

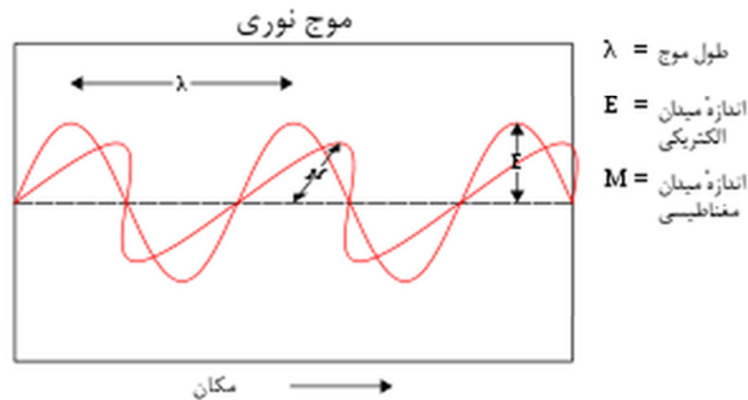
بسمه تعالی

مباحث تکمیلی (روش‌های طیف‌سنجی) درس شیمی تجزیه کشاورزی

روش‌های جدید و دستگاهی تجزیه شامل روش‌های طیف‌سنجی، کروماتوگرافی و الکتروشیمی است که در اینجا به بحث در مورد روش‌های مختلف طیف‌سنجی پرداخته می‌شود.

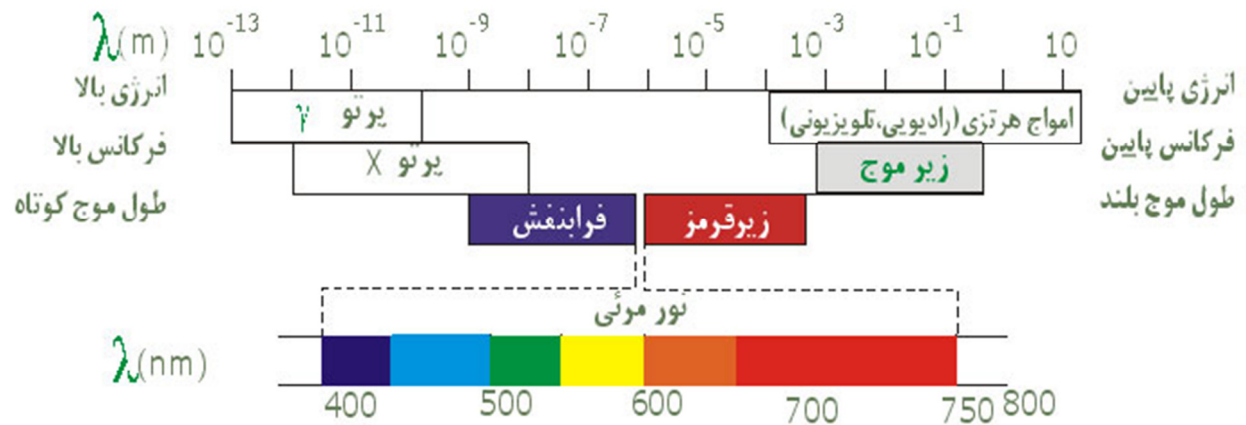
### Spectroscopic Methods (روش‌های طیف‌سنجی)

روش‌های طیف‌سنجی بر پایه واکنش بین ماده و انرژی تابشی (از جمله نور، صوت، ذرات گسیل شده) است. بخشی از روش‌های طیف‌سنجی، اسپکتروفوتومتری است که منحصراً مربوط به روش‌هایی است که با فوتون سروکار دارد. در اسپکتروفوتومتری از خواص پرتوهای الکترومغناطیسی (Electromagnetic) و واکنش آنها با ترکیبات شیمیایی استفاده شده تا ترکیبات شیمیایی شناسایی و اندازه‌گیری شوند. پرتوهای الکترومغناطیسی، پرتوهایی هستند که از ذرات ریز انرژی به نام فوتون تشکیل شده‌اند. طبیعت فوتونها موج است که در دو میدان الکتریکی و مغناطیسی به صورت عمود بر یکدیگر در حال نوسان می‌باشند. محدوده طیف الکترومغناطیس از اشعه گاما تا امواج رادیویی است.



فوتون‌ها چون موجی هستند، لذا تابع خواص موج‌ها می‌باشند. این خصوصیات عبارتند از:

۱- طول موج (wavelength): طول یک سیکل کامل یا فاصله بین دو قله متوالی موج است. طول موج تابع سرعت و فرکانس موج است. طول موج را با  $\lambda$  نشان می‌دهند و واحد آن، واحد طول یا بعد است. یعنی بر حسب فرکانس به صورت آنگستروم، نانومتر، میکرومتر (میکرون)، سانتیمتر، متر و کیلومتر می‌باشد.



۲- فرکانس (Frequency): تعداد سیکل در واحد زمان است که با  $\nu$  نشان داده می‌شود. چنانچه موجی یک سیکل در یک ثانیه داشته باشد، فرکانس یک هرتز دارد.

۳- انرژی: انرژی تابع منبع مولد است و به همین دلیل پرتو الکترومغناطیسی مستقل از محیط است. واحد انرژی ژول است. انرژی هر فوتون ضریب ثابتی است از فرکانس. این ضریب ثابت را ضریب ثابت پلانک ( $h$ ) گویند.

$$E = h\nu$$

$$h = 6.63 \times 10^{-34} \text{ (J.s)}$$

انرژی هر فوتون تابع فرکانس آن است. هر چه فرکانس فوتون بیشتر باشد، انرژی آن بیشتر است. لذا فرکانس و انرژی فوتون رابطه مستقیم با یکدیگر دارند. از طرفی انرژی و طول موج فوتون رابطه معکوس با یکدیگر دارند.

۴- سرعت: سرعت جابه جایی موج است و عبارت است از فاصله‌ای که موج در واحد زمان طی می‌کند. موج در هر محیطی با سرعت معینی منتشر می‌شود. سرعت موج در یک محیط به جنس و حالت و شرایط فیزیکی آن بستگی دارد و هیچ ربطی به منبع موج ندارد. سرعت موج را با نماد  $V$  نشان می‌دهند و واحد آن به دلیل سنجش سرعت، متر بر ثانیه است.

$$V = \nu \cdot \lambda$$

با جایگزینی سرعت و طول موج به جای فرکانس در رابطه انرژی، خواهیم داشت:

۵- دامنه موج (Amplitude): بزرگی نوسان یک موج است و فاصله قله موج تا محور افقی را نشان می‌دهد. دامنه موج را با  $A$  نشان می‌دهند و واحد آن همانند طول موج واحد طول است. از طرفی  $A^2$  شدت میدان موج را نشان می‌دهد.

۶- تعداد موج (Wave Number): تعداد موج در یک سانتیمتر است که با  $\theta$  نشان داده شده و واحد آن  $\text{cm}^{-1}$  است. با مقایسه  $\theta$  و  $\lambda$  می توان گفت که  $\theta$  عکس  $\lambda$  است و در نتیجه انرژی و  $\theta$  رابطه مستقیم خواهند داشت.

$$E = h\nu\theta$$

به منظور بررسی واکنش پرتو با یک ترکیب، لازم است تا بی نهایت فوتون و انواع طول موجی که در یک پرتو وجود دارد، به یک طول موج کاهش یابد. به عبارتی باید پرتویی که متشکل از انواع طول موجها می باشد را تجزیه کرده و طیفی از آن تهیه کرد. پس از تبدیل پرتو به طیفی از طول موجهای آن، اکنون می توان اثر طول موج خاصی را بر ترکیب مورد نظر بررسی کرد. لذا از آنجا که شرط اولیه این روشها تهیه طیفی از پرتو است، به این روشها طیف سنجی یا اسپکتروسکوپی گفته می شود.

### واکنش پرتو با ترکیبات

زمانیکه پرتویی با طول موج مشخص از درون محلولی عبور می کند، واکنشهای متفاوتی می تواند با محلول نمونه داده و از آن خارج شود. چنانچه فوتونهای پرتو به طور کامل از نمونه عبور کرده و هیچ واکنشی بین پرتو و نمونه اتفاق نیفتد، گفته می شود که صد درصد فوتونهای پرتو از نمونه عبور کرده است. به عبور Transmittance گفته می شود. اما همیشه تمام پرتو از نمونه عبور نمی کند و برای بیان میزان عبور پرتو، درصد عبور باید تعیین شود. از آنجاییکه نمی توان تعداد فوتون را اندازه گیری کرد، لذا برای تعیین درصد عبور پرتو از نمونه، قدرت پرتو را اندازه گیری و بیان می کنند. قدرت پرتو عبارت است از مقدار انرژی پرتو بر حسب ارگ ( $10^{-7}$  ژول) که در یک ثانیه به سطح یک سانتی متر مربع از دستگاه اندازه گیری برخورد می کند. هرچه تعداد فوتونهای موجود در پرتویی با طول موج مشخص بیشتر باشد، قدرت آن بیشتر است.

بر این اساس قدرت پرتو قبل از ورود پرتو به نمونه ( $p_0$ ) و پس از خروج از آن ( $p$ ) اندازه گیری شده و با استفاده از رابطه روبرو درصد عبور آن اندازه گیری می شود.

$$T = (p/p_0) \times 100$$

بخشی از پرتو که عبور نکرده است، توسط نمونه جذب شده است. به جذب Absorbance گفته می شود. جذب عبارت است از عکس عبور. برای بیان رابطه بین جذب و عبور، از رابطه لگاریتم گرفته می شود تا واحد آن حذف شود. بر این اساس  $A = \log 1/T$  و در نتیجه  $A = \log p_0/p$

علت جذب چیست؟

وقتی ساختمان مولکولی مولکولها و یا ساختمان اتمی اتمها بررسی شود، دیده می شود که این ساختمانها از لایه های انرژی تشکیل شده اند که الکترونها در آن لایه ها قرار دارند. زمانیکه الکترونی در شرایط عادی در لایه ای قرار دارد، گفته می شود که الکترون در سطح پایدار انرژی (Ground state of energy) قرار دارد و به صورت  $S_0$

نشان داده می‌شود. زمانیکه پرتویی وارد نمونه می‌شود، چنانچه انرژی فوتون‌های آن پرتو در حدی باشد که بتواند الکترون را از سطح پایدار انرژی‌اش به سطح الکترونی بالاتری ( $S_1$ ) انتقال دهند، آن الکترون انرژی پرتو را گرفته و به سطح بالاتر می‌رود و در نتیجه قدرت پرتو خروجی از نمونه کاهش یافته که به آن جذب گفته می‌شود. به الکترونی که انرژی جذب کرده و به سطح بالاتر رفته اصطلاحاً تحریک شده (Excited) گفته می‌شود. اما این تحریک زمان کوتاهی دارد و الکترون طی حدود  $10^{-6}$  تا  $10^{-9}$  ثانیه انرژی جذب کرده را پس داده و به سطح انرژی اولیه‌اش باز می‌گردد و اصطلاحاً آرامش یا Relaxation اتفاق می‌افتد. انرژی‌ای که الکترون پس می‌دهد یا به صورت پرتو است که در نتیجه آن نمونه ترکیبی فلورسانت بوده است و در غیر این صورت انرژی به صورت حرارت به محیط پس داده می‌شود که به دلیل کم بودن مقدار آن، قابل اندازه‌گیری نمی‌باشد.

سطوح الکترونی دارای سطوح انرژی فرعی هستند که به آن‌ها سطوح نوسانی یا Vibrational گفته می‌شود. اختلاف انرژی سطوح نوسانی بسیار کمتر از اختلاف انرژی سطوح الکترونی است. زمانیکه نمونه فلورسانت نباشد و بخواهد انرژی جذب کرده را به صورت حرارتی به محیط باز گرداند، با عبور از سطوح نوسانی و به تدریج این کار را انجام می‌دهد و در نتیجه علاوه بر کم بودن انرژی آزاد شده، مرحله‌ای انجام شدن آن نیز سبب می‌شود تا اندازه‌گیری مقدار آن امکان‌پذیر نباشد. چنانچه نمونه فلورسانت باشد، پس از جذب انرژی، پرتویی ساطع می‌کند (Emission) که انرژی آن از انرژی جذب شده کمتر است که به دلیل ضایع شدن انرژی سطوح نوسانی است. ذرات تحریک شده به یکدیگر برخورد کرده و بر اثر اصطکاک، مقداری از انرژی جذب شده ضایع می‌شود که این انرژی با انرژی سطوح نوسانی برابر است.

از آنجاییکه مولکول‌ها دارای اتم‌های مختلفی بوده و هر اتمی دارای سطوح الکترونی و نوسانی متفاوتی می‌باشد، لذا چنانچه پرتویی که به نمونه برخورد می‌کند دارای طول موج‌های متفاوتی باشد، طول موج‌های متفاوتی از پرتو جذب می‌شود. به گونه‌ای که اگر طول موج‌ها را روی محور X و مقدار جذب را روی محور Y ببریم، طیفی پیوسته به دست می‌آید که به آن طیف جذبی مولکولی گفته می‌شود. با بررسی طیف جذبی مولکولی دیده می‌شود که هر مولکولی یک طول موج خاصی را بیشتر از سایر طول موج‌ها جذب کرده است و اختصاصی آن مولکول است که به دلیل ساختمان اتمی خاص آن مولکول می‌باشد. به این طول موج، طول موج بیشینه جذب ( $\lambda_{max}$ ) گفته می‌شود و از آن برای شناسایی مولکول مربوطه استفاده می‌شود.

در رابطه با ترکیبات فلورسانت، علاوه بر طیف جذبی، طیف دیگری تحت عنوان طیف نشری (Emission Spectrum) نیز وجود دارد. چرا که طی Emission، ترکیب هر طول موجی را که جذب کند، طول موجی بلندتر را ساطع می‌کند. در طیف نشری نیز طول موجی خاص وجود دارد که ترکیب، آن طول موج را با قدرت بیشتری

نسبت به سایر طول موج‌ها ساطع کرده و لذا به آن طول موج بیشینه نشر گفته می‌شود. در نتیجه ترکیبات فلورسانت دارای دو طول موج اختصاصی هستند.

زمانیکه پرتویی به اتم خاصی برخورد کند، از آنجاییکه اتم دارای سطوح انرژی کمتر و مشخصی می‌باشد، لذا طول موج‌های معدود و مشخصی را جذب کرده و در نتیجه طیف جذبی آن به صورت مجزا خواهد بود. به عنوان مثال اتم سدیم فقط طول موج‌های ۲۴۳، ۳۳۰ و ۵۸۹ را جذب می‌کند. در مورد طیف جذبی اتمی نیز یکی از طول موج‌ها بیشتر از سایرین جذب شده که به آن طول موج بیشینه جذب گفته شده و اختصاصی آن اتم است. به عنوان مثال در مورد سدیم طول موج ۵۸۹ بیشتر از دو طول موج دیگر جذب شده و طول موج بیشینه جذب سدیم می‌باشد.

اتم‌هایی که ذاتاً فلورسانت باشند بسیار نادرند. اما از آنجاییکه الکترون‌ها علاوه بر انرژی پرتویی می‌توانند انرژی حرارتی را نیز جذب کنند، لذا چنانچه اتمی مانند سدیم را ابتدا به صورت گاز در آورده و سپس حرارت داده شود، الکترون با جذب انرژی حرارتی تحریک شده و به سطوح بالاتر رفته و سپس در مرحله آرامش پرتو ساطع می‌کند. طول موج‌های پرتو ساطع شده، همان طول موج‌های جذبی اتم سدیم هستند.

### جذبیت (Absorptivity)

طبق قانون Beer-Lambert، غلظت محلول و طول مسیر عبور پرتو بر میزان جذب اثرگذار هستند. طبق قانون Beer، مقدار جذب پرتویی با طول موج مشخص در یک محلول به غلظت آن بستگی دارد. هر چه غلظت محلول بیشتر باشد، به دلیل داشتن مولکول‌های بیشتر جذب بیشتری دارد. از طرفی طبق قانون Lambert، طول محیطی که محلول در آن قرار دارد و پرتو باید از آن عبور کند نیز بر میزان جذب اثر می‌گذارد. هر چه طول محیط بیشتر باشد، پرتو با مولکول‌های بیشتری برخورد کرده و در نتیجه جذب بیشتر می‌شود. بر این اساس جذبیت یا Absorptivity تعریف می‌شود. طبق تعریف، میزان جذب یک ترکیب که به آن جذبیت (A) گفته می‌شود، عدد ثابتی است اگر طول موج (a)، غلظت (b) و طول مسیر پرتو (c) ثابت باشد.

$$A = abc$$

### دستگاه‌های اسپکتروفوتومتری

دستگاه‌های اسپکتروفوتومتری به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند. ۱- مولکولی ۲- اتمی  
دستگاه‌های طیف سنجی مولکولی و اتمی خود به دو دسته جذبی (Absorptive) و نشری (Emissive) دسته بندی می‌شوند. در دستگاه‌های طیف سنجی مولکولی جذبی طول موج مورد استفاده متفاوت می‌باشد و بر این اساس اسپکتروفوتومترهای محدوده ماوراء بنفش (UV)، نور مرئی (Vis) و مادون قرمز (IR) طراحی شده و مورد استفاده

قرار گرفته‌اند. دستگاه اسپکتروفوتومتر مولکولی نشری، فلوریمتر (Fluorimeter) نامیده می‌شود که اندازه‌گیری ترکیبات فلورسانت را انجام می‌دهد. در اسپکتروفوتومترهای اتمی جذبی نیز طول موج مورد استفاده تعیین کننده است. اسپکتروفوتومتر اتمی نشری Flame Photometer نامیده می‌شود که با استفاده از شعله، حرارت لازم برای تحریک اتم و سپس نشر پرتو تأمین می‌شود.

اجزای اصلی اسپکتروفوتومترها کم و بیش در تمام آن‌ها یکسان می‌باشد. ابتدا منبع پرتویی لازم است که اکثراً پرتویی با طول موج‌های مختلف (Polychromatic) تولید می‌کنند. با استفاده از Monochromator پرتو تولید شده به طول موج‌هایش تجزیه می‌شود. Wavelength selector قطعه‌ای است که انتخاب طول موج خاصی از طیف پرتو تولیدی را امکان پذیر می‌سازد. نمونه در ظرف نمونه (Sample Container) قرار گرفته و پرتویی با طول موج و قدرت مشخص از آن عبور کرده و حال قدرت طول موج خروجی از نمونه اندازه‌گیری می‌شود. برای این منظور انرژی پرتویی با استفاده از مبدل (Detector یا Transducer) به انرژی الکتریکی تبدیل می‌شود تا قابلیت اندازه‌گیری پیدا کند. بعد از مبدل قطعه دیگری وجود دارد به نام Amplifier که شدت انرژی الکتریکی را بیشتر می‌کند و در نهایت ثبت (Recorder) دستگاه قرار دارد که اندازه‌گیری دستگاه را به صورت عددی نشان می‌دهد. در ادامه اجزای دستگاه‌های مختلف طیف سنجی به طور اختصاصی تر مورد بررسی قرار می‌گیرند.

### منبع پرتو

منبع پرتویی مورد استفاده در اسپکتروفوتومترهای ماوراء بنفش (UV) باید پرتویی در محدوده UV ساطع کند. لامپ‌هایی که برای این منظور استفاده می‌شوند لامپ‌های هیدروژنه و لامپ‌های دوتریوم (Deuterium) هستند. این لامپ‌ها پرتوهایی در محدوده ۱۶۰ تا ۳۸۰ نانومتر ساطع می‌کنند. لامپ هیدروژنه دارای لوله‌ای است که از گاز هیدروژن پر شده و درون آن دو الکتروود قرار دارد. با ایجاد ولتاژی بالا بین دو الکتروود، گاز هیدروژن تهییج شده و سپس در آرامش پرتو ساطع می‌کند که در محدوده UV است. لامپ دوتریوم نیز شبیه لامپ هیدروژنه است. با این تفاوت که به جای گاز هیدروژن، دارای گاز دوتریوم است. لامپ‌های دوتریوم در مقایسه با لامپ‌های هیدروژنه عمر بیشتری داشته و قدرت پرتوهای ساطع شده آن نیز بیشتر است.

در اسپکتروفوتومترهای نور مرئی (Vis) از لامپ‌های تنکستن استفاده می‌شود که دارای رشته نازکی از تنکستن بوده که وقتی ولتاژی به آن وصل شود، به حدی داغ می‌شود که به حالت التهاب رسیده و در این حالت محدوده گسترده‌ای از پرتوها از ۲۴۰ تا ۲۵۰۰ نانومتر یعنی از UV تا IR را ساطع می‌کند. اما محدوده مرئی یعنی از ۳۶۰ تا ۷۵۰ نانومتر که شدت و قدرت کافی دارند قابل استفاده می‌باشد.

اسپکتروفوتومترهای IR، لامپی نیاز دارد که پرتوهایی با طول موج بلند ساطع کند. یکی از این لامپ‌ها Global Lamp است که دارای مفتولی از جنس Silicon carbide است که وقتی برق به آن وصل می‌شود، حرارتش بسیار بالا می‌رود ولی از آنجاییکه به حرارت مقاوم است در حد سطوح الکترونی تهییج نمی‌شود بلکه فقط در حد سطوح نوسانی تهییج شده و سپس در آرامش پرتویی کم انرژی با طول موج بلند ساطع می‌کند.

در اسپکتروفوتومترهای جذبی اتمی (Atomic Absorption)، پرتوهای اتمی مورد نیاز است که برخلاف پرتوهای مولکولی از تعداد معدودی طول موج تشکیل شده است. پس منبعی لازم است که پرتو اتمی تولید کند. به عنوان مثال برای اندازه‌گیری اتم سدیم، منبع اتمی سدیم مورد نیاز است زیرا اتم همان طول موج‌هایی را که ساطع می‌کند جذب می‌کند. بر این اساس در این روش برای اندازه‌گیری هر عنصری لامپ مخصوص آن مورد نیاز است.

یکی از انواع این لامپ‌ها، لامپ‌های با کاتود تو خالی (HCL: Hollow Cathode Lamp) است. در این لامپ‌ها کاتودی استوانه‌ای شکل و تو خالی و آنودی رشته‌ای درون محفظه‌ای قرار دارند. این محفظه با گازی خنثی مثل آرگون یا هلیوم پر شده است. کاتود و آنود به ولتاژ وصل هستند. با برقراری ولتاژ بین کاتود و آنود، انتقال الکترون از کاتود به آنود انجام شده که سبب یونیزاسیون آرگون به الکترون و آرگون با بار مثبت می‌شود. آرگون مثبت به شدت به داخل کاتود برخورد کرده و اتم‌های آن به صورت تهییج شده متصاعد می‌شود. این اتم‌ها در آرامش پرتو اتمی ساطع می‌کنند. چنانچه جنس داخلی کاتود از سدیم باشد، پرتو ساطع شده از سدیم است. حدود ۶۲ لامپ برای عناصر مختلف ساخته شده است. یکی دیگر از انواع لامپ‌ها، لامپ‌های بدون الکتروود (EDL: Electrodeless Discharge Lamp) است. این لامپ‌ها فاقد الکتروود بوده و اتم مورد نظر مثلاً سدیم به صورت لایه‌ای درون لامپ قرار دارد. با تاباندن پرتو ماکروویوی، آرگون به آرگون مثبت یونیزه شده، آرگون مثبت به لایه سدیم برخورد کرده و سبب تهییج سدیم می‌شود. اتم‌های تهییج شده در آرامش پرتو اتمی ساطع می‌کنند.

## مونوکروماتور

قسمت دیگر دستگاه‌های طیف‌سنجی، مونوکروماتور (Monochromator) است. این وسیله در دستگاه‌های طیف‌سنجی، پرتو تولیدی را به طیف آن تجزیه کرده و به طور کلی به دو دسته تقسیم می‌شود: ۱- Fixed (ثابت) و ۲- Variable (متغیر). مونوکروماتورهای ثابت نوعی فیلتر جذبی هستند که با جذب کلیه طول موج‌های پرتو موجود، فقط طول موج‌های مورد نظر را عبور می‌دهند. مثلاً برای اندازه‌گیری سدیم، فیلتر سدیم در مقابل نور گذاشته می‌شود. در نتیجه کلیه طول موج‌های نور جذب فیلتر شده و فقط طول موج‌های اتم سدیم عبور داده می‌شود. این فیلترها در دستگاه Flame photometer استفاده شده و دارای انواع فیلتر سدیم، پتاسیم، کلسیم، لیتیم و باریم می‌باشد. در اسپکتروفوتومترهای مولکولی از مونوکروماتورهای نوع متغیر استفاده می‌شود. این نوع مونوکروماتورها

خود به دو دسته Prism (منشوری) و Grator تقسیم می‌شوند. در نوع منشوری، ابتدا پرتوی واگرایی لامپ با استفاده از لنزی به صورت موازی درآمده و سپس این پرتو که دارای انواع طول موج‌ها می‌باشد به منشور دستگاه برخورد می‌کند و وارد آن می‌شود. سرعت پرتو در منشور کم می‌شود و در نتیجه  $\lambda$  طول موج‌های موجود کم می‌شود. اما ضریب انحراف منشور برای طول موج‌های مختلف متفاوت است که به آن ضریب انحراف (Refractive Index) گفته می‌شود که با  $n$  نشان داده می‌شود و برابر است با  $n = \sin i / \sin r$ . پس پرتو با طول موج‌های مختلف (i) وارد می‌شود و  $r$  های متفاوت پیدا می‌کند اما تمام طول موج‌های یکسان به صورت موازی دورن منشور حرکت کرده و از آن خارج می‌شوند. پس از خروج پرتوها از منشور لنز دیگری وجود دارد که پرتوهای موازی خروجی را همگرا کرده و آن‌ها در یک نقطه متمرکز می‌کند. در نتیجه طول موج‌های مختلف در نقاط مختلف روی یک صفحه (Focal plane) متمرکز شده و از یکدیگر جدا می‌شوند.

Grator ها صفحاتی شفاف و کنگره دار بوده که اصطلاحاً Groove نامیده می‌شوند. پرتوی تولید شده از منبع که به صورت واگرا می‌باشد، همانند قبل با برخورد به لنزی به صورت موازی درآمده و سپس این پرتو که دارای طول موج‌های متفاوتی است بر روی Groove تابانده می‌شود. پس از برخورد طول موج‌ها با سطح Groove، هر طول موجی با زاویه خاصی از سطح منعکس می‌شود اما طول موج‌های یکسان به صورت موازی از سطح منعکس می‌شوند. طول موج‌های منعکس شده پس از برخورد به لنزی، هر کدام در نقطه خاصی متمرکز شده و به این صورت از یکدیگر جدا می‌شوند. زاویه انعکاس هر طول موجی ضریب ثابتی ( $n$ ) از  $\lambda$  بوده و از رابطه زیر به دست می‌آید.

$$n\lambda = d(\sin i + \sin r)$$

در این رابطه  $d$  فاصله بین دو Groove است. به عنوان مثال اگر در ۱ میلی‌متر، ۳ Groove وجود داشته باشد،  $d=1/3$  میلی‌متر است.

تعداد Groove در Grator های مختلف متفاوت است و به طول موج پرتو مورد استفاده بستگی دارد. هر چه طول موج کوچکتر باشد، تعداد Groove ها بیشتر است زیرا هرچه طول موج کوچکتر باشد با زاویه کوچکتری منعکس می‌شود.

Grator ها نسبت به منشورها مناسب تر هستند زیرا منشور می‌تواند برخی از طول موج‌ها را جذب کند. در عین حال ساخت Groove کاری دقیق و حساس است درحالی‌که منشور ساختار ساده‌ای دارد.

### ظرف نمونه

ظرفی مکعب مستطیلی است با دیواره‌های شفاف که جنس آن بسته به پرتوی مورد استفاده متفاوت می‌باشد. اگر پرتوی مورد استفاده UV باشد جنس دستگاه از کوارتز و اگر Vis باشد جنس آن شیشه‌ای است. شیشه پرتو UV را



جذب می‌کند و از این رو نمی‌توان از آن برای محدوده UV استفاده کرد. برای پرتو IR از ظرف دیگری استفاده می‌شود. به این صورت که نمونه بین دو صفحه بسیار نازک از جنس NaCl قرار می‌گیرد. باید توجه کرد که از آنجاییکه NaCl، آب را جذب می‌کند لذا نمونه نباید در آب حل شده باشد بلکه در یک چربی باید حل شود. به طور کلی نمونه‌ای که در ظرف قرار می‌گیرد باید کاملاً خالص و بدون هر گونه ذرات معلق باشد. همچنین حلال نباید برای طول موج بیشینه جذب نمونه جذبی داشته باشد. در غیر این صورت عدد دستگاه فقط مربوط به نمونه نبوده و لذا نمی‌توان از آن برای اندازه‌گیری نمونه استفاده کرد.

### مبدل (دکتور)

بعد از ظرف نمونه، دکتور قرار دارد که وظیفه‌اش تبدیل انرژی پرتویی به انرژی الکتریکی است. برای این منظور لازم است تا دستگاه، تبدیل را با ضریب ثابتی انجام دهد. یعنی نسبت ثابت و مشخصی (K) بین قدرت پرتو (P) و برق تولیدی (G) وجود داشته باشد.

$G=KP$

به K ضریب ثابت حساسیت مبدل گویند. هر چه این ضریب بزرگتر باشد بهتر است چرا که مبدل می‌تواند پرتوی با قدرت خیلی کم را نیز به برق تبدیل کند.

در مبدل‌ها ضریب دیگری به نام  $K'$  وجود دارد که به آن جریان تاریک (Dark Current) گویند. این ضریب به ساختمان مبدل مربوط است. زمانیکه لامپ دستگاه اسپکتروفتومتر خاموش است و پرتویی وجود ندارد، مبدل برقی را نشان می‌دهد که از ساختمان آن ناشی می‌شود و برابر با  $K'$  است. مبدلی خوب است که  $K'$  ثابت و کوچکی داشته باشد. برای اندازه‌گیری باید این ضریب را صفر کرد.

ساختار مبدل‌ها به صورت Photo Tube یا Photo Multiple Tube است. فتوتیوب‌ها که فوتوسل نیز نامیده می‌شود، حبابی تحت خلأ دارد که کاتدی نیمه استوانه‌ای داشته و جنس آن از فلزی مانند سدیم است که به پرتو (فوتون) حساس است. در مقابل کاتد میله‌ای به عنوان آند وجود دارد. کاتد و آند به ولتاژ مستقیم وصل هستند. همین ولتاژ است که سبب ایجاد  $K'$  در دستگاه مبدل می‌شود. زمانیکه پرتو خروجی از ظرف نمونه وارد مبدل می‌شود، فوتون‌های موجود در پرتو ابتدا به کاتد برخورد کرده و سبب ساطع شدن الکترون از سطح آن می‌شوند. سپس این الکترون‌ها به واسطه پتانسیلی که بین کاتد و آند برقرار است، خود را به آند رسانده و این سبب ایجاد جریان برقی می‌شوند که با میلی آمپرسنج می‌توان آن را اندازه‌گیری کرد. هر چه قدرت پرتوی ورودی به مبدل بیشتر باشد، برق تولیدی نیز بیشتر خواهد بود. روی آمپرمتر را از ۰ تا ۱۰۰ تقسیم بندی کرده و در نتیجه برق تولیدی دستگاه به صورت Transmittance (عبور) نشان داده می‌شود.

از فوتوسل در اسپکتروفوتومترهایی می توان استفاده کرد که پرتوی موجود قدرت کافی داشته باشد تا بتواند ایجاد جریان برق کند. لذا در دستگاه های UV و Vis قابلیت استفاده دارد و در IR نمی توان از آن استفاده کرد. چرا که IR انرژی کمی دارد و نمی تواند سبب ساطع شدن الکترون از سطح کاتد شود.

نوع دیگر مبدل ها، Photo Multiple Tube است. در این مبدل نیز کاتدی وجود دارد که با برخورد پرتو به آن، الکترون از سطح آن ساطع می شود اما به دلیل وجود مانعی بین کاتد و آند، الکترون های تولیدی مستقیماً به آند نمی رود. در مقابل کاتد، کاتد دیگری وجود دارد که نسبت به آن آند محسوب می شود و به آن Dynode گفته می شود. داینود بسیار به الکترون حساس است. یعنی با برخورد یک الکترون به آن، دو الکترون از خود ساطع می کند. این دو الکترون به داینود بعدی برخورد کرده که این داینود نسبت به قبلی حساس تر است و بعد به داینود ۳ و به همین ترتیب تا داینود ۱۰-۱۱ ادامه می یابد که در نتیجه آن تعداد الکترون ها زیاد می شود. در نهایت تعداد بسیار زیادی الکترون به آند اصلی دستگاه برخورد کرده و در نتیجه برق بسیار زیادی از همان یک الکترون اولیه تولید می شود. پس این نوع مبدل دقت و حساسیت را افزایش داده و بر خلاف نوع قبلی می تواند پرتوهای با قدرت کم را نیز به برق تبدیل کند. این ویژگی امکان اندازه گیری غلظت های بسیار کم نمونه را نیز امکان پذیر می سازد.

### دستگاه های اسپکتروفوتومتر

این دستگاه ها به دو دسته مولکولی و اتمی تقسیم بندی می شوند. در ادامه به شرح برخی از این دستگاه ها پرداخته می شود.

#### ۱- اسپکتروفوتومترهای مولکولی

##### ۱-۱- اسپکتروفوتومتر جذبی مولکولی UV-Vis

این اسپکتروفوتومترها به دو دسته Single Beam و Double Beam تقسیم بندی می شوند. در نوع اول که تک فام نیز نامیده می شود، فقط یک محور پرتویی وجود دارد که ممکن است انواع طول موج ها را داشته باشد. این در حالی است که نوع Double Beam دارای دو محور پرتویی است.

اسپکتروفوتومتر UV-Vis تک فام، دارای دو لامپ تنکستن (منبع پرتو Vis) و دوتریوم (منبع پرتو UV) است. آینه ای کنار این لامپ ها قرار دارد که بسته به پرتو مورد نیاز، آینه در مقابل منبع مولد آن پرتو قرار گرفته تا پرتو تولیدی در آن افتاده و سپس از آن استفاده می شود. بعد از آن به ترتیب لنز موازی کننده، مونوکروماتور، ظرف نمونه، دتکتور و ثبات دستگاه قرار دارد. در این نوع اسپکتروفوتومتر، برای حذف جذب ناشی از حلال، یکبار در ظرف نمونه حلال را ریخته و میزان جذب تعیین می شود و بار دیگر در ظرف دستگاه، نمونه حل شده در حلال را

ریخته و جذب اندازه گیری شده و در نهایت با کسر جذب حلال از جذب نمونه حل شده در حلال، جذب نمونه به دست می آید.

در اسپکتروفوتومتر UV-Vis نوع Double Beam، تفاوتی که وجود دارد این است که بعد از مونوکروماتور، دو آینه وجود دارد که پرتو پس از برخورد به این دو آینه به دو پرتو با طول موج و قدرت یکسان تبدیل می شود. یکی از این پرتوها از ظرفی که فقط حلال در آن است عبور کرده و پرتو دیگر از ظرف حاوی نمونه و حلال عبور می کند و حال هر دو پرتو پس از عبور از ظروف مربوطه وارد مبدل می شوند. در مبدل میزان جذب حلال از جذب نمونه در حلال کم شده تا جذب نمونه به دست آید. مزیت این نوع اسپکتروفوتومتر نسبت به نوع قبلی این است که هر گونه خطا و تغییراتی ضمن اندازه گیری اتفاق افتد هم برای حلال و هم برای نمونه حل شده در حلال همزمان اتفاق می افتد ولی در نوع تک فام تغییرات ممکن است متفاوت باشد و این سبب خطا در اندازه گیری می شود.

به طور کلی در اسپکتروفوتومتر UV-Vis لازم است قبل از کار با دستگاه، صفر و صد دستگاه تنظیم شود. صفر دستگاه زمانی است که جذب کامل اتفاق می افتد و عبور صفر است. برای این منظور در مقابل پرتو بعد از مونوکروماتور، مانعی قرار می گیرد تا هیچ پرتویی عبور نکند و در نتیجه درصد عبور صفر خواهد شد. صد دستگاه زمانی است که هیچ جذبی اتفاق نیفتد و صد در صد پرتو عبور می کند. برای این منظور هیچ نمونه ای در دستگاه قرار نمی گیرد و در نتیجه تمام پرتو عبور می کند و صد دستگاه تنظیم می شود.

#### ۱-۲- فلوریمتر (Fluorimeter)

در دستگاه فلوریمتر از ویژگی نثری مولکولی ترکیبات فلورسانس استفاده می شود. در این دستگاه منبع پرتو لامپ زنون است. این لامپ دارای دو الکتروود و گاز زنون است که با برقراری ولتاژ بین دو الکتروود، گاز زنون تهییج شده و در آرامش پرتویی در محدوده ۲۵۰ تا ۶۰۰ نانومتر ساطع می کند. این پرتو واگرا بوده که توسط لنزی به صورت موازی در آمده و وارد مونوکروماتوری به اسم مونوکروماتور تهییج می شود که در آن از پرتوی وارد شده طیف تهیه شده و تک تک طول موجها را به نمونه می تاباند. نمونه طول موجها را جذب کرده و به ازای هر طول موج پرتویی با شدت مشخص ساطع می کند. طول موجی که در ازای آن پرتویی با بیشترین شدت ساطع می شود را طول موج بیشینه تهییج گویند. در مرحله بعد از مونوکروماتور فقط طول موج بیشینه تهییج انتخاب شده و به نمونه تابانده می شود. نمونه این پرتو را جذب کرده و پرتویی مخلوط از طول موجهای مختلف را ساطع می کند. از این پرتو در مونوکروماتور دیگری به اسم مونوکروماتور نشر، طیف تهیه می شود که یکی از این طول موجها بیشترین شدت را دارد و به آن طول موج بیشینه نشر گویند. در ادامه توسط مونوکروماتور طول موج بیشینه نشر انتخاب شده و به استانداردها و نمونه تابانده می شود و با استفاده از آن غلظت نمونه تعیین می گردد. هر چه غلظت نمونه بیشتر باشد،

شدت طول موج بیشینه نشر بیشتر خواهد بود. باید دقت کرد در این روش برای تعیین غلظت نمونه، جذب پرتو اندازه گیری نمی شود بلکه شدت طول موج بیشینه نشر که از نمونه ساطع می شود اندازه گیری می شود.

۲- اسپکتروفوتومترهای اتمی

۲-۱- Flame Photometer

در فوتومتر شعله ای که نوعی سیستم نشری- اتمی می باشد با استفاده از حرارت شعله، نمونه به اتم های خود تبدیل شده و سپس اتم های حاصل در اثر حرارت تهییج شده و در آرامش پرتو ساطع می کنند. بر اساس قدرت پرتو ساطع شده، غلظت نمونه اندازه گیری می شود. در ساختار شعله از ترکیب سوخت و اکسید کننده استفاده شده است. انواع سوخت و اکسید کننده ها قابل استفاده می باشد که ترکیبات مختلف درجه حرارت های مختلفی ایجاد می کند. هر چه این درجه حرارت بیشتر باشد، راندمان تبدیل نمونه به اتم هایش بیشتر خواهد بود و هر چه قدر راندمان بیشتر بیشتر باشد، دقت اندازه گیری بالاتر خواهد بود. همچنین در حرارت های بالاتر اندازه گیری مقادیر ناچیز نمونه امکان پذیر خواهد شد و در نتیجه در حرارت های بیشتر، حساسیت اندازه گیری نیز بیشتر خواهد شد. اما درجه حرارت بالا مشکلی هم دارد. وقتی درجه حرارت خیلی بالا رود، الکترون های اتم های نمونه به جای رفتن به لایه های الکترونی بالاتر، به طور کامل از اتم خارج شده و اتم به یون تبدیل می شود و از آنجاییکه اتم های تبدیل شده به یون اندازه گیری نمی شوند، در نتیجه خطا ایجاد می شود. پس باید درجه حرارت را در حد بهینه انتخاب کرد.

در ساختمان شعله سه قسمت وجود دارد: ۱- پایه شعله ۲- قسمت داخلی شعله (Inner cone) و ۳- قسمت خارجی شعله (Outer cone). شعله در قسمتی به اسم مشعل قرار دارد. توسط مشعل، سوخت، اکسید کننده و نمونه وارد پایه شعله می شوند. ابتدا سوخت و اکسید کننده که گازی هستند وارد شعله شده و در اثر سوختن آن ها، خلأ نسبی در محیط ایجاد شده و سبب مکش نمونه به پایه شعله می شود. نمونه به واسطه وجود سوراخ های ریز در پایه، به صورت قطرات ریزی در آمده و وارد پایه شعله می شود. در اثر حرارت پایه، حلال نمونه تبخیر شده و مولکول های نمونه به اتم تبدیل می شوند. اتم های حاصل وارد قسمت داخلی شعله که گرمترین قسمت شعله است شده و در اثر حرارت تهییج می شوند. سپس اتم های تهییج شده آرامش یافته و انرژی حرارتی دریافتی را به صورت پرتو ساطع می کنند. اتم های موجود در نمونه هر کدام طول موج های اختصاصی خود را ساطع می کنند. در نتیجه پس از شعله در این دستگاه ها مونو کروماتوری از نوع فیلتر جذبی قرار داده شده است تا فقط طول موج بیشینه نشر اتم مورد نظر را عبور دهد و سایر طول موج ها را جذب کند. بر این اساس طول موج خاصی از مونو کروماتور عبور کرده و وارد مبدل می شود. مبدل این پرتو را به برق تبدیل کرده و نهایتاً پس از تشدید جریان به وسیله Amplifier، ثبات دستگاه

قدرت پرتو ساطع شده از نمونه را به صورت جریان برق نشان می‌دهد که از آن برای تعیین غلظت نمونه استفاده می‌شود.

## ۲-۲- Atomic Absorption

در این دستگاه ابتدا نمونه به اتم‌های گازی تبدیل شده و این بار به جای اینکه پرتو ساطع شده از این اتم‌ها اندازه‌گیری شود، این اتم‌ها پرتو جذب می‌کنند و میزان جذب برای تعیین غلظت نمونه تعیین می‌گردد. در این دستگاه به جای یک شعله، مشعل پهنی وجود دارد که سطحی از شعله را ایجاد می‌کند. نمونه و سوخت و اکسیدکننده درون مخزنی وارد شده و پس از مخلوط شدن با یکدیگر، وارد مشعل می‌شوند. نمونه در آنجا در اثر حرارت به صورت اتم‌های گازی در می‌آید. این اتم‌ها تعدادی در اثر حرارت تهیج شده و تعدادی تهیج نشده باقی می‌مانند. اتم‌های تهیج شده پرتو ساطع می‌کنند ولی اتم‌های تهیج نشده پرتو جذب می‌کنند. در نتیجه در این روش بر خلاف روش قبلی اتم‌های تهیج نشده اندازه‌گیری می‌شوند.

در این دستگاه ابتدا منبع پرتویی وجود دارد که بسته به اتم مورد نظر، لامپ مخصوص آن استفاده می‌شود تا پرتوهای اختصاصی آن اتم توسط لامپ مخصوص ایجاد شود. پرتوی تولیدی وارد شعله که نمونه در آن قرار دارد شده و اتم‌های تهیج نشده پرتو را جذب می‌کنند. پس از آن مونو کروماتور وجود دارد تا فقط طول موج بیشینه جذب را عبور دهد و پس از آن مبدل قرار دارد. هر چه غلظت نمونه بیشتر باشد، جذب بیشتری اتفاق می‌افتد. نکته‌ای که در اینجا وجود دارد این است که ضمن عبور و جذب طول موج مورد نظر از شعله، اتم‌های تهیج شده نیز طول موج مورد استفاده را ساطع می‌کنند که این باعث افزایش قدرت پرتوی خروجی از شعله شده و در نتیجه غلظت نمونه کمتر از میزان واقعی تعیین می‌شود. برای حل این مشکل در مقابل منبع پرتو از صفحه چرخاننده پنکه‌مانندی استفاده شده است که پرتو خروجی از لامپ را منقطع کرده و در نتیجه پرتو به صورت متناوب وارد شعله شده و به صورت متناوب از آن خارج شده و برق تولیدی هم متناوب خواهد شد. در حالیکه اتم‌های تهیج شده پرتو مستقیم ساطع کرده و برق مستقیم تولید می‌کنند. حال با اندازه‌گیری برق متناوب، اثر مزاحمتی اتم‌های تهیج شده حذف می‌گردد.

مثال: فرض شود بخواهیم با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر میزان بنزوات سدیم نمونه‌ای اندازه‌گیری شود. ابتدا لازم است تا روش لازم مشخص شود. در اینجا از روش جذبی مولکولی و در نتیجه دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis استفاده می‌شود. برای این منظور ابتدا استخراج و آماده‌سازی نمونه انجام می‌شود. سپس استاندارد بنزوات سدیم در غلظت‌های مختلف تهیه می‌شود. با استفاده از استانداردها و میزان جذب طول موج بیشینه جذب توسط

آن‌ها، منحنی کالیبراسیون رسم می‌شود. به این صورت که غلظت نمونه روی محور افقی و میزان جذب روی محور عمودی برده می‌شود. سپس جذب نمونه مجهول تعیین شده و با استفاده از منحنی کالیبراسیون، غلظت بنزوات سدیم آن تعیین می‌گردد.

چنانچه طول موج بیشینه جذب مولکولی را ندانیم، لازم است تا Scanning (اسکن کردن) انجام شود. برای این منظور دستگاه تک تک طول موج‌ها را به نمونه تابانده و جذب نمونه برای هر یک را اندازه‌گیری می‌کند. در نهایت هر طول موجی که بیشتر از سایرین توسط نمونه جذب شده باشد را به عنوان طول موج بیشینه جذب تعیین می‌کند.