





Univerzita Palackého
v Olomouci

Instrumentální metody (ACH/IM)

Úvod do spektrochemických metod

(c) David MILDE

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



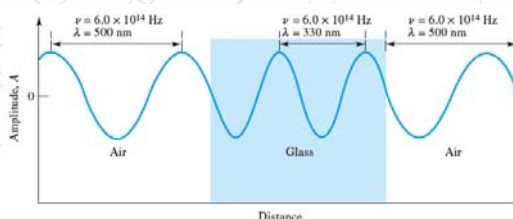
Univerzita Palackého
v Olomouci

Vlastnosti elektromagnetického záření

- Elektromagnetické záření (EMZ) = forma energie pohybující se prostorem velkou rychlostí.
- Světlo = záření pouze o λ 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:

$$c_0 = v \cdot \lambda \cong 3,00 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

- V hmotném prostředí nižší



Změna λ při průchodu opticky hustším prostředím

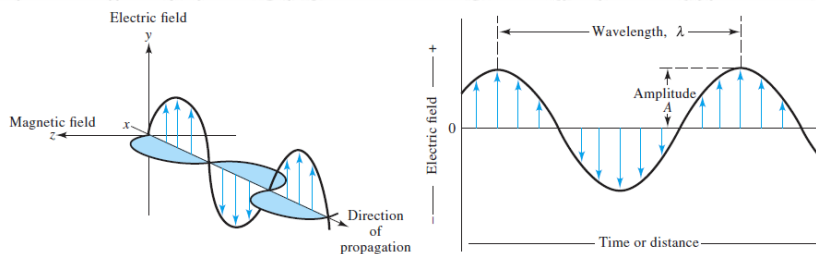
5



Univerzita Palackého
v Olomouci

Vlastnosti elektromagnetického záření

- Vlnový charakter:
- Obr. lineárně polarizovaného monochromatického záření



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

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 ⁻¹ = W
intenzita záření	$I = \frac{dQ}{d\Omega}$	W sr ⁻¹
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 ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹

7



Univerzita Palackého
v Olomouci

Vlastnosti elektromagnetického záření

– Částicový charakter:

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

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

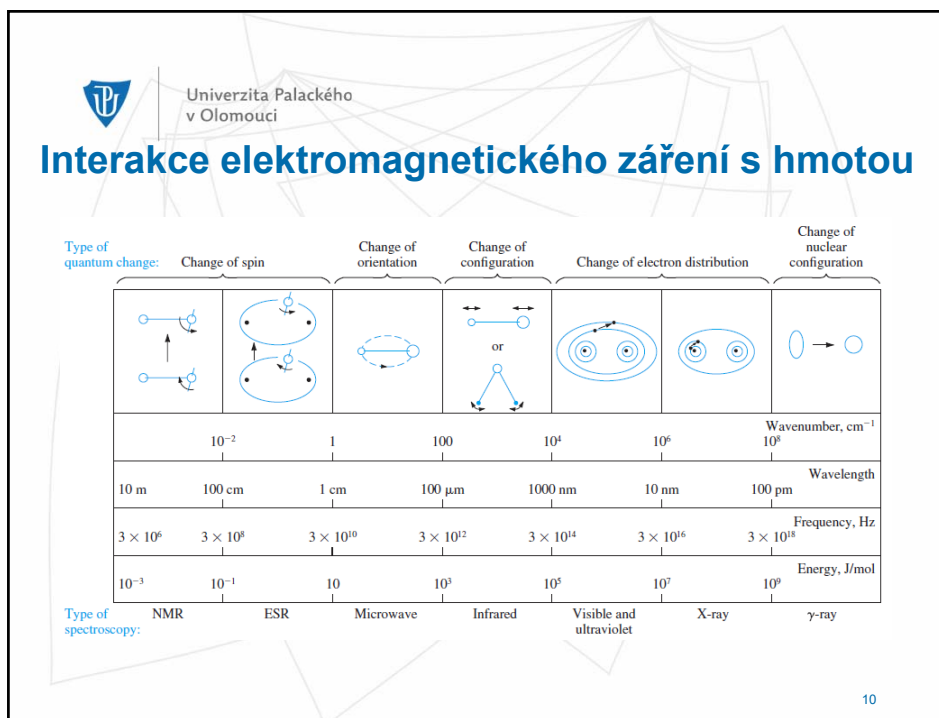
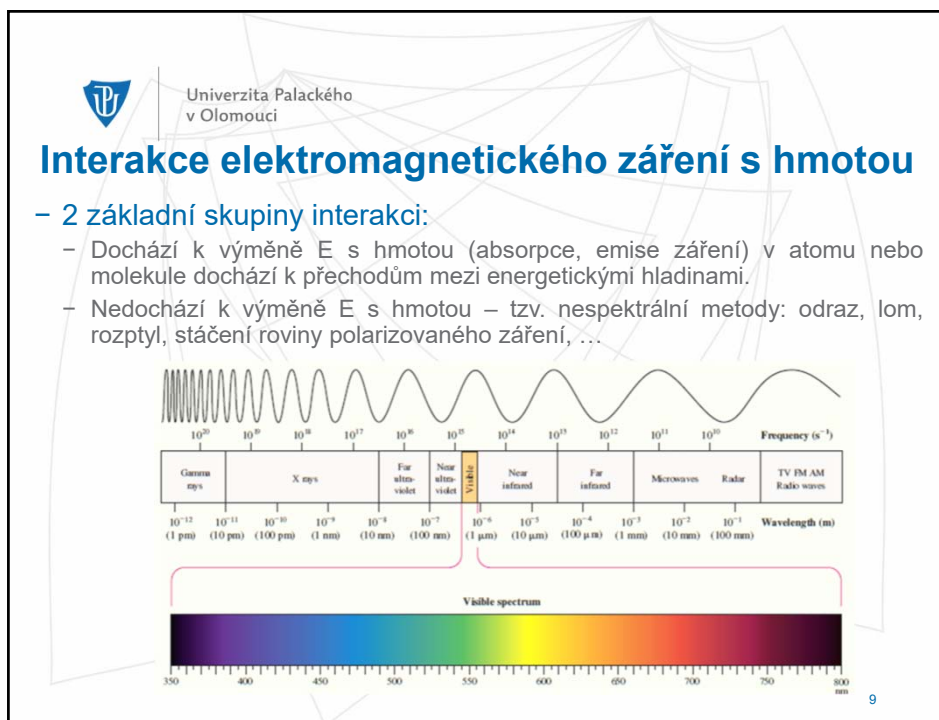
– h ... Planckova konstanta (6,63.10⁻³⁴ J s)

– 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)

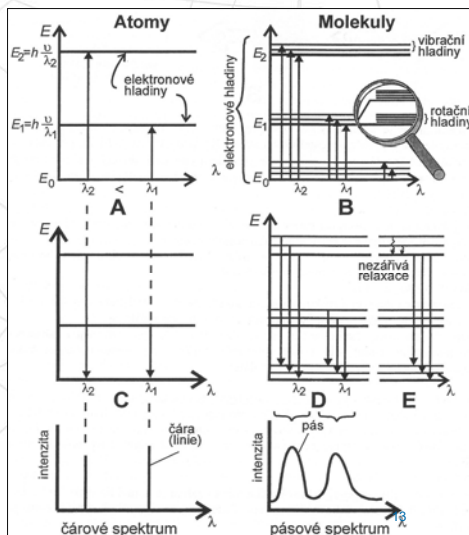
12



Univerzita Palackého
v Olomouci

Spektra atomů a molekul

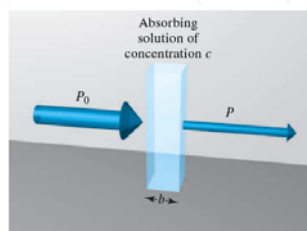
- Spektrum = závislost intenzity absorpce či emise na E záření, či odvozených veličinách: λ , vlnčet,...
- Atomová spektra – čárový charakter (velmi úzké izolované pásy); e⁻ pouze na izolovaných hladinách E.
- Molekulová spektra – pásový charakter; odpovídají elektronovým, vibračním a rotačním přechodům.
 - 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 λ 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



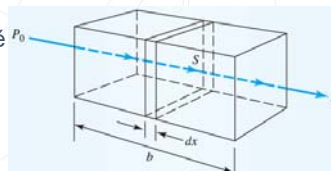
Univerzita Palackého
v Olomouci

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



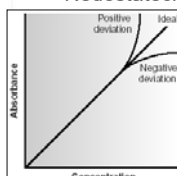
Univerzita Palackého
v Olomouci

Odchyly od Lambertova-Beerova zákona

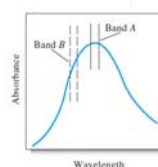
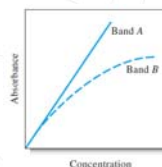
- Lambertův-Beerův zákon (LBZ) – lineární závislost mezi A a c platí pouze za určitých podmínek.

- 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, rozptýl záření na pevných částicích.
 - Nestejné květy pro vzorek a slepý pokus.
 - Nedostatečně monochromatické záření (LBZ platí pouze pro monochromatické záření):



V pásu A se ϵ mění minimálně, zatímco v pásu B se ϵ s vlnovou délkou mění výrazně.





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



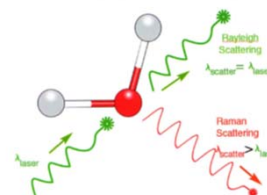
Univerzita Palackého
v Olomouci

Rozptyl záření

- Dopadá-li na vzorek intenzivní monochromatické záření (obvykle z laseru), vzniká záření šířící se všemi směry (rozptýlené záření):
 - elastická (pružná) srážka fotonu s molekulou – **Rayleighův rozptyl** = stejná vlnová délka dopadajícího i rozptýleného záření ($\lambda_{\text{laser}} = \lambda_{\text{scatter}}$).
 - neelastická (nepružná srážka) fotonu s molekulou – **Ramanův rozptyl** = jiná vlnová délka dopadajícího (λ_{laser}) a rozptýleného (λ_{scatter}) záření.

Stokesovy linie: $\lambda_{\text{laser}} > \lambda_{\text{scatter}}$ ($E_{\text{laser}} < E_{\text{scatter}}$)

Anti-Stokesovy linie: $\lambda_{\text{laser}} < \lambda_{\text{scatter}}$ ($E_{\text{laser}} > E_{\text{scatter}}$)



- Ramanův rozptyl se používá v Ramanově spektrometrii.
- Rayleighův rozptyl se používá v turbidimetri a nefelometrii.

20



Univerzita Palackého
v Olomouci

Přehled spektrochemických metod

– Metody s výměnou 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

21



Univerzita Palackého
v Olomouci

Přehled spektrochemických metod

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

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

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

22



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)*.
- Stejně 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

23