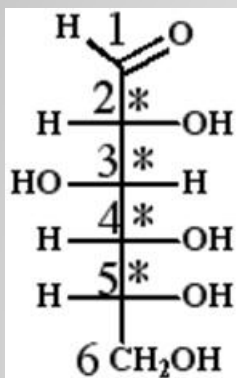


(R)-2-chloro-(S)-3-fluorobutane (S)-2-chloro-(R)-3-fluorobutane



(S)-2-chloro-(S)-3-fluorobutane (R)-2-chloro-(R)-3-fluorobutane

Οπτικοί αντίποδες Οπτικά ενεργοί με αντίθετη στροφική ικανότητα



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Α. Λυχνία νατρίου ή υδραργύρου που παράγει μονοχρωματικό φως σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιείται η λυχνία νατρίου Na στα 521 nm. Σε οποιαδήποτε άλλη περίπτωση το μήκος κύματος πρέπει να αναφέρεται.

Β. Πολωτή του φωτός (πρίσμα Nicol)

Γ. Κυκλικό διάφραγμα από ειδική ύαλο

Δ. Ειδικό υποδοχέα (κυψελίδα) του υγρού ή του διαλύματος της προς μελέτη ουσίας.

Ε. Αναλυτή του πολωμένου φωτός (πρίσμα Nicol).

Στ. Σύστημα μέτρησης της γωνίας στροφής.



ΤΡΟΠΟΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ

Στα σύγχρονα πολωσίμετρα το σύστημα μέτρησης είναι ψηφιακό και η γωνία στροφής μετράται αυτόματα.

Η ειδική γωνία στροφής εκφράζεται με το $[\alpha]_D^t$ και αντιστοιχεί στη μετρούμενη γωνία στροφής μιας ουσίας σε συγκέντρωση 100% (δηλ. 100 g/100 ml) σε κυψελίδα μήκους 1 dm (10 cm) στην αναφερόμενη θερμοκρασία.

Ο τύπος που χρησιμοποιείται για την εύρεση της ειδικής γωνία στροφής είναι ο εξής:

$$[\alpha]_D^t = \frac{\beta \cdot 100}{\mu \cdot d}$$

όπου β = αναγνωσθείσα γωνία στροφής

μ = μήκος σωλήνα κυψελίδας σε dm

d = συγκέντρωση διαλύματος σε γραμμάρια ανα 100 ml

Προσδιορισμός της στροφικής ικανότητας $[\alpha]_D$.

Στις ψηφιακές συσκευές πάντα γίνεται έλεγχος και της ενέργειας που φθάνει στον ανιχνευτή. Αν η ενέργεια είναι χαμηλή τότε η μέτρηση είτε είναι αδύνατη είτε είναι αβέβαιη, δηλ. δεν υπάρχει σταθερότητα στην ένδειξη της γωνίας τροφής.

Η χαμηλή ενέργεια μπορεί να οφείλεται:

A. Στην ύπαρξη φυσαλίδων

B. Στη μεγάλη πυκνότητα του διαλύματος

Γ. Στη μεγάλη απορροφητικότητα της διαλυμένης ουσίας στο συγκεκριμένο μήκος κύματος που γίνεται η μέτρηση (πχ σε έντονα έγχρωμες ουσίες)

Στην α περίπτωση πρέπει να επανατοποθετήσουμε το διάλυμα

Στην β περίπτωση πρέπει ή να το κάνουμε πιο αραιό ή να χρησιμοποιήσουμε κυψελίδα μεγαλύτερης χωρητικότητας.

Στη γ περίπτωση πρώτα επιχειρούμε να λύσουμε το πρόβλημα κάνοντας ότι και στη β περίπτωση και αν εξακολουθεί να υπάρχει πρόβλημα τότε κάνουμε μέτρηση σε κάποιο άλλο από τα διαθέσιμα μήκη κύματος.

ΣΗΜΕΙΑ ΠΡΟΣΟΧΗΣ

Σε όλες τις περιπτώσεις χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή στο να χρησιμοποιούμε διαλύτες της μέγιστης δυνατής καθαρότητας γιατί ακόμα και η παραμικρή οπτικά ενεργή πρόσμιξη μπορεί να επηρεάσει την τελική μέτρηση. Πολλή προσοχή χρειάζεται και στον καθαρισμό της κυψελίδας ο οποίος γίνεται με διαλύτη ο οποίος στο τέλος στεγνώνεται προσεκτικά με ρεύμα αέρα. Τυχόν υπολείμματα διαλύτη μπορεί να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των υπο μελέτη διαλυμάτων και να αλλοιώσουν την τελική τιμή της στροφικής ικανότητας.

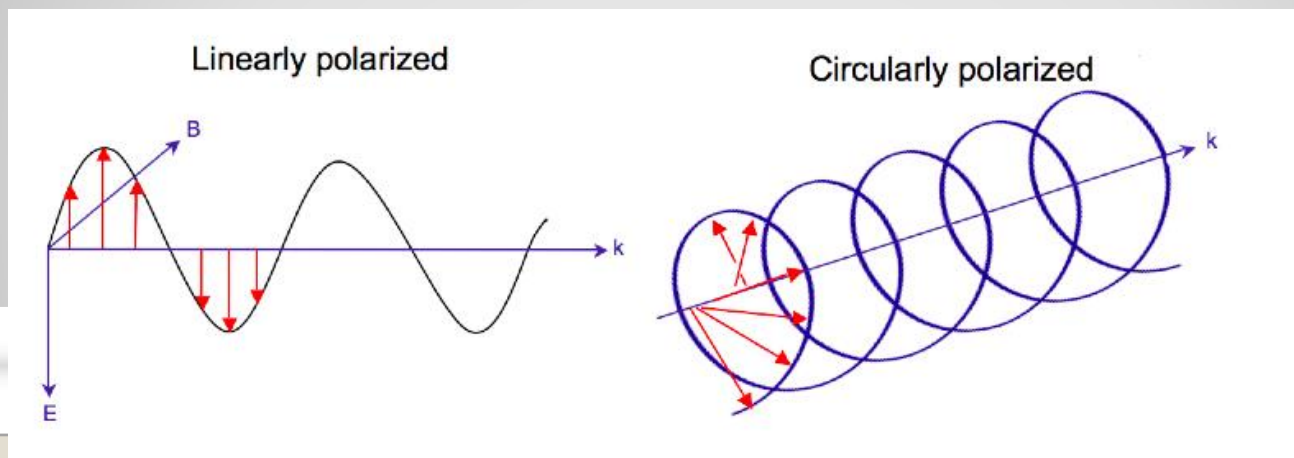
Επίσης όπως φαίνεται στην εικόνα της κυψελίδας ο εσωτερικός σωλήνας στον οποίο τοποθετείται το διάλυμα περιβάλλεται από εξωτερικό σωλήνα στον οποίο υπάρχει η δυνατότητα εισαγωγής ψυκτικού υγρού όταν απαιτείται μέτρηση στροφικής ικανότητας σε συγκεκριμένη θερμοκρασία. Η στροφική ικανότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε για την εκτίμηση της καθαρότητας μιας οπτικά ενεργής ουσίας είτε για την εκτίμηση της ποιότητας ενός εκχυλίσματος ή ενός αιθερίου ελαίου.

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

- Κατά τη φασματοσκοπική εξέταση μιας ουσίας μελετούμε την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας διαφόρου μήκους κύματος επί των μορίων της ουσίας. Η μέτρηση της έντασης απορρόφησης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στα διάφορα μήκη κύματος μας δίνει πολύτιμες πληροφορίες για τη δομή του μορίου καθώς επίσης και για τον ποσοτικό του προσδιορισμό.

Κυκλικός διχρωϊσμός Circular dichroism (CD)

Κατά τη διαδικασία αυτή, η ακτινοβολία χωρίζεται σε δυο κυκλικά πολωμένες συνιστώσες, οι οποίες περνούν μέσα από ένα διαμορφωτή που υπόκειται σε εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο, με αποτέλεσμα οι δύο συνιστώσες να μεταδίδονται με διαφορά φάσης. Αν το δείγμα είναι οπτικά ενεργό, η μία συνιστώσα απορροφάται από αυτό σε μεγαλύτερο βαθμό από την άλλη και η ακτινοβολία είναι ελλειπτικά πολωμένη. Το όργανο καταγράφει την ελλειπτικότητα συναρτήσει του μήκους κύματος της ακτινοβολίας. Ο κυκλικός διχρωϊσμός εκφράζεται είτε ως διαφορά απορρόφησης των δύο συνιστώσών ή ως ελλειπτικότητα σε μοίρες.



Φασματοφωτομετρία υπεριώδους ορατού (UV-VIS)

- Όταν υπεριώδης (200-400 nm) ή ορατή (400-800 nm) ακτινοβολία απορροφηθεί από ένα οργανικό μόριο τότε λαμβάνουν χώρα μεταθέσεις ηλεκτρονίων σθένους από καταστάσεις χαμηλότερης σε καταστάσεις υψηλότερης ενέργειας.
- Τέτοιες μεταθέσεις είναι οι εξής:
 - σ ηλεκτρόνια \rightarrow σ^* πχ -C-C- και -C-H
 - π ηλεκτρόνια \rightarrow π^* πχ -C=C-
 - n ηλεκτρόνια \rightarrow π^* πχ -C=O

ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΩΝ ΣΘΕΝΟΥΣ



ΣΧΕΣΗ ΒΟΗΡ

$$\Delta E = h \nu = h c / \lambda$$

c : ταχύτητα φωτός

h : σταθερά του Planck

ν : συχνότητα ακτινοβολίας

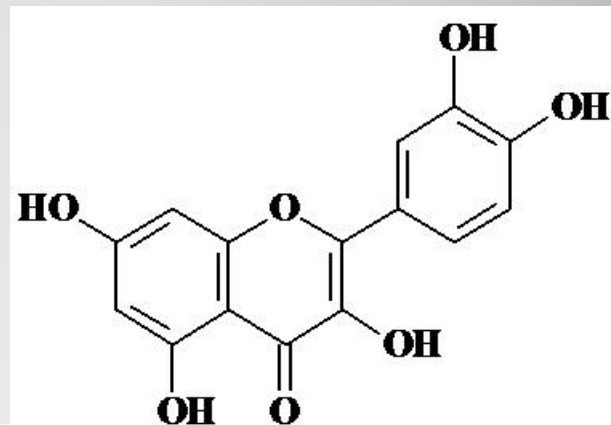
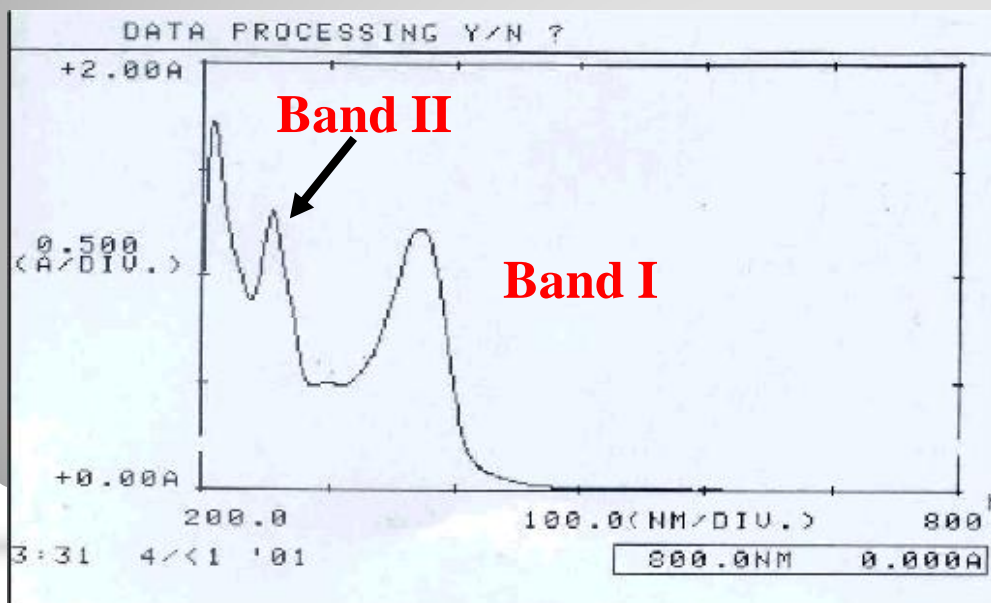
λ : μήκος κύματος ακτινοβολίας

Νόμος Lambert-Beer

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = -\log T$$

- Όπου P_0 είναι η ισχύς της ακτινοβολίας του προσπίπτοντος φωτός, P είναι η ισχύς του εξερχόμενου φωτός, ϵ είναι η **μοριακή απορροφητικότητα** (παλαιότερα μοριακός συντελεστής αποσβέσεως), b είναι το μήκος της διαδρομής (σε cm) που διανύθηκε μέσα στο διάλυμα (παλαιότερα πάχος στοιβάδας διαλύματος l ή d) και c η συγκέντρωση του διαλύματος σε mol/L.
- Ο λόγος I/I_0 ονομάζεται διαπερατότητα T (transmittance) και εκφράζει το ποσοστό % της ισχύος του φωτός που περνάει από το διάλυμα. Ο όρος **A** ονομάζεται **απορρόφηση** (absorbance) (παλαιότερα ονομαζόταν και οπτική πυκνότητα (optical density) ή απόσβεση).
- Ένας άλλος όρος που χρησιμοποιείται είναι το a που ονομάζεται απορροφητικότητα και αντικαθιστά το ϵ όταν η συγκέντρωση εκφράζεται σε g/L. Ο όρος ειδικός συντελεστής απορρόφησης $A_{1\%}^{1\text{cm}}$ αντιστοιχεί στην απορρόφηση για συγκέντρωση 1% (β/ο) και σε μήκος διαδρομής (ή πάχος κυψελίδας) 1 cm.

- Αν μετρήσουμε την τιμή απορρόφησης σε διάφορα μήκη κύματος υπό σταθερή συγκέντρωση και στην ίδια κυψελίδα τότε σχηματίζουμε την καμπύλη απορρόφησης της διαλυμένης ουσίας (ή απλούστερα το φάσμα UV-VIS). Σαν τετμημένη λαμβάνεται το μήκος κύματος (σε nm) και σαν τεταγμένη η απορρόφηση (ή το loge). Στα φάσματα των διαφόρων ουσιών (όπως φαίνεται στην παρατιθέμενη εικόνα) παρατηρούμε σε ορισμένα μήκη κύματος μέγιστες τιμές απορρόφησης (**peaks**), ορισμένες ελάχιστες τιμές απορρόφησης (**valleys**) και ορισμένες διευρύνσεις κάποιων κορυφών που αποκαλούνται ώμοι. Τα μήκη κύματος που παρατηρούνται οι μέγιστες τιμές απορρόφησης (λ_{max}) και οι ώμοι καθώς και το loge σε αυτά τα μήκη κύματος χρησιμοποιούνται για να χαρακτηρίσουν κάποια ουσία.



ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ

ΠΑΡΑΓΩΓΟΠΟΙΗΣΗ

- Ορισμένες ουσίες οι οποίες δεν φέρουν χρωμοφόρες ομάδες και δεν μπορούν να μελετηθούν με τη φασματοφωτομετρία υπεριώδους ορατού, τις υποβάλλουμε σε κατάλληλες αντιδράσεις παραγωγοποίησης (derivatization) και εισάγουμε ή τροποποιούμε χρωμοφόρες ομάδες μεταθέτοντας την απορρόφηση σε μεγαλύτερα μήκη κύματος.
- Η μετατόπιση αυτή ονομάζεται βαθυχρωμία ενώ το αντίθετο ονομάζεται υψιχρωμία.

ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

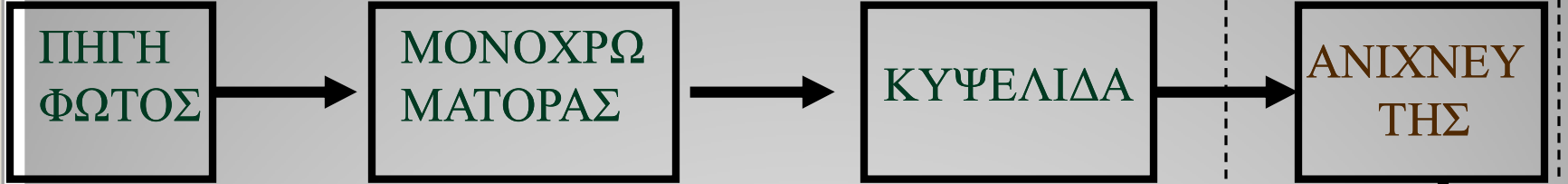
- Ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται συνήθως με την κατασκευή καμπύλης αναφοράς με τετμημένη τη συγκέντρωση και τεταγμένη την απορρόφηση. Για την κατασκευή αυτής της καμπύλης χρησιμοποιούνται διάφορες αραιώσεις της υπο προσδιορισμό ουσίας και μετράμε τις αντίστοιχες απορροφήσεις σε ένα ορισμένο μήκος κύματος (συνήθως σε κάποιο μέγιστο). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ενός αγνώστου δείγματος μετράμε την απορρόφηση του και από την καμπύλη αναφοράς βρίσκουμε τη συγκέντρωση.

Οργανολογία

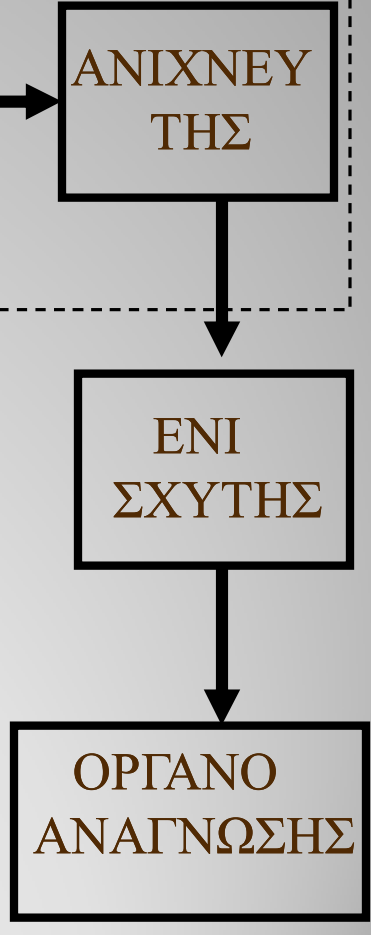
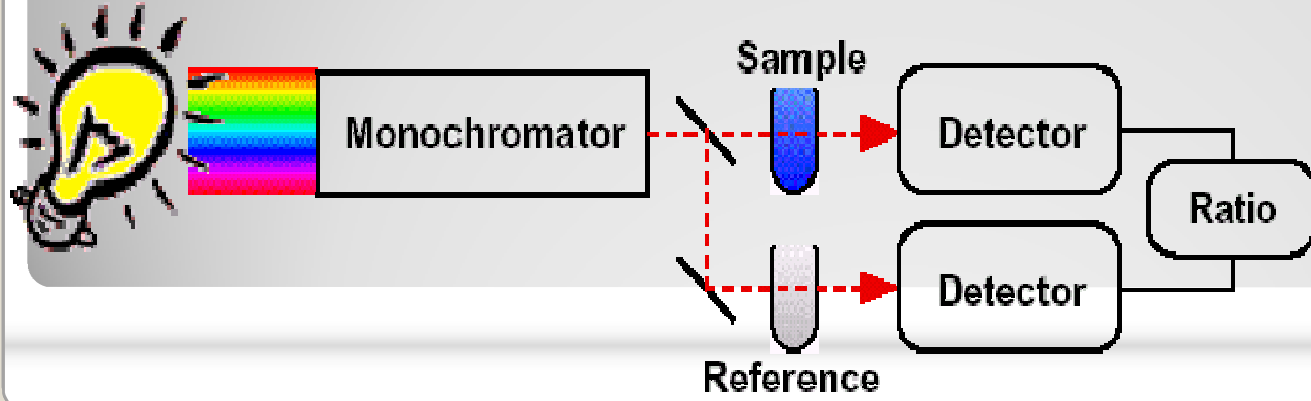
- Α. Λυχνία υδρογόνου για την παραγωγή υπεριώδους ακτινοβολίας (200-340 nm) και βολφραμίου για την παραγωγή ορατής ακτινοβολίας (340-800 nm)
- Β. Μονοχρωμάτορα (πρίσματος ή φράγματος ανακλάσεως) για την παραγωγή μονοχρωματικής δέσμης της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.
- Γ. Κυψελίδες υποδοχής του δείγματος και του τυφλού (διαλύτη). Οι κυψελίδες μπορεί να είναι είτε από **χαλαζία** (για την περιοχή του υπεριώδους), ενώ αν οι μετρήσεις γίνουν μόνο στην περιοχή του ορατού μπορούν να χρησιμοποιηθούν και γυάλινες κυψελίδες.
- Δ. Φωτοκύτταρο ή φωτοπολλαπλασιαστή για τη μετατροπή της φωτεινής ενέργειας σε ηλεκτρικό ρεύμα η ένταση του οποίου ανταποκρίνεται στην απορρόφηση στο συγκεκριμένο μήκος κύματος.
- Ε. Καταγραφέα για την καταγραφή της καμπύλης απορρόφησης.



ΟΠΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ



ΣΧΗΜΑΤΙΚΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟΥ



Φασματοφωτομετρία υπερύθρου (IR)

- Τα φάσματα υπερύθρου λαμβάνονται στην περιοχή της υπέρυθρης ακτινοβολίας (2-16 μm).
- Οι απορροφήσεις στην περιοχή αυτή δεν οφείλονται σε μεταπτώσεις ηλεκτρονίων αλλά σε διεγέρσεις δόνησης, ταλάντωσης ή περιστροφής του μορίου.

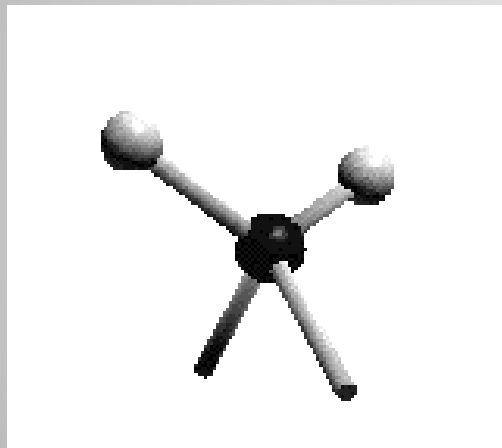
- Σε ένα διατομικό μόριο η συχνότητα ταλάντωσης του δεσμού δίνεται από τη σχέση:

$$v = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{f/\mu}$$

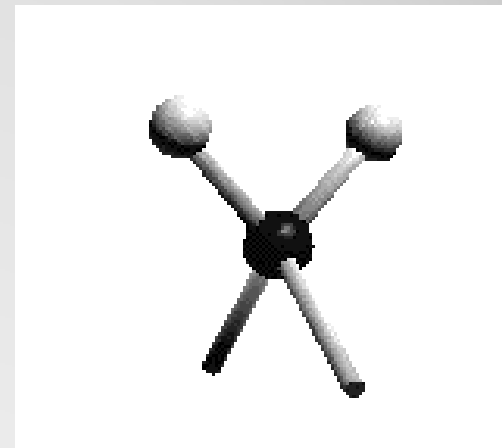
- όπου f = σταθερά ισχύος του δεσμού, c = η ταχύτητα του φωτός, και
- $\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$
- όπου m_1 και m_2 οι μάζες των δυο ατόμων.
- Εάν στο πιο πάνω μόριο πέσει υπέρυθρη ακτινοβολία με συχνότητα ίση με τη συχνότητα v του μορίου τότε έχουμε απορρόφηση. Επειδή όμως κάθε δεσμός έχει διαφορετική σταθερά ισχύος κάθε δεσμός έχει ορισμένο μήκος κύματος στο οποίο απορροφά.

ΤΥΠΟΙ ΔΟΝΗΣΕΩΝ

- Οι διάφοροι τύποι δονήσεων των ομάδων του τύπου AX₂ φαίνονται στο παρακάτω σχήμα.
- Δονήσεις τάσεως (Stretching)
- Δονήσεις κάμψεως (Bending)

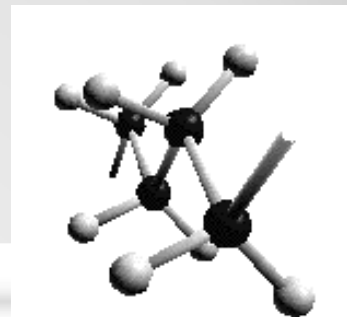


Copyright © 1997 Charles B. Abrams



Copyright © 1997 Charles B. Abrams

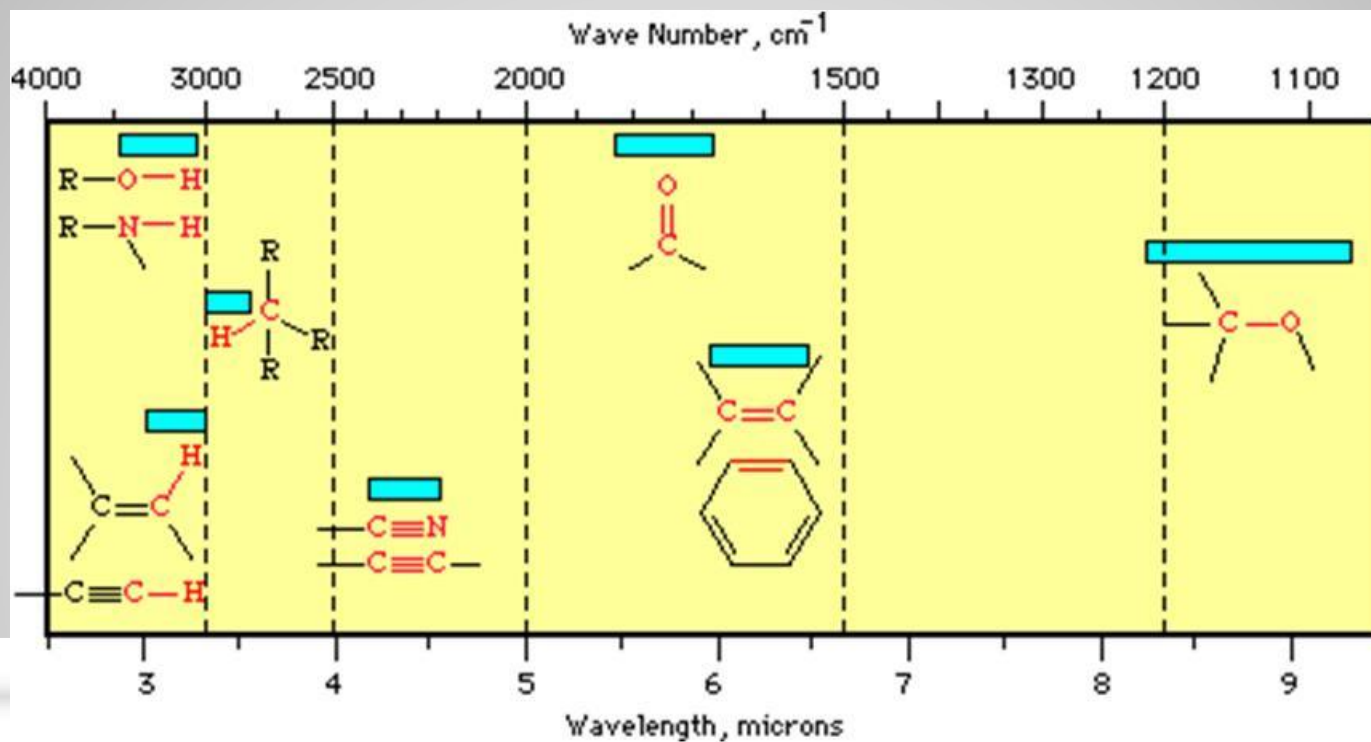
- Οι απορροφήσεις στα φάσματα IR είναι συνήθως μικρού πλάτους και γι'αυτό έχουμε κορυφές απορροφήσεως και όχι καμπύλες όπως στα φάσματα UV-VIS.
- Η περιοχή συχνοτήτων στην οποία λαμβάνεται το φάσμα μιας ουσίας είναι $670-4000 \text{ cm}^{-1}$ ($\nu \text{ (cm}^{-1}) = 1/\lambda \text{ (}\mu\text{m)} \times 10^4$)
- Οι απορροφήσεις μεταξύ $670-1250 \text{ cm}^{-1}$ οφείλονται στη δόνηση ολόκληρου του μορίου και μπορούμε να θεωρήσουμε αυτή την περιοχή σαν το δακτυλικό αποτύπωμα του μορίου.
- Οι απορροφήσεις στην περιοχή $1250-4000 \text{ cm}^{-1}$ οφείλονται σε ειδικές ομάδες ή δεσμούς και μπορούν να μας δώσουν πολύτιμες πληροφορίες για τη δομή μιας ένωσης.



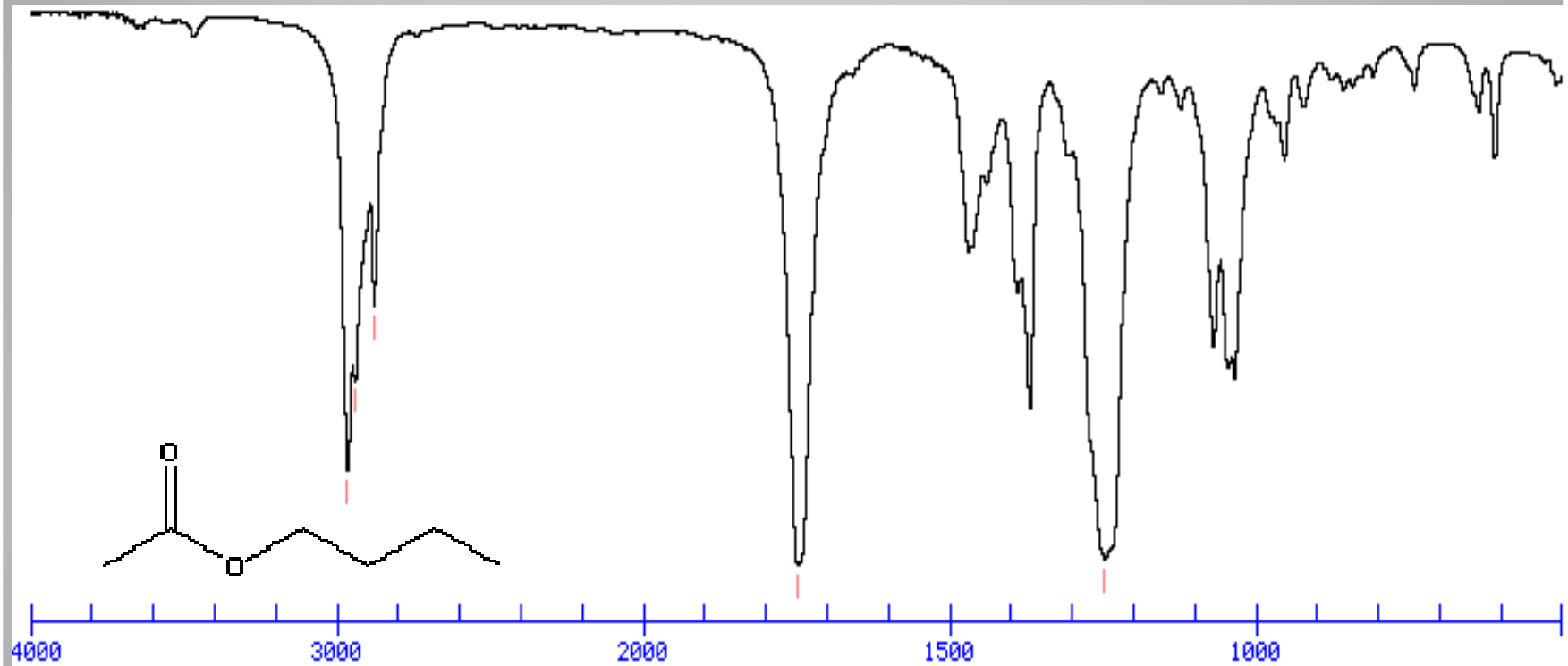
Copyright © 1997 Charles B. Abrams

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΝ

- C=O : 1630-1750
- O-H : 3200-3500
- C=C : ~1600
- C-O : ~1200



ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ IR



Οργανολογία



- Α. Λυχνία πυρακτώσεως Nerst ή πυρακτωτής Globar ή λάμπα κεραμικού υλικού Nichrome (ή πηγή laser) για την παραγωγή υπέρυθρης ακτινοβολίας.
- Β. Μονοχρωμάτορας: Πρίσμα ή φράγμα ανακλάσεως NaCl ή KBr.
- Γ. Σύστημα εισαγωγής του δείγματος σε μορφή διαλύματος, γλισχράσματος ή σε στερεά μορφή.
- Δ. Ανιχνευτής: Ευπαθές θερμοζεύγος
- Ε. Σύστημα καταγραφής (Σύστημα επεξεργασίας FID)

Τρόποι λήψεως φάσματος:

- Αν η ουσία είναι διαλυτή σε διαλύτες όπως το CHCl_3 τότε μπορούμε να την τοποθετήσουμε σε μορφή διαλύματος σε κυψελίδα με κρυστάλλους NaCl .
- Η κυψελίδα συναρμολογείται όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα και το διάλυμα της υπο εξέταση ουσίας τοποθετείται με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur. Κατά την τοποθέτηση του διαλύματος η εισαγωγή γίνεται από την οπή που βρίσκεται στην κάτω μεριά ενώ η κυψελίδα κρατείται υπό κλίση ώστε να αποφευχθεί ο εγκλωβισμός αέρα ανάμεσα στους κρυστάλλους. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται κατά τον χειρισμό, τον καθαρισμό και την συντήρηση των κρυστάλλων οι οποίοι είναι ευπαθείς στην υγρασία. Τονίζουμε ότι απαγορεύεται η χρήση πολικών διαλυτών οι οποίοι καταστρέφουν τους κρυστάλλους.



Τρόποι λήψεως φάσματος:

- Αν η ουσία δεν είναι διαλυτή σε άπολους διαλύτες τότε μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε πολικούς διαλύτες όπως η μεθανόλη. Σε αυτή όμως την περίπτωση **δεν μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε κρυστάλλους NaCl, γιατί αυτοί είναι ευπαθείς.** Αντί αυτών χρησιμοποιούμε κρυστάλλους CaF_2 οι οποίοι είναι ανθεκτικοί, όμως η παρουσία της μεθανόλης μας εμποδίζει να παρατηρήσουμε απορροφήσεις πάνω από τα 3000 cm^{-1} .

Τρόποι λήψεως φάσματος:

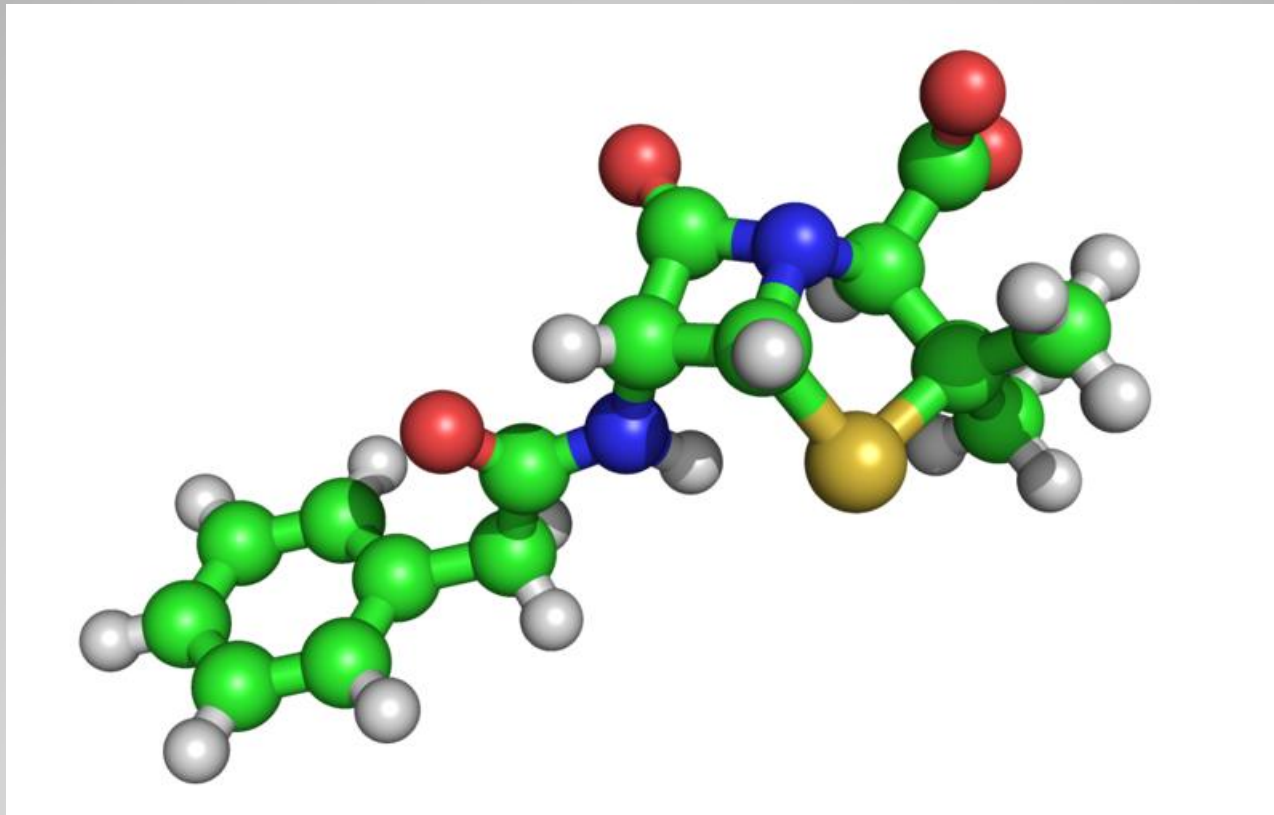
- **Εναλλακτικά** των μεθόδων διαλύσεως της ουσίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν δυο άλλες τεχνικές. Η τεχνική του γλίσχράσματος και του δισκίου από KBr.
- Στην πρώτη τεχνική, η ουσία μετά από καλή λειοτρίβηση διασπείρεται σε **Nujol** (παραφινέλαιο) και το παραγόμενο γλίσχρασμα απλώνεται πάνω στην επιφάνεια των κρυστάλλων οι οποίοι στη συνέχεια τοποθετούνται εντός της κυψελίδας.
- Κατά την τεχνική του δισκίου η ουσία αναμιγνύεται με **KBr** και τοποθετείται εντός ειδικής πρέσσας η οποία παράγει ένα δισκίο. Το δισκίο τοποθετείται απ'ευθείας σε ειδική υποδοχή μέσω της οποίας διέρχεται η υπέρυθρη ακτινοβολία.

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Η φασματοσκοπία NMR αποτελεί σήμερα τη σπουδαιότερη ενόργανη τεχνική μελέτης των φυσικών προϊόντων και γενικότερα των οργανικών ενώσεων. Στηρίζεται στην απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή των βραχέων ραδιοκυμάτων (10^2 MHz).

Αντίθετα από τις προηγούμενες φασματοσκοπικές τεχνικές η απορρόφηση της ακτινοβολίας δεν οδηγεί ούτε σε μεταπτώσεις ηλεκτρονίων σθένους ούτε σε μεταβολές της ενεργειακής κατάστασης των δεσμών. Σε αυτή τη φασματοσκοπική τεχνική η απορροφόμενη ενέργεια οδηγεί σε μεταβολή του πυρηνικού spin.

Κρυσταλλογραφία Ακτίνων Χ (X-ray crystallography)



Τρισδιάστατη δομή της πενικιλίνης (Dorothy Crowfoot Hodgkin Βραβείο Nobel Χημείας 1964)

Φασματομετρία μάζας

