

紫外可见分光光度计操作规程

一、仪器名称

UV-2550 紫外可见分光光度计，日本岛津公司

二、仪器功能

光谱测定：可进行紫外可见光区的光谱测定，主要用于定性分析；光度测定：主要用于测定样品中某项物质的浓度，既可以利用分光光度计进行测定并建立标准曲线，然后通过曲线计算未知样品的浓度值，也可以通过建立和自定义的方程式推导该数值，适用于 GB/T2912.1；动力学测定：一般测定吸收值随时间的变化情况，通常用于酶反应随时间的变化。

三、操作规程

（一）光谱模块

1. 基线校正

打开光谱模块→连接→样品池放两个空白样品→基线→输入开始和结束波长→确定，完成扫描后，点输出窗口的仪器履历标签，查看列出的基线校正信息。

2. 建立数据采集方法

选择方法→设置波长范围（900-190nm, 紫外 400-190nm，未知样品先粗扫后精扫）→扫描速度（一般中速，粗扫用高速）→采样间隔（一般 0.5）→方式（单个）→仪器参数→狭缝宽（常规 2.0）→光源转换波长（缺省值 360nm）→S/R（正常）→附件（无）确定，开始启动扫描，待完成后输入文件名和数据储元名→确定，至此数据还没存储到磁盘上，必须点文件→另存为→选择适当的路径→输入文件名→*.spc 类型→保存。

3. 数据处理

操作→峰值检测（在峰值检测表单击右键，可进行各种操作）
→选点检测：在波长中输入所需波长→确定，适用于最大吸收波长周边吸收情况
→峰面积：求平均透过率。
→数据打印：显示所有数据（右击属性→间隔可改，另存为→数据打印报表*.txt）
→处理→类型（算术）→数据集（原始数据）→算符（减去）→常数（2）→计算→新数据集对话框输入数据集名→确定→点击图像中堆叠标签谱图可进行四则运算和数据集间运算。

（二）光度测定模块

1. 建立数据采集方法：方法→波长（输入波长→加入）→数据采集（仪器）
→校正（设定类型：一般是多点，单点是只有一个标样且要求样品盒标样浓度相近，K 系数是不需要配标样，之提供标准曲线的斜率和截距，原始数据是只给出

某一个波长的 A 值、公式、列名为结果、曲线次数)→仪器参数(测定方式选吸收值,狭缝选 2.0)→关闭→另存为*.pmd。

2. 填充标准表: 点击标准表→输入样品标识符和浓度值→放入样品→读取→数据采集→另存为*.std。

3. 建立样品表: 点击样品表→样品 ID 列中输入标识符。

4. 读取未知样品的数据: 未知样放入样品室→读取完成后另存为*.std 进行保存。

5. 显示标准曲线方程式: 示图→属性→方程式、相关系数。

6. 建立自定义方程式(详见说明书)。

(三) 动力学模块

动力学→方法→自动(手动)→时间总量(时间周期和读取次数)→波长类型(选单波长)→WL1 输入波长→仪器参数→测定方法(吸光度)→确定,光度计状态条将显示回转,随即显示为当前波长→样品室放好空白样品→自动调零→空白样品换成样品→开始→输入文件名和储元名→完成→另存为*.kin。

(四) 报告生成模块

1. 嵌入: 窗口→报告生成器→打开文件(光谱、光度测定、动力学)→点击需要嵌入的内容→右击→拷贝→回到报告生成器→黏贴→在图像以外单击进入未选择;单击图像进入选择状态→可调节图像的大小及位置。

注意: 嵌入对象到报告中,既是将对象复制到报告中并且复制后的对象不再与对象的源模块有任何联系,当修改模块中的对象时,报告中的复制对象不受影响

2. 链接: 文件→新建→插入→对象→选择需要链接的对象(此时在报告中放入了一个空的图像或者表)→在对象处于选择方式下单击鼠标右键→属性→检查数据标签是否被激活→关闭。

四、注意事项

1. 仪器若长时间不用,定期开机器(一周一次),光源不开(仪器→配置→维护→断开),干燥季节可以两周开一次,样品池放入干燥剂。

2. 波长准确度: 光谱测定中点击方法→仪器参数(能量)→光源(氘灯 D2、钨灯 W1、OFF 外来光源)→确定→开始。

3. 氘灯的特征峰是 656.1nm 和 486nm,误差±0.3,用此方法验证仪器的波长是否准确,一般半年一次。