

## Optické metódy

- vyhodnocujú interakcie elektromagnetického žiarenia so vzorkou
- **rozdelenie:**
  - **spektrálne metódy**
    - založené na meraní charakteristických vlastností svetla
    - výsledkom analýz je spektrum
  - **metódy založené na meraní zmeny smeru a rýchlosti žiarenia**
    - refraktometria, nefelometria, polarometria, turbidimetria
- **metódy podľa druhu analyzovaného žiarenia:**
  - **absorpčné** (UV,VIS, IR)
  - **emisné** (Ramanova spektroskopia)
  - **reflexné** (UV,VIS)
  - **rezonančné** (EPR, NMR)
    - absorpcia vysokofrekvenčného žiarenia
- **podľa druhu interakcie:**
  - **atómová** spektroskopia
  - **molekulová** spektroskopia
- **spektrum:**
  - súbor čiar (pásov) usporiadaných podľa vlnovej dĺžky ( $\lambda$ ) resp. vlnočtu žiarenia rozloženého optickým zariadením
  - **typy spektier:**
    - **čiarové** (u atómov)
    - **pásové** (u molekúl)
- **elektromagnetické spektrum**



- vlnová dĺžka
  - vzdialenosť 2 najbližších bodov, ktoré kmitajú vo fáze
- vlnočet
  - počet vln na jednotku dĺžky
  - $\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}$
- **meracia technika**
  - zdroj – kiveta – monochromátor (optický hranol al. mriežka) – detektor – spektrum
  - **zdroj:**
    - vysokoteplotný plameň (3000K)
    - elektrický oblúk
    - termické žiariče
    - UV výbojka
    - vodíková výbojka...

- **detektor:**
  - meranie žiarivého toku čidlom na fotometrické veličiny
    - ľudské oko (400 – 700 nm)
    - UV, VIS
      - fotografická detekcia
      - fotoelektrická detekcia (použitím fotočlánkov)
  - termálna detekcia

### Atómová spektroskopia

- **patrí sem:**
  - **atómová absorpčná spektroskopia (AAS)**
  - **emisná spektrálna analýza (spektrografia)**
- využívajú sa na stanovenie jednotlivých atómov
- využívajú vlastnosti atómov, ktoré sú za určitých podmienok schopné emitovať alebo absorbovať pre prvok špecifické elektromagnetické žiarenie (určitá vlnová dĺžka)

### Atómová absorpčná spektroskopia (AAS)

- meranie absorpcie monochromatického žiarenia voľnými atómami stanovovaného prvku (analytu)
- platí tu **Kirchhoffov zákon**
  - každá látka absorbuje žiarenie tej vlnovej dĺžky, ktorú sama dokáže vyselať
- analyty je potrebné previesť do stavu voľných atómov – atomizácia:
  - môže to byť:
    - v plameni (vysoká teplota 2000 -3000 K)
    - bezplameňová technika (elektrotermická pec)
- **zdroj:**
  - výbojka s dutou katódou zo stanovovaného prvku
- **rezonančná čiara**
  - prechod elektrónov medzi základnou a 1 excitovanou hladinou
- **aplikácie:**
  - stanovenie 60 prvkov
  - čistota chemikálií, polovodičov

### Emisná spektrálna analýza (spektrografia)

- optická metóda založená na žiarení atómov (iónov) sledovaného prvku
- atomizovanej vzorke sa dodáva energia, čím sa atómy dostávajú so excitovaného stavu
  - pomocou plameňa, elektrického výboja, laserom
- **monochromátor** (hranol, mriežka)
  - dostávame **emisné čiarové spektrum**
- **kvalitatívna analýza**
  - určenie vlnových dĺžok podľa atlasu na základe spektra
- **kvantitatívna analýza**
  - intenzita čiar
  - Lomakinov vzťah
    - $I = a \cdot c^b$  (I – intenzita čiar, c – koncentrácia, a,b - konštanty)
- **aplikácie:**
  - stanovenie kovových materiálov, metalurgia, rudy

## Molekulová spektroskopia

- je založená na interakcii EMN žiarenia s molekulami látok
- **patrí sem:**
  - **UV/VIS absorpčná spektroskopia**
  - **IR spektroskopia**
  - **Ramanova spektroskopia**
  - **jadrová magnetická rezonancia**

### UV/VIS absorpčná spektroskopia

- založená na meraní zoslabenia monochromatického žiarenia (200nm – 800nm) v dôsledku absorpcie po prechode roztokom analytu
- prechody valenčných elektrónov spôsobujú vznik pásových spektier
- **látky môžu byť:**
  - **bezfarebné**
    - absorpcia v UV oblasti (200 – 400nm)
  - **farebné**
    - absorpcia v VIS oblasti spektra (400 – 800nm)
- **celková energia molekuly**
  - $E = E_{rot} + E_{vib} + E_p$  (energia rotačných pohybov, vibračná energia, energia pohybu elektrónov)
- **Bohrov vzťah** (prechod elektrónov medzi hladinami)
  - $E_2 - E_1 = \Delta E = h \cdot \nu$
- pri absorpcii žiarenia v UV/VIS oblasti dôjde k prechodom valenčných elektrónov a k zoslabeniu svetelného toku pri jeho prechode roztokom vzorky
- túto zmenu vyjadruje **Lambert-Beerov zákon**
  - $\phi = \phi_0 \cdot 10^{-\varepsilon \cdot c \cdot l}$  ( $\phi$  – žiarivý tok,  $\varepsilon$  – molárny absorpčný koeficient,  $l$  – hrúbka vrstvy(kyvety))
- **absorbancia**
  - relatívne množstvo pohlteneho žiarenia po prechode vzorkou
  - $A = -\log \frac{\phi}{\phi_0} = -\log T = \varepsilon \cdot c \cdot l$  ( $T$  – transmitancia(priepustnosť))
- **chromofory**
  - funkčné skupiny, ktoré zapríčiňujú absorpciu elektromagnetického žiarenia v ultrafialovej a viditeľnej oblasti
  - absorpcia je spôsobená prechodom  $\pi \rightarrow \pi^*$ 
    - **batochrómny posun** (červený)
      - posun absorpcie k väčším vlnovým dĺžkam
    - **hypsochrómny posun** (modrý)
      - posun absorpcie k menším vlnovým dĺžkam
    - **CT (charge transfer) komplexy**
      - pás vzniká prechodom elektrónov z  $\pi$  donoru do  $\pi^*$  akceptoru (sfarbenie bezfarebného roztoku)
- **prístrojová technika**
  - **spektrometre**
    - zariadenie s automatickým záznamom absorpčnej krivky  $A = f(\lambda)$

- *spektrofotometre*
- *absorpčné fotometre*
- *kalorimetre*
  - porovnanie sfarbenia roztoku so štandardmi
- **kvalitatívna analýza**
  - doplňujúca metóda identifikácie a štruktúry organických látok
- **kvantitatívna analýza**
  - využitie Lambert-Beerovho zákona na priame stanovenie koncentrácie analytov
- **aplikácie:**
  - identifikácia rôznych organických látok
  - využite v organickej/anorganickej analýze, kinetike, stanovenie rovnovážnych konštant
  - detekcia pre LC a elektroforézu

## IR spektroskopia

- sleduje absorpciu IR žiarenia molekulami
  - dochádza k zmene vibračných a rotačných stavov molekúl
- dochádza k prechodom:
  - **vibračné**
  - **rotačné**
  - **vibračno-rotačné**
- **IR pásové spektrum**
  - podáva obraz o spôsobe väzby atómov a skupín na základe absorpčných pásov definovaných vlnčtom, šírkou, intenzitou
- **IR oblasti:**
  - blízka (800nm – 2μm)
  - stredná (2μm – 15,4μm)
  - vzdialená (15,4μm – 50μm)
- **vibračné spektrá**
  - sú príčinou vzniku molekulových spektier
  - pre 2-atómové molekuly sa dajú vyjadriť pomocou rovnice pre harmonický oscilátor:
    - $E_v = \left(v + \frac{1}{2}\right) h \cdot \nu_0$ 
      - $v$  – vibračné číslo (povolené sú len také pohyby, pri ktorých dochádza k jeho zmene o 1)
      - $\nu_0$  – základná frekvencia vibračného pohybu
      - $E_v$  – vibračná energia
- **vibračné pohyby** (polyatómová molekula)
  - **valenčné vibrácie** – dochádza k nim v oblasti vyšších vlnčtov
    - **symetrické** (IR inaktívne)
    - **asymetrické** (IR aktívne – spojené so zmenou dipólového momentu (zmena symetrie)
      - mení sa dĺžka väzby, ale nie uhol
  - **deformačné vibrácie** – dochádza k nim v oblasti nižších vlnčtov (oblasť odtlačku palca)
    - IR aktívne

- dochádza k zmene uhla (dĺžka väzby je konštantná)
- pohyb molekuly popisujú **vibračné stupne voľnosti**
  - lineárne molekuly  $3N - 5$
  - nelineárne molekuly  $3N - 6$

- **využitie:**

- identifikácia organických zlúčenín, štruktúrna analýza
- detekcia pri separačných metódach
- stanovenie na základe Lambert-Beerovho zákona
- štúdium reakčnej kinetiky, čistota

### Ramanova spektroskopia

- založená na meraní rozptýleného žiarenia, ktoré vzniká interakciou fotónov monochromatického žiarenia so vzorkou
- pri interakcii molekuly s fotónom dochádza k zrážke
  - **zrážka** môže byť
    - **pružná**
      - molekula vyžiari rovnakú kvantum energie ako zrážkou získala (**Rayleighov rozptyl**)
    - **nepružná**
      - molekula sa dostane do vyššieho energetického stavu, ale pri návrate sa nevráti do základného stavu (**Stokesove čiary**)
      - molekula bola vo vyššom stave a pri návrate sa dostane do nižšieho základného stavu (**anti-Stokesove čiary**)
- **aplikácia**
  - doplnok IR spektroskopie
  - identifikácia nepochopiteľných zlúčenín
  - analýza polymérov

### Jadrová magnetická rezonancia

- metóda založená na absorpcii vysokofrekvenčného žiarenia jadrami (resp. elektrónmi pri EPR) meraných látok vo vonkajšom magnetickom poli
- základný predpoklad
  - nenulový jadrový magnetický (resp.  $e^-$ ) moment
    - t.j. nepárny počet protónov (resp. nespárených elektrónov)
- pri absorpcii energie dôjde k prechodom nenulových magnetických momentov na vyššie hladiny
- NMR – meria sa absorpcia žiarenia vzorkou uloženou v magnetickom poli
  - vznikajú rezonančné čiary, ktoré charakterizuje:
    - **chemický posun čiar**
      - určuje chemickú povahu atómu
    - **spin-spinová interakčná konštanta**
      - informuje o susedných jadrách
    - **intenzita signálu**
      - stanovenie počtu chemicky ekvivalentných jadier
- **jadrá charakterizuje:**
  - **magnetický moment** (rotácia okolo osi)

- **spinové kvantové číslo** (počet nukleónov v jadre)
  - v magnetickom poli zaujmú jadrá  $2I + 1$  orientácií (s rôznymi energetickými hladinami) – vykonávajú precesný pohyb (prechod z nižšej na vyššiu E úroveň)
- **kvalitatívna analýza**
  - na základe chemického posunu
    - rozdiel medzi polohou signálu štandardu a vzorky
- **kvantitatívna analýza**
  - intenzita rezonančného signálu
- **aplikácia:**
  - najvýznamnejšia z metód molekulovej spektroskopie
  - určenie štruktúry látok
  - analýza organických látok

## Hmotnostná spektrometria

- patrí aj medzi optické aj medzi separačné metódy
- slúži na presné meranie molekulovej hmotnosti látok (aj v zložitých zmesiach)
- **princíp:**
  - separácia molekulových iónov a fragmentov analytu vzniknutých ionizáciou molekuly (odštiepením valenčných elektrónov) na základe rôznych efektívnych hmotností ( $m/z$  – hmotnosť/náboj)
  - kvapalná vzorka sa v evakuovanom zásobníku odparí, po vstupe pár do ionizačnej komory dochádza k ionizácii a vzniku molekulových iónov a iných fragmentov, ktoré sú urýchlené elektrickým poľom a po vstupe do magnetického poľa sa separujú podľa efektívnych hmotností
- **hmotnostné spektrum**
  - tvorené molekulovými iónmi a sekundárnymi iónmi (fragmentami)
  - zaznamenáva sa intenzita el. prúdu ako funkcia efektívnej hmotnosti
  - intenzita signálu je priamo úmerná počtu dopadajúcich častíc
- **ionizácia**
  - **tvrdá**
    - bombardovanie elektrónmi – vznikajú ionizované molekuly a fragmenty
  - **mäkká**
    - s minimálnou fragmentáciou
  - **spôsoby ionizácie**
    - chemická CI
    - elektrónovým sprejom ESI
    - pri atmosferickom tlaku API
    - elektrickým poľom FI
- **aplikácia:**
  - identifikácia látok, stanovenie molekulovej hmotnosti
  - určenie štruktúry analytu
  - stanovenie izotopického zloženia látok
  - detektor pre separačné metódy

## Refraktometria

- metóda založená na zmene rýchlosti žiarenia
- meria sa index lomu  $n$  – využíva sa na identifikáciu látky
- **Snellov zákon:**
  - $n = \frac{c_1}{c_2} = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$
- závislosť indexu lomu od hustoty prostredia vyjadruje **Lorenz-Lorentzov vzťah:**
  - $r = \frac{n^2-1}{n^2+2} \cdot \frac{1}{\rho}$   $r$  – merná refrakcia
  - mólová refrakcia:  $R = r \cdot M$
- **refraktometre**
  - slúžia na meranie indexu lomu
- **aplikácie:**
  - čistota látok
  - zloženie binárnych sústav
  - určenie indexu lomu minerálov
  - štúdium fázových rovnováh
  - UPLC detektor

## Polarimetria

- metóda založená na meraní uhla otočenia roviny polarizovaného svetla roztokom opticky aktívnej látky
- optické žiarenie kmitá vo všetkých smeroch kolmých na smer šírenia
  - ak kmitá len v jednej rovine – polarizované svetlo
- **opticky aktívne látky**
  - otáčajú rovinu polarizovaného svetla
  - optická aktivita
    - trvalá (napr. cukry)
    - prechodná (napr.  $\text{SiO}_4$ )
- **aplikácia:**
  - stanovenie podielu sacharózy v cukre
  - stanovenie opticky aktívnych látok v roztokoch

## Nefelometria, turbidimetria

- metódy založené na ohybe svetla v opticky nehomogénnych disperzných sústavách v dôsledku rozptylu
- **turbidimetria**
  - meranie intenzity zoslabeného žiarenia (pri vyššej koncentrácii)
- **nefelometria**
  - meranie rozptýleného žiarenia pod  $90^\circ$  uhlom (pri nižšej koncentrácii)