

KOLORYMETR¹

Opis D03581



Ryc. 1. Kolorymetr

¹ Informacje dotyczące aktualizacji biblioteki czujników dla oprogramowania Coach 5 można znaleźć na stronie <http://www.cma.science.uva.nl/english> w sekcji Support > Coach 5.

Opis skrócony

Kolorymetr służy do określania stężenia roztworów na podstawie analizy intensywności ich barw.

Kolorymetr 03581 mierzy ilość światła o określonej przez użytkownika długości fali, przechodzącego przez próbkę roztworu. Światło wytwarzane przez diodę LED przechodzi przez kuwetę, zawierającą próbkę roztworu. Fotokomórka na drugim końcu toru optycznego określa ilość przepuszczonego światła. Dokładność wskazania kolorymetru można zmaksymalizować dzięki możliwości wyboru barwy światła, przechodzącego przez badaną próbkę. Za pomocą przycisków strzałek, znajdujących się na panelu przednim urządzenia, można wybrać następujące długości fal: 635 nm (światło czerwone), 565 nm (światło zielone), 470 nm (światło niebieskie) i 430 nm (światło fioletowe). Zasadniczo należy wybierać barwę uzupełniającą barwę próbki.

W większości eksperymentów chemicznych intensywność barwy jest wprost proporcjonalna do stężenia badanej substancji – im intensywniejsza barwa, tym wyższe stężenie. W odniesieniu do kolorymetru prawidłowość ta przedstawia się następująco: im mniej światła dociera do fotokomórki (im więcej jest pochłaniane przez próbkę), tym wyższe jest stężenie.

Ilościowy pomiar stężenia substancji opiera się na wykresie, wynikającym z prawa Beera i może zostać dokonany przez przygotowanie kilku roztworów o znanym stężeniu z badanej substancji i sporządzenie wykresu zależności absorbancji od stężenia. Następnie po odczytaniu z kolorymetru absorbancji próbki można określić stężenie roztworu.

Kolorymetr jest wyposażony we wtyczkę typu BT i może zostać podłączony do następujących urządzeń pomiarowych CMA:

- ULAB
- CoachLab
- CoachLab II
- UIA/UIB za pośrednictwem konsoli pomiarowej (przy użyciu adaptera 0520²).

Ponadto czujnik może być używany z innymi urządzeniami, takimi jak Texas Instruments CBL™, CBL2™ oraz Vernier LabPro bez konieczności stosowania adaptera.

Zależność między transmitancją (T) a absorbancją (A)

Ilość światła, jaka przechodzi przez roztwór, nazywamy transmitancją. Transmitancja T może być wyrażona jako stosunek intensywności przepuszczonego światła I_t do początkowej intensywności wiązki światła I_0 :

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

Odwrotność transmitancji próbki zmienia się logarytmicznie (logarytm dziesiętny) wraz ze zmianą iloczynu trzech czynników: ϵ , molowy współczynnik absorpcji roztworu; b , długość kuwety lub celki oraz C , stężenie molowe:

² Adapter CMA, nr artykułu 0520, pozwala na podłączenie czujników wyposażonych we wtyczki typu BT do wejść 4 mm.

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

Ponadto wiele eksperymentów, prowadzonych przy użyciu kolorymetru, wymaga wykonania powiązanego pomiaru tj. *absorbancji*. Na pierwszy rzut oka mogłoby się wydawać, że transmitancja i absorbancja są względem siebie po prostu odwrotne, tzn. wraz ze wzrostem ilości światła przenikającego przez roztwór ilość światła pochłanianego powinna się proporcjonalnie zmniejszać. W rzeczywistości relacja między transmitancją i absorbancją jest odwrotna i logarytmiczna:

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

Po połączeniu powyższych równań otrzymamy następujące wyrażenie:

$$A = \varepsilon * b * C$$

Z powyższego wzoru wynika, że ilość światła pochłanianego przez roztwór zależy od zdolności absorpcyjnej roztworu, odległości jaką musi przebyć światło przez roztwór, oraz stężenia roztworu. Dla danego roztworu znajdującego się w kuwecie o stałej długości można założyć, że ε i b są stałe. W rezultacie otrzymujemy następujące równanie:

$$A = k * C \text{ gdzie } k \text{ to stała proporcjonalności}$$

Równanie to pokazuje, że absorbancja jest bezpośrednio zależna od stężenia i jest matematycznym wyrażeniem prawa Beera.

W wielu eksperymentach chemicznych i biologicznych prawo to stosowane jest do sporządzenia wykresu kalibracyjnego służącego do określania stężenia. Aby uzyskać krzywą na podstawie prawa Beera, należy przygotować kilka roztworów o znanych stężeniach, a następnie określić ich absorbancję za pomocą kolorymetru. W rezultacie powstanie wykres, pokazujący zależność między absorbancją i stężeniem. Następnie w kolorymetrze umieszcza się próbkę roztworu o nieznanym stężeniu i mierzy się jej absorbancję. Po dokonaniu interpolacji wartości absorbancji roztworu, z wykresu prawa Beera można odczytać jego stężenie.

Uwaga:

Transmitancję można również wyrazić jako transmitancję procentową, czyli %T. W związku z tym, że $T = \%T/100$, wzór opisujący zależność między absorbancją a transmitancją można przekształcić do następującej postaci:

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

Dobór długości fali

Za pomocą strzałek, służących do wyboru długości fali, znajdujących się na górze obudowy kolorymetru, można wybrać jedną z czterech dostępnych długości fali światła emitowanego przez diodę: fioletowe (430 nm), niebieskie (470 nm), zielone (565 nm) i czerwone (635 nm). Istnieje kilka sposobów na określenie, która z długości fali powinna być użyta w danym przypadku.

Sposób 1

Sprawdzić barwę roztworu. Należy pamiętać, że barwa roztworu jest barwą światła, które przez niego przenika. Należy użyć odwrotnej barwy, która będzie przez roztwór absorbowana, a nie przepuszczana, np. do niebieskiego roztworu siarczanu miedzi(II) (CuSO_4) użyjemy światła czerwonego (635 nm).

Sposób 2

Innym prostym sposobem jest umieszczenie kuwety zawierającej badany roztwór w kolorymetrze i sprawdzenie, która z długości fali daje największą absorbancję.

Sposób 3

Większość instrukcji wykonania eksperymentów kolorymetrycznych zawiera wskazówki dotyczące zalecanej długości fali. Należy używać światła o długości fali najbardziej zbliżonej do zalecanej. Nawet jeśli długość fali światła emitowanego przez diodę jest nieco inna, nie stanowi to problemu, ponieważ wykres wynikający z prawa Beera można uzyskać prawie dla każdej długości fali zbliżonej do zalecanej.



Używanie kuwet w kolorymetrze

Kolorymetr jest przystosowany do pracy z kuwetami polistyrenowymi o wymiarach 1x1 cm (standardowe kuwety jednorazowe). Dwie, leżące naprzeciwko siebie ścianki kuwety są żłobkowane i nie są przeznaczone do przepuszczania przez nie światła emitowanego przez diodę. Światło jest przepuszczane przez dwie gładkie powierzchnie kuwety. Bardzo ważne jest, aby umieścić kuwetę w kolorymetrze we właściwy sposób tj. gładką stronę w kierunku strzałki, znajdującej się z tyłu gniazda. Żłobkowane ścianki kuwety powinny znajdować się po prawej i lewej stronie. Światło będzie od znajdującej się u góry diody, przez kuwetę w kierunku fotokomórki znajdującej się pod gniazdem.

Tak jak w przypadku większości próbek wykorzystywanych w spektrometrii, poszczególne kuwety z tworzywa sztucznego różnią się między sobą nieznacznie pod względem ilości absorbowanego światła. Różnicę tę można zignorować. W przypadku większości doświadczeń laboratoryjnych różnica ta nie będzie miała znaczącego wpływu na wynik eksperymentu.

Jednakże, aby uzyskać możliwie najdokładniejsze wyniki, można kontrolować różnice absorpcji światła przez poszczególne kuwety, używając tej samej kuwety do wszystkich pomiarów wykonywanych w ramach eksperymentu lub przez *dopasowanie* zestawu kuwet. Najprostszy i najbardziej niezawodny jest sposób pierwszy. Jeśli student będzie miał wykonać pięć pomiarów w ramach eksperymentu dotyczącego prawa Beera, wszystkie pięć roztworów wzorcowych może być kolejno umieszczonych w

tej samej kuwecie. Kuweta musi jednak być wyczyszczona i wysuszona po każdym pomiarze *lub* kilkakrotnie wypłukana za pomocą roztworu, który będzie do niej wprowadzony.

Alternatywnym sposobem jest dobór kuwet. W zestawie złożonym z dobranych do siebie kuwet wszystkie absorbują światło mniej więcej na tym samym poziomie (gdy są puste). Do doboru kuwet należy używać czystych i suchych kuwet. Jedną z gładkich ścianek kuwety należy oznaczyć markerem, tak aby zawsze można było umieścić kuwetę w gnieździe w taki sam sposób. Następnie należy po kolei umieszczać kuwety w kolorymetrze i rejestrować wartość absorbancji dla każdej z nich. Po zakończeniu pomiarów należy pogrupować kuwety według podobnych wartości absorbancji.

Całkowita objętość kuwety to 4,1 ml. Do każdego pomiaru kuwetę należy napęlić cieczą o objętości od 2,2 do 3,5 ml. Aby skierować uwagę studentów na ten aspekt, odpowiedni poziom można zaznaczyć wodoodpornym markerem na żłobkowanej ściance każdej kuwety.

15 dołączonych do urządzenia kuwet wyposażonych jest w wieczka. Umieszczając kuwetę w kolorymetrze, można, ale nie trzeba zamykać jej za pomocą wieczka. Wieczko służy do zapobiegania parowaniu rozpuszczalników w sytuacjach, gdy eksperymenty trwają kilka dni.

Zalecane eksperymenty

Kolorymetr można wykorzystywać do przeprowadzania następujących eksperymentów:

- Zastosowanie prawa Beera:
Fiolet krystaliczny – Rozcieńczony roztwór fioletu krystalicznego umożliwia uzyskanie bardzo dokładnego wykresu, wynikającego z prawa Beera przy użyciu światła zielonego (565 nm). Roztwór podstawowy fioletu krystalicznego o stężeniu 8×10^{-5} M można przygotować dodając 65,3 mg fioletu krystalicznego w postaci stałej do takiej ilości wody, aby uzyskać dwa litry roztworu. *Siarczan miedzi* – wzorcowe 0,1 M, 0,2 M, 0,3 M i 0,4 M roztwory CuSO_4 umożliwiają uzyskanie dokładnego wykresu, wynikającego z prawa Beera, przy użyciu światła czerwonego (635 nm). Można również przygotować roztwór podstawowy, dodając 10 g NH_4NO_3 do 10 ml 0,1 M CuSO_4 i 90 ml 0,2 M NH_3 (powstanie jon kompleksowy $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$), a następnie rozcieńczyć go, uzyskując roztwory wzorcowe.
- Określanie stałej szybkości reakcji fioletu krystalicznego.
10 ml 8×10^{-5} M roztworu fioletu krystalicznego dodać do 5 ml 0,1 M NaOH i uzupełnić wodą do 100 ml. Odbarwianie roztworu trwa od 15 do 20 minut.

Inteligentny czujnik

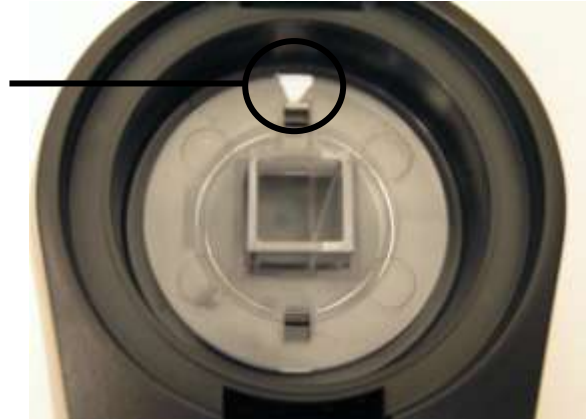
Kolorymetr jest czujnikiem inteligentnym. Wyposażony jest w układ pamięci nieulotnej (EEPROM), w którym zapisano informacje o czujniku. Za pośrednictwem prostego protokołu (I^2C) czujnik przesyła swoje dane (nazwę, ilość, jednostkę i informacje kalibracyjne) do urządzenia pomiarowego. Urządzenie automatycznie wyświetla informacje kalibracyjne i przekazuje je do oprogramowania Coach. Czujniki inteligentne obsługiwane są przez urządzenia CMA ULAB, TI CBL2 oraz Vernier LabPro. Kolorymetr jest dostarczany ze standardową kalibracją zapisaną we wbudowanym układzie pamięci.

Kalibracja

Informacje dotyczące transmitancji dostarczane przez czujnik mają charakter liniowy.

Przed rozpoczęciem gromadzenia danych należy wykonać kalibrację punktu zerowego dla wybranej długości fali. Należy odczekać 5 minut³, aż system ustabilizuje się po wybraniu żądanej długości fali. Gdy kolorymetr jest włączony, powinna świecić się jedna z czterech zielonych kontrolki długości fali. Aby wykonać kalibrację punktu zerowego należy:

- Wcisnąć przycisk < lub > na kolorymetrze, aby wybrać odpowiednie na potrzeby eksperymentu ustawienia długości fali (430 nm, 470 nm, 565 nm lub 635 nm).
- Następnie należy otworzyć pokrywę kolorymetru.
- Do gniazda należy włożyć kufetę, zazwyczaj wypełnioną wodą destylowaną, służącą do wykonania pomiaru ślepej próby (100% transmitancja lub zerowa absorbancja).
Ważne: Kufeta powinna być umieszczona w gnieździe w taki sposób, aby jedna z jej gładkich ścianek znajdowała się w miejscu wskazanym przez strzałkę widoczną w górnej części gniazda (jak na zdjęciu).
- Zamknąć pokrywę kolorymetru.
- Następnie wcisnąć przycisk CAL, aby rozpocząć proces kalibracji. Gdy czerwona dioda zacznie migać, zwolnić przycisk CAL. Kalibracja zakończy się, gdy dioda przestanie migać, a wartość absorbancji wynosić będzie 0,000 lub 0,001. Urządzenie jest gotowe do gromadzenia danych.



Układ pamięci EEPROM czujnika oraz biblioteka standardowych czujników oprogramowania Coach dostarczają danych o kalibracji absorbancji i napięcia (kolorymetr działa jak miernik absorbancji, jeśli rozpuszczalnikiem jest woda).

Kolorymetr wytwarza napięcie wyjściowe, które zmienia się liniowo razem z transmitancją zgodnie ze wzorem:

$$V_{out} = 0,035 * \%T$$

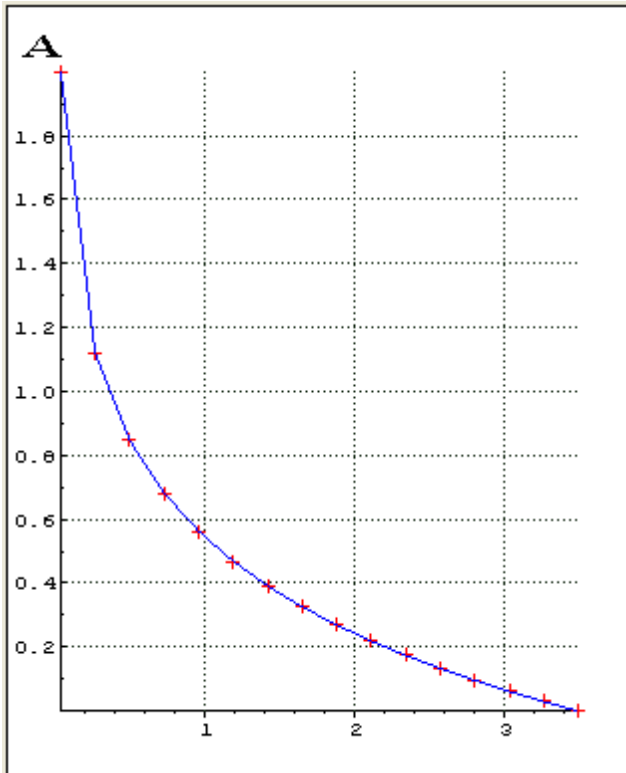
Między absorbancją a napięciem wyjściowym zachodzi następująca zależność:

$$A = 2 - \log(\%T) = 2 - \log(28,571 * V_{out}) = 0,544068 - \log(V_{out})$$

Nazwa kolorymetru w bibliotece czujników programu Coach 5 to Colorimeter (4 colors) (03581i) (CMA) (0..1).

W niedalekiej przyszłości wydane zostanie oprogramowanie przeznaczone do zamiany standardowych informacji kalibracyjnych zapisanych w układzie pamięci EEPROM czujnika na informacje kalibracyjne przygotowane przez użytkownika. Aby dokonać zamiany informacji kalibracyjnych, trzeba będzie podłączyć czujnik do rejestratora danych ULAB. Dzięki temu czujnik będzie mógł być wyposażony we własne, precyzyjne dane kalibracyjne.

³ Aby uzyskać optymalne wyniki, należy pozostawić urządzenie do ustabilizowania na 5 minut przed kalibracją lub rejestracją danych.



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

Ryc. 2.
Domyślna krzywa kalibracyjna kolorymetru (stosowana w standardowej bibliotece oprogramowania Coach i w pamięci czujnika)
 $A = 0,544068 - \log V_{out}$

Zakresy absorbancji i transmitancji obsługiwane przez kolorometr

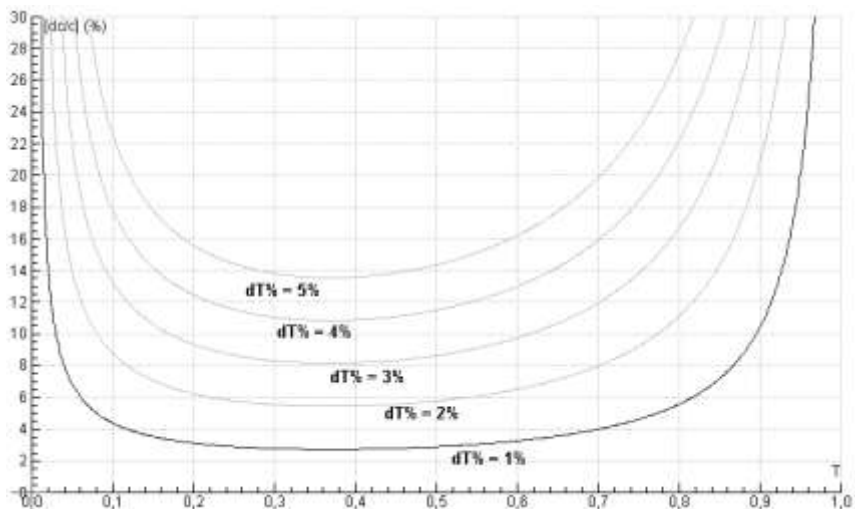
Laboratoryjne testy kolorymetru wykazały, że najlepsze wyniki daje wykorzystywanie go do pomiaru transmitancji i absorbancji mieszczących się w następujących zakresach:

Transmitancja: 0,10 – 0,90

Absorbancja: 0,05 – 1,0

Oprócz ograniczeń wynikających z zakresu transmitancji obsługiwanego przez kolorometr trzeba wziąć jeszcze pod uwagę błąd pomiaru stężenia (absorbancji), który w znacznym stopniu zależy do błędu pomiaru transmitancji (dT% na rys. 3).

Aby uzyskać wystarczająco wiarygodne wyniki, należy korzystać z roztworów kalibracyjnych, dla których wartości transmitancji mieszczą się w płaskiej części wykresu dT% = 1% (tj. 1 % dokładność




Ryc. 3. Procentowy błąd pomiarowy stężenia (lub absorbancji) jako funkcja transmisji dla różnej dokładności (dT%) zakresu transmitancji.

pomiaru przepuszczalności).

Stwierdzono, że wyniki eksperymentów dotyczących prawa Beera tracą charakter liniowy przy wartościach absorbancji większych od 1,0 (wartości transmitancji mniejsze do 0,1). Jeśli badany jest roztwór przepuszczający tak mało światła, należy rozważyć jego rozcieńczenie, aby wskazania mieściły się w zalecanym zakresie.

Dane techniczne

Zakres kolorimetru	Absorbancja: 0-3
Zakres użyteczny	Procent transmitancji: 90%-10% Absorbancja: 0,05 -1,0
Zakres napięcia wyjściowego	0-4 V
Zakresy długości fali	światło fioletowe (430 nm, czyli 4300 Å) światło niebieskie (470 nm, czyli 4700 Å) światło zielone (565 nm, czyli 5650 Å) światło czerwone (635 nm, czyli 6350 Å)
Funkcja kalibracji	%T = 28,571* Vout
Informacje kalibracyjne w układzie pamięci EEPROM	A=0,544068 - log(Vout) lub A=0,544068 - 0.434294 ln(Vout)
Rozdzielczość przy wykorzystaniu 12 bitowego przetwornika analogowo-cyfrowego	0,035 %T
Napięcie zasilania	5VDC ±25 mV
Natężenie zasilania (standardowo)	40 mA
Czas uruchamiania	700 ms (maksymalnie)
Informacje o czujniku na potrzeby automatycznej identyfikacji i kalibracji	256 bajtowy szeregowy układ EEPROM
Złącza	 wtyczka typu BT (British Telecom)

Produkt może być wykorzystywany wyłącznie w celach edukacyjnych. Nie nadaje się do zastosowań przemysłowych, medycznych, badawczych ani komercyjnych.

Data weryfikacji 17.08.2004 r.

CENTRE FOR MICROCOMPUTER APPLICATIONS

Kruislaan 404, 1098 SM Amsterdam, Holandia

faks: +31 20 5255866, e-mail: cmainternational@science.uva.nl, <http://www.cma.science.uva.nl>

Ośrodek Edukacji Informatycznej i Zastosowań Komputerów

Raszyńska 8/10, 02-026 Warszawa

Tel: +48 22 6268390, e-mail: ctn@oeiizk.waw.pl, <http://coach.oeiizk.waw.pl>