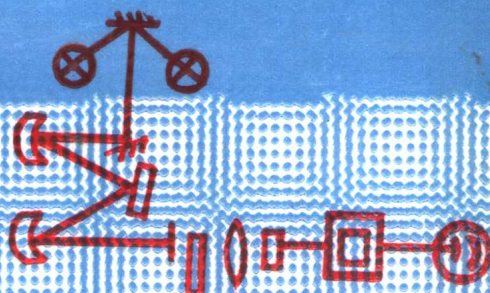


计量检定参考丛书

分光光度计使用与检定

杨如君 周以华 金 敏
刘劲杨 刘 焰 编著



中国计量出版社

计量检定参考丛书

分光光度计使用与检定

杨如君 周以华 金 敏

刘劲杨 刘 焰 编 著

中国计量出版社

新登(京)字 024 号

内 容 提 要

本书是计量检定参考丛书之一。书中简明扼要地叙述了分光光度法的原理及仪器的基本结构与日常维护。着重介绍了分光光度计常见仪器的类型及各类仪器的检测方法和性能评价,并列举了许多实例加以说明,同时还简单介绍了数据处理、误差分析、标准物质的使用、标准溶液的配制等。

本书可供从事分光光度计计量检定,测试人员阅读,亦可供化学、化工、生物、医药、农林、食品、环保、地质、冶金等科技工作者、分析化验人员及大专院校有关专业的师生参考。还可供有关工人、管理干部作为学习班的教材。

计量检定参考丛书
分光光度计使用与检定

杨如君 周以华 金 敏

刘劲杨 刘 焰 编著

责任编辑 陈艳春

—

中国计量出版社出版

北京和平里西街2号

中国计量出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

—

开本787×1092/32

印张10.125字数229千字

1993年11月第1版

1993年11月第1次印刷

印数1—2000

ISBN 7-5026-0629-7/TH·14

定价10.00元

前 言

分光光度法虽然是一种比较古老、成熟的分析方法，但由于准确度和灵敏度较高，相对误差小，仪器结构比较简单，操作简便，因而容易普及。此外，本法的适用范围也很广，几乎所有的无机金属离子和非金属离子以及许多有机化合物都可以直接或间接的用本法测定，它已成为冶金、钢铁、石油、化工、医药、卫生、农化、商检系统、环境保护等部门及国防科研领域中不可少的分析测试方法。

从19世纪中人们采用目视比色法开始，到20世纪30年代，才发展到使用光电比色计，利用光电效应代替人的眼睛，提高了灵敏度、准确度，后来又发展到了使用普及型的可见分光光度计。从40年代到现在，由于一些新材料、新元件、新工艺、新技术的出现，仪器的型式、类别、功能和使用范围都有很大的发展。现在我国大约已有二十多个大、中、小型工厂在生产分光光度计，其它还有浓度计、单元素计、专用生化仪以及多年来进口的各种高精度分光光度计，据不完全统计，全国大约已拥有20多万台仪器，在各个不同的领域内，作为日常分析工作和科学研究工作的一种重要仪器。

鉴于本类仪器在国民经济中的重要性，已被列为中华人民共和国强制检定的工作计量器具。为贯彻执行计量法，做好强检计量器具的实施工作，保证量值传递准确一致，为使检定人员在工作中能掌握正确的检定方法，出具正确的检定结果，本书简要介绍了分光光度法及仪器工作原理、检定方法和使用维护等方面的基本知识供大家参考。本书是编者在

多次办学习班、编写讲义的基础上,改编、补充、修改而成。如果本书内容能对读者有些微小的帮助的话,那将使编者感到莫大的荣幸与欣慰,也是对编者的最大鼓舞与鞭策。

本书的编写与出版受到有关领导的关怀,同行的帮助、指导和支持。特别是上海第三分析仪器厂副总工程师 吴树恩,紫外光学部主任 陈剑雄;北京第二光学仪器厂紫外光学部部长 刘钧鹂;北京西城区技术监督局 顾家钰等同志提供了许多有益的资料与信息。在编写过程中,得到了国家技术监督局计量司 王建平,中国计量出版社副编审 王朋植、陈艳春等同志的关心与鼓励。在此,编者一并表示最衷心地感谢!本书稿的誊写工作也得到刘焰、杨曜等同志的帮助,编者也顺表谢意!

由于编者水平有限,再加上经验不足,时间短促,文中缺点和错误在所难免,敬请有关专家、同行及广大读者不吝批评、指正。

编著者

1992. 6

目 录

第一章 基本知识	(1)
第一节 光的本性	(1)
第二节 光的性质	(4)
一、光的互补性	(4)
二、光的选择吸收	(5)
三、光的反射	(5)
四、光的折射	(6)
五、光的干涉	(8)
六、光的色散	(8)
七、光的衍射	(9)
八、光的散射	(9)
第三节 吸收光谱的产生	(9)
第四节 紫外、可见、近红外分光光度法的定 义及其特点	(12)
一、紫外、可见、近红外分光光度法的定义	(12)
二、紫外、可见、近红外分光光度法的特点	(12)
第五节 紫外、可见、近红外分光光度计的进 展与发展趋势	(14)
一、新型光源的引用	(15)
二、单色器的改进	(15)
三、检测器的改进	(15)
四、显示装置的改进	(15)
五、微型计算机的使用	(16)
第二章 分光光度法的理论基础	(17)

第一节	光吸收定律	(17)
第二节	吸收光谱曲线常用的几种表示方法	(22)
第三节	光吸收定律的局限性与主要影响因素	(26)
一、	仪器结构和性能的限制	(26)
二、	溶液性质与组成的影响	(29)
三、	测定条件与周围环境的影响	(32)
第四节	定性、定量分析方法简介	(33)
一、	定性分析	(33)
二、	定量分析	(34)
第五节	有关光吸收定律的基本计算	(35)
第六节	分光光度分析法中常用的术语和符号	(39)
第三章	分光光度计的基本结构	(41)
第一节	光源	(42)
一、	热辐射光源	(43)
二、	气体放电光源	(44)
三、	激光光源	(46)
第二节	单色器	(46)
一、	棱镜	(47)
二、	光栅	(50)
三、	狭缝	(60)
第三节	样品室及吸收池	(61)
一、	样品室	(61)
二、	吸收池	(62)
第四节	检测系统	(66)
一、	光电池	(66)
二、	光电管	(88)

三、光电倍增管	(69)
四、光电二极管矩阵	(72)
第五节 显示系统	(73)
一、检流计	(74)
二、微安表	(74)
三、电位调节指零仪表	(74)
四、数字式显示仪表	(75)
五、记录仪、打印机及 CRT 显示器	(76)
第四章 分光光度计的分类和典型仪器介绍	(77)
第一节 紫外、可见、近红外分光光度计的 分类	(77)
第二节 可见分光光度计	(77)
一、721型分光光度计	(79)
二、722型及其系列光栅分光光度计	(81)
三、723型分光光度计	(83)
四、WFJ 80-1 型可见分光光度计	(84)
五、专用(可见)分光光度计	(85)
第三节 紫外可见分光光度计	(87)
一、何谓单光束紫外可见分光光度计	(87)
二、普通型单光束紫外可见分光光度计	(89)
三、扫描型单光束紫外、可见分光光度计	(95)
四、双光束紫外、可见分光光度计	(108)
五、双波长分光光度计	(128)
六、微机型光电二极管矩阵紫外、可见 分光光度计	(135)
第四节 紫外、可见、近红外分光光度计	(138)
一、710型自动记录式分光光度计	(138)
二、UV-365自动记录分光光度计	(141)
三、UV-3100自动记录分光光度计	(142)
四、U-3400型自动记录分光光度计	(143)

第五章 标准物质及其在分光光度法上的应用	(150)
第一节 标准物质的含义及其特性	(150)
第二节 标准物质的发展概况与分级分类	(154)
第三节 选择标准物质的依据	(157)
第四节 分光光度法中通常使用的标准物质	(160)
第五节 标准溶液的配制	(168)
第六章 分光光度计主要性能的检测	(174)
第一节 基线平直度	(175)
第二节 稳定度	(176)
一、噪声	(177)
二、漂移	(179)
第三节 波长准确度	(180)
一、辐射光源法	(181)
二、标准滤光片	(184)
三、溶液法	(194)
四、有机试剂法	(197)
第四节 波长重复性	(198)
第五节 光度准确度	(199)
一、标准溶液法	(200)
二、标准滤光片法	(201)
第六节 光度重复性	(203)
第七节 分辨率及光谱带宽	(205)
第八节 杂散辐射 (亦称杂散光)	(207)
第七章 分光光度计的检定	(212)
第一节 检定工作中常见的名词	(212)
第二节 检定分光光度计所需要的器具	(214)
第三节 分光光度计检定方法要领及其 注意事项	(218)

一、可见分光光度计检定方法要领及其 注意事项.....	(218)
二、单光束紫外、可见分光光度计检定 方法要领及其注意事项.....	(225)
三、双光束紫外、可见分光光度计检定 方法要领及其注意事项.....	(230)
四、紫外、可见、近红外分光光度计检定 方法要领及其注意事项.....	(233)
第八章 数据处理与误差分析	(257)
第一节 测量误差及其分类	(257)
第二节 检定与测试数据的处理	(264)
第三节 测量数据的近似数与有效数字	(275)
第四节 检测结果的表示方法	(282)
第九章 分光光度计的日常维护与保养	(290)
第一节 仪器的工作环境.....	(290)
第二节 仪器及其附件的维护与保养.....	(293)
一、主机的使用与维护.....	(293)
二、吸收池及其框架的使用及注意事项	(294)
三、使用磁盘应注意的问题	(296)
四、记录纸、记录笔的使用与保养	(297)
五、仪器常用附件的维护与保养	(298)
附 录:	(303)
表1 化学元素标准相对原子质量表	(303)
表2 透射比与吸光度对照表.....	(307)
表3 水的体积和重量换算表.....	(308)
表4 干燥剂的干燥效率	(309)
表5 可用于干燥液体的干燥剂	(309)
表6 可用于干燥气体的干燥剂	(310)
参考文献	(311)

第一章 基本知识

第一节 光的本性

人们对于光的研究已有悠久历史，对于光的本性的认识也经历了一个很长的过程。从牛顿的微粒说，发展到惠更斯的波动说，从麦克斯韦的电磁波学说，再发展到普朗克的光子学说。到今天已研究确定了光是具有电磁本质的物质，它既具有波动性，又具有微粒性，即称为光的二象性。

光既然是具有电磁本质的物质，光就是一种电磁波，也就是一种电磁辐射。电磁波是一种横波，即光的传播方向和波的振动方向相互垂直。电磁波可以借助频率、波长（波数）、光速等几个特性参数来表示。它们之间的相互关系可以表示为：

$$f = \frac{c}{\lambda} = c \cdot \sigma \quad (1-1)$$

式中： λ ——波长，即电磁波每振动一次所走的距离。具体地讲，波长是指在周期波传播方向上，相邻两波同相位点间的距离。对每个波长来说，从波峰到波峰或从波谷到波谷之间的距离称为波长。通常用纳米表示（nm）。

σ ——波数，即一厘米长度中电磁波的数目。通常用厘米⁻¹表示，（cm⁻¹）。

c ——光速，其值为 $2.9979 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

f ——频率，即电磁波每秒钟振动的次数，或为每秒钟内经过某一点的波数，通常用赫兹表示（Hz）。

波长与波数之间存在一定关系，波数是波长的倒数。它们之间的换算关系，请见表1-1。

表 1-1 波长 (μm) 与波数 (cm^{-1}) 换算表

μm	cm^{-1}	μm	cm^{-1}	μm	cm^{-1}	μm	cm^{-1}	μm	cm^{-1}
1.0	10 000.0	5.0	2 000.0	9.0	1 111.1	14.0	714.3	40	250
1.5	6 666.7	5.5	1 818.2	9.5	1 052.6	15.0	666.7	45	222
2.0	5 000.0	6.0	1 666.7	10.0	1 000.0	16.0	625.0	50	200
2.5	4 000.0	6.5	1 538.5	10.5	952.4	18.0	555.6	100	100
3.0	3 333.3	7.0	1 428.6	11.0	909.1	20.0	500.0	200	50
3.5	2 857.1	7.5	1 333.3	11.5	869.6	25.0	400.0		
4.0	2 500.0	8.0	1 250.0	12.0	833.3	30.0	333		
4.5	2 222.2	8.5	1 176.5	13.0	769.2	35	286		

光波是一种频率很高的电磁波，随着它的频率不同或波长不同而呈现出不同的特性。根据光波波长的不同，将其分成几个不同的波区。能用正常人肉眼观察到的电磁辐射称为可见光。可见光的波长介于 380~780 nm 之间。波长介于 200~380 nm 的称为紫外区，短于 200 nm 的称为远紫外区。波长大于 780 nm 的则称为红外区。对于光波波区划分没有

表 1-2 电磁波谱的分区表

波谱分区	波 长 (nm)
远紫外区	10~200
近紫外区	200~380
可见区	380~780
近红外区	780~3 000
中红外区	3 000~30 000
远红外区	$3 \times 10^4 \sim 3 \times 10^5$
微波区	$3 \times 10^5 \sim 1 \times 10^9$
无线电波区	$1 \times 10^9 \sim$

严格界限与规定，人们只是将各种不同波长的光按照波长和频率的范围排列，得到了如下的电磁波谱表。现列于表1-2。

在分光光度分析法中，波长单位常随着光波波区的不同而采用不同的单位表示。详见表1-3。

表 1-3 分光光度分析法中光波波区常用单位

名 称	符 号	数值与换算	使用光波波区
埃	$\text{\AA}$	$1 \text{\AA} = 10^{-8} \text{cm} = 10^{-10} \text{m}$	近年来已废除
纳 米	nm	$1 \text{nm} = 10 \text{\AA} = 10^{-9} \text{m}$	用于紫外-可见区
微 米	μm	$1 \mu\text{m} = 10^{-4} \text{cm} = 10^{-6} \text{m}$	用于红外区
波 数	σ	$\sigma(\text{cm}^{-1}) = 1/\lambda(\text{cm})$	用于红外区

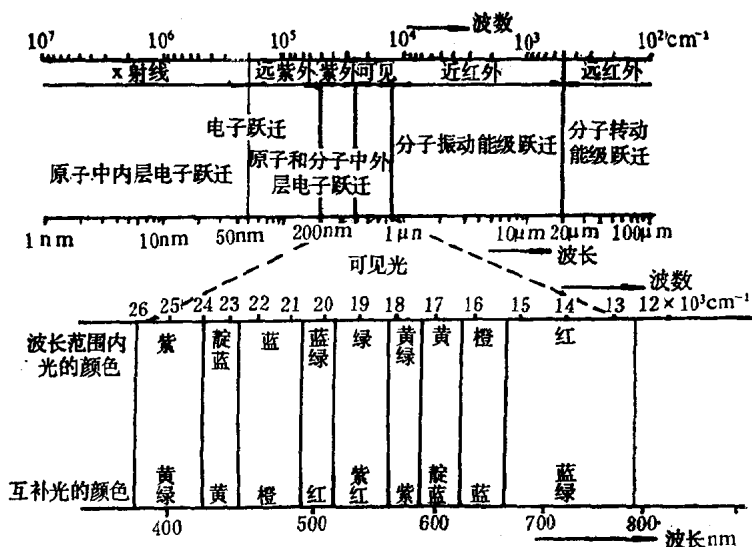
通常所见到的白光是属于可见光区，它是由波长 380~780 nm 范围的红、橙、黄、绿、青、蓝、紫等七色光按一定比例混合而成的复合光。它们的近似波长范围见表1-4。

表 1-4 可见光区的波谱表

波长范围 (nm)	光 的 颜 色
380~435	紫
435~480	靛 蓝
480~490	蓝
490~500	蓝 绿
500~560	绿
560~580	黄 绿
580~595	黄
595~610	橙
610~780	红

可见光区的波谱与电磁波谱的关系，见表1-5。

表 1-5 可见光区的波谱与电磁波谱的关系表



第二节 光的性质

光具有许多特殊的性质。据科学家介绍,研究光的科学是复杂而且深奥的,因此对于光的性质的描述也是有很多方面的,我们只能就本书涉及到的最基本性质予以简略地叙述。

一、光的互补性

在我们日常生活中,常常见到五彩缤纷,各种各样色彩的光束,如红色光、黄色光、蓝色光、绿色光等等,这些光是一些不能分解为其它色光的只有一色的光,叫做单色光。单色光实质上就是只具有一种波长的光。例如,由氦氖激光器发出的红光,其波长为 632.8 nm。

如果把不同的单色光合成起来,就会形成一种新的色

光，这种新合成起来的色光，称为复色光（或称混合光）。白光就是一种复色光。

实验表明，如果把两种适当的单色光按一定强度比例混合，就可以成为白光，而从白光（或复色光）中除去某一单色光就可得到另一特定的单色光，这就是光的互补性。两种可以互补的光相应的颜色就叫互补色。例如图 1-1 中黄光与蓝光即为互补色。

二、光的选择吸收

人们知道，当一束光照射到某种物质时，一部分光就会被该物质所吸收。但是，不同的物质分子或离子团对于照射它们的光束吸收程度是不相同的，这就是说，对某个光波波带吸收很强烈，而对其它波带的光很少吸收或者根本不吸收，这种现象称为光的选择吸收。见图 1-2。

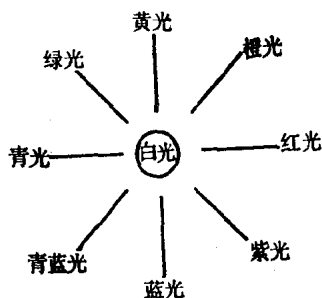


图 1-1 光的互补关系

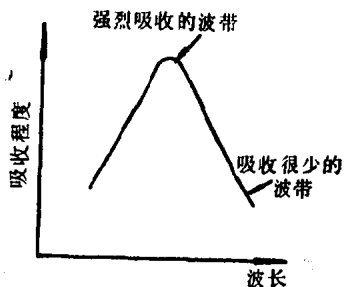


图 1-2 光的选择吸收

三、光的反射

当光从一种媒质射向另一种媒质时（例如从空气射向玻璃镜面时），在两种媒质的分界面上，光会改变传播方向，一部分光将被反射回原来的媒质中，这种现象叫光的反射。

光的反射定律：反射线 (DB) 在入射线 (AD) 和法线

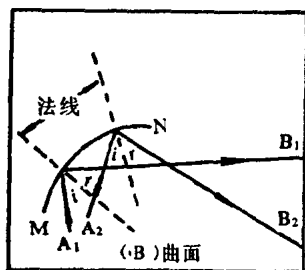
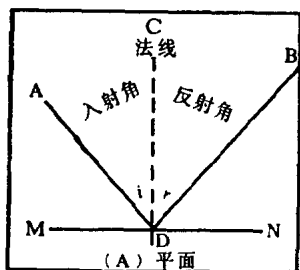


图 1-3 平面和曲面的反射

(CD) 所决定的平面内, 反射线和入射线分居法线的两侧; 反射角 (r) 等于入射角 (i)。

在光的反射现象里光路具有可逆性, 即如果光线逆着原来的反射线的方向 (沿 BD 方向) 照射到界面, 它就逆着原来的入射线的方向 (沿 DA 方向) 反射。分光光度计中用单狭缝作为出射和入射狭缝就是利用这种可逆性的例子。图 1-3 说明了平面和曲面的反射情况。图 1-4 表现了镜面的单向反射情况。

四、光的折射

按上例, 如果把光从空气斜射到玻璃上时, 在界面上除

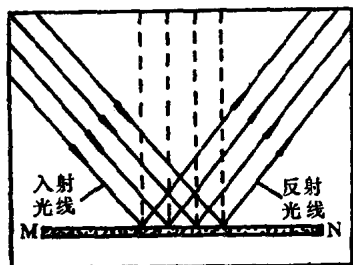


图 1-4 镜面的单向反射

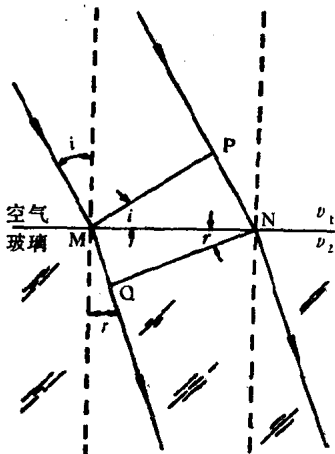


图 1-5 光的折射图

一部分光线发生反射, 回到空气中外, 另一部分光线就会入

射到玻璃中，改变了原来的传播方向，这种传播方向发生改变的现象就叫光的折射。如图 1-5 所示。

光的折射三定律：

1. 入射线、折射线和界面上入射点的法线都在同一平面内。折射光线和入射光线分居法线两侧。见图 1-6。

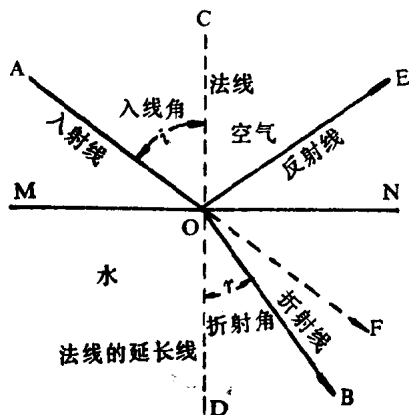


图 1-6 折射的光线图

2. 任何介质的折射率是一常量，它和入射角无关。

3. 当光线倾斜地从光密度较小的介质进入光密度较大的介质时，它折向法线。与此相反，当光线倾斜地从光密度较密的介质进入光密度较疏的介质时，它偏离界面法线而折射。见图 1-7。

值得注意的是光的折射也有可逆性，即当光线逆着原来

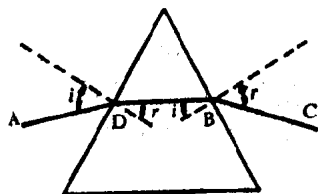


图 1-7 通过一个三棱镜的光路。当光线 AD 从较小的光密度进入到较大的光密度时，它的光路偏向法线。当它在 B 透出玻璃时，它的光路偏离法线