

Analytical Chemistry

第七章

吸光光度法简介

7.1 吸光光度法的基本原理

7.1.1 光的基本性质

7.1.2 物质对光的吸收

7.1.3 溶液的吸光定律

7.2 吸光分析法的方法与仪器简介

7.2.1 吸光分析的几种方法

7.2.2 吸光分析法的仪器简介

要点归纳

7.3 吸光光度法的灵敏度与准确度

7.3.1 灵敏度的表示方法

7.3.2 影响准确度的因素

7.3.3 测量条件的选择

7.4 吸光光度法分析条件的选择

7.4.1 酸度的选择

7.4.2 显色剂用量的选择

7.4.3 其它条件的选择

7.5 吸光光度法应用简介

7.5.1 微量组分的测定

7.5.2 示差光度法

7.5.3 光度滴定法

7.5.4 络合物组成及稳定常数的测定

7.5.5 弱酸弱碱离解常数的测定

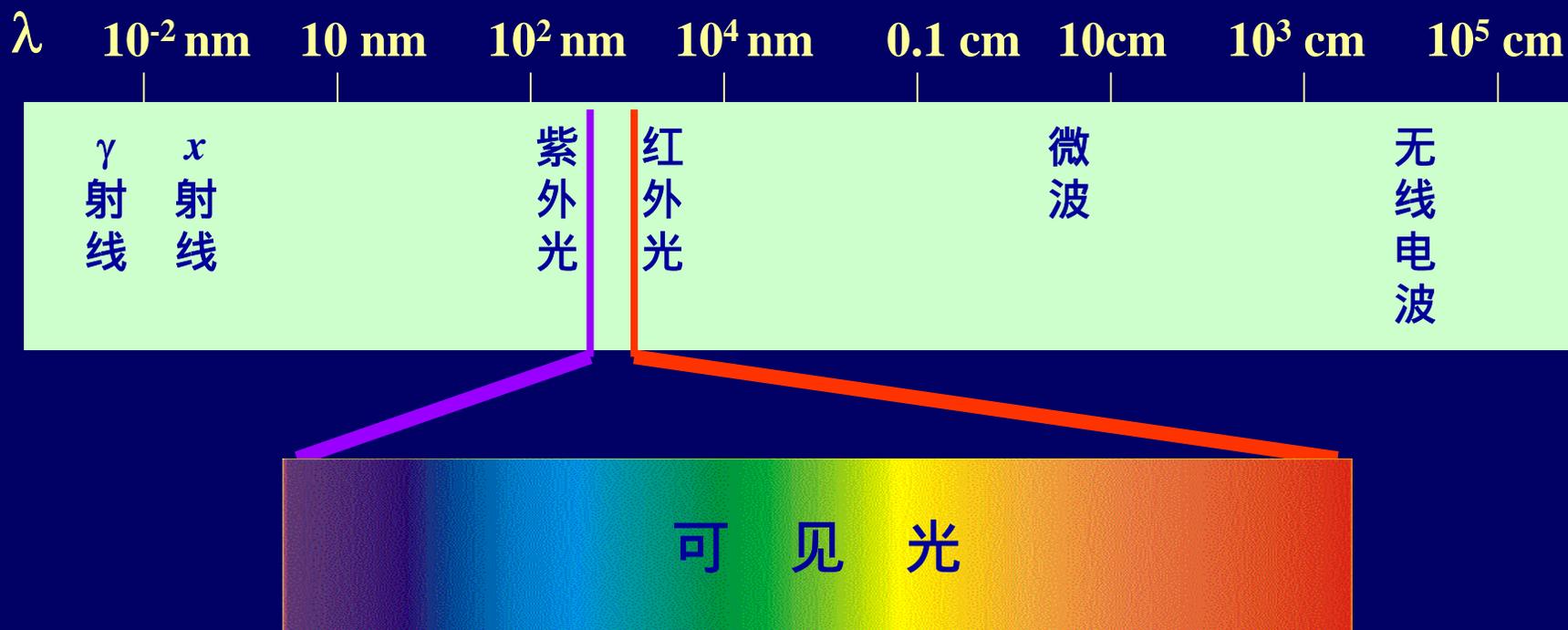
7.5.6 双波长分光光度法

7.5.7 导数分光光度法

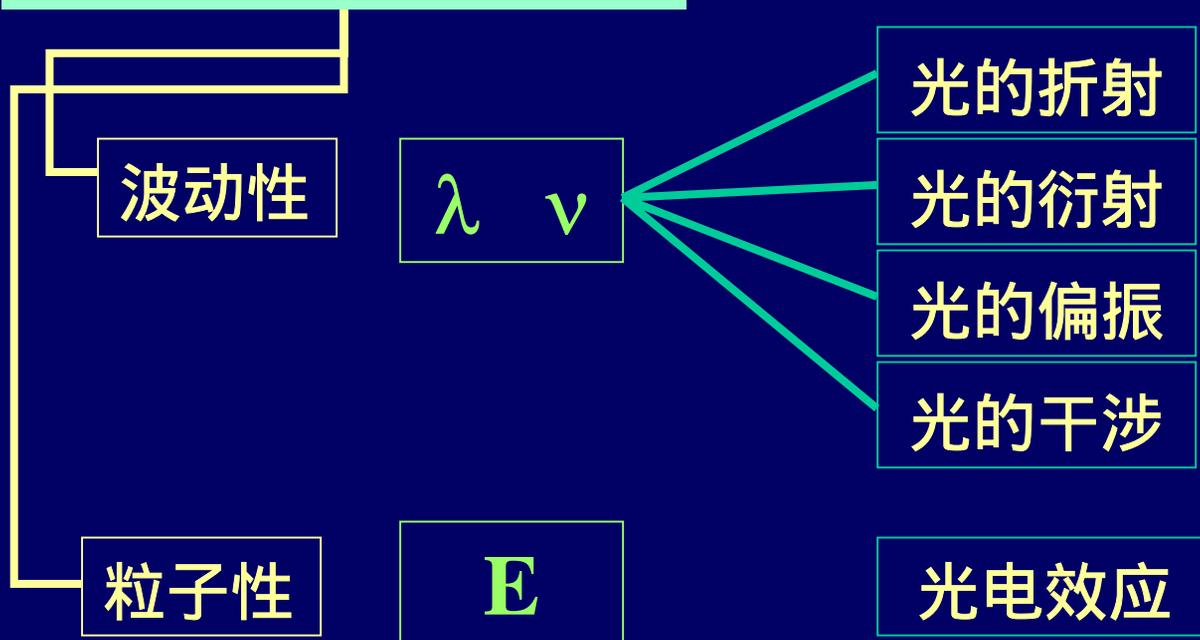
吸光光度法 是基于被测物质的**分子对光**具有选择吸收的特性而建立的分析方法。

7.1.1 光的基本性质

光的电磁波性质



光的波粒二象性



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

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 (2.9979×10^{10} cm.s⁻¹)

h : Plank常数 (6.6256×10^{-34} J.s 焦耳. 秒)

单色光、复合光、光的互补

单色光

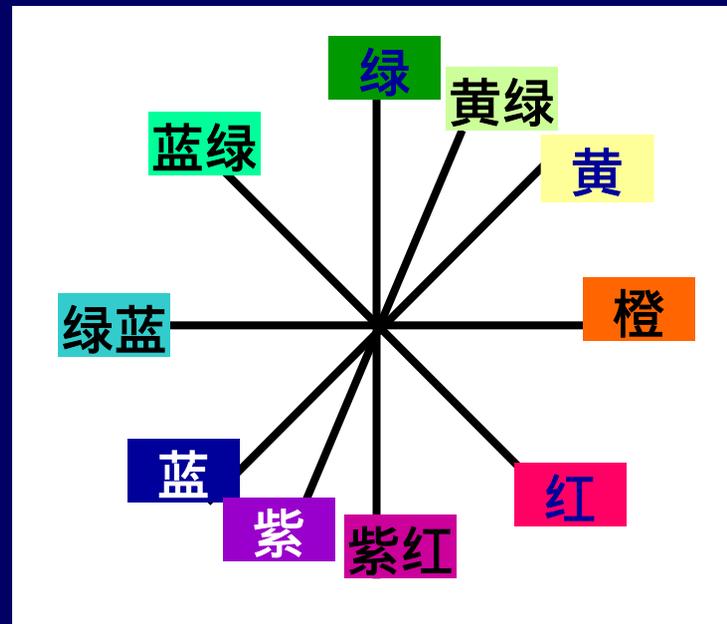
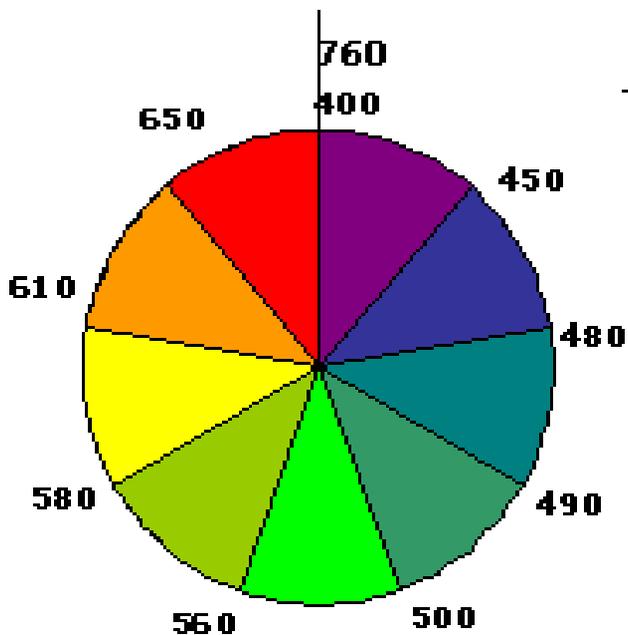
单一波长的光

复合光

由不同波长的光组合而成的光

光的互补

若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。



7.1.2 物质对光的吸收

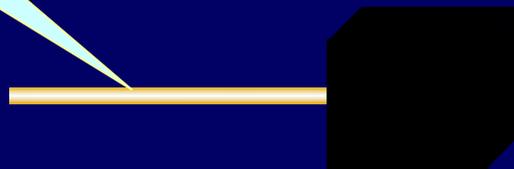
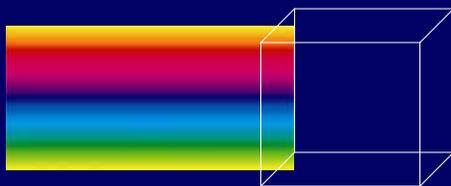
物质的颜色与光的关系

光谱示意

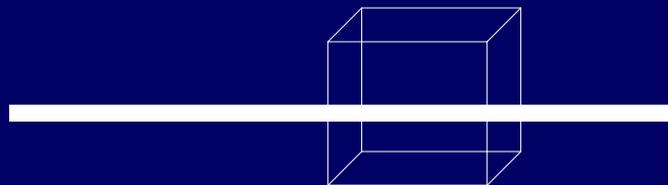
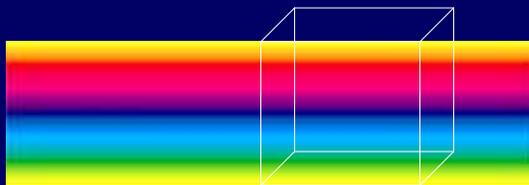
复合光

表观现象示意

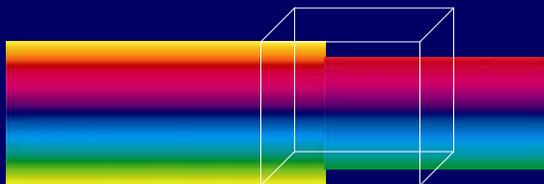
完全吸收



完全透过



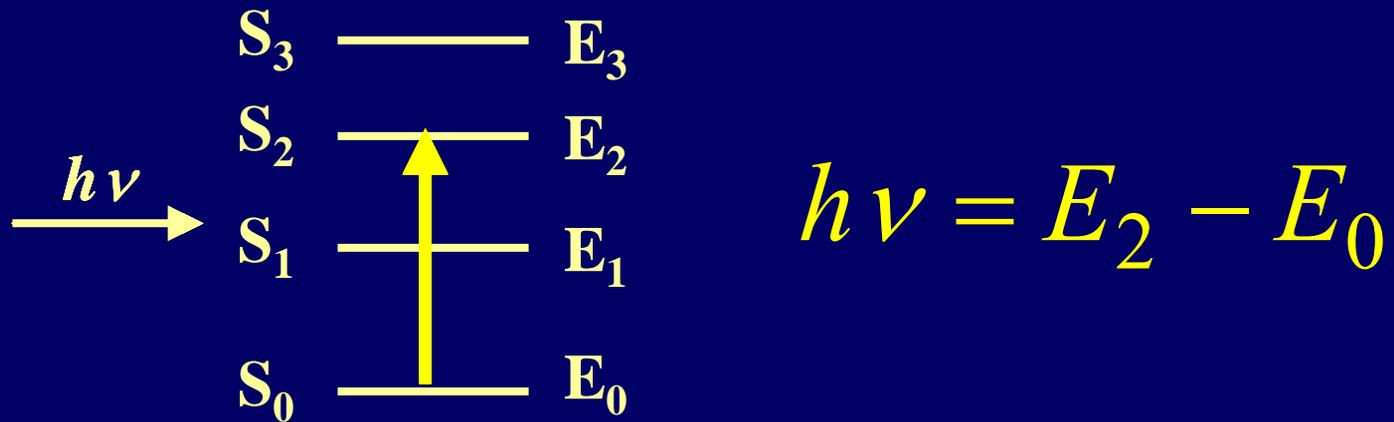
吸收黄色光



吸收光谱

光作用于物质时，物质吸收了可见光，而显示出特征的颜色，这一过程与物质的性质及光的性质有关。 分子基态的电子组态

物质对光的吸收



物质对光的吸收满足Plank 条件

$$\Delta E = E_2 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

分子基态的电子组态

- 1、用原子轨道线性组合法产生出各个分子轨道；
- 2、把电子加到每个分子轨道中去，在每个分子轨道中最多加进两个电子（Pauli原理），由此产生分子的电子组态；
- 3、把电子对加到最低能量轨道中去（建造原理），从而产生最低能量的电子组态（基态电子组态）

例：甲醛的分子轨道

$$\psi(\text{CH}_2 = \text{O}) = \frac{(1S_{\text{O}})^2 (1S_{\text{C}})^2 (2S_{\text{O}})^2 (\sigma_{\text{CH}})^2 (\sigma'_{\text{CH}})^2}{(\sigma_{\text{CO}})^2 (\pi_{\text{CO}})^2 (n_{\text{O}})^2 (\pi^*_{\text{CO}})^0}$$

$$\psi(\text{CH}_2 = \text{O}) = K (\pi_{\text{CO}})^2 (n_{\text{O}})^2$$

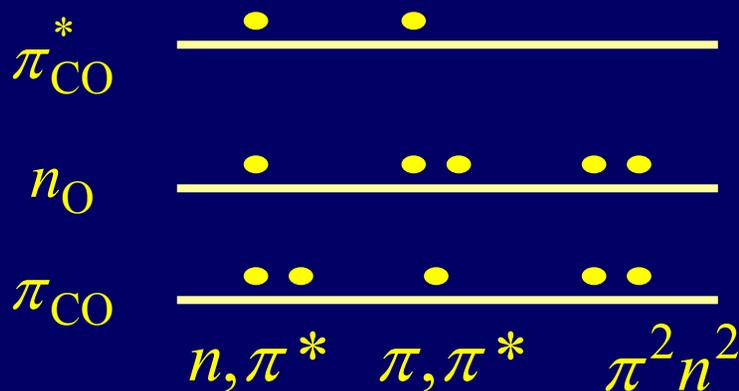
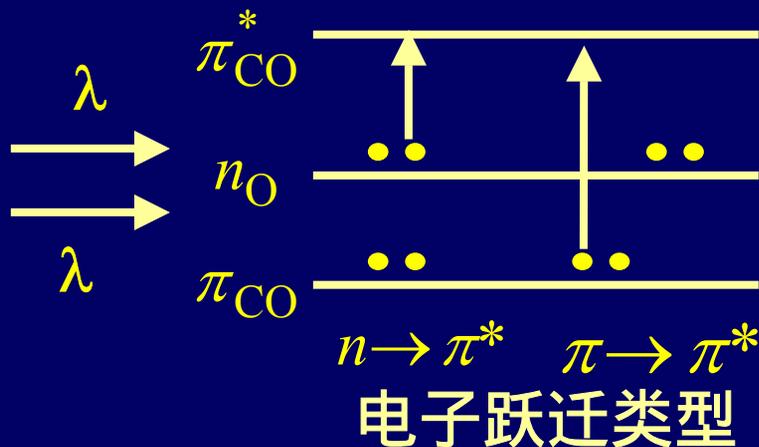
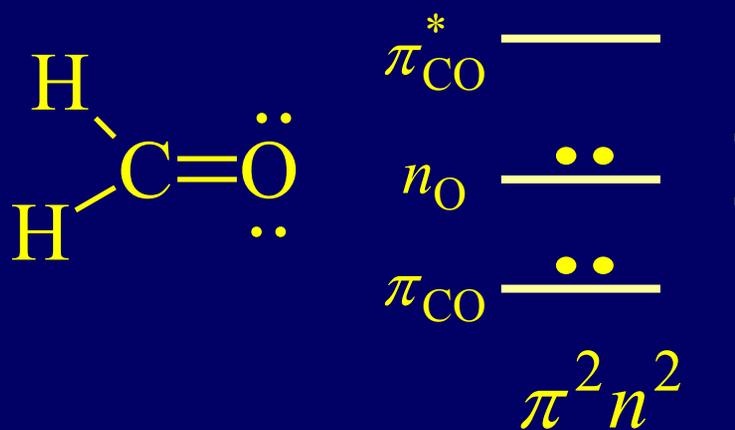
电子基态

最低空轨道

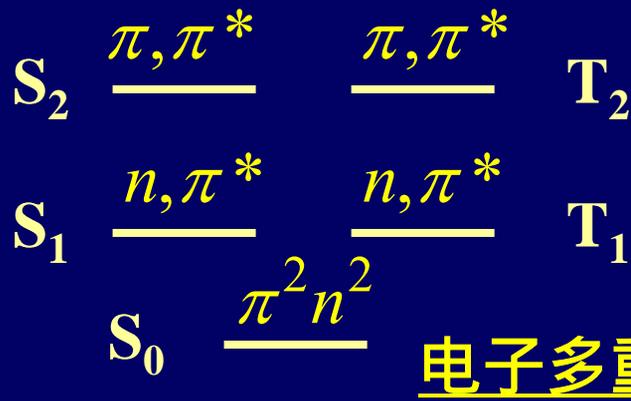
电子跃迁与电子激发态

$$\psi(\text{CH}_2 = \text{O}) = K(\pi_{\text{CO}})^2(n_{\text{O}})^2$$

甲醛的电子基态



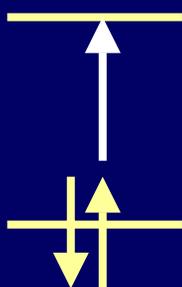
最低激发态和基态的电子组态



最低激发态和基态的电子态

电子的多重态

$h\nu +$



单重态

(自旋配对)



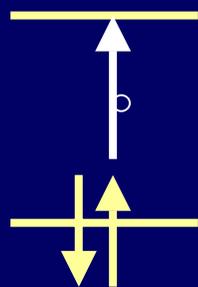
电子跃迁



激发单重态

(自旋配对)

$h\nu +$



单重态

(自旋配对)



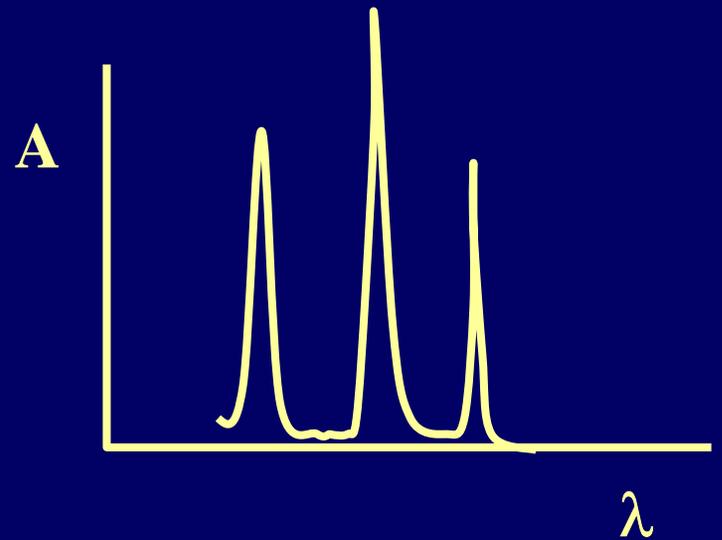
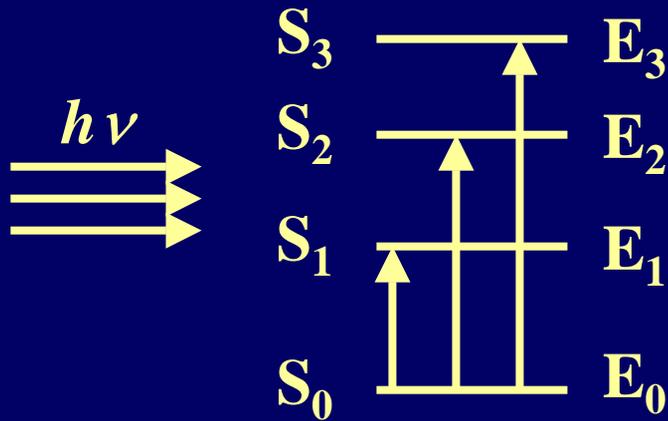
电子跃迁和
自旋翻转



三重态

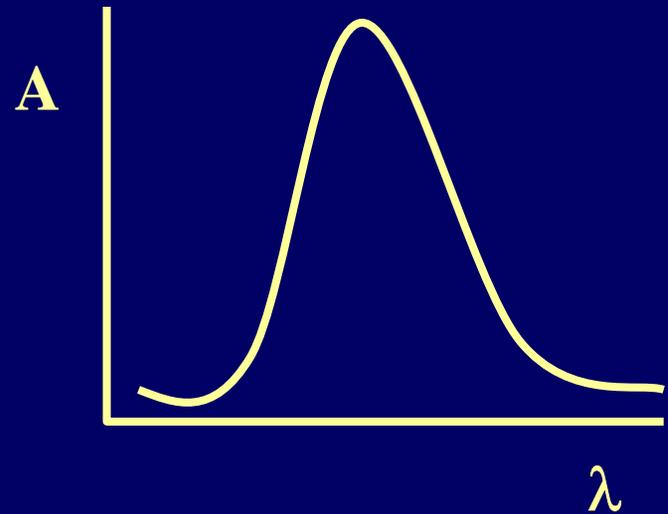
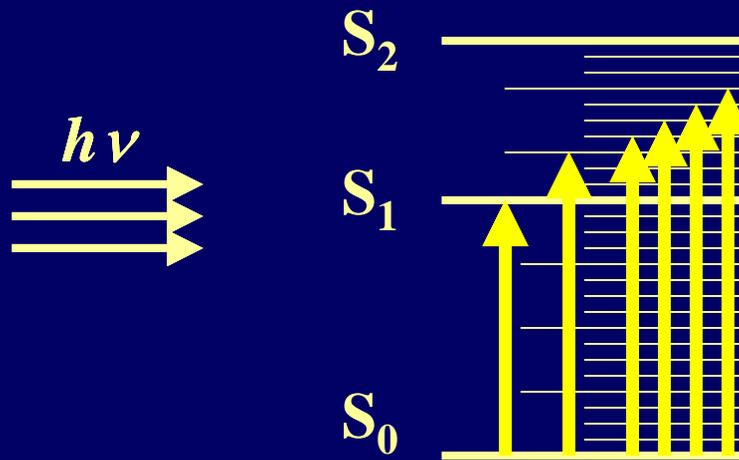
(自旋平行)

吸收光谱 Absorption Spectrum



纯电子能态间跃迁

锐线光谱



分子内电子跃迁

带状光谱

物质对光的选择吸收 Selected absorption

物质的电子结构不同，所能吸收光的波长也不同，这就构成了物质对光的选择吸收基础。

例：A 物质

$$E_1 - E_0 = 2.5\text{ev}$$

$$1\text{ev} = 1.6 \times 10^{-19}\text{ J.}$$

$$\begin{aligned}\lambda_A &= \frac{hc}{\Delta E} = \frac{6.62 \times 10^{-34} \times 3 \times 10^{10}}{2.5(\text{ev}) \times 1.6 \times 10^{-19}} \\ &= 4.774 \times 10^{-5} (\text{cm}) = \underline{477.4\text{nm}}\end{aligned}$$

B 物质

$$E_1 - E_0 = 2.0\text{ev}$$

同理，得：

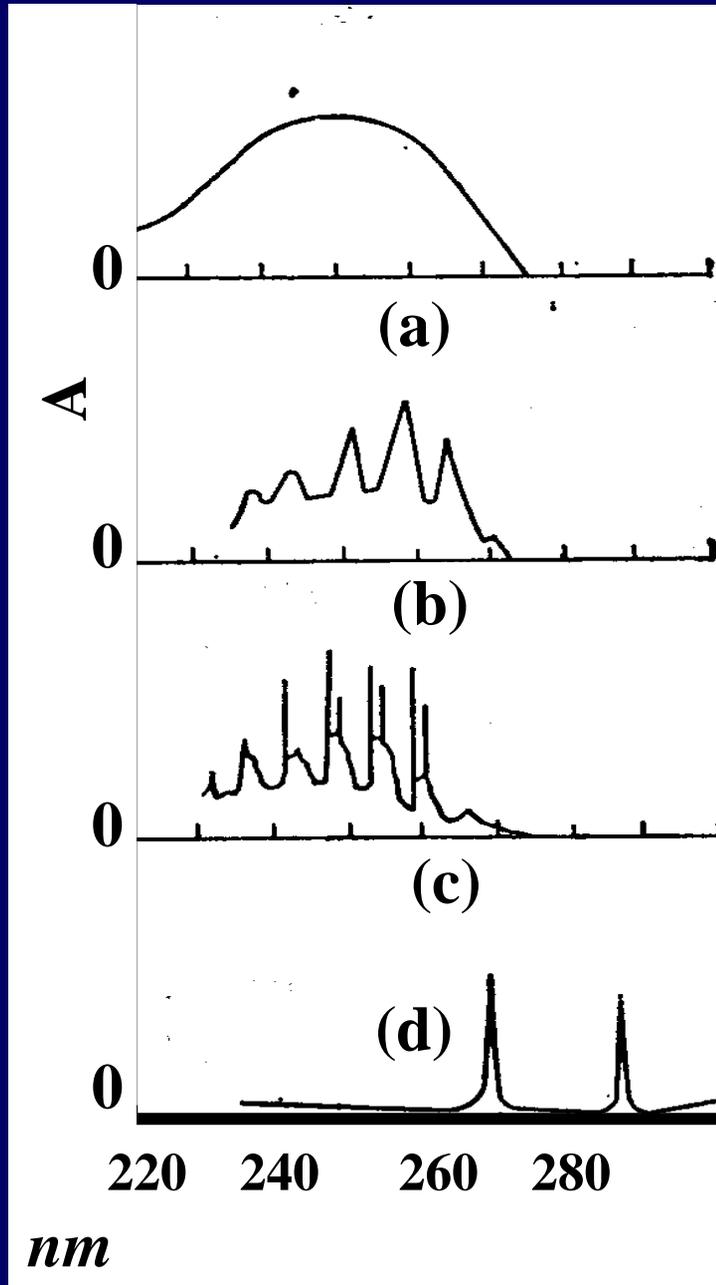
$$\lambda_B = \frac{hc}{\Delta E} = \underline{620.6\text{nm}}$$

吸收光谱的获得 Absorption Spectra

测量某物质对不同波长单色光的吸收程度，以波长 (λ) 为横坐标，吸光度 (A) 为纵坐标，绘制吸光度随波长的变化可得一曲线，此曲线即为吸收光谱。

一些典型的紫外光谱

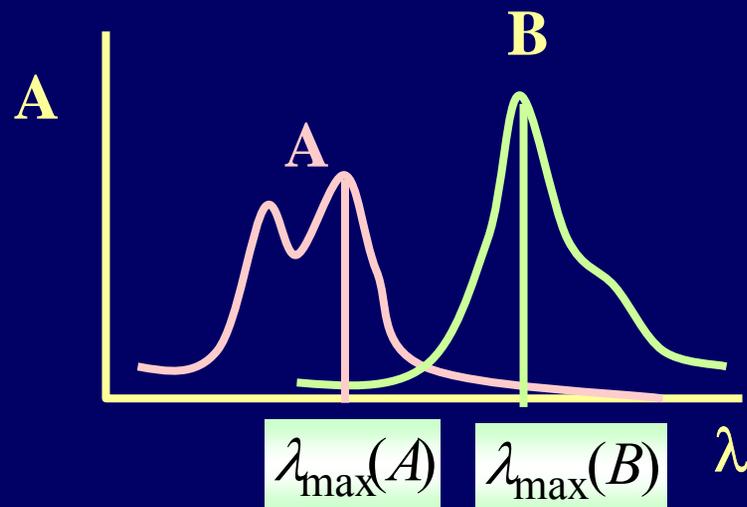
- (a) 联苯 (己烷溶剂) ;
- (b) 苯 (己烷溶剂) ;
- (c) 苯蒸汽 ;
- (d) Na蒸汽。



定性分析与定量分析的基础

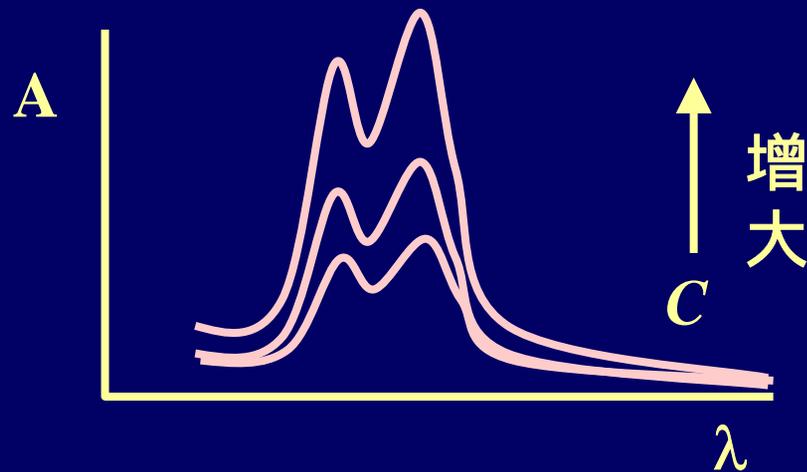
定性分析基础

物质对光的选择吸收



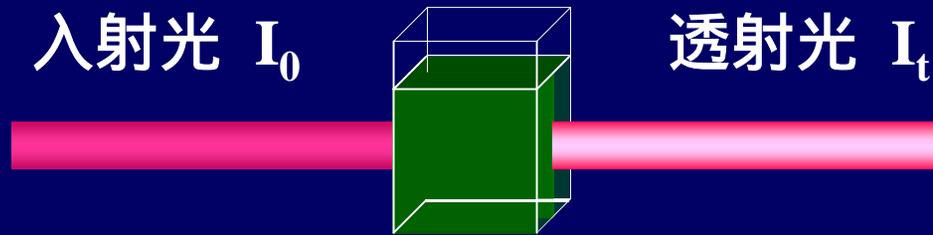
定量分析基础

在一定的实验条件下，物质对光的吸收与物质的浓度成正比。



7.1.3 溶液的吸光定律

透光率 (透射比) Transmittance



透光率定义：

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

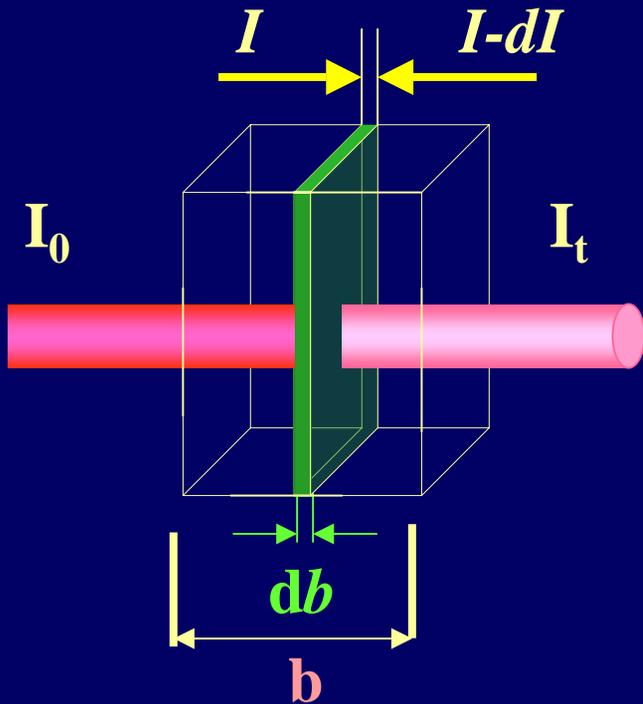
T 取值为0.0 % ~ 100.0 %

全部吸收 T = 0.0 %

全部透射 T = 100.0 %

吸收定律的推导

Lambert – Beer Law



$dI = -N I$ N : 薄层中的吸光粒子数

$N = N_0 c dS db$ N_0 : 阿伏加德罗常数

dS : 捕获面积, 薄层中被光照射的面积。

c : 吸光溶液的浓度

$N = k' c db$

故 $dI = -N I = -I k' c db$

$dI = -I k c db, \quad dI / I = -k c db$

积分

$$\int_{I_0}^{I_t} \frac{dI}{I} = -k \int_0^b c db$$

得

$$\ln \frac{I_t}{I_0} = -kcb$$

或

$$-\lg \frac{I_t}{I_0} = \frac{kcb}{2.303} = Kcb$$

得

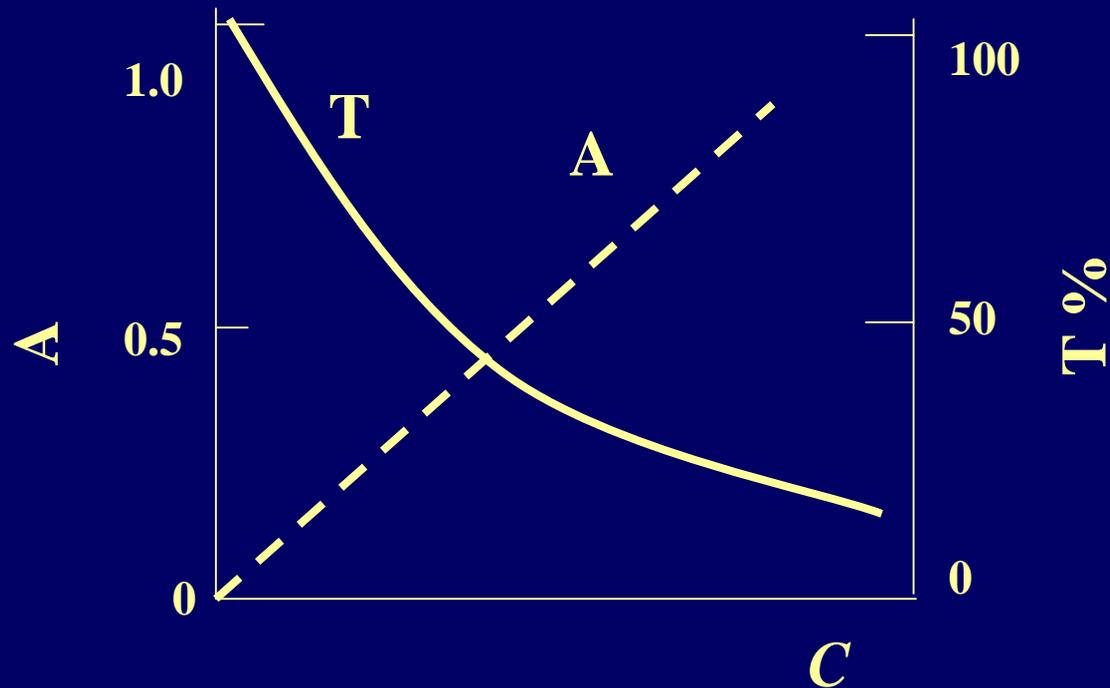
$$-\lg T = Kcb = A$$

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



$$T = 0.0 \%$$

$$A =$$

$$T = 100.0 \%$$

$$A = 0.0$$

$$T = 36.8 \%$$

$$A = 0.434$$

吸光系数

Absorptivity

$$A = Kcb$$

b : 吸光液层的厚度, 光程, cm c : 吸光物质的浓度, $g/L, mol/L$

K : 比例常数

物质的性质

入射光波长

温度

取值与浓度的单位相关

$c : mol/L$

$K \Rightarrow \epsilon$ 摩尔吸光系数, $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

Molar Absorptivity

$$A = \epsilon cb$$

$c : g/L$

$K \Rightarrow a$

吸光系数, $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$

Absorptivity

$$A = acb$$

$c : g/100 mL$

$K \Rightarrow E_{1cm}^{1\%}$

比吸光系数

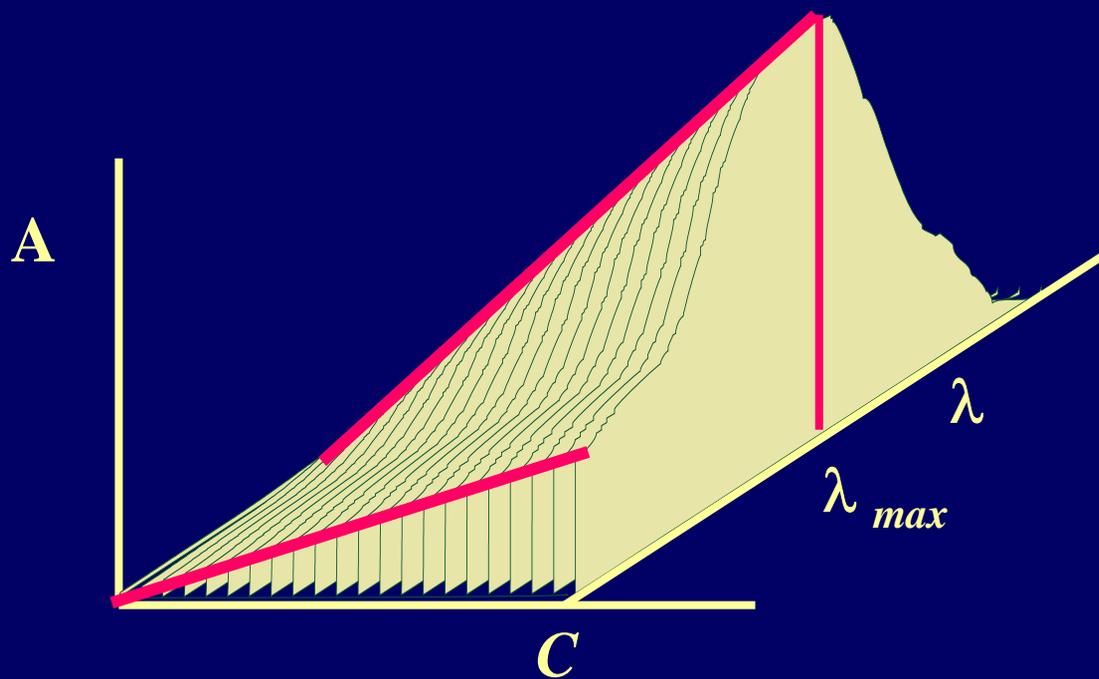
相互关系

$$E_{1cm}^{1\%} = 10 a = 10 \frac{\epsilon}{M}$$

$$A = E_{1cm}^{1\%} cb$$

Specific extinction coefficient

吸收定律与吸收光谱的关系

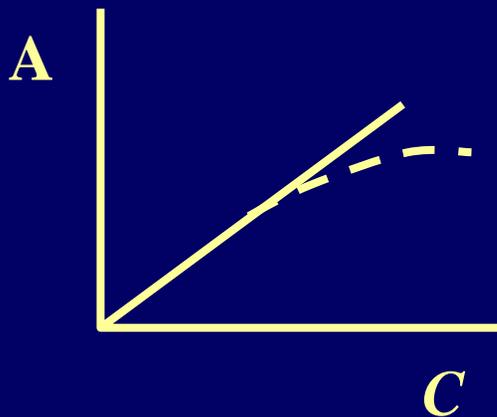


吸光的加合性

多组分体系中，如果各组分之间无相互作用，其吸光度具有加合性，即

$$A = \sum_i A_i = \sum_i \varepsilon_i b c_i = b \sum_i \varepsilon_i c_i$$

对吸收定律偏离



主要原因

非单色光

吸光质点的相互作用

非单色光引起的对吸光定律的偏离

设入射光由 λ_1 和 λ_2 两种波长组成，溶液的吸光质点对两种波长的光的吸收均遵从吸收定律

$$\lambda_1 \quad A_1 = \lg \frac{I_{01}}{I_1} = \varepsilon_{\lambda_1} bc \quad I_1 = I_{01} \times 10^{-\varepsilon_{\lambda_1} bc}$$

$$\lambda_2 \quad A_2 = \lg \frac{I_{02}}{I_2} = \varepsilon_{\lambda_2} bc \quad I_2 = I_{02} \times 10^{-\varepsilon_{\lambda_2} bc}$$

$\lambda_1 + \lambda_2$

$$A = \lg \frac{I_{01} + I_{02}}{I_1 + I_2} = \lg \frac{I_{01} + I_{02}}{I_{01} \times 10^{-\varepsilon_{\lambda_1} bc} + I_{02} \times 10^{-\varepsilon_{\lambda_2} bc}}$$

$$\varepsilon_{\lambda_1} = \varepsilon_{\lambda_2} \quad A = \varepsilon_{\lambda_1} bc \quad \text{或} \quad A = \varepsilon_{\lambda_2} bc$$

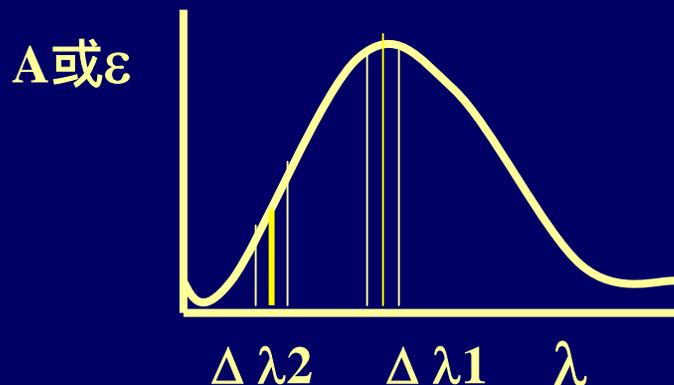
$$\varepsilon_{\lambda_1} \neq \varepsilon_{\lambda_2} \quad A \neq \varepsilon_{\lambda_1} bc \quad \text{或} \quad A \neq \varepsilon_{\lambda_2} bc$$

非单色光引起的对吸光定律的偏离

对吸收光谱而言， b 和 c 固定，

$$A = K\varepsilon_{\lambda}l$$

反映了 ε 随波长变化的情况，单一波长， ε 固定；不同波长， ε 不同。因此，非单色光将导致对吸光定律的偏离。



$\Delta\lambda_1$ 对应的 $\Delta\varepsilon_1$ 较小

$\Delta\lambda_2$ 对应的 $\Delta\varepsilon_2$ 较大

在实际工作中，入射光通常具有一定的带宽。为了避免非单色光带来的影响，一般选用峰值波长进行测定。选用峰值波长，也可以得到较高的灵敏度。

吸光质点间相互作用引起的对吸光定律的偏离

质点间的静电作用

质点间的缔合作用

质点间的化学反应

结论：光吸收定律（Lambert – Beer Law）适用于入射光为单色光无化学反应干扰的均匀透明的稀溶液。

7.2.1 吸光分析的几种方法

目视比色法：用眼睛观察，比较溶液颜色深度

特点

利用自然光

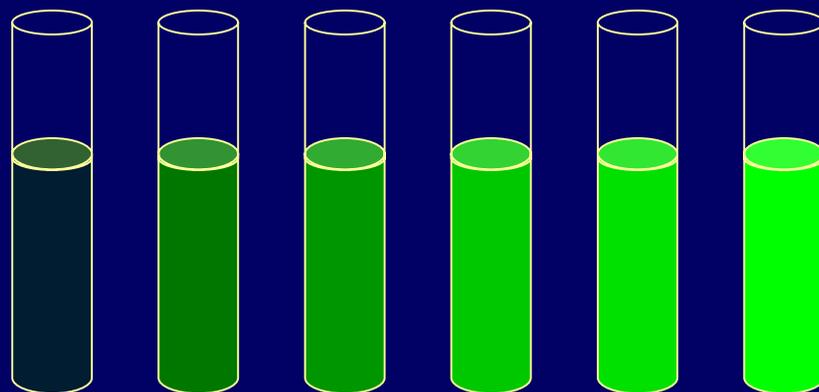
比较吸收光的互补色光

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

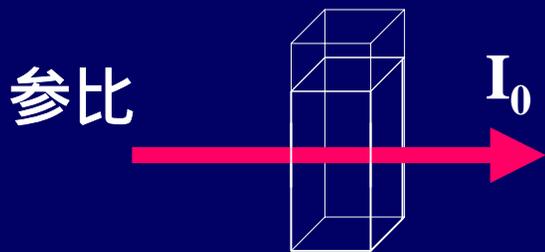
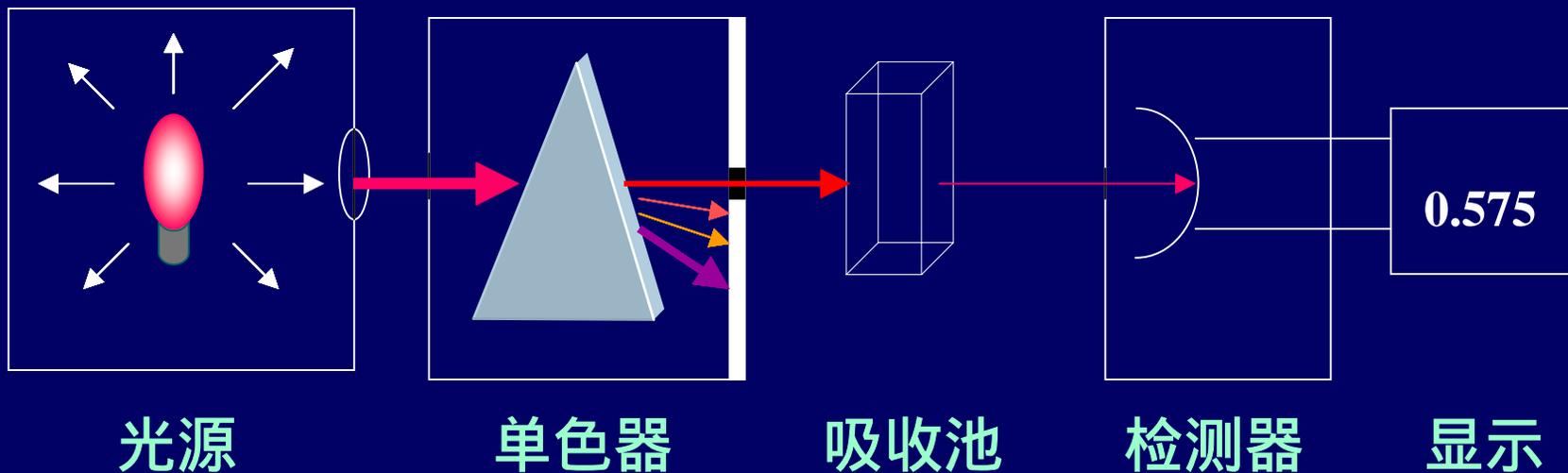


未知样品



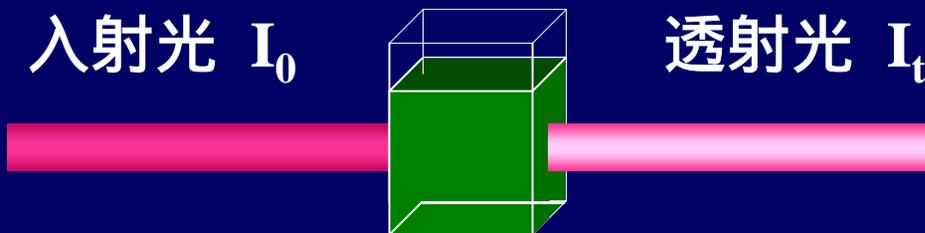
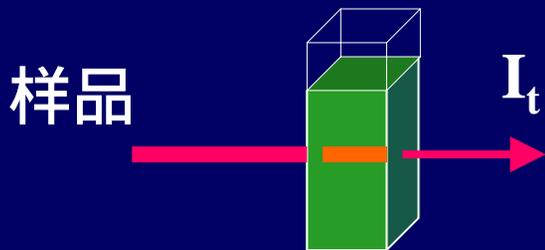
分光光度法 (紫外-可见分光光度法) UV-VIS

Ultraviolet Visual Spectroscopy



$$A = -\lg \frac{I_t}{I_0} = -\lg T = \epsilon b C$$

请注意与定义比较 未考虑吸收池和溶剂对光子的作用



7.2.2 吸光分析法的仪器简介

紫外-可见分光光度计组件

光源

氢灯，氘灯，185 ~ 350 nm； 卤钨灯，250 ~ 2000 nm.
基本要求：光源强，能量分布均匀，稳定

单色器

作用：将复合光色散成单色光

棱镜 玻璃，350 ~ 2500 nm，石英，185 ~ 4500 nm

光栅 平面透射光栅，反射光栅

样品池

玻璃，光学玻璃，石英

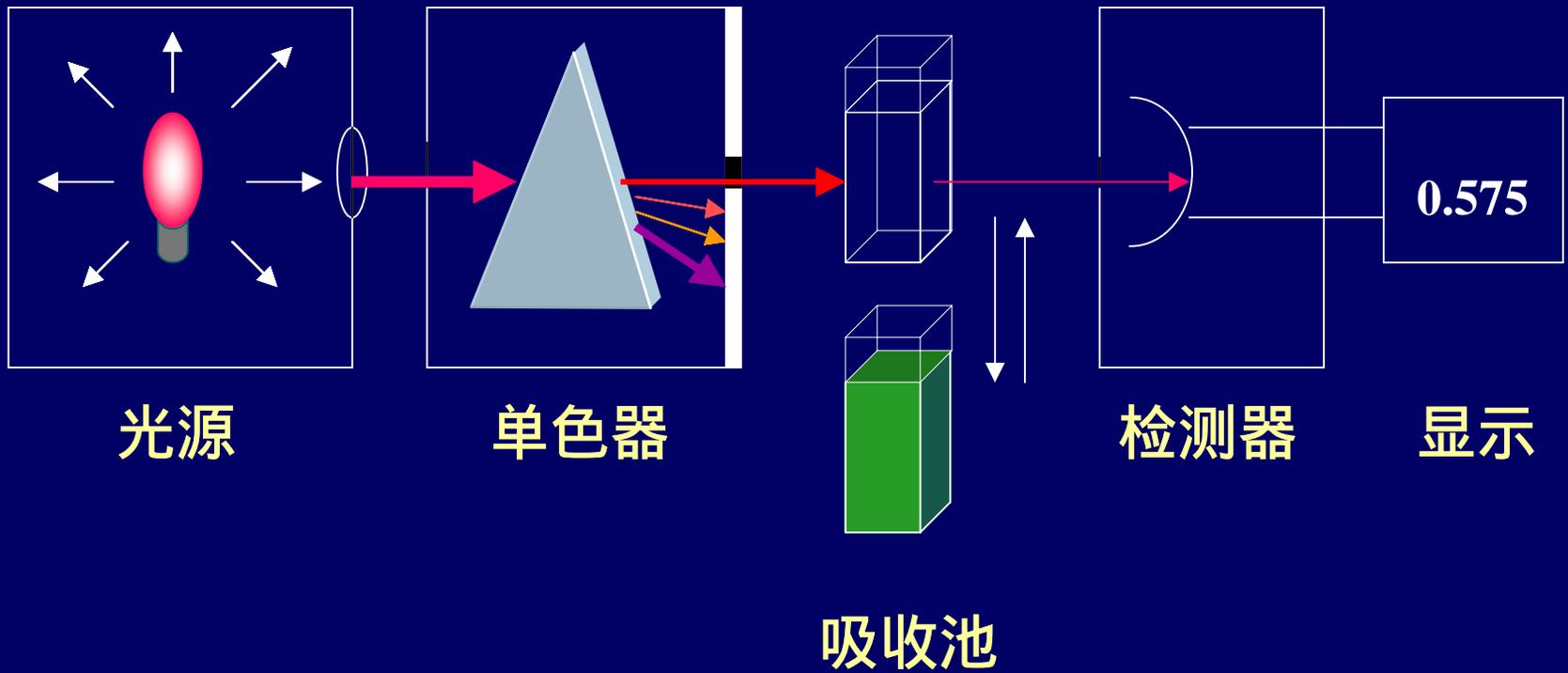
检测器

作用：将光信号转换为电信号，并放大
光电管，光电倍增管，光电二极管，光导摄像管（多道分析器）

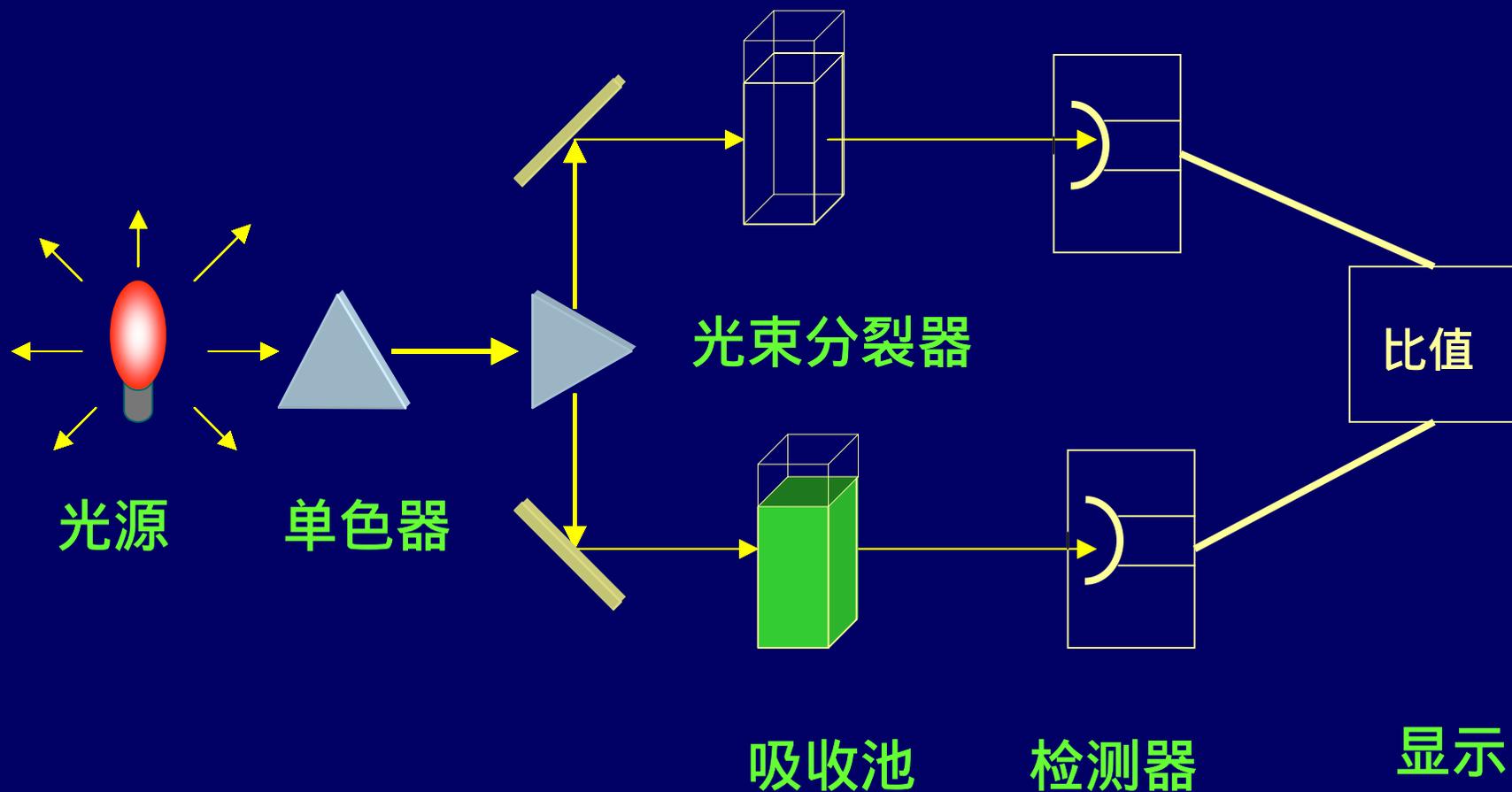
信号输出

表头、记录仪、屏幕、数字显示

单波长单光束分光光度计



单波长双光束分光光度计





lambda 19 系列分光光度计



Lambda 6/16 型紫外/可见光分光光度计

紫外/可见光分光光度计



要点

1、Plank 条件 $\Delta E = E_2 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$

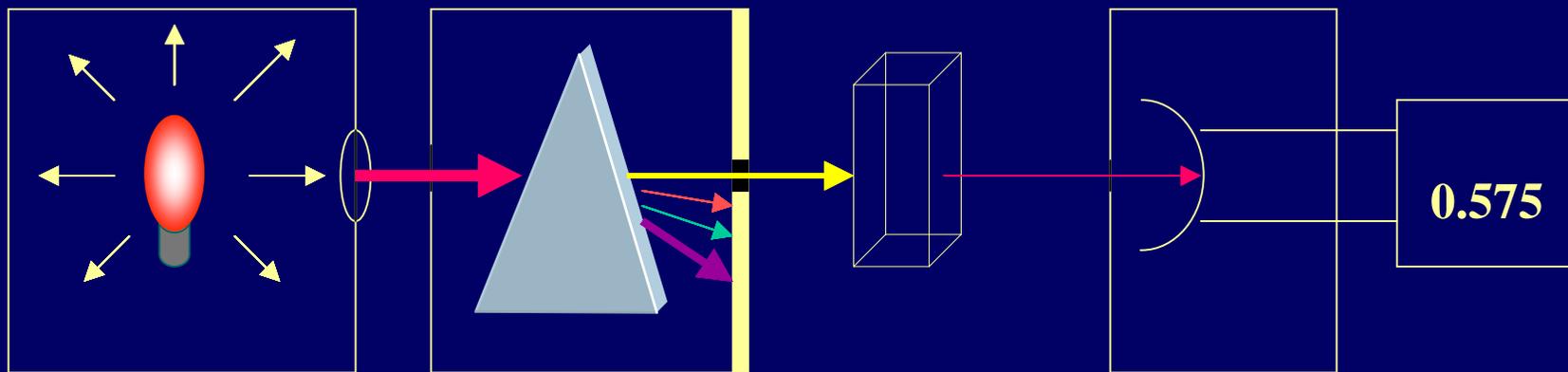
2、物质的电子结构不同，所能吸收光的波长也不同，这就构成了物质对光的选择吸收基础。

3、在一定的实验条件下，物质对光的吸收与物质的浓度成正比。

吸光定律 $T = 10^{-A} = 10^{-Kbc}$ $-\lg T = Kcb = A$

$c : mol/L$ $K \Rightarrow \epsilon$ 摩尔吸光系数, $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ $A = \epsilon cb$

$c : g/L$ $K \Rightarrow a$ 吸光系数, $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$ $A = acb$



$$A = -\lg \frac{I_t}{I_0} = -\lg T = \epsilon bC$$