

Imię i Nazwisko Studenta	Data	Ocena	Podpis Prowadzącego

## SPEKTROFOTOMETRIA W ZAKRESIE PODCZERWIENI

Na ćwiczeniach obowiązuje materiał zawarty w podręczniku:

*R. Kocjan „Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów. Analiza instrumentalna. Tom 2” – rozdz. 1.4.2 (str. 21-23); 5.1-5.4.4 (str. 56 – 76)*

### *Analiza strukturalna chloramfenikolu metodą spektrofotometrii w podczerwieni właściwej (MIR)*

Celem ćwiczenia, na przykładzie chloramfenikolu, jest zapoznanie się ze sposobem rejestracji i interpretacji widm próbek stałych w zakresie podczerwieni właściwej (MIR).

W czasie ćwiczenia omówiona jest także ogólna budowa, zasada działania i możliwości rejestracyjne spektrofotometru z transformacją Fouriera marki *PERKIN ELMER BX*.

Ogólnie, w zakresie podczerwieni można rejestrować widma substancji w fazie gazowej, ciekłej i stałej.

Widma gazów - wykonuje się w specjalnych kuwetach, które przez efekt odbicia promieniowania na ich końcach umożliwiają wielokrotne przejście wiązki pomiarowej przez fazę gazową. W ten sposób zwiększa się drogę optyczną wiązki pomiarowej i wartość mierzonego sygnału.

Widma cieczy - wykonuje się najczęściej, umieszczając badaną ciecz między płytkami z NaCl (NaCl, podobnie jak KBr czy LiF, charakteryzuje się względnie dobrą przepuszczalnością promieniowania podczerwonego). Badana ciecz tworzy między płytkami warstwę o grubości ok. 0,01 mm, co wystarcza do rejestracji widma. Dla cieczy, które rozpuszczałyby NaCl, stosuje się płytki z chlorku srebra.

Widma ciał stałych - wykonuje się zwykle przez przygotowanie sprasowanej pastylki.

W tym celu odważa się ok. 2 mg badanego związku i 300 mg wysuszonego KBr. Całość miesza się i uciera w moździerzu agatowym. Mieszankę w specjalnej formie prasuje się pod ciśnieniem kilkuset MPa a uzyskaną pastylkę w specjalnym uchwycie wstawia do aparatu.

W przypadku, kiedy sporządzenie pastylki nie jest wskazane, np. dla substancji wrażliwych na ciepło wydzielane podczas mielenia próbki, przygotowuje się tzw. zawiesinę w oleju parafinowym (nujol). Badaną substancję rozciera się wówczas z małą ilością oleju i umieszcza między dwiema płytkami solnymi. Należy pamiętać, że olej wykazuje obecność silnych izolowanych pasm absorpcji w zakresach  $3000 - 28000 \text{ cm}^{-1}$  i  $1500 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ . Zastosowanie oleju jest więc wykluczone dla przypadku widm, gdzie spodziewane pasma badanego związku pokrywały by się z pasmami absorpcji oleju. Widmo oleju przedstawia **ryc. 1**.

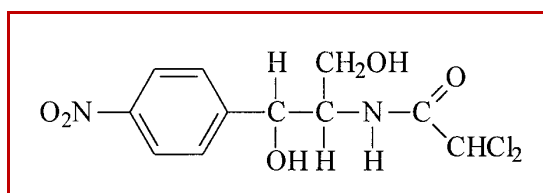
Substancje stałe można badać także po ich rozpuszczeniu w odpowiednich rozpuszczalnikach. W przypadku stosowania rozpuszczalnika należy znać jego zakresy przepuszczalności. Zakresy te przedstawiono w **tabeli 1**.

Często stosowanymi rozpuszczalnikami są czterochlorek węgla i dwusiarczek węgla, gdyż ich zakresy przepuszczalności uzupełniają się. W przypadku, gdy absorpcja własna rozpuszczalnika jest znaczna, należy stosować kuwetę z rozpuszczalnikiem w wiążce odniesienia.

Ćwiczenie wykonywane jest przy użyciu spektrofotometru z transformacją Fouriera marki *PERKIN ELMER BX (FT IR)* – **ryc. 2**. Aparat ten wykonuje widma cyfrowe o bardzo dużej rozdzielczości (rzędu  $0,001\text{ cm}^{-1}$ ). Czas rejestracji jednego widma jest rzędu kilku sekund, stąd w krótkim czasie można wykonać wiele skanów, a następnie po ich zsumowaniu i uśrednieniu uzyskać widmo o niskim poziomie szumów. Rejestrowane widma można następnie składować na twardym dysku i poddawać transformacjom sumowania, odejmowania, wygładzania i porównywania z innymi widmami. Położenie pików jest znajdowane automatycznie.

W czasie ćwiczenia studenci przygotowują do rejestracji próbkę chloramfenikolu w postaci tabletki KBr i rejestrują jego widmo na aparacie *PERKIN ELMER BX* w zakresie podczerwieni właściwej od  $4000$  do  $200\text{ cm}^{-1}$ .

Chloramfenikol jest znanym antybiotykiem o następującym wzorze strukturalnym:



Jak widać, związek ten jest związkiem aromatycznym, ponadto zawiera w cząsteczce grupę nitrową i ugrupowanie amidowe.

W widmie chloramfenikolu - **ryc. 3**, w zakresie podczerwieni właściwej istnieją charakterystyczne pasma drgań rozciągających. w następujących zakresach:

$1650 - 1700\text{ cm}^{-1}$

$1540 - 1590\text{ cm}^{-1}$

$1500 - 1550\text{ cm}^{-1}$

$1300 - 1400\text{ cm}^{-1}$

$1590 - 1650\text{ cm}^{-1}$

Ponadto w widmie występują charakterystyczne pasma kombinacyjne w zakresie od ok.  $1000\text{ cm}^{-1}$  do  $1600\text{ cm}^{-1}$ , które pozwalają na identyfikację chloramfenikolu w stanie czystym, jeżeli jest do dyspozycji widmo wzorca chloramfenikolu zarejestrowane w podobnych warunkach. Zgodność położenia tych pasm oraz zbliżone względne stosunki ich intensywności stanowią dowód identyczności obu substancji.

## Wykonanie ćwiczenia

1. Zapoznanie się z budową i obsługą spektrofotometru *PERKIN ELMER BX (FT IR)*.
2. Sprawdzenie prawidłowej pracy spektrofotometru *PERKIN ELMER BX (FT IR)* przez rejestrację widma folii polistyrenu w zakresie  $4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$  i porównanie go z widmem wzorcowym **ryc. – 4**.
3. Rejestracja widma chloramfenikolu:
  - a) przygotowanie tabletki chloramfenikolu w KBr:
    1. odważenie w naczynku wagowym około 2 mg chloramfenikolu
    2. dodanie do odważki około 300 mg bromku potasowego
    3. zmieszanie i utarcie w moździerz agatowym
    4. przeniesienie zmielonej próbki do specjalnej formy do prasowania pastylek oraz sprasowanie pastylki przy użyciu prasy hydraulicznej
    5. umieszczenie pastylki w uchwycie i wstawienie całości do aparatu *PERKIN ELMER BX*
  - b) wykonanie widma na spektrofotometrze *PERKIN ELMER* w zakresie od  $4000 \text{ cm}^{-1}$  do  $200 \text{ cm}^{-1}$
  - c) interpretacja widma

### ***Na widmo chloramfenikolu składają się następujące pasma:***

Odczytana wartość w  $\text{cm}^{-1}$ :

I pasmo amidowe	C = O	.....
II pasmo amidowe	N – C – O	.....
grupa nitrowa	NO <sub>2</sub> ( <i>asym.</i> )	.....
grupa nitrowa	NO <sub>2</sub> ( <i>sym.</i> )	.....
$\nu_{\text{C}=\text{C}}$ ( <i>arom.</i> )		.....

## *Oznaczanie zawartości nifuroksazydu w tabletkach powlekanych metodą spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR)*

### **Cel ćwiczenia**

Zaznajomienie studentów z zastosowaniem spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR) do oznaczeń ilościowych na przykładzie nifuroksazydu.

### **Wykonanie ćwiczenia**

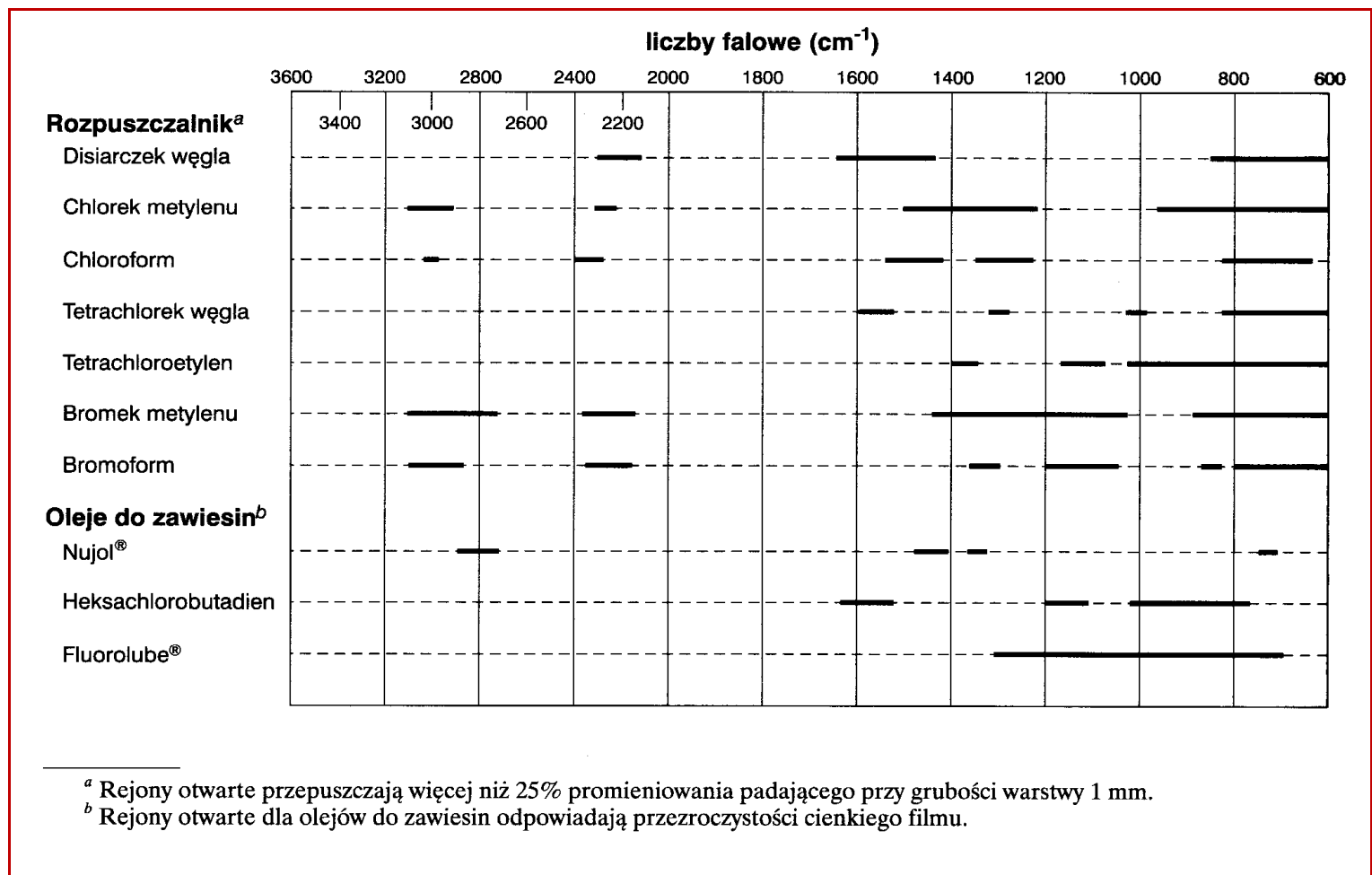
#### 1. Materiały i aparatura

- a. Próbkki do krzywej kalibracyjnej: skrobia; nifuroksazyd, utarty ze skrobią w stężeniach masowych 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 i 90% nifuroksazydu; nifuroksazyd.
- b. Tabletka powlekana „Nifuroksazyd 100 mg” produkcji Polfy Grodzisk Mazowiecki, sproszkowana.
- c. Spektrometr NIR firmy Perkin-Elmer z przystawką NIRA

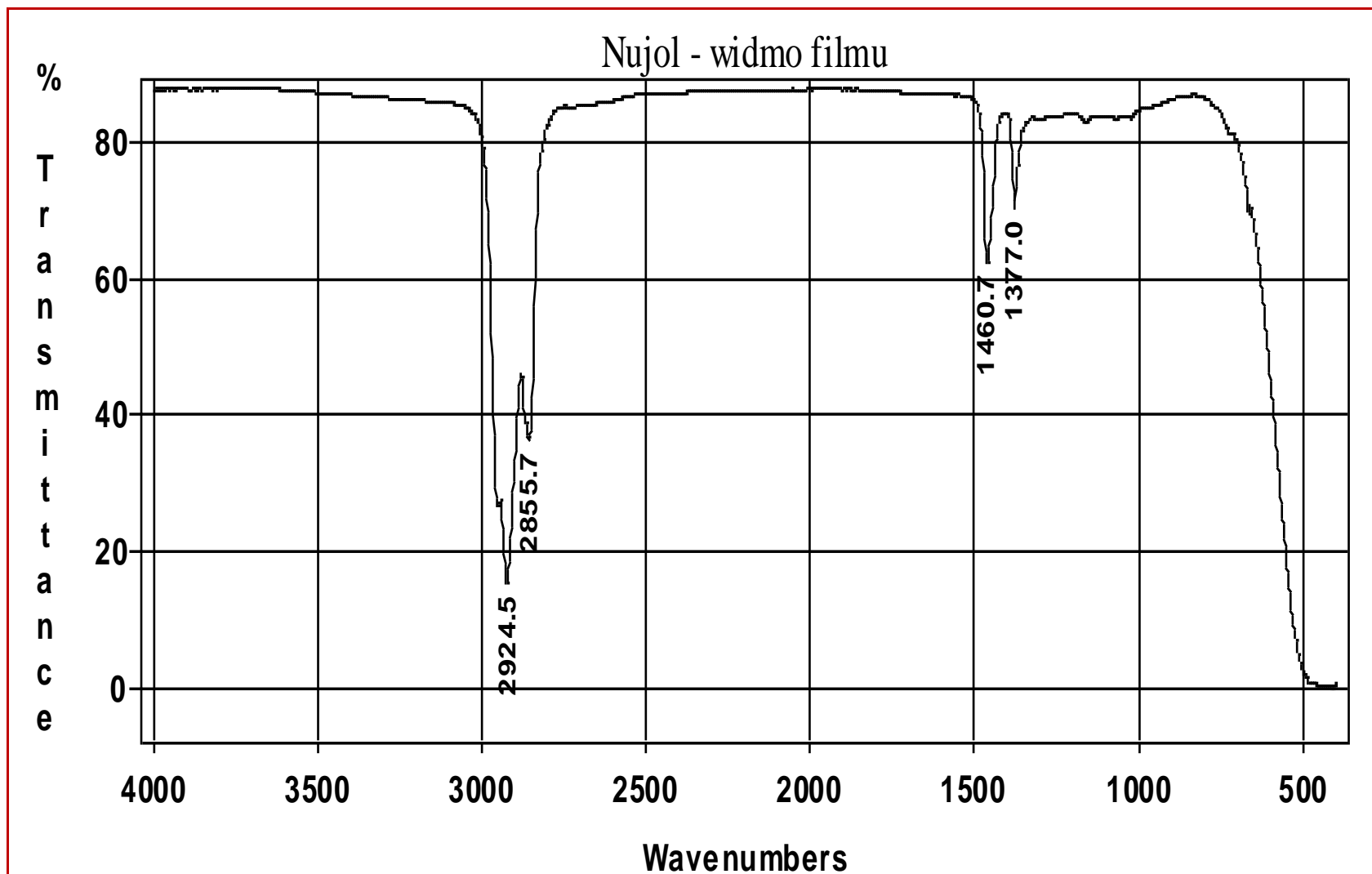
#### 2. Wykonanie oznaczenia

- a. Uzyskanie widm w/w próbek do krzywej kalibracyjnej oraz badanej tabletki w zakresie  $4000-10000\text{ cm}^{-1}$  (aparaturę obsługuje prowadzący ćwiczenie).
- b. Wygenerowanie modelu SIMCA z uzyskanych widm.
- c. Uzupełnienie tabeli.
- d. Wykreślenie krzywych wzorcowych na podstawie danych z tabeli.
- e. Odczytanie z krzywych wzorcowych przybliżonej zawartości nifuroksazydu w badanej próbce.

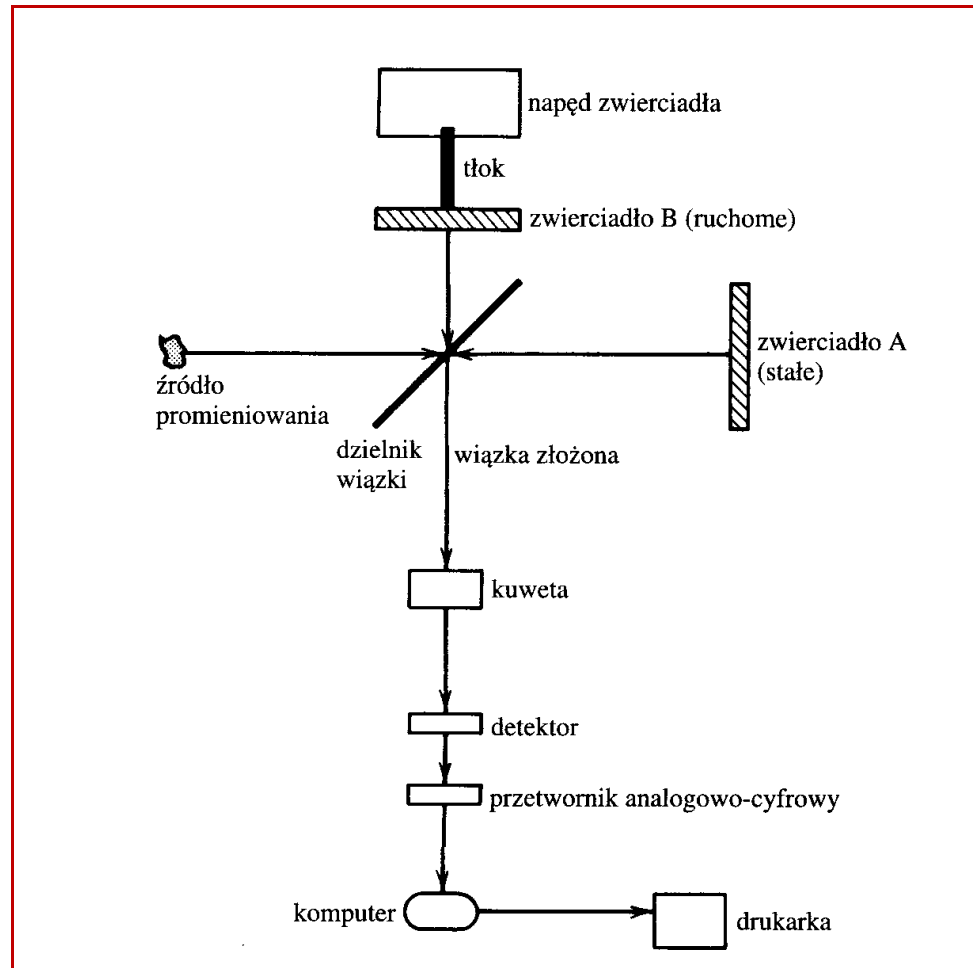
Zaw. nifuroksazydu	4626.0 cm <sup>-1</sup>	4793.0 cm <sup>-1</sup>	4856.0 cm <sup>-1</sup>	4899.0 cm <sup>-1</sup>	4922.0 cm <sup>-1</sup>	6600.1 cm <sup>-1</sup>
0						
10						
20						
30						
40						
50						
60						
70						
80						
90						
100						
Tabletka						



Tab. 1. Zakresy przezroczystości rozpuszczalników i olejów do zawiesin.  
 (wg R.M. Silverstein – „Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych”, PWN, 2007)

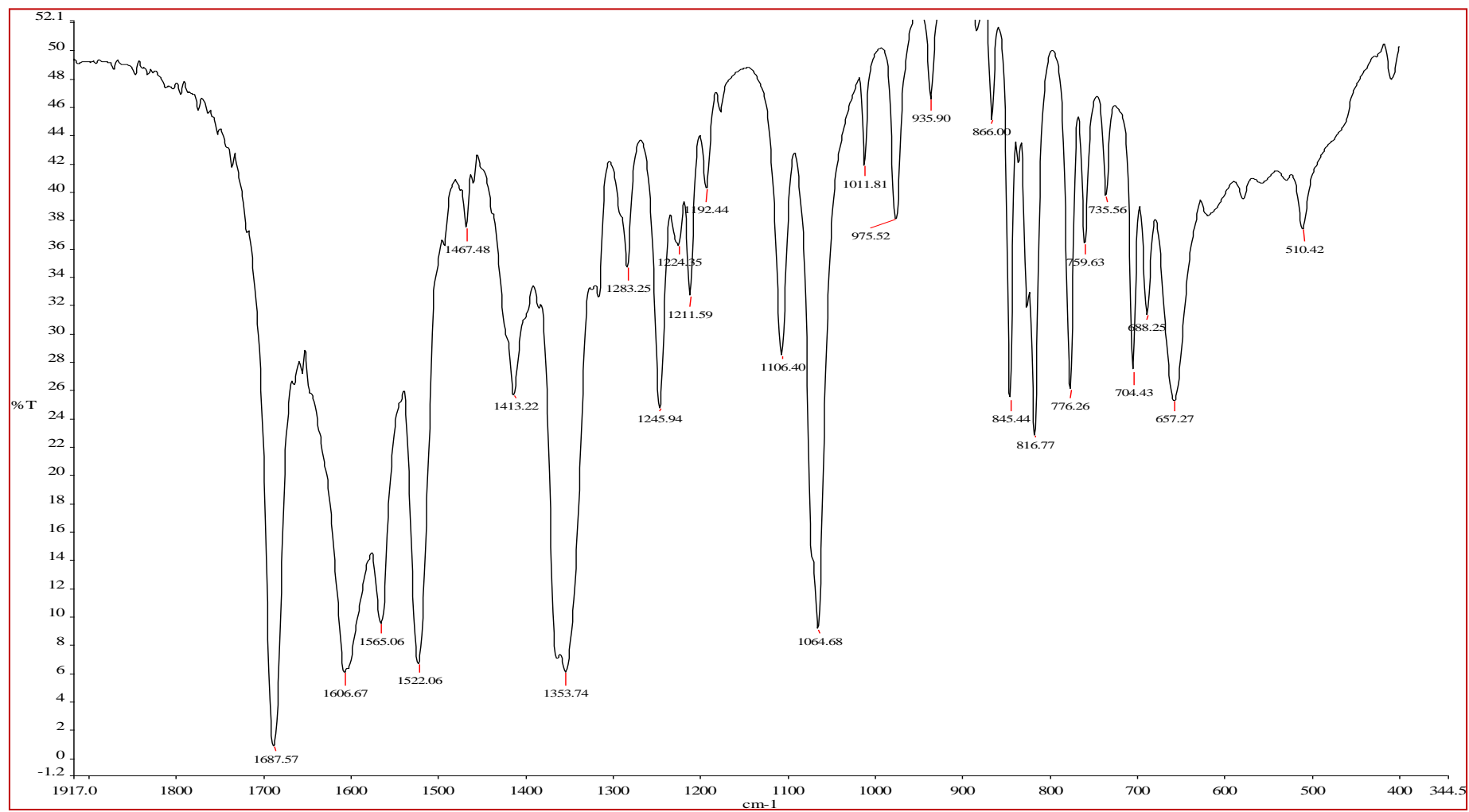


*Ryc. 1. Zakresy absorpcyjne nujolu.*

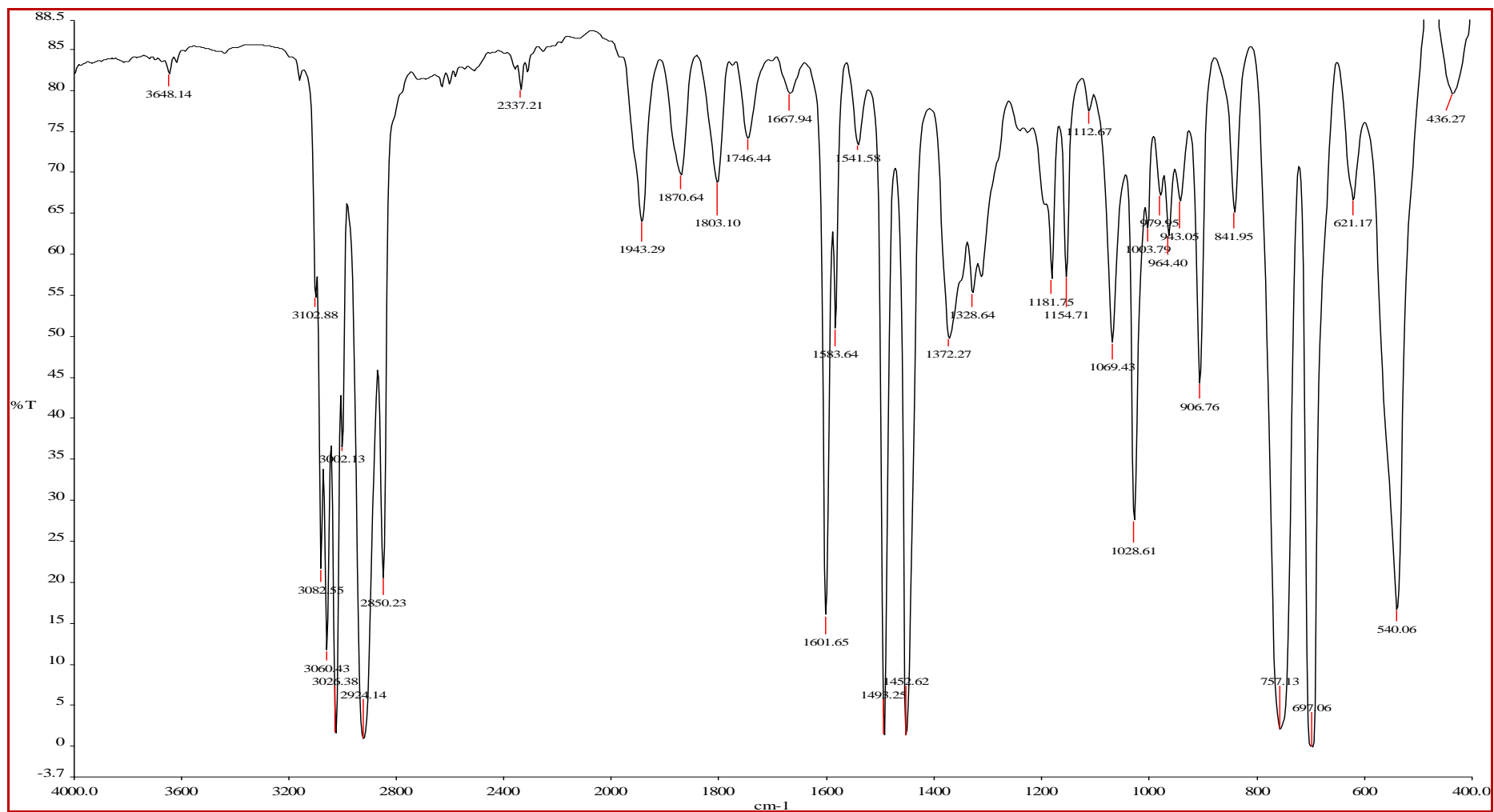


Ryc. 2 . Schemat spektrofotometru IR z transformacją Fouriera.





*Ryc. 3 . Widmo chloramfenikolu.*



*Ryc. 4. Widmo folii polistyrenu*

