

紫外-可见分光光度计为 光谱测量开辟了更好的途径

邵和玉

TH744.122

工作在紫外-可见区的仪器正在为当今世界上的生物科学、化学研究、分析实验室、环境检测以及聚合物、染料等分析作出重要贡献。老产品的更新设计和新系列的开发,使紫外-可见分光光度计在简化操作、增强数据采集和处理能力以及在拓宽分析对象和应用范围方面均取得了令人瞩目的进展。

近代光谱分析的范围包括从 X 射线光谱到红外光谱的宽广范围,利用的波长大致从 10^{-10} ~ 10^{-4} 米。测量紫外-可见光谱通常在 190~380nm 的紫外区和 380~800nm 的可见区。这个区域的明显特点之一是被测试样吸收的光基本上与被分析物质的浓度成线性(即符合贝尔定律)。在常规应用中,投射在试样上的电磁辐射,一部分被吸收,一部分透过。透过部分是试样厚度(光路长度)和存在其中的吸光物质(原子和分子)浓度的函数,这种简单的线性关系和相当容易测量的紫外-可见光,使紫外-可见光谱测量技术成为许许多多定量分析方法的基础。

在早期的紫外-可见仪器中和许多目前正在生产的仪器中,光首先通过单色器产生要求波长的单色光,然后再测量其通过样品后的吸收率。虽然紫外-

可见技术的理论基础 30 年来没有大的变化,但二极管阵列分光光度计的开发却代表了一种值得注意的变化。在这种仪器中,白光首先通过样品,然后才进行波长分离,这与单色器在前、样品在后的通常光路恰好相反,因此人们称这种系统为“反向光路”。1979 年, Hewlett-Packard 公司(简称 HP 公司)推出了世界上第一台商品二极管阵列分光光度计(HP8450A)。它既具有独特的光学系统,还开创了用微处理器集中控制仪器和数据采集的新概念。与通常顺序扫描式分光光度计相比,二极管阵列仪器无需移动部件就可同时采集所有波长的光谱数据。对用户来说,最明显的优点是提高了分析速度。同时还提高了精度和重现性,尤其是用于多组份分析。但当在光谱上作定点吸收测量时,应用正向光路仪器更为合适。

为满足用户对不同功能仪器的需求,许多生产厂家提供了适合各种应用的,范围广泛的系列化仪器。

一、基本型仪器

在基本型系统中,HP 公司提供的标准型 HP8452A 紫外-可见分光光度

计,可在紫外-可见区完成一般用途的测量。与大多数紫外-可见分光光度计不同,它只用一个氘灯来覆盖这一光谱区,由于光学系统的高效率,足以以为高灵敏度测量提供足够的光强。8452A 能在 0.6 秒时间内扫描整个光谱,或者说每 0.1 秒可测量多达 20 个波长的数据,这使用户可以很容易在一个或几个波长上跟踪瞬间消失的反应物,而在另一些波长上观察反应产物的形成。

最近当岛津公司着手生产基本型仪器时,注意到市场上多数这类仪器的分辨率为 2nm,但 85% 的待分析样品只需要 5nm 的分辨,由于谱带宽度的减小会使仪器的造价急剧增加,因此岛津公司推出分辨为 5nm 的 UV-1201 型分光光度计,这种仪器能满足只作几种大量测量的用户,或者作为实验室中专用仪器,用于大量样品的单一组分分析。

澳大利亚的 GBC 科学仪器公司最近推出另一基本型仪器(GBC 914 UV/Vis 分光光度计),这种仪器应用一种高速晶体同步切光器,使用户不受供电线路的限制,并能提供比其它仪器(下接第 22 页)

探针-样品间所加的偏压,必须注意对法拉第电流加以抑制和隔离,以提高测量的灵敏度,防止改变探针的几何形状和化学稳定性。如何发挥电化学现场 STM 在电化学研究中的作用,扩大研究体系,深入理论研究,并逐渐走向成熟,将是令人瞩目的。

由上不难看出,目前国外电化学分析仪器发展趋势是,在硬件方面不追求发展更多的新品种(但对新型研究手段,如电化学现场 STM 技术仍予以相当的重视),而是致力于巩固和完善已有的产品。将主要精力放在开拓发展新的软件,在不增加硬件资源的条件下,赋予仪器新的功能,并改进、提高仪器

的性能。这对用户无疑是一件好事,原有的仪器不但不会过时,而且还会得到不断的更新换代。这样,在仪器硬件设计上,就要求有超前意识,在最初设计时留有充分的余地,以备日后通过软件的开发,增加新的功能。EG & G PAR 公司的 M273 恒电位仪就是一个典型的例子,该仪器在最初设计时,就具备 100 多种命令子集,其功能细致、周到。在最初采用手动操作和用 Headstart 软件运行时,很多功能可能没有用上,但已为以后的开发打下了基础,以致到目前能推出可进行十几项电化学分析方法的功能强大,使用方便的 M270 软件。同时也可在一台仪器上作一些简单的变化,就可成为电化学腐蚀

系统,电化学阻抗系统等。在软件发展过程中不但注重了操作软件,即通常的实验方法软件,同时也对实验所得的结果、数据进行分析、解析,结果的解释等相应软件加以注意。在很多情况下,取得准确、可靠、尽量丰富的数据固然极为重要,但数据的解析,处理以及结果的解释变得更加重要,而这一过程往往又是最困难,最费时的,并非任何人都能胜任的。这类成功的软件是凝聚了众多前人的成果和经验,也是我国有关部门和科研工作者应很好借鉴的。

(上接第 21 页)

更高的数据采集速率,这一优点与内装的扫描速度误差抑制系统相结合,使在整个 $1 \sim 5000\text{nm}/\text{min}$ 扫描速度范围内均可获得无失真的光谱,该仪器用内装的 IBM 兼容个人计算机作数据采集和处理。

珀金-埃尔默 (Perkin-Elmer) 公司的 Lambda 2 型分光光度计也是作常规分析的基本型仪器,它可存储多达 20 种用户建立的分析方法。当要完成一种特定分析时,只需从中选取相应的一种方法,仪器即可自动完成分析;瓦里埃 (Varian) 公司 1989 年推出的 Cary 1 和 Cary 3 型二种双光束紫外-可见分光光度计,具有很高的扫描速度,极好的波长精度和重现性。Cary 3 使用双切光器来叠加样品信号和参比信号,提高了线性度和稳定性,双全息光栅的应用,极好地抑制了杂散光。

二、高档系统

当需要分析种类很多的样品时,要求仪器必须具有灵活性。而快速、灵活、方便和强有力的数据处理能力只有在更加复杂的仪器上才能实现。

在这类仪器中,HP 公司的 8452A 002 型是专供药物分析用的,也可用于其它需要较高分辨的场合,波长范围为 $190 \sim 510\text{nm}$ 。由于其良好的绝对波长重复精度,因此能应用先进的曲线拟合多组分算法作多组分分析,使与高波度组分共存的低浓度组分可被定量测定。HP 公司的 8452A 003 型,将波长范围扩展到了 $800 \sim 1100\text{nm}$ 区,因此能在这个波长区开发新的分析方法。

在高档系统中,岛津公司提供了工作在紫外-可见-近红外区的 UV-3101 PC 分光光度计。它属于双光束双单色器设计,由二套安装三个刻划光栅的装置来覆盖从 $190 \sim 3200\text{nm}$ 的整个波段,使全波段均达到最大信噪比。岛津的 UV-2101 PC 基本上与 UV-3101 PC 相同,只是波长范围仅限于 $190 \sim 900\text{nm}$ 的紫外-可见区,用来满足无需作近红外区分析的用户。这两种仪器的分辨率均优于 0.1nm 。

Milton Roy 公司的高性能系统侧重分析速度的提高。他们提供的 Spectronic 3000 是世界上速度最快的高性能紫外-可见光电二极管阵列仪器,能在几毫秒内完成数据的采集;借助样

品处理装置和软件包,用户可使仪器适合特殊应用。

在珀金-埃尔默的 Lambda 19 型高性能紫外-可见分光光度计中,光学件质量受到特殊重视,光学系统中采用大面积的准直镜和光栅,以获得最大光通量和确保分析精度,使一些难以分析的样品也能获得可靠的分析结果。

在瓦里埃公司 Cary 系列紫外-可见分光光度计中,Cary 4 和 Cary 5 是高性能仪器。其单色器的光学设计为一种不在平面内的独特设计,这种单色器由于减少了象差和杂散光,使信噪比、杂散光和极限分辨三项主要性能参数均达到很高水平,而不象其它设计在三者之间采取折衷;新 Cary 仪器的另一特点是应用一种使用户特别感兴趣的非测量周期步进 (NMPS) 波长驱动。这种 NMPS 波长扫描系统在测量样品和参比过程中光栅是静止的。只在非测量周期光栅才转动,这使吸收峰绝对不发生偏移,首次在紫外-可见-近红外区消除了扫描速度改变对分析结果的影响。

三、颜色匹配

精确的颜色匹配是极具挑战性的问题。人眼根本不可能做到精确的颜色匹配,而紫外-可见测量技术对此具有很强能力,因此纺织厂可借助紫外-可见仪器来重复调配染料,仪器、设备和汽车制造厂以及塑料、油漆生产厂可用其来控制颜色的质量。Milton Roy 公司为这类重要应用单独生产一种 Diano 紫外-可见分光光度计系列仪器,借助反射测量技术和计算机数据处理,这种仪器能精确地完成颜色的匹配;珀金-埃尔默公司最近也推出了用于颜色匹配的新软件包,它可在 Lambda 系列分光光度计上运行,利用图示功能对荧光屏上不同光谱进行比较,综合所有记录的数据,对颜色参数作出评价。

四、特殊应用

近年来推出的大多数紫外-可见系统,常用软磁盘或盒带作为控制微机系统的一部分作数据的采集、处理和传递。而 Ciba-Corning 公司推出的 Gilford Response II 系统把一对磁盘驱动器装到了分光光度计机箱内,因此减小了仪器的安装尺寸和计算机的投资规模。Response II 提供 2.4 兆字节的磁盘

存储器,每一盘上至少可存放 250000 个数据点,因此能处理每次分析数据点多达 10000 个的各种实验数据。

GBC 科学仪器公司的 918 型仪器采用有源倍增极控制替代通常的电阻倍增极分压器,克服了后者对信号的非线性响应,此外采用 $0.2 \sim 5.0\text{nm}$ 的连续可调谱带,改善了分辨率。918 型仪器由外部 IBM AT 或 PS/2 兼容个人计算机控制。

由于对用紫外-可见光分析聚合物兴趣的增加,珀金-埃尔默开发了测量混浊液和固体的积分球附件;日立仪器公司为其 U-2000 双光束扫描紫外-可见分光光度计配备了酶动力学数据系统,这种系统在控制分光光度计和恒温六池定位器同时,采集用于酶动力学分析的随时间变化光度数据,并对每一池子的反应数据自动进行实时标度,使该仪器直接瞄准了生命科学和生物工艺学领域中生化工作者的需要。固体样品的漫反射测量和镜面反射测量是紫外-可见市场中正在扩展的一部份,日立 4001 型紫外-可见-近红外分光光度计通过配备一个 60mm 直径的积分球作为标准检测器,使光谱测量对象扩展到固体,典型的应用包括激光机中反射镜镜面反射率的测量,偏振光光束分离器以及薄膜 (包括氧化硅) 反射率测量,汽车反射镜涂层反射光谱控制 (为使司机能看到灰暗的目标,反射镜必须对人眼最灵敏的 $550 \sim 570\text{nm}$ 光能进行衰减),此外还用于红、绿、黄发光二极管发射分布的测量。

最后,紫外-可见系统还有一种很特殊的应用是作为色谱仪器的检测器,这类检测器有 Gilson 医学电子公司的 116 型和 Applied Biosystem 的 1000S 型,后者采用二极管阵列,并可独立提供 4 种模拟输出。

很清楚,紫外-可见分析技术虽取得了许多进展。但它仍处于继续发展的青春期,远未成为一种成熟的技术,它不但将继续用于化学分析,而且在聚合物生产、颜色匹配、反射测量等方面,应用的数量和范围均将快速增加。

(邵和玉)