S1

這個章節我們將介紹兩個分析化學技術，UV和IR。在往下進行之前，還是提醒同學先下載講義，可以隨著影片的進展寫下自己的筆記。

(Click) 講義的第一頁是 UV-IR課程的架構

(Click) 講義的第二、第三頁是 IR分析 常用的表 不必記 但要會查

考試時會附上這個表 方便查閱

好，我們開始，什麼是IR? Infrared Spectroscopy

S2

(Click) 什麼是Infrared spectroscopy測量的分子特性呢?   
Infrared屬於電磁輻射Electromagnetic Radiation的一部分，  
我們先看一下整個電磁波譜Electromagnetic spectrum的範圍。  
在整個Electromagnetic spectrum的範圍，

可見光在接近中間的位置。波幅左邊的電磁波能量比較高，

(Click) 而能量跟電磁波的頻率ν成正比。

(Click) 下面有另外一群數列，叫波長wave length，單位是Meter。

回到我們剛剛提的可見光，它的範圍，

(Click) 波長最短的波長是380 nm，

(Click) 波長最長的波長是780 nm，nano等於10的負9次方。

這三個波長範圍裡，

(Click) ultraviolet是在可見光的

(Click) 左邊能量最高，而

(Click) radio wave是在spectrum的最

(Click) 右邊 能量最低。

Infrared這個部分，緊鄰著可見光，

在它的右邊 能量略低於可見光。Infrared的能量能發生什麼作用呢?

它跟共價鍵震盪vibration 的頻率相當，所以吸收Infrared之後會造成covalent bond的vibration。

電磁波都有兩種特性，第一個特性是波的特性。甚麼是波?在一個均勻的介質當中，能量藉由上下擺動來傳遞能量，而上下擺動的方向跟能量行進的方向相互垂直，這是電磁波的特徵。一個來回擺動所行進的距離，運動長度稱為波長，擺動的大小稱為amplitude。電磁波它的運動速度都是光速，而光速c等於波長λ和頻率ν的乘積。光速的大小是3乘以10的8次方meter per second， ν的單位是Hz，也就是一秒鐘來回擺動的次數。電磁波的第二個特性是particle，光子就是典型的particle。電磁波和光子都是一個一個數的，也就是它有個基本的單位，叫做quantum。因此電磁波都有wave跟particle的雙重特性。

繼續講解quantum的概念，首先它的複數是quanta。它是一種物理特性，它的大小有一個不是0的最小基本單位，而這個物理特性的多寡都是這個最小基本單位的整數倍的乘積。那這個最小單位我們就叫quanta。我們來計算一下一個光子或電磁波所攜帶的能量。它的能量跟它的頻率成正比。計算的時候要乘上Planck constant，Planck constant的大小是6.6乘以10的負34次方。如果要計算一個默爾的電磁波能量，要把Planck constant乘上Avogadro's number，得到的就是4乘以10的負10次方。把這個數字乘上頻率ν，就是一個默爾的電磁波能量。

接下來我們來講解如何看懂一張Infrared spectrum，下面是一張典型的Infrared光譜。我們先看一下它的橫軸，它是wave number，單位是cm的負1次方，1公分有幾個波的意思。它會反比於wavelength，也就正比於frequency，因此數字越大能量應該就越高。我們看一下它的縱軸，縱軸是transmittance，下面是0，上面是100。我們再看一下IR光譜在整個電磁波譜的位置。之前提過波譜下面的數列是wavelength，上面的數列是frequency。所以我們應該可以從frequency來轉化成我們的wave number，怎麼算呢?既然wave number是wavelength的倒數，它就等於ν over c (ν/c)。所以我們這邊算出ν跟我們的wave number之間的轉換的公式。所以當頻率是10的12次方的時候，wave number就是33。頻率是10的13次方，wave number就是333。頻率是10的14次方wave number就是3333。我們看一下我們下面的IR光譜，它的大小。從左邊的4000到右邊的500，所以我們的IR光譜應該是整個IR範圍左半邊的這一塊。在我們的IR光譜的左邊還有一小塊叫near Infrared，在它的右邊有比較大的一塊叫far Infrared。接下來我們會介紹什麼樣的結構會吸收我們的IR能量呢?

剛剛有稍微介紹，IR會造成covalent bond的vibration，這是物質的一種特性。當結構vibration的頻率和加入的電磁波的頻率相當的時候，照射的電磁波就可以造成結構的vibration。震盪運動的方式有stretch，例如symmetric stretching。共價鍵一伸一縮的震盪，兩邊一致，所以叫做symmetric。也有antisymmetric stretching，兩側的震盪剛好相反，所以叫做antisymmetric。另外一大類運動叫bending，可以看成是箭腳的變大變小。在分子的平面，箭腳忽大忽小，我們叫in-plane bending。如果和分子的平面垂直，就叫out-of-plane bending。

下面繼續介紹IR光譜的判讀原則。我們先注意看一下它的橫軸的坐標值被分割成了幾個線性坐標區域。例如1000和500之間是線性的，2000和1000之間是線性的，2500和2000之間是線性的，4000和2500之間是線性的。但不同廠商做的儀器，線性區域分割的方式會有些差異。現在把光譜分成幾個區域來做解釋。小於1500的區域叫fingerprint，和質譜的概念一樣。Fingerprint的部分無法做推演，所以通常我們不看這個區域。2000到1500之間的區域，是CO、CN、CC雙鍵vibration所吸收的能量。2850到2000之間的區域，是CN、CC、triple-bond vibration所吸收的能量。最後4000到2800之間，是OH、NH、CH vibration所吸收的能量。這裡其實根據一個重要的原則，functional group不會因為在化合物的位置不一樣，也不會因為它旁邊的原子不一樣而改變它的IR吸收特性。

不同的functional group除了吸收的wave number峰值不一樣外，能吸收的wave number的範圍也是特色。像OH、NH就很寬。CC、CN、triple-bond就很窄。再加上transmittance高低也可有特點。用倒三角的方式來呈現，其實可以看得更清楚，不同functional group訊號的特色，這樣做出來的表應該是更容易對照檢查。這裡的兩個表是老師特別設計的，算是獨創。考試的時候我會附上，不必背。

接下來仔細介紹hydrocarbons他們IR的特色。介紹之前先教大家畫幾條重要的參考線。2850、1500、2000。接下來我們看alkane CH訊號，它就在參考線2850的左方。我們再看alkene，它上面的CH訊號大約在3000左右。還有alkyne，它上面的CH訊號約在3300左右。CC double-bond訊號約在1650。CC triple-bond訊號約在2200。除了alkyne上面的CH訊號屬於強訊號之外，其他的四個訊號都屬於中等訊號。下面我們開始看幾個實際的例子。

我們來比較alkane、alkene跟alkyne訊號的差別。這三張光譜分析物都是6個碳的hydrocarbons，但從上到下分別是alkane、alkene跟alkyne。看IR光譜之前別忘了先畫兩條輔助線，1500跟2850。Alkane的訊號除了在2850和3000之間，SP3 carbon和hydrogen的訊號之外，沒有其他特別的訊號。Alkene的訊號有CC double-bond的vibration約在1650左右，強度中等。SP2 carbon、hydrogen的訊號略小於3100，強度中等。再來看看alkyne的訊號，有CC triple-bond的vibration，屬於弱的訊號。SP carbon、hydrogen的訊號約略在3300，屬於強訊號。考試的時候只要會查表，不需要記得這些細節。

接下來介紹arenes訊號的特徵。首先是aromatic ring上面SP2 carbon、hydrogen的訊號。它跟一般alkene的訊號很接近，但屬於弱的訊號。還有aromatic ring上CC 一又二分之一 vibration的訊號。除了benzene之外，都會分裂成跨過1500的兩個中等訊號。

我們看看實際的光譜例子。最上面是剛剛看過的alkene IR光譜。輔助線已經先畫好，上面是benzene，下面是toluene。先看到benzene ring裡面CC bond vibration的訊號，它在1500左右。SP2 carbon、hydrogen訊號屬於弱訊號。下面toluene ring分裂成跨過1500的兩個中等訊號。SP2 carbon、hydrogen訊號屬於弱訊號，跟benzene沒有太大的差別。

老師的部分也會介紹含氧化物alcohol、aldehyde、ketone的IR光譜。先看alcohol的OH vibration的峰值，它在3400到3600之間，屬於強的寬訊號。跟它很像的還有carboxylic acid裡面的OH基。峰值通常出現在輔助線的右邊。我們看一下phenol的訊號，OH強而寬的訊號很明顯，ring bonds如預期的跨過1500的兩群訊號。SP2 carbon、hydrogen的弱訊號埋在OH訊號裡面看不到。難得沒有SP3 carbon，所以在2900的位置沒有訊號。

這是cyclohexanol的IR光譜。OH stretching的強而寬的訊號很明顯。會有SP3 carbon、hydrogen訊號，但在1500、2000之間沒有吸收的訊號。

Aldehyde跟ketone有兩個特別的訊號。首先是aldehyde上面的碳氫鍵，其實跟之前提過的SP2 carbon、hydrogen訊號一模一樣。CO double bond的訊號大約在1700左右，略在CC double bond的左方，但不一樣的是它屬於強訊號。

讓我們舉benzaldehyde當作例子。首先應該要有SP2 carbon、hydrogen的訊號，但記得aldehyde上面的是中等訊號，ring上面的是弱訊號，但位置相當。接下來應該要有CO double bond的強訊號，以及benzene ring上面CC 一又二分之一鍵所造成的兩群訊號。

這是hexanone的IR光譜，CO double bond的強訊號是唯一的重要特徵。

把剛剛講過的含氧化物放在一起做個比較。應該還記得OH的寬又強的訊號，phenol也有這個訊號。CO double bond的強訊號，aldehyde、ketone都會有。Phenol會有ring bonds的兩群訊號，benzaldehyde也會有ring bonds的這兩群訊號。SP2 carbon、hydrogen的訊號在benzaldehyde的光譜看得到。

下面示範怎麼使用IR來區分兩個同分異構物。他們的化學式都是C3H6O，由他們碳氫數目可以用一個雙鍵來解釋。一個是acetone，雙鍵在CO group上，另外一個是prop-2-en-1-ol，雙鍵在CC上面，另外帶了一個OH基。下面有兩張IR光譜圖，究竟各自對應哪個化合物呢?記得CO雙鍵的特徵嗎?它應該是2000到1500之間的強訊號，比較像下面這張的這個訊號。CC雙鍵的訊號應該是中等強度的訊號，落在類似的區間，但應該是上面這張圖的這個訊號。OH應該要有一個強而寬的訊號介在3000到3500之間，應該是上面這張圖的這個訊號。所以上面這張圖應該是prop-2-en-1-ol，下面這張自然是acetone。

當拿到一個未知物，我們也可以從它的IR圖來猜測它的化學結構的特徵。還是先畫上雙輔助線。有SP2 carbon hydrogen的訊號，SP3 carbon hydrogen訊號則相對弱。再加上有ring bonds的訊號，很可能有benzene ring的結構。1700的位置類似CO double bond的強訊號，但因為aldehyde的carbonyl carbon hydrogen的訊號，跟剛剛的SP2 carbon hydrogen訊號完全疊在一起，其實沒辦法區分它究竟是aldehyde還是ketone。這個化合物是phenylacetaldehyde，的確有benzene ring，也帶有一個aldehyde group。但如果真的要用IR鑑定，可以用fingerprint的區域去比對database，就可以找出答案。再提醒一次，期中考的時候重要的表格都會附給大家，學會查表就好，不必硬要把它背下來。

下面這個部分介紹Ultraviolet Spectroscopy。Ultraviolet在電磁波譜的位置，就在可見光的左邊，所以能量比可見光高。吸收的能量，可以讓在bonding orbital或non-bonding orbital的電子，轉到anti-bonding orbital。還記得star這個符號代表anti-bonding orbital。

這裡是一張典型的UV吸收光譜，縱軸是absorbance，原點在下方，橫軸是wavelength波長，因為和頻率成反比，所以波長愈短，能量愈高。那麼UV光譜在整個電磁波譜的什麼位置?我們一般測量從200 nm到400 nm的範圍，放回電磁波譜UV的範圍右端的部分，以及一小部分的可見光。吸收波峰一般很寬，我們會以λ max來代。像這張圖是conjugated diene，buta-1,3-diene的吸收光譜，λ max就是217 nm。這裡稍微注意一下，有些考題會問，在UV吸收光譜中有沒有峰值?我們就是拿200 nm當作一個標準。

Ultraviolet spectroscopy通常是一種吸收光譜，原子或分子裡的電子會吸收紫外光，從ground state轉換到excited state。像在有機分子裡通常是bonding orbital裡面的電子，像是σ bond的電子，或是π bond的電子，或是long-paired electrons，也叫做non-bonding electrons，或*n* electrons，吸收紫外光的能量後，跑到anti-bonding molecular orbital裡面去。通常是highest occupied MO，簡稱HOMO裡的電子，吸收能量後，跑到lowest unoccupied MO，簡稱LUMO。HOMO-LUMO之間能量差越小，所吸收的波長就越長。如果問UV spectroscopy究竟在檢查什麼?它在檢查有機物裡面HOMO跟LUMO之間的energy gap。

有哪些HOMO-LUMO transitions可以導致我們UV spectrum當中出現訊號呢?先讓我們看看幾種bonding anti-bonding orbitals的位能高低。從下而上，σ bonding orbital，π bonding orbital，non-bonding orbital，注意*n* orbital比較偏π orbital這邊，π star anti-bonding orbital，σ star anti-bonding orbital。當化合物裡面只有σ bond的時候，σ orbital就是HOMO，σ star就是LUMO，這是第一種HOMO-LUMO transition。如果這個化合物含有氧或氮，就會有long-paired electrons，這是*n*-σ star transition。當化合物有π bond的時候，π orbital就是HOMO，π star就是LUMO，π到π star是第三種transition。如果這個化合物含氮或氧，就會有電子在*n* orbital裡面，*n*到π star是第四種transition。這四種transitions的energy gaps從左到右剛好從大到小。

我們拿一個例子來說明HOMO-LUMO transition。Acetone的CO之間有σ bond也有π bond，因為有π bond，所以它的HOMO應該是π bonding orbital，而LUMO就是π star anti-bonding orbital，而π-π star transition就是它的HOMO-LUMO transition。在UV spectrum裡面會有一個吸收峰，λ max是195 nm，和ethene的165nm來做比較，它的波長比較長，代表energy gap比較小。Acetone是含氧的化合物，有兩對long-paired electrons，落在non-bonding orbitals裡面，會有*n*-π star transition。在UV吸收光譜中會看到λ max是275nm的吸收峰。*n*-π star transition雖然不強，但對於CO group的分析來講有比較好的鑑別力。

讓我們再回來討論π-π star transition的問題，有什麼樣的結構可以縮短HOMO-LUMO之間的energy gap，讓吸收峰的λ max大於200 nm呢?

我們看一下buta-1,3-diene它的π-π star transition，它是一個conjugated diene，之前講過原子軌域和分子軌域之間轉換的關係，首先當初有多少原子軌域就會轉換成多少分子軌域，這裡有4個2P atomic orbitals，就會轉化成4個*Ψ* molecular orbitals，或是叫做π molecular orbitals。能量由低而高分別是*Ψ* 1，*Ψ* 2，*Ψ* 3 star，*Ψ* 4 star，在ground state的4個電子都在*Ψ* 1和*Ψ* 2裡面，*Ψ* 2 是HOMO，*Ψ* 3 star 是LUMO，吸收紫外光之後，電子會從*Ψ* 2跑到*Ψ* 3 star，進入所謂的excited state。這個π-π star transition需要紫外光的平均波長為217 nm，跟ethane的165比較起來已經大了許多，也超過200 nm，因此double bond之間的conjugation，似乎可以降低HOMO和LUMO之間的energy gap。

接下來我們來看看conjugation對於π bond HOMO-LUMO transition的影響。從左右是2個碳1個π bond的ethene，接下來是3個polyenes，分別是4個碳2個π bonds，以及6個碳3個π bonds，還有8個碳4個π bonds。Polyenes單雙鍵交錯，鍵跟鍵之間就有交互作用，或叫做conjugation。拿他們的ground state來看，打藍勾的是他們的HOMO，打紅勾的是他們的LUMO，他們的紫外光譜的λ max各別是165，217，258，290 nm。我們看到隨著linear conjugation system的雙鍵數的增加，HOMO-LUMO的energy gap就隨之減少。剛剛也提過，只要有兩個double bonds的conjugation，它的λ max就可以大於200 nm。λ max跟雙鍵的排列方式比較有關係，碳上面的取代機數目影響不大，像這裡多了一個methyl group，λ max還是在220左右。如果把CC double bond變成CO double bond，它是個Enone，λ max還是在220左右。不同的是，因為是含氧化物，所以會有*n*-π star transition，它的吸收波長是320nm。我們簡單的做個總結，參與conjugation的double bond是越多，HOMO-LUMO transition所需要的紫外光能量就不需要那麼高，波長就可以變長。

我們剛剛討論的是linear conjugation對UV吸收光譜的影響，接下來我們看看cyclic conjugation對UV吸收光譜的效應。還記得我們可以用4-circle畫benzene的cyclic *Ψ* system的分子軌跡連接，還記得原先是non-bonding orbitals的位置，它的上面是anti-bonding orbitals，下面是bonding orbitals。*Ψ* 2，*Ψ* 3是HOMO，*Ψ* 4 star，*Ψ* 5 star是LUMO。HOMO-LUMO transition需要的紫外光波長是203 nm。簡單的說，benzene的cyclic conjugation也可以在吸收光譜上面產生一個λ max大於200的吸收峰。

由上面討論我們知道conjugation的雙鍵越多，HOMO-LUMO transition的energy gap就越小，波長就越長。當雙鍵的數目大到一個程度，波長就可以進入可見光的範圍，我們就可以看到顏色。

我們舉β-carotene當作例子，你可以數數看它一共有11個雙鍵。進行conjugation之後，它吸收的λ max是455nm在藍光的範圍，所以我們會看到橘黃色。β-carotene是retinol的前驅物，從中間的雙鍵切開，可以得到兩個retinol屬於alcohol。剛剛講的Retinol是Vitamin A的vitamer，所謂vitamer是具有vitamin活性的結構。等一下會看到Vitamin A可以是alcohol也可以是aldehyde。這裡的化學變化大致出現在retinol，視網膜。我們可以從血液循環得到all-*trans* retinol，經過isomerase的作用得到11-*cis*-retinol，經由NAD-reductase的作用，氧化成11-*cis*-retinol。11-*cis*-retinol結合到opsin上面，形成rhodopsin。Rhodopsin是可以接收可見光的一種蛋白質，吸收光子後它變成了metarhodopsin II。經由光子吸收的能量，metarhodopsin II的11-*cis*-retinol轉變成all-*trans-*retinol。這樣的分子結構變化會讓metarhodopsin II變成可讓ion通過的ion channel誘發視覺神經傳導。之後metarhodopsin II會釋出all-*trans-*retinol，經過isomerase的作用得到11-*cis*-retinol回到visual cycle，也可以經由NAD-reductase的作用氧化成11-*cis*-retinol再從循環系統回來。我們來看一下剛剛講過的幾種vitamers的化學結構。這是trans (指all-*trans-*retinol)，一種alcohol。經過isomerase作用，再經過氧化會變成*cis*-aldehyde。aldehyde才能接在蛋白質上面，用的是imine間結。接受光子照射後會變成trans的結構打開channel誘發神經傳導，之後再分離成*trans-*isomer和蛋白質opsin。最後我們看一下怎麼用紫外光吸收的特性來做定量分析。我們先看absorbance的定義，它是入射光incident和穿透光transmission的比值，取log。Transmission越小比值就越大，absorbance就越大。而molar absorptivity，或叫做molar extinction coefficient，是標準化後化合物的特性的一個參數。ε等於absorbance除以molar concentration和path length。我們稍微調動一下，molar concentration就等於absorbance除以ε以及path length。我們這章節就講到這裡，謝謝大家。