

## Specializace **Analytická chemie**

Státní závěrečná zkouška sestává ze tří povinných předmětů, přičemž první z nich je povinný pro všechny specializace studijního programu Chemie.

- Metody chemického výzkumu
- Spektroskopické metody
- Analytické instrumentální metody

Zkouška klade důraz na důkladné porozumění souvislostem a poznatkům získaným absolvováním povinných a povinně volitelných kurzů magisterského studia, přihlédnuto je ke specializaci kandidáta, dané zaměřením jeho diplomové práce. Rámcové okruhy témat ke státní závěrečné zkoušce jsou uvedeny níže. Součástí státní závěrečné zkoušky je též obhajoba diplomové práce, při níž má uchazeč prokázat schopnost prezentovat získané výsledky a orientovat se v problematice specializované oblasti i širší disciplíny na současné odborné úrovni. Obhajoba diplomové práce má formu ústní prezentace, během níž uchazeč seznámí komisi a posluchače s tématem a cíli práce, řešenými problémy, použitými metodami a získanými výsledky. Odpovídá na připomínky a dotazy obsažené v posudcích vedoucího a oponenta práce a reaguje na dotazy vznesené v průběhu diskuse.

## Okruhy otázek:

### 1. Metody chemického výzkumu

Obsah předmětu vychází zejména z kurzů C5020 Chemická struktura a C5060 Metody chemického výzkumu. Student by měl ovládat fyzikálně-chemickou podstatu následujících technik a jejich využití pro stanovení struktury anorganických, organických a biologicky významných látek:

- Metody založené na absorpci gama záření (Mössbauerova spektroskopie).
- Metody založené na difrakci elektronů, neutronů a rentgenového záření (difrakční metody).
- Metody založené na absorpci rentgenového a ultrafialového záření a na absorpci elektronů (fotoelektronová a Augerova spektroskopie, rentgenová fluorescenční analýza).
- Metody založené na absorpci ultrafialového a viditelného záření (elektronová spektroskopie). Absorpce a emise UV a VIS záření pro atomy a molekuly – typy elektronových přechodů, Franckův-Condonův princip, výběrová pravidla, elektronová spektra anorganických a organických sloučenin, luminiscence, fluorescence, fosforescence, Jablonského diagram, vyhasínání luminiscence, typy přechodů/excitace.
- Metody založené na absorpci infračerveného a mikrovlnného záření (spektra rotační, vibrační a rotačně-vibrační). Princip vzniku infračervených spekter – blízká, střední a vzdálená oblast, dipólový moment a symetrie molekul. Molekulová vibrační spektroskopie, harmonický a anharmonický oscilátor, energie vibračních hladin, translační, rotační a vibrační stupně volnosti, vibrační kvantová čísla, typy normálních vibrací, přechody mezi energetickými hladinami, výběrová pravidla, valenční a deformační vibrace. Interpretace vibračních spekter, empirická pravidla, charakteristické frekvence. Mikrovlnná spektroskopie.
- Molekuly v elektrickém poli (permitivita dielektrika, polarizovatelnost, indukovaná a orientační polarizace, indukovaný a permanentní elektrický dipólový moment, měření dipolových momentů, mezimolekulární interakce). Metody založené na rozptylu elektromagnetického záření (Rayleighův/Ramanův, resp. pružný/nepružný rozptyl). Ramanova spektroskopie – polarizovatelnost, Stokesovy a anti-Stokesovy přechody. Turbidimetrie a nefelometrie.
- Přechod světla látkami (lom světla, index lomu a molární refrakce, Snellův zákon, měření indexu lomu, vliv elektrického pole, Kerrův efekt, polarizované světlo – vznik a vlastnosti). Optická aktivita, specifická otáčivost, Cottonův efekt, optická rotační disperze, cirkulární dichroismus, optická otáčivost a struktura.
- Molekuly v magnetickém poli (magnetická indukce, magnetizace, permanentní magnetický dipólový moment, anizotropie magnetické susceptibility, diamagnetika, paramagnetika a ferromagnetika). Metody založené na absorpci mikrovlnného a radiofrekvenčního záření látkami v magnetickém poli (elektronová paramagnetická a nukleární magnetická rezonanční spektroskopie). Základní pojmy v EPR spektroskopii – podmínka rezonance, Landého g-faktor, hyperjemné štěpení. Základní pojmy v NMR spektroskopii – jaderný spin, magnetogyrický poměr, Larmorova frekvence, stínící konstanta, diamagnetické a paramagnetické stínění, parametry ovlivňující stínící konstantu, chemický posun a jeho korelace, chemická ekvivalence a symetrie molekul, relaxace – relaxační časy  $T_1/T_2$ , relaxační mechanismy, dynamická NMR spektroskopie, chemická výměna.
- Hmotnostní spektrometrie – ionizace nárazem elektronů a chemická ionizace, analýza a detekce iontů, hmotnostní spektrum, fragmentace iontů, metastabilní ionty.
- Metody termické analýzy. Základní metody termické analýzy (TGA, DTA, DSC, simultánní termická analýza). Rozšířená termická analýza (TG-FTIR-MS).
- Separační metody a jejich fyzikálně-chemické základy (extrakce, chromatografie plynová, kapalinová a superkritická, kolonová /planární chromatografie, preparativní/analytická chromatografie, princip separace a separační mechanismy).

- Elektromigrační techniky a jejich fyzikálně-chemické základy (elektroforéza, izotachoforéza, izoelektrická fokusace, elektroosmóza a elektroosmotický tok, elektroforetická pohyblivost, Kohlrauschova regulační funkce, samozaostřovací efekt).
- Elektroanalytické metody a základní pojmy (redoxní děj, elektroda a elektrodový potenciál – standardní, formální, absolutní; Fermiho energie, elektrochemický článek – polarizace elektrody a její přepětí podle Butlera/Volmera a Tafela). Potenciostatické/galvanostatické techniky, stacionární a nestacionární voltametrie, metody založené na úplné elektrolýze.

## 2. Spektroskopické metody

Obsah předmětu vychází zejména z kurzů C7031 Atomová spektrometrie, C7041 Molekulová spektrometrie. Student by měl ovládat fyzikálně-chemickou podstatu a instrumentální aspekty následujících technik a jejich využití pro kvalitativní, kvantitativní a strukturní analýzu jednotlivých anorganických, organických a biologicky významných látek, v jejich směsích a reálných vzorcích.

**Atomová spektrometrie.** Principy metod, typy a rozsahy spekter, fyzikální zákony, energetické veličiny, interakce záření s hmotou, klasifikace metod spektrální analýzy. Instrumentace, součásti analyzátorů, principy jejich funkcí a technické parametry. Optická emisní spektrometrie (OES) v UV-VIS oblasti: plamenová emisní spektrometrie (FES) molekul a atomů, oblouková a jiskrová OES, OES v indukčně vázaném plazmatu (ICP) a mikrovlnném plazmatu (MIP, CMP), výboje za sníženého tlaku v OES. Atomová absorpční spektrometrie (AAS). Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS). Elementární analýza s využitím rentgenových paprsků (absorpční/fluorescenční spektrometrie, RTG spektrometrie s buzením záření nabitými částicemi, elektronová mikrosonda, Mössbauerova spektroskopie. Příprava vzorku k analýze metodami atomové spektrometrie. Speciační analýza. Stopová analýza. Analýza pevných, kapalných a plyných vzorků, analýza povrchů, lokální analýza a mikroanalýza. Techniky vnášení vzorku do analyzátorů. Spektrální a nespektrální interference a jejich mechanismy, techniky korekce interferencí. Optimalizace metod spektrální analýzy. Analytické vlastnosti metod a jejich metrologické parametry. Zajištění jakosti výsledků. Aplikace metod atomové spektrometrie v analýze reálných vzorků: příklady, metodiky, výhody a nevýhody různých metod, jejich srovnání z hlediska metrologických parametrů a analytických vlastností. Detektory v separačních analytických metodách.

**Molekulová spektrometrie.** Principy metod, typy a rozsahy spekter, fyzikální zákony, energetické veličiny, interakce záření s hmotou. Klasifikace metod molekulové spektrometrie. Instrumentace, součásti analyzátorů, principy jejich funkcí a technické parametry. Spektrometrie: UV-VIS absorpční, s využitím rozptylu, luminiscenční, infračervená, Ramanova, mikrovlnná, magnetické rezonanční metody (NMR/EPR). Metody založené na měření změny směru a rychlosti šíření záření: refraktometrie, optická rotační disperze, cirkulární dichroismus. Spektra různých látek a efekty ovlivňující spektra. Analýza kapalných a plyných vzorků. Analýza pevných vzorků a povrchů. Aplikace metod molekulové spektrometrie v analýze reálných vzorků. Metody molekulové spektrometrie jako detekční systémy v kombinaci s dalšími analytickými metodami (separační/elektroanalytické metody).

**Hmotnostní spektrometrie.** Principy metod, typy a rozsahy hmotnostních spekter, fyzikální zákony, veličiny. Ionizační metody a metody zavádění vzorku: Ionizace elektronovým nárazem (EI). Chemická ionizace (CI). Doutnavý výboj. Indukčně vázané plazma (ICP). Ionizace rychlými atomy (FAB). Ionizace (SIMS). Thermospray (TSI). Elektrospray (ESI). Laserová Desorpce (LD). Plazmová Desorpce (PD). Laserová desorpce za účasti matrice (MALDI). Hmotnostní spektrometry, jejich součásti, technické parametry a vlastnosti. Základy iontové optiky. Energetické analyzátoary. Magnetický sektor. Kvadrupólový analyzátor. Iontový cyklotron (FT-ICR-MS). Iontová past (IT). Time-of-Flight hmotnostní spektrometr (TOF-MS). Kolizně indukovaná disociace (CID). Tandemová MS (MS/MS). Interference spektrální a nespektrální, jejich mechanismy a korekce. Analytické vlastnosti metod a jejich metrologické parametry. Zajištění jakosti výsledků. Spojení hmotnostní spektrometrie s analytickými metodami (separační/elektroanalytické techniky). Speciační analýza. Anorganická/organická hmotnostní spektrometrie – elementární, resp. strukturní analýza. Aplikace pro analýzu biomakromolekul (např. proteiny a peptidy, DNA, sacharidy, syntetické polymery, aj.)

**Spektroskopie s využitím laserového záření.** Principy laserové techniky, fyzikální zákony, vlastnosti laserového záření a jeho generování. Typy pulsních laserů: plynové, pevnolátkové, iontové, excimerové, polovodičové, chemické. Plynule laditelné lasery (barvivové, pevnolátkové). Optické čerpání, pulsní a kontinuální provoz, frekvenční a spektrální vlastnosti, konstrukce jednomódových laditelných laserů. Laserové záření a optické vlastnosti materiálů, průchod elektromagnetického záření hmotným prostředím, nelineární optika; absorpce záření v povrchových vrstvách pevných materiálů. Analytické aplikace s využitím vysoké koncentrace energie laserového paprsku: laserová ablace pro povrchovou a lokální analýzu materiálů v kombinaci s dalšími spektrálními metodami (AAS, ICP-OES, ICP-MS); laserová jiskra v emisní spektrometrii, MALDI TOF MS. Laserová spektrometrie nenasycených stavů: LEI, Ramanova, vysokorozlišovací absorpční spektrometrie v UV-VIS-IČ oblasti, optoakustická spektrometrie. Laserová spektrometrie nasycených stavů.

### 3. Analytické instrumentální metody (separační, elektroanalytické a jiné metody)

Obsah předmětu vychází zejména z kurzů C5350 Analytická chemie III, C7021 Separační metody A, C8022 Separační metody B, C7050 Elektroanalytické metody. Student by měl ovládat fyzikálně-chemickou podstatu a instrumentální aspekty následujících technik a jejich využití pro kvalitativní a kvantitativní analýzu jednotlivých anorganických, organických a biologicky významných látek, v jejich směsích a reálných vzorcích.

**Analytické separační metody.** Chromatografické metody: základní teorie a pojmy. Klasifikace chromatografických systémů a postupů. Základní teoretické modely popisující chromatografii. Retenční rovnice, teoretické patro, faktory ovlivňující separační účinnost, eluční poměr a rozlišení.

*Kapalinová chromatografie.* Teoretické základy kapalinové chromatografie (LC), fyzikálně-chemický popis procesů, stacionární a mobilní fáze. LC, přenos hmoty v LC, termodynamické a kinetické aspekty separace. Klasifikace separačních mechanismů v LC (LLC, LSC, IC, GPC). Extrakce kapalina-kapalina, kapalina-pevná látka. Extrakční rovnováha. Před-analytická příprava vzorku: SFE (extrakce nadkritickými tekutinami), ASE (urychlená extrakce rozpouštědlem), MAE (extrakce pomocí mikrovlnného záření), TLC (chromatografie na tenké vrstvě, HPTLC, 2D-TLC). SPE (extrakce na pevné fázi), SPME (mikroextrakce na pevné fázi), HSE (extrakce z plynné fáze). Základní módy LC: NP-HPLC (chromatografie na normální fázi), RP-HPLC (chromatografie na obrácené fázi), ultravýkonná (UHPLC), LC za zvýšené teploty, ultravýkonná LC za zvýšené teploty. Iontová, gelová a afinitní chromatografie. Vylučovací kapalinová chromatografie (GPC, SEC). Afinitní chromatografie: principy, IMAC (afinitní chromatografie s imobilizovaným iontem kovu), SFC (chromatografie nadkritickými tekutinami), PC (perfuční chromatografie), biospecifická afinitní chromatografie. HILIC (LC s hydrofilními interakcemi), HIC (LC s hydrofobními interakcemi), IEC (iontově výměnná chromatografie), chromatofokuse. Chirální separace: optická rotační disperze; chirální selektory, chirální stacionární fáze v HPLC. Separace makromolekul: makromolekuly syntetické a biologické. Gyrační poloměr, relativní molekulová hmotnost, polydisperzita. Detekce optická, viskozimetrická. Ultracentrifugace, elektroforéza (GCE). Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry, MALDI-MS). Separační metody pro makromolekuly: GPC (Gel permeation chromatography), HDC (Hydrodynamic chromatography), FFF = Frakcionace tokem v poli (Field-Flow Fractionation). Speciální detekční techniky. Rozptyl světla (statický) (Light scattering, LALLS, MALLS). Spojení separačních technik s jinými analytickými metodami využitelnými pro detekci. Instrumentace, její součásti, principy, technické vlastnosti a parametry. Optimalizace, kvantitativní vztahy mezi strukturou a selektivitou vzhledem k retenci. Validace analytické separační metody, shodnost metody, přesnost metody, kalibrace, selektivita, robustnost. Popis a vyhodnocení výsledků.

*Plynová chromatografie.* Princip plynové chromatografie (GC), stacionární a mobilní fáze, difúze, distribuce, interakce. Vliv teploty a tlaku plynu na retenční charakteristiky v GC. Instrumentace, její součásti, principy, technické vlastnosti, parametry. Detekce v GC: plamenově ionizační detektor (FID), tepelně vodivostní detekce (TCD), elektronový záchyt (ECD), spojení GC s hmotnostním spektrometrem (GC-MS). Kvalitativní analýza, identifikace z elučních údajů, eluční závislosti (Kovatsovy indexy), selektivní detektory. Kvantitativní analýza.

*Elektromigrační metody.* Teoretické základy, základní pojmy, veličiny, fyzikální principy. Separační módy v kapilární elektroforéze: CZE (FSCE), CITP, CGE, MEKC (MECC), CEC, CIEF, diskontinuální elektroforéza. Instrumentace, její součásti, principy, technické vlastnosti a parametry. Optimalizace, vyhodnocování dat. Validace metod CE. SDS – PA GE, kapilární iontová elektroforéza (CIE), Chirální separace, CE v nevodném prostředí, analýza DNA, laserem indukovaná fluorescence, CE-MS.

**Elektroanalytické metody:** Principy, pojmy, veličiny, mechanismy, procesy, modely. Klasifikace elektroanalytických metod. Instrumentace pro elektroanalytické metody. Potenciometrie, iontově selektivní elektrody, měření pH, pX. Elektrolýza, elektrogravimetrie, coulometrie. Polarografie, voltametrie, normální/derivační polarografie, tast-polarografie. Cyklická voltamperometrie, anodická, katodická a adsorptivní voltamperometrie. Střídavá a „square wave“ polarografie a voltametrie. Pulsní metody, normální (NPP) a diferenčně pulsní (DPP) polarografie a voltametrie. Chronopotenciometrie a chronoamperometrie. Hydrodynamická a mikroelektrody. Konduktometrie, stejnosměrná a střídavá konduktometrie, dielektrometrie. Impedanční metody. Titrační varianty elektroanalytických metod. Elektroanalýza s použitím moderních elektrochemických metod: elektrochemické mikrováhy (QCM), spektroelektrochemie (UV/VIS/IČ oblast, Raman), sonoelektrochemie. Metrologické charakteristiky vybraných elektroanalytických metod. Aplikace na analýzu reálných vzorků.

**Kinetické metody chemické analýzy.** Základní pojmy – kinetika 1. a 2. řádu, rychlostní konstanta a její stanovení, vliv experimentálních podmínek na průběh analytické reakce a stanovení reakčního mechanismu – optimalizace analytické metody. Použitá instrumentace, indikátorová reakce – katalytický/inhibiční efekt a metody stanovení analytů vykazující tento efekt v anorganické i organické analýze. Analytická enzymologie – přehled enzymaticky katalyzovaných reakcí, reakční mechanismus, stanovení enzymů a substrátů, příklady stanovení a využití v klinické analýze.

**Radioanalytické metody.** Základní pojmy – radionuklidy/radioizotopy, typy přeměn, poločas, datování. Experimentální metody – principy a instrumentace, aktivační analýza s využitím neutronů a jiných částic, zobrazovací medicínské techniky – PET/SPECT, CT.

**Analýza povrchů.** Specifika a význam – plošné a topografické, přehled a rozdělení technik – prvková/molekulová; techniky s fotonovou, elektronovou a iontovou sondou. Zobrazovací techniky – optická/elektronová/jiná mikroskopie (TEM/SEM, AFM, STM).

**Základy organické analýzy.** Přehled metod elementární analýzy organických a biologicky významných molekul. Důkaz a stanovení běžných funkčních skupin organických molekul. Využití instrumentálních metod pro kvantitativní analýzu jednotlivých organických molekul a reálných vzorcích. Klinická a farmaceutická analýza – stanovení vybraných anorganických a organických analytů.

**Optimalizace analytické metody.** Metrologické parametry analytické metody a jejich stanovení – mez detekce, stanovitelnosti, citlivost, dynamický (lineární) koncentrační rozsah, robustnost. Validace analytické metody. Optimalizace – využití chemometrických metod. Termodynamický a kinetický popis chemických reakcí v analytické chemii – optimalizace experimentálních podmínek analytické metody.

**Trendy v analytické chemii.** Kombinované techniky a miniaturizace – „lab on chip“. Automatizace a robotizace – analyzátoři, průtoková injekční analýza (FIA). Použití nevodných rozpouštědel a tenzidů. Zelená analytická chemie.

## Literatura

- Atkins P. W. *Physical Chemistry*. Oxford University Press, Oxford 1998.
- Atkins P. W., de Paula J. *Fyzikální chemie*. VŠCHT, Praha 2013.
- Housecraft C.E., Sharpe A.G. *Anorganická chemie*. VŠCHT, Praha 2014.
- McMurry J. *Organická chemie*. VŠCHT, Praha 2015.
- Skoog D.A., West D.M., Holler F.J., Crouch S.R. *Analytická chemie*. VŠCHT, Praha 2019.
- Kalous V. a kol. *Metody chemického výzkumu*. SNTL, Praha 1987.
- Kalous V. *Jak moderní chemie zkoumá strukturu molekul*. SNTL, Praha 1983.
- Holba V. *Fyzikálno-chemické vlastnosti atomů a molekul*. SPN, Bratislava 1980.
- Exner O. *Struktura a fyzikální vlastnosti organických sloučenin*. SNTL, Praha 1985.
- Barker J. *Mass spectrometry: analytical chemistry by open learning*. Wiley, Chichester 1998.
- Lakowicz J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer, New York 2006.
- Gaisford S., Kett V. & Haines P. (Eds.) *Principles Of Thermal Analysis And Calorimetry*. RSC, London 2016.
- Zýka J. *Analytická příručka. Díl I*. SNTL, Praha 1988.
- Zýka J. *Analytická příručka. Díl II*. SNTL, Praha 1988.
- Holzbecher Z., Churáček J. *Analytická chemie*. SNTL, Praha 1987.
- Garaj J., Bustin D., Hladký Z. *Analytická chémia*. Alfa, Bratislava 1987.
- Sommer L. a kol. *Základy analytické chemie I*. VUTium, Brno 1998.
- Sommer L. a kol. *Základy analytické chemie II*. VUTium, Brno 2000.
- Záruba K. a kol. *Analytická chemie 2. díly*. VŠCHT, Praha 2016.
- Worsfold P.J., Townshend A., Poole C.F. (Eds.). *Encyclopedia of Analytical Science*. Elsevier Amsterdam 2004 (+aktualizace dodatky).
- Meyers R.A. (Ed.). *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Wiley, New York 2000 (+aktualizace dodatky).
- Mermet J.-M., Otto M., Valcárcel M. *Analytical chemistry: a modern approach to analytical science*. Wiley-VCH, Weinheim 2004.
- Harris D.C., Lucy C.A. *Quantitative chemical analysis*. McMillan, New York 2020.
- Rouessac F., Rouessac F., *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*, J. Wiley, Chichester 2006.
- Harvey D. *Modern Analytical Chemistry*. McGraw Hill Boston 2000 (1. Vydání, nová vydání INTERNET)
- Christian G.D., Dasgupta P.K., Schug K.A. *Analytical chemistry*. Wiley, New York 2013.
- Skoog D.A., Holler F.J., Crouch S.R., *Principles of Instrumental Analysis*. CENGAGE, Boston 2018.
- Granger R.M., Yochum H.M., Granger J.N., Sienerth K.D., *Instrumental Analysis*. Oxford University Press, Oxford 2017.
- Schwedt Georg, *The Essential Guide to Analytical Chemistry*, Wiley 1999.
- Brett C. M. A., Oliviera Brett A. M. *Electroanalysis*. Oxford University Press, Oxford 1998.
- Štulík K. a kol. *Analytické separační metody*. Karolinum, Praha 2004.
- Churáček J. a kol. *Analytická separace látek*. SNTL, Praha 1990.
- Barek J., Opekar F., Štulík K.: *Elektroanalytická chemie*. Karolinum, Praha 2004.
- Němcová I., Čermáková L., Rychlovský P. *Spektrometrické analytické metody I*, Karolinum, Praha 2004.
- Němcová I., Engst P., Jelínek I., Sejbal J., Rychlovský P. *Spektrometrické analytické metody II*, Karolinum, Praha 1998.
- Miertuš S. a kol. *Atomová a molekulová spektroskopie*. Alfa, Bratislava 1991.



- Nováková L., Douša M. a kol. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi* (2 díly). Nováková – Douša, Praha 2013.
- Kanický V., Otruba V., Sommer L., Toman J. *Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech*. Academia, Praha 1992.
- Hábovčík P. *Lasery a fotodetektory*. Alfa, Bratislava 1990.
- Engst P., Horák M. *Aplikace laserů*. SNTL, Praha 1989.
- Stránský Z. *Analýza organických sloučenin*. Olomouc. Univerzita Palackého, Olomouc 1981.
- Chromý V. *Bioanalytika: analytická chemie v laboratorní medicíně*. Masarykova univerzita, Brno 2002.