



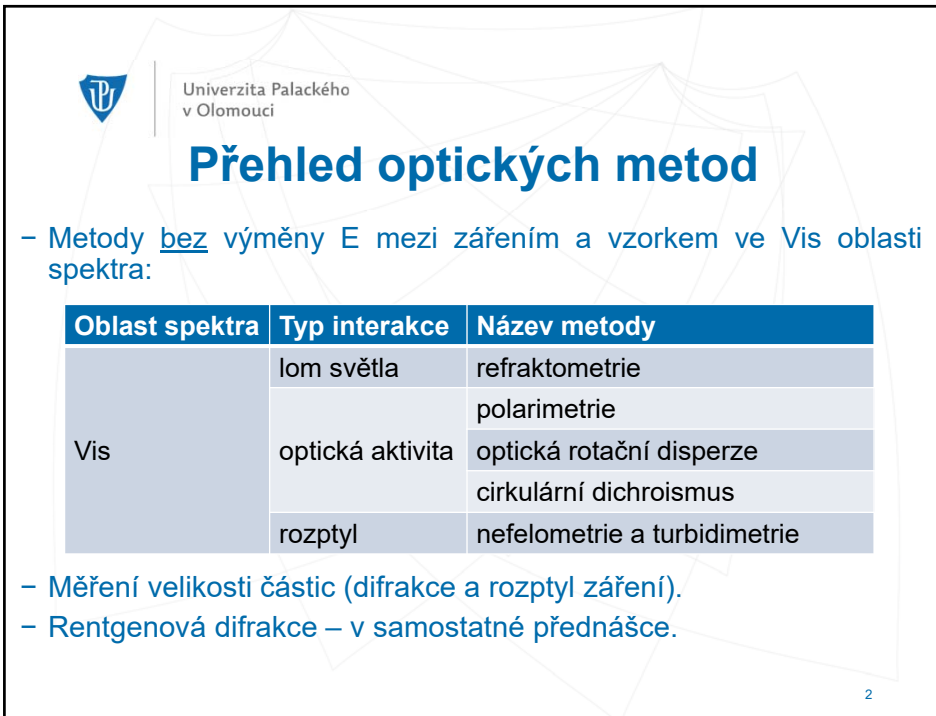

 Univerzita Palackého
 v Olomouci


Instrumentální metody (ACH/IM)

Optické (nespektrální) metody

(c) David MILDE

1




 Univerzita Palackého
 v Olomouci

Přehled optických metod

– Metody bez výměny E mezi zářením a vzorkem ve Vis oblasti spektra:

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

– Měření velikosti částic (difrakce a rozptyl záření).
 – Rentgenová difrakce – v samostatné přednášce.

2

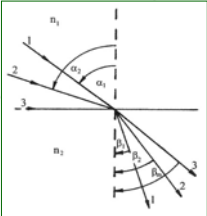
Univerzita Palackého
v Olomouci

REFRAKTOMETRIE

- Měří se lom monochromatického světla po průchodu rozhraním mezi zkoumanou průhlednou látkou a okolím.
- Relativní index lomu (n_{21}): poměr rychlostí světla při průchodu paprsku z látky 1 do látky 2.
- Index lomu závisí na:
 - teplotě – potřeba temperace při měření
 - λ záření – obvykle Na výbojka (589 nm)

$$n_{21} = \frac{v_2}{v_1}$$

- Snellův zákon: $n_1 \sin \alpha = n_2 \sin \beta$



3

Univerzita Palackého
v Olomouci

Refraktometrie

- Refraktometr (zjednodušené schéma):
- **APLIKACE:**
 - ověřování čistoty chemikálií,
 - stanovení některých látek (cukry, aromáty, ...)
 - detektory v HPLC.






VERKON společnost pro vaši lab. www.verkon.cz

VERKOI společnost pro vaši lab. www.verkon.cz

VERKO společnost pro vaši lab. www.verkon.cz

VERKOI společnost pro vaši lab. www.verkon.cz

4

4

Univerzita Palackého
v Olomouci

POLARIMETRIE

- Využívá schopnosti opticky aktivních látek stáčet rovinu procházejícího polarizovaného světla doprava (pravotočivé +) nebo doleva (levotočivé -).
- Opticky aktivní látky: organické sloučeniny s asymetrickým uhlíkem, některé koordinační sloučeniny.
- Lineárně polarizované světlo (= elektrický vektor záření leží v jedné rovině) vzniká z nepolarizovaného záření v polarizátoru: odrazem, dvojlomem, speciálním filtrem – polaroidem.

světlo před polarizací (od zdroje) po průchodu polarizátorem po průchodu vzorkem

5

Univerzita Palackého
v Olomouci

Polarimetrie

- Jestliže rychlost šíření pravotočivé a levotočivé složky v látce je různá, dojde k otáčení roviny polarizovaného záření.
- Úhel otočení roviny polarizovaného světla:

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^t \cdot l \cdot c \quad \text{kde } [\alpha]_{\lambda}^t \dots \text{měrná otáčivost}$$
- Měrná otáčivost $[\alpha]_{\lambda}^t$ závisí na vlnové délce a teplotě:

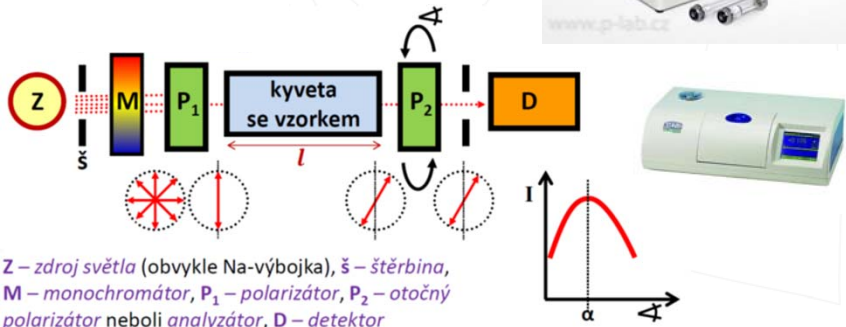
$$[\alpha]_{\lambda}^t = [\alpha]_{\lambda}^{20} + k(t - 20)$$
- **APLIKACE:**
 - stanovení obsahu cukrů; racemická směs neměřitelná,
 - stanovení bílkovin v moči,
 - ověřování čistoty látek.

6

Univerzita Palackého
v Olomouci

Polarimetr

- Zdroj: Na výbojka, LED dioda
- Detektory:
 - lidské oko (okulár),
 - fotonový detektor.



Z – zdroj světla (obvykle Na-výbojka), š – štěrba,
M – monochromátor, P₁ – polarizátor, P₂ – otočný
polarizátor neboli analyzátor, D – detektor

7

Univerzita Palackého
v Olomouci

Optická rotační disperze (ORD)

- Velikost optické aktivity (úhel stočení α) závisí na vlnové délce – optická rotační disperze:
 - opticky aktivní látka neabsorbuje – monotónní pokles nebo nárůst křivky,
 - opticky aktivní látka absorbuje – křivky mají lokální maxima a minima vhodná k analýze.
- **APLIKACE:** stanovení chirálních látek.



látko A - bez absorpce
B - bez absorpce
C - s jednou absorpcí
ve sledované oblasti λ .

8

Univerzita Palackého
v Olomouci

Cirkulární dichroismus (CD)

- Je-li absorpce pravotočivé a levotočivé kruhově polarizované složky záření látkou různá = cirkulární dichroismus.
- CD lze měřit v jakékoliv spektrální oblasti; využívá se:
 - UV/Vis pro elektronické přechody (ECD),
 - IR pro vibrační přechody (VCD – vibrační cirkulární dichroismus).
- **APLIKACE:** strukturní analýza chirálních sloučenin.

	kruhově polarizované záření	enantiomer	absorpce	ECD signál
levotočivé			A_L	$\Delta A = A_L - A_R$
pravotočivé			A_R	

9

9

Univerzita Palackého
v Olomouci

TURBIDIMETRIE a NEFELOMETRIE

- Sledování rozptylu záření částicemi suspendovanými v kapalině (sraženinami či koloidními částicemi). Rozdíl je ve způsobu měření:
 - Turbidimetrie: měří se úbytek intenzity záření prošlého vzorkem, tedy absorpance (nerozptýlené záření).
 - Nefelometrie: měří se intenzita záření rozptýleného částicemi, detekujeme kolmo od zdroje.

Z – zdroj světla
š – štěrбина
M – monochromátor
D_T – detektor pro turbidimetrii
D_N – detektor pro nefelometrii

10

10



Univerzita Palackého
v Olomouci

Turbidimetrie a nefelometrie

- **Turbidimetrie:**
 - vhodná pro větší zákaly,
 - turbidimetry a „klasické“ spektrometry s méně citlivými detektory, např. fotodiody.
- **Nefelometrie:**
 - vhodná pro velmi jemné zákaly (např. roztoky bílkovin)
 - nefelometry s vysoce citlivými detektory (fotonásobiče, CCD-prvky).
- **APLIKACE:**
 - stanovení tuhých částic v plynech či kapalinách (př. zákal vody),
 - farmakologické laboratoře – velikost a tvar suspendovaných částic.

11

11



Univerzita Palackého
v Olomouci

MĚŘENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC

- Velikost částic a jejich distribuce = důležitý parametr v celé řadě aplikací:
 - částice inkoustů do tiskáren, uhelný prach,
 - růst krystalů, kapky paliva vstřikované do motorů,
 - částice do kosmetiky, barviv, velikost katalyzátorů,
 - farmacie: velikost částic léčiv, radioaktivních „tracerů“, ...
- Řada metod: molekulární síta, elektrická vodivost, mikroskopie, ...
- **SPEKTRÁLNÍ METODY:**
 - **Laserová difrakce** (low-angle laser light scattering)
 - **Dynamický rozptyl světla** (dynamic light scattering – DLS)

12

12

Univerzita Palackého
v Olomouci

Laserová difrakce

- Jednoduchá instrumentace, komplikované teoretické modely popisující rozptyl záření, široký rozsah velikostí – 0,1-2000 μm ; aerosoly, suspenze, prášky.
- Instrumentace: He-Ne laser, detektorové pole hodnotící zatemnění v určitých místech.

Rayleigh
Debye
Mie

(b)

Laser, Beam expander, Particle, Focusing lens, Detector array, Zero-order, First-order light, Second-order, Computer

Rayleighův rozptyl $d < 0,05 \lambda$
Debyeův rozptyl $0,05 \lambda < d < \lambda$
Mieho rozptyl $d > \lambda$
d ... velikost částice

13

Univerzita Palackého
v Olomouci

Dynamický rozptyl světla (DLS)

- Velikost částic vyhodnocuje na základě korelační analýzy počtu fotonů dopadajících na detektor (10⁰ nm - 5 μm).
- Měří se změna šířky čáry Rayleighova rozptýleného záření v důsledku tepelného pohybu částic.
- Vzorek musí být dokonale rozptýlený v médiu a je umístěn do kyvety o konstantní teplotě.

Laser, Lens, Sample cell, Beam stop, Apertures, Photomultiplier tube, Amplifier and discriminator, Computer with correlator

Intensity (a.u.) vs. Hydrodynamic diameter (nm)

18.5 nm, 643.1 nm, 4407 nm

14



Univerzita Palackého
v Olomouci

Použitá literatura

- Němcová I., Čermáková L., Rychlovský P.: Spektrometrické analytické metody I. Karolinum, Praha 2004.
- Šimán P.: Instrumentální metody I. Projekt IT medik, LF UK v Hradci Králové, 2013.
- Skoog D.A., Holler F.J., Crouch S.R.: Principles of Instrumental Analysis (7th edition). Cengage Learning, Boston 2007.
- Firemní materiály dostupné na internetu.

15