

紫外可见分光光度计常见问题

U5/Q1. 注意事项

U5/A1.1、仪器使用环境要求 使用工作温度：15~35℃，湿度：45~80%，如果温度高于 30℃，则湿度必须小于 70%；避免日光直射；避免震动；避免强磁场，电场；远离腐蚀性气体，并避免置于任何可能导致紫外区吸收的含有机/无机试剂气体的区域；避免脏污、多尘环境。

2、样品室中的样品架要保持清洁，定期清除样品室内残留液体样品，防止蒸发，避免腐蚀样品室。 3、积分球不用时要放回包装盒中并保持干燥。 4、镜反射附件中的参比镜不能用任何东西擦拭，如果确实脏了可以用吸耳球吹，要防止括花镜子。

U3/Q15. 积分球测试时，参比光和样品光是同时进入检测器还好交替进入？

U3/A15. 交替进入。参比光进入检测器，检测器记录下初始光通量（能量），样品光是通过样品后的光通量，两者之比，即为透过率。

U3/Q14. 测量光谱图时，波长转化处 290nm 谱图有台阶，但是有的样品又没台阶。

U3/A14. 在方法参数设定中，把光源转换波长设为 310，阶梯校正打勾，扫描速度再降低一点看效果有没有改善？

U3/Q13. 测试二甲硅油，环己烷作为试剂，测试出来是负值。

U3/A13. 空白是否有污染？是否样品中二甲硅油含量太低测不出来？方法设定中 S/R 转换是否设定为“正常”？

U3/Q12. 测试总氮的时空白值很高。

U3/A12. 可能水的纯度不够？比色皿脏？玻璃器皿脏？试剂纯度不够？

U3/Q11. 测样品吸光值一直变大。

U3/A11. 建议用户用水调零后观察吸光值的变化,再用丙酮水溶液在 260nm 处观察吸光值是否变化很大,如果两种都稳定那就可以判断是样品不稳定导致

U3/Q10. 紫外测试甲醇溶液，200-210nm 噪声大。

U3/A10. 可能是由于甲醇纯度不够，导致在该波长范围内有较强的紫外吸收，建议 更换纯度更高的甲醇溶剂进行测量。

U3/Q9. UV-3600 和积分球测试反射率时样品在 1900-2600nm 范围有向上有峰

U3/A9. 这个问题是一个普遍的问题，是积分球白板硫酸钡吸收所致，由于硫酸钡吸收了水分，然后再用它做参比，测试出来的样品反射率会偏高，可以尝试使用纯度更高或者更加干燥的硫酸钡重新压制硫酸钡白板可以解决该问题，同时，注意硫酸钡白板的干燥性。

U3/Q8. 为什么样品测试读数跳动较大？

U3/A8. 首先空气做基线，再把基线扫出来，如果不稳定，需要确认在紫外区还是可见区不稳定，如果是紫外区不稳定更换氘灯，如果可见区不稳定，更换钨灯；如果稳定，确认比色皿是不是干净，用纯水做基线，扫描纯水谱图，基线是稳定的，说明比色皿没有问题，可能是样品不稳定的问题，建议其按照方法中规定的时间及时测试，或者现配现用。

U3/Q7. 狭缝大小对测试结果有什么样的影响？如何选择最佳的狭缝？

U3/A7. 狭缝越小，分辨率越高，峰形越尖锐，测试灵敏度越高，但狭缝过小，读数不稳定，噪音增加 狭缝越大，入射强度越大，噪音小，读数稳定，但狭缝过大，分辨率降低，干扰增大 狭缝的选择原则：方法一：测量其半峰宽，然后狭缝宽度为半峰宽的 1/10 方法二：不断减小狭缝，直至吸光度不再增大且谱图噪音满足要求。对于溶液的定量测试，一般狭缝选择 2nm 就可以了，对于光学测试，比如使用积分球一般选择 5nm，对于需要测定波长范围覆盖近红外区（800 以上），一般选 12nm。如果噪音仍然偏大可以适当加大狭缝。

U3/Q6. 紫外仪器可以测定多稀的稀溶液？

U3/A6. 因为每种物质具有其各自不同的吸收系数，所以不能用 mg/l 和 mol/ml 等单位来回答。将使用吸收值 (Abs.) 表示，一般情况下,UV 的噪声水平(数值的漂移)在 0.002Abs.左右。因为定量下限(可以测定浓度为多少的稀溶液的限定浓度)可以说是噪声水平的 10 倍，所以 UV 的定量下限约 0.02Abs.左右。因此，吸光度值在 0.02Abs 以下时，可以说在定量测定上浓度过稀。此时，使用长光程池子，提高吸收值后再测定（100mm/50mm/20mm 等）。

U3/Q5. 如何使用 UV 更好的测定浓度高的溶液？

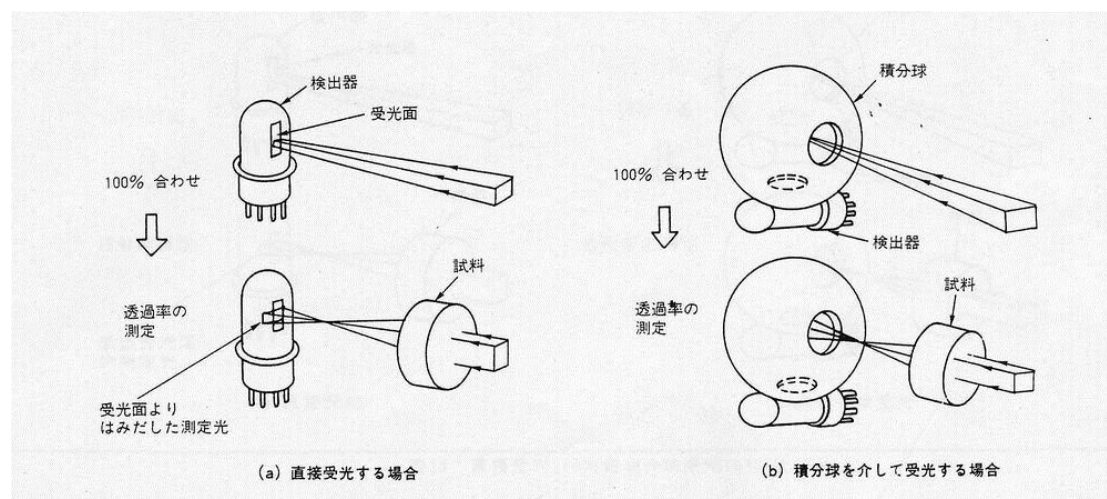
U3/A5. 对于一般的紫外仪器，当吸光度超过 1ABS 时，易出现测定误差。如果浓度再高则需要稀释或使用短光程池使吸收值降低后再测定，也可以使用杂散光更低的仪器进行测量。

U3/Q4. 为什么测高浓度时，误差会变大？

U3/A4. 根据朗伯比尔定律： $A=K \times B \times C$,其中 K 是摩尔吸收系数， B 是光程长，这两者都是常数，所以吸光度跟浓度成正比，但当样品浓度变大时，吸收质点间隔变小—质点间相互作用—对特定辐射的吸收能力发生变化--- K 变化，所以会产生误差。

U3/Q3. 什么是积分球，在什么情况下使用积分球？

U3/A3. 光通过固体样品时，因产生折射而使光束改变方向，因此，光路未放置样品时（100%光）与样品透射率测定时，入射检测器的光束形状是不同的。若样品带有类似透镜的曲面时，两者之间的差异更大，下图 a 是直接受光的情况，测定光超出检测器的受光面，多数场合出现透射率大幅度降低。与此相反，根据样品的光折射，有时测定光集中于受光面灵敏度高的部分，透射率的测定结果比预期的要好。为避免这样的误差，需要有一个根据光束形状的变化能将透过样品的全部光能量均一—补足的受光部。欲达到此目的，图 b 中的积分球是最合适的方式。这种方式光束只要由入射窗进入球内，那么在球内的白色扩散面就均一反射，然后通过球的小孔使光进入检测器。积分球唯一的缺点使球内产生扩散反射，光能量损失较大，使灵敏度降低。



U3/Q2. 为什么测反射时有些样品反射率会超过 100%?如何解决?

U3A2. 使用积分球或相对镜反射附件测量反射率，如果样品本身的反射率比参比（硫酸钡白板、铝镜）反射率还高，测定结果的反射率就会超过 100%。可以把硫酸钡或铝镜送至计量院校准，测量参比的绝对反射率，然后将样品的相对反射率乘以参比的绝对反射率求出样品的绝对反射率，也可以使用绝对反射附件对高反样品进行测量。

U3/Q1. 为什么透过率 T 可以超过 100%，吸收值 A 可以为负值？

U3/A1. $A=\log(1/T)$ ，所以透过率超过 100% 和吸收值为负等价。透过率的定义为投射光和入射光之比，可实际上并无法测量入射光。实际测定值为参比/样品，当参比的吸收值高于样品时，透过率就会超过 100%，吸收值即为负值。

U2/Q5. 仪器联机自检时氙灯和钨灯能量通不过是什么原因？

U2/A5. 先打开光源室的盖子，看氙灯和钨灯有没有亮？光源室的反射镜会不会转动？再点击软件菜单栏中的“仪器”--->”配置“--->”维护”看点灯时间有多长？氙灯和钨灯使用寿命为 2000 小时，有些也能用到更长时间，如果自检时出现灯能量不足或者由于灯导致的数据稳定性不好，就考虑换新的了。

U2/Q4. 比色皿如何清洗？

U2/A4. 如果是有机物的污染，用乙醚和无水乙醇的混合液（各 50%）清洗，如果是金属元素的污染，硝酸和过氧化氢（5：1）的混合溶液泡洗，然后用水冲洗干净。如果还是洗不干净，可用专用洗液清洗。但时间要短（10 分钟），再用清水清洗干净。不建议用洗洁精之类的清洗剂清洗，以免影响测量。

U2/Q3. 如何验证所用比色皿是否配对？

U2/A3. 选择透过率测定方式，将其中一个比色皿装上蒸馏水于 220nm(石英比色皿)、440nm(玻璃比色皿)处，将透过率调至 100%，然后测量其他各比色皿的透过率，两者透过率之差不超过 0.5%则可认为是配对的。

U2/Q2. 透过率或吸光度准确度如何检查？

U2/A2. 用重铬酸钾的硫酸溶液检定。取在 120℃干燥至恒重的基准重铬酸钾约 60mg，精密称定，用 0.005mol/L 硫酸溶液溶解并稀释至 1000ml，在规定的波长处测定并计算其吸收系数，并与规定的吸收系数比较，应符合表中的规定。

波长/nm	235(最小)	257(最大)	313(最小)	350(最大)
吸收系数 ($E_{1\%}^{1cm}$) 的规定值	124.5	144.0	48.6	106.6
吸收系数 ($E_{1\%}^{1cm}$) 的许可范围	123.0~126.0	142.8~146.2	47.0~50.3	105.5~108.5

U2/Q1. 如何做波长准确性检查？

U2/A1. 方法一：使用 D2 灯的 2 个特征峰，486.0nm，656.1nm，进行波长检查，选择“光谱模式”，编辑方法，设定记录范围 0-100，波长范围 660-650，中速扫描，自动采样间隔。仪器参数：仅使用 D2 灯，PM 2 增益，狭缝 0.2。“确定”返回主屏幕。按“开始”检测光谱，保存后，使用峰检测，检查峰值范围在 655.8-656.4nm 之间。同样检查 486.0nm，改变记录范围：0-30，波长范围：490-480，如上操作，检查峰范围应在 485.7-486.3nm。对于 UV1800、UV1750 两个型号的仪器，通过主机面板仪器维护选项中内置有准确性检查程序，可以直接使用。另外基线平直度及噪音等指标也自动检查。方法二：使用锗-钽玻璃(可见光区)和钽玻璃(紫外光区)进行检查比如钽玻璃在 279.4, 287.5, 333.7, 418.5, 460, 484.5, 536.2, 637.5nm 有尖锐吸收峰,根据下表

允许误差定为 A,B,C 级),详细可参考 JJG 178-2007《紫外可见分光光度计检定规程》

(mm)

仪器级别	波长范围	准 确 度		重 复 性	
A	紫外-可见	±0.3		0.2	
	近 红 外	±1.5		1.0	
B	紫外-可见	±0.5		0.3	
	近 红 外	±2.0		1.0	
C		棱 镜 式	光 栅 式	棱 镜 式	光 栅 式
	350	±0.7	±0.5	0.3	0.3
	500	±2.0	±0.5	1.0	0.3
	700	±4.8	±0.5	2.5	0.3
	1 000	±8.0	±2.0	4.0	1.0
	2 500	±10.0	±2.0	5.0	1.0

U1/Q5. 测试三个波长，为什么自动调零只能调一个点？

U1/A5. 测试 2 个波长以上，需要用基线，而不是调零。

U1/Q4. Uvprobe 软件重装后点击"池空白"六联池不动了？

U1/A4. 重装软件后需要在方法中附件一栏选上 6 联池附件，并填写池数目，点击初始化

U1/Q3. 数据打印或导出 txt 数据不完整？

U1/A3. 打印激活光谱单个文件，在数据打印属性里改为“激活光谱”，如果打印指定波长区间是设置为“无”，然后设置开始和结束波长，打印“重叠光谱”多个数据文件时设置为“全部”。

U1/Q2. 快速打印如何实现？

U1/A2. 在“视图”菜单“设置”选项卡中有快速打印的设置，将相应的打印项同预设的模板设置好后，直接在软件中实现快速打印。

U1/Q1. 方法设置好之后，选择了保存路径，但是保存的文件夹找不到？

U1/A1. 做好数据之后软件会弹出保存对话框，这次保存时数据保存在软件内存中，并未保存在硬盘上，需要再点击保存按钮，此时数据才可以保存到硬盘上。