



دستگاه اسپکتروفوتومتر

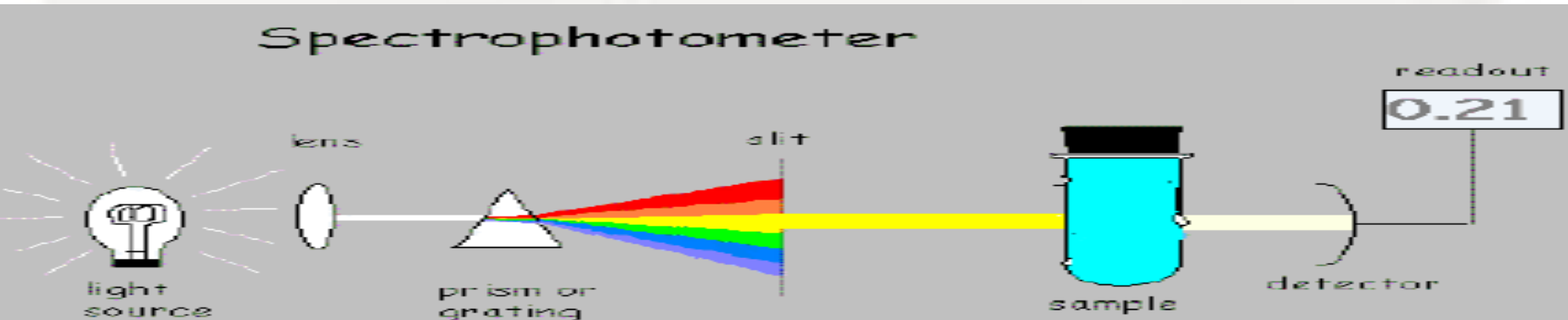
- اسپکتروفوتومتر متشکل از دو وسیله یعنی Spectro (طیف سنج) برای تولید نور از هر رنگ انتخاب شده و Photometer (نورسنج) برای اندازه گیری شدت نور است.
- اسپکتروفوتومتر دستگاهی است که شدت نور را به صورت تابعی از طول موج اندازه گیری می کند. این کار با انکسار پرتو نور به طیف طول موج ها و آشکارسازی شدت ها و نمایش نتایج به صورت گراف انجام می شود.
- اسپکتروفوتومتر دستگاه پیچیده ای است که شدت نور را به صورت تابعی از طول موج اندازه گیری می کند. در این دستگاه نور توسط یک منبع نور تولید شده و پس از گذشتن از میان نمونه مورد نظر نور، به صورت طیفی منتشر می شود سپس به وسیله سنسور ها آشکارسازی شده و به صورت نتایج قابل کاربردی ترجمه می شود. خروجی اسپکتروفوتومتر همیشه نموداری از شدت نور نسبت به طول موج است.

مقادیر اندازه گیری شده در دستگاه

- قند خون, انواع چربی, اسیداوریک, اوره از جمله موادی هستند که باعث بروز بیماریهای مختلف برای افراد می شوند.
- اندازه گیری غلظت این مواد توسط این دستگاه صورت می گیرد.
- از این دستگاه برای اندازه گیری قند خون, اسید اوریک, کلسترول و آنزیمهای مختلف استفاده می شود.
- این دستگاه قابلیت اندازه گیری نمونه های فوق العاده کوچک را داشته و از آن برای تجزیه و تحلیل عناصر مولکولهای RNA استفاده می شود.

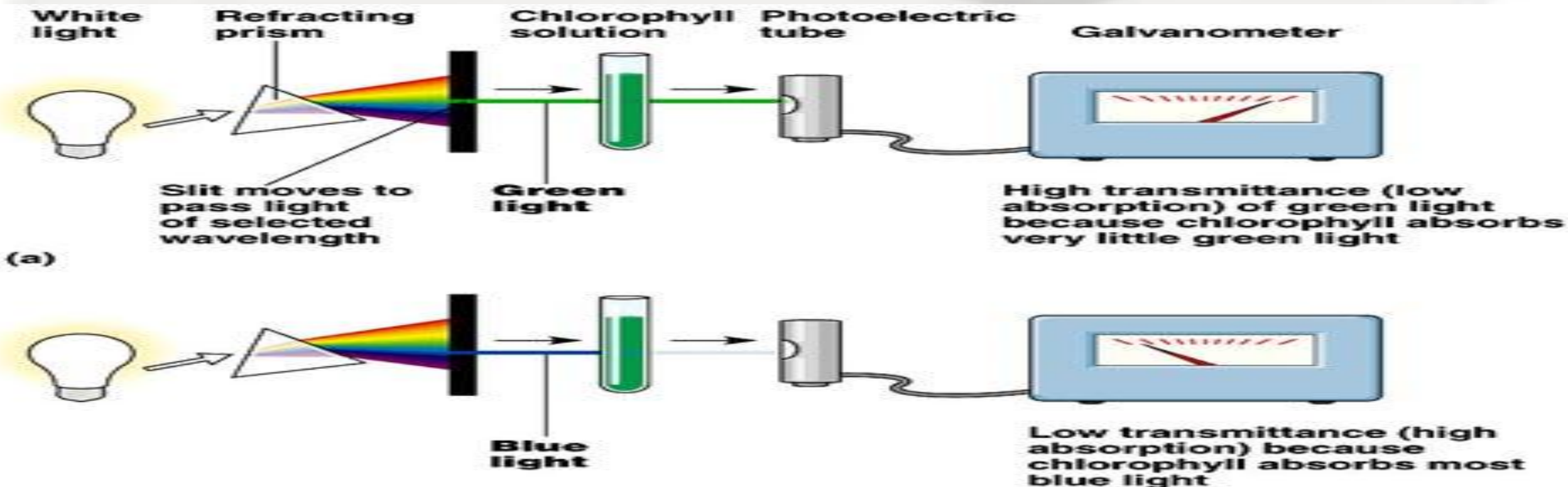
اجزای دستگاه اسپکتروفتومتر

- ۱- منبع نور (Light Source)
- ۲- تک رنگ ساز (Monochromator)
- ۳- شکاف عبور یا متمرکز کننده پرتو (Focusing Device)
- ۴- کووت یا محل قرار دادن نمونه (Cuvet)
- ۵- دتکتور یا آشکار ساز (Detector)
- ۶- صفحه نمایشگر (Display device)



منبع نور (Light Source)

- معمولاً از لامپهای تنگستنی که تولید نور با طول موج ۳۰۰-۹۹۰ نانومتر مینمایند استفاده می شود برای تولید پرتوهای فرابنفش غالباً از لامپ های هیدروژنی یا دوتریومی (با طول موج ۴۵۰-۲۰۰ نانومتر) استفاده می شود لامپ های دوتریومی معمولاً پایدارترند و طول عمر بیشتری دارند.

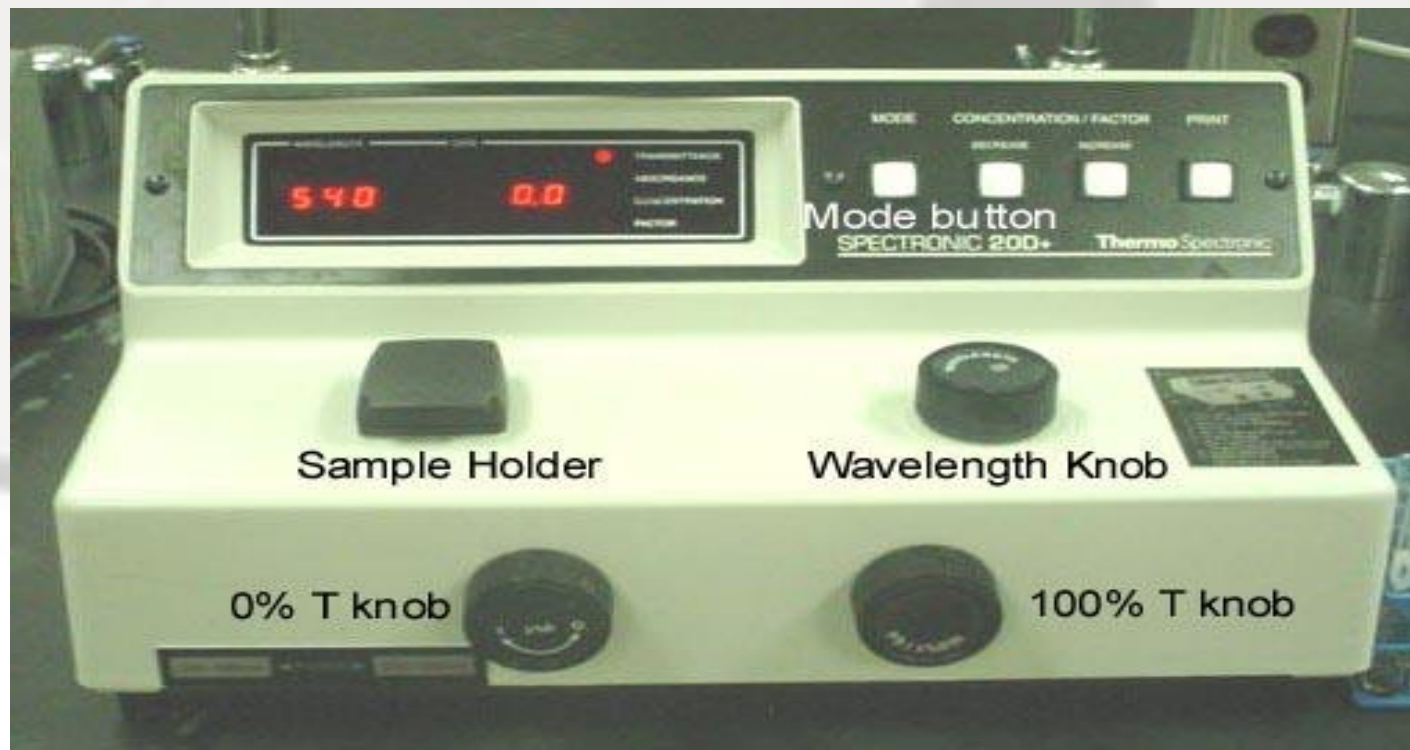


تک رنگ ساز (Monochromator)

- این قسمت دستگاه، نور مخلوط را به پرتوهای تک رنگ تجزیه می کند
این عمل در اسکپتروفتومتر معمولاً "توسط منشور یا سیستم
گریتنگ (Grating) انجام می گیرد

شکاف عبور یا متمرکز کننده پرتو (Focusing Device)

- ترکیبی از عدسی ها و آئینه های کوچک می باشد که فقط به طیف رنگی با طول موج مورد نظر اجازه عبور می دهند هر قدر عرض شکاف نور کمتر باشد کیفیت پرتوها بهتر خواهد بود.



کووت یا محل قرار دادن نمونه (Cuvet)

- کووتها محفظه های شفاف هستند که محلول مورد آزمایش در آن ریخته شده و در جایگاه خاص خود که در مسیر نور تکرنگ تعبیه شده است قرار می گیرد. کووتها با توجه به نوع مصرف، جنس، شکل و حجم متفاوتی دارند. برای محلولهای اسیدی و قلیایی از کووتهای مخصوص شیشه ای و برای طول موجهای زیر ۳۲۰ نانومتر از لوله کوارتز یا پلاستیک استفاده می شود.

دکتور یا آشکار ساز (Detector)

- دکتور یا آشکار ساز انرژی نورانی (عبور کرده از محلول را) به انرژی الکتریکی تبدیل و آن را تقویت می کند.
- آشکار سازها معمولاً به سه گروه تقسیم می شوند.
- ۱- فتوالکتریکی ۲- فتوشیمیایی ۳- حرارتی

صفحه نمایشگر (Display Device)

- داده های بدست آمده از یک آشکار ساز بوسیله یک دستگاه بازخوانی مانند یک گالوانومتر یا اسیلوسکوپ نشان داده می شود انواع مختلف نمایشگر در اشکال عقربه ای، دیجیتالی و کامپیوتری در اسپکتروفتومترها وجود دارد.

انواع مختلف دستگاههای اسپکتروفتومتر

- اسپکتروفتومتر مرئی و ماوراءبنفش (UV)
- اسپکتروفتومتر فرابنفش - مرئی - مادون قرمز (UV-Vis-NIR)

انواع مختلف دستگاههای اسپکتروفتومتر

- اسپکتروفتومتر مرئی و ماوراء بنفش (UV)
 - این نوع از دستگاه به عنوان پرمصرف ترین دستگاههای اسپکتروفتومتر در آزمایشگاه بوده که در آن با توجه به میزان عبور و جذب، غلظت مواد در یک نمونه تعیین می شود.
 - عموماً منابع نوری قابل استفاده در این دستگاه یک لامپ هالوژن یا تنگستن، برای نور مرئی و یک لامپ دوتریوم برای نور UV است.
 - کاربردهای نوعی این دستگاه عبارتند از :
 - آنالیز رنگی رنگها و منسوجات
 - محلولهای کدر
 - بیوشیمی
 - آزمایشگاههای دارویی

انواع مختلف دستگاه‌های اسپکتروفتومتر

• اسپکتروفتومتر فرابنفش – مرئی – مادون قرمز (UV-Vis-NIR)

علاوه بر اینکه در طیف سنجی مایعات بسیار متداول است، برای گاز ها و همچنین جامدات نیز از این نوع از دستگاه استفاده می شود.

اسپکتروفتومتر مادون قرمز در شناسایی مولکولی و ارتعاشات وابسته به ساختار آن استفاده می شود. ساختار های شیمیایی متفاوت، به دلیل تفاوت در انرژی های مربوط به هر طول موج، راه های مختلفی در پاسخ به طول موج های مختلف دارند.

در اسپکتروفتومتر های IR متداول یک پرتو مادون قرمز مستقیماً به نمونه می تابد و تمام طول موج های طیف نسبت به پرتو مرجع اندازه گیری می شود. به منظور تولید طیفی با کیفیت بالا، باید پهنای طیف ورودی به آرامی اسکن شود.

ملاحظات هنگام نصب و نگهداری از دستگاه

- در هنگام نصب دستگاه اسپکتروفتومتر باید به نکات زیر توجه داشت:
 - ۱- اسپکتروفتومتر باید روی سطحی سفت و در محیطی خشک و تمیز نصب شود.
 - ۲- میز کار دستگاه باید دور از دستگاه‌هایی مانند سانتریفوژ و همزن باشد که تولید لرزش می‌کنند.
 - ۳- به جهت امکان جریان هوا در اطراف اسپکتروفتومتر ، باید بین دستگاه و دیوارهای اطراف ۵۰ میلیمتر فاصله باشد.
 - ۴- کابل برق دستگاه به پریز ارت دار با ولتاژ مناسب وصل شود.
 - ۵- پس از روشن کردن دستگاه مدتی صبر کرده تا دستگاه گرم شده و به پایداری حرارتی و الکترونیکی برسد (حدود ۴ دقیقه طول می‌کشد).
 - ۶- محدوده تغییر دمای محیط اسپکتروفتومتر بین ۱۰ تا ۴۰ درجه سانتیگراد باید باشد.
 - ۷- اجتناب از نصب دستگاه در محل‌هایی که تابش الکترومغناطیس یا میدان الکترومغناطیس وجود دارد.

ملاحظات هنگام نصب و نگهداری از دستگاه

۸- حفظ و نگهداری دستگاه با پیچیدگی دستگاه تغییر می کند و هر مدل نیاز به نگهداری های خاص خود دارد.

۹- بازبینی ها بهتر است هر ۶ ماه یک بار انجام شود. اطمینان از تمیزی دستگاه، عدم شکستگی درب آن، اتصال صحیح کابل ها و تمیز کردن مرتب کووت لازم است..
باتری ها باید با آلارم پایان عمر باتری دستگاه تعویض شوند.

دستگاه فلیم فوتومتر

- فلیم فوتومتر برای تعیین کمی و کیفی چندین نوع فلز به ویژه فلزاتی که به آسانی تحریک شده و با دمای شعله نسبتاً کم به سطوح انرژی بالاتر می روند (مانند سدیم، پتاسیم، کلسیم، مناسب است).
- در این تکنیک از یک شعله استفاده می شود که محلول را بخار کرده و فلز را تصفیه می کند و سپس باعث انتقال الکترون ظرفیت به یک سطح انرژی بالاتر می شود. با برگشت الکترون به حالت اولیه، نوری با یک طول موج مشخص برای هر فلز تولید می شود.
- فلیم فوتومترها از فیلترهای نوری برای مانیتور کردن و جستجوی نور با طول موج خاص استفاده می کنند. بنابراین می توان با بررسی این طول موجها و مقایسه آنها با طول موجهای مربوط به فلزات شناخته شده، نوع فلزات موجود در نمونه مورد بررسی را تعیین کرد.

اساس کار دستگاه

- فلیم فوتومترها دستگاههای نسبتاً ساده ای هستند که نیازی به منبع نور ندارند.
- انرژی مورد نیاز برای برانگیخته کردن توسط دمای شعله تامین می شود (حدود ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ درجه سانتیگراد) که با سوزاندن استیلن یا گازهای طبیعی در حضور هوا یا اکسیژن تامین می شود. با استفاده از گرمای شعله و تاثیر کاهش سوخت، مولکولها و یونهای نمونه مورد بررسی به اتم تجزیه می شوند.
- اساس اندازه گیری با استفاده از فلیم فوتومتر، مقایسه شدت تابش ناشی از محلولهای ناشناخته با محلولهای استاندارد یا با یک استاندارد داخلی امکان تحلیل کمی فلزات موجود در محلول مورد بررسی را فراهم می کند

اجزاء دستگاه

۱- منبع نور (شعله) و نبولایزر، شامل بخش مکنده است که نمونه مورد آزمایش بوسیله آن وارد شعله می شود

۲- فیلتر و عدسیها

۳- دتکتور (فتوسل)

۴- نمایشگر و چاپگر

۵- کمپرسور هوا

۶- منبع گاز

در ادامه به توضیح برخی از قسمتها پرداخته می شود.

منبع نور

برای ایجاد نور از نمونه مورد آزمایش آن را به وسیله مکنده وارد شعله کرده و شعله از سوختن گاز قابل اشتعال به وجود می آید.

الف) مکنده ساده:

در این نوع مکنده، محلول از مجرای بسیار ظریف و باریک مکیده شده و مخلوط هوای فشرده و گاز، آن را تمیز کرده و وارد شعله می کند. به علت ظرافت مسیر نمونه کارکردن با آن دقت زیادی می خواهد زیرا کمترین اختلال، تولید اشکال می کند.

همچنین رسوبات در دهانه مشعل یا ناخالصی گاز باعث تغییر مقدار شعله و شدت آن می شود مانند آلودگی گاز استیلن که در این شرایط رنگ آبی شعله به سبز متمایل می شود. در این نوع مکنده از شعله شدید استفاده می شود با به کار بردن این نوع شعله، عناصری که نور ضعیف تولید می کنند مانند کلسیم را می توان اندازه گیری کرد.

منبع نور

(ب) مکنده با محفظه:

در این مکنده ابتدا نمونه تمیز شده و سپس به شعله می رسد. نمونه بعد از اینکه در محفظه به صورت پودر درآمد، ذرات درشت آن ته نشین شده و فقط ذرات ریز و یکدست وارد شعله می شوند.

در این حالت مقدار نمونه ای که به شعله می رود از نوع اول کمتر است.

اشکالات در این نوع هم به این صورت است که تمیز کردن محفظه کار آسانی نیست زیرا مقدار زیادی املاح در آن رسوب می کند درضمن ممکن است مخلوط گاز و هوا در آن تولید انفجار کند.

در این سیستم معمولاً شعله ملایم استفاده می شود و ذرات بسیار ریز را در مسیر هوا به شعله می رساند.

روش اندازه گیری در فلیم فوتومتر

- روش مستقیم
- روش مقایسه ای



روش مستقیم

در این روش نوری که از عناصری مثل سدیم ساطع می شود به وسیله نورسنج (فتوسل) و گالوانومتر اندازه گیری می شود.

با در دست داشتن منحنی استاندارد، مقدار عنصر مورد نظر تعیین می شود. این روش اندازه گیری در دستگاهی که شعله شدید دارد به کار می رود.

روش مقایسه ای

در این روش ماده مورد آزمایش را با نور ماده ای که به عنوان استاندارد داخلی مصرف می شود، مقایسه می کنند.

برای رفع اشکالاتی که از تغییرات شدت و میزان شعله به وجود می آید از یک استاندارد داخلی استفاده می کنند. به این ترتیب که مقدار معینی از ماده ای که در نمونه وجود ندارد به استاندارد سرم کنترل و نمونه مورد آزمایش اضافه می کنند.

نگهداری و تنظیمات

- نمونه باید همگن بوده و غلیظ نباشد
- کارایی دستگاه باید با کالیبراتور و سرم کنترل چک شود کالیبراتورها و سرمها را باید با یک رقیق کننده رقیق نمود
- مخزن گاز باید روزانه بازدید گردد
- تنظیم هوای کمپرسور باید براساس دستور کارخانه انجام گیرد
- بعد از کار روزانه باید لوله و نبولایزر با آب مقطر شستشو شود
- مخزن مواد زاید باید روزانه تخلیه شود
- مشعل و فیلترها باید با یک محلول تمییز کننده و متانول تمییز گردد
- برای کسب نتایج بهتر شعله باید تنظیم و پایدار باشد

مزایای دستگاه فلیم فوتومتر

فلیم فوتومتر مزایای زیادی دارد:

- ساده و نسبتاً ارزان است
- توان عملیاتی بالایی دارد
- می تواند برای آنالیز در محیطهای بیولوژیک, کلینیکی و تحقیقاتی از آن استفاده کرد

معایب دستگاه فلیم فوتومتر

- دمای کم باعث حساس شدن این روش به تداخل و پایداری شعله می شود
 - متغیرهای آزمایشگاهی مختلف روی شدت نور تابیده شده از شعله تاثیر دارند.
- با توجه به موارد فوق لزوم کالیبراسیون دقیق و مداوم برای به دست آوردن نتایج خوب مهم است و باید سعی کرد که تشعشع به دست آمده از محلولهای ناشناخته و استاندارد را تحت شرایط تا حد امکان مشابه اندازه گیری کرد.