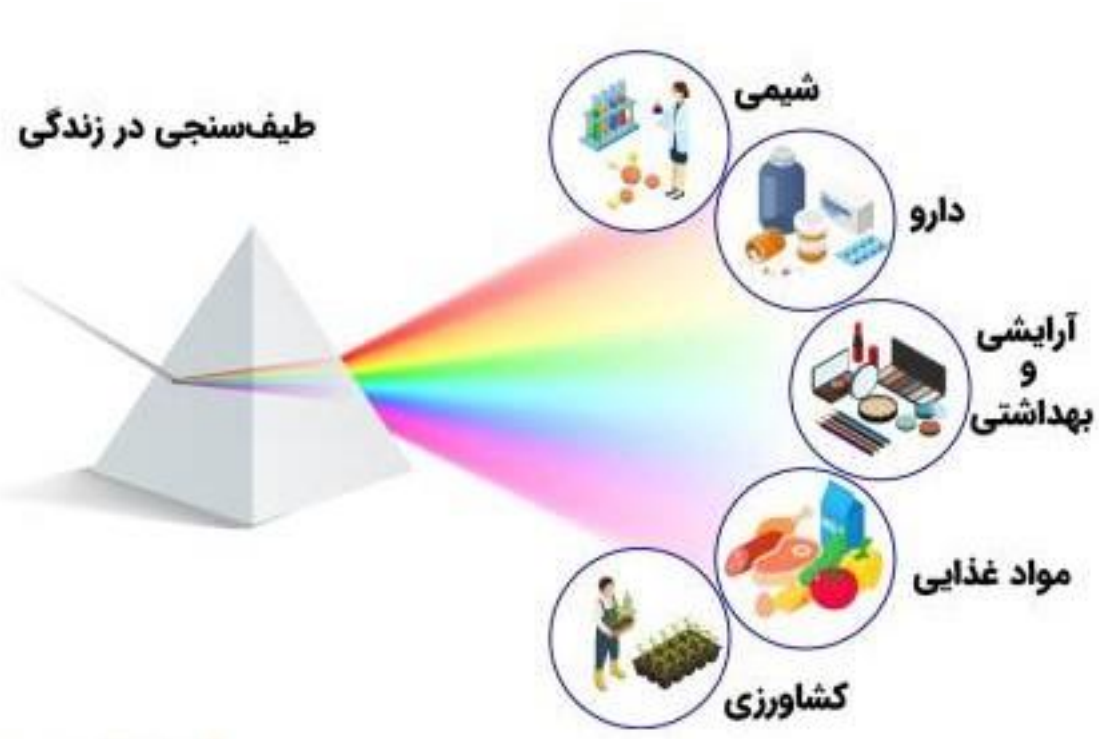
آزمایش شماره 3

اسپکتروسکوپی یا بیناب سنجی نوری



۳-۱ هدف آزمایش:

بررسی طیف نشری منابع نوری مختلف

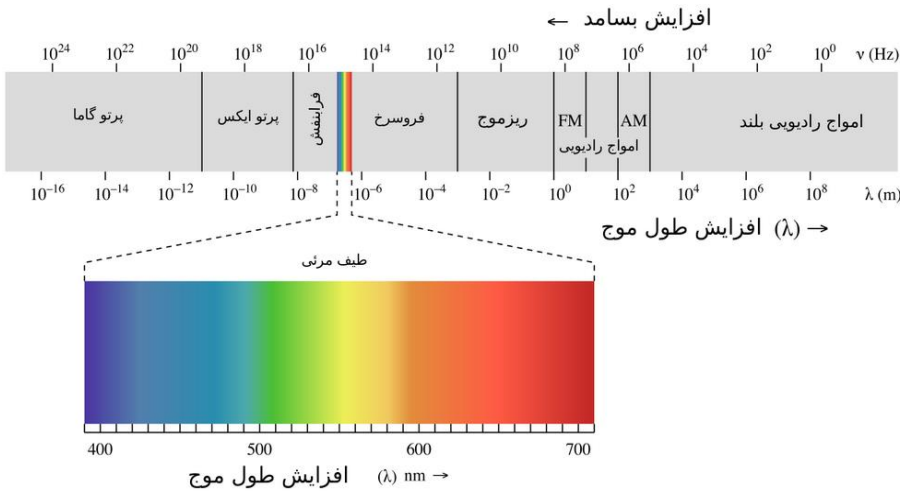
بررسی طیف جذبی نور لامپ تنگستن در مایعات مختلف

۳-۲ وسایل موردنیاز:

اسپکتروسکوپ، خط کش میکرومتری، منابع نوری شامل لامپ تنگستن، کادمیم، روی و فلورسنت، مواد جاذب شامل آب، الکل و سولفات مس.

۳-۳ تئوری آزمایش:

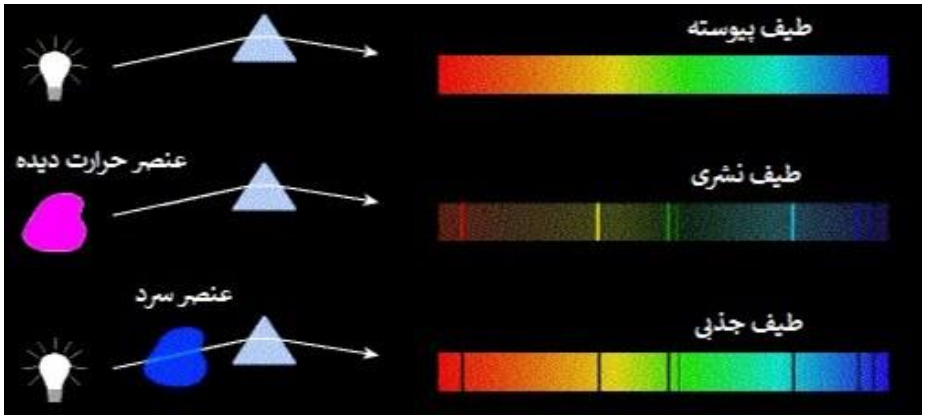
طیف‌نمایی یا اسپکتروسکوپی[1] مطالعه ماده و خواص آنها با بررسی نور، صوت و ذرات گسیل شده، جذب شده توسط ماده موردنظر است. اسپکتروسکوپی به‌عنوان مطالعه بر همکنش بین نور و ماده نیز تعریف می‌شود. از لحاظ تاریخی طیف نمایی به شاخه‌ای از علم برمی‌گردد که نور مرئی برای مطالعات نظری در ساختار ماده و آنالیزهای کیفی و کمی استفاده می‌شد. اگرچه اخیراً به‌عنوان یک تکنیک جدید نه فقط برای نور مرئی بلکه بسیاری از اشکال تابش‌های الکترومغناطیسی و غیر الکترومغناطیسی مانند میکرو موج‌ها، امواج رادیویی، اشعه ایکس، الکترون‌ها و غیره بکار برده می‌شود.



شکل 1 طیف امواج الکترومغناطیس و ناحیه مربوط به امواج نور مرئی

[1] Spectroscopy

همچنین طیف نمایی اغلب در شیمی‌فیزیک (به طور مثال در نوعی تصویربرداری ام‌آرآی) و شیمی تجزیه برای شناسایی ماده از طریق بیناب گسیلی یا جذبی از آنها بکار برده می‌شود. وسیله‌ای که بیناب هر ماده را ثبت می‌کند بیناب‌سنج یا اسپکترومتر نام دارد.



شکل 2 طیف جذبی گسسته و نشری پیوسته و گسسته توسط منبع های نوری مختلف

اساس روش‌های طیف‌سنجی نوری، بر برانگیختگی اتم و رابطه آن با جذب یا نشر پرتو الکترومغناطیس استوار است. زمانی که الکترون‌های مدار ظرفیت، به تراز بالاتر انرژی، برانگیخته می‌شوند، در هنگام برگشت به حالت ابتدایی، از خود انرژی نورانی تابش می‌کنند که طول‌موج آن در گستره امواج فرابنفش یا مرئی است. این نشر یا جذب پرتو که ناشی از تغییر انرژی ترازهای بیرونی اتم است، برای هر اتم مقدار مشخصی بوده و بنابراین می‌توان با مطالعه طیف مربوط به این جذب یا نشر، اتم موردنظر را شناسایی کرد. در هر دمایی، بخش مشخصی از اتم‌ها در حالت انرژی پایین بوده که چنین اتم‌هایی توانایی جذب پرتو و برانگیختگی را دارند. هم چنین بخش مشخصی در حالت انرژی بالا و توانایی تابش هستند. باید توجه کرد که هر دو حالت، فقط درصدی از اتم‌ها توانایی جذب تابش را دارند. این درصد برای هر روش و شرایط کاری ویژه، ثابت است. ثابت‌بودن مقدار مورد اشاره، این امکان را در روش‌های طیف‌سنجی نوری فراهم می‌کند که با استفاده از مقادیر جذب یا نشر، به‌صورت مقایسه‌ای، بتوان عنصرهای موجود در نمونه مجهول را به‌صورت کمی تعیین کرد. به همین دلیل تا آنجا که ممکن است باید شرایط کاری در روش‌های طیف‌سنجی نوری، استاندارد نگاه‌داشته شود. روش‌های طیف‌سنجی نوری گوناگون است؛ ولی مطابق شکل زیر می‌توان آن‌ها را بر اساس جذب یا نشر نور به دو گروه کلی دسته‌بندی کرد. دو روش اصلی که بر پایه جذب نور بنا شده‌اند، طیف‌سنجی جذب اتمی و طیف‌سنجی جذب نوری هستند. در این روش‌ها، طیف جذبی عنصرهای موجود در نمونه که از جذب طول‌موج مشخصی از پرتو تابیده به نمونه به دست می‌آید شناسایی می‌شود. در این حالت، اتم‌ها باید در شرایط مناسبی باشند تا امکان برانگیختگی در اثر جذب نور را پیدا

کنند. به‌عبارت‌دیگر، چون چشمه برانگیختگی در این روش‌ها ضعیف است، هر چه اتم‌ها به حالت آزاد و جدا از هم باشند، برانگیختگی آن‌ها ساده‌تر خواهد بود. طیف‌سنجی نوری، بر اساس نشر نور، در برگیرنده همه روش‌هایی است که در آن‌ها به‌گونه‌ای اتم‌ها در شرایط برانگیخته و در نتیجه طول‌موج‌های ویژه قرار داده می‌شوند و از مطالعه طیف نشری آن‌ها، می‌توان به حضورشان در نمونه پی برد. این برانگیختگی ابتدایی، توسط شعله، پلاسما، جرقه و مانند آن امکان‌پذیر است و بنابراین چنین روش‌هایی بیشتر بر مبنای چشمه برانگیختگی شناخته می‌شوند. برانگیختگی ابتدایی در روش طیف‌سنجی نشر شعله، توسط شعله و در روش طیف‌سنجی با تخلیه الکتریکی، توسط تخلیه الکتریکی است. همچنین در روش طیف‌سنجی نشری جرقه، به کمک یک جرقه و در روش پلاسما به کمک یک پلاسمای جفت شده القایی پدید می‌آید.

اسپکتروسکوپ

اسپکتروسکوپ که برای بررسی طیف هر نوع چشمه نور به کار می‌رود و اساس کار آن تجزیه رنگ‌های متفاوت است شامل چهار قسمت است که عبارت‌اند از:

1- لوله موازی‌کننده یا کولیماتور: که در جلوی آن شکاف قابل تنظیمی وجود دارد که به‌وسیله پیچی می‌توان عرض آن را کم‌وزیاد کرد. این شکاف در کانون عدسی کلیماتور قرار دارد و درنتیجه نوری که از شکاف وارد می‌شود به‌صورت دسته پرتو موازی از کلیماتور خارج می‌گردد. برای به‌دست‌آوردن طیفی مشخص باید شکاف تاحدامکان باریک باشد.

2- منشور: نور موازی خارج شده از کولیماتور به منشور می‌تابد و پس از انحراف تجزیه می‌شود. این منشور طوری قرار گرفته که رأس آن قائم، یعنی به‌موازات شکاف کولیماتور باشد و نسبت به جهت تابش اشعه در وضعیت مینیمم انحراف قرار دارد. دسته پرتوی نور ضمن گذشتن از منشور به‌طرف قسمت ضخیم آن شکسته می‌شود و میزان شکست آن برای نور بنفش بیشتر و برای نور قرمز کمتر است؛ بنابراین نور قرمز در بالا و بنفش در پایین قرار دارد.

3- دوربین: نور پس از شکست و تجزیه در منشور به‌صورت دسته پرتوهای موازی و رنگین جداگانه درمی‌آید که پس از انکسار در یک عدسی همگرا در سطح کانونی آن جمع می‌شود و روی‌هم طیفی را تشکیل می‌دهد. آنگاه به‌وسیله ذره‌بین می‌توان این طیف را بزرگ‌تر از آنچه هست نشان داد.

4-میکرومتر: برای تقسیم‌بندی مشخص طیف از میکرومتر استفاده می‌شود. این لوله عبارت است از یک **عدسی همگرا، یک شیشه مدرج** و **یک منبع نور**.

شیشه مدرج در کانون عدسی همگرا قرار دارد و دارای درجه‌بندی میکرومتر است. پس از روشن‌شدن منبع روشنایی تصویر درجات پس از عبور از عدسی بر روی سطح منشور منعکس و به‌گونه‌ای روی طیف منطبق می‌گردد که رنگ قرمز و بنفش بر روی درجات مربوط قرار گیرند. به همین سبب برای جابه‌جایی تصویر درجه‌بندی از بالابه‌پایین یا از راست به چپ روی لوله میکرومتر چند پیچ تعبیه شده که به کمک آن‌ها می‌توان تصویر درجه‌بندی را به طور واضح تنظیم کرد.

شکل 3 طیف جذبی گسسته و نشری پیوسته و گسسته توسط منبع های نوری مختلف

کاربرد اسپکتروسکوپی در پزشکی

اسپکتروسکوپی در رشته‌های مختلف پزشکی و مهم‌تر از همه در پزشکی قانونی جهت مطالعه مسمومیت‌ها، قتل‌ها و ... استفاده می‌شود و اساس بیوشیمیایی آن بر پایه خواص جذبی طیف هموگلوبین خون استوار است. برای راحتی کار در بالای طیف مورد آزمایش یک طیف سفید برای مقایسه قرار می‌دهند (بدیهی است برای این کار باید از اسپکتروسکوپی مقایسه‌ای استفاده نمود)

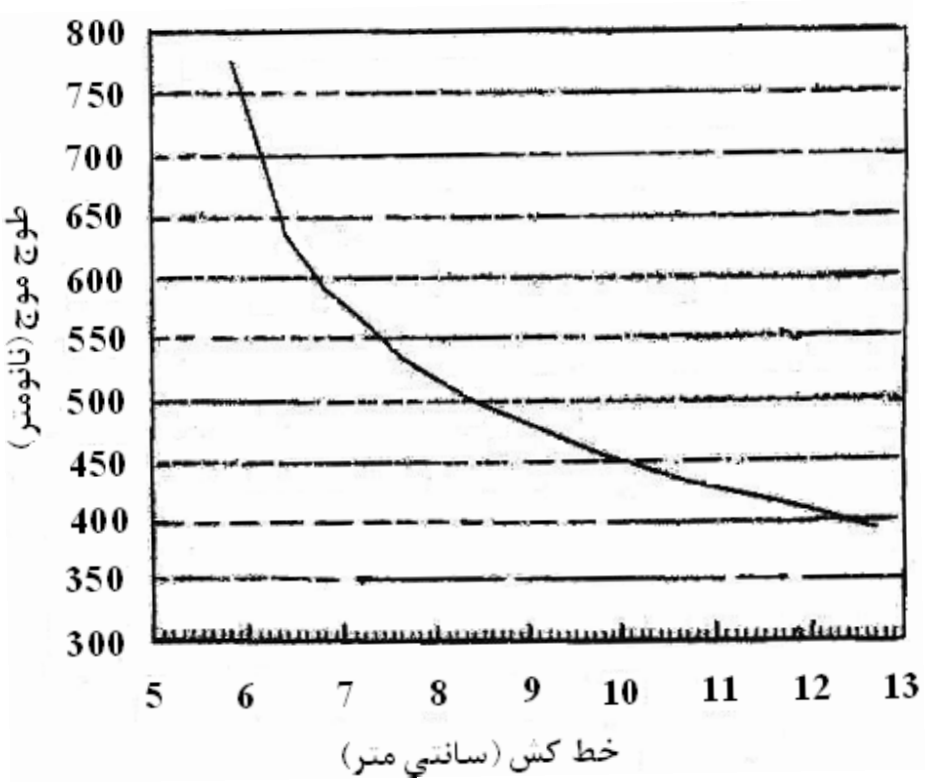
طیف جذبی اکسی هموگلوبین خون: برای تهیه این طیف مقداری خون از شریان می‌گیریم و پس از رقیق کردن، آن خون را در ظرفی مکعب‌شکل می‌ریزیم و جلو شکاف قرار می‌دهیم منبع نور می‌تواند چراغ تنگستن باشد. در

دوربین دو نوار سیاه جذبی یکی در منطقه زرد و دیگری در منطقه زرد سبزرنگ دیده می‌شود بین این دو نوار، رنگ زرد روشن می‌بینیم.

طیف جذبی هموگلوبین احیا شده: اگر خون شریانی را به‌وسیله موادی احیاکننده مانند سولفور آمونیوم یا سولفور سدیم احیا کنیم به خون وریدی تبدیل می‌شود که در آن هموگلوبین به‌صورت احیا شده وجود دارد. نوار جذبی این خون در منطقه دو نوار تاریک اکسی هموگلوبین واقع شده و از آن دو پهن‌تر است این طیف جذبی را باند استوکس می‌نامند. لکه‌های خون درصورتی‌که خیلی کهنه نباشد در روی پارچه سفید یا کم‌رنگ مشخص هستند؛ ولی هرگاه بر روی پارچه تیره باشند و یا این لکه، لکه خون کهنه باشد تشخیص آن مشکل است و شباهت زیادی به لکه‌های رنگ آهن، میوه و غیره دارد. در این صورت لازم است به‌وسیله امتحانات شیمیایی خون بودن آن را اثبات نمود. به طور مثال برای اثبات خون مقتول بر روی البسه قاتل لکه خون را در یک یا دوسانتی مترمکعب آب حل و با اسپکتروسکوپ نوارهای اکسی هموگلوبین را در فواصل 577 nm و 540 مشاهده می‌کنیم که به‌وسیله مواد احیاکننده می‌توان آن را به باند استوکس تبدیل کرد. با لکه‌های خون کهنه چندروزه در قسمت قرمز باند نواری با طول‌موج 637 nm موسوم به نوار مت هموگلوبین دیده می‌شود. نکته قابل تذکر این است که مت هموگلوبین، هموگلوبینی است که در آن آهن دوظرفیتی اکسید شده و به آهن سه‌ظرفیتی تبدیل می‌شود و در نتیجه هموگلوبین قادر به ترکیب با اکسیژن و رساندن اکسیژن به سلول‌ها برای بقای حیات نیست موادی که باعث تبدیل هموگلوبین به مت هموگلوبین می‌شوند جزء مواد سمی محسوب می‌گردند.

منحنی کالیبراسیون

منحنی کالیبراسیون در آزمایش اسپکتروسکوپی جهت تبدیل عدد ظاهر شده رو خط کش نوری به طول‌موج نور است. بدین صورت که بعد از مشاهده طیف نشری یا جذبی مواد توسط اسپکتروسکوپ، با استفاده از منحنی کالیبراسیون نور تجزیه شده توسط منشور را شناسایی می‌کنیم.



شکل 4 منحنی تبدیل اعداد خوانده شده توسط خط کش نوری به طول موج منبع نور.

قسمت اول آزمایش:

بررسی طیف نشرهای منابع مختلف نوری

روش انجام آزمایش: ابتدا منابع نوری را جلوی روزنه یا دیافراگم قرار می‌دهیم و سپس یک منبع نور معمولی را جلوی شیشه میکرومتر روشن می‌کنیم. لوله دوربین را طوری تنظیم می‌کنیم که طیف حاصله از منبع مورد آزمایش دیده شود. هم زمان با آن درجه‌های خط کش میکرومتری نیز باید روی طیف دیده شود. محدوده نورهای موجود روی طیف را بر حسب طول خط کش روی یک محور رسم نمایید، سپس با استفاده از منحنی کالیبراسیون آن را به طول‌موج تبدیل نمایید.

قسمت دوم آزمایش:

بررسی طیف موجود در نور یک لامپ فلورسنت و شناسایی مواد موجود در آن

روش انجام آزمایش: یک لامپ فلورسنت رومیزی را روی نصف اسپکتروسکوپ قرار دهید. سپس همانند حالت قبل طیف نورهای منتشره را برحسب λ به دست آورید. با مقایسه این طیف با طیف نشری مواد موجود تعیین کنید کدام مواد در داخل آن وجود دارند و چرا؟

قسمت سوم آزمایش:

بررسی طیف جذبی نور لامپ تنگستن در مایعات مختلف

روش انجام آزمایش: ابتدا لامپ تنگستن را جلوی روزنه قرار دهید و سپس مابین روزنه و منبع نور لوله‌های آزمایش که از محلول‌های مختلف تشکیل شده است را قرار دهید. پس از گذاشتن محلول، طیف جذبی را رسم کرده و با طیف نشری اولیه مقایسه کنید. برای هر محلول تعیین کنید که چه قسمتی از بیناب حذف شده است؟ تمام طیف‌های نشری را در گزارش رسم کنید.

فلورسنت	آب	الکل	پرمنگنات	سولفات مس	روی	کادمیوم	تنگستن	رنگ
								قرمز
								نارنجی
								زرد
								سبز
								آبی
								نیلی
								بنفش
								نوع طیف

سؤالات:

1) نور گسیلی از فلورسنت چه نوع نوری است؟ دلیل آن چه چیزی است.
2) در طیف نشری و جذبی زمینه طیف به چه رنگی است و چرا؟
3) آزمایشی طراحی کنید که وجود پروتئین در ادرار تشخیص دهد.