

KOLORIMETER

Katalógové číslo D03581



Obrázok 1. Kolorimeter

Krátky opis

Kolorimeter určuje koncentráciu roztoku analyzovaním intenzity farby. 03581 kolorimeter meria množstvo svetla preneseného cez vzorku roztoku pri zvolenej vlnovej dĺžke. Svetlo z LED prechádza cez kyvetu obsahujúcu vzorku roztoku. Na druhom konci sa nachádza citlivý fotočlánok, ktorý zisťuje množstvo prenášaného svetla. Citlivosť reakcie kolorimetra sa maximalizuje výberom farby svetla, ktoré bude prechádzať cez vzorkovací roztok. Vlnové dĺžky svetla môžeme zvoliť pomocou šípkových tlačidiel na prednej strane senzoru, a to: 635 nm (červená), 565 nm (zelená), 470 nm (modrá) a 430 nm (fialová). Vo všeobecnosti môže byť použitá farba, ktorá je vhodná na testovaciu vzorku.

Vo väčšine chemických testov je intenzita farebnej reakcie priamo úmerná koncentrácii látky, ktorá bola testovaná – čím je intenzívnejšia farba, tým je vyššia koncentrácia. Alebo v súvislosti s kolorimetrom, čím menej svetla sa preniesie k fotočlánku (väčšina svetla je absorbovaná vzorkou), tým je vyššia koncentrácia.

Kvantitatívne čítania koncentrácie látky sú založené na krivke Beerovho zákona. Koncentrácia sa môže určiť pomocou viacerých roztokov známej koncentrácie a zakreslením grafu závislosti absorbancie od koncentrácie. Hodnota koncentrácie sa určí z grafu absorbancie vzorovej látky.

Kolorimeter je vybavený BT konečkou a môže byť pripojený k nasledujúcim CMA interfejsom:

- ULAB
- CoachLab
- CoachLab II
- EuroLab

Okrem toho senzor môže byť použitý v kombinácii s inými rozhraniami, ako Texas Instruments CBL™, CBL2™ a Vernier LabPro bez použitia adaptéra.

Závislosť medzi priepustnosťou (T) a absorbanciou (A)

Množstvo svetla, ktoré prechádza roztokom, sa nazýva priepustnosť. Priepustnosť T môžeme vyjadriť ako pomer intenzity preneseného svetla I_t , a pôvodnej intenzity svetelného lúča I_0 :

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

Prevrátená hodnota priepustnosti súboru sa mení logaritmicke (základ desať) súčinom troch prvkov: ϵ , mólová absorptivita roztoku; b , šírka kyvety; a C , mólová koncentrácia:

$$\log\left(\frac{1}{T}\right) = \epsilon * b * C$$

Naviac, veľa experimentov využívajúcich kolorimeter, si vyžadujú súvisiace meranie, *absorbanciu*. Na prvý pohľad sa zdá, že závislosť medzi priepustnosťou a absorbanciou je nepriama úmernosť; teda ak klesá množstvo svetla rozptýleného roztokom, očakáva sa, že množstvo absorbovaného svetla bude klesať úmerne. Ale správny vzťah medzi týmito dvomi veličinami je prevrátený a logaritmický.:

$$A = \log\left(\frac{1}{T}\right)$$

Kombináciou predošlých dvoch rovníc dostávame výraz:

$$A = e * b * C$$

Tento vzťah poukazuje na to, že množstvo svetla absorbovaného roztokom závisí od absorpčnej schopnosti rozpustenej látky, vzdialenosti, ktorú svetlo prejde cez roztok a koncentrácie roztoku. Pre daný roztok, nachádzajúci sa v kyvete s konštantnou šírkou, predpokladáme, že ϵ a b sú konštantné. Z toho vyplýva:

$$A = k * C \text{ kde } k \text{ je konštanta úmernosti}$$

Z rovnice vyplýva priama úmernosť medzi absorbanciou a koncentráciou. Zároveň predstavuje matematický opis Beerovho zákona.

Tento zákon sa využíva v rôznych chemických a biologických experimentoch na určenie kalibračnej krivky na určenie koncentrácie. Na určenie krivky Beerovho zákona musíme pripraviť niekoľko roztokov známej koncentrácie, pričom hodnoty absorbancie sa určia pomocou kolorimetra. Potom sa zakreslí graf závislosti absorbancie od koncentrácie. Do kolorimetra sa umiestni roztok neznámej koncentrácie a odmeria sa absorbancia. Interpoláciou krivky Beerovho zákona určíme koncentráciu pomocou absorbancie.

Poznámka:

Priepustnosť možno vyjadriť aj ako percentuálnu priepustnosť alebo %T. Keďže $T = \%T/100$, vzťah medzi absorbanciou a priepustnosťou sa dá prepísať ako

$$A = \log\left(\frac{100}{\%T}\right) \text{ or } A = 2 - \log(\%T)$$

Výber vlnových dĺžok

Na vybratie oblasti vlnových dĺžok slúži šípka na vrchu kolorimetra. Môžete zvoliť jednu zo štyroch vlnových dĺžok označených LED diódami: fialovú (430 nm), modrú (470 nm), zelenú (565 nm), a červenú (635 nm). Existuje viacero spôsobov, ako sa rozhodnúť, ktorú s vlnových dĺžok použiť.

Metóda 1

Pozrite sa na farbu roztoku. Uvedomte si, že farba roztoku je farba, ktorá roztokom prechádza. Pravdepodobne budete chcieť použiť inú farbu svetla, ktorá sa bude pohlcovať a nie prechádzať; napríklad pri roztoku modrej skalice použijete červenú LED (635 nm).

Metóda 2

Ďalšia jednoduchá metóda je umiestniť kyvetu obsahujúcu neznámy roztok do kolorimetra a pozrieť sa, ktorá z vlnových dĺžok sa najviac pohlcuje.

Metóda 3

Návody k väčšine kolorimetrických experimentov obsahujú odporúčanú vlnovú dĺžku. Použite vlnovú dĺžku najbližšiu k odporúčanej vlnovej dĺžke. Aj keď vlnová dĺžka LED diódy je o niečo odlišná, krivka Beerovho zákona sa zvyčajne dá získať takmer pri každej vlnovej dĺžke, ktorá je v blízkosti odporúčanej vlnovej dĺžky.

Použitie kyvety spolu s kolorimetrom

Kolorimeter je navrhnutý tak, aby používal polystyrénové 1cm x 1cm kyvety (štandardné kyvety). Dve protíahlé strany kyvety sú rebrované a nie je ich účelom prepúšťať svetlo z LED diódy. Na to slúžia dva hladké povrchy kyvety. Je dôležité umiestniť kyvetu do kolorimetra správne, hladkou stranou oproti lúču na zadnej strane otvoru a rebrovanými stranami vľavo a vpravo. Svetlo putuje z LED diódy na vrchu, cez kyvetu až k detektoru v spodnej časti otvoru.

Ako pri väčšine spektrometrov sa jednotlivé umelohmotné kyvety trochu líšia v množstve svetla, ktoré absorbujú. Tieto rozdiely možno ignorovať. Vo väčšine laboratórnych cvičení, táto odchýlka nebude mať badateľný vplyv na experimentálne výsledky.

Pre získanie lepších výsledkov, je možné regulovať odchýlky v svetelnej absorpcii kyviet, buď použitím tej istej kyvety pre všetky pokusy, alebo použitím sady zhodných kyvet. Najjednoduchšia a najspoľahlivejšia je prvá metóda. Ak študent ide použiť päť



vzoriek na experiment overujúci Beerov zákon, musí preliať päť štandardných roztokov, jeden pre každý pokus, do tej istej kyvety. Toto si vyžaduje, aby po každom pokuse kyvetu vyčistil a vysušil, alebo vypláchol niekoľkokrát roztokom, ktorý sa bude ďalej používať.

Ako alternatívou môžeme povyberať navzájom zhodné kyvety. Zhodné kyvety sú sada kyviet, z ktorých všetky absorbujú svetlo (keď sú prázdne) na približne rovnakej úrovni. Aby sme zoskupili sadu kyviet, použijeme suché, čisté kyvety na ktoré umiestnime referenčnú značku, na hladkú stranu kyviet, tak že bude orientovaná rovnakým spôsobom na každej kyvete. Umiestnime každú kyvetu do kolorimetra a zaznamenáme jej absorbné hodnoty. Keď dokončíme, zoskupíme kyvety podľa podobných absorbných hodnôt.

Celkový objem kyvety je 4.1 ml. Pre meranie plníme kyvetu od 2.2 do 3.5 ml. Aby nato študenti nezabudli, nakreslite značku vodeodolnou fixkou na jednu z rebrovaných strán každej kyvety.

S 15 originálnymi kyvetami sú dodávané aj vrchnáky Kyveta môže, ale nemusí mať vrchnák pri jej umiestnení do kolorimetra. Dôvod, prečo použiť vrchnák, je zabrániť vyparovaniu roztoku, ak experiment beží viac ako niekoľko dní.

Námety na experimenty

Kolorimeter sa dá použiť pri experimentoch ako napríklad:

- Aplikácia Beerovho zákona:
Crystal violet – Zriedené roztoky proteínového farbiva crystal violet dávajú dobré krivky opisujúce Beerov zákon pri použití zelenej LED (565 nm). Roztok 8×10^{-5} M crystal violet sa pripraví pridaním 65.3 mg tuhého crystal violet do dostatočného množstva vody, tak aby sme dostali 2 litre roztoku. *Síran meďnatý*- Štandardné roztoky 0.1 M, 0.2 M, 0.3 M a 0.4 M CuSO_4 vedú k dobrým krivkám opisujúcim Beerov zákon pri 635 nm (červená LED). Alebo si pripravte roztok pridaním 10 g NH_4NO_3 do 10 ml 0.1 M CuSO_4 a 90 ml 0,2 M NH_3 (vzniká $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$) a rozriedte na získanie štandardného roztoku.
- Zistenie reakčnej rýchlosti crystal violet
Pridajte 10 ml of 8×10^{-5} M roztoku crystal violet do 5.0 ml of 0.10 M NaOH a doplňte vodou do 100 ml. Odfarbenie roztoku potrvá od 15 do 20 minút.

Inteligentný senzor

Kolorimeter je inteligentný senzor. Senzor má pamäťový čip (EEPROM) obsahujúci informáciu o senzore. Cez jednoduchý protokol (I^2C) senzor posiela vlastné dáta (meno, veličinu, jednotku a kalibráciu) interfejsu. Interfejs automaticky zobrazí kalibrované hodnoty a oznámi túto informáciu softvéru Coach. Interfejsy CMA ULAB, TI CBL2 a Vernier LabPro podporujú inteligentné senzory. Kolorimeter sa dodáva s vnútornou štandardnou kalibráciou.

Kalibrácia

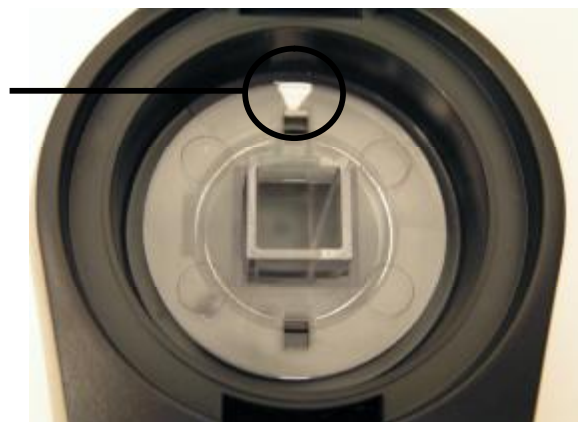
Výstup kolorimetra je lineárny vo vzťahu k priepustnosti.

Pred zberaním dát musíme pre zvolenú vlnovú dĺžku nastaviť počiatočný bod kalibrácie. Na päť minút nechajte systém stabilizovať sa na požadovanú vlnovú dĺžku¹. Keď sa zapne kolorimeter, svieti jedno zo štyroch zelených indikátorov. Na nastavenie počiatočného bodu kalibrácie:

- Stlačte tlačidlo < alebo > na výber správnej vlnovej dĺžky vyhovujúcej vášmu experimentu (430 nm, 470 nm, 565 nm, or 635 nm).
- Otvorte kryt kolorimetra.
- Vložte prázdnu kyvetu naplnenú destilovanou vodou (100% priepustnosť alebo 0 absorbancia).

Dôležité: Označte jednu *čistú* stranu kyvety šípkou na vrchu štrbiny kyvety. (pozri obrázok).

- Zatvorte kryt kolorimetra.
- Stlačte tlačidlo CAL na spustenie kalibrácie. Pustite tlačidlo CAL, keď zažiarí červená LED dióda. Kalibrácia je ukončená, keď LED dióda prestane svietiť a absorbancia bude 0.000 or 0.001. Teraz je systém pripravený zberať dáta.



Pamäť senzoru EEPROM a knižnica senzorov programu Coach podporuje kalibráciu absorbancia-napätie (kolorimeter pracuje ako meradlo absorbancie s vodou ako roztokom).

Kolorimeter produkuje výstupné napätie, ktoré sa s priepustnosťou mení lineárne podľa nasledujúceho vzťahu:

$$V_{výst} = 0.035 * \%T$$

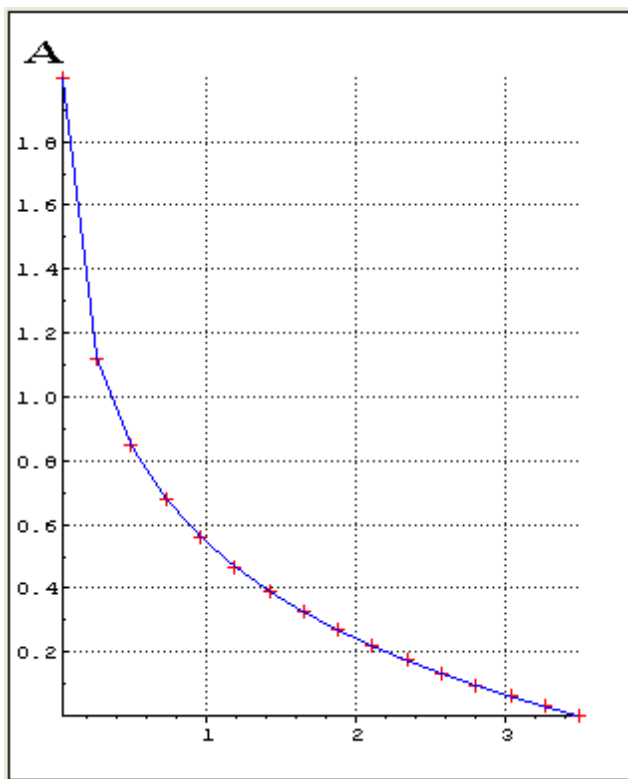
Vzťah medzi absorbanciou a výstupným napätím je:

$$A = 2 - \log(\%T) = 2 - \log(28.571 * V_{výst}) = 0.544068 - \log(V_{výst})$$

Názov kolorimetra v knižnici senzorov v programe Coach 5 je **Colorimeter (4 colors) (03581i) (CMA) (0..1)**.

V blízkej budúcnosti bude dostupný program, ktorý bude umožňovať nahradenie predvolenej kalibrácie senzoru v EEPROM kalibráciou používateľa. To bude možné pokiaľ bude senzor pripojený k systému na zber dát ULAB.

¹ Pre lepšie výsledky, systém by sa mal nechať stabilizovať na päť minút, predchádzajúcich kalibrácii alebo zberu dát.



V	A
0.035	2.0000
0.266	1.1192
0.497	0.8477
0.728	0.6819
0.959	0.5622
1.190	0.4685
1.421	0.3915
1.652	0.3261
1.883	0.2692
2.114	0.2190
2.345	0.1739
2.576	0.1331
2.807	0.0958
3.038	0.0615
3.269	0.0297
3.500	0.0000

Obrázok 2.

Predvolený graf kalibrácie kolorimetra (použitý v knižnici senzorov programu Coach a pamäti senzora)

$$A = 0.544068 - \log V_{\text{výst}}$$

Rozsah absorbcie a priepustnosti pre kolorimeter

Výsledky testov na kolorimetri ukazujú, že priepustnosť a absorbcia spadajú do týchto oblastí:

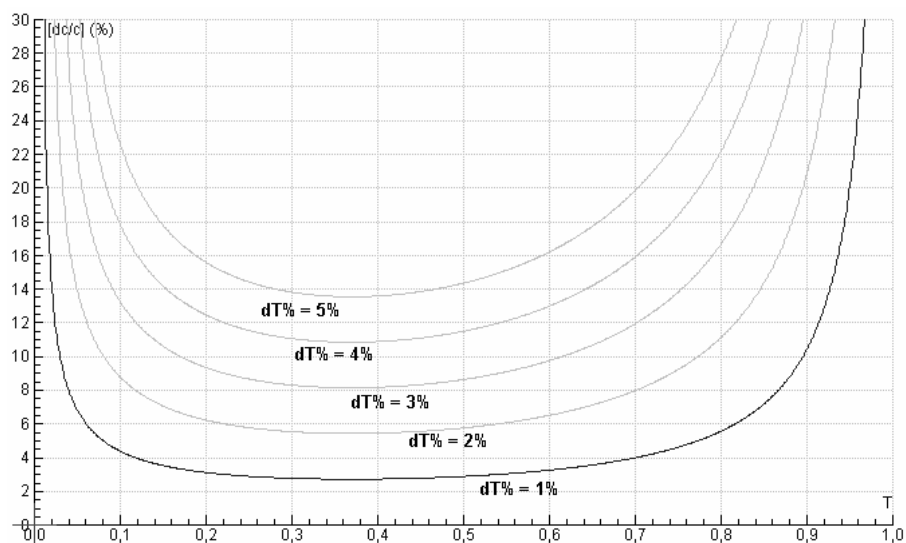
Priepustnosť: 0.10 – 0.90

Absorbancia: 0.05 – 1.0

Okrem obmedzení v dôsledku rozsahu kolorimetra, chyba nastáva v meraní koncentrácie (absorbancie), čo je ovplyvnené chybou priepustnosti (dT% na obrázku 3).

Na dosiahnutie spoľahlivých výsledkov kalibrácie roztokov je dobré použiť tie, ktoré ležia v rovnnej časti krivky dT% = 1% (1% presnosť priepustnosti).


Ukázali sme, že výsledky



Obrázok 3. Percentuálna chyba merania koncentrácie (alebo absorbancie) ako funkcia priepustnosti pre rôzne presnosti (dT%) rozsahu priepustnosti.

experimentu potvrdzujúceho Beerov zákon, sa nemenia lineárne pri hodnotách absorpcie nad 1.0 (hodnoty priepustnosti menšie ako 0.10). Ak máte roztok, ktorý prepúšťa také malé množstvo svetla, zriedte roztok tak, aby spadol do prípustného rozsahu.

Technické údaje

Rozsah kolorimetra	Absorbancia: 0 .. 3
Užitočný rozsah	Percentuálna priepustnosť: 90% .. 10% Absorbancia: 0.05 .. 1.0
Rozsah výstupného napätia	0 - 4 V
Rozsah vlnových dĺžok	fialová (430 nm or 4300 Å) modrá (470 nm or 4700 Å) zelená (565 nm or 5650 Å) červená (635 nm or 6350 Å)
Kalibračná funkcia Kalibrácia v pamäti EEPROM	$%T = 28.571 * V_{výst}$ $A = 0.544068 - \log(V_{výst})$ alebo $A = 0.544068 - 0.434294 \ln(V_{výst})$
Rozlíšenie s použitím 12 bitového A/D prevodníka	0.035 %T
Dodávané napätie	5VDC \pm 25 mV
Dodávaný prúd (typický)	40 mA
Čas na zapnutie	700 ms (maximum)
Informácie o senzore pre automatickú identifikáciu a kalibráciu	256 bajtový sériový EEPROM
Pripojenie	 BT (British Telecom) koncovka

Tento produkt je určený predovšetkým na vzdelávacie účely. Nie je určený pre priemyselné, medicínske, výskumné, alebo iné komerčné použitie

DISTRIBÚCIA NA SLOVENSKU

PD COMP, Martinská 34, 821 05 Bratislava

Tel: 0903 910355 , e-mail: coach@chello.sk, <http://www.cma.science.uva.nl/english>