



VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE

FCHI

FCHT

FPBT

Ústav analytické chemie
Ústav anorganické chemie
Ústav biochemie a mikrobiologie
Ústav fyzikální chemie

Ústav fyziky a měřicí techniky
Ústav chemického inženýrství
Ústav organické chemie
Ústav počítačové a řídicí techniky
Laboratoř informatiky a chemie

Příloha

k Roční závěrečné zprávě projektu č. 434

**„Rozvoj modulární struktury laboratoří základních
předmětů v magisterském studiu“**

řešeného

v roce 2006

v rámci

Programu 1

na podporu rozvoje struktury

podprogramu

a) rozvoj nové struktury a modulární skladba studijních programů

Přílohy

Příklady návodů k jednotlivým laboratorním úlohám

Příloha – ukázky připravených návodů na některé práce (návodů na další práce tvořily součást zprávy v roce 2005)

Spektrometrie v blízké infračervené oblasti

Pavel Matějka

Úvod

Spektrometrie v blízké infračervené oblasti (near-infrared spectrometry – NIR spectrometry) je metodou molekulové spektroskopie, která využívá spektrální oblast blízkého infračerveného záření, tj. oblast vlnových délek 800 – 2500 nm resp. vlnočtů 12500 – 4000 cm^{-1} . NIR oblast tak z jedné strany navazuje na viditelnou, z druhé pak na střední infračervenou. Hranice nejsou zcela ostré a fluktuují podle různých zdrojů informací v závislosti na tom, zda se tyto hranice vyvozují z možností spektrometrů pokrýt danou oblast, nebo z typu energetických přechodů, které se v dané oblasti pozorují.

Absorpce záření v NIR oblasti je obvykle způsobena energetickými přechody mezi vibračními hladinami molekul¹, a to přechody kombinačními² a svrchními tóny (overtony)³, nikoli přechody fundamentálními, které hrají dominantní roli ve střední infračervené oblasti (MIR). Kombinační přechody i svrchní tóny jsou významně méně pravděpodobné než přechody fundamentální, takže absorpce záření v NIR oblasti je při stejné tloušťce vzorku řádově (běžně o jeden až dva řády) slabší než v MIR oblasti, a proto se používají kyvety s delší optickou dráhou (běžně řádově v mm). Přiřazení absorpčních pásů jednotlivým kombinačním přechodům a svrchním tónům je poměrně obtížné, a proto se běžně neprovádí rozbor spekter směřující k identifikaci funkčních skupin v molekulách, jak je obvyklé při interpretaci spekter v MIR oblasti. Lze vymezit oblasti, kde jsou dominantní pásy kombinačních přechodů (cca 4000 – 5300 cm^{-1}), první overtóny (cca 4600 – 7300 cm^{-1}), druhé overtóny (cca 6000 – 10000 cm^{-1}) a třetí overtóny (cca 8800 – 14500 cm^{-1}). Z hlediska kvalitativní informace je možné srovnávat měřená spektra čistých látek s knihovnami spekter, a tak provádět identifikaci látek. K dispozici jsou například knihovny spekter polymerů či farmaceuticky důležitých chemikálií. Často se NIR spektra třídí a klasifikují s využitím chemometrických metod. Významnou měrou se NIR spektra využívají pro kvantitativní analýzu, a to i složitých vzorků v řadě odvětví jako je například petrochemie, farmaceutický, papírenský či potravinářský průmysl. V mnoha případech je možné stanovit více složek vedle sebe, aniž je nutné dělit složité směsi, a to přímo ve výrobním procesu. NIR spektrometrie se proto zařazuje mezi tzv. procesní analytické metody, kdy se klade důraz na rychlost samotné analýzy včetně možnosti kontinuální on-line analýzy ve výrobním procesu (na výrobní lince) nikoli na její přesnost. Takto lze například zároveň stanovit obsah tuků, bílkovin, laktózy a močoviny v mléce a mléčných výrobcích (v různých stádiích jejich zpracování), či obsah ethanolu a sacharidů v alkoholických nápojích (například během probíhajících kvasných procesů). NIR spektrometrie se v poslední době uplatňuje i při analýzách životního prostředí či v medicíně. Samotné měření je poměrně rychlé⁴, často nedestruktivní a nevyžaduje obvykle

¹ U některých látek či materiálů se v NIR oblasti uplatňují přechody mezi různými elektronovými stavy. Jedná se například o některé koordinační sloučeniny přechodných kovů či lanthanoidů. Těmito případy se v této úloze nebudeme zabývat.

² Kombinační přechody znamenají současnou excitaci několika vibračních módů (energie příslušného přechodu pak odpovídá součtu energií fundamentálních přechodů příslušných vibračních módů).

³ Svrchní tón (oveton) odpovídá excitaci daného vibračního módu do vyšší excitované hladiny. První oveton tak zhruba odpovídá dvojnásobku energie fundamentálního přechodu, druhý overton trojnásobku, třetí čtyřnásobku. Pro přesnější popis je třeba uvažovat anharmonicitu vibračních módů.

⁴ K záznamu jednoho spektra většinou stačí méně než jedna minuta, někdy i jen několik sekund.

žádnou speciální úpravu vzorku. Minimalizuje se tak spotřeba chemikálií, jednorázově použitelných analytických setů, a tím i generování životní prostředí zatěžujících odpadů. Lze měřit vzorky ve skleněných i některých dalších transparentních obalech. Voda v některých částech NIR oblasti významně absorbuje, přesto však lze analyzovat i relativně zředěné vodné roztoky. Mnohem pracnější a časově výrazně náročnější než samotné měření spekter je následné zpracování a vyhodnocování naměřených dat.

Techniky měření NIR spekter

NIR spektra lze měřit jako zeslabení zářivého toku po průchodu záření vzorkem (transmisní měření) nebo po odrazu záření (reflexní techniky). V rámci reflexních technik se nejčastěji uplatňuje princip difúzní reflexe⁵, kdy se dopadající záření odráží od povrchu jednotlivých malých částic práškového vzorku. Tento přístup se často používá při analýzách ve farmaceutickém průmyslu či při analýze průmyslově vyráběných práškových krmiv pro zemědělskou výrobu.

Transmisní měření se využívá především v případě kapalin, kašovitých vzorků a polymerních folií. Kapalně vzorky je možné měřit v kyvetách ze speciálního skla (INFRASIL, SUPRASIL), které vykazuje vysokou propustnost v celé NIR oblasti. Tloušťka optické vrstvy u těchto kyvet je obvykle od 1 mm do cca 10 mm a jejich volba se optimalizuje v závislosti na koncentraci analytu v roztoku a optických vlastnostech rozpouštědla.

Vedle uvedených postupů, kdy je vzorek umístěn v držáku přístroje, se často NIR spektra měří s využitím vláknové optiky s různými typy sond, které mohou být umístěny například přímo v chemickém či biotechnologickém výrobním reaktoru.

NIR spektrometr

Pro NIR spektrometrii se používají jak disperzní spektrometry, které obvykle zároveň pokrývají oblasti viditelnou, případně i ultrafialovou, tak spektrometry s Fourierovou transformací (FT), které mnohdy umožňují měřit také ve střední (MIR), případně i vzdálené (FIR) infračervené oblasti. Jak disperzní, tak FT spektrometry jsou dnes běžně jednopaprskové, takže pro získání absorpčních charakteristik samotného vzorku je třeba získat referenční spektrum (spektrum pozadí – „background“). Pro NIR spektrometrii lze využít jak zdroj záření žárovky, dnes převážně halogenové, které pokrývají viditelnou oblast stejně jako rozsáhlou část infračervené oblasti. Jako optický materiál lze v NIR oblasti využít kvalitní křemenné sklo, takže se v této oblasti hojně uplatňuje křemenná vláknová optika.

V laboratoři jsou instalovány dva FTIR spektrometry Nicolet NEXUS (Thermo USA), které jsou nakonfigurovány tak, že pokrývají oblasti NIR a MIR. Jsou vybaveny dvěma manuálně výměnnými, automaticky rozeznávanými děliči paprsků (KBr – především pro MIR s přesahem do NIR a CaF₂ především pro NIR s přesahem do MIR), dvěma softwarově měnitelnými zdroji záření (keramickou tyčinkou Everglo pro MIR s přesahem do NIR a halogenovou žárovkou pro NIR s přesahem do MIR i viditelné oblasti) a dvěma softwarově měnitelnými detektory (DTGS pro MIR s přesahem do NIR a InGaAs pro NIR). Kromě manuální výměny děličů paprsků, kterou je třeba provést před spuštěním řídicího programu OMNIC, jsou všechna ostatní základní nastavení součástí předpřipravených „experimentů“, z nichž se vhodný výchozí zvolí bezprostředně po spuštění programu podle typu používaného nástavce v kyvetovém prostoru. Nastavení lze pak přizpůsobit konkrétnímu řešenému problému v nabídce „Collect – Experiment Setup...“, kde lze pomocí diagnostických nástrojů zkontrolovat nastavení a funkčnost jednotlivých součástí přístroje.

⁵ Difúzně-reflexní princip měření FTIR spekter je mnohdy označován zkratkou DRIFT.

Kvantitativní analýza

Jak již bylo uvedeno, NIR spektrometrie se výrazně uplatňuje v kvantitativní analýze. V rámci transmisních měření se obecně ve spektroskopii vychází z platnosti Lambertova-Beerova zákona, kdy pro každou jednotlivou složku i směsného vzorku platí následující vztah:

$$A_{\lambda,i} = \epsilon_{\lambda,i} b c_i \quad (1),$$

kde $A_{\lambda,i}$ je příspěvek i -té složky k celkové absorbanci A_λ při dané vlnové délce λ , $\epsilon_{\lambda,i}$ je molární absorpční koeficient i -té složky při dané vlnové délce λ , b je optická tloušťka absorbujícího prostředí, c_i je koncentrace i -té složky ve směsi. Celková absorbance A_λ při dané vlnové délce λ je pak součtem příspěvků od všech m nezávislých složek zkoumaného systému:

$$A_\lambda = \sum_{i=1}^m A_{\lambda,i} \quad (2).$$

Vzhledem k tomu, že pásy v NIR oblasti jsou obvykle široké i pro čisté látky, a dále nelze vyloučit překryvy pásů různých složek a vzájemné vlivy měnících se koncentrací jednotlivých složek na tvar příslušných absorpčních pásů, není v této metodě jednoduchý princip Lambertova-Beerova zákona obvykle splněn. Pro kalibraci je v NIR spektrometrii třeba vyvíjet kalibrační modely s využitím pokročilých chemometrických algoritmů, které však obvykle vyžadují rozsáhlou sadu standardů (běžně více jak 30 kalibračních vzorků). Taková sada musí dostatečně reprezentativní, musí pokrýt celou očekávanou či odhadnutelnou variabilitu charakteristik vzorků, které pak mají být kvantitativně analyzovány, a to nejen z pohledu obsahu sledovaných analytů, ale i z pohledu dalších proměnlivostí (ať již fyzikálních či chemických). Příprava takové sady kalibračních vzorků vyžaduje pečlivé plánování experimentu. Jako základní algoritmus pro tvorbu kalibračního modelu se dříve využívala vícenásobná lineární regrese (MLR – „multiple linear regression“), dnes se v rámci rozvoje chemometrického softwaru nejvíce uplatňují dvě regresní metody, a to regrese hlavních komponent (PCR – „principal component regression“) a metoda částečných nejmenších čtverců (PLS – „partial least squares“). Při použití těchto regresních metod se v rámci kalibračního modelu využívají nikoli hodnoty absorbance v maximech vybraných pásů, ale většinou se vyhodnocují širší spektrální úseky či dokonce celá NIR spektra. Cílem je tak nalézt vztah mezi vícedimenzionální spektrální informací (reprezentovanou maticí hodnot absorbancí ve vybraných spektrálních úsecích pro sadu kalibračních vzorků) a složením vzorků (reprezentovaným maticí hodnot koncentrací skupiny sledovaných analytů v sadě kalibračních vzorků). V některých případech, kdy jsou absorpční pásy velmi široké, se pro kalibrační modely spektra předem upravují, např. výpočtem derivačních záznamů (především 1. a 2. derivace původního spekter). Podmínky měření všech spekter i způsoby jejich úprav a zpracování musí být zachovány od kalibračních, přes validačních až po neznámé zkoumané vzorky.

Vývoj robustních kalibračních modelů a jejich řádná validace jsou klíčovými a poměrně náročnými kroky kvantitativní analýzy pomocí NIR spektrometrie. Je třeba počítat s nutností přípravy nejen již zmiňovaných velmi rozsáhlých souborů kalibračních vzorků, ale i sad vhodně zvolených validačních vzorků (který je mnohdy i dodatečně doplňován), testováním různých postupů předběžného zpracování spektrálních dat, hledáním vhodné regresní metody a optimalizací jejích parametrů a nezbytnými ověřovacími kroky, kdy je třeba testovat i odlehlé výsledky. Použití validačních měření je nutné pro vyhodnocení výkonnostních

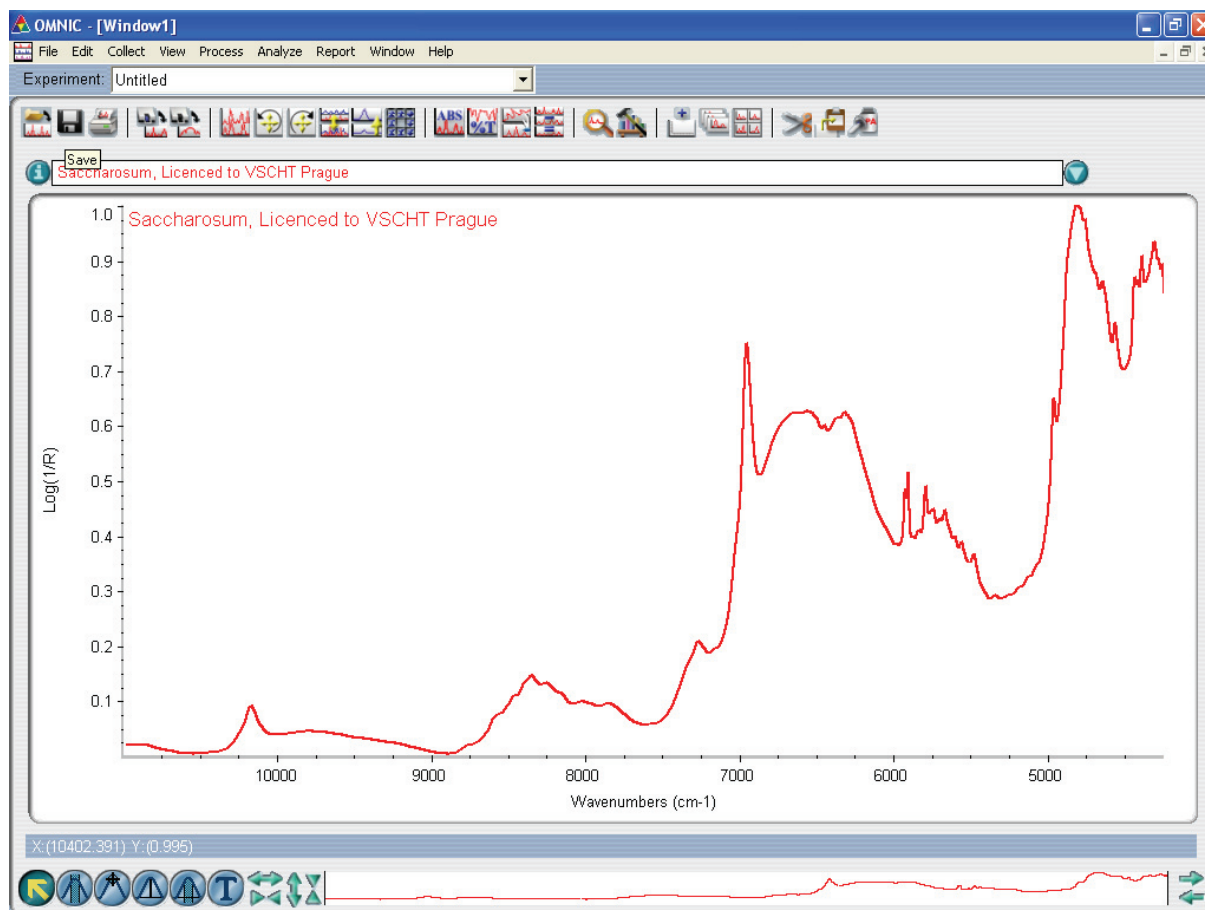
charakteristik kalibračního modelu. Plnohodnotná validace spočívá v analýze nezávislého souboru vzorků o známém složení s využitím vyvinutého kalibračního modelu. K předběžnému ověření kalibračního modelu lze využít i různých postupů křížové validace („cross-validation“) včetně uplatnění principu postupného vylučování jednotlivých měření a jejich predikce na základě modelů konstruovaných pomocí ostatních měření („leave-one-out“).

Úkoly

- 1) Proměřte vzorek vody, acetonu a zásobního vodného roztoku sacharózy v kyvetách s tloušťkou optické vrstvy 1, 2 a 5 mm. Ověřte na vybraných pásech závislost absorbance na tloušťce vrstvy absorbujícího prostředí.
- 2) Ze zásobního roztoku sacharózy připravte sadu kalibračních roztoků, vhodných pro vývoj kalibračního modelu, umožňujícího stanovení obsahu sacharózy ve vodném prostředí.
- 3) Proměřte sadu kalibračních roztoků ve vhodně zvolené kyvetě, a to s dvakrát opakovaným plněním kyvety.
- 4) Vyvíjte kalibrační model pro stanovení sacharózy ve vodných roztocích, testujte vliv výběru spektrální oblasti, regresní metody a počtu faktorů (hlavních komponent) na kvalitu kalibračního modelu (polovinu naměřených spekter použijte pro kalibraci, polovinu pro validaci).
- 5) Vyvinutý model využijte pro analýzu spekter změřeného zadaného neznámého vzorku (příp. více vzorků).

Měření NIR spekter

NIR spektra budete měřit v prostředí softwaru OMNIC, se kterým jste se seznámili v úloze „Infračervená spektrometrie“ v rámci „Laborační z analytické chemie I“. Základní přípravu přístroje a počítače k měření, výběr vhodného „experimentu“ a dalších parametrů přenecháte vyučujícímu, který Vás seznámí s obsluhou spektrometru a softwaru. FTIR spektrometr Nicolet NEXUS je jednopaprskový přístroj, takže před měřením vzorků je třeba zaznamenat referenční jednopaprskové spektrum („pozadí“) pomocí příkazu „Collect Background“. Po vložení kyvety se vzorkem do držáku v kyvetovém prostoru se pak zaznamená spektrum vzorku příkazem „Collect Sample“. Naměřené spektrum je třeba okamžitě uložit pomocí ikony „Save“, tak aby se minimalizovalo riziko ztráty dat. Je žádoucí, aby „Spectrum Title“, který vyplníte před zahájením záznamu příslušného spektra, byl použit jako název souboru „file name“. Jednotlivé popisy („Spectrum Title“) musí umožnit jednoduše identifikovat měřený vzorek, opakování měření a osobu operátora. Jednoznačná identifikace spekter je klíčová při vývoji kalibračního modelu, pro jejich zařazení do kalibrační či validační skupiny, a pro přiřazení známých kvantitativních charakteristik. Základní pravidla označování jednotlivých měření Vám budou sdělena při zahájení laboratorní práce. Veškerá měřená data ukládejte do jednoho vyučujícím určeného adresáře. Originální data pak zachováte v tomto adresáři. Pro další zpracování a vyhodnocování dat vytvoříte duplikáty spekter přepokopírováním do jiného (pracovního) adresáře. Z tohoto (pracovního) adresáře pak budete data načítat při tvorbě kalibračního modelu či při dalších předepsaných úkolech, aby se tak snížilo riziko náhodného přepisu původních dat daty modifikovanými.



Základní okno programu OMNIC je obdobné u spektrometrů NEXUS, tak jak jste se s ním seznámili u spektrometrů Avatar v úloze „Infračervená spektrometrie“ v „Laboratořích z analytické chemie I“.

Vývoj kalibračního modelu

Jak již bylo řečeno, klíčovým krokem kvantitativní analýzy pomocí NIR spektrometrie je vývoj a optimalizace kalibračního modelu. Vývoj kalibračního modelu budete provádět v programu TQ Analyst, který úzce spolupracuje s programem OMNIC. Není tak nutná žádná formátová konverze uložených spektrálních dat.

Obsluha programu TQ Analyst je uživatelsky přívětivá, kromě běžné nabídky „Help“ naleznete nápovědy v základní tlačítkové liště pod tlačítkem „Explain“, které otevírá kontextové nápovědy podle zvolené záložky, kterou právě zpracováváte. Během vývoje kalibračního modelu jej po zpracování každé záložky ukládejte, tak abyste neztratili jednu zaznamenané údaje. Při modifikaci parametrů modelu jej ukládejte pod jiným jménem (s rostoucím pořadovým číslem). V každém okamžiku je ze základní lišty patrné, zda se jedná o „nekalibrovanou metodu“ („Uncalibrated“) či o metodu, kde byl proveden kalibrační výpočet („Calibrated“). Na základní obrazovce lze sledovat datum a čas posledního uložení modelu a pořadové číslo revize. To umožňuje lépe sledovat postupný vývoj kalibračního modelu a jeho optimalizaci. Cílem úlohy je zvládnout princip tvorby kalibračního modelu, z časových příčin je počet zpracovávaných vzorků a spekter velmi omezený, což může limitovat výkonnostní charakteristiky konstruovaných modelů.

Na vstupní obrazovce vyplníte název metody, typ regresní metody a vaše jméno, poté přepnete na záložku „Pathlength“, kde se vybere typ tloušťky absorpčního prostředí. Pro měření v kyteti zaškrtněte položku „Constant“.

Poté přepněte na záložku „Components“, kde je především třeba vyplnit tabulku „Components Table“, kde uvedete název stanovované složky, její zkratku, jednotky veličiny použité pro kvantitativní analýzu, dolní a horní limit analýzy, limit akceptované nejistoty a způsob prezentace výsledku výpočtu. V této tabulce je obecně třeba specifikovat všechny stanovované analyty, protože způsob vyplnění této tabulky ovlivňuje způsob zobrazení dalších záložek.

TQ Analyst - [New Method]

File Edit View Diagnostics Window Help

Calibrate Quantify Explain Close Performance Index: N/A Previous: N/A Uncalibrated

Description Pathlength Components Standards Regions Corrections Other Report

Assess Feasibility...

Concentration Limits

☒ Use analysis limits
☐ Use acceptance limits
☐ Use threshold limits

Concentration Constraints

☐ Always sum to a constant

Component Interaction

☐ None (use for measuring sample properties)
☒ Some (use for measuring component concentrations)

Composite Components

☐ Allow composite components

Components Table

Index	Component	Abbrev.	Unit	Digits	Analysis Low	Analysis High	Uncertainty Limit	Result
1	sacharóza	cukr	g/ml	2	0.00	15.00	1.00	Compute and report
2								Compute and report Compute only Compute and report as zero if negative Compute as zero if negative Compute and report as zero if < error Compute as zero if < error

Dále je třeba vyplnit údaje pod záložkou „Standards“. Pomocí tlačítka „Open Standard...“ vyberete a otevřete spektra změřených vzorků, která budete používat pro kalibraci i validaci. Poté v tabulce vyplníte způsob použití příslušného spektra a budete specifikovat údaje o složení příslušného kalibračního/validačního vzorku.

TQ Analyst - [c:\Voslar\TQ\PLS-Voslar-02-upr02.qnt]

File Edit View Diagnostics Window Help

Calibrate Quantify Explain Close Performance Index: 89.2 Previous: 74.9 Calibrated

Description Pathlength Components Standards Regions Corrections Other Report

Suggest... Evaluate... Open Standard... View Standards Sort Standards Ignore Missing Data

Standards

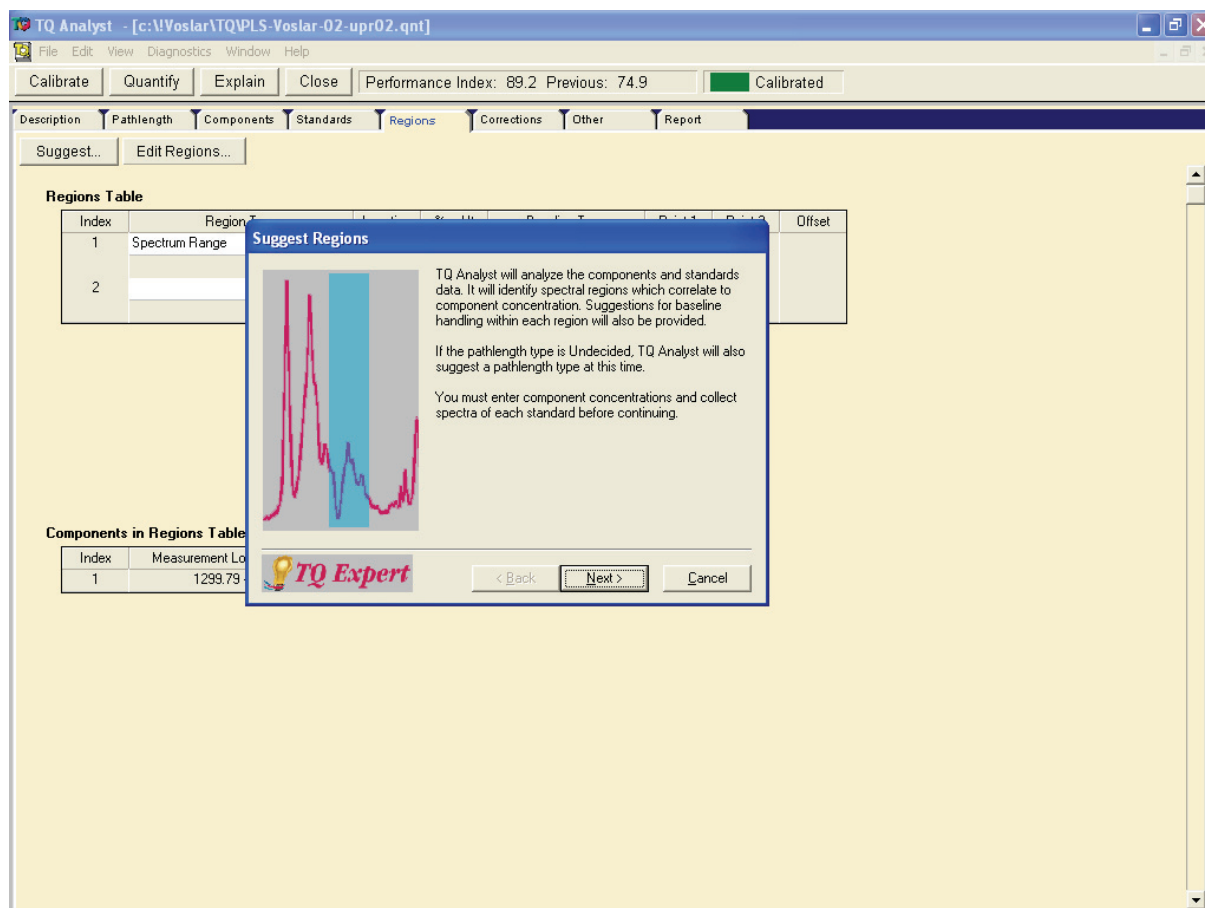
☒ Show spectrum titles
☐ Show spectrum file names
☐ Allow spectral processing
☐ Show processed spectra in View Standards
☐ Restrict Y-axis range in standard spectra
☐ Restrict Y-axis range in sample spectra
0.000 Start 1.500 End

Missing Data

-100.000 Indicator value

Standards Table: 143 Calibration, 50 Validation

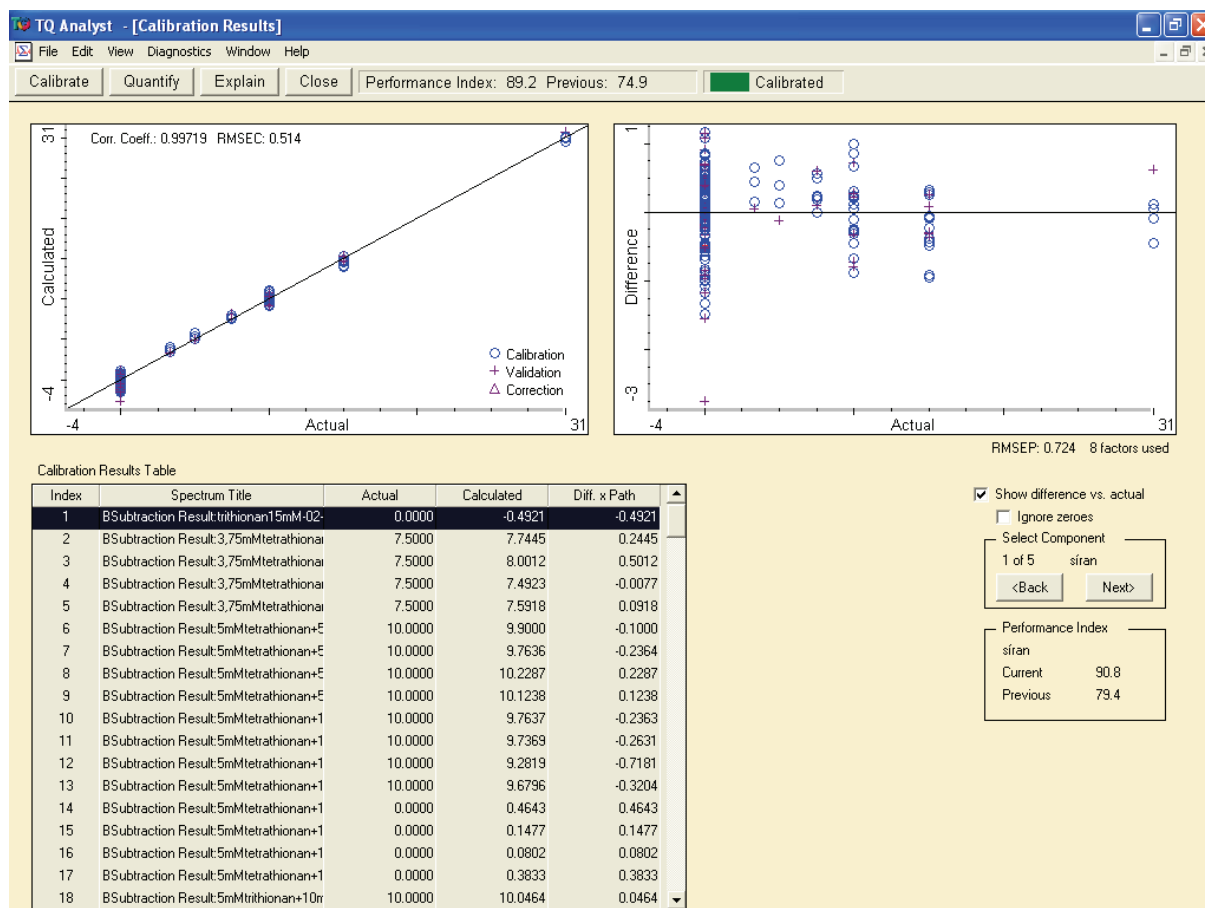
Index	Select	Spectrum Title	Usage	síran	sířičitan	S4	S3	thiosíran
1		BSubtraction Result:trithionan15mM-02- Validation		0.0000	0.0000	0.0000	15.0000	0.0000
2		BSubtraction Result:3,75mMtetraethionan Calibration		7.5000	0.0000	3.7500	3.7500	7.5000
3		BSubtraction Result:3,75mMtetraethionan Calibration		7.5000	0.0000	3.7500	3.7500	7.5000
4		BSubtraction Result:3,75mMtetraethionan Calibration		7.5000	0.0000	3.7500	3.7500	7.5000
5		BSubtraction Result:3,75mMtetraethionan Validation		7.5000	0.0000	3.7500	3.7500	7.5000
6		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+E Calibration		10.0000	0.0000	5.0000	5.0000	0.0000
7		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+E Calibration		10.0000	0.0000	5.0000	5.0000	0.0000
8		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+E Validation		10.0000	0.0000	5.0000	5.0000	0.0000
9		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+E Calibration		10.0000	0.0000	5.0000	5.0000	0.0000
10		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Calibration		10.0000	0.0000	5.0000	0.0000	10.0000
11		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Calibration		10.0000	0.0000	5.0000	0.0000	10.0000
12		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Validation		10.0000	0.0000	5.0000	0.0000	10.0000
13		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Calibration		10.0000	0.0000	5.0000	0.0000	10.0000
14		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Calibration		0.0000	0.0000	5.0000	5.0000	10.0000
15		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Calibration		0.0000	0.0000	5.0000	5.0000	10.0000
16		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Validation		0.0000	0.0000	5.0000	5.0000	10.0000
17		BSubtraction Result:5mMtetraethionan+1 Calibration		0.0000	0.0000	5.0000	5.0000	10.0000
18		BSubtraction Result:5mMtrithionan+10n Calibration		10.0000	0.0000	0.0000	5.0000	10.0000
19		BSubtraction Result:5mMtrithionan+10n Calibration		10.0000	0.0000	0.0000	5.0000	10.0000



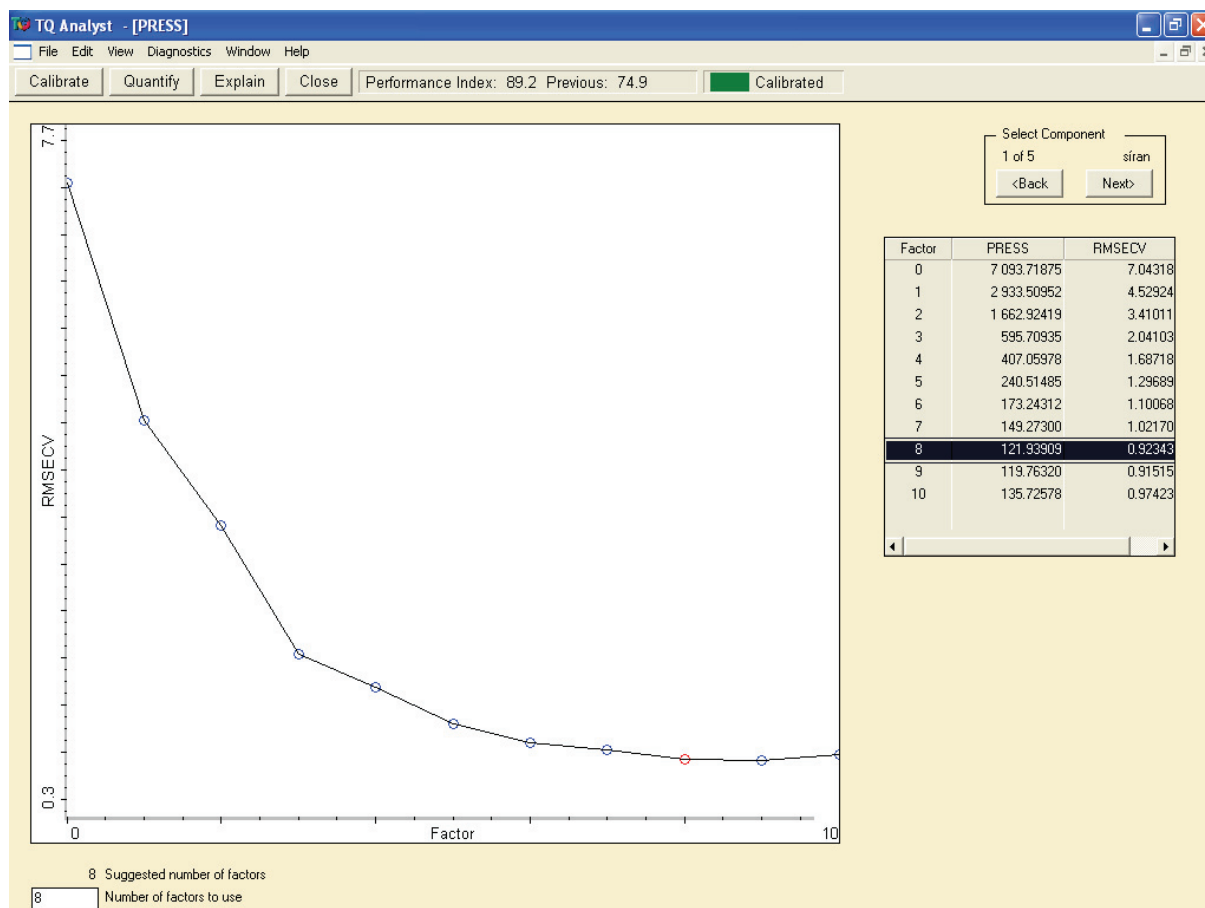
Další záložka „Regions“ se týká výběru spektrální oblasti, která bude zpracovávána při výpočtu kalibračního modelu. Pro první „nástřel“ můžete využít pomoc průvodce „TQ Expert“, kterého spustíte tlačítkem „Suggest...“. Nechte prozkoumat celý rozsah zaznamenaných NIR spekter a po dokončení průvodce se objeví navržená oblast (navržené oblasti) v tabulce „Regions Table“. Stisknutím tlačítka „Edit Regions...“ lze otevřít okno „Region Selection“, kde lze interaktivně provést úpravu zvoleného rozsahu, prohlédnout spočítaná statistická spektra a modely spekter čistých složek „Pure Component Spectra“. Případné změny se ukládají tlačítkem „Save“.

Výše uvedeným zadáním stanovované složky, výběrem standardů a specifikací jejich složení a volbou analyzované spektrální oblasti jsou shromážděna veškerá data nutná pro provedení kalibračního výpočtu, který se spustí stisknutím tlačítka „Calibrate“. Po úspěšném provedení výpočtu se zobrazí okno „Calibration Results“, kde se graficky i tabulkově zobrazí výsledky kalibrace, spočívající v porovnání spočítaných hodnot se zadanými pod záložkou „Standards“, a to jak pro kalibrační, tak validační spektra. Pokud se pro jednotlivé spektrum dramaticky liší spočtený výsledek od původně zadané hodnoty, je třeba zvažovat vyloučení příslušného měření z kalibrační sady. Důležitým kritériem je dále i hodnota výkonnostní charakteristiky „Performance Index“, která může nabývat hodnot od minimálních (záporných) –100 (nevýkonný, velmi nevhodný model) až po maximálních +100 (nejvýkonnější model). Změny této hodnoty lze sledovat v závislosti na editaci použité spektrální oblasti, případně způsobu jejího zpracování.

Pro vývoj a optimalizaci kalibračního modelu slouží nástroje přístupné v menu „Diagnostics“.



Při vývoji kalibračního modelu pomocí regresních metod PLS a PCR je třeba věnovat pozornost především diagnostickému nástroji, označovanému zkratkou PRESS („predicted residual sum of squares“). Samotná hodnota „sumy čtverců“ se vynáší graficky proti hodnotě počtu použitých hlavních komponent (PC - principal component) v případě PCR, resp. proti hodnotě počtu PLS faktorů u PLS regrese. Testovat a zoptimalizovat je třeba počet použitých PC/faktorů. Optimální počet PC/faktorů odpovídá oblasti okolo minima na zmíněné PRESS křivce. V rámci této oblasti je však vhodné volit raději nižší počet PC/faktorů, protože příliš vysoký počet použitých PC/faktorů snižuje kvalitu predikce pro jiná než kalibrační měření. Kalibrační model pak totiž zahrnuje stále větší podíl šumové složky analyzovaných kalibračních dat; popisuje tak stále „dokonaleji“ kalibrační data včetně všech chyb a nahodilých jevů v nich obsažených. Nevhodný je pochopitelně i model s malým počtem PC/faktorů, kdy dostatečně nevyužíváme veškeré relevantní informace. Počet použitelných PC/faktorů je ovlivněn i počtem kalibračních měření. Čím větší je počet kalibračních vzorků i spekter, tím vyšší počet PC/faktorů můžeme principiálně využít. V uvedené laboratorní úloze je tak možnost použití většího počtu PC/faktorů limitována právě omezeným počtem připravených vzorků. Vedle již uvedených diagnostických nástrojů jsou k dispozici, jak v programu TQ Analyst, tak v jiných chemometrických softwarech další procedury, umožňující například testovat a vylučovat odlehlá data („outliers“), zobrazovat spektrální průběhy zátěží pro jednotlivé PC apod. Účinné uplatnění těchto nástrojů je však možné po hlubším seznámení s multivariačními chemometrickými metodami a není tudíž proveditelné v rámci této laboratorní úlohy.



Z obrázku okna věnovaného diagnostice PRESS je možné posoudit, zda průběh PRESS odpovídá teoretickým předpokladům, jaké počty faktorů je třeba testovat (v případě na obrázku zřejmě sedm až deset) a jaký počet faktorů je softwarem doporučován (v tomto případě 8).

Kontrolní otázky

- 1) Jakými hodnotami vlnové délky resp. vlnočtu je vymezena blízká infračervená (NIR) oblast ?
- 2) Jaké přechody jsou příčinou absorpce záření látkami v NIR oblasti ?
- 3) K jakému účelu mohou sloužit knihovny NIR spekter ?
- 4) V čem spočívá hlavní analytické využití NIR spekter ?
- 5) Jaké regresní metody se využívají při vývoji kalibračního modelu ?
- 6) Jaký je význam kalibračních a validačních měření ?

Reakce v pevné fázi

Příprava supravodiče $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_x$ z prekursoru získaného metodou sol-gel

Chemikálie: $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, SrCO_3 , CaCO_3 , $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$, kyselina citrónová, ethylenglykol, HNO_3

Pracovní postup:

Vypočítáme a navážíme množství surovin odpovídající molárnímu poměru Bi, Pb, Sr, Ca a Cu v připravovaném supravodiči a rozpustíme v min. množství roztoku kyseliny dusičné (1:1). Suspenzi zahříváme za stálého míchání na 80°C, původní objem je udržován průběžným doplňováním destilovanou vodou. Po úplném rozpuštění všech složek je přidáme předem připravený roztok kyseliny citrónové a směs zahříváme a mícháme dalších 10 minut. Poté přidáme odpovídající množství ethylenglykolu a roztok zahříváme další ½ hodinu. Po této době zvýšíme teplotu na 110°C. Po cca 3 hodinách dojde ke vzniku vysoce viskózní kapaliny - gelu. Nádobu s gelem vložíme na 2 hodiny do sušárny předehřáté na 250°C. Během této doby dojde k částečnému rozkladu gelu za vývinu plynů (nutno mít sušárnu v digestoři). Vzniklou hmotu rozetřeme v achátové misce a vypálíme při 400°C (2 hodiny). Po dalším rozetření v achátové misce následuje standardní postup přípravy v pevné fázi.

Příprava pigmentové titanové běloby

Příprava kalcinátů titanové běloby a jejich vliv na změnu optických parametrů stabilizovaných směsí PVC.

- homogenizace provozní pasty titanové běloby
- příprava vzorků s různými typy popř. koncentracemi dopantů do pasty (rutilové zárodky)
- kalcinace upravených past při různých teplotách
- mletí získaných kalcinátů při různých režimech
- zpracování získaných kalcinátů do stabilizovaných směsí PVC
- expozice získaných vzorků světlu (UV 340 nm) v přístroji Q-Sun
- vyhodnocení změn optických parametrů exponovaných směsí

Všechny metody byly laboratorně otestovány (návodů existují) a vybrané jsou používány v praxi při výrobě kalcinátu titanové běloby R 200 M.

Planární optické vlnovody ve skleněných podložkách

Studenti by se v navrhovaných laboratorních cvičeních měli seznámit s následujícími pojmy : tenká vrstva, optická vrstva, iontová výměna, iontový poloměr, difusní koeficient, tavenina, vedení světla, pasivní vlnovod ve skleněné podložce, vid – mod světla, monochromatické záření, polarizace světla, vlnová délka, index lomu, LASER, LED, chyba měření, vidová spektroskopie.

Variabilita jednotlivých úloh spočívá:

- v zadání přípravy, tj. buď budou podmínky přípravy předem dané nebo student podle připravené literatury sám podmínky přípravy navrhne
- ve sledování závislostí mezi experimentálními podmínkami přípravy (tj. časy a teploty iontové výměny) a vlastnostmi připravené vrstvy (tj. hloubka vrstvy a hodnoty indexu lomu, popř. hodnoty optického dvojlomu)

- v porovnání dvou měřících metod, tj. jednohranolové a dvouhranolové vidové spektroskopie
- hodnocení chyby měření
- v porovnání různého průběhu a vlastností vlnovodů při výměně iontů s různými poloměry (Li^+ , Ag^+ , K^+)
- v porovnání různého průběhu a vlastností vlnovodů v substrátech s rozdílným obsahem Na^+
- v porovnání vlastností vlnovodu při průchodu monochromatického záření různých vlnových délek.

1) Příprava optické vrstvy daných vlastností

Student podle dodané literatury navrhne vhodné podmínky přípravy optického vlnovodu daných vlastností. Návrh realizuje, tj. připraví dvě optické vrstvy iontovou výměnou $\text{Ag}^+ \leftrightarrow \text{Na}^+$. Dále jednohranolovou vidovou spektroskopií změří a programem PLANPROF vyhodnotí hloubkový profil indexu lomu obou vzorků. Výsledkem by měl být jednak funkční vlnovod a také diskuse předpokládaných a získaných vlastností vlnovodu.

2) Iontová výměna $\text{Ag}^+ \leftrightarrow \text{Na}^+$

Podle zadaných podmínek přípravy student iontovou výměnou $\text{Ag}^+ \leftrightarrow \text{Na}^+$ připraví tři optické vrstvy. Vlastnosti připravených optických vrstev charakterizuje jednohranolovou vidovou spektroskopií. Jako výsledky student vyhodnotí a diskutuje závislosti získaných vlastností optické vrstvy (povrchový index lomu, max. hloubka vrstvy) na podmínkách přípravy (čas a teplota iontové výměny).

3) Iontová výměna $\text{Ag}^+ \leftrightarrow \text{Na}^+$ a $\text{K}^+ \leftrightarrow \text{Na}^+$: porovnání

V této práci podle zadaných podmínek přípravy student připraví jednu optickou vrstvu iontovou výměnou $\text{Ag}^+ \leftrightarrow \text{Na}^+$ a druhou iontovou výměnou $\text{K}^+ \leftrightarrow \text{Na}^+$. Na připravených vrstvách provede praktické měření jednohranolovou a také dvouhranolovou vidovou spektroskopií. Výsledkem pak bude porovnání vlastností vlnovodu připravených různým způsobem a také diskuse přesnosti měření popř. výpočet chyby měření.

Komplexní sloučeniny

Charakteristika elektronového uspořádání komplexu $[\text{Fe}(\text{bpy})_3][\text{BF}_4]$

pramen: *Inorganic Experiments*, ed. J Derek Woollins, 2.vyd., Wiley-VCH 2003, str.235

záměr:

- charakteristika hraničních orbitalů (HOMO a LUMO) komplexu přechodného kovu schopného redukce i oxidace
- srovnání elektrochemických a spektroskopických metod

A. Syntéza $[\text{Fe}(\text{bpy})_3][\text{BF}_4]$

0,1g FeCl_2 se rozpustí v minimálním množství vody, 0,4g bipyridinu se rozpustí v minimálním množství ethanolu. Roztoky se smísí a přidá se vodný roztok 0,2g NaBF_4 . Vyloučená temně rudá sraženina se odfiltruje a promyje studenou vodou a studeným ethanollem.

Otázky:

- Výpočtem ověřte použitou stechiometrii a vypočítejte výtěžek
- Jaká je role NaBF_4 při syntéze? Jakou jinou sůl by bylo možno k danému účelu také použít?

B. Optické vlastnosti

Ze syntetizované látky připravte asi 0,01molární roztok v acetonitrilu, o přesně známé koncentraci. Zaznamenejte jeho UV-VIS spektrum v oblasti od 850 do 250 nm a pro každé

maximum spočítejte molární absorpční koeficient $\epsilon_{\max} = A \cdot c^{-1} \cdot l^{-1}$, kde A je změřená hodnota absorbance, c je koncentrace komplexu [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$] a l je délka optické dráhy (tloušťka kyvety) v cm. *Pozn.:* pro zjištění všech hodnot $\epsilon_{\max}$ bude třeba pracovat s roztoky různých koncentrací.

Otázky:

a) Najděte v literatuře kvalitativní diagram molekulových orbitalů použitelný pro daný komplex. Určete HOMO a LUMO orbital a rozhodněte, který z nich patří převážně kovu a který ligandu.

b) Pomocí UV-VIS spekter stanovte energii, která odpovídá přechodu elektronu z HOMO do LUMO orbitalu (odpovídá energii maxima pásu s nejnižší vlnovou délkou = pásu vytvořeného přechodem o nejnižší energii).

Který typ elektronového přechodu je zodpovědný za typickou tmavě červenou barvu komplexu?

C. Elektrochemické chování

Za chemické chování molekul zodpovídají hraniční orbitály: při redukcí je elektron přidáván do LUMO orbitalu, při oxidaci je odebírán z HOMO orbitalu.

Pomocí UV-VIS spekter je možno stanovit energii, která odpovídá přechodu elektronu z HOMO do LUMO orbitalu.

Elektrochemickými metodami získáme oxidační potenciál E_{ox} odpovídající energii HOMO orbitalu a redukční potenciál E_{red} odpovídající energii LUMO orbitalu. Podmínkou je, že elektrochemický proces je reversibilní, totiž že v návaznosti na elektrochemickou redukcí nebo oxidaci nedochází k dalším chemickým reakcím. Potom rozdíl $E_{\text{ox}} - E_{\text{red}}$ odpovídá zhruba energii HOMO – LUMO přechodu zjištěného spektroskopicky.

Použijeme cyklickou voltametrii, polarografii a preparativní coulometrii. Pracujeme v nevodných rozpouštědlech, konkrétní pokyny budou upřesněny podle typu přístroje, který bude k dispozici.

Cyklická voltammetrie, CV, zaznamenává proud i procházející pracovní elektrodou při plynulé změně vkládaného potenciálu E . Je-li elektrochemický děj *reversibilní*, získáváme typický obrázek dvou spřažených píků, anodického a katodického, rozdíl jejich maxim $E_a - E_k = 59/n$ mV, (n je počet vyměněných elektronů). Větší rozdíl svědčí o irreversibilním ději, menší o adsorpci elektroaktivní látky na povrch pracovní elektrody. Potenciál daného děje se určí jako $E_{\text{ox,red}} = (E_a + E_k) / 2$ a pro reversibilní děj nezávisí na rychlosti změny vkládaného potenciálu (rychlosti scanu v [$\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$]). Soustředíme-li se na naměřené hodnoty proudu, poznáme reversibilní děj podle toho, že $i_a = i_k$ a že proud roste přímo úměrně $v^{1/2}$.

Měření:

Připravte 10 ml roztoku $(\text{NEt}_4)[\text{BF}_4]$ v acetonitrilu, $c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. V elektrochemické nádobce ho 10 minut probublávejte argonem. Změřte CV tohoto základního roztoku v rozsahu od +1,5 V do -2,0 V rychlostí $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, začněte u 0 V. Do takto ověřeně čistého rozpouštědla přidejte tolik připraveného komplexu, aby jeho koncentrace byla kolem $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a krátce probublejte argonem. Změřte CV při rychlosti $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.

Přepněte pracovní elektrodu na rtuťovou kapku a v oblastech, kde jste zaznamenali píky na CV, naměřte polarografickou křivku. Z ní určete, kde leží hranice mezi oxidačními a redukčními procesy při CV.

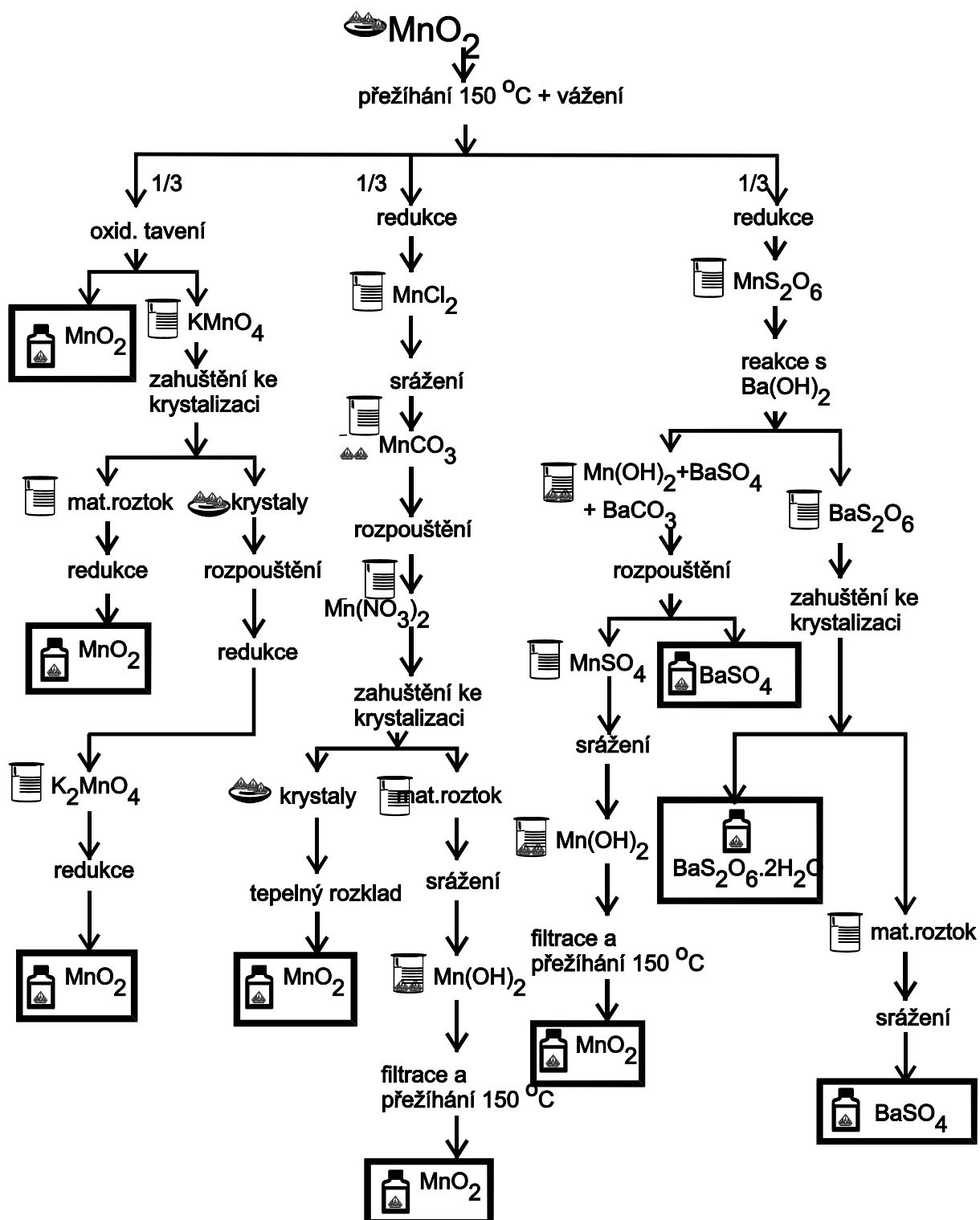
Pro oxidační děj změřte sérii asi 5 CV křivek při různých rychlostech scanu : od $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ do $500 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, a na základě výše uvedených kritérií posuďte reversibilitu daného děje. Totéž udělejte pro první redukční děj.

Coulometrie

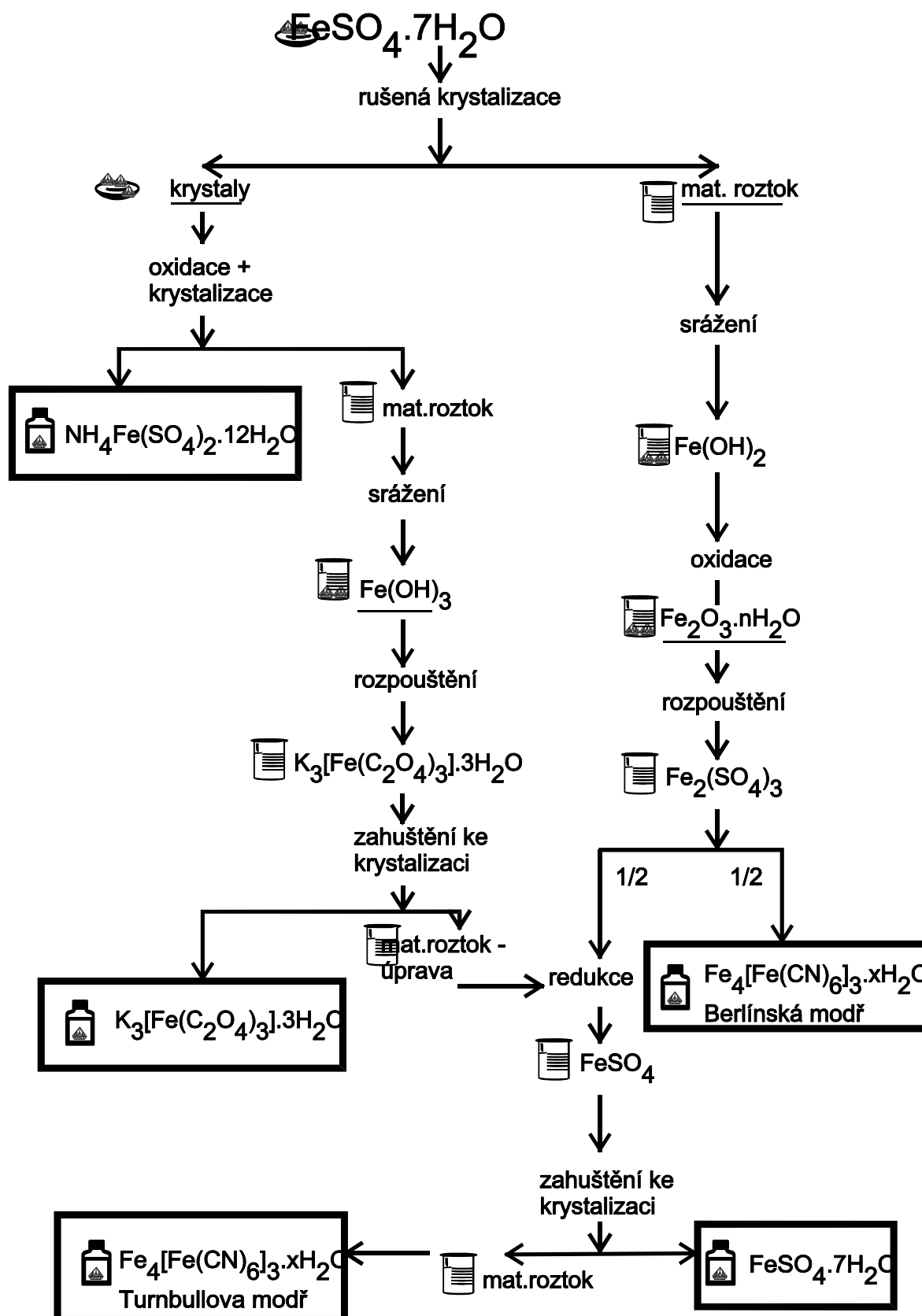
Acetonitril a základní elektrolyt v coulometrické cele vybublete argonem, zaznamenejte CV a přidejte přesně asi 20 mg komplexu. Zaznamenejte CV a polarogram a při zjištěném E_{ox} začněte elektrolyzovat. Jakmile proud poklesne na polovinu výchozí hodnoty, opět zaznamenejte CV a polarogram a totéž udělejte po skončení elektrolýzy. Jak vysvětlíte změny v polarogramech a jak to, že křivky CV se nemění? Z údajů o prošlém náboji a koncentraci látky určete, kolik elektronů se při sledovaném oxidačním procesu vyměnilo, a výsledek srovnajte s hodnotou získanou z CV nebo polarografie.

Preparační řady - schematické znázornění jednotlivých na sebe navazujících prací

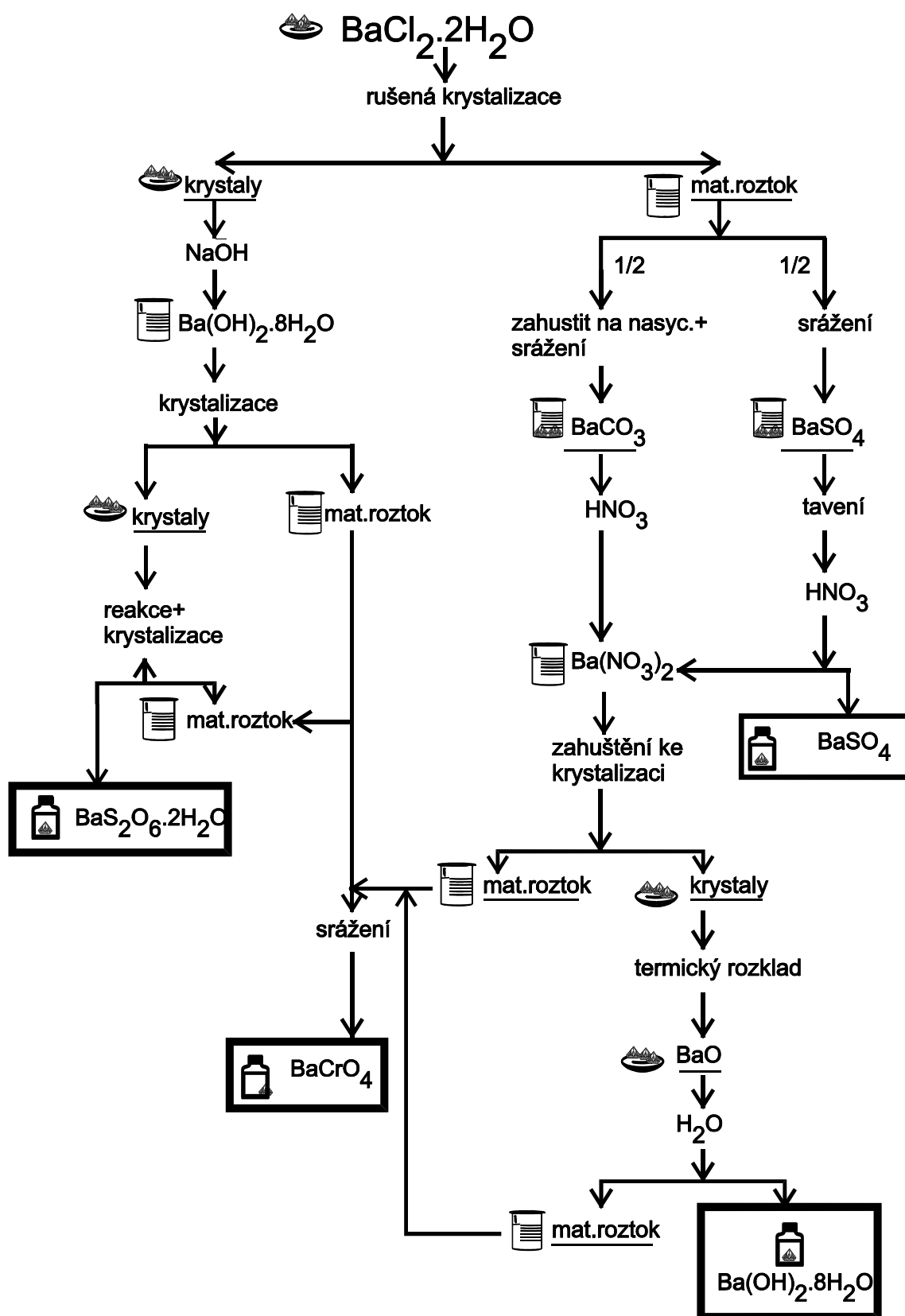
Preparační řada E



Preparační řada B



Preparační řada F



NÁVODY K LABORATORNÍM ÚLOHÁM Z BIOCHEMIE

MODUL – ZÁKLADNÍ BIOCHEMICKÉ METODY

1. VLIV REAKČNÍCH PODMÍNEK NA AKTIVITU TRYPSINU, STANOVENÍ MICHAELISOVY KONSTANTY POMOCÍ CHROMOGENNÍHO SUBSTRÁTU

Trypsin (EC 3.4.21.4) preferenčně katalyzuje hydrolýzu těch peptidových vazeb v molekulách peptidů a bílkovin, na nichž se svou α -karboxylovou skupinou podílejí bazické aminokyseliny arginin a lysin. Jako substrát ke stanovení aktivity trypsinu se běžně používají přirozené bílkoviny (kasein, hemoglobin, albumin) nebo tzv. chromogenní substráty. To jsou vhodně chemicky upravené substráty, z nichž enzym odštěpuje barevný produkt. Substrát je přitom buď nerozpustný (suspenze) nebo bezbarvý. Rychlost změny barvy reakčního roztoku je tedy odrazem změny koncentrace produktu a tudíž aktivity enzymu. Takovým chromogenním substrátem pro trypsin je např. N_α -benzoyl-D,L-arginin-*p*-nitroanilid, jehož název se běžně vyjadřuje zkratkou BAPA. Z tohoto bezbarvého substrátu je účinkem trypsinu odštěpován žlutý *p*-nitro-anilin.

A. Stanovení Michaelisovy konstanty trypsinu

Hodnotu K_m trypsinu určíte změřením rychlosti hydrolýzy substrátu BAPA při různých počátečních koncentracích substrátu. Množství vzniklého produktu (*p*-nitroanilin žluté barvy) je úměrné rychlosti hydrolýzy. Měříte tedy intenzitu žlutého zbarvení (absorbanci při 405 nm) reakčního roztoku.

Materiál a chemikálie:

termostat, fotometr pro měření při 405 nm, dávkovače, automatické mikropipety
dimethylsulfoxid, 30% roztok kyseliny octové
0,05 M Tris-HCl pufr, pH 8,2 (obsahuje 0,025 M CaCl_2)
základní roztok substrátu BAPA v dimethylsulfoxidu ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)
roztok trypsinu (40 mg/100 ml)

Pracovní postup:

1. Připravte řadu zásobních roztoků substrátu BAPA o různé koncentraci ředěním základního roztoku podle následující tabulky:

číslo zkumavky	1	2	3	4	5	6
objem roztoku BAPA (ml)	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
dimethylsulfoxid (ml)	0,9	0,8	0,6	0,4	0,2	0,0

2. Z připravených zásobních roztoků substrátu BAPA připravte 3 shodné koncentrační řady po 0,2 ml (2 sady pro paralelní stanovení aktivity a jednu sadu pro slepé pokusy). Dále napipetujte do všech zkumavek 1,8 ml 0,05 M Tris-HCl pufru.
3. Dvě sady zkumavek vložte do termostatu nastaveného na 37 °C a nechte 5 min vytemperovat. Do třetí sady (pro slepé stanovení) pipetujte 0,3 ml roztoku kyseliny octové a 0,2 ml roztoku trypsinu.
4. Do obou sad zkumavek v termostatu pipetujte postupně v půlminutových intervalech 0,2 ml roztoku trypsinu, čímž zahájíte enzymovou reakci. Přesně po 10 min od zahájení reakce v první zkumavce začněte opět v půlminutových intervalech přidávat do zkumavek ve stejném pořadí 0,3 ml 30% kyseliny octové, čímž ukončíte reakci. Upozornění: Doba reakce musí být v každé jednotlivé zkumavce přesně 10 min.
5. Do všech 18 zkumavek přidejte 4 ml destilované vody, abyste naředili intenzivní žluté zbarvení. Změřte absorbanci výsledného roztoku na fotometru při vlnové délce 405 nm. Měřte vždy dvě paralelní stanovení pro stejnou koncentraci BAPA proti slepému pokusu o téže koncentraci substrátu.

Vyhodnocení výsledků:

Do grafu vyneste naměřené hodnoty absorbance (veličina úměrná reakční rychlosti) proti hodnotám počátečních koncentrací substrátu v reakčním roztoku. Hodnotu Michaelisovy konstanty určete podle zadání asistenta některou z grafických metod, případně numerickou metodou pomocí počítače. Z naměřených hodnot pro zkumavku č. 6 vypočítejte specifickou aktivitu trypsinu (v μ kat/mg enzymového preparátu). Molární absorpční koeficient *p*-nitroanilinu je $\epsilon = 9,62 \cdot 10^3 \text{ (mol} \cdot \text{dm}^{-3})^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Dále vypočítejte hodnotu molekulové aktivity trypsinu, když víte, že jeho relativní molekulová hmotnost je 23 300 a čistota použitého preparátu byla 90 %.

B. Stanovení závislosti aktivity trypsinu na pH

Stupeň protonace disociovatelných skupin v aktivním místě molekuly enzymu je závislý na koncentraci vodíkových iontů; proto schopnost enzymů přeměňovat substrát závisí na pH. Hydrolyzu bezbarvého substrátu BAPA katalyzovanou trypsinem provedete při různých hodnotách pH, přičemž všechny ostatní parametry pokusu budou konstantní. Získaná závislost absorbance na pH je obrazem závislosti aktivity trypsinu na pH.

Materiál a chemikálie:

viz část A

roztok substrátu BAPA v dimethylsulfoxidu ($8,6 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$)

složky Britton-Robinsonova pufru, roztok A a roztok B (příloha 3.1)

Pracovní postup:

1. Podle zadání asistenta si připravte do zkumavek pufrů o různém pH (Britton-Robinsonův pufr, viz příloha 3.1). Z každé zásobní zkumavky odeberte do dvou reakčních zkumavek po 2 ml pufru (2 paralelní stanovení), přidejte 0,2 ml roztoku trypsinu a nechte 5 min temperovat v termostatu nastaveném na 37 °C.
2. Potom pipetujte postupně v půlminutových intervalech 0,2 ml roztoku substrátu do každé zkumavky, čímž zahájíte enzymovou reakci. Přesně po 10 min od zahájení reakce v první zkumavce začněte opět v půlminutových intervalech přidávat do zkumavek ve stejném pořadí 0,3 ml kyseliny octové, čímž reakci ukončíte.
3. Připravte slepý pokus pipetováním roztoků v uvedeném pořadí do zkumavky: 2 ml destilované vody, 0,2 ml roztoku enzymu, 0,3 ml kyseliny octové, 0,2 ml substrátu.
4. Do všech zkumavek přidejte 4 ml destilované vody a změřte absorbanci roztoků, ve kterých proběhla enzymová reakce, proti slepému pokusu na fotometru při vlnové délce 405 nm.

Vyhodnocení výsledků:

Z naměřených hodnot sestojte graf závislosti absorbance (aktivity enzymu) na hodnotě pH reakčního roztoku.

C. Stanovení vlivu reakční teploty na aktivitu trypsinu

Dva protichůdné jevy (zvyšování enzymové aktivity a současně zvyšování stupně denaturačních změn v molekule enzymu s rostoucí teplotou) dávají křivce závislosti aktivity na teplotě charakteristický „zvonovitý“ tvar, který je značně ovlivňován dobou inkubace.

Materiál a chemikálie:

viz část A

roztok substrátu BAPA v dimethylsulfoxidu ($8,6 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$)

Pracovní postup:

Reakci hydrolýzy substrátu BAPA katalyzovanou trypsinem nechte proběhnout při šesti různých teplotách ve dvou sadách zkumavek (pro každou teplotu 2 zkumavky), reakční doba 10 min.. Teploty: 4 °C (na ledu), 25 °C (resp. laboratorní teplota), 37 °C, 45 °C, 60 °C a 80 °C.

1. Do každé z 10 zkumavek pipetujte 1,8 ml Tris-HCl pufru a 0,2 ml roztoku enzymu. Každou dvojici zkumavek nechte temperovat 10 min při dané teplotě.
2. Reakci v každé zkumavce zahajte přidavkem 0,2 ml substrátu. Po uplynutí zadané reakční doby ukončete reakci přidavkem 0,3 ml 30 % kyseliny octové.
3. Připravte slepý pokus pipetováním roztoků v uvedeném pořadí do zkumavky: 8 ml pufru Tris-HCl, 0,2 ml roztoku enzymu, 0,3 ml kyseliny octové, 0,2 ml substrátu.
4. Do všech zkumavek přidejte 4 ml destilované vody a změřte absorbanci roztoků, ve kterých proběhla enzymová reakce, proti slepému pokusu na fotometru při vlnové délce 405 nm.

Vyhodnocení výsledků:

Z naměřených hodnot sestrojte graf závislosti absorbance (aktivity enzymu) na teplotě reakčního roztoku. Odečtěte hodnotu optimální teploty pro jednotlivé reakční doby.

Kontrolní otázky:

1. Jaký tvar má křivka závislosti počáteční rychlosti enzymové reakce na koncentraci substrátu?
2. Proč je aktivita enzymu závislá na hodnotě pH reakčního prostředí?
3. Pro enzym X, jehož optimální teplota je 52 °C, načrtněte do jednoho grafu závislost počáteční reakční rychlosti na koncentraci substrátu při teplotách 30 °C a 40 °C.
4. Jak je definována Michaelisova konstanta? Co představuje?
5. Jaký je obecný postup při stanovení Michaelisovy konstanty enzymu?
6. Proměřili jste závislost počáteční rychlosti enzymové reakce na koncentraci substrátu jednou při koncentraci enzymu 1 µg/ml a podruhé při koncentraci téhož enzymu 2 µg/ml. Všechny ostatní reakční podmínky byly shodné. Nakreslete obě závislosti do jednoho grafu a vyznačte hodnoty K_m a V_{lim} .
7. Proč se při experimentech v této laboratorní úloze provádí tzv. slepý pokus?
8. Co nazýváme "chromogenní substrát"? Jaké jsou výhody jeho použití?
9. Napište rovnici reakce, pomocí níž jste stanovovali aktivitu trypsinu.

2. DĚLENÍ MAKROMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK GELOVOU CHROMATOGRAFIÍ

Při gelové filtraci se molekuly dělené látky separují na základě své velikosti a tvaru. Molekuly látek s menší hmotností než je vylučovací limit gelu se eluují v pořadí určeném zmenšující se velikostí jejich molekul, větší molekuly budou předcházet menší.

Celulasa je soubor enzymů s endoglukanasovou a exoglukanasovou aktivitou; štěpí β -1,4-glykosidové vazby v polyglukanových řetězcích celulosy. Jejím působením vznikají oligomerní redukující štěpy, celobiosa a glukosa. Toto štěpení lze sledovat jako přírůstek redukující mohutnosti substrátu a příslušnou aktivitu vyjádřit jako přírůstek redukujícího disacharidu celobiosy. K sledování redukujících vlastností substrátu se použije některé metody pro stanovení redukujících cukrů.

Každá chromatografie by měla být doplněna bilancí celého procesu separace. Bilancuje se jednak množství hmoty separované v dané chromatografii (v případě dělení bílkovin se bilancuje množství stanovených bílkovin), dále pak v případě enzymů enzymová aktivita. O účinnosti daného separačního kroku vypovídá stupeň přečištění vypočtený jako poměr obsahu separované látky ve směsi před a po separaci, dále pak výtěžnost a čistota získané látky.

Materiál a chemikálie:

gel nabobtnalého Sephadexu G-75 v destilované vodě

vzorky pro chromatografickou separaci (modrý dextran, 1% roztok celulasy v 0,1 M acetátovém pufru pH 5,0, 3% roztok lakmusu ve vodě vše v poměru 1:1:1 objemově)

činidlo s dinitrosalicylovou kyselinou: (2,0 g 3,5-dinitrosalicylové kyseliny se suspenduje ve 40 ml destilované vody a po kapkách se přidá roztok 2 M NaOH, aby se roztok vyčeřil; poté se přidá 60 g

vínanu sodno-draselného a filtruje se přes skleněnou fritu, doplní se na 200 ml a skladuje v tmavé lahvi)
 filtrační papír Whatman 1
 0,1 M acetátový pufr pH 5,0
 chromatografická trubice, Mariottova láhev, stojan se zkumavkami, balonek s hadičkou, injekční stříkačka s polyethylenovou hadičkou, vodní lázeň

Pracovní postup:

Příprava chromatografické kolony

Gel Sephadexu odvzdušníme odsátím do vakua. Chromatografickou kolonu umístíme do vertikální polohy. K výtoku z kolony připojíme za pomoci hadičky injekční stříkačku naplněnou destilovanou vodou. Propláchneme fritu chromatografické kolony tak, abychom z ní odstranili vzduch. Odpojíme injekční stříkačku a poté zaslepíme odtok z kolony. Pracujeme tak, aby v koloně zůstala voda asi 1 cm nad fritou. Přesvědčíme se, zda gel má laboratorní teplotu a poté naléváme rozmíchaný gel Sephadexu do kolony. Ve chvíli, kdy část gelu již sedimentovala do vrstvy cca 5 cm, odstraníme zaslepení kolony a vodný roztok ponecháme volně odtékat do kádinky. Kolonu plníme dále gelem a doléváme ho v takových intervalech, aby nedošlo k úplné sedimentaci. Kolona je naplněná, když výška gelu dosáhne asi 3 cm pod rozšířené hrdlo kolony. Sedimentovaný gel musí být během celé práce převrstven sloupцем vody a nesmí vyschnout. Kolonu zaslepíme a spojíme pomocí hadičky s lahví s elučním roztokem. Chromatografická kolona tvoří s lahví s elučním roztokem spojené nádoby, a proto musí být kolona uzavřena za pomoci zátky s provlečenou hadičkou. Láhev s elučním roztokem je umístěna v takové výši aby bylo dosaženo průtoku kolem 1 ml/min. Zkontrolujte hodnotu průtoku a zaznamenejte si jí do protokolu.

Chromatografické dělení směsi

Otevřete zátku uzavírající chromatografickou kolonu a počkejte, až hladina elučního roztoku poklesne na úroveň gelu (ne níže!). Poté opatrně převrstvíte povrch gelu 1 ml vzorku směsi k separaci. Pracujte tak, že ponecháte roztok vytékat z pipety po vnitřní stěně chromatografické kolony. Počkejte až se vzorek vsákne do gelu a převrstvíte gel vrstvou elučního roztoku o objemu odpovídajícím minimálně objemu přívodní hadičky. Uzavřete chromatografickou kolonu zátkou a spojte ji hadičkou s elučním roztokem. Okamžitě po nanesení vzorku jímáme frakce po 1,5 ml eluátu a ukládáme je do stojánku. Po skončení dělení analyzujeme jednotlivé frakce proměřením intenzity jejich zabarvení. Modrý dextran má absorpční maximum při 620 nm, lakmus při 580 nm. Přítomnost celulasu ve vzorku prokážeme prostřednictvím její schopnosti uvolňovat redukující sacharidy z celulosy (filtračního papíru). Po skončení práce vyfoukneme gel z kolony do zásobní láhve.

Určení celulasové aktivity

Proužek papíru Whatman (0,5 cm × 12 cm) se ponechá temperovat ve zkumavce ve 2 ml acetátového pufru pH 5, po dobu 5 min při 45 °C. Poté se přidá 1 ml vzorku po gelové chromatografii nebo 1 ml acetátového pufru (slepý pokus) nebo 1 ml vzorku celulasu, ředěného podle doporučení asistenta destilovanou vodou. Enzymová reakce se nechá probíhat 30 min při 45 °C. Po této době odpipetujeme 1,5 ml reakční směsi do zkumavky s 1 ml 3,5-dinitrosalicylové kyseliny a směs se povaří na vodní lázni po dobu 5 minut. Intenzita vzniklého zabarvení se měří proti slepému pokusu při 530 nm.

Vyhodnocení výsledků:

1. Vypočtete průtokovou rychlost (ml/h) a zaznamenejte operační tlak (hydrostatický tlak v cm vodního sloupce).
2. Zapište V_0 (eluční objem modrého dextranu), V_t (celkový objem gelu) a V_e (eluční objemy dělených látek, u souměrných elučních vrcholů a při dostatečně malém objemu frakcí je roven objemu všech předchozích frakcí a poloviny objemu frakce s nejvyšší koncentrací stanovované látky).
3. Nakreslete eluční diagram (osa x eluční objemy, na ose y intenzita zabarvení)
4. Určete rozdělovací koeficienty jednotlivých frakcí

Kontrolní otázky:

1. Mohou se gelovou chromatografií na použitém nosiči (Sephadex G-75) rozdělit látky o vyšších relativních molekulových hmotnostech než má modrý dextran?
2. Z jakých důvodů je nutné, aby sedimentace gelu během plnění kolony byla kontinuální?
3. Jakých hodnot může nabývat rozdělovací koeficient K_r ?
4. Ke stanovení kterých dalších látek je možno použít činidla s kyselinou 3,5-dinitrosalicylovou?
5. Při gelové chromatografii byl pro vzorek bílkoviny zjištěn menší eluční objem v elučním činidle s přídavkem 1 M chloridu sodného než bez soli. Na co můžete z tohoto měření usuzovat?

3. SLEDOVÁNÍ IMUNOPRECIPITAČNÍ REAKCE V ROZTOKU

Interakci antigenu s příslušnou protilátkou v roztoku vzniká imunokomplex antigen-protilátka, který při splnění především koncentračních podmínek vytvoří precipitát. Množství vytvořeného precipitátu lze kvantifikovat nefelometricky či turbidimetricky. Tímto jednoduchým způsobem lze stanovit koncentraci antigenu, popř. prokázat jeho přítomnost ve vzorku.

V této práci proměříte dvě závislosti: závislost množství vytvořeného precipitátu na koncentraci antigenu a časovou závislost tvorby precipitátu. Mírou množství precipitátu v roztoku je procento světla odraženého roztokem. Návod je vypracován pro dvě pracovní skupiny, které střídavě měří na jednom přístroji.

Materiál a chemikálie:

fotometr Spekol s nefelometrickým nástavcem

pipety, zkumavky

2 shodné roztoky antigenu (králíčí sérové bílkoviny)

2 roztoky protilátek (prasečí antisérum proti králíčím sérovým bílkovinám) PL1 a PL2 lišící se koncentrací

fyziologický roztok (0,9 % NaCl)

Pracovní postup:

1. Návod k obsluze fotometru s nefelometrickým nástavcem:
 - a) Nejméně 30 minut před začátkem měření zapneme usměrňovač a zesilovač přístroje.
 - b) Zesílení přístroje nastavíme na hodnotu 500. Měříme při vlnové délce světla 500 nm na dolní stupnici procenta odraženého světla. Jako referenční vzorek použijeme destilovanou vodu.
 - c) Do cely nefelometrického nástavce zasuneme kyvetu s referenčním roztokem a při otevřené cloně přístroje nastavíme hřídelkou zesilovače (označena 0) nulu na dolní stupnici fotometru. Neprodleně zasuneme do cely kyvetu s měřeným roztokem a odečteme % odraženého světla. Oba tyto úkony je nutno provést co nejrychleji a opět clonu uzavřít.
 - d) Pokud je měřený údaj (% odraženého světla) vyšší než 100 %, přepneme zesílení na hodnotu 200, popř. ještě nižší. Nakonec musíme všechny naměřené hodnoty přepočítat na jednu hodnotu zesílení.
2. Do jednoho roztoku antigenu, který jste dostali od asistenta, přidejte 1 ml fyziologického roztoku. Získáte tak roztok antigenu o koncentraci 8 mg/ml. Z tohoto roztoku odpipetujte 1 ml do další zkumavky a přidejte 1 ml fyziologického roztoku. Získáte tak roztok antigenu o koncentraci 4 mg/ml. Pokračujte dále v ředění roztoku antigenu fyziologickým roztokem v poměru 1:1, až získáte postupně koncentrace 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125 a 0,0625 mg/ml. Po dokončení ředění odeberte z poslední zkumavky 1 ml a vypusťte jej do výlevky. Jestliže jste postupovali správně, máte nyní sadu 8 zkumavek s roztokem antigenu v rozsahu klesající koncentrace od 8 mg/ml po 0,0625 mg/ml. Stejný postup opakujte i s druhým roztokem antigenu, získáte tak dvě shodné koncentrační řady antigenu.
3. Z jedné řady zkumavek s roztokem antigenu vyjměte tu s koncentrací 1 mg/ml a ponechte ji zatím stranou pro pozdější měření. Do všech ostatních zkumavek této řady napipetujte po 1 ml roztoku protilátky PL2. Do druhé, kompletní, řady napipetujte po 1 ml roztoku protilátky PL 1. Obsah zkumavek dokonale promíchejte, roztoky však nesmí pění! Zkumavky nyní nechte inkubovat za laboratorní teploty alespoň 90 minut. Tyto roztoky proměříte na fotometru až v samém závěru této úlohy.

4. Teď se budou obě pracovní skupiny věnovat měření časové tvorby precipitátu. Protože mají k dispozici pouze jeden fotometr s nefelometrickým nástavcem, je třeba, aby se u přístroje vhodně vystřídaly. Nastavení přístroje a způsob měření ukáže vyučující asistent.
5. Skupina, která zahájí měření, se nejprve důkladně seznámí s postupem měření na fotometru a přístroj vynuluje se zasunutým referenčním roztokem. Potom napipetuje do zkumavky s roztokem antigenu o koncentraci 1 mg/ml 1 ml roztoku protilátky PL2. Obsah zkumavky dokonale promíchejte a neprodleně měřte % odraženého světla v čase 0,5, 1, 2, 5, 10 a 15 minut po smíchání roztoků antigenu a protilátky.
6. Jakmile první skupina skončí měření v intervalu 15 minut, provede stejná měření se svými roztoky druhá skupina. Obě skupiny odečtou ještě % odraženého světla po cca 30, 45, 60, 75 a 90 minutách.
7. Nyní proměřte % odraženého světla u roztoků připravených podle bodu 3.

Vyhodnocení výsledků:

1. Naměřené hodnoty % odraženého světla podle bodu 5 a 6 vynesete do grafu proti času.
2. Naměřené hodnoty % odraženého světla podle bodu 7 vynesete do grafu proti koncentraci antigenu (obě křivky vynášejte do jednoho grafu!). Zvažte, zda do této závislosti můžete zahrnout i hodnotu získanou podle bodu 6.
3. Z grafu určete přibližné koncentrace protilátky PL 1 a PL 2.
4. **Obě získané grafické závislosti vysvětlete, komentujte.**

MODUL - STUDIUM BIOPOLYMERŮ

1. IZOLACE DEOXYRIBONUKLEOVÉ KYSELINY ZE SLEZINY

Prvním krokem při izolaci DNA ze sleziny je rozbití buněčné membrány (homogenizace). Tím dojde k uvolnění buněčných organel do roztoku, odkud jsou jádra (organely s hlavním podílem DNA buňky) izolována centrifugací. Poslední bariéra, která nás dělí od kýžené molekuly, jaderná membrána, je rozrušena roztokem detergentu (tenzidu); ten také způsobuje rozpad komplexu DNA - bílkoviny. Závěrečná fáze izolace zahrnuje několik přečišťovacích kroků, které jsou zaměřeny na odstranění bílkovin (precipitací) a lipidů (extrakcí). Posledním separačním krokem je srážení DNA na rozhraní vodné a ethanolové fáze. Zpětným rozpuštěním molekuly DNA ve vodném roztoku získáme jen částečně vyčištěný preparát DNA, který ještě obsahuje RNA, zbytky bílkovin, sacharidů apod. U získaného preparátu určíme koncentraci izolované DNA a stupeň znečištění bílkovinami.

Materiál a chemikálie:

nůž, mixér, gáza, chlazená utracentrifuga, kyvety, technické váhy, předvážky
odměrné válce, nálevka kádinky, tyčinka, plastové Pasteurovy pipety, Erlenmeyerova baňka
vepřová slezina

pufr: 0,1 M EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina), pH 8,0-8,5, 0,15 M NaCl

SSC: 0,15 M NaCl v 0,015 M citrátu sodném, pH 7,0

roztok dodecylsiranu sodného: 20% roztok ve 45% ethanolu

směs chloroform - isoamylalkohol (24:1, v/v)

96% vychlazený ethanol denaturovaný benzinem

Pracovní postup:

Pracovní postup záleží na tom, jestli mají tuto práci provádět zároveň dvě skupiny nebo jenom jedna. V obou případech se totiž vzhledem ke kapacitě centrifug pracuje u stolu s 12 g sleziny. Sledujte proto pečlivě text postupu - údaje pro případ, kdy u stolu pracují dvě skupiny, jsou uvedeny v závorkách.

1. Z 12 g vepřové sleziny se odstraní zbytky blan a tukové tkáně. Čistá tkáň se nakrájí na malé kostky.
2. Zkompletuje se mixer a nalije se do něj 50 ml pufru. Přidá se nakrájená slezina a mixuje se při 3. rychlostním stupni 3 min. Během tohoto procesu homogenizace dojde k rozpadu buněčné tkáně

na jednotlivé buňky a následně též vlivem střížných sil v mixeru podpořených mírně alkalickým prostředím pufru k dezintegraci cytoplazmatické membrány. EDTA slouží v této operaci jako puфраční složka; je také komplexotvorným činidlem, maskujícím Mg^{2+} a Mn^{2+} ionty, které jsou aktivátory nukleas, hydrolytických enzymů schopných během izolace štěpit izolovanou DNA.

3. Homogenát se přefiltruje do kádinky přes dvě vrstvy gázy v nálevce; zbytky na gáze se vyždímají, aby nedocházelo ke zbytečným ztrátám. Tím se odstraní nedokonale zhomogenizované části tkáně. **Pokud u stolu pracují dvě skupiny, rozdělí si v této fázi filtrát na dvě poloviny; pokud je u stolu pouze jedna skupina, zpracovává celý objem.**
4. Filtrát se rozdělí do menších plastových kyvet. Kyvety, které budou v centrifuze umístěny proti sobě, musí být pečlivě vyváženy na technických vahách, aby se během centrifugace nezničil rotor.
5. Odstředování se provádí v chlazené ultracentrifuze po dobu 30 minut při $5000 \times g$ a při $0-5^\circ C$. Odstředivku vždy spouští asistent nebo laborant! Při takto vysokých otáčkách sedimentují nejen neporušené buňky, ale i uvolněná buněčná jádra, která mají z organel největší hustotu. V supernatantu zůstávají odděleny složky mimobuněčné tekutiny, zbytky cytoplazmatických membrán, cytoplazma a lehčí organely.
6. Pokud je na dně kyvet sediment, supernatant se může vylít. Pokud se peleta nevytvořila, poraďte se s asistentem nebo laborantem, jak dále postupovat. Bude nutno v centrifugaci pokračovat za vyšších otáček a prodloužit její čas.
7. Sediment se přenesení tyčinkou do 125 ml (62,5 ml) pufru v polyethylenové láhvi a velmi pečlivě resuspenduje prudkým roztřepáním.
8. Suspenze se přelije do kádinky, míchá se mírnou rychlostí a zvolna se přidává 12,5 ml (6,25 ml) roztoku dodecylsírany sodného (předem protřepat). Dodecylsírany sodný (SDS) je tenzid (látky amfifilního charakteru), který interaguje s membránou (jadernou i cytoplazmatickou) a způsobí její rozpad, čímž, v našem případě, dojde k uvolnění chromatinu do roztoku. Chromatin je stavební materiál chromosomů, který se skládá z DNA a bílkovin. SDS rozrušuje elektrostatické interakce mezi bazickou bílkovinou (histony) a záporně nabitou páteří DNA tak, že bílkovinu zcela obalí a změni její povrchový náboj z kladného na záporný (daný síranovou skupinou SDS); tak se přitažlivé síly DNA (-) - (+) bílkovina změni v odpudivé DNA (-) - (-) SDS-bílkovina. Rozpad chromatinu tedy obnaží záporné náboje fosforečných skupin na páteři molekuly DNA; odpudivé intramolekulární interakce způsobí napnutí vlákna DNA. Tím dojde ke zvyšování viskozity roztoku. Míchání pokračuje 20 minut.
9. Pak přidáme postupně pevný NaCl tak, aby výsledná koncentrace byla 1 M a mícháme až do jeho rozpuštění. Viskozita roztoku opět poklesne v důsledku zrušení odpudivých elektrostatických interakcí vysokou iontovou silou. Sodné kationty napodobí interakce DNA - bílkovina a umožní molekule DNA zaujmout opět svou charakteristickou svinutou strukturu.
10. K lyzátu o určitém objemu (objem se zjistí ze stupnice na kádince) se přidá stejný objem směsi chloroform-isoamylalkohol a výsledná směs se intenzívně třepí v polyethylenové láhvi 10 minut. Tímto purifikačním krokem se částečně odstraní membránové lipidy, které se extrahují do chloroformové fáze a bílkoviny, které v tomto prostředí precipitují. DNA přejde do vodné fáze obsahující isoamylalkohol.
11. Roztřepanou směs rozdělíme do větších kyvet. Pozor! Tentokrát je vyvažování náročnější, jelikož pracujeme se dvěma fázemi, které se značně liší svou hustotou. V protilehlých kyvetách si tedy musí objemově odpovídat i obsahy obou fází (tzv. dynamické vyvážení, kap. 1.3.5). Jen tak bude těžiště kyvet ležet při odstředování ve stejné vzdálenosti od osy otáčení. Prakticky se tohoto stavu dosáhne tak, že se do obou kyvet přidává střídavě malé množství extrakční směsi a mezitím se vždy znovu protřepe. Výhodné je při tom použít plastové Pasteurovy pipety.
12. Směs se odstředí, aby se urychlila separace fází, na odstředivce při $2000 \times g$ 30 minut. Odstředivku opět spouští asistent nebo laborant! V dolní části kyvety se shromáždí chloroformová fáze s rozpuštěnými nepolárními sloučeninami a v horní části vodná fáze s DNA; mezivrstvou tvoří sražené bílkoviny.
13. Horní vodná fáze se opatrně odsává čistou plastovou Pasteurovou pipetou, aby nedošlo k nasátí sražených bílkovin z mezivrstvy, a tak ke znečištění preparátu DNA. Odsávanou vodnou fází přenášíme do kádinky (250 ml).

14. Následuje další purifikační krok - precipitace DNA. Vodná fáze v kádince se opatrně převrství stejným objemem 96% ethanolu. Pozvolným krouživým pohybem se tyčinkou pomalu promíchává obsah kádinky. Na rozhraní obou fází, kde dochází k jejich mísení, se začnou srážet vlákna DNA, která se navíjejí na tyčinku. Navíjení, které trvá několik minut, se ukončí, jakmile dojde k promísení obou fází a roztok se vyčechá.
15. Tyčinka s navinutou DNA se vyjme z roztoku a nechá se okapat. Pak se tyčinka i s DNA ponoří do zkumavky s 5 ml SSC, sraženina se stáhne pomocí nůžek nebo pinzety z tyčinky a rozstříhá na menší kousky, aby se urychlilo její rozpouštění. Rozpouštění probíhá ve zkumavce při teplotě 4 °C (ochrana před enzymovou hydrolýzou DNA nukleasami), trvá obvykle několik dnů.

Vyhodnocení výsledků:

Výsledky této úlohy lze zhodnotit až po stanovení obsahu DNA a bílkovin v preparátu, což je předmětem další úlohy, která v ideálním případě po několika dnech na tuto práci navazuje.

Kontrolní otázky:

1. Proč lze oddělit buněčná jádra od homogenizátu tkání centrifugací?
2. Proč po přidání dodecylsiranu sodného k vodné suspenzi jader prudce vzroste viskozita roztoku a po přidání NaCl zase poklesne?
3. Na základě jakého fyzikálně-chemického pochodu jste oddělili bílkoviny od DNA?

2. SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ BÍLKOVIN A DNA VEDLE SEBE

Bílkoviny absorbují UV záření s maximem poblíž 280 nm a DNA s maximem poblíž 260 nm; jejich absorpční pásy se překrývají. Pro další úvahy předpokládáme, že v roztoku nejsou žádné další absorbující látky a že měření probíhá v kyvetách o optické dráze 1 cm. V naší úloze bude bílkovinou hovězí sérový albumin (bovine serum albumin, BSA).

Podle Beerova zákona platí:

$$A_{260} = A_{BSA,260} \cdot c_{BSA} + A_{DNA,260} \cdot c_{DNA}$$

a

$$A_{280} = A_{BSA,280} \cdot c_{BSA} + A_{DNA,280} \cdot c_{DNA}$$

kde A_λ jsou změřené absorbance při vlnové délce λ , $A_{x,\lambda}$ absorpční koeficienty pro danou látku při určité vlnové délce a c_x koncentrace dané látky. V této úloze budeme koncentrace vyjadřovat v jednotkách mg/ml, absorpční koeficienty pak mají formu tzv. specifických absorpčních koeficientů, tedy absorbance roztoku dané látky o koncentraci 1 mg/ml.

Pro určování koncentrací je vhodné používat vlnové délky odpovídající maximu absorpčního spektra. Proto nejdříve změříme absorpční spektra čisté bílkoviny a DNA a tyto vlnové délky (λ_{max}) budeme dále používat.

Biopolymery UV záření nejen absorbují, ale i rozptylují. Tím roste zdánlivá hodnota absorbance. Nejjednodušší korekce vychází z představy, že rozptyl (zdánlivou absorbanci), změřený v oblasti, kde biopolymer již záření nepohlcuje (pro bílkoviny i DNA u 330 nm), lze odečíst od hodnot nepříliš vzdálené absorpční oblasti. Jinými slovy, od všech hodnot změřených absorbancí (A_{260} a A_{280}) odečteme hodnotu A_{330} , získanou pro dané spektrum, a dále pak počítáme s těmito "zkorigovanými" hodnotami.

Pro řešení uvedené soustavy rovnic potřebujeme znát hodnoty čtyř absorpčních koeficientů. Ty získáme tak, že proměříme spektra (od 240 do 335 nm) standardních (čistých) roztoků v několika ředěních; z těchto spekter odečteme absorbance při příslušných vlnových délkách. Závislosti těchto absorbancí na koncentraci vyneseme do grafu; získáme čtyři přímky procházející počátkem, jejichž směrnice jsou příslušné absorpční koeficienty.

U neznámého vzorku opět změříme absorpční spektrum, odečteme hodnoty absorbancí pro obě vlnové délky, provedeme korekci na rozptyl, dosadíme do soustavy rovnic a vypočteme koncentrace BSA a DNA.

Roztoky a materiál:

standardní roztoky DNA (0,1 mg/ml) a BSA (2 mg/ml) pro kalibraci

fosfátový pufr 0,1 M pH 7,0

zkumavky a stojan

2 pipety (2 ml skleněné dělené)

UV/VIS spektrofotometr (vypracováno pro spektrofotometr UNICAM Helios)

Postup měření:

1. Ze standardních vzorků DNA a BSA si připravte koncentrační řadu. Postačí tři ekvidistantní ředění 0,1 M fosfátovým pufrům pH 7,0 (3:1, 1:1, 1:3) tak, aby byl celkový objem u každého ředění 2 ml.
2. Pomocí programu SCAN změřte absorpční spektrum standardního (neředěného) roztoku DNA v rozmezí 240 - 335 nm v 1 cm křemenné kyvetě proti fosfátovému pufru. Toto spektrum uložte na disketu (pod vhodným názvem).
3. Odečtěte co nej přesněji vlnovou délku maxima spektra ($\lambda_{\max, \text{DNA}}$).
4. Změřte spektrum standardního (neředěného) roztoku BSA a odečtěte vlnovou délku jeho absorpčního maxima ($\lambda_{\max, \text{BSA}}$).
5. Odečtěte hodnoty absorbancí BSA při vlnových délkách $\lambda_{\max, \text{DNA}}$, $\lambda_{\max, \text{BSA}}$ a 330 nm.
6. Vyvolejte z diskety spektrum DNA a vytiskněte obrázek s oběma spektry.
7. Pro snadné odečítání hodnot absorbancí upravte v nabídce SCAN položku PEAK TABLE: PEAK HIGHT - vložte stejné hodnoty jako v bodě 5.
8. Postupně proměřte kalibrační roztoky BSA (ještě celkem 3) a DNA (včetně neředěného celkem 4). Po každém měření odečtěte hodnoty absorbancí při příslušných vlnových délkách: VIEW RESULTS - SCAN GRAPH. Hodnoty absorbancí zapisujte do tabulky:

c_{BSA} a c_{DNA} (mg/ml)	$\lambda_{\max, \text{DNA}}$	$\lambda_{\max, \text{BSA}}$	330 nm
--	------------------------------	------------------------------	--------

Pozn: Hodnoty pro nejvyšší koncentraci BSA znáte již z bodu 5.

9. Stejným postupem zjistěte absorbance vašeho vzorku. Jeho spektrum vytiskněte: PRINT GRAPH. Vraťte se do základní nabídky tlačítkem HOME.

Vyhodnocení výsledků:

Výše naznačeným postupem vypočtete koncentrace BSA a DNA ve vašem vzorku.

- a) Do grafu vyneste závislosti korigovaných absorbancí na koncentraci; získáte tak 4 přímky, jejichž směrnice jsou přímo rovny absorpčním koeficientům.
- b) Vypočtete hodnoty korigovaných absorbancí pro váš vzorek.
- c) Pomocí těchto hodnot vyřešte soustavu dvou rovnic o dvou neznámých.

Součástí protokolu:

Vlnová délka maxima spektra BSA, DNA

Tištěný obrázek se spektry koncentrovaných roztoků standardů BSA a DNA

Tištěný obrázek se spektrem analyzovaného vzorku

Tabulka naměřených hodnot z bodu 5 a 8

Grafický výnos korigovaných absorbancí proti koncentraci pro BSA a DNA při dvou vlnových délkách, přímky proloženy metodou nejmenších čtverců

Výpočet čtyř absorpčních koeficientů (pro BSA a DNA pro dvě vlnové délky)

Výpočet koncentrace BSA a DNA v analyzovaném vzorku

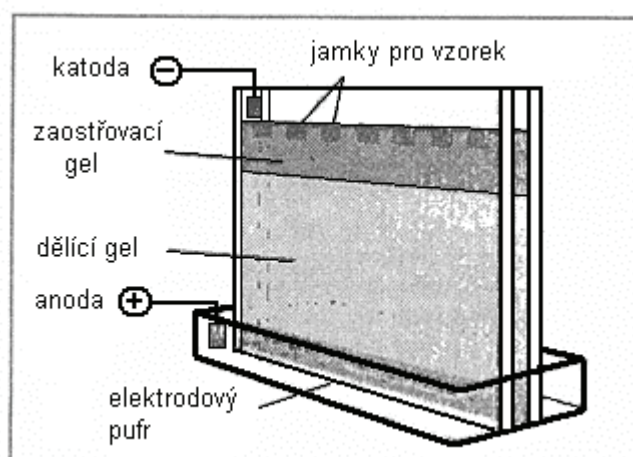
Diskuse výsledků

3. STANOVENÍ MOLEKULOVÉ HMOTNOSTI BÍLKOVIN ELEKTROFORÉZOU V POLYAKRYLAMIDOVÉM GELU V PŘÍTOMNOSTI DODECYLSÍRANU SODNÉHO

Při elektroforéze se bílkoviny dělí podle náboje a velikosti svých molekul. Aniontový detergent dodecylsírán sodný (SDS) se váže na povrch proteinů, čímž je denaturuje a proteiny získávají podobný tvar a hustotu náboje. Pomocí SDS-PAGE (polyacrylamid gel electrophoresis) lze určit molekulovou hmotnost bílkovin srovnáním se standardy o známých molekulových hmotnostech (tzv. markery). Přidá-li se ke vzorku bílkovin merkaptoethanol (dithiotreitol), který redukuje disulfidové vazby, je možno stanovit molekulovou hmotnost jednotlivých polypeptidových řetězců. Detekci separovaných bílkovin provedeme v této úloze pomocí barvicího roztoku Coomassie Blue R-250.

Vášim úkolem je stanovit molekulové hmotnosti neznámých proteinů ve vzorcích A, B, C a D ve srovnání se známými molekulovými hmotnostmi standardů a následně podle přiložené tabulky určit o jakou bílkovinu se v jednotlivých vzorcích jedná.

Nákres aparatury pro diskontinuální polyakrylamidovou elektroforézu



Materiál a chemikálie:

aparatura pro diskontinuální elektroforézu (např. Mini Protean III, Bio-Rad)

automatické pipety

roztoky pro přípravu dělicího a zaostřovacího gelu:

30% směs akrylamidu a bisakrylamidu (29:1, Sigma)

1,5 M Tris-HCl pufr, pH 8,8

0,5 M Tris-HCl pufr, pH 6,8

10% roztok SDS

10% roztok peroxodisíranu amonného (APS)

TEMED (N,N,N',N'-tetramethyldiamin)

vzorky A, B, C a D s neznámými bílkovinami v redukujícím vzorkovém pufru

standardy molekulových hmotností (Bio-Rad broad range a Prestained Bio-Rad low)

elektrodový pufr: 0,025 M Tris, 0,192 M glycin, 0,1% SDS

roztok na barvení gelu: 0,25% Coomassie Brilliant Blue R-250, 45% methanol, 10% kys. octová

roztok na odbarvení gelu: 50% methanol, 10% kys. octová

Pracovní postup:**Sestavení aparatury**

Velké i malé sklo si důkladně umyjte jarem, opláchněte destilovanou vodou a ethanolem a otřete buničinou. Menší sklo položte na větší tak, aby mezi skly vznikla mezera, takto připravená skla vložte do stojánku, upevněte a vložte do nástavce na nalévání gelů.

Příprava polyakrylamidových gelů

Dělicí gel: podle návodu si napipetujte příslušné roztoky na přípravu 12% gelu do Erlenmeyerovy baňky (25 ml). Směs připravujte podle pořadí uvedeného v tabulce a důkladně promíchejte, s roztoky obsahujícími akrylamid pracujte opatrně. **POZOR: akrylamid je neurotoxin! Pracujte v rukavicích a roztoky v žádném případě nepipetujte ústy.** Připravenou směs napipetujte mezi skla asi 1,5-2 cm pod okraj kratšího skla a převrstvěte destilovanou vodou. Pracujte rychle, po přidání APS a TEMEDu směs začíná polymerovat. Nalitý gel zpolymeruje během 20-30 min. Vytvoří se ostré rozhraní mezi gelem a vodou. Po skončení polymerace destilovanou vodu slijte a zbytky vody odsajte proužkem filtračního papíru.

Zaostřovací gel: podle návodu si napipetujte příslušné roztoky na přípravu zaostřovacího 5% gelu do Erlenmeyerovy baňky (25 ml) a důkladně promíchejte. Směs nalijte na vysušený dělicí gel a vložte mezi skla zelenou šablonu s 10 jamkami (tzv. hřebínek), pozor na bubliny. Zaostřovací gel polymeruje asi 15 min. Po skončení polymerace vyndejte hřebínek a vytvořené jamky propláchněte elektrodovým puřem, který nechte v jamkách.

A1. Složka	dělicí 12% gel objem (ml)	zaostřovací 5% gel objem (ml)
Destilovaná voda	1,6	1,4
30 % akrylamidová směs	2,0	0,33
1,5 M Tris - HCl (pH 8,8)	1,3	0,25
10 % SDS	0,05	0,02
10 % APS	0,05	0,02
TEMED	0,002	0,002

Aplikace vzorků

Nejprve si připravené gely ve sklech vyndejte ze stojánků, sestavte elektroforetickou aparaturu a vanu naplňte elektrodovým puřem. Připravené vzorky (10 μ l) a standardy molekulových hmotností (5 μ l) nanášejte do jednotlivých jameček v gelu pomocí Hamiltonovy pipety (důkladně promývat mezi jednotlivými vzorky v destilované vodě, na konci alespoň 5x ethanolem) nebo tenkých plastových špiček (jednorázové).

**Vlastní elektroforetické dělení**

Elektrodovou nádobu s gely, nanesenými vzorky a elektrodovým puřem uzavřete víkem tak, aby anoda na elektroforetické aparatuře (označena červeně) byla spojena s červeně označeným výstupem ze zdroje.

Na zdroji nastavte konstantní napětí 180V a nechte elektroforézu běžet tak dlouho, až čelo tvořené bromfenolovou modří dosáhne téměř na úroveň dolního okraje skel (cca 50 min), během této doby můžete sledovat jak se dělí bílkoviny předbarveného markeru. Po skončení elektroforetického dělení vypněte zdroj napětí. Teprve potom sundejte víko, vylijte pufr a vyndejte aparaturu z nádoby.

Barvení gelu

Vyjměte skla z aparatury a oddělte je opatrně od sebe. Gel přemístěte do připravené Petriho misky s barvicím roztokem. Nechte barvit 20 min. Po obarvení gelu barvicí roztok slijte a gel začněte odbarvovat odbarvovacím roztokem (minimálně 3x 10 min). Po odbarvení gelu získáte rozdělené bílkoviny obarvené modře.

Vyhodnocení:

Stanovte, jaký protein se vyskytuje v neznámých vzorcích A, B, C a D. K dispozici máte molekulové hmotnosti jednotlivých neznámých proteinů a molekulové hmotnosti bílkovinných standardů.

Molekulové hmotnosti standardů:

Bio-Rad Prestained low marker (kDa)

114

Bio-Rad broad marker (kDa)

200

MODUL FÁZOVÉ ROVNOVÁHY

1) LIMITNÍ AKTIVITNÍ KOEFICIENTY V SYSTÉMU ETHYLACETÁT + VODA

Zadání úkolu

Úkolem této laboratorní práce je pro binární systém ethylacetát + voda experimentálně stanovit limitní aktivitní koeficienty γ_i^∞ obou složek při zadané teplotě a s využitím dvoukonstantových modelů pro dodatkovou Gibbsovu energii G^E vypočítat izotermní rovnováhu kapalina – pára v celém koncentračním intervalu. Ke stanovení limitních aktivitních koeficientů budou použity dvě metody: saturační metoda a metoda komparativní ebulliometrie. Každá bude aplikována pro ten kraj koncentračního intervalu, kde příslušný systém rozpuštěná složka - rozpouštědlo odpovídá svými vlastnostmi oblasti použitelnosti konkrétní metody. Pokud nebude možné stanovit limitní aktivitní koeficient při zadané teplotě, bude nutno jeho hodnotu na příslušnou teplotu přepočítat.

Pro výběr vhodné experimentální techniky použijte následující odhady parametrů binární směsi ethylacetát (1) + voda (2):

Teplota [°C]	P_1^s [kPa]	P_2^s [kPa]	γ_1^∞	γ_2^∞
40	25	7,4	80	11,5
50	38	12,3	86	10,5
60	56	20	89	9,9

Pro odhad parametrů experimentu saturační metodou využijete následující vztah pro výpočet γ_1^∞

$$\gamma_1^\infty = \left(n_2 RT / P_1^s D \right) (-d \ln A_1 / dt) \quad (1)$$

S jeho pomocí vyberete vhodnou velikost rovnovážné cely (možný je objem kapaliny 12, 35 nebo 160 cm³) a vhodný průtok inertního plynu celou D (z intervalu 5 – 20 cm³/min) tak, aby směrnice závislosti $d \ln A_1 / dt$ měla absolutní hodnotu cca 0,008 až 0,01. Ze směrnice určíte i dobu trvání experimentu tak, aby během ní koncentrace rozpuštěné složky poklesla přibližně o 1 řád.

Pro metodu komparativní ebulliometrie je důležité, aby koncentrace rozpuštěné složky po posledním, 6. přidavku nepřekročila cca 2 mol%. Obvykle se před experimentem určuje přibližný objem jednoho přidavku rozpuštěné složky (1) pro objem náplně ebulliometru přibližně 45 cm³. U zadaného systému je situace trochu jiná. Závislost teploty varu směsi na jejím složení je silně nelineární. Přidavky rozpuštěné složky musí být tedy co nejmenší, ale ještě významné s dostatečně malou relativní chybou, tj. minimální hmotnost 0,1 g. Vypočtete si objem přidávané složky, aby jeho hmotnost činila cca 0,1 g.

(Pozn. V současné době umožňuje naše aparatura pro stanovení limitních aktivitních koeficientů metodou komparativní ebulliometrie pouze měření za atmosférického tlaku. Teplota měření tedy bude dána bodem varu rozpouštědla při aktuálním atmosférickém tlaku. Rozmyslete si, jaké údaje budou třeba pro přepočet hodnoty γ_1^∞ z teploty experimentu na zadanou teplotu. Pokud se podaří opravit závadu, bude možno měřit i při nižších tlacích, tj. při teplotách nižších než je normální bod varu použitého rozpouštědla.)

Z primárních experimentálních dat připravíte podle vzoru vstupní soubory pro fortranské programy STRIPP a COMPEBUL. Další nutný vstupní soubor s vlastnostmi čistých látek a dalšími parametry je k dispozici.

Hodnoty limitních aktivitních koeficientů pro oba konce koncentračního intervalu při zadané teplotě využijete pro výpočet RKP v celém koncentračním rozsahu s využitím dvoukonstantových rovnic pro G^E . Zde se Vaší fantazii nekladou žádné meze ☺. Nicméně spočtete a graficky znázorníte následující závislosti: $\ln \gamma_1$ (resp. $\ln \gamma_2$) = f (x_1), G^E = f (x_1), G^M = f (x_1), $x - y$ diagram, p = f (x_1), $p - x - y$ diagram.

Z hodnoty limitního aktivitního koeficientu ethylacetátu ve vodě dále určíte hodnotu Henryho konstanty K_H ethylacetátu ve vodě

$$K_H = \gamma_1^\infty P_1^s$$

a také rozdělovací koeficient voda – vzduch K_{AW}

$$K_{AW} = \frac{c_A}{c_W} = \frac{\gamma_1^\infty P_1^s v_2^L}{RT},$$

kde c_A a c_W jsou molární koncentrace sledované složky v parní, resp. kapalně fázi, a v_2^L je molární objem rozpouštědla.

Obě tyto veličiny se s oblibou používají v oboru ochrany životního prostředí, tedy v tzv. environmentálních oborech.

Pro ev. přepočet hodnoty limitního aktivitního koeficientu na jinou teplotu aplikujete známou ☺ Gibbsovu – Helmholtzovu rovnici.

Saturační metoda

Saturační metoda, v anglosaské literatuře nazývaná “inert gas stripping method - IGS“, byla navržena pro stanovení limitních aktivitních koeficientů v systémech těkavá rozpuštěná složka(1) + netěkavé rozpouštědlo(2). Základní myšlenka je jednoduchá: vysoce zředěný binární roztok ($x_1 < 1 \cdot 10^{-3}$) je umístěn v termostatované míchané rovnovážné cele, do které je zaveden proud inertního plynu o konstantním průtoku. Tento plyn probublává roztokem a přitom se sytí parami složek roztoku. Nasycený plyn opouštějící rovnovážnou celu je periodicky nastříkovan termostatovanou dávkovací smyčkou do plynového chromatografu k analýze. Pro netěkavá rozpouštědla a lineární odezvu detektoru je časová závislost plochy píku rozpuštěné složky A_1 exponenciální. Je třeba určit látkové množství rozpouštědla n_2 , teplotu T , celkový tlak P a průtok inertního plynu na vstupu do cely D . Za předpokladu netěkavého rozpouštědla, ideálního chování parní fáze a (ve srovnání s celkovým tlakem) nízkého parciálního tlaku rozpuštěné složky nad roztokem byl pro limitní aktivitní koeficient odvozen vztah

$$\gamma_1^\infty = (n_2 RT / P_1^s D) (-d \ln A_1 / dt) \quad (1)$$

Předpoklady uvažované při odvození rovnice (1) jsou v praxi často splněny, takže vztah (1) poskytuje vesměs velmi dobré výsledky a je používán řadou autorů.

Saturační metoda je určena pro stanovení složek, vykazujících vyšší hodnotu Henryho konstanty ($10 \text{ kPa} < H_{12} (= \gamma_1^\infty \cdot P_1^0) < 10^5 \text{ kPa}$), v roztoku s netěkavým rozpouštědlem. Výhodou metody je přesnost, která dosahuje 1-2 % , poměrně široký obor použitelnosti a v neposlední řadě i snadná automatizace.

Pro systémy s těkavějším rozpouštědlem, jehož množství v cele se během experimentu významněji mění, byl odvozen modifikovaný vztah pro výpočet γ_1^∞ . Výhodnější ale je udržovat konstantní množství rozpouštědla v rovnovážné cele sycením stripovacího plynu parami rozpouštědla ještě před vstupem do cely. Změna průtoku stripovacího plynu způsobená jeho nasycením parami rozpouštědla se zohlední ve vztahu pro výpočet limitního aktivitního koeficientu, který pak nabývá tvaru

$$\gamma_1^\infty = (n_2 RT / P_1^s D) (-d \ln A_1 / dt) (1 - P_2^s / P). \quad (2)$$

Při výpočtu limitního aktivitního koeficientu z experimentálních dat poskytuje vztah (1), popř. (2), většinou dobré výsledky, ačkoliv oba byly odvozeny za určitých zjednodušujících předpokladů. Za jiných podmínek mohou tato zjednodušení svoji oprávněnost ztratit. Pro tyto situace byly odvozeny dokonalejší vztahy, které nevyžadují uvedené předpoklady.

Ke zviditelnění vlivu poruch v jednotlivých předpokladech na hodnotu vypočteného limitního aktivitního koeficientu a k přesnějšímu určení γ_1^∞ byla v naší laboratoři zvolena jiná cesta. Z poruchové formule byla určena tzv. *druhá aproximace* limitního aktivitního koeficientu $\gamma_1^{\infty,II}$, která je vyjádřena pomocí *první aproximace* $\gamma_1^{\infty,I}$ (určené ze vztahu (1)) a opravných koeficientů k_1 až k_4

$$\gamma_1^{\infty,II} = \gamma_1^{\infty,I} \cdot \prod_{i=1}^4 k_i. \quad (3)$$

Opravné koeficienty vyjadřují vliv:

- ♦ změny průtoku stripovacího plynu (způsobené jeho nasycením parami roztoku) (k_1)
- ♦ změny látkového množství rozpouštědla (způsobené jeho těkavostí) (k_2)
- ♦ parního prostoru cely (k_3)
- ♦ neideálního chování parní fáze (k_4).

Opravné koeficienty

Změna průtoku stripovacího plynu způsobená jeho nasycením

Průtok stripovacího plynu na výstupu z cely, tj. nasyceného parami roztoku (D') je vyšší než průtok čistého stripovacího plynu (D):

- v případě, že stripovací plyn *není* předsycován parami rozpouštědla, je hodnota první aproximace limitního aktivitního koeficientu $\gamma_1^{\infty,I}$ počítána podle vztahu (1), a pro opravný koeficient k_1 byl odvozen vztah

$$k_1 = D/D' = 1 - (\bar{n}_1/n_2) \gamma_1^{\infty,I} \cdot P_1^s/P - P_2^s/P, \quad (4)$$

- pokud stripovací plyn *je* předsycován parami rozpouštědla, platí pro první aproximaci limitního aktivitního koeficientu rov. (2). Pro opravný koeficient k_1 pak byla odvozena rovnice

$$k_1 = D/D' = \left(1 - (\bar{n}_1/n_2) \gamma_1^{\infty,I} \cdot P_1^s/P - P_2^s/P\right) / \left(1 - P_2^s/P\right). \quad (5)$$

Změna látkového množství rozpouštědla způsobená jeho těkavostí

Pro opravný koeficient k_2 byl odvozen vztah

$$k_2 = 1 - (P_2^s Dt) / (2RTn_2^0) \quad (6)$$

Pokud je stripovací plyn předsycován parami rozpouštědla, opravný koeficient k_2 je roven jedné.

Vliv parního prostoru rovnovážné cely

Parní prostor rovnovážné cely způsobuje, že složení kapalné fáze neodpovídá přesně vztahu

$$x_1 = n_1 / (n_1 + n_2) \cong n_1 / n_2, \quad (7)$$

(kde se navíc uvažuje vysoké zředění roztoku), neboť určité množství složky 1 je obsaženo v parním prostoru cely V . Pro opravný koeficient k_3 byl odvozen vztah

$$k_3 = [1 - (-d \ln A_1 / dt)(V/D)]^{-1} \cong [1 - (\gamma_1^\infty P_1^s V) / (n_2 RT)]^{-1} \quad (8)$$

Vliv neideálního chování parní fáze

Popíše-li se neideální chování parní fáze tlakovým viriálním rozvojem ukončeným po druhém viriálním koeficientu, resultuje pro opravný koeficient k_4 vztah

$$k_4 = [1 + B_{33}P / (RT)] \varepsilon_1^\infty, \quad (9)$$

kde

$$\ln \varepsilon_1^\infty = (P/RT)(2B_{13} - B_{33} - v_1^L) - (P_1^s/RT)(B_{11} - v_1^L) \quad (10)$$

Symbolem B_{ij} jsou označeny druhé viriální koeficienty (index 3 se vztahuje ke stripovacímu plynu) a v_1^L je molární objem kapalné rozpuštěné složky. Podle měřeného systému a aktuálních podmínek může opravný koeficient k_4 nabývat hodnot větších nebo menších než 1.

Popis aparatury

Základem aparatury je skleněná rovnovážná cela (detailní popis viz. níže) připojená k okruhu termostatu Lauda RC 6 CP. Teplota vodní lázně byla měřena přesným rtuťovým teploměrem (Schneider, Wertheim, SRN) s přesností ± 10 mK.

Konstantní, vysoce stabilní průtok stripovacího plynu (N_2) zajišťuje regulátor průtoků, umožňující jeho reprodukovatelné nastavení a monitorování. Přesná absolutní hodnota průtoků plynu je před každým experimentem stanovena temperovaným bublinkovým průtokoměrem o objemu 50 cm^3 . Stripovací plyn o konstantním průtoku je nejprve sušen

silikagelem, dále temperován na teplotu experimentu a poté ve formě malých bublin (průměr menší než 1 mm) zaváděn do roztoku.

Nasycený stripovací plyn opouští celu elektricky vyhřívaným potrubím z nerezové oceli, které je připojeno k dávkovacímu kohoutu. Vyhřívání potrubí zabraňuje kondenzaci par a případnému stékání kondenzátu zpět do cely. Vzorky byly analyzovány plynovým chromatografem HP-5890 II, který je spolu s dávkovacím zařízením podrobně popsán dále ve zvláštním odstavci.

Rovnovážná saturační cela

Základním požadavkem pro konstrukci cely pro saturační metodu je dokonalé sycení stripovacího plynu parami roztoku. Z tohoto důvodu je žádoucí, aby plyn vstupoval do kapaliny rozdělen do několika proudů malých bublin. Při nevelkých průtocích plynu splňuje tuto podmínku poměrně uspokojivě jemná skleněná frit. Dokonalost sycení stripovacího plynu ovlivňuje dále dráha bublin v kapalině, která by měla být co nejdelší. Současně musí být zajištěno intenzivní promíchávání obsahu cely. Vlastní cela má proto tvar válce, jehož výška je přibližně 3× větší než jeho průměr. V dolní části válce je vytvořen prostor pro těleso magnetického míchadla. Do tohoto prostoru a tedy bezprostředně k míchadlu ústí přívodní potrubí stripovacího plynu zakončené fritou.

Cela je opatřena temperačním vodním pláštěm. K plnění cely slouží horní hrdlo, které se uzavírá šroubovým uzávěrem se septem. Nasycený stripovací plyn opouští celu bočním hrdlem. Boční hrdlo je prostřednictvím vytápěného nerezového potrubí připojeno k dávkovacímu zařízení chromatografu (viz. níže), za nímž je zapojen vymrazovák .

Zkušenosti získané z experimentů s prvním provedením cely o objemu 20 cm³ a snaha o rozšíření spektra měřitelných systémů vedly ke konstrukci dalších dvou exemplářů. Tyto cely mají jednak odlišný celkový objem (17, 47, resp. 180 cm³) a navíc jsou vybaveny integrovaným předsaturátorem k předsycování stripovacího plynu parami rozpouštědla. Předsaturátor je tvořen nádobkou o objemu cca 10 cm³ se třemi vrstvami skleněné frity. Další konstrukční detaily těchto cel jsou totožné s první variantou.

Plynový chromatograf s dávkovacím zařízením

K analýze je používán dvoukanálový plynový chromatograf HP-5890 II vybavený plameno-ionizačním detektorem (FID). Vzorek parní fáze je odebírán z proudu nasyceného stripovacího plynu termostatovanou dávkovací smyčkou napojenou na šesticečný kohout. Přesunutím kohoutu do druhé polohy je vzorek transportován nosným plynem chromatografu

ze smyčky do chromatografické kolony. Pro tento účel byl plynový chromatograf HP-5890 II vybaven dvěma šesticestnými, pneumaticky ovládanými kohouty, umístěnými ve společném termostatovaném bloku. Teplota smyček je udržována na hodnotě 140 ± 0.5 °C. V bloku jsou zabudovány celkem dvě různé dávkovací smyčky z nerezové oceli o objemu cca 100 μ l a cca 220 μ l. Odlišné velikosti smyček umožňují zvolit objem nástřiku podle počátečního parciálního tlaku rozpuštěné složky v nasyceném plynu tak, aby bylo dosaženo přiměřené odezvy v rozsahu detektoru. Reprodukovatelnost nástřiků při použití dávkovací smyčky je lepší než 1 % v ploše píku.

Postup měření

Parametry experimentu, tj. množství rozpouštědla (a tím i volba cely dle objemu) a průtok stripovacího plynu jsou vždy voleny podle předem odhadnuté hodnoty Henryho konstanty studovaného binárního systému tak, aby během experimentu (cca 2.5 - 3 hod) poklesl molární zlomek rozpuštěné složky x_1 zhruba o jeden řád.

Čistá suchá cela se naplní příslušným množstvím diferenčně odváženého rozpouštědla. Druhá složka bude odměřena a přidána 50 μ l stříkačkou v takovém množství, aby počáteční koncentrace rozpuštěné látky byla nižší než 0.1 mol%. Poté bude roztok temperován za současného promíchávání magnetickým míchadlem. Mezitím se bublinkovým průtokoměrem přesně změří průtok stripovacího plynu. Připojením přívodního potrubí plynu k cele bude zahájen vlastní experiment. Během experimentu se bude v pravidelných intervalech, jejichž délka závisí na době trvání jedné analýzy, resp. požadované délce experimentu, provádět analýza stripovacího plynu vystupujícího z cely. Celkem bude během experimentu provedeno 18 analýz. Po ukončení stripování znovu změříte průtok stripovacího plynu.

Vyhodnocení experimentu (program STRIPP)

Závislost $\ln A_1$ na čase bude vyhlazena metodou nejmenších čtverců. Z její směrnice a dalších vstupních dat bude ze vztahu (2) vyhodnocena první aproximace limitního aktivního koeficientu $\gamma_1^{\infty, I}$, dále budou s využitím rovnic (5), (6), (8), (9) vypočteny jednotlivé opravné koeficienty k_1 až k_4 , a konečně se ze vztahu (3) určí druhá aproximace $\gamma_1^{\infty, II}$. Druhé viriální koeficienty čistých složek B_{11} , B_{33} a křížový viriální koeficient B_{13} se odhadují metodou Haydena a O'Connella. Molární objem čisté kapaliny v_1^L se počítá modifikovanou Rackettovou rovnicí. Tlaky nasycených par čistých složek se vypočítají Antoineovou rovnicí, jejíž konstanty byly převzaty z databanky fyzikálních vlastností čistých látek CDATA.

Metoda komparativní ebulliometrie

Principem této experimentální techniky je měření bodu varu zředěného roztoku v závislosti na složení roztoku za konstantního tlaku. S výhodou se užívá komparativního uspořádání, kde se měří rozdíl mezi teplotou varu zředěného roztoku v měřicím ebuliometru a bodem varu čistého rozpouštědla v ebuliometru referenčním. Toto uspořádání eliminuje vliv případných tlakových fluktuací.

Za předpokladu ideálního chování parní fáze byl odvozen vztah pro výpočet limitního aktivitního koeficientu

$$\gamma_1^\infty = \frac{P_2^s}{P_1^s} \left[1 - \left(d \ln P_2^s / d T \right) \left(\partial T / \partial x_1 \right)_P^\infty \right]. \quad (11)$$

Problémovým místem metody je změna složení rovnovážné kapaliny oproti celkovému složení náplně ebuliometru, která je způsobena zadržení části obsahu ebuliometru v parní fázi. Jak ukázala podrobná analýza, oblast použitelnosti metody komparativní ebulliometrie je omezena na systémy s limitní relativní těkavostí α_{12}^∞ z intervalu 0.1 - 10. Optimální oblast je ($0.2 < \alpha_{12}^\infty < 5$), kde metoda poskytuje výsledky s přesností přibližně 1%.

Pro metodu komparativní ebulliometrie byla v naší laboratoři zkonstruována aparatura, která je s úspěchem používána již řadu let.

Popis aparatury

Oba ebulimetry jsou vyhřívány odporovým drátem. Zpětné chladiče ebulimetrů jsou napojeny na kryostat LAUDA WKL600. Ebulimetry jsou přes 10l zásobníky připojeny k pneumatickému systému (nyní, jaro 2006 mimo provoz), který se skládá ze dvou stupňů a je řízen přesným tlakoměrem Texas Instruments Model 145 a regulátorem. Teplota je měřena křemenným teploměrem Hewlett-Packard 2801A, který umožňuje přímo odečítat rozdíl teplot mezi ebulimetry. Průběh teploty je graficky znázorněn na monitoru osobního počítače.

Postup měření

Ebulimetry se propláchnou dusíkem, Měrný ebulimetr se naplní diferenčně odváženým množstvím rozpouštědla, zhruba stejné množství se bez vážení vloží do referenčního ebuliometru. Po nastavení žádaného tlaku v aparatuře se zahájí ohřev. Po dosažení ustáleného stavu, což signalizují konstantní hodnoty teplot se odečte rozdíl teplot mezi oběma ebulimetry. Diferenčně váženou stříkačkou se do měrného ebuliometru vpraví malé množství rozpuštěné složky. Po ustálení stavu a odečtu teploty se postup opakuje.

Vyhodnocení experimentu (program COMPEBUL, resp. EBUHIGH)

Závislost ΔT na celkovém složení náplně ebulliometru se koreluje následujícími rovnicemi

$$\Delta T = A_1 x_1^0 \quad (12)$$

$$\Delta T = A_1 x_1^0 + A_2 (x_1^0)^2 \quad (13)$$

$$\Delta T = A_1 x_1^0 + A_2 (x_1^0)^2 + A_3 (x_1^0)^3, \quad (14)$$

jejichž konstanty budou určeny metodou nejmenších čtverců. Výběr rovnice je prováděn na základě F-testu. Pro limitní směrnici platí

$$\left(\partial T / \partial x_1^0 \right)_p^\infty = A_1 \quad (15)$$

Limitní aktivitní koeficienty budou určeny vztahem

$$\gamma_1^\infty = \frac{\varepsilon_1^\infty P_2^\infty}{P_1^\infty} \cdot \frac{f + 1 - \beta \left(\partial T / \partial x_1^0 \right)_p^\infty (1 - N_V + N_L f)}{f + 1 + \beta \left(\partial T / \partial x_1^0 \right)_p^\infty (f + N_V - N_L f)}, \quad (16)$$

kde

$$\varepsilon_1^\infty = \exp \frac{(B_{11} - v_1^L)(P_2^\infty - P_1^\infty) + (2B_{12} - B_{11} - B_{22})P_2^\infty}{RT} \quad (17)$$

je korekce na neideální chování perní fáze, P_1^∞ a P_2^∞ jsou tlaky nasycených par čistých složek, f je distribuční poměr, N_V a N_L jsou relativní zádrž páry a kapaliny. Pro β platí vztah

$$\beta = \left(1 + P_2^\infty (B_{22} - v_2^L) / RT \right) \left(\partial P_2^\infty / \partial T \right) \quad (18)$$

Pokud studovaný systém vykazuje vyšší hodnotu relativní těkavosti α_{12}^∞ , tj. cca 3 – 5, je dobré primární experimentální data zpracovat programem EBUHIGH, který přesněji zohledňuje změny lokální koncentrace v ebulliometru. Vypočtená hodnota limitního aktivitního koeficientu je pak pravděpodobně správnější.

Měření vzájemné rozpustnosti kapalin objemovou metodou

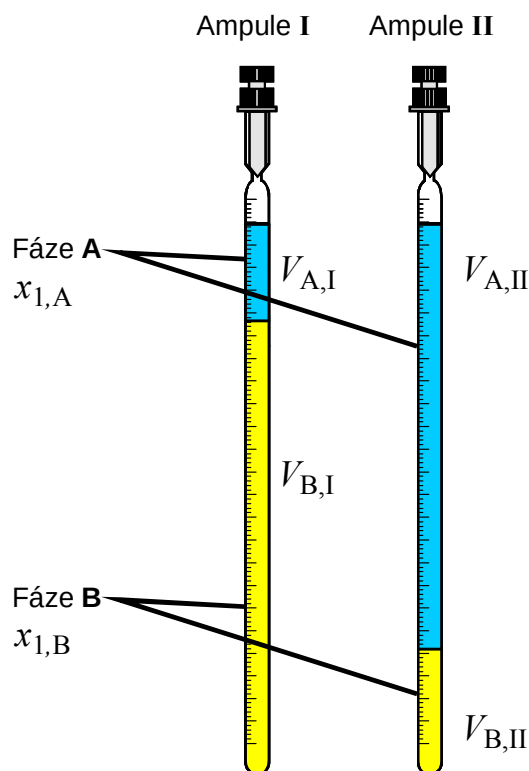
Úvod

V řadě odvětví chemického a farmaceutického průmyslu je snaha nahrazovat některá těkavá rozpouštědla za ekologicky přijatelnější náhrady. Pro tento účel se v současné době zkoumají nové preparáty např. tzv. iontové kapaliny. Pro eventuální aplikaci nových rozpouštědel v průmyslu je nezbytná znalost jejich chování ve směsi s jinými látkami. Základní informace (např. pro odhadové metody aktivitních koeficientů) se získávají z experimentálních dat binárních systémů rozpouštědlo – rozpouštěná látka.

Teoretická část

Výpočet složení rovnovážných fází a odhad jejich směrodatných odchylek

Principem objemové metody je měření objemů rovnovážných kapalných fází u dvousložkového systému minimálně ve dvou experimentech prováděných za stejné teploty. (Tyto objemy budou v následujícím textu označovány symboly $V_{A,I}$, $V_{A,II}$, $V_{B,I}$, $V_{B,II}$ - viz obr. 1) Na základě látkové bilance dvou složek rozdělených mezi dvě rovnovážné kapalně fáze (označované A, B) ve dvou měřicích ampulích (označovaných I a II) byly odvozeny rovnice pro výpočet rovnovážných složení (viz např. [1]). Pro molární zlomky složky 1 ve fázi A a B platí



Obr.1 Značení veličin

$$x_{1,A} = z_{1,I} + (z_{1,II} - z_{1,I}) \frac{V_{B,I}}{V_{B,I} - \alpha V_{B,II}} \quad (1)$$

$$x_{1,B} = z_{1,II} + (z_{1,I} - z_{1,II}) \frac{V_{A,II}}{V_{A,II} - \frac{1}{\alpha} V_{A,I}} \quad (2)$$

kde $z_{1,I}$ a $z_{1,II}$ jsou globální molární zlomky složky 1 v první, resp. druhé ampuli

$$z_{1,I} = \frac{n_{1,I}}{n_{1,I} + n_{2,I}} \quad (3)$$

$$z_{1,II} = \frac{n_{1,II}}{n_{1,II} + n_{2,II}} \quad (4)$$

a α značí poměr celkového látkového množství v první a druhé ampuli

$$\alpha = \frac{n_I}{n_{II}} = \frac{n_{1,I} + n_{2,I}}{n_{1,II} + n_{2,II}} \quad (5)$$

Jestliže vážení složek do ampulí je prováděno na analytických vahách s přesností větší než ± 0.0004 g, má na pro odhad chyby měření výsledného složení $x_{1,A}$ a $x_{1,B}$ zásadní vliv přesnost určování objemů $V_{A,I}$ a $V_{A,II}$, resp. $V_{B,I}$ a $V_{B,II}$. Podle zákona šíření chyb byly odvozeny vztahy pro směrodatné odchylky $\sigma(x_{1,A})$ a $\sigma(x_{1,B})$ [1]

$$\sigma(x_{1,A}) = |z_{1,II} - z_{1,I}| \sigma(V) \alpha \frac{\sqrt{V_{B,I}^2 + V_{B,II}^2}}{(V_{B,I} - \alpha V_{B,II})^2} \quad (6)$$

$$\sigma(x_{1,B}) = |z_{1,I} - z_{1,II}| \sigma(V) \alpha \frac{\sqrt{V_{A,I}^2 + V_{A,II}^2}}{(\alpha V_{A,II} - V_{A,I})^2} \quad (7)$$

kde $\sigma(V)$ směrodatná odchylka objemu rovnovážné fáze (jedná se o nejvyšší hodnotu ze směrodatných odchylek $\sigma(V_{A,I})$, $\sigma(V_{A,II})$, $\sigma(V_{B,I})$ a $\sigma(V_{B,II})$).

Jestliže za složku 1 zvolíme tu složku, která má větší molární objem, a fázi s vyšším obsahem složky 1 označíme „A“, pak lze pro malou vzájemnou rozpustnost odvodit vztah

$$\frac{\sigma(x_{1,A})}{\sigma(x_{1,B})} = \frac{1}{\alpha^2} = \left(\frac{M_2}{M_1} \right)^2 \quad (8)$$

Z tohoto vztahu vyplývá, že metoda může poskytovat dobré výsledky při měření rozpustnosti látek s velkou molární hmotností v kapalinách s malou molární hmotností (např. při měření rozpustnosti organických látek ve vodě). V práci [1] bylo prokázáno, že v uvedeném případě je

metoda použitelná i pro poměrně malé koncentrace a že pro opačnou variantu, tj. pro určování rozpustnosti látky s malou molární hmotností, přesnost metody není zcela ideální zejména při malých koncentracích.

Příklad:

Komponenta 2 je voda, tzn. $M_2 = 18 \text{ g mol}^{-1}$, a komponenta 1 je látka velmi málo mísitelná s vodou, pro kterou zvolíme molekulovou hmotnost $M_1 = 180 \text{ g mol}^{-1}$. Ze vztahu (8) je pak evidentní, že platí

$$\frac{\sigma(x_{1,A})}{\sigma(x_{1,B})} = \left(\frac{18}{180} \right)^2 = 0.01, \text{ resp. } \sigma(x_{1,A}) = 0.01 \sigma(x_{1,B}) \quad (9)$$

Pro uvedený příklad je tudíž nejistota určení rozpustnosti komponenty 1 ve vodě (komponentě 2) stokrát menší než nejistota určení rozpustnosti vody v látce 2. Stanovení obsahu vody lze však v mnoha látkách provést Karl-Fischerovou titrací.

Plán experimentu a předběžný odhad chyby měření

V následujících odstavcích je naznačen postup, jakým je možno pro nějaký konkrétní binární systém a konkrétní experimentální zařízení hodnoty $\sigma(x_{1,A})$ a $\sigma(x_{1,B})$ odhadnout ještě před experimentem.

Číselné hodnoty směrodatných odchylek lze vypočítat ze vztahů (6) a (7), ve kterých kromě objemů rovnovážných fází implicitně vystupují molární hmotnosti obou komponent i složení konjugovaných fází $x_{1,A}$ a $x_{1,B}$.

Předpokládejme, že omezeně mísitelný systém tvoří dvě kapaliny charakterizované molárními hmotnostmi M_1 , M_2 a hustotami ρ_1 a ρ_2 . U tohoto systému odhadneme (nebo následně zjistíme experimentálně) vzájemnou rozpustnost, tj. hodnoty $x_{1,A}$ a $x_{1,B}$. Dále máme k dispozici konkrétní experimentální zařízení, jehož základem jsou dvě ampule (o celkových objemech V_I a V_{II}) s kalibrovanou objemovou stupnicí. Zvolíme hodnoty $V_{A,I}$, $V_{B,I}$, $V_{A,II}$ a $V_{B,II}$ tak, aby platilo $V_{A,I} + V_{B,I} = V_I$ a $V_{A,II} + V_{B,II} = V_{II}$. Přitom je výhodné zachovávat co největší

rozdíly $|V_{A,I} - V_{A,II}|$ a $|V_{B,I} - V_{B,II}|$. V dalším kroku pomocí Amagatova zákona odhadneme molární objemy fází A a B

$$V_{m,A} = x_{1,A} \frac{M_1}{\rho_1} + (1 - x_{1,A}) \frac{M_2}{\rho_2} \quad (10)$$

$$V_{m,B} = x_{1,B} \frac{M_1}{\rho_1} + (1 - x_{1,B}) \frac{M_2}{\rho_2} \quad (11)$$

které využijeme k určení látkových množství komponent v obou ampulích

$$n_{1,I} = \frac{V_{A,I}}{V_{m,A}} x_{1,A} + \frac{V_{B,I}}{V_{m,B}} x_{1,B} \quad n_{2,I} = \frac{V_{A,I}}{V_{m,A}} (1 - x_{1,A}) + \frac{V_{B,I}}{V_{m,B}} (1 - x_{1,B}) \quad (12)$$

$$n_{1,II} = \frac{V_{A,II}}{V_{m,A}} x_{1,A} + \frac{V_{B,II}}{V_{m,B}} x_{1,B} \quad n_{2,II} = \frac{V_{A,II}}{V_{m,A}} (1 - x_{1,A}) + \frac{V_{B,II}}{V_{m,B}} (1 - x_{1,B}) \quad (13)$$

Pomocí vypočtených látkových množství můžeme určit hmotnosti komponent, které je třeba navážít do ampulí (např. $m_{1,I} = n_{1,I} M_1$), hodnotu α (viz rovnice (5)), a globální molární zlomky $z_{1,I}$ a $z_{1,II}$ (viz rovnice (3) a (4)).

Poslední veličina, která je nutná pro výpočet směrodatných odchylek směrodatná odchylka objemu $\sigma(V)$. Za tuto veličinu byla dosazena nejvyšší zjištěná hodnota ze směrodatných odchylek $\sigma(V_{A,I})$, $\sigma(V_{A,II})$, $\sigma(V_{B,I})$ a $\sigma(V_{B,II})$, které byly určeny statistickým postupem uvedeným v práci [1]. Bylo zjištěno, že všechny čtyři směrodatné odchylky objemů jsou téměř srovnatelné a že pro naše experimentální zařízení a postup je možno uvažovat hodnotu $\sigma(V) = 0.01 \text{ cm}^3$.

Pro konečný výpočet odhadů směrodatných odchylek $\sigma(x_{1,A})$ a $\sigma(x_{1,B})$ je možno použít rovnice (6) a (7), nebo vztahy

$$\sigma(x_{1,A}) = (x_{1,B} - x_{1,A}) \frac{V_{m,A}}{V_{m,B}} \frac{\sigma(V) \sqrt{V_{B,I}^2 + V_{B,II}^2}}{|V_{B,I} V_{A,II} - V_{B,II} V_{A,I}|} \quad (14)$$

$$\sigma(x_{1,B}) = (x_{1,B} - x_{1,A}) \frac{V_{m,B}}{V_{m,A}} \frac{\sigma(V) \sqrt{V_{A,I}^2 + V_{A,II}^2}}{|V_{B,I} V_{A,II} - V_{B,II} V_{A,I}|} \quad (15)$$

které je lze odvodit kombinací rovnic (6), (7) a (10)–(13).

Příklad použití pro dva systémy je uveden v dodatku 1.

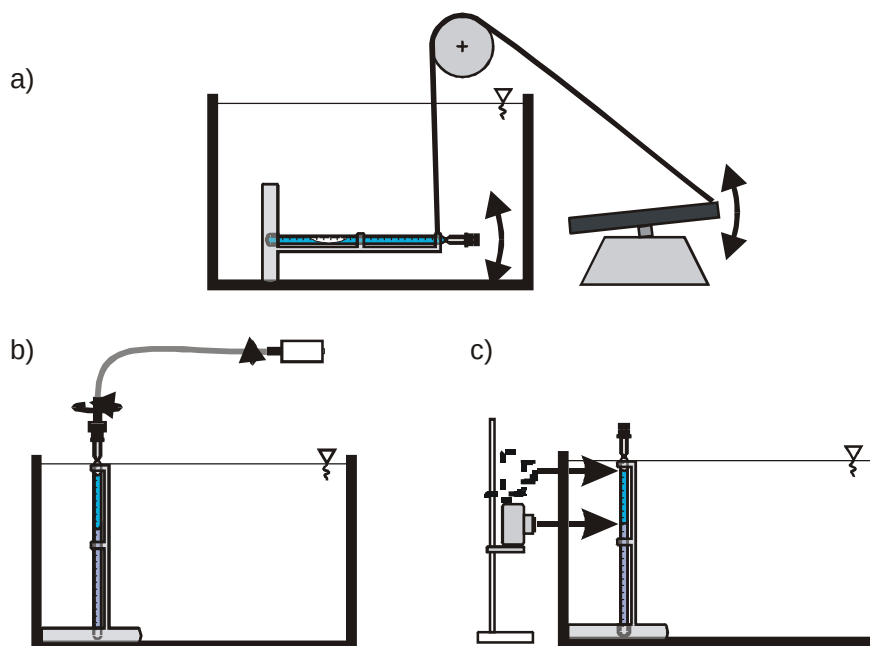
Experimentální část

Aparatura

Pro měření LLE objemovou metodou budou použity skleněné ampule vyrobené z trubic přesných byret opatřených objemovou stupnicí s rozlišením $0,1 \text{ cm}^3$. Ampule jsou uzavírány teflonovými uzávěry zapadajícími do úzkého konického hrdla. Před vlastním měřením objemů bude provedena pečlivá kalibrace každé ampule, která spočívá v určení případné korekce objemové stupnice a ve stanovení mrtvého prostoru u dna ampule. Postup kalibrace je popsán v Dodatku 1.

Vlastní měření LLE v binárním systému je prováděno pomocí aparatury, která se skládala z průhledné vodní lázně o objemu 40 l temperované ponorným termostatem Lauda E 300. V lázni je umístěn stojan čtyř ampulí, který je konstruován tak, aby umožňoval periodické naklánění ampulí ve vodorovné poloze, fixaci ampulí ve svislé poloze a případnou rotaci ampulí kolem podélné osy. Schématický nákres aparatury je uveden na obr. 2.

Pro měření LLE v daném binárním systému se do dvou ampulí vážením čistých komponent připraví heterogenní systémy s odlišným poměrem objemů kapalných fází. Obvykle se systémy připravují tak, že poměry objemů fází při 20°C byly přibližně 1 : 4 v první a 4 : 1 v druhé ampuli. Ampule se pak v pomocné lázni s vyšší teplotou než byla teplota měření určitou dobu promíchávají periodickým nakláněním. K promíchávání obsahu přispívá malá vzduchová bublina, která putuje od vrchu ampule ke dnu a naopak. Ampule se pak uchytí do speciálního stojanu a umístí do temperované ($\pm 0.05 \text{ K}$) vodní lázně. Stojan i s ampulemi se po určitou dobu opět periodicky naklání a obsah ampulí se promíchává (viz obr. 2a). Jelikož teplota lázně je nižší než teplota v pomocné lázni, ve které byly ampule před tím, nedochází k rozpouštění jedné komponenty v druhé, ale k procesu opačnému. Po určité době se stojan s ampulemi postaví do svislé polohy. Ampule se ručně, nebo pomocí flexibilního převodu rotační míchačky několikrát nechají otočit kolem svislé osy (viz obr. 2b), čímž je docíleno lepší separace fází a odtržení kapiček od stěn ampule. Pak se ampule ponechají dostatečně dlouhou dobu v klidu, během které dojde k rozvrstvení kapalných fází na dvě kontinuální vrstvy.



Obr.2 Schématický nákres aparatury pro měření vzájemné rozpustnosti kapalin objemovou metodou

Základem objemové metody je co nejpřesnější měření objemů rovnovážných kapalných fází. Pro přesné určení těchto objemů je v této práci bráno v úvahu i zakřivení mezifázových rozhraní. Detailnější postup vyhodnocování objemů je uveden v Dodatku 2. Stručněji lze postup popsat následovně.

Mezifázová rozhraní se nejprve fotografují digitálním fotoaparátem (viz obr. 2c). Obraz každého rozhraní se v počítači analyzuje pomocí grafického editoru. Objemová stupnice ampulí je dělena po $0,1 \text{ cm}^3$. Digitální obraz zobrazený na monitoru je asi 20x větší než ve skutečnosti, což umožňuje dodatečné softwarové zjemnění této stupnice až na $0,005 \text{ cm}^3$. Toto zvětšení tudíž umožňuje přesnější odečtení potřebné pozice mezifázových rozhraní na objemové stupnici ampule. Grafická analýza rovněž spočívá v tom, že průmět tvaru mezifázového rozhraní se aproximuje elipsou (resp. částí elipsy). Za pomoci odečtených rozměrů elipsy se pak vyhodnotí objem příslušné části rotačního elipsoidu, který se použije pro výpočet objemu kapaliny pod zakřiveným rozhraním. Z těchto údajů a z kalibračních dat se vypočtou absolutní objemy obou kapalných fází ve dvou ampulích, které jsou potřebné pro výpočet molárních zlomků $x_{1,A}$ a $x_{1,B}$.

Postup práce

1. Vyhledáme data pro čisté látky (molární hmotnosti, hustoty) a pro daný binární systém odhadneme vzájemnou mísitelnost (tzn. hodnoty $x_{1,A}$ a $x_{1,B}$). Pro objemy kapalných fází použijeme hodnoty $V_{A,I} = 17 \text{ cm}^3$, $V_{B,I} = 3 \text{ cm}^3$, $V_{A,II} = 3 \text{ cm}^3$ a $V_{B,II} = 17 \text{ cm}^3$ a $\sigma(V) = 0.01 \text{ cm}^3$. Z rovnic (12) a (13) vypočteme látková množství obou složek, která bude nutno navážít do ampulí, a z rovnic (14) a (15) vypočteme odhady směrodatných odchylek $\sigma(x_{1,A})$ a $\sigma(x_{1,B})$.
2. Provedeme kalibraci objemové stupnice u obou ampulí. Do každé ampule na analytických vahách navážíme určité množství vody. Ampule necháme vytemperovat ve vodní lázni a pořídíme snímky mezifázových rozhraní. Do ampulí přivážíme další přídavek vody a celý postup opakujeme (celkem minimálně 5x). Podle návodu v dodatku 2 vyhodnotíme kalibrační konstanty K a Q pro každou ampuli. Ampule vyprázdníme a vysušíme.
3. Do ampulí přesně navážíme obě kapaliny (použijeme odhad vypočtený v bodě 1). Ampule uzavřeme teflonovými uzávěry a ponoříme do vyhřáté lázně ultrazvukové čističky. Obsah ampulí několikrát promícháme jak ultrazvukem, tak otáčením dnem vzhůru. Pak ampule umístíme do stojanu v temperované vodní lázni a necháme promíchávat kývavým pohybem. Po určité době (určí asistent) ampule postavíme do svislé polohy a prsty ampulí zarotujeme kolem svislé osy. Tím se utrhnou kapičky přilepené na stěny. Po rozvrstvení kapalných fází vyfotografujeme čtyři mezifázová rozhraní (zaznamenáme si čísla snímků).
4. Podle návodu v dodatku 2 vyhodnotíme absolutní hodnoty objemů kapalných fází $V_{A,I}$, $V_{B,I}$, $V_{A,II}$ a $V_{B,II}$, které použijeme pro výpočet složení $x_{1,A}$ a $x_{1,B}$. Nakonec vypočteme odhad směrodatných odchylek $\sigma(x_{1,A})$ a $\sigma(x_{1,B})$.

Dodatek 2: Příklad plánování experimentu

Pro získání představu jakou nejistotu lze očekávat při použití objemové metody pro měření rozpustnosti kapalných látek byly provedeny modelové výpočty pro několik binárních systémů. Potřebné údaje a výsledky u dvou systémů jsou uvedeny v tabulce 1. Vstupní data jsou uvedena v horní části tabulky a jsou uspořádána tak, aby platily uzance, že složka 1 je složku, která má větší molární objem, a fáze s vyšším obsahem složky 1 je označena „A“. Modelové výpočty byly prováděny pro naše experimentální zařízení o objemu přibližně $2 \times 20 \text{ cm}^3$. Pro názornější představu jsou v posledních dvou řádcích tabulky uvedeny absolutní i relativní nejistoty určení rozpustnosti složky 1 ve složce 2 a složky 2 ve složce 1. Při výpočtu těchto hodnot bylo uvažováno, že experimentální data obecné veličiny x se často uvádějí (pro 95% statistickou pravděpodobnost) ve tvaru $x \pm 2\sigma(x)$. Absolutní nejistotou jsou pak míněny délky příslušných intervalů $\pm 2\sigma(x)$, tzn. $4\sigma(x_{1,A})$, resp. $4\sigma(x_{1,B}) = 4\sigma(x_{2,B})$.

Relativní nejistoty uváděné v závorce byly určeny podle vztahů $\frac{4\sigma(x_{1,A})}{x_{1,A}}100\%$, resp.

$$\frac{4\sigma(x_{2,B})}{(1-x_{1,B})}100\%.$$

V prvním sloupci tabulky 1 jsou uvedena data pro systém methycyclohexan (1) + DMF(2), u kterého byla naměřena téměř symetrická rovnováha kapalina-kapalina [2]. Dle očekávání vzhledem k rozdílným molárním objemům komponent mají směrodatné odchylky $\sigma(x_{1,A})$ a $\sigma(x_{1,B})$ různou hodnotu. Odhadované nejistoty vzájemné rozpustnosti naznačují, že dané experimentální zařízení pro tento systém může poskytnout výsledky s přesností, která je srovnatelná s jinými metodami měření LLE.

Ve druhém sloupci Tabulky 1 je uveden systém 1-butanol + voda při 30 °C. I přesto, že rozpustnost 1-butanolu ve vodě lze je poměrně malá ($x_{1,A} = 0.0182$), je příslušná odhadovaná experimentální nejistota stále příznivá. Objemová metoda tudíž může u tohoto systému poskytnout dobré výsledky s dobrou přesností.

Tabulka 1

Modelové výpočty odhadu směrodatných odchylek a nejistot výsledků vzájemné rozpustnosti při měření objemovou metodou

Složka (1)	Methylcyclohexan	1-Butanol
Složka (2)	N,N-DMF	Voda
$M_1 / \text{g mol}^{-1}$	98.18	74.12
$M_2 / \text{g mol}^{-1}$	73.09	18.02
T / K	303.15	303.15
$\rho_1 / \text{g cm}^{-3}$	0.765	0.8019
$\rho_2 / \text{g cm}^{-3}$	0.944	0.9980
$x_{1,A}$	0.180 ^a	0.0182 ^b
$x_{1,B}$	0.881 ^a	0.4837 ^b
$x_{2,A}$	0.820	0.9818
$x_{2,B}$	0.119	0.5163
$V_{A,I} / \text{cm}^3$	17	17
$V_{B,I} / \text{cm}^3$	3	3
$V_{A,II} / \text{cm}^3$	3	3
$V_{B,II} / \text{cm}^3$	17	17
α	1.27	1.99
$\sigma(x_{1,A})$	3.06×10^{-4}	1.03×10^{-4}
$\sigma(x_{1,B})$	6.10×10^{-4}	7.99×10^{-4}
Očekávané nejistoty výsledků vzájemné rozpustnosti		
absolutní a relativní hodnoty pro (1) v (2)	6.12×10^{-4} (0.3 %)	2.06×10^{-4} (1.1 %)
absolutní a relativní hodnoty pro (2) v (1)	1.22×10^{-3} (1.0 %)	1.60×10^{-3} (0.3 %)

Dodatek 2: Vyhodnocení objemů kapalných fází a výpočet jejich směrodatných odchylek

Pro zachování dostatečné přesnosti objemové metody v experimentálním zařízení pracujícím s relativně malými objemy je nutno věnovat velkou pozornost přesnému určování objemů kapalných fází.

Měření objemů kapalných fází je prováděno v ampulích vyrobených z trubic přesných byret, které jsou opatřeny objemovou stupnicí. Prvním krokem je tudíž pečlivá kalibrace objemové stupnice a objemu dna ampule.

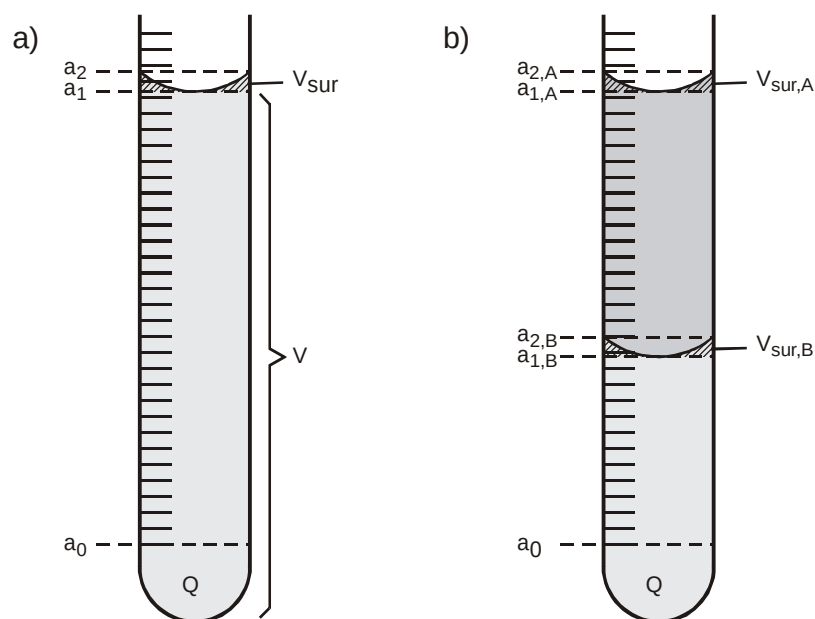
Kalibrace se provádí pomocí kapaliny o známé hustotě ρ . V našem případě se použije voda. Pro každou ampuli se na objemové stupnici zvolí určitý dílek a_0 , kterým se vymezí objem dna ampule Q (viz obr. 3a). Do každé ampule se naváženo určité množství vody m a ampule se vytemperuje na definovanou teplotu. Pak se pomocí digitálního fotoaparátu pořídí snímek průmětu mezifázového rozhraní voda – vzduch. Fotoaparát se upevní na stativu umožňujícím pouze vertikální pohyb. Za pomoci vodováhy se aparát udržuje ve vodorovné poloze. Během fotografování se osa objektivu nasměruje přesně na spodní kraj mezifázového rozhraní, tj. na polohu a_1 . Získaný obraz mezifázového rozhraní se využije k odečtení poloh a_1 , a_2 a ke získání dalších parametrů potřebných pro výpočet objemu kapaliny (V_{sur}), který vyplňuje prostor mezi dílkou stupnice a_1 a a_2 tak, jak je naznačeno na obr. 3a. Určení objemu V_{sur} je založeno na výpočtu objemu tělesa vzniklého rotací části elipsy, kterou je aproximován tvar průmětu mezifázového rozhraní. Příslušný výpočet je popsán níže. Uvedený postup se pro každou ampuli proveden n -krát (nejméně 5krát). Získaná data ve tvaru

$$V_i = K(a_{1,i} - a_0) + Q \quad i = 1 \dots n \quad (16)$$

kde

$$V_i = \frac{m_i}{\rho} - V_{\text{sur}, i} \quad (17)$$

se zpracují lineární regresí, ze které se získají konstanty K a Q . Z rovnice (43) plyne, že kalibrační konstanta K má význam korekčního faktoru objemové stupnice a že konstanta Q reprezentuje objem dna ampule vymezeným dílkem a_0 .



Obr. 3. Určování objemů kapalných fází

Určování objemů kapalných fází při měření vzájemné rozpustnosti kapalin se provede analogicky jako v případě kalibrace. Po rozvrstvení fází ve svislé poloze ampule se pořídí snímky mezifázových rozhraní v rovině dílků stupnice $a_{1,A}$ a $a_{1,B}$ (viz Obr. 3b). (Poznámka: Označení fází je definováno uzencemi (20) a (21). Pro ukázkou jsme za fázi označenou A jsme zvolili fázi horní, za fázi B pak spodní. Může však nastat i případ opačný.) Podstatou následné grafické analýzy zvětšeného obrazu v grafickém editoru je odečtení číselných hodnot $a_{1,A}$ a $a_{1,B}$, nakreslení elipsy, která dobře aproximuje průmět mezifázového rozhraní, a vyhodnocení jejích parametrů. Získané údaje se použijí pro výpočet objemů $V_{sur,A}$ a $V_{sur,B}$. Absolutní objemy horní, resp. spodní fáze se pak určí z rovnic

$$V_A = K |a_{1,A} - a_{1,B}| + V_{sur,A} - V_{sur,B} \quad (18)$$

$$V_B = K |a_0 - a_{1,B}| + Q + V_{sur,B} \quad (19)$$

Určení $V_{sur,A}$ a $V_{sur,B}$ je založeno na výpočtu objemu tělesa, které bylo vymezeno rotací příslušné části elipsy. Pro tento účel se na základě experimentálních zkušeností uvažují dva kvalitativně různé typy zakřivení mezifázového rozhraní – typ vypouklý (viz obr. 4a) a typ plochý (viz obr. 4b).

V případě vypouklého mezifázového rozhraní (viz obr. 4a) se pro výpočet objemu V_{sur} použije rovnice:

$$V_{\text{sur}} = \pi r_{\text{in}}^2 h_1 - \frac{\pi a^2 h_1^2}{3b^2} (3b - h_1) \quad (20)$$

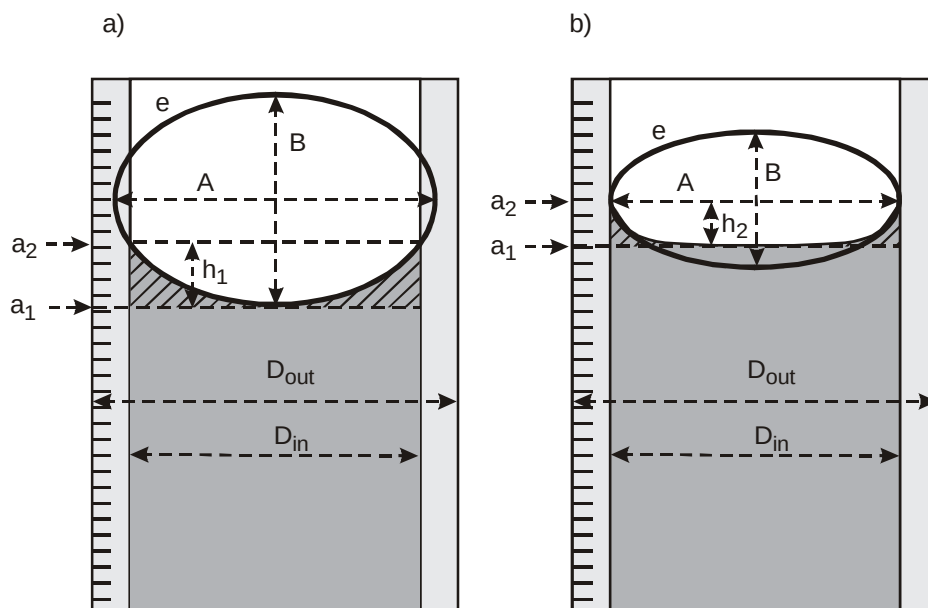
kde $a = A/2$, $b = B/2$ a $r_{\text{in}} = D_{\text{in}}/2$.

Pro případ plochého mezifázového rozhraní (viz obr. 4b) se elipsa e kreslí tak, aby platilo $A = D_{\text{in}}$. Pak se pro výpočet V_{sur} použije rovnice

$$V_{\text{sur}} = \frac{\pi r_{\text{in}}^2 h_2^3}{3b^2} \quad (21)$$

kde $b = B/2$ a $r_{\text{in}} = D_{\text{in}}/2$.

V grafickém editoru se odečítají rozměry elipsy A a B , výška zakřivení h_1 , nebo h_2 . Dále se z digitálního obrazu odečte vnější průměr ampule D_{out} . Tato hodnota se dá do poměru se skutečným (naměřeným) průměrem ampule, čímž se získá měřítko zvětšení obrazu vůči realitě. To se použije pro přepočet odečítaných parametrů tak, aby počítané hodnoty V_{sur} byly v jednotkách cm^3 . Hodnota vnitřního průměru ampule D_{in} potřebná pro výpočet se neodečítá z obrazu, ale vypočte se na základě kalibrované objemové stupnice.



Obr. 4. Určení objemů V_{sur} pro různé typy mezifázových rozhraní

Literatura

1. Řehák K., Voňka P., Dreiseitlová J., Revision of the volumetric method for measurements of liquid–liquid equilibria in binary systems, *Fluid Phase Equilibria* 2005, 230, 109–120.
2. Bendová M., Řehák K., Matouš J., Novák J.P. Liquid–Liquid Equilibrium and Excess Enthalpies in the Binary System 2-Methylpentane + N,N-Dimethylformamide. *J. Chem. Eng. Data* 2004, 49, 1318–1322.

MODUL ELEKTROCHEMICKÁ MĚŘENÍ

1) ROVNOVÁŽNÉ NAPĚTÍ ČLÁNKU:

TERMODYNAMIKA DANIELLOVA ČLÁNKU

1. TEORETICKÝ ÚVOD

Pro elektrodu, na které probíhá obecná redukční reakce



můžeme snadno odvodit příslušnou Nernstovu rovnici

$$E_i = E_i^{\ominus} - \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{Y^{(n-z)+}}}{a_{X^{n+}}}, \quad (2)$$

kde E_i , resp. $E_i^{\ominus}$ je redukční, resp. standardní redukční potenciál elektrody, z je počet vyměňovaných elektronů během reakce, F je Faradayova konstanta ($96485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$) a symbolem a je označena aktivita příslušného iontu. Symbol R označuje univerzální plynovou konstantu a T absolutní teplotu.

Elektrochemický článek se skládá ze dvou elektrod: katody, na které dochází k redukci, a anody, na které dochází k oxidaci, a elektrolytu. Mezi elektrodami vzniká napětí. Protože se tabelují pouze standardní redukční potenciály, počítají se potenciály obou elektrod jako redukční (i když na anodě fyzicky probíhá oxidace) a rovnovážné napětí článku je dáno rozdílem redukčního potenciálu katody a redukčního potenciálu anody

$$E = E_{katoda} - E_{anoda} \quad (3)$$

Takto definované rovnovážné napětí je vždy kladné.

Rovnovážná napětí článků je nutno měřit voltmetry s dostatečně vysokým vstupním odporem, aby měření probíhalo v tzv. bezproudovém stavu. Odběrem energie z článku se totiž mění koncentrace složek a tím i napětí článku, které klesá.

Termodynamické funkce zvaná Gibbsova energie G je definována pomocí enthalpie H a entropie S vztahem

$$\Delta G = \Delta H - \Delta(TS), \quad (4)$$

Ve vratně pracujícím elektrochemickém článku představuje změna Gibbsovy energie maximální práci, jinou než objemovou, vykonanou při sledované reakci

$$\Delta_r G_m = W_{el} = -zFE \quad (5)$$

Hodnota $\Delta_r G_m$ závisí na složení soustavy rovnicí

$$\Delta_r G_m = \Delta_r G_m^\ominus + RT \ln \prod_i a_i^{v_i}, \quad (6)$$

kde a_i jsou aktivity jednotlivých komponent soustavy v okamžitém stavu, $\Delta_r G_m^\ominus$ je standardní reakční Gibbsova energie, pro níž platí

$$\Delta_r G_m^\ominus = -RT \ln \prod_i a_{i,rovn}^{v_i} = -RT \ln K, \quad (7)$$

kde $a_{i,rovn}$ jsou aktivity jednotlivých komponent soustavy v rovnovážném stavu a K je rovnovážná konstanta. Spojením rovnice (7) s rovnicí (5) získáme Nernstovu rovnici

$$E = E^\ominus - \frac{RT}{zF} \ln \prod_i a_i^{v_i} \quad (8)$$

V Daniellově článku, schematicky zapsaném jako

$\text{Zn(s)} \mid \text{ZnSO}_4 (c_{\text{ZnSO}_4} = 0,1\text{M}) \parallel \text{KCl (nasyc. roztok)} \parallel \text{CuSO}_4 (c_{\text{CuSO}_4} = 0,1\text{M}) \mid \text{Cu}$
probíhá reakce



Standardní elektromotorické napětí článku $E^\ominus$ určíme z experimentálně určené hodnoty E a z příslušné Nernstovy rovnice, v našem případě ve tvaru

$$E_{\text{Cu, Zn}^{2+}/\text{Zn, Cu}^{2+}} = E_{\text{Cu, Zn}^{2+}/\text{Zn, Cu}^{2+}}^\ominus - \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{\text{Zn}^{2+}}}{a_{\text{Cu}^{2+}}}. \quad (10)$$

Z teplotní závislosti rovnovážného napětí článku zle určit jednak hodnotu reakční entalpie pomocí vztahu

$$-\frac{\Delta_r H_m^\ominus}{zF} = E^\ominus - T \frac{\partial E^\ominus}{\partial T} \quad (11)$$

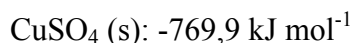
a dále hodnotu standardní reakční entropie

$$\frac{\partial E^\ominus}{\partial T} = \frac{\Delta_r S_m^\ominus}{zF} \quad (12)$$

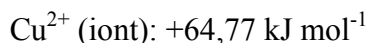
Hodnotu standardní reakční enthalpie lze nezávisle určit kalorimetricky jako teplo uvolněné při rozpouštění zinku v roztoku síranu měďnatého.

Reakční entropii lze určit z hodnoty $E^\ominus$ (tedy $\Delta_r G_m^\ominus$) a kalorimetricky určeného reakčního tepla vztahem (4).

Data: standardní slučovací enthalpie $\Delta H_{\text{sluč}}^0(298,15 \text{ K})$: $\text{ZnSO}_4 (\text{s})$: $-981,4 \text{ kJ mol}^{-1}$



Data: standardní slučovací enthalpie $\Delta H_{\text{sluč}}^0(298,15 \text{ K})$ iontů v nekonečném zředění (to asi bude zdroj nepřesnosti): Zn^{2+} (iont): $-153,89 \text{ kJ mol}^{-1}$



Data: Střední aktivitní koeficienty jednotlivých iontů jsme získali z tabulek pro 0,1M roztoky: $\gamma_{\pm}(\text{Cu}^{2+}) = 0,154$; $\gamma_{\pm}(\text{Zn}^{2+}) = 0,150$.

2. ÚKOL

Úkolem této práce je určení termodynamických veličin Daniellova článku z potenciometrických a kalorimetrických měření.

- 1) Proměření teplotní závislosti rovnovážného napětí E Daniellova článku
- 2) Určení $E^\ominus$ a K při 25°C
- 3) Výpočet hodnoty $\Delta_r H_m^\ominus$ (při 25°C) a střední hodnoty $\Delta_r S_m^\ominus$ z teplotní závislosti $E^\ominus$.
- 4) Výpočet tepla, které článek vyměňuje při vratném průběhu při $298,15 \text{ K}$
- 5) Kalorimetrické určení $\Delta_r H_m^\ominus$
- 6) Výpočet $\Delta_r S_m^\ominus$ z kalorimetrické hodnoty $\Delta_r H_m^\ominus$ a experimentální hodnoty E^0 při 25°C .

3. PRAXE

V této práci sestavíme elektrochemický článek ze zinkové elektrody ponořené do roztoku síranu zinečnatého (0,1M) a měděné elektrody ponořené do roztoku síranu měďnatého (0,1M). Roztoky jsou vodivě propojeny solným můstkem naplněným nasyceným roztokem KCl.??? Napětí článku bude měřeno v závislosti na teplotě v intervalu od 20°C do cca 50°C .

V jednoduchém kalorimetru bude změřeno reakční teplo odpovídající reakci zinku se síranem měďnatým. Odpipetujeme 50 ml 0,1M roztoku CuSO_4 , zředíme cca 200 ml vody o teplotě cca 24°C . Připravíme nadbytečné množství (cca 3g – není nutno znát přesně - proč?) práškového zinku a vložíme jej do shazovacího zařízení. Vložíme teploměr do kalorimetru, zapneme míchadlo a necháme ustálit teplotu. Poté proměříme počáteční periodu (cca 10 min), uvolníme zinek do roztoku, proměříme druhou periodu a alespoň 10 min konečné periody, která je současně počáteční periodou pro stanovení tepelné kapacity soustavy. Ohřev kalorimetru provedeme odporovým topením tak, aby nárůst teploty byl vyšší než při měření reakčního tepla.

4. PRACOVNÍ POSTUP

1. Do odměrné baňky o objemu 250ml připravíte s vysokou pečlivostí základní roztok CuSO_4 o koncentraci $0,1 \text{ mol/dm}^3$. Molární hmotnost soli $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ je XXX g/mol, navážku si spočtete v rámci přípravy. Roztok nemusí být přesně 0.1 M, ale navážku musíte znát přesně.
2. Do odměrné baňky o objemu 250ml připravíte s vysokou pečlivostí základní roztok ZnSO_4 o koncentraci $0,1 \text{ mol/dm}^3$. Molární hmotnost soli $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$? je XXXXX g/mol, navážku si spočtete v rámci přípravy. Roztok nemusí být přesně 0.1 M, ale navážku musíte znát přesně.
3. Do odměrné baňky o objemu 250ml připravíte roztok pro naplnění solného můstku. ???
4. Elektrody umístíte do dvojitého držáku tak, aby jejich spodní konce byly ve stejné výši.
5. Do termostatu umístíme 2 kádinky, do kterých vložíme roztok CuSO_4 a ZnSO_4 , zasuneme elektrody, připojíme voltmetr (pH metr Labio), nastavíme 1. teplotu (20°C), vytemperujeme a změříme napětí. Opakujeme pro další teploty(po 5°C).
6. V kalorimetru provedeme podle návodu stanovení reakčního tepla.
- 7.

4.1 ZPRACOVÁNÍ DAT

Přesná molární koncentrace výchozích, cca 0.1M roztoků se vypočte podle vztahu

$$c_i^0 = \frac{m_i}{0.25M_i} \left[\text{mol dm}^{-3} \right], \quad (11)$$

kde m_i je navážka soli a M_i je příslušná molární hmotnost.

Z experimentálních hodnot rovnovážného napětí článku stanoveného pro různé teploty vypočteme hodnotu standardního napětí článku $E^\ominus$, při výpočtu zohledníme přesné koncentrace roztoků a aktivitní koeficienty příslušných iontů. Do grafu vyneseme teplotní závislosti $E^\ominus$ a E . Ze závislosti $E^\ominus = E^\ominus(T)$ určíme experimentální hodnotu $E^\ominus$ při 25°C a hodnotu rovnovážné konstanty K . Určíme derivace závislostí $E^\ominus = E^\ominus(T)$ a $E = E(T)$ podle teploty. Z derivace $\partial E^\ominus / \partial T$ vypočteme hodnoty $\Delta_r H_m^\ominus$ (při 25°C) a střední hodnoty $\Delta_r S_m^\ominus$. Vypočteme teplo, které článek vyměňuje s okolím při vratném průběhu při 298,15 K.

Dále kalorimetricky stanovíme hodnotu $\Delta_r H_m^\ominus$ (při cca 25°C), kterou spolu s hodnotou $E^\ominus$ (25°C) použijeme k určení hodnoty $\Delta_r S_m^\ominus$.

Porovnáme vše, co se dá porovnat s tabulkovými hodnotami, a získané výsledky prodiskutujeme s asistentem.

Multifunkční systém pro výuku provozního měření a řízení ARMFIELD PCT 40

Multifunkční systém ARMFIELD PCT 40 umožňuje výuku základních principů měření a řízení různých procesů a může být jednoduše rekonfigurován na sledování teploty, tlaku, průtoku nebo hladiny. S přídatným zařízením je možno rozšířit schopnosti základního modulu o řízení chemického složení média. Systém je řízen počítačem a výukový software s mnoha funkcemi a možnostmi umožňuje zaznamenávat průběh měřených a řízených veličin v reálném čase, studenti mohou měnit parametry řízení a analyzovat průběh procesu pro různé konfigurace systému.

Technický popis systému

Fotografie na obr. 1 ukazuje kompletní sestavu multifunkčního výukového systému. Sestava je tvořena základním modulem PCT 40 spolu s přídatnými moduly PCT 41 a PCT 42.



Obr. 1 Multifunkční systém pro výuku provozního měření a řízení

1–nosná konzole, 2–velká procesní nádoba, 3–malá procesní nádoba s odporovým topením a tepelným výměníkem, 4–solenoidové ventily, 5–zubové čerpadlo, 6–peristaltická čerpadla, 7–reaktor s tepelným výměníkem a míchadlem

Základní modul PCT 40 obsahuje vše, co je potřebné pro experimenty s jednoduchými zpětnovazebními regulačními obvody. Základ modulu tvoří lisovaný podstavec (nosná konzole), na který jsou přimontovány procesní nádoby, čerpadla, senzory a další prvky elektrického připojení. Uprostřed podstavce je připevněna velká procesní zásobní nádrž s proměnným objemem náplně (akrylová nádoba má uvnitř odnímatelný válec, který slouží ke

změně objemu nádoby). Malá procesní nádoba, umístěná vpravo, je vybavena elektrickým odporovým topením, termostatem a spirálovým tepelným výměníkem s možností ohřívání nebo chlazení náplně. Dále je k dispozici zubové čerpadlo na horkou vodu, dvě peristaltická čerpadla, proporcionální elektrický regulační ventil a tři dvoupolohové solenoidové ventily. Přístrojové vybavení zahrnuje teplotní senzory, senzory tlaku a difference tlaku, senzory průtoku, a několik typů senzorů stavu hladiny. Vstupy a výstupy provozních nádob, čerpadel a ventilů umožňují vzájemná propojení. Konstrukce systému využívá rychloupínacích spojovacích elementů, které dovolují operativní změnu konfigurace se širokou variabilitou různých měřicích a řídicích obvodů. Stanice je připojena na vodovodní rozvod prostřednictvím tlakového regulačního ventilu s integrovaným filtrem. Průtok vody zařízením se mění v závislosti na nastavení regulátoru. Multifunkční systém je vybaven rozhraním USB k propojení s počítačem. Prostřednictvím počítače pak mohou být nastavovány či řízeny polohy ventilů, rychlost čerpadel a příkon topení.

Typy regulačních obvodů, které je možno realizovat se základním modulem PCT 40:

- regulace hladiny vody v zásobníku při změnách průtoku na vstupu,
- regulace průtoku změnami otáček čerpadla,
- regulace teploty v nádobě změnami topného příkonu,
- regulace teploty vody ohřívané nepřímo změnami průtoku (chladicího či topného) média ve výměníku.

Všechny tyto obvody jsou řízeny s využitím dodaného softwaru.

Rozšiřující přídatný modul PCT 41 je umístěn na podstavci vlevo od velké procesní nádoby. Tento modul představuje model reaktoru, vybavený topnou/chladicí spirálou, míchadlem a snímačem koncentrace (měření elektrické vodivosti média). S tímto modulem je možno realizovat další jednoduché i rozvětvené regulační obvody.

Řízení multifunkční stanice

Jako řídicího počítače stanice je využito běžného PC s dostatečným výkonem. Počítač komunikuje s multifunkční stanicí prostřednictvím rozhraní USB. Počítač pak tvoří rozhraní mezi uživatelem a modelovým systémem. Prostřednictvím softwarového vybavení, se na monitoru zobrazují schémata zapojení spolu s hodnotami výstupních signálů senzorů pro jednotlivé měřené veličiny a dále s hodnotami řídicích vstupů. Řídicí bloky poskytují uživateli přístup pro nastavení řídicích parametrů dvoupolohových i spojitých regulátorů a případně i k manuálnímu ovládání akčních členů. Flexibilita systému dovoluje značnou variabilitu poruchových veličin a umožňuje tak porovnávat efektivitu použité strategie řízení i hodnot nastavených parametrů řídicích prvků. Softwarové vybavení umožňuje ukládání naměřených dat a vytváření grafických výstupů i export dat ve vhodném formátu.

Software je vybaven instrukční nápovědou a zahrnuje i deset připravených zadání pro laboratorní cvičení. Tato cvičení ilustrují široký rozsah schopností systému, tj. demonstrovat provozní měření hladiny, teploty, průtoku či tlaku, dále pak jednoduchou dvoupolohovou regulaci těchto veličin a spojitě řízení s PID-regulátorem. S přídatným zařízením je možno realizovat i snímání koncentračních veličin, realizovat víceparametrové regulace a řízení v rozvětveném regulačním obvodu, případně využívat pokročilé řídicí strategie

Funkční vlastnosti multifunkčního systému

Multifunkční systém umožňuje modelovat celou řadu procesů a jejich parametrů, se kterými se uživatel setkává v provozní praxi. Patří sem tyto procesy:

- kalibrace senzorů
- vliv umístění senzoru (jímka teploměru)
- vliv dopravního zpoždění
- řízení přítoku nebo odtoku kapaliny u nádrží
- přímý ohřev (vytápění), nepřímý ohřev nebo chlazení
- vsádkový proces, kontinuální proces
- vliv časových konstant systému (vliv změny objemu náplně)
- vliv promíchávání náplně

Senzory použité u multifunkčního systému lze aplikovat pro dvupolohové nebo kontinuální snímání následujících veličin:

- výška hladiny
plovákový senzor s fixní hysterezí, proporcionální s měřením hydrostatického tlaku, dvupolohový vodivostní senzor s nastavitelnou necitlivostí
- průtok kapalného média
proporcionální turbinkový senzor, průřezová měřidla s clonou
- teplota
termoelektrické senzory (bez jímky a s jímkou)
- statický tlak, difference tlaku
proporcionální piezoelektrické senzory tlaku a difference tlaku
- koncentrace
snímač elektrické vodivosti roztoku, snímač pH

U multifunkčního systému lze aplikovat různé typy a strategie řízení a porovnávat jejich efektivitu:

- ruční řízení (vliv přímého a reverzního zásahu)
- dvupolohové řízení s pevnou a nastavitelnou hysterezí
- PID-regulace (vliv nastavení konstant regulátoru)
- regulace vlečná, poměrová kaskádní a dopředná

Pro ovládání a řízení procesů jsou k dispozici následující akční orgány nebo akční veličiny:

- proporcionální elektrický regulační ventil
- dvupolohové solenoidové ventily pro ovládání přítoku nebo odtoku kapaliny
- časově proporcionální ovládání solenoidových ventilů
- proporcionální regulace otáček zubového čerpadla
- proporcionální regulace otáček peristaltických čerpadel
- dvupolohový spínač odporového topení
- časově proporcionální ovládání spínače odporového topení
- proporcionální polovodičový regulátor příkonu odporového topení

Měření a regulace hladiny

Laboratorní úlohy věnované měření a regulaci hladiny využívají velké procesní nádoby multifunkčního systému. Velká procesní nádoba představuje model provozní nádrže, která je opatřena potřebnými elementy pro připojení ovládacích ventilů a čerpadel pro přívod a odvod vody a je vybavena několika snímači pro měření polohy hladiny náplně. Provedení velké procesní nádoby je patrné z obr. 2.

Pro měření a regulaci polohy hladiny jsou k dispozici následující prvky:

- průhledové měřítko pro vizuální odečítání polohy hladiny
- plovák mechanickým nastavením žádané polohy, vybavený magnetickým spínačem pro dvoupolohovou regulaci hladiny
- stavitelné elektrody vodivostního snímače s nastavitelným pásmem necitlivosti
- snímač hydrostatického tlaku ve dně nádoby, vybavený tenzometrickým snímačem s analogovým signálem úměrným výšce hladiny v nádobě



Obr. 2 Velká procesní nádoba se snímači hladiny

K propojení jednotlivých prvků systému se používají hadičky s rychloupínacími samotěsnícími konektory.

Při laboratorním cvičení budou proměřeny následující úlohy:

1. Měření hladiny a její regulace dvoupolohovým ventilem

- 1.1 Dvoupolohová regulace hladiny s použitím plovákového snímače
- 1.2 Řízení hladiny s využitím diferenčního vodivostního snímače
- 1.3 Manuální řízení hladiny solenoidovým ventilem
- 1.4 Dvoupolohová regulace hladiny s využitím snímače hydrostatického tlaku
- 1.5 Manuální řízení hladiny solenoidovým ventilem s cyklováním

2. Měření hladiny a její regulace proporcionálním solenoidovým ventilem

- 2.1 Manuální řízení hladiny s použitím proporcionálního solenoidového ventilu
- 2.2 Spojitá regulace hladiny s použitím PID-regulátoru a proporcionálního solenoidového ventilu

Podrobný návod pro obsluhu multifunkční stanice a pro provedení laboratorní práce Měření a regulace hladiny PCT 40 bude k dispozici v laboratoři.

V rámci přípravy na laboratorní práci je požadováno prostudování následujícího textu, který je věnován metodám a přístrojům pro provozní měření hladiny, v dalším textu pak je popsána funkce spojitých a dvoupolohových regulátorů.

4.4 Měření výšky hladiny

Zjišťování výšky hladiny kapalin a případně sypkých hmot v zásobnících a provozních nádobách, jako jsou různé tanky, rezervoáry, nádrže, destilační kolony, odparky, krystalizátory, mísicí nádoby apod., je jedním z velmi častých úkolů provozního měření. Ačkoli mluvíme o měření výšky hladiny, jedná se většinou o zjišťování množství. Z údajů zjištěných měření výšky hladiny je možno toto množství vypočítat, přičemž samozřejmě záleží na tvaru zásobníku, ve kterém se kapalina nachází. Pokud se měření provádí v nádobách, u kterých se průřez s výškou nemění, je vyčíslení velmi snadné. Obtížnější z tohoto hlediska je měření např. v ležatých zásobnících, kde závislost objemu na výšce hladiny je dána nejen válcovým tvarem, ale i vyklenutím dna.

Kapaliny, suspenze a sypké materiály, s kterými přicházíme do styku se mohou značně odlišovat: od čisté vody ke kapalinám hořlavým, viskózním, lepkavým a korozivním až po suspenze s abrasivními účinky; od jemných volně tekoucích prášků až po vlhké a spékající se hrudkovité sypké látky. Rovněž okolní prostředí, ve kterém pracují snímače hladiny může být značně rozdílné - od vakua až po vysoké tlaky při různých teplotách. Tato různorodost požadavků se odráží ve velkém počtu měřicích metod a přístrojů, které byly vyvinuty pro měření stavu hladiny. Volba vhodné metody je ovlivněna celou řadou faktorů. Jsou to hlavně tlak (otevřené, uzavřené nádoby), teplota, korozivní účinky měřeného média, rozsah a citlivost, potřeba plynulého měření či indikace mezních stavů atd.

Pro vizuální sledování stavu hladiny se nejčastěji používá průhledových stavoznaků se skleněnou trubicí nebo průzorů. Jejich hlavní předností je jednoduchost, nevýhodou je nutnost častého čištění od rzi a dalších nečistot, které se na skle usazují. Průzorů lze použít i pro vysoké tlaky až do 10 MPa. Jejich nevýhodou je i to, že neposkytují signál pro další zpracování.

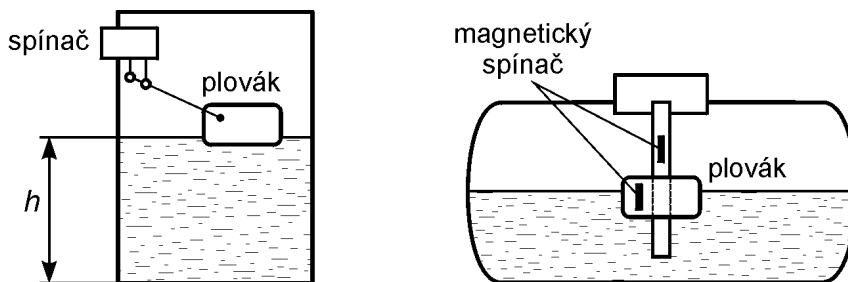
Přístroje pro měření stavu hladiny můžeme rozdělit do tří hlavních skupin (stavoznaky mechanické, hydrostatické a elektrické), které jsou dále uvedeny.

4.4.1 Mechanické hladinoměry

Pro otevřené nádrže se používají **plovákové hladinoměry**. Pohyb plováku, který plave na hladině měřené kapaliny, je vyveden z nádrže přes kladku lankem nebo řetízkem, obvykle ve spojení s protizávažím. Plovák zavěšený na lanku či řetězu je obvykle veden tak, aby nedocházelo k jeho rozkývání při neklidné hladině. Výška hladiny, tj. poloha plováku se určuje buď přímo odečtením polohy protizávaží na podložené stupnici, nebo se převádí na elektrický signál pomocí převodníku.

Vhodným převodníkem může být odporový vysílač mechanicky spojený např. s kladkou plovákového snímače. Odporový vysílač je speciálně uzpůsobený měřicí potenciometr, u něhož se působením měřené veličiny mění poloha kontaktu (jezdce), který se posouvá po odporové dráze. Snímače tohoto typu jsou jednoduché a spolehlivé. Musí být dokonale mechanicky provedeny, aby vykazovaly malý třecí moment a dlouhou životnost.

V uzavřených nádržích se používá plováku obvykle ve tvaru prstence, jehož pohyb je usměrněn pomocí vodící tyče. Poloha plováku je snímána např. prostřednictvím jednoho či několika magnetických spínačů (obr. 4.47 b). Plovákové hladinoměry se používají i pro měření hladiny v tlakových nádobách. Pohyb plováku, který bývá v těchto případech upevněn na rameni páky, se vyvádí z tlakového prostoru např. magnetickou spojkou (obr. 4.47 a).



Obr. 4.47 Plovákové hladinoměry

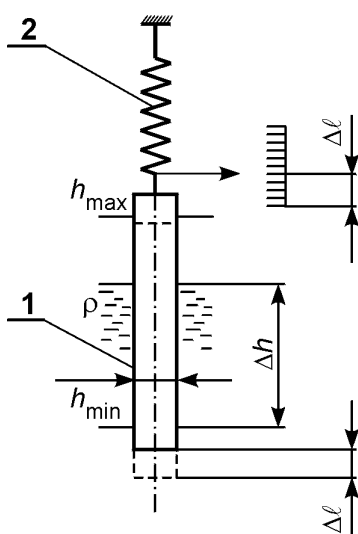
Přesnost měření je dána především tvarem plováku a jeho průřezem, pasivními odpory v převodovém mechanismu a změnami hustoty měřené kapaliny. Tvar plováku by měl být takový, aby neobsahoval pokud možno žádné horizontální plochy, na kterých se mohou udržovat kapky kapaliny a usazovat případné nečistoty. To pak vyvolává změnu hmoty plováku, a tím i změnu jeho ponoření. Plováky, určené pro tlakové prostory, mají nejčastěji kulový tvar a v některých případech bývají naplněny inertním plynem na tlak odpovídající maximálnímu tlaku v nádrži.

Hladinoměry s ponorným tělesem jsou založeny na platnosti Archimédova zákona a pracují na principu vyrovnání sil. Princip je patrný z obr. 4.48. Ponorné těleso 1 válcového tvaru je zavěšeno na pružině 2. Síla působící na pružinu je dána vlastní tíhou tělesa, zmenšenou o sílu vztlakovou. Změnou výšky hladiny o Δh se změní vztlaková síla a dojde k ustavení nové rovnováhy sil v jiné poloze tělesa. Pro rovnováhu ponorného tělesa pak platí

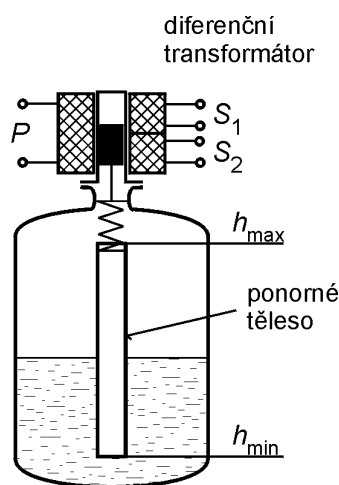
$$S(\Delta h - \Delta l)g\rho = k\Delta l \quad (4.48)$$

kde je S průřez ponorného tělesa, Δh změna výšky hladiny, Δl změna polohy tělesa a tedy i změna stlačení pružiny, ρ hustota kapaliny, k konstanta pružiny.

Z rovnice (4.48) vyplývá, že při měření hladiny musí být konstantní hustota měřené kapaliny. Délka ponorného tělesa pro daný měřicí rozsah nesmí být menší než hodnota výrazu $(\Delta h - \Delta l)$. Tíha tělesa musí být větší než vztlak při plném ponoření.



Obr. 4.48 Ponorné těleso



Obr. 4.49 Spojení ponorného tělesa s jádrem diferenčního transformátoru

Zdvih ponorného tělesa při maximální změně hladiny měřené kapaliny je poměrně malý. Způsob, jakým se snímá změna polohy tělesa, závisí na typu dálkového přenosu. Převod polohy na elektrický signál s využitím diferenčního transformátoru je znázorněn na obr. 4.49. Diferenční transformátor je příkladem indukčního snímače. Na trubce z nemagnetického materiálu je navinuto primární a sekundární vinutí. Sekundární vinutí je vinuto od poloviny opačným směrem. Uvnitř uzavřené trubky se pohybuje železné jádro, které je mechanicky spojeno s ponorným tělesem zavěšeným na pružině. Změnou polohy jádra, ke které dochází změnou měřené veličiny, se mění koeficient vzájemné indukčnosti mezi primárem a sekundárem. Maximálního rozdílu se dosáhne při zasunutí jádra přesně do poloviny cívky. Tímto způsobem je možno měřit hladinu i v uzavřených tlakových nádobách. Z tlakových prostorů se pohyb tělesa vyvádí rovněž torzní trubkou, která vedle kompenzačního momentu plní i funkci dokonalé ucpávky. Pohyb konce torzní trubky se převádí na pneumatický nebo elektrický signál.

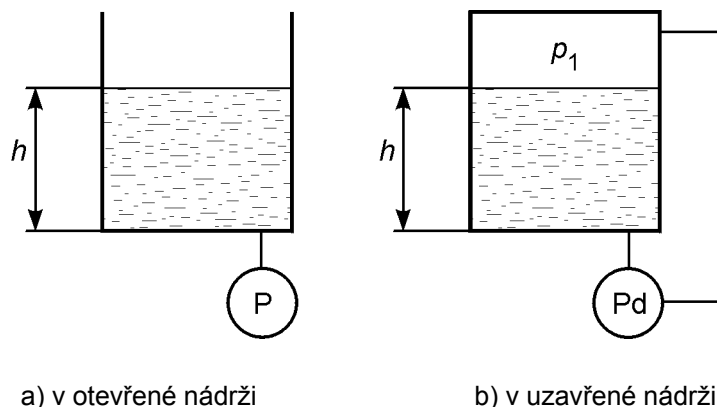
4.4.2 Hydrostatické hladinoměry

Výška hladiny h se vyhodnocuje z hydrostatického tlaku p sloupce kapaliny v nádrži.

$$h = \frac{p}{\rho g} \quad (4.49)$$

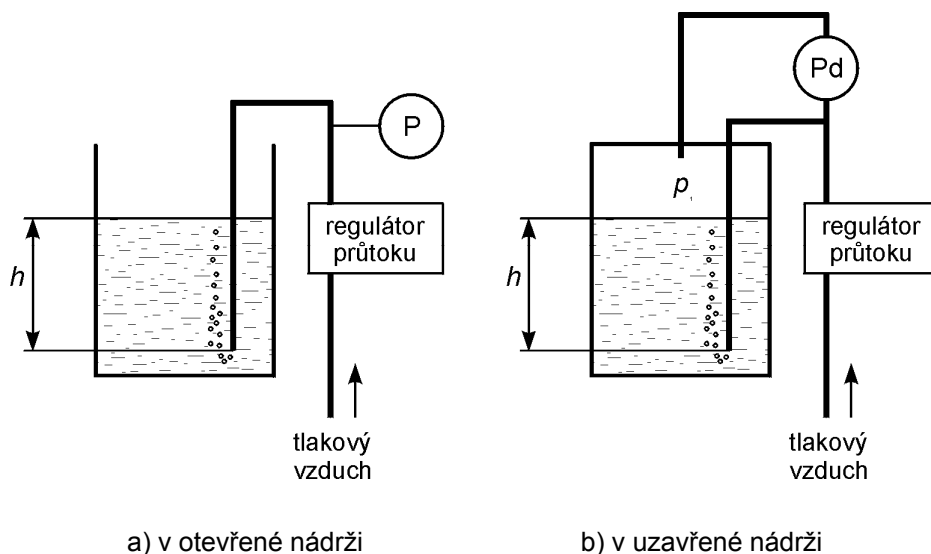
Z rovnice (4.49) vyplývá, že výsledek měření závisí na hustotě ρ a tedy i na teplotě kapaliny.

K měření hydrostatického tlaku se používá vhodného kapalinového nebo deformačního tlakoměru; současné systémy využívají často snímačů tlaku s polovodičovými tenzometry. Na obr. 4.50 a je znázorněno měření hydrostatického tlaku v otevřené nádobě. Měří-li se výška hladiny v uzavřeném, tlakovém zásobníku, užívá se uspořádání podle obr. 4.50 b.



Obr. 4.50 Měření hydrostatického tlaku

Často používanou metodou, zvláště pro měření agresivních, silně znečištěných a viskózních kapalin je metoda probublávací (provzdušňovací, pneumatická). Tzv. **pneumatický stavoznak** je znázorněn na obr. 4.51. Trubkou přivedenou ke dnu nádrže, proudí stále malé množství vzduchu nebo jiného neutrálního plynu. Unikající vzduch musí překonat hydrostatický tlak kapaliny. Je-li průtok vzduchu tak malý, aby bylo možno zanedbat odpor trubky, pak přetlak v systému, měřený vhodným tlakoměrem, bude úměrný výšce hladiny. V přívodním potrubí pro vzduch je zařazen regulátor 3, který udržuje konstantní průtok vzduchu bez ohledu na velikost hydrostatického tlaku.



Obr. 4.51 Měření hladiny probubláváním

Stejného způsobu lze použít i pro uzavřené nádoby (obr. 4.51 b), pokud napájecí tlak je vyšší než tlak v nádobě. K měření je pak zapotřebí vhodný diferenční tlakoměr.

4.4.3 Elektrické hladinoměry

V této skupině přístrojů uvedeme hladinoměry využívající změn kapacity a odporu, dále pak hladinoměry ultrazvukové, radarové a izotopové.

4.4.3.1 Kapacitní hladinoměry

Kapacitní hladinoměry převádějí měření hladiny na měření kapacity. Těchto snímačů se používá jak ke kontinuálnímu měření, tak i k signalizaci mezních stavů hladiny kapalin i sypkých hmot. Konstrukce snímače závisí jednak na vlastnostech měřeného média, jednak na tvaru nádoby. U kapalin elektricky nevodivých se využívá kapacitního snímače, u něhož dochází ke změně dielektrika. Principiální schéma je znázorněno na obr. 4.52.

Celková kapacita je dána součtem dvou dílčích kapacit C_A a C_B

$$C = C_A + C_B = \varepsilon_0 \varepsilon_A \frac{a l}{d} + \varepsilon_0 \varepsilon_B \frac{a(l_{\max} - l)}{d} \quad (4.50)$$

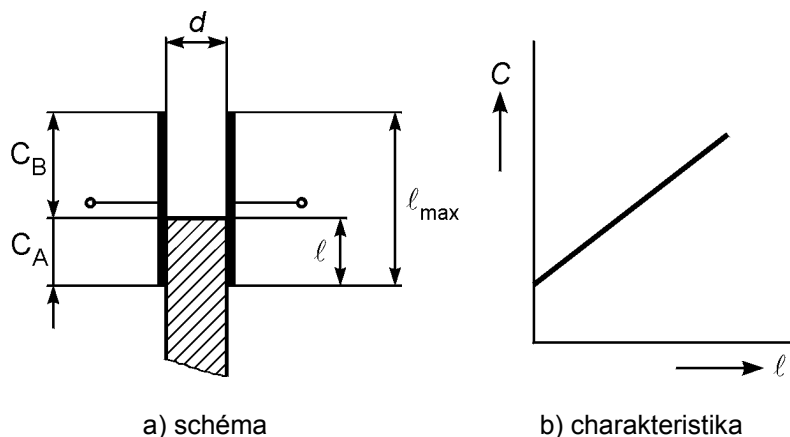
kde je ε_A permitivita posuvného dielektrika, ε_B permitivita vzduchu, a šířka desky. Význam ostatních symbolů je zřejmý z obr. 4.52 a.

Po úpravě vztahu (4.50) dostaneme

$$C = \frac{a \varepsilon_0}{d} [\varepsilon_B l_{\max} + (\varepsilon_A - \varepsilon_B) l] \quad (4.51)$$

$$C = k_1 + k_2 l \quad (4.52)$$

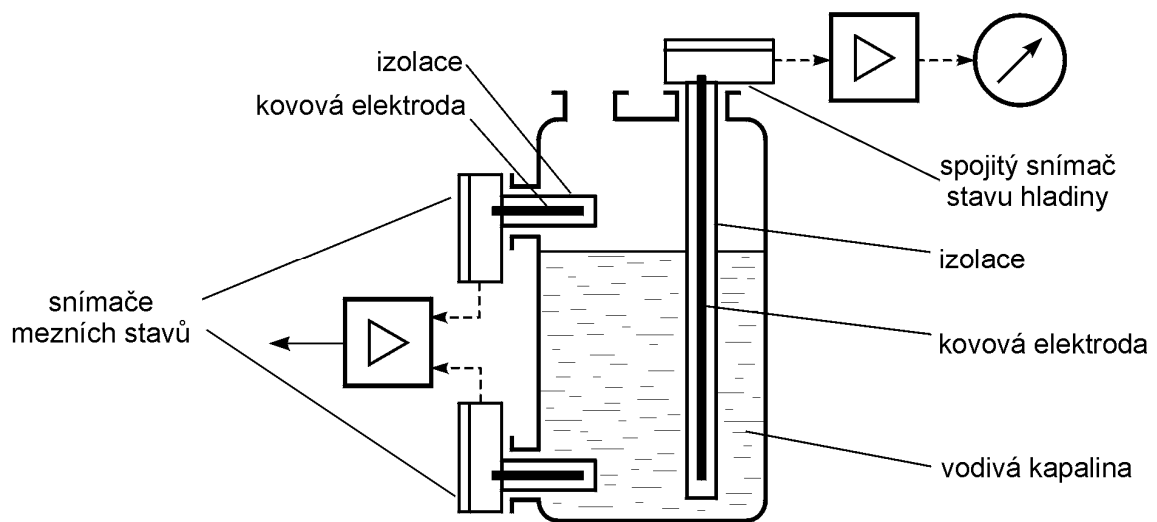
Při měření hladiny tvoří nevodivá kapalina "posuvné" dielektrikum. Průběh statické charakteristiky snímače je znázorněn na obr. 4.52 b. V praxi může jednu elektrodu snímače tvořit např. svislá tyč, druhou představuje stěna nádoby. Dielektrikem je nevodivá kapalina, která při změně výšky hladiny zaplavuje elektrodu. V případě, že nádoba má nevhodný tvar, nebo je nádoba vyrobená z nevodivého materiálu, používá se jako druhé elektrody děrované trubice, obklopující tyčovou elektrodu.



Obr. 4.52 Snímač s proměnnou permitivitou

Při měření elektricky vodivých kapalin (obr. 4.53) je kovová tyčová elektroda opatřena izolačním povlakem například z teflonu, který tvoří dielektrikum. Vodivá kapalina pak představuje druhou elektrodu, jejíž plocha je závislá na výšce hladiny. Snímače pro signalizaci mezních stavů bývají zabudovány ve svislé stěně zásobníku. Přesnost měření v obou případech ovlivňuje vodivá vrstva kapaliny, pěny nebo nánosů ulpívajících na povrchu snímačů.

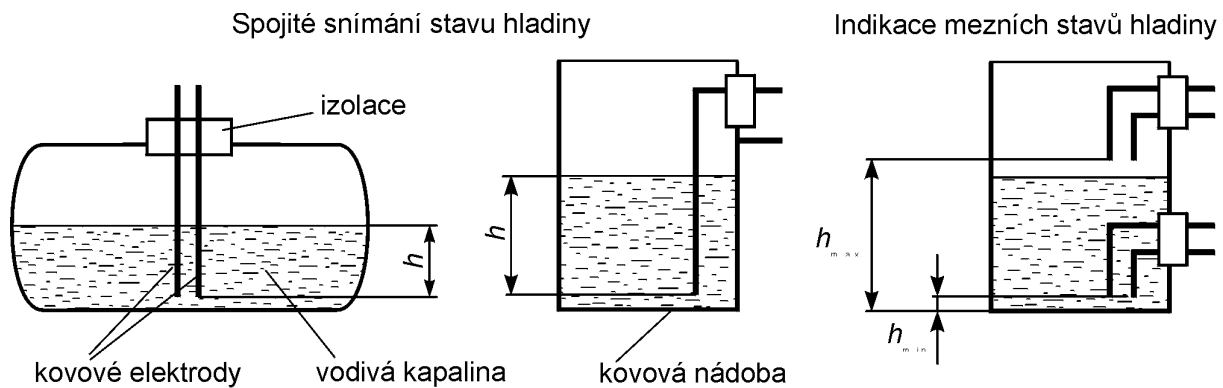
K vyhodnocení změn kapacity se používá metody přímé, substituční, rezonanční anebo některého můstkového zapojení. S měřicím obvodem se kapacitní snímač, který má obvykle velkou impedanci, spojuje speciálním měřicím kabelem. U současně vyráběných snímačů bývají elektronické vyhodnocovací obvody zabudovány přímo v připojovací hlavici snímače. Snímač pak poskytuje analogový nebo číslicový signál vhodný pro dálkový přenos a další zpracování.



Obr. 4.53 Kapacitní snímače hladiny

4.4.3.2 Vodivostní hladinoměry

Vodivostní hladinoměry jsou tvořeny elektrodami umístěnými v nádrži s vodivou kapalinou. Měří se změna elektrického odporu (resp. vodivosti) se změnou výšky hladiny. Přesnost je silně závislá na změnách složení, vodivosti i teplotě média. Vodivostních snímačů se používá zejména k signalizaci mezních stavů a k dvoupolohové regulaci. Ukázka umístění vodivostních snímačů hladiny v provozních nádržích je na obr. 4.54.



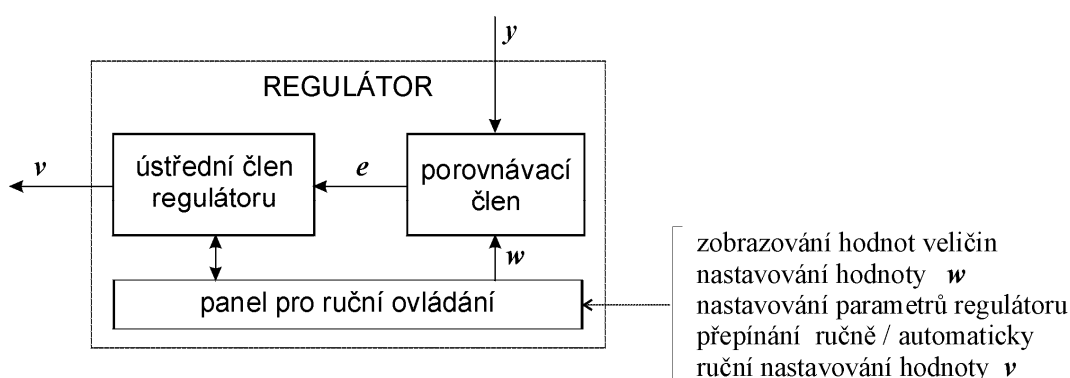
Obr. 4.54 Vodivostní snímače hladiny

3.4 Spojité regulátory

Jak již bylo řečeno, regulací rozumíme udržování určité technologické veličiny (tzv. regulovaná veličina) na určité, obvykle konstantní, hodnotě (tzv. žádaná hodnota). Regulátor je technické zařízení, které tuto funkci realizuje. Typů regulátorů existuje celá řada, můžeme je však rozdělit na dvě základní skupiny: regulátory pracující spojitě a regulátory pracující nespojitě. U spojitých regulátorů je vstupní i výstupní signál spojitou funkcí času, tj. může se měnit v každém časovém okamžiku, u nespojitých se vstup, výstup nebo obojí mění s časem nespojitě, tj. obvykle v určitém časovém okamžiku dochází ke skokové změně z jedné hodnoty na jinou, která se pak až do další skokové změny udržuje konstantní. V této kapitole se budeme zabývat spojitými regulátory, které jsou v praxi nejčastější. Moderní elektronické regulátory jsou sice svou podstatou nespojitě, ale vzhledem k velice krátkým časovým intervalům mezi jednotlivými zásahy se navenek chovají prakticky jako spojitě.

3.4.1 Vlastnosti regulátoru

Na obr.3.5 je znázorněno obecné funkční schéma regulátoru, které platí pro každý regulátor realizovaný jako samostatný technický prvek.



Obr.3.5. Funkční schéma regulátoru

Porovnávací člen určuje hodnotu regulační odchylky e odečtením měřené hodnoty regulované veličiny od hodnoty řídicí veličiny podle vztahu:

$$e = w - y \quad (3.7)$$

Hodnota řídicí veličiny w se u běžných regulátorů buď nastavuje ručně na ovládacím panelu, nebo může být nastavována dálkově standardním signálem.

Regulační odchylku vypočtenou podle (3.7) zpracovává ústřední člen regulátoru a výsledkem je akční zásah, tedy signál ovládající akční člen. Funkce ústředního členu mohou být různé podle požadavků na kvalitu regulace. Z matematického hlediska je obecný tvar rovnice popisující chování běžně užívaného spojitě pracujícího ústředního členu následující:

$$v = r_0 \cdot e(t) + r_{-1} \cdot \int_0^T e(t) \cdot dt + r_1 \cdot \frac{de(t)}{dt} \quad (3.8)$$

P I D

Ústřední člen je tedy tvořen třemi částmi, které definují jeho vlastnosti:

- proporcionální složkou P, která určuje reakci regulátoru na velikost regulační odchylky; r_0 je proporcionální konstanta (zesílení) regulátoru,
- integrační složkou I, která určuje reakci regulátoru na dobu trvání regulační odchylky; r_{-1} je integrační konstanta regulátoru,
- derivační složkou D, která určuje reakci regulátoru na rychlost změny hodnoty regulační odchylky, r_1 je derivační konstanta regulátoru.

Dlouholetá praxe ukázala, že takto definované funkce ústředního členu regulátoru vyhovují v naprosté většině provozních aplikací. Konstrukční důvody regulátorů však vedly k tomu, že matematický popis musel být poněkud upraven do tvaru

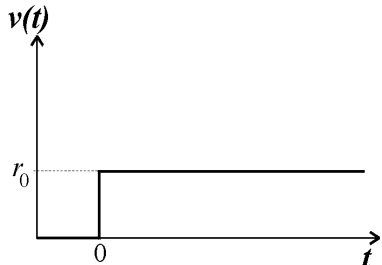
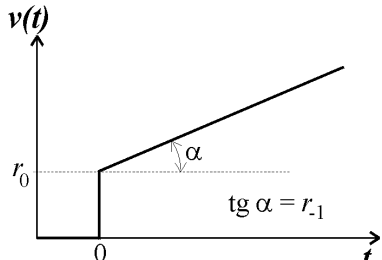
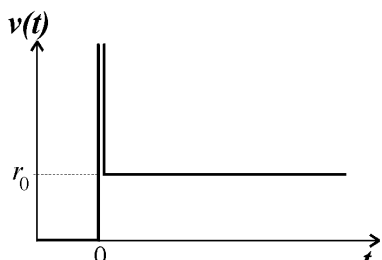
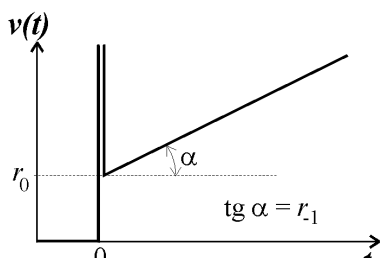
$$v = r_0 \cdot \left[e(t) + \frac{1}{T_i} \int_0^T e(t) \cdot dt + T_d \frac{de(t)}{dt} \right] \quad (3.9)$$

Jedná se o tzv. regulátor s interakcí, protože proporcionální konstantou r_0 se násobí všechny tři členy rovnice. Konstanta T_i má rozměr času a je to tzv. integrační časová konstanta, konstanta T_d má rovněž rozměr času a je to tzv. derivační časová konstanta. Konstanta r_0 je opět zesílení regulátoru, ale v praxi se často setkáme s vyjádřením zesílení pomocí tzv. pásma proporcionality pp . Toto pásmo proporcionality udává, jak velká změna na vstupu regulátoru (e) v % způsobí 100 %-ní změnu na výstupu regulátoru (v). Vzájemný vztah mezi pp a r_0 je tedy dán rovnicí

$$\frac{pp}{100} = \frac{1}{r_0} \quad (3.10)$$

Rovnice (3.8) a (3.9) popisují chování tzv. ideálních regulátorů, tj. takových, které reagují okamžitě, bez jakéhokoliv vlastního zpoždění. Moderní regulátory tuto podmínku prakticky splňují.

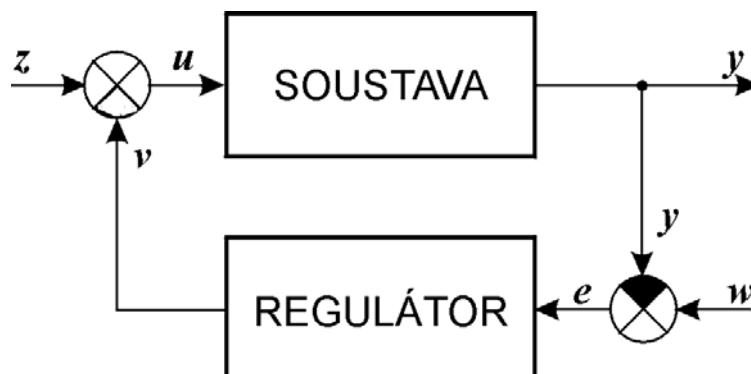
Výše uvedené tři vlastnosti se v reálných regulačních obvodech kombinují tak, aby regulace fungovala co nejlépe. Výsledné regulátory se pak označují příslušnou kombinací písmen P, I a D. V praxi se používají tyto typy regulátorů: P, PI, PD a PID. V následujícím přehledu jsou souhrnně uvedeny rovnice jejich chování a přenosy (vždy bez interakce a s interakcí) a grafické znázornění odezvy výstupu na jednotkový skok regulační odchylky.

P	$v = r_0 \cdot e(t)$ $v = r_0 \cdot e(t)$	$F_R(p) = r_0$ $F_R(p) = r_0$	
PI	$v = r_0 \cdot e(t) + r_{-1} \int_0^t e(t) \cdot dt$ $v = r_0 \cdot \left[e(t) + \frac{1}{T_i} \int_0^t e(t) \cdot dt \right]$	$F_R(p) = r_0 + \frac{r_{-1}}{p}$ $F_R(p) = r_0 \left(1 + \frac{1}{T_i p} \right)$	
PD	$v = r_0 \cdot e(t) + r_1 \frac{de(t)}{dt}$ $v = r_0 \cdot \left[e(t) + T_d \frac{de(t)}{dt} \right]$	$F_R(p) = r_0 + r_1 p$ $F_R(p) = r_0 (1 + T_d p)$	
PID	rovnice (3.8) rovnice (3.9)	$F_R(p) = r_0 + \frac{r_{-1}}{p} + r_1 p$ $F_R(p) = r_0 \left(1 + \frac{1}{T_i p} + T_d p \right)$	

U regulátorů s vlastností D se velikost derivační konstanty na přechodové charakteristice neprojeví. Pro ně je v tomto teoretickém případě charakteristika v bodě $t=0$ nespojitá, protože derivace e je v okamžiku skoku nekonečně velká, v praxi to však v důsledku setrvačné hmoty akčního členu (např. ventilu) znamená jen tolik, že se otevře naplno a vzápětí vrátí zpět a dál se mění jeho poloha už pomalu.

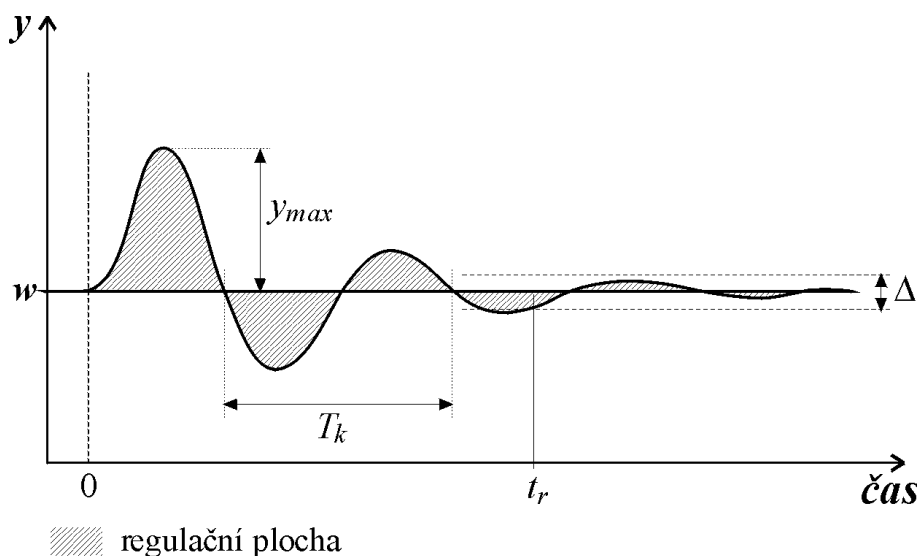
3.4.2 Regulační pochod

S regulačním obvodem jsme se již seznámili v úvodu této kapitoly. Na obr.3.6 je nakresleno základní blokové schéma zpětnovazebního regulačního obvodu tvořeného regulovanou soustavou a regulátorem zapojeným ve zpětné vazbě. Dohromady tvoří vlastně zase systém, který má své dynamické vlastnosti.



Obr.3.6. Blokové schéma zpětnovazebního regulačního obvodu
(Kroužek rozdělený na segmenty znamená sčítání signálů, vyčerněný segment znamená, že příslušný signál se bere se znaménkem minus.)

Regulačním pochodem rozumíme celý proces probíhající v regulačním obvodu od okamžiku vzniku regulační odchylky až do okamžiku jejího odstranění regulátorem. Regulačního pochodu zpravidla zaznamenáváme graficky jako časovou závislost regulované veličiny. Regulovaná veličina se v praxi může odchýlit od své žádané hodnoty buď vlivem nějaké poruchy na vstupu regulované soustavy (hovoříme o reakci na poruchu), nebo v důsledku změny této žádané hodnoty (hovoříme o reakci na řízení). Na obr.3.7 je zakreslen obecný průběh regulačního pochodu jako reakce na poruchu.



Obr.3.7. Záznam regulačního pochodu

Z grafu regulačního pochodu můžeme odečíst tyto z praktického hlediska důležité hodnoty:

- praktická doba regulace t_r , což je doba od počátku regulačního pochodu až do chvíle, kdy regulační odchylka zůstane trvale v určeném intervalu kolem 0 (v obrázku je označen Δ a volí se obvykle $\pm 5\%$ žádané hodnoty),
- maximální překmit y_{max} , tedy největší odchylka regulované veličiny od žádané hodnoty během regulačního pochodu,
- periodu kmitů T_k (jestliže je regulační pochod kmitavý),
- regulační plocha, což je integrál z regulační odchylky podle času.

Každá z výše uvedených hodnot má svůj význam z hlediska posuzování vhodnosti průběhu regulačního pochodu vzhledem k požadavkům technologického procesu. Praktická doba regulace vlastně určuje dobu

po kterou bude regulační odchylka mimo určenou toleranci, tedy po kterou nebudou dodrženy požadované technologické podmínky. Maximální překmit je třeba posuzovat např. z pohledu vzniku možné havarijní situace tím, že regulovaná veličina přestoupí na určitou dobu přípustnou mez. Perioda kmitů má význam např. z hlediska přílišného zatěžování pohonu akčního členu častými změnami směru jeho chodu, nebo třeba z hlediska možného vzniku nestability chemické reakce probíhající v systému apod. Regulační plocha v sobě svým způsobem shrnuje všechna výše zmíněná kritéria a používá se k posuzování kvality regulačního pochodu hlavně v teorii regulace. Lepším a častěji užívaným kritériem než regulační plocha je integrál z druhé mocniny regulační odchylky podle času, protože eliminuje vliv znaménka regulační odchylky na hodnotu výsledku.

Obvykle požadujeme, aby po praktickém ukončení regulačního pochodu byla regulační odchylka v požadované toleranci kolem nuly. Regulační pochod však může někdy proběhnout aniž se dosáhlo tohoto stavu. Hovoříme pak o trvalé regulační odchylce, na kterou daný regulátor již vůbec nereaguje, nemění velikost akčního zásahu, a tudíž ji nemůže dále zmenšovat.

3.4.3 Volba typu regulátoru

Kvalitu regulace můžeme ovlivnit v podstatě dvojím způsobem: volbou typu regulátoru a nastavením jeho konstant. Nastavování konstant regulátoru je záležitost poměrně složitá a měli by je provádět pouze odborníci. Navíc dnes je v řadě mikropočítačových regulátorů zabudována funkce samočinného nastavování konstant („autotuning“). Zde se proto jen stručně zmíníme o výběru vhodného typu regulátoru podle požadavků technologického procesu.

Již bylo řečeno, že z prakticky užívaných typů máme k dispozici regulátory s vlastnostmi P, PI, PD a PID. Pro konkrétní případ jednoduchého regulačního obvodu z nich vybíráme zhruba podle následujících zásad:

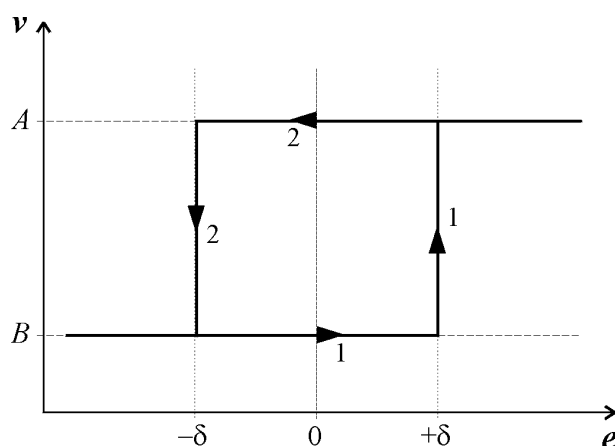
- P regulátor volíme pro méně náročné aplikace, kde nám nevadí trvalá regulační odchylka a preferujeme jednoduché a levné řešení,
- PI regulátor patří k nejběžněji používaným a volíme jej pro středně náročné aplikace, u kterých vyžadujeme, aby pracovaly bez trvalé regulační odchylky,
- PD regulátor se příliš často nepoužívá; co do trvalé regulační odchylky se chová stejně jako regulátor P, složka D však zesiluje jeho reakci na rychlost změny regulační odchylky, takže se uplatní při nepřilíh náročné regulaci rychlých dějů,
- PID regulátor je vhodný pro náročné aplikace, pracuje bez trvalé regulační odchylky a je schopen dobře regulovat i rychlé děje.

V nedávné době vstupovala do rozhodování o volbě typu regulátoru jeho cena v mnohem větší míře než dnes, protože regulátory byly vyráběny buď jako mechanické přístroje (v kvalitě spadající do oblasti přesné mechaniky), nebo jako analogové elektronické obvody s vysokou přesností, linearity a stabilitou. V současné době je naprostá většina komerční produkce regulátorů založena na mikroprocesorech a funkce regulátoru jsou dány programem, což se na konečné ceně projevuje jen málo. Většinou je to tak, že prodáváný regulátor je univerzálního typu PID a uživatel si sám nastavením jeho parametrů zvolí požadované vlastnosti. Je však třeba říci, že seřizování regulačního obvodu s regulátorem PID je podstatně náročnější než s regulátorem P.

3.6 Dvoupolohová regulace

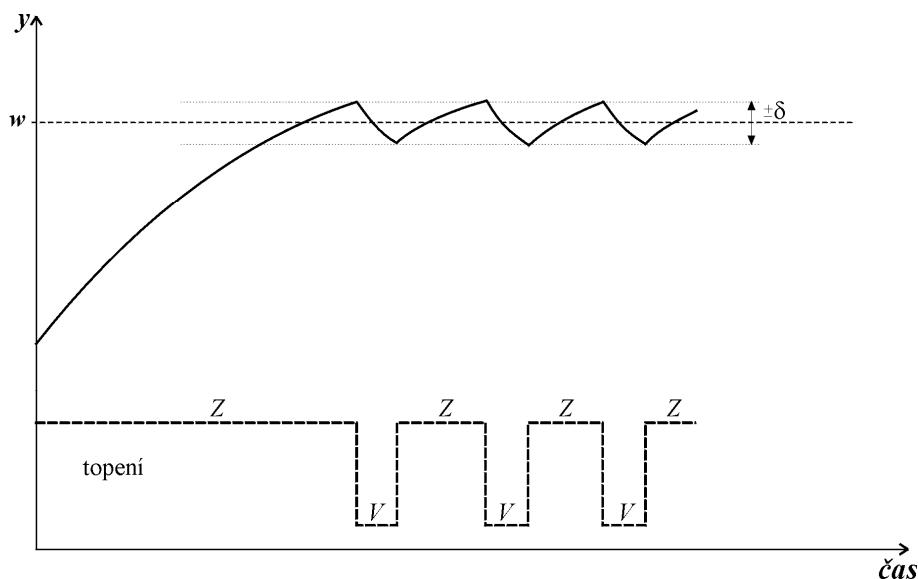
Dvoupolohový regulátor se od spojitého liší tím, že neovládá akční člen spojitě, ale pouze jej přestavuje do jedné ze dvou mezních poloh (obecně poloha A nebo B , např. otevřeno - zavřeno, zapnuto - vypnuto). Tohoto způsobu regulace se používá se všude tam, kde nejsou kladeny vysoké nároky na přesnost, často se s ním setkáme např. u domácích spotřebičů. Jeho předností je, že je jednoduchý a levný.

Dvoupolohový regulátor musí být vybaven definovanou necitlivostí na změnu regulované veličiny v rozmezí $\pm\delta$ kolem žádané hodnoty. Je to nutné proto, aby konkrétní akční člen (např. stykač) nekmital příliš rychle a nezničil se, a také aby se časté rázy nepřenášely do celého regulovaného systému a nezatěžovaly jej. Schématicky je princip práce s necitlivostí naznačen na obr.3.14., pracovní polohy akčního členu jsou označeny A a B . Při růstu regulační odchylky e se akční veličina v mění podle čáry 1, při jejím poklesu podle čáry 2. Je vidět, že v rozmezí $\pm\delta$ kolem bodu $e = 0$ regulátor nereaguje a zachovává předchozí hodnotu akční veličiny.



Obr.3.14. Princip práce dvoupolohového regulátoru s necitlivostí

Na obr.3.15. je ukázka regulačního pochodu s dvoupolohovým regulátorem. Regulovanou veličinou y může být např. teplota v elektrickém ohříváči vody. V horní části obrázku je zakreslen její průběh s časem a v dolní části je pro představu uveden odpovídající průběh akční veličiny (Z ... topení zapnuto, V ... topení vypnuto). Regulační odchylka se u tohoto způsobu regulace pohybuje v rozmezí daném necitlivostí regulátoru δ .

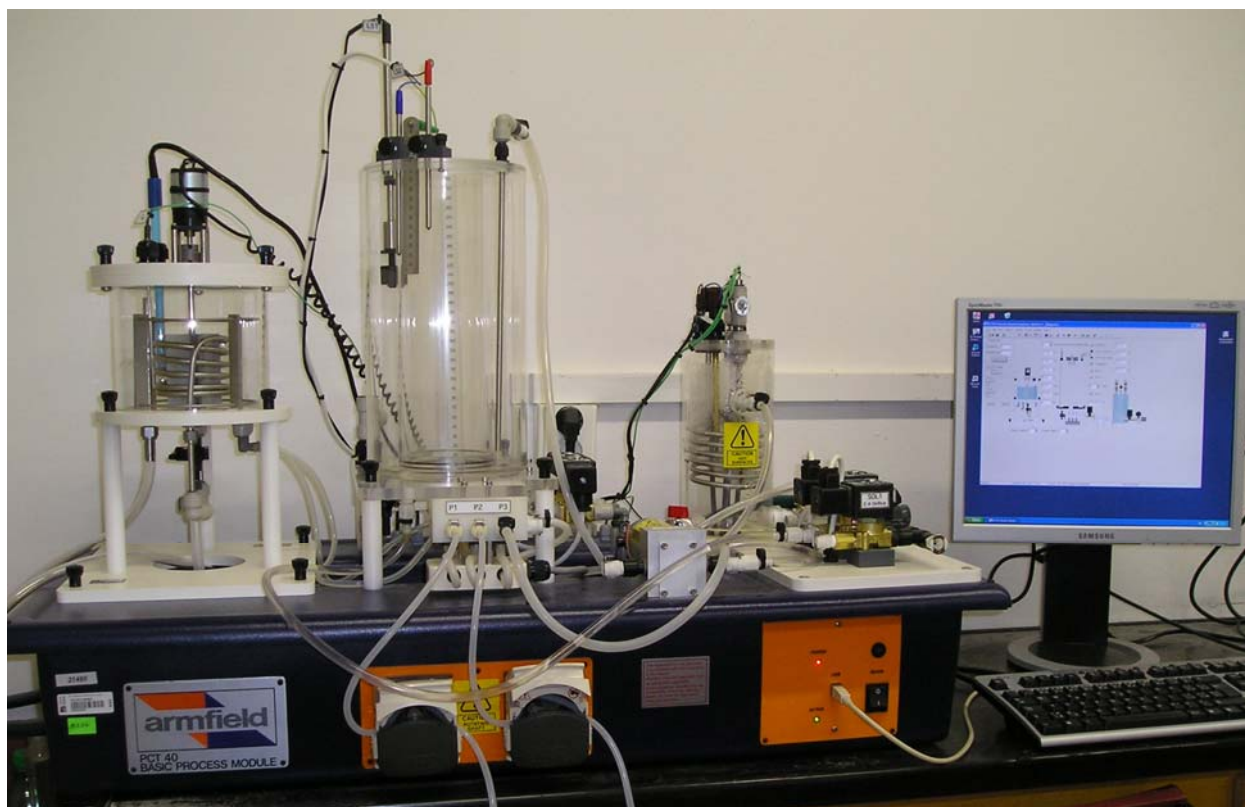


Obr.3.15. Regulační pochod dvoupolohové regulace

ÚSTAV FYZIKY A MĚŘICÍ TECHNIKY VŠCHT PRAHA

MĚŘENÍ A REGULACE HLADINY – PCT 40

Návod k provedení laboratorní práce



Multifunkční systém pro výuku provozního měření a řízení ARMFIELD

VŠCHT Praha – prosinec 2006

MĚŘENÍ A REGULACE HLADINY – PCT 40**Návod k provedení laboratorní práce****Obsah**

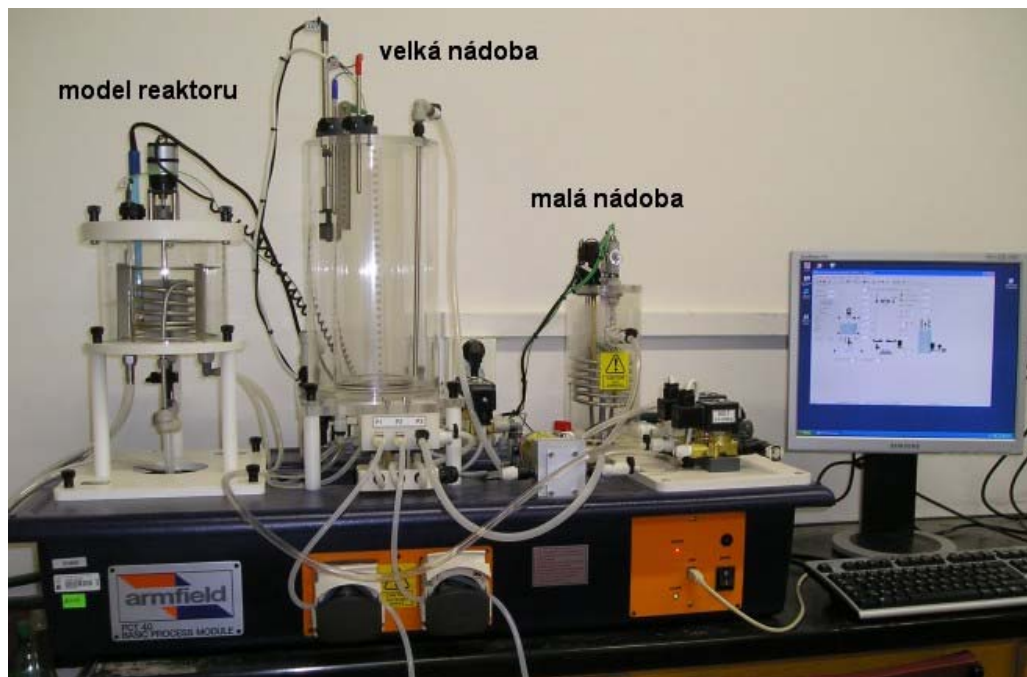
A	– Úvodní část.....	3
A1	Popis laboratorního zařízení	3
A1.1	Přehled laboratorních úloh	3
A1.2	UPOZORNĚNÍ	3
A1.3	Zařízení pro měření a regulaci hladiny	4
A2	Seznámení s multifunkční stanicí.....	4
A2.1	Zapojení měřicího zařízení.....	4
A2.2	Obsluha multifunkční stanice.....	9
A2.2.1	Postup při manuálním řízení přítoku vody	9
A2.2.2	Nastavení plovákového snímače	10
A2.2.3	Snímání a ukládání naměřených dat.....	10
B	– Návod k laboratorním úlohám.....	13
B1	Měření hladiny a její regulace dvupolohovým ventilem.....	13
B1.1	Dvupolohová regulace hladiny s použitím plovákového snímače	13
B1.1.1	Dvupolohová regulace hladiny s plovákovým snímačem a ventilem SOL 1	13
B1.1.2	Vliv působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3	14
B1.1.3	Změna žádané hodnoty polohy hladiny	14
B1.1.4	Vliv velikosti vstupního průtoku vody.....	15
B1.1.5	Zpracování naměřených dat do protokolu.....	15
B1.2	Řízení hladiny s využitím diferenčního vodivostního snímače	16
B1.2.1	Dvupolohová regulace hladiny s vodivostním snímačem a ventilem SOL 1	16
B1.2.2	Vliv působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3	17
B1.2.3	Změna žádané hodnoty a změna pásma necitlivosti vodivostního snímače	17
B1.2.4	Zpracování naměřených dat do protokolu.....	17
B2	Řízení hladiny proporcionálním solenoidovým ventilem	18
B2.1	Manuální řízení hladiny proporcionálním solenoidovým ventilem	19
B2.1.1	Manuální řízení přítoku kapaliny do nádoby při požadované poloze hladiny	19
B2.1.2	Manuální řízení při působení poruchy otevřením ventilu SOL 3.....	20
B2.1.3	Manuální řízení při změně žádané hodnoty	20
B2.1.4	Zpracování naměřených dat do protokolu.....	21
B2.2	Spojité regulace hladiny s PID-regulátorem a proporcionálním ventilem.....	22
B2.2.1	Nastavení PID-regulátoru.....	22
B2.2.2	Řízení procesu PID- regulátorem při zadaném nastavení parametrů regulátoru	22
B2.2.3	Působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3	23
B2.2.4	Změna žádané hodnoty při zadaném nastavení konstant regulátoru.....	24
	Ukončení práce a vypnutí laboratorní stanice	24
	Zpracování naměřených dat do protokolu	24

MĚŘENÍ A REGULACE HLADINY – PCT 40

A – Úvodní část

A1 Popis laboratorního zařízení

Základ tvoří multifunkční stanice Armfield PCT 40 (obr. 1), která je propojena s počítačem, na němž je nainstalován ovládací software ArmSoft PCT40. Podrobnější popis stanice je uveden v textu Multifunkční systém pro výuku provozního měření a řízení ARMFIELD PCT 40 (soubor „Hladina-PCT40-uvod.doc“, je na internetu na adrese <http://www.vscht.cz/ufmt/kadleck.html>.



Obr. 1 Stanice PCT 40

A1.1 Přehled laboratorních úloh

Při laboratorním cvičení budou proměřeny následující úlohy s odpovídajícím číslováním:

B1. Měření hladiny a její regulace dvupolohovým ventilem

B1.1 Dvupolohová regulace hladiny s použitím plovákového snímače

B1.2 Řízení hladiny s využitím diferenčního vodivostního snímače

B2 Řízení hladiny proporcionálním solenoidovým ventilem

B2.1 Manuální řízení hladiny s použitím proporcionálního solenoidového ventilu

B2.2 Spojitá regulace hladiny PID-regulátorem s proporcionálním ventilem

A1.2 UPOZORNĚNÍ

Při všech manipulacích s ovládacími prvky postupujte s citem a nepoužívejte hrubé síly!

Uvědomte si, že zařízení, na kterém pracujete bylo velmi nákladné a je zapotřebí, aby jej mohli využívat další studenti ještě po vás.

Při jakékoliv pochybnosti a případné závadě se obraťte na vyučujícího pedagoga.

Během provozu nesmí být stanice bez obsluhy.

A1.3 Zařízení pro měření a regulaci hladiny

Laboratorní úlohy věnované měření a regulaci hladiny využívají velké procesní nádoby multifunkčního systému. Velká procesní nádoba představuje model provozní nádrže, která je opatřena potřebnými elementy pro připojení ovládacích ventilů a čerpadel pro přívod a odvod vody a je vybavena několika snímači pro měření polohy hladiny náplně. Provedení velké procesní nádoby je patrné z obr. 2.

Pro měření a regulaci polohy hladiny jsou k dispozici následující prvky:

- průhledové měřítko pro vizuální odečítání polohy hladiny
- plovák mechanickým nastavením žádané polohy, vybavený magnetickým spínačem pro dvoupolohovou regulaci hladiny
- stavitelné elektrody vodivostního snímače s nastavitelným pásmem necitlivosti
- snímač hydrostatického tlaku ve dně nádoby, vybavený tenzometrickým snímačem s analogovým signálem úměrným výšce hladiny v nádobě



Obr. 2 Velká procesní nádoba se snímači hladiny

A2 Seznámení s multifunkční stanicí

A2.1 Zapojení měřicího zařízení

- Zkontrolujte propojení multifunkčního systému s počítačem pomocí USB-kabelu.
- Zapněte hlavní vypínač „MAINS“ na panelu stanice PCT 40, musí se rozsvítit zelená kontrolka vpravo na panelu (obr. 3).
- Zapněte počítač, přihlaste se do sítě VŠCHT.
- Pro ukládání souborů dat z vašich měření si vytvořte vlastní adresář v adresáři Armfield-data/Studenti. Tento adresář naleznete volbou:

Tento počítač/diskC/Armfield-data/Studenti

Zde vytvořte vlastní adresář s názvem datum_jmeno (např. 0503Novakova).

- Ovládací software ArmSoft PCT 40 spusťte následující sekvencí příkazů:

Programy/

Armfield Process Control Software/

PCT 40 Basic Control Unit



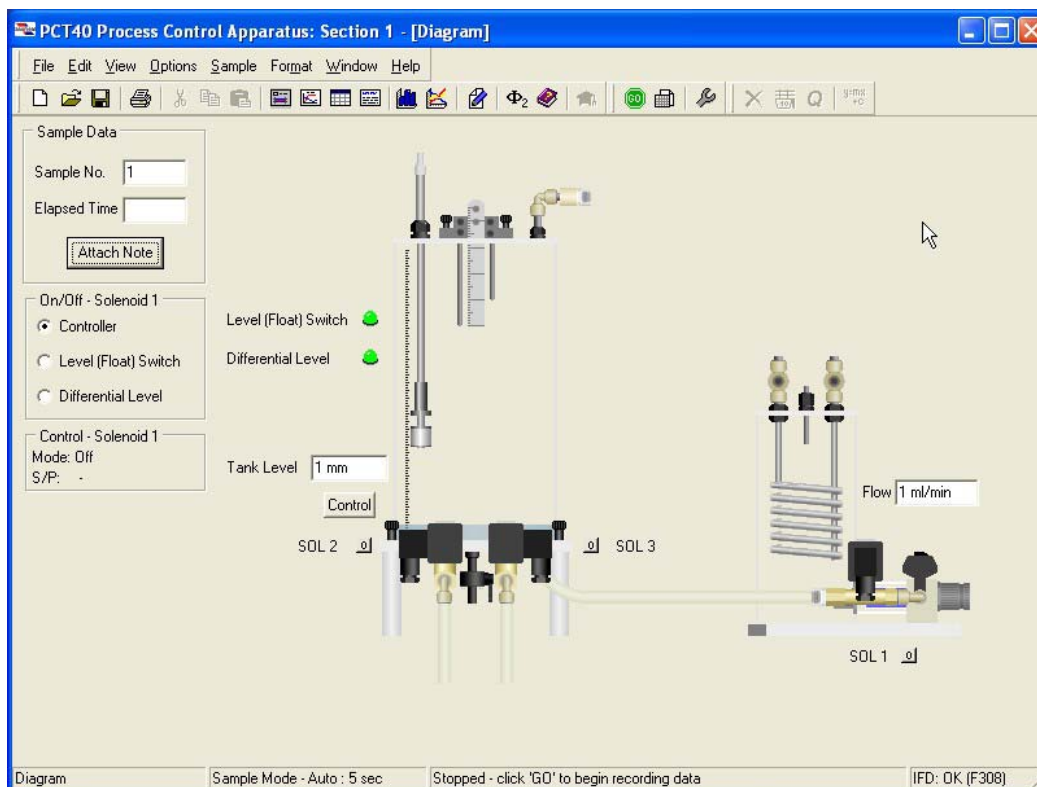
Obr. 3 Hlavní panel stanice PCT 40

V úvodním okně programu ArmSoft (obr. 4) zvolte Section 1 a stiskněte tlačítko „Load“.



Obr. 4 Úvodní okno programu ArmSoft.

- V menu „View“ zvolte položku „Diagram“ a na obrazovce je znázorněno schéma aparatury pro zadanou úlohu (obr. 5). Je vhodné zvětšit okno na celou obrazovku.



Obr. 5 Schéma pro úlohu „Section 1“

- Zkontrolujte, zda je otevřený výpustní kohout VK1 v levé části odpadního kanálu z měřicí stanice (obr. 6), který je napojen hadicí do odpadního sifonu. Zkontrolujte zasunutí hadic do odpadního sifonu (obr. 7).

Během měření všech úloh mějte na paměti, že jde o průtočný systém a tento vypouštěcí kohout VK1 nikdy neuzavírejte.



Obr. 6 Výpustní kohout VK1
z odpadního kanálu stanice



Obr. 7 Zaústění hadic
do odpadního sifonu

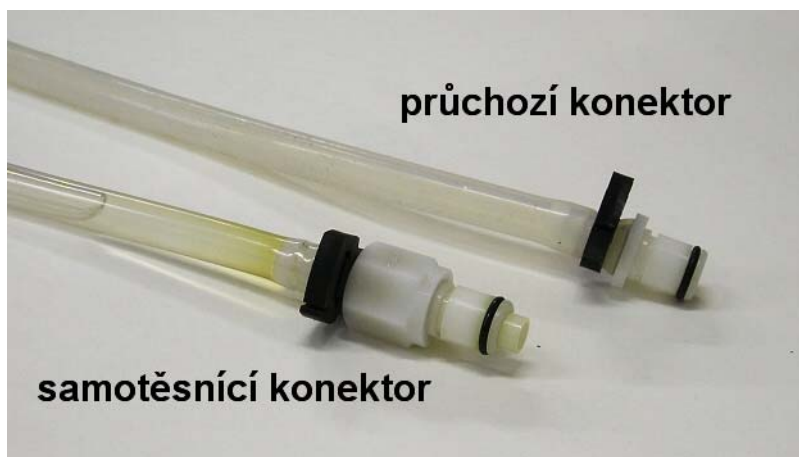
K propojení jednotlivých prvků systému se používá hadiček vhodné délky s rychloupínacími samotěsnícími konektory na obou koncích.

Poznámka:

Příslušenstvím multifunkční stanice jsou propojovací hadice s rychloupínacími konektory dvojího typu (obr. 8):

a) rychloupínací samotěsnící konektor (konektor je opatřen samotěsnící pojistkou a při rozpojování těchto konektorů nedochází k úniku kapaliny; konektor poznáme podle šestihranné matice)

b) rychloupínací průchozí konektor (tento konektor není opatřen samotěsnící pojistkou a je využíván u hadic z měkkého silikonového kaučuku, které se používají k propojení u peristaltických čerpadel)



Obr. 8 Rychloupínací konektory u propojovacích hadic

Při propojování se konektor vsune do otvoru protikusu, mírně se zatlačí, až zaklapne západka pojistky (obr. 9 a). Při rozpojování se stiskne kovový ovladač pojistky (obr. 9 b) a konektor se automaticky uvolní.



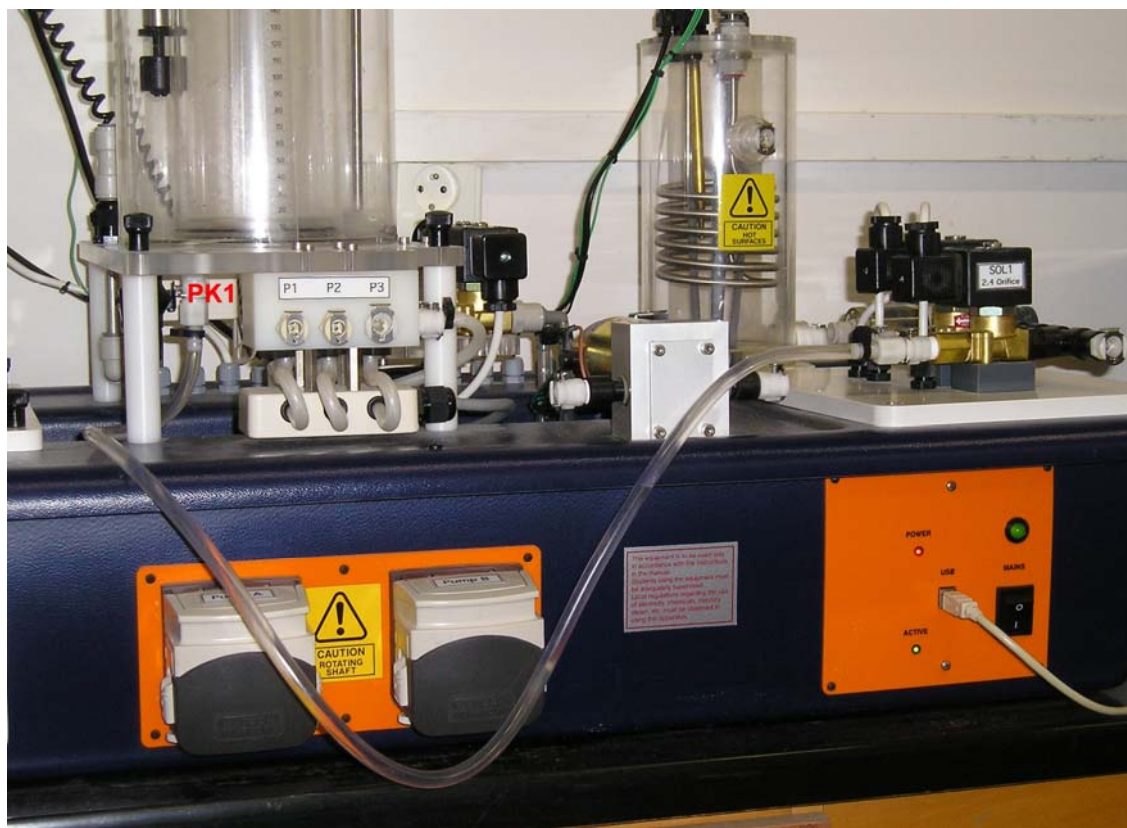
připojení



rozpojení

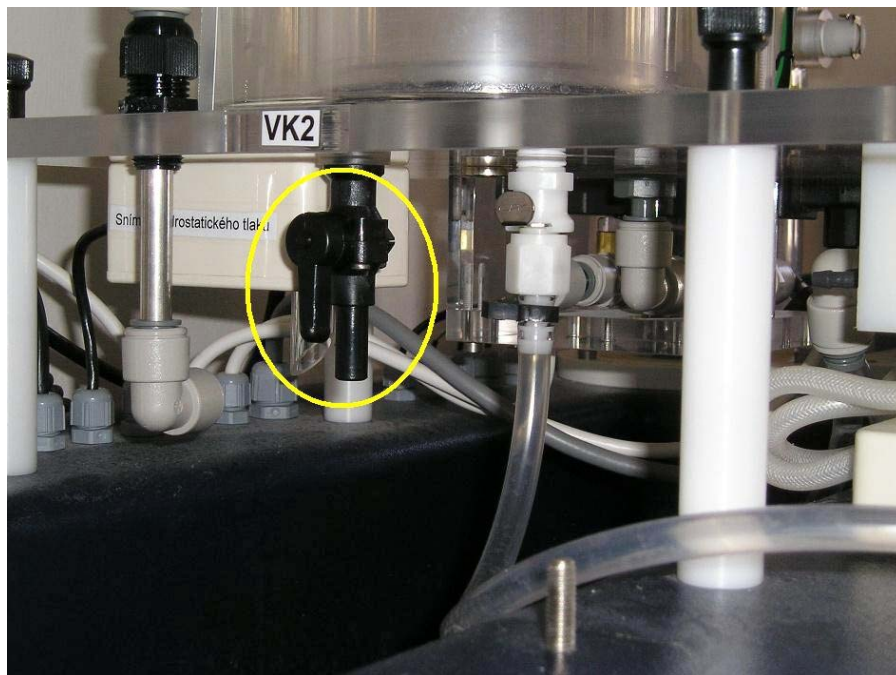
Obr. 9 Manipulace s propojovacími konektory

- Pomocí hadice s rychloupínacími samotěsnícími konektory propojte výstup solenoidového ventilu SOL 1 s propojovacím konektorem PK1 ve spodním víku velké provozní nádoby (obr. 10). Toto propojení odpovídá zapojení aparatury podle schématu na obrazovce (obr. 5).



Obr. 10 Propojení SOL 1 a PK1 u velké provozní nádoby

- Zcela otevřete vypouštěcí kohout VK2 (obr. 11) pro odtok kapaliny z velké provozní nádoby, který je umístěn ve spodním víku této nádoby (ovládací páčka kohoutu bude přitom směřovat směrem dolů).



Obr. 11 Vypustní kohout VK2 pro odtok kapaliny z velké provozní nádoby

- Otevřete kohout na hlavním přívodu vody umístěný nad umyvadlem; číslo kohoutu odpovídá číslu laboratorní stanice (obr. 12). Při otevírání otáčejte ovládací páčkou **proti směru** hodinových ručiček.



Obr. 12 Kohouty pro přívod vody do multifunkčních stanic.

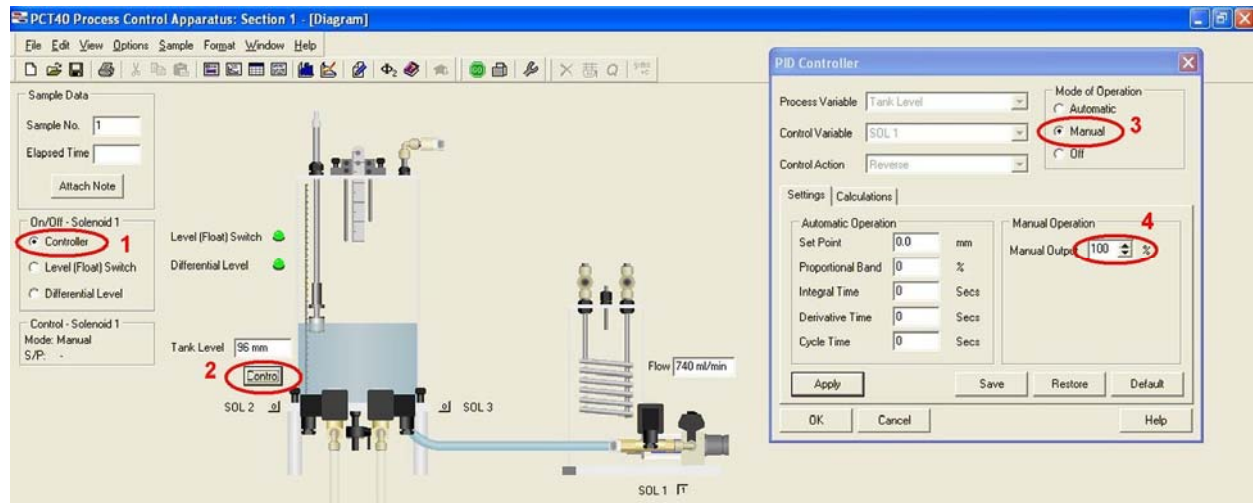
(V současné době se využívá pouze stanice č. 1. S kohoutem pro stanici č. 2 nemanipulujte!)

A2.2 Obsluha multifunkční stanice

Před vlastním měřením se seznámte s obsluhou stanice při manuálním ovládání přítoku vody do velké provozní nádoby.

A2.2.1 Postup při manuálním řízení přítoku vody

- Na řídicím panelu na obrazovce (obr. 13) vyberte volbu „Controller“ (1), stiskněte tlačítko „Control“ (2) a poté v okně „PID Controller“ zvolte operační mód „Manual“ (3) a nastavte „Manual Output“ (4) na 100 %. Tak se otevře solenoidový ventil SOL 1. Potřebujete-li ventil zavřít, zvolte operační mód „Off“. Stav ventilu SOL 1 je indikován v poli SOL 1 na schématu. Z tohoto pole nelze SOL 1 ovládat, slouží pouze k indikaci stavu ventilu.



Obr. 13 Manuální ovládání přítoku vody ventilem SOL 1.

- Pomocí tlačítek na schématu otevřete ventily SOL 2 a SOL 3 a manuálně otevřete ventil SOL 1. Průtok vody seřídíte ručním regulačním ventilem RV, který se nachází na pravé části aparatury u přívodu vody (obr. 14). Při seřizování ventilu je zapotřebí nejprve točítka ventilu odaretovat vytažením a poté je možno upravit velikost průtoku otáčením točítka. Hodnotu průtoku měří turbinkový průtokoměr F1 a údaj o průtoku (Flow) je k dispozici ve schématu na obrazovce. Průtok seřídíte na hodnotu mezi 1 300 až 1 400 ml/min. Nikdy nepřekračujte hodnotu 1 400 ml/min. Po seřízení průtoku aretujte točítka regulačního ventilu zatlačením.



Obr. 14 Ruční regulační ventil RV



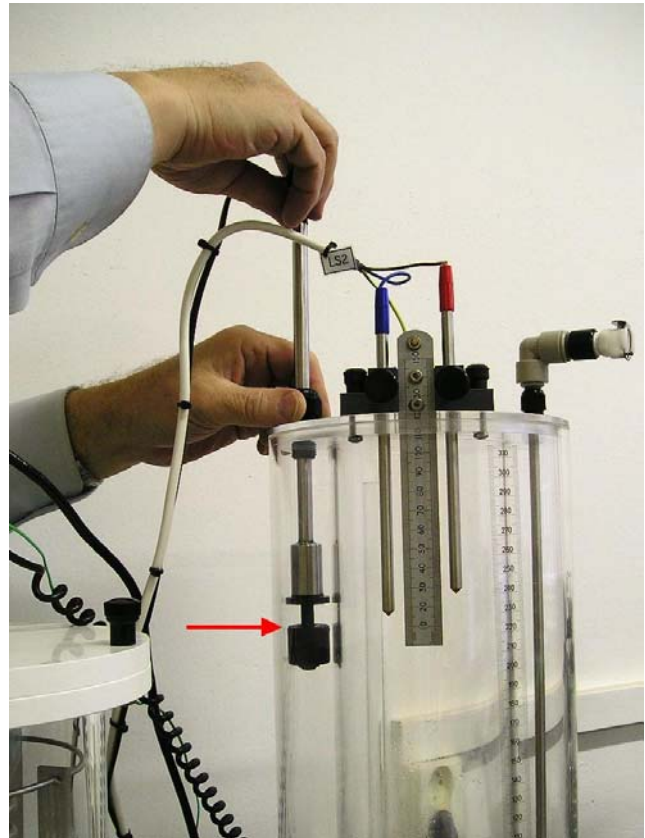
Obr. 15 Odpouštění vody kohoutem VK2

- Vypouštěcí kohout VK2 pro odtok kapaliny z velké provozní nádoby částečně uzavřete (asi na polovinu) tak, aby voda částečně odtékala z provozní nádoby (obr. 15).
- Uzavřete ventil SOL 1 volbou operačního módu „Off“ a rovněž uzavřete ventily SOL 2 a SOL 3.

A2.2.2 Nastavení plovákového snímače

Při seřizování polohy plovákového snímače uvolněte převlečnou matici na horním víku nádoby a povytažením či zasunutím tyče plovákového snímače upravte požadovanou polohu. Poté utažením převlečné matice zafixujte (obr. 16).

- Nastavte plovákový snímač hladiny na žádanou hodnotu například na hodnotu přibližně 150 mm.
- Požadovanou polohu hladiny nastavte podle horní hrany plováku (viz obr. 16)
- Při seřizování polohy plováku dbejte na to, aby se plovák nedotýkal stěn nádoby nebo vnitřního válce.

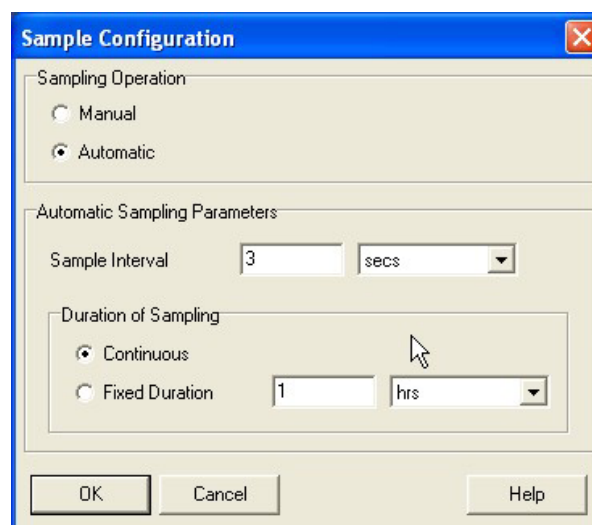


Obr. 16 Seřízení požadované hodnoty plovákového snímače

A2.2.3 Snímání a ukládání naměřených dat.

- V procesním diagramu (obr. 13) přepněte na volbu „Level (Float) Switch“, a tím je zapojen experiment dvoupolohové regulace hladiny.
- V menu „Sample/Configure“ nastavte interval automatického sběru dat na 3 s při kontinuálním vzorkování (obr. 17) a potvrďte „OK“.

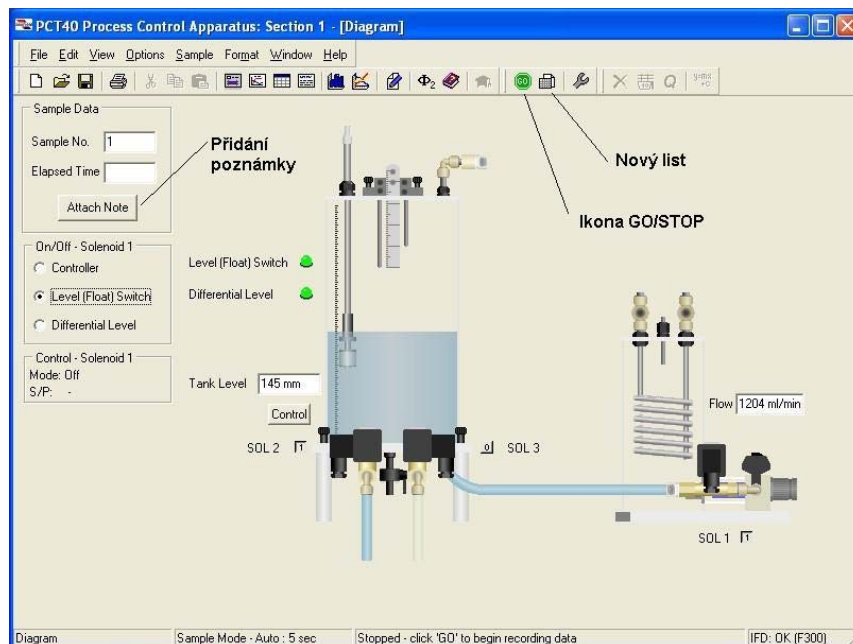
Zjistíte-li při dalším měření, že vám nastavený interval měření nevyhovuje, tak změňte jeho hodnotu.



Obr. 17 Nastavení intervalu vzorkování

- Kliknutím na ikonu „GO“ zahájíte nahrávání dat. Hned na začátku sběru dat je vhodné vložit do tabulky poznámku, která stručně charakterizuje daný experiment (zde např. Zkouska). Poznámka se vkládá pomocí tlačítka „Attach note“ v levém horním rohu diagramu (obr. 18).

Po stisku se ikona „GO“ změní na ikonu „STOP“. Touto ikonou později nahrávání dat ukončíte.



Obr. 18 Ikony pro záznam dat. Přidání poznámky do záznamu.

- Záznam dat můžete průběžně sledovat po zobrazení tabulky volbou „View/Table“.

Stisknete-li během experimentu ikonu „STOP“, přeruší se tím záznam hodnot a po stisku „GO“ a po případném vložení poznámky bude záznam pokračovat a údaje se budou ukládat do téhož listu tabulky.

Table					
Sample Number	Elapsed Time	Notes	Level L1 [mm]	Flowrate F1 [ml/min]	Level Switch
9	00:40		98	1255	1
10	00:45		106	1253	1
11	00:50		115	1252	1
12	00:55		122	878	0
13	01:00		125	253	0
14	01:05		126	1	0
15	01:10		126	1	0
16	01:15		126	1	0
17	01:20		126	1	0
18	01:25		126	1	0
19	01:30		126	1	0
20	01:35		126	1	0
21	01:40		126	1	0
22	01:45	SOL2	126	1	0
23	01:50		125	1	0
24	01:55		124	373	0
25	02:00		124	375	0

Obr. 19 Zobrazení tabulky snímaných dat.

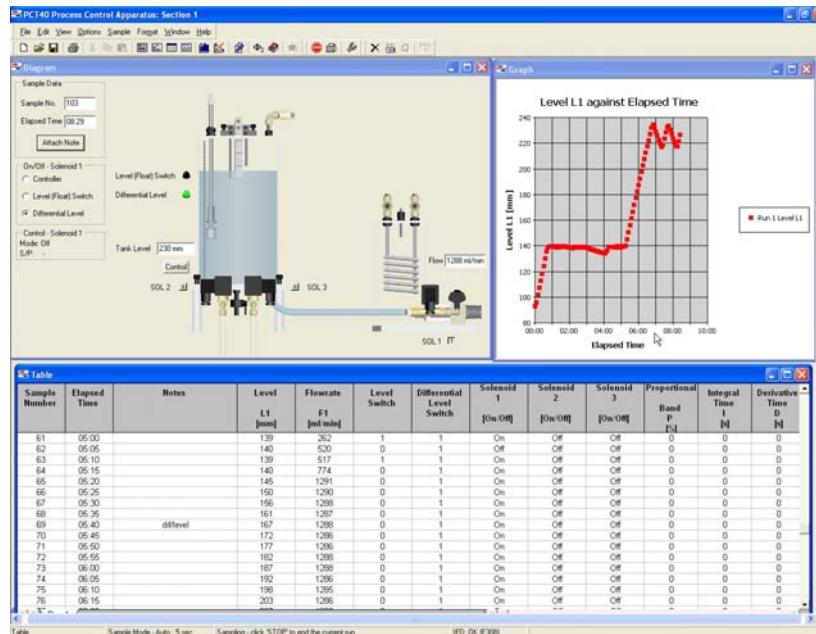
- Průběžný graf měřených hodnot hladiny je k dispozici po volbě „View/Graph“.
- Pro nový experiment je vhodné založit vždy nový list s příslušnou poznámkou a k tomu slouží ikonka vedle ikony „GO“ a tlačítko „Attach note“ (obr. 18).

První list v tabulce je označen „RUN 1“, další „RUN 2“ atd. (obr. 19)

Při volbě nového listu se také začíná kreslit nová křivka, která je barevně a graficky odlišena a můžeme ji pozorovat po volbě „View/Graph“.

Při začátku sběru dat pro nový úkol je účelné na list připojit poznámku, charakterizující prováděný experiment (např. Plovák, Dvoupolohová regulace apod.).

Po volbě „Window/Cascade“ je možno vhodně uspořádat okna pro současné zobrazení schéma aparatury, tabulky měřených hodnot a grafu časového průběhu měření (obr. 20).



Obr. 20 Příklad rozložení oken na monitoru

Průběh měření a regulace můžete sledovat i v průběžném grafu, který spustíte v menu „View/Show history“.

Polohu hladiny je možno sledovat na panelu v poli „Tank level“. Tato hodnota je odvozena ze signálu tenzometrického snímače hydrostatického tlaku, který je umístěn ve spodním víku velké procesní nádoby. Průtok je zobrazen v poli „Flow“. Ventily SOL 2 a SOL 3 můžete ovládat prostřednictvím tlačítek na schématu.

V tabulce s měřenými daty jsou ukládány spolu s údaji o času a hladině i další informace o průtoku, o stavu otevření ventilů, nastavení konstant regulátorů atd.

➤ Zaznamenávání dat ukončíte stiskem tlačítka „STOP“.

Nahraná data z experimentů ukládejte do vlastního vytvořeného adresáře (viz bod A2.1), abyste je měli k dispozici pro zpracování protokolu.

Nahraná data je třeba ihned po ukončení experimentu uložit po volbě „File/Save As“

➤ Při ukládání souboru vyberte volbu formátu „Save as type Excel 5.0 file (*.xls)“.

(Upozornění: Implicitně je nastavena volba souboru ve formátu *.vts. I tento typ souboru je však možno otevřít v Excelu, a pak uložit ve formátu *.xls).

➤ Soubor označte: „prijmeni_ddmm_A223.xls“, kde „ddmm“ značí aktuální datum měření a poslední znaky vyjadřují číslo odstavce, kterého se týkají naměřená data (zde např: novakova0503_A223.xls).

Jestliže jste se dostatečně seznámili s aparaturou, její obsluhou i se způsobem záznamu dat, je možno přistoupit k jednotlivým úkolům laboratorního cvičení.

B – Návod k laboratorním úlohám

Laboratorní úloha:

B1 Měření hladiny a její regulace dvoupolohovým ventilem

Zapojení aparatury

Zapojení aparatury pro tuto laboratorní úlohu je popsáno v kapitole A2 Seznámení s multifunkční stanicí.

Zadání:

- B1.1 Dvoupolohová regulace hladiny s použitím plovákového snímače
- B1.2 Řízení hladiny s využitím diferenčního vodivostního snímače

B1.1 Dvoupolohová regulace hladiny s použitím plovákového snímače

Úkoly:

- B1.1.1 Dvoupolohová regulace hladiny s plovákovým snímačem a ventilem SOL 1
- B1.1.2 Vliv působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3
- B1.1.3 Změna žádané hodnoty polohy hladiny
- B1.1.4 Vliv velikosti vstupního průtoku vody
- B1.1.5 Zpracování naměřených dat do protokolu

Pracovní postup:

B1.1.1 Dvoupolohová regulace hladiny s plovákovým snímačem a ventilem SOL 1

- Pokud práce navazuje na bod A2.2.3 zvolte pro záznam dat nový list.

(Jestliže tímto bodem začíná vaše práce v laboratoři, pak po volbě „File/LoadNew Experiment“ vyberte „Section 1“ v menu „Window“ zvolte položku „Cascade“ a uspořádejte si vhodně rozložení oken na plochu.)

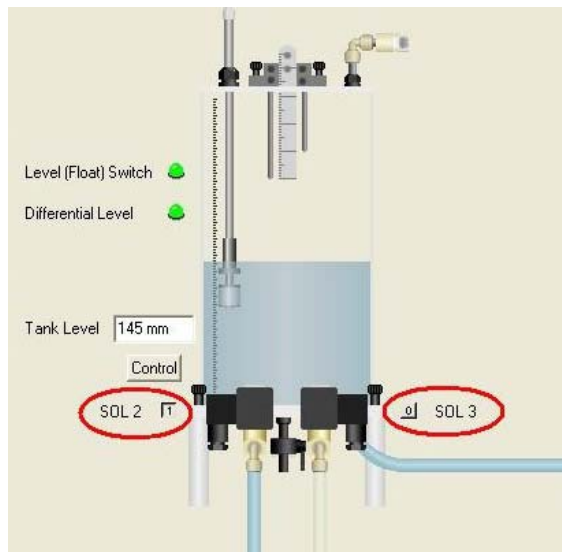
- Nastavte polohu plovákového snímače přibližně na 170 mm.
- Vypouštěcí kohout VK2 pro odtok kapaliny z velké provozní nádoby ponechte částečně otevřený a **jeho polohu během celé laboratorní práce neměňte!**
- V menu „Sample/Configure“ nastavte interval automatického sběru dat na 2 s při kontinuálním vzorkování a potvrďte „OK“.
- Prostřednictvím tlačítka „Attach note“ vložte poznámku (např. „plovak“) a po stisku tlačítka „GO“ zaznamenávejte průběh experimentu.
- V procesním diagramu přepněte na „Level Switch“.

Velká procesní nádoba se bude plnit vodou přes solenoidový ventil SOL 1. Hodnoty průtoku, hladiny a stav ovládacích prvků můžete sledovat na panelu na monitoru.

- Sledujte, kdy hladina dosáhne stabilizovaného stavu, tzn. že ventil SOL 1 bude zapínán a vypínán v pravidelných intervalech. (Toto si můžete ověřit v průběžném grafu, který spustíte v menu „View/Show history“).

B1.1.2 Vliv působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3

- Do procesu vnešte poruchu pomocí solenoidových ventilů SOL 2 a SOL 3 (obr. 21 b), kterými se ovládá odtok vody z velké procesní nádrže. Tlačítka pro ovládání těchto ventilů najdete na schématu pro tuto úlohu (obr. 21 a).



a) Schéma



b) Ventily SOL 2 a SOL 3

Obr. 21 Solenoidové ventily pro ovládání odtoku kapaliny z velké provozní nádoby

Nejprve otevřete ventil SOL 3 a pozorujte průběh hladiny a nechte probíhat regulaci až do doby, kdy dojde k stabilizaci oscilací hladiny. Po stabilizaci děje otevřete i ventil SOL 2 a nahrávejte data tak dlouho, aby bylo možné vyhodnotit amplitudu a periodu oscilací.

V případě, že hladina při otevření obou ventilů trvale klesá ukončete záznam dat tlačítkem „STOP“.

B1.1.3 Změna žádané hodnoty polohy hladiny

- Uzavřete ventily SOL 2 a SOL 3 a změňte žádanou hodnotu polohy hladiny u plovákového snímače přibližně na 200 mm (viz obr. 16).

Poznámka: Ve schématu se změna polohy plováku neprojeví.

- Pro záznam dat zvolte nový list a po stisku ikony „GO“ zaznamenejte časový průběh děje.
- Až systém dosáhne opět stabilizovaného stavu ukončete záznam stiskem tlačítka „STOP“.

B1.1.4 Vliv velikosti vstupního průtoku vody

Upozornění: *Tento úkol vynecháte, pokud nebude vysloveně zadán vyučujícím.*

- Manuálně uzavřete ventil SOL 1 (volba „Controller“, pak tlačítko „Control“ a poté v okně „PID Controller“ operační mód „Off“).
- Otevřete ventily SOL 2 a SOL 3 a nádoba se vyprázdní.
- Při manuálním otevření ventilu SOL 1 (viz odstavec A2.2.1, obr. 13) nastavte přítok vody ručním ventilem RV (obr. 14) asi na polovinu původního (tj. asi 700 ml/min). Snížení průtoku provádíme po odaretování točítka tahem ven a otáčením proti směru hodinových ručiček.
- Po nastavení průtoku zavřete ventily SOL 2 a SOL 3 a regulaci hladiny plovákovým snímačem spustíte volbou „Level(Float)Switch“.
- Změňte požadovanou hodnotu polohy hladiny u plovákového snímače přibližně na 150 mm.
- Vložte nový list pro záznam hodnot, vložte poznámku „Attach note“ (např. „0,5 prtok“) a sběr dat zahájíte ikonou „GO“. Podobně jako při práci podle bodu B1.1.2 proměřte vliv působení poruchy jedním z ventilů SOL 2 nebo SOL 3.
- Zjistěte, jak se změní frekvence oscilací plovákového snímače při změně přítoku do nádoby (pozor na to, abyste nezměnili během této úlohy nastavení výpustního kohoutu VK2 z nádoby). Měření ukončíte ikonou „STOP“ a manuálním uzavřením ventilu SOL 1.
- Naměřená data uložte ve formátu XLS a soubor označte „prijmeni_ddmm_B114.xls“.

B1.1.5 Zpracování naměřených dat do protokolu

Všechna naměřená data zpracujte graficky a naměřené výsledky v protokolu okomentujte. Uveďte časové závislosti polohy hladiny pro naměřené průběhy. Z naměřených dat určete velikost pásma necitlivosti plovákového spínače.

B1.2 Řízení hladiny s využitím diferenčního vodivostního snímače

Úkoly:

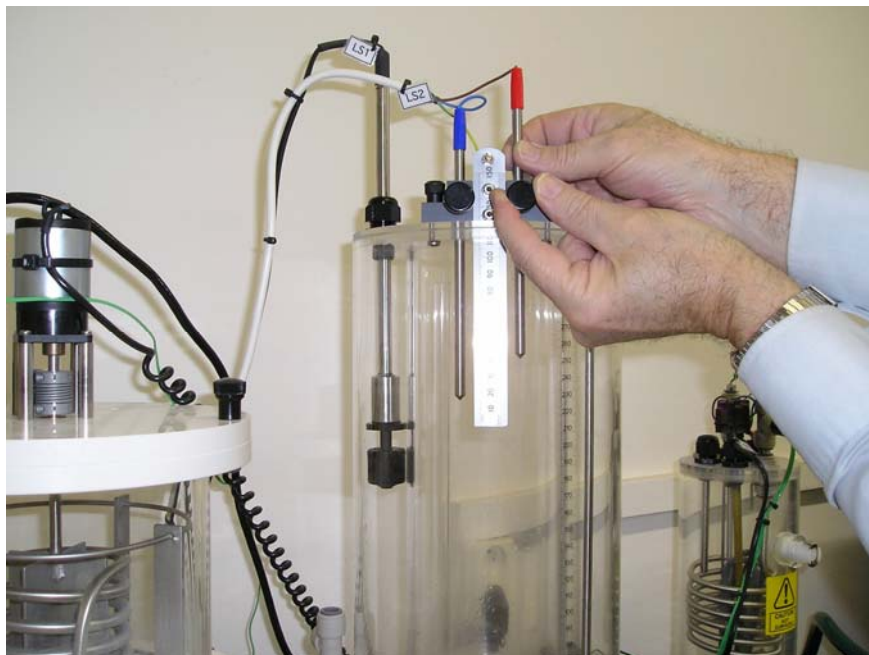
- B1.2.1 Dvoupolohová regulace hladiny s vodivostním snímačem a ventilem SOL 1
- B1.2.2 Vliv působení způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3
- B1.2.3 Změna žádané hodnoty a změna pásma necitlivosti vodivostního snímače
- B1.2.4 Zpracování naměřených dat do protokolu

Pracovní postup:

B1.2.1 Dvoupolohová regulace hladiny s vodivostním snímačem a ventilem SOL 1

- Volbou „File/Load New Experiment“ zvolte „**Section 1**“. V menu „Window“ zvolte položku „Cascade“, uzavřete okno „Presentation“ a uspořádejte si vhodně rozložení oken na celou plochu obrazovky (obr. 20).
- Nastavte polohu elektrod diferenčního vodivostního snímače přibližně tak, že modrá elektroda bude na hodnotě 20 mm a červená na hodnotě asi 40 mm (obr. 22)

Při nastavování požadované polohy elektrod vodivostního snímače se nejprve povolí zajišťovací šroub, poloha elektrody se upraví vysunutím nebo zasunutím a utažením šroubu se zafixuje.



Obr. 22 Nastavení polohy elektrod vodivostního snímače

- Vypouštěcí kohout VK2 pro odtok kapaliny z velké provozní nádoby ponechte částečně otevřený a jeho polohu během experimentu neměňte!
- Je-li v nádobě voda, otevřete ventily SOL 2 a SOL 3, aby se provozní nádoba vyprázdnila. Manuálně otevřete ventil SOL 1 a průtok upravte pomocí ručního ventilu RV na hodnotu v rozmezí 1 300 až 1 400 ml/min.

Poznámka: Jestliže jste neprováděli úkol podle bodu B1.1.4, tak není třeba průtok upravovat.

- Uzavřete ventily SOL 2 a SOL 3.
- V procesním diagramu přepněte na „Diferential Level“.
- V menu „Sample/Configure“ nastavte interval automatického sběru dat na 3 s při kontinuálním vzorkování a potvrďte „OK“.
- Zvolte nový list pro zápis dat, prostřednictvím tlačítka „Attach note“ vložte poznámku (např. „Elektrody“) a po stisku tlačítka „GO“ zaznamenávejte průběh experimentu.

Velká procesní nádoba se bude plnit vodou přes solenoidový ventil SOL 1. Hodnoty průtoku, hladiny a stav ovládacích prvků můžete sledovat na panelu na monitoru.

V okamžiku, kdy hladina dosáhne polohy červené (výše postavené) elektrody, musí se ventil SOL 1 uzavřít a při poklesu hladiny pod úroveň modré (níže postavené) elektrody se ventil SOL 1 opět otevře.

- Data nahrávejte až do doby, kdy hladina bude pravidelně oscilovat mezi elektrodami a ventil SOL1 bude zapínán a vypínán v pravidelných intervalech. (Toto si můžete ověřit v průběžném grafu, který spustíte v menu „View/Show history“).

B1.2.2 Vliv působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3

- Do procesu vnešte poruchu pomocí solenoidových ventilů SOL 2 a SOL 3 (obr. 19), kterými se ovládá odtok vody z velké procesní nádrže. Tlačítka pro ovládání těchto ventilů najdete na schématu na monitoru.

Podobně jako u úlohy B1.1.2 otevřete nejprve ventil SOL 3, pozorujte a zaznamenávejte průběh polohy hladiny až do stabilizace oscilací hladiny. Pak otevřete i ventil SOL 2 a nahrávejte data tak dlouho, aby bylo možno vyhodnotit amplitudu a periodu oscilací. Jestliže při současně otevřených ventilech SOL 2 a SOL 3 hladina trvale klesá, ukončete záznam dat tlačítkem „STOP“.

B1.2.3 Změna žádané hodnoty a změna pásma necitlivosti vodivostního snímače

- Změňte polohu snímacích elektrod vodivostního snímače např. na hodnoty 40 mm a 50 mm.

Poznámka: Ve schématu se změna polohy elektrod neprojeví.

- Vložte nový list pro sběr dat s poznámkou (např. zmena necitlivosti) a sledujte probíhající děj nejprve při zavřených ventilech SOL 2 a SOL 3 a eventuálně podle pokynů vyučujícího i při působení poruchy otevřením ventilu SOL 3.
- Záznam dat ukončíte stiskem tlačítka „STOP“.
- Měření ukončete manuálním uzavřením ventilu SOL 1 (volba „Controller“, pak tlačítko „Control“ a poté v okně „PID Controller“ operační mód „Off“).
- Vypusťte vodu z velké procesní nádoby. Vypouštění můžete urychlit otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3.
- Naměřená data uložte ve formátu XLS a soubor označte „prijmeni_ddmm_B123.xls“.

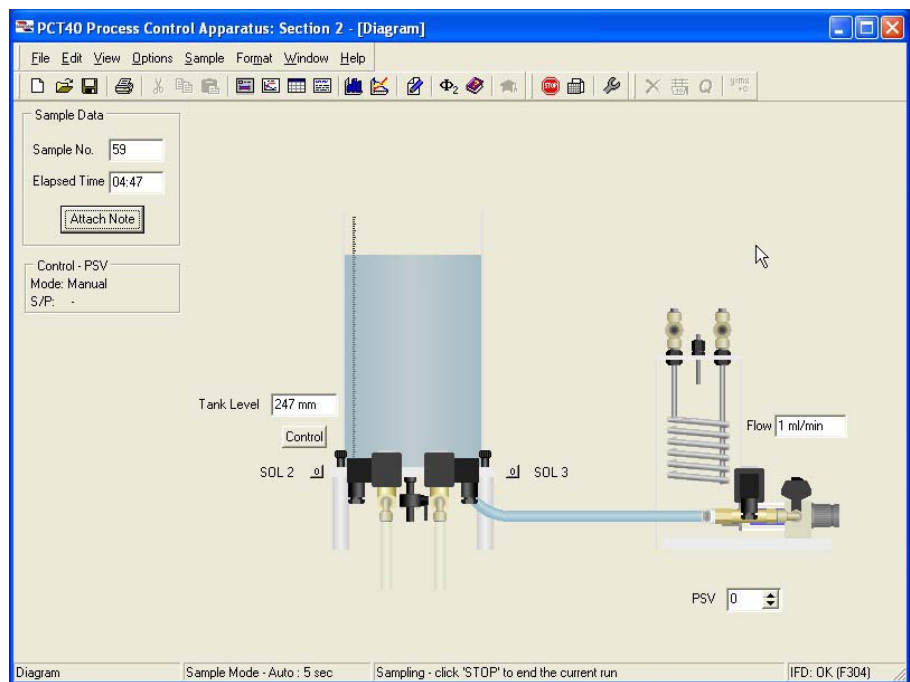
B1.2.4 Zpracování naměřených dat do protokolu

Všechna naměřená data zpracujte graficky a výsledky doprovodte příslušným komentářem. Z grafu zjistěte skutečné pásmo necitlivosti diferenčního vodivostního snímače a porovnejte s hodnotou nastavenou podle kovového měřítka.

Laboratorní úloha:**B2 Řízení hladiny proporcionálním solenoidovým ventilem****Zapojení měřicího zařízení**

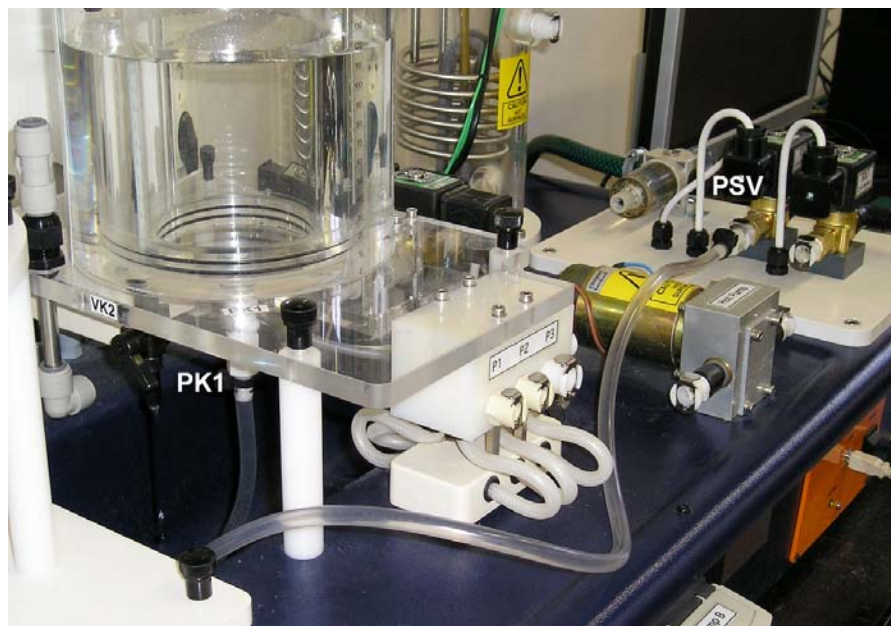
Návod k této úloze vychází z předpokladu, že práce bezprostředně navazuje na laboratorní práci popsanou v kapitole B1 Měření hladiny a její regulace dvoupolohovým ventilem. Pokud by tomu tak nebylo, pak je zapotřebí provést základní úkoly pro zapnutí a nastavení aparatury a počítače tak, jak jsou uvedeny v kapitole A2 Seznámení s multifunkční stanicí.

- Po volbě „File/Load New Experiment“ vyberte „Section 2“.
- Zvolte View/Diagram a zvětšete okno na celou obrazovku. V okně „Diagram“ je znázorněno schéma aparatury pro zadanou úlohu (obr. 23).



Obr. 23 Schéma pro úlohu „Section 2“

- Pomocí hadice s rychloupínacími samotěsnícími konektory propojte výstup proporcionálního solenoidového ventilu PSV s konektorem PK1 ve spodním víku velké provozní nádoby (obr. 24).



Obr. 24 Propojení PSV a velké provozní nádoby

Zadání:

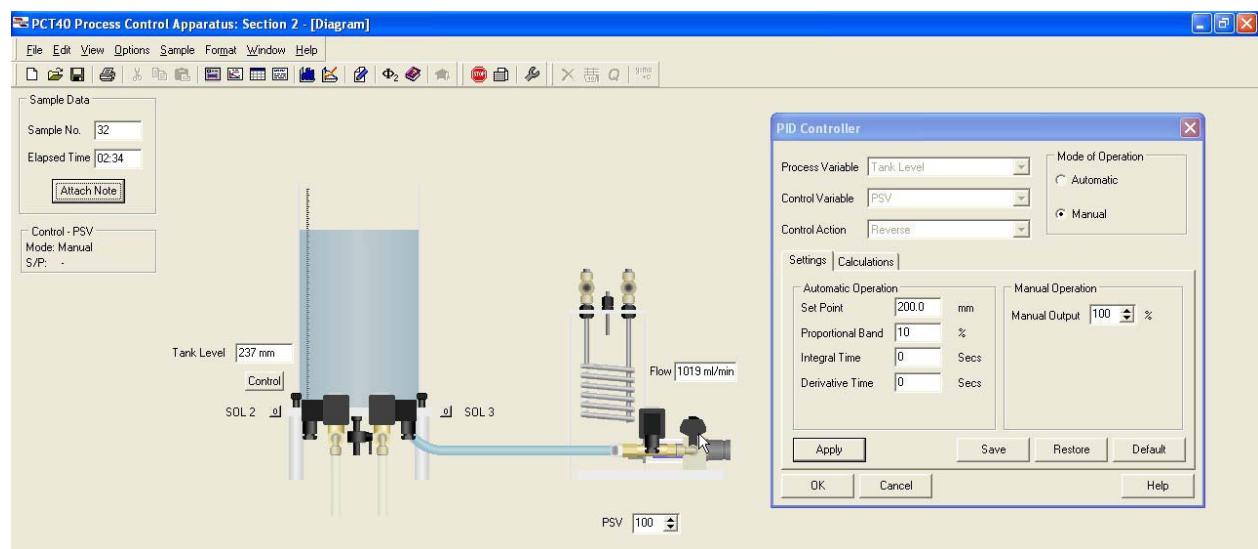
- B2.1 Manuální řízení hladiny proporcionálním solenoidovým ventilem
- B2.2 Spojitá regulace hladiny s PID-regulátorem a proporcionálním ventilem

B2.1 Manuální řízení hladiny proporcionálním solenoidovým ventilem**Úkoly:**

- B2.1.1 Manuální řízení přítoku kapaliny do nádoby při požadované poloze hladiny
- B2.1.2 Manuální řízení při působení poruchy otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3
- B2.1.3 Manuální řízení při změně žádané hodnoty
- B2.1.4 Zpracování naměřených dat do protokolu

Pracovní postup:**B2.1.1 Manuální řízení přítoku kapaliny do nádoby při požadované poloze hladiny**

- Ponechte částečně otevřený vypouštěcí kohout VK2 pro odtok kapaliny z velké provozní nádoby a jeho polohu během experimentu neměňte.
- Stisknutím tlačítka „Control“ otevřete dialogové okno pro nastavení regulátoru a zvolte „Manual“ (obr. 25).

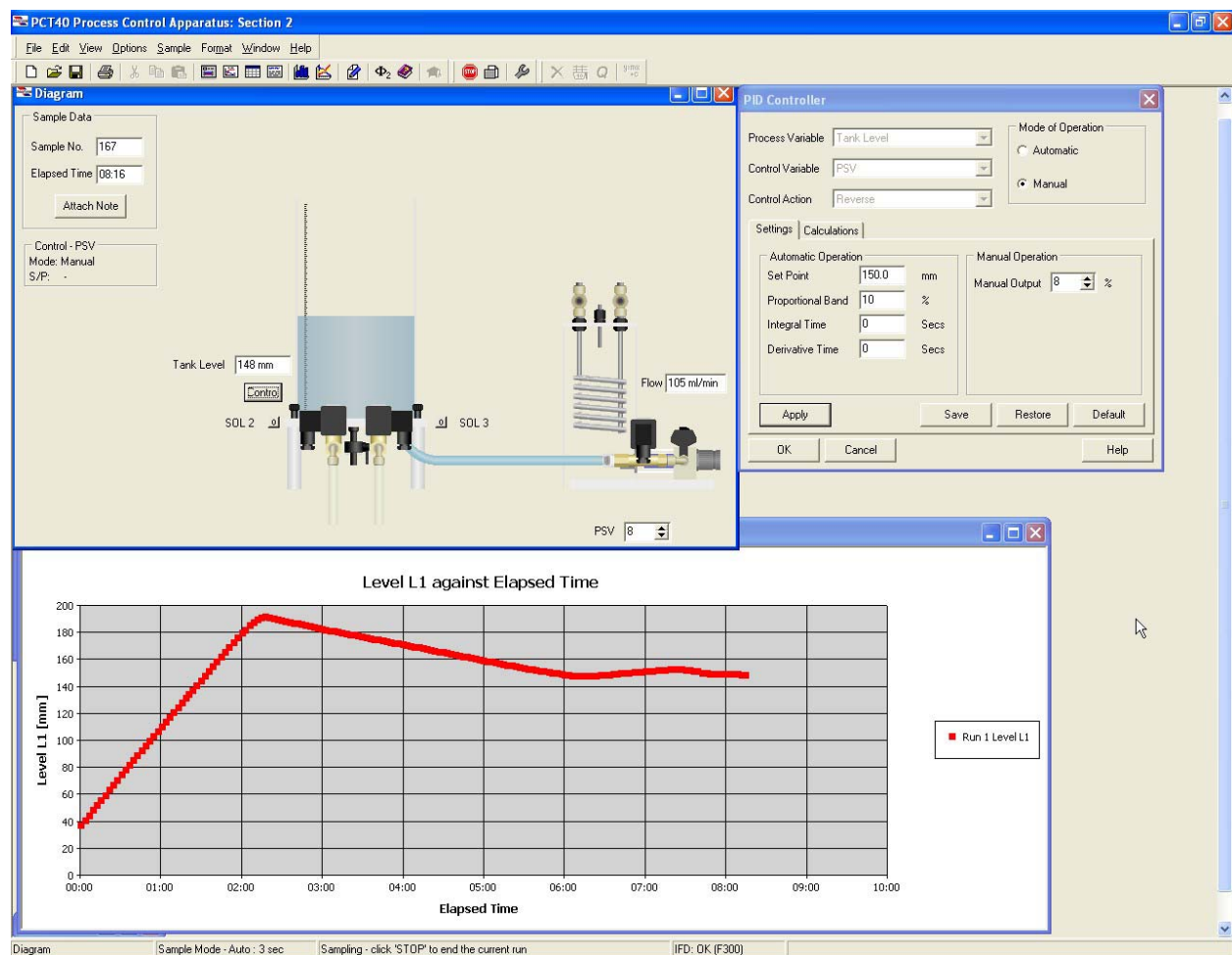


Obr. 25 Nastavení ručního řízení

- Pomocí „Attach note“ vložte poznámku (např. „PSV-manual“) a ikonou „GO“ spusťte záznam dat pro zaznamenání průběhu manuálního řízení.
- Proporcionální solenoidový ventil PSV naplno otevřete (v nastavovacím poli PSV v okně „PID Controller“ nastavte „Manual Output“ na 100 %).
- Při plném otevření ventilu PSV zkontrolujte správné nastavení průtoku na hodnotu v rozmezí 1 300 až 1 400 ml/min. s případnou korekcí ručním regulačním ventilem RV – viz obr. 14.

Polohu hladiny je možno sledovat na panelu v poli „Tank level“. Tato hodnota je odvozena ze signálu tenzometrického snímače hydrostatického tlaku, který je umístěn ve spodním víku velké procesní nádoby. Okamžitou hodnotu průtoku je možno odečíst v poli „Flow“.

Po volbě Window/Cascade je možno vhodně uspořádat okna pro současné zobrazení schéma aparatury, grafu časového průběhu měření a okna pro nastavení regulátoru (obr. 26).



Obr. 26 Příklad rozložení oken na monitoru

- Při plném otevření ventilu PSV se nádoba rychle plní vodou. Jakmile se hladina blíží myšlené požadované poloze např. 150 mm, snižujte průtok nastavením ventilu PSV. Pomocí šipek vedle nastavovacího pole PSV (případně pomocí šipek na klávesnici počítače anebo zadáním číselných hodnot z klávesnice PC) snižujte resp. zvyšujte otevření ventilu tak, aby poloha hladiny odpovídala žádané hodnotě. Při ustáleném stavu na žádané hodnotě se musí přítok vody rovnat jejímu odtoku. Hodnoty průtoku a otevření PSV, při kterých bylo dosaženo ustáleného stavu hladiny na požadované hodnotě budou zaznamenány v příslušné tabulce.

B2.1.2 Manuální řízení při působení poruchy otevřením ventilu SOL 3

- Do procesu vnešte poruchu pomocí solenoidového ventilu SOL 3. Manuálním nastavením zdvihu ventilu PSV se snažte udržet hladinu na požadované poloze, v níž byla před poruchou.
- Pozorujte průběh hladiny vždy až do ustálení hladiny na žádané hodnotě. Záznam dat ukončete tlačítkem „STOP“.

B2.1.3 Manuální řízení při změně žádané hodnoty

- Uzavřete ventily SOL 2 a SOL 3

- Vložte nový list s poznámkou (např. „Zadana poloha 200“) a ikonou „GO“ spusťte záznam dat pro zaznamenání průběhu manuálního řízení po myšlené změně žádané hodnoty.
- Uvažujte změnu žádané hodnoty polohy hladiny např. na 200 mm. Vhodným nastavením PSV se snažte dosáhnout nové požadované polohy hladiny. Až systém dosáhne opět stabilizovaného stavu zaznamenejte hodnoty průtoku a nastavení PSV
- Záznam ukončete stiskem ikony „STOP“.
- Uzavřete proporcionální ventil PSV (nastavením 0 %), uzavřete i ventily SOL 2 a SOL 3.
- Naměřená data uložte ve formátu XLS a soubor označte „prijmeni_ddmm_B213.xls“.

B2.1.4 Zpracování naměřených dat do protokolu

Naměřený průběh ručního řízení zpracujte graficky a okomentujte.

B2.2 Spojitá regulace hladiny s PID-regulátorem a proporčním ventilem

Úkoly:

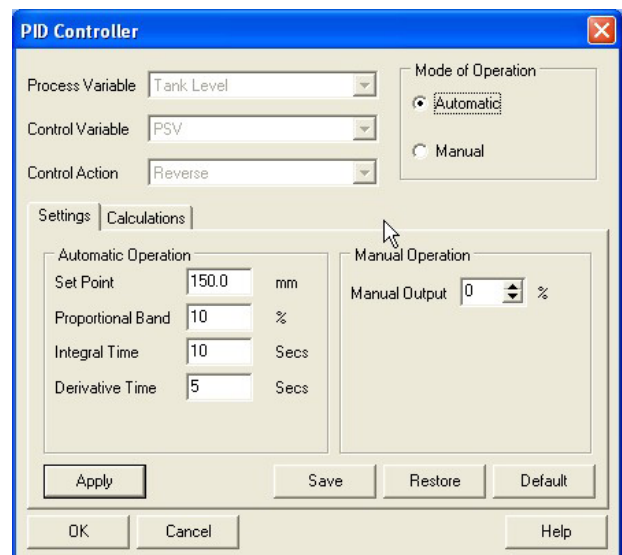
- B2.2.1 Nastavení PID-regulátoru
- B2.2.2 Řízení procesu PID- regulátorem při zadaném nastavení parametrů regulátoru
- B2.2.3 Působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3
- B2.2.4 Změna žádané hodnoty při zadaném nastavení konstant regulátoru
- B2.2.5 Vliv nastavení konstant regulátoru na průběh regulace
- B2.2.6 Optimální nastavení konstant regulátoru
- B2.2.7 Řízení procesu s optimalizovaným PID- regulátorem
(vyznačené úkoly se nezadávají)
- B2.2.8 Zpracování naměřených dat do protokolu

Pracovní postup:

B2.2.1 Nastavení PID-regulátoru

- Volbou „File/Load New Experiment“ zvolte „Section 2“. V menu „Window“ zvolte položku „Cascade“, uzavřete okno „Presentation“ a uspořádejte vhodně rozložení oken na plochu.
- Ponechte částečně otevřený vypouštěcí kohout VK2 pro odtok kapaliny z velké provozní nádoby, který je umístěn ve spodním víku této nádoby (obr. 15) a jeho nastavení během experimentu neměňte.
- V menu „Sample/Configure“ nastavte interval automatického sběru dat na 10 s při kontinuálním vzorkování a potvrďte „OK“.
- Stisknutím tlačítka „Control“ otevřete dialogové okno pro nastavení regulátoru.
- V okně pro nastavení regulátoru (obr. 27) zadejte požadovanou polohu hladiny („Set Point“) např. 150 mm.
- Konstanty PID regulátoru nastavte takto:
 pásmo proporcionality: $P = 10 \%$
 integrační časová konstanta: $I = 10 \text{ s}$
 derivační časová konstanta: $D = 5 \text{ s}$

Potvrďte volbu tlačítkem „Apply“. a zvolte operační mód „Automatic“.



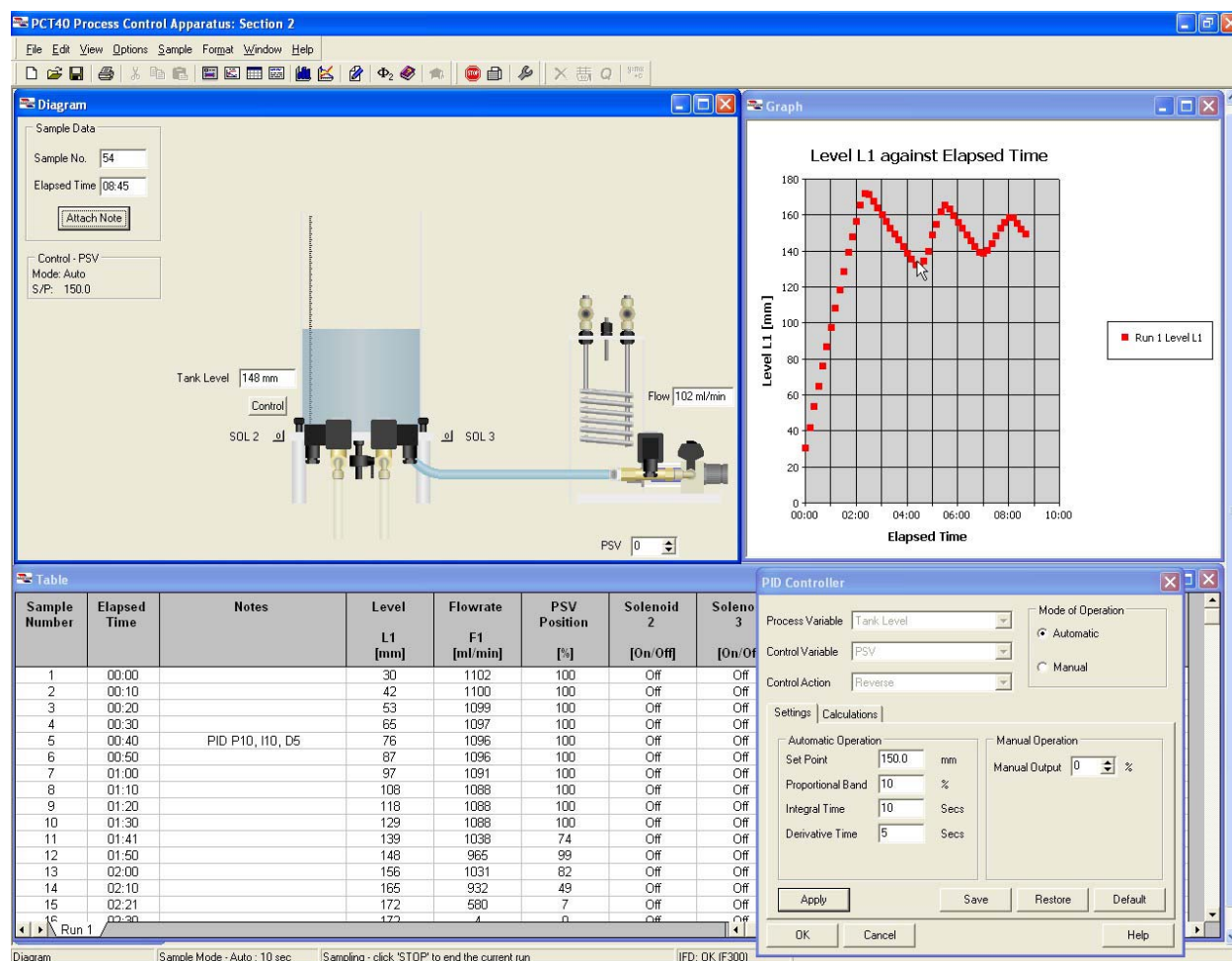
Obr. 27 Nastavení parametrů regulátoru

B2.2.2 Řízení procesu PID- regulátorem při zadaném nastavení parametrů regulátoru

- Vložením poznámky „Attach note“ (např. „P10_I10_D5“) a stiskem ikony „GO“ spustíte záznam průběhu experimentu.

- Proporcionální solenoidový ventil PSV se automaticky otevře. V okně „Diagram“ je možno sledovat polohu hladiny v poli „Tank level“, hodnotu průtoku v poli „Flow“ a otevření proporcionálního solenoidového ventilu PSV v poli „PSV“.

Při vhodném uspořádání oken pro zobrazení schéma aparatury, tabulky měřených hodnot, grafu časového průběhu měření a okna pro nastavení parametrů regulátoru (obr. 28) pozorujte průběh polohy hladiny a sledujte, kdy hladina dosáhne ustáleného stavu nebo kdy se stabilizují oscilace hladiny (maximálně však 15 min.). Záznam ukončete ikonou „STOP“.



Obr. 28 Spojitá regulace hladiny

B2.2.3 Působení poruchy způsobené otevřením ventilů SOL 2 a SOL 3

- Po vložení nového listu a poznámky „Attach note“ (např. „PID-poruchy“) spustíte ikonou „GO“ záznam průběhu experimentu.
- Do procesu vnesete poruchy pomocí solenoidových ventilů SOL 2 a SOL 3. Podobně jako v bodě B1.1.2 otevřete nejprve ventil SOL 3 a po ustálení děje i SOL 2.
- Pozorujte průběh polohy hladiny vždy až do ustálení hladiny na žádané hodnotě. U každé z poruch nahrávejte data dostatečně dlouho (maximálně však 15 min.), aby bylo možné vyhodnotit změny v naměřených závislostech. Jestliže při současně otevřených ventilech SOL 3 a SOL 2 hladina trvale klesá, ukončete záznam dat tlačítkem „STOP“.

B2.2.4 Změna žádané hodnoty při zadaném nastavení konstant regulátoru

- Uzavřete ventily SOL 2 a SOL 3 a změňte žádanou hodnotu polohy hladiny zadáním hodnoty např. 200 mm do pole „Set Point“ a potvrďte stiskem tlačítka „Apply“ v okně pro nastavení parametrů regulátoru (obr. 27).
- Pro záznam dat zvolte nový list s poznámkou (např. „PID-zmena zad_hodn“) a po stisku ikony „GO“ zaznamenejte časový průběh děje. Až se hladina ustálí na nové hodnotě anebo se stabilizují cyklické oscilace hladiny (max. po 15 min.), proveďte další změnu žádané hodnoty např. na 250 mm (případně ještě zpět na 150 mm).
- Až proběhne přechodový děj po poslední změně žádané hodnoty a hladina se ustálí na nové hodnotě anebo se stabilizují cyklické oscilace hladiny, ukončete záznam stiskem tlačítka „STOP“.
- Naměřená data uložte ve formátu XLS a soubor označte „prijmeni_ddmm_B224.xls“.

Ukončení práce a vypnutí laboratorní stanice

- V okně pro nastavení regulátoru přepněte na ruční řízení a uzavřete ventil PSV (operační mód na „Manual“, „Manual Output“ nastavit na 0 %).
- Otevřete ventily SOL 2 a SOL 3 a vypusťte vodu z velké procesní nádoby.
- **Uzavřete hlavní přívod vody do stanice** (obr. 29).
- Ukončete program ArmSoft.
- Překopírujte si soubory z vašeho měření z adresáře „Armfield-data/Studenti“ na váš disk.
- Vypněte hlavní vypínač na ovládacím panelu multifunkční stanice (obr. 3).
- Ukončete svoji práci odhlášením na počítači.



Obr. 29 Kohout uzavěru vody

Zpracování naměřených dat do protokolu

Do protokolu nakreslete ke každé úloze (B1.1, B1.2, B2.1 a B2.2) schéma procesní nádoby s použitými snímači hladiny a příslušnými akčními členy. Použijte přitom značek pro označování automatizačních obvodů podle ČSN ISO 3511-1.

Naměřené výsledky zpracujte graficky, porovnejte naměřené průběhy regulačních pochodů, vyhodnoťte kvalitu regulačních pochodů a připojte vlastní komentář.

U **dvoupolohové regulace** vyhodnoťte necitlivost a periodu kmitů (viz *učební text Měření a regulace hladiny PCT 40 – úvodní část, str. 14*).

Pro vyhodnocení **spojitých regulačních pochodů** využijte níže uvedená kritéria:

Z grafů regulačních pochodů je možno odečíst hodnoty, které se využívají v praxi pro hodnocení průběhu regulace (viz *učební text Měření a regulace hladiny PCT 40 – úvodní část, str. 12*):

- praktická doba regulace t_r ,
- maximální překmit y_{max} ,
- perioda kmitů T_k (jestliže je regulační pochod kmitavý),

U jednotlivých regulačních pochodů vyhodnoťte trvalou regulační odchylku.

BEZDOTYKOVÉ TEPLOMĚRY

Bezdotykové teploměry doznaly v poslední době značného pokroku a rozšíření díky pokroku v elektronice a optice. Přístroje byly původně označovány jako radiační pyrometry nebo radiační teploměry, nyní často jako IČ-teploměry. Radiační pyrometry nacházely původně uplatnění v takových provozech a aplikacích, kde bylo třeba měřit vysoké teploty často v malém prostoru, kde nebylo možno použít dotykový teploměr. Jednalo se zejména o aplikace v metalurgii, chemickém a zejména silikátovém průmyslu (sklářství, cementárny, vápenky, keramický průmysl). V průběhu posledních let se aplikace IČ-teploměrů posunula k nižším teplotám, včetně měření teplot nižších než 0 °C, takže se s nimi setkáváme v potravinářství, elektronice, průmyslu papírenském, farmaceutickém, textilním, gumárenském, při zpracování plastických hmot apod. Přenosné IČ-teploměry nacházejí široké uplatnění při detekci tepelných ztrát a poruch, při kontrole potrubních systémů, nádrží apod.

Pro pochopení hlavních rozdílů v uspořádání přístrojů a jejich aplikačních možností je důležité uvést základní teoretické poznatky z této oblasti.

Teoretické základy bezdotykové pyrometrie

Měření teploty bezdotykovými teploměry je založeno na vyhodnocování tepelného záření těles. Část tepelné energie látek se neustále přeměňuje v energii, kterou tyto látky vysílají ve formě elektromagnetického záření. Při rovnováze mezi energií přijímanou a vysílanou může být stav zářiče charakterizován určitou teplotou. Vysílané záření se nazývá tepelné a je složeno z různých vlnových délek. Intenzita vyzařování H (W m^{-2}) je dána vztahem

$$H = \frac{d\Phi}{dS} \quad (1)$$

kde je Φ zářivý tok (W), S plocha povrchu zdroje záření (m^2).

Dokonale černé těleso maximálně vyzařuje i maximálně pohlcuje záření. Intenzita vyzařování a pohltivost jsou si úměrné podle tzv. Kirchhoffova zákona. Je-li teplota tělesa větší než teplota okolí, převažuje intenzita vyzařování nad pohltivostí. Intenzita vyzařování dokonale černého tělesa H_0 závisí jen na jeho absolutní teplotě T a podle Stefan-Boltzmannova zákona platí

$$H_0 = \sigma T^4 \quad (2)$$

kde $\sigma = 5,67 \cdot 10^{-8} \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-4}$. Indexem $_0$ je označeno dokonale černé těleso. Intenzita vyzařování má integrální charakter a skládá se z příspěvků při jednotlivých vlnových délkách podle vztahu

$$H_0 = \int_0^\infty H_{0\lambda} d\lambda \quad (3)$$

kde je $H_{0\lambda}$ spektrální hustota intenzity vyzařování (W m^{-3}), λ vlnová délka (m).

Závislost spektrální hustoty intenzity vyzařování na vlnové délce a teplotě je dána Planckovým vyzařovacím zákonem

$$H_{0\lambda} = \frac{2\pi h c^2}{\lambda^5 \left(\exp \frac{hc}{k\lambda T} \right)} = \frac{c_1}{\lambda^5 \left(\exp \frac{c_2}{\lambda T} - 1 \right)} \quad (4)$$

kde je h Planckova konstanta, k Boltzmannova konstanta, c rychlost světla ve vakuu. Konstanta $c_1 = 3,7413 \cdot 10^{-16} \text{ (W m}^2\text{)}$, $c_2 = 1,4388 \cdot 10^{-2} \text{ (K m)}$.

Závislost je graficky znázorněna na obr. 1. Plocha pod křivkou pro danou teplotu je rovna intenzitě vyzařování H_0 při této teplotě. Maximum vyzařování se posouvá se vzrůstající teplotou ke kratším vlnovým délkám podle Wienova zákona posuvu.

Skutečné těleso vyzařuje (i pohlcuje) méně než černé těleso. Jeho spektrální hustota intenzity vyzařování H_λ je dána vztahem

$$H_\lambda = \varepsilon_\lambda H_{0\lambda} \quad (5)$$

kde $\varepsilon_\lambda(1)$ je emisivita, resp. pohltivost pro vlnovou délku λ , $\varepsilon_\lambda < 1$.

Látky, které mají pro různou vlnovou délku různou emisivitu ε_λ , vykazují také různě velké odchylky od záření černého tělesa; jsou to tzv. selektivní zářiče. Existují však tělesa, jejichž emisivitu můžeme považovat za konstantní v dosti značném rozsahu vlnových délek. Takové zářiče označujeme jako šedá tělesa s emisivitou ε .

Emisivita je definována jako poměr energie vyzařované objektem při dané teplotě k energii ideálně černého tělesa při stejné teplotě. Emisivita černého tělesa je rovna 1,0. Emisivita je velmi důležitým faktorem IČ-termometrie a její vliv není možno zanedbávat.

Emisivita závisí na materiálu, úpravě povrchu, oxidaci povrchu a obecně platí

$$\varepsilon = f(\lambda, T) \quad (6)$$

Ve vztahu k emisivitě ε resp. ε_λ je i odrazivost (reflektance) ρ, ρ_λ , což je míra schopnosti odrážet záření a prostupnost (transmitance) τ, τ_λ , jako míra schopnosti propustit záření. Platí:

$$\varepsilon + \rho + \tau = 1,0$$

Je-li objekt ve stavu tepelné rovnováhy, nedochází k žádnému ohřívání ani ochlazování; energie, která se vyzařuje musí být rovna energii pohlcované, takže emisivita ε se rovná pohltivosti (absorbtanci) α .

Hodnoty emisivity ε pro vybrané povrchy jsou uvedeny v tab. 1. Pro reálná tělesa je hodnota emisivity vždy menší než 1. Při aplikaci bezdotykových teploměrů pro měření teploty povrchu těles je znalost hodnoty emisivity nezbytná.

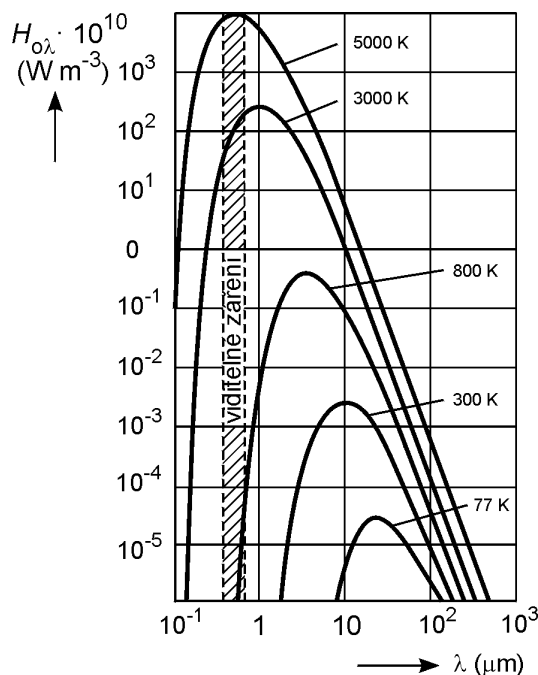
Přístroje založené na měření teplotního záření umožňují měření v širokém rozsahu teplot od -40°C až do $8\,000^\circ\text{C}$. Podle oblasti spektra, které k měření využívají, můžeme IČ-teploměry rozdělit do několika skupin.

Pyrometry celkového záření

Pyrometry celkového záření, označované též jako širokopásmové přístroje, pracují v oblasti vlnových délek od $0,3\,\mu\text{m}$. Někdy se tyto přístroje označují jako radiační pyrometry nebo úhrnné pyrometry, protože měří v široké oblasti vyzařovaného teplotního záření. Schéma uspořádání radiačního pyrometru je na obr. 2.

Teplota se vyhodnocuje podle Stefan-Boltzmannova zákona, který pro šedé těleso můžeme psát

$$H = \varepsilon \sigma T^4 \quad (8)$$

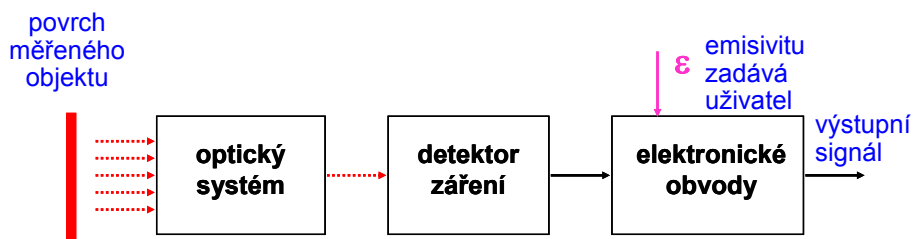


Obr. 1 Vyzařování dokonale černého tělesa

Tab. 1 Emisivita ε pro vybrané povrchy

Černé těleso	1,00
Černý matový lak	0,99
Voda	0,95
Cihly	0,85
Zoxidovaný ocelový plech	0,75
Zoxidovaný hliník	0,55
Lesklý ocelový plech	0,25

Tepelné záření, vysílané měřeným objektem, se soustřeďuje optickým systémem na čidlo radiačního pyrometru. Optický systém bývá sestaven z čoček nebo zrcadel. Čidlem bývá nejčastěji baterie termočlánků (až 30 měřicích spojů na ploše 4 mm²), dále bolometr (fóliový odporový teploměr) nebo termistor. Povrch čidla bývá začerněn. Přijímač záření i optika musí být pokud možno nezávislá na vlnové délce. Tato podmínka je splněna jak pro termočlánek, tak i pro bolometr. Volba optiky se řídí měřicím rozsahem, který bývá standardně (600 až 2 000) °C a (0 až 1 000) °C. V rozmezí nižších teplot je lepší pracovat jen se zrcadlovou optikou s kovovým povrchem zrcadel. Vstupní okénko takového pyrometru bývá chráněno před prachem tenkou fólií z umělé hmoty, která propouští infračervené záření.



Obr. 2 Blokové schéma bezdotykového teploměru

Užitím vhodných polovodičových snímačů záření lze dosáhnout vysoké citlivosti, ovšem pouze v určitém pásmu vlnových délek. Tyto přístroje se vyznačují nízkou časovou konstantou (řádově 10⁻² s) na rozdíl od přístrojů s tepelnými snímači a vzhledem k vysoké citlivosti mohou být použity i pro měření teploty těles malých rozměrů (ϕ tělesa 1,5 mm ze vzdálenosti 150 mm).

Všechny radiační pyrometry pracují s malými chybami pouze v případech, kdy emisivita $\varepsilon \rightarrow 1$. Tuto podmínku splňují dobře uzavřené prostory, objekty bez lesku apod. Při měření se často používá uzavřených keramických trubíc, které jsou vloženy uzavřeným koncem do měřeného prostředí (např. pece). Na dno trubky se pak zaměří pyrometr.

Aby pyrometr měřil teplotu zářiče správně, musí být zaručeno, že na přijímač záření dopadají jen tepelné paprsky zářiče. Zdrojem častých chyb je rušivé působící denní světlo; např. těleso ozářené sluncem nelze měřit. Měření je nezávislé na vzdálenosti přístroje od měřeného tělesa, pokud obraz tělesa kryje obrys přijímače záření. Kontrola se provádí vizuálně okulárem.

Obsahuje-li atmosféra mezi objektem a radiačním pyrometrem složky absorbující IČ-záření, dochází k ovlivnění výstupního údaje.

Ke zpracování signálu se u současně vyráběných přístrojů využívá moderních elektronických obvodů řízených mikroprocesorem. Do paměti se ukládají údaje o maximální a minimální měřené teplotě, střední hodnota teploty a údaj o rychlosti změny teploty. Na displeji je k dispozici měřený údaj i hlášení o poruchových stavech. Velikost emisivity se zadává prostřednictvím obslužné klávesnice.

Pásmové pyrometry

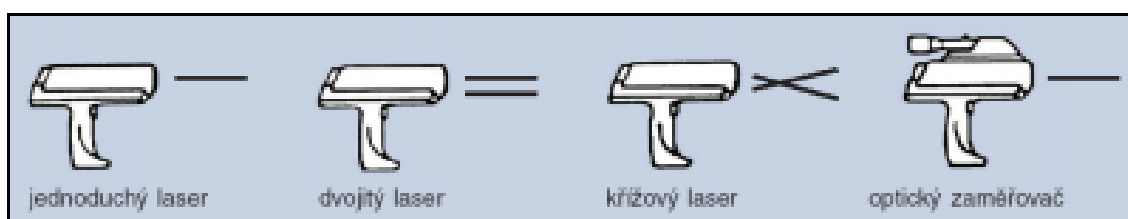
Tyto přístroje pracují v relativně úzkém rozmezí vlnových délek, přičemž volba tohoto rozmezí souvisí s požadovaným účelem měření. V poslední době bylo vyvinuto mnoho různých úzkopásmových přístrojů pro specifické aplikace. Měřicí rozsahy jsou značně proměnné a jako příklad lze uvést (-50 až +600) °C, (0 až 1 000) °C, (600 až 3 000) °C, (500 až 2 000) °C aj.

Požadované pásmo vlnových délek se vymezuje aplikací vhodné optiky, optického filtru a vhodnou spektrální citlivostí detektoru.

Jako čidla pásmových pyrometrů se využívá fotoelektrických detektorů, tj. fotonek, fotočlánků, fotodiod, fototranzistorů a fotoodporů. Jejich výhodou je velmi rychlá reakce na změny teploty a možnost měření teploty i malých objektů. Spektrální citlivost je závislá na typu čidla; např. selenové fotočlánky jsou citlivé v oblasti viditelného záření, křemíkové fotočlánky jsou citlivé v rozsahu 0,6 μ m až 1,8 μ m, fotoodpory PbS mezi 0,5 μ m až 3,6 μ m apod. Obecné schéma pásmového pyrometru odpovídá rovněž schématu na obr. 2.

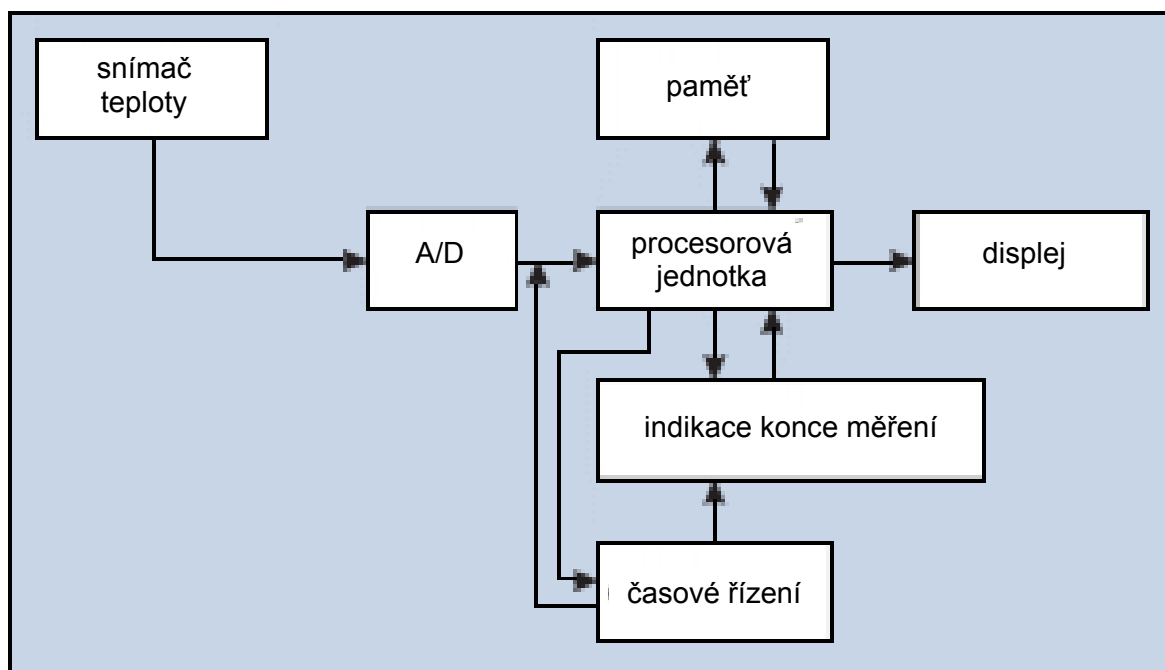
Energie vyzařovaná měřeným objektem prochází **optickým systémem** pyrometru a dopadá na detektor, který má požadovanou spektrální charakteristiku. Optický systém má pevnou ohniskovou vzdálenost (fixfokus). Volbou ohniskové vzdálenosti objektivu se určuje velikost snímané (měřené) plochy, kterou detektor na měřeném objektu „vidí“, a tím se definuje zorné pole přístroje. Zorný úhel má být takový, aby obraz měřeného objektu vyplnil celé zorné pole přístroje. Jestliže měřený objekt zorné pole přístroje nevyplňuje, je naměřená teplota průměrem teploty objektu a jeho pozadí. Pro zajištění správné teploty povrchu určitého objektu doporučují výrobci přístrojů, aby měřený objekt přesahoval plochu zorného pole nejméně o 50 %.

Většina pásmových pyrometrů umožňuje zaměřit přístroj na žádanou oblast měřeného objektu pomocí hledáčku podobně jako u fotoaparátu anebo pomocí vestavěného zdroje laserového záření, které usnadní zaměření tím, že na měřeném objektu vizuálně vyznačí snímanou plochu (obr. 3).



Obr. 3 Způsoby zaměření objektu u přenosných pyrometrů

Fotoelektrický detektor převádí tepelné záření na elektrické napětí, proud nebo odpor. Spektrální citlivost detektoru ve spojení s optikou určí spektrální charakteristiku pyrometru. Výstupní signál je zpracováván v elektronických obvodech. Blokové schéma elektronického modulu je znázorněno na obr. 4. Signál se v A/D převodníku digitalizuje, zpracuje se mikroprocesorem, který podle vloženého programu zajišťuje např. linearizaci, různé korekce a matematické úpravy měřených dat, jejich ukládání do paměti, kompenzaci vnějších vlivů a převody fyzikálních jednotek. Většina pásmových pyrometrů má displej, na kterém je možné číst naměřené hodnoty v požadovaných jednotkách (stupeň Celsia, stupeň Fahrenheita, kelvin). Také bývá možné zobrazit maximální a minimální teplotu v jistém časovém intervalu, vypočtenou průměrnou teplotu, rozdíl teplot apod.



Obr. 4 Blokové schéma elektronické části teploměru

Pásmové pyrometry jsou kalibrovány pro měření teploty absolutně černého tělesa. Měřený objekt je málokdy černým tělesem, a proto údaj pyrometru je všeobecně nižší než skutečná teplota. Pokud se u objektu nevezme v úvahu skutečná emisivita, bude přístroj ukazovat teplotu nižší, než je skutečná teplota měřeného objektu. Přístroje bývají vybaveny možností korekce emisivity měřeného povrchu. Důležitým úkolem je určení skutečné emisivity měřené plochy. To umožní, aby pyrometr měřil skutečnou teplotu. Protože pásmové pyrometry pracují bezdotykově, reagují na změny teploty téměř okamžitě. Umožňují tudíž měřit teplotu pohybujících se objektů nebo objektů, jejichž teplota se rychle mění.

I přes korekce může docházet u bezdotykových teploměrů k dalším chybám, způsobeným absorpcí tepelného záření v prostředí. Sklo, dým, některé plyny (např. CO₂, vodní pára) absorbují tepelné záření a naměřený údaj je potom nižší. U pásmových pyrometrů lze při vhodné volbě detektoru měřit tak, aby se absorpce záření těmito plyny rušivě neuplatňovala.

Aplikační možnosti bezdotykových teploměrů

Bezdotykové teploměry se vyrábí buď jako přenosné přístroje sloužící pro příležitostná měření nebo jako stabilní přístroje pro nepřetržitá měření (obr. 5).

Přenosné pyrometry bývají kompaktní přístroje a slouží většinou k příležitostnému měření. U kompaktních přenosných přístrojů tvoří optická část s detektorem, elektronikou, indikátorem a napájecími obvody jeden celek. Tyto přístroje jsou určeny pro měření obsluhovatelem. Přenosné přístroje mají bateriové napájení a nejsou uzpůsobeny pro zapojení do regulačního obvodu. Vyžadují periodické nabíjení napájecího zdroje.

Stabilní pyrometry jsou napájeny síťovým napětím a jsou instalovány ve vhodném místě pro kontinuální monitorování daného procesu. Přístroj tvoří obvykle dva samostatné celky. Snímací část, která obsahuje optiku a detektor záření, se umísťuje v blízkosti měřeného objektu. Optika může být pevně zaměřena na určitý bod nebo může ve spojení s mechanickým zařízením snímat širší oblast. Vyhodnocovací zařízení s elektronickými obvody se umísťuje v dozorně či na vhodném místě anebo je součástí nadřazeného měřicího a řídicího systému. Pyrometrické snímače bývají zabudovány tak, aby mohly trvale sledovat určitou plochu měřeného povrchu (zářiče). Při některých aplikacích je nutné těleso pyrometru chladit. Jeho teplota ovšem musí být vyšší než teplota rosného bodu. To se týká zejména optiky, jejíž orosení by působilo velkou chybou měření. Horké plyny a plameny jsou selektivními zdroji záření, jejichž teplotu může běžný pyrometr měřit jen stěží. Je proto vhodné umístit do topeniště na jednom konci uzavřenou žárovou trubicí a pyrometr zaměřit na její dno.



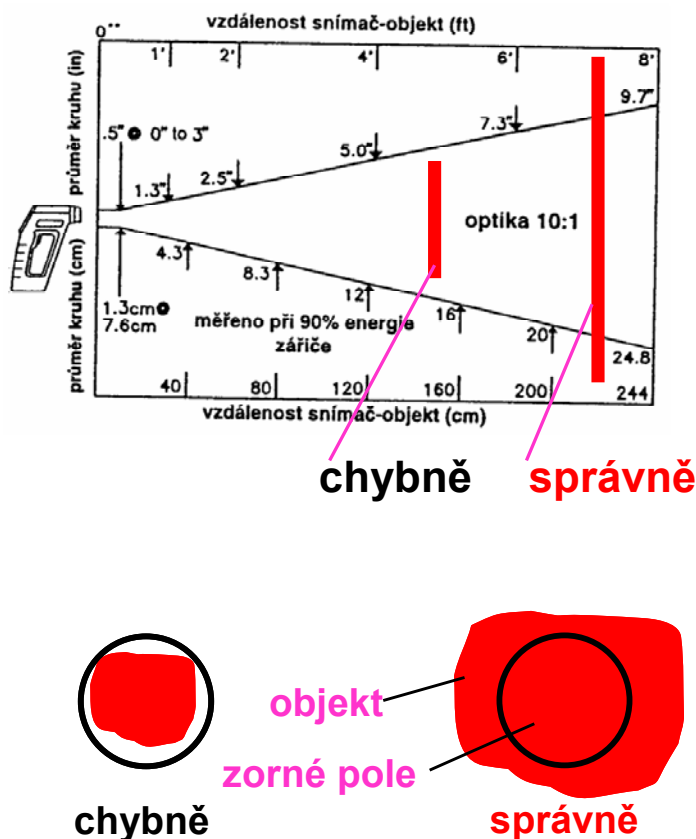
Obr. 5 Příklady provedení přenosného a stabilního bezdotykového teploměru

Bezdotykové teploměry mají velmi příznivé dynamické vlastnosti. Jejich odezva je velmi rychlá; časová konstanta T_{90} leží v rozmezí 100 ms až 1 s.

Bezdotykových teploměrů se s výhodou využívá pro diagnostická a inspekční měření.

Vlivy působící při měření bezdotykovými teploměry

Předpokladem správné funkce radiačních nebo pásmových pyrometrů je dodržení správné velikosti zaměřovací plošky na tělese, jehož teplota se měří. Velikost této plošky závisí na zaměřovacím úhlu pyrometru, na vlastnostech optické části pyrometru (ohnisková délka), na velikosti účinné plochy detektoru a na zaměřovací vzdálenosti. Vztah mezi zaměřovací vzdáleností a rozměrem měřené plochy výrobci většinou uvádějí v podobě grafu nebo tabulky. Při měření musí plocha měřeného objektu zcela vyplňovat zorné pole pyrometru. Pokud je tato podmínka splněna, tak výsledek měření je nezávislý na vzdálenosti přístroje od měřeného objektu. Nesplnění tohoto požadavku vede k chybným výsledkům měření, protože se měří průměrná teplota pozorované oblasti, tj. měřeného objektu a jeho okolí. Velikost snímané plochy roste se čtvercem vzdálenosti mezi pyrometrem a měřeným objektem. Souvislost mezi velikostí zorného pole IČ-teploměru a plochou snímaného objektu je patrná z obr. 6.



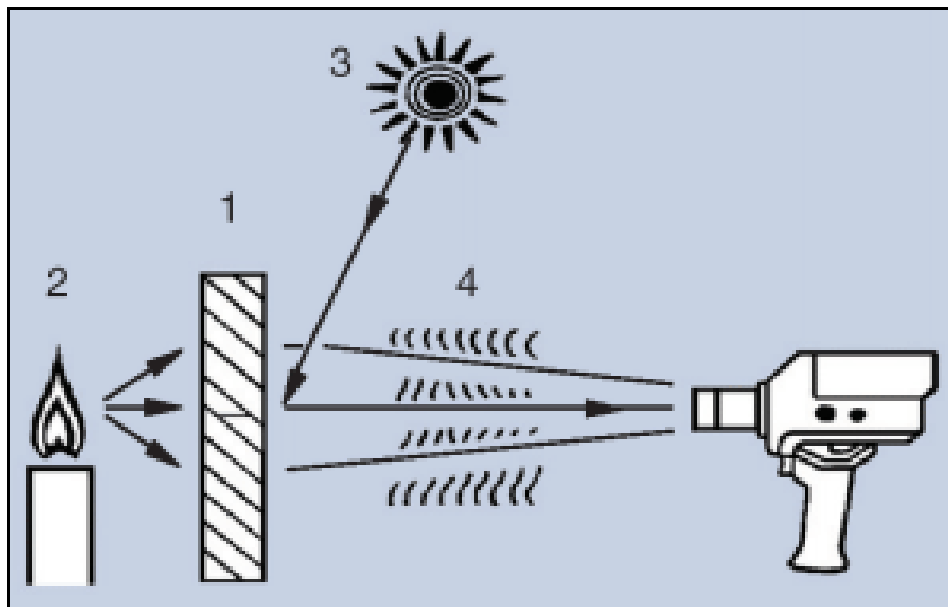
Obr. 6 Velikost zorného pole pyrometru a zaměření měřeného objektu

Hlavní zdroje chyb při měření teploty bezdotykovými teploměry pyrometry jsou schematicky znázorněny na obr. 7:

- měřený objekt **1** může být lesklý, drsný, barevný, černý nebo také průhledný, přičemž tyto vlastnosti se při měření uplatňují rozdílně,
- za průhledným měřeným objektem se může v některých případech nacházet zdroj rušivého záření **2**,
- u neprůhledného měřeného objektu může být zdrojem rušení odraz záření pocházejícího z rušivého zdroje **3** (např. slunce),
- prostředí **4** mezi měřeným povrchem a pyrometrem má proměnný činitel prostupu (CO_2 , H_2O , prach).

Další chyby mohou být způsobeny:

- nesprávně nastavenou emisivitou,
- nedodržením zaměřovací vzdálenosti určené výrobcem,
- znečištěnou optikou, stárnutím detektoru, odchylkami teploty přístroje od jmenovité hodnoty apod.



Obr. 7 Hlavní zdroje chyb při bezdotykovém měření teploty

Kalibrace bezdotykových teploměrů

Bezdotykové teploměry je nutno pravidelně kalibrovat a k tomu se velmi často používá černého tělesa.

Základem kalibrátorů s černým tělesem je obvykle válcová dutina vyrobená z kovového materiálu, povrchově upravena černou barvou. Emisivita povrchu dna dutiny je známa a pohybuje se v rozmezí 0,98 až 0,99. Teplota dna válcové dutiny je udržována na požadované hodnotě pomocí vhodného regulátoru teploty.

Při kalibraci se bezdotykový teploměr zaměří na plochu dna válcové dutiny (obr. 8).

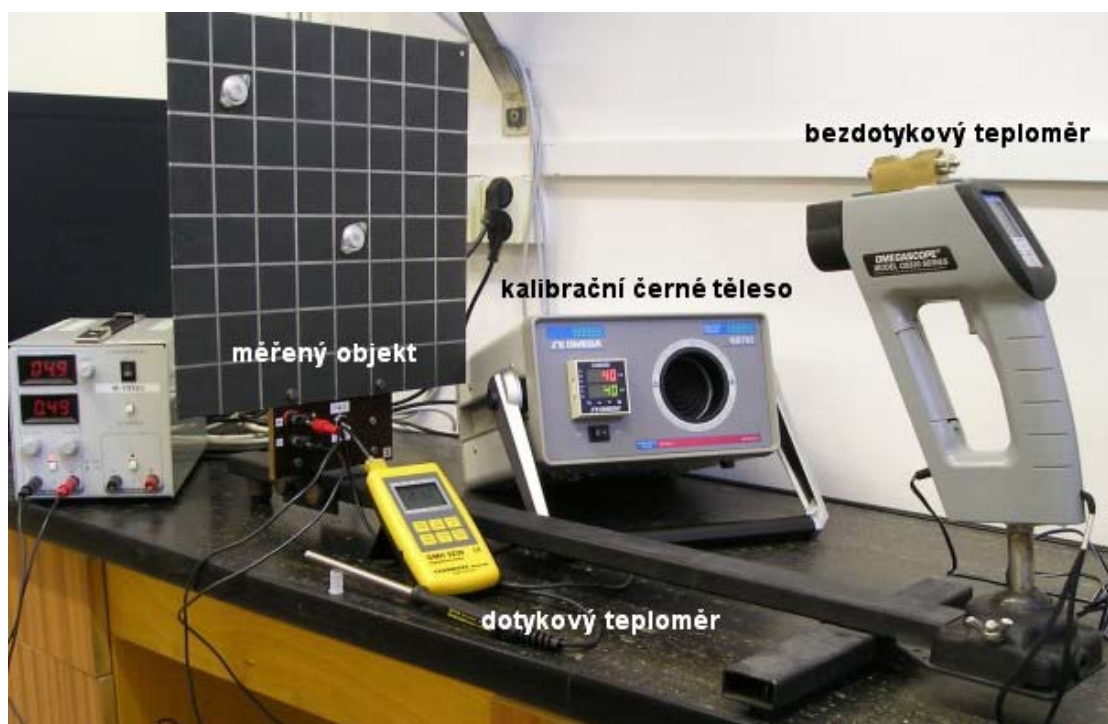


Obr. 8 Kalibrace bezdotykového teploměru

MĚŘENÍ ROZLOŽENÍ POVRCHOVÉ TEPLOTY BEZDOTYKOVÝM IČ–TEPLOMĚREM

Popis měřicí aparatury

Základem měřicí aparatury (obr. 9) je **vyhřívaná kovová deska** o velikosti 35x35 cm, která může být vytápěna jedním nebo dvěma výkonovými tranzistory. Teplotu povrchu desky je možno měřit jednak dotykově termočlánkem a jednak bezdotykově IČ-teploměrem. Vyhřívaná deska je pohyblivě uchycena na upevňovací lavici společně s výkyvným držákem IČ-teploměru doplněného laserovým zaměřovačem. Na povrchu vyhřívané desky je vyznačen rastr, který slouží spolu s laserovým zaměřovačem k zaměření bezdotykového teploměru na požadované místo. Rastr rozděluje desku na 8×8 stejných čtverců. Výkonové tranzistory, které slouží jako zdroj tepla, jsou umístěny uvnitř čtverců [2;2], resp. [3;2] a [5;5] - souřadnicový zápis [řádek; sloupec]. Zapojení příslušného tranzistoru se ovládá přepínačem. K napájení topného obvodu se používá **stabilizovaný zdroj P130R51D** (návod k přístroji viz *příloha A*).



Obr. 9 Laboratorní stanice pro bezdotykové měření teploty

Ruční bezdotykový teploměr

K bezdotykovému měření teploty se používá **přenosný IČ-teploměr OS 520**, který patří do skupiny pásmových pyrometrů a jeho vzhled je patrný z obr. 10.

Přístroj je vybaven digitálním LCD-displejem, který zobrazuje aktuální měřenou teplotu, dále minimální, maximální nebo střední teplotu, případně rozdíl teplot, nastavenou hodnotu emisivity a další znaky (obr. 11).

Přístroj umožňuje:

- měření teploty povrchu objektu ve vzdálenosti od 132 mm do přibližně 59 m
- měření teploty různých povrchů při nastavení emisivity od 0,1 do 1,00 s krokem 0,01

Teploměr je vybaven tlačítkovou spouští s elektronickou aretací, zvukovou a vizuální signalizací překročení mezních hodnot.



Obr. 10 Ruční infračervený teploměr OS 520



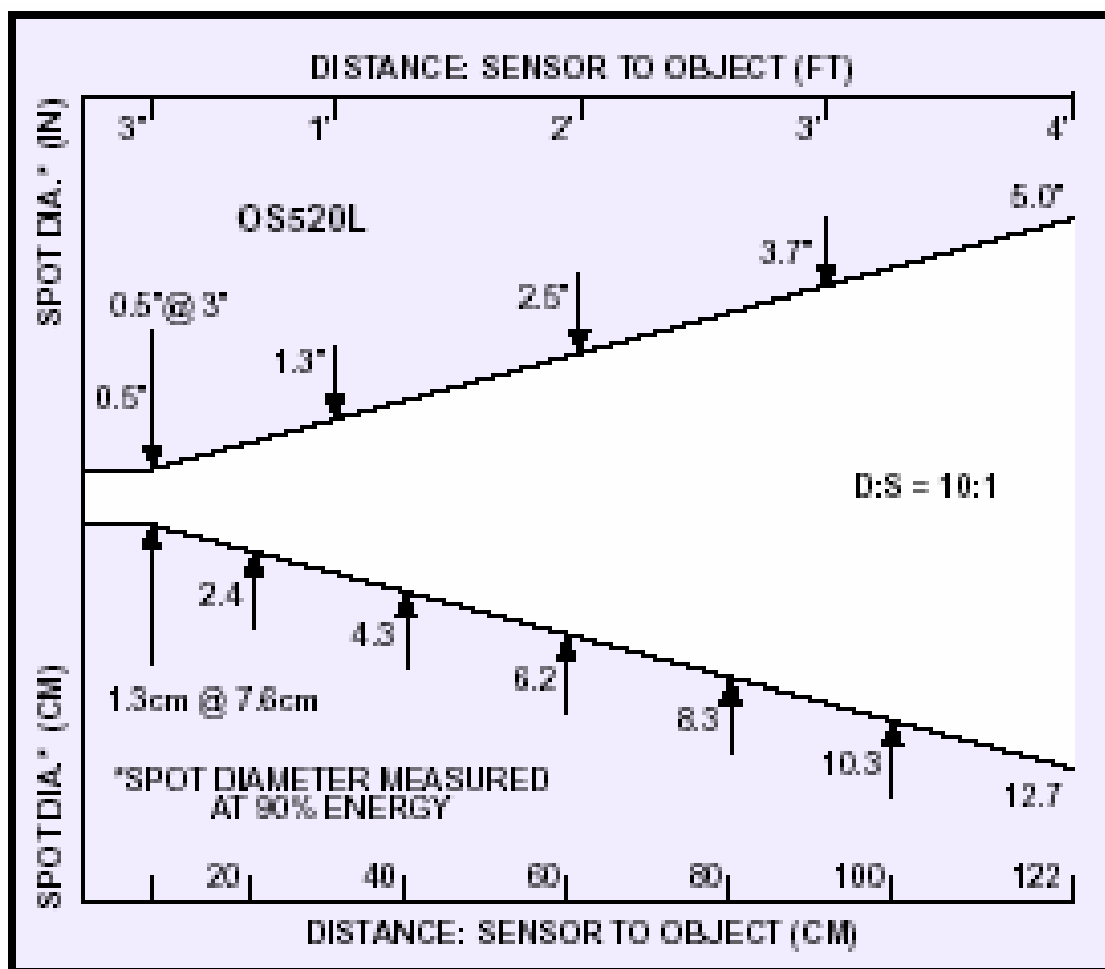
Obr. 11 Displej teploměru OS 520

Teploměr OS 520 je napájen ze 4 baterií velikosti AA nebo ze síťového adaptéru. Analogový výstup 1 mV na stupeň umožňuje připojení k zařízení pro sběr dat (např. k zapisovači nebo počítači).

Podrobnější popis přístroje spolu s pokyny k obsluze jsou obsaženy v návodu k přístroji (viz **příloha B**).

Zorné pole teploměru OS 520 je znázorněno na obr. 12.

↓ průměr měřené plochy (cm, resp. in)



→ vzdálenost snímače a měřeného objektu (cm)

Obr. 12 Zorné pole teploměru OS 520

Černé těleso

Ke kalibraci teploměru se využívá **kalibrační zařízení s černým tělesem OMEGA BB702** (obr. 13).



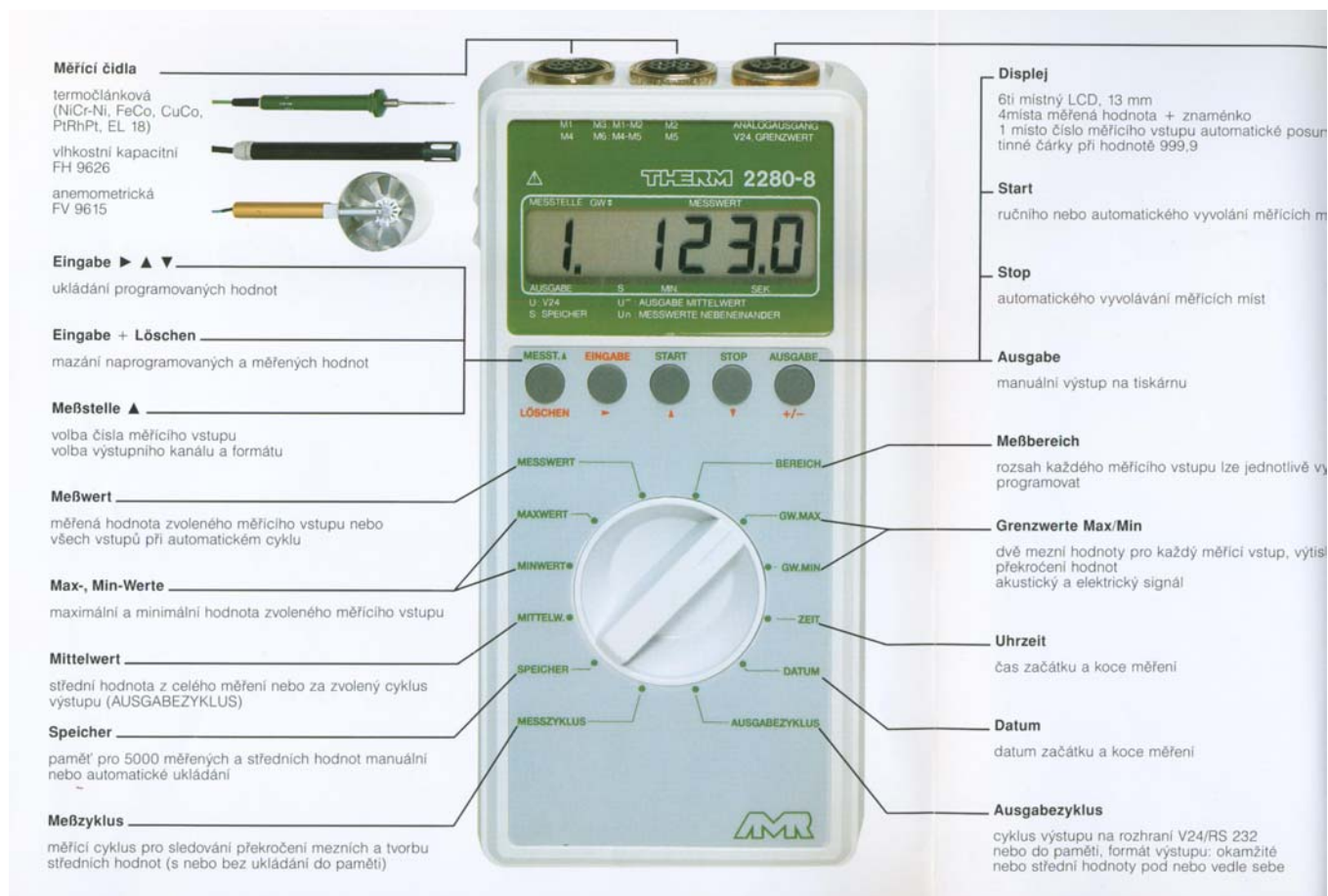
Obr. 13 Kalibrační zařízení s černým tělesem

Základem kalibračního zařízení je s černá válcová dutina umístěná na čelním panelu přístroje. Teplota této dutiny je udržována na požadované hodnotě PID-regulátorem s přesností $\pm 0,15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Požadovanou hodnotu teploty je možno nastavit pomocí tlačítek na panelu regulátoru v rozmezí od teploty, která je o $11\text{ }^{\circ}\text{C}$ vyšší než je teplota okolí až do $215\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Další podrobnosti o kalibračním zařízení jsou uvedeny v návodu k přístroji (viz *příloha C*).

Teploměry pro dotykové měření teploty

Pro dotykové měření teploty se využívá **termočlánek typu T**, který je přilepen na rubové straně vyhřívané desky v poli [3; 3]. K vyhodnocení signálu termočlánu se používá přenosný **měřicí přístroj THERM 2280-8**. Jedná se o programovatelný měřicí přístroj umožňující měřit až 6 vstupních veličin. Na vstup je možno připojovat různé typy termočlánu, odporových teploměrů, čidlo vlhkosti či průtoku. Přístroj, jehož funkce je řízena mikroprocesorem, měří okamžité hodnoty, sleduje překročení mezních hodnot, počítá průměry a difference a hodnoty ukládá do paměti (paměť o kapacitě 32 kB pojme až 5 000 naměřených hodnot). Přístroj je vybaven analogovým i digitálním výstupem. Základní funkce přístroje jsou patrné z obr. 14.



Obr. 14 Programovatelný měřicí přístroj THERM 2280-8

Další podrobnější údaje jsou uvedeny v návodu k přístroji (viz *příloha D*).

Pro kontrolní dotykové měření v libovolném místě vyhřívané desky je možno použít **digitální teploměr GREISINGER typ GMH 3230** s výměnnými termočláňkovými snímači (obr. 15). Pro měření povrchové teploty jsou v laboratoři k dispozici teploměrné sondy s termočláňky typu K (NiCr-Ni) s odpruženým měřicím spojem termočláňku ve dvojím provedení, které je patrné z obr. 16.



Obr. 15 Digitální teploměr GREISINGER typ GMH 3230



Obr. 16 Termočláňkové sondy

Další podrobnější údaje k digitálnímu teploměru jsou uvedeny v návodu k přístroji (viz **příloha E**).

Poznámka: Přílohy A až E obdrží posluchači v laboratoři před začátkem měření.

Zadání laboratorní úlohy:

1. Proved'te kalibraci bezdotykového teploměru pomocí černého tělesa OMEGA BB 702
2. Stanovte emisivitu vyhřívané desky pomocí dotykového měření povrchové teploty termočlánkem měď-konstantan (typ T) s vyhodnocovacím zařízením THERM 2280-8.
3. Proměřte rozložení teploty na povrchu desky IČ-teploměrem OS 520 při vyhřívání desky jedním výkonovým tranzistorem. Naměřená data zpracujte graficky.
4. Proměřte teplotu vybraných míst dotykovými sondami digitálního teploměru GREISINGER a porovnejte s údajem teploměru THERM a bezdotykového teploměru.

Pokyny k provedení práce:

1. Kalibrace bezdotykového teploměru pomocí černého tělesa OMEGA BB 702

Zapněte kalibrační zařízení s černým tělesem, nastavte požadovanou hodnotu teploty 35 °C a vyčkejte ustálení teploty černého tělesa. Vzhledem k tomu, že emisivita černého tělesa je deklarována výrobcem hodnotou 0,96, nastavte na tuto hodnotu emisivitu na displeji IČ-teploměru. Teplotu černého tělesa změřte ze vzdálenosti asi 40 cm. Při zaměřování teploměru respektujte polohu laserového zaměřovače vůči optice IČ-teploměru (paralaxa). Odečet teploty proveďte pětikrát, zaznamenejte průměrnou hodnotu. Měření opakujte postupně po 5 °C až do 60 °C.

2. Stanovení emisivity vyhřívané desky

Obvod vytápění desky propojte se svorkami zdroje.

Páčkový přepínač na spodní části desky určuje, který výkonový tranzistor bude zdrojem tepla. Pokud je přepínač v horní poloze, je v provozu tranzistor umístěný v poli [2; 2], resp. [3; 2], při přepnutí přepínače do dolní polohy vyhřívá desku tranzistor v poli [5; 5]. Podle zadání zvolte vyhřívání desky buď tranzistorem v poli [2; 2], resp. [3; 2] nebo [5; 5]. Na napájecím zdroji nastavte napájecí napětí na hodnotu zadanou asistentem (např. v rozmezí 10 až 15 V).

K ustálení teploty vyhřívané desky dojde asi po 20 min. Ustálení teploty kontrolujte měřením teploty termočlánkem umístěným v poli [3; 3]. Pro ustálený stav teploty zaznamenejte hodnoty napájecího proudu a napětí a vypočtete příkon topení.

Vzdálenost IČ-teploměru od vyhřívané desky upravte tak, aby zorné pole bezdotykového teploměru odpovídalo kružnici vepsané do čtverce rastru desky. IČ-teploměr zaměřte na pole [3; 3], jehož teplota je měřena kontaktním termočlánkem. Při zaměřování IČ-teploměru respektujte paralaxu.

Hodnotu emisivity na IČ-teploměru upravte tak, aby teplota udávaná bezdotykovým teploměrem byla stejná jako teplota měřená termočlánkem. Při vyhodnocování měření berte v úvahu výsledek kalibračního měření s černým tělesem. Zjištěná hodnota emisivity odpovídá emisivitě vyhřívané desky. Měření opakujte minimálně pětikrát.

3. Měření rozložení teploty na povrchu desky

Na IČ-teploměru nastavte emisivitu vyhřívané desky a postupně měřte teplotu jednotlivých polí. Naměřené hodnoty zapište do tabulky a zpracujte do 3D-grafu. V závěru protokolu diskutujte výsledky měření.

4. Porovnání dotykového a bezdotykového měření teploty

Proměřte postupně teplotu vybraných míst na vyhřívané desce jak dotykovými teploměrnými sondami, tak IČ-teploměrem a porovnejte výsledky měření.

Teplotu pole [3; 3] změřte jak teploměrem THERM s termočlánkem umístěným na zadní stěně desky, tak oběma sondami GREISINGER z obou stran vyhřívané desky.

Dále změřte dotykovými sondami a IČ-teploměrem teplotu povrchu vyhřívacího tranzistoru a dalších 3 polí např. [1; 1], [1; 4] a [4; 6],

VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE

FAKULTA CHEMICKO-INŽENÝRSKÁ

Ústav počítačové a řídicí techniky



MODULÁRNÍ LABORATOŘE

FILMOVÁ ODPARKA

LABORATORNÍ ÚLOHY

MĚŘENÍ A ŘÍZENÍ

Verze: 2.0

Prosinec 2006

OBSAH

ÚLOHA 1	Regulace tlaku v brýdovém prostoru	2
1.1	Schéma technologie.....	2
1.2	Úkoly	3
1.3	Postup práce	3
1.3.1	Měření přechodových jevů	3
1.3.2	Vyhodnocení přechodového jevu	4
1.3.3	Nastavení regulátoru a záznam regulačního pochodu	5
1.3.4	Vyhodnocení parametrů regulačního pochodu	6
1.4	Protokol.....	6
ÚLOHA 2	Studium dynamiky procesu zahušťování roztoku	7
2.1	Schéma technologie.....	7
2.2	Úkoly	7
2.3	Postup práce	8
2.3.1	Měření přechodových jevů	8
2.3.2	Vyhodnocení přechodových jevů	9
2.4	Protokol.....	9
ÚLOHA 3	Určení statické charakteristiky kondenzátoru brýdových par.....	10
3.1	Schéma technologie.....	10
3.2	Úkoly	11
3.3	Postup práce	11
3.3.1	Měření	11
3.3.2	Vyhodnocení naměřených dat.....	11
3.4	Protokol.....	12
ÚLOHA 4	Sledování výkonu odparky	13
4.1	Schéma technologie.....	13
4.2	Úkoly	13
4.3	Postup práce	14
4.3.1	Měření	14
4.3.2	Vyhodnocení naměřených dat.....	15
4.4	Protokol.....	15

Podrobný popis stanice a návod k obsluze, způsobu záznamu měřených dat a přístupu do on-line databáze je uveden v samostatné příručce

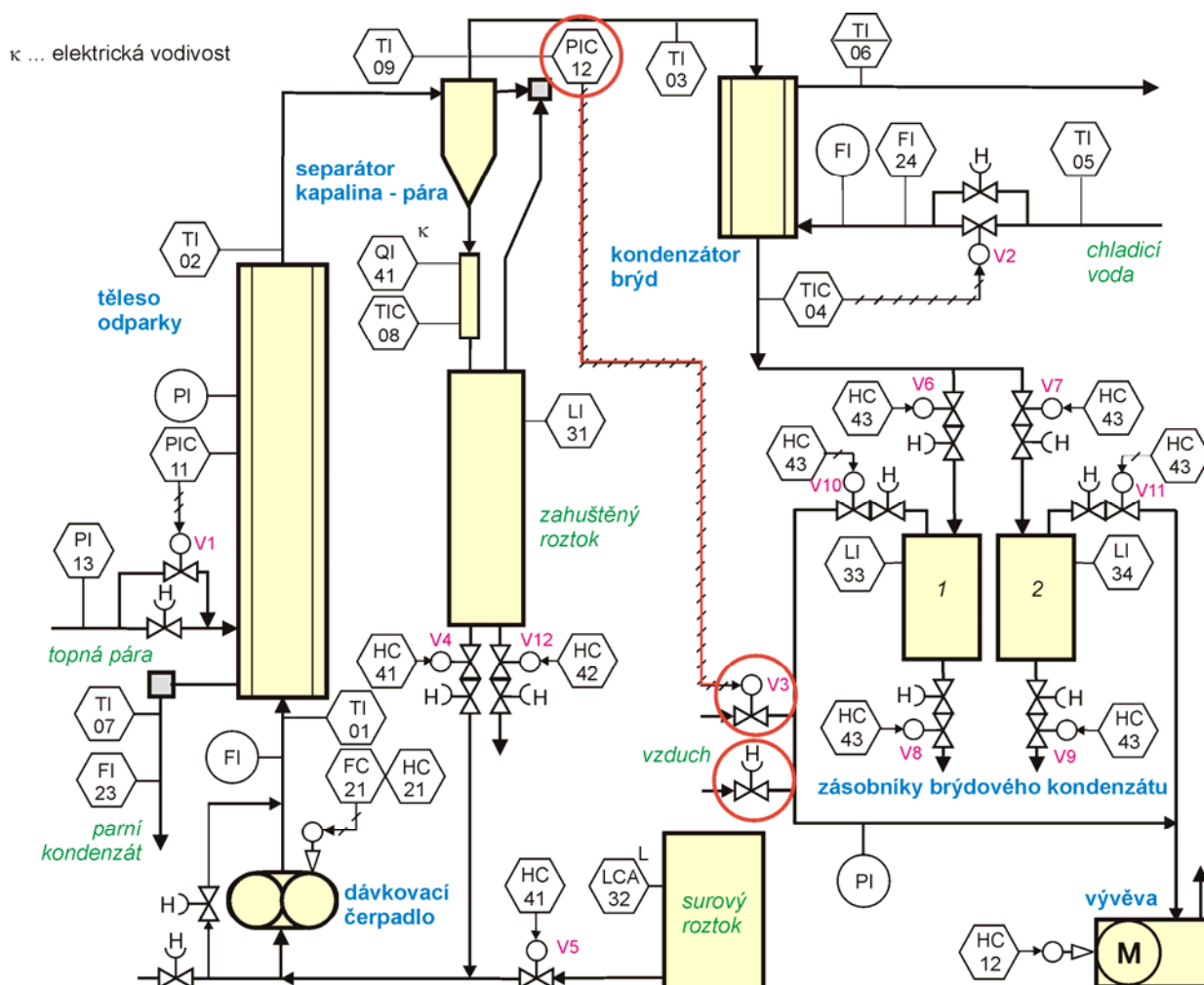
Filmová odparka – popis stanice a základní obsluha

ÚLOHA 1

Regulace tlaku v brýdovém prostoru

1.1 Schéma technologie

Na obr. 1.1 je zakresleno technologické schéma stanice s vyznačenými okruhy měření a regulace.



Obr. 1.1 Technologické schéma s okruhy MaR

Zadání úlohy se týká okruhu PIC 12, který je ve schématu zvýrazněn červeně. Obvod zajišťuje regulaci tlaku v brýdovém prostoru odparky. Tento tlak se udržuje nižší než je tlak atmosférický, jednak kondenzací par, jednak odsáváním nezkondenzovaných podílů vývěvou. Jako akční veličiny se používá přísávání vzduchu z okolí spojitým regulačním ventilem. Nejnižší dosažitelný tlak v systému je zhruba 40 kPa abs.

Čidlo tlaku je umístěno v horní části stanice a snímá absolutní tlak bezprostředně za separátorem oddělujícím brýdové páry od vroucího roztoku. Příslušný regulační ventil je V3.

1.2 Úkoly

Tématem práce je zjištění hodnot dynamických parametrů regulované soustavy, nastavení konstant regulátoru vyhodnocením odezvy výstupu (tlaku) na skokovou změnu vstupu (poloha ventilu) a vyhodnocení regulačního pochodu. Dílčí úkoly jsou:

- naměřit časový průběh odezvy tlaku v brýdovém prostoru (PIC 12) na skokovou změnu polohy ventilu (V3)
- vynést získaná data do grafu a z něho zjistit hodnotu zesílení a doby T_A a T_B (průtahu a náběhu)
- určit z tabulky hodnoty konstant zadaných typů regulátoru (P, PI, PID)
- naměřit průběhy regulačního pochodu pro zadané typy regulátorů pro poruchu realizovanou ručním ventilem pro přisávání vzduchu do brýdového prostoru
- naměřit průběhy regulačního pochodu pro zadané typy regulátorů pro změnu žádané hodnoty
- vyhodnotit kvalitu regulace

1.3 Postup práce

Odpařovací stanice se ovládá z operátorského počítače. Uživatelské jméno a heslo a konkrétní hodnoty veličin pro experiment zadá asistent. Obsluhu provádíme především z displeje **ZÁKLADNÍ REGULACE**. Archivace měřených hodnot se provádí buď do znakového souboru, nebo do on-line databáze. Konkrétní pokyny vydá asistent.

1.3.1 Měření přechodových jevů

Před vlastním měřením přechodového jevu uvedeme systém do ustáleného stavu. Znamená to provést následující operace:

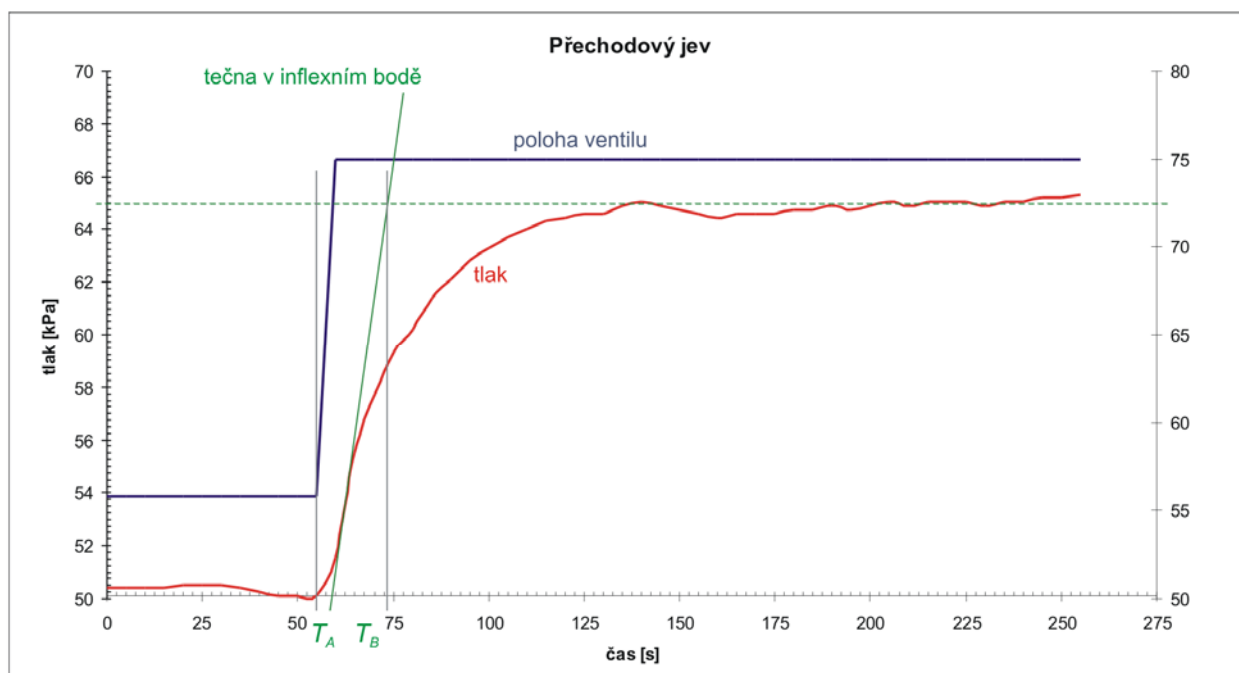
- otevřením ventilů V4 a V5 při spuštění vývěvě naplníme zásobník zahuštěného roztoku vodou do výšky hladiny (LI 31) asi 90 %, ventil V5 uzavřeme a V4 necháme otevřený,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru tlaku topné páry (PIC 11) na hodnotu určenou zadáním a regulátor zapneme,
- dávkovacím čerpadlem nastavíme nátok do odparky tak, aby plováček na rotometru nad čerpadlem kmital kolem zadané hodnoty,
- vypneme regulaci teploty kondenzátu za kondenzátorem (TIC 04) a otevřeme ventil V2 na zadanou hodnotu
- vypneme regulátor tlaku v brýdovém prostoru a otevřeme ventil V3 na zadanou hodnotu,
- nastavíme ventily u zásobníků kondenzátu tak, abychom během experimentu s nimi nemuseli manipulovat, tj. aby se kondenzát jímал do zásobníku, kde je dostatek volného objemu,
- zapneme archivaci měřených dat,
- ustálení procesu sledujeme na grafu **ODPARKA - P,T**.

Jakmile je proces ustálen, tj. zejména sledovaný tlak (PIC 12) zůstává konstantní (s minimálním kolísáním), můžeme provést skokovou změnu přestavením ventilu **V3** o zadaný krok. Vliv změny sledujeme opět na grafu **ODPARKA – P,T**. Po dobu záznamu přechodového jevu nesmíme provádět žádné jiné manipulace, aby průběh nebyl nežádoucím způsobem ovlivňován.

Po dostatečně dlouhé době, kdy se tlak opět ustálí, můžeme provést další skokovou změnu, tentokrát opačným směrem o stejný krok. Opět vyčkáme do ustálení a pokud podle grafu usoudíme, že naměřené průběhy jsou použitelné pro vyhodnocení, měření přechodových jevů ukončíme. Provoz odparky neukončujeme, jen sledujeme, aby nedošla voda v zásobníku zahuštěného roztoku a aby se nepřeplnil zásobník kondenzátu. Vodu doplňujeme otevřením ventilu V5, tok kondenzátu přepneme do prázdného a evakuovaného zásobníku, plný zavzdušníme a vypustíme. Vypouštěný kondenzát používáme opět pro doplňování odparky.

1.3.2 Vyhodnocení přechodového jevu

Po ukončení měření vypneme archivaci dat a výsledky převedeme do Excelu. Vybereme ze záznamu vhodné úseky kolem skokových změn a sestojíme grafy přechodových charakteristik. Pozor, pro grafy je potřeba přepočíst čas tak, aby na vodorovné ose grafů byl údaj v sekundách počítaný vždy od nuly. Rovněž upravíme měřítko na svislé ose tak, abychom maximálně využili přesnosti grafu. Graf pak vytiskneme. Průběhy vyhodnotíme a zjistíme dobu T_A (průtahu), T_B (náběhu) a zesílení. Ukázka grafu je na obr. 1.2, kde je i vidět způsob vyhodnocení.



Obr. 1.2 Reálný graf přechodové funkce a vyhodnocení

Ze zjištěných parametrů vypočteme konstanty regulátorů podle tabulky 1.1.

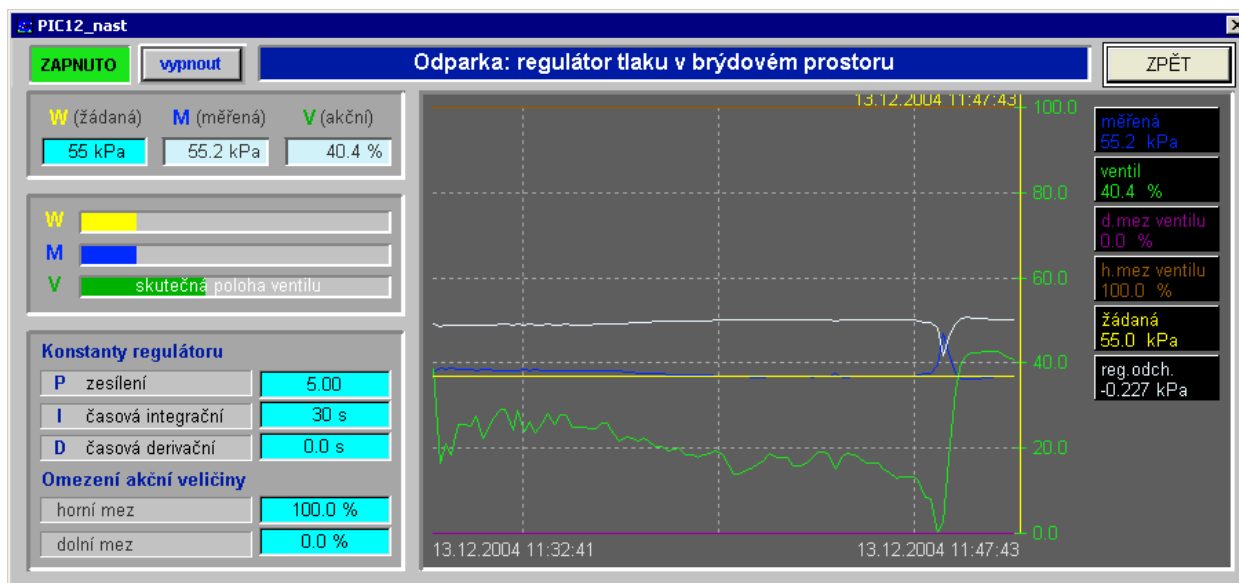
Tabulka 1.1 Určení konstant regulátoru z grafu přechodové funkce

	r_0	T_I	T_D
P	$\frac{1}{k} \cdot \frac{T_A}{T_B}$	---	---
PI	$0,9 \frac{1}{k} \cdot \frac{T_A}{T_B}$	$3,5 T_A$	---
PID	$1,25 \frac{1}{k} \cdot \frac{T_A}{T_B}$	$2 T_A$	$0,5 T_A$

1.3.3 Nastavení regulátoru a záznam regulačního pochodu

Přenos zjištěných parametrů regulátoru do řídicího systému provedeme následujícím postupem:

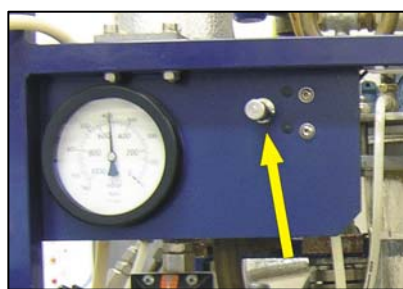
- z hlavního menu kliknutím na tlačítku **REGULACE** vyvoláme displej **PARAMETRY ZÁKLADNÍHO ŘÍZENÍ**, na kterém jsou v horní části zobrazené hlavní údaje o regulátorech,
- kliknutím na popisu regulátoru PIC 12 vyvoláme okno pro nastavování konstant regulátoru (obr. 1.3),
- pokud není regulátor vypnut, vypneme jej tlačítkem v levém horním rohu okna,
- klikáním na tyrkysově podbarvených políčkách u konstant P, I, D vyvoláme okna, do kterých vždy zapíšeme z klávesnice příslušnou hodnotu a odešleme (používá se desetinná tečka !), přičemž je-li třeba, tak
 - I složku vyřadíme zadáním maximální možné hodnoty (3600 s),
 - D složku vyřadíme zadáním nuly
- okno zavřeme tlačítkem **ZPĚT** vpravo nahoře
- zapíšeme si hodnoty konstant regulátoru a čas jejich nastavení (do archivu se tyto údaje neukládají).



Obr. 1.3 Okno pro nastavování konstant regulátoru

Pro sledování regulačního pochodu zapneme záznam dat do archivu a přejdeme do displeje **ZÁKLADNÍ REGULACE**. Nastavíme žádanou hodnotu regulátoru PIC 12 a regulátor spustíme. Zajistíme možnost nerušeného experimentu stejně jako u měření přechodových jevů (dostatek vody, volná kapacita v zásobníku kondenzátu atd.) a necháme proces ustálit. Průběh sledujeme buď na grafu **ODPARKA – P,T**, nebo výše popsaným postupem otevřeme okno pro nastavování konstant regulátoru, kde je také zobrazován graf.

Poznámka: Pokud regulační obvod silněji kmitá, i když nedošlo k žádné větší poruše, je třeba zkontrolovat postup stanovení konstant, pravděpodobně v něm bude chyba.



Jestliže je proces ustálen, zavedeme do systému poruchu otevřením ručního ventilku pro přisávání vzduchu do brýdového prostoru (viz obr. vlevo) asi o čtvrtinu až polovinu otáčky (nutno vyzkoušet, aby reakce regulačního obvodu byla dostatečná). Začne probíhat regulační pochod jako odezva na poruchu. Regulační ventil **V3** by neměl při něm zůstat trvale uzavřen – pokud se tak stane, byla porucha příliš velká. Po ustálení provedeme novou změnu tím, že ventilek opět uzavřeme a zase necháme systém ustálit. Zapisujeme si vždy čas, kdy jsme poruchu provedli (Pozor, musí to být čas systému, ne na našich hodinkách!).

Se stejným nastavením konstant regulátoru provedeme změnu žádané hodnoty na novou a zase zpět a vždy necháme systém ustálit.

Tyto experimenty provedeme pro ty typy regulátorů (P, PI, PID), které nám zadá asistent.

1.3.4 Vyhodnocení parametrů regulačního pochodu

Pro každý experiment z archivovaných dat vytvoříme graf a zjistíme hodnoty základních ukazatelů pro hodnocení kvality regulace:

- a) trvalou regulační odchylku,
- b) praktickou dobu regulace,
- c) maximální překmit,
- d) periodu kmitů (pokud obvod více kmitá a lze ji zjistit).

1.4 Protokol

Protokol musí mít následující části:

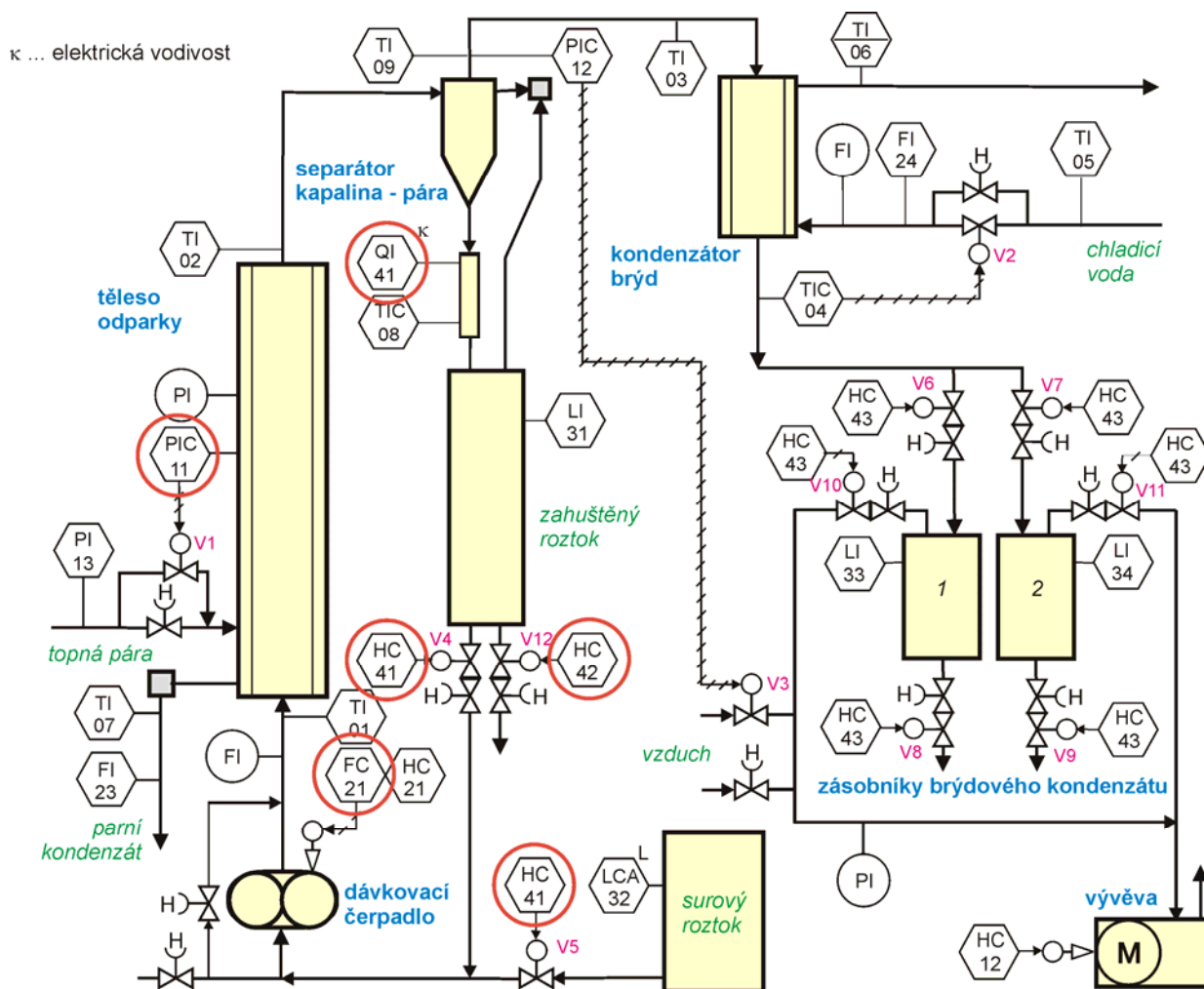
- 1) záhlaví se jmény členů pracovní skupiny a datem měření,
- 2) zadání práce s konkrétními úkoly a s hodnotami, které byly zadány asistentem,
- 3) naměřené průběhy přechodových jevů v grafické formě,
- 4) postup vyhodnocení grafů a přehled výsledků a z nich stanovených hodnot konstant regulátorů,
- 5) naměřené průběhy regulačních pochodů v grafické formě,
- 6) určené hodnoty kritérií kvality regulačního pochodu,
- 7) diskusi výsledků.

ÚLOHA 2

Studium dynamiky procesu zahušťování roztoku

2.1 Schéma technologie

Na obr. 2.1 je zakresleno technologické schéma stanice s vyznačenými okruhy měření a regulace. Červeně jsou zvýrazněny ty okruhy, které jsou pro řešení úlohy nejdůležitější.



Obr. 2.1 Technologické schéma s okruhy MaR

2.2 Úkoly

Tématem práce je zjištění vlivu tlaku topné páry a průtoku surového roztoku do odparky na koncentraci na výstupu z odparky při jednom průchodu roztoku odparkou. Zahušťuje se roztok chloridu draselného, jeho koncentrace je sledována měřením elektrické vodivosti. Dílčí úkoly jsou:

- naměřit časový průběh odezvy koncentrace roztoku na výstupu z odparky (QI 41) na skokovou změnu žádané hodnoty regulátoru tlaku v topné komoře (PIC 11) při konstantním průtoku surového roztoku do odparky (FC 21)

- b) naměřit časový průběh odezvy koncentrace roztoku na výstupu z odparky (QI 41) na skokovou změnu průtoku surového roztoku do odparky (FC 21) při konstantním tlaku v topné komoře (PIC 11)
- c) vyhodnotit naměřené přechodové jevy, tj. určit pro každý z nich hodnoty časových konstant T_A a T_B a zesílení k (viz úloha 1, kap. 1.3.2)

2.3 Postup práce

Odpařovací stanice se ovládá z operátorského počítače. Uživatelské jméno a heslo a konkrétní hodnoty veličin pro experiment zadá asistent. Obsluhu provádíme především z displeje **ZÁKLADNÍ REGULACE**. Před zahájením experimentu je třeba zapnout archivaci měřených hodnot, buď do znakového souboru, nebo do on-line databáze. Konkrétní pokyny vydá asistent.

2.3.1 Měření přechodových jevů

Před měřením připravíme zadané množství surového roztoku o zadané koncentraci smícháním vypočteného objemu koncentrovaného roztoku chloridu draselného s vodou a změříme jeho elektrickou vodivost ručním konduktometrem. Abychom zvětšili prostor pro jímání zahuštěného roztoku připojíme na vývod ze zásobníku (za ventil **V12**) odsávacíku a propojíme ji vakuovou hadičkou s brýdovým prostorem odparky tak, aby se tlaky vyrovnaly.

Při vlastním experimentu postupujeme následovně:

- otevřením ventilů **V4** a **V5** při spuštěné vývěvě naplníme zásobník zahuštěného roztoku vodou do výšky hladiny (LI 31) asi 50 %, ventil **V5** uzavřeme a **V4** necháme otevřený,
- vyměníme vodu v zásobníku surového roztoku za připravený roztok KCl,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru tlaku v brýdovém prostoru (PIC 12) a regulátor zapneme; během měření žádanou hodnotu neměníme,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru teploty ve vodivostní komůrce (TIC 08) a regulátor zapneme; během měření žádanou hodnotu neměníme,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru teploty kondenzátu (TIC 04) a regulátor zapneme; během měření žádanou hodnotu neměníme,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru tlaku topné páry (PIC 11) a regulátor zapneme,
- nastavíme ventily u zásobníků kondenzátu tak, abychom během experimentu s nimi nemuseli manipulovat, tj. aby se kondenzát jímá do zásobníku, kde je dostatek volného objemu,
- zapneme archivaci měřených dat,
- dávkovacím čerpadlem nastavíme průtok do odparky tak, aby plováček rotometru kmital kolem zadané hodnoty,
- odpařujeme vodu až do chvíle, kdy hladina v zásobníku zahuštěného roztoku klesne pod asi 5 %, pak otevřeme ventil **V5** a uzavřeme ventil **V4** a do odparky začneme dávkovat zředěný roztok KCl,
- na grafu **ODPARKA – F, L, Q** sledujeme hodnotu elektrické vodivosti (QI 41) až do jejího ustálení,
- pokud je třeba, otevřením ventilu **V12** odpustíme zahuštěný roztok ze zásobníku do odsávacíky.

Jakmile je proces ustálen, můžeme provést skokovou změnu buď pro úkol **a)** změnou žádané hodnoty regulátoru tlaku topné páry (PIC 11), nebo pro úkol **b)** změnou výkonu dávkovacího čerpadla (FC 21) o zadaný krok. Vliv změny sledujeme až do opětovného ustálení hodnoty elektrické vodivosti. Po ustálení provedeme skokovou změnu opačným směrem. Během záznamu přechodových jevů nesmíme provádět žádné jiné manipulace, aby průběhy nebyly nežádoucím způsobem ovlivňovány.

2.3.2 Vyhodnocení přechodových jevů

Po ukončení měření vypneme archivaci dat a výsledky převedeme do Excelu. Vybereme ze záznamu vhodné úseky kolem skokových změn a sestrojíme grafy přechodových charakteristik. Pozor, pro grafy je potřeba přepočíst čas tak, aby na vodorovné ose grafů byl údaj v sekundách počítaný vždy od nuly. Rovněž upravíme měřítko na svislé ose tak, abychom maximálně využili přesnosti grafu. Graf pak vytiskneme. Průběhy vyhodnotíme známým způsobem (viz např. úloha 1, kap. 1.3.2) a zjistíme dobu T_A (průtahu), T_B (náběhu) a zesílení k .

2.4 Protokol

Protokol musí mít následující části:

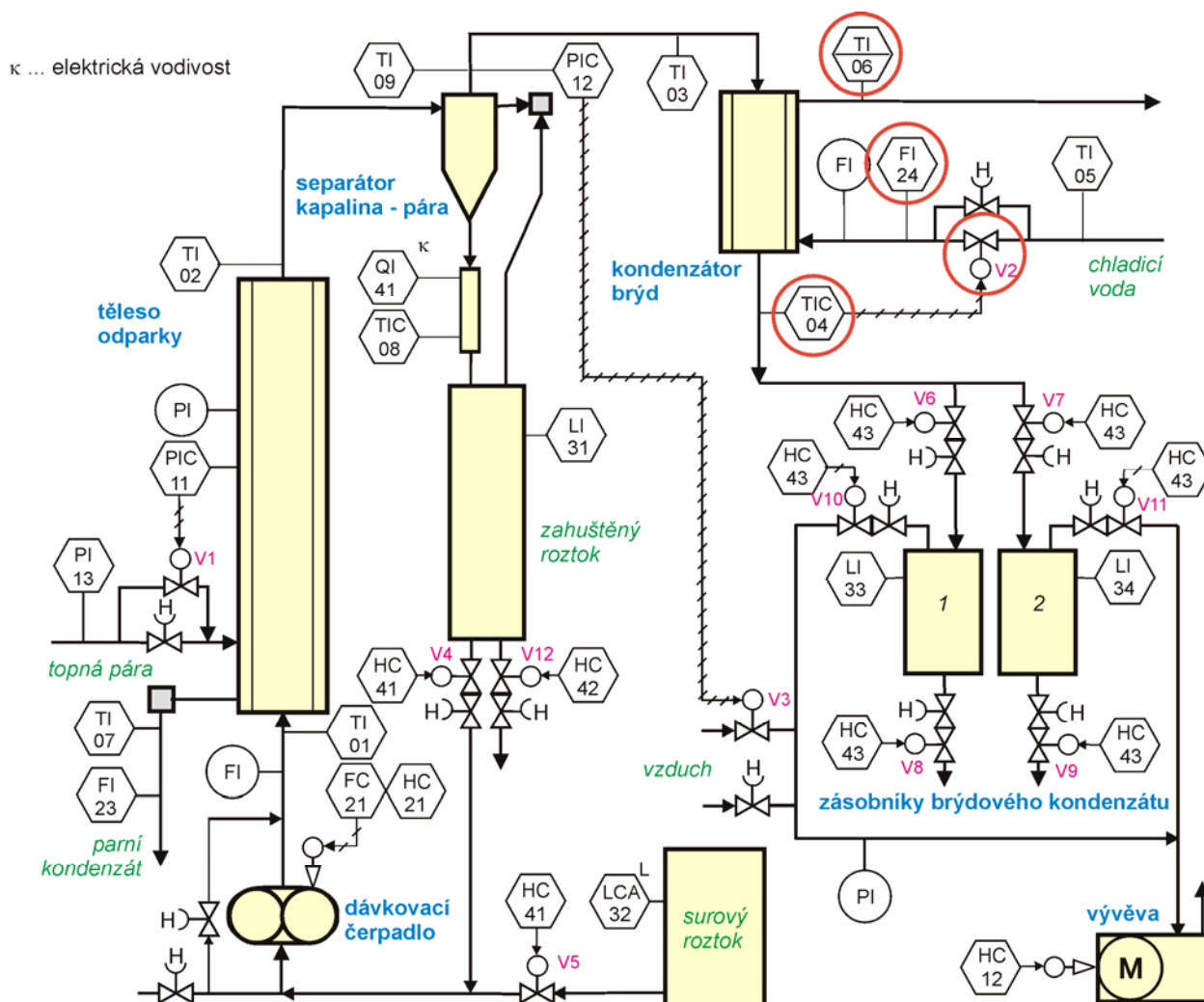
- 1) záhlaví se jmény členů pracovní skupiny a datem měření,
- 2) zadání práce s konkrétními úkoly a s hodnotami, které byly zadány asistentem,
- 3) naměřené průběhy všech přechodových jevů v grafické formě (každý přechod v samostatném grafu),
- 4) postup vyhodnocení grafů a získané výsledky shrnuté do tabulek zvlášť pro úkol **a)** a pro úkol **b)**.
- 5) diskusi výsledků.

ÚLOHA 3

Určení statické charakteristiky kondenzátoru brýdových par

3.1 Schéma technologie

Na obr. 3.1 je zakresleno technologické schéma stanice s vyznačenými okruhy měření a regulace. Hlavní měřicí a ovládací prvky použité v této úloze jsou zvýrazněny červeně.



Obr. 3.1 Technologické schéma s okruhy MaR – úloha 3

Kondenzátor je tvořen soustavou svislých trubek umístěných ve válcovém plášti. Trubkami proudí zdola nahoru chladicí voda a do prostoru okolo trubek přichází brýdová pára, která na jejich povrchu kondenzuje. Kondenzát se odvádí ze spodní části kondenzátoru do zásobníků.

Charakteristické křivky prakticky použitelné je možné získat dvě. V obou případech je vstupní proměnnou průtok chladicí vody (FI 24), výstupní proměnnou je buď teplota kondenzátu (TIC 04), nebo teplota odtékající chladicí vody (TI 06). Průtok chladicí vody je možné ovládat ventilem V2.

3.2 Úkoly

Cílem práce je naměřit několik bodů (minimálně 5) charakteristické křivky (statické charakteristiky) pro zadanou dvojici průtok – teplota a zjistit, zda je pro danou závislost kondenzátor brýdových par soustavou lineární nebo nelineární. Dílčí úkoly jsou:

- postupně naměřit a zaznamenat průběhy průtok – teplota pro minimálně 5 poloh ventilu **V2** (dolní a horní mez zadá asistent)
- ze získaných dat určit dvojice hodnot v ustáleném stavu
- výsledky graficky zpracovat a vyhodnotit linearitu
- určit střední hodnotu zesílení (vstup: průtok, výstup: teplota), popřípadě jeho průběh v závislosti na průtoku

3.3 Postup práce

Odpařovací stanice se ovládá z operátorského počítače. Uživatelské jméno a heslo a konkrétní hodnoty veličin pro experiment zadá asistent. Obsluhu provádíme především z displeje **ZÁKLADNÍ REGULACE**. Před zahájením experimentu je třeba zapnout archivaci měřených hodnot, buď do znakového souboru, nebo do on-line databáze, konkrétní pokyny vydá asistent.

3.3.1 Měření

Před vlastním měřením uvedeme systém do ustáleného stavu. Znamená to provést následující operace:

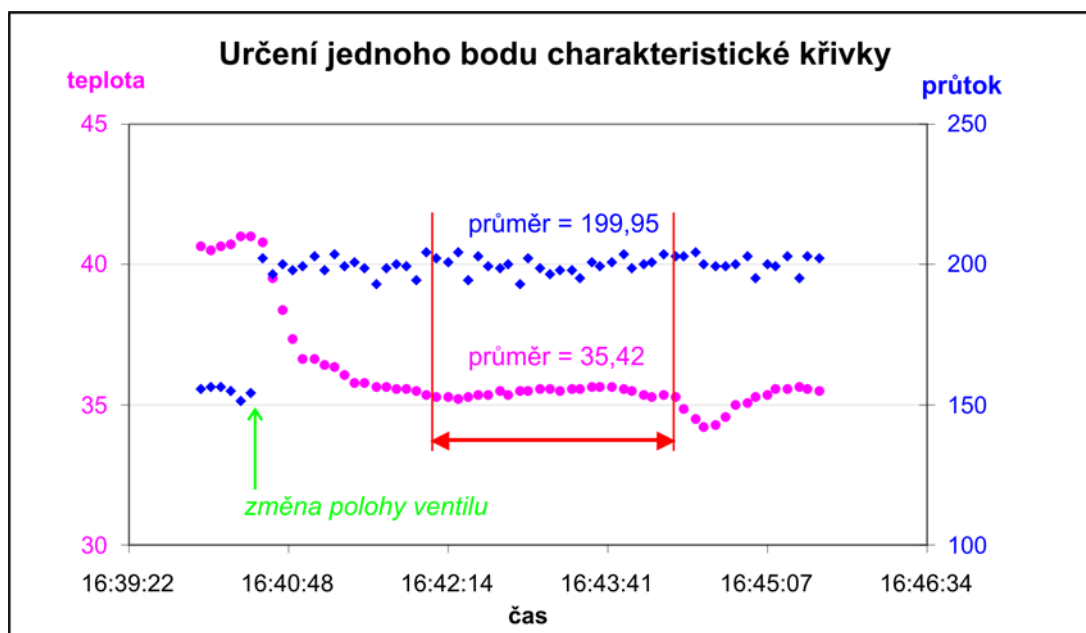
- otevřením ventilů **V4** a **V5** při spuštěné vývěvě naplníme zásobník zahuštěného roztoku vodou do výšky hladiny (LI 31) asi 90 %, ventil **V5** uzavřeme a **V4** necháme otevřený,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru tlaku topné páry (PIC 11) na hodnotu určenou zadáním a regulátor zapneme,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru tlaku v brýdovém prostoru (PIC 12) na hodnotu určenou zadáním a regulátor zapneme,
- dávkovacím čerpadlem nastavíme nátok do odparky,
- nastavíme ventily u zásobníků kondenzátu tak, abychom během experimentu s nimi nemuseli manipulovat, tj. aby se kondenzát jímал do zásobníku, kde je dostatek volného objemu,
- vypneme regulaci teploty kondenzátu na výstupu z kondenzátoru (TIC 04) a otevřeme ventil **V2** na hodnotu zadané dolní meze,
- dosažení ustáleného stavu sledujeme na grafu **KONDENZÁTOR**,
- ustálený stav necháme zaznamenat po dobu asi 1 minuty, pak zvýšíme polohu ventilu **V2** o 5 % a opakujeme měření podle bodů g) a h) až do dosažení zadané horní meze polohy ventilu **V2**,
- celý postup opakujeme směrem od horní meze k dolní.

V průběhu měření je třeba kontrolovat zásobu vody (hladinu L31) a podle potřeby doplnit otevřením ventilu **V5**. Pozor, po doplnění může dojít k dočasnému porušení ustáleného stavu!

3.3.2 Vyhodnocení naměřených dat

Po ukončení měření vypneme archivaci dat a výsledky převedeme do Excelu. Vybereme ze záznamu vhodné úseky dat a sestojíme grafy (ukázka na obr. 3.2). Na

nich vybereme část, kdy obě měřené veličiny kolísají kolem ustáleného stavu a z těchto úseků určíme aritmetické průměry. Tím získáme souřadnice jednoho bodu charakteristické křivky.



Obr. 3.2 Ukázka způsobu vyhodnocování naměřených dat.

Do grafu vynášíme všechny takto zpracované body. Pro každou polohu ventilu **V2** máme dva body průtok – teplota, které by se od sebe neměly příliš lišit. Vypočteme z jejich souřadnic aritmetický průměr a výsledek považujeme za výsledný bod charakteristické křivky.

Střední hodnotu zesílení určíme ze směrnice přímky, kterou proložíme (např. pomocí prostředků Excelu) naměřenými body charakteristické křivky. Pokud je závislost výrazně odlišná od lineární, zkusíme naměřenými proložit vhodnou křivku. Zesílení v jednotlivých bodech se pak budou lišit a jejich hodnoty se určí ze směrnic tečen k proložené křivce v těchto bodech.

3.4 Protokol

Protokol musí mít následující části:

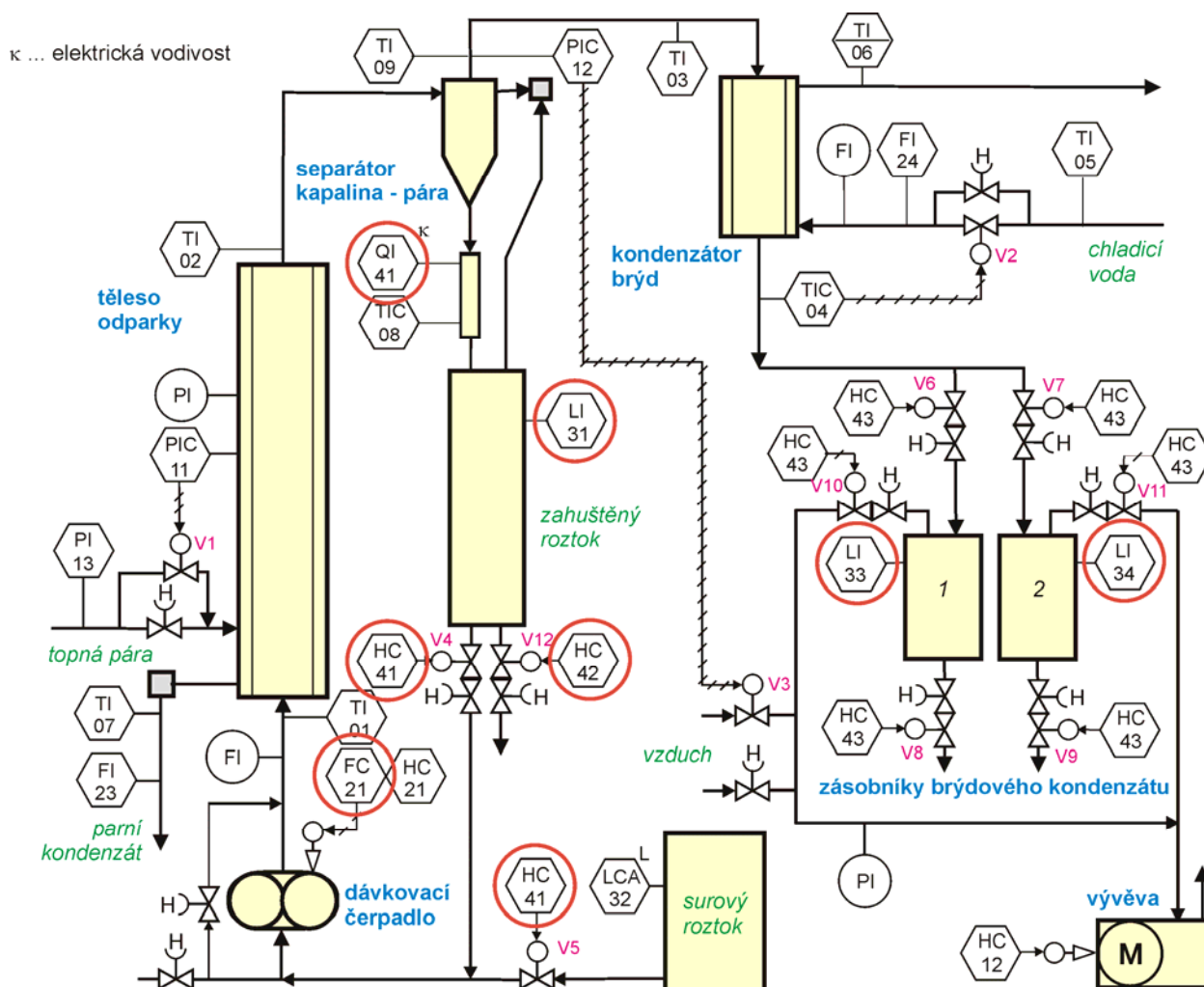
- 1) záhlaví se jmény členů pracovní skupiny a datem měření,
- 2) zadání práce s konkrétními úkoly a s hodnotami, které byly zadány asistentem,
- 3) naměřené průběhy v grafické formě,
- 4) postup vyhodnocení grafů a přehlednou tabulku výsledků,
- 5) grafické znázornění charakteristické křivky (naměřené body, proložená závislost),
- 6) určené hodnoty zesílení,
- 7) diskusi výsledků.

ÚLOHA 4

Sledování výkonu odparky

4.1 Schéma technologie

Na obr. 4.1 je zakresleno technologické schéma stanice s vyznačenými okruhy měření a regulace. Hlavní měřicí a ovládací prvky použité v této úloze jsou zvýrazněny červeně.



Obr. 4.1 Technologické schéma s okruhy MaR – úloha 4

4.2 Úkoly

Výkon odparky v ustáleném stavu můžeme kvantitativně posuzovat např. množstvím odpařeného rozpouštědla za jednotku času, nebo množstvím zpracovaného surového roztoku při dodržení požadovaného stupně zahuštění. Důležitými parametry ovlivňujícími výkon jsou intenzita topení (tlak páry v topné komoře, resp. spotřeba páry) a tlak v brýdovém prostoru (s ním související teplota varu).

Cílem práce je změřit údaje potřebné pro výpočet výkonu odparky v ustáleném stavu při zadaném tlaku v topné komoře a tlaku v brýdovém prostoru pro několik hodnot průtoku surového roztoku do odparky. Dílčí úkoly jsou:

- při jednorůchodovém zahušťování dosáhnout ustáleného stavu (tj. konstantní koncentrace zahuštěného roztoku) pro nejméně 3 hodnoty průtoku surového roztoku do odparky (z rozsahu, který zadá asistent) a udržet dosažený ustálený stav po dobu potřebnou k získání dostatečného množství dat pro požadované výpočty
- ze získaných dat určit střední hodnoty průtoku brýdového kondenzátu pro každý ustálený stav
- ze získaných dat určit střední stupeň zahuštění roztoku pro každý ustálený stav
- experimenty graficky zpracovat

4.3 Postup práce

Odpařovací stanice se ovládá z operátorského počítače. Uživatelské jméno a heslo a konkrétní hodnoty veličin pro experiment zadá asistent. Obsluhu provádíme především z displeje **ZÁKLADNÍ REGULACE**. Před zahájením experimentu je třeba zapnout archivaci měřených hodnot, buď do znakového souboru, nebo do on-line databáze, konkrétní pokyny vydá asistent.

4.3.1 Měření

Před měřením připravíme zadané množství surového roztoku o zadané koncentraci smícháním vypočteného objemu koncentrovaného roztoku chloridu draselného s vodou a změříme jeho elektrickou vodivost ručním konduktometrem. Abychom zvětšili prostor pro jímání zahuštěného roztoku připojíme na vývod ze zásobníku (za ventil **V12**) odsávačku a propojíme ji vakuovou hadičkou s brýdovým prostorem odparky tak, aby se tlaky vyrovnaly.

Při vlastním experimentu postupujeme následovně:

- otevřením ventilů **V4** a **V5** při spuštěné vývěvě naplníme zásobník zahuštěného roztoku vodou do výšky hladiny (LI 31) asi 50 %, ventil **V5** uzavřeme a **V4** necháme otevřený,
- vyměníme vodu v zásobníku surového roztoku za připravený roztok KCl,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru tlaku v brýdovém prostoru (PIC 12) a regulátor zapneme; během měření žádanou hodnotu neměníme,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru teploty ve vodivostní komůrce (TIC 08) a regulátor zapneme; během měření žádanou hodnotu neměníme,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru teploty kondenzátu (TIC 04) a regulátor zapneme; během měření žádanou hodnotu neměníme,
- nastavíme žádanou hodnotu regulátoru tlaku topné páry (PIC 11) a regulátor zapneme,
- nastavíme ventily u zásobníků kondenzátu tak, abychom během experimentu s nimi nemuseli manipulovat, tj. aby se kondenzát jímá do zásobníku, kde je dostatek volného objemu,
- zapneme archivaci měřených dat,
- dávkovacím čerpadlem nastavíme průtok do odparky (FC 21) tak, aby plováček rotometru kmital kolem zadané hodnoty,

- odpařujeme vodu až do chvíle, kdy hladina v zásobníku zahuštěného roztoku klesne pod asi 5 %, pak otevřeme ventil V5 a uzavřeme ventil V4 a do odparky začneme dávkovat zředěný roztok KCl,
- na grafu ODPARKA – F, L, Q sledujeme hodnotu elektrické vodivosti (QI 41) až do jejího ustálení,
- dosažený ustálený stav udržujeme po dobu asi 5 minut, přičemž sledujeme hladinu zahuštěného roztoku (LI 31) a brýdového kondenzátu (LI 33 resp. LI 34); hladiny musí po danou dobu vykazovat lineární růst na úseku dostatečně dlouhém pro určení směrnice
- pokud je to třeba, tak před změnou průtoku FC 21 otevřením ventilu V12 odpustíme zahuštěný roztok ze zásobníku do odsávačky, popřípadě přepneme jímání brýdového kondenzátu do druhého zásobníku.

Tímto způsobem zaznamenáme ustálené stavy pro požadovaný počet hodnot průtoku FC 21. Během záznamu ustálených stavů nesmíme provádět žádné jiné manipulace, aby průběhy nebyly nežádoucím způsobem ovlivňovány.

4.3.2 Vyhodnocení naměřených dat

Po ukončení měření vypneme archivaci dat a výsledky převedeme do Excelu. Vybereme ze záznamu vhodné úseky dat a sestojíme grafy. Na nich vybereme části, kdy se hodnoty hladin (LI 31 a LI 33 resp. LI 34) mění zhruba lineárně, proložíme těmito částmi přímkou a určíme jejich směrnice. Získané hodnoty v %/min přepočteme pomocí kalibračních rovnic pro příslušné zásobníky na l/min. Z bilance dopočteme skutečnou hodnotu průtoku surového roztoku do odparky (FC 21).

Stupeň zahuštění vypočteme jako podíl elektrické vodivosti zahuštěného roztoku ku elektrické vodivosti surového roztoku. Výsledky zpracujeme tabelárně a graficky.

4.4 Protokol

Protokol musí mít následující části:

- 1) záhlaví se jmény členů pracovní skupiny a datem měření,
- 2) zadání práce s konkrétními úkoly a s hodnotami, které byly zadány asistentem,
- 3) naměřené průběhy v grafické formě,
- 4) postup vyhodnocení naměřených dat,
- 5) tabulku a grafy výsledků,
- 6) diskusi výsledků.