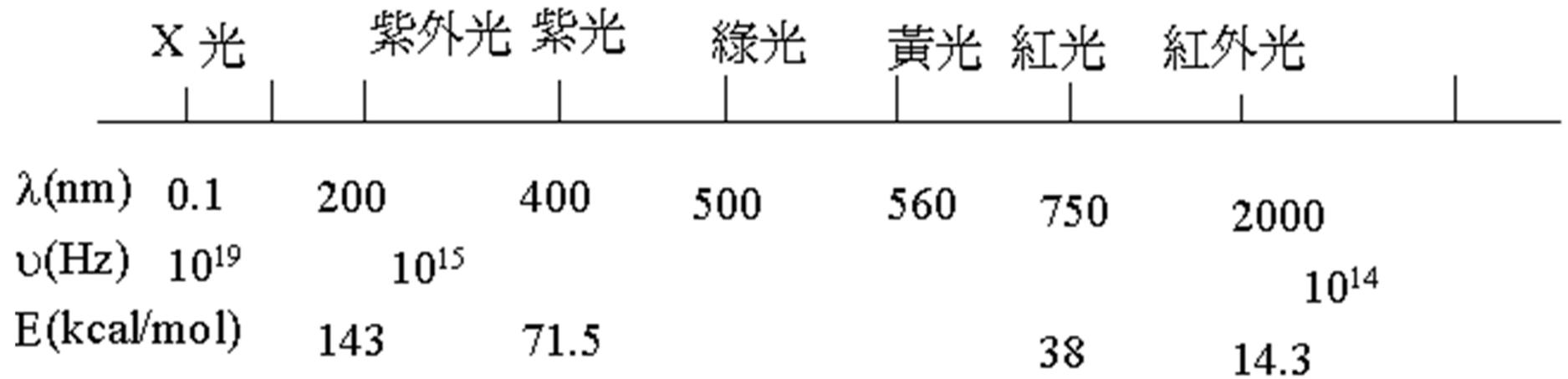


UV / VIS光譜儀原理

(Spectrophotometer)

利用 **可見光**及**紫外光**之燈管做為光源，經聚焦後通過**單色光分光稜鏡(grating)**，再經過**狹縫 slit**選擇波長，使成單一且特定波長之光線，再通過濾光鏡調整色調後射入水溶液樣品中，最後射入光電管中將**光能轉換為電器訊號**，藉由樣本及空白水樣間所吸收之光能量差，與標準液之能量吸收值相比較，便可律定樣本中之待測物**濃度**

光譜



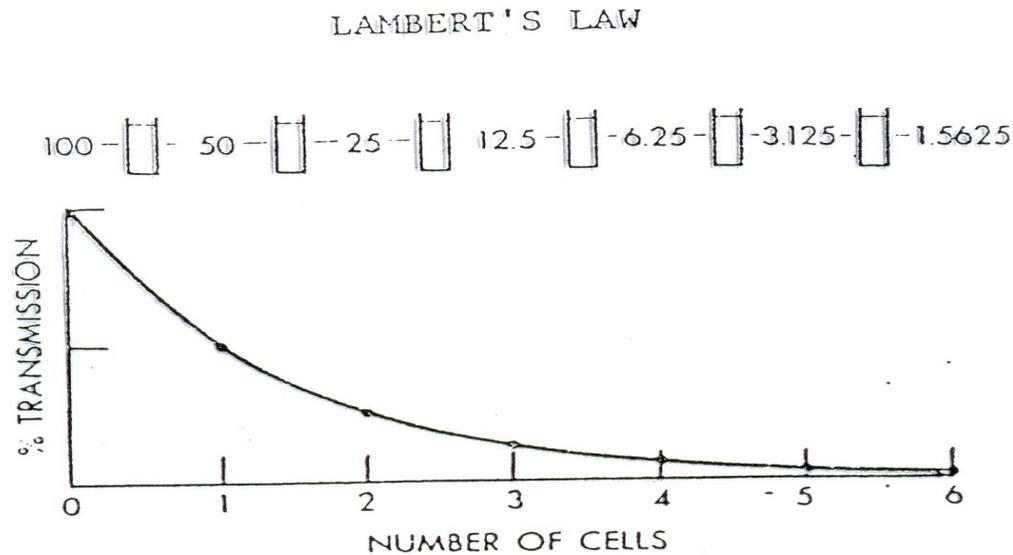
UV : 190~330nm

VIS : 330~1100nm

比爾-朗伯定律

- 物質對光吸收的定量關係很早就受到了科學家的注意並進行了研究。
皮埃爾·布格（Pierre Bouguer）和約翰·海因里希·朗伯（Johann Heinrich Lambert）分別在1729年和1760年闡明了物質對光的吸收程度和吸收介質厚度之間的關係；1852年奧古斯特·比爾（August Beer）又提出光的吸收程度和吸光物質濃度也具有類似關係，兩者結合起來就得到有關光吸收的基本定律布格－朗伯－比爾定律，簡稱比爾－朗伯定律。
- 一束單色光照射於一吸收介質表面，在通過一定厚度的介質後，由於介質吸收了一部分光能，透射光的強度就要減弱。吸收介質的濃度愈大、介質的厚度愈大，則光強度的減弱愈顯著

Lambert's Law



吸收值與**path length**成正比

$$T = P/P_0 = e^{-ab}$$

$$\log \frac{1}{T} = \alpha b$$

P = 穿透樣品的光束

P_0 = 入射樣品的光束

α = 吸收係數

b = path length

e = 自然對數的底

Beer's Law

$$T = P/P_0 = 10^{-abc}$$

$$A = -\log T = -\log P/P_0 = \log P_0/P = abc$$

A = 吸收值

a = 吸收性

b = path length

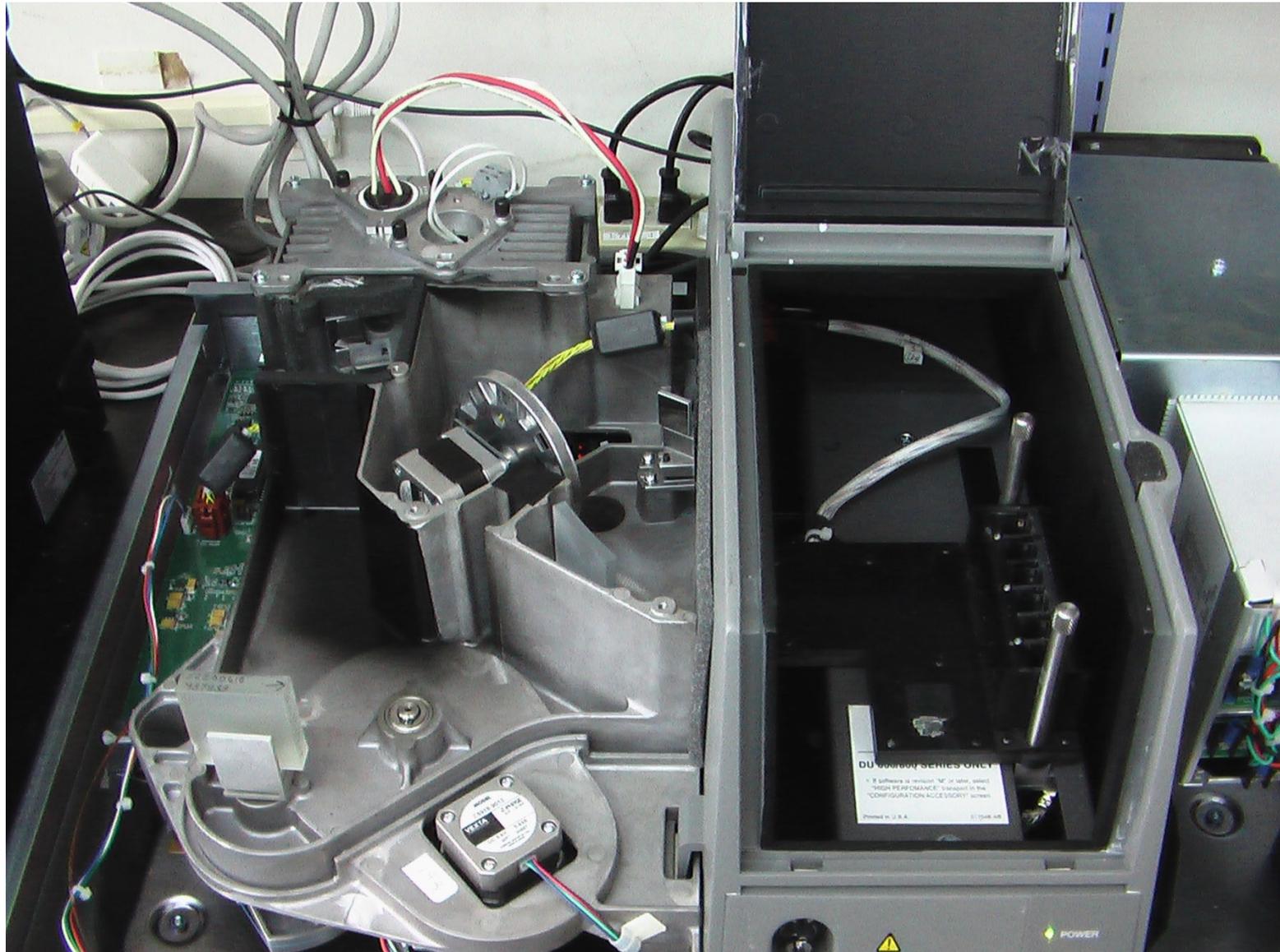
c = 濃度

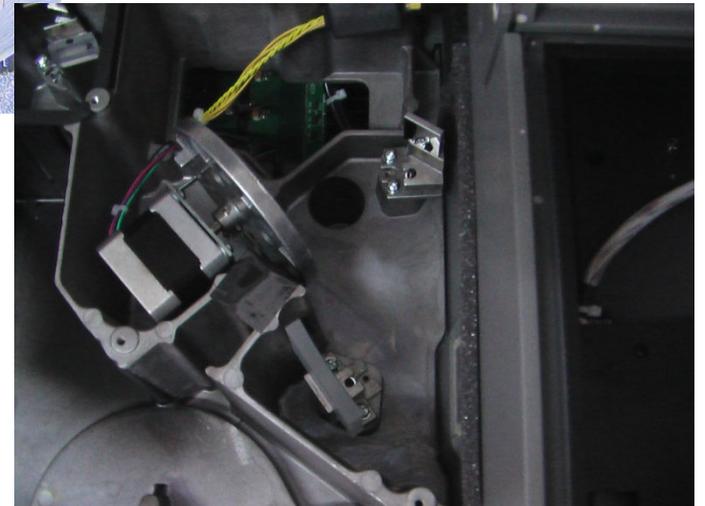
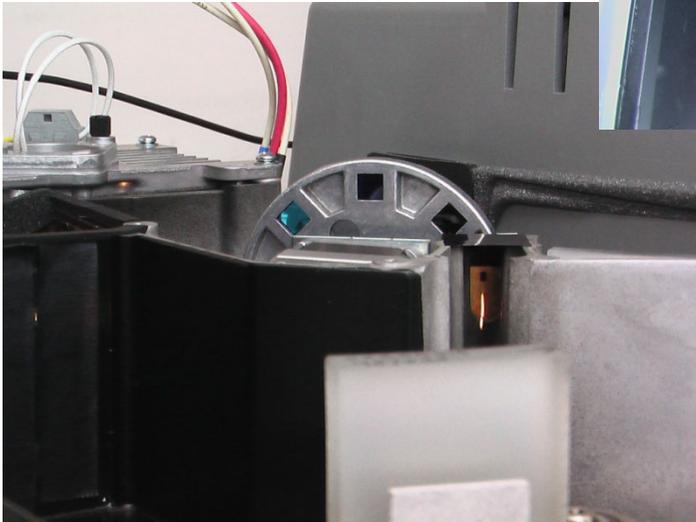
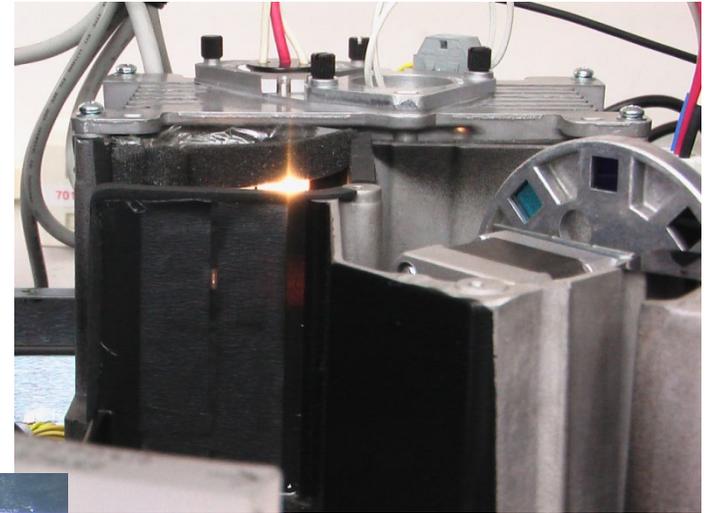
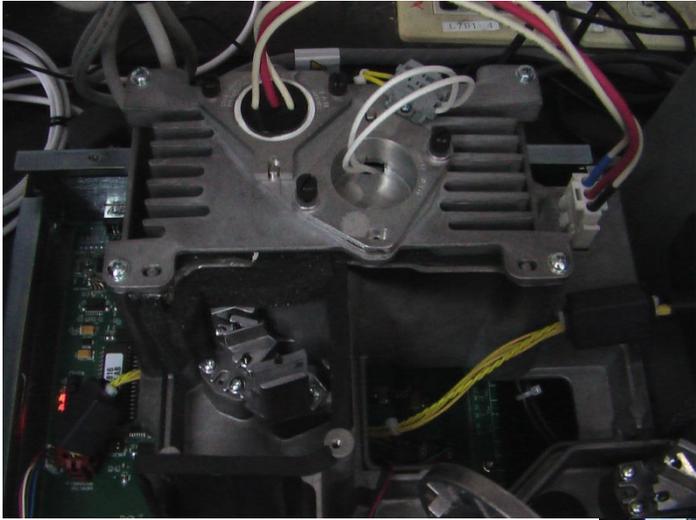
吸收值與濃度成正比



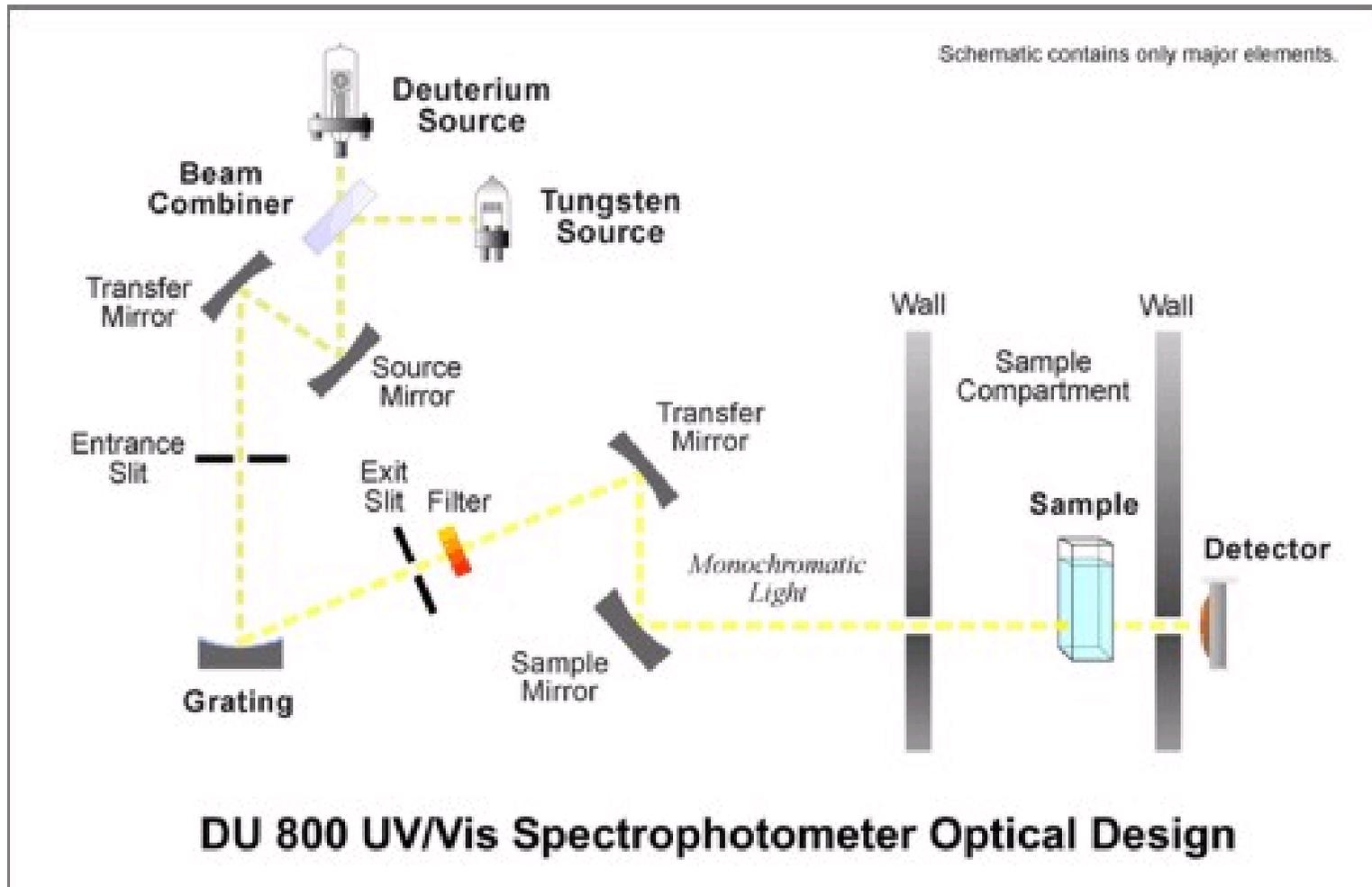
DU ® 800 /600 Series

光學結構

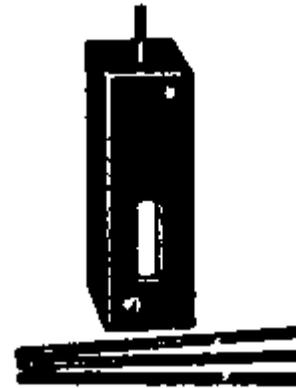
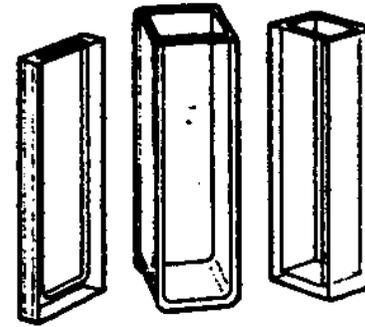
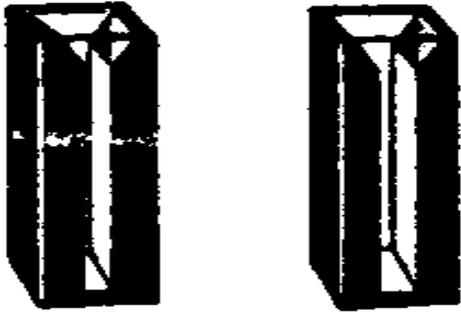




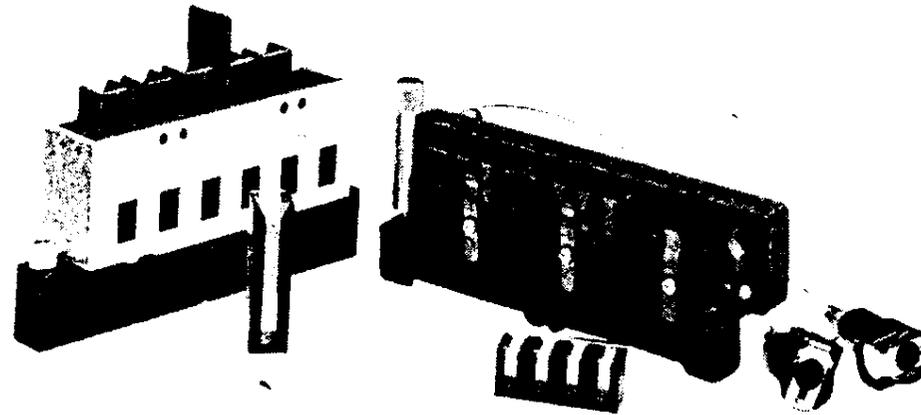
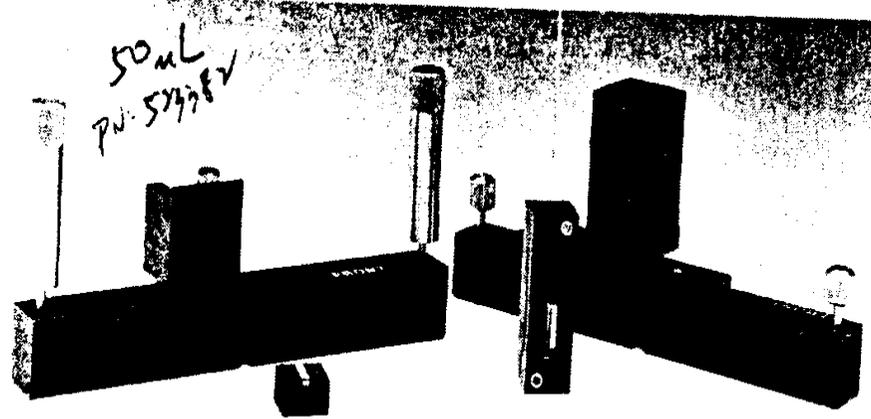
光學路徑圖



Cuvette



Holder



1. 4. 6. 8. 10. 12. 14. 16. 18. 20. 22. 24. 26. 28. 30. 32. 34. 36. 38. 40. 42. 44. 46. 48. 50. 52. 54. 56. 58. 60. 62. 64. 66. 68. 70. 72. 74. 76. 78. 80. 82. 84. 86. 88. 90. 92. 94. 96. 98. 100.

應用

- **Fix Wavelength:**
已知樣品吸收光譜之波長,測定其吸收值,得知其濃度
- **Wavelength scan:**
未知樣品吸收光譜之波長,以全光譜掃描,得知其吸收波長
- **Nucleic Acid:**
測得260/280波長之吸收值,進而得知protein 或 Nucleic acid的濃度
- **Protein analysis:**
用已知濃度之蛋白質溶劑作為標準品,讀取其吸收值,畫出標準曲線,再讀取未知樣品之吸收值,利用內插法,算出其蛋白質濃度

Thanks