

应用紫外可见分光光度计检测样品中误差问题探讨

薛芳 孙玉岭 卫锋

(大连进口食品卫生监督检验中心 大连 116001)

摘要 本文探讨了通过改善样品池设计,避免光化学折射率、杂散光和噪声问题以及进行曲线校准,避免或减低紫外可见分光光度计检测样品过程中的误差。

关键词 紫外可见分光光度法 误差

1 前言

紫外-可见分光光度法是化学分析过程中常用的一种快速、简便的分析方法,被广泛应用于国民经济的各个部门。近年来,紫外-可见分光光度法由于采用了先进的光电二级管阵列及计算机技术,使仪器的性能得到了极大的提高,成为常规质量控制和质量分析不可缺少的方法之一。

但是,不可避免的,在实验过程中总是有误差产生,使实验数据不准确,影响对实验结果的分析。

本文研究了在实验过程中用紫外-可见分光光度计检测样品出现误差的环节,并探讨了解决的方法。

2 样品池设计不合理引起误差

为得到最准确的定量结果,应使用同一样品池测量标准样品和待测样品;最好的样口池应有平整、严格平行的光学表面,否则会使光束偏离,引起表观吸光度误差;样品池在样品架上的方位应始终不变,这样不致于使测量空白和样品时的光学效应不一致而产生误差。

3 光化学问题引起误差

有些样品有荧光,这种发射光造成吸光度测量误差,误差的位置和大小与仪器具有传统的正向光路还是反向光路有关。

在传统的正向光路的仪器中,样品受不同波长的光照射,当扫描到激发光波长处时,有荧光产生,测得的吸光度值很低;当扫描到发射光波长范围时,没有荧光效应,可测得准确的吸光度。在反向光路的仪器中,情况正好相反,在发射光

波长处测得的吸光度值很低;在激发光波长处测得的吸光度值是准确的。

4 折射率引起误差

由于没有参比样品,空白(空气)和固体样品之间会产生较大的折射差。若光线是平行垂直照射到样品上,这种影响很小。如果光束聚焦,固体样品就成为一个起作用的光学元件并改变了光程长度,这种光程的变化会造成照到检测器上光强度在空白和样品之间的严重差异,最终引起表观吸光度误差。该问题很难察觉,而且若仪器设计时用的是聚焦光束,也没有简单的解决方法,不过可以将样品放得尽可能接近检测器来减小其影响。

5 杂散光和噪声引起误差

若光学和电路设计良好,影响测光准确度和精确度的因素只有两个:杂散光和噪声。任何吸光度的总误差均为杂散光和噪声的误差之和(见图1)。在高吸光度时,杂散光会导致仪器响应的负偏差,最终成为吸光度即测定浓度的限制因素。噪声分两种,一种是由光源发射光子的统计学分布引起的,它与光强的平方根成正比。当测定低浓度低吸光度的样品时,这种噪声可以影响精确测量两束高强度的光之间的微小差别。第二种噪声是仪器的电子系统固有的,而与测定的光强度无关,该噪声在高吸光度样品的信号很小时影响较大,这种噪声可通过良好的设计减小到最低。

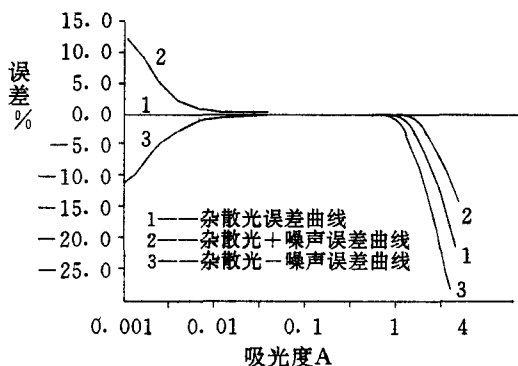


图1 杂散光和噪声引起误差图

6 不适当的校准曲线造成潜在误差

理论上仅用一个已知浓度的标准物质测量其吸光度便可进行定量分析校正,测得的吸光度值除以浓度便得斜率。但是有很多仪器和样品因素会偏离比耳定律。若校准工作曲线不准确,会造成定量分析结果较大的误差(见图2)。要得到一条标准工作曲线,应测量至少三个已知浓度标准样品溶液的吸光度,标准样品的浓度范围应包括待测样浓度。然后用线性回归方法找到所测数据和校正曲线的最佳拟合,以决定哪种类型的工作曲线可给出最佳的拟合。

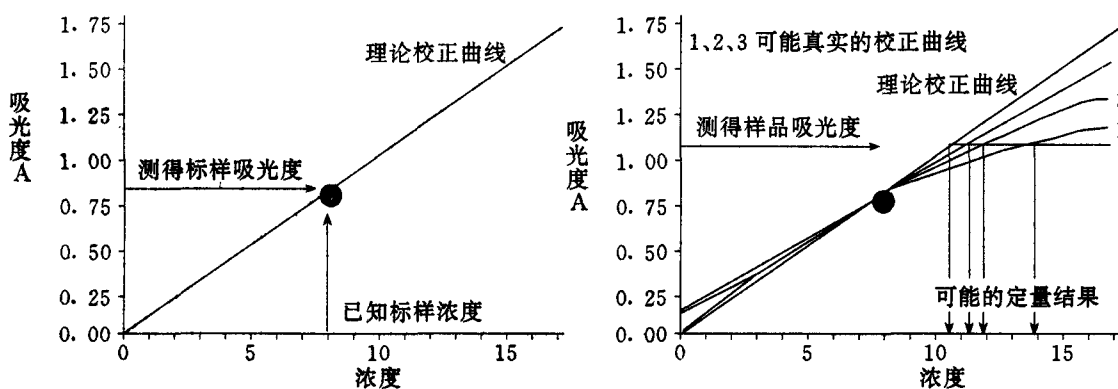


图2 不适当的校准曲线造成的潜在误差

The Discussion of the Errors in Determining Sample in Using UV-Visible Spectrophotometer

XueFang SunYuLing WeiFeng

(Dalian Import Food Hygiene Supervision and Inspection Center Dalian 116001)

The discussion is about the errors in determining the sample in using UV-Visible spectrophotometer. The errors come from the design of the cells, photochemical, refractive index, stray light, noise and calibration curve.

For decreasing the errors, the cells should be design reasonable, the noise, stray light and fluorescence of the samples should be avoided, the sample should be put on the position near the detector, the calibration curve should be corrected at least three points.