

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2023

Eliška Kovaldová



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

ANALÝZA KVALITY VODY S VYUŽITÍM KOLORIMETRIE

WATER QUALITY ANALYSIS USING COLORIMETRY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Eliška Kovaldová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

BRNO 2023

Bakalářská práce

bakalářský studijní program **Biomedicínská technika a bioinformatika**

Ústav biomedicínského inženýrství

Studentka: Eliška Kovaldová

ID: 227745

Ročník: 3

Akademický rok: 2022/23

NÁZEV TÉMATU:

Analýza kvality vody s využitím kolorimetrie

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Proveďte rešerši v oblasti hodnocení kvality čisté vody a nastudujte metody optického měření a analýzy čistoty vody. 2) Poté se zaměřte konkrétně na kolorimetrické metody pro hodnocení chemicko-fyzikálních parametrů vody. 3) Navrhněte měřicí sestavu a postup měření vybraných alespoň dvou chemických parametrů vody (např. pH, dusičnanů) s využitím vývojového kitu SparkFun a modulu pro měření viditelného světla SparkFun AS7262, vhodných reagentů a zdroje umělého světla. 4) Navrhněte a realizujte efektivní algoritmus pro zpracování dat získaných senzorem AS7262 za účelem přesného hodnocení vybraných parametrů pitné vody (např. hodnocení koncentrace dusičnanů ve vodě). 5) Výsledky a přesnost měření porovnejte s výsledků dosaženými s laboratorním spektrofotometrem. 6) Proveďte diskusi nad získanými výsledky.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] TKACHENKO, V. N. Optical Spectroscopy - Methods and Instrumentations. Elsevier, 2006. ISBN 978-0-444-52126-2

[2] RODUNER, E., FORBES, P., KRUGER, T. Optical Spectroscopy: Fundamentals and Advanced Applications. WSPC, 2018. ISBN-13: 978-1786346100

Termín zadání: 6.2.2023

Termín odevzdání: 29.5.2023

Vedoucí práce: Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

doc. Ing. Jana Kolářová, Ph.D.
předseda rady studijního programu

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá analýzou kvality vody s využitím kolorimetrie. Součástí práce je seznámení s fyzikálními a chemickými parametry vody, dále s optickými metodami, mezi něž patří fotometrie, spektrofotometrie a kolorimetrie, a úvod do regresní analýzy. Na tyto metody a analýzu navazuje praktická část měření pH, dusičnanů a tvrdosti vody pomocí spektrofotometru a senzoru viditelného světla AS7262 s vývojovou deskou SparkFun. V závěru práce je porovnání absorpčních spekter, kalibračních křivek a parametrů lineární regrese obou metod.

KLÍČOVÁ SLOVA

kolorimetrie, spektrofotometrie, kvalita vody, analýza vody, optický senzor, regresní analýza, vývojová deska, kalibrační křivka, SparkFun, Matlab, pH, dusičnany, tvrdost vody

ABSTRACT

This bachelor's thesis deals with the analysis of water quality using colorimetry. Part of the work is an introduction to the physical and chemical parameters of water, as well as optical methods, which include photometry, spectrophotometry and colorimetry, and an introduction to regression analysis. These methods and analysis are followed by a practical part by measuring pH, nitrate and water hardness using a spectrophotometer and an AS7262 visible light sensor with a SparkFun development board. At the end of the work there is a comparison of absorption spectra, calibration curves and linear regression parameters of both methods.

KEYWORDS

colorimetry, spectrophotometry, water quality, water analysis, optical sensor, regression analysis, development board, calibration curve, SparkFun, Matlab, pH, nitrates, water hardness

KOVALDOVÁ, Eliška. *Analýza kvality vody s využitím kolorimetrie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství, 2023, 84 s. Bakalářská práce. Vedoucí práce: Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

Prohlášení autora o původnosti díla

Jméno a příjmení autora:	Eliška Kovaldová
VUT ID autora:	227745
Typ práce:	Bakalářská práce
Akademický rok:	2022/2023
Téma závěrečné práce:	Analýza kvality vody s využitím kolorimetrie

Prohlašuji, že svou závěrečnou práci jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí/ho závěrečné práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autorka uvedené závěrečné práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této závěrečné práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

Brno

.....

podpis autorky*

* Autor podepisuje pouze v tištěné verzi.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu této práce, panu Ing. Vratislavu Čmielovi, Ph.D., za cenné rady, připomínky a odborné vedení bakalářské práce.

Obsah

Úvod	14
1 Hodnocení kvality vody	15
1.1 Fyzikální vlastnosti	15
1.2 Chemické vlastnosti	16
2 Optické metody analýzy vody	21
2.1 Parametry optické analýzy	21
2.2 Fotometrie	22
2.3 Spektrofotometrie	24
2.4 Kolorimetrie	24
3 Regresní analýza	28
3.1 Jednoduchá lineární regrese	28
3.2 Parametry regrese	29
3.3 Kalibrační křivky	30
4 Měřicí sestavy	31
4.1 Sestava s vývojovou deskou SparkFun a senzorem AS7262	31
4.1.1 Vývojová deska SparkFun RedBoard Plus	31
4.1.2 Senzor AS7262	31
4.1.3 Externí zdroj světla	32
4.1.4 Software Arduino IDE	33
4.1.5 Software CoolTerm	34
4.1.6 Realizace měřicí sestavy se senzorem	35
4.2 Sestava s laboratorním spektrofotometrem	36
4.2.1 Spektrometr s optickým vláknem Red Tide USB 650	36
4.2.2 Software SpectraSuite od OceanOptics	37
4.2.3 Realizace měřicí sestavy se spektrometrem	38
5 Měření vybraných parametrů vody	39
5.1 Měření pH s fenolovou červení	39
5.1.1 Příprava vzorků	39
5.1.2 Měření vzorků	39
5.2 Měření pH s bromthymolovou modří	41
5.2.1 Příprava vzorků	41
5.2.2 Měření vzorků	41
5.3 Měření koncentrace dusičnanů	43

5.3.1	Příprava vzorků	43
5.3.2	Měření vzorků	43
5.4	Měření tvrdosti vody	45
5.4.1	Příprava vzorků	45
5.4.2	Měření vzorků	45
6	Zpracování výsledků měření	47
6.1	Algoritmus pro zpracování měření	47
6.2	Výsledky měření pH s fenolovou červení	49
6.2.1	Naměřená data	49
6.2.2	Vykreslení spekter	50
6.2.3	Výstupy zpracování algoritmem	51
6.3	Výsledky pH s bromthymolovou modří	56
6.3.1	Naměřená data	56
6.3.2	Vykreslení spekter	57
6.3.3	Výstupy zpracování algoritmem	59
6.4	Výsledky koncentrace dusičnanů	63
6.4.1	Naměřená data	63
6.4.2	Vykreslení spekter	64
6.4.3	Výstupy zpracování algoritmem	66
6.5	Výsledky tvrdosti vody	69
6.5.1	Naměřená data	69
6.5.2	Vykreslení spekter	69
6.5.3	Výstupy zpracování algoritmem	70
7	Diskuze výsledků	75
	Závěr	77
	Literatura	79
	Seznam symbolů a zkratk	83
	Seznam příloh	84

Seznam obrázků

2.1	Princip měření absorpčního spektra [37]	22
2.2	Uspořádání fotometru [3]	23
2.3	Uspořádání spektrofotometru s diodovým polem [3]	25
2.4	Kolorimetrický trojúhelník [5]	26
2.5	Metody měření barev [4]	27
3.1	Model jednoduché lineární regrese	28
3.2	Ukázka vlivu rozdílného koeficientu determinace	29
4.1	Vývojová deska SparkFun RedBoard Plus [6]	32
4.2	Senzor pro viditelné světlo AS7262 [7]	32
4.3	Externí zdroj světla	33
4.4	Kód v programu Arduino IDE pro měření senzorem AS7262	34
4.5	Realizace měřicí sestavy se senzorem viditelného světla	35
4.6	Spektrometr s optickým vláknem Red Tide USB 650	36
4.7	Schéma spektrometru (převzato z [36] a upraveno)	37
4.8	Ukázka uživatelského rozhraní SpectraSuite	37
4.9	Realizace měřicí sestavy se spektrofotometrem	38
5.1	Vzorky obarvené fenolovou červení	40
5.2	Vzorky obarvené bromthymolovou modří	42
5.3	Dusičnan sodný (vlevo) a barevná činidla pro měření NO ₃ (vpravo)	43
5.4	Barevný přechod koncentrace NO ₃ v mg/l z JBL PROAQUATEST	44
5.5	Vzorky obarvené barevným činidlem JBL PROAQUATEST NO ₃	44
5.6	Přechod barev při barvení činidlem KH	45
5.7	Chlorid vápenatý (vlevo) a barevné činidlo KH (vpravo)	46
5.8	Vzorky roztoku s CaCl ₂ obarvené činidlem KH - zleva: 1, 2, 3 a 4 kapky činidla	46
6.1	Blokové schéma algoritmu zpracování dat	48
6.2	Ukázka naměřených dat vzorků s fenolovou červení (spektrofotometr)	49
6.3	Ukázka naměřených dat vzorků s fenolovou červení (senzor)	49
6.4	Graf závislosti absorbance na vlnové délce u fenolové červeně (spektrofotometr)	50
6.5	Graf závislosti absorbance na vlnové délce u fenolové červeně (spektrofotometr)	51
6.6	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u fenolové červeně (senzor)	52
6.7	Graf závislosti absorbance na vlnové délce u fenolové červeně (senzor)	52
6.8	Kalibrační křivka pH fenolové červeně při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru	53

6.9	Kalibrační křivka pH fenolové červeně při vlnové délce 550 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru	53
6.10	Ukázka naměřených dat vzorků s bromthymolovou modří v programu Excel (spektrofotometr)	56
6.11	Ukázka naměřených dat vzorků s bromthymolovou modří v programu Excel (senzor)	56
6.12	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u bromthymolové modří (spektrofotometr)	57
6.13	Graf závislosti absorbance na vlnové délce u bromthymolové modří (spektrofotometr)	58
6.14	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u bromthymolové modří (senzor)	58
6.15	Graf závislosti absorbance na vlnové délce u bromthymolové modří (senzor)	59
6.16	Kalibrační křivka pH (bromthymolová modř) při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru	60
6.17	Kalibrační křivka pH (bromthymolová modř) při vlnové délce 600 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru	60
6.18	Ukázka naměřených dat pro koncentraci dusičnanů (spektrofotometr)	63
6.19	Ukázka naměřených dat pro koncentraci dusičnanů (senzor)	63
6.20	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u koncentrace dusičnanů (spektrofotometr)	64
6.21	Graf závislosti absorbance světla na vlnové délce u koncentrace dusičnanů (spektrofotometr)	65
6.22	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u koncentrace dusičnanů (senzor)	65
6.23	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u koncentrace dusičnanů (senzor)	66
6.24	Kalibrační křivka koncentrace dusičnanů při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru	67
6.25	Ukázka naměřených dat pro měření tvrdosti vody (spektrofotometr) .	69
6.26	Ukázka naměřených dat pro měření tvrdosti vody (senzor)	69
6.27	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u měření tvrdosti vody (spektrofotometr)	70
6.28	Graf závislosti absorbance na vlnové délce u měření tvrdosti vody (spektrofotometr)	71
6.29	Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u měření tvrdosti vody (senzor)	71

6.30 Graf závislosti absorbance na vlnové délce u měření tvrdosti vody (senzor)	72
6.31 Kalibrační křivka měření tvrdosti vody při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru	72
6.32 Kalibrační křivka měření tvrdosti vody při vlnové délce 600 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru	73

Seznam tabulek

1.1	Chemické limity vody	17
2.1	Barva látky dle absorbované vlnové délky	21
5.1	pH vzorků obarvených fenolovou červení	40
5.2	pH vzorků obarvených bromthymolovou modří	42
5.3	Koncentrace vzorků obarveným NO ₃ barvivem	44
6.1	Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro fenolovou červeně	54
6.2	Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro fenolovou červeně	54
6.3	Procentní chyba senzoru - pH s fenolovou červení (450 nm)	55
6.4	Procentní chyba senzoru - pH s fenolovou červení (550 nm)	55
6.5	Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro bromthymolovou modř	61
6.6	Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro bromthymolovou modř	61
6.7	Procentní chyba senzoru - pH s bromthymolovou modří (450 nm)	62
6.8	Procentní chyba senzoru - pH s bromthymolovou modří (600 nm)	62
6.9	Tabulka výstupů z algoritmu pro koncentraci dusičnanů (450 nm)	67
6.10	Procentní chyba senzoru - tvrdost vody (450 nm)	68
6.11	Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro tvrdost vody (450 nm)	74
6.12	Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro tvrdost vody (600 nm)	74
6.13	Procentní chyba senzoru - tvrdost vody (450 nm)	74
6.14	Procentní chyba senzoru - tvrdost vody (600 nm)	74

Úvod

Voda je látka, která ovlivňuje všechny živé organismy na Zemi. Pro vodní živočichy a rostliny je životním prostředím, a pro suchozemské organismy je potravou a zároveň se podílí na složení jejich těla z více než 50 %. Kromě toho člověk spotřebuje denně až 1000 l vody na osobní hygienu a k provozu domácnosti. V dnešní době je také voda ve velkém množství využívána k intenzivní zemědělské výrobě, k tvorbě elektrické energie ve vodních elektrárnách, k průmyslové výrobě, ve zdravotnictví, nebo také slouží jako prostředí pro lodní dopravu, či k produkci potravy ve formě ryb a jiných vodních živočichů.

V posledních letech se kvalita vody zhoršuje v důsledku havárií tankových lodí, radioaktivního zamoření vod a celkového znečišťování životního prostředí. Následkem je vymírání ryb žijících ve znečištěné vodě, ale i konzumace látek obsažených ve vodě, které mají negativní účinky na lidské zdraví. Proto je důležité kvalitu vody kontrolovat.

Hlavním cílem této práce je provést analýzu určených chemických parametrů vody pomocí laboratorního spektrofotometru a senzoru viditelného světla AS7262 připojeného k vývojové desce SparkFun, a jejich následné porovnání.

V teoretické části práce jsou popsány fyzikální a zvláště chemické parametry, které mohou ovlivňovat kvalitu vody, a při rozborech se běžně kontrolují. Uvedeny jsou limity v pitné vodě a následky zvýšeného množství určitých chemických parametrů. Dále jsou popsány principy a využití optických metod fotometrie, spektrofotometrie a kolorimetrie, a příklady jejich využití v analýze vody. Poslední částí teorie je úvod do problematiky regresní analýzy, která je v praktické části využita k vyhodnocení výsledků.

Praktická část popisuje návrh měřících sestav se spektrofotometrem a senzorem, včetně charakteristik jednotlivých prvků a programového ovládání. Následuje postup přípravy měřených chemických parametrů. Konkrétně byly měřeny hodnoty pH vzorků obarvených fenolovou červení a bromthymolovou modří, a také hodnoty koncentrace dusičnanů a tvrdosti vody vzorků obarvených reagenty ze sady pro akvaristiku. Získané intenzity světla a vlnové délky ze spektrofotometru a senzoru byly zpracovány algoritmem v programu Matlab, a následně vyhodnoceny a porovnány.

Vývojová deska SparkFun se senzorem viditelného světla AS7262 může představovat alternativu laboratorního spektrofotometru dostupnou pro běžné uživatele, nebo pro výuku laboratoří na školách, při určování kvality vody. Vzhledem k omezení měření senzorem na 6 vlnových délek nikdy nebude dosahovat úrovně spektrofotometru, otázkou ale je, do jaké míry se mu vyrovná.

1 Hodnocení kvality vody

Voda je v mnoha ohledech velice anormální tekutina. V přírodě se vyskytuje ve třech skupenstvích: voda, led a pára. Její anomálií je, že má nejmenší objem a největší hustotu při 4 °C. Při změně skupenství na pevné zvětšuje svůj objem o 10 %. Mnoho vlastností vody se vzájemně ovlivňuje. V této kapitole jsou popsány její základní fyzikální a chemické vlastnosti.[1]

1.1 Fyzikální vlastnosti

Hustota Hustota představuje hodnotu dané veličiny vztaženou k jednotkovému objemu, jednotkovému obsahu plochy nebo k jednotkové délce. Základní jednotkou je kg/m^3 . Hustotu vody ovlivňuje teplota. Největší hustotu má při 4 °C. Při vyšší i nižší teplotě je voda lehčí. Nejmenší hodnotu má led, protože má největší objem. Dále hustotu ovlivňuje koncentrace rozpuštěných látek. S rostoucím obsahem rozpuštěných látek se hustota lineárně zvyšuje. Poslední veličinou, která ovlivňuje hustotu vody je tlak. Při normálním tlaku vzduchu (1325 mb) je maximální hustota vždy rovna 1,0 za teploty 3,94 °C. [1]

Teplota Teplota je charakteristika tepelného stavu hmoty. Je to stavová veličina a je vhodná k popisu ustálených makroskopických systémů. Její základní jednotkou je kelvin (K), ale častěji se udává vedlejší jednotka °C. Jak již bylo zmíněno, má vliv na hustotu vody. U vnitrozemských vod je teplota závislá na okolním prostředí, slunečním záření, větru a zeměpisné poloze krajiny. Za určitých podmínek vykazuje teplota vody ve stojatých vodách tzv. vertikální zonaci, která má vliv na rozložení látek ve vodě. Epilimnion je voda na hladině, kam pronikají světelné paprsky. Po ní následuje vrstva metalimnion, ve které náhle poklesne teplota v důsledku špatné tepelné vodivosti vody. Poslední vrstvou je hypolimnion, v níž teplota postupně klesá až na dno. Na teplotě vody závisí také druhy vodních organismů žijící v dané zeměpisné oblasti.[1]

Zbarvení Barevné spektrum vody je pestré. Čirá voda se ve velké vrstvě jeví jako modrá, ale zbarvení vody je ovlivňováno mnoha faktory. Barva vody závisí na obloze a okolní vegetaci, protože voda přijímá jejich odraz. Dále také na podloží, organismech žijících ve vodě, na množství naplavenin, případně i na odpadních látkách vypuštěných do vody. [1]

Propustnost Další důležitou vlastností vody je propustnost na sluneční záření. Ta závisí na celkové čistotě vody a jejím složení, úhlu dopadajících slunečních paprsků a

na rozvlnění hladiny. Hranici propustnosti lze měřit pomocí Seccioho desky, a to tak, že zjistíme hloubku, ve které je hranice průhlednosti a její dvojnásobek je hranice propustnosti pro záření.[1]

Dynamická viskozita Dynamická viskozita, neboli vnitřní tření, je fyzikální veličina, která udává odpor vody vůči vlastnímu toku nebo vůči jinému pohybu vodní masy. Její jednotkou je $\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$ či Pa.s. Je závislá na teplotě, s rostoucí teplotou viskozita klesá stejně jako hustota, ale viskozita klesá mnohem rychleji. Drobným vodním organismům umožňuje viskozita vznášet se ve vodě a zůstat na stejném místě.[1]

1.2 Chemické vlastnosti

Chemickým vzorcem vody je H_2O - skládá se tedy ze dvou atomů vodíku a jednoho atomu kyslíku. Vzniká jejich prudkým až explozivním slučováním. V tekoucích a pitných vodách se ale vlivem prostředí vyskytují i další prvky. Jejich množství je nutné kontrolovat, aby nepřesahovaly hygienické normy zdravotní nezávadnosti. Limity pro množství těchto prvků jsou dány vyhláškou číslo 252/2004 Sb. (viz Tab. 1.1). Voda patří mezi nejstálější sloučeniny. Na kyslík a vodík se rozkládá až za vysokých teplot.[2][22]

Tvar molekuly vody je čtyřstěn s úhlem $104,45^\circ$ a je dán dvěma volnými elektronovými páry na kyslíku. Vodíky nesou kladný parciální náboj a kyslík záporný parciální náboj. Nerovnoměrné rozložení elektronové hustoty je způsobeno elektro-negativitou. Celá molekula vody je polární díky polaritě vazeb mezi vodíkem a kyslíkem a je proto i dobrým polárním rozpouštědlem. V následující podkapitole jsou popsány chemické vlastnosti vody a vliv jednotlivých prvků na kvalitu vody. [22][23]

pH Termín pH se používá v chemii, nebo například v biologii, pro kvantitativní měření kyselosti nebo zásaditosti vodných, či jiných kapalných roztoků. Čistá voda je slabě disociována ionty H^+ a OH^- , jejichž koncentrace je okolo 10^{-7} gramionů na litr. Tyto ionty se vzájemně ovlivňují, protože iontový součin vody je stálý. Pokud se přidá jeden iont, zmenší se koncentrace druhého. Pro práci s těmito ionty se zavedla hodnota potencia hydrogenii, neboli síla vodíku, zkráceně pH. Ta je definována jako záporný logaritmus gramionové koncentrace vodíkových iontů a pohybuje se v rozmezí od 0 do 14. Neutrální pH je rovno 7, kyselé pH je nižší a zásadité pH je vyšší než 7. Hodnotu pH lze měřit lakmusovým papírem, který se zbarví dle pH roztoku, pH-metrem nebo smícháním indikátorových barviv v kapalných suspenzích a porovnání výsledného zbarvení s barevnou stupnicí. Poslední zmíněná metoda je použita v této práci při praktickém měření. Pro měření pH-metrem se využívají dvě

vhodné elektrody umístěné v měřeném roztoku. Pomocí voltmetru se měří elektrický potenciál mezi referenční elektrodou a pracovní elektrodou reagující na pH.[1][24]

Hodnota pH je důležitá pro chemické i biochemické procesy ve vodě, má vliv na toxicitu a umožňuje rozlišit formy výskytu některých látek ve vodě. Při 25 °C je pH čisté vody rovno 7. Vzhledem k asociaci vody s teplotou a plyny se doporučuje testovat pH co nejdříve po odebrání vzorku. Voda s nízkým pH pod 6,5 bývá kyselá, měkká a korozivní. Může obsahovat zvýšenou hladinu toxických kovů, způsobovat poškození kovového potrubí a skvrny na prádle, mít kovovou nebo kyselou chuť. Zvýšené pH vody nad 8,5 může způsobovat vodní kámen.[1][24][25]

Tab. 1.1: Tabulka limitů vybraných chemických ukazatelů složení vody z vyhlášky č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou vodu

Ukazatel	Limit [mg/l]
Celkový organický uhlík	5,0
Dusičnany	50,0
Dusitany	0,5
Fluoridy	1,5
Hliník	0,2
Hořčík	10,0
Chlor volný	0,3
Chlorečnany	0,2
Chloridy	100,0
Mangan	0,1
Měď	1,0
Sírany	250,0
Sodík	200,0
Vápník	30,0
Železo	0,2

Tvrdost vody - vápník (Ca) a hořčík (Mg) Vápník je ve vodách dominantním kationtem. Za ním na druhém místě je buď sodík, nebo hořčík. Pro odstraňování vápníku a hořčíku z vody se využívá jejich málo rozpustných sloučenin. Ve spojitosti s vápníkem a hořčíkem se můžeme setkat s pojmem tvrdost vody. [1] [2] [26]

Rozlišuje se uhličitanová tvrdost (KH), která udává koncentraci uhličitanových a hydrogenuhličitanových iontů ve vodě a celková tvrdost vody (GH), která udává počet rozpuštěných iontů vápníku a hořčíku.[28]

Tvrdość vody se může podstatně lišit v závislosti na místě a zdroji vody. Nejčastěji se tvrdość vody uvádí v jednotkách mmol/l, případně v německých stupních tvrdości °dH. Platí: 1 mmol / l = 5.6077 °dH, 1 ° dH = 0,18 mmol /l. V České republice se uvádí při měření celkové tvrdości vody jako velmi měkká voda (0 ° - 3,92 ° dH), měkká voda (3,92 ° - 7,95 ° dH), středně tvrdá voda (7,96 - 11,99 ° dH), tvrdá voda (12,00 ° - 17,92 ° dH) a velmi tvrdá voda (17,93 ° - 30,24 ° dH). [27]

V některých zdrojích [26] je tvrdość vody uváděna v mg/l. Za měkkou je považována voda s obsahem vápníku a hořčíku 0-60 mg/l, za středně tvrdou 61-120 mg/l a za velmi tvrdou nad 180 mg/l.

Koncentrace vápníku i hořčíku ovlivňuje vodu jak pozitivně, tak negativně. Například vápník vytváří nánosy v potrubí, hořčík působí agresivně na beton, vápník ovlivňuje pozitivně chuť vody a naopak hořčík může být v pitné vodě organolepticky závadný. Z hygienického hlediska jsou tyto prvky netoxické. Pravděpodobně pozitivně ovlivňují léčbu kardiovaskulárních chorob, proto se kromě hraničních rozmezí udává i doporučené množství v pitné vodě. [1] [2]

Sodík (Na) a draslík (K) Oba tyto prvky jsou alkalické kovy. V horních vrstvách zemské kůry je značné rozšíření alkalických hlinitokřemičitanů, z nichž se sodík a draslík uvolňují do všech přírodních a užitkových vod. Patří mezi čtyři základní kationty ve vodách. Jejich obsah v zemské kůře je téměř totožný, ale ve vodě obvykle sodík několikanásobně převažuje nad draslíkem, což je hlavně díky tomu, že draslík je více absorbován půdou a také spotřebováván rostlinami. V povrchových ani v podzemních vodách se jejich koncentrace nijak neeliminuje, ale v pitné vodě je koncentrace draslíku omezena, kvůli jeho negativnímu vlivu na kardiovaskulární systém člověka. Vysoké koncentrace sodíku vedou k zasolení půd a půda má potom menší úrodnost. Draslík vyskytující se v přírodě obsažuje asi 0,01 % radioaktivního izotopu ⁴⁰K, který emituje záření beta a gama. Vody s obsahem draslíku jsou vždy trochu radioaktivní.[2]

Železo (Fe) Železo se v malém množství běžně vyskytuje v přírodních i užitkových vodách. Může být v mnoha formách. Sloučeniny železa snadno oxidují, ale hůře se ve vodě redukuje. Vlastností železa se využívá i k odstranění fosforečnanů z odpadních vod. Železo je ve vodě netoxické, může ale například obarvovat materiály, ovlivňovat chuť nebo způsobovat zákal. Je také závadné pro chov ryb a pro výroby papírového a textilního průmyslu.[2]

Mangan (Mn) Podobně jako železo je mikrokomponentou přírodních a užitkových vod. Mangan se snadno redukuje, ale obtížně oxiduje. Má na vodu stejné negativní vlastnosti jako železo - může obarvovat materiály, ovlivňovat chuť vody a způsobovat

její zákal. Manganu ale stačí podstatně méně, proto jsou jeho limitní koncentrace mnohem menší.[2]

Hliník (Al) Koncentrace hliníku ve vodách nebyla dlouho nijak eliminována. Později se zjistilo, že hliník může mít neurotoxické účinky. Ve vodě určené k ředění roztoků a pro hemodialýzu je koncentrace přísně monitorována. Je také toxický pro ryby a pravděpodobně má negativní účinky i na kořenový systém rostlin.[2]

Měď (Cu) Měď pro lidský organismus představuje jeden z esenciálních prvků, které si tělo nedokáže samo vytvořit, ale jsou potřebné pro správné fungování lidského těla. Hygienická norma povoluje, aby byly používány měděné trubky pro rozvod pitné vody a nejsou známa žádná onemocnění, která by byla způsobena obsahem mědi ve vodě. V závislosti na celkovém složení vody může být toxická pro některé vodní organismy, mezi něž patří například ryby nebo řasy. Negativně ovlivňuje chuť vody.[2]

Fluoridy (F-) Stejně jako měď jsou i fluoridy esenciálními prvky pro tělo. Jejich doporučená koncentrace v pitné vodě je okolo 1 mg/l. Při této koncentraci působí pozitivně jako prevence proti tvorbě zubního kazu. Při vyšších koncentracích se může projevit onemocnění dentální fluoróza.[2]

Chloridy (Cl-) Chloridy patří mezi základní anionty ve vodách a bývají velice stabilní. Díky jejich dobré rozpustnosti je můžeme najít ve všech povrchových vodách. V malé míře nejsou chloridy ve vodě považovány za škodlivé, pouze mohou negativně ovlivnit chuť vody. Ve větší míře mohou být indikátory fekálního znečištění, protože tvoří více než polovinu anorganických látek v moči.[2]

Sírany (SO₄²⁻) Spolu s chloridy také patří mezi základní anionty ve vodách. Běžně se vyskytují v povrchových vodách, kde jejich koncentrace nemá hygienický význam. Pouze pokud jsou koncentrace vyšší mohou ovlivňovat chuť vody. Ve větší koncentraci se vyskytují i v některých minerálních vodách. [2]

Sloučeniny uhlíku Řadíme zde volný oxid uhličitý, hydrogenuhličitan, uhličitan. To, která forma se ve vodě vyskytuje závisí na pH. Při pH vody přibližně 4,5 převažuje volný oxid uhličitý, a pokud je pH nižší než 4,5 dá se předpokládat přítomnost silných minerálních kyselin. U hodnoty pH 8,3 zcela převažují hydrogenuhličitan a u hodnoty pH asi nad 10,5 převažují uhličitan. V přírodních a užitkových vodách se

pH nejčastěji pohybuje kolem hodnot 5 až 8, a převažují v nich tedy hlavně hydrogenuhličitany nebo volný oxid uhličitý. Uhličitanový systém nemá negativní dopad na kvalitu vody. [2]

Kyslík Tak jako je kyslík nezbytný pro dýchání na Zemi, je kyslík nezbytný i pro život vodních organismů ve vodě. Kyslík se dostává do vody buď difuzí atmosférického kyslíku, nebo fotosyntézou vodních rostlin. V povrchové vodě je obsah kyslíku asi 7-14 mg/l. Rozpustnost kyslíku ve vodě není velká, je ovlivněna teplotou. Obsah kyslíku se může stanovovat v procentech nasycení, které se vypočítá ze stanovené koncentrace kyslíku v porovnání s tabulkovou saturační hodnotou pro danou teplotu. V čistých povrchových vodách se nasycení kyslíkem pohybuje okolo 100 %, v závislosti na znečištění vod tato hodnota klesá. Proto se kyslík považuje za indikátor čistoty vody.[1]

Sloučeniny dusíku Patří mezi jedny z nejdůležitějších makrobiogenních prvků. Ve vodě se vyskytuje organický dusík, anorganický dusík (amoniakální, dusitanový, dusičnanový) a elementární dusík. Jejich zastoupení je ovlivněno hlavně biochemickými procesy ve vodě. Amoniak je ve vodách vytvářen heterotrofními bakteriemi, nebo jako produkt bílkovin a jiných dusíkatých organických látek. Vysoký obsah amoniaku je ve splaškové vodě, močůvce nebo ve vodě z tepelného zpracování uhlí. Proto amoniak bývá indikátorem znečištění vody. Jako meziproduct při oxidaci amoniaku nebo při redukcii dusičnanů vznikají dusitany. Jsou velmi nestálé a bývají přítomny jen ve velmi malých koncentracích. V nízkých koncentracích nejsou hygienicky významné, ale ve vyšších způsobují methemoglobinemii. Další sloučeninou jsou dusičnany. Vznikají rozkladem organicky vázaného dusíku. Jsou přítomny téměř ve všech vodách, bývají stabilní a dobře rozpustné. Jejich množství závisí hlavně na geologickém podloží v okolí toku. V posledních letech se jejich koncentrace zvyšuje, kvůli využívání dusíkatých hnojiv v zemědělství. Vysoká koncentrace dusičnanů představuje problém hlavně u pitných vod. Zvyšuje se v nich koncentrace živin, čímž roste primární produkce organické hmoty. Sami dusičnany nejsou škodlivé, ale mohou být bakteriemi v trávicím traktu přeměněny na dusitany.[1][2]

Sloučeniny fosforu Zdroji fosforu mohou být fosforečnany v půdách, bodové zdroje znečištění jako jsou splaškové vody, nebo polyfosforečnany využívané v pracích prášcích. Ve znečištěných vodách se koncentrace fosforu pohybuje v tisícinách až setinách mg/l. Pro posouzení znečištění se nejčastěji stanovuje celkový fosfor, protože jeho jednotlivé sloučeniny se mohou rychle navzájem měnit.[1]

2 Optické metody analýzy vody

Optickými metodami jsou označovány fyzikálně chemické metody založené na interakci hmoty s elektromagnetickým zářením, na které se může pohlížet jako na tok fotonů. Při průchodu záření homogenním prostředím může dojít ke změnám rychlosti šíření, směru šíření, směru kmitů nebo vlnové délky. Valenční elektron některých látek může být excitován do vyšší energetické hladiny elektromagnetického záření. Potom látka absorbuje záření o vlnové délce, které odpovídá rozdílu energií obou elektronových hladin. V případě, že absorbované záření leží ve viditelné části spektra, bude se látka člověku jevit jako barevná, a bude mít doplňkovou barvu k barvě absorbovaného světla (viz Tab. 3.1).[3]

Tab. 2.1: Tabulka barvy absorbovaného světla a látky dle vlnové délky

Absorbovaná vlnová délka [nm]	Barva absorbovaného světla	Barva látky
400-435	fialová	žlutozelená
435-480	modrá	žlutá
480-490	zelenomodrá	oranžová
490-500	modrozelená	červená
500-560	zelená	purpurová
560-580	žlutozelená	fialová
580-595	žlutá	modrá
595-605	oranžová	zelenomodrá
605-670	červená	modrozelená

2.1 Parametry optické analýzy

Množství absorbovaného záření může být vyjádřeno buď transmitancí (T), nebo absorbancí (A). Transmittance je definována jako vzorec 2.1, kde I_0 je intenzita světla vstupujícího do vzorku a I je intenzita vystupujícího světla. Transmittance vzorku závisí na vlastnostech absorbující látky, vlnové délce procházejícího světla, na koncentraci absorbující dávky v roztoku a tloušťce kyvet. Pokud nedochází k absorpci záření při průchodu látkou, pak je intenzita světla i transmittance 100 % a absorbance je nulová.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2.1)$$

Pokud je veškeré záření pohlceno roztokem, tak je transmittance nulová a absorbance je rovna nekonečnu. Vztah absorbance s transmittancí je ve vzorci 2.2 a možný

přepočít ve vzorcích 2.3 a 2.4.

$$A = -\log T \quad (2.2)$$

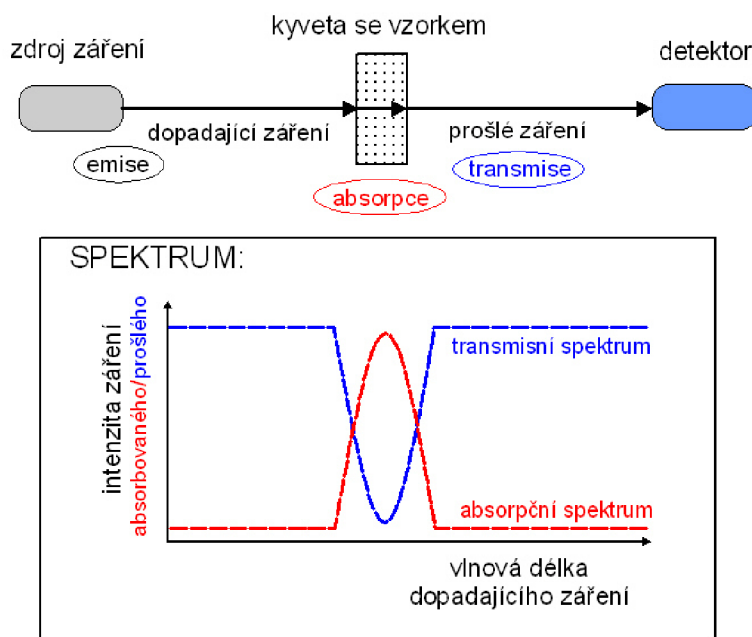
$$A = -\log \frac{I}{I_0} \quad (2.3)$$

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad (2.4)$$

Za předpokladu, že je použito monochromatické světlo platí Lambert-Beerův zákon, který vyjadřuje absorpenci jako vztah 2.5. Veličina ϵ_λ značí molární absorpční koeficient (absorbanci látky o koncentraci 1 mol/l a tloušťce měřené vrstvy 1 cm, při dané vlnové délce), l je tloušťka vrstvy (cm) a c je látková koncentrace (mol/l). Výhodou užití absorpce je přímá úměrnost ke koncentraci absorbující látky.[3] [15]

$$A = \epsilon_\lambda * l * c \quad (2.5)$$

Grafickým vyjádřením absorpce je absorpční spektrum. To vyjadřuje závislost absorpce na vlnové délce elektromagnetického záření procházejícího vzorkem. Princip je znázorněn na obrázku 2.1.



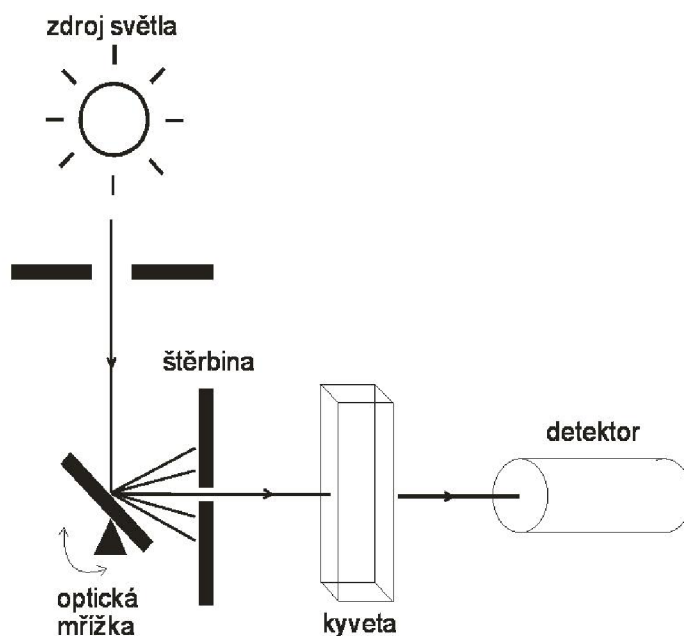
Obr. 2.1: Princip měření absorpčního spektra [37]

2.2 Fotometrie

Princip fotometrie Pomocí fotometrie se stanovují vlastnosti vzorku, na základě pohlcování světla o určité vlnové délce. Při fotometrii se nejčastěji používají refe-

renční vzorky, u nichž známe požadovanou vlastnost (např. koncentraci) a s nimi se porovnává neznámý vzorek.

Fotometr Měřicí zařízení pro fotometrii se nazývá fotometr a pracuje na principu měření absorbance. Skládá se ze zdroje světla, monochromátoru, kyvety se vzorkem a detektoru (viz Obr. 2.2). Existují jednopaprskové fotometry, ve kterých se nejprve měří slepý vzorek (blank) a poté požadovaný vzorek, a nebo dvoupaprskové fotometry, které mají dva detektory a umožňují měřit současně vzorek i blank. Jako zdroj světla se využívá vhodná žárovka nebo výbojka. Spojité záření ve viditelné a infračervené oblasti poskytují klasické a halogenové žárovky. Pro měření v ultrafialové oblasti se využívají vodíkové a deuteriové výbojky. Pokud je světlo ze zdroje záření polychromatické, mění se v monochromátoru na světlo monochromatické. Monochromátorem je obvykle optická mřížka, na níž lze nakláněním plynule měnit vlnovou délku. Pomocí štěrbinu se upravuje rozsah vlnových délek vycházejících z monochromátoru. Štěrbina může být nastavitelná, nebo určená na pevně. Světlo z monochromátoru prochází vzorkem, který je umístěn v kyvetě. Nejčastěji se vzorky roztoků plní do kyvet s optickou dráhou 1 cm. Důležitý je i materiál kyvety. Pro měření viditelné oblasti se používají kyvety z optického skla, pro měření ultrafialové oblasti kyvety z křemenného skla. Dále světlo ze vzorku dopadá na detektor. Jedná se zpravidla o fotodiodu nebo fotoelektrický prvek. Absorbance se získá porovnáním intenzity světla vzorku s intenzitou světla slepého vzorku. Přesnost ovlivňuje doba, po kterou se absorbance měří.[3]



Obr. 2.2: Uspořádání fotometru [3]

Fotometrie vody Fotometrie obecně se využívá k analýze roztoků a kapalných vzorků. Představuje velmi jednoduchou a rychlou metodu pro stanovení látek a nevyžaduje náročné přístrojové vybavení. V praxi se využívá v mnoha laboratořích na analýzu vody, jak pitné tak i bazénové nebo užitkové. Lze pomocí ní měřit například množství chloru, hodnotu pH nebo množství bromu.[3]

2.3 Spektrofotometrie

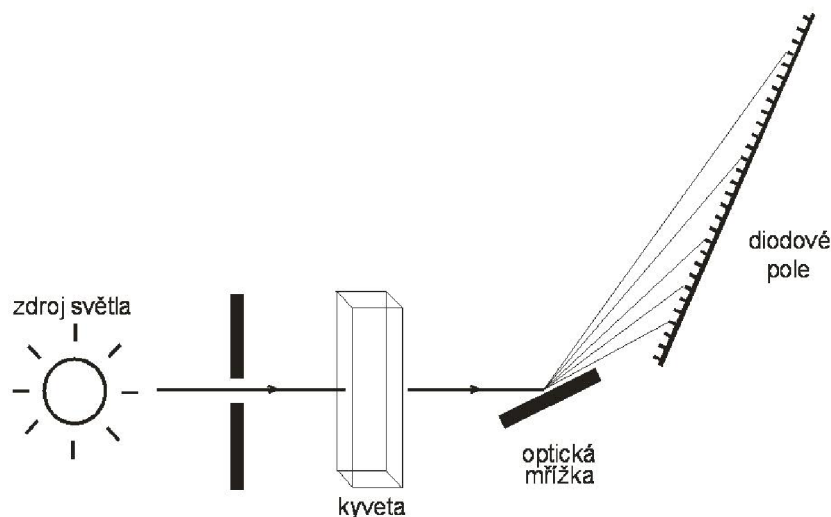
Princip spektrofotometrie Na podobném principu jako fotometry fungují spektrofotometry. Jsou to technicky složitější a dokonalejší přístroje, u nichž je možné libovolně nastavit vlnovou délku monochromatického světla, případně si vybrat část absorpčního světla a měřit ji v určitém úseku vlnových délek.[3]

Spektrofotometr Pokud je spektrofotometr konstruován stejně jako dříve zmíněný fotometr s optickou mřížkou, je potřeba při každém měření posunout optickou mřížku pro danou vlnovou délku, dokud se neproměří celá požadovaná oblast. Kvůli delší časové náročnosti tohoto postupu mohou vznikat chyby v měření. Vzorek se například může měnit v čase, nebo se mohou měnit podmínky pro měření vzorku.[3]

Problém s dlouhým trváním měření odstraňuje jiné uspořádání spektrofotometru, pomocí tzv. diodového pole (viz Obr. 2.3). Vzorkem projde bílé světlo, které je následně pomocí pevně nastavené optické mřížky rozloženo na jednotlivé vlnové délky a na jednotlivé fotodiody v diodovém poli dopadá určitý úzký rozsah vlnových délek. Měří se celé spektrum najednou, čímž se eliminují chyby v měření vzniklé časovou prodlevou. V měřícím zařízení také nejsou pohyblivé prvky, které by mohly ovlivňovat přesnost měření.[3]

2.4 Kolorimetrie

Základy barevnosti Za pomoci očí a mozku mohou být vnímány světelné zdroje a osvětlená tělesa jako barevné vjemy. Barva sama o sobě jinak v podstatě neexistuje. Barevné vjemy se liší svými kvalitativními vlastnostmi jako je druh barevnosti, barevný tón a barevná sytost, a také kvantitativními vlastnostmi, jako je například jasnost. Barevný vjem, který vzniká dopadem spektrálního paprsku do oka je potřeba vyjádřit měřitelným souborem čísel. Za barvu je považována trichromatická hodnota barevného povrchu, což je vjem nezávislý na stavu oka. Funkce spektrálního složení barevného podnětu $\phi(\lambda)$ je dána spektrálním složením osvětlení, vlastnostmi prostředí a udává relativní rozložení energie záření. Stejná plocha udává jiní barevný

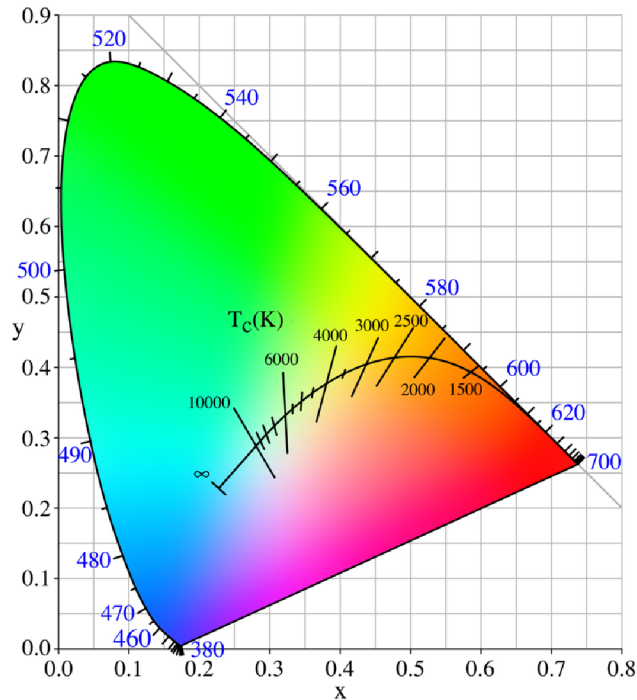


Obr. 2.3: Uspořádání spektrofotometru s diodovým polem [3]

vjem při osvětlení denním světlem a při osvětlení žárovkou a různí pozorovatelé mohou vidět jiné barevné vjemy. Proto se zavádí normální pozorovatel a podmínky pro pozorování jsou určeny konvencí.[4]

Určení barev K určování barev slouží jejich vyjádření pomocí tří měřitelných číselných souřadnic. Pokud uvažujeme rozlišovací schopnost oka, lze jako barevný systém zvolit barevný tón, sytost a jasnost, a následně barvu vyjádřit pomocí Helmholtzových souřadnic nebo systému DIN 6164. Dalším systémem souřadnic je měření tří čísel barevnosti. Mezinárodní úmluvou byly určeny tři základní spektrální barvy: červená (R) s vlnovou délkou 700 nm, zelená (G) s vlnovou délkou 546,1 nm a modrá (B) s vlnovou délkou 435,8 nm. Z těchto tří barev se vytvoří aditivní směs, jejíž složení se mění tak dlouho, dokud se nezíská přesně stejná barva, jako je barva určovaná. Barvu (F) můžeme vyjádřit rovnicí $F = R \cdot R + G \cdot G + B \cdot B$. Nevýhodou tohoto systému je, že nelze vytvořit všechny syté barvy z barevného spektra. Proto se z R, G, B složek přechází číselnou transformací na normované složky X, Y, Z. Tyto složky jsou vždy kladné, a barvu vyjadřují jako směs tří měrných trichromatických virtuálních světél.[4]

Kolorimetrický trojúhelník Jelikož jsou barvy definovány složkami X, Y, Z, lze je zobrazit v trojrozměrném prostoru. Pro převedení do kolorimetrického trojúhelníku (viz Obr. 3.3.) definujeme trichromatické souřadnice: $x = \frac{X}{X+Y+Z}$; $y = \frac{Y}{X+Y+Z}$. Souřadnice z není závislá na x a y, protože platí: $x + y + z = 1$.[4]

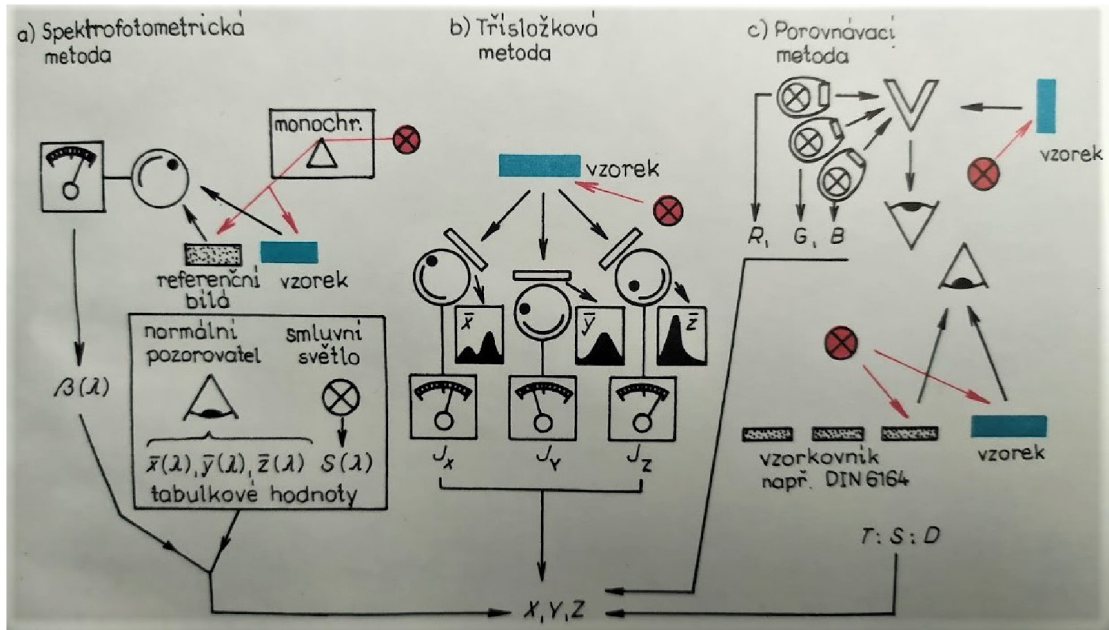


Obr. 2.4: Kolorimetrický trojúhelník [5]

Souřadnice x a y udávají barevnou jakost (chromatičnost). V tomtéž bodu kolorimetrického trojúhelníku jsou všechny barvy o stejné chromatičnosti. Hodnota složky Y udává jasnost. Černá křivka $T_c(K)$ zobrazuje chromatičnost černého tělesa. Na souřadnicích $x = 0,333$ a $y = 0,333$ leží nepestré bílé světlo E , které je bodem chromatičnosti izoenergetického světla. Všechny reálné barvy spektra leží v trojúhelníku na křivce spektrálních světél, jejíž konce jsou spojeny přímkou purpurů. Body ležící vně trojúhelníku představují nerealizovatelné virtuální barvy, mezi něž patří i virtuální měrná světla X , Y , Z . Nejsytější barvy jsou na křivce spektrálních světél a přímce purpurů, směrem k bodu bílého světla sytost ubývá. Při spojení bodu určité barvy s bodem bílého světla prodloužením spojení až za křivku spektrálních světél, lze charakterizovat chromatičnost Helmholtzovými měrnými čísly.[4]

Metody měření barev Měření barev lze realizovat spektrofotometrickou, tříslůžkovou nebo porovnávací metodou. Při spektrofotometrické metodě určujeme složky X , Y , Z . Pokud vyjdeme z normovaného zdroje světla, je známé spektrální složení. Měří se vlastnosti tělesa pomocí spektrofotometru v krocích po 5 nm nebo 10 nm. Pro zjednodušení jsou údaje $S(\lambda)$ $x(\lambda)$, $S(\lambda)$ $y(\lambda)$, $S(\lambda)$ $z(\lambda)$, které jsou nezávislé na tělese, pro normované zdroje předem vypočteny. Tříslůžková metoda spočívá v napodobování barevného vidění pomocí umělého oka. Z osvětlené plochy je vedeno záření ke třem receptorům, jejichž průběh spektrální citlivosti je přizpůsoben funkcím

trichromatických činitelů (což je realizováno filtry). Následně je signál z receptorů, například v podobě fotoproudů přímo úměrný příslušným složkám. Porovnávací metoda funguje na principu namísení měřené barvy, nebo její porovnání se souborem vzorků, jehož charakteristiky jsou předem známy. Podobnost konkrétních barev se určuje lidským okem, proto mohou být výsledky zkresleny. Tato metoda se používá jen pro přibližné určení barvy.[4]



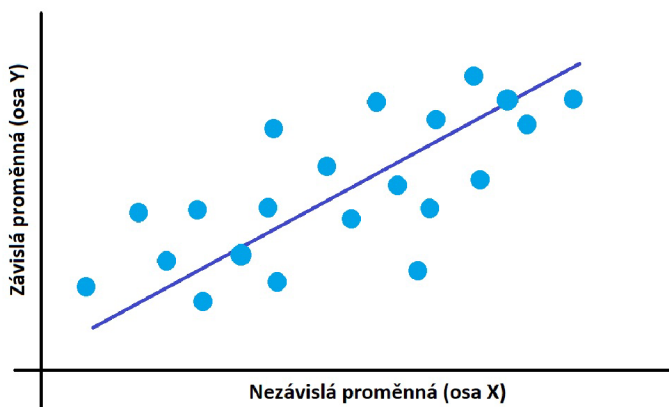
Obr. 2.5: Metody měření barev [4]

3 Regresní analýza

Regresní analýza je statistická metoda, která matematicky popisuje závislost kvantitativní proměnné na jedné nebo více jiných proměnných (tzv. regresorech). Zpravidla je jedna hlavní závislá proměnná, u níž je snaha ji pomocí analýzy pochopit nebo předpovědět - může být také nazvána jako odezva. Další proměnné jsou nezávislé a ovlivňují závislou proměnnou. Jedná-li se o vazbu závislé proměnné na jednom regresoru, popisuje ji model jednoduché regrese. Vícenásobná regrese vyjadřuje stav, při němž je v modelu více regresorů. Podle typu regresní funkce lze rozdělit modely na lineární a nelineární. Tato kapitola se zabývá převážně jednoduchými lineárními regresními modely, na něž dále navazuje praktická část práce.[29] [30]

3.1 Jednoduchá lineární regrese

Lineární regrese se používá pro prediktivní analýzu strojového učení. Jedná se o jednu z nejjednodušších metod statistické regrese. Model popisuje vztah mezi jedinou nezávislou (tzv. prediktorovou) proměnnou na ose x a závislou výstupní proměnnou na ose y . Z tohoto vztahu odhaduje sklon a průsečík nejvíce vhodné přímky. Průsečík představuje predikovanou hodnotu závislé proměnné, za předpokladu, že je nezávislá proměnná rovna nule.[31] [32]



Obr. 3.1: Model jednoduché lineární regrese

Pro úspěšné vytvoření lineární regrese platí několik předpokladů. Mezi závislou a nezávislou proměnnou musí existovat lineární vztah. Neměla by existovat závislost mezi chybovými hodnotami, a tyto hodnoty by při vykreslení neměly tvořit žádný viditelný vzor. Analyzovaná data by měla mít normální rozdělení. Posledním předpokladem je, že by chybové hodnoty měly být rovnoměrně rozptýleny.[31]

Výpočet nejhodnější regresní přímky vychází z matematické metody nejmenších čtverců. Z ní je vypočítána taková přímka, která má nejmenší součet druhých mocnin

z rozdílu X a Y . Tím se zajistí, že vytvořená přímka bude co nejlíže většině bodů, které reprezentují naměřené hodnoty. Vztah pro výpočet přímky je uveden v rovnici 3.1. Písmeno Y značí závislou proměnnou, X nezávislou proměnnou, B_0 je poloha přímky a B_1 je směrnice přímky. V některých případech se k rovnici přičítá ještě parametr E , který reprezentuje náhodnou chybu modelu. [31] [30]

$$Y = B_0 + B_1 * X \quad (3.1)$$

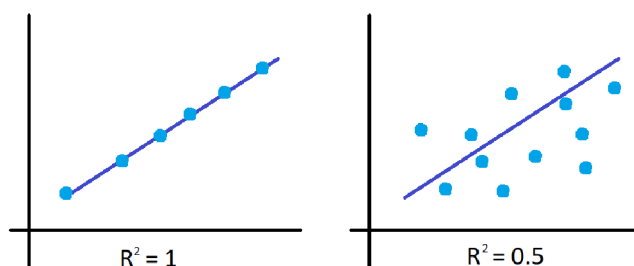
3.2 Parametry regrese

Koeficient determinace V modelu lineární regrese leží hodnota tohoto koeficientu v intervalu od 0 do 1 a vyjadřuje, jaký podíl rozptylu v pozorování závislé proměnné se podařilo regresí vysvětlit. Čím větší jsou hodnoty R^2 , tím je větší úspěšnost regrese a tím lépe model odpovídá datům.[18]

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} \quad (3.2)$$

Výpočet je proveden jako podíl SSR a SST (vzorec 3.2). Hodnota SSR (z anglického „sum of squares regression“) je součet čtverců regrese – tedy variabilita vysvětlená odhadem Y . SST je celkový součet čtverců (z anglického „sum of squares total“) a reprezentuje celkovou variabilitu souboru. Je dán součtem RSS a SSE , které vyjadřuje reziduální součet čtverců (z anglického „sum of squares error“).[19] [32] [33]

$$SST = SSR + SSE \quad (3.3)$$



Obr. 3.2: Ukázka vlivu rozdílného koeficientu determinace

Střední kvadratická chyba Parametr $RMSE$ z anglického „root mean squared error“, nebo také česky střední kvadratická chyba, je používán jako míra rozdílu mezi hodnotami vzorku a hodnotami předpovězenými modelem. Udává jak blízko jsou měřené datové body předpokládaným hodnotám. Bývá vyjádřena jako druhá odmocnina z rozptylu reziduí (viz rovnice 3.3, kde SSE je rozptyl reziduí a n je počet

dat). Nevýhodou tohoto parametru je, že nejde o normalizovanou míru a závisí na jednotkách proměnných.[20] [32]

$$RMSE = \sqrt{\frac{SSE}{n}} \quad (3.4)$$

3.3 Kalibrační křivky

Zvláštním případem lineární regrese jsou kalibrační křivky. Tyto křivky popisují lineární závislost absorbance na koncentraci dané látky, nebo například na pH látky. Platnost kalibračních křivek vychází z Lambert-Beerova zákona (viz rovnice ..). Pro správné vyhodnocení dat musí platit lineární závislost absorbance na koncentraci (případně jiné měřené veličině). Také by mělo platit, že křivka vychází z počátku souřadnic (bodu [0,0]), protože při nulové koncentraci je nulová absorbance. Při vytváření kalibrační křivky se používá konstantní vlnová délka. Nejčastěji se volí hodnota, která je rovna maximu absorpčního spektra látky. [15] [34]

Často se tato metoda využívá k určení neznámé koncentrace látky ve vzorku. Nejprve se připraví standardy - odměřené roztoky, u nichž je známá koncentrace požadované látky. Používá se několik roztoků o různých koncentracích. U všech standardů změříme absorbanci spolu s absorbancí neznámého vzorku. Kalibrační křivka se získá vnesením koncentrace standardů na osu x a vnesením absorbance na osu y. Do zhotovené kalibrační křivky z naměřených standardů se dosadí roztok o neznámé koncentraci, čímž se zjistí, které koncentraci nejvíce odpovídá. Pro lepší stanovení bezbarvých roztoků se využívá tzv. indikačních reakcí, které přemění bezbarvý analyt na barevný produkt. [15] [34]

4 Měřicí sestavy

4.1 Sestava s vývojovou deskou SparkFun a senzorem AS7262

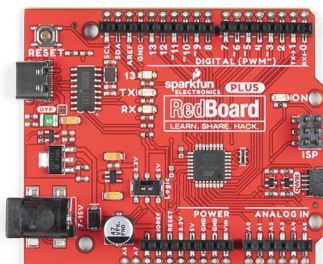
4.1.1 Vývojová deska SparkFun RedBoard Plus

První částí měřicí sestavy je vývojová deska SparkFun RedBoard Plus (viz Obr. 4.1.), která je kompatibilní s vývojovými deskami Arduino. Byla navržena jako výuková platforma pro kódování, fyzikální výpočty a prototypování projektů. Tato vývojová deska může komunikovat se senzory, zobrazovat informace, provádět téměř okamžité výpočty nebo ovládat motory. S počítačem komunikuje pomocí softwaru Arduino IDE. Desku lze napájet pomocí USB kabelu připojeného k počítači nebo k regulované USB nabíječce s napětím 5 V. V případě použití válcového konektoru by měla být deska napájena stejnosměrným napětím mezi 7 V a 15 V. USB port desky je regulovaný na 5 V a 500 mA a je zde resetovatelná pojistka, která chrání počítač před zkratem nebo nadproudem. Část s napájecími adaptéry se skládá z pinů IOREF, RESET, 3.3 V, 5 V, GND, a VIN. Pin IOREF slouží k přepínání mezi 3.3 V a 5 V v závislosti na zvoleném napětí. Pin RESET je připojen k resetovacímu pinu mikrokontroléru a resetovacímu tlačítku. Pokud je přepnutý na nízkou hodnotu nebo zkratován, spustí reset mikrokontroléru. Pin GND je zemnicí a VIN slouží jako vstupní napětí na desce, pokud používá externí zdroje napájení. Deska také obsahuje 4 LED kontrolky. První LED svítí, pokud je mezi piny VCC (vstupní napájení) a GND (zem) potenciál. Další jsou RX/TX, které indikují, zda dochází k přenosu dat. Poslední je pin 13 LED, který slouží k testování funkčnosti desky, případně pro základní ladění. Hlavní součástí desky je mikrokontrolér ATmega328, který má 8 bitů a je vyráběn společností Atmel. Má paměť Flash, SRAM (Static Random Access Memory) a EEPROM (Electrically Erasable Programmable Read-Only Memory). Na desce je 22 pinů, které lze využít jako digitální vstupy nebo výstupy.[6]

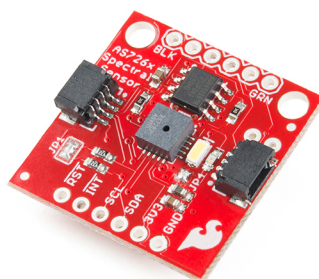
4.1.2 Senzor AS7262

Další část měřicí sestavy je šestikanálový senzor AS7262 (viz Obr. 4.2.). Tento senzor se pomocí konektorů Qwiic připojuje k desce SparkFun. Má 6 integrovaných kanálů pro snímání viditelného světla pro červenou, oranžovou, žlutou, zelenou, modrou a fialovou barvu. Kanály jsou realizovány interferenčními filtry při 450 nm, 500 nm, 550 nm, 570 nm, 600 nm a 650 nm. Lze je číst prostřednictvím sběrnice I2C jako nezpracované šestnáctibitové hodnoty, nebo jako kalibrované hodnoty s plovoucí

desetinnou čárkou. Součástí je i teplotní senzor, kterým lze zjistit teplotu čipu a také blesk odrážející světlo od objektů pro lepší detekci barev. [7]



Obr. 4.1: Vývojová deska SparkFun RedBoard Plus [6]



Obr. 4.2: Senzor pro viditelné světlo AS7262 [7]

4.1.3 Externí zdroj světla

Pro měření se senzorem AS7262 lze místo integrované LED použít vlastní zdroj světla, pro který jsou připraveny dva piny. Použitím externího zdroje se zlepší přesnost spektroskopického čtení a tím i kvalita naměřených výsledků. V této bakalářské práci byl použit externí zdroj světla od výrobce Safibra (viz Obr. 4.3.). Tímto zdrojem lze generovat 10 různých světelných paprsků o různých vlnových délkách, a to konkrétně infračervené LED světlo o vlnových délkách 845 nm a 945 nm, viditelné světlo o vlnových délkách 655 nm, 610 nm, 585 nm, 535 nm a 440 nm, ultrafialové LED světlo o vlnové délce 395 nm a dále bílé LED světlo a žluté světlo. V této práci bylo použito bílé LED světlo, které bylo přivedeno optickým kabelem k měřenému vzorku.[8]



Obr. 4.3: Externí zdroj světla

4.1.4 Software Arduino IDE

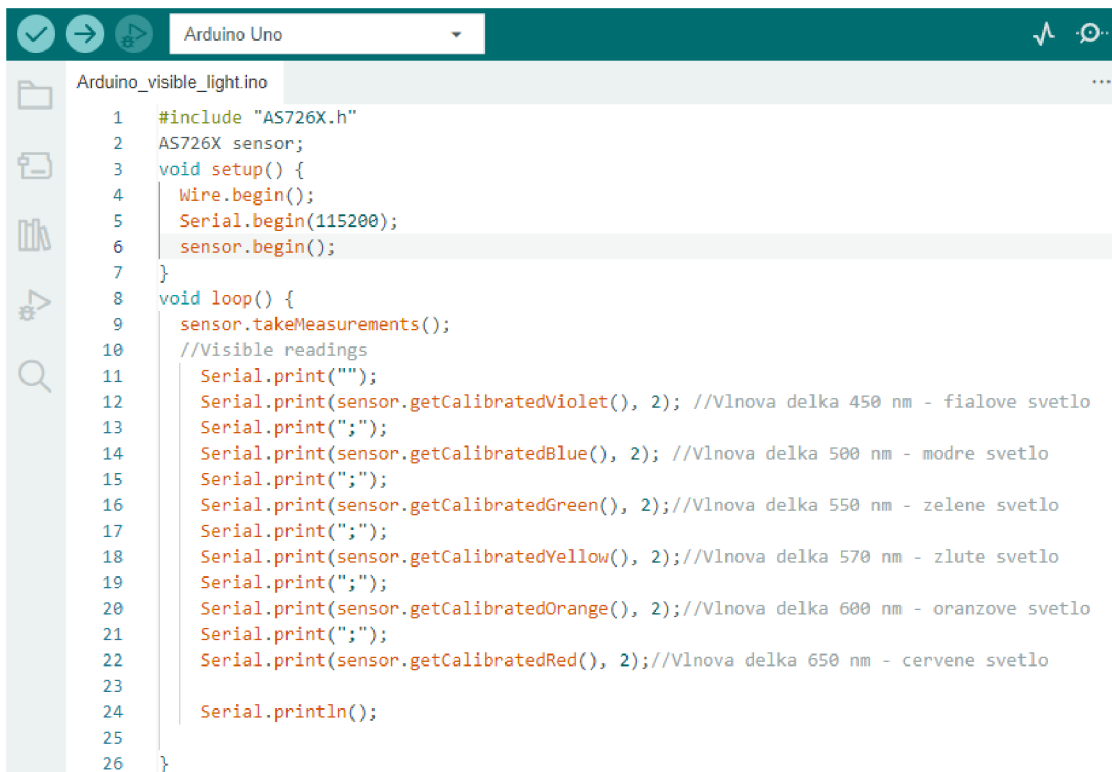
Řízení vývojové desky SparkFun RedBoard Plus spolu se senzorem AS7262 je realizováno pomocí počítače, se kterým je propojena kabelem s konektorem typu USB-C. Je použit program Arduino IDE, s nímž jsou desky SparkFun kompatibilní.

Arduino IDE je open-source vývojové prostředí, které se používá hlavně pro psaní, kompilaci a nahrávání kódu. Obsahuje textový editor pro psaní kódu, textovou konzoli, panel nástrojů s tlačítky pro běžné funkce a oblast zpráv. Umožňuje zapisovat a nahrávat instrukce na vývojové desky, jako je například SparkFun nebo Arduino. K jeho programování se mohou používat jazyky C nebo C++, nejčastěji se ale používá programovací jazyk Arduino založený na Wiring. Je dostupný pro většinu operačních systémů (Windows, Linux, Mac). K dispozici je také řada knihoven, které si může uživatel nainstalovat.[9]

Pro měření k této bakalářské práci je v programu Arduino IDE nastavena deska Arduino Uno, která je z možností programu nejvíce podobná desce SparkFun RedBoard Plus. Pro vstup je vybrán USB port, k němuž je připojen kabel z desky. Samotný kód (viz Obr. 4. 4.) obsahuje nejprve načtení knihovny „AS726X.h“ vytvořenou výrobcem senzoru a připojení senzoru viditelného světla AS7262. Další částí programu je funkce void setup(). Tento blok proběhne pouze jednou na začátku programu. Obsahuje funkci Wire.begin(), která inicializuje knihovnu Wire a připojí se ke sběrnici I2C jako řadič. Následující funkce Serial.begin() určuje rychlost a je zde nastavena na 115200. A poslední funkce tohoto bloku sensor.begin() inicializuje senzor.[9][10]

Druhý blok programu void loop() probíhá neustále do odpojení desky, pokud není součástí kódu podmínka, která by určila, kdy se program zastaví. Měření je zahájeno funkcí sensor.takeMeasurements() a následně jsou funkcí z knihovny AS726X sensor.getCalibratedColour získávány hodnoty pro jednotlivé vlnové délky v pořadí 450 nm (fialová), 500 nm (modrá), 550 nm (zelená), 570 nm (žlutá), 600 nm (oran-

žová) a 650 nm (červená). Pro lepší přehlednost jsou hodnoty v programu odděleny středníkem. Poslední je funkce `Serial.println()` sloužící k vypsání naměřených hodnot do monitoru v programu Arduino IDE.[6] [10]



```
Arduino Uno
Arduino_visible_light.ino
1 #include "AS726X.h"
2 AS726X sensor;
3 void setup() {
4   Wire.begin();
5   Serial.begin(115200);
6   sensor.begin();
7 }
8 void loop() {
9   sensor.takeMeasurements();
10  //Visible readings
11  Serial.print("");
12  Serial.print(sensor.getCalibratedViolet(), 2); //Vlnova delka 450 nm - fialove svetlo
13  Serial.print("");
14  Serial.print(sensor.getCalibratedBlue(), 2); //Vlnova delka 500 nm - modre svetlo
15  Serial.print("");
16  Serial.print(sensor.getCalibratedGreen(), 2); //Vlnova delka 550 nm - zelene svetlo
17  Serial.print("");
18  Serial.print(sensor.getCalibratedYellow(), 2); //Vlnova delka 570 nm - zlute svetlo
19  Serial.print("");
20  Serial.print(sensor.getCalibratedOrange(), 2); //Vlnova delka 600 nm - oranžove svetlo
21  Serial.print("");
22  Serial.print(sensor.getCalibratedRed(), 2); //Vlnova delka 650 nm - cervene svetlo
23
24  Serial.println();
25
26 }
```

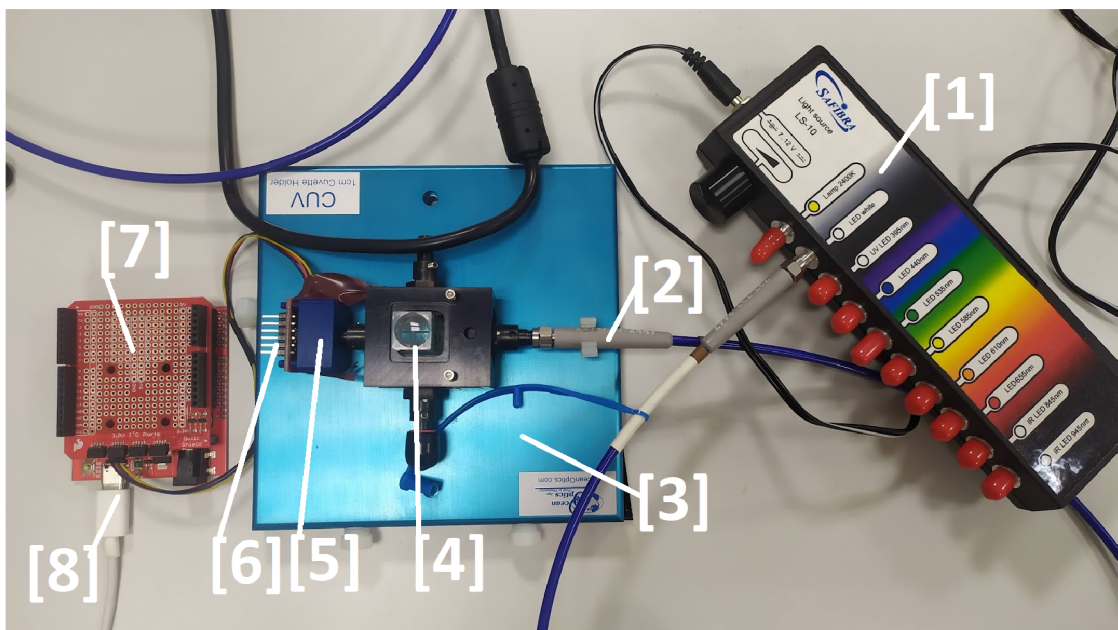
Obr. 4.4: Kód v programu Arduino IDE pro měření senzorem AS7262

4.1.5 Software CoolTerm

Doplňkovým softwarem k Arduino IDE je program CoolTerm. Slouží ke komunikaci se sériovými zařízeními přes USB, případně přes Bluetooth. Je to volně dostupný program, který byl vyvinut hlavně pro Windows, ale funguje i na operačních systémech Linux a Mac. Mezi jeho funkce patří například načítání a ukládání připojení, možnost ručního přepínání signálů, možnost mít více souběžných připojení nebo odesílání textových souborů. V případě této práce byla využita funkce ukládání přijatých dat z portu do textového souboru. Je nutné nastavit port, ke kterému je připojena deska SparkFun a stejnou přenosovou rychlost jaká je dána v Arduino IDE. Nejprve se nahraje a spustí program v Arduino IDE, který se následně zavře a deska se připojí k programu CoolTerm. Potvrdí se nastavené parametry a funkcí „Start“ se zahájí ukládání hodnot. Ukončení se provede funkcí „Stop“ a hodnoty jsou uloženy ve formátu „txt“ nebo „csv“ podle preferované volby. Díky uložení do textového souboru je možné hodnoty uchovat pro další analýzu. [11]

4.1.6 Realizace měřící sestavy se senzorem

Na obrázku 4.5 je vyfocena realizace měřící sestavy se senzorem AS7262 a vývojovou deskou SparkFun. Paprsek světla vychází ze zdroje světla (1) a přes optický kabel je směřován ke vzorku v kyvetě (4), která je umístěna v další části sestavy – v držáku na kyvetě (3). Zajišťuje uchycení kyvetě a tím zabraňuje případným chybám v měření způsobeným jejím pohybem, brání průniku okolního světla do vzorku a díky němu je pro všechny měřené vzorky stejná vzdálenost kyvetě od zdroje světla a od senzoru. Dalším prvkem je držák na sensor (5), k němuž je připevněn senzor viditelného světla (6) lepicí páskou, aby se zabránilo jeho pohybu. Senzor je připojen kabelem k vývojové desce SparkFun (7), jež je spojena s USB portem počítače pomocí USB-C kabelu (8).



Obr. 4.5: Realizace měřící sestavy se senzorem viditelného světla

4.2 Sestava s laboratorním spektrofotometrem

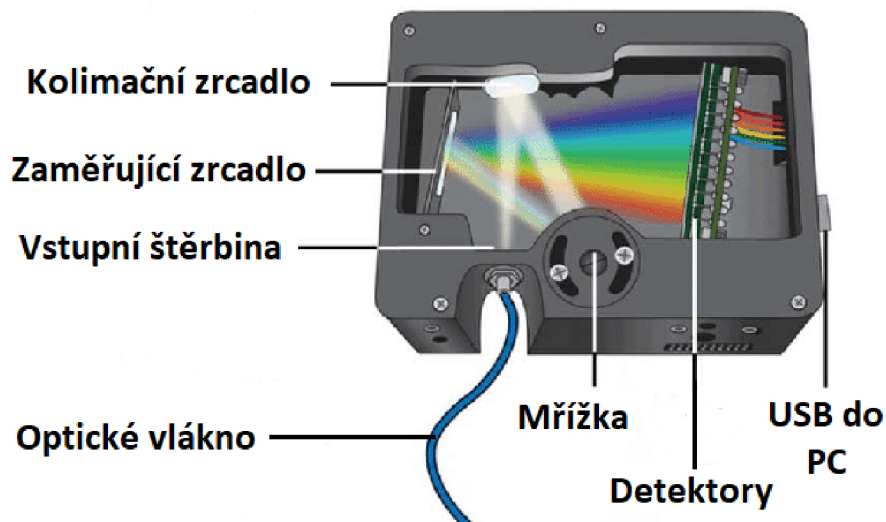
4.2.1 Spektrometr s optickým vláknem Red Tide USB 650

Pro měření vzorků s laboratorním spektrometrem byl použit spektrometr s optickým vláknem Red Tide USB650 od výrobce OceanOptics. Výhodou tohoto spektrofotometru je, že je levný, univerzální, má malé rozměry a je vhodný pro výukové a výzkumné laboratoře. Lze jej použít s příslušenstvím od OceanOptics jako například s různými světelnými zdroji a vzorkovací optikou pro přizpůsobení absorpční, reflexní a emisní aplikace. Jeho rozsah vlnových délek je od 350 nm do 1000 nm a používá detektor s 650 aktivními pixely. Připojuje se k počítači pomocí USB 2.0 nebo 1.1, je z něj napájen a zároveň mu posílá naměřená data. [35]



Obr. 4.6: Spektrometr s optickým vláknem Red Tide USB 650

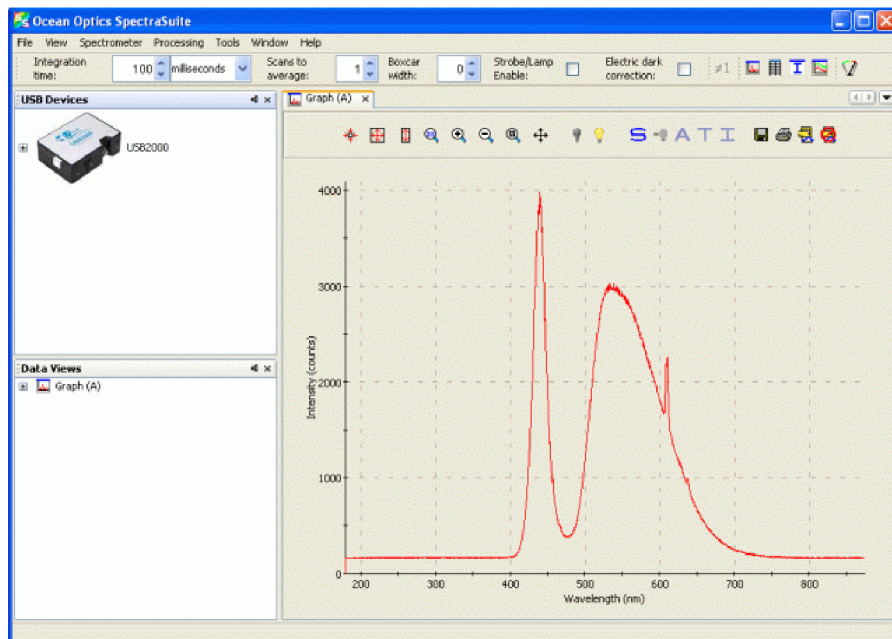
Světelný paprsek nejprve projde konektorem, kterým se připojuje vstupní optické vlákno, z něž přichází světlo. Následně štěrbinou tvořenou obdélníkovým otvorem v tmavém kusu materiálu. Ta je určena k regulaci množství světla. Světlo je omezeno na určené vlnové délky filtrem, kterým bývá pásmová propust. Kolimační zrcadlo soustřeďuje vstupující světlo směrem k optické mřížce. Mřížka ohýbá světlo z kolimačního zrcadla na zaostřovací zrcadlo, které zaostřuje spektra na detektorovou rovinu. Sběrná detektorová čočka je volitelná součást, která se připojuje k detektoru pro zvýšení účinnosti sběru světla. Detektor viditelného nebo ultrafialového světla shromažďuje světlo přijímané ze zaostřovacího zrcadla nebo sběrné čočky detektoru a převádí optický signál na digitální signál. Každý pixel na detektoru reaguje na vlnovou délku světla, které na něj dopadá, a vytváří tak digitální odezvu. Variabilní filtry blokují světlo druhého a třetího řádu. Tyto filtry jsou volitelné. Standardní okénko detektoru je pro vylepšení nahrazeno křemenným okénkem pro zvýšení výkonu spektrometru. [36]



Obr. 4.7: Schéma spektrometru (převzato z [36] a upraveno)

4.2.2 Software SpectraSuite od OceanOptics

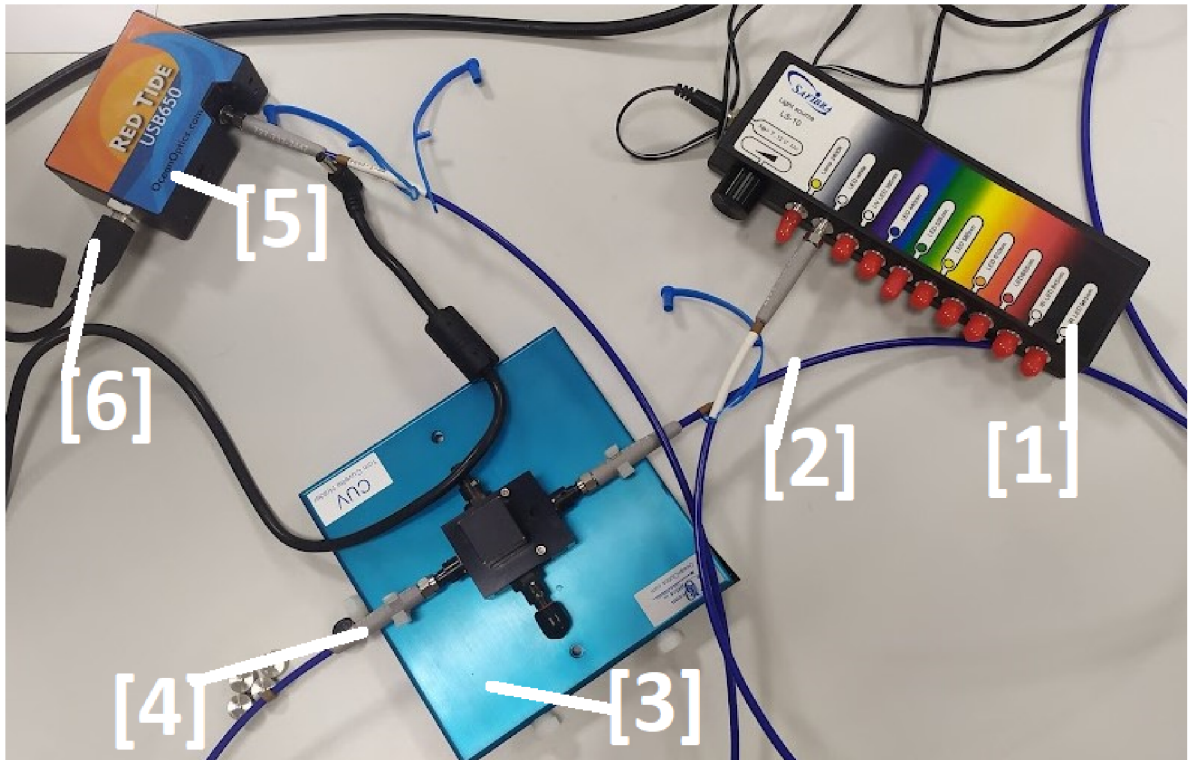
Výrobce spektrometru OceanOptics byl navržen software SpectraSuite, který je kompatibilní se všemi USB spektrometry OceanOptics. Lze v něm přizpůsobit získávání dat, plánování, zpracování a vykreslování pro potřeby laboratoře. V rozhraní softwaru je zobrazena grafická a numerická reprezentace spekter z každého přístroje a lze kombinovat data z více zdrojů ,například při dvoupráskovém měření. Je dostupný na operačních systémech Windows, Mac i Linux.



Obr. 4.8: Ukázka uživatelského rozhraní SpectraSuite

4.2.3 Realizace měřicí sestavy se spektrometrem

Na obrázku 4.9 je vyfocena měřicí sestava s laboratorním spektrometrem. Uspořádání je podobné jako u měřicí sestavy se senzorem viditelného světla. Ze zdroje světla (1) jde světelný paprsek optickým kabelem (2) ke vzorku v kyvetě umístěné v držáku na kyvety (3). Další optický kabel vede světlo prošlé vzorkem do spektrometru (5). Ze spektrometru vede USB kabel (6) do počítače, kde jsou zpracovávána získaná data.



Obr. 4.9: Realizace měřicí sestavy se spektrofotometrem

5 Měření vybraných parametrů vody

5.1 Měření pH s fenolovou červeň

Fenolová červeň (neboli fenolsulfonftalein) se používá jako indikátor pH zejména v buněčné biologii. Je to slabá kyselina, která existuje jako červený krystal stabilní na vzduchu. Vykazuje pozvolný přechod ze žluté do červené při pH v rozmezí 6,6 až 8,0. Tato změna je způsobena tím, že fenolová červeň ztrácí protony a mění barvu s rostoucím pH. Při velmi nízkém pH je zbarvena do oranžově červené a skládá se ze záporně nabitých sulfátových skupin a ketonových skupin nesoucích proton. Pokud se pH zvýší na hodnotu okolo 1,2, proton z ketonové skupiny se ztrácí, čímž vznikne záporně nabitý žlutý ion. Při dalším zvýšení pH na hodnotu 7,7 ztrácí proton fenolhydroxidová skupina a vzniká červený ion.[12]

5.1.1 Příprava vzorků

Laboratorní potřeby Pipeta (10 μ l), kapátko (2 ml), kyvety (1,5 ml)

Chemikálie Standardy se známým pH, fenolová červeň

Postup přípravy Pro měření byla použita fenolová červeň o koncentraci 0,5 % na 100 ml od výrobce Sigma a předem připravené standardy o známé hodnotě pH. Do kyvety byl nejprve nalit 1 ml standardu a k němu bylo pomocí laboratorní pipety přidáno 5 μ l fenolové červeně. Po pár minutách se roztok zbarvil do odstínů žluté nebo červené podle hodnoty pH (viz Obr. 5.2.). Konkrétně bylo použito 16 vzorků, jejichž hodnota pH podle obrázku 5.2. je napsána v tabulce 5.1..

5.1.2 Měření vzorků

Nejdříve byly vzorky měřeny na laboratorním spektrofotometru. Po přípravě měřící sestavy se do držáku na kyvety vložil slepý vzorek – kyveta naplněná čistou vodou. Na tomto vzorku se empiricky podle tvaru a rozsahu vykresleného spektra upravila intenzita světla ze zdroje. Hodnoty se uložily pro další zpracování a postupně se proměřilo všech 16 vzorků se stejným nastavením zdroje světla.

Následně se detektor laboratorního spektrofotometru vyměnil za senzor AS7262 a bylo opakováno měření pomocí vývojové desky SparkFun se stejným nastavením zdroje světla jako u spektrofotometru. Znovu byl prvně změřen slepý vzorek a následně ostatní vzorky. Naměřené hodnoty byly uloženy a dále zpracovány.



Obr. 5.1: Vzorčky obarvené fenolovou červení

Tab. 5.1: Tabulka pH pro vzorčky obarvené fenolovou červení na Obr. 5.2.

Číslo vzorku	pH
1	5,92
2	6,63
3	6,80
4	6,90
5	7,02
6	7,15
7	7,20
8	7,40
9	7,51
10	7,61
11	7,70
12	7,80
13	7,90
14	6,22
15	6,70
16	8,13

5.2 Měření pH s bromthymolovou modří

Bromthymolová modř, též známá jako bromthymolsulfonephtalein, případně BTB, je sloučenina používající se jako indikátor pH. Působí jako slabá kyselina, která má purpurové zbarvení. V neutrálním roztoku se zbarvuje do zelenomodré barvy, což způsobuje deprotonační mechanismus. Její protonová forma je zbarvena do žluta v roztocích s kyselým pH. Naopak deprotonovaná forma v roztocích se zásaditějším pH je modrá.[13]

Tato sloučenina má široké využití. Kromě indikace pH se využívá k pozorování fotosyntetických aktivit, nebo jako indikátor dýchání, který při přidání CO₂ zežloutne. V laboratořích se využívá k barvení vzorků – například pro definici jader nebo buněčných stěn pod mikroskopem. Pro člověka je velmi nebezpečná, při požití nebo vdechnutí může dojít k poškození orgánů a sliznic.[13]

5.2.1 Příprava vzorků

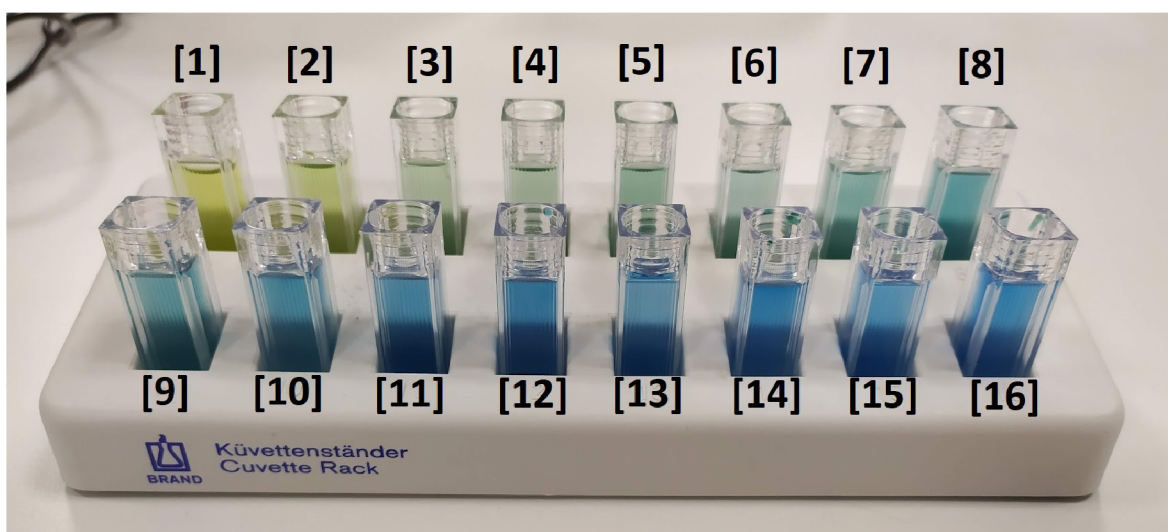
Laboratorní potřeby Pipeta (100 μ l), kapátko (2 ml), kyvety (1,5 ml)

Chemikálie Standardy se známým pH, bromthymolová modř

Postup přípravy Do každé kyvety byl nalit 1 ml standardu a k němu bylo přidáno pomocí pipety 50 μ l barviva. Množství barviva bylo určeno podle sytosti zbarvení standardu. Standard se ihned po přidání barviva začal zbarvovat a po necelých 3 minutách se barva ustálila. Barvy roztoků byly na škále od zelenožluté po modrou (viz Obr. 5.3.). Hodnota pH jednotlivých vzorků v kyvetách z obrázku 5.3. je napsána v tabulce 5.2..

5.2.2 Měření vzorků

Laboratorním spektroskopem byla jako první proměřena kyveta s čistou neobarvenou vodou, která sloužila pro nastavení parametrů zdroje světla, a její naměřené hodnoty i pro analýzu výsledků měření. Postupně bylo změřeno všech 16 vzorků obarvených bromthymolovou modří. Po dokončení měření s laboratorním spektrometrem se k držáku na kyvety připojil senzor viditelného světla s vývojovou deskou SparkFun. Nastavení zdroje světla zůstalo stejné a opět se nejprve změřila kyveta s čistou vodou a následně 16 obarvených vzorků. Naměřené hodnoty byly uloženy a dále zpracovány.



Obr. 5.2: Vzorčky obarvené bromthymolovou modří

Tab. 5.2: Tabulka pH pro vzorky obarvené bromthymolovou modří na Obr. 5.3.

Číslo vzorku	pH
1	5,92
2	6,22
3	6,63
4	6,70
5	6,80
6	6,90
7	7,02
8	7,15
9	7,20
10	7,40
11	7,51
12	7,61
13	7,70
14	7,80
15	7,90
16	8,13

5.3 Měření koncentrace dusičnanů

5.3.1 Příprava vzorků

Laboratorní potřeby Zkumavky (50 ml), kapátko (2 ml), lžička ze sady JBL PRO-AQUATEST, kyvety (1,5 ml)

Chemikálie Dusičnan sodný NaNO_3 (výrobce FISHEMA) (Obr 5.4), pitná voda, barvicí činidla JBL PROAQUATEST NO_3 (Obr 5.4)

Postup přípravy Do 8 zkumavek bylo odměřeno 30 ml pitné vody. Následně bylo do každé zkumavky přidáno různé množství NaNO_3 a roztoky byly promíchány. Po několika minutách byl 1 ml z každého roztoku kapátkem přelit do kyvety a vzorky byly obarveny (Obr. 5.6). K barvení vzorků byla využita sada pro akvaristiku JBL PRO AQUATEST Combiset. Nejprve se do každé z kyvet přidala 1 malá lžička činidla 1, které bylo v práškové formě. Následně 6 kapek činidla 2 v tekuté formě. Po 10 minutách byla vyhodnocena koncentrace dusičnanů kolorimetrickou porovnávací metodou (viz kapitola 2) a to tak, že se k barevnici (Obr. 5.5) přikládaly jednotlivé kyvety a porovnávala se podobnost barev. Barevnost roztoků byla na škále od žluté po oranžovočervenou. Výsledné koncentrace dusičnanů jsou vypsány v tabulce 5.3.

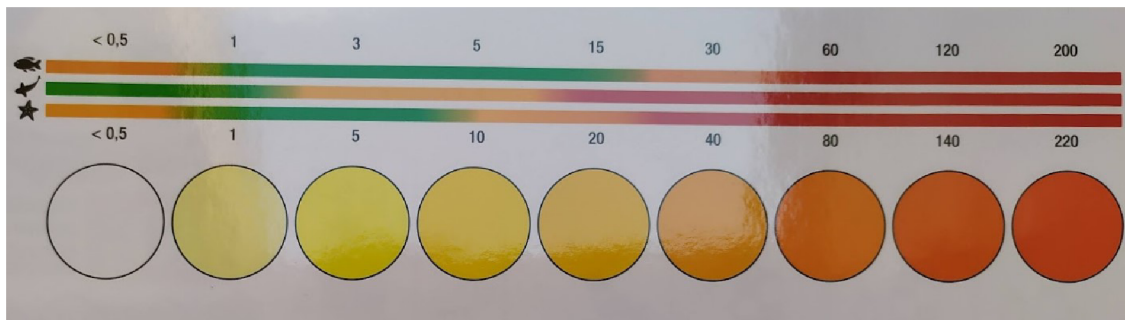


Obr. 5.3: Dusičnan sodný (vlevo) a barevná činidla pro měření NO_3 (vpravo)

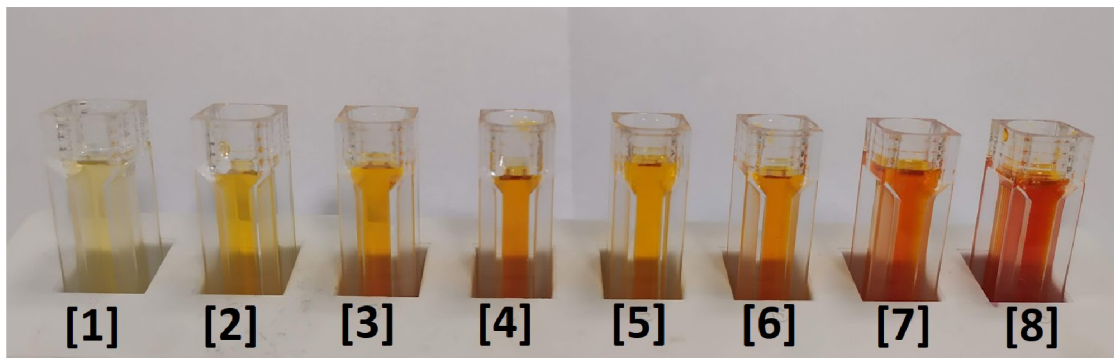
5.3.2 Měření vzorků

Laboratorním spektrofotometrem i senzorem viditelného světla s vývojovou deskou byla nejprve změřena intenzita světla kyvety se slepým vzorkem – čistou vodou,

na němž se upravily parametry zdroje světla. Následně bylo jednotlivě změřeno 8 obarvených vzorků.



Obr. 5.4: Barevný přechod koncentrace NO_3 v mg/l z JBL PROAQUATEST



Obr. 5.5: Vzorky obarvené barevným činidlem JBL PROAQUATEST NO_3

Tab. 5.3: Tabulka koncentrace dusičnanů pro vzorky na Obr. 5.6

Číslo vzorku	c [mg/l]
1	1
2	5
3	15
4	30
5	20
6	40
7	60
8	120

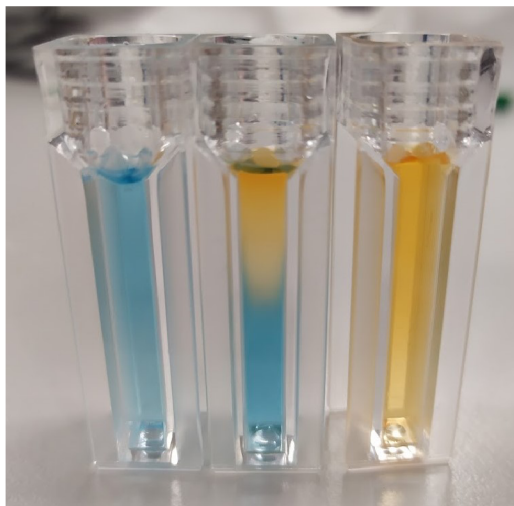
5.4 Měření tvrdosti vody

5.4.1 Příprava vzorků

Laboratorní potřeby Kádinka (300 ml), laboratorní pipeta (1 ml), váhy, kyvety (1,5 ml)

Chemikálie Chlorid vápenatý anhydrát CaCl_2 (koncentrace 96 %, od výrobce FISHEMA) (Obr. 5.8), pitná voda, barvicí činidlo JBL PROAQUATEST KH (Obr. 5.8)

Postup přípravy Do kádinky bylo odměřeno 300 ml vody a bylo přidáno 0,3 g CaCl_2 pro získání koncentrace 1 g/l CaCl_2 . Následně bylo z kádinky odebráno pipetou 9 ml roztoku a ten byl naředěn 21 ml vody pro získání 30 % roztoku. V poměru roztoku CaCl_2 a vody 6:24, 3:27 a 1,5:28,5 byly ještě získány 20 %, 10 % a 5 % roztoky. Následně byly 1 ml vzorku od každé koncentrace pipetou nalit do kyvety. Pomocí barviva pro měření KH ze sady JBL PRO AQUATEST určené pro akvaristiku se vzorky obarvovaly. Po kapkách se přidává barvivo až dokud se barva vzorku nezmění z modré na žlutooranžovou (viz Obr. 5.6). Následně počet kapek udává stupeň tvrdosti vody. Tvrdost vody u všech roztoků vyšla přibližně stejná, k barevné změně došlo už po přidání 2 kapek, tedy 2 °dH.



Obr. 5.6: Přejchod barev při barvení činidlem KH

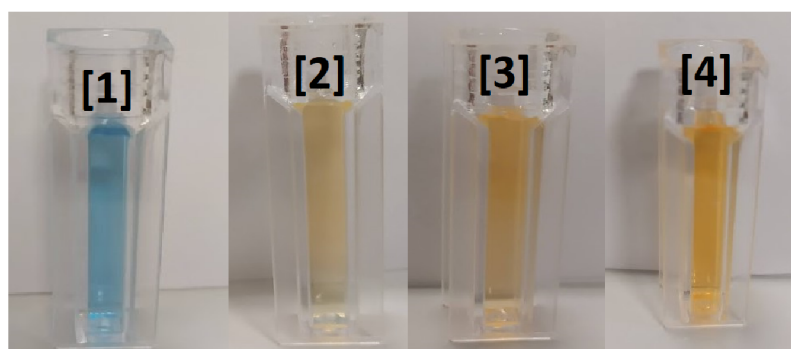
5.4.2 Měření vzorků

Vzhledem k podobnosti tvrdosti vody u vzorků o různé koncentraci CaCl_2 byl použit pouze roztok s 30 % CaCl_2 (o koncentraci 1 g/l) a s vodou. Nejprve byl na



Obr. 5.7: Chlorid vápenatý (vlevo) a barevné činidlo KH (vpravo)

spektrometru změřen slepý vzorek – kyveta s vodou. Poté byla do měřeného vzorku přidána 1 kapka činidla, po níž se vzorek zbarvil do modra a vzorek byl změřen. Po přidání druhé kapky činidla se vzorek zbarvil do žlutooranžové – tvrdost vody odpovídala 2 °dH. Následně byl znovu změřen. Tento postup byl opakován ještě s přidáním dalších 2 kapek činidla, které pouze mírně zvýšily sytost žlutooranžové barvy. Stejný postup měření pro slepý vzorek a měřený vzorek s přidáváním činidla byl opakován i u měření senzorem viditelného světla.



Obr. 5.8: Vzorky roztoku s CaCl_2 obarvené činidlem KH - zleva: 1, 2, 3 a 4 kapky činidla

6 Zpracování výsledků měření

6.1 Algoritmus pro zpracování měření

Získaná data z měření byla zpracována v programu Matlab. Tento program představuje programovací jazyk a vývojové prostředí pro numerické výpočty, vizualizaci a tvorbu algoritmů. V rámci programu je k dispozici velké množství matematických funkcí pro řešení vědeckých a technických problémů[16]. Kód v programu Matlab je vložen v příloze této práce.

Nejprve byly pomocí funkce „readtable“ načteny soubory s tabulkou ve formátu „.xlsx“. V tabulce byly uloženy hodnoty vlnové délky a intenzit světla, zvláště pro data naměřená spektrometrem, a zvláště pro data ze senzoru viditelného světla. Z načtených tabulek byly do nových proměnných vyseparovány hodnoty vlnových délek, intenzit světla a nezávislých proměnných. V této práci nezávislé proměnné představovaly hodnoty pH, koncentrace, nebo počtu kapek barviva.

Všechny získané intenzity světla ze senzoru a spektrofotometru byly v cyklu „for“ přepočítány na absorbanci. Přepočet vycházel z Lambert-Beerova zákona, který je popsán v kapitole 2. V tomto algoritmu byl použit vzorec 6.1, kde I_0 je hodnota intenzity světla u slepého vzorku a I je hodnota intenzity světla u měřeného vzorku, vždy při stejné vlnové délce.

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad (6.1)$$

Pro další zpracování byl funkcí „find“ zvolen pouze řádek s požadovanou vlnovou délkou, který byl vybrán podle absorpčního maxima z grafu závislosti absorbance na vlnové délce. Pro přesnější rovnici kalibrační křivky byla při výpočtu koncentrace přidána ještě hodnota [0,0], protože při nulové koncentraci by měla být i nulová absorbance.

Pro zjištění rovnice kalibrační křivky byl nejprve pomocí funkce „mean“ vypočítán aritmetický průměr. Dále byl pomocí funkce „polyfit“ vytvořen lineární polynom prvního stupně. Za hodnotu „x“ byla dosazena nezávislá proměnná a za hodnotu „y“ absorbance látky. Funkcí „polyval“ bylo vyhodnoceno proložení polynomu v bodech na ose „x“.[17]

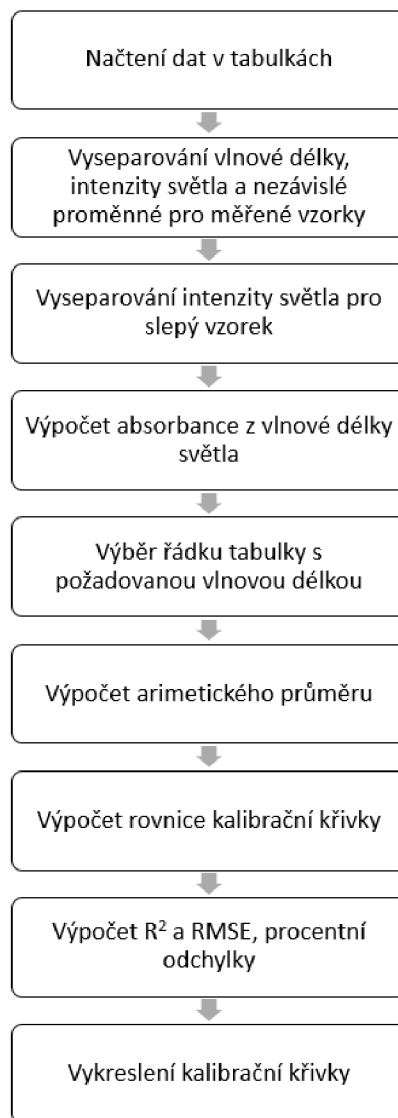
Dalším krokem algoritmu je výpočet koeficientu determinace R^2 . Výpočet je proveden jako podíl SSR a SST, jak je popsáno v podkapitole 3.2 – Parametry regrese. Hodnota SSR je součet čtverců regrese a je vypočítána jako druhá mocnina rozdílu mezi hodnotami absorbance v daném bodě a aritmetickým průměrem souboru dat při určené vlnové délce. Hodnota SST je celkový součet čtverců (vzorec 3.3).[19] Následně je vypočítána střední kvadratická chyba (RMSE), která je

používána jako míra rozdílu mezi hodnotami vzorku a hodnotami předpovězenými modelem, v tomto případě mezi hodnotami kalibrační křivky.[20]

Předposledním krokem je odchylka měření, která je vypočítána ve „for“ cyklu jako absolutní hodnota rozdílu absorbance spektrofotometru a absorbance senzoru, vydělená absorbancí spektrofotometru. Pro převod na procenta je vynásobena 100. Ve vzorci 6.2 značí δA procentní odchylku, A_1 absorbanci senzoru a A_2 absorbanci spektrofotometru.[21]

$$\delta A = \frac{A_1 - A_2}{A_2} * 100 \quad (6.2)$$

Na závěr byly pomocí funkce „plot“ vykresleny kalibrační křivky a body s naměřenými daty. Byla vykreslena kalibrační křivka pro měření spektrofotometrem, senzorem a porovnání obou kalibračních křivek.



Obr. 6.1: Blokové schéma algoritmu zpracování dat

6.2 Výsledky měření pH s fenolovou červení

6.2.1 Naměřená data

Laboratorní spektrofotometr Při měření vzorků laboratorním spektrofotometrem byl pomocí programu OceanOptics uložen textový soubor s výslednými daty. Celkově bylo získáno 17 souborů – 1 soubor s hodnotami slepého vzorku a 16 souborů s výsledky pro vzorky s různým pH. Každý soubor obsahoval 651 hodnot intenzity světla pro vlnové délky v rozsahu 350 nm až 1000 nm. Nejmenší naměřená intenzita světla byla 144,69 při vlnové délce 861 nm u vzorku o hodnotě pH 7,61. Nejvyšší naměřená intenzita byla při hodnotě pH 5,93 a to 1225,93 při vlnové délce 555 nm. Průměrná intenzita světla byla 279,036. Pro další zpracování byly hodnoty vloženy do programu Excel (viz Obr. 6.2).

pH:	5,92	6,22	6,63	6,7	6,8
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	168,06	173,27	216,16	177,43	172,4
451	173,63	170,32	227,32	180,09	168,48
452	171,79	169,18	240,78	181,07	177,7
453	170,8	173,42	250,99	188,91	183,64
454	176,11	175,72	260,38	185,9	183,02
455	173,99	173,04	267,98	191,06	185,03

Obr. 6.2: Ukázka naměřených dat vzorků s fenolovou červení (spektrofotometr)

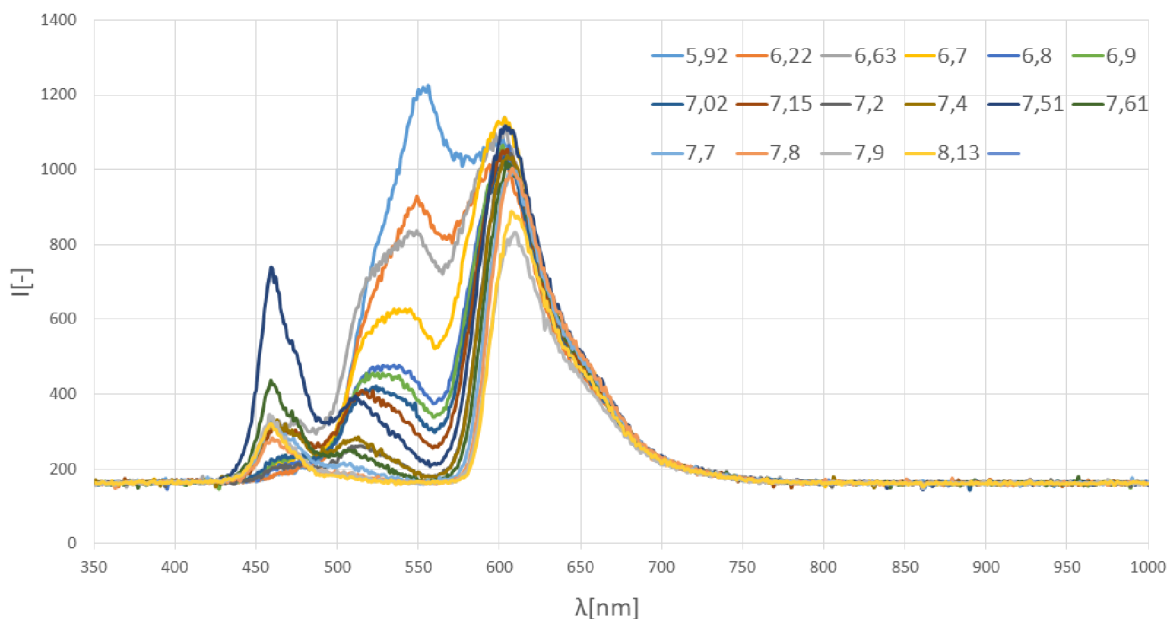
Senzor AS7262 Z programu CoolTerm byly získávány hodnoty ve formátu „.txt“. Získáno bylo dohromady 16 souborů se vzorky obarvenými fenolovou červení a 1 soubor s hodnotami slepého vzorku. Pro každý měřený vzorek byl vybrán jeden řádek, na němž byly výstupy ze senzoru ustálené, a ten byl vložen do programu Excel (viz Obr. 6.3), kde byly seskupeny všechny hodnoty pro další zpracování. Nejnižší intenzita světla neměřená senzorem byla 2,17, nejvyšší 90,63 a průměrná intenzita světla byla 28,48.

pH:	5,92	6,22	6,63	6,7	6,8
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	2,31	3,46	9,24	3,46	3,46
500	23,42	18,73	24,59	16,39	11,71
550	72,82	59,77	49,99	34,78	27,17
570	90,63	71,21	72,14	55,49	41,62
600	77,89	77,89	80,85	71,98	73,95
650	26,73	23,87	37,23	25,78	24,82

Obr. 6.3: Ukázka naměřených dat vzorků s fenolovou červení (senzor)

6.2.2 Vykreslení spekter

Laboratorní spektrofotometr V programu Excel bylo pomocí funkce „Grafy“ vykresleno spektrum fenolové červeně, tedy graf závislosti intenzity světla prošlého květou na vlnové délce (Obr. 6.4). Z grafu je patrné, že nejvyšší intenzita světla byla u většiny vzorků při vlnové délce okolo 600 nm – v oblasti přechodu oranžové a červené barvy. Nejvyšší intenzita světla byla u vzorku s pH 5,92 a byla rovna 1225,93. U tohoto vzorku bylo maximum při vlnové délce 555 nm.

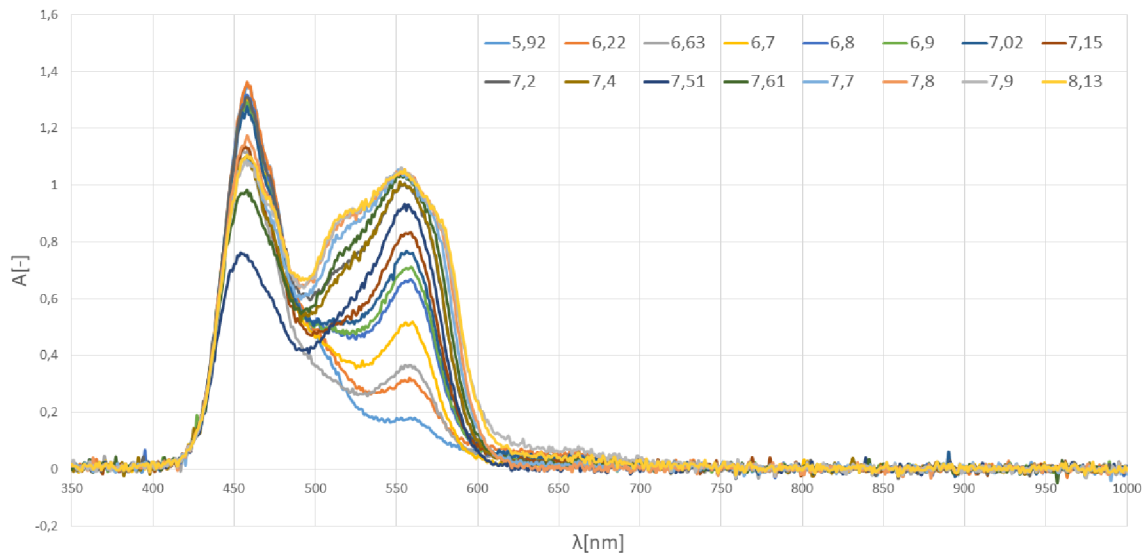


Obr. 6.4: Graf závislosti absorpance na vlnové délce u fenolové červeně (spektrofotometr)

Pro další zpracování měření byla intenzita světla přepočítána na absorbanci v programu Matlab. Výsledné absorbance byly v rozsahu 0 – 1,35.

Dále byly vypočítané hodnoty znovu vloženy do programu Excel, v němž byl vykreslen graf závislosti absorpance na vlnové délce (Obr. 6.5). Maximum většiny vzorků bylo blízko hodnotě 460 nm a druhé maximum okolo 550 nm. Na rozdíl od grafu na Obr. 6.4 se po přepočtu na absorbanci žádné vzorky nijak výrazně nelišily. Isosbestický bod - přechod mezi protonovou a neprotonovou formou v závislosti na pH - odpovídá vlnové délce okolo 490 nm.

Senzor AS7262 Stejně jako data získaná při měření laboratorním spektrofotometrem byla zpracována i data ze senzoru viditelného světla. Na obrázku 6.6 je pomocí programu Excel vykreslen graf závislosti intenzity světla na vlnové délce. Graf je vykreslen v rozsahu vlnových délek, které je senzor schopný zaznamenat- konkrétně



Obr. 6.5: Graf závislosti absorpance na vlnové délce u fenolové červeně (spektrofotometr)

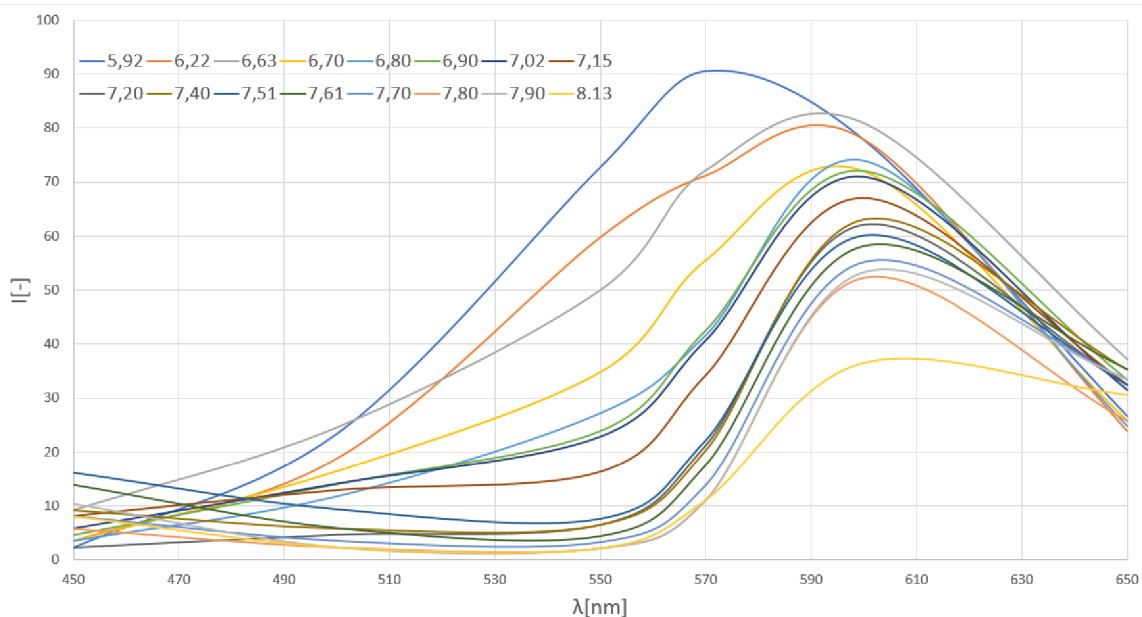
450 nm až 650 nm. Intenzita světla na vertikální ose se pohybuje od 0 do 90. Nejvyšší intenzity světla dosahuje vzorek s pH 5,92 při vlnové délce 570 nm, podobně jako tomu bylo u laboratorního spektrofotometru. Ostatní vzorky dosahují svého maxima přibližně při hodnotě vlnové délky 600 nm.

V programu Matlab byly hodnoty intenzity světla přepočteny na absorpaci a v programu Excel byl vytvořen graf závislosti absorpance na vlnové délce (viz Obr. 6.7). Hodnota absorpance byla v rozmezí od 0 do 2,7. Vzorky dosahovaly maxima absorpance při vlnové délce 450 nm a potom při vlnové délce 550 nm. Isobestický bod nejde přesně určit jako u měření spektrofotometrem, pravděpodobně by odpovídal vlnové délce 480 nm.

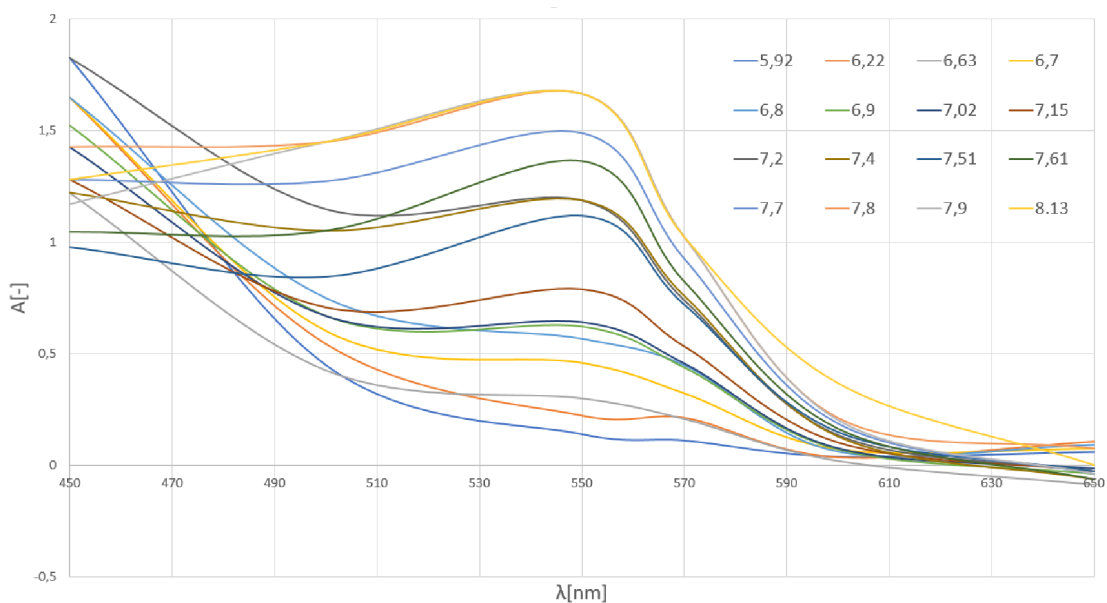
6.2.3 Výstupy zpracování algoritmem

Vzhledem k barevnému přechodu fenolové červeně od žluté do červené jsou v absorpčním spektru dvě maxima. Žlutě zbarveným vzorkům odpovídá absorpční maximum při vlnové délce 450 nm (viz Tab. 2.1.), červeně zbarveným vzorkům odpovídá maximum při 550 nm.

Kalibrační křivky - 450 nm Při vlnové délce 450 nm jsou obě kalibrační křivky na obrázku 6.8 klesající. Vyšší hodnoty absorpce lze pozorovat u kalibrační křivky senzoru, tak jako větší rozptyl hodnot vzorků. Více strmá je kalibrační křivka senzoru a křivky se neprotínají.

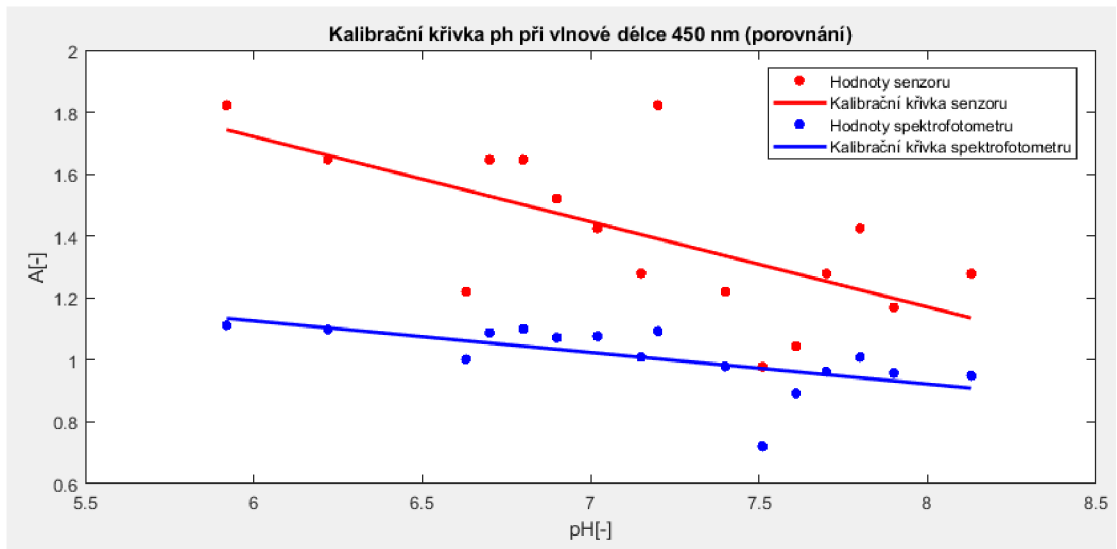


Obr. 6.6: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u fenolové červeně (senzor)

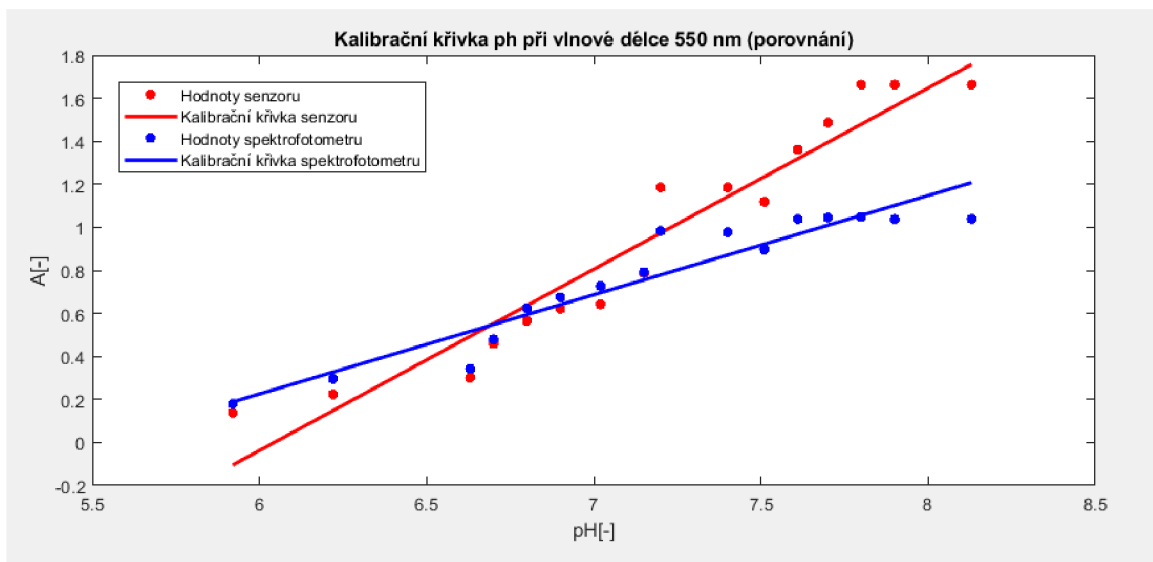


Obr. 6.7: Graf závislosti absorbance na vlnové délce u fenolové červeně (senzor)

Kalibrační křivky - 550 nm Na obrázku 6.9. je patrné, že kalibrační křivka senzoru je strmější než kalibrační křivka spektrofotometru a hodnoty jsou více vzdáleny od kalibrační křivky. Zároveň je i maximální dosažená hodnota absorbance vyšší než u spektrofotometru a nejmenší dosažená hodnota absorbance senzoru je v hodnotách pod 0. Obě kalibrační křivky jsou stoupající.



Obr. 6.8: Kalibrační křivka pH fenolové červeně při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru



Obr. 6.9: Kalibrační křivka pH fenolové červeně při vlnové délce 550 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru

Tabulka výstupů algoritmu Tabulka 6.1 obsahuje výstupy algoritmu při vlnové délce 450 nm. Jak je již z dat v kalibrační křivce 6.8 patrné, aritmetický průměr, tedy i hodnota absorbance, je vyšší u měření senzorem. Senzor má lepší koeficient determinace (R^2), ale oba koeficienty jsou poměrně nízké. Menší střední kvadratická chyba (RMSE) je u spektrofotometru a to o 0,1151.

V tabulce 6.2 jsou vypsány výstupy z programu Matlab pro data měřená s fenolovou červení při vlnové délce 550 nm. Z tabulky vyplývá, že hodnoty absorbance při

měření senzorem byly vyšší, protože aritmetický průměr je vyšší o téměř 0,2. Koefficient determinace se liší o 0,0291 a větší úspěšnost regrese byla u senzoru, jehož hodnota se více blíží hodnotě 1. Střední kvadratická odchylka je rozdílná o 0,0463 a u tohoto parametru má menší hodnotu spektrofotometr, tedy jeho odchylka je méně výrazná.

Tab. 6.1: Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro fenolovou červeň při vlnové délce 450 nm

450 nm	Senzor	Spektrofotometr
Aritmetický průměr	1,4018	1,0076
R^2	0,4221	0,3845
RMSE	0,1922	0,0771

Tab. 6.2: Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro fenolovou červeň při vlnové délce 550 nm

550 nm	Senzor	Spektrofotometr
Aritmetický průměr	0,9416	0,7613
R^2	0,9306	0,9015
RMSE	0,1373	0,0910

Procentní odchylky Tabulka 6.3 obsahuje výsledné procentní odchylky absorbance senzoru oproti spektrofotometru při vlnové délce 450 nm. Nejmenší odchylka byla 17,0692 % u vzorku s pH 7,61. Nejvyšší odchylka 66,7529 % u vzorku s pH 7,20. Průměrná dosažená odchylka při této vlnové délce je 38,3041 %.

Tabulka 6.4 obsahuje výsledky výpočtu procentní odchylky pro jednotlivé vzorky s odlišným pH při vlnové délce 550 nm. Nejvyšší procentuální odchylka je u vzorku s pH 7,90, který dosahuje 60,1342 %. Naopak nejmenší procentuální odchylka je u pH 7,15 – ta se rovná 0,4905 %. Průměrná dosažená odchylka senzoru je 25,8073 %.

Tab. 6.3: Tabulka procentní odchylky měření absorbance senzorem - měření pH s fenolovou červení (450 nm)

pH [–]	Odchylka [%]	pH [–]	Odchylka [%]
5,92	63,9459	7,20	66,7529
6,22	49,9513	7,40	24,6985
6,63	21,7631	7,51	35,5406
6,70	51,3712	7,61	17,0692
6,80	49,6535	7,70	32,9394
6,90	41,9066	7,80	41,2335
7,02	32,3593	7,90	22,1931
7,15	26,7176	8,13	34,7708

Tab. 6.4: Tabulka procentní odchylky měření absorbance senzorem - měření pH s fenolovou červení (550 nm)

pH [–]	Odchylka [%]	pH [–]	Odchylka [%]
5,92	23,3128	7,20	20,5848
6,22	24,5052	7,40	21,3372
6,63	12,0973	7,51	24,8659
6,70	4,4568	7,61	31,1224
6,80	9,2621	7,70	42,1959
6,90	7,9665	7,80	58,7419
7,02	11,7222	7,90	60,1342
7,15	0,4905	8,13	60,1221

6.3 Výsledky pH s bromthymolovou modří

6.3.1 Naměřená data

Laboratorní spektrofotometr Stejně jako je popsáno v podkapitole 5.1.1., tak i při měření pH s bromthymolovou modří bylo nejprve 17 získaných naměřených textových souborů převedeno do tabulky v programu Excel. Každý soubor obsahoval naměřená data intenzity světla pro 651 vlnových délek v rozmezí 350 nm až 1000 nm. Nejmenší naměřená intenzita světla byla 132,32 při vlnové délce 861 nm u vzorku s pH 5,92. Nejvyšší naměřená intenzita světla byla 1627,93 při vlnové délce 459 nm u vzorku s pH 7,90. Průměrná naměřená intenzita světla byla 249,62.

pH:	5,92	6,22	6,63	6,7	6,8
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	295,84	428,1	476,14	536,12	384,23
451	325,93	465,41	524,38	576,45	411,84
452	356,15	506,43	569,73	649,7	457,74
453	370,18	550,8	608,42	683,94	480
454	390,1	584,49	635,56	747,43	521,4
455	415,92	625,82	683,77	792,74	549,78

Obr. 6.10: Ukázka naměřených dat vzorků s bromthymolovou modří v programu Excel (spektrofotometr)

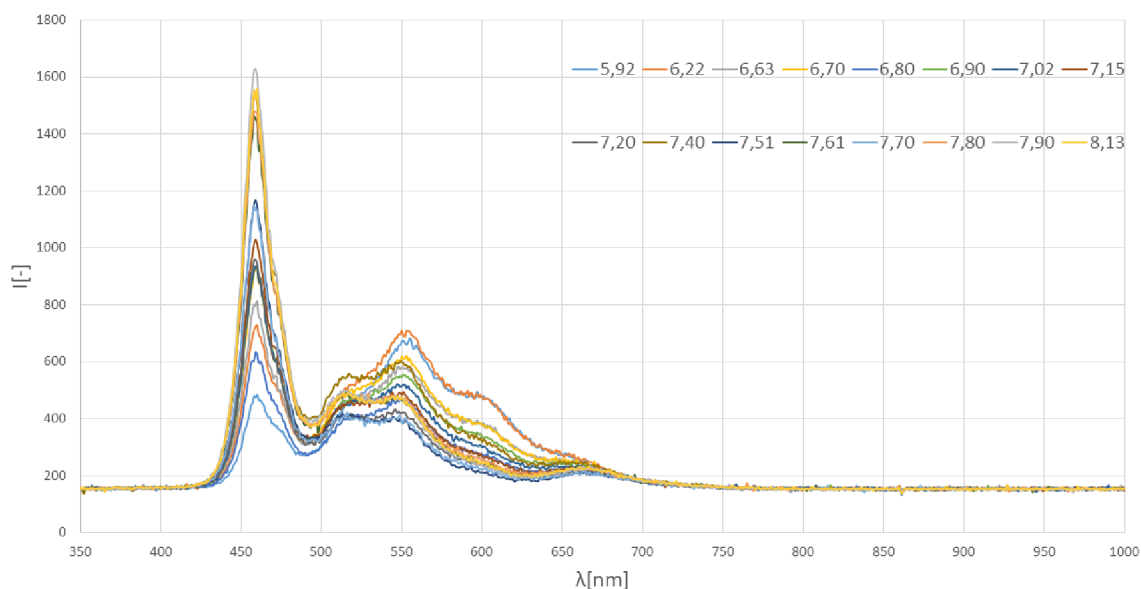
Senzor AS7262 Všech 102 hodnot intenzity světla naměřených senzorem pro slepý vzorek a vzorky obarvené fenolovou červení bylo vloženo do programu Excel. Nejmenší naměřená hodnota intenzity světla byla 1,91 při vlnové délce 650 nm a to u vzorků s pH: 7,20, 7,51, 7,61, 7,70, 7,80, 7,90, 8,13. Nejvyšší dosažená intenzita světla 42,72 byla u vzorku s pH 7,40 při vlnové délce 450 nm. Průměrná naměřená intenzita světla byla 17,21.

pH:	5,92	6,22	6,63	6,7	6,8
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	11,54	18,47	21,94	27,71	16,16
500	15,22	17,56	16,39	18,73	14,05
550	34,78	32,6	28,26	30,43	19,56
570	34,22	32,37	26,82	28,67	17,57
600	24,65	23,66	17,75	18,73	9,86
650	6,68	6,68	5,73	4,77	3,82

Obr. 6.11: Ukázka naměřených dat vzorků s bromthymolovou modří v programu Excel (senzor)

6.3.2 Vykreslení spekter

Laboratorní spektrofotometr Na obrázku 6.12 je vykreslen graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u spektrofotometru při měření vzorků s odlišným pH obarvených bromthymolovou modří. Tento graf byl vykreslen v programu Excel funkcí „Grafy“. Z grafu vyplývá, že nejvyšší intenzita světla je při vlnové délce 440 nm a je rovna 1627,93.

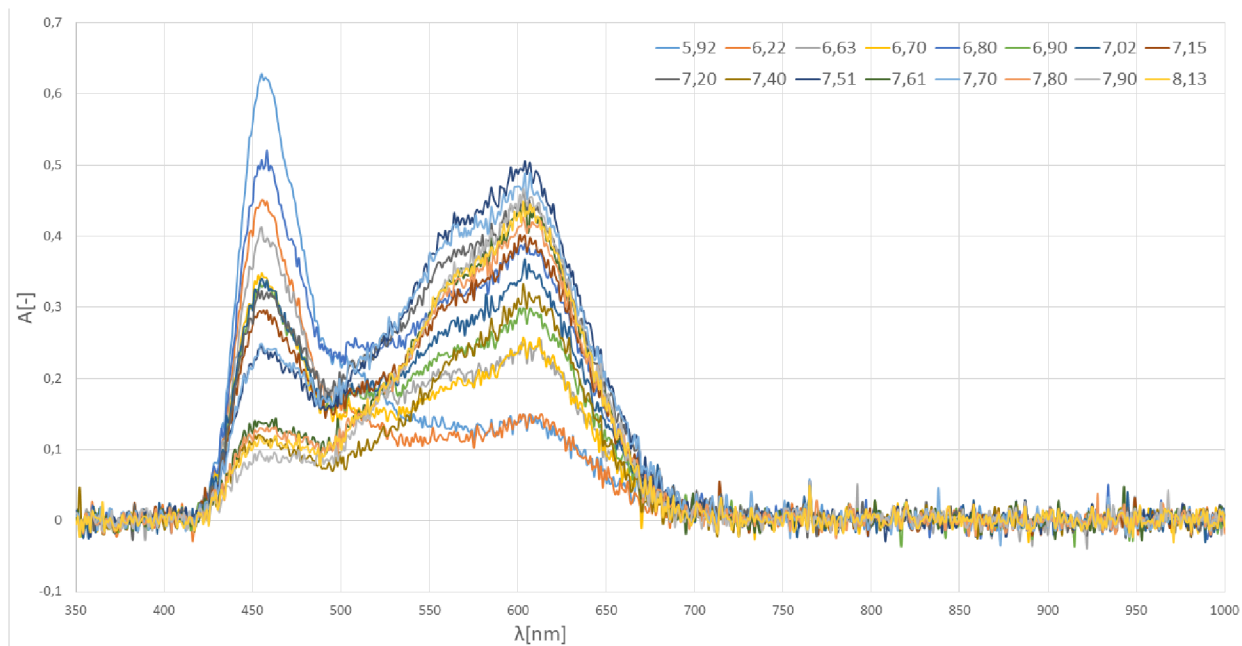


Obr. 6.12: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u bromthymolové modří (spektrofotometr)

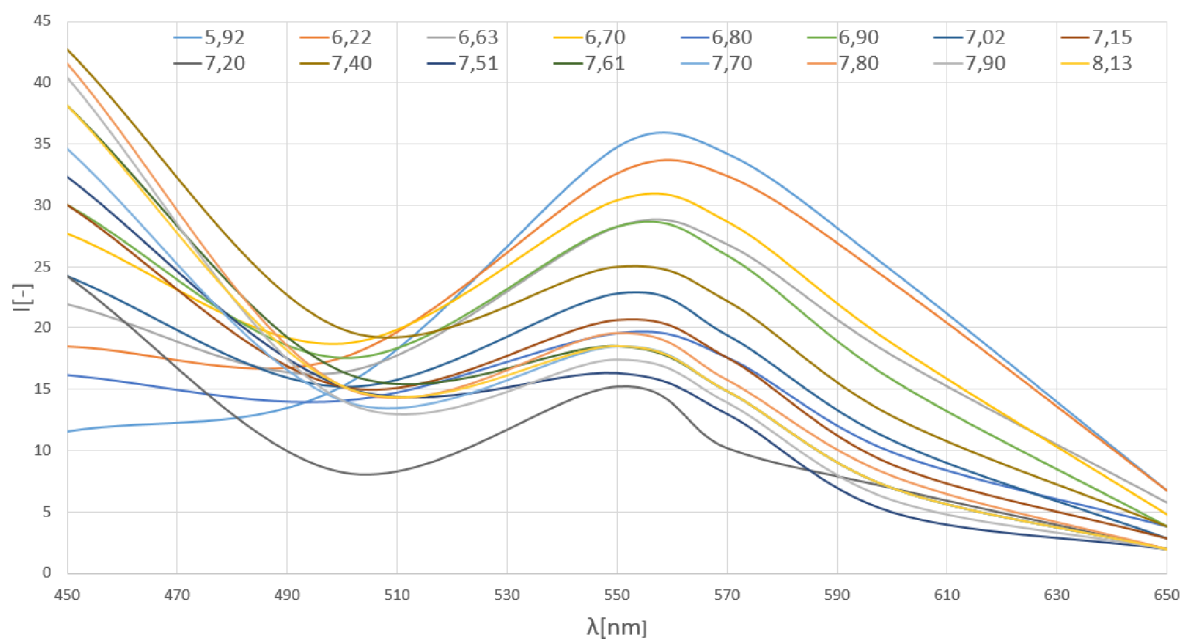
Hodnoty intenzity světla byly přepočítány v programu Matlab na hodnoty absorbance. Výsledný graf závislosti absorbance na vlnové délce byl znovu vykreslen v Excelu a je zobrazen na obrázku 6.13. Absorbance vzorků obarvených bromthymolovou modří se pohybuje v rozmezí od -0,01 po 0,628. Absorpční maximum je při vlnové délce 457 nm. Druhé absorpční maximum je při vlnové délce 607 nm. Isosbetický bod odpovídá vlnové délce 500 nm.

Senzor AS7262 Na grafu 6.14 je vykreslen graf závislosti intenzity světla na vlnové délce pro vzorky obarvené bromthymolovou modří a měřené senzorem AS7262. Nejvyšší intenzita je u vlnové délky 450 nm. Na této vlnové délce byla naměřena intenzita světla nejvíce 42,72.

Po přepočítání intenzity světla na absorbanci (vzorec 6.1) bylo znovu vykresleno spektrum, tentokrát jako závislost absorbance na vlnové délce (Obr. 6.15). Z grafu lze vyčíst, že absorpční maximum je při vlnové délce 600 nm a má hodnotu 0,845.

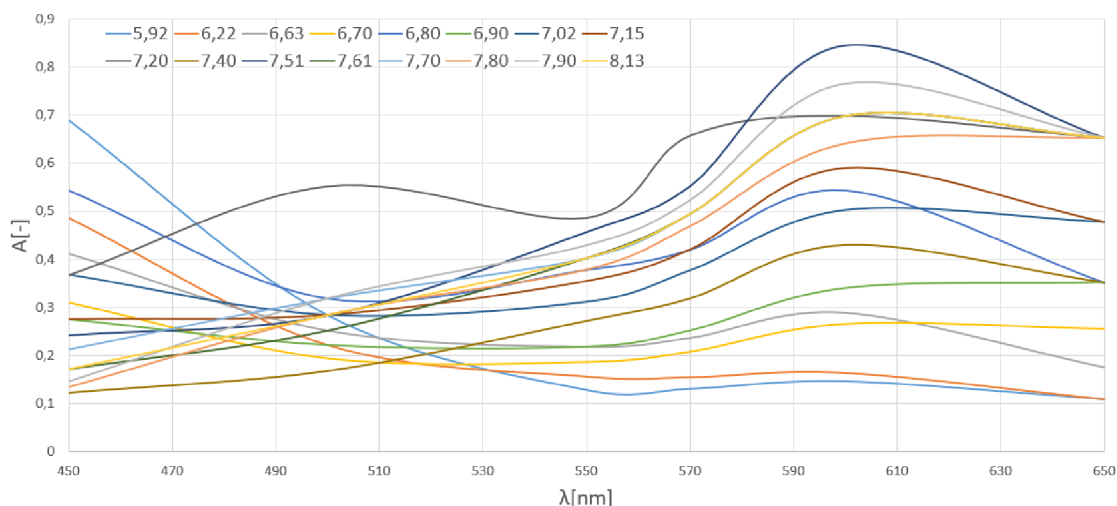


Obr. 6.13: Graf závislosti absorpance na vlnové délce u bromthymolové modři (spektrofotometr)



Obr. 6.14: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u bromthymolové modři (senzor)

Druhá nejvyšší hodnota absorpance 0,690 je při vlnové délce 450 nm. Isosbetický bod nejvíce odpovídá vlnové délce 500 nm, tak jako u spektrofotometru.



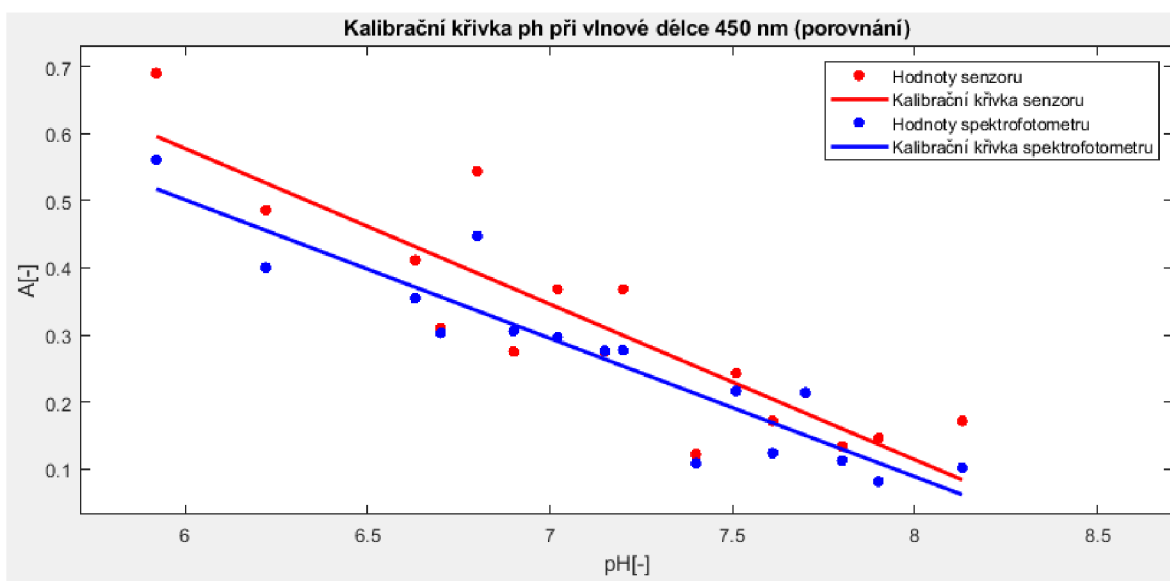
Obr. 6.15: Graf závislosti absorpce na vlnové délce u bromthymolové modři (senzor)

6.3.3 Výstupy zpracování algoritmem

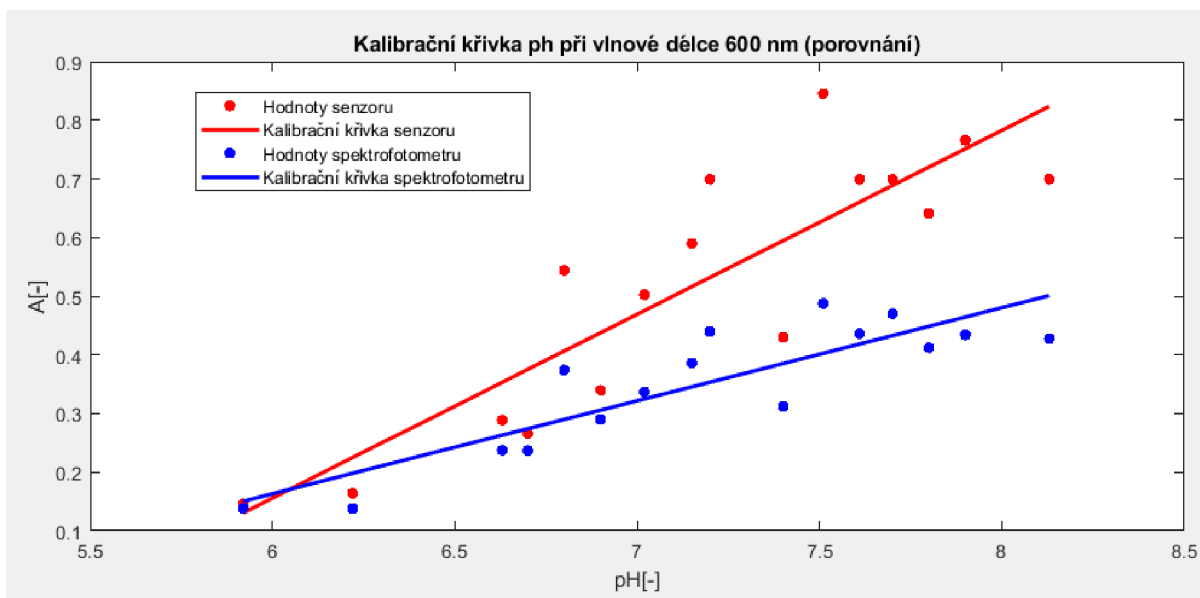
Při vykreslení spekter pro měření pH bromthymolové modře je na obrázku 6.13 vidět, že absorpční maximum pro spektrofotometr je při vlnové délce 457 nm, zatímco na obrázku 6.15 je absorpční maximum senzoru 600 nm. Pro porovnání byly vytvořeny obě kalibrační křivky – při vlnové délce 450 nm i 600 nm.

Kalibrační křivka - 450 nm Kalibrační křivky z dat při vlnové délce 450 nm mají obě klesající charakter. Při porovnání křivek spektrofotometru a senzoru na obrázku 6.16 lze vidět, že hodnoty absorpce senzoru jsou vyšší než u spektrofotometru. Kalibrační křivky se vzájemně nekříží a s osou x (pH) svírají relativně podobný úhel.

Kalibrační křivka - 600 nm Na rozdíl od kalibrační křivky při vlnové délce 450 nm (viz Obr. 6.16) je kalibrační křivka při vlnové délce 600 nm na obrázku 6.17 stoupající. Úhel kalibračních křivek spektrofotometru a senzoru se výrazně liší a naměřená data jsou více rozptýlená od kalibračních křivek. Křivky se kříží při pH 6,1.



Obr. 6.16: Kalibrační křivka pH (bromthymolová modř) při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru



Obr. 6.17: Kalibrační křivka pH (bromthymolová modř) při vlnové délce 600 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru

Tabulka výstupů z algoritmu V tabulce 6.5 jsou výstupy zpracování algoritmem pro vzorky obarvené bromthymolovou modří při vlnové délce 450 nm. Vyšší aritmetický průměr absorbance byl o 0,0468 u měření senzorem. Koeficient determinace vycházel lépe u spektrofotometru a stejně tak i střední kvadratická chyba.

Výsledky při vlnové délce 600 nm jsou v tabulce 6.6. Aritmetický průměr byl opět vyšší u senzoru. Koeficient determinace se lišil o necelou setinu a střední kvadratická chyba měla lepší hodnotu o 0,0535 u spektrofotometru.

Tab. 6.5: Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro bromthymolovou modř při vlnové délce 450 nm

450 nm	Senzor	Spektrofotometr
Aritmetický průměr	0,3081	0,2613
R^2	0,7761	0,8537
RMSE	0,0744	0,0510

Tab. 6.6: Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro bromthymolovou modř při vlnové délce 600 nm

600 nm	Senzor	Spektrofotometr
Aritmetický průměr	0,5199	0,3474
R^2	0,7567	0,7643
RMSE	0,1061	0,0526

Procentní odchylky Procentní odchylky v tabulce 6.7 jsou pro vlnovou délku 450 nm. Nejnižší procentní odchylka byla 0,4145 % u pH 7,15. Maximální procentní odchylka byla u pH 7,90 a to 79,9341 %. Průměrná odchylka se rovnala 23,9335.

V tabulce 6.8 jsou procentní odchylky senzoru při vlnové délce 600 nm. Minimální odchylka dosahovala 5,3156 % u pH 5,92 a maximální 73,3214 % u pH 7,51. Průměrná odchylka byla 43,5118 %.

Tab. 6.7: Tabulka procentní odchylky měření absorbance senzorem - měření pH s bromthymolovou modří (450 nm)

pH [–]	Odchylka [%]	pH [–]	Odchylka [%]
5,92	23,0285	7,20	32,7103
6,22	21,3277	7,40	12,2600
6,63	16,0441	7,51	12,3408
6,70	2,3106	7,61	38,7844
6,80	21,5639	7,70	0,4535
6,90	10,0992	7,80	19,0197
7,02	24,1724	7,90	79,9341
7,15	0,4145	8,13	68,4697

Tab. 6.8: Tabulka procentní odchylky měření absorbance senzorem - měření pH s bromthymolovou modří (600 nm)

pH [–]	Odchylka [%]	pH [–]	Odchylka [%]
5,92	5,3156	7,20	59,0237
6,22	18,6629	7,40	37,6771
6,63	21,7155	7,51	73,3214
6,70	12,0564	7,61	60,2282
6,80	45,3093	7,70	48,6692
6,90	17,0826	7,80	55,5391
7,02	49,0338	7,90	45,0000
7,15	52,6975	8,13	63,4123

6.4 Výsledky koncentrace dusičnanů

6.4.1 Naměřená data

Laboratorní spektrofotometr Získaná data měření obarvených vzorků o různé koncentraci dusičnanů byla z textového souboru převedena do tabulky v Excelu. Stejně jako u měření vzorků s různým pH, i tady tabulka obsahovala intenzity světla při různých vlnových délkách. Celkově je v tabulce 651 hodnot vlnových délek a 5859 hodnot intenzity světla pro vzorky o 8 různých koncentracích a jeden slepý vzorek. Nejmenší intenzita světla 130,97 byla naměřena u vzorku o koncentraci 120 mg/l při vlnové délce 861 nm. Nejvyšší naměřená intenzita byla 1375,2 u vzorku o koncentraci 1 mg/l při vlnové délce 555 nm. Průměrná intenzita světla všech obarvených vzorků byla 266,25.

c [mg/l]	1	5	15	20	30
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	367,65	150,56	152,87	151,02	149,74
451	404,39	155,62	156,54	153,97	153,01
452	437,05	153,07	154,29	153,13	154,34
453	470,27	151,24	153,2	152,19	150,83
454	488,89	147,86	153,61	154,08	153,23
455	512,85	153,05	154,96	153	150,99

Obr. 6.18: Ukázka naměřených dat pro koncentraci dusičnanů (spektrofotometr)

Senzor AS7262 Z měření senzorem viditelného světla bylo získáno 54 hodnot intenzity světla obarvených vzorků a blanku pro 6 vlnových délek. Minimum intenzity světla bylo 1,15 při vlnové délce 450 nm u všech koncentrací kromě koncentrace dusičnanů 1 mg/l. U této koncentrace byla naopak nejvyšší intenzita a to 98,96 při vlnové délce 570 nm. Průměr intenzit světla se rovnal 27,15.

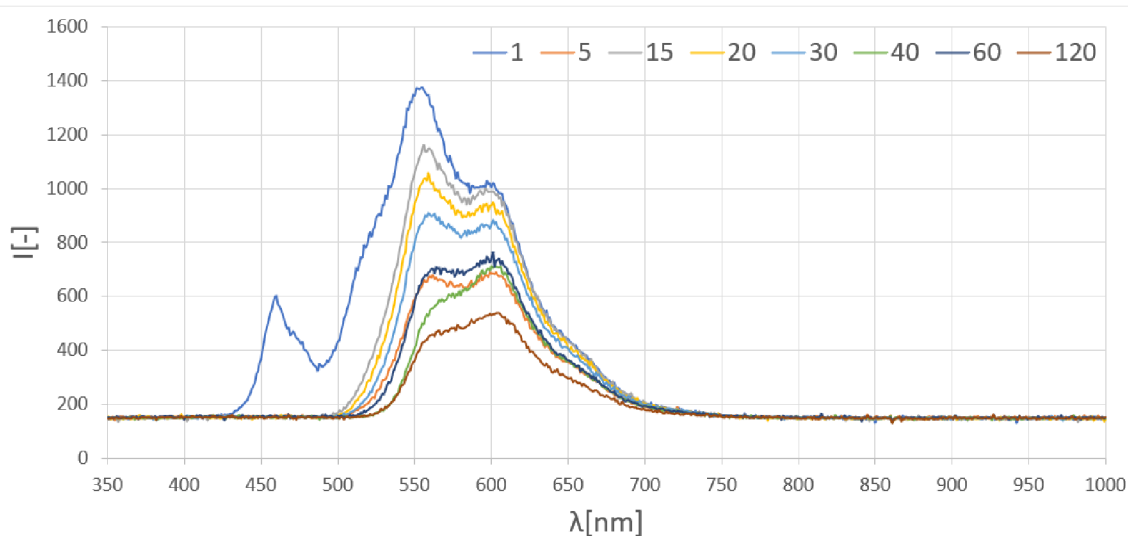
c [mg/l]	1	5	15	20	30
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	16,16	1,15	1,15	1,15	1,15
500	32,79	3,51	10,54	12,88	5,85
550	58,69	20,65	48,91	52,17	33,69
570	98,96	49,02	79,53	96,18	73,06
600	27,61	20,71	23,66	26,62	24,65
650	31,5	29,59	25,78	33,41	32,46

Obr. 6.19: Ukázka naměřených dat pro koncentraci dusičnanů (senzor)

6.4.2 Vykreslení spekter

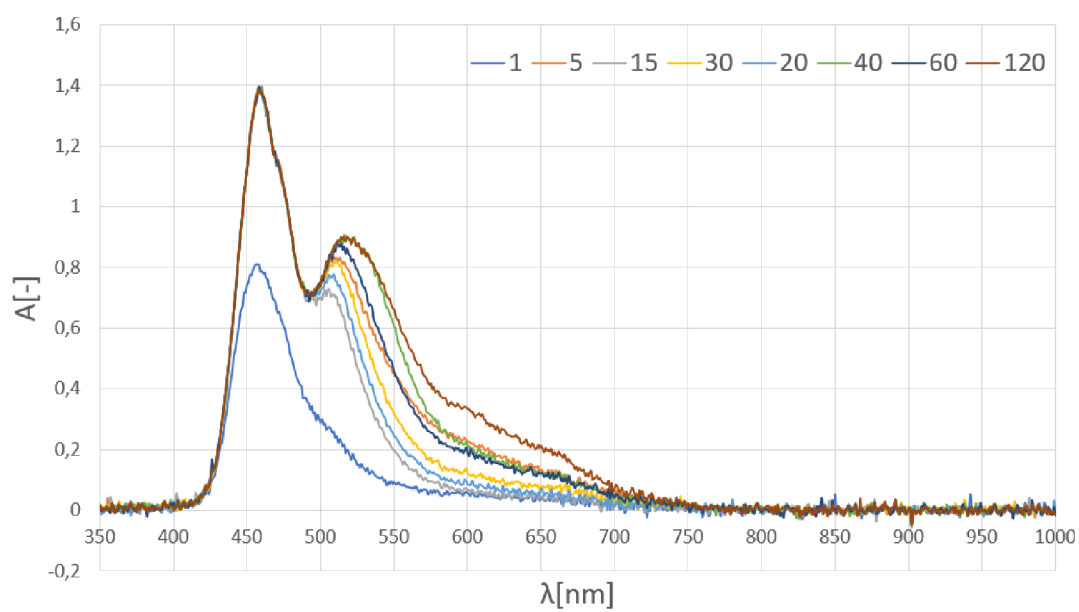
Laboratorní spektrofotometr Získané hodnoty intenzity světla byly v programu Excel vykresleny na graf závislosti intenzity světla na vlnové délce (Obr. 6.20). Z grafu vyplývá, že nejvyšší naměřená intenzita světla byla pro koncentraci 1 mg/l a to při vlnové délce 555 nm. Pro koncentrace 15 mg/l, 20 mg/l a 30 mg/l byla nejvyšší intenzita také při vlnové délce v rozmezí 555 až 560 nm. Pro ostatní koncentrace byla nejvyšší intenzita světla v rozmezí 600 až 605 nm.

Po přepočtení intenzity světla na absorbanci bylo vykresleno absorpční spektrum (Obr. 6.21) pro roztoky dusičnanů o různé koncentraci. Absorpce se pohybuje v rozmezí od -0,02 až k hodnotě 1,4. Absorpční maximum je při vlnové délce 460 nm a to pro všechny měřené koncentrace.

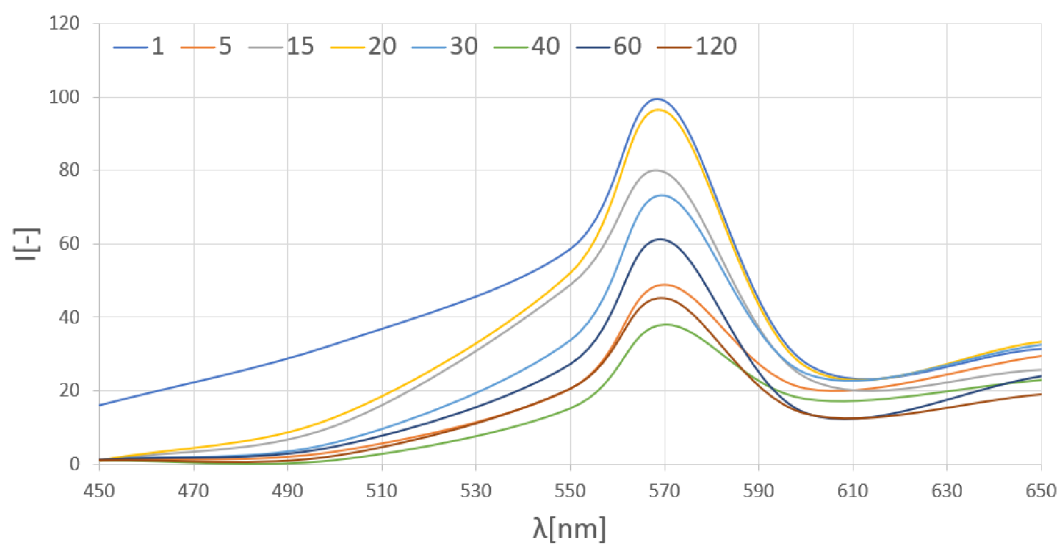


Obr. 6.20: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u koncentrací dusičnanů (spektrofotometr)

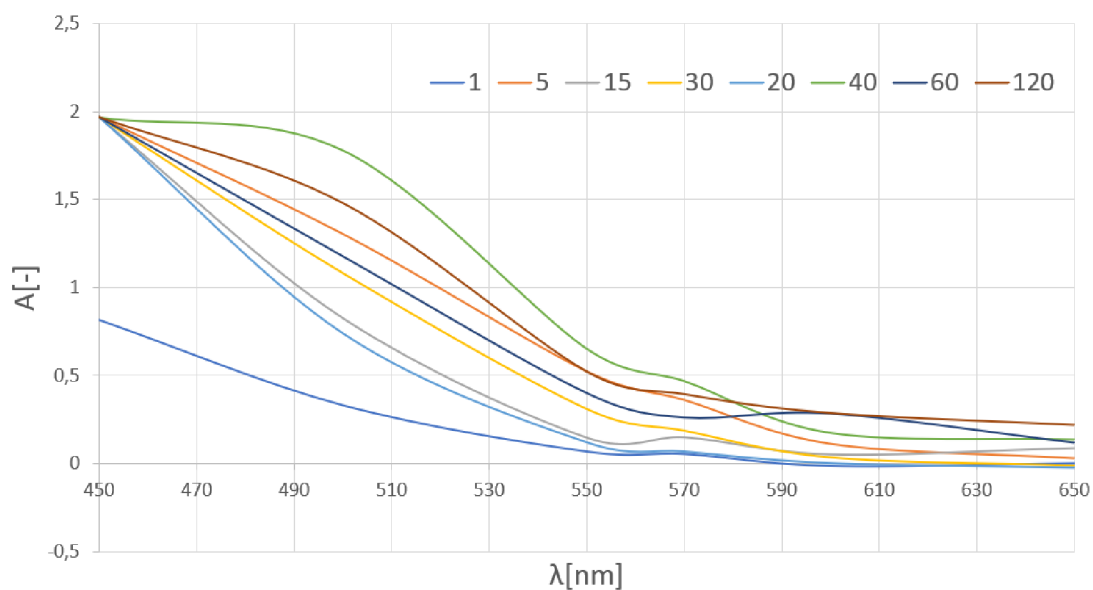
Senzor AS7262 Při vykreslení grafu závislosti intenzity světla na vlnové délce pro data získaná ze senzoru viditelného světla se ukázalo, že všechny roztoky s různou koncentrací dusičnanů mají maximální intenzitu světla při vlnové délce 570 nm. Následně byly hodnoty intenzity světla přepočítány v Matlabu na absorbanci, jak je popsáno v podkapitole 6.1. Nejvyšší absorbance byla při vlnové délce 450 nm. Pro koncentrace 5 až 120 mg/l se hodnota absorpčního maxima rovnala 1,96. Výrazně nižší maximum prokazuje vzorek s koncentrací 1 mg/l, jehož hodnota absorbance je 0,82.



Obr. 6.21: Graf závislosti absorpance světla na vlnové délce u koncentrace dusičnanů (spektrofotometr)



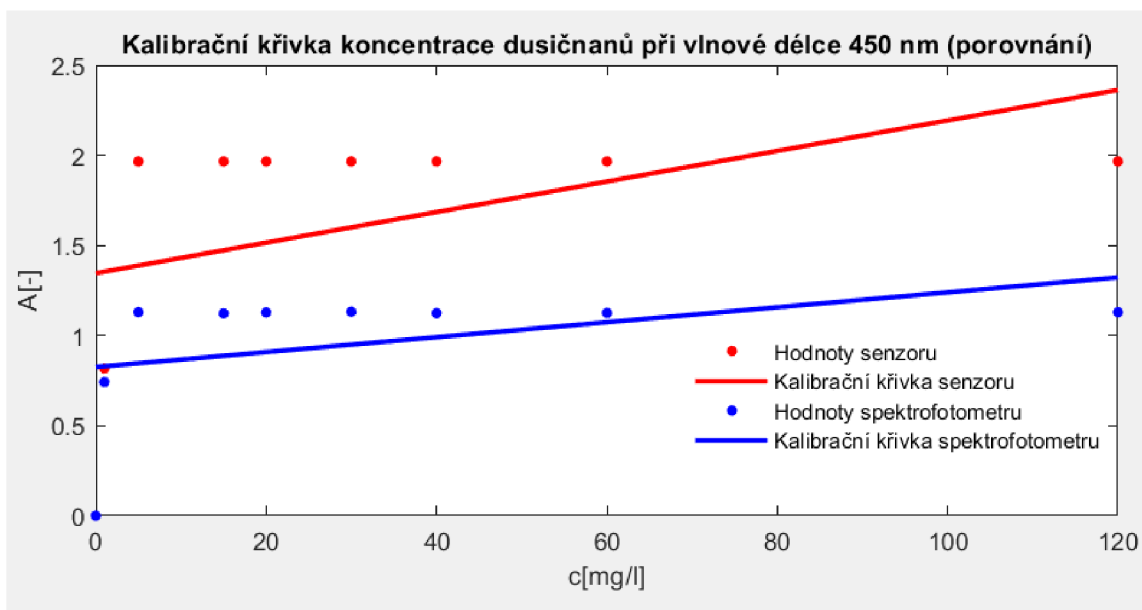
Obr. 6.22: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u koncentrace dusičnanů (senzor)



Obr. 6.23: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u koncentrace dusičnanů (senzor)

6.4.3 Výstupy zpracování algoritmem

Kalibrační křivka Na obrázku 6.24 je vykresleno porovnání kalibračních křivek absorpčního maxima koncentrace dusičnanů pro data ze senzoru a ze spektrofotometru. Kalibrační křivky jsou obě stoupající, křivka senzoru o trochu strměji. Data naměřená senzorem mají vyšší hodnoty absorbance, než data naměřená spektrofotometrem. Data ze spektrofotometru mají absorbanci okolo 1,1, data se senzoru okolo 1,9. Podobný výsledek měření byl u koncentrace dusičnanů 1 mg/l, kde byla hodnota absorbance spektrofotometru i senzoru okolo 0,8. Nelineárnost naměřených dat může být způsobena použitím nevhodného barviva, které mělo pevnou sypkou formu a i po opětovném zamíchání se usazovalo na dně kyvet.



Obr. 6.24: Kalibrační křivka koncentrace dusičnanů při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru

Tabulka výstupů z algoritmu V tabulce 6.9 jsou vypsány výstupy z algoritmu v Matlabu pro měření při vlnové délce 450 nm. Aritmetický průměr je u senzoru vyšší o 0,6602, což se dalo předpokládat již z kalibrační křivky na obrázku 6.23. Koeficient determinace R^2 je také vyšší u senzoru, konkrétně o 0,0329, z čehož vyplývá, že má lepší úspěšnost regrese než spektrofotometr. U obou koeficientů determinace je hodnota velmi nízká a regrese nebyla příliš úspěšná. Horší výsledky regrese jsou ovlivněny hlavně nerovnoměrným rozložením dat a jejich celkovou nelinearitou. Střední kvadratická chyba RMSE vychází lépe o 0,2746 u spektrofotometru, u kterého se hodnota více blíží 0 a je tam menší rozdíl mezi hodnotami vzoru a hodnotami předpovězenými modelem.

Tab. 6.9: Tabulka výstupů z algoritmu v Matlabu pro koncentraci dusičnanů při vlnové délce 450 nm

450 nm	Senzor	Spektrofotometr
Aritmetický průměr	1,6196	0,9594
R^2	0,2055	0,1726
RMSE	0,6019	0,3273

Procentní odchylka Procentní odchylky absorbance senzoru oproti spektrofotometru jsou v tabulce 6.10. Nejvíce podobná data byla u koncentrace NO_3 1mg/l, jejichž procentní odchylka odpovídala 10,2007 %. U ostatních měřených koncentrací byla odchylka v průměru 74,3299 %, což bylo dáno velkým rozdílem v absorbancích.

Tab. 6.10: Tabulka procentní odchylky měření absorbance senzorem - měření koncentrace dusičnanů (450 nm)

Koncentrace NO_3 [mg/l]	Odchylka [%]
1	10,2007
5	73,9727
15	74,9970
20	74,1769
30	73,6082
40	74,8819
60	74,6338
120	74,0393

6.5 Výsledky tvrdosti vody

6.5.1 Naměřená data

Laboratorní spektrofotometr Při měření tvrdosti vody spektrofotometrem bylo získáno 3255 hodnot intenzity světla při 651 vlnových délkách pro 4 různá množství činidla ke zjištění tvrdosti vody a 1 slepý vzorek. Nejmenší naměřená intenzita světla 130,45 byla u vzorku se 2 kapkami činidla při vlnové délce 861 nm. Nejvyšší intenzita světla 2414,23 při vlnové délce 459 nm byla u vzorku s 1 kapkou činidla. Průměrná intenzita světla měla hodnotu 392,78.

Počet kapek:	1	2	3	4
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	1291	765,77	882,63	756,15
451	1462,99	841,79	1007,68	844,91
452	1665,53	946,49	1120,43	954,4
453	1808,14	1014,46	1227,7	1050,17
454	1955,49	1093,87	1291,39	1110,83
455	2085,24	1174,62	1417,5	1205,47

Obr. 6.25: Ukázka naměřených dat pro měření tvrdosti vody (spektrofotometr)

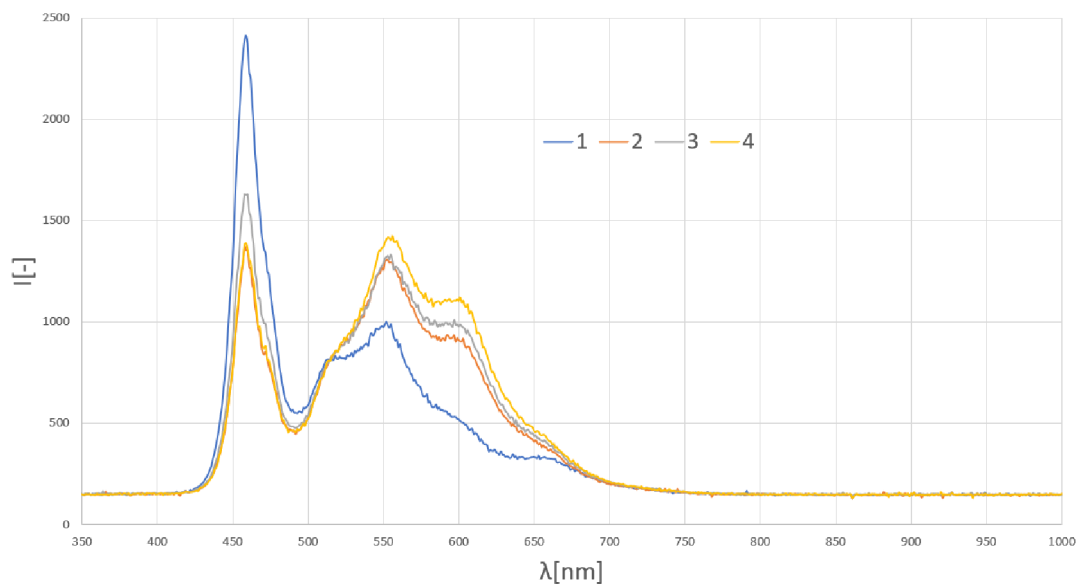
Senzor AS7262 Při měření tvrdosti vody spektrofotometrem bylo získáno 3255 hodnot intenzity světla při 651 vlnových délkách pro 4 různá množství činidla ke zjištění tvrdosti vody a 1 slepý vzorek. Nejmenší naměřená intenzita světla 130,45 byla u vzorku se 2 kapkami činidla při vlnové délce 861 nm. Nejvyšší intenzita světla 2414,23 při vlnové délce 459 nm byla u vzorku s 1 kapkou činidla. Průměrná intenzita světla měla hodnotu 392,78.

Počet kapek:	1	2	3	4
λ [nm]	I [-]	I [-]	I [-]	I [-]
450	73,89	34,63	56,57	38,1
500	45,67	33,96	51,52	37,47
550	39,12	43,47	61,95	66,29
570	58,26	61,04	106,35	90,63
600	11,83	13,8	29,58	32,54
650	20,05	24,82	41,05	29,59

Obr. 6.26: Ukázka naměřených dat pro měření tvrdosti vody (senzor)

6.5.2 Vykreslení spekter

Laboratorní spektrofotometr Na obrázku 6.27 je vykreslen graf závislosti intenzity světla na vlnové délce pro měření spektrofotometrem. Maximum intenzity světla je při vlnové délce 459-460 nm, druhé maximum při vlnové délce 555 nm.



Obr. 6.27: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u měření tvrdosti vody (spektrofotometr)

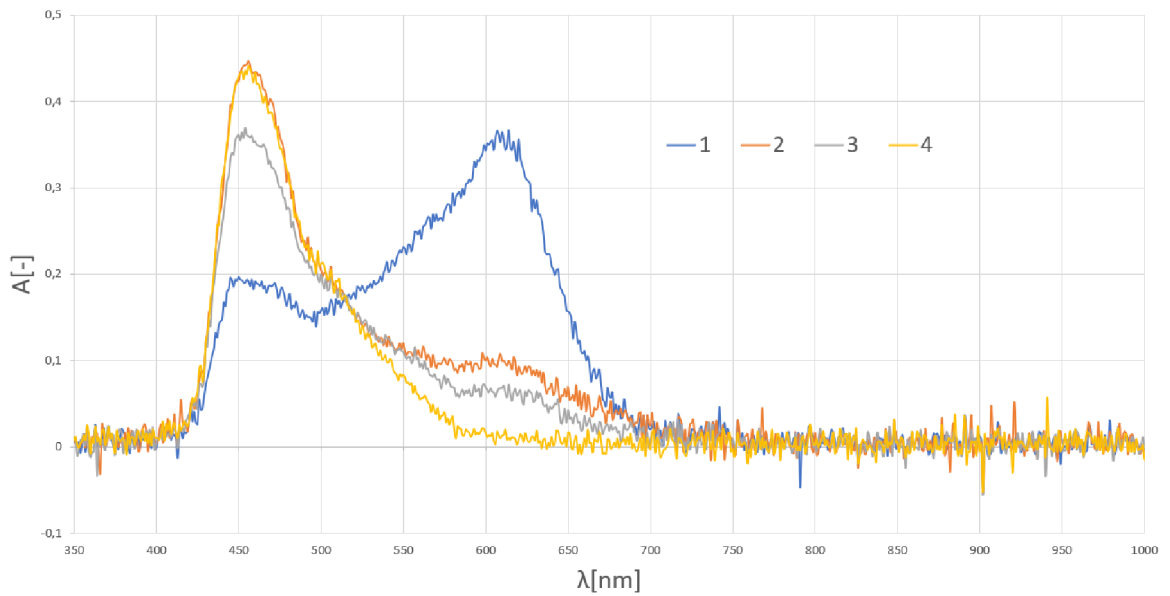
Na obrázku 6.28 jsou intenzity světla přepočítány na absorpenci, jejíž graf v závislosti na vlnové délce světla je zde vykreslen. Na tomto grafu je vidět výrazný rozdíl mezi vzorkem 1 a vzorky 2, 3, 4. Jak je ukázáno v podkapitole 5.4, vzorek 1 je modré barvy a vzorky 2, 3, 4 jsou žluté až žlutooranžové. To se projevuje i na absorpčních maximech. Modrý vzorek 1 dosahuje svého absorpčního maxima při vlnové délce 614 nm, žlutooranžové vzorky okolo 455 nm. To odpovídá tabulce 2.1 v kapitole Optické metody analýzy vody.

Senzor AS7262 Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce pro senzor je na obrázku 6.29. V grafu je patrné, že maximum intenzity světla pro vzorek 1 je při vlnové délce 450 nm a maxima vzorků 2, 3, 4 jsou při vlnové délce 570 nm.

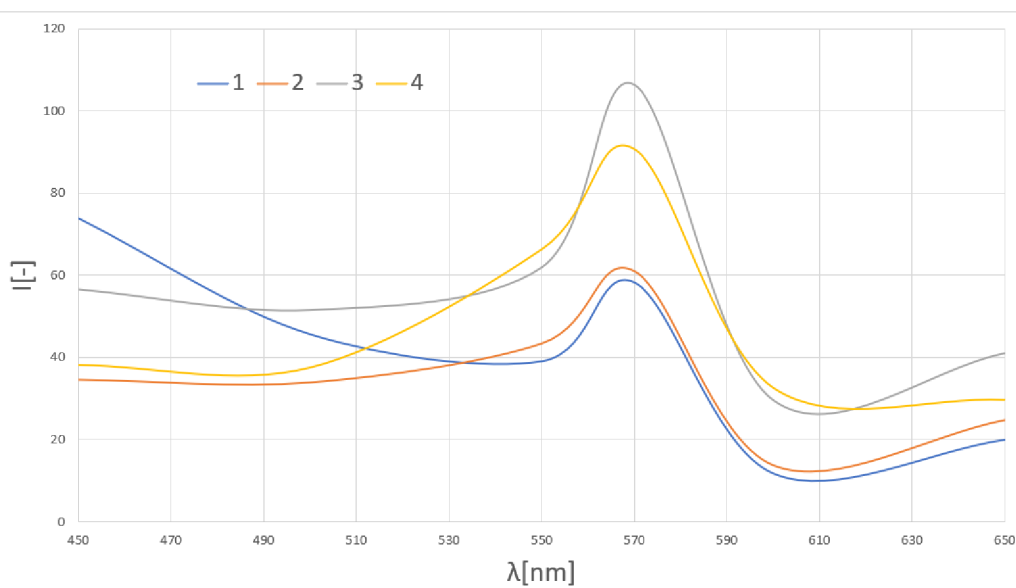
V grafu na obrázku 6.30 je graf závislosti absorpance na vlnové délce. U modrého vzorku 1 je absorpční maximum při vlnové délce 600 nm, u ostatních vzorků je při 450 nm.

6.5.3 Výstupy zpracování algoritmem

Kvůli rozdílným absorpčním maximům a různé barevnosti u vzorku s jednou kapkou barevného činidla a u vzorků s dvěma, třemi a čtyřmi kapkami byly vykresleny kalibrační křivky při 2 vlnových délkách – 450 nm a 600 nm.

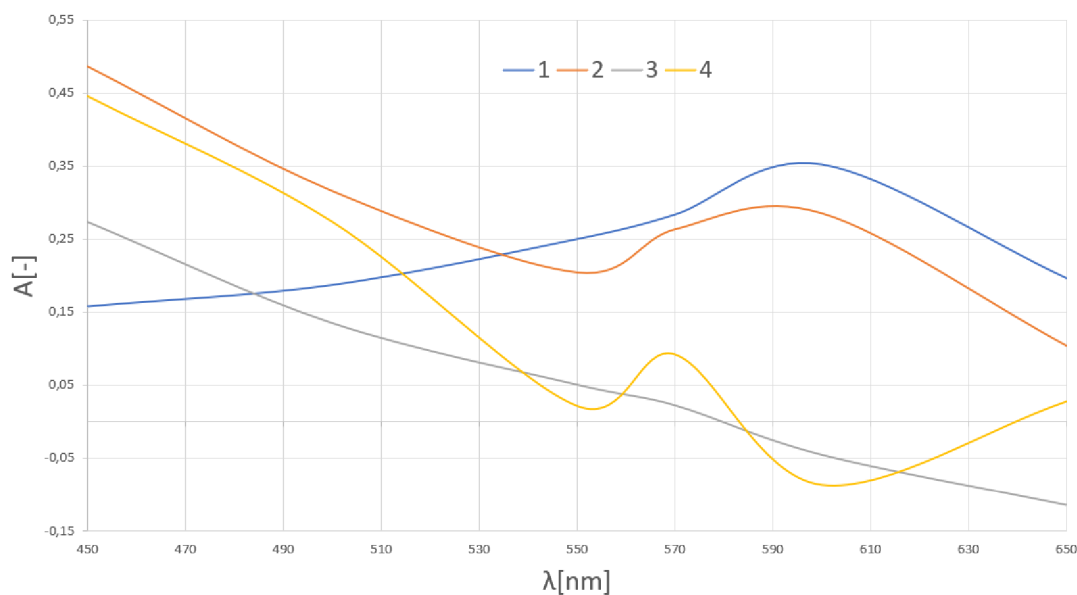


Obr. 6.28: Graf závislosti absorpce na vlnové délce u měření tvrdosti vody (spektrofotometr)

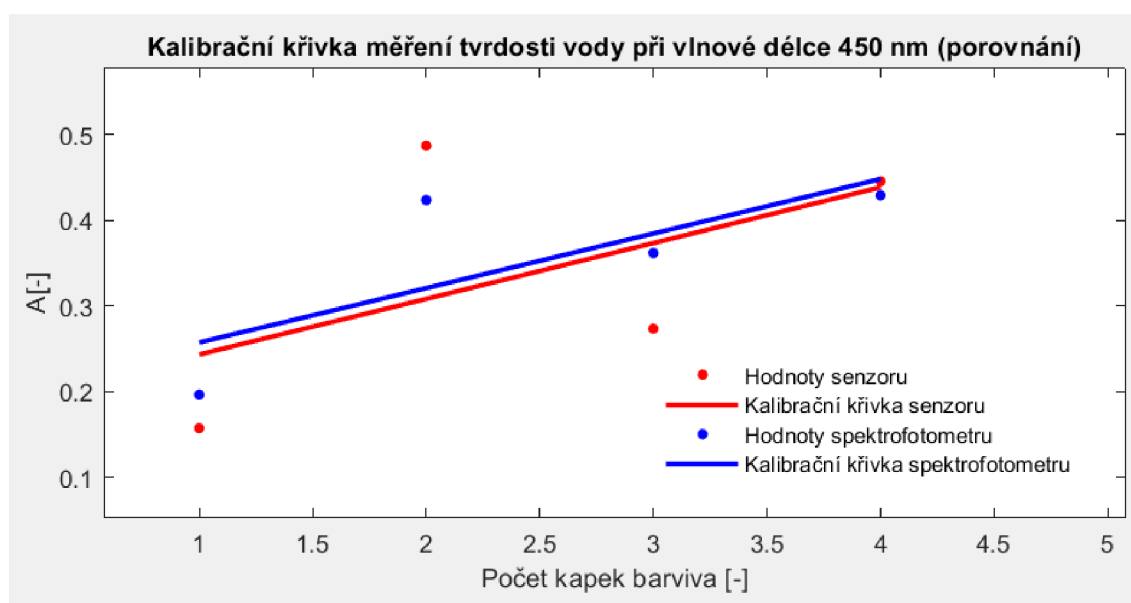


Obr. 6.29: Graf závislosti intenzity světla na vlnové délce u měření tvrdosti vody (senzor)

Kalibrační křivka - 450 nm Kalibrační křivka byla vykreslena při vlnové délce 450 nm, při které se vyskytují absorpční maxima žlutooranžových vzorků 2, 3 a 4 na grafu závislosti absorpce na vlnové délce senzoru, a hodnota přibližně odpovídá i absorpčním maximům pro spektrofotometr. Obě kalibrační křivky jsou rostoucí téměř pod stejným úhlem. Výše položená je kalibrační křivka spektrofotometru.

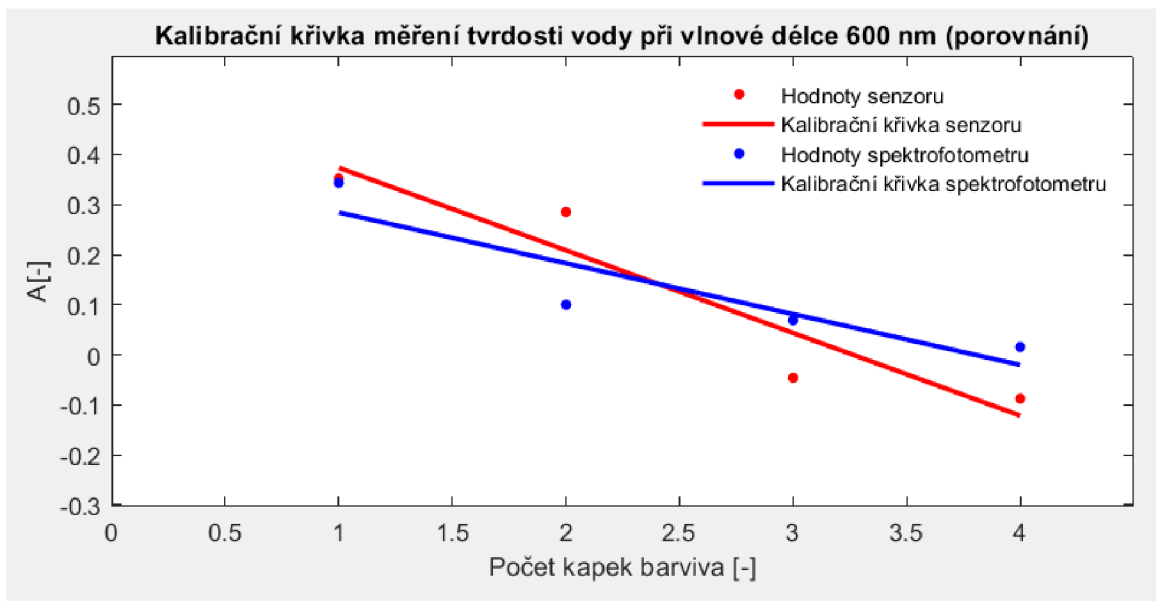


Obr. 6.30: Graf závislosti absorpance na vlnové délce u měření tvrdosti vody (senzor)



Obr. 6.31: Kalibrační křivka měření tvrdosti vody při vlnové délce 450 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru

Kalibrační křivka - 600 nm Vlnová délka 600 nm odpovídá absorpčnímu maximu modře zbarveného vzorku číslo 1. Na obrázku 6.32 lze vidět, že hodnoty senzoru a spektrofotometru pro první vzorek jsou téměř shodné. U ostatních bodů hodnot je značný rozdíl. Obě křivky jsou klesající a kříží se mezi body 2 a 3.



Obr. 6.32: Kalibrační křivka měření tvrdosti vody při vlnové délce 600 nm - porovnání senzoru a spektrofotometru

Tabulky výstupů pro 450 nm a 600 nm V tabulce 6.11 jsou vypsány hodnoty získané algoritmem v Matlabu pro vlnovou délku 450 nm. Aritmetický průměr absorbancí se lišil o 0,0119 a byl vyšší u spektrofotometru. Koeficient determinace R^2 o 0,2718 vycházel lépe u spektrofotometru, u něhož regrese lépe odpovídala naměřeným datům. Stejně tak i střední kvadratická chyba měla lepší výsledek o 0,0494 u spektrofotometru.

Tabulka 6.12 obsahuje hodnoty získané při vlnové délce 600 nm. Aritmetický průměr spektrofotometru a senzoru se liší o 0,006. Koeficient determinace vychází lépe o 0,0844 u senzoru, ale obě regrese jsou poměrně úspěšné, protože jejich hodnota se blíží 1. Střední kvadratická chyba je menší o 0,0079 u spektrofotometru.

Procentní chyby pro 450 nm a 600 nm V tabulce 6.13 je procentní odchylka absorbance senzoru od spektrofotometru při vlnové délce 450 nm. Nejmenší procentní chyba byla u vzorku číslo čtyři 3,8199 %. U ostatních vzorků se chyba pohybovala mezi 14 - 24 %.

V tabulce 6.14 pro vlnovou délku 600 nm je nejmenší procentní chyba 2,5237 % u vzorku 1, jehož absorpční maximum je při zvolené vlnové délce. U ostatních vzorků chyba dosahovala až přes 651 % a hodnoty spektrofotometru a senzoru se velmi lišily.

Tab. 6.11: Tabulka výstupů z algoritmu pro tvrdost vody při vlnové délce 450 nm

450 nm	Senzor	Spektrofotometr
Aritmetický průměr	0,3407	0,3526
R^2	0,3004	0,5722
RMSE	0,1108	0,0614

Tab. 6.12: Tabulka výstupů z algoritmu pro tvrdost vody při vlnové délce 600 nm

600 nm	Senzor	Spektrofotometr
Aritmetický průměr	0,1261	0,1321
R^2	0,8976	0,8132
RMSE	0,0622	0,0543

Tab. 6.13: Tabulka procentní odchylky - měření tvrdosti vody (450 nm)

Počet kapek	Odchylka [%]
1	19,8230
2	14,9622
3	24,3603
4	3,8199

Tab. 6.14: Tabulka procentní odchylky - měření tvrdosti vody (600 nm)

Počet kapek	Odchylka [%]
1	2,5237
2	185,2172
3	166,2742
4	651,3175

7 Diskuze výsledků

V této kapitole jsou zhodnoceny výsledky všech čtyř výše popsaných měření pro pH, dusičnany a tvrdost vody. Ukázány jsou hlavně rozdíly výsledků měření mezi spektrofotometrem a senzorem, klady a zápory určování vybraných chemických parametrů.

Měření vzorků vody s různým pH obarvených fenolovou červení bylo poměrně rychlé a jednoduché. K tomu vedlo hlavně použití předem připravených standardů o známé hodnotě pH. Delší čas zabralo pouze určení ideálního množství fenolové červeně, tak aby výsledné zbarvení nebylo příliš syté, ani málo výrazné. Vzhledem k charakteru obarvených vzorků do odstínů žluté až červené byla určena dvě absorpční maxima. Absorpční maximum červeně zbarvených vzorků bylo při vlnové délce přibližně 550 nm u spektrofotometru i senzoru. Absorpční maximum žlutě zbarvených vzorků odpovídalo u spektrofotometru vlnové délce 460 nm, u senzoru 450 nm. Vzhledem k omezení senzoru na 6 vlnových délek lze tento rozdíl považovat za zanedbatelný. U obou vlnových délek jsou hodnoty absorbance vyšší u senzoru. Pro určování pH s fenolovou červení je vhodnější kalibrační křivka při vlnové délce 550 nm, jejíž koeficienty determinace se blíží hodnotě 1. Kalibrační křivka senzoru je příliš strmá a nesměřuje do bodu [0,0], jako kalibrační křivka spektrofotometru. Průměrná procentní odchylka senzoru při 550 nm je okolo 25 %, což není úplně malá hodnota, ale oproti vlnové délce 450 nm je výrazně nižší.

Měření vzorků standardů pH s bromthymolovou modří bylo také jednoduché, jedinou komplikací bylo určit správné množství barviva. Barevný přechod u vzorků byl od zelenožluté po modrou. Absorpční maxima spektrofotometru byla pro zelenožlutou při vlnové délce 457 nm, pro modrou při vlnové délce 607 nm. U senzoru 450 nm a 600 nm. O něco lépe vycházel koeficient determinace kalibračních křivek u vlnové délky 450 nm, kde u spektrofotometru dosahoval hodnoty 0,85 a u senzoru 0,78. Střední kvadratická chyba, zvláště pro senzor, zde vycházela také lépe a křivky si svým tvarem byly mnohem více podobné. Ačkoli koeficient determinace u vlnové délky 600 nm vycházel vzhledem k rozptylu dat také poměrně dobrý (nad 0,75), kalibrační křivky svíraly větší úhel. Naopak procentní odchylka senzoru od spektrofotometru vycházela u vlnové délky 450 nm 23 % oproti 44 % u vlnové délky 600 nm.

Příprava vzorků s různou koncentrací dusičnanů byla více náročná. Původně měly být připraveny vzorky o známé koncentraci dusičnanů, ale vzhledem k jejich nízké koncentraci nebyl barevný přechod příliš výrazný a nehodil se pro kolorimetrické měření. Proto byly znovu připraveny vzorky s větším množstvím dusičnanu sodného, jejichž koncentrace byla zpětně určena kolorimetrickou porovnávací metodou pomocí barevnice od výrobce činidel. Vzhledem k tomu, že barevná činidla

byla určena hlavně pro akvaristiku, a ne pro spektrometrické měření, usazovala se sypká složka barviva i po opětovném promíchání na dně kyvet. Při vykreslení spekter bylo u spektrofotometru absorpční maximum při 460 nm, u senzoru při 450 nm, což odpovídá zbarvení roztoků od žluté po oranžovočervenou. Vzhledem k použití nevhodného barviva byla absorbance od koncentrace 5 mg/l téměř totožná a výsledné kalibrační křivky neodpovídají předpokládanému tvaru. Přesto si jsou křivky tvarově podobné, až na to, že u senzoru jsou vyšší hodnoty absorbance. Koeficienty determinace potvrzují, že míra přesnosti regrese je velice malá, stejně tak to potvrzují velké hodnoty střední kvadratické chyby. Procentní odchylka senzoru je v průměru nad 74 %, v případě tohoto měření se hodnoty senzoru a spektrofotometru poměrně hodně liší. Při použití jiného, nejlépe pouze tekutého, barviva by bylo pravděpodobně dosaženo lepších výsledků.

Měření tvrdosti vody bylo realizováno na roztoku vody s chloridem vápenatým, který byl použit za účelem zvýšení tvrdosti vody hlavně z důvodu jeho dobré dostupnosti. Vhodnější by bylo využít hydrogenuhličitan vápenatý, který se za tímto účelem využívá v akvaristice. Samotné určení tvrdosti vody bylo velice jednoduché. Po kapkách se do vzorku přidávalo barvicí činidlo, až dokud nezměnil barvu z modré na žlutooranžovou. Změna barvy se projevila ihned po zamíchání činidla se vzorkem. Kvůli malé tvrdosti vody 2 °dH byly přidány ještě dvě kapky činidla navíc pro zvýraznění zbarvení a za účelem získání většího množství dat k analýze. Vzhledem k modrému zbarvení po první kapce činidla, a žlutooranžovému zbarvení po dalších kapkách, má vzorek dvě absorpční maxima. U spektrofotometru při vlnové délce 614 nm a 455 nm, u senzoru při 600 nm a 450 nm. Ačkoliv kalibrační křivky senzoru a spektrofotometru se více podobají při vlnové délce 450 nm, při které má absorpční maximum i více dat, koeficient determinace je výrazně lepší při vlnové délce 600 nm, stejně jako střední kvadratická chyba. Při porovnání procentní odchylky senzoru jsou mnohem lepší výsledky u vlnové délky 450 nm, které se pohybovaly okolo 20 %. U vlnové délky 600 nm je sice procentní odchylka u prvního vzorku okolo 2,5%, ale u čtvrtého vzorku dosahuje přes 651 %, což je oproti spektrofotometru velká odlišnost.

Závěr

V této bakalářské práci byla provedena analýza kvality vody u zvolených chemických parametrů. Pro analýzu byly vybrány parametry, které se u vody běžně hodnotí, a to konkrétně pH, koncentrace dusičnanů a tvrdost vody. Pro lepší kolorimetrické stanovení byly vzorky s různými hodnotami vybraných parametrů obarveny vhodnými barvivy, díky nimž bylo možné opticky pozorovat jejich rozdílnost. Hlavním cílem práce bylo tyto vzorky změřit pomocí senzoru viditelného světla AS7262 s vývojovou deskou SparkFun, pomocí laboratorního spektrofotometru a následně obě metody porovnat.

Pro měření vzorků s odlišným pH byla zvolena barviva fenolová červeň a bromthymolová modř. Fenolová červeň vzorky zbarvila do odstínů žluté až červené, čímž vznikla dvě absorpční maxima. Při vykreslení grafu závislosti absorbance na vlnové délce jsou obě přibližně ve stejné vlnové délce u senzoru i spektrofotometru. Koeficient determinace obou kalibračních křivek při vlnové délce 550 nm je velice dobrý, a ačkoliv jsou hodnoty absorbance senzoru poněkud vyšší, kalibrační křivka by byla vhodná k určování pH.

Bromthymolová modř zbarvila vzorky do odstínů žlutozelené až modré. Absorpční maxima se shodovala s přihlédnutím na omezené měření senzorem. Naměřená data prokazovala větší rozptyl, což ovlivnilo úspěšnost regrese. Koeficient determinace je ale stále poměrně dobrý, a mezi spektrofotometrem a senzorem není velký rozdíl. Z kalibračních křivek by bylo možné určit pH, i když s menší přesností než u obarvení fenolovou červení.

Koncentrace dusičnanů byla měřena na roztocích vody s různým množstvím dusičnanu sodného. Vzorky se zbarvily barvivem pro určování dusičnanů v akvaristice do odstínů žluté až oranžovočervené. Pro kolorimetrickou porovnávací metodu vzorky dostačovaly, avšak výsledky spektrofotometrické metody byly negativně ovlivněny usazováním barviva na dně kyvet. I přes zhoršené podmínky měření byla absorpční maxima na spektrofotometru i senzoru téměř shodná a kalibrační křivky se vzájemně tvarově podobaly, ačkoliv u senzoru prokazovaly vyšší hodnoty absorbance.

Měření tvrdosti vody bylo realizováno na roztoku vody a chloridu vápenatého za použití barviva pro akvaristiku, které změnilo barvu vzorku z modré na žlutou při dosažení stupně tvrdosti měřené vody. Absorpční maxima byla podobná a kalibrační křivka vykazovalo dobrou míru regrese, vzhledem k malému množství dat.

Při celkovém porovnání senzoru a spektrofotometru si senzor vedl poměrně dobře. Absorpční maxima se shodovala, až na malé odchylky dané omezením senzoru na 6 vlnových délek. Vykreslené kalibrační křivky byly pod podobným úhlem, i když v některých měřeních byl rozdíl mezi křivkami vyšší, a vždy byly křivky spektrometru

i senzoru shodně stoupající, či klesající. Koeficient determinace závisel na rozptylu dat, ale u spektrofotometru i senzoru byly získány podobné výsledky. Největší rozdíl senzoru oproti spektrofotometru byl ve velikosti hodnot absorbance, které měl senzor vyšší. Procentní odchylka absorbance senzoru u všech měření vycházela nad 20 %, často i více.

Laboratornímu spektrofotometru se sice senzor viditelného světla AS7262 nevyrovná, může být ale jeho vhodným zastoupením při měřeních, u nichž není vyžadována vysoká přesnost. Příkladem takového měření může být právě kolorimetrická analýza vody ve školních laboratorních cvičeních, pro seznámení s principy kolorimetrie a optické analýzy.

Literatura

- [1] ZELINKA, Miloš a Jiří HELAN. Čistota vod a jejich ochrana. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1984.
- [2] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. Příručka provozovatele úpravný pitné vody. 2., aktualiz. a dopl. vyd. Líbeznice: Medim pro SOVAK ČR, c2012. ISBN 978-80-87140-27-7.
- [3] Výukový portál 1.LF UK: Optické metody používané v biochemii. Výukový portál 1.LF UK: Úvod [online]. [cit. 2022-11-20]. Dostupné z: <https://portal.lf1.cuni.cz/clanek-820-opticke-metody-pouzivane-v-biochemii>
- [4] SCHRÖDER, Gottfried. Technická optika. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981.
- [5] Colorimetry: the Fundamentals of Colour Measurement - Avantes. Empowering Spectroscopy Solutions - Avantes [online]. [cit. 2022-12-12]. Dostupné z: <https://www.avantes.com/applications/cases/fundamentals-of-colorimetry/>
- [6] RedBoard Plus Hookup Guide - SparkFun Learn. Learn at SparkFun Electronics - SparkFun Learn [online]. [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://learn.sparkfun.com/tutorials/redboard-plus-hookup-guide>
- [7] SparkFun Spectral Sensor Breakout - AS7262 Visible (Qwiic) - SEN-14347 - SparkFun Electronics. SparkFun Electronics [online]. [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://www.sparkfun.com/products/14347>
- [8] SAFIBRA – Fiber Optic Technology and Sensors. SAFIBRA – Fiber Optic Technology and Sensors [online]. [cit. 2023-04-25]. Copyright © 2023 Safibra, s.r.o. Dostupné z: <https://safibra.com/>
- [9] Arduino Integrated Development Environment (IDE) v1 | Arduino Documentation. Arduino Docs | Arduino Documentation [online]. [cit. 2023-04-26]. Dostupné z: <https://docs.arduino.cc/software/ide-v1/tutorials/arduino-ide-v1-basics>
- [10] VODA, Zbyšek. Průvodce světem Arduina. 2. vydání. Bučovice: Martin Stríž, 2017. ISBN 978-80-87106-93-8.
- [11] CoolTerm - Download. 301 Moved Permanently [online]. [cit. 2023-04-27]. Copyright © 2012 Dostupné z: <https://coolterm.en.lo4d.com/windows>

- [12] Phenol Red. <https://www.chemeurope.com/> [online]. [cit. 2023-04-27]. Dostupné z: <https://www.chemeurope.com/en/encyclopedia/Phenolred.html>
- [13] Bromothymol Blue. <https://www.vedantu.com/> [online]. [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://www.vedantu.com/chemistry/bromothymol-blue>
- [14] BEKÁREK, Vojtěch a Iveta FRYŠOVÁ. Optické metody v chemické analýze. 3. přepracované vydání. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. ISBN 978-80-244-1754-7
- [15] OPEKAR, František a kol. Základní analytická chemie. 1. vydání. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2005. ISBN 978-80-246-0553-1
- [16] MathWorks. <https://www.mathworks.com/> [online]. [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://www.mathworks.com/videos/introduction-to-matlab-81427.html>
- [17] Polyfit. <https://www.mathworks.com/> [online]. [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://www.mathworks.com/help/matlab/ref/polyfit.html>
- [18] FRIESL, Michal. Koeficient determinace. In: Pravděpodobnost a statistika hypertextově [online]. 2014 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <http://home.zcu.cz/friessl/hpsb/koefdet.html>
- [19] Curve fitting for Linear and cubic polynomial using MATLAB. <https://skill-lync.com/> [online]. [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: <https://skill-lync.com/student-projects/Curve-fitting-73144>
- [20] RMSE: Root Mean Square Error. <https://www.statisticshowto.com/> [online]. [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: <https://www.statisticshowto.com/probability-and-statistics/regression-analysis/rmse-root-mean-square-error/>
- [21] DÍTĚ, Ivan. Chyby měření – jejich vznik a eliminace. Elektro [online]. 2004(1), 1 [cit. 2023-05-15]. Dostupné z: <http://www.odbornecasopisy.cz/elektro/casopis/tema/chyby-mereni-jejich-vznik-a-eliminace-14250>
- [22] Voda. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Voda>
- [23] Fyzikální a chemické vlastnosti vody. WikiSkripta [online]. [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Fyzikální_a_chemické_vlastnosti_vody

- [24] The Editors of Encyclopedia. PH. Encyclopedia Britannica [online]. (March 27, 2023) [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/pH>
- [25] The pH of Water. Water Research Center - Know your H2O [online]. [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <https://www.knowyourh2o.com/indoor-4/the-ph-of-water>
- [26] ROMANO, Nicholas, Nathan EGNEW, Herbert QUINTERO, Anita KELLY a Amit Kumar SINHA. The effects of water hardness on the growth, metabolic indicators and stress resistance of largemouth bass *Micropterus salmoides*, Aquaculture. ScienceDirect [online]. 2020, (735469) [cit. 2023-05-20]. ISSN 0044-8486. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848620309601>
- [27] Tvrdost vody v ČR. Čistá voda [online]. 2018 [cit. 2023-05-20]. Dostupné z: <https://www.cistavoda.cz/blog/mapa-tvrdosti-vody-v-cr/>
- [28] Difference Between KH and GH: Understanding Water Hardness. Rooted [online]. 227, 25 Auburn Meadows Avenue SE, Calgary, Alberta, Canada [cit. 2023-05-20]. Dostupné z: <https://rootedtank.com/difference-between-kh-and-gh/>
- [29] GALLO, Amy. A Refresher on Regression Analysis, Understanding one of the most important types of data analysis. Harvard Business Review - Ideas and Advice for Leaders [online]. 2015 [cit. 2023-05-20]. Dostupné z: <https://hbr.org/2015/11/a-refresher-on-regression-analysis>
- [30] Úvod do regresní analýzy. In: StatSoft [online]. Praha, 2014 [cit. 2023-05-20]. Dostupné z: http://www.statsoft.cz/file1/PDF/newsletter/2014_26_03_StatSoft_Uvod_do_regresni_analyzy.pdf
- [31] MALI, Kavita. Everything you need to Know about Linear Regression!. Analytics Vidhya [online]. 2021 [cit. 2023-05-21]. Dostupné z: <https://www.analyticsvidhya.com/blog/2021/10/everything-you-need-to-know-about-linear-regression/>
- [32] ANDERSON, David, Dennis SWEENEY a Thomas WILLIAMS. Experimental design. Britannica [online]. [cit. 2023-05-21]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/statistics/Residual-analysis>
- [33] Kapitola 2 Regresní analýza | Časové řady. [online]. [cit. 2023-05-21]. Dostupné z: <http://home.ef.jcu.cz/~janaklic/OPVVVSMAC/regresn%C3%ADanal%C3%BDza.html>

- [34] SUBHANOVÁ, Iva. Spektrofotometrie: Praktické cvičení z lékařské biochemie. 2022/2023. Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1.LF UK.
- [35] USB-650 Red Tide Spectrometer, Preconfigured. FindLight [online]. [cit. 2023-05-21]. Dostupné z: <https://www.findlight.net/spectral-analysis/spectrometers/spectrographs-and-monochromators/usb-650-red-tide-spectrometer-preconfigured>
- [36] GNAHORE Guy Oscar, Regnima & Koffi, Thomas & Bagui, Olivier & Kouacou, Abaka & Kristensson, Elias & Zoueu, Jeremie & Berrocal, Edouard. (2017). Quantitative measurements of turbid liquids via structured laser illumination planar imaging where absorption spectrophotometry fails. Applied Optics.
- [37] Elektronická učebnice - ELUC. Elektronická učebnice - ELUC [online]. [cit. 2023-05-21]. Dostupné z: <https://eluc.ikap.cz/verejne/lekce/2525>

Seznam symbolů a zkratek

A	absorbance
dH	stupeň tvrdosti vody
GH	celková tvrdost vody
GND	uzemnění
H	iont vodíku
GND	uzemnění
I	intenzita světla
IDE	integrated development enviroment = integrované vývojové prostředí
KH	uhličitanová tvrdost vody
LED	light-emitting diode = dioda emitující světlo
NO₃	dusičnany
OH	hydroxid
PC	personal computer = počítač
pH	potential of hydrogen = potenciál vodíku
R²	koeficient determinace
RMSE	root mean square error = střední kvadratická chyba
SSE	sum of squares error = reziduální součet čtverců
SSR	sum of squares regression = suma čtverců regrese
SST	sum of squares total = celková suma čtverců
USB	universal serial bus
VCC	voltage common collector = vstupní napětí
VIN	voltage input = napěťový vstup

Seznam příloh

1. Kód v programu Arduino IDE pro měření senzorem:
as7262_measuring.ino
2. Kód v programu Matlab pro měření pH s fenolovou červení:
Kod_fenolova_cerven.m
3. Tabulka výstupů spektrofotometru u pH s fenolovou červení:
PR_spektrofotometr.xlsx
4. Tabulka výstupů senzoru u pH s fenolovou červení:
PR_senzor.xlsx
5. Kód v programu Matlab pro měření pH s bromthymolovou modří:
Kod_bromthymolova_modr.m
6. Tabulka výstupů spektrofotometru u pH s bromthymolovou modří:
BB_spektrofotometr.xlsx
7. Tabulka výstupů senzoru u pH s bromthymolovou modří:
BB_senzor.xlsx
8. Kód v programu Matlab pro měření koncentrace dusičnanů:
Kod_dusicnany.m
9. Tabulka výstupů spektrofotometru u měření koncentrace dusičnanů:
NO3_spektrofotometr.xlsx
10. Tabulka výstupů senzoru u měření koncentrace dusičnanů:
NO3_senzor.xlsx
11. Kód v programu Matlab pro měření tvrdosti vody:
Kod_tvrдост_vody.m
12. Tabulka výstupů spektrofotometru u měření tvrdosti vody:
KH_spektrofotometr.xlsx
13. Tabulka výstupů senzoru u u měření tvrdosti vody:
KH_senzor.xlsx