10. seminář

Spektrofotometrie

Kvantita a vícesložkový systém

Otázky:

1.Kvantita ve spektrofotometrii

2. Dvou- (a více-)složkový systém

Teoretická část z Vláčilovy sbírky příkladů:

22.1.8 Současné stanovení dvou a více složek

Pomocí spektrofotometrie UV/VID i IČ lze stanovit z měření absorbancí roztoku směsi dvou nebo více složek při dvou nebo více vlnových délkách koncentrace těchto složek. Jejich absorpční pásy nemusí být zcela izolované, mohou se i částečně překrývat. Stanovení je založeno na aditivitě absorbancí při dané vlnové délce a na platnosti Beerova zákona. Pozorovaná absorbance směsi absorbujících látek při vyloučení jiných ztrát toku záření než absorpcí je

$$A = \sum A_i \tag{22.28}$$

při λ = konst a b = konst. Počet složek i je v případě spektrofotometrie UV a VID prakticky omezen na dvě až tři složky, v IČ na čtyři složky. Výpočet koncentrací si ukážeme na dvousložkové směsi; pro obě složky platí Beerův zákon, tj. $A_i = \varepsilon_i b c_i$. Pro jednoduchost budeme předpokládat kyvety o tloušťce 1 cm a základní linii u nulové hodnoty transmitance.

a nulové hodnoty [illegible]

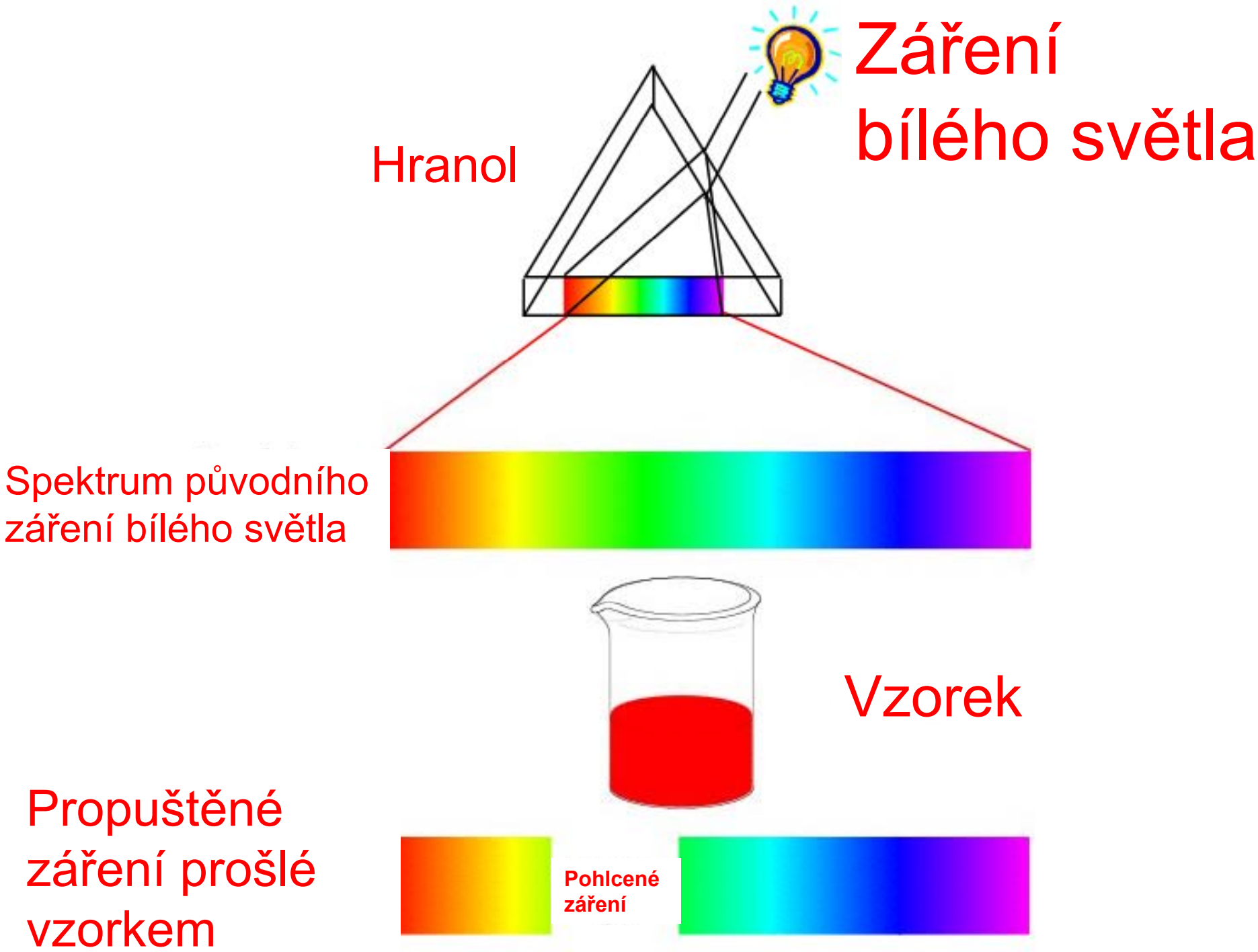
Aby stanovení bylo co nejpřesnější, proměřuje se směs absorbujících látek X a Y při vlnových délkách λ_1 a λ_2, které odpovídají maximu vhodných absorpčních pásů složek X a Y. Příslušné molární absorpční koeficienty X a Y pro tyto vlnové délky jsou pro λ_1 ε_{1X} a ε_{1Y} a podobně pro λ_2 ε_{2X} a ε_{2Y}. Pro dosažení co největší přesnosti volíme ty pásy, kdy poměry $\varepsilon_{1X}/\varepsilon_{1Y}$ a $\varepsilon_{2Y}/\varepsilon_{2X}$ mají největší hodnotu. Z naměřených absorbancí A_1 a A_2 směsi X a Y lze vypočítat hledané koncentrace c_X a c_Y z rovnic:

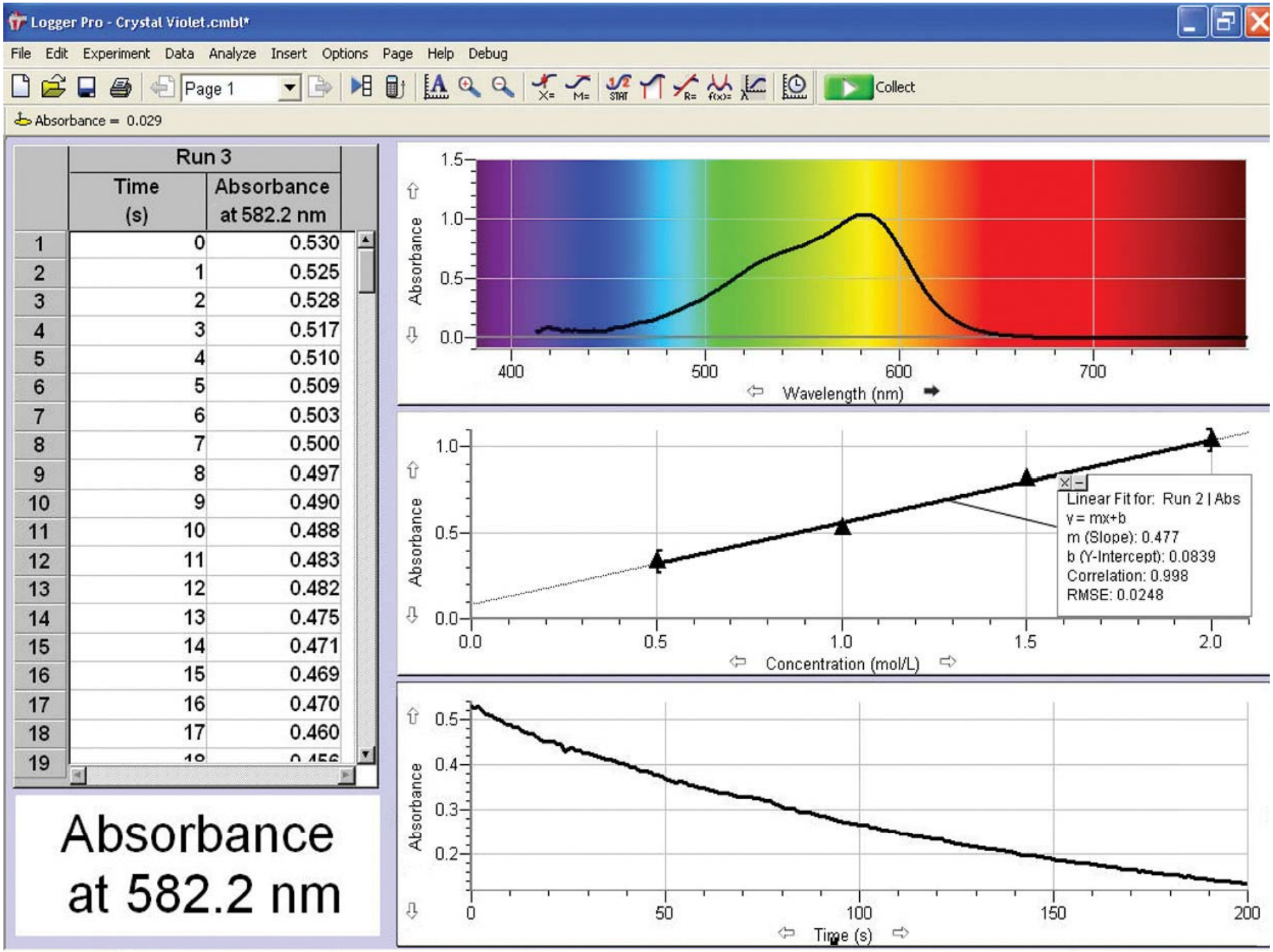
$$A_1 = \varepsilon_{1X}c_X + \varepsilon_{1Y}c_Y \quad \text{při} \quad \lambda_1 \tag{22.29}$$

$$A_2 = \varepsilon_{2X}c_X + \varepsilon_{2Y}c_Y \quad \text{při} \quad \lambda_2 \tag{22.30}$$

jejich simultánním řešením.

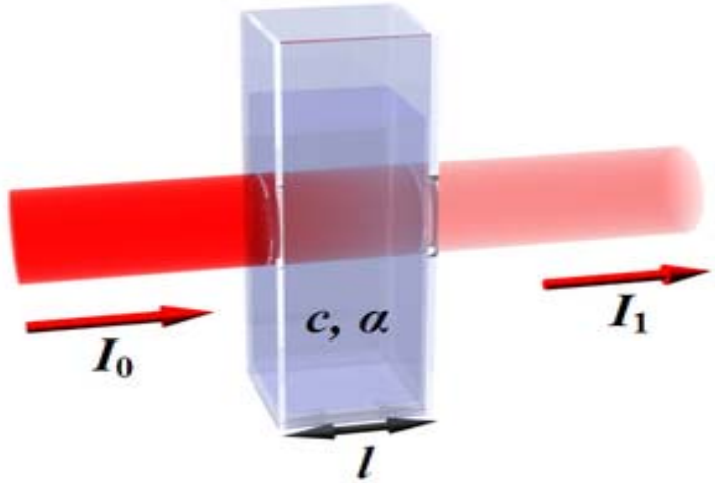
V případě třísložkové nebo vícesložkové směsi je výpočet numericky náročnější a dnes se pro něj s výhodou užívají počítače. Obecně pro n-složkovou analýzu je zapotřebí n měření absorbancí směsi při n vhodných vlnových délkách absorpčních pásů složek a je nutné znát příslušné hodnoty molárních absorpčních koeficientů (celkem n^2 hodnot ε). Přesnost stanovení závisí na přesnosti hodnot ε_i, na přesnosti naměřených absorbancí a na vzájemném poměru obsahu jednotlivých složek.

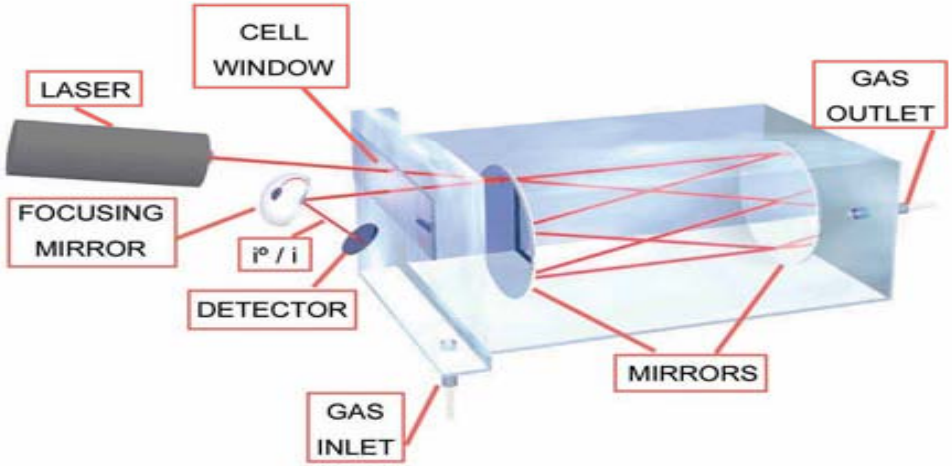

Záření bílého světla
Hranol
Spektrum původního záření bílého světla
Vzorek
Propuštěné záření prošlé vzorkem
Pohlcené záření



	Run 3	
	Time (s)	Absorbance at 582.2 nm
1	0	0.530
2	1	0.525
3	2	0.528
4	3	0.517
5	4	0.510
6	5	0.509
7	6	0.503
8	7	0.500
9	8	0.497
10	9	0.490
11	10	0.488
12	11	0.483
13	12	0.482
14	13	0.475
15	14	0.471
16	15	0.469
17	16	0.470
18	17	0.460
19	18	0.456

Absorbance at 582.2 nm

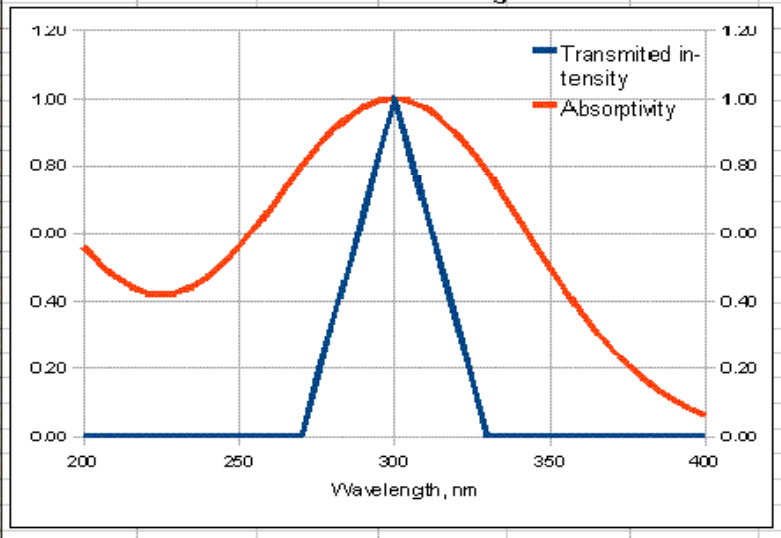




Instrumental Deviations from the Beer-Lambert Law

Wavelength setting	Slit width	Absorber width	Maximum Absorptivity	Absorption Path length	Unabsorbed stray light
300	30	100	1	1	0.100%

Click the arrows above to change the values



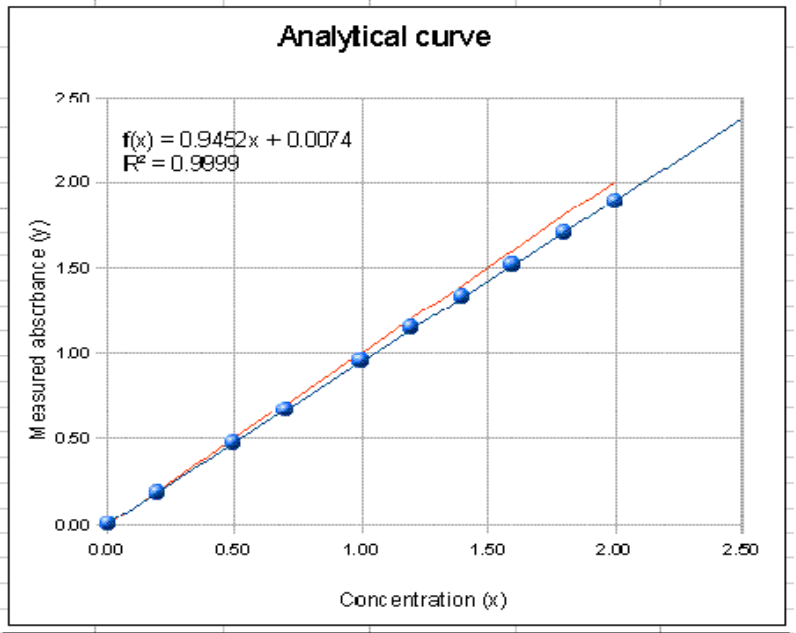
Concentration	Measured absorbance
0.01	0.0096
0.2	0.1926
0.5	0.4808
0.7	0.6724
1	0.9587
1.2	1.1484
1.4	1.3367
1.6	1.5230
1.8	1.7063
2	1.8853

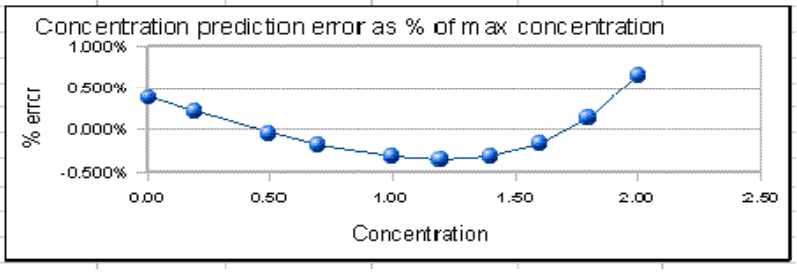
Blue text indicates user input cells.

Absorption peak shape

- (•) Gaussian
- ( ) Lorentzian

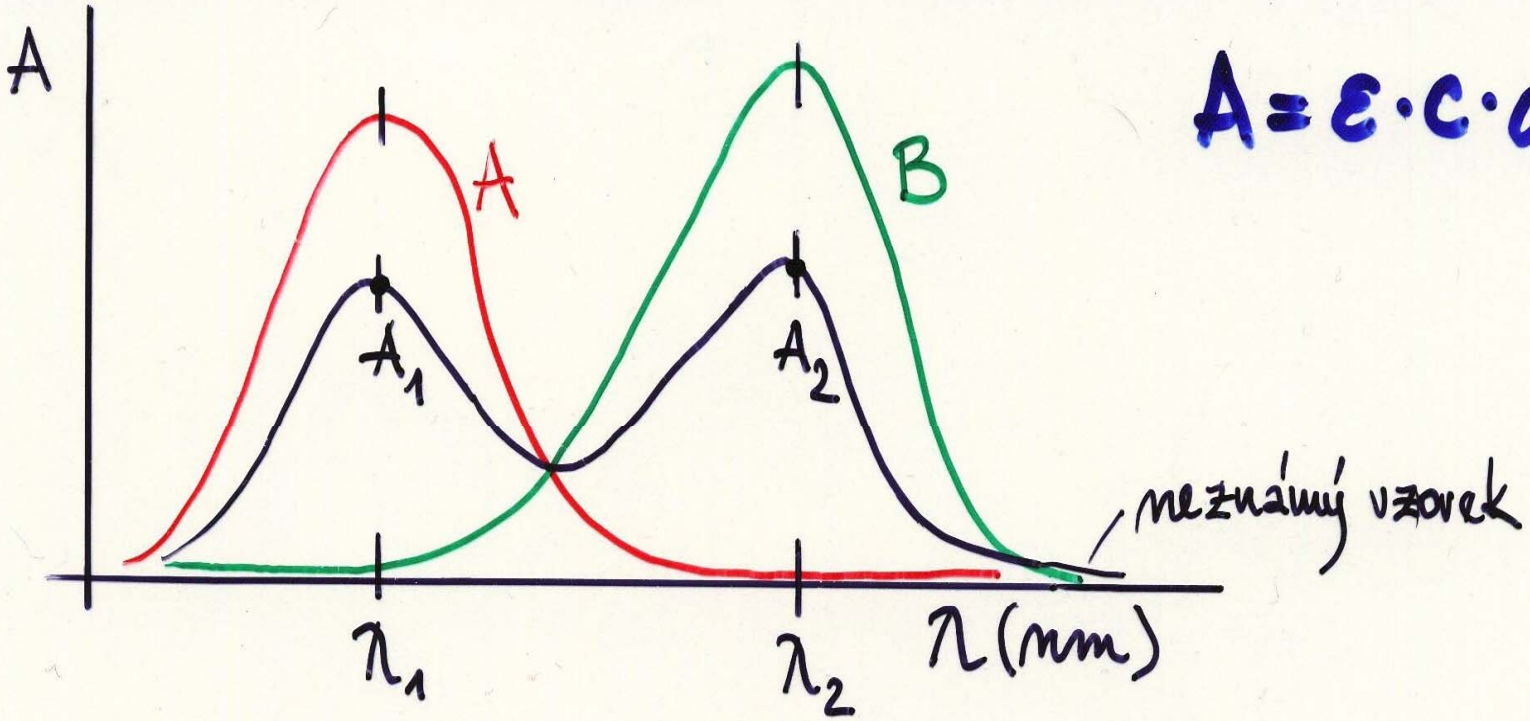
σ of errors **0.3379%**



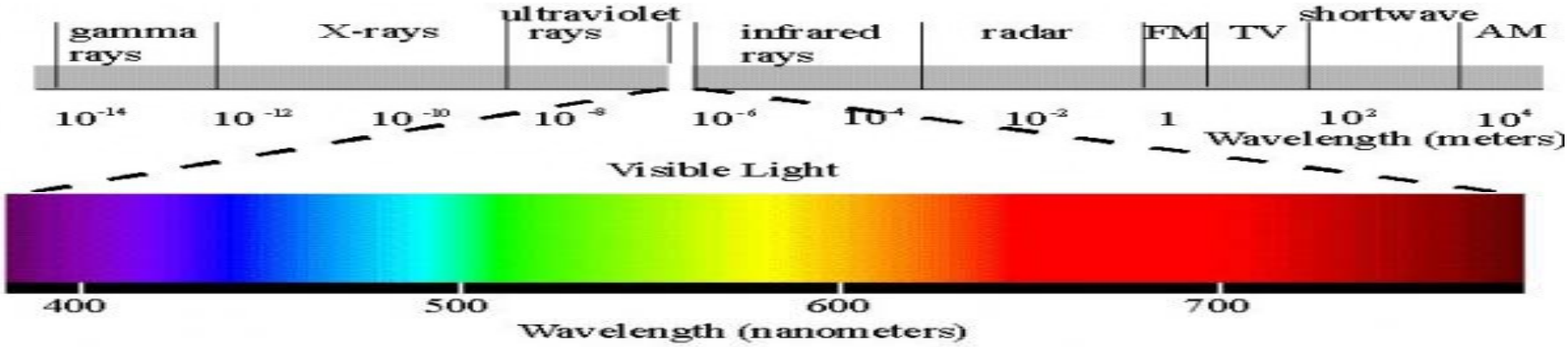


2236

DVOUSLOŽKOVÝ SYSTÉM
(OBECNĚ: VÍCESLOŽKOVÝ SYSTÉM FOTOMETRICKY)



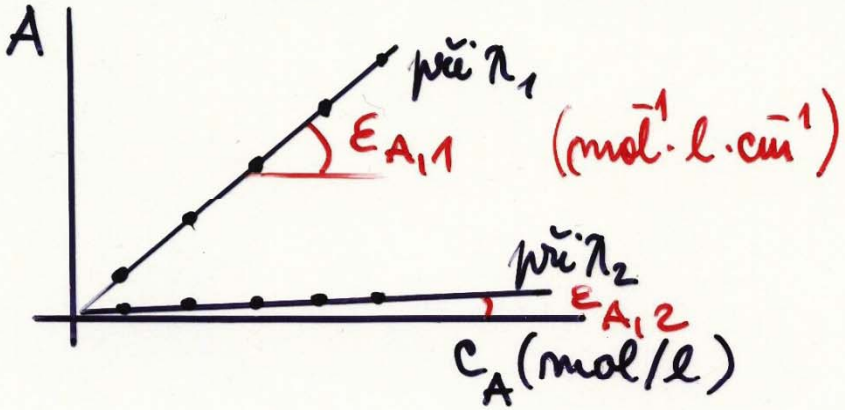
$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

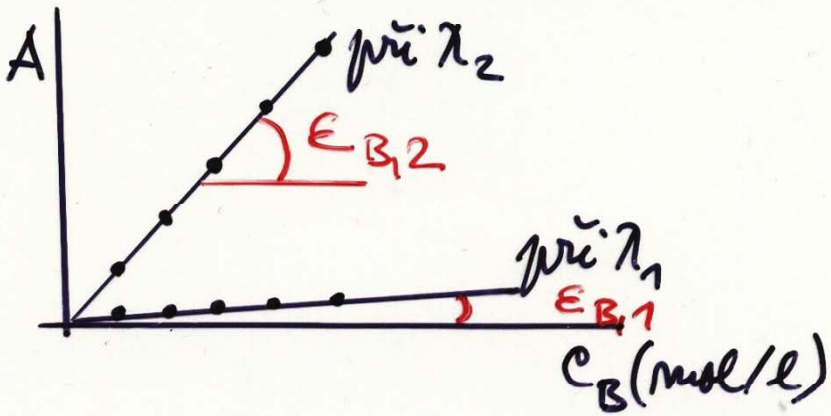


OBECNÝ POSTUP:

① URČENÍ λ_1 A λ_2. URČENÍ KVALITY NEZNÁMÉHO VZORKU.

② URČENÍ $\varepsilon_{A,1}$, $\varepsilon_{A,2}$, $\varepsilon_{B,1}$ a $\varepsilon_{B,2}$ Z BEEROVA ZÁKONA.





③ PŘESNÉ ZMĚŘENÍ A_1 při λ_1 a A_2 při λ_2 U VZORKU.

④ ŘEŠENÍ SOUSTAVY 2 ROVNIC O 2 NEZNÁMÝCH.

$$\text{při } \lambda_1 \ldots\ldots A_1 = d\left\{\varepsilon_{A,1} \cdot c_A + \varepsilon_{B,1} \cdot c_B\right\}$$
$$\text{při } \lambda_2 \ldots\ldots A_2 = d\left\{\varepsilon_{A,2} \cdot c_A + \varepsilon_{B,2} \cdot c_B\right\}$$

$$c_A = ?\ (mol/l)$$
$$c_B = ?\ (mol/l)$$

Příklad 22.37 V kyvetě o tloušťce 1 cm byly naměřeny při různých vlnových délkách tyto absorbance pro roztok látky A ($c_A = 1{,}00 \,.\, 10^{-3}$ mol l^{-1}) a pro roztok látky B ($c_B = 1{,}00 \,.\, 10^{-4}$ mol l^{-1}):

Látka	Absorbance při λ/mm										
	380	400	420	440	460	480	500	520	540	560	580
A	0,838	0,842	0,825	0,800	0,695	0,502	0,332	0,264	0,187	0,132	0,114
B	0,090	0,040	0,030	0,055	0,104	0,242	0,408	0,572	0,580	0,392	0,181

a) Určete nejvhodnější λ_1 a λ_2 pro stanovení A a B ve směsi. *b*) Roztok směsi A + B měl v kyvetě o tloušťce 1 cm při λ_1 nm $A = 0{,}628$ a při λ_2 nm $A = 0{,}395$. Vypočtěte c_A a c_B fotometrovaného roztoku směsi.

[*a*) Největší poměr $\varepsilon_A/\varepsilon_B$ je při 420 nm, 2,75; nejmenší, 0,032, při 540 nm; $\lambda_1 = 420$ nm, $\lambda_2 = 540$ nm; *b*) $c_A = 7{,}45 \,.\, 10^{-4}$ mol l^{-1}, $c_B = 4{,}41 \,.\, 10^{-5}$ mol l^{-1}]

NÁZEV: DVOUSLOŽKOVÝ SYSTÉM

ZADÁNÍ: 22.37, $c_A = 10^{-3}$ M; $c_B = 10^{-4}$ M;

při $\lambda_1 = 420$ nm: ... $A_1 = 0.628$; $\varepsilon_{A,1} = 825$; $\varepsilon_{B,1} = 300$;

při $\lambda_2 = 540$ nm ... $A_2 = 0.395$; $\varepsilon_{A,2} = 187$; $\varepsilon_{B,2} = 5800$;

Určete neznámé koncentrace $c_{A,x} = ?$ a $c_{B,x} = ?$

ROZBOR: $A = \varepsilon \cdot d \cdot c$; $d = 1$ cm;

$$\left.\begin{aligned} A_1 &= \varepsilon_{A,1} \cdot c_{A,x} + \varepsilon_{B,1} \cdot c_{B,x} \\ A_2 &= \varepsilon_{A,2} \cdot c_{A,x} + \varepsilon_{B,2} \cdot c_{B,x} \end{aligned}\right\}$$

$c_{A,x} = \dots$

$c_{B,x} = \dots$

ŘEŠENÍ:

$$\left.\begin{aligned} \lambda_1 \dots\ 0{,}628 &= 825 \cdot c_{A,x} + 300 \cdot c_{B,x} \\ \lambda_2 \dots\ 0{,}395 &= 187 \cdot c_{A,x} + 5800 \cdot c_{B,x} \end{aligned}\right\}$$

$$c_{A,x} = 7{,}397 \times 10^{-4}\ \text{M}$$

$$c_{B,x} = 4{,}425 \times 10^{-5}\ \text{M}$$

ODPOVĚĎ: Směs obsahuje $7{,}4 \times 10^{-4}$ M-A a $4{,}4 \times 10^{-5}$ M-B.

Příklad 22.38 Molybden, titan a vanad lze stanovit fotometricky vedle sebe ve formě jejich peroxosolí měřením při 330 nm, 410 nm a 460 nm. Pro standardní roztok peroxosolí, obsahující v 1 litru po 50 mg každého kovu, byly v kyvetě o tloušťce 1 cm nalezeny tyto absorbance proti slepému pokusu:

Kov	Absorbance při λ/nm		
	330	410	460
molybden	0,260	0,030	0,001
titan	0,081	0,380	0,256
vanad	0,000	0,092	0,125

Měřený roztok vzorku směsi Mo + Ti + V byl připraven tak, že 25 ml analyzovaného roztoku bylo převedeno na peroxosoli a doplněno na 100 ml vodou. Roztok měl při uvedených vlnových délkách v kyvetě o tloušťce 1 cm tyto absorbance: $A_{330} = 0{,}124$, $A_{410} = 0{,}428$, $A_{460} = 0{,}358$. Vypočtěte, kolik miligramů každého kovu bylo v litru analyzovaného roztoku. [44,0 mg Mo, 165 mg Ti a 237 mg V]

NÁZEV: TŘÍSLOŽKOVÝ SYSTÉM (22.38)

ZADÁNÍ: Každý kov 50 mg/1l v kyvetě 1 cm vykazoval absorbanci

KOV	A 330 nm	ε	A 410 nm	ε	A 460 nm	ε
Mo	0.260	5.2	0.030	0.6	0.001	0.02
Ti	0.081	1.62	0.380	7.6	0.256	5.12
V	0.000	0.00	0.092	1.84	0.125	2.5

Směs Mo+Ti+V vykazovala $A_{330} = 0.124$, $A_{410} = 0.428$, $A_{460} = 0.358$. Vypočtěte $c_{Mo} = ?$, $c_{Ti} = ?$, $c_V = ?$ pro $d = 1$ cm; když 25 ml vzorku doplněno do 100 ml vodou. Jaký je obsah kovů v mg v 1 l vzorku?

ROZBOR+ŘEŠENÍ:

pro 300 nm: $0.124 = 1\left[5{,}2 \cdot c_{Mo} + 1{,}62 \cdot c_{Ti} + 0 \cdot c_V\right]$

pro 410 nm: $0.428 = 1\left[0{,}6 \cdot c_{Mo} + 7{,}6 \cdot c_{Ti} + 1{,}84 \cdot c_V\right]$

pro 460 nm: $0.358 = 1\left[0{,}02 \cdot c_{Mo} + 5{,}12 \cdot c_{Ti} + 2{,}5 \cdot c_V\right]$

vyřešte soustavu!

ODPOVĚĎ: $c_{Mo} = \frac{Mo \cdot 1000}{25} = \underline{\underline{44{,}0 \text{ mg Mo}}}$; $c_{Ti} = \frac{Ti \cdot 1000}{25} = \underline{\underline{165{,}0 \text{ mg Ti}}}$;

$c_V = \frac{V \cdot 1000}{25} = \underline{\underline{234{,}5 \text{ mg V}}}$.

Příklad 22.19 Z dat v příkladu 22.15 určete koncentraci dithizonu v chloroformu, při které je chyba fotometrického stanovení chyba v kyvetě o tloušťce $b = 4{,}00$ cm nejmenší. $[c = 2{,}53 \,.\, 10^{-6}\ \mathrm{mol\,l^{-1}}]$

NÁZEV: OBLAST c: ZA NEJVĚTŠÍ PŘESNOSTI VE FOTOMETRII

ZADÁNÍ: 22.19; $\varepsilon = 4.29 \times 10^4\ l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$; $d = 4.000$ cm; dithizon; kdy je fotometrická chyba nejmenší (pro jaké koncentrace?)

ROZBOR: Pro $T = 0.368$ a $A = 0{,}434$ je nejmenší chyba!

$$c = \frac{A}{\varepsilon \cdot d} = \frac{-\log T}{\varepsilon \cdot d}$$

ŘEŠENÍ:

$$c = \frac{0.434}{4{,}29 \times 10^4 \cdot 4} = 2{,}53 \times 10^{-6}\ mol \cdot l^{-1}$$

ODPOVĚĎ: Pro koncentrace okolo $2{,}53 \times 10^{-6}\ mol \cdot l^{-1}$ je fotometrické měření nejpřesnější (dithizon při 610 nm).

Příklad 22.20 Řada organických sloučenin absorbujících v ultrafialové oblasti má hodnoty ε_{max} řádově 10^3 m^2 mol^{-1}. Jak dlouhá by musela být kyveta, aby se mohlo dostatečně přesně stanovit ještě 10^{-6} molu látky v 1 l roztoku? Počítejte s minimální hodnotou $A = 0{,}2$. [$b = 20$ cm]

NÁZEV: DÉLKA KYVETY PRO NEJPŘESNĚJŠÍ MĚŘENÍ VE FOTOMETRII

ZADÁNÍ: 22.20, Organické látky absorbují světlo v UV oblasti a vykazují $\varepsilon_{max} \approx 10^4$ l mol^{-1} cm^{-1}. V jaké kyvetě je měření koncentrace 10^{-6} mol/l nejpřesnější, když bylo naměřeno $A = 0.2$?

ROZBOR: $$d = \frac{A}{\varepsilon \cdot c}$$

ŘEŠENÍ: $$d = \frac{0.2}{10^4 \times 10^{-6}} = 2.0 \text{ cm}$$

ODPOVĚĎ: Uvedené organické látky je nejlépe fotometrovat v kyvetě 20 cm dlouhé.

PŘÍKLAD 22.6 PLATNOST BEEROVA ZÁKONA

ZADÁNÍ: $\lambda_{max} = 500\ nm$; $\Delta\tilde{\nu}_{1/2} = 5000\ cm^{-1}$; $s = 20\ nm$; platí L.B.z.?

ROZBOR:

$$\Delta\tilde{\nu}_{1/2} = \frac{\Delta\lambda_{1/2}}{\lambda^2_{max}} \; ; \quad s_\nu \leq \frac{|\Delta\tilde{\nu}_{1/2}|}{5}$$

(v UV-VIS splněno vždy v IČ problémy!)

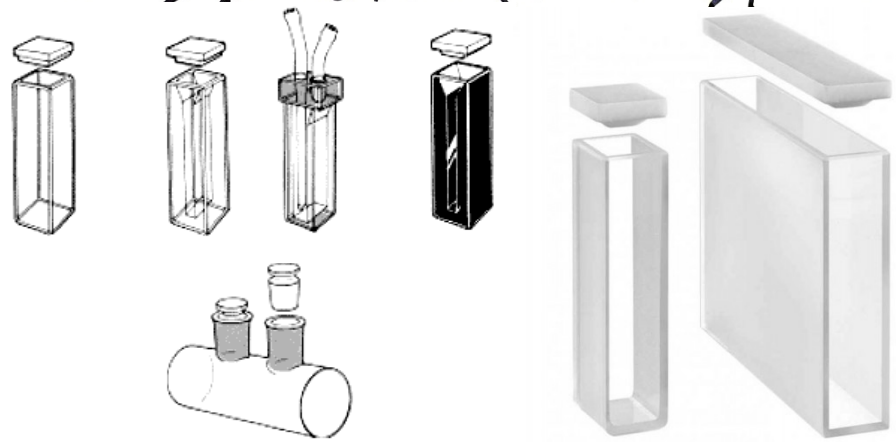
$$s_\lambda = \Delta\tilde{\nu}_{1/2} \cdot \lambda^2_{max}$$

ŘEŠENÍ:

$$s_\nu = \frac{5000\ cm^{-1}}{5} = 1000\ cm^{-1}$$

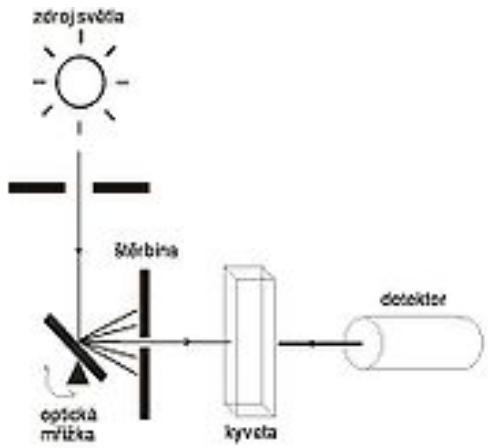
$$s_\lambda = 1000\ cm^{-1} \cdot (500 \cdot 10^{-7}\ cm)^2 = 25 \cdot 10^{-7}\ cm = \underline{\underline{25\ nm}}$$

ODPOVĚĎ: Protože spektrální šířka štěrbiny je 20 nm (< 25 nm), měl by platit L.-B. zákon.



PŘÍKLAD 22.7 MONOCHROMATIČNOST ZÁŘENÍ

ZADÁNÍ: $\nu_{max} = 1000\,cm^{-1}$, $s = 7\,cm^{-1}$ (pro NaCl hranol); $\tilde{\nu}_{max} = 1070\,cm^{-1}$; s $\Delta\tilde{\nu}_{1/2} = 20\,cm^{-1}$. Platí L.B.z.?

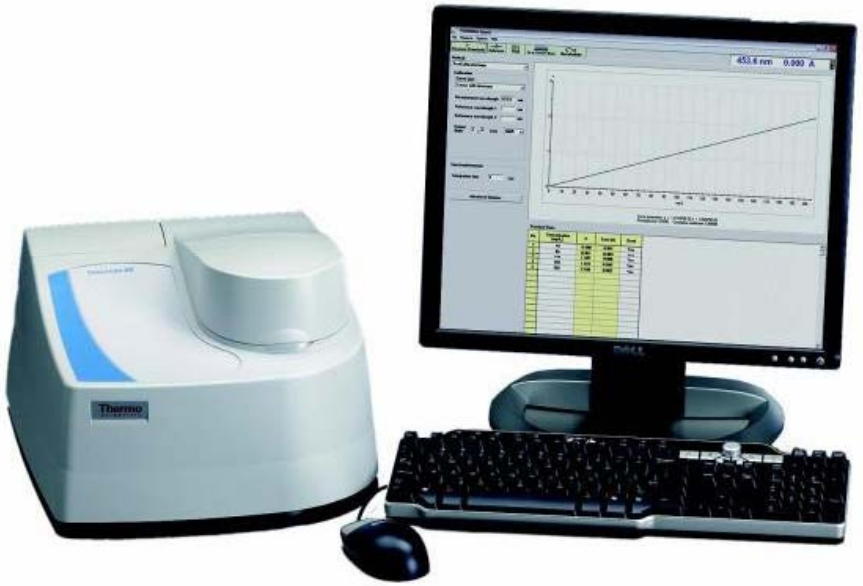


ROZBOR:

Kritérium $s \leq \frac{|\Delta\tilde{\nu}_{1/2}|}{5}$!

ŘEŠENÍ: $s = \frac{20\,cm^{-1}}{5} = 4\,cm^{-1}$.

ODPOVĚĎ: Protože s(NaCl hranol) $= 7 > 4$, nebude splněn L.B.zákon!



Příklad 22.10 Určete, jaká je skutečná délka kyvety o tloušťce 0,5 cm, s přesností na tisícinu centimetru. Transmitance roztoku K_2CrO_4 při 370 nm a 20 °C byla v této kyvetě $\tau = 0{,}324$. Tabelované hodnoty pro tento roztok jsou uvedeny v následující tabulce:

Transmitance roztoku K_2CrO_4 (0,0400 g K_2CrO_4 + 0,05 molu NaOH v litru) pro $b = 1{,}000$ cm, 20 °C a různé vlnové délky, zjištěné proti destilované vodě

λ/nm	τ	λ/nm	τ	λ/nm	τ
220	0,358	300	0,709	400	0,402
225	0,601	310	0,895	420	0,751
230	0,674	320	0,864	440	0,882
240	0,507	330	0,710	460	0,960
250	0,319	340	0,483	480	0,991
260	0,233	350	0,276	500	1,000
270	0,180	360	0,148		
280	0,194	370	0,103		
290	0,373	380	0,117		

[b = 0,496 cm]

PŘÍKLAD 22.10 STANOVENÍ PŘESNÉ DÉLKY KYVETY

ZADÁNÍ: $T_x = 0.324$, pro $d_s = 1{,}000$ cm a c_s je $T_s = 0{,}103$; $d = ?$ cm;

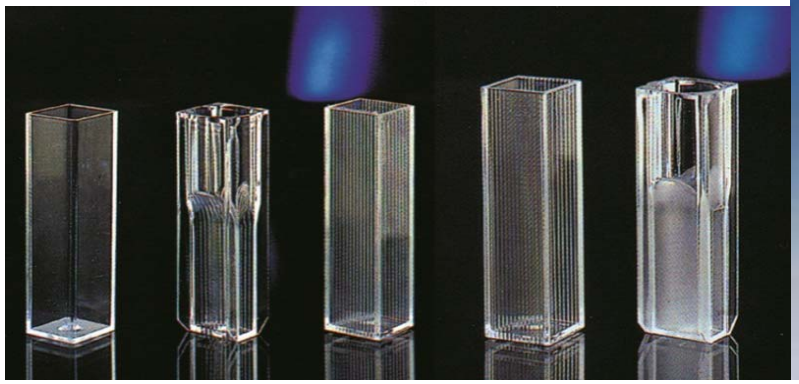
ROZBOR:

$$\left.\begin{aligned} A_s &= -\log T_s = \varepsilon \cdot d_s \cdot c_s \\ A_x &= -\log T_x = \varepsilon \cdot d_x \cdot c_s \end{aligned}\right\} \quad d_x = \frac{d_s \cdot (-\log T_x)}{(-\log T_s)}$$

ŘEŠENÍ:

$$d_x = \frac{1 \cdot (-\log 0{,}324)}{(-\log 0{,}103)} = \underline{\underline{0{,}4958 \text{ cm}}}$$

ODPOVĚĎ: Kyveta má délku 0,4958 cm.



Příklad 22.15 K ověření platnosti Beerova zákona slouží v praxi kontrola průběhu kalibrační křivky, u které se všechny uvedené vlivy projeví odchylkami od linearity. Na spektrofotometru VID byly změřeny transmitance roztoků dithizonu (difenylthiokarbazonu) v chloroformu při 610 nm v kyvetě o tloušťce $b = 1{,}000$ cm:

$c/\mu\text{mol l}^{-1}$	1,00	5,00	10,0	15,0
τ	0,906	0,610	0,372	0,228

Přesvědčte se, zda v tomto případě platí Beerův zákon. V kladném případě vypočtěte hodnotu molárního absorpčního koeficientu při 610 nm.

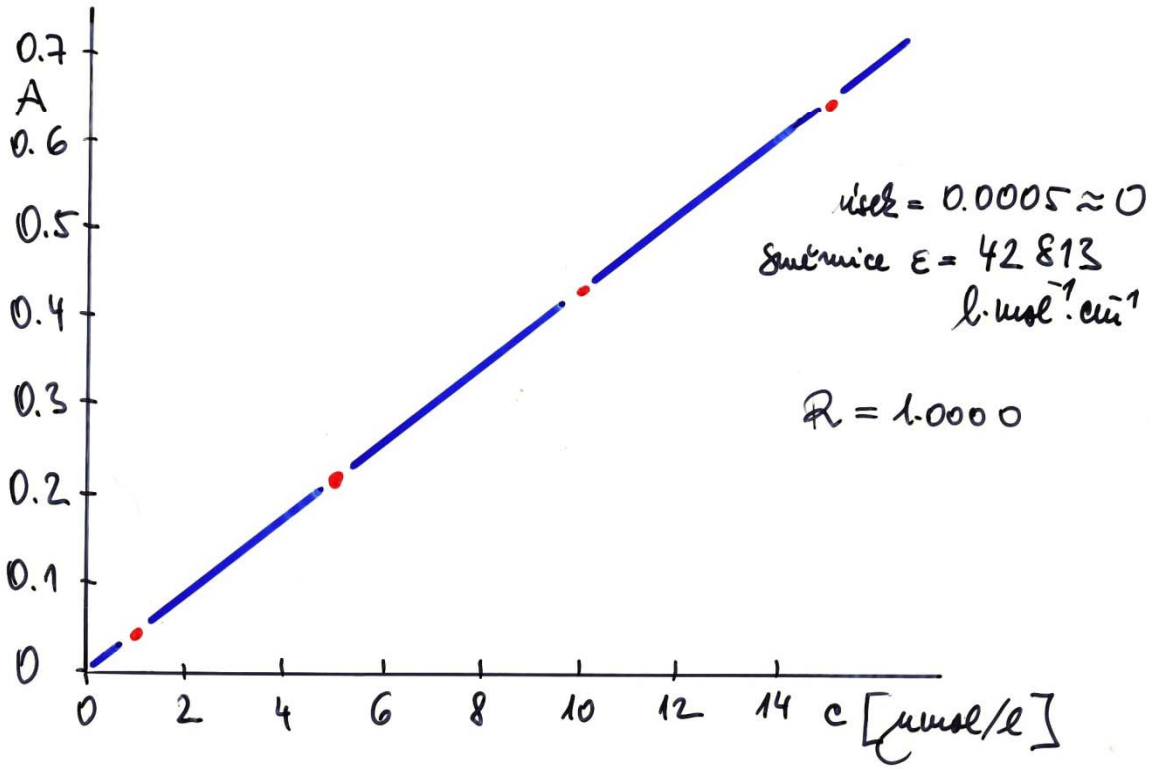
[Beerův zákon platí v celém rozsahu měřených koncentrací. $\varepsilon_{610\text{nm}} = 4{,}29 \,.\, 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$]

PŘÍKLAD 22.15 OVĚŘENÍ LINEARITY L.B. ZÁKONA

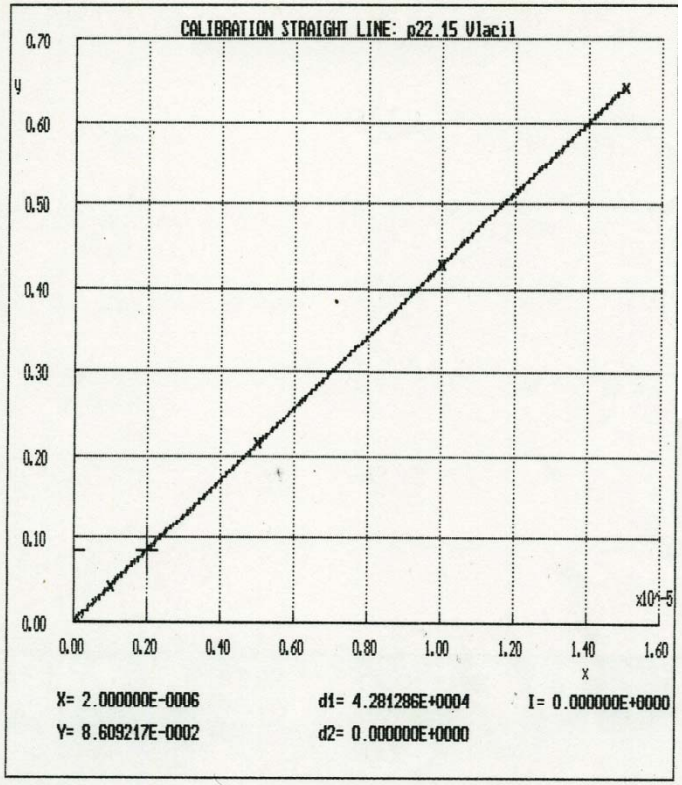
ZADÁNÍ: $d = 1\,cm$; určete ε a ověřte platnost L.B.z.

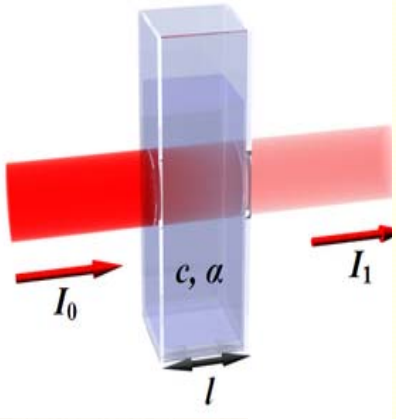
c [μmol/l]:	1,00	5,00	10,0	15,0
T [%]:	90,6	61,0	37,2	22,8
ABSORBANCE:	0,04287	0,2146	0,4295	0,6421

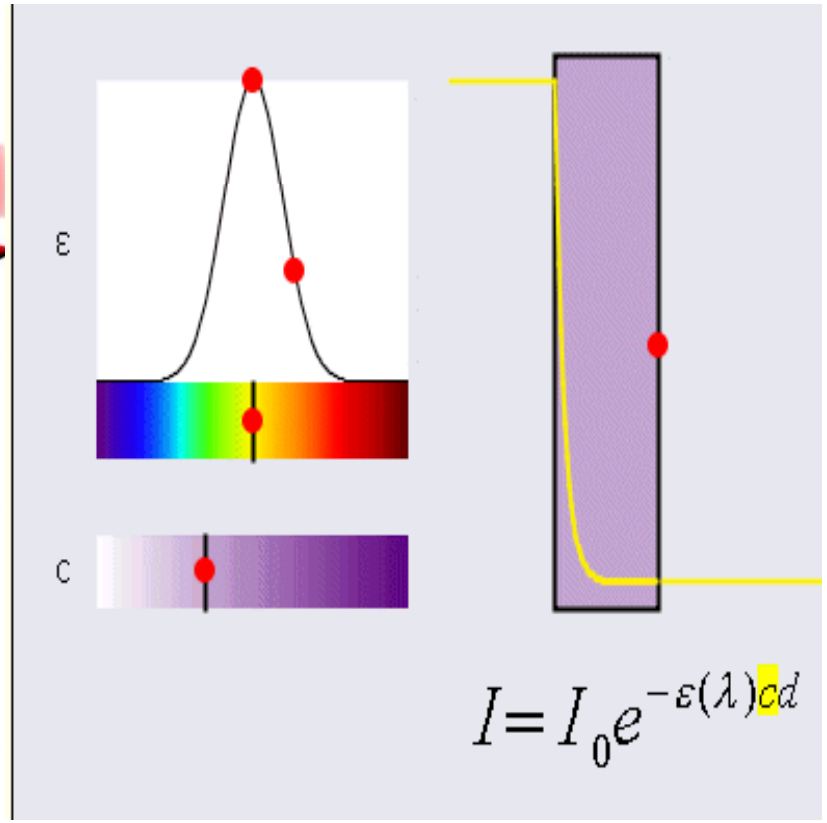
ROZBOR: $A = \varepsilon \cdot c \cdot d$



ODPOVĚĎ: Beerův zákon platí v celém rozsahu koncentrací, $\varepsilon = 42\,813\ l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.







CALIBRATION

Straight Line Fitting by the Least-Squares

Title: p22.15 Vlacil

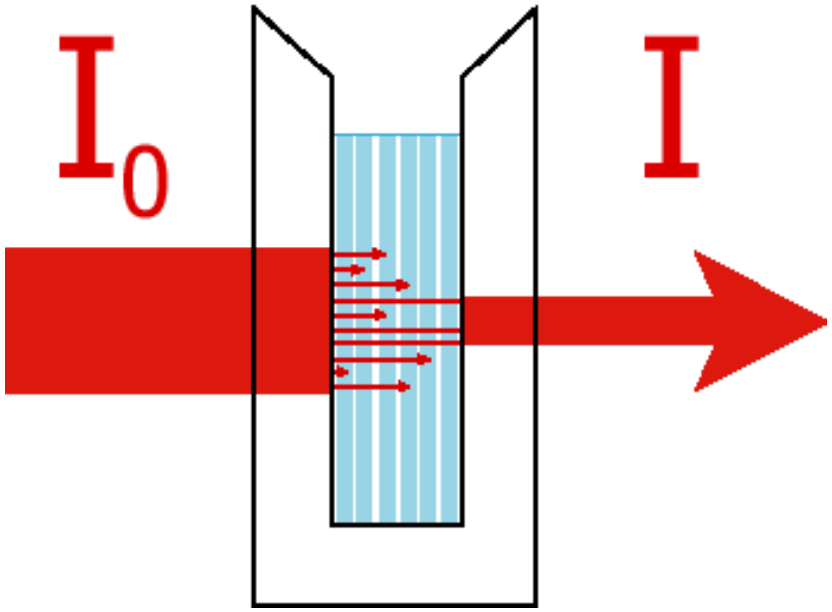
I N P U T

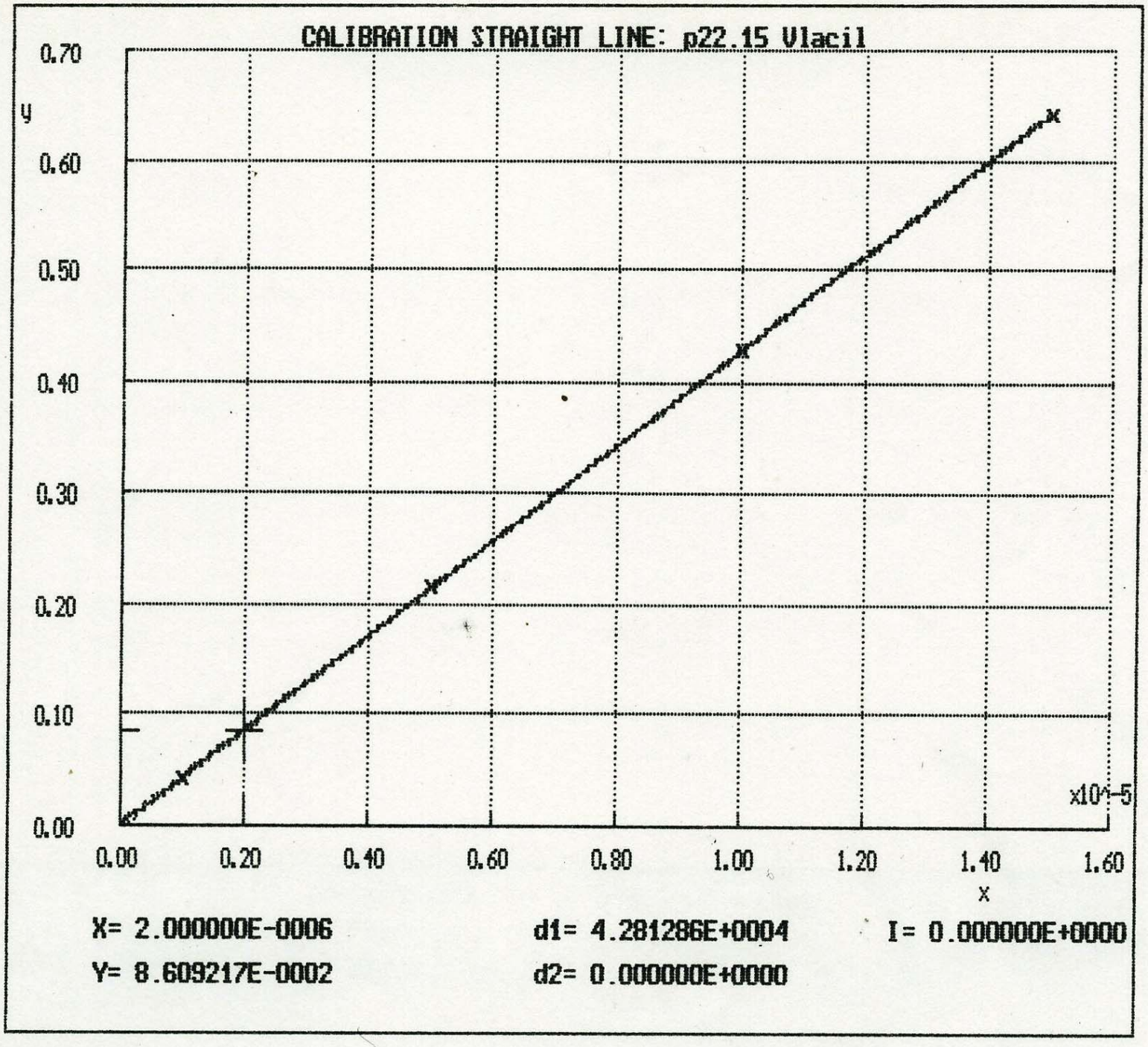
(1) CONDITIONS

Significance level, alpha	: 0.050
Number of points, n	: 4
Quantile of Student distribution t(1-alpha,n-m)	: 4.303
Output file name	: RESULTS.TXT

(2) INPUT OF ORIGINAL VARIABLES

	1	2	3	4
x	1.0000E-06	5.0000E-06	1.0000E-05	1.5000E-05
y	4.2872E-02	2.1467E-01	4.2946E-01	6.4207E-01




CALIBRATION STRAIGHT LINE: p22.15 Vlacil
y
0.70
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00
0.00
0.20
0.40
0.60
0.80
1.00
1.20
1.40
1.60
x10^-5
x
X= 2.000000E-0006
Y= 8.609217E-0002
d1= 4.281286E+0004
d2= 0.000000E+0000
I= 0.000000E+0000

O U T P U T

(1) STATISTICAL CHARACTERISTICS OF VARIABLES:

Variable	Mean	Standard deviation	Var.coef.
x	7.7500E-06	6.0759E-06	78.399
y	3.3227E-01	2.6013E-01	78.289

Sums of squares:

Sxx	: 1.1075E-10	Syy	: 2.0300E-01	Sxy	: 4.7415E-06
SumX^2	: 3.5100E-10	SumY^2	: 6.4460E-01	SumXY	: 1.5042E-05

Correlation coefficient : 1.00000

(2) CALIBRATION PARAMETERS:

Parameter	Estimate	Standard deviation	Test of HO: B°j§ = 0 vs. HA: B°j§ <> 0 t-Criterion	HO hypothesis is	Sig.level
Intercept	4.6645E-04	7.1255E-04	6.5462E-01	Accepted	0.580
Slope	4.2813E+04	7.6066E+01	5.6284E+02	Rejected	0.000

(3) ANALYSIS OF RESIDUALS:

Point i	Response measured yexp°i§	Prediction calculated ycalc°i§	Absolute residual e°i§	Relative residual er°i§
1	4.2872E-02	4.3279E-02	4.0751E-04	9.5053E-01
2	2.1467E-01	2.1453E-01	-1.3947E-04	-6.4968E-02
3	4.2946E-01	4.2860E-01	-8.6209E-04	-2.0074E-01
4	6.4207E-01	6.4266E-01	5.9405E-04	9.2522E-02

Residual sum of squares, RSS	: 1.2816E-06
Mean of absolute values of residuals, Me	: 5.0078E-04
Mean of relative residuals, Mer°%§	: 0.327
Estimate of residual variance, s^2(e)	: 6.4081E-07
Estimate of residual standard deviation, s(e)	: 8.0051E-04

(4) CALIBRATION LIMITS:

Critical level,	yc:	3.5323E-03	xc:	7.1611E-08
Detection limit,	yd:	---------	xd:	---------
Determination limit,	ys:	1.0717E-02	xs:	2.3943E-07

O U T P U T

(1) STATISTICAL CHARACTERISTICS OF VARIABLES:

Variable	Mean	Standard deviation	Var.coef.
x	7.7500E-06	6.0759E-06	78.399
y	3.3227E-01	2.6013E-01	78.289

Sums of squares:

Sxx	: 1.1075E-10	Syy	: 2.0300E-01	Sxy	: 4.7415E-06
SumX^2	: 3.5100E-10	SumY^2	: 6.4460E-01	SumXY	: 1.5042E-05

Correlation coefficient : 1.00000

(2) CALIBRATION PARAMETERS:

Parameter	Estimate	Standard deviation	Test of HO: B°j§ = 0 vs. HA: B°j§ <> 0 t-Criterion	HO hypothesis is	Sig.level
Intercept	4.6645E-04	7.1255E-04	6.5462E-01	Accepted	0.580
Slope	4.2813E+04	7.6066E+01	5.6284E+02	Rejected	0.000

(3) ANALYSIS OF RESIDUALS:

Point i	Response measured yexp°i§	Prediction calculated ycalc°i§	Absolute residual e°i§	Relative residual er°i§
1	4.2872E-02	4.3279E-02	4.0751E-04	9.5053E-01
2	2.1467E-01	2.1453E-01	-1.3947E-04	-6.4968E-02
3	4.2946E-01	4.2860E-01	-8.6209E-04	-2.0074E-01
4	6.4207E-01	6.4266E-01	5.9405E-04	9.2522E-02

Residual sum of squares, RSS : 1.2816E-06
Mean of absolute values of residuals, Me : 5.0078E-04
Mean of relative residuals, Mer°%§ : 0.327
Estimate of residual variance, s^2(e) : 6.4081E-07
Estimate of residual standard deviation, s(e) : 8.0051E-04

(4) CALIBRATION LIMITS:

Critical level,	yc:	3.5323E-03	xc:	7.1611E-08
Detection limit,	yd:	---------	xd:	---------
Determination limit,	ys:	1.0717E-02	xs:	2.3943E-07

Příklad 22.27 Pro vodné roztoky barviva o hmotnostních koncentracích ϱ byly na fotometru zjištěny tyto hodnoty absorpčních koeficientů a:

$\varrho/\mathrm{mg\ l^{-1}}$	5	10	15	20
$a\,.\,10^3/\mathrm{l\ mg^{-1}\ cm^{-1}}$	49,2	46,1	42,7	38,4

Jaká je koncentrace barviva v roztoku vzorku, který v kyvetě o tloušťce $b = 1$ cm absorboval (měřeno proti vodě) 45,0 % vstupujícího toku záření?

Řešení: Ze zadaných dat (a se mění s ϱ) je patrné, že kalibrační křivka tohoto systému nebude lineární. Úloha se proto musí řešit buď graficky, nebo početně aproximací. Pro kalibrační graf spočítáme pro uvedené koncentrace hodnoty absorbancí pro $b = 1$ cm a vyneseme je proti ϱ. Roztok vzorku má $A_x = -\log 0{,}55 = 0{,}260$. Z grafu k tomu odečteme $\varrho_x = 5{,}3\ \mathrm{mg\ l^{-1}}$. Při aproximativním výpočtu použijeme lineární interpolaci pro první dva údaje (a, ϱ) a z Beerova zákona vypočtené A:

$$\frac{a_{10} - a_5}{A_{10} - A_5} = \frac{a_x - a_5}{A_x - A_5} \tag{22.22}$$

Odtud po dosazení dostáváme $a_x = 49{,}0\,.\,10^{-3}\ \mathrm{l\ mg^{-1}\ cm^{-1}}$ a $\varrho_x = A_x/a_x = 5{,}306\ \mathrm{mg\ l^{-1}}$.

Koncentrace barviva je $5{,}31\ \mathrm{mg\ l^{-1}}$.

NÁZEV: LINEÁRNÍ INTERPOLACE U NELINEÁRNÍ KALIBRACE

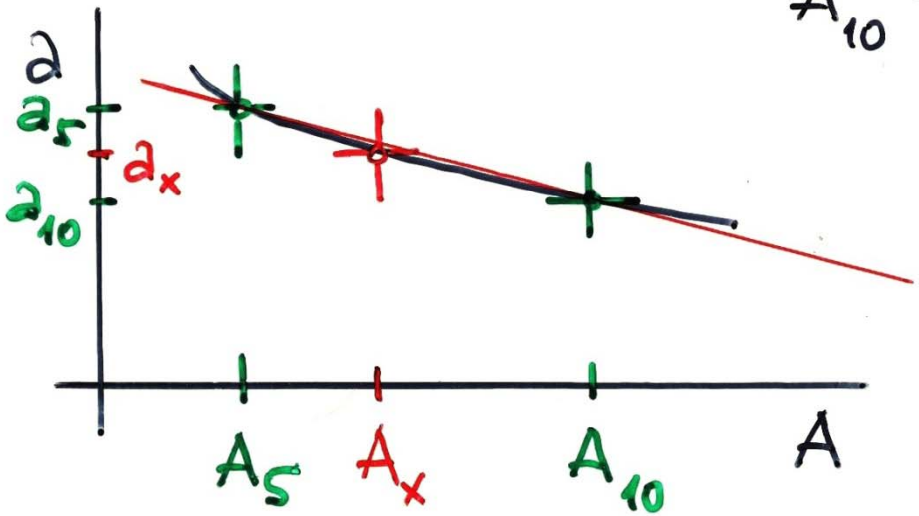
ZADÁNÍ: 22.27, $d = 1\,cm$,

Koncentrace c' $[mg \cdot l^{-1}]$	5	10	15	20
Specifický abs. koef. $a \cdot 10^3$ $[l \cdot mg^{-1} \cdot cm^{-1}]$:	49,2	46,1	42,7	38,4
Absorbance $A = a \cdot c' \cdot d$	0,246	0,461	0,640	0,768

Roztok absorboval 45% toku záření: $\Phi_0 = 100\%$, $\Phi = 55\%$.

ROZBOR: $$A = \log \frac{\Phi_0}{\Phi} = a \cdot c' \cdot d$$

lineární interpolace $$\frac{a_{10} - a_5}{A_{10} - A_5} = \frac{a_x - a_5}{A_x - A_5}$$



ŘEŠENÍ:

neznámý roztok $A_x = \log 100/55 = 0{,}25964$

interpolace $$\frac{46{,}1\times10^{-3} - 49{,}2\times10^{-3}}{0{,}461 - 0{,}246} = \frac{a_x - 46{,}1\times10^{-3}}{0{,}25964 - 0{,}461}$$

$$a_x = 49{,}0 \times 10^{-3}$$

neznámá koncentrace $$c'_x = \frac{A_x}{a_x} = \frac{0{,}25964}{0{,}0490} = \underline{\underline{5{,}3}}$$

ODPOVĚĎ: Koncentrace barviva je 5,3 mg · l⁻¹!

Příklad 22.17 *a*) Odvoďte závislost relativní změny koncentrace s transmitancí $(1/c)(\mathrm{d}c/\mathrm{d}\tau)$ na transmitanci a na absorbanci. *b*) Závislost znázorněte graficky a v grafu vyznačte vhodnou oblast hodnot τ a A pro fotometrování. *c*) Při které hodnotě τ a A je $(1/c)(\mathrm{d}c/\mathrm{d}\tau)$ minimální?

Řešení: Vyjdeme z Beerova zákona (22.5); derivací a úpravou dostaneme výsledek:

$$(1/c)(\mathrm{d}c/\mathrm{d}\tau) = 0{,}434/(\tau \log \tau) = -0{,}434/(A \,.\, 10^{-A}) \qquad (22.11)$$

b) Pro grafické znázornění závislosti vypočítáme pro zvolené hodnoty τ, např. 0; 0,1; 0,2; ...; 1,0, resp. pro zvolené hodnoty A, např. 0; 0,1; 0,2; ...; 1,0; 2,0; ...; ∞, příslušné hodnoty $(1/c)(\mathrm{d}c/\mathrm{d}\tau)$ a body vyneseme do grafu. Z křivky plyne, že oblast τ s malou relativní chybou je asi 0,15 až 0,65 a oblast absorbancí 0,2 až 0,8.

c) Pro minimum funkce, tj. $\mathrm{d}(\mathrm{d}c/c\,\mathrm{d}\tau)/\mathrm{d}\tau = 0$, je $\tau = 0{,}368$, $A = 0{,}434$.

NÁZEV: NEJLEPŠÍ PŘESNOST VE FOTOMETRII (22.17)

ZADÁNÍ: ① Odvoďte závislost relativní změny koncentrace s transmitancí $(1/c)(dc/dT)$ na transmitanci a na absorbanci.

② Závislost znázorněte graficky a vyznačte vhodnou oblast T a A pro fotometrování.

③ Při které hodnotě T a A je $(1/c)(dc/dT)$ minimální?

ROZBOR:

$$A = \varepsilon c d = -\log T$$

$$\frac{dA}{dT} = \frac{d(-\ln T)}{dT} = \varepsilon d \frac{dc}{dT}$$

$$-\frac{1}{T} \cdot \frac{dT}{dT} = \varepsilon d \cdot \frac{dc}{dT} \quad \Big| \cdot c$$

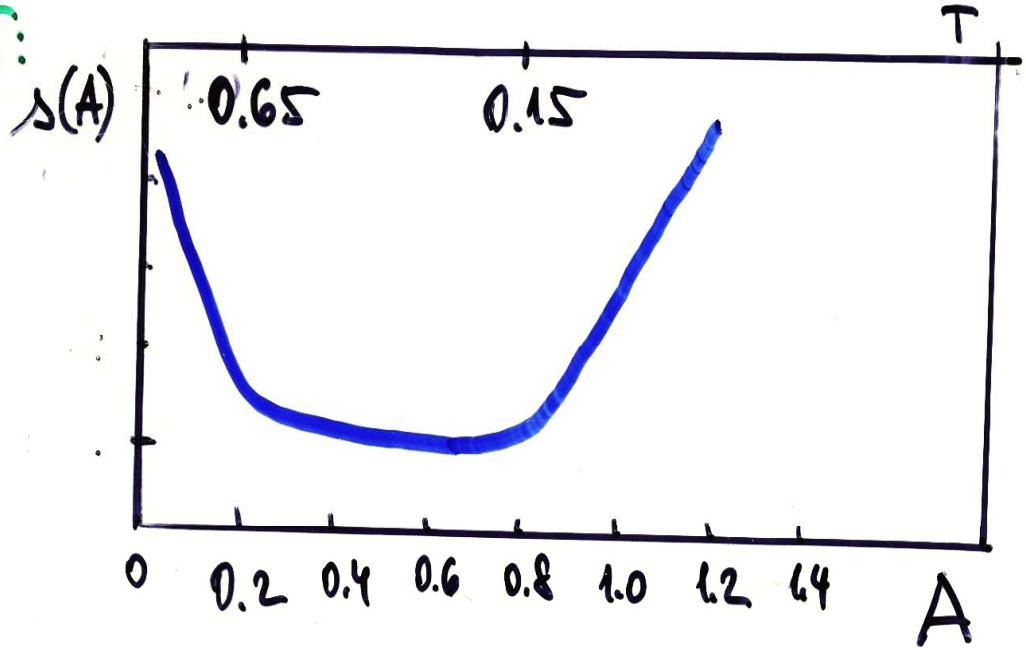
$$-\frac{c}{T} = \underbrace{\varepsilon d c}_{A = -\log T} \cdot \frac{dc}{dT}$$

$$\log T = 0{,}4343 \cdot \ln T$$

$$\frac{0{,}4343}{T \cdot \log T} = \frac{1}{c} \cdot \frac{dc}{dT}$$

$$\frac{1}{c}\frac{dc}{dT} = \frac{0{,}4343}{T \log T} = \frac{-0{,}4343}{A \cdot 10^{-A}}$$

ŘEŠENÍ:



Minimum funkce $d(1/c \cdot dc/dT)/dT = 0$ je pro $T = 0{,}368$.
čili $A = 0{,}4343$.