



第10章 吸光光度法

Spectrophotometry

10.1 吸光光度法基本原理

10.2 分光光度计及吸收光谱

10.3 显色反响及影响因素

10.4 光度分析法的设计

10.5 吸光光度法的误差

10.6 常用的吸光光度法

10.7 吸光光度法的应用



化学分析与仪器分析方法比较

化学分析：常量组分(>1%), E_r 0.1%~0.2%

准确度高

依据化学反响, 使用玻璃仪器

仪器分析：微量组分(<1%), E_r 1%~5%

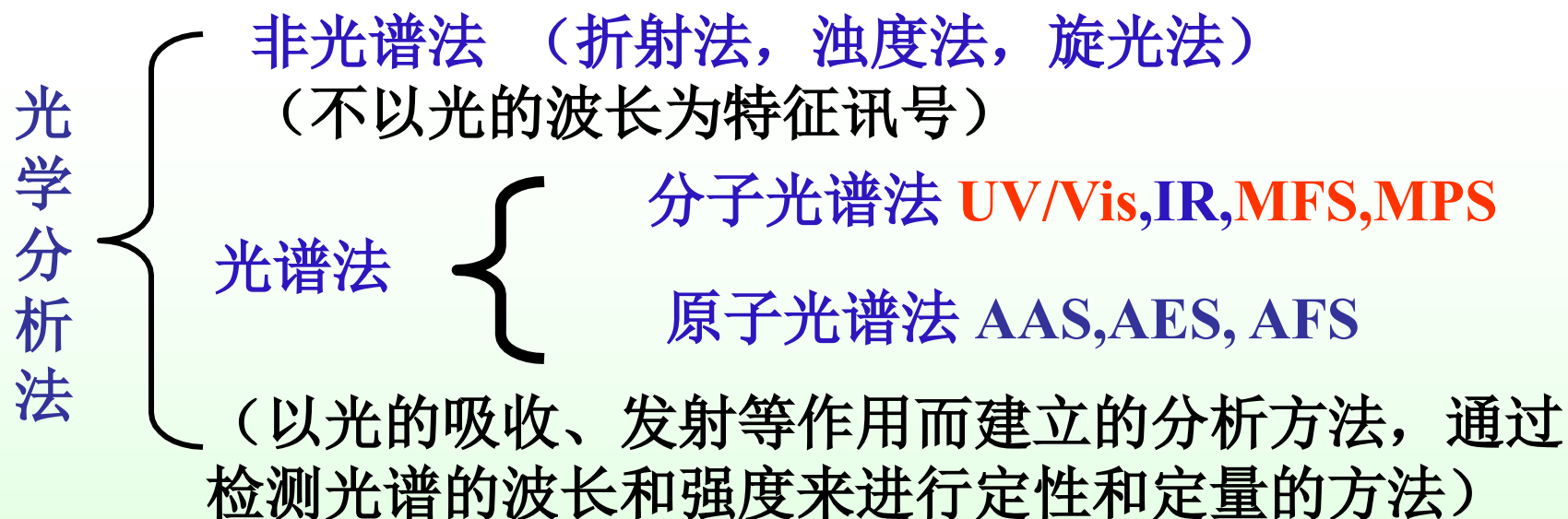
灵敏度高

依据物理或物理化学性质, 需要特殊的仪器



仪器分析方法分类

1. 光学分析法：基于电磁辐射与物质的相互作用



2. 电化学分析法：依据物质的电化学性质及其变化

3. 色谱法：气相色谱，液相色谱

4. 质谱法、热分析法、放射化学法等



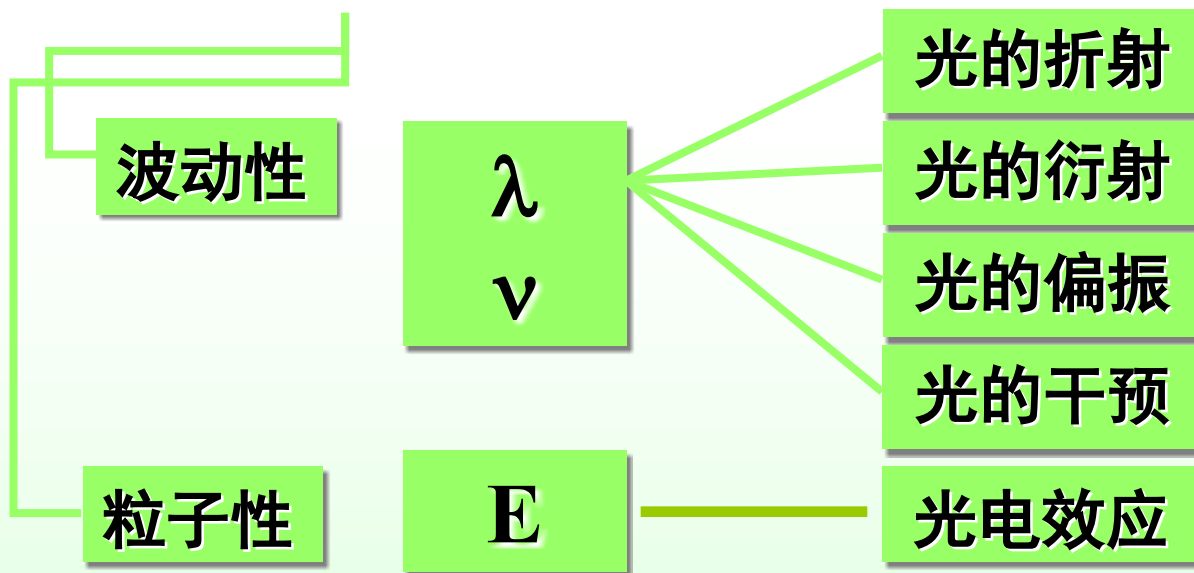
10.1 吸光光度法基本原理

吸光光度法：分子光谱分析法的一种，又称分光光度法，是基于被测物质的分子对光具有选择性吸收的特性而建立起来的分析方法，属于分子吸收光谱分析方法。基于外层价电子跃迁



- 1 吸收光谱产生的原因

- 光:一种电磁波,波粒二象性



$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

E :光子的能量 (J, 焦耳)

ν :光子的频率 (Hz, 赫兹)

λ :光子的波长 (cm)

c :光速 ($2.9979 \times 10^{10} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$)

h :Planck 常数 ($6.6256 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$, 焦耳·秒)



光学光谱区

远紫外

(真空紫外)

近紫外

可见



近红外

中红外

远红外

10nm~200nm

200nm
~400nm

400nm
~ 750nm

750 nm
~ 2.5 μm

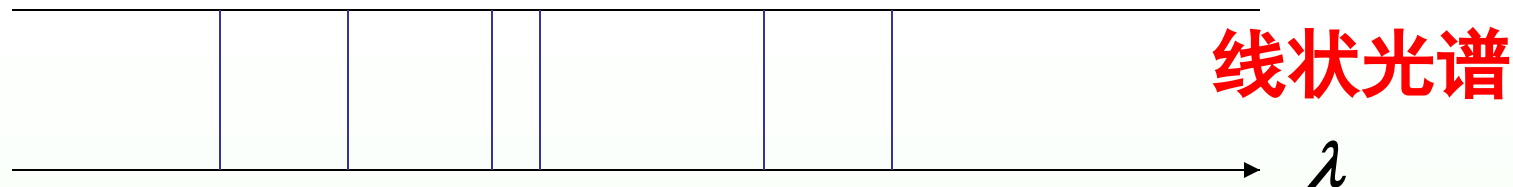
2.5 μm
~ 5.0 μm

5.0 μm
~1000 μm

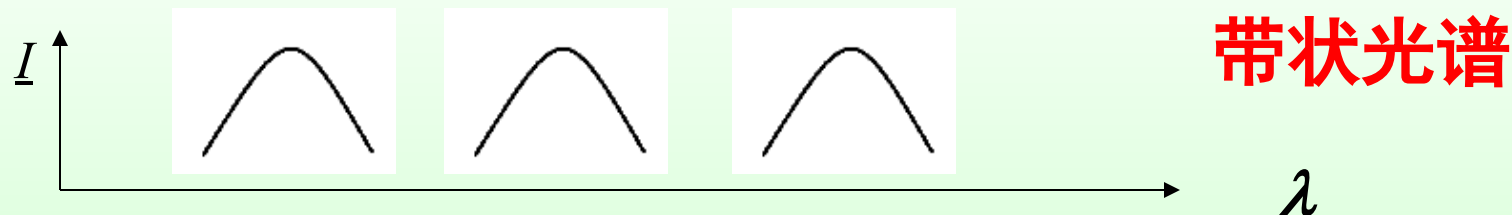


光谱种类

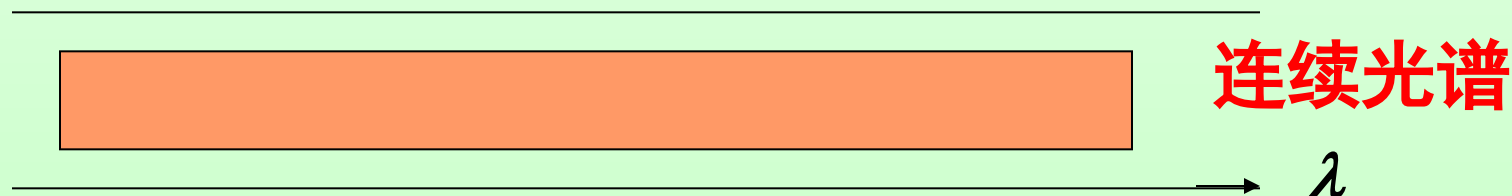
原子光谱：吸收、发射、荧光



分子光谱：紫外、可见、红外等吸收光谱



黑体辐射：白炽灯、液、固灼热发光





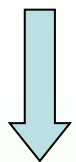
物质对光的吸收与发射

物质分子内部3 种运动形式及其对应能级:

1. 电子相对于原子核的运动--**电子能级**;
 单重态: 激发态与基态中的电子自旋方向相反.
 三重态: 激发态与基态中的电子自旋方向相同.
2. 原子核在其平衡位置附近的相对振动--**振动能级**;
3. 分子本身绕其重心的转动--**转动能级**.

分子光谱为带光谱

原子光谱为线光谱

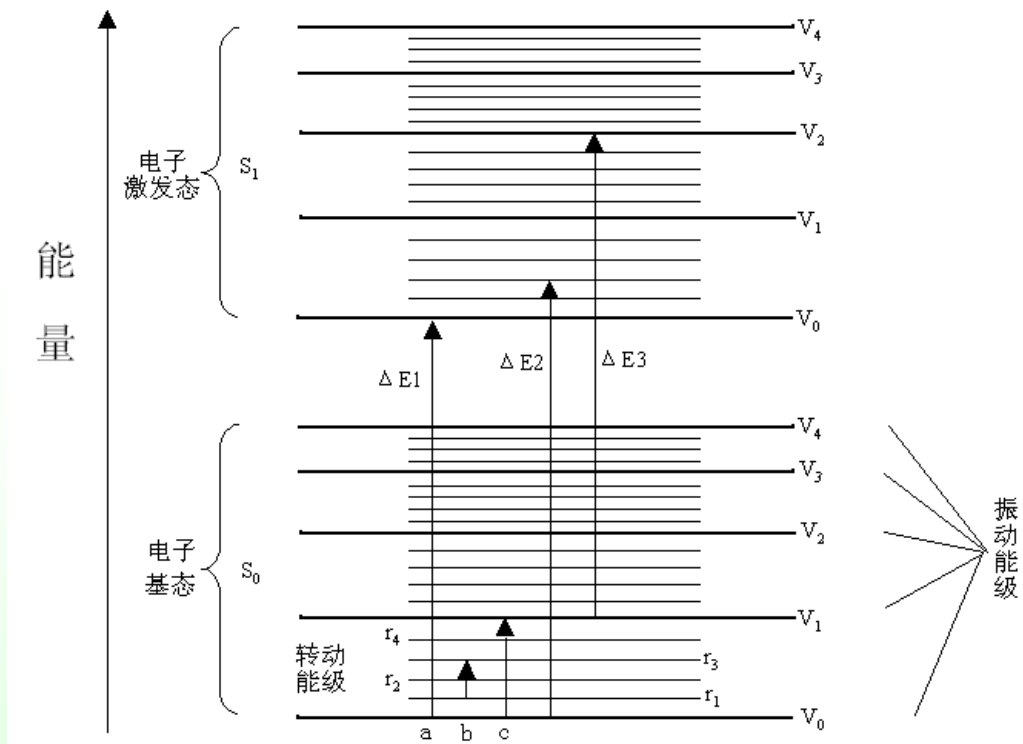


电子跃迁能级

分子振动能级

分子转动能级

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$



分子能级示意图

S: 电子能级

v: 振动能级

r: 转动能级



2 物质颜色和其吸收光关系

- **色光:**

有颜色的光。每种色光具有一定的波长范围，

如绿色光：500~560nm，

黄色光：580~600nm。

- **单色光:**

只具有一种波长的光。

如波长为 470 nm 的光就是单色光。



单色光、复合光、光的互补

单色光

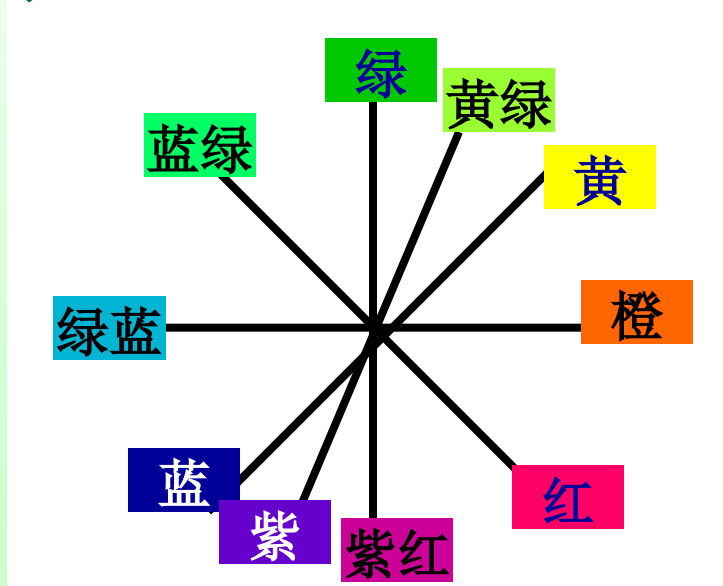
单一波长的光

复合光

由不同波长的光组合而成的光

光的互补

假设两种不同颜色的单色光按一定的强度比例混合得到白光，那么就称这两种单色光为互补色光，这种现象称为光的互补。





互补色

λ/nm	吸收光颜色	物质的颜色
400-450	紫	黄绿
450-480	蓝	黄
480-490	绿蓝	橙
490-500	蓝绿	红
500-560	绿	紫红
560-580	黄绿	紫
580-610	黄	蓝
610-650	橙	绿蓝
650-760	红	蓝绿



有色化合物溶液的颜色

- 溶液中有色化合物分子中的价电子由于能级跃迁，可以选择性吸收不同波长的互补色光中的一种色光而让另一种色光透过溶液，被人眼所感觉。故有色化合物的颜色为透过光的颜色。

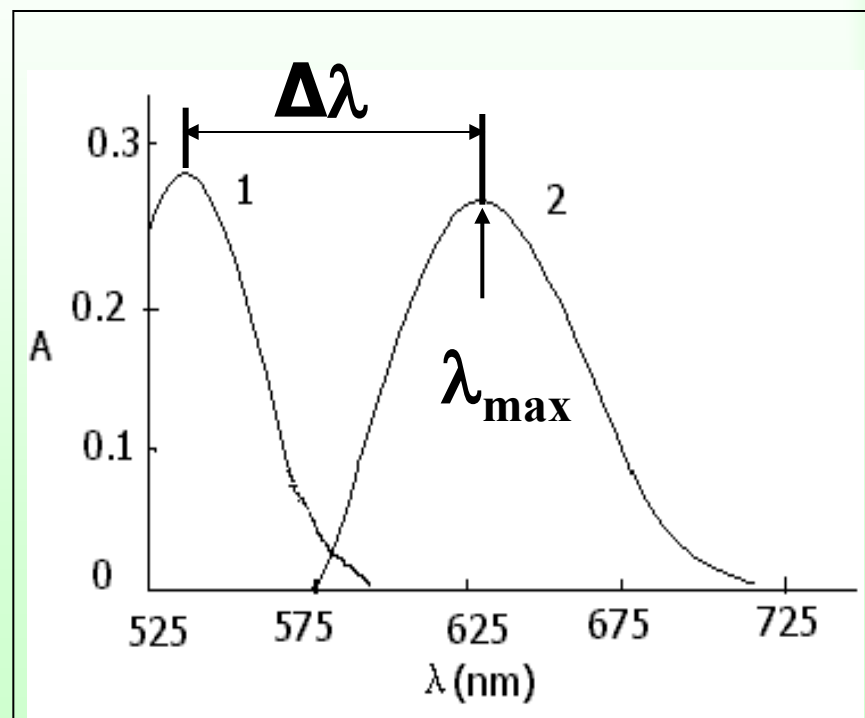
3 一些根本名词和概念

吸收光谱曲线：物质在不同波长下吸收光的强度大小

$A \sim \lambda$ 关系

最大吸收波长 λ_{\max} ：光吸收最大处的波长

比照度(ΔI):络合物最大吸收波长(λ_{\max})与试剂最大吸收波(λ_{\max})之差





吸收光谱曲线(absorption spectrum) :

通过测量某种物质对不同波长单色光的吸光度，然后以波长为横坐标，吸光度为纵坐标所绘出的曲线。

用途:

可清楚描述物质对光的吸收情况。

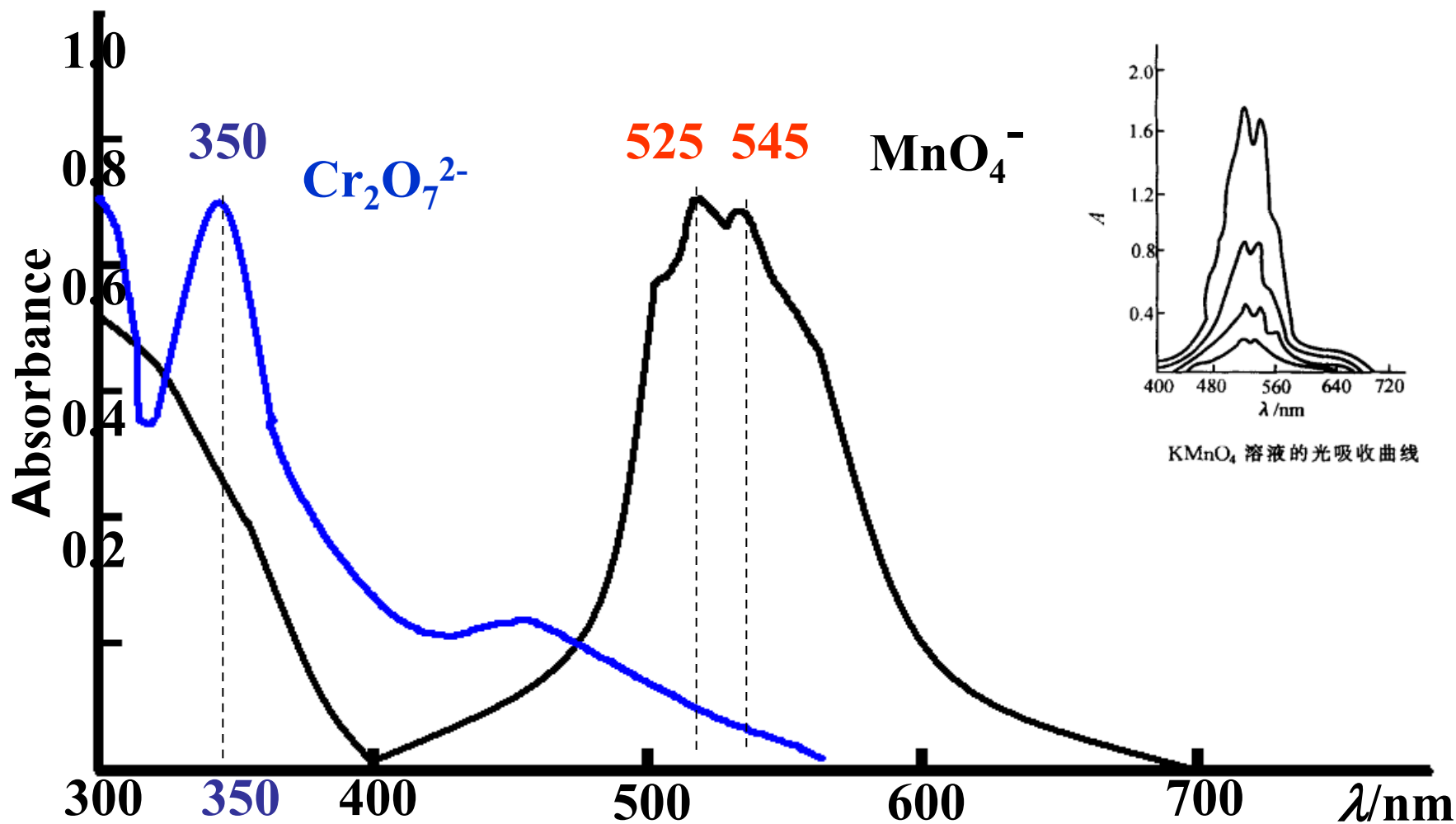
可查找出最大吸收波长(即吸光度最大处的波长 λ_{\max})，用于分光光度测定。

特点:

光吸收曲线的形状和 λ_{\max} 不随有色化合物溶液浓度的改变而改变。



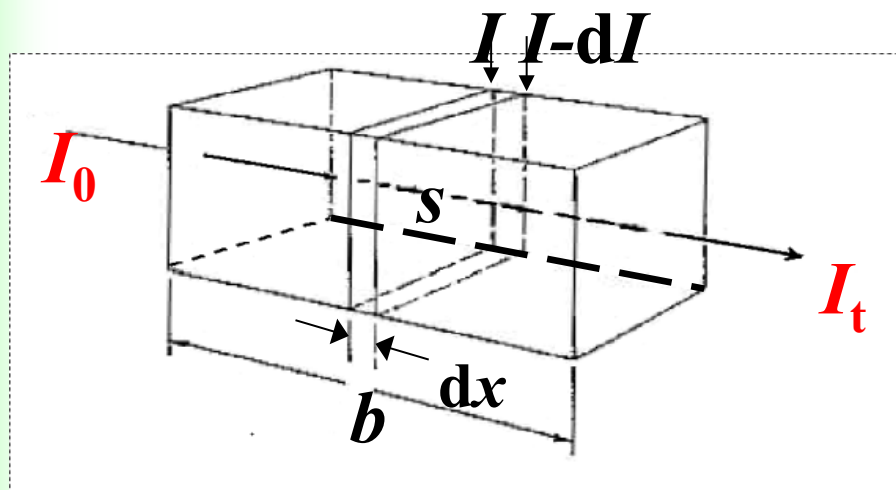
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 、 MnO_4^- 的吸收光谱





- 不同物质吸收光谱的形状以及●max 不同
- ——定性分析的根底
- 同一物质，浓度不同时，吸收光谱的形状相同，Amax 不同
- ——定量分析的根底

律



光吸收定律:朗伯-比尔
(Lambert-Beer)定律
吸光光度法的理论依据,
研究光吸收的最根本定律

$$I_0 = I_t + I_a$$

$T = I_t / I_0$, T: 透射比或透光度

$A = \lg(I_0 / I_t) = \lg(1/T)$, A: 吸光度

朗伯定律 (1760年): 光吸收与溶液层厚度成正比

比尔定律 (1852年): 光吸收与溶液浓度成正比



朗伯比尔定律:当一束平行单色光垂直照射到样品溶液时,溶液的吸光度与溶液的浓度及光程〔溶液的厚度〕成正比关系.

——光吸收定律

数学表达: $A = \lg(1/T) = Kbc$ $T = 10^{-kbc} = 10^{-A}$

其中, A:吸光度, T:透射比,

K:比例常数, b:溶液厚度, c:溶液浓度

注意: 平行单色光

均相介质

无发射、散射或光化学反响

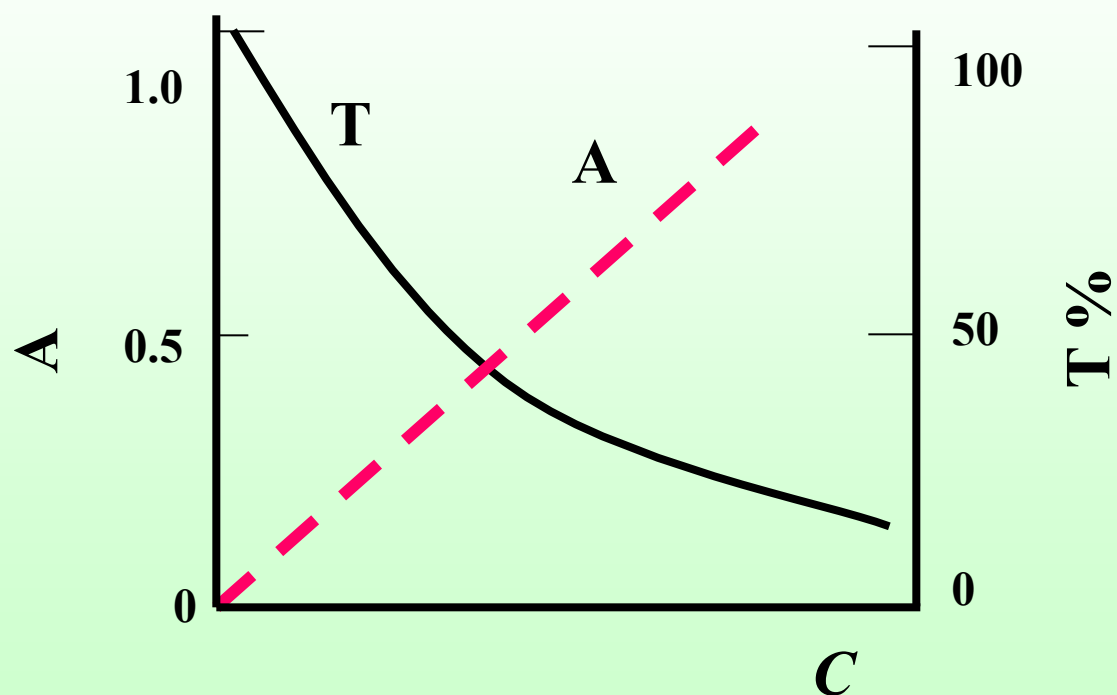


吸光度 与透光率 Absorbance and transmittance

$$-\lg T = Kcb = A \quad T = 10^{-A} = 10^{-Kbc}$$

T: 透光率

A: 吸光度



$$T = 0.0 \%$$

$$A = \infty$$

$$T = 100.0 \%$$

$$A = 0.0$$

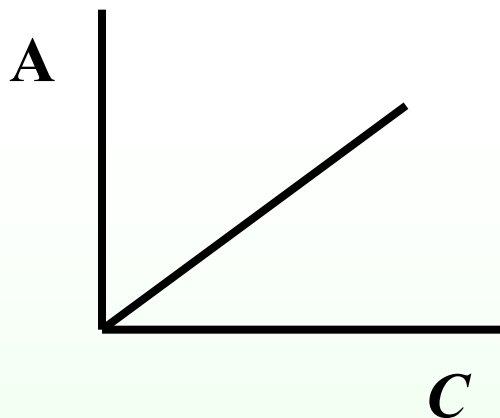
$$T = 36.8 \%$$

$$A = 0.434$$

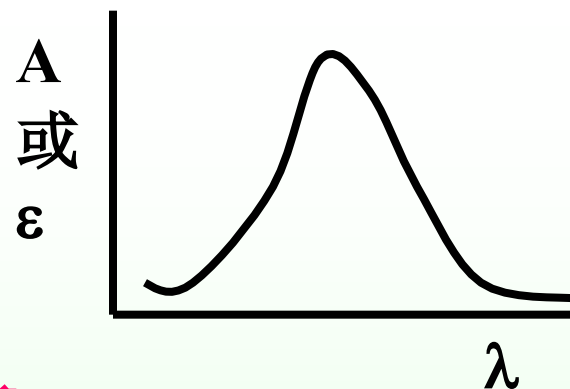


吸收定律与吸收光谱的关系

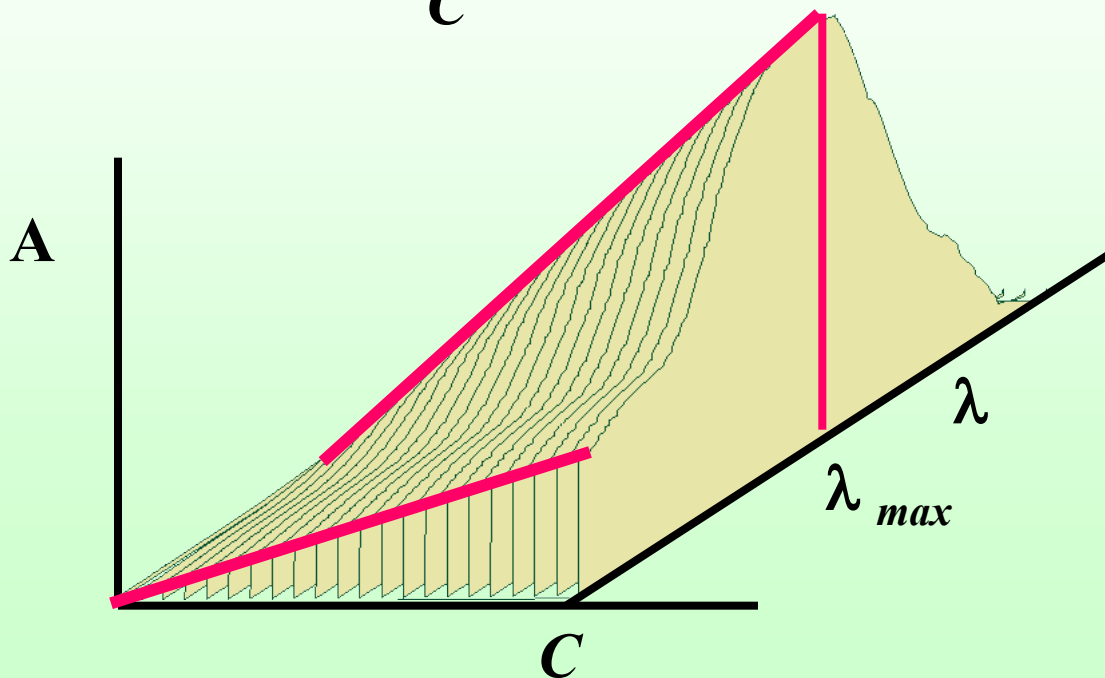
吸光定律



吸收光谱



三维谱图





灵敏度表示方法

a. 摩尔吸光系数 ϵ

$$A = Kbc \left\{ \begin{array}{l} \xrightarrow{c: \text{mol/L}} A = \epsilon bc \\ \xrightarrow{c: \text{g/L}} A = abc \quad a: \text{吸光系数} \end{array} \right.$$

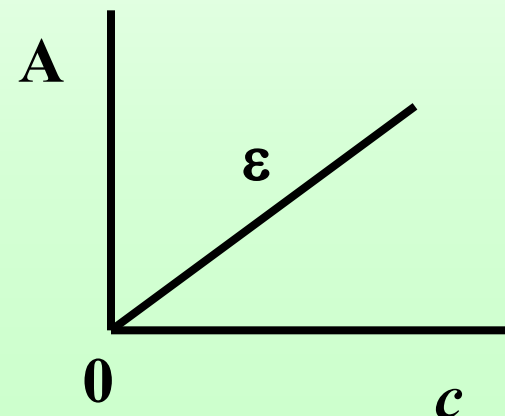
ϵ 表示物质的浓度为1mol/L,液层厚度为1cm时溶液的吸光度。
单位: $(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$

对摩尔系数的理解之一

摩尔吸收系数是对吸光物质而言，是由吸光物质的结构特征，吸光面积等因素决定。

实际测定 $A = \epsilon' bc_{\text{Fe}^{2+}}$

实际测得的是条件摩尔吸收系数， ϵ'





对摩尔系数的理解之二

对同一种待测物质，不同的方法具有不同的 ϵ ，说明具有不同的灵敏度。

例，分光光度法测铜

铜试剂法测 Cu $\epsilon_{426} = 1.28 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

双硫腙法测 Cu $\epsilon_{495} = 1.58 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

ϵ 越大, 灵敏度越高:

$\epsilon < 10^4$ 为低灵敏度;

$\epsilon = 10^4 \sim 5 \times 10^4$ 为中等灵敏度;

$\epsilon > 10^5$ 为高灵敏度。

**b. 桑德尔(Sandell)灵敏度: S**

当仪器检测吸光度为0.001时，单位截面积光程内所能检测到的吸光物质的最低含量。

$$S = \frac{M}{\varepsilon} \mu g / cm^2$$



氯磺酚S测定钢中的铌

50ml容量瓶中有Nb30 μ g, 用2cm比色池, 在650nm测定光吸收, $A=0.43$, 求S. (Nb原子量92.91)。

根据 $A=\epsilon bc$, 求 ϵ

$$\epsilon = A/bc = \frac{0.43}{2 \times \frac{1000 \times \frac{30}{50} \times 10^{-6}}{92.91}} = 3.3 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$S = \frac{92.91}{3.3 \times 10^4} = 0.0028 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$$



吸光度的加和性

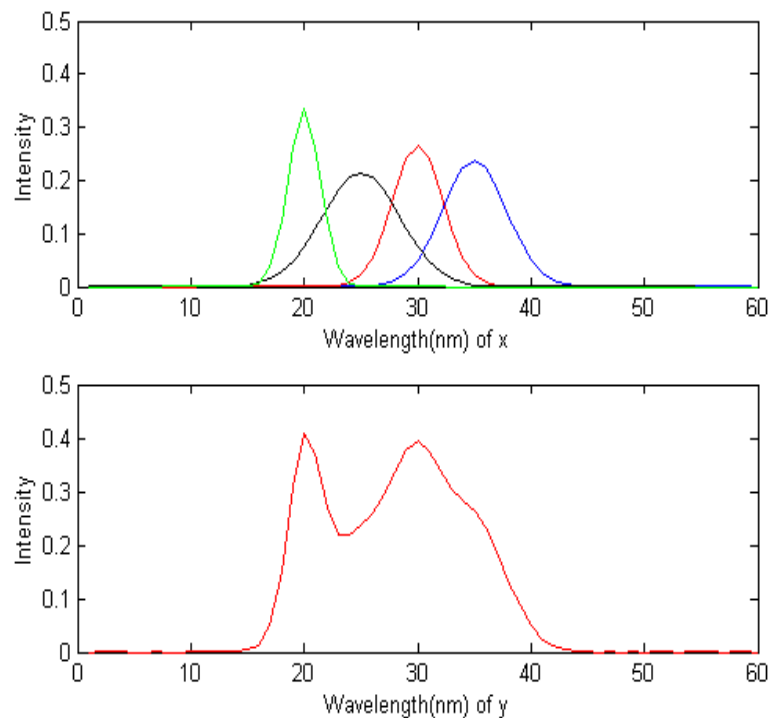
在某一波长，溶液中含有对该波长的光产生吸收的多种物质，那么溶液的总吸光度等于溶液中各个吸光物质的吸光度之和

$$A_1 = \varepsilon_1 bc_1$$

$$A_2 = \varepsilon_2 bc_2$$

$$A = \varepsilon_1 bc_1 + \varepsilon_2 bc_2$$

$$A = A_1 + A_2 + \cdots + A_n$$



根据吸光度的加和性可以进行多组分的测定以及某些化学反响平衡常数的测定



10.2 吸光光度法和光度计

目视比色法

特点

利用自然光

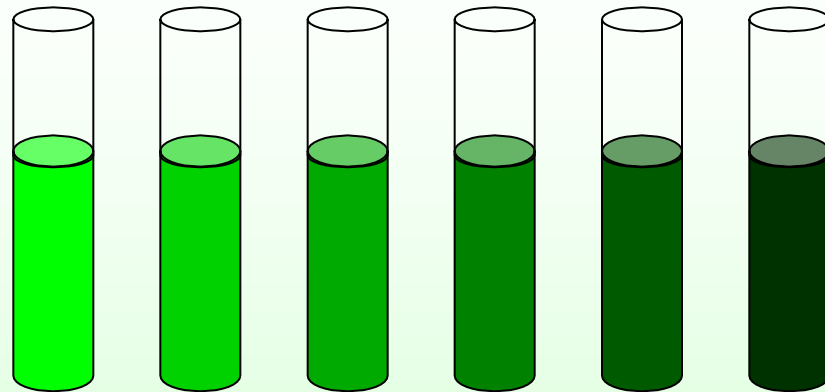
比较吸收光的互补色光

准确度低〔半定量〕

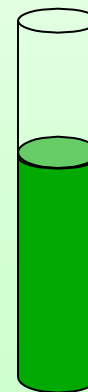
不可分辨多组分

方法简便，灵敏度高

标准系列



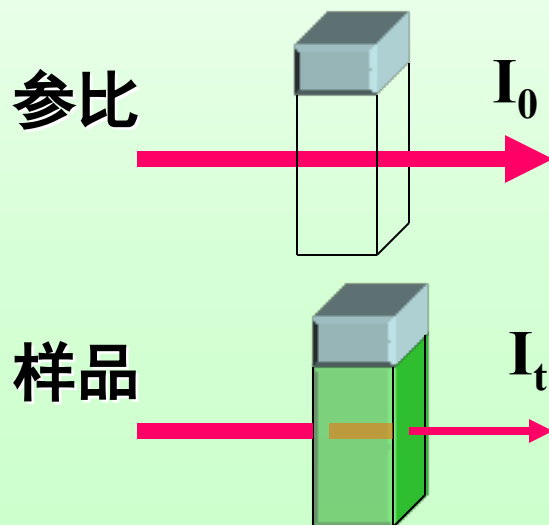
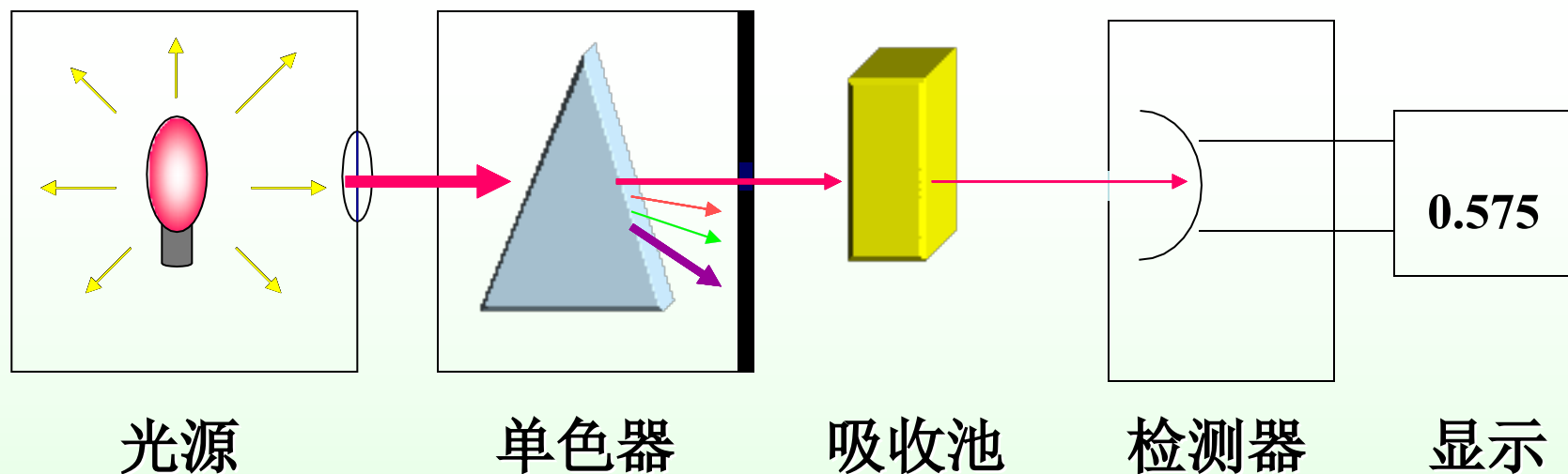
未知样品





分光光度法 (紫外-可见分光光度法) UV-VIS

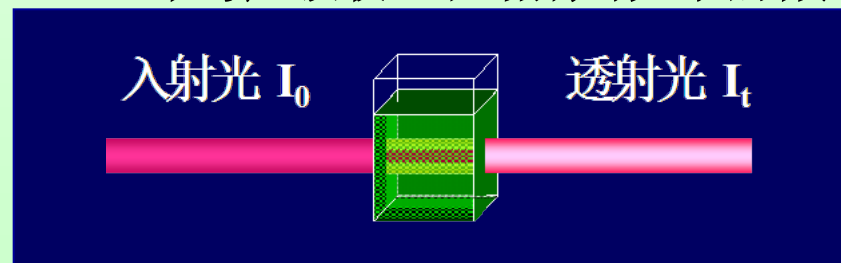
Ultraviolet Visual Spectroscopy



$$A = \lg(I_0 / I_t) = \lg(1/T)$$

未考虑吸收池和溶剂对光子的作用

注意比较





光源：发出所需波长范围内的连续光谱，有足够的光强度,稳定。**可见光区：钨灯，碘钨灯(320~2500nm)**

常用光源 **紫外区：氢灯，氘灯(180~375nm)**

光源	波长范围(nm)	适用于
氢灯	185~375	紫外
氘灯	185~400	紫外
钨灯	320~2500	可见，近红外
卤钨灯	250~2000	紫外，可见，近红外
氘灯	180~1000	紫外、可见（荧光）
能斯特灯	1000~3500	红外
空心阴极灯	特有	原子光谱
激光光源	特有	各种谱学手段



氘灯

氢灯

钨灯



单色器：将光源发出的连续光谱分解为单色光的装置。

棱镜：玻璃350~3200nm, 石英185~4000nm

光栅：波长范围宽, 色散均匀, 分辨性能好, 使用方便

吸收池（比色皿）

厚度(光程)：0.5, 1, 2, 3, 5...cm

材质：玻璃比色皿——可见光区

石英比色皿——可见、紫外光区



检测器

作用：接收透射光，并将光信号转化为电信号

常用检测器：

光电管

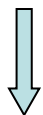
光电倍增管

光二极管阵列

光电管分为红敏和紫敏，阴极外表涂银和氧化铯为红敏，适用625—1000nm波长；阴极外表涂铯和铯为紫敏，适用200—625nm波长

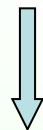


目视比色法—比色管



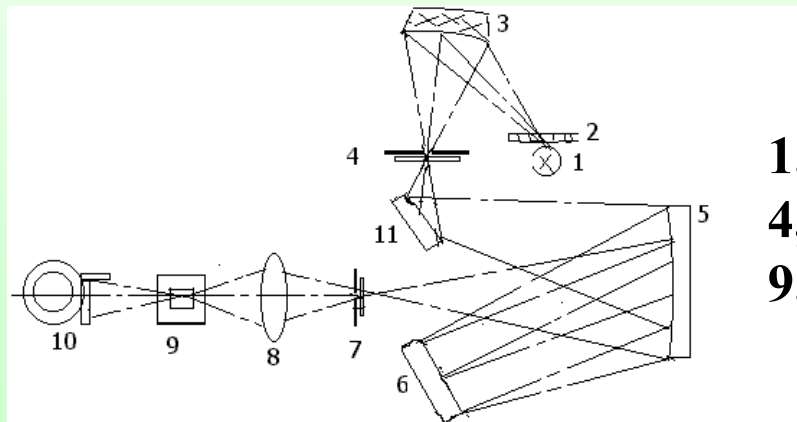
光电比色法—光电比色计

光源、滤光片、比色池、硒光电池、检流计



分光光度法与分光光度计

722型分光光度计光学系统图



- 1.光源； 2.滤光片； 3,8聚光镜
- 4,7.狭缝； 5.准直镜； 6.光栅
- 9.比色池； 10.光电管



10.3 显色反响及影响因素

1 显色反响

没有颜色的化合物，需要通过适当的反响定量生成有色化合物再测定— 显色反响

要求：

- a. 选择性好
- b. 灵敏度高 ($\epsilon > 10^4$)
- c. 产物的化学组成稳定
- d. 化学性质稳定
- e. 反响和产物有明显的颜色差异 (比照度 $\Delta\lambda > 60\text{nm}$)



2 显色剂

无机显色剂:

KSCN: 测 Fe、Mo、W、Nb 等

钼酸铵: 测 P、As 等

过氧化氢: 测 Ti、V 等

有机显色剂:

分子
结
构

含有生色团(即含不饱和键的基团)

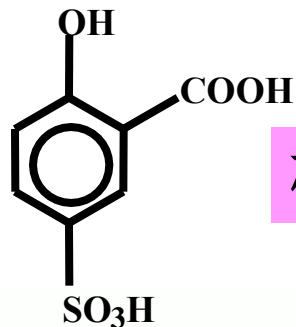
如偶氮基, 对醌基和羰基等

含有助色团(含孤对电子的基团)

如氨基、羟基和卤代基等。

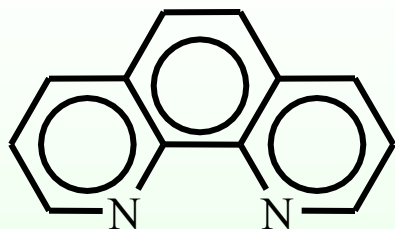


OO型:

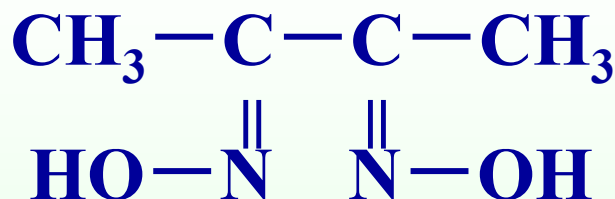


磺基水杨酸

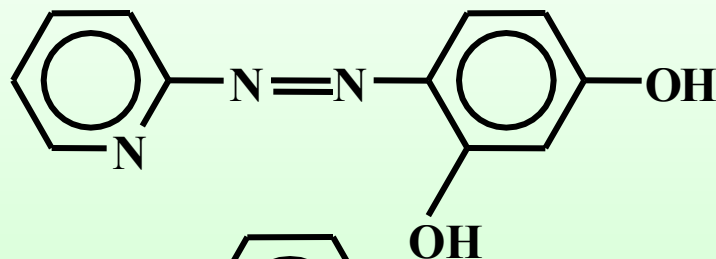
NN型:



邻二氮菲

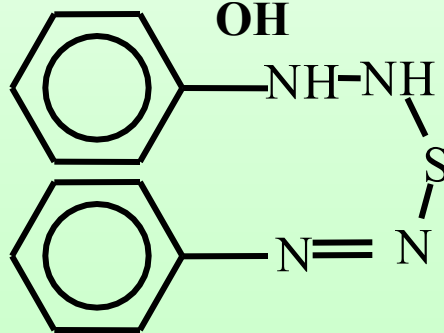


ON型:



PAR (4-(2-吡啶偶氮)-间苯二酚)

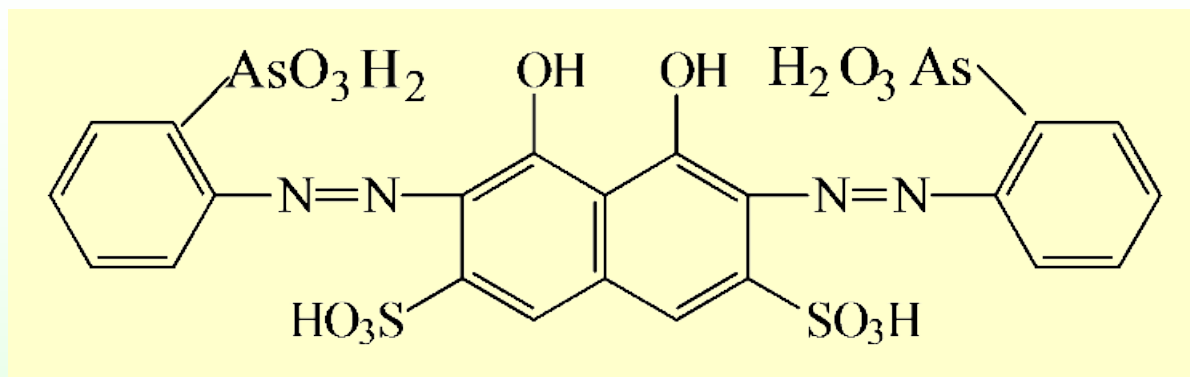
S型:



双硫腺



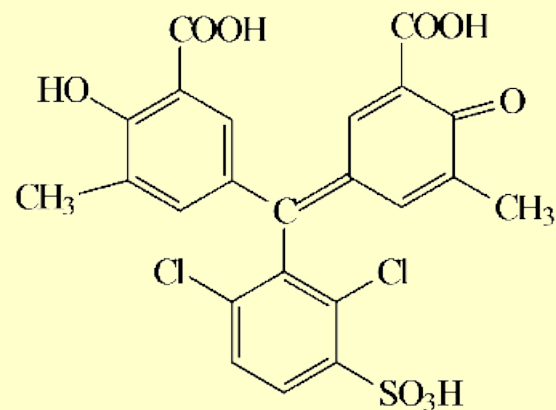
偶氮类：偶氮肿III



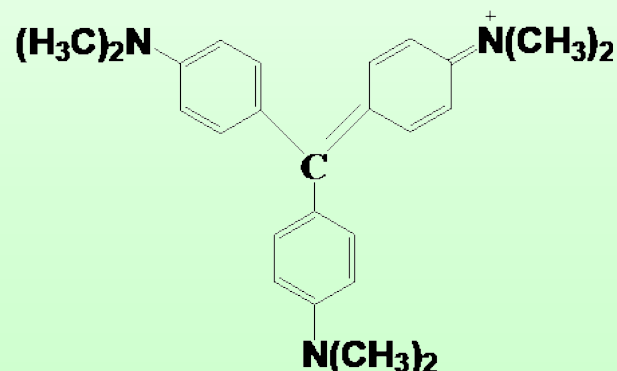


三苯甲烷类

三苯甲烷酸性染料 铬天菁S



三苯甲烷碱性染料 结晶紫



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/927113160031010004>