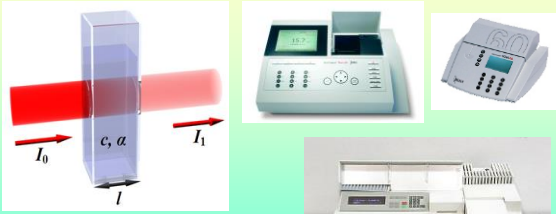
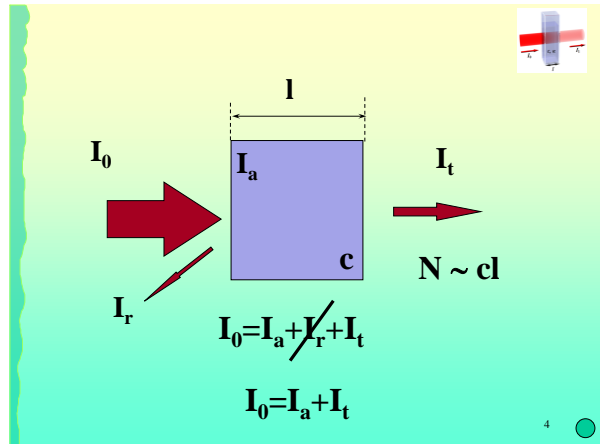
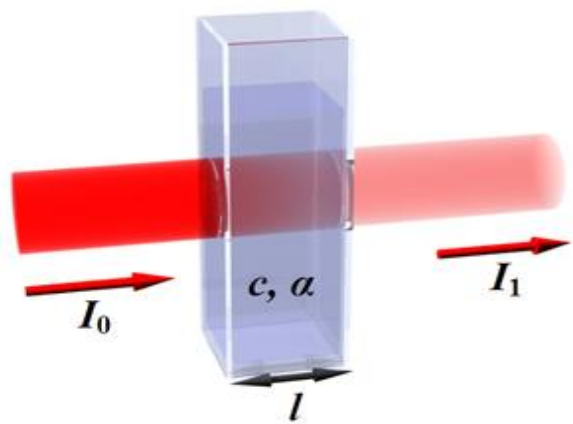
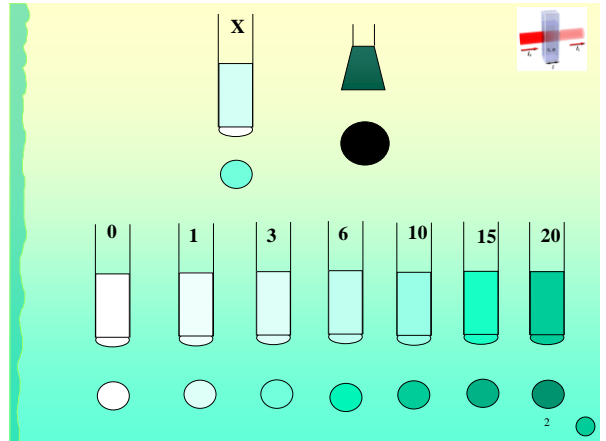


# Oznaczenia fotometryczne



Absorpcyjna spektrofotometria VIS



## Beer-Lambert

$N \sim cdx$

Suppose we have a very thin layer with length  $dx$ . Then, the number of molecules in that layer is proportional to  $cdx$ .

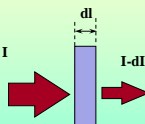
$N \sim cdl$

$-dI = \epsilon c dl I$

$\frac{dI}{I} = -\epsilon c dl$

$-dI = \epsilon c dl I$

$\frac{dI}{I} = -\epsilon c dl$



$\int_{I_0}^{I_t} \frac{dI}{I} = -\int_0^l \epsilon c dl$

$\log \frac{I_t}{I_0} = -\epsilon c l$

$\log \frac{I_0}{I_t} = \epsilon c l$

7

$\log \frac{I_0}{I_t} = \epsilon c l$

---

$\log \frac{I_0}{I_t} = A$       **Absorbancja (Ekstynkcja)**

$A = \epsilon c l$

---

$\frac{I_t}{I_0} = T$       **Transmitancja (Przepuszczalność)**

$\log T = -\epsilon c l$

8

**Prawo Beera - Lamberta**

- Ilość zaabsorbowanego promieniowania jest proporcjonalna do grubości warstwy absorbującej (l), stężenia oznaczanej substancji (c) i współczynnika absorpcji (ε), który jest specyficzny dla substancji przy danej długości fali


$A = \epsilon c l$

Jeśli stężenie wyrażone jest jako molowe (mol/dm<sup>3</sup>) współczynnik absorpcji nazywany jest *absorbancją molową*

9

$\log \frac{I_0}{I_t} = A$

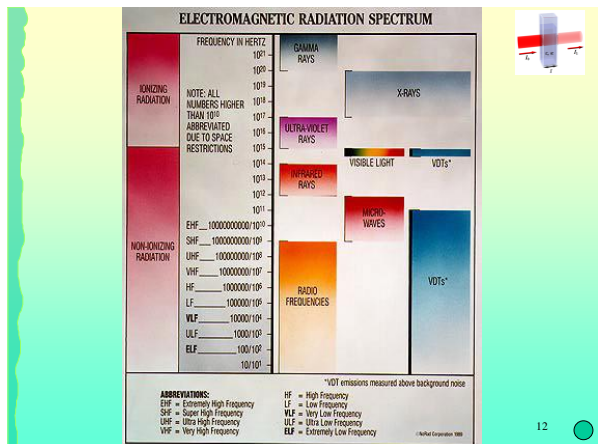
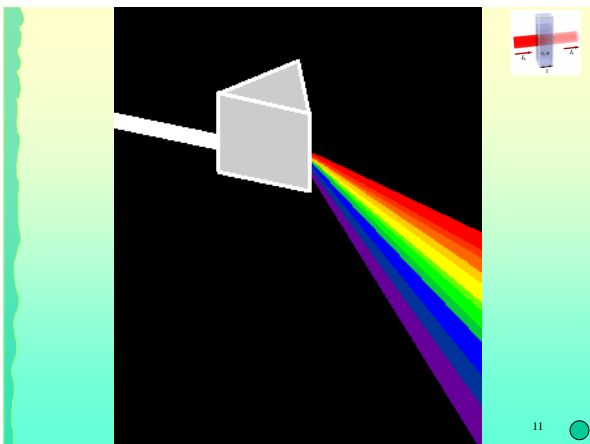
$A = \epsilon c l$

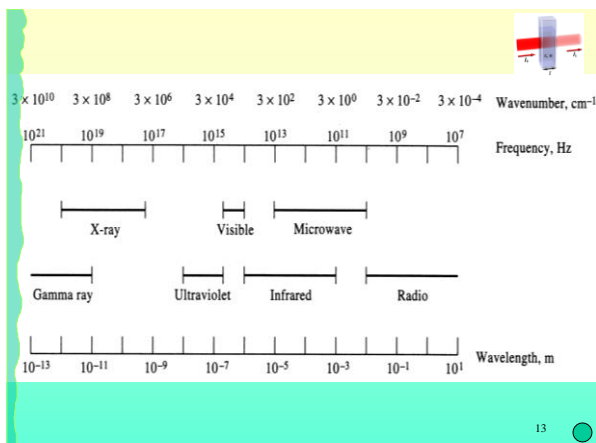


<b>A</b>	<b>0</b>	$\infty$
<b>T</b>	<b>1</b>	<b>0</b>

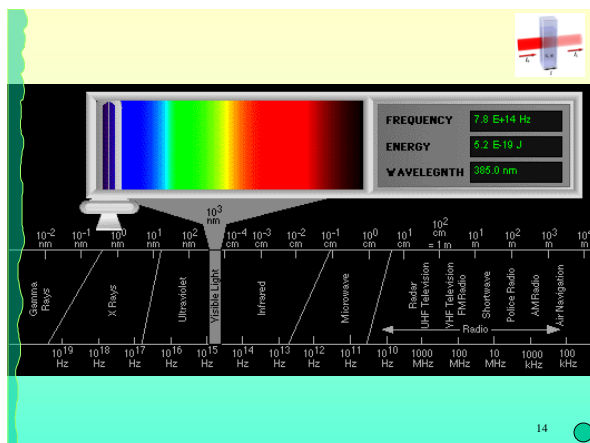
$\frac{I_t}{I_0} = T$        $\log T = -\epsilon c l$

10





13



14

## Barwa światła i (orientacyjne) długość fali [nm]

<b>Czerwona</b>	<b>780 – 622</b>
<b>Pomarańczowa</b>	<b>622 – 597</b>
<b>Żółta</b>	<b>597 – 577</b>
<b>Zielona</b>	<b>577 – 492</b>
<b>Niebieska</b>	<b>492 – 455</b>
<b>Fioletowa</b>	<b>455 - 390</b>

„Typowe” oko ludzkie rejestruje światło widzialne w zakresie ok. 390-700 nm.

15

$$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10^{-7} \text{ cm}$$

$$1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-8} \text{ cm}$$

$$1 \text{ \mu m} = 10^{-6} \text{ m} = 10^{-4} \text{ cm}$$

$$m - 10^{-3}$$

$$\mu - 10^{-6}$$

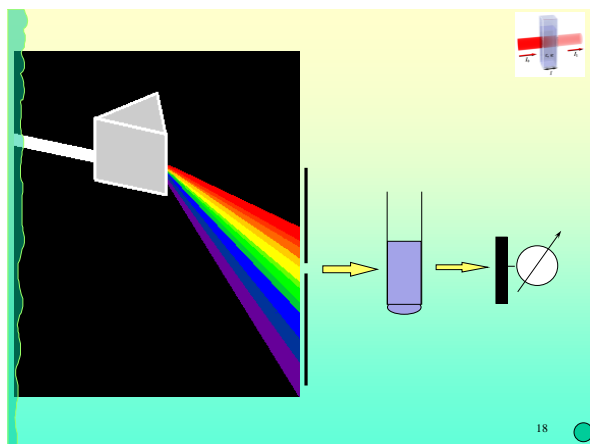
$$n - 10^{-9}$$

$$p - 10^{-12}$$

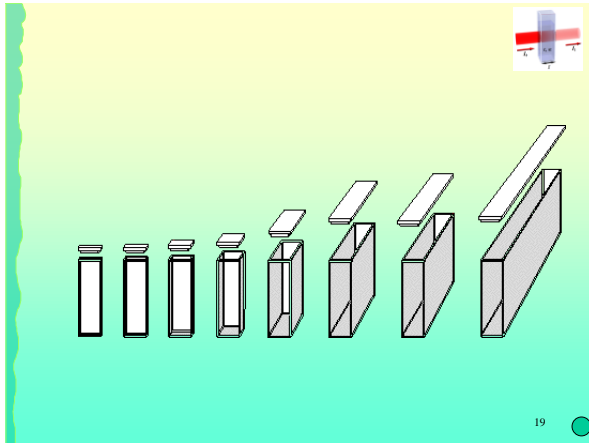
16

<i>nano</i>	n	$10^{-9}$	miliardowa
<i>mikro</i>	$\mu$	$10^{-6}$	milionowa
<i>mili</i>	m	$10^{-3}$	tysięczna
<i>centy</i>	c	$10^{-2}$	setna
<i>decy</i>	d	$10^{-1}$	dziesiąta
		1	jeden
<i>deka</i>	da	$10^1$	deka
<i>hecto</i>	ha	$10^2$	hekto
<i>kilo</i>	k	$10^3$	kilo
<i>mega</i>	M	$10^6$	mega
<i>giga</i>	G	$10^9$	giga
<i>tera</i>	T	$10^{12}$	tera

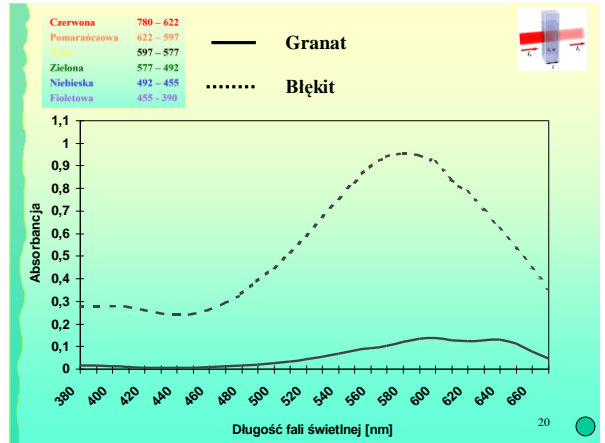
17



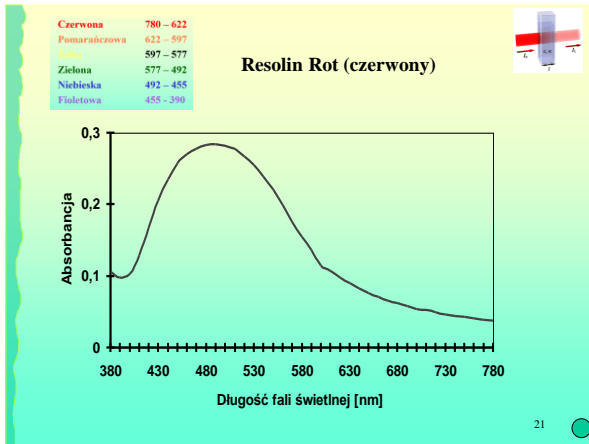
18



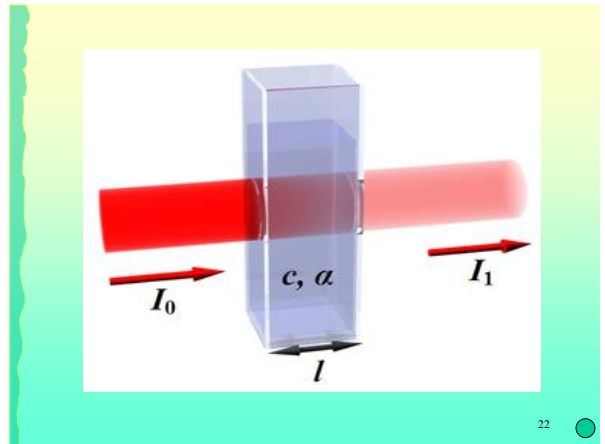
19



20



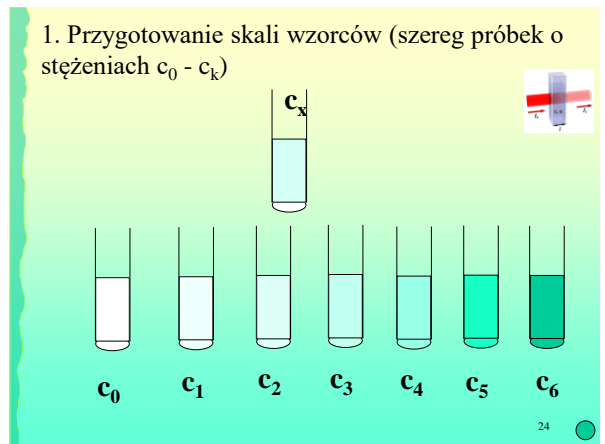
21



22

- ### Przebieg oznaczeń fotometrycznych
1. Przygotowanie skali wzorców (szereg próbek o stężeniach  $c_0 - c_k$ )
  2. Określenie długości fali świetlnej do pomiarów ( $\lambda_m$  przy, której występuje maksimum absorpcji na krzywej widma absorpcyjnego)
  3. Wykonanie pomiarów absorbancji dla skali wzorców
  4. Ustalenie zależności  $c = f(A)$
  5. Pomiar absorbancji dla badanej próbki i określenie jej stężenia  $c_x$

23



24

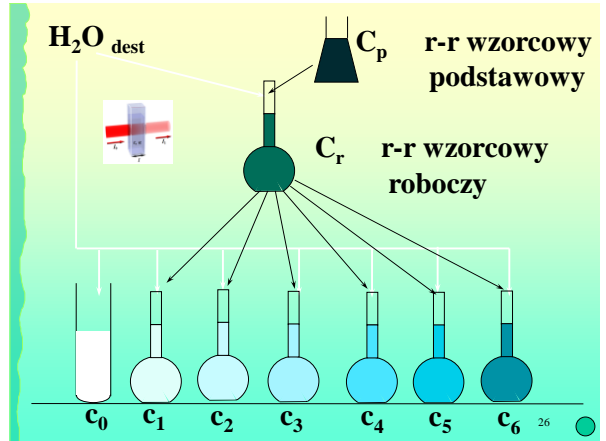


Ustalenie ilości i liczbowych wartości stężeń

$$c_0 - c_k \quad c_0 < c_x < c_k$$

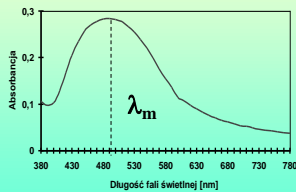
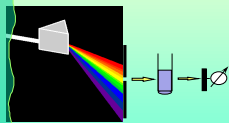
Przygotowanie szeregu roztworów o przyjętych stężeniach przez odpowiednie rozcieńczanie roztworów podstawowych i roboczych

25



26

2. Określenie długości fali świetlnej do pomiarów ( $\lambda_m$  przy, której występuje maksimum absorpcji na krzywej widma absorpcyjnego)



$$380 \text{ nm} < \lambda < 780 \text{ nm}$$

27

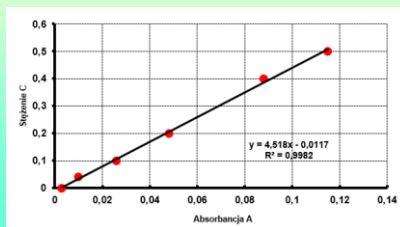
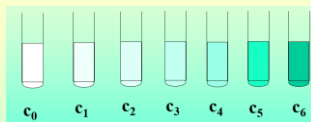
3. Wykonanie pomiarów absorpcji dla wcześniej przygotowanych roztworów (skali wzorców)



$$c_i \longrightarrow A_i$$

28

4. Ustalenie zależności  $c = f(A)$

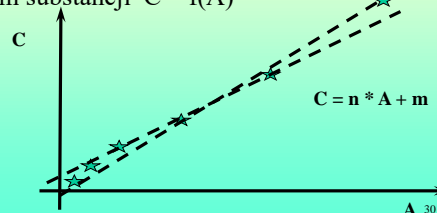


29

**Opracowanie wyników oznąceń fotometrycznych**

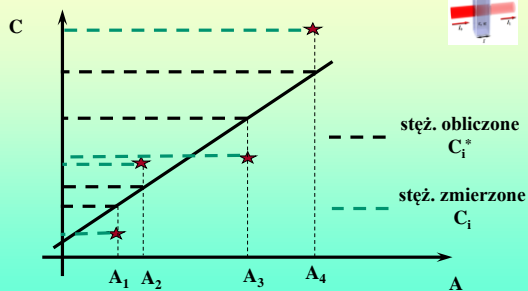


1. Wykonanie k pomiarów absorpcji dla k próbek o różnych stężeniach i ustalenie zależności pomiędzy intensywnością zabarwienia (Absorbancją) a stężeniem substancji  $C = f(A)$



30

## Jak wybrać prostą, która najlepiej opisuje zależność $c=f(A)$ ?



31

## Metoda najmniejszych kwadratów

Najlepszą prostą, w sensie metody najmniejszych kwadratów, będzie ta prosta, dla której suma kwadratów odległości punktów mierzonych po osi C będzie najmniejsza

$$\sum_{i=1}^{i=k} (C_i^* - C_i)^2 = \min$$

32

$$C_i^* = nA_i + m$$

$$\sum_{i=1}^{i=k} (nA_i + m - C_i)^2 = \min$$

Funkcja posiada minimum w p-cie, w którym zerują się wartości pierwszej pochodnej (względem poszukiwanych wartości n i m)

$$\begin{cases} \frac{d}{dn} \sum_{i=1}^{i=k} (nA_i + m - C_i)^2 = 0 \\ \frac{d}{dm} \sum_{i=1}^{i=k} (nA_i + m - C_i)^2 = 0 \end{cases}$$

33

$$\begin{cases} 2 \sum_{i=1}^{i=k} A_i (nA_i + m - C_i) = 0 \\ 2 \sum_{i=1}^{i=k} (nA_i + m - C_i) = 0 \end{cases}$$

$$\begin{cases} n \sum_{i=1}^{i=k} A_i^2 + m \sum_{i=1}^{i=k} A_i = \sum_{i=1}^{i=k} A_i C_i \\ n \sum_{i=1}^{i=k} A_i + m * k = \sum_{i=1}^{i=k} C_i \end{cases}$$

34

$$m = \frac{\sum_{i=1}^{i=k} A_i^2 \sum_{i=1}^{i=k} C_i - \sum_{i=1}^{i=k} A_i \sum_{i=1}^{i=k} A_i C_i}{k \sum_{i=1}^{i=k} A_i^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=k} A_i \right)^2}$$

$$n = \frac{k \sum_{i=1}^{i=k} A_i C_i - \sum_{i=1}^{i=k} A_i \sum_{i=1}^{i=k} C_i}{k \sum_{i=1}^{i=k} A_i^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=k} A_i \right)^2}$$

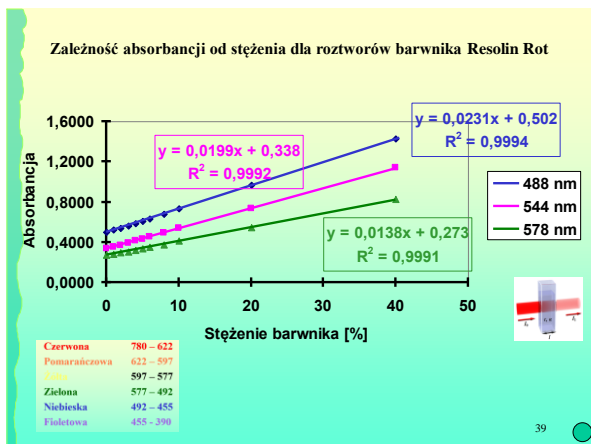
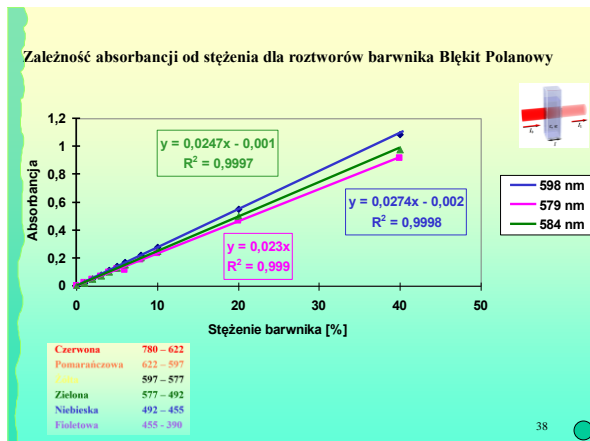
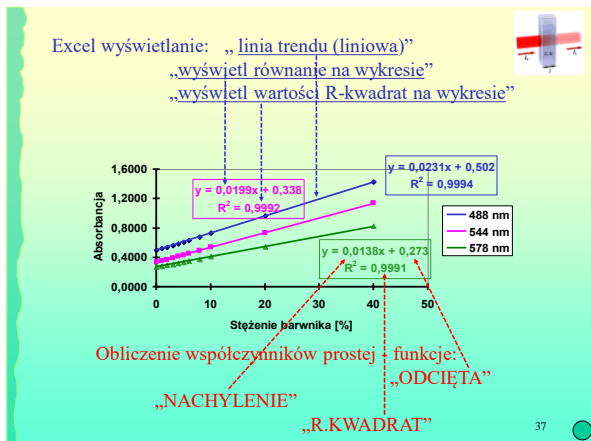
35

Współczynnik korelacji określa dopasowanie prostej o współczynnikach n i m do wyników pomiarów  $c_i$ ;  $A_i$

$$r^2 = n^2 \frac{k \sum_{i=1}^{i=k} A_i^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=k} A_i \right)^2}{k \sum_{i=1}^{i=k} C_i^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=k} C_i \right)^2}$$

$$r^2 \in \langle 0; 1 \rangle$$

36



1. Ustalenie spodziewanego zakresu stężeń ( $c_x$ )
  2. Przygotowanie skali wzorców (szereg próbek o stężeniach od  $c_0$  do  $c_k$ )
  3. Określenie długości fali świetlnej do pomiarów ( $\lambda_m$  przy, której występuje maksimum absorpcji na krzywej widma absorpcyjnego)
  4. Wykonanie pomiarów absorpcji dla skali wzorców (wyniki absorpcji dla próbek o znanych stężeniach)
  5. Ustalenie zależności  $c = f(A)$  (wartości  $m$  i  $n$  we wzorze  $c = n \cdot A + m$ )
  6. Pomiar absorpcji  $A_x$  badanej próbki
  7. Obliczenie stężenia  $c_x$  ( $c_x = n \cdot A_x + m$ )
- 40

W celu określenia stężenia barwnej substancji X w badanej próbce wykonano następujące czynności:

do kolby miarowej o pojemności 0,2 dm<sup>3</sup> odmierzone 20 cm<sup>3</sup> roztworu barwnej substancji X o stężeniu 1g/dm<sup>3</sup>. Kolbę uzupełniono wodą do kreski i wymieszano uzyskując w ten sposób roboczy roztwór wzorcowy substancji X;

do kolb miarowych o pojemności 100 cm<sup>3</sup> odmierzone odpowiednio 0; 1; 2; 5; 10; 20 i 40 cm<sup>3</sup> wzorcowego roztworu roboczego. Kolby uzupełniono wodą do kreski i wymieszano;

wykonano pomiar absorpcji dla tak przygotowanych roztworów wzorcowych uzyskując wyniki 0,05; 0,07; 0,09; 0,14; 0,22; 0,40 i 0,76;

pomiar absorpcji badanej próbki dał wartość absorpcji równą 0,49.

Oblicz stężenie substancji X w badanej próbce.

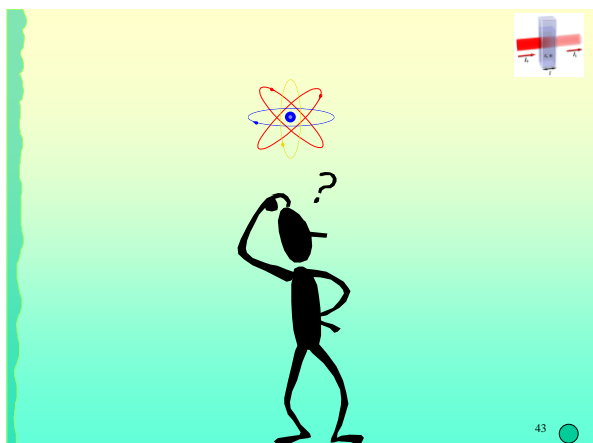
41

Podaj procedurę przygotowania fotometrycznej analizy barwnej substancji X dysponując następującymi danymi:

- stężenie substancji X w badanej próbce zawiera się w granicach 0 - 5 ppm;
- stężenie wzorcowego podstawowego roztworu substancji X wynosi 25 g/dm<sup>3</sup>;
- roztwory stanowiące skalę wzorców (7 stężeń) należy przygotować w kolbach miarowych o pojemności 0,2 dm<sup>3</sup>;

Minimalna objętość odmierzanych roztworów nie powinna być mniejsza niż 1 ml.

42



10 ml (**a**) podstawowego r-ru wzorcowego o stężeniu 200 ppm (**b**) umieszczono w kolbie miarowej o pojemności 200 cm<sup>3</sup> (**c**). Kolbę uzupełniono wodą do kreski i wymieszano uzyskując w ten sposób roboczy r-r podstawowy. Do trzech kolb miarowych o pojemności 50 ml (**d**) odmierzono odpowiednio 5; 10 i 20 cm<sup>3</sup> (**e<sub>1</sub>, e<sub>2</sub>, e<sub>3</sub>**) roboczego r-ru podstawowego.

Określ stężenia tak uzyskanych trzech roztworów.

