

大型仪器功能开发(65~68)

荧光分光光度计的功能开发*

孟继武** 任新光 殷守利

(中国科学院长春物理研究所 长春 130021)

摘要 固、液体吸收光谱测量的附件是由光阑、负透镜、全反射棱镜、吸收池组成的光学系统。将它配置到进口荧光分光光度计上,可以扩展其功能,使其具有紫外分光光度计(UV)的功能,能够测量固体、液体样品的透射光谱和吸收光谱。

关键词 荧光分光光度计 紫外可见分光光度计 吸收光谱 透射光谱

分类号 O657.7

1 引言

为了给一些旧的科学仪器注入新的活力,就要对其进行功能开发。通常情况下,分子吸收光谱是通过UV分光光度计这一专用光谱仪进行测量的。荧光分光光度计是测量发光材料的荧光光谱和激发光谱的专用仪器。为了扩大荧光分光光度计的功能,我们设计出固、液体吸收光谱测量附件将其配置到荧光分光光度计上,使它也具有UV分光光度计的功能,能够测量吸收光谱和透射光谱。

2 原理

一束强度为 I_0 的光束从空气中入射到介质上,在空气与物质界面上发生反射,光束进入介质以后经衍射、折射、散射会改变传播方向。当光在介质中传播时,随着光程的增加被介质的吸收也增加,这样只有部分光能够透过介质,按照能量守恒定律下式应该成立

$$I_0 = I_r + I_a + I_t \quad (1)$$

式中 I_r 为反射光强度, I_a 为吸收光强度, I_t 为透射光强度。Lambert-Beer定律给出了溶液的吸光度为:

$$A = Lg(1/T)^{[1]} \quad (2)$$

即

$$A = Lg(I_0/I) = \epsilon cL^{[2]} \quad (3)$$

* 中国科学院大型仪器功能开发项目。

** 通讯联系人。

收稿日期:1998-02-27;收到修改稿日期:1998-04-15。

式中 ϵ 为吸收物质的摩尔吸光系数, c 为溶液的浓度, L 为光通过吸收物质的光程, T 为透过率, 从上式可以看到, 测定出物质的透过率, 再通过式(2)可以得到物质的吸光度。

当光束以 α 角入射到不透明的固体表面时, 其透射光强 I_t 可以认为是零, 那么不被吸收的光将按着反射率以 α 反射角被反射回空气中, 那么(1)式变为

$$I_0 = I_r + I_a \quad (4)$$

(4)式两边同除 I_0 , 并定义反射率 $R = I_r/I_0$, 其吸收率 a 为

$$a = 1 - R \quad (5)$$

根据以上原理设计出固、液体吸收光谱测量附件的光路图如图1所示。荧光分光光度计激发

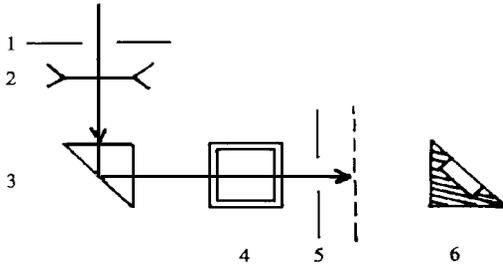


图1 固、液体吸收光谱测量附件光路

1. 光阑 2. 负透镜 3. 全反射棱镜
4. 吸收池架 5. 光阑 6. 固体样品架

Fig. 1 Light path of measuring accessory of solid and liquid absorption spectra

1. light gate 2. negative lens 3. total reflection prism
4. absorption cell stand 5. light gate 6. solid sample stand

吸收池4, 将用同步扫描测得的 X_e 灯光源光谱 I_0 存入计算机, 再将固体样品装入固体样品架6的样品室中, 用固体样品架替换全反射棱镜, 仍用同步扫描以测得样品的反射光谱 I_r , 也存入计算机中, 由 $R = I_r/I_0$ 运算得到固体样品的反射率 R , 通过(5)式运算得到吸收率 a 。

3 实验

3.1 光谱实验

液体样品和透明固体样品的透射光谱, 吸收光谱是用日立 F-4000 型荧光分光光度计配置固、液体吸收光谱测量附件及岛津 UV-200 型分光光度计进行测量。不透明固体样品反射光谱和吸收光谱也采用配置了固、液体吸收光谱测量附件的 F-4000 型荧光分光光度计进行测量。

F-4000 型荧光分光光度计的测试参数:

激发带通.....1.5nm;

发射带通.....1.5nm;

扫描速度.....240mm/min;

响应时间.....2s;

波长范围.....300nm, 750nm;

特式模式.....同步扫描。

单色光通过光阑1, 负透镜2变成平行光, 经全反射棱镜3转向90角, 单色光通过吸收池4经光阑5照射到荧光单色仪的入射狭缝上, 首先把溶剂装入吸收池4中, 通过激发单色仪与荧光单色仪同步扫描测量, 可测得光源通过溶剂的透射光谱 I_{tj} 并存入计算机中。把溶液装入吸收池4中, 采用同步扫描测量, 可测得溶液的透射光谱 I_{ty} 亦存于计算机中。再通过 I_{ty}/I_t 运算, 便得到了液体状态下的溶质透射率 T 。通过绘图仪画出谱图。溶质的吸光度 A 由(2)式, 通过计算机运算得到。

测量不透明固体样品时, 从池架上取下

为了避免强光对接收系统的损伤, 测量时要在激发光单色仪出射狭缝的滤光片夹上插入减光板(F-4000的附件)。

UV-200型分光光度计的测量参数:

激发带通.....2.0nm

发射带通.....2.0nm

波长范围.....300nm, 750nm

3.2 样品

血卟啉是北京中药研究所生产, 配制成 5×10^{-6} mol/mL 水溶液。Y-430 滤光片是日立 F-4000 的附件。

4 结果与讨论

图2中的短线为 Y-430 滤光片的透射光谱, 其结果和用岛津 UV-200 型分光光度计测量的结果(点线)一样。图3示出了浓度为 5×10^{-6} mol/mL 血卟啉(HPD)的透射率, 短线为采用固、液体吸收光谱率测量附件的测试结果; 实线为 UV-200 分光光度计测量结果; 点线为 UV-200 分光光度计增加了 670nm 截止滤光片的测量结果。由图可以看到短线与点线的结果基本一致。

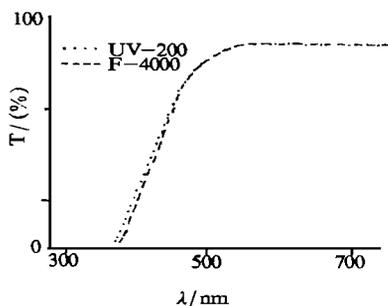


图2 Y-430 滤光片的透射光

Fig. 2 Transmission spectrum of Y-430 filter

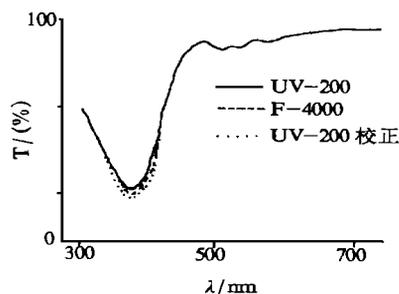


图3 HPD 的透射光谱谱

Fig. 3 Transmission spectrum of HPD

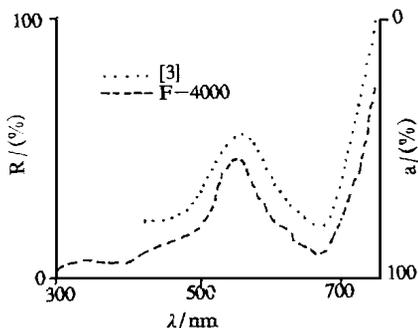


图4 茄子叶片的反射光谱

Fig. 4 Reflection spectrum of blade of eggplant

图4示出了茄子叶片的反射光谱, 其吸收峰同文献报导一致。从以上结果可以看到荧光分光光度计配置了固、液体测量附件后便具有了UV 分光光度计的功能, 而且可以测量不透明固体样品的吸收光谱。

(5) 式是一种理想状况, 任何固体表面均不会达到理想的平面。界面的平面度, 材料的颗粒度、均匀度等均会引起误差, 但对试样的定性分析来说是有意义的。

参 考 文 献

- [1] 马延林, 杨文澜, 夏金华译。现代分析仪器手册。北京: 机械工业出版社, 1986, 45.
- [2] 游效曾。结构分析导论。北京: 科学出版社, 1980, 192.
- [3] 薛德容译。作物的光合作用与物质生产。北京: 科学出版社, 1979, 36.

Functional Development of Spectrofluorophotometer

Meng Jiwu Ren Xinguang Yin Shouli

(Changchun Institute of Physics, the Chinese Academy of Sciences Changchun 130021)

Abstract This text, relates an accessory that measures solid-absorption and liquid-absorption spectra, its optical measuring system was made up of light gate, negative lens, total reflection prism and absorption cell. When it was fitting a spectrofluorophotometer (HitachiF-4000) can develop using ways. as a UV spectrophotometer, transmission and absorption spectra from solid and liquid samples can be measured.

Key words spectrofluorophotometer UV spectrophotometer absorption spectrum transmission spectrum

Classifying number O657.7