

## Přednáška #12

Fotometrie,  
absorbance,  
Lambertův-Beerův zákon,  
fotometrické titrace

# Optické metody analýzy

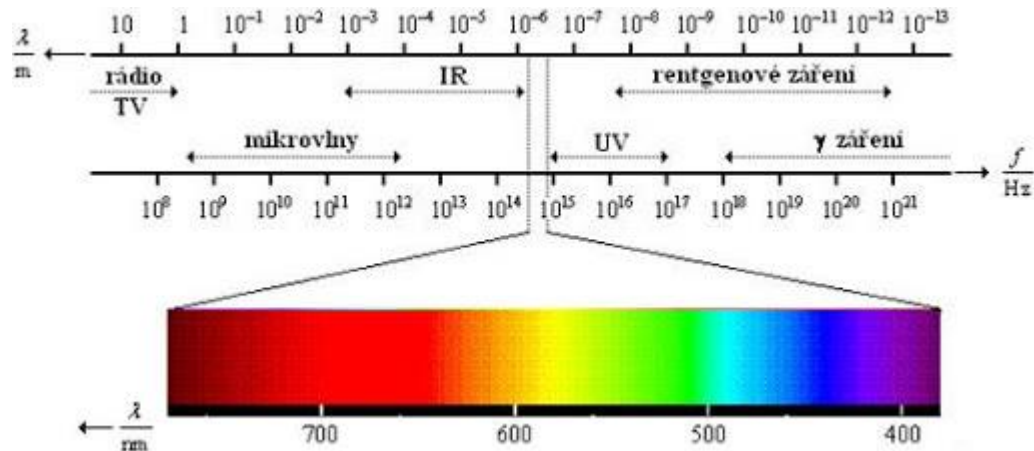
Využívají k analýze jevy související s interakcí elektromagnetického záření s analytem.

Rozdělení optických metod:

- **nespektrometrické** – využívá jevy, při kterých k výměně energie mezi zářením a vzorkem nedochází – např. stáčení roviny polarizovaného světla (polarimetrie), index lomu (refraktometrie), interference záření (interferometrie), rozptyl záření (nefelometrie, turbidimetrie)
- **spektrometrické** – jsou založeny na jevech, při kterých dochází k výměně energie mezi zářením a analytem → měřená veličina je závislá na vlnové délce záření
  - **emisní** – sleduje se záření vzorkem vysílané (emitované)
  - **absorpční** – měří se úbytek záření vzorkem pohlceného (absorbovaného)

**Spektrofotometrie** – spektrometrie, která používá světlo, tj. viditelné elektromagnetické záření.

Obecně lze ve spektrometrii využívat různé typy záření:



## Parametry charakterizující elektromagnetické záření

$\nu$  – kmitočet (frekvence) [ $s^{-1}$ ] = počet kmitů za jednotku času

$T$  – perioda [s] = doba jednoho kmitu

$$T = 1/\nu$$

$\lambda$  – vlnová délka [m] = vzdálenost, kterou záření překoná za dobu jednoho kmitu

$$\lambda = c.T = c/\nu$$

$\tilde{\nu}$  – vlnočet [ $m^{-1}$ ] = počet vln na jednotce délky

$$\tilde{\nu} = 1/\lambda = \nu/c$$

$E$  – energie [J, eV]

$$E = h.\nu$$

$h$  - Planckova konstanta,  $h = 6,62607015 \cdot 10^{-34} \text{ J.s} = 4,135667697 \cdot 10^{-15} \text{ eV.s}$

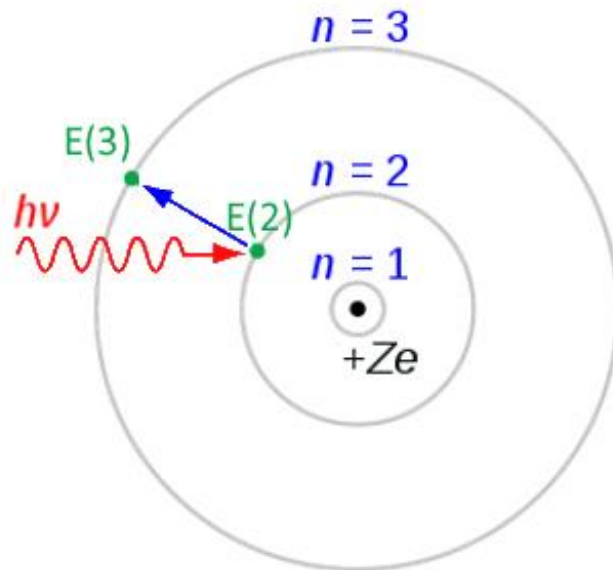
$c$  – rychlost světla, ve vakuu  $c = 299792458 \text{ m.s}^{-1}$

Vlnová délka a vlnočet jsou závislé na rychlosti světla → závisí na prostředí.

Např. ve vodě je rychlost světla cca  $0,75c$ , ve vzduchu cca  $0,9997c$

## Absorpce světla

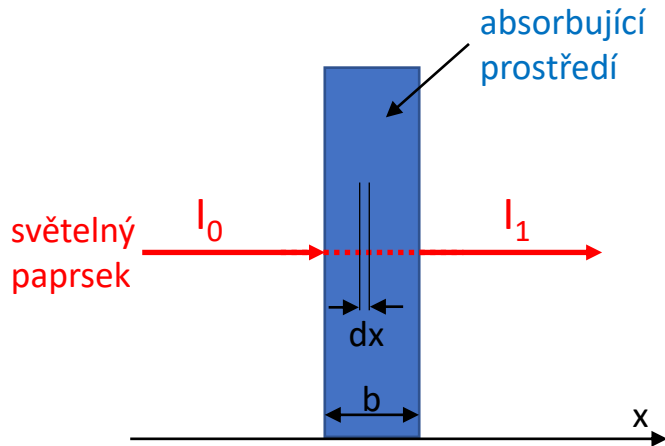
- světelné kvantum (foton) je absorbováno elektronem
  - elektron může mít v atomu pouze určité hodnoty energie
- je možná jen absorpce světla o takové energii (frekvenci, vlnové délce, ...), která odpovídá přechodu elektronu mezi dvěma energetickými hladinami



$$E(n) \approx \frac{-13.6Z^2}{n^2} \text{eV}$$

$$\Delta E = E(3) - E(2) = h \cdot \nu$$

# Absorpce světla



Transmittance (propustnost)

$$T = \frac{I_1}{I_0}$$

Absorbance (extinkce)

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I_1}$$

$$dI = -\alpha \cdot N \cdot I \cdot dx$$

$$\frac{dI}{I} = -\alpha \cdot N \cdot dx$$

$$\int_{I_0}^{I_1} \frac{dI}{I} = -\alpha \cdot N \cdot \int_0^b dx$$

$$\ln I_1 - \ln I_0 = -\alpha \cdot N \cdot (b - 0)$$

$$\ln I_0 - \ln I_1 = \alpha \cdot N \cdot (b - 0)$$

$$\ln \frac{I_0}{I_1} = \alpha \cdot N \cdot b$$

$$\ln 10 \cdot \log \frac{I_0}{I_1} = \alpha \cdot k \cdot c \cdot b$$

$$\log \frac{I_0}{I_1} = \frac{\alpha \cdot k}{\ln 10} \cdot c \cdot b$$

$$\log \frac{I_0}{I_1} = \epsilon \cdot c \cdot b$$

$$A = \epsilon \cdot c \cdot b$$

# Lambert–Beerův zákon

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot b$$

A – absorbance

$\varepsilon$  – molární dekadický absorpční koeficient

c – koncentrace absorbující látky

b – optická délka absorbující vrstvy

**Pierre Bouguer**



**Born** 16 February 1698   
**Died** 15 August 1758  (aged 60)  
Paris   
**Occupation** [Mathematician](#), [physicist](#),  
[astronomer](#) 

**Johann Heinrich Lambert**



Johann Heinrich Lambert (1728–1777)

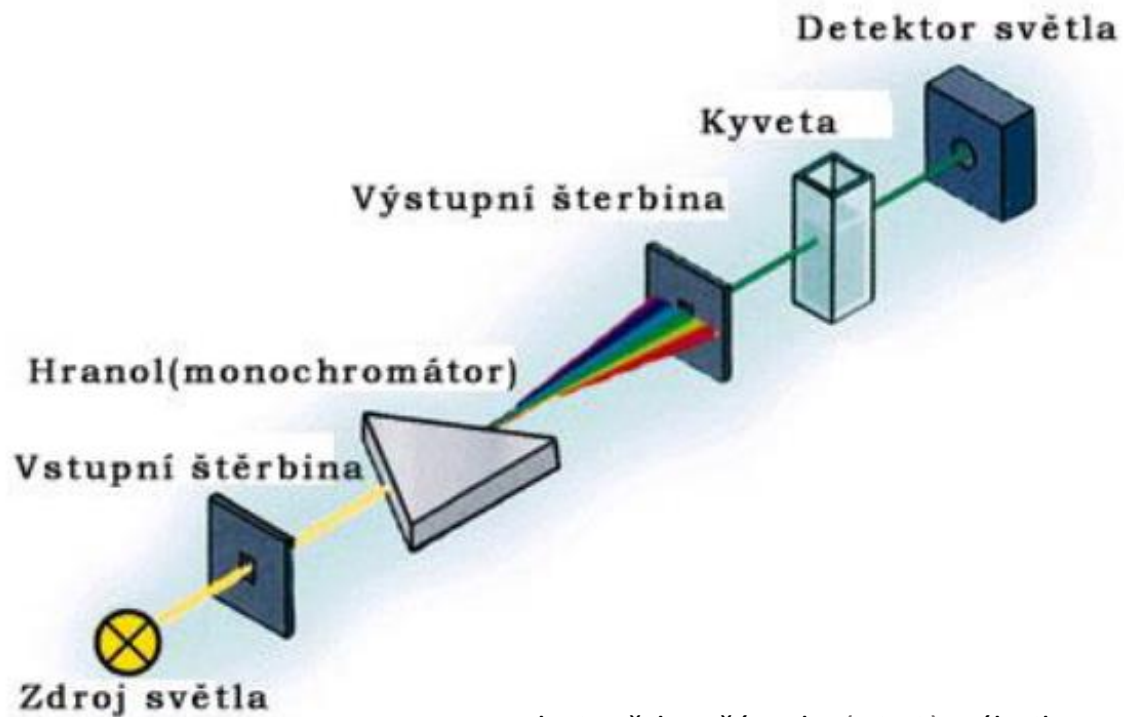
**Born** 26 or 28 August 1728  
Republic of [Mulhouse](#), [Swiss Confederation](#) (currently [Alsace](#),  
[France](#))  
**Died** 25 September 1777 (aged 49)  
[Berlin](#), [Prussia](#)  
**Nationality** [Swiss](#)

## August Beer

From Wikipedia, the free encyclopedia

**August Beer** (German: [beːɐ̯]; 31 July 1825 – 18 November 1863) was a [German physicist](#), [chemist](#), and [mathematician](#) of [Jewish](#) descent.<sup>[1]</sup>

## Schéma spektrofotometru (jednopaprskové uspořádání)

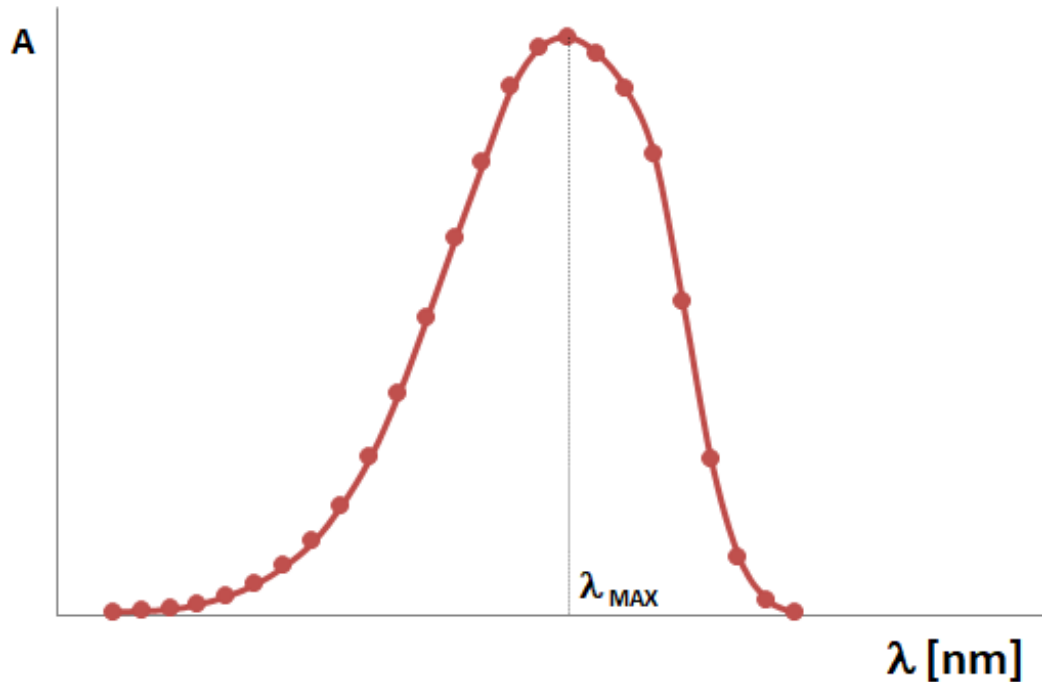


Zdroj světla – žárovka (1879), výbojka, LED, LASER, Slunce, svíčka, ...

Monochromátor – hranol, mřížka, filtr

Detektor – fotodioda, fototranzistor, fotonásobič, ...

## Absorpční spektrum



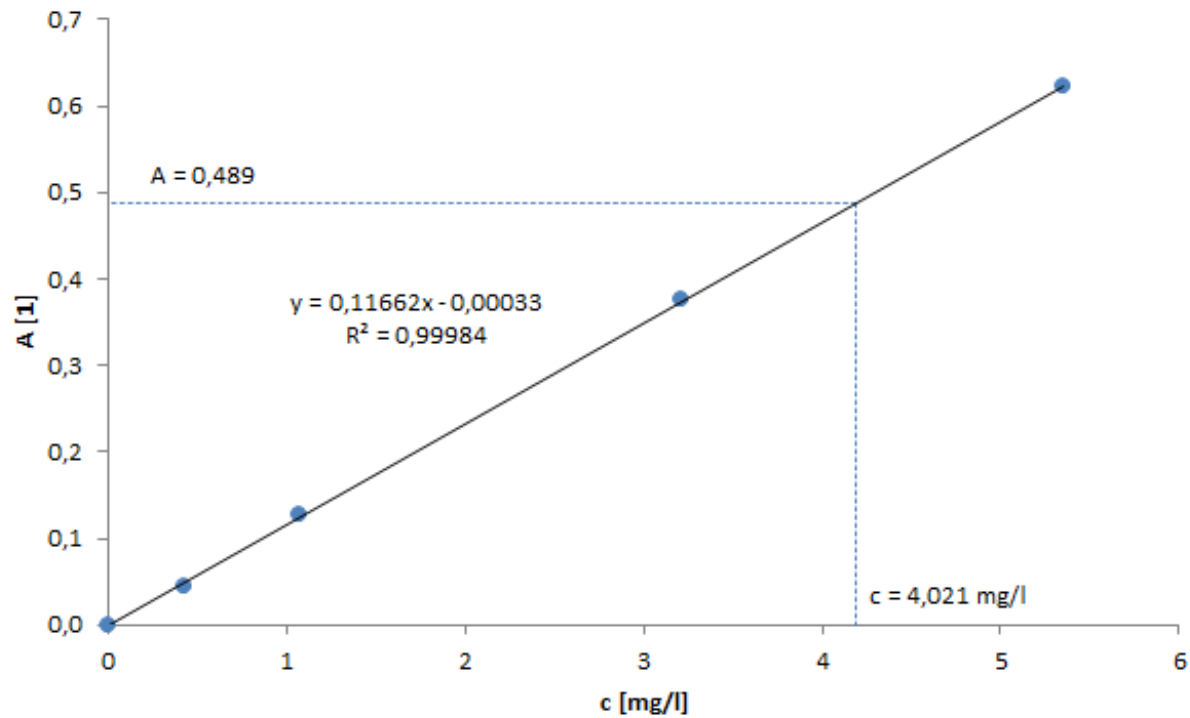
Analyty vhodné pro spektrofotometrické stanovení:

- látky, které jsou v roztoku barevné (absorbují v rozmezí  $\lambda$  380-760 nm)
  - organická barviva ( $\pi$ -elektrony, konjugace dvojných vazeb)
  - barevné komplexy (koordinačně-kovalentní vazba)
- látky, které lze chemickou reakcí převést na stabilní barevný produkt



# Přímá spektrofotometrie

- obvykle se pracuje metodou kalibrační křivky

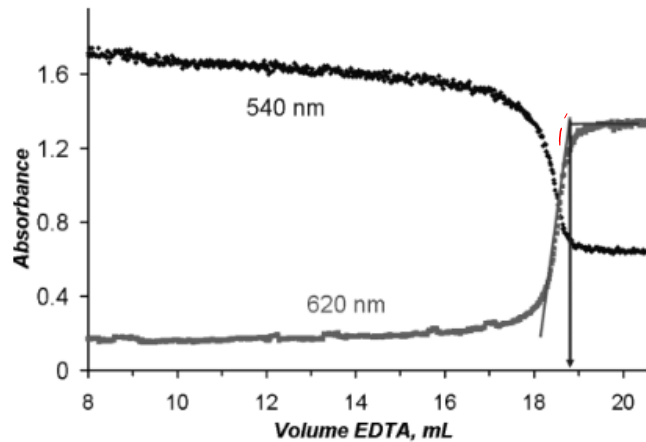
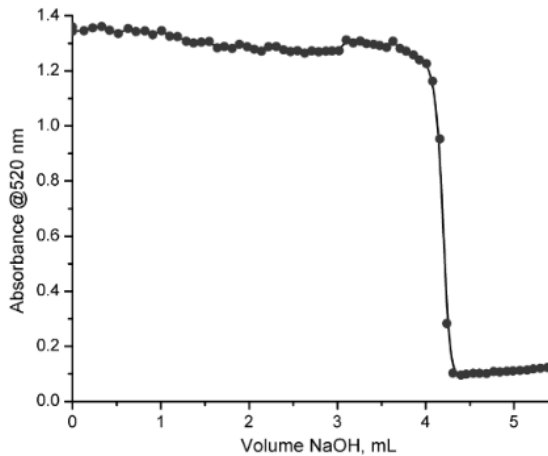
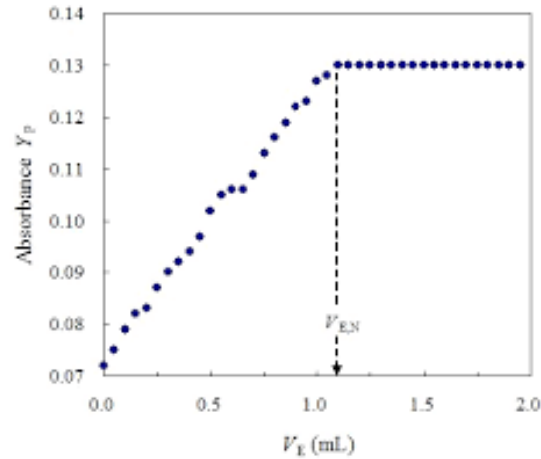
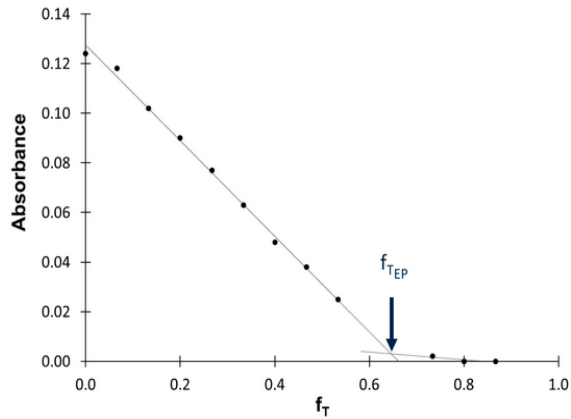


# Nepřímá spektrofotometrie

- měření absorbance slouží pouze jako signál o probíhajícím procesu.

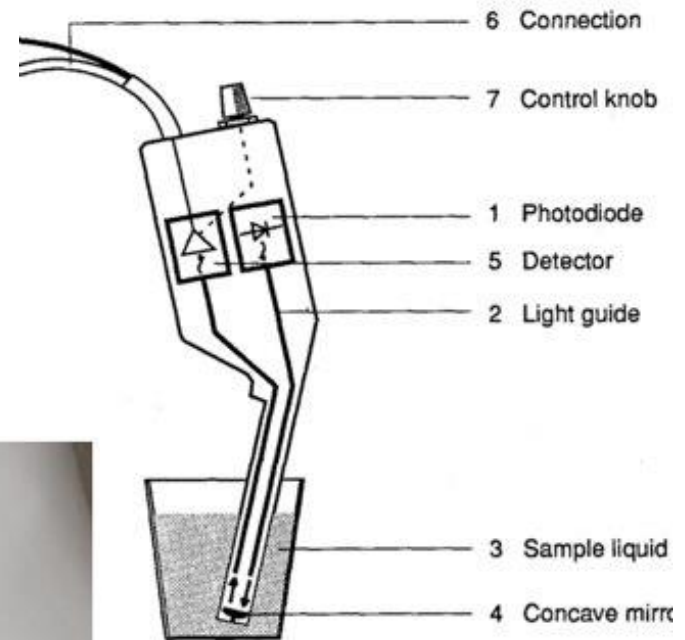
Nejrozšířenější využití - **fotometrické titrace**. Kromě srážecích titrací lze použít pro jakoukoliv titraci, kterou lze sledovat vizuálně (barevný analyt, produkt nebo indikátor).

Titrační křivka – závislost  $A$  na spotřebě titračního činidla.



## Provedení fotometrické titrace

- spektrofotometr s průtočnou kvyetou
- fototroda (ponorná fotometrická sonda)



## Isosbestický bod

Vyskytuje se ve spektru látek, které mají více možných barevných forem.  
Např. acidobazické indikátory v závislosti na pH.

Využití – měřením absorbance v isosbestickém bodě lze stanovit celkovou koncentraci barviva bez ohledu na poměr jednotlivých barevných forem.

