

فصل چهارم

اسپکتروسکوپی مادون قرمز^۱ (IR)

انتقال بین سطوح انرژی ارتعاشی حالت پایه یک مولکول ناشی از جذب نور در ناحیه مادون قرمز می باشد. ناحیه IR در محدوده 10^3 تا 10^5 نانومتر واقع شده است. این سطوح ارتعاشی و به تبع آن طیف IR به وسیله حرکات ویژه ای مثل کشیده شدن پیوند، خم شدن پیوند و حرکات پیچیده تر گروه های عاملی مختلف از قبیل گروه های متیل، کربونیل، آمید و غیره تولید می شود. ارزش طیف IR بدان خاطر است که مدهای ارتعاشی هر گروه عاملی نسبت به تغییرات در ساختمان شیمیایی، تغییرات بنای فضایی و تغییرات محیطی بسیار حساس می باشد.

۴-۱. تکنولوژی اسپکتروسکوپی IR:

اسپکتروفتومترهای IR در اصول هیچ تفاوتی با اسپکتروفتومترهای UV-VIS ندارند. منبع تابش ماده ای است که تا $1800-1500$ K گرم می شود. یک تک فام ساز جهت انتخاب طول موج به کار می رود و آشکارساز به جای یک فوتوسل، یک ترموکوپل است. پیچیدگی اصلی اسپکتروسکوپی IR در این است که نمی توان در آن از محلول های آبی استفاده کرد زیرا آب یک کروموفور قوی IR محسوب می شود و ضریب جذب مولی بزرگی در ناحیه IR دارد و غلظتش هم بالا است (5/55 M). برای رفع این مشکل از D_2O و یا مخلوط D_2O-H_2O استفاده می کنند. کلروفرم نیز بعضی اوقات مورد استفاده قرار می گیرد زیرا کلروفرم بسیاری از مولکول های قطبی را در خود حل می کند ولی تغییرات بنای فضایی القاء شده توسط کلروفرم می تواند مشکلات زیادی را ایجاد کند.

معمول ترین روش گرفتن طیف IR ماکرومولکول ها، تهیه لایه های نازک^۲ و خشک از آنهاست. این لایه های نازک را به وسیله حل کردن ماکرومولکول ها در یک حلال فرار و سپس قرار دادن محلول در یک ظرف مسطح و تبخیر حلال و به جای ماندن ماکرومولکول ها تهیه می نمایند. می توان در تهیه این لایه ها، با روش های ویژه ای، ماکرومولکول ها را طوری مرتب کرد که همگی جهت یابی فضایی یکسانی داشته باشند و در این صورت می توان این ماکرومولکول های جهت یافته را با نور پلاریزه مورد مطالعه قرار داد و جهت یابی فضایی گروه های عاملی خاص نسبت به محور ماکرومولکول را توسط تکنیک

^۱ Infrared Spectroscopy

^۲ Film

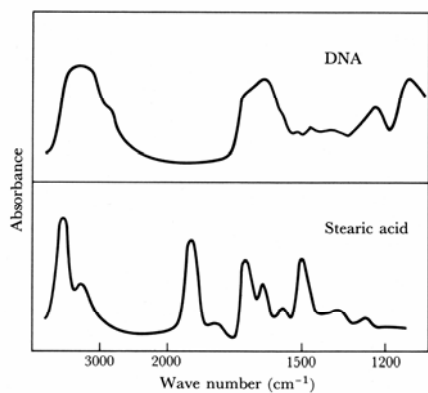
ویژه‌ای به نام پراکندگی چرخش نوری^۳ (ORD) تعیین نمود. باید توجه داشت که ساختمان یک ماکرومولکول در یک لایه نازک خشک با ساختمان همان ماکرومولکول در محلول متفاوت می‌باشد.

۱-۴-۱. اطلاعات بدست آمده از طیف IR:

طیف IR به طور قراردادی بر حسب عدد موجی ($1/\lambda$) و یا فرکانس (ν) رسم می‌شود. وقتی که طیف IR بر حسب فرکانس رسم می‌شود، هر بند جذبی به وسیله فرکانس جذب بیشینه (ν_{\max})، پهنای بند در نصف ارتفاع بیشینه ($\Delta\nu_{1/2}$)، جذب در ν_{\max} (A_{\max}) و شکل بند جذبی مشخص می‌شود. عدد موجی به صورت $1/\lambda = \nu/c$ تعریف می‌شود که در آن، c سرعت نور در خلاء می‌باشد. واحد ν و $1/\lambda$ به ترتیب s^{-1} و cm^{-1} است. عدد موجی را غالباً با علامت $\bar{\nu}$ و یا K نشان می‌دهند و مزیت آن نسبت به طول موج آن است که رابطه مستقیم با انرژی دارد.

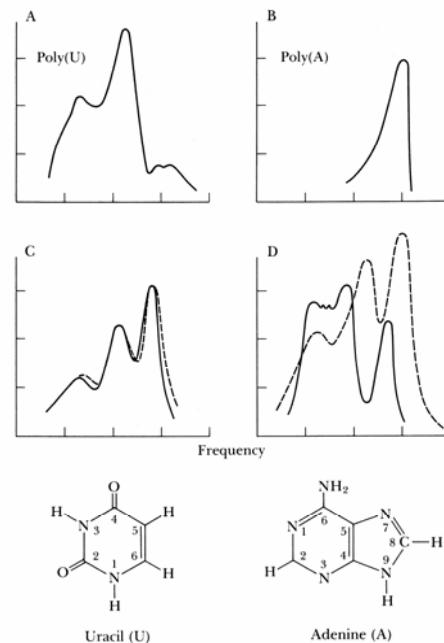
با مطالعات زیادی که بر روی مونومرهای فراوان با ساختمان‌های معلوم صورت گرفته، یکسان بودن گروه‌ها و نوع ارتعاش مربوط به هر بند در یک طیف IR به خوبی شناخته شده است. برای ترکیبات ساده، طیف مادون قرمز از طیف UV-VIS در این نکته متفاوت است که طیف IR معمولاً از خطوط نسبتاً باریک تشکیل شده است، در حالی که طیف UV-VIS این ترکیبات دارای بندهای پهنی است. چون در ماکرومولکول‌ها هر نوع پیوند در تعداد بسیار زیادی وجود دارد و نیز هر نوع پیوند در کانفیگوراسیون‌های متعدد و متفاوتی قرار دارد، هر بند جذبی به محدوده‌ای جابجا می‌شود که بستگی به جایی که پیوند مربوطه در مولکول در آن جا قرار گرفته است، دارد. ازاینرو، تمامی بندها در طیف IR همپوشانی می‌کنند و بندهای جذبی گسترده و پهن می‌شود. در شکل (۱-۴) طیف مادون قرمز DNA و اسید استئاریک نشان داده شده است.

^۳ Optical Rotatory Dispersion



شکل (۴-۱): طیف مادون قرمز DNA (یک پلی‌مر بیولوژیک) و اسید استئاریک (یک اسید چرب ۱۸ کربنه). به بندهای جذبی پهن در طیف DNA توجه نمایید.

برخی پیوندها در ماکرومولکول‌های بیولوژیک فراوان هستند مثل پیوندهای هیدروژنی که موجب ایجاد جایجایی‌های ویژه‌ای در بندهای جذبی گروه‌های شرکت‌کننده در پیوند هیدروژنی می‌شوند و این جایجایی‌ها در مطالعه ماکرومولکول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. یک مثال در این مورد را در شکل (۴-۲) می‌بینید. این طیف‌ها نشان‌دهنده میان‌کنش بین گروه کربونیل یوراسیل و گروه NH_2 آدنین در پلی‌مر دو رشته‌ای $\text{poly(A)}\cdot\text{poly(U)}$ می‌باشد که در آن رشته‌های poly(A) و poly(U) توسط پیوندهای هیدروژنی تشکیل ساختمان مارپیچ مضاعف داده‌اند:



شکل (۴-۲): طیف‌سنجی مادون قرمز می‌تواند تشکیل پیوندهای هیدروژنی را نشان دهد. در قسمت A، بخش کوچکی از طیف مادون قرمز poly(U) نشان داده شده و بند جذبی اصلی مربوط به گروه C=C است. قسمتی از طیف poly(A) را نشان می‌دهد و بند مربوطه متعلق به پیوند C-N است. مونومرهای اسید یوریدیلیک (UMP) و اسید آدنیلک (AMP) در دمای اتاق نمی‌توانند پیوند هیدروژنی تشکیل دهند و همان‌طور که در قسمت C نشان داده شده است، طیف مخلوط اکی‌مولار^۴ UMP و AMP بایستی برابر مجموع طیف‌های آنها باشد. در این قسمت، خط ممتد مربوط به طیف مخلوط اکی‌مولار AMP و UMP و خط منقطع مربوط به مجموع طیف‌های قسمت‌های A و B است. اما رشته‌های poly(A) و poly(U) می‌توانند با یکدیگر پیوند هیدروژنی تشکیل دهند. قسمت D طیف اندازه‌گیری شده poly(A)·poly(U) (خط ممتد) را با طیفی که صرفاً مجموع طیف‌های poly(A) و poly(U) است (خط منقطع)، مقایسه کرده است. این داده‌ها به وضوح نشان‌دهنده ایجاد پیوند هیدروژنی بین رشته‌های poly(A) و poly(U) است. ساختمان شیمیایی بازهای یوراسیل و آدنین نیز در پایین شکل نشان داده شده است.

^۴ Equimolar

۲-۴. فرآیند جذب مادون قرمز:

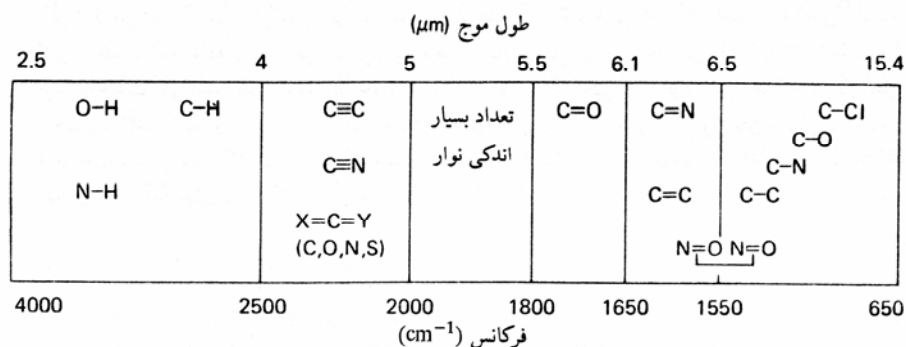
مانند انواع دیگر انرژی، وقتی مولکول‌ها اشعه مادون قرمز را جذب می‌کنند به تراز انرژی بالاتر برانگیخته می‌شوند. جذب تابش مادون قرمز مانند هر فرآیند جذبی دیگر، یک فرآیند کوانتایی است بدین معنی که فقط فرکانس‌ها (انرژی‌ها)ی معینی از تابش مادون قرمز توسط مولکول جذب می‌شود. جذب تابش IR با تغییر انرژی بین $10-2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ همراه است درحالی که در جذب تابش UV-VIS، این انرژی در محدوده $150-30 \text{ kcal.mol}^{-1}$ قرار دارد. تابشی که دارای چنین انرژی باشد، فرکانس‌های ارتعاشی کششی^۵ و خمشی^۶ پیوندهای کووالانسی اکثر مولکول‌ها را شامل می‌شود. در فرآیند جذب، فرکانس‌هایی از اشعه IR که با فرکانس‌های ارتعاشی طبیعی مولکول مورد نظر تطبیق داشته باشد، جذب خواهد شد و انرژی جذب شده صرف افزایش دامنه^۷ حرکت ارتعاشی اتصال موجود در مولکول می‌شود. باید توجه داشت که تمام پیوندهای موجود در مولکول قادر به جذب انرژی مادون قرمز نیستند، حتی اگر فرکانس اشعه کاملا با فرکانس حرکت تطبیق کند زیرا فقط آن پیوندهایی که دارای گشتاور دوقطبی^۸ هستند قادر به جذب اشعه مادون قرمز می‌باشند و پیوندهای متقارنی مانند H-H و یا Cl-Cl اشعه IR را جذب نمی‌کنند.

۳-۴. موارد استفاده از طیف‌سنجی مادون قرمز:

چون هر پیوند دارای فرکانس ارتعاش طبیعی خاصی است و نیز چون یک پیوند ویژه در دو مولکول مختلف در دو محیط متفاوت قرار دارد، بنابراین، هیچگاه دو مولکول با ساختمان‌های متفاوت جذب مادون قرمز یکسان و یا به عبارت دیگر طیف مادون قرمز یکسانی نمی‌دهند، اگر چه ممکن است بعضی از فرکانس‌های جذب شده در دو مولکول مشابه باشند ولی هیچگاه طیف IR کاملا یکسانی نخواهند داشت. از اینرو، طیف مادون قرمز را می‌توان مانند اثر انگشت برای شناسایی مولکول‌ها به کار گرفت و با مقایسه طیف IR دو ماده که تصور می‌رود یکی باشند، می‌توان پی برد که آیا واقعا یکی هستند یا خیر. ناحیه جذبی $1250-675 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به یکسری تغییرات پیچیده انرژی ارتعاشی کششی و خمشی پیچیده مولکول است که کاملا مشخصه آن مولکول می‌باشد. این ناحیه

^۵ Stertching^۶ Bending^۷ Amplitude^۸ Dipole Moment

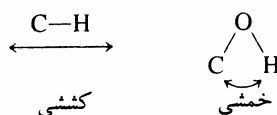
خاص در IR را ناحیه اثر انگشت^۹ می‌نامند. اگر تمام جذب‌ها در طیف IR دو ماده بر یکدیگر منطبق باشند، آنگاه این دو ماده به احتمال قریب به یقین یکسان هستند. کاربرد دوم طیف IR که مهمتر از اولی می‌باشد، این است که طیف مزبور اطلاعاتی راجع به ساختمان مولکول می‌دهد. جذب‌های مربوط به هر پیوند شیمیایی در بخش کوچکی از ناحیه ارتعاشی IR یافت می‌شود. به عنوان مثال هر جذبی که در ناحیه $3000 \pm 150 \text{ cm}^{-1}$ قرار داشته باشد، همیشه نشان دهنده وجود اتصال C-H است و یا جذبی که در $1700 \pm 100 \text{ cm}^{-1}$ واقع شود معمولاً مربوط به اتصال C=O در مولکول است. در شکل (۳-۴) نواحی تقریبی که پیوندهای مختلف در آن نواحی جذب IR می‌کنند، آورده شده است.



شکل (۳-۴): نواحی تقریبی که پیوندهای مختلف در آن نواحی جذب می‌دهند. برای وضوح بیشتر فقط ارتعاش‌های کششی نشان داده شده و ارتعاش‌های خمشی، تاب‌خورده و دیگر انواع ارتعاش‌ها حذف شده‌اند.

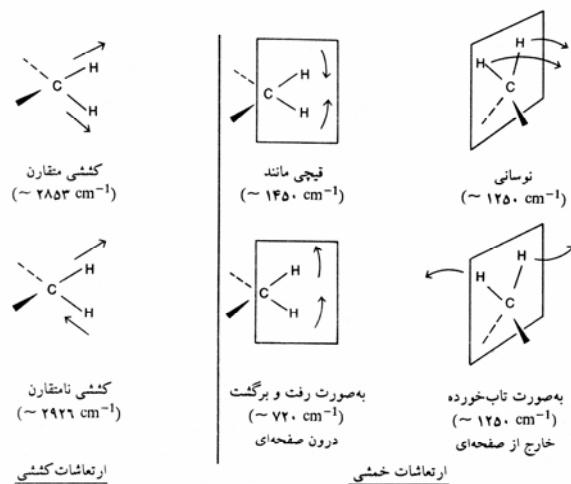
۴-۴. حرکات کششی و خمشی:

ساده‌ترین انواع حرکات ارتعاشی در مولکولی که در ناحیه مادون قرمز فعال بوده و به عبارت دیگر در این ناحیه جذب دارد، حرکات کششی و خمشی است:



^۹ Finger Print Region

انواع پیچیده‌تر دیگری از حرکات کششی و خمشی نیز وجود دارند که در طیف IR فعال می‌باشند. مثلا حرکات ارتعاشی برای گروه متیلن را در زیر در نظر بگیرید (شکل ۴-۴). معمولا ارتعاش‌های کششی نامتقارن دارای فرکانس‌های بالاتر (طول موج پایین‌تر) از ارتعاش‌های کششی متقارن می‌باشند و نیز ارتعاش‌های کششی به طور کلی در فرکانس‌های بالاتری نسبت به ارتعاش‌های خمشی واقع می‌شوند.



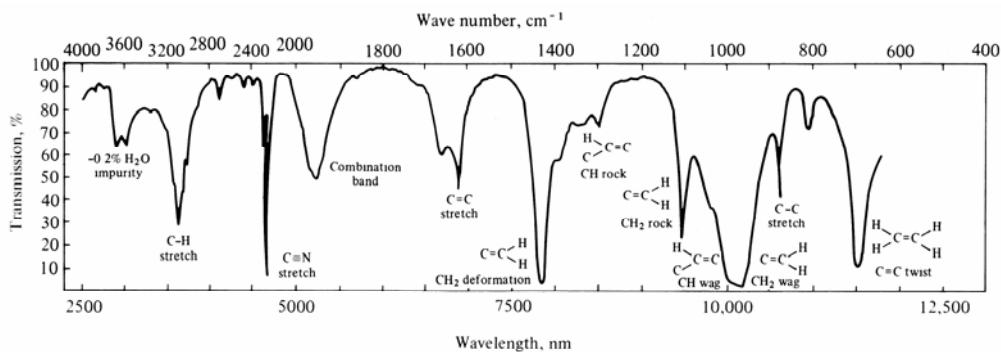
شکل (۴-۴): ارتعاش‌های کششی و خمشی گروه متیلن.

هر گروهی که شامل سه اتم یا بیشتر باشد و حداقل دو اتم در آن گروه یکسان باشند، دو حرکت کششی و خمشی یا یکی از آن دو حرکت را ایجاد خواهد کرد.

ارتعاش‌هایی که توضیح داده شدند، جذب‌های اصلی^{۱۰} نامیده می‌شوند. این جذب‌ها بر اثر برانگیختگی از حالت پایه به پایین‌ترین حالت برانگیخته صورت می‌گیرند. معمولا طیف IR به دلیل وجود جذب‌های هارمونیک، ترکیبی و افتراقی پیچیده می‌شود. اگر چه تمام فرکانس‌های چرخشی یک مولکول در ناحیه مادون قرمز فعال نمی‌باشد ولی آن فرکانس‌ها با ارتعاش‌های کششی و خمشی دیگر ترکیب شده و موجب پیچیدگی بیشتر طیف IR می‌گردند. یکی از دلایلی که گاهی در طیف مادون

^{۱۰} Fundamental

قرمز یک جذب پهن می‌باشد، ترکیب و امتزاج فرکانس‌های چرخشی است. به عنوان نمونه، در شکل (۵-۴) طیف مادون قرمز آکریلونیتریل به همراه موقعیت بندهای جذبی و گروه‌های شیمیایی ایجاد کننده این بندها نشان داده شده است:



شکل (۵-۴): طیف مادون قرمز آکریلونیتریل.

۵-۴. خصوصیات پیوندها:

یک مولکول دو اتمی با دو اتم متفاوت و ارتعاش کششی آن را در نظر بگیرید. یک مولکول دو اتمی را می‌توان به صورت دو جرم ارتعاش کننده که به وسیله یک فنر به هم متصلند، مورد توجه قرار داد. طول پیوند مرتباً در حال تغییر بوده ولی می‌توان یک تعادل و یا طول پیوند میانگین را برای آن در نظر گرفت. هر گاه فنر کشیده و یا فشرده شود، به طوری که از این طول میانگین تجاوز کند، انرژی پتانسیل سیستم افزایش می‌یابد. همانند یک نوسانگر هارمونیک، به هنگام ارتعاش یک اتصال، انرژی ارتعاشی آن مرتباً از جنبشی به پتانسیل و بالعکس تغییر می‌کند. بر طبق رابطه زیر، مقدار کل انرژی یک نوسانگر متناسب با فرکانس ارتعاش آن می‌باشد:

$$E_{\text{oscillator}} \propto h\nu_{\text{oscillator}} \quad (1-4)$$

مقدار انرژی کل یک نوسانگر هارمونیک به وسیله ثابت نیروی فنر K یا ثابت سختی آن و اجرام m_1 و m_2 دو اتم متصل تعیین می‌شود. فرکانس طبیعی ارتعاشی یک اتصال از معادله زیر بدست می‌آید:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad (۲-۴)$$

این معادله از قانون هوک^{۱۱} در مورد فنرهای ارتعاش کننده مشتق شده است. در این معادله، c سرعت نور در خلاء و μ جرم کاهش یافته^{۱۲} است که به صورت زیر تعریف می شود:

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (۳-۴)$$

K ثابتی است که بسته به نوع پیوند تغییر می کند. در این تعریف، در اولین تقریب ثابت نیرو برای یک پیوند سه گانه سه برابر ثابت نیروی یک پیوند ساده است و مقدار آن برای یک پیوند دو گانه دو برابر ثابت نیروی یک پیوند ساده است. هر چه پیوند مستحکم تر باشد، ثابت نیروی K بزرگتر بوده و در فرکانس های بالاتری نسبت به پیوندهای ضعیف قرار می گیرد. همچنین، پیوند بین اتم های با اجرام سنگین تر (μ بزرگتر) در فرکانس های پایین تری نسبت به پیوند بین اتم های با اجرام سبک ارتعاش می کند. به طور کلی پیوندهای سه گانه قوی تر از پیوندهای دو گانه یا ساده بوده و دارای فرکانس ارتعاشی بالاتری می باشند:

| | | |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| $C \equiv C$ | $C = C$ | $C - C$ |
| 2150 cm^{-1} | 1650 cm^{-1} | 1200 cm^{-1} |

C-H کششی در حدود ناحیه 3000 cm^{-1} قرار می گیرد. هر قدر جرم اتم های متصل به کربن فزونی یابد، کمیت μ افزایش یافته و فرکانس ارتعاشی کاهش می یابد:

| | | | |
|------------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|
| $C - H$ | $C - C$ | $C - O$ | $C - I$ |
| 3000 cm^{-1} | 1200 cm^{-1} | 1100 cm^{-1} | $\sim 500 \text{ cm}^{-1}$ |

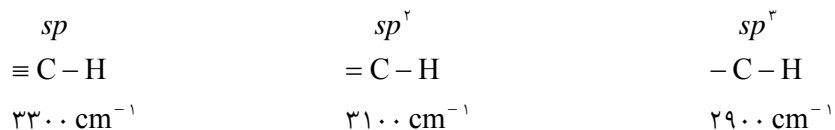
^{۱۱} Hooke's Law

^{۱۲} Reduced Mass

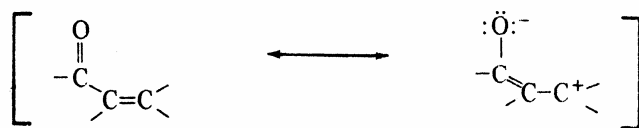
همچنین حرکت خمشی راحتتر از حرکت کششی صورت می‌گیرد و ثابت نیروی K برای آن کوچکتر است.



نوع هیبریداسیون نیز بر ثابت نیرو (K) اثر می‌گذارد به طوری که قدرت پیوندها به ترتیب $sp^3 > sp^2 > sp$ می‌باشد و فرکانس‌های ارتعاشی C-H آنها به صورت زیر تغییر می‌کند:



رزونانس نیز بر روی قدرت و طول پیوند و طبیعتا بر روی ثابت نیرو (K) تاثیر می‌گذارد. یک عامل کربونیل دارای ارتعاش کششی $\text{C}=\text{O}$ در ناحیه 1715 cm^{-1} می‌باشد در حالی که یک گروه کربونیل مزدوج با یک پیوند دوگانه در فرکانس پایین‌تری نزدیک به $1680-1675 \text{ cm}^{-1}$ جذب می‌دهد و این به دلیل افزایش طول پیوند $\text{C}=\text{O}$ بر اثر رزونانس بوده که باعث افزایش خصلت پیوند ساده در آن می‌شود. در نتیجه ثابت نیرو (K) کاهش یافته و جذب در فرکانس پایین‌تری روی می‌دهد.



۴-۵-۱. طرز محاسبه فرکانس جذبی پیوندها:

از معادله مشتق شده از قانون هوک می‌توان برای محاسبه موقعیت تقریبی یک بند جذبی IR استفاده نمود. داشتیم:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{K}{\mu}}$$

که در آن، $\bar{\nu}$ بر حسب cm^{-1} ، c سرعت نور در خلاء برابر با $3 \times 10^{10} \text{ cm.s}^{-1}$ ، K ثابت نیرو بر حسب dyn.cm^{-1} و μ جرم کاهش یافته بر حسب گرم است. می توان جرم کاهش یافته را بر حسب واحد جرم اتمی^{۱۳} نیز نوشت که در این صورت:

$$\mu = \frac{M_1 M_2}{(M_1 + M_2)(6.02 \times 10^{23})}$$

با جذرگیری عدد آووگادرو از قسمت جرم کاهش یافته (μ) معادله زیر بدست می آید:

$$\bar{\nu} = \frac{7.76 \times 10^{11}}{2\pi c} \sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad (4-4)$$

با قرار دادن مقادیر π و c در معادله (۴-۴)، معادله جدید زیر حاصل می شود:

$$\bar{\nu} (\text{cm}^{-1}) = 4/12 \sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad (5-4)$$

که در آن، جرم کاهش یافته بر حسب جرم اتمی می باشد. از این معادله می توان برای محاسبه موقعیت تقریبی یک بند جذبی در طیف IR استفاده نمود با فرض این که K برای پیوندهای ساده، دوگانه و سه گانه به ترتیب 5×10^5 ، 10×10^5 و 15×10^5 دین بر سانتیمتر باشد.

مثال: فرکانس کششی پیوند $\text{C}=\text{C}$ را محاسبه نمایید.

حل:

$$K = 10 \times 10^5 \text{ dyn.cm}^{-1} \quad \text{و} \quad \mu = \frac{M_C M_C}{M_C + M_C} = \frac{(12)(12)}{(12) + (12)} = 6$$

$$\bar{\nu} = 4/12 \sqrt{\frac{K}{\mu}} = 4/12 \sqrt{\frac{10 \times 10^5}{6}} = 1682 \text{ cm}^{-1}$$

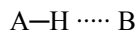
^{۱۳} Atomic Mass Unit

فرکانس کششی پیوند C=C که به طور تجربی اندازه‌گیری شده است، 1650 cm^{-1} می‌باشد و در توافق خوبی با مقدار محاسبه شده است.

۴-۶. مثال‌هایی از کاربردهای اسپکتروسکوپی IR:

۴-۶-۱. مطالعه پیوندهای هیدروژنی:

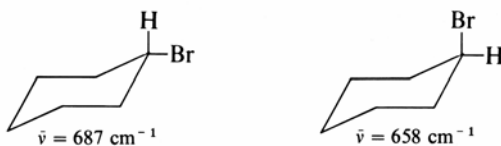
تکنیک IR ارزش زیادی در مطالعه پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی دارد. طبق شمای زیر، تشکیل پیوند هیدروژنی بین اتم‌های B و H موجب کشیده شدن پیوند A-H و در نتیجه پهن شدن و جابجایی پیک مربوط به ارتعاش کششی پیوند A-H به فرکانس‌های پایین‌تر می‌شود.



به علاوه، بندهای جذبی جدیدی ممکن است در اثر حرکات خمشی و تاب خوردن سیستم ظاهر شود. به عنوان مثال، در محلول اسیدهای کربوکسیلیک خیلی رقیق، ارتعاش کششی پیوند O-H در 1760 cm^{-1} ظاهر می‌شود در حالی که در محلول‌های غلیظ اسیدهای کربوکسیلیک، این فرکانس به 1710 cm^{-1} کاهش می‌یابد که به علت تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل اسیدهای کربوکسیلیک در غلظت‌های بالاست.

۴-۶-۲. تشخیص ایزومرهای ساختمانی:

در بسیاری موارد تکنیک IR قادر است ایزومرهای ساختمانی را به وسیله فرکانس‌های مشخصه‌شان از هم تشخیص دهد. برای مثال در بروموسیکلوهگزان، فرکانس‌های کششی پیوندهای C-Br محوری و استوایی به صورت زیر است:



ثابت تعادل این ماده نیز به راحتی از نسبت سطح زیر پیک‌های مربوطه بدست می‌آید.

۴-۶-۳. شناسایی هیدروژن‌های قابل تعویض:

با تعویض دوتریوم با هیدروژن، فرکانس بسیاری از بندهای جذبی در IR تغییر می‌کند. به طور کلی، گروه‌های عاملی مسئول پدید آوردن بندهای IR می‌باشند و موقعیت بند جذبی مربوط به گروه‌های عاملی مختلف مثل کربونیل، هیدروکسیل، آمینو و غیره مشخص است. بنابراین، به وسیله مشاهده بندهای جذبی جایجا شده می‌توان گروه‌های عاملی که در آنها تعویض D با H امکان پذیر است را شناسایی نمود. چون برخی از گروه‌های عاملی مثل گروه هیدروکسیل به طور طبیعی عمل تعویض را با سرعت بالایی انجام می‌دهند، جایجایی تاخیریافته در ν_{\max} نشان‌دهنده یک تعویض کند می‌باشد و بدین معنی است که گروه مربوطه یک گروه داخلی (مدفون) است.

۴-۶-۴. شناسایی تعداد پیوندهای هیدروژنی و گروه‌های عاملی درگیر در پیوندهای هیدروژنی و اندازه گیری میزان شکسته شدن آنان در حین غیرطبیعی شدن:

برای این کار مثلاً می‌توان ماکرومولکول را در D_2O حل کرد و سپس آن را غیرطبیعی نمود و مشاهده کرد که کدام بندهای مربوط به گروه‌های دوتریه شده در حین غیرطبیعی شدن ظاهر می‌شوند.

۴-۶-۵. شناسایی شکل‌های تاتومری به وسیله ظاهر شدن بندهای غیرمنتظره:

اگر یک مولکول دارای یک گروه هیدروکسیل باشد ولی طیف IR آن حضور یک گروه کربونیل را نشان دهد، گواه محکمی بر وجود تاتومریزاسیون است. اگر این مولکول بخشی از یک ماکرومولکول باشد، شدت نسبی بندهای کربونیل و هیدروکسیل در مقایسه با مولکول آزاد ممکن است تغییر کند (و حتی یک بند کاملاً ناپدید شود) و این نشان‌دهنده ماهیت شیمیایی مولکول در پلی‌مر است. چنین مطالعاتی اهمیت زیادی در درک ساختمان نوکلئوتیدها و اثر نوکلئوتیدهای مختلف بر روی فرکانس موتاسیون دارد.

۴-۶-۶. مطالعه میان‌کنش بین مولکول‌های کوچک مثل رایبوفلاوین و آدنین و اتصال بین پروتئین و لیگاند:

چنین میان‌کنش‌ها و اتصال‌هایی در مولکول‌ها، موجب جایجایی‌های مشخصی در فرکانس جذب مادون قرمز و شدت آن می‌شود.

۴-۶-۷. تعیین نسبت جفت‌های AU به GC در tRNA:

چون دو نوع جفت باز AU و GC در فرکانس‌های متفاوتی جذب IR دارند، می‌توان برای شناسایی این جفت بازها از طیف‌سنجی IR استفاده نمود.

۴-۶-۸. تیتراسیون گروه‌های کربوکسیل پروتئین:

برخی از گروه‌های کربوکسیل داخلی پروتئین در pH‌هایی تیتراسیون می‌شوند که دور از محدوده تیتراسیون معمول آنان است و در محدوده تیتراسیون دیگر گروه‌های یونیزه‌شونده واقع شده‌اند. چنین تیتراسیون‌هایی را می‌توان به وسیله تعقیب تغییرات طیفی در D₂O مورد مطالعه قرار داد.

۴-۶-۹. تعیین سهم نسبی اسیدهای آمینه موجود در پروتئین که در کانفیگوراسیون‌های مختلف قرار دارند:

دیدیم که مدهای ارتعاشی زیادی از قبیل خمشی، کششی و غیره وجود دارد و گروه آمیدی پیوند پپتیدی حداقل دارای ده بند جذبی حاصل از این مدها می‌باشد که به صورت بندهای امید I، امید II و ... نشان داده می‌شوند. بند جذبی امید I ارزش زیادی دارد زیرا فرکانس آن بستگی به محیط اطراف پیوند دارد و از اینرو می‌توان از آن برای مطالعه ساختمان پروتئین‌ها استفاده نمود. فرکانس بند جذبی امید I بسته به این که پیوند پپتیدی در مارپیچ آلفا، صفحات چین‌دار بتا و یا پیچ نامنظم واقع شده باشد، متفاوت است. فرکانس‌های مربوط به هر یک از این ساختمان‌ها به صورت زیر است:

| | |
|------------------------------|-------------|
| ۱۶۵۰ cm ⁻¹ | مارپیچ آلفا |
| ۱۶۳۲ , ۱۶۸۵ cm ⁻¹ | صفحه بتا |
| ۱۶۵۸ cm ⁻¹ | پیچ نامنظم |

اگر یک پروتئین حاوی پیوندهای پپتیدی در هر سه کانفیگوراسیون فوق باشد، آنگاه هر چهار بند جذبی ظاهر خواهند شد. بنابراین به سادگی به وسیله اندازه‌گیری شدت جذب در این بندها، سهم نسبی اسیدهای آمینه‌ای که در کانفیگوراسیون‌های مختلف در ساختمان پروتئین قرار گرفته‌اند را می‌توان تعیین نمود.