

دستورالعمل فنی دستگاه اسپکتروفتومتر*

کلیات

اساس کار اسپکتروفتومتر، اندازه‌گیری شدت نور در طیفی از طول موج است که توسط منشور (greeting) ایجاد گردیده است.

چگونگی کاربری

براساس مندرجات کتابچه راهنمای کارخانه سازنده به کار گرفته می‌شود.

نحوه نگهداری

سرویس سالانه توسط شرکت پشتیبان دستگاه صورت می‌گیرد.

کنترل کیفیت

کنترل کیفی اسپکتروفتومتر شامل ارزیابی صحت طول موج، خطی بودن (linearity)، صحت فتومتریک، کنترل تعویض لامپ، رانش فتومتری (آزمون پایداری نسبت به زمان)، یکسانی کووت‌ها و کنترل بهنای نوار طیفی (SBW) است.

• صحت طول موج

ارزیابی صحت طول موج به منظور اثبات ادعای سازنده سامانه در تاباندن طول موجی است که دستگاه برای آن کالیبر گردیده است.

بررسی صحت طول موج از طریق جایگزینی منبع نوری معمولی اسپکتروفتومتر با منبع نوری دارای حداکثر تابش (مثل لامپ جیوه یا دوتریوم) یا استفاده از فیلترهای شیشه‌ای یا از طریق محلول‌های رنگی به شرح زیر است:

- ۱- محلول دی‌کرومات پتاسیم ۵۰ mg/lit در اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال که دارای بیشینه جذب نوری در ۲۵۷ و ۳۵۰ نانومتر است.
- ۲- محلول پارانیتروفنل ۰/۰۴ mmol/lit در سود ۰/۰۱ نرمال که دارای بیشینه جذب نوری در ۴۰۱ نانومتر است.
- ۳- محلول سولفات آمونیوم کیالت ۰/۰۷۳۵ mmol/lit در اسیدسولفوریک ۰/۱۸M که دارای بیشینه جذب نوری در ۵۶۲ نانومتر است.
- ۴- محلول سیان متهموگلوبین (۲۰ میکرولیتر خون و ۵ml درابکین) که دارای بیشینه جذب نوری در ۵۴۰ نانومتر است.

* فرهنگستان زبان و ادب فارسی واژه طیفسنج را جایگزین واژه اسپکتروفتومتر نموده است.

۵- محلول اکسی‌هموگلوبین (V/V) ۵٪ محلول آمونیاک در آب + خون) که دارای جذب نوری در ۵۴۰ و ۵۷۶ نانومتر است.

کنترل طول موج پس از هر سه تا شش ماه یکبار یا پس از هر تغییر و تعمیر بر روی دستگاه صورت می‌گیرد. همچنین بنا به ضرورت استفاده از یک یا چند نوع محلول فوق پیشنهاد می‌گردد.

• خطی بودن

خطی بودن عبارت از قدرت اسپکتروفتومتر برای ثبت یک سیگنال متناسب با مقدار نور است. خطی بودن را باید با استفاده از رقت‌های مختلف محلول‌هایی نظیر دی‌کرومات پتاسیم در طول موج ۳۵۰ نانومتر، پارانیتروفنیل (محلول ۰/۰۴ mmol/lit) در طول موج ۴۰۵ نانومتر، محلول سولفات مس در طول موج ۶۵۰ نانومتر، محلول سولفات آمونیوم کبالت در طول ۵۱۲ نانومتر، محلول سیان متهموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر و محلول سبز خوراکی در طول موج ۶۳۰ نانومتر و سولفات نیکل در طول موج ۵۵۰ نانومتر و رسم نمودار غلظت در مقابل جذب نوری مشخص نمود و پس از آن فاصله خطی بودن و یا میزان شیب (slope) را برای هر رقت محاسبه می‌کنیم. عدم خطی بودن نشانه خرابی دستگاه یا اشتباه در تهیه رقت است. خطی بودن اسپکتروفتومتر باید در فواصل منظم و پس از هر تغییر یا تعمیر دستگاه صورت پذیرد.

• صحت فتومتریک

منظور از صحت فتومتریک این است که آیا حداکثر جذب نوری به مقدار مشخص در طول موج خاص صورت می‌گیرد یا خیر؟ صحت فتومتریک به توانایی لامپ در ارائه حداکثر تابش، SBW، نوع و کیفیت منوکروماتور بستگی دارد.

می‌توان یکی از موارد زیر را در این خصوص به کار برد:

۱- محلول دی‌کرومات پتاسیم (۵۰ mg/lit) در اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال باید در طول موج ۳۵۰ نانومتر، جذب نوری معادل $0/005 \pm 0/524$ در مقابل بلانک اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال داشته باشد.

۲- محلول‌های تجاری آماده از جمله preciset BM در طول موج ۴۰۵ نانومتر را نیز می‌توان مورد استفاده قرار داد.

• کنترل تعویض لامپ

با توجه به طول عمر لامپ در صورت ناپایداری میزان جذب نوری باید لامپ تعویض گردد. پس از تعویض لامپ به هر علتی باید سامانه نوری دستگاه به نحوی کالیبره گردد تا حداکثر میزان نور پس از عبور از کووت به فتوسل برسد که معمولاً این کار با پرکردن کووت از آب مقطر و تغییر دادن موقعیت لامپ و دیگر اجزای نوری در محلی که حداکثر T بدست آید، بهترین موقعیت جهت استقرار لامپ است.

• کنترل رانش (drift) فتومتریک

رانش فتومتریک با قراردادن کووت در بسته با کاغذ پارافیلیم حاوی محلول سیان متهموگلوبین در دستگاه و خوانش جذب نوری در فواصل هر ۱۵-۵ دقیقه به مدت یک ساعت کنترل می‌گردد. البته این آزمایش را می‌توان با کووت خالی یا حاوی آب مقطر نیز انجام داد. وجود رانش نشانگر عدم پایداری میزان جذب نوری یا عبور نور است که می‌تواند به علت فرسودگی منبع نور باشد. در صورت وجود رانش باید دستگاه تعمیر گردد و در غیر این صورت باید در فواصل کوتاه معمولاً هر ۲۰-۱۰ بار خواندن نمونه، با گذاشتن بلانک دستگاه را صفر کنیم. حداکثر اختلاف جذب نوری قابل قبول ± 0.05 در طول یک ساعت است.

• ارزیابی یکسانی کووت‌ها

لازم است کووت‌ها میزان جذب نوری یکسانی داشته باشند تا در تکرار اندازه‌گیری کمیت‌ها در صورت استفاده از چندین کووت اشکالی مشاهده نگردد. با کمک آب مقطر (خواندن جذب نوری در طول موج ۵۵۰ نانومتر) کووت‌هایی که بیش از ± 0.1 اختلاف جذب داشته باشند کنار گذاشته می‌شوند. با استفاده از محلول سیان متهموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر کووت‌هایی که بیش از ± 0.15 اختلاف جذب داشته باشند کنار گذاشته می‌شوند. توصیه می‌گردد حتی‌المقدور با یک کووت، اندازه‌گیری بلانک، استاندارد و آزمایش‌ها انجام گیرد تا از این خطا جلوگیری گردد.

ایمنی

- پیش از برداشتن درپوش دستگاه جهت تعویض قطعات یا تنظیم آن باید برق دستگاه را با خارج کردن کابل آن از پریز قطع نمود.
- به منظور به حداقل رساندن نوسانات برق بهتر است از سیستم UPS استفاده نمود.