

C6200–Biochemické metody

# 08A\_SPEKTRÁLNÍ METODY

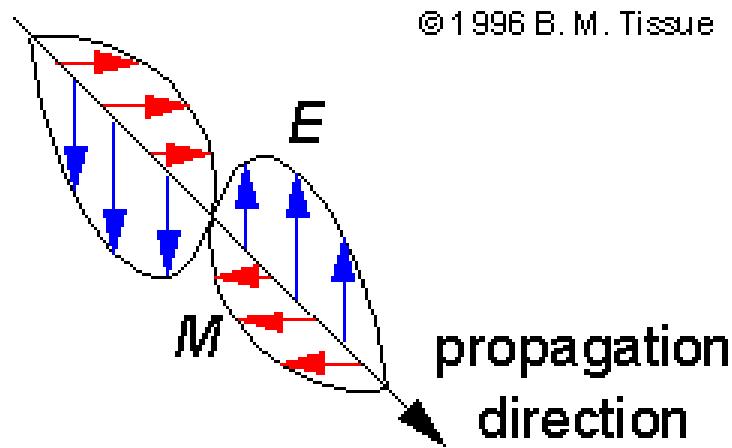
Petr Zbořil

# Definice

- Metody založené na interakci elektromagnetického záření s hmotou
- Změna parametrů záření
  - Absorbce – absorbční metody
  - Změna rychlosti (zpomalení) – disperzní metody
  - Vyhodnocení změn
  - Charakteristika vzorku
- Další metody
  - Rozptyl, ohyb, difrakce, interference

# Vlastnosti elektromagnetického záření

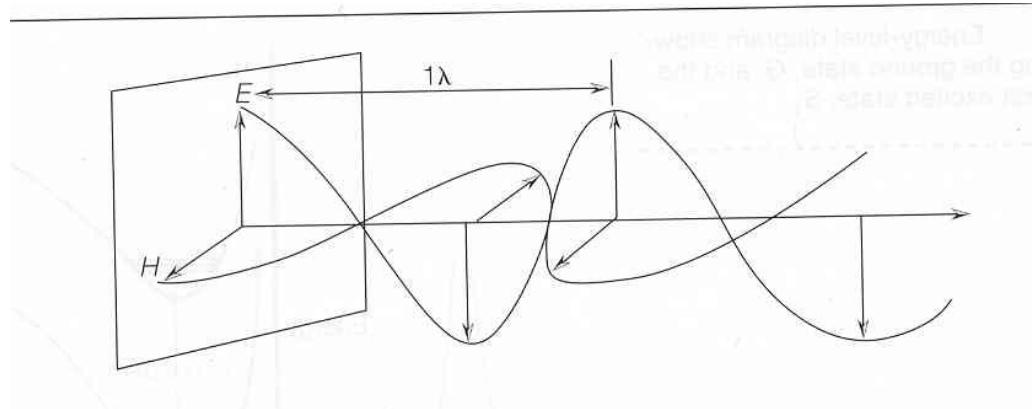
- Vlnění elektromagnetického pole
- Šíří se v kvantech – fotony



- Schematické znázornění fotonu – elektrický a magnetický vektor

# Charakteristika elektromagnetického vlnění – fotonu

- rychlosť šíření  $c$  (nejvyšší ve vakuu) [ $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ]
- kmitočet  $v$  [ $\text{s}^{-1}$ ], perioda  $T = 1/v$  [s, ns]
- vlnová délka  $\lambda = c/v$  [m, nm]
  - $= 1/\nu$  [ $\text{m}^{-1}, \text{cm}^{-1}$ ]
- energie  $E$  [J],  $E = h\nu$ ,
  - $h = 6.62618 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$  – Planckova konstanta



# Vlastnosti prostředí

- **Absorpční** – kvantifikuje **absorbance**
  - Emisní – AES, luminiscence
- **Disperzní** – vyjadřuje **index lomu**  $n = c/c_x$
- Další jevy
  - Difrakce a interference
  - Rozptyl
  - Odraz

# Absorbce záření

- Foton je pohlcen jako celek
  - Jeho energie způsobí přechod do vyššího energetického stavu – jsou kvantovány
- Podmínka pro absorpci fotonu
- $\Delta E = h \cdot v$
- Absorbce závisí na  $v (\lambda)$ , vynesena proti  $\lambda$  dává absorbční spektrum

# Disperze

- Změna c => n

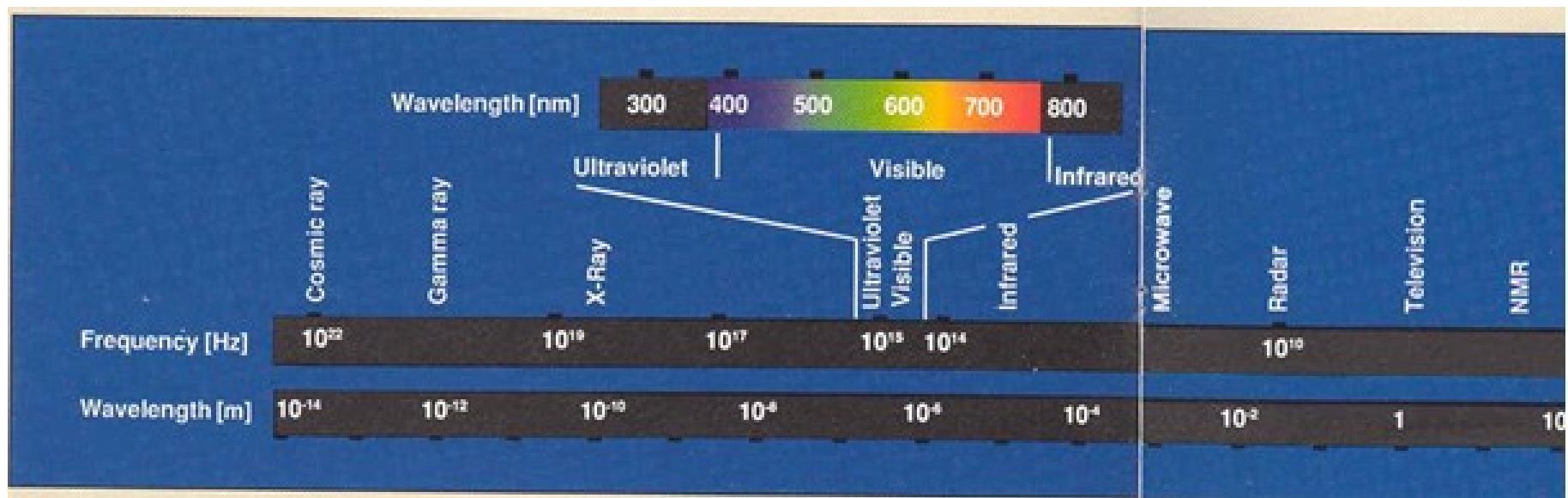
| medium                | n*   |
|-----------------------|--|
| vzduch                | 1.0003   |
| voda                  | 1.333  |
| 50% sacharosa ve vodě | 1.420  |
| CS <sub>2</sub>       | 1.628  |
| Krystalický křemen    | 1.544 (n <sub>o</sub> )<br>1.553 (n <sub>e</sub> ) |
| diamant               | 2.417  |

# Chirální metody

- Chiralita prostředí – různé vlivy na složky záření
- Absorpční
  - CD
- Disperzní
  - Optická otáčivost
  - ORD
- Disperze závisí na  $\nu$  ( $\lambda$ ), odvozená veličina vynesená proti  $\lambda$  dává disperzní spektrum

# Spektrum

- Zastoupení fotonů podle energie
- Využití ke studiu různých oblastí molekuly - nástroje analýzy vzorku



# Charakteristiky záření

| Rozsah vlnových délek                        | Druh záření  | Zdroj v přírodě                                   | Umělý zdroj                     |
|--|--|---|---------------------------------|
| $\lambda < 10^{-12} \text{ m}$               | záření gama  | reakce elementárních častic<br>děje v jádře atomu | betatrony, cyklotrony, reaktory |
| $\lambda \in (10^{-12}; 10^{-11}) \text{ m}$ | rentgenové záření tvrdé                                    | děje v elektronovém obalu atomu                   |                                 |
| $\lambda \in (10^{-11}; 10^{-10}) \text{ m}$ | rentgenové záření měkké                                    |   |                                 |
| $\lambda \in (10^{-10}; 10^{-9}) \text{ m}$  | rentgenové záření mezní                                    |   |                                 |
| $\lambda \in (10^{-9}; 10^{-8}) \text{ m}$   | ultrafialové záření<br>vakuumové                           |   |                                 |
| $\lambda \in (10^{-8}; 10^{-7}) \text{ m}$   | ultrafialové záření blízké                                 |   |                                 |
| $\lambda \in (10^{-7}; 10^{-6}) \text{ m}$   | světlo   | kmity molekul                                     | rozžavená vlákna                |
| $\lambda \in (10^{-6}; 10^{-5}) \text{ m}$   | infračervené záření<br>mikrovlnné                          | reakce molekul                                    |                                 |
| $\lambda \in (10^{-5}; 10^{-4}) \text{ m}$   | infračervené záření vzdálené                               |   | teplné zdroje                   |
| $\lambda \in (10^{-4}; 10^{-1}) \text{ m}$   | mikrovlny  | kmitavý pohyb<br>elektronů                        | elektronické oscilátory         |
| $\lambda \in (10^{-1}; 10) \text{ m}$        | televizní a rozhlasové vlny<br>s frekvenční modulací (VKV) |   |                                 |
| $\lambda \in (10; 10^2) \text{ m}$           | rozhlasové vlny<br>s amplitudovou modulací (KV)            | atmosférické výboje                               |                                 |
| $\lambda \in (10^2; 10^3) \text{ m}$         | rozhlasové vlny<br>s amplitudovou modulací (SV)            |   | elektrické obvody               |
| $\lambda \in (10^3; 10^4) \text{ m}$         | rozhlasové vlny<br>s amplitudovou modulací (DV)            |   |                                 |
| $\lambda > 10^4 \text{ m}$                   | nízko frekvenční vlny;<br>technické frekvence              |   |                                 |

tab. 3