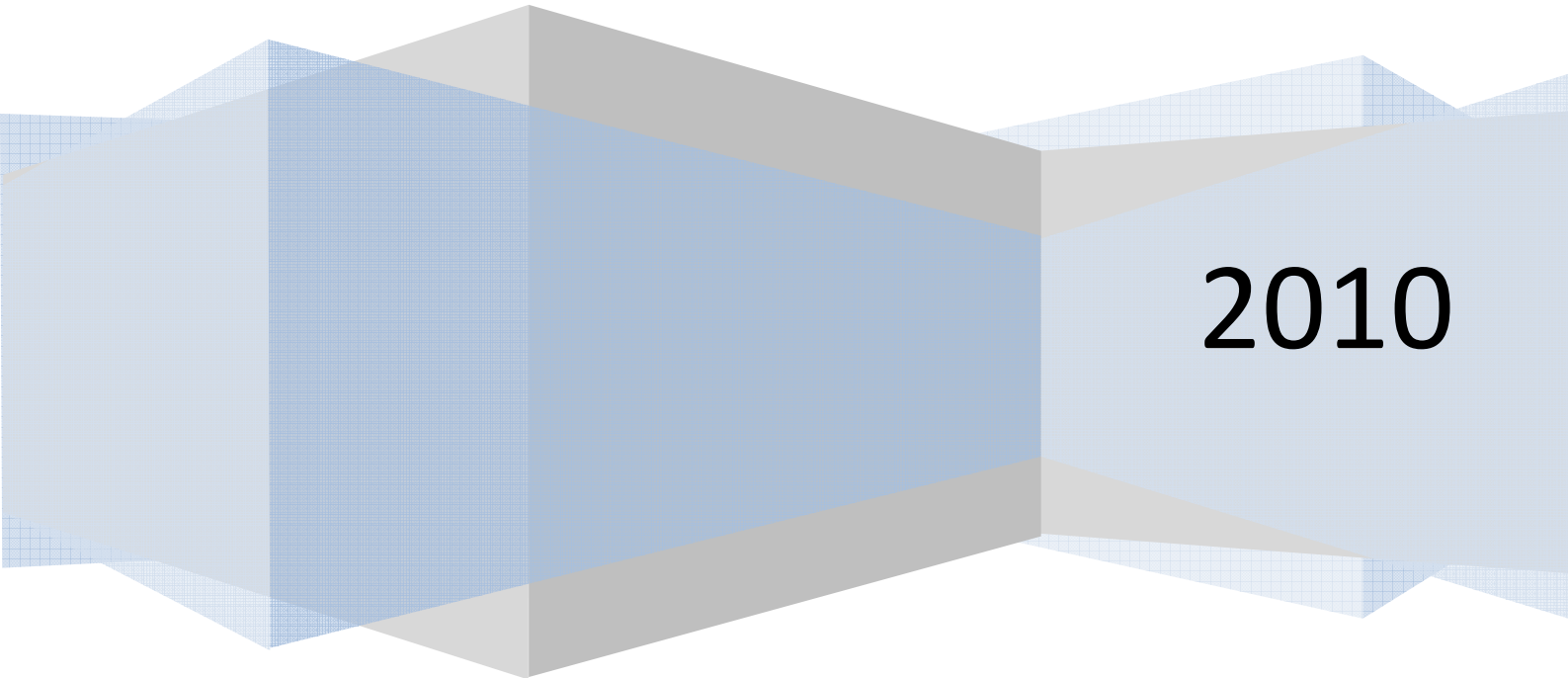


Spektrofotometry

MASZYNY I URZĄDZENIA CYRFOWE

M. Dziedzic kl.2f



2010

Spis treści

Co to jest	str. 3
Spektrofotometria	str. 3
Gdzie stosowany	str. 3
Spektrofotometry (podział ze względu na konstrukcję)	
• jednowiązkowe	str. 3
• dwuwiązkowe	str. 3
Spektrofotometry (podział ze względu na zakres pomiaru)	
• Spektrofotometr IR (na podczerwień)	str. 4
• spektrofotometr UV (na nadfiolet)	str. 4 - 5
• spektrofotometr VIS (na światło widzialne)	str. 5
Podział spektrofotometrów UV – VIS	
• klasyczny	str. 5
• z matrycą diodową	str. 5
Podstawowe części składowe spektrofotometrów UV – VIS	str. 6
Fotokomórki spektrofotometrów UV – VIS	str. 7
Podział spektrofotometrów UV – VIS ze względu na sposób rejestracji	
• punktowe	str. 7
• samorejestrujące	str. 7
Parametry spektrofotometru UV – VIS	str. 7
Zastosowanie spektrofotometrów UV – VIS	str. 8
Elementy spektrofotometru	str. 8 - 9
Przykłady	str. 9 - 10

SPEKTROFOTOMETR

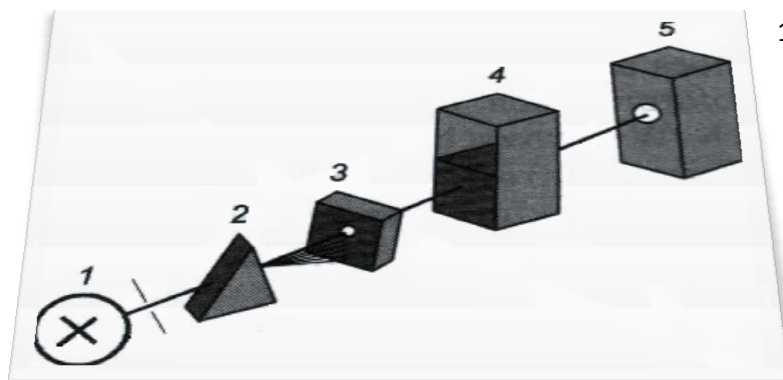
Jest to aparat umożliwiający równoczesną analizę spektralną światła i pomiar strumienia świetlnego. Rodzaj spektrometru optycznego, wyposażonego w wewnętrzne wzorcowe źródło światła, względem którego wykonuje się pomiar natężenia promieniowania światła w widmie badanego obiektu (np. gwiazdy, wygrzewanej próbki chemicznej itp.).

Spektrofotometria jest działem spektroskopii, obejmującym badania ilościowe i jakościowe substancji z wykorzystaniem spektrofotometrów. W badaniach wykorzystuje się trzy wielkości (wszystkie stanowią funkcje długości lub częstotliwości fali) charakteryzujące daną substancję: zdolność emisyjną, zdolność absorpcyjną i zdolność odbijającą.

Stosowany m.in. w absorpcyjnej analizie spektralnej do pomiaru przepuszczalności lub analizie ilościowej, jakościowej składu oraz absorpcji promieniowania w funkcji długości fali.

Ze względu na konstrukcję rozróżnia się spektrofotometry:

- **jednowiązkowe** - jedna wiązka przechodzi najpierw przez roztwór odniesienia, a następnie po zamianie kuwet, przez próbkę badaną;



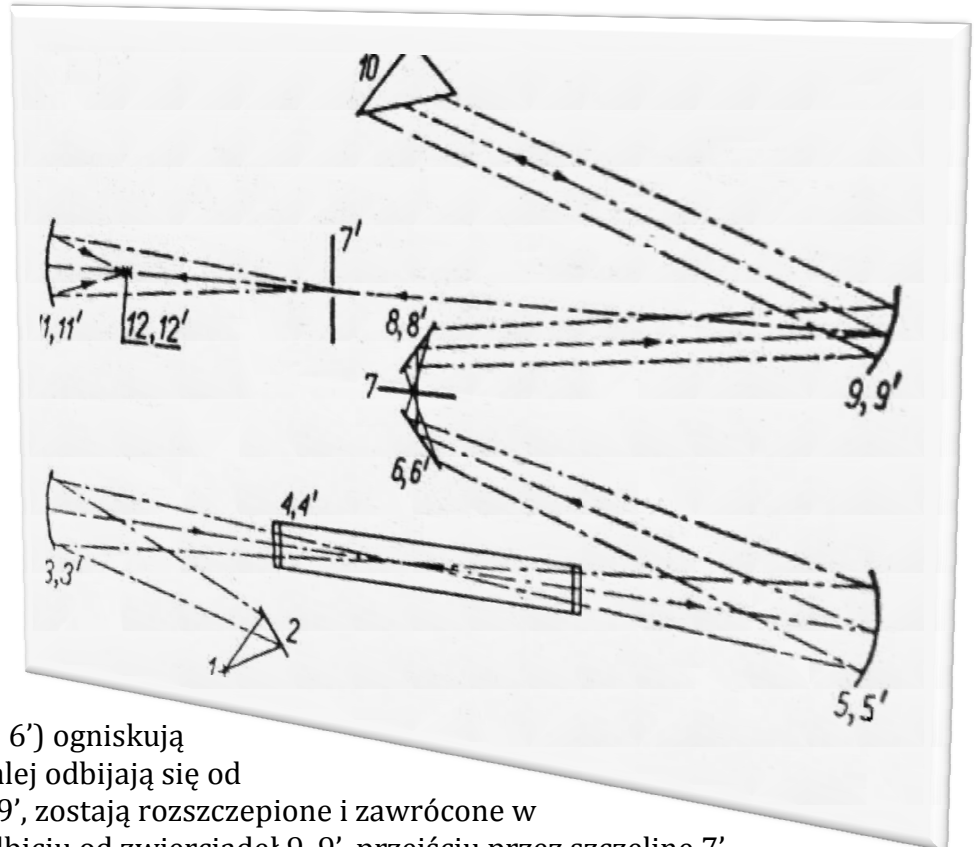
- 1 – źródło promieniowania
- 2 – monochromator
- 3 – szczelina
- 4 – próbka
- 5 – detektor

- **dwuwiązkowe** - wiązka promieniowania ze źródła jest dzielona przez odpowiedni układ na dwie równocenne wiązki pochodzące równolegle – jedna przez roztwór, a druga przez roztwór badany. Detektor wskazuje różnice absorbancji.

Ze względu na zakres pomiaru:

- **na podczerwień (spektrofotometr IR)** - budowane są jako tzw. jednowiązkowe według schematu ogólnego podobnego do spektrometru UV, albo jak tzw. dwuwiązkowe, eliminując od razu z krzywej absorpcji absorpcję odośnika oraz składników powietrza, przez które przebiega wiązka promieniowania.

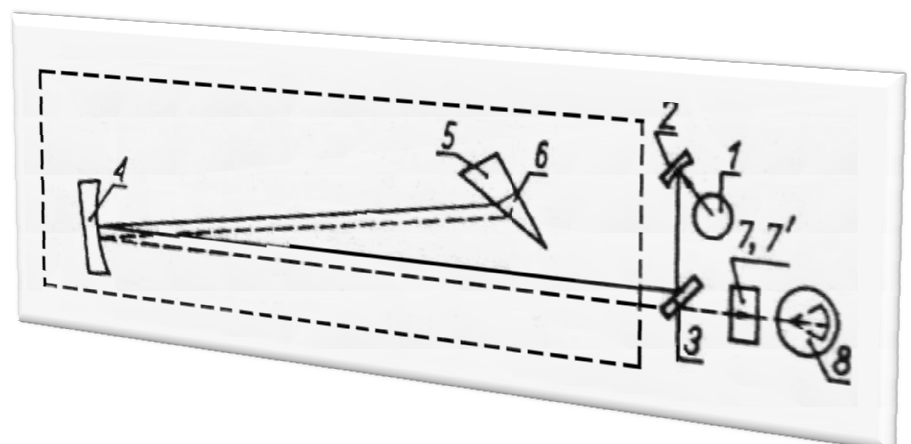
Wiązka promieniowania ze źródła 1, po odbiciu od zwierciadła 2, pada na dwa zwierciadła umieszczone nad sobą 3, 3' i zostaje rozdzielona na dwie wiązki biegnące dalej równolegle jedna nad drugą. Wiązki przechodzą odpowiednio przez kufy z próbką i odośnikiem 4, 4' i po odbiciu od zwierciadła (5, 5' i 6, 6') ogniskują się w szczelinie 7. Dalej odbijają się od zwierciadła 8, 8' i 9, 9', zostają rozszczepione i zawrócone w pryzmacie 10 i po odbiciu od zwierciadeł 9, 9', przejściu przez szczelinę 7' zostają za pomocą zwierciadła 11, 11' zogniskowane na końcach podwójnej termopary 12, 12'.



Zależne od badanego zakresu podczerwieni pryzmat wykonywany jest z monokryształu NaCl, KCl, KBr, LiI i in. Różnica prądów termopar rejestrowana jest automatycznie w sposób ciągły w postaci krzywej absorpcji.

- **na nadfiolet (spektrofotometr UV)** – za jego pomocą po zmianie źródła promieniowania można prowadzić pomiary w świetle widzialnym.*

Wiązka promieniowania ze źródła 1, po odbiciu od zwierciadeł 2, 3, 4, rozszczepia się w pryzmacie 5, zostaje zawrócona zwierciadłem 6 i po odbiciu od zwierciadła 4, przechodzi przez kufę próbkę lub odośnikiem (7, 7') i pada na fotokomórkę 8.

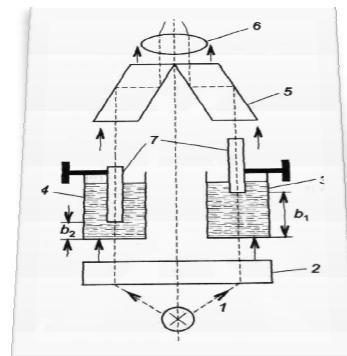


Układ optyczny wykonany jest z kwarcu. Zamiast pryzmatu bywa stosowana siatka dyfrakcyjna. **W zależności od sposobu pomiaru prądu fotokomórki różni się:** spektrofotometr z ręcznym nastawianiem długości fali promieniowania (przez odpowiednie ustawienie pryzmatu lub siatki dyfrakcyjnej) i każdorazowym kompensacyjnym pomiarem prądu fotokomórki za pomocą potencjometru wyskalowanego w jednostkach przepuszczalności lub wartości absorpcji oraz spektrofotometr z automatyczną rejestracją krzywej absorpcji.

**(Początki tej metody należy upatrywać w metodzie zwanej kolorymetrią, a pierwszymi przyrządami były wizualne kolorymetry – komparatory. Pomiar absorpcji promieniowania odbywał się przez porównanie intensywności zabarwienia dwóch roztworów, roztworów których jeden był roztworem wzorcowym, a drugi – roztworem badanym. Przykładem jest wizualny komparator (kolorymetr) Dubosq’a przedstawiony na schemacie.)*

- 1 – źródło światła
- 2 – zwierciadło
- 3, 4 – naczynia pomiarowe
- 5 – układ optyczny
- 6 – okular
- 7 – szklane walce

b_1, b_2 – grubość warstw roztworu

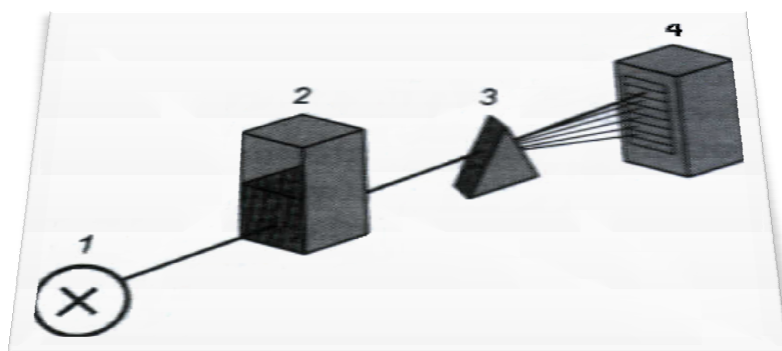


- **na światło widzialne (spektrofotometr VIS)** - zbudowane są według ideowego schematu odpowiadającego spektrofotometrowi na nadfiolet. Układ optyczny wykonany jest ze szkła.

Obecnie coraz częściej dzieli się spektrofotometrię UV –VIS na:

a) **spektrofotometrię klasyczną** - monochromator znajduje się przed próbką i przez próbkę przepuszcza się kolejne wiązki światła monochromatycznego, które sukcesywnie dochodzą do detektora;

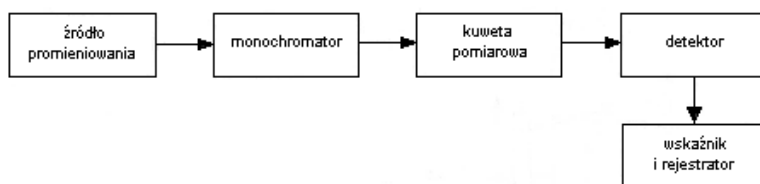
b) **spektrofotometrię z detekcją równoległą za pomocą matrycy diodowych** - przez próbkę przepuszcza się promieniowanie polichromatyczne, a rozszczepienie wiązki promieniowania następuje po przejściu przez próbkę. Z kolei całe widmo pada równocześnie na matrycę fotodiodową i następuje równoległa detekcja.



- 1 – źródło promieniowania
- 2 – próbka
- 3 – polichromator
- 4 – detektor z matrycy diodowej

Podstawowymi częściami składowymi spektrofotometrów UV – VIS są:

- źródło promieniowania
- monochromator
- komórka pomiarowa
- detektor mierzący natężenie promieniowania
- wskaźnik, rejestrator, komputer

*Schemat blokowy spektrofotometru UV – Vis***ad a) Źródło promieniowania**

Źródło musi pokryć cały zakres UV – VIS, tzw. zakres od 180 do 800 nm.

Stosowane są:

- Lampy deuterowe – w zakresie od 180 nm do 380 nm.
- Lampy wolframowo-halogenowe – powyżej 380 nm, przez zakres widzialny i bliską podczerwień.
- Wysokociśnieniowe łukowe lampy ksenonowe – są źródłem ciągłego promieniowania, pokrywającego cały zakres UV – Vis.

ad b) Monochromator

Monochromator ma za zadanie wybrać, z emitowanego przez źródło ciągłego promieniowania, wąskie pasmo o żądanej długości fali i przepuścić je przez komórkę z badaną substancją. **Monochromator składa się z:**

- szczeliny wejściowej,
- kolimatora,
- elementu rozszczepiającego promieniowanie,
- szczeliny wyjściowej.

ad c) Komórka pomiarowa

Absorpcję gazów i cieczy bada się w kuwetach. **Kuwety pomiarowe powinny:**

- zapewnić dokładnie znaną grubość warstwy absorbującej cieczy lub gazu;
- wykazywać odporność na działanie analizowanych substancji chemicznych;
- zapewnić w maksymalnym stopniu transmisję promieniowania.

ad d) Detektory

Stosowane w spektrofotometrach UV – VIS detektory fotoelektryczne przetwarzają energię promieniowania elektromagnetycznego na energię elektryczną. **Detektory powinny**

charakteryzować się:

- dobrą czułością, czyli niskim poziomem szumów własnych,
- szerokim zakresem liniowości wskazań, czyli proporcjonalnością przetwarzania sygnałów optycznych na elektryczne.

Z dużej grupy detektorów fotoelektrycznych w spektrofotometrach UV – VIS najczęściej są stosowane: 1) fotokomórki 2) fotopowielacze 3) fotodiody.

Z reguły w spektrofotometrach UV –VIS są zamontowane dwie wymienne fotokomórki:

- „niebieska” na zakres UV do 650 nm, z fotokadą antymonowocezwą, antymonowocezwą składzie Ag – stop Cs/Sb – Cs.
- „czerwona” na zakres powyżej 650 nm, z fotokadą zbudowaną z trzech warstw: Ag – stop Cs/CsO – Cs.

Ze względu na sposób rejestracji spektrofotometri UV –VIS można podzielić na:

- a) **spektrofotometri punktowe**, w których absorbancję mierzy się metodą wychyleniową lub kompensacyjną;
- b) **spektrofotometri samorejestrujące** – rejestrują widma absorpcji w układzie $%T = f(\lambda)$ lub $\epsilon = f(\lambda)$, $A = f(\lambda)$. Współczesne przyrządy tego typu zawierają układ komputerowy.

Znajomość charakterystycznych cech spektrofotometrów UV –VIS pozwala na ocenę klasy przyrządu i jego wartości użytkowej. **Przy ocenie takiej brane są pod uwagę różne parametry, a istotne znaczenie mają:**

1) zakres spektralny przyrządu

Spektrofotometri budowane są na nadfiolet (UV) i zakres widzialny (Vis), przy czym niektóre przyrządy obejmuje także bliską podczerwień (NIR). Typowy zakres pomiarowy obejmuje przedział widma od 180 nm do 800 nm. Są jednak przyrządy o zakresie pomiarowym od 185 nm do 3000 nm oraz przyrządy o rozszerzonym krótkofalowym zakresie pomiarowym rozpoczynającym się od 165 nm.

2) Spektralna zdolność rozdzielcza (rozdzielczość)

Za miarę rozdzielczości spektralnej przyjmuje się najmniejszą możliwą do uzyskania w danym przyrządzie szerokość spektralną wiązki przy danej długości fali.

Dla przyrządów różnej klasy wielkość ta jest zawarta w granicach od 1 nm do 0,1 nm, a wartością najczęściej spotykaną jest $\approx 0,1$ nm.

3) Szerokość spektralna wiązki

Szerokość spektralna wiązki w spektrofotometrach UV – Vis jest różna, w przyrządach wysokiej klasy może mieć wartość 0,05 nm, a w przyrządach niższej klasy może wynosić 2 nm, 5 nm, a nawet 10 nm.

4) Dokładność skali absorpcji

Wielkość ta ma istotne znaczenie dla ilościowej oceny wyników i ma wpływ na dokładność i precyzję oznaczeń. Różne przyrządy pozwalają na odczyt absorpcji z różną dokładnością od $\pm 0,5$ do 0,0008.

5) Procentowa zawartość światła rozproszonego

Światło rozproszone ma wpływ na odchylenia od praw absorpcji i w sposób istotny wpływa na zakres prostoliniowości wskazań przyrządu. Wielkość ta dla przyrządów niższej klasy może mieć wartość nawet 1%, a dla przyrządów wysokiej klasy ilość światła rozproszonego jest mniejsza od 0,00012%. Duża różnorodność spektrofotometrów UV – Vis znajdujących się w handlu pozwala wybrać przyrząd odpowiadający parametrami potrzebom danego laboratorium. Należy jednak pamiętać, że przyrządy te w zależności od klasy różnią się w sposób zasadniczy ceną.

Zastosowanie spektrofotometrów UV –VIS:

Spektrofotometria UV – Vis należy do najczęściej wykorzystywanych metod instrumentalnych w analizie ilościowej. **Główne zalety tej metody, to:**

a) Dobra czułość

Obiektywnym liczbowym wykładnikiem czułości metod spektrofotometrycznych jest molowy współczynnik absorpcji ϵ , odpowiadający λ_{\max} badanego roztworu.

Wartości ϵ dla metod czułych wynoszą powyżej $10\,000\text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, a współczynnik ϵ o wartościach poniżej $1000\text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ odpowiada metodom mało czułym. Granicę oznaczalności w metodach spektrofotometrycznych określa się za pomocą współczynnika W_k , który wyraża wartość stężenia analizowanej substancji w $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$, gdy grubość warstwy absorbującej b wynosi 1 cm.

b) Dobra precyzja oznaczeń

Precyzja oznaczeń zależy od zakresu oznaczonych stężeń i od klasy stosowanych aparatów. W metodach spektrofotometrycznych można uzyskać wyniki, których błąd nie przekracza $\pm 0,2\%$.

c) Selektywność oznaczeń

Jest uwarunkowana selektywnością absorpcji z jednej strony i selektywnością odczynników wywołujących barwną reakcję z substancją oznaczoną z drugiej strony.

Te dwa czynniki pozwalają na osiągnięcie dobrej selektywności w szczególności w oznaczeniach kationów metali.

Możliwość praktycznych zastosowań metod spektrofotometrycznych UV – Vis są różnorokie. A oto kilka przykładów takich zastosowań:

- 1) W analizie ilościowej kationów metali
- 2) W analizie ilościowej anionów nieorganicznych
- 3) W analizie ilościowej związków organicznych
- 4) Do badań równowag reakcji chemicznych

Spektrofotometrię UV –VIS wykorzystuje się w szczególności do:

- a) wyznaczania stałych dysocjacji kwasów i zasad,
- b) ustalania składu i stałych trwałości związków kompleksowych.

Poszczególne grupy przyrządów mogą różnić się pewnymi częściami, jednak zasadnicze elementy spektrofotometrów są identyczne. **Możemy wyróżnić następujące składowe spektrofotometru:**

- **źródło promieniowania** – np. lampy: wodorowa lub deuterowa dla zakresu UV, wolframowa lub halogenowa dla zakresu VIS;
- **monochromator** – jego zadaniem jest rozszczepienie polichromatycznego emitowanego przez źródło promieniowania i wyodrębnienie wąskiego zakresu długości fali. Zbudowany jest z kolimatorów (układów przesłonek służących do uzyskania równoległej wiązki promieniowania) na wejściu i wyjściu oraz pryzmatu lub siatki dyfrakcyjnej zastosowanych do rozszczepienia światła. Po przejściu przez monochromator promieniowanie pada na odpowiednio wąską szczelinę wyodrębniającą pożądany zakres promieniowania;
- **kuweta pomiarowa** - specjalne naczynie zawierające roztwór badany lub odnośnik. W zależności od warunków pomiarowych może być szklana (zakres fal o długości 340–900 nm), kwarcowa (fale 190–1100 nm) lub z tworzywa

sztucznych (zakres VIS). Długość drogi optycznej waha się zwykle od 5 do 100 mm (dla zakresu VIS 10–20 mm);

- **detektor** - przetwarza energię padającego promieniowania elektromagnetycznego na energię elektryczną. (Sygnał elektryczny jest proporcjonalny do odbieranego sygnału optycznego.) Funkcję tę spełnia fotokomórka, fotopowielacz, fotoopornik lub fotodioda;
- **układ pomiarowy (rejestrator)** – galwanometr lub mikroprocesor. Obecnie jest to zazwyczaj ten ostatni. Komputery pozwalające na rejestrację i matematyczną obróbkę danych wymagają specjalnego oprogramowania.

Przykłady:

Spektrofotometria UV-VIS - Specord M40 - Zeiss dwuwieżkowy spektrofotometr UV-VIS

Parametry:

Zakres długości falowej: 185 – 900 nm

Szerokość spektralna: 0.4 do 16 nm

Dokładność długości falowej: 0.25 nm

Powtarzalność długości falowej: < 0.1 nm

Zakres pomiaru absorpcji: 0 do 3.99 ABS

Aparat może współpracować także z dowolnym komputerem PC. Dzięki temu dostępne są następujące funkcje:
pełne sterowanie z komputera
zapisywanie widm na dysku komputera
zapisywanie na dysku i odtwarzanie parametrów programów pomiarowych oraz wartości korekcyjnych
analizę i obróbkę widm
drukowanie widm i wyników na drukarce komputerowej

Cena netto: od 7 200,- zł (aparat bazowy bez kosztów dostawy, uruchomienia i akcesoriów)

Gwarancja: 12 miesięcy.



Spektrofotometria typu Spekol

Spektrofotometria niemieckiej firmy Analytik Jena AG typu Spekol. Tym razem producent zadbał nie tylko o jakość, ale także o cenę. Do wyboru: **Spekol 1300**, **Spekol 1500** oraz **Spekol 2000**. Wszystkie pracują w zakresie długości fali od 190 do 1100 nm. Spekole 1300 i 1500 są spektrofotometrami jednowieżkowymi, przy czym Spekol 1500 posiada w odróżnieniu od modelu 1300 węższą szerokość szczeliny oraz duży, graficzny wyświetlacz. Spekol 2000 natomiast jest aparatem dwuwieżkowym ze zmienną szczeliną, pracujący w oparciu o zewnętrzny komputer.



Wszystkie modele posiadają automatyczny systemy samokontroli poszczególnych parametrów (Automatic Self Check System), umożliwiają pomiary ilościowe, kinetyczne, a także poprzez specjalne oprogramowanie analizę

DNA i protein. Dodatkowo modele jednowiązkowe wyposażone są w standardzie w cztero-pozycyjny zmieniacz kuwet.

Spektrofotometry typu Specord

Charakteryzujące się obecnie przede wszystkim bardzo wysokimi parametrami technicznymi, dużą niezawodnością (standardowo gwarancja 36 miesięcy na aparat oraz 10 lat na optykę) oraz bardzo intuicyjnym, rozbudowanym oprogramowaniem przy jednoczesnym zachowaniu dużej prostoty w standardowych, rutynowych analizach.

Spektrofotometry pracują w oparciu o dwie lampy – lampę deuterową dla zakresu UV i lampę halogenową dla zakresu VIS, czyli o sprawdzone rozwiązanie gwarantujące maksymalną dokładność. Wszystkie modele mogą być rozbudowane o wiele akcesoriów dodatkowych, które wstawiane są w obszerną komorę pomiarową i sterowane bezpośrednio poprzez zewnętrzne oprogramowanie. Do wyboru m. in.: zmieniacze kuwet, kuwety przepływowe, przystawki termostатовane elementem Peltier z odczytem temperatury wewnątrz kuwety, przystawki odbiciowe, przystawki dla ciał stałych. Wszystkie modele pracują w oparciu o zewnętrzny komputer. Gwarancja: 24 miesiące



<http://pl.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometr>

<http://portalwiedzy.onet.pl/33191...spektrofotometr.haslo.html>

<http://portalwiedzy.onet.pl/50390...spektrofotometria.haslo.html>

<http://www.sciaga.pl/tekst/56671-57-spektrofotometria-uv-vis>

<http://www.medson.pl/html/c1/id/96/spektrofotometry-uv-vis-specord-m40-zeiss-dwuwi%C4%B9zkowy-spektrofotometr-uv-vis/>

<http://www.meranco.pl/?idkat=76>