

Mérési jegyzőkönyv

1. mérés:

Abszorpciós spektrum meghatározása

A mérés helyszíne: Semmelweis Egyetem, Elméleti Orvostudományi Központ
Biofizika laboratórium

A mérés időpontja: 2012.02.08.

A mérést végezte: Jánosa Dávid Péter – FDSA7Y

A mérést vezető oktató neve: Schay Gusztáv

A jegyzőkönyvet tartalmazó fájl neve: Abszorpcio_Janosa_D_P.pdf

Felhasznált eszközök: SPEKOL abszorpciós spektrofotométer
Origin Pro 8.6
Microsoft Excel 2007



M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

A mérés célja

A mérés során rézion komplex vizes oldatának abszorpciós spektrumát veszem fel, hogy abból analitikus módszerekkel meghatározhassam az elnyelési maximumhoz tartozó hullámhossz értéket.

(Az oldatok fényelnyelésén alapuló mérések érzékenysége azon a hullámhosszon maximális, ahol a fajlagos abszorbanca a legmagasabb. Így a gyakorlaton elvégzett mérés fontos előkészület lehet pl. híg oldat koncentrációjának meghatározásakor.)

A mérés során felhasznált eszközök

A használt mérőeszköz egy **SPEKOL típusú abszorpciós spektrofotométer**.

Működésének lényege, hogy a benne lévő optikai ráccsal a fehér fényt színeire bontja, amiből egy rés segítségével pár nanométeres hullámhossz tartomány vezethetünk ki. Ezzel a nagyjából monokromatikus fényel kerül a minta átvilágításra. A műszer az anyag abszorbanciáját jelzi, százalékos, valamint logaritmikus alakban. A kiválasztott vizsgáló hullámhossz egy tárcsával állítható be.

Az analitikai számításokhoz **Origin Pro 8.6** és **Microsoft Excel 2007** programokat használtam.

A mérés menete

A mintaanyagot kvarcüveg küvettába töltöm, majd az eszközbe helyezem. Ezzel egyidejűleg az eszköz másik tárolójába tiszta oldószerrel (desztillált vízzel) töltött küvettát helyezek.

Minden egyes mérés előtt el kell végezni az eszköz kalibrálását. A 0%-os abszorbanciát a tiszta oldószer segítségével állítom be, míg a 100%-os abszorbanca kalibrálásához elzárom a fény utat.

A minta abszorbanciáját a 450-570 nm-es hullámhossztartományon, 20 nm-es lépésközzel veszem fel. A mérés hibáját a leolvasási hibával közelítem. Ez a hiba a százalékos leolvasásnál a teljes mérési tartományon azonos, a logaritmikus skálán azonban nagyságrend függő. Mivel az analitikus számításokhoz a logaritmikus skálát használjuk, ezért a százalékos értékekből is kiszámolom az abszorbanciát, ennek hibáját pedig egyszerű hibaterjedéssel közelítem (azaz az abszolút hibát a számolt érték Taylor sorának első tagjával súlyozom).

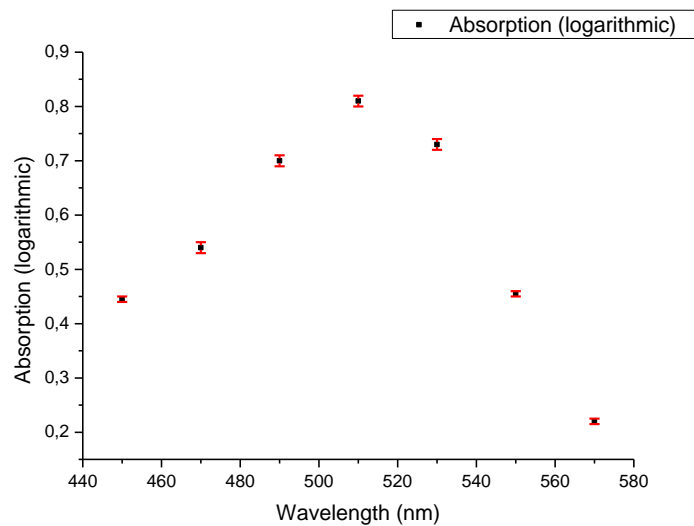
A mért értékek

hullámhossz (nm)	I/I ₀ (%)	hiba	log(I ₀ /I) (számolt)	hibaterjedés	log(I ₀ /I) (mért)	hiba
450	36	0,5	0,444	0,032	0,445	0,005
470	30	0,5	0,523	0,038	0,54	0,01
490	20	0,5	0,699	0,058	0,7	0,01
510	15	0,5	0,824	0,077	0,81	0,01
530	18,5	0,5	0,733	0,062	0,73	0,01
550	35	0,5	0,456	0,033	0,455	0,005
570	60,5	0,5	0,218	0,019	0,22	0,005

A mért értékek hibája:

A számításokból jól látszik, hogy bár a logaritmikus skála leolvasási pontossága nagyságrendtől függően eltérő, az ebből származó hiba a legrosszabb esetben sem haladja meg a százalékos értékekből származtatott abszorbanca hibáját, így a további számításokban a logaritmikus skáláról leolvasott értékeket használom.

A mért értékek ábrázolása:



Az abszorpciós maximum meghatározása:

A mért értékekből görbeillesztéssel fogom meghatározni az abszorpciós maximumot.

Elméleti háttér:

Fénytani ismereteink alapján az egyes oldott anyagok abszorpciós spektruma Gauss görbe alakú. Ebből kiindulva lehetőség van a kapott pontokra Excell vagy Origin segítségével egy haranggörbét illeszteni. A lehető legkisebb négyzetes hibával rendelkező illesztés várható értéke megadja azt az hullámhosszt, ahol a fajlagos elnyelés a legmagasabb.

A görbe illesztéshez az Excell (és feltehetően az Origin is) a gradiens módszert használja. Ez a felhasználó által megadott kezdeti pontból kiindulva, iterálva vizsgálja a függvényillesztési hiba gradiensét az illesztési paraméterek függvényterében, és ennek, mint vektornak az irányában helyezi át a vizsgálati pontot.

Mivel ez egy lokális algoritmus, azaz az iteráció során csak a szűk környezetet veszi figyelembe, ezért az indulási pont és a paraméterek korlátainak megválasztása jelentős szerepet játszik az illesztés sikerében. Kellő körültekintés hiányában a program könnyen juthat olyan eredményre, mely bár matematikailag korrektnek tűnhet, gyakorlati haszna nincs.

Illesztés a gyakorlatban:

A mért értékek grafikonját megvizsgálva szembeűnő az erős aszimmetria. Ránézésre nyilvánvaló, hogy egy Gauss görbe nem tud kielégítő illesztést produkálni. Ennek oka feltehetőleg az lehet, hogy az oldatban a réz ionok egyszeresen és kétszeresen pozitív

formában is jelen vannak, amiknek az elnyelési spektruma eltérhet, a mért értékek pedig ezen spektrumok összegét tapogatták le.

Emiatt az illesztés során két Gauss görbe összegével fogom a mért pontokat közelíteni.

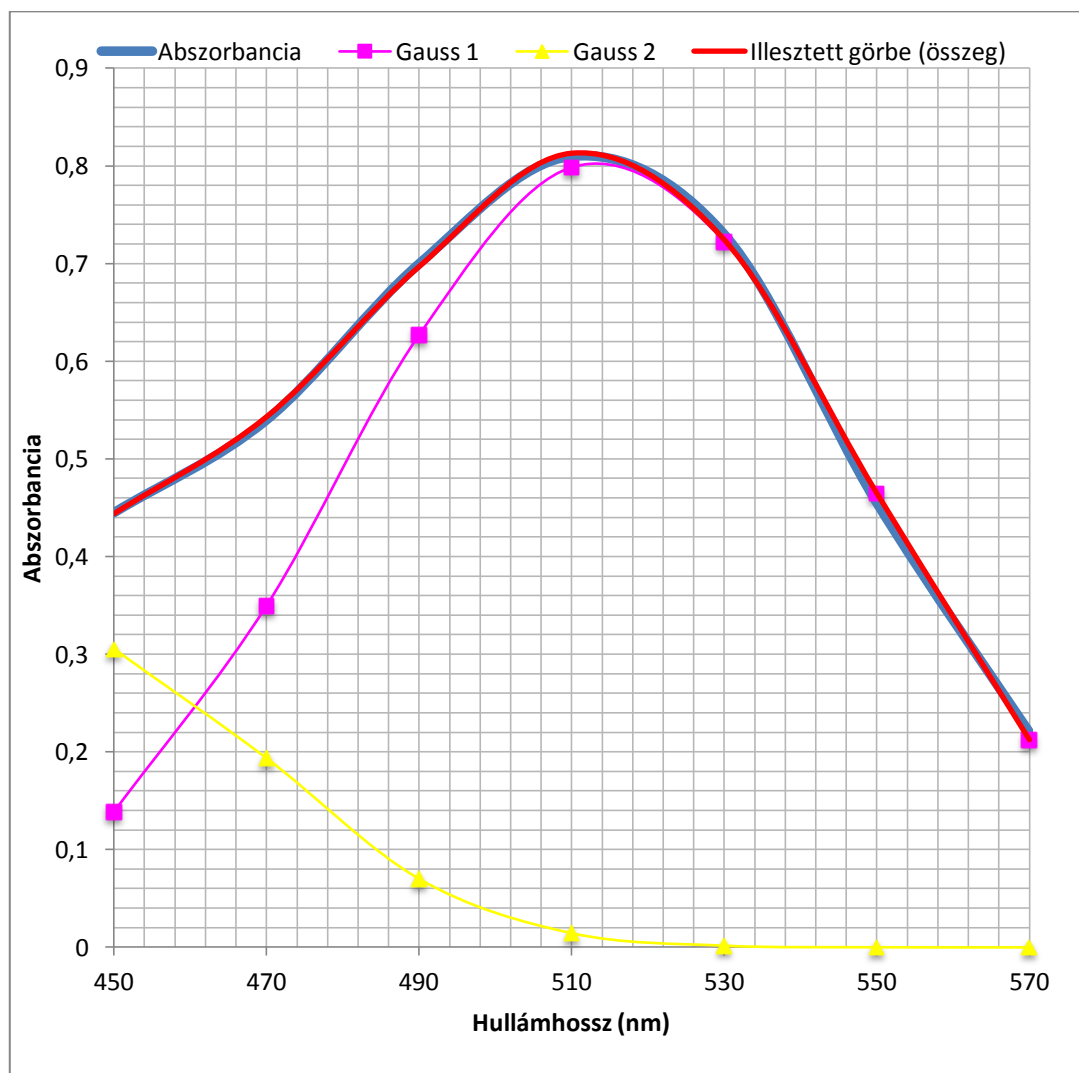
A Gauss görbék paraméterei a *várható érték*, a *terület*, a *szórás* és az *offset*.

Excell alatt az illesztéshez a Solver beépülő modul használom. Ez képes arra, hogy a két Gauss görbe paramétereit változtatva minimalizálja az illesztés négyzetes hibáját.

Az illesztéshez az alábbi kiindulási értékeket vettem alapul:

Szórás 1:	20
Várhatóérték 1:	510
Terület 1:	6
Szórás 2:	20
Várhatóérték 2:	460
Terület 2:	4
Offset	0

Az Excelles illesztés eredménye:



Az illesztett görbék paramétereit:

Szórás 1: 34,2
 Várhatóérték 1: 514,2
 Terület 1: 10,98
 Szórás 2: 26,73
 Várhatóérték 2: 443,7
 Terület 2: 3,347
 Offset: 0

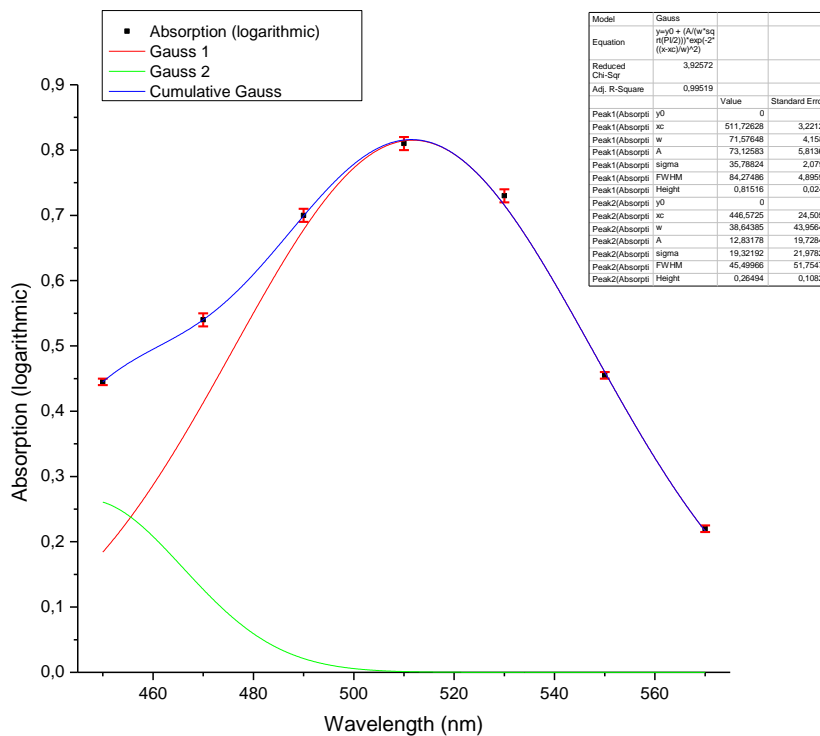
Az illesztés összes négyzetes hibája a hét mért pontot tekintve 0,0002

Origin Lab alatt az illesztést a Non Linear Curve Fit dialógus ablak segítségével végeztem.

A kezdeti értékek:

	<i>y0 (offset)</i>	0
Gauss 1	<i>xc (várható érték)</i>	510
	<i>w (2*σ)</i>	40
	<i>A (terület)</i>	40
	<i>y0 (offset)</i>	0
Gauss 2	<i>xc (várható érték)</i>	460
	<i>w (2*σ)</i>	40
	<i>A (terület)</i>	30

Az illesztett görbe:



Az illesztés paramétereit:

Model	Gauss
Equation	$y=y_0 + (A/(w*\sqrt{PI/2}))*\exp(-2*((x-xc)/w)^2)$
Reduced Chi-Sqr	3,92572
Adj. R-Square	0,99519

		Érték	Standard Hiba
Gauss 1	y0	0	0
	xc	511,7	3,22124
	w	71,57	4,1582
	A	73,12	5,81364
	sigma	35,78	2,0791
	FWHM	84,27	4,89591
	Height	0,8151	0,0246
Gauss 2	y0	0	0
	xc	446,5	24,5057
	w	38,64	43,95646
	A	12,83	19,72847
	sigma	19,32	21,97823
	FWHM	45,49	51,75478
	Height	0,2649	0,10825

Az eredmények értékelése

Az illesztések alapján az elnyelési maximum hibahatáron belül közelíthető a nagyobb Gauss görbe várható értékével, így a továbbiakban elsősorban ezt vizsgálom.

A várható érték Origin által számolt standard hibájának, valamint a két illesztés várható értékeinek különbségének relatív nagysága a relatív mérési hibán belül van. Bár a mérési hiba hatása a várható érték hibájára nem lineáris, részletesebb háttérszámítások híján ezzel az eredménnyel is elégedettek lehetünk.

Ezek alapján az oldat elnyelési maximumának a két illesztés átlagát, azaz **513 nm**-et tekintem. (A két program közül az Origin képes meghatározni az illesztett Gauss görbék eredő maximumát is, ami 511,5 nm-nek adódik, így a fő görbével való közelítés helyénvaló volt.)

A mérési pontok számának hatása az illesztésre

Ehhez a vizsgálathoz eltávolítottam a szélső mérési pontokat és a fentebb ismertetett kezdőértékek mellett ismételtén megpróbáltam elvégezni az illesztést Origin-nel, de a program ennyire kevés pontra egyszerűen nem tud két Gauss görbét illeszteni. Az Excel megbirkózik a feladattal, azonban nem számolja az illesztési paraméterek standard hibáját, így többletinformációhoz nem jutottam a kísérlet által.