分析仪器使用与维护丛书

紫外可见分光光度计

李昌厚　著

化学工业出版社
化学与应用化学出版中心
·北京·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

紫外可见分光光度计/ 李昌厚著 . —北京: 化学工业出版社, 2005. 4
(分析仪器使用与维护丛书)
ISBN 7-5025-6813-1

Ⅰ. 紫… Ⅱ. 李… Ⅲ. 紫外分光光度计: 目视光度计 Ⅳ. TH744. 12

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 023418 号

分析仪器使用与维护丛书
紫外可见分光光度计
李昌厚 著
责任编辑: 杜进祥 陈 蕾
责任校对: 周梦华
封面设计: 郑小红
*
化 学 工 业 出 版 社
化学与应用化学出版中心 出版发行
(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)
发行电话: (010) 64982530
http:// www .cip .com .cn
*
新华书店北京发行所经销
大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷
三河市东柳装订厂装订
开本 720mm×1000mm 1/ 16 印张 12 字数 212 千字
2005 年 6 月第 1 版 2005 年 6 月北京第 1 次印刷
ISBN 7-5025-6813-1/ O·110
定 价:25. 00 元

版权所有 违者必究
该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

序　一

科学技术发展的历史表明，科学仪器对认识自然界的规律，促进生产技术的进步和革命，起着非常重要的作用。科学仪器水平直接反映了一个国家科学技术和工业发展水平。世界发达国家都将科学仪器作为信息产业源头，列入新兴产业范畴，把发展科学仪器工业作为提高整个社会劳动生产力和社会经济效益的强有力的支柱。所以发展科学仪器对我国科技进步和经济、社会发展具有极为重要的战略意义。

分析仪器是科学仪器的重要组成部分。当前，分析仪器拥有量增加很快，据统计，2002 年分析仪器全球销售额比 2000 年增长了 23％。我国分析仪器进口额，2002 年比 2000 年增长了 78％。分析仪器的应用范围也越来越广，特别在营养与食品安全、药物与代谢产物、生态环境、材料科学、石化与油田化学、公共卫生等直接关系到人类生存和发展的各学科和领域的应用，更受到普遍的关注。同时，由于新原理、新技术、新材料和新工艺的广泛采用，分析仪器得到了日新月异的发展。仪器的小型化、微型化、智能化发展十分迅速；为适应过程分析要求，各种实时、非侵入式在线分析仪器，得到快速发展，科学仪器正从通用型转向专用型；各种新技术、新方法的广泛应用，使仪器灵敏度更高、分析速度更快、适用范围更广；仪器可靠性和自动化程度不断提高，仪器的操作更为简便。因此，加强分析仪器知识的继续教育，对分析仪器研究、开发、生产、使用者，乃至一切关心我国分析仪器发展的同志都是一个极为重要的问题。

为此目的，经化学工业出版社提议，中国仪器仪表学会分析仪器学会组织编写了《分析仪器使用与维护丛书》。这套丛书以“简明实用、选材新颖、特色鲜明、通俗易懂”为主导思想，着重介绍分析仪器结构、原理、应用领域，也扼要介绍仪器的使用方法、维护要点、故障处理与校正，力图反映分析仪器领域的基本知识、基本方法以及最新成果。这套丛书由长期从事仪器分析或分析仪器实际工作的专家撰写，其完整性、实用性非常突出，不失为从事和关心仪器分析的人员更好地了解和掌握分析仪器及其使用和维护保养知识的专业参考书。

中国仪器仪表学会分析仪器学会理事长

王顺昌

2004 年 10 月

序　二

现代科技和产业的发展，促进了分析测试仪器的迅猛发展和推广应用。当今发展最快的科技领域如生命科学、生物工程、环境科学和生态保护、现代医学和中医药物、纳米科技等领域的基础研究和应用工作，都离不开各种类型的分析测试仪器，分析仪器已成为最基础的设备之一，其对国民经济的重要作用是其他任何方法与手段所无法替代的。

分析测试是科技与生产的眼睛，是衡量一个国家经济与科技发展水平的主要标志。随着我国科学技术的飞速发展，分析仪器的应用领域越来越广阔，越来越深入，从事分析仪器使用和管理工作的人员也在迅速增多。为了适应这一形势的需要，化学工业出版社与中国仪器仪表学会分析仪器学会组织编写了《分析仪器使用与维护丛书》，以帮助有关科技人员了解和掌握分析仪器的使用和维护保养，提高仪器使用效率与使用寿命。

这套丛书贯穿了“简明实用、选材新颖、特色鲜明、通俗易懂”的主导思想。不仅对于不同分析仪器的基本知识和基本方法扼要介绍，也重点对不同类型、用途分析仪器的使用方法、维护要点、故障处理与校正等作了较为详尽的介绍，为广大分析工作者提供了一套实用、便捷的案头书。

这套丛书的所有执笔者皆为长期从事仪器分析或分析仪器实际工作的专家学者，也有在仪器分析第一线工作的年轻人。他们欲通过这套丛书把自己的经验与大家分享，因此当作者提出请我为《分析仪器使用与维护丛书》做序时便欣然应允。我真切地希望广大分析工作者可以通过这套书能更好地掌握和利用分析仪器，为各领域科研与生产，为提高国民经济总体目标服务。

中国科学院院士
张玉奎
2004. 10. 29

前　言

世界上第一台紫外可见分光光度计，于 1940 年由美国的 Beckman 公司研制成功，于 1945 年正式推出商品仪器。当时的仪器很简单，自动化程度很低，但随着科学技术的发展，它的发展非常快。目前，已是世界上使用最多、覆盖面最广的一种分析仪器，已在生命科学、材料科学、环境科学、农业科学、计量科学、食品科学、地质科学、石油科学、医疗卫生、钢铁冶金、化学化工等各个领域的科研、生产、教学等工作中得到了非常广泛的应用。它可做定量分析、纯度分析、结构分析和定性分析，在制药、食品行业中的产品质量控制、各级药检系统的产品质量检查中更是必备的分析仪器。在“农、轻、重、海、陆、空、吃、穿、用”各个领域的各个行业中，已是无所不在、无所不有的分析仪器。

分析仪器工作者的任务是设计和做好仪器，做出的分析仪器要求“好用”。所谓“好用”，就是要求仪器稳定可靠。所谓稳定，就是要求仪器的漂移小、重复性好。所谓可靠，就是要求仪器的准确度好、故障率小、售后服务好。总之，要为仪器分析工作者提供高性能、实用和价廉的分析仪器。为此应注意去调查了解使用者的要求，了解仪器在实际使用中存在的问题。并且，分析仪器工作者特别要注意研究对分析仪器的主要技术指标的测试方法，保证提出的技术指标是可靠的。分析仪器使用者的任务是“用好”分析仪器，充分发挥仪器的作用。为此要熟悉仪器的结构与各项技术指标，特别要去熟悉了解各项技术指标对分析误差的影响。要懂得仪器的日常维护和对主要技术指标的简易测试方法，自己经常对仪器进行维护和测试，以保证仪器工作在最佳状态。因此，分析仪器工作者和仪器分析工作者应该互相关心、互相沟通、互相学习、互相促进，为提高我国分析仪器的研制和使用水平共同努力。

从我国目前的实际情况看，不少使用分析仪器的人员常常不熟悉仪器的结构，不甚了解或不了解仪器的技术指标对分析测试误差的影响，因此，往往用不好仪器，或者说不能把仪器用到最佳状态，最大限度地发挥仪器的作用。以致有很多使用不合理之处，如“大材小用”，高档的分析仪器当作低档常规仪器使用，物非其用，把紫外可见分光光度计当作一般可见分光光度计使用。这实际上是一种极大的浪费。作者撰写本书的目的，就是希望通过本书能对读者在自己的实际工作中用好紫外可见分光光度计，最大限度地发挥仪器的作用有所帮助。

虽说紫外可见分光光度计发展很快，应用特别广泛，但是在仪器和应用方面的许多理论问题，如透光度误差、吸光度误差与光度准确度的关系；影响光度准确度的主要因素及排除方法；杂散光、噪声、光谱带宽、基线平直度对光度准确度的影响等，至今并未引起广大科技工作者应有的重视。又如紫外可见分光光度计的可靠性是使用者最为关心的问题，而如何提高可靠性，则是制造者最为关心的核心问题。作者将在本书有关的章节分别对上述各个问题，进行全面、详细地论述。

本书融合了作者本人从事紫外可见分光光度计的研制和使用 40 多年来的经验与教训。书中还引用了许多文献，在此特向有关文献的作者表示衷心感谢。如果这些点滴经验与教训能对读者有所帮助的话，本人将感到十分欣慰，也是本人写作本书的初衷。

本书写作过程中，得到了孙吟秋、吴丰华、楼海任、刘泳、李爱芳、周林爱等同志的热情帮助，邓勃、王绪明、刘长宽等同志提出了许多修改意见，在此一并致谢。

由于作者水平所限，书中难免有疵漏和错误，热诚欢迎各位读者和有关专家批评指正。作者联系方式：lichho @ online. sh. cn。

李昌厚

2004 年 12 月

目　　录

第一章　概论…… 1
一、分光光度法…… 1
二、紫外可见分光光度计…… 2
参考文献…… 4
第二章　分光光度法基础…… 5
第一节　电磁辐射的基本性质…… 5
一、电磁辐射的粒子说和波动说…… 5
二、电磁辐射波段的能量范围和各种波谱法…… 6
三、紫外可见吸收光谱的形成…… 7
第二节　定量分析的理论基础——比耳定律…… 9
一、比耳定律及其数学表达式…… 9
二、影响比耳定律偏离的主要因素 …… 10
三、比耳定律的局限性与可靠性 …… 12
参考文献 …… 15
第三章　紫外可见分光光度计的基本结构 …… 16
第一节　仪器分类 …… 16
一、单光束紫外可见分光光度计 …… 16
二、准双光束紫外可见分光光度计 …… 17
三、双光束紫外可见分光光度计 …… 18
四、双波长紫外可见分光光度计 …… 20
第二节　电光源系统 …… 21
一、光源（灯泡） …… 22
二、电源 …… 24
第三节　外光路系统 …… 29
一、外光路系统的组成 …… 29
二、外光路系统的形式 …… 29
第四节　分光系统 …… 30
一、光栅 …… 30
二、准直镜 …… 36
三、物镜 …… 36

四、单色器 …… 36
第五节　光度室系统 . …… 41
一、光度室盖 …… 41
二、聚光透镜 …… 41
三、比色皿 …… 41
四、比色皿架 …… 45
第六节　光电转换系统 …… 45
一、外光电效应光电转换器 …… 46
二、内光电效应的光电转换器 …… 52
第七节　放大器系统 …… 57
一、前置放大器 …… 57
二、主放大器 …… 58
三、双端输入的对数放大器 …… 58
第八节　数据处理、打印输出系统 …… 60
参考文献 …… 60
第四章　仪器的技术指标、测试方法及其对分析误差的影响 …… 62
第一节　光度准确度 …… 62
一、光度准确度的表示方法 …… 62
二、影响光度准确度的主要因素 …… 65
三、吸光度准确度和透射比准确度的关系 …… 65
四、光度准确度测试方法 …… 67
五、与光度准确度有关的几个重要问题 …… 69
第二节　光度重复性 …… 71
一、光度重复性的测试方法 …… 71
二、影响光度重复性的主要因素 …… 72
第三节　杂散光 (Stray light) …… 72
一、杂散光的重要性 …… 72
二、杂散光的定义及理论推导 …… 73
三、杂散光对仪器分析测试误差的影响 …… 75
四、杂散光的来源 …… 79
五、杂散光的测试方法和测试材料 …… 79
六、与杂散光测试有关的几个问题 …… 82
第四节　光度噪声 …… 84
一、光度噪声对分析测试误差的影响 …… 84
二、光度噪声的表示方法 …… 87

三、光度噪声的测试方法 …… 87
第五节 基线平直度 …… 87
一、基线平直度的重要性 (对分析测试误差的影响) …… 87
二、基线平直度的测试方法 …… 88
三、影响基线平直度的主要因素 …… 88
四、正确认识及使用基线平直度 …… 89
第六节 光谱带宽 (Spectra band width——SBW) …… 91
一、光谱带宽的重要性 (对分析测试误差的影响) …… 91
二、光谱带宽对分析误差的理论推导 …… 93
三、光谱带宽的测试方法 …… 95
四、应用实例 …… 96
五、结论 …… 97
第七节 稳定性 (Stability) …… 97
一、稳定性对分析测试误差的影响 …… 97
二、紫外可见分光光度计稳定性的测试方法 …… 97
第八节 波长准确度和波长重复性 …… 98
一、波长准确度对分析测试误差的影响 …… 98
二、波长准确度的测试方法 …… 99
三、波长重复性 …… 103
第九节 紫外可见分光光度计的线性 …… 103
一、线性的定义 …… 103
二、线性对分析测试误差的影响 …… 103
三、仪器线性的测试方法 …… 104
四、线性和准确度的关系 …… 107
第十节 线性动态范围 …… 108
一、线性动态范围的定义和重要性 …… 108
二、线性动态范围的测试方法 …… 109
第十一节 分析测试的总误差及其估算方法 …… 109
参考文献 …… 111
第五章 仪器的评价和挑选 …… 113
第一节 适用性 …… 114
第二节 可靠性 …… 115
一、可靠性的定义 …… 115
二、影响可靠性的因素 …… 117
第三节 智能性 (自动化) …… 118

第四节　经济性…… 119
一、经济性的内容…… 119
二、经济性的评估…… 120
第五节　美学性…… 120
第六节　工艺性…… 121
参考文献…… 123
第六章　如何选择仪器及有关的最佳条件…… 124
第一节　溶剂的选择…… 124
第二节　分析波长选择…… 125
第三节　吸光度范围选择…… 126
第四节　光谱带宽的选择…… 127
第五节　线性动态范围的确定…… 128
第六节　注意防止试样的光解…… 129
第七节　比色皿的沾污问题…… 130
一、重视比色皿的沾污问题的严重性（对分析测试误差的影响）…… 130
二、鉴别比色皿被沾污的方法…… 130
三、如何解决比色皿沾污的问题…… 130
参考文献…… 131
第七章　紫外可见分光光度计的应用…… 132
第一节　定量分析…… 132
一、定量分析方法…… 132
二、定量分析应用举例…… 134
第二节　定性分析…… 139
一、利用标准物质定性…… 139
二、用波长位置判断有机化合物的生色基团…… 139
第三节　纯度检查…… 141
第四节　结构分析…… 142
一、判别异构体…… 142
二、推测化合物的分子结构…… 143
第五节　有机分析中的应用…… 144
一、利用标准曲线法测未知化合物的含量…… 145
二、利用特征吸收峰法鉴别有关物质…… 145
三、利用紫外光谱谱图的方法鉴别有机化合物…… 146
四、利用π键反应减小干扰　…… 146
参考文献…… 146

第八章　仪器及应用的最新进展…… 148
第一节　紫外可见分光光度计仪器的最新进展…… 148
一、仪器的自动化程度大大提高…… 148
二、重视适用附件的开发…… 148
三、仪器向小型化（或微型化）、数字化、便携式的方向发展 …… 148
四、仪器向多功能方向发展…… 151
五、新型的紫外可见分光光度计不断涌现…… 151
第二节　紫外可见分光光度计应用的最新进展…… 153
一、多组织不经分离，直接测量…… 153
二、联用技术…… 153
三、积分光度法进入复兴时期…… 154
参考文献…… 154
第九章　仪器的日常维护、常见故障诊断及排除方法…… 156
第一节　对电源的要求…… 156
第二节　紫外可见分光光度计对环境的要求…… 156
第三节　仪器的日常保养、维护…… 157
一、经常开机…… 157
二、经常校验仪器的技术指标…… 157
三、保持机械运动部件活动自如…… 157
第四节　常见故障诊断、排除方法…… 158
一、常见的故障及其排除方法…… 158
二、计算机常见故障及排除方法…… 161
第十章　仪器质量指标检测常用的标准物质、标准光源…… 162
第一节　重铬酸钾标准溶液的配制…… 162
一、酸性重铬酸钾标准溶液配制方法…… 162
二、碱性铬酸钾标准溶液配制方法…… 163
第二节　硫酸铜标准溶液配制方法…… 164
第三节　NaI 标准溶液和 $NaNO_2$ 标准溶液的配制 …… 165
一、NaI 标准溶液的配制方法 …… 166
二、$NaNO_2$ 标准溶液的配制方法 …… 166
第四节　低压汞灯的特征谱线和能量分布…… 166
第五节　氧化钬玻璃的特征谱线和能量分布…… 167
一、氧化钬玻璃的特征谱线…… 167
二、氧化钬玻璃的能量分布…… 167
第六节　氧化钬溶液的特征谱线和能量分布…… 168

一、特征谱线…… 168
二、能量分布…… 168
第七节　氖灯的特征谱线…… 169
第八节　高压汞灯的特征谱线…… 169
第九节　苯蒸气的吸收光谱…… 170
参考文献…… 170
附录一　国内外主要高档紫外可见分光光度计一览…… 171
附录二　国内外主要中高档紫外可见分光光度计一览…… 172
附录三　国内外主要中低档紫外可见分光光度计一览…… 173
附录四　国内外主要普及型紫外可见分光光度计仪器一览…… 174
附录五　有关的其他重要资料…… 175

第一章　概　　论

紫外可见分光光度法是根据被测量物质分子对紫外可见波段范围（150～800nm）单色辐射的吸收或反射强度来进行物质的定性、定量或结构分析的一种方法。紫外可见分光光度法从开始到现在，经历了一个漫长的、曲折的过程。

一、分光光度法

分光光度法的使用始于牛顿（Newton）。早在 1665 年牛顿做了一个惊人的实验：他让太阳光透过暗室窗上的小圆孔，在室内形成很细的太阳光束，该光束经棱镜色散后，在墙壁上呈现红、橙、黄、绿、蓝、靛、紫的色带。这色带就称为“光谱”。牛顿通过这个实验，揭示了太阳光是复合光的事实。

1815 年夫琅和费（J. Fraunhofer）仔细观察了太阳光谱，发现太阳光谱中有 600 多条暗线，并且对主要的 8 条暗线标以 *A*、*B*、*C*、*D*、*E*、*F*、*G*、*H* 符号。这就是人们最早知道的吸收光谱线，被称为“夫琅和费线”。但当时对这些线还不能作出正确的解释。

1859 年本生（R. W. Bunsen）和基尔霍夫（G. R. Kirchhoff）发现由食盐发出的黄色谱线的波长和“夫琅和费线”中的 *D* 线波长完全一致，才知道一种物质所发射光的波长（或频率），与它所能吸收的波长（或频率）是一致的。

1862 年密勒（Miller）应用石英摄谱仪测定了 100 多种物质的紫外吸收光谱。他把光谱图表从可见区扩展到了紫外区，并指出吸收光谱不仅与组成物质的基团有关，而且与分子和原子的性质有关。此后，哈托莱（Hartolay）和贝利（Bailey）等人又研究了各种溶液对不同波段的截止波长。并发现与吸收光谱相似的有机物质，它们的结构也相似。并且可以解释用化学方法所不能说明的分子结构问题，初步建立了分光光度法的理论基础，以此推动了分光光度计的发展。1918 年美国国家标准局研制成了世界上第一台紫外可见分光光度计(不是商品仪器，很不成熟)。此后，紫外可见分光光度计被不断改进，很快在各个领域的分析工作中得到了应用。

朗伯（J. H. Lambert）早在 1760 年就发现物质对光的吸收与物质的厚度成正比，后被人们称之为朗伯定律；比耳（A. Beer）在 1852 年又发现物质对光的吸收与物质的浓度成正比，后被人们称之为比耳定律。在应用中，人们把朗伯定律和比耳定律结合起来，称之为朗伯-比耳定律。今天讲的比耳定律，

就是指朗伯-比耳定律。随后，人们开始重视研究物质对光的吸收，并试图在物质的定性、定量分析方面予以使用。因此，许多科学家开始研究以比耳定律为理论基础的仪器装置。

二、紫外可见分光光度计

美国 Beackman 公司于 1945 年推出世界上第一台成熟的紫外可见分光光度计商品仪器。从此，紫外可见分光光度计仪器和应用开始得到飞速发展。

以紫外可见分光光度计仪器的主机来讲，早期的紫外可见分光光度计是单光束仪器，都只有一条光路（一束光）、一个比色皿、一个光检测器。操作比较麻烦。光源波动、杂散光都不能抵消，因此，测量误差较大。但其最大的优点是成本低。随着科学技术的发展，紫外可见分光光度计由单光束向准双光束发展，出现了两束光、一个比色皿、两个光检测器的准双光束紫外可见分光光度计。准双光束仪器的参比光束除起参比作用外，还可起抵消光源波动影响的作用，它比单光束仪器在分析误差上要小一些。但其成本稍贵。再往后，出现了两束光、两个比色皿、两个光检测器的仪器，这就是今天所讲的双光束紫外可见分光光度计。

一般的双光束紫外可见分光光度计，大多只有一个单色器。例如，P-E 公司的 Lambda25/ 35/ 45 紫外可见分光光度计，岛津公司的 UV-2450、UV-2550 紫外可见分光光度计，北京普析通用公司的 TU-1901、TU-1221 紫外可见分光光度计，北京第二光学仪器厂的 UV-2100 紫外可见分光光度计，上海分析仪器总厂的 UV-763 紫外可见分光光度计等，都只有一个单色器。国产高档紫外可见分光光度计也只有一个单色器，如北京普析通用公司的 TU-1901 等紫外可见分光光度计。但是，目前国际上最高级的紫外可见分光光度计中，大多数都有两个单色器；如美国 P-E 公司 2001 年推出的 Lambda900、2004 年推出的 Lambda650/ 850/ 950 系列、美国 Varian 公司 2003 年推出的 Cary6000 等紫外可见分光光度计等。这些最高级的紫外可见分光光度计仪器的单色光的单色性很好、杂散光很小、分析误差很小、自动化程度很高、操作非常简单。但价格昂贵，如果每台仪器的附件全套配齐，则需 8 万～10 万美元。

从仪器使用的元器件来讲，在光学方面，早期的紫外可见分光光度计大多采用棱镜分光。20 世纪 50 年代开始，随着分光元件光栅的发展，再加它的价格相对便宜，所以国外有人用光栅分光，出现了光栅型的紫外可见分光光度计。目前，国内外一般的紫外可见分光光度计都用光栅分光，只有极少数紫外可见分光光度计才专用棱镜分光，如我国的 751 型紫外可见分光光度计。但是，目前国际上有很多高档的紫外可见分光光度计使用棱镜加光栅分光。一般是利用石英棱镜在紫外区的大线色散特性，将石英棱镜单色器作为前置分光部

件，这样可大大提高紫外可见分光光度计的分辨率、减少或降低紫外可见分光光度计仪器的杂散光，提高紫外可见分光光度计仪器的质量。

紫外可见分光光度计的电子学元器件方面，开始都是采用模拟电路制作，并且是电子管等分立元件（单个电阻、电容、电子管等）。20 世纪 60 年代，晶体管被国外普遍采用，因此，从 60 年代开始，国外的紫外可见分光光度计都普遍采用晶体管分立元件组成电路。随着集成电路的问世，国外的紫外可见分光光度计，很快都采用集成电路（集成块、芯片）制作。我国也很快跟上了国际步法。

紫外可见分光光度计在自动化程度方面发展很快，从 20 世纪 50 年代末期开始，国外生产的许多紫外可见分光光度计就开始采用计算机技术，到了 60 年代末期或 70 年代初期则普遍采用计算机技术。目前，国外生产的紫外可见分光光度计的自动化程度都很高。

我国过去的工业基础较差，直到 20 世纪 80 年代初期，我国生产紫外可见分光光度计的厂商才开始重视使用计算机。目前，国产的紫外可见分光光度计中，除少数没有计算机外（如“75”系列的大多数紫外可见分光光度计、“72”系列的大多数可见分光光度计），绝大多数都已普遍使用单片机或台式计算机。

我国目前已有近 30 家企业在生产各种不同类型和型号的紫外可见分光光度计，其自动化程度有的也相当高。有些紫外可见分光光度计的自动化程度不亚于国外产品，从硬件到软件，完全可以与国外的同类仪器媲美。

总的来讲，我国的高档紫外可见分光光度计与国外差距较大，特别在主要、关键技术指标上，差距更加明显。如杂散光指标，国外最高已达到 8×10^{-7}（如 Varian 公司的 Cary6000 型紫外可见分光光度计等），噪声指标国外最高已达到±0.0002Abs（如 P-E 公司的 Lambda900 型紫外可见分光光度计等）。但我国最高档的紫外可见分光光度计的杂散光指标，目前只能达到 1.0×10^{-4}（如北京普析通用公司的 TU-1901 紫外可见分光光度计等），噪声指标只能达到±0.0004Abs（如北京普析通用公司的 TU-1900/1901 等紫外可见分光光度计）。产生这种现象的原因是多方面的，其中最主要的原因是长期以来，在基础理论、产业化、人才培养方面还存在一些问题。确切地说，是没有处理好中国分析仪器发展中的若干关系，如理论与实践的关系；元器件与整机的关系；软件与硬件的关系；基础与前沿的关系；普及与提高的关系；样机与批量的关系；质量与价格的关系；指标和可靠性的关系；制作仪器和使用仪器的关系；人才与产品的关系。

但是，在中、低档紫外可见分光光度计方面，我国与国外的差距已经很小，有些技术指标还能优于国外同类产品（如 TU-1900/1901 等紫外可见分光光度计的光度噪声已优于岛津的 UV-2401/2450、UV-2501/2550 紫外可见分

光光度计)。

目前，国际上的紫外可见分光光度计正在向高速、微量、小型和低杂散光、低噪声的方向发展。我国政府很重视科学仪器的发展，已经把科学仪器列为我国第十个五年计划（以下简称“十五”）期间，国家二十九项重大科技攻关项目中的一项。北京普析通用公司承担的《光谱分析仪器的研制与开发》国家攻关课题期间，完成了快速便携式多功能紫外可见光谱仪和用 CCD 阵列作检测器的三维紫外可见光谱仪的研制，都已初步形成了产业化的规模。目前，我国的快速便携式多功能紫外可见光谱仪已达到国际上同类产品的领先水平。

我国的紫外可见分光光度计的应用技术发展很快，目前在我国的科研、教学、工农业生产等各个领域，都在广泛使用，其需求量每年达上万台。应用领域正在不断扩大，它最初主要用于化学领域，随后被大量应用于其他领域。进入 20 世纪 90 年代后，随着生命科学的重要性被人们日渐认识，其应用正在进一步向药学、医学和生物工程等生命科学领域扩展。今后，其应用领域还将不断扩大，并将得到更大、更快的发展。

参 考 文 献

1 R . J . Jarnutowski etc . Technical Information (Selecting a Spectrophotometer—— How to Evaluate a Spectrophotometer) . New York: Beckman, 1989

2 E . D . Olsen . Modern Optical Methods of Analysis . New York: McGraw-Hill, 1975

3 T . Owen . Fundamentals of UV-Visible Spectroscopy . Printed in Germany 09/ 06 . H . P . Publication number 12-5965-5123E, 1996

4 李昌厚 . 再论中国分析仪器中的十大关系 . 分析测试技术与仪器, 2004 . (2): 1

5 李昌厚 . 论分析仪器与仪器分析的关系 . 见: 广西师范大学学报 (自然科学版) . 第八届中国化学会分析化学年会暨第八届原子光谱学术会议论文集 . 广西师范大学学报编辑委员会, 2003, 21 (1): 15

6 李昌厚 . 浅谈振兴我国科学仪器事业的几个有关问题 . 现代科学仪器, 1997, (1): 8

7 李昌厚, 再论 UV/ VIS 的主要技术指标及如何赶超国际先进水平, 现代科学仪器, 1997, (4): 12

8 李昌厚 . 论中国分析仪器的十大关系 . 科学时报 (科学装备 B1 版), 北京: 2001-6-26

第二章　分光光度法基础

第一节　电磁辐射的基本性质

分光光度法的理论基础与电磁辐射、吸收等许多基础知识有关，本章对此将作简单介绍。

一、电磁辐射的粒子说和波动说

人们对电磁辐射两重性的认识争论了很久，有两种说法：一是粒子说，把光看成微粒子，认为光与物质相互作用的现象（如吸收、发射、反射等）表明光是具有不连续能量的微粒（光子），光具有粒子性；二是波动说，把光看成一种波，它可以反射、衍射、干涉、折射、散射、传播等，它可用速度、频率、波长等参数来描述，这表明光具有波的性质。

到20世纪初，普朗克（Planck）提出了量子论，把电磁辐射的粒子说和波动说联系起来了。并提出了光量子（即光子）能量与电磁辐射的频率有关，其数学表达式为

$$E = h\nu \tag{2-1}$$

式中　E——辐射的光子能量，J；

h——普朗克常数，6.63×10^{-34} J·s；

ν——辐射的频率，Hz。

若将式（2-1）用波长表示，则为

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \tag{2-2}$$

式中　E——辐射的光子能量，J；

h——普朗克常数，6.63×10^{-34} J·s；

ν——辐射的频率，Hz；

c——光速，3×10^{8} m/s；

λ——波长，m。

从式（2-1）和式（2-2）就可看出：普朗克的量子论真正把粒子说的光子能量与波动说的辐射频率（波长）联系起来了。用式（2-2），可以方便地计算出各种频率或各种波长光子的能量。如紫外区在200nm和可见区在500nm这两个波长处光子的能量分别如下。

(1) 200nm 波长处光子的能量

$$E_{200}=\frac{hc}{\lambda}=\frac{6.63\times10^{-34}\ \text{J}\cdot\text{s}\times3\times10^{8}\ \text{m/s}}{200\times10^{-9}\ \text{m}}=9.95\times10^{-19}\ \text{J}$$

(2) 500nm 波长处光子的能量

$$E_{500}=\frac{hc}{\lambda}=\frac{6.63\times10^{-34}\ \text{J}\cdot\text{s}\times3\times10^{8}\ \text{m/s}}{500\times10^{-9}\ \text{m}}=3.98\times10^{-19}\ \text{J}$$

由式 (2-2) 可知，波长与能量成反比。也就是说，波长越短，能量越大。这也是我们为什么要特别注意紫外可见分光光度计短波处 (220nm) 的杂散光的理由。

二、电磁辐射波段的能量范围和各种波谱法

前面已经指出了光既是粒子又是一种电磁波。它们之间的区别仅在于频率 (波长) 不同，若按频率 (波长) 的大小顺序，把电磁波排成一个谱 (电磁波谱)，见表 2-1。不同波段的电磁波，产生的方法和引起的作用各不相同，因此，出现了各种波谱法。

表 2-1　不同波段的电磁波谱

波长	纳米 (nm)	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1	10	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}	10^{7}	10^{8}	10^{9}
	微米 (μm)	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1	10	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}
	埃 ( )①	10^{-2}	10^{-1}	1	10	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}	10^{7}	10^{8}	10^{9}	10^{10}
波段	γ 射线	X 射线	紫外光		可见光	红外光		微波	射频					
谱型	γ 射线(光)谱 莫斯鲍尔(波)谱	X 射线(光)谱	真空紫外	近紫外 紫外吸收光谱	比色，可见吸收光谱	红外吸收光谱		顺磁共振；微波波谱	核磁共振波谱					
跃迁类型	核反应	内层电子跃迁	外层电子跃迁			分子振动		分子转动； 电子自旋；核自旋						
辐射源	原子反应堆，粒子加速器	X 射线管	氢(或氘)灯或氙灯		钨灯	碳化硅热棒；涅恩斯特辉光管		速调管	电子振荡器					
单色器	脉冲-高度鉴别器	晶体光栅	石英棱镜；光栅		玻璃棱镜；光栅滤光片	盐棱：LiF；NaCl；KBr；$CaBr_2$		单色光源						
检测器	盖革-弥勒管，闪烁计数器，半导体探测器		光电管，光电倍增管		光电池；光电管 肉眼	温差电堆；测热辐射计；气动检测器		晶体二极管	二极管；三极管；晶体三极管					
频率/ Hz	10^{20}	10^{19}	10^{18}	10^{17}	10^{16}	10^{15}	10^{14}	10^{13}	10^{12}	10^{11}	10^{10}	10^{9}		
波数 / cm^{-1}	10^{10}	10^{9}	10^{8}	10^{7}	10^{6}	10^{5}	10^{4}	10^{3}	10^{2}	10	1	0.1		
能量/ eV	10^{6}	10^{5}	10^{4}	10^{3}	10^{2}	10	1	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}		

① 1 =0.1nm。

三、紫外可见吸收光谱的形成

原子或分子中的电子，总是处在某一种运动状态之中。每一种状态都具有一定的能量，属于一定的能级。这些电子由于各种原因，如光、热、电等的激发，放出光或放出热，而从一个能级转移到另一个能级，称之为跃迁。当这些电子吸收了外来辐射的能量后，就会从能量较低的能级跃迁到另一个能量较高的能级。因此，每一跃迁都对应着吸收一定的能量（一定波长）的辐射。谱线的频率（ν）或波长（λ）与跃迁前后两个能级的能量差 $\Delta E = E_2 - E_1$ 之间的关系服从普朗克（Planck）条件，即

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \tag{2-3}$$

式中 E——辐射的光子能量，J;

h——普朗克常数，6.63×10^{-34} J·s;

ν——辐射的频率，Hz;

c——光速，3×10^{8} m/ s;

λ——波长，m。

物质的分子吸收光谱形成的机理，就是由于能级之间的跃迁所引起的。因为分子内部运动所涉及到的能级变化比较复杂，所以，分子的吸收光谱也比较复杂。一个分子的总能量 E 可以认为是内在能量 E_0、平动能 $E_{平}$、振动能 $E_{振}$、转动能 $E_{转}$ 以及电子运动能量 $E_{电子}$ 的总和，即

$$E = E_0 + E_{平} + E_{振} + E_{转} + E_{电子} \tag{2-4}$$

其中，E_0 是固有的内能，不随运动而改变；$E_{平}$ 是连续变化的，不会量子化。因此，它们的改变，不会产生光谱。所以，一个分子吸收外来辐射之后，它的能量变化 ΔE 为其振动能变化 $\Delta E_{振}$、转动能变化 $\Delta E_{转}$ 以及电子运动能量变化 $\Delta E_{电子}$ 的总和，即

$$\Delta E = \Delta E_{振} + \Delta E_{转} + \Delta E_{电子} \tag{2-5}$$

在式（2-5）的右边三项中，$\Delta E_{电子}$ 最大，一般在 1～10eV 之间。现设 $\Delta E_{电子}$ 为 5eV，则据式（2-3）可得到相应波长

$$\lambda = \frac{hc}{\Delta E_{电子}} = \frac{6.63\times10^{-34}\ \text{J·s}\times3\times10^{8}\ \text{m/ s}}{5\times1.6\times10^{-12}\ \text{erg}} = 2.49\times10^{-5}\ \text{cm} = 249\text{nm}$$

由此可知，由于分子内部电子能级的变化而产生的光谱在紫外区或可见区内。分子的振动能级间隔 $\Delta E_{转}$ 大约比 $\Delta E_{电子}$ 小十倍，一般在 0.05～1eV 之间。设 $\Delta E_{转}$ 为 0.1eV，则为 5eV 的电子能级间隔的 2%。当发生电子能级之间的跃迁时，不可避免的要发生振动能级之间的跃迁，因此，得到的不只是一条波长为 249nm 的谱线，而是一系列谱线，其波长间隔为 249nm × 2% = 4.98nm。

分子的转动能级间隔 $\Delta E_{转}$ 大约比 $\Delta E_{振}$ 小十倍或百倍，一般小于 0.05eV，也可以小到 10^{-4} eV 以下。设 $\Delta E_{转}$ 为 0.1eV，则为 5eV 的电子能级间隔的 2%。设 $\Delta E_{转}$ 为 0.005eV，则为 5eV 的电子能级间隔的 0.1%。当发生电子能级之间的跃迁和振动能级之间的跃迁时，也不可避免的要发生转动能级之间的跃迁。因此，得到的谱线彼此间的波长间隔只有 249nm × 0.1% = 0.249nm。由于彼此间的波长间隔太小，因此它们就连在一起，呈现带状，称为带状光谱。分子的能级示意如图 2-1 所示。

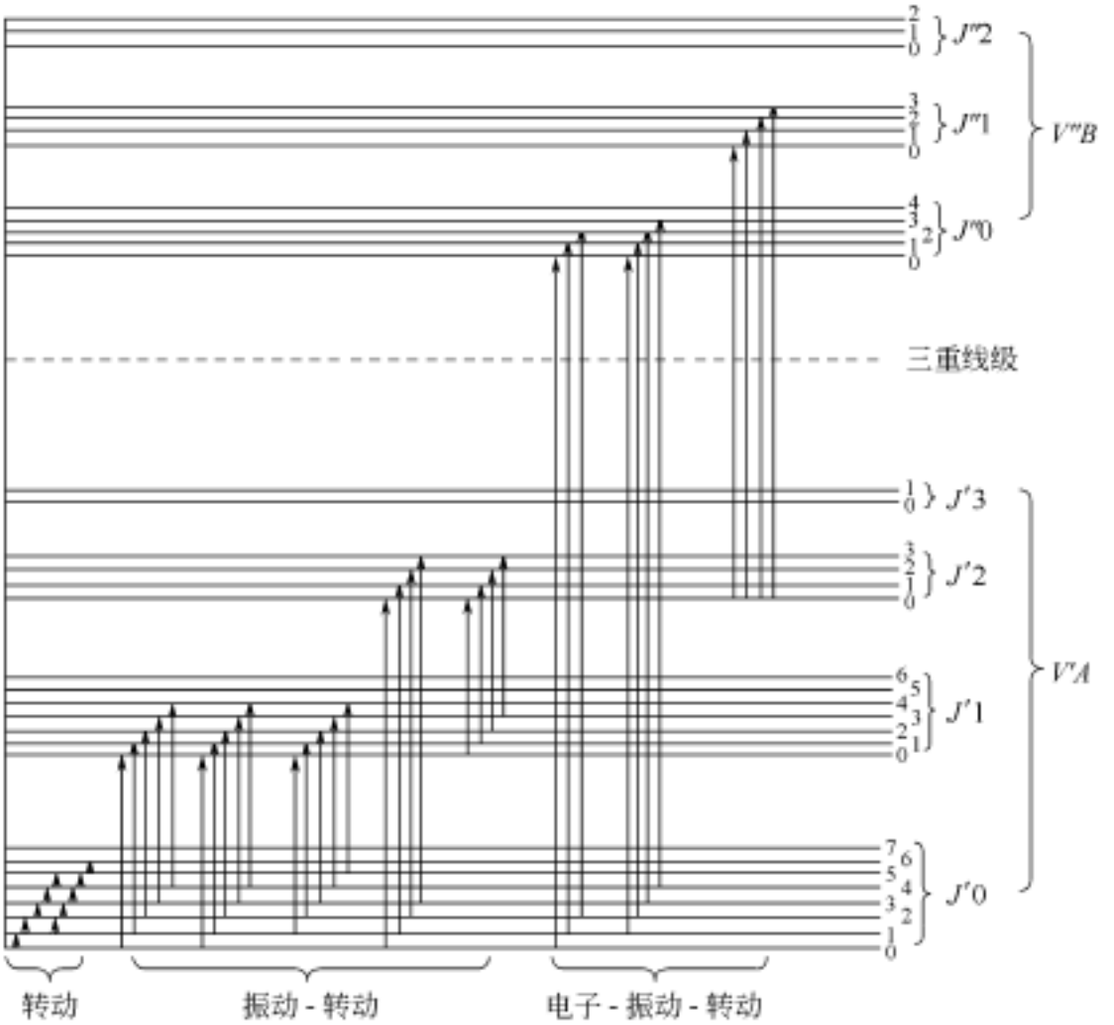


图 2-1　分子的能级示意

图 2-1 中的 A 和 B 是两个电子能级；在同一电子能级和同一振动能级中，还因转动能量不同而分为若干 $J = 0, 1, 2, 3\cdots$ 转动能级。

一些物质会呈现特征的颜色，这是由于它们对可见光中某些特定波长的光线选择吸收的缘故。实际上，一切物质都会对可见光和不可见光中的某些波长的光线进行吸收。但是，一切光线并不都是以相同的程度被物质吸收的。物质对不同波长的光线表现不同的吸收能力，叫做选择性吸收。据前所述，物质只能有选择地吸收那些能量相当于该分子振动能变化 $\Delta E_{振}$、转动能变化 $\Delta E_{转}$ 以及电子运动能量变化 $\Delta E_{电子}$ 总和的辐射。各物质分子的能级是千差万别的，

因此，它们内部各种能级之间的间隔也是不同的。所以，各种物质对光线的选择吸收这一性质，反映了它们分子内部结构的差异；即各种物质的内部结构决定了它们对不同光线的选择吸收。因此，研究各种物质的吸收光谱，可以为研究它们的内部结构提供重要信息。

第二节　定量分析的理论基础——比耳定律

比耳定律问世已 230 多年了，几乎所有的光学分析仪器（如紫外分光光度计、可见分光光度计、原子吸收分光光度计、液相色谱仪的紫外检测器等）的原理都是采用比耳定律。

比耳定律是在假设照射到吸光物质上的光是严格的单色光，被测物质是由独立的、彼此之间无相互作用的吸收粒子组成的前提下定义的。因此，在实际工作中，就必须要认真考虑这些问题，才能真正掌握好比耳定律，才能设计、制造出优质的紫外可见分光光度计等光学式分析仪器，使用者才能用好这些光学式分析仪器。

一、比耳定律及其数学表达式

18 世纪初期，朗伯在前人的基础上，进一步研究了物质对光的吸收与物质厚度的关系，并于 1760 年指出：如果溶液的浓度一定，则光对物质的吸收程度与它通过的溶液厚度成正比。这就是朗伯定律，其数学表达式为

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = K_0 b \tag{2-6}$$

式中，A 为吸光度；I_0 为入射光强度；I 为透射光强度；b 为液层厚度(即光程)；K_0 为比例常数。

1852 年，比耳研究了各种无机盐的水溶液对红光的吸收后指出：光的吸收和光所遇到的吸光物质的数量有关；如果吸光物质溶于不吸光的溶剂中，则吸光度和吸光物质的浓度成正比。即当单色光通过液层厚度一定的有色溶液时，溶液的吸光度与溶液的浓度成正比，这就是比耳定律。其表达式为

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = K_1 C \tag{2-7}$$

式中，A 为吸光度；I_0 为入射光强度；I 为透射光强度；C 为溶液的浓度；K_1 为比例常数。

若将朗伯定律和比耳定律合并，则为朗伯-比耳定律（Lambert-Beer），一般简称为比耳定律。它可用以下数学公式描述

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = K_2 bC \tag{2-8}$$

式中，b为光程；C为溶液的浓度；K_2为比例常数，一般将K_2称为吸光系数，单位为1/（g·cm）。

式（2-8）中，若将浓度C以摩尔（mol）浓度表示，光程b以厘米（cm）表示，则吸光系数K_2称为摩尔吸光系数，一般用ε表示，其单位为1/（mol·cm）。此时，式（2-8）可改写为

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon bC \tag{2-9}$$

其中，ε是有色溶液在浓度C为1mol/L，光程b为1cm时的吸光度；它表征各种有色物质在一定波长下的特征常数，它可以衡量显色反应的灵敏度；ε值越大，表示该有色物质对此波长光的吸收能力越强，显色反应越灵敏。一般ε的变化范围是10～10^5，其中ε>10^4为强度大的吸收，ε<10^3为强度小的吸收。

如果试样的分子量M还不知道，可用$A_{1cm}^{1\%}$来表示。即

$$M = \frac{10\varepsilon}{A_{1cm}^{1\%}} \tag{2-10}$$

其中，$A_{1cm}^{1\%}$为比吸收系数，即试样溶液的光程为1cm，试样浓度为1%时的吸光度值。

综上所述，比耳定律可以描述为：当一束平行的单色光通过某一均匀的有色溶液时，溶液的吸光度与溶液的浓度和光程的乘积成正比，这就是比耳定律的真正物理意义。它是光度分析中定量分析的最基础、最根本的依据。也是紫外可见分光光度计的基本原理。

二、影响比耳定律偏离的主要因素

（一）非单色光

如前所述，从理论上讲，比耳定律只适用于单色光，但在实际工作中并非如此，绝对不可能从光学分析仪器上得到真正的单色光，只能是得到波长范围很窄的光谱带。因此，进入被测试样的光仍为在一定波段内的复合光。由于物质对不同波长的光具有不同的吸光程度，故在实际工作中即使用很高级的分光光度计、采用很窄的光谱带宽，即用波段很窄的复合光照射样品，仍然会产生比耳定律偏离。

假设入射光的光谱带宽Δλ的波长范围为λ_1～λ_2，对λ_1设其吸光度为A_1，则$A_1 = \lg \frac{I_{0_1}}{I_1} = \varepsilon_1 bC$，$I_1 = I_{0_1} \times 10^{\varepsilon_1 bC}$；对$\lambda_2$设其吸光度为$A_2$，则$A_2 = \lg \frac{I_{0_2}}{I_2} = \varepsilon_2 bC$，$I_2 = I_{0_2} \times 10^{-\varepsilon_2 bC}$。但实际测定时，入射光强度为$I_{0_1} + I_{0_2}$，透射光强度为$I_1 + I_1$，因此，吸光度值为

$$A = \lg \frac{I_{0_1} + I_{0_2}}{I_1 + I_1} = \lg \frac{I_{0_1} + I_{0_2}}{I_{0_1} \times 10^{\varepsilon_1 bC} + I_{0_2} \times 10^{-\varepsilon_2 bC}} \tag{2-11}$$

若 $\varepsilon_1 = \varepsilon_2 = \varepsilon$，则式（2-11）可写成

$$A = \lg \frac{I_{0_1} + I_{0_2}}{I_1 + I_1} = \lg \frac{I_{0_1} + I_{0_2}}{(I_{0_1} + I_{0_2}) \times 10^{-\varepsilon_2 bC}} = \lg 10^{\varepsilon_2 bC} = \varepsilon bC \tag{2-12}$$

此时，A 与 C 成线性关系。但实际上，ε是有色物质的与波长有关的特征常数，对同一有色物质而言，在其他条件一定时，不同波长有不同的 ε值，故 ε_1 不可能完全与 ε_2 相等。因此，对非单一波长的入射光，A 与 C 不可能真正成线性关系，因而产生了比耳定律偏离。

（二）杂散光

杂散光是紫外可见分光光度计的主要分析误差来源。杂散光产生的原因很多，最主要的是光栅、外光路和单色器内壁散射等原因产生杂散光。仪器的杂散光 80％来自光栅，它使分析测试的吸光度变小，特别在高浓度时，杂散光的影响会更加严重，以引起比耳定律的偏离。同时，由于物质在某些介质中分散为许多微小的粒子，这些粒子会对入射光产生散射。并且，随着粒子浓度的增大，这些散射光的强度会增强，会降低透射光强度，使被测试样的吸光度增大，从而引起比耳定律的偏离。此外，由于不少物质在光的照射下会产生光致发光现象或产生荧光，也将严重影响比耳定律，使之偏离。

（三）噪声

噪声会直接影响紫外可见分光光度计的信噪比，降低仪器的灵敏度，噪声限制紫外可见分光光度计仪器对样品分析浓度的下限。噪声主要来自仪器的电子学系统，一般用峰-峰值来表示。如果仪器的正噪声大，会使测定低浓度样品的吸光度值增大；如果仪器的负噪声大，就会使测定低浓度样品的吸光度值减小，从而使测定值偏离比耳定律。

（四）光谱带宽

光谱带宽会直接影响比耳定律的偏离，这是容易被人忽视而又特别重要的问题。本书将在后面详细介绍，此不赘述。

（五）化学因素

化学分析中绝大多数是基于被测定成分与试剂之间的反应，从而得到一定的反应产物。这个产物不一定很稳定，有时还会继续产生化学反应、溶剂效应，有时试剂中还有杂质等的干扰，这些都会引起比耳定律的偏离。

（六）其他因素

除上述因素外，分析测试时的温度也可引起比耳定律的偏离，压力、光学传感器的非线性等，也可引起比耳定律的偏离。

三、比耳定律的局限性与可靠性

(一) 比耳定律的局限性

紫外可见分光光度分析的基本原理是比耳定律，如前所述，比耳定律所描述的物质对光的吸收值（吸光度 A)、光程（b) 和物质的浓度（C) 成线性关系。但是，这只是在稀溶液（低含量）时才能成立。因此，比耳定律 $A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon bC$是一个有限使用的定律。因为在高浓度（一般指 > 0.01mol/ L）时，吸收成分（质点）之间的平均距离将缩小到一定程度，邻近质点彼此的电荷分布都会相互受到影响，将改变它们对特定辐射的吸收能力。这种影响的程度取决于物质的浓度，它可使吸光度与浓度之间的线性关系发生偏离。

吸光度与浓度之间线性关系的偏离（即比耳定律的偏离）还与溶液的折射率 n有关；因为，摩尔吸光系数 ε是真实摩尔吸光系数 $\varepsilon_{真}$ 和溶液的折射率 n 的函数，即

$$\varepsilon = \varepsilon_{真}\left[\frac{n}{(n^2+2)^2}\right]$$

而溶液的折射率是随着溶液浓度的改变而改变的，所以 ε也随浓度改变。然而，实际上当浓度 ≤ 0.01mol/ L 时，n 基本上是不变的；但当浓度 > 0.01mol/ L 时，ε将随浓度而改变。

如前所述，比耳定律在低浓度时是正确的，但不排除在高浓度时，采用差示分光光度法、多波长法等适当方式进行定量分析。

(二) 比耳定律的可靠性

比耳定律假设的分析条件与实际的分析条件有偏离，因此，在使用中就会出现可靠性的问题。在比耳定律的推导中，至少有三个假设是与实际不相符的：第一，假设采用的是单色光；第二，入射光是平行光；第三，吸光粒子(分子或离子) 的行为相互无关，而且，不论其数量和种类如何都是如此。此外，样品的处理、测量过程中的仪器条件和操作等因素也会产生误差。由于有这些假设和操作上的原因，引起了比耳定律应用中的可靠性问题。下面将对此进行简单分析讨论。

1. 非单色光

在比耳定律的推导中，都是假设采用单色光，而在实际中不可能是真正的单色光，即使是选用仪器上设置的最小光谱带宽也是如此。非单色光的谱带宽度与使用仪器的光谱带宽有关，所用的光谱带宽越大，非单色光的谱带宽度就越大，光谱纯度就越差。因此，由于实际的非单色光与假设的单色光不符，就产生了比耳定律的偏离。

假设入射到样品上的光是真正的平行光，这在实际中也是不可能的。不管在何种情况下，入射到样品上的光，总是有一个孔径角。这与假设入射到样品上的光是平行光不符。因此，产生了比耳定律的可靠性问题。

2. 吸光物质成分之间的相互作用

在比耳定律的推导中，假设所有的吸光粒子（分子或离子）的行为都是相互无关的。但是，这种情况只有在稀溶液（浓度≤0.01mol/L）中才存在。因为在浓度增大时，往往产生某些附加效应，如聚集、聚合或缔合作用、水解以及络合物配位数的改变等，最后影响物质的吸光效应。并且，吸光粒子之间的相互作用必将改变吸光成分或被激发的成分，或改变电荷分布。从而将改变对所吸收的入射光能量的要求，导致吸收峰的位置、形状和高度随着浓度的增加而改变。

3. 光程不相等

比耳定律假设所有入射光线通过相同数量的吸收粒子或假设所有入射光线通过吸光物质的光程相等，其实不然，如果把一个样品放在几台不同的紫外可见分光光度计上测试，尽管仪器都经过认真的调试、校验，其测试结果都是不会相同的。其原因有多方面，除前面所述因素的影响外，还有以下因素引起光程的变化，导致产生误差。

(1) 光束倾斜　从单色器出来的光照射到比色皿的时候，不可能是理想的平行光，总有一个孔径角（见图 2-2），因此，通过比色皿的平均光程总是大于垂直通过的光程长度。

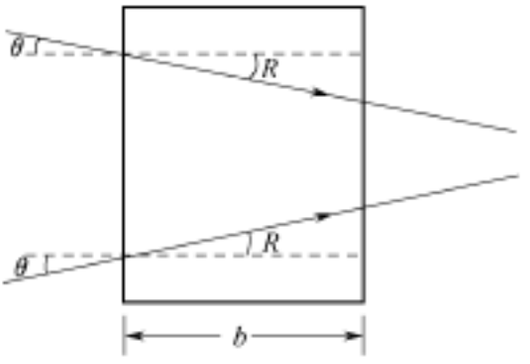


图 2-2　倾斜光束

假设图 2-2 中的比色皿长度为 b，吸光度为 A，则比色皿两端的倾斜光束的光程长为$\frac{b}{\cos R}$，相应的吸收值为$\frac{A}{\cos R}$。又假设在孔径角以内的吸光度值为 A'，则

$$A' = \frac{A}{R_{最大}} \int_0^{最大} \frac{1}{\cos R} \mathrm{d}R \qquad (2\text{-}13)$$

如果光束的截面是均匀的，那么，从式（2-13）可以计算不同孔径角的吸收百分比误差。孔径角为 2°～10°时的吸收百分比误差见表 2-2。

表 2-2　吸收误差与非平行光的关系

入射孔径角 $\theta_{最大}$/（°）	折射孔径角 $R_{最大}$/（°）	$\frac{\Delta A}{A}$/ %	入射孔径角 $\theta_{最大}$/（°）	折射孔径角 $R_{最大}$/（°）	$\frac{\Delta A}{A}$/ %
2.7	2	0.020	10.7	8	0.33
5.3	4	0.081	13.4	10	0.51
8.0	6	0.18			

从表 2-2 可知，当孔径角小于 5°时，吸光度 A 值的误差小于 0.1%。

(2) 比色皿引起的误差　大多数样品是以溶液形式进行分析测量的，因此，比色皿就成了重要部件。它的几何尺寸的加工误差、配对误差会直接导致分析测试结果产生误差。特别是比色皿的两个通光面之间的距离和平行性更是如此。英国标准研究所曾经介绍过关于比色皿的技术要求，他们建议光程长的标准精度必须达到 ±0.02mm，端面窗的平行性是 4 个光圈/ 1cm (用汞灯的 546.1nm 测试)，对于 10mm 光程的比色皿，其标定精度必须在±0.01mm 内。

作者根据我国国家计量检定规程的要求，对我国某公司生产的比色皿进行过测试。在三个月中 (其中间隔一个月)，先后从两批产品中，挑选 62 对比色皿进行了配对检测。第一批挑选 32 对比色皿，不合格者达 22 对，占 68.8%；第二批挑选 30 对比色皿，不合格者 23 对，占 76.6%。而该公司长期从事比色皿的生产，用户遍布全国各地，甚至大量出口国外。据该公司负责人讲，从未听到过使用者对他们生产的比色皿提出过配对不合格的意见。这说明了广大科技人员，尚未对比色皿的配对误差给紫外可见分光光度计的分析误差带来的严重影响引起重视。

如图 2-3 所示，当光线通过盛有溶液的比色皿时，一部分在两个端面产生反射。

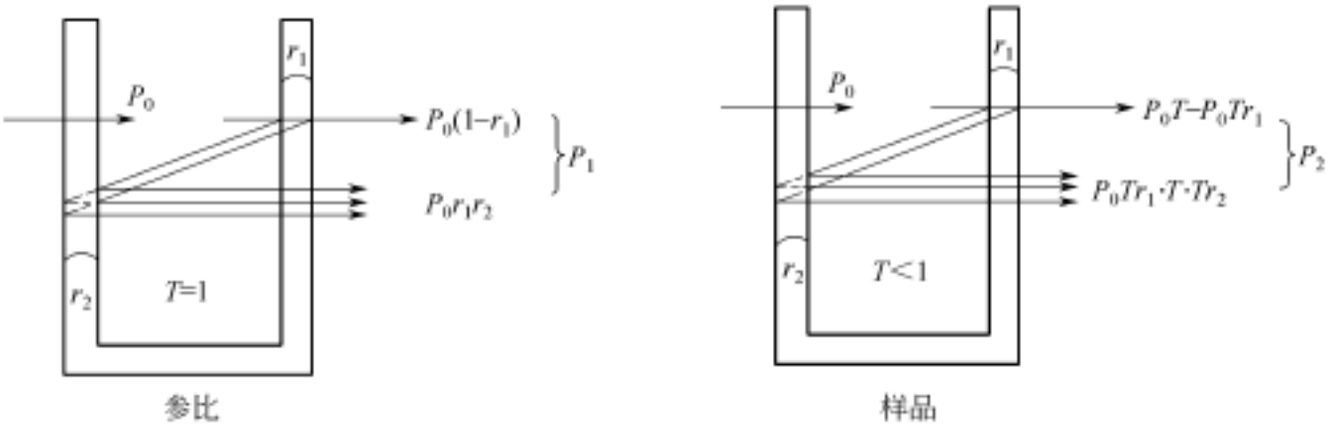


图 2-3　光线通过参比池和样品池的内反射

对垂直入射光来说，通过折射率为 n_1 和 n_2 的介质时，所发生的反射可用菲涅耳 (Fresnel) 公式表示

$$r=\left[\frac{n_1-n_2}{n_1+n_2}\right]^2 \tag{2-14}$$

对空气-玻璃介质来讲，反射系数 $r=0.04$；对玻璃-液体介质来讲，反射系数 $r=0.0035$；参比比色皿不能完全补偿这种反射。在图 2-2 中，如果只考虑第一次和第二次反射，则测试到的吸光度 A 见式 (2-15)，对式 (2-15) 整理并简化后，得到式 (2-16)。

$$A = \lg \frac{P_1}{P_2} = \lg\left[\frac{P_0\, T(1 - r_1 + r_1 r_2)}{P_0\,(1 - r_1 + r_1 r_2\, T^2)} \right] \tag{2-15}$$

$$A = A_0 + 0.4343(1 - T^2)\left[\frac{r_1 r_2}{1 - r_1} \right] \tag{2-16}$$

式中，A 为实测吸光度值；A_0 为理论吸光度值；P_0、P_1、P_2 的物理意义可参见图 2-2；T 为透射比。

设 $r_1 = r_2 = 0.05$，则 A 随 A_0 的变化见表 2-3。

表 2-3　A 随 A_0 的变化

A_0	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
A	0.1004	0.2007	0.5010	1.0011	2.0011

(3) 样品处理和测量过程中产生的误差　不管测试什么样品，总是要事先对样品进行处理。要对样品进行处理，总会因为仪器设备等各种原因而带来误差。如称量天平的误差、取液的量筒或移液管等玻璃仪器的误差、仪器条件选择 (光谱带宽、扫描速度等)、环境因素 (温度、电磁场的干扰等)、人为操作误差等。这些误差都会引起比耳定律应用中出现的问题。

参　考　文　献

1　A.Beer. Ann. der Physik. Chemie, 1852, (3): 26, 78

2　D.A.Skoog, D.M.West. Principles of Instrumental Analysis. New York: Holt Rinehart & Winston, 1971

3　K.Mann, T J.Vickers, W.M.Gulick. Instrumental Analysis. New York: Harper &. Row, 1974

4　V.M.Parikh. Absorption Spectroscopy of Organic Molecules. New York: Addison-Wesley, 1974

5　C.N.R.Rao. Ultra-Violet and Visible Spectroscopy. London: Butterworth, 1961

6　E.D.Olsen. Modern Optical Methods of Analysis, New York: McGraw-Hill. 1975

7　T.H.Gouw. Guide to Modern Methods of Instrumental Analysis. Now York: Wiley-Interscience, 1972

8　R.W.Burke et. J.Res.Nat. Bur. Stand. (U.S.), 1972, (5): 469

9　**李昌厚，孙吟秋．略论比耳定律及有关问题．光学仪器**，1994, (22): 2

10　D.A. Skoca etc. Principle of Instrumentation Analysis. New York: John Wiley and Sons Ltd, 1980

11　R.A. Shoda etc. Quantitative Analysis. New York: John Wiley and Sons Ltd. 1980

12　**陈国珍，黄贤智等．紫外-可见光分光光度法 (上册)．北京：原子能出版社出版**，1983, 42

13　R.P. Bauman. Absorption Spectroscopy. New York: John Wiley and Sons Ltd, 1962

14　M.G. Mellon. Analytical Absorption Spectroscopy. New York: John Wiley and Sons Ltd, 1957

第三章　紫外可见分光光度计的基本结构

第一节　仪 器 分 类

从分光元件来讲，紫外可见分光光度计可分为棱镜式和光栅式两种。不过，近几年国际上基本不按分光元件来分类了，因为许多高档紫外可见分光光度计，大多由棱镜和光栅两种分光元件联合组成分光系统，一般前置单色器用棱镜作分光部件，主单色器用光栅作分光部件。而单纯的棱镜式紫外可见分光光度计已经很少见了，特别是国外的制造商，一般都不再制造棱镜式紫外可见分光光度计了。但是，目前我国还在生产棱镜式紫外可见分光光度计，如 751 紫外可见分光光度计，它在中国市场上畅销了 20 多年，现在仍深受广大使用者欢迎。

目前，国际上一般按紫外可见分光光度计的仪器结构将其分为单光束、准双光束、双光束和双波长四类。本节将对这四者之间的主要区别、各自的特点进行简单介绍。

一、单光束紫外可见分光光度计

1945 年美国 Beckman 公司推出的世界上第一台成熟的紫外可见分光光度计商品仪器，就是单光束紫外可见分光光度计。顾名思义，单光束紫外可见分光光度计只有一束单色光，一只比色皿，一只光电转换器（又称光接收器）。其光电转换器通常采用硅光电池、光敏三极管或光电管，其结构简单、价格便宜，但因其杂散光、光源波动、电子学的噪声等都不能抵消，故单光束紫外可见分光光度计的光度准确度差。国外的 DU70、PU8700 等及我国目前许多企业正在生产的 751、752、753、754 等紫外可见分光光度计就都是单光束仪器，一般来讲，它们属于低档仪器。但无锡英之诚高速分析仪器公司生产的 753 型仪器可称得上中档紫外可见分光光度计，因为它的功能较全，可以通过计算机解决许多较复杂的定量分析工作。另外，我国目前许多企业正在生产的 721、722、723、727 等可见分光光度计也是单光束仪器，这类仪器完全是低档仪器。一般来讲，单光束紫外可见分光光度计，由于其技术指标比较差，特别是杂散光、光度噪声、光谱带宽等主要技术指标比较差，因此，分析误差也较大。所以，它们在使用上受到限制。一般来讲，要求较高的制药行业、质量检

验行业、科研等行业不适宜使用单光束紫外可见分光光度计。

单光束紫外可见分光光度计的组成如图 3-1 所示。

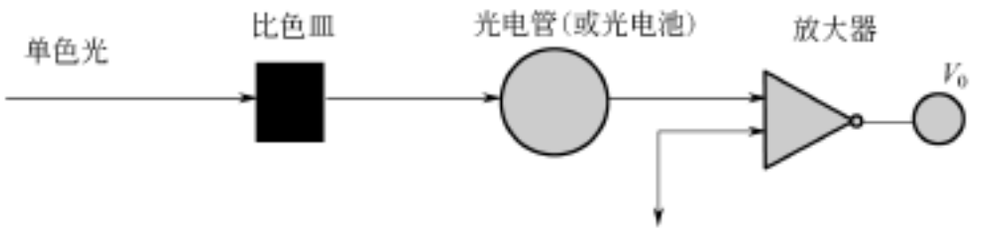


图 3-1　单光束紫外可见分光光度计

二、准双光束紫外可见分光光度计

所谓准双光束紫外可见分光光度计，就是有两束光，但只有一只比色皿的紫外可见分光光度计。其中，一束光通过比色皿，另一束光不通过比色皿。不通过比色皿的那束光，主要起抵消光源波动对分析误差影响的作用。

准双光束紫外可见分光光度计有两种类型：一种是两束单色光，一只比色皿，两只光电转换器；另一种是一束单色光，一束复合光，一只比色皿，两只光电转换器。

(一) 两束单色光

这种准双光束紫外可见分光光度计比较多。目前国内外市场上或用户正在使用的准双光束紫外可见分光光度计，基本上都是这种类型的仪器。这种准双光束紫外可见分光光度计，一般都用硅光电池或光电管作光电转换器。不通过比色皿的这一束光，除作为参考光束外，还有一个很重要的作用，就是用来抵消光源波动，以提高仪器的稳定性。这种仪器的结构也较简单，价格较便宜。

两束单色光，一只比色皿，两只光电转换器的准双光束紫外可见分光光度计的结构如图 3-2 所示。

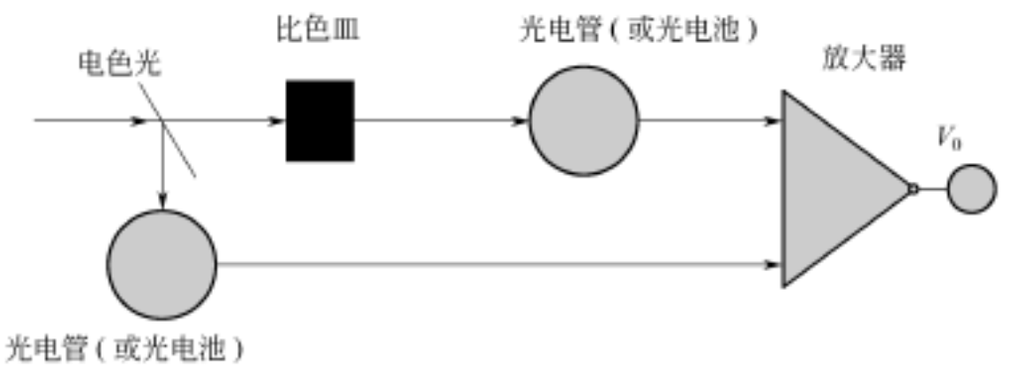


图 3-2　两束单色光的准双光束紫外可见分光光度计

我国企业目前正在生产的 TU-1800、TU-1800S、TU-1800PC、TU-1800SPC、UV-762、UV-1600 等紫外可见分光光度计，就是两束单色光，一只比色皿，两只光电转换器的准双光束紫外可见分光光度计。因其有两束光，所以光源波动可抵消一部分，电子学噪声也可部分抵消（因只有一个比色皿，杂散光不能抵

消)，故准确度较单光束仪器好。它属普及型的常规仪器。

(二) 一束单色光，一束复合光

这种结构的准双光束紫外可见分光光度计，不通过比色皿的那束参考光束为复合光，它不经过分光器，直接进入光电转换器。所以，参考光束的能量比较大 (要比样品光束强得多)，经过光电转换器后，电信号也比较强。因为两束光的强度相差太多，复合光的强度过大，单色光的强度较小，很难达到抵消光源波动对分析误差影响的作用，甚至加大这种影响。

目前，一束单色光和一束复合光的准双光束紫外可见分光光度计已很少见。一束单色光，一束复合光，一只比色皿，两只光电转换器的准双光束紫外可见分光光度计的组成如图 3-3 所示。

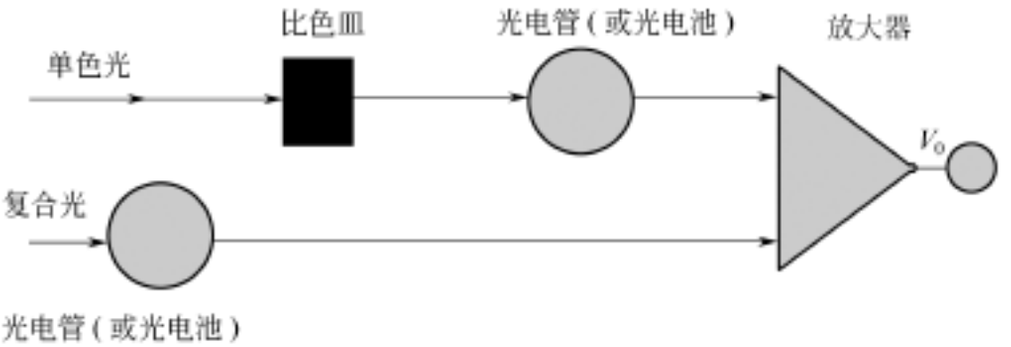


图 3-3　一束单色光，一束复合光，一只比色皿，两只光电转换器的准双光束紫外可见分光光度计

三、双光束紫外可见分光光度计

顾名思义，双光束紫外可见分光光度计就是有两束单色光的紫外可见分光光度计。它也有两种类型：一种是两束单色光，两只比色皿，两只光电转换器；另一种是两束单色光，两只比色皿，一只光电转换器。目前，国内外的双光束紫外可见分光光度计中，两只光电转换器的双光束紫外可见分光光度计仪器已很少见，绝大多数或基本上都是一只光电转换器的仪器，特别是高档双光束紫外可见分光光度计，都是一只光电转换器的仪器。

这两种类型的双光束紫外可见分光光度计，所用的光电转换器基本上全部是光电倍增管 (PMT)。

(一) 两只光电转换器的双光束紫外可见分光光度计

使用两只光电倍增管的双光束紫外可见分光光度计，光源波动、杂散光、电噪声的影响都能部分抵消，所以定点测量时，光度准确度好，但结构较复杂、价格较贵。同时，因光电倍增管的光谱响应特性不可能完全配对，所以，光谱扫描时测量误差很大，一般不用这种双光束紫外可见分光光度计来扫描。此外，因一束光分成两束，所以每束光的能量低，信噪比不如单光束紫外可见分光光度计好。目前，我国市场上的 TY-1880、TY-8500、UV/ FL-1 型等仪

器属于此类双光束紫外可见分光光度计。

两束单色光，两只比色皿，两只光电转换器的双光束紫外可见分光光度计的组成如图 3-4 所示。

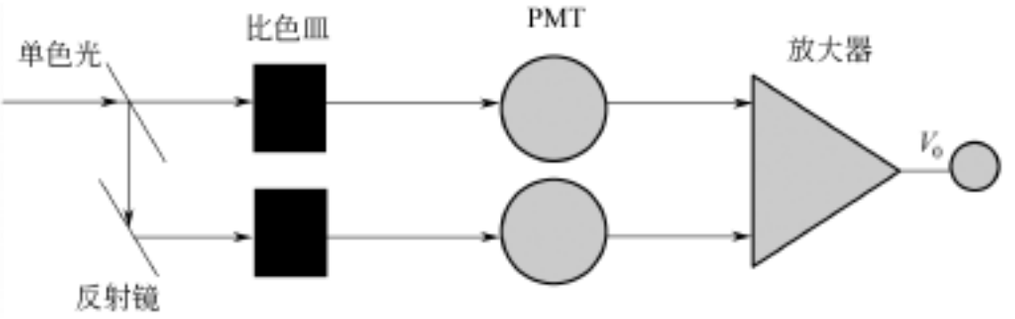


图 3-4　两束单色光，两只比色皿，两只光电转换器的
双光束紫外可见分光光度计

(二) 一只光电转换器的双光束紫外可见分光光度计

目前，国际上的高档双光束紫外可见分光光度计都是两束光、两只比色皿，一只光电转换器的仪器。如美国的 Lambda900、Lambda9、Cary6000、Cary500、Cary5 型和日本的 UV-2450、UV-3101、U-3400 型以及我国的 TU-1901、TU-1900、UV-2100、UV-763 型双光束紫外可见分光光度计等都是如此。这类双光束紫外可见分光光度计的技术指标大多都很先进。由于有两束光，所以对光源波动、杂散光、电子学噪声等的影响都能部分抵消，所以其杂散光、光度噪声都很小。因此，这种类型的双光束紫外可见分光光度计的光度准确度好。这是一只光电转换器的双光束紫外可见分光光度计的最大优点。

因一束单色光被分成两束，所以每束光的能量降低了一半。因此，一只光电转换器的双光束紫外可见分光光度计的信噪比不如单光束紫外可见分光光度计大。但因两束光路对噪声可相互抵消，所以其灵敏度仍然很好。但是其结构较复杂、价格较贵。

一只光电转换器的双光束紫外可见分光光度计的结构如图 3-5 所示。

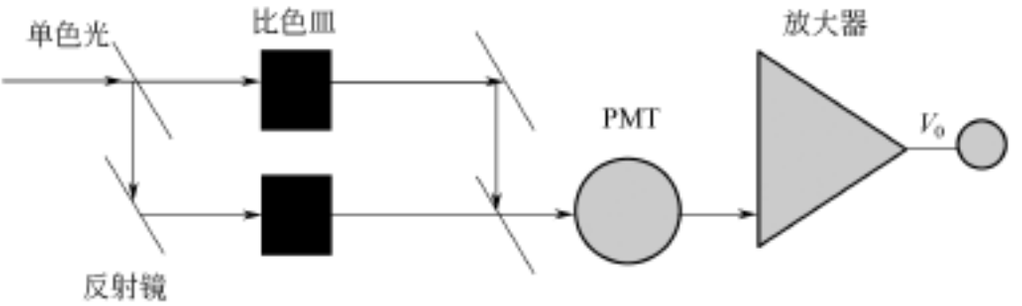


图 3-5　两束单色光，两只比色皿，一只光电转换器的
双光束紫外可见分光光度计

关于紫外可见分光光度计中的单光束和双光束的优劣问题，目前国际上的

科技工作者看法不一，存在着明显的分歧：一种观点认为双光束仪器好，因为两束光可以抵消一部分杂散光，抵消一部分噪声，抵消一部分由于光源波动对仪器稳定性的影响，从而可以提高紫外可见分光光度计仪器的可靠性。美国的P-E公司目前认为双光束紫外可见分光光度计优于单光束紫外可见分光光度计。另一种观点认为单光束仪器好，因为由于计算机的发展，许多单光束仪器的缺点都可以用计算机的软件来弥补。单光束的光能量较双光束强，信噪比较大，仪器灵敏度较高，结构较简单，价格较便宜。美国的Beckman公司目前认为单光束紫外可见分光光度计优于双光束紫外可见分光光度计。我国目前生产的紫外可见分光光度计中，单光束多于双光束。

关于单光束和双光束的优劣问题，作者认为不能简单的一概而论，而应全面考虑，详见表3-1。

表3-1　单光束和双光束紫外可见分光光度计的比较

项　　目	单　光　束	双　光　束
光源波动引起的误差	不可消除(抵消)	可消除(抵消)
机械结构	简单	复杂
光能量损失大小	光能量损失小	光能量损失大(一束光分成两束)
灵敏度高低	较高(信噪比较大)	一般(信噪比较小)
漂移	大	小
光度准确度	差	较高
杂散光	大	小
价格	较低	较高

四、双波长紫外可见分光光度计

双波长紫外可见分光光度计都采用两个单色器。光源发出的光被两个单色器分别分离出波长为λ_1和λ_2，通过斩波器将两束单色光λ_1和λ_2交替入射到同一试样中，光电倍增管交替地接收到经过试样吸收后的这两束单色光，并把它们变成电信号。电信号经电子学系统处理，并转化为它们之间的吸光度差ΔA。

假设开始时交替照射到试样的两束单束光λ_1和λ_2的强度相等，且都为I_0。那么，根据比耳定律可得

$$-\lg\frac{I_1}{I_0}=A_{\lambda_1}=\varepsilon_{\lambda_1}bC+A_{s_1}$$

式中，ε_{λ_1}为待测物质在波长λ_1的摩尔吸光系数；A_{s_1}为光散射和背景吸收；b为光程；C为待测物质的浓度。

同理，对于λ_2可得

$$-\lg\frac{I_2}{I_0}=A_{\lambda_2}=\varepsilon_{\lambda_2}bC+A_{s_2}$$

式中，ε_{λ_2} 为待测物质在波长 λ_2 的摩尔吸光系数；若 λ_1 和 λ_2 很接近，可认为 $A_{s_1}=A_{s_2}$。因此，透过试样的两束光强度的对数值信号差为

$$-\lg\frac{I_2}{I_1}=\Delta A=A_{\lambda_2}-A_{\lambda_1}=(\varepsilon_{\lambda_2}-\varepsilon_{\lambda_1})bC$$

此式说明试样中待测组分的浓度与两波长 λ_1 和 λ_2 的吸光度差成正比。这就是双波长紫外可见分光光度计的定量依据。

双波长紫外可见分光光度计的结构如图 3-6 所示。

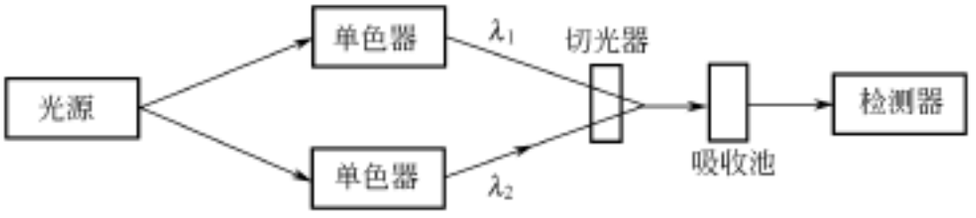


图 3-6　双波长紫外可见分光光度计的结构

双波长紫外可见分光光度计主要适用于试样的多组分测量。

多组分中的单组分测量一般选择待测组分的 λ_{max} 为测量波长 λ_2，等吸收点波长或待测组分吸收曲线下端的某一波长作为参比波长 λ_1，然后，测量差吸光度值 $\Delta A=A_{\lambda_1}-A_{\lambda_2}$，求出试样中待测组分的含量或浓度。

如果试样中有共存干扰吸收物质，则可采用等吸收点法和系数倍率法测量。读者可参考有关文献。

如果试样的吸收光谱上，有两个或两个以上组分的吸收峰互相重叠或非常接近，或者有很大的浑浊背景吸收干扰，则可利用导数光谱来分析测试。这时，可以不经过任何复杂的分离程序（如萃取、色谱分离、离子交换分离等），就可直接把它们区分开，这是导数光谱最大的优点（双波长法只能获得一阶导数）。

以上是根据光束、比色皿、光电转换器的数量来分类的，也有人根据光接收器的类型，把紫外可见分光光度计分为光电二极管阵列多通道紫外可见分光光度计、CCD（电荷耦合光接收器）多通道紫外可见分光光度计等。

第二节　电光源系统

紫外可见分光光度计的电光源系统，直接影响仪器的可靠性和使用效果，使用者必须对此引起高度重视。紫外可见分光光度计的电光源系统包括光源和

电源两大部分，下面简单介绍。

一、光源（灯泡）

紫外可见分光光度计的光源一般为氘灯和卤钨灯两种。

（一）氘灯

氘灯是供紫外可见分光光度计的紫外波段使用的光源，它发出的光的波长范围一般为 190～400nm，它是连续光谱带。氘灯的使用波长范围一般为 190～360nm 左右。氘灯在 486.0nm、583.0nm、656.1nm 等三处各有一根特征谱线，经常被研究人员或光谱仪器研制者、生产者用来作为标定仪器的理论波长值（656.1nm、486.0nm 使用最多；583.0nm 使用很少，因为它不够尖锐，同时还伴有小峰）。氘灯的光能谱分布如图 3-7 所示。

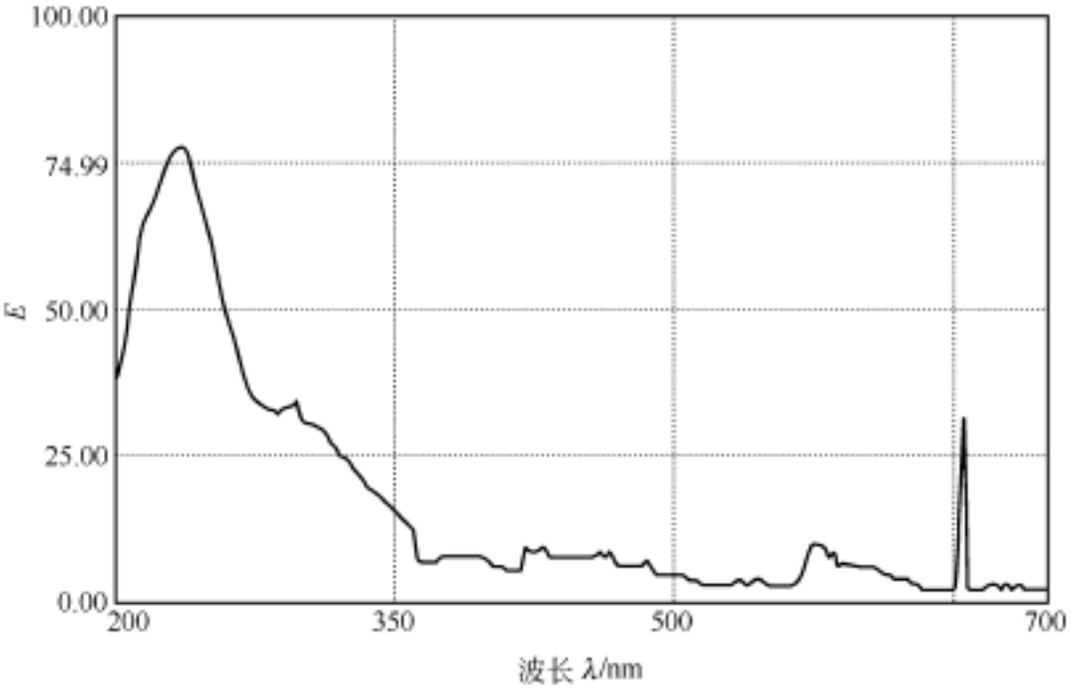


图 3-7　氘灯能谱分布图

氘灯按插脚来分有两种：一种是有三只插脚（又称插脚式）的氘灯；另一种是带有三根插脚引线的氘灯。带有三只插脚的氘灯，一般都注有阴极和阳极标志，以便用户使用时辨认。目前国外生产的氘灯，基本上都是属于带有三只插脚形式的氘灯。如日本浜松、美国 RCA、英国的 Cathodeon 等公司的产品都是如此。三只插脚引线的氘灯中，有两只引脚线为阴极（一般为黑色），一只引脚线为阳极（一般为红色）。我国生产的氘灯中，绝大多数为带有三根插脚引线模式的氘灯。如上海电光器件厂、宜征电子管厂等生产的氘灯就是如此。插脚式氘灯的最大优点是发光点的高度固定不变，调换新氘灯时不需要调节氘灯发光孔的高度。而带有三根插脚引线的氘灯，调换新氘灯时，一定要调节发光孔的高度，对使用者来讲很不方便。

氘灯在紫外可见分光光度计仪器中工作时，它的外壳周围的温度达到400℃以上，因此，不能用手直接触摸，以免烫伤。尤其是氘灯正前方的通光孔部分（一般通光孔径为1mm），即使是氘灯不在工作状态（未点亮），也绝对不能用手触摸。否则，如果人手上的油污沾污了氘灯外壳与发光孔对应的部分，在氘灯点亮后，油迹将永久烧结在氘灯的表面，将严重影响氘灯的发光强度，影响氘灯的使用寿命。

氘灯为易耗件，一般使用寿命为：国产氘灯500～800h；进口氘灯为1000h（少数长寿命灯可达2000h）；一般情况下，氘灯发光孔处发黑，就应考虑氘灯的寿命是否到期。但氘灯的使用寿命与氘灯电源设计有关（后面将详细讨论）；一般来讲，电源设计得好的话，国产氘灯的寿命也不止500～800h，有的寿命可达2000h以上。如作者在使用国产氘灯时，采用自己设计的优质恒流电源，可将国产氘灯（如上海电光器件厂生产的DD2.5型氘灯）的寿命延长到2000h以上。

目前国外生产氘灯的主要厂商有日本的浜松（Hamamatsu）公司、英国的Cathodeon公司和美国的RCA公司等。他们生产的氘灯，一般都是带插座的。国内生产氘灯的主要厂商有：上海电光器件厂、江苏宜征的宜征电子管厂、北京的电真空器件厂等。国产的氘灯一般不带插座，大多都是有带三根插脚引线。国内外的氘灯产品型号各异，且在质量上有一定差距；根据作者的实践，差距主要表现在寿命和稳定性上。但在价格上相差较大，有的相差10倍以上。如一般的国产氘灯，大约200多元人民币一只。而同类（指光学、电学性能）的进口氘灯，如日本浜松（Hamamatsu）的产品则约需1800～3800元人民币一只。

氘灯的使用寿命与供电电源的关系很大，如果氘灯的电源设计合理（如直流工作电压、灯丝预热电压和电流、灯丝预热时间等），将大大有助于提高使用寿命。

氘灯使用寿命的测试方法一般采用比较法。具体操作是：采用一只新的优质（相对而言）氘灯，先在紫外可见分光光度计的主机上或在自己制作的测试装置上测试一个真实的数据，而后用待测试的氘灯调换新氘灯，再测试一次，据二者的能量差值来判断被测氘灯的寿命是否到期。我国国家标准规定，如果把新的优质（相对而言）氘灯的测试数据作为100，那么被测试的氘灯的能量不足新灯的45%，则认为被测试的灯寿命到期。

氘灯的发光稳定性，也是既与氘灯电源有关，又与氘灯灯泡本身的质量有关。使用者在调换新氘灯前，应对新氘灯灯泡的稳定性作一次简单的测试。一般的简易测试方法是在紫外可见分光光度计的主机上（应先确定主机是合格的），或在自己制作的测试装置上，点亮需要换上的新氘灯，仪器预热0.5h后

测量。仪器条件为：波长 250nm，光谱带宽 2nm，取能量测量、时间扫描方式，纵坐标能量取 50%左右，对新氘灯作一次 1h 的漂移测试，要求漂移小于 0.5%/ h，如果新灯在 1h 内的漂移超过 0.5%，则为不合格。

(二) 钨灯 (卤钨灯)

钨灯是供紫外可见分光光度计的可见区使用的光源。其发出光的波长范围为 330nm 到近红外，它也为连续光谱。其光谱能量分布如图 3-8 所示。

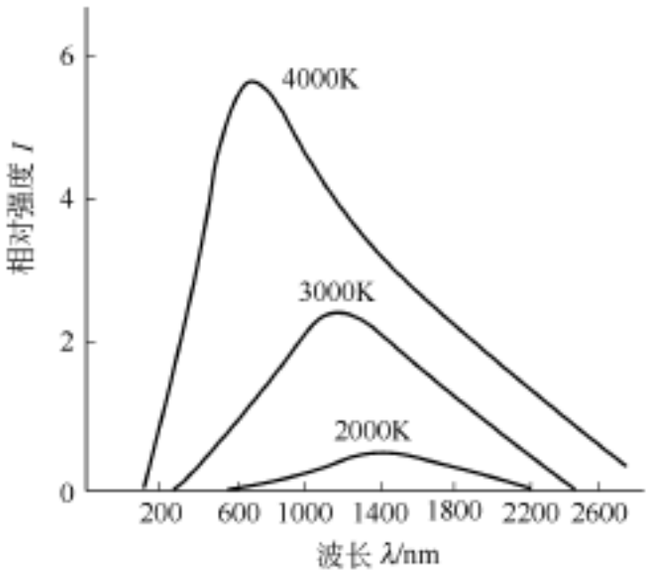


图 3-8 钨灯在不同温度下的光谱能量分布

钨灯 (卤钨灯) 有两只插脚，不分正负，可以互换。钨灯也是易损件，到使用寿命时，就要调换新灯。因此，钨灯的灯丝高度非常重要。目前，国产的钨灯中，大多数在调换新灯时，要调节灯丝的高度，比较麻烦。但有些国外生产的钨灯，调换新灯时不必调节灯丝高度，很方便。和氘灯一样，由于钨灯工作时其周围的温度也高达数百度，因此，不能用手触及钨灯表面，以免烫伤和缩短钨灯的使用寿命。同样，不能用手触摸钨灯的发光面，以免沾污钨灯的发光面，影响钨灯的发光强度。卤钨灯是在一般的钨灯中充有卤素元素，主要是为了增强短波部分的强度。一般的钨灯寿命可达 10000h 以上 (但必须正确使用，保证电源供电电压等都能符合钨灯规定的要求，如工作电压应为 12V±1.2V 等)。

二、电源

紫外可见分光光度计的光源电源，一般分为氘灯恒流电源和钨灯恒压电源两种，下面分别讨论。

(一) 氘灯恒流电源

氘灯恒流电源的输出电流一般为 100～500mA。而氘灯工作时，其工作电流一般恒定为 300mA，所以称为氘灯恒流电源。氘灯恒流电源是紫外可见分光光度计的关键部件之一，它直接影响紫外可见分光光度计的稳定性。图 3-9 为作者研制的一种高精度氘灯恒流电源的电路图。

众所周知，当氘灯电源的电流波动 1% 它发出的光通量就要波动 6.7% ；也就是说，当氘灯正常工作电流恒定为 300mA 时，若因某些原因，电流波动 3mA，则氘灯发出的光通量就要波动 6.7%。这是一个很大、很惊人的波动数据。若用记录仪记录，设记录仪满度为 100 格，则将以 6.7 格的幅度波动 (即

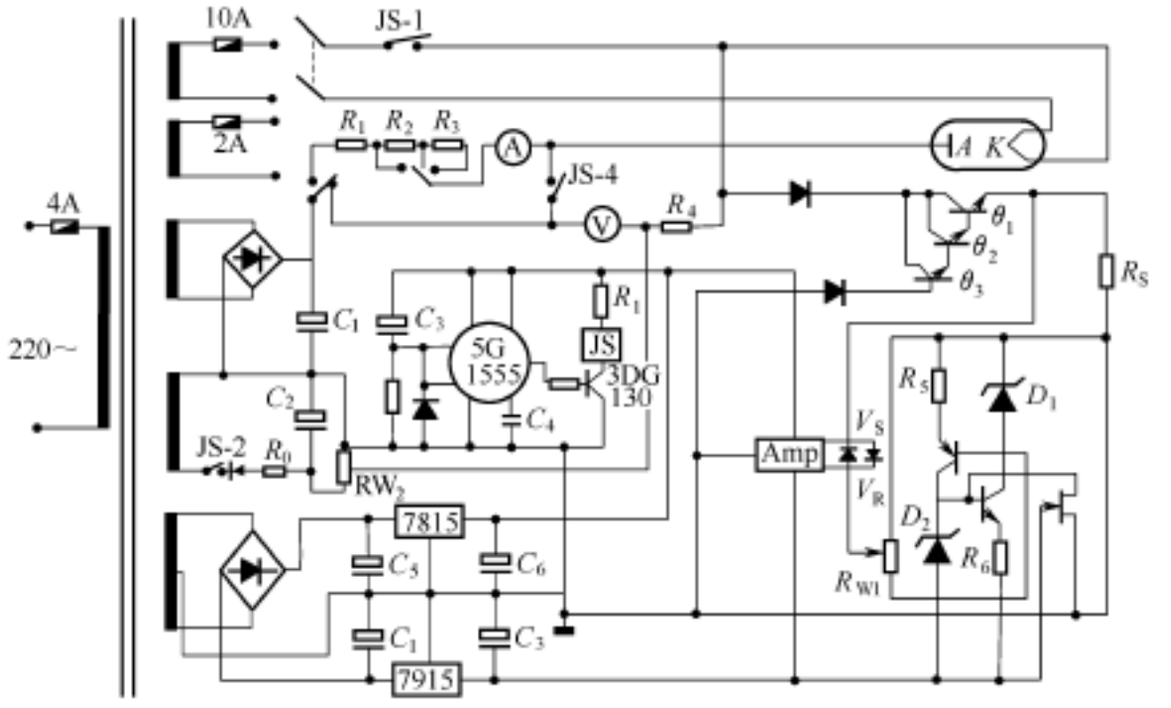


图 3-9　氘灯恒流电源的电路图

6.7%的波动)，这样就根本无法使用。由此可见，氘灯恒流电源的稳定性多么重要。美国科学家 Wenstead 的研究结果表明：光谱仪器的不稳定，90%以上是由电源引起的。

中华人民共和国计量检定规程对紫外可见分光光度计提出了电源波动对测试结果影响的指标。如 1990 年 9 月 1 日开始实施的双光束紫外可见分光光度计标准 (JJG 682—90) 中，提出“电源电压变化的影响：外电电源电压在 (220±22) V 范围内改变，仪器 100%透射比的最大变化应小于 0.5%”。又如 1997 年 6 月 1 日开始实施的单光束紫外可见分光光度计标准 (JJG 375—96) 中，提出“电源电压的影响：电源电压 (220±22)V 变化时对仪器的影响应符合要求”。而该标准中对棱镜式的单光束紫外可见分光光度计，要求示值变化±0.5%；该标准中对光栅式的单光束紫外可见分光光度计，要求示值变化±0.3% (A 级) 和±0.5% (B 级)。这种技术指标不太合适。因为外电电源就产生±0.5%的分析误差，如果再加杂散光、噪声、光谱带宽、试样处理等操作误差，仪器的分析测试结果总误差就会很大。不但药物分析的误差要求 (很多药品要求相对误差在 1%以内) 达不到，就连一般分析工作的最低要求也达不到。这种技术指标的仪器根本不能满足使用要求。我们说这种技术指标不合适，主要是因为它是一个电子学的技术指标。对电源来讲，应该用电子学的指标 (电流调整率、纹波系数、漂移等) 来描述。

紫外可见分光光度计的光信号在紫外区一般为毫微流明 (nlm) 级，属于微光测试范畴。为了保证紫外可见分光光度计仪器的稳定性，一般高质量的优

秀紫外可见分光光度计，其氘灯恒流电源的电流调整率要求达到 0.05%，纹波系数要求在 0.5%以内。作者曾研究过一种高性能的氘灯恒流电源（DLPS-3 型氘灯恒流电源），其电流调整率达到 0.0006%。表 3-2 列出了几种氘灯电源及其主要技术指标。

表 3-2　几种氘灯电源及其主要技术指标

国　别	日　本	英　国	中　国
厂商	Hamamatsu	Cathodeon	中科院上海有机所
型号	C1518	C710	D.W.-88 型
灯丝电压/ V	$10\pm1V_{DC}$ $2.5\pm0.2V_{DC}$	2,3,7,10,14	2.5～10 （分挡可调）
灯丝电流/ A	0.8,1.2,4	10,6,1.5,1.5,1.0	0～10
延时时间/ s	20	60,120	10～120 （分挡可调）
触发电压/ V	600±50	500	200～600 （连续可调）
工作电压/ V	80±30	100	80±20
工作电流/ mA	300	250～350	200～500 （连续可调）
电流调整率（S_I）	厂给：$\pm5\times10^{-4}$ 实测：2×10^{-3}	厂给：× 实测：1×10^{-3}	实测：5×10^{-5}
漂移	$\pm1\times10^{-3}$	$<5\times10^{-4}$	5×10^{-4}
纹波	厂给：1×10^{-4} 实测：5×10^{-3}	厂给：2×10^{-4} 实测：3×10^{-3}	实测：1.5×1.0^{-3}
出厂时间	1982 年	1984 年	1988 年

为了延长氘灯的寿命，在点燃氘灯以前，氘灯的灯丝一定要事先经过预热，预热时间可以从 10～30s 均可，使用者可以自选。如果氘灯不经过预热而直接点亮，氘灯的寿命肯定会缩短。

一般国产氘灯的氘灯触发电压为 200～400V，最低 170V 也能点亮；一般进口氘灯的触发电压为 350～650V。如果一开机，氘灯不经过预热，氘灯的触发电压一下就直接加到阳极上，就会严重缩短氘灯寿命。

氘灯电源向氘灯提供的灯丝电压和灯丝电流，一定要与氘灯灯泡的要求相一致。目前国际上一般都是两种类型：一种是 2.5V，4A；另一种是 10V，0.8A。从氘灯电源的制作来讲，因为电流小，10V、0.8A 比较好制作；而 2.5V、4A 的灯丝供电，因电流很大，氘灯的电源比较难制作。

为了延长氘灯的寿命，还可将氘灯用在半功率点上，即将氘灯恒流电源的工作电流调节到 180mA 左右（150～200mA 范围内），这样可大大延长氘灯寿

命，有时可使氖灯的寿命延长好几倍。

使用者可以对氖灯恒流电源的稳定性作简单的测试，以便判断氖灯电源的稳定性是否合格。最重要的是测试三个指标：电流调整率、漂移和纹波系数。

电流调整率的简单测试方法为：氖灯电源的输入电压通过一只 0.5kV 的调压变压器，点亮氖灯，在氖灯电源的输出端用分压器取采样电压约取 1.8V 左右（直流信号电压），用数字电压表监控。氖灯电源预热 0.5h 后，调节调压变压器，分别记录 198V、220V、242V 所对应的 1.8V 的变化（即记录交流供电电压 220V 变化±10%时，所对应的输出直流电压的变化值）。如作者在研制 DLSP-3 型氖灯恒流电源时的实际测量数据的结果见表 3-3。

表 3-3　DLSP-3 型氖灯恒流电源时的实际测量数据

V_S	V_{0_1}	V_{0_2}	V_{0_3}	V_{0_4}	V_{0_5}
198	1.7480	1.7478	1.7479	1.7478	1.7479
220	1.7479	1.7479	1.7479	1.7479	1.7479
242	1.7479	1.7479	1.7479	1.7479	1.7480

由表 3-3 可计算出，作者研制的氖灯恒流电源的电流调整率为

$$S_I = \frac{\Delta V_0}{V_0} = \frac{0.0001}{1.7479} = 0.0000572 = 5.72 \times 10^{-5}$$

其中，ΔV_0 为 $V_{0242} - V_{0198}$ 差值中的最大者，即 1.7479 - 1.7478 = 0.0001；V_0 为 220V 对应的直流输出电压。根据国际微光测试协会的建议：用于微光测试仪器的电源，一般要求电流调整率 S_I 达到 0.05%（即 5.0×10^{-4}）。

氖灯恒流电源的漂移的简单测试方法为：点亮氖灯，氖灯电源预热 0.5h 后，在电流调整率测试的条件下，固定输入电压为 220V，记录 1.8V 在 1h 内的变化值 ΔV_0，即是氖灯电源的漂移。一般氖灯电源的漂移为 $1 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-4}$。

氖灯恒流电源的纹波系数的简单测试方法为：在氖灯电源的假负载或点亮的氖灯上，用交流毫伏表或示波器直接测量。

氖灯恒流电源的纹波系数的简单测试方法有两种：

① 点亮氖灯，预热 0.5h 后，用示波器或交流真空毫伏表，直接在氖灯的阴极和阳极之间测试。如作者在研制 DLSP-3 型氖灯恒流电源时，曾采用这种方法测得纹波电压 15mV，测得氖灯两端的直流工作电压为 69.11V；由此计算出纹波系数 $S_R = 15mV / 69.11V = 2.17 \times 10^{-4}$。

② 点亮氖灯，预热 0.5h 后，用示波器或交流真空毫伏表，在采样电阻上测得纹波电压 15mV，测得采样电阻上的直流工作电压为 1.7675V；由此计算出纹波系数 $S_R = 3mV / 1.7675V = 1.7 \times 10^{-3}$。

上述两种测试方法得到的测试结果差别较大，其原因是第二种方法在采样电阻上取样，波动较小，故测得的纹波系数 S_R 小。一般来讲，第一种方法较接近实际，比较可靠。但第一种方法要求氘灯质量较好才能反映真实情况，否则误差很大。一般要求氘灯电源的纹波系数在 0.5%以内。

(二) 钨灯电源

钨灯电源一般为恒压源。其电压输出一般为 8～15V；输出电流 2～3A。一般紫外可见分光光度计钨灯的额定工作电压为 12V，额定工作电流为 2～3A；正常工作时的电压一般为 11～13V。有些紫外可见分光光度计的制造者误认为电压低可提高稳定性，有时将钨灯的工作电压选为 8～9V，这是不对的。因为在这样的工作电压下，一般来讲，钨灯不能工作在最佳状态。因没有达到钨灯工作电压额定值的要求，反而钨灯不稳定。一般额定值为 12V 的钨灯，其工作电压为 11～12V 较好。

钨灯电源也是紫外可见分光光度计的关键部件之一，直接影响仪器的可见

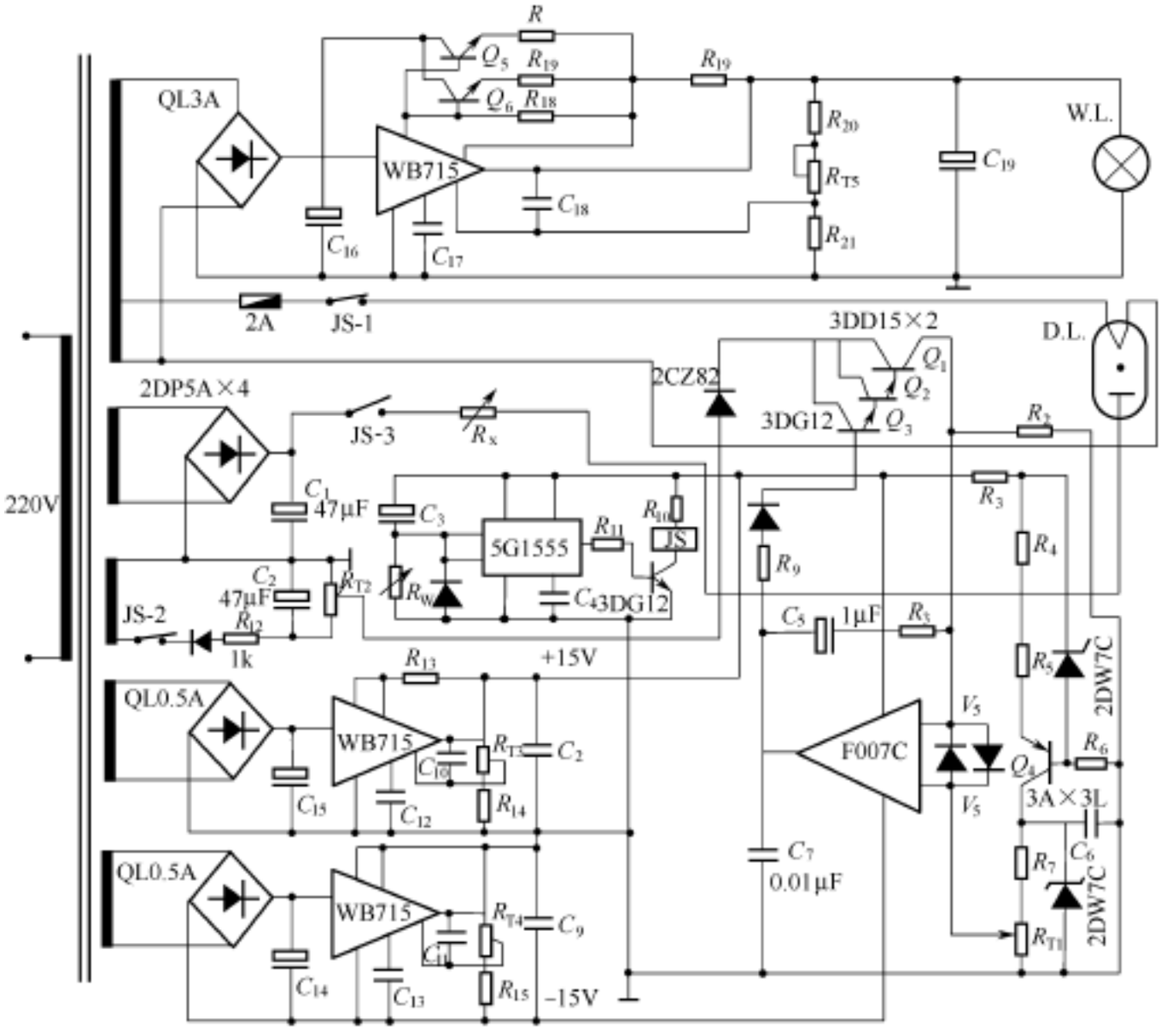


图 3-10　钨灯电源的原理

光部分的稳定性，直接影响使用者的使用效果。众所周知，若钨灯恒压电源的电压波动 1%，则钨灯发出的光通量要波动 3.4%，这也是一个很大的波动数。Wnstead 对光谱仪器电源波动对分析误差影响的研究结果（光谱仪器不稳定，90%以上是电源引起的），同样适用于钨灯作光源的紫外可见分光光度计。一般紫外可见分光光度计的钨灯电源的原理图如图 3-10 中的上半部分所示。

为了保证紫外可见分光光度计仪器的稳定性，一般要求高质量的紫外可见分光光度计的钨灯恒压电源的电压整率达到 0.05%，纹波系数要求在 0.5%以内。

第三节　外光路系统

一、外光路系统的组成

紫外可见分光光度计的外光路系统一般由光源、反射镜或透镜组成。光源一般都是由氘灯和钨灯（卤钨灯）及其灯架组成，反射镜一般用凹面反射镜，有些仪器的外光路系统采用透镜或柱面镜。这些镜子的作用是把光源发出的光成像在单色器的入射狭缝上，或者说，把光源发出的光集中到单色器的入射狭缝上，并均匀照明单色器的入射狭缝。所以说，光源的灯丝和入射狭缝是物像关系。

二、外光路系统的形式

紫外可见分光光度计的外光路大体上有以下四种形式。①氘灯和钨灯位于凹面反射镜的同侧（见图 3-11）。

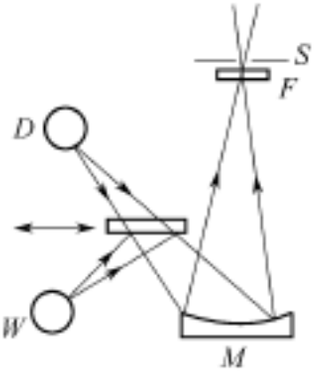


图 3-11　氘灯和钨灯位于凹面反射镜的同侧

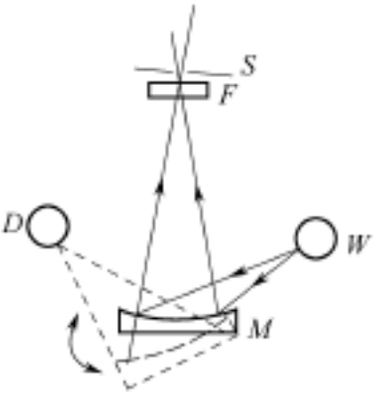


图 3-12　氘灯和钨灯位于凹面反射镜的两侧

光源切换是通过电机带动平面反射镜移动来实现的。②氘灯和钨灯位于凹面反射镜的两侧。氘灯和钨灯固定不动（见图 3-12），光源切换是通过电机带动凹面反射镜震动来实现的。③氘灯和钨灯固定在一个组座上。凹面反射镜是

固定的（见图 3-13)。光源切换是通过电机带动氘灯和钨灯固定组座移动来实现的。④氘钨灯固定在凹面反射镜的一侧。若采用氘钨灯（氘灯和钨灯作在一起)，则氘钨灯位于凹面镜的左侧或右侧，凹面镜固定不动，光源通过凹面镜成像在入射狭缝上，如图 3-14 所示。

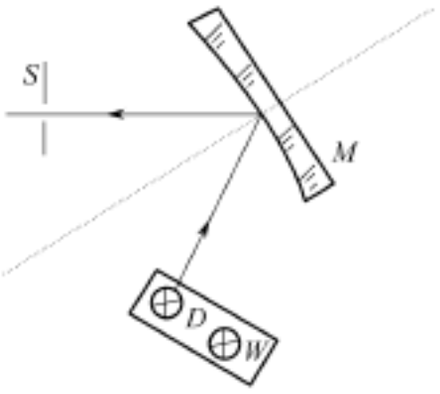


图 3-13　氘灯和钨灯固定在一个组座上

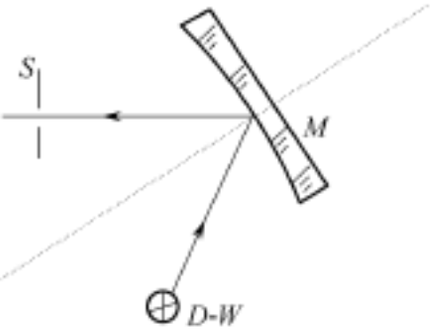


图 3-14　氘钨灯位于凹面镜的左侧或右侧，凹面反射镜固定不动

图 3-11～图 3-14 中：*S* 为狭缝；*F* 为滤光片；*D* 为氘灯；*W* 为钨灯；*M* 为凹面反射镜；*D*-*W* 为氘钨灯。

第四节　分 光 系 统

分光系统是紫外可见分光光度计的核心部分。它主要由入射狭缝、准直镜、光栅、物镜和出射狭缝组成。入射狭缝起着限制杂散光进入的作用，它一般处在准直镜的焦点上；准直镜将从入射狭缝射进来的复合光变成平行光；光栅用来分光，分光系统有三个作用：①分光，把从入射狭缝进来，投射到光栅上的复合光分成单色光；②转向，把从准直镜射过来的平行光改变方向，投射到物镜上；③能量传递，把从准直镜射过来的平行光的能量改变方向后传递到物镜；如果是Ⅳ型凹面光栅，则还有成像的功能，将从入射狭缝进来射到光栅的发散光会聚并成像到出射狭缝上；出射狭缝起限制光谱带宽的作用。下面分别讨论分光系统的各个部件。

一、光栅

光栅是分光系统的核心元件，关系到紫外可见分光光度计整机的质量好坏、水平高低，是一个非常重要的光学元件。本书将进行较详细的讨论。

(一) 光栅的分光原理

由光栅方程：$d(\sin\alpha \pm \sin\beta) = m\lambda$ 可知，对于相同的光谱级数 m，以同样的入射角 α 投射到光栅上的不同波长 λ_1、λ_2、λ_3…组成的混合光，每种波长产生的干涉极大都位于不同的角度位置；即不同波长的衍射光以不同的衍射角 β

出射。这就说明，对于给定的光栅，不同波长的同一级主极大或次极大（构成同一级光栅光谱中的不同波长谱线）都不重合，而是按波长的次序顺序排列，形成一系列分立的谱线。这样，混合在一起入射的各种不同波长的复合光，经光栅衍射后彼此被分开了。这就是衍射光栅的分光原理。

（二）光栅的基本特性

光栅分为反射光栅和透射光栅两类。在紫外可见分光光度计中，应用最广泛的是反射式衍射光栅，通常称为反射光栅。根据光栅基面的形状是平面还是凹面，反射式衍射光栅又分平面反射衍射光栅、凹面反射衍射光栅两类。根据光栅刻槽的微观形状能否使衍射光能量定向地集中在某个方向，又有闪耀光栅和非闪耀光栅之分。根据光栅是用机械刻划方法还是用全息干涉方法制成的，还可分为刻划光栅和全息光栅两类。根据光栅成像的形状，还可分为普通光栅和平场光栅（一般的平面或凹面光栅在出射狭峰上所成的像是弯曲不平的，而平场光栅在出射狭峰上所成的像是平面像）。下面简单讨论一下使用最多的平面反射衍射光栅的光谱特性。

1. 光栅光谱的特点

（1）光栅光谱的多级次性　经棱镜色散后形成的光谱，只是按波长次序排列成一个单一的光谱。而经衍射光栅色散后形成的光谱，则是包含 $m=0$、±1、±2、±3…所有级次光谱的总和。同一块光栅对同一束入射复合光可在不同位置形成一系列不同级次的光谱，在 $m=0$ 两侧有对称分布的正级次光谱和负级次光谱。因此，光栅光谱的多级次性是原理性的、本质的，是不可避免的。光栅的这个特性，将对光栅的应用产生许多相应的问题，它会直接对紫外可见分光光度计的光谱分辨率和光谱的检测造成困难，这是所有紫外可见分光光度计的设计者、制造者、使用者必须重视的问题。

（2）光栅光谱的级次重叠　由光栅方程 $d(\sin\alpha\pm\sin\beta)=m\lambda$ 可知，波长为 λ 的一级（$m=1$）光谱线、波长为 $\lambda/2$ 的二级（$m=2$）光谱线、波长为 $\lambda/3$ 的三级（$m=3$）光谱线等都具有同样的衍射角，即 $\beta_{\lambda,1}=\beta_{\lambda/2,2}=\beta_{\lambda/3,3}=\cdots=\beta_{\lambda/m,m}$。这就是衍射光栅光谱的级次重叠。即衍射光栅在同一位置有不同级次的不同波长的光谱线。在宽波段范围内进行高分辨率光谱研究或光谱分析工作时，光栅光谱的级次重叠是非常明显的，必须采取有力的措施，把不需要的波段隔离掉或滤掉；如采用前置单色器或相应波段的滤光片等。只有这样，才能避免不需要级次光谱的干扰，才能保证紫外可见分光光度计的分辨率和分析测试数据的准确性和可靠性。

（3）光栅光谱的匀排性　由光栅方程 $d(\sin\alpha\pm\sin\beta)=m\lambda$ 可知，在衍射角不太大的情况下（如在一级光谱内，靠近光栅法线区域时），不同波长光谱线的位置基本上与其波长值成比例。因此，光栅光谱中的各个波长谱线排列比较

均匀，并随着波长值线性增加或减少，相应的光栅光谱线的位置（如离光栅法线的距离）也线性变化。光栅光谱的排列比较均匀，不同波长区中同样波长差的两根谱线之间的距离变化不太大。光栅光谱的匀排性不但使光谱更加整齐、匀称，而且对定性分析时初步判断、估计谱线的波长值等比较方便。

在棱镜光谱中，由于不同波长的光线受到不同程度的折射而被色散。而棱镜材料对不同波长的折射率变化是不与波长成线性的。棱镜材料在短波方向的折射率的变化要比长波区的变化大得多。因此，棱镜光谱中的谱线排列情况是不均匀的。在短波区，因 $\mathrm{d}n/\mathrm{d}\lambda$ 大，谱线排列非常稀疏，而在长波区，则因 $\mathrm{d}n/\mathrm{d}\lambda$ 小，谱线排列非常稠密。所以，同样大小的波长差值，相应的谱线之间的距离，短波处要大于长波处。因此，棱镜在紫外区的色散要比可见、近红外区的色散大。所以，有些紫外可见分光光度计（特别是高档紫外可见分光光度计）都用石英棱镜作前置单色器，就是这个道理。

此外，在谱线的波长分布顺序方面，光栅与棱镜也是不同的；在光栅光谱中，波长越长的光线衍射角数值越大，谱线越偏离光栅法线。在棱镜光谱中，波长越长的光线，偏向角越小，相应的谱线分布越接近入射角方向的位置。

2. 平面衍射光栅的角色散率

从微分光栅方程，可得到入射角固定不变时衍射光栅的角色散率为

$$\frac{\mathrm{d}\beta}{\mathrm{d}\lambda}=\frac{m}{d\cos\beta} \tag{3-1}$$

式中，β 为衍射角；λ 为波长；m 为光栅的光谱级数；d 为光栅常数。

从式（3-1）可以看出，光栅的角色散率有以下特点：

① 光栅的角色散率与光谱级次 m 成正比；即高级次光谱具有高色散率。因此，高级次光谱更适合高分辨率光谱工作。

② 光栅的角色散率与光栅常数 d 成反比，说明光栅的刻槽密度越高的光栅其色散率越高。

③ 光栅的角色散率还与 $\cos\beta$ 成反比，因此随着衍射角 β 增大，光栅的角色散率也会增大。

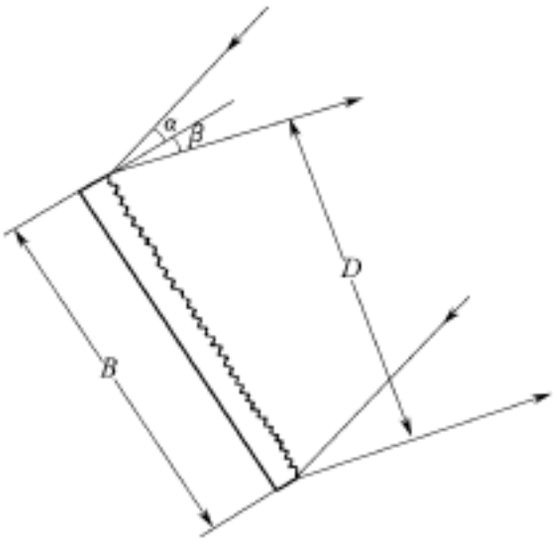


图 3-15　平面衍射光栅的分辨率

3. 平面衍射光栅的分辨率

平面衍射光栅的分辨率的定义是：$R=\lambda/\Delta\lambda$（见图 3-15）。

由图 3-15 可知，设光栅的工作宽度为 $B=Nd$（d 为光栅常数，N 为光栅的刻槽总数），则衍射方向光束的宽度 $D=B\cos\beta$ 或 $D=Nd\cos\beta$。根据方孔衍射理论，衍射宽度为 D 时的最小可分辨角为

$$\delta\beta = \frac{\lambda}{D} = \frac{\lambda}{N d\cos\beta} \tag{3-2}$$

由光栅的角色散率公式（3-1）可得波长差为 Δλ的两条谱线的夹角 $d\beta = m\Delta\lambda / d\cos\beta$，设此两条谱线恰是刚能被分辨的最靠近的两条谱线，则他们之间的夹角应等于最小可分辨角，即 $m\Delta\lambda / d\cos\beta = \lambda / Nd\cos\beta$因此有

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} = mN \tag{3-3}$$

式（3-3）就是光栅的分辨率公式。从式（3-3）可知，增大光栅工作级次，增加光栅的刻槽总数都可以提高光栅的分辨率。但是，光栅的刻槽总数 N 不是独立因素，不能期望不断增加光栅的刻槽总数 N 而无限制地提高光栅的分辨率。

4. 反射衍射光栅的闪耀

反射衍射光栅将入射到它上面的复合光分别衍射、分配到各级次的光谱中。在光栅对入射光产生衍射作用的同时，光栅刻槽上的每个工作面相当于一个小镜面，也会反射入射光。当光栅对某个波长的入射光形成的衍射光方向正好与该波长在工作面上的镜面反射方向吻合时，此波长的出射光将比其他波长更明亮或更耀目。称此为闪耀。光栅闪耀波长就是指的在这个波长上，光栅的出射能量最强。

关于光栅的出射能量问题，在此需要指出的是，并不是光栅在闪耀波长上输出的能量大就好，而是要在整个波段内，输出能量平坦才比较好。

若光栅刻槽工作面倾斜角为 ε，某波长的衍射光正好与工作面反射光方向一致，则有

$$\alpha - \varepsilon = -\beta + \varepsilon$$

即 $\varepsilon = (\alpha + \beta)/2$。此时，光栅对该波长“闪耀”，ε角称为光栅的“闪耀角”（见图 3-16）。

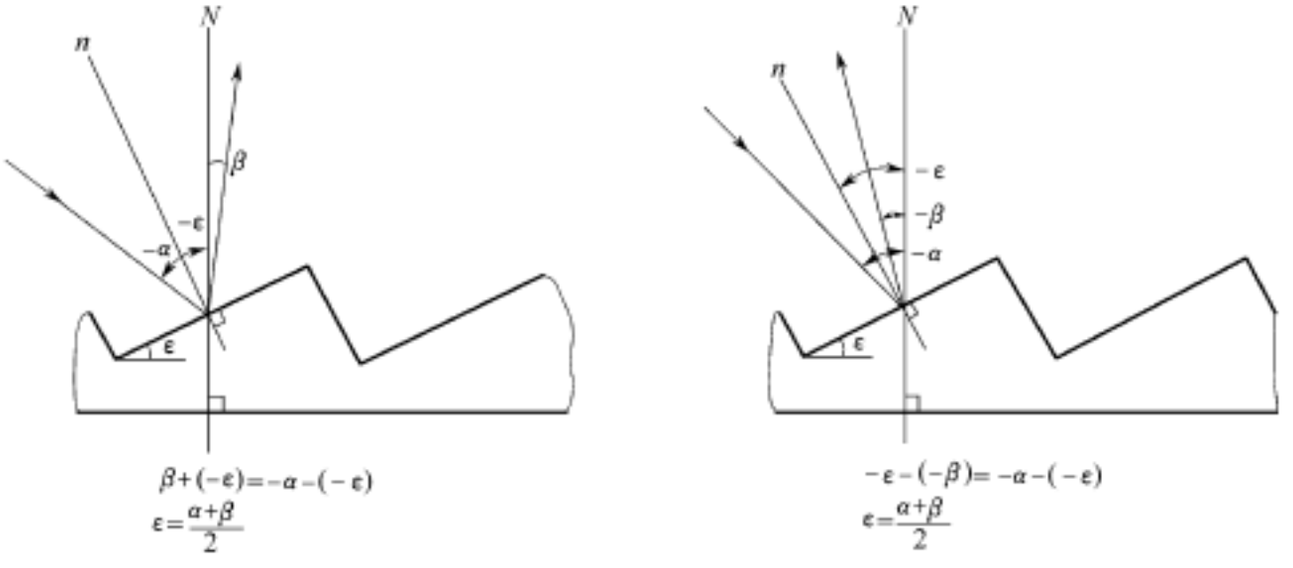


图 3-16　平面反射光栅的闪耀

经常会看到有些光栅制造商，在商品目录上给出自准直状态下，(即 $\alpha=\beta$)，光栅的闪耀角 $\varepsilon=\alpha=\beta$，同时还标出波长值。但是，这些数据都是在 $m=1$ 的一级光谱条件下的数据。

如果一块光栅是对一级光谱的波长 λ_b 闪耀的，那么在二级光谱中，将对波长为 $\lambda_b/2$ 的光线也产生闪耀作用，在三级光谱中，对波长为 $\lambda_b/3$ 的光线也产生闪耀作用。

在闪耀波长处，光栅的相对光强度最高。随着波长偏离闪耀波长，衍射效率逐渐下降，而且，如图 3-17 所示，在短于闪耀波长的一侧下降更快。

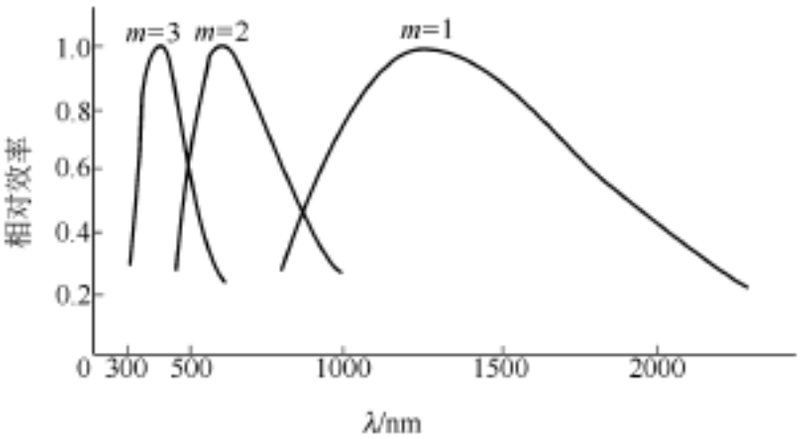


图 3-17　闪耀光栅的各级次的相对效率

5. 光栅谱线的弯曲

由于光栅对来自狭缝中心点的光线和来自狭缝非中心点的光线的衍射程度不同，因此就产生了光栅谱线的弯曲。光栅谱线的弯曲情况如图 3-18 所示。波长值越大的谱线弯曲得越厉害 (棱镜谱线弯曲与此相反)。但光栅谱线的弯曲程度比棱镜谱线弯曲要小。

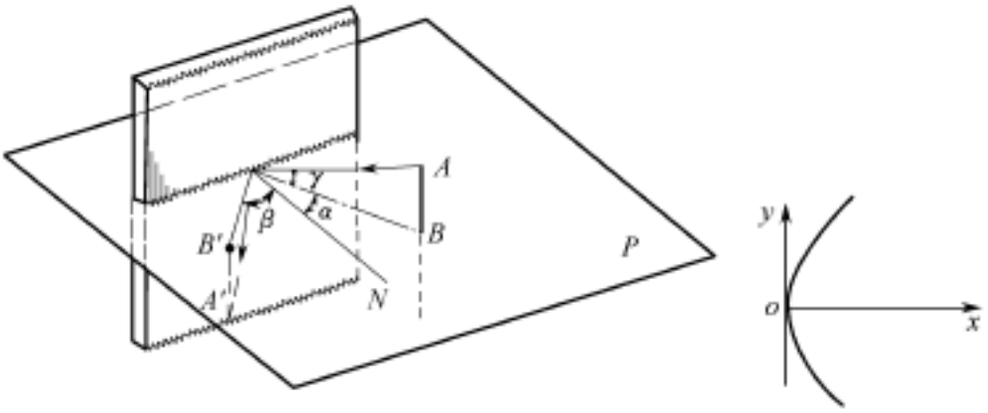


图 3-18　光栅谱线的弯曲情况

6. 光栅的放大率及全息光栅

(1) 光栅的放大率　如同不在最小偏向角下工作的色散棱镜一样，如果光栅不工作在衍射角等于入射角的对称状态，也会对光束产生一个附加的放大率

$$\frac{d\beta}{d\alpha} = -\left(\frac{\cos\alpha}{\cos\beta}\right) \tag{3-4}$$

(2) 全息光栅　全息光栅也是目前使用很多的光栅。当两束相干的平行光束交会时，会形成一系列平行、等距的直线状干涉条纹。高能量、高单色性的激光和高质量的光致抗蚀剂的发展，使得利用光干涉条纹制作衍射光栅的设想得以实现。如图 3-19 所示，来自激光器的激光束通过分波前方式或分增幅方式变成两束相干平行光束，并使它们在均匀涂布有光致抗蚀剂的光栅毛坯 P 上交会，产生均匀、等距的平行直线干涉条纹，使光栅毛坯 P 上各点的光致抗蚀剂受到不同程度的曝光。再经过适当的显影、漂洗、干燥过程，就可获得与干涉条纹一模一样的凹凸精细结构表面，再在此表面上真空镀铝 (Al)，最终得到具有均匀间隔、平行直沟槽的反射衍射全息光栅。干涉条纹的间距，即全息光栅的光栅常数 d 是由两相干光束间的夹角 2θ、激光波长 λ 和干涉条纹记录空间介质的折射率 n 决定的。

$$d = \frac{\lambda}{2n\sin\theta}$$

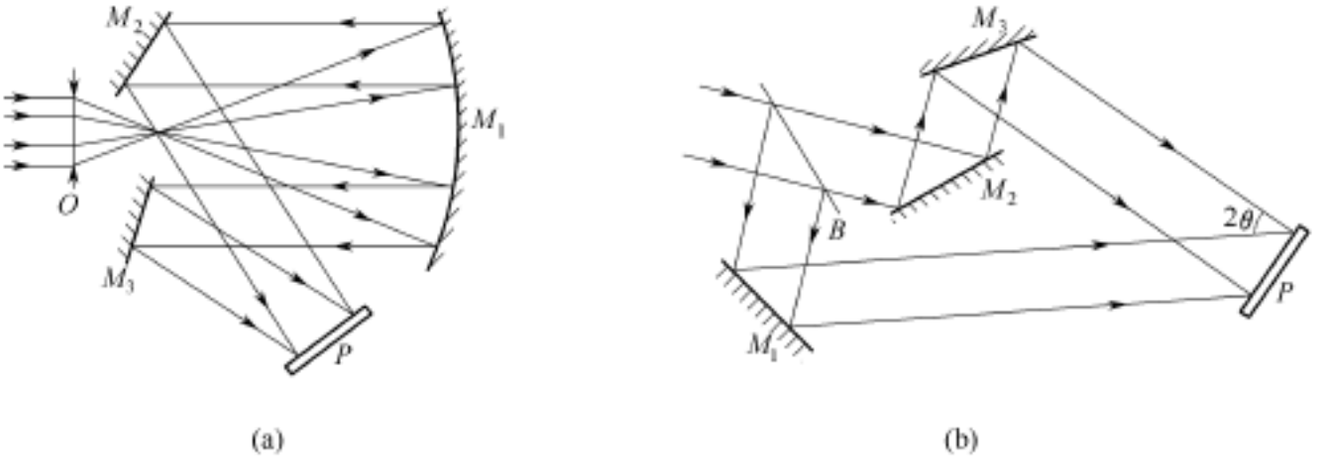


图 3-19　全息光栅的制作原理

记录空间介质的折射率一般为空气，$n = 1$。所以，当光束之间的夹角最大 (即 $\theta = 90°$) 时，全息光栅的最小光栅常数 $d_{min} = \lambda/2$。

7. 全息光栅的特点

① 工作时不会产生鬼线和伴线，这是广大使用者最欢迎的。

② 不存在刻划光栅刻槽的微观不规则或毛刺等缺陷，所以杂散光远远小于刻划光栅的杂散光。

③ 适当改变制作条件，就可制作成消像差的全息光栅。

④ 可以制作任意尺寸的全息光栅。

⑤ 制造周期短。

⑥ 制造成本低。

一般来讲，紫外可见分光光度计对光栅的基本要求都非常高。归纳起来主要有以下几条：①杂散光要小；②输出能量曲线要平滑，即从长波到短波，输出能量曲线起伏要小、平滑；③波长范围要宽，目前一般紫外可见区使用的光栅，其波长范围可达 190～900 或 1000nm；④分辨率要高。

二、准直镜

根据牛顿定律，从透镜或反射镜的焦面上发出的光，射到透镜或反射镜(准直镜) 后，会变成平行光。而入射狭缝都处在准直镜的焦面上。所以，准直镜的作用是将从入射狭缝射进来的、发散的复合光变成平行光。准直镜和入射狭缝之间的相对位置非常重要 (即入射狭缝要严格处在准直镜的焦面上)，它会直接影响平行光的平行度，从而影响单色器的单色性。

三、物镜

根据牛顿定律，一束平行光入射到透镜或反射镜后，将会聚在透镜或反射镜的焦面上；出射狭缝处在物镜的焦面上。所以，物镜的作用是将射到物镜的平行光，会聚在出射狭缝上。物镜和出射狭缝之间的相对位置非常重要 (即出射狭缝要严格处在物镜的焦面上)，它会直接影响平行光的平行度。从而影响单色器的单色性。

四、单色器

单色器是一种能从各种波长组成的复合光源中，分离出有一定 Δλ 的单色光的仪器。单色器分离出的某种波长的单色光，不可能是真正的单色光，总是包含某一狭窄的光谱区间 $\Delta\lambda_0$。由于此区间的波长范围很小，因此被认为是单色光。一般单色器都是由入射狭缝、出射狭缝、色散元件 (光栅或棱镜)、准直镜、成像物镜等组成。单色器的种类较多，有专用型、通用型、光栅型、棱镜型等多种。紫外可见分光光度计的设计制造者，一般是根据使用要求来选择类型。不管是何种单色器，其主要技术指标一般包括以下内容：①工作波长范围；②波长准确度；③波长重复性；④光谱带宽；⑤杂散光；⑥波长扫描速度；⑦有些单色器还给出物镜的相对孔径、物镜的视场角、分光元件的色散率、单色器的类型等。

在紫外可见分光光度计中，常将光栅、准直镜、物镜、狭缝等元件组合起来，作为紫外可见分光光度计的一个部件。紫外可见分光光度计中的单色器一般又分棱镜单色器和光栅单色器两种，现将其具体构型和排列方式介绍如下。

(一) 棱镜单色器

常见的棱镜单色器共有如下四种构型。

1. 透射式棱镜单色器

透射式棱镜单色器一般采用阿贝型恒偏向棱镜，其光路如图 3-20 所示。这种棱镜实际上是由两块 30°的分光棱镜和一块直角棱镜组成。直角棱镜只起反光作用，不参与分光。所以，阿贝棱镜可以看成是两块 30°的色散棱镜，它与一块 60°的分光棱镜的作用相等效。

2. 反射式立特洛（Littrow）型棱镜单色器

反射式立特洛（Littrow）型棱镜单色器的光路图如图 3-21 所示。该单色器一般是用一块离轴抛物面镜同时起准直物镜和成像物镜的作用。光束两次通过棱镜，可以使色散加倍。

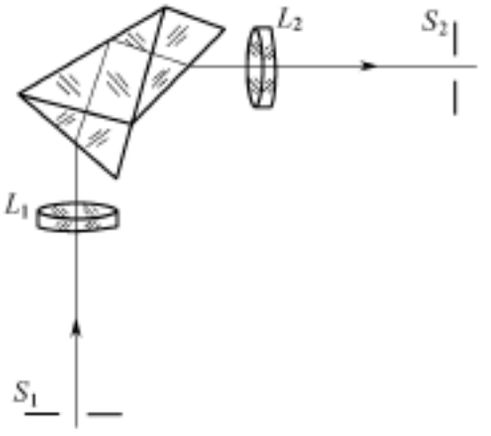


图 3-20　透射式棱镜单色器

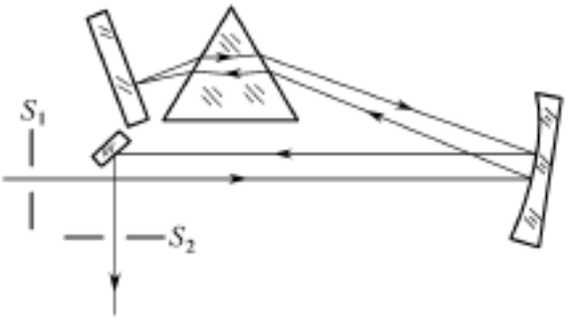


图 3-21　反射式立特洛（Littrow）型棱镜单色器

3. 自准式 30°棱镜单色器

在分辨率要求不高的时候，经常采用一块球面镜和一块 30°棱镜组成简单的立特洛型棱镜单色器。其光路如图 3-22 所示。该单色器在棱镜直角边的一侧涂上反射膜层，使光束经此面折回。当旋转自准棱镜时，可实现波长扫描。为减少杂散光，一般在棱镜膜层后面或不通光的棱边上涂上黑色无光漆。

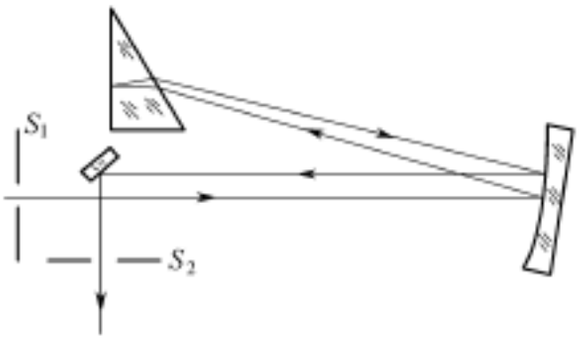


图 3-22　自准式 30°棱镜单色器

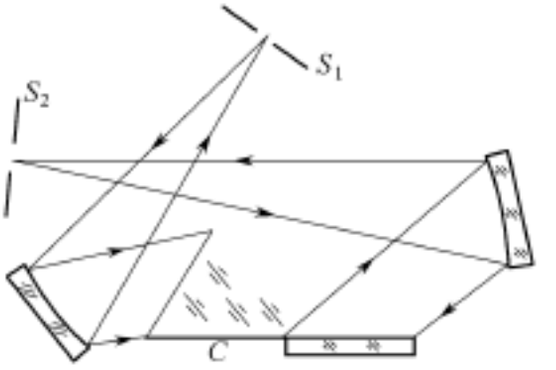


图 3-23　瓦茨沃斯（Wadsworth）型棱镜单色器

4. 瓦茨沃斯（Wadsworth）型棱镜单色器

瓦茨沃斯（Wadsworth）型棱镜单色器的光路图如图 3-23 所示。该单色

器的色散棱镜和一块平面反射镜连在一起，形成恒偏向装置。波长扫描时，棱镜和平面镜一起绕棱镜底边中点 C 转。该系统有较好的成像质量。

(二) 光栅单色器

常见的光栅单色器大致有以下 5 种类型。

1. 立特洛 (Littrow) 型光栅单色器

立特洛 (Littrow) 型光栅单色器的光路如图 3-24 所示。

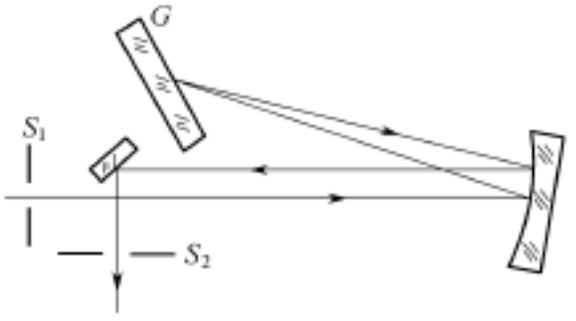


图 3-24　立特洛 (Littrow) 型光栅单色器

光束在光栅上的入射角接近等于衍射角，准直物镜和成像物镜同用一个物镜。这种类型的单色器，又称自准式光栅单色器。因为它的入射狭缝、出射狭缝很靠近，所以其杂散光比较大。

2. 切尔尼-特纳 (Czerny-Turner，简称 C-T 型) 型光栅单色器

这种光栅单色器是一种采用两块球面镜作为准直镜和成像物镜的系统。常用水平排列方式。两块球面镜可相互补偿慧差，具有较好的成像质量。并且，增加狭缝高度不会严重影响仪器的分辨率。同时，球面镜的加工也比较容易。

其光学系统如图 3-25 所示，在该系统中，入射狭缝 S_1 和出射狭缝 S_2 对称分布在色散元件的两边，M_1 和 M_2 分别为准直镜和物镜；该系统的最大特点是像差 (慧差) 小。它的慧差为自准直系统的 1/5 左右，所以该系统经常被大量采用。

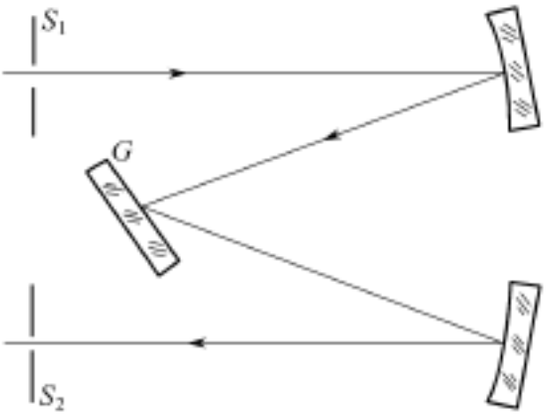


图 3-25　C-T 型光栅单色器

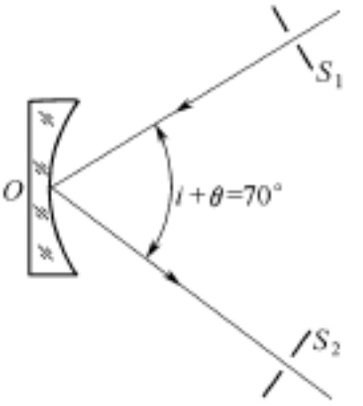


图 3-26　濑谷-波冈型凹面光栅单色器

3. 濑谷-波冈型凹面光栅单色器

濑谷-波冈型凹面光栅单色器的光路如图 3-26 所示。濑谷-波冈型凹面光栅单色器是一种罗兰圆外的装置，入射和出射狭缝都在罗兰圆之外，光栅上的入射光轴与出射光轴夹角较大，一般约为 $i+\theta=70°$。

在保持入射狭缝和出射狭缝都不动的情况下，绕光栅中心转动光栅，就可完成光谱扫描。一般入射角由 26°变为 44°时，离焦量才有光栅中心到出射狭缝距离的 0.1%。其主要像差是像散和慧差。但已有消像散的凹面光栅，可消除

像散，获得很高的像质。

4. 艾伯特（Ebert）型光栅单色器

艾伯特（Ebert）型光栅单色器是只用一块凹面球面镜的两部分，作为准直镜和物镜，代替C-T型光栅单色器的两块凹面球面镜。其光路图如图3-27所示，此结构较简单，成本较低。

图3-27　艾伯特（Ebert）型光栅单色器

5. Monk-Gilieson型光栅单色器

Monk-Gilieson型光栅单色器的光路如图3-28所示。

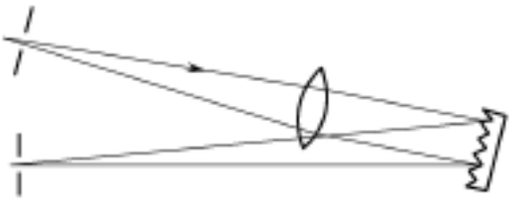


图3-28　Monk-Gilieson型光栅单色器

（三）单色器光路的排列和分类

1. 水平式自准直系统

所谓自准直系统就是非对称的单色器光学系统；所谓水平式自准直系统，就是所有的光学元件中心和狭缝中心都在同一平面上的自准直系统。如图3-29棱镜式、图3-30光栅式所示，它们的入射狭缝和出射狭缝都在色散元件的同一侧。

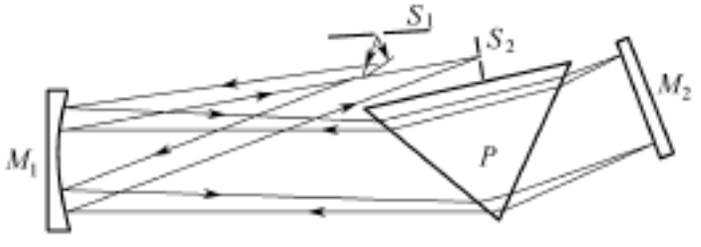


图3-29　棱镜式水平式自准直系统

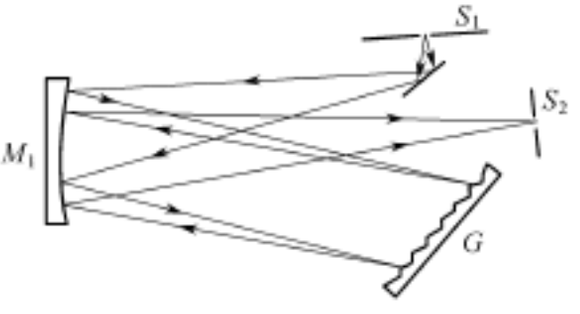


图3-30　光栅式水平式自准直系统

现以光栅式水平式自准直系统为例，说明其工作原理。在图3-30中，S_1位于球面反射镜或抛物面反射镜M_1的焦面上。当光线进入狭缝S_1后，通过小平面反射镜射到M_1上，M_1将入射的光线变成平行光后，照射到光栅G上，经光栅色散后的光线再射到M_1上；还是由M_1聚焦到出射狭缝S_2上，并在S_2处形成光谱。

2. 垂直式自准直系统

垂直式自准直系统（见图3-31）中，杂散光与球差的数量与水平式自准直系统相同。但慧差不同，水平式自准直系统的慧差使谱线产生非对称性变宽，而垂直式自准直系统使谱线在高度方向产生非对称性伸长。因此，对同样的光学参数来说，该系统的分辨率略优于前者。

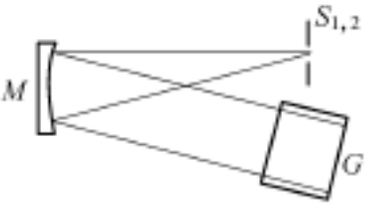


图3-31　垂直式自准直系统

(四) 用于非平行光束的平面光栅单色器

常见的平面光栅单色器是把光栅放在平行光束中工作，这样可使光栅产生的像差较小，仪器可以获得较高的分辨率。但是，在有些专门的用途中，不要求分辨率很高，而要求仪器的通光性能很好。甚至通光性能比分辨率更加重要，这时可以将光栅放在非平行光束中，整个光学系统中除光栅以外，只有一块凹面反射镜（见图 3-32）。

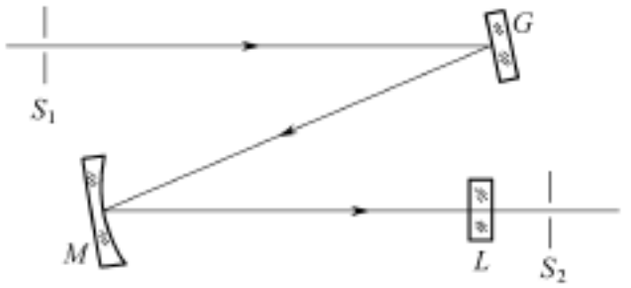


图 3-32　垂直排列的非平行光束的平面光栅单色器

图 3-32 中，S_1 为入射狭缝；G 为平面光栅；M 为球面镜；L 为柱面镜；S_2 为出射狭缝。

(五) 双单色器

如果将两个简单的单色器连接在一起，就组成了双单色器。双单色器有一个入射狭缝、一个出射狭缝和一个中间狭缝。中间狭缝既是第一个单色器的出射狭缝，又是第二个单色器的入射狭缝。两个单色器的连接有两种方式：一种是两个单色器的色散相加；另一种是两个单色器的色散相减。其光学系统原理示意如图 3-33 (a)～(d) 所示。

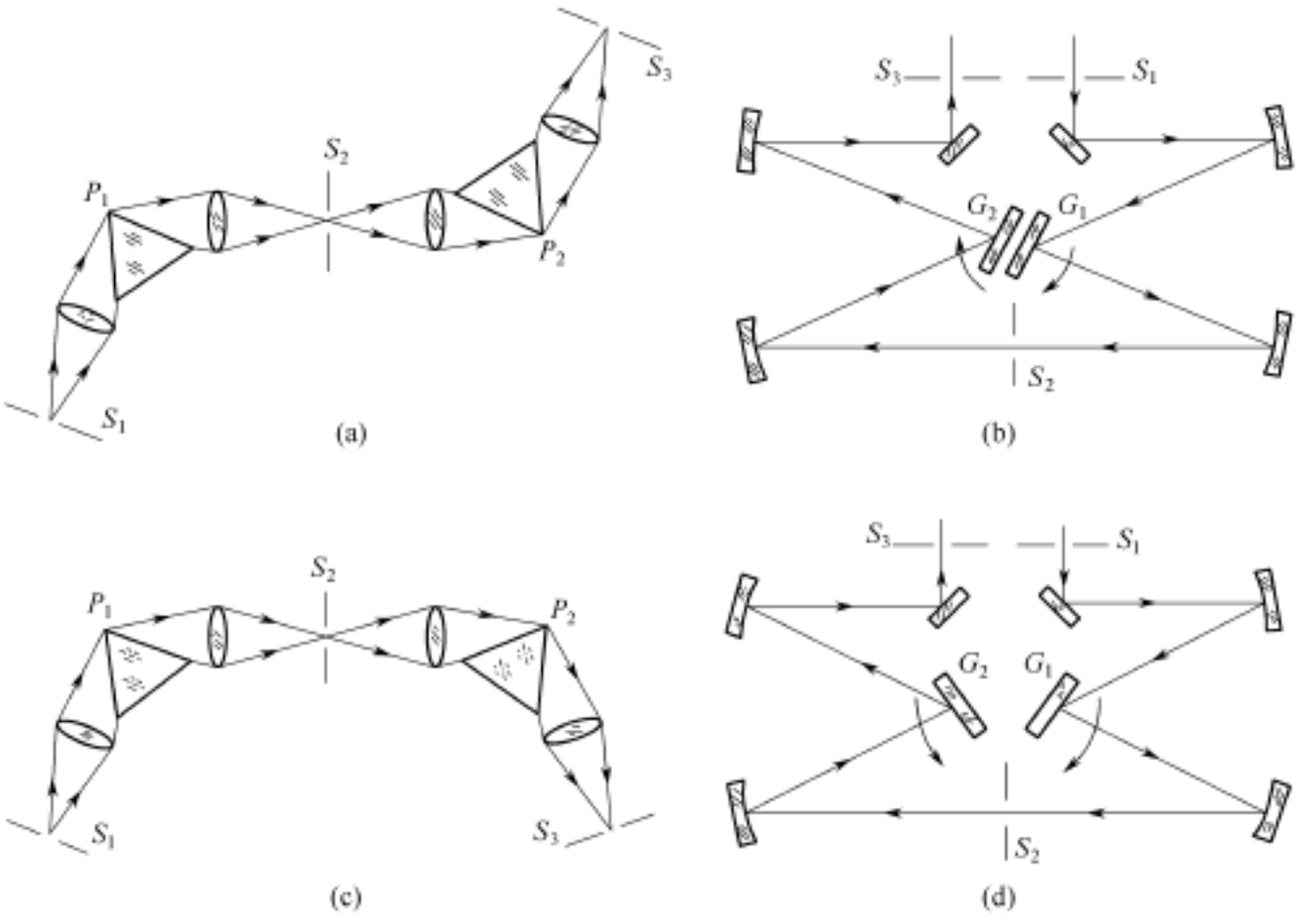


图 3-33　几种双单色器的光学系统原理示意

图 3-33 中，S_1 为入射狭缝；S_2 为中间狭缝；S_3 为出射狭缝；P_1、P_2 为棱镜；G_1、G_2 为光栅。

如何判断双单色器中两个单色器的色散是相加还是相减？可用下述简单方法：假设一路光束从第一个单色器的入射狭缝进入，另外一路光束从第二个单色器的出射狭缝进入，两路光束聚焦成像在中间狭缝平面上，如果两路光束形成的长波光线及短波光线位置都相同，则为色散相减系统；如果所形成的长波光线及短波光线位置相反，则为色散相加系统。

第五节　光度室系统

紫外可见分光光度计有一个根据仪器测试方法需要而设计的光度室（又叫样品室）系统。光度室系统是使用者直接操作的地方。从单色器出来的单色光，一般是通过一个小的透镜射到比色皿上。比色皿中的试样对单色光吸收一部分，透过一部分。其透过部分射到光电接收器上由光电接收器变成电信号，送到电子学系统去放大、处理。

光度室系统一般由光度室盖、聚光透镜、比色皿、比色皿架、石英窗片等组成。下面简单介绍一下对光度室各部分的要求。

一、光度室盖

光度室系统要求严防漏光。有的仪器在光度室盖门的地方不密封，房间的光可漏入光度室系统，使测试结果因杂散光增大而导致误差增大。因此，光度室盖门的密封性很重要。尤其是使用者要经常检查光度室的密封性，一定要严格做到光度室系统不漏光，以减少杂散光，保证分析测试结果的可靠性。

二、聚光透镜

聚光透镜将从单色器射出的发散光变成平行光，再射到比色皿上。要求出射狭缝处在聚光透镜的焦点上。聚光透镜要求消色差。但有些普及型的紫外可见分光光度计仪器也有不用聚光透镜的。但有些仪器要求不高，为加强聚光能力，聚光透镜只是把从单色器射出的发散光直接聚在比色皿中央。

三、比色皿

比色皿（又称吸收池或样品池）是光度室的关键部件，很多使用者往往不够重视。在分析测试时，一般是同时利用两个分别盛有参比溶液和被测样品溶液的比色皿，对他们进行分别测试（单光束或准双光束仪器如此，而双光束仪器同时测试），比较测试的吸光度（或透射比，一般都是比较吸光度）。因此，

为了建立准确比较的基础，对使用的比色皿的大小、形状，比色皿的两块透光面的平行度、光路长度、光谱特性等都应该匹配（配对）。即使是同一批生产的同一规格的比色皿，其光路长度也不可能完全相等，透光面的透光特性、几何尺寸、透光面的平行度等都有可能有差异，因此需要挑选配对使用。

比色皿几何尺寸的误差，会给测试工作的结果带来很大的误差。这个由比色皿引起的分析误差可以根据比耳定律计算出来。比耳定律 $A = \varepsilon bC$，设比色皿的光程（内部几何长度）b 的误差为 Δb，则

$$A + \Delta A = \varepsilon C(b + \Delta b) = \varepsilon bC + \varepsilon C\Delta b \tag{3-5}$$

所以 $\Delta A = \varepsilon C\Delta b$；则

$$\frac{\Delta A}{A} = \frac{\varepsilon C\Delta b}{\varepsilon bC} = \frac{\Delta b}{b} \tag{3-6}$$

因为一般比色皿的光程 b 为 10mm，设其误差 Δb 为 0.1mm，则根据式（3-6）可求出由比色皿的几何误差引起的测试吸光度误差为 $\Delta A/A = \Delta b/b = 0.1/10 = 0.01$。即由比色皿的几何误差引起的测试吸光度误差为 1%。

在此需要指出的是，在相对测量法中，比色皿的光程误差与配套误差是不可忽视的，不可随意调换参比比色皿与样品比色皿，因为相对测量中，是采取将未知浓度的样品与已知浓度的样品作比较的方法，即

$$C_x = C_{样} \times \frac{A_x}{A_{样}} \tag{3-7}$$

式中 C_x ——被测样品的未知浓度；

$C_{样}$ ——标准样品的已知浓度；

A_x ——被测样品的吸光度测量值；

$A_{样}$ ——标准样品的吸光度测量值。

特别是比色皿的配套误差，更应引起使用者们的高度重视。设比色皿的配套误差为 ΔA，则式（3-7）将变成

$$C_x = [(A_x + \Delta A)/(A_{样} + \Delta A)]C_{样}$$

此时，相对测量法比较依据的线性关系很可能因此遭到破坏。因此会带来很大的测试误差。

下面讨论石英比色皿（QC）不配对给紫外可见分光光度计带来的分析误差。

（一）QC 不配对对单光束仪器分析误差的影响

作者作过这样的研究：分别在 60 只 QC 中装满蒸馏水，在北京普析通用的 TU-1221 紫外可见分光光度计上测试，结果发现透过率都在 80% 左右，透过率稍大于 80% 者有 36 只，稍小于 80% 者有 24 只。因此，作者以透过率 80% 为基准，依据作者过去的研究结果，对用于紫外可见分光光度计的 QC 作了进一步的分析。发现若单光束紫外可见分光光度计使用的 QC 配对误差为 0.5%T，则 QC 给使用者带来的分析测试相对误差 $\Delta A/A$ 为 3%。这时，即使

使用的紫外可见分光光度计的光度准确度很高，此 QC 也不能在药检工作中使用。因为药典要求药检中使用的紫外可见分光光度计的光度准确度，一般相对误差 $\Delta A/A$ 在 1%以内。同时，此 QC 也不能在要求高的科研工作中使用，因为误差太大。若 QC 的配对误差为 0.2%T，则如果仪器的杂散光、噪声都很小的话，可勉强用在药检中。此时，QC 给使用者带来的分析误差 ($\Delta A/A$) 为 1%。若 QC 的配对误差为 0.1%T，则给使用者带来的分析误差 ($\Delta A/A$) 为 0.5%。此时，若紫外可见分光光度计的性能很好，则此 QC 可以满足各种高精度的分析工作的要求。这也就是日、美、英等发达国家对 QC 的配对误差要求达到 0.1%T 的原因。

(二) QC 不配对对双光束仪器分析误差的影响

研究表明，同一对 QC，在空池 (空气) 和装满蒸馏水时，在 200nm 处的配对误差是不一样的。对三对 QC 的测试结果见表 3-4。

表 3-4　空池和装满蒸馏水时的配对测试结果

QC 编号	空池/ %T	空池配对误差/ %T	装满蒸馏水/ %T	装满蒸馏水配对误差/ %T
$QC_{1\text{-}1}$	78.17		73.12	
	78.14		73.13	
	78.13		73.07	
	平均:78.14		平均:73.11	
$QC_{1\text{-}2}$	78.12	0.01	72.56	0.55
	78.13		72.57	
	78.13		72.52	
	平均:78.13		平均:72.56	
$QC_{2\text{-}1}$	78.36		73.40	
	78.36		73.46	
	78.36		73.43	
	平均:78.36		平均:73.43	
		0.96		1.70
$QC_{2\text{-}2}$	77.41		71.73	
	77.38		71.73	
	77.40		71.71	
	平均:77.40		平均:71.73	
$QC_{3\text{-}1}$	78.25		73.28	
	78.24		73.26	
	78.25		73.27	
	平均:78.25		平均:73.27	
		0.11		1.15
$QC_{3\text{-}2}$	78.15		72.11	
	78.13		72.13	
	78.14		72.12	
	平均:78.14		平均:72.12	

表 3-4 中，QC_{1-1} 和 QC_{1-2} 为一对，二者空池时的配对误差为 0.01%T，但二者装满蒸馏水后，配对误差为 0.55%T；QC_{2-1} 和 QC_{2-2} 为一对，二者空池时配对误差为 0.96%T，但二者装满蒸馏水后，配对误差为 1.70%T；QC_{3-1} 和 QC_{3-2} 为一对，二者空池时的配对误差为 0.11%T，但二者装满蒸馏水后，配对误差为 1.15%T。由此可见：检验 QC 的配对误差时，QC 中应装满蒸馏水(或溶剂)；因为 QC 为空气时的配对误差比装满蒸馏水（或溶剂）时的配对误差小。前者只能反映 QC 透光面的光学特性带来的误差，不能反映光程（加工的几何尺寸）带来的误差。因此，所测得的配对误差偏小。

双光束紫外可见分光光度计也要求 QC 配对，因为即使 QC 为空气时，只要有一个很小的配对误差，装上溶液后配对误差会很大，致使仪器的自动调零调不回来，会给分析测试结果带来很大的误差。

曾有质检部门在检测紫外可见分光光度计时，发现有五台双光束紫外可见分光光度计的光度准确度用标准溶液检测时不合格。但是，用标准片检测、仪器都是合格的。后从 QC 上找问题，他们认真配对 QC，挑选了配对误差为 0.2%T 的一对 QC 来重新检测，结果这五台双光束紫外可见分光光度计全部合格。这说明 QC 的配对误差对双光束紫外可见分光光度计也会产生严重影响。因此，不管是单光束紫外可见分光光度计，还是双光束紫外可见分光光度计，都对 QC 的配对误差有严格的要求。只不过是单光束紫外可见分光光度计比双光束紫外可见分光光度计要求更高。

比色皿的配对、保存方法、使用方法都直接关系到分析测试结果的准确度和可靠性。油腻、指纹、灰尘、透射面上的任何沉积物都会严重影响比色皿的透光特性。因此，比色皿在使用前后对它进行彻底清洗是必不可少的。在使用和清洗过程中，不能用硬质纤维和手指擦、摸透光面，只能拿其不透光的两个毛玻璃面。需要干燥的比色皿不能在炉子或火焰上加热烘烤，否则会引起比色皿的损坏或透光性能变坏。尤其是对配对使用的比色皿的影响更大。特别是比色皿被粘附力很强的试样污染（如木质素、某些浓果汁等）后很难清洗干净，即使是浸在“王水”中也很难洗净。一旦比色皿被黏附力很强的试样严重沾污时，仪器会出怪峰。这时，可用超声波清洗。一般常用 20W 的清洗玻璃仪器的超声波清洗 30min，就能解决问题。但绝对不能用大功率超声波来清洗比色皿，否则会损坏比色皿。特别是对那些用黏结方法制作的比色皿更要注意。

使用比色皿时，还应特别注意通光方向。由于比色皿的两个通光面的材料不均匀，两个通光面的沾污情况不均匀，所以不同的通光方向可能会引起光谱特性的变化，从而影响分析测试时吸光度值的变化，带来分析误差。一般比色皿的毛玻璃面上都刻有箭头，或在透光面上蚀刻有标记，以供使用者辨认通光

方向。

分析测试时，注入比色皿的溶液不要太满，一般到比色皿高度的 2/ 3 即可。如果万一溶液或溶剂溢出，则必须把比色皿透光面上的溶液或溶剂揩干擦净，否则会导入误差。

四、比色皿架

比色皿架很重要，它也是光度室的关键部件。一般常规分析的紫外可见分光光度计，通常只有可放两只比色皿的固定池架。但比色皿架有多种，在环保、生化等领域使用的紫外可见分光光度计，就有许多不同规格的比色皿架，如双联池、五联池、八联池等。比色皿架一定要求灵活、定位准确，因此，它的机械加工很重要。有的紫外可见分光光度计的比色皿架往往容易卡死或不能处在正确的位置上，结果严重影响测量的准确度和重复性。

比色皿架的各个透光孔的尺寸、形状应均匀一致，透光孔前后两个面都应平行，并垂直于光轴。各个透光孔进入光路后，其正中心都应与单色器出射、入射狭缝的中心、光电接收器的中心同时处在整个光学系统的光轴上。一般来讲，各个透光孔的尺寸要求小于单色器的出射狭缝高度和光电接收器前的光栏孔的尺寸，以防比色皿架的定位不准或位槽间隙过大时，单色器的出射狭缝和光电接收器前的光栏孔的边缘挡光。

对一般手动仪器在检查比色皿架各透光孔透光的一致性时，可仅拉动比色皿架（架中不放比色皿)，让比色皿架的某个透光孔先进入光路，读取其透光度的值。一般要求该透光孔的透光度为 90％以上，然后将各个透光孔依次进入光路，测量其透光度值，再进行比较。对自动调节透光度 100％的单光束仪器，可先测得第一比色皿架透光孔的透光度，然后参照上述方法，测量各透光孔的透光度值，再进行比较，得出比色皿架各透光孔的透光一致性。对于双光束仪器，如果在使用时各个透光孔未进行双光束补偿，则必须对各孔的透光度一致性进行检查。当各透光孔的透光度一致时，则只需对一孔的透光度进行补偿。如果发现比色皿架各透光孔的透光性不一致时，首先检查比色皿架对活动座架的位置、弹簧轴轮的运动情况、注意透光孔边缘有无纤维、薄尘等因素影响。在不得已的情况下，对透光孔进行加工，以达到各孔透光的一致性。

第六节　光电转换系统

光电转换系统又称光电接收器系统，包括光电转换器和电源等有关部分。它是紫外可见分光光度计的关键部件。紫外可见分光光度计的光电转换器可分

外光电效应和内光电效应两种类型。

一、外光电效应光电转换器

有些金属在吸收入射的辐射能量后，内部电子动能增加，如能克服表面势垒而逸出金属，则有光电子发射。这种光电现象称为外光电效应。

(一) 外光电效应及其特点

1. 光电流 i_p 与入射辐射通量的关系

当入射辐射的光谱分布不变时，光电流 i_p 与入射辐射通量的强度 I 成正比，即 $i_p \propto I$。

2. 光电子最大动能与入射辐射的频率的关系

光电子最大动能与入射辐射通量的强度 I 无关，而与入射辐射的频率 ν 有关。设 $h\nu$ 为入射光子能量，$e\phi$ 为光电子的逸出功（eV），则光电子的最大动能为

$$1/2\,mv^2 = h\nu - e\phi$$

当 $\nu=\nu_0$，使 $h\nu_0 = e\phi$ 时，则 $v=0$，此 ν_0 为极限频率；当 $\nu<\nu_0$ 时，没有光电子发射。与 ν_0 相应的波长即为长波限 λ_0。$\lambda_0 = c/\nu_0 = hc/e\phi$；由此可见，随着逸出功的减小，$\lambda_0$ 向长波移动。波长大于 λ_0 的辐射照射时，将不产生光电流，λ_0 值随不同光阴极材料而异。

3. 光电效应的惯性

光电效应具有瞬时性，惯性极小，几乎与辐射的照射同时出现和消失。

4. 光阴极的量子产额

光阴极的量子产额 η= 光电子数/ 吸收光子数，η 与光阴极材料的性质及制备条件有关。对于每一个 ν 可以有一个 η_p 值，它与光阴极的光谱灵敏度有关。

(二) 光电管和光电倍增管

紫外可见分光光度计常用的外光电效应光电转换器有光电管和光电倍增管。

1. 光电管

光电管工作时，要在阳极和阴极之间加一个直流工作电压，其接线如图 3-34 所示。图中，光电管的阳极接 A 接在直流工作电源的正极上，光电管的阴极 K 接在直流工作电源的负极上，直流工作电源的电压一般为 80～100V。当光照射到光电管的阴极 K 上时，阴极 K 的材料被激发，它发射出电子，在直流工作电源电压的作用下，电子飞向阳极 A，形成光电流。

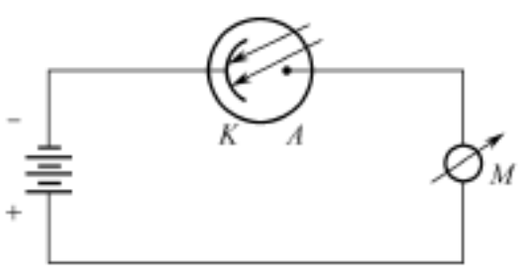


图 3-34　光电管的接线

光电管分充气光电管和真空光电管两类，各有其优缺点。充气光电管的积分灵敏度比真空光电管大，但充气光电管的惰性较大，而且其光电特性具有非线性，因此很少被使用。几种真空光电管的光电特性见表 3-5。

表 3-5　几种真空光电管的光电特性

型　　号	CD-5	CD-6	CD-7
光电阴极材料	Cs-Sb	Ag-O-Cs	K-Na-Cs-Sb
光谱灵敏度范围/ nm	185～600	600～1200	350～850
灵敏度峰值波长/ nm	400±20	800±100	450±20
额定工作电压/ V	30	30	100
最高工作电压/ V	100	100	≤200
额定工作电压下的灵敏度/ (μA/ lm)	≥30	≥10	≥45
额定工作电压下暗电流/ A	$\leq 3\times10^{-11}$	$\leq 8\times10^{-11}$	$\leq 8\times10^{-10}$
时间常数/ s	$<10^{8}$		

光电管的光谱灵敏度主要取决于光阴极的灵敏度，光阴极的灵敏度又取决于光阴极材料。几种常用的光电阴极材料及其光谱特性见表 3-6 所示。

表 3-6　几种常用的光电阴极材料及其光谱特性

代　号	材　　料	光谱范围 / nm	灵敏度峰值波长 / nm	灵敏度 / (μA/ lm)
S-1	Ag-O　Cs	400～1200	800	约 25
S-3	Ag-O-Rb	350～920	420	约 6.5
S-4	Sb-Cs(金属)	350～700	400	约 40
S-5	Sb-Cs(石英)	200～700	400	约 40
S-8	Bi-Cs	300～750	500	
S-9	Sb-Cs(半透明)	350～650	480	
S-10	Bi-Ag-O-Cs	350～800	500	约 35
S-11	Sb-Cs-O	350～700	440	约 60
S-13	Sb-Cs-O(石英)	200～700	440	约 60
S-17	Sb-Cs 反射层上	350～700	490	约 100
S-20	Sb-K-Na-Cs	350～850	450	约 150

目前，真空光电管使用最多，以下主要讨论真空光电管的特性。

(1) 光谱响应特性　光电管是对光具有选择性接收的光电转换器件；光谱响应特性主要取决于光电阴极材料。不同光电阴极材料，对同一种波长的

光有不同的响应率；同一种光电阴极材料，对不同波长的光具有不同的响应率。

(2) 光学特性　光电管的光学特性是指阳极电压不变时，入射到光电管的辐射功率与光电流之间的线性关系。当电压一定时，入射到光电管上的辐射功率（光通量，lm）与光电管输出的光电流（μA）之间呈线性关系，即响应率为常数，并随极间电压的提高而增长。

(3) 伏安特性　光电管的伏安特性是指在一定辐射功率的光束照射下，阳极和阴极之间的电压与光电流的关系。当极间电压高于 40～50V 时，光电流开始饱和。因此，使用时极间电压过高没有意义。

(4) 暗电流　光电管在没有光照射到阴极上的时候，也有电流输出，这就是暗电流。它是我们不需要的电流，往往以噪声的形式出现。光电管的暗电流一般为 10^{-9} A 左右，它与加在它的阳极和阴极之间的工作电压有关。因此，使用光电管时，要注意工作电压不能太高，一般极间电压不要超过 45V 为宜。并且，该电压的稳定性也很重要，它直接影响整机的稳定性。一般要求工作直流电压的电压调整率为 5×10^{-5}，纹波系数 10^{-3}。

2. 光电倍增管

光电倍增管实际上是外光电效应和多级二次发射体相结合而制成的光电器件。外光电效应可发射电子，多级二次发射体可作为电子放大元件，二者结合在一起，就是光电倍增管。光电倍增管的积分灵敏度大大超过充气光电管和真空光电管。而且它与真空光电管一样，有很好的线性关系，是紫外光区和可见光区非常灵敏的光电转换器件，被广泛使用。特别在高档紫外可见分光光度计中光电倍增管使用最多。可以说光电倍增管是各类光谱仪器（特别是高档紫外可见分光光度计)、各类生化仪器、各类核物理仪器和天文测量仪器的关键部件。光电倍增管的工作原理如图 3-35 所示。

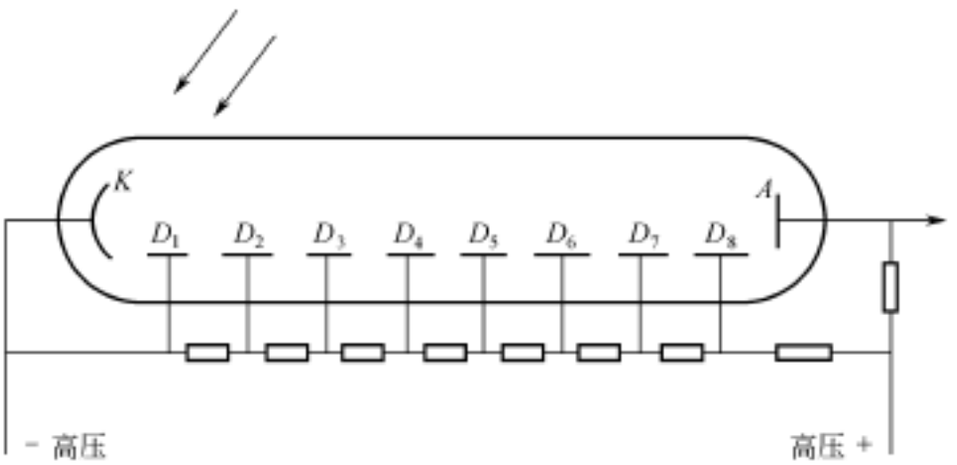


图 3-35　光电倍增管的工作原理

图 3-35 中，K 为光阴极，D_1、D_2、D_3、D_4……D_n 为二次发射极，又称

打拿极。它一般被设计成凹面形，以利于电子聚焦；A 为阳极，当有光照射到阴极 K 上时，阴极 K 上的光敏材料就发射光电子，这些光电子受电场加速，到达 D_1，由于 D_1 的二次发射系数被设计成 >1 (即 $\delta>1$)，因此，有较多的二次电子被电场加速到 D_2，以后逐渐放大。最后，在阳极 A 上形成很强的光电流信号输出。二次发射级数越多，发射系数越大，总的光电子放大系数也越大。设每级的放大系数（又称倍增率）为 δ，打拿极有 n 级，则光电倍增管的光电流倍增率（又称光电倍增管的电流放大倍数）为 δ^n。

光电倍增管的主要技术指标和特点如下。

(1) 阴极和阳极光谱灵敏度　它们是光电倍增管最重要的技术指标之一，决定光电倍增管的灵敏度。阴极光谱灵敏度取决于光阴极材料，常用的阴极材料见表 3-6。阳极光谱灵敏度等于阴极光谱灵敏度和光电倍增管的电流放大倍数的乘积。

对光电倍增管的光谱响应特性的研究发现，所有的商品光电倍增管的光谱响应特性都不可能完全配对，即使是同一个制造商生产的同一种型号的光电倍增管，其光谱响应特性也不可能完全一样，并且在紫外区相差更多，不可能真正完全配对。因此，有些双光束紫外可见分光光度计采用两只光电倍增管作光电转换元件是不妥的。因为这种双光束仪器只适合定点光度测量，不能作光谱扫描。如果要作光谱扫描，其分析测试结果的误差会很大。

光电倍增管的光谱响应特性特别重要，它是光电倍增管一项极其重要的关键指标。在相同条件下测得不同光电倍增管的绝对阴极光谱响应特性，可以挑选、比较光电倍增管的相对灵敏度、响应峰值波长位置、长波和短波的响应极限等。光电倍增管的绝对阴极光谱响应特性可限制光电倍增管的使用范围，影响用光电倍增管作光接收器的各类仪器仪表的整机灵敏度。

众所周知，光电倍增管的绝对阴极光谱响应特性的测试，需要复杂、昂贵的仪器设备和熟练的技术。但是，在相同的条件下，对同一波长而言，光电倍增管的绝对阴极辐射灵敏度 $E(\lambda)$ 和绝对阳极辐射灵敏度 $E(\lambda)_a$ 在数值上只相差 G 倍，因此，对同一光源而言，测得的光电倍增管的绝对阴极光谱响应特性曲线［$E(\lambda)$-λ 曲线］和绝对阳极光谱响应特性曲线［$E(\lambda)_a$-λ 曲线］的形状完全相似。又因在相同的条件下测得的光电倍增管的绝对阴极光谱响应特性曲线与其相对阴极光谱响应特性曲线相似，绝对阳极光谱响应特性曲线与其相对阳极光谱响应特性曲线相似。所以，光电倍增管的相对阳极光谱响应特性曲线与其绝对阴极光谱响应特性曲线也是相似的。但光电倍增管的相对阳极光谱响应特性曲线的测试要比绝对阴极光谱响应特性曲线的测试简单得多。因此，作者在实际使用光电倍增管的过程中，提出了一种用测量光电倍增管的相对阳极光谱响应特性来代替测量绝对阴极光谱响应特性的方法，并称之为 RASRC

(Relative anode spectral response characteristic) 法。

所谓 RASRC 法，就是先用真空热电偶测得某一波长下的辐射通量 Φ_e(W)，然后用光电倍增管代替真空热电偶，测出同一波长下的阳极光电流 I_{ap}(A)；再根据定义：$E(\lambda)_a = I_{ap}(A)/\Phi_e(W)$，求得光电倍增管的相对阳极光谱响应特性；如此依次测得光电倍增管对不同波长的相对阳极光谱响应特性，即求得了相对阳极光谱响应特性曲线，它与光电倍增管的绝对阴极光谱响应特性曲线完全相似。该方法具有设备简单、操作简便、实用性强等优点。作者曾多次用该方法对多种光电倍增管的相对阳极光谱响应特性进行过测试；在挑选光电倍增管的基本配对管、筛选、比较鉴别光电倍增管的灵敏度、寻找光电倍增管的峰值波长位置和长、短波响应极限等方面都得到了满意的结果。作者采用 RASRC 法对日本 Hamamatsu 公司生产的光电倍增管 R928 和 R456 的相对阳极光谱响应特性进行了测试，R928、R456 的相对阳极光谱响应特性曲线，与日本 Hamamatsu 的报道基本一致，与它们各自的阴极光谱响应特性曲线基本相似。结果令人非常满意。作者研制的测试装置如图 3-36 所示。

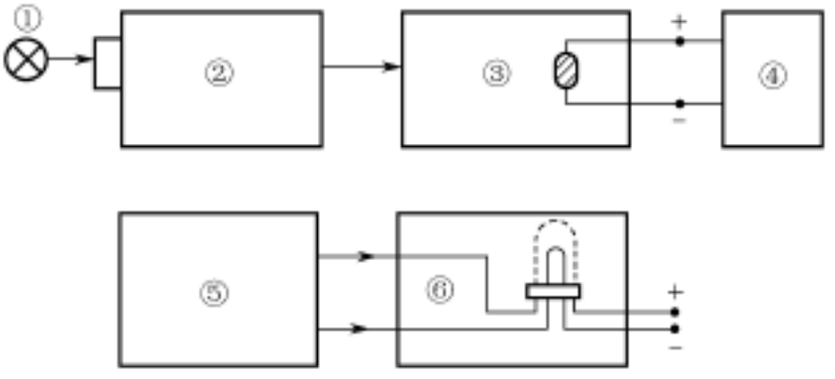


图 3-36　光电倍增管的绝对阴极光谱响应特性曲线测试装置

图 3-36 中，①为光源系统（含经过作者改进的 GGQ80 汞灯和稳压电源）；②为 55W 光栅单色仪（原上海光学仪器厂生产；以下简称 55W），其波长范围为 200～600nm；③为 BZ-2 型真空热电偶（以下简称 BZ-2），其直流灵敏度为 40μV/ μW（北京真空仪表厂生产并标定；使用过程中最好每年由计量部门标定一次）；④为放大器和数字电压表；⑤为光电倍增管直流稳压电源；⑥为光电倍增管组件；光电倍增管的负载电阻 R_L = 32.5kΩ（RJJ，0.1%）。

(2) 放大倍数（增益）M　放大倍数 $M = c \cdot \delta^n$；其中，c 为收集系数，它反映倍增极收集电子的效率。一般光电倍增管的 M 值为 10^5～10^7。光电倍增管的放大倍数与它的工作直流高压有关，所加的高压越高，放大倍数越大。一般光电倍增管工作时，要加 300～1000V 的直流高压。

(3) 阳极特性　光电倍增管的阳极特性是指在一定光照下，阳极光电流与末级倍增极和阳极间电压的关系，而其余各级间的电压保持恒定不变。一般光电倍增管的阳极特性曲线如图 3-37 所示。

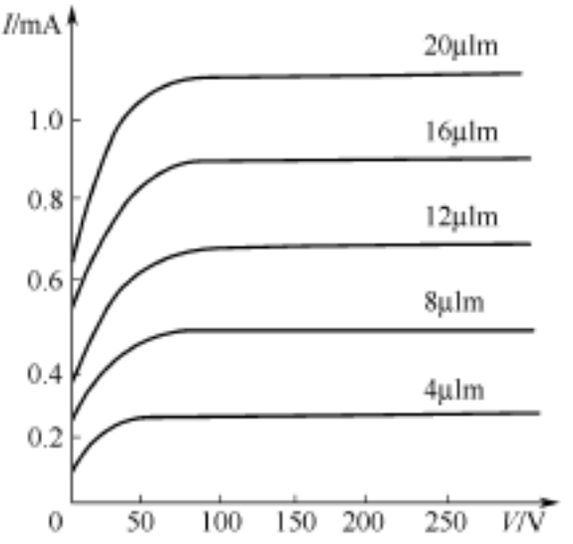


图 3-37　一般光电倍增管的阳极特性曲线

由图 3-37 可知，光电倍增管的阳极特性曲线有饱和区。照射到光阴极上的光通量越大，相应的阳极光电流也越大，达到饱和时的级间电压也越大。

(4) 暗电流　暗电流决定光电倍增管的极限灵敏度。一般光电倍增管的暗电流在 10^{-7}～10^{-10}A，它与工作时的温度有关。所以，使用时为了降低暗电流，采取制冷的办法。

(5) 稳定性　光电倍增管的稳定性是使用者特别要关注的问题。因为它直接影响紫外可见分光光度计的稳定性。光电倍增管的稳定性与以下因素有关。

① 所加直流工作电压的稳定性。众所周知，如直流工作电压波动 1%，则光电倍增管的放大倍数波动 12%以上。紫外可见分光光度计在常规使用中，一般在光电倍增管上加 600V 左右的高压，这时光电倍增管的放大倍数约为 50 万倍。此时要求高压电源的电压调整率为 0.05%以下。作者曾在弱信号、多功能的紫外/荧光一机两用的分光光度计的研制工作中，采用电压调整率为 0.05%的直流高压电源，但不能满足使用要求。后来作者自己研制成功 0.0005% 的直流高压电源，很好的满足了紫外/荧光一机两用的微弱信号检测的要求。

② 光电阴极疲劳。光电倍增管的光电阴极经强光照射后，会产生灵敏度下降，我们称之为疲劳。但经过几小时后，有可能恢复。如果长期在较强的光照射下，光阴极会产生不可逆的疲劳 (即不能恢复光谱灵敏度)，这是影响光电倍增管测量重复性的重要因素。所以使用者要注意，不能让强光直接照射光电倍增管的阴极。

③ 漂移。由于光谱灵敏度的慢而不可逆变化 (下降) 的长期积累 (又称老化)，使光电倍增管的输出产生漂移。

④ 阳极电流变化的滞后效应。电源电压变化后，阳极电流变化有滞后。特别是光电倍增管的打拿极采用高压负反馈的紫外可见分光光度计，这种滞后更加明显，需要特别重视。几种常用的光电倍增管的主要特性列于表 3-7。

表 3-7　几种常用的光电倍增管的特性

型　号	阳极材料	光谱响应范围 / nm	峰值波长 / nm	阴极灵敏度 / (μA/ lm)	阳极灵敏度 / (A/ lm)	暗电流 / A
GDB-28	Ag-O-Cs	310～650	400	50	200	5×10^{-9}
GDB-106	K-Cs-Sb	200～700	400	30	30	7×10^{-9}
GDB-147	K-Na-Cs-Sb	200～850	400	50	10	5×10^{-9}
GDB-151	K-Na-Cs-Sb	185～850	400	1	10	20×10^{-9}
GDB-413	K-Cs-Sb	300～700	400	40	100	10×10^{-9}
1975A	K-Na-Cs-Sb	185～870	330	50	100	50×10^{-9}
1P21	Cs-Sb	300～650	400	40	120	1×10^{-9}
1P28	Cs-Sb	185～860	340	40	100	5×10^{-9}
6256B	Cs-Sb	175～650	400	80	200	1×10^{-9}
9558B	K-Na-Cs-Sb	320～850	390	190	200	10×10^{-9}
R375	K-Na-Cs-Sb	160～850	420	150	80	5×10^{-9}
R446	K-Na-Cs-Sb	185～870	330	80	400	5×10^{-9}

二、内光电效应的光电转换器

(一) 光敏电阻

有些半导体材料吸收光能后，电阻率降低，电导明显增加而产生光电导现象。这种在物体内部因电子在不同能级的跃迁所形成的光电现象称为内光电效应。其电导与入射到半导体材料的辐射通量成正比。这种光电元件称为光敏电阻或光导管。常用的有硫化铅 (PbS)、硒化镉 (CdSe)、硫化镉 (CdS) 等。几种常用的光敏电阻的光谱灵敏度见表 3-8。各种光敏电阻的特性见表 3-9。

表 3-8　几种常用的光敏电阻的光谱灵敏度

材　　料	最大波长位置/ μm	长波边界/ μm	温　度
CdS	0 .52～0 .6	1	室温
TiS	0 .5 和 1 .05	1 .4	室温
BiS	0 .7	1 .2	室温
PbS	2 .1～2 .7	3 .5～4	室温
CdSe	0 .77	1 .2	室温
PbSe	2 .3 和 3 .4	5 .5	室温
PbSb	4～4 .5	5	室温
InSb	6	8	室温
Ge 掺 Au	5	10	65K
Ge-Si 掺 Au	7～8	15～16	50K
Ge 掺 Cd	16 和 20	25	4 .2K

表 3-9　各种光敏电阻的特性

光 敏 电 阻	灵 敏 度	响 应 时 间	工 作 范 围
CdS	50A/ lm	1ms～1s	0 .3～0 .8μm
CdSe	50A/ lm	500μs～1s	0 .3～0 .9μm
PbS	10^{-12}W	100μs	1～3μm
PbSe	10^{-11}W	100μs	3～5μm
PbTe	10^{-12}W	10μs	3～5μm
InSb	10^{-11}W	0 .4μs	3～7 5μm
Se	1mA/ lm	100μs	—
Ge	10^{-13}W	10μs	1～10μm

光敏电阻具有结构简单、体积小、质量轻等优点。但其光谱响应范围一般较窄；如硫化镉（CdS）的光谱范围仅为 0.5～0.6μm。因此，选择性较强。通常只有在紫外可见近红外分光光度计的 0.7μm 以上波段才采用硫化铅光敏电阻作光电接收器。一般的紫外可见分光光度计基本上都采用光电管或光电倍增管作光电接收器。

光敏电阻工作时要加一个几伏到十几伏的直流工作电压；其工作电路和检测电路如图 3-38。

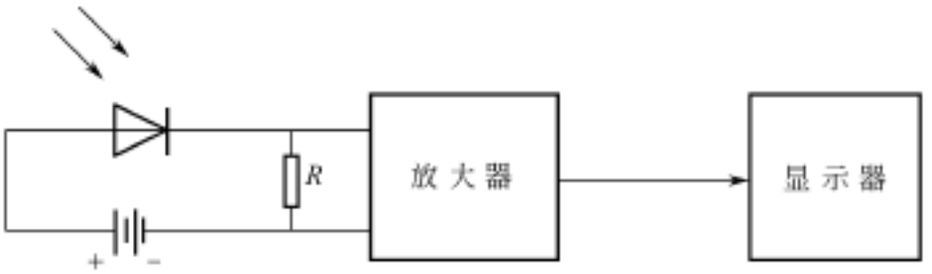


图 3-38　光敏电阻的工作电路和检测电路

(二) 光电池

光电池是一种简单适用的光电转换元件。它的优点是简单、便宜、使用方便，不需要附加电源，可以直接使用。它的缺点是响应时间较长、有疲劳效应和温度效应。光电池分硒光电池和硅光电池。目前在紫外可见分光光度计中使用最多的是硅光电池。

1. 硒光电池

硒光电池的一般结构如图 3-39 所示。

图 3-39　硒光电池的结构

1—金属片；2—半导体材料；3—氧化物层（氧化镉或镉）；4—金属导电透光膜（金或珀导层）；5—金属集电极

在一块平的铜、铁或铝金属片上沉浸一层硒半导体材料，在硒半导体材料层上镀有氧化物层（金属或氧化镉），两者界面起一个阻止电子通过的阻挡层作用。氧化物层上镀有金属导

电透光膜和电极。整个表面用透明薄膜保护着。当光束透过导电透光膜后到达氧化物与半导体材料层的接触面，在光照下，氧化物层会产生一些具有足以克服这个阻挡层的能量的受激电子，从而使电子从半导体流向金属导电透光膜，由金属集电极收集，呈现带负电。半导体层由于失去电子金属片中的自由电子在电场作用下被驱赶去补充，呈现带正电。将导电透光膜的集电极与半导体另一侧的金属片连接，如果外电路的电阻很小，则电路中有电流发生。若光辐射功率不很大，则光电流与光辐射功率成正比。通常，硒光电池的这种光电流大约在 10～100μA。

2. 硅光电池

硅光电池的结构如图 3-40 所示。

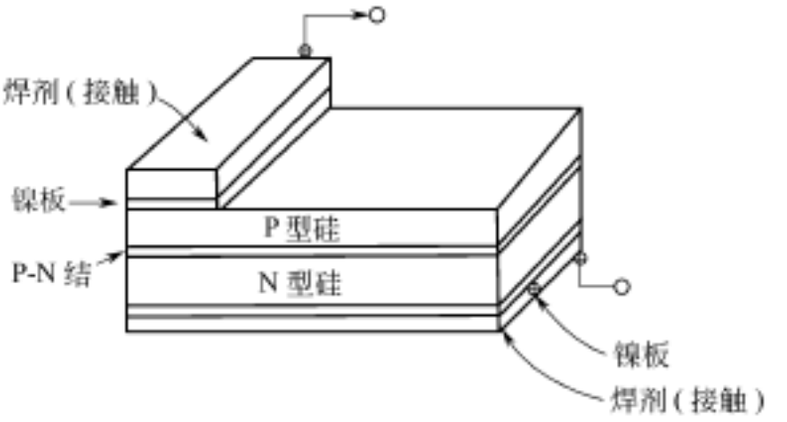


图 3-40　硅光电池的结构

硅光电池的最大光电流比硒光电池的最大光电流要大 100 倍以上，在可见光区的灵敏度更高。

各类光电池都有极限照度，若入射光过强，光电池有可能产生疲劳或损坏。使用时要按说明书要求行事。

3. 光电池的特性

(1) 光谱响应特性（见图 3-41)。

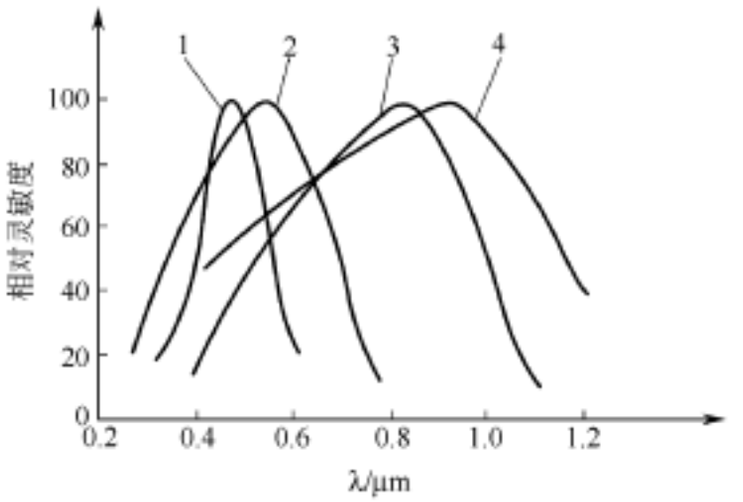


图 3-41　几种光电池的光谱响应特性

1—Cu_2O；2—Se；3—Si；4—Ag_2S

硒光电池的光谱响应区为300～700nm，一般峰值波长在550nm左右。近几年，国际上很少有光谱仪器使用硒光电池作光电转换器件。

硅光电池是近几年，国际上的准双光束紫外可见分光光度计使用最多的一种硅光电池。它被分为可见区使用的硅光电池和紫外可见区使用的硅光电池两种，可见区使用的硅光电池的光谱响应范围一般为320～1100nm，一般峰值波长位置在960nm左右。如日本浜松公司的S1337-16BR、S1337-33BR等硅光电池就是。紫外可见区使用的硅光电池，其光谱响应范围一般为190～1100nm，一般峰值波长位置也在960nm左右，如S1337-BQ、S1336-8BQ、S2387SERIES等硅光电池。但近几年，国外有些硅光电池的光谱响应波长峰值可在400～500nm，如日本浜松公司的S7505硅光电池，其波长范围为400～540nm，峰值位置在460nm；日本浜松公司的S7686硅光电池，其波长范围为480～660nm。峰值位置在550nm。还有峰值位置在254nm的、更适合紫外可见分光光度计的使用的硅光电池，如日本浜松公司的S2648-254型硅光电池，其峰值位置在254nm。

(2) 光照特性曲线　各类光电池在不同的光照下，都有不同的光电流输出。图3-42所示为硅光电池的光照特性曲线，它表明了硅光电池的开路电压、短路电流和光照度的关系。由图可知，短路电流和光照度成线性关系，开路电压与光照度成非线性关系，并且，当照度大于1000lx时，出现饱和。因此，使用光电池时，要注意使其工作在接近短路状态，即负载电阻尽量要小。不同负载下光电流与光照度的关系如图3-43所示。

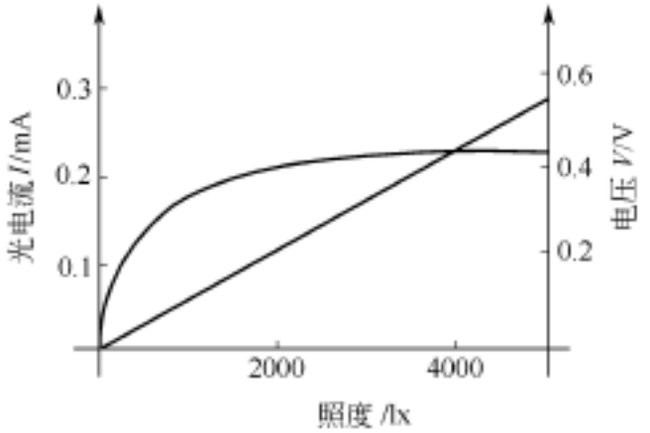


图3-42　光照特性曲线

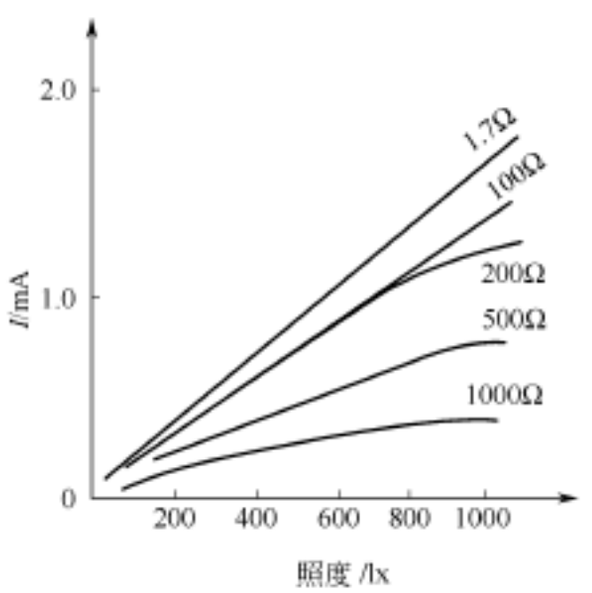


图3-43　不同负载下的光电流与光照度的关系

(3) 稳定性　光电池的稳定性与制造工艺、温度、电磁场干扰等有

关。光电池如果密封不好，很快就会使噪声增大，灵敏度下降；当光电池的温度上升，也会使噪声增加，使稳定性变坏；周围有电磁场干扰，也会影响其稳定性。所以，使用光电池作光检测器的紫外可见分光光度计，一定要注意防潮、防高温、防周围电磁场的干扰，以保证光电池工作在最佳环境下。

(4) 暗电流和灵敏度　一般来讲，光电池的暗电流都较大，但近几年国外生产的硅光电池的暗电流非常小，如 S1336-18BU、S1336-18BQ 等硅光电池，最大暗电流仅 20pA，很适合紫外可见分光光度计的使用。

硅光电池的灵敏度也很高；目前国外生产的硅光电池，在紫外区的灵敏度有的可达到 0.1A/ W，如日本浜松公司的 BQ 型的硅光电池 (S1336-18BQ、S1336-44BQ 等)。

(三) 光电二极管

光电二极管是一个带有反向偏置电压的半导体二极管，即电源的负极与光电二极管的正极相联，电源的正极通过负载电阻 R 与它的负极相联，光电二极管的工作原理和检测电路图如图 3-44 所示。几种光电二极管的光谱响应特性如图 3-45 所示。

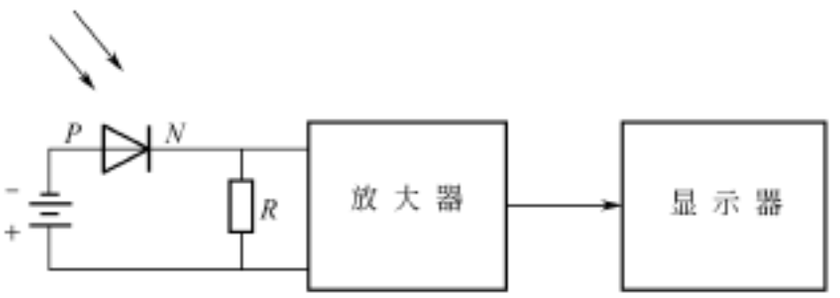


图 3-44　光电二极管的工作原理和检测电路

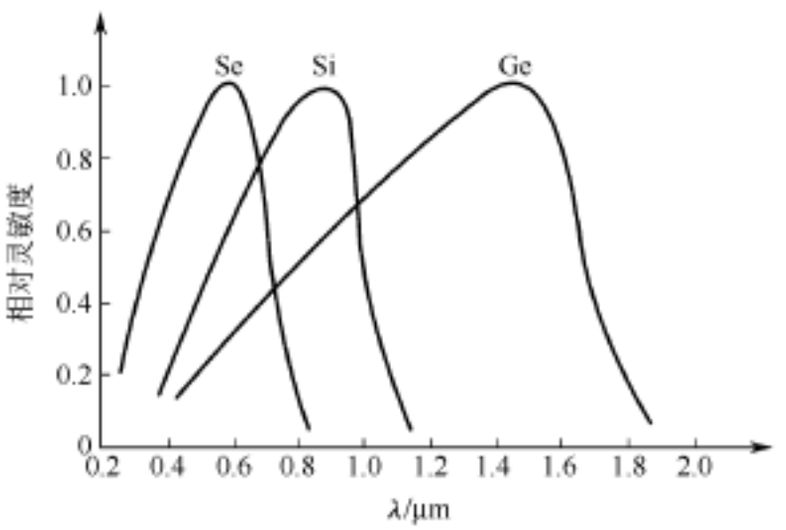


图 3-45　几种光电二极管的光谱响应特性

第七节　放大器系统

现代紫外可见分光光度计不但已成为光、机、电紧密结合的高科技产品，而且由于计算机技术的大发展及其在紫外可见分光光度计中的成功应用，使现代紫外可见分光光度计已成为更加精确、自动、智能化的分析仪器。在现代紫外可见分光光度计中，常用的放大器有前置电流放大器、前置电压放大器、主放大器等。一般是采用直流放大器。在比较高档的紫外可见分光光度计中，也有用交流放大器的。下面简单介绍紫外可见分光光度计中几种常用的放大器。

一、前置放大器

一般光电转换器件的输出大多是光电流或电压；如光电倍增管、光电管，它们可以直接输出光电流，也可在光电倍增管或光电管的阳极上对地接一个负载电阻，把光电流变成电压输出。如果是光电流输出，后面的前置放大器就要用电流放大器或称为Ⅰ/Ⅴ变换器；如果是电压输出，后面的前置放大器就要用电压放大器。因为光电转换器件的输出阻抗一般都很大，所以前置放大器的输入阻抗就一定要与之相匹配。也就是说，前置放大器的输入阻抗就一定要很高。

下面将简单介绍紫外可见分光光度计中经常使用的前置放大器-电流放大器（Ⅰ/Ⅴ变换器）和电压放大器。

（一）电流放大器

在紫外可见分光光度计中，因为光电转换器一般是将光信号转换成光电流信号。所以，光电转换器（光电管、光电倍增管等）后面，大多采用电流放大器。一般电流放大器的组成如图 3-46、图 3-47 所示。

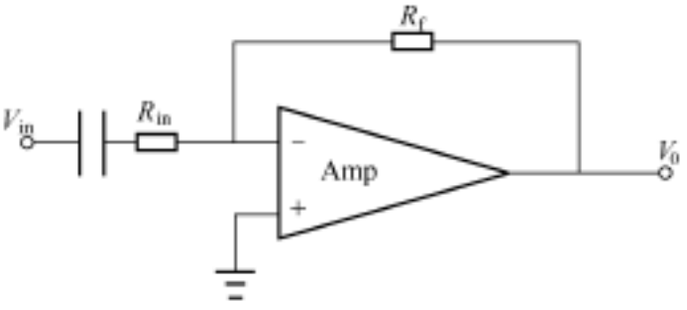


图 3-46　一般的电流放大器（Ⅰ/Ⅴ变换器）

研究发现，紫外可见分光光度计的电流放大器一般都要求高输入阻抗、低噪声、低漂移。否则，不可能得到满意的结果。图 3-48 中：集成块 *A* 一定要求是高输入阻抗、低噪声、低漂移的运算放大器；如果光电转换器是光电倍增

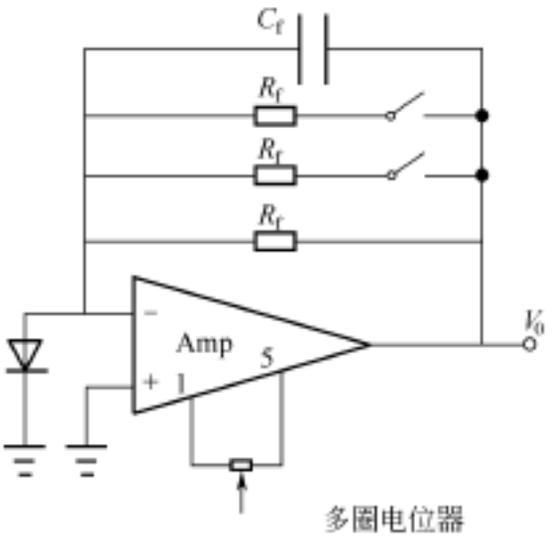


图 3-47　高灵敏度 I/ V 变换器

管，则一定要挑选输入阻抗在 1MΩ 以上的集成块，以保证阻抗匹配。反馈电阻 R_f 最好用 RJJ 金属膜电阻，并且，功率应选择得稍大一些，最小应为 1/ 4W，以保证低噪声。电容 C 一定要选择优质涤纶薄膜电容，以便尽量降低噪声。

(二) 电压放大器

如果光电转换器 (光电管、光电倍增管等) 输出的是电压，则其后的前置放大器用电压放大器。前置电压放大器也是一个关键部件，也应该挑选高输入阻抗、低噪声、低漂移的运算放大器。前置电压放大器可分为直流电压放大器和交流电压放大器两种。主要看光信号是直流还是交流而定。一般电压放大器如图 3-48 (直流)、图 3-49 (交流) 所示。从电路的稳定性来考虑，前置电压放大器的闭环电压放大倍数不能太大，一般在 20～40 倍左右。如果直流放大器的放大倍数大于 50，则很难保证其稳定性。

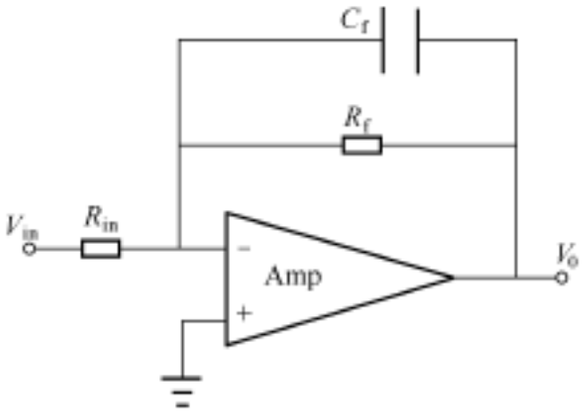


图 3-48　直流电压放大器

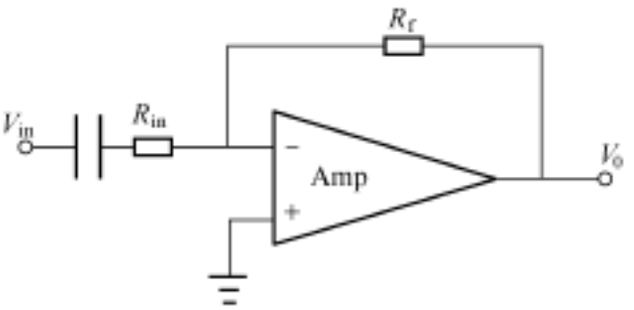


图 3-49　交流放大器

二、主放大器

紫外可见分光光度计的主放大器，都是电压放大器，其电路图与前置放大器基本相同。主放大器的电压放大器往往有好几级。但必须注意的是各级的放大倍数也不能太大，一般取 30 倍左右为好。一般主放大器末级输出电压要求达到 2V，以便于计算机前面的 V/ D 变换器处理。有时，还在主放大器后加一级功率放大，以保证适应其后面电路的要求。

三、双端输入的对数放大器

双端输入的对数放大器在紫外可见分光光度计中很有用。图 3-50 为一种用于紫外可见分光光度计中的优质双端输入的对数放大器的原理图。

第八节　数据处理、打印输出系统

现代紫外可见分光光度计的输出部分，一般都是在放大器后面接一只V/ D 变换器，把经过放大器放大的电压信号变成数字信号，再送给计算机进行处理，最后再输送到打印机打印出结果。

数据处理时，一般都希望速度快者为好。有些紫外可见分光光度计仪器的计算机部分采用单片机，容量不大，数据处理较慢；有些紫外可见分光光度计(特别是高档仪器) 采用 PC 机，数据处理速度很快。使用者在选择紫外可见分光光度计时，应根据自己的需要。有些紫外可见分光光度计的硬件不错，但软件水平较低。特别是有些软件缺少人性化。建议使用者挑选紫外可见分光光度计时，要特别注意考察人性化的问题，即界面要友好、菜单要中文化、操作要简单方便。

一般计算机应装多种打印机软件，以便紫外可见分光光度计能适应多种打印机。有些紫外可见分光光度计，只能支持一种打印机，这对使用者是不方便的。

参　考　文　献

1　李昌厚，孙吟秋等．一种高稳定性多功能氘灯恒流电源的研制．光学仪器，1991，(5)：23

2　P-E，Data Station UV/ VIS Spectrophotometers，1980

3　李昌厚等．一种光电倍增管高压电源的研制．电子技术，1981，(2)：31

4　李昌厚，孙吟秋．一种新型的多功能微量光度计的研制．仪器仪表学报，1991，(1)：23

5　李昌厚，孙吟秋．一种双端输入的对数放大器的研制．仪器仪表学报，1989，(4)：337

6　李昌厚，孙吟秋．光电倍增管光谱响应特性测试方法的研究．仪器仪表学报，1991，(2)：142

7　C. F. Coombs，JR．. Basic Electronic Instrument Handbook，New York：Mcgraw-Hill Book Company，1972

8　李昌厚等．光电倍增管和硅光电池的相对光谱响应特性测试方法的研究．光学仪器，1995，(2)：8

9　李昌厚，孙吟秋．DW-88 型氘钨灯恒流恒压电源的研制．黑龙江电子技术，1990，(4)：39

10　孙吟秋，李昌厚．在进口紫外可见分光光度计上用国产氘灯代替进口氘灯的研究．现代科学仪器，1997，(4)：12

11　李昌厚，孙吟秋，李培洪．液相色谱 UV/ FL 检测器的研制，分析仪器，1989，(4)：16

12　李昌厚．略论紫外可见分光光度计对光栅的基本要求．光学仪器，1989，(4)：44

13　R. P. Bauman．Absorption Spectroscopy．New York：John Wiley，1962

14　E. Kohen et al．Rev．Sci．Instrum．，1973，(12)：44

15　Shimadzu．Introduction to Ultraviolet and Speetrophotometric Analysis．Tokyo：Shimadzu Corporation．1985，15

16　Varian．Cary 4 and Cary 5 the Ultimate in UV/ VIS/ NIR Spectrophotomenters．Publication No．85-100934-00 Australia (4/ 90)，1990

17 秦世才等．集成运算放大器应用原理．天津：天津人民出版社，1979
18 张烽生，龚全宝．光电子器件应用基础．北京：机械工业出版社，1993
19 赖祖武等．核物理电子学方法．上海：上海科学技术出版社，1961
20 张郁弘等．晶体管运算放大器及其应用．北京：国防工业出版社，1978
21 M. Winstead．Instrument Check Systems（Published in Greet Britain，Printed in the U. S. A.），1971，22～24
22 李昌厚等．DLPS-2 型多功能氘灯恒流电源的研制．电子科学技术，1987，(5)：22
23 李昌厚．光谱仪器设计的一种新方法．光谱仪器与分析（专刊，第 2 届全国光谱技术学术研讨会论文专辑．浙江湖州：1990），1990，(2)：23
24 李昌厚等．国产氘灯代替进口氘灯的研究．光学仪器，1993，(2)：26

第四章　仪器的技术指标、测试方法及其对分析误差的影响

熟悉紫外可见分光光度计的技术指标，是最重要、最关键的核心问题；不管是紫外可见分光光度计的使用者还是制造者，都必须重视这个问题。

对制造者来讲，做出的紫外可见分光光度计仪器应该好用。所谓“好用”，就是紫外可见分光光度计“稳定可靠”。所谓“稳定”，就是漂移小、重复性好。所谓“可靠”，就是紫外可见分光光度计的分析测试结果的准确度高（可靠性的含义将在本书后面详细讨论，此不赘述）。而准确度又与杂散光、光度噪声、基线平直度、光谱带宽等许多技术指标有关。

对于使用者来讲，就是要用好紫外可见分光光度计。要用好一台紫外可见分光光度计，首先要认真阅读仪器的使用说明书，要对仪器的结构有初步了解，能正确操作仪器，掌握仪器的基本保养维护知识。特别要认真了解仪器的技术指标及其物理意义与简单的检测方法，以及这些技术指标相互之间的关系与对分析测试结果误差的影响。以便经常检测仪器的技术指标，保证仪器工作在最佳状态。

第一节　光度准确度

光度准确度（Photometric Accuracy）是一个非常重要的技术指标。任何使用者买一台紫外可见分光光度计都是为了分析工作，进行分析工作的目的是出数据，其基本要求是数据要准确可靠，这在很大程度上取决于仪器的光度准确度这个最重要的技术指标及其有关指标。

一、光度准确度的表示方法

目前，国际上对紫外可见分光光度计光度准确度的表示方法主要有两种：一种是吸光度准确度（Absorbance Accuracy）或吸光度误差（Absorbance Error），用 A_A（或 ΔA）表示；另一种是透射比准确度（Transmittance Accuracy）或透射比误差，用 T_A（或 ΔT）表示。国外的紫外可见分光光度计制造商，绝大多数都给出吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA），并都指出在什么吸光度情况下测量。如美国 Varian 公司的 Cary500、美国 P-E 公司的 Lambda9、Lambda900 等仪器，都给出在 1.0Abs 时，吸光度准确度或吸光度误差

A_A（或 ΔA）为±0.003Abs。但国外有少数仪器制造商在给出吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）的同时，还给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）。如日本岛津公司的 UV-260、UV-2450PC、UV-2550PC 等仪器，都给出在吸光度为 0～0.5A 时，吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）为±0.002A；吸光度为 0.5～1.0A 时，吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）为±0.004A。但同时又给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）为±0.3%T。我国生产紫外可见分光光度计的厂商，很多都在给出吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）的同时，也给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）。如北京普析通用公司的 TU-1901、TU-1800 系列，北京瑞利公司的 UV-2100，上海分析仪器总厂的 760MC 等紫外可见分光光度计等，在给出吸光度为 0～0.5A 时，吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）为±0.002A；吸光度为 0.5～1.0A 时，吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）为±0.004A。但同时又给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）为±0.3%T。还有许多制造商只给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT），并且不讲明在多少透射比情况下测试，这是不对的。我们认为，给出吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA），同时也给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）是对的。只给出吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA），不给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）也是可以的，因为符合使用者只要求或只使用吸光度表示分析测试结果的习惯。只给透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT），而不给吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）是不合适的，原因如下：第一，若给出 T_A（或 ΔT）=±0.5%T，而不讲明在什么透射比情况下测试，就应理解为在 0～100%T 范围内的任何地方测试都能达到 T_A（或 ΔT）=±0.5%T。但实际上，若在 10%T 处测量，T_A（或 ΔT）=±0.5%T 时产生的透射比相对误差为±5%。而在 90%T 处测量，则 T_A（或 ΔT）=±0.5%T 时产生的透射比相对误差为±0.56%，二者相差很大。也就是说，不可能在0～100%T 范围内的任何地方测试都能达到 T_A（或 ΔT）=±0.5%T。第二，用户在使用紫外可见分光光度计时，基本上没有人只用透射比 T 和透射比误差 T_A（或 ΔT）来表示光度准确度和分析测试误差。相反，大家一般都用吸光度值 A 和吸光度误差 A_A（或 ΔA）来表示分析测试结果和分析误差。第三，为了与国际接轨，应采用吸光度值 A 和吸光度误差 A_A（或 ΔA）来表示紫外可见分光光度计的光度准确度。因为，目前国际上绝大多数使用者，都是采用吸光度值 A 和吸光度误差 A_A（或 ΔA）来表示紫外可见分光光度计的分析测试结果和分析误差。第四，吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）和透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT），在使用时二者在数值上会相差很大。若要把 T_A（或 ΔT）=±0.5%T 换算成 A_A（或 ΔA），则在 10%T 处（相当在 1A 处），

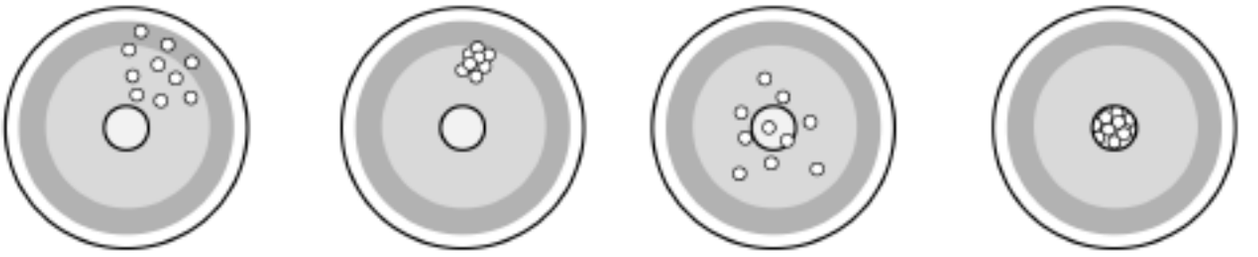
±0.5%T 的透射比误差，产生的 A_A（或 ΔA）为±0.022A，而在 90%T 处(相当在 0.0046A 处)，T_A（或 ΔT）= ±0.5%T 时产生的 A_A（或 ΔA）为±0.0024A，这同样是一个惊人的差距。因此，在给出一台紫外可见分光光度计的光度准确度时，不管是用吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）表示，还是用透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）表示，都应该指出在多少吸光度或在多少透射比情况下测试。否则，既会使人在物理概念上的含糊不清，又会给使用者带来极大的麻烦。

但是，目前仍有许多厂商在给出透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）时，都一律写成±0.3%T。特别是许多制造厂商对自称是高档紫外可见分光光度计的仪器，基本上都是写成“±0.3%T（0～100%T）”。如日本岛津的 UV-2401PC、UV-2450PC、UV-2550PC 等紫外可见分光光度计，国内的 TU1900、UV-2100、UV-760MC 等紫外可见分光光度计等。从理论上讲任何高档紫外可见分光光度计的透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）不可能在 0～100%T 内都能达到±0.3%T 的透射比准确度。

在紫外可见分光光度计的技术指标表示方法上，之所以产生错误，主要原因有两个：第一，不甚了解透射比准确度或透射比误差 T_A（或 ΔT）与透过率真值 T 的关系，不懂得吸光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）与吸光度真值 A 的关系。不知道影响透射比误差 T_A（或 ΔT）和吸光度误差 A_A（或 ΔA）的主要因素。第二，商业上的需要，人家给出的都是±0.3%T（0～100%T），我如果不这样写，就会影响销售。

目前国内外都有一些厂商在说明书或仪器样本中称“光度准确度”为“测光精度”，这种称谓混淆了准确度（Accuuracy）和精密度（Precision）的概念。准确度是指的测量值与理论值之差，该偏差越小说明测量的数据越准确可靠，或者说光度准确度越高。而精密度是指的分析测试数据的离散性或重复性，是指同一操作者，在一次开机中连续重复多次测试某一吸收峰的吸光度值中最大与最小值之差。该差值越小，说明该仪器的光度重复性越好。“光度准确度”和“光度精密度”二者不能混淆。正确的说法应该是紫外可见分光光度计的“光度准确度”而不能说成“测光精度”。

还有人讲“紫外可见分光光度计没有准确度，光度精密度或光度重复性就是光度准确度”。这也是一个错误的。光度精密度或光度重复性是指多次测量中的离散性。如 3 次或 5 次测量中吸光度的最大值与最小值之差即为光度精密度或光度重复性。而准确度则是指实际测量的吸光度值与真值或理论值之差。Owen 为了说明精密度（Precision）和准确度（Accuuracy）的区别，用打靶的例子作了精辟的说明（见图 4-1）。



(a) 精密度和准确度都不好 (b) 精密度好，准确度差 (c) 精密度差，但准确度好 (d) 精密度和准确度都好

图 4-1 精密度（Precision）和准确度（Accuuracy）的区别

二、影响光度准确度的主要因素

影响紫外可见分光光度计光度准确度的主要因素有以下几个方面。

① 仪器的杂散光大小。

② 仪器的光度噪声。

③ 仪器的基线平直度。

④ 仪器的光谱带宽。

⑤ 试样的来源，包括样品的制备，取样的方法。

⑥ 样品的制备，包括称量、容量、溶剂、试剂、pH 值、时间、温度等。

⑦ 比色皿的性能等。

由此可知，光度准确度或吸光度误差 A_A（或 ΔA）是一个综合性的技术指标。要使用紫外可见分光光度计测得准确可靠的数据，必须注重上述几个方面的影响。否则，不可能得到准确可靠的数据。

特别应该指出的是，在给出吸光度误差 A_A（或 ΔA），同时也给出透射比误差 T_A（或 ΔT）时，二者不能相互矛盾。

三、吸光度准确度和透射比准确度的关系

比耳定律指出：①$A = -\lg T$，故 $T = 10^{-A}$；②$C = (-1/ab)\lg T$，故 $T = 10^{-abc}$。

式①和式②中，A 为吸光度；T 为透射比；a 为摩尔吸光系数；b 为光程；c 为被测试样的浓度。由此可见，A、T、C 之间有着密切的关系。由于 A 或 T 的测量误差可引起对被测试样浓度 C 的测量误差。若设 T 的误差为 T_A（或 ΔT），则可求出不同 T_A（或 ΔT）的情况下，相对吸光度误差 A_A/A（A_A 为吸光度真值 A 与测量值 A_m 之差）与 A 的关系。或求出不同 A 下 A_A/A（或 $\Delta A/A$）与 T_A 的关系。

作者研究了 A_A/A 与 T_A 和 A 的关系，导出了 A_A/A 与 T_A 和 A 之间的关系的理论计算公式，具有普遍的指导意义。

设

$$T - T_m = T_A \tag{4-1}$$

$$A - A_m = A_A \tag{4-2}$$

式（4-1）中，T_m 为透射比的测量值；A_m 为吸光度的测量值；由式（4-1）得

$$T_m = T - T_A \tag{4-3}$$

根据比耳定律：$A = -\lg T$，可得

$$T = 10^{-A} \tag{4-4}$$

式（4-4）代入式（4-3），得

$$T_m = T - T_A = 10^{-A} - T_A \tag{4-5}$$

由式（4-2）得

$$A_m = A - A_A \tag{4-6}$$

根据比耳定律：

$$A_m = -\lg T_m \tag{4-7}$$

式（4-5）代入式（4-7），则

$$A_m = -\lg T_m = -\lg(10^{-A} - T_A) \tag{4-8}$$

式（4-8）代入式（4-6），则

$$A - A_A = -\lg(10^{-A} - T_A)$$

因此

$$A_A = \lg(10^{-A} - T_A) + A \tag{4-9}$$

式（4-9）为吸光度误差 A_A 与吸光度真值 A 和透射比绝对误差 T_A 关系的理论计算公式。由此可见，A_A 与 A 和 T_A 的数学关系式比较复杂；当 T_A 一定时，A_A 可通过不同的 A 求得；当 A 一定时，A_A 可通过不同的 T_A 求得。

作者根据式（4-9），计算出了 7 种透射比误差下，透射比误差 T_A 与吸光度真值 A 的关系（即分析测试结果的相对误差），绘制了图 4-2 所示的 6 条误差曲线。这 6 条误差曲线很适用，可以覆盖目前各国不同厂家制造的、各种不同类型和型号的紫外可见分光光度计的误差关系。分析测试工作者只要知道自

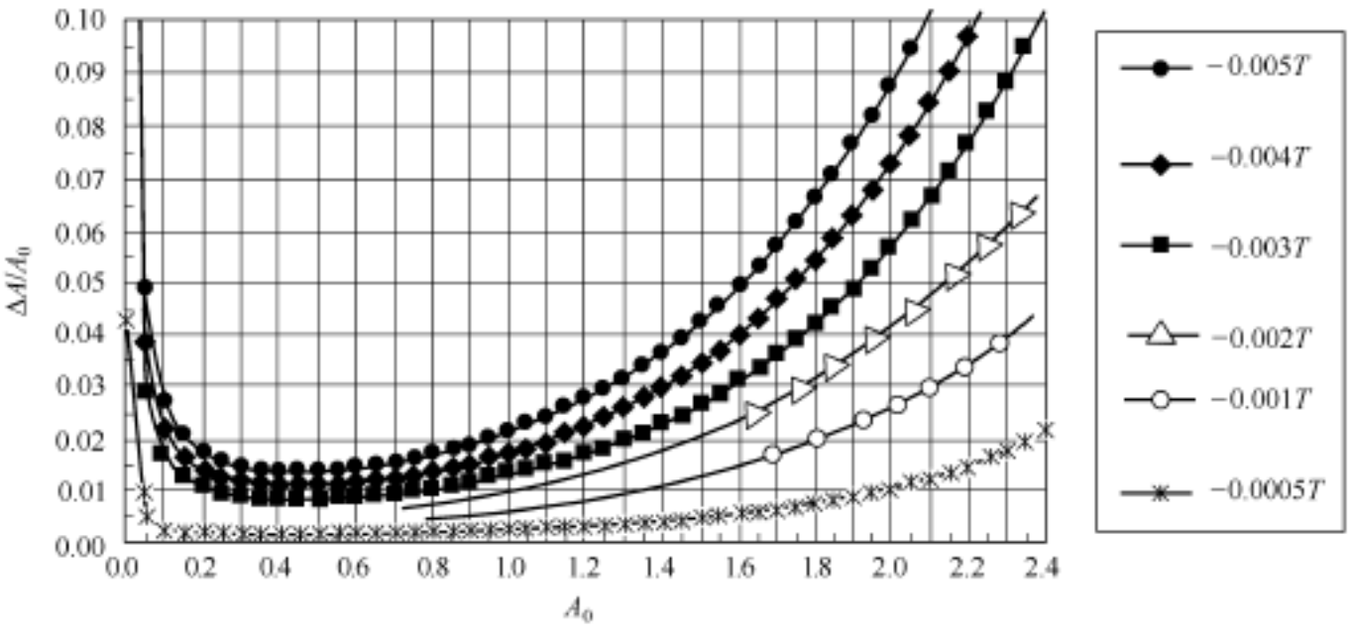


图 4-2　透射比误差 $\Delta T(T_A)$ 与吸光度误差 ΔA 和吸光度真值 A_0 的关系

己使用的仪器的 T_A（制造商都会提供，最好使用自己测试的数据），再根据使用者当时测试的吸光度数据，就可以从图 4-2 查得使用者当时所测数据因为仪器的 T_A 而引起的相对误差，从而知道自己分析测试数据的可靠性。如某厂商给出的仪器指标中，T_A 为±0.5%T，而分析测试要求的准确度为 1%，则可马上从图 4-2 上查得该仪器肯定不能满足自己的使用要求；又如若仪器给出的 T_A 为±0.3%T，但分析测试要求的准确度为 1%（相对误差），则可马上从图 4-2 上查得该仪器因为 T_A 为±0.3%T，由于 T_A（或 ΔT）的限制，即使其他因素不产生误差，它也只能满足对吸光度为 0.25～0.75A 的试样的分析测试要求；若试样的吸光度 < 0.25A（浓度偏稀），或 > 0.75A（浓度偏高）时，则测量误差都会超过 1%。

目前，国内外许多仪器厂商，对光度准确度这个非常关键的技术指标经常同时用两种方法表示：一种是 A_A（或 ΔA），另一种是 T_A（或 ΔT），但其中很多二者是自相矛盾的。如日本岛津的 UV-3101PC 型紫外可见分光光度计，它给出的光度准确度分别表示为：吸光度误差 A_A（或 ΔA）为±0.002A（0～0.5A）；±0.004A（0.5～1.0A）；同时又给出透射比误差 T_A（或 ΔT）为±0.3%T。从图 4-2 可知，这是一组自相矛盾的技术指标。因为，从图 4-2 可查到 T_A（或 ΔT）为±0.3%T 时，若要求 A_A（或 ΔA）为±0.002A，则只能在 0.2A 内（即在 0～0.2A）才可达到。不可能在 0～0.5A 内保证 A_A（或 ΔA）为±0.002A。同样，T_A（或 ΔT）为±0.3%T 时，若要求 A_A（或 ΔA）为±0.004A，则只能在 0～0.45A 内才是可靠的。在试样吸光度为 0.45A 以上时，A_A（或 ΔA）就超过±0.004A，若在 1.0A 处，则 A_A（或 ΔA）= ±0.0128A，超过±0.004A 的 3 倍左右。所以，日本岛津的 UV-3101PC 型紫外可见分光光度计的光度准确度指标中，A_A（或 ΔA）和 T_A（或 ΔT）是自相矛盾的。同样，日本日立的 U-3400 型紫外可见分光光度计的这一指标也和日本岛津的 UV-3101PC 一样是自相矛盾的。而美国 P-E 公司的 Lambda 9，Lambda 900，美国 Varian 公司的 Cary5、Cary500 和 Cary6000 等给出的光度准确度指标 A_A（或 ΔA）为±0.003A（1A）；T_A（或 ΔT）= ±0.08%T。从图 4-2 可知，二者比较一致。从表 3-7 可查到：在 T_A（或 ΔT）= ±0.08%T 时，A_A（或 ΔA）为±0.0034A（1A）。所以，美国 P-E 公司的 Lambda 9，Lambda 900，美国 Varian 公司的 Cary5、Cary500 和 Cary6000 等紫外可见分光光度计仪器给出的光度准确度指标 A_A（或 ΔA）为±0.003A（1A）；T_A（或 ΔT）= ±0.08%T 是可靠的。

四、光度准确度测试方法

用于紫外可见分光光度计的光度准确度测试的材料，应该是纯度高、稳定

性好的物质。这些物质中最主要的是铬酸钾（K_2CrO_4，一般在碱性溶液中）、重铬酸钾（$K_2Cr_2O_7$，一般在酸性溶液中）、硝酸钾、中性滤光片等。在碱性溶液中的铬酸钾是一种好材料，但是因为含有碱性，不能储藏在普通玻璃容器中，而需要储藏在石英器皿中，硝酸钾本身不大稳定。这些都限制了它们的使用。因此，最好选择易于纯化又溶于酸性介质中的物质，并且它们的稀溶液也是很稳定的。因此，重铬酸钾的 0.005mol/L H_2SO_4 溶液经常被使用。许多科学家认为，用紫外滤光片来测试紫外可见分光光度计的光度准确度，具有很大的优点。因为它们的稳定性更好，又便于携带，还有许多优点将在后面讨论。

紫外可见分光光度计的光度准确度测试方法，目前国内外各生产厂家作法不一，其主要原因是各国的国家标准不同；如美国国家标准规定：“选择合适的标准参比材料，在规定的波长处，连续测 10 个吸光度或透射比读数，取 10 个读数的平均值，实际吸光度或透射比与观测值的平均值之差，即为光度准确度”。美国国家标准还规定了计算光度准确度的标准偏差 S 的方法；规定指出吸光度准确度用 A_A 表示，则有

$$S = \sqrt{\sum (A_i - A_a)^2 / (n - 1)} \tag{4-10}$$

若透光度准确度用 T_A 表示，则有

$$S = \sqrt{\sum (T_i - T_a)^2 / (n - 1)} \tag{4-11}$$

式（4-10）、式（4-11）中，S 为标准偏差；A_i 或 T_i 为每次测量时吸光度或透射比的读数值；A_a 或 T_a 为吸光度或透射比的平均值；n 为测量次数（一般取 5～7 次）。

美国 NBS 规定，在可见区用 930 标准片来测定光度准确度，其标准透射比值分别为 10%、20%、30%的中性玻璃滤光片。规定还指出也可用 NBS 的 931，它是一种溶液。而在紫外区内，则规定用 NBS 的 203 来测定光度准确度；它是一种标准透射比值分别为 90%、30%、10%熔融石英滤光片。此外，美国标准还规定在紫外区内，用户还可以自己配置高纯度的化合物溶液来测定光度准确度。为此，美国 NBS 已发布了铬酸钾（K_2CrO_4）、重铬酸钾（$K_2Cr_2O_7$）等标准物质可供选用。

我国在 1992 年制订的紫外可见分光光度计国家标准中规定，用重铬酸钾溶液来测试紫外区的光度准确度，并明确指出了测试波长。在可见光区规定可用中性滤光片来检测光度准确度，其标准片的透射比值分别为 10%、20%、40%左右；同时还规定在紫外可见整个区间，都可用中性滤光片来检测光度准确度，其标准片的透射比值也分别为 10%、20%、40%左右。

安徽省计量测试研究所和国家标准物质研究中心共同研制的紫外光区透射比标准滤光片，T_A 优于 0.2%，稳定性优于 0.1%，其测试波长分别为 270nm、293nm 和 350nm，相应的透射比标准值各为 11.4%、3.9%、52.9%

左右。用来测试日本岛津公司的 UV-260 紫外可见分光光度计和无锡高速分析仪器厂生产的 WFZ-753 型紫外可见分光光度计的光度准确度，具体操作时，以空气作参照，对规定的波长处各测 7 次，取其平均值，与标准值相减，则得到各规定的波长处的 T_A。而后，取三个规定波长中最差者作为被测紫外可见分光光度计仪器的透射比准确度。再根据式 (4-2)，求得被测仪器在各规定的波长处的透射比准确度，然后以三个规定波长中的最差者作为被测仪器的透射比准确度。

影响紫外分光光度计光度准确度的因素很多，主要因素有杂散光、噪声、基线平直度、光谱带宽等，将在本章的三至六节进行详细讨论。

五、与光度准确度有关的几个重要问题

(一) 光度准确度的测试材料

美国 NBS 规定测试材料可以是固体标准滤光片，如 930、203 标准片等，也可以是化合物标准溶液，如铬酸钾、重铬酸钾溶液等，用户可以任意选择。我国的国家标准也与 NBS 相类似。各个国家的标准中，都各自讲明了固体和液体两者的优缺点。作者认为固体标准滤光片比标准溶液好，理由如下:

① 固体标准滤光片操作简单，携带方便。

② 固体标准滤光片可以用空气作参照，避免了寻找理想参照片基的麻烦。

③ 固体标准滤光片可以得到多个所需要的、较理想的峰或谷。如安徽省计量测试研究所研制的 BW2018 标准片，可以有两个峰一个谷，且分布均匀 (270nm、293nm、350nm)。

④ 固体标准滤光片的标准片基本身可以吸收一部分杂散光，在吸收 (或透射) 峰的强度很小 (或很大) 时，可以提高光度准确度的测量准确度。

(二) 光度准确度与光谱带宽的关系

光谱带宽是紫外分光光度计分析误差的主要来源之一。一般来讲，目前国内外的紫外分光光度计的仪器研究者或制造者，在给出 A_A 或 T_A 时，都不讲明在什么光谱带宽 (SBW) 条件下测量，这是不对的。

A. Owen 在 1988 年指出:“吸光度测量的准确度，取决于仪器的 SBW 与试样的自然带宽 (NBW) 的比率。”(自然带宽被定义为最大吸收值的 1/ 2 处的吸收谱带宽度)。Knowles 和 A. Owen 在大量实验的基础上指出: SBW/ NBW≤0. 1 时，吸光度准确度可高达 99. 5%; 如果 SBW/ NBW 增大，则吸光度测量误差会增加。A. Owen 还指出，NBW≥20 时，2nm 的 SBW 对于吸光度的准确测定是足够的，可满足大约 99%的日常分析。这也是我国药典规定用于药检的紫外可见分光光度计的 SBW 一定要求≤2nm 的主要原因。

测量光度准确度时，必须注意 SBW 的选择。具体理由是:

① SBW 小，则对应的狭缝宽度小，此时的杂散光也小，可提高吸光度测量的准确度。

② SBW 小，对同一自然带宽（NBW）来讲，波长准确度会高。因为不同的波长有不同的摩尔吸光系数，所以，波长准确度高时，Beer 定律的偏离也会小，即光度准确度测试误差小。

③ SBW 小，则对应的狭缝窄，但单色光的单色性也好，更能接近单色光，也可减少 Beer 定律的偏离，提高测量精度。

但必须注意，SBW 不能太小，否则信号弱，仪器的信噪比小，灵敏度差。

狭缝宽度是指紫外可见分光光度计狭缝的机械宽度。一般来讲，紫外可见分光光度计的制造者不会告诉用户仪器的狭缝宽度，在某种程度上讲，仪器的狭缝宽度是一个保密数据。但制造商应该或必须告诉用户仪器的光谱带宽与狭缝宽度的关系为

$$\mathrm{SBW} = \frac{\mathrm{d}\lambda}{\mathrm{mm}} \times b \text{ 或 } \mathrm{SBW} = \frac{\mathrm{d}\lambda}{\mathrm{d}L} \times b \tag{4-12}$$

式（4-12）中，SBW 为光谱带宽，以 nm 计；$\frac{\mathrm{d}\lambda}{\mathrm{mm}}$为线色散倒数；$\frac{\mathrm{d}L}{\mathrm{d}\lambda}$为线色散；$b$为 Slit 宽度，以 mm 计。

因为

$$\frac{\mathrm{d}L}{\mathrm{d}\lambda} = \frac{mf}{d}\cos q \tag{4-13}$$

式（4-13）中，f为焦距；m为光谱级数；d为光栅常数；q为衍射角（有些人用 b表示衍射角）。

所以，SBW 与单色器物镜的焦距 f 有关，而狭缝宽度与单色器物镜的焦距 f 无关。

必须指出，光谱带宽以 nm 计，而狭缝宽度以 mm 计，二者在计量单位上相差 100 万倍。所以，那些称紫外可见分光光度计仪器的狭缝宽度为多少纳米是不对的。

（三）光度准确度与波长重复性的关系

在紫外可见分光光度计中，波长重复性对光度准确度的影响是很大的。在紫外可见分光光度计中的使用过程中，如选择试样的最大吸收峰作为测试波长，则在重新设定该波长时，产生的微小波长差对光度准确度测量的结果影响不大。但如果不是选择被测试样的最大吸收波长作为测试波长，而是选择最大吸收波长两侧的波长 $\lambda_{侧}$ 作为测试波长（见图 4-3），则同样大小的波长误差会产生很大的光度准确度测量误差。

由图 4-3 可知，$\Delta\lambda_1 = \Delta\lambda_2$，但 $\Delta A_1 \neq \Delta A_2$。因此，在要求高精度测量时，为了得到更好的光度准确度，一定要注意选用波长重复性好的紫外可见分光光度计仪器。并且，在分析过程中，特别要注意选择试样的最大吸收峰处的波长

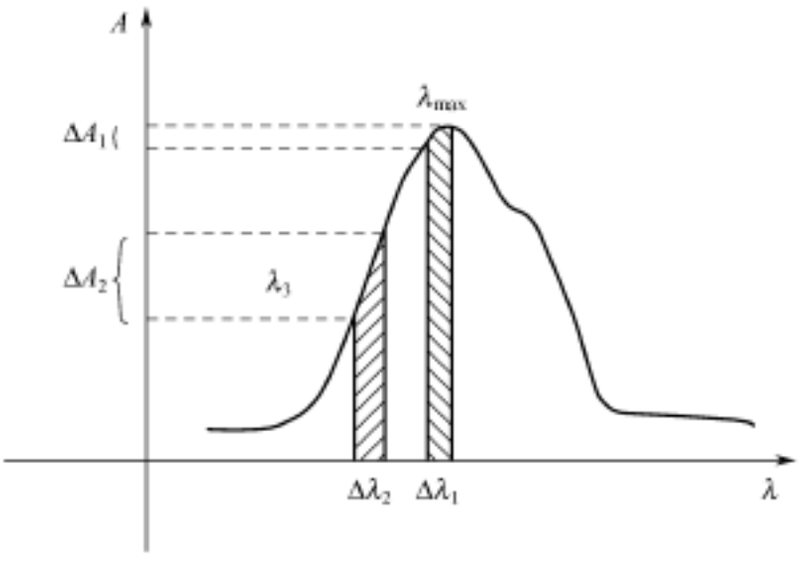


图 4-3　光度准确度测量误差示意

作为测试波长，否则难以得到令人满意的结果。

(四) 光度准确度与波长准确度的关系

紫外可见分光光度计的波长准确度是很重要的；特别在比较仪器时，波长准确度显得更加重要。因为物质对不同波长的光吸收时，有不同的摩尔吸光系数。摩尔吸光系数不同，分析测试的灵敏度就不同。所以，同一台紫外可见分光光度计，对同一试样，不同波长测试，其结果不一样。同样，两台波长准确度不同的紫外可见分光光度计，对同一试样，在同一波长上测试，其结果也会不同。所以，波长准确度在某种程度上讲，决定光度准确度。

第二节　光度重复性

光度重复性（Photometric Repeatability），又称光度精密度（Photometric Precision），是紫外可见分光光度计的很重要的技术指标。它被定义为多次测量（一般为 3～5 次，有时要求 7 次）中，最大值与最小值之差。光度重复性还表征紫外可见分光光度计分析测试结果的可靠性。

一、光度重复性的测试方法

我国 1996 年制订的紫外可见分光光度计国家计量检定规程规定，光度重复性要测试 3 次，取 3 次中的最大最小值之差作为光度重复性。光度重复性的测试方法是选定一个标准样品（也可用使用者自己任选的样品），由同一个操作者，进行 3～5 次测试，再计算光度重复性。具体操作方法为：仪器冷态开机（即关机 2h 后开机），预热 0.5h 后，对标准样品或使用者自选的样品进行光谱扫描，而后在谱图上选择几个特征吸收峰，检查在选定的测量次数内，各个峰值的最大最小

值之差即为光度重复性。人们经常将光度准确度和光度重复性在一次操作中完成。

仪器稳定可靠，其中很重要的一点就是光度重复性好。可以设想：一台紫外可见分光光度计，它的功能很强大、自动化程度很高、外形美观、价格合理，但它测出的数据不能重复，那肯定不是好仪器。

二、影响光度重复性的主要因素

影响紫外可见分光光度计光度重复性的主要因素有以下几种。

1. 光源系统

光源系统即指灯泡和电源。如果氘灯或钨灯灯泡本身的质量不好，即使电源很好，氘灯或钨灯发出的光通量肯定不稳。这样，紫外可见分光光度计就不可能得到好的、稳定的测试结果。如果氘灯或钨灯的灯泡很好，但其电源不稳，那么光源系统（灯泡）发出的光通量也不可能稳，也不可能得到好的光度重复性。

2. 光电转换器系统

光电转换器系统包括光电转换元件（光电倍增管、光电管、硅光电池等）及其供电电源；光电转换元件是将光信号转换成电信号的关键元件。不管紫外可见分光光度计的其他元部件（如光电转换元件的供电电源）多好，如果光电转换元件不好（如它一直在波动或漂移），就不可能得到好的光度重复性。

反之，如果光电转换元件很好，其供电电源不好，电源一直在波动或漂移，也不可能得到好的光度重复性。因此，紫外可见分光光度计的制造者和使用者一定要高度重视光电转换器系统对光度重复性的影响。

3. 电学系统（放大器、V/ D 变换等）

如果电学系统不稳定，也会影响光度重复性。如放大器有漂移、V/ D 变换不稳定，都会使紫外可见分光光度计的分析测试结果不会重复。

4. 环境

如果周围有电场干扰、磁场干扰等，也不可能得到好的光度重复性。放置紫外可见分光光度计仪器场所的温度、湿度，也会影响仪器的光度重复性。因为仪器的电子元件，一般都会受温度的影响而改变其性能。

紫外可见分光光度计的光度重复性的表示也应规范，如果光度重复性设计指标为“0.001Abs”，因检测不出，5 次测试的结果全是“0”，此时正确的表示方法是写“光度重复性优于 0.001Abs；或小于 0.001Abs”。

第三节　杂散光（Stray light）

一、杂散光的重要性

杂散光是紫外可见分光光度计非常重要的关键技术指标。它是紫外可见分

光光度计分析误差的主要来源，它直接限制被分析测试样品浓度的上限。当一台紫外可见分光光度计的杂散光一定时，被分析的试样浓度越大，其分析误差就越大。ASTM 认为:“杂散光可能是光谱测量中主要误差的来源。尤其对高浓度的分析测试时，杂散光更加重要”。有文献报道，在紫外可见光区的吸收光谱分析中，若仪器有 1%的杂散光，则对 2.0A 的样品测试时，会引起 2%的分析误差。杂散光对高浓度试样的影响如图 4-4 所示。

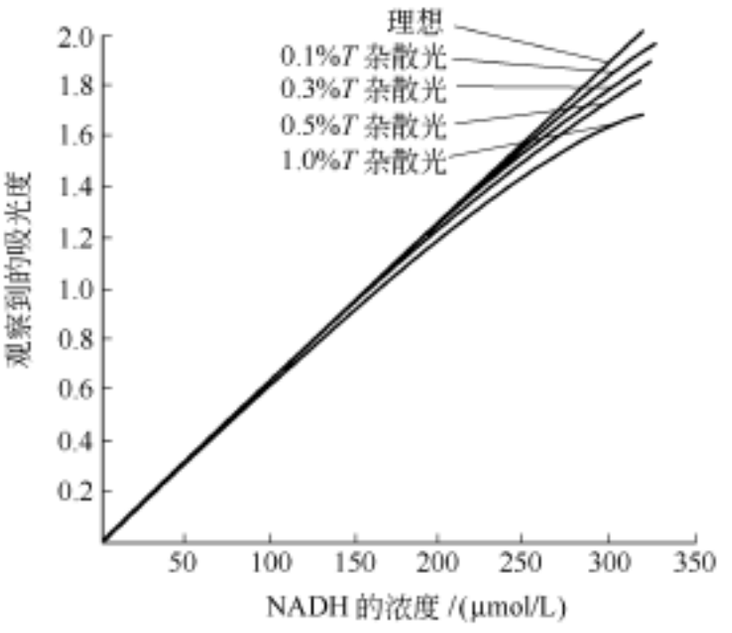


图 4-4　杂散光对高浓度试样的影响

二、杂散光的定义及理论推导

(一) 杂散光的定义

目前，国际上对杂散光的定义各异。下面介绍几种比较简洁的杂散光的定义。

1. ASTM 的定义

美国的 ASTM 对杂散光定义是：杂散光既难给出确切的定义，又难进行准确的测量。人们常将杂散光定义为在单色器额定通带之外的透射辐射能量与总的透射能量之比。

2. Richard 的定义

日本的 Richard 等对杂散光的定义是：杂散光通常定义为假辐射 (Spurious Radiation) 和所需要的辐射 (Desired Rabiation) 之比。

3. Winstead 的定义

美国的 Winstead 对杂散光的定义是：如果波长出现与仪器刻度盘 (或显示) 上的示值不同，那么这个外界的能量就叫做杂散光。

4. M. R. Sharpe 的定义

美国的 M. R. Sharpe 把杂散光定义为：光谱带宽以外“不要的”光通量的

成分叫杂散光。

上述四者的定义都是对的。但太繁琐，概念上不容易被人理解。作者认为，应该从概念出发，从杂散光测试的角度出发，从便于建立杂散光测量方法的角度出发，可以更简单的对杂散光下定义为：“不应该有光的地方有光，这就是杂散光”。这种定义，便于从概念或定义出发，直观的建立简单可靠的测试设备。

(二) 杂散光的理论推导

作者导出了杂散光与吸光度误差和吸光度真值之间关系的理论计算公式。该理论计算公式具有普遍指导意义。

设

$$A_A\ (\text{或}\ \Delta A) = A - A_m \tag{4-14}$$

式 (4-14) 中，A_A (或 ΔA) 为吸光度真值与吸光度测量值之差；A 为吸光度真值；A_m 为吸光度测量值。

根据比耳定律

$$A = -\lg T$$

式中，A 为吸光度；T 为透射比。

因此

$$A_A\ (\text{或}\ \Delta A) = A - A_m = -\lg T - (-\lg T_m)$$

$$= \lg \frac{T_m}{T} \tag{4-15}$$

根据比耳定律

$$A = -\lg T$$

得

$$\frac{1}{T} = 10^A \tag{4-16}$$

根据第一章第二节所述的原理

$$T_m = \frac{I_m + I_s}{I + I_s} \tag{4-17}$$

式 (4-17) 中，T_m 为投射比测量值；I_m 为测量波长下透过试样的辐射强度；I 为测量波长下透过参比液的辐射强度；I_s 为杂散光总的强度。

设 S 为杂散光的量，则 $S = \frac{I_s}{I}$；通常将 S 以百分比表示，如杂散光为 1%，则表示 $S = 0.01$，即 $I_s = 0.1I$

由式 (4-17) 可得

$$T_m = \frac{T + S}{1 + S} \tag{4-18}$$

将式 (4-18) 代入式 (4-15)，则

$$A_A\ (\text{或}\ \Delta A) = \lg \frac{T_m}{T}$$

$$= \lg\left[\frac{T + S}{T(1 + S)}\right]$$

$$= \lg\left[\frac{1 + \frac{S}{T}}{1 + S}\right]$$

$$= \lg\left[\frac{1 + 10^A S}{1 + S}\right] \tag{4-19}$$

式 (4-19) 表示

① A_A (或 ΔA) 与 S 和 A 成对数关系。

② 当 A 一定时，对不同的 S 值可计算出造成的 A_A (或 ΔA) 值。

③ 当 S 一定时，不同的 A 有不同的 A_A (或 ΔA)。

作者根据式 (4-19) 算出了 14 种杂散光下，吸光度相对误差 $\Delta A/A$ 和吸光度真值 A 之间的关系 (部分数据见表 4-1)。绘制了 12 条误差曲线 (见图 4-5)。这些关系和曲线，可覆盖目前世界上所有的紫外可见分光光度计，具有普遍的参考应用价值。

表 4-1 不同杂散光下吸光度相对误差 $\Delta A/A_0$ 和吸光度真值 A_0 之间的关系

A_0	$\Delta A/A_0$					
	$S=0.005$	$S=0.002$	$S=0.001$	$S=0.0005$	$S=0.000001$	$S=0.0000008$
3.400	0.332375	0.229228	0.160325	0.103856	0.000320	0.000256
3.000	0.258662	0.158751	0.100199	0.058625	0.000145	0.000116
2.000	0.086963	0.039157	0.020479	0.010486	0.000021	0.000017
1.900	0.075306	0.033245	0.017243	0.008788	0.000018	0.000014
1.800	0.064954	0.028191	0.014521	0.007373	0.000015	0.000012
1.600	0.064954	0.020252	0.010325	0.005214	0.000011	0.000008
1.500	0.041057	0.017177	0.008725	0.004397	0.000009	0.000007
1.000	0.019023	0.007732	0.004545	0.001949	0.000005	0.000003
0.800	0.014154	0.005723	0.002872	0.001439	0.000003	0.000002
0.700	0.012261	0.004948	0.002482	0.001243	0.000002	0.000002
0.600	0.010656	0.004294	0.002152	0.001078	0.000002	0.000002
0.500	0.009294	0.003741	0.001874	0.000938	0.000002	0.000002
0.400	0.008136	0.003272	0.001639	0.000820	0.000002	0.000001
0.300	0.007150	0.002873	0.001439	0.000720	0.000001	0.000001
0.200	0.006310	0.002534	0.001268	0.000635	0.000001	0.000001
0.100	0.005591	0.002244	0.001123	0.000562	0.000001	0.000001

三、杂散光对仪器分析测试误差的影响

杂散光对紫外可见分光光度计分析测试误差的影响可分成两种形式：第一种形式是杂散光的波长与测试波长相同。它是由于测试波长因为某些原因而偏离正常光路，在不通过试样的情况下，直接照射到光电转换器上。这种杂散光大多数是由于光学元件、机械零件的反射和漫射所引起，可以通过一个对测试波长不透明的样品来检查。当发现放在比色皿中的不透明样品的透射比不为零

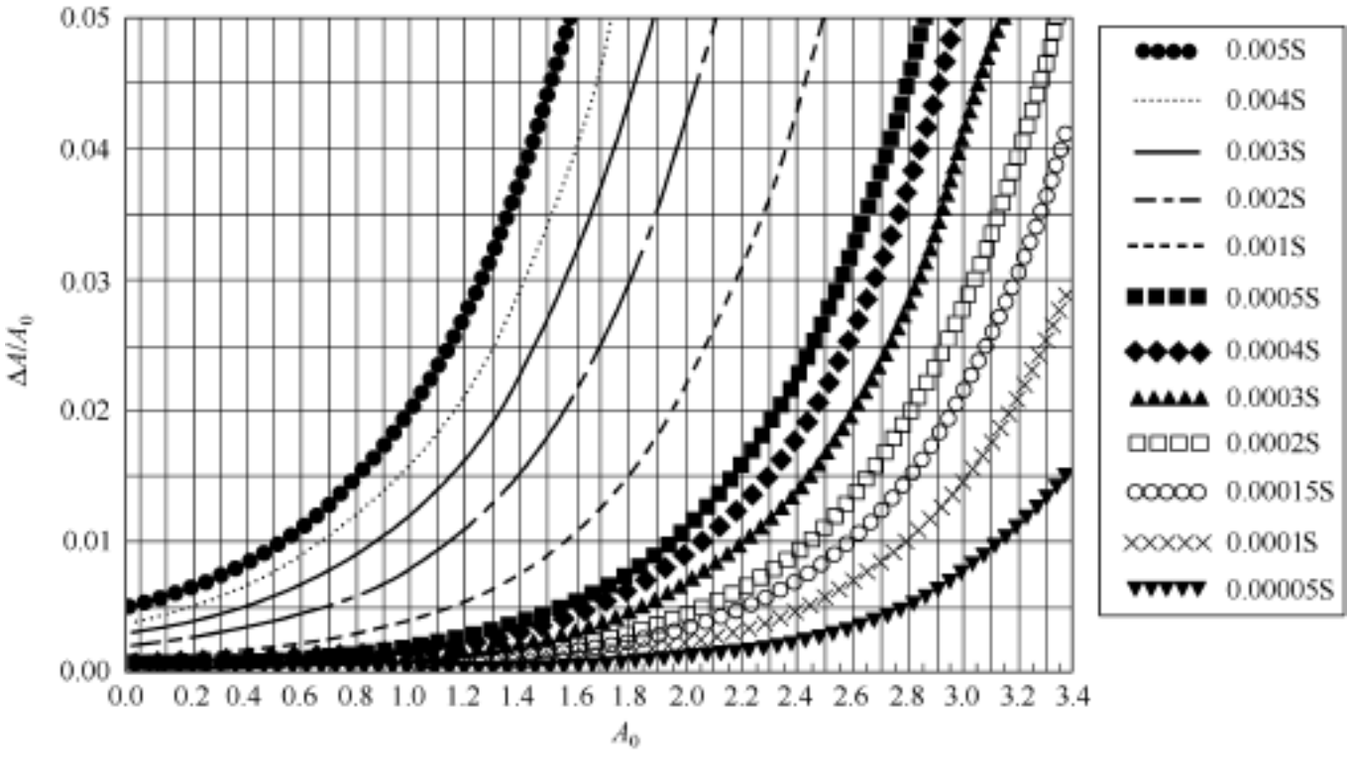


图 4-5　杂散光 S 与吸光度相对误差 $\Delta A/A_0$ 和吸光度真值 A_0 的关系

时，说明仪器中有这种杂散光存在。但必须注意，当仪器存在零点误差时，有可能造成混淆。如果在不透明的样品上涂上白色，则可增加样品本身反射和散射的效果，可以提高测量灵敏度。第二种形式是指测试波长以外的、偏离正常光路而到达光电转换器的光线。它通常是由光学系统的某些缺陷所引起的。如光学元件的表面被擦伤、仪器的光学系统设计不好、机械零部件加工不良，使光路位置错移等。

通常情况下所讲的杂散光，是指包括上述两种杂散光在内的杂散光。假设 I_s 为杂散光的总和，I_t 为光电转换器检测到的总能量，它包括测试波长的能量 I 和杂散光的能量 I_s，即 $I_t = I + I_s$。在实际分析测试工作中，需要知道的是杂散光能量 I_s 相对于总能量 I_t 的比值。常称之为杂散光的量 $S = I_s/I_t$。由于 $I \gg I_s$，因此，可以近似的认为 $I_t = I$，近而可以认为 $S = I_s/I$。

$S = I_s/I$ 表示当测试波长的能量降低时，杂散光比例就会相应增加。对紫外可见分光光度计的边缘波长来说，光源的强度、光电转换器的灵敏度和单色器的透过率都是比较低的，这时杂散光的影响就会更加明显。所以，在紫外可见分光光度计中，应该首先检查 200～220nm 处的杂散光。

众所周知，杂散光对参考光束和样品光束的影响是相同的。因此，根据比耳定律，可得到

$$A = -\lg \frac{I_t + I_s}{I + I_s}$$

因为

$$I_s = SI$$

所以

$$A = -\lg \frac{I_t + SI}{I + SI} = -\lg \frac{I_t + SI}{I(1 + S)}$$

$$= -\lg\frac{\frac{I_t}{I}+S}{1+S} = -\lg\frac{T+S}{1+S}$$

$$= -\lg(T+S)+\lg(1+S)$$

当 $T=10\%$，$S=0$ 时，$A=-\lg 0.1=1$

当 $T=10\%$，$S=1\%$ 时，$A=-\lg(0.1+0.01)+\lg 1.01=0.9629$

由此可见，当样品的透射比为 10% 时（即吸光度为 1 时），1% 的杂散光，可使其吸光度从 1.000 降到 0.9629。同理，透射比为 10% 时，0.1% 的杂散光，将使吸光度从 1.000 降到 0.996。当杂散光为 0.05% 时，对吸光度为 1.00A 的试样进行分析测试，其结果为 0.998A，相对误差为 $\Delta A/A=0.002/1=0.002$（即 0.2%），基本能满足所有常规分析测试和质检工作的要求。如果杂散光为 0.01% 时，杂散光对分析测试的结果就基本上没有影响了。目前，国际上许多高档紫外可见分光光度计的杂散光都在 0.01% 以下。从使用者角度讲，过低的杂散光是没有必要的，但可惜的是，我国的高档紫外可见分光光度计中，还只有北京普析通用公司一家的 TU-1901 的杂散光为 0.01%。其余厂商生产的紫外可见分光光度计，杂散光都在 0.01% 以上。所以，我国的紫外可见分光光度计要赶超国际先进水平还需继续努力。

杂散光对分析测试结果的误差影响是随着吸光度值增大而增大的。因此，吸光度值越大，对误差的影响也越大。如果吸光度 $A=3$（即 $T=0.001$），则杂散光为 1% 时，分析测试的结果将由 $A=3$ 变成 $A=1.963$ [$A=-\lg(0.001+0.01)+\lg 1.01=1.9568+0.0043=1.963$]。

由此可见，吸光度 $A=3$ 时，1% 的杂散光可使分析测试的结果将由 A 从 3 降到 2 以下。

杂散光的影响，会使分析测试的结果偏离比耳定律；当杂散光被试样吸收时，偏离是正值（测量值大于真实值）。当杂散光不被试样吸收时，偏离是负值（测量值小于真实值）。其差值 ΔA 可由下式计算

$$\Delta A=\lg(1-S+10^{A}\cdot S)$$

当 $S=1\%$、0.1%、0.01% 引起的吸光度误差见表 4-2。

表 4-2　非吸收杂散光 S 对吸光度值的影响

$A_{真值}$	$A_{测量值}$		
	$S=0.01\%$	$S=0.1\%$	$S=1\%$
0.1	0.1000	0.0999	0.0989
0.5	0.4999	0.4990	0.4907
1.0	0.9996	0.9961	0.9626
1.5	1.499	1.487	1.387
2.0	1.996	1.959	1.701

因为杂散光强度在边缘波段比较大，所以在波长小于220nm处测试时，必须认真检查有无“假峰”出现。原来试样随波长变短而吸收值增大，但是因为杂散光在短波部分急剧增大，所以使得原来逐渐增大的吸光度值反而变小。这时，就会出现如图4-6所示，不应有的“假峰”。

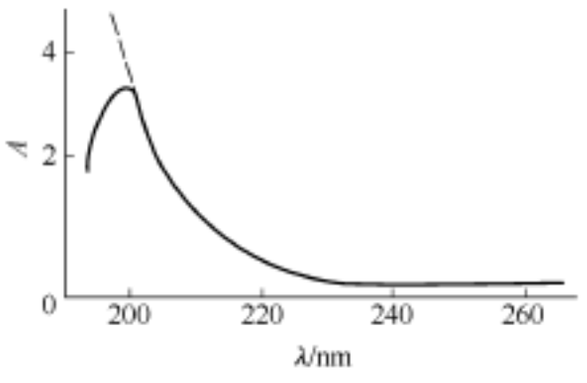


图4-6　由杂散光引起的“假峰”

杂散光对紫外可见分光光度计分析测试误差的影响，除了以上所述外，还可很方便地从图4-5和表4-2中查得。因此，图4-5和表4-2是非常有实用价值的。在使用者评价或挑选紫外可见分光光度计时，只要知道仪器的杂散光，就可立即从图4-5和表4-2上查到该仪器由于杂散光引起的测量误差概况和该仪器能否满足使用要求。例如，要挑选一种紫外可见分光光度计，用它来测试某种生物酶，该生物酶的浓度较高，吸光度值为1.95Abs左右，而且要求分析测试的误差为1%；但有一台紫外可见分光光度计，其杂散光为0.2%，看它能否满足使用要求，只要从图4-5和表4-2中一查，立即就可得知该仪器不能满足使用要求，因为杂散光为0.2%时，若吸光度值为1.95Abs，则其测试结果因杂散光而引起的相对误差就达到3.6%，再加其他因素引起的误差，肯定总分析误差大大超过1%。从图4-5和表4-2又可立即查到，该分析测试工作，必须要求一台杂散光为0.05%（或优于0.05%）的紫外可见分光光度计，才能满足该项分析工作的要求。

众所周知，紫外可见分光光度计在制药行业中使用较多。并且各国的药典都明确要求许多药品一定要用紫外可见分光光度计来分析测试。我国的药典规定对人用药品的检测时，许多药品的相对测试误差都不能超过1%。如假设使用的紫外可见分光光度计的杂散光为0.5%，将很快从图4-5和表4-1查到，该仪器测量的吸光度上限最多只能是0.55Abs。如果被检测药品的吸光度大于0.55Abs，若为0.8Abs，则测量误差就大于1%，达到1.42%，就不符合我国药典规定的相对误差为1%的要求，即不合格。由此可见，不管是制造者还是使用者，都必须高度重视对仪器杂散光的控制和选择。

从表4-1和图4-5可知，若杂散光为0.0001%，则仪器在测量很浓的样品时（吸光度上限为3.4Abs时），杂散光引起的测量相对误差仍可达到0.032%，这已远远优于世界各国药典规定的指标（即1%），至少优于30倍以上。尤其是还有些厂商推出的紫外可见分光光度计，其杂散光达到0.00008%（Cary500、Lambda900等）。这么优秀的杂散光，除能显示厂商的光学设计和加工水平外，对使用者是没有任何实际意义的。因为该仪器的杂散

光达到 0.00008%时，用它对 3.4Abs 的试样分析测试时，杂散光引起的测量相对误差为 0.0256%。在实际分析测试工作中，不可能有这样的样品。因此，从使用者的实际使用情况来看，没有必要无限降低紫外可见分光光度计的杂散光。在要求较高的分析测试工作中，紫外可见分光光度计的杂散光应优于 0.05%，这样可保证仪器有较宽的线性动态范围。即使试样的吸光度在 1.95Abs 的时候，仍能达到 1%的分析测试准确度。目前，我国生产的紫外可见分光光度计，普遍存在杂散光大的问题，除北京普析通用公司的 TU-1900、TU-1901 紫外可见分光光度计的杂散光优于 0.01%，上海分析仪器总厂、北京第二光学仪器厂的个别仪器的杂散光能达到 0.05%左右外，其他二十多家紫外可见分光光度计的生产厂家生产的仪器都未达到 0.05%的水平。而且，大多数紫外可见分光光度计的杂散光在 0.1%左右。因此，应努力降低国产紫外可见分光光度计的杂散光，以赶超国际先进水平。

四、杂散光的来源

产生杂散光的原因很多，其最主要的原因大致有以下 9 个方面：

① 灰尘沾污光学元件（如光栅、棱镜、透镜、反射镜、滤光片等）。

② 光学元件被损伤，或光学元件产生的其他缺陷（如光栅、透镜、反射镜、棱镜材料中的气泡等）。

③ 准直系统内部或有关隔板边缘的反射。

④ 光学系统屏蔽不好。

⑤ 热辐射或荧光引起的二次电子发射。

⑥ 狭缝的缺陷。

⑦ 光束孔径不匹配。

⑧ 光学系统的像差。

⑨ 单色器内壁黑化处理不当。

以上 9 个方面中，光栅是杂散光的主要来源。它产生的杂散光占总杂散光的 80%以上。

五、杂散光的测试方法和测试材料

（一）杂散光的测试方法

目前，测试杂散光最常用的方法是所谓“截止滤光法”（The Cut Off Filter Method）或称作“滤光片法”（The Filter Method）。主要是采用滤光片或滤光液来测试紫外可见分光光度计的杂散光。有时也采用 He-Ne 激光器的 632.8nm 来测试杂散光。具体做法是在离 632.8nm±5nm 处进行测试，测出的数值与 632.8nm 相比就是杂散光。

“截止滤光法”的具体测试方法：仪器冷态开机，预热 0.5h，如用“滤光片法”测试，则参比为空气；如用滤光液来测试，则参比为溶剂（若用 NaI、$NaNO_2$ 水溶液，则参比为蒸馏水）。设置仪器的纵坐标为 $T\%$，横坐标为波长（nm），用滤光液时，试样比色皿中装滤光液，参比比色皿中装溶解液，将波长调到相应的波长上（NaI 为 220nm、$NaNO_2$ 为 340nm）进行测试。杂散光测试曲线如图 4-7 所示。

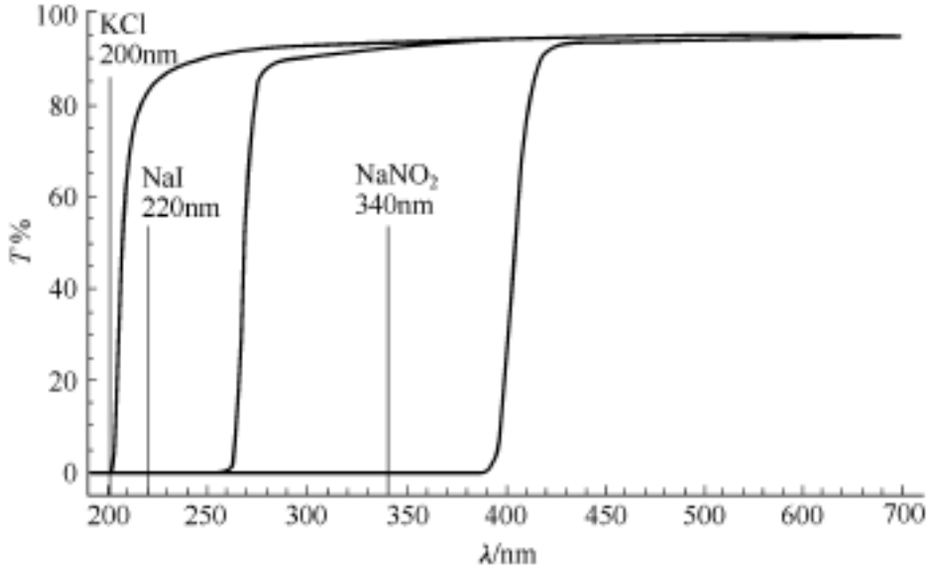


图 4-7　杂散光测试曲线

测试 220nm 处的杂散光时，国际上都是采用 10g/ L 的 NaI 水溶液。该水溶液的光谱特性为：0～258nm 处不透光，而从 258nm 开始，透光率可立即达到 90%以上，并且上升坡度很陡。只要将 10g/ L 的 NaI 水溶液装入比色皿，参比比色皿中装满水，将仪器的波长调到 220nm。因为 10g/ L 的 NaI 水溶液在 0～258nm 处不透光，故仪器的输出应该为 0。但仪器的实际输出不是 0，即有光信号输出，这就是 220nm 处的杂散光。

测试 340nm 处的杂散光时，国际上都是采用 50g/ L 的 $NaNO_2$ 水溶液。50g/ L 的 $NaNO_2$ 水溶液的光谱特性为：0～385nm 处不透光，而从 385nm 处开始，透光率可达 90%以上，并且上升坡度很陡。我们只要将 50g/ L 的 $NaNO_2$ 水溶液装入比色皿，参比比色皿中装满水，将仪器的波长调到 340nm。此时，因为 50g/ L 的 $NaNO_2$ 水溶液在 0～385nm 处不透光，故仪器在 340nm 处的输出应该为 0。但仪器的实际输出不是 0，即有光信号输出，这就是 340nm 处的杂散光。

（二）杂散光的测试材料

杂散光的测试材料中，可分为滤光片和滤光液两种。滤光片又分为带通滤光液和截止滤光片两种。滤光液则有很多种，如丙酮、NaI、NaBr、KCl（12g/ L）、$NaNO_3$ 等。

美国 ASTN 提出的杂散光测试方法中，规定了多种滤光液（主要用于紫外、可见光区）和滤光片（主要用于红外区）来作为标准滤光材料。并且，ASTM 方法于 1977 年被确定作为美国一种国家标准。W. Slavin 等人曾报道过 18 种截止滤光片或滤光液，可用来测定各类光谱仪器的紫外、可见、近红外区的杂散光。L. Cahn 等人曾用 Vycor（Corning Silica）来检测 220nm 处的杂散光。Richard 等人曾报道过 7 种测试紫外区不同波段杂散光所采用的滤光液。美国 Beckman 公司对 DU-8B 紫外可见分光光度计的杂散光进行测试时，在 220nm、340nm、370nm、680nm 处，曾经都采用过 ASTM 标准方法。日本岛津公司对 UV-3000 和 U-250 紫外可见分光光度计的杂散光进行测试时，在 340nm 处都采用 UV-39 截止滤光片，而在 220nm 处测试杂散光时，都采用 NaI 滤光液。对 UV-365 紫外可见分光光度计的杂散光进行测试时，在 195nm 处采用 UV-25 滤光片在 340nm 处则用 UV-39 截止滤光片。日本日立对 150-20 紫外可见分光光度计的杂散光进行测试时，在 340nm 处用 $NaNO_2$，在 220nm 处也用 NaI 滤光液。

另外，也偶见国外个别厂商采用测量离中心波长 $50cm^{-1}$ 或几个纳米处的透射光强度与中心波长处透射光强度之比的大小，来作为衡量光谱仪器杂散光的指标。如法国的 J. Y. 公司，对 T-800 激光拉曼光谱仪的杂散光测试就是这样进行的。

目前，国内已有近 30 家企业在生产紫外可见分光光度计，但除少数企业对 220nm、340nm 这两个波长处分别用 NaI 和 $NaNO_2$ 来测试杂散光外，绝大多数只用 NaI 来测 220nm 这一点的杂散光。这种作法不妥。还是应测试 220nm 和 340nm 两个波长的杂散光较好，因为，能量是波长的倒数，220nm 处波长短，容易产生杂散光。而 340nm 处是氘灯和钨灯的换灯处，也容易产生杂散光。

作者曾采用带通滤光片 ZWB_1、截止滤光片 JB_6 和 NaI 滤光液以及蒽（溶解在乙醇中）滤光液等，分别对原上海光学仪器厂生产的 55W 光栅单色仪的 220nm、357nm、436nm 和 446nm 等波长处的杂散光进行了测试，得到了满意的结果。

滤光片和滤光液中，哪种好呢？Slavin 和 Richard 等人曾经作过讨论，Slavin 等认为用溶液能给出真实的杂散光，用滤光片则可能低估杂散光。Richard 等人则认为滤光片有非常广阔的截止区（Broad cut off），而滤光液的截止要比滤光片更加锐利，并且给出了 NaBr 水溶液和 Corning Vycor 滤光片二者相比较的“透过率-波长”关系的实测值，但 Richard 没有明确评论何者好。作者认为对滤光材料的选择或评价其优劣，不能简单定论，而应从实际情况出发。因为使用滤光片（如 Vycor）虽然操作简单，但是，第一，理想优

质的滤光片很难得到。第二，在进行杂散光测试时，需要用参考片基（如 SiO_2），而理想的参考片基一般不大容易找到。第三，滤光片吸收一部分杂散光，所以，用它来测试杂散光时，往往容易低估杂散光。而使用滤光液（如 NaBr 溶液），虽说测量结果较准确，且参考物质 H_2O 容易得到，但标准滤光液也不容易得到。同时，滤光液还受比色皿的影响。

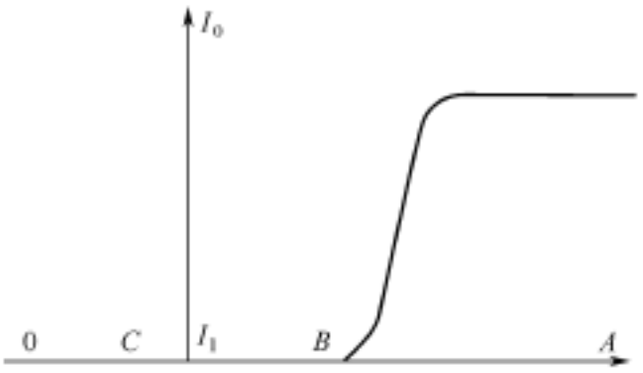


图 4-8　杂散光测试点的选择

在波段范围和测试设备相同的情况下，在图 4-8 中测试点 C 处的 I_1 和 I_0 都较大时，用滤光片较好。因为，滤光片的透过率小，吸收一部分杂散光，但对测量结果的影响较小。而 I_1 和 I_0 都较弱时，选用滤光液较好，因为相对误差小（滤光液对杂散光的吸收远小于滤光片）。所以，滤光片和滤光液各有其优缺点，应酌情选用，不能一概而论。

六、与杂散光测试有关的几个问题

（一）关于测试点位置的选择

关于测试点位置的选择，即 Δλ 取多少为好呢？Edisbury 认为，取 Δλ 为 5～10nm 以外，会低估杂散光；若取 20nm 处，则可低估 50%。Richard 等人认为，Δλ 取值大于光谱带中央有效带宽 10 倍为好。如前所述，国外许多科技工作者和有关厂商，在测试光谱仪器的杂散光时，所取的 Δλ 各不相同。如日本日立公司测试 150-20 型紫外可见分光光度计的杂散光时，在 340nm 处用 $NaNO_2$（50g/ L）水溶液，但此水溶液在 300～385nm 的波长范围内，在 385nm 长波处产生的透过率为 10^{-4}。假设它为 0（即截止），故测试 150-20 紫外可见分光光度计的杂散光时，若测试点为 340nm，此时测试点离透光点的 Δλ= 385 - 340 = 45nm。测试 220nm 处的杂散光时，则用 NaI（10g/ L）水溶液，NaI（10g/ L）水溶液的光谱特性为 0～258nm 处不透光，所以，此时测试点离透光点的 Δλ= 258 - 220 = 38nm。日本岛津公司测试 UV-250 紫外可见分光光度计的 220nm 处的杂散光，美国 Varian 公司测试对 DMS90 紫外可见分光光度计 220nm 处的杂散光时，也都用 NaI（10g/ L 水溶液），同样，其 Δλ= 38nm。

大约 20 年前，我国科技工作者在测试紫外可见分光光度计 220nm 处的杂散光时，用 NaBr（10g/ L 水溶液）。此水溶液在 195～223nm 内，长波处产生的透过率为 10^{-4}，即在 223nm 处的透过率为 10^{-4}，忽略它，即假设 223nm 处的透过率为 0，故取 220nm 时，Δλ= 223 - 220 = 3nm。因为测试点离透光点

的距离短（仅 3nm），所以测出的杂散光偏大。

综上所述，目前国内外许多厂商或科技工作者，在对紫外可见分光光度计的杂散光测试时，Δλ一般取 39～45nm。作者认为，Δλ取 20～45nm 较好。

① 若用 R456 光电倍增管作为测试装置中的光接收器，则取 20nm 左右时，测得的杂散光强度或光电流大小，一般约为 1.0×10^{-8} A 左右；它既可保证一般光电倍增管（如 R456、R928、1P28 等）输出的信噪比 S/N 大于或等于 2 倍以上，又可保证光电倍增管工作在线性区。作者在用 JB6、ZWB1 等国产滤光片测试 55W 光栅单色仪的杂散光时，取 Δλ= 20nm，杂散光信号的大小为 0.00002V 左右，再根据所用的光电倍增管（R456）和整个测试装置的各种参数，可以很简单的计算出杂散光产生的暗电流为 1.0×10^{-8} A 左右，光通量为 1.0×10^{-8} lm 左右，完全可保证光电倍增管工作在线性区。若取 Δλ< 20nm，仍用 R456 光电倍增管作为光接收器，则光电流有可能增大，甚至有可能使光电倍增管不能工作在线性区。因此，不能得到满意的结果。

② Δλ取 20～45nm 时，上述滤光片材料的吸收系数一般在 4Abs 左右，透过率在 10^{-4} 左右。在这种情况下测得的杂散光，一是置信度高；二是能满足高精度的光谱测试的要求。

③ Richard 等人指出：杂散光一般来自标称波长附近几十个纳米的范围内。所以，取 Δλ= 20～45nm 时，既有代表性，又能保证测试结果的可靠性。

（二）被测波段及测试点数量的选择

日本岛津公司对许多紫外可见分光光度计杂散光的测试，都只测量 340nm 和 220nm 两点；而美国 Beckman 对 DU-8B 紫外可见分光光度计杂散光的测试时，则测量 220nm、340nm、370nm、680nm 四个点；美国 P-E 公司对 Lambda5 的杂散光的测试时，则测量 220nm、340nm、370nm 三个点；我国许多科技工作者在测试紫外可见分光光度计杂散光的测试时，大多只测 220nm 或 632.8nm 一个点，少数都测 220nm、340nm 两个点。作者曾对 220～650nm 光谱范围内的 55W 光栅单色仪测试过 220nm、357nm、430nm、446nm 四个点的杂散光。

到底应该选择几个测试点为好呢？W. Slavin 认为：杂散光通常在紫外区，但实际上应测量整个光谱区的两个端点的杂散光才能说明问题。Richard 等人认为“光栅作分光元件的紫外可见分光光度计中间区域校验不可忽视”。作者根据自己的实践，认为应该取三点为好，即整个波段范围内的两个端点，加上一个中间位置的点（最好在换灯处）为最好。因为这样已考虑到了上述一切可能发生的非正常情况，更能保证和反映整机杂散光的实际情况。

（三）关于光源的选择

一般采用氘灯，氢灯或氙灯作光源测试紫外区的杂散光；用钨灯（工作温

度为 2850～3300K) 作光源测试可见光区的杂散光。若在可见区用氙灯作光源，需要用滤光片去掉不需要的光。测试红外区杂散光时，则用能斯脱 (Nernst) 或白炽灯，但要注意光源的温度调节。国内也有人用 He-Ne 激光器作光源测试紫外可见分光光度计的杂散光。

作者的体会是，紫外区用氘灯作光源最好。一是氘灯电源不如氙灯复杂，容易制作；二是氘灯发出的热量比氙灯少，不需要散热装置；三是在紫外区氘灯的能量较集中，一般其光强或能量分布的峰值位置在 250～260nm 左右。而可见光区，则用 ASTM 规定的白炽灯较好。但不管是紫外区还是可见区，都不宜用氙灯作光源。因为氙灯的红外线太强，会给杂散光的测试工作带来许多麻烦。此外，不管用哪种光源，必须注意其供电电源的稳定性 (氘灯用恒流源、钨灯用恒压源)。此外，选用 He-Ne 激光器作光源不太理想，因为只能测得 632. 8nm 附近的杂散光，不能完全反映整机的杂散光水平，但它仍有使用价值。

(四) 关于光电转换器 (光接收器) 的选择

测试紫外可见分光光度计的紫外可见区的杂散光时，国外基本上都采用光电倍增管作光接收器，红外区则用热电偶、热敏电阻等。作者认为，在紫外光区、可见光区用光电倍增管 R456、R928 作光接收器最好，在红外区则用真空热电偶或硫化铅 (PbS) 最好。但用光电倍增管时，若用直流法检测光电流时，则必须扣除光电倍增管的暗电流，否则，将暗电流当杂散光计算，会使测量结果增大一个数量级以上。而用热电元件时，最好采用交流法来检测光电流，因为热电元件的噪声一般都很大，而用交流法时可以基本上消除热噪声对测量的影响。

此外，在使用光电倍增管时，还应注意选择光电倍增管的供电电源。必须选用电压稳定度 (电压调整率) 优于 5×10^{-4} 的高压稳压电源供电，才可保证得到好的测试结果。如在测试 55W 光栅单色仪的杂散光时，开始用电压稳定度 (电压调整率) 为 4×10^{-3} (实测数据) 的高压稳压电源给 R456 供电，结果，测出的杂散光达到 1.0×10^{-2} (实际上是因为电源电压不稳，而导致光电倍增管的放大倍数不稳所致)。后来，改用自制的优于 5×10^{-4} 的高压稳压电源给 R456 供电，其他条件都不变，结果 55W 光栅单色仪的杂散光实测值为 3×10^{-3}。

第四节　光 度 噪 声

一、光度噪声对分析测试误差的影响

在光度分析中，特别在紫外可见光度分析中，光度噪声 (Photometric Noise) 是影响比耳定律偏离的最主要因素之一，是主要分析误差的来源。若

已知光度噪声为 N，则可根据 A. J. Owen 提出的计算公式：噪声误差（%）= $N\times100/A$，计算出不同 N 的情况下，吸光度的相对误差 $\Delta A/A$（ΔA 为吸光度绝对误差，A 为吸光度真值）与 A 的关系。或求出不同 A 的情况下，$\Delta A/A$ 与 N 的关系。

例如，若紫外可见分光光度计的噪声 $N=0.002A$，吸光度真值为 $0.5A$。

则 $\Delta A_N/A=0.002\times100/0.5=0.2/0.5=0.4$（%）。即由噪声引起的相对误差 $\Delta A_N/A$ 为 0.4%。

目前国内外有些仪器制造者和使用者们，不注重仪器的光度噪声对分析测试结果的影响。有的厂商甚至在样本上不给出光度噪声这个重要指标。有些厂商（技术人员）在测试光度噪声时，只测 15min 或 30min，这些都是不对的，是值得注意的重要问题。

作者曾研究了光度噪声 N 与吸光度的相对误差 $\Delta A/A$ 和吸光度真值 A 的关系，计算了 N 与 $\Delta A/A$ 和 A 的关系，绘制了 12 条误差曲线，如图 4-9 可以覆盖不同类型的紫外可见分光光度计的噪声范围，具有重要的实用参考价值。

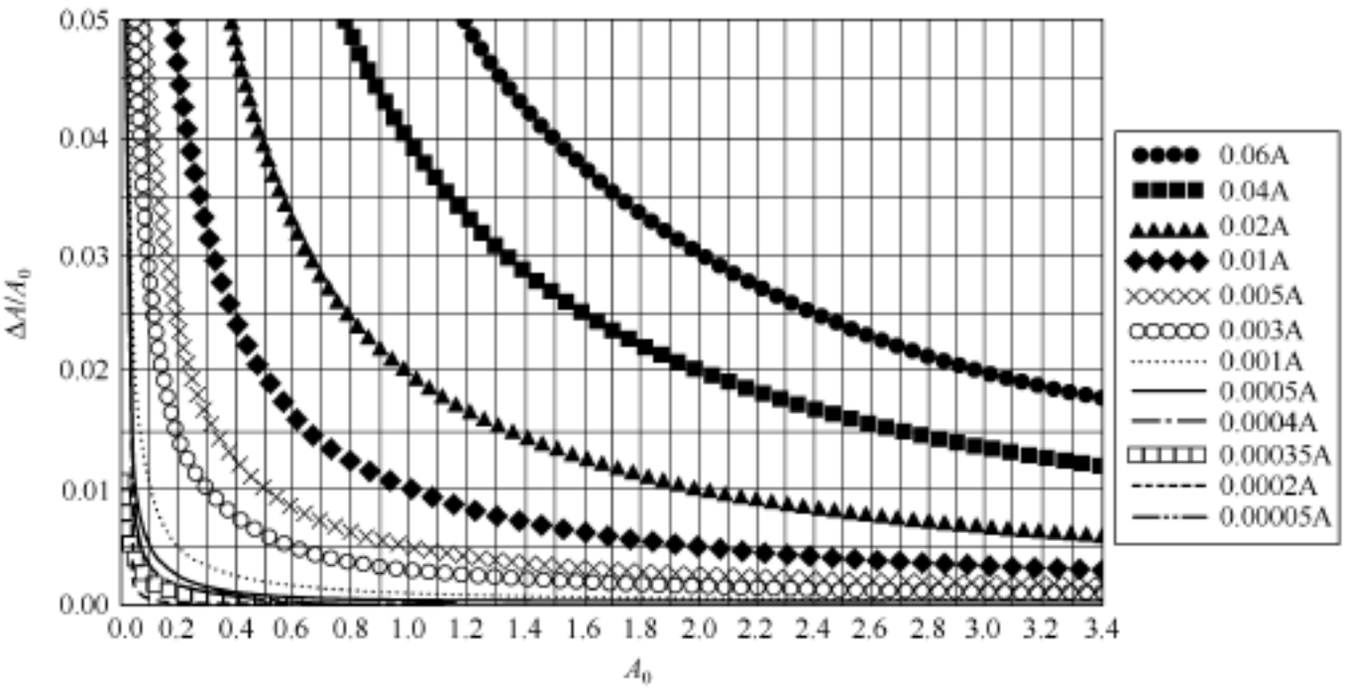


图 4-9　噪声 N 与吸光度相对误差 $\Delta A/A_0$ 和吸光度真值 A_0 的关系

图 4-9 是非常有实用价值的图表。分析工作者在日常分析工作中，如果自己测试了一组数据，只要根据仪器厂商给出的仪器光度噪声（应以自检为准），从图 4-9，就能很快查出所测出的数据的可靠性。例如，使用者所测出的数据为 0.6Abs，仪器噪声为 0.005Abs，那么，根据仪器噪声和图 4-9，很快查到由于噪声引起的 0.6Abs 的相对误差为 0.8%。如果要求分析的相对误差为 1%（药典规定许多药用紫外可见分光光度计测试时，要求相对误差在 1%以内）、仪器的杂散光很小、操作者在样品处理上又没有问题，那么就可坚信自

己的测试数据是可靠的。制造者和使用者在评价紫外可见分光光度计或使用者在挑选紫外可见分光光度计时，也可根据仪器的光度噪声和图 4-9，很快挑选到自己所需要的仪器。例如，仪器厂商给出的仪器光度噪声为 0.04Abs，使用者所测出的数据为 0.6Abs，而分析工作要求相对误差为 1%，则可从图 4-9 查得该仪器肯定不能满足自己的使用要求。因为光度噪声为 0.04Abs、使用者所测出的数据为 0.6Abs 时，由光度噪声引起的相对误差为 6%。又如，仪器给出的光度噪声为 0.005Abs，分析工作的要求相对误差为 1%，则可很快从图 4-9 查到该仪器只能满足 > 0.5Abs 的试样的测试要求。若试样的吸光度 < 0.5Abs时，则测量误差会超过 1%；若试样的吸光度小到 0.05Abs 时，则测量误差会达到 10%。

紫外可见分光光度计的光度噪声是分析误差的主要来源之一，它主要影响或限制是被测试样浓度的下限。目前，国际上最高级的紫外可见分光光度计的光度噪声为±0.0002Abs (峰-峰值，如美国 Varian 公司的 Cary5)。由图 4-9 可知，它的测量下限在 0.02Abs 时，测量误差可达到 1%。国外还有许多高档紫外可见分光光度计的光度噪声都在±0.0002Abs (峰-峰值，如美国 P-E 公司的 Lambda900 等)。这些光度噪声很低的紫外可见分光光度计，在海洋生物学和生命科学的研究工作中，或在分析小量样品时，是非常有实用价值的。

目前国产的紫外可见分光光度计，光度噪声都比较大。只有极少数仪器的光度噪声很小，如北京普析通用公司的 TU-1901，其光度噪声为±0.0004Abs (峰-峰值)。由图 4-9 可知，噪声限制的测量下限为 0.04Abs 时，由噪声引起的测量误差还可达到 1%。所以，我国的紫外可见分光光度计制造者们，要下大工夫去努力降低仪器的光度噪声。

目前，国内外的许多生产厂商，不在样本中给出仪器的光度噪声，这是不妥当的。因为，不给出仪器的光度噪声，使用者就无法判断仪器在低浓度下是否适用，其灵敏度、准确度是否能达到使用要求，很难判断仪器的适用性和可靠性，将给使用者带来很大的麻烦。因此，不管是低档紫外可见分光光度计，还是高档紫外可见分光光度计，都应向使用者提供光度噪声这个极其重要的关键技术指标。

紫外可见分光光度计的光度噪声与扫描速度是有很大的关系的。一般来讲，扫描速度很快的紫外可见分光光度计的噪声肯定是大的。反之，如果一台紫外可见分光光度计的噪声很小，那它的扫描速度是不会太快的。所以，目前国际上许多高档紫外可见分光光度计的制造商，设计时都考虑到了扫描速度和光度噪声之间的关系，不会把扫描速度作得很快，而把光度噪声作得很大。反之，他们也不会把光度噪声作得很小，而把扫描速度作得很慢。但目前，国外的确有些制造商把他们的紫外可见分光光度计的扫描速度作得很快，而忽视光

度噪声，这是不对的。因为一般来讲，紫外可见分光光度计的扫描速度没有光度噪声重要。起码扫描速度对分析测试误差没有影响。而噪声则是主要分析误差的来源之一。

二、光度噪声的表示方法

光度噪声是仪器的一种随时间而变化、但又是随机的输出信号。它是紫外可见分光光度计分析误差的主要来源之一，它直接影响仪器的信噪比和检出限。

目前国际上对光度噪声的表示方法有两种：一是用吸光度（Abs）表示；二是用透射比（%T）表示。日本和我国的紫外可见分光光度计生产厂商用透射比（%T）表示的较多，欧美等国的紫外可见分光光度计生产厂商用吸光度(Abs) 表示的较多，应该说二者都可以。但用吸光度（Abs）表示更好。因为，广大使用者在使用紫外可见分光光度计的时候，基本上都是用吸光度，而不是用透射比。如果仪器的光度噪声用透射比（%T）表示，则在计算误差时，还要把透射比换算成吸光度，会给使用者带来不必要的麻烦。

三、光度噪声的测试方法

紫外可见分光光度计光度噪声的测试，目前国际接轨的测试方法是：仪器冷态开机，预热 0.5h 后，试样和参比比色皿均为空气、设置吸光度为 0Abs、光谱带宽为 2nm、波长为 500nm。将仪器从长波到短波，进行时间扫描 1h。在 1h 内，任取 10min 的测试数据，在多个 10min 的测试数据中，以那个 10min 内最大的峰-峰值，作为 500nm 处的噪声。

第五节　基线平直度

一、基线平直度的重要性（对分析测试误差的影响）

如第四节所述，紫外可见分光光度计的光度噪声直接影响仪器的信噪比，它是限制分析检测浓度下限的主要因素。目前，各国紫外可见分光光度计的生产厂商，给出的整机光度噪声都是指仪器在 500nm 处的光度噪声（称之为整机的光度噪声），主要用于比较不同仪器的优劣。而紫外可见分光光度计的使用者往往要在不同波长上使用，特别要在紫外区使用。所以，只给出 500nm 处的整机光度噪声，不能满足使用者的要求。因此，提出了基线平直度的概念。紫外可见分光光度计的基线平直度是指每个波长上的光度噪声，它是用户最关心的技术指标之一。它是紫外可见分光光度计各个波长上主要分析误差的来源之一。它决定紫外可见分光光度计在各个波长下的分析检测浓度的下限。但是很可惜，目前很多仪器制造者、使用者都还没有认识到或还没有重视基线

平直度这个技术指标。

二、基线平直度的测试方法

目前，国际上对紫外可见分光光度计的基线平直度的测试方法一般是冷态开机，预热 0.5h 后，试样和参比比色皿都为空气，光谱带宽 SBW = 2nm，吸光度值为 0Abs，从长波向短波方向对仪器进行全波长慢速（或中速）扫描。而后，在全波长范围内，找出峰-峰（P-P）值中最大的一点，作为该仪器的基线平直度。但是目前，国际上有许多科技工作者不注意这个问题。如日本某紫外可见分光光度计，给出的仪器波长范围是 190～900nm，给出的基线平直度 BF 为±0.001Abs。但是笔者经测试后发现该仪器的基线平直度只能在 200～800nm 内才能保证为±0.001Abs。这就意味着该仪器能保证基线平直度为±0.001Abs的使用波长范围只能是 200～800nm，这种给基线平直度的方法是不对的。它既偏离了基线平直度的定义（每个波长上的噪声），又会误导使用者，认为该仪器在 190～900nm 都能达到光度噪声为±0.001Abs。特别值得注意的是，还有的公司把基线平直度和基线漂移混为一谈。如国外的某公司，对某紫外可见分光光度计给出了“基线漂移为±0.002Abs（200～950nm）”和“基线漂移为 N/A”的技术指标。显然，这里的“基线漂移”指的是基线平直度。而该仪器的波长范围为 190～1100nm，但对波长范围为 190～1100nm 的仪器，只给出 200～950nm 的基线平直度是不合理的。尤其对某仪器给出的“基线漂移为 N/A”，这种给法更是莫名其妙。另外，该公司又给出了某紫外可见分光光度计仪器的“基线稳定性为 0.001Abs/h”，但未给出基线平直度。很显然，该公司既未搞清稳定性的含义，又把基线平直度和 500nm 处的光度噪声混为一谈了。目前除美国的 P-E 等少数公司以外，在基线平直度这个关键技术指标上，类似上述某公司做法的厂商为数不少。

产生上述现象的主要原因是不懂得基线平直度的重要性及其物理概念和含义，或者为了商业上的需要，如不这样写，怕影响销售。

三、影响基线平直度的主要因素

(1) 滤光片或光学元件上有灰尘　此时会产生散射，从而引起基线平直度变坏。

(2) 滤光片未安装好　用于不同波段不同的滤光片切换时会产生噪声，使基线平直度变坏。

(3) 光源（氘灯、钨灯）切换时产生噪声　一般在 340～360nm 左右出现，从而使基线平直度变坏。

(4) 基线平直度测试时扫描速度太快　也会使基线平直度变坏。作者对北京普析通用公司生产的 TU-1901 紫外可见分光光度计（编号：01-192-06-050）

的基线平直度进行了测试，发现慢速扫描时基线平直度为±0.0005Abs，中速和快速扫描时，基线平直度分别为±0.0014Abs 和±0.0035Abs。所以，国际上约定，测试紫外可见分光光度计的基线平直度时，扫描速度都用慢速。

(5) 电子学方面的噪声过大　也会直接影响基线平直度，特别是放大器和光电转换元件的噪声，对基线平直度的影响更大。

(6) 光学部分未调整好　特别是单色器的光路未调整好，会使信号减小，信噪比变小，使基线平直度变坏。

(7) 环境因素　包括振动、电场、磁场干扰、电压不稳等，都会使基线平直度变坏。

四、正确认识及使用基线平直度

(一) 基线平直度与整机的光度噪声的主要区别

1. 物理概念不同

基线平直度：是指紫外可见分光光度计仪器全波段内每个波长上的噪声，与滤光片切换和光源切换有关。

光度噪声：是指紫外可见分光光度计仪器在 500nm 波长上的噪声，与滤光片切换和光源切换无关。

2. 测试时仪器状态不同

基线平直度：仪器处在运动状态，仪器的波长始终在变化。

光度噪声：仪器处在静止状态，仪器的波长始终不变。

3. 测试波长位置不同

基线平直度：测试仪器的全波长范围内每个波长的噪声。

光度噪声：测试仪器固定在 500nm 处时的噪声。

4. 测试时扫描方式不同

基线平直度：测试时用波长扫描方式。

光度噪声：测试时用时间扫描方式。

5. 影响因素不同

基线平直度：如“三”所述。

光度噪声：主要是电子学的元器件引起（特别是放大器和光电转换元件），也包含少量的光噪声。

6. 对分析测试误差的影响不同

基线平直度：限制仪器实际可使用的波长范围、影响仪器波长范围内的检测下限，在低浓度测试时是主要分析误差的来源。

光度噪声：只影响仪器 500nm 处的检测下限，主要作为比较仪器好坏的依据之一，由此能粗略看出仪器性能好坏。

目前，国外高档紫外可见分光光度计仪器的最好基线平直度为±0.001Abs(如 P-E 公司的 Lambda900 等)；我国高档紫外可见分光光度计仪器的最好基线平直度为±0.001Abs（如 TU-1901、北京第二光学仪器厂的 U-2100 等)。目前，国外高档紫外可见分光光度计仪器的最小整机噪声为±0.0002Abs（如 Varian 公司的 Cary6000 等)；我国高档紫外可见分光光度计仪器的最小整机噪声为±0.0004Abs（如 TU-1900/1901 等)。

(二) 基线平直度与基线漂移的主要区别

1. 物理概念不同

基线平直度：全波长范围内，各个波长上的噪声，与滤光片和光源切换有关。

基线漂移：与时间有关的光度值的变化量，主要影响因素是仪器的电子学部分和仪器周围的环境。

2. 测试条件不同

基线平直度：在 0Abs、SBW = 2nm 的条件下，进行全波长慢速扫描。

基线漂移：在 0Abs、SBW = 2nm、波长固定为 500nm 的条件下，仪器冷态开机（关机 2h 后开机)，预热 2h 后，进行时间扫描 1h。取这 1h 内最大最小值之差，即为基线漂移。

3. 影响的因素不同

基线平直度：影响基线平直度的因素有七个（见“三”)。

基线漂移：影响基线漂移的主要因素是仪器的电子学系统（主要是电源)和环境（电磁场、温度、湿度等)。

(三) 常见错误

国内外的许多科技工作者，对紫外可见分光光度计的基线平直度的重要性尚未引起足够重视，在基线平直度的运用方面还有许多错误。其具体表现如下：

1. 制造商不给基线平直度

国内外许多紫外可见分光光度计的制造商，根本不给出仪器的基线平直度。

2. 盲目给基线平直度

国内外许多制造商，在给出紫外可见分光光度计的基线平直度时，千篇一律的写成±0.001Abs。

3. 给出错误的基线平直度

基线平直度应该是全波长范围内每个波长上的噪声。但许多制造厂不给出仪器全波长范围内的基线平直度，如许多仪器给出的波长范围为 190～1100nm 或 190～900nm，但给出的基线平直度，只能适合波长范围为 220～950nm 或 210～800nm。这是因为光源、光电转换器的原因所致。

以上三种作法都是不对的。其理由是：如果不给基线平直度，使用者将不

知自己所使用的波长上的噪声或灵敏度，不便选择仪器条件。因此，不易得到最佳分析结果。

并非高档紫外可见分光光度计的基线平直度都是±0.001Abs，如我国北京普析通用仪器公司的 TU-1901，他们对所有 TU-1901 给出的基线平直度都为±0.001Abs，但作者进行过多次实际测试，结果并不是±0.001Abs。第一次是 2000 年 5 月，实测结果为±0.0005Abs（仪器编号：00-124-05-021）；第二次是 2001 年 9 月，实测三台，结果分别为：±0.0008Abs（仪器编号：01-192-06-051）、±0.0005Abs（仪器编号：01-192-06-050）、±0.0007Abs（仪器编号：01-192-06-054）。北京普析通用仪器公司的 TU-1221 给出的基线平直度也为±0.001Abs，但其实测结果可达±0.0008Abs（中国环境监测总站 1997 年 10 月实测）。而国内某厂给出的高档紫外可见分光光度计的基线平直度为±0.001Abs，作者实测为±0.004Abs，相差 4 倍。

至于不给全波长范围内的基线平直度，作者认为更是不对的。因为：第一、未搞清基线平直度的概念或定义。第二，不能保证该紫外可见分光光度计的波长使用范围，可以说是虚指标。第三，会误导使用者，使使用者误认为制造厂给的基线平直度就是指的全波长范围内的基线平直度。但这种现象比较普遍，我国、外国都有。所以，用户要特别对此引起高度重视。

(四) 如何保证或提高仪器的基线平直度指标

1. 设计者

要从理论上搞清基线平直度的概念、要把基线平直度与整机的光度噪声真正区分开来，并在设计和使用时都要严格控制影响基线平直度的因素。

2. 制造者

要重视基线平直度对整机的影响！生产中要重视对基线平直度的测试，研究基线平直度的测试方法，保证科学、准确的测出基线平直度。并要在仪器说明书中明确给出整个波段范围内的基线平直度，绝对不能给出模棱两可的基线平直度指标。

3. 使用者

要重视基线平直度对分析测试误差的影响，要重视对自己所用仪器的基线平直度的检测，一旦发现问题要及时解决。

第六节　光谱带宽（Spectra band width——SBW）

一、光谱带宽的重要性（对分析测试误差的影响）

如前所述，影响紫外可见分光光度计定量分析误差的因素很多，如杂散光、噪声、基线平直度等。同样，光谱带宽是影响紫外可见分光光度计定量分

析误差的主要因素之一。并且，目前国际上许多紫外可见分光光度计使用者对此未引起重视。我国的广大科技工作者，对这个很重要的问题更是不大注意。本节将根据作者的实践，并结合有关文献，从理论上、实践上对光谱带宽的重要性进行讨论。

首先，我们来看一下 T. Owen 的观点：T. Owen 在研究光谱带宽对分析误差的影响后，他指出紫外可见分光光度计的光谱带宽非常重要。紫外可见分光光度计的光谱带宽（SBW)/ 自然带宽（NBW)≤0. 1 时（自然带宽即试样吸收带的半高度的宽度)，该仪器可满足 99%的试样的分析，并且分析准确度可达 99. 5%。T. Owen 给出了如图 4-10 所示的例子。

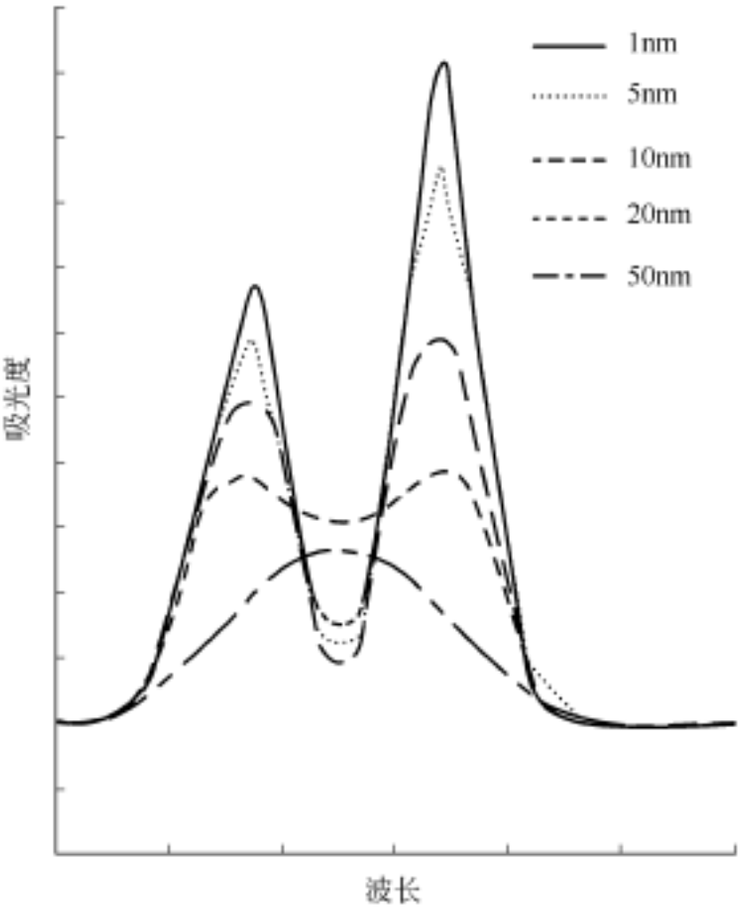


图 4-10　光谱带宽对分析误差的影响

从图 4-10 可知，当用 1nm 光谱带宽测试时，可得出一个很漂亮的光谱图。仍是这台仪器、这个样品、同样的分析工作者，当他分别改用 5nm、10nm、20nm、50nm 光谱带宽测试时得到的谱图，明显比用 1nm 光谱带宽测试的峰高低很多。在 20nm 光谱带宽测试时，两个很漂亮的峰就变成了一个马鞍形的峰。特别在 50nm 光谱带宽测试时，1nm 光谱带宽测试时的两个峰就变成一个馒头峰。由此可见，光谱带宽对分析测试误差有多大的影响。但是，目前国内外广大分析工作者还远没有认识到光谱带宽是紫外可见分光光度计分析误差的主要来源这个非常重要的问题。

作者研究了光谱带宽与分析测试误差的关系，结果见表 4-3。

表 4-3　SBW、NBW 与 $\Delta A/A$ 的关系（设 NBW = 20nm，实测 A = 0.85Abs)

SBW/ nm	SBW/ NBW	A_{obs}/A	ΔA	$\Delta A/A$
0.3	0.015	0.9995	0.0004	0.00047
0.4	0.02	0.9995	0.00043	0.00050
0.5	0.025	0.9995	0.00043	0.00050
1.0	0.050	0.9988	0.0010	0.00120
2.0	0.100	0.9954	0.0039	0.00459
4.0	0.200	0.9819	0.0154	0.01812
5.0	0.250	0.9712	0.0245	0.02882
6.0	0.300	0.9604	0.0306	0.03600
7.0	0.350	0.9463	0.0479	0.05640
8.0	0.400	0.9321	0.0577	0.06790
9.0	0.450	0.9154	0.0719	0.07190
10.0	0.500	0.8987	0.0861	0.08610

注：表中 A_{obs} 为观察值（实际测量值）；A 为真值或理论值；ΔA 为观察值与真值之差。

作者从理论上证明了光谱带宽会引起吸收光谱仪器的分析测试误差，并给出了计算公式。并进一步讨论光谱带宽对紫外可见分光光度计定量分析误差的影响。以此引起广大分析工作者对光谱带宽选择的重视，以便提高分析测试结果的可靠性、提高分析测试技术水平。

二、光谱带宽对分析误差的理论推导

紫外可见分光光度计的定量分析理论基础是比耳定律。比耳定律可描述为：当一束平行单色光通过某一均匀的有色溶液时，该溶液的吸光度与溶液的浓度和液层厚度（光程）的乘积成正比。比耳定律的数学表达式是

$$A = \lg\frac{I_0}{I} = \varepsilon bC \tag{4-20}$$

式中，A 为吸光度；I_0 为入射光强度；I 为透射光强度；ε 为被测物质的摩尔吸光系数，单位为 L/（mol·cm）；b 为光程长度，单位为 cm；C 为被测物质的浓度 mol/ L。

如被分析测试的物质已定，则摩尔吸光系数 ε 已定；若使用的仪器已定（仪器配置的比色皿已定），则光程 b 已定；那么，吸光度 A 与被测物质的浓度 C 成正比（即 A 与 C 成线性关系）。

从理论上讲，比耳定律只适用于单色光，但在实际的吸收光谱仪器中，绝对不可能从光谱仪器的单色器上得到真正的单色光，只能得到波长范围很窄的光谱带。因此，进入被测样品的光仍然是在一定波段范围内的复合光。由于物质对不同波长的光具有不同的吸光度，因此，在实际工作中即使用很高级的吸收光谱分光光度计、采用很小的光谱带宽，仍然会产生比耳定律的偏离（即产生吸光度测量误差）。

作者研究表明：假设光谱带宽为 $\Delta\lambda$，它所对应的波长范围为 $\lambda_1 \sim \lambda_2$；对 λ_1 而言，设其入射光强度为 I_{0_1}，透射光强度为 I_1，摩尔吸光系数为 ε_1，吸光度为 A_1，则

$$A_1 = \lg\frac{I_{0_1}}{I_1} = \varepsilon_1 bC; \quad I_1 = I_{0_1} \times 10^{-\varepsilon_1 bC}$$

对 λ_2 而言，设其入射光强度为 I_{0_2}，透射光强度为 I_2，摩尔吸光系数为 ε_2，吸光度为 A_2，则

$$A_2 = \lg\frac{I_{0_2}}{I_2} = \varepsilon_2 bC, \quad I_2 = I_{0_2} \times 10^{-\varepsilon_2 bC}$$

因在实际测量时，对应 $\Delta\lambda$ 的入射光强度为 $I_{0_1} + I_{0_2}$，透射光强度为 $I_1 + I_2$。因此，吸光度值为

$$\begin{aligned} A &= \lg\left[\frac{(I_{0_1} + I_{0_2})}{(I_1 + I_2)}\right] \\ &= \lg\left[\frac{(I_{0_1} + I_{0_2})}{(I_{0_1} \times 10^{-\varepsilon_1 bC} + I_{0_2} \times 10^{-\varepsilon_2 bC})}\right] \end{aligned} \tag{4-21}$$

若 $\varepsilon_1 = \varepsilon_2 = \varepsilon$，则式 (4-21) 可写成

$$\begin{aligned} A &= \lg\left[\frac{(I_{0_1} + I_{0_2})}{(I_{0_1} + I_{0_2})} \times 10^{-\varepsilon_1 bC}\right] = \log\left(\frac{1}{10^{-\varepsilon_1 bC}}\right) \\ &= \lg 10^{\varepsilon bC} = \varepsilon bC \end{aligned}$$

此时，A 与 C 成线性关系。

但实际上，摩尔吸光系数 ε 是有色物质的与波长有关的特征常数，对同一有色物质而言，不同波长有不同的 ε 值。在实际测量中，常取某一光谱带宽 $\Delta\lambda$，它对应的波长范围为 $\lambda_1 \sim \lambda_2$，λ_1 和 λ_2 各对应 ε_1 和 ε_2，但 ε_1 和 ε_2 不可能完全相等。所以，在吸收光谱仪器中，对某一光谱带宽的入射光，A 与 C 不可能真正成线性关系，因此，由于光谱带宽的影响，产生了比耳定律偏离，或产生了分析测量误差。

设 $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$，且对选定的仪器而言，常规分析时，光程 b 是常数，被分析样品的浓度是变数；若将式 (4-21) 相对 bC 微分，则

$$\frac{\mathrm{d}A}{\mathrm{d}(bC)} = \varepsilon_1 - \frac{\left[\frac{I_{0_2}}{I_{0_1}} \times (\varepsilon_1 - \varepsilon_2) \times 10^{(\varepsilon_1 - \varepsilon_2)bC}\right]}{\left[1 + \frac{I_{0_2}}{I_{0_1}} \times 10^{(\varepsilon_1 - \varepsilon_2)bC}\right]} \tag{4-22}$$

当试样的吸光度非常小时 ($bC \to 0$)，则

$$\frac{\mathrm{d}A}{\mathrm{d}(bC)} = \frac{\left[\varepsilon_1 + \frac{I_{0_2}}{I_{0_1}} \times \varepsilon_2\right]}{\left[1 + \frac{I_{0_2}}{I_{0_1}}\right]} \tag{4-23}$$

当试样的吸光度很大时（$bC\to\infty$），式（4-22）中的 $10^{\varepsilon_1 bC}$ 和 $10^{\varepsilon_2 bC}$，则

$$\frac{\mathrm{d}A}{\mathrm{d}(bC)}=\varepsilon_2 \tag{4-24}$$

因为光谱带宽 $\Delta\lambda$ 一般都很小，所以，$\Delta\lambda$ 对应的 $\lambda_1\sim\lambda_2$ 的光强度一般也相差甚微，或者说几乎相等。则 $\frac{I_{0_2}}{I_{0_1}}=1$；则式（4-23）可写成

$$\frac{\mathrm{d}A}{\mathrm{d}(bC)}=\frac{(\varepsilon_1+\varepsilon_2)}{2} \tag{4-25}$$

从式（4-24）、式（4-25），可以清楚看出：在低吸收时，仪器测得的 A-C 曲线的极限斜率是 ε_1 和 ε_2 的均值，而在高吸收时，极限斜率是 ε_2。显然，$\varepsilon_2<\left[\frac{(\varepsilon_1+\varepsilon_2)}{2}\right]<\varepsilon_1$。因此，在低吸收时，测量误差较小，在高低吸收时，测量误差较大，这是光谱带宽影响的结果。广大分析工作者应特别引起注意。

光谱带宽对吸收光谱测量误差的影响可以根据下式计算

$$A_{obs}=\lg\frac{\int I_\lambda S_\lambda \mathrm{d}\lambda}{\int I_\lambda S_\lambda 10^{-A}\mathrm{d}\lambda} \tag{4-26}$$

式中，A_{obs} 为实测吸光度值；I_λ 为入射光强度；S_λ 为光接收器的光谱灵敏度；A 为吸光度理论值（真值）。

式（4-26）说明了实测吸光度值不但与吸收曲线（A-C 曲线）的形状有关，而且与光源的波长分布、光接收器的光谱响应特性有关。在实际测量工作中，对已选定的仪器来说，在同一光谱带宽内，入射光强度和光接收器的光谱灵敏度是一个常数。

三、光谱带宽的测试方法

目前，国际上对光谱带宽的测试方法一般是采用“谱线轮廓法”。主要是选用某些光源的特征谱线，对它进行光谱扫描，绘出该谱线的轮廓，再测出该谱线的半峰高的宽度即为光谱带宽。

用于光谱带宽的测试的光源一般为线光谱光源。并且，要求它在离被测的谱线附近 20nm 的范围内，最好没有其他谱线。一般紫外可见分光光度计的制造者在测试仪器的光谱带宽时，多选用 Hg 灯；因为它的 546.1nm、253.7nm 等特征线在其前后 20nm 以内，都没有其他谱线，是紫外可见分光光度计光谱带宽测试最好的光源。也有人选空心阴极灯作测试光源，但为数较少。

还有很多人在测试紫外可见分光光度计的光谱带宽时，采用氖灯的 656.1nm 或 486.0nm 这两根特征谱线。特别是 656.1nm 这根线，常被绝大多数科技工作者使用。具体做法是：将仪器在 660～470nm 范围内扫描，求出 656.1nm 这根特征谱线的半宽度即是光谱带宽。

四、应用实例

设吸收峰的形状是按高斯曲线分布，在仪器的出射狭缝上的光能量分布呈三角形状（峰形呈高斯曲线分布和光能量呈三角形状为理想条件），则可根据式(4-26)计算实测吸光度值 A_{obs} 与光谱带宽（SBW）在吸收极大值时的关系见表 4-4。

表 4-4　在理想条件下，A_{obs} 与 SBW 在吸收极大时的关系

RBW	A_{obs}/A	RBW	A_{obs}/A	RBW	A_{obs}/A
0.0100	0.9995	0.0600	0.9983	0.2000	0.9819
0.0200	0.9995	0.0700	0.9977	0.3000	0.9604
0.0300	0.9995	0.0800	0.9970	0.4000	0.9321
0.0400	0.9992	0.0900	0.9962	0.5000	0.8987
0.0500	0.9988	0.1000	0.9954		

注：1. RBW 为相对带宽；RBW = SBW/ NBW；NBW 为被测样品的吸收带半宽度，指样品的吸收值达到最高峰值之半的两点间的波长间隔。

2. A_{obs} 为吸光度实际测量值。

3. A 为吸光度理论值（或真值）。

表 4-4 可供分析工作者用来修正实验值，但只适用于吸光度实际测量值小于 1.0 时的情况。因为一般的常规分析中，被测样品的实际测量吸光度值基本上都小于 1.0，所以，表 4-4 具有实际参考价值。

T. Owen 的研究结果，与表 4-4 一致；证明了当仪器的光谱带宽与被测样品的自然带宽之比中小于或等于 0.1 时（即 SBW/ NBW≤0.1 时），该光谱仪器可满足 99% 的样品的分析测试工作。且分析测试的准确度在 99.5% 以上。这也是我国和世界各国药典规定用于药检的紫外可见分光光度计的光谱带宽要求≤2nm 的原因。

作者研究过光谱带宽对青霉素钠、青霉素钾定量分析的影响，发现青霉素钠定量分析的最佳光谱带宽与药典规定不一致（药典规定：取本品加水制成 1ml 含 1.80mg 的溶液……用 1nm 光谱带宽、在 264nm 处测试，吸光度应为 0.80～0.88）。作者在药典规定的条件下，对同一种浓度的青霉素钠进行测试：用 SBW = 2nm 测试时，结果为 0.805Abs；用 SBW = 1nm 测试时，结果为 0.825Abs；用 SBW = 0.3nm 测试时，结果为 0.865Abs；用 SBW = 0.2nm 测试时，结果为 0.845Abs。由此可见，0.3nm 时峰值最高，说明 0.3nm 为最佳光谱带宽，且 1nm 和 0.3nm 相差的 ΔA 为 0.040Abs，$\Delta A/A = 0.047$(4.7%)。所以药典规定 1nm 并不是最合适。作者根据表 4-16 计算：当 SBW 为 2nm 以下时，由于 SBW 引起的分析测试的相对误差小于 0.5%。但是，当 SBW 为 5nm 时，分析测试的相对误差将达到 2.7%。有些药厂用 SBW 为 5nm 的 UVS 来作质量控制，其仪器本身的误差就远远超过我国药典规定的 1% 的要求，这

必须要引起我国广大药检工作者重视 。

五、结论

SBW 是非常重要的技术指标，它直接影响分析测试的误差。虽说绝大部分样品的紫外可见吸收光谱的吸收峰不大尖锐，2nm 的光谱带宽完全可满足分析测试要求，但有少部分样品，如青霉素钠、青霉素钾等的吸收峰很尖锐，不能用 2nm 的光谱带宽测试，否则，一些小的尖锐峰会消失，而大的尖锐峰的测量值会偏低，使分析测量误差增大。因此，一定要特别重视 SBW 对分析测试误差的影响。只有这样，才能提高分析测试结果的可靠性、才能更快提高我国分析测试技术的水平。

第七节　稳定性（Stability）

一、稳定性对分析测试误差的影响

许多科技工作者经常把基线漂移说成稳定性，他们认为基线漂移小就是稳定性好，其实这是不全面的。因为，紫外可见分光光度计的稳定性应包括基线漂移（Baseline Drift）和光度重复性（Photometric Reproducibility）两个方面。使用紫外可见分光光度计或制造紫外可见分光光度计时，都有一个很重要的原则或宗旨，这就是仪器要稳定可靠。如果一台仪器的稳定性差，就不可能得到好的分析测试结果。仪器的稳定性好坏，是挑选紫外可见分光光度计仪器或使用紫外可见分光光度计的关键问题之一。

不能只是单纯的把基线漂移作为稳定性，真正的稳定性好的含义，必须是包括基线漂移和光度重复性。如果一台紫外可见分光光度计的基线漂移不好，在整个分析测试过程中始终在漂移，根本稳定不下来；或重复性不好，每次测试的结果都不能重复，这肯定不是好仪器。

二、紫外可见分光光度计稳定性的测试方法

(一) 基线漂移的测试方法

紫外可见分光光度计冷态开机（关机 2h 后开机），预热 2h 后，设置仪器的参数为：试样和参比比色皿都为空气，吸光度为 0Abs，光谱带宽为 2nm，扫描方式为时间扫描。连续测试 1h，取这 1h 内，最大最小值之差即是基线漂移。也有人取 1h 内漂移线的包罗线之中线的最大最小值之差作为基线漂移，这种作法是可以的。

连续测试 1h 是与国际接轨的测试方法，然而有许多制造厂商往往采用 10min 或 30min 等的测试时间，这是不对的。因为，使用者作一个实验，在

10min 内还未做完，仪器的基线已经漂掉了，这怎么能保证使用者的分析测试数据的可靠性呢？30min 的测试时间也不科学，因为在紫外区一般用氘灯，它是一种气体放电灯。从物理学或气体发光的理论来讲，一般的气体放电灯，要在 30min 左右其发光才能达到稳定。10min 时，灯泡的发光也未达到最佳值，何况还有其他很多因素决定了仪器还未到达测试稳定性的时间。所以说测试 1h 才是正确的。

目前，还有人在测试基线漂移时，光度单位设为透射比（%T），这是可以的，但没有设置吸光度单位好。因为，使用者一般多用吸光度（Abs），而不用或很少用透射比（%T）。并且，国外的紫外可见分光光度计一般用吸光度（Abs）来表示基线漂移，将透射比（%T）换算吸光度（Abs）比较麻烦。

（二）光度重复性的测试方法

光度重复性的测试方法有几种：其一是仪器冷态开机，预热 0.5h 后，由同一操作者，用某种实际样品，对仪器的光度值（吸光度或透射比均可）进行测定。一般是连续测量 3 次，取测量值中的最大最小值之差作为光度重复性，也有人测量 5 次或 7 次。我国的紫外可见分光光度计国家标准和我国的紫外可见分光光度计计量检定规程，规定测试 3 次。

光度重复性的测试方法也可用标准物质（溶液）或标准片来进行。具体操作方法是仪器冷态开机，预热 0.5h 后，在用标准片来测试时，参考为空气。在用标准溶液测试时，参考为溶剂或空气均可，设置很小的光度单位（一般设为吸光度单位），光谱带宽为 2nm，对标准片或标准溶液进行测试。一般测量 3～7 次。其测量值的最大与最小值之差就是光度重复性。

第八节　波长准确度和波长重复性

一、波长准确度对分析测试误差的影响

所谓波长准确度，是指波长的实际测定值与理论值（真值）的差。紫外可见分光光度计的波长准确度是很重要的技术指标，特别是在对不同仪器的测试结果进行比较时，波长准确度更显得重要。例如，要比对两台紫外可见分光光度计对同一样品的分析测试结果，如果仪器的波长准确度不好，就无法进行比较或比较不出正确的结果。因为对同一物质，在不同波长测试时，由于不同波长时摩尔吸光系数不同，就会有不同的灵敏度，即使是同一样品，测试的数据也会不相同。用一台紫外可见分光光度计做定量分析时，若仪器的波长准确度不好，也会因仪器的波长误差，而产生很大的分析误差。波长准确度对国家的计量法执法非常重要。

二、波长准确度的测试方法

紫外可见分光光度计波长准确度的测试，制造者或使用者的作法很不一致；有人用汞灯的特征波长，有人用各种空心阴极灯的特征波长，有人用氘灯的特征波长，还有人用 He-Ne 激光器等来测试。

(一) 汞灯

目前，国内外的许多生产厂，都直接在紫外可见分光光度计上用汞灯测试波长准确度。具体作法是：将仪器的光源拆下，用标准灯代替原光源，测试标准光源灯的各条特征谱线，测量值与理论值之差，就是波长准确度。例如，使用汞灯测试，则设置波段范围为 245～560nm，光谱带宽为 2nm，测量方式设置为能量测量，样品和参考均为空气，进行波长扫描。而后将汞灯的各特征波长的测量值与其相应的理论值相减，所得的数据之差即波长准确度。一般应重复 3 次，取 3 次平均值作为仪器的波长准确度。如选用其他标准灯，可根据各种标准灯的特征波长，仿照汞灯的操作方法进行测试。

W. Sammer 曾详细报道过汞灯的特征谱线，Shimadzu 曾详细报道过低压汞灯的特征谱线，有 194. 1nm、253. 7nm、265. 4nm、270. 0nm、280. 5nm、289. 4nm、292. 5nm、296. 7nm、302. 2nm、313. 2nm、334. 2nm、365. 0nm、404. 7nm、407. 8nm、435. 8nm、491. 6nm、546. 1nm、577. 0nm、579. 0nm 等。Rand、Balcom、Shimadzu、Walked 等都先后用汞灯的特征谱线测试过光谱仪器的波长准确度。国内也有许多科技工作者用汞灯测试波长准确度，作者曾用国产（上海灯泡厂）GGQ80 仪用高压汞灯，对 WDS-3、55W、56W 等不同型号的光栅单色仪的波长准确度进行测试。具体作法是：首先设计如图 4-11 所示的测试装置，将 GGQ80 仪用高压汞灯要去壳，光电倍增管的高压电源取 600V 左右，被测试单色仪的入射狭缝和出射狭缝宽度均为 0. 05mm，高度为 1. 0mm，被测试单色仪在 200～700nm 内扫描，得到了与 W . Sammer 和 Shimadzu 报道基本相符的 36 条特征谱线。测试结果表明：GGQ80 仪用高压汞灯的 253. 7nm、365. 0nm、404. 8nm、546. 1nm、577. 0nm、579. 0nm 等常用的特征谱线的测试值与文献值之差都 < 0. 5nm，因此，可认为被测试单色仪的波长准确度 < 0. 5nm。

(二) 氘灯

目前，国际上许多科技工作者经常用氘灯的特征波长来测试紫外可见分光光度计波长准确度。如日本岛津公司用氘灯的 486. 0nm、656. 1nm 检测 UV-365、UV-2450、UV-2550 等紫外可见分光光度计的波长准确度。美国的 Varian、P-E 等公司也是用氘灯的 486. 0nm、656. 1nm 检测各种紫外可见分光光度计的波长准确度。我国几乎所有的紫外可见分光光度计生产厂都用氘灯检测

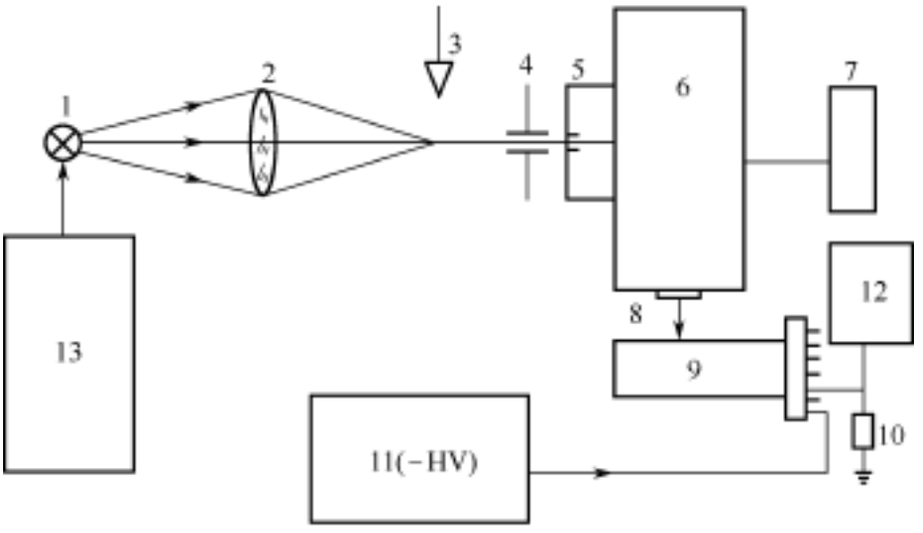


图 4-11　波长准确度测试装置

1—光源；2—聚光镜；3—光闸；4—可变光栏；5—入射狭缝；6—被测试的单色仪；7—可逆马达；8—出射狭缝；9—光电倍增管；10—负载电阻（一般取 10～100kΩ）；11—负高压电源；12—记录仪或打印机；13—光源恒流电源

各类扫描紫外可见分光光度计的波长准确度（必须是扫描型的紫外可见分光光度计，手工操作的紫外可见分光光度计一般不适用）。作者曾多次用氘灯对进口、国产和自制的各种紫外可见分光光度计的波长准确度进行过测试。具体作法是：将仪器从 680～450nm 扫描，将实际测量的 486.0nm、656.1nm 附近的值与理论值相减，则可得到仪器的波长准确度。

（三）用蒽（Anthracene）的特征吸收线测试波长准确度

作者曾将蒽溶解在乙醇中（浓度为 10^{-5} g/ ml）作为试样，用它丰富的特征吸收峰来测试光栅单色器的波长准确度，得到了满意的结果。

（四）用氘灯的 459.1nm 特征线测试波长准确度

使用氘灯的 459.1nm 特征线测试仪器的波长准确度，具体作法是：在样品室放一块毛玻璃或漫反射体，将波长设置在 440～460nm，仪器自动扫描；谱图上的最大峰值即为 459.1nm。将实际测试值与 459.1nm 相减，则可得到仪器的波长准确度。

（五）用干涉滤光片的特征主峰位置来测试波长准确度

作者用上海海光玻璃厂生产的干涉滤光片 377 ，对德国进口的 Specord 紫外可见分光光度计、国产的 730 型紫外可见分光光度计、55W 光栅单色仪等的波长准确度进行过测试，都得到了非常满意的结果。具体作法是：将干涉滤光片 377 分别放在 Specord 和 730 紫外可见分光光度计的试样池处（55W 光栅单色仪则放在入射狭缝前），分别将仪器的波长设置在 300～450nm，从

自编号，中心透过波长为 377nm，带宽 15nm，中心波长的透过率为 31%。

长波向短波进行波长扫描，所得到的 377 的峰值位置见表 4-5。

表 4-5 干涉滤光片 377 的峰值位置

类 别	型 号			
	55W	730	Specord	上海海光厂
主峰位置(λ_0)/ nm	380	382	379	377
主峰透过率(T%)	31.6%	32.2%	32.6%	31%
长波截止位置/ nm	415	420	417	—
短波截止位置/ nm	310	318	313	—

(六) 用某些固体化学标准试样测试波长准确度

日本岛津和作者曾用卵烯（特征峰为 359nm）对光谱仪器的波长准确度进行过测试，都得到了满意的结果。具体作法是：将卵烯固体化学试样放在试样池处，仪器波长从 330～370nm 扫描，谱图上的峰值即为 $\lambda_{实}$，359nm - $\lambda_{实}$ 即是波长准确度。

(七) 用间接法（或叫相对法）测试波长准确度

作者曾用一只溴钨灯和经过标定过的光栅单色仪来检测天津光学仪器厂生产的 WDS-3 型光栅单色仪，得到了满意的结果。具体作法是：将标定过的光栅单色仪和溴钨灯（具有若干条已知标准谱线的相对光源），放在试样池处，仪器波长从 330～370nm 扫描，谱图上的峰值即为 $\lambda_{实}$，359nm - $\lambda_{实}$ 即是波长准确度。

(八) 用钬玻璃（Holum）的特征谱线测试波长准确度

对于光谱带宽优于 2nm 的扫描型的紫外可见分光光度计，经常有人用钬玻璃来测试波长准确度，钬玻璃有很多特征谱线，如 241nm、279.4nm、333.7nm、360.9nm、418.7nm、536.2nm 等 11 根特征线（随着温度的不同，这些波长值有所变化。因此，使用者要注意经常标定 Holum 玻璃的波长），具体操作方法（包括仪器条件设置）与上述汞灯相同。但偶见有人用钬玻璃来测试紫外可见分光光度计的光度准确度，这是不对的。因为，钬玻璃的稳定性极差，它的吸光度值会随温度的变化而变化，所以不能用来作为光度准确度测试的标准物质。

(九) 用某些元素灯（空心阴极灯）的特征波长测试波长准确度

很多制造商，往往用某些元素灯（空心阴极灯）的特征波长测试波长准确度。如用镉（Cd）灯、锌（Zn）灯、铟（In）灯、镁（Mg）、硒（Se）灯、汞齐灯（Hg、Cd、Zn 三元素充在一只灯管内）等都可用来测试紫外可见分光光度计的波长准确度。这些灯，我国的上海光电器件公司都有售。

(十) 用汞齐灯测试波长准确度

因为汞齐灯灯管内充有 Hg、Cd、Zn 三种元素，其对应的特征谱线为：Hg 为 253.65nm；Cd 为 228.80nm；Zn 为 213.86nm、307.59nm。因此，汞齐灯多用来测试紫外区的波长准确度。具体操作方法与用汞灯测试方法雷同。

(十一) 用氦灯测试波长准确度

Winsted 报道，美国 NBS 用氦灯的 388.86～1083nm 之间的 8 条特征谱线来测试非记录式的光谱仪器的波长准确度。具体操作方法也与用汞灯测试方法雷同。

(十二) 用测试分辨率的某些方法来测试波长准确度

除上述 11 种方法外，还可用测试分辨率的某些方法来测试波长准确度；如用苯蒸气来测试紫外可见分光光度计的分辨率时，也可同时测得波长准确度。

(十三) 用 He-Ne 激光器的 632.8nm 来测试波长准确度

作者曾在多功能紫外可见分光光度计的研制工作中，用 He-Ne 激光器的 632.8nm 这根特征谱线来测试过波长准确度，得到了满意的结果。具体作法是：将 He-Ne 激光器的 632.8nm 这条特征谱线引入仪器的入射狭缝，仪器的波长范围设置为 650～610nm，光谱带宽为 2nm，测量方式设置为能量测量。样品室为空气 (样品和参照均为空气)，对仪器进行波长扫描。632.8nm 这条特征谱线的实际测量值与 632.8nm 之差，即为仪器的波长准确度。这种测量也是进行 3 次，取 3 次测量平均值作为仪器的波长准确度。

波长准确度的测试方法很多，除上述 13 种外，还可列举若干种。因篇幅所限，此不赘述。

关于波长准确度测试方法的优劣比较，可参见表 4-6。

表 4-6　波长准确度测试方法的优劣比较

方法名称	设　备	成　本	操作难易	可靠性	实用性	备　注
“1”	简单	低	容易	强	强	—
“2”	简单	低	容易	强	强	—
“3”	简单	低	稍难	较差	较差	有配样误差
“4”	简单	低	容易	强	强	—
“5”	较复杂	较贵	尚可	较差	稍差	干滤片较贵
“6”	稍复杂	稍贵	容易	强	较差	试样难得
“7”	较复杂	—	容易	较强	稍差	较麻烦
“8”	—	稍贵	容易	强	强	钬玻璃较贵

续表

方法名称	设　备	成　本	操作难易	可靠性	实用性	备　注
“9”	—	稍贵	容易	强	较差	灯较难得
“10”	—	低	容易	较强	较强	灯较难得
“11”	—	低	容易	较强	尚可	—
“12”	一般	尚可	一般	较强	一般	—

三、波长重复性

波长重复性同样是重要的，和波长准确度一样。因为对同一物质，在不同波长测试时，由于不同波长时摩尔吸光系数不同，就会有不同的灵敏度，因而，即使是同一样品，测试的数据也会不相同。如果一台紫外可见分光光度计的波长重复性不好，就等于每次分析测试时所用的波长是不同的，不可能得到可靠的分析结果。因此，一台紫外可见分光光度计的波长重复性不好是不能满足使用要求的。

波长重复性的测试方法，一般是取波长准确度的3次测试的结果中，最大值与最小值之差作为波长重复性。也可取3次测试的平均值，与3次测试中的最大值（或最小值）之差作为波长重复性。具体操作很简单，此不赘述。

经常见到有人说某紫外可见分光光度计的波长重复性为“0”。如某研究人员在研究报告中，对设计波长重复性指标为0.2nm的紫外可见分光光度计，在自检报告中写：“实测波长重复性数据为0”。这是不对的，这个数据的正确写法应是：波长重复性优于0.2nm或小于0.2nm。

第九节　紫外可见分光光度计的线性

一、线性的定义

紫外可见分光光度计的线性是指实验点接近或偏离比耳定律 $A = f(C)$ 直线部分的程度。换言之，如果给定化合物的两个浓度的响应值之差正比于两个被测试样的浓度差，且该差值在误差要求的范围内，则可认为紫外可见分光光度计的输出是线性的。

二、线性对分析测试误差的影响

紫外可见分光光度计的线性在定量分析工作中有着极其重要的意义。Johnson、Scott、Munk等人曾多次指出，如果仪器的线性很差，就不可能得到好的定量分析结果。作者在实践中发现，在给定仪器的情况下（即仪器的噪声为“+”值时），当被测试样的浓度小到一定程度时，实验结果偏离比耳定

律的直线而明显地向上弯曲，反之则向下。作者用自制的 UV/ FL-1 型紫外/ 荧光分光光度计测试浓度为 4.06×10^{-6} g/ ml 的 K_2CrO_4 时，因仪器“ + ”噪声的影响，产生的吸光度相对误差（正偏差）达 25%，即真值为 0.0052A 实测为 0.0056A。而当浓度增大到 2.01×10^{-3} g/ ml 时，因杂散光的影响，实测 K_2CrO_4 的吸光度误差达到 36%（负偏差）。因此，在定量分析时，必须严格注意仪器的线性，否则不能得到好的分析结果。

三、仪器线性的测试方法

在正式使用一台新的仪器以前，一般都先对仪器的线性进行测试。但大多数使用者只是在某一试样的某一浓度附近，用浓度的倍数变化，测出这一段的线性。这只能反映仪器在小范围内的实用情况，并不能说明仪器的线性是否符合出厂指标，也不能反映仪器的线性范围。为了全面了解紫外可见分光光度计的线性，还需按下述方法进行测试。

测试紫外可见分光光度计线性的方法很多，最常用的大致有以下 6 种：

1. 溶液稀释法

溶液稀释法的具体作法是将铬酸钾（K_2CrO_4）稀释到不同浓度，测量不同波长处的吸光度值（一般需测量 85 个吸光度值），然后，根据此数据作曲线，再根据曲线来判断紫外可见分光光度计的线性。

2. 中性滤光片法

一般以 3 块中性滤光片叠加，比较测定值与计算值之差来判断紫外可见分光光度计的线性。

3. 百分法

百分法是将被测试样的浓度成倍增加，测其吸光度，作曲线，判断实验值偏离比耳定律直线部分的程度。

4. 改变样品池厚度法

用不同厚度的样品池来测量铬酸钾（K_2CrO_4）的吸光度，以此来判断紫外可见分光光度计的线性。

5. 旋转扇形板法

以不同透射率的扇形板在样品光束中旋转，测出各点透射率与真值进行比较；以此来判断紫外可见分光光度计的线性。

6. 光叠加法

利用孔规来分段测试，然后作曲线判断紫外可见分光光度计的线性。

7. 双对数曲线法

双对数曲线法（L/ L-CM）是作者在科研工作的实践中，把色谱检测器的线性测试方法移植到光谱仪器来的一种新的紫外可见分光光度计线性测试方

法；它是根据 Lovelock 提出，后经 Fowlis 和 Scott 改进的“对数稀释法”(Logarithmic Dilution Method，LDM) 和 Fowlis、Scott 提出的响应指数法(Response Index Method，RIM) 基本原理，以及 Scott、Johnson 和 Munk 等人曾多次提出的线性动态范围 (Linear Dynamic Range，LDR) 的概念，经作者改进而成。LDM、RIM 和 LDR 是 Lovelock、Fowlis、Scott 和 Johnson、Munk 等人用来对色谱仪器 (GC、LC) 的光学式检测器的线性测试的主要方法，这些方法的理论基础和各类紫外分光光度计一样，都是比耳定律。其最大的优点是直观性强，能从实验曲线上很快地看出仪器的线性和线性范围。但这些方法都离不开整个色谱仪器系统，操作比较麻烦，且影响测试结果的因素也比较复杂。作者从紫外可见分光光度计线性测试的实际需要出发，把 LDM、RIM 和 LDR 三者有机地结合起来，扬长避短，得到了适用于紫外可见分光光度计的线性测试的 L/ L-CM 方法。

根据响应指数法：

$$Y = KC^r \tag{4-27}$$

式中，Y 为响应值；K 为常数 (一般取 $K = 1$)；C 为被测试样的浓度；r 为浓度 C 的指数。

如果对式 (4-27) 两边取对数，则得

$$\lg Y = \lg K + r\lg C$$

K 为常数，则 $\lg K = 0$

因此

$$\lg Y = r\lg C \tag{4-28}$$

根据式 (4-28)，只需配制数量级递增的不同浓度 C 的试样，在适当的波长下测其吸光度值，则可用双对数坐标纸作出双对数曲线 (纵坐标为 lg Y，Y 为吸光度值，横坐标 C 为浓度)。从双对数曲线的斜率 r 值的大小，可以判断光度计的线性动态范围。作者取 $r = 0.98 \sim 1.02$ (或曲线与横坐标的夹角 $\theta = 44.421° \sim 45.567°$) 的范围为仪器对应的线性动态范围。

根据比耳定律，吸光度 Abs 与浓度 C 成正比；从实验曲线上的值与理论值之差，可得到各点的线性度。这样，可在同一组曲线上，得到被测的紫外可见分光光度计的响应指数、动态范围 (仪器能给出的响应浓度覆盖范围)、线性动态范围 (仪器能给出的线性响应浓度覆盖范围) 和用百分法表示的线性度和准确度。

作者用双对数曲线法对自己研制的 UV/ FL 型紫外/ 荧光分光光度计的线性进行了测试。测试时的仪器条件为波长为 254nm，狭缝机械宽度为 $S_1 = S_2 = 0.5$mm，光电倍增管高压为 575V，氘灯电流为 280mA，放大器增益为最大，记录仪为 5mV、4mm/ min，样品为 K_2CrO_4 溶解在 0.05mol/ L 的 KOH 中，参考池为充满 0.05mol/ L 的 KOH。测试结果见表 4-7 和图 4-12。图 4-12 是根据表 4-7 画出的。

表 4-7　双对数曲线法测试 K_2CrO_4 溶液结果

浓度 C/（g/ ml）	6×10^{-6}	8×10^{-6}	1×10^{-5}	4×10^{-5}	4×10^{-4}	6×10^{-4}
吸光度/ A	7.8×10^{-3}	1.04×10^{-2}	1.3×10^{-2}	5.2×10^{-2}	0.52	0.78
响应值/ mV	1	1.325	1.65	6.15	61	100
浓度/（g/ ml）	8×10^{-4}	1×10^{-3}	2×10^{-3}	4×10^{-3}	4×10^{-2}	—
吸光度/ A	1.040	1.30	2.60	5.20	—	—
响应值/ mV	128	152.5	190	192.5	192.5	—

由图 4-12 可知，用双对数曲线法对 UV/ FL 型紫外/ 荧光分光光度计的线性测试结果为：LDR 为 7.8×10^{-3}～1.3A；r = 1.00～1.014 或 θ= 45°～45.4°；线性≤2.0%（在 7.8×10^{-3}～1.3A 内）

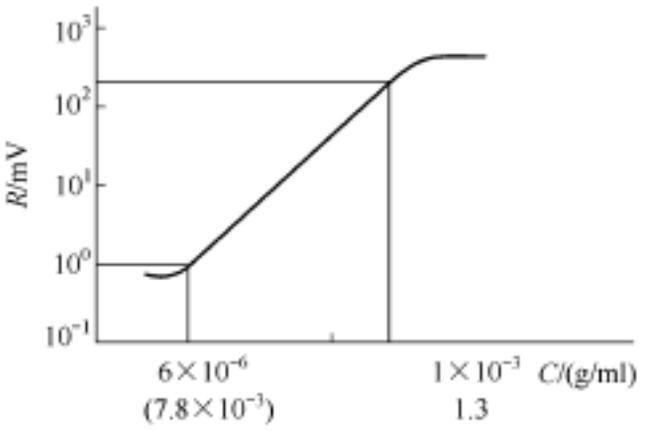


图 4-12　双对数曲线法（L/ L-CM）的应用测试结果图

为了验证 L/ L-CM 的可靠性，作者用百分法对 UV/ FL 型紫外/ 荧光分光光度计进行了测试，得到了与 L/ L-CM 法相一致的结果。

测试条件：

波长 254nm，狭缝机械宽度 S_1 = S_2 = 0.5mm，光电倍增管（PMT）高压 550V，氘灯电流 250mA，放大器增益最大，记录仪 5mV、4mm/ min，样品是蒽（Anthracene），溶解在酒精中，参考池充满酒精，试样池充满被测样品。测试结果见表 4-8 和图 4-13。图 4-13 是根据表 4-8 画出的。

表 4-8　UV/ FL 型紫外/ 荧光分光光度计测试结果

浓度/（g/ ml）	2×10^{-4}	4×10^{-4}	6×10^{-4}	8×10^{-4}	1.0×10^{-3}	1.2×10^{-3}
响应值/ mV	0.25	0.5	0.75	0.98	1.3	1.5

由图 4-13 可知，用百分法对 UV/ FL 型紫外/ 荧光分光光度计的线性测试结果为：线性≤2.0%（在 7.8×10^{-3}～1.3A 内），与用 L/ L-CM 法测试的结果一致。L/ L-CM 法和国内外常用的 6 种主要方法的比较见表 4-9。

由表 4-9 可知，L/ L-CM 法优于其余各法。

表 4-9　L/ L-CM 法与国内外主要方法比较

方法	溶液稀释法	中性滤光片法	百 分 法	改变池厚法
优点	能检查线性范围，能找出最佳工作区	操作简便	设备简单	能测线性范围

续表

方法	溶液稀释法	中性滤光片法	百分法	改变池厚法
缺点	无法校正线性误差,方法很烦琐,需测 85 个点	滤光片绝对吸光度标定较困难	存在配样误差,不能给出线性范围	不能校正线性误差
方法	旋转扇形板法	光叠加法	L/ L-CM 法	
优点	适于红外光谱仪(即红外区)	比较科学,比较准确	直观性强,能同时测出线性范围,能找出最佳工作区,能得到响应指数,能得到光度计精度,设备简单,操作简便,实用性强,能得到线性	
缺点	至少要九块扇形板,成本高,不适于 UV 和 VIS	实用性差	存在配样误差	

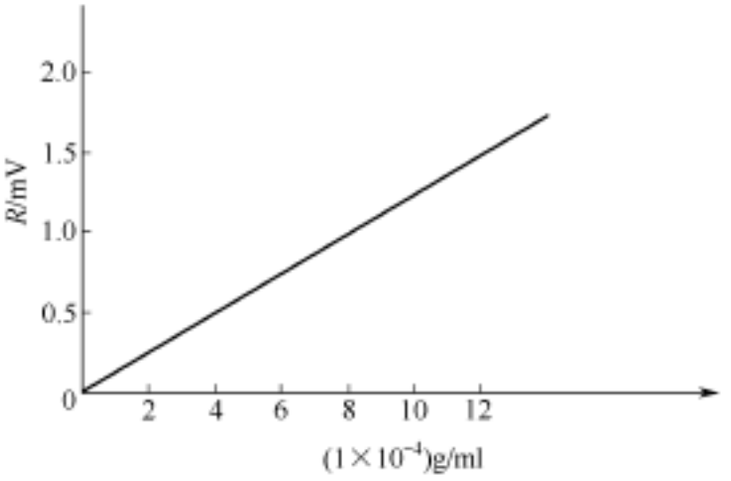


图 4-13　UV/ FL 型紫外/ 荧光分光光度计测试结果图

正确运用双对数曲线法的关键在于:①正确理解比耳定律 $A = \varepsilon bc$ 和在给定仪器上对某一试样而言，$A = f(c)$ 关系，严格掌握比耳定律的应用的极限(Limitations) 和比耳定律应用的理论误差。②严格按照 ASTM 标准溶液法来配制重铬酸钾试样，以尽量减少配样误差对测量结果的影响。③认真选择和严格控制仪器条件，遵守操作规范。

四、线性和准确度的关系

目前，国内许多紫外可见分光光度计的仪器制造厂不给出仪器的线性，只给仪器的准确度。如国外仪器 UV-1601、UV-1700、UV-2450、UV-2550、UV-3400、UV-365、Lambda25、Lambda35、Lambda45 等和国产仪器 752、754、UV-1600、UV-1800、TU-1800 等。作者认为，准确度和线性是两个完全不同的概念。准确度是实验值与真值之差，而线性则是实验点偏离比耳定律直线部分的程度，二者不能混淆。应该指出，准确度一般不能直接反映仪器的线性和线性范围，线性和线性范围一般也不能直接反映仪器的准确度。例如，日本的 UV-365 紫外可见分光光度计给出了仪器的准确度为: ±0.002A (0.5A

时)；±0.004A（1A时），但并未给出仪器的线性。这种表示方法既不能说明0.5A以下仪器的线性。也不能说明0.6～0.9A仪器的线性和1A以上的准确度和线性。因此，这种表示方法是不全面的。而美国的Lambda 1给出了准确度为：±0.002A（0.5A），又给出了线性≤0.05%（在220nm、340nm、370nm处），这种表示方法虽说给出了仪器的线性，但未给出线性范围（LDR），仍然欠妥，但比只给准确度要好一些。LKB的4050和4051紫外可见分光光度计给出了仪器的准确度为±0.002A（1A），又给出了线性范围为±(1.0～2.5)A。这种表示方法仍未给出具体的线性，所以也不全面。在一般情况下，特别对单光束和不带计算机校正线性误差的仪器来说，应同时给出仪器的线性范围、线性和准确度。

第十节　线性动态范围

一、线性动态范围的定义和重要性

紫外可见分光光度计的线性动态范围（Linear Dynanic Range，LDR）如图4-14所示。

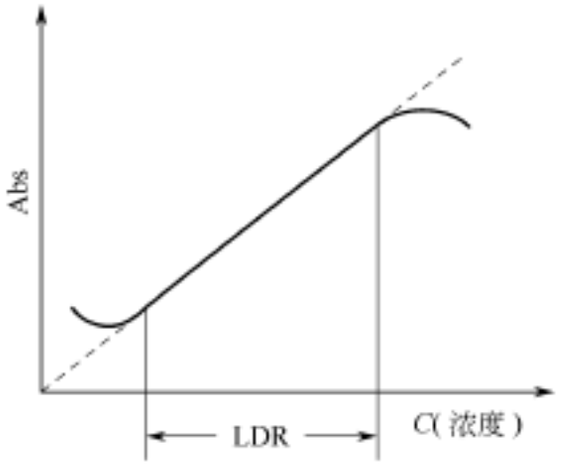


图4-14　紫外可见分光光度计的线性动态范围

作者曾经对北京普析通用公司的TU-1221、TU-1901和国内某公司生产的紫外可见分光光度计的线性动态范围进行了实测，TU-1221、TU-1901的A_{min} = 0.05Abs，A_{max} = 2.2Abs，LDR = A_{max}/ A_{min} = 2.2/ 0.05 = 44；某公司的仪器A_{min} = 0.4Abs，A_{max} = 1.2Abs，LDR = A_{max}/ A_{min} = 1.2/ 0.4 = 3，线性动态范围远比TU-1221、TU-1901的窄。使用者当然愿意要线性动态范围宽的仪器，以便低浓度和高浓度样品都能直接分析。许多进口和国产紫外可见分光光度计都不给出仪器的噪声，因此，不知道仪器的信噪比，自然不知道A_{min}或C_{min}，因此也无法知道其线性动态范围。使用者稍不当心，就可能使用在线性动态范围以外，或者说，使用在非线性区，这样会产生很大的分析测试误差。所以说，不给出仪器的噪声是不对的。

紫外可见分光光度计的线性动态范围取决于仪器的杂散光和噪声。正如本章第三节所述，杂散光是紫外可见分光光度计分析测试误差的主要来源，限制被分析测试样品浓度的上限。国外紫外可见分光光度计的杂散光一般在0.1%以下，大多在10^{-5}～10^{-6}。最好的紫外可见分光光度计仪器已达0.00008%

(如美国 Varian 公司的 Cary500、Cary6000，美国 P-E 公司的 Lambda9、Lambda900 等)。所以，国外的中高档仪器的线性动态范围很宽 (能保证分析样品的浓度很高时，还在线性区内)。国产紫外可见分光光度计的杂散光一般在 0.1%以上，大多在 10^{-3}，但国产最好仪器杂散光可达 0.01% (如北京普析通用公司的 TU-1901 等)。所以，一般国产紫外可见分光光度计的线性动态范围的上限都较小，在分析样品的浓度稍高时，就不能保证仪器工作在线性区内。

本章的第四节所述，噪声也是紫外可见分光光度计误差的主要来源之一，它被分析样品浓度的下限限制。国外许多高档紫外可见分光光度计的光度噪声，最高档的可达±0.0002Abs，所以线性动态范围很宽，当分析的样品的浓度很低时，还可保证在误差范围内。国产紫外可见分光光度计的光度噪声一般都较大。只有北京普析通用公司的 TU-1901 的光度噪声可达到±0.0004Abs，其余国产紫外可见分光光度计的噪声大多在±0.002Abs 左右。因此，国产仪器的线性动态范围一般都较窄，下限浓度较高。

二、线性动态范围的测试方法

线性动态范围的测试方法，一般是配制不同浓度的标准样品 (以数量级递增)，直接在仪器上测试其吸光度。求出偏离比耳定律 1%时的最大吸光度 A_{max} 和最小吸光度 A_{min}。二者相除即是仪器的线性动态范围 $LDR = A_{max}/A_{min}$。其具体操作是：光度测量模式，仪器设置纵坐标为吸光度 A，横坐标为浓度 c，光谱带宽为 2nm，波长设置可以在紫外区 (如要求很高时可设置在 253.7nm)，也可在可见区 (如 500nm)，试样可任选，参考比色皿为试样的溶剂。浓度从小到大，依次对所配试样进行测试。做曲线，从曲线上找出偏离线性在 1%以内的范围。此范围内的 A_{max}/A_{min} 就是线性动态范围。

在日常分析测试工作中，使用者有时不知道自己使用的紫外可见分光光度计的线性动态范围情况，应该如何来判别呢？首先，要看仪器的光度噪声、杂散光是否很大。如果仪器的光度噪声、杂散光都很大，可以肯定它的线性动态范围是很小的。这时，为了知道自己使用仪器的线性动态范围的准确数据，使用者就应该自己对线性动态范围进行实测。

第十一节　分析测试的总误差及其估算方法

A .Primer 研究指出：紫外可见分光光度计的分析总误差为杂散光引起的误差和噪声引起的误差之和。总误差与吸光度误差的理论值关系如图 4-15 所示。

图 4-15 中，杂散光引起的误差随着吸光度值的增大，吸光度误差也增大(负方向)。吸光度值到达 1Abs 时，吸光度误差明显向负方向猛增。噪声引起的误差曲线表明，随着吸光度值的减小，吸光度误差也增大（正方向)。吸光度值小到 0.01Abs 时，误差明显向正方向猛增。

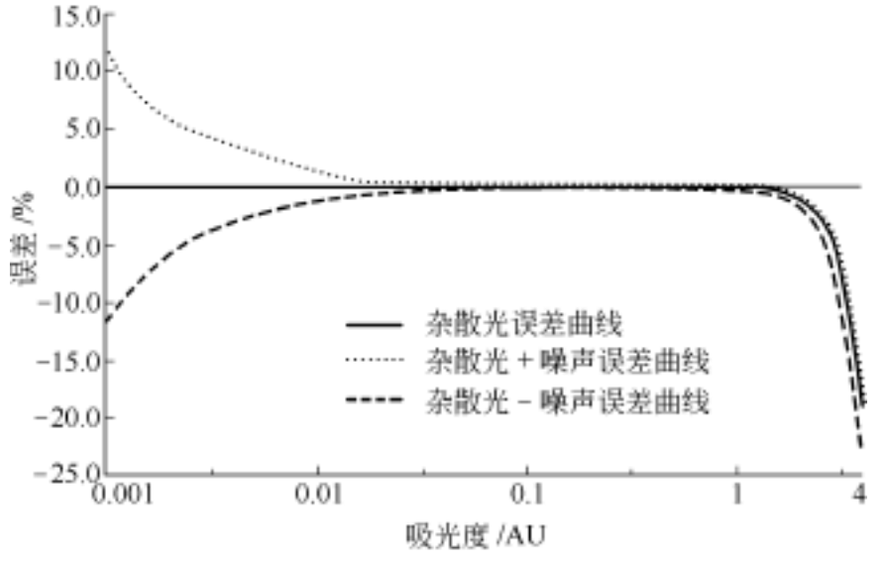


图 4-15　理论吸光度与误差的关系

紫外可见分光光度计分析测试的总误差应是杂散光、噪声、基线平直度、光谱带宽、试样配制和操作引起的误差等多种误差的总和。

作者在使用国产 TU-1901 紫外可见分光光度计的实践中，研究出了一种对紫外可见分光光度计分析测试的总误差（光度准确度）计算方法。以国产 TU-1901 为例，具体作法如下：假设仪器的杂散光为 0.01%T，噪声为±0.0004Abs，基线平直度为±0.0008Abs，分析测试时取光谱带宽为 2nm，则绝对误差的总量 ΔA 为

$$\Delta A = \Delta A_{SL} + \Delta A_{N} + \Delta A_{SBW} + \Delta A_{其他}$$

式中，ΔA_{SL} 为杂散光产生的误差；ΔA_{N} 为噪声（含基线平直度）产生的误差；ΔA_{SBW} 为光谱带宽产生的误差；$\Delta A_{其他}$ 为其他因素（样品配制、前处理、仪器条件选择、操作等）产生的误差。

测试时的实际读数为 $A_{实}$ = 0.600Abs，试样的实际（理论）吸光度值或真值为 A，则分析测试误差可分别计算如下。

杂散光产生的相对误差为：$\frac{(A - 0.600)}{A}$ = 0.00043（查 $A_{实}$ = 0.600Abs 时，SL 与 $\Delta A/A$ 的关系表可得到 $\Delta A/A$ 的值为 0.00043)，由此，可求出 A 的真值为 0.60025Abs。由杂散光产生的绝对误差为 $A - A_{实}$ = 0.60025 - 0.600 = 0.00025（Abs)。由杂散光产生的实际相对误差为 $\Delta A/A = A - A_{实}/A$ = 0.00025/0.60025 = 0.00042。计算结果与理论查表所得结果一致。

由噪声产生的相对误差为 $\Delta A/A = 0.0008/0.6 = 0.00133$，噪声就是绝对误差，所以噪声引起的绝对误差为 0.0004Abs。因噪声（±0.0004Abs）比基线平直度小（±0.0008Abs），所以取基线平直度计算噪声引起的误差。

SBW 为 2nm 时，由 SBW 产生的绝对误差为 $\Delta A = 0.0039$Abs，SBW 产生的相对误差为 $\Delta A/A = 0.0039/0.60025 = 0.0065$。

由杂散光、噪声（BF）、SBW 三者产生的总绝对误差为 $\Delta A = \Delta A_{SL} + \Delta A_N + \Delta A_{SBW} = 0.00025 + 0.0008 + 0.0039 = 0.00495$（Abs），三者产生的总相对误差为 0.00042 + 0.00133 + 0.0065 = 0.00825，即 0.825%。此时还未考虑样品处理时的操作误差，所以，总误差绝对值至少为 0.00495Abs。

三者产生的总相对误差为：0.00042 + 0.00133 + 0.0065 = 0.00825 即 (0.825%)。

但此时还未考虑样品处理时的操作误差，所以，总误差绝对值至少为 0.00495Abs。

根据仪器给出的光度误差为：测量值为 0.5～1.0Abs 时，测试误差为 0.004Abs。所以，该分析测试数据稍微超差。但相对误差在 1.0%以内，所以还是基本符合误差要求。

以上误差计算方法很简单、直观，分析工作者只要根据自己实际测试的数据，结合仪器制造厂给出的仪器技术指标（杂散光、噪声、基线平直度、光谱带宽等），以及分析测试者在样品配制、处理、仪器操作等因素方面的误差，就能准确的计算出自己对某项分析工作的分析误差。

参 考 文 献

1 李昌厚．再论紫外可见分光光度计的关键技术指标．现代科学仪器，1997，(4)：12

2 李昌厚等．光谱仪器波长准确度的测试方法及有关问题的探讨，光学与光谱技术，1985，(2)：39

3 李昌厚．紫外可见分光光度计线性测试的一种新方法．光学仪器，1986．(5)：18

4 李昌厚等．HPLC的线性动态范围测试方法的研究．分析测试技术与仪器，1996，(1)：5

5 M .Winstead．Instrument Check Systems．USA：Greet Britain，1971

6 李昌厚等．略论光谱仪器杂散光测试中的几个有关问题．光学与光谱技术，1985，(4)：42

7 李昌厚等．略论紫外可见分光光度计光度准确度的测试．光学仪器，1994，(5)：41

8 李昌厚等．光谱仪器分辨率的测试及有关问题的探讨．光学与光谱技术，1986，(2)：44

9 李昌厚等．透光度误差与吸光度误差和吸光度真值关系的研究．现代科学仪器，2000，(1)：35

10 李昌厚等．杂散光与吸光度误差和吸光度真值关系的研究．仪器仪表学报，2001，(1)：55

11 Li Chang hou etc．Stady on Relationship among Photometric Nois．Absorbance Error and absorbance Truce Value．International Instrumenlation and Automation（Special Supplement-99 Industrial Instrumenlation and Automation Conference），1999，(4)：257

12 李昌厚等．光栅单色仪杂散光的测试及有关问题的探讨．光学与光谱技术，1984，(2)：34

13 Richard E P．Applid Opties，1964，3 (1)：99～104

14 Wilber, American Laboratory, 1983, 11: 18
15 M .M . Balcom . Transmission Measurements With The Beckman Quartz Spectrophotometer (R . P . 1978), NBS . 1947, (38): 601
16 李昌厚 . 再论 UV/ VISS 的主要技术指标及如何赶超国际先进水平 . 现代科学仪器, 1997, (4): 12
17 李昌厚 . 略论比耳定律及有关问题 . 光学仪器, 1994, (2) 22
18 A .Beer, A .der . Physik . Chemie, 1852, 3 (26): 133
19 Knowles . Practical Absorption Spectrometry . London: Chapaman and Hall, 1984
20 JB, 紫外-可见-近红外分光光度计 (中华人民共和国机械行业标准) . 1992, 5
21 李昌厚 . 论中国分析仪器中的十大关系 . 科学时报 (科学装备周刊 B1 版), 2001, 6, 26
22 李昌厚 . 提高可靠性迈上新台阶 . 科学时报 (科学装备周刊 B1 版), 2000, 11, 12
23 李昌厚 . 一种新型的光电倍增管高压电源的研制 . 电子科学技术, 1984, (1): 2
24 Menierney, J ., and Slavin, Appl . Optics, 1962, (1) 365
25 R .N ., Rand . Practical Spectrophotometric Standards, Clin . Chem ., 1960, (15) 839
26 李昌厚 . 光谱带宽对分析误差影响的研究 . 分析测试技术与仪器, 2004, 10 (2): 65
27 Ludwig Huber . good Laboratory Practice and Current Good Manufacturing Practice (A Primer) . Printed in Germany 10/ 94 . (Hewlett-Packard Publication number 12-5963-2115E), 1994
28 A .J .Owen . The Diode-Array Advantage in UV/ Visible Spectroscopy, Printed in the Federal Republic of Germany 03/ 88, Copyright Hewlett-Packard co . 1988, Publication No . 12-2954-8912, 48～49, 1988
29 张郁弘等 . 晶体管运算放大器及其应用 . 北京: 国防工业出版社, 1978
30 李昌厚 . 一种双端输入的差动线性放大器 . 电子技术应用, 1982, (8): 19
31 李昌厚 . 光电倍增管的主要技术指标及有关问题 . 电子科学技术, 1984, (1): 1
32 李昌厚 . 降低光电倍增管暗电流的几种方法 . 光学仪器, 1984, (3): 29
33 李昌厚等 . PM-2 型光电倍增管高压电源的研制 . 电子科学技术, 1984, (10): 4
34 李昌厚, 孙吟秋 . 光电倍增管暗电流的三种简易测试方法 . 光学仪器, 1988, (1): 43
35 李昌厚, 孙吟秋 . 光电倍增管暗电流等效输入光通量的简易测试方法 . 传感器技术, 1988, (3): 46
36 李昌厚, 孙吟秋 . 略论紫外可见分光光度计对光栅的要求 . 光学仪器, 1989, (4): 44
37 李昌厚, 孙吟秋 . 国产氘灯代替进口氘灯的研究 . 光学仪器, 1993, (2): 26
38 李昌厚等 . 多功能紫外分光检测仪的研制 . 光谱仪器与分析, 1998, (2): 36
39 JJG . 中华人民共和国国家计量检定规程 (JJG 178—1996 . JJG 375—1996)
40 NBS . Standard Mothod of Test for UV/ VIS/ NIR Spectrophotometer, ASTM, E275-83, 1983
41 Tony Owen . Fundamentals of UV-Visible Spectroscopy . Germany: Hewlett-Packard Publication, 1996, 59～60

第五章　仪器的评价和挑选

目前，世界各国政府都很重视分析仪器，许多发达国家都把分析仪器作为国家的支柱产业来发展。国际上的科技工作者更是关心和重视分析仪器。因为科学研究好比打仗，打仗靠武器，科学研究靠仪器。分析仪器是科学研究的眼睛。在当今世界上的各行各业，分析仪器使用非常广泛，它的应用已涉及到科研、教学、工农业生产、人类生活生存的各个角落。真是“农、轻、重、海、陆、空、吃、穿、用”各行各业，无所不在，无所不有的分析工具。科技工作者常讲：分析仪器在工业生产中是“眼睛”、“倍增器”，在高新技术和科学研究领域中是“先行官”，在军事上是“战斗力”。在贸易、工商以至食品、药品和环境卫生等经济生活方面，分析仪器又是最具权威的“法官”。在社会生活的许多方面，如教学、计量、测绘、疾病控制、医疗诊疗、环境监测等，分析仪器都发挥着极其重要的作用。分析仪器的研发和制造水平在一定程度上已成为反映一个国家发达程度的标志。

我国从“九五”开始，对科学仪器就采取攻关的形式予以重视。在第十个五年计划期间，把科学仪器列为国家 29 项重大科技攻关项目之一，分析仪器也就被列为科技攻关的内容，这足以说明我国对分析仪器的重视程度。在“十五”期间，我国的分析仪器科技攻关很有成效。

紫外可见分光光度计是分析仪器最重要的组成部分，是分析仪器中历史最悠久、使用最多、覆盖面最广的一种仪器。它已是光、机、电、计算机四合一体的技术密集的高科技产品，我国高档的科学仪器，如 800 兆核磁共振仪、高档色质联用仪、高档激光拉曼光谱仪、高档 ICP、高档的 X 衍射仪等仪器方面，目前的确与国外还存在较大差距。但在基础仪器、普及型的仪器、常规的分析仪器方面，如紫外可见分光光度计、原子吸收分光光度计、液相色谱、气相色谱等四大基础型、普及型、常规型的分析仪器方面，国产分析仪器基本能满足使用要求，有些仪器已有很大的突破。有些国产分析仪器比国外进口仪器还好。如我国的高档紫外可见分光光度计 TU-1901、TU-1900 和快速紫外可见光谱仪 Pors-15，以及我国的原子吸收分光光度计 TAS-986（具有横向加热石墨炉）、110/ 120（具有富氧技术）等仪器，原子荧光分光光度计等的某些性能都比某些进口的同类仪器好，至少不比某些进口的同类仪器差。特别是在售后服务方面，我国的所有分析仪器都普遍要比进口仪器好。我们要站在整个中华民族的高度，坚决打破“进口仪器总比国产仪器好”的误区。从实

际工作需要出发，正确地评价和挑选分析仪器，保护和促进我国分析仪器工业的发展。

紫外可见分光光度计是分析仪器最重要的组成部分，是分析仪器中历史最悠久、使用最多、覆盖面最广的一种仪器。它已是光、机、电、计算机四合一体的技术密集型的高科技产品。下面着重讨论如何评价和挑选紫外可见分光光度计，但涉及的一些基本观点也作为评价和选择其他分析仪器的参考。

第一节　适　用　性

所谓适用性，就是紫外可见分光光度计能满足使用要求的程度。紫外可见分光光度计适用性的主要内容是由技术指标所决定的。考虑适用性的原则应该是：能满足使用要求，不必苛求。使用紫外可见分光光度计对不同试样进行比对测试时，仪器的波长准确度很重要。但在一般的定量相对测量时，仪器的波长准确度就不是很重要。又如波长重复性，在发表文章时很重要，因为，人家如果重复不了你的数据，有时甚至你自己也重复不了你自己的数据是不行的。还有杂散光，在分析试样较多、浓度较大时就很重要。因为，它限制被分析试样浓度的上限。当杂散光一定时，被测试的试样的浓度越大，分析测试数据偏离比耳定律的程度就越大。所以，在所要求的分析误差一定时，被分析试样浓度的上限就会受到限制。因此，在分析试样品种较多的食品、农业等领域挑选紫外可见分光光度计时，一定要注意挑选杂散光小的仪器。又如光度噪声，它也是分析测试误差的主要来源，且限制被分析试样浓度的下限。在仪器的噪声一定时，被分析测试的试样浓度越低，分析测试的误差就越大。在要求的分析误差一定时，被分析试样浓度的下限就会受到限制。因此，生化、海洋等领域的科技工作者挑选紫外可见分光光度计，就应特别重视光度噪声，要挑选光度噪声小的仪器。

制药行业挑选紫外可见分光光度计，就一定要注重对光谱带宽的挑选。我国和世界各国的药典都明文规定，用于药检的紫外可见分光光度计，其光谱带宽要求为 2nm 以下。固定光谱带宽的仪器不适用于制药行业使用。应该挑选可调光谱带宽的仪器。科研工作也应考虑选择光谱带宽可调的仪器。

在实际工作中，经常看到有人用高档紫外可见分光光度计专作可见光区的分析测试工作。当工作不需要用紫外分光光度计，用一台价格很便宜的可见分光光度计就行了，购买高级的紫外可见分光光度计是一种浪费。还有制药厂，使用国产的 752、754 等紫外可见分光光度计作质量控制，而药典规定，用于药检的紫外可见分光光度计的光谱带宽要求在 2nm 以下，若用光谱带宽≥4nm 的 752、754 等紫外可见分光光度计光谱带宽都在 4nm 以上这也是不对的。关于

光谱带宽对分析误差的影响，在第四章光谱带宽一节中已详细论述，请读者参见有关内容。

第二节　可　靠　性

一、可靠性的定义

分析是获得准确可靠数据的前提。因此，可靠性是挑选紫外可见分光光度计的最重要、最基本要求。

从狭义上讲，可靠性就是指仪器的故障率。仪器的故障率越高，仪器的可靠性就越差。过去，有些学校的教科书中明确提出可靠性设计，但这种可靠性设计只考虑到元器件的寿命、仪器整机的故障率，是一种狭义的可靠性。在现代分析仪器中，如果单从元器件的寿命、仪器整机的故障率来评价仪器的可靠性是很不够的。作者根据自己的长期实践，提出了广义可靠性的问题。

所谓广义可靠性，应从制造和使用紫外可见分光光度计两个不同角度出发，来综合考察与评价紫外可见分光光度计仪器的可靠性，它包括光度准确度、故障率、稳定性及售后服务等内容。

1．光度准确度

毫无疑问，光度准确度是紫外可见分光光度计可靠性最重要的内容。要分析测试的数据可靠性好，就要以紫外可见分光光度计仪器的技术指标来保障，而影响紫外可见分光光度计的分析误差最主要的技术指标是：杂散光、噪声、基线平直度、光谱带宽等。因此，评价或挑选紫外可见分光光度计时，就要认真考虑仪器的这 4 个最关键技术指标。

如果仪器本身由于技术指标的原因有很大的误差，水平再高的分析工作者也不可能得到准确可靠的分析测试数据。当然，也应该看到使用者在配制试样失误，仪器条件的选择不当以及环境不符合要求等因素都会带来的分析测试误差。但仪器技术指标带来的是使用者无法消除的误差。所以，在考察紫外可见分光光度计仪器的可靠性时，对光度准确度应该特别加以重视。

2. 故障率

一台紫外可见分光光度计的故障率很高，它的可靠性肯定不好，肯定不是好仪器。仪器的故障率越小越好。但不能说一台仪器的故障率为 0，不可能保证永远不会出故障。因为，任何现代紫外可见分光光度计都有电子学部分的，任何电子学元器件都有使用失效的浴盆效应。即电子元器件不能无限期的使用而不出故障。一般使用到一定时间后，它会自然失效，会出现频繁的故障。电子学元器件失效的浴盆效应如图 5-1 所示。

图 5-1 中，电子元件失效的浴盆效应的前沿时期，仪器的故障会频繁发

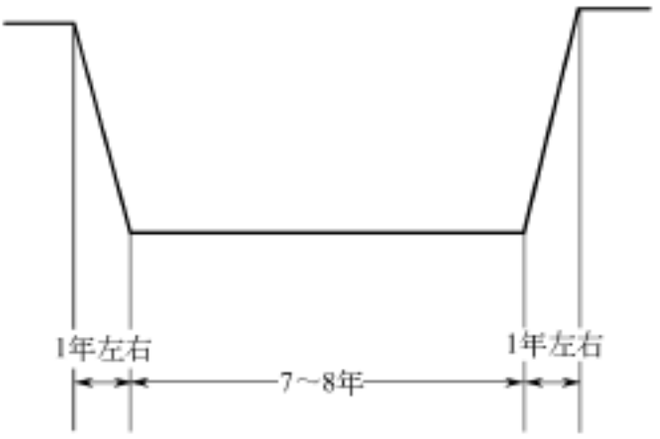


图 5-1　电子学元器件失效的浴盆效应

生。其前沿期大约需要 1 年左右的时间；有些制造商的仪器在出厂前进行较长时间的老化，可以把前沿期提前解决在工厂车间里面，仪器到了用户手里，很快就可进入稳定期。到达电子元器件失效的浴盆效应的盆底时，仪器将非常稳定，这段时间大约是 8 年左右。等到达浴盆效应的后沿期，仪器的故障率又会上升。这段时间大约也是一年多一点。前沿期、稳定期、后沿期 3 者之和为 10 年左右。所以，国外发达国家的分析仪器 10 年就更新，是有理论根据的。仪器到了 10 年就更新，不采取维修办法，而我国或其他一些发展中国家，因为经济原因，电子元件失效的浴盆效应 10 年到期后，再对仪器维修后继续使用，也是正常的。

综上所述，仪器的“0 故障率”是不存在的。只有说仪器的故障率低，其故障率符合电子元件失效的浴盆效应才是正确的。

3. 稳定性

对紫外可见分光光度计稳定性的要求，已在第三章第七节讨论过，此不赘述。

一台紫外可见分光光度计仪器不稳定，就不能满足使用要求。目前，国外有许多紫外可见分光光度计在中国市场卖得很好，仪器的稳定性等各项技术指标也的确很好。但有些国外紫外可见分光光度计仪器的稳定性并不好。特别是漂移问题，有的仪器开机 0. 5h 以后还不能正常工作，基线一直在漂移，很长时间还稳定不下来，这不是好仪器。

总的来讲，国产高档紫外可见分光光度计的稳定性（如北京普析通用公司的 TU-1901、北京第二光学仪器厂的 UV-2100 等），与国外的差距不大。但我国中低档紫外可见分光光度计的稳定性与国外还有明显的差距。因此，使用者在挑选进口或国产紫外可见分光光度计时，应慎重。

售后服务本身虽不是仪器属性，但它是仪器可靠性的重要保证。如果销售商的售后服务好，一旦仪器出现故障，能及时得到维修，保障仪器正常可靠的使用。一般来讲，现代紫外可见分光光度计自动化程度都较高，软件的升级换代是很快的。售后服务好的制造商，他们会免费给用户升级。售后服务不好的制造商，在软件升级后，原软件将停止生产，使用者在升级前买的仪器的软件一旦出现故障，将无法买到配件，售后服务人员也会有所变动，一旦仪器再出现故障，不能获得必要的维修，仪器就无法使用。

目前，有些国内外厂商，售后服务不尽如人意。仪器出现故障后，对使用单位的维修要求置之不理，相当长的时间不派维修人员去现场维修，或者对使用单位提出不合理的要求，有的要求使用者把仪器寄到制造厂去维修，给使用者带来极大的不便；更有甚者是，还有些国外厂商，哄抬仪器易损件和消耗件的价格，如氘灯要比国产的同类氘灯价格高达 10 倍以上，坑害用户。

所以，使用者在挑选紫外可见分光光度计时，一定要特别重视售后服务问题，否则，肯定会给以后仪器正常运行和维修带来严重的后果。我们希望仪器生产厂商认真做好售后服务工作，善待用户，想用户所想，急用户所急，用自己的诚信争取用户。

做好售后服务工作的标准应该如下。

① 响应要快。制造厂接到使用者的报修通知后，要在尽量短的时间里到达仪器现场。目前，国内有的紫外可见分光光度计生产企业，在售后服务上做得很好，他们提出“ 密织网、勤耕耘 ”，在国内每个省都建立联络站，每个省都有售后服务人员，真正做到了响应快。在收到用户报修后，最远的地方一般最迟 3 天到达现场。

② 收费要合理。不能给使用者增加不必要的费用开支。

③ 软件应该免费升级。不能软件一有变化，马上就向用户收钱。

二、影响可靠性的因素

在日常的分析测试工作中，不少分析工作者，往往不会分析判断自己分析测试的数据是否可靠。特别是当有人问及分析测试数据的可靠性时，不敢直接了当的回答。这样的情况，如果出现在质检部门，将会严重影响执法。有时会产生严重后果。即使是在一般的科研工作中，也是不允许的。因此，如何判断分析测试数据的可靠性，是分析工作者要解决的重要问题。

当紫外可见分光光度计的分析测试工作者完成自己的分析测试任务后，如果发现数据有疑问或发现数据不可靠，与文献值、其他仪器分析测试的结果不一致时，应该怎么办？

① 首先要查看自己对仪器条件（如光谱带宽、扫描速度、采样间隔、标尺设置等）的选择是否恰当合理，是否对仪器进行了调零，是否作了基线校正、暗电流校正等。

② 要严格检查影响仪器光度准确度的主要技术指标。如检查仪器的杂散光是否超标，尤其当试样较浓的时候，更要注意对杂散光的检测，因为杂散光是限制被测试试样浓度上限的技术指标。对旧仪器，由于长期使用，会因仪器的光学元件受潮或被污染，使光学性能变坏，信噪比降低，使杂散光变坏，从而影响测试数据的可靠性。检查仪器的光度噪声是否超标，在试样浓度较稀时

更要注意检查噪声。因为噪声是限制被测试试样浓度下限的技术指标。检查仪器的基线平直度是否超标，特别是对旧仪器，由于长期使用，使光栅传动机构受到磨损，会产生波长准确度误差，导致分析测试数据不准。会因仪器的光学元件受潮或污染，使光学性能变坏，信噪比降低，使基线平直度变坏，从而影响测试数据的可靠性。紫外可见分光光度计的基线平直度要比其整机在500nm处的噪声还要重要。

③ 检查比色皿是否被污染。比色皿如果严重污染，有可能出怪峰，将严重影响分析测试结果的可靠性。

④ 认真查看仪器周围有无干扰存在，特别是电、磁场干扰更要重视。震动干扰也应排除，否则得不到可靠的分析测试结果。

⑤ 认真检查试样制备的全过程，查看是否有称样误差，检查量具、试剂等是否符合要求。

⑥ 检查试样是否过期变质，试样是否有光解现象等。

试样的配制和溶剂的选择对分析测试的结果影响很大，如果不注意认真处理，会使测试数据产生误差。

如试样的吸收波长峰值在247nm，将试样溶解在丙酮中，丙酮在330nm处就不透光，当然做不出结果。

在日常分析测试工作中，经常有人提出检测紫外可见分光光度计时，不知是使用液体标准试样好，还是使用固体标准片好。实际上，二者各有优劣。使用固体标准片时，一是比较方便，便于携带，并且保存时间长；二是可避免配制标准试样时人为的操作误差。但它的价格比较贵。使用液体标准试样时，配制试样比较麻烦，不容易长期保存，而且有可能引入人为的操作误差，但它的价格较低。所以，不能简单地讲何者好何者不好。

第三节　智能性（自动化）

所谓智能性，就是指紫外可见分光光度计的自动化程度。目前，国际上紫外可见分光光度计的智能性发展程度，可以用八个字来概括，即赏心悦目、眼花缭乱。很多紫外可见分光光度计的自动化程度很高，甚至具有部分智能化的功能，从仪器开机，到分析结果的打印，全部由计算机自动完成。国内外的高档紫外可见分光光度计，一般都能做到开机后，仪器都能全方位的自检，哪个部件工作不正常或出现了故障，计算机会清清楚楚地告诉使用者。这样，既可保证仪器不会带病工作、便于及时维修，又可保证仪器工作在最佳状态。

紫外可见分光光度计的自动化程度越高越好。自动化程度越高，就越能保证仪器工作在最佳工作状态，避免人为操作误差，保证仪器分析测试结果的可

靠性。目前，国外生产的紫外可见分光光度计，自动化程度都较高。特别是发达国家生产的紫外可见分光光度计自动化程度更高。例如，美国的 P-E 公司、Varian 公司等生产的仪器。国产的紫外可见分光光度计，有的自动化程度较高，如北京普析通用公司、北京第二光学仪器厂、上海分析仪器厂等生产的紫外可见分光光度计。但有些紫外可见分光光度计，自动化程度并不高，如 751、752、753、754、755 等紫外可见分光光度计。可见分光光度计如 721、724、727 等自动化程度都较低。

紫外可见分光光度计的自动化程度，与计算机的普及有关。在 20 世纪 80 年代以前，由于我国的计算机还未普及，国产的紫外可见分光光度计自动化程度都不高。特别是 1982 年以前，我国生产的紫外可见分光光度计基本上不带计算机或带计算机的仪器很少。但是，近十几年来，由于我国计算机水平的不断提高、计算机应用的不断普及，我国新开发的紫外可见分光光度计基本上都带有计算机，自动化程度也在不断提高。

提高紫外可见分光光度计的自动化程度是国际潮流，是发展方向。自动化程度高，仪器开机会自检，一方面可保证仪器工作在最佳状态，保证仪器分析测试结果的可靠性。另一方面仪器在自检时还能尽早发现故障，把故障消灭在萌芽状态，会减少仪器的故障率，保证仪器的正常工作。同时，降低操作者的劳动强度，可以省时、省事。因此，在评价或挑选紫外可见分光光度计时，一定要重视自动化程度。

第四节　经　济　性

一、经济性的内容

紫外可见分光光度计的经济性，是指的仪器要物美价廉。日常工作中，经常听到有人在对进口仪器和国产仪器作比较时说某进口紫外可见分光光度计非常好，它的光度准确度如何高、杂散光和光度噪声如何小、自动化程度多么高、适用性如何强等，但就是不说那台仪器的价格。性能优秀的仪器固然是好仪器，那些常规的、普及型的紫外可见分光光度计的技术指标和自动化程度不是很高。在比较仪器时，不能只比质量指标，而不比价格。将 10 万美元一台(附件配齐) 的世界上最高级的 P-E 公司的 Lambda900 紫外可见分光光度计、Varian 公司的 Cary6000 紫外可见分光光度计的质量，与我国 6 万～7 万元人民币一台的 TU-1901 紫外可见分光光度计的质量相比较，将几十万元人民币一台的紫外可见分光光度计的质量与我国 1 万多元人民币一台的 751 紫外可见分光光度计的质量相比较。

在比较仪器时，要从实际工作需要出发，既要比质量，又要比价格。

二、经济性的评估

比较两台同类仪器时，应该比它们的性能价格比、功能价格比、质量价格比。经济性应该是指的全方位的经济性。要比较紫外可见分光光度计的优劣时，要考虑多种因素，主要从以下 4 个方面来看。

1. 性能（技术指标）价格比

一台紫外可见分光光度计的技术指标很优秀，价格又便宜，说它的性能价格比高，是一台好仪器。一台紫外可见分光光度计，技术指标很差，无法使用，无论其价格多么便宜，也是没有用的，绝不是好仪器。如果一台紫外可见分光光度计，虽说技术指标很好，但是其价格昂贵，性价比不高，也未必是使用者所需要的“好仪器”。

2. 功能价格比

一台仪器功能齐全，自动化程度很高，价格便宜，说它的功能价格比高，是一台好仪器；如果一台仪器自动化程度很低，全依靠人工用手操作很不方便，也难于保证仪器工作在最佳状态和分析测试结果的可靠性，这种仪器即使价格很便宜，也不能说是好仪器。

3. 使用成本价格比

使用和维护成本低，亦是评价仪器经济性的重要内容。要考虑仪器的日常维护和消耗费用，做一个样品，需要的成本太高，显然是不划算的。维护费过高，对经常维护和保证仪器正常运行都是不利的。

4. 仪器的质量价格比

在比较两台同类型的紫外可见分光光度计的好坏时，应该首先看它们的质量。如果两台仪器中的一台，价格很便宜，质量也很好，即质量价格比高。而另一台仪器的质量也很好，但价格贵，即质量价格比低，当然是质量价格比高的仪器好。反之，如果一台仪器的质量不好，但是其价格很便宜，即质量价格比不高；而另一台仪器的质量很好，但是其价格不便宜，即质量价格比也不高，当然是质量好的仪器好。

因此，在评价或挑选紫外可见分光光度计时，一定综合考虑各方面的因素。总之一句话，要物美价廉。要同质比价，同价比质，要考虑全方位的经济性。

第五节　美　学　性

美学性是指紫外可见分光光度计仪器的外形是否美观。仪器的外形美观，会给人以文明、舒适、新鲜的感觉。会使人感到在使用一台很漂亮的仪器时，自己是处在一个很优美的环境下工作，这对分析工作本身都是有益的。仪器的

外形美观，会使人对它更倍加爱护、维护和保养，这对延长仪器的使用寿命也是有益的。一般来讲，紫外可见分光光度计仪器的外形要色调和谐、美观大方。也就是说，要求仪器的外形要漂亮。目前，国际上紫外可见分光光度计仪器的美学性，很多紫外可见分光光度计美观大方。一般来讲，美国、日本等国家生产的紫外可见分光光度计，比较讲究美学性，如 P-E 公司、Varian 公司、岛津公司等生产的紫外可见分光光度计外形比较美观。但是，前苏联及东欧(如德国、罗马尼亚等) 等国家生产的紫外可见分光光度计，外形并不大好看，而且都显得很笨重。而我国过去学前苏联较多，所以，在过去的较长时间里，对分析仪器的外形也不大重视，仪器外形不好看。在改革开放以后，国产分析仪器外形设计开始引起重视，特别是近 10 多年来，国产紫外可见分光光度计仪器的外形有很大改观。目前，国产紫外可见分光光度计仪器已经非常美观；外形优美流畅、色调和谐、美观大方。如我国北京普析通用公司、北京第二光学仪器厂、上海分析仪器厂、上海棱光仪器公司、上海光谱公司等生产的紫外可见分光光度计，有的很美观，与国外基本上没有太大的差距。目前，我国许多的生产厂商，都很重视仪器的外形设计，请专业设计公司对仪器进行改造设计，在工业化改造中，采用 CAD 设计，有的仪器很具有人性化，外形很美观。

第六节　工　艺　性

工艺性是指全方位的工艺性，包括紫外可见分光光度计的制造工艺、安装工艺、维修工艺和使用工艺。它是指全方位的工艺性，既有与制造有关的工艺问题，又有与使用有关的工艺问题。本节将重点具体讨论与用户有关的工艺性问题。

1. 制造工艺

制造工艺是紫外可见分光光度计产品质量的保证。紫外可见分光光度计是光学、机械学、电子学、计算机四合一体的、技术密集的高科技产品，制造工艺就显得更加重要。如果一个制造厂的厂房狭小、设备简陋，没有成熟的制造工艺，就不可能生产优质的仪器。因此，使用者在挑选仪器时，应该对生产厂进行考察。特别是对厂房、设备、制造工艺和人员更要认真考察。往往有些小型的紫外可见分光光度计制造厂人员较少，由于资金严重缺乏，没有合适的厂房，没有好的加工设备，也没有成熟的加工工艺、调试工艺，完全是小作坊式的生产，不可能搞铸塑件，仪器的外壳全都是用手工敲打出来的。因此，要保证产品质量是很困难的。特别是整机调试时，调试环境和测试设备很差，不可能调试出高质量的紫外可见分光光度计。

2. 安装工艺

安装工艺指的是安装工作要保证安全、简单，保证不会出现损坏仪器的问题。特别是仪器安装时，要绝对保证不会因为仪器设计等原因引起仪器以外的其他问题，如火灾、人身安全等问题。一般从国外发达国家进口的仪器，安装时不大会出问题。在安装调试时，仪器的各种插头和插座之间，不存在插头插错的问题；一般如果插进去了，就是对的，不会因为插头插错而烧坏仪器或引起火灾。目前，在国产紫外可见分光光度计中，也有类似国外的仪器，安装也是比较方便的。但有些国产紫外可见分光光度计，许多插头、插座的形状和大小基本相同，上面标虽有编号。稍不注意，就可能插错，轻者仪器不能正常运转，重者会发生烧坏仪器的事故，甚至引起火灾。特别是有些仪器的输入输出插头从外形上看完全一样，而实际上，输入是 220V 交流电，输出是 2V 以下的直流信号。如果插错，后果非常严重。

安装工作要求简单。最好是仪器的各个部分以部件形式出现（或者叫积木式形式出现），以便于安装。如果紫外可见分光光度计仪器的零部件全部以分立形式出现，就会给安装工作带来很大的麻烦。并且，许多部件最好尽量在制造厂就装好，整机运到用户那里后，需要重新安装的部件越少越好。

3. 维修工艺

任何紫外可见分光光度计，不管高档或低档，都不可能不出故障，问题是一旦出现故障，要便于维修。因此，仪器的维修工艺很重要。有些仪器维修时拆卸很不方便、寻找故障非常困难，有些仪器要打开后盖取出变压器，非常麻烦。如果要换氘灯（易损件），则还要调试光路，因为这些仪器的氘灯不带插头，只带有三根引线。而一般从事分析工作的科技人员，大多是学分析化学的，不会调光路，这给使用者造成很大的不便。

许多国外的紫外可见分光光度计，在印刷电路板上，都给出测试点，特别是在印刷电路板上的一些关键电压数值的地方，都给出测试柱。使用者在维修仪器时，测试起来非常方便。而国产紫外可见分光光度计一般都很少给出测试柱，使用者维修时检测各处的电压很不方便。特别是有的仪器，印刷电路板的设计很不合理，使用者很难测试有关测试点的电压。因此，在评价或挑选紫外可见分光光度计时，要看仪器的维修是否方便。

4. 使用工艺

这里所讲的使用工艺，是指紫外可见分光光度计的使用操作要简单方便、计算机界面要“友好”。有些进口仪器，操作较为简单、带有中文菜单，简单明了。国外生产的紫外可见分光光度计中，在仪器的软件设计上很具有“人性化”，从自动化控制、计算、数据处理等，到操作界面、键盘等，各个方面都

给人以舒适的感觉，如美国 P-E 公司的 Lambda900、Varian 公司的 Cary6000 等紫外可见分光光度计就是如此。但是，有些国产仪器，软件设计不合理，操作很麻烦。特别是有的低档国产可见分光光度计仪器，将计算机界面设计成英文，无意中给有些使用者带来麻烦。更有不少国产仪器不带计算机，如我国的 75 系列中好多仪器没有计算机，如 752、754 紫外可见分光光度计等，使用都不方便。

参 考 文 献

1 李昌厚．论中国分析仪器中的十大关系．科学时报（科学装备周刊 B1 版），2001，6，26

2 李昌厚．提高可靠性迈上新台阶．科学时报（科学装备周刊 B1 版），2000，11，12

3 李昌厚．略论紫外可见分光光度计的光度准确度．光谱仪器与分析，2001，(2)：17

4 李昌厚．再论紫外可见分光光度计的关键技术指标．现代科学仪器，1997，(4)：12

5 李昌厚．再论 UV/ VIS 的主要技术指标及任何赶超国际先进水平．现代科学仪器，1997，(4)：12

6 R. J. Jarnutowski et al. (Beckman), Technical Information (Selecting a Spectrophotometer—— How to Evaluate a Spectrophotometer) . New York: Beekman, 1989

第六章　如何选择仪器及有关的最佳条件

如何选择紫外可见分光光度计的最佳分析条件，是用好仪器的关键。本章将根据作者的长期实践，对如何用好紫外可见分光光度计进行讨论。

第一节　溶剂的选择

要用好紫外可见分光光度计，认真选择溶剂是非常重要的。因为，同一种物质，溶解在不同的溶剂中，会有不同的分析测试结果。如图 6-1 所示，在完全相同的测试条件下，碘溶解在四氯化碳中，测试结果的谱图如图 6-1 中的“1”所示。如果将碘溶解在乙醇中，测试结果的谱图如图 6-1 中的“2”所示。同样是碘，溶解在不同溶剂中，测试结果却完全不同。

如图 6-2 所示，4-(间-甲苯基偶氮)-1-萘酚，分别溶解在己烷、苯、氯仿、乙酸四种不同溶剂中，测试结果也完全不同。

许多有机溶剂，它们对光的吸收，各有自己不同的截止波长（最短可用波长)。如丙酮对 330nm 以下的所有波长全部吸收。也就是说，丙酮的最短可用

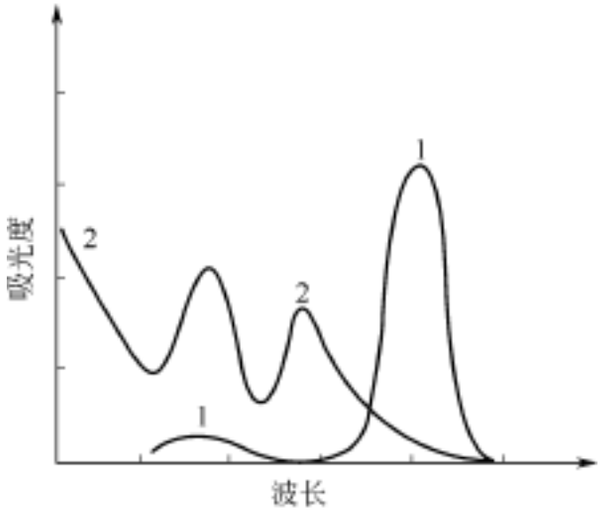


图 6-1　碘在不同溶剂中的吸收光谱
1—四氯化碳；2—乙醇

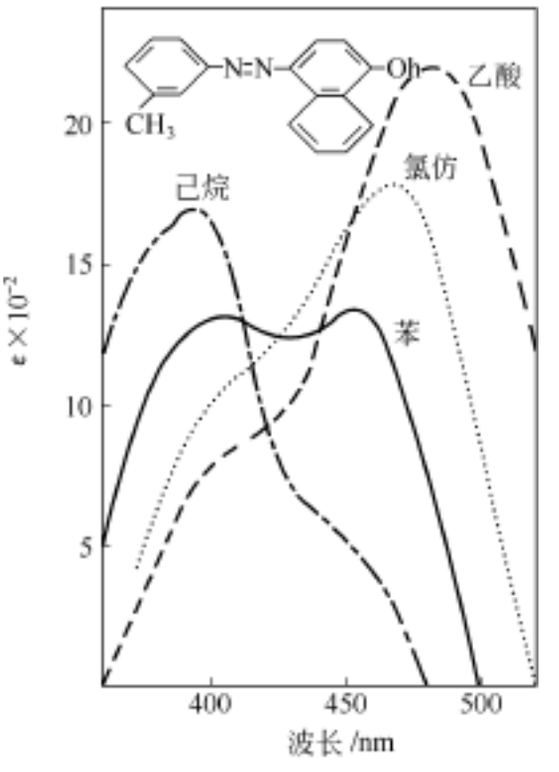


图 6-2　4-(间-甲苯基偶氮)-1-萘酚
在各种溶剂中的吸收光谱

波长为 330nm。如果样品的吸收峰小于 330nm，是不能用丙酮作溶剂的。又如正己烷的截止波长为 220nm，如果样品的吸收峰在 220nm 以下，就不能用正己烷作溶剂。否则，样品的吸收峰检测不出来，导致分析工作失败。

同样，表 6-1 和表 6-2 中的很多溶剂，在选用时都是值得慎重考虑的。表中列出的溶剂，都是作者在工作中积累的。但是，因溶剂、仪器条件、操作人员不同，可能有些溶剂的最短可用波长与其他文献略有差异，仅供读者参考。

表 6-1　紫外区常用溶剂的最短可用波长

溶　　剂	二硫化碳	丙酮	吡啶	四氯乙烯	甲苯	苯	二甲替甲酰胺	四氯化碳
最短可用波长/ nm	380	330	305	290	285	280	270	265
溶　　剂	甲酸甲酯	乙酸乙酯	乙酸正丁酯	氯仿	二氯甲烷	1,2-二氧乙烷	甘油	乙醚
最短可用波长/ nm	260	260	260	245	235	230	220	220

表 6-2　紫外区常用溶剂的最短可用波长

溶　　剂	乙腈	正己烷	对二氧六环	2,2,4-三甲戊烷	异丙醇	乙醇	96%硫酸
最短可用波长/ nm	215	220	220	215	210	210	210
溶　　剂	甲醇	甲基环己烷	正丁烷	环己烷	异辛烷	水	
最短可用波长/ nm	210	210	210	< 210	< 210	< 210	

第二节　分析波长选择

因为同一物质，不同的测试波长有不同的摩尔吸光系数，即有不同的灵敏度。所以，测试波长的选择，涉及到分析测试结果的灵敏度和可靠性。因此，一定要重视高度重视测试波长的选择。

选择测试波长的原则是根据试样的吸收光谱，选择最大吸收波长作为测试波长。原因如下：

① 最大吸收波长处摩尔吸光系数 ε 值最大时，分析测试的灵敏度最高。

② 吸光度绝对误差 ΔA 变化最小（见图 6-3）。

在图 6-3 中，取 $\Delta\lambda_1 = \Delta\lambda_2$，若选择左边斜肩处的某点处作为测试

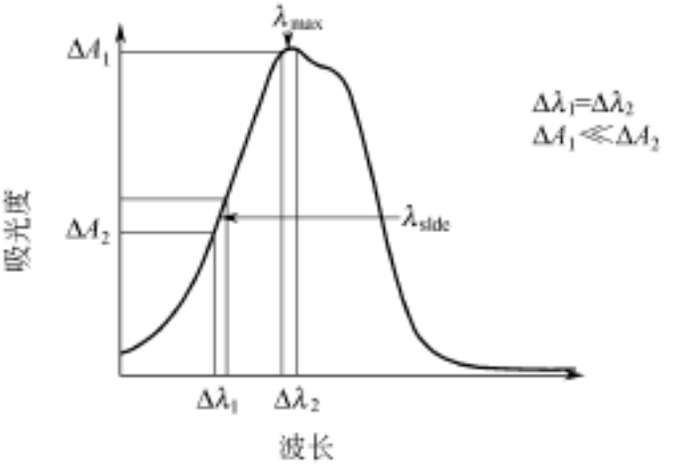


图 6-3　最大吸收波长的选择

波长，则 $\Delta\lambda_1$ 所对应的吸光度差值为 ΔA_2。若选择最大吸收峰处作为测试波长，则 $\Delta\lambda_2$ 所对应的吸光度差值为 ΔA_1。显而易见，$\Delta A_1 \neq \Delta A_2$，说明在相同的 $\Delta\lambda$ 下，由于测试时波长位置不同，测试结果的吸光度绝对误差 ΔA 变化的大小也不同。所以，要选择最大吸收波长作为测试波长。

第三节　吸光度范围选择

根据比尔定律，吸光度与试样浓度成正比，在不同的吸光度（Absorbance，Abs）范围内测量，可引起不同的误差。分析工作者应予高度重视。分析样品浓度太低或浓度太高，吸光度值超越了合适的范围，都不会得到满意的结果。应使被分析样品的吸光度范围控制在一个合理的范围内。

试样浓度不能太低，吸光度不能太小，信号过小，光度噪声的影响较大，使仪器的信噪比下降，被测试的试样浓度下限增高和分析误差增大，如测试黄曲霉素，因仪器的噪声太大，测试数据从 0.4Abs 开始就超过 1%的相对误差。当光度噪声大到一定程度、吸光度小到一定程度时，吸光度就根本不与样品的浓度成正比。甚至会产生试样浓度变稀时，吸光度值反而增大（噪声所致），以致无法得到稳定的测量数据。在常规分析时，对大多数试样浓度大多取 10～100μg/ml，相当 0.3～0.7Abs 左右为最佳。

试样也不能太浓，吸光度也不能太大，如果试样的吸光度太大，因为杂散光的原因，使分析测试结果严重偏离比耳定律，可能会使分析误差增大。甚至会产生试样浓度增大时，吸光度值反而减小等反常现象。杂散光可能使分析测试结果的数据偏小，也可能偏大；若测试波长以外的杂散光被试样吸收则测量数据偏小，若测试波长杂散光不被试样吸收则测量数据偏大。

在试样量允许时，试样应选择靠近最佳吸光度值（0.434Abs）的浓度。从理论上讲，吸光度值为最佳值 0.434Abs 时，分析误差最小。如果被测试样太浓时，应向靠近 0.434Abs 的方向稀释。在不同的吸光度上测试，相对误差和绝对误差都不同。按照目前国际上一般高档紫外可见分光光度计给出的 $\Delta T = \pm 0.3\%$ T，笔者测试的结果见表 6-3。测试在不同浓度或不同吸光度的相对误差列于表 6-4。

表 6-3　吸光度对测试误差的影响

A(T%)	ΔA/ Abs	ΔA/ A
0.1(74.9%)	±0.0016	0.016
0.5(31.6%)	±0.0041	0.0082
1.0(10%)	±0.013	0.013

表 6-4　不同浓度或不同吸光度的相对误差

T %	A	ΔC/C×100%			
		ΔT=0.5%T	ΔT=0.3%T	ΔT=0.1%T	ΔT=0.08%T
99.0	0.0044	50.2180	30.1308	10.0436	8.0349
95.0	0.0223	10.2540	6.1524	2.0508	1.6406
90.0	0.0458	5.2693	3.1616	1.0539	0.8431
85.0	0.0706	3.6170	2.1702	0.7234	0.5787
80.0	0.0969	2.7990	1.6794	0.5598	0.4478
70.0	0.1549	2.0013	1.2008	0.4003	0.3202
60.0	0.2218	1.6302	0.9781	0.3260	0.2608
50.0	0.3010	1.4417	0.8650	0.2883	0.2307
40.0	0.3979	1.3633	0.8180	0.2727	0.2181
36.8	0.4342	1.3582	0.8149	0.2716	0.2173
30.0	0.5229	1.3834	0.8300	0.2767	0.2213
20.0	0.6990	1.5523	0.9314	0.3105	0.2484
10.0	1.0000	2.1700	1.3020	0.4340	0.3472
5.0	1.3010	3.3358	2.0015	0.6672	0.5337
3.0	1.5229	4.7498	2.8499	0.9500	0.7600
2.0	1.6990	6.3862	3.8317	1.2772	1.0218
1.0	2.0000	10.8500	6.5100	2.1700	1.7360

注：$\Delta C/C=[0.434/(T\times\lg T)]\times\Delta T$。

第四节　光谱带宽的选择

光谱带宽（Spectu Band width）及其重要，已在第三章第六节作过详细讨论，此不赘述。

光谱带宽是紫外可见分光光度计主要分析误差的来源。作者曾研究光谱带宽对测试青霉素钠、青霉素钾分析误差的影响，我国药典规定对青霉素钠、青霉素钾的分析测试用 1nm 光谱带宽。测试同一种浓度的青霉素钠；用 2nm、1nm、1nm 和 0.2nm 光谱带宽测试时，吸光度值分别为 0.805Abs、0.825Abs、0.865Abs 和 0.823Abs。0.3nm 光谱带宽测试时吸光度值最大。2nm 光谱带宽测试的吸光度值比 0.3nm 光谱带宽测试的吸光度值小 0.060Abs；1nm 光谱带宽测试的吸光度值比 0.3nm 光谱带宽测试时吸光度值小 0.04Abs，说明 0.3nm 光谱带宽是最佳光谱带宽。在 2nm、1nm、1nm 和

0.2nm 光谱带宽测试时的吸光度值和在 0.3nm 光谱带宽测试时的吸光度值绝对误差 ΔA 分别为 0.06Abs、0.040Abs 和 0.042Abs，相对误差为 $\Delta A/A$ 分别为 0.06/0.865 = 0.69(6.9%)、0.04/0.865 = 0.046(4.6%) 和 0.042/0.865 = 0.049(4.9%)。由此可见，光谱带宽的重要性。但是，在实际工作中，有不少科技工作者不太重视光谱带宽问题；如某制药厂采用光谱带宽为 5nm 的进口紫外可见分光光度计作为质检仪器。而各国药典规定用于药品检验的仪器进行药品检验，其测试误差为 3%。而药典规定要求很多药品检验的分析误差在 1%以内，显然不符合要求。

因为不同的光谱带宽对同一种药品进行分析测试，有不同的误差，所以，不同行业、应对光谱带宽有不同的要求。因此，使用者应根据分析工作的误差要求来选取不同的光谱带宽。特别是制药行业、科研工作或要求较高的使用者，更应如此。

不同的试样要求用不同的光谱带宽来分析，应该选择最佳或靠近最佳的光谱带宽来分析，才能得到最佳分析结果。光谱带宽不能过大或过小。选择光谱带宽度方法是，在一定实验条件下测试吸光度随光谱带宽度变化，以获得最大吸光度值的光谱带宽作为欲选择的光谱带宽。前面谈到的测试同一浓度的青霉素钠、青霉素钾的例子，0.3nm 光谱带宽是最佳光谱带宽，比 0.3nm 大和小的光谱带宽，测试的吸光度值都比 0.3nm 光谱带宽的小。

第五节　线性动态范围的确定

动态线性范围是仪器响应值与被测定量之间呈线性关系的区间。可以用仪器响应值或被测定量值的高端值与低端值之差来分别表征仪器和被测定量的线性动态范围。也可用两者高端值与低端值之比来分别表示仪器或被测定量的线性动态范围。GB/T 13966—92《分析仪器术语》中指出：线性范围是仪器的输出与输入保持线性的输入量的范围。也可以用该范围的最大值与最小值之比来表示。

国外有科技工作者如 A. J. Owen 等，对紫外分光光度计的线性动态范围进行了研究。指出仪器的动态范围在高吸收时受杂散光的影响，而在低吸收时受噪声的限制，用最大与最小吸收值的比率 LDR 评价线性动态范围，通过在 1%准确度、并假定线性校正条件下测定吸光度值来获得 LDR。研究结果表明，仪器的线性动态范围可以通过减少杂散光及降低仪器噪声水平加以拓宽。在一般的杂散光及噪声水平下，通过减少噪声比减少杂散光往往更为有效。例如，杂散光减少 10 倍，从 0.01%减少到 0.001%，动态范围增加约 45%，而减少 10 倍噪声，可以使动态范围增加 10 倍。噪声和杂散光对动态范围影响的

大小见图 6-4。

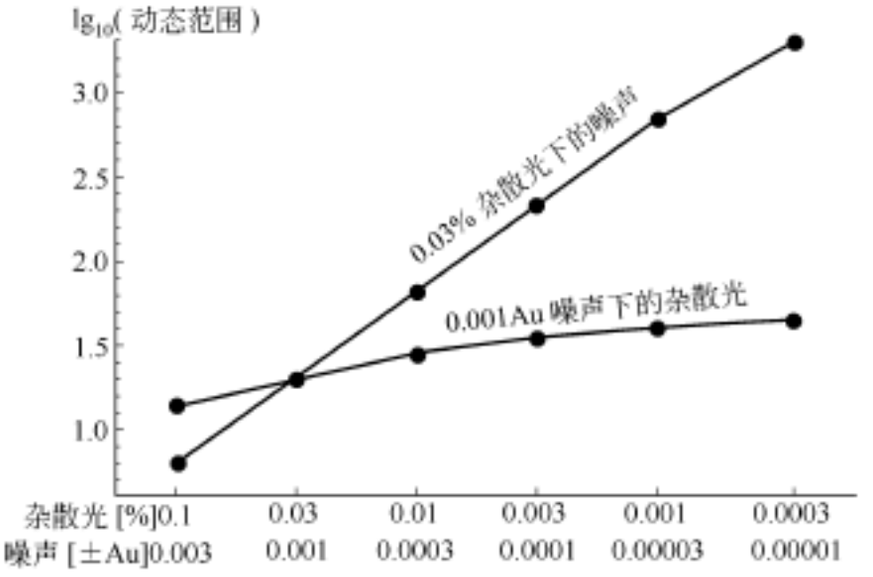


图 6-4　噪声和杂散光对动态范围的影响

由此可见，在低浓度和高浓度（或小吸光度和大吸光度）时，A_{min} 和 A_{max} 对 LDR 影响的权重是不同的。但目前紫外分析工作者用 LDR 来衡量仪器线性动态范围的还不多。

第六节　注意防止试样的光解

所谓光解是指试样在紫外光的照射下发生化学反应。试样的光解是从事紫外可见分光光度计的分析工作者经常会碰到的一个棘手问题。许多使用者，特别是年轻的分析测试工作者，因为缺乏经验，往往碰到试样的光解时不会判断，反而认为是仪器不好，去找仪器的问题。如某制药厂生产酞丁胺，他们在用紫外可见分光光度计作质量检验时，将酞丁胺溶解在 50% 酒精中，测试波长选为 347nm，发现结果很不稳定。他们每隔半小时测试一次，经过几天的测试，数据始终在波动（始终向偏小的方向变化），根本无法稳定下来。因此，他们开始怀疑仪器有问题。但经过制造厂的检修，仪器完全正常。最后，发现是试样产生了光解，即在 347nm 的紫外光的照射下，试样因为产生光化学反应，浓度一直在变化。因此，测试数据根本无法稳定下来。

有些维生素类的药物也会有光解现象，检测时也要予以注意。

判断被测试样有光解现象首先要看测试数据的变化规律，对同一个试样多次测量，看其吸光度值是否都是向同一个方向变化，如在多次测试中，吸光度值从第一次到最后一次测试的数据都是一直减小或一直增大，这就可能是光解现象所引起的。或者将试样倒进比色皿中，放在比色皿架上，盖好样品室盖，

作一次测试后，不要把试样取出来，而将样品室的光路用文献卡片挡住，待半小时后取去文献卡，再重复测试多次。如果试样没有光解特性，其测试的数据就不会有变化。如果在多次测试中，每次测试的吸光度值都有变化，有时增大，有时减小，就可以肯定不是光解所致，应另找引起测试数据不稳定的原因。

如果发现被测试样有光解特性，一般可以采用两种方法处理：其一，把试样存放在棕色瓶中。因为棕色瓶不透紫外光，所以，可以防止试样光解。其二，将存放试样的瓶子，用黑纸包住，也同样可防止试样光解。这两种方法，都可以有效地防止试样光解。

第七节　比色皿的沾污问题

一、重视比色皿的沾污问题的重要性（对分析测试误差的影响）

在日常的分析工作中，许多科技工作者往往不大重视紫外可见分光光度计比色皿的沾污问题。其实，比色皿沾污会严重影响分析测试的误差（此问题在本书的第二章第五节已有详细讨论，此不赘述）。

二、鉴别比色皿被沾污的方法

如何鉴别比色皿是否被沾污呢？这也是许多年轻的分析工作者会经常碰到的一个棘手问题。鉴别比色皿是否被沾污，一般有以下方法。

（一）肉眼观察比色皿的通光面

肉眼观察比色皿的通光面，主要是查看比色皿的通光面上有无污点。如果有污点，就应清除掉，可用高级擦镜纸、软的黄鼠狼毛笔等柔软的物质擦洗。

（二）查看仪器是否出怪峰

如果仪器莫名其妙地出一些怪峰，经过检查，仪器又没有故障，就基本上可以判断是比色皿沾污所致。

（三）认真查看试样

如果分析测试数据不稳或不准，应先查看仪器是否用来分析过特浓或黏着力很强的试样；同时检查试样本身有无问题。如果仪器在近期作过特浓或黏着力很强的试样，而仪器没有故障，就有可能是比色皿沾污。如果是试样本身的问题，就应认真解决。

三、如何解决比色皿沾污的问题

当发现紫外可见分光光度计的比色皿被沾污，一般有以下两种解决方法。

(一) 用洗液清洗

当发现比色皿被沾污时，可以用洗液清洗。但有些比色皿被沾污用洗液清洗是解决不了问题的，如比色皿被黏着力很强的物质（如木质素）或特浓的试样沾污，并且凝结在比色皿的通光面上，用洗液清洗是不行的。

(二) 用超声波清洗

当发现比色皿被沾污时，可用 20W 的玻璃仪器清洗超声波超洗半小时，一般都能解决问题。但是要特别注意，不能用大功率超声波来清洗比色皿，否则会损坏比色皿。

此外，还应特别注意的是，不能用金属棒或硬的木棒（如牙签等）重擦比色皿，否则，也会损坏比色皿的通光面。还不能用易掉毛的工具（如劣质纸、劣质棉花等）擦拭比色皿的受光面，否则，细毛掉在比色皿的受光面上，也会影响分析测试数据的可靠性。

参 考 文 献

1 陈国珍等．紫外-可见光分光光度法，北京：原子能出版社，1983

2 Yoh-Han Pao．Optoacoustic Spectroscopy and Detection．New York：Academic Press，1977

3 C. N. R. Rao．Ultra-Violet and Visible Spectroscopy．London：Butterworth，1961

4 黄君礼等．紫外吸收光谱法及其应用，北京：中国科学技术出版社，1992

5 E. disbury．J. R. Practical Hints on Absorption Spectrometry UV/ Visible．New York：Plenum Press，1967

6 Shimadzu．Technical Data Sheet，1970，(1)：7

7 李昌厚．紫外可见分光光度计线性测试的一种新方法．光学仪器，1986，(5)：18

8 T. Owen．Fundamentals of UV-Visible Spectroscopy．Germany：Hewlett-Packard Company，1996．

9 李昌厚．杂散光与吸光度误差和吸光度真值关系的研究．仪器仪表学报，2001，(1)：54

10 李昌厚．光谱带宽对分析误差影响的研究．分析测试技术与仪器，2004，10 (2)：65～67

11 A. J. Owen．The Diode-Array Advantage in UV/ Visible Spectroscopy．Germany：Federal Republic，1988．48～49

第七章　紫外可见分光光度计的应用

紫外可见分光光度计是一种应用很广的分析仪器。当前已成为全世界使用最多、覆盖应用面最广的分析仪器。它的应用领域涉及制药、医疗卫生、化学化工、环保、地质、机械、冶金、石油、食品、生物、材料、计量科学、农业、林业、渔业等领域中的科研、教学、生产中质量控制、原材料和产品检验等各个方面，用来进行定性分析、纯度检查、结构分析、络合物组成及稳定常数的测定、反应动力学研究等。本节将对紫外可见分光光度计在多方面的应用作一简单讨论。

第一节　定 量 分 析

一、定量分析方法

(一) 绝对法

目前，绝对法是紫外可见分光光度计诸多分析方法中使用最多的一种方法。这是一种以比耳定律 $A = \varepsilon bC$ 为基础的分析方法，某一物质在一定波长下 ε 值是一个常数，石英比色皿的光程是已知的，也是一个常数。因此，可用紫外可见分光光度计在 λ_{max} 波长处，测定样品溶液的吸光度值 A。然后，根据比耳定律求出 $C = A/\varepsilon b$，则可求得该样品溶液的含量或浓度。

(二) 标准法

在选定的波长处，在相同的测试条件下，分别测试标准样品溶液 $C_{标}$ 和被测试样品溶液 $C_{样}$ 的吸光度 $A_{标}$ 和 $A_{样}$。然后，按下式求得样品溶液的浓度或含量。

$$C_{样} = \frac{A_{样}}{A_{标}} \times C_{标}$$

(三) 比吸收系数法

在药物分析中，经常采用比吸收系数法。其原理如下

$$\frac{A^{1\%}_{1cm\,标}}{A^{1\%}_{1cm\,样}} \times 100\%$$

式中 $A^{1\%}_{1cm\,标}$ 为标准物质的比吸收系数，可通过实际测试得到或从有关手册中查到；$A^{1\%}_{1cm\,样}$ 为被测样品的比比吸收系数。

例如，纯痢特灵的 $A^{1\%}_{1cm(367nm)}=764$，在相同的测试条件下，测定浓度为0.001%的痢特灵样品的吸光度值为 $A=0.739$ 得出 $A^{1\%}_{1cm(样)}=739$，则样品中痢特灵的含量为：739/746×100%=99.09%。

比吸收系数法多用于测定样品溶液的浓度。但是，根据比耳定律，被测试样溶液的浓度与吸光度应成直线关系，而在实际测试中，如果试样的浓度较高，会发现实际测量到的吸光度值偏离线性关系。这种偏离比耳定律的原因，是由于紫外可见分光光度计的杂散光、噪声、基线平直度和光谱带宽，以及试样的前处理、试样的化学平衡等所引起的。因此，一般情况下，不采用这种方法。

(四) 标准曲线法

紫外可见分光光度计最常用的定量分析方法是标准曲线法。即先用标准物质配制一定浓度的溶液，再将该溶液配制成一系列的标准溶液。在一定波长下，测试每个标准溶液的吸光度，以吸光度值为纵坐标，标准溶液对应的浓度值为横坐标，绘制标准曲线。最后，将样品溶液按标准曲线绘制程序测得吸光度值，在标准曲线上查出样品溶液对应的浓度或含量。

所配制的标准溶液的吸光度在0.1～1.5Abs范围内，吸收测定的精密度可达0.5%。当摩尔吸收系数ε为 10^5 L/(mol·cm)、光程为1cm，浓度为 1×10^{-6}～1.5×10^{-5} mol/L范围时，即可得到0.1～1.5Abs范围内的吸光度。再低一点的浓度也能检测出来，但主要取决于仪器的噪声。有时因为仪器的噪声限制，样品过稀时测量的准确度和重复性都很差。还要注意的是，分析测试的上限也不能千篇一律的定为1.5Abs。因为，杂散光的限制，有的紫外可见分光光度计仪器的检测上限达不到1.5Abs，如“75”系列紫外可见分光光度计中，有的仪器的检测上限就达不到1.5Abs。而有的仪器(如TU-1901等)可以大大超过1.5Abs，有的甚至可达3Abs以上，如美国Varian公司的Cary6000等紫外可见分光光度计。

综上所述，紫外可见分光光度计的最低检测浓度不但与摩尔吸收系数有关，而且与仪器的噪声、光谱带宽等有关。而紫外可见分光光度计的最高检测浓度，不但与摩尔吸收系数有关，而且与仪器的杂散光、光谱带宽等有关。因此，使用者要特别注意对紫外可见分光光度计的杂散光、噪声(基线平直度)、光谱带宽等的选择。

(五) 最小二乘法

最小二乘法实际上也就是回归方程法。因为，分光光度法中试样的吸光度 A 与试样的浓度 C 之间的关系可用一条直线来描述，即 $C=aA+b$。

因为篇幅所限，本书不对最小二乘法作详细讨论。但回归方程目前在定量分析中应用较多，如果做标准曲线时求出的回归方程差，相关系数(r)不好，

则定量误差就很大。因此，提出应用最小二乘法（回归法）时，应注意两点：

① 回归方程是在特定条件下求得的，不能随便套用。

② 分光光度法中试样的吸光度 A 与试样的浓度 C 之间的关系，应建立在回归方程中的取值范围内，否则，不能随便外推。

（六）解联立方程法

解联立方程法只适用与于两个以上、在紫外区吸收峰互不重叠组分的测定。也不是常用的方法。本书也不作详细讨论。

（七）示差分光光度法

示差分光光度法也不是紫外可见分光光度计的应用中常用的方法。本书也不作详细讨论。但应注意三点：

① 示差分光光度法中最重要的是选择适当浓度的参比溶液。参比溶液越接近样品溶液，则测定的结果就越准确。

② 示差分光光度法解决了普通分光光度法中不适用的高含量或痕量物质的分析问题。

③ 示差分光光度法要求紫外可见分光光度计的稳定性好、灵敏度高（噪声小、杂散光小）。

二、定量分析应用举例

目前，紫外可见分光光度计的应用主要是在定量分析方面。具体应用举例如下。

（一）生命科学领域的应用

紫外可见分光光度计在生命科学中应用非常广泛。最主要的是以下 5 个方面。

1. 蛋白质分析工作中的应用

紫外可见分光光度计在蛋白质的分析中，最主要的是作蛋白质含量检测；一般是在蛋白质的吸收峰上作吸光度测定。因为蛋白质对紫外光的主要吸收波长为 280nm，所以，采用光度测量模式，将仪器的波长 GOTO 到蛋白质的最大吸收峰波长 280nm 上，测试其吸光度大小，就可完成对蛋白质的定量检测。

2. 核酸分析工作中的应用

紫外可见分光光度计在核酸分析中的应用，主要是用来对核酸的定量检测；因为核酸的吸收峰在 260nm。我们只要采用光度测量模式，将紫外可见分光光度计的波长 GOTO 到核酸的最大吸收峰 260nm 上，测试其吸光度大小就是了。

3. 氨基酸分析工作中的应用

紫外可见分光光度计在氨基酸分析中的应用，主要是用来对氨基酸的定量

检测。因为氨基酸对紫外光的主要吸收波长为 230nm，所以，我们只要采用光度测量模式，将紫外可见分光光度计仪器的波长 GOTO 到氨基酸的最大吸收峰 230nm 上，就可测试其吸光度大小，从而计算出氨基酸的含量。

但是，因为氨基酸分析时，一般是将它溶解在水中，而水在 230nm 附近有很多干扰吸收线，所以，在用紫外可见分光光度计对氨基酸分析检测时，要注意防止干扰的问题。

此外，还需注意：只有少数氨基酸有紫外吸收，多数氨基酸无紫外吸收或很弱，测定时要衍生化后再测。

4. 糖类分析测试工作中的应用

紫外可见分光光度计在糖的分析中，主要是作定量检测。因为糖对紫外光的主要吸收波长为 218nm，所以，对糖类进行分析时，只要采用光度测量模式，将紫外可见分光光度计仪器的波长 GOTO 到氨基酸的最大吸收峰 218nm 上，就可测试其吸光度大小，从而计算出糖的含量。

5. 多糖分析测试工作中的应用

紫外可见分光光度计在多糖的分析中，主要也是作定量检测。因为多糖对紫外光的主要吸收波长为 206nm，所以，我们只要采用光度测量模式，将紫外可见分光光度计仪器的波长 GOTO 到多糖的最大吸收峰 206nm 上，就可测试其吸光度大小，从而计算出多糖的含量。

但是多糖的分析难度很大。因为，在 206nm 处的时候，光源（氘灯）的能量已经很弱，仪器光学系统的能量输出也很低，光电倍增管的灵敏度也很低，206nm 左右的干扰也很大。所以，用紫外可见分光光度计作多糖的分析是很难的事，目前许多科学家正在研究中。

(二) 计量领域的应用

1. 光度准确度检测标准片的测试

我国质量技术监督局所属的计量测试单位，对许多有关企业在用的紫外可见分光光度计的光度准确度的检测，一般都是采用标准片（如中性灰片或某些有特殊吸收峰的透紫石英片）来进行的。总是在一台光度准确度比被检测仪器要高 2～3 倍的仪器上对标准片进行标定，而后用这些标定过的标准片对被检测的紫外可见分光光度计的光度准确度进行检测。再根据检测的数据，作出被检仪器是否合格的判断。

2. 光度准确度检测标准液的测试

我国质量技术监督局所属的计量测试单位，对许多有关企业在用的紫外可见分光光度计的光度准确度的检测，有时采用标准液（如重铬酸钾等）来进行。用一台光度准确度比被检测仪器的光度准确度要高 2～3 倍的紫外可见分光光度计，对标准液进行标定，而后用这些标定过的标准液，来对被检测的紫

外可见分光光度计的光度准确度进行检测。再根据检测的数据，作出被检仪器是否合格的判断。

3. 杂散光检测用的标准液的测试

我国质量技术监督局的计量测试单位，对许多有关企业在用的紫外可见分光光度计的杂散光的检测，有时采用标准液（如 NaI、$NaNO_2$ 等）来进行。用一台光度准确度比被检测仪器的光度准确度要高 2～3 倍的紫外可见分光光度计，对标准液进行标定，找出检验测试点的位置，而后用这些标定过的标准液对被检测的紫外可见分光光度计的杂散光进行检测。再根据检测的数据，作出被检仪器是否合格的判断。

4. 杂散光测试的标准片的测试

有时采用标准片（将 NaI、$NaNO_2$ 固化在石英片基中）来测试紫外可见分光光度计的杂散光。用一台杂散光比被检测仪器要高 2～3 倍的紫外可见分光光度计，对标准片进行标定，找出检验测试点的位置，而后用这些标定过的标准片，对被检测的紫外可见分光光度计的杂散光进行检测。再根据检测的数据，作出被检仪器是否合格的判断。

(三) 药品分析中的应用

我国和世界上许多国家的药典都明确规定，许多药品都要求用紫外可见分光光度计作质量控制。因此，紫外可见分光光度计已是制药行业和药检行业必备的分析仪器。且规定，用于药品质控的紫外可见分光光度计，光谱带宽要求在 2nm 以下。

紫外可见分光光度计在药品检测中的应用已经非常广泛。其中，使用紫外可见分光光度计分析最多的药物有：维生素、抗生素、解热药、去痛药、降血压药、安定药、镇咳药、滴眼药、磺胺类药、利尿药、某些妇科药、痢疾药、腹泻药、抗肿瘤药、抗结核药等。药品分析及毒理学分析应用中的实例见表 7-1，表 7-2。

表 7-1　药品分析应用的实例

分析测试项目	使用的波长/ nm	测量方法
盐酸普鲁卡因的测定	272～316	多波长测量
药片中的苯巴比妥测定	246、255	多波长测量
药片中的奥沙西泮、双嘧达莫	272～312	多波长测量
维他命 A	312. 5、327、337. 5	多波长测量
生药里的香脂酸	220～350	多波长测量
血浆中的茶碱	300、280	吸收值差
药品中的维他命 D	500、550	吸收值差
血液中的氯氮草(利眠宁)	290、245、550	吸收值比率
药品中的苯甲酸钠和咖啡因	225、235	吸收值比率

续表

分析测试项目	使用的波长/nm	测量方法
药品中的对乙酰氨基酚(扑热息痛)	615	单波长测量
动物食品中的硝苯肿酸	530	单波长测量
胸(腺嘧啶脱氧核苷)磷酸化酶	530	动力学方法
口服酶片剂中的胰蛋白酶	253	动力学方法
混合麻醉剂	198～800	多组合分析应用

表 7-2　毒理学分析检测中应用实例

分析测试项目	使用的波长/nm	测量方法
体液中的硼酸盐	600	单波长测量
血清中的氯氮草(利眠宁)	550	单波长测量
血清、血浆中的胆碱酯酶	540	单波长测量
血液、尿液中的氰化物	580	单波长测量
血液中的乙氯维诺安眠药	510	单波长测量
尿液中的苯	525	单波长测量
尿液中的 1-萘酚	590	单波长测量
血液中的硫氰酸盐	580	单波长测量
尿液中的铅	553	单波长测量
尿液中的锡	660	单波长测量
血液中的氧化碳	414、421、428	多波长测量
尿液中的百草枯	390、394、398	多波长测量
血液、血清、血浆中的巴比土酸盐	230～340	多波长测量
血液、血清中的盐酸氯氮草	245、290	吸收值差
血液和尿液中的氯喹	370～380	吸收值差
血清中的安定	220～320	吸收值差
血液、血清中的听普萘诺尔	288.5、340	吸收值差
血浆中的华法林	290～360	吸收值差
血液中的乙醇	349	动力学
混合毒物	190～800	多组合分析应用

(四) 石油油品分析

在石油开采、加工过程中，石油有可能造成污染。在石油工业生产污水中，一般将排水中石油含量规定为 10mg/L。而在地面水中，最高允许石油含量为 0.1～0.3mg/L。一般石油炼油厂中，石油所含的芳烃组成是相对稳定的，所测得标准油品的吸收峰，都在 221～225nm 和 251～255nm 处。石油的两个特征吸收峰 (225nm 和 254nm) 是测定炼油厂污水中的含油量时要选用的吸收波长。另外，轻油组分 (初馏约 180℃) 几乎无明显紫外特征吸收，而中油 (180～250℃) 和重油 (250～280℃)，以及蒽油 (>280℃) 等组分在 225nm 处吸收较强。它代表了石油成分的主峰，在 254nm 处吸收较弱，有时显示出某种重质油品的特性。这些分析工作，都用紫外可见分光光度计来进行。

还有，在炼油过程中，石油在 320nm 附近有一个芳烃杂质，也是必须要用紫外可见分光光度计来检测的。

因此，紫外可见分光光度计是石油工业中非常重要的质量控制仪器。

(五) 环境中有害物质检测

环境（包括空气、水、土壤）中许多的对人有毒有害物质的检测，都用到紫外可见分光光度计，如检测自来水中的木素磺酸、木质素、单宁、表面活性剂、黄腐酸、酚类、苯胺类、硝基酚类化合物等对人体有毒害的物质。有些自来水中，含有氨氮、亚硝酸盐、总酚、总苯胺、硝基酚类等对人体有毒害的物质，一般也是用紫外可见分光光度计来检测。我国与水有关的国家标准中，规定水中的许多物质都要用紫外可见分光光度计来检测。

(六) 饲料工业中的应用

饲料的原料、添加剂、混合饲料等中的维生素 A、维生素 C、维生素 E、维生素 K、山梨酸、苯甲酸、棉酸、甲酯、乙酸酯、胡萝卜素、烟酸、总氨基酸等微量元素钾、铁、硒、碘、铜、磷、锰等都经常用紫外可见分光光度计来检测（但通常用原子吸收分光光度计测定微量元素为宜，用比色法测定目前已比较少了)。

还有，饲料添加剂中的皮蝇磷、磺胺类药物、灰黄霉素、二甲硝咪唑，以及普鲁卡因等的测定，基本上都可用紫外可见分光光度计来进行。

(七) 农药及其残留物分析

施加的农药进入土壤中，一部分被农作物吸收（如六六六可被胡萝卜、花生等吸收)、一部分进入大气、一部分流入水中。农药残留包括农药原体、农药的有毒代谢物、农药的降解物和杂质。人们往往只把农药原体看成农药残留量，忽略了农药原体的代谢物、降解物和杂质。其实，代谢物、降解物的毒性与原药一样或更严重。例如，滴滴涕的代谢物为滴滴依，工业六六六的代谢物为乙体六六六，农药 1605 的代谢物为 1601，这些代谢物的毒性都比原体更强。杀虫脒的代谢物的毒性，比原药大 10 倍。

许多农药对人体的危害非常大，如六六六和滴滴涕对人的肝脏组织和肝功能的损害很大，会引起血液细胞染色体突变，有机氯农药能透过胎盘进入胎儿体内，危害胎儿。有机磷农药、氨基甲酸酯类农药等是神经毒物，它抑制血液和组织中的乙酰胆碱酯酶的活性，引起神经功能混乱、出汗、精神错乱、语言失常等病症。

据美国癌症研究中心报道，人类癌症有 90%是由有机物引起的，其中以农残为主。所以发达国家都很注重对农药及其残留物的检测。例如，日本近几年对几百种农药制定了近万个最高残留限量。其中，对蔬菜有 3728 个，对大米制定了 116 种农药的最高残留限量。人类长期连续少量摄入农药残留物，最

可怕的是引起三致，即致癌、致畸和致突变。

(八) 水产品质量控制

紫外可见分光光度计在海水、淡水鱼类、贝类、虾类、海蜇类等的质量控制中已得到非常广泛的应用。如苯、总三卤甲烷、甲苯基三唑、多氯联苯、氟、汞等，目前都采用紫外可见分光光度计作质量控制。人们最可怕的是食物链的富集，例如，“世纪之毒”的二 英，它在鱼体内的富集系数可达 10^4 以上。也可用紫外可见分光光度计来检测。

因此，紫外可见分光光度计将是渔业中必不可少的分析工具。

第二节 定 性 分 析

如果未知物的紫外吸收光谱的最大吸收峰波长 λ_{max}、最小吸收峰波长 λ_{min}、最大摩尔吸光系数 ε_{max}，以及吸收峰的数目、位置、拐点与标准光谱数据完全一致，就可以认为是同一种化合物。但是，如果未知物的紫外吸收光谱的峰较多、结构比较复杂，那么只用一台紫外可见分光光度计是不能作定性分析的。必须还要有色谱、红外、质谱、波谱多种仪器联合使用，才能作物质的定性分析。

一、利用标准物质定性

对比较复杂的样品，一台紫外可见分光光度计是不能作定性分析的。但是，比耳定律 $A = \varepsilon bC$ 又可写成 $\lg A = \lg\varepsilon + \lg bC$。因为 bC 只影响物质对光吸收的强度，并不改变吸收光谱的形状。所以，我们对同一化合物来讲，用 $\lg A$ 和 $\lg\varepsilon$ 作纵坐标，波长为横坐标绘制的吸收光谱图的形状应该是一致的。因此，在相同条件下，测定未知物的吸收光谱，与所推断化合物的真实标准物的吸收光谱直接比较，就可初步定性。

如果两吸收光谱的形状和吸收峰的数目、位置、拐点等完全一致，就可初步判定未知物与标准物是同一种物质。但是要注意，物质不同但光谱相似的特殊情况，如十甲基联苯与联苯、联菲与菲、联萘与萘等，由于都有 α、β不饱和酮，而紫外吸收光谱类似的情况。

二、用波长位置判断有机化合物的生色基团

例如，如果发现在 210～250nm 有强吸收峰，则可能有双键并处在共轭状态。在 260nm、300nm、330nm 有高强度的吸收带，表示有 3～5 个共轭单位，如果在 270～300nm 之间有弱吸收（ε= 10～100），表示有羟基的存在；在 250～300nm 之间有中强度吸收（ε= 1000～10000），表示有苯环的特征等。

因为分子对紫外光的吸收只是分子生色基团和助色基团的特征，而不是整个分子的特征。所以，只靠一个紫外光谱来确定一个未知物的结构或确定一个未知物的官能团是不现实的。还要配合红外光谱、质谱、核磁共振波谱，以及其他方法的联合鉴定才能最后得出可靠结论。

某些分子生色基团如表 7-3、表 7-4 所示。

表 7-3　若干典型的生色基团

生色基团	例	λ_{max}	ε	溶　剂
C　C	H_2C　CH_2	171	15530	气体
	$C_6H_{13}CH$　CH_2	177	13000	正庚烷
C　CCH_3	$C_5H_{11}C$　CCH_3	170	10000	正庚烷
C　O(酮)	CH_3COCH_3	166	16000	气体
		189	900	正己烷
		270.6	15 .8	乙醇
C　O(醛)	CH_3CHO	180	10000	气体
		293 .4	11 .8	正己烷
—COOH	CH_3COOH	204 .0	41	水
$—CONH_2$	CH_3CONH_2	178	9500	正己烷
		214	60	水
—COCl	CH_3COCl	220	100	正己烷
—N　N_2	CH_2N_2	约 410 .0	约 1200	蒸气
	CH_3N　NCH_3	339	5	乙醇
—N　O	C_4H_9NO	300 .0	100	乙醚
$—NO_2$	CH_3NO_2	201	5000	甲醇
		271 .0	186	乙醇
$—ONO_2$	$C_2H_5ONO_2$	270 .0	12	二氧杂环己烷
—O—N　O	$C_8H_{17}ONO$	230 .0	2200	己烷
—C　S	$C_6H_5CSC_6H_5$	220 .0	70	乙醚
$—S\rightarrow O$	$C_6H_{11}SOCH_3$	210 .0	1500	乙醇

表 7-4　各种生色基团共轭的效应

化　合　物	K 吸收带		B 吸收带		R 吸收带		溶　剂
	λ_{max}/ nm	ε_{max}	λ_{max}/ nm	ε_{max}	λ_{max}/ nm	ε_{max}	
苯	—	—	255	215	—	—	乙醇
苯乙烯	244	12000	282	450	—	—	乙醇
苯乙炔	236	12500	278	650	—	—	正己烷
苯甲醛	244	15000	280	1500	328	20	乙醇
乙酰苯	240	13000	278	1100	319	50	乙醇
硝基苯	252	10000	280	1000	330	125	正己烷
安息香酸	230	10000	270	800	—	—	水
苯基氰	224	13000	271	1000	—	—	水

续表

化　合　物	K 吸收带		B 吸收带		R 吸收带		溶　剂
	λ_{max}/ nm	ε_{max}	λ_{max}/ nm	ε_{max}	λ_{max}/ nm	ε_{max}	
二苯亚砜	232	14000	262	2400	—	—	乙醇
苯基甲基砜	217	6700	264	977	—	—	乙醇
苯酰苯	252	20000	—	—	325	180	乙醇
联苯	246	20000	(被掩盖)	—	—	—	乙醇
顺式—均二苯乙烯	283	12300	(被掩盖)	—	—	—	乙醇
反式—均二苯乙烯	295	25000	(被掩盖)	—	—	—	乙醇

第三节　纯 度 检 查

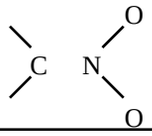
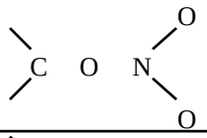
紫外可见分光光度计在物质的纯度检查方面使用非常普遍。许多物质的杂质检查，特别是有机化合物中在紫外区有吸收峰的杂质的检查，大多是用紫外可见分光光度计来检测。如果有机化合物在紫外可见区没有明显的吸收峰，而它的杂质在紫外区有较强的吸收峰，就可以检测出有机化合物的杂质。

四氯化碳（CCl_4）中，最主要的杂质是二硫化碳（CS_2）。因此，四氯化碳厂在生产过程中，产品质量的好坏，主要是控制四氯化碳中二硫化碳含量的多少。而二硫化碳在紫外区的 318nm 处，有一个很强的特征吸收峰。因此，在质量检验时，只要检查 318nm 处二硫化碳的特征吸收峰的大小，就可知道四氯化碳产品是否合格。其具体检测方法是将生产的四氯化碳倒进石英比色皿，把仪器的波长调到 318nm 处，查看其在 318nm 处四氯化碳中二硫化碳吸收峰吸光度值大小，就可得知二硫化碳是否超标。常见孤立生色基团的吸收特征见表 7-5。

表 7-5　常见孤立生色基团的吸收特征

生 色 团	实　例	溶剂	λ_{max}/ nm	ε_{max}	跃迁类型
>C　C<	$C_6H_{13}CH$　CH_2	正庚烷	177	13000	$\pi \to \pi^*$
C　C	$C_5H_{11}C$　CCH_3	正庚烷	178	10000	$\pi \to \pi^*$
>C　N	$(CH_3)_2C$　NOH	气态	190，300	5000，—	$\pi \to \pi^*$ $n \to \pi^*$
C　N	CH_3C　N	气态	167	—	$\pi \to \pi^*$
>C　O	CH_3COCH_3	正己烷	186，280	1000，16	$n \to \sigma^*$ $n \to \pi^*$
—COOH	CH_3COOH	乙醇	204	41	$n \to \pi^*$
$—CONH_2$	CH_3CONH_2	水	214	60	$n \to \pi^*$

续表

生色团	实　例	溶剂	λ_{max}/ nm	ε_{max}	跃迁类型
	CH_3CSCH_3	水	400	—	$n\rightarrow\pi^*$
—N　N—	CH_3N　NCH_3	乙醇	339	4	$n\rightarrow\pi^*$
	CH_3NO_2	乙醇	271	186	$n\rightarrow\pi^*$
—N　O	C_4H_9NO	乙醚	300,665	100,20	—, $n\rightarrow\pi^*$
	$C_2H_5ONO_2$	二氧六环	270	12	$n\rightarrow\pi^*$
	$C_6H_{11}SOCH_3$	乙醇	210	1500	$n\rightarrow\pi^*$
C_6H_6	$C_6H_5OCH_3$	甲醇	217,269	640,148	$\pi\rightarrow\pi^*$ $\pi\rightarrow\pi^*$

乙醇中最主要的杂质是苯。因此，乙醇生产的过程中对产品质量的控制，主要是控制苯的含量不能超标。苯在紫外区256nm处有一个很强的特征吸收峰。因此，检测乙醇中苯的含量时，只要把乙醇倒进石英比色皿，将紫外可见分光光度计仪器的波长GOTO到256nm，查看乙醇中苯的特征谱线吸收峰吸光度值大小，就可判断乙醇中苯是否超标。

菲的氯仿溶液在296nm处有很强的吸收峰，菲的ε值为12600，lgε为4.10。若在紫外可见分光光度计上测得的lgε值比标准的菲要低10%，则说明菲的实际含量只有90%，其余的就有可能是杂质。

第四节　结构分析

紫外可见分光光度计可用来判别物质的异构体，如对互变异构体、顺反异构体等的判别。

一、判别异构体

几种有机化合物的互变异构体见表7-6。

表7-6　某些有机化合物的互变异构体

化合物	共轭(醇式)	非共轭(酮式)	化合物	共轭(醇式)	非共轭(酮式)
	λ_{max}/ nm(ε)	λ_{max}/ nm(ε)		λ_{max}/ nm(ε)	λ_{max}/ nm(ε)
亚油酸	232	无吸收	乙酰丙酮	269(12100)(水中)	277(1900)(已烷中)
苯酰乙酸乙酯	308	245	异丙α丙酮	235(12000)	220
乙酰乙酸乙酯	245(18000)	204(110)			

可用此来初步判断共轭体系和非共轭体系。除了利用紫外吸收光谱判别互变异构体和顺反异构体外，还可判断开链和成环互变异构体。如开链的碳水化合物在 280nm 处有酮基的吸收峰，成环后则消失。根据此特性，可测出 α-葡萄糖在中性溶液中开链结构少于 0.01%，在强酸性溶液中可达 0.1%。说明在中和过程中开链的 α-葡萄糖有转变为环状结构的趋势。此外，还可以判别旋光异构体、空间异构体等。

反式异构体的空间位阻小，共轭程度较完全，其紫外吸收光谱最大吸收峰波长 λ_{max}、最大摩尔吸光系数 ε_{max}，大于顺式异构体。

用 λ_{max} 判断顺反异构体的某些化合物的例子见表 7-7。

表 7-7　某些有机化合物的顺反异构体的 λ_{max} 和 ε_{max}

化　合　物	顺　　式		反　　式	
	λ_{max}/ nm	ε_{max}	λ_{max}/ nm	ε_{max}
番茄红素	440	90000	470	185000
	380 *	弱	470①	
二苯代乙烯	280	13500	295	27000
苯代丙烯酸	264	9500	273	20000
α-甲基均二苯代乙烯	260	11900	270	20100
乙烯二酸二甲酯	198	26000	214	34000
偶氮苯	295	12600	315	50100
肉桂酸	280	13500	295	27000
1-苯基-1,3-丁二烯	265	14000	280	28300

① 380nm 吸收峰属新番茄红素的顺式乙烯键；470nm 为新番茄红素吸收峰，强度较全反式番茄红素弱。

用 ε_{max} 判断顺反异构体的某些化合物的例子见表 7-8。一般反式异构体的吸收强度大于顺式异构体。

表 7-8　某些多环二烯的顺反异构体的吸收强度

同环双键(顺式)		异环双键(反式)		同环双键(顺式)		异环双键(反式)	
化合物	ε_{max}	化合物	ε_{max}	化合物	ε_{max}	化合物	ε_{max}
麦角甾醇	11800	麦角甾醇-D	21000	胆甾-2,4-二烯	7000	胆甾-4,6-二烯	28000
7-脱氢胆甾醇	11400	脱氢麦角甾醇	19000	左旋海松酸	7100	松香酸	16100

二、推测化合物的分子结构

(一) 推测化合物的共轭体系和部分骨架

假设一个化合物在紫外区是透明的，没有吸收峰，而且 $\varepsilon < 10$，则说明不存在共轭体系 (指不存在多个相间双键)。它可能是脂肪族碳氢化合物或者是

胺、醇等不含双键或环状结构的化合物。

如果是在 210～250nm 有强吸收，则可能有两个双键共轭体系，如共轭二烯或 α、β-不饱和酮。

如果是在 250～300nm 有强吸收，则可能有 3～5 个不饱和共轭体系。

如果是在 260～300nm 有中强吸收，ε= 200～1000，则可能有苯环。

如果是在 250～300nm 有弱吸收，则可能存在羧基基团。

(二) 区分化合物的构型和构象

有机化合物二苯乙烯有顺式和反式两种构型 (见图 7-1)。它们的最大吸收波长和吸收强度都不同，由于反式构型没有空间障碍，偶极矩大，而顺式构型有空间障碍，因此反式的吸收波长和强度都比顺式的大。所以，就很容易区分顺式和反式构型。

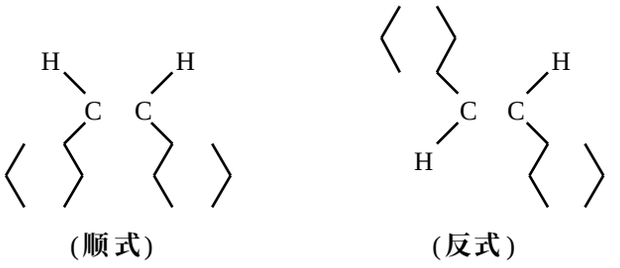


图 7-1　二苯乙烯的顺式和反式两种构型

紫外可见分光光度计单独用来作物质的结构分析，也只是在物质的结构非常简单的时候才行。如果物质的结构很复杂，一台紫外可见分光光度计是不能作结构分析的。必须要有色谱、红外、质谱、波谱等多种仪器联合使用，才能作物质的结构分析。

第五节　有机分析中的应用

所谓有机分析，它是一门研究有机化合物的分离、鉴别、组成及结构的科学，它是在有机化学和分析化学的基础上发展起来的、在国民经济的各个领域使用非常普遍的综合性学科。

一般来讲，利用紫外可见分光光度计在 190～800nm 波长范围内的光谱，来判断有机分子中是否存在共轭体系、芳香结构以及 C　C、C　O、N　N 等的发色团是一个很好的办法。具有 π 键电子及共轭双键的化合物在紫外区有强烈的吸收，其摩尔吸光系数可达 10^4 ～10^5，因而检测灵敏度很高。对于一些特别类型的结构，可通过简单的数学运算，确定最大吸收值。如果发色团之间不以共轭键相连的话，其紫外吸收具有可加和性，即总的吸收，等于各单独发色团的吸收之和。一个复杂的分子结构，往往可以由比较化合物的紫外光谱性质来推断其含有何种发色团，有时还能提供一些立体结构及分子量的信息，

为未知物的剖析提供有用的线索。本节将简单讨论一下紫外可见分光光度计在有机分析中的应用。

一、利用标准曲线法测未知化合物的含量

利用紫外可见分光光度计进行定量分析时，可将待测试样的纯品配制成一系列标准溶液，事先绘制标准曲线，由待测未知样品的吸光度对照标准曲线，就可得到其含量。当未知物样品为几种组分的 λ_{max} 互不重叠时，可用解联立方程的办法解决。

例如，复方阿司匹林（A. P. C）含有三种组分：阿司匹林（A）、非那西丁（P）、咖啡因（C），阿司匹林和咖啡因的最大吸收峰在 277 nm 和 275nm，较为接近，必须事先分离，而咖啡因和非那西丁的最大吸收峰相距较远，可用联立方程解之。将待分析的药片粉碎并溶于氯仿中，用 4% 碳酸钠水溶液萃取两次，用蒸馏水洗涤一次，合并水层。则阿司匹林进入水层，非那西丁和咖啡因留在氯仿中。再用氯仿洗涤水层三次，进一步提取水层中残留的非那西丁和咖啡因。合并氯仿层，并过滤到 250ml 容量瓶中，用氯仿稀释至刻度。最后，移取 1ml 此液到 100ml 容量瓶中，用氯仿稀释至刻度。取此液在 250nm 和 275nm 处测定吸光度，分别为 0. 795、0. 280Abs。水层用稀酸酸化（pH = 2），用氯仿萃取后，将萃取液转入 100ml 容量瓶，用氯仿稀释至刻度，在 277nm 处测其吸光度为 0. 78Abs。通过配制的已知浓度的样品，可求出 100ml/ L 的阿司匹林在 277nm 处测的吸光度为 0. 72Abs，可知待测样品中的阿司匹林的含量为 100 × 0. 78/ 0. 72 = 108mg/ L = 10. 8mg/ 100ml，即药片含阿司匹林 10. 8g。对标准的非那西丁溶液，测得其比吸光系数为 K_{250} = 0. 0767L/（mg · cm）；K_{275} = 0. 0200L/（mg · cm）。对标准的咖啡因溶液，测得其比吸光系数为 K_{250} = 0. 0177L/（mg · cm）；K_{275} = 0. 0518L/（mg · cm）。由此可得出联立方程，求得咖啡因浓度为 1. 55mg/ L，即 0. 155mg/ 100ml 非那西丁浓度为 10. 1mg/ L。由于未知溶液稀释了 259 倍，所以药片中含非那西丁的含量为 1. 01 × 250mg = 252mg，含咖啡因的量为 0. 155 × 250 = 38. 8mg。同样，甲苯酚中的甲基和羧基因为位置不同，有邻、间、对三种异构体，它们有各自不同的吸收带，可分别在波长为 277nm、273nm、268nm 处测定吸光度值，解联立方程，即可算出各自组分的含量。

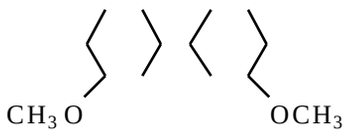
二、利用特征吸收峰法鉴别有关物质

利用某些化合物在紫外区的特征吸收峰，可以判别物质。如氯霉素分子中的硝基是由它的紫外光谱确定的。在紫外区的 298nm 和 278nm 处，氯霉素会出现芳香硝基的特征吸收峰。

五元环酮和羧基酯的红外光谱特征吸收峰都在 1740cm^{-1} 附近，因此，用红外光谱法难以区分。但是，在紫外光谱中，只有五元环酮在 210nm 以上有吸收，因此可鉴别。

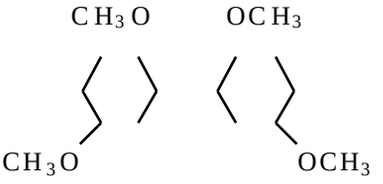
三、利用紫外光谱谱图的方法鉴别有机化合物

通过对两个有机化合物的紫外光谱图，可以鉴别它们。如有两个有机化合物Ⅰ和Ⅱ，都可溶于环己烷溶剂，并在 260nm 处都有吸收，如图 7-2、图 7-3，但Ⅱ的紫外光谱中 260nm 处的吸收峰与Ⅰ的吸收峰相比较，发现Ⅱ的吸收峰大为减弱，因此，表明有空间位阻效应的存在。这是由于有机化合物（Ⅱ）中分子中心单键的邻位上有了两个体积较大的取代基（甲氧基），使两个苯环以中心键为轴，发生扭曲而不能处于同一个平面内，此时，共轭关系受到很大影响，故使反应苯环下π键为特征的 260nm 处的吸收就大大减弱了。



（Ⅰ）

图 7-2　紫外光谱 260nm 处有吸收峰的物质（Ⅰ）

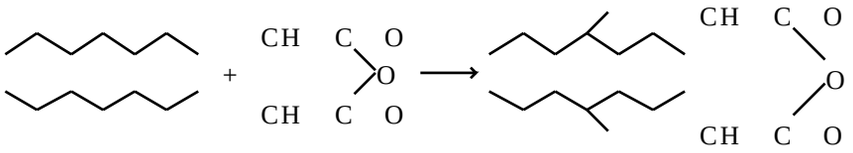


（Ⅱ）

图 7-3　紫外光谱 260nm 处有吸收峰的物质（Ⅱ）

四、利用π键反应减小干扰

在紫外可见分光光度计的使用过程中，有时很强的吸收会引起干扰作用，有些稠环化合物对某些波长的吸收就很强，这时，可采用化学π键反应去除。如有机化合物蒽具有三个大π键，在波长 252nm 处有很强的吸收，它的摩尔吸光系数可以达到 2×10^5，会对一些在此也有吸收的化合物产生干扰，我们可让它与丁烯二酸酐发生狄尔斯-阿尔德（Diels-Alder）加成反应。其反应式如下



这个反应的结果，使原来三个大π键的共轭系统被破坏，原先很强的吸收就被大大减弱，干扰减小。

参　考　文　献

1　R. P. Bauman . Absorption Spectroscopy, New York: John Wiley, 1962

2　陈国珍等．紫外-可见光分光光度法．北京：原子能出版社，1983

3 Yoh-Han Pao . Optoacoustic Spectroscopy and Detection . New York: Academic Press, 1977

4 C. N. R. Rao . Ultra-Violet and Visible Spectroscopy . London: Butterworth, 1961

5 黄君礼等 . 紫外吸收光谱法及其应用 . 北京: 中国科学技术出版社, 1992

6 杨始刚 . 紫外分光光度法测定 *N*, *N*-二乙基二叔丁基亚磷酰胺酯的含量 . 光谱仪器与分析, 2004, (2): 39

7 吴玉田等 . 褶合曲线分析法的理论和实践 . 药物分析杂志, 1996, (15): 20

8 陈莲明等 . PORS-15 便携式快速光谱测定仪测定废水中的氰化物 . 生产科学仪器, 2004, 2 (4): 28

9 王爱军等 . 顺序注射催化动力学光度法测定废水中的痕量酚 . 见: 广西师范大学学报 (自然科学版) . 第八届中国化学会分析化学年会暨第八届原子光谱学术会议论文集 . 广西: 2003 . 广西师范大学学报编辑委员会, 2003, 21 (1): 293

10 掌博慧等 . 酸度分布吸收光谱法测定复方新诺明中的有效成分 . 见: 广西师范大学学报 (自然科学版) . 第八届中国化学会分析化学年会暨第八届原子光谱学术会议论文集 . 广西: 2003 . 广西师范大学学报编辑委员会, 2003, 21 (1): 305

11 轩丙庄等 . 紫外分光光度法快速测定硫脲和 S-甲基异硫脲硫酸盐 . 见: 广西师范大学学报 (自然科学版) . 第八届中国化学会分析化学年会暨第八届原子光谱学术会议论文集 . 广西: 2003 . 广西师范大学学报编辑委员会, 2003, 21 (1): 391

第八章　仪器及应用的最新进展

第一节　紫外可见分光光度计仪器的最新进展

一、仪器的自动化程度大大提高

世界上第一台紫外可见分光光度计仪器，是由美国的 Beckman 公司于 1945 年推出，随着科学技术的发展，紫外可见分光光度计仪器得到了飞速发展。自动化程度大大提高，特别是计算机及其计算机软件更是日新月异。许多高档紫外可见分光光度计，如美国的 Cary6000、Lambda900、国产的 TU-1901 等紫外可见分光光度计，一开机仪器就进行全方位的自检。如果自检时发现何处有故障，则会在显示屏上，一目了然地告诉使用者。使用者也能通过计算机查寻排除故障。

有些仪器带有数据处理软件包，可自动进行数据处理并大大增加了使用者所需要的信息量。有些仪器备有自诊断软件，使用者可以通过计算机方便地解决使用中出现的各种故障。

二、重视适用附件的开发

紫外可见分光光度计附件的发展已成为紫外可见分光光度计发展的主要内容之一，如 P-E 公司的 Lambda 系列、Varian 公司的 Cary 系列、岛津公司的 UV-2550 系列，北京普析通用公司的 TU-19 系列等紫外可见分光光度计，都带有 15 种以上的附件，如积分球、蠕动泵进样、长样品池架、试管架、镜面反射附件、微量样品池架、帕尔贴恒温附件、短光程样品池架、长样品池架、恒温池架、超微量样品池架、固体样品池架、浸入式光纤探测装置、反射式光纤探测装置、品种繁多的微量池等，这些附件大大方便了用户。

三、仪器向小型化（或微型化）、数字化、便携式的方向发展

由于环境、野外、海洋深水现场分析测试等的需要，开发小型化、便携式仪器是一个趋势。目前，国际上已有好多制造商正在研究开发适合于各种不同使用对象的小型紫外可见分光光度计。其中比较典型的代表有：美国的海洋公司（Ocean Optics）前几年推出了 PC2000 型卡式光度计可插入 PC 机内工作。2001 年又推出了 USB 接口的 USB2000 微型光度计，只有 200g，采用 2048 位元

的 CCD 检测器，最快积分时间只有 0.003s。最近又推出 HR2000 型高分辨率光纤光度计，将最高分辨率提高到了 0.035nm。但美国的海洋公司卡式光度计等只适用于可见光区域使用。美国海洋光学的几种微型光纤光度计如图 8-1 所示。

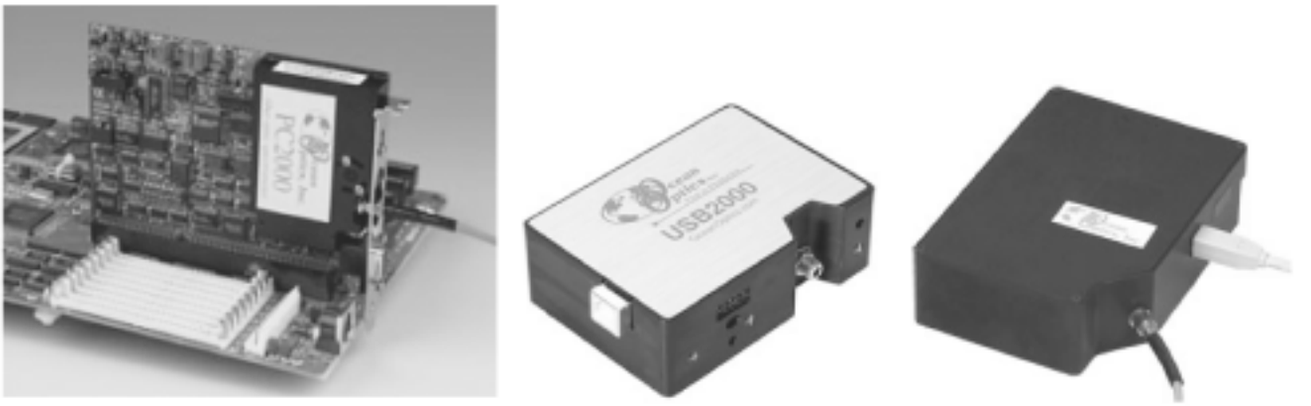


图 8-1　美国海洋光学的几种微型光纤光度计

美国 CID 公司开发的 CI700 型光纤光度计配合可选附件可用于植物叶片光谱测试等现场研究（见图 8-2）。

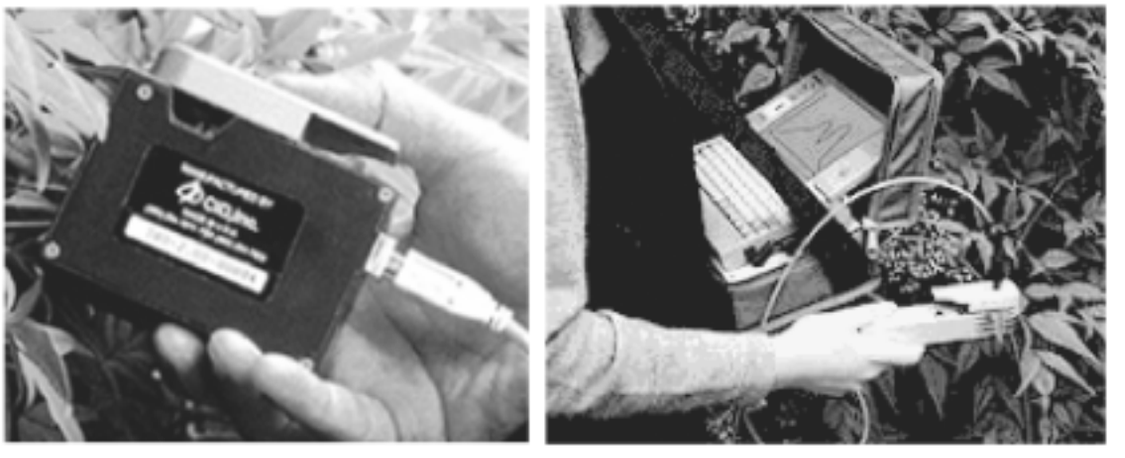


图 8-2　美国 CID 公司开发的 CI700 型光纤光度计

美国 HACH 公司推出的便携式仪器 Odyssey DR/ 2500 及 DR/ 2400 分光光度计采用了阵列式固体半导体检测器，内置光源与电源，DR/ 2400 是 DR/ 2500 的便携式改进产品，波长范围 400～880nm，光谱带宽 4nm±1nm，波长准确度±1nm，波长分辨率 1.0nm，扫描速度 200nm/ min。

美国 HACH 公司的 DR/ 2400 分光光度计如图 8-3 所示。

图 8-3　美国 HACH 公司的 DR/ 2400 分光光度计

美国这些小型化、便携式光谱仪器的共同特点是：体积小，检测速度快，配置

灵活；可更换不同的光栅、光源、检测探头以适用不同的需求。但是本身都不具备图谱显示功能，需通过附件连接外置光源和外接 PC 机操作，使现场应用的方便性大打折扣。DR/ 2400 虽有内置光源与电源，但其只能在可见区工作，而且没有光纤探头，只能用比色皿及比色管进行测试。

我国科技部第十个五年计划的科学仪器攻关项目中，提出了研发微型光谱仪的任务。北京普析通用公司承担了该任务，并研发成功 Pors-15 便携式快速光谱仪。该仪器借鉴了国外有关产品的优点，同时根据用户的实际需求，研发了具有自己特点的新一代便携式光纤光谱仪，该仪器采用凹面平场光栅及内置光源，备有电源、光源、分光、光电转换及数据处理显示输出单元，具有光谱扫描，光度测量，定量测定，时间扫描，峰值检出等功能，能独立操作，体现了全集成的特点。附件配置较齐全，多至 10 几种。连接 UVWin5. 0 软件可提供三维光谱图谱处理功能。光谱范围可扩展到了紫外区，全波段扫描仅 0. 01s。能存储 100 条光谱图数据，可满足野外作业要求，在国际上具有一定的竞争力。

Pors-15 便携式快速紫外可见光谱仪的外形如图 8-4 所示。

图 8-4　Pors-15 便携式快速紫外可见光谱仪

表 8-1 列出了国内外几种便携式光谱仪的比较。我国近几年成功地开发出了适合中国国情的水质 4 参数（COD、氨氮、六价铬、氰化物）专用检测方法和专用试剂，并在我国的有些地方得到成功的应用。

表 8-1　几种便携式光谱仪比较

型　号	Pors-15	USB2000	HR2000	PC2000	CI700
厂家	中国北京普析通用	美国海洋光学	美国海洋光学	美国海洋光学	CID
单色器	凹面平场	平面	平面	平面	平面

续表

型　号	Pors-15	USB2000	HR2000	PC2000	CI700
光源	内置	外置	外置	外置	外置
数据处理	内置	PC机	PC 机	PC 机	PC 机
显示	内置 LCD	PC机	PC 机	PC 机	PC 机
光纤接口	SM905	SM905	SM905	SM905	SM905
检测器	NMOS	CCD	CCD	CCD	CCD
特点	全集成	USB 接口	高分辨率	卡式	叶片测试

四、仪器向多功能方向发展

紫外可见分光光度计的功能增多或一机多用，是目前国际上紫外可见分光光度计发展的又一个动向。岛津公司的 UV-1240 紫外可见分光光度计具有多种功能，既可作常规紫外可见分光光度计使用，又可作水质、生物酶分析的专用仪器使用。作者研制的 MUV-1 型超小型多功能紫外可见分光光度计，既可作常规的紫外可见分光光度计使用，又可作核酸蛋白分析仪和 HPLC 或流动注射分析仪的紫外分光检测器使用；作者研制的 UV/ FL 紫外分光/ 荧光光度计只需 8μl 试样，可得到紫外和荧光两种谱图，已获得国家发明奖。

五、新型的紫外可见分光光度计不断涌现

近五年来，国内外生产厂商不断推出新的仪器，美国的 P-E 公司、Varian 公司、澳大利亚的 GBC 公司等都是如此。我国的北京普析通用公司、北京第二光学仪器厂、上海分析仪器总厂、上海棱光公司、上海光谱公司等，近五年也不断推出新的紫外可见分光光度计。从 1995 年起，我国开始出现新的、高质量的紫外可见分光光度计仪器。当时的代表产品是 TU-1221 紫外可见分光光度计（双光束，杂散光 0.05%，光度噪声 ±0.0004Abs)。1997 年推出更高档的紫外可见分光光度计，其代表产品是 TU-1901 紫外可见分光光度计（双光束，杂散光 0.01%，光度噪声 ±0.0004Abs)。2002 年，我国又推出 UV-2100 紫外可见分光光度计（双光束，杂散光 0.05%)。

本节将简单介绍最近五年以来，国内外推出的最主要、最新的紫外可见分光光度计。

1999 年，英国 Unican 公司推出 UV550 双光束紫外可见分光光度计，该仪器的主要特点是杂散光小、光度噪声小，光学元件镀 SiO_2 保护膜，单色器经过三次密封，防潮、防灰尘较好（详见本书第九章，此不赘述)。

1999 年，北京普析通用公司批量推出 TU-1800 系列紫外可见分光光度计，该仪器的最大特点是仪器为准双光束类型、杂散光小、光度噪声小，功能价格比高。它可以用来作农残（有机磷类、硝酸盐类农残）检测，又可作为一般的紫外可见分光光度计使用。它是国外同类中档紫外可见分光光度计产品的质量，但只相当国外同类低档产品的价格，为国内外同类仪器的佼佼者。

2000 年，澳大利亚的 GBC 公司推出 Citra40 系列紫外可见分光光度计，该仪器的杂散光为 2×10^{-6}，光度噪声为 0.00003A（RMS），基线平直度为 0.001A；该仪器的技术指标不错。但是，技术指标的表示方法欠妥：一是光度噪声未加“±”；二是光度噪声不应用 RMS（均方根值）表示，光度噪声的国际接轨的正确表示方法应该是用“峰-峰”值；三是基线平直度的国际接轨的正确表示方法应该有“±”。

2001 年，美国 P-E 公司推出 Lambda900 紫外可见分光光度计，其杂散光为 8×10^{-7}，光度噪声为±0.0002Abs（峰-峰值表示法）。它是目前国际上最高级的紫外可见分光光度计之一。同年，P-E 公司推出 Lambda25/35/45 系列产品，其杂散光和光度噪声都比较小（详见本书第九章，此不赘述）。

2001 年，日本岛津推出 UV-2450PC、UV-2550PC 紫外可见分光光度计，该仪器采用 DDM（双闪耀光栅、双单色器）。仪器的特点是杂散光小（3×10^{-6}），软件较好，可用于 DNA、酶等的测定。该仪器是由日本岛津的原 UV-2401PC、UV-2501PC 紫外可见分光光度计软件升级而成。

2002 年，北京第二光学仪器厂推出 UV-2100 等新型紫外可见分光光度计，该仪器的光度噪声达到 0.05%，仅次于北京普析通用公司的 TU-1221、TU-1901 型紫外可见分光光度计，其光度准确度、基线平直度等在国内处于先进水平。

2002 年底，美国 Varian 公司推出最新的紫外可见近红外分光光度计 Cary4000/5000/6000i 和 DeepUV，它采用多种专利技术。Cary 公司认为这种最新的仪器，为研究级的紫外-可见-近红外分光光度计性能确立了新标准。其中，Cary6000i 和 DeepUV 是世界首创，Cary6000i 在近红外区采用 InGaAs 固体检测器，比国际上传统惯用的 PbS 检测器的灵敏度高 10 倍；DeepUV 可检测低至 157nm 的谱线。这两种紫外可见分光光度计，都是目前世界上最新、最高级的紫外可见分光光度计。

2004 年初，美国 P-E 公司推出世界上最新的一代 Lambda650/850/950 系列 UVS；有优异的光学性能、灵活的附件和独特的样品室设计，大大提高了分析效率，缩短了分析复杂样品所需的时间。

2004 年，中国北京普析通用公司推出新的 TU-1810、T6、TU-1600、Pors-15 等新型紫外可见分光光度计。其中，Pors-15 是该公司承担的国家十

五攻关项目，具有快速、便携式的特点。T6 型仪器为目前国内性价比最高的普及型紫外可见分光光度计。

2004 年，上海光谱仪器公司推出 SP-1905、1915 等紫外可见分光光度计，上海分析仪器总厂推出 UV757CRT 等紫外可见分光光度计，北京瑞利推出 2600 等紫外可见分光光度计。

第二节　紫外可见分光光度计应用的最新进展

紫外可见分光光度计的应用非常广泛。本节将主要简单介绍近几年国内外紫外可见分光光度计应用的最主要的最新进展情况。

一、多组织不经分离，直接测量

我国第二军医大学的吴玉田教授和他的同事们发明了“褶合光谱”(Convelution Spectrum) 法，并成功应用。“褶合光谱”法不需要对试样经过分离，可以直接用紫外可见分光光度计分析含有 6 个不同组分的试样。这一发明，对药物分析工作来讲，是一个重大的突破，引起了国内外广大药物分析家们的极大注意。但是，“褶合光谱”法作为一个软件包，它对紫外可见分光光度计主机的要求很高，最重要的是要求仪器的杂散光、光度噪声很小。“褶合光谱”软件包不能在质量不高的紫外可见分光光度计使用。

美国 P-E 公司推出了一个 Quset 软件包，用 770 专用计算机作为附件，与 Lambda9 紫外可见分光光度计联用，可分析检测 10 个组分的试样。

复杂体系成分分析一直是分析化学研究的前沿课题。湖南大学俞汝勤院士等采用紫外可见光谱分析法和电化学方法相结合，对复杂体系进行研究，独创了新的化学计量学方法——高阶张量数据解析方法。该方法在新药开发、疾病诊断、食品科学、产品质控、环境毒性分析等领域有广阔的应用前景，已在中药分析、癌症早期诊断中得到应用，已获国家自然科学奖。

二、联用技术

紫外可见分光光度计与其他分析测试技术的联用，是目前世界上紫外可见分光光度计应用的最新进展之一。如紫外可见分光光度计与 HPLC 联用，只要把 HPLC 的紫外检测器去掉，将紫外可见分光光度计接上一只流动池，连接到 HPLC 的柱后，就组成了一个新的、完整的 HPLC-紫外可见分光光度计分析系统。用它来作分析工作，能解决单台 HPLC 或单台紫外可见分光光度计不能解决的许多分析问题。因为，它可以弥补单台 HPLC 或单台紫外可见分光光度计的缺点。因为，单台 HPLC 检测器的功能、光度准确度、一般都

不如紫外可见分光光度计好。但是，紫外可见分光光度计与 HPLC 联用后，就可解决单台 HPLC 无法做到的分析工作。也能解决单台紫外可见分光光度计不能解决的分析工作。因为，单台紫外可见分光光度计本身没有分离功能，联用后利用 HPLC 的高效分离功能，就更能发挥作用，起到意想不到的效果。同样单台 HPLC 检测器的功能、光度准确度都不如紫外可见分光光度计。联用后，新系统的检测器的功能、光度准确度都将大大提高。同样，如果将紫外可见分光光度计与 FIA（Flow injection analisis）联用，也能得到意想不到的分析测试结果。只要把 FIA 的检测器去掉，将紫外可见分光光度计接上一只流动池，连接到 FIA 的自动采样阀后，就组成了一个新的、完整的 FIA-紫外可见分光光度计分析系统。用它来作分析工作，能解决单台 FIA 或单台紫外可见分光光度计不能解决的许多分析问题。因为，它可以弥补单台 FIA 或单台紫外可见分光光度计的缺点。因为，单台 FIA 的检测器功能、光度准确度，一般都不如紫外可见分光光度计好。单台紫外可见分光光度计没有富集功能。但是，紫外可见分光光度计与 FIA 联用后，就可弥补单台紫外可见分光光度计和单台 FIA 各自的缺点。既能解决单台 FIA 无法做到的分析工作，又能解决单台紫外可见分光光度计不能解决的分析工作，会收到意想不到的效果。

三、积分光度法进入复兴时期

从 20 世纪 60 年代开始，因为航天事业的发展，人们非常重视积分光度法。当时主要是用积分光度法测试不透明材料。具体说，就是用积分光度法研究太阳能谱的分布、测试太阳能谱的能量分布、研究对太阳能谱产生吸收的物质。所谓积分光度法，就是在常规的紫外可见分光光度计上加一个光学积分球附件，使得常规紫外可见分光光度计（用比色皿）不能进行的工作得以操作。能对不透明的固体样品、粉末样品等进行分析测试。

所谓光学积分球，就是把一根铝棒（一般是 60～150mm 内径）切成两半，然后将其挖成空心球，在球的内壁上涂上硫酸钡或熏上二氧化镁。这时，在球心放上被测试的物质，则在球内壁的任何地方的漫反射强度都相等。这就是光学积分球的工作原理。

目前，积分光度法正在材料科学、生命科学、航天技术等领域发挥着及其重要的作用。国际上许多科学家认为，积分光度法可以大大扩展紫外可见分光光度计的应用范围。科学家们正在进一步重视积分光度法。它是紫外可见分光光度计应用最新进展的重要内容之一。

参 考 文 献

1 李昌厚等．多功能紫外分光检测仪的研制．见：光谱仪器与分析（专刊）．第 12 届全国光谱仪器与

分析学术研讨会论文集．江苏宜兴：2002．中国光学仪器学会物理光学仪器专业委员会，2002，(2)：36
2 李昌厚．略论光谱仪器中的光电技术及其进展．光学仪器，1990，12 (4)：40
3 李昌厚．再论生命科学仪器及其最新进展．生产科学仪器，2004，2 (3)：1
4 李昌厚．浅谈振兴我国科学仪器事业的几个有关问题，1997，(1)：8
5 李昌厚．现代分析测试技术的特点及最新进展，光学仪器，1999，(1)：15
6 俞汝勤．高阶能量数据解析方法．仪器分析快讯，2004
7 陈连明，马放均．Pors-15 便携式快速光谱测定仪测定废水中的氰化物．生命科学仪器，2004，2 (4)：28
8 吴玉田等．褶合曲线分析法的理论和实践．药物分析杂志，1996，(15)：20
9 李昌厚等．一种新型的多功能微量光度计的研制，仪器仪表学报，1992，(1)：23
10 方莹等．一种新型分光光度计液槽的设计及应用，广西师范大学学报 (自然科学版)，2003，21 (1)：186
11 韦寿莲等．一种新的维生素 C 测定方法，广西师范大学学报 (自然科学版)，2003，21 (1)：350
12 李昌厚等．一种新型的智能化光栅单色仪扫描控制器的研制．光学仪器，1996，(3)：23
13 李昌厚等．一种多功能紫外分光检测仪的研制．光谱仪器，1998，(2)：36

2、请参见书中所述各仪器公司的说明书、样本及有关文献资料．

第九章　仪器的日常维护、常见故障诊断及排除方法

第一节　对电源的要求

紫外可见分光光度计是一种精密的分析仪器，电源是影响其稳定性的主要因素之一。因此，必须要注意仪器使用的电源条件。

仪器对电源的要求较高，如交流供电电源的电压波动≤1%，电源频率为(50±1)Hz。在市电稳定性极差的情况下，若不用或使用性能很差的交流电子稳压器，在分析测试时，肉眼可以很明显的看出电源电压大幅度的波动。

采用自发电，其电源频率很不准，有的只有 40Hz 左右，而仪器里面的滤波、噪声等电路设计都是根据 (50±1)Hz 的频率来考虑的，按 50Hz 及其倍频来设计。特别是噪声，在许多光谱仪器设计时都是主要考虑 50Hz、100Hz 等频率的噪声。如果采用的电源频率偏离 (50±1)Hz 较大，将会严重影响紫外可见分光光度计的噪声和稳定性。

第二节　紫外可见分光光度计对环境的要求

环境是影响紫外可见分光光度计稳定性的主要因素之一，环境因素包括电磁场、温度、尘埃、震动等。

电、磁场的干扰是影响紫外可见分光光度计稳定性的重要因素，如将仪器的电源和空调机的电源插在同一个电源插座上，分析测试时，仪器很不稳定，一经分开，仪器马上恢复正常。

一般来讲，安放紫外可见分光光度计的房间，应该远离电磁场。只要干扰电磁场有足够的强度，也是不允许的。

紫外可见分光光度计的每一个部分都不允许受潮。否则，将会使有关的元器件损坏或性能变坏，影响仪器的稳定性。特别在我国的南方春夏之交时，在潮湿阴雨的气候条件下，很容易影响仪器的性能，如果它受潮，就会引起仪器的杂散光增大。其他的光学元件受潮，也同样会引起仪器性能变坏。

如果光学元件受潮后发霉长毛就会使光能量损失很大，杂散光会增大，会降低仪器的信噪比和灵敏度，增大仪器的误差。

灰尘沾污光学元件使光学元件的反射率降低，从而影响紫外可见分光光度计的灵敏度。杂散光增大，使分析测试的误差增大，仪器的灵敏度。因此，安装紫外可见分光光度计的房间，要求干净、通风、防尘。

安放紫外可见分光光度计的房间，要注意防震。安放紫外可见分光光度计的桌子，最好采用水泥制作，比较稳定，而且不容易受周围震动源的影响。

对要求很高的紫外可见分光光度计，如美国 P-E 公司的 Lambda900 或美国 Varian 公司的 Cary6000 等仪器，其价格昂贵（每台仪器要近 10 万美元）、技术指标很高。为保证其性能，还应为安放仪器的工作台做防震基础。

第三节　仪器的日常保养、维护

紫外可见分光光度计是精密光学仪器。因此，使用者要注意日常保养和维护。除经常做好清洁卫生工作外，还要注意以下几点。

一、经常开机

如果仪器不是经常使用，最好要每星期开机 1～2h。一方面可去潮湿，避免光学元件和电子元件受潮；同时可保持各机械部件不会生锈，以保证仪器能正常运转。

二、经常校验仪器的技术指标

一般每半年检查一次，最好每一个季度检查一次，最少一年要检查一次，其检查方法请参照本书的有关章节。一旦发现哪项技术指标有问题，用户自己不要轻易盲动，应该马上通知制造厂的维修工程师来维修。

当仪器出现问题，一定要及时维修，不能“带病”工作，但是还在坚持。这样不仅仪器分析测试的数据不可靠，还容易进一步损坏仪器。

此外，紫外可见分光光度计应安装在太阳不能直接晒到的地方，以免“室光”太强，影响仪器的使用寿命。

三、保持机械运动部件活动自如

紫外可见分光光度计有许多转动部件，如光栅的扫描机构、狭缝的传动机构、光源转换机构等。使用者对这些活动部件，应经常加一些钟表油，以保证其活动自如。有些使用者不易触及的部件，可以请制造厂的维修工程师或有经验的工作人员帮助完成。

第四节　常见故障诊断、排除方法

紫外可见分光光度计是由光、机、电等部分组成的。光学部分有受潮发霉、性能变坏的可能，机械部分有磨损的问题，电子元件有老化问题等。因此，元部件不可能永远不出故障。因此，不管是哪种，也不管是哪个公司生产的紫外可见分光光度计，出现临时故障都是很正常的。因为产生故障的原因很多，如仪器制造的缺陷、环境因素的影响、操作不当等。所以，使用者应掌握一般的故障诊断和排除方法。

本节主要根据作者长期使用紫外可见分光光度计的实践，介绍一般紫外可见分光光度计常见的故障及其排除方法。

一、常见的故障及其排除方法（见表 9-1）

表 9-1　紫外可见分光光度计的常见故障及其排除方法

常　见　故　障	故 障 排 除 方 法
打开主机后，发现不能自检，主机风扇不转	1. 检查电源开关是否正常 2. 检查保险丝（或更换保险丝） 3. 检查计算机主机与仪器主机连线是否正常
自检时，某项不通过，或出现错误信息	1. 关机；稍等片刻再开机重新自检 2. 重新安装软件后再自检 3. 检查计算机主机与仪器主机连线是否正常
自检时出现“钨灯能量低”的错误	1. 检查光度室是否有挡光物 2. 打开光源室盖，检查钨灯是否点亮；如果钨灯不亮，则关机，更换新钨灯 3. 开机，重新自检 4. 重新安装软件后再进行自检
自检时出现“氘灯能量低”的错误	1. 检查光度室是否有挡光物 2. 打开光源室盖，检查氘灯是否点亮；如果氘灯不亮，则关机，更换新氘灯。换氘灯时，要注意型号 3. 检查氘灯保险丝（一般为 0.5A），看是否松动、氧化、烧断，如有故障，立即更换 4. 开机重新自检 5. 重新安装软件后再进行自检
波长不准；并发现波长有平移	1. 检查计算机与主机连线是否松动，是否连接不好 2. 检查电源电压是否符合要求（电源电压过高或过低，都可能产生波长平移现象） 3. 重新自检 4. 如果还是不行，则打开仪器，用干净小毛刷蘸干净的钟表油刷洗丝杆

续表

常 见 故 障	故 障 排 除 方 法
整机噪声很大	1. 检查氘灯、钨灯是否寿命到期;查看氘灯、钨灯的发光点是否发黑 2. 检查 220V 电源电压是否正常 3. 检查氘灯、钨灯电源电压是否正常 4. 检查电路板上是否有虚焊 5. 查看周围有无强电磁场干扰 6. 检查样品是否浑浊 7. 检查比色皿是否沾污
光度准确度不准	1. 首先检查样品是否正确、称样是否准确、操作是否正确 2. 比色皿是否沾污 3. 波长是否准确 4. 重新进行暗电流校正 5. 检查保险丝是否有问题(松动、接触不良、氧化) 6. 杂散光是否太大 7. 噪声是否太大 8. 光谱带宽选择是否合适 9. 基线平直度是否变坏
基线平直度指标超差	1. 基线平直度测试的仪器条件选择是否正确 2. 重新作暗电流校正 3. 光源是否有异常(光源电源不稳、灯泡发黑、灯角接触不良) 4. 波长是否不准(是否平移) 5. 重新安装软件
测量时吸光度值很大	1. 检查样品是否太浓 2. 检查光度室是否有挡光(波长设置在 546nm 左右,用白纸在样品室观看光斑) 3. 检查光源是否点亮 4. 关机,重新自检 5. 检查电源电压是否太低 6. 重新安装软件
吸光度或透过率的重复性差	1. 检查样品是否有光解(光化学反应) 2. 检查样品是否太稀 3. 检查比色皿是否沾污 4. 是否测试时光谱带宽太小 5. 周围有无强电磁场干扰
杂散光很大	1. 检查光栅是否有沾污,如有,则请制造厂来解决,使用者自己不要轻易盲动 2. 查看所有的光学元件是否有灰尘沾污、霉点;如有,则请制造厂来解决,使用者自己不要轻易盲动 3. 查看光度室是否有光现象
程序保护错误	1. 检查操作是否有误 2. 关闭其他程序 3. 检查是否有计算机病毒 4. 关机重新自检 5. 请有关专业人员解决

续表

常 见 故 障	故 障 排 除 方 法
钨灯是好的,但是自检时出现“钨灯能量高”的错误	1. 检查钨灯电源电压是否超过13V以上 2. 检查计算机有无病毒 3. 重新安装软件,重新自检 4. 检查计算机与仪器主机的连线
氘灯是好的,但是自检时出现“氘灯能量高”的错误	1. 检查氘灯电源电流是否超过350mA以上 2. 检查计算机有无病毒 3. 重新安装软件,重新自检 4. 检查计算机与仪器主机的连线
自检时,发生“滤光片电机出错”	1. 关机,重新自检 2. 查看滤光片是否脱落 3. 请制造厂解决
自检时,发生“狭缝电机出错”	1. 关机,重新自检 2. 查看滤光片是否脱落 3. 请制造厂解决
自检时,发生“光源电机出错”	1. 关机,重新自检 2. 检查光源电机有无异常
自检时,发生“扫描电机出错”;仪器噪声很大	1. 关机,重新自检 2. 关机,检查扫描机构的转动是否正常 3. 关机,打开仪器,用手转动电机,使转动机构中的螺母转到丝杆的中间部分 4. 开机,重新自检
出怪峰	1. 试样是否有问题 2. 检查比色皿是否被沾污 3. 光栅上是否有污点 4. 光学元件是否有沾污 5. 狭缝上有无灰尘 6. 检查周围有无电磁场干扰
两台仪器测试的数据不一致,峰形也不同	1. 首先检查被使用仪器的仪器条件是否与参照仪器的仪器条件一致。要比较两台仪器的分析结果,首先仪器条件必须一致 2. 样品是否正确、称样是否准确、浓度是否一样、操作是否正确 3. 比色皿是否沾污 4. 波长是否准确 5. 重新进行暗电流校正 6. 检查保险丝是否有问题(松动、接触不良、氧化) 7. 杂散光是否太大 8. 噪声是否太大 9. 光谱带宽选择是否合适 10. 基线平直度是否变坏

二、计算机常见故障及排除方法 (见表 9-2)

表 9-2　紫外可见分光光度计计算机常见故障及排除方法

故　障　现　象	故 障 排 除 方 法
计算机屏幕不显示;开机后,计算机屏幕上无任何信息	1. 检查计算机与紫外可见分光光度计主机的各个插头、连线和电源开关是否正常 2. 检查计算机显示器上各个旋钮是否被卡死 3. 检查计算机显示器的开关是否打开 4. 重新开机 5. 如以上办法仍不能解决问题,则请售机单位解决
计算机“死机”	1. 热启动计算机 2. 用复位键重新启动计算机 3. 检查计算机是否有病毒 4. 重新安装软件 5. 与厂家联系解决
计算机开机后,无法进入 Windows	1. 热启动后,按 Del 键重新设置计算机 2. 检查是否有病毒 3. 检查接线是否正常
软驱不能正常工作	1. 检查计算机是否有病毒 2. 用“吹气球”吹一吹软驱内的灰尘 3. 检查软盘 4. 更换软驱
鼠标不灵活	1. 打开鼠标清除油泥 2. 检查连线 3. 更换鼠标
计算机发出异常声音	1. 检查计算机散热风扇;如果有问题,更换之 2. 检查计算机的 CPU 散热风扇;如果有问题,更换之
屏幕上箭头移动,但光标不动	用 ESC 键推出,重新启动计算机
当出现故障原因无法判断时	1. 检查电源电压及其波动情况 2. 检查各连线是否正常 3. 检查保险丝,保证接触良好 4. 关机,重新启动、自检 5. 重新安装软件 6. 找有经验的人员判断、设置计算机 7. 排除计算机病毒

第十章　仪器质量指标检测常用的标准物质、标准光源

紫外可见分光光度计，必须要经常检查仪器的主要技术指标，如光度准确度、波长准确度、杂散光、光谱带宽等是否可靠，以保证仪器工作在最佳状态。因此，这就要了解或掌握用于紫外可见分光光度计主要技术指标检测的有关标准物质的使用与检测方法，熟悉各种标准灯的光电特性、基本物理量的转换等。如果不经常对仪器的主要技术指标进行检查，就不可能保证测试的数据的可靠性。因此，正确地了解和使用标准物质是标定仪器技术指标的关键之一。本章将简单介绍经常用来标定紫外可见分光光度计的波长准确度、光度准确度、杂散光、光谱带宽等主要技术指标的一些常用的标准溶液的配制、检测方法及特别需要引起注意的问题。

第一节　重铬酸钾标准溶液的配制

一、酸性重铬酸钾标准溶液配制方法

重铬酸钾溶液作为紫外可见分光光度计光度准确度检验的标准物质，早已被仪器制造者和使用者广泛使用。但是，往往不同文献介绍的浓度不同，且数据也稍有差别。本文推荐国内外较为普遍使用的浓度为 0.06006g/ L 的酸性重铬酸钾溶液。

将分析纯重铬酸钾放在 110℃烘箱内烘 2h 到恒量。取出后，放在干燥缸内冷却半小时。准确称取 0.6006g 铬酸钾，加入 0.1mol/ L 的硫酸溶液到 1000ml，配制成浓度为 0.06006g/ L 的酸性重铬酸钾溶液。在温度 25℃，光谱带宽 2nm，用 10mm 厚比色皿，以中等速度扫描，测得该酸性重铬酸钾溶液的投射比和吸光度见表 10-1。

表 10-1　0.06006g/ L 酸性重铬酸钾溶液的投射比和吸光度

编　号	波　长/ nm	透射比 T	吸光度
1	235	0.180	0.744
2	257	0.137	0.864
3	313	0.513	0.290
4	350	0.230	0.639
仪器测试条件	扫描速度:中;光谱带宽:2nm	仪器测试条件	扫描速度:中;光谱带宽:2nm

注：温度为 25℃，试样比色皿厚 10mm。

我国的双光束紫外可见分光光度计计量检定规程的附录5中规定，在光度准确度的标准溶液时，要求将重铬酸钾溶解在0.001mol/L的高氯酸（$HClO_4$）中。特别要指出的是这种方法并不可取，因为高氯酸不稳定，它有可能被分解为次氯酸。所以，还是将重铬酸钾溶解在0.1mol/L的硫酸中较好。

二、碱性铬酸钾标准溶液配制方法

铬酸钾碱性溶液作紫外可见分光光度计光度准确度的标准溶液，其配制方法如下：将分析纯的铬酸钾放在105℃的烘箱内烘2h到恒量。取出后，放在干燥缸内冷却半小时。用精度为万分之一的天平称0.0400g铬酸钾，并加入0.05mol/L的氢氧化钾溶液到1000ml。在温度为25℃、厚度为10.00mm的石英比色皿中测定其透射比，参比空白溶液为0.05mol/L的氢氧化钾溶液。测定结果见表10-2。

表10-2　0.0400g/L的铬酸钾在0.05N的氢氧化钾溶液中的透射比和吸光度值
（温度为25℃；比色皿光程长10mm）

波长/nm	透射比 T	吸光度	波长/nm	透射比 T	吸光度
220	0.358	0.446	334.2	0.620	0.208
225	0.601	0.221	335	0.600	0.222
230	0.674	0.171	340	0.483	0.316
235	0.616	0.210	345	0.373	0.428
240	0.507	0.295	350	0.276	0.559
245	0.402	0.396	355	0.199	0.701
250	0.319	0.496	360	0.148	0.830
253.6	0.279	0.554	365	0.116	0.936
255	0.268	0.572	370	0.103	0.987
260	0.233	0.633	375	0.102	0.991
265	0.202	0.695	380	0.117	0.932
270	0.180	0.745	385	0.150	0.824
275	0.175	0.757	390	0.202	0.695
280	0.194	0.712	395	0.294	0.532
285	0.257	0.590	400	0.402	0.396
290	0.373	0.428	404.7	0.515	0.288
295	0.533	0.273	410	0.632	0.199
296.7	0.598	0.223	420	0.751	0.124
300	0.709	0.149	430	0.824	0.084
302.2	0.771	0.113	435.8	0.859	0.066
305	0.834	0.079	440	0.882	0.054
310	0.895	0.048	450	0.927	0.033
313.2	0.905	0.043	460	0.960	0.018
315	0.900	0.046	470	0.980	0.009
320	0.864	0.064	480	0.991	0.004
325	0.804	0.095	490	0.997	0.001
330	0.710	0.149	500	1.000	0.000

注：1. 温度为25℃，比色皿光程长10mm。

2. 该表数据来自NBS. Standard Mothod of Test for VV/VIS/NIR Spectrophotometer, ASTM, E275-83, 1983

该溶液经曾为美国国家标准局（NBS）推荐用于光度准确度检查。且认为该溶液配制后可以长期保存，不会影响光度准确度测定值的可靠性（对 260nm 以下的波长，保存期为 6 个月以内；对 260nm 以上的波长，保存期可达 5 年）。

在测定时，为了避免由于波长误差而引起的吸光度误差，作者建议最好不要选择吸收曲线斜坡上的读数，而采用吸收峰值上的吸光度数据作主要参考。

由于标准溶液的浓度会直接影响光度准确度的准确性，因此，配制溶液的浓度必须准确。

我们来估计一下配制误差对投射比的影响，在试剂质量得到保证的前提下，引起溶液浓度误差的主要来源是试剂的质量误差及溶液稀释时的容量误差。

假设：质量误差为±0.0001g；容量误差为±1ml（1000ml 容量，并根据国家计量标准局规定，一级品的精度为 1000ml±0.3ml，二级品为 1000ml±0.6ml）

把这些配制误差所引起的溶液浓度的变化换算到投射比误差，并以 270nm 为例列于表 10-3。

表 10-3　铬酸钾溶液的浓度变化对透射比的影响

质量/ g	容量/ ml	浓度 C（g/ L）	$\Delta C/C$ %	透　射　比		
				吸光度/ A	T/ %	ΔT/ %
0.0399	999	0.3994	- 0.15	0.7439	18.03	+ 0.03
0.0399	1000	0.3990	- 0.25	0.7431	18.07	+ 0.07
0.0399	1001	0.3986	- 0.35	0.7424	18.09	+ 0.09
0.0400	999	0.4004	+ 0.1	0.7457	17.95	- 0.05
0.0400①	1000	0.4000	0	0.7450	18.00	0
0.0400	1001	0.3996	- 0.1	0.7443	18.01	+ 0.01
0.0401	999	0.4014	+ 0.35	0.7476	17.89	- 0.11
0.0401	1000	0.4010	+ 0.25	0.7469	17.90	- 0.10
0.0401	1001	0.4005	+ 0.13	0.7460	17.95	- 0.05

① 为没有配制误差的数据。

注：该表来自洪哈霞等．分光光度计（光学仪器丛书）．北京：机械工业出版社，1982

从表中可以看出：上述的配制误差在 270nm 处可引起的最大透射比误差为 0.11%。因此，用它来检验透射比标准为 0.5%的仪器是可以的。但其缺点是：第一，因为溶液呈碱性，对玻璃会产生腐蚀，所以不能贮藏在玻璃容器内。如果在普通玻璃容量瓶中存放数月，就会有玻璃屑脱落。这种溶液对石英比色皿也稍有损伤。第二，它对大气中的 CO_2 气体有很强烈的吸收。第三，当波长低于 230nm 时，吸收值变化很快。

第二节　硫酸铜标准溶液配制方法

硫酸铜标准溶液适用于检测可见波段内的光度准确度。其配制方法如下：

将 10ml 相对密度为 1.835 的硫酸加入到 20.000g 硫酸铜 ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 内，再用蒸馏水加到 1000ml。在温度为 25℃、比色皿光程长为 10.00mm 的条件下测试，其结果如表 10-4。

表 10-4　硫酸铜标准溶液的吸光度和透射比（温度为 25℃，试样比色皿光程 10mm）

波长/ nm	吸光度/ A	透射比/ %	波长/ nm	吸光度/ A	透射比/ %
350	0.0090	0.979	600	0.0680	0.855
360	0.0063	0.986	610	0.0885	0.816
370	0.0046	0.989	620	0.1125	0.772
380	0.0035	0.992	630	0.143	0.719
390	0.0028	0.994	640	0.180	0.661
400	0.0023	0.995	650	0.224	0.597
410	0.0019	0.996	660	0.274	0.532
420	0.0016	0.996	670	0.332	0.466
430	0.0014	0.997	680	0.392	0.406
440	0.0012	0.997	690	0.459	0.348
450	0.0011	0.997	700	0.527	0.297
460	0.0011	0.997	710	0.592	0.256
470	0.0012	0.997	720	0.656	0.221
480	0.0014	0.997	730	0.715	0.193
490	0.0018	0.996	740	0.768	0.171
500	0.0026	0.994	750	0.871	0.152
510	0.0038	0.991	Hg404.7	0.0021	0.995
520	0.0055	0.987	435.8	0.0013	0.997
530	0.0079	0.982	491.6	0.0019	0.996
540	0.0111	0.975	Hg501.6	0.0028	0.994
550	0.0155	0.965	546.1	0.0135	0.969
560	0.0216	0.951	578.0	0.0368	0.919
570	0.0292	0.935	587.6	0.0487	0.894
580	0.0390	0.914	667.8	0.319	0.480
590	0.0518	0.888			

注：1. 温度为 25℃，试样比色皿光程 10mm。

2. 该表来自洪昤霞等．分光光度计（光学仪器丛书）．北京：机械工业出版社，125，1982

第三节　NaI 标准溶液和 $NaNO_2$ 标准溶液的配制

NaI 标准溶液和 $NaNO_2$ 标准溶液是杂散光测试必备的。目前国际上都采用 10g/ L 的 NaI 标准溶液来测试紫外可见分光光度计在 220nm 处的杂散光；采用 50g/ L 的 $NaNO_2$ 标准溶液来测试紫外可见分光光度计在 340nm 处的杂散光。

一、NaI 标准溶液的配制方法

在分析天平上称取 5.00g（分析纯，准确至±0.1g）NaI，移入 500ml 容量瓶中，加入适量重蒸馏水溶解后，再用重蒸馏水稀释至刻度线，摇匀，妥善保存备用。

曾经有人采用 NaBr 溶液测试紫外可见分光光度计 220nm 处的杂散光，这是不妥当的。因为 NaBr 溶液的光谱特性是从 0～225nm 波段不透光，从 225nm 开始透光，测试点离透光点只有 5nm 时会使得测试的杂散光增大。实践证明，一般应取测试点离透光点 20～45nm 为好。

二、$NaNO_2$ 标准溶液的配制方法

在天平上称取 50g $NaNO_2$（分析纯，准确至±0.1g），移入 500ml 容量瓶中，加入适量重蒸馏水溶解后，再用重蒸馏水稀释至刻度线，摇匀，妥善保存备用。

目前，我国有些标准物质研究机构，已对 NaI 溶液和 $NaNO_2$ 溶液作成针剂，并有出售。使用者可去有关单位购买。

第四节　低压汞灯的特征谱线和能量分布

低压汞灯是使用最多的一种标准光源，它的能量 90% 以上集中在 253.65nm 这一根谱线上。低压汞灯主要用来标定紫外可见分光光度计的波长准确度，也可用作光谱带宽的测试。在使用低压汞灯的时候，要特别注意安全，因为低压汞灯的紫外线很强，容易伤害眼睛。所以，使用者在操作时应该带玻璃眼镜或防紫外线的太阳眼镜。

一般用来检测紫外可见分光光度计的波长准确度和光谱带宽的低压汞灯大约是 20W 左右。上海分析仪器厂、上海棱光公司都有出售，其型号为 20G 低压汞灯。低压汞灯的特征谱线见表 10-5。

表 10-5　低压汞灯的特征谱线

编　号	波　长/nm	编　号	波　长/nm
1	253.65	7	404.66
2	296.73	8	407.78
3	302.15	9	435.84
4	313.16	10	546.07
5	334.15	11	576.96
6	365.01	12	579.06

注：仪器测试条件是光谱带宽为 2nm，扫描速度为中。

第五节　氧化钬玻璃的特征谱线和能量分布

氧化钬玻璃是最常用来检测中高档紫外可见分光光度计的波长准确度的标准片。其特征波长见表 10-6。

一、氧化钬玻璃的特征谱线

表 10-6　氧化钬玻璃的特征谱线

编　号	波　长/ nm	编　号	波　长/ nm
1	241. 5	7	446. 0
2	279. 4	8	453. 2
3	287. 5	9	460. 0
4	333. 7	10	536. 2
5	360. 9	11	637. 5
6	418. 7		
仪器测试条件	扫描速度:中 光谱带宽:2nm 样品厚度:2. 6mm	仪器测试条件	扫描速度:中 光谱带宽:2nm 样品厚度:2. 6mm

二、氧化钬玻璃的能量分布 (见图 10-1)

特别需要指出的是，因为氧化钬玻璃的透射比值或吸光度值特别容易受温度变化的影响，所以，它只能用来作波长准确度测试，不能用作光度准确度的测试。

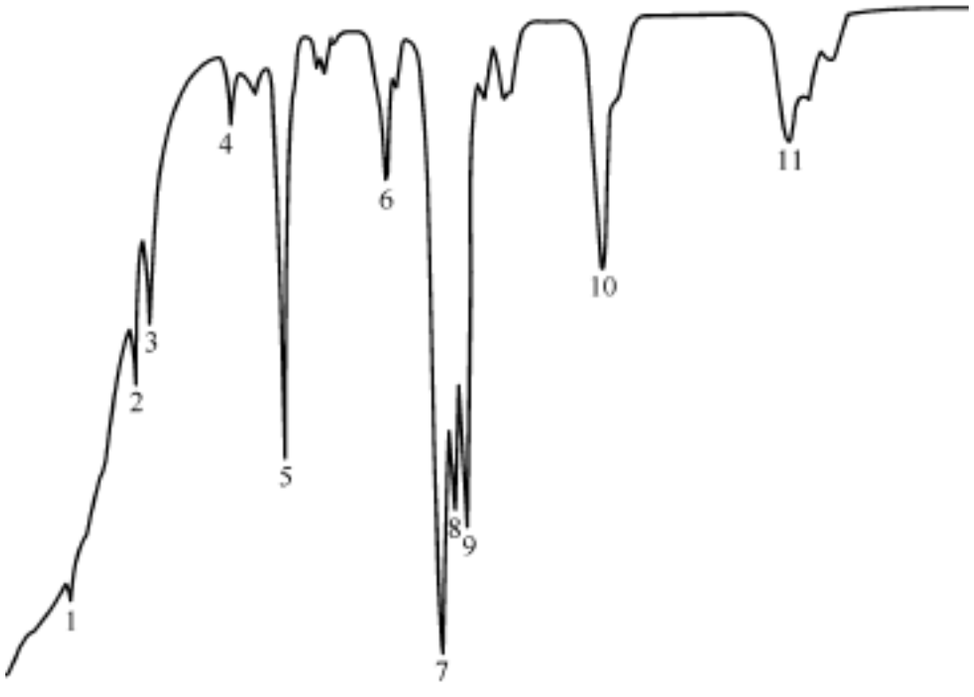


图 10-1　氧化钬玻璃的特征谱线能量分布

即使是用于波长准确度测试，也要经常对它进行标定。否则，温度变化会产生很大的误差。

第六节　氧化钬溶液的特征谱线和能量分布

钬溶液是最常用来检测紫外可见分光光度计的波长准确度的标准物质之一。其中4%氧化钬的1.4mol/ L $HClO_4$ 溶液被经常使用，其透射比的特征波长和特征谱图见表10-7和图10-3。

一、特征谱线（见表10-7）

表10-7　4%氧化钬的1.4mol/ L $HClO_4$ 溶液的特征谱线

编　号	波长/ nm	编　号	波长/ nm
1	241.1	9	416.3
2	249.7	10	450.8
3	278.7	11	452.3
4	287.1	12	467.6
5	333.4	13	485.8
6	345.5	14	536.4
7	361.5	15	641.1
8	385.4		
仪器测试条件	扫描速度:中 光谱带宽:2nm 参考样品:1.4mol/ L 的高氯酸,在1cm厚的比色皿中	仪器测试条件	扫描速度:中 光谱带宽:2nm 参考样品:1.4mol/ L 的高氯酸,在1cm厚的比色皿中

二、能量分布（见图10-2）

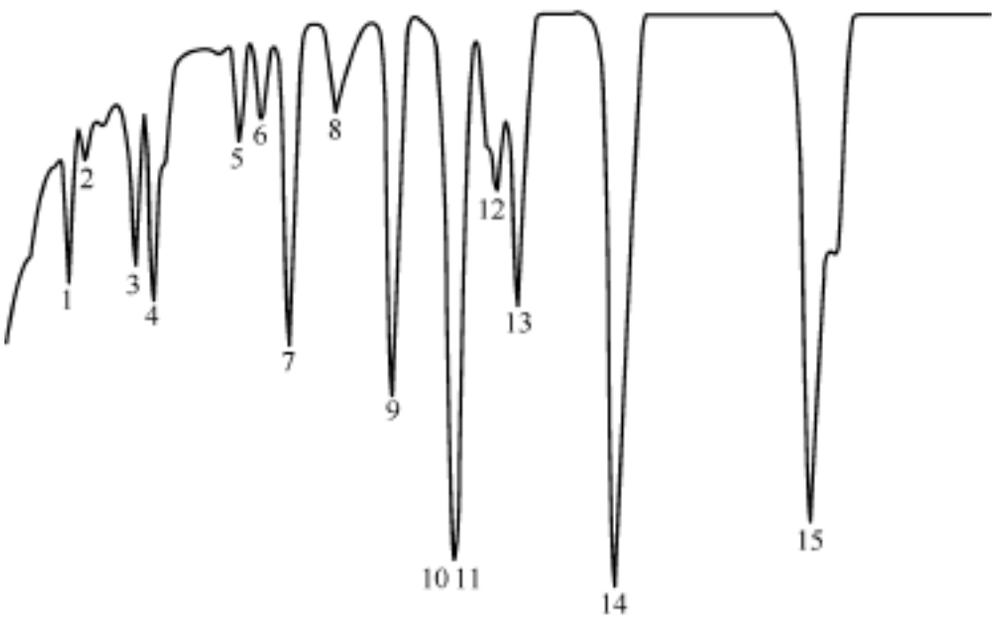


图10-2　4%氧化钬的1.4mol/ L $HClO_4$ 溶液的特征光谱能量分布

第七节　氘灯的特征谱线

氘灯是最常用来检测紫外可见分光光度计的波长准确度的标准灯。大多数进口紫外可见分光光度计，都用仪器上的氘灯来检测波长准确度。国产紫外可见分光光度计中，中档以上、带有自动扫描的仪器，也都采用仪器上的氘灯来检测波长准确度（如 TU-1900、TU-1901、UV-2100、TU-1810 等）。氘灯的特征波长见表 10-8。

表 10-8　氘灯的特征波长

编　　号	波长/ nm	编　　号	波长/ nm
1	486.0	3	656.1
2	581		

注：仪器测试条件：吸光度为 0；光谱带宽为 2nm；扫描速度为中。

第八节　高压汞灯的特征谱线

高压汞灯也是最常用来检测紫外可见分光光度计的波长准确度的标准灯。其特征波长和特征波长能量见表 10-9。

表 10-9　高压汞灯的特征谱线

编　　号	波长/ nm	编　　号	波长/ nm
1	0.6907	7	1.5295
2	1.0140	8	1.6921
3	1.1287	9	1.7073
4	1.3570	10	1.7110
5	1.3673	11	1.9701
6	1.3950	12	2.3253

注：仪器测试条件是光谱带宽为 2nm，扫描速度为中。

作者曾用上海灯泡厂生产的 GGQ-80 仪用高压汞灯，稍加改造（去掉玻璃外壳），来标定自制的超小型紫外可见分光光度计的波长准确度，得到了非常满意的结果。实测的 253.7nm、365.0nm、404.8nm、546.1nm、577.0nm、579.0nm 等。波长的测试值与文献完全一致。去掉玻璃外壳的 GGQ-80 仪用高压汞灯，紫外线很强，使用时必须要带防护眼镜，否则会烧伤眼睛。

第九节　苯蒸气的吸收光谱

苯蒸气作为紫外可见分光光度计的分辨率检验标准物质，早已被淘汰，因为苯蒸气评定紫外可见分光光度计的分辨率只能给出相对值，不像光谱带宽的表示方法，能给出具体测试值，且苯对人体的危害很大，特别是对人体的肝脏影响很大。其吸收光谱见图 10-3。

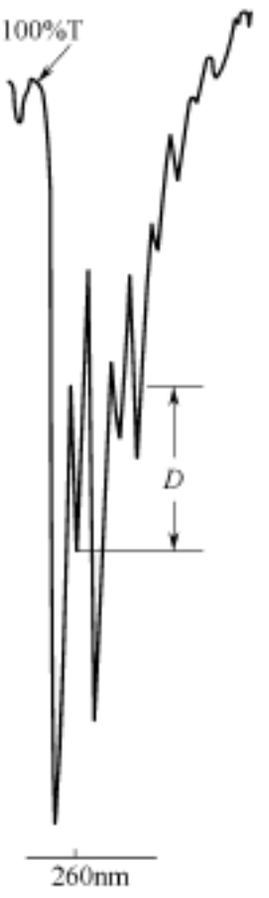


图 10-3　苯蒸气的吸收光谱

参　考　文　献

1　中华人民共和国国家计量检定规程（JJG 178 - 1996、JJG 375 - 1996）

2　黄君礼等，紫外吸收光谱法及其应用，北京：中国科学技术出版社，1992

3　洪吟霞等，分光光度计（光学仪器丛书），北京：机械工业出版社，1982

4　Shimadzu, Intrduction To Ultraviolet and Visible Spectrophotometric Analysis, Printed in Japon 3010-07003-15 AIK-E, 1998

5　陈国珍，黄贤智等，紫外-可见光分光光度法（上、下册），北京：原子能出版社，1983

6　NBS. Standard Mothod of Test for UV/ VIS/ NIR Spectrophotometer, ASTM, E275-83, 1983

7　ASTM. 1982 Annual Book of ASTM Standards (Part 42) (Priuted in U. S. A.), 335, 1982

8　JB. 紫外可见-近红外分光光度计（中华人民共和国机械行业标准），5，1992

9　M. Winstead. Instrument Check Systems (Published in Greet Britain, Printed in the U. S. A.), 22～24, 1971

附录一　国内外主要高档紫外可见分光光度计一览

附表 1　国内外主要高档紫外可见分光光度计的主要技术指标

公司与型号	北京普析通用 TU-1901	北京二光 UV-2100	日本 Shimadzu UV-3101PC	美国 P-E Lambda40/ Bio40	美国 Varian Cary6000	英国 Unicam UV500
光度系统	双光束	双光束	双光束	双光束	双光束	双光束
波长范围	190～900nm	190～900nm	190～900nm	190～1100nm	190～900nm	190～900nm
波长准确度	±0.3nm	±0.3nm	±0.3nm	±0.1nm	±0.1nm	±0.3nm
波长重复性	0.1nm	0.1nm	±0.1nm	0.05nm	0.08nm	±0.1nm (Holmium) < 0.03nm D656.1
光谱带宽 / nm	0.1/ 0.2/ 0.5/ 1.0/ 2.0/ 5.0	0.1/ 0.2/ 0.5/ 1.0/ 2.0/ 5.0	0.1/ 0.2/ 0.5/ 1.0/ 2.0/ 5.0	0.5～4	0.2～4	0.2/ 0.5/ 1.0/ 1.5/ 2.0/ 4.0
光度准确度 / Abs	±0.002 (0～0.5); ±0.004 (0.5～1.0);	±0.002 (0～0.5); ±0.004 (0.5～1.0)	±0.002 (0～0.5); ±0.004 (0.5～1.0)	±0.003Abs	±0.003Abs	±0.001Abs (1Abs)
光度重复性 / Abs	0.001 (0～0.5); 0.002 (0.5～1.0)	0.001Abs (0～0.5Abs); 0.002Abs (0.5～1.0Abs)	0.001Abs (0～0.5Abs); 0.002Abs (0.5～1.0Abs)	0.001Abs	0.001Abs (0～0.5Abs); 0.002Abs (0.5～1.0Abs)	±0.001Abs (1Abs)
杂散光	0.015% (220nm, NaI; 340nm, $NaNO_2$)	0.05% (220nm, NaI; 340nm, $NaNO_2$)	0.0001% (220nm, NaI; 340nm, $NaNO_2$)	0.01%; 0.005%(可选)	0.00008% (220nm, NaI); 0.00008% (340nm, $NaNO_2$)	< 0.001% (220nm, 340nm)
噪声	±0.00035 Abs(P-P)	±0.002 Abs(P-P)	—	0.00003Abs	±0.0002Abs (P-P)	< 0.00015Abs
基线平直度	±0.001Abs	±0.001Abs	±0.001Abs	0.0005Abs	±0.001Abs	±0.001Abs
基线漂移	0.0004Abs/ h (500nm, 0Abs, 2nm 光谱带宽)	0.0004 (500nm, 0Abs, 2nm 光谱带宽)	0.0004Abs/ h (500nm, 0Abs, 2nm 光谱带宽)	0.00015	0.0003Abs/ h	< 0.0005 Abs/ h
LDR A_{max} / A_{min}	60 以上			100 以上		

附录二　国内外主要中高档紫外可见分光光度计一览

附表 2　国内外主要中高档紫外可见分光光度计的主要技术指标

公司与型号	日本岛津 UV-2100	日本 Hitachi U-2000	美国 Lambda EZ201	日本岛津 UV-2201	美国 P-E Lambda6	美国惠普 HP-8453	日本日立 UV-3000
光度系统	双光束	双光束	双光束	双光束	双光束	—	双光束
波长范围 nm	190～900	190～1100	190～1100	190～900	190～900	190～1100	190～900
波长准确度	—	±0.4	±0.3nm	±0.3nm	±0.3nm	±0.5nm	±0.3nm
波长重复性	—	—	±0.1nm	±0.05nm	±0.1nm	±0.05nm	±0.05nm
光谱带宽	0.1/0.2/0.3/0.5/0.8/1/2/5	2	2	0.1/0.2/0.5/1/2/5	0.25/1/2/4	1nm	0.1/0.5/1/2/4/6
光度准确度	±0.004E (1E)	±0.004E (1E)	±0.004A (1A)930D	±0.002Abs ±0.004Abs ±0.3%T	±0.005Abs	±0.005Abs	±0.002Abs ±0.004Abs ±0.1%T
光度重复性	—	—	0.002A (1A)930D	—	—	—	—
杂散光	<0.05% (220nm,NaI; 340nm, UV390)	<0.05% (220nm; 340nm)	0.05% 220nm NaI;340nm	<0.025%	0.02%T	0.05%T	<0.0015%T
噪声	—	—	0.0003A	—	0.0003Abs	0.0002 Abs/RMS	—
基线平直度	±0.001E	—	±0.002A 200～950	±0.001Abs	±0.002Abs	±0.001 Abs/RMS	±0.001Abs
基线漂移	0.0004E/h	—	0.0003 A/h	0.0004 Abs/h	0.005 Abs/h	0.001 Abs/h	±0.004 Abs/h
LDR (A_{max}/A_{min})	—	—	—	—	—	—	—

附录三　国内外主要中低档紫外可见分光光度计一览

附表 3　国内外主要中低档紫外可见分光光度计的主要技术指标

公司与型号	上海天美 U-1800	北京普析通用 TU-1810	北京瑞利 UV-2600	日本 Jasco 7800	美国 P-E55	中国上分总厂 762	美国-中国安捷伦 7530G
光度系统	准双光束	准双光束	双光束	—	—	准双光束	准双光束
波长范围/nm	190～1100	190～1100	190～1100nm	200～1100	190～860	190～1100	—
波长准确度	±0.3nm	±0.3nm	±0.3nm	±0.5nm	±0.5nm	±0.5nm	±0.5nm
波长重复性	±0.1nm	—	—	±0.1nm	—	0.2nm	0.2nm
光谱带宽	15nm(固定)	2nm(0.2/0.5/1/2/5)	2nm(5/4/1/0.5)	3.0nm	0.25;1;2;4nm	2nm	0.2/1/2nm
光度准确度	±0.002Abs(0～0.5Abs);±0.004Abs(0.5～1.0Abs);±0.3%	±0.002Abs(0～0.5Abs);±0.004Abs(0.5～1.0Abs);±0.3%T	±0.3%T	±0.005Abs±0.3%T	±0.002A(1A)	±0.5%	—
光度重复性	0.001Abs(0～0.5Abs);0.002Abs(0.5～1.0Abs)	0.001Abs(0～0.5Abs);0.002Abs(0.5～1.0Abs)	±0.2%T	—	—	—	—
杂散光	0.05%	0.3%(220nm,NaI;340nm,$NaNO_2$)	0.1%(220nm)	0.05%T	<0.008%T(220、340nm)	0.15%(220nm,NaI;340nm,$NaNO_2$)	0.5%T
噪声	—	±0.002Abs(P-P)	—	—	—	—	0.005Abs
基线平直度	±0.002Abs	±0.002Abs	±0.003Abs	—	—	±0.0004Abs	—
基线漂移	0.003Abs/h	0.0004Abs/h(500nm,0Abs,2nm光谱带宽)	0.002Abs/h	0.00004Abs/h(500nm,0Abs,2nm光谱带宽)	—	—	—

附录四　国内外主要普及型紫外可见分光光度计仪器一览

附表 4　国内外主要普及型紫外可见分光光度计的主要技术指标

公司与型号	北京普析通用 T6 新世纪	上海光谱仪器公司 SP-1900UV	上海棱光公司 S53/ 54
光度系统	准双光束	双光束	单光束
波长范围/ nm	190～1100	200～1000	200～1000
波长准确度	±1nm	±0 .3nm	±2nm
波长重复性	0 .2nm	0 .2nm	1 .0nm
光谱带宽	2nm	1 .5nm	4/ 2(nm)
光度准确度	±0 .002Abs(0～0 .5Abs); ±0 .004Abs(0 .5～1 .0Abs); ±0. 3%T	±0 .5%T	±0 .5%T
光度重复性	< 0 .001Abs(0～0 5Abs); < 0 .002Abs (0 .5～1 .0Abs); < 0 .15%T	0 .2%T	0 .3%T
杂散光	0 .05%T	0 .1%T(220/ 340nm)	0 .2%(220nm)
噪声	±0 .001Abs(500nm, P-P)	0 .3%T	—
基线平直度	±0 .002Abs	±0 .004Abs	—
基线漂移	0 .001Abs/ h (500nm, 0Abs, 预热 2h)	—	—
公司与型号	北京瑞利 UV-2600	上海光谱仪器公司 SP-1901UV	德国 Jena205
光度系统	准双光束		双光束
波长范围/ nm	190～1100	200～1000	190～1100
波长准确度	±0 .3nm	±0 .5nm	±0 .3nm
波长重复性	0 .15nm	0 .2nm	±0 .1nm
光谱带宽	2nm(5/ 4/ 1/ 0 .5 可安装自选)	1 .5nm	0 .8/ 1 .6/ 3 .8nm
光度准确度	±0 002Abs(0～0 5Abs); ±0 004Abs (0 .5～1 .0Abs); ±0 .3%T	±0 .5%T	±0 .003A(1A)
光度重复性	< 0 .2%T	0 .2%T	±0 .003A(1A)
杂散光	0 .1%T	0 .1%T(220/ 340nm)	0 .03%T
噪声	—	0 .3%T	—
基线平直度	±0 .003Abs	±0 .004Abs	—
基线漂移	0 .003AbS/ h(500nm, 0Abs, 预热 2h)	0 .003A/ h	0 .0002A/ h

注：因为普及型的紫外可见分光光度计很多，特别是国产仪器更多（为 75 系列、UV 系列等），本书中不可能全部列出，请读者自己查看各有关生产厂家的资料。

附录五　有关的其他重要资料

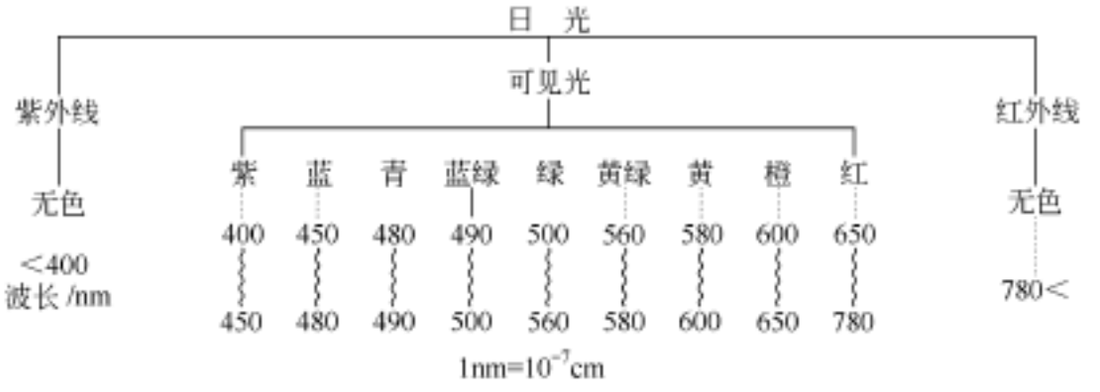
一、电磁波谱

附表 5　电磁波谱

波谱区名称	波长范围	波数/ cm^{-1}	频率/ MHz	光子能量/ eV	跃迁能级类型
γ 射线	5×10^{-3}～0.14nm	2×10^{10}～7×10^{7}	6×10^{14}～2×10^{12}	2.5×10^{6}～8.3×10^{3}	核能级
X 射线	10^{-2}～10nm	10^{10}～10^{6}	3×10^{14}～3×10^{10}	1.2×10^{6}～1.2×10^{2}	内层电子能级
远紫外光	10～200nm	10^{6}～5×10^{4}	3×10^{10}～1.5×10^{9}	125～6	原子及分子的价电子或成键电子能级
近紫外光	200～380nm	5×10^{4}～2.5×10^{4}	1.5×10^{9}～7.5×10^{8}	6～3.1	
可见光	400～780nm	2.5×10^{4}～1.3×10^{4}	7.5×10^{8}～4.0×10^{8}	3.1～1.7	
近红外光	0.75～2.5μm	1.3×10^{4}～4×10^{3}	4.0×10^{8}～1.2×10^{8}	1.7～0.5	分子振动能级
中红外光	2.5～50μm	4000～200	1.2×10^{8}～6.0×10^{6}	0.5～0.02	
远红外光	50～1000μm	200～10	6.0×10^{6}～10^{5}	2×10^{-2}～4×10^{-4}	分子转动能级
微波	0.1～100cm	10～0.01	10^{5}～10^{2}	4×10^{-4}～4×10^{-7}	
射频	1～1000m	10^{-2}～10^{-5}	10^{2}～0.1	4×10^{-7}～4×10^{-10}	核自旋能级

注：摘自 GB/ T 14666—93。

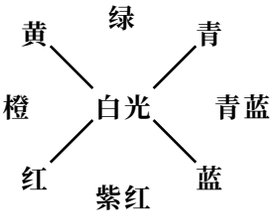
二、各种色光的波长



附图 1　各种色光的波长

如果把适当颜色的两种光按一定强度比例混合，也可成为白光，这两种颜色的光称为互补色光。

互补色对使用者（尤其是对初学的使用者）很有用；在研究工作中，当拿到一个未知试样后，不知用什么波长测试为好，特别在仪器不具有自动扫描功能时，一时很难找到合适的测试波长，这时，可根据试样的颜色，利用互补色的原理，很快找到测试波长的区域，而后，可以较快找到合适的测试波长。



附图 2　互补色光示意图

三、分析工作者经常使用的一些重要的物理常数见附表 6

附表 6　一些重要的物理常数

量	符号	数值与单位	量	符号	数值与单位
光速(真空)	c	$2.99792\times10^{8}\ \mathrm{m\cdot s^{-1}}$	法拉第常量	F	$96485.31\ \mathrm{C\cdot mol^{-1}}$
普朗克常量	h	$6.62608\times10^{-34}\ \mathrm{J\cdot s}$	摩尔气体常量	R	$8.31451\ \mathrm{J\cdot mol^{-1}\cdot K^{-1}}$
电子电荷	e	$1.602177\times10^{-19}\ \mathrm{C}$	玻耳兹曼常量	k	$1.38066\times10^{-23}\ \mathrm{J\cdot K^{-1}}$
电子(静止)质量	m_e	$9.10939\times10^{-31}\ \mathrm{kg}$	电子伏特能量	eV	$1.60218\times10^{-19}\ \mathrm{J}$
阿伏伽德罗常量	N_A	$6.022137\times10^{23}\ \mathrm{mol^{-1}}$			

四、*A*-*T* 值换算表

附表 7　*A*-*T* 值换算表

T/ %	*A*	*T*/ %	*A*	*T*/ %	*A*	*T*/ %	*A*
0.1	3.00	15.0	0.8239	54.0	0.2676	89.0	0.0506
0.5	2.301	16.0	0.7959	56.0	0.2518	90.0	0.0458
1.0	2.00	17.0	0.7695	58.0	0.2366	90.5	0.0433
1.5	1.824	18.0	0.7447	60.0	0.2218	91.0	0.0410
2.0	1.699	19.0	0.7212	62.0	0.2076	91.5	0.0386
2.5	1.602	20.0	0.6990	64.0	0.1938	92.0	0.0362
3.0	1.523	22.0	0.6576	66.0	0.1804	92.5	0.0339
3.5	1.456	24.0	0.6198	68.0	0.1675	93.0	0.0315
4.0	1.398	26.0	0.5850	70.0	0.1549	93.5	0.0292
4.5	1.347	28.0	0.5528	72.0	0.1427	94.0	0.0269
5.0	1.301	30.0	0.5229	74.0	0.1308	94.5	0.0246
5.5	1.260	32.0	0.4948	76.0	0.1192	95.0	0.0223
6.0	1.222	34.0	0.4685	78.0	0.1079	95.5	0.0200
6.5	1.187	36.0	0.4437	80.0	0.0969	96.0	0.0177
7.0	1.155	38.0	0.4202	81.0	0.0915	96.5	0.0155
7.5	1.125	40.0	0.3979	82.0	0.0862	97.0	0.0132
8.0	1.097	42.0	0.3768	83.0	0.0809	97.5	0.0110
9.0	1.046	44.0	0.3565	84.0	0.0757	98.0	0.0088
10.0	1.000	46.0	0.3372	85.0	0.0706	98.5	0.0066
11.0	0.9586	48.0	0.3188	86.0	0.0655	99.0	0.0044
12.0	0.9208	50.0	0.3010	87.0	0.0605	99.5	0.0022
13.0	0.8861	52.0	0.2840	88.0	0.0555	100.0	0.000
14.0	0.8539						

注：$A = Z - \lg T$。

五、溶液透射比与测定准确度的关系 (见附表 8)

附表 8　溶液透射比与测定准确度的关系

透射率 T %	95	90	80	70	60	50	40	30	20	10	5
光度计绝对误差为 1%时,测定结果的相对误差值/ %	20.8	10.7	5.6	4.0	3.3	2.9	2.7	2.8	3.2	4.3	6.5

由附表 9 可知，紫外可见分光光度计测定结果的相对误差最小的最佳透射率为 T = 37%左右 (A = 0.434)。

六、一些溶剂的透明范围

附表 9　一些溶剂的透明范围

溶　剂	透明范围/ nm	溶　剂	透明范围/ nm
水	> 180	95%乙醇	> 210
乙腈	> 210	正己烷	> 210
乙醚	> 210	环己烷	> 210
异丙醇	> 210	正庚烷	> 210
正丁醇	> 210	二氧杂环己烷	> 230
甲醇	> 220	二氯甲烷	> 235
氯仿	> 245	异辛烷	> 210
苯	> 280	甲酸甲酯	> 260
甲苯	> 285	2,2,4-三甲基戊烷	> 210
四氯化碳	> 265	*N*, *N*-二甲基甲酰胺	> 270
丙酮	> 230	吡啶	> 305
甘油	> 230	乙酸戊酯	> 235
醋酸	> 270	1,2-二氯乙烷	> 235
硫酸(96%)	> 210	乙酸乙酯	> 260

七、几种重要的无机显色剂 (见附表 10)

附表 10　几种重要的无机显色剂

显色剂	测定元素	反应介质	有色化合物组成	颜色	λ_{max}/ nm
硫氰酸盐	铁	0.1～0.8mol·L^{-1} HNO_3	$Fe(CNS)_5^{2-}$	红	480
	钼	1.5～2mol·L^{-1} H_2SO_4	$Mo(CNS)_6^-$ 或 $MoO(CNS)_5^{2-}$	橙	460
	钨	1.5～2mol·L^{-1} H_2SO_4	$W(CNS)_6^-$ 或 $WO(CNS)_5^{2-}$	黄	405
	铌	3～4mol·L^{-1} HCl	$NbO(CNS)_4^-$	黄	420
	铼	6mol·L^{-1} HCl	$ReO(CNS)_4^-$	黄	420
钼酸铵	硅	0.15～0.3mol·L^{-1} H_2SO_4	硅钼蓝	蓝	670～820
	磷	0.15mol·L^{-1} H_2SO_4	磷钼蓝	蓝	670～820
	钨	4～6mol·L^{-1} HCl	磷钨蓝	蓝	660
	硅	稀酸性	硅相杂多酸	黄	420
	磷	稀 HNO_3	磷钼钒杂多酸	黄	430
	钒	酸性	磷钼钒杂多酸	黄	420

续表

显色剂	测定元素	反 应 介 质	有色化合物组成	颜色	λ_{max}/ nm
氨水	铜	浓氨水	$Cu(NH_3)_4^{2+}$	蓝	620
	钴	浓氨水	$Co(NH_3)_6^{2+}$	红	500
	镍	浓氨水	$Ni(NH_3)_6^{2+}$	紫	580
过氧化氢	钛	1～2mol·L^{-1} H_2SO_4	$TiO(H_2O_2)^{2+}$	黄	420
	钒	6 .5～3mol·L^{-1} H_2SO_4	$VO(H_2O_2)^{3+}$	红橙	400～450
	铌	18mol·L^{-1} H_2SO_4	$Nb_2O_3(SO_4)_2(H_2O_2)$	黄	365