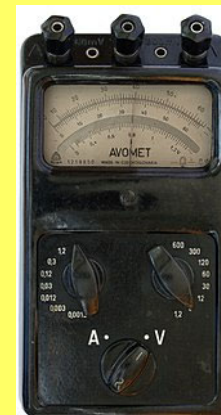
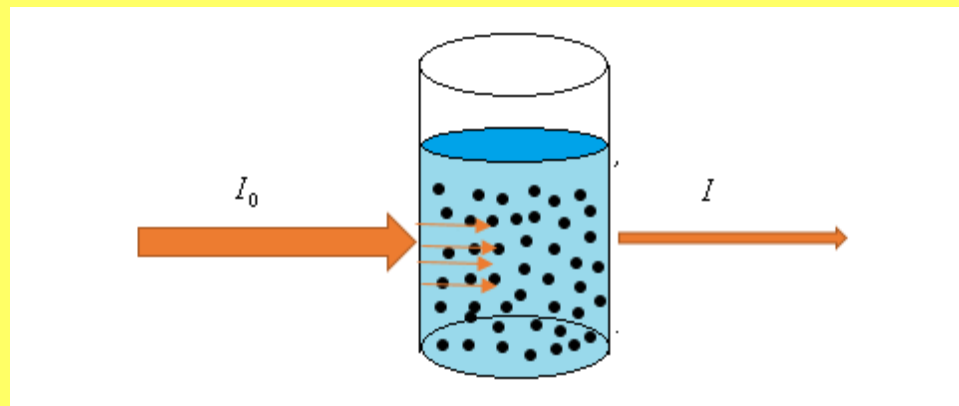
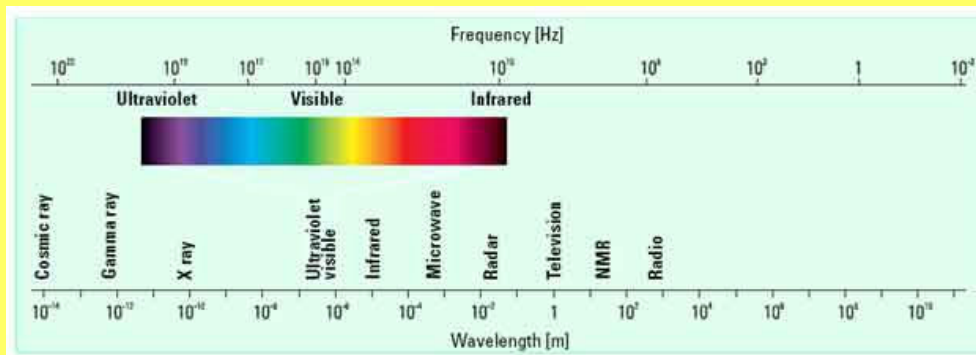
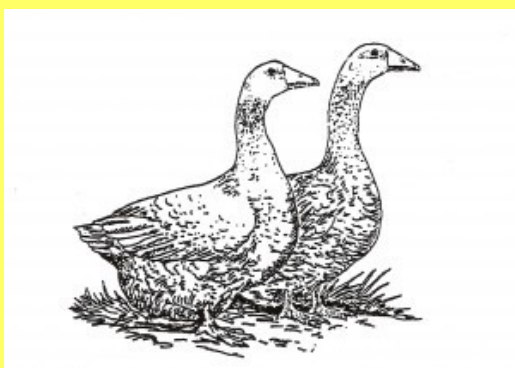


Repetitorium chemie III.

Stručné základy klasické kvantitativní analýzy anorganických látek a úvod do moderních instrumentálních metod

(2022)



(vlevo Nobelova cena pro J. Heyrovského – 1959)

A copak měli spolu za tajemství pan Lambert s panem Beerem?

Analytická chemie kvantitativní

Metody historické kvantitativní analýzy:

Vážková analýza

Odměrná analýza

Současná instrumentální analýza:

Základní elektrochemické techniky

Spektrofotometrie v UV a VIS

Atomová absorpční a emisní spektrometrie, PIXE, EDAX

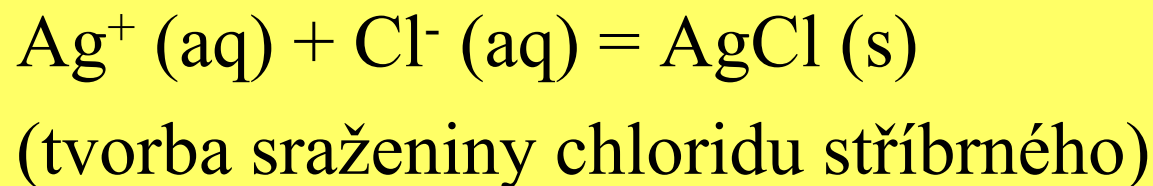
Chromatografie

Metody klasické kvantitativní analýzy

Vážková analýza (gravimetrie):

Je založena na vzniku a vážení omezeně
rozpustné sraženiny (tj. látky s $K_s \leq 10^{-7}$)

Např.



Metody klasické kvantitativní analýzy

Pravidla praktické gravimetrie:

- Sráží se ze zředěných roztoků
- Sráží se z horkých roztoků
- Sráží se z roztoků s pH na hranici kvantitativního srážení
- Sráží se pomalým přidavkem srážedla za intenzivního míchání
- Sraženina se před vážením řádně vysuší, popř. žihá

Metody klasické kvantitativní analýzy

Praktický příklad:

Mince o hmotnosti 0,528 g byla rozpuštěna v kyselině. Přídavkem NaCl bylo vysráženo 0,288 g bílé sraženiny AgCl. Kolik % stříbra mince obsahovala?

1 mol AgCl obsahuje 1 mol Ag, tj.

144 g AgCl obsahuje 108 g Ag (viz molekulové hmotnosti)

288 mg AgCl obsahuje 216 mg Ag

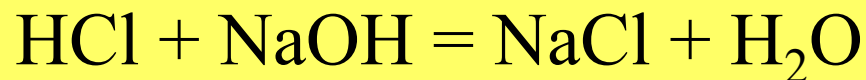
Mince obsahovala $(216/528) \cdot 100 = 40.9\%$ stříbra

Metody klasické kvantitativní analýzy

Odměrná analýza (volumetrie):

Je založena na měření objemu spotřebované látky, vstupující do reakce. Stanovovaná látka se „titruje“ roztokem činidla.

Např.



Metody klasické kvantitativní analýzy

Pravidla praktické volumetrie:

- Reakce musí probíhat stechiometricky, bez vedlejších reakcí
- Reakce musí probíhat kvantitativně, tj. alespoň z 99,9%
- Reakce musí mít dobře viditelný (resp. měřitelný) bod ekvivalence

Metody klasické kvantitativní analýzy

Rozdělení odměrné analýzy:

Odměrná neutralizační analýza (acidimetrie, alkalimetrie)

Odměrná srážecí analýza (např. argentometrie, merkurimetrie)

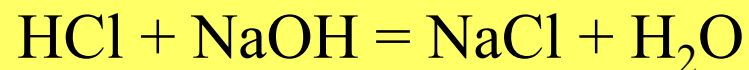
Odměrná redoxní analýza (např. manganometrie, jodometrie)

Komplexometrická odměrná analýza

Metody klasické kvantitativní analýzy

Odměrná neutralizační analýza:

Je založena na neutralizačních reakcích, např.



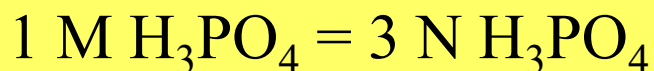
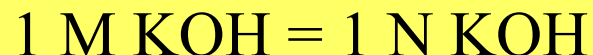
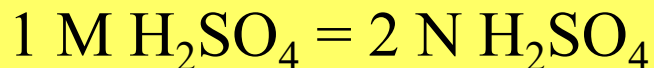
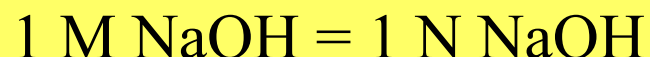
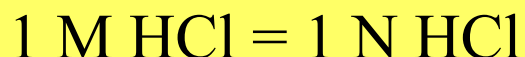
Roztok, kterým titrujeme (tj. ten, jehož přesnou spotřebu měříme – u acidimetrie roztok kyseliny, u alkalimetrie roztok louhu) musí mít přesnou koncentraci.

Metody klasické kvantitativní analýzy

Odměrná neutralizační analýza:

V odměrné analýze se někdy používá vyjádření koncentrace v normalitě (N).

Obsahuje-li látka x odštěpitelných (přijímaných) protonů, je její normalita rovna M/x.



x ml 1N roztoku kyseliny odpovídá x ml 1N roztoku louhu

Metody klasické kvantitativní analýzy

Titrační křivka a určení bodu ekvivalence:

K určení konce titrace (bodu ekvivalence) se užívá vhodných indikátorů (u acidobazických titrací neutralizačních indikátorů).

Silná kyselina + silná zásada: methylčerven

Slabá kyselina + silná zásada: fenolftalein

Slabá zásada + silná kyselina: methyloranž

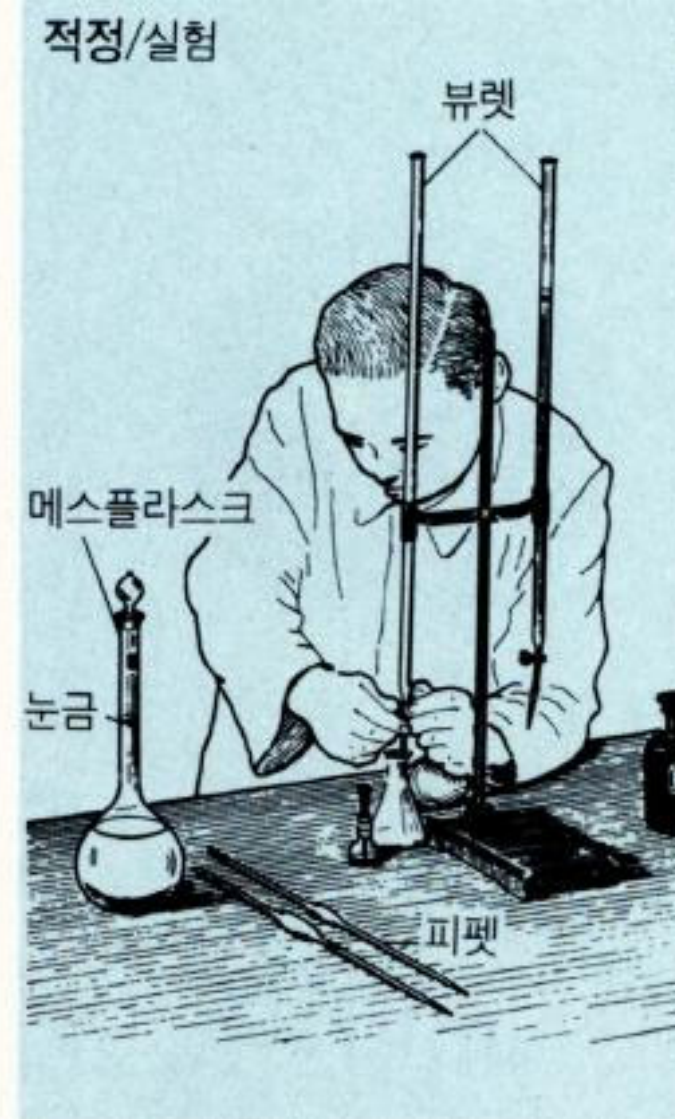
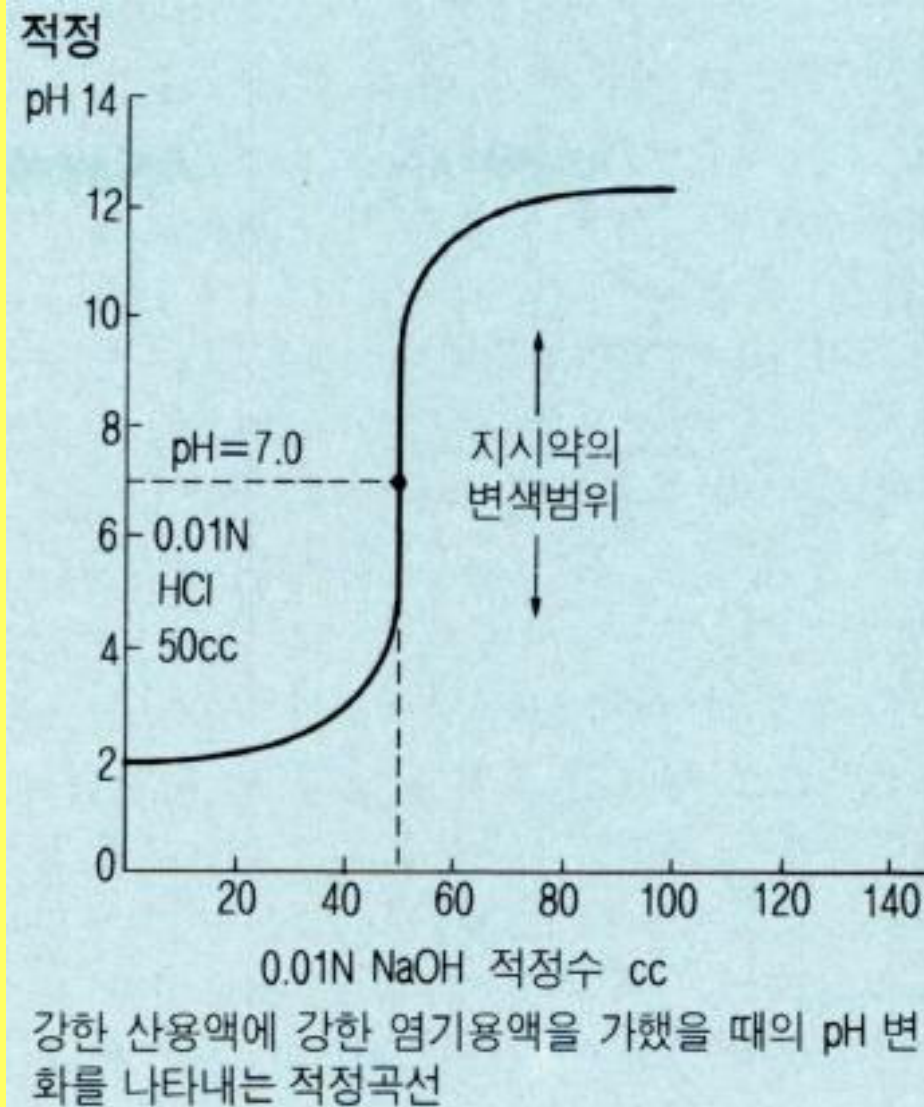
Metody klasické kvantitativní analýzy

Titrační křivka a určení bodu ekvivalence:

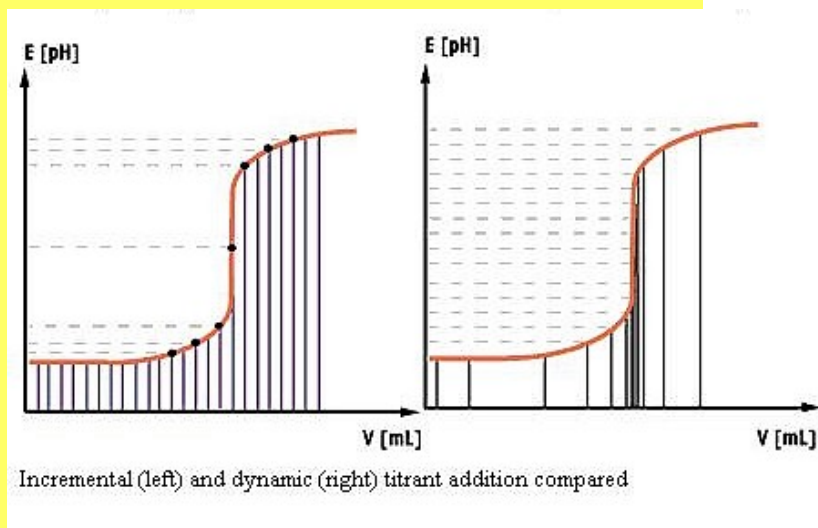
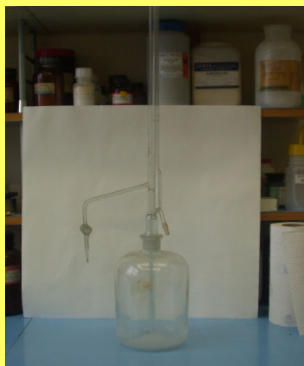
Při potenciometrickém sledování průběhu titrace se bod ekvivalence určuje analýzou titrační křivky.

Bod ekvivalence = inflexní bod titrační křivky.

Titration: metody klasické kvantitativní analýzy

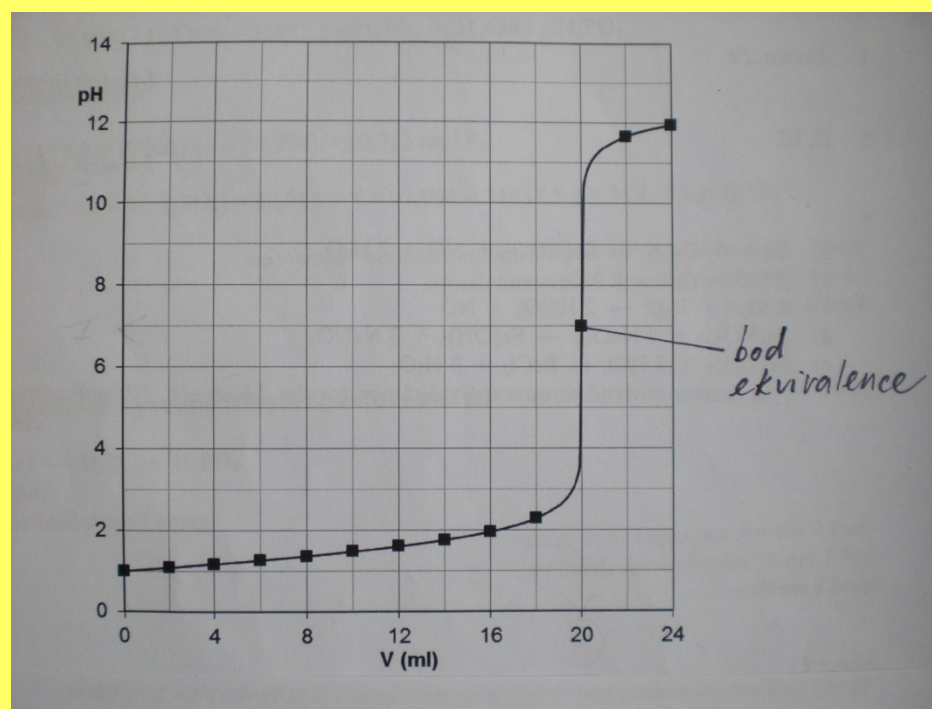
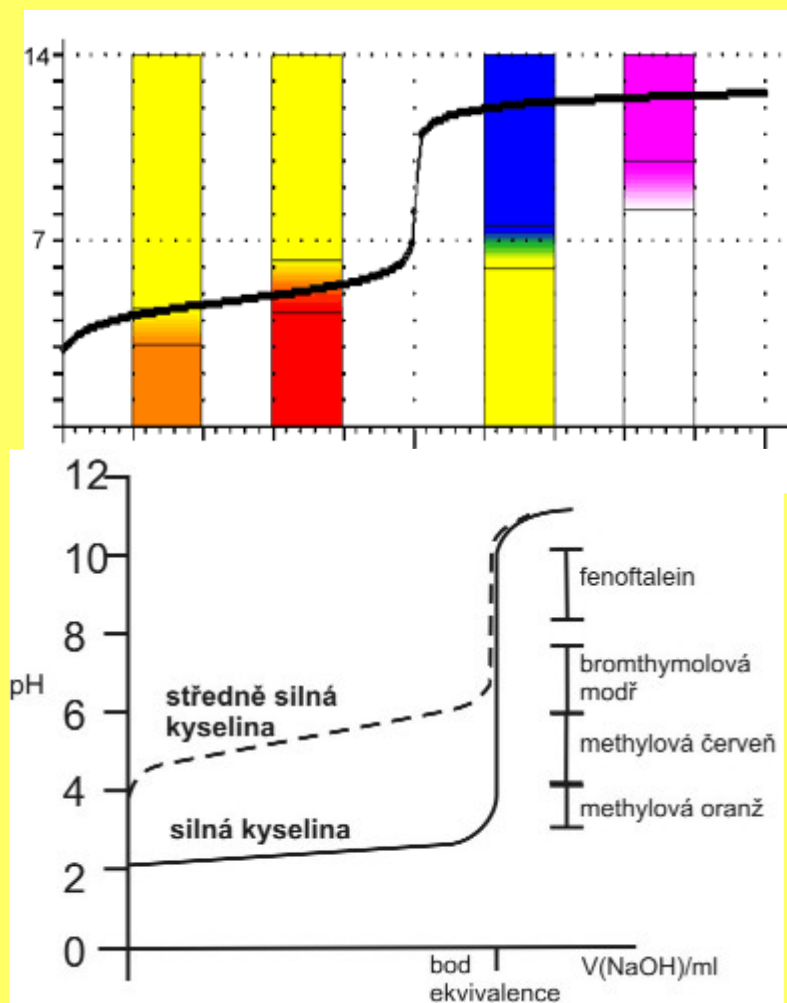


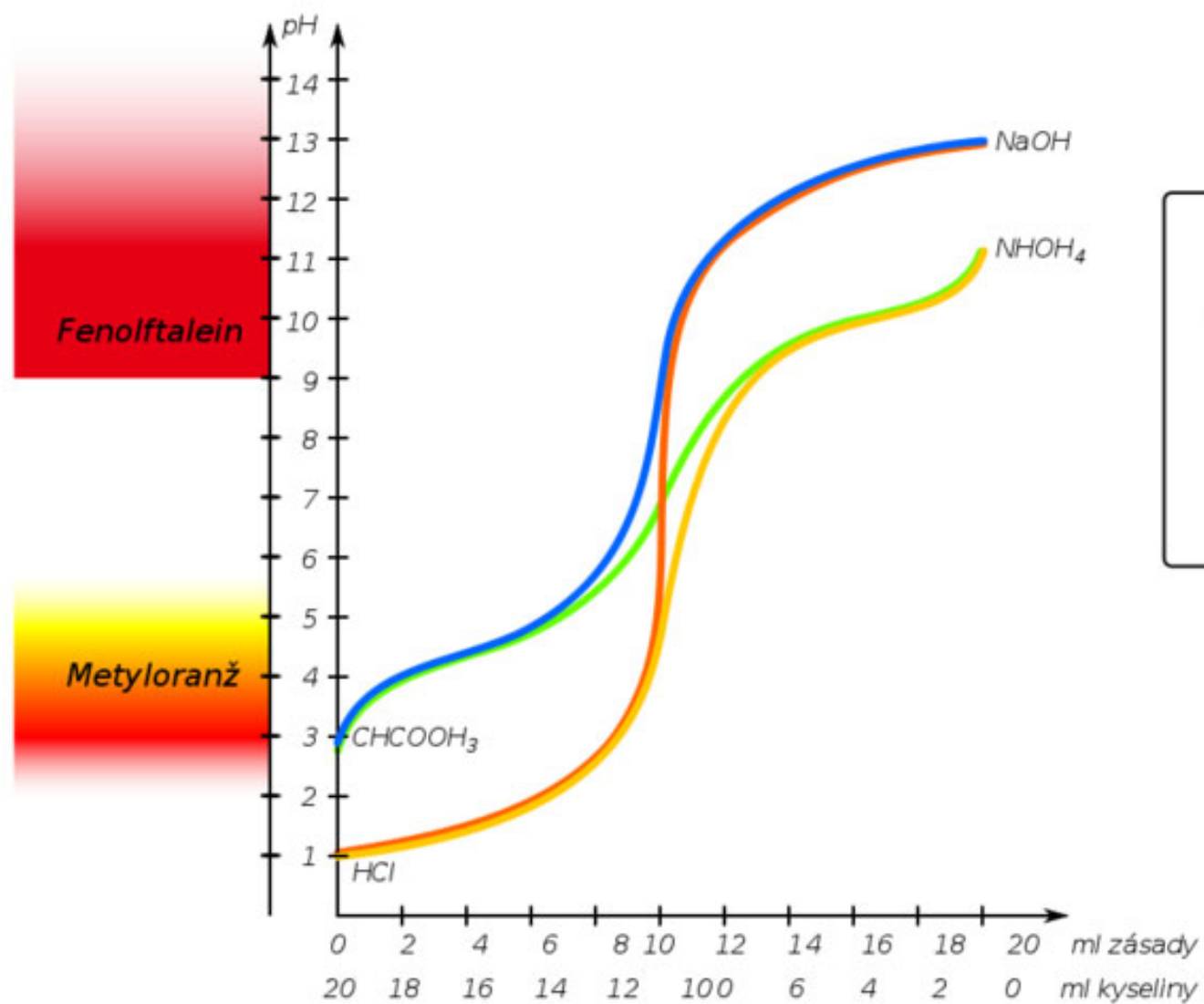
Titrace: metody klasické kvantitativní analýzy



Příklad mechanické (skleněné) a automatické byrety, sloužící při volumetrických stanoveních látek. Povšimněte si různého dávkování činidla na grafech dole vlevo.

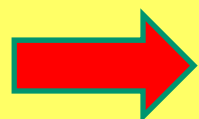
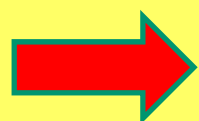
Titrace: metody klasické kvantitativní analýzy





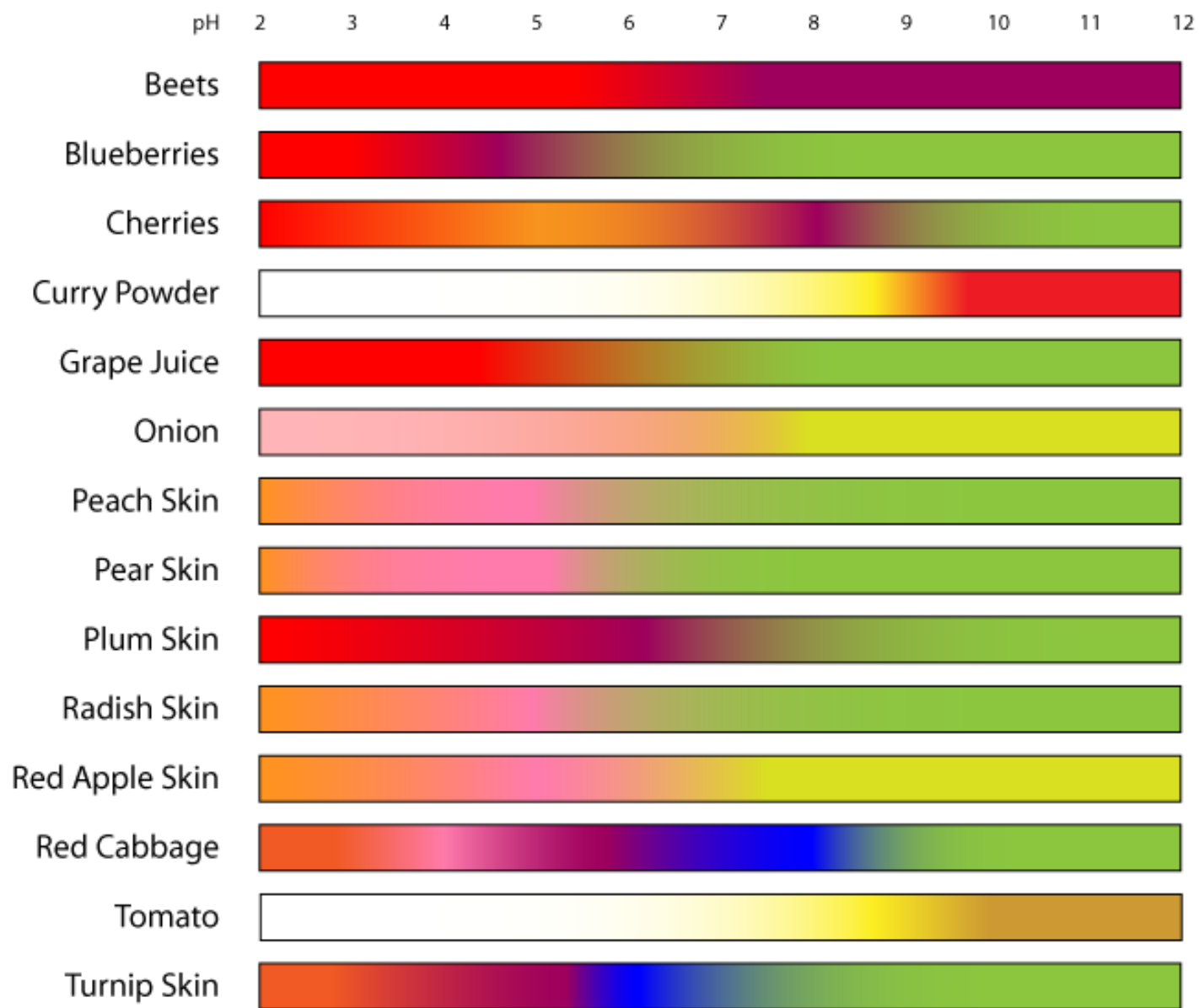
Titrační křivky

- $\text{CHCOOH} + \text{NaOH}_3$
- $\text{HCl} + \text{NaOH}$
- $\text{CHCOOH} + \text{NHOH}_{3,4}$
- $\text{HCl} + \text{NHOH}_4$



Indicator	0.0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.	11.	12.	13.	14.	Preparation
Methyl Violet 0.0-1.6	Yellow	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.01-.05% in water
Crystal Violet 0.0-1.8	Yellow	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.02% in water
Ethyl Violet 0.0-2.4	Yellow	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.1g 50% methanol/water
Malachite Green 0.2-1.8	Yellow	Yellow	Grey	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	Teal	water
Methyl Green 0.2-1.8	Yellow	Yellow	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.1% in water
Cresol Red .04-1.8	Red	Red	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ammonia/water
Thymol Blue 1.2-2.8	Red	Grey	Grey	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	ammonia/water
Bromophenol Blue 3.0-4.6	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	ammonia/water
Congo Red 3.0-5.0	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	.1% in water
Methyl Orange 3.2-4.4	Red	Red	Red	Grey	Grey	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	.01% in water
Resorcin Blue 4.4-6.2	Red	Red	Red	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.2% ethanol
Alizarin Red S 4.6-6.0	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	water
Methyl Red 4.8-6.0	Red	Red	Red	Red	Grey	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	ethanol/water
Litmus 5.0-8.0	Red	Red	Red	Red	Grey	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	water
Bromocresol Purple 5.2-6.8	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Grey	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	ammonia/water
Chrophenol Red 5.2-6.8	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ammonia/water
Bromothymol Blue 6.0-7.6	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	ammonia/water
Phenol Red 6.6-8.0	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ammonia/water
Neutral Red 6.8-8.0	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Grey	Grey	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	ethanol/water
Tumaric Curcumin 7.4-8.6	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ethanol
Phenolphthalein 8.2-10.0	White	White	White	White	White	White	White	Grey	Grey	Grey	Pink	Pink	Pink	Pink	Pink	ethanol/water
Thymophthalein 9.4-10.6	White	White	White	White	White	White	White	White	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	ethanol/water
Alizarin Yellow R 10.1-12.0	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Red	Red	Red	.01% in water
Clayton Yellow 12.2-13.2	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Orange	Orange	.1% in water

Edible pH Indicator Color Changes



Metody klasické kvantitativní analýzy

Odměrná srážecí analýza

Během titrace vzniká nerozpustná sraženina (resp. rozpustná, ale nepatrně disociovaná).

Příklady: **argentometrie, merkurimetrie**

Metody klasické kvantitativní analýzy

Argentometrie:

Titruje se roztokem AgNO_3 , lze stanovit Cl^- , Br^- , I^- ,
 SCN^-

Indikátor: např. dvojchroman draselný (chroman Ag je
červený)

Metody klasické kvantitativní analýzy

Merkurimetrie:

Titruje se roztokem $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, lze stanovit Cl^- , Br^- , I^- , SCN^-

Indikátor: nitroprusid sodný $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
dává bílý zákal nitroprusidu rtuťnatého

Metody klasické kvantitativní analýzy

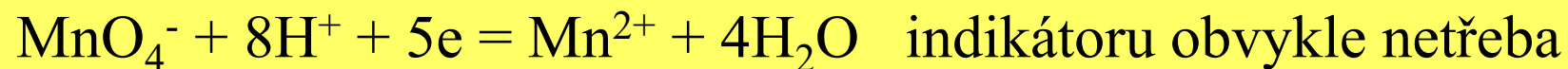
Odměrná redoxní analýza:

Využívá kvantitativně probíhajících oxidačně-redukčních reakcí.

Příklady: manganometrie, jodometrie

Metody klasické kvantitativní analýzy

Manganometrie:



1 N roztok KMnO_4 je tedy 1/5 molární (reaguje s 5 elektrony)

Stanovení železnatých solí, ferrokyanidu, arzenitých solí,
dusitanů

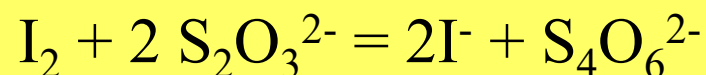
Metody klasické kvantitativní analýzy

Jodometrie:



Např. stanovení arsenitých solí (vznikají arseničnany)

Jodometrie využívá i reakce probíhající v opačném směru; látka reaguje s nadbytkem jodidu a uvolněný jod se titruje thiosíranem:



Metody klasické kvantitativní analýzy

Jodometrie:

(přidává se nadbytek jodidu a titruje se uvolněný jod thiosíranem)

Např. stanovení peroxidů, chlornanů, dvojchromanu

Metody klasické kvantitativní analýzy

Komplexometrie:

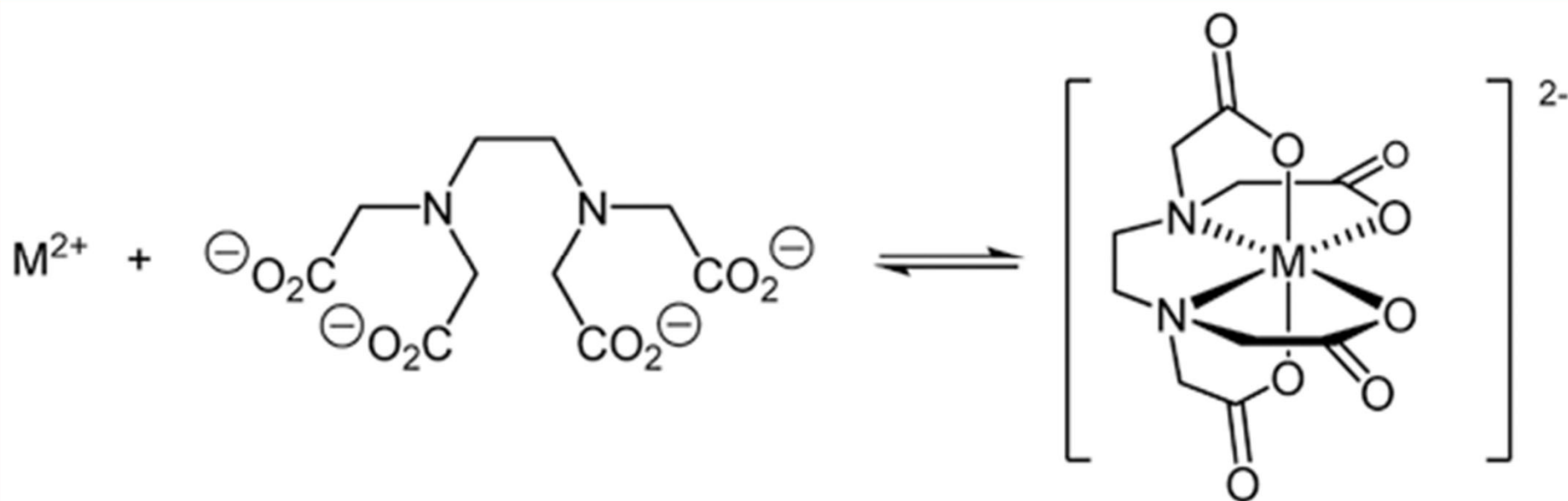
Je založena na vzniku nedisociovaných komplexů. Nejčastěji se používá roztok Chelatonu 3 (tj. dvojsodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové, Na_2EDTA)

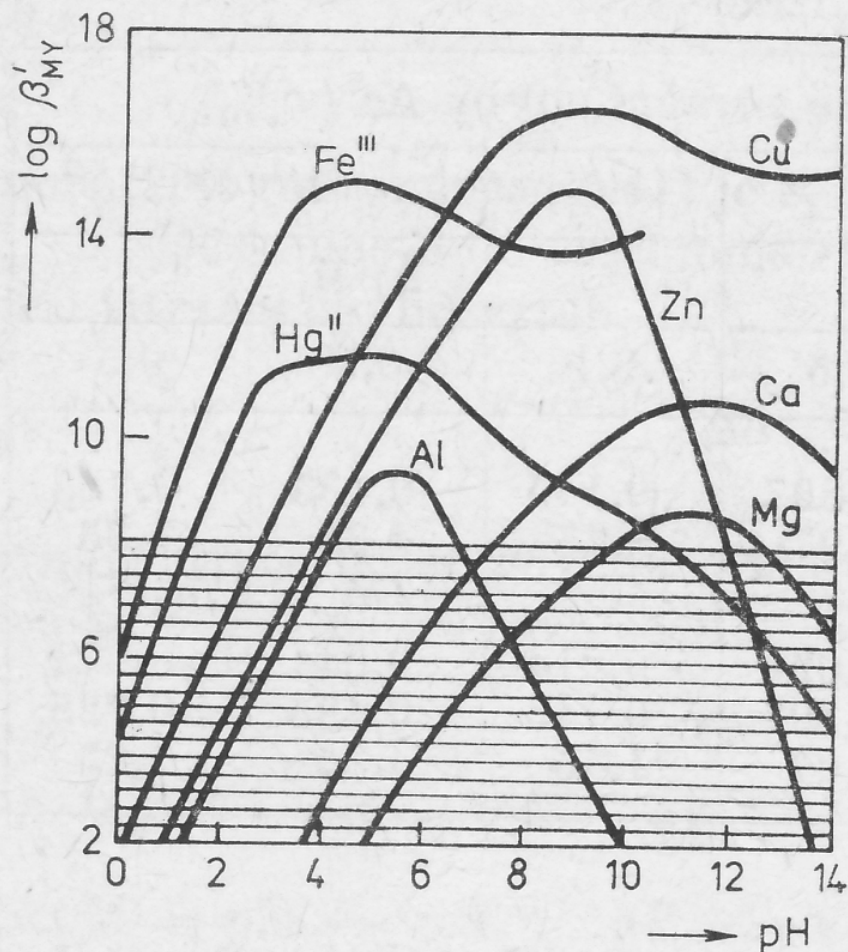
1 molekula Na_2EDTA reaguje vždy s 1 kationtem kovu bez ohledu na jeho mocenství.

Na_2EDTA reaguje s většinou běžných kationtů; stabilita komplexů je velká a je výrazně ovlivněna hodnotou pH.

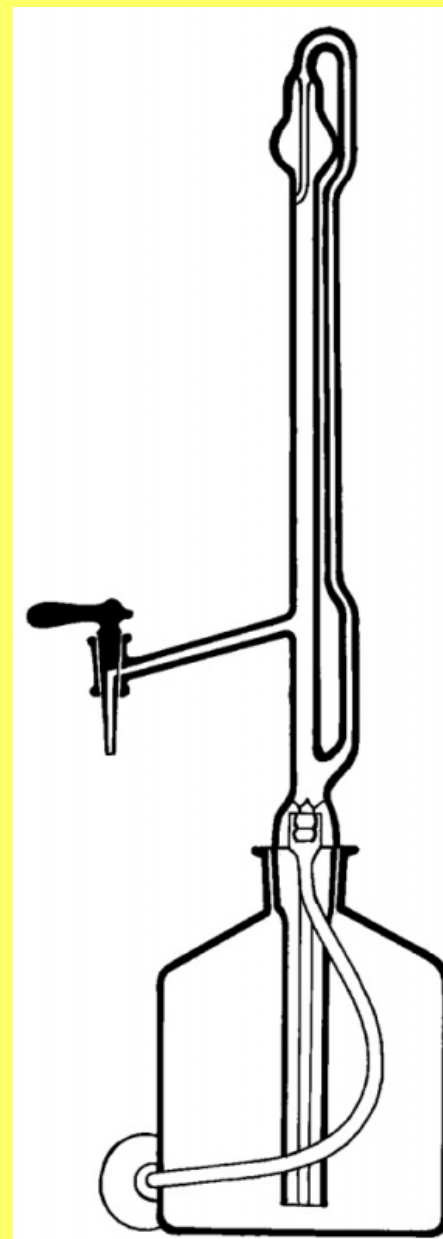
Jako indikátory se používají látky, tvořící se stanovovanými kovy méně pevné barevné komplexy.

Komplexometrie: základem je EDTA etylendiamintetraaminoctová kyselina





Obr. 73. Závislost podmíněných konstant stability některých komplexů EDTA s kationty na pH (hodnoty $\log \beta'_{MY}$ viz [2]). Oblast, ve které je $\beta'_{MY} < 10^8$, je vyznačena šrafováním





Základy instrumentální analýzy („těžká přístrojová chemie“)

Voltametrie

Polarografie

Diferenční pulzní a cyklická voltametrie

Absorpční UV/VIS spektrofotometrie

Fluorescenční spektroskopie

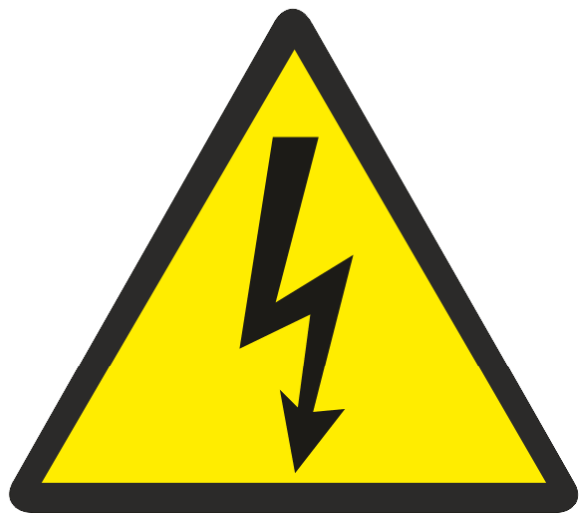
Atomová absorpční spektrometrie

ICP-MS

PIXE

EDAX





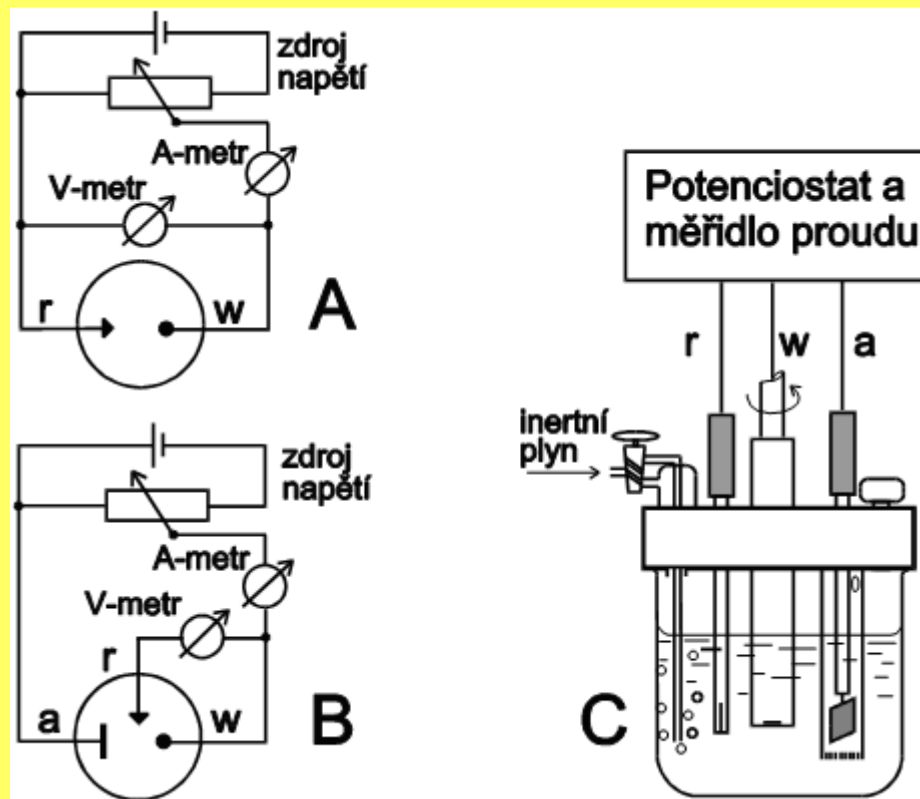
**POZOR
ELEKTRICKÉ
ZAŘÍZENÍ**



**NEHAS VODOU ANI
PĚNOVÝMI HASÍCÍMI
PŘÍSTROJI**

Elektrochemické analytické metody

- Založeny na měření některé z elektrických veličin (**napětí** na elektrodách, procházející elektrický **proud**, spotřebovaný **náboj**, **vodivost** roztoku, relativní permitivita)
- Měřená veličina musí být jednoznačně závislá na koncentraci stanovované látky
- Využívá se zde jevů spojených s reakcí přenosu náboje na fázovém rozhraní nebo jevů spojených s transportem nabitých částic v roztoku



Voltametrie (a polarografie) jsou elektroanalytické metody založené na vzniku elektrochemických článků tvořených pracovní polarizovatelnou elektrodou a referenční nepolarizovatelnou elektrodou. Měří se časová závislost proudu protékajícího pracovní elektrodou na potenciálu měnícím se s časem, který je na ni vkládán. Proud závisí na koncentraci analyzované látky.

Voltametrie: pracovní nádoby



Alessandro Volta
1745-1827



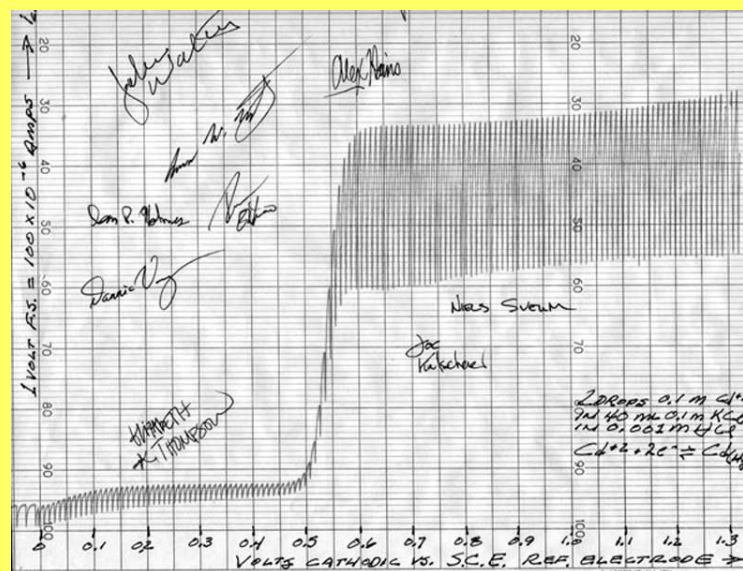
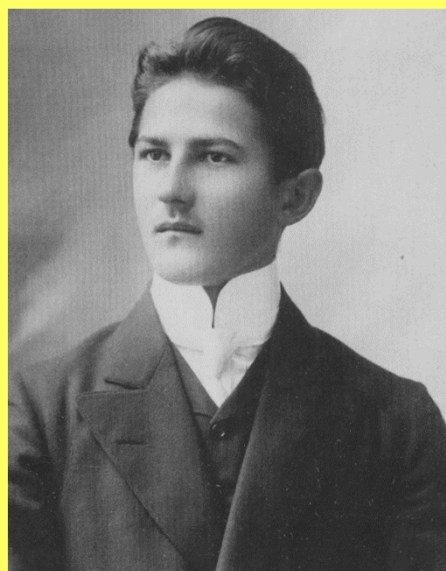
Přehled technik v letošním kurzu:

- a) polarografie b) diferenční pulzní voltametrie c) cyklická voltametrie

A) Polarografie

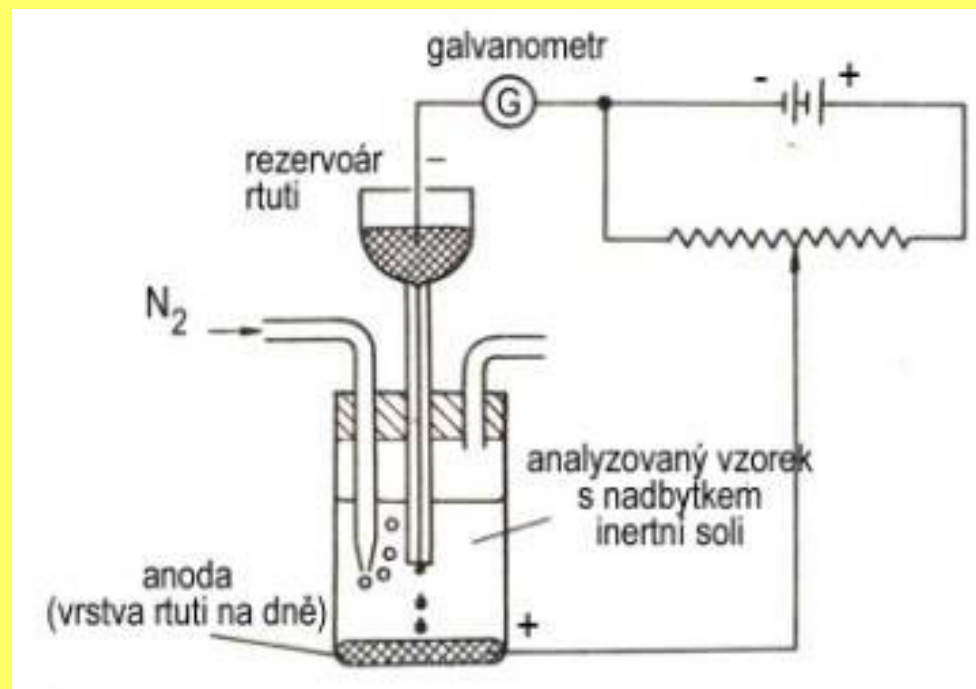
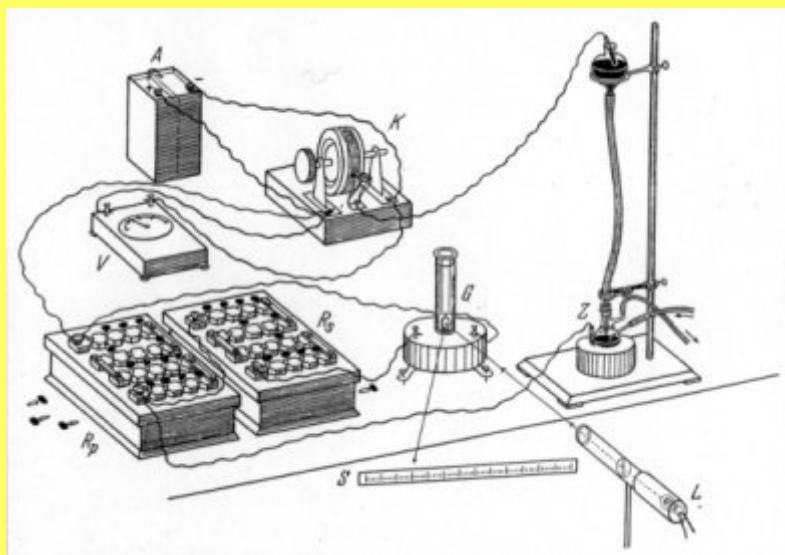
Polarografie (voltametrie) : základ nejvýznamnějších současných elektrochemických technik

Slouží k určování přítomnosti a koncentrace neznámých látek v roztoku. **Princip spočívá** ve vyhodnocování závislosti elektrického proudu na napětí na dvojici elektrod, které jsou ponořené do roztoku, v němž probíhá elektrolýza. Závislosti mají tvar vln, jejichž poloha charakterizuje jednotlivé druhy látek. Z velikosti nárůstu proudu lze určit koncentraci příslušné látky.

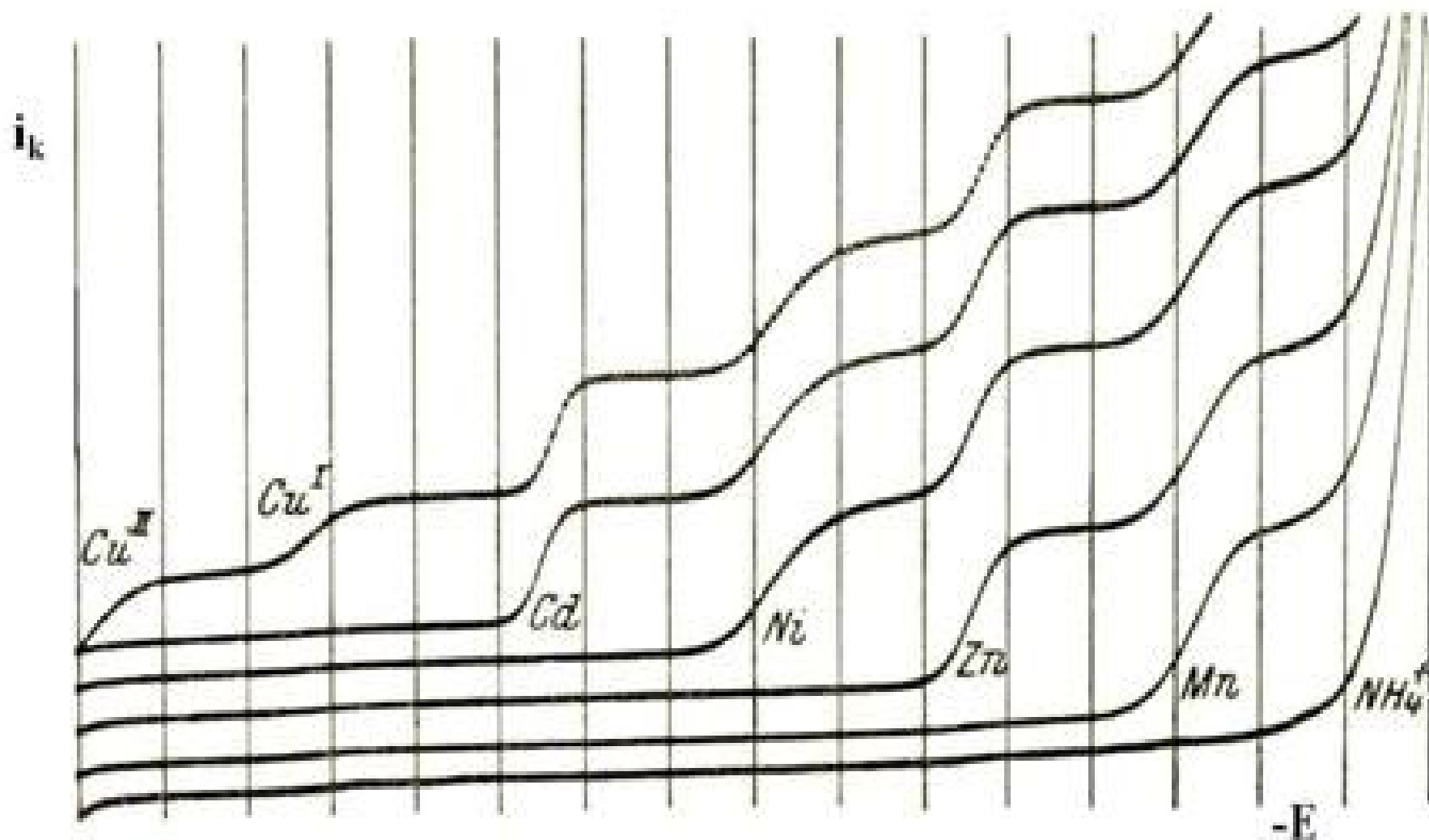


Před 100 lety, 10. února 1922, provedl Jaroslav Heyrovský (1890-1967) v laboratoři sérii experimentů a z naměřených výsledků pochopil, že se mu podařil průlomový objev. V roce 1959 za něj získal Nobelovu cenu, nově objevená polarografie byla po řadu let jednou z nejpoužívanějších analytických metod na světě.

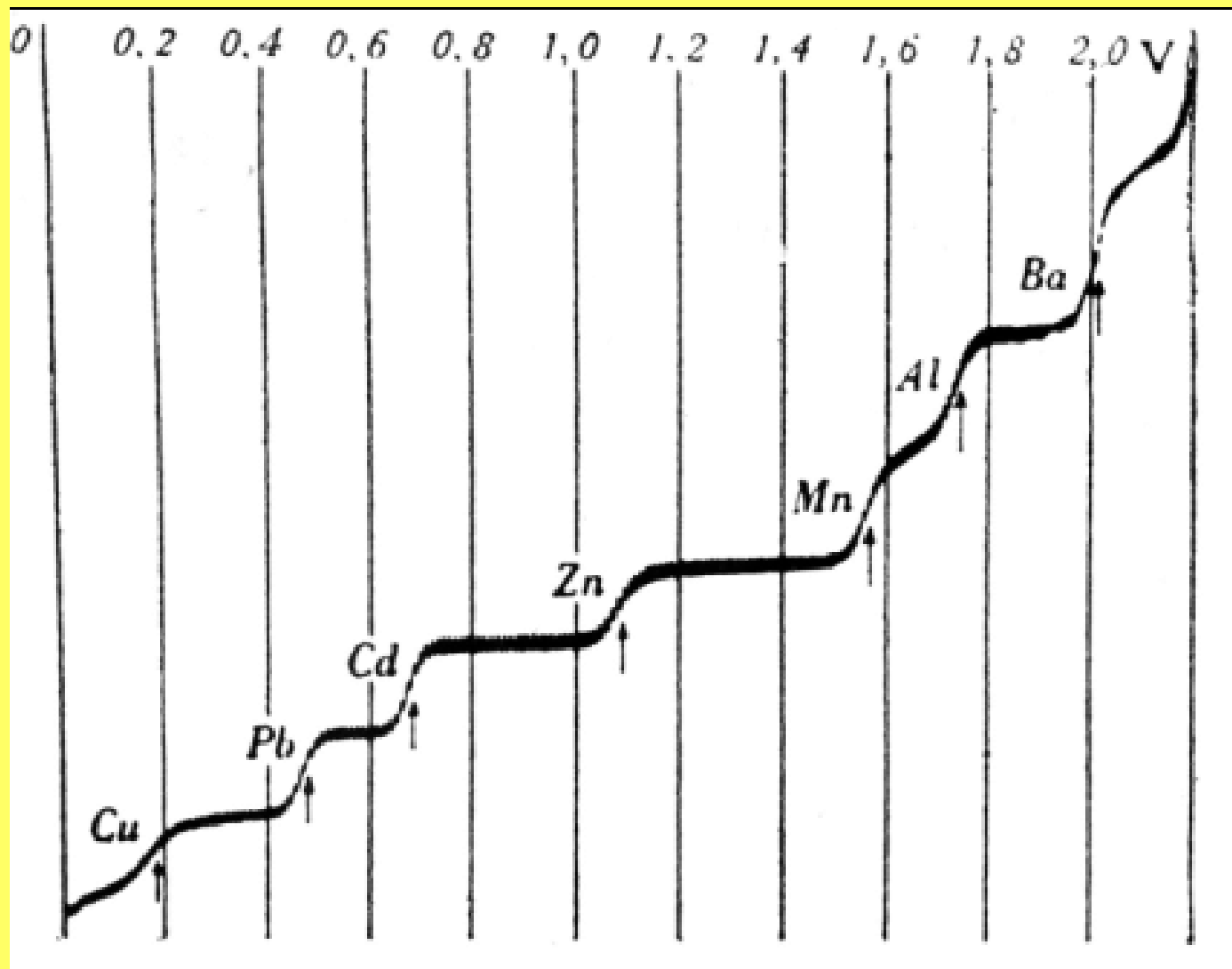
Klasická polarografie: voltametrie se rtuťovou elektrodou



1959: Nobelova cena pro J. Heyrovského



Příklady polarografických křivek některých depolarizátorů



Za svoj objav polarografie bol profesor Jaroslav Heyrovský ocenený Nobelovou cenou za chémiu v roku 1959. Jeho žiak Dionýz Ilkovič sa považuje za zakladateľa fyziky na Slovensku.

Ilkovičova rovnice pro střední limitní difúzní proud

- Ilkovič vycházel z odvození výrazu pro koncentrační gradient při lineární difúzi ke rtuťové kapkové elektrodě
- Ilkovičova rovnice pro okamžitou hodnotu difúzního proudu má tvar:

$$I = k' \cdot z \cdot F \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6} \cdot (c - c^0)$$

I ... okamžitá hodnota difúzního proudu

k' ... numerická konstanta

z ... počet vyměňovaných elektronů

F ... Faradayova konstanta

D ... difúzní koeficient

m ... hmotnostní průtok rtuti

t ... čas

c ... koncentrace depolarizátoru v roztoku

c⁰ ... koncentrace depolarizátoru na povrchu elektrody

Voltametrie

- Voltametrie je založena na měření polarizačních křivek
- Při voltametrické analýze se používají rozličné pracovní elektrody z různých materiálů (obvykle se jedná o elektrody **platinové, zlaté, uhlíkové** i **rtuťové**) **rtuťová odkapávající elektroda = polarografie**
- Velmi časté je použití **rotujících diskových elektrod**
- Depolarizátor se dostává k povrchu rotující diskové elektrody **konvektivně-difúzním transportem**
- Konvekcí se dostává depolarizátor do blízkosti povrchu elektrody, kde se utváří tenká difúzní vrstva
- Pro konvektivně-difúzní limitní proud platí ***Levičova rovnice*** ve tvaru:

$$I_l = \pm k'.z.F.p.r^2.D^{2/3}.n^{-1/6}.w^{1/2}.c = k.c$$

I_l ... konvektivně-difúzní limitní proud

k' ... numerická konstanta

z ... počet vyměňovaných elektronů

F ... Faradayova konstanta

r ... poloměr diskové elektrody

D ... difúzní koeficient

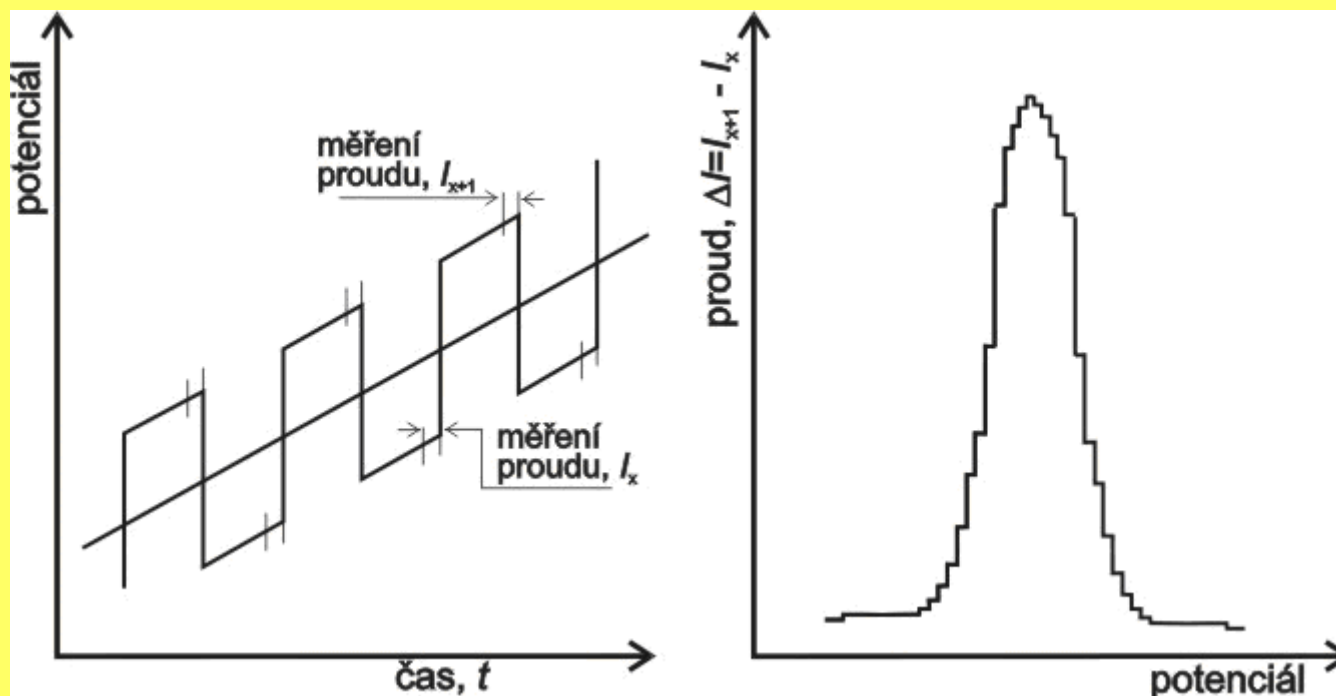
n ... kinematická viskozita roztoku

w ... úhlová rychlost otáčení elektrody

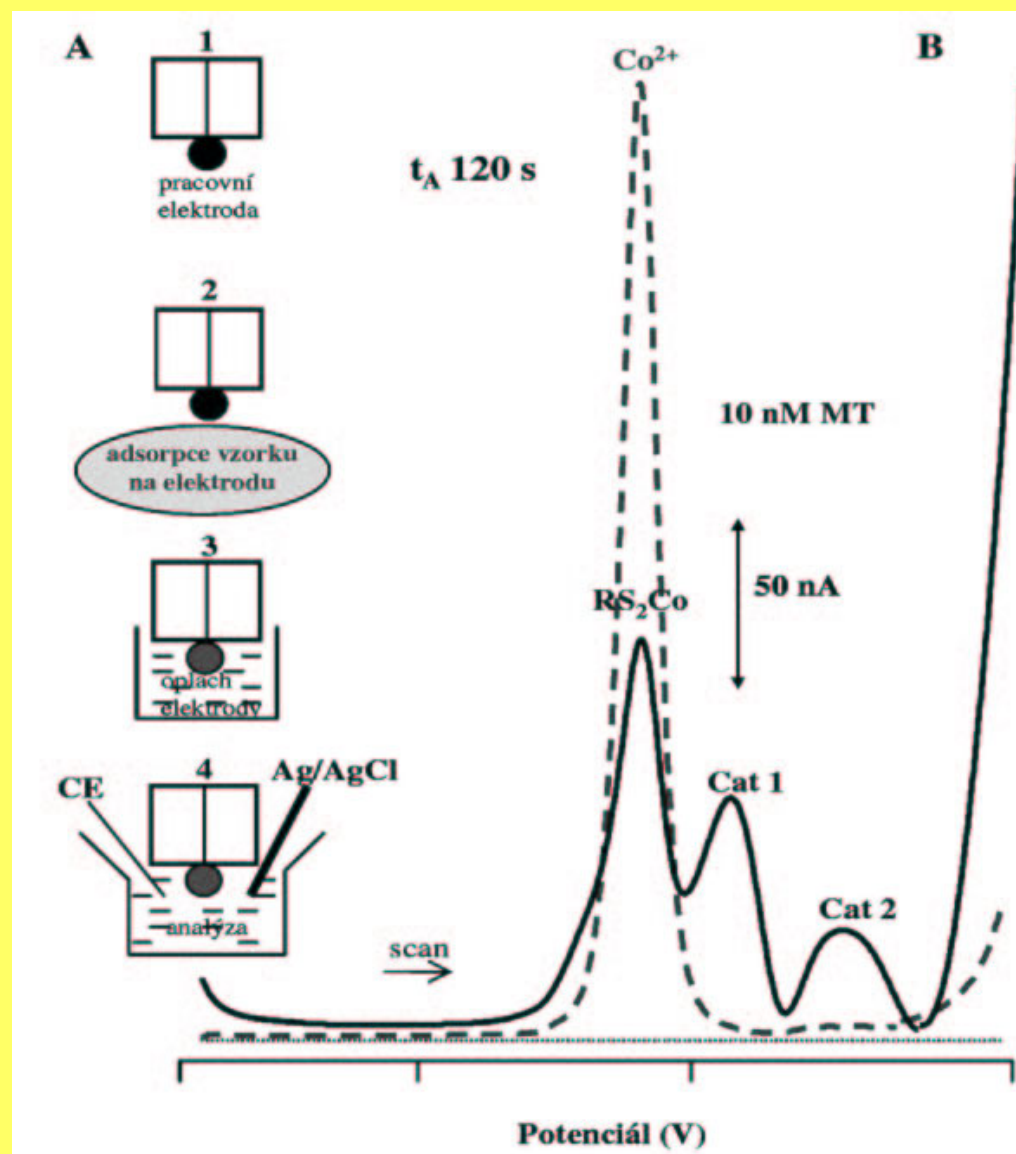
c ... koncentrace depolarizátoru

k ... numerická konstanta

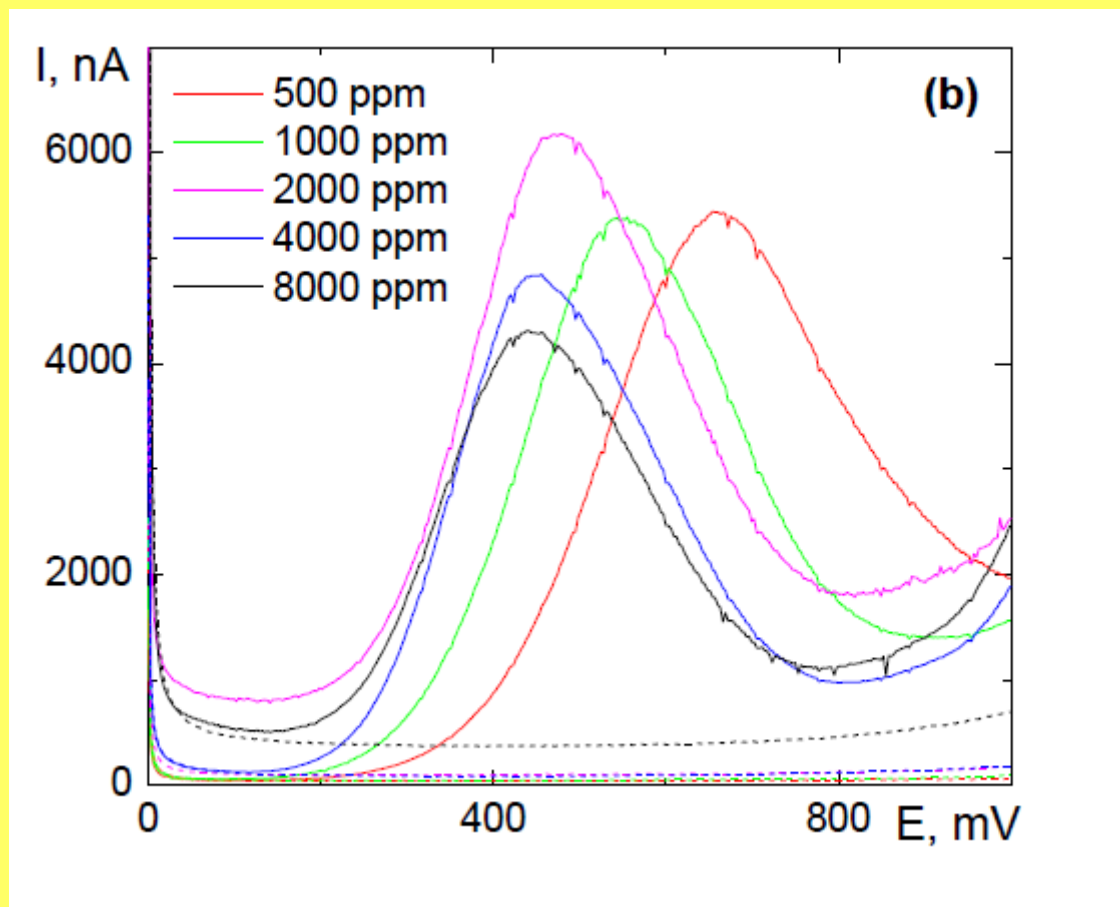
B) Diferenční pulzní voltametrie



Difer. pulsní voltametrie – průběh potenciálu vkládaného na pracovní elektrodu (vlevo) a závislost proudu na potenciálu (vpravo).



Příklad: DPP stanovení metallothioneinu v séru onkologických pacientů

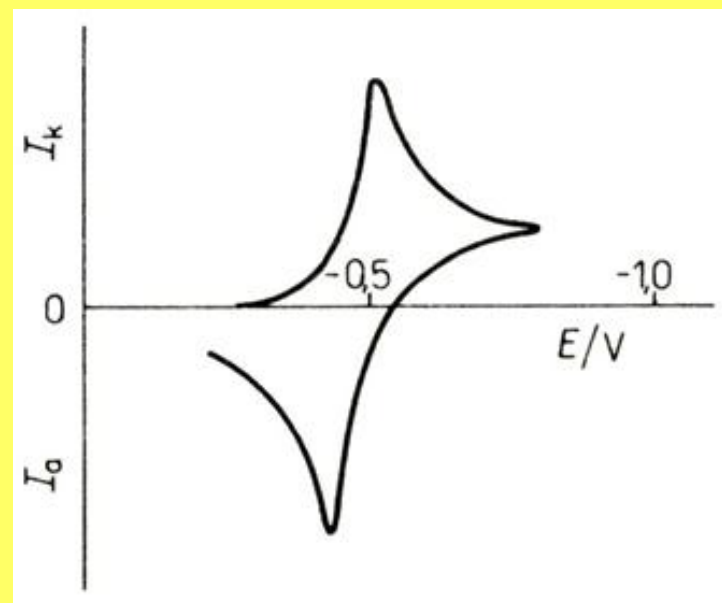
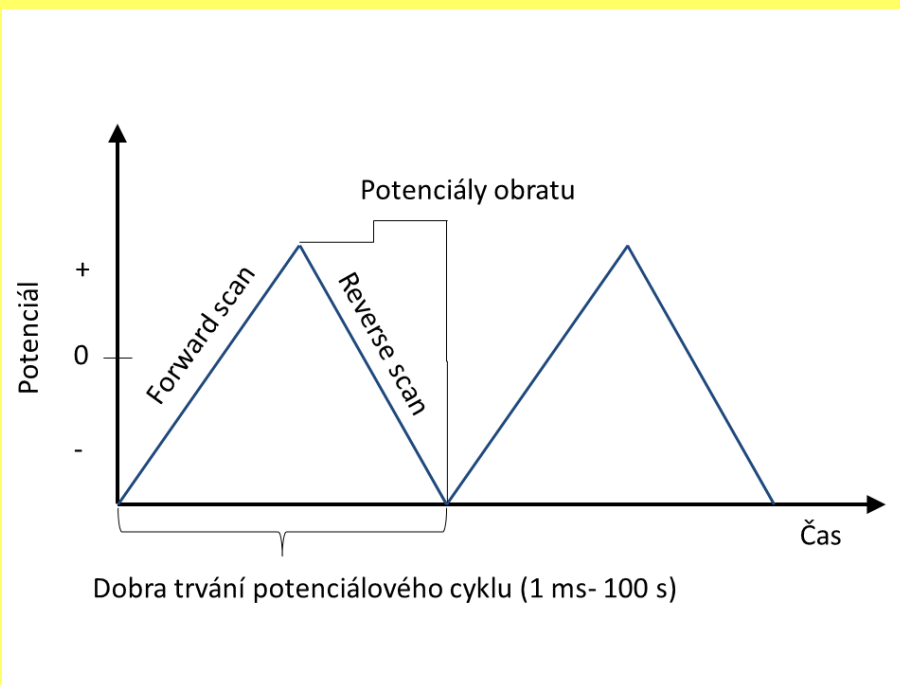


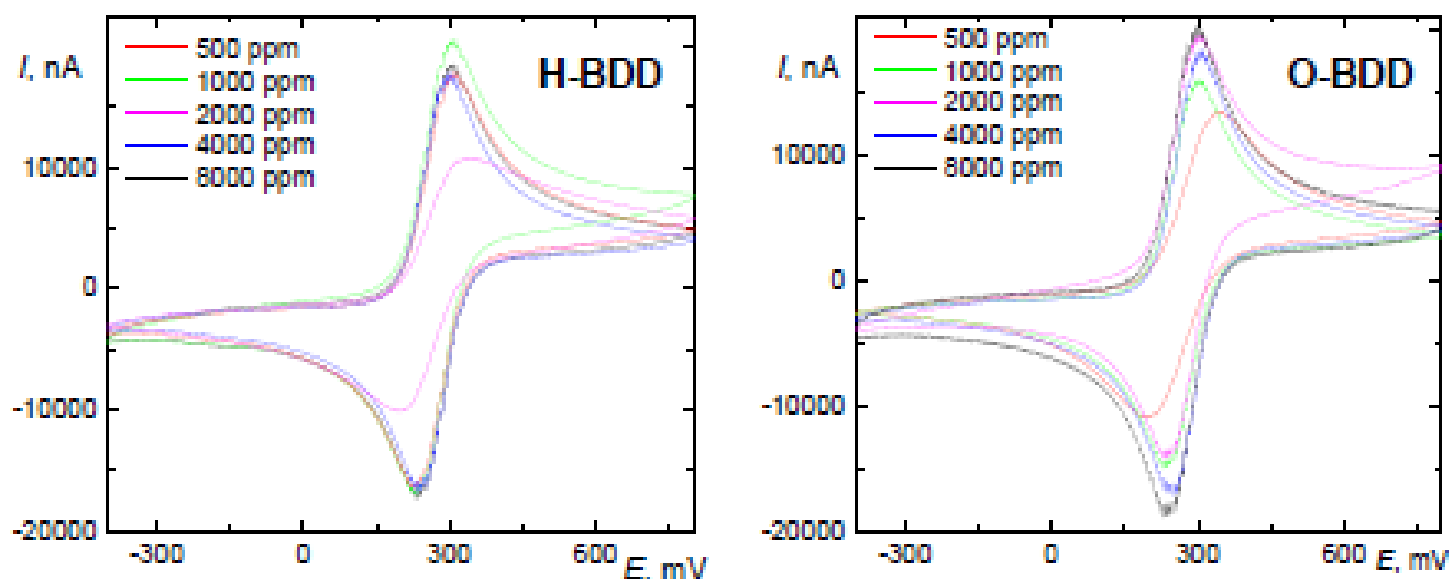
Obr. 12: Voltamogramy dopaminu ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) v prostředí fosfátového pufru o pH 7,4 naměřené po anodické aktivaci ($0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ H}_2\text{SO}_4$, $E_{\text{akt}} = +2400 \text{ mV}$, $t = 20 \text{ min}$) na O-BDD elektrodách s různou koncentrací bóru B/C (ppm): 500, 1000, 2000, 4000, 8000. Měřeno DPV, rychlost scanu $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, zobrazen vždy první scan z pěti měřených, čárkovaně je znázorněna linie základního elektrolytu.

Z dipl. práce Michala Nedvěda (PřF UK, 2018)

C) Cyklická voltametrie

Měření probíhá tak, že napětí na pracovní elektrodě vůči referenční elektrodě je cyklicky lineárně navyšováno a snižováno. Rychlost polarizace se typicky pohybuje od 10 do 200 mV/s. Cyklické změny napětí vyvolávají změny proudu, které jsou zaznamenávány a vynášeny v podobě závislosti napětí na proudu.



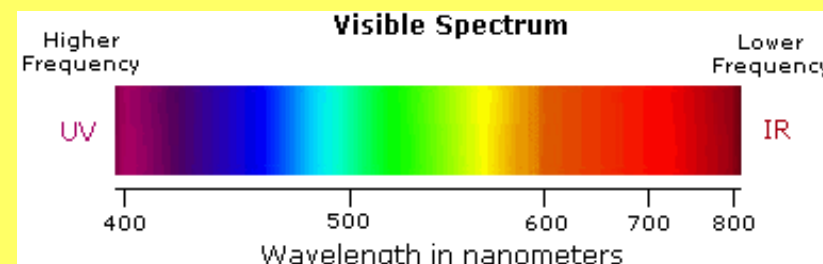
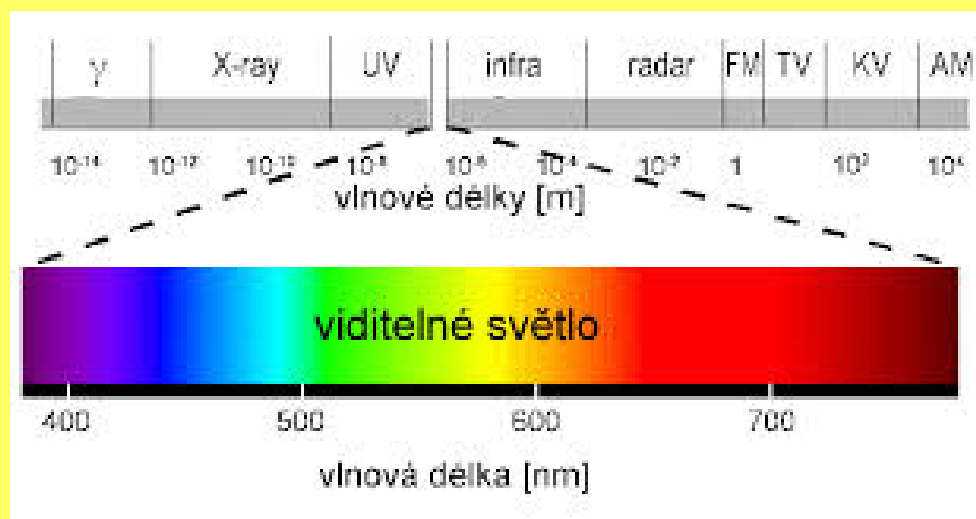


Obr. 4: Cyklické voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) v prostředí $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ KCl naměřené na BDD elektrodách s různou koncentrací bóru B/C (ppm): 500, 1000, 2000, 4000, 8000: (a) před anodickou aktivací (H-BDD), (b) po anodické aktivaci ($0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ H_2SO_4 , $E_{\text{akt}} = +2400 \text{ mV}$, $t = 20 \text{ min}$; O-BDD). Rychlost scanu $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$. Zobrazen je vždy třetí scan z pěti měřených.

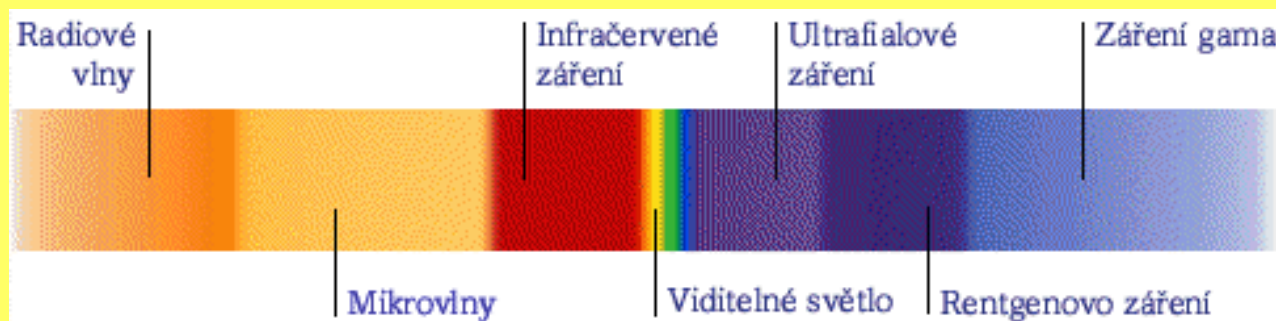
Příklad CV měření. Z dipl. práce Michala Nedvěda (PřF UK, 2018)

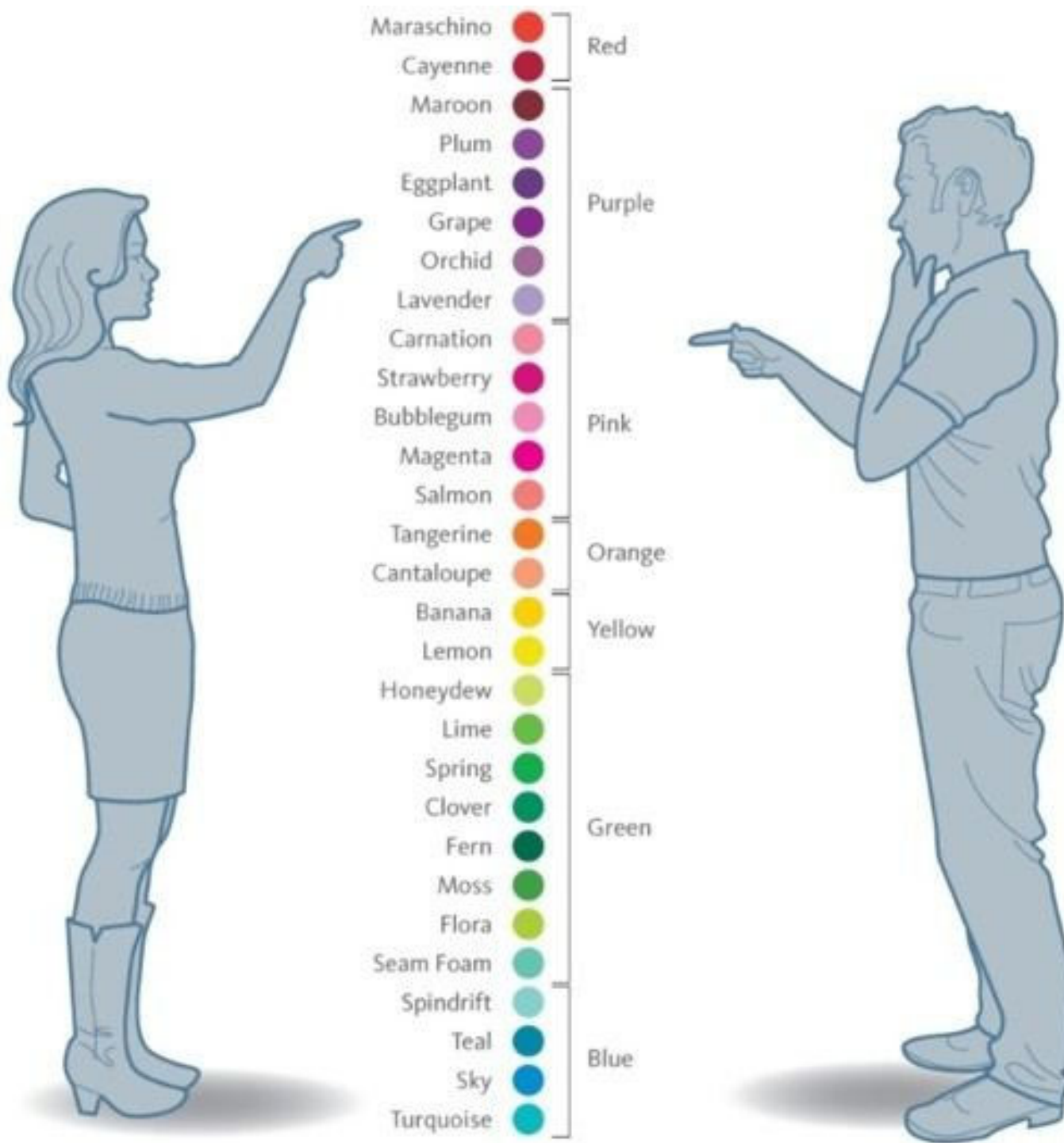
Spektrofotometrické metody: absorpce záření

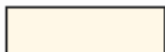
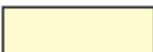
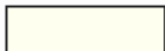
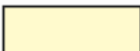
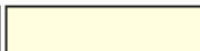
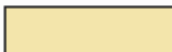
Při anorganické analýze se velmi často používají metody, založené na absorpci záření různých vlnových délek.



200 – 400 nm UV oblast
400 – 800 nm viditelná (VIS)





V • T • E										Shades of yellow										[hide]
Amber	Apricot	Arylide yellow	Aureolin	Beige	Buff	Champagne	Chartreuse	Citron	Citrine											
																				
		Dark																Harvest		
Cosmic latte	Cream	goldenrod	Ecru	Flax	Gamboge	Gold	Gold (metallic)	Goldenrod	gold											
																				
				Lemon														Mikado		
Ivory	Jasmine	Jonquil	Khaki	chiffon	Lemon-lime	Light yellow	Lion	Maize	yellow											
																				
																		School bus		
Mindaro	Mustard	Naples yellow	Navajo white	Old gold	Papaya whip	Peach-yellow	Pear	Saffron	yellow											
																				
Selective yellow	Stil de grain yellow	Straw	Sunglow	Sunset	Vanilla	Wheat	Yellow													
																				
A typical sample is shown for each name; a range of color-variations is commonly associated with each color-name.																				

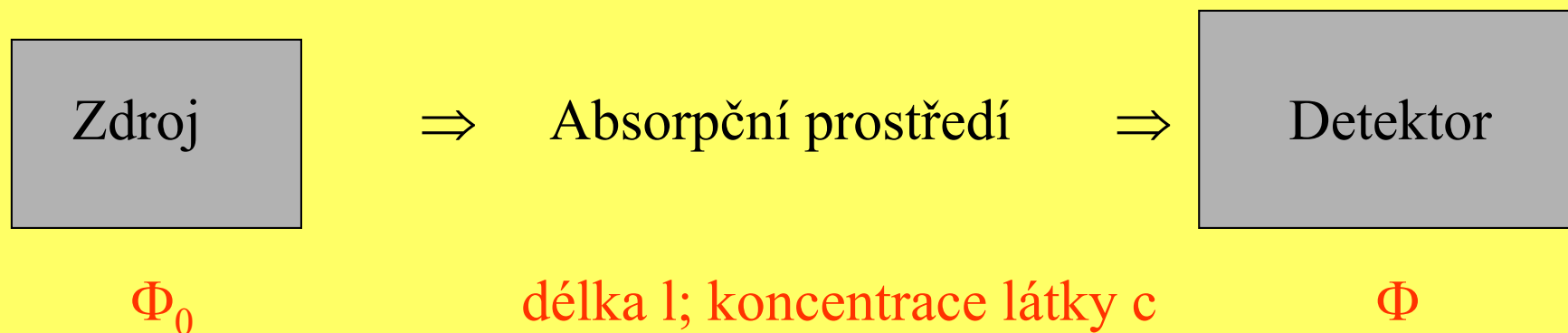
AUREOLIN – připomínám důkaz draslíku hexanitritokobaltitanem (vzniká Fischerova sůl) – viz Repetitorium II.

Potassium cobaltinitrite, also known as INDIAN YELLOW

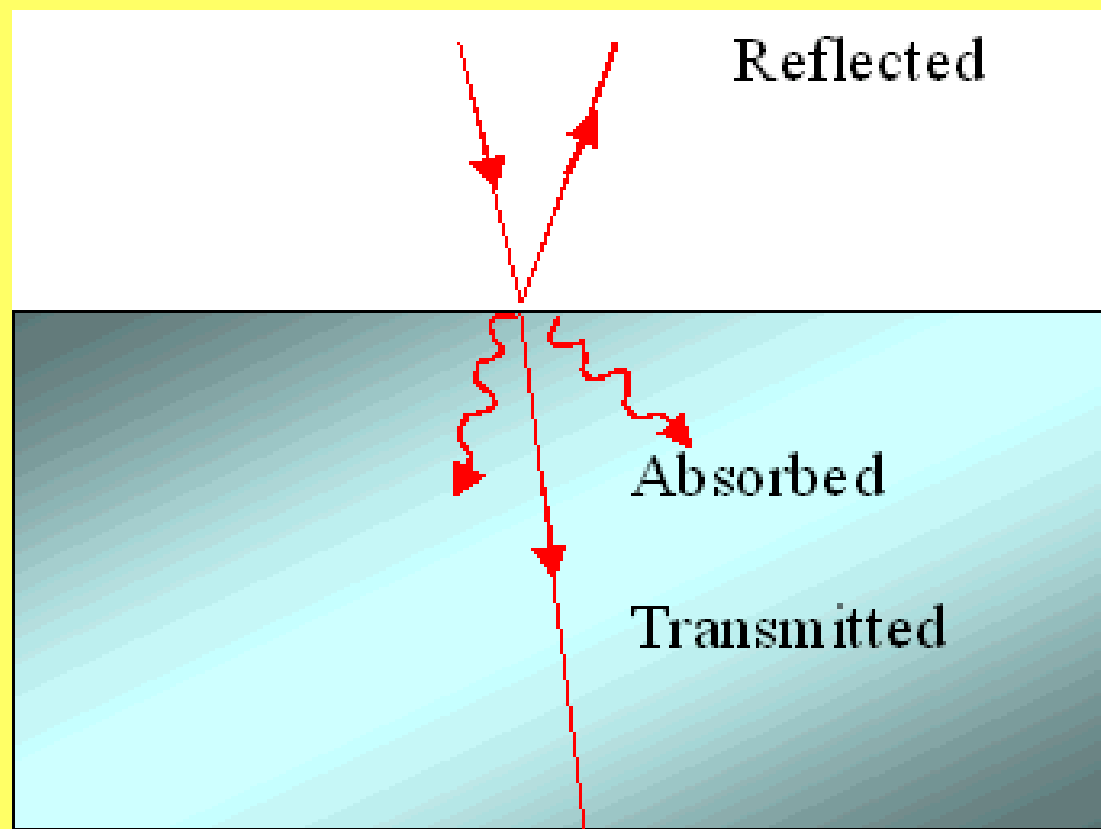
Instrumentální metody: absorpce záření

Úvod do absorpčních optických metod:

Obecný princip: světlo určité vlnové délky je pohlcováno analyzovanou látkou. Stupeň absorpce (pohlcení) je možno zjistit měřením toku záření Φ :

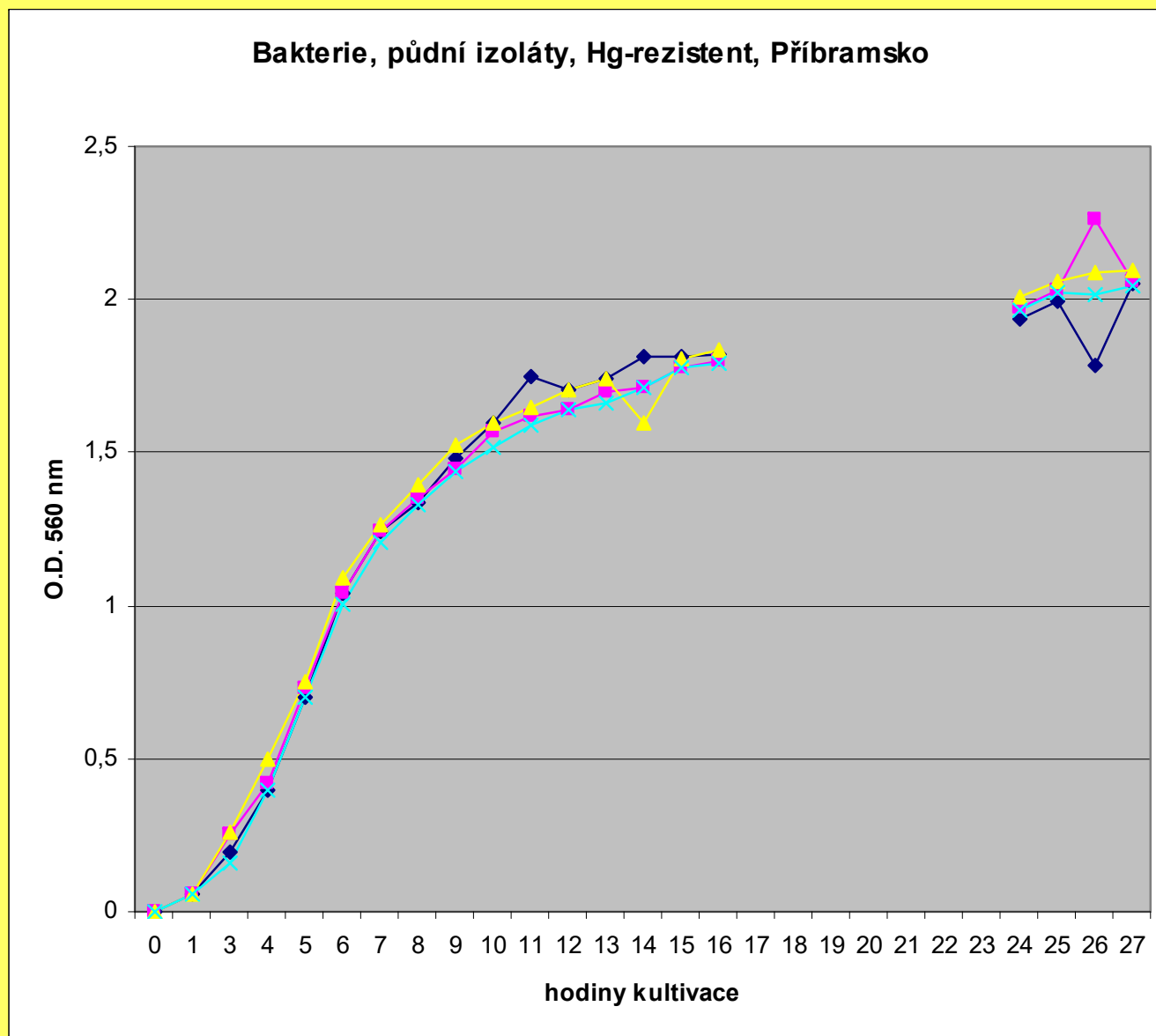


Instrumentální metody: absorpce záření

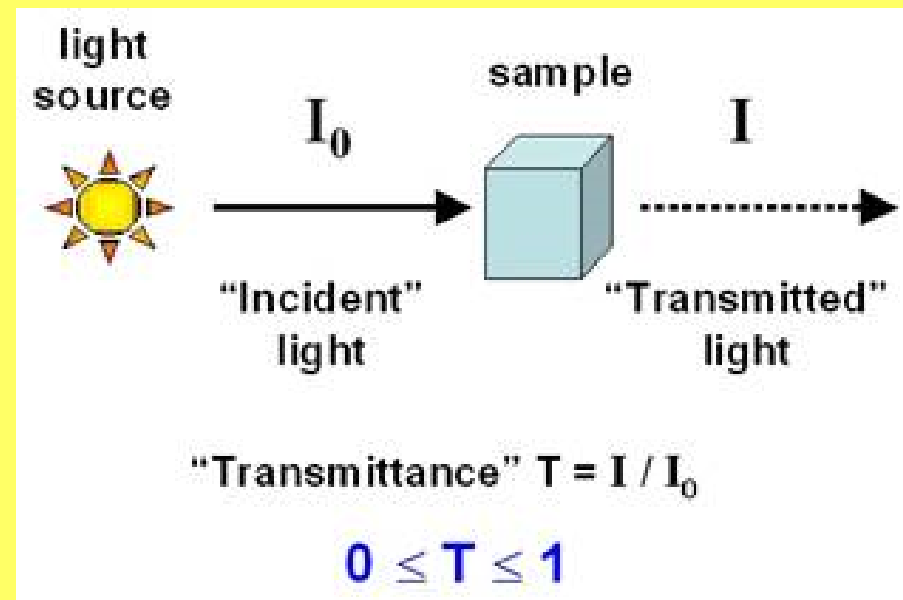
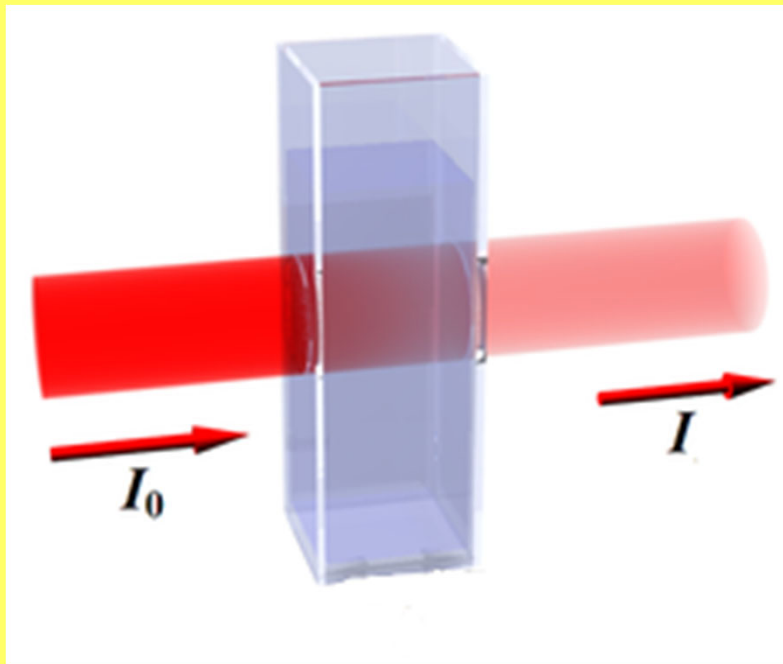


O.D. – optická densita: použití při stanovení „koncentrace“ bakterií/mikroorganismů

Optická densita (A_{560}) – charakteristika množství bakterií v roztoku



Instrumentální metody: Transmittance (T) ...a její záporný dekadický logaritmus



Instrumentální metody: absorpce záření

Poměr mezi Φ a Φ_0 je možné změřit. Veličina

$$\Phi/\Phi_0 = T$$

se nazývá „**transmittance**“. Pro praxi je významnější veličina

$$A = -\log T$$

zvaná „**absorbance**“. Transmittanci i absorbanci přímo měří přístroj.

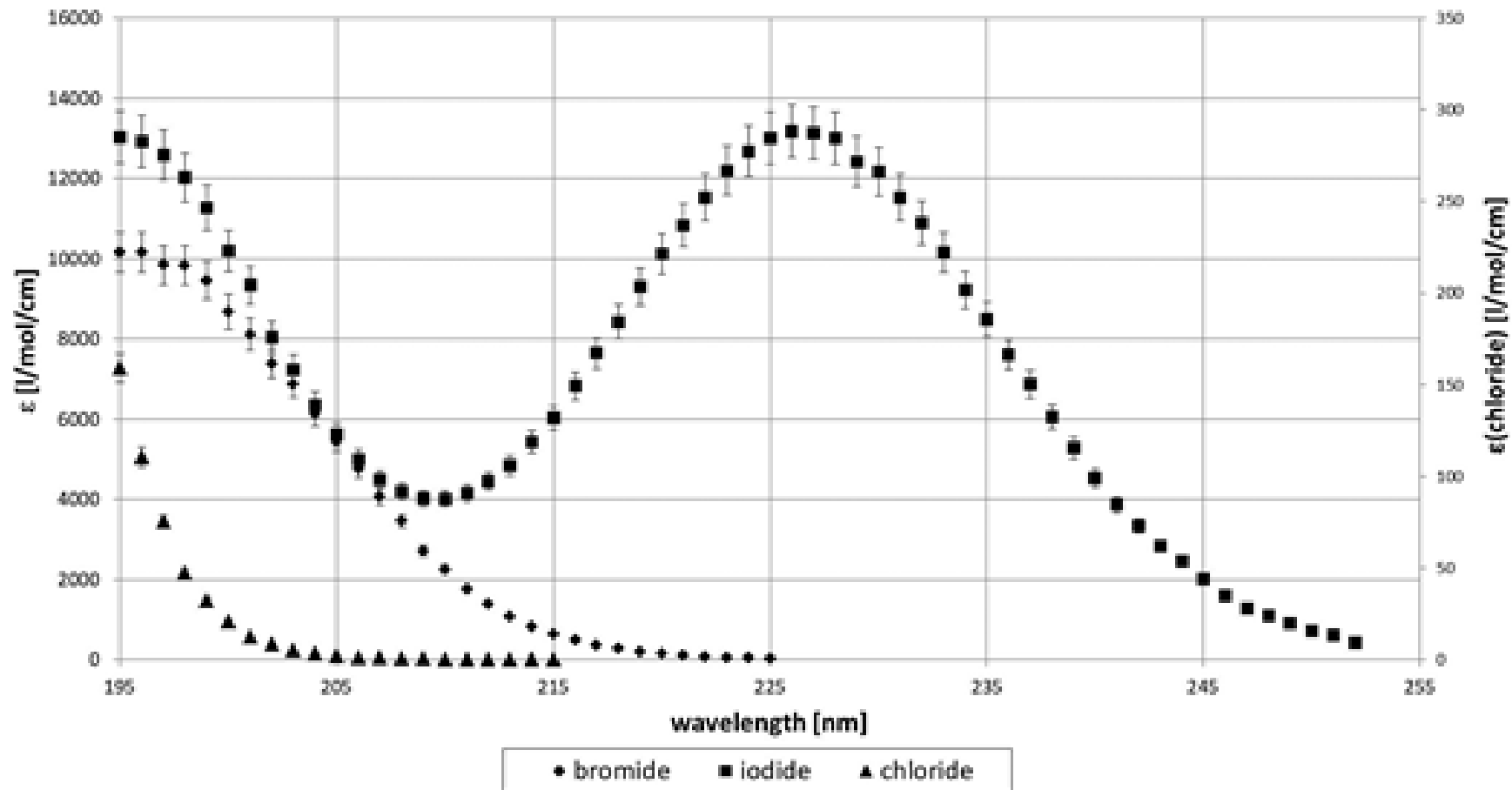
Instrumentální metody

Kvantitativní vztah mezi koncentrací pohlcující látky c a měřitelným světelným tokem Φ při vlnové délce λ vystihuje Lambert-Beerův zákon:

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l$$

kde c = koncentrace látky (v mol/l) a l = délka prostředí, tj. měrné kyvety v cm a ε_{λ} je tzv. lineární molární absorpční koeficient, závislý na vlnové délce λ .

... ϵ_λ je tzv. lineární molární absorpční koeficient, závislý na vlnové délce λ .
PŘÍKLADY- halogenidy



Birkman J. et al. (2018) UV spectroscopic properties of principal inorganic ionic species in natural waters. *Water Practice and Technology* (2018) 13 (4): 879–892. <https://doi.org/10.2166/wpt.2018.097>



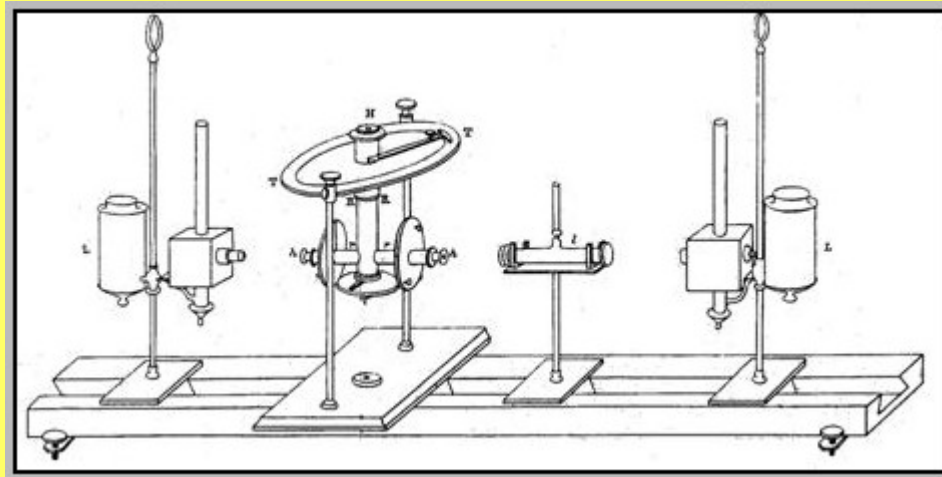
Johan Heinrich Lambert (1728 – 1777)
Photometria, 1760

I. H. LAMBERT
ACADEMIAE SCIENTIARVM ELECTO-
RALIS BOICAE, ET SOCIETATIS PHYSICO-ME-
DICAЕ BASILIENSIS MEMBRI, REGIAE SOCIETATI
SCIENTIARVM GOETINGENSI COMMERCIO
LITERARIO ADIVNCTI

PHOTOMETRIA
SIVE
DE
MENSURA ET GRADIBVS
LUMINIS,
COLORVM ET VMBRAE.

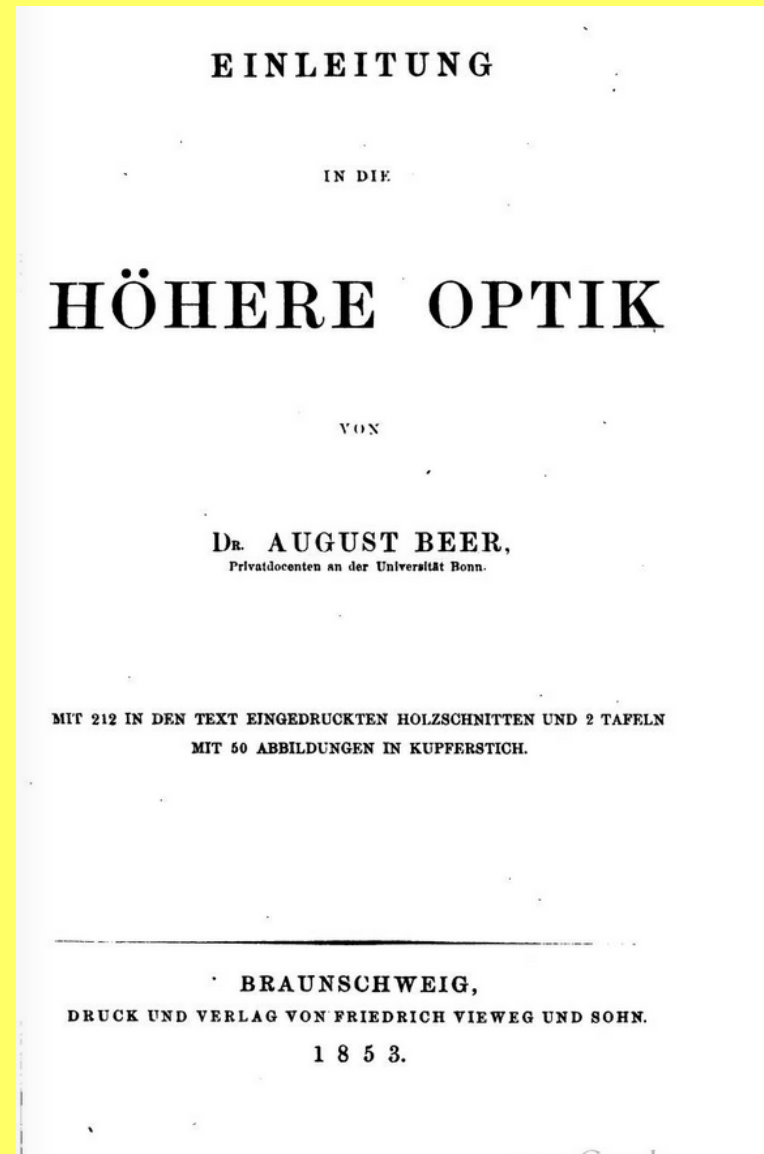


AUGUSTAE VINDELICORVM,
Sumptibus VIDVAE EBERHARDI KLETT
Typis CHRISTOPHORI PETRI DETLEFFSEN.
MDCCLX.



Fotometr navržený Beerem

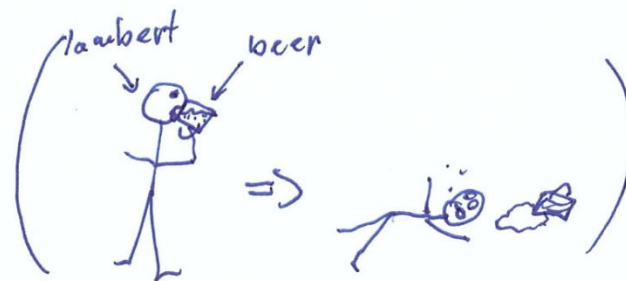
August Beer (1825 – 1863)
 Einleitung in die höhere Optik
 (1854)



16. ~~17.~~ Napište rovnici Lambert-Beerova zákona a vysvětlete význam jednotlivých symbolů.
(2 body)

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

A ... absorpance
 c ... koncentrace absorbující látky
 l ... délka absorbující vrstvy / optické / hrady
 ϵ ... molární absorpční koeficient



17. Kdo z česků získal Nobelovu cenu za chemii a za co? (2 body)

— pan Heyrovský
— za polygrafii

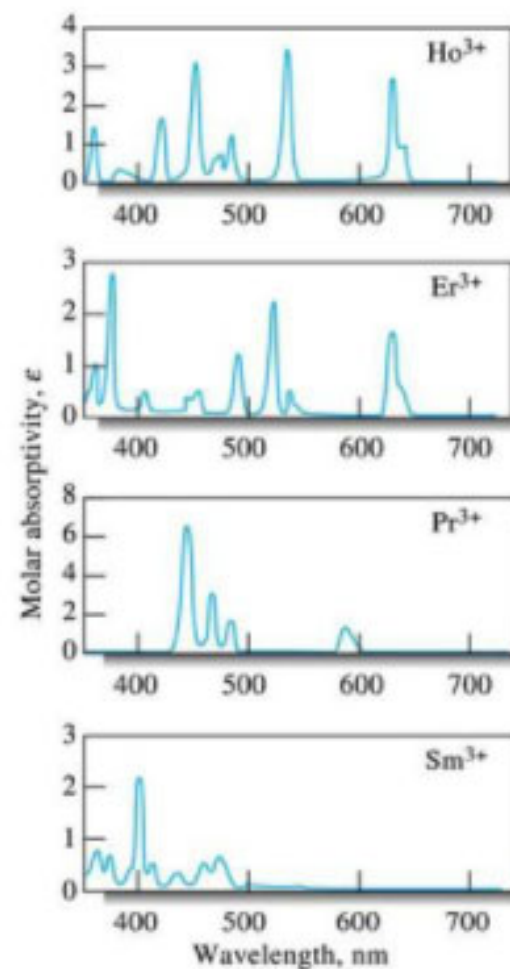
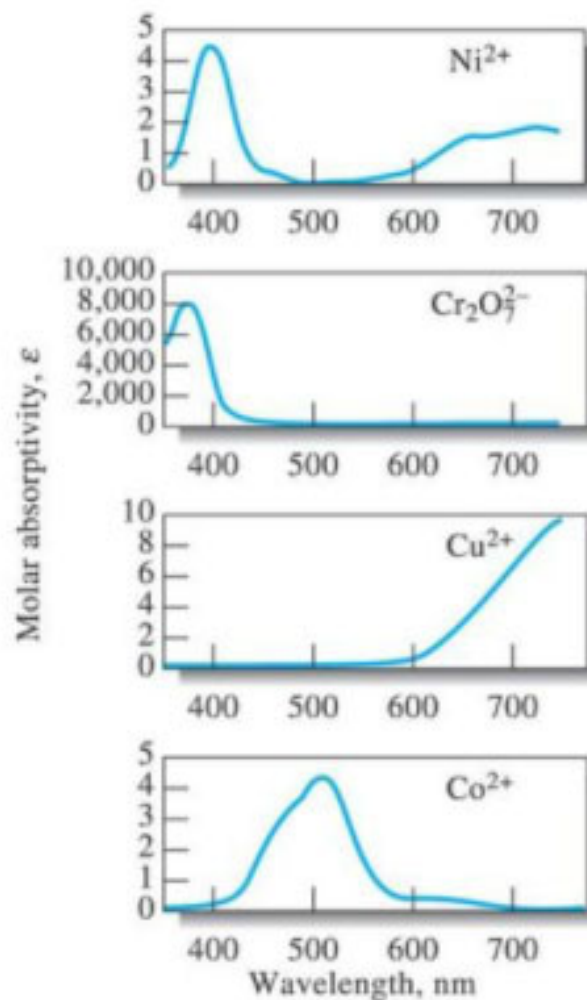
Instrumentální metody – UV/VIS spektrofotometrie

Absorpce UV/VIS záření je výsledkem interakce záření – molekula.

Nejběžnější jsou excitace $\pi - \pi^*$ přechody $\sigma - \sigma^*$ nejsou tak časté.

Inorganic Compounds

Inorganic compounds involve transition between d-orbitals. Crystal field theory explains the nature of the transition. Absorption spectra of ion of the lanthanide and actinide series differs substantially from transition metals.



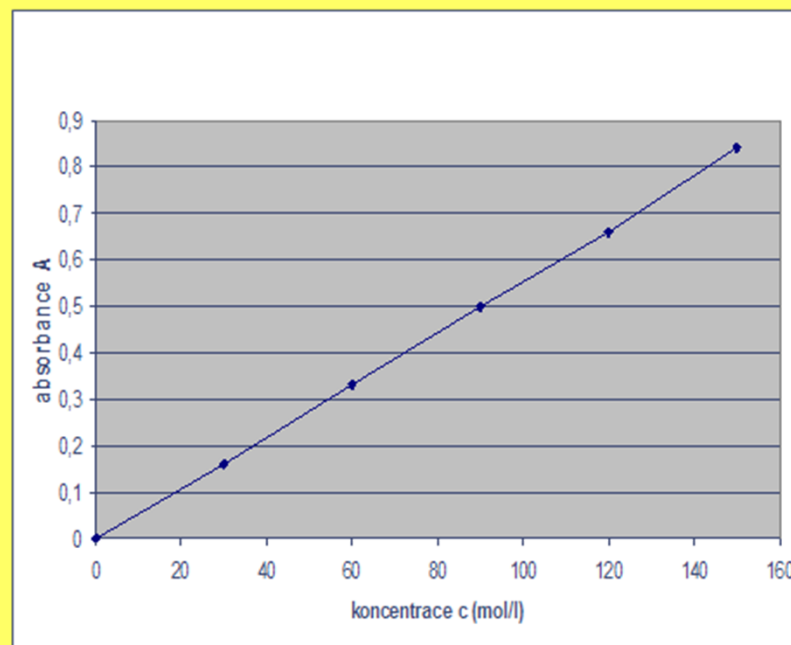
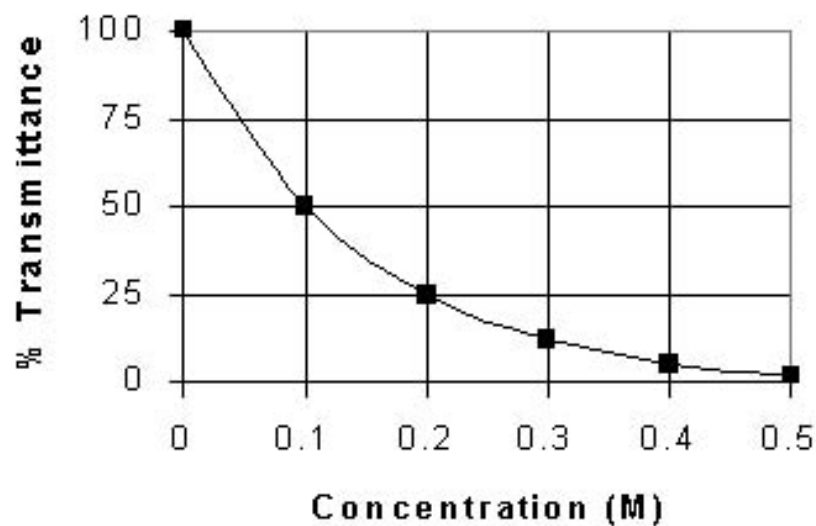
© 2004 Thomson - Brooks/Cole

© 2004 Thomson - Brooks/Cole

August 17

Instrumentální metody

Linearita Lambert-Beerova zákona (tj. **závislost A na c**) se musí vždy v daném rozsahu koncentrací experimentálně ověřit pomocí kalibrace standardním roztokem.



Instrumentální metody – UV/VIS spektrofotometrie

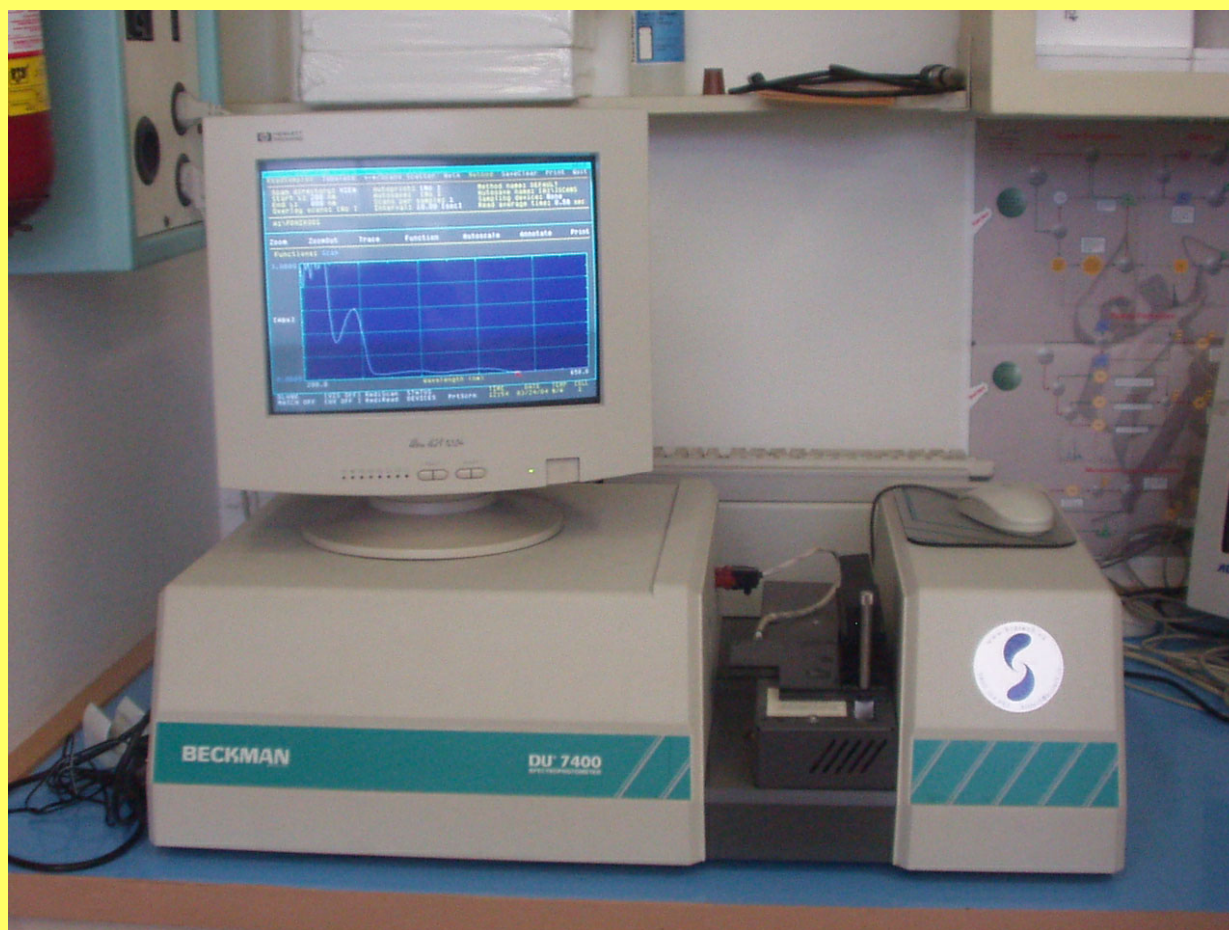
Spektrofotometrie v UV-VIS oblasti, tj v oblasti vlnových délek 190 – 400 nm (UV) a 400 – 800 nm (VIS).



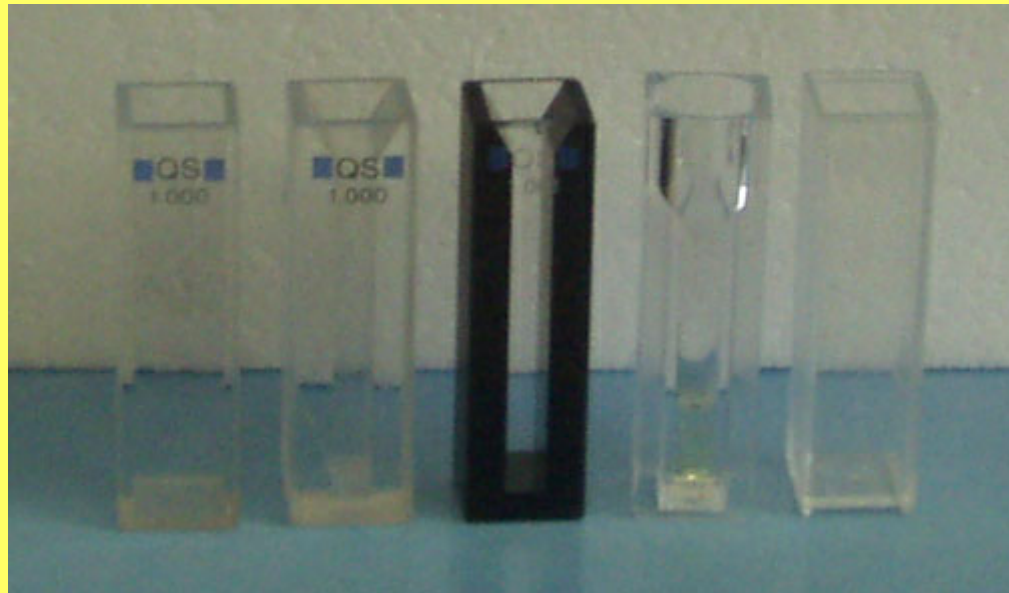
Instrumentální metody – UV/VIS spektrofotometrie



Instrumentální metody – UV/VIS spektrofotometrie



Instrumentální metody – UV/VIS spektrofotometrie



Kyvety – různý objem: 2 ml, 0,5 ml ...

Kyvety – různý materiál: plastik (jednorázové), sklo, křemenné sklo



Nanodrop: měření UV/VIS spekter
nebo absorbance v objemech
cca 1-2 μl

UV/VIS spektrum je závislost
Absorbance na vlnové délce;
je pro danou látku
vždy charakteristické



UV/VIS spektrum: zdroj informace o struktuře látky

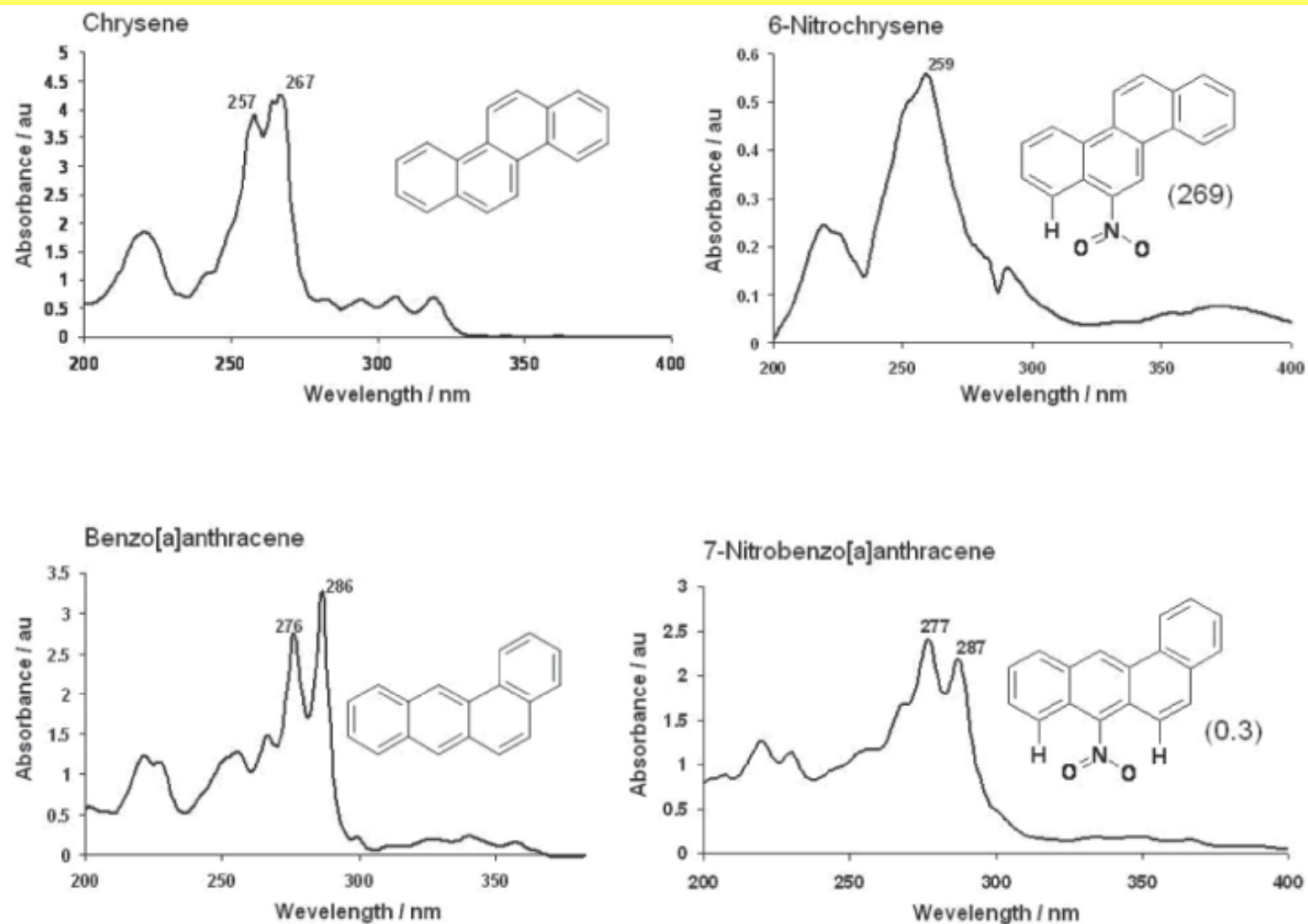
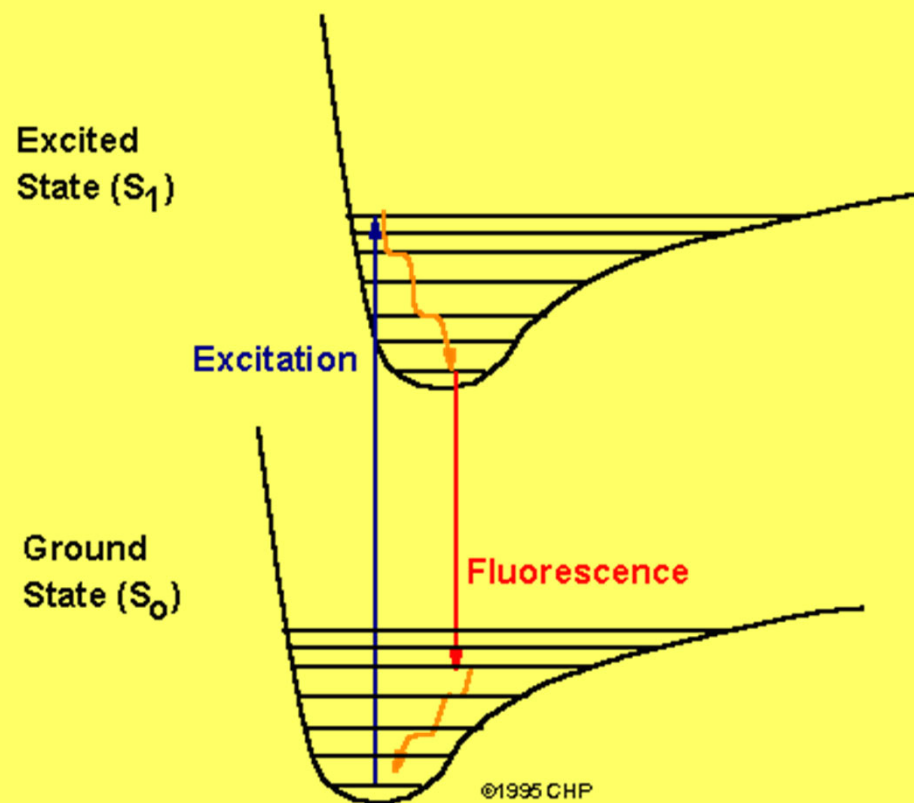
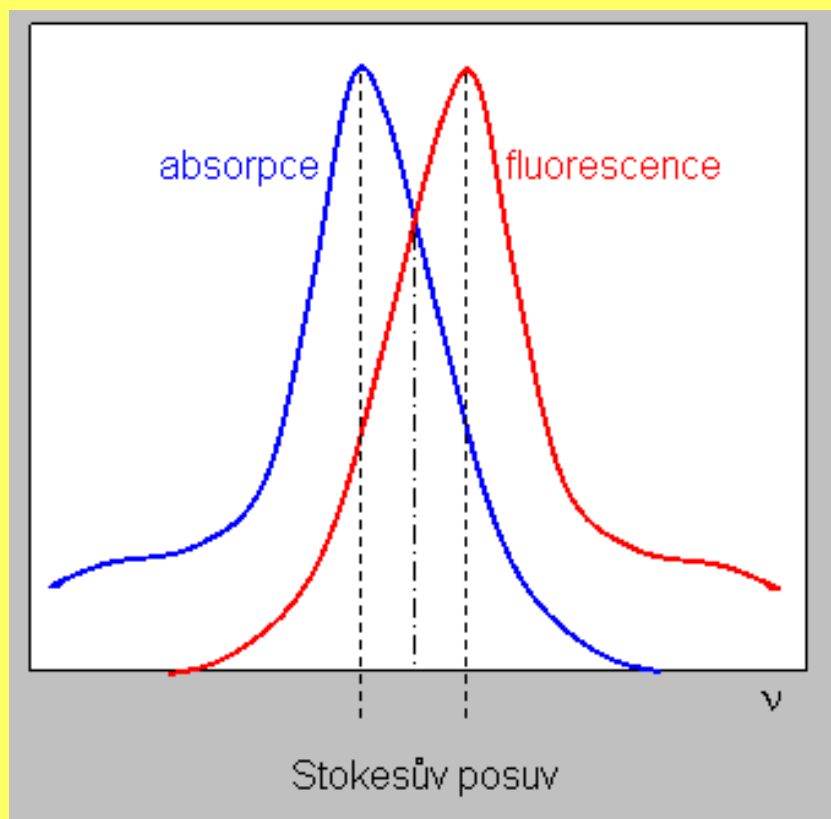


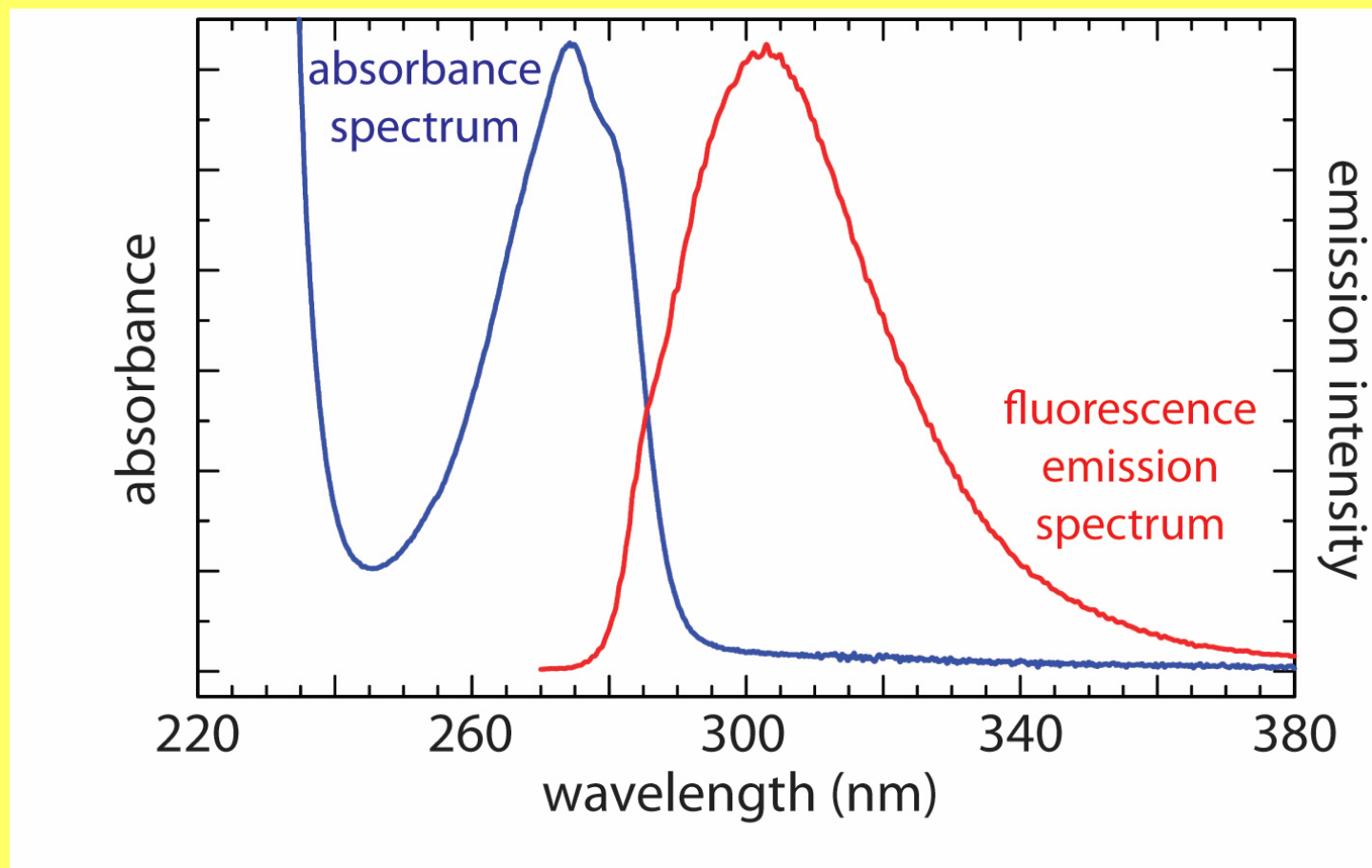
Figure 2. UV spectra of Chrysene, Benzo[a]anthracene, 6-Nitrochrysene and 7-Nitro-benzo[a]anthracene, and mutants per nmol (in parenthesis), from ref. 6, of 6-Nitrochrysene and 7-Nitro-benzo[a]anthracene.

Fluorescenční spektroskopie



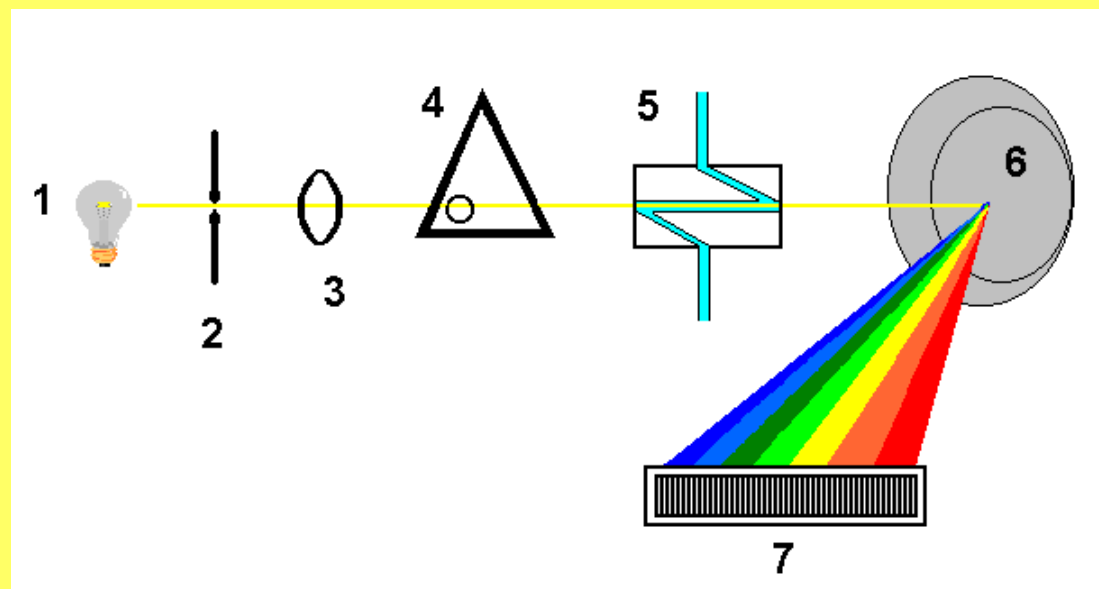
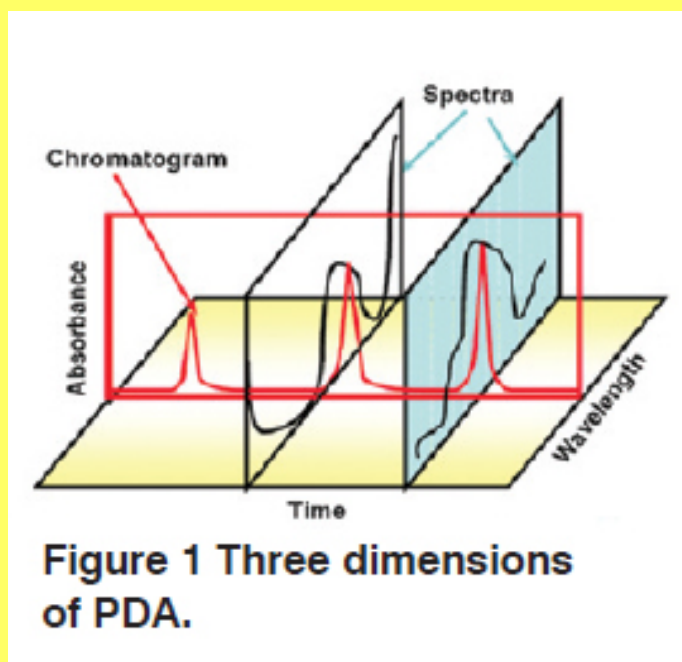
Citlivější metoda než UV/VIS spektrofotometrie, měří se signál po excitaci látky zářením (**kolmo na původní paprsek**)

Fluorescenční spektroskopie

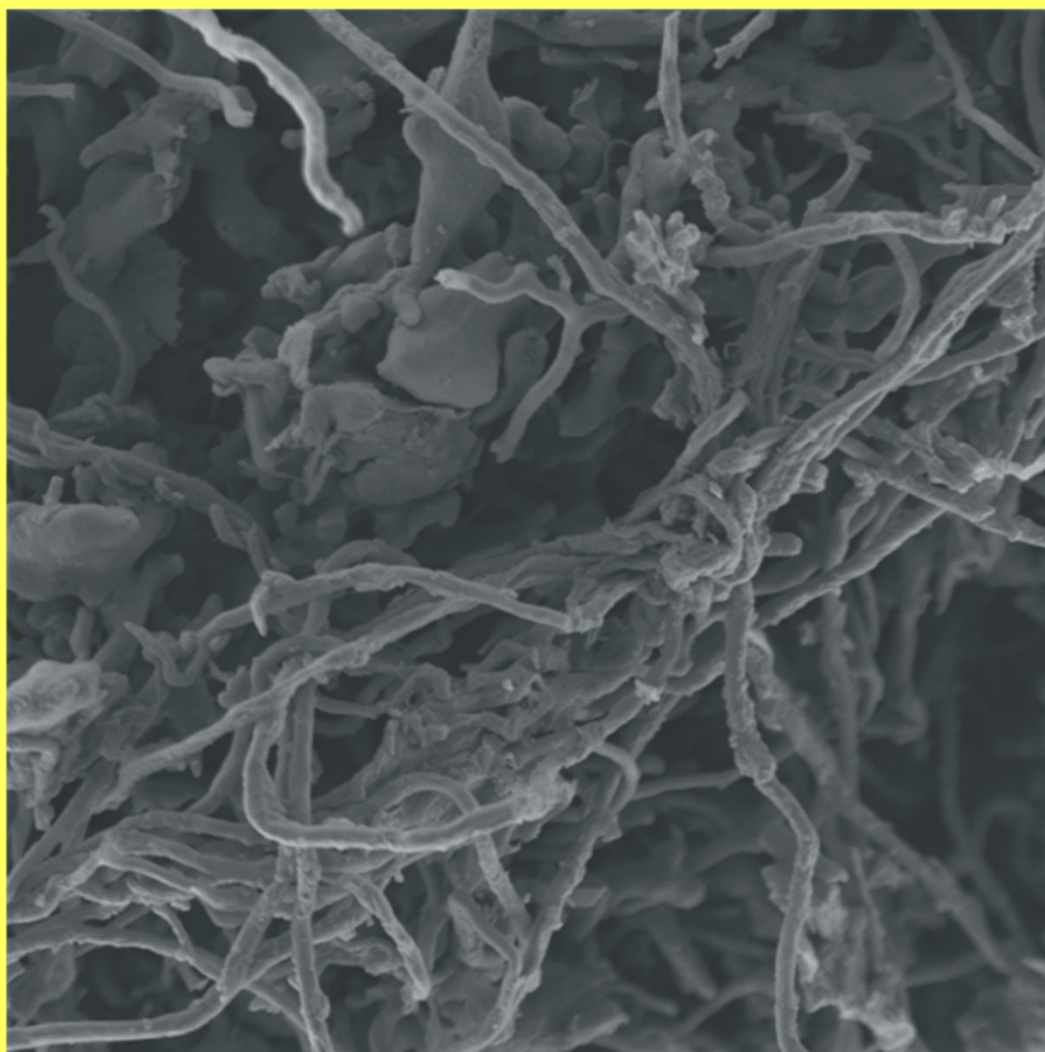


Citlivější metoda než UV/VIS spektrofotometrie, měří se signál po excitaci látky (kolmo na původní paprsek)

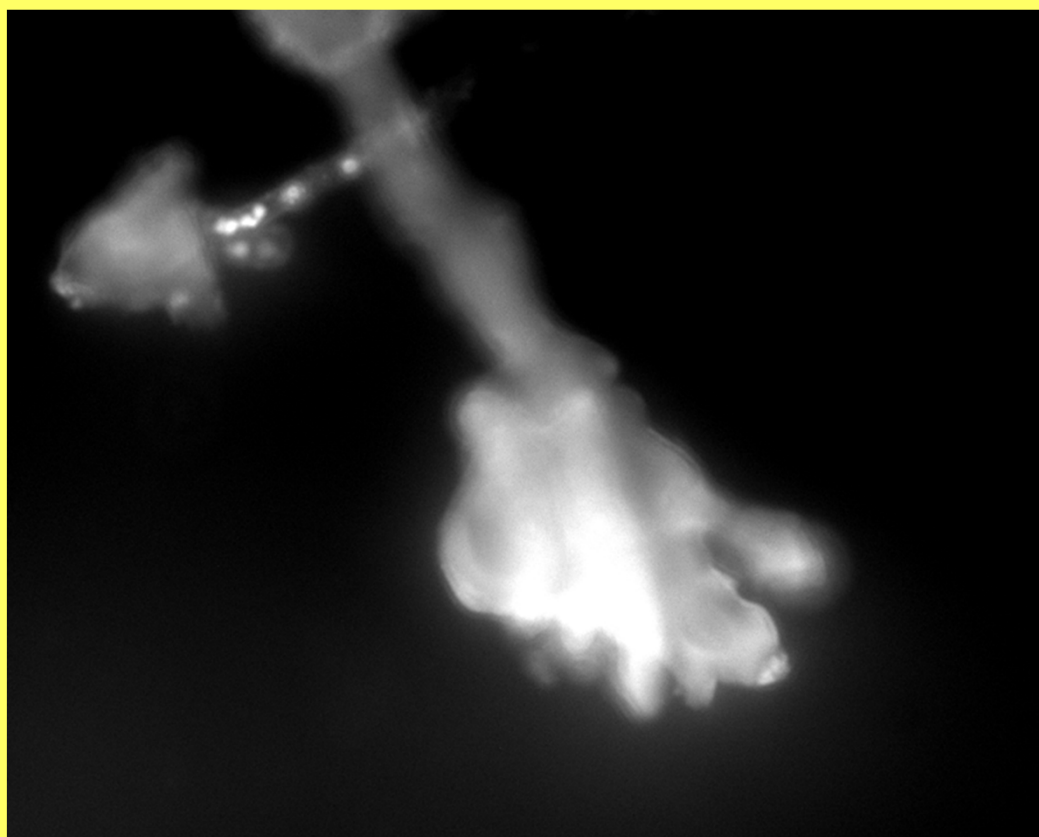
DAD a FLD jsou nejdůležitější detektory v HPLC

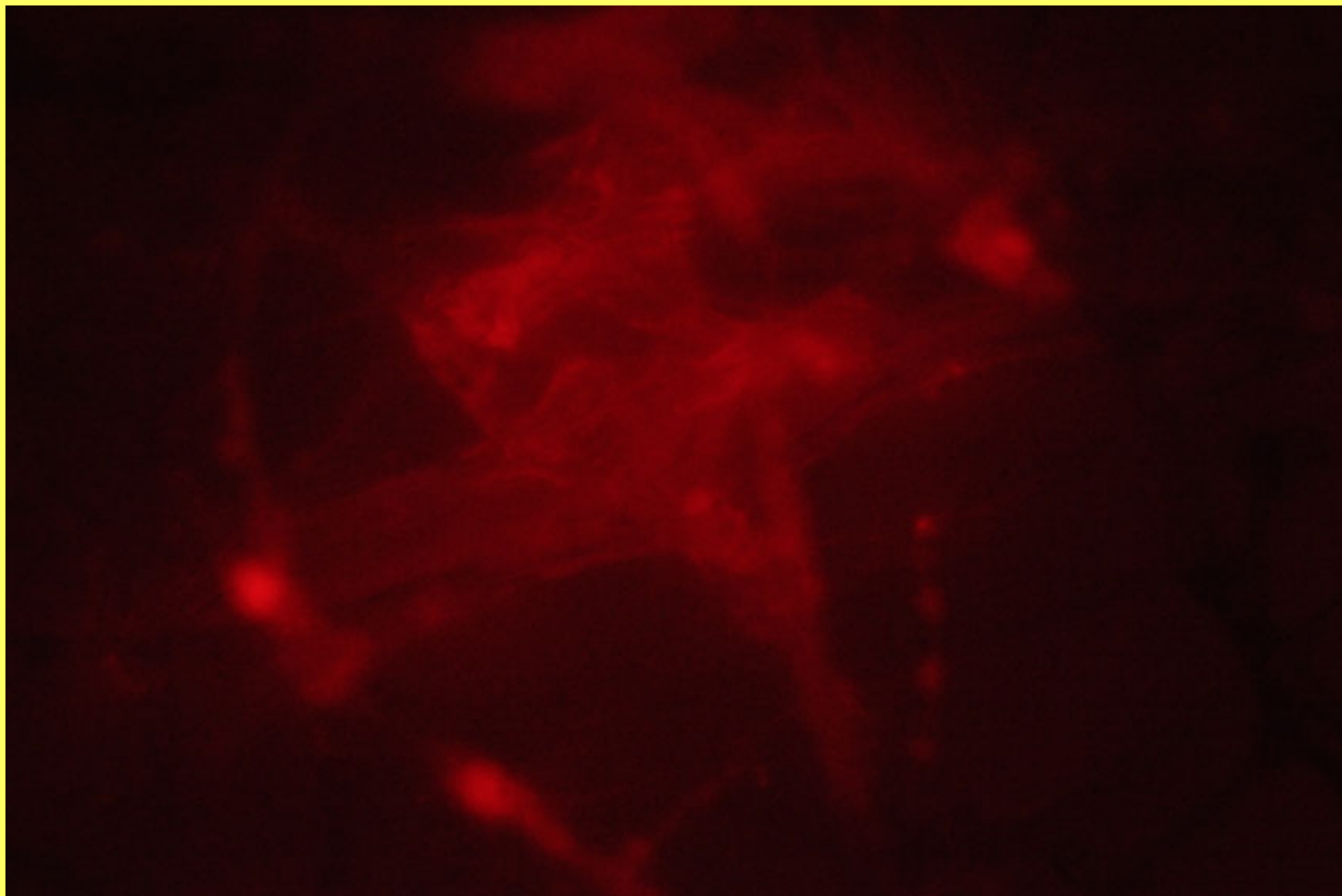


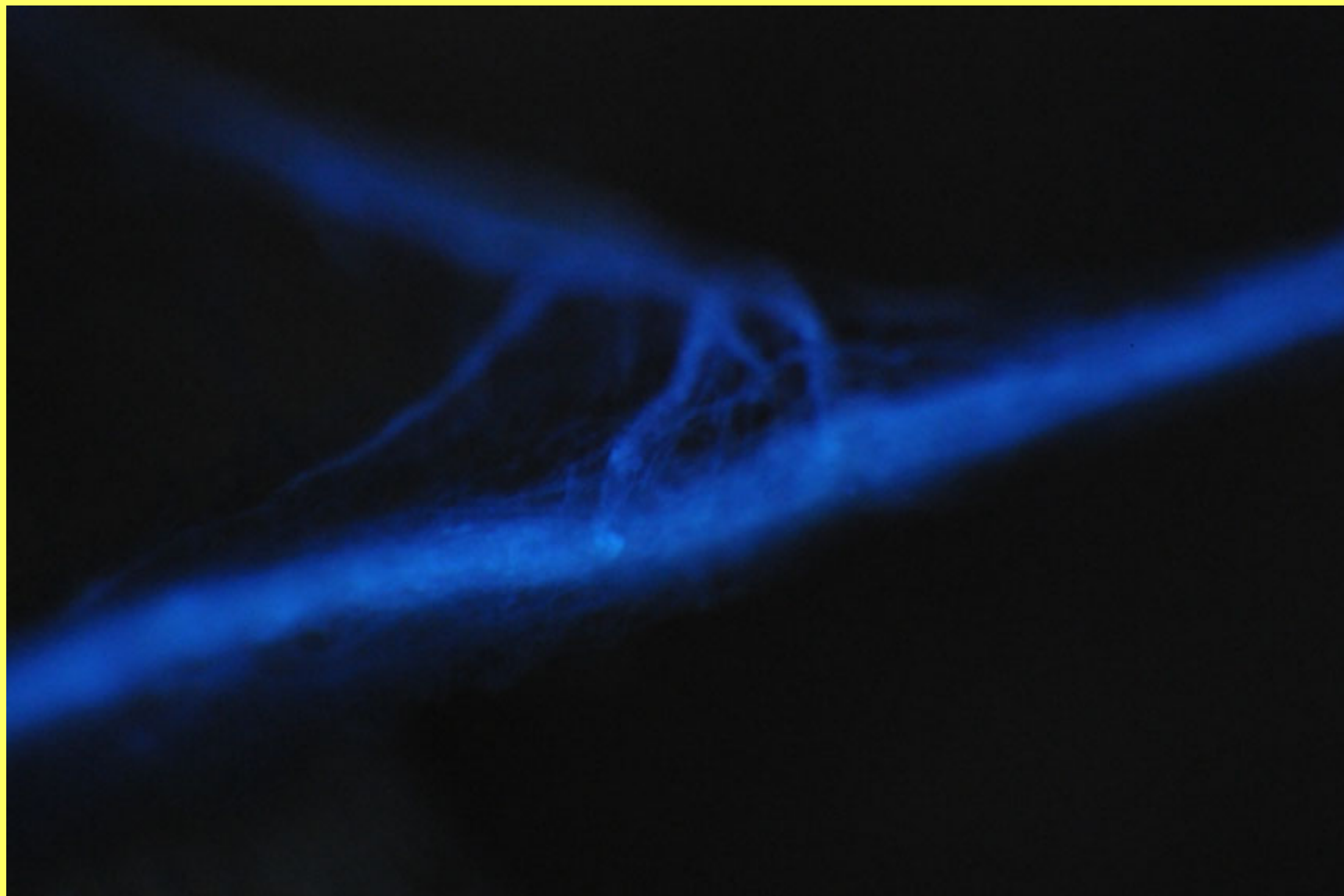
Diode array detector – detektor diodového pole
7 – pole fotodiod pro každou vlnovou délku;
rozlišení bývá 1 nm.
FLD – fluorescenční detektor, stejné vlastnosti.











Instrumentální metody – Atomová absorpční spektrometrie

Volné atomy v plynném stavu jsou schopny absorbovat záření těch vlnových délek, které samy vyzařují.

Je-li atom vystaven tomuto záření, přechází do excitovaného stavu a dochází k absorpci záření.

Aplikační možnosti AAS

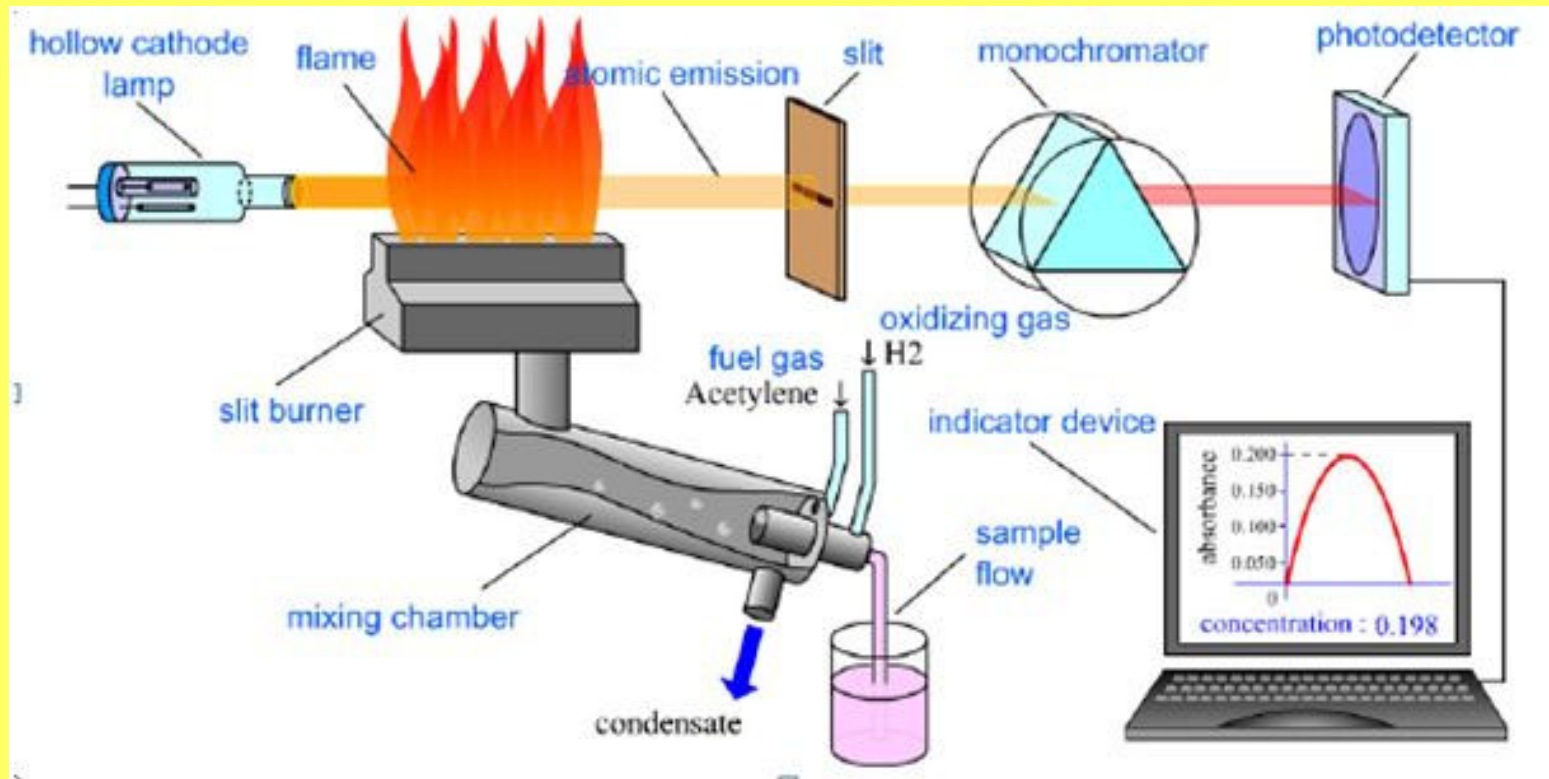
stanovení téměř všech kovů, metaloidů a několika nekovů (B, Si, P)

plamen acetylen - vzduch (t 2000-2300°C): pro snadno atomizovatelné prvky (alkalické kovy, Mg, Ca, Zn, Cu, Cd, Pb, Mn, Fe, případně Cr)

plamen acetylen - oxid dusný (t 2800-3000 °C): pro obtížně atomizovatelné prvky (Sr, Ba, V, Cr, Mo, Al, Si, B atd.); nebo prvky, které tvoří s matričními složkami (fosforečnany, křemičitany) termostabilní sloučeniny (Ca, Mg, Ni, Fe)

Princip AAS: snížení intenzity záření „charakteristické“ vlnové délky excitovanými atomy prvku

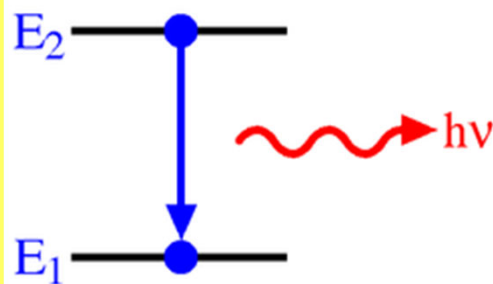
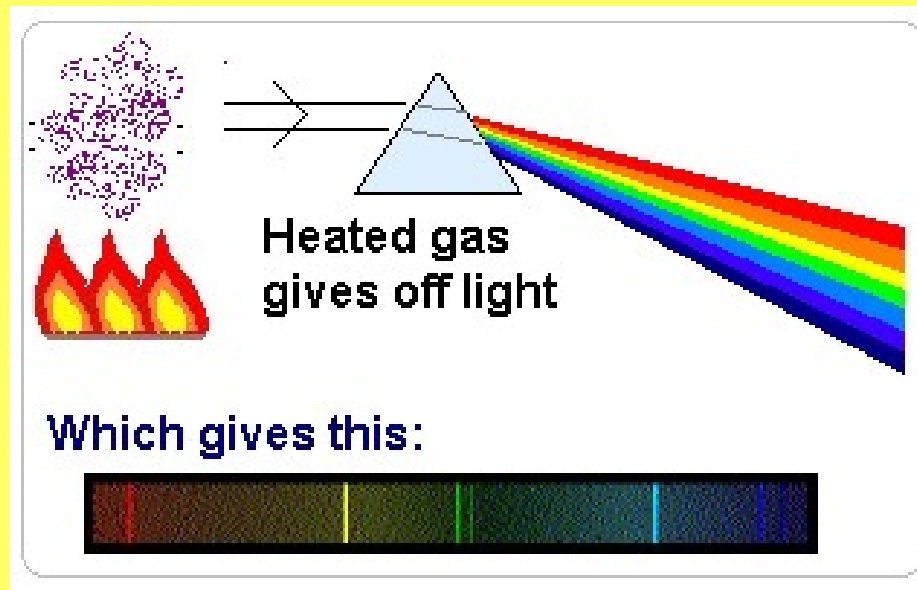
(kvantita: opět Lambert-Beerův zákon)



Instrumentální metody – Atomová absorpční spektrometrie



Instrumentální metody – Atomová emisní spektrometrie



Emisní spektrum: čárové, typické použití v biologii: Na, K, Ca... obecně pro prvky s typickým zářením při de-excitaci

Instrumentální metody – ICP-MS

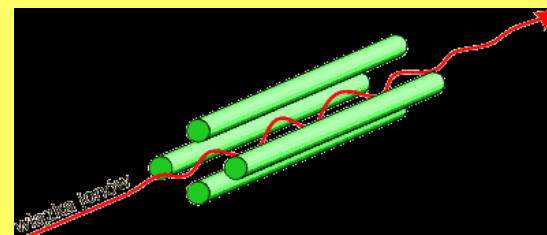
*(hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
není tu Lambert-Beerův zákon!)*

Roztok analytického vzorku **je zmlžen** a vzniklá mlha je proudem argonu vedena do hořáku, ve kterém je za pomoci střídavého vysokofrekvenčního magnetického pole udržováno **argonové plazma o teplotě 6 000 – 10 000 K**.

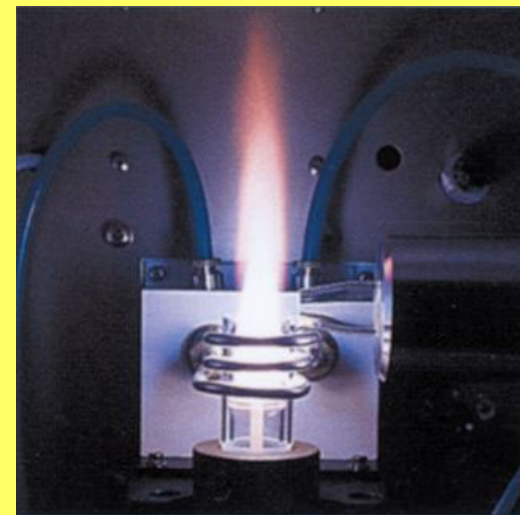
Za takových podmínek se rozpouštědlo okamžitě odpaří a zanikají chemické vazby v molekulách přítomných sloučenin. Jednotlivé volné atomy ve většině případů vytvoří **jednou kladně nabitě ionty Me^+** , které jsou dále unášeny do přechodové komory, kde je snížen tlak plynu na přibližně 0,01 Torru.

Po průchodu do vstupu k detektoru klesá tlak na řádově 10^{-5} Torru a ionty se systémem elektromagnetických čoček dostávají do kvadrupólového detektoru. Zde jsou analyzované ionty vedeny takovým způsobem, **aby na povrch zesilovače dopadly v daném časovém okamžiku pouze ionty se zvolenou hmotností**.

Instrumentální metody – ICP-MS



Kvadrupólový separátor



Argonový hořák

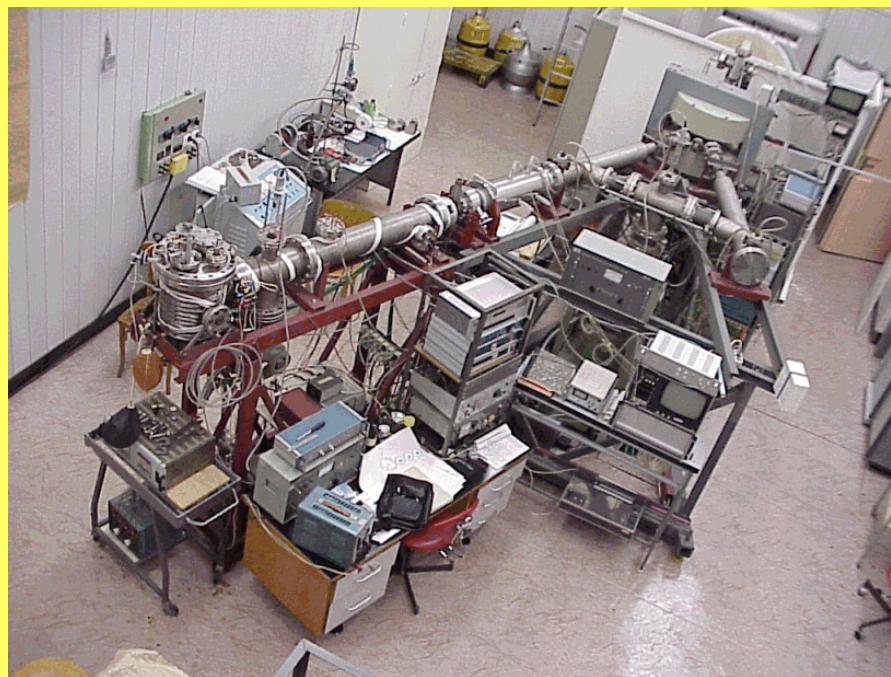
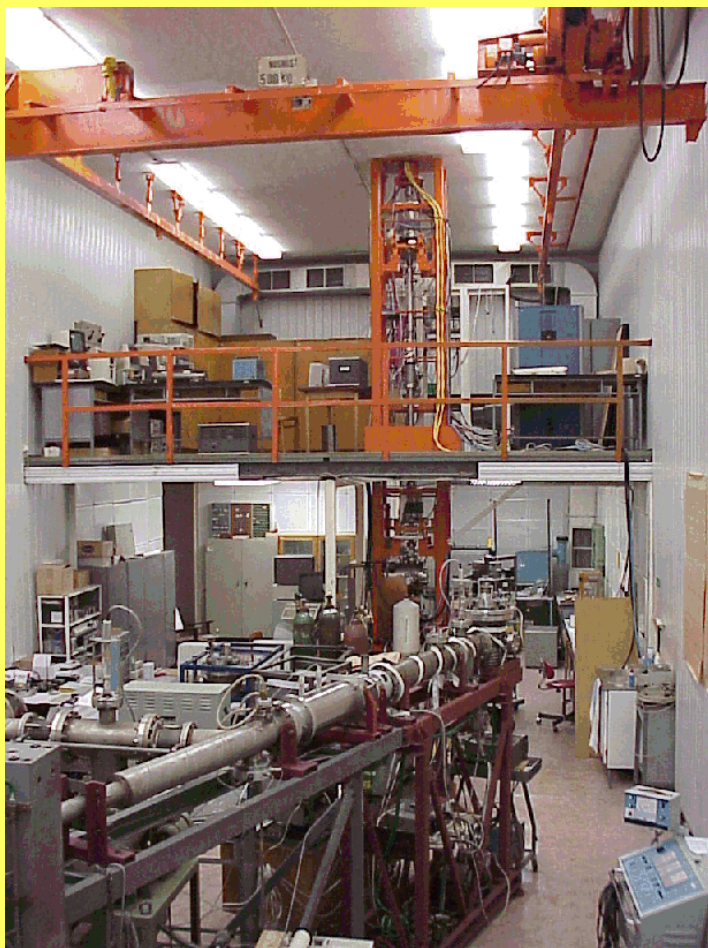
Instrumentální metody – PIXE

Metoda PIXE je prakticky nedestruktivní citlivá metoda studia prvkového složení látek.

Měření probíhá nejčastěji ve vakuové komoře. **Vzorek je bombardován svazkem urychlených iontů, nejčastěji protonů.**

Princip metody spočívá v tom, že při průletu iontu vzorkem je z některé vnitřní energetické hladiny (K nebo L) některého atomu vyražen elektron a na jeho místo "přeskakuje" jiný elektron z hladiny vyšší. Při tomto "přeskoku" je s určitou pravděpodobností vyzářen foton o energii rovné rozdílu energií hladin, mezi kterými došlo k přeskoku. Jelikož **každý prvek má svoje vlastní charakteristické uspořádání energetických hladin**, dá se z naměřených energií takto vzniklých fotonů zjistit **z jakého prvku fotony pocházejí.**

Instrumentální metody – PIXE

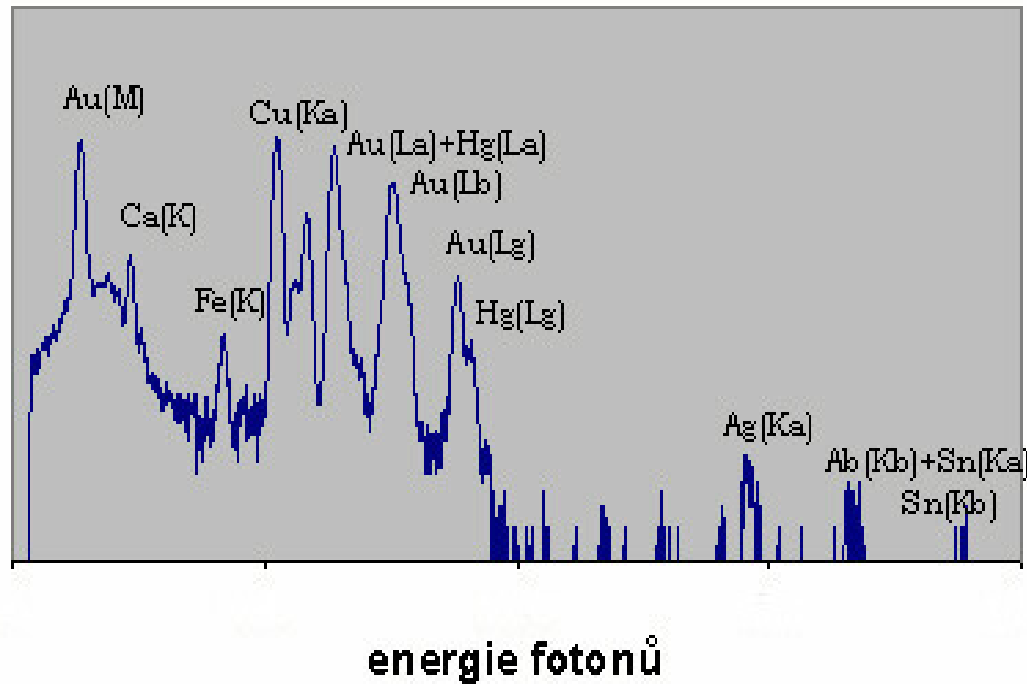


urychlovač iontů

měřicí aparatura

(ČVUT Praha)

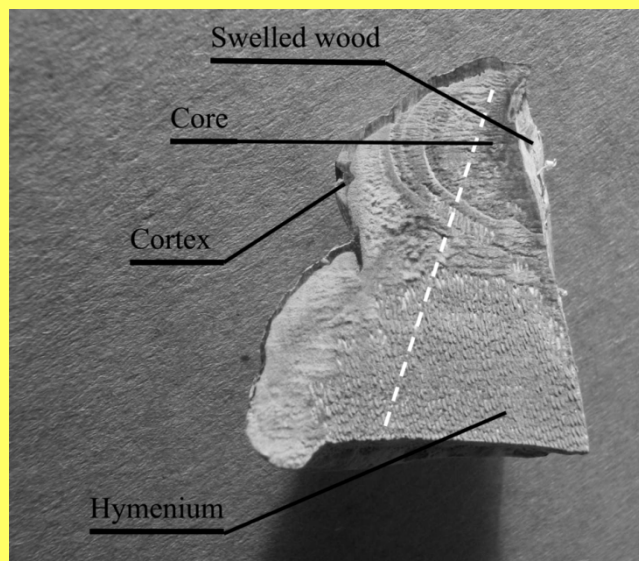
Instrumentální metody – PIXE



měřicí komora

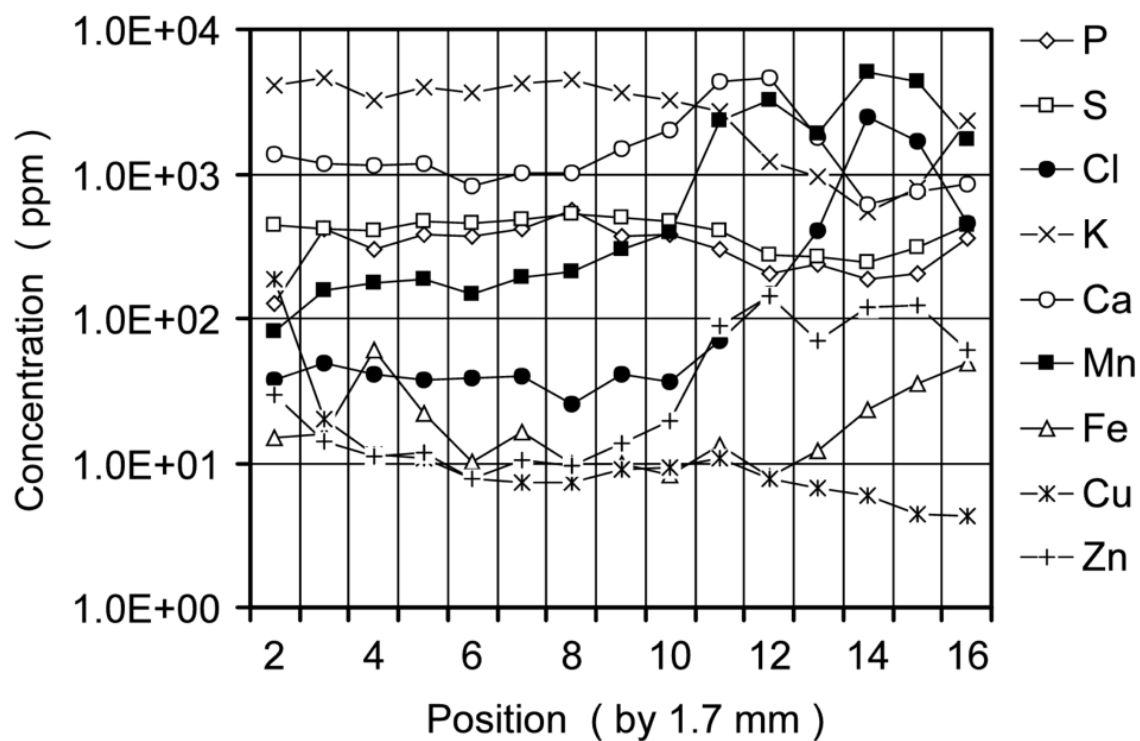
příklad spektra

Instrumentální metody – PIXE



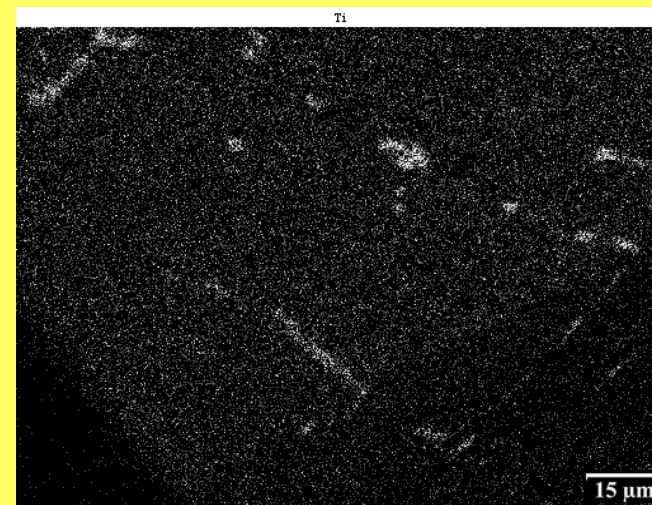
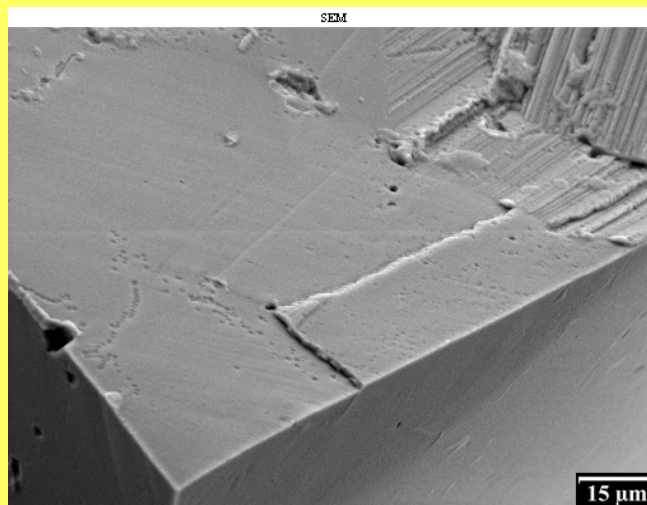
řez plodnicí choroše

prvkové složení



Instrumentální metody – mikroanalýza **EDX**

Jde o spojení elektronové mikroskopie a „energie disperzního analyzátoru“



Lopatka leteckého motoru, rozdělení titanu

<http://fyzport.fjfi.cvut.cz/Akce/FT/03/sbpdf/matvyzk.pdf>

Tento materiál je určen pouze pro výuku studentů.

This presentation has been scheduled for educational purposes only.

Pokud má někdo dojem, že použité obrázky (jiné než moje vlastní) jsou kryty copyrightem, necht' mi dá vědět.

If somebody believes, that pictures or figures in this presentation are covered by copyright, please let me know.

Jiří Gabriel (gabriel@biomed.cas.cz)