

Agilent Cary 8454 紫外-可见二极管阵列用 于多波长动力学分析的优势

应用简报

特种化学品

作者

Ursula Tems 博士

安捷伦科技公司
澳大利亚马尔格雷夫



前言

采用分光光度法监控反应底物的减少或反应产物的增加，可以跟踪对-硝基苯基乙酸酯 (pNPA) 的水解反应过程。监控浓度变化的速率可以确定反应的速率。

Agilent Cary 8454 紫外-可见二极管阵列分光光度计只需 0.1 秒的时间就能够获得全光谱。您可以根据需要随时从储存的光谱数据中提取出随时间变化的吸光度。由于包含整个波长范围的数据是在同一个实验里同时获得的，因此，可以对不同波长的结果进行准确的阐释，为反应机理的研究提供有用的信息。



Agilent Technologies

采用传统的扫描分光光度计，通常能够比较方便地在单一波长或者选定的几个波长上跟踪反应的动力学过程，如果反应非常快速，则使用分光光度计是必需的。对于 pNPA 的水解反应过程，可以在 270 nm 下监控 pNPA 的消耗或在 405 nm 下监控对-硝基苯酚的生成。然而，由于没有监控整个光谱范围，有可能漏掉实现数据准确分析所必需的重要数据。

除了快速、精确的测量，精确的温度控制对于准确的动力学测量也是至关重要的。根据所研究的反应不同，仅仅 1 °C 的变化就有可能导致观测到的反应速率发生重大变化。Agilent Cary 8454 提供的帕尔贴温度控制附件（部件号 89090A）可以精确控制温度，能够加热或冷却样品，还能利用温度探头测量样品的温度。

实验部分

在碱性溶液中，pNPA 会按照下面的方程式水解为对-硝基苯酚：

从原理上讲，这是一个二级反应，但如果存在过量的水，则会表现出伪一级反应动力学。反应速率对 pH 值和温度较为敏感。将 2.9 mL 的 0.1 M 磷酸缓冲液 (pH 8.5) 加入到比色皿中，然后将其放入恒温的比色皿支架中使其达到平衡。样品的精确温度由一个外置温度传感器选件测定，该传感器尺寸很小，有玻璃外罩以保持惰性。

环绕在样品池周围的铝块的温度由帕尔贴温度控制器控制。样品池与铝块紧密接触以尽可能减小温度差异。预设温度与样品实际温度之间只有很微小的差异。在比色皿中加入 3 mL 蒸馏水，就可以用外置传感器来测定不同温度下二者之间的差异（图 2）。尽管如此，监控得到的温度是通过外置传感器测得的实际样品的温度，这就保证了最高的温度精度。

当反应温度达到平衡时，将 50 μL 溶于无水乙腈的对-硝基苯基乙酸酯储备液加入比色皿开始反应，并用搅拌器以 700 rpm 的速度混合反应物。以指定的时间间隔自动获取谱图，该时间间隔是根据反应温度和速度进行调节。图 3 显示了 55 °C 时反应体系的光谱，测量间隔为 125 秒。

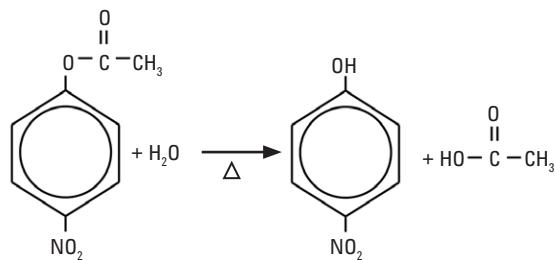


图 1. pNPA 水解反应

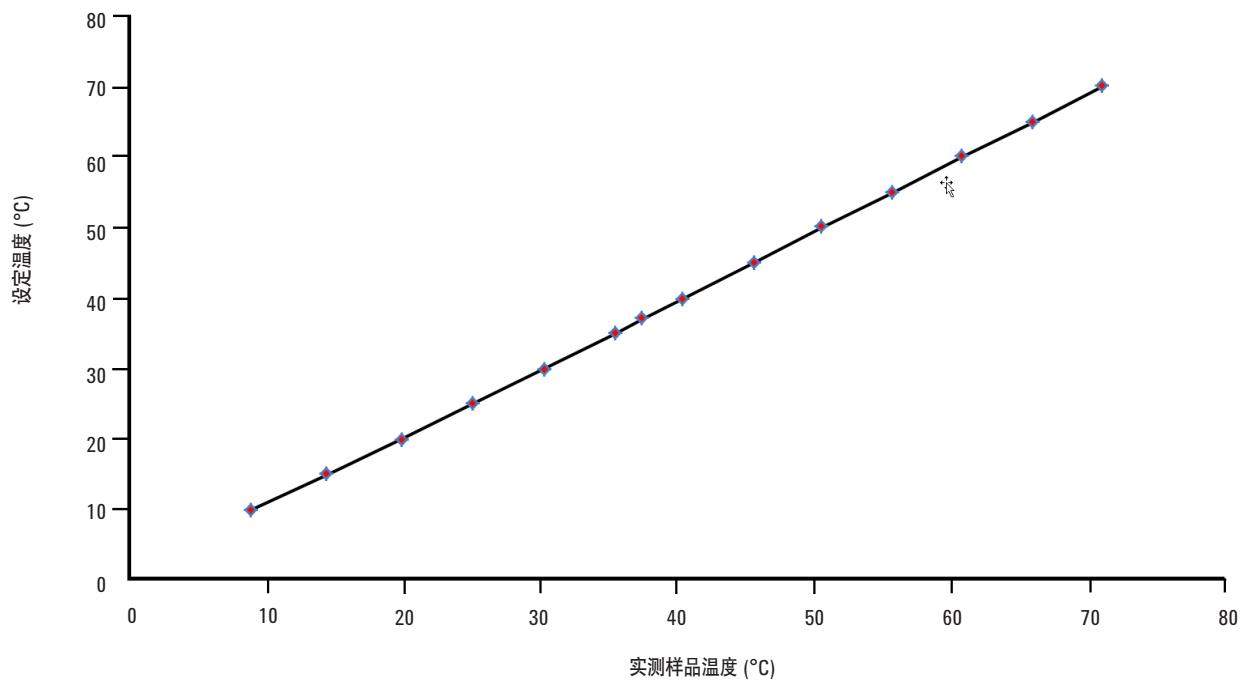


图 2. 设定温度（比色皿支架）与实测样品温度之间的相关性

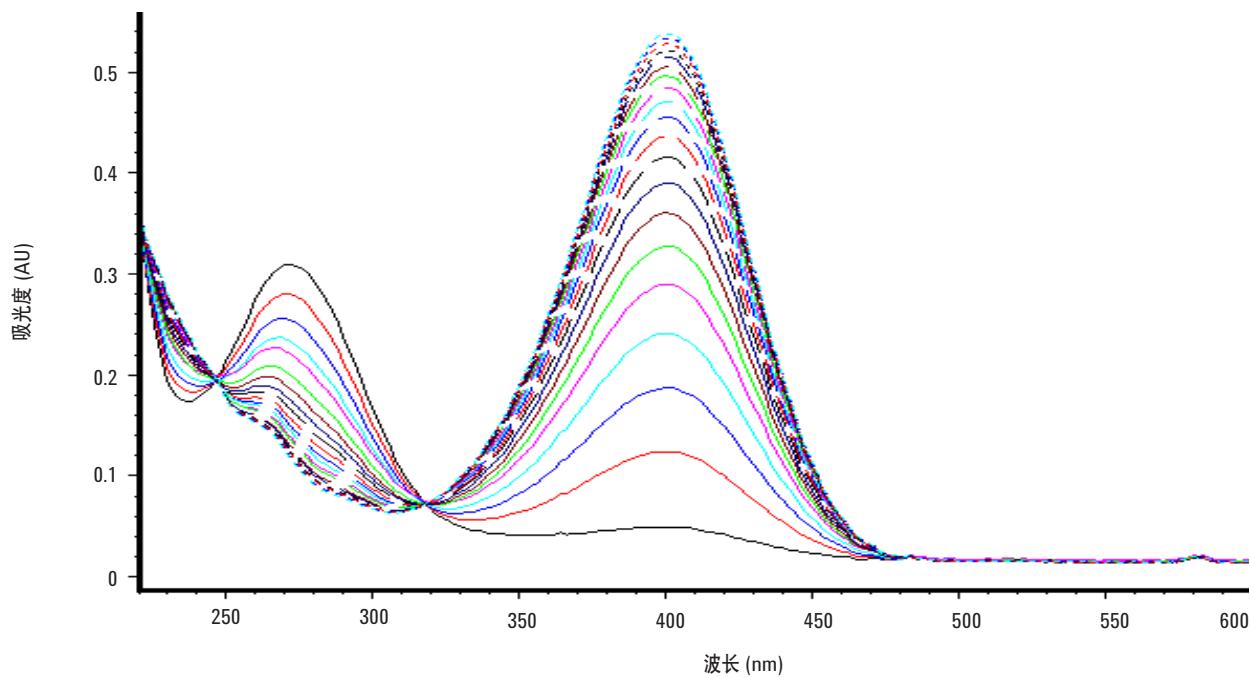


图 3. 对-硝基苯酚乙酸酯在 55 °C 时水解反应的光谱

如果在一定的波长范围内不断重复记录变化的吸收光谱，这些谱可能在一个或多个波长处发生交叉（图 3）。这些交叉点称为等消光点，它表示反应物与产物之间发生的是单相反应（也就是没有副反应或串连反应）。图 3 所显示出的精确的等消光点表明了 Agilent Cary 8454 紫外-可见分光光度计在整个反应时间里的光学和温度稳定性。

采用紫外-可见光化学工作站，您可以很容易地打开已经收集保存的数据并在任意波长内对数据进行重新分析。在这个例子中，在数据采集完成后，可以提取出单波长 (405 nm) 下对-硝基苯酚生成过程的数据以获得反应动力学参数。在这个波长下，没有其他组分的吸收（图 4）。

采用紫外-可见光化学工作站软件中的动力学模式计算得到的 55 °C 时的伪一级速率常数为 $1.24 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 。这种动力学模式是生化分析附加模块 (G1117AA) 的组成部分。

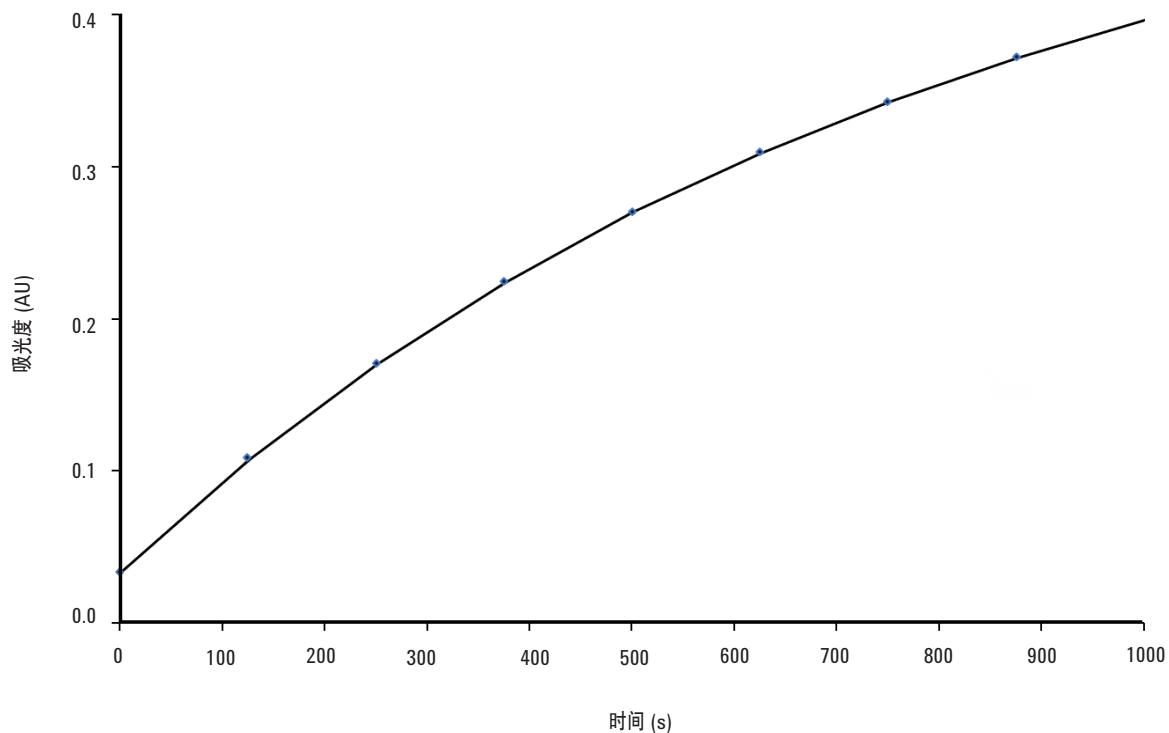


图 4. 由 405 nm 吸光度的变化确定反应速率

结论

Agilent Cary 8454 可见-紫外光分光光度计是酶催化反应或化学反应动力学分析的理想工具。本文展示了帕尔贴温度附件在反应温度可靠控制方面的有效性，它使得仪器在整个动力学分析期间具有卓越的稳定性。

二极管阵列分光光度计具有许多优点，其全光谱采样时间仅只需 0.1 秒。

全光谱采集功能让用户能够获得反应相关的所有数据。它能让用户在数据采集之后方便快捷地在任何波长下对反应速率进行处理。另一方面，通过监控一定的波长范围，光谱可用于多组分分析以确定在各个测量时间点反应底物和产物的浓度。

www.agilent.com.cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2014
2014 年 3 月 13 日, 中国印刷
出版号: 5991-4283CHCN

