

微量紫外可见分光光度计 (M750-UVIS)

蔡嘉坤 陈茜芝 钱伟康

(中国科学院上海生物化学研究所)

目前紫外可见分光光度计种类很多,性能各异,但测定的样品量大致都需要 3—4ml,即使某些仪器附有所谓“微量池”,样品也需要 300—400 μ l。对于那些很难得的珍贵样品,这样的需要量就显得太大了。把样品稀释了再测定,是一个办法,但在某些情况下,稀释后测量误差很大,而在另一些情况下,样品稀释后很难浓缩回收。本文介绍的微量分光光度计就是为了满足这种要求而研制的。

一、仪器性能指标的选择

作为一种分光光度计,本仪器的许多技术指标例如波长范围、精度、重复性、杂散光、测光精度、线性范围等都必须满足这类仪器的有关技术规范。另一方面,它除了能够满足微量样品测定情况下的测光精度和线性外,还须优先考虑微量池结构。如果单色光斑大于微量池的透光窗口,则由于光斑的不均匀和定位精度的限制,不能很好地保证测量重复性;特别是在这种情况下,微量池的侧壁受光照射,侧壁反射的光在光敏器件上引起信号,由于光程不确定性必然引起测定误差。我们选择单色光斑小于微量池透光窗口的结构形式能很好地避免上述误差(图 1)。

这种结构的微量池不仅易加工,也便于拆卸洗涤。微量池的体积完全由池体的厚度 L (光程)和中间的液槽宽度 B 决定。液槽最小宽度 B 取决于单色光光斑的大小,在微量池内的光斑尺寸约为 $0.3 \times 3\text{mm}^2$ 。根据我所科研工作的需要;微量池设计成两种规格,一种是 $L = 10\text{mm}$, $B = 2.5\text{mm}$ (半微量池、测定容量 200 μ l),另一种是 $L = 10/3\text{mm}$, $B = 1\text{mm}$ (微

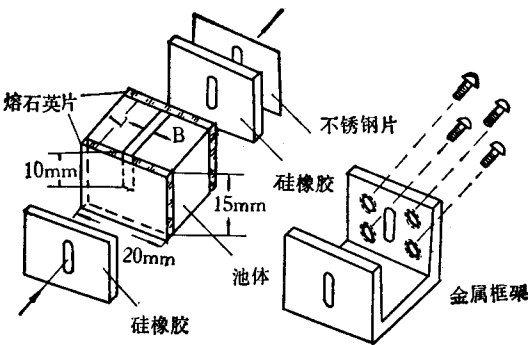


图 1 微量池结构

1. 池体与石英片接触的两平面,经光学加工以保证接触严密,池体材料为不锈钢(或 K₂ 玻璃)。
2. 池体与两石英片一起并置于金属框架内,金属框架与石英片间以硅橡胶和不锈钢片作衬垫,借金属框架上的四个固定螺丝,将池体轻轻压在金属框架内。

量池、测定容量 20 μ l);二种微量池各随主机附 1 对。缩小单色光的光斑,能满足微量池测量精度的需要,却带来了另一个新的问题—仪器的信噪比^[1]。光斑缩小,光能量势必亦低,增强光源强度可以提高光能量,但供电电路功耗增大,势必使整机笨重。为了使整体轻便,我们没有这样做,而是降低氢孤灯工作电流以延长其使用寿命^[2],可见光波段范围采用 3 瓦钨丝灯作光源。这样本仪器在光电器件(光电倍增管 R456)上的光能量比通常分光光度计低二个数量级以上。这样即使本仪器与通常分光光度计有相同的稳定程度,也必须在光度测量技术上将信噪比提高二个数量级以上。另外,还考虑能兼用于微量和常量测定,如装上微量流动池还可以用作柱色谱等连续监测。为此,我们将仪器的狭缝设计成固定形式,狭缝的宽及高只能按照适合最小容量微量池为准。综合以上种

种考虑,我们决定采用以调节倍增管负高压来调节 100%T。整机的测量系统采用交流放大器放大光电信号,以降低仪器的漂移,用积分平均的工作模式来提高仪器的信噪比^[3]。

二、仪器结构

本仪器的光学系统如图 2 所示,整机的工作原理如图 3 所示。

仪器的光源在人射缝前被调制成 300 周/秒,明暗交替,同步脉冲籍装在调制板两侧的聚光电珠和光敏晶体管产生,再经门脉冲电路处理后供积分平均器采样。光电倍增管产生的光电信号经隔直电容器至前置放大器,进而至主放大器,整个放大器电压增益约为 1000。这种安排一方面使放大器本身的增益能够相当稳定,从而很大程度上避免这种单光束仪器系统的 100%T 漂移,另一方面使光电倍增管的暗

流及其变化对整个仪器系统工作没有影响。实际结果是即使在测量时将样品室盖打开,有少许自然光漏至光电元件,仪器的读数也不会有变化。这是因为它和暗流一样没有被调制,仪器的信号系统对此没有响应。光电信号的放大系统通频带依靠采用带通放大器和限制积分平均器的带通来压缩,这样,噪声大大受抑制,系统的信噪比(S/N)得以较大的提高。我们一批 3 台定型仪器中,折合到放大器输入端的信号电平为 2mV 左右(峰对峰值),而噪声电平都在几个微伏左右。

负高压可借面板 100%T 调节旋钮从 0—1000 V 连续可变,所以 100%T 的调节范围非常宽,这使某些混浊的样品也能测量。为使透过率小于 10% 的样品亦能精确读数,仪器设置 $\times 0.1$ 一档的量程扩展,这也是为了兼顾广大用户使用仪器的习惯。

三、仪器的主要技术性能

波长范围 200—750nm (实际可用至 190—850nm) 波长精度 $\pm 0.5\text{nm}$ 。

光度测量范围 0—2Abs (0—100T)

线性范围 0—2Abs

噪声 $< \pm 0.0004\text{Abs}$ (100%T 处)

测定准确度 $< \pm 0.005\text{Abs}$ (在 0.4 Abs 处)

半微量池用样量 200 μl (光程 10mm)。

微量池用样量 20 μl (光程 10/3 mm)。

流动柱体积可根据需要设置,最小容积 8 μl , 光程 10mm。

常量池 (断面 1 $\times$ 1cm), 测量时样品用量约 1ml。

四、结 语

微量紫外可见分光光度计从样机试用算起,已经过近两年的考验。在 1982 年 1 月召开的鉴定会上,与会代表一致认为该仪

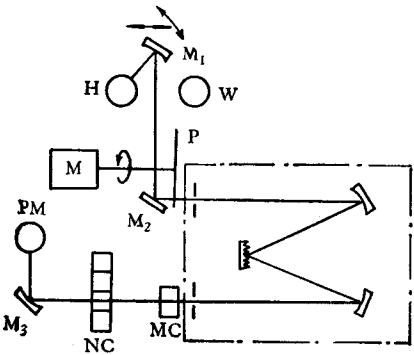


图 2 M750-UVIS 光学结构

虚线框为单色仪 (WDS-3, 天津光学仪器厂) M_1 , M_3 为球面反射镜, M_2 为平面镜, P 为调制板, PM 为光电倍增管 R456 MC 为微量池(或流动池) NC 为常量池 氢灯 (H) 或钨灯 (W) 的选择借助转动反射镜 M_1 来实现。

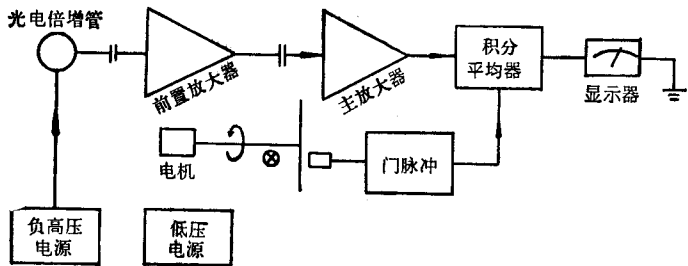


图 3 M750-UVIS 信号处理系统工作原理

器设计合理,使用方便,性能稳定、可靠,并且能够一机多用。

本仪器目前只是适应科研工作中的特殊要求,然而有许多分析工作也需要这种仪器。例如,某些临床分析如果能做到微量化,既可为病人带来福音,也可以给医护人员采样带来许多方便。为此我们已将该仪器的全部技术资料转让给江苏泰州无线电仪器厂,估计此种仪器不

久即可在市场上供应。

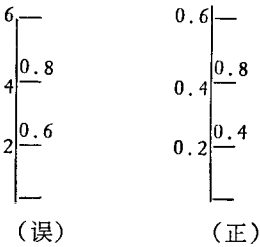
参 考 文 献

[1] 蔡嘉坤:《生物化学与生物物理进展》,1982年,第3期,第69页。
[2] 陈茜芝等:《关于氢弧灯的几个技术参数》,待发表。
[3] A.de Sa: *Principles of Electronic Instrumentation*, Ednard Arnold Pub., 1981, p251—273.

【本文于1982年9月2日收到】

更 正

一、《辅酶 I、辅酶 II 和辅酶 A 的个别分离》(1982 年,1 期,66 页)中的图 2 纵坐标应作如下更正:



二、《肝素的简易化学测定法》(1980 年,5 期,61 页)应补充下表作为表 2,原表 2 改为表 3:

表 2 硫酸浓度的影响
(约 30 微克肝素)

H ₂ SO ₄ (%)	A _{298nm}
78.5	0.252
81.5	0.247
84	0.262
87	0.254
90	0.250

三、1982 年,6 期,7 页《最邻近序列分析法的贡献》中的 T_p、A_p、T_pA 等,应改为 T_p、A_p、T_pA 等。又,表 4 中的“0”和“1”,应改为“0.000”和“0.001”。