



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

ZÁKLADY ANALYTICKÉ CHEMIE

Instrumentální metody - Optické metody





Optické metody

- Společný mechanismus – interakce vzorku a elektromagnetického záření
- **Dělení:**
 - **Metody spektroskopické (spektrální)** – při interakci záření/vzorku dochází k výměně energie (např. absorpce či emise záření)
 - 1.) atomové (absorpční – AAS, emisní – AES, AFS)
 - 2.) molekulové (absorpční – UV, VIS, IČ, Ramanova spektroskopie, NMR)
 - **Metody nespektroskopické (nespektrální)** – při interakci záření/vzorku nedochází k výměně energie, ale ke změně vlastností při průchodu světla (rychlost, rovina polarizace, ...)

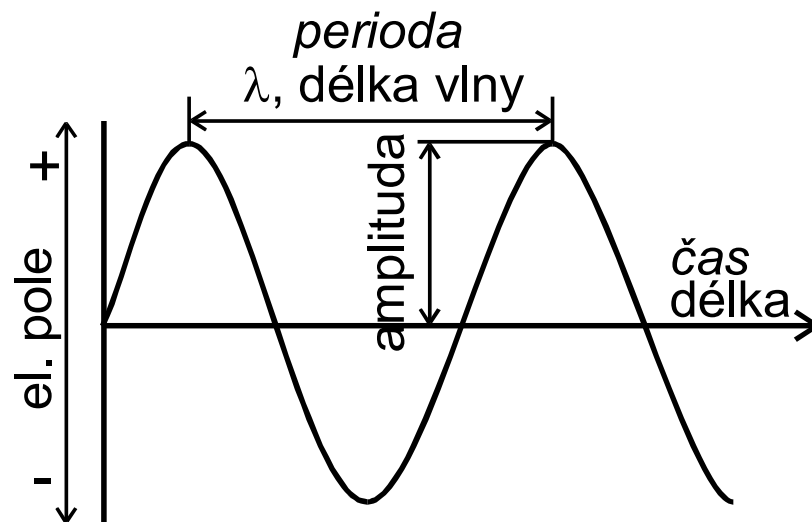


Teoretické základy

Vlastnosti elektromagnetického záření

- Duální charakter – některé vlastnosti jako vlnění, některé jako proud částic (tok fotonů)
- Vlastnosti popisují veličiny – rychlost (c , [m/s]), vlnová délka (λ , [nm]), frekvence (ν , [Hz]), energie fotonu (E)

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad , \quad E = h \cdot \nu = h \frac{c}{\lambda} \quad , \quad h - \text{Planckova konstanta}$$

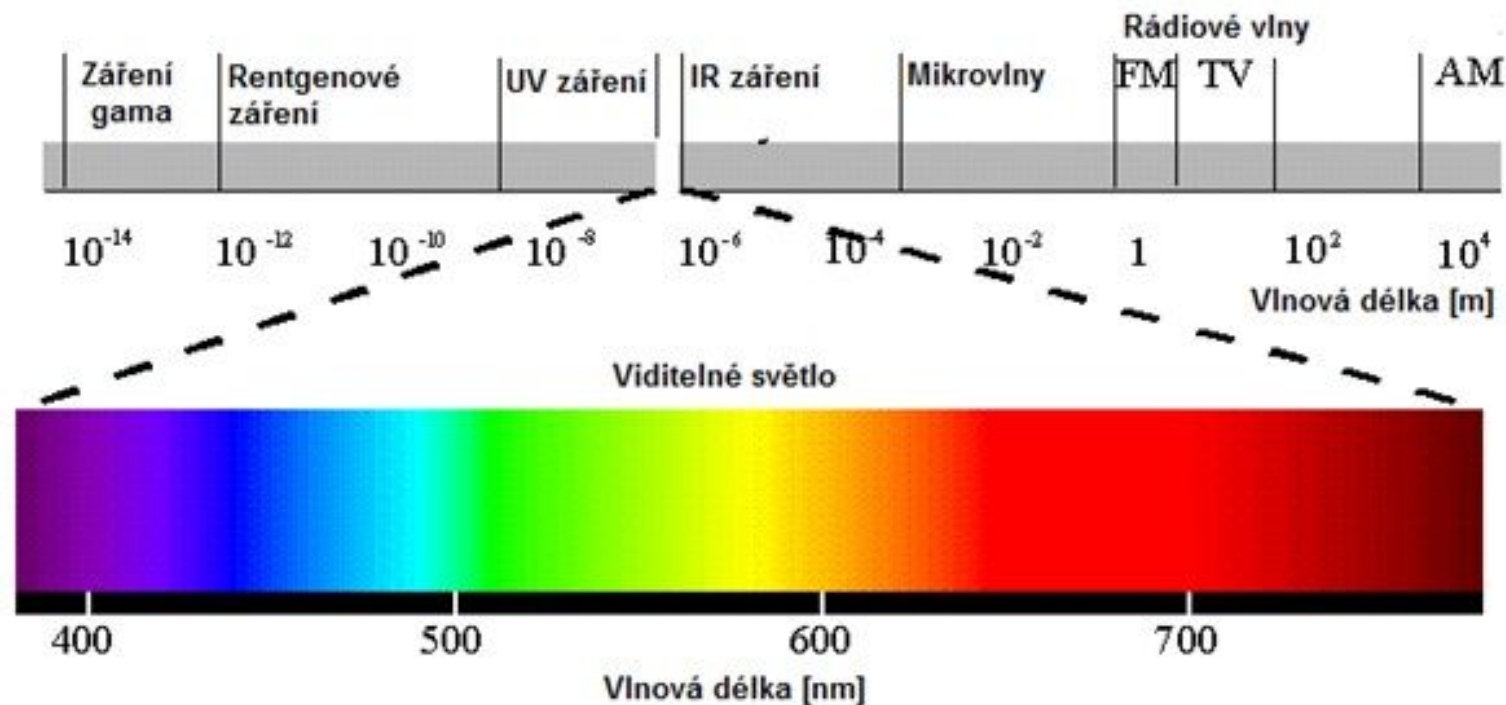




Teoretické základy

Spektrum

– závislost intenzity absorpce resp. emise na energii záření (úměrné počtu přechodů mezi energetickými hladinami), či na odvozených veličinách (λ , ν)





Teoretické základy

Absorpce záření

- Při absorpci záření nastává interakce elektrické složky světla s elektrickým polem molekuly
- Absorbuje-li molekula světelné záření, zaujmou elektrony vyšší energetické hladiny a dostanou se do excitovaného stavu
- Soubor frekvencí, které látka absorbuje = absorpční spektrum
- Velikost absorpce (množství absorbovaného záření určité vlnové délky) se vyjadřuje v jednotkách absorbance (A)

$$A = \log \frac{\Phi_0}{\Phi}, \Phi_0 - \text{tok světla látkou procházející}, \Phi - \text{tok světla látkou prošlý}$$

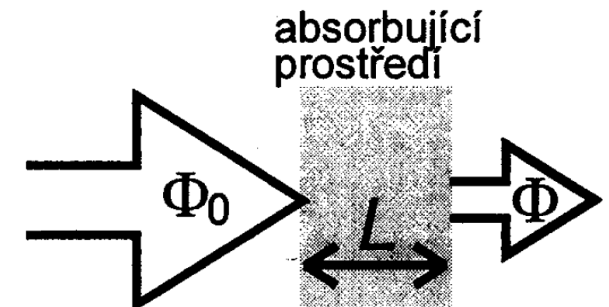
- **Lambert-Beerův zákon** (popisuje závislost koncentrace látky ve vzorku na absorbanci)

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot L,$$

ε – molární absorpční koeficient [$l/(cm \cdot mol)$],

c – koncentrace látky [mol/l],

L – délka absorbujícího prostředí [cm]





Teoretické základy

Emise záření

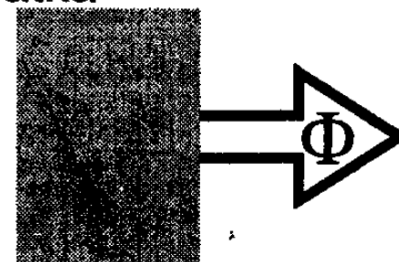
- Opačný děj než absorpce
- Při emisi dochází nejprve k excitaci atomů nebo molekul na vyšší energetickou hladinu
- Poté se molekuly nebo atomy vrací do základního stavu a přitom dochází k emisi záření (luminiscenci)
- Fluorescence – luminiscence s krátkým dosvitem (1-10 ns), tzn. po odstranění zdroje ozařování látky luminiscence vymizí
- Fosforescence – luminiscence s dlouhým dosvitem (1 ms - dny), luminiscence přetrvává i po odstranění zdroje ozařování



Wikipedie



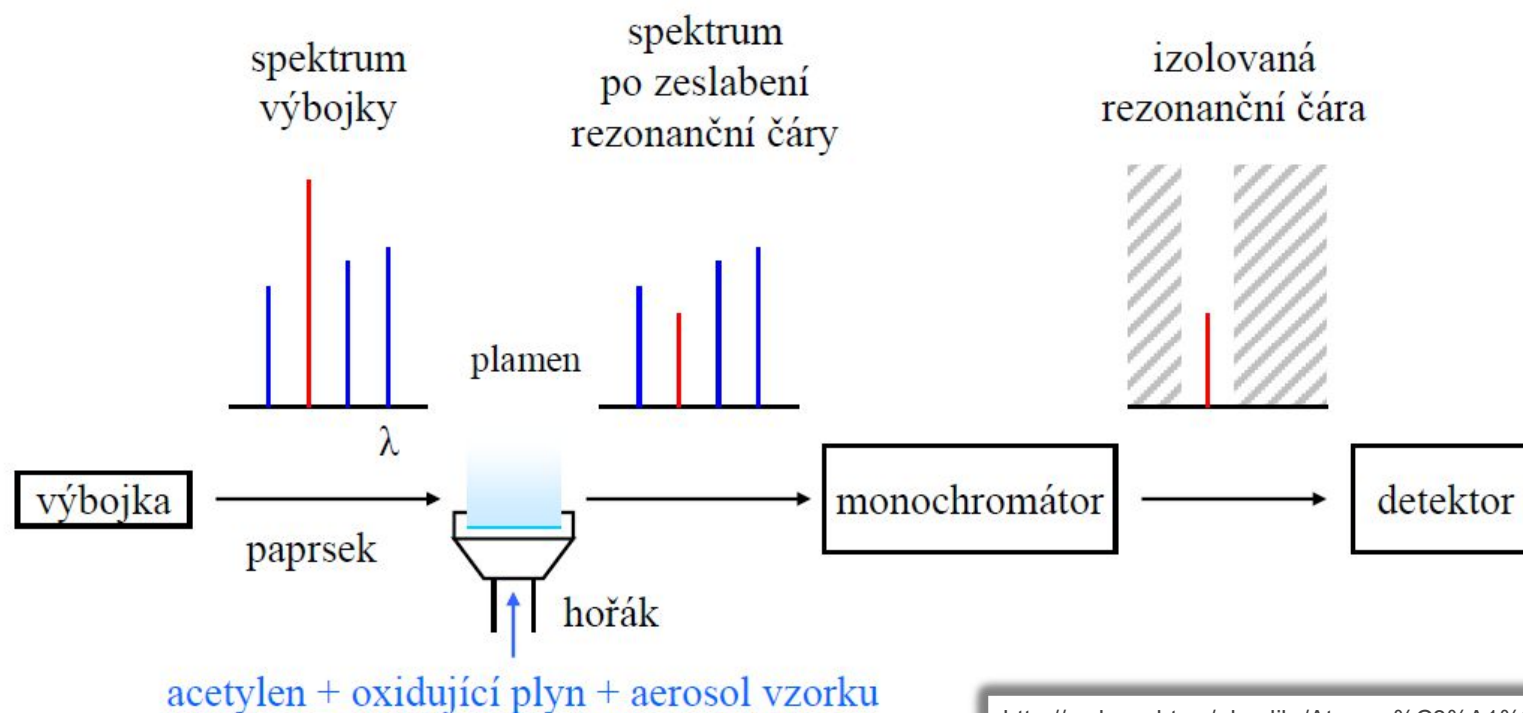
excitovaná
látká





Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

- Metoda pro zjišťování prvkového složení látek v roztoku
- **Princip:** měří se úbytek elektromagnetického záření (absorbance) způsobený absorpcí volnými atomy prvků, které musí být v plynné fázi
- **Atomizace** – proces, kterým se atomy látek ve vzorku dostávají do plynné fáze
- **Využití AAS:** stanovení téměř všech kovů a několika nekovů (Si, B, P)





Molekulová absorpční spektrometrie - v ultrafialové a viditelné oblasti -

- Jedna z nejužívanějších analytických metod pro stanovování látek v roztocích
- **Princip:** měří se absorpce elektromagnetického záření molekulami látek v ultrafialové a viditelné oblasti

Označení	λ (nm)	Absorbující látky
Blízká ultrafialová oblast (UV)	190 – 380	Polynenasycené a aromatické organické sloučeniny
Viditelná oblast (VIS)	380 – 780	Barevné látky

- Vztah mezi množstvím absorbovaného záření (absorbancí) a koncentrací je dán Lambert-Beerovým zákonem
- Látky, které jsou schopné absorpce UV nebo viditelného záření (chromofory) lze stanovit přímo; ostatní látky je nutné převést na vhodné absorbující sloučeniny pomocí spektrofotometrických reakcí



Molekulová absorpční spektrometrie

Komplementarita barev

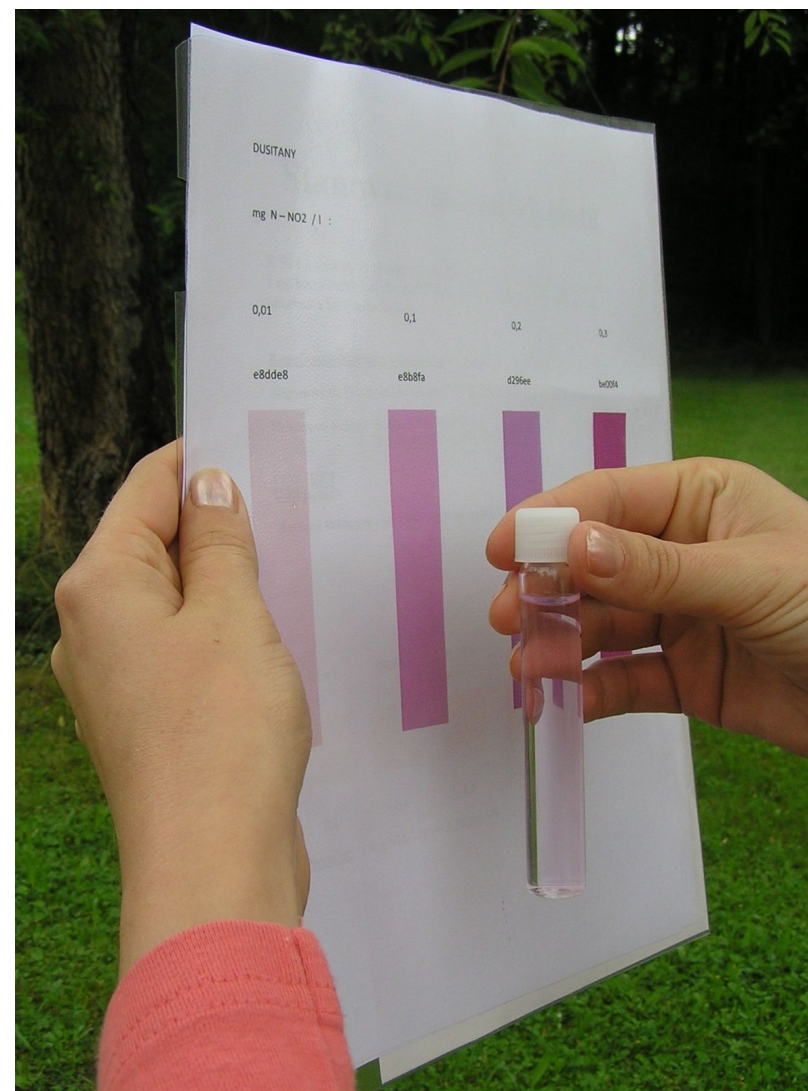
λ (nm)	Barva absorbovaného světla	Barva absorbující látky
400-435	Fialová	Žlutozelená
435-480	Modrá	Žlutá
480-490	Zelenomodrá	Oranžová
490-500	Modrozelená	Červenooranžová
500-560	Zelená	Purpurová (růžová)
560-580	Zelenožlutá	Fialová
580-595	Žlutooranžová	Modrá
595-620	Červenooranžová	Zelenomodrá
620-760	Červená	Modrozelená



Molekulová absorpční spektrometrie

Instrumentace

- **Kolorimetrie** – vizuální porovnávání intenzity zbarvení vzorku a standardu nebo řady standardů

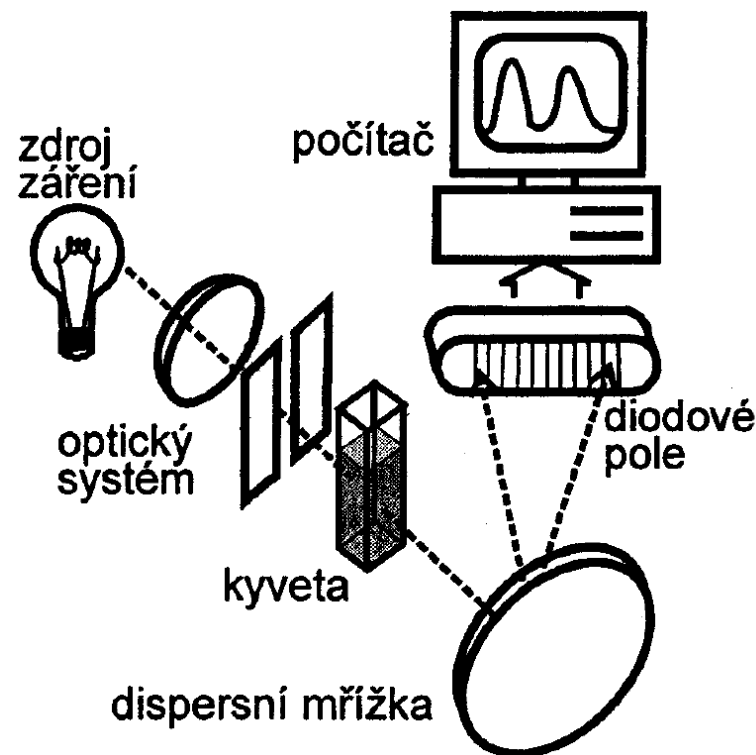




Molekulová absorpční spektrometrie

Instrumentace

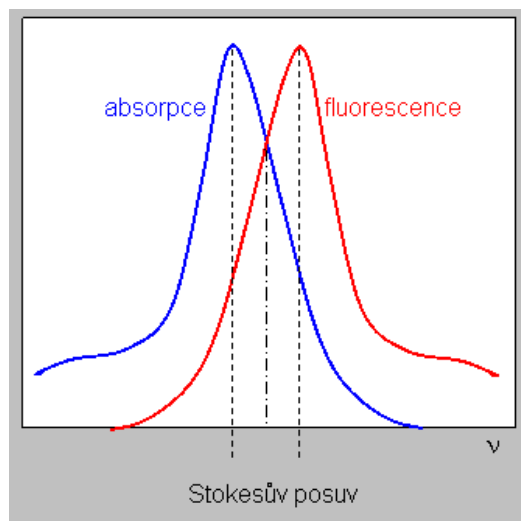
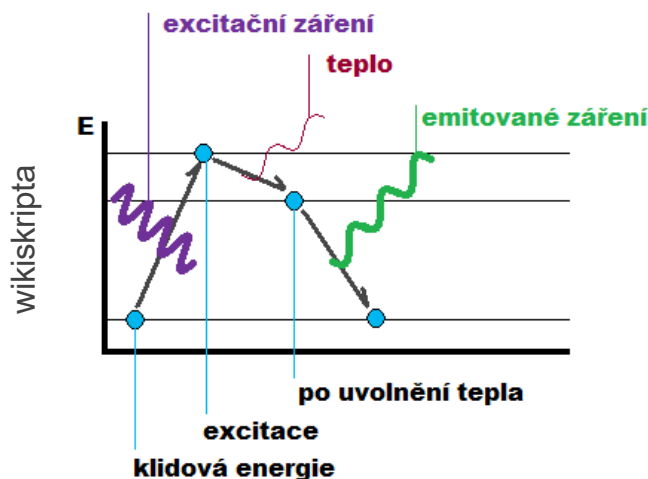
- **Fotometrie** – objektivní měření prošlého toku záření:
 - Fotometr – barevný filtr k vymezení vlnové délky
 - Spektrofotometr – obsahuje monochromátor





Luminiscenční spektrometrie

- Dochází k emisi záření, které bylo před tím absorbováno látkou
- Luminiscence – fluorescence, fosforescence
- Analytické využití
 - lze analyzovat pouze látky poskytující tzv. zářivé přechody z excitovaných molekulárních stavů = fluorofory, fluorescenční látky
 - např. některé organické látky, vitamin A, aromatické aminokyseliny, Be, Al ...



<http://psych.lf1.cuni.cz/fluorescence/soubory/principy.htm>



Optické metody nespektrální

- **Refraktometrie** – měření indexu lomu látek (fyzikální konstanta sloužící k identifikaci látek a posouzení jejich čistoty)

Index lomu světla – poměr rychlostí světla v dvou fázích

Snellův zákon

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$$

, kde úhel lomu β , úhel dopadu α

- **Polarimetrie** – metoda založená na měření optické otáčivosti – stočení roviny polarizovaného světla opticky aktivní látkou
- **Turbidimetrie a nefelometrie** – metody založené na sledování rozptylu světla částicemi suspendovanými v kapalině (sraženinami, koloidními látkami)
 - **V turbidimetrii** se měří intenzita záření prošlého roztokem
 - **V nefelometrii** se sleduje intenzita záření rozptýleného částicemi

Použitá literatura:

- Opekar, F., Jelínek, I., Rychlovský, P., Plzák, Z., 2010. Základní analytická chemie, UK-Karolinum, Praha.
- Klouda, 2003. Moderní analytické metody, Nakladatelství Pavel Klouda.
- WikiSkripta
- <http://web.vscht.cz/~koplikr/Atomov%C3%A1%20spektrometrie.pdf>
- Valentová, O., Máchová, J., Kocour Kroupová, H., 2013. Základy hydrochemie – návody pro laboratorní cvičení. FROV JU, Vodňany.
- Volka, K. a kol., 1999. Příklady z analytické chemie, VŠCHT Praha.
- Kubáček, 2011. Základy fyzikální chemie. Multimediální elektronický výukový materiál. Masarykova univerzita, Brno.