



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Instrumentální metody (ACH/IM)

### Úvod do spektrochemických metod

1



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Dělení instrumentálních metod

- Spektrální metody (MILDE)
- Separační metody (JIROVSKÝ)
- Elektroanalytické metody (JIROVSKÝ)
- Další metody:
  - kinetické
  - radiochemické
  - imunochemické
  - (termální, bioanalytické, ...)

2



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Doporučená literatura

- Skoog D.A., West D.M., Holler F.J., Crouch S.R.: Analytická chemie. VŠCHT Praha, 2019.
- Záruba K. a kol.: Analytická chemie – 2. díl. VŠCHT Praha, 2016.
- Záruba K. a kol.: Analytická chemie – 1. díl. VŠCHT Praha, 2016.
- <http://vydavatelstvi.vscht.cz>
- Prezentace přednášek dostupné na: <http://ach.upol.cz>

3



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Základní pojmy

- **SPEKTROSKOPIE** – zabývá se studiem interakcí mezi hmotou a elektromagnetickým zářením, které může být hmotou pohlcováno, nebo naopak vyzařováno.
  - Historicky ve významu vizuálního pozorování spektra.
- **SPEKTROMETRIE** – využití poznatků spektroskopie pro měření vlastností zkoumaného systému (např. stanovení koncentrace analytu).
  - Zahrnuje i techniky založené na studiu jiných částic než fotonů: akustická, elektronová či hmotnostní spektrometrie.
- Spektrometrie a spektroskopie v běžné praxi chápány jako synonyma.
- **SPEKTROCHEMIE** – metody používané k získání kvalitativní nebo kvantitativní informace o analytu (chemický aspekt studia interakce).

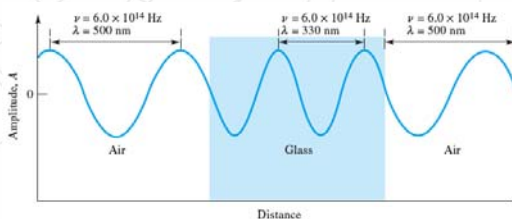
4



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Vlastnosti elektromagnetického záření

- Elektromagnetické záření (EMZ) = forma energie pohybující se prostorem velkou rychlostí.
- Světlo = záření pouze o  $\lambda$  400-760 nm.
- Duální charakter:
  - Vlnový charakter EMZ = vlnění: vysvětluje odraz, ohyb, lom, difrakci.
  - Částicový charakter EMZ = proud fotonů: vysvětluje interakci EMZ s hmotou.
- Rychlost záření:
  - Ve vakuu:
 
$$c_0 = \nu \cdot \lambda \cong 3,00 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$
  - V hmotném prostředí nižší



Změna  $\lambda$  při průchodu opticky hustším prostředím

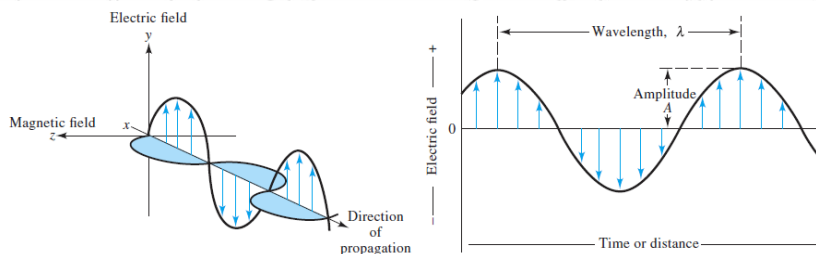
5



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Vlastnosti elektromagnetického záření

- Vlnový charakter:
- Obr. lineárně polarizovaného monochromatického záření



- Pojmy:
  - amplituda – velikost vlny v maximu
  - frekvence ( $\nu$ ) – počet oscilací pole za 1 s
  - vlnová délka ( $\lambda$ ) a vlnověť  $\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}$

6



 Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Vlastnosti elektromagnetického záření

– Vybrané radiometrické veličiny:

Veličina, pojem	Symbol (vztah)	Jednotka
zářivá energie	Q	J
zářivý tok	$P = \frac{dQ}{dt}$	J s <sup>-1</sup> = W
intenzita záření	$I = \frac{dQ}{d\Omega}$	W sr <sup>-1</sup>
index lomu	$\eta = \frac{c_0}{c}$	
transmitance	$T = \frac{P}{P_0}$	
absorbance	A = -log T	
molární absorpční koeficient	$\varepsilon_\lambda = \frac{A}{l \cdot c}$	dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>

7


 Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Vlastnosti elektromagnetického záření

– Částicový charakter:

- Foton = částice EMZ s nulovou hmotností a energií hv.

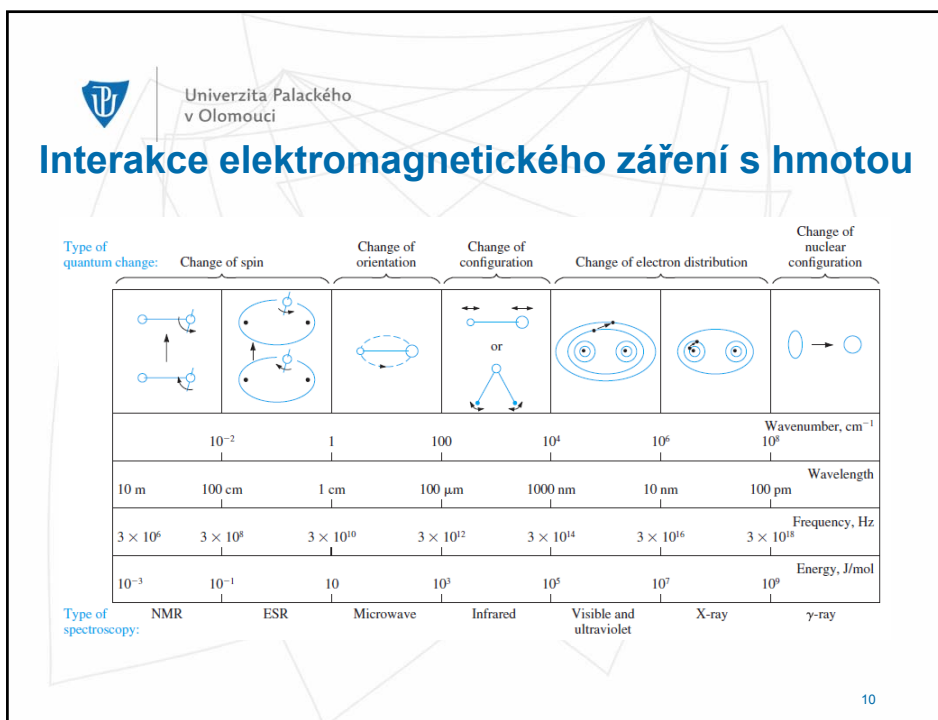
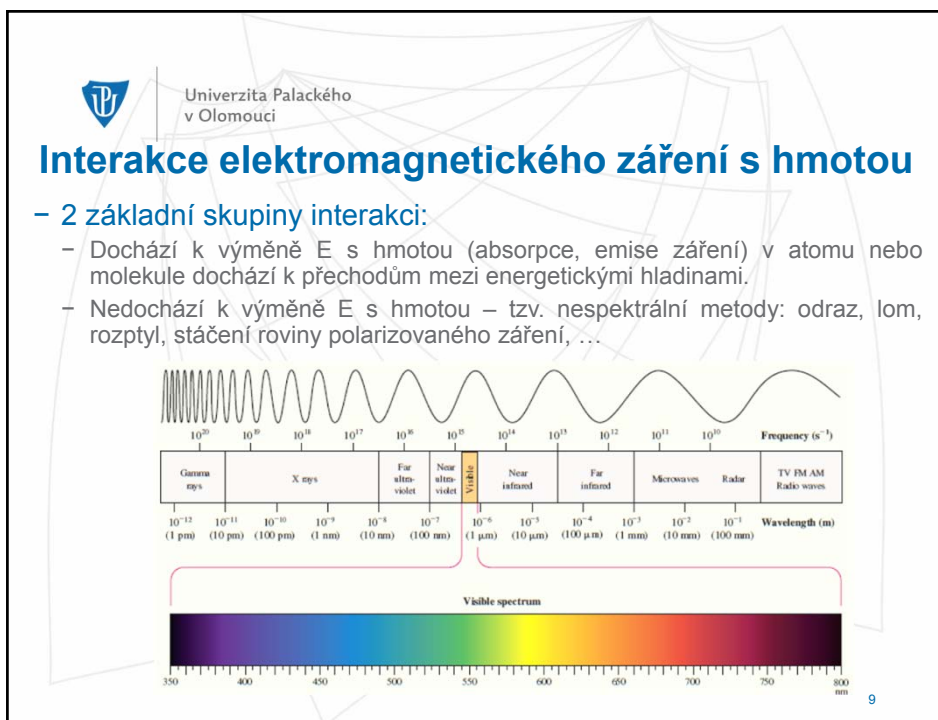
$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c_0}{\lambda} = h \cdot c_0 \cdot \tilde{\nu}$$

- h ... Planckova konstanta (6,63.10<sup>-34</sup> J s)
- ν ... frekvence záření

– Příklad: vypočítejte E 1 fotonu o λ = 5,0 μm:

$$E = \frac{h \cdot c_0}{\lambda} = \frac{6,63 \cdot 10^{-34} \cdot 3 \cdot 10^8}{5 \cdot 10^{-6}} = 3,98 \cdot 10^{-20} \text{ J}$$

8



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Spektroskopická měření a typy přechodů

- Emise a chemiluminiscence:
- Základní stav (energeticky nejvýhodnější, nejnižší)
- Excitovaný stav (energeticky vyšším nutné dodání E)

(a) (b) (c)

11

Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Spektroskopická měření a typy přechodů

- Absorpce:

(a) (b) (c)

- Fotoluminiscence (fluorescence a fosforescence):

(a) (b) (c)

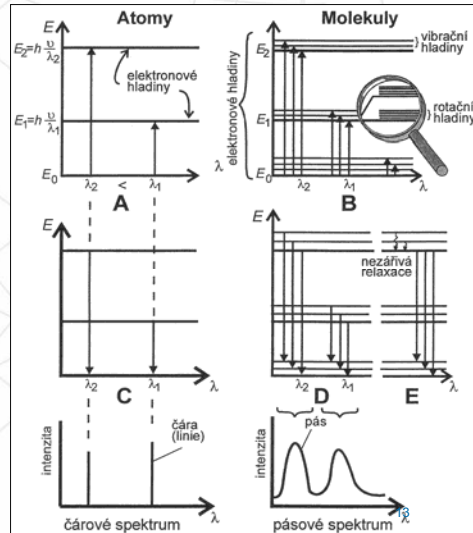
12



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Spektra atomů a molekul

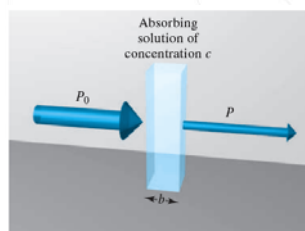
- Spektrum = závislost intenzity absorpce či emise na  $E$  záření, či odvozených veličinách:  $\lambda$ , vlnčet,...
- Atomová spektra – čárový charakter (velmi úzké izolované pásy); e<sup>-</sup> pouze na izolovaných hladinách E.
- Molekulová spektra – pásový charakter; odpovídají elektronovým, vibračním a rotačním přechodům.
  - Např. při elektronových přechodech dochází současně k vibračním a rotačním přechodům ⇒ spektrum je obalovou křivkou nerozlišených pásů.



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Absorpce záření

- Interakce látky X (atom, molekula) se zářením o vhodné E:  
 $X + h\nu \rightarrow X^*$
- Ve spektrech se projeví pouze přechody povolené **výběrovými pravidly**. Pro absorpční metody platí, že se projevují přechody, při nichž dochází ke změnám dipólového momentu molekuly
- Absorbované  $\lambda$  jsou pro určitou látku charakteristické = látku lze podle nich identifikovat, či usuzovat na strukturu (**kvalitativní analýza**).
- Velikost absorpce, tj. množství absorbovaného záření, se vyjadřuje pomocí **absorbance – A** (**kvantitativní analýza**).



$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

$$\text{Transmittance (\%)} T_{\%} = \frac{P}{P_0}$$

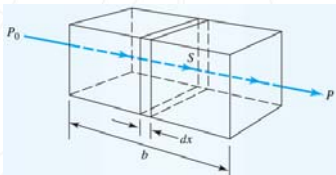
$$\text{Absorbance } A(\text{bezrozměrná v.}) = -\log T$$

14

Univerzita Palackého v Olomouci

## Lambertův-Beerův zákon

- Absorbance je přímo úměrně závislá na koncentraci ( $c$ ) a tloušťce absorbující vrstvy ( $l$ ), obvykle tedy tloušťce květy.
- Odvození:  
Monochromatické záření procházející infinitezimálně tenkou vrstvou látky ( $dx$ ) zeslabí zářivý tok ( $P-dP$ ).



$$-\frac{dP}{P} = \frac{dS}{S} = \frac{a \cdot dn}{S}$$

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP}{P} = \int_0^n \frac{a \cdot dn}{S}$$

$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{a \cdot n}{S}$$

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{a \cdot n}{2,303 S}$$

$$S = \frac{V}{b}, c = \frac{n}{V}$$

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6,023 \cdot 10^{23} a \cdot b \cdot c}{2,303 \cdot 10^3}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot c$$

$S$  – příčný průřez  
 $n$  – látkové množství  
 $a$  – konstanta úměrnosti  
 $V$  - objem

15

Univerzita Palackého v Olomouci

## Odchyly od Lambertova-Beerova zákona


- Lambertův-Beerův zákon (LBZ) – lineární závislost mezi  $A$  a  $c$  platí pouze za určitých podmínek.
- Příčiny odchylek od lineární závislosti:
  - Vliv koncentrace: LBZ je limitní zákon, platí pro zředěné roztoky  $c < 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$ .
  - Vliv chemických interakcí: disociace či asociace analytu, interakce s rozpouštědlem, ...
  - Vliv instrumentace:
    - Bludné záření (*stray light*) např. od zrcadel ve spektrometru, rozptyl záření na pevných částicích.
    - Nestejné květy pro vzorek a slepý pokus.
    - Nedostatečně monochromatické záření (LBZ platí pouze pro monochromatické záření):



V pásu A se  $\epsilon$  mění minimálně, zatímco v pásu B se  $\epsilon$  s vlnovou délkou mění výrazně.







 Univerzita Palackého v Olomouci


## Emise záření

- Atomy, molekuly a ionty mohou být excitovány do vyšších energetických hladin. Krátce po excitaci ( $10^{-9} - 10^{-6}$  s) dochází k relaxaci:
  - zářivý přechod = emise fotonu  $X^* \rightarrow X + h\nu$
  - nezářivý přechod = vydání tepla.
- Využívané postupy excitace:
  - atomy – náraz  $e^-$ , dodáním tepla (např. plamen či plazma), ozářením EMZ
  - molekuly – (pouze) EMZ
- Emisní spektrum (závislost intenzity emise záření  $I$  na  $\lambda$ ) umožňuje:
  - kvalitativní analýzu – podle hodnoty  $\lambda$ ,
  - kvantitativní analýzu – koncentrace  $c$  se určuje podle intenzity záření, např. z empirického Lomakinova vztahu.

**$I = a \cdot c^b$**

**$a$**  – konstanta popisující množství analytu ve výboji a vzorku  
 **$b$**  – konstanta popisující samoabsorpci

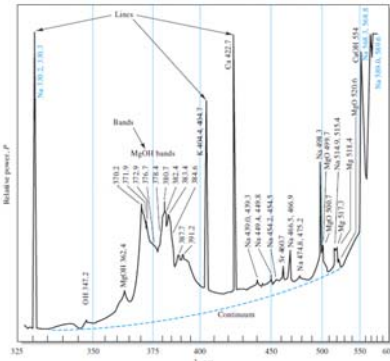
17


 Univerzita Palackého v Olomouci

## Emise záření

- Emise záření se využívá téměř výhradně pouze u atomů. Emisní spektrum může obsahovat:
  - čárová spektra – produkována atomy nebo ionty v plynném stavu,
  - pásová spektra – elektronové a vibrační přechody malých molekul,
  - kontinuum – záření tzv. černého tělesa.

Př. emisní spektrum roztoku solanky v plameni:



18



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Emise záření fluorescencí a fosforescencí

- Fotoluminiscence: fluorescence a/nebo fosforescence.
- Fluorescence a fosforescence: procesy založené na emisi záření po předchozím dodání E atomu nebo molekule absorpcí EMZ.
- Excitované spíše relaxují do základního stavu  $X^* \rightarrow X + h\nu' + \text{teplo}$ . Dochází buď k zářivému přechodu nebo nezářivému.
- Liší se mechanismem vzniku záření a časovým odstupem mezi excitací a emisí:
  - fluorescence – molekuly i atomy – emise řádově do  $10^{-5}$  s od excitace,
  - fosforescence – pouze molekuly – složitější mechanismus, emise řádově minuty až hodiny po excitaci.
  - *Pozn.: mechanismy budou vysvětleny během semestru.*
- Fluorescenci a fosforescenci lze využít pro kvalitativní i kvantitativní analýzu.

19



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Přehled spektrochemických metod

- Metody bez výměny E mezi zářením a vzorkem (výběr pro ACH/IM):

Typ přechodu	Oblast spektra	Název metody
absorpce	UV/Vis	atomová absorpční spektrometrie (AAS)
		molekulová absorpční spektrometrie v UV/Vis
	IR	infračervená spektrometrie
Ramanova spektrometrie		
	radiové vlny	spektrometrie nukleární magnetické rezonance (NMR)
emise	UV/Vis	optická (atomová) emisní spektrometrie (OES, AES)
luminiscence	rentgenovo z.	rentgenová fluorescenční spektrometrie (RFS)
	UV/Vis	atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)
		fluorescenční a fosforescenční spektrometrie

20


 Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Přehled spektrochemických metod

– Metody s výměnou E mezi zářením a vzorkem (výběr pro ACH/IM):

Oblast spektra	Typ interakce	Název metody
Vis	lom světla	refraktometrie
	optická aktivita	polarimetrie
		optická rotační disperze
		cirkulární dichroismus
rozptyl	nefelometrie a turbidimetrie	
rentgenovo záření	difrakce	rentgenová difrakce

– **Hmotnostní spektrometrie (MS):** metoda nevyužívá interakce vzorku s elektromagnetickým zářením.

21


 Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Něco málo z historie



- Jan Marek Marci z Kronlandu (1595-1671) se zabýval výzkumem slunečního spektra a v r. 1648 vydal knihu *Zázrakyáda neboli kniha o nebeském oblouku (Kniha o duze)*.
- Stejné jevy pozoroval i Isaac Newton, avšak publikoval je až v r. 1672.
- Vysvětlení absorpčních spekter Kirchhoff a Bunsen v letech 1859-1860 – různé prvky barví plamen do různých odstínů.



Bunsenův kahan a spektroskopická aparatura s hranolem

22