

eman ta zabal zazu



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

ESPEKTROSKOPIA

Laborategiko Praktiak

Egileak

TERESA ARBELOA LÓPEZ
FERNANDO LÓPEZ ARBELOA
REBECA SOLA LLANO

**EUSKARAREN ETA ETENGABEKO PRESTAKUNTZAREN
ARLOKO ERREKTOREORDETZAREN SARE
ARGITALPENA**

Argitalpen honek UPV/EHUko Euskararen eta Etengabeko Prestakuntzaren arloko
Errektoreordetzaren laguntza izan du

ISSN 2603-8900

KIMIKA FISIKO II:

ESPEKTROSKOPIA-PRAKTIKAK

Aurkibidea

Sarrera	-----	1
Frogapenak	-----	4
IR-praktika	-----	13
UV-praktika	-----	24
VIS-praktika	-----	36
FL-praktika	-----	48

KIMIKA FISIKO II:

ESPEKTROSKOPIA-PRAKTIKAK [aurkibidea](#)

Sarrera

HELBURUAK ETA GAITASUNAK

Kimika Fisikoa II irakasgaiaren laborategiko praktiken helburuak bi dira: espektroskopiaren zenbait kontzeptu erakustea eta programa teorikoan azaldutakoa osatzea; eta espektroskopia optikoen teknika ohikoenen zenbait aplikazio kimiko garatzea.

Ikasleak honako espektro mota hauek erregistratzen ikasiko du: infragorriko (IR) eta ultramore/ikusgaiko (UV-VIS) espektroak, absortziokoak zein fluoreszentiakoak. Laginak solido-, likido- zein gas-egoeran agertuko dira, eta transmisio-, islapen- eta igortze-metodoak erabiliko dira.

Neurtutako espektroak interpretatuz, ikaslea gai izango da sistemen zenbait propietate kimiko fisiko kuantifikatzeko. Adibidez, molekula sinpleen egitura-parametroak determinatzen dira, edo egitura molekularren eta inguruaren eragina (disolbatzailea, pH-a, temperatura, etab.) egiaztatzen da, bai espektro-banden posizioan bai eta intentsitatean. Alderdi termodinamikoak ere landuko dira; esaterako, karga-transferentziako konplexuen formazio-konstantea kalkulatu da, eta haren menpetasuna aztertuko da elektroimailearen ionizazio-potentzialarekiko. Espektroskopia-teknikak erabiliko dira azterketa zinetikoan ere, egoera kitzikatuko desaktibazio konstanteak, molekula bakarrekoak zein bimolekularrak, determinatuko direlako.

Zehazki, praktika hauen bidez, ikasleak ikastearen emaitza hauek lortuko ditu:

- Lagin mota guztien espektroak erregistratuko ditu hainbat teknika erabiliz.
- Badaki upelatxo edo behar diren osagarriak aukeratzen, eremu espektralaren eta disolbatzailearen arabera.
- Zenbait sistema kimiko/fisiko aztertzeko, badaki aurreko espektroskopia-teknikak aplikatzen.
- Trantsizio espektral baten menpekotasuna determinatuko du hainbat faktorekiko (egitura molekularra, disolbatzailea, pH-a, temperatura).
- Oreka-konstanteak eta konstante zinetikoak kalkulatu ditu.

METODOLOGIA

Lehenengo saioan, teknika espektroskopiko guztiak irakatsiko ditu irakasleak berak, «Frogapenak» deritzon atalean. Ondoren, ikasleak teknika horiek erabiliko ditu lau saiotan, bakoitzean praktika bat gauzatuz.

Frogapenak: espektroskopiako teknika erabilienean aurkezpena.

Lehenengoz, moduluz osatutako tresna baten bidez (iturri, lagin-euskarri eta detektagailu batez osatua) espektrometro desberdinak antolatuko dira, xurgapen- eta igorpen-espektroak lortzeko asmoz. Osagarri egokiak erabiliz gero (upelatxoa eta haren euskarria, murgiltze-zunda eta erreflektantzia-zunda), egoera solido eta likidoko laginen espektroak erregistratuko dira.

Ondoren, hurrengo praktikan erabiliko diren zenbait espektrometro aurkeztuko dira, eta nola erabiltzen diren azalduko: Fourier transformatuaren bidezko espektrometro infragorria (FT-IR), ultramore/ikusgaikoa, eta fluorimetroak. Infragorriko gunean, irakasgaiaren kontzeptu teorikoekin lotutako bibrazio-errotazioko espektroak erregistratuko dira gas fasean (HCl, CO₂, H₂O). Halaber, I₂-ren trantsizio elektronikoen baten bibrazio-egitura lortuko da ikusgaiko gunean. Bukatzeko, zenbait konposatu organikoren bandak aztertuko dira ultramorean: azetonaren karbonilo taldearen n-π* trantsizioa, eta bentzeno eta antrazenoaren π-π* xurgapen-, kitzikapen- eta igorpen-bandak.

Praktikak. Lau praktikak dira teknika bana ikasteko: infragorri-, ultramore-, ikusgai- eta fluoreszentsia-espektroskopia. Praktikak egin baino lehen, ikasgelan oinarri teorikoa, lan-metodoa eta emaitzak nola eztabaidatu azalduko da.

Praktika bakoitza zenbait azpipraktikaz osatuta dago. Praktikak gauzatzeko, ikasleek bikoteak osatuko dituzte, eta bikote bakoitzak dagokion azpipraktika egingo du bakarrik. Ondoren, lortutako emaitzak gainerako bikoteekin partekatu beharko ditu, eta, horrela, ikasle bakoitzak azpipraktika guztien informazioa eskuratuko du. Sistema honen bidez talde-lana sustatuko da, eta ikasleak praktikaren arloari buruzko ikuspegi orokorragoa lortuko du, helburu zabalagoak ahalbideratuz.

Saio hauek erabiliko diren tekniken arabera izendatu dira:

Infragorriko (IR) praktikan, transmitantzia- eta erreflektantzia-teknikak aplikatuko dira hainbat laginen espektro infragorriak erregistratzeko: a) solido eta likido puruak, ATR (***Attenuated Total Reflection***) tresnaren bidez; b) disoluzio likidoak, KBr-zko upelatxo komertzialak erabiliz; c) disoluzio solidoak, KBr-zko pilulan; d) solido puruaren pelikula mehea

KBr-zko pilula euskarritzat erabiliz. Karbonilo taldearen deribatuek duten zenbait konposatu organikoren espektroak lortuko dira. Horrela, karboxilato (COO^-) eta amida (CONR_2) taldeen bibrazio-banda adierazgarrienak identifikatuko dira. Halaber, $\text{C}=\text{O}$ taldearen tentsio-bibrazioaren bandaren lerrakuntza ordezkatzaillearekin nola aldatzen den aztertuko da.

Ultramoreko (UV) praktikan, ordezkatzaillearen eta disolbatzaillearen eragina aztertuko da $\text{C}=\text{O}$ taldearen $n-\pi^*$ trantsizioan eta/edo molekula aromatiko baten $\pi-\pi^*$ trantsizioan. Neurtuko diren konposatuak hauek dira: azetiloaren eratorriak, $\text{CH}_3\text{-CO-R}$ (non $\text{R} = \text{H}, \text{CH}_3, \text{OH}, \text{N}(\text{CH}_3)_2, \text{Cl}$ den) n-heptanoan disolbaturik; azetona disolbatzaile desberdinetan (n-heptano, kloroformo, azetonitrilo, etanol, metanol eta ura); eta bentzeno honen zenbait eratorri (tolueno, xileno, dureno, anilina, fenol, klorobentzeno) n-heptanoan.

Ikusgaiko (VIS) praktikan, espektroskopikoki baieztatuko da karga-transferentziako konplexuen formazioa, konposatu elektro-emaile (xileno, dureno eta hexametilbentzeno) bat elektro-hartzaile (*p*-kloranilo) baten aurrean jarriz. Elektro-emaileen ionizazio-potentzialaren eragina aztertuko da konplexuaren absortzio-bandaren kokapenean. Banda horren intentsitatea aldatu egiten da osagaien kontzentrazioarekin; aldaketa horretatik konplexuaren formazio-konstantea determinatuko da, eta baita emailearen ionizazio-potentzialarekiko menpetasuna ere.

Fluoreszentzia (FL) praktikan, fluoreszeina koloratzaile organikoaren fluoreszentzia-ahalmena neurtuko da, eta aztertuko da ahalmen horren aldaketa honako faktore hauekiko: a) inguruko baldintzak (pH-a, tenperatura edo gatzaren presentzia), b) kloro edo iodo atomoak txertatzea molekulan, c) sistema aromatikoaren malgutasuna. Fluoreszentzia-lasaikuntzaren kurben bitartez zenbait prozesuren desaktibazio-konstanteak determinatuko dira, bai molekula bakarrekoak bai bimolekularrak. Azken kasuan, litekeen mekanismoa eztabaidatuko da. Fluoreszentzia-intentsitatea tenperaturarekiko neurtuz, zenbait lasaikuntza-prozesuren aktibazio-energia kalkulatu da.

ESPEKTROSKOPIA-METODOAK ETA ESPEKTROAK ERREGISTRATZEA

HELBURUAK:

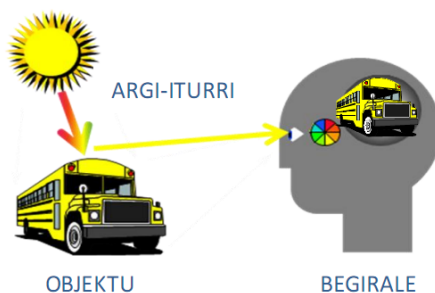
- Irakaskuntza-laboregiko espektroskopia-tresnak erabiltzen ikastea (FT-IR espektrometroak, ultramore/ikusgai espektrometroak, fluorimetroak).
- Neur daitezkeen seinaleak bereiztea.
- Xurgapen- eta igorpen-espektroak lortzeko teknikekin trebatzea.
- Espektroskopiaren bidez lor daitezkeen laginen propietateak ezagutzea.

OINARRI TEORIKOA

1. Espektroskopia

Munduarekin dugun elkarrekintza, funtsean, espektroskopia da, espektroskopiaren oinarriko hiru elementuak inguruan daudelako: argi-iturria (eguzki-argia), lagina (inguruko objektuak) eta detektagailua (giza begia).

Erradiazio-iturri dira, gehienetan, espektro-gune desberdinetako erradiazioa igortzen duten iturriak, beste iturri mota batez ordezkatu daitezkeen arren (elektroi sorta, neutroi sorta, deskarga elektrikoa...). Lagina da erradiazioaren atal bat xurgatzen, islatzen, transmititzen edo barreiatzen duen objektua. Detektagailu egokiak erabiliz, ikusgaiko erradiazioaz gain espektro elektromagnetikoaren gainerako gunetako seinaleak neur daitezke (hala nola irrati-frekuentziak, mikrouhinak, infragorria, ultramore, X izpiak). Espektroa hau da: laginak xurgatu, transmititu, igorri edo barreiatu duen argiaren intentsitatearen adierazpen grafikoa, erradiazioaren uhin-luzeraren edo frekuentziaren aurrean.



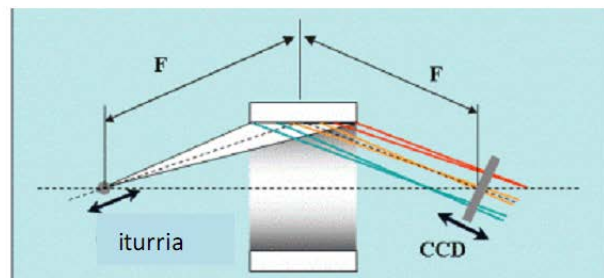
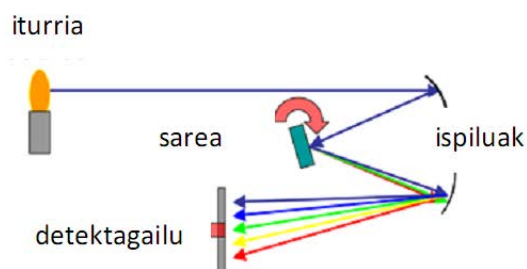
Espektroskopiaren funtsezko eskema

Aipatu diren hiru elementuez gain, espektroak erregistratzeko beste tresna bat behar da, monokromagailua, erradiazioa osatzen duten uhin-luzerak banatzeko. Ohiko monokromagailuak erradiazioa barreiatzen du difrakzio-sarearen bidez, eta uhin-luzera aukera daiteke difrakzio-sarea mekanikoki biratuz.



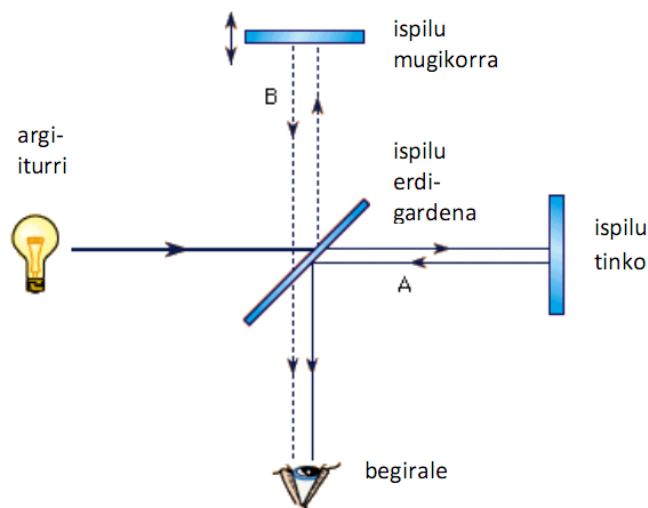
Monokromagailuak eragiten duen erradiazioaren banaketa uhin-luzeretan

Ohiko monokromagailuez aparte, badaude beste aukera batzuk, hala nola mikrodetektagailu-bateria batez osatuta dagoen kanal anitzeko detektagailua. Horretan, mikrodetektagailu bakoitza sentikorra da uhin-luzera jakin batekiko. Azken sistema horren abantaila da espektroak denbora askoz laburragoan erregistratzea (1 ms edo gutxiago). Ostera, kanal anitzeko detektagailuaren desabantailak bereizmen eta sentikortasun txikiak dira. Dena den, hori hobe daiteke erregistro askoren batezbestekoa eginez.



Espektrofotometro difrakzio-sarearekin eta kanalanitzeko detektagailuarekin

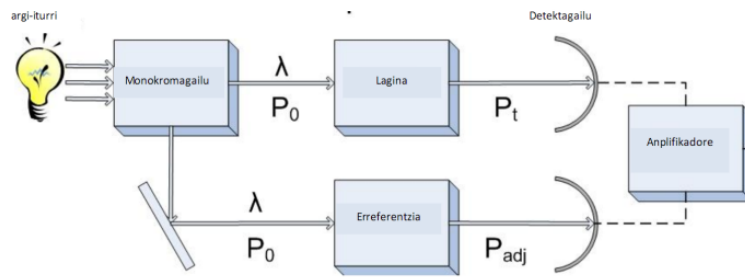
Fourier transformatua delako teknika beste aukera bat da erradiazioaren frekuentziak tratatzeko. Metodo horretan, ez dira erradiazio polikromatiko baten frekuentzia-osagaiak banatzen, baizik eta frekuentzia guztien arteko interferentziak (espazio zein denborarekikoak) erregistratzen dira. Lortutako interferograma ohiko espektro bihurtzen da Fourier transformatua teknikaren bitartez.



Fourier transformatua teknika erabiltzen duen espektrofotometroa

Infragorri-eremuan oso hedatua dago teknika hau (FT-IR laburduraz adierazi ohi da), FT-IR espektrometroak barreiapen-espektrometroak baino merkeagoak baitira, eta, gainera, bereizmen eta sentikortasun handiagoa eskaintzen dute. Ultramore- eta ikusgai-eremuetan, berriz, barreiapen-tresnak ohikoagoak diren arren, pixkanaka ugaltzen doaz kanal anitzeko detektagailuak, bereizmen-, sentikortasun- eta azkartasun-hobekuntzak (nanodetektagailu ultraazkarrak) dakartzatelako. Bi dimentsioko detektagailuak (CCD kamerak) ere erabil daitezke; horien bidez, aldi berean, laginaren hainbat puntutako espektroak erregistra daitezke. Teknika horren oinarria argazkigintza digitalean erabiltzen den bera da.

Lagin batek igortzen edo barreiatzen duen argiaren intentsitatea zuzenean detekta daitekeen arren (neurketa absolutua), ezinezkoa da xurgatutako erradiazioaren kasuan. Xurgatutako erradiazioaren intentsitatea lortzeko, laginak transmititzen duen intentsitatea erreferentzia-substantzia batek transmititzen duenarekin konparatzen da (neurketa erlatiboa). Beraz, bi neurketa egin behar dira: erreferentzia eta lagina. Lehendabizi, erreferentzia-neurketa egiten da (tresnaren memoria berezi batean gordetzen da, **oinarri-lerro** edo **background** deritzona) eta, ondoren, lagin-neurketa. Aldi oro detektatzen den lagin-seinalea aurretik neurtutako erreferentzia-seinalearekin konparatzen da, eta zuzenean eman ohi du tresnak xurgatutako intentsitatea. Izpi bikoitzeko tresnetan, aldi berean egiten dira bi neurketak (lagina eta erreferentzia izpi banatan). Neurketa horiek guztiak erlatiboak direnez, ez dira erabilitako tresnaren menpekoak. Ostera, neurketa absolutuetan (igorpena eta barreiapena), detektatzen den seinalea tresnaren sentikortasunaren arabera da, eta, oro har, neurketa hori zuzendu egin behar da, edo erreferentzia-seinale batekin konparatu.



Izpi-bikoitzeko Espektrofotometroa

2. Tresna modularra

Hainbat espektrometro diseinatuko dira, banatuta dauden hainbat osagai elkartuz. Osagaiak hauek dira:

- Erradiazio-iturriak: argi zuria igortzen duen halogeno-lanpara (ikusgai eta infragorri hurbilean 400-1000 nm) eta laser berdea (532 nm).

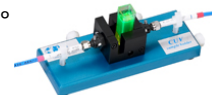


- Detektagailuak: kanal anitzekoak, ikusgai eta infragorri hurbilerako, sentikortasun baxukoak (RedTide) zein altukoak (USB2000).



- Laginak: koloratzaile organikoen disoluzioak eta gainazal koloreztatuak.

- Lagin-euskarriak 180° eta 90°ko angelukoak.



- Murgiltze- eta erreflektantzia-zundak.



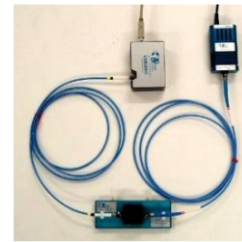
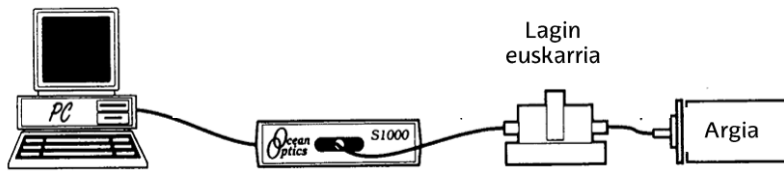
- Zuntz optikoak



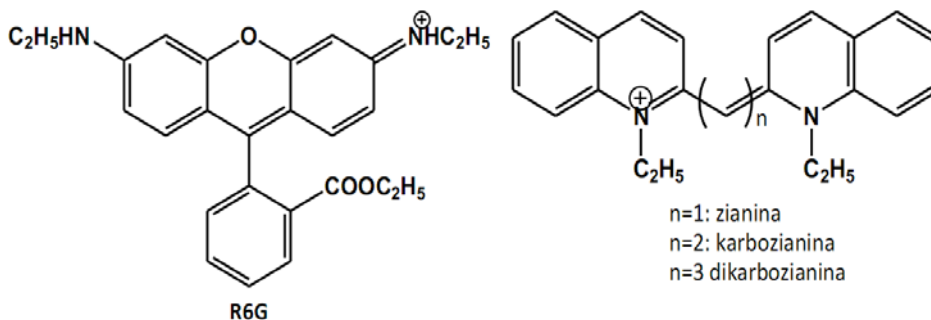
- Neurketa kontrolatzeko eta espektroa maneiatzeko softwarea.

Elementuak atonduz, espektrofotometro desberdinak muntatuko dira hainbat helburu lortzeko:

- Disoluzioen xurgapen-espektroa neurtuko da transmititzen den seinalea erregistratuz. Laginak errodamina 6G (R6G) eta zenbait zianina izango dira. Azken horiekin egiaztatuko da sistema aromatikoa hedatzean $\pi-\pi^*$ trantsizioak lerrakuntza batokromikoa (uhin-luzera handiagorantz) jasaten duela.

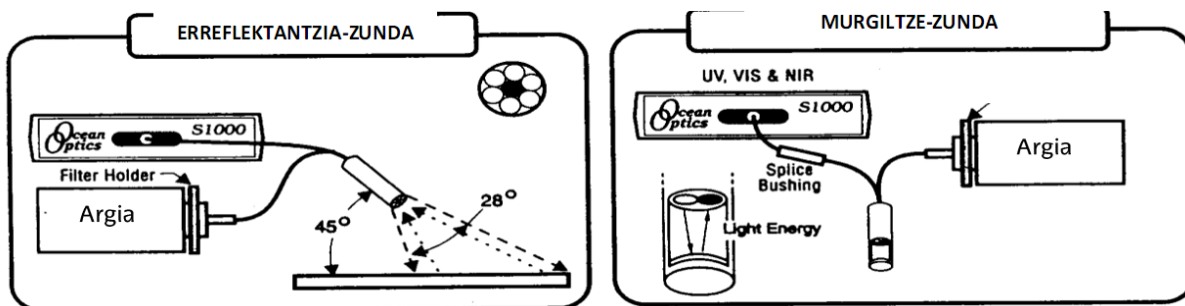


Lagin likidoen xurgapen-espektroa neurtzeko muntaia



Disoluzioan aztertuko diren molekula organikoen egiturak

- Gainazal koloreztatuaren xurgapen-espektroak lortuko dira, islatzen duten argia detektatuz. Horretarako, erreflektantzia-zunda erabiliko da, eta kolore desberdinak alderatuko dira: kenkorrak, batukorrek, primarioak, sekundarioak, bateragarriak...
- Transmittantzia edo murgiltze-zundaren bidez lortutako xurgapen-espektroak berdinak direla egiaztatuko da.



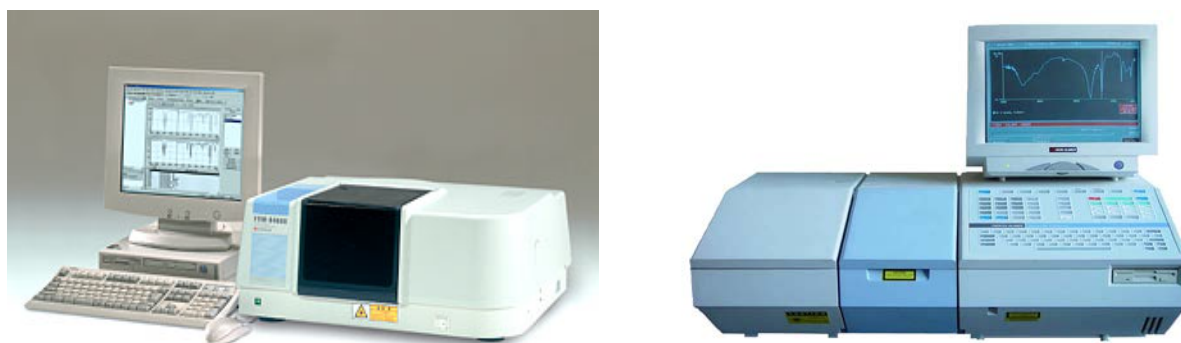
Islapen- eta murgiltze-zunden funtzionamendua

- Upelatxo batean lagin likido batek (errodamina-6G koloratzailearen disoluzioa) igorritako argia erregistratuz, laginaren igorpen-espektroa lortuko da. Lortutako seinalearen intentsitatea argi-iturriaren (lanpara halogenoa eta laser berdea) arabera alderatuko da. Xurgapen- eta emisio-banden posizioak ere elkarrekin konparatuko dira.

Hurrengo ataletan, zenbait espektro lortuko dira, laborategiko espektrometroen erabilera ezagutzeko. Oro har, laginak gas fasean egongo dira.

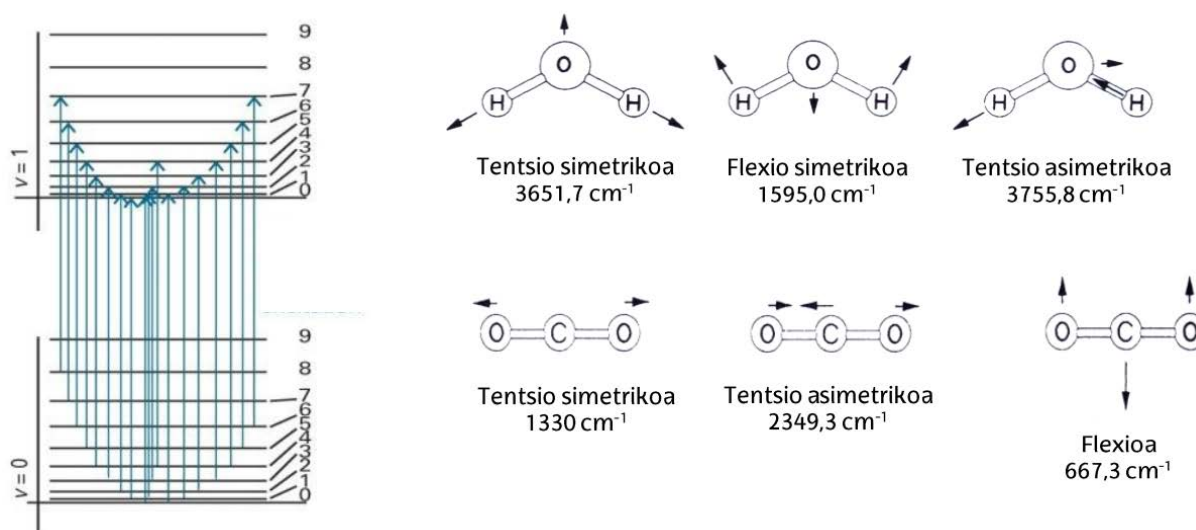
3. Infragorri-espektroak:

Perkin Elmer RX1 eta Shimadzu 8400 espektrometroak erabiliko dira.



Laborategiko FTIR espektrofotometroak

Tresna horiek erabiltzen duten Fourier transformatuaren metodoa deskribatuko da, eta espektrometroaren erabilera azalduko da. NaCl-zko leihodun upelatxoan HCl, H₂O, CO₂ lagin gaseosen espektroak hartzen dira. Bibrazio-banden errotazio-egitura deskribatuko da, molekula motaren eta bibrazio moduaren arabera. Analisi hori irakasgaiaren teoria atalean proposatutako ariketen osagarri izango da.



Bibrazio-trantsizioaren errotazio-egitura eta H₂O eta CO₂-aren bibrazio moduak

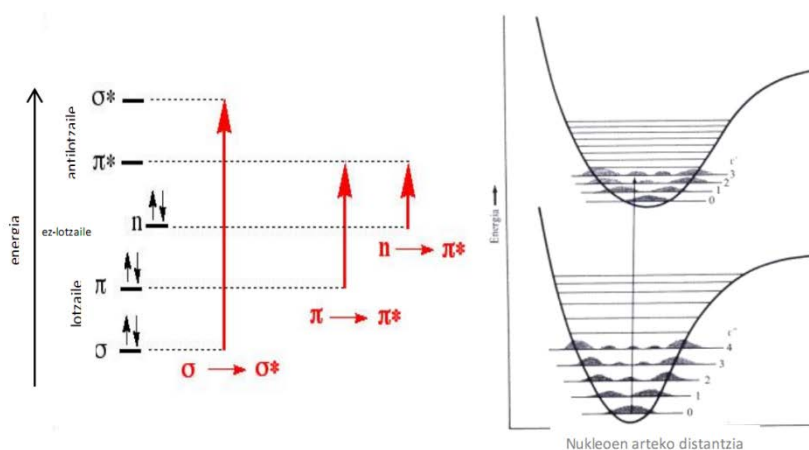
4. Ultramore/ikusgai xurgapen-espektroak

Honako tresna hauek erabiliko dira: izpi bikoitzeko espektrometroa (Shimadzu UV1650, bereizmen baxua) eta izpi bakarrekoak (Shimadzu UV1240 eta Vis1200).



Laborategiko UV/Vis espektrofotometroak

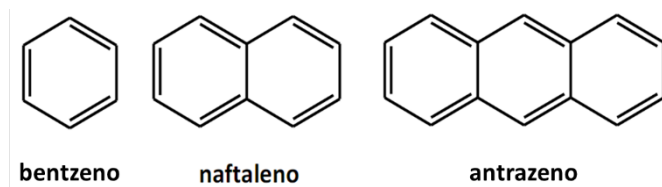
Laginen espektroak erregistratu aurretik, upelatxoarena aparatuaren erreferentzia-seinale gisa hartu behar da. Lehendabizi, I_2 sublimatuaren ikusgai-espektroa hartuko da; espektro horretan trantsizio elektronikoaren bibrazio-egitura antzematen da (behatzeko, bereizmen nahiko altuko aparatua behar da). Kasu horretan, nahiko korapilatsua da bibrazio-egituraren analisisa, molekula astuna delako eta tenperatura altuan lan egiten delako.



Trantsizio elektronikoak eta trantsizio bati dagokion bibrazio-egitura.

Azetona lurrunduaren bidez, karbonilo taldearen ultramoreko $n-\pi^*$ trantsizio elektronikoa erregistratu eta analizatuko da; horretan ez da bibrazio-egitura antzematen, trantsizioa debekatua delako. Bentzeno-lurrunaren eta antrazenoazko disoluzioaren $\pi-\pi^*$ banda ere detektatuko da. Gainera, planotik kanpo ematen den C-H bibrazioari dagokion bibrazio-

egitura antzematen da (egitura horren xehetasunak tresnaren bereizmenaren arabera dira).



5. Fluoreszentzia-espektroak

Antrazenoak egoera elektroniko kitzikatutik igorritako argia erregistratuko da Shimadzu RF-5300 eta RF-1500 fluorimetroetan.



Laborategiko espektrofluorimetroak

Espektrofluorimetroak bi monokromagailu ditu: kitzikapeneko eta emisioko. Lehenengoak kontrolatzen du lagina zein uhin-luzerarekin kitzikatzen den, eta bigarrenak detektagailura heltzen den uhin-luzera aukeratzen du. Igorritako intentsitatea bi uhin-luzera (λ_{exc} , λ_{fl}) horien arabera da. Bi monokromagailu horiek zaildu egiten dute erregistroen parametro hoberenen hautaketa. Baldintza hoberenak aurkitu eta gero, espektro osoa erregistratu behar da, seinale ahalik eta handiena lortuz, baina asetasunera ailegatu gabe. Fluorimetroak bi espektro mota har ditzake: igorpen-espektroa (igorritako intentsitatea *vs* igorritako uhin-luzera, kitzikapenaren uhin-luzera finkatuz) eta kitzikapen-espektroa (igorritako intentsitatea *vs* kitzikapenaren uhin-luzera, igorpenarena finkatuz). Oinarriko egoeraren eta egoera kitzikatuaren bibrazio-mailak antzekoak direnez, igorpen-espektroa eta kitzikapen-espektroa ispilu-irudiak dira, eta, gainera, kitzikapen-espektroa eta xurgapen-espektroa oso antzekoak dira. Ezaugarri horiek guztiak sakonago azalduko dira fluoreszentzia-praktikan.

EMAITZEN ANALISIA ETA EZTABAIDA

Erregistratutako espektro guztiak ikasleei banatuko zaizkie, bai txostena egiteko bai klasean erabiltzeko. Honako gai hauek landu beharko dira:

• Tresna modularra

1. Alderatu hiru zianinen kolorea eta xurgapen-espektroen kokapena.
2. Konparatu errodamina 6G-ren xurgapen- eta igorpen-espektroak.
3. Aztertu koloreen espektroak eta konparatu kolore desberdinak: batukorrak, kenkorak, primarioak, sekundarioak, bateragarriak...
4. Bereizi transmititutako argia, islatutako argia, xurgatutako argia eta igorritako argia.

• IR espektroak

5. Azaldu HCl-ren IR-espektroa.
6. Alderatu uraren eta karbono dioxidoaren IR espektroan agertzen diren bandak, eta eztabaidatu PQR eta PR bandak.

• UM/VIS espektroak

7. Konparatu iodo lurrunduaren eta azetona lurrunduaren xurgapen-espektroak, eta azaldu desberdintasunak.
8. Azaldu iodoaren espektroko bibrazio-egitura.
9. Azaldu bentzenoaren bandak eta bibrazio-egitura.

TALDE FUNTZIONALEN BIBRAZIO ADIERAZGARRIAK:

KARBONILO TALDEAREN TENTSIO-BIBRAZIOA

HELBURUAK

- *Esperimentalak*. FT-IR espektrofotometroaren bidez lagin solidoen, likidoen eta disolbatuen IR espektroak erregistratzeko trebetasuna lortzea. Horretarako, metodologia desberdinak erabiliko dira: erreflektantzia (ATR –*Attenuated Total Reflection*–, solido eta likido puruetan) eta transmitantzia (disoluzio likidoak upelatxoetan, disoluzio solidoak KBr-zko piluletan edo lagina pelikula eutsietan).
- *Kimikoa*. Funtzio talde organiko batzuen bibrazio-banda esanguratsuenak identifikatzea. Hain zuzen, karbonilo taldearen tentsio-bibrazioaren gainean ordezkorearen eragina aztertzea, talde karboxilikoa eta karboxilatoa aldaratzea, eta amida desberdinen bibrazioa aztertzea.

OINARRI TEORIKOA

1. Loturen bibrazio-maiztasuna

Kimikariek IR espektroskopia asko erabiltzen dute produktuak identifikatzeko. Teknika hori erabiliz, konposatu organikoen talde funtzionalak bereiz daitezke, edo gatz ez-organikoetan nitrato, sulfato edo fosfato taldeen izaera. Adibidez, IR espektroskopiaren bidez gasolinen oktanajea determina daiteke, edo produktu kutsakorren kontrola egin daiteke. Teknika oso malgua da, eta egoera fisiko desberdinetan agertzen diren laginak neur daitezke: solido puruak hauts moduan, solido puruak pelikuletan, pelikula eutsiak, euskarri gardeneko pilulak, emultsioak oliotan, likido puruak, disoluzioak...

IR seinalearen frekuentzia eta lotura kimikoen bibrazio-maiztasuna bat datoz; horregatik, sistema kimikoen maila elektroniko bereko bibrazio-mailen arteko trantsizioak gertatzen dira IR gunean. IR espektroskopiak molekularen lotura kimikoen sendotasunari buruzko informazioa ematen du, hain zuzen:

$$\omega_e = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{k/\mu}$$

non: ω_e molekulak xurgatzen baitu IR frekuentzia:

c: argiaren abiadura

k: loturaren indar-konstantea

μ : loturako atomoen masa laburbildua

Molekula poliatomikoetan, non lotura bat baino gehiago baitaude, IR espektroa hainbat bandaz osatuta dago, molekularen talde funtzional guztien flexio- eta tentsio-bibrazioez hain zuzen. Aurreko ekuazioa aintzakotzat hartuz, ondorio hauek atera daitezke:

- Tentsio-bibrazioaren bandak flexio-bibrazioarenak baino maiztasun altuagotan agertzen dira, indar-konstantea altuagoa delako.
- Zenbat eta lotura-ordena altuagoa izan, lotura sendoagoa da eta energia altuagoetan gertatzen da trantsizioa. Beraz, lotura hirukoitzaren frekuentzia altuagoa da bikoitzarena baino, eta, era berean, azken hori altuagoa bakunarena baino.
- Hidrogeno atomoaren masa baxua dela eta, hidrogenoaren lotura kobalenteen frekuentziak beste atomoenak baino askoz altuagoak dira.

Faktore horiek guztiek eragiten dute molekula organikoen funtzio talde bakoitzaren maiztasuna desberdina izatea, honako zerrenda honetan adierazten den moduan.

$\omega_e > 2800 \text{ cm}^{-1}$ gunea: H atomoen tentsioa

- C-H $3300 - 2850 \text{ cm}^{-1}$ (alkanoak, alkenoak, aromatikoak...)
- O-H $3600 - 3200 \text{ cm}^{-1}$ (aske edo H loturak hedatzen)
- N-H $3500 - 3300 \text{ cm}^{-1}$ (aske edo H loturak hedatzen)

$\omega_e 2400 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ gunea: lotura hirukoitzen tentsioa

- C \equiv C 2100 cm^{-1}
- C \equiv N $2280 - 2210 \text{ cm}^{-1}$

$\omega_e 1800 - 1500 \text{ cm}^{-1}$: lotura bikoitzen tentsioa

- C=C $1680 - 1610 \text{ cm}^{-1}$
- C=O $1760 - 1690 \text{ cm}^{-1}$
- N=O $1570 - 1500 \text{ cm}^{-1}$

$\omega_e 1500 - 500 \text{ cm}^{-1}$ gunea: lotura bakunen tentsioa eta H flexioa

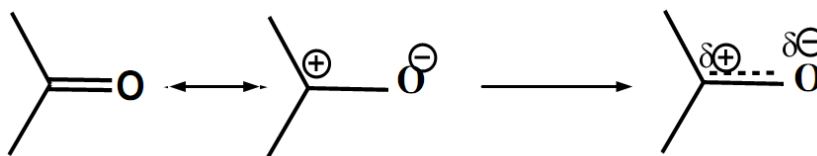
- C-H (flexioa) $1450 - 700 \text{ cm}^{-1}$ (alkanoak, alkenoak...)
- N-H (flexioa) 1600 cm^{-1}
- C-C (tentsioa) $1470 - 1350 \text{ cm}^{-1}$
- C-N (tentsioa) $1360 - 1180 \text{ cm}^{-1}$
- C-O (tentsioa) $1300 - 1050 \text{ cm}^{-1}$

1350 – 700 cm^{-1} tartean agertzen den banda multzoari **hartz-marka** deritzo, C-C tentsio eta C-H flexioen konbinaketa agertzen delako, eta, gainera, seinaleak adar-mailarekin aldatu egiten dira.

Talde funtzional baten bibrazio-bandaren kokapen zehatza lotura horri lotuta dauden ordezkoen, disolbatzailearen eta H-loturaren menpe dago.

2. Karbonilo tentsio-bibrazioaren gaineko ordezkoren eragina

Praktika honetan karboniloaren (C=O) tentsio-bibrazioa aztertzen da. Banda hau 1700 cm^{-1} inguruan agertzen da, baina kokapen zehatza aldatu egiten da karbonoari lotuta dagoen ordezkoren arabera. C=O lotura, polarra denez, ordezkoren arabera alda daiteke elektroien distribuzioa, eta horrekin karga-banaketa. Ordezkoaren hiru eragin azpimarratzen dira: indukzio-eragina, erresonantzia-eragina eta eraztunekoa.



Karboniloaren erresonantzia-egiturak eta elektroien benetako banaketa

- Indukzio-eragina

*Elektronegativotasuna: karbonoari lotuta dagoen atomoa elektronegatiboa izanez gero, loturaren elektroiak erakartzen ditu, eta elektroien karga-dentsitatea handiagoa egingo da C=O loturan. Ondorioz, k loturaren indar-konstantea handitu egingo da, trantsizioaren frekuentzia handituz.



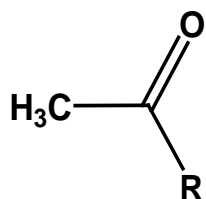
Karboniloaren karga-distribuzioa ordezeko elektronegatibo eta alkiloarekin

*Ordezkoa alkiloa bada (R), indukzio-eragina kontrakoa da; C=O loturaren elektroien dentsitatea murriztu egiten da, eta, ondorioz, banda energia baxuagorantz lerrokatzen da.

- Erresonantzia-eragina

Hiru eragin horiek laborategian aztertzeko honako konposatu hauen espektroak neurtuko dira, eta ulergarria izango da karbonilo tentsio-bibrazioaren kokapen zehatza.

Konposatua



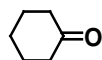
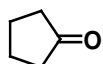
R=H

R=CH₃

R=OH

R=N(CH₃)₂

R=



Eragina

Azetaldehido

erreferentzia

Azetona

indukzio

Azido azetiko

indukzio, erresonantzia

Dimetilazetamida

indukzio, erresonantzia

Azetofenona

erresonantzia

Ziklopentanona

eraztuna

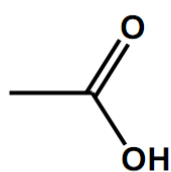
Ziklohexanona

eraztuna

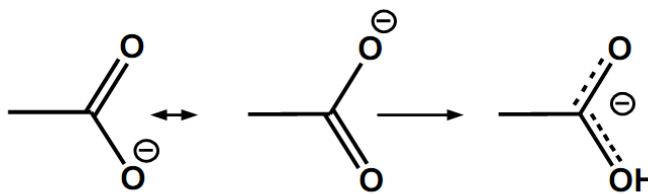
IR-praktikan neurtzen diren konposatu karbonilikoak

3. Talde karboxilikoaren eta karboxilatoaren arteko konparaketa

Azido karboxiliko bat desprotonatzen denean (esaterako, azidotik gatza lortzen denean), karboniloaren egitura aldatu egiten da.



karboxilo taldea



karboxilato taldea

Karboxilato taldean bi C-O loturak berdinak dira, eta erresonantzia-egiturak erabiltzen dira benetako elektroien distribuzioa azaltzeko: hiru elektroi bikote hiru atomoak lotzeko, lotura-ordena 1,5 delarik.

Egitura-aldaketa horren ondorioz C=O taldearen bibrazioak aldatu egiten dira, eta efektua IR espektroan islatzen da. Hain zuzen, O-H tentsio- eta flexio-bandak desagertzen dira, eta C=O tentsioaren ordez bi C-O tentsio agertzen dira, bata simetrikoa eta bestea asimetrikoa, frekuentzia baxuagoetan.

Azidoa: COOH

C=O tentsioa: 1700-1800 cm^{-1}

O-H tentsioa: 3000-3500 cm^{-1}

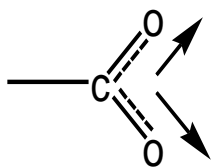
O-H flexioa: 950 cm^{-1}

Gatza: COO⁻

C=O tentsioa: ez

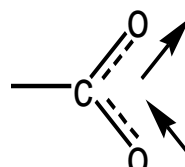
O-H banda: ez

2 banda $<1700 \text{ cm}^{-1}$: tentsio simetrikoa eta asimetricoa



Tentsio simetrikoa:

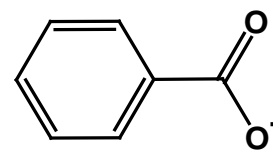
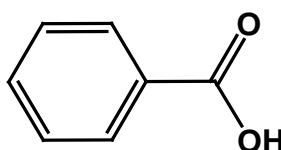
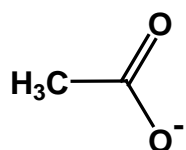
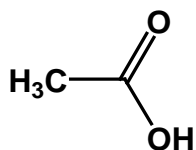
1450-1400 cm^{-1}



Tentsio asimetricoa:

1610-1550 cm^{-1}

Laborategian egituraren aldaketa horiek aztertuko dira, honako bikote hauen IR espektroak determinatuz: azido azetiko / sodio azetato eta azido bentzoiko / sodio bentzoato:



IR-praktikan neurtzen diren konposatu azidoak eta dagozkien gatzak

4. Amida taldearen bibrazio moduak

Amiden IR espektroak alderatzea oso esanguratsua da banden eta seinaleen akoplamendua aztertzeko. C=O tentsio-banda eta N-H flexio-banda oso gertu daude, eta amidetan akoplatzen dira. Eragin horren ondorioz jatorrizko bi banda horiek desagertu egiten dira, eta beste bi berri agertzen dira: **Amida I** eta **Amida II** izeneko bandak. Aldaketa hori ez da behatzen amida tertziarioetan, ez baitago N-H loturarik.

Amida primarioa ·N-H tentsioko bi banda (3200-3500 cm^{-1})

·C=O tentsiorik ez

·Amida I (1740-1630 cm^{-1})

·Amida II (1630-1510 cm^{-1})

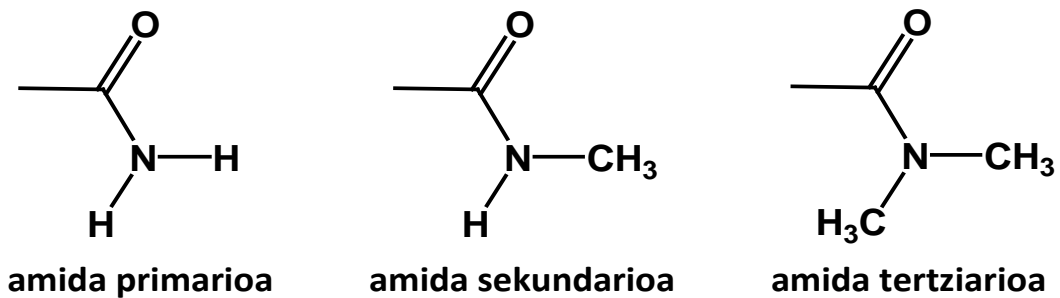
Amida sekundarioa ·N-H tentsioko banda bat (3300-3400 cm^{-1})

·C=O tentsiorik ez

- Amida I (1740-1630 cm^{-1})
- Amida II (1630-1510 cm^{-1})

Amida tertziarioa ·N-H tentsiorik ez
 ·C=O tentsioa ($\pm 1700 \text{ cm}^{-1}$)

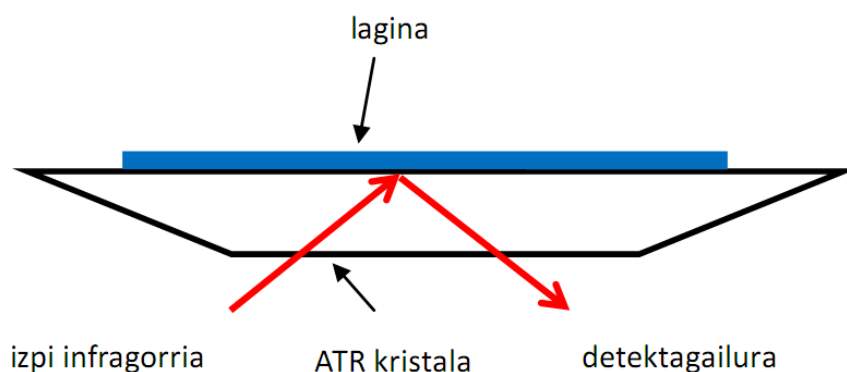
Aldaketa horiek esperimentalki determinatzeko, hiru amida hauek neurtuko dira: azetamida, N-metilazetamida eta N,N-dimetilazetamida.



IR-praktikan neurtzen diren hiru amidak

5. Indargabetutako islapen osoa delako teknika

Indargabetutako islapen osoa delako teknikan (ingelesez, Attenuated Total Reflection, ATR) ez da neurtzen laginean zehar transmititzen den argia, laginaren gainean eraso egitean islatzen dena baino. Teknika honetan, izpi infragorria errefrakzio-indize altua duen kristal batera zuzentzen da (ikus irudia). Eraso-angelua egokia bada, izpia guztiz islatuko da kristalaren barruko gainazaletan. Kristalaren gainean lagina jartzen badugu, kristalarekin ukitze ona egiten badu, infragorri-uhinak eta laginak elkarri eragingo diote, eta eragin horrek laginaren espektro infragorria sortuko du.



ATR esperimentuaren antolaketa

PROZEDURA ESPERIMENTALA

Materiala:

- | | | |
|--------------------------------|-------------|-----------------------------|
| - KBr-zko upelatxoak (~0,2 mm) | - xiringak | - huts-ponpa |
| - pilulentzako moldea | - prentsa | -2 pilularentzako euskarria |
| - espatula eta pintza | - motrailua | - Pasteur pipeta |

Produktuak:

Lagin disolbatuak

Azido azetikoak CCl₄-an (%1)

Azetona CCl₄-an (%1)

N,N'-dimetilazetamida CCl₄-an (%1)

Azetamida (≈1M azetonan)

N-metilazetamida (≈1M azetonan)

Lagin likido puruak

Karbono tetrakloruroa

Azetaldehidoa

Azetofenona

Etilo azetatoa

Ziklohexanona

Ziklopentanona

Lagin solido puruak

Potasio bromuroa

Azido bentzoikoa

Azetato sodikoa

Sodio bentzoatoa

Azetamida

Instrumentala:

- Perkin Elmer spectrum RX1 FTIR espektrometroa
- Shimadzu FTIR-8400S espektrometroa

Zehaztasun esperimentalak:

IR gunean upelatxoak, euskarriak eta gainerakoak NaCl edo KBr-zkoak izaten dira, IR erradiazioa xurgatzen ez dutelako. Gatz horiek oso higroskopikoak dira, eta inguruko hezetasuna xurgatzen dute. Hori arazo nahiko larria da, urak IR gunean bandak dituelako. Material optikoak gardentasuna galtzen du, eta hondatu egin daiteke. Hezetasunaren eragina murrizteko, beti piztuta daude IR aparailuak, laginak labean edo lehorgailuan gordetzen dira, eta bero-iturri baten azpian eta azkar manipulatu dira.

Lagin batzuk karbono tetraklorurotan (CCl₄) disolbaturik daude. Disolbatzaile hori egokia da IR gunean lan egiteko, oso banda gutxi erakusten duelako. Gainera, banda horiek, bat izan ezik, ez dira oso intentsuak, eta beren eragina erraz ken daiteke espektrotik erreferentzia moduan (*background*) neurtuz.

Lagin solido batzuk potasio bromurozko piluletan disolbatzen dira. Solido-solido disoluzio horien kontzentrazio egokia lortzea ez da erraza. Neurketa egokia izateko, laginaren eta potasio bromuroaren kantitateez aparte, pilulen lodiarekin ere jolas daiteke.

Beste lagin solido batzuk, disolbatu ez baizik, bide optiko oso mehean erabiltzen dira. Hori lortzeko, lagina disolbatzaile lurrunkor batean (azetonan) disolbatzen da, eta tanta bat botatzen da potasio bromurozko pilularen gainean. Disolbatzailea lurruntzean, bide optiko txikiko pelikula mehe bat sortzen da pilulan, IR seinalearen asetasuna saihestuz.

ATR teknikaren bidez, lagin puru solido zein likidoak erabil daitezke. ATRko kristal dielektrikoarekin bereziki kontuz ibili behar da. Ezin da erabili lagin azidoekin ($\text{pH} < 5$), eta, lagina pixka bat azidoa bada ($5 < \text{pH} < 7$), erabili bezain laster kristala garbituko da. Lagin solidoetan, puntaren presioak balio maximotik beherakoa izan behar du (lagina presiopean jartzean, puntaren haria galtzen denean), eta presioko denbora ahalik eta txikiena izango da (neurketa egiteko bakarrik).

Prozedura:

Espektroen neurketa IR upelatxoan

1. Likidoetarako upelatxoan, neurtu CCl_4 -ren IR espektroa. Aurretik, erregistratu **background** memorian airearen seinalea.
2. Erregistratu CCl_4 puruarekin **background** seinalea, eta, ondoren, neurtu CCl_4 -an disolbatuta dauden lagin guztien IR espektroa baldintza berdinetan.
3. Berreskalatu, markatu banda adierazgarrienak, gorde eta inprimatu.
4. Bukatzean, garbitu upelatxoa CCl_4 -z, eta gorde lehorgailuan.

Espektroen neurketa KBr-zko piluletan

1. Egin KBr-zko pilula bat, eta neurtu IR espektroa. Aurretik, erregistratu **background** memorian erreferentziaren (airearen) seinalea.
2. Berreskalatu neurtutako espektroa, gorde eta irudikatu.
3. Neurtu KBr-zko pilula **background** memorian.
4. Egin produktu solido batekin KBr-zko pilula bat. Neurtu IR espektroa, berreskalatu eta lautu oinarri-lerroa. Laginaren kontzentrazioa eta pilularen lodiera egokitu behar dira, bandarik handiena transmitantziaren %10-5 tartean egoteko eta oinarri-lerroa $> \%90$ izateko.
5. Gorde espektroa, irudikatu, eta banda adierazgarrienak apuntatu.
6. Lagin bat pelikula eutsi moduan prestatzen da. Jarri azetonan disolbatutako produktu

tanta bat KBr-zko pilularen gainean. Utzi disolbatzailea lurruntzen, eta erregistratu espektroa. Banden intentsitatea txikia izanez gero, bota beste tanta bat.

7. Berreskalatu, markatu koska adierazgarrienak, gorde eta inprimatu.

Espektroen neurketa ATR teknikaren bidez

1. Muntatu likidoentzako ATR-ren osagaia.
2. Neurtu *background* airearekin.
3. Neurtu lagin likido puru bat baldintza berdinekin.
4. Erregistroa bukatu bezain laster, askatu puntaren presioa, eta garbitu ATRko kristala.
5. Zuzendu neurtutako espektroa, eta apuntatu banda adierazgarrienak. Gorde espektroa, eta irudikatu.
6. Berdin aritu lagin solido purua neurtzeko.

EMAITZEN ANALISIA ETA EZTABAIDA

Lantaldeen artean emaitzak partekatuko dira. Era honetan, ikasle bakoitzak karbonilo taldean oinarritzen diren talde funtzional desberdinen bibrazio-bandak identifikatuko ditu. Besteak beste, alderdi hauek eztabaidatuko dira: C=O tentsio-bandaren posizioaren gainean ordezkatzaillearen indukzio-eragina edo erresonantzia-eragina, sei karbono baino gutxiagoko eraztunen eragozpena, eta karboxilato eta amidien portaera ezohikoa.

1. IR gunean espektroak erregistratzeko, komentatu CCl₄-ren aukera disolbatzaile gisa eta KBr-rena euskarri solido moduan.
2. Kalkulatu C=O loturaren batezbesteko indar-konstantea (horretarako, hartu espektroen C=O tentsio-bibrazioen batez besteko frekuentzia).
3. Azaldu karbonilo tentsio-bandaren kokapena, ordezkoaren izaera kontuan hartuz. Horretarako, erabili azetaldehido erreferentzia moduan, eta aztertu honako konposatu hauen banda: azetona, azido azetikoa, etilo azetatoa, azetofenona N,N-dimetilazetamida, ziklopentatona eta ziklohexanona.
4. Aurreko galderako konposatuetarako, irudikatu karbonilo-bandaren frekuentzia Hammett parametroen aurrean (F, R eta σ_p), eta aztertu joera orokorra.
5. Eztabaidatu karboxilatoaren bibrazio simetrikoak eta antisimetrikoak, azidoen

espektroak dagozkien gatz sodikoen espektroekin konparatuz: azido azetiko - sodio azetato eta azido bentzoiko - sodio bentzoato.

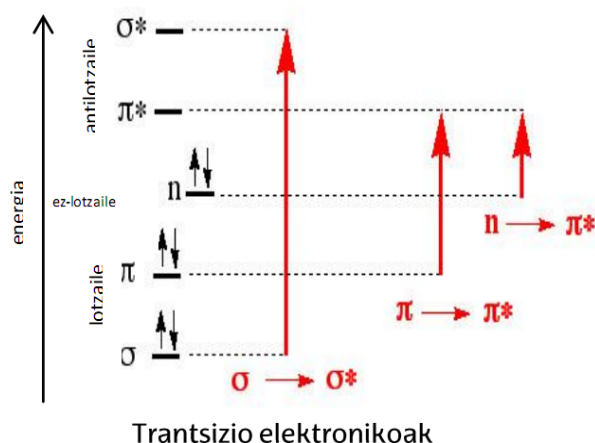
6. Azaldu amida primarioen, sekundarioen eta tertziarioen bibrazio moduak, azetamida, N-metilazetamida eta N,N'-dimetilazetamida adibidetzat hartuz.
7. IR espektroak erregistratzeko, komentatu ATR teknika erabiltzearen abantailak eta desabantailak, likidoentzako KBr-zko upelatxoekin edo solidoen KBr-zko pilulekin konparatuz.

SISTEMA ORGANIKOEN UV XURGAPEN-ESPEKTROAK:**ORDEZKATZAILEAREN ETA DISOLBATZAILEAREN ERAGINA $n - \pi^*$ ETA $\pi - \pi^*$** **TRANSIZIOETAN****HELBURUAK**

- Esperimentalak: izpi bikoitzeko UV-VIS espektrofotometroaren bidez UV xurgapen-espektroak neurtzeko trebetasuna lortzea.
- Kimikoa: $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ trantsizio elektronikoen propietateak determinatzea, eta ordezkoa eta disolbatzailea aldatzean banden lerrakuntza behatzea.

OINARRI TEORIKOA**1. Sistema kromoforikoak**

Kromoforoa da UV hurbilaren gunean (200-400 nm) edo gune ikusgaietan (400-700 nm) xurgapen-bandak dituen sistema kimikoa. Kromoforoak dira talde funtzional organiko batzuk, hala nola, karbonilo, nitro eta ziano taldeak, edo sistema konjugatu linealak edo ziklikoak. UV-VIS xurgapen-bandak sortzen dira elektroiek oinarriko mailatik maila elektronikoko kitzikatu batera igarotzean.



$\sigma-\sigma^*$ eta $n-\sigma^*$ trantsizioak UV urrunean agertzen dira. Dena den, eratorri halogenatuetan – zeinek partekatu gabeko elektroiek asko baitituzte – eta hainbat aminatan $n-\sigma^*$ trantsizioaren «buztana» UV gune hurbilean sar daiteke. UV hurbilean gertatzen diren

trantsizio arruntenak, eta praktika honetan ikasiko direnak, $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ dira. $n-\pi^*$ trantsizioan, orbital ez-lotzaileko elektroia bat energia altuagoko orbital antilotzailera igarotzen da; $\pi-\pi^*$ trantsizioan, berriz, elektroia bat kitzikatzen da orbital lotzaile batetik beste antilotzaile batera.

Sistema aromatikoa bada eta partekatu gabeko elektroia-bikotedun heteroatomoak baditu, bi UV xurgapen-banda ditu: $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$. Gainera, bi trantsizioen akoplamendua ere egon daiteke. Orbital molekularren ohiko distribuzio energetikoa aintzakotzat hartuz, $n-\pi^*$ trantsizioa $\pi-\pi^*$ trantsizioa baino energia baxuagokoa da, eta uhin-luzera altuagotan kokatu ohi da; baina egoera hori alda daiteke sistemaren ezaugarrien arabera. Esperimentalki $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ xurgapen-bandak bereizteko, disolbatzailea edo ordezkatzailea aldatzen dira; bandak kontrako noranzkoan lerratzen dira inguruaren polaritatea aldatzean eta ordezkatzaile desberdinak sartzean.

Sistema aromatikoez aparte, badaude UV-VIS gunean xurgatzen duten sistema gehiago, adibidez karga transferentziatzko konplexuak (ikus VIS-praktika). Horietan, oso garrantzitsua da disolbatzailearen eragina. Izan ere, ortzadarraren kolore guztiak erakuts daitezke. Sistema horiei ***zunda-molekula*** deritze, duten kolorearen arabera inguruaren polaritatea ezagutu daitekeelako, eta, askotan, sistema biologikoetan erabiltzen dira.

Sistema ez-organikoetan, ikusgai gunean bandak dituzten kromoforoak ere agertzen dira. Horiek trantsiziozko metalen konplexuak dira, non, estekatzaileek sortutako eremu elektrikoaren eraginez, metal atomo zentralaren d orbitalen energia-mailak zabaltzen baitira, eta xurgapen-bandak sortzen dira $d-d^*$ trantsizio elektronikoagatik.

2. $\pi-\pi^*$ eta $n-\pi^*$ trantsizioen ezaugarriak

Praktika honetan, karbonilo taldea duten hainbat konposatu organikoren $n-\pi^*$ trantsizioa eta bentzenoaren eratorri batzuen $\pi-\pi^*$ trantsizioak aztertuko dira. Trantsizio horiek propietate desberdinak dituzte, espektroen intentsitatean, kokapenean eta forman islatzen direnak. Ezaugarri horietako azpimarratzekoenak hauek dira:

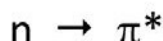
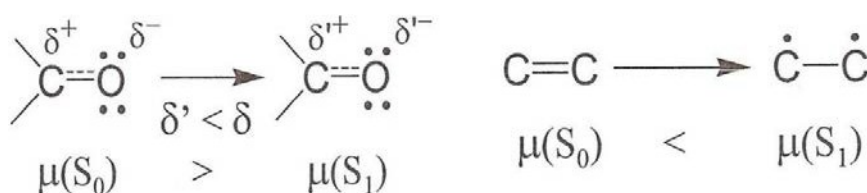
$n-\pi^*$ trantsizioak

* Konposatu karbonilikoetan, $n-\pi^*$ trantsizioa pairatzen duen elektroia oxigenoaren n orbital atomiko ez-lotzaile batetik molekula osoko π^* orbital molekular batera pasatzen da. Hori dela eta, elektroia oinarriko egoeran atomo batena izatetik egoera kitzikatuan bi atomoen artean kokatzera igaro da. Oxigenoaren karga-dentsitatea murriztu egiten da, eta, ondorioz, trantsizioan molekularren momentu dipolarra jaitsi egiten da ($\mu(S_0)=n > \mu(S_1)=\pi^*$).

- * Trantsizio debekatua da; emateko probabilitate txikia da. Hala, ϵ , absortzio-koefiziente molarraren balioa baxua da ($\epsilon \approx 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Bandak ikusgarriak izateko, disoluzio kontzentratuak prestatu behar dira.
- * Xurgapen-bandek ez dute bibrazio-egiturarik, zabalak eta forma gabekoak dira.
- * Disolbatzaile polarrek ere xurgapen-banda energia altuagotan lerrokatzen dute (begira 3. puntua).
- * Ordezkatzaile elektro-emaileek lerrokatze hipsokromikoa (uhin-luzera baxuagoa) eragiten dute (begira 4. puntua).

π - π^* trantsizioak

- * Trantsizioan, elektroia π orbital molekular lotzaile batetik, non bi atomoren artean elektroidentitate simetrikoa baita, π^* orbital antilotzaile batera, zeinak bi atomoen artean nodoplanoa baitu, igarotzen da. Hori dela eta, egoera kitzikatuaren momentu dipolarra oinarriko egoerarena baino altuagoa da ($\mu(S_0) = \pi < \mu(S_1) = \pi^*$).
- * Trantsizio baimendua da, emateko probabilitate handikoa, eta, ondorioz, ϵ absortzio-koefiziente molarraren balioa altua da ($\epsilon \approx 10^4$ - $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).
- * Xurgapen-bandak bibrazio-egitura erakusten du.



n - π^* eta π - π^* trantsizioetan elektroien distribuzioaren eta momentu dipolarraren aldaketa

- * Sistema aromatikoa hedatzen bada, banda uhin-luzera altuagora lerrokatzen da (lerrokatze batokromikoa). \uparrow
- * Disolbatzailearen momentu dipolarra eragin bera du; hau da, polarragoa izatean, espektroa gorriantz mugitzen da (3. puntua).
- * Ordezkatzaile elektro-emaileek lerrokatze batokromikoa eragiten dute (4. puntua).

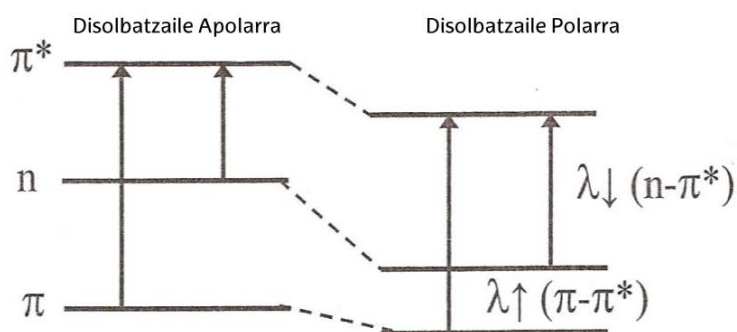
3. Disolbatzailearen eragina

Disolbatzailearen bi eragin aztertuko dira: polaritatea (eragin orokorra) eta hidrogeno-loturak (eragin espezifikoak).

Disolbatzailearen polaritatea

Aurreko atalean azaldu dira $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ trantsizioetan parte hartzen duten egoeren momentu dipolarrak, eta ordena hau dela ondorioztatu da: $\mu(n) > \mu(\pi^*) > \mu(\pi)$.

Disolbatzaile polarrek hiru egoera horiek egonkortzen dituzte, baina egonkortasunaren hedapena desberdina da; hain zuzen, egoeraren momentu dipolarrekin handitu egiten da. Hori dela eta, disolbatzaile polarretan $n-\pi^*$ trantsizioaren energia altuagoa da, eta espektroa uhin-luzera baxuagorantz lerrokatzen da. Berriz, $\pi-\pi^*$ trantsizioan eragina kontrakoak da, eta espektroa gune gorriarantz mugitzen da.



Disolbatzaileak eragindako egoera elektronikoen egonkortasuna

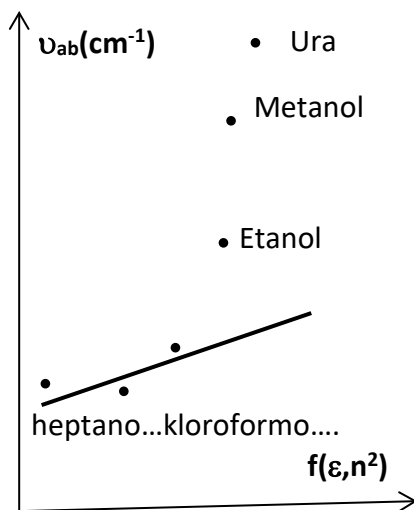
Disolbatzailearen polaritatearen eragina kuantifikatzeko, Lippert-en parametroa erabiltzen da:

$$f(\epsilon_r, n^2) = f(\epsilon_r) - f(n^2) = \frac{\epsilon_r - 1}{2\epsilon_r + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1}$$

non: ϵ_r disolbatzailearen konstante dielektrikoa eta n disolbatzailearen errefrakzio-indizea baitira.

Laginaren xurgapen-bandaren maximoa (cm^{-1} -ean) disolbatzailearen Lipperten parametroaren aurrean irudikatzean, lerro zuzen bat lortzen da. Praktika honetan erabiliko diren disolbatzaileak dira, polaritate hazkorraren arabera ordenaturik, n -heptanoa, kloroformoa, azetonitriloa, etanola, metanola eta ura.

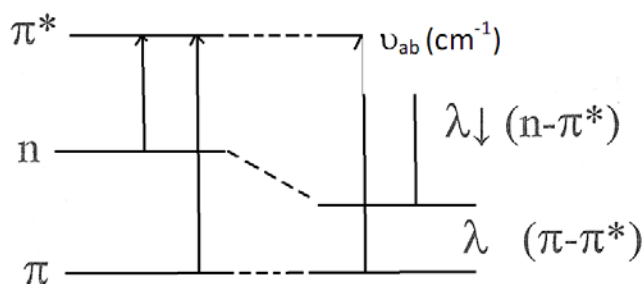
Irudian ikusten denez, lehenengo hiru disolbatzaileek linealtasuna betetzen dute, baina etanola, metanola eta ura desbideratu egiten dira joera orokorretik. Disolbatzaile horiek protikoak dira, eta n-elektroiekin hidrogeno-loturak hedatu daitezke beste eragin bat sortuz.



Disolbatzailearen polartasunaren eragina xurgapen-bandaren kokapenean

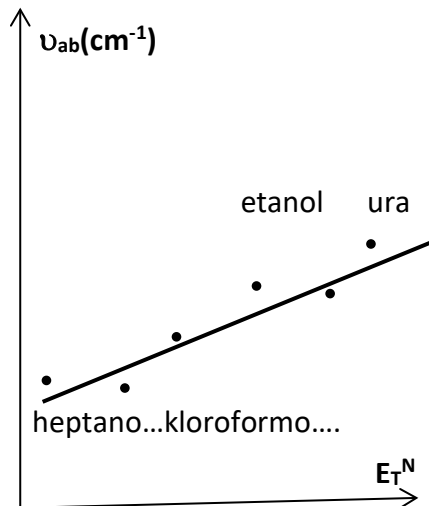
Hidrogeno-loturak

Disolbatzaile protikoaren eta laginaren n elektroien artean sor daitekeen hidrogeno-loturak n egoera egonkortzen du, bere energia murriztuz. Dena den, hidrogeno-lotura ez da sortzen egoera kitzikatuan elektroia π^* orbitalean dagoelako; ondorioz, π^* orbitalaren energia ez da aldatzen disolbatzaile protikoetan. Izan ere, disoluzio azidoetan $n-\pi^*$ trantsizioa desagertu egiten da.



Disolbatzaile protikoak eragindako egoera elektronikoen egonkortasuna

Ondorioz, disolbatzaile protikoetan esperimentalki neurtzen den espektroen lerrokatzea handiagoa da disolbatzaile ez-protikoetan baino, eta kuantifikatzeko, Lipperten parametroaren ordez, Reichart parametroa, E_T^N , erabiltzen da, zeinetan polaritateaz gain hidrogeno-loturak hedatzeko ahalmena ere kuantifikatzen baita.



Disolbatzailearen polartasunaren eta hidrogeno-loturaren eragina xurgapen-bandaren kokapenean

4. Ordezkatzailearen eragina

Ordezkoa aldatzean, xurgapen-bandaren kokapena aldatu egiten da, eta ordezkoaren arabera da lerrakuntza. Ordezkoaren hiru ezaugarri aztertuko dira: indukzio-, erresonantzia- eta hiperkonjugazio-eragina.

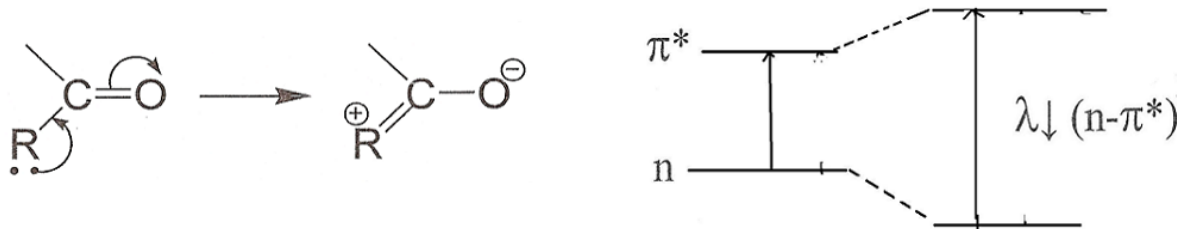
Indukzio-eragina

Eragin inductiboak n orbitalaren eta π^* orbitalaren energia aldatzen ditu, baina egonkortasun-hedapena oso antzekoa da bi egoera elektronikoetan. Beraz, eragina ez da islatzen $n-\pi^*$ trantsizioaren kokapenean. $\pi-\pi^*$ trantsizioan, berriz, alkilo ordezkoarekin energia baxuagotan agertzen da xurgapen-bandaren maximoa.

Erresonantzia-eragina

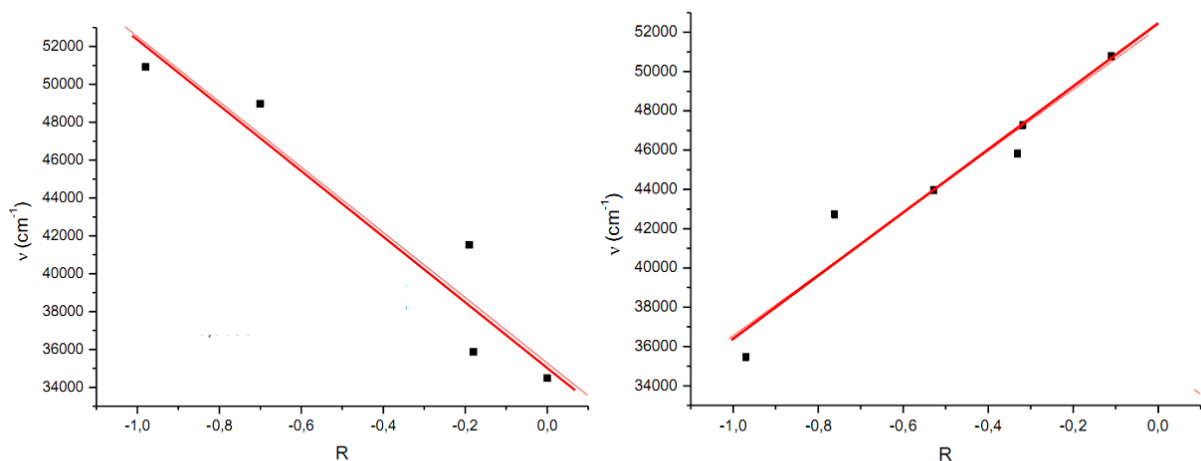
Ordezkoak n elektroio bakartiak baditu, elektroio horiek $C=O$ taldearekin erresonantzian sartzen dira, eta, ondorioz, hipsokromikoki lerrokatzen da $n-\pi^*$ trantsizioaren xurgapen-banda.

C=O taldeari edo $\pi-\pi^*$ trantsizioa duen sistema bati lotuta dagoen ordezkoa aromatikoa bada, sistema osoaren deslokalizazioa handitu egiten da, eta xurgapen-bandaren uhin-luzera handiagoa da.



Ordezkoaren erresonantzia-eragina $n-\pi^*$ trantsizio elektronikoa

Bi parametro horiek trantsizio-energiaren gainean kuantifikatzeko, Hammett parametroak erabiltzen dira. Parametro horiek ordezkoren ahalmen inductiboa (F), erresonantziakoa (R) eta bien batura (σ_p) neurtzen dute.



$n \rightarrow \pi^*$ eta $\pi \rightarrow \pi^*$ trantsizioen xurgapen-maximoaren aldaketa ordezkoren erresonantzia-eraginarekin

Hiperkonjugazio-eragina

Ordezkoa alkiloa bada, C-H loturaren σ elektroiek erresonantzia sartzten dira C=O loturaren elektroiekin, eta, aurreko atalean azaldu den bezala, espektroa uhin-luzera baxuagoetan

agertzen da. Alkiloaren eragina baxuagoa da katearen luzera handitu ahala eta adarkadura-gradua igotzean.

PROZEDURA ESPERIMENTALA

Materiala:

2 kuartzozko upelatxo

Pasteur pipetak

paper optikoa

Produktuak:

UV1: Puruak:

azetona
dioxanoa
azetonitriloa
metanola

n-heptanoa
kloroformoa
etanola
ura

UV2: Puruak:

n-heptanoa
azetonitriloa
azetona
azetaldehidoa

azido azetiko
etilo azetatoa
azetilo kloruroa
N,N'-dimetilazetamida

Disolbaturik:

n-heptanoan
azetonitriloan

azetofenona
azetofenona

$\approx 10^{-2}$ M eta $\approx 10^{-5}$ M
 $\approx 10^{-2}$ M eta $\approx 10^{-5}$ M

UV3: Puruak:

n-heptanoa

Disolbaturik:

n-heptanoan

bentzenoa
toluenoa
p-xilenoa
durenoa
klorobentzenoa
N,N'-dimetilanilina
anilina
anisola

$3 \cdot 10^{-3}$ M
 $3 \cdot 10^{-3}$ M
 $3 \cdot 10^{-3}$ M
 $3 \cdot 10^{-3}$ M
 $3 \cdot 10^{-3}$ M
 $3 \cdot 10^{-4}$ M
 $3 \cdot 10^{-4}$ M
 $6 \cdot 10^{-4}$ M

Instrumentala:

- Shimadzu UV-1650 izpi bikoitzeko espektrofotometroa.

Zehaztasun esperimentalak:

- Laginak likidoak direnez, 1 cm-ko bide optikoa duten upelatxo arruntenak erabiltzen dira. UV gunean kuartzozko upelatxoekin lan egiten da; QS siglak (**Quartz Silica**) eta lerro urdin bat eraman ohi dituzte. Bi upelatxo behar dira, bata laginarentzat eta bestea erreferentziarentzat.
- Aparatua izpi bikoitzekoa den arren –lagina eta erreferentzia batera konparatzen ditu–, aurretik oinarri-lerroa erregistratzen da, bi izpien desberdintasunak zuzentzeko. Erregistro honetan, lagina eta erreferentzia berdinak izan behar dira. Ondorengo neurketa zein izango den, lagin euskarrietan jartzen dena aldatu egiten da (ezer ez, upelatxo hutsa edo upelatxo disolbatzailez beteta).
- Erabiltzen den disolbatzaileak ezin du langunean erradiazioarik xurgatu. Hain zuzen, disolbatzaileak gehienez $A=1,5$ xurgatu behar du. Absorbantziaren balioa 1,5 duen uhin-luzerari disolbatzailearen **cut-off puntu** edo **ebaki-puntu** deritzo, eta espektroa erregistratzeko muga da, hortik aurrera espektrofotometroak ezin duelako disolbatzailearen xurgapena zuzendu.
- UV praktikan aztertuko den karbonilo taldearen $n-\pi^*$ trantsizioa debekatua da ($\epsilon < 10^3 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), eta, neurgarria izateko, lagina kontzentratua izan behar da ($c > 10^{-3} \text{ M}$). Disolbatzailez beteta dagoen upelatxo batean tanta bat substantzia puru gehitzen denean, substantzia horren absorbantzia maximoa ≈ 1 da, justu gomendatzen dena. Beraz, laginak **in situ** prestatzen dira. Sistema aromatikoetan $\pi-\pi^*$ trantsizioa baimendua denez, bandak intentsitate handikoak dira, eta disoluzio diluituagoak ($10^{-5} - 10^{-6} \text{ M}$) erabil daitezke. Disoluzio horiek dagoeneko prestatu daude.

Prozedura

UV-1: karbonilo taldearen UV xurgapen-bandaren gaineko disolbatzailearen eragina.

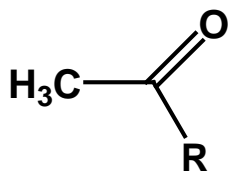
Azetonaren UV espektroa erregistratu egiten da disolbatzaile batzuetan, zeinetan polaritatea eta hidrogeno-lotura eratzeko ahalmena aldatu egiten baitira (n-heptanoa, kloroformoa, azetonitriloa, etanola, metanola eta ura).

Bandaren kokapena disolbatzailearen parametro desberdinekin erlazionatzen da. Adibidez, Lippert parametroak (f), eta Reichardt parametroak (E_T^N), polaritateaz/polarizagarritasunaz gain disolbatzailearen hidrogeno-lotura eratzeko ahalmena ere kuantifikatzen du.

1. Erregistratu oinarri-lerroa, bi lagin euskarrietan ezer jarri gabe.
2. Frogatu n-heptanoak ez duela *cut-off* puntua gure lan-tartean.
3. Oinarri-lerroa n-heptanoarekin egin ondoren, prestatu *in situ* azetonazko disoluzio bat n-heptanoan (bota tanta bat disolbatzailez beteriko upelatxoan, eta irabiatu). Erregistratu absortzio-espektroa. Maximoaren absorbantziak 0,5 eta 1 balioen artean izan behar du. Horrela ez bada, lagina diluitu edo kontzentratu.
4. Gorde espektroa eta apuntatu bere maximoa.
5. Egin berdin gainerako disolbatzaileekin ordena honetan: kloroformoa, azetonitriloa, etanola, metanola eta ura.
6. Irudikatu espektro guztiak paper berean.

UV-2: karbonilo taldearen xurgapen-bandaren gaineko ordezkatzzailearen eragina.

Azeto taldearen deribatu batzuen –azetaldehido, azetona, azetamida, azido azetiko, azetilo kloruro– UV espektroa erregistratzen da disolbatzaile berean (n-heptano). Efektu inductibo, erresonante edo hiperkonjugazioa kontuan hartuz azaltzen da ordezkatzzaileak eragindako banda-lerradura. Azetofenona ere neurtzen da. Horrek, karboniloaren n- π^* trantsizioaz gain, badu bentzenoaren π - π^* trantsizioa ere (edo biak akoplatuta). Bi bandak desberdinak dira: n- π^* banda debekatua da, eta kontzentrazio altuan ikusten da; π - π^* banda baimendua da, eta kontzentrazio baxuetan neurtzen da. Banda horien lerrakuntza disolbatzailearen polaritatearekin ere (n-heptanoa eta azetonitriloa) aztertzen da.



R = H: azetaldehido

R=CH₃: azetona

R=OH:azido azetiko

R=NH₂: azetamida

R=Cl: azetilo kloruro

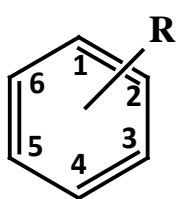
R= : azetofenona

UV-2 praktikan neurtzen diren konposatuak

1. Begiratu n-heptanoaren **cut-off** puntua (UV1 praktika). Ondoren, hartu oinarri-lerroa bi lagin euskarrietan n-heptanoa jarritz.
2. Prestatu **in situ** azetonazko disoluzio bat n-heptanoan (begira UV-1 azpipraktika).
3. Erregistratu azetonaren xurgapen-espektroa. Maximoaren absorbantziak 0,5 eta 1 balioaren artean izan behar du. Horrela ez bada, diluitu lagina edo kontzentratu.
4. Gorde espektroa eta apuntatu bere maximoa.
5. Neurtu gainerako laginen espektroak era berean.
6. Erregistratu eta gorde n-heptanoan azetofenona diluituaren eta kontzentratuaren espektroak.
7. Begiratu azetonitriloaren **cut-off** puntua (UV1 praktika). Ondoren, neurtu azetofenona kontzentratuaren eta diluituaren UV espektroa azetonitriloan **cut-off** punturaino. Gorde espektroak.
8. Irudikatu paper berean: azeto-eratorrien espektroak n-heptanoan (azetofenona kontzentratua n-heptanoan barne), eta, beste paper batean, azetofenona diluituaren eta kontzentratuaren espektroak n-heptanoan eta azetonitriloan.

UV-3: sistema aromatiko baten xurgapen-bandaren gaineko ordezkatzaillearen eragina.

Bentzenoaren eratorri batzuen –bentzeno, tolueno, xileno, dureno, anilina, anisol eta klorobentzeno– UV espektroa neurtzen da disolbatzaile bera erabiliz (iso-oktanoa).



R=H: bentzeno

R=CH₃: tolueno

R₁=R₄=CH₃: p-xileno

R₁=R₂=R₄=R₅=CH₃: dureno

R=NH₂: anilina

R=OCH₃: anisol

R=Cl: klorobentzeno

UV-3 praktikan neurtzen diren konposatuak

Erregistratzen den bandaren bibrazio-egitura analizatuko da, eta bandaren desplazamendua azalduko da efektu inductibo, erresonante eta hiperkonjugazioa erabiliz.

1. Erregistratu oinarri-lerroa bi lagin euskarrietan iso-oktanoa jarritz.
2. Erregistratu bentzenoaren xurgapen-espektroa.

3. Gorde espektroa eta apuntatu bere maximoa.
4. Bentzenoaren bigarren UV-banda lagina diluituz erregistra daiteke.
5. Neurtu gainerako laginen espektroak era berean.
6. Irudikatu paper berean:
 - Bentzeno kontzentratu eta diluituaren espektroak n-heptanoan.
 - Bentzenoaren eta bentzenoaren eratorri alkilikoaren espektroak.
 - Bentzenoaren eta beste deribatuen espektroak.

EMAITZEN ANALISIA ETA EZTABAIDA

Lantaldeen artean emaitzak partekatuko dira. Era horretan, ikasleak $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ trantsizioen ezaugarriak (intentsitatea, posizioa eta bibrazio-egitura) eta haien portaera disolbatzailea edo ordezkatzzailea aldatzean ezagutu egingo ditu.

1. Upelatxoaren bolumena eta tanta batena, hurrenez hurren, 3 cm^3 eta $0,05\text{ cm}^3$ direla jakinda, determinatu azetonaren ($d=0,79\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) batez besteko absortzio-koefizientea, disolbatzaile guztietako absorbantzia balioetatik. Kalkulatu bentzenoaren xurgapen-koefiziente molarra. Zein ondorio atera daiteke $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ trantsizioen probabilitateari buruz?
2. Begiratu disolbatzaileen *cut-off* puntua:
<http://macro.lsu.edu/HowTo/solvents/UV%20Cutoff.htm>
 eta konparatu laborategian lortutako balioekin. Zergatik dauka kloroformoak *cut-off* puntu hain altua?
3. Aztertu azetonaren UV absortzio-espektroaren lerradura disolbatzailearen funtzioan, azken horren $f(\epsilon_r, n^2)$ eta E_T^N parametroak erabiliz.
4. Eztabaidatu ordezkatzzailearen eragina karbonilo taldearen $n-\pi^*$ trantsizioaren gainean (aldehidoa erreferentziatzat hartuta), eta baita bentzenoaren $\pi-\pi^*$ trantsizioan ere.
5. Irudikatu karboniloaren zein bentzenoaren eratorrien xurgapen maximoa (cm^{-1} -ean) ordezeko bakoitzaren Hammett parametroaren aurrean. Eztabaidatu lortutako emaitzak.
6. Komentatu azetofenona kontzentratuaren eta diluituaren absortzio-bandaren kokapena eta intentsitatea, $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ izaera kontuan hartuz. Azaldu disolbatzaileak eragindako lerrakuntza absortzio-banda horietan.

MOLEKULEN ARTEKO KARGA-TRANSFERENTZIAKO KONPLEXUEN FORMAZIOA: ELEKTROI-EMAILEAREN ERAGINA

HELBURUAK

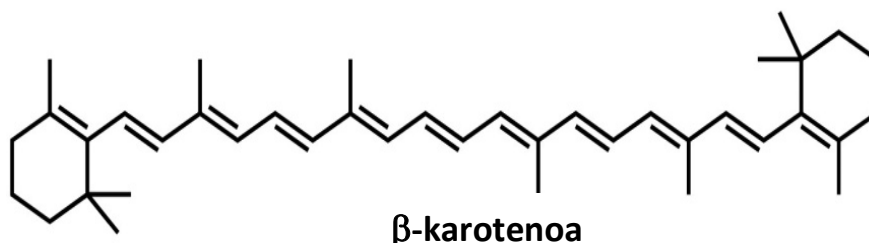
- Esperimentala: izpi bakarreko VIS edo UV espektrofotometroaren bidez, ikusgai-eremuan xurgapen-espektrora erregistratzeko trebetasuna lortzea.
- Kimikoa: karga-transferentziako konplexuaren formazioa espektroskopikoki determinatzea, eta formazio-konstantea kalkulatzeko; elektro-emailearen ionizazio-potentzialaren eragina aztertuko da, bai absortzio-bandaren kokapenean bai beraren formazio-konstantean.

OINARRI TEORIKOA

1. Karga-transferentziako konplexuaren ezaugarriak

UV praktikan ikusi dugu sistema organikoek bi trantsizio elektronikoen erakutsi ditzaketela: $n-\pi^*$ eta $\pi-\pi^*$ trantsizioak. Horiek UV gunean eman ohi dira, eta laginek ez dute kolorerik. Frogapenetan sistema aromatikoaren konjugazioa hedatzean (hiru zianinekin), agerian geratu da xurgapen-banda uhin-luzera handiagoz lerratzen dela. Lerrakuntza hori ikusgai gunea hel daiteke, eta, ondorioz, lagina koloredun bihurtzen da. Oro har, bi motatakoa izan daiteke koloratzaile organiko horien sistema aromatikoak:

- Lineala eta oso luzea; adibidez, karotenoa, askotariko barazkien eta fruituen kolorearen eragile dena.



- 2-4 eraztunetako sistema ziklikoa elektro-emaileak dituzten ordekoekin, elektro horiek sistema aromatikoarekin erresonantzia sartzeko (adibidez, frogapenetan ikusitako errodamina 6G).

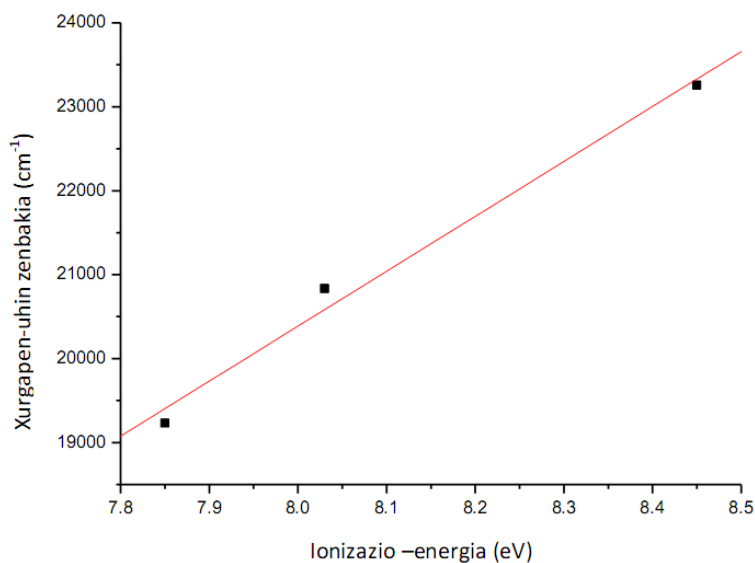
Sistema organiko koloredunak karga-transferentziako konplexuak ere izaten dira. VIS gunean xurgatzen ez duten bi osagai nahasten dira, eta, bata besteari karga transferitzeko gai bada, koloredun konplexua era daiteke. Karga-transferentziazko konplexua lortzeko, baldintza bana bete behar dute bi osagaiak: bata ionizazio potentzial (IP) baxua duen elektro-emailea (E) izan behar da, eta bestea afinitate elektroniko (AE) altuko elektro-hartzailea (H). Sistema aromatikoak egokiak dira konplexu horiek lortzeko, elektroiak deslokalizatuta dituztelako. Sistema aromatiko batek, elektro-emailea izateko, ordeko elektro-emaileak izan behar ditu, adibidez alkiloa (eragin inductiboagatik) edo aminoak (elektroi bakartien erresonantziagatik). Beste aldetik, sistema aromatiko bat elektro-hartzaile bihurtzen da ordekatzaileak elektronegatiboak badira (halogenoak).

Zenbat eta emailearen IPa eta hartzailearen AEa handiagoak izan, erraztasun handiagoarekin lortuko da konplexua. Horren ondorioz, formazio-konstantea altuagoa izango da, eta konplexuaren xurgapen-banda uhin-luzera altuetarantz (energia baxuagorantz) lerrokatuko da.

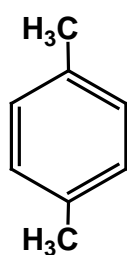
Karga-transferentziazko konplexuak ez dira agertzen sistema aromatikoetan bakarrik. Adibidez, trantsizio-metalen konplexu askok VIS-gunean xurgatzen dute, metalen eta estekatzailen arteko elektro-transferentziagatik. Prozesua molekula barnekoa da, bai emailea eta bai hartzailea molekula berekoak direlako. Sistema organikoetan ere molekula barneko karga-transferentzia aurki daiteke, E eta H osagaiak molekula berean agertzen direnean; baina osagaiak kate malgu batez lotu behar dira E-H kontaktua errazteko.

Egoera elektroniko kitzikatuetan errazago gertatzen da karga-transferentzia, sistema kimiko guztiak, kitzikatzerakoan, elektro-hartzaile edo -emaile hobe bihurtzen direlako. Horretaz baliatzen gara elektro-emaile eta -hartzaile baten arteko korrante elektrikoa (elektroien mugimendua) lortzeko. Adibidez, eguzki-zeluletan, osagai batek eguzki-argia xurgatzen du, kitzikatzen da, eta korrante elektrikoa hasten da.

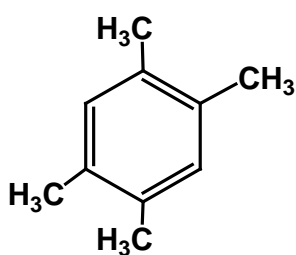
Konplexua ez da erabateko karga-transferentziaren bidez sortutakoa, hau da, ez da elektroia transferitzen denean sortzen diren E^+ eta H^- ioien arteko erakarpen ionikoa. Haien artean interakzio ez-ionikoa ere sortzen da (oro har, sistema aromatiko hodei elektroniko arteko interakzioa), zeinak konplexua egonkortzen baitu. Izan ere, $E^{\delta+}-H^{\delta-}$ konplexuak izaera ez-ionikoa ($\delta \approx 0$) du oinarriko egoeran, baina ionikoa nagusitzen da egoera kitzikatuan ($\delta \approx 1$). Hori dela eta, konplexu horiek disolbatzailearen polartasuna aldatzen dutenean, lerrakuntza espektral garrantzitsuak behatzen dira. Dena den, arlo hori ez dugu praktikan aztertuko.



Karga-konplexuentzat xurgapen-maximoaren uhin-zenbakiaren aldaketa emaillearen ionizazio-energiaren eraginez

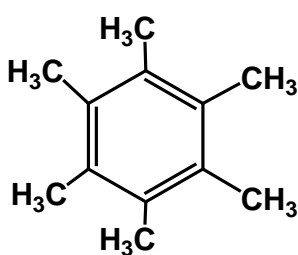


p-xileno

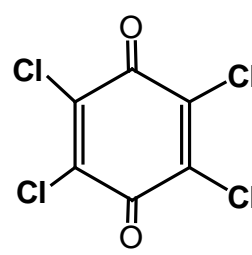


dureno

Emailleak



hexametilbentzeno



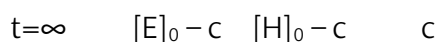
Hartzailea
p-kloranilo

3. Konplexuaren formazio-konstantearen determinazioa

VIS espektroskopiarekin, konplexuaren formazio-konstantea determina daiteke. Konplexua orekan dago jatorrizko espezieekin, eta formazio-konstantea oreka-konstantea da:



$$K = \frac{[\text{Kon}]}{[E] \cdot [H]}$$



$$K = \frac{c}{([E]_0 - c) \cdot ([H]_0 - c)}$$

non: $[E]_0$ emaillearen hasierako kontzentrazioa

$[H]_0$ hartzailearen hasierako kontzentrazioa

c: orekan lortzen den konplexuaren kontzentrazioa

K: konplexuaren formazio-konstantea

Kalkuluak garatzeko, hurbilketa batzuk egin behar ditugu. Demagun oreka desberdinak egiten ditugula, non hartzailearen hasierako kontzentrazioa berdina baita, eta emaillearena aldatzen baitugu, baina kasu guztietan emaillearen kontzentrazioa soberan dagoela. Horrela, beti hasierakoa da emaillearen kontzentrazioa.

· Lehenengo hurbilketa: $[E]_0 \gg [H]_0$ $[E] \approx [E]_0$

Hurbilketa hau kontuan hartuz, aldatu egiten da oreka-konstantearen adierazpena:

$$K = \frac{c}{[E]_0 \cdot ([H]_0 - c)}$$

Eta adierazpena berrantolatuz:

$$\frac{1}{K \cdot [E]_0} = \frac{[H]_0}{c} - 1 \quad \frac{[H]_0}{c} = \frac{1}{K \cdot [E]_0} + 1 \quad (1)$$

Espezieen kontzentrazioa Beer-Lambert legea erabiliz determina daiteke. Uhin-luzera zehatz batean:

A = ε·c·l non: A: espeziearen absorbantzia, neurtzen dena

ε: absorbitate molarra, espeziearen ezaugarria

l: laginean zehar argiak egiten duen bidea (normalean 1 cm)

Gure sisteman, emailleak, hartzaileak zein konplexuak xurgatzen badute, neurtzen den absorbantzia hiru espezieena izango da:

$$A = A_E + A_H + A_{Kon} \quad A = \epsilon_E \cdot [E] \cdot l + \epsilon_H \cdot [H] \cdot l + \epsilon_{Kon} \cdot [Kon] \cdot l$$

(azpiindizea espezieei egokitzen zaie).

Praktika honetan aztertuko diren hiru emailleak kolorgeak dira, ez dute ikusgai-argia xurgatzen, eta aurreko adierazpena laburtzen da:

· Bigarren hurbilketa: $A_E \approx 0$ $A = \epsilon_H \cdot [H] \cdot l + \epsilon_{Kon} \cdot [Kon] \cdot l$

Orekako kontzentrazioak ordezkatzuz eta berrantolatuz:

$$A = \varepsilon_H \cdot ([H]_0 - c) \cdot l + \varepsilon_{Kon} \cdot c \cdot l \quad A = \varepsilon_H \cdot [H]_0 \cdot l + (\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H) \cdot c \cdot l$$

Esperimentalki neurtzen dena, era honetan adieraz daiteke:

$$A = \varepsilon_{esp} \cdot c_{tot} \cdot l = \varepsilon_{esp} \cdot ([H] + c) \cdot l = \varepsilon_{esp} \cdot [H]_0 \cdot l$$

Absorbantziarako bi adierazpenak berdinduz:

$$\varepsilon_{esp} \cdot [H]_0 \cdot l = \varepsilon_H \cdot [H]_0 \cdot l + (\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H) \cdot c \cdot l \quad \text{eta berrantolatzen bada:}$$

$$(\varepsilon_{esp} - \varepsilon_H) \cdot [H]_0 = (\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H) \cdot c$$

$$\frac{[H]_0}{c} = \frac{(\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H)}{(\varepsilon_{esp} - \varepsilon_H)}$$

Azken adierazpen hori lortu dugun (1) ekuazioan ordezkatzeko badugu:

$$\frac{(\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H)}{(\varepsilon_{esp} - \varepsilon_H)} = \frac{1}{K \cdot [E]_0} + 1 \quad (2)$$

Konplexua eratu baino lehen, hau da, hartzailea bakarrik dagoenean, esperimentalki neurtzen den absorbantzia, A_0 , eta konplexua eratu denean, A , Beer-Lambert ekuazioaren bidez determina daitezke:

$$A_0 = \varepsilon_H \cdot [H]_0 \cdot l \quad \text{eta} \quad A = \varepsilon_{esp} \cdot [H]_0 \cdot l$$

$$A - A_0 = (\varepsilon_{esp} - \varepsilon_H) \cdot [H]_0 \cdot l \quad \text{eta orduan}$$

$$\varepsilon_{esp} - \varepsilon_H = \frac{A - A_0}{[H]_0 \cdot l}$$

Adierazpen hori (2) ekuazioan ordezkatzeko bada:

$$\frac{(\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H)}{\frac{A - A_0}{[H]_0 \cdot l}} = \frac{1}{K \cdot [E]_0} + 1$$

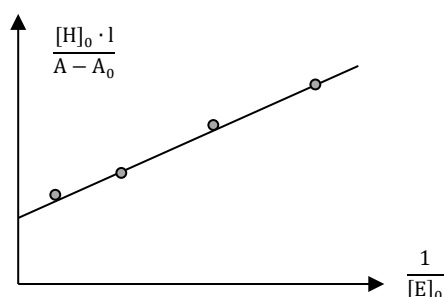
Beste era batean adieraziz:

$$\boxed{\frac{[H]_0 \cdot l}{A - A_0} = \frac{1}{K \cdot (\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H)} \cdot \frac{1}{[E]_0} + \frac{1}{(\varepsilon_{Kon} - \varepsilon_H)}} \quad (3)$$

Laburbilduz, hau da konplexuaren formazio-konstantea determinatzeko jarraitu behar den prozedura: disoluzio batzuk prestatzen dira non hartzailearen kontzentrazioa berdina baita, $[H]_0$, eta emaitza aldatzen baita, baina beti soberan (lehenengo hurbilketa betetzeko); disoluzio horien absorbantzia uhin-luzera zehatz batean neurtzen dugu, A , eta hartzailea bakarrik duen disoluzioarena ere bai, A_0 . (3) adierazpena erabiliz, irudikatzen badugu,

$$\frac{[H]_0 \cdot l}{A - A_0} \text{ versus } \frac{1}{[E]_0}$$

lerro bat lortzen da. Lerroaren jatorritik konplexuaren absorbitate molarra eta maldatik formazio-konstantea determina daitezke.



Jatorria: $\frac{1}{(\epsilon_{Kon} - \epsilon_H)}$

Malda: $\frac{1}{K \cdot (\epsilon_{Kon} - \epsilon_H)}$

Aurreko irudikapena praktika honetako hiru konplexuetarako erabil daiteke, egin ditugun bi hurbilketak betetzen direlako. Dena den, hirugarren hurbilketa egin dezakegu hartzailea durenua edo hexametilbentzenoa denean: bi hartzaileek ez dute xurgatzen konplexuaren uhin-luzeran.

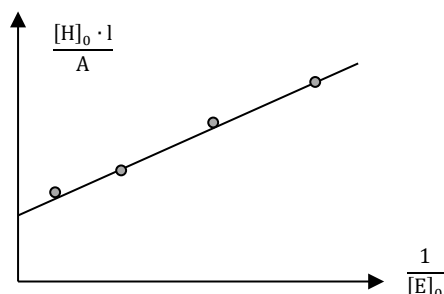
· Hirugarren hurbilketa: $A_H = A_0 \approx 0$ eta $\epsilon_H \approx 0$ konplexuaren uhin-luzeran.

Azken adierazpena era honetan geratzen da:

$$\boxed{\frac{[H]_0 \cdot l}{A} = \frac{1}{K \cdot \epsilon_{Kon}} \cdot \frac{1}{[E]_0} + \frac{1}{\epsilon_{Kon}}} \quad (4)$$

Hau da durenua eta hexametilbentzenoaren konplexuen formazio-konstantea determinatzeko erabiliko den irudia:

$$\frac{[H]_0 \cdot l}{A} \text{ versus } \frac{1}{[E]_0}$$



Malda: $\frac{1}{K \cdot \epsilon_{Kon}}$

Jatorria: $\frac{1}{\epsilon_{Kon}}$

Hiru konplexuen formazio-konstantea eta absorbitate molarra determina ditzakegu, eta hiru konplexuak konparatu.

PROZEDURA ESPERIMENTALA

Materiala:

<u>matrazeak</u>	<u>pipeta aforatuak</u>	<u>pipeta graduatuak</u>	<u>beste batzuk</u>
50 cm ³ -koa	5 cm ³ -koa	5 cm ³ -koa	pisa-inbutua
25 cm ³ -koa	2 cm ³ -koa	2 cm ³ -koa	25cm ³ -ko ontzia
9 10 cm ³ -koak		1 cm ³ -koa	Pasteur pipetak
			2 beira optikozko upelatxo
			erloju beira
			2 espatula
			paper optikoa

Produktuak:

- p-xilenoa (1,4-dimetilbentzeno, Mm = 106,17 g·mol⁻¹, d = 0,86 g·cm⁻³)
- durenoa (1,2,4,5, tetrametilbentzeno, Mm = 134,22 g·mol⁻¹)
- hexametilbentzeno (Mm = 162,77 g·mol⁻¹) Mm = 245,88 g·mol⁻¹)
- diklorometanoa

Instrumentala:

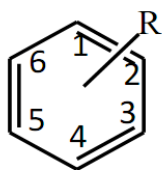
- Shidmazu UV-1240 izpi bakarreko espektrofotometroa.

Zehaztasun esperimentalak:

- Laginak likidoak direnez, 1 cm-ko bide optikoko upelatxoak, arruntenak, erabiliko dira. VIS gunean lan egiteko upelatxoen materialak hiru dira: kuartzoa (oso garestia), beira optikoa (garestia) edo plastikoa (oso merkea eta erabili ostean botatzekoa). Plastikozko upelatxoak erabiltzeko orduan, kontuan hartu behar da disoluzioen disolbatzailea, disolbatzaile organiko batzuk gai direlako plastikoa disolbatzeko. Praktika honetan disolbatzailea diklorometanoa denez, ezin dira plastikozko upelatxoak erabili, eta beirazkoak aukeran ditugu. Azken horiek identifikatzeko OS (*Optical Silica*) edo OG (*Optical Glass*) hitzak eta banda berdea izan ohi dituzte. Beirazko upelatxoak kontu handiz maneiatu behar dira, eta garbitzeko paper optikoa erabiliko da.
- Disolbatzailea (CH_2Cl_2) oso lurrunkorra da, irakite-puntua ± 35 °C baita. Gainera, eragin anestesikoa sor dezake, eta, halogenatua izateagatik, ozono-geruzari eraso egiten dio. Beraz, denbora osoan ontzi guztiak (upelatxoak, matrazeak...) itxita egongo dira, eta hondakinak bidoi berezian bilduko dira.
- CH_2Cl_2 -ren lurrunkortasun altuagatik, pipeteatzeko orduan arazoak sor daitezke, presio-aldaketa txikiak (mugimenduak eragindakoak) burbuilak eta parekatzearen galera sor ditzaketelako.
- Disolbatzailea ez da urarekin nahasten; beraz, beirazko materialak guztiz siku egon behar du (lehorgailuan).
- Konplexuaren formazio-konstantea determinatzeko, soberan dagoen osagai baten kontzentrazioarekin konplexuaren bandaren lerradura aztertuko da, beste osagaiaren kontzentrazioa konstante mantentzen den bitartean. Praktika honetan hartzailearen (azpipraktika guztietarako p-kloraniloaren) kontzentrazioa konstante mantentzen da, eta emailearen (azpipraktikaren arabera bentzenoaren alkil-erotorri desberdinak) kontzentrazioa aldatuko da.

Prozedura:

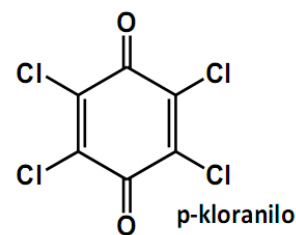
Lehenago eta behin, bi osagai banatuen disoluzioak eta haien arteko nahastura bat prestatuko dira. Konplexua koloreduna denez, begi-bistakoa da bere formazioa: emailea eta hartzailea nahastu bezain laster, kolorea agertzen da. Disoluzio horien VIS espektroak erregistratuko dira. Xurgapen-banda berria agertzea konplexua eratu izanaren frogapen espektroskopikoa izango da. Kloraniloaren kontzentrazio baxua konstante mantenduz, soberan dagoen emailearen kontzentrazioarekin intentsitatez aldatzen da xurgapen-banda berria. Aldaketa hori aztertuz, konplexuaren formazio-konstantea kalkula daiteke.



$R_1=R_4=CH_3$: p-xileno

$R_1=R_2=R_4=R_5=CH_3$: dureno

$R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=CH_3$: hexametilbentzeno



1. Prestatu A disoluzioa:

VIS 1: durenoa 0,25 M den 25 cm³-ko disoluzioa diklorometanoan.

VIS 2: p-xilenoa ~ 0,65 M den 25 cm³-ko disoluzioa diklorometanoan.

VIS 3: hexametilbentzenoa 0,075 M den 25 cm³-ko disoluzioa diklorometanoan.

Kalkulatu kontzentrazio zehatza.

2. Prestatu p-kloraniloa 5·10⁻³ M den 50 cm³-ko beste disoluzio bat diklorometanoan (B disoluzioa). Kalkulatu kontzentrazio zehatza.

3. Prestatu 1-3 disoluzioak 10 cm³-ko matrizeetan (jarri diklorometanoz arrasean).

Disoluzioa	A disoluzioa (cm ³)	B disoluzioa (cm ³)
1	4,5	-
2	-	5
3	4,5	5

4. Erregistratu 1-3 disoluzioen espektroak. Apuntatu maximoak eta gorde espektroak.

5. Kalkulatu konplexuaren gutxi gorabeherako espektroa (3. disoluzioaren espektroa ken 2. disoluzioarena). Apuntatu maximoa.

6. Irudikatu, paper berean, 1-3 laginen eta konplexuaren espektroak.

7. Prestatu 4-9 disoluzioak 10 cm³-ko matrizeetan (diklorometanoz berdinduz).

Disoluzioa	A disoluzioa (cm ³)	B disoluzioa (cm ³)
4	3,5	5
5	2,5	5
6	2,0	5
7	1,5	5

8	1,0	5
9	0,5	5

8. 4. puntua jarraituz, erregistratu 9-4 disoluzioen espektroak eta gorde.
9. Hartu absorbantziaren balioak aurretik kalkulaturako konplexuaren uhin-luzera maximoan.
10. Irudikatu 3-9 espektroak paper berean.
11. Kalkulatu konplexuaren formazio-konstantea eta absortibitate molarra, konplexu bakoitzari dagokion irudikapena (3) edo (4) erabiliz.

EMAITZEN ANALISIA ETA EZTABAIDA

Hiru lantaldeek emaitzak partekatuko dituzte, elektro-emailearen ionizazio-potentzialaren eragina konplexuaren formazio-konstantearen eta xurgapen-bandaren gainean aztertzeko.

1. Egitura molekularra kontuan harturik, esan zein den konplexuaren elektro-emailea eta elektro-hartzailea.
2. Erlaziona ezazu konplexuen absortzio maximoen kokapena eta elektro-emailearen ionizazio potentziala.

Zein izango lirateke toluenoaren, 1,3,5-trimetilbentzenoaren edo pentametilbentzenoaren eta p-kloraniloaren arteko konplexuen absortzio maximoen uhin-luzeren gutxi gorabeherako balioak? Ionizazio-potentzialak lortzeko, kontsultatu webgune hau: <http://www.hnu.com/pdf/ips.pdf>
3. Eztabaidatu konplexuaren formazio-konstanteak determinatzeko egindako hurbilketak. Erlazionatu emailearen ionizazio- potentziala eta formazio-konstantea.
4. Zein ordezkatzaille jar edo alda daiteke p-kloraniloan elektro zaletasuna handitzeko? Zein eragin izango luke konplexuaren formazio-konstantean?
5. Zein izango litzateke disolbatzailearen polaritatearen eragina konplexuaren absortzio-bandan?

KOLORATZAILEEN FLUORESZENTZIA-AHALMENA: MOLEKULA-EGITURAREN ETA INGURUAREN ERAGINA

HELBURUAK

- Esperimentala: espektrofluorimetro baten bidez kitzikapen- eta igorpen-espektroen neurketan trebetasuna lortzea.
- Kimikoa: fluoreszeinaren eratorriak diren koloratzaile batzuen fluoreszentzia-etekin kuantikoa kalkulatzeko eta molekula-egiturarekin eta inguru-eraginekin (pH-a, temperatura, gatzen presentzia) lotzea.

OINARRI TEORIKOA

Fluoreszentzia, UV-Vis absortzioa bezala, egoera elektronikoko desberdinen arteko trantsizioa da, baina egoera kitzikatu batetik oinarriko egoerara.

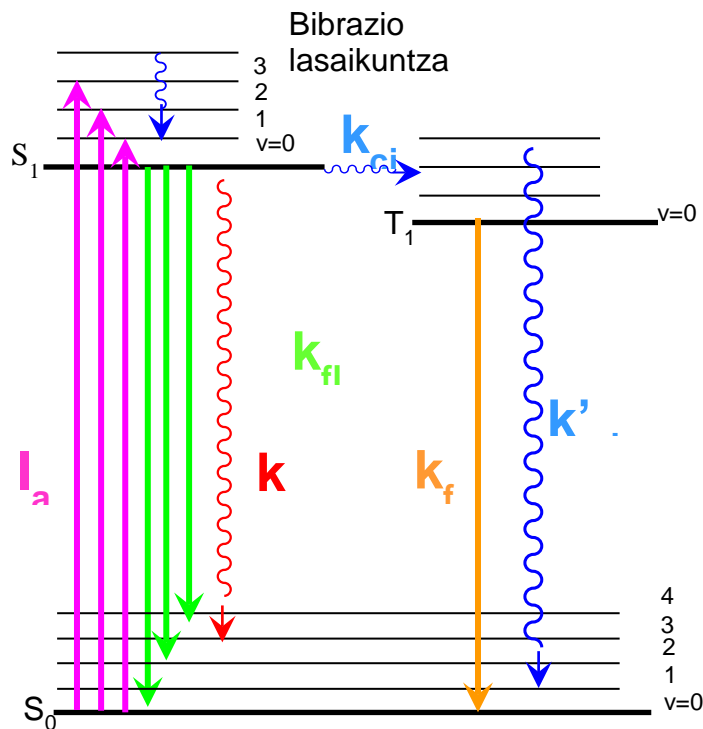
Askotariko aplikazioak dituen propietatea da fluoreszentzia. Haien artean ohikoena da laser sintonizagarrietan inguru aktibo moduan koloratzaile fluoreszenteak erabiltzea. Gaur egun, ioi metalikoen, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Fe^{3+} ... eta pH-aren sentsoeren diseinuan ere erabiltzen da. Sistema batzuen igorpen fluoreszentea asko aldatzen da inguruko pH-arekin, eta, sistema horien fluoreszentzia aztertuz, inguru horren pH-aren balioa determina daiteke (adibidez, katalizatzaileen gainazaleko puntu azidoa).

Substantzia jakin baten banda fluoreszentearen posizioa aldatu egiten da inguruarekin, eta, horregatik, zunda-molekula bezala erabil daiteke. Propietate hori erabiltzen da zelula biologikoen barruko polaritatea determinatzeko edo minbizia detektatzeko (fluoreszentzia ikusgai izan daiteke zunda-molekula zelula gaiztoetan edo osasuntsuetan sartzen bada).

1. Desaktibazio-prozesuak

Sistema aromatikoa arrunten oinarriko egoera singletea da, S_0 , eta inguru-tenperaturan bibrazio-egoera baxuenean aurkitu ohi da molekula, $S_0(v=0)$. Molekulak fotoi bat xurgatuz gero, egoera kitzikaturen batera pasatuko da, $S_1(v)$, $S_2(v)$... Prozesuaren probabilitatea xurgatutako argiaren intentsitatearen bidez, I_{ab} , kuantifika daiteke.

Xurgatzen den fotoiaren energiaren (uhin-luzeraren, λ_{ab} , edo frekuentziaren, ν_{ab}) arabera, lortzen den egoera kitzikatua desberdina da. Edozein kasutan ere, eta xurgapenaren jarraian, sistemak soberan duen bibrazio-energia galtzen du **bibrazio-lasaikuntza** deritzon prozesuaren bidez; fenomeno hori oso azkarra da (pikosegundokoa), eta molekula lehenengo egoera kitzikatuaren bibrazio-maila baxuenera, $S_1(\nu=0)$, heltzen da. Egoera horretatik molekula desaktibatu egiten da lehian sartzen diren prozesu batzuen bidez. Prozesu horiek guztiak Jablonskiren diagraman adierazten dira:



Jablonskiren diagrama: oinarritzko egoera – egoera kitzikatuen arteko molekula bakarreko prozesuak

- Fotoi bat igorri desaktiba daiteke molekula. Prozesu erradiatzaile honi **fluoreszentzia** deritzen. Igortzen duen fotoiaren uhin-luzeraren edo frekuentziaren arabera, amaierako egoera oinarritzko egoera elektronikoaren bibrazio-egoera bat, $S_0(\nu)$, izango da. Molekula bakarreko prozesu horren abiadura-konstantea k_{fi} moduan adierazten da, fluoreszentiaren probabilitatea neurtzen du, eta balio altukoa da sistema aromatikotetan.
- Prozesu ez-erradiatzaile baten bidez ere desaktiba daiteke molekula. Molekula oinarritzko egoerara itzultzen bada, egoeraren anizkoiztasuna aldatzen ez denez, prozesuari **barnealdaketa** deritzen, konstante zinetikoa k_{ic} delarik. Desaktibazio hori molekularen malgutasunarekin erlazionatuta dago.

- Beste prozesu ez-erradiatzaile batean, elektroiairen spina alda daiteke, egoera triplete batera, T_1 , pasatuz sistema; anizkoiztasuna aldatzen denez, prozesuari *sistemen arteko gurutzaketa* deritzo, abiadura-konstantea k_{cis} izanda. Desaktibazio hori, printzipioz, ez da probabilitate handiko prozesua, simetriagatik debekatuta dagoelako; baina spin-orbita akoplamendua dela eta, molekulak atomo paramagnetikoak (oxigenoak) edo atomo astunak (halogenoak) baditu, handitu egiten da gertatzeko probabilitatea.
- Tripletetik ondorengo desaktibazioa erradiatzailea izan daiteke, argia igorritik. Trantsizio horri fosforeszentzia deritzo. Trantsizioa debekatua da, eta zailagoa da gertatzeko; ondorioz, k_{fo} balioa baxua da, eta denbora luzeagoan sortzen da. Dena den, tripletearen desaktibazioa ez-erradiatzailea ere izan daiteke, sistemen arteko gurutzaketa baten bidez, k_{cis}' .

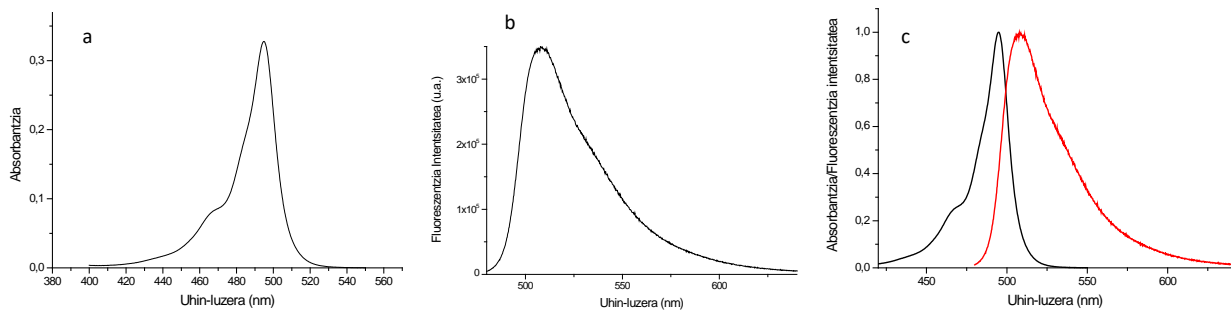
Banakako prozesuen probabilitatea kuantifikatzeko, bakoitzaren abiadura-konstantea ezagutu behar da, eta bi fluoreszentzia-parametro esperimentalki neurtuz lor daiteke hori. Parametro horiek dira fluoreszentziaren etekin kuantikoa eta bizitza-denbora (3. eta 4. puntuak).

2. Xurgapen-, igorpen- eta kitzikapen-espektroak

Substantzia baten xurgapen-, igorpen- eta kitzikapen-espektroak neur daitezke. Egoera tripletera pasatzen bada, fosforeszentzia-espektroa ere erregistra daiteke. Baina sistema horiek praktika hauetatik at geratzen dira, behar den instrumentalik ez dagoelako. Espektro horiek desberdinak diren arren, elkarren artean erlazionaturik daude, eta antzekotasunak ere ikus daitezke:

Xurgapen-espektroa. Espektrofotometro batean neurtzen da, eta laginak xurgatzen duen argiaren intentsitatea vs argiaren uhin-luzerako irudia da: I_{ab} vs λ_{ab} . Espektrofotometroaren detektagailura heltzen den seinalea hainbat faktoreren menpe dago: lanpararen espektroa, detektagailuaren ahalmena, aparatuen konstanteak eta abar. Eragin horiek zuzentzeko, lagin baten espektroa neurtu aurretik laginaren disolbatzailearekin zuria edo zeroa egiten da. Horri *oinarri-lerro* deritzo. Horrela, ondoren neurtzen den espektroan agertzen den seinalea laginarena bakarrik da.

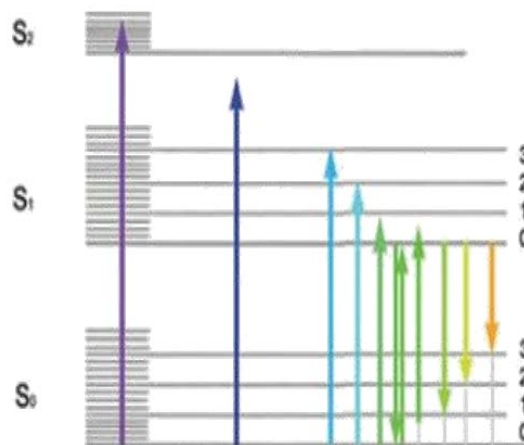
Igorpen-espektroa. Espektrofluorimetro batean neurtzen da. Laginak, absorbatzen duen uhin-luzera bateko argiaz kitzikatu ondoren, λ_{exc} , argia igor dezake; igortzen den fotoi kopurua (hau da, fluoreszentzia-intentsitatea, I_f) fotoiaren uhin-luzerarekiko, λ_f , irudikatzean, fluoreszentzia- edo igorpen-espektroa lortzen da.



Lagin baten a: xurgapen-espektroa, b: igorpen-espektroa eta c: biak batera

Kitzikapen-espektroa. Espektrofluorimetroan ere neurtzen da; laginak igortzen duen uhin-luzera zehatz bat finkatzen da, eta espektroa sortzen da igorritako intentsitatea, I_{fl} , lagina kitzikatzeko erabiltzen den argiaren uhin-luzerarekiko, λ_{exc} , irudikatzean. Igorpen-intentsitatea aldatu egiten da kitzikapen uhin-luzerarekin, laginak gehiago edo gutxiago xurgatzen duelako: zenbat eta absorbantzia altuagoa izan, molekula gehiago igarotzen dira egoera kitzikatura, eta hortik gehiago igortzen dira. Beraz, kitzikapen- eta xurgapen-espektroak ia-ia berdinak dira. Ez dira guztiz berdinak, kitzikapen-espektroa ez baitago zuzenduta, xurgapen-espektroa bezala, eta bertan aparatuaren seinale guztiak islatzen dira.

Kitzikapena gertatzen da oinarriko egoeraren bibrazio-egoera baxuenetik egoera kitzikatuaren bibrazio-maila desberdinetara: $S_0(v=0) \rightarrow S_1(v)$. Ondorioz, kitzikapen- (edo xurgapen-) espektroak egoera kitzikatuaren bibrazio-egitura erakusten du, eta zenbat

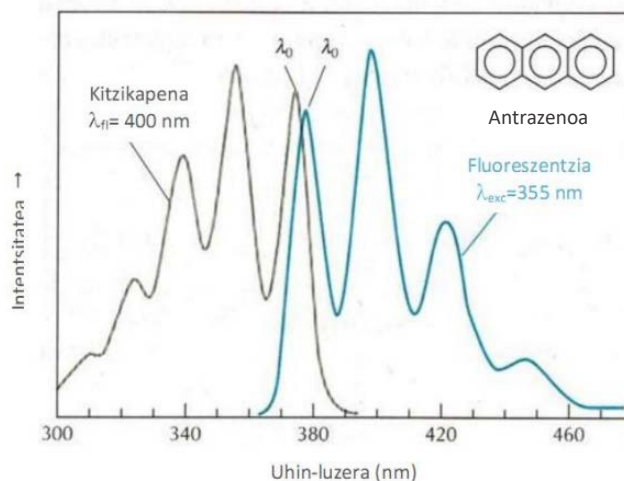


Oinarriko egoera eta egoera kitzikatuaren bibrazio-mailak eta trantsizioak.

eta bibrazio-maila altuagoa izan, txikiagoa da trantsizioaren uhin-luzera. Igorpena, berriz, egoera elektronikoko kitzikatuaren oinarriko bibrazio-mailatik oinarriko egoera elektronikokoaren bibrazio-maila desberdinetara gertatzen da: $S_1(v=0) \rightarrow S_0(v)$. Hori dela eta,

oinarriko egoerarena da igorpen-espektroan islatzen den bibrazio-egitura. Hemen, zenbat eta bibrazio-maila altuagoa izan, handiagoa da uhin-luzera, jauzi energetikoa txikiagoa delako. Hori dela eta, igorpen-espektroa xurgapen- (edo kitzikapen-)espektroa baino uhin-luzera altuagotan agertzen da.

Gainera, oinarriko egoeraren eta egoera kitzikatuaren bibrazio-egiturak oso antzekoak izan ohi direnez, xurgapen- eta igorpen-espektroak bata bestearen ispilu-irudiak dira, lehenengoa uhin-luzera txikiagorantz eta bigarrena uhin-luzera altuagorantz. Bibrazio-maila baxuenen arteko trantsizioak, hau da $S_0(v=0) \rightarrow S_1(v=0)$ eta $S_1(v=0) \rightarrow S_0(v=0)$, energia bereko trantsizioak dira, eta kitzikapen- (edo xurgapen-) eta igorpen-espektroak uhin-luzera ia berdinean agertzen dira (irudian λ_0). Ez dira guztiz berdinak disolbatzailearen eraginagatik: egoera kitzikatuaren momentu dipolarra oinarriko egoerarena baino altuagoa izan ohi da, eta disolbatzaileak gehiago egonkortzen du egoera kitzikatua, igorpen-espektroa batokromikoki lerrokatuz. Lerrakuntza horri *Stokes lerrakuntza* deritzo.



Antrazenoaren kitzikapen- eta igorpen-espektroak

3. Fluoreszentziaren etekin kuantikoa, ϕ_{fl}

Fluoreszentziaren etekin kuantikoa aurretik xurgatutako fotoia igortzeko probabilitatea da, eta fluoreszentzia-ahalmena neurtzen du. Definizioa kontuan hartuz:

$$\phi_{fl} = \frac{\text{Igorritako fotoi kopurua}}{\text{Xurgatutako fotoi kopurua}} = 0 - 1$$

Alde batetik, igorritako fotoi kopurua proportzionala da igorpen-espektroaren azalarekiko, E_{fl} ; beste aldetik, xurgatutako fotoi kopurua da lagina argiaz kitzikatzen denean kitzikapen uhin-luzeran xurgatzen duen intentsitatea:

$$I_{ab} = I_0(1 - 10^{-A(\lambda_{exc})})$$

Non: I_{ab} xurgatutako intentsitatea.

I_0 hasierako argiaren intentsitatea, lanpararena.

$A(\lambda_{exc})$ kitzikapenerako erabiltzen den uhin-luzeran, laginaren absorbantzia.

Beraz:

$$\phi_{fl} \propto \frac{E_{fl}}{1 - 10^{-A(\lambda_{exc})}}$$

Esperimentalki, xurgapen-espektrotik, $A(\lambda_{exc})$, eta igorpen-espektrotik, E_{fl} , lor daiteke etekin kuantikoa, baina proportzionaltasun-konstantea ezin da jakin, neurtzeko aparatuen ezaugarri batzuen menpe dagoelako. Hori dela eta, etekin kuantikoaren balioa kalkulatzeko erreferentzia-substantzia bat erabili behar da, etekin kuantiko ezaguna duena:

$$\phi_{fl}^{ref} \propto \frac{E_{fl}^{ref}}{1 - 10^{-A^{ref}(\lambda_{exc})}}$$

Aurreko bi adierazpenak elkartuz:

$$\phi_{fl} = \phi_{fl}^{ref} \cdot \frac{E_{fl}}{E_{fl}^{ref}} \cdot \frac{1 - 10^{-A^{ref}(\lambda_{exc})}}{1 - 10^{-A(\lambda_{exc})}}$$

Bestalde, fluoreszentsia-ahalmena edo etekin kuantikoa da fluoreszentiaren desaktibazio-abiadura zati desaktibazio-prozesu guztien abiaduraren batuketa. Beraz, etekin kuantikoa desaktibazio-konstanteen bidez adieraz daiteke. Horrela:

$$\phi_{fl} = \frac{k_{fl}}{k_{fl} + k_{ci} + k_{cis}} = \frac{k_{fl}}{k_{fl} + k_{nr}}$$

Non $k_{nr} = k_{ci} + k_{cis}$ prozesu ez-erradiatzaileen konstantea.

Sistema oso fluoreszenteetan, $k_{fl} \gg k_{nr}$, eta etekin kuantikoaren balioa unitatetik oso gertu dago. Sistema ez-fluoreszenteetan, berriz, $k_{fl} \ll k_{nr}$, eta etekin kuantikoa ia zero da.

4. Bizitza-denbora fluoreszentea, τ_{fl}

Bizitza-denbora da molekula egoera kitzikatuan dagoen batezbesteko denbora. Kuantitatiboki, horrela definitzen da: igaro behar den denbora laginak igortzen duen hasierako intentsitateak, I_{fl}^0 , I_{fl}^0/e baliora jaisteko.

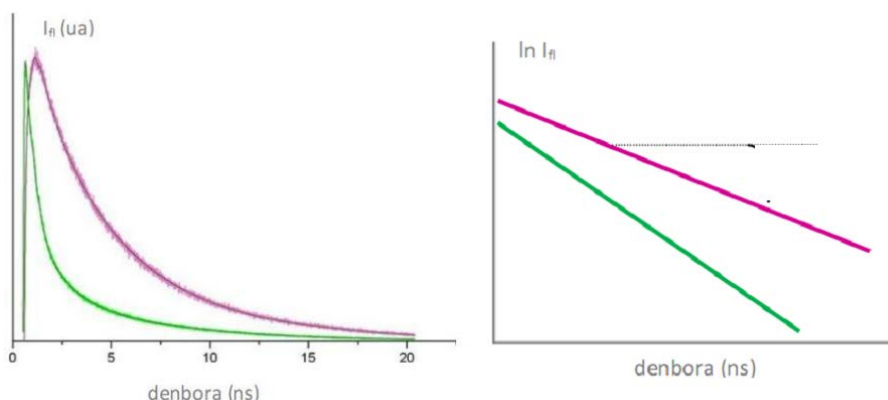
Sistema fluoreszente arrunten bizitza-denboraren balioa ns-ko eskalan sartzen da, eta esperimentalki determinatzeko aparatu oso korapilatsuak behar dira. Lanpara pultsakorrek erabiltzen dituzte eta denbora pasatu ahala laginaren igorpen-intentsitatea neurtzen dute. Intentsitatea esponentzialki jaisten da, eta intentsitate vs denbora irudiari *lasaikuntza* (edo *gainbehera*)-kurba deritzo.

$$I_{fl} = I_{fl}^0 \cdot e^{-t/\tau_{fl}}$$

Logaritmo nepertarrak aplikatuz, lerro zuzenaren ekuazioa lortzen da:

$$\ln I_{fl} = \ln I_{fl}^0 - \frac{1}{\tau_{fl}} \cdot t$$

Eta ekuazioa irudikatuz, $-1/\tau_{fl}$ da maldaren balioa.



Desaktibazio-kurba absolutua eta eskala logaritmikoan.

Zer esanik ez, bizitza-denbora desaktibazio-prozesuen konstanteekin erlazionatuta dago: zenbat eta altuagoa izan desaktibazio-prozesuen probabilitatea, sistema denbora laburragoan izango da egoera kitzikatuan, eta bizitza-denbora murriztu egingo da. Horrela denez:

$$\tau_{fl} = \frac{1}{k_{fl} + k_{nr}}$$

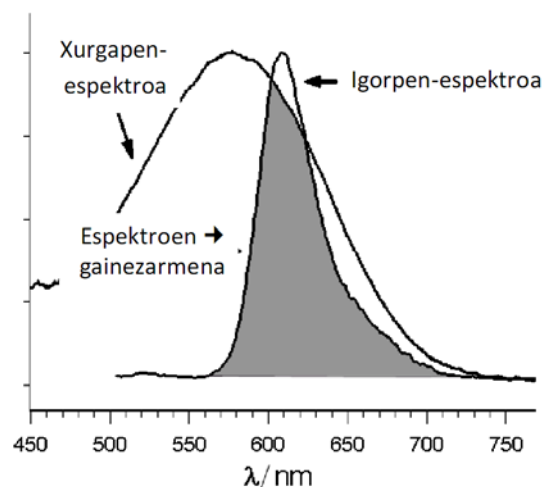
Esperimentalki determina daitezkeen bi parametro fluoreszenteak, etekin kuantikoa eta bizitza-denbora, konbinatuz, desaktibazio-prozesuen konstanteak kalkulatu dira.

$$\phi_{fl} = \frac{k_{fl}}{k_{fl} + k_{nr}} \quad \text{eta} \quad \tau_{fl} = \frac{1}{k_{fl} + k_{nr}} \quad \rightarrow \quad k_{fl} = \frac{\phi_{fl}}{\tau_{fl}} \quad \text{eta} \quad k_{nr} = \frac{1}{\tau_{fl}} - k_{fl}$$

5. Desaktibazio-prozesu bimolekularrak

Orain arte ikusitako desaktibazio-mekanismoak molekula bakarreko prozesuak izan dira, hau da, sistemak berak jasan ditzakeen prozesuak. Baina molekula arrotzek ere (edo espezie bereko molekulak kontzentrazio altuetan) beste desaktibazio-prozesu batzuk eragin ditzakete, eta fluoreszentzia-ahalmena murriztu egingo da. Prozesu horiek bimolekularrak dira, eta hainbat mota dago:

- Energia-transferentzia. Sistema fluoreszenteak igortzen duen argia beste molekula arrotzak xurgatzen du; molekula batetik bestera igarotzen da energia. Mekanismo hori gertatu ahal izateko, sistema fluoreszentearen igorpen-espektroa eta molekula arrotzaren xurgapen-espektroa gainezarri egin behar dira.



Energia-transferentzia mekanismoan gertatzen den espektroen gainezarmena.

- Atomo astuna. Atomo astunek spin-orbita akoplamendua errazten dute, eta, ondorioz, kromoforoaren fluoreszentzia murrizten dute. Mekanismo hori halogeno atomoak gehitzean behatzen da, eta, gainera, eragina nabarmenagoa da halogenoaren tamainarekin.
- Molekulen arteko talka. Prozesu hau disolbatzaile berarekin gerta daiteke, eta likatasunaren eta tenperaturaren menpe dago.

Prozesu bimolekularren desaktibazio-konstantea esperimentalki determinatzeko, Stern Volmer-en ekuazioa erabiltzen da:

$$\frac{\phi_{fl}^0}{\phi_{fl}} = 1 + k_Q \cdot \tau_{fl}^0 [Q]$$

Non: ϕ_{fl}^0 sistema fluoreszentearen etekin kuantikoa desaktibatzailearik gabe:

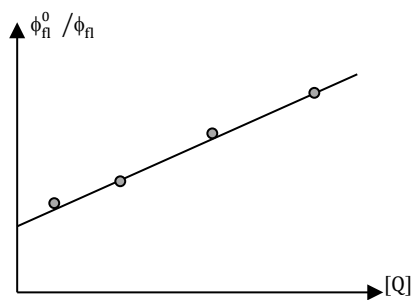
[Q] desaktibatzailearen kontzentrazioa

ϕ_{fl} etekin kuantikoa [Q] kontzentrazioko desaktibatzailearekin

k_Q desaktibazio-konstante bimolekularra

τ_{fl}^0 sistema fluoreszentearen bizitza-denbora

Etekin kuantikoa determinatzen bada desaktibatzailearen zenbait kontzentrazioetan, eta ϕ_{fl}^0/ϕ_{fl} versus [Q] irudikatzen bada, lortzen den lerro zuzenaren maldatik, $k_Q \cdot \tau_{fl}^0$, desaktibazio-konstantea kalkula daiteke, egoera kitzikatuaren bizitza-denbora ezaguna bada.



Stern-Volmer-ren ekuazioaren irudikapena

6. Temperaturaren eragina

Kromoforo baten xurgapen-intentsitatea ez da aldatu ohi temperaturarekin, ezta fluoreszentsia-konstantea, k_{fl} , ere. Baina prozesu ez-erradiatzaileak azkarragoak dira tenperatura igotzean. Temperaturaren menpekotasunak Arrhenius-en ekuazioa betetzen du:

$$k_{nr} = A \cdot e^{-E_a/RT}$$

Non: A maiztasun faktorea, sistemaren konstante bat.

E_a prozesu ez-erradiatzailearen aktibazio-energia.

R konstante unibertsala.

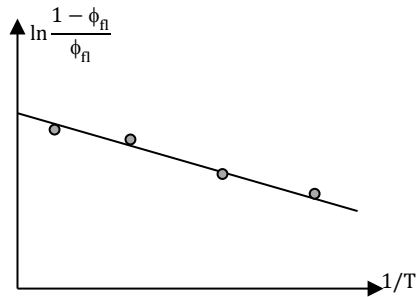
T tenperatura absolutua.

Prozesuaren aktibazio-energia determinatzeko, hainbat temperaturatan neurtzen da etekin kuantikoa. Logaritmo neperarrak aplikatuz aurreko ekuazioan:

$$\ln k_{nr} = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad \text{eta} \quad k_{nr} = k_{fl} \cdot \frac{1 - \phi_{fl}}{\phi_{fl}} \quad \text{denez}$$

$$\ln \frac{1 - \phi_{fl}}{\phi_{fl}} = k_{te} - \frac{E_a}{RT} \quad \text{non} \quad k_{te} = \ln A - \ln k_{fl}$$

$\ln \frac{1 - \phi_{fl}}{\phi_{fl}}$ versus $1/T$ irudikatuz gero, lerro zuzenaren malda $-E_a/R$ da.



Arrheniusen ekuazioaren irudikapena

7. FL-1: egitura molekularren eta inguruko pH-aren eragina fluoreszeinaren eratorri batzuen fluoreszentzia-etekin kuantikoan

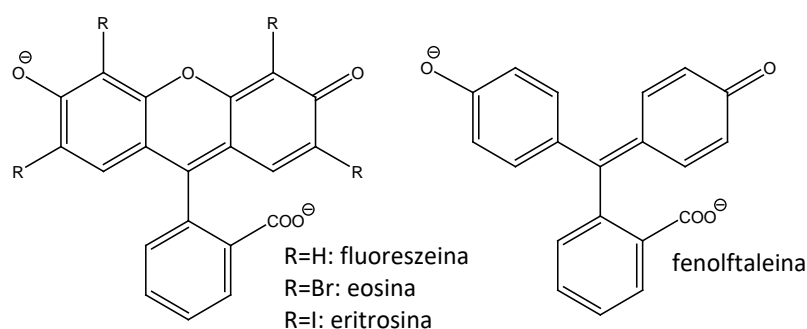
Fluoreszeinaren kitzikapen- eta igorpen-espektroak pH basikoan erregistratuko dira, eta xurgapen-espektroarekin alderatuko dira. Errodamina 110 erreferentzia bezala erabiliz ($\phi_{fl}^{ref}=0,90$), fluoreszeinaren etekin kuantiko fluoreszentea kalkulatu da.

Fluoreszeinaren beste eratorri batzuen fluoreszentzia-ahalmena determinatu da, eta molekula-egituraren eragina aztertuko da. Eratorri horietan hidrogeno batzuk halogenoz ordezkatzeko dira: eosinaren kasuan lau bromo eta eritrosinarenean lau iodo. Horrekin atomo astunaren eragina behatuko da k_{cis} -en gainean.

Fenolftaleina ere neurtuko da, zurruntasunaren eragina determinatzeko k_{ic} -ren gainean.

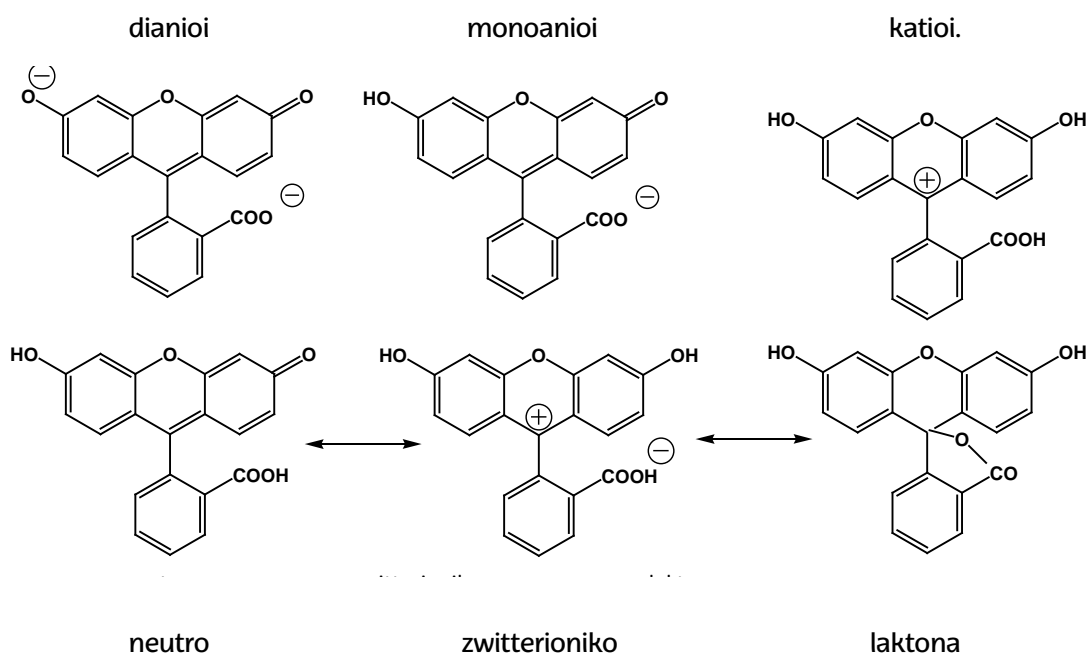
Laborategian dauden konposatu guztien lasaikuntza-kurben bidez, bizitza-denbora (τ_{fl}) determinatzen da, eta, ondoren, desaktibazio erradiatzailearen eta ez-erradiatzailearen konstanteak (k_{fl} eta k_{nr} , hurrenez hurren) kalkulatu dira.

Fluoreszeina kromoforo oso korapilatsua da. pH-aren arabera, lau forma molekular aurki daitezke: kationikoa, neutroa (edo zwitterionikoa edo laktonikoa), monoanionikoa eta dianionikoa. Gainera, protoiaren transferentziaren probabilitatea aldatu egiten denez egoera



Erabiliko diren koloratzaileak

kitzikatuan, gerta daiteke oinarriko egoerako egitura molekular bat kitzikatzean beste egitura bihurtzea. Praktika honetan, eta zailtasun handirik ez izateko, pH-aren balioak aukeratu dira egitura molekular bakarra izateko, eta kitzikapenarekin ez aldatzeko: pH oso basikoa (forma dianikoa, lehen zatian neurtzen dena), pH tartekoa (egitura monoanionikoa), azidoa (forma neutroa) eta oso azidoa (egitura kationikoa).



Fluoreszeinaren forma molekularrak

8. FL-2: gatzen bidezko fluoreszeinaren igorpen fluoreszentearen desaktibazioa

Azpipraktika honen lehenengo zatia aurrekoarena bezalakoa da. Hau da, pH basikoan fluoreszeinaren (forma dianionikoa) xurgapen-, kitzikapen- eta igorpen-espektroak neurtzen

eta konparatzen dira. Etekin kuantikoa kalkulatu da, errodamina 110 erreferentzia bezala erabiliz.

Ondoren, NaI gatzaren presentziatik igorpen fluoreszentearen galera aztertuko da, eta, Stern-Volmer lerro-irudikapenaren bidez, desaktibazio bimolekularraren konstantea kalkulatu da. Azkenik, froga batzuk egingo dira, desaktibazio mekanismo posibleen artean hautatzeko. Adibidez, desaktibazioa Na^+ -k edo I^- -k eragiten duen aztertuko da, beste gatz halogenatuekin (NaCl eta NaBr). Proposatutako mekanismoa atomo astunarena dela frogatu da.

9. FL-3: fluoreszentsia-etekin kuantikoaren gaineko tenperaturaren eragina

Fluoreszeina neurtzeko baldintzak optimizatu ondoren, kanpoko bainu termostatikoaren bidez, lagin euskarrien tenperatura aldatuko da, eta fluoreszentsia-ahalmenaren aldaketa aztertuko da tenperaturarekiko. Fluoreszentsia-ahalmena gutxienez bi abiadura-konstanteren menpe dago, hain zuzen prozesu erradiatzailearen eta ez-erradiatzailearen menpe, baina trantsizio erradiatzailea ez dago tenperaturaren menpe. Esperimentalki tenperaturarekin absorbantziaren aldaketa txikiak neur daitezkeen arren, ez dira kontuan hartuko, erabiliko den tenperatura-tartean ($\pm 40^\circ$) baztergarriak direlako (errore esperimentalaren ordenakoak). Beraz, fluoreszeinaren fluoreszentsia-intentsitatean neurtuko diren tenperaturarekiko aldaketak desaktibazio ez-erradiatzaileak eragindakoak izango dira, eta prozesu horren aktibazio-energia determinatuko da. Azpibaktika osatzeko, bi tenperaturatan neurtuko da eosinaren etekin kuantikoa.

PROZEDURA ESPERIMENTALA

Materiala:

FL1-2-3 Plastikozko fluoreszentsia-upelatxoak
25 cm^3 -ko ontzia

FL2: 9 10 cm^3 -ko matrazak 5 cm^3 -ko pipeta graduatua
5 cm^3 -ko pipeta aforatua 1 cm^3 -ko pipeta graduatua

FL3: 10 cm^3 -ko matraza
2 cm^3 -ko pipeta aforatua

Produktuak:

<u>FL1-2-3</u>	Fluoreszeina(aq)	Errodamina 110 (pH=12)	NaOH (4 M)
<u>FL1:</u>	Fenolftaleina (pH=12) HNO ₃ (aq)	Eritrosina (pH=12)	Eosina (pH=12)
<u>FL2:</u>	NaCl (5 M)	NaBr (2,5 M)	Nal (0,25 M)
<u>FL3:</u>	Eosina (aq)		

Instrumentala:

- Shimadzu 1201V izpi bakarreko espektrofotometroa.
- Shimadzu RF5301 espektrofluorimetroa.
- Shimadzu RF-1501 espektrofluorimetroa.

Zehaztasun esperimentalak:

- Laginak likidoak direnez, 1 cm-ko upelatxoak erabiliko dira. Fluoreszentzia-upelatxoek lau aurpegiak gardenak dituzte, eta ertzetatik zein goiko aldetik eutsiko dira. Erabiliko diren koloratzaileek gune ikusgaien (edo oso gertu) xurgatzen eta igortzen dutenez, eta disolbatzailea ura denez, plastikozko upelatxoak erabiliko dira.
- Fluorimetroak neurtzen duen igorpen-intentsitatea absolutua da, eta, ondorioz, aparailuaren menpe dago. Gainera, espektrofluorimetroek bi monokromadore dituztenez, bata kitzikapenerako eta bestea igorpenerako, zaildu egiten da neurketa. Izan ere, neurtzen den intentsitate fluoreszentea bi monokromadoreen uhin-luzeraren eta zirrikituen zabalaren menpe dago. Zirrikituek neurketaren sentikortasuna eta zehaztasuna aldatzen dute. Adibidez, zirrikituen zabalera txikia bada erresoluzioa handia izango da; sentikortasuna, berriz, txikia. Fluorimetro onak sentsibilitate eta erresoluzio altuko neurketak egiten ditu.
- Fluoreszentziarako detektagailuak, oro har fotobiderkatzaileak, sentsibilitate altukoak dira. Igorpena, nahiz eta norabide guztietan gertatu, kitzikapenarekiko 90°-ko angeluan bakarrik neurtzen da, lanparen seinalea saihesteko. Detektatutako igorpen-intentsitatea balio maximo batetik gorakoa bada, fotobiderkatzailea blokeatu egiten da, eta seinalea aseta agertzen da. Eragin horiek guztiek (uhin-luzera, zirrikituak, asetasuna...) espektroa neurtu aurretik baldintza egokiak aukeratzera behartzen dute. Baldintza horiek

hautemango dira laginaren espektro osoa erresoluzio edo sentsibilitate altuenarekin, baina ase barik, erregistratzeko.

- Sentsibilitatea hobetzeko asmoz, fluorimetroen lanparak intentsitate altukoak izaten dira (zenbat eta kitzikapen-intentsitate altuagoa izan, orduan eta altuagoa izango da igorpen-intentsitatea). Dena den, laginak luze argitzen badira, haien fotodegradazioa eta erreakzio fotokimikoak ager daitezke. Hori dela eta, fluorimetroetan xafla bat (**shutter**) dago kitzikapen izpia (eta batzuetan igorpen izpia ere bai) blokeatzeko. Oro har, **shutter** horiek automatikoki zabaltzen dira espektroa egiterakoan, eta espektroa bukatu bezain laster ixten dira.
- Fluoreszentzia-neurketak absolutuak direnez eta aparailuaren menpe daudenez, lagin baten etekin kuantikoa determinatzeko etekin kuantiko ezaguna duen erreferentzia erabili behar da. Nahitaezkoa da bai lagina eta bai erreferentzia baldintza berdinez neurtzea.

Prozedura

FL-1, FL-2, FL3: fluoreszeinaren xurgapen-, kitzikapen- eta igorpen-espektroak

1. Prestatu fluoreszeinazko disoluzio bat, pH basikoan NaOH gehituz.
2. Neurtu fluoreszeinazko disoluzioaren xurgapen-espektroa. Bilatu absortzio maximoa. Irudikatu espektroa.
3. Behatu fluoreszeinaren fluoreszentzia fluorimetroan.
4. Aukeratu erregistrorako baldintza egokienak (seinale maximoa baina saturatu barik): kitzikapenerako eta igorpenerako uhin-luzerak eta zirrikituak. Apuntatu gutxi gorabeherako igorpen eta kitzikapen maximoak.
5. Erregistratu eta gorde fluoreszeinazko disoluzioaren igorpen-espektroa 475-625 nm-ko tartean, 465 nm-tan kitzikatuz. Apuntatu bandaren igorpen maximo zehatza.
6. Neurtu 400 - 525 nm-ko tartean fluoreszeinaren kitzikapen-espektroa, $\lambda_{emi}=560$ nm delarik. Gorde espektroa eta apuntatu maximo zehatza.
7. Normalizatu kitzikapen- eta igorpen-espektroak altuera berean, eta irudikatu batera.
8. Neurtu absorbantzia fluoreszeina lagin berriaren kitzikapen uhin-luzeran, eta neurtu berriro igorpen-espektroa. Kalkulatu igorpen-bandaren azalera.

9. Neurtu errodamina 110 ($\phi_{fl} = 0,90$) erreferentzia bezala, kitzikapen uhin-luzeran absorbantzia eta igorpen-espektroa. Bandaren azaleraren bidez, determinatu fluoreszeinaren etekin kuantikoa.

FL-1: egitura molekularren eragina

1. Determinatu eosinazko disoluzioaren absorbantziaren balioa 465 nm-tan (ziurtatu uraren seinalea 0 dela).
2. Neurtu eosinaren igorpen-espektroa 465 nm-tan kitzikatuz. Erabili aurreko ataleko baldintza berdinak.
3. Egin berdin eritrosina eta fenolftaleina disoluzioekin.
4. Determinatu koloratzaile guztien etekin kuantikoa, aurretik neurtutako errodamina 110 erreferentziatzat hartuz.
5. Irudikatu fluoreszeina, eosina, eritrosina eta fenolftaleinaren igorpen-espektroak paper berean, edo gorde bertsio elektronikoa.

FL-1: pH-aren eragina

6. Prestatu fluoreszeinazko bi disoluzio berriak: bata oso azidoa, HNO₃ gehituz; eta bestea berezko pH-an.
7. Jarraitu aurreko 5-7 puntuak fluoreszeinazko bi disoluzio horiekin, baina 438 nm-tan kitzikatuz.
8. Determinatu lagin horien etekin kuantikoa, pH basikoko fluoreszeina erreferentzia bezala hartuta.

FL-2: gatz halogenatuen eragina

1. Prestatu fluoreszeinazko disoluzio basiko batzuk gatz halogenatuen kontzentrazio desberdinekin.
Horretarako, hartu fluoreszeinaren jatorrizko disoluziotik 5 cm³; ondoren bota NaOH 4 M hiru tanta, eta, urarekin parekatu baino lehen, gehitu taula honetan aipatzen diren gatzen kantitateak:

Disoluzioa	NaI (0,25 M) (cm ⁻³)	NaBr (2,5 M) (cm ⁻³)	NaCl (5 M) (cm ⁻³)
2	0,5	∅	∅
3	1,0	∅	∅
4	1,7	∅	∅
5	2,5	∅	∅
6	3,5	∅	∅
7	4,8	∅	∅
8	∅	4,8	∅
9	∅	∅	4,8

2. Neurtu laginen igorpen-espektroak baldintza berdinetan.
3. Kalkulatu laginen etekin kuantikoa, gatz gabeko lagina erreferentzia bezala erabiliz (konprobatu gatzen presentziagatik xurgapena ez dela aldatzen).
4. Irudikatu paper berean fluoreszeinaren eta NaI-a duten disoluzio guztien espektroa (1-7 disoluzioak).
5. Beste paper batean, fluoreszeinaren igorpen-espektroa eta fluoreszeina gatz desberdinekin lortzen dena (1, 7, 8 eta 9 disoluzio).

FL-3: temperaturaren eragina

1. Kalkulatu fluoreszeinaren etekin kuantikoa temperatura hauetan: 10, 20, 30, 40 eta 50 °C-tan, eta eosinarena 10 eta 50 °C-tan. Erreferentzia bezala, erabili fluoreszeinaren inguruko temperaturako lagina. Konprobatu absorbantziaren balioa temperaturarekin aldatzen den kitzikapenaren uhin-luzeran.
2. Irudikatu fluoreszeinaren espektroak eta eosinarenak paper banatan.
3. Kalkulatu fluoreszeinaren eta eosinaren prozesu ez-erradiatzailearen aktibazio-energia.

EMAITZEN ANALISIA ETA EZTABAIDA

Lantaldeek lortutako emaitzak partekatuko dituzte, fluoreszeinaren ahalmen fluoreszentearen gainean egitura molekularren (halogenoak izatea, zurruntasun molekularra) eta inguruaren eraginak (pH-a, gatzen presentzia eta temperatura) eztabaidatzeko.

1. Komentatu fluoreszeinaren xurgapen-, kitzikapen- eta igorpen-espeketroen arteko antzekotasunak eta desberdintasunak pH basikoan (egitura dianionikoa):
 - Zergatik dagoen fluoreszentzia-banda absortzio bandarekiko uhin-luzera altuagotan kokatuta.
 - Zergatik diren ispilu-irudiak.
 - Zergatik ez diren guztiz berdinak xurgapen- eta kitzikapen-espeketroak.
2. Komentatu pH-aren eragina fluoreszeinaren espeketroetan. Zein pH-tan da handiago fluoreszeinaren ahalmen fluoreszentea?
3. Ematen diren fluoreszentiaren lasaikuntza-kurbak erabiliz, determinatu fluoreszeinaren, eosinaren eta eritrosinaren bizitza-denborak pH basikoan. ϕ_{fl} eta τ_{fl} erabiliz, kalkulatu k_{fl} eta k_{nr} desaktibazio-konstanteak. Erlazionatu koloratzaileen fluoreszentzia-ahalmena (ϕ_{fl} , k_{fl} eta k_{nr}) egitura molekularrekin.
Komentatu, halaber, fenolftaleinaren emaitzak.
4. Stern-Volmer-en irudikapenaren bidez, determinatu NaI gatzak eragindako desaktibazio-konstantea.
5. Determinatu analitikoki NaBr eta NaCl gatzak desaktibazio-konstanteak. Alderatu hiru konstanteen balioak, eta azaldu desberdintasunak.
6. Arrhenius-en irudikapenaz baliatuz, kalkulatu fluoreszeinaren eta eosinaren prozesu ez-erradiatzailearen aktibazio-energia pH basikoan. Komentatu zergatik den tenperaturaren eragina garrantzitsuagoa eosinaren igorpen-intentsitatean fluoreszeinaren kasuan baino.