

# فصل ۱۱



## اسپکترومتر

کد GMDN	۳۶۴۱۱	۳۶۴۱۱	۳۶۴۱۱
کد ECRI	۱۵-۰۸۲	۱۵-۰۸۳	۱۵-۰۸۴
نام‌گذاری	اسپکتروفتومتر، ماوراء بنفش	اسپکتروفتومتر، ماوراء بنفش، مرئی	اسپکتروفتومتر، مرئی

### موارد استفاده از دستگاه

در آزمایشگاه اسپکتروفتومتر برای تعیین و میزان غلظت یک ماده در محلول کاربرد دارد و بنابراین با روش‌های اسپکتروفتومتری می‌توان نمونه را مورد تجزیه و تحلیل کمی و کیفی قرارداد.

### اصول عملکرد

به‌عنوان یک اصل پایه، نور نوعی از انرژی الکترومغناطیسی در نظر گرفته می‌شوند. سرعت ثابت نور در فضا  $C$ ، تقریباً  $3 \times 10^8 \text{ m/s}$  است. سرعت نور در صورت عبور از هر محیط شفاف دیگر، کمی کاهش می‌یابد و از معادله زیر می‌توان سرعت آن را به دست آورد:

$$v_o = \frac{C}{n}$$

به‌طوری که:

$v_o$  = سرعت نور ورودی از هر محیط یا وسیله

$n$  = شاخص بازتاب: که مقدار عددی آن معمولاً بین  $1/0$  تا  $2/5$  می‌باشد.

اسپکتروفتومتر برگرفته از واژه لاتین *spectrum* به معنای «تصویر» و واژه یونانی *phos* یا *photos* به معنای «نور» است. اسپکتروفتومتر یکی از دستگاه‌های اصلی طراحی شده برای پژوهش و تشخیص است که در آن از ویژگی‌های نور و تداخل آن با سایر مواد استفاده می‌شود. به‌طور کلی نور یک لامپ با مشخصات خاص از ابزاری عبور می‌کند که طول موج مشخصی را جدا و از نمونه عبور می‌دهد. شدت نور خروجی با شدت نور ورودی مقایسه شده و میزان عبور نور<sup>۱</sup> که به عواملی مانند غلظت نمونه بستگی دارد، محاسبه می‌شود.

### تصویر اسپکتروفتومتر

یک اسپکتروفتومتر معمولی



انرژی الکترومغناطیسی طیف وسیعی از طول موج‌ها را دارد که در جدول ذیل به برخی از آنها اشاره شده است:

نوع انرژی الکترومغناطیسی	گستره طول موج
امواج رادیویی	از چند متر تا چند کیلومتر
امواج رادار	از ۱ تا ۱۰ سانتی‌متر
امواج مادون قرمز	از ۱ تا ۱۰ میکرون ( $10^{-6}m$ )
نور مرئی	از ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر
پرتوهای X	از ۰/۱ تا ۰/۵ آنگستروم
پرتوهای گاما	تقریباً ۰/۰۰۱۲ آنگستروم

در نتیجه عبور یا برخورد نور با محیط‌های مختلف یکی از پدیده‌های زیر اتفاق می‌افتد: بازتاب<sup>۱</sup>، انکسار (شکست)<sup>۲</sup>، تجزیه<sup>۳</sup>، جذب<sup>۴</sup>، پخش<sup>۵</sup>، پلاریزه شدن<sup>۶</sup>، و پدیده‌های دیگری که با دستگاه‌ها و وسایل مختلف اندازه‌گیری می‌شود. جدول زیر محدوده طول موج‌های دیگر را نشان می‌دهد که در آزمایش‌های اسپکتروفتومتری استفاده می‌شوند.

طیف نور	گستره طول موج
ماوراء بنفش	۱۰-۲۰۰ نانومتر
ماوراء بنفش نزدیک	۲۰۰-۲۸۰ نانومتر
نور مرئی	۳۸۰-۷۸۰ نانومتر
مادون قرمز نزدیک	۷۸۰-۳۰۰۰ نانومتر
مادون قرمز میانی	۳۰۰۰-۲۰۰۰۰ نانومتر
مادون قرمز دور	۳۰۰۰۰-۳۰۰۰۰۰ نانومتر

با توجه به برخورد نور و ماده، شکل ۲۷ در توضیح پیچیدگی پدیده‌ای که رخ می‌دهد، کمک می‌کند.

شکل ۲۷ نشان می‌دهد که نور ورودی  $[I_0]$  می‌تواند تغییر حالت‌های متعددی پیدا کند؛ می‌تواند منعکس (بازتاب) شود  $[I_r]$ ، عبور<sup>۷</sup> کند  $[I_t]$ ، پخش شود یا جذب شود و یا مستقیماً به صورت فلئورسانس<sup>۸</sup> ساطع شود  $[I_f]$ . اساس کار اسپکتروفتومترها اصولاً بر جذب و عبور نور استوار است. برای درک این موضوع قانون بیر - لامبرت را مرور می‌کنیم.

قانون بیر - لامبرت به عنوان «قانون بیر» و یا «قانون بیر - لامبرت بوگر»<sup>۹</sup> نیز معروف است. این قانون رابطه بین غلظت نمونه و شدت نوری که از آن عبور می‌کند را نشان می‌دهد. با توجه به این قانون، دو حالت وجود دارد: عبور کردن  $[T]$ <sup>۱۰</sup> و جذب کردن  $[A]$ <sup>۱۱</sup>.

عبور  $[T]$ : بخشی از نور ورودی با طول موج مشخص است که از داخل نمونه عبور می‌کند.

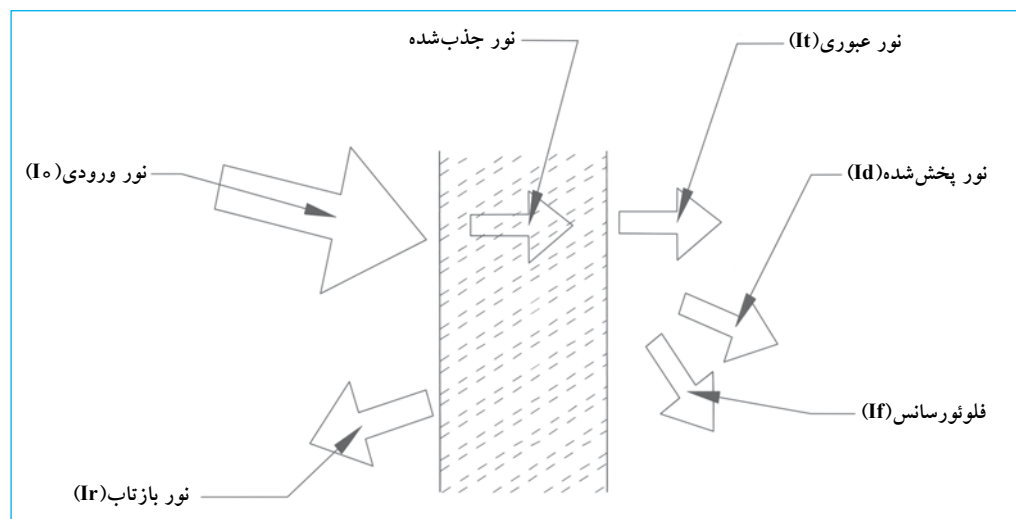
$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

به طوری که:

$I_t$  = شدت نور عبور کرده (خروجی)

$I_0$  = شدت نور اولیه (ورودی)

شکل ۲۷. برخورد نور با ماده



1. Reflection
2. Refraction
3. Diffraction

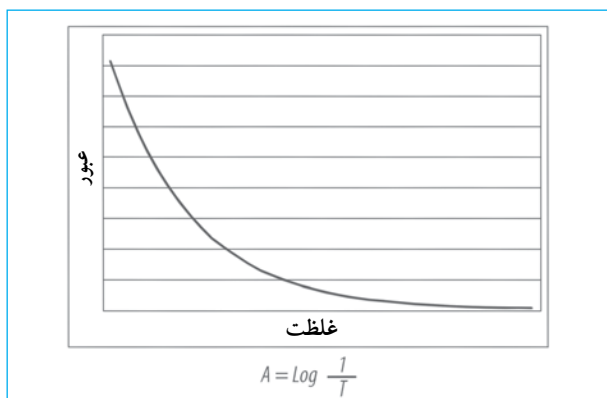
4. Absorption
5. Diffusion
6. Polarization

7. Transmitt
8. Fluorescence
9. Beer Lambert Bouguer's law

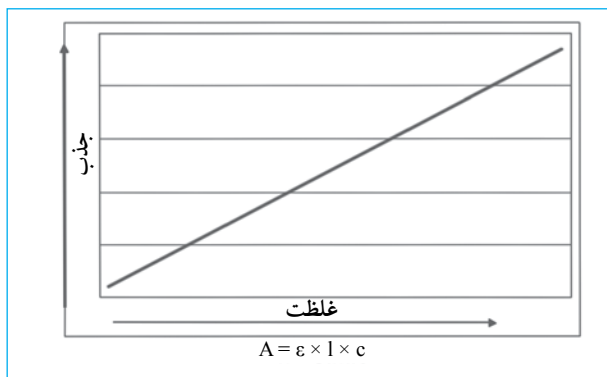
10. Transmittance
11. Absorbance

منحنی‌های ارائه شده در زیر نمایانگر مدلی است که چطور مقدار جذب [A] و عبور نور [T] در اثر غلظت [C] براساس قانون بیر تغییر می‌کند.

منحنی عبور نور



منحنی جذب



درصد میزان عبور نور [T] از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$\%T = \frac{I_t}{I_0} \times 100$$

تعداد مولکول‌های جاذب نور در یک نمونه متناسب با میزان جذب آن در نمونه است و به صورت رابطه ریاضی زیر بیان می‌شود:

$$A = \epsilon \times l \times c$$

به طوری که:

A = جذب قابل اندازه گیری نور

$\epsilon$  = ضریب جذب [Litres/ mol. cm]

l = طول مسیر عبور نور در نمونه

c = غلظت نمونه [mol/ Litres]

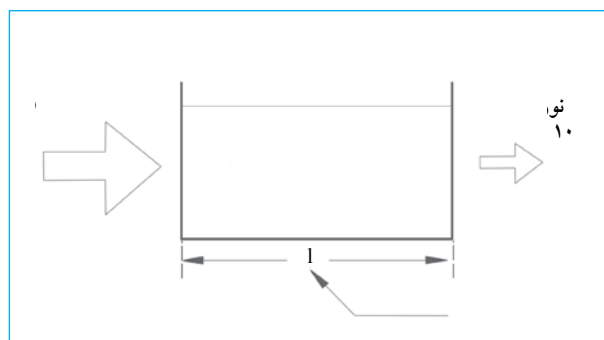
رابطه بین جذب نور [A] و عبور [T] آن با معادله زیر نشان

داده می‌شود:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = \log_{10} \frac{1}{\frac{I_t}{I_0}} = \log_{10} \frac{1}{10^{-\epsilon \times c \times l}} = \epsilon \times c \times l$$

طرح زیر پدیده جذب را توضیح می‌دهد:

شکل ۲۸. پدیده جذب



به طور خلاصه، با افزایش غلظت نمونه، میزان عبور نور کم و جذب بیشتر می‌شود.

خطی بودن قانون بیر - لامبرت تحت تاثیر شرایط زیر قرار می‌گیرد:

۱. تغییر تعادل شیمیایی نمونه در نتیجه تغییر غلظت.
۲. تغییر ضریب جذب، در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۱ مول در ماده به دلیل تداخل الکتروستاتیکی بین مولکول‌های مجاور.
۳. تغییر ضریب انکسار در غلظت‌های بالای نمونه.
۴. پخش نور به علت وجود ذرات در نمونه.
۵. فلئورسانس یا فسفرسانس<sup>۱</sup> نمونه.
۶. تابش غیر تک‌رنگ<sup>۲</sup>.

## اجزای اسپکتروفتومتر

شکل ۲۹ ارتباط بین اجزای مختلف یک اسپکتروفتومتر را نشان می‌دهد. مهم‌ترین آنها عبارت است از:

۱. منبع نور
۲. مونوکروماتور یا تکرنگ‌ساز
۳. محفظه نمونه
۴. سیستم آشکارساز
۵. سیستم خوانشگر

موارد فوق قسمت‌های اساسی یک اسپکتروفتومتر هستند و تکنولوژی پیشرفته مدل‌های جدید اسپکتروفتومترها را شامل نمی‌شوند. خلاصه‌ای از این موارد در شکل ۲۹ نشان داده شده است.

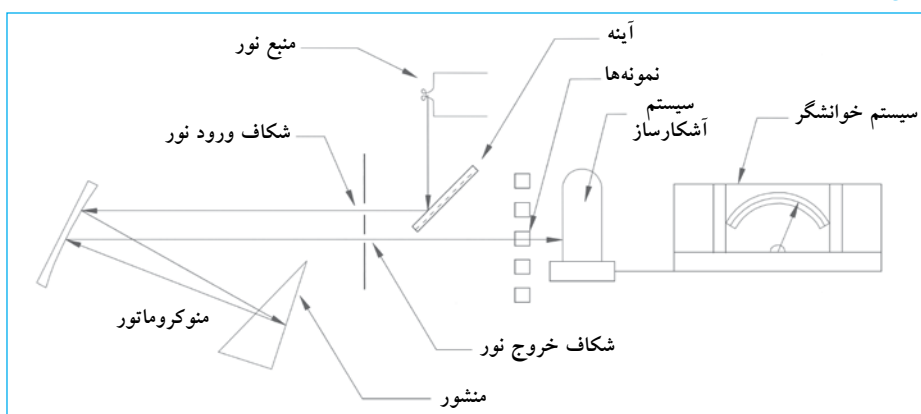
### منبع نور

منبع نور با توجه به نوع اسپکتروفتومتر می‌تواند لامپ تنگستن برای نور مرئی یا لامپ دئوتریم<sup>۱</sup> برای نور ماوراء بنفش باشد. بعضی سازندگان اسپکتروفتومتری با لامپ نئون طراحی کرده‌اند که توانایی ساطع کردن نور از طیف مرئی تا ماوراء بنفش را دارد. این لامپ‌ها طوری طراحی شده‌اند که در زمان کاربری و یا تعویض لامپ تنظیمات نوری و کانون آنها تغییر نمی‌کند. انرژی تابشی که به وسیله یک لامپ تنگستن ساطع می‌شود، بین ۲۶۰۰ تا ۳۰۰۰ درجه کلوین است.

### مونوکروماتور یا تکرنگ‌ساز

مونوکروماتور یک مجموعه متشکل از چند ماده است که نور سفید را به موج‌هایی با طول موج متفاوت تبدیل می‌کند. یک طول موج برای قرائت غلظت نمونه کاربرد دارد. مونوکروماتور معمولاً متشکل از اجزای زیر است: یک شکاف که نور تولیدشده به وسیله منبع نور را به یک سطح معین محدود می‌کند، مجموعه‌ای از آینه‌ها برای عبور نور از سیستم نوری، یک جز برای جداسازی طول موج‌های پرتو نور (ممکن است منشور و یا

شکل ۲۹: اجزای اسپکتروفتومتر



شبکه انکسار یا انتقال<sup>۲</sup> باشد) و یک خروجی برای انتخاب طول موجی که به نمونه تابیده می‌شود. شبکه انکسار این مزیت را دارد که انوار غیرخطی را حذف می‌کند و به تغییرات دما نیز حساس نیست.

### محفظه نمونه

این قسمت برای نگهداری نمونه مورد آزمایش است، مدل‌های مختلفی در شکل و حجم‌های متفاوت برای انواع اسپکتروفتومترها و به نام‌های کووت، میکروسل، میکروپلیت، لوله آزمایش و غیره موجود است. در اسپکتروفتومترهای معمولی، محفظه نگهدارنده نمونه، کووت به شکل مکعب مستطیل است. کووت‌های شیشه‌ای در محدوده ۳۴۰ نانومتر تا ۱۰۰۰ نانومتر و انواع دیگر که از سیلیس ساخته شدند در محدوده نور مرئی ۲۲۰ نانومتر تا ۳۴۰ نانومتر قابل استفاده هستند. همچنین، نوع پلاستیکی و یک‌بار مصرف این کووت‌ها از جنس استایرن<sup>۳</sup> یا پلی استایرن<sup>۴</sup> (مانند میکروپلیت) نیز وجود دارد.

### سیستم آشکارساز

این سیستم می‌تواند با استفاده از تقویت‌کننده‌هایی مانند فتوسل‌ها<sup>۵</sup>، فتوتیوب‌ها<sup>۶</sup> و فتودایودها<sup>۷</sup> یا فتوملتی‌پیلرها<sup>۸</sup> بسته به گستره طول موج، حساسیت و سرعت لازم طراحی شود. سیستم آشکارساز آن بخشی از نور که از نمونه ساطع می‌شود و جذب نشده است را به سیگنال الکتریکی متناسب با انرژی دریافت‌شده تبدیل می‌کند. این سیگنال الکتریکی تقویت‌شده و در صفحه نمایش به صورت عددی آشکار می‌شود. در جدول صفحه بعد خلاصه‌ای از معایب و مزایای سیستم‌های آشکارساز ذکر شده است.

### سیستم خوانشگر

سیگنالی که از آشکارساز خارج می‌شود، تا زمانی که شدت آن متناسب با درصدی از نسبت مقدار عبور/جذب است تقویت شده و انتقال می‌یابد. دو نوع سیستم خوانشگر وجود دارد:

1. Deuterium  
2. Diffraction or Transmission Grating

3. Styrene  
4. Polystyrene

5. Photocells  
6. Phototubes

7. Photodiodes  
8. Photomultipliers