



高等职业教育“十二五”规划教材



仪器分析

赵晓华 鲁梅 主编



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

高等职业教育“十二五”规划教材

仪 器 分 析

赵晓华 主编
鲁 梅

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

仪器分析/赵晓华, 鲁梅主编. —北京: 中国轻

工业出版社, 2015. 1

高等职业教育“十二五”规划教材

ISBN 978-7-5019-9907-1

I. ① 仪… II. ① 赵… ② 鲁… III. ① 仪器分析—高等职业教育—教材 IV. ① 0657

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 202637 号

责任编辑: 江 娟

策划编辑: 江 娟

版式设计: 王超男

责任终审: 唐是雯

责任校对: 吴大鹏

封面设计: 锋尚设计

责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市万龙印装有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2015 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 17.75

字 数: 358 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-9907-1 定价: 36.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

131145J2X101ZBW

本书编委会

- 主 编 赵晓华（滨州职业学院）
 鲁 梅（潍坊工程职业学院）
- 副 主 编 赵淑红（济南技师学院）
 夏 峥（淄博职业学院）
 国 娜（方圆标志认证集团山东有限公司）
- 参 编 （按姓氏笔画）
 田洪霞（潍坊职业学院）
 刘 雯（山东药品食品职业学院）
 陈芳甜（日照职业技术学院）
 吴 慧（商丘职业技术学院）
 郭 凡（济宁职业技术学院）
 陶玉霞（黑龙江职业学院）
 潘 莹（滨州职业学院）
- 主 审 汪风芹（滨州医学院附属医院）

前 言

随着高等职业教育的不断深入和发展,教学内容和课程体系都发生了较大的变化。为了适应高等职业教育培养目标的要求,我们编写了《仪器分析》一书。本教材依据生物技术、食品检测、生物制药类专业课程要求,突出职业教育“教、学、做”一体的特点,本着面向专业课程需求、面向学生就业需求的原则,精心选择了典型的理论教学内容和技能训练项目,旨在使理论和实践有机融合,提高学生动手能力。

本教材按照模块化教学模式编写。由三大部分组成:模块一光化学分析法;模块二电化学分析法;模块三色谱分析法。主要包括以下内容:紫外可见光谱分析、红外吸收光谱法、原子光谱分析法(原子吸收光谱分析法、原子发射光谱分析法)、电化学分析法、气相色谱法、高效液相色谱法。为了更好地完成这些任务,结合行业企业和专业特点,我们精心选择了二十五个技能训练项目,引导学生在完成任务的同时,理解理论知识,强化实践技能。

本教材由赵晓华(滨州职业学院)与鲁梅(潍坊工程职业学院)主编,赵淑红(济南技师学院)、夏崢(淄博职业学院)及行业专家方圆标志认证集团山东有限公司国娜担任副主编。商丘职业技术学院的吴慧、潍坊职业学院的田洪霞、滨州职业学院的潘莹、日照职业技术学院的陈芳甜、济宁职业技术学院的郭凡、黑龙江职业学院的陶玉霞、山东药品食品职业学院的刘雯参加了本书编写。全书由赵晓华统稿,滨州医学院附属医院汪风芹主审。

本教材力求突出高等职业教育培养应用型人才的特点,理论部分编写突出“实用为主,必需够用为度”的原则;改变以往章节段落的教材模式,采用模块、任务、技能训练的方式引导学生完成具体产品的定量分析,提高其分析问题解决问题的能力。

本教材在编写过程中参考和引用的文献均一一列入参考文献中,对原著作者表示衷心感谢!

由于编者水平所限,书中难免存在疏漏和不当之处,敬请各位专家和读者批评指正。

编 者

2014年10月

目 录

模块一 光化学分析法	1
任务一 紫外可见光谱分析法	1
一、紫外-可见分光光度法的原理	1
二、紫外-可见分光光度法的仪器	15
三、紫外-可见分光光度法的应用	32
技能训练一 阿司匹林肠溶片中水杨酸的鉴别	37
技能训练二 生血片中铁的含量测定	38
技能训练三 混合液中 Co^{2+} 和 Cr^{3+} 双组分的光度法测定	40
技能训练四 紫外-分光光度法测定水中总酚含量	42
单元测试	44
任务二 红外吸收光谱法	46
一、红外吸收光谱法的原理	46
二、红外吸收光谱法的仪器	56
三、红外吸收光谱法的应用	63
技能训练五 红外分光光度法鉴定食品中苯甲酸	67
技能训练六 聚乙烯和聚苯乙烯膜的红外吸收光谱测绘	69
技能训练七 未知样品的定性分析	71
单元测试	72
任务三 原子光谱分析法	75
子任务一 原子吸收光谱分析法	75
一、原子吸收光谱分析法的原理	76
二、原子吸收光谱分析法的仪器	77
技能训练八 原子吸收光谱分析法测定自来水中钙、镁的含量	86
技能训练九 原子吸收光谱分析法测定葡萄糖酸锌口服液中锌含量	88
技能训练十 测定龙牡壮骨颗粒中钙含量	90
技能训练十一 原子吸收光谱分析法测定黄酒中铜、镉的含量	91
技能训练十二 石墨炉原子吸收光谱分析法测定茶叶中铅的含量	93
单元测试	94
子任务二 原子发射光谱分析法	97
一、原子发射光谱分析法的原理	97
二、原子发射光谱分析法的仪器	101

三、原子发射光谱分析法的应用	110
单元测试	110
模块二 电位分析法	112
一、电位分析法的原理	113
二、电位分析法的仪器及方法	114
三、直接电位法	124
四、电位滴定法	128
技能训练十三 水溶液 pH 的测定	131
技能训练十四 牙膏中含氟量的测定	133
技能训练十五 蜂蜜中还原糖含量的测定	135
单元测试	137
模块三 色谱分析法	140
任务一 气相色谱法	140
一、气相色谱法的原理	141
二、气相色谱法的仪器	162
三、气相色谱法的应用	183
技能训练十六 归一化法测定丁醇异构体的含量	185
技能训练十七 维生素 E 含量测定 (内标法)	187
技能训练十八 外标法测定乙醇含量	189
技能训练十九 内标法测定酊剂中乙醇含量	190
单元测试	192
任务二 高效液相色谱法	196
一、高效液相色谱法的原理	197
二、高效液相色谱法的仪器	225
三、高效液相色谱法的应用	247
技能训练二十 混合维生素 E 的正相 HPLC 分析条件的选择	251
技能训练二十一 植物油中抗氧化剂的测定	255
技能训练二十二 中药川芎提取液的分离与川芎嗪的定量分析	256
技能训练二十三 高效液相色谱法测定维生素 B ₁ 和维生素 B ₂	258
技能训练二十四 高效液相色谱法测定阿莫西林胶囊含量	260
技能训练二十五 HPLC 内标法测定原料药中对乙酰氨基酚的含量	262
单元测试	263
综合测试一	266
综合测试二	269
综合测试一 参考答案	271
综合测试二 参考答案	273
参考文献	275

模块一 光化学分析法

任务一 紫外可见光谱分析法

一、紫外-可见分光光度法的原理

【知识目标】

1. 掌握紫外可见分光光度法的原理，理解吸光系数和摩尔吸光系数的含义。
2. 理解偏离朗伯-比尔定律的原因。
3. 掌握紫外可见分光光度法定量分析的方法，了解其定性分析方法。

【技能目标】

1. 学会紫外可见分光光度计的使用和保养。
2. 学会用紫外分光光度法测定物质的含量。

紫外分光光度法是根据物质分子对波长为 200 ~ 760nm 这一范围的电磁波的吸收特性所建立起来的一种定性、定量和结构分析方法，是物质分子对不同波长和特定波长处的辐射吸收程度的测量。该方法操作简单、准确度高、重现性好，在微量元素分析、高纯物质测试、环境研究、生物化学及农业化学等方面的工作中处于重要的地位。

（一）物质对光的选择性吸收

自然界中的物质之所以能显现出五彩斑斓的颜色，与各种物质对光的吸收有直接关系。各物质对光的吸收与光的性质和光与物质的作用有关。绝大多数物质都有其本身的特殊光谱，分光光度法分析就是根据物质的吸收光谱来研究物质的成分、结构及物质相互作用的。

1. 光的特性

光是一种电磁辐射（电磁波谱）。光的折射、衍射和干涉等现象证明光具有波动性，同时光电效应以及康普顿效应又证明光具有粒子性。现代物理学证明，光是由光子为基本粒子组成的，具有粒子性和波动性，这种性质称为光的波粒二象性。

光的波动性：光是一种电磁波，但是与其他的波，如声波不同，光的传播不需要任何介质，它可以在真空、空气、水等透明的物质中传播，其在真空中的传播速度 $c = 2.998 \times 10^{10} \text{ cm/s}$ ，一般四舍五入表示为 $3.0 \times 10^8 \text{ m/s}$ ，是重要的物理常数。

电磁波可以用周期 T （秒，s）、频率 ν （赫兹，Hz）、波长 λ （m，cm， μm ，

nm 等) 和波数 σ (cm^{-1}) 等参数描述。它们之间的关系可用下列公式表示:

$$\nu = \frac{1}{T} = \frac{c}{\lambda} \tag{1-1}$$

$$\sigma = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \tag{1-2}$$

电磁波按频率 (或波长) 可分为 γ 射线、X 射线、紫外线、可见光、红外线、微波和无线电波等波谱区域, 其中紫外线 (包括远紫外和近紫外)、可见光和红外光 (包括近红外、中红外和远红外) 波谱区合称光学光谱区。

不同波段的电磁波, 产生的方法和引起的作用各不相同, 相对应的光学分析法也是不同的, 见表 1-1。

表 1-1 不同波长的电磁波谱与光学分析方法

波长范围	波谱名称	跃迁类型	辐射源	单色器	分析方法
5 ~ 140pm	γ 射线区	核能级	原子反应堆	脉冲 - 高度鉴别器	—
10^{-3} ~ 10nm	X 射线区	内层电子能级	X 射线管	晶体光栅	X 射线光谱法
10 ~ 200nm	真空紫外光区	内层电子能级	氢、氘、氦灯	石英棱镜,	真空紫外光度法
200 ~ 400nm	近紫外光区	价电子能级	氢、氘、氦灯	光栅	紫外光度法
400 ~ 750nm	可见光区	价电子能级	钨灯	玻璃棱镜, 光栅, 滤光片	比色计可见光度法
0. 75 ~ 2. 5 μm	近红外光区	分子振动能级	碳化硅热棒	盐棱, LiF, NaCl	近红外光光度法
2. 5 ~ 25 μm	中红外光区	分子振动能级	碳化硅热棒		中红外光光度法
25 ~ 1000 μm	远红外光区	分子振动能级	碳化硅热棒		远红外光光度法
0. 1 ~ 100cm	微波区	分子振动能级	电磁波发生器	单色光源	微波光谱法
1 ~ 1000m	无线电波区	电子和核自旋	电子振荡器		核磁共振光谱法

光的粒子性: 20 世纪初, 普朗克提出了量子论, 把电磁辐射的粒子说和波动说联系起来了, 并提出了光是由光子 (或称为光量子) 组成的, 光子具有能量, 其能量与光的频率或波长有关, 它们之间的关系为:

$$E = h\nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \tag{1-3}$$

式中 E ——能量, J

h ——普朗克常量 ($6. 626 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}$)

由式 (1-3) 就可以看出: 普朗克的量子论真正把粒子说的光子能量与波动说的辐射频率 (波长) 联系在一起。用式 (1-3) 可以方便地计算出各种频率或各种波长光子的能量。

例 1 求紫外光区在 200nm 和可见光区在 500nm 这两个波长处光子的能量。

解 (1) 200nm 波长处光子的能量:

$$E_{200} = h \cdot \frac{c}{\lambda} = (6.626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} \times 2.998 \times 10^{10} \text{ cm/s}) / (200 \times 10^{-9} \text{ m}) = 9.93 \times 10^{-19} \text{ J}$$

(2) 500nm 波长处光子的能量:

$$E_{500} = h \cdot \frac{c}{\lambda} = (6.626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} \times 2.998 \times 10^{10} \text{ cm/s}) / (500 \times 10^{-9} \text{ m}) = 3.97 \times 10^{-19} \text{ J}$$

由此可以看出, 波长与能量成反比。也就是说, 波长越短, 能量越大。这也是紫外-可见分光光度计短波处(220nm)存在杂散光的原因。

光子的能量还可以用 eV (电子伏特) 来表示。电子伏特表示一个电子通过电位差为 1V 的电场所获得的能量, 常用来表示高能量光子的能量单位, $1\text{eV} = 1.602 \times 10^{-19} \text{ J}$ 。

2. 物质对光的选择性吸收

一般的物质都会呈现特征的颜色, 也就呈现出了五彩斑斓的世界, 这是由于它们对可见光中某些特定波长的光线进行选择性的吸收的缘故。实际上, 一切物质都会对可见光和不可见光中的某些波长的光线进行吸收。但是, 一切光线并不都是以相同的程度被物质吸收的。物质对不同波长的光线表现出不同的吸收能力, 称为物质的选择性吸收。

物质与光的相互作用方式有很多, 包括发射、反射、折射、衍射、散射、干涉、吸收等。在产生反射、折射、干涉、衍射等过程中, 光的传播方向发生变化, 但光与物质之间没有能量的传递和交换。而在光的吸收、发射等过程中, 光与物质之间会产生能量的传递。

原子、分子、离子中的电子, 总是处在某一种特定的不连续的运动状态之中, 每一种状态都具有一定的能量, 称为能级, 用 E 表示。其中能量最低的状态称为基态, 对应的能级用 E_0 表示, 其他能量状态称为激发态, 对应能级用 E_j 表示, 不同能量状态之间的能量差用 ΔE 表示。

这些具有一定能量的电子由于各种原因, 如光、热、电等的激发, 放出光或放出热, 而从一个能级转移到另一个能级, 称为跃迁。当这些电子吸收了外来辐射的能量后, 就会从能量较低的能级(基态)跃迁到另一个能量较高的能级(激发态)。因此, 每一次跃迁都对应着吸收一定的能量(波长)的辐射。谱线的频率(ν)或波长(λ)与跃迁前后两个能级的能量差 $\Delta E = E_2 - E_1$ 之间的关系服从普朗克条件, 即

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (1-4)$$

不同物质的结构是不同的, 其分子能级分布也是不同的, 所吸收的光子的波长也不同。因此物质对光的吸收具有选择性。

当一束白光照射到固体物质时, 物质对于不同波长光的吸收、透过、反射、折射等程度不同, 从而使物质产生不同的颜色。如果对各种不同波长的光都完全

吸收，则呈黑色；如果完全反射即没有光的吸收，则呈白色；如果物质选择性吸收了某些波长的光，则呈现的颜色与其反射或透射的光的颜色有关。

溶液呈现的颜色是由于溶液中的粒子（分子或离子）选择性吸收白光中某种颜色的光产生的。如果各种颜色的光透过的程度相同，则溶液无色透明；如果吸收了某种波长的光，则溶液呈现的是它吸收的光的互补色。不同颜色可见光的波长及其互补色见表 1-2。

表 1-2 不同颜色可见光的波长及其互补色

波长/nm	400 ~ 450	450 ~ 480	480 ~ 490	490 ~ 500	500 ~ 560	560 ~ 580	580 ~ 610	610 ~ 650	650 ~ 780
颜色	紫	蓝	绿蓝	蓝绿	绿	黄绿	黄	橙	红
互补色	黄绿	黄	橙	红	红紫	紫	蓝	绿蓝	蓝绿

如果物质分子吸收的是其他波段的光（非可见光）时，则不能用颜色来判断物质微粒是否吸收光子。

3. 紫外 - 可见吸收光谱产生的机理

构成物质的分子一直处于运动状态，包括电子运动、原子核之间的相对振动以及分子本身绕其重心的转动。不同运动状态具有不同的能级。其中两个能级之间的能量差一般为 $1 \sim 10\text{eV}$ ，因此各条谱线的频率或波长差别较大，呈线状分开。

物质的分子吸收光谱形成的机理就是由于能级之间的跃迁所引起的。因为分子内部运动所涉及的能级变化比较复杂，所以，分子的吸收光谱也比较复杂。

一个分子的总能量 E 可以认为是内在能量 E_0 、平均能 $E_{\text{平}}$ 、振动能 $E_{\text{振}}$ 、转动能 $E_{\text{转}}$ 以及电子运动能量 $E_{\text{电子}}$ 的总和，即

$$E = E_0 + E_{\text{平}} + E_{\text{振}} + E_{\text{转}} + E_{\text{电子}} \quad (1-5)$$

其中， E_0 是固有的内能，不随运动而改变； $E_{\text{平}}$ 是连续变化的，不会量子化。因此，它们的改变不会产生光谱。所以，一个分子吸收外来辐射之后，它的能量变化 ΔE 为其振动能变化 $\Delta E_{\text{振}}$ 、转动能变化 $\Delta E_{\text{转}}$ 以及电子运动能量变化 $\Delta E_{\text{电子}}$ 的总和，即，

$$\Delta E = \Delta E_{\text{振}} + \Delta E_{\text{转}} + \Delta E_{\text{电子}} \quad (1-6)$$

在式 (1-6) 的右边三项中， $\Delta E_{\text{电子}}$ 最大，一般在 $1 \sim 20\text{eV}$ ，转动能级变化 $\Delta E_{\text{转}}$ 一般在 $0.005 \sim 0.05\text{eV}$ ，振动能级变化 $\Delta E_{\text{振}}$ 一般在 $0.05 \sim 1\text{eV}$ 。

现在假设 $\Delta E_{\text{电子}}$ 为 5eV ，则根据式 (1-4) 可得到相应的波长：

$$\begin{aligned} \lambda &= hc / \Delta E_{\text{电子}} = (6.626 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s} \times 2.998 \times 10^{10} \text{cm/s}) / (5.0\text{eV} \times 1.602 \times 10^{-19} \text{J/eV}) \\ &= 2.48 \times 10^{-5} \text{cm} = 248\text{nm} \end{aligned}$$

由此可见，由于分子内部电子能级的变化而产生的光谱在紫外光区或可见光区内。反之，也就是只要光子的能量与物质分子的电子能级间的能级差满足式

(1-4) 的条件, 光子就能将能量传递给物质分子, 分子获得能量后可发生电子能级的跃迁。由于电子能级跃迁的能量变化最大, 因此只有用紫外可见光谱区域的光照射分子, 才会发生跃迁。

在光的吸收过程中, 基于分子中电子能级的跃迁而产生的光谱称为紫外-可见吸收光谱。虽然振动能变化 $\Delta E_{\text{振}}$ 、转动能变化 $\Delta E_{\text{转}}$ 小于电子能级变化 $\Delta E_{\text{电子}}$, 但在电子能级间跃迁的同时, 总是伴随着振动和转动能级间的跃迁, 但它们彼此间的波长间隔太小, 因此它们就连在一起, 加之在分析过程中绝大多数样品为液体样品, 以及仪器的分辨率有限, 因此呈现的光谱为带状, 称为带状光谱 (宽谱带)。

据前所述, 物质只能有选择性地吸收那些能量相当于该分子振动能变化 $\Delta E_{\text{振}}$ 、转动能变化 $\Delta E_{\text{转}}$ 以及电子运动能量变化 $\Delta E_{\text{电子}}$ 总和的辐射。各物质分子的能级是千差万别的, 因此它们内部各种能级之间的间隔也是不同的。所以, 各种物质对光线的选择吸收这一性质, 反映了它们分子内部结构的差异, 即各种物质的内部结构决定了它们对不同光线的选择性吸收。因此研究各种物质的吸收光谱, 可以为研究它们的内部结构提供重要信息。

我们可以连续改变通过某一物质的入射光的波长, 并记录该物质分子对各种波长的光的吸收程度 (用吸光度 A 来表示), 然后以波长为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标作图, 得到该物质对光的吸收程度随波长变化的关系曲线, 这就是该物质的吸收光谱或吸收曲线。

图 1-1 表示某物质的水溶液在不同浓度下的吸收曲线 ($c_1 < c_2 < c_3$), 由该图可以看出同一物质对不同波长光的吸收程度不同, 其中在 525nm 处的光吸收程度大, 在吸收光谱中形成了一极值峰, 称为吸收峰或最大吸收波长 (λ_{max} 表示)。光谱曲线随着浓度的增加逐渐向吸光度增加的方向移动。

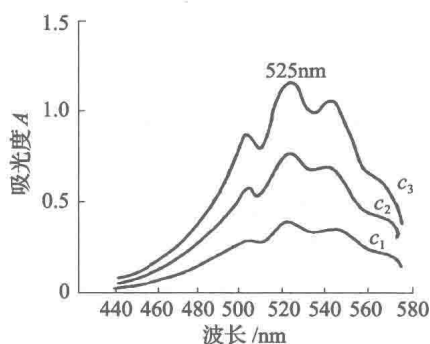


图 1-1 某物质的水溶液在不同浓度下的吸收曲线

分析该物质的吸收光谱, 可得出:

(1) 同一种物质对不同波长的光的吸光度不同。

(2) 同一种物质不同浓度的溶液, 光吸收曲线形状相似, 其最大吸收波长不变。但在同一波长处的吸光度随溶液的浓度增加而增大, 这个特性可作为物质定量分析的依据。在实际测定时, 只有在最大吸收波长 λ_{max} 处测定吸光度, 其灵敏度才最高, 因此, 吸收曲线是分光光度法中选择测量波长的依据。

(3) 不同物质吸收曲线的特性不同。吸收曲线的特性包括曲线的形状、峰的数量、峰的位置 (λ_{max}) 和峰的强度等, 它们与物质特性有关。因此, 吸收曲

线可提供定性分析的信息。

(二) 朗伯 - 比尔定律

1. 光的吸收定律——朗伯 - 比尔 (Lambert - Beer) 定律

透射率和吸光度：光的吸收程度与光通过物质前后的光的强度变化有关，光强度是指单位时间 (1s) 内照射在单位面积 (1cm²) 上的光的能量，用 I 表示。它与单位时间照射在单位面积上光子的数量有关，与光的波长没有关系。

当一束强度为 I_0 的平行单色光通过一均匀的吸收介质时 (图 1-2)，由于吸光物质与光子的作用，一部分光子被吸收，一部分光子透过介质，还有一部分被器皿表面反射。假设吸收的光的强度为 I_a ，透过的光的强度为 I_t ，反射的光的强度为 I_r ，则：

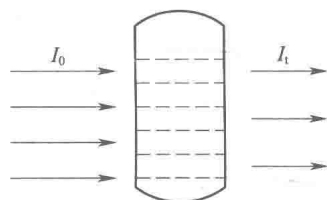


图 1-2 溶液吸光示意图

$$I_0 = I_a + I_t + I_r \quad (1-7)$$

在吸收光谱分析中通常将被测溶液和参比溶液分别置于同样材料和厚度的吸收池内，让强度为 I_0 的单色光分别通过两个吸收池，再测量透射光的强度。反射光强度基本相同，其影响可以相互抵消，上式可简化为：

$$I_0 = I_a + I_t \quad (1-8)$$

I_t 与入射光强度 I_0 之比定义为透射率 (或透光度)，用 T 表示为：

$$T = I_t / I_0 \quad (1-9)$$

T 的取值范围为 0 ~ 100%。 T 越大，物质对光的吸收越少； T 越小，物质对光的吸收越大。当 $T=0$ 表示光全部被吸收； $T=100\%$ 表示光全部透过。

为了表示物质对光的吸收强度，通常采用吸光度 (A) 来表示，吸光度与光的强度、透射率之间的关系为：

$$A = -\lg T = \lg (I_0 / I_t) \quad (1-10)$$

朗伯 - 比尔定律：光吸收定律是根据辐射能的近代概念推导出来的。朗伯和比尔分别于 1760 年和 1852 年研究了溶液的吸光度与溶液液层厚度以及溶液浓度间的定量关系。

朗伯定律：当一束平行的单色光通过某一浓度一定的、含有吸光物质的溶液时，在入射光波长、强度、溶液温度等条件不变的情况下，该溶液的吸光度 A 与溶液液层的厚度 L 成正比。

$$A = k_1 \times L \quad (1-11)$$

式中 L ——液层厚度

k_1 ——比例系数

朗伯定律对所有均匀吸收介质都是适用的。

比尔定律：当一束平行的单色光通过某一均匀的、无散射的、含有吸光物质

的、液层厚度一定的溶液时，在入射光波长、强度、溶液温度等条件不变的情况下，该溶液的吸光度 A 与溶液的浓度 c 成正比。

$$A = k_2 \times c \quad (1-12)$$

式中 c ——溶液浓度

k_2 ——比例系数

与朗伯定律不同的是，比尔定律不是对所有的吸光溶液都适用，很多因素都可导致吸光度不能严格与溶液的浓度成正比。

如果溶液浓度 (c) 和透光液层厚度 (L) 都不是固定的，就必须同时考虑这两个因素对光吸收的影响，将式 (1-11) 和式 (1-12) 合并，得到：

$$A = kcL \quad (1-13)$$

式中，比例系数 k 与吸光物质的性质、入射光波长和温度等因素有关。式 (1-13) 即是朗伯 - 比尔定律的数学表达式。它表明当一束单色光通过含有吸光物质的溶液时，溶液的吸光度与吸收物质的浓度及液层厚度的乘积成正比，它是均匀、非散射介质对光吸收的基本定律，也是分光光度法进行定量分析的基础。

吸光系数：吸光系数的物理意义是吸光物质在单位质量浓度及单位液层厚度时的吸光度，表示某物质对特定波长光的吸收能力。在一定条件（单色光波长、溶剂、温度等）下，吸光系数是物质的特性常数之一，可作为物质定性鉴定的重要依据。

在式 (1-13) 中吸光系数是斜率，是物质定量分析的重要依据， k 越大，表示该物质对光的吸收能力越强，分光光度测定的灵敏度就越高。

另外， k 的单位及数值还与浓度、液层厚度采用的单位有关，根据浓度 (c) 和液层厚度 (L) 采用的单位不同，吸光系数有以下两种常见的表达方式，见表 1-3。

表 1-3 k 与浓度单位之间的变化关系

c 的单位	k 的单位	名称	符号	定量关系
mol/L	L / (mol · cm)	摩尔吸光系数	ϵ	$\epsilon = \alpha M$
g/L	L / (g · cm)	质量吸光系数	α	M 为物质的摩尔质量

对于以上两种表达方式，我们最常用的是摩尔吸光系数 (ϵ)，它表示物质的浓度为 1mol/L、液层厚度为 1cm 时溶液的吸光度。此时式 (1-13) 则变为：

$$A = \epsilon cL \quad (1-14)$$

通过上述说明，我们可以看出，在分析实验过程中，显然不能直接测量浓度为 1 mol/L 溶液的吸光度 (ϵ 值)。 ϵ 一般是由稀浓度溶液的吸光度计算所得。摩

尔吸光系数 ε 反映吸光物质对光的吸收能力，也反映用吸光光度法测定该吸光物质的灵敏度。在一定条件下，它是常数。由于 ε 值与入射光波长有关，故在表示某物质溶液的 ε 值时，常用下标注明入射光的波长。

例 2 已知某化合物相对分子质量为 251，配制成浓度为 0.150mmol/L 的溶液，在 480nm 波长处用 2.00cm 吸收池测得透射率为 39.8% ，求该化合物在上述条件下的摩尔吸光系数。

解 已知 $c = 0.150 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ ， $L = 2.00\text{cm}$ ， $T = 0.398$

$$A = -\lg T = -\lg 0.398 = 0.400$$

由朗伯 - 比尔定律的数学表达式 $A = \varepsilon cL$ 得出：

$$\begin{aligned} \text{摩尔吸收系数 } \varepsilon &= A / (cL) = 0.400 / (0.150 \times 10^{-3} \text{mol/L} \times 2.00\text{cm}) \\ &= 1.33 \times 10^3 \text{L} / (\text{mol} \cdot \text{cm}) \end{aligned}$$

朗伯 - 比尔定律不仅适用于紫外光、可见光，也适用于红外光；不仅适用于均匀非散射的液态样品，也适用于微粒分散均匀的固态或气态样品。但是一般要求其浓度较低。

另外，吸光度具有加和性，即当一束平行单色光垂直入射，通过几种彼此不起反应的物质所组成的吸收介质时，若该吸收介质的入射、出射面是互为平行的平面，且它内部是各向同性的、均匀的、不发光不散射的，则该吸收介质中的吸光度等于几种特征吸光度的总和，这就是吸光度的加和性，即

$$A = A_1 + A_2 + A_3 + \cdots + A_n \quad (1-15)$$

因此该定律既可用于单组分分析，也可用于多组分的同时测定。

2. 偏离朗伯 - 比尔定律的因素

在进行定量分析时，通常吸收池的厚度不变。按照朗伯 - 比尔定律，吸光度与溶液的浓度和液层厚度成正比，以吸光度对浓度作图应得到一条通过直角坐标原点的直线，称为校准曲线（或标准曲线）。但在实际工作中，测得的吸光度和浓度之间的线性关系常常偏离而发生弯曲，特别是吸光物质浓度较高时，明显看到通过原点向浓度轴弯曲的现象（个别情况向吸光度轴弯曲），这种现象称为偏离朗伯 - 比尔定律，如图 1-3 所示。若在曲线的弯曲部分进行定量分析，将会引起较大的误差。

导致偏离朗伯 - 比尔定律的因素很多，归纳起来主要有两类：一类是与仪器的性能有关；一类是与样品溶液有关。二者所具有的实际条件与朗伯 - 比尔定律所要求的理想条件不一致。

与样品溶液有关的因素如下。

(1) 朗伯 - 比尔定律一般只有在溶液浓度小于 0.01mol/L 的稀溶液中才能成立，从这

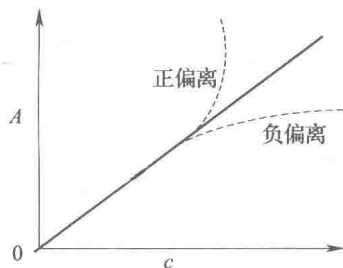


图 1-3 标准曲线及朗伯 - 比尔定律的偏离

个意义上说,它是一个有限定条件的定律。在高浓度时,由于吸光质点间的平均距离缩小,以致每个质点都可能影响其相邻质点的电荷分布,导致它们对特定光的吸收能力发生变化,致使吸光系数改变。由于相互作用的程度与其浓度有关,故造成对朗伯-比尔定律偏离。

(2) 朗伯-比尔定律的推导是基于样品溶液中各组分之间没有相互作用的假设,溶液对光的吸收程度决定于吸光物质的性质和数目。但随着溶液浓度的增加,各组分之间不可避免地发生离解、缔合、光化学反应、互变异构及配合物配位数变化等作用,使被测组分的吸收曲线发生明显改变,吸收峰的位置、高度以及光谱微结构等都会不同,吸光度与溶液浓度的线性关系发生改变,致使其偏离朗伯-比尔定律。

① 离解:大部分有机酸碱的酸式、碱式对光有不同的吸收性质,溶液的酸度不同,酸(碱)离解程度不同,导致酸式与碱式的比例改变,使溶液的吸光度发生改变。

② 配位反应:如果显色剂与金属离子生成的是多级配合物,且各级配合物对光的吸收性质不同。例如,用 SCN^- 作显色剂测定 Fe^{3+} 时,随着 SCN^- 浓度增加,生成颜色越来越深的高配比配合物 $\text{Fe}(\text{SCN})_4^-$ 和 $\text{Fe}(\text{SCN})_5^{2-}$,溶液颜色由橙黄变至血红色。对于这种情况,只有严格地控制显色剂的用量,才能得到准确的结果。

另外,有些配合物的稳定性差,溶液稀释导致配合物离解度增大,使溶液颜色变浅,因此有色配合物的浓度不等于金属离子的总浓度,导致 A 与 c 不成线性关系。

③ 其他反应:例如,在酸性条件下, CrO_4^{2-} 会结合生成 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$,而它们对光的吸收有很大的不同。

所以在分析测定中,要控制溶液的条件,使被测组分以一种形式存在,可以克服化学因素所引起的对朗伯-比尔定律的偏离。

(3) 在紫外-可见分光光度法中广泛使用的各种溶剂对样品溶液中待测组分的吸收峰高度、波长位置产生影响。溶剂有时也会影响待测物质的物理性质和组分,从而影响其光谱特性,包括谱带的电子跃迁类型等。

(4) 朗伯-比尔定律要求吸光物质的溶液是均匀的,当试样为胶体、乳状物或有悬浮物质等不均匀溶液时,入射光通过溶液后有一部分光会因为散射而损失,使透射比减少,因而实测吸光度增大,导致对朗伯-比尔定律的正偏离(即标准曲线偏离直线向吸光度轴弯曲)。质点的散射强度是与入射光波长的四次方成反比,所以散射对紫外区的测定影响更大。故在光度法中应避免溶液产生胶体或浑浊。

与仪器性能有关的因素如下所示。

(1) 非单色光 严格地说朗伯-比尔定律只适用于单色光。但是由于单色

器色散能力的限制和出口狭缝需要保持一定的宽度，所以在紫外-可见分光光度法中，从具有足够光强的光源发出的光经单色器分光后，由出射狭缝投射到被测溶液的光并不是理论上要求的单色光，而是具有某一段波长的复合光。由于吸光物质对不同波长的光的吸收能力不一样，就导致了朗伯-比尔定律的偏离。由非单色光引起的偏离一般为负偏离。

在所选用的波长范围内，吸光物质的吸收能力变化越大，这种偏离就越明显，所以要选择吸光物质的最大吸收波长作为分析波长，这样不仅能保证测定有较高的灵敏度，而且此处曲线较为平坦，吸光系数变化不大，对朗伯-比尔定律的偏离程度就较小。并且在保证一定光强的前提下，应使用尽可能窄的带宽，同时应尽量避免采用尖锐的吸收峰进行定量测定。

(2) 杂散光 杂散光也是紫外-可见分光光度计的主要分析误差来源。杂散光产生的原因很多，最主要的是光栅、外光路和单色器内壁散射等。仪器的杂散光 80% 来自光栅，它使分析测试的吸光度变小，特别是在高浓度时，杂散光的影响更加严重，引起对朗伯-比尔定律的偏离。同时，由于物质在某些介质中分散为许多微小的粒子，这些粒子会对入射光产生散射。并且，随着粒子浓度的增加，这些散射光的强度会增强，会降低透射光强度，使得被测试样的吸光度增大，从而引起对朗伯-比尔定律的偏离。此外，有不少物质在光的照射下会产生荧光现象等，也将严重影响朗伯-比尔定律，使之发生偏离。

(3) 噪声 噪声会直接影响紫外-可见分光光度计的信噪比，降低仪器的灵敏度，噪声限制紫外-可见分光光度计仪器对样品分析浓度的下限。噪声主要来自仪器的电子学系统，一般用峰-峰值来表示。如果仪器的正噪声大，会使低浓度样品的吸光度测定值增大；如果仪器的负噪声大，就会使低浓度样品的吸光度测定值减小，从而使测定值偏离朗伯-比尔定律。

另外，测定时应选择适当的浓度范围，使吸光度读数在标准曲线的线性范围内，这样会极大地减小因偏离朗伯-比尔定律而对检测结果造成的影响。

(三) 紫外-可见分光光度法的分类

紫外-可见分光光度法是在比色法的基础上发展起来的，两者的原理基本相同。由于分光光度法采用了更为先进的单色系统和光检测系统，使得分光光度法在灵敏度、准确度、精密度的应用范围上都大大地优于比色法，被测物质的最低可测浓度可达 $10^{-6} \sim 10^{-5} \text{ mol/L}$ ；分析速度较快，所使用的设备仪器简便，易于操作。因此，紫外-可见分光光度法应用范围较广，已成为医药、化工、冶金、环境保护等领域必不可少的一类检测手段。

在分光光度法中，按所用的光的光谱区域不同可分为可见分光光度法（400 ~ 780nm）、紫外分光光度法（200 ~ 400nm）和红外分光光度法（ $3 \times 10^3 \sim 3 \times 10^4 \text{ nm}$ ）。其中紫外分光光度法和可见分光光度法合称紫外-可见分光光度法。

紫外-可见分光光度法是基于物质分子对 200 ~ 780nm 区域内光辐射的吸收