

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՍԱՐԳՍՅԱՆ Հ. Ռ.

**ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՅԻՆ ԿԼԱՆՄԱՆ
ՍՊԵԿՏՐՈՍԿՈՊԻԱ.
ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ԵՎ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐՈՒՄ**

(Ուսումնամեթոդական աշխատանք)

ԵՐԵՎԱՆ
ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿԶՈՒԹՅՈՒՆ
2015

ՀՏԴ- 535.34(07)

ԳՄԴ 22.34g7

Ս 259

*Հրատարակության է երաշխավորել
ԵՊՀ դեղագիտության և քիմիայի ֆակուլտետի
գիտական խորհուրդը*

Սարգսյան Հ. Ռ.

Ս 259 Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիա. կիրառումը քիմիական և կենսաբանական համակարգերում/Ուսումնամեթոդական աշխատանք/Սարգսյան Հ. Ռ.: -Եր., ԵՊՀ հրատ., 2015, 28 էջ:

Ուսումնամեթոդական աշխատանքում շարադրված են էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի հիմնական դրույթները և ներկայացված են այդ մեթոդի օգնությամբ իրականացվող մի շարք լաբորատոր աշխատանքներ, որոնք վերաբերվում են քիմիական և կենսաբանական համակարգերի ուսումնասիրմանը:

Ներկայացված աշխատանքը նախատեսվում է բակալավրիատի և մագիստրատուրայի լաբորատոր աշխատանքների անցկացման համար:

ՀՏԴ- 535.34(07)

ԳՄԴ 22.34g7

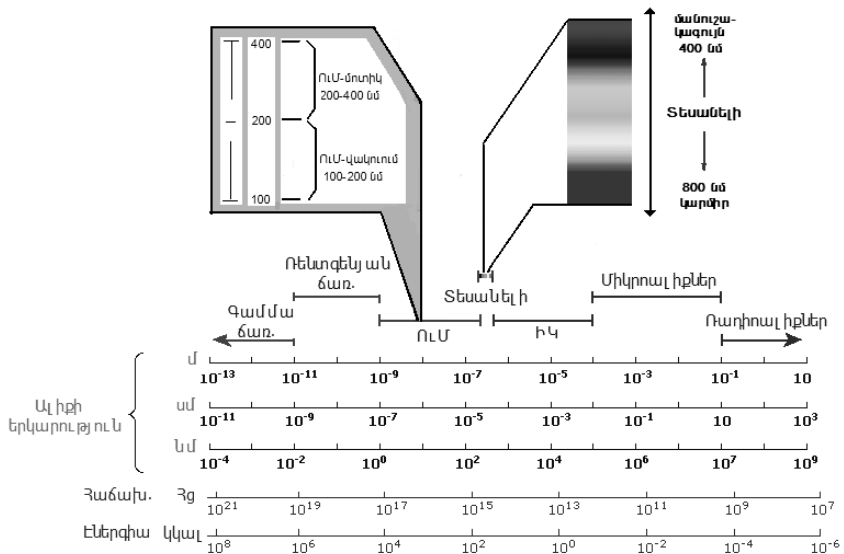
ISBN 978-5-8084-2038-0

© ԵՊՀ հրատ., 2015

© Սարգսյան Հ. Ռ., 2015

ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՅԻՆ ԿԼԱՆՄԱՆ ՍՊԵԿՏՐՈՍԿՈՊԻԱՅԻ ՄԵԹՈԴԸ

Հայտնի է, որ էլեկտրամագնիսական ալիքների երկարությունները փոփոխվում են չափազանց լայն տիրույթում: Լույսի էլեկտրամագնիսական բնույթի պարզաբանումը թույլ է տվել բոլոր տիպի էլեկտրամագնիսական ճառագայթները դասակարգել և միավորել էլեկտրամագնիսական ալիքների սանդղակում (ճկ.1): Էլեկտրամագնիսական ալիքները ընդունված է բաժանել ռադիոալիքների, միկրոալիքների, ինֆրակարմիր ճառագայթների, տեսանելի լույսի, ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների, ռենտգենյան ճառագայթների և գամմա ճառագայթների: Ծառագայթների սանդղակի տարբեր տիրույթների սահմանները շատ սահմանափակ են:



Նկ. 1. Էլեկտրամագնիսական ալիքների սանդղակ

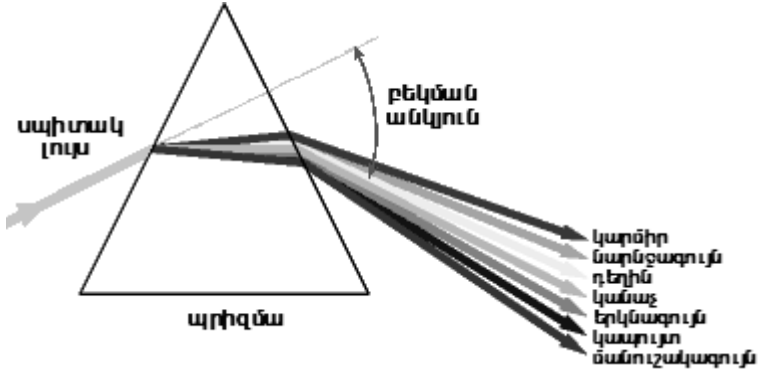
Վակուումում ցանկացած ալիքի երկարություն ունեցող էլեկտրամագնիսական ճառագայթ տարածվում է $300.000 \text{ կմ}\cdot\text{վ}^{-1}$ արագությամբ: Տարբեր ալիքի երկարությամբ ճառագայթները միմյանցից տարբերվում են իրենց ստացման եղանակով (անտենայի ճառագայթում, ջերմային ճառագայթում, ատոմի, միջուկի ճառագայթում և այլն) և գրանցման մեթոդով: Գառագայթները միմյանցից տարբերվում են նաև նյութի մեջ կլանվելու տեսակետից: Օրինակ՝ կարճալիք ճառագայթները (ռենտգենյան և գամմա ճառագայթներ) թույլ են կլանվում միջավայրերում, ինֆրակարմիր ալիքները ընկնելով մարդու մարմնի վրա տաքացնում են այն, իսկ ուլտրամանուշակագույն ալիքները կարմրացնում են մարդու մաշկը: Էլեկտրամագնիսական ալիքների կլանման, անդրադարձման և այլ հատկություններն էապես կախված են դրանց ալիքի երկարությունից: Հայտնի է, որ էլեկտրամագնիսական ճառագայթման էներգիան հաճախության հետ կապված է Պլանկի հայտնի բանաձևով՝

$$E = h\nu = h\frac{c}{\lambda},$$

որտեղ h -ը Պլանկի հաստատունն է ($h = 6,626 \cdot 10^{-34}$ Ջրկ): Այսինքն սպիտակ լույսի բաղադրիչները կազմող շարքը կարելի է որոշել հաճախություններով (ν), ալիքի երկարություններով (λ) և էներգիաներով (E):

Էլեկտրոնային սպեկտրոսկոպիան մի մեթոդ է, որն ուսումնասիրում է վալենտային մոլեկուլային օրբետալների միջև տեղի ունեցող էլեկտրոնային անցումները: Այն լայնորեն օգտագործվում է ոչ միայն քիմիական, այլ նաև կենսաբանական համակարգերի ուսումնասիրության համար: Էլեկտրոնային սպեկտրոսկոպիան հիմնված է նյութի կողմից որոշակի ալիքի երկարության տակ (հաճախություններ) լույսի (էլեկտրամագնիսական ճառագայթում) կլանման (աբսորբցիա) վրա: Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները գրանցվում են մոտիկ ՈՒՄ (200-400 նմ) և տեսանելի (400-800 նմ) մարզերում: Այս մարզերում նյութի կողմից լույսի կլանումը պայմանավորված է մոլեկուլում որոշ խմբերի էլեկտրոնների գրգռմամբ: Ատոմների ալոպիսի խմբերը կոչվում են քրոմոֆորներ: Հիմնական քրոմոֆորներ են հանդիսանում չհագեցած կապերով, ինչպես նաև մեկուսացված և զուգորդված կրկնակի կապերով խմբերը:

Ինչպես երևում է էլեկտրամագնիսական ալիքների սանդղակից՝ տեսանելի լույսը այդ սանդղակում զբաղեցնում է չափազանց նեղ տիրույթ: Երբ սպիտակ լույսն անցնում է պրիզմայի (ապակե եռանիստի) միջով, ապա այդ լույսը կազմող տարբեր ալիքի երկարություն (հաճախություն) ունեցող գույների ճառագայթները բեկվում են տարբեր աստիճանով և առաջանում է սպեկտր կոչվող գույների հավաքածու՝ կարմիր գույնից մինչև մանուշակագույն: Նշենք, որ իրականում այդ գույներն առանձնացված չեն, և մի գույնից մյուսին անցման տեղում լինում են բազմաթիվ միջանկյալ երանգներ:



Նմուշի միջով ընկնող և անցնող լույսի ինտենսիվությունների կապը տրվում է Բուգեր-Լամբերտ-Բերի օրենքով.

$$D = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon c l$$

I_0 - ընկնող լույսի ինտենսիվություն

I - անցնող լույսի ինտենսիվություն

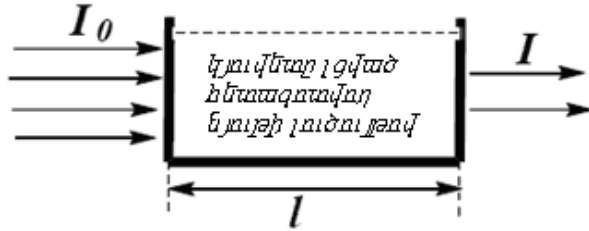
D - օպտիկական խտություն

ε - կլանման մոլային գործակից (չափողականությունը $l \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{սմ}^{-1}$ է)

c - լուծված նյութի կոնցենտրացիան (մոլ \cdot լ $^{-1}$)

l - օպտիկական ճանապարհի երկարություն (կլանման շերտի հաստություն):

Այսինքն օպտիկական խտությունը ուղիղ համեմատական կախվածության մեջ է գտնվում լուծված նյութի կոնցենտրացիայի հետ: Նկար 2-ում ցույց է տրված թե ինչպես է իրականանում էլեկտրամագնիսական ճառագայթման կլանումը լուծված նյութի կողմից:

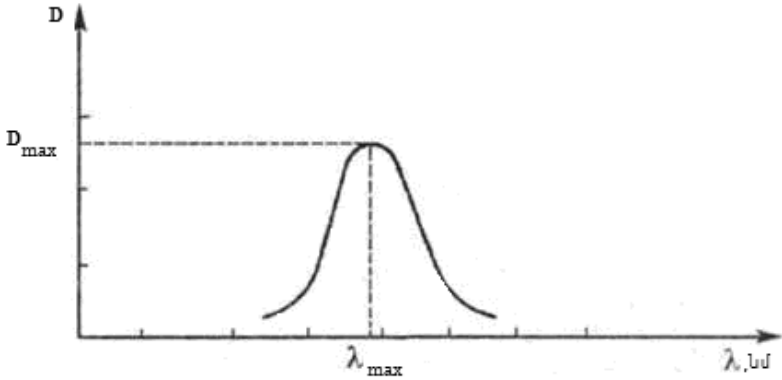


Նկ. 2. Էլեկտրամագնիսական ճառագայթման կլանումը լուծված նյութի կողմից

Լույսի ինտենսիվության փոփոխությունը կյուվետի մեջ լցված հետազոտվող նյութի լուծույթի միջով անցնելիս կարող է պայմանավորված լինել ոչ միայն այդ նյութի կլանումով, այլ նաև լուծիչի կլանումով, լույսի ցրմամբ և այլն: Որպեսզի լուսացրումը բացառվի լուծույթը պետք է լինի թափանցիկ: Մնացած երևույթները բացառվում են համեմատականության լուծույթ օգտագործելով: Պարզագույն դեպքում համեմատականության լուծույթը հանդիսանում է մաքուր լուծիչը, իսկ այլ դեպքերում լուծույթը, որը պարունակում է բոլոր կոմպոնենտները, բացի՝ որոշվողից:

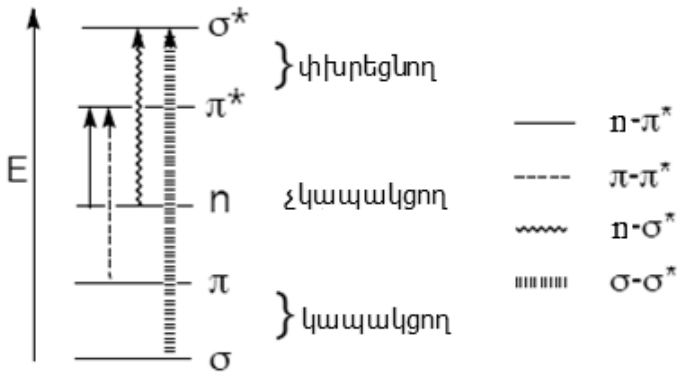
Էլեկտրոնային սպեկտրներն իրենցից ներկայացնում են ճառագայթման կլանման կախվածությունը ճառագայթման ալիքի երկարությունից (նկ. 3): Սպեկտրը բնութագրվում է կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարության արժեքով՝ λ_{max} և կլանման ինտենսիվությամբ: Որպես կլանման չափման միավոր օգտագործվում է D օպտիկական խտությունը, ε էքստինկցիայի մոլային գործակիցը կամ նրա տասնորդական լոգարիթմը $\lg \varepsilon$ -ը: Էքստինկցիայի մոլային գործակիցի արժեքը կախված է միայն λ -ի արժեքից և կախված չէ c -ի և l -ի արժեքներից: Այստեղ պետք է նշել, որ սովորաբար տրվում է λ_{max} -ին համապատասխանող ε -ի արժեքը կամ վերցվում է λ_{max} -ին համապատասխանող կլանումը, որից էլ հաշվարկվում է ε -ի արժեքը: Եթե նյութը գու-

նավոր է, ապա նրա սպեկտրում դիտվում են կլանման շերտեր տեսանելի մարզում:



Նկ. 3. Նյութի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը

Ինչպես նշվեց վերևում ուլտրամանուշակագույն և տեսանելի մարզերում օրգանական մոլեկուլների կլանումը պայմանավորված է որոշակի ֆունկցիոնալ խմբերով՝ քրոմոֆորներով, որոնք պարունակում են վալենտային էլեկտրոններ էներգիայի ցածր մակարդակներում: π , σ , n էլեկտրոնների հնարավոր անցումները բերված են նկ. 4-ում:



Նկ. 4. Հնարավոր էլեկտրոնային անցումները

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ անցումներ

Քանի որ σ կապն ավելի ամուր է, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ անցման համար պահանջվում է ավելի մեծ էներգիա: Որպես միակ էլեկտրոնային անցում հանդիպում է միայն հագեցած անխաջրածիմներում (ալկաններում և ցիկլոալկաններում): Օրինակ մեթանի և էթանի կլանման մաքսիմումներն ընկած են համապատասխանաբար 93 և 85 մմ տակ: Բոլոր օրգանական միացությունների համար, բացառությամբ ցիկլոպրոպանի ($\lambda_{\max}=190$ մմ) և դրա ածանցիլների, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ անցումներն ի հայտ են գալիս վակուումային ՈՒՄ մարզում: Այս անցմանը համապատասխանող ε -ի արժեքներն ընկած են $100 \div 1000$ սահմանում:

$n \rightarrow \sigma^*$ անցումներ

$n \rightarrow \sigma^*$ անցումները սովորաբար պահանջում են ավելի քիչ էներգիա, քան $\sigma \rightarrow \sigma^*$ անցումները: $n \rightarrow \sigma^*$ անցումներով պայմանավորված կլանումների մաքսիմումները ընկած են 150-250 մմ միջակայքում: Այս անցումներով պայմանավորված կլանման մաքսիմումներին համապատասխանող ε -ի արժեքներն ընկած են $100 \div 10000$ սահմանում: $n \rightarrow \sigma^*$ անցումները բնութագրական են այն օրգանական միացություններին, որոնք պարունակում են չզույգավորված էլեկտրոնային զույգ ունեցող հետերոատոմներ (սպիրտներ, ամիններ, ալդեհիդներ, կետոններ, պարզ և բարդ էթերներ և այլն):

$\pi \rightarrow \pi^*$ անցումներ

$\pi \rightarrow \pi^*$ անցումների կարելի է հանդիպել բոլոր չհագեցած օրգանական միացությունների մոտ (ալկեններ, ալկիններ, ալդեհիդներ, կետոններ, ֆենոլներ և այլն): Այս տիպի անցումների կլանման մոլային գործակիցների արժեքերը բավականին բարձր են (ε -ի արժեքներն ընկած են $1000 \div 10000$ սահմանում):

$n \rightarrow \pi^*$ անցումներ

$n \rightarrow \pi^*$ անցումներն՝ ի համեմատ բոլոր մնացած էլեկտրոնային անցումների, օժտված են ամենաքիչ էներգիայով: Այս անցումներով պայմանավորված կլանման մաքսիմումներին համապատասխանող ε -ի արժեքը փոքր է 100-ից: $n \rightarrow \pi^*$ անցումների կլանման շերտերն ընդհանրապես ի հայտ են գալիս $\lambda_{\max} > 250$ նմ-ից և չեն վերածածկվում մյուս անցումներով, ինչը, չնայած դրանց փոքր ինտենսիվության, հնարավորություն է տալիս գրանցելու այդ կլանումները:

Աշխատանքները կատարելիս էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները կգրանցվեն ամբիոնում առկա SPECORD 50(PS) սպեկտրֆոտոմետրի օգնությամբ: Սովորաբար գրանցվում է օպտիկական խտության (ինտենսիվության) կախվածությունն ալիքի երկարությունից՝ $D=f(\lambda)$: Կինետիկական ուսումնասիրություններ կատարելիս ունենում ենք օպտիկական խտության կախվածությունը ժամանակից՝ $D=f(t)$:

SPECORD 50 սպեկտրֆոտոմետրը աշխատացվում է Aspect Plus համակարգչային ծրագրի օգնությամբ: Նմուշների հաստատուն ջերմաստիճանը ապահովում է LAUDA A100 թերմոստատը, որը ևս համակցված է սարքին: Անհրաժեշտության դեպքում կարելի է $D=f(\lambda)$ կախվածությունը գրանցել ցիկլիկ ձևով՝ ընտրելով թե ինչքան ժամանակը մեկ է հարկավոր կատարել գրանցումը:

SPECORD 50 սպեկտրֆոտոմետրը մի ճառագայթային է, իսկ դա նշանակում է, որ նմուշների չափման համար պետք է օգտագործել մեկ կյուվետ: Նախ անհրաժեշտ է գրանցել լուծիչի սպեկտրը հետո՝ լուծույթինը, որից հետո լուծույթի սպեկտրից պետք է հանել լուծիչինը և դրանց տարբերությունից ստանալ լուծված նյութինը: SPECORD 50 սպեկտրֆոտոմետրի օգնությամբ սպեկտրները գրանցվում են 190 -1100 նմ մարզում: Ուլտրամանուշակագույն մարզի համար ճառագայթման աղբյուր է հանդիսանում դեյտերիումական լամպը, իսկ տեսանելի մարզի համար՝ սովորական հալոգեն լամպը: Aspect Plus ծրագիրը հնարավորություն է տալիս նաև անցում կատարել օպտիկական խտությունից (D)՝ բացթողմանը (T%), ինչպես նաև ալիքի երկարությունից (λ)՝ ալիքային թվին (ν): Այս ծրագրի օգնությամբ կարելի է պարզել ցանկացած ալիքի երկարու-

թյանը համապատասխանող օպտիկական խտության արժեքը (սովորաբար անհրաժեշտ է լինում իմանալ λ_{\max} -ին համապատասխանողը): Անհրաժեշտության դեպքում կարելի է որոշել նաև կլանման կորի ընդգրկած մակերեսը:

Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայում օգտագործվող հիմնական հասկացությունները

Կլանման շերտ – սպեկտրի մարզ, որտեղ գրանցվում են կլանումներ մեկ կամ մի քանի մաքսիմումներով:

Էլեկտրոնային անցում – էլեկտրոնի անցում մի մոլեկուլային օրբիտալից մյուսին:

Իզոբիեռտիկ կետ – ալիքի երկարություն, որի դեպքում համակարգում առկա երկու միացությունները կարող են փոխարկել մեկը մյուսին և ունեն կլանման մոլային գործակցի նույն արժեքը:

Քրոմոֆոր – օրգանական միացության մեջ կառուցվածքային խումբ, որի առկայությամբ պայմանավորվում է լույսի ընտրողական կլանումը էլեկտրոնային սպեկտրում: Սովորաբար դրանք խմբեր են, որոնց բնութագրական են $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ անցումներ. $C=C$, $C \equiv C$, $C=O$, $N=O$, արոմատիկ համակարգեր և այլն:

Աուկոքրոմ – օրգանական միացության մեջ գտնվող հագեցած խումբ ($-OH$, $-NH_2$, $-SH$ և այլն), որի միացումը քրոմոֆորին հանգեցնում է սպեկտրում վերջինով պայմանավորված կլանման դիրքի և ինտենսիվության փոփոխության:

Բատոքրոմային (կարմիր) շեղում – կլանման շերտի շեղում դեպի երկար ալիքային մարզ (դեպի λ -ի մեծ արժեքներ):

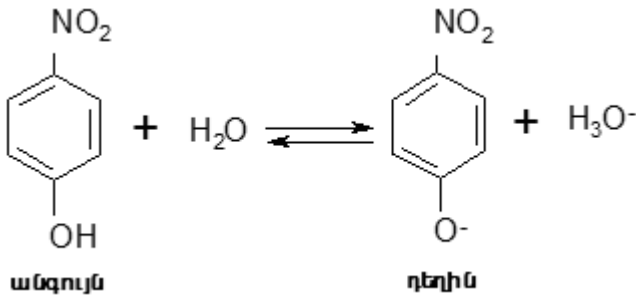
Հիպոքրոմային (կապույտ) շեղում – կլանման շերտի շեղում դեպի կարճ ալիքային մարզ (դեպի λ -ի փոքր արժեքներ):

Հիպերքրոմային էֆեկտ – կլանման ինտենսիվության մեծացում:

Հիպոքրոմային էֆեկտ – կլանման ինտենսիվության փոքրացում:

Աշխատանք 1. Լուծույթի pH-ի որոշումը

Լուծույթի pH-ի որոշման հիմքում ընկած է թթվա-հիմնային ինդիկատորների կիրառությունը, դրանց նոսր լուծույթները կախված միջավայրի թթվայնությունից ընդունակ են զգալիորեն փոխել գույնի ինտենսիվությունը: Գույնի փոփոխության պատճառը հիմնային և թթվային միջավայրում ինդիկատորի կառուցվածքի փոփոխությունն է: Օրինակ՝ քնիտրոֆենոլի մոլեկուլային ձևն անգույն է, իսկ իոնայինը՝ գունավոր:



քնիտրոֆենոլի ջրային լուծույթի վրա քիչ քանակությամբ ուժեղ թթվի ավելացման ժամանակ գուգորդված հիմքը (Ind⁻) վերածվում է անգույն թթվի (HInd), որի ժամանակ տեղի է ունենում գույնի ինտենսիվության նվազում և ի վերջո՝ անհետացում: Բնականաբար ուժեղ հիմքի քիչ քանակի ավելացումը հանգեցնում է հավասարակշռության տեղաշարժի հակառակ ուղղության. Ind⁻-ի կոնցենտրացիան մեծանում է ինչը հանգեցնում է լուծույթի գունավորման մեծացման: Ինդիկատորի HInd և Ind⁻ ձևերի քանակների հարաբերության փոփոխությունը pH-ի արժեքների որոշակի տիրույթում ուղեկցվում է վիզուալ փոփոխություններով, ինչը թույլ է տալիս դատել հավասարակշռական վիճակի մասին և, հետևաբար, գնահատել համակարգի pH-ը՝

$$pH = pK_a + \lg \frac{[Ind^-]}{[IndH]},$$

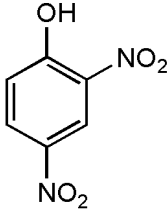
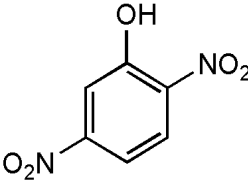
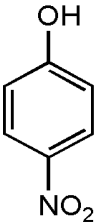
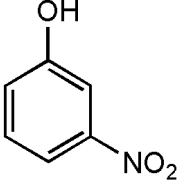
որտեղ pK_a -ն ինդիկատորի ուժային գործակիցն է: Հստակ տեսողական դիտարկումներ և pH-ի ճշգրիտ չափումներ հնարավոր են միայն այն դեպքում, երբ ինդիկատորի մի ձևի կոնցենտրացիան գերազանցում է մյուս ձևի կոնցենտրացիային 10 անգամից ոչ ավելի: $pH = pK_a \pm 1$ կոչվում է ինդիկատորի գույնի փոփոխության տիրույթ:

Աշխարհանքի նպատակն է էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի մեթոդի օգնությամբ որոշել լուծույթների pH-երը:

Աշխարհանքի էությունը: pH-ի որոշման ֆոտոգունաչափական մեթոդի էությունը ինդիկատոր պարունակող հետազոտվող լուծույթի օպտիկ խտության (D_x) համեմատությունն է նույն քանակությամբ ինդիկատոր պարունակող հիմնային լուծույթի օպտիկ խտության հետ (D_{max}), որտեղ ինդիկատորը ամբողջապես իոնիզացված է և ունի գույնի մաքսիմալ ինտենսիվություն:

Անհրաժեշտ նյութերը: Պատրաստել 100 մլ 0.1 մոլ·լ⁻¹ կոնցենտրացիայով $Na_2(CO_3)$ –ի ջրային լուծույթ՝ օգտագործելով թորած ջուր, ինչպես նաև հայտնի pH-երով բուֆերային լուծույթներ:

Փորձի իրականացումը: Ելնելով աղյուսակի տվյալներից անհրաժեշտ է ընտրել ինդիկատոր, որի գույնի փոփոխման մարզն ընդգրկի մեր կողմից հետազոտվող լուծույթի pH-ի մոտավոր արժեքը:

Ինդիկատոր (անվանումը)	Կառուցված- քային բանաձևը	Գույնը՝ pH-ի վերին սահմանում	pK _a (293 Կ)	pH-ի մարզը
α-նիտրոֆենոլ (2,4-նիտրոֆենոլ)		դեղին	4.05	2.8 - 4.5
γ-նիտրոֆենոլ (2,5-նիտրոֆենոլ)		դեղին	5.15	4.0 - 5.6
p-նիտրոֆենոլ (4-նիտրոֆենոլ)		դեղին	7.16	5.2 - 7.0
m-նիտրոֆենոլ (3-նիտրոֆենոլ)		դեղին	8.31	6.7 - 8.4

Առաջին փորձանոթի մեջ լցնել 9 մլ հետազոտվող լուծույթից, իսկ երկրորդում՝ 9 մլ Na₂(CO₃) –ի լուծույթից: Երկու փորձանոթներից յուրաքանչյուրի մեջ ավելացնել 1-սկան մլ ընտրված ինդիկատորի լուծույթից և խառնել, որպեսզի համասեռ լուծույթներ ստացվեն: Նիտրոֆենոլի կլանման մաքսիմումն ընկած է մոտ 467 նմ ալիքի երկարության տակ:

Այդ պատճառով անհրաժեշտ է գրանցել ստացված լուծույթների կլանման սպեկտրները 200-ից 600 նմ մարզում: Համեմատականության կյուվետը պետք է լցված լինի թորած ջրով: Առաջին փորձանոթի լուծույթից մոտ 3 մլ լցնել 1 սմ կյուվետի մեջ ու գրանցել դրա կլանման սպեկտրը: Լուծույթի սպեկտրից պետք է հանել լուծիչի սպեկտրը և որոշել ինդիկատորի իոնական ձևի կլանման մաքսիմումին համապատասխանող օպտիկ խտության արժեքը: Դա կլինի D_x -ը: Նույն ձևով երկրորդ փորձանոթի լուծույթից, որն իրենից ներկայացնում է ինդիկատորի հիմնային լուծույթ, մոտ 3 մլ լցնել 1 սմ կյուվետի մեջ ու գրանցել դրա կլանման սպեկտրը: Հանել լուծիչի սպեկտրը և որոշել ինդիկատորի իոնական ձևի կլանման մաքսիմումին համապատասխանող օպտիկ խտության արժեքը: Դա կլինի D_{\max} -ը:

Արդյունքների մշակումը: Ինդիկատորի իոնիզացման աստիճանը հետազոտվող լուծույթում որոշել

$$\alpha = \frac{D_x}{D_{\max}}$$

հավասարման միջոցով: Լուծույթի pH-ը որոշել

$$pH = pK_a \pm \lg \frac{\alpha}{1 - \alpha}$$

հավասարման օգնությամբ:

Ստացված արդյունքների մեջ համոզվելու համար համապատասխան լուծույթների pH-ը որոշել նաև պոտենցիոմետրիկ մեթոդով՝ չափելով հետազոտվող լուծույթի pH-ը: Գրանցել նաև երկրորդ փորձանոթում մնացած լուծույթի pH-ը ևս:

Աշխատանք 2.

$2Fe^{3+} + 2I^{-} \rightleftharpoons 2Fe^{2+} + I_2$ ռեակցիայի հավասարակշռության հաստատունի որոշումը սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով

Աշխատանքի նպատակն է որոշել $2Fe^{3+} + 2I^{-} \rightleftharpoons 2Fe^{2+} + I_2$ ռեակցիայի հավասարակշռության հաստատունը սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով:

Աշխատանքի էությունը: Վերը նշված ռեակցիայի բոլոր կոմպոնենտները, բացի առաջացած յոդից՝ I_2 , $\lambda=470$ նմ տակ կլանումներ չունեն: Այդ ալիքի երկարության տակ յոդի ջրային լուծույթը ունի մաքսիմում կլանում, որի $\varepsilon=714$ լ·մոլ⁻¹·սմ⁻¹: Հետևաբար, Fe^{3+} , I^{-} , Fe^{2+} , I_2 հավասարակշռական խառնուրդի օպտիկ խտությունը թույլ է տալիս դատելու I_2 փաստացի հավասարակշռական կոնցենտրացիայի մասին: Այդ խառնուրդի օպտիկ խտության չափումներն անհրաժեշտ է իրականացնել կանոնավոր պարբերականությամբ: Հավասարակշռության հասնելու ժամանակ ռեակցիոն խառնուրդի կլանումը հասնում է իր առավելագույն արժեքին: Օպտիկ խտության այդ առավելագույն արժեքի հաստատուն մնալը $D = f(t)$ կինետիկական կորի վրա պետք է հաստատվի ոչ պակաս 3 կետով: $D = \varepsilon \cdot c \cdot l$ հավասարման օգնությամբ որոշվում է I_2 հավասարակշռական կոնցենտրացիան: Ռեագենտների սկզբնական կոնցենտրացիաներից ելնելով հաշվարկվում է բոլոր կոմպոնենտների հավասարակշռական կոնցենտրացիաները: Ջանգվածների ներգործման օրենքի օգնությամբ որոշվում է ուսումնասիրվող ռեակցիայի հավասարակշռական հաստատունի արժեքը K_c -ն

$$aA + bB \rightleftharpoons dD + qQ, K_c = \frac{[D]^d [Q]^q}{[A]^a [B]^b}:$$

Անհրաժեշտ նյութերը: Պատրաստել Fe_3Cl -ի և KI -ի $5 \cdot 10^{-3}$ մոլ·լ⁻¹ ջրային լուծույթներ՝ օգտագործելով թորած ջուր:

Փորձի իրականացումը: Ռեակցիոն խառնուրդի պատրաստման համար վերցնել 2 ապակյա փորձանոթ, որոնցից մեկի մեջ լցնել 2 մլ Fe_3Cl -ի լուծույթ, իսկ մյուսում՝ 3 մլ KI -ի լուծույթ: Առաջին փորձանոթից լուծույթը լցնել երկրորդի մեջ, որից հետո ստացված խառնուրդն արագ նորից լցնել առաջինի մեջ (այսինքն այս ձևով ստացված խառնուրդը խառնել) և ֆիքսել ռեակցիայի սկիզբը: Այդ խառնուրդից 3 մլ-ի չափով լցնել կյուվետի մեջ և գրանցել սպեկտրը 350-500 նմ մարզում: Համեմատականության կյուվետը պետք է լցված լինի թորած ջրով: Լուծույթի սպեկտրից հանել լուծիչի սպեկտրը և գրանցել I_2 -ի կլանման մաքսիմումին համապատասխանող օպտիկական խտության արժեքը: Այնուհետև ժամանակի ընթացքում՝ ամեն 5 րոպեյն մեկ, շարունակել գրանցել լուծույթի սպեկտրը մինչև որ օպտիկական խտության՝ D -ի, արժեքը մնա անփոփոխ (ունենալ D -ի հաստատուն արժեքի աննափիչը 3 կետ): Օգտագործելով ստացված փորձարարական տվյալները կառուցել $D = f(t)$ կինետիկական կորը: Գրաֆիկից էլնելով որոշել լուծույթի օպտիկական խտության սահմանային արժեքը, որը կհամապատասխանի I_2 -ի հավասարակշռական կոնցենտրացիային: Դրանից հետո հաշվել ռեակցիոն խառնուրդի բոլոր կոմպոնենտների հավասարակշռական կոնցենտրացիաները և որոշել ռեակցիայի հավասարակշռության հաստատունի արժեքը: Իմանալով K_c -ն, կարելի է որոշել պրոցեսի Գիբսի ազատ էներգիայի փոփոխությունը՝

$$\Delta G^{\circ} = -RT \ln K_c :$$

Երկու տարբեր ջերմաստիճաններում K_c -ի արժեքները իմանալով կարելի է որոշել ΔH° -ն էլնելով՝

$$\ln \frac{K_{T_2}}{K_{T_1}} = \frac{\Delta H^{\circ}}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

հավասարումից: Իսկ $\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T\Delta S^{\circ}$ հավասարումից կարելի է հաշվարկել տվյալ պրոցեսի էնտրոպիայի փոփոխությունը՝

$$\Delta S^{\circ} = \frac{\Delta H^{\circ} - \Delta G^{\circ}}{T} :$$

Աշխատանք 3.

Գեղամիջոցում նիկոտինաթթվի քանակության որոշումը սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով

Գեղամիջոցում նիկոտինաթթվի քանակությունը էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոֆոտոմետրիայի միջոցով որոշելու համար նախ հարկավոր է պատրաստել նիկոտինաթթվի ստանդարտ լուծույթ, հետո՝ դեղամիջոցից պատրաստված լուծույթ և վերջում համեմատել այդ լուծույթներում նիկոտինաթթվի կլանման սպեկտրները՝ անելով համապատասխան եզրակացություն:

Ստանդարտ լուծույթի պատրաստումը

0.1գ ճիշտ կշռված նիկոտինաթթուն տեղադրել 100 մլ չափիչ կոլբայի մեջ, վրան ավելացնել 80 մլ 0.1 Մ քլորաջրածնական թթու, խառնել, որից հետո նույն կոնցենտրացիայի քլորաջրածնական թթվով ծավալը հասցնել 100 մլ համապատասխանող նիշին ու նորից խառնել:

Գեղամիջոցից պատրաստված լուծույթ

1 մլ դեղամիջոցը (1%-ոց նիկոտինաթթու, սրկման համար) լցնել 100 մլ չափիչ կոլբայի մեջ, 0.1 Մ քլորաջրածնական թթվով լուծույթը հասցնել 100 մլ համապատասխանող նիշին և խառնել:

Լուծույթների սպեկտրների գրանցումը

Նախ պետք է գրանցել համեմատականության լուծույթը, որն իրենից կներկայացնի 0.1 Մ քլորաջրածնական թթվի լուծույթը: 1 սմ կվարցե կյուվետի մեջ լցնել այդ թթվի լուծույթից ու գրանցել դրա կլանման սպեկտրը: Համակարգչի մեջ այդ սպեկտրը հիշեցնել որևէ անվան տակ, օրինակ (1):

Այժմ պետք է գրանցել ստանդարտ լուծույթի կլանման սպեկտրը (2), որի համար ևս պետք է օգտագործել 1 սմ կվարցե կյուվետ: Ստանդարտ

լուծությունն անկոտինաթթվի կլանման սպեկտրը ստանալու համար համակարգի օգնությամբ ստանդարտ լուծույթի կլանման սպեկտրից պետք է հանել համեմատականության լուծույթի կլանման սպեկտրը, այսինքն՝ (2)-ից հանել (1)-ը և այն հիշեցնել համակարգչում (3) անվան տակ:

Դեղամիջոցում անկոտինաթթվի կլանման սպեկտրը ստանալու համար պետք է գրանցել դեղամիջոցից պատրաստված լուծույթի կլանման սպեկտրը (4) և այդ սպեկտրից հանել համեմատականության լուծույթինը ((4)-ից հանել (1)-ը): Այն հիշեցնել համակարգչում (5) անվան տակ:

Ստանդարտ լուծությունն անկոտինաթթվի (3), $\lambda=272$ նմ կլանման մաքսիմումին համապատասխանող օպտիկական խտության արժեքից ելնելով որոշել այդ ալիքի երկարությանը համապատասխանող կլանման մոլային գործակցի՝ ε -ի արժեքը և այդ արժեքը օգտագործել դեղամիջոցում անկոտինաթթվի կոնցենտրացիան որոշելու համար:

$$D_o = \varepsilon c_o l \quad (1)$$

$$D_x = \varepsilon c_x l \quad (2)$$

$$(1) \text{-ից } \varepsilon = \frac{D_o}{c_o l} \quad (3)$$

$$(2) \text{-ից } \varepsilon = \frac{D_x}{c_x l} \quad (4)$$

Քանի որ նույն ալիքի երկարության տակ տվյալ նյութի ε -ները նույնն են, ապա

$$\frac{D_o}{c_o l} = \frac{D_x}{c_x l} \quad (5)$$

$$c_o D_x = c_x D_o \quad (6)$$

$$c_x = \frac{c_o D_x}{D_o} \quad (7)$$

Մենք կունենանք անկոտինաթթվի կոնցենտրացիան մոլլ⁻¹-ով, գրամների անցնելու համար նախ որոշել 100 մլ լուծությունն անկոտինաթթվի

մուլերի թիվ, որից հետո (9) հավասարման օգնությամբ անցում կատարել գրամների:

$$\nu_x = \frac{m_x}{M} \quad (8)$$

$$m_x = \nu_x M \quad (9)$$

Աշխատանք 4.

Տեղակալիչի ազդեցությունը բենզոլային օղակի վրա

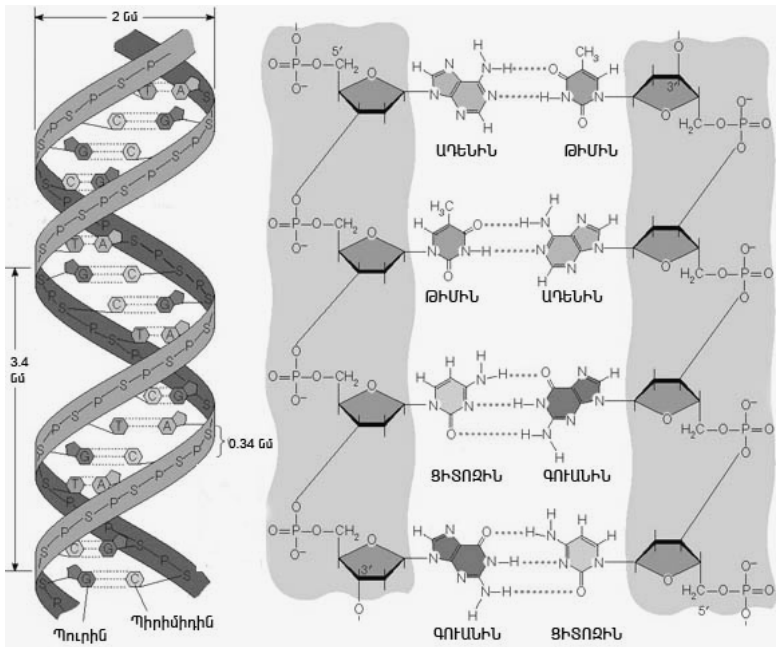
Բենզոլն ունի երեք կլանման շերտ պայմանավորված π -էլեկտրոնային անցումներով: Ամենակարճալիքային մարզում՝ 180 նմ տակ ($\varepsilon_{180}=50000$ լճոլ⁻¹սմ⁻¹) դիտվում է կլանման մաքսիմում, որը համապատասխանում է թույլատրելի $\pi \rightarrow \pi^*$ անցմանը: Հաջորդ կլանումը ($\lambda_{\max} = 200$ նմ) արգելված է սիմետրիայով, որի պատճառով էլ ինտենսիվությունը $\varepsilon \approx 7000$ լճոլ⁻¹սմ⁻¹ է: Բենզոլի համար ամենաբնութագրական կլանումը, այսպես կոչված բենզոլային կլանման շերտը, դիտվում է 230-260 նմ տակ: Այն արգելված է սիմետրիայով, ունի փոքր ինտենսիվություն ($\varepsilon_{260}=200$ լճոլ⁻¹սմ⁻¹) և ունի լավ արտահայտված տատանողական կառուցվածք: Տեղակալիչների ներդրումը բենզոլային օղակում բերում է փոփոխության կլանման սպեկտրում՝ կախված տեղակալիչի բնույթից: Այսպես՝ ալկիլ տեղակալիչները և հալոգենները (CH₃, Cl) բերում են կլանման շերտի փոքր տեղաշարժի դեպի երկար ալիքային մարզ, ինչպես նաև կլանման ինտենսիվության մեծացման 200 և 260 նմ տակ, իսկ բենոային խմբերի (OH, NO₂) ներդրումը բերում է արտահայտված բատոքրոմ տեղաշարժի, իսկ բենզոլային շերտի ինտենսիվությունը աճում է մոտ 10 անգամ: Կլանման սպեկտրի այդպիսի կտրուկ փոփոխությունը պայմանավորված է հետերոատոմի էլեկտրոնային գույզի և բենզոլային օղակի էլեկտրոնների փոխազդեցությամբ:

Փորձի ընթացքը: Պատրաստել 5 մլ ծավալով 10^{-4} Մ բենզոլի, քլորբենզոլի, տոլուլի, ֆենոլի, նիտրոբենզոլի լուծույթներ հեքսանում: Գրանցել դրանց սպեկտրները 200-400 նմ մարզում: Գնահատել տեղակալիչի ազդեցությունը բենզոլային օղակի վրա:

Աշխատանք 5.

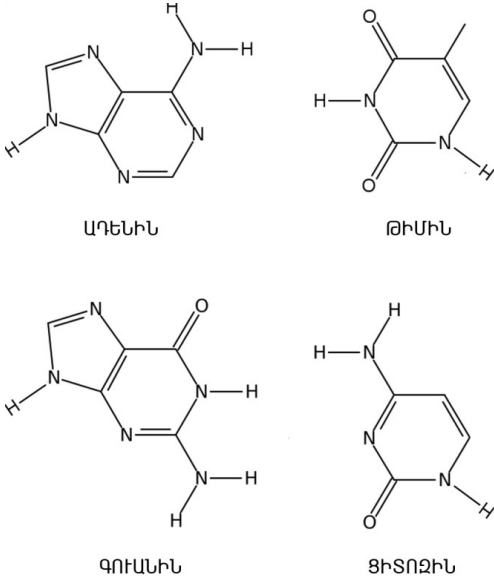
ԴՆԹ-ի ջերմային դենատուրացիայի ուսումնասիրությունը Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի միջոցով

ԴՆԹ-ն (դեօքսիռիբոնուկլեինաթթուն) իրենից ներկայացնում է կենսապոլիմեր, որի մոնոմերները՝ նուկլեոտիդները իրար միացած են կովալենտ կապերով և կազմում են պոլիմուկլեոտիլային երկար շղթաներ: Այդ շղթաները իրենց հերթին գույգ առ գույգ միանում են միմյանց ջրածնական կապերի միջոցով առաջացնելով ԴՆԹ-ի կրկնակի պարույրը: Պարույրի լայնությունը մոտավորապես 2.0-2.4 նմ է, իսկ յուրաքանչյուր նուկլեոտիդի երկարությունը՝ 0.34 նմ է (նկ. 6):



Նկ. 6. Դեօքսիռիբոնուկլեինաթթվի կառուցվածքը

ԳՆԹ-ի մոլեկուլում տարբերում են չորս տիպի ազոտային հիմքեր՝ ադենին, թիմին, գուանին և ցիտոզին, որոնց կառուցվածքային բանաձևերը բերված են նկար 7-ում:



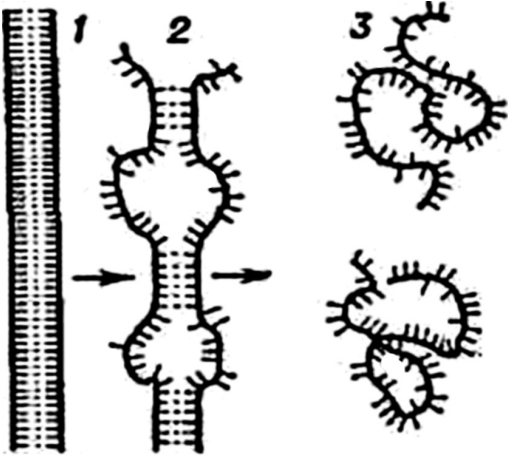
Նկ. 7. ԳՆԹ-ի ազոտային հիմքերի կառուցվածքային բանաձևերը

Նուկլեոտիդների կազմի մեջ մտնող հիմքերը բաժանվում են երկու խմբի՝ պուրինային (ադենինը և գուանինը), որոնք կազմված են իրար միացած հինգ- ու վեցանդամանի հետերոցիկլերից, և պիրիմիդինային (ցիտոզինն ու թիմինը), որոնք կազմված են միայն վեցանդամանի հետերոցիկլերից: Հենց այս ազոտային հիմքերի առկայությունն է, որ հնարավորություն է տալիս գրանցելու ԳՆԹ-ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը: Այն բնութագրվում է մեկ կլանման շերտով, որի կլանման մասսիմումը գտնվում է 260 նմ տակ:

Լուծույթում ԳՆԹ-ի կայունության մասին կարելի է պատկերացում կազմել վերջինիս դեմատուրացման ուսումնասիրություններից, պրոցես, որի ժամանակ ԳՆԹ նատիվ վիճակից անցնում է դեմատուրացված վիճակի:

ԴՆԹ-ի դեմատորացումը կամ հալումը, մի պրոցես է, որի ժամանակ դեզօքսիռիբոնուկլեինաթթվի ագոտային հիմքերի միջև ջրածնական կապերի խզման հետևանքով երկպարույրը քանդվում է առաջացնելով երկու առանձին շղթաներ: ԴՆԹ-ի դեմատորացումը կարող է տեղի ունենալ ինչպես ջերմաստիճանի բարձրացման, այնպես էլ մի շարք քիմիական նյութերի՝ դեմատորանտների ազդեցությամբ: Առաջին դեպքում դեմատորացումը կոչվում է ջերմային, երկրորդ դեպքում՝ քիմիական:

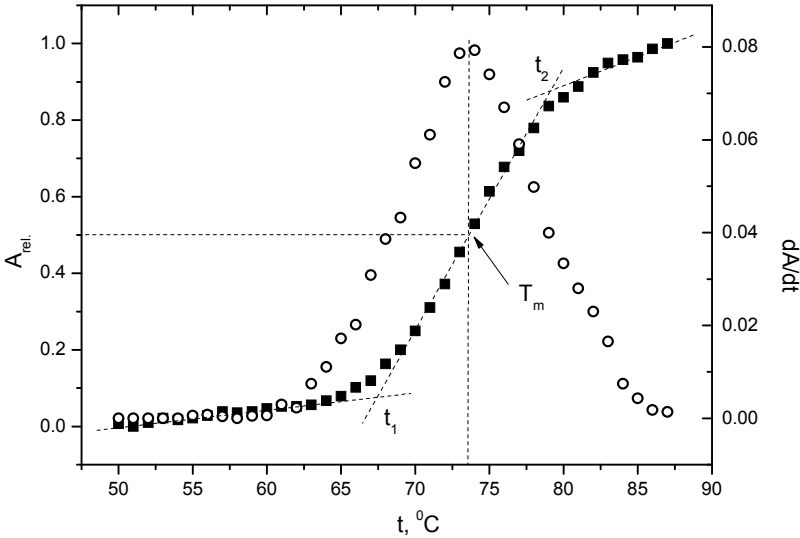
Ինչպես հայտնի է, աղենին/թիմին գույգերի ջերմակայունությունն ավելի փոքր է, քան գուանին/ցիտոզին գույգերինը: Այդ իսկ պատճառով ջերմաստիճանը բարձրացնելիս ջրածնական կապերի քանդումը միանգամից տեղի չի ունենում. սկզբում երկպարույրի վրա առաջանում են տեղային հալված հատվածներ (պայմանավորված աղենին/թիմին գույգերի քանդմամբ), այնուհետև ավելի բարձր ջերմաստիճաններում խլրվում են ԴՆԹ կայունացնող բոլոր կապերը և տեղի է ունենում պարուրաձև կառուցվածքի քանդում և առանձին կծիկների առաջացում (նկ. 8): Դրանով պայմանավորված ԴՆԹ-ի դեմատորացիայի պրոցեսը հաճախ անվանում են նաև պարույր - կծիկ անցում: Նշենք, որ կենդանի քջիջներում ԴՆԹ-ի պարույր – կծիկ անցումներ տեղի են ունենում անընդհատ:



Նկ. 8. ԴՆԹ-ի դեմատորացիայի սխեմատիկ պատկերումը

ԳՆԹ-ի մոլեկուլի հալման ջերմաստիճանը (T_m) այն ջերմաստիճանն է, որում ԳՆԹ-ի մոլեկուլների 50%-ը գտնվում է նատիվ՝ երկպարույր վիճակում, իսկ մնացած 50%-ը՝ դենատուրացված:

ԳՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանը համապատասխանում է հալման կորի բռնիքի միջնակետին, որը որոշվում է համաձայն նկ. 9-ում տրված սխեմայի: T_m -ի արժեքները ճշտվում են նաև հալման կորի առաջին աստիճանի ածանցյալի վերլուծությամբ:



Նկ. 9. ԳՆԹ-ի հալման կորերից հալման ջերմաստիճանի որոշման սխեմատիկ պատկերը

Փորձի ընթացքը: Գրանցել $5 \cdot 10^{-5}$ Մ ԳՆԹ-ի ջրային լուծույթի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը սպեկտրոֆոտոմետրի օգնությամբ: Չափումները կատարել 40-90⁰С ջերմաստիճանային տիրույթում: Ջերմաստիճանը կարգավորել LAUDA A100 թերմոստատի օգնությամբ: Լուծույթի ջերմաստիճանը անմիջականորեն ֆիքսել կյուվետի բաժանմունքում տեղադրված թվային ջերմաստիճանային ցուցիչի միջոցով (կյուվետի հաստությունը՝ l=1 սմ): Նմուշների ջերմաստիճանը բարձրացնել

0.5⁰C/րոպե հաստատուն արագությամբ: Գրանցել 260 մմ տակ ԴՆԹ-ի օպտիկական խտության արժեքը: Ջերմաստիճանը բարձրացնելիս օպտիկ խտությունը աճում է, ընդ որում, ջերմաստիճանային որոշակի փոքր տիրույթում՝ շատ կտրուկ: Օպտիկական խտության մեծացումը պայմանավորված է նրանով, որ ԴՆԹ-ի քրոմոֆոր խմբերը, որոնք նատիվ վիճակում լուծիչի համար ընկալելի չեն, դեմատորացման պրոցեսի ընթացքում դառնում են մատչելի: Ստացված հալման կորերը բնութագրվում են սիգմոիդալ (S-աձև) տեսքով S-աձև, որի առաջին հատվածը համապատասխանում է նատիվ վիճակին, իսկ երբ օպտիկ խտությունը այլևս չի փոխվում կամ դառնում է անկանոն՝ դեմատորացված ձևին: Ստացված կորի օգնությամբ որոշել ԴՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանի արժեքը՝ Tm-ը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. **Շ. Ա. Մարգարյան**, Մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիա, Երևանի համալսարանի հրատարակչություն, Երևան, 2003 թ., 176 էջ:
2. **Н. Н. Федоровский, Л. М. Якубович, А. И. Марахова**, Фотометрические методы анализа, “ФЛИНТА”, “Наука”, Москва, 2012, 72 с.
3. **О. В. Свердлова**, Электронные спектры в органической химии, “Химия”, Ленинград, 1985, 248 с.
4. **С. Ю. Вязьмин, Д. С. Рябухин, А. В. Васильев**, Электронная спектроскопия органических соединений, Санкт-Петербург, 2011, 44 с.
5. **T. Owen**, Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy, 2000, Copyright Agilent Technologies, Germany, 148 p.
6. **O. Thomas, C. Burgess**, UV-Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater, 2007, Publisher Elsevier Science, 372 p.

Բովանդակություն

Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի մեթոդը.....	3
Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրասկոպիայում օգտագործվող հիմնական հասկացությունները	10
Աշխատանք 1. Լուծույթի pH-ի որոշումը.....	11
Աշխատանք 2.	15
Աշխատանք 3. Դեղամիջոցում նիկոտինաթթվի քանակության որոշումը սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով.....	17
Աշխատանք 4. Տեղակալիչի ազդեցությունը բենզոլային օղակի վրա ..	20
Աշխատանք 5. ԴՆԹ-ի ջերմային դենատուրացիայի ուսումնասիրությունը էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի միջոցով.....	21
Գրականություն	26

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՍԱՐԳՍՅԱՆ Հ. Ռ.

ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՅԻՆ ԿԼԱՆՄԱՆ ՍՊԵԿՏՐՈՍԿՈՊԻԱ, ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ԵՎ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐՈՒՄ

ՈՒՍՈՒՄՆԱՄԵԹՈՂԱԿԱՆ ԱՇԽԱՏԱՆՔ

Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալարյանի
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի
Հրատ. սրբագրումը՝ Վ. Դերձյանի

Տպագրված է «Գևորգ-Հրայր» ՍՊԸ-ում:
ք. Երևան, Գրիգոր Լուսավորչի 6

Չափսը՝ 60x84 $\frac{1}{16}$: Տպ. մամուլը՝ 1,75:
Տպաքանակը՝ 100:

ԵՊՀ հրատարակչություն
ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1