



**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ
(ΠΕΓΑ)**

«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»

ΟΠΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Εισαγωγή

Πρόδρομος της ενόργανης ανάλυσης είναι η φασματοσκοπία, που αναπτύχθηκε την δεκαετία του 1850 από τους Γερμανούς Kirchoff και Bunsen. Η αρχή της λειτουργίας του φασματοσκοπίου βασίζεται στην ανάλυση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας από το δείγμα, όταν αυτό θερμαίνεται. Το λαμβανόμενο φάσμα εκπομπής αποτελεί ένα είδος δακτυλικού αποτυπώματος του υπό ανάλυση δείγματος, καθώς κάθε στοιχείο κατά τη διέγερσή του με θέρμανση εκπέμπει ακτινοβολία ορισμένου μήκους κύματος. Κατ' αυτό τον τρόπο ανακαλύφθηκαν πολλά νέα στοιχεία όπως το ήλιο, που αποτελεί βασικό συστατικό του ήλιου (He) και του οποίου η παρουσία διαπιστώθηκε κατά την διάρκεια έκλειψης ηλίου το 1868. Έπρεπε όμως, να περάσουν 27 ακόμη χρόνια μέχρι να ανακαλυφθεί η παρουσία του ηλίου (He) και στη Γη, ως προϊόν ραδιενεργού διάσπασης.

Με την ανάπτυξη της ηλεκτρονικής, από το 1930, έγινε δυνατή η συσχέτιση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας με την ποσότητα του δείγματος. Αυτό απετέλεσε την αρχή των ποσοτικών προσδιορισμών και τη γέννηση διαφόρων οπτικών τεχνικών ανάλυσης, όπως της φλογοφωτομετρίας και της φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης.

Γενικεύοντας, οι **οπτικές τεχνικές ανάλυσης** είναι ένα σύνολο τεχνικών στις οποίες μετράται η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που πηγάζει από την ύλη (άτομα, μόρια ή ιόντα) ή αλληλεπιδρά με αυτήν. Από τις τεχνικές αυτές θα περιοριστούμε σε αυτές που βασίζονται στην απορρόφηση ή την εκπομπή της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι μια μορφή ενέργειας που έχει ιδιότητες σωματιδίου και κύματος. Χαρακτηρίζεται από το μήκος κύματος, λ , που ορίζεται ως η απόσταση μεταξύ δύο γειτονικών κορυφών. Η συχνότητα, ν , είναι ο αριθμός των κυμάτων που διέρχονται από ένα σημείο στη μονάδα του χρόνου. Η συχνότητα και το μήκος του κύματος συνδέονται με τη σχέση:

$$\nu = c/\lambda$$

όπου, c η ταχύτητα του φωτός στο κενό που είναι $3 \cdot 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$

Ο κυματαριθμός, $\bar{\nu}$, ορίζεται:

$$\bar{\nu} = 1/\lambda$$

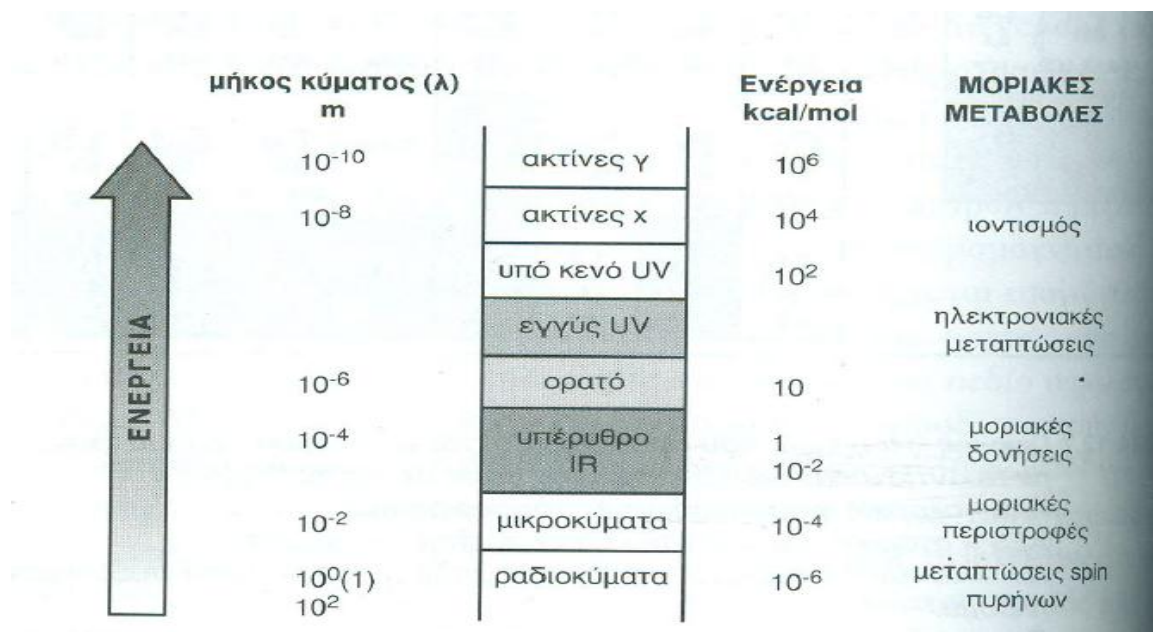
Για την κατανόηση του φαινομένου απορρόφησης και της εκπομπής της ακτινοβολίας, βασιζόμαστε στο σωματιδιακό χαρακτήρα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Δηλαδή, η ακτινοβολία αποτελείται από φωτόνια των οποίων η ενέργεια είναι κβαντισμένη και δίνεται από την εξίσωση Planck:

$$E = h\nu$$

Όπου, E η ενέργεια των φωτονίων και h σταθερά Planck που ισούται με $6,626 \cdot 10^{-27} \text{ erg s}^{-1}$

Απορρόφηση ακτινοβολίας έχουμε όταν μεταφέρεται ενέργεια από τη δέσμη ακτινοβολίας στο δείγμα. Το δείγμα (άτομο ή μόριο) μπορεί να δεχτεί ορισμένα μόνο ποσά ενέργειας (κβάντα), που προκαλούν τη διέγερση από μια ενεργειακή στάθμη σε μια άλλη. Οι διεγέρσεις αυτές είναι πολλών ειδών ανάλογα με τη συχνότητα της ακτινοβολίας, όπως ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις από ένα τροχιακό σε ένα άλλο μεγαλύτερης ενέργειας, περιστροφή ή παραμόρφωση μορίων κλπ (σχήμα).

Εκπομπή ακτινοβολίας έχουμε όταν αποβάλλεται ενέργεια από το δείγμα που είναι σε διεγερμένη κατάσταση υπό μορφή φωτονίων, ώστε να επιστρέψει στη θεμελιώδη του κατάσταση ή σε χαμηλότερης στάθμης ενέργεια.



ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

Εισαγωγή

Η μοριακή φασματοσκοπία απορρόφησης στην οπτική (υπέρυθρη, ορατή και υπεριώδη) περιοχή επινοήθηκε για να καλύψει κυρίως την ανάγκη για μοριακή ανάλυση. Όμως με τις τεχνικές αυτές μπορούν επίσης να προσδιοριστούν πολλά κατιόντα και ανιόντα, παρ' όλο που αυτό καθ' αυτό τα ιόντα ελάχιστα απορροφούν την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Οι προσδιορισμοί αυτοί επιτυγχάνονται έμμεσα με τη βοήθεια οργανικών αντιδραστηρίων που σχηματίζουν με τα ιόντα ενώσεις με ικανότητα απορρόφησης της ακτινοβολίας. Στη λογική αυτή στηρίζονται και οι προσεγγιστικοί προσδιορισμοί μετάλλων με λωρίδες χαρτιού (test strips) εμποτισμένες με κατάλληλα αντιδραστήρια π.χ. προσδιορισμός της σκληρότητας νερού.

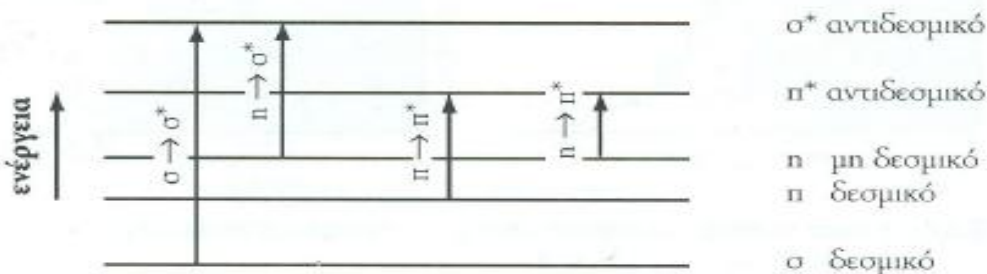
Ένα μοριακό σύστημα χαρακτηρίζεται από την ενεργειακή του κατάσταση με βάση την ηλεκτρονιακή του δομή, την ενέργεια δόνησης και περιστροφής των ατόμων από τα οποία συγκροτείται. Με την επίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας τα μόρια έχουν τη δυνατότητα να απορροφήσουν ενέργεια και να διεγερθούν (μοριακή φασματοσκοπία απορρόφησης). Αυτή η διεγερμένη κατάσταση διαρκεί συνήθως 10^{-8} s. Κατά την αποδιέγερση, το μόριο

ακτινοβολεί προς όλες τις κατευθύνσεις, με συχνότητα ίδια ή μικρότερη της ακτινοβολίας που απορροφήθηκε (φασματοσκοπία μοριακής εκπομπής-φθορισμομετρία). Τα μοριακά φάσματα, είτε με απορρόφηση είτε με εκπομπή, μπορούν να συσχετιστούν με την ποιοτική ή ποσοτική σύσταση του δείγματος.

Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-VIS)

Η φασματοσκοπία UV-VIS αναφέρεται στην απορρόφηση μονοχρωματικής ακτινοβολίας από τα συστατικά του δείγματος στην περιοχή UV (190-400 nm) και την ορατή περιοχή (400-780 nm). Τα φάσματα UV-VIS δε χαρακτηρίζουν συνολικά το μόριο, αλλά δίνουν πληροφορίες για ορισμένες μόνο ομάδες του μορίου (χρωμοφόρες ομάδες) που απορροφούν ακτινοβολία. Με την απορρόφηση υπεριώδους και ορατής ακτινοβολίας προκύπτουν ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις σε μοριακά τροχιακά υψηλότερης ενέργειας όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.

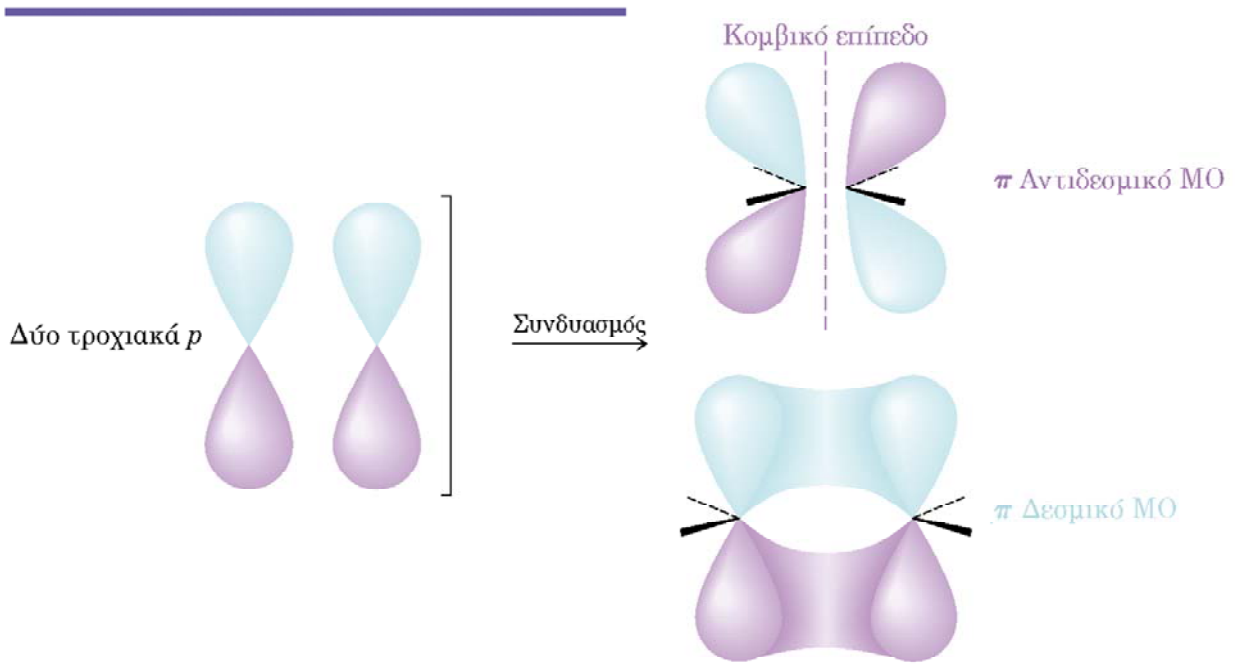
χρωμοφόρος ομάδα	ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις	λ_{\max} / nm
-C-C-	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
-O-	$n \rightarrow \sigma^*$	185
-N-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
-S-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
>C=O	$\pi \rightarrow \pi^*$	190
	$n \rightarrow \pi^*$	300
>C=C<	$\pi \rightarrow \pi^*$	190



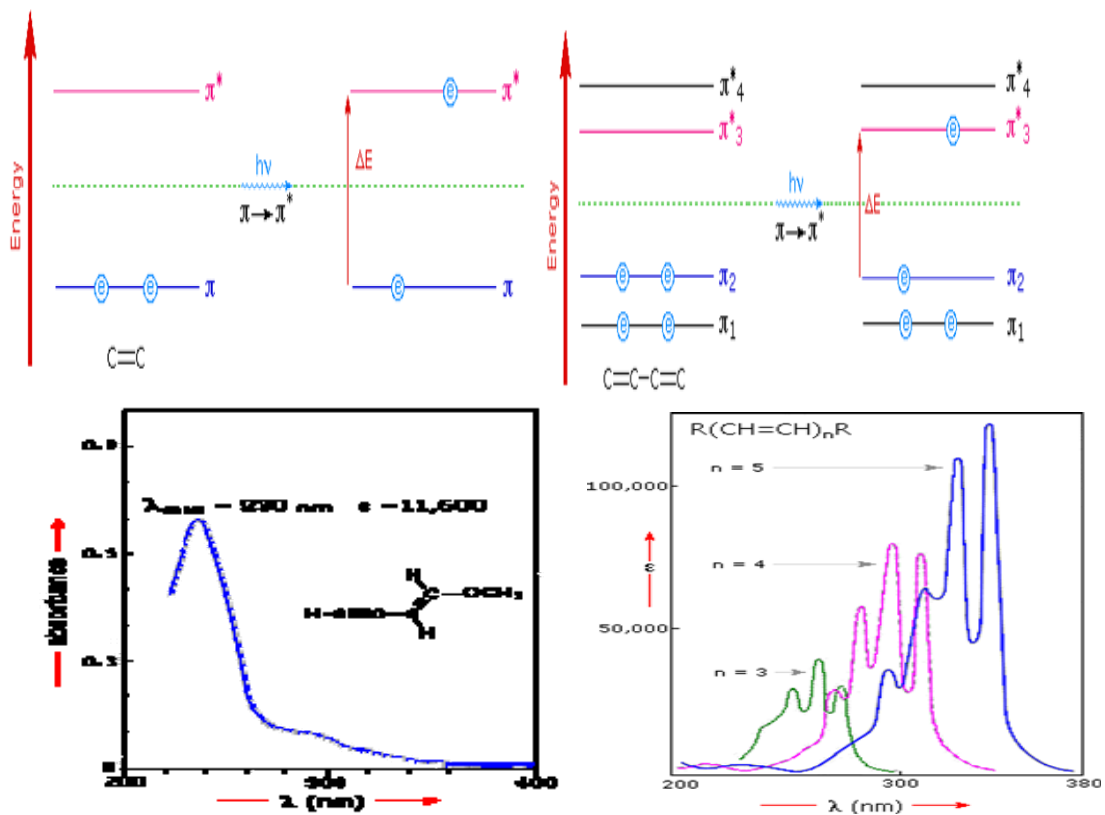
Η ποσότητα ενέργειας μιας μετάβασης και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας που απορροφάται είναι χαρακτηριστική ιδιότητα των ατόμων μιας ομάδας και

όχι μόνο των ηλεκτρονίων των δεσμών. Η ομάδα των ατόμων που συμβάλλει σε μια τέτοια απορρόφηση καλείται χρωμοφόρος ομάδα (chromophore).

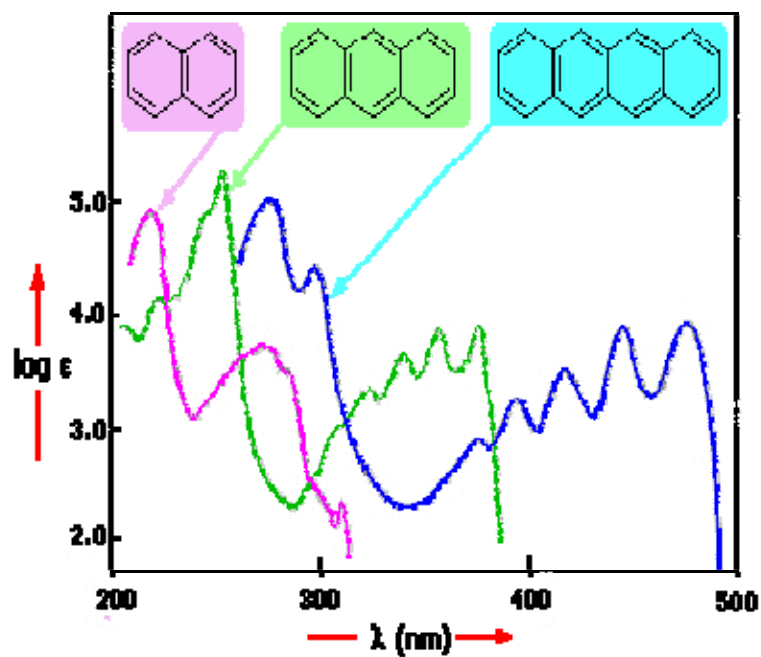
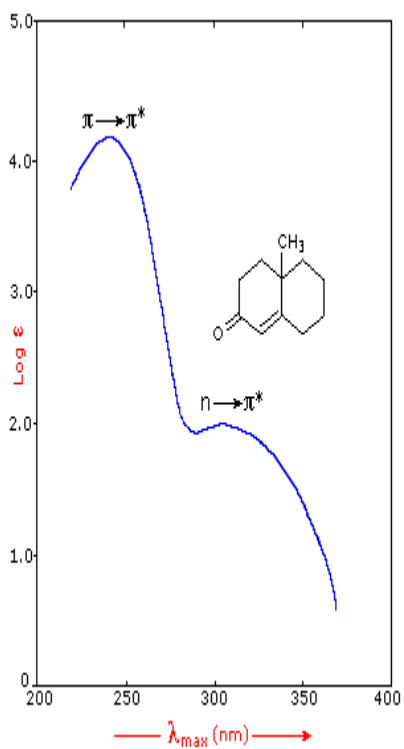
χρωμοφόρος ομάδα	ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις	λ_{\max} / nm
-C-C-	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
-O-	$n \rightarrow \sigma^*$	185
-N-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
-S-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
>C=O	$\pi \rightarrow \pi^*$	190
	$n \rightarrow \pi^*$	300
>C=C<	$\pi \rightarrow \pi^*$	190



Σχήμα 1.19 Μια περιγραφή μοριακών τροχιακών του π δεσμού C–C . Το π δεσμικό ΜΟ είναι αποτέλεσμα ενός προσθετικού συνδυασμού ατομικών τροχιακών και είναι κατειλημμένο. Το π αντιδεσμικό ΜΟ είναι αποτέλεσμα ενός αφαιρετικού συνδυασμού ατομικών τροχιακών και είναι κενό.



Chromophore	Example	Excitation	λ_{\max} , nm	ϵ
C=C	Ethene	$\pi \rightarrow \pi^*$	171	15,000
C \equiv C	1-Hexyne	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	10,000
C=O	Ethanal	$n \rightarrow \pi^*$	290	15
		$\pi \rightarrow \pi^*$	180	10,000
N=O	Nitromethane	$n \rightarrow \pi^*$	275	17
		$\pi \rightarrow \pi^*$	200	5,000
C-X	X=Br Methyl bromide	$n \rightarrow \sigma^*$	205	200
	X=I Methyl Iodide	$n \rightarrow \sigma^*$	255	360



Κάθε ένωση που απορροφά στην ορατή περιοχή (400-800 nm) εμφανίζεται έγχρωμη. Η κάθε ουσία απορροφά σε συγκεκριμένο μήκος κύματος, ενώ ο ανθρώπινος οφθαλμός ανιχνεύει την ακτινοβολία η οποία δεν απορροφάται.

Στη φασματοφωτομετρία απορρόφησης μετρείται η απορρόφηση (A) ή η διαπερατότητα (T) του δείγματος και με βάση τις μετρήσεις αυτές επιτελείται η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση.

Σύμφωνα με το νόμο απορρόφησης των Lambert-Beer έχουμε:

$$A = -\lg T = -\lg(P/P_0) = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Όπου,

A = η απορρόφηση (absorbance)

T = η % διαπερατότητα (transmittance) του δείγματος (εκφράζει το κλάσμα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας που εξέρχεται από το δείγμα, $P/P_0 \cdot 100\%$)

P_0 = η ισχύς της μονοχρωματικής ακτινοβολίας που προσπίπτει στο διάλυμα

P = η ισχύς της ακτινοβολίας που εξέρχεται από το διάλυμα

b = το μήκος της διαδρομής της ακτινοβολίας στο διάλυμα

c = η συγκέντρωση της ουσίας που αναλύεται

ϵ = η μοριακή απορροφητικότητα της ουσίας

Ο νόμος ισχύει υπό τις εξής προϋποθέσεις:

- 1) Η ακτινοβολία είναι μονοχρωματική.
- 2) Ο μόνος μηχανισμός αλληλεπίδρασης ηλεκτρομαγνητικής ουσίας και δείγματος είναι η απορρόφηση.
- 3) Τα σωματίδια που απορροφούν δρουν ανεξάρτητα το ένα από το άλλο.
- 4) Η απορρόφηση γίνεται σε όγκο διαλύματος ομοιόμορφης διατομής.

Ο νόμος δεν ισχύει όταν $c > 0.01 \text{ M}$

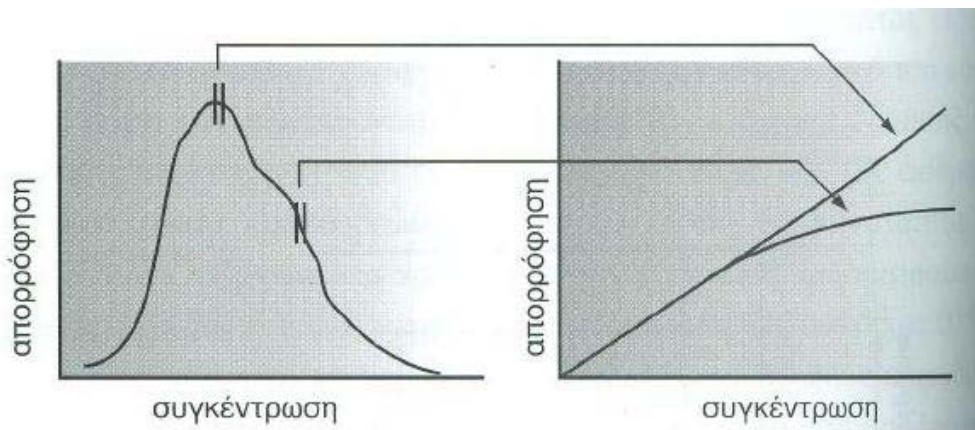
Η απεικόνιση του A ή T σε συνάρτηση με το μήκος κύματος (λ) ονομάζεται φάσμα απορρόφησης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση ορισμένων χαρακτηριστικών ομάδων (χρωμοφόρων ομάδων) στο μόριο της ουσίας που αναλύεται.

Στη φασματοφωτομετρία UV-VIS επιτυγχάνεται:

1. Ποιοτική ανάλυση με βάση το φάσμα απορρόφησης
2. Ποσοτική ανάλυση με βάση την απορρόφηση του δείγματος, συνήθως στο λ_{\max} , με βάση το νόμο των Lambert-Beer και τη χρήση πρότυπων διαλυμάτων.

Η φασματοφωτομετρία μοριακής απορρόφησης UV-VIS υπεριώδους και ορατού χρησιμοποιείται κυρίως για ποσοτικούς προσδιορισμούς, αφού τα φάσματα δίνουν πληροφορίες για ορισμένες μόνο ομάδες (χρωμοφόρες) και δεν χαρακτηρίζουν το μόριο ως σύνολο.

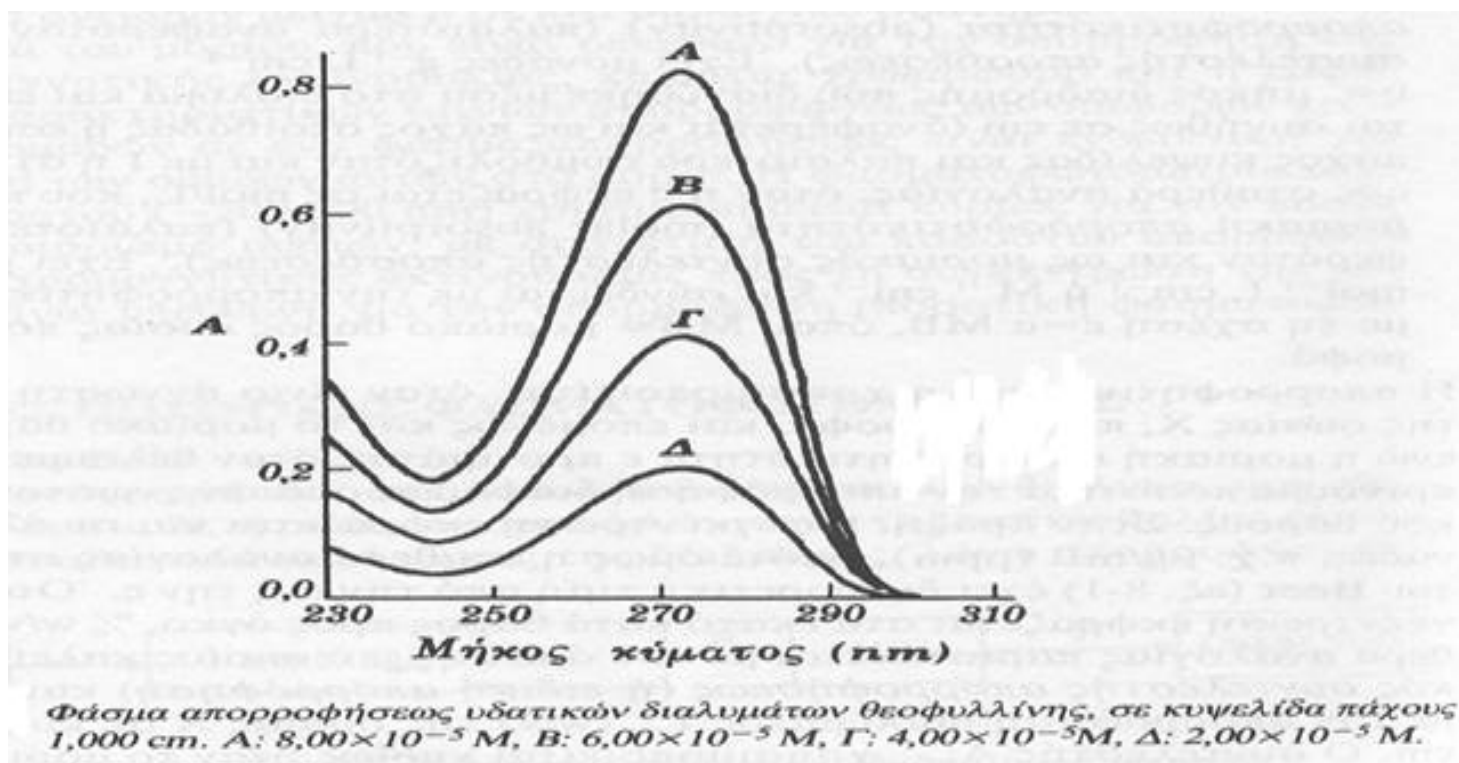
Η επιλογή του μήκους κύματος για την ποσοτική ανάλυση γίνεται στην περιοχή του φάσματος όπου η προσδιοριζόμενη ουσία έχει τη μέγιστη απορρόφηση λ_{\max} . Στην περιοχή αυτή έχουμε τη μέγιστη ευαισθησία, ενώ η σχέση απορρόφησης- συγκέντρωσης έχει μεγάλη γραμμική περιοχή, όπως φαίνεται στο σχήμα.



Στην περιοχή του λ_{\max} η τιμή της μοριακής απορροφητικότητας, ϵ , παραμένει σταθερή, οπότε μπορεί να εφαρμοστεί ο νόμος των Lambert-Beer.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται συνήθως στο γραμμικό μέρος της καμπύλης αναφοράς, απορρόφηση ακτινοβολίας-συγκέντρωση ουσίας, χρησιμοποιώντας μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων.

Η απεικόνιση του A ή T σε συνάρτηση με το μήκος κύματος (λ) ονομάζεται φάσμα απορρόφησης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ταυτοποίηση (ποιοτική ανάλυση).

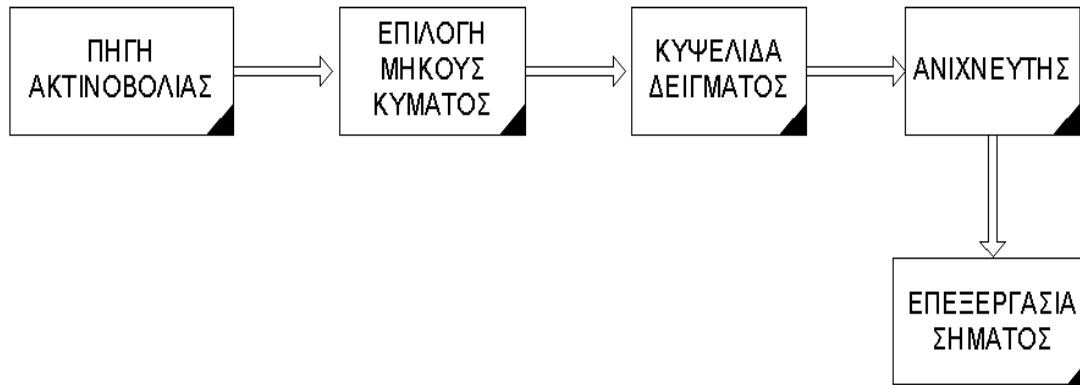


Τα φάσματα δεν χαρακτηρίζουν συνολικά το μόριο

Μόνο στην περιοχή λ_{\max} μπορεί να εφαρμοσθεί ο νόμος Lambert – Beer, διότι μόνο εκεί η τιμή της ϵ (α) παραμένει σταθερή.

Οργανολογία

Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζονται τα βασικά τμήματα ενός φασματομέτρου ορατής υπεριώδους ακτινοβολίας απλής (μονής) δέσμης.



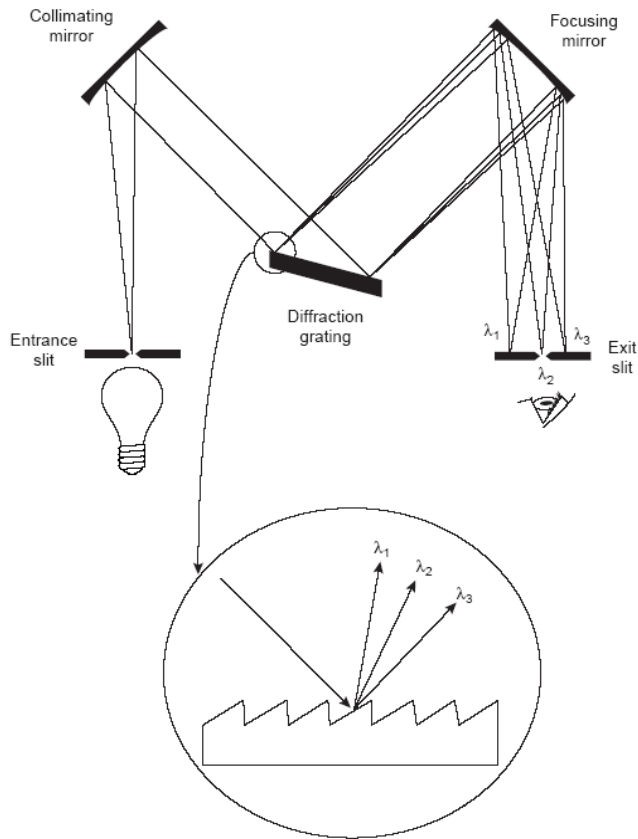
Πηγή ακτινοβολίας

Για την περιοχή του υπεριώδους χρησιμοποιούνται συνήθως λυχνίες εκκένωσης υδρογόνου ή δευτερίου με περίβλημα χαλαζία ή υάλινο με παράθυρο χαλαζία που εκπέμπει συνεχή (160-340nm) και γραμμική ακτινοβολία. Για την περιοχή του ορατού, χρησιμοποιούνται συνήθως λυχνίες πυράκτωσης με νήμα βολφραμίου (320–2400 nm) σε υάλινο υπό κενό περίβλημα με μικρή ποσότητα ιωδίου.

Επιλογή μήκους κύματος

Η απομόνωση της επιθυμητής στενής περιοχής μηκών κύματος από τη συνεχή πολυχρωματική ακτινοβολία που εκπέμπει η πηγή, επιτυγχάνεται με (υάλινα) **φίλτρα**, τα οποία απομονώνουν περιοχές 20-50 nm. Η απομόνωση μιας μονοχρωματικής ακτινοβολίας μπορεί να γίνει ακριβέστερα (πλάτος ζώνης 0,01 nm) με *μονοχρωμάτορες* πρίσματος (χαλαζία) ή φράγματος. Με τους τελευταίους να διαθέτουν χαμηλότερο κόστος, σταθερό βαθμό μονοχρωματικότητας, μεγαλύτερη διαχωριστική ικανότητα ενώ η ισχύς της ακτινοβολίας δεν επηρεάζεται από το υλικό κατασκευής του φράγματος.

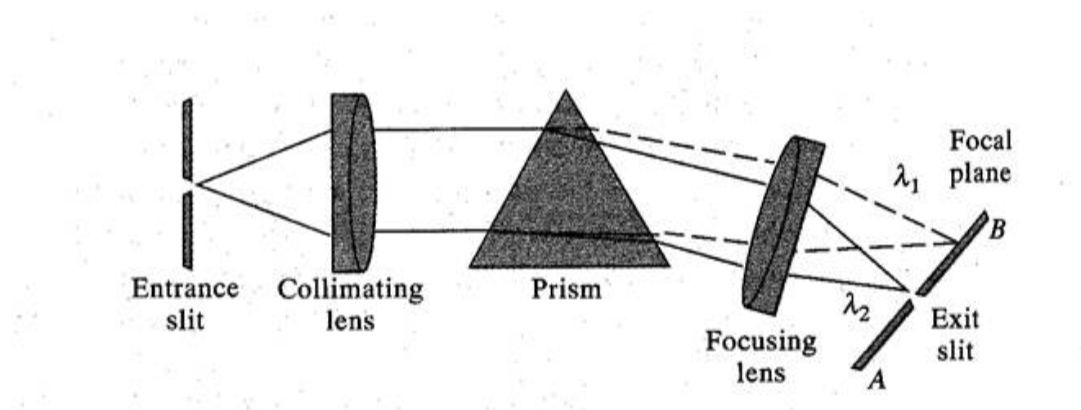
Μονοχρώματες



1. Σχισμή εισόδου που καθορίζει την ισχύ της ακτινοβολίας που εισέρχεται στον μονοχρώματα.
2. Κατευθυντήρας (φακός η κάτοπτρο) με τον οποίο η δέσμη γίνεται παράλληλη.
3. Στοιχείο διασποράς (πρίσμα ή φράγμα περιθλάσεως) με την περιστροφή του οποίου επιλέγεται το επιθυμητό μήκος κύματος.
4. Συγκεντρτικός φακός.
5. Σχισμή εξόδου.

Μονοχρώματες πρίσματος

Το πρίσμα (χαλαζιάς, κρυσταλλικό πυρίτιο) αναλύει μια πολυχρωματική ακτινοβολία στα συστατικά της επειδή ο δείκτης διαθλάσεως του η μεταβάλλεται με το μήκος κύματος.

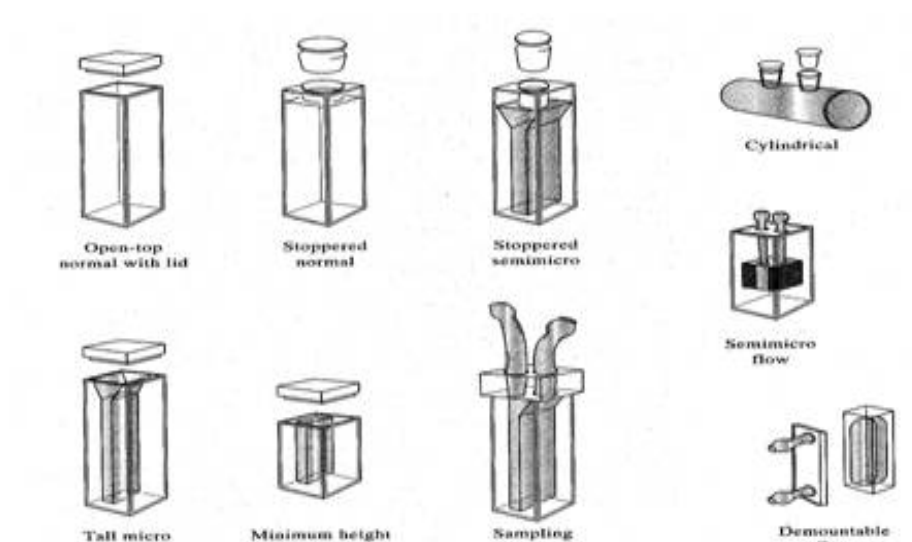


Πλεονεκτήματα Μονοχρωμάτορα Φράγματος

- Χαμηλό κόστος
- Σταθερός βαθμός μονοχρωματικότητας.
- Η ισχύς της ακτινοβολίας δεν επηρεάζεται από το υλικό κατασκευής του φράγματος
- Μεγαλύτερη διαχωριστική ικανότητα.

Κυψελίδες

Οι κυψελίδες έχουν συνήθως ορθογώνιο σχήμα και είναι κατασκευασμένες από χαλαζία, εφόσον χρησιμοποιούνται στην υπεριώδη περιοχή ή από γυαλί στην ορατή περιοχή.



Ανιχνευτές

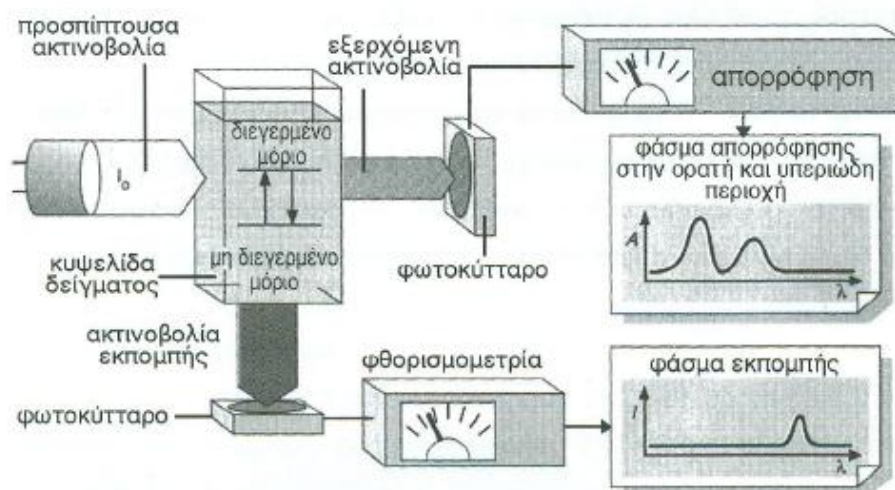
Ως ανιχνευτές χρησιμοποιούνται φωτολυχνίες, φωτοπολλαπλασιαστές και φωτοδιόδοι. Η αρχή λειτουργίας των ανιχνευτών αυτών είναι η εξής: τα φωτόνια της ορατής και υπεριώδους ακτινοβολίας έχουν ενέργεια ικανή να απελευθερώσει ηλεκτρόνια, όταν προσκρούουν σε επιφάνειες κατεργασμένες με ειδικές ενώσεις. Επίσης, μπορούν να προκαλέσουν τη μετακίνηση μη αγώγιμων ηλεκτρονίων σε ζώνες αγωγιμότητας. Και στις δύο περιπτώσεις

παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα, ανάλογο με την ισχύ της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

Ενισχυτής και όργανο αναγνώσεως (μετρήσεως)

Το ηλεκτρικό σήμα στην έξοδο του ανιχνευτή ενισχύεται και η ανάγνωση του μετρητή (διαπερατότητα στα εκατό ή απορρόφηση) δείχνεται στο φασματοφωτόμετρο ως ένδειξη μιας κλίμακας ή υπό ψηφιακή μορφή, ή καταγράφεται σε ποτενσιομετρικό καταγραφέα.

Σχηματικό διάγραμμα φασματομέτρου απλής δέσμης απορρόφησης ή εκπομπής.



ΓΕΝΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΕΩΣ

1. Λήψη του φάσματος απορρόφησης της προς προσδιορισμό ουσίας (αναλύτης)
2. Η επιλογή του καταλληλότερου μήκους κύματος
3. Η κατασκευή της καμπύλης αναφοράς
4. Η μέτρηση της απορρόφησης του άγνωστου δείγματος

ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

Στην πράξη, ο νόμος του Beer δεν είναι απευθείας εφαρμόσιμος. Τα τοιχώματα της κυψελίδας προκαλούν ελάττωση της ισχύος της ακτινοβολίας λόγω ανάκλασής της τελευταίας ή/και απορρόφησης αυτής εντός των τοιχωμάτων της. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιείται τυφλό δ/μα ($A = \log P_b/P_s = P_o/P = \epsilon bc$) το ϵ διαφέρει με τα διάφορα φασματοφωτόμετρα και ο βαθμός μονοχρωματικότητας ελαττώνεται αυξανόμενου του εύρους της σχισμής.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται στο γραμμικό μέρος της καμπύλης αναφοράς, απορρόφηση – συγκέντρωση ουσίας χρησιμοποιώντας μια σειρά προτύπων διαλυμάτων.

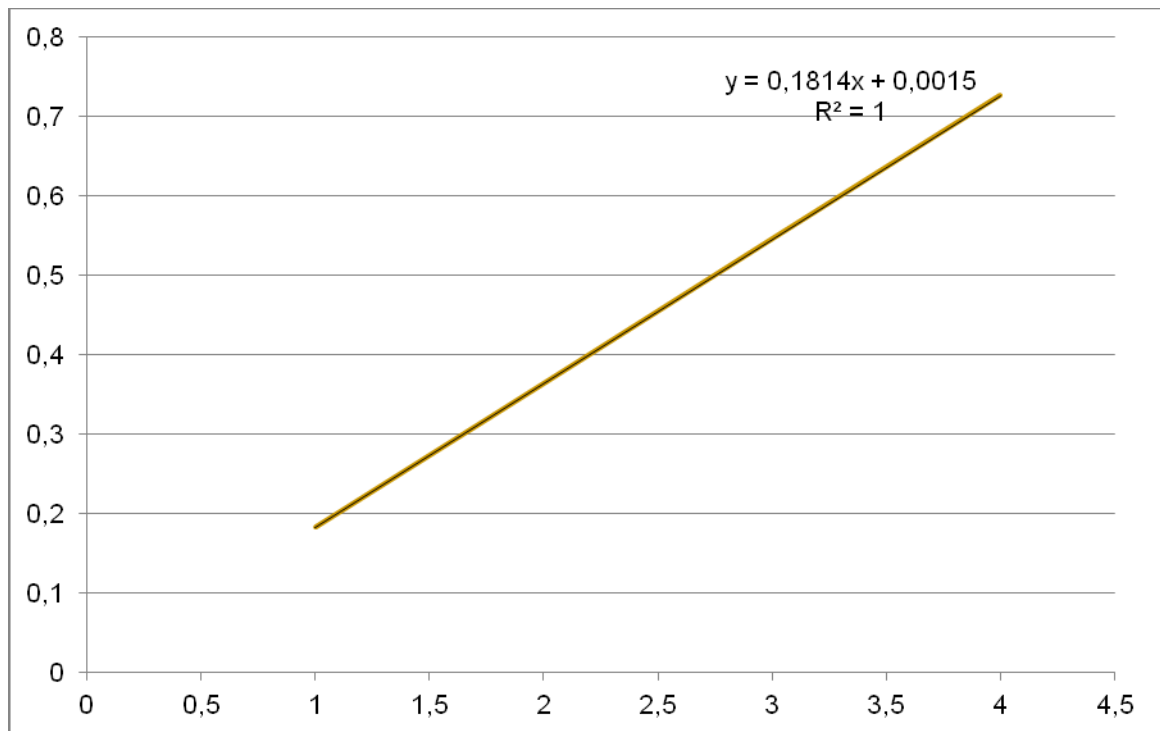
Ο ποσοτικός προσδιορισμός προτιμάται να γίνεται στην περιοχή λ_{max} γιατί εκεί μπορεί να εφαρμοσθεί ο νόμος Lambert – Beer, η τιμή της ϵ (α) παραμένει σταθερή ενώ επιτυγχάνονται χαμηλότερα όρια ανίχνευσης της προς προσδιορισμό ουσίας.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ

Ο προσδιορισμός του Fe σε υδατικά βιομηχανικά απόβλητα πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο σχηματισμού συμπλόκου με ο-φαινανθρολίνη και η συγκέντρωση του δ/τος προσδιορίστηκε στα 510nm. Χρησιμοποιώντας τα παρακάτω πειραματικά δεδομένα να προσδιοριστεί η συγκέντρωση του Fe στο άγνωστο δ/μα.

ppm Fe	Απορρόφηση
1,000	0,183
2,000	0,364
3,000	0,546
4,000	0,727
Άγνωστο	0,269

Λύση.



Απορρόφηση αγνώστου = 0,269 \Rightarrow $0,269 = 0,184x + 0,0015 \Rightarrow x = 1,453$ ppm

ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ

n	x_i	y_i	x_i^2	y_i^2	$x_i y_i$
1	1,000	0,183	1,000	0,033489	0,183
2	2,000	0,364	4,000	0,132496	0,728
3	3,000	0,546	9,000	0,298116	1,638
4	4,000	0,727	16,000	0,528529	2,908
	Σx_i	Σy_i	Σx_i^2	Σy_i^2	$\Sigma x_i y_i$
	10,000	1,820	30,000	0,99263	5,457

$$\text{κλίση} = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} = \frac{(4 \cdot 5,457) - (10,000 \cdot 1,820)}{4 \cdot 30,000 - (10,000)^2} = \frac{3,628}{20} = 0,1814$$

$$\text{τομή} = \frac{\sum x_i^2 \cdot \sum y_i - \sum x_i \sum x_i y_i}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} = \frac{(30 \cdot 1,820) - 10 \cdot 5,457}{4 \cdot 30 - (10)^2} = \frac{0,03}{20} = 0,0015$$

Άρα: $y = 0,1814x + 0,0015$

Εφαρμογές της UV-VIS μοριακής φασματοσκοπίας

Η σημαντικότερη χρήση τη UV-VIS φασματοσκοπίας απορρόφησης είναι η ποιοτική (ιχνοανάλυση μετάλλων, φαρμάκων, βιολογικών υγρών, τροφίμων κλπ. Αυτό κυρίως οφείλεται στη μεγάλη ευαισθησία, την αναπαραγωγικότητα και την ευκολία χρήσης που παρουσιάζει.

Επίσης, τα UV-VIS φασματοφωτόμετρα αποτελούν τους βασικούς ανιχνευτές της HPLC χρωματογραφίας, καθώς έχουν μεγάλη ταχύτητα αναπόκρισης, π.χ. ανά 5 s μπορούν να καταγράφονται τα πλήρη UV-VIS φάσματα των εκλούμενων ουσιών.

Η εφαρμογή της UV-VIS για τη διερεύνηση της χημικής δομής έχει περιορισμένο ενδιαφέρον, λόγω κυρίως των μεγάλων δυνατοτήτων που προσφέρουν στο θέμα αυτό οι αναλυτικές τεχνικές, όπως η φασματοφωτομετρία IR, η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και η φασματομετρία μάζας (MS).

Υπέρυθρη Φασματοσκοπία (IR)

Εισαγωγή

Η υπέρυθρη φασματοσκοπία ανήκει στην ομάδα των τεχνικών ανάλυσης που συγκροτούν τη σύγχρονη οργανική ανάλυση, που περιλαμβάνουν αναλύσεις για τη διερεύνηση της δομής μιας μοριακής ένωσης.

Η υπέρυθρη φασματοσκοπία χαρακτηρίζεται και ως φασματοσκοπική τεχνική μοριακής δόνησης (ή περιστροφής), καθώς η ακτινοβολία προκαλεί διέγερση των μορίων σε υψηλότερες στάθμες δόνησης ή περιστροφής. Οι τεχνικές αυτές χαρακτηρίζονται από τα εξής σημεία:

1) Είναι μοριακή ανάλυση, αφού δίνει πληροφορίες σχετικά με τις χαρακτηριστικές ομάδες που βρίσκονται στο μόριο, ακόμα και για τον προσανατολισμό τους στο χώρο.

2) Έχει μεγάλη εκλεκτικότητα, γι' αυτό και το φάσμα χαρακτηρίζεται ως το δακτυλικό αποτύπωμα (fingerprint) της ένωσης.

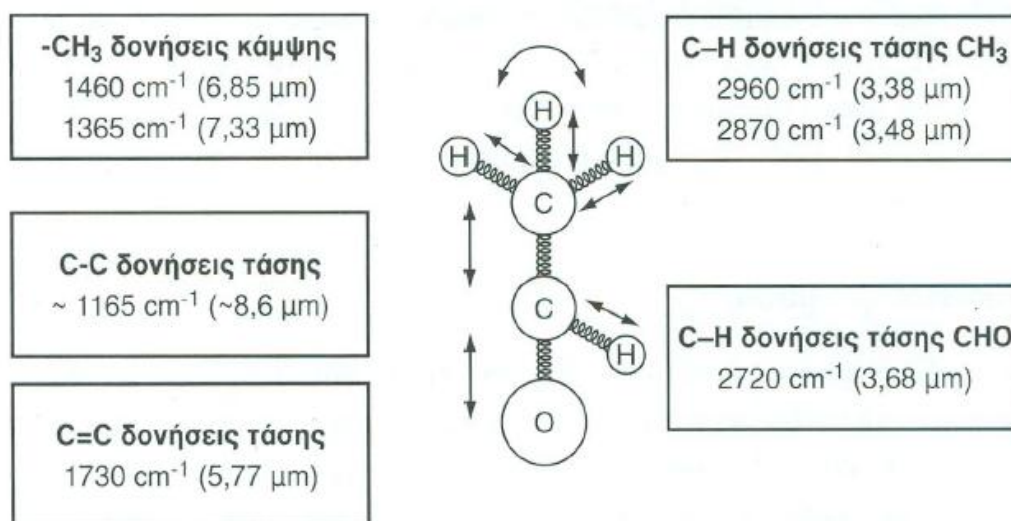
3) Είναι ποσοτική και μη καταστροφική τεχνική ανάλυσης, ακόμα και θερμικά ευαίσθητων ενώσεων.

4) Έχει δυνατότητα αναλύσεων σε μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων (0,1-100%) ή ακόμα σε ίχνη μετά τον εμπλουτισμό του δείγματος.

5) Το δείγμα μπορεί να είναι αέριο, υγρό ή στερεό ή επιφάνεια στερεού.

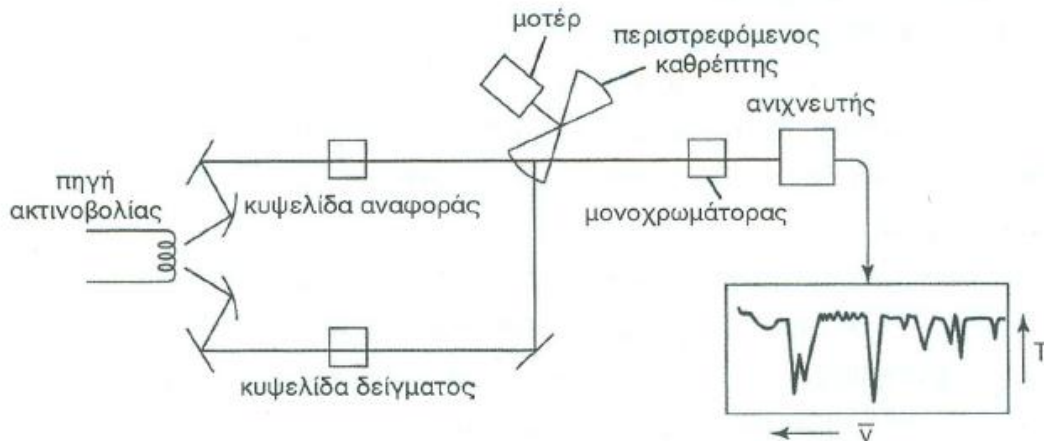
Στην υπέρυθρη φασματοσκοπία προσδιορίζεται το ποσοστό απορρόφησης της υπέρυθρης ακτινοβολίας από το εξεταζόμενο δείγμα. Η υπέρυθρη ακτινοβολία, που συνήθως εξετάζεται, καλύπτει την περιοχή μήκους κύματος 2,5-25 μm ή σε κυματαριθμούς 4000-400 cm^{-1} . Ένα μόριο απορροφά ακτινοβολία μόνο εφόσον η διπολική ροπή του μορίου μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της δόνησης, διαφορετικά η δόνηση θεωρείται ανενεργή στο υπέρυθρο. Όσο μεγαλύτερη είναι η μεταβολή της διπολικής ροπής, τόσο ισχυρότερη είναι η απορρόφηση.

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι δόνησης των ατόμων, όπως οι δονήσεις τάσης, οι δονήσεις κάμψης, σείσης αιώρησης, συστροφής κλπ. Παρακάτω απεικονίζονται σχηματικά το μόριο της αιθανάλης με τις χαρακτηριστικές απορροφήσεις που δίνει στην υπέρυθρη ακτινοβολία.



Οργανολογία

Η γενική διάταξη ενός φασματοφωτομέτρου υπερύθρου είναι η ακόλουθη:



Ως πηγή ακτινοβολίας χρησιμοποιούνται συνήθως οι λυχνίες πυρακτώσεως Nerst και οι λυχνίες Globar. Σε γενικές γραμμές ένα φασματοφωτόμετρο υπερύθρου έχει τις ίδιες λειτουργικές μονάδες με ένα φασματοφωτόμετρο UV-VIS. Η διαφορά έγκειται κυρίως στη θέση που τοποθετείται ο μονοχρωμάτορας. Στο UV-VIS, η θέση του μονοχρωμάτορα είναι πριν το δείγμα, ενώ στο IR είναι μετά από αυτό. Ο λόγος που γίνεται αυτό, οφείλεται στην υψηλή ενέργεια που έχει η υπεριώδης ακτινοβολία που μπορεί να προκαλέσει αλλοίωση του δείγματος.

Ανιχνευτές κατάλληλοι για τη φασματοσκοπία υπερύθρου είναι οι θερμικοί, πχ τα θερμοζεύγη. Οι ανιχνευτές αυτοί προσδιορίζουν τη θερμότητα που παράγεται κατά την απορρόφηση της υπέρυθρης ακτινοβολίας από μαυρισμένη επιφάνεια. Άλλα συστήματα ανίχνευσης για την IR είναι οι πυροηλεκτρικοί ανιχνευτές που έχουν καλύτερο χρόνο απόκρισης από τους θερμικούς.

Όσον αφορά τα δείγματα ανάλυσης αυτά μπορεί να είναι αέρια, υγρά ή στερεά. Τα αέρια δείγματα αναλύονται ως έχουν σε κατάλληλες κυψελίδες αερίων. Τα υγρά δείγματα μπορούν να εξεταστούν είτε ως λεπτά φιλμ ανάμεσα σε δυο πλάκες NaCl ή με διάλυσή τους σε υγρό που παρουσιάζει

μικρή απορρόφηση στο IR, πχ CCl_4 . Τέλος τα στερεά μπορούν να αναλυθούν σε μορφή πιεσμένων δισκίων (παστίλιες) με κατεργασία με KBr .

Ερμηνεία φάσματος

Σε αντίθεση με το φάσμα UV-VIS, το φάσμα απορρόφησης IR έχει τεταγμένη την % διαπερατότητα του δείγματος και τετμημένη τον κυματαριθμό σε cm^{-1} . Η απορρόφηση εμφανίζεται ως ανάποδη κορυφή (ζώνη απορρόφησης) και χαρακτηρίζεται από τον κυματαριθμό και την έντασή της. Η ένταση της ζώνης απορρόφησης εκφράζεται με τα σύμβολα s, m και w, υποδηλώνοντας αντίστοιχα ισχυρή (strong), μέτρια (medium) ή ασθενή (weak) απορρόφηση.

Ένα φάσμα IR περιλαμβάνει δεκάδες περιοχές απορρόφησης. Αυτή η πολυπλοκότητα είναι εξαιρετικά χρήσιμη, καθώς μπορεί να λειτουργήσει σαν είδος δακτυλικού αποτυπώματος για μια ένωση. Αποτελεί μια θεμελιώδη ιδιότητα του μορίου και χρησιμεύει κατ' αρχάς στην ταυτοποίησή του (ποιοτική ανάλυση). Η ταυτοποίηση μιας ουσίας γίνεται με σύγκριση του φάσματός της με το φάσμα μιας πρότυπης ουσίας, είτε με επίθεση του ενός πάνω στο άλλο ή μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή. Επίσης για το σκοπό αυτό διατίθενται άτλαντες με υπέρυθρα φάσματα χιλιάδων ενώσεων. Δυο ουσίες θεωρούνται ταυτόσημες, αν τα φάσματά τους συμφωνούν στη θέση, τη μορφή και τη σχετική ένταση των ζωνών απορρόφησης.

Γενικότερα, η ερμηνεία ενός φάσματος υπέρυθρου είναι μια επίπονη διαδικασία που απαιτεί εμπειρία. Υπάρχουν εκατοντάδες χαρακτηριστικές απορροφήσεις τις οποίες ο αναλυτής πρέπει να επικαλεστεί για την ταυτοποίηση μιας ένωσης. Στα υπέρυθρα φάσματα διακρίνονται 2 περιοχές:

1. Η περιοχή ταυτοποίησης των χαρακτηριστικών ομάδων καλύπτει το εύρος κυματαριθμών $4000-1400 \text{ cm}^{-1}$. Στην περιοχή αυτή παρατηρούνται απορροφήσεις που προκύπτουν από τη δόνηση ομάδων δύο μόνο ατόμων.
2. Η περιοχή ταυτοποίησης ολόκληρου του μορίου (δακτυλικό αποτύπωμα) αποτυπώνει ζώνες απορρόφησης που συσχετίζονται με

δονήσεις ολόκληρου του μορίου. Η περιοχή αυτή μπορεί να αξιοποιηθεί ακόμη και για τη διάκριση ισομερών ενώσεων.

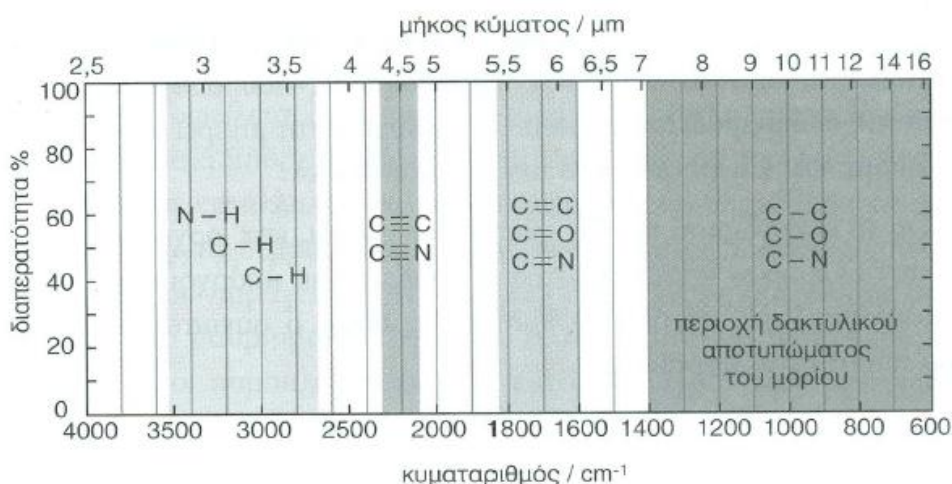
Για την αναγνώριση των IR φασμάτων γίνεται, κατ' αρχάς αναγνώριση των διαφόρων χαρακτηριστικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριο, χρησιμοποιώντας κατάλληλους πίνακες, όπως ο συνοπτικός πίνακας που παρατίθεται παρακάτω:

ομάδα	κυματαριθμός / cm^{-1}	μήκος κύματος / μm
C – H (αλειφατικός)	2700-3000	3,33-3,70
C – H (αρωματικός)	300-3100	3,23-3,33
O – H (φαινολικός)	3700	2,70
O – H (φαινολικός δεσμός υδρογόνου)	3300-3700	2,70-3,03
S – H	2570-2600	3,85-3,89
N – H	3300-3370	2,97-3,03
C – O	1000-1050	9,52-10,00
C = O (αλδεΐδη)	1720-1740	5,75-5,8
C = O (κετόνη)	1705-1725	5,80-5,86
C = O (οξύ)	1650	6,06
C = O (εστέρας)	1700-1750	5,71-5,88
C – N	1590-1660	6,02-6,23
C – C	750-1100	9,09-13,33
C = C	1620-1670	5,99-6,17
C \equiv C	2100-2250	4,44-4,76
C \equiv N	2100-2250	4,44-4,76
CH ₃ –, –CH ₂ –	1350-1480	6,76-7,41
C – F	1000-1400	7,14-10,00
C – Cl	600-800	12,50-16,67
C – Br	500-600	16,67-20,00
C – I	500	20,00

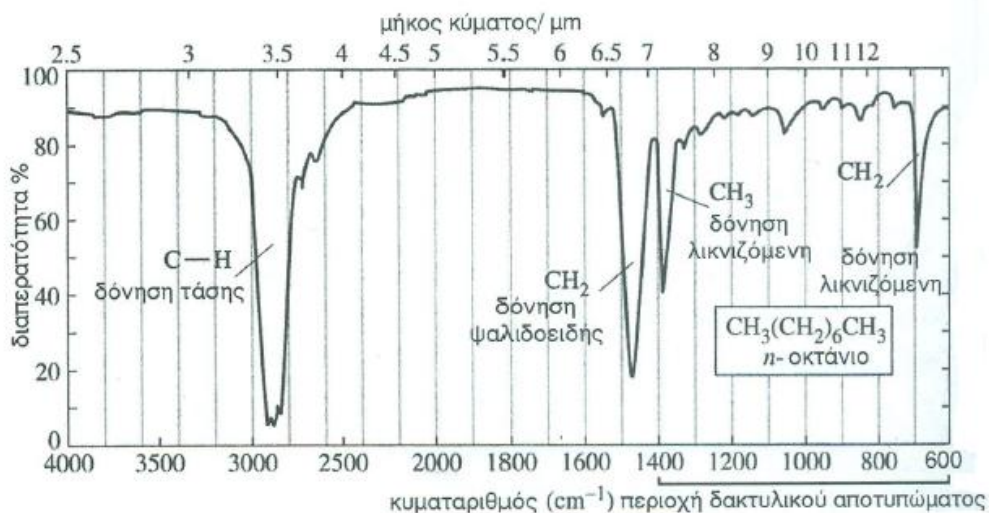
Για να θυμόμαστε τη θέση ορισμένων απορροφήσεων μπορούμε να χωρίσουμε το φάσμα σε τέσσερις περιοχές:

1. Την περιοχή $4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ που περιλαμβάνει απορροφήσεις (δονήσεις τάσεις) απλών δεσμών.

2. Την περιοχή $2500-2000\text{ cm}^{-1}$ που περιλαμβάνει απορροφήσεις (δονήσεις τάσεις) τριπλού δεσμού.
3. Την περιοχή $2000-1400\text{ cm}^{-1}$ που αντιστοιχεί σε απορροφήσεις διπλού δεσμού.
4. Την περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος, κάτω του 1400 cm^{-1} που περιλαμβάνει απορροφήσεις μιας μεγάλης ποικιλίας απλών δεσμών.



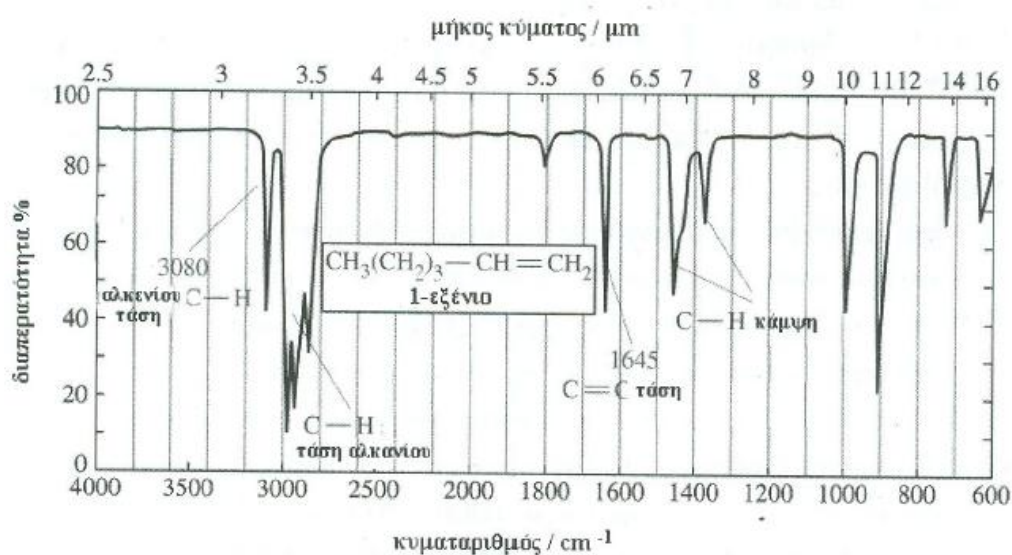
Παρακάτω δίνονται παραδείγματα φασμάτων IR στα οποία ερμηνεύονται ορισμένες χαρακτηριστικές ζώνες απορρόφησης.



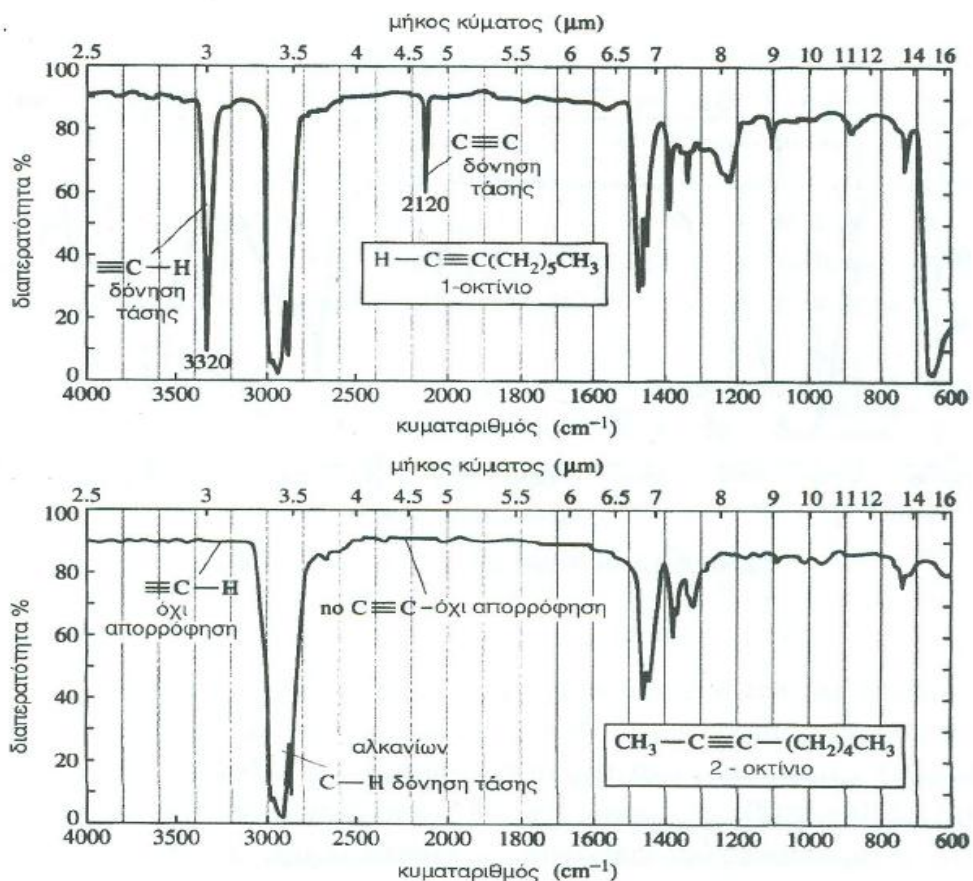
Στο IR φάσμα του κανονικού οκτανίου, διακρίνουμε τέσσερις έντονες ζώνες απορρόφησης. Η πρώτη οφείλεται στη δόνηση τάσης του δεσμού C-H της ομάδας $-C-C-H$ που απορροφά στο $2800-3000\text{ cm}^{-1}$. Η ζώνη απορρόφησης στα 1460 cm^{-1} οφείλεται στην ψαλιδοειδή δόνηση των ομάδων $-CH_2-$. Οι

απορροφήσεις στα 1385 και 695 cm^{-1} οφείλονται στις λικνιζόμενες δονήσεις (αιώρησης) που οφείλονται αντίστοιχα στις ομάδες CH_3 και CH_2 . Παρατηρείται η απουσία των απορροφήσεων των δονήσεων τάσεων των δεσμών C-C παρόλο που υπάρχουν συνολικά 7 τέτοιοι δεσμοί στο μόριο του οκτανίου. Αυτό οφείλεται στη μη πόλωση του δεσμού C-C , απουσία χαρακτηριστικών ομάδων στο μόριο.

Στο φάσμα του 1-εξενίου χαρακτηριστική είναι η ζώνη απορρόφησης στο 3080 cm^{-1} που οφείλεται στη δόνηση τάσης του δεσμού C-H της ομάδας C=C-H . Επίσης χαρακτηριστική είναι η απορρόφηση στο 1645 cm^{-1} που οφείλεται στη δόνηση τάσης του δεσμού C=C .

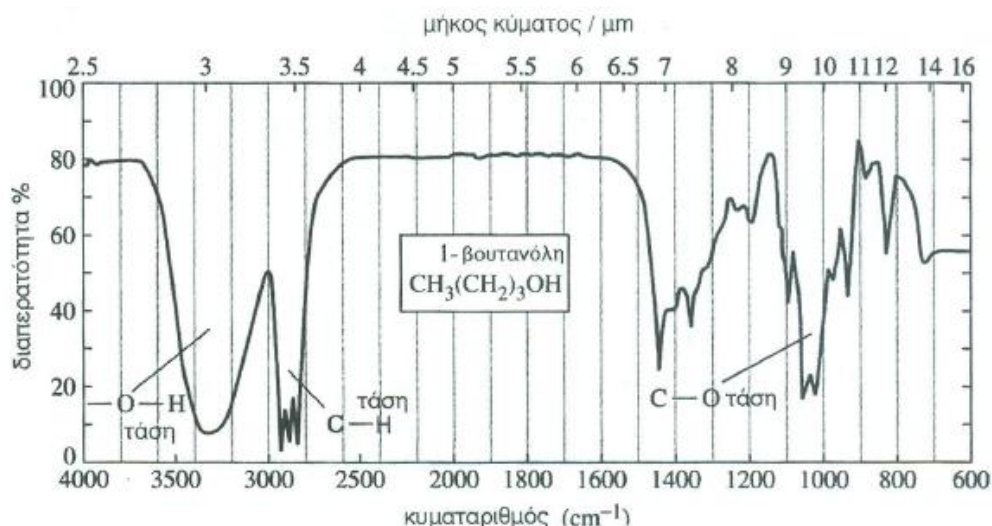


Παρακάτω συγκρίνουμε το IR φάσμα του 1-οκτινίου με αυτό του 2-οκτινίου.



Στο IR φάσμα του 1-οκτινίου, εκτός από τις χαρακτηριστικές ζώνες απορρόφησης που εμφανίζονται στα αλκάνια, παρουσιάζεται και μια έντονη απορρόφηση στα 3320 cm^{-1} που αποδίδεται στη δόνηση τάσης του C-H. Επίσης, η ζώνη απορρόφησης στο 2120 cm^{-1} οφείλεται στη δόνηση του δεσμού τάσης του $\text{HC}\equiv\text{CH}$. Αντίθετα, στο IR φάσμα του 2-οκτινίου δεν παρουσιάζεται απορρόφηση στα 3320 cm^{-1} καθώς δε διαθέτει το μόριο όξινο υδρογόνο. Επίσης, δεν εμφανίζεται απορρόφηση στην περιοχή $2100-2200\text{ cm}^{-1}$ καθώς η διπολική ροπή του δεσμού $\text{HC}\equiv\text{CH}$ είναι πολύ μικρή. Έτσι το φάσμα δε μας αποκαλύπτει την παρουσία του τριπλού δεσμού.

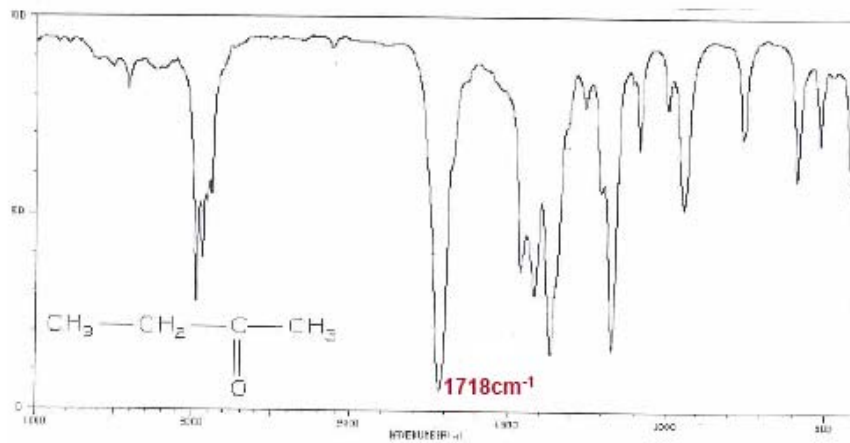
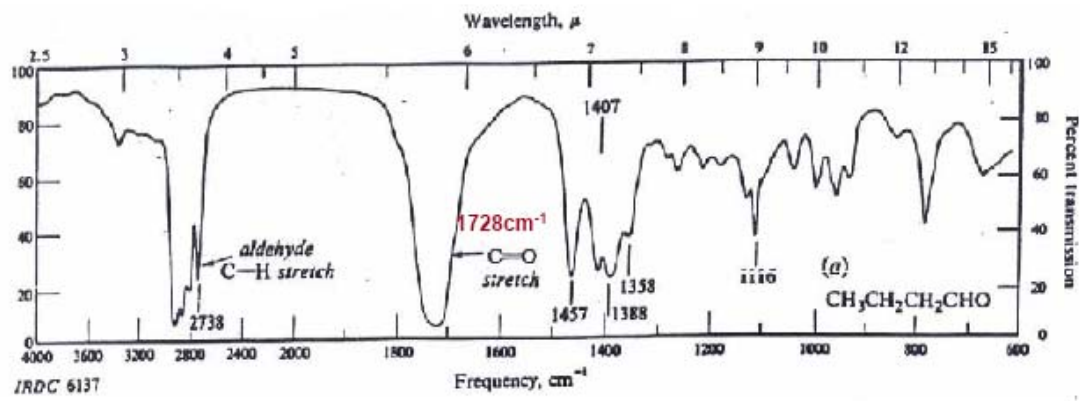
Ο δεσμός O-H στις αλκοόλες απορροφά έντονα σε μια ευρύτατη περιοχή συχνοτήτων, γύρω στο 3330 cm^{-1} .



Το μεγάλο πλάτος που εμφανίζει η απορρόφηση στην περιοχή αυτή, οφείλεται στους δεσμούς υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ των μορίων που οδηγούν σε διάφορες τυχαίες πολυμοριακές διατάξεις. Ενώσεις με δεσμούς C-O όπως οι αλκοόλες και οι αιθέρες, απορροφούν έντονα στην περιοχή $1000-1200\text{ cm}^{-1}$. Στην περιοχή αυτή όμως απορροφούν κι άλλες ομάδες. Έτσι, η παρουσία ζώνης απορρόφησης στην παραπάνω περιοχή δεν είναι ενδεικτική της παρουσίας C-O. Ωστόσο, η μη εμφάνιση της ζώνης απορρόφησης στα $1000-1200\text{ cm}^{-1}$ είναι ενδεικτική της απουσίας του δεσμού C-O στο μόριο.

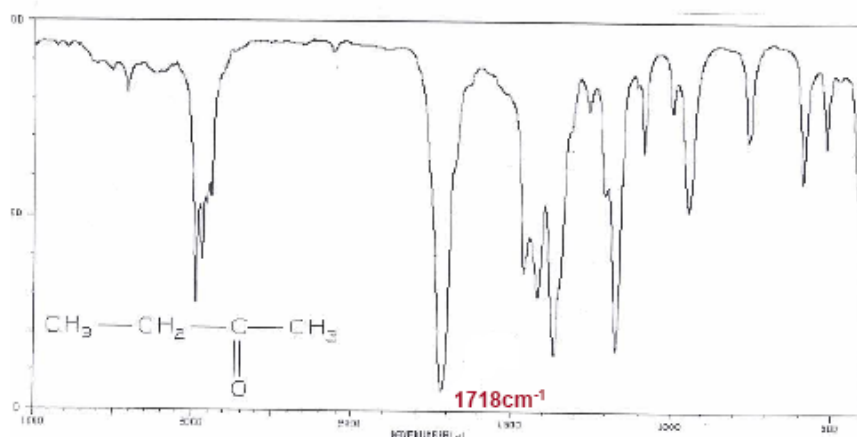
Στις αλδεΐδες, κετόνες και καρβοξυλικά οξέα εμφανίζεται μια έντονη ζώνη απορρόφησης στα 1710 cm^{-1} που αποδίδεται στη δόνηση τάσης του C=O. Εκτός απ' αυτή την απορρόφηση, οι αλδεΐδες απορροφούν μεταξύ $2700-2800\text{ cm}^{-1}$ λόγω της δόνησης τάσης του C-H, η οποία στα οξέα και τις κετόνες δεν εμφανίζεται.

Κορεσμένη
αλδεΐδη

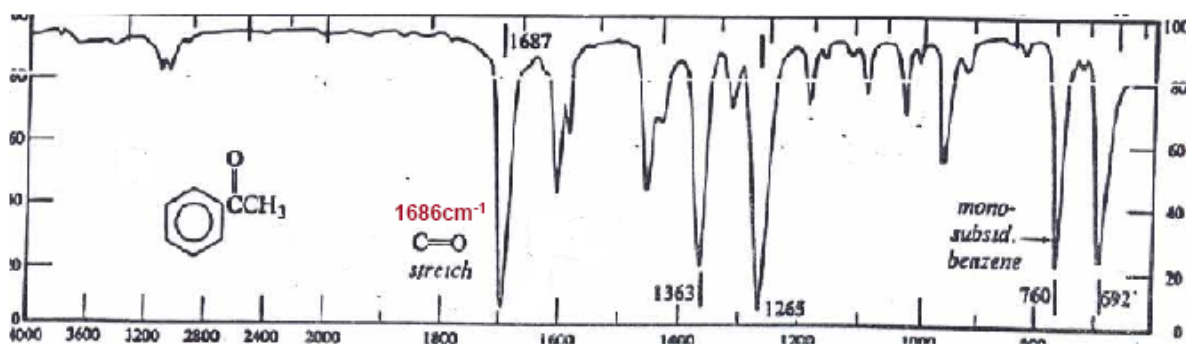


Κορεσμένη
κετόνη

**Κορεσμένη
κετόνη**



Αρωματική κετόνη



Σημειώνεται ότι ο θεωρητικός αριθμός των βασικών δονήσεων ενός μορίου είναι συνάρτηση του αριθμού των ατόμων και της γεωμετρίας του και μπορεί να υπολογισθεί:

$3N-6$ για ένα μη γραμμικό μόριο με N άτομα

$3N-5$ για ένα γραμμικό μόριο με N άτομα.

Π.χ. H_2O έχει 3 δυνατές δονήσεις (μια ασύμμετρη και μη συμμετρική δόνηση τάσεως και μια δόνηση κάμψεως).

CO_2 έχει 4 δυνατές δονήσεις (μια ασύμμετρη και μια ανενεργή συμμετρική και δύο δονήσεις κάμψεως).

Φασματομετρία Μαζών

Η αναλυτική τεχνική ταυτοποίησης και προσδιορισμού της αρχικής ουσίας από τις πληροφορίες που παρέχει το φάσμα μαζών ονομάζεται φασματομετρία μαζών (mass spectrometry, MS) και δεν αποτελεί φασματοσκοπική τεχνική καθ' ότι δεν χρησιμοποιεί κάποια ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Η μορφή του φάσματος που λαμβάνεται κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες είναι χαρακτηριστικό της αρχικής ουσίας και χρησιμοποιείται για την ταυτοποίησή της. Η φασματομετρία μαζών χρησιμοποιείται ευρύτατα για την επαλήθευση ή διερεύνηση της δομής των διαφόρων οργανικών ενώσεων κατά τη συνθετική πορεία, την εξακρίβωση της δομής φυσικών ενώσεων και σε μικρότερο βαθμό στην ποσοτική ανάλυση.

Όταν ηλεκτρόνια, σχετικά υψηλής ενεργειακής στάθμης, προσκρούσουν σε μόρια μιας ένωσης, που βρίσκεται σε αέρια φάση και σε συνθήκες υψηλού κενού, τα μόρια της ένωσης μετατρέπονται σε ιόντα με θετικό, συνήθως, φορτίο. Στη συνέχεια με τη βοήθεια ηλεκτρικών πεδίων, τα παραχθέντα ιόντα ευθυγραμμίζονται σε λεπτή δέσμη. Η δέσμη διέρχεται μέσω ηλεκτρικού ή μαγνητικού πεδίου, οπότε το κάθε ιόν, ανάλογα με το λόγο μάζα/ηλεκτρικό φορτίο (m/z), αποκλίνει από την αρχική κατεύθυνση. Με κατάλληλο ανιχνευτή μπορεί να μετρηθεί το ηλεκτρικό ρεύμα, που παρέχουν τα ιόντα με διαφορετικό λόγο m/z .

Οι βασικές λειτουργίες της φασματομετρίας μαζών περιλαμβάνουν: Την παραγωγή ιόντων, το διαχωρισμό ιόντων με βάση το λόγο μάζα προς φορτίο και τέλος ανίχνευση και καταγραφή των ιόντων και επεξεργασία από ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Οργανολογία

Τα φασματόμετρα μαζών αποτελούνται από τα ακόλουθα κοινά και διακριτά τμήματα: **α) το σύστημα εισαγωγής του δείγματος, β) την πηγή ιόντων, γ) τον αναλυτή μαζών και δ) τον ανιχνευτή.** Εκτός από τα τμήματα αυτά, κάθε φασματόμετρο περιλαμβάνει συστήματα δημιουργίας υψηλού κενού, καθώς και συστήματα παρουσιάσεως των φασμάτων πχ καταγραφείς και παλμογράφους. Τα σύγχρονα φασματόμετρα περιλαμβάνουν ηλεκτρονικό

υπολογιστή, τόσο για τον κεντρικό έλεγχο της λειτουργίας τους όσο και για την ταχεία επεξεργασία, παρουσίαση και ερμηνεία του φάσματος.

Σύστημα εισαγωγής δείγματος

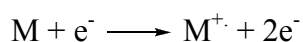
Σκοπός του είναι η προετοιμασία του δείγματος για εισαγωγή του στο χώρο ιονισμού, κάτω από συνθήκες σταθερής ροής και σε αέρια πάντοτε κατάσταση. Στην περίπτωση δειγμάτων με περιορισμένη πτητικότητα ή στερεών, η εξαέρωσή τους διευκολύνεται με θέρμανση σε συνθήκες υψηλού κενού. Το δοχείο δείγματος έχει όγκο από 1 ως 5 L και η πίεση που επικρατεί σ' αυτό είναι της τάξης των 10^{-2} Torr. Με κατάλληλο στόμιο εισαγωγής, το αέριο δείγμα εισάγεται σε ενδιάμεσο χώρο με ακόμη μικρότερη πίεση, απ' όπου με σταθερή παροχή εισάγεται στο χώρο ιονισμού όπου επικρατεί ακόμα χαμηλότερη πίεση ώστε να αποφεύγονται οι συγκρούσεις μεταξύ των ιόντων.

Πηγές ιόντων

Η παραγωγή ιόντων χαρακτηριστικών της υπό προσδιορισμό ουσίας πραγματοποιείται στην πηγή ιόντων με μονομοριακές (πρόσκρουση ηλεκτρονίων, ιονισμός με πεδίο) ή διμοριακές (χημικός ιονισμός) τεχνικές.

Πηγή ιονισμού με πρόσκρουση ηλεκτρονίων (electron impact, EI source)

Το ρεύμα της ενώσεως M, που εισάγεται στην πηγή, βομβαρδίζεται με δέσμη ηλεκτρονίων μεγάλης κινητικής ενέργειας στην περιοχή 10-70 eV (συνήθως 70 eV). Κατά την πορεία τους τα ηλεκτρόνια συγκρούονται με μερικά από τα μόρια της ένωσης M οπότε παράγονται θετικά μοριακά ιόντα (κατιονικές ρίζες) σύμφωνα με την αντίδραση

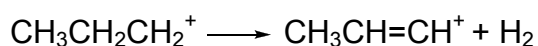
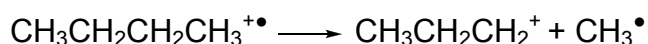
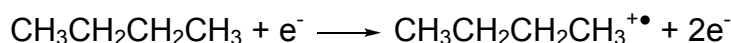


Όλα τα παραγόμενα ιόντα αρχικά έχουν τυχαίες κατευθύνσεις, το ισχυρό όμως ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί σύγκλιση των ιόντων σε μια λεπτή ταινιωτή δέσμη με ελάχιστη απόκλιση, κατάλληλη να υποστεί ανάλυση στον αναλυτή μαζών.

Το ιόν M^+ ονομάζεται μοριακό ιόν της ένωσης M. Τα μοριακά ιόντα περιέχουν ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και συνεπώς είναι ιόντα-ρίζες. Όταν η ενέργεια ιονισμού

είναι χαμηλή (6-14 eV), επιτυγχάνεται σχεδόν αποκλειστική παραγωγή μοριακών ιόντων. Τα φάσματα μαζών που προκύπτουν κάτω απ' αυτές τις συνθήκες, παρουσιάζουν έντονη κορυφή του ιόντος M^+ και χρησιμεύουν για τον ακριβή υπολογισμό του μοριακού βάρους της ένωσης.

Από τη συνολική ποσότητα της ένωσης που θα εισαχθεί στην πηγή ιόντων, μόνο ένα μικρό ποσοστό (1 τοις χιλίοις) μετατρέπεται σε ιόντα. Το ποιες αντιδράσεις θα πραγματοποιηθούν και σε ποιο ποσοστό, εξαρτάται τόσο από τη φύση της ένωσης όσο κι από την ενέργεια ιονισμού. Όσο μεγαλύτερο είναι το μόριο, τόσο μεγαλύτερη ποικιλία ιόντων-θραυσμάτων αναμένεται. Πχ. το κ-βουτάνιο αντιδρά με ηλεκτρόνια με ενέργεια 70 eV σύμφωνα με τις ακόλουθες διαδοχικές αντιδράσεις



Το λαμβανόμενο φάσμα μαζών παρουσιάζει κορυφές σε τιμές m/z 58 (M^+), 43 (M^+-15) και 41 (M^+-17), που αντιστοιχούν στα ιόντα $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3^+$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2^+$ και $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}^+$.

Πηγή χημικού ιονισμού (chemical ionization, CI source)

Η πηγή περιέχει ένα «αντιδραστήριο αέριο», συνήθως μεθάνιο με μεγάλη σχετικά πίεση (~ 1 Torr). Η παραγωγή ιόντων γίνεται σε δυο στάδια. Στο πρώτο στάδιο το «αντιδραστήριο αέριο» που βρίσκεται σε χιλιοπλάσια περίπου περίσσεια ως προς τη μετρούμενη ένωση M , αντιδρά με τα ηλεκτρόνια και παράγει ιόντα. Στο δεύτερο στάδιο, πολλά από τα παραγόμενα ιόντα που είναι ισχυροί δότες πρωτονίων, αντιδρούν με μόρια BH , που περιέχουν πυρηνόφιλα κέντρα (συνήθως αζωτούχες και οξυγονούχες ομάδες), με αντίστοιχη εμφάνιση κορυφών $M+1$. Αντίθετα, η απουσία πυρηνόφιλων κέντρων μπορεί να οδηγήσει σε απόσπαση πρωτονίων, με αντίστοιχη εμφάνιση κορυφών $M-1$. Επιπλέον, είναι δυνατό να πραγματοποιηθούν αντιδράσεις αλκυλίωσης.

Οι πηγές χημικού ιονισμού προκαλούν μικρότερη, σε ποσοστό, θραύση στα μόρια, δίνοντας κυρίως κορυφές ιόντων $M+1$. Το μικρό ποσοστό θραύσης συνεπάγεται μεγαλύτερη ευαισθησία, γιατί η διαδικασία ιονισμού επικεντρώνεται κυρίως στο μοριακό ιόν. Τα φάσματα χημικού ιονισμού

παρέχουν άμεση πληροφόρηση για το μοριακό βάρος της ουσίας κι είναι περισσότερο χρήσιμα για την ανάλυση μιγμάτων ουσιών.

Υπάρχουν κι άλλα είδη πηγών ιονισμού, όπως η πηγή ιονισμού με σπινθήρα και η πηγή ιονισμού με πεδίο.

Αναλυτής μαζών

Χρησιμεύει σε ό,τι κι ο μονοχρωμάτορας στα φασματοφωτόμετρα οπτικών τεχνικών. Η βασική λειτουργία του σ' ένα φασματόμετρο μαζών είναι να διαχωρίσει τα ιόντα που παράγονται στην πηγή ιόντων, ανάλογα με τις διαφορετικές τιμές των λόγων m/z . Ο διαχωρισμός είναι απαραίτητος ώστε το μετρούμενο ιονικό ρεύμα στον ανιχνευτή ιόντων, που ακολουθεί τον αναλυτή μαζών, να αντιστοιχεί σε ιόντα με συγκεκριμένο λόγο m/z .

Από τον τύπο του αναλυτή μαζών εξαρτάται η διαχωριστική ικανότητα (resolution) του οργάνου, που 'ναι το σπουδαιότερο χαρακτηριστικό ποιότητας ενός φασματομέτρου μαζών. Η διαχωριστική (ή διακριτική) ικανότητα (R) ορίζεται από τη σχέση

$$R = m/\Delta m$$

όπου m και $m+\Delta m$ αντιστοιχούν σε λόγους m/z με κορυφές ικανοποιητικά διαχωρισμένες. Κατά συνθήκη, ικανοποιητικός διαχωρισμός θεωρείται ότι επιτυγχάνεται όταν οι περίπου ισοϋψείς κορυφές επικαλύπτονται σε ύψος που δεν υπερβαίνει το 10% του ύψους των κορυφών. Για παράδειγμα, $R = 1000$ σε μάζα 100,0 σημαίνει ότι το φασματόμετρο μπορεί να διαχωρίσει τη μάζα 100 από τη μάζα 100,1 ($\Delta m = 0,1$).

Μαγνητικής εκτροπής.

Αποτελείται από μαγνητικό πεδίο το οποίο εκτρέπει τα φορτισμένα σωματίδια από την τροχιά τους οδηγώντας τα σε κυκλική τροχιά. Ιόντα μικρής μάζας εκτρέπονται πολύ ενώ τα μεγάλης λίγο.

Αναλυτής χρόνου πτήσεως.

Ιόντα διαφορετικής μάζας επιταχύνονται με τη βοήθεια δυναμικού. Κατόπιν αφήνονται ελεύθερα να διασχίσουν ένα σωλήνα υψηλού κενού. Ιόντα μεγάλης μάζας καθυστερούν ενώ μικρής ανιχνεύονται γρήγορα.

Τετραπολικός αναλυτής (Quadrupole).

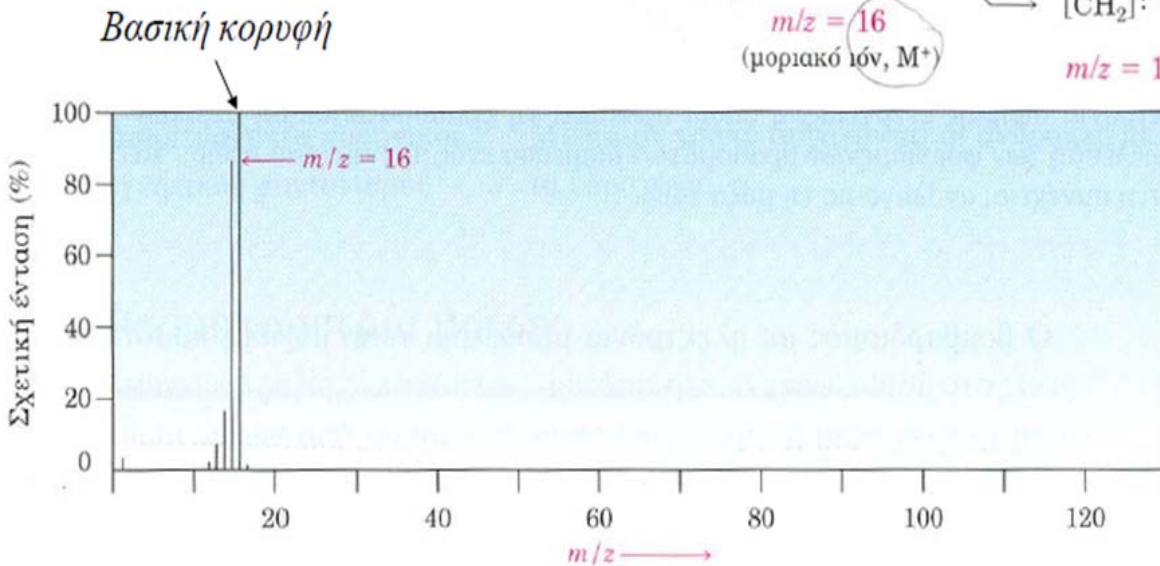
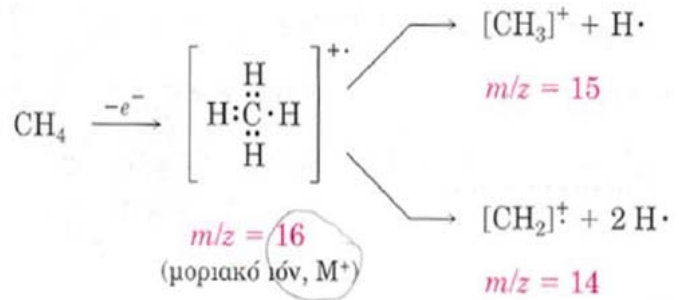
Τα ιόντα περνάνε από ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο το οποίο δημιουργείται από 4 ράβδους που διαγώνια τροφοδοτούνται με υψίσυχνη εναλλασσόμενη αλλά και συνεχή τάση. Τα ιόντα περνάνε διαμέσου των ράβδων αλλά για συγκεκριμένη τάση μόνο ιόντα με ορισμένο m/z εξέρχονται από το σύστημα.

Τα φασματόμετρα μαζών διακρίνονται σε **φασματόμετρα χαμηλής και υψηλής διαχωριστικής ικανότητας**. Με τα πρώτα που έχουν διαχωριστική ικανότητα από 100 ως 1000, τα διάφορα ιόντα διακρίνονται με βάση την ονομαστική μάζα (nominal mass), που αντιστοιχεί στην πλησιέστερη ακέραιη τιμή προς το μοριακό τους βάρος. Με ένα τέτοιο φασματόμετρο, δε διακρίνεται το CO από το N₂, γιατί και τα δυο έχουν τον ίδιο αριθμό ακέραιων μονάδων μάζας. Με τα φασματόμετρα υψηλής διαχωριστικής ικανότητας όμως ($R = 10^4-10^5$) μπορούν να διαχωριστούν ιόντα με ίδια ονομαστική μάζα αλλά με διαφορετικές τιμές ακριβούς μάζας (exact mass), που διαφέρουν στο τρίτο ή το τέταρτο δεκαδικό ψηφίο. Για παράδειγμα, με φασματόμετρα μαζών υψηλής διαχωριστικής ικανότητας μπορούν να διακριθούν οι κορυφές που αντιστοιχούν στα ιόντα CO⁺, N₂⁺, CH₂N⁺ και C₂H₄⁺, με ονομαστική μάζα 28 και ακριβείς μάζες 27,995, 28,006, 28,019 και 28,031.

Η κύρια διαφορά μεταξύ των διαφόρων φασματόμετρων μαζών έγκειται στους αναλυτές, που χρησιμοποιούν για το διαχωρισμό των ιόντων.

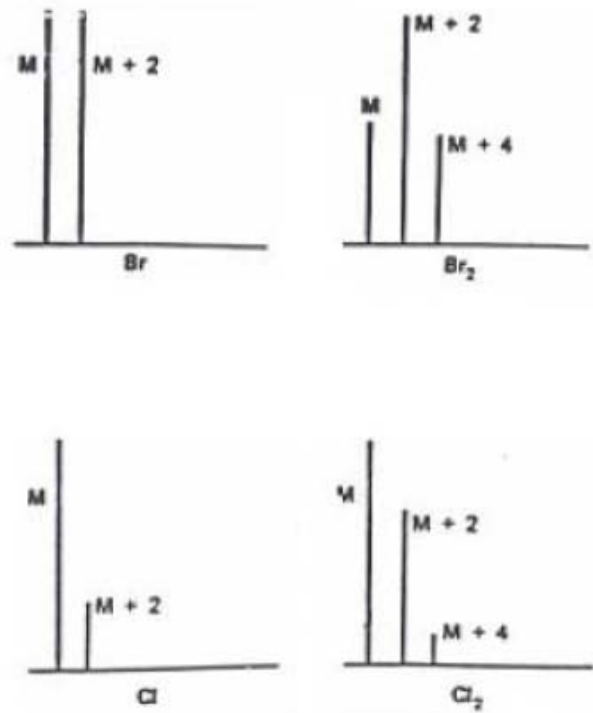
Παραδείγματα

Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζεται ένα φάσμα μαζών δηλαδή το γράφημα με τη μάζα (m/z) στον άξονα των τετμημένων (χ) και την τιμή της έντασης στον άξονα των τεταγμένων (ψ). Χαρακτηριστικές είναι τόσο η βασική κορυφή, η οποία ορίζεται ως η ψηλότερη κορυφή στο φάσμα στην οποία αποδίδεται αυθαίρετα ένταση 100% όσο και η μητρική κορυφή ή μοριακό ιόν η οποία ορίζεται ως η μη θραυσματοποιημένη κατιονική ρίζα της ένωσης.



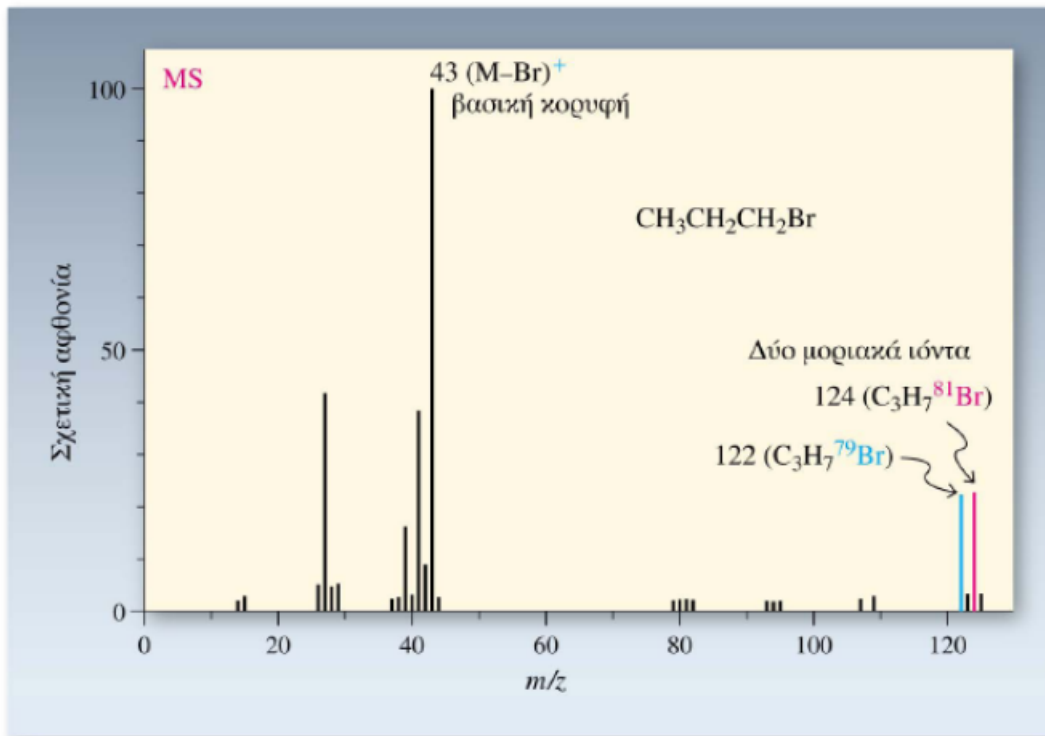
Οι ακριβείς μάζες των διαφόρων κοινών ισωτόπων καθώς και οι **ισωτοπικές κορυφές** φαίνονται στο παρακάτω σχήμα:

Ακριβείς μάζες διαφόρων κοινών ισωτόπων	
Ισώτοπο	Μάζα
^1H	1,00783
^{12}C	12,00000
^{14}N	14,0031
^{16}O	15,9949
^{32}S	31,9721
^{35}Cl	34,9689
^{37}Cl	36,9659
^{79}Br	78,9183
^{81}Br	80,9163

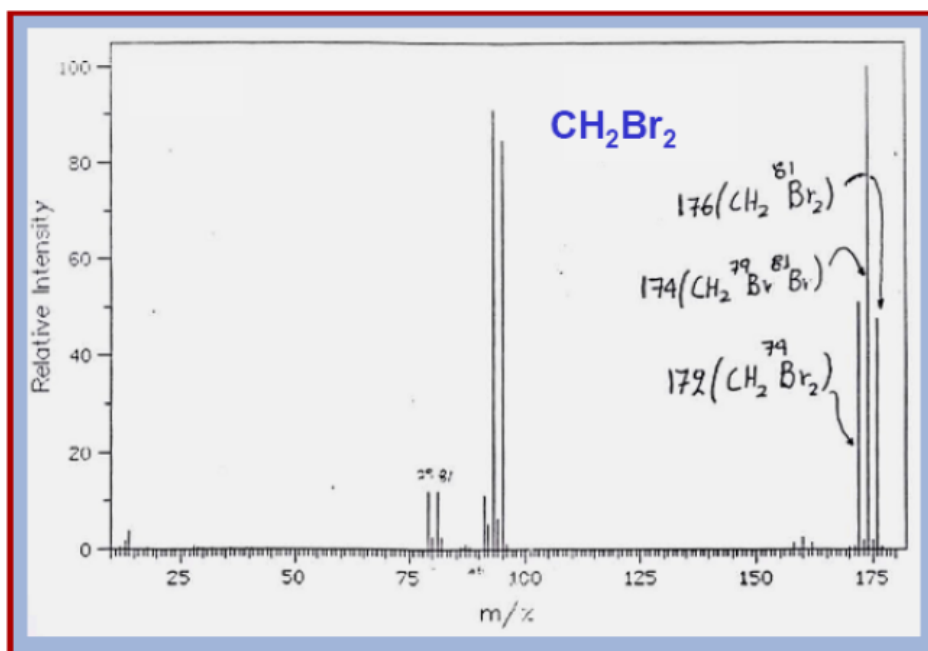


Στις παρακάτω εικόνες φαίνονται τα φάσματα μαζών του βρωμοπροπανίου και διβρωμομεθανίου, αντίστοιχα όπου διαφαίνονται ξεκάθαρα τόσο οι βασικές κορυφές όσο και οι κορυφές των μοριακών ιόντων.

Φάσμα MS του βρωμοπροπανίου



Φάσμα MS του διβρωμομεθανίου



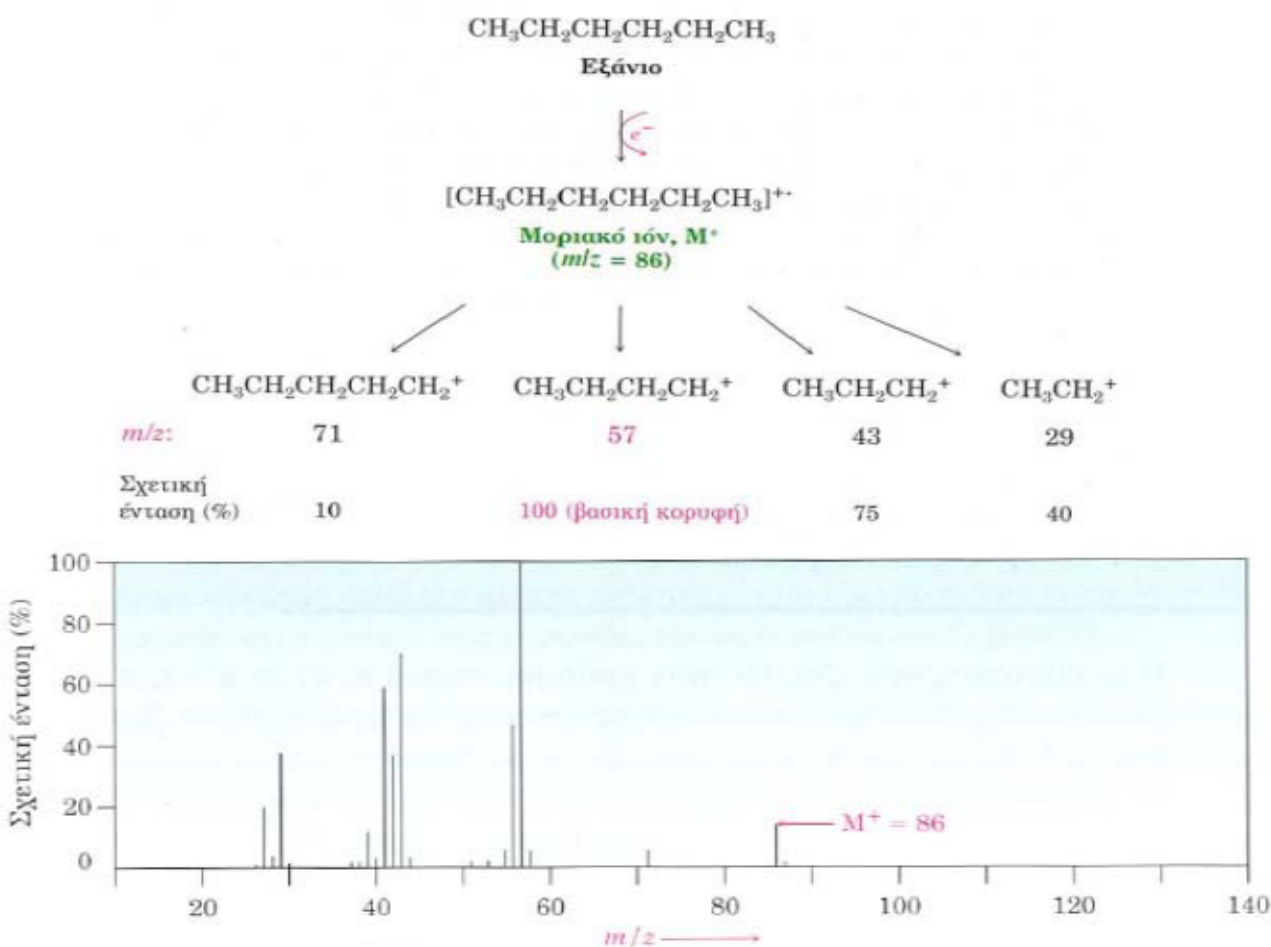
Θραυσματοποίηση

Η επίδραση της δέσμης ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας συχνά «σπάει» το μόριο σε θραύσματα, συνήθως ένα κατιόν και μια ρίζα. Οι δεσμοί σπάνε ώστε να δώσουν το πιο σταθερό κατιόν ενώ η σταθερότητα της ρίζας είναι δευτερεύουσας σημασίας.

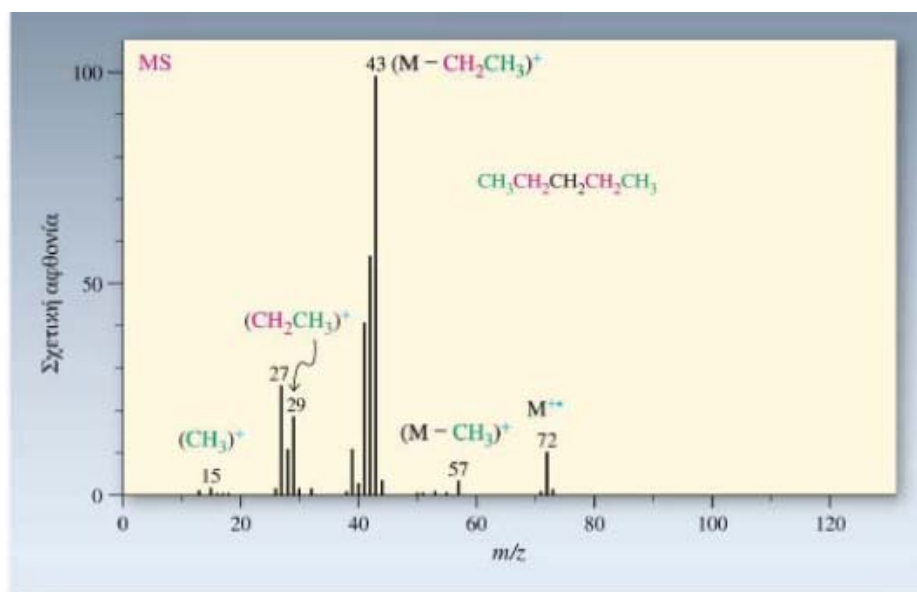
Για τα **αλκάνια** κατά τη θραυσματοποίηση συνήθως αποκόπτονται απλές αλκυλομάδες με βάση τα εξής μοτίβα: Αποκοπή μεθυλομάδας $M^+ - 15$, Αποκοπή αιθυλομάδας $M^+ - 29$, Αποκοπή προπυλομάδας $M^+ - 43$, Αποκοπή βουτυλομάδας $M^+ - 57$

Τα αλκάνια με διακλαδισμένη ανθρακική αλυσίδα τείνουν να θραυσματοποιούνται προς το σχηματισμό του σταθερότερου καρβοκατιόντος. Στις εικόνες που ακολουθούν παραδείγματα φασμάτων μάζας για τα αλκάνια εξάνιο, πεντάνιο, 2-μεθυλοβουτάνιο και 2,2-διμέθυλοπροπάνιο, αντίστοιχα.

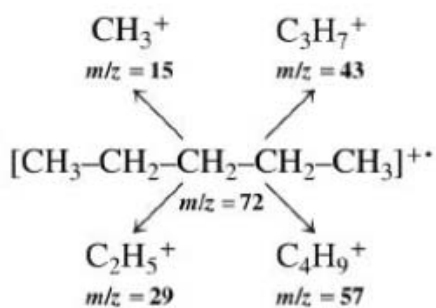
Φάσμα μαζών εξανίου



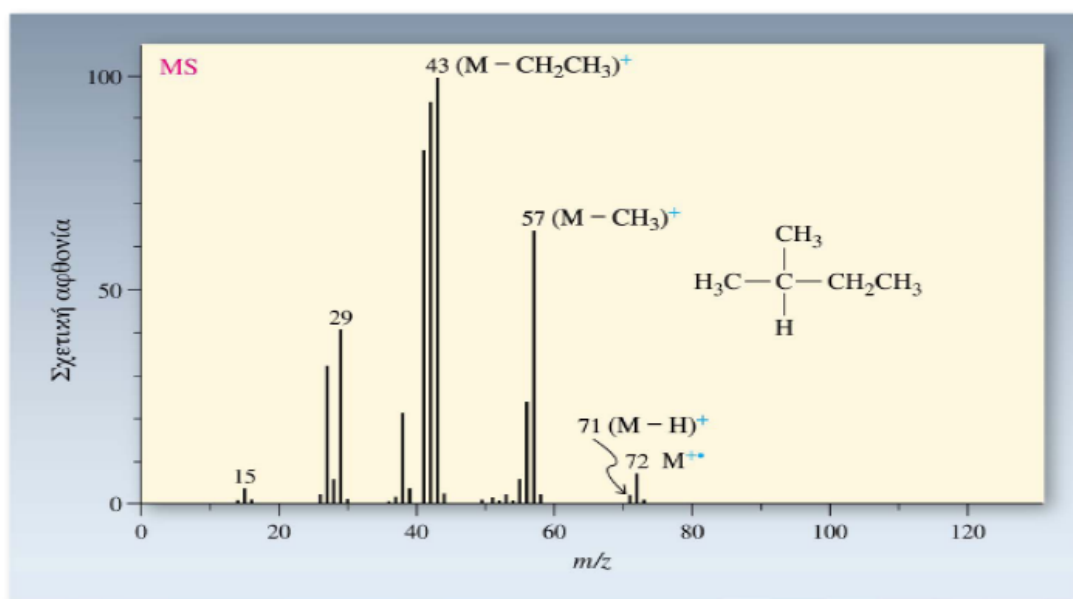
Φάσμα μάζας του πεντανίου



Ιονικά θραύσματα του πεντανίου

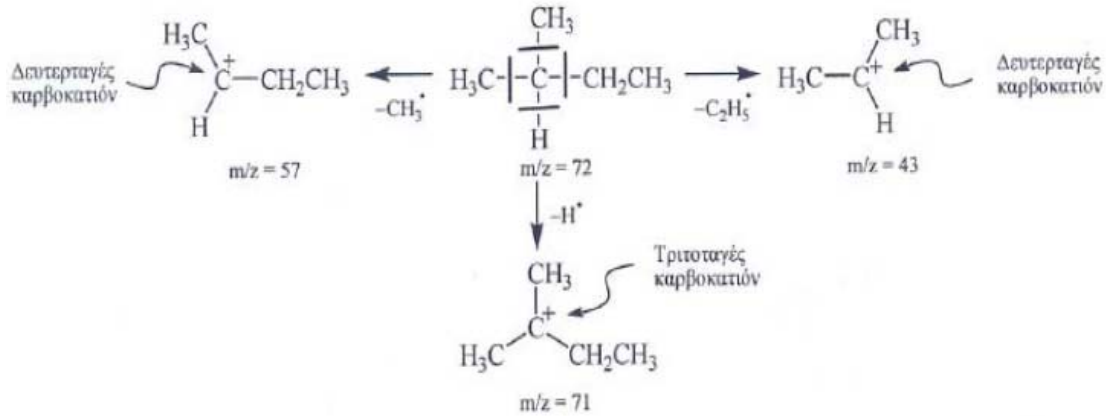


Φάσμα μάζας του 2-μεθυλοβουτανίου



Προτιμώμενη θραυσματοποίηση γύρω από τον C2, ώστε να σχηματιστούν δευτεροταγή καρβοκατιόντα.

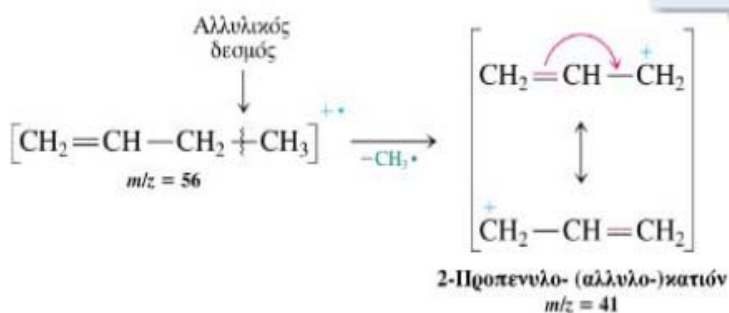
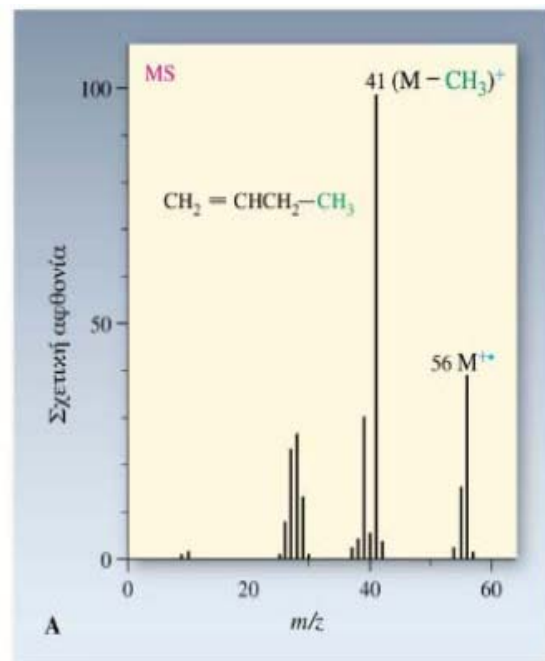
Προτιμώμενη θραυσματοποίηση του 2-μεθυλοβουτανίου



Φάσμα μάζας του 1-βουτενίου

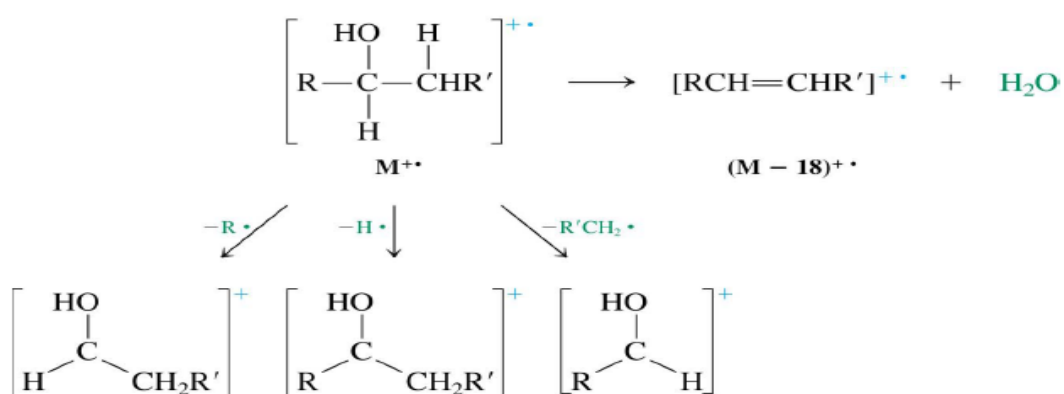
Τα αλκένια διασπώμενα δίνουν κατιόντα σταθεροποιούμενα με συντονισμό

Η κορυφή σε $m/z = 41$ αντιστοιχεί στη σχάση που δίνει το σταθεροποιούμενο με συντονισμό 2-προπενυλο-κατιόν (αλλυλο-κατιόν)

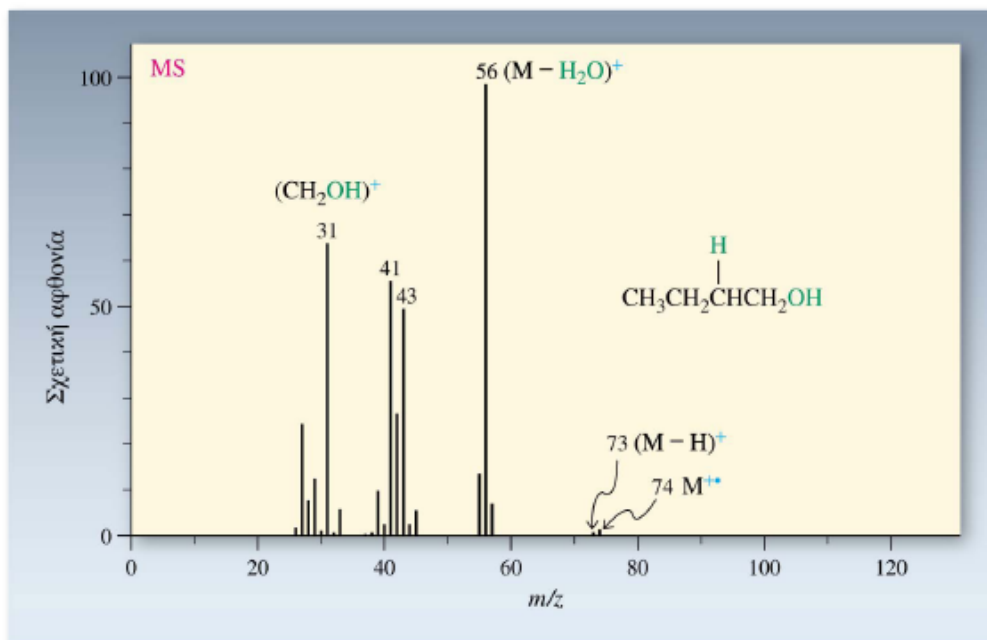


Οι αλκοόλες θραυσματοποιούνται εύκολα καταλήγοντας σε πολύ μικρά θραύσματα ή απουσία του μοριακού ιόντος. Είναι πιθανό επίσης να χάσουν μια ρίζα υδροξυλίου ή νερό ($M^+ - 17$ ή $M^+ - 18$, αντίστοιχα). Οι πρωτοταγείς αλκοόλες μπορεί να έχουν μια κορυφή στο σημείο που αντιστοιχεί σε $m/z = 31$ εξαιτίας του κατιόντος $H_2C=OH^+$.

Τύπος θραυσματοποίησης αλκοόλης με αφυδάτωση και α σπάση



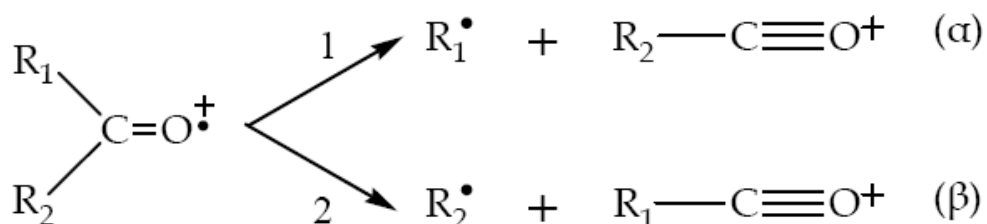
Φάσμα μάζας της 1-βουτανόλης



Το μοριακό ιόν σε m/z 74 εμφανίζει μικρής έντασης κορυφή λόγω της ευκολίας απόσπασης νερού, από την οποία λαμβάνεται το ιόν σε m/z 56. Άλλα θραύσματα είναι του προπυλίου σε m/z 43, του προπενυλίου (αλλυλίου) σε m/z 41 και του υδροξυμεθυλίου σε m/z 31.

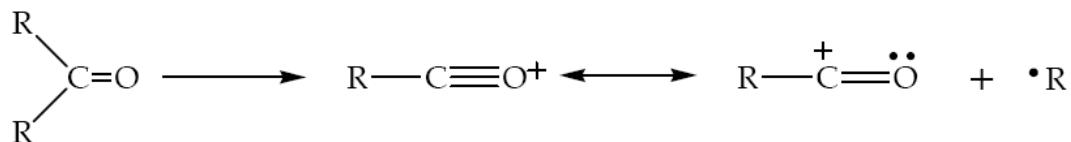
Αλδεΐδες και κετόνες.

Η παρουσία χαρακτηριστικών (δραστικών) ομάδων στις οργανικές ενώσεις δημιουργεί μεγαλύτερη ποικιλία διαστάσεων, σε σχέση με αυτές που μελετήθηκαν παραπάνω, για κορεσμένους υδρογονάνθρακες. Στην περίπτωση των αλδεϋδών και κετονών, για να μελετηθεί η διεργασία θραυσματοποίησης των μορίων τους πρέπει να γίνει αποδεκτό ότι η απλοποιημένη μορφή του μοριακού τους ιόντος είναι:



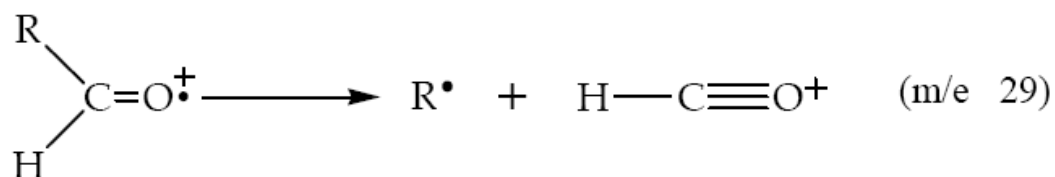
όπου το φορτίο είναι εντοπισμένο σε μια περιοχή του μορίου.

Μια απλήσχάση του μορίου των αλδεϋδών και κετονών δίπλα στο καρβονύλιο έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δύο κατιόντων (α, β) που σταθεροποιούνται με μεσομέρεια ή συντονισμό.

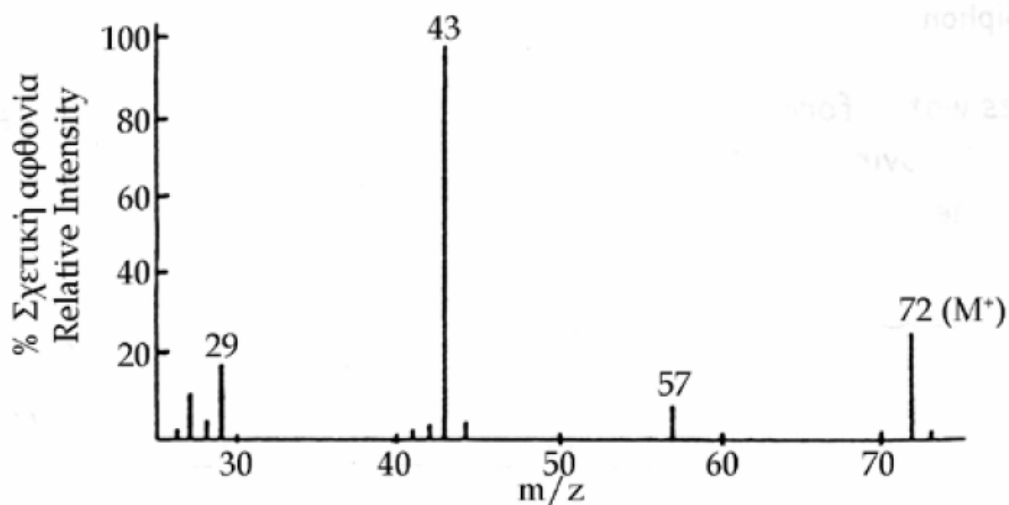
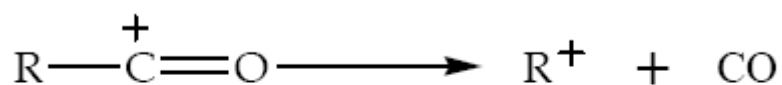


απλή διεργασία θραυσματοποίησης

Η σταθερότητα της ρίζας R• (R₁• ή R₂•) είναι βασικός παράγοντας, που ρυθμίζει ποια από τις δύο διεργασίες ευνοείται. Συνήθως, όσο μεγαλύτερο το R τόσο πιο εύκολα αποβάλλεται. Στην περίπτωση των αλδεϋδών δεν ευνοείται η απώλεια ενός υδρογόνου, αλλά της ομάδας R με την εμφάνιση στα φάσματα μαζών μιας ισχυρής γραμμής με m/z 29, σύμφωνα με το σχήμα:



Τα κατιόντα που προκύπτουν από την πρώτη σχάση δέχονται μια καινούργια σχάση με την αποβολή του σταθερού μορίου του μονοξειδίου του άνθρακα (CO). Η θραυσματοποίηση αυτή οδηγεί σε ιόντα με άρτιο αριθμό ηλεκτρονίων

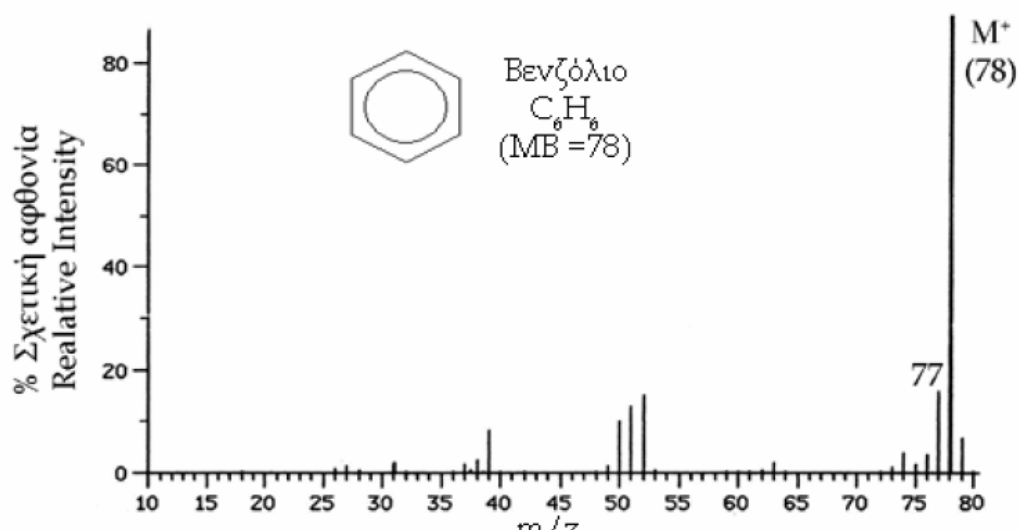


Φάσμα μαζών της βουτανόνης

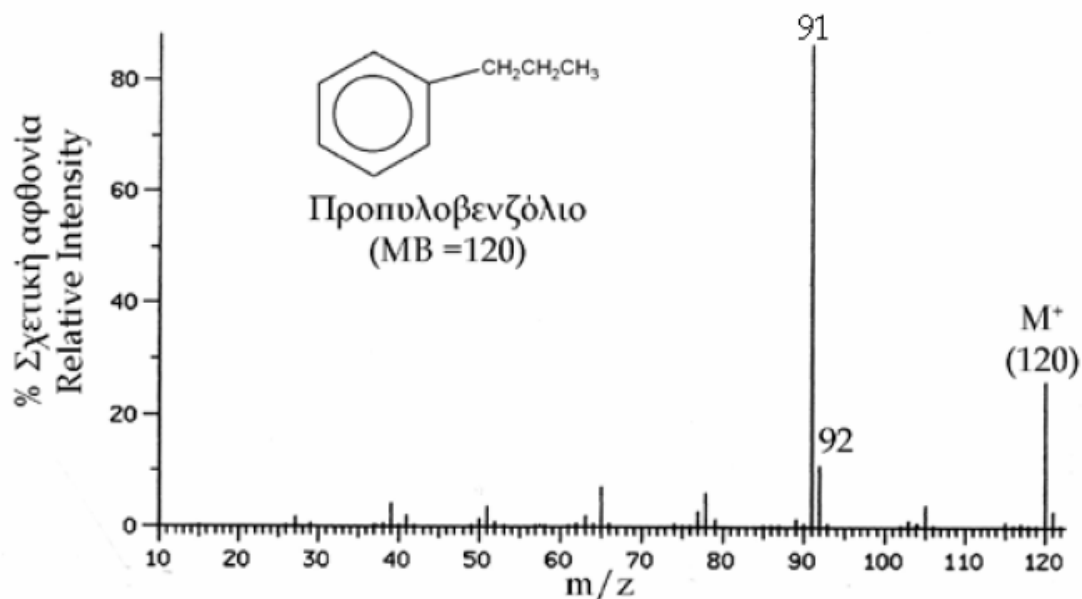
Η βουτανόνη δεν έχει γ-υδρογόνο και για αυτό δεν υπάρχει αφθονία φασματικών γραμμών για ιόντα με περιττό αριθμό ηλεκτρονίων. Η βασική γραμμή 43 αντιπροσωπεύει το ιόν CH_3CO^+ μετά την απώλεια της αιθυλορίζας ($\text{CH}_3\text{CH}_2\cdot$). Η απώλεια μεθυλικής ρίζας (που δεν ευνοείται) δίνει το ιόν $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}^+$ (m/z 57), αλλά με πολύ μικρή αφθονία. Πρέπει να σημειωθεί ότι και στα δύο φάσματα η φασματική γραμμή του μοριακού ιόντος (M^+) έχει μεγάλη αφθονία.

Αρωματικές ενώσεις

Τα φάσματα μαζών των αρωματικών ενώσεων παρουσιάζουν σταθερό μοριακό ιόν, λόγω του συστήματος των αρωματικών π-ηλεκτρονίων, που συνήθως δίνει μια ισχυρή φασματική γραμμή. Η θραυσματοποίηση του αρωματικού δακτυλίου, στο βενζόλιο, απαιτεί αρκετή ενέργεια και για αυτό δεν εμφανίζεται με μεγάλη αφθονία όπως δείχνει και το φάσμα του βενζολίου.



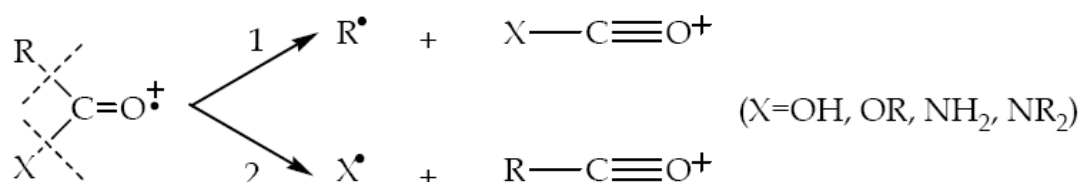
Φάσμα μαζών του βενζολίου.



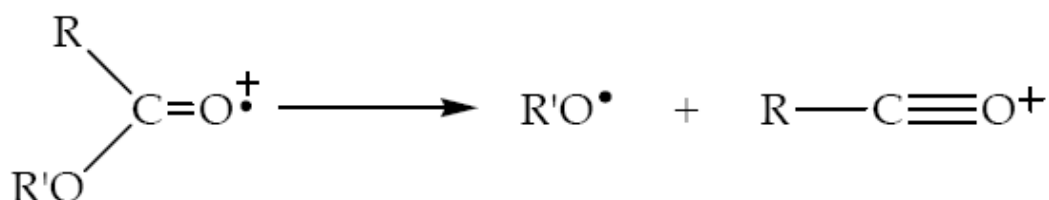
Φάσμα μαζών του προπυλοβενζολίου

Καρβοξυλικά οξέα, εστέρες και αμίδια.

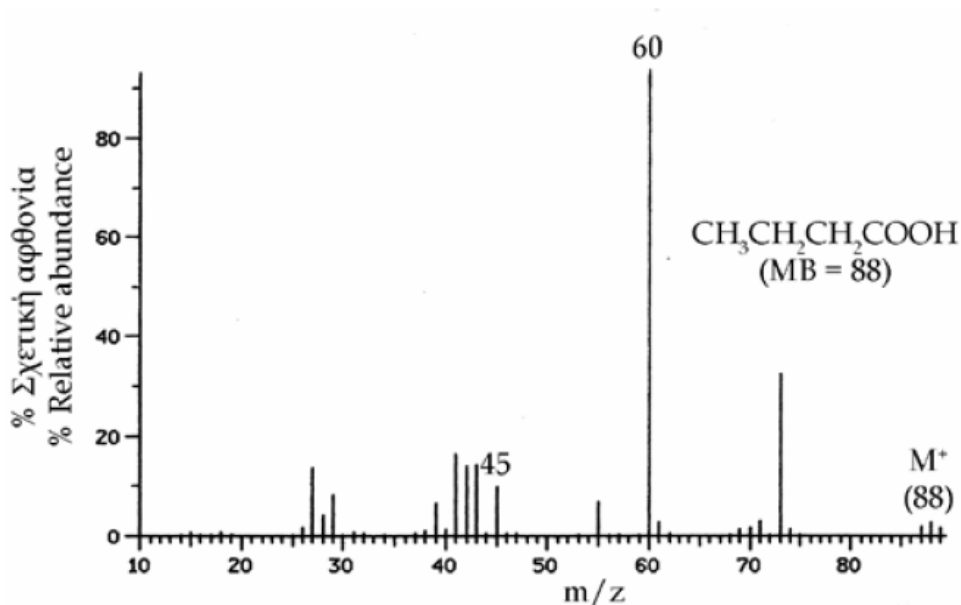
Για τα καρβοξυλικά (ή καρβονικά οξέα) παρουσιάζεται απλή σχάση του διπλού δεσμού, δίπλα στην καρβονυλική ομάδα του μοριακού ιόντος σε δύο κατευθύνσεις.



Η κατεύθυνση 1 ενοείται, στην περίπτωση των οξέων και αμιδίων, με το σχηματισμό HO—C≡O+ (m/z 45) και N₂N—C≡O+ (m/z 44), ενώ η κατεύθυνση 2 ενοείται για τους εστέρες και τα τριτοταγή αμίδια.

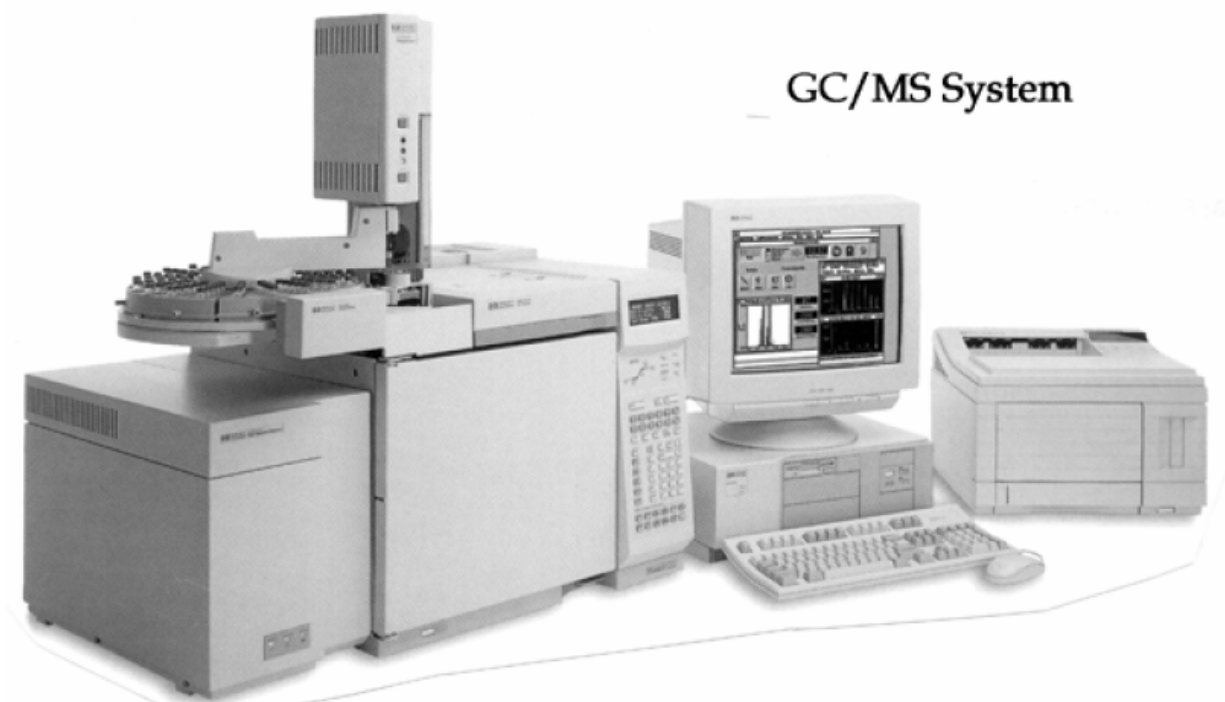


Οξέα με γ-υδρογόνα (3 άνθρακες μετά το καρβονύλιο) παρουσιάζουν την κατάταξη Mc Lafferty και παράγουν μια έντονη φασματική γραμμή για την τιμή m/z 60.



Φάσμα μαζών του βουτυρικού οξέος.

Η φασματομετρία μαζών μπορεί να συνδυασθεί με την αέρια χρωματογραφία (GC) ή την υγρή χρωματογραφία (LC) και παρέχει στον αναλυτή τις ονομαζόμενες «συνδυασμένες τεχνικές GC/MS ή LC/MS» που σήμερα αποτελούν τις συνηθέστερες τεχνικές για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση εξαιρετικά πολύπλοκων μειγμάτων οργανικών ενώσεων.



Τα κύρια πλεονεκτήματα της φασματομετρίας μαζών είναι η αυξημένη ευαισθησία της, σε σύγκριση με άλλες αναλυτικές τεχνικές και η υψηλή εξειδίκευσή της κατά την ταυτοποίηση ουσιών ή την επιβεβαίωση ύποπτων ουσιών σε ένα δείγμα. Ως μειονεκτήματα μπορεί να θεωρηθούν το συγκριτικά μεγάλο κόστος των απαιτούμενων οργάνων, το μεγάλο κόστος λειτουργίας και συντήρησής τους κι ο μεγάλος βαθμός εξειδίκευσης του χρήστη για το χειρισμό των σχετικών συσκευών και την ερμηνεία των φασμάτων.

Ατομική Φασματοσκοπία

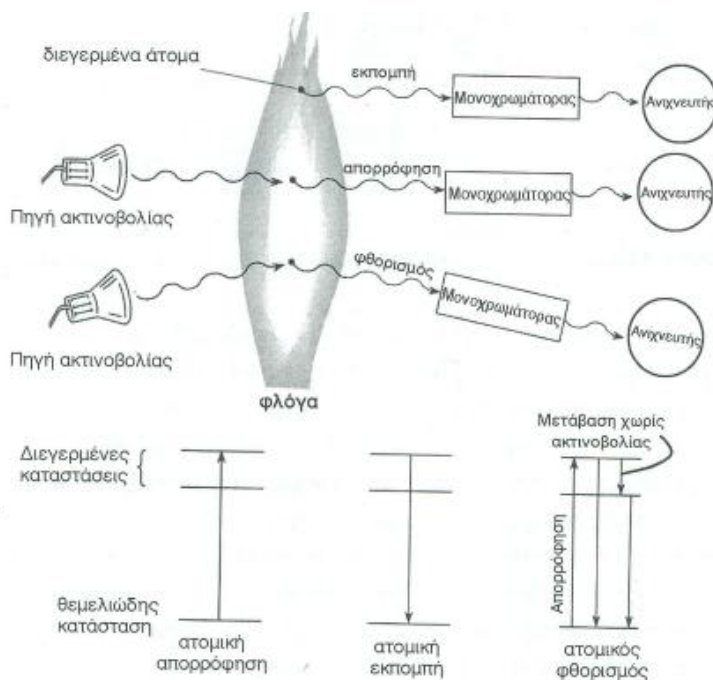
Εισαγωγή

Με τον όρο ατομική φασματοσκοπία χαρακτηρίζεται ένα σύνολο φασματοσκοπικών τεχνικών ανάλυσης, που βασίζονται στην αλληλεπίδραση ατόμων με την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Οι τεχνικές αυτές βρίσκουν εφαρμογή στη στοιχειακή ανάλυση. Η ατομική φασματοσκοπία βασίζεται στην ατμοποίηση του δείγματος σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες και τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ατόμων με μέτρηση είτε της απορρόφησης (φασματομετρία ατομικής απορρόφησης) ή της εκπομπής (φασματομετρία εκπομπής) ή του φθορισμού (φασματομετρία ατομικού φθορισμού) στο χαρακτηριστικό μήκος κύματος του κάθε στοιχείου.

Έτσι δημιουργούνται οι εξής κλάδοι ατομικής φασματοσκοπίας:

1. η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης
2. η φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής και
3. η φασματοσκοπία ατομικού φθορισμού.

Η αρχή των μεθόδων αυτών παρουσιάζεται σχηματικά παρακάτω.



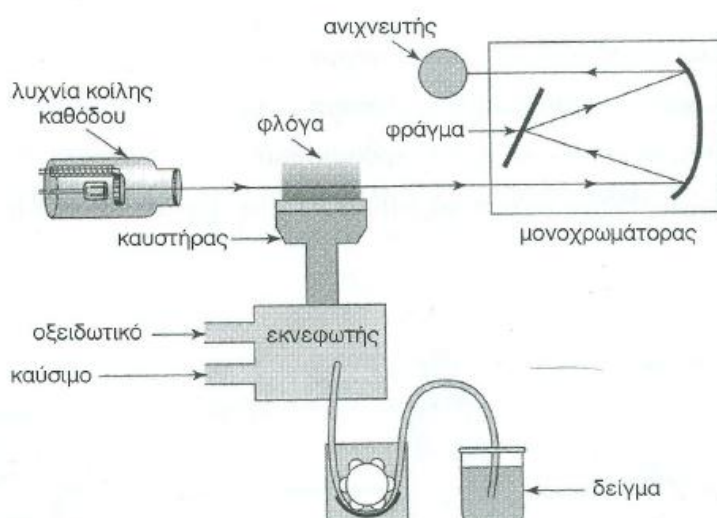
Σχηματική παρουσίαση του μηχανισμού ατομικής απορρόφησης, ατομικής εκπομπής και ατομικού φθορισμού

Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης (Atomic Absorption Spectroscopy, AAS)

Η φασματομετρία ατομικής απορρόφησης εισήχθη από τον Walsh και τους συνεργάτες του στην Αυστραλία το 1955 και βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης ακτινοβολίας ορισμένου μήκους κύματος από τα άτομα του στοιχείου του δείγματος. Σήμερα, η φασματομετρία ατομικής απορρόφησης αποτελεί μια από τις πιο εύχρηστες τεχνικές για τον προσδιορισμό στοιχείων σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και σε μεγάλη ποικιλία δειγμάτων.

Ένα φασματόμετρο ατομικής απορρόφησης αποτελείται βασικά από δύο τμήματα: το μηχανικό τμήμα της παραγωγής των ατόμων από το δείγμα και το οπτικό τμήμα, όπου γίνεται η ατομική απορρόφηση της εξωτερικής πηγής ακτινοβολίας.

Η γενική διάταξη ενός φασματόμετρου ατομικής απορρόφησης απεικονίζεται διαγραμματικά στο παρακάτω σχήμα:



Σχηματική απεικόνιση φασματόμετρου ατομικής απορρόφησης.

Αρχικά το δείγμα υποβάλλεται σε ατμοποίηση, δηλαδή παίρνει την μορφή ατόμων. Για να συμβεί αυτό, το υγρό δείγμα αναρροφάται στον εκνεφωτή και παίρνει τη μορφή λεπτότατων σταγόνων. Τα σταγονίδια μετά από μια σειρά εμποδίων και απωλειών (χάνεται περίπου το 90% της αρχικής τους ποσότητας) εισέρχονται στη φλόγα. Τα άτομα που σχηματίζονται στη φλόγα, τα περισσότερα των οποίων είναι στη θεμελιώδη τους κατάσταση, διαπερνούν την οπτική δέσμη μιας πηγής ακτινοβολίας και διεγείρονται. Η απορρόφηση

τους καταγράφεται με τη βοήθεια ενός συστήματος μονοχρωμάτορα και ανιχνευτή.

Η απορρόφηση της ακτινοβολίας είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του στοιχείου που προσδιορίζουμε, σύμφωνα με τον νόμο των Lambert- Beer:

$$A = \lg (P_0/P) = kc$$

Όπου,

A : η απορρόφηση της ακτινοβολίας

P₀ : η ισχύς της ακτινοβολίας που προσπίπτει στο νέφος των ατόμων

P : η ισχύς της εξερχόμενης ακτινοβολίας, μετά τη δίοδο από το νέφος

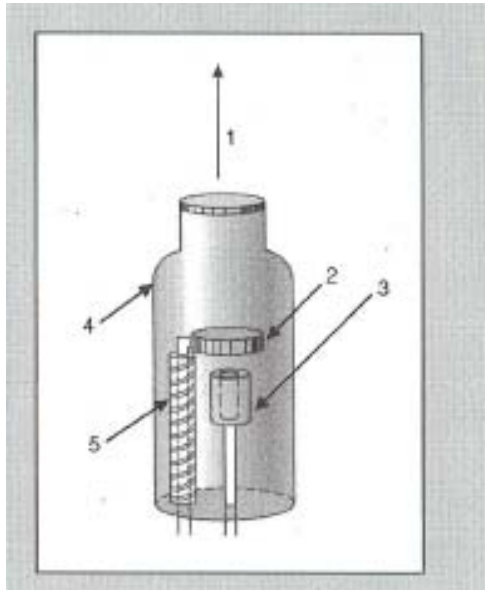
k : ο συντελεστής αναλογίας ο οποίος εξαρτάται από τις πειραματικές συνθήκες

c : η συγκέντρωση του προσδιοριζόμενου στοιχείου στο εισαγόμενο δείγμα.

Πηγές ακτινοβολίας

Στη φασματομετρία ατομικής απορρόφησης δε χρησιμοποιείται πηγή συνεχούς ακτινοβολίας επειδή οι ατομικές γραμμές απορρόφησης είναι πολύ στενές. Στην περίπτωση αυτή, το μεγαλύτερο μέρος της ακτινοβολίας θα κατέληγε στον ανιχνευτή με αποτέλεσμα να έχουμε μικρή ευαισθησία ανάλυσης. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται γραμμικές πηγές ακτινοβολίας, όπως είναι οι λυχνίες κοίλης καθόδου.

Οι λυχνίες κοίλης καθόδου (hollow –cathode lamps) αποτελούνται από δύο ηλεκτρόδια σε γυάλινο σωλήνα που φέρει παράθυρο από χαλαζία στο ένα άκρο. Ο σωλήνας αυτός είναι γεμάτος με ένα ευγενές αέριο, συνήθως Ne ή Ar υπό πίεση ολίγων Torr. Η κάθοδος είναι σε μορφή κυπέλλου και είναι κατασκευασμένη από το προσδιοριζόμενο στοιχείο. Με εφαρμογή τάσεως μεταξύ της καθόδου και ανόδου, το αέριο της λυχνίας ιοντίζεται και τα θετικά ιόντα προσπίπτουν στην κάθοδο και προκαλούν εξάχνωση μέρους της καθόδου. Τα άτομα που παράγονται διεγείρονται, εκπέμποντας την επιθυμητή χαρακτηριστική ακτινοβολία. Η ακτινοβολία αυτή είναι της ίδιας συχνότητας με αυτή που απορροφούν τα άτομα του προσδιοριζόμενου στοιχείου στη φλόγα. Για κάθε στοιχείο απαιτείται διαφορετική λυχνία, αλλά υπάρχουν και λυχνίες πολλαπλών στοιχείων.



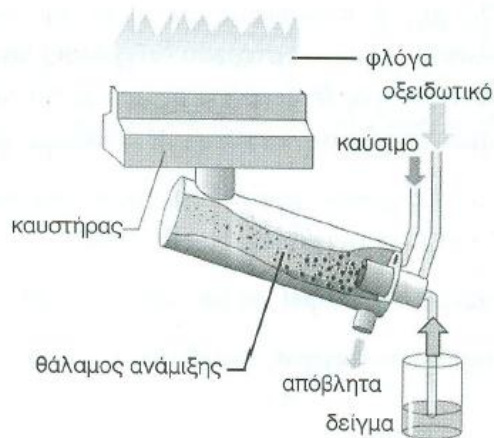
Σχηματική παρουσίαση λυχνίας κοίλης-καθόδου.

1. Παράθυρο χαλαζία
2. Δακτύλιος ανόδου
3. Κάθοδος
4. Γυάλινος σωλήνας γεμάτος αδρανές αέριο
5. Μονωτικό υλικό

Εκτός από τις λυχνίες κοίλης καθόδου και με πολύ μικρότερο εύρος εφαρμογών, χρησιμοποιούνται οι λυχνίες εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια, οι λυχνίες βαθμωτής θερμοκρασίας και οι λυχνίες τόξου Xe που είναι πηγές συνεχούς φάσματος.

Ατομοποίηση με Φλόγα

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος ατομοποίησης του δείγματος είναι με φλόγα. Στα περισσότερα φασματόμετρα ατομικής απορρόφησης χρησιμοποιείται ο λύχνος προ ανάμιξης, στον οποίο το δείγμα, το οξειδωτικό και το καύσιμο αναμιγνύονται πριν την εισαγωγή τους στη φλόγα. Η θερμοκρασία της φλόγας εξαρτάται από το είδος του καυσίμου και του οξειδωτικού. Ο συνδυασμός που χρησιμοποιείται συνήθως είναι ακετυλένιο / αέρας με τον οποίο επιτυγχάνεται θερμοκρασία μέχρι 2550 °C. Θεμελιώδης απαίτηση είναι η εισαγωγή του δείγματος στη φλόγα με σταθερό και ομοιόμορφο τρόπο. Αυτό επιτυγχάνεται με τον εκνεφωτή.



Σχηματική παρουσίαση του συστήματος εκνεφωτή - καυστήρα.

Όταν το διάλυμα του υπό ανάλυση δείγματος εισαχθεί στη φλόγα υπό μορφή σταγονιδίων, μέσω του εκνεφωτή, γίνεται μια σειρά διεργασιών:

1. εξάτμιση του διαλύτη
2. εξάχνωση της προσδιοριζόμενης ουσίας
3. διάσπαση μορίων σε άτομα ή ρίζες
4. διέγερση ορισμένου αριθμού ατόμων
5. πιθανός σχηματισμός οξειδίων που οδηγεί σε παρεμποδίσεις.

Η αριστοποίηση της φλόγας (π.χ. είδος καυσίμου και οξειδωτικού) αποβλέπει στη δημιουργία του μέγιστου αριθμού ατόμων από το στοιχείο που προσδιορίζουμε, χωρίς να σχηματίζονται οξείδια αυτού.

Όμως, πολλές φορές η ατομοποίηση με φλόγα δεν είναι ικανοποιητική. Τα βασικά μειονεκτήματα της φλόγας εντοπίζονται:

1. στις χημικές παρεμποδίσεις
2. στον ελάχιστο χρόνο παραμονής του δείγματος στην οπτική δέσμη του μονοχρωμάτορα
3. στη μη δυνατότητα ανάλυσης στερεών δειγμάτων
4. στην αδυναμία ανάλυσης μικρών δειγμάτων, καθώς μεγάλο ποσοστό του δείγματος δεν ατομοποιείται.

Ατομοποίηση με Φούρνο Γραφίτη

Το δείγμα ατομοποιείται σε φούρνο γραφίτη, θερμαινόμενο ηλεκτρικά, σε ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου. Τα υγρά δείγματα εισάγονται με μικροπιπέτα μέσω οπής που βρίσκεται στο κέντρο του φούρνου, ενώ τα στερεά δείγματα εισάγονται με διάφορους τρόπους π.χ. με λεμβίδιο. Η όλη διαδικασία περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Ξήρανση του δείγματος
2. Απανθράκωση του υποστρώματος του δείγματος
3. Ατομοποίηση
4. Καθαρισμός του γραφίτη.

Τα κύρια **πλεονεκτήματα** της ατομοποίησης με φούρνο έναντι της ατομοποίησης με φλόγα είναι: α. η δυνατότητα ανάλυσης μικρού όγκου δείγματος (μέχρι 0,5 μL), β. η ελάχιστη προετοιμασία του δείγματος (π.χ. δεν απαιτείται διαλυτοποίηση του στερεού δείγματος) και γ. η μεγάλη ευαισθησία (π.χ. 100-1000 φορές μεγαλύτερη της αντίστοιχης με φλόγα).

Τα κυριότερα **μειονεκτήματα** της ατομοποίησης με φούρνο είναι ότι:

- α. ένα μέρος του δείγματος μπορεί να χαθεί στο στάδιο της απανθράκωσης (π.χ. τα στοιχεία As, Se, Te, Hg)
- β. μέρος του δείγματος μπορεί να μην ατομοποιηθεί
- γ. η σχετικά μικρή αναπαραγωγισιμότητα.

Χημική Ατομοποίηση- Σχηματισμός Υδριδίων

Η τεχνική αυτή βασίζεται στο σχηματισμό πτητικού προϊόντος με το υπό προσδιορισμό στοιχείο. Κατ' αυτό τον τρόπο προσδιορίζονται τα τοξικά στοιχεία As, Bi, Ge, Sb, Se, Sn, Te υπό τη μορφή πτητικών υδριδίων. Το αναγωγικό μέσο που χρησιμοποιείται για το σκοπό αυτό είναι NaBH_4 . Ο υδράργυρος επίσης προσδιορίζεται με αναγωγή των ιόντων υδραργύρου σε μεταλλικό υδράργυρο (Hg) ο οποίος εμφανίζει υψηλή πτητικότητα.

Μονοχρωμάτορας

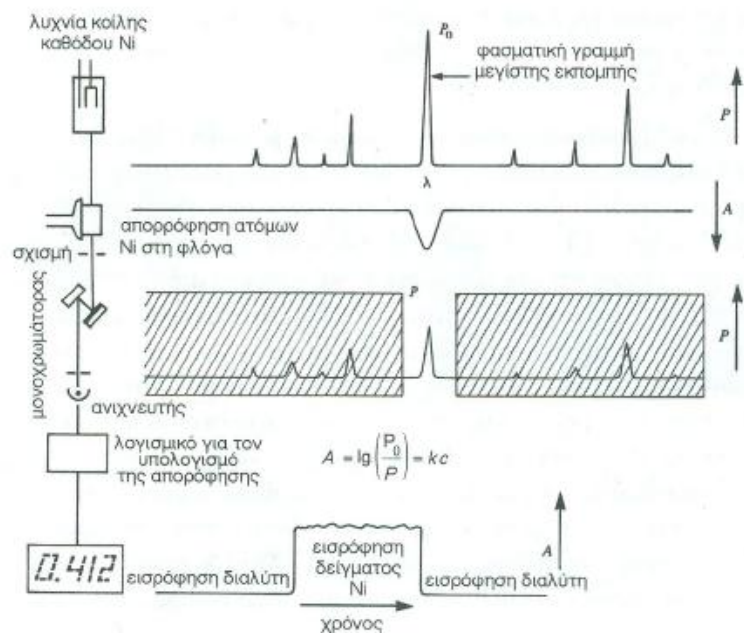
Με τη βοήθεια του μονοχρωμάτορα επιλέγεται και απομονώνεται η κύρια φασματική γραμμή από το φάσμα που εκπέμπει η πηγή ακτινοβολίας. Οι μονοχρωμάτορες που χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό είναι

περιθλαστικά φράγματα (diffraction gratings), που είναι ανακλαστικές επιφάνειες με πολυάριθμες χαραγές ή κλιμακωτά φράγματα.

Ανιχνευτές

Κατά κανόνα, το σύστημα ανίχνευσης είναι ένας φωτοπολλαπλασιαστής (photomultiplier). Ο φωτοπολλαπλασιαστής είναι ένας σωλήνας στον οποίο εκπέμπονται ηλεκτρόνια από μια φωτοευαίσθητη αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια, όταν πέσει σε αυτήν ορατή ή υπεριώδης ακτινοβολία. Τα ηλεκτρόνια αυτά επιταχύνονται από ένα ηλεκτρικό πεδίο και προκαλούν την εκπομπή άλλων ηλεκτρονίων, καθώς προσκρούουν σε άλλη επιφάνεια. Έτσι, τα ηλεκτρόνια πολλαπλασιάζονται και τελικά συλλέγονται 10^6 ηλεκτρόνια για κάθε φωτόνιο που προσπίπτει στην αρχική επιφάνεια.

Συνοπτικά, η λειτουργία ενός φασματόμετρου ατομικής απορρόφησης δίνεται στο παρακάτω σχήμα.



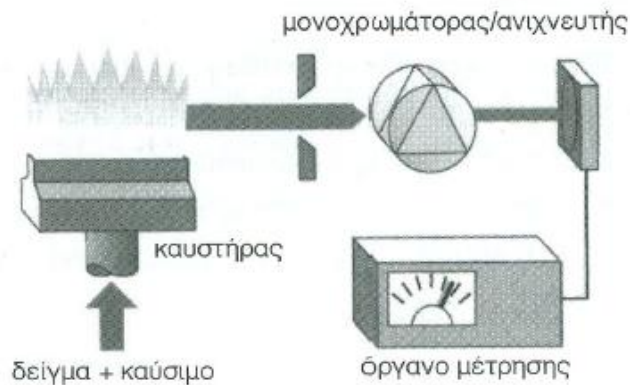
Σχηματική παρουσίαση της λειτουργίας ενός φασματόμετρου ατομικής απορρόφησης για τον προσδιορισμό του Ni.

Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής

Τα διάφορα είδη φασματοσκοπίας ατομικής εκπομπής (Atomic Emission Spectroscopy, AES) καθορίζονται από την πηγή διέγερσης που μπορεί να

είναι φλόγα (φλογοφωτομετρία), βολταϊκό τόξο ή επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP).

Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζεται διαγραμματικά μια διάταξη φλογοφωτομετρίας.



Σχηματική απεικόνιση φλογοφωτόμετρου.

Στη **φλογοφωτομετρία** (Flame Emission Spectroscopy, FES) το δείγμα μετά την εκνέφωσή του εισάγεται στη φλόγα, όπου απομακρύνεται ο διαλύτης και ατομοποιείται το προς ανάλυση στοιχείο. Τα άτομα που προκύπτουν διεγείρονται από τη φλόγα και κατά την αποδιέγερση τους εκπέμπουν χαρακτηριστική ακτινοβολία. Η ακτινοβολία αυτή στη συνέχεια διέρχεται από μονοχρωμάτορα, οπότε απομονώνεται το επιθυμητό τμήμα του φάσματος, το οποίο ανιχνεύεται και στη συνέχεια μετά την ενίσχυσή του καταγράφεται. Το μήκος κύματος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας αποτελεί τη βάση για την ποιοτική ανάλυση, η δε ένταση της ακτινοβολίας συσχετίζεται με την ποσότητα του προσδιοριζόμενου στοιχείου.

Η φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής με πηγή διέγερσης επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-AES) είναι μια φασματοσκοπική τεχνική εκπομπής που χρησιμοποιεί ως πηγή διέγερσης Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (ICP). Το πλάσμα εξ ορισμού είναι ένα πολύ θερμό αέριο ή μίγμα αερίων, στο οποίο ένα σημαντικό ποσοστό ατόμων ή μορίων είναι ιοντισμένα, με αποτέλεσμα να υπόκειται σε ηλεκτρομαγνητικές επιδράσεις, να αντιδρά ποικιλοτρόπως, όπως να συζεύγνυται επαγωγικά. Το Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (ICP) είναι πλάσμα αργού, που αντλεί την συντηρούσα αρχή του εξ επαγωγής από μαγνητικό πεδίο υψηλής συχνότητας. Με την τεχνική ICP-AES μπορούν να προσδιοριστούν με

μεγάλη ακρίβεια και εκλεκτικότητα μεγάλος αριθμός στοιχείων. Η γραμμική περιοχή είναι μεγάλη, ενώ υπάρχει η δυνατότητα ταυτόχρονης μέτρησης πολλών στοιχείων, π.χ. μέχρι 48. Ο βασικός μειονεκτικός παράγοντας στη χρήση του ICP-AES είναι το υψηλό κόστος αγοράς του οργάνου.

Εφαρμογές ατομικής φασματοσκοπίας

Η ατομική φασματοσκοπία αποτελεί βασική τεχνική ανάλυσης μεγάλου αριθμού μετάλλων σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και σε μεγάλη ποικιλία δειγμάτων. Βρίσκει πολυάριθμες εφαρμογές στην περιβαλλοντική χημική ανάλυση, τον έλεγχο τροφίμων, στη γεωλογία, στην πετροχημεία, στη μεταλλουργία, στην ανάλυση βιομηχανικών προϊόντων κλπ.