

核糖区其它信息全被 HDO 淹没,所以连续波的强磁场谱线也无法解决这种类型的困难。

图 2a 是 τ_0 或 $4\tau_0$ 取值不当的情况。

本样品和图 2b 由张友吉同志提供,顺致谢意。

参 考 文 献

- [1] Patt, S. L. et al.: *J. Chem. Phys.*, **56**, 3182, 1972.
- [2] Breitmaier, E. et al.: *¹³C NMR Spectroscopy*, **49**, 1978.

[本文于 1980 年 5 月 3 日收到]

草酸铁钾化学光度计的制备与测定

张 茵 唐德江 陈春章

(中国科学院生物物理研究所)

辐射剂量学,特别是电离辐射剂量学,从基本概念到测量技术,均已发展成一门精密的科学。然而对光辐射剂量学则重视不够,研究较少。这表现在所用单位混乱,某些概念含糊不清等方面。但是,随着光化学、光生物学的发展,特别当涉及到光化学反应动力学及其机制的探讨时,所用光源强度的测定已是摆在人们面前的一个极其重要的课题。

一般说来,测定光强度的方法有三种:一、辐射计装置,如热电堆,真空热电偶等;二、光电装置;三、化学光度计系统。就操作的简单,测定的准确程度而言,化学光度计系统较前二者为优越。目前应用较多的液体化学光度计有:草酸铁钾化学光度计(适用波长范围 260 nm—360 nm),孔雀绿无色氰化物化学光度计(适用波长范围 220nm—330nm),一氯醋酸化学光度计(适用波长范围 <300nm),草酸双氧铀化学光度计(适用波长范围 250nm—440nm)等^[1]。本文只介绍草酸铁钾化学光度计的制备与测定方法。

对化学光度计的基本要求是:灵敏,准确,分析方法简单,在一定波长和一定光强度范围内,量子产额维持常数,基本不存在内滤片效应,温度系数低,暗反应小等。草酸铁钾化学光度计基本满足上述要求。

1929 年由于 Allmand 和 Webb 的研究使草酸铁钾化学光度计有了定量的资料。但今天

它成为人们广泛应用的化学光度计之一,主要归功于 Parker 及其同事在 1953 至 1959 年完成的研究工作^[2,3]。他们采用了邻二氮菲作为分析试剂,来测定草酸铁钾光解后生成的二价铁离子(Fe^{++}),因为 Fe^{++} 和邻二氮菲的络合物在 510nm 处有很强的吸收,克分子消光系数达 $1.11 \times 10^4 \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$,因此使这种化学光度计具有极高的灵敏度,不仅可用来测量低光强度,亦可测量一次窄脉冲的闪光强度。同时,这个化学光度计的量子产额在 260nm 到 360nm 波段内基本是 1.2,故可用于测量紫外和近紫外波段内的光强度。

一、草酸铁钾化学光度计的制备

用 3 体积 1.5M 分析纯草酸钾和 1 体积 1.5M 分析纯三氯化铁混合,充分搅拌,生成草酸铁钾绿色沉淀;将沉淀物用热水重结晶三次,最后用 45℃ 热空气流干燥,即可得到含三分子水的草酸铁钾绿色结晶。以上操作均需在暗室安全灯下进行。草酸铁钾结晶易光解,因此应保存于暗处。

当测定 400nm 以下的光强度时,化学光度计溶液浓度为 0.006M;测量 400nm 以上的光强度时,浓度为 0.15M。0.006M 光度计溶液的配制是称取 2.947 克草酸铁钾晶体,溶于 800 毫升水中,加 100 毫升 1N H_2SO_4 ,最后用水稀释至 1000 毫升。0.15M 光度计溶液草酸铁钾

晶体用量为 73.68 克,配制方法同上。

二、Fe⁺⁺ 与邻二氮菲络合物克分子消光系数的测定

首先测定了 Fe⁺⁺ 与邻二氮菲络合物吸收峰 510nm 处的吸收谱,如图 1 所示。

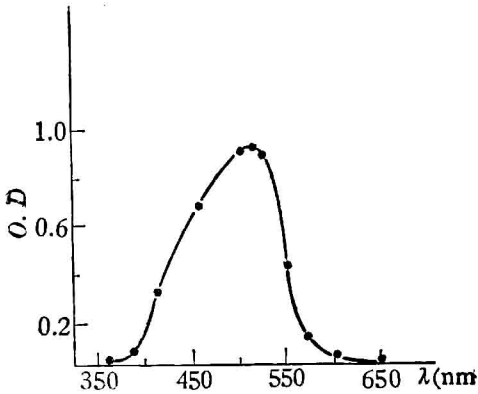


图 1 Fe⁺⁺ 与邻二氮菲络合物的吸收光谱

1. 试剂配制 取 25 毫升容量瓶 11 个,分别加入 0.0、0.5、…… 5.0 毫升 $0.4 \times 10^{-3} M$ FeSO₄ 溶液,再向容量瓶内各加入 0.1N H₂SO₄ 溶液,使总酸度达 10.0 毫升 0.1N H₂SO₄,加缓冲液(600 毫升 1N 醋酸钠与 360 毫升 1N H₂SO₄ 混合,加水稀释至 1000 毫升)5.0 毫升,加 0.1% 邻二氮菲水溶液 2.0 毫升;最后用蒸馏水稀释至刻度。在 25℃ 放置 1 小时后,用 Beckman 紫外分光光度计在 510nm 波长上测定光吸收;对照样品用未加 FeSO₄ 的溶液。当用光密度对二价铁离子的浓度作图时,呈很好的线性关系(图 2)。对测定结果用回归分析法计算 Fe⁺⁺

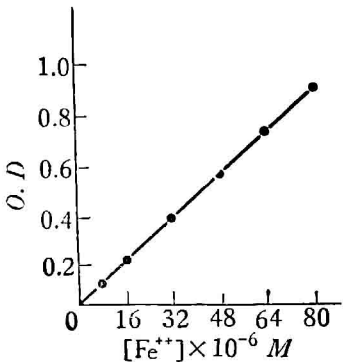


图 2 Fe⁺⁺ 与邻二氮菲络合物标准吸收曲线

与邻二氮菲络合物在 25℃, 510nm 的克分子消光系数,得 $\epsilon = 11082 M^{-1} cm^{-1}$, 与文献报道一致。

2. 显色时间对克分子消光系数的影响

Fe⁺⁺ 与无色的邻二氮菲在 pH = 3.5 的条件下络合,其络合物呈橙红色。在显色后 0.5 小时、1 小时、2 小时、2.5 小时、18 小时测定了光吸收,用回归分析法计算了不同时间的克分子消光系数,并进行了方差分析,其结果不具显著性差异。本实验所取显色时间为 1 小时。文献报道为不少于半小时。

3. 温度对克分子消光系数的影响 在 14℃、16℃、20℃、25℃、35℃ 下测定了 Fe⁺⁺ 与邻二氮菲络合物的光吸收,计算出不同温度下的克分子消光系数 ϵ ,结果为 25℃ 以上,每升高 10℃ ϵ 变化 -0.9%; 25℃ 以下每降低 10℃ ϵ 变化 +1.8%。

三、量子产额的测定

量子产额是化学光度计的一个重要参数,其定义是某物质吸收某波长的一个光子后所分解的分子个数。若某化学光度计的量子产额在较宽的波长范围内和一定实验条件下维持常数,则这种光度计的应用范围较广。Parker 测定的草酸铁钾化学光度计在 260nm—360nm 波长范围内量子产额基本为 1.2; 在 380nm—490 nm 之间为 1.1—0.90。我们测定的结果是,在 260nm—360nm 波长范围内量子产额亦基本为 1.2; 在 380nm—490nm 之间为 0.60 左右(此数偏低,可能是由于溴钨灯在此波段内光强度较强,同时照射时间又较长,于是在照射的范围内 Fe⁺⁺ 的浓度就很高,而实验时又未加搅拌所致)。

量子产额的测定方法有两种。一是比较法,即与一已知量子产额的化学光度计进行比较。二是用辐射计装置(如真空热电偶)测出光强度^[4],然后用 Harris 介绍的方法计算量子产额^[5]。我们采用第二种方法,目的是介绍量子产额的刻度方法,并验证在我们所关心的 260 nm—360nm 波段范围内量子产额是否与 Parker

的值一致，因此只给了产额平均值而没给误差范围。

1. 照射装置 1000 瓦溴钨灯为光源，外加套筒式水冷外罩冷却，以保证工作电流稳定在 8.0 安。用光电倍增管测定了其光强度、稳定性，在 2.5 小时内波动为 $\pm 4\%$ 。

溴钨灯的发射光经两个石英透镜，会聚在 WDS-3 型光栅单色仪的入射狭缝上，经单色仪后可得到 260nm—600nm 的单色光。（光强度由中国科学院计量科学研究院光学室测定。）

光栅单色仪出射狭缝高 2.5 厘米，宽 1.0 毫米，照射池用光程为 1.0 厘米石英比色杯，内装草酸铁钾溶液 3.0 毫升，池紧贴在出射狭缝上，池的另一边放置 1P 28 型光电倍增管，用来测定池内草酸铁钾溶液吸收光的百分数。

2. 照射后的草酸铁钾溶液光密度的测定

在暗室将照射后的草酸铁钾溶液倒入显色管内，管内加 0.5 毫升混合液（含 1.8N 醋酸钠，1.08N H_2SO_4 ，0.1% 邻二氮菲），于暗处放置 1 小时后，用 Beckman 紫外分光光度计在 510nm 处测定光吸收。对照用未经照射的草酸铁钾溶液 3.0 毫升和 0.5 毫升混合液。所有测定均在 25℃ 下进行。

3. 量子产额的计算

计算公式是

$$\Phi = \frac{O.D \times b \times v \times N}{\epsilon \times l \times E \times r \times t} \tag{1}$$

- 式中 $O.D$ ——照射的草酸铁钾溶液在 510nm，25℃ 时的光密度。
 ϵ —— Fe^{++} 与邻二氮菲络合物在 510 nm，25℃ 时的克分子消光系数
 l ——比色杯光程长度（厘米）
 b ——照射溶液与显色溶液的体积修正因数
 v ——照射溶液的体积（升）
 N ——阿伏伽德罗常数
 r ——照射溶液吸收光的百分数
 t ——照射时间（秒）
 E ——入射到照射溶液，波长为 λ 的光子数/秒。

E 由下式计算：

$$E = \frac{33f}{54.5} \times D \times 5.085 \times 10^{14} \times \lambda \tag{2}$$

- 式中 f ——检流计偏转格数
 D ——单色仪出射狭缝的面积（厘米²）
 λ ——入射光波长（Å）

从 260nm—600nm 范围内 13 个波长上测定结果，见表 1。

表 1 草酸铁钾化学光度计的量子产额

波长 (nm)	260	280	300	320	340	360	380	400	425	450	500	550	600
量子 产额	1.17	1.33	1.25	1.23	1.32	1.19	0.60	0.53	0.75	0.55	0.93	0.20	0.19

四、吸收光子数测定

用草酸铁钾化学光度计对输入能量为 400 焦耳，脉冲半宽度为 5 微秒的闪光灯一次闪光作用下样品池中吸收光子数的测定。

将浓度为 0.006M 的草酸铁钾溶液装入光程长 10 厘米的石英样品池（容积 29.5 毫升）中，然后将样品池放入双椭圆聚光器中，触发闪光灯，一次闪光后，在暗室内取适量照射过的草酸铁钾溶液于 25 毫升容量瓶中，加 0.1N H_2SO_4 ，使总酸度达 10 毫升 0.1N H_2SO_4 ，再加 0.1% 邻

二氮菲 2 毫升，缓冲液 5 毫升，最后用蒸馏水稀释至刻度。对照用未经照射的草酸铁钾溶液，在暗处显色 1 小时后，用 Beckman 紫外分光光度计在 510nm 处测定光吸收，根据下式即可算出样品池中草酸铁钾溶液在一次闪光作用下吸收的从 260nm—360nm 波段内的光子数。

$$I = \frac{O.D \times b \times v \times N}{\epsilon \times \Phi} \tag{3}$$

- 式中 $\Phi = 1.2, \epsilon = 1.11 \times 10^4, v = 0.03$ (升)
测量如下，当闪光灯中加石英棒时
 $I = 2 \times 10^{19}$ 光子/闪光

当闪光灯中不加石英棒时

$$I = 5 \times 10^{19} \text{ 光子/闪光}$$

此测量结果与文献[6]所报道的一致。

总之,草酸铁钾化学光度计灵敏度高,不仅可以测定相当低的光强度,亦可测定窄脉冲的闪光强度。在我们的测量装置中虽然不能测定闪光灯的绝对光强度,但可以简便准确地测定出样品池中所吸收的闪光强度,在目前还没有理想的测定闪光强度的方法和仪器装置的情况下,此种化学光度计是有实用意义的。

参 考 文 献

- [1] Taylor, H. A.: *Analytical Photochemistry and Photochemical Analysis*, p. 92, 1968.
- [2] Parker, C. A.: *Proc. Royal Soc. London. A*, **235**, 518, 1956.
- [3] Parker, C. A.: *ibid.*, **A. 220**, 104, 1953.
- [4] Calvert, J. C. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2101, 1952.
- [5] Harris, L. et al.: *ibid.*, **57**, 1151, 1935.
- [6] Porter, G.: *Flash Photolysis, in Technique of Chemistry*, Vol. 6, p. 367—462, 1974.

[本文于 1980 年 1 月 31 日收到]

用于研究光合作用的闪光分光光度计

孙 炳 荣

(中国科学院上海分院测试计算中心)

刘 一 先

(复旦大学物理系)

闪光吸收光谱法,首先由 Porter 用于研究有机光化学反应^[1]。此法是在样品被闪光激励后,监视并记录光诱导反应引起样品光吸收变化与时间的函数关系,从而鉴别光反应中间产物的分子类别及属性。具体过程是:一束单色光,透过样品的光强是 I ,在闪光后,它的变化为 ΔI ,而吸收变化为 $\Delta A = -\log_{10}(1 + \Delta I/I)$;若 $\Delta I/I$ 很小,则 $\Delta A = -0.43\Delta I/I$ 。 I 和 ΔI 通过光电转换器件以电流(或电压)表示。将此电流(或电压)的变化放大,并加以记录,即可得出 $\Delta I/I$ 变化的时间函数曲线。

首先把这一技术用于光合作用原初光化学反应研究是 Witt^[2]。近年国外学者以激光器发射的超短脉冲为作用光和监测光、与超短脉冲接收显示器件组合起来,研究物质分子中光能吸收和转移,获得了分子中光能接收和转移的第一手资料^[3]。

本文介绍用于研究光合作用反应中毫秒—微秒范围内光诱导吸收变化的装置。为了提高仪器的信噪比(S/N),还将介绍信号平均器使

用方法。本仪器当时间分辨率为 10^{-6} 秒时,对应吸收变化灵敏度为 10^{-4} 。

仪 器 结 构

闪光分光光度计的主要组件如图 1 所示。现将它们分别介绍如下:

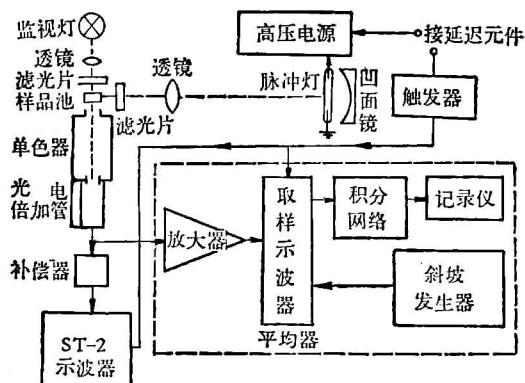


图 1 闪光分光光度计结构示意图

激励光 脉冲电源如图 2。 T_1 是调压变压器,通过它可改变 C_1 上的电压,调节电能输出。闸流管 G_1 是放电回路的开关。当 G_1 栅极