

# *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**

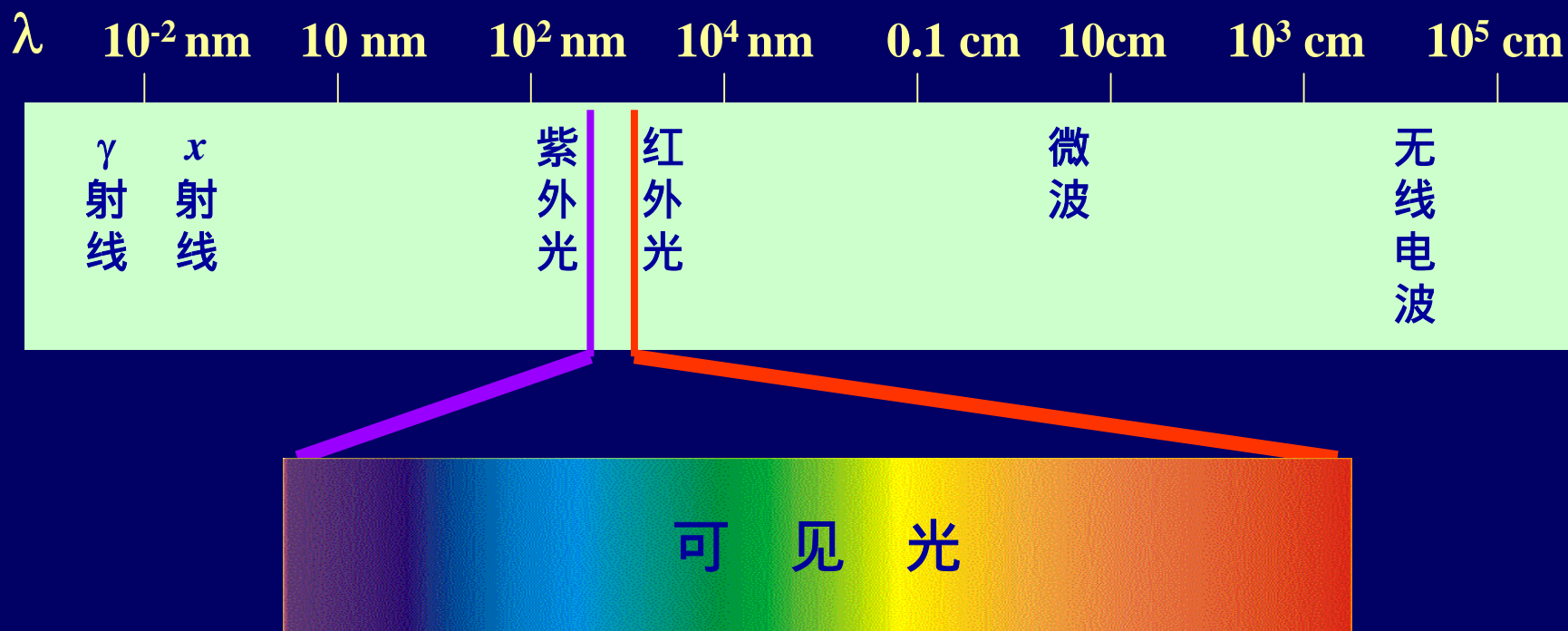
**7.5.6 双波长分光光度法**

**7.5.7 导数分光光度法**

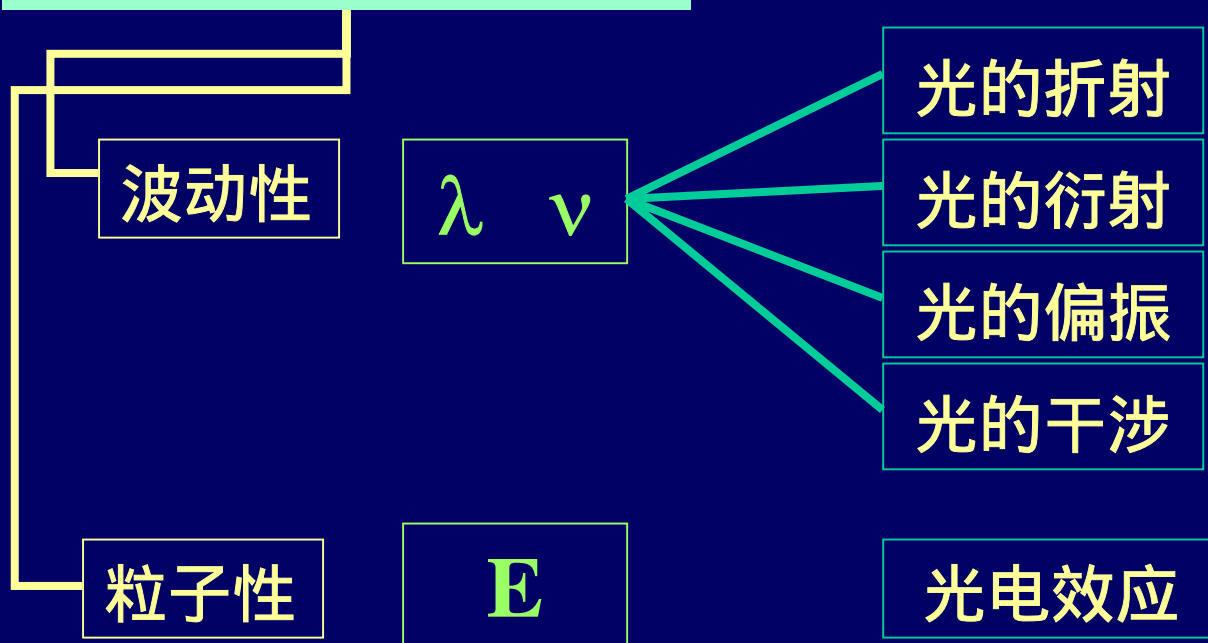
**吸光光度法** 是基于被测物质的**分子对光**具有选择吸收的特性而建立的分析方法。

## 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)

$\nu$  : 光子的频率 (Hz, 赫兹)

$\lambda$  : 光子的波长 (cm)

$c$  : 光速 ( $2.9979 \times 10^{10}$  cm.s<sup>-1</sup>)

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

# 单色光、复合光、光的互补

单色光

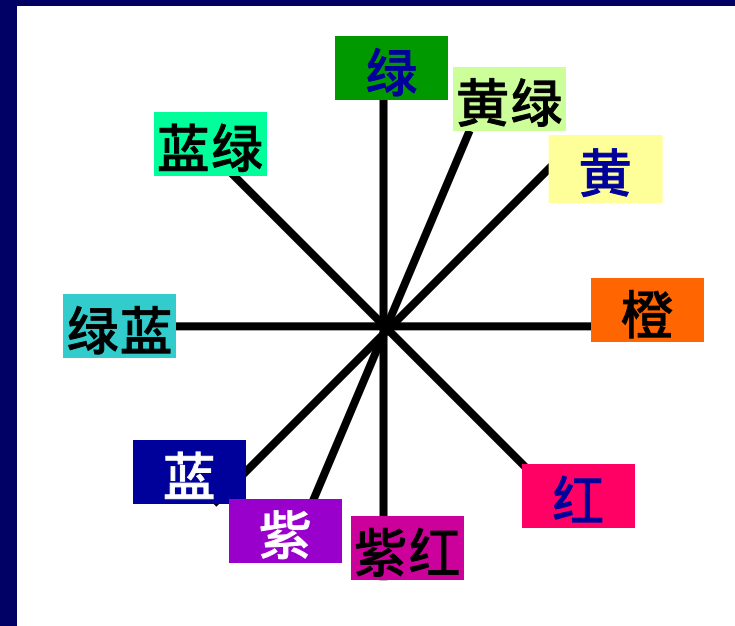
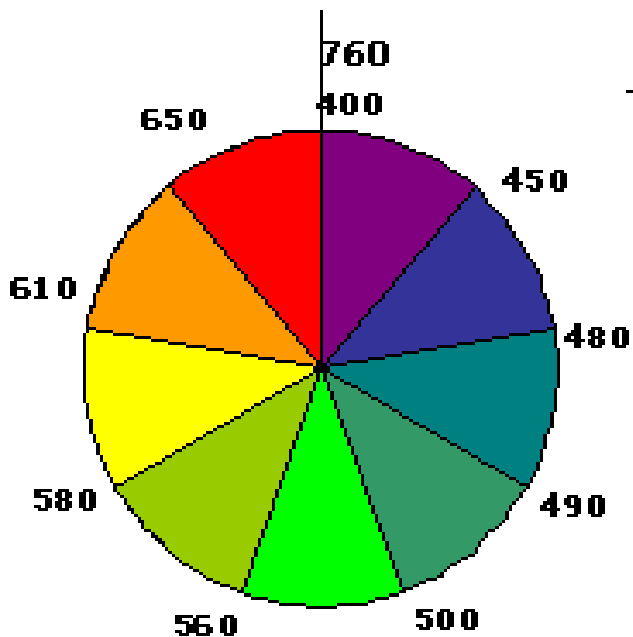
单一波长的光

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

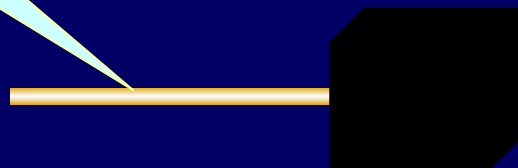
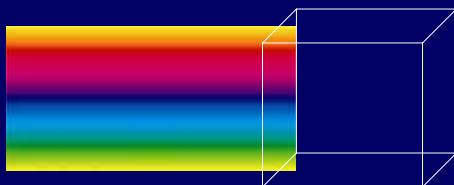
## 物质的颜色与光的关系

光谱示意

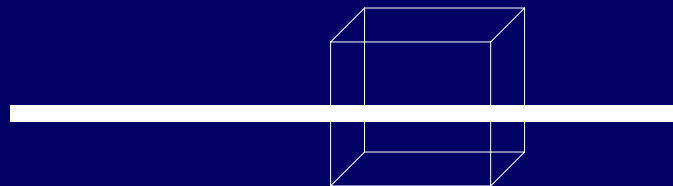
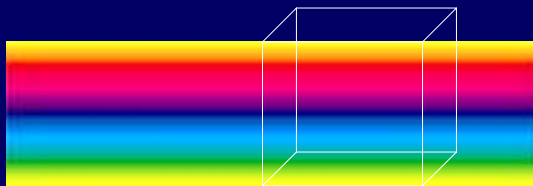
复合光

表观现象示意

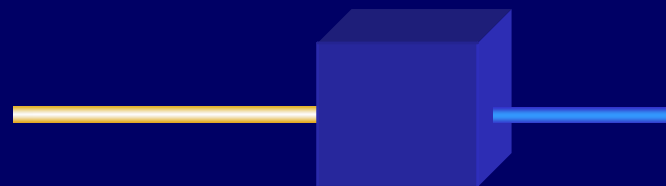
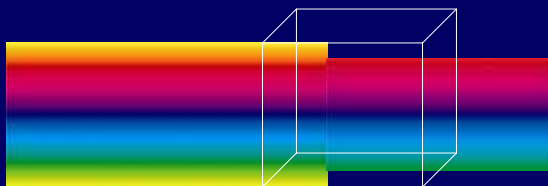
完全吸收



完全透过



吸收黄色光

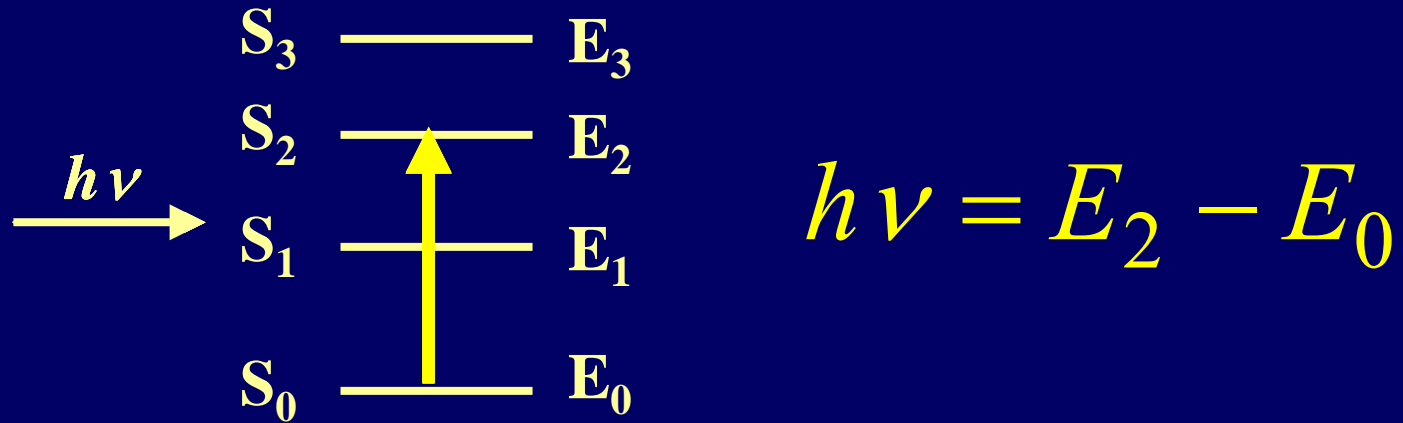




## 吸收光谱

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

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

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

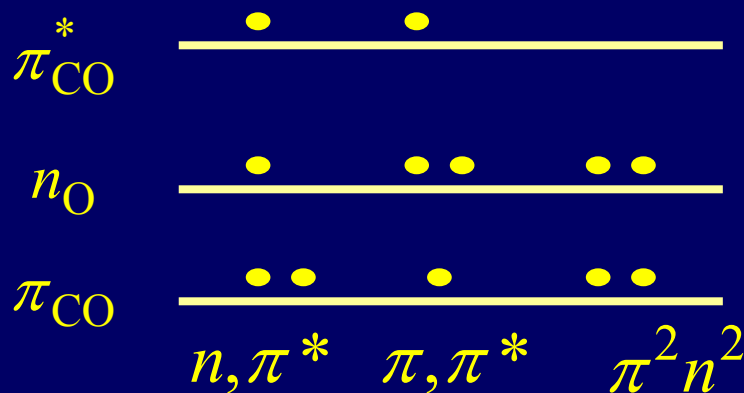
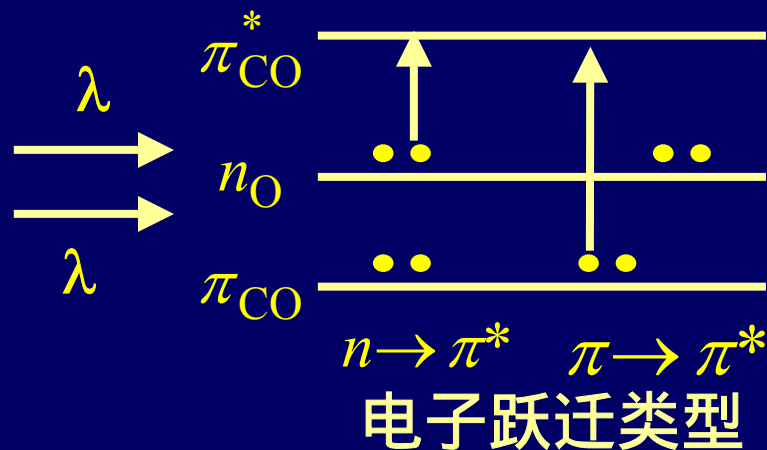
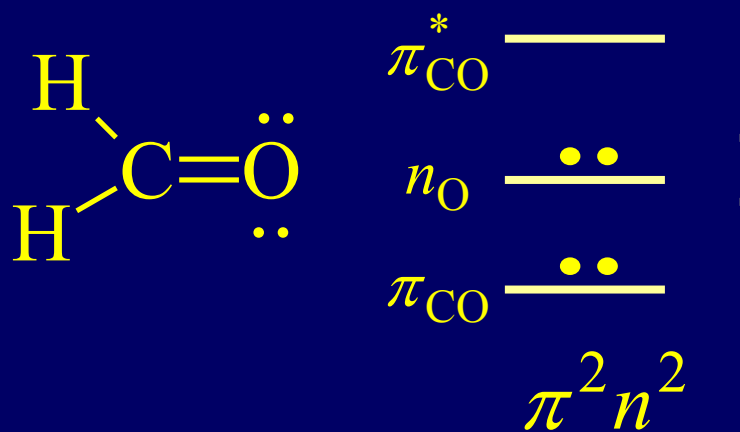
电子基态

最低空轨道

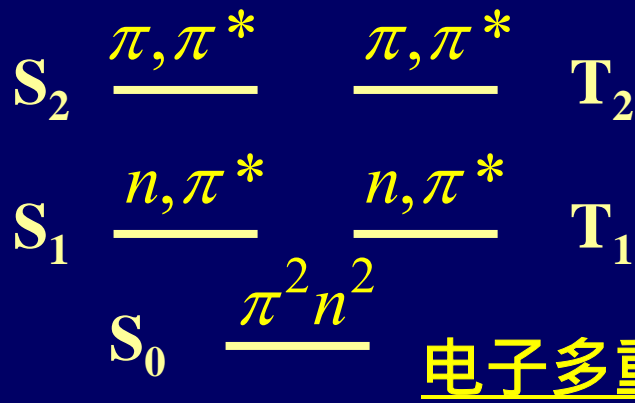
# 电子跃迁与电子激发态

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

## 甲醛的电子基态



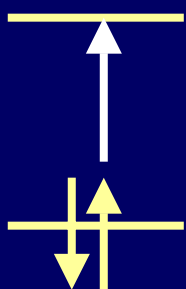
最低激发态和基态的电子组态



最低激发态和基态的电子态

# 电子的多重态

$h\nu +$

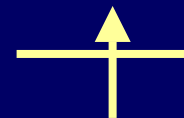


单重态

(自旋配对)



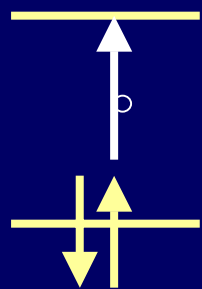
电子跃迁



激发单重态

(自旋配对)

$h\nu +$

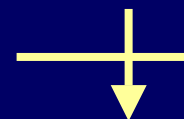


单重态

(自旋配对)



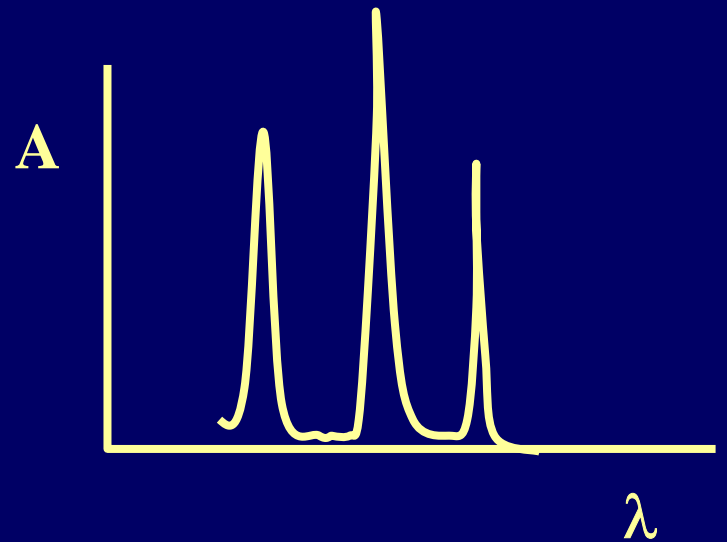
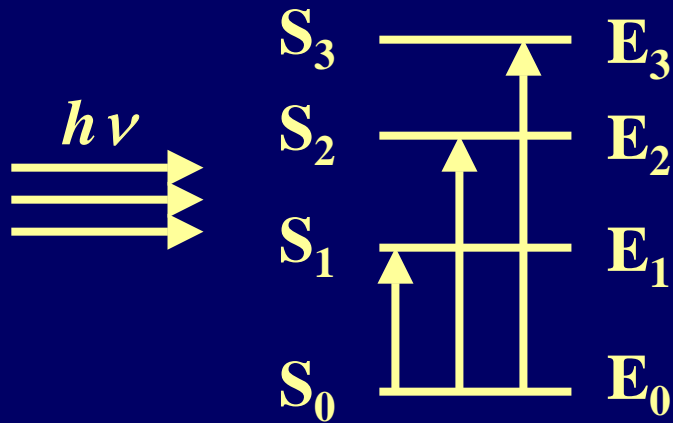
电子跃迁和  
自旋翻转



三重态

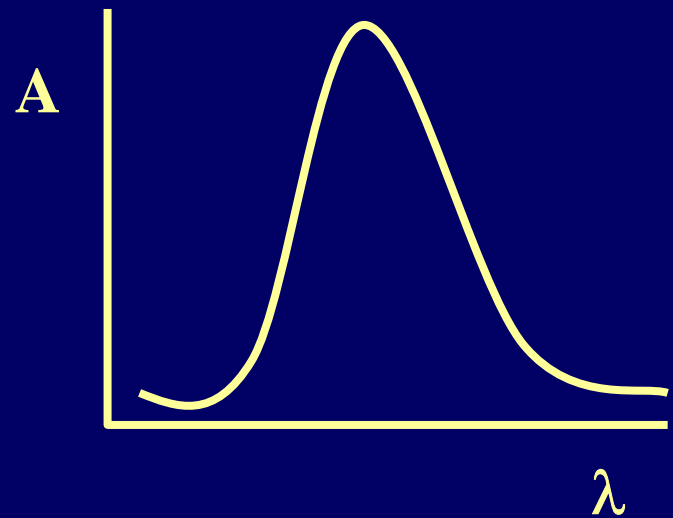
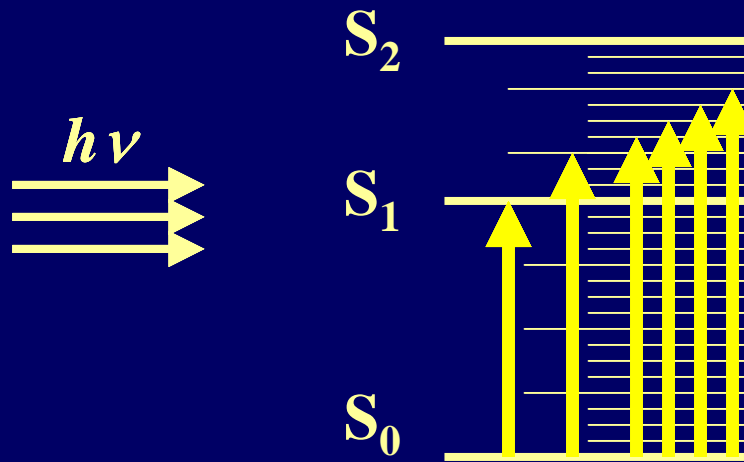
(自旋平行)

# 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：

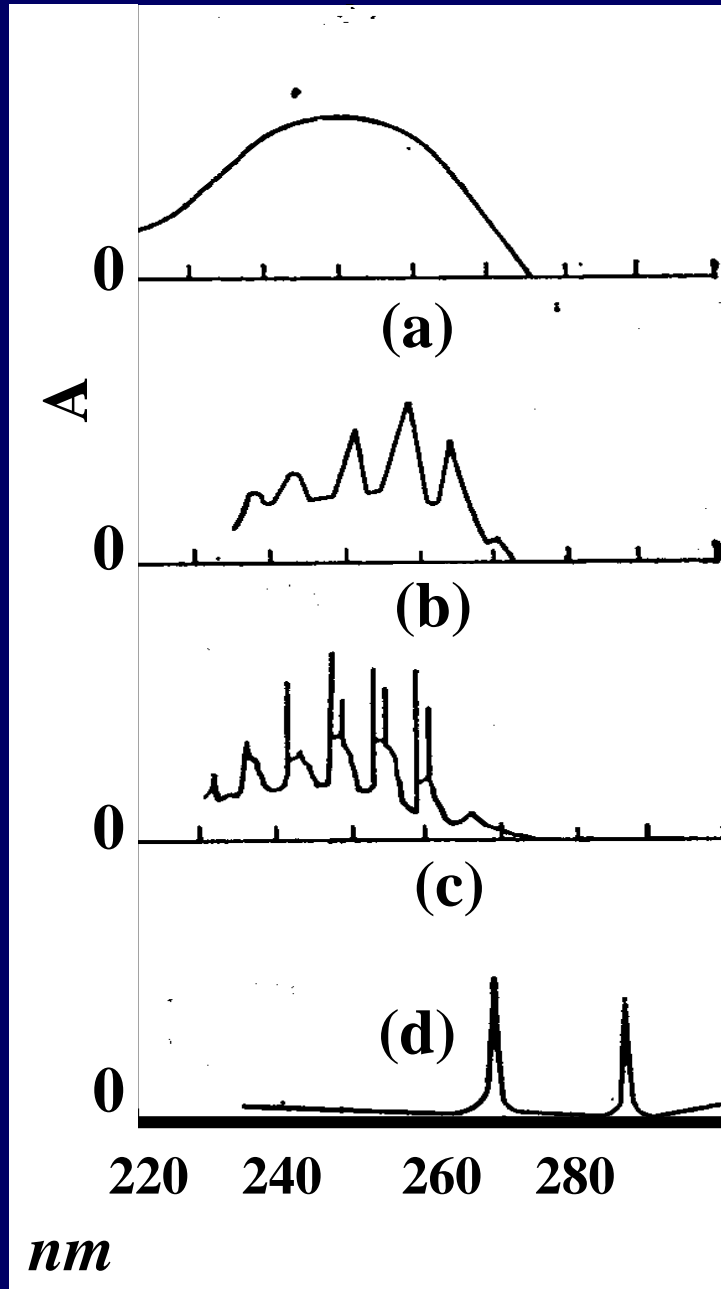
$$\lambda_B = \frac{hc}{\Delta E} = \underline{620.6\text{nm}}$$

## 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 ( $\lambda$ ) 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

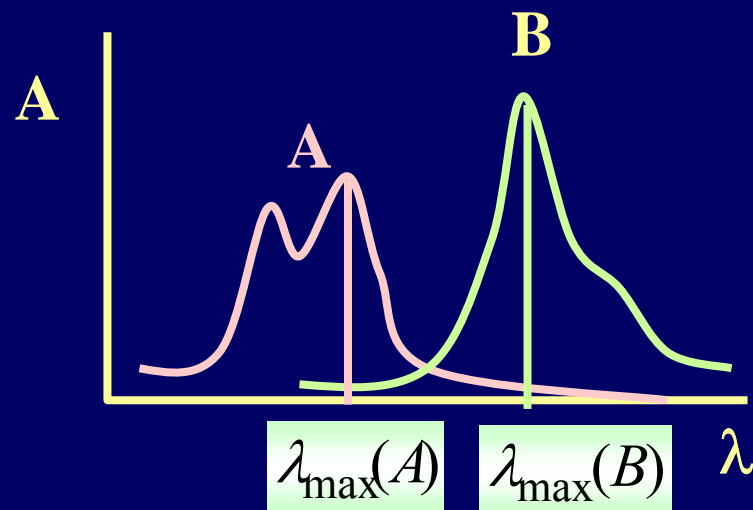
- (a) 联苯 (己烷溶剂) ;
- (b) 苯 (己烷溶剂) ;
- (c) 苯蒸汽 ;
- (d) Na蒸汽。



# 定性分析与定量分析的基础

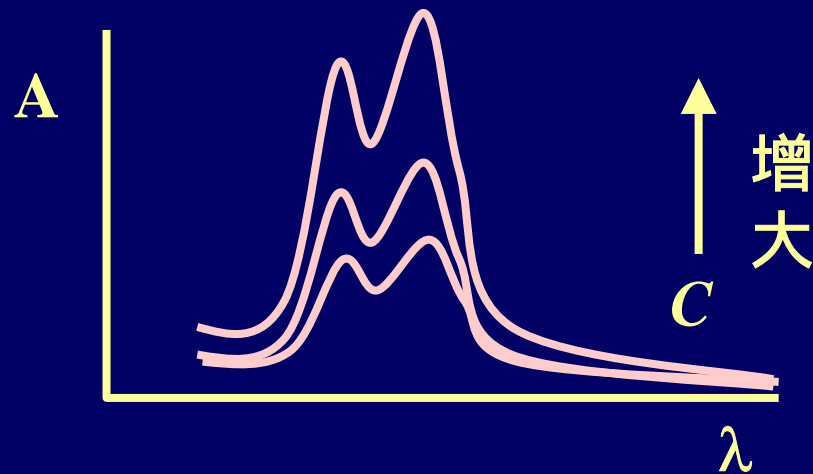
## 定性分析基础

物质对光的选择吸收



## 定量分析基础

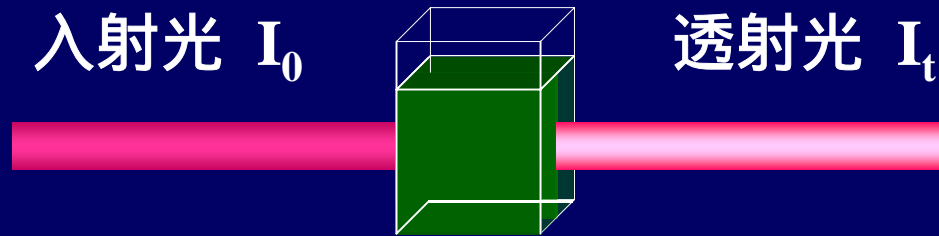
在一定的实验条件下，物质对光的吸收与物质的浓度成正比。





## 7.1.3 溶液的吸光定律

透光率 (透射比) Transmittance



透光率定义：

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

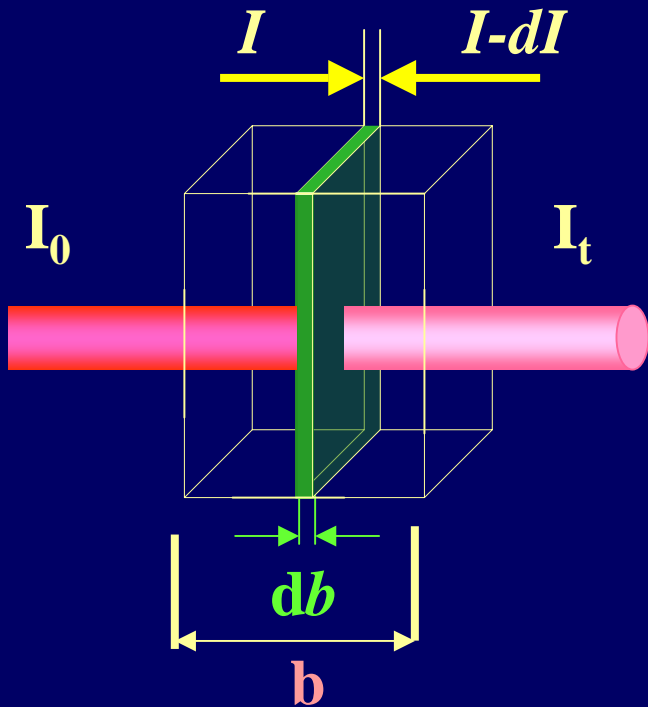
T 取值为0.0 % ~ 100.0 %

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  $dI = -N I = -I k' c db$

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

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

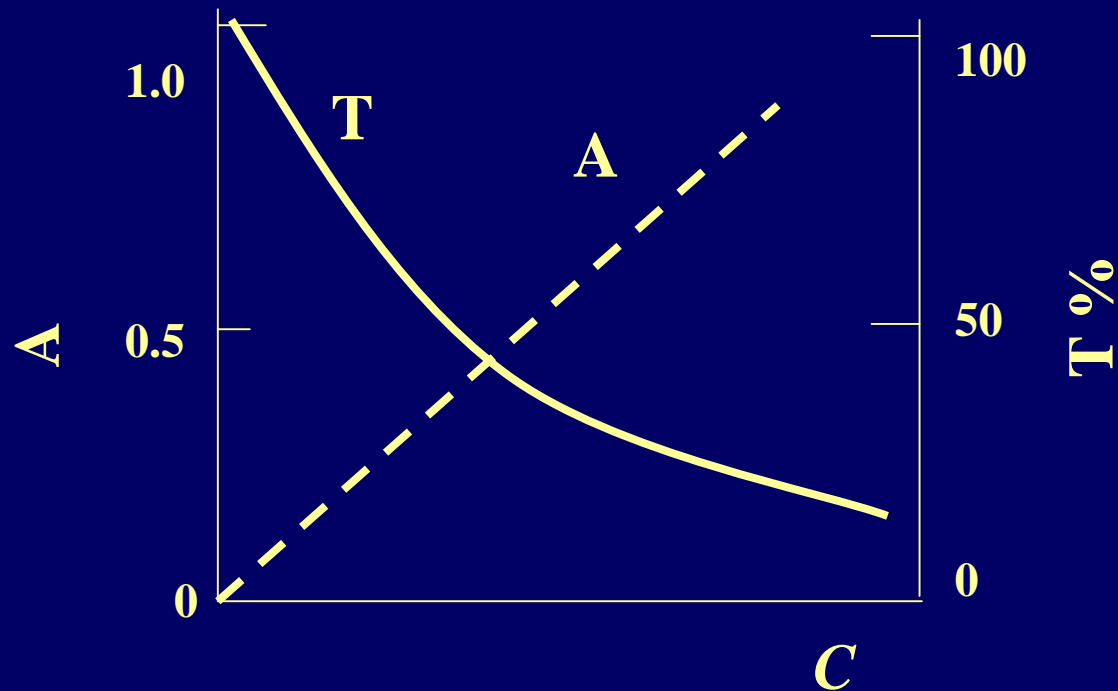
$$-\lg T = Kcb = A$$

# 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

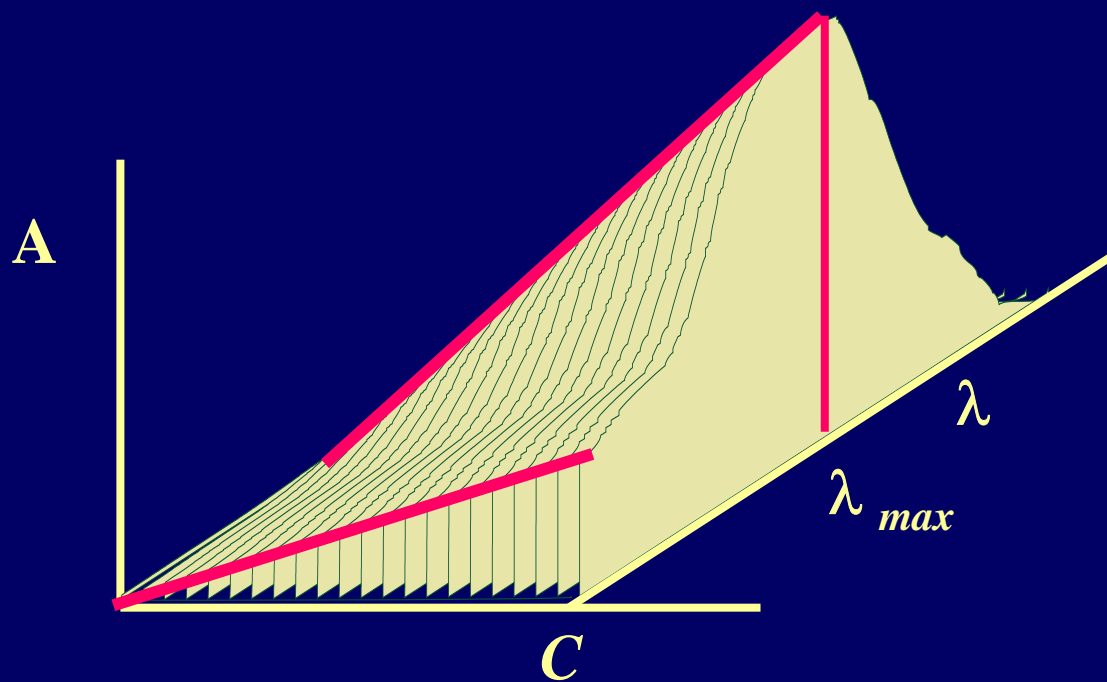
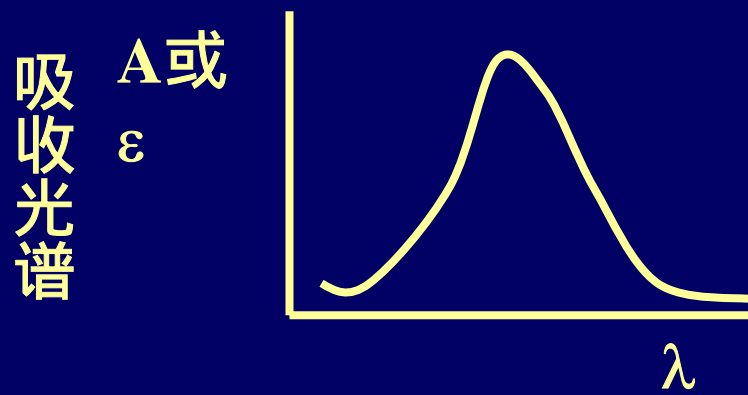
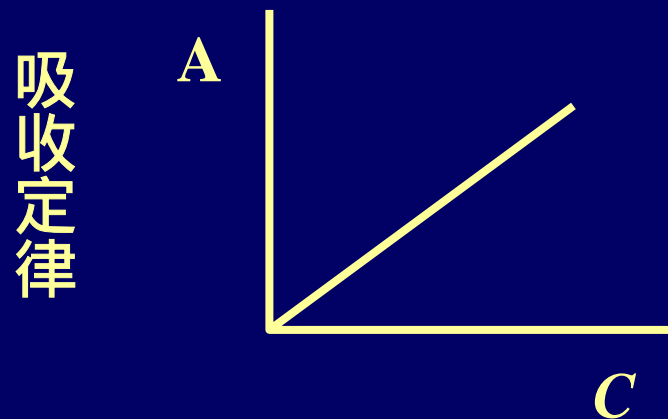
## 相互关系

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

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

Specific extinction coefficient

# 吸收定律与吸收光谱的关系

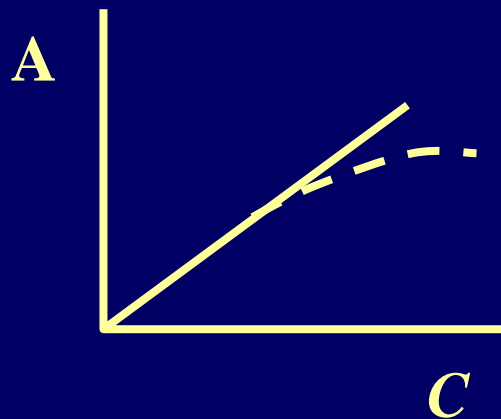


## 吸光的加合性

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  $\lambda_1$  和  $\lambda_2$  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

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

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

$\lambda_1 + \lambda_2$

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

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

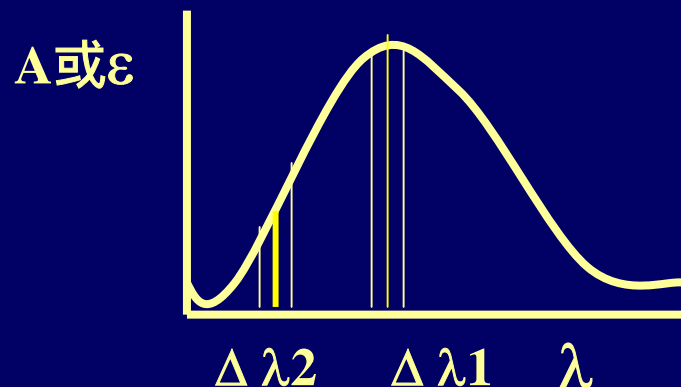
$$\varepsilon_{\lambda_1} \neq \varepsilon_{\lambda_2} \quad A \neq \varepsilon_{\lambda_1} bc \quad \text{或} \quad A \neq \varepsilon_{\lambda_2} bc$$

## 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  $\varepsilon$  随波长变化的情况，单一波长， $\varepsilon$  固定；不同波长， $\varepsilon$  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

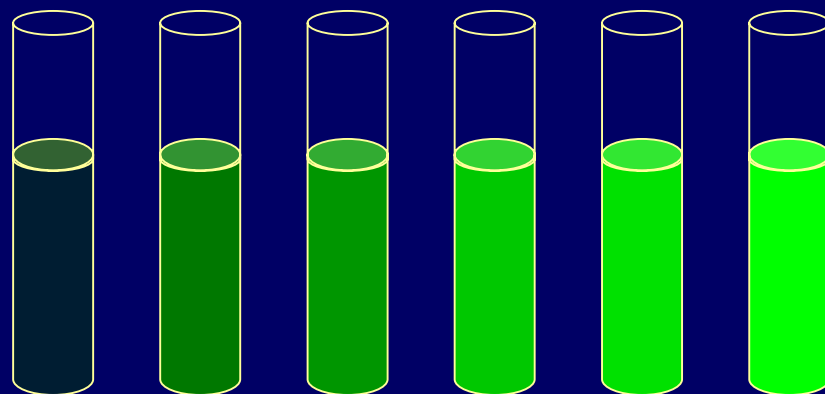
比较吸收光的互补色光

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

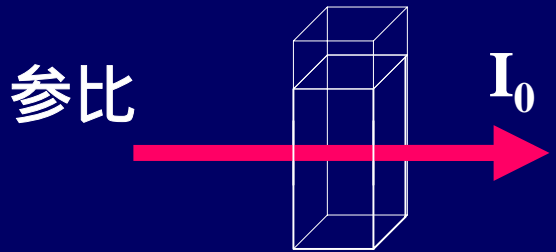
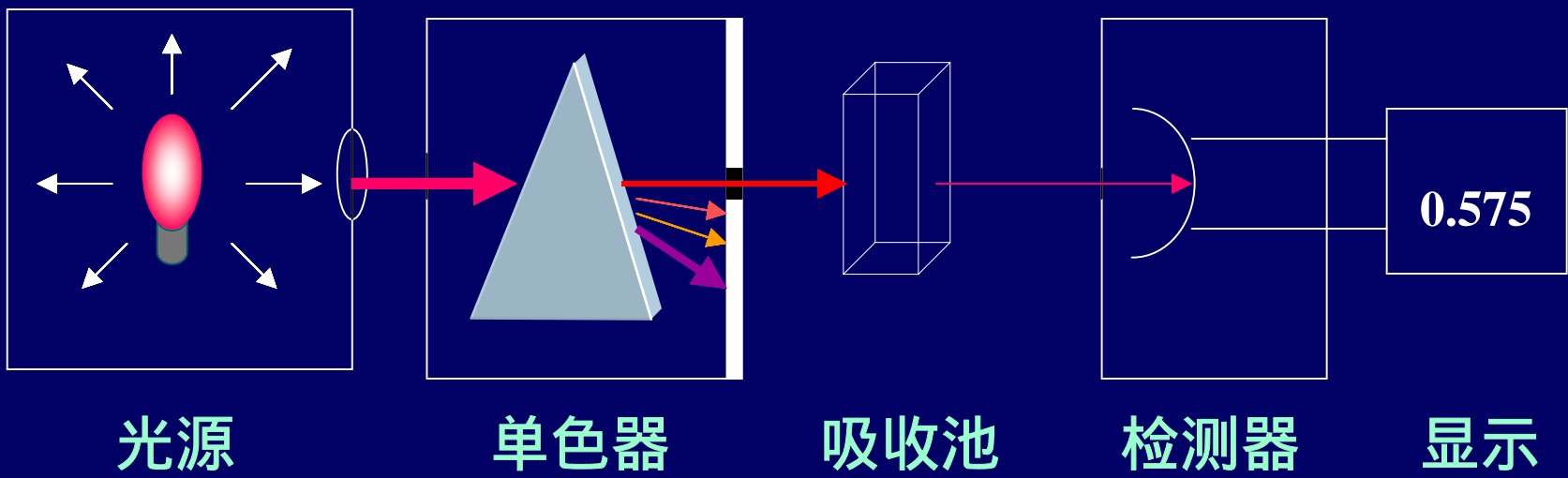


### 未知样品



# 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

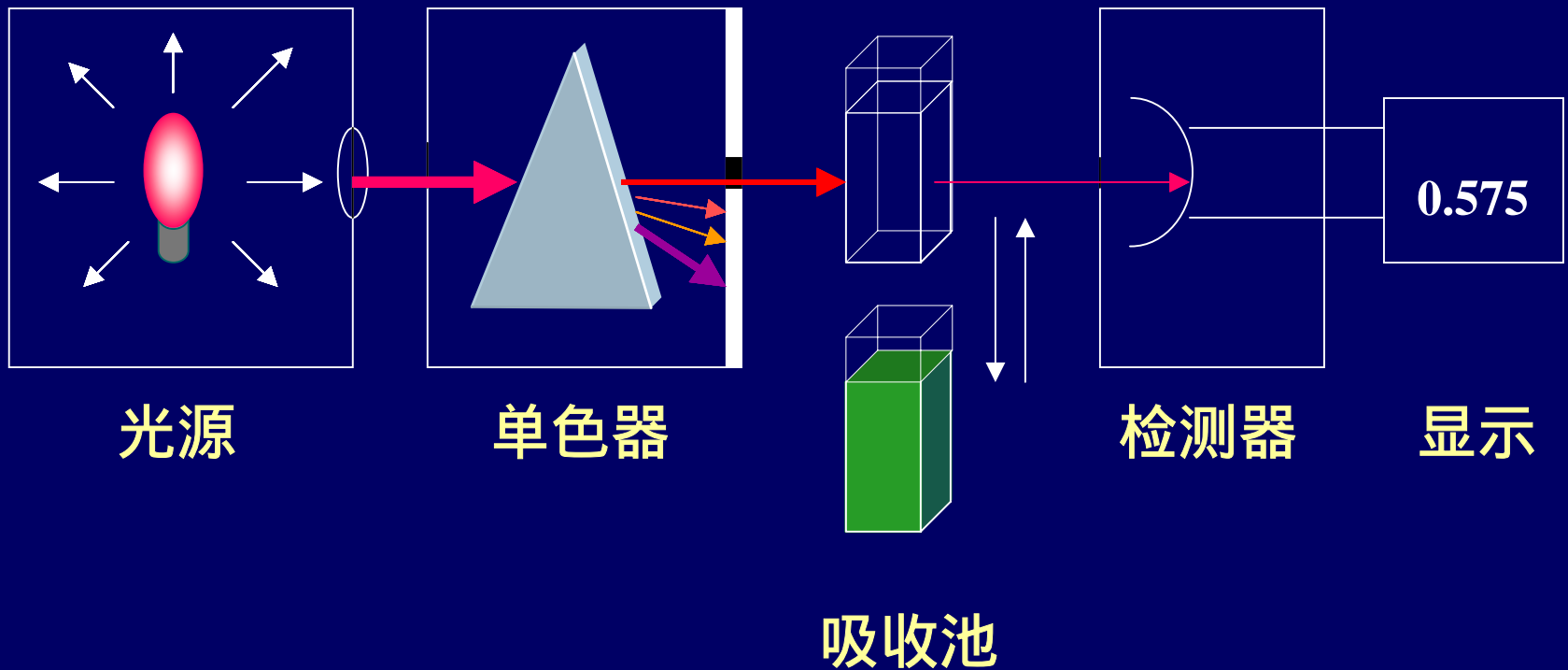
#### 检测器

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）

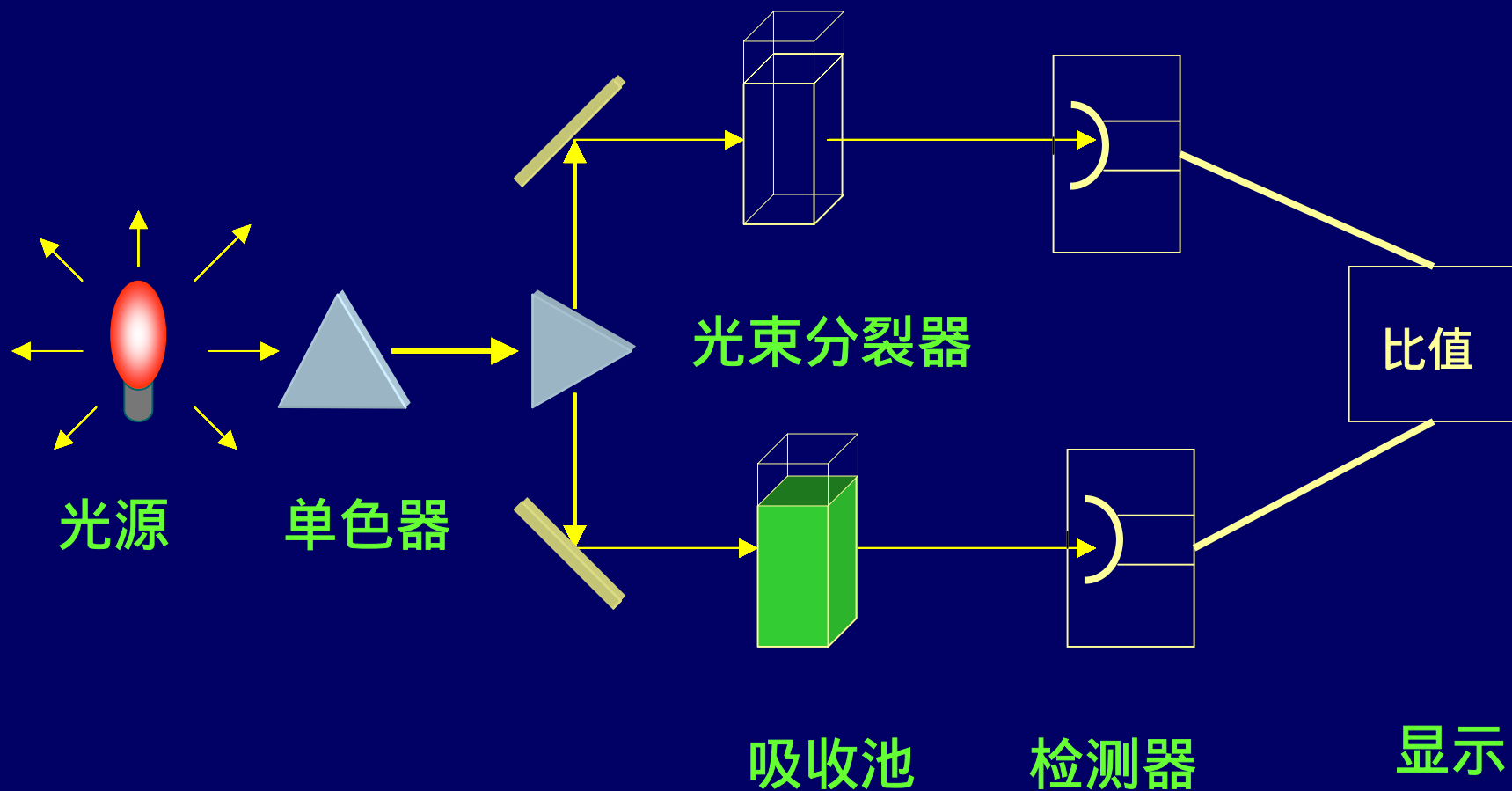
#### 信号输出

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

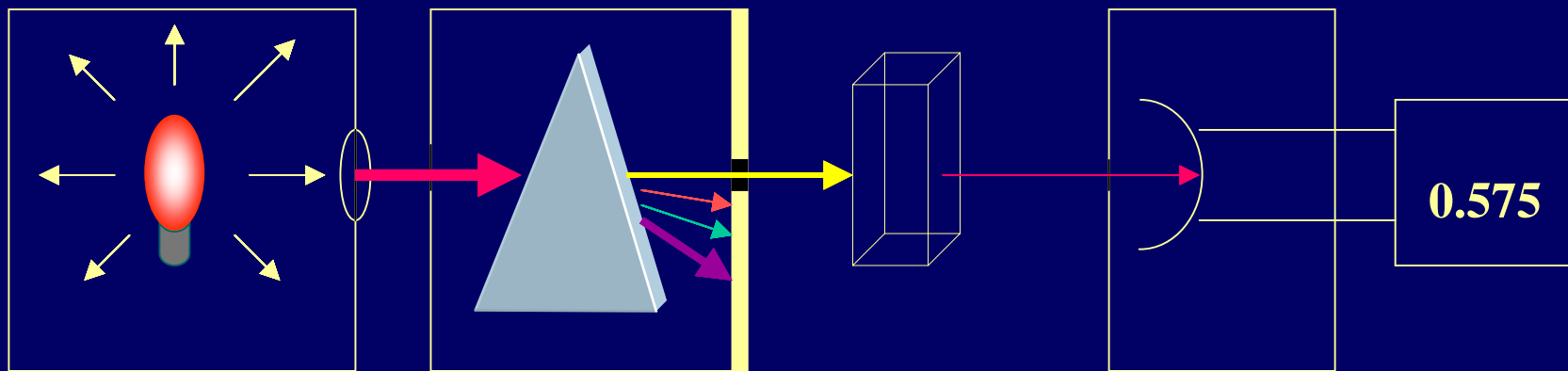
2、物质的电子结构不同，所能吸收光的波长也不同，这就构成了物质对光的选择吸收基础。

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,  $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$   $A = acb$



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