

Techniki analityczne

Podział technik analitycznych

Techniki elektrochemiczne: pehametria, selektywne elektrody membranowe, polarografia i metody pokrewne (voltamperometria, chronowoltamperometria inwersyjna z roztwarzaniem anodowym, oscylopolarografia, polarografia krzywych pochodnych), konduktometria

Techniki optyczne (spektroskopowe): spektrofotometria w świetle widzialnym (VIS), nadfiolecie (UV) i podczerwieni (IR), emisyjna spektrofotometria plomieniowa, absorpcyjna spektrofotometria atomowa (AAS), jądrowy rezonans magnetyczny NMR, elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR), spektroskopia fotoakustyczna

Techniki chromatograficzne (rozdzielcze): chromatografia cienkowarstwowa (TLC), gazowa (GC), cieczowa (LC, HPLC), jonowa

Spektrometria masowa i techniki łączone: chromatografia gazowa – spektrometria masowa (GCMS)

Techniki radiometryczne

Techniki immunochemiczne

Techniki termooanalityczne

Metody spektroskopowe

Spektroskopia to dziedzina analityki, obejmująca metody badania materii przy użyciu promieniowania, które może być w danym układzie wytworzone (emisja) lub może z tym układem oddziaływać (absorpcja).

(Nauka o powstawaniu i interpretacji widm powstających w wyniku oddziaływań wszelkich rodzajów promieniowania z materią)

Spektrometria zajmuje się rejestracją i pomiarami efektów wytwarzania bądź oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego z badaną materią.

Podział i kryteria podziału spektroskopii

- Z uwagi na zmiany energii między promieniowaniem i materią
 - spektroskopia absorpcyjna - zwiększenie energii układu w wyniku pochłaniania promieniowania
 - spektroskopia emisyjna - oddanie części energii przez układ drogą emisji promieniowania
- Z uwagi na składniki materii, których dotyczą badane przemiany
 - spektroskopia jądrowa
 - spektroskopia atomowa
 - spektroskopia cząsteczkowa
- Z uwagi na wielkość fotonu, który jest pochłaniany lub emitowany (wg. zakresu promieniowania)
 - spektroskopia rentgenowska
 - spektroskopia optyczna
 - radiospektroskopia: mikro, krótko i długofalowa

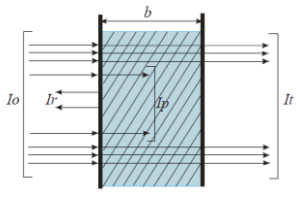
SPEKTROSKOPIA

radiospektroskopia	mikrofalowa	w podczerwieni (IR)	w obszarze widzialnym i nadfiolecie (UV-vis)
jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR)	rotacyjna – elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR)	oscylacyjna (Ramana)	elektronowa (Ramana)
5 – 800 MHz	9,4 – 35 GHz	200 – 5000 cm ⁻¹	400 – 800 nm 100 – 400 nm

Spektroskopia elektronowa

(spektroskopia w ultrafiolecie i świetle widzialnym, spektroskopia UV-Vis)

Absorpcja promieniowania makroskopowo



$I_0 = I_r + I_p + I_t$
 gdzie:
 I_0 – natężenie wiązki promieniowania monochromatycznego
 I_r – natężenie promieniowania rozproszonego i obitego (niskie)
 I_p – natężenie promieniowania pochłoniętego
 I_t – natężenie promieniowania przechodzącego

Prawo Lamberta-Beera:

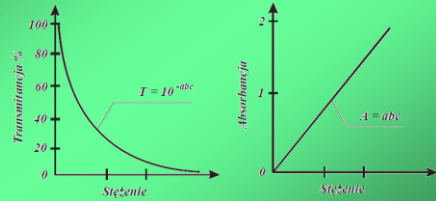
Jeśli wiązka promieniowania monochromatycznego przechodzi przez jednorodny ośrodek absorbujący. Absorbancja (A) jest proporcjonalna do grubości warstwy (b) i stężenia substancji absorbującej (c):

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = abc \quad a - \text{współczynnik absorpcji}$$

(absorbancja = ekstynkcja = gęstość optyczna)

Stosunek natężenia promieniowania przechodzącego przez próbkę do natężenia promieniowania początkowego nazywany jest **transmitancją (T)**

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad \text{zatem} \quad A = \log \frac{1}{T}$$



Prawo addytywności absorbancji

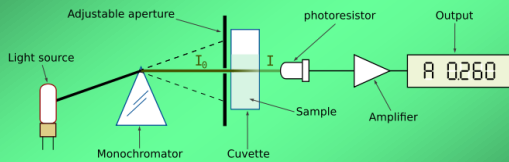
$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_n = \sum_{i=1}^n A_i$$

Wyraża ono absorbancję całkowitą środowiska, A, jako sumę niezależnych absorbancji poszczególnych składników (A1, A2,An).

Pomiar absorpcji promieniowania

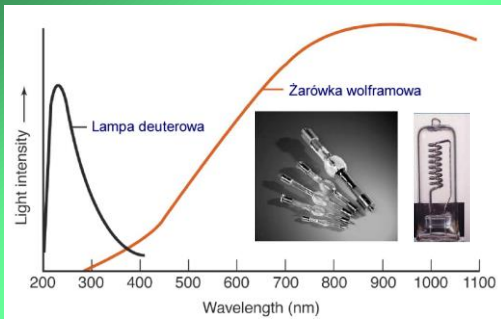
- absorpcjometria, (spektro)fotometria, kolorymetria (w zakresie Vis) -

- Stabilne źródło promieniowania
- Pojemnik na próbkę (przezroczysty w mierzonym paśmie promieniowania)
- Układ do wydzielania rejestrowanego przez instrument fragmentu widma (monochromator)
- Detektor promieniowania bądź jego przetwornik
- Procesor sygnału

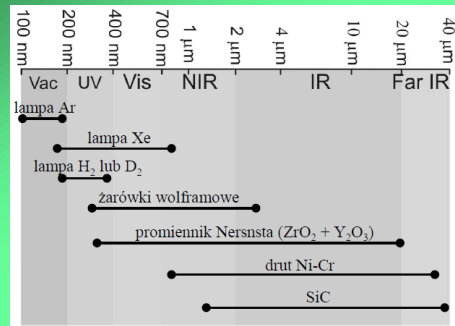




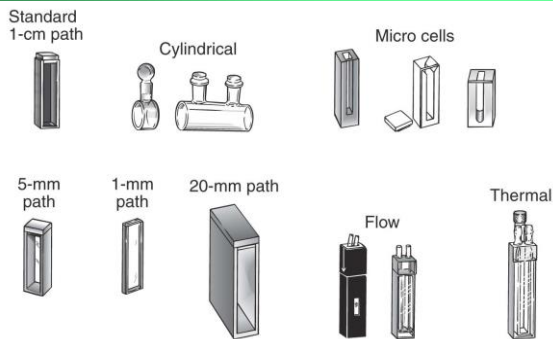
Źródła promieniowania (światła)



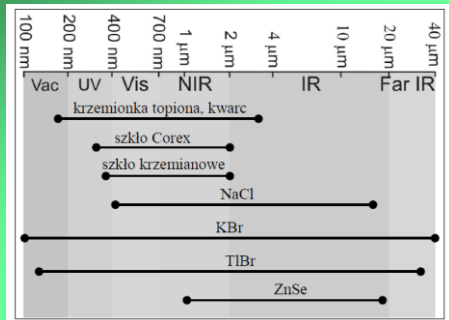
Źródła promieniowania o widmie ciągłym



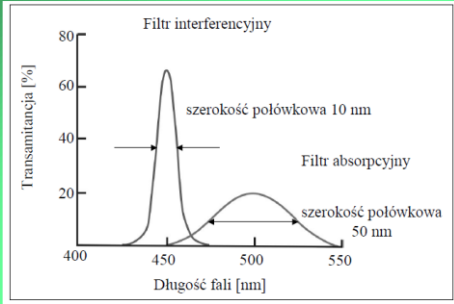
Pojemnik na próbkę



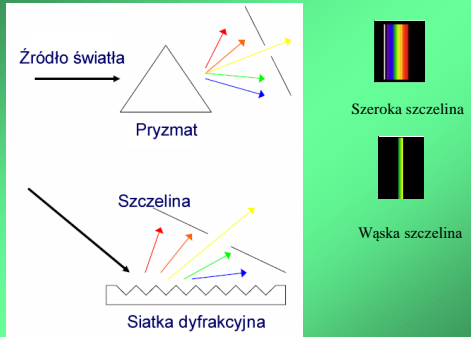
Materiały używane do wytwarzania elementów optyki w poszczególnych zakresach promieniowania EM



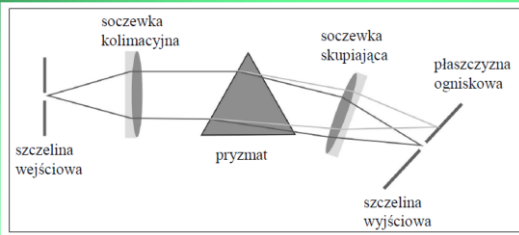
Monochromatory



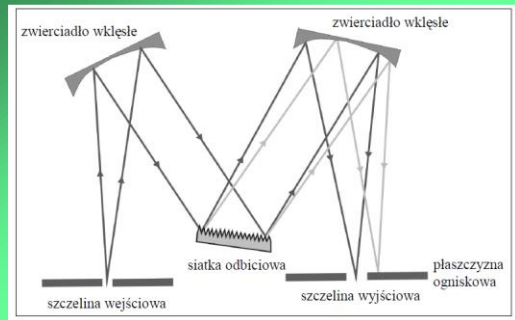
Monochromatory



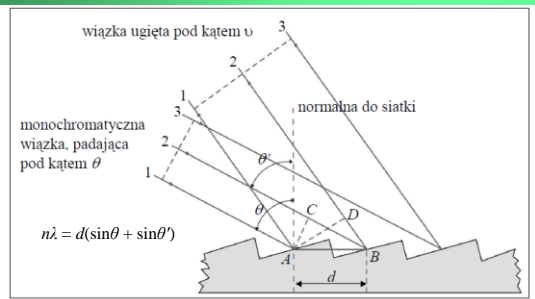
Monochromatory



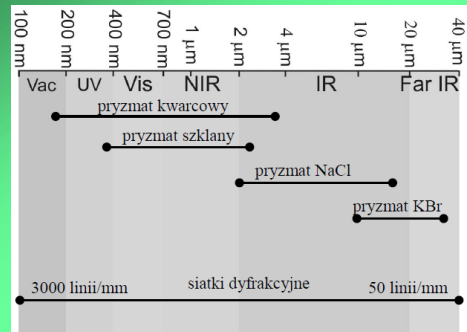
Monochromatory



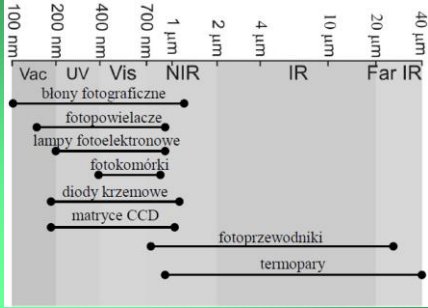
Dyfrakcja na siatce odbiciowej typu 'echellette'



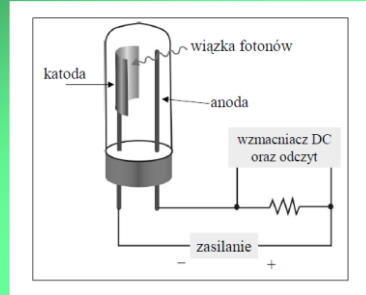
Elementy rozszczepiające światło



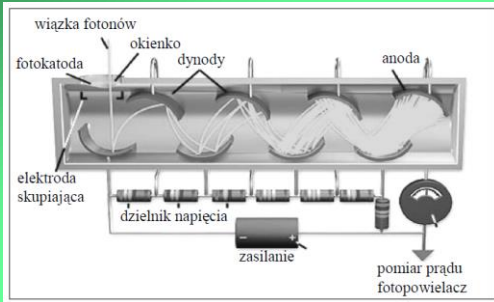
Detektory



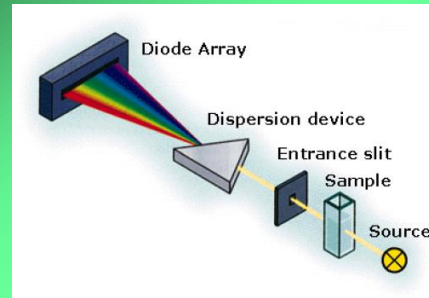
Lampa fotoelektronowa promieniowanie powoduje emisję elektronów z fotoczułej powierzchni



Fotopowielacz



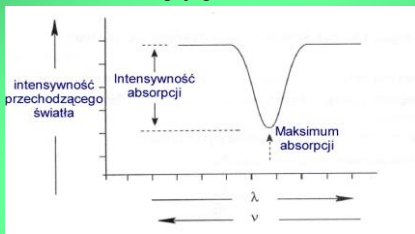
DAD – matryca diodowa



Metody pomiarów spektrofotometrycznych

- pomiar ekstynkcji przy określonej dł. fali (pomiar ilościowy)
- pomiar widma absorpcji lub emisji (pomiar jakościowy)

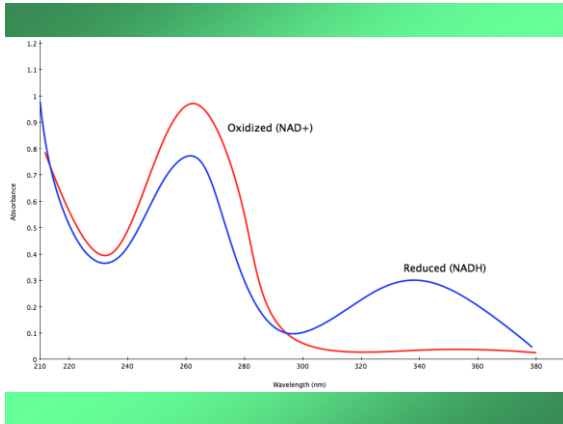
Widmo absorpcji promieniowania



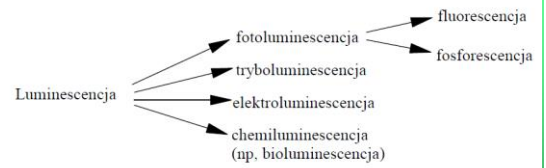
Położenia pasm absorpcji w UV-VIS

Opracował: Wojciech Augustyniak

związek	przebieg	położenie pasma [nm]	log ε
bromopochodne	n→σ*	200-220	2,5
kwasy karboksylowe	n→π*	200-230	1,7
tioetery	n→π*	220-260	3-3,6
estry	n→π*	220-270	1,7
α,β-nienasycone związki karbonylowe	π→π*	220-270	4
dieny	π→π*	220-270	3,9-4,4
polieny sprzężone z grupą karbonylową	π→π*	220-430	4,2-4,8
	n→π*	300-360	1-2
sprzężone polieny	π→π*	220-510	4,3-5,2
chłorki kwasowe	n→π*	230-240	1,7
jodopochodne	n→σ*	260-270	2,6
ketony	n→π*	260-300	1-2
sprzężone oligofenyleny	π→π*	260-330	4-5
aldehydy	n→π*	280-320	0,9-1,4
nitrozwiązki		300-310 i 660-690	2,0 i 1,3
poliaryny	π→π*	320-590	2,4-4,1



(Spektro)fluorymetria



Zjawiskiem luminescencji nazywamy rodzaj emisji promieniowania elektromagnetycznego, który następuje w czasie nie krótszym niż 10^{-10} s, po zaabsorbowaniu energii przez atomy lub cząsteczki danej substancji.

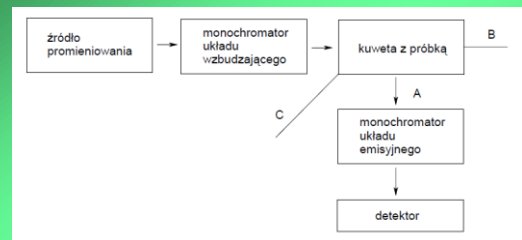
Substancje fluoryzujące

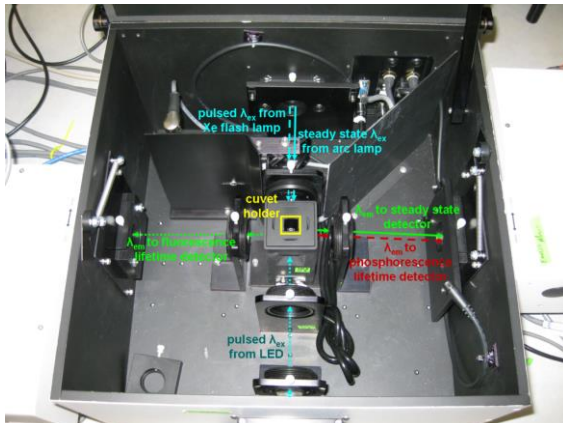
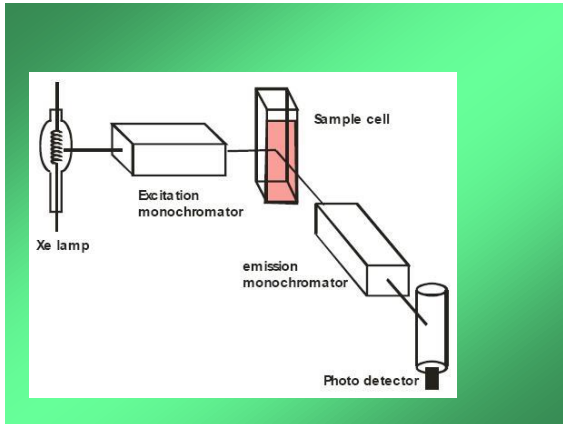
Substancjami wykazującymi zjawisko luminescencji są między innymi następujące związki organiczne:

1. Związki aromatyczne i heterocykliczne
2. Niektóre barwniki (np. fluoresceina, eozylna, rodamina)
3. Związki biologiczne:
 - a. aromatyczne aminokwasy (np. tryptofan),
 - b. zasady nukleinowe (adenina, guanina, cytozyna, tymina, uracyl) w DNA i RNA,
 - c. chlorofil i karotenoidy (barwniki roślinne),
 - d. niektóre witaminy i hormony.



Schemat blokowy aparatury używanej do pomiarów fluorescencyjnych





Zastosowanie fluorescencji

- spektrofluorymetria
- mikroskopia fluorescencyjna
- mikroskopia konfokalna
- cytofluorymetria przeplywowa

Zalety fluorymetrii

- wysoka czulość i selektywność – możliwe oznaczenie stęzenia 0,01ppm (0,01 $\mu\text{g/ml}$)
- możliwość oznaczania związków nieorganicznych oraz organicznych
- możliwość zastosowania w badaniach biologicznych
- możliwość oznaczania związków nie fluoryzujących przez tworzenie fluoryzujących kompleksów

