ISLN
Quarterly, 2017
Volume 2, Number 2
Pages 85 – 93
ISSN: 2538-4910
Online ISSN: 2588-641X

Introducing UV-Visible Spectrophotometer

Shiva Mohammadi Jahangir[1*] and Parisa Fathi-Rezaei[2]

Abstract

Although more advanced methods have been used in qualitative analysis of materials in the past decades, spectrophotometric devices are still the most important tools in industrial and research centers. Today, spectrophotometric methods have become one of the most widely used analytical methods in laboratories and industries due to their easy to use and low cost and operational costs. Spectrophotometers, by passing certain wavelengths of the radiation energy (light) from an analyte, determine its concentration in a solution. Under the Beer-lambert law, the amount of light absorbed by this specific wavelength is directly proportional to the concentration of that chemical sample. The visible spectrophotometer and ultraviolet is the most commonly used spectrophotometer in diagnostic and laboratory centers. In this device, the radiation source, which can be a tungsten lamp and deuterium, provides a continuous source of radiation. This radiation source is separated by a monochromator and a narrow wave of wavelengths is obtained by optical instruments for tuberculosis. Then, passing light from the tuberculosis is concentrated by the mirror and eventually enter the detector and the sample absorption spectrum is obtained. Spectrophotometers, using a simple yet powerful software, allow measurement of absorbance / passage, concentration, calibration curve drawing, multi-wavelength analysis, derivative and spectral integration, kinetic analysis, and so on. Also, these machines are used in most laboratories to detect and measure organic and inorganic compounds for a wide range of products and processes including food, medicine, fertilizers, petrochemicals, paints, oils, proteins Nucleic acids and the like.

Key Words

Detector, Spectrophotometer, Beer-Lambert law, Monochromator, Wavelength

(*) Corresponding author.
1. MSc. in Organic Chemistry.
E-mail: mohammadi.j_sh@yahoo.com
Tel: 09141784372
2. Faculty member of Maragheh University, Maragheh, Iran.
E-mail: parisa.fathirezaei@gmail.com
Tel: 09144211594

شاعا
فصلنامه علمی
سال دوم، شماره ۲
صفحات ۸۵ – ۹۳، ۱۳۹۶
شاپای چاپی: ۲۵۳۸-۴۹۱۰
شاپای الکترونیکی: ۲۵۸۸-۶۴۱X

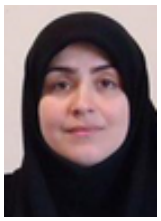
معرفی دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی-فرابنفش

شیوا محمّدی جهانگیر[1*] و پریسا فتحی‌رضایی[2]

چکیده

با وجود این که در دهه‌های گذشته، از روش‌های پیشرفته‌تری در آنالیز کیفی مواد استفاده شده است ولی هنوز هم مهم‌ترین وسایل در مراکز صنعتی و پژوهشی، دستگاه‌های اسپکتروفتومتری هستند. امروزه روش‌های اسپکتروفتومتری به دلیل کاربری آسان و هزینه‌های اولیه و عملیاتی پایین به یکی از پرکاربردترین روش‌های تجزیه‌ای در آزمایشگاه‌ها و صنایع مختلف تبدیل گردیده‌اند. اسپکتروفتومترها، با عبور طول موج‌های مشخصی از انرژی تابشی (نور) از یک آنالیت، غلظت آن را در یک محلول تعیین می‌کنند. بر اساس قانون بیر-لامبرت مقدار نوری که در این طول موج مشخص جذب می‌شود مستقیماً با غلظت آن نمونه شیمیایی متناسب است. اسپکتروفتومتر مرئی و فرابنفش، رایج‌ترین دستگاه اسپکتروفتومتر در مراکز تشخیصی و آزمایشگاهی است. در این دستگاه منبع تابش که می‌تواند لامپ تنگستن و دوتریوم باشد، منبعی پیوسته از تابش را فراهم می‌کند. این منبع تابش توسط مونوکروماتور تفکیک می‌شود و پهنه باریکی از طول موج توسط ابزارهای نوری به سل می‌رسد. سپس نور گذری از سل توسط آینه متمرکز می‌شود و سرانجام وارد آشکارساز شده و طیف جذبی نمونه حاصل می‌شود. اسپکتروفتومترها با بهره‌گیری از نرم‌افزار ساده و در عین حال قدرتمند، امکان اندازه‌گیری جذب/عبور، غلظت، رسم منحنی کالیبراسیون، اندازه‌گیری چند طول موجی، مشتق و انتگرال‌گیری از طیف، بررسی سینتیکی و ... را فراهم می‌سازند. هم‌چنین این دستگاه‌ها در بیشتر آزمایشگاه‌ها برای شناسایی و اندازگیری ترکیبات آلی و غیرآلی برای محدوده وسیعی از محصولات و فرآیندها شامل مواد غذایی، دارو، کود، محصولات پتروشیمی، رنگ‌ها، اسانس‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غیره به کار می‌روند.

شیوا محمّدی جهانگیر



پریسا فتحی‌رضایی

واژگان کلیدی

آشکارساز،
اسپکتروفتومتر،
قانون بیر-لامبرت،
مونوکروماتور،
طول موج

(*) مسئول مکاتبات.
۱. کارشناسی ارشد رشته شیمی آلی
ایمیل: mohammadi.j_sh@yahoo.com
تلفن: ۰۹۱۴۱۷۸۴۳۷۲
۲. عضو هیات علمی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
ایمیل: parisa.fathirezaei@gmail.com
تلفن: ۰۹۱۴۴۲۱۱۵۹۴

۱ مقدمه

روش‌های جذب‌سنجی یکی از قدرتمندترین و رایج‌ترین روش‌های اندازه‌گیری طیف وسیعی از آنالیت‌ها محسوب می‌شوند. بسیاری از دستگاه‌های مورد استفاده بر پایه اندازه‌گیری میزان جذب یا عبور انرژی تشعشعی ساخته شده‌اند. دستگاه‌هایی که برای جذب‌سنجی به کار می‌روند فتومترها و اسپکتروفتومترها هستند که در دهه ۱۹۴۰ ابداع شدند. در فتومترها ابزاری برای تهیه طیف وجود ندارد و تنها در طول موج مشخصی کار می‌کنند و از روی شدت نور جذب شده توسط ماده، آنالیز صورت می‌گیرد. این دستگاه می‌تواند از فیلتر نوری استفاده کند اما در دستگاه اسپکتروفتومتر امکان تهیه طیف و اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های مختلف وجود دارد [۴]. دستگاه‌های اسپکتروفتومتر به جداسازی و اندازگیری تغییرات انرژی هسته‌ها، یون‌ها و یا مولکول‌ها می‌پردازند که این تغییرات ناشی از برهم‌کنش اشعه الکترومغناطیس با ماده می‌باشد. روش‌های اسپکتروفتومتری شامل انواع مختلفی از جمله اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش (UV/Vis)، فرابنفش-مرئی-مادون قرمز نزدیک (NIR/Vis/Uv)، نشر شعله (Flame)، جذب اتمی (Atomic Absorption) می‌باشد که با این روش‌ها میتوان نمونه را مورد تجزیه و تحلیل کمی و کیفی قرار داد [۲]. در این مقاله به مطالعه روش‌های اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش (UV/Vis) می‌پردازیم.

۲ روش‌های اسپکتروفتومتری در ناحیه مرئی-فرابنفش (UV-Visible)

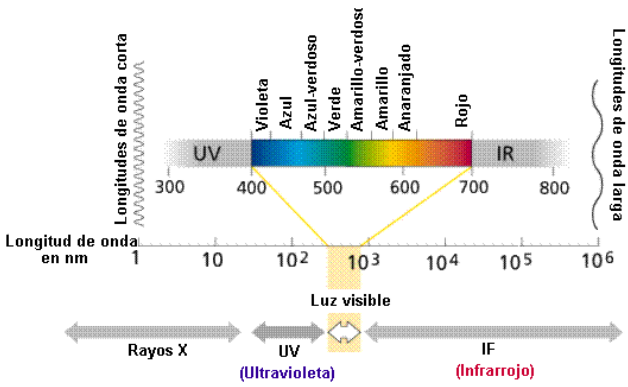
۱.۲ روش رنگ‌سنجی (Colorimetry) در ناحیه مرئی تابش

در ناحیه مرئی (۴۰۰ – ۷۰۰nm)، جذب یا انتقال ماده می‌تواند به رنگ آنالیت مربوط باشد. در این روش اگر محلولی هیچ طول موج مرئی را از خود عبور ندهد به طور تئوری به رنگ سیاه است. اگر همه طول موج مرئی را عبور دهد و هیچ نوری را جذب نکند نمونه محلول به رنگ سفید است و اگر محلول رنگی داشته باشیم و نوری از آن عبور دهیم که مقداری از این نور جذب شود در این صورت این نور جذب شده دارای رنگ مکمل رنگ محلول می‌باشد؛ برای مثال اگر نمونه محلول رنگ زرد را جذب کند برابر با ۵۹۵ نانومتر به رنگ آبی ظاهر می‌شود چون آبی رنگ مکمل زرد است. در واقع در اسپکتروفتومتری مرئی باید طول موجی را انتخاب نمود که رنگ آن، مکمل رنگ محلول باشد [۱۶].

جدول ۱: ارتباط طول موج‌های مختلف با رنگ محلول

رنگ مکمل	رنگ	طول موج (nm)
سبز زرد	بنفش	۴۰۰-۴۳۵
زرد	آبی	۴۸۰-۴۳۵
نارنجی	آبی مایل به سبز	۴۹۰-۴۸۰
قرمز	سبز مایل به آبی	۵۰۰-۴۹۰
قرمز تیره	سبز	۵۶۰-۵۰۰
بنفش	سبز زرد	۵۸۰-۵۶۰
آبی	زرد	۵۹۵-۵۸۰
آبی مایل به سبز	نارنجی	۶۱۰-۵۹۵
سبز مایل به آبی	قرمز	۶۸۰-۶۱۰
سبز	قرمز قرمز	۷۰۰-۶۸۰

با توجه به اینکه محلول‌های رنگی در رنگ مکمل خود حداکثر جذب نور را دارند بر اساس همین ویژگی مواد را در طول موج‌های مربوط به خود مورد بررسی قرار می‌دهند و شدت و ضعف این رنگ بستگی به مقدار ماده موجود در محلول دارد. بنابراین در دستگاه اسپکتروفتومتری مرئی به وسیله تجزیه‌گرها از جمله فیلتر، شبکه یا منشور، نور تک رنگ ایجاد می‌نمایند تا بتوان غلظت یک محلول رنگی را محاسبه کرد. در این دستگاه از فیلتر به عنوان مونوکروماتور استفاده می‌شود. بنابراین بخش محدودی از طول موج قابل دسترسی می‌باشد [۱۶].



شکل ۱: طیف امواج الکترومغناطیس

۲.۲ روش اسپکتروفتومتری در ناحیه:UV-Visible

در دستگاه‌های اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش، اساس اندازه‌گیری بر پایه تابش نور به آنالیت مورد آنالیز در طول موج‌های مختلف و بررسی میزان جذب و عبور آن می‌باشد. محدوده جذب در این ناحیه از ۱۹۰

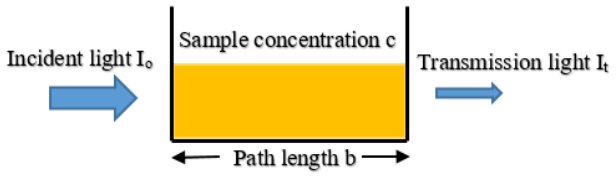
تا ۱۰۰۰ نانومتر می‌باشد [۱۴].

۱۹۰ nm (vacuum UV),۱۹۰ – ۴۰۰(near UV), ۴۰۰ – ۷۰۰ (Visible), ۷۰۰ – ۱۰۰۰ (near IR)

در این روش با استفاده از قانون بیر-لامبرت می‌توان غلظت نمونه مورد آنالیز را اندازه‌گیری نمود.

۱.۲.۲ قانون بیر و لامبرت (Beer & Lambert)

قانون بیر بیان می‌کند هنگامی که نور تک رنگی از داخل محلول عبور نماید، میزان نور جذب شده متناسب با غلظت مولکول‌هایی است که در مسیر اشعه نورانی قرار گرفته و نور را جذب می‌کنند و طبق قانون لامبرت، تحت شرایط مساوی شدت نور خارج شده با افزایش طول مسیری که نور از محلول عبور می‌کند کاهش می‌یابد [۱۵]. بنابراین براساس قوانین بیر و لامبرت رابطه بین غلظت محلول و نور جذب شده به صورت خطی است و معمولاً در محدوده ای که جذب با غلظت رابطه خطی دارد تعیین غلظت مواد انجام می‌شود [۵].



شکل ۲: قانون بیر و لامبرت در اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش [۸]

این دستگاه شدت نور عبوری (I) از نمونه را با شدت اولیه (I_0) مقایسه می‌کند. نسبت I/I_0، "عبور" نامیده می‌شود که معمولاً آن را با T% نشان می‌دهند. تعداد مولکول‌های جاذب نور در یک نمونه متناسب با میزان جذب آن در نمونه است و به صورت رابطه زیر بیان می‌شود:

$$A = \varepsilon \times b \times c$$

A = جذب قابل اندازه‌گیری نور

ε = ضریب جذب مولی [L/mol . cm]

b = ضخامت سل (طول مسیر عبور نور در نمونه) cm

c = غلظت mol. L^{-1}

در نتیجه می‌توان نوشت:

$$A = \log(l/T) = \log I_\circ/I_t = \log ۱۰\varepsilon\times b\times c = \varepsilon\times b\times c$$

۱.۱.۲.۲ انحرافات از قانون بیر و لامبرت

عوامل انحراف از قانون بیر و لامبرت شامل انحرافات فیزیکی، انحرافات دستگاهی و انحرافات شیمیایی می‌باشد. انحرافات فیزیکی مربوط به محدودیت در غلظت ماده جاذب و وابستگی ضریب جذب مولی (ε) به ضریب شکست (n) می‌باشد. انحرافات دستگاهی به دلیل تک رنگ نبودن نور، آلودگی سل‌ها، خطی نبودن جریان حاصل در دتکتور با شدت نور تابشی، تغییر در مقدار برق و حرارت ایجاد می‌شود و انحرافات شیمیایی نیز ناشی از اثرات تفکیک، تجمع، تشکیل کمپلکس و یا حلال‌کافت و هم‌چنین ناشی از اثرات فلورسانس و واکنش‌های فتوشیمیایی می‌باشد [۱۷].

۳ اجزای اسپکتروفتومتر UV-Visible

۱.۳ منبع تابش (Source)

نقش منبع نور دستگاه اسپکتروفتومتر تولید انرژی تشعشعی می‌باشد. منبع نور در اسپکتروفتومتر بسته به ناحیه مورد استفاده متفاوت می‌باشد. لامپ تنگستن طول موج‌های زیادی را به طور ممتد از خود منتشر می‌سازد که جهت اندازه‌گیری در منطقه مرئی و ماوراء بنفش از ۳۵۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. از آنجائی که در طول موج‌های پایین‌تر از ۳۵۰ نانومتر پوشش شیشه‌ای فیلامان شروع به جذب می‌نماید بنابراین لامپ تنگستن جهت اندازه‌گیری طول موج‌های کمتر از ۳۵۰ نانومتر توصیه نمی‌شود. لامپ دوتریوم در دستگاه اسپکتروفتومتر طیف ممتدی را در ناحیه ماوراء بنفش (۱۹۰ تا ۳۵۰ نانومتر) تولید می‌نماید. بنابراین جهت اندازه‌گیری طول موج‌های ناحیه ماوراء بنفش استفاده می‌شود. نحوه عملکرد لامپ‌ها در دستگاه اسکتروفتومتر به این صورت است که زمانی که میزان جذب در طیف UV اندازه‌گیری می‌شود، لامپ دیگر خاموش می‌شود و هنگامی که اندازه‌گیری جذب در نور مرئی انجام می‌شود برعکس این مسأله اتفاق

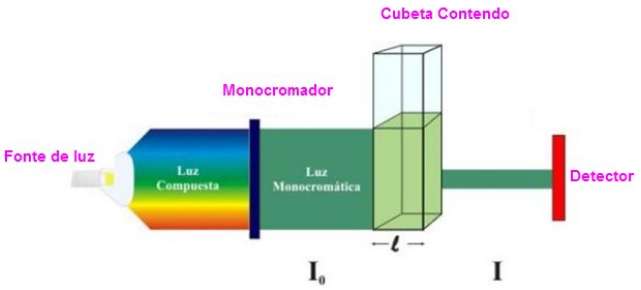
می‌افتد که دلیل این امر جلوگیری از تداخل طول موج‌های غیر ضروری در نور منتشر شده از نمونه است [۱۳].

۲.۳ محفظه نمونه (Cell)

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 مرئی-فرابنفش، محفظه نگهدارنده نمونه، کووت به شکل مکعب مستطیل است. کووت باید نور تابشی را جذب نکند. کووت‌های شیشه‌ای در محدودة ۳۴۰ نانومتر تا ۱۰۰۰ نانومتر برای امواج مرئی استفاده می‌شوند و نوع دیگر کووت که از جنس سیلیکا یا کوارتز ساخته شده‌اند در محدودة نور مرئی ۲۲۰ نانومتر تا ۳۴۰ نانومتر قابل استفاده هستند و برای ناحیه فرابنفش کاربرد دارند. همچنین قطر کووت نیز بستگی به دستگاه دارد ولی معمولاً 1 cm می‌باشد [۱۳].

۳.۳ مونوکروماتور یا تك رنگ‌ساز (Monochromator)

نقش مونوکروماتور دستگاه اسپکتروفتومتر جداسازی طول موج مورد نظر و خارج کردن موج‌های ناخواسته می‌باشد و باعث ایجاد نور تک‌رنگ می‌گردد .مونوکروماتور یک مجموعه متشکل از اجزایی است که نور سفید را به موج‌هایی با طول موج متفاوت تبدیل می‌کند که در این میان هر طول موج برای قرائت غلظت نمونه کاربرد دارد. اجزای مونوکروماتور شامل؛ یک شکاف که نور تولید شده به وسیله منبع نور را به یک سطح معین محدود می‌کند، مجموعه‌ای از آینه‌ها برای عبور نور از سیستم نوری، یک جزء برای جداسازی طول موج‌های پرتو نور که ممکن است منشور یا شبکه انکسار یا انتقال (grating) باشد (منشورها اکنون کابرد چندانی ندارند و بیشتر از شبکه انکسار استفاده می‌شود). همچنین فیلترها نیز برای عبور دادن اشعه با فرکانس خاص و حذف سایر فرکانس‌ها به کار می‌روند و در نهایت یك خروجی برای انتخاب طول موجی که به نمونه تابیده می‌شود مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱].



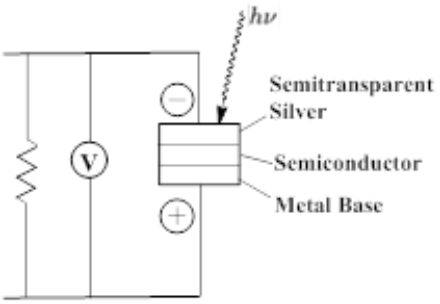
شکل ۳: کاربرد کروماتور در اسپکتروفتومتری

۴.۳ آشکارساز (Detector)

آشکارسازها برای اندازگیری شدت امواج به کار می‌روند، دارای خواص فتوالکتریک بوده که انرژی نورانی را به الکتریکی تبدیل می‌کنند [۱۳]. سه نوع آشکارساز در اسپکتروفتومتر UV-Vis کاربرد دارد.

۱.۴.۳ فتو ولتایی (Photovoltaic)

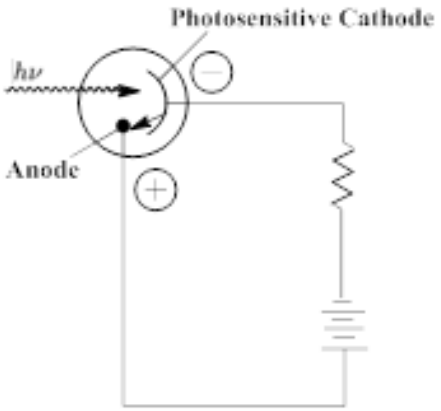
در این آشکارساز تابش فوتون به سطح نیمه هادی باعث خروج الکترون‌ها شده و الکترون‌ها توسط یك الکترود نقره جمع شده و پتانسیل تولید مینماید [۶].



شکل ۴: شماتیک یک سیستم فتو ولتایی [۷]

۲.۴.۳ فتو لوله (Tube Photo)

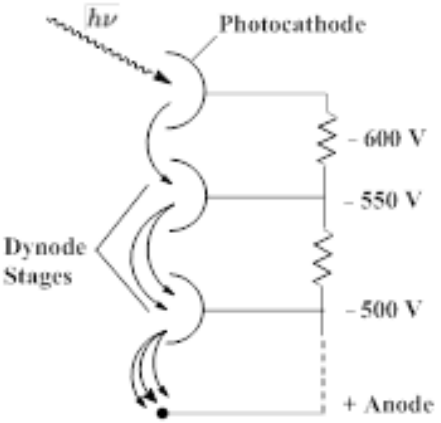
در فتو لوله‌ها جریان الکترون‌ها در اثر برخورد فوتون به وجود می‌آید. لوله خلاء است که دارای یك فتوکاتد پوشیده شده از Cs میباشد. فوتون‌های پرانرژی به کاتد ضربه می‌زنند و سبب نشر الکترون می‌شوند سپس الکترون‌ها به سمت آند رانده می‌شوند و بدین ترتیب جریان الکتریکی به وجود می‌آید [۶].



شکل ۵: شماتیک یک سیستم فتو لوله [۷]

۳.۴.۳ فتومالتی پلایر یا چند لایه‌ساز نوری(Photo (PMT Tube Player Multi

این سیستم همان اساس فتو لوله را دارد ولی دارای چندین کاتد و آند می‌باشد که هر الکترود نسبت به الکترود قبلی، آند ولی نسبت به الکترود بعدی کاتد است. در این حالت آبشاری از الکترون‌ها حاصل می‌شود و توسط میدان الکتریکی شتاب می‌گیرند. جریان تولید شده چندین بار تقویت می‌شود تا بتواند انرژی بسیار پایین یک فوتون را آشکارسازی و ثبت کند [۶].



شکل ۶: شماتیک یک سیستم فوتومالتی پلایر [۷]

۴.۴.۳ صفحه نمایشگر (Device Display)

اسپکتروفتومترها می‌توانند خروجی خود را به صورت‌های مختلف نمایش دهند اما متداول‌تر است که آن را به کامپیوتر وصل کرده و برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار استفاده کنند و آن را به صورت نموداری از مقدار عبور یا مقدار جذب برحسب طول موج نمایش می‌دهند [۱۳].

۴ انواع اسپکتروفتومتر از نظر ساختمانی

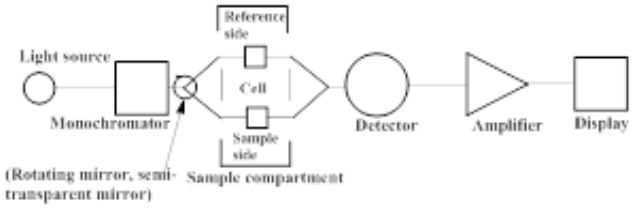
۱.۴ تك پرتویی (Single Beam)

این نوع سیستم طوری طراحی شده که تمام نور از یک نمونه عبور می‌کند. در اینجا بایستی جذب یك نمونه جاذب با جذب نمونه بلانك مقایسه گردد. در ابتدا، با استفاده از سل حاوی حلال، پراکنش (transmittance) به ٪۱۰۰ یا جذب (Absorbance) به روی صفر تنظیم شده، سپس آن را با سل حاوی نمونه جایگزین می‌نمایند. در نهایت، جذب نمونه (آنالیت) را ثبت نموده و یا به صورت دستی این دو را از هم کم می‌کنند [۹].

شکل ۷: نمای کلی اسپکتروفتومتر تک پرتویی [۸]

۲.۴ دو پرتویی (Double Beam)

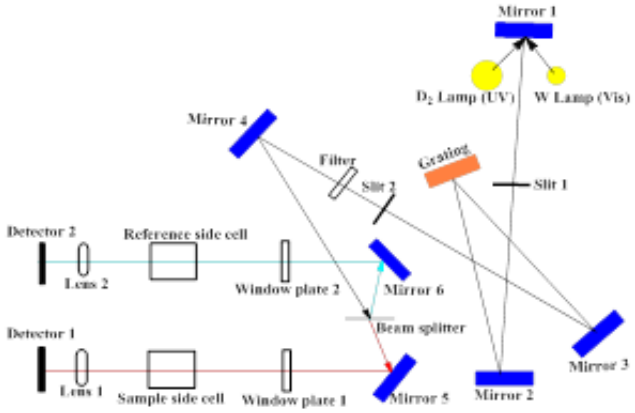
این نوع پیکربندی، نور مونوکروماتور را به دو پرتو با استفاده از آینه‌ها مانند یک آینه چرخشی و یک آینه نیمه شفاف تقسیم می‌کند تا دو پرتو، پرتو نمونه و پرتو شاهد را ایجاد کند. در سیستم دو پرتویی عمل حذف جذب شاهد بصورت اتوماتیك بوده و عمل مقایسه بین شاهد و نمونه در هر ثانیه چندین بار انجام می‌گیرد [۳].



شکل ۸: نمای کلی اسپکتروفتومتر دو پرتویی [۸]

۱.۲.۴ دستگاه دو پرتویی با دو آشکارساز (دو پرتویی مکانی)

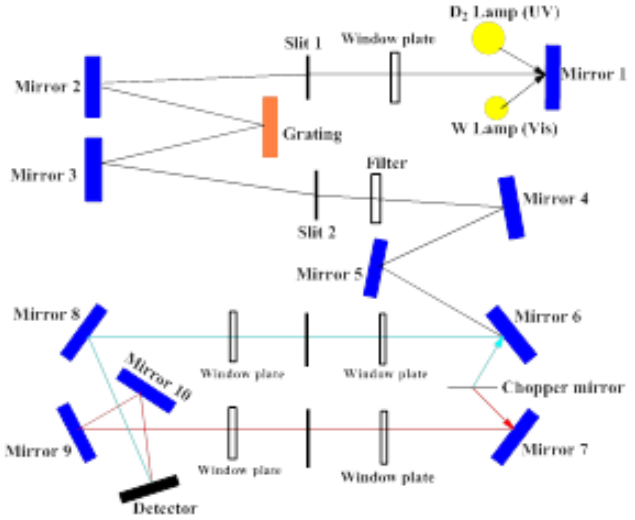
در این نوع سیستم، پرتو نمونه و پرتو شاهد به ترتیب به آشکارسازهای مختلف وارد می‌شوند. در واقع در این سیستم به دو آشکارساز کاملاً هماهنگ نیاز است و اندازه‌گیری جذب نمونه و شاهد از نظر مکانی متفاوت است [۱۳].



شکل ۹: سیستم دو پرتویی با دو آشکارساز [۸]

۲.۲.۴ دستگاه دو پرتویی با یک آشکارساز (دو پرتویی زمانی)

در این سیستم نیاز به یک آشکارساز است، در واقع پرتو عبوری از نمونه و شاهد به صورت متناوب وارد یک آشکارساز شده و اندازه‌گیری نمونه و شاهد از لحاظ زمانی به طور مجزا صورت می‌گیرد [۱۳].



شکل ۱۰: سیستم دو پرتویی با یک آشکارساز [۸]

۵ اثر حلال‌ها بر انتقالات الکترونی در اسپکتروفتومتری UV-Vis

طیف‌های مرئی-فرابنفش اکثراً در محلول‌های رقیق آنالیت ثبت می‌شوند. حلال مورد استفاده برای طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی باید در طول این ناحیه شفاف باشد یعنی جذب نداشته باشد؛ البته این محدودیت در طول موج‌های پایین وجود دارد. برای مثال اگر در محلولی حلال استونیتریل باشد، در طول موج ۲۳۰ نانومتر نمی‌توان جذب محلول را سنجید زیرا استونیتریل در این ناحیه جذب دارد. بنابراین در طیف‌سنجی باید به طول موج آستانه حلال نیز توجه کرد زیرا در این ناحیه حلال‌ها جذب زیادی دارند. جدول ۲ طول موج آستانه حلال‌ها را نشان می‌دهد [۶].

هم‌چنین حلال مورد استفاده در اسپکتروفتومتر باید مقدار کافی آنالیت را برای تولید پیک‌های کاملاً مشخص در خود حل کند. علاوه بر این، احتمال برهم‌کنش حلال با گونه جاذب هم باید مد نظر باشد. وقتی طیف جذبی یک گونه در حلال‌های مختلف با قطبیت (Polarity) مختلف ثبت می‌شود؛ موقعیّت، شدت و شکل طیف تحت تأثیر این تغییر قطبیت قرار می‌گیرد. عبارت Solvatochromism برای توصیف تغییرات طیف جذبی در اثر تغییر قطبیت محیط، به کار برده می‌شود. این پدیده ناشی از اثر تغییر در ساختار الکترونی و توزیع بار در حالت‌های پایه و برانگیخته با تغییر قطبیت محیط است [۱۰].

جدول ۲: حلال‌ها و طول موج آستانه آن‌ها

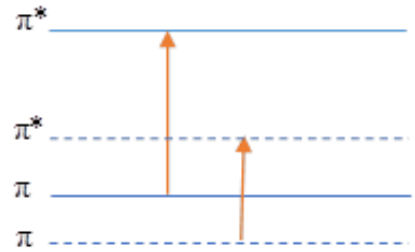
حلال	طول موج آستانه (nm) OD<۱
استون	۳۳۰
استو نیتریل، معمولی	۲۳۰
استونیتریل، درجه UV	<۲۰۰
کلروفرم	۲۴۵
سیکلوهگزان	۲۰۰<
اتیل استات	۲۵۵
دی کلرومتان	۲۳۳
اتیل اتر	۲۰۵
دی اکسان	۲۱۸
هگزان	<۲۰۰
متانول	۲۰۵
۱-ال-پروپان	۲۰۵
تتراهیدروفوران	۲۱۵
تولوئن	۲۸۶
۲،۲،۴_تری متیل پنتان	<۲۰۰
آب	<۲۰۰

اگر با افزایش قطبیت حلال، حالت پایه (سطح انرژی n) پایدارتر شود. در این حالت به علت حلال‌پوشی جفت الکترون‌های غیرپیوندی در n به π^*، سطح انرژی n نسبت به π^* کاهش پیدا می‌کند. فاصله بین ترازهای انرژی بیشتر شده و انرژی بیشتری برای انجام این انتقال الکترونی لازم خواهد بود و در نتیجه پیک جذب به سمت فرکانس‌های بلندتر (طول موج‌های کوتاه‌تر) می‌رود. به این حالت هیپوکرومیک

(Hypsochromic shift) یا جابه‌جایی به آبی (Blue shift) می‌گویند [۱۱].

در حالت دیگر در انتقال π به π^*، افزایش قطبیت حلال سبب پایین آمدن سطح انرژی π و π^* می‌شود ولی این اثر روی π^* بیشتر خواهد بود. این امر باعث می‌شود که در این حالت فاصله بین ترازهای انرژی کمتر شده و انرژی کمتری برای انجام این انتقال الکترونی لازم باشد و در نتیجه پیک جذب به سمت فرکانس‌های کوتاه‌تر (طول موج‌های بلندتر) رود. به این حالت باتوکرمیک (Bathochromic Shift) یا جا به جایی به قرمز (Red Shift) می‌گویند [۱۱].

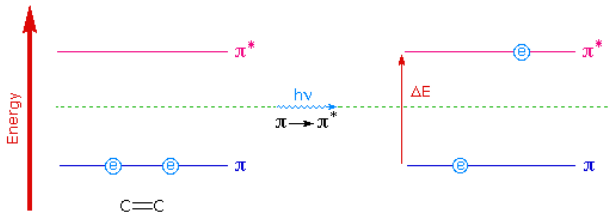
شکل ۱۱: حالت هیپوکرومیک در اثر افزایش قطبیت حلال



شکل ۱۲: حالت باتوکرمیک در اثر افزایش قطبیت حلال

۶ اثر مزدوج شدن بر انتقالات الکترونی در اسپکتروفتومتری UV-Vis

مزدوج شدن در مولکول‌هایی که به صورت یک در میان پیوندهای یگانه و دوگانه دارند (برای مثال CH_2=CH-CH-CH_2) باعث می‌شود الکترون‌های π بیشتر غیرمستقر شده و این عدم استقرار انرژی تراز π^* را پایین می‌آورد و از خاصیت ضد پیوندی آن می‌کاهد. در نتیجه بیشینه جذب به طرف طول موج‌های بلندتر یا فرکانس کم‌تر جابجا می‌شود [۱۳].



شکل ۱۳: تأثیر مزدوج شدن بر انتقالات الکترونی

۷ روش‌های اندازه‌گیری در اسپکتروفتومتری UV-Vis

- روش طیف‌سنجی: بدست آوردن طیف‌های نمونه با پایش طول موج
- روش نورسنجی: اندازه‌گیری جذب و عبور نور در یک یا چند طول موج و هم‌چنین تهیه منحنی کالیبراسیون از نمونه‌های استاندارد و استفاده از آن برای محاسبه غلظت نمونه‌های مجهول
- روش سینتیکی: اندازه‌گیری تغییر جذب در واحد زمان و بدست آوردن میزان فعالیت آنزیمی

۸ کاربرد اسپکتروفتومتری UV-Vis

کاربرد این دستگاه در اندازه‌گیری‌های کیفی و کمی براساس اندازه‌گیری جذب محلول‌ها در نواحی ماوراء بنفش و مرئی می‌باشد. تعیین غلظت مواد، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های مختلف، کلسترول، تری گلیسرید، قند، لیپوپروتئین‌ها، اوره، کراتینین و . . . ، طیف وسیعی از آنالیت‌ها با کاربردهای بالینی و تحقیقاتی، طیف وسیعی از داروها و بخش گسترده‌ای از متابولیت‌ها با اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش قابل سنجش است. هم‌چنین این دستگاه قابلیت اندازه‌گیری نمونه‌های فوق‌العاده کوچک را داشته لذا از آن برای تجزیه و تحلیل عناصر مولکول‌های RNA استفاده می‌شود. بنابراین این دستگاه در حوزه‌های مختلف چون تجزیه مواد در رشته‌های شیمی، مواد، کشاورزی، پزشکی و ... کاربرد گسترده‌ای دارد [۱۲].

۹ نتیجه‌گیری

در راستای بهبود کیفیت اسپکتروفتومترهای مرئی-فرابنفش قدیمی، ابداع اسپکتروفتومترهای دو پرتویی صورت گرفته است. مزیت سیستم دو پرتویی نسبت به تک پرتوی، کنترل و سنجش سریع نمونه و شاهد سبب حذف خطاهای ناشی از نوسان‌های شدت منبع، ناپایداری الکترونی و هرگونه تغییر در سیستم نوری می‌گردد. علاوه بر آن آشکارساز فوتومالتی پلایر در دستگاه‌های اسپکتروفتومتر، قابلیت طیف‌گیری در ناحیه مرئی-فرابنفش طیف الکترومغناطیس را در کمتر از ثانیه به طور همزمان فراهم ساخته است. سیستم فوتومالتی پلایر در بین آشکارسازها حساسیت بیشتر نسبت به فتوسل و فتوتیوب دارد و در محدوده وسیع‌تری از طول موج‌ها کار می‌کند. هم‌چنین پاسخ سریع به تغییرات شدت نور دارد و مانند فتوسل کهنه نمی‌شود. هم‌چنین کارایی بالای این دستگاه‌ها در اندازه‌گیری جذب برای چند طول موج و یا یک طول موج، اندازه‌گیری در بازه زمانی و ... این دستگاه‌ها را برای اندازه‌گیری کیفی و کمی محدوده وسیعی از مواد در زمینه‌های مختلف علمی و تحقیقاتی مانند شیمی، بیوشیمی، داروسازی، کشاورزی، محیط زیست و غیره امکان‌پذیر ساخته است.

مراجع

[1] Akiyama, O. (1987). U.S. Patent No. 4,697,924. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

[2] Antonov, L., Gergov, G., Petrov, V., Kubista, M., & Nygren, J. (1999). UV–Vis spectroscopic and chemometric study on the aggregation of ionic dyes in water. Talanta, 49(1), 99-106.

[3] Berthoud, T., Delorme, N., & Mauchien, P. (1985). Beam geometry optimization in dual-beam thermal lensing spectrometry. Analytical Chemistry, 57(7), 1216-1219.

[4] Brice, B. A., Halwer, M., & Speiser, R. (1950). Photoelectric light-scattering photometer for determining high molecular weights. JOSA, 40(11), 768-778.

[5] Hardesty, J. H., & Attili, B. (2010). Spectrophotometry and the Beer-Lambert Law: An Important Analytical Technique in Chemistry. Collin College, Department of Chemistry.

[6] Homocianu, M. (2011). Solvent effects on the electronic absorption and fluorescence spectra. Journal of Advanced Research in Physics, 2(1).

[7] iusnews.ir/images/upfiles/20170124/tajzye٪20dast٪20ga.pdf

[8] INSTRUCTION MANUAL Operation Guide UV-1800 SPECTROPHOTOMETER

[9] Kao, K. C., & Davies, T. W. (1968). Spectrophotometric studies of ultra low loss optical glasses I: single beam method. Journal of Physics E: Scientific Instruments, 1(11), 1063.

[10] Liu, X., Cole, J. M., & Low, K. S. (2013). Solvent effects on the UV–Vis absorption and emission of optoelectronic coumarins: a comparison of three empirical solvatochromic models. The Journal of Physical Chemistry C, 117(28), 14731-14741.

[11] Meier, H., Mühling, B., & Kolshorn, H. (2004). Red□and Blue□Shifts in Oligo (1, 4□phenyleneethynylene) s Having Terminal Donor− Acceptor Substitutions. European Journal of Organic Chemistry, 2004(5), 1033-1042.

[12] Patel, M. U., & Dominko, R. (2014). Application of in operando UV/vis spectroscopy in lithium–sulfur batteries. ChemSusChem, 7(8), 2167-2175.

[13] Perkampus, H. H. (2013). UV-VIS Spectroscopy and its Applications. Springer Science & Business Media.

[14] Shiowatana, J. (1997). Demonstrating characteristics of a spectrophotometer's components. Journal of chemical education, 74(6), 730.

[15] Wentworth, W. E. (1966). Dependence of the Beer-Lambert absorption law on monochromatic radiation: An experiment of spectrophotometry. Journal of chemical education, 43(5), 262.

[16] Wyszecki, G., & Stiles, W. S. (1982). Color science (Vol. 8). New York: Wiley.

[17] Zaccanti, G., & Bruscaglioni, P. (1988). Deviation from the Lambert-Beer law in the transmittance of a light beam through diffusing media: experimental results. Journal of Modern Optics, 35(2), 229-242.