

# SPEKTROFOTOMETR

## (NÁVOD K OBSLUZE)

## **1. Obecná charakteristika spektrofotometru**

Spektrofotometr umožňuje stanovovat vlastnosti vzorku, např. koncentrace určité látky v roztoku, na základě pohlcování světla v různých vlnových délkách spektra. Jedná se o přístroj, u něhož lze libovolně nastavit vlnovou délku monochromatického světla. Principem přístroje je ozáření roztoku v kyvetě monochromatickým světlem (UV/VIS oblast elektromagnetického spektra), přičemž světelné záření je molekulou analytu absorbováno. Detektor záření měří intenzitu dopadajícího světla neabsorbovaného roztokem. Při analýze je spektrofotometrem porovnávána intenzita zdrojem vysílaného záření s intenzitou záření dopadajícího na detektor. Množství absorbovaného záření je úměrné koncentraci látky ve studovaném roztoku.

## **2. Instalace spektrofotometru**

UV-Vis Evolution 200 je počítačem ovládaný přístroj. Nejprve je nutné propojit přístroj s externím počítačem pomocí USB kabelu a do počítače musí být nainstalován příslušný software. Pomocí softwaru INSIGHT je zajištěn přístup ke všem možnostem přístroje. Základní operace jako je zapnutí/vypnutí přístroje, měření vzorku či standardu a spuštění předdefinovaných maker je možné pomocí dotykové obrazovky přístroje.

Při vypnutém přístroji zapojte USB kabel mezi přístroj a počítač. Poté zapněte přístroj pomocí klávesy Power. Na obrazovce lze sledovat postupnou inicializaci systému. Zapněte externí počítač. Dvojklikem na ikonu INSIGHT se spustí software a lze zahájit měření.

## **3. Spuštění přístroje**

Pro zapnutí přístroje stiskněte klávesu Power. Na obrazovce se zobrazí průběh inicializace přístroje. Po jejím skončení zapněte externí počítač a následně dvojklikem na ikonu INSIGHT spustíte software a v nabídce programů vyberte vhodný typ aplikace měření vzorku.

## **4. Měření pomocí spektrofotometru**

Měřený vzorek se umísťuje do skleněné kyvety a jeho objem činí cca 1 – 5 ml. Kyveta se vzorkem se umístí buď do karuselu, nebo do držáku pravoúhlé měřící cely. Měřící cela se vždy umísťuje hrubší stranou směrem vně přístroje.

Pro zahájení vlastního měření využijte v nabídce tlačítko MEASURE, kdy se po jeho stlačení objeví název dané aplikace, např. measure fixed. Kliknutím na tlačítko se dále ukáží další možnosti pro zahájení měření vzorků či další možnosti získání experimentálních dat.

Daná nabídka možností je vždy závislá na aktualizaci daného softwaru. Výsledky měření se objeví v pravém panelu.

### **Měření kvantitativních analýz**

Klikněte na QUANT v pravém panelu v základním nastavení a vyberte nastavení a provedení kvantitativních analýz měření vzorku. Poté si vyberte z nabídky příslušnou možnost měření. Po vybrání příslušného programu měření vyberte možnost SETTING, čímž dojde k nastavení Quant parametru. Dále pro následnou kvantifikaci měření klikněte na možnost MEASURE QUANT a pomocí tlačítka OPTIONS se specifikují předdefinované vzorce, jednoduché i pokročilé rovnice. Zde využijte záložku **Formulas and Units**.

### **Kvantifikace dat vzorku bez použití standardu**

V záložce Type si vybereme z následujících možností: **Manually entered factor** nebo **Advanced without standards**.

Klikněte na ikonu MEASURE QUANT, dále zmáčkněte tlačítko MEASURE a postupujte podle zobrazených instrukcí. Podle potřeby je možné upravit hodnoty či informace související s daným vzorkem. Tyto informace je možné změnit či upravit v modu **Sample averaging** v záložce **Samples**, v části **Settings**. V této záložce je mód nastaven na **Duplicate**. Tato změna se odrazí v názvu vzorku, kdy se v názvu vzorku objeví D (druhé měření) či T (třetí měření). Pro kontrolu naměřených dat využijeme mód LOAD SAMPLES a pro uložení naměřených hodnot SAVE SAMPLES.

Pokud se uskuteční pouze jedno měření, tak jej uložte. Dále klikněte na tlačítko **Continue** a postupujte podle zobrazených informací na obrazovce.

V záložce **Run Chart** je možné se seznámit s grafickou závislostí mezi koncentrací měřených složek na počtu vzorků. Záložka **Data** ukazuje naměřené hodnoty pro daný vzorek vybraný v tabulce. Tabulka obsahuje informace v sloupcích, které jsou specifikovány v záložce **Configuration**, v části **Reports**.

Vzorek lze změřit opakovaně, když pravým tlačítkem myši klikneme na řádek s výsledky v tabulce a zvolíme možnost **Remeasure**. Původní hodnota se přeškrtně a objeví se nově naměřená hodnota, přičemž původní hodnota zůstává v tabulce uvedena.

### Kvantifikace dat vzorku s použitím standardu

Pokud zvolíme tuto možnost, je nutné si vybrat z následujících možností ze záložky **TYPE: Measure single standard, Standard curve, Standard curve with two wavelenghts** nebo **Advenced standard curve**.

Klikněte na ikonu **MEASURE QUANT**, dále zmáčkněte tlačítko **MEASURE** a postupujte podle zobrazených instrukcí. Tlačítko **Measure** se volí tehdy, když je nutné měření standardů, pokud jsou standardy již naměřeny, je možné rovnou přikročit k vlastnímu měření vzorku (viz dále).

Pokud se objeví informace o standardech, tak ji lze upravit. Tyto úpravy se dějí pomocí módu **Standard averaging** v záložce **Standards**, v části **Settings**. V této záložce je mód nastaven na **Duplicate**. Tato změna se odrazí v názvu vzorku, kdy se v názvu vzorku objeví **D** (druhé měření) či **T** (třetí měření). Pro načtení již dříve naměřených hodnot standardu použijte tlačítko **Import Standards**.

Pokud je zvolena možnost **Calculate from weight/volume** v záložce **Standards** je nutné zadat hmotnost a objem příslušného vzorku standardu v tabulce. Pro odstranění naměřených hodnot standardu použijeme pravé tlačítko myši, kterým si označíme tabulku a zvolíme možnost **Clear Standard**. Odstraní se příslušná měření daného standardu. Pro uložení informací o standardech pro další využití se volí tlačítko **Export Standards**.

Nyní klikněte na tlačítko **Continue** a postupujte podle zobrazujících se informací. Tím dojde k instalaci specifických standardů. Záložka **Standard curve** zobrazuje výsledné křivky standardu. Toto se využije pro vytvoření kalibrační křivky pomocí výběru **yes** a **no** v **Use column** v tabulce.

Klikněte na tlačítko **Measure** a postupujte dle zobrazovaných instrukcí. Lze upravit informace o vzorcích. Tyto úpravy se dějí pomocí módu **Standard averaging** v záložce **Standards**, v části **Settings**. V této záložce je mód nastaven na **Duplicate**. Tato změna se odrazí v názvu vzorku, kdy se v názvu vzorku objeví **D** (druhé měření) či **T** (třetí měření). Obdobně s měřením standardu je možné při měření vzorku využít mód **Calculate from weight/volume** v záložce **Standards**, ale je nutné zadat hmotnost a objem příslušného vzorku standardu v tabulce. Pro kontrolu naměřených dat využijeme mód **LOAD SAMPLES** a pro uložení naměřených hodnot **SAVE SAMPLES**. Pokud je pouze jedno měření, tak je nutné jej uložit.

Klikněte na ikonu **Continue** a postupujte podle zobrazujících se informací na obrazovce. Tabulka s výsledky vzorek se zobrazí v záložce **Configuration**, v části **Reports**. Záložka **Standard curve** graficky zobrazuje vztah mezi kalibrační křivkou a naměřenou

spektrální intenzitou a vypočítanou koncentrací dané látky. Záložka **Run Chart** vykresluje koncentraci měřeného vzorku ve vztahu k počtu vzorků.

### **Kinetické měření**

Klikněte na ikonu **Rate** v pravém panelu v základním nastavení provedení kinetických měření. Pro nastavení měřených parametrů klikněte na mód **Settings** a dále na tlačítko **Measure Rate**.

V případě fixních kinetických měření si v záložce **Settings** v části **Rate** vyberte možnost **Single wavelenght** či **Multiple wavelenght**. Klikněte na **Measure Rate** a zmáčkněte **Zero**. Z měřicí cely se v poloze 1 natáhne vzorek na měření blanku a zvolte OK. Po objevení naměřených hodnot je možné tyto upravovat. Pro přístup k uloženým informacím je možné využít tlačítko **Load Samples** a pro uložení **Save Samples**. Klikněte na **Continue** a postupujte podle zobrazených informací. Pomocí pravého tlačítka myši se dostanete do záložky **Data**, která nám umožní měnit velikost grafu. Pro výpočet rychlosti nebo pro modifikaci výpočtu dat pro daný graf na něj 2x klikněte.

Skenovací kinetická měření slouží k simultánnímu porovnání více vzorků najednou. Využívá se karusel nebo lze použít sekvenční nebo manuální mód. Z nabídky Rate – Settings, v záložce Type se vybere možnost **Scan data acquisition**. Poté klikněte na **Measure Rate** a na **Zero**. Z měřicí cely se v poloze 1 natáhne vzorek na měření blanku a zvolte OK. Klikněte na **Continue** a postupujte podle zobrazených informací. Po objevení naměřených hodnot je možné tyto upravovat. Pro přístup k uloženým informacím je možné využít tlačítko **Load Samples** a pro uložení **Save Samples**. Klikněte na **Continue** a pokračujte podle instrukcí na monitoru.

## **5. Údržba**

Údržba spočívá čištění dotykové obrazovky od prachu, otlaků prstů a dalších materiálů. Pro čištění obrazovky používejte vždy hadřík bez vláken. Po každém měření vždy otřete a vysušte vnitřní a vnější část přístroje. Dbejte na to, aby v okolí přístroje nebyly rozlité žádné chemikálie!!

## **6. Bezpečnostní opatření**

1. Přístroj používejte pouze k účelům popsaných v návodu.
2. Používejte pouze originální příslušenství.
3. Zabraňte pádu přístroje.
4. Omezte vniknutí vlhkosti dovnitř přístroje.

5. Rozlité chemikálie ihned odstraňte.
6. Chraňte přístroj před nárazy a prachem.