Spectrophotometer Instruments and Uses

Types of Spectrophotometer:

Depending on the range of wavelength of the light spectrophotometer is of two types, that are:

أنواع مقياس الطيف الضوئي:

اعتمادًا على مدى الطول الموجي لجهاز قياس الطيف الضوئي هو نوعان هما

1-UV-visible spectrophotometer:مقياس الطيف الضوئي المرئي فوق البنفسجي

It uses light over the ultraviolet range (185-400 nm) and visible range (400-700 nm) of the electromagnetic radiation spectrum.

2-IR spectrophotometer:

It uses the wavelength of light over the infrared range (700-1500 nm) of the electromagnetic radiation spectrum.

Single beam spectrophotometer:

It operates between 325-1000 nm wavelength using only a light beam. The light travels in a single direction, and the test solution and the blank solution are read in the same cuvette one after another.

يعمل بطول موجي يتراوح بين 325-1000 نانومتر باستخدام شعاع ضوئي فقط. ينتقل الضوء في اتجاه واحد، ويتم قراءة محلول الاختبار ومحلول البلانك في نفس الكيوفيت واحدًا تلو الآخر

Double beam spectrophotometer :

It works between 185-1000 nm wavelength. The two photocells split the light from the monochromator into two beams. A beam is used for reference, and another is used for the reading samples.

يعمل بين الطول الموجي 185-1000 نانومتر. تقوم الخليتان الكهروضوئيتان بتقسيم الضوء الصادر من جهاز موحد اللون إلى شعاعين. يتم استخدام شعاع للمرجع، ويتم استخدام الآخر لعينات القراءة

Double Beam UV-VIS Spectrophotometer:

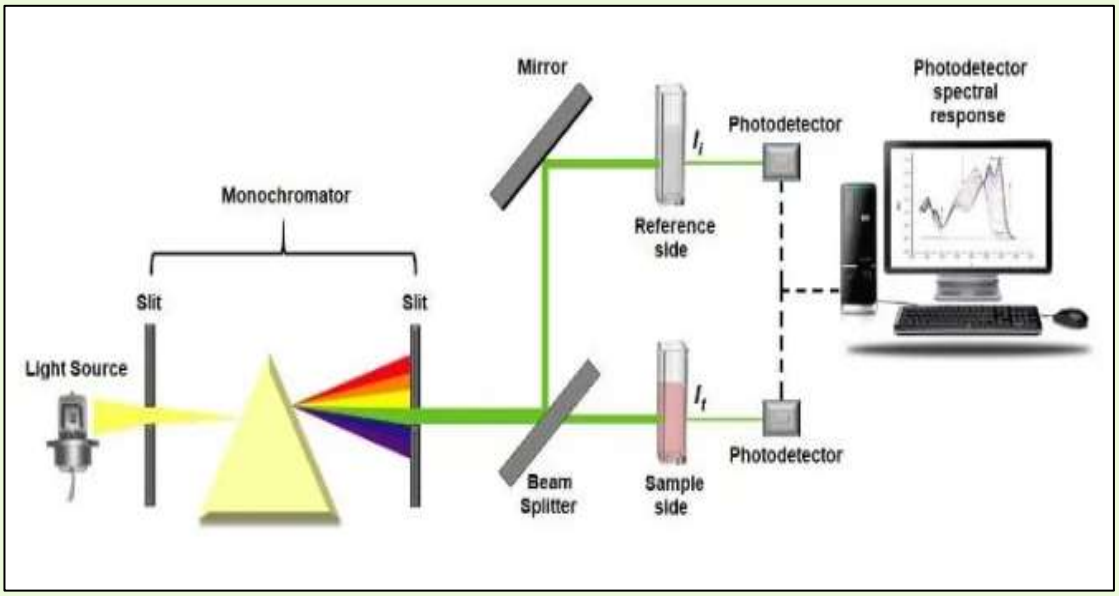
A double beam UV visible spectrophotometer is somewhat the same as the double beam spectrophotometer in working. A typical double beam UV-visible spectrophotometer consists of :

إن مقياس الطيف الضوئي المرئي و فوق البنفسجي ذو الشعاع المزدوج يشبه إلى حد ما مقياس الطيف الضوئي مزدوج الشعاع في العمل. يتكون مقياس الطيف الضوئي النموذجي مزدوج الشعاع للأشعة المرئية و فوق البنفسجية من:

A light or energy source, which is typically a lamp.
A filter or a monochromator that is attached to the device for the selection of the wavelength of light.
A place for cuvettes to read the measurements

- مصدر الضوء أو الطاقة، والذي يكون عادةً مصباحًا.
- مرشح أو موحد اللون متصل بالجهاز لاختيار الطول الموجي للضوء.

مكان للكيوفيت لقراءة القياسات ·



Uses of Spectrophotometer استخدامات جهاز المطياف الضوئي

The uses of a spectrophotometer are as follows:

- A spectrophotometer is used for the quantitation of nucleic acid (DNA or RNA).
- It determines the concentration of color and colorless compounds by measuring the absorbance of the solution. It can also determine the concentration of biological materials like nucleic acid and proteins.
- Similarly, it determines the phase of reaction by measuring the formation and disappearance rate of the light-absorbing compounds in the range of the visible and UV region of the electromagnetic spectrum.
- It also identifies compounds by determining the absorption spectrum in the visible region of the light and the UV region of the electromagnetic spectrum.

• يتم استخدام مقياس الطيف الضوئي لتقدير كمية الحمض النووي (DNA أو RNA).

• يحدد تركيز المركبات الملونة وعديمة اللون عن طريق قياس امتصاص المحلول. ويمكنه أيضًا تحديد تركيز المواد البيولوجية مثل الحمض النووي والبروتينات.

• وبالمثل، فإنه يحدد مرحلة التفاعل عن طريق قياس معدل تكوين واختفاء المركبات الممتصة للضوء في نطاق المنطقة المرئية والأشعة فوق البنفسجية من الطيف الكهرومغناطيسي.

• كما أنه يتعرف على المركبات عن طريق تحديد طيف الامتصاص في المنطقة المرئية للضوء ومنطقة الأشعة فوق البنفسجية للطيف الكهرومغناطيسي

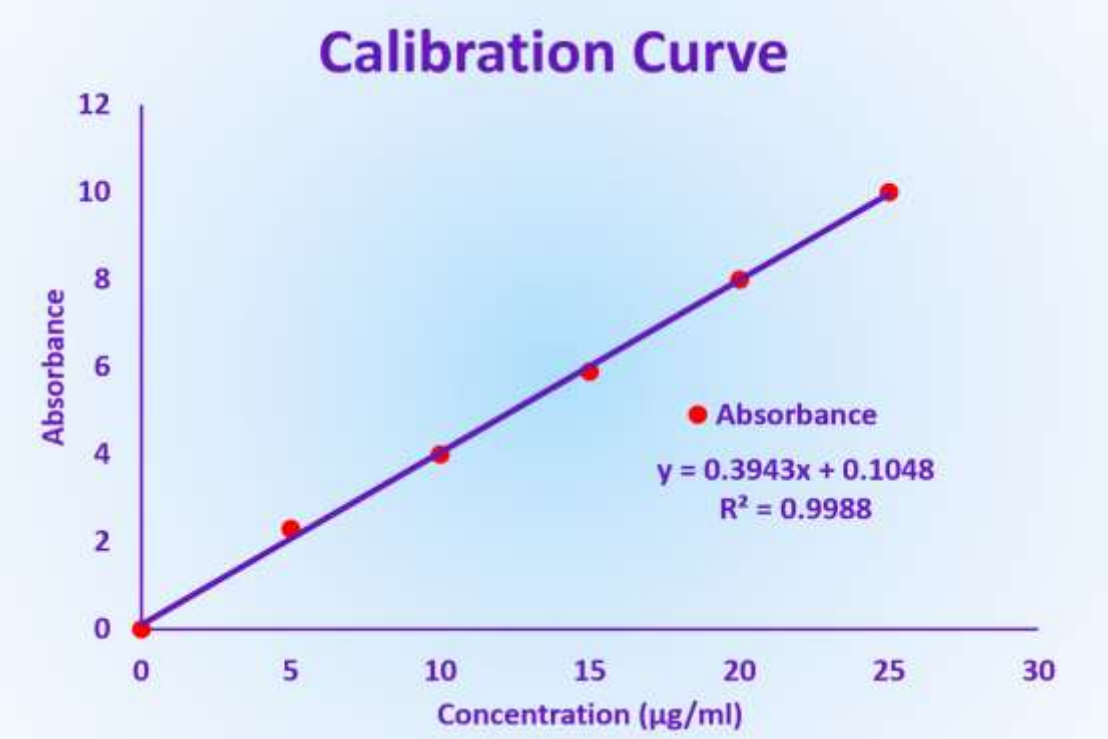
The calibration curve:

The calibration curve is a plot of instrumental signal vs. concentration. The plot of the standards should be linear, and can be fit with the equation y=mx+b ,where m is the slope of the line and b is the intercept. x and y represent the distance of the line from the x-axis and y-axis, respectively.

The non-linear portions of the plot should be discarded, as these concentration ranges are out of the limit of linearity.

منحنى المعايرة عبارة عن رسم لإشارة الجهاز مقابل التركيز. يجب أن يكون الرسم خط مستقيم، ويمكن أن يتوافق مع المعادلة y=mx+b، حيث m هو ميل الخط وb هو التقاطع. تمثل x وy مسافة الخط من المحور x والمحور y على التوالي.

وينبغي التخلص من الأجزاء غير الخطية للرسم، حيث أن نطاقات التركيز هذه خارج حدود الخطية



Preventive Measures: اجراءات وقائية

- The spectrophotometer should be turned on 10 to 15 minutes before use.
- The device should be calibrated each time.
- The selected wavelength should be the maximum wavelength that the solution can absorb.
- The sample used should not contain any substance which can dissociate, react or change during the measurement.
- Since the absorbance depends on the concentration, sample preparation should be within the acceptable concentration range.

- يجب تشغيل مقياس الطيف الضوئي لمدة 10 إلى 15 دقيقة قبل الاستخدام.
- يجب معايرة الجهاز في كل مرة.
- يجب أن يكون الطول الموجي المحدد هو الحد الأقصى للطول الموجي الذي يمكن للمحلول امتصاصه.
- يجب ألا تحتوي العينة المستخدمة على أي مادة يمكن أن تتفكك أو تتفاعل أو تتغير أثناء القياس.
- بما أن الامتصاص يعتمد على التركيز، يجب أن يكون تحضير العينة ضمن نطاق التركيز المقبول.