

# ECZ 0412 FARMASÖTİK KİMYA IV LABORATUVARI

## KONU BAŞLIKLARI

1. UV SPEKTROFOTOMETRE
2. IR SPEKTROFOTOMETRE
3. MASS SPEKTROMETRE
4. NMR
5. KALİTATİF ANALİZ

# SPEKTROSKOPİ

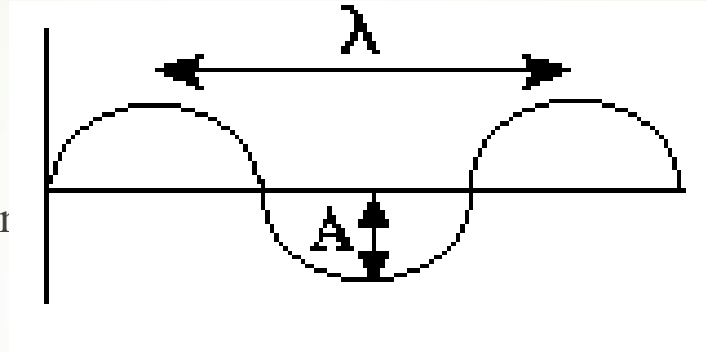
Spektroskopi, elektromagnetik radyasyon (ışınma) ile atom ve moleküller arasındaki etkileşmeyi inceler. Elektromagnetik ışımanın dalga ve parçacık özelliği vardır. Dalga olarak ele alındığında; ışımanın yayılması için bir ortam gerekli olup bu dalganın boyu, frekansı, hızı ve şiddeti vardır.

## Dalga boyu ( $\lambda$ ):

Birbirini izleyen iki dalga tepesi arasındaki uzunluktur. Birimi uzunluk birimidir. Dalga boyu mikron ( $\mu$ ), milimikron ( $m\mu$ ) veya Angstrom ( $\text{\AA}$ ) olarak verilir.

$$1\text{\AA} = 10^{-8}\text{cm} = 10^{-10}\text{m},$$

$$1m\mu = 10^{-7}\text{cm} = 10\text{\AA} = 1\text{nm}$$



## Frekans ( $\nu$ ):

Belli bir noktadan belli bir zamanda geçen dalga sayısı olup birimi  $\text{sn}^{-1}$ dir (1 Hertz=1 titreşim/sn). Işığın hızı ile frekansı ve dalga boyu arasındaki ilişki:

$$c = \lambda \cdot \nu$$

$$c = 3 \times 10^{10} \text{ cm/sn'dir (ışık hızı)}$$

Metrenin as katları			Metrenin katları		
Adı	Simgesi	Metreye çevirme çarpanı	Adı	Simgesi	Metreye çevirme çarpanı
Desimetre	dm	$10^{-1}$	Dekametre	dam	10
Santimetre	cm	$10^{-2}$	Hektometre	hm	$10^2$
Milimetre	mm	$10^{-3}$	Kilometre	km	$10^3$
Mikrometre	$\mu\text{m}$	$10^{-6}$	Megametre	Mm	$10^6$
Nanometre	nm	$10^{-9}$			
Angström	$\text{\AA}$	$10^{-10}$			

### **Dalga sayısı ( $\nu$ ):**

Bir santimetredeki dalga sayısı olup birimi  $\text{cm}^{-1}$ dir.

$$\nu = 1/\lambda$$

### **Dalga şiddeti (A):**

Sinüzoidal hareket eden dalganın apsisten uzaklığıdır.

### **Dalga periyodu ( $\tau$ ):**

Tam bir devir için gereken zaman olup birimi sn/devir'dir.  
Frekansın tersine eşittir.

$$\tau = 1/\nu$$

Işığın madde ile girişimi, ışığın parçacık özelliği ile açıklanır. Her parçacığın (foton) belli bir enerjisi vardır. Einstein-Planck formülüne göre;

$$E = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda \text{ dir.}$$

$$h = 6.63 \times 10^{-27} \text{ joul.sn/parçacık}$$

\*\*\* Buna göre bir ışığın enerjisi dalga boyu ile ters, frekansı ile doğru orantılıdır.

Maddeye gönderilen ışığın bir kısmı madde tarafından absorplanarak uyarılmış duruma geçer. Buna **absorpsiyon** denir.

Uyarılmış (eksite) durumdaki maddenin içerdiği fazla enerjiyi ışıma şeklinde vermesine ise **emisyon** denir.

# Elektromagnetik spektrum:



Bir molekülün toplam enerjisi çeşitli enerjilerin toplamıdır:

$$E_{\text{molekül}} = E_{\text{translasyon}} + E_{\text{elektronik}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{dönme}} + E_{\text{spin}} + E_{\text{diğer}}$$

Bu enerjilerden elektronik, titreşim, dönme ve spin enerjileri kuantlıdır. Yani bir molekül için iki enerji seviyesi arasındaki enerjiye eşdeğer bir enerji verildiğinde molekül bu enerjiyi absorplar. Buna **enerjinin kuantlı oluşu** denir.

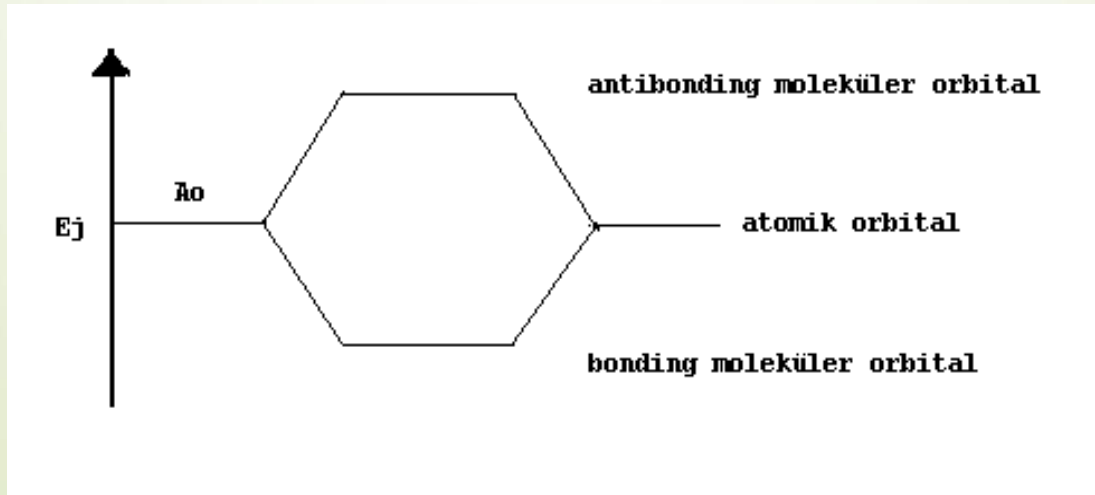


**$E_{\text{translasyon}}$** : Molekülün bir bütün olarak hareketi sonucu oluşan enerjidir. Molekül ve atomların elektronlarının sahip olduğu kinetik ve potansiyel enerjileri ile ilgilidir.

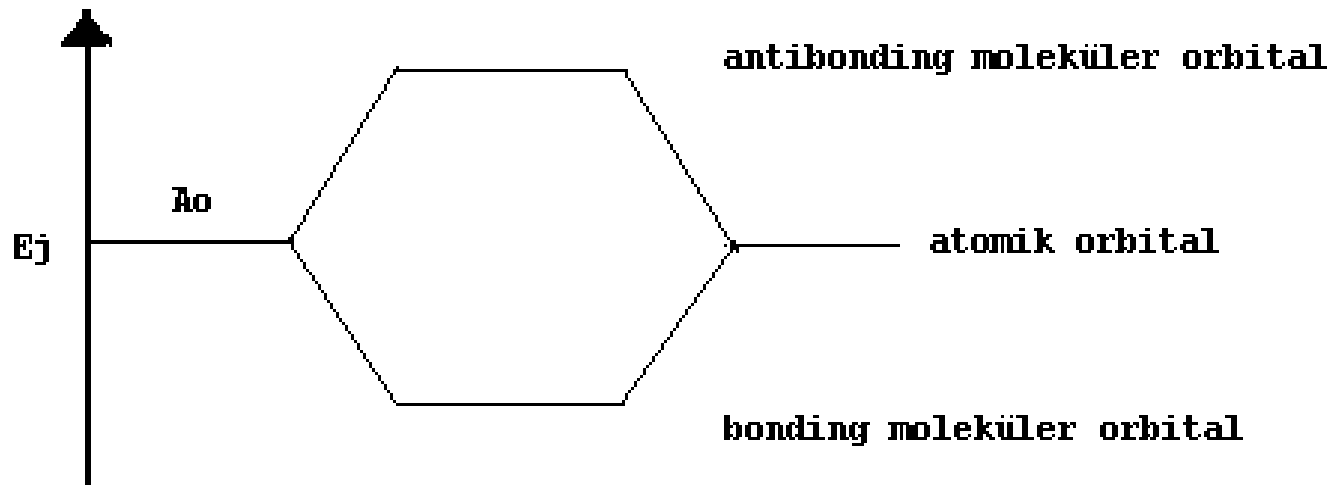
**$E_{\text{elektronik}}$** : İki atomik orbitalin birleşmesi ile bir kovalan bağ oluşurken iki moleküler orbital meydana gelir.

Bu orbitallerden biri düşük enerjili olup, sözü edilen bağı oluşturan elektronlar bu orbitaldedir. Antibonding orbital ise yüksek enerjilidir.

Bu iki enerji seviyesi arasındaki enerjiye eşit bir enerji moleküle verildiğinde, bonding orbitaldeki elektronlar antibonding moleküler orbitale yükselirler.



Bu elektronik enerji seviyesini değiştirmek için 5-10 eV'luk bir enerji gerekir. Bu ise UV ve görünür saha ışıma ile sağlanır.



### $E_{\text{titreşim}}$

Moleküldeki atom veya gruplar birbirlerine göre hareket ederler. Bu hareketle ilgili enerji; titreşim enerjisidir. Titreşim için gerekli enerji 0.1 eV olup bu IR ışıma ile sağlanır.

### $E_{\text{dönme}}$

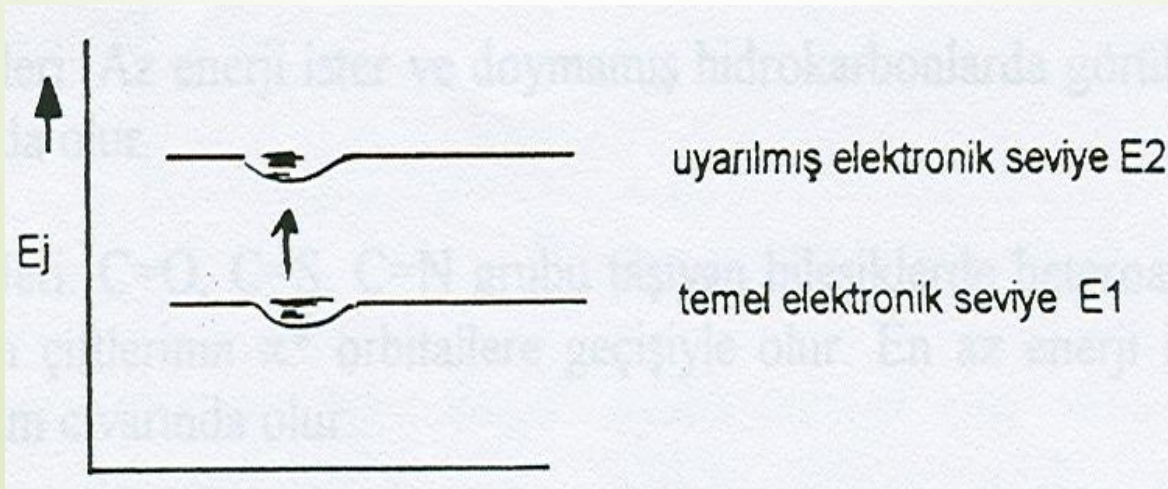
Molekülün eksenini etrafında dönmesi bu enerji ile açıklanır. Dönme için 0.005 eV'luk bir enerji gerekir. Bu enerji uzak IR ışıma ile sağlanır.

### $E_{\text{spin}}$

Çekirdek veya çiftleşmemiş elektronların magnetik alanda spin eksenini yönünün belli değerler almasıyla oluşur.

# ULTRAVİYOLE VE GÖRÜNÜR BÖLGE SPEKTROSKOPİSİ

Bir molekül elektromagnetik ışımaya tabi tutulursa, ışımamanın enerjisi molekülün elektronik enerji seviyesine eşit olduğu zaman, bu ışıma molekül tarafından absorplanarak elektronlar bir üst elektronik enerji seviyesine çıkar.



Bu olayın olabilmesi için absorplanan ışımının enerjisinin, bu iki seviye arasındaki enerji farkına eşit olması gerekir.

$$\Delta E = E_2 - E_1$$

*Işımanın enerjisi  $E = h \cdot \nu$  olduğu için*

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu \text{ yazılabilir.}$$

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

Enerji farkı ne kadar büyükse ışımanın dalga boyu o kadar küçüktür ( $\Delta E = h \cdot c / \lambda$ ) .

Absorpsiyon ve absorblanan frekans moleküler yapıya bağlıdır. Temel seviyedeki elektronlar ne kadar zayıf bağlı ve hareketli ise, absorpsiyon frekansı da o ölçüde küçük olur.





## Bir moleküldeki valans elektronlar 3 tiptir:

### **a) Sigma ( $\delta$ ) elektronlar:**

Doymuş hidrokarbonlarda monovalan bağları oluştururlar.

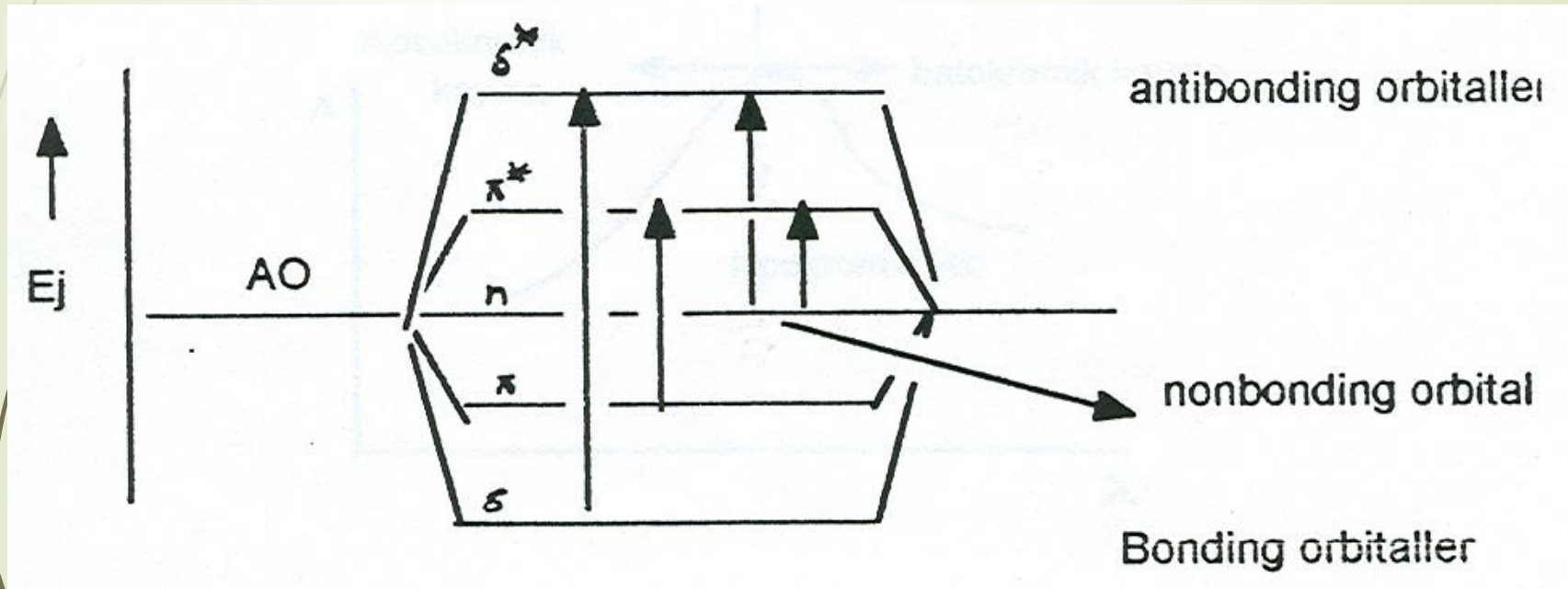
### **b) Pi ( $\pi$ ) elektronlar:**

Doymamış hidrokarbonlarda sigma bağlarıyla beraber etilenik bağları oluştururlar.

### **c) Nonbonding (n) elektronlar:**

Heteroatom taşıyan bileşikler sigma bağının yanı sıra bağ yapmamış n elektronlarına sahiptirler.

Bu elektronların elektromagnetik ışımaya karşı davranışları aşağıdaki şekilde görülmektedir.



Organik bileşiklerde UV ve görünür ışıma absorplanarak  $\delta$ ,  $\pi$  ve n elektronları üst enerji seviyelerine çıkmaktadır. Bu elektronların uyarılış seviyeleri \* ile gösterilir.

Bunlar  $\delta \rightarrow \delta^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$  ve  $n \rightarrow \delta^*$  geçişleridir ve geçişler için gerekli enerji sıralaması aşağıdaki gibidir.



### $\delta \rightarrow \delta^*$ geçişleri:

En yüksek enerji isteyen geçişlerdir.  $\lambda < 190$  nm olmalıdır. Doymuş hidrokarbonlarda görülür.

### $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri:

Az enerji ister ve doymamış hidrokarbonlarda görülür. Bu geçişler 200 nm civarında olur.

### $n \rightarrow \delta^*$ geçişleri:

Heteroatom içeren doymuş bileşiklerde  $\delta$  elektronlarına ilaveten ortaklaşmamış  $n$  elektronları vardır. Bunlar  $\delta^*$  antibonding orbitaline geçerler. Bu geçişe neden olan gruplar halojen, eter, tiyoeter, amin, hidroksil, sülfid gibi gruplardır.

## $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri:

C=O, C=S, C=N grubu taşıyan bileşiklerde heteroatom üzerindeki serbest elektron çiftlerinin  $\pi^*$  orbitallere geçişiyle olur. En az enerji isteyen geçişler olup 250-300 nm civarında olur.

Kromofor	Numune	Geçişler	$\lambda_{\text{maks}}$ , nm	Çözücü
C=C	Eten	$\pi \rightarrow \pi^*$	171	Hegzan
C $\equiv$ C	1-Hegzen	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	Hegzan
C=O	Etanal	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	290 180	Hegzan
N=O	Nitrometan	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	275 200	Etanol
C-X    X=Br X=I	Metil bromür Metil iyodür	$n \rightarrow \sigma^*$ $n \rightarrow \sigma^*$	205 255	Hegzan

## UV'de absorpsiyon bantları 4 tiptir:

Buroway harf sistemi olarak bilinir.

### **R Bandı:**

Karbonil ve nitro gibi tek bir kromofordaki  $n \rightarrow \pi^*$  geçişinden meydana gelir.  $\epsilon_{\text{maks}}$  değerleri 100'den küçüktür.

### **K Bandı:**

$\pi$ - $\pi$  konjüge bağıını içeren bileşiklerde  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişine ait bantlardır.  $\epsilon_{\text{maks}}$  değerleri 10000'den büyüktür.

## **B Bandı (Benzenoid bant):**

Aromatik ve hetero aromatik sistemlerde gözlenir.

## **E Bandı (Etilenik bant):**

Aromatik yapının karakteristik bantlarındandır.  $\epsilon$  değerleri 2000-14000 arasındadır.



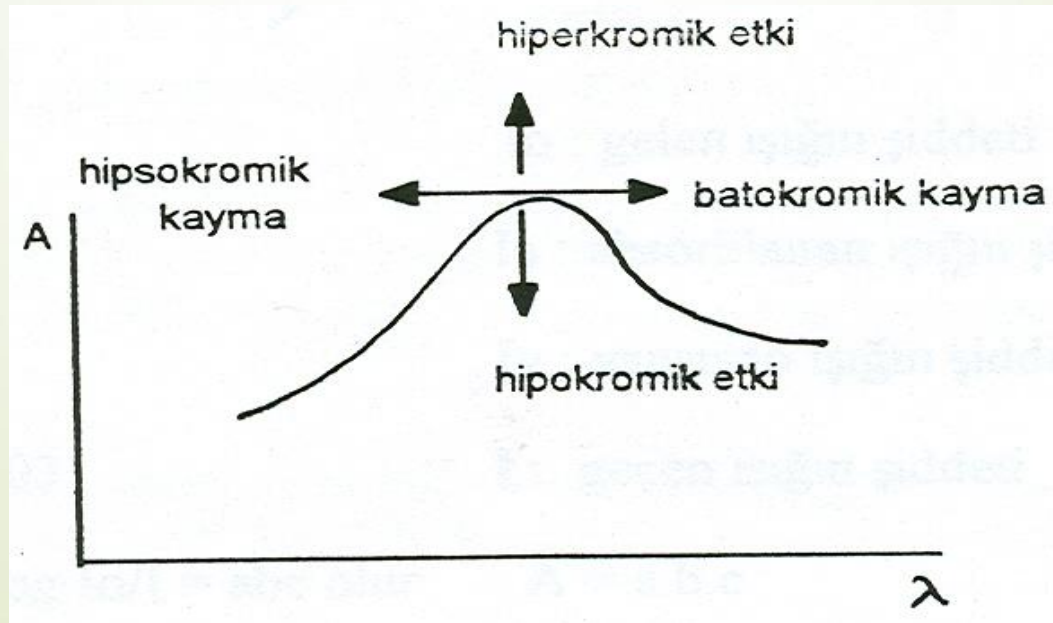
UV ve görünür bölgede absorpsiyon gösteren ve  $\pi$  elektronları veya ortaklaşmamış elektron içeren fonksiyonel gruplara **kromofor** denir.

(-C=C-, C=O, C=N-, fenil vb.)

Yalnız başına absorpsiyonu olmadığı halde belli kromoforik gruplarla birleştğinde absorpsiyon gösteren gruplara **yardımcı kromofor** yada **oksokrom gruplar** denir.

(-OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -OR, -X).

Absorpsiyonun çözücü ve sübstitüent etkisiyle daha uzun dalga boyuna kaymasına **batokromik kayma**, daha kısa dalga boyuna kaymasına **hipsokromik kayma** denir. Absorpsiyon şiddetinin artışına **hiperkromik etki**, azalmasına **hipokromik etki** denir.



## Shifting of $\lambda_{max}$

### 1- Bathochromic shift (or red shift)

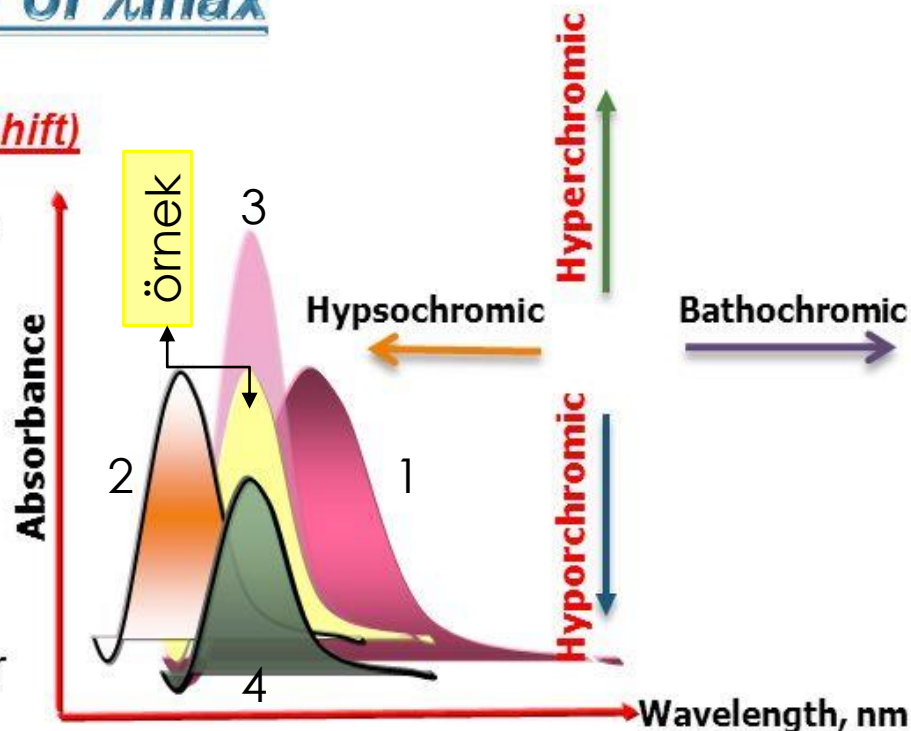
It is the shift of  $\lambda_{max}$  to a longer wavelength due to substitution with certain functional groups (e.g.  $-\text{OH}$  and  $-\text{NH}_2$ ) and conjugation

### 2- Hypsochromic shift (or blue shift)

It is the shift of  $\lambda_{max}$  to a shorter wavelength due to removal of conjugation

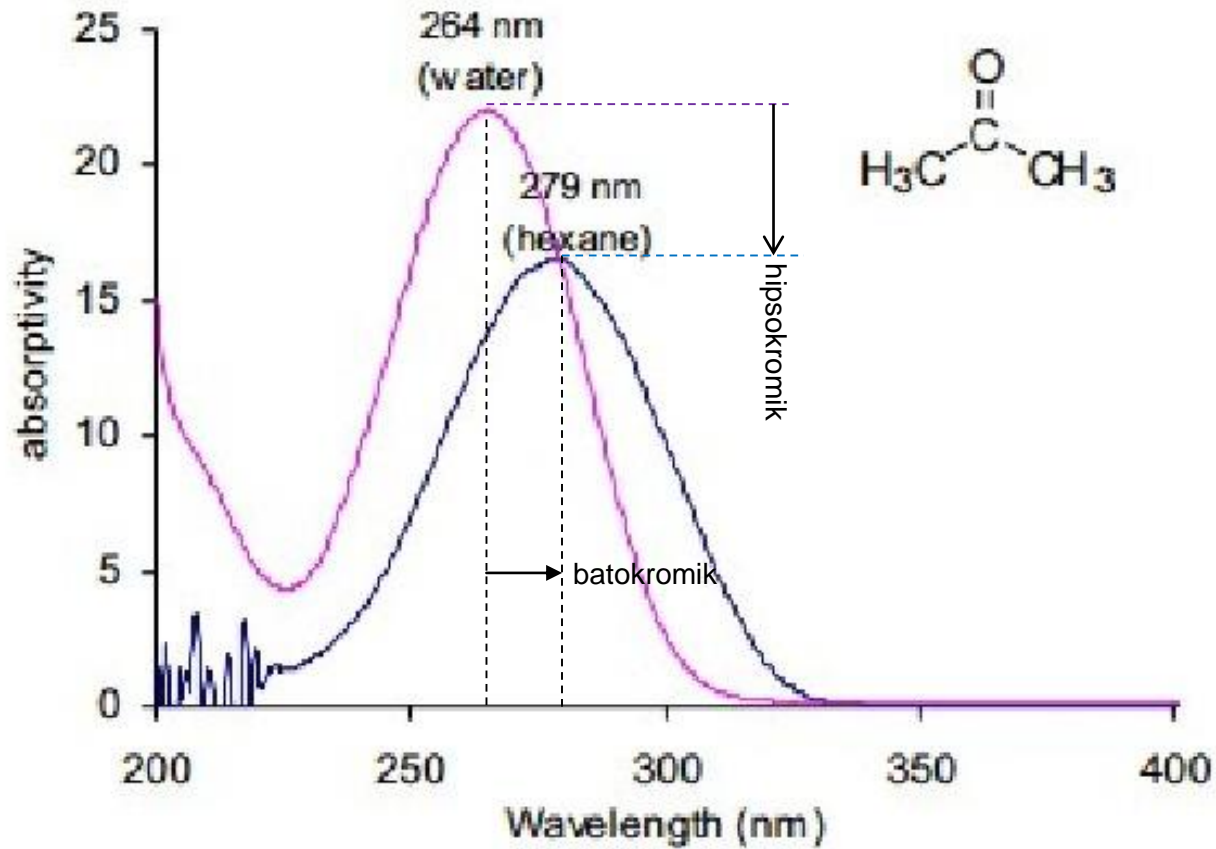
### 3- Hyperchromic effect (or shift)

This effect involves an increase in the intensity of absorption. It is usually brought about by introduction of an auxochrome.



### 4- Hypochromic effect (or shift)

It involves a decrease in the intensity of absorption



*UV-spectra of acetone in hexane and in water*

$\lambda_{maks}$ 'a etki eden faktörler şunlardır:

- a) Solvanın cinsi,
- b) Kromoforun geometrisi,
- c) Sübstitüent etkisi.

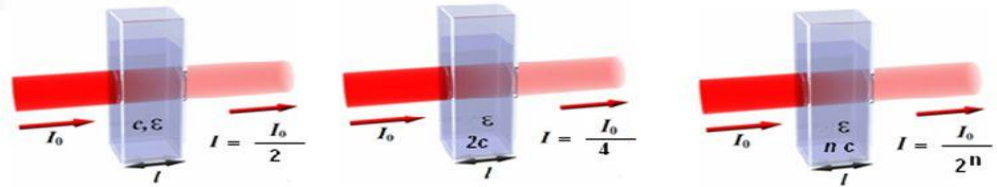
Bir maddenin yapısı çok kompleks olmasına karşı UV spektrumu o kadar kompleks olmayabilir. UV spektrumu analiz edilen maddede bazı grupların bulunduğu hakkında bazı fikirler verirse de bileşiğin tam teşhisini yapmada yetersizdir.

Absorpsiyon olayından özellikle **kantitatif analizde** sıklıkla yararlanılır.

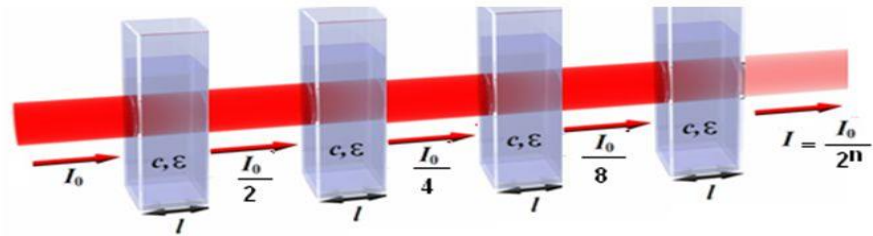
Tek dalga boyuna sahip ışık (monokromatik) bir çözeltiden geçtiğinde ışık şiddetindeki azalma; ışımının şiddeti ( $I$ ), ışığı absorbe eden maddenin konsantrasyonu ( $c$ ) ve ışığın geçtiği çözelti tabakasının uzunluğu ( $b$ ) ile orantılıdır.

Bu **Lambert-Beer** kanunu olarak bilinir.

### ■ Beer Kanunu



### ■ Lambert Kanunu



### Lambert – Beer Yasası

- Absorbans ile konsantrasyon arasındaki ilişkiyi açıklar.

$$A = k \cdot l \cdot C$$

- Konsantrasyon mol/L cinsinden (M) veriliyorsa, k katsayısı  $\epsilon$  ile gösterilir, (molar absorbtivite)
- $\epsilon$  maddenin cinsine ve dalga boyuna bağlıdır.

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C$$

absorbans

molar absorbtivite

yol

molar konsantrasyon



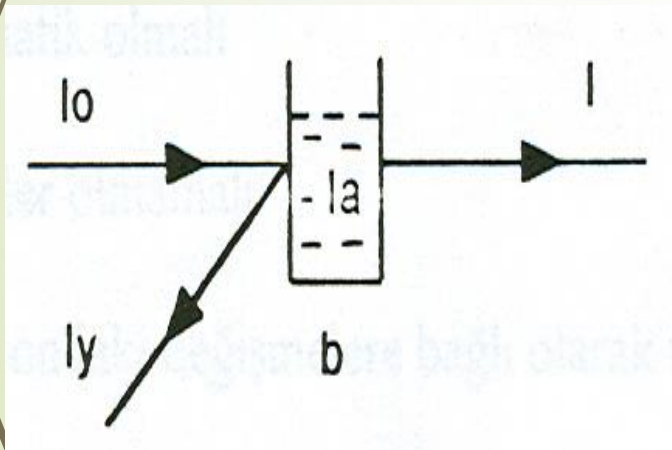
$$A = \log I_0/I = -\log T = a \cdot b \cdot c$$

▣  $\log I_0/I \rightarrow$  Absorbans (A)

▣  $I/I_0 \rightarrow$  Transmittans (T)

➤ Eğer c molar konsantrasyon, b cm olarak verilirse;

➤ a **molar absorptivite** olup  $\epsilon$  ile gösterilir ve **ekstinksiyon katsayısı** olarak da adlandırılır.



$I_0$ : Gelen ışığın şiddeti

$I_a$ : Absorblanan ışığın şiddeti

$I_y$ : Yansıyan ışığın şiddeti

$I$ : Geçen ışığın şiddeti



## Bazı gruplar için $\epsilon$ değeri şöyledir:

Çifte bağ: 170-178 nm ( $\epsilon$ : 10.000-20.000)  
185-205 nm ( $\epsilon$ : 100-1200) }  $\pi \rightarrow \pi^*$

Üçlü bağ: 170-178 nm ( $\epsilon$ : 6.000-10.000)  
185-195 nm ( $\epsilon$ : 100-1200)  
223 ( $\epsilon$ : 500) }  $\pi \rightarrow \pi^*$

Fenil grubu: 200-210 nm ( $\epsilon$ : 2.000-8.000)  
250-265 nm ( $\epsilon$ : 150-250) }  $\pi \rightarrow \pi^*$

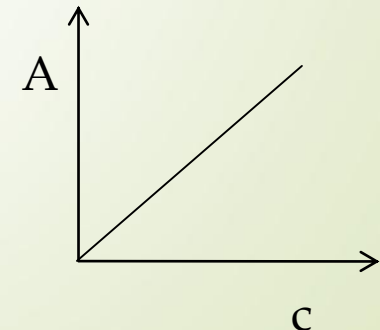
Alkol: 180-185 nm ( $\epsilon$ : 500)  $\rightarrow n \rightarrow \delta^*$

Karbonil: 150-160 nm ( $\epsilon$ : 500)  $\rightarrow n \rightarrow \pi^*$

Belli konsantrasyonlarda madde çözeltisinin  $\lambda_{\text{maks}}$ 'da değişen konsantrasyonlardaki çözeltisinin absorbansı ölçülüp grafiklenirse orjinden geçen bir eğri elde edilir. Bu ideal bir Lambert-Beer eğrisidir. Bu doğrunun denklemi,

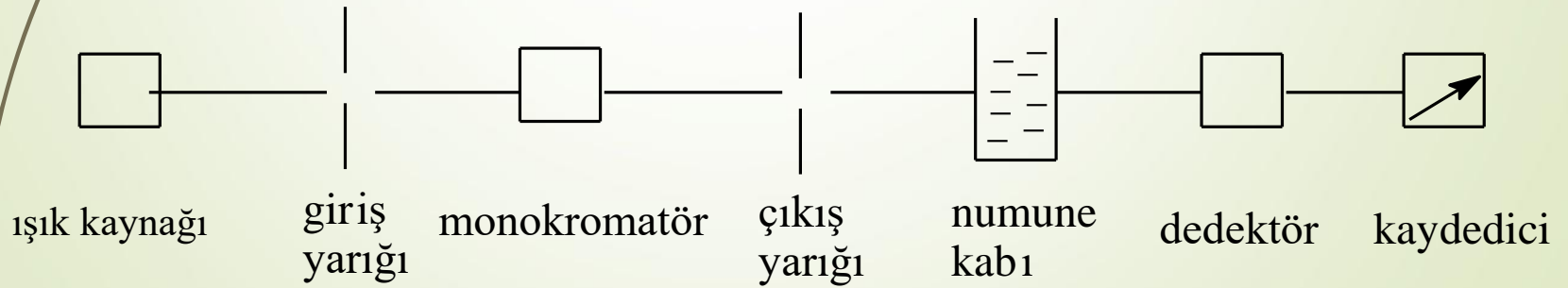
$$y = ax + b \text{ olup}$$

- ▣ (b) doğrunun y eksenini kestiği nokta,
- ▣ (a) ise doğrunun eğimidir.



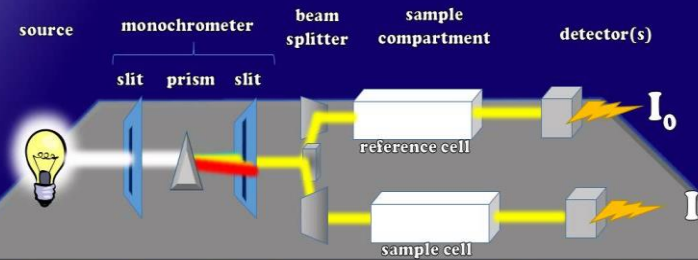
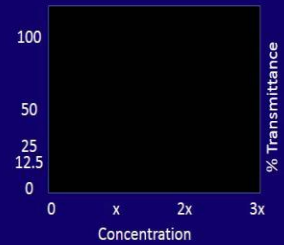
## Kullanılan Cihaz

Spektrumların alınmasında spektrofotometrelerden yararlanılır. Spektrofotometreler tek ışın veya çift ışın demetli olabilir. Tüm spektrofotometreler benzer kısımlara sahiptir. Fakat çalışılan dalga boyuna göre bazı farklılıklar gösterirler.



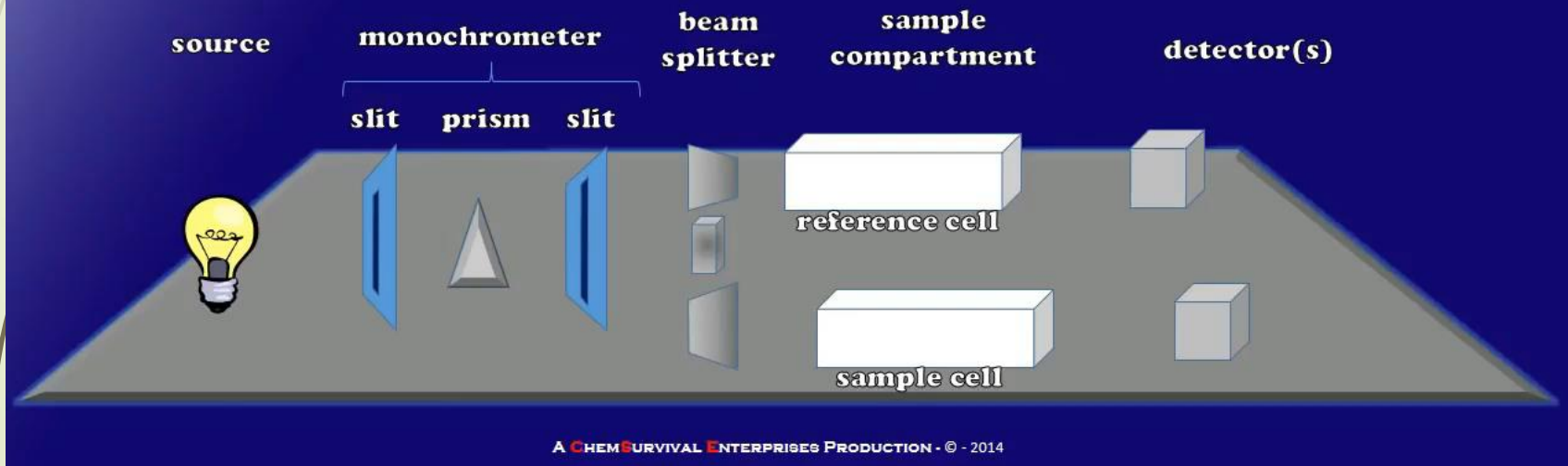
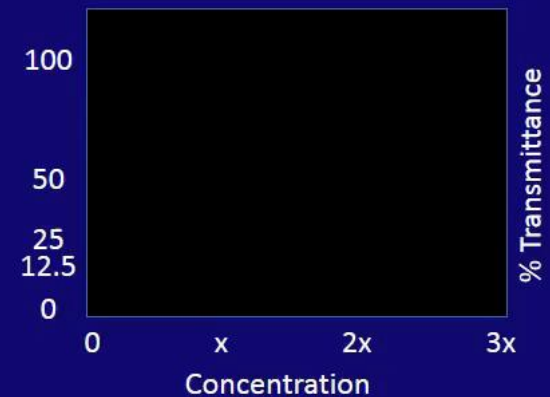


## UV-visible Spectroscopy and the Beer-Lambert Law



A CHEM SURVIVAL ENTERPRISES PRODUCTION • © 2014

## UV-visible Spectroscopy and the Beer-Lambert Law



## **Işık kaynakları:**

Görünür bölgede tungsten lambaları, UV bölgede hidrojen deşarj tüpleri kullanılır.

## **Monokromatörler:**

Polikromatik ışığı monokromatik ışın haline dönüştürür. Bu amaçla kuartz prizmalar ve diffraksiyon şebekeleri kullanılır.

## Numune kabı:

Görünür bölgede cam, UV bölgede kuartz kaplar kullanılır.

## Dedektörler:

Numuneden geçen ışını başka bir enerjiye dönüştüren düzeneklerdir.  
UV ve görünür bölgede kullanılan dedektörler iki tiptir.

- Fotomultiplier dedektörler: Işımanın enerjisini elektrik enerjisine çevirirler.
- Fotovoltaik dedektörler: Foton çarpması sonucu oluşan voltaj değişimini ölçerler.

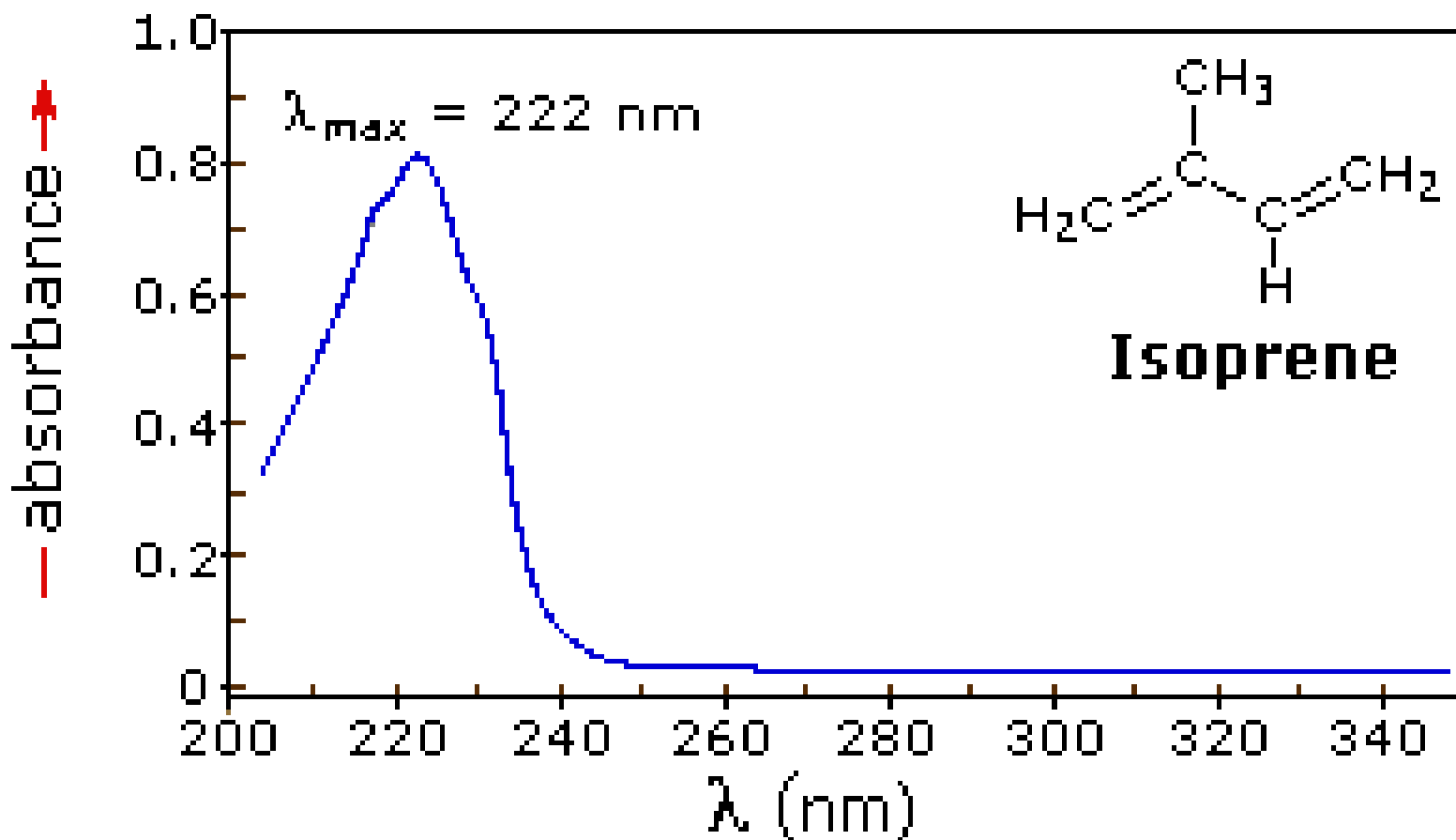
## Uygulama Alanları:

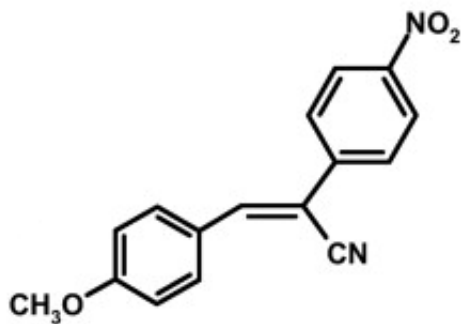
1. Yapı tayininde: Özellikle kromofor grupların varlığını saptamada,
2. Kalitatif amaçla bilinmeyen maddenin spektrumunun bilinen ile karşılaştırılmasında,
3. Kantitatif amaçla,
4. Stereokimyasal ve geometrik izomeri çalışmalarında, reaksiyon kinetiği çalışmalarında ve denge sabiti bulunmasında kullanılır.



# KAYNAKLAR

1. Dr. Oya UNSAL TAN – Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya A.B.D.
2. National Institute of Standards and Technology (NIST) -  
... <https://www.nist.gov>





3-(4-Methoxy-phenyl)-2-(4-nitro-phenyl)-acrylonitrile)

Experimental UV-VIS spectrum

