

SPECIÁLNÍ METODY

Petr Zbořil

Speciální metody

- Zákalové
 - Turbidimetrie
 - Nefelometrie
- Reflexní fotometrie
- Další – difrakce apod. – dále

Rozptyl světla

- Rozptyl – koloidní roztoky, suspence (Tyndallův efekt)
 - lom a odraz na částicích
 - λ se nemění, ale ovlivňuje intenzitu rozptylu
 - Homogenní – ideální kapalina
 - Nehomogenity – reálné kapaliny, roztoky – fluktuace
 - světlo se polarizuje
- Prošlé světlo se zeslabí jak absorpcí (nemusí být žádná), tak rozptylem ($\Sigma E_o = \Sigma E_p + \Sigma E_r + \Sigma E_a$)
- $I_r = f(v^4)$ Rayleigh
- modré se rozptyluje víc – bílé světlo mění barvu

Turbidimetrie

- **Turbidimetrie** – měření prošlého světla

$$\text{turbidance} \quad T = \log (I_0/I) = k \cdot c \cdot l \cdot d^3 / (d^4 + \alpha \cdot \lambda^4)$$

k – povaha částic, způsob měření, d – průměr částic, α – závisí na metodě

- Obdoba L-B zákona (parametry konstantní)
 - odchylka k ose c, není-li monochromatické světlo
- Měření spektrofotometry
 - vysoká citlivost, obtížná reprodukovatelnost

Nefelometrie

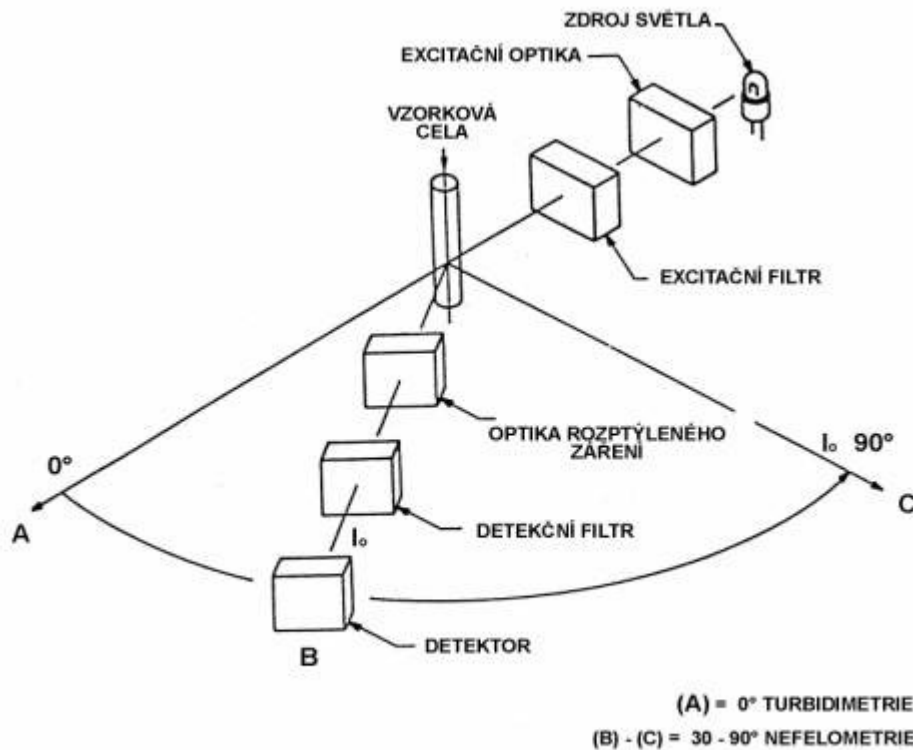
- **Nefelometrie** – měření rozptýleného světla
 - jednoduché
 - složité provedení (určování velikosti a tvaru částic)
- Měření
 - nefelometrický nástavec k fotometru, světlo se sleduje pod úhlem 90°
 - speciální přístroje - nefelometry – automatická měření

Nefelometrie

- **Konvenční nefelometry**
 - zdrojem halogenová žárovka nebo xenonová výbojku
 - interferenční filtr
 - detektor je nastaven pod úhlem 70 až 90° (stupeň směrovosti světla z konvenčního zdroje je nízký)
- **Laserový nefelometr**
 - zdrojem je helium-neonový laseru
 - monochromatické světlo mimořádně intenzivní a má vysoký stupeň směrovosti
 - detektor nastaven pod úhlem 5 až 35°
- Nefelometry mohou měřit také rychlost změny rozptylu světla - **kinetiku**, která je přímo úměrná rychlosti vzniku imunokomplexu antigen-protilátka.

Schema přístroje

- Turbidimetr a nefelometr

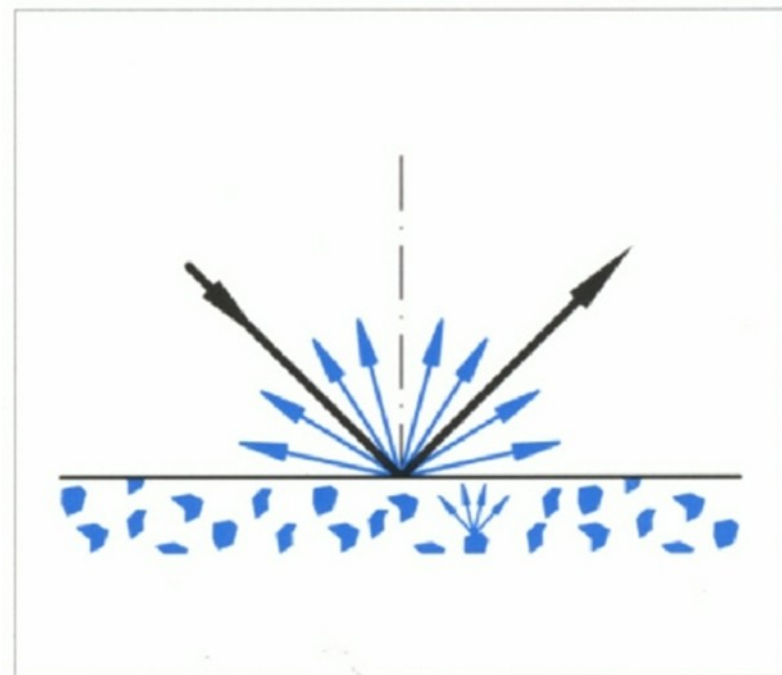
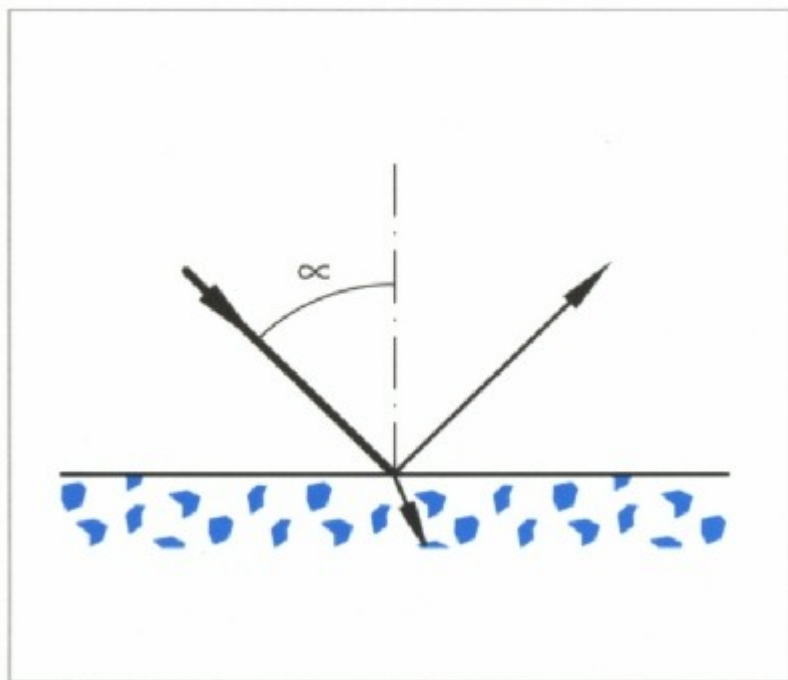


Reflexní fotometrie

- Odraz světla od povrchu
- Závisí na typu povrchu
 - Lesklé x matné, kovy x textil, papír
 - Svrchní vrstva x spodní
 - Charakter povrchu – dílčí plošky
 - Výběr dle účelu – typ odrazu
 - Speciální užití – fyzika kovů, papírenství, scannery
 - (Bio)chemie – jednoduchý odraz x vícevrstevný

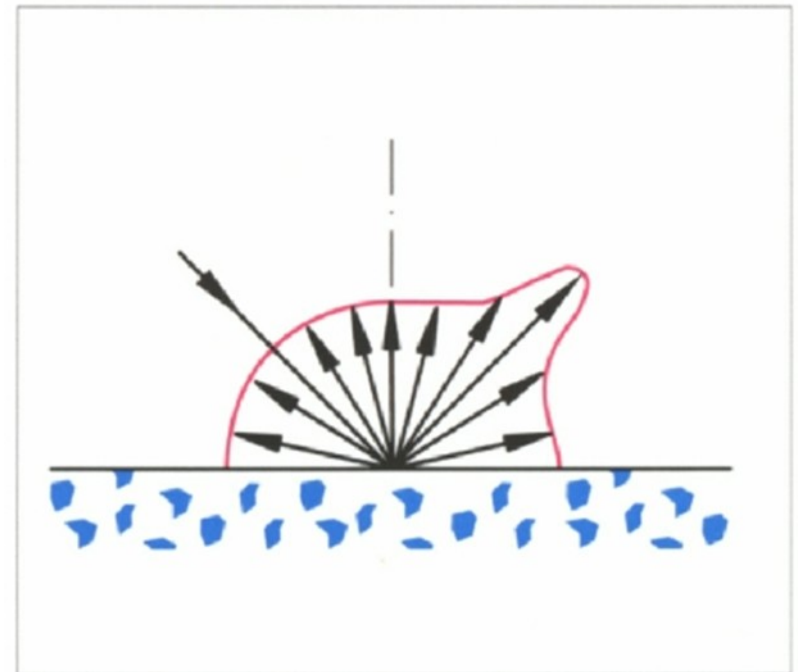
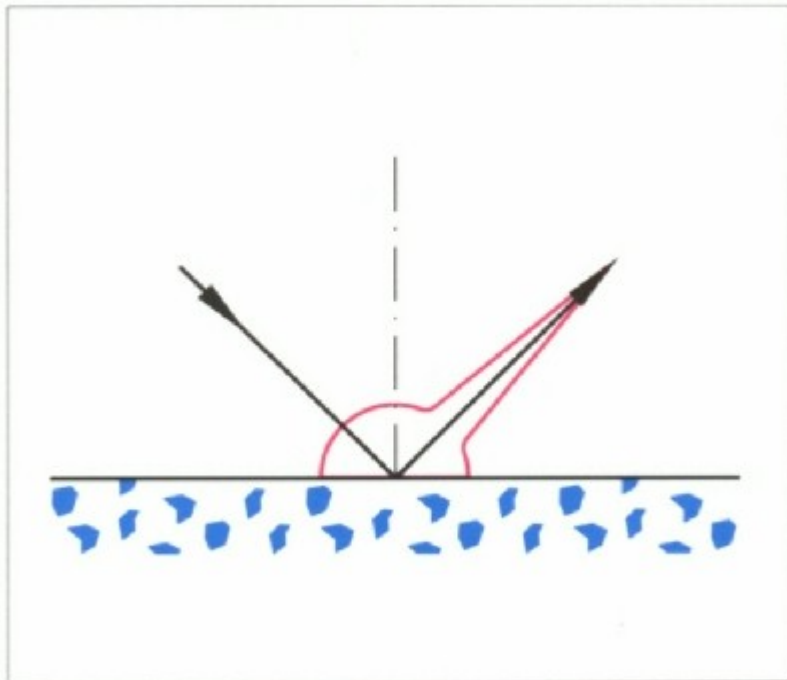
Reflexní fotometrie

- Jednoduchý odraz první vrstvou – charakter povrchu – lesklý x matný



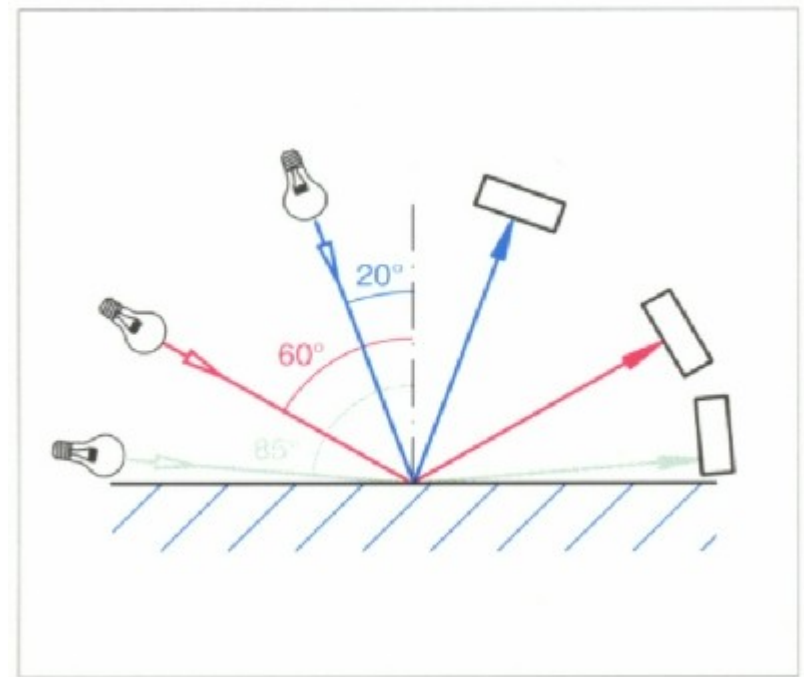
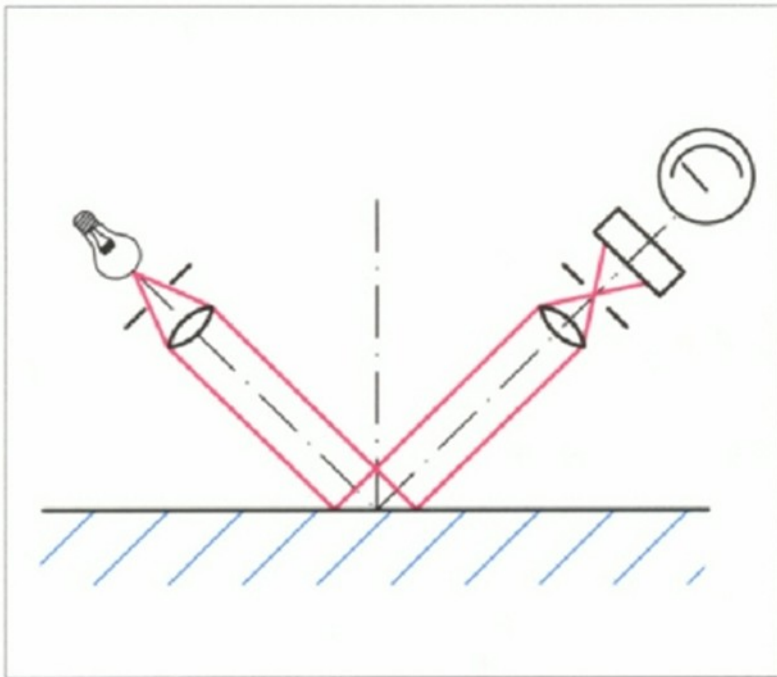
Reflexní fotometrie

- Rozložení intenzit



Reflexní fotometrie

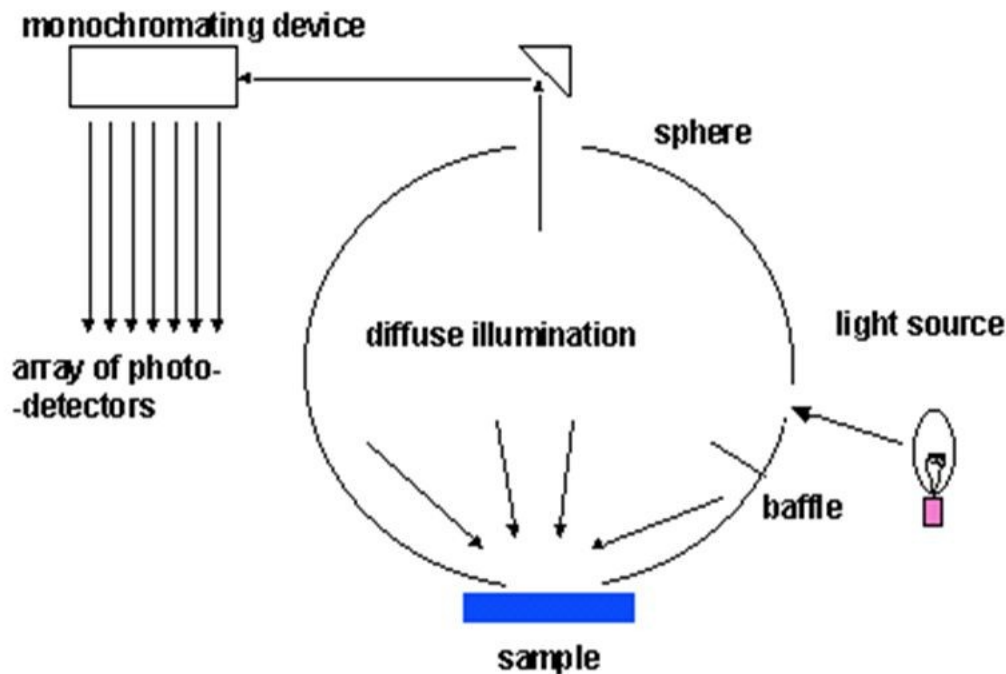
- Jednoduché schema
 - Volba úhlu podle povrchu – ev. naopak



Reflexní fotometrie

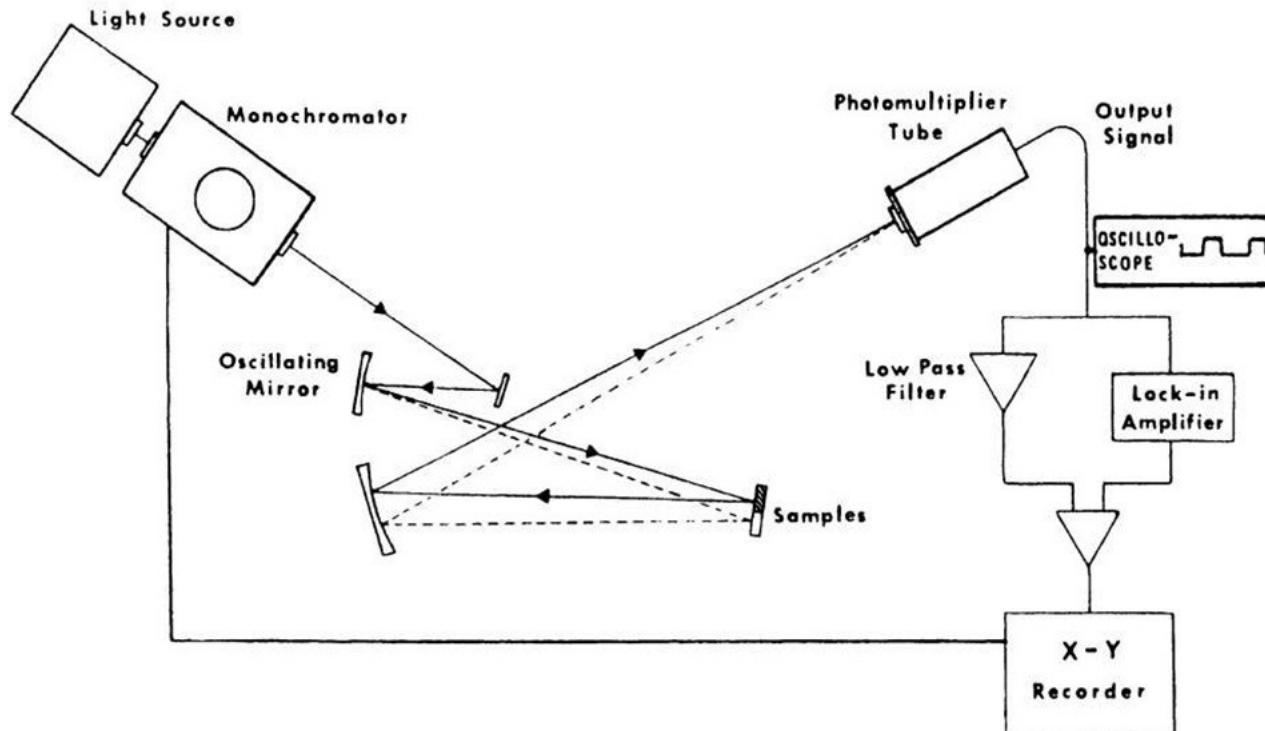
- Schema přístroje s vydutým zrcadlem

reflectance spectrophotometer



Reflexní fotometrie

- Schema přístroje pro diferenční reflektometrii



Reflexní fotometrie

- Měření odraženého světla prvním povrchem
- Reflektance
 - $R = I_o/I_d$
 - Závisí na n , k (absorpce), Θ , polarizaci
- Využití v biochemii
 - Semikvantitativní analýza – kalibrace
 - Vyhodnocení neprůhledných matric (elfo, papír)
 - Reakce suché chemie

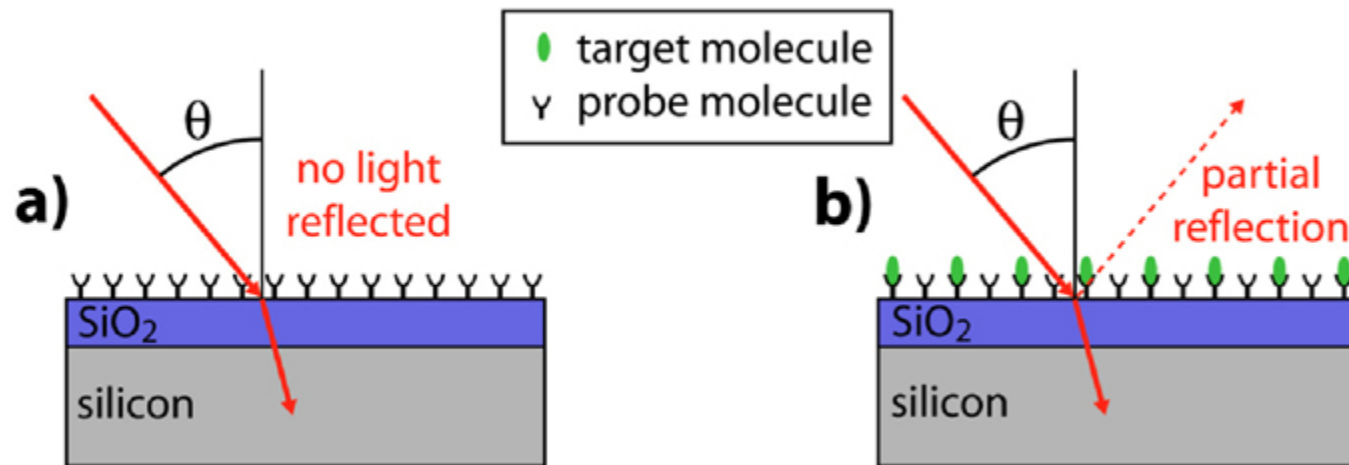
Reflexní denzitometr

- Příklad na vyhodnocení proužků – analýza moči
- Využití
 - urobilinogen
 - bilirubin
 - ketolátky
 - krev
 - bílkovina
 - nitrity
 - leukocyty
 - glukóza
 - specifická hmotnost
 - pH
 - kyselina askorbová - pouze proužky URISTIK H11
 - mikroalbumin - pouze proužky URISTIK H11-MA



Reflexní fotometrie

- ELISA

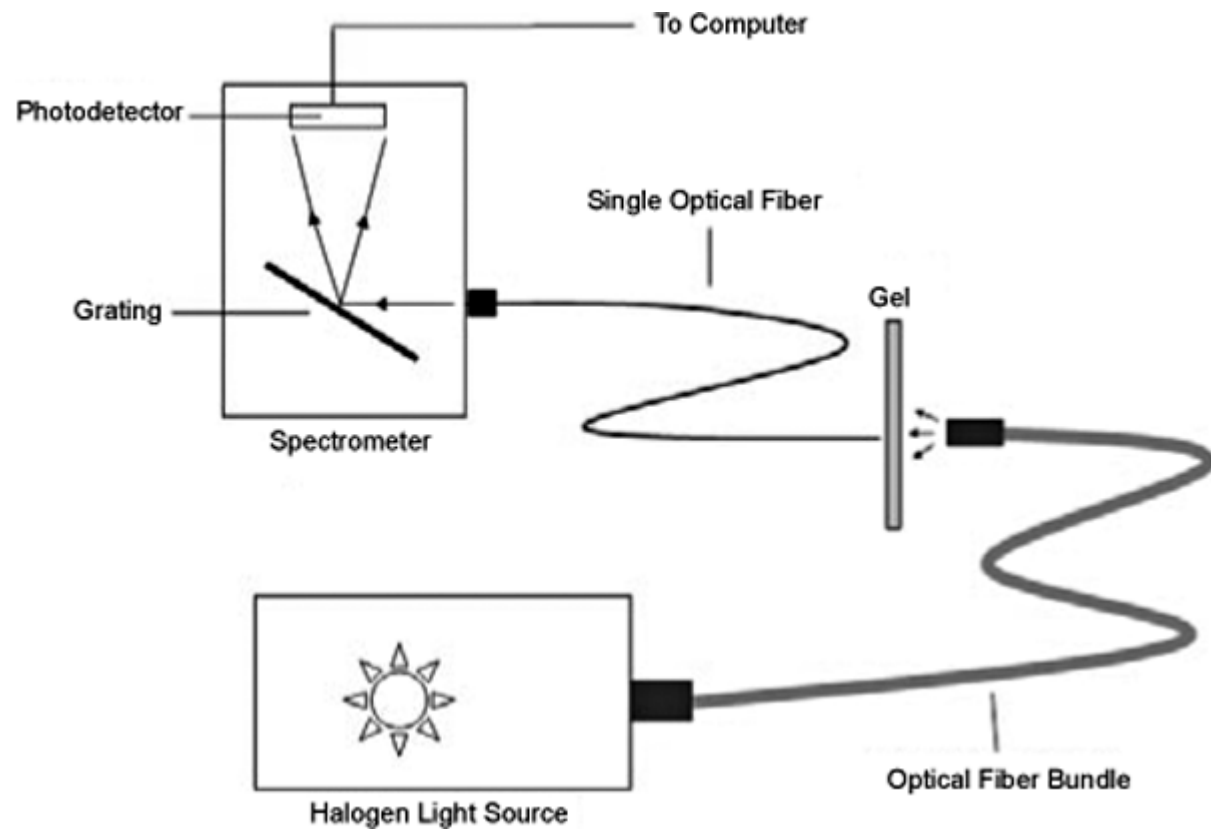


Denzitometrie - transmisní

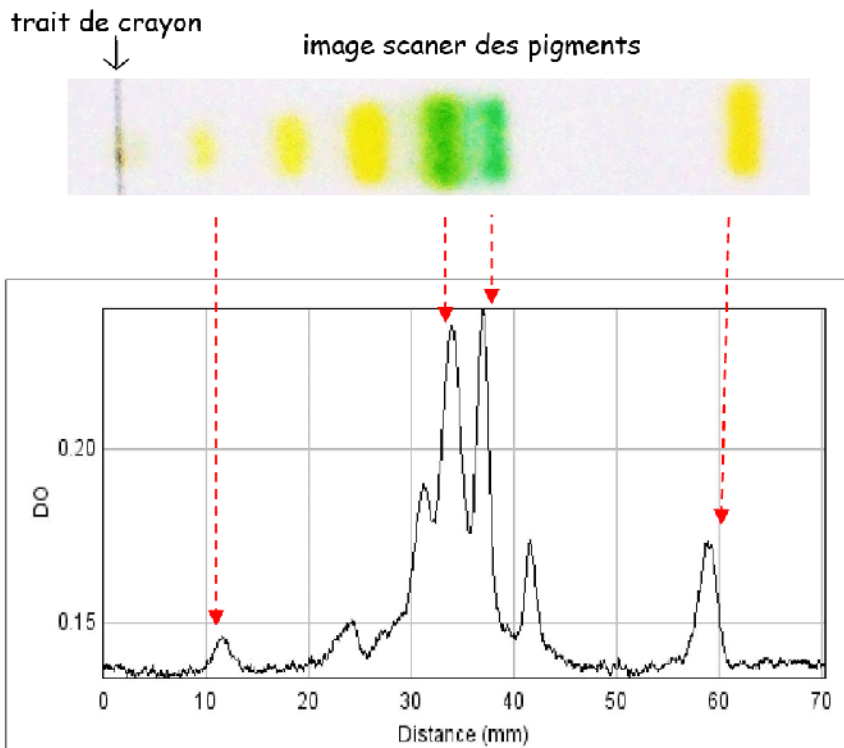
- Denzitometry
 - Žárovka s filtrem, LED
 - Vyduté zrcadlo – soustředění paprsků na detektor
 - Skleněná vlákna
 - Scanner – filmy
- Využití v biochemii
 - Semikvantitativní analýza
 - Vyhodnocení průhledných matric (elfo, gely)
 - Reakce suché chemie

Denzitometrie - transmisní

- Schema přístroje

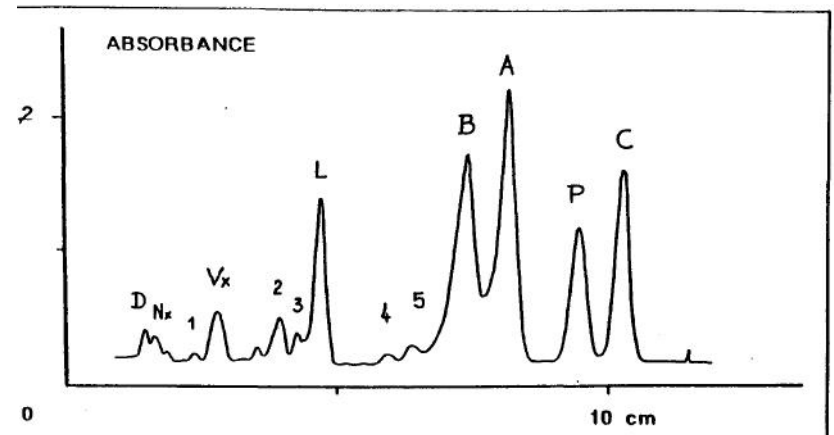


Densitometrie listových barviv



après analyse à l'aide d'un logiciel de densitométrie

www.ufo-science.com



3. 2 - Chromatogramme d'extrait pigmentaire de la 1ère série (Phase chloroforme sans révélation- Photomètre Vernon PHI-5 - lumière blanche).

- = Dépôt (chlorophyllides + phéophorbides + tannins) L = Lutéine
- = Méthyl chlorophyllides 2 = Protochlorophyllides B = chlorophylle B
- = type lutéine-époxyde ou Zéaxanthine A = chlorophylle A
- = type cryptoxanthine ou carotène-époxyde P = Phéophytines
- = Oxy-chlorophylles C = B carotène
- = Néoxanthine Vx = Violaxanthine