

分析仪器使用与维护丛书

紫外可见 分光光度计

李昌厚 著



化学工业出版社
化学与应用化学出版中心

分析仪器使用与维护丛书

紫外可见分光光度计

李昌厚 著



化学工业出版社
化学与应用化学出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

紫外可见分光光度计/李昌厚著. —北京: 化学工业出版社, 2005. 4

(分析仪器使用与维护丛书)

ISBN 7-5025-6813-1

I. 紫… II. 李… III. 紫外分光光度计: 目视光度计 IV. TH744.12

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 023418 号

分析仪器使用与维护丛书

紫外可见分光光度计

李昌厚 著

责任编辑: 杜进祥 陈 蕾

责任校对: 周梦华

封面设计: 郑小红

*

化学工业出版社 出版发行
化学与应用化学出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 12 $\frac{1}{4}$ 字数 212 千字

2005 年 6 月第 1 版 2005 年 6 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6813-1/O · 110

定 价: 25.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

分析仪器使用与维护丛书

邓 勃 主编

各分册主要编写人员

《分析仪器与仪器分析概论》	邓 勃	王庚辰	汪正范
《电化学分析仪器》	朱果逸		
《红外光谱仪器》	翁诗甫		
《近红外光谱仪器》	袁洪福	陆婉珍	
《离子色谱仪器》	牟世芬		
《气相色谱仪器系统》	武 杰	庞增义	
《高效液相色谱仪器系统》	李 彤	张庆合	张维冰
《热分析仪器》	刘振海	徐国华	张洪林
《生化分析仪器》	胡文祥		
《物性分析仪器》	李玉忠		
《样品前处理仪器与装置》	李攻科	胡玉玲	
《有机元素分析仪器》	杨德凤		
《原子吸收光谱仪》	章诒学	何华焜	陈江韩
《紫外可见分光光度计》	李昌厚		
《X射线荧光光谱仪》	罗立强	李国会	

序（一）

科学技术发展的历史表明，科学仪器对认识自然界的规律，促进生产技术的进步和革命，起着非常重要的作用。科学仪器水平直接反映了一个国家科学技术和工业发展水平。世界发达国家都将科学仪器作为信息产业源头，列入新兴产业范畴，把发展科学仪器工业作为提高整个社会劳动生产力和社会经济效益的强有力的支柱。所以发展科学仪器对我国科技进步和经济、社会发展具有极为重要的战略意义。

分析仪器是科学仪器的重要组成部分。当前，分析仪器的仪器拥有量增加很快，据统计，2002 年分析仪器全球销售额比 2000 年增长了 23%。我国分析仪器进口额，2002 年比 2000 年增长了 78%。分析仪器的应用范围也越来越广，特别在营养与食品安全、药物与代谢产物、生态环境、材料科学、石化与油田化学、公共卫生等直接关系到人类生存和发展的各学科和领域的应用，更受到普遍的关注。同时，由于新原理、新技术、新材料和新工艺的广泛采用，分析仪器得到了日新月异的发展。仪器的小型化、微型化、智能化发展十分迅速；为适应过程分析要求，各种实时、非侵入式在线分析仪器得到快速发展，科学仪器也正从通用型转向专用型；各种新技术、新方法的广泛应用，使仪器灵敏度更高、分析速度更快、适用范围更广；仪器可靠性和自动化程度不断提高，仪器的操作更为简便。因此，加强分析仪器知识的继续教育，对分析仪器研究、开发、生产、使用者，乃至一切关心我国分析仪器发展的同志都是一个极为重要的问题。

为此目的，经化学工业出版社提议，中国仪器仪表学会分析仪器学会组织编写了《分析仪器使用与维护丛书》。这套丛书以“简明实用、选材新颖、特色鲜明、通俗易懂”为主导思想，着重介绍分析仪器结构、原理、应用领域，也扼要介绍仪器的使用方法、维护要点、故障处理与校正，力图反映分析仪器领域的基本知识、基本方法以及最新成果。这套丛书由长期从事仪器分析或分析仪器实际工作的专家撰写，其完整性、实用性非常突出，不失为从事和关心仪器分析的人员更好地了解 and 掌握分析仪器及其使用和维护保养知识的专业参考书。

中国仪器仪表学会分析仪器学会

王顺昌理事长

2004 年 10 月

序（二）

现代科技和产业的发展，促进了分析测试仪器的迅猛发展和推广应用。当今发展最快的科技领域如生命科学、生物工程、环境科学和生态保护、现代医学和中医药物、纳米科技等领域的基础研究和应用工作，都离不开各种类型的分析测试仪器，分析仪器已成为最基础的设备之一，其对国民经济的重要作用是其任何方法与手段所无法替代的。

分析测试是科技与生产的眼睛，是衡量一个国家经济与科技发展水平的主要标志。随着我国科学技术的飞速发展，分析仪器的应用领域越来越广阔，越来越深入，从事分析仪器使用和管理工作的人员也在迅速增多。为了适应这一形势的需要，化学工业出版社与中国仪器仪表学会分析仪器学会组织编写了《分析仪器使用与维护丛书》，以帮助有关科技人员了解和掌握分析仪器的使用和维护保养，提高仪器使用效率与使用寿命。

这套丛书贯穿了“简明实用、选材新颖、特色鲜明、通俗易懂”的主导思想。不仅对于不同分析仪器的基本知识和基本方法扼要介绍，也重点对不同类型、用途分析仪器的使用方法、维护要点、故障处理与校正等作了较为详尽的介绍，为广大分析工作者提供了一套实用、便捷的案头书。

这套丛书的所有执笔者皆为长期从事仪器分析或分析仪器实际工作的专家学者，也有在第一线工作的年轻人。他们欲通过这套丛书把自己的经验与大家分享，因此当作者提出请我为《分析仪器使用与维护丛书》做序时便欣然应允。我真切地希望广大分析工作者可以通过这套书能更好地掌握和利用分析仪器，为各领域科研与生产，为提高国民经济总体目标服务。

张如本 2004.10.29

前 言

世界上第一台紫外可见分光光度计，于1940年由美国的 Beckman 公司研制成功，于1945年正式推出商品仪器。当时的仪器很简单，自动化程度很低，但随着科学技术的发展，它的发展非常快。目前，已是世界上使用最多、覆盖面最广的一种分析仪器，已在生命科学、材料科学、环境科学、农业科学、计量科学、食品科学、地质科学、石油科学、医疗卫生、钢铁冶金、化学化工等各个领域的科研、生产、教学等工作中得到了非常广泛的应用。它可做定量分析、纯度分析、结构分析和定性分析，在制药、食品行业中的产品质量控制、各级药检系统的产品质量检查中更是必备的分析仪器。在“农、轻、重、海、陆、空、吃、穿、用”各个领域的各个行业中，已是无所不在、无所不有的分析仪器。

分析仪器工作者的任务是设计和做好仪器，做出的分析仪器要求“好用”。所谓“好用”，就是要求仪器稳定可靠。所谓稳定，就是要求仪器的漂移小、重复性好。所谓可靠，就是要求仪器的准确度好、故障率小、售后服务好。总之，要为仪器分析工作者提供高性能、实用和价廉的分析仪器。为此应注意去调查了解使用者的要求，了解仪器在实际使用中存在的问题。并且，分析仪器工作者特别要注意研究对分析仪器的主要技术指标的测试方法，保证提出的技术指标是可靠的。分析仪器使用者的任务是“用好”分析仪器，充分发挥仪器的作用。为此要熟悉仪器的结构与各项技术指标，特别要去熟悉了解各项技术指标对分析误差的影响。要懂得仪器的日常维护和对主要技术指标的简易测试方法，自己经常对仪器进行维护和测试，以保证仪器工作在最佳状态。因此，分析仪器工作者和仪器分析工作者应该互相关心、互相沟通、互相学习、互相促进，为提高我国分析仪器的研制和使用水平共同努力。

从我国目前的实际情况看，不少使用分析仪器的人员常常不熟悉仪器的结构，不甚了解或不了解仪器的技术指标对分析测试误差的影响，因此，往往用不好仪器，或者说不能把仪器用到最佳状态，最大限度地发挥仪器的作用。以致有很多使用不合理之处，如“大材小用”，高档的分析仪器当作低档常规仪器使用，物非其用，把紫外可见分光光度计当作一般可见分光光度计使用。这实际上是一种极大的浪费。作者撰写本书的目的，就是希望通过本书能对读者在自己的实际工作中用好紫外可见分光光度计，最大限度地发挥仪器的作用有所帮助。

虽说紫外可见分光光度计发展很快，应用特别广泛，但是在仪器和应用方面的许多理论问题，如透光度误差、吸光度误差与光度准确度的关系；影响光度准确度的主要因素及排除方法；杂散光、噪声、光谱带宽、基线平直度对光度准确度的影响等，至今并未引起广大科技工作者应有的重视。又如紫外可见分光光度计的可靠性是使用者最为关心的问题，而如何提高可靠性，则是制造者最为关心的核心问题。作者将在本书有关的章节分别对上述各个问题，进行全面、详细地论述。

本书融合了作者本人从事紫外可见分光光度计的研制和使用 40 多年来的经验与教训。书中还引用了许多文献，在此特向有关文献的作者表示衷心感谢。如果这些点滴经验与教训能对读者有所帮助的话，本人将感到十分欣慰，也是本人写作本书的初衷。

本书写作过程中，得到了孙吟秋、吴丰华、楼海任、刘泳、李爱芳、周林爱等同志的热情帮助，邓勃、王绪明、刘长宽等同志提出了许多修改意见，在此一并致谢。

由于作者水平所限，书中难免有疵漏和错误，热诚欢迎各位读者和有关专家批评指正。作者联系方式：lichho @ online. sh. cn。

李昌厚

2004 年 12 月

内 容 提 要

本书是《分析仪器使用与维护丛书》的分册。

本书介绍了紫外可见分光光度计分析测量的基本原理和结构，深入讨论了紫外可见分光光度计的主要技术指标及其测试方法；用较多篇幅，从实际应用的角度，全面、详细地介绍了如何评价或如何挑选紫外可见分光光度计仪器、如何选择最佳分析测试条件、影响分析测试准确度的主要因素、分析测试误差的估算方法，以及对仪器的保养、维修等有关问题。

本书通俗易懂，适用性强，可供科研院所、大专院校、工矿企业中从事紫外可见分光光度计分析测试工作的广大科技工作者阅读。

作 者 简 介

李昌厚，研究员，博士生导师。1939年5月18日生，湖南岳阳人。1963年毕业于天津大学精密仪器系光学专业。同年分配到中国科学院上海有机化学研究所工作。1988年调到中国科学院上海生物工程研究中心。曾任中国科学院上海生物工程研究中心学术委员会委员等职。1992年开始，任华东理工大学兼职教授至今。目前被推选任中国分析仪器学会副理事长兼光谱仪器专业委员会副主任、高速分析仪器专业委员会副主任，中国光学仪器学会物理光学专业委员会副主任，中华人民共和国计量认证/审查认可国家级评审员，上海分析仪器学会理事，上海分析测试协会理事；《光学仪器》副主编、《生命科学仪器》副主编、《分析测试技术与仪器》编委等。

作为第一完成者，先后完成科研成果15项，其中13项达到鉴定时国际上同类产品的先进水平，2项为国内领先水平。作为第一获奖人，先后获得各类科技奖5项。其中，国家发明奖1项、中国科学院科技成果奖1项、中国科学院科技进步奖1项、上海市科技进步奖1项、上海市科技金点子奖1项。作为第一作者，在国内外公开发行的一、二级学报上发表论文156篇，其中4篇被评为全国优秀论文。1992年起享受国务院政府特殊津贴。

目 录

第一章 概论	1
一、分光光度法	1
二、紫外可见分光光度计	2
参考文献	4
第二章 分光光度法基础	5
第一节 电磁辐射的基本性质	5
一、电磁辐射的粒子说和波动说	5
二、电磁辐射波段的能量范围和各种波谱法	6
三、紫外可见吸收光谱的形成	7
第二节 定量分析的理论基础——比耳定律	9
一、比耳定律及其数学表达式	9
二、影响比耳定律偏离的主要因素	10
三、比耳定律的局限性与可靠性	12
参考文献	15
第三章 紫外可见分光光度计的基本结构	16
第一节 仪器分类	16
一、单光束紫外可见分光光度计	16
二、准双光束紫外可见分光光度计	17
三、双光束紫外可见分光光度计	18
四、双波长紫外可见分光光度计	20
第二节 电光源系统	21
一、光源（灯泡）	22
二、电源	24
第三节 外光路系统	29
一、外光路系统的组成	29
二、外光路系统的形式	29
第四节 分光系统	30
一、光栅	30
二、准直镜	36
三、物镜	36

四、单色器	36
第五节 光度室系统.	41
一、光度室盖	41
二、聚光透镜	41
三、比色皿	41
四、比色皿架	45
第六节 光电转换系统	45
一、外光电效应光电转换器	46
二、内光电效应的光电转换器	52
第七节 放大器系统	57
一、前置放大器	57
二、主放大器	58
三、双端输入的对数放大器	58
第八节 数据处理、打印输出系统	60
参考文献	60
第四章 仪器的技术指标、测试方法及其对分析误差的影响	62
第一节 光度准确度	62
一、光度准确度的表示方法	62
二、影响光度准确度的主要因素	65
三、吸光度准确度和透射比准确度的关系	65
四、光度准确度测试方法	67
五、与光度准确度有关的几个重要问题	69
第二节 光度重复性	71
一、光度重复性的测试方法	71
二、影响光度重复性的主要因素	72
第三节 杂散光 (Stray light)	72
一、杂散光的重要性	72
二、杂散光的定义及理论推导	73
三、杂散光对仪器分析测试误差的影响	75
四、杂散光的来源	79
五、杂散光的测试方法和测试材料	79
六、与杂散光测试有关的几个问题	82
第四节 光度噪声	84
一、光度噪声对分析测试误差的影响	84
二、光度噪声的表示方法	87

三、光度噪声的测试方法	87
第五节 基线平直度	87
一、基线平直度的重要性 (对分析测试误差的影响)	87
二、基线平直度的测试方法	88
三、影响基线平直度的主要因素	88
四、正确认识及使用基线平直度	89
第六节 光谱带宽 (Spectra band width—SBW)	91
一、光谱带宽的重要性 (对分析测试误差的影响)	91
二、光谱带宽对分析误差的理论推导	93
三、光谱带宽的测试方法	95
四、应用实例	96
五、结论	97
第七节 稳定性 (Stability)	97
一、稳定性对分析测试误差的影响	97
二、紫外可见分光光度计稳定性的测试方法	97
第八节 波长准确度和波长重复性	98
一、波长准确度对分析测试误差的影响	98
二、波长准确度的测试方法	99
三、波长重复性	103
第九节 紫外可见分光光度计的线性	103
一、线性的定义	103
二、线性对分析测试误差的影响	103
三、仪器线性的测试方法	104
四、线性和准确度的关系	107
第十节 线性动态范围	108
一、线性动态范围的定义和重要性	108
二、线性动态范围的测试方法	109
第十一节 分析测试的总误差及其估算方法	109
参考文献	111
第五章 仪器的评价和挑选	113
第一节 适用性	114
第二节 可靠性	115
一、可靠性的定义	115
二、影响可靠性的因素	117
第三节 智能性 (自动化)	118

第四节 经济性	119
一、经济性的内容	119
二、经济性的评估	120
第五节 美学性	120
第六节 工艺性	121
参考文献	123
第六章 如何选择仪器及有关的最佳条件	124
第一节 溶剂的选择	124
第二节 分析波长选择	125
第三节 吸光度范围选择	126
第四节 光谱带宽的选择	127
第五节 线性动态范围的确定	128
第六节 注意防止试样的光解	129
第七节 比色皿的沾污问题	130
一、重视比色皿的沾污问题的严重性（对分析测试误差的影响）	130
二、鉴别比色皿被沾污的方法	130
三、如何解决比色皿沾污的问题	130
参考文献	131
第七章 紫外可见分光光度计的应用	132
第一节 定量分析	132
一、定量分析方法	132
二、定量分析应用举例	134
第二节 定性分析	139
一、利用标准物质定性	139
二、用波长位置判断有机化合物的生色基团	139
第三节 纯度检查	141
第四节 结构分析	142
一、判别异构体	142
二、推测化合物的分子结构	143
第五节 有机分析中的应用	144
一、利用标准曲线法测未知化合物的含量	145
二、利用特征吸收峰法鉴别有关物质	145
三、利用紫外光谱谱图的方法鉴别有机化合物	146
四、利用 π 键反应减小干扰	146
参考文献	146

第八章 仪器及应用的最新进展	148
第一节 紫外可见分光光度计仪器的最新进展	148
一、仪器的自动化程度大大提高	148
二、重视适用附件的开发	148
三、仪器向小型化(或微型化)、数字化、便携式的方向发展	148
四、仪器向多功能方向发展	151
五、新型的紫外可见分光光度计不断涌现	151
第二节 紫外可见分光光度计应用的最新进展	153
一、多组织不经分离,直接测量	153
二、联用技术	153
三、积分光度法进入复兴时期	154
参考文献	154
第九章 仪器的日常维护、常见故障诊断及排除方法	156
第一节 对电源的要求	156
第二节 紫外可见分光光度计对环境的要求	156
第三节 仪器的日常保养、维护	157
一、经常开机	157
二、经常校验仪器的技术指标	157
三、保持机械运动部件活动自如	157
第四节 常见故障诊断、排除方法	158
一、常见的故障及其排除方法	158
二、计算机常见故障及排除方法	161
第十章 仪器质量指标检测常用的标准物质、标准光源	162
第一节 重铬酸钾标准溶液的配制	162
一、酸性重铬酸钾标准溶液配制方法	162
二、碱性铬酸钾标准溶液配制方法	163
第二节 硫酸铜标准溶液配制方法	164
第三节 NaI 标准溶液和 NaNO_2 标准溶液的配制	165
一、NaI 标准溶液的配制方法	166
二、 NaNO_2 标准溶液的配制方法	166
第四节 低压汞灯的特征谱线和能量分布	166
第五节 氧化钬玻璃的特征谱线和能量分布	167
一、氧化钬玻璃的特征谱线	167
二、氧化钬玻璃的能量分布	167
第六节 氧化钬溶液的特征谱线和能量分布	168

一、特征谱线·····	168
二、能量分布·····	168
第七节 氙灯的特征谱线·····	169
第八节 高压汞灯的特征谱线·····	169
第九节 苯蒸气的吸收光谱·····	170
参考文献·····	170
附录一 国内外主要高档紫外可见分光光度计一览·····	171
附录二 国内外主要中高档紫外可见分光光度计一览·····	172
附录三 国内外主要中低档紫外可见分光光度计一览·····	173
附录四 国内外主要普及型紫外可见分光光度计仪器一览·····	174
附录五 有关的其他重要资料·····	175

第一章 概 论

紫外可见分光光度法是根据被测量物质分子对紫外可见波段范围（150～800nm）单色辐射的吸收或反射强度来进行物质的定性、定量或结构分析的一种方法。紫外可见分光光度法从开始到现在，经历了一个漫长的、曲折的过程。

一、分光光度法

分光光度法的使用始于牛顿（Newton）。早在 1665 年牛顿做了一个惊人的实验：他让太阳光透过暗室窗上的小圆孔，在室内形成很细的太阳光束，该光束经棱镜色散后，在墙壁上呈现红、橙、黄、绿、蓝、靛、紫的色带。这色带就称为“光谱”。牛顿通过这个实验，揭示了太阳光是复合光的事实。

1815 年夫琅和费（J. Fraunhofer）仔细观察了太阳光谱，发现太阳光谱中有 600 多条暗线，并且对主要的 8 条暗线标以 A、B、C、D、E、F、G、H 符号。这就是人们最早知道的吸收光谱线，被称为“夫琅和费线”。但当时对这些线还不能作出正确的解释。

1859 年本生（R. W. Bunsen）和基尔霍夫（G. R. Kirchhoff）发现由食盐发出的黄色谱线的波长和“夫琅和费线”中的 D 线波长完全一致，才知道一种物质所发射光的波长（或频率），与它所能吸收的波长（或频率）是一致的。

1862 年密勒（Miller）应用石英摄谱仪测定了 100 多种物质的紫外吸收光谱。他把光谱图表从可见区扩展到了紫外区，并指出吸收光谱不仅与组成物质的基团有关，而且与分子和原子的性质有关。此后，哈托莱（Hartolay）和贝利（Bailey）等人又研究了各种溶液对不同波段的截止波长。并发现与吸收光谱相似的有机物质，它们的结构也相似。并且可以解释用化学方法所不能说明的分子结构问题，初步建立了分光光度法的理论基础，以此推动了分光光度计的发展。1918 年美国国家标准局研制成了世界上第一台紫外可见分光光度计（不是商品仪器，很不成熟）。此后，紫外可见分光光度计被不断改进，很快在各个领域的分析工作中得到了应用。

朗伯（J. H. Lambert）早在 1760 年就发现物质对光的吸收与物质的厚度成正比，后被人们称之为朗伯定律；比耳（A. Beer）在 1852 年又发现物质对光的吸收与物质的浓度成正比，后被人们称之为比耳定律。在应用中，人们把朗伯定律和比耳定律结合起来，称之为朗伯-比耳定律。今天讲的比耳定律，