

U-3900H 型紫外可见分光光度计的功能模块使用解析

谢丽 (兰州大学生命科学学院生命科学研究实验中心, 甘肃兰州 730000)

摘要 紫外可见分光光度计是对物质进行定量、定性、结构分析以及反应动力学等研究的常用仪器, 被广泛应用于化学、医学、药学、生命科学和环境科学等多个领域。该文简单解析了日立 U-3900H 型紫外可见分光光度计各功能模块参数设置的方法。

关键词 紫外可见分光光度计; 功能模块; 参数设置

中图分类号 S237 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)26-09261-04

Analysis on Utilization of Function Modules of U-3900H UV Visible Spectrophotometer

XIE Li (School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000)

Abstract UV visible spectrophotometer is a common instrument used in quantitative and qualitative analysis, structure analysis and reaction kinetic study. It has been widely applied to each field of chemistry, medicine, pharmaceutical analysis, life science and environmental science etc. This paper introduces the parameters setting of function modules of Hitachi U-3900H UV visible spectrophotometer.

Key words UV visible spectrophotometer; Function modules; Parameters setting

自 1918 年第一台紫外可见分光光度计问世以来, 在物理学、化学、生物学、医学、材料学、环境科学、石油化工、药学、农业、军工等研究、生产和管理部门, 已经有广泛的应用^[1-2]。随着分光元件及技术、检测器件及技术、大规模集成制造技术等的发展, 以及微处理器、单片机和计算机技术广泛应用于分析仪器, 使紫外可见分光光度计的性能指标不断提高, 并且出现了自动记录、自动打印、数字显示、微机控制等使用上方便快捷的仪器产品^[1-3]。

兰州大学生命科学学院生命科学研究实验中心购置的 U-3900H 型紫外可见分光光度计是日立高新公司研制的一款双光栅双光束紫外可见分光光度计, 其分析对象可从固体材料到液体材料, 具有很强的适应性。该机开机即启动对 ROM、RAM、波长启动装置和点亮钨灯、点亮氙灯、狭缝装置和斩波器的自动检测; 自带的 UV Solutions 程序不仅可以轻松控制仪器精密的机械系统, 而且提供了多元化的信号与数据处理系统; 实现了自动切换光源以及波长、扫描速度、狭缝的选择等多项操作, 分析功能强大。U-3900H 型分光光度计在使用上被划分为 4 个功能模块——波长扫描、时间扫描、光度测量和核酸测量。使用时各参数的设置很有条理性, 对开展生命科学的研究发挥了重要的作用。下面就该机使用时如何对这 4 个功能模块设置参数进行解析。

1 U-3900H 型紫外可见分光光度计的光路

U-3900H 型紫外可见分光光度计的光路如图 1 所示。他使用的光源由光源 WI(钨灯)和 D2(氙灯)所发出的, 光经反射聚光镜 M1 反射进入第一个单色器集团 C1。进入 C1 的光经滤光器 F、狭缝 S1, 进入环形衍射光栅 M2。从 M2 出来的光通过狭缝 S2 进入第 2 单色器集团 C2。进入 C2 的光射入变桨距像差校正衍射光栅 M3, 从 M3 出来的光通过狭缝 S3, 从而完成了将复合光分解成单色光并可从中选出一任意波长的单色光, 不同波长的单色光束连续依次射出单色器集

团中的色散元件, 从而实现波长扫描^[4]。由 S3 出来的单色光经平光镜 M4、旋转镜 M5、超环面反射镜 M6 进入放对照品的样品池 1。由旋转镜 M5 出来的一束光经超环面反射镜 M6、平面镜 M7 进入放样品的样品池 2。从样品池 1 出来的参考光束经超环面反射镜 M8、平面镜 M9 进入检测器 PMT (光电倍增管), 这时产生参照测量信号 R。从样品池 2 出来的光束经超环面反射镜 M10、平面镜 M11 进入检测器 PMT, 这时产生样品测试信号 S。

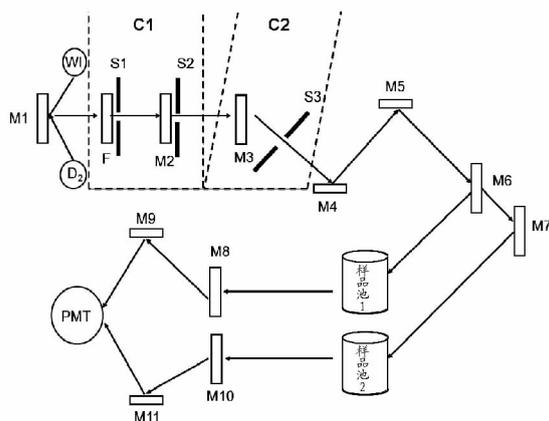


图 1 U-3900H 型分光光度计的光路

需要说明的是 U-3900H 分光光度计采用 Seya-Namioka 单色仪, 安装了像差校正凹面光栅。同时拥有光束的聚焦和色散功能, 光学系统性能强, 采用了更少的反射镜而只需更短的光路, 因此消像差能力及光学明亮度都得到了很大提高。

2 功能模块解析

2.1 波长扫描模块 波长扫描模块的功能是在一定的波长范围内, 对样品进行测量, 反应出样品在不同波长下的 % T (光透过率)、Abs (吸光度值)、E(S) (样品光束的能量)、E(R) (参照品光束的能量) 和 % R (光的反射率)。

2.1.1 预设程序。 检测样品之前需打开软件, 在波长扫描的功能模块预设程序, 进行参数的选择与设置。点击软件界面右侧快捷栏的“Method”后, 立即显示分析方法 (Analysis

Method)的5个重叠界面,分别为 General(常规)、Instrument(仪器条件)、Monitor(模拟监视)、Processing(处理方法)、Report(报告格式)。

在“Method-General”界面选择“Wavelength scan”模式。Instrument项会自动给出仪器型号;填写所用附件、测试人员、试验内容、试验样品名称等信息;Load可调入已经存在的条件;Save保存当前设定的信息或 Save As将当前的信息另存为。参见图2。

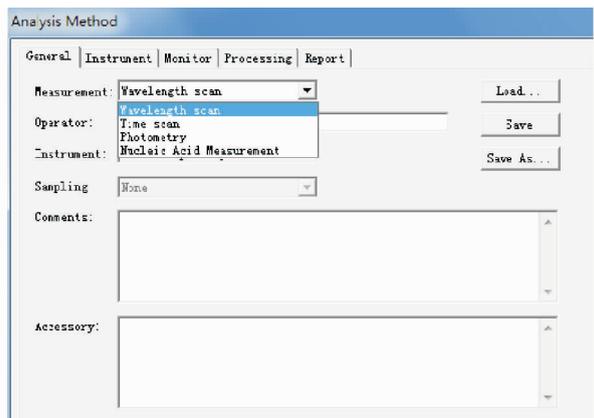


图2 Method-General 中的参数设置

在“Method-Instrument”界面,从% T、Abs、E(S)、E(R)、% R中选择测量的数据模式;设定波长扫描的范围(190~1100 nm);设定扫描速度可以有1.5、3.0、15.0、30.0、60.0、120.0、300.0、600.0、1200.0、1800.0和2400.0 nm/min 11种选择;当样品具有陡峭的光谱数据时,可启动高分辨率模式;设置基线校正时,要选择用户基线校正,而非系统基线校正;设置执行测样前需要延缓的时间,这样可以让环境温度在测量时达到稳定状态,不会对测量结果产生较大的影响;设置光源是W1还是D2或者是两者均需要;设定狭缝宽度可以有0.1、0.5、1.0、2.0、4.0和5.0 nm 6种选择;设置PMT模式时,若常规测量,选择自动模式,若要测量能量,则需选择固定模式。当选择了固定模式后,可对PMT的电压进行设定,设定范围为0~1000 V;对数据采集间隔进行设置可以有0.0125、0.0250、0.0500、0.1000、0.2000、0.5000、1.0000、2.0000、5.0000 nm 9种选择;设定样品的测量次数(1~99次)。对光通过测量样品路径可以进行校正,当比色皿不是标准的10 mm时,通过该设置可以校正到10 mm的标准测量值(图3)。

在“Method-Monitor”界面设置 Monitor window 的参数,设定纵坐标的数值范围;设定每次数据采集完之后的谱图是否叠加显示;设定数据采集完后是否打开数据处理窗口;设定数据采集后是否启动自动打印(图4)。

在“Method-Processing”界面设置数据处理方式,数据处理方式有 Savitsky-Golay Smooth(Savitsky-Golay 平滑)、Mean Smooth(平均平滑)、Median Smooth(中间平滑)、Derivative(微分求导)4种;设置什么样的数据处理方式是根据测试者需要检出的峰(Peak Finding),可以对峰的检出方法(Integration)、峰的阈值(Threshold)和灵敏度(Sensitivity)进行设置。

其中 Integration 包括 Rectangular(矩形)、Trapezoid(斜方形)和 Romberg(龙伯格)3种;Threshold可决定信号峰的取舍,赋值范围为0.001~1000;Sensitivity可改变放大器的放大倍数,一般设置为1(图3)。

在“Method-Report”界面设置输出 report 的数据项,可选择 microsoft excel 格式保存输出、完成后直接打印或利用变换器(需增加仪器附件)打印图表;打印或保存的项目有 data、method、graph、data listing、peak table、peak WL/peak data、start WL/End WL、valley WL/valley data、peak area(图6)。

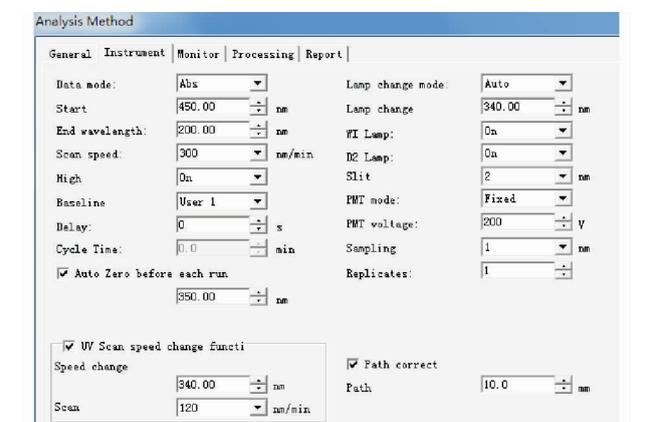


图3 Method-Instrument 的参数设置

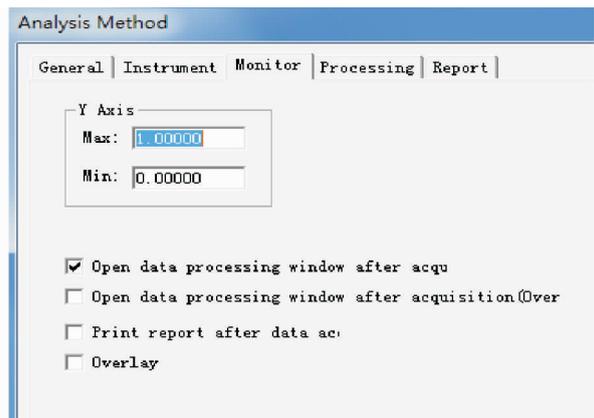


图4 Method-Monitor 的参数设置

2.1.3 样品测试。把样品室池中的空白样品换成测试样品,点击“sample”键,在跳出来的 sample 对话框对样品的名称(40个字符以内)、内容(255个字符以内)、自动保存格式及保存地点进行设置。设置好之后,点击“measure”键,进行样品的波长扫描测试。

2.2 时间扫描模块 时间扫描模块的功能是指在一定的波长条件下,一段时间内,测试样品的 Abs、% T、E(S)、E(R)和% R 随时间变化的情况。

2.2.1 预设程序。检测样品之前需打开软件,在时间扫描的功能模块预设程序,进行参数的选择与设置。点击软件界面右侧快捷栏的“Method”后,立即显示分析方法(Analysis Method)的5个重叠界面,分别为 General(常规)、Instrument

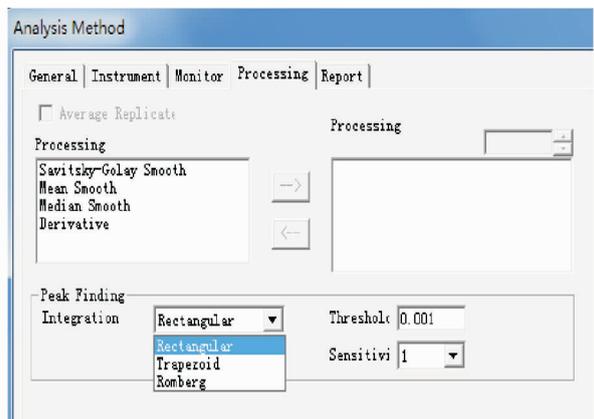


图5 Method-Processing 的参数设置

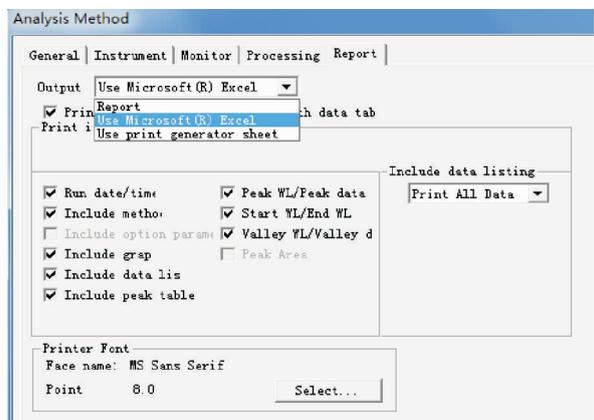


图6 Method-Report 的参数设置

(仪器条件)、Monitor(模拟监视)、Processing(处理方法)和 Report(报告格式)。

在软件的“Method-General”界面选择“Time scan”模式,该界面的其他参数选择与设置同波长扫描模块相同。

在软件的“Method-Instrument”界面,从% T、Abs、E(S)、E(R)、% R 中选择测量的数据模式;设定波长(190 ~ 1 000 nm);设置测试时间(60 ~ 99 990 s);选择在每一次测试样品之前进行自动归零。此外,其他参数的选择和设置与波长扫描模块相同。

在“Method-Monitor”界面设置 Monitor window 的参数,设定横坐标和纵坐标的数值范围(横坐标为时间 t);设定每次数据采集后的谱图是否叠加显示;设定数据采集后是否打开数据处理窗口;设定数据采集后是否自动打印。

在“Method-Processing”界面设置数据处理方式、检出峰的参数,均与波长扫描模块相同。与波长扫描不同的是可对动力学研究中的起始、终止时间以及动力学因子进行设置。

在“Method-Report”界面设置输出 report 的数据项,数据输出项的设置与波长扫描模式中的基本相同,只是多了一项 kinetics。

2.2.2 样品测试。放入待测样品和参比液,点击“sample”键,在跳出来的 sample 对话框中对样品的名称、内容、自动保存格式及保存地点进行设置。设置好之后,点击“autozero”键,进行样品测试前的自动归零。点击“measure”键,进行样品的时间扫描测试。

2.3 光度测量模块 光度测量模块的功能是通过建立标准曲线来测定未知样品的浓度。

2.3.1 预设程序。操作之前需要打开软件,选择或设置相关参数。点击软件界面右侧快捷栏的“Method”后,立即显示分析方法(Analysis Method)的 7 个重叠界面,分别为 General(常规)、Quantitation(定量分析)、Instrument(仪器条件)、Standards(标准品)、Monitor(模拟监视)、Processing(处理方法)、Report(报告格式)。

在软件的“Method-General”界面选择“Photometry”模式,该界面的其他参数选择与设置同波长扫描模块相同。

在软件的“Method-Quantitation”中,测量类型可从波长、峰面积、峰高、微分求导和比例中选择。如果选择了波长,只有设置了标准曲线的类型、波长数目、浓度单位和浓度的有效数字(10^n ,设置 n 的值),才能相应获取一级校准曲线、2 级校准曲线、3 级校准曲线和 SEGMENT 校准曲线等 4 种类型的校准曲线和样品的相关数据。如果选择了峰面积、峰高,并设定了指定波长,峰的检出方法从 rectangular、trapezoid 和 romberg 中进行选择,设置浓度单位和浓度的有效数字,才能获得标准曲线和样品的浓度。如果选择了微分求导为测量类型,需要设置波长、标准曲线的类型、浓度单位、浓度的有效数字以及微分求导方法,才能获得标准曲线和样品浓度。如果选择了比例为测量类型,需要设置 K-factor0、K-factor1、K-factor2 因子以及计算方法(减法、加法或乘法),然而此种测量类型将不能获得标准曲线。

在“Method-Instrument”界面,如果选择了波长和比例为测量类型,那么需要设置波长、光源、狭缝宽度、PMT 模式和范围,以及校正光通过测量样品路径。这些参数的设定与波长扫描模块相同。如果选择了峰面积、峰高、微分求导为测量类型,那么仅设定 Abs 为数据模式,需要设置波长范围、扫描速度、分辨率模式、基线校正、光源、狭缝宽度、PMT 模式和范围、样品的测量次数,以及校正光通过测量样品路径等,这些参数的设定与波长扫描模块相同。

在“Method-Standars”界面,设置标准品的序号、名称、内容、浓度等。

在“Method-Monitor”界面设置 Monitor window 的参数,方式及意义同波长扫描模块。

在“method-report”对话框中选择输出 report 的数据项,参数设置与波长扫描模块类似。

2.3.2 自动归零或基线校正。如果选择波长或比例为测量类型,那么在“Method-Instrument”界面选择在每次侧样之前进行自动归零;如果选择了峰高、峰面积或微分求导为测量类型,那么在测样之前需要执行基线校正。

2.3.3 标准品和样品的测量。放入标准品/样品和参比液,点击“sample”键,在跳出来的 sample 对话框中对标准品/样品的名称、内容、自动保存格式及保存地点进行设置。设置好之后,点击“measure”键,进行标准品和样品的测量;按照“Method-Standars”中设定的标准品顺序,依次测量标准品,标准品测量完成后,会跳出一个对话框,选择开始测量未知样

品,进行未知样品的测量。

2.4 核酸测量模块 核酸测量模块的功能是通过测量特定波长处的吸光度值来计算各种核酸(RNA、ssDNA、dsDNA、labeled DNA)样品的纯度、比例、浓度、摩尔浓度及蛋白质浓度等。

2.4.1 预设程序。操作之前需要打开软件,选择或设置相关参数。点击软件界面右侧快捷栏的“Method”后,立即显示分析方法(Analysis Method)的7个重叠界面,分别为General(常规)、Instrument(仪器条件)、Monitor(模拟监视)、Processing(处理方法)、Nucleic acid parameter(核酸参数)、Base sequence parameter(碱基序列参数)、Report(报告格式)。

在软件的“Method-General”界面选择“Nucleic Acid Measurement”模式,该界面的其他参数选择和设置与波长扫描模块相同。

在软件的“Method-Instrument”界面,测量的数据模式通常只选择Abs;如果未专门做背景校正,那么波长的范围设定在 $230\text{ nm} < \lambda < 280\text{ nm}$,如果选择了 $320\text{ nm} < \lambda < 350\text{ nm}$ 范围内的任意波长 λ_1 处的Abs做了背景校正,那么波长的范围设定在 $230\text{ nm} < \lambda < \lambda_1$ 。该界面的其他参数设置与波长扫描模式中的相同。

在“Method-Monitor”界面设置Monitor window的参数,与波长扫描模块相同。

在“Method-Processing”界面设置数据处理方式,与波长扫描模块相同。

在“Method-Nucleic acid parameter”界面,测量数据的模式选择了RNA、ssDNA、dsDNA中的一个;选择并设置背景校正参数;设置浓度计算时的浓度因子、浓度单位、浓度的有效数字;在测量核酸样品的纯度、比例、浓度、摩尔浓度及蛋白质浓度等时,需要设置两个测量波长(260和280 nm);若结果

中显示测量比例的结果,那么选择测量比例项,还可对纯度的上下限进行设置,或指定纯度值;设定系数 K_0 、 K_1 、 K_2 通过Warburg-Christian方法自动计算出蛋白质的浓度。若选择了labeled DNA作为测量数据的模式,那么在测量波长处需要设定消光系数 e_1 ,在色素标记波长处需要设定DNA的消光系数 e_2 ,在测量波长处设定色素的消光系数 e_3 ,输入色素标记物的波长、测量波长,设置浓度单位和浓度的有效数字。

在“Method-Base sequence parameter”界面,输入A、C、G和T各种碱基的数目,输入、上传或粘贴碱基序列(不超过1 056 bp)。

在“Method-Report”界面设置输出report的数据项,参数设置与波长扫描模块相同。

2.4.2 基线校正。参数设置和操作与波长扫描相同。

2.4.3 样品测量。参数设置和操作也与波长扫描相同。

3 结语

紫外可见分光光度计不仅使用历史悠久,而且在多个研究与应用领域具有不可替代的作用。随着现代科技与生产的不断发展与进步,紫外可见分光光度计的性能指标不断提高,其功能在使用上也越来越便捷。U-3900H型紫外可见分光光度计就是一款不仅性能指标优良,而且具有非常清晰明确的4个功能模块,在使用上非常方便。为了发挥该款仪器的使用效率,应该首先掌握其4个功能模块的参数设置。

参考文献

- [1] 倪一,黄梅珍,袁波,等.紫外可见分光光度计的发展与现状[J].现代科学仪器,2004(3):3-11.
- [2] 李昌厚.紫外可见分光光度计[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [3] 朱英,和惠朋,武晓博,等.紫外可见分光光度计及其应用[J].华中中间体,2012(11):34-37.
- [4] 潘铃,郭宏,朱昊,等. U-3400分光光度计在教学实验中的常见问题与解决方法[J].实验技术与管理,2005,22(3):34-36.

(上接第9260页)

神升华成了乐观进取。于是,客家传统服饰,不管是对创作者、着衣者,还是欣赏者都是内心的慰藉,在其上看不到艰辛的不悦,有的是阅历积淀下来的从容、自信和试图获得对内心生命力自由的追求。从这个角度说客家传统服饰是客家人对生命无限性的指认,是具有终极意义的精神家园。

工业和后工业时代,物质文明高度发展,而民众的幸福指数^[14]却常常不能与它成正比。面对这种现象,客家传统服饰所能给予的启示是:用平静的内心、返朴归真地去感悟生命的宏大。

参考文献

- [1] 黄秉生.生态美感本质论[J].广西民族学院学报:哲学社会科学版,2002(6):134-138.
- [2] (春秋)管仲.管子[M].北京:北京燕山出版社,1996:309.
- [3] 罗义俊.老子入门[M].上海:上海古籍出版社,2006:187,169-170.
- [4] (汉)徐慎,(清)段玉裁.说文解字注[M].杭州:浙江古籍出版社,

1998:1.

- [5] 刘纲纪,范明华.易与美学[M].沈阳:沈阳出版社,1997:5.
- [6] 黄明光,廖军.客家与中国革命之管见[C]//客家文化特征与客家精神研究文集.哈尔滨:黑龙江出版社,2006:416.
- [7] 张海华.客家传统制器思想初探[C]//客家文化特征与客家精神研究文集,哈尔滨:黑龙江出版社,2006:218.
- [8] 张海华,肖承光.客家童帽文化初探[J].赣南师范学院学报,2003(1):79.
- [9] 华梅.服饰与中国文化[M].北京:人民出版社,2001:23.
- [10] 张海华,肖俊.客家民间竹器的文化内涵[J].山东艺术学院学报,2006(3):74.
- [11] (清)郭庆藩撰,王孝鱼点校.庄子集释(全四册)[M].北京:中华书局出版社,1961:433,719.
- [12] 中国社会科学院语言研究所词典编辑室.现代汉语词典[K].5版.北京:商务印书馆,2005:1807.
- [12] 高中华.生态美学:理论背景与哲学观照[J].江苏社会科学,2004(2):204.
- [13] 杨学芹.安琪两位学者在《民间美术概论》[M].北京:北京工艺美术出版社,1990.
- [14] 邢占军.科学对待幸福指数(学术随笔)[N].人民日报,2006-05-26(15).