

VIS a UV-VIS spektrofotometrie a její současné aplikační využití

David Petráš



pragolab

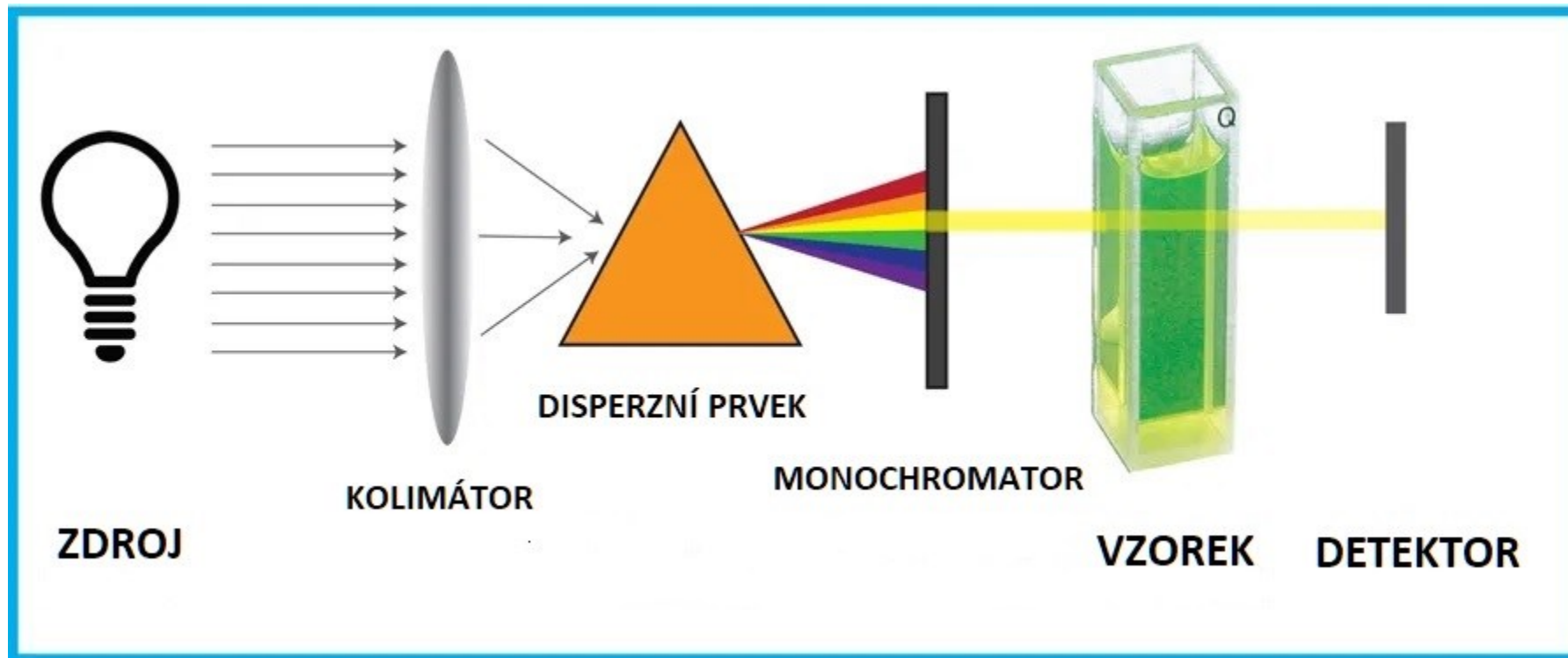
VIS a UV-VIS spektrofotometrie a její současné aplikační využití

O čem to bude?

- 1. Trocha teorie**
- 2. Příklady aplikací**
- 3. Příklady instrumentace Pragolab – Thermo**
- 4. Vaše otázky**

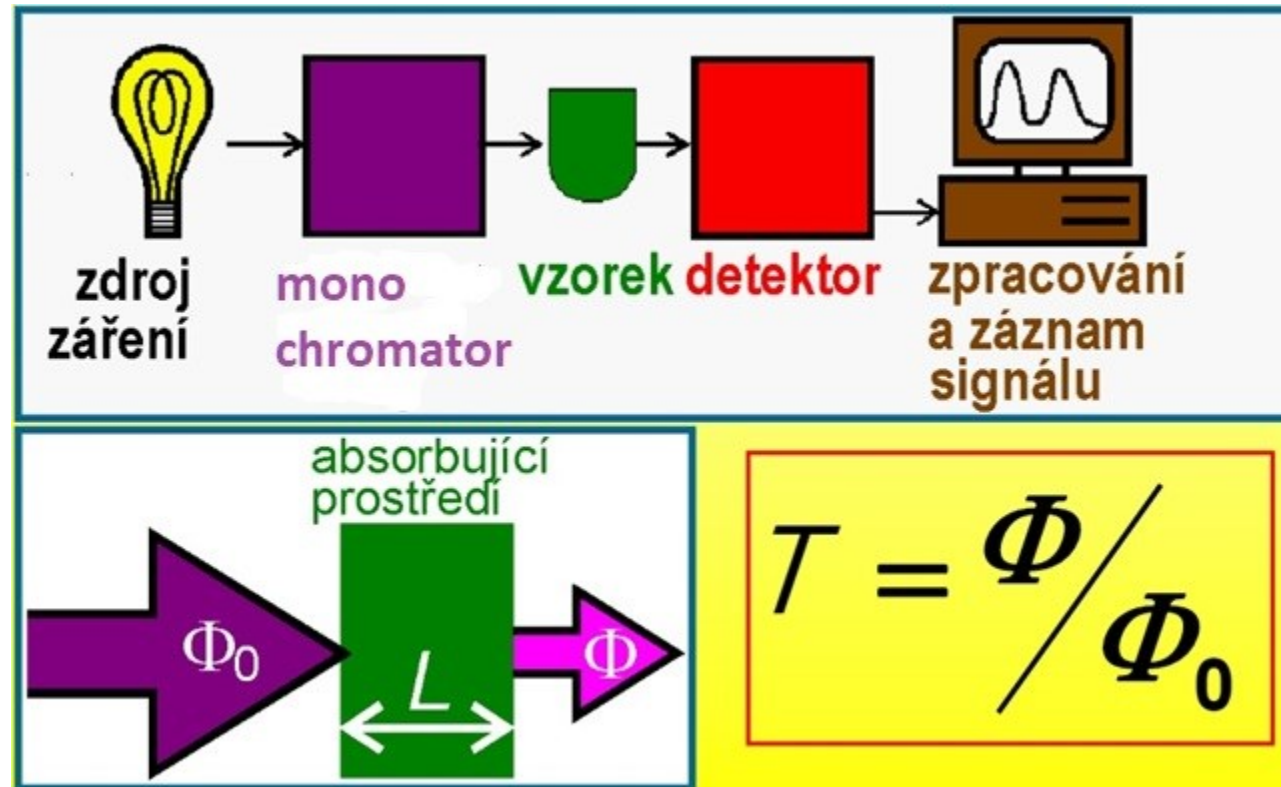
1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Absorpční spektrofotometrie – základní schéma



1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Absorpční spektrofotometrie - Lambert-Beer



1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Absorpční spektrofotometrie - Lambert-Beer

- základní veličiny

PROPUSTNOST

$$T_{\lambda} = \frac{\Phi_{\lambda}}{\Phi_{\lambda 0}}$$

ABSORBANCE

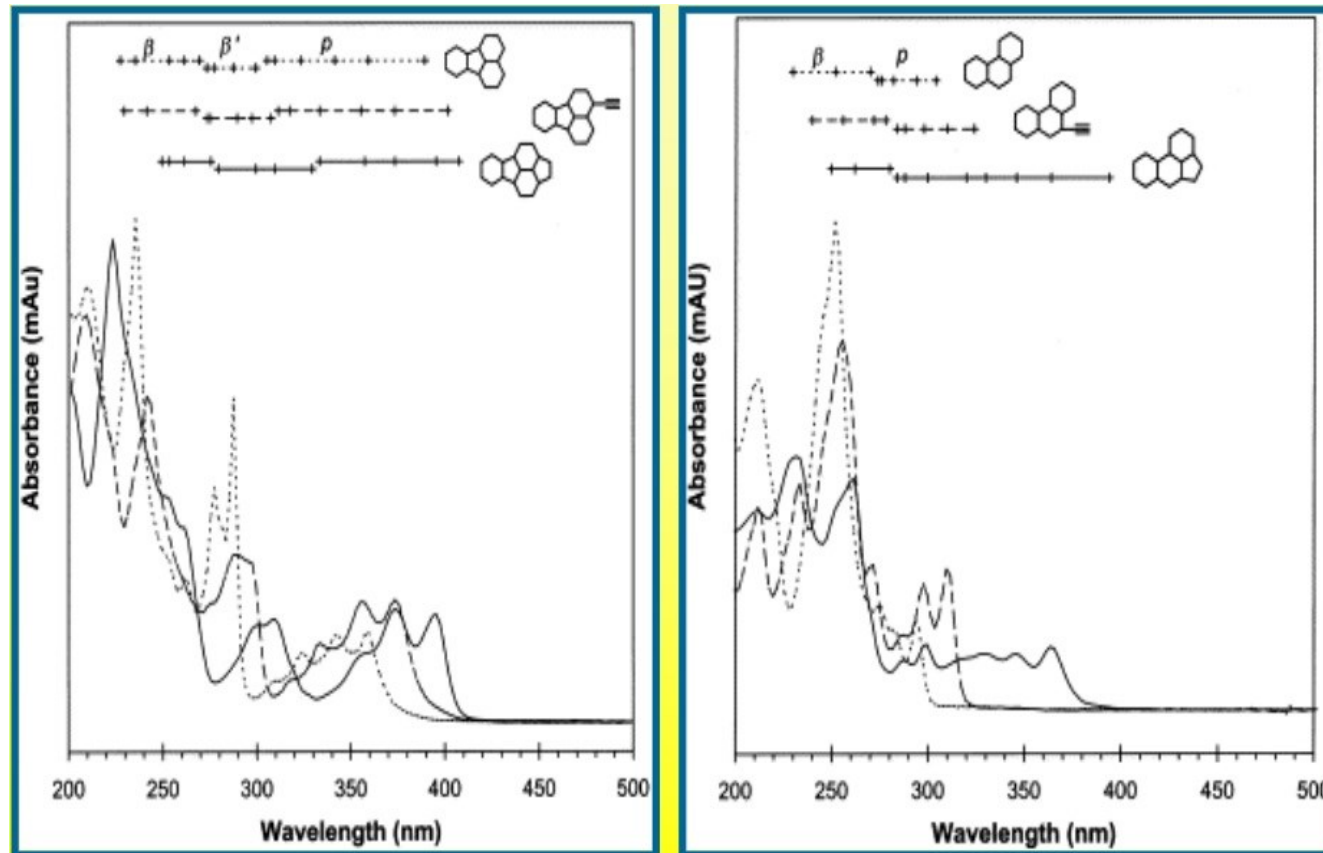
$$A_{\lambda} = -\log T_{\lambda}$$

MOLÁRNÍ
ABSORPČNÍ
KOEFIČIENT

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} b c$$

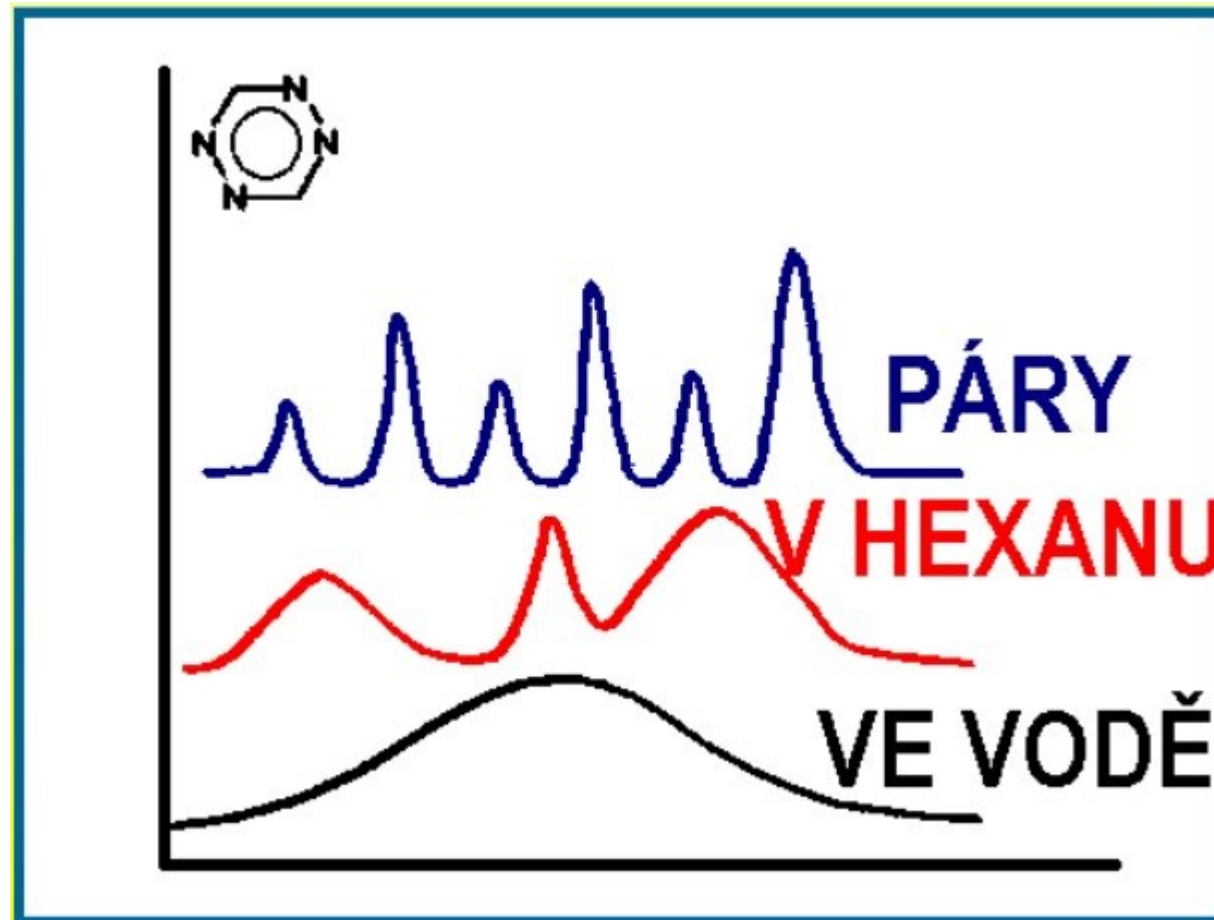
1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Absorpční spektrofotometrie - příklad UV absorbance



1. Spektrofotometrie - trocha teorie

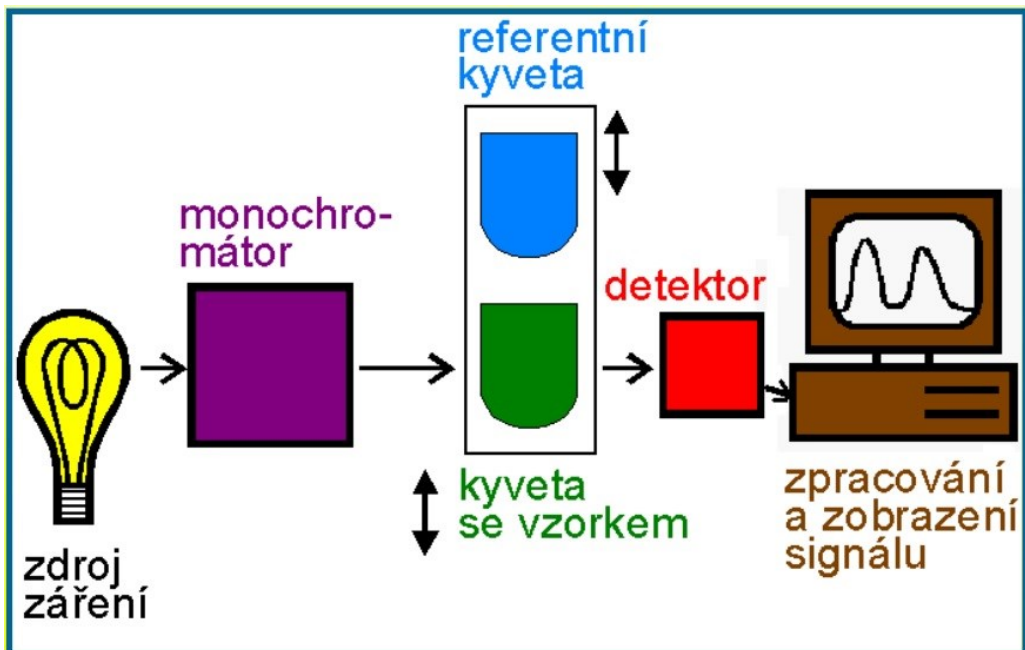
Absorpční spektrofotometrie – vliv rozpouštědel



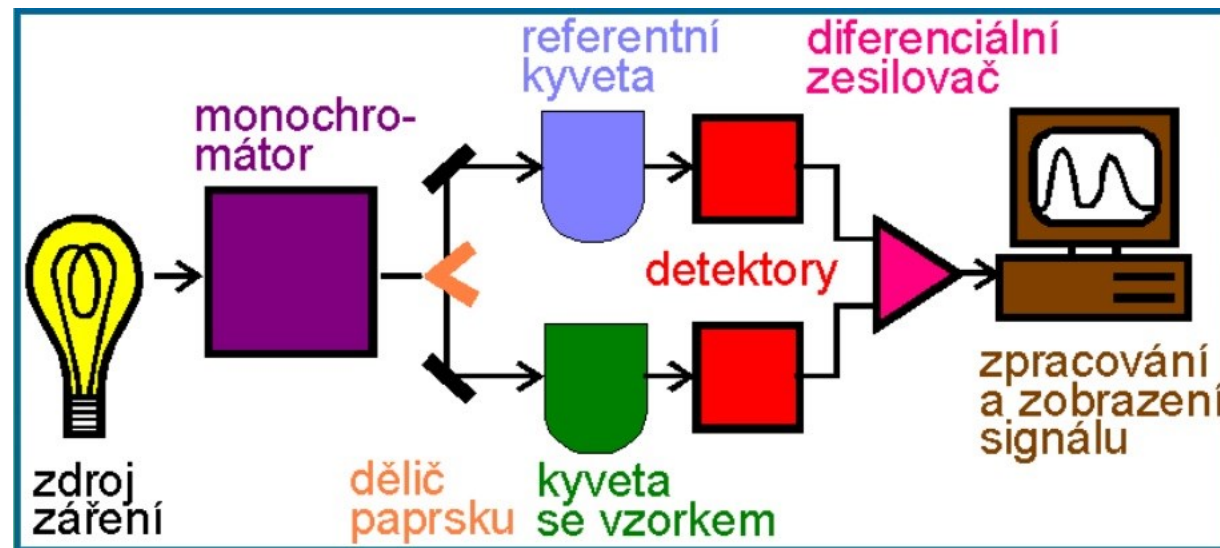
1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Absorpční spektrofotometrie – schéma instrumentace

A. Jednopaprskové uspořádání

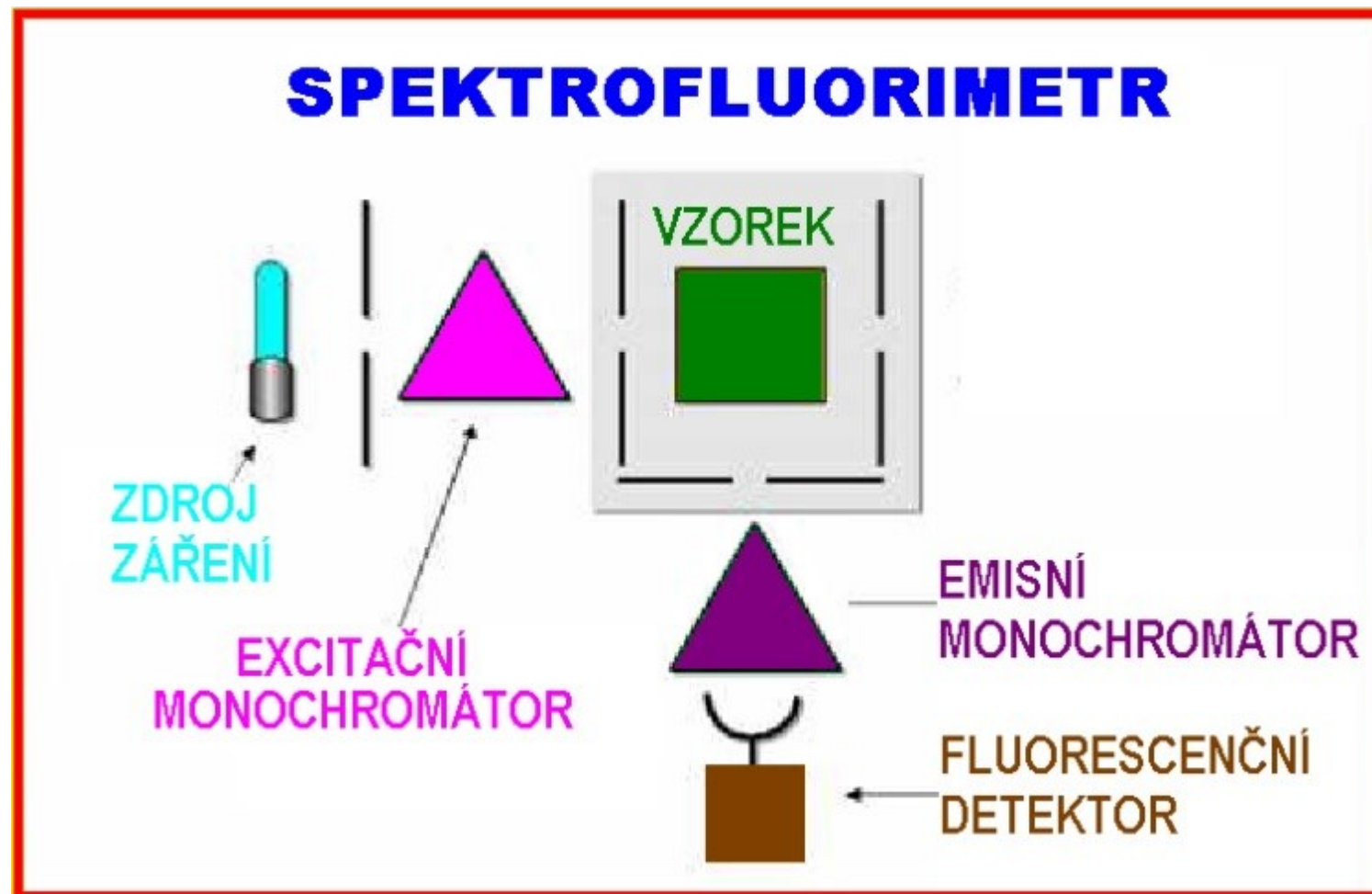


B. Dvoupaprskové uspořádání



1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Fluorimetrie - luminiscence



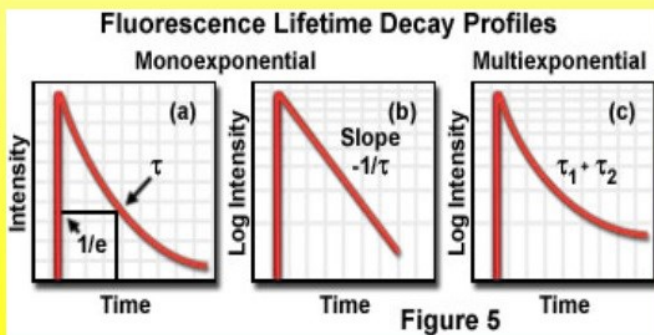
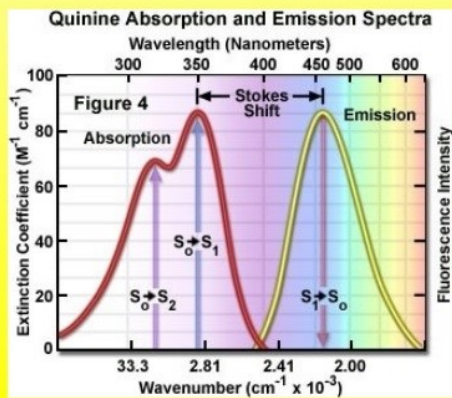
1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Fluorimetrie - luminiscence

Fluorescence a fosforescence

• FLUORESCENCE

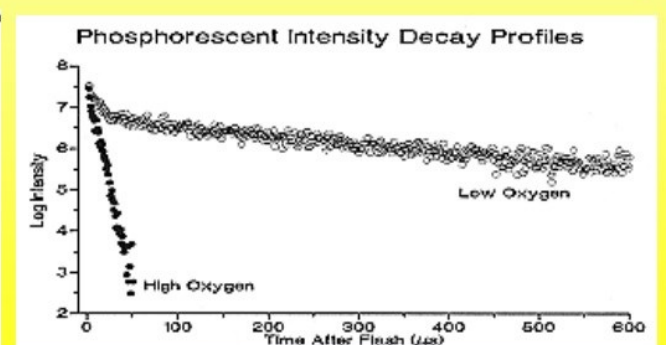
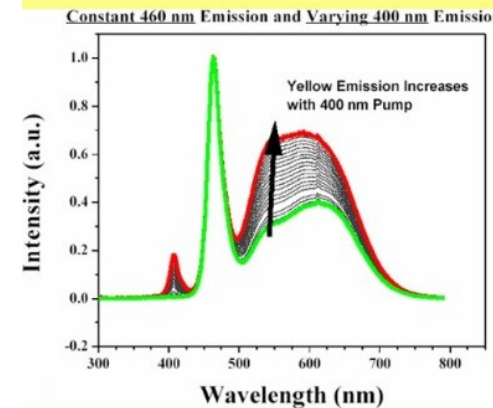
- luminiscence s krátkým dosvitem
 - spinově dovolený přechod - bez změny orientace elektronového spinu



Fluorescence a fosforescence

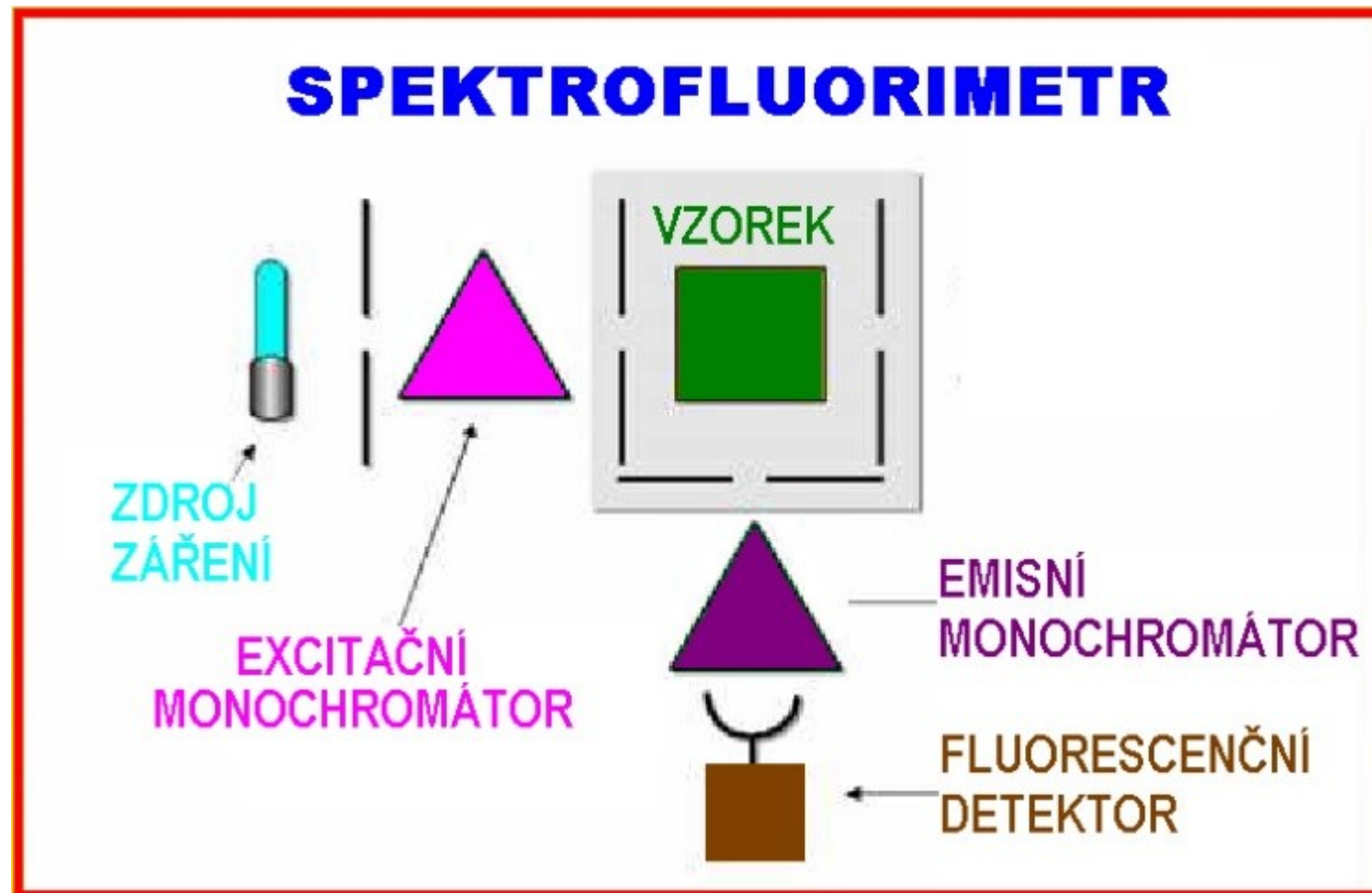
• FOSFORESCENCE

- luminiscence s dlouhým dosvitem
 - spinově zakázaný přechod - změna orientace elektronového spinu
 - možný díky spin-orbitální interakci



1. Spektrofotometrie - trocha teorie

Fluorimetrie - příklad UV absorbance



2. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady aplikací

Kvantitativní spektrometrie - specifické aspekty jednotlivých metod

MOLEKULOVÁ absorpční/reflexní spektrometrie

- VIDITELNÁ a UV oblast

- pásové spektrum - malý počet širokých pásů

- většinou v absorpčním módu

ANALÝZA ANORGANICKÝCH SOLÍ - UV oblast

ANALÝZA ORGANICKÝCH LÁTEK

ANALÝZA KOORDINAČNÍCH SLOUČENIN

ANALÝZA PRODUKTŮ ENZYMATICKÝCH REAKCÍ

2. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady aplikací

Fluorescence a fosforescence

MOLEKULOVÁ emisní spektrometrie

- **VIDITELNÁ a UV oblast** - fluorescence a fosforescence
- stacionární spektra

PŘÍMÉ METODY - stanovení PAH

- **stanovení hemoproteinů**
- **stanovení vitamínů**
- **stanovení steroidů**

2. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady aplikací

Fluorescence a fosforescence

MOLEKULOVÁ emisní spektrometrie

- **VIDITELNÁ a UV oblast** - fluorescence a fosforescence
 - stacionární spektra
 - **pásové spektrum** - malý počet širokých pásů
 - kvantový výtěžek fluorescence
 - samoabsorpce
 - **zhášení rozpouštědlem či „zhášedly“** - quenching

STANOVENÍ NÍZKÝCH OBSAHŮ PŘEDEVŠÍM ORGANICKÝCH LÁTEK

$$\Phi_F = k \varphi \Phi_0 (1 - 10^{-\varepsilon bc})$$

2. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady obecně

1. Přírodovědné disciplíny na akademické půdě (chemie, biologie, medicína apod.)
2. Potravinářství a zemědělství (výzkum, vývoj, výroba)
3. Materiálové inženýrství (výzkum – vývoj, výroba)
4. Optické součástky (výzkum – vývoj , výroba)
5. Farmacie (výzkum – vývoj, vývoj, výroba)
6. Petrochemie (výroba)
7. Kosmetický průmysl (výzkum – vývoj, výroba)
8. Lékařství (výzkum – vývoj, diagnostika)
9. Vodohospodářství (kontrola)
10. Obecně kontrola kvality (navazuje na všechny výše uvedené)

3. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady instrumentace – Thermo – historie je opravdu dlouhá

1940 UNICAM SP 500
1987 Pye UNICAM PU-8700
2000 TS Genesys 10
2010 TS Evolution 2xx
Atd.



3. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady instrumentace – Thermo

Příklady nejjednodušších přístrojů vhodných pro výuku a kontrolu kvality ve VIS oblasti spektra



Genesys 30 : rozsah 325-1100 nm, SBW \leq 8 nm , zdroj světla : TH lampa , s i bez termo . Tiskárny, testování barevnosti piva



Spectronic 200: rozsah 340-1000 nm, SBW \leq 4 nm , zdroj světla: TH lampa, scan : 400 – 900 nm/ 10 sec , USB



Genesys 10S VIS: rozsah 325-1100 nm, SBW = 5 nm, zdroj světla TH lampa , scan: 10-4200 nm / min. 6/1 místný karusel, USB

3. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady instrumentace – Thermo

GENESYS platforma

– stroje pro jednoduché až složitější využití



Description		GENESYS 30	GENESYS 40	GENESYS 140	GENESYS 50	GENESYS 150	BioMate 160	GENESYS 180	
Optical Design		Single Beam	Dual Beam			Double Beam			
Spectral Bandwidth		5 nm			2 nm				
Light source (Typical Lifetime)		Tungsten-Halogen (>1000 hours)			Xenon Flash Lamp (>5 years typical, 3 years guaranteed)				
Detector		Silicon Photodiode	Dual Silicon Photodiodes						
Wavelength	Range	325–1100 nm			190–1100 nm				
	Accuracy	±2 nm				±0.5 nm			
	Repeatability	<±1 nm				<±0.2 nm			
	Scan Speed	Automatic—up to 1200 nm/min	Automatic—up to 1800 nm/min			Slow, medium and fast (up to 1600 nm/min)			
	Data Resolution	1 nm				0.2 nm, 0.5 nm, 1 nm, 2 nm, 5 nm			
Photometric	Range	–3A to +3A	–3A to +3.5A		–2A to +3.5A				
	Display	–3A to +3A, 0 to 200 000 %T, 0 to 9 999 999 C				–3A to +5A			
	Accuracy	±0.002A (0–0.3A) 0.5% of ABS reading (0.301A – 2.5A)				±0.002A at 0.5A ±0.004A at 1.0A ±0.008A at 2.0A			
	Repeatability ¹	±0.002 A				±0.001A at 1A			
	Noise ²	≤0.001A at 0A ≤0.001A at 1A ≤0.002A at 2A				≤0.00020A at 0A at 260 and 500 nm ≤0.00030A at 1A at 260 and 500 nm ≤0.00040A at 2A at 260 and 500 nm			
	Drift ³	<0.002A/Hr	<0.0010A/Hr		<0.0005A/Hr				
Stray Light		<0.1%T at 340 nm and 400 nm	<0.05%T at 340 nm and 400 nm		< 1.0%T 198 nm (KCl) , <0.05%T at 220 nm (NaI), <0.03%T at 340 nm (NaNO ₂)				
Baseline Flatness		<0.003A	±0.005A		±0.002A				

3. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady instrumentace – Thermo GENESYS 10 platforma - příslušenství



PC software : VISION/ite, Enlab, Color calc , MaterialsCalc

3. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady instrumentace – Thermo EVOLUTION 2xx a 3xx platforma

– stroje pro nejsložitější aplikace s vysokými nároky na vlastnosti software umožňující přísnou kontrolu kvality a správné laboratorní praxe



Parametr	Spektrofotometr			
	EVOLUTION 201/220	EVOLUTION 300 UV/VIS	EVOLUTION 350 UV/VIS	EVOLUTION 600
optický systém	double beam	dual beam	dual beam	dual beam
SBW (nm)	1,0	Variable 0,5; 1,0 1,5; 2,0; 4,0	Variable 0,5; 1,0 1,5; 2,0; 4,0	Variable 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0
zdroj světla	Xe flash lamp	Xe flash lamp	Xe flash lamp	Deuterium and halogen lamp
rozsah (nm)	190 - 1100	190-1100	190-1000	190-900
řízení spektrometru	PC	PC	PC	PC
scan	< 1 – 6000 nm/min, variable	1 – 3800 nm/min	1 – 6000 nm/min, variable	1 - 3800 nm/min
USB	ano	ano	ano	ano

3. Spektrofotometrie VIS a UV oblast - příklady instrumentace – Thermo

EVOLUTION 2xx a 3xx platforma Příslušenství



Děkuji za pozornost

www.pragolab.cz

linkedin.com/company/pragolab-s-r-o-