

مقدمات آزمایشگاه

مدرس: دکتر مهدوی پور

اسپکٹروفتومتر

Spectrophotometer

Spectrophotometer



اسپکتروفتومتر

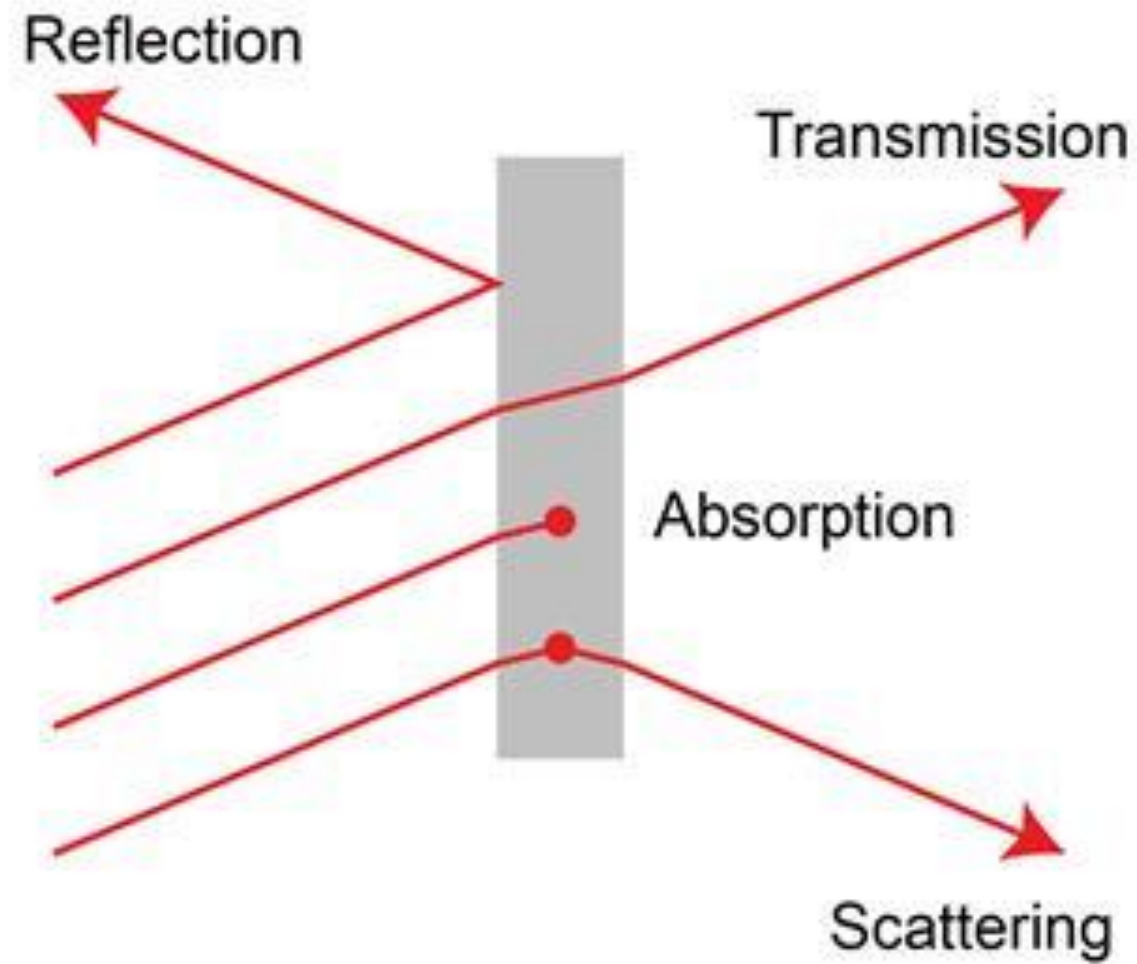
□ اندازه گیری بسیاری از آنالیتها در آزمایشگاههای بالینی بر اساس اندازه گیری انرژی تابشی

است که توسط نمونه جذب شده یا از نمونه عبور می کند.

□ دستگاههایی که به منظور اندازه گیری انرژی نور جذب شده یا عبور کرده استفاده میشوند به

نام اسپکتروفتومتر و فتومتر نامیده می شوند.

Interaction of light with matter



اسپکتروفتومتر

اساس کار:

□ اساس کار اسپکتروفتومترها اصولاً بر جذب و عبور نور استوار است.

□ در آزمایشگاه، اسپکتروفتومتر برای تعیین غلظت یک ماده در محلول کاربرد دارد. بنابراین با

روشهای اسپکتروفتومتری می توان نمونه را مورد تجزیه و تحلیل کمی و کیفی قرار داد

اسپکتروفتومتر

□ برای اولین بار در اوایل ۱۷۰۰ میلادی فردی بنام Bouguer اساس کار طیف سنجی جذبی

(absorption spectroscopy) را توضیح داد.

□ پس از آن دو دانشمند دیگر بنامهای Beer و Lambert قوانین اساسی سنجی جذبی را توضیح

دادند که امروزه بنام قانون بیر (Beer's law) مشهور است.

Beer Lambert's Law

□ قانون بیر (Beer's law) یا بیر-لامبرت بوگر (Beer Lambert Bouguer's law):

این قانون رابطه بین غلظت نمونه و شدت نور عبوری را نشان می دهد.

□ با توجه به این قانون، دو مفهوم وجود دارد: عبور کردن (transmittance/ T) و جذب کردن (absorbance/ A).

عبور [T]: بخشی از نور ورودی با طول موج مشخص، که از داخل نمونه عبور می کند.

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

Where:

I_t = intensity of the transmitted radiation

I_o = intensity of the incidental radiation

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

$$A = \log\left(\frac{I_o}{I_t}\right) = -\log T$$

Beer Lambert's Law

□ غلظت مولکولهای جذب کننده نور در یک نمونه با میزان جذب نمونه (Absorbance)

متناسب است:

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

Where:

A = Absorbance measured

ϵ = Molecule absorbance coefficient

l = Distance of the trajectory traversed (path length)
by the light in the sample

c = Sample concentration [moles/litres]

اسپکتروفتومتری

□ **بلانک (blank) یا بلانک معرف (reagent blank):** کل محلول مورد آزمایش به استثنای ماده ای که مورد سنجش

قرار می گیرد. پس از گذاشتن بلانک در دستگاه باید ابزوربانس دستگاه را روی صفر تنظیم کنیم.

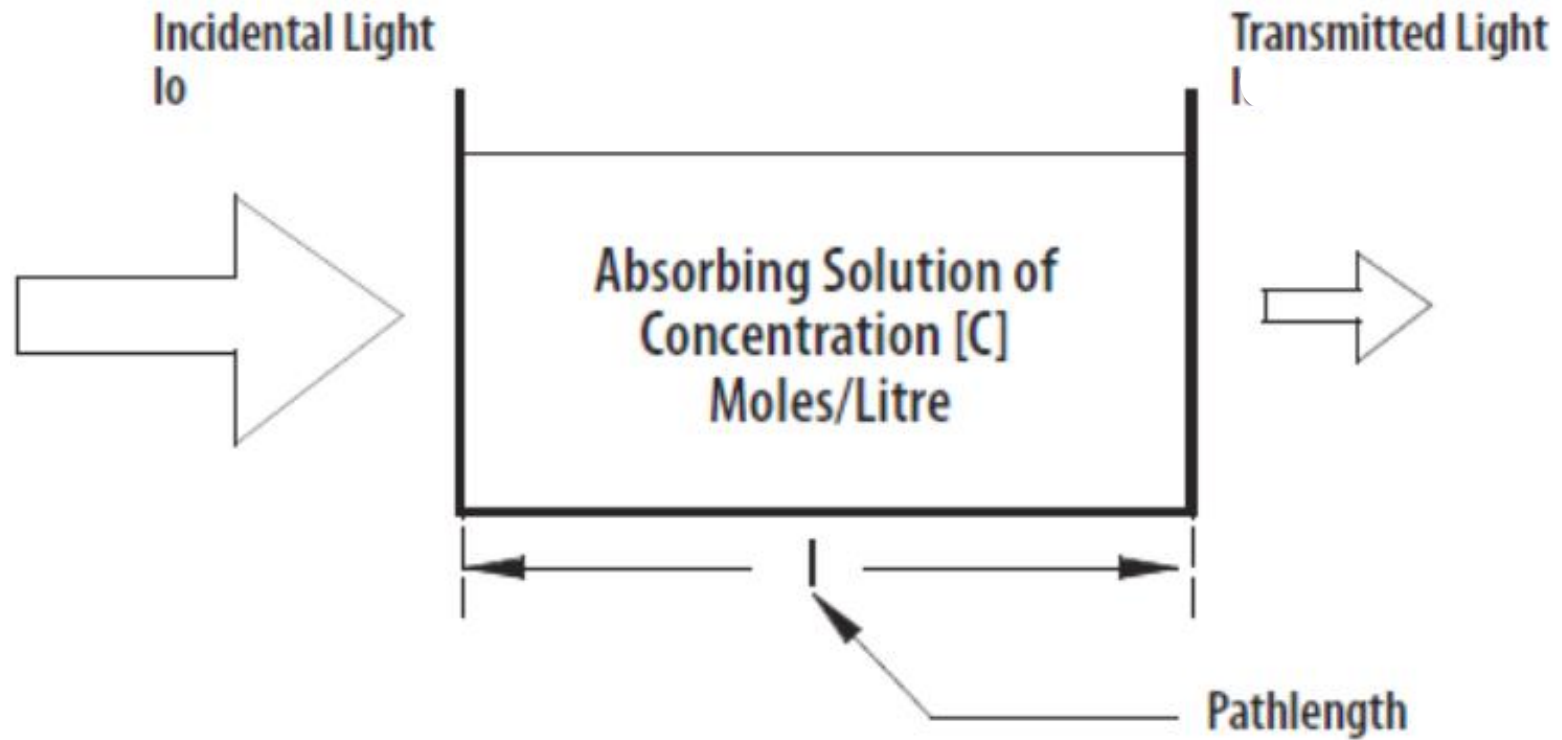
□ **محلول کالیبراسیون (Calibrating solutions) یا کالیبراتور یا استاندارد:** محلول های کالیبره کننده یا

استاندارد حاوی غلظت شناخته شده ای از ماده مورد آزمایش است و باید ابزوربانس آن اندازه گیری و ثبت شود.

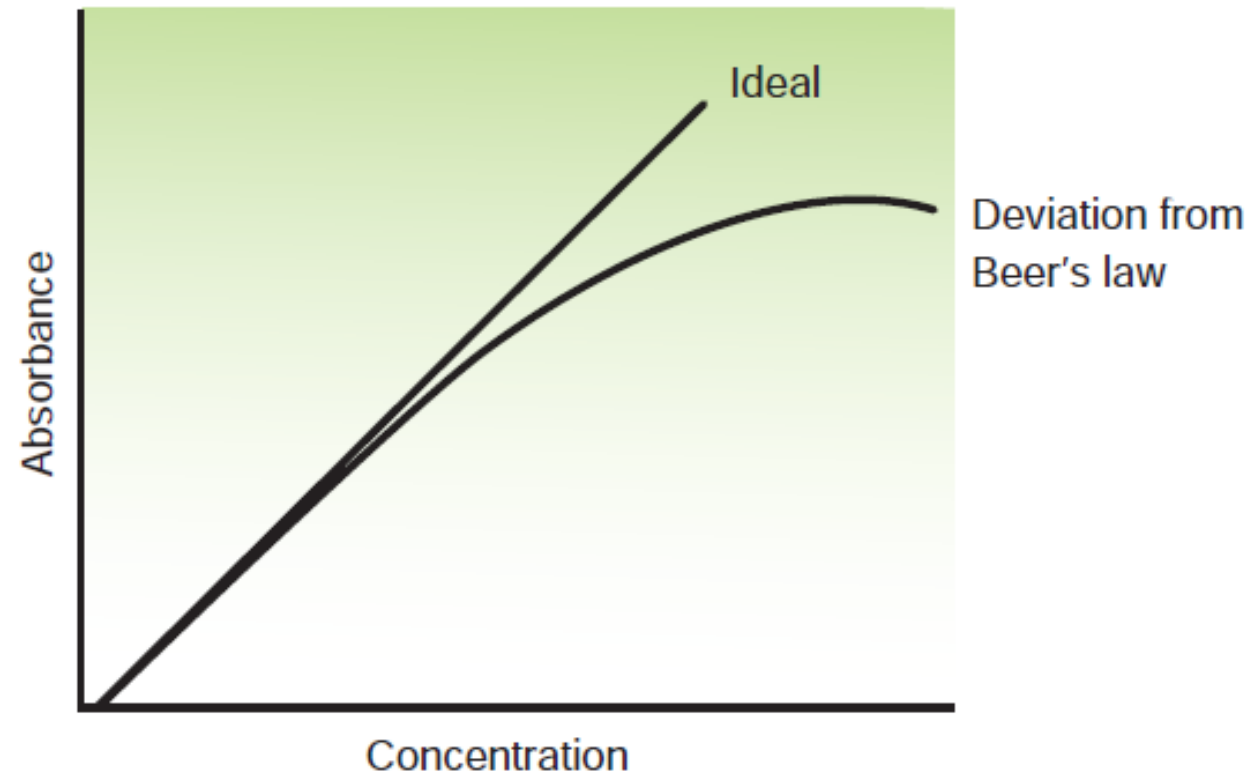
□ **نمونه (Sample):** حاوی غلظت نامعلومی از ماده مورد سنجش است و ابزوربانس آن اندازه گیری می شود و پس از مقایسه با

ابزوربانس استاندارد، غلظت ماده مورد سنجش در نمونه تعیین می گردد.

Beer Lambert's Law

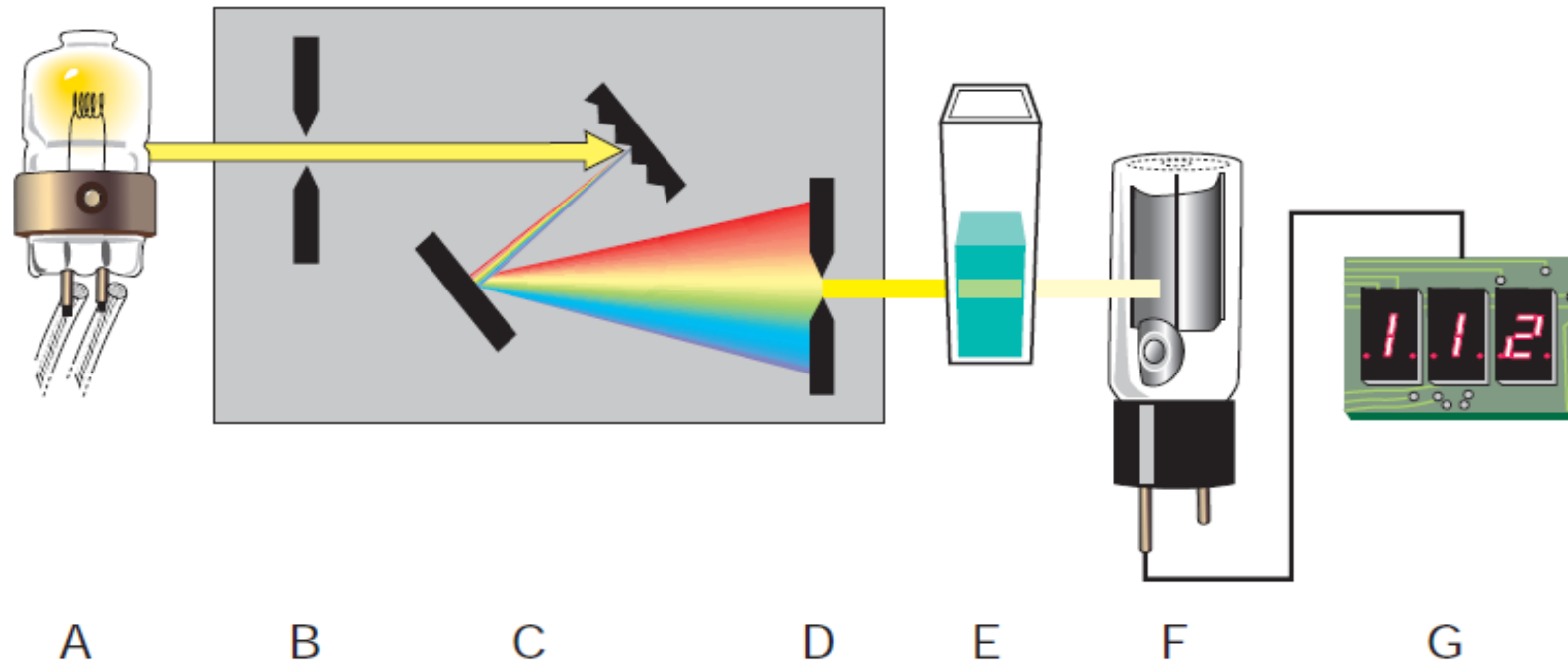


Beer Lambert's Law



A plot of absorbance versus concentration illustrating deviation from Beer's law.

اجزای اسپکتروفتومتر



Components of a single-beam spectrophotometer. **A**, Exciter lamp. **B**, Entrance slit. **C**, Monochromator. **D**, Exit slit. **E**, Cuvet. **F**, Photodetector. **G**, Light-emitting diode (LED) display.

اجزای اسپکتروفتومتر

□ منبع نور (Light source):



- منبع نور یک پرتو نور پلی کروماتیک (همه طیفهای مربوط به نور مرئی) را تولید می کند.
- با توجه به نوع اسپکتروفتومتر می تواند لامپ تنگستن (tungsten lamp) برای نور مرئی یا لامپ دئوتریم (deuterium) برای نور ماوراء بنفش باشد.

اجزای اسپکتروفتومتر

□ مونوکروماتور یا تک رنگ ساز (Monochromator):

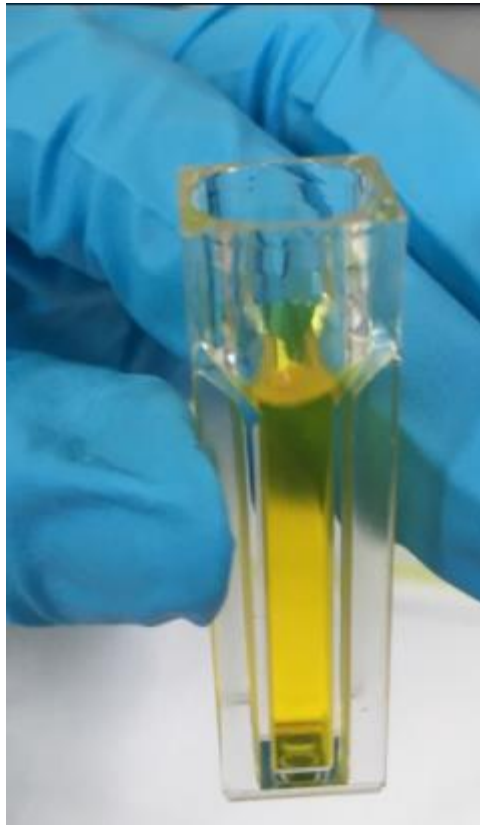
- یک طول موج برای قرائت غلظت نمونه کاربرد دارد.
- مونوکروماتور مجموعه ای از اجزای مختلف که نور سفید را به نورهایی با طول موج متفاوت تبدیل می کند.
- مونوکروماتور معمولاً متشکل از اجزای زیر است: یک شکاف که نور تولید شده به وسیله منبع نور را به یک منطقه معین محدود میکند، مجموعه ای از آینه ها برای عبور دادن نور از سیستم نوری، یک قطعه برای جداسازی طول موجهای پرتو نور (ممکن است منشور و یا سایر ابزارهای مشابه باشد) و یک خروجی برای انتخاب طول موجی که به نمونه تابیده می شود.

اجزای اسپکتروفتومتر

□ محفظه نمونه (Sample holder):

□ این قسمت برای نگهداری ظرف حاوی نمونه مورد آزمایش استفاده می گردد.

□ ظرف نمونه را اصطلاحاً کووت (cuvette) می نامند.



اجزای اسپکتروفتومتر

□ آشکار ساز (Photodetector):

- این سیستم با استفاده از سنسورهای مختلف مانند فتوسل (photocell)، فتوتیوب (phototube)، فتودایود (photodiode) و فتومالتی پلایر (photomultiplier) طراحی شده است (بسته به گستره طول موج، حساسیت و سرعت لازم برای پاسخ).
- سیستم آشکار ساز، بخشی از نور که توسط نمونه جذب نشده و از نمونه گذشته است را به سیگنال الکتریکی (متناسب با انرژی دریافت شده) تبدیل می کند.

اجزای اسپکتروفتومتر

□ سیستم خوانشگر (Reading system):

□ سیگنالی که از سیستم آشکار ساز (دکتور) خارج می شود توسط این سیستم انتقال یافته، تقویت می شود و به صورت عددی نشان داده می شود.

□ دو نوع سیستم خوانشگر وجود دارد:

- سیستم عقربه ای یا آنالوگ: نتایج روی صفحه و با استفاده از عقربه نشان داده می شود. در این نوع خوانشگر احتمال خطا در قرائت به علت خستگی کاربر بالا است.

- سیستم دیجیتال: نتایج روی صفحه نمایشگر به صورت عددی نشان داده شده و خطای قرائت کمتر است.

فتومتر

Photometer

Photometer



فتومتر

□ فتومتری به معنی اندازه گیری شدت نور در طیف خاص از طول موج ها است که با کمک

فیلترهای مستقل نوری، طول موج مورد نظر انتخاب و جدا می گردد.

□ محل خوانش در فتومترها ممکن است کووت های پلاستیکی یا شیشه ای با قابلیت برداشتن و

یا یک کووت شیشه ای ثابت به نام فلوسل باشد.

فليم فتومتر

Flame Photometer

Flame Photometer



فلیم فتومتر

❑ دستگاهی است که جهت اندازه گیری فلزاتی مانند سدیم، پتاسیم، لیتیم و باریم مورد استفاده قرار می گیرد.

❑ فلیم فتومتر شبیه اسپکتروفتومتر یا فتومتر ساده است، با این تفاوت که در اسپکتروفتومتر یا فتومتر لامپ الکتریکی و در فلیم فتومتر نور حاصل از شعله بعنوان منبع نوری عمل می کند.

❑ در اسپکتروفتومتر یا فتومتر میزان نور جذب شده توسط محلول اندازه گیری می شود ولی در فلیم فتومتر نور حاصل از گداخته شدن فلز مستقیماً اندازه گیری می شود.

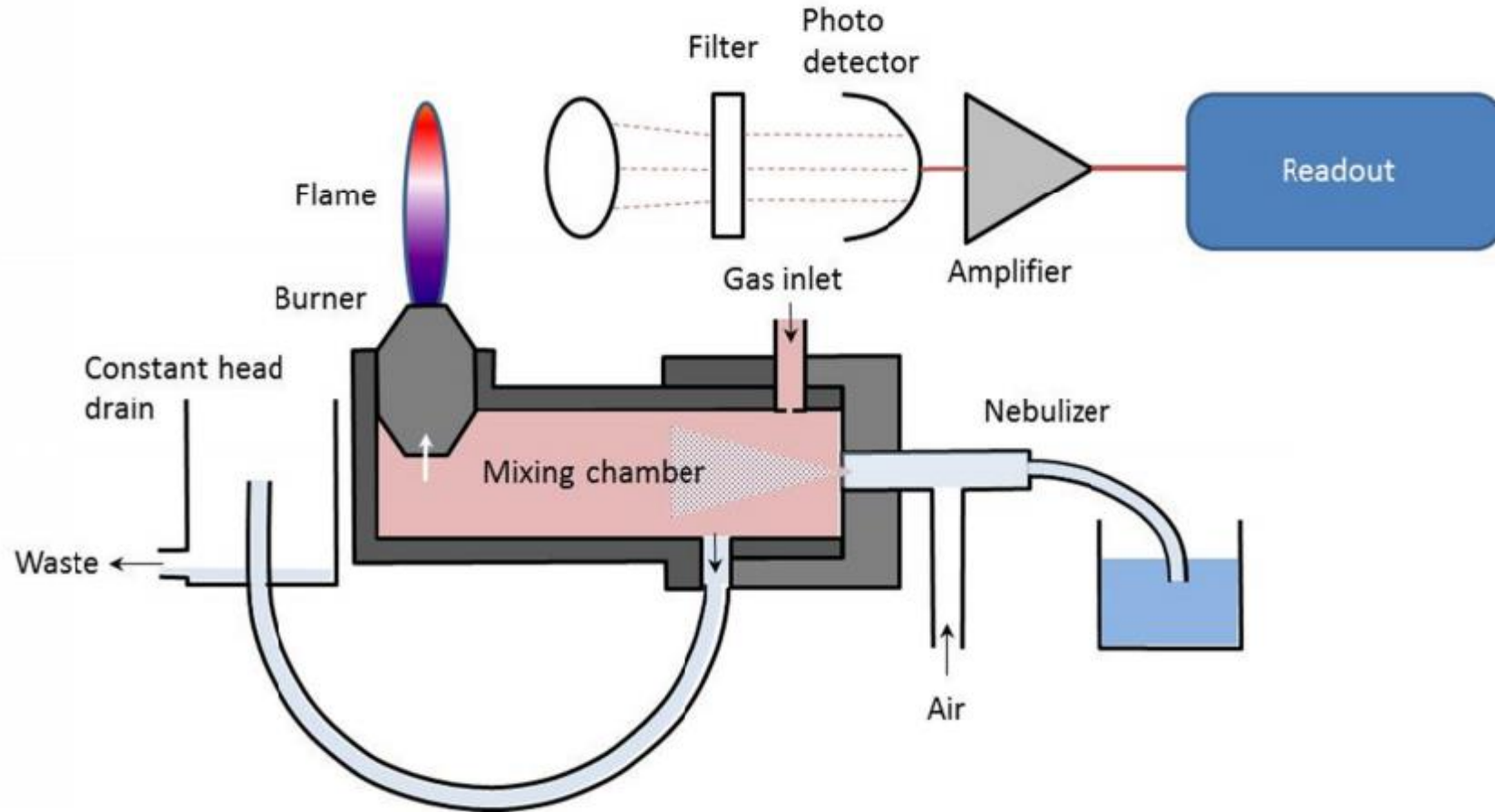
فلیم فتومتر

اساس کار:

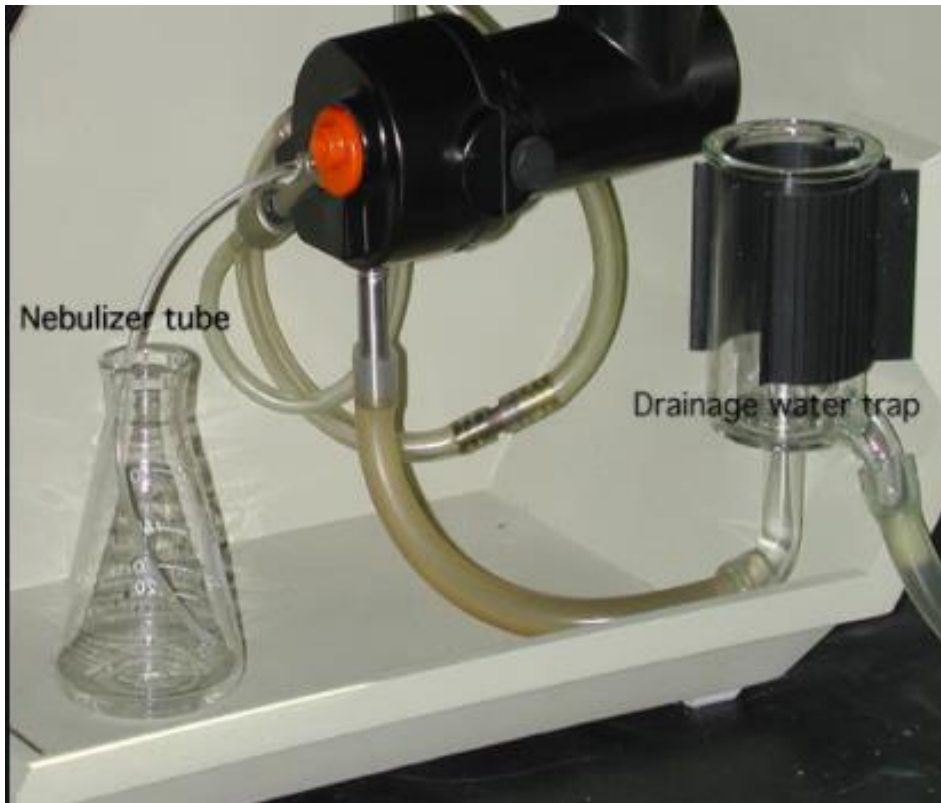
□ هنگامی که نمکهای فلزی (Metallic salts) در داخل شعله گداخته می شوند، انرژی گرمایی جذب اتم فلز می شود و سبب می گردد تا یک یا تعداد بیشتری الکترون از اربیتال خود خارج شوند.

□ زمانی که الکترون های مذکور به سطح الکترونی خود برمی گردند، نوری از خود ساطع می نمایند که مختص آن فلز است. به عبارت دیگر طیف نوری منتشر شده توسط هر فلز منحصر به فرد است.

اجزای فلیم فتومتر



اجزای فلیم فتومتر



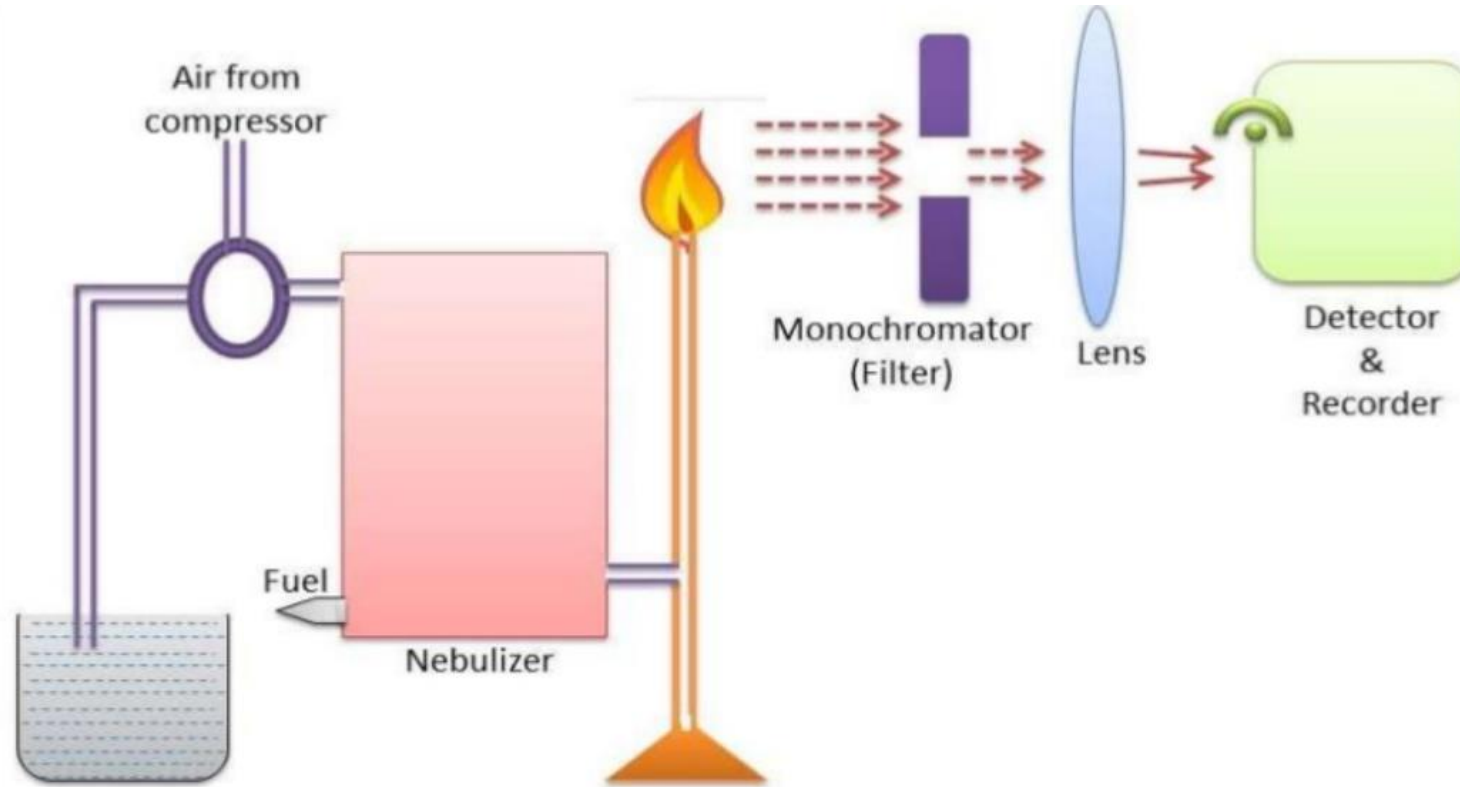
– شعله و نبولایزر:

شامل بخش مکنده است که نمونه مورد آزمایش
بوسیله آن وارد شعله می شود.

– فیلتر و عدسی ها

– دتکتور (فتوسل)

اجزای فلیم فتومتر



- نمایشگر و چاپگر

- کمپرسور هوا

- منبع گاز