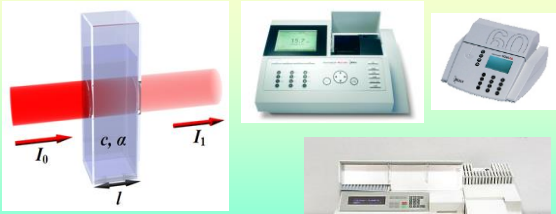
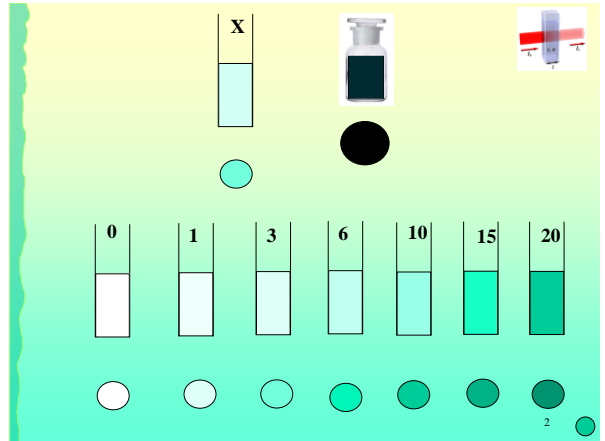


Oznaczenia fotometryczne

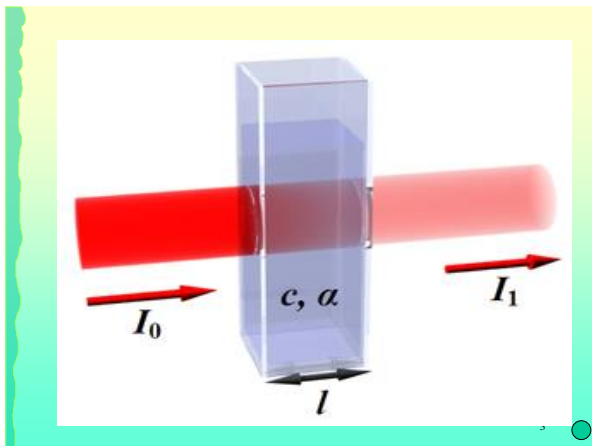


Absorpcyjna spektrofotometria VIS

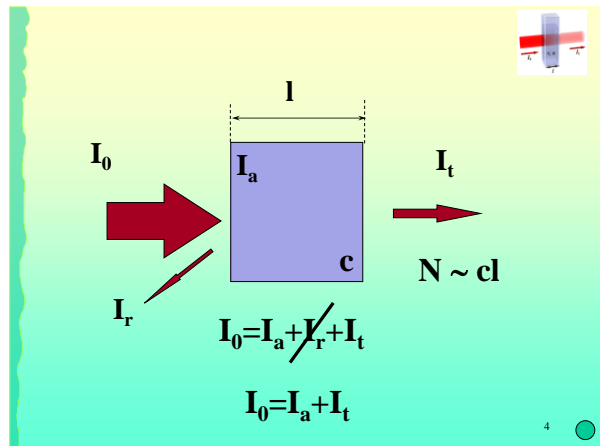
1



2



3



4

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 .

5

$N \sim cdl$

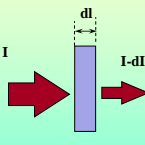
$-dI = \epsilon c dl I$

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

6

$-dI = \epsilon c dl I$

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



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

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

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

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

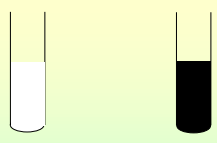
$A = \epsilon c l$

Jeśli stężenie wyrażone jest jako molowe (mol/dm³) współczynnik absorpcji nazywany jest *absorbancją molową*

9

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

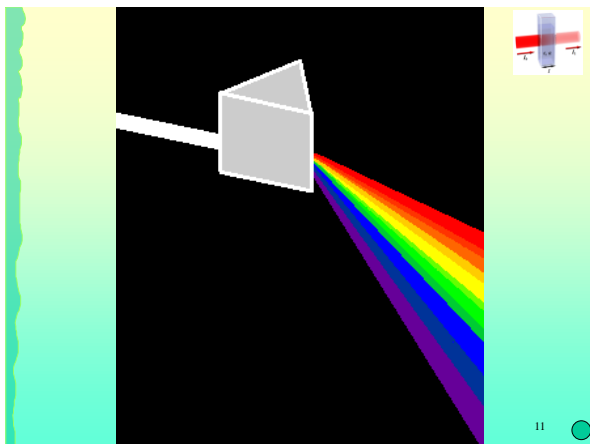
$A = \epsilon c l$



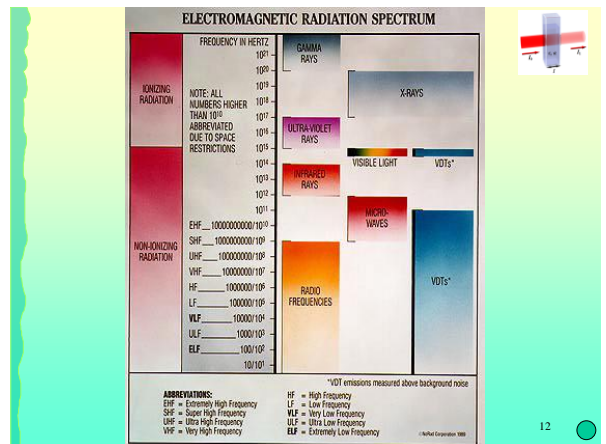
A	0	∞
T	1	0

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

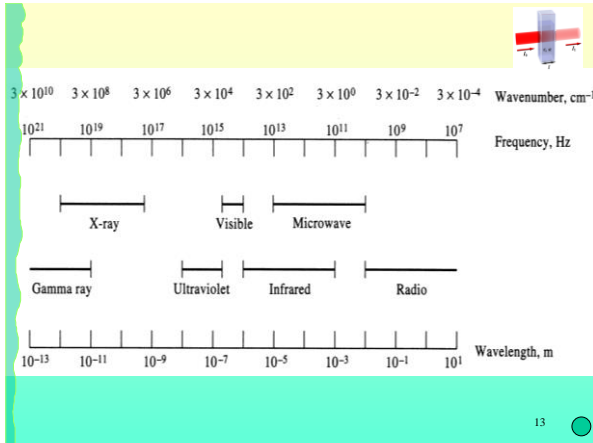
10



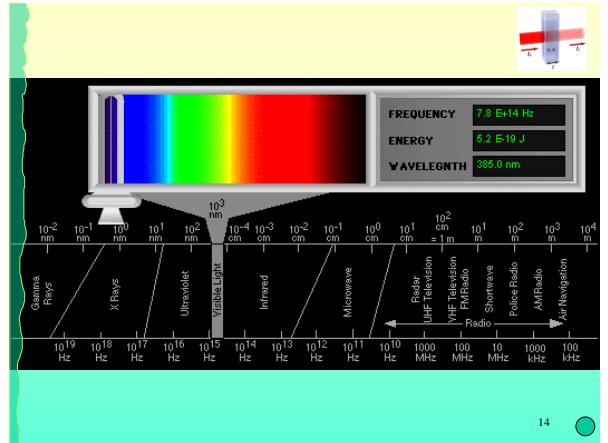
11



12



13



14

Barwa światła i (orientacyjne) długość fali [nm]

Czerwona	780 – 622
Pomarańczowa	622 – 597
Żółta	597 – 577
Zielona	577 – 492
Niebieska	492 – 455
Fioletowa	455 - 390

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

15

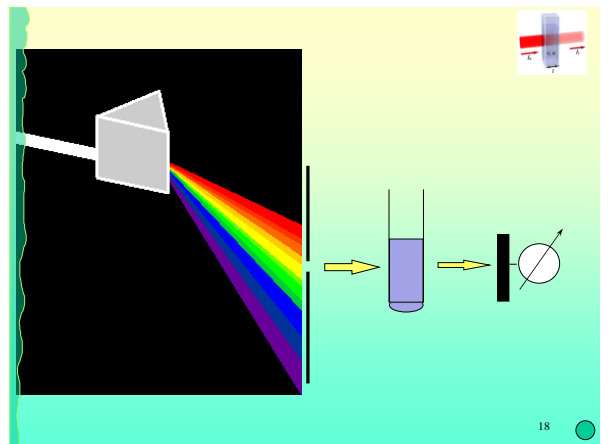
$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10^{-7} \text{ cm}$
 $1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-8} \text{ cm}$
 $1 \text{ \mu m} = 10^{-6} \text{ m} = 10^{-4} \text{ cm}$

$\text{m} - 10^{-3}$
 $\mu - 10^{-6}$
 $\text{n} - 10^{-9}$
 $\text{p} - 10^{-12}$

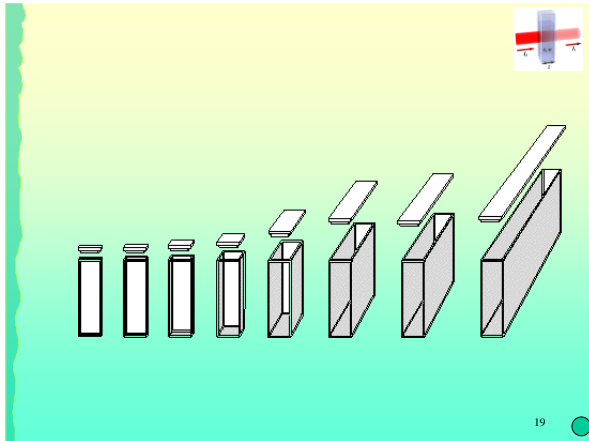
16

<i>nano</i>	n	10^{-9}	miliardowa
<i>mikro</i>	μ	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>hekto</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

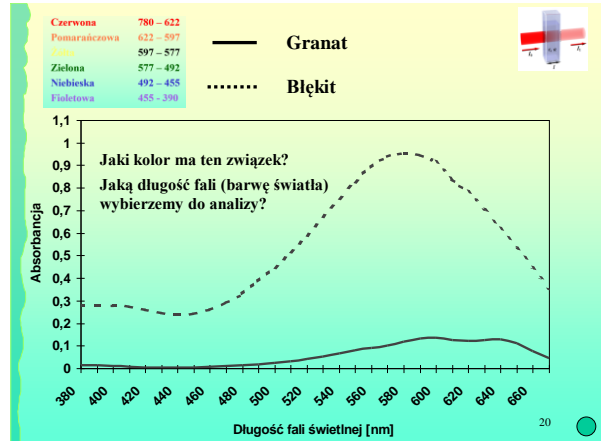
17



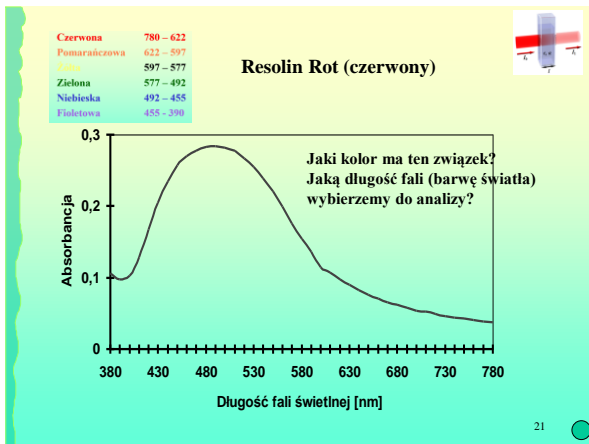
18



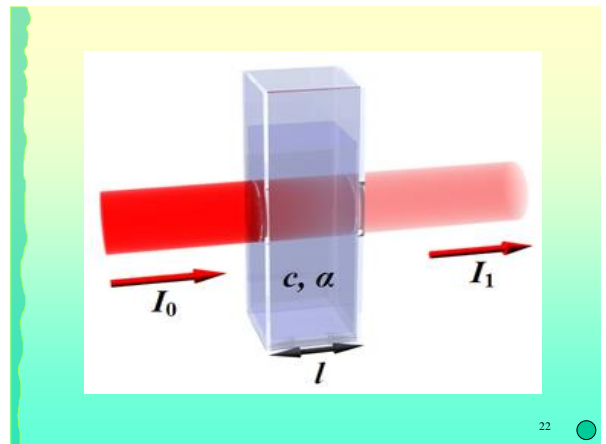
19



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 (λ_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

1. Przygotowanie skali wzorców (szereg próbek o stężeniach $c_0 - c_k$)

c_x
 c_0 c_1 c_2 c_3 c_4 c_5 c_6

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

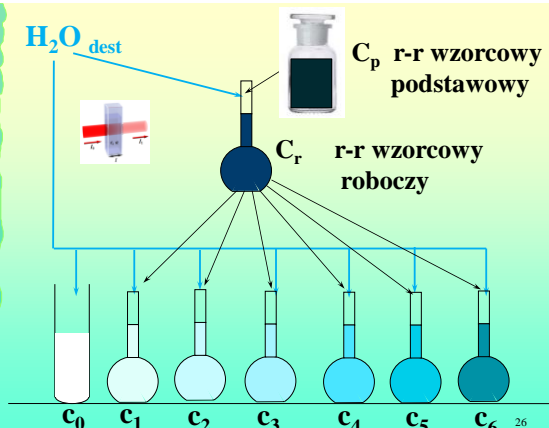
25



H_2O dest

C_p r-r wzorcowy podstawowy

C_r r-r wzorcowy roboczy




26

26


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

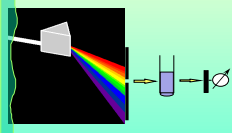
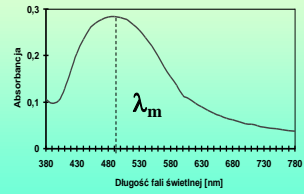
- Ze względu na zachowanie wymaganej dokładności objętości powinny być odmierzane pipetami jednmiarowymi
- Stosując pipety szklane nie należy przyjąć, że najmniejszą, dającą się dokładnie odmierzyć objętością jest 1 ml (przy mniejszych objętościach niedokładność 1 kropli wprowadza ponad 5% błąd)
- Zazwyczaj stężenie r-ru podstawowego jest dużo wyższe od stężenia oznaczanego co może oznaczać, że dostępne kolby i pipety jednmiarowe nie pozwolą na uzyskanie skali wzorców bezpośrednio z r-ru roboczego (np przy pipecie 1 ml i kolbie 0,5 dm³ możemy rozcieńczyć r-r co najwyżej 500x). Należy wtedy przygotować odpowiednio przygotowany roztwór roboczy (czasami uzyskiwany przy wielostopniowym rozcieńczaniu r-ru roboczego)
- Stężenia poszczególnych próbek w skali wzorców powinny tworzyć ciąg zbliżony do geometrycznego, a nie arytmetycznego – rosnące różnice pomiędzy kolejnymi stężeniami (wskazówką mogą tu być pojemności dostępnych jednmiarowych)

 27

27

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







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

28

28

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




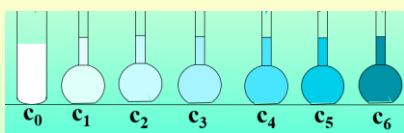
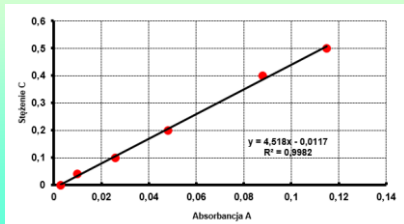
$$c_i \longrightarrow A_i$$

29

29

4. Ustalenie zależności $c = f(A)$



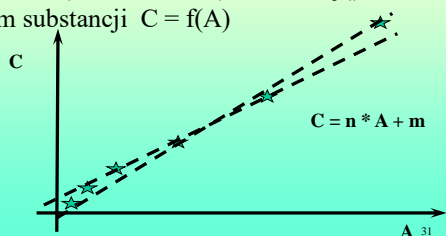



30

30

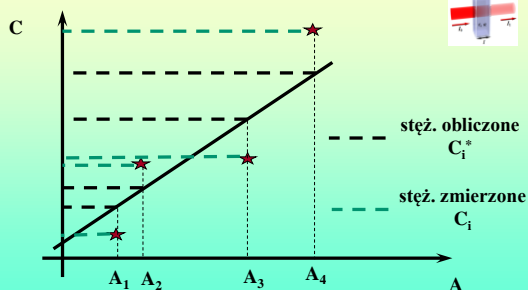
Opracowanie wyników oznaczeń fotometrycznych

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



31

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

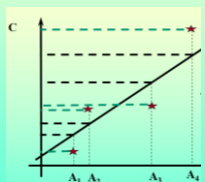


32

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

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



33

$$C_i^* = nA_i + m$$

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

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

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

34

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

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

35

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

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

36

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

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

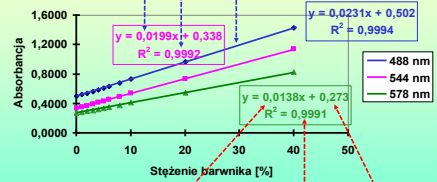
$$r^2 \in \langle 0; 1 \rangle$$



Współczynniki n ; m i r^2 można także obliczyć korzystając z wbudowanych funkcji excela: „nachylenie”, „odcięta” i „rkwadrat”

37

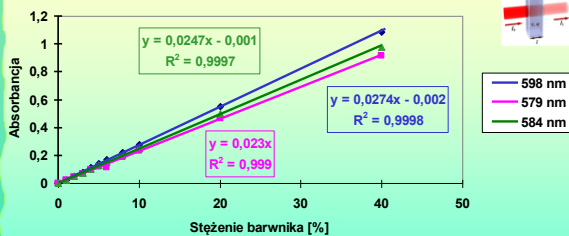
Excel wyświetlanie: „linia trendu (liniowa)”
 „wyświetl równanie na wykresie”
 „wyświetl wartości R-kwadrat na wykresie”



Obliczenie współczynników prostej funkcji: „NACHYLENIE”
 „ODCIĘTA”
 „R.KWADRAT”

38

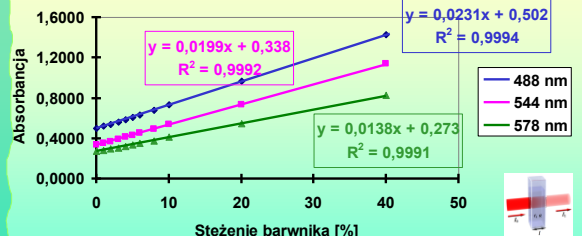
Zależność absorbancji od stężenia dla roztworów barwnika Błękit Polanowy



Czerwona	780 – 622
Pomarańczowa	622 – 597
Żółta	597 – 577
Zielona	577 – 492
Niebieska	492 – 455
Fioletowa	455 – 390

39

Zależność absorbancji od stężenia dla roztworów barwnika Resolin Rot



Czerwona	780 – 622
Pomarańczowa	622 – 597
Żółta	597 – 577
Zielona	577 – 492
Niebieska	492 – 455
Fioletowa	455 – 390

40

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 (λ_m przy, której występuje maksimum absorpcji na krzywej widma absorpcyjnego)
4. Wykonanie pomiarów absorbancji dla skali wzorców (wyniki absorbancji dla próbek o znanych stężeniach)
5. Ustalenie zależności $c = f(A)$ (wartości m i n we wzorze $c = n \cdot A + m$)
6. Pomiar absorbancji A_x badanej próbki
7. Obliczenie stężenia c_x ($c_x = n \cdot A_x + m$)



41

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

do kolby miarowej o pojemności 0,2 dm³ odmierzone 2 cm³ roztworu barwnej substancji X o stężeniu 1g/dm³. Kolbę uzupełniono wodą do kreski i wymieszano uzyskując w ten sposób roboczy roztwór wzorcowy substancji X;

do kolb miarowych o pojemności 50 cm³ odmierzone odpowiednio 0; 1; 2; 5; 10; 20 i 40 cm³ wzorcowego roztworu roboczego. Kolby uzupełniono wodą do kreski i wymieszano;

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

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

Oblicz stężenie substancji X w badanej próbce.

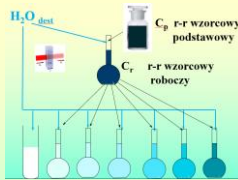


42

$2 \text{ cm}^3 (C_p = 1 \text{ g/dm}^3) \rightarrow 0,2 \text{ dm}^3 \quad C = ?$

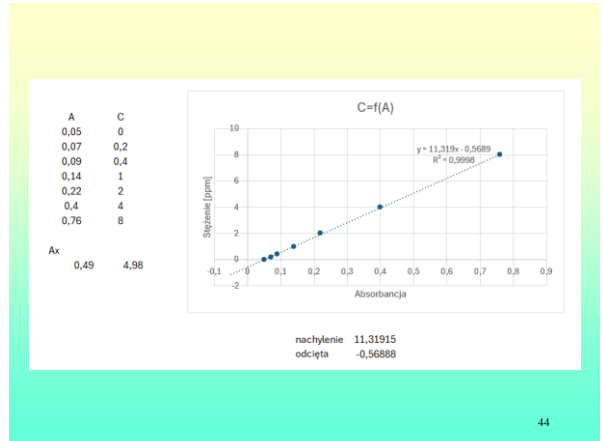
Do kolb 50 ml

V [ml]	C [ppm]	A [-]
0		0,05
1		0,07
2		0,09
5		0,14
10		0,22
20		0,4
40		0,76



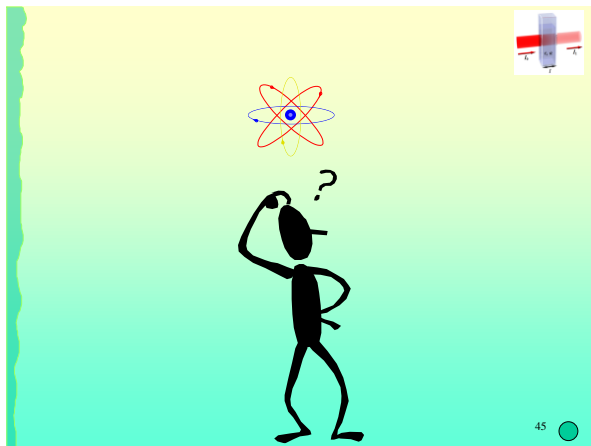
43

43



44

44



45

45

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/dm³;
- roztwory stanowiące skalę wzorców (7 stężeń) należy przygotować w kolbach miarowych o pojemności 0,2 dm³;

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

46

46

10 ml (a) podstawowego r-ru wzorcowego o stężeniu 200 ppm (b) umieszczono w kolbie miarowej o pojemności 200 cm³ (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) odmierzone odpowiednio 5; 10 i 20 cm³ (e₁, e₂, e₃) roboczego r-ru podstawowego.



Określ stężenia tak uzyskanych trzech roztworów.

48

48