

仪 器 分 析

(中)

7
辽宁大学化学系分析化学专业

一九七六年五月

目 录

第五章 荧光分析法.....	1
第一节 概述.....	1
第二节 荧光定量分析的基本原理及方法.....	4
第三节 影响荧光分析的因素.....	7
第四节 荧光分析法的仪器设备.....	1 1
第五节 荧光分析的应用.....	1 8
第六章 红外吸收光谱法.....	2 3
第一节 原理.....	2 5
第二节 红外分光光度计的构造.....	4 5
第三节 操作.....	6 3
第四节 红外分光光度法的应用.....	7 0
第五节 傅里叶变换光谱——新进展.....	9 4
第七章 X-射线荧光光谱法及电子探针.....	1 13
第一节 X-射线荧光光谱法的特征.....	1 13
第二节 原理.....	1 14
第三节 X-射线荧光光谱的记录原理.....	1 22
第四节 定量分析方法.....	1 28
第五节 影响测定的各种因素.....	1 30
第六节 应用.....	1 40
第七节 电子探针X-射线微区分析法(简介).....	1 53

第八章 质谱法及离子探针.....	160
第一节 质谱法的特征.....	160
第二节 原理.....	162
第三节 质谱仪.....	170
第四节 有机质谱的应用.....	172
第五节 固体质谱(简介).....	174
第六节 离子探针微区分析法(简介).....	180

第五章 荧光分析法

自然界中某些物质吸收了入射光的能量后，能发射出不同强度的比入射光波长稍长的光线。而当入射光停止照射时，该光线很快消失。这种光线称为荧光。

有些物质吸收了X光后，发射出波长比吸收的X光的波长稍长的X光，这称为X光荧光；有些物质吸收了红外光后，发射出波长比吸收的红外线波长稍长的红外光，这称为红外光荧光；有些物质吸收了紫外光后发出波长较长的紫外光或可见荧光或吸收了波长较短的可见光后发出波长较长的可见荧光，这是一般所谈的荧光。荧光分析法是根据这种荧光而建立起的一种分析方法。本章主要介绍分子荧光。

第一节 概 述

世界上物质种类繁多，为什么只有部分物质能产生荧光呢？这首先需从物质结构来解释。

能够产生荧光的物质，其分子必须具有与所照射的光线相同的频率也就是必须有一个如图5—1所示的吸收结构。大多数荧光物质的分子在室温时均处于基态的最低振动能级。当受到紫外线照射时，吸收了和它所具有的特征频率相一致的光线，激发到第一电子激发态或第二电子激发态中各个不同的振动能级。（如图5—1中a和b）。被激发到第一或第二电子激发态的各个振动能级的分子，由于和同类分子或其它分子撞击消耗能量，通过无辐射跃迁急剧降落至第一电子激发态的最低振动能级。（如图5—1中c）。由第一电子激发态的

仪

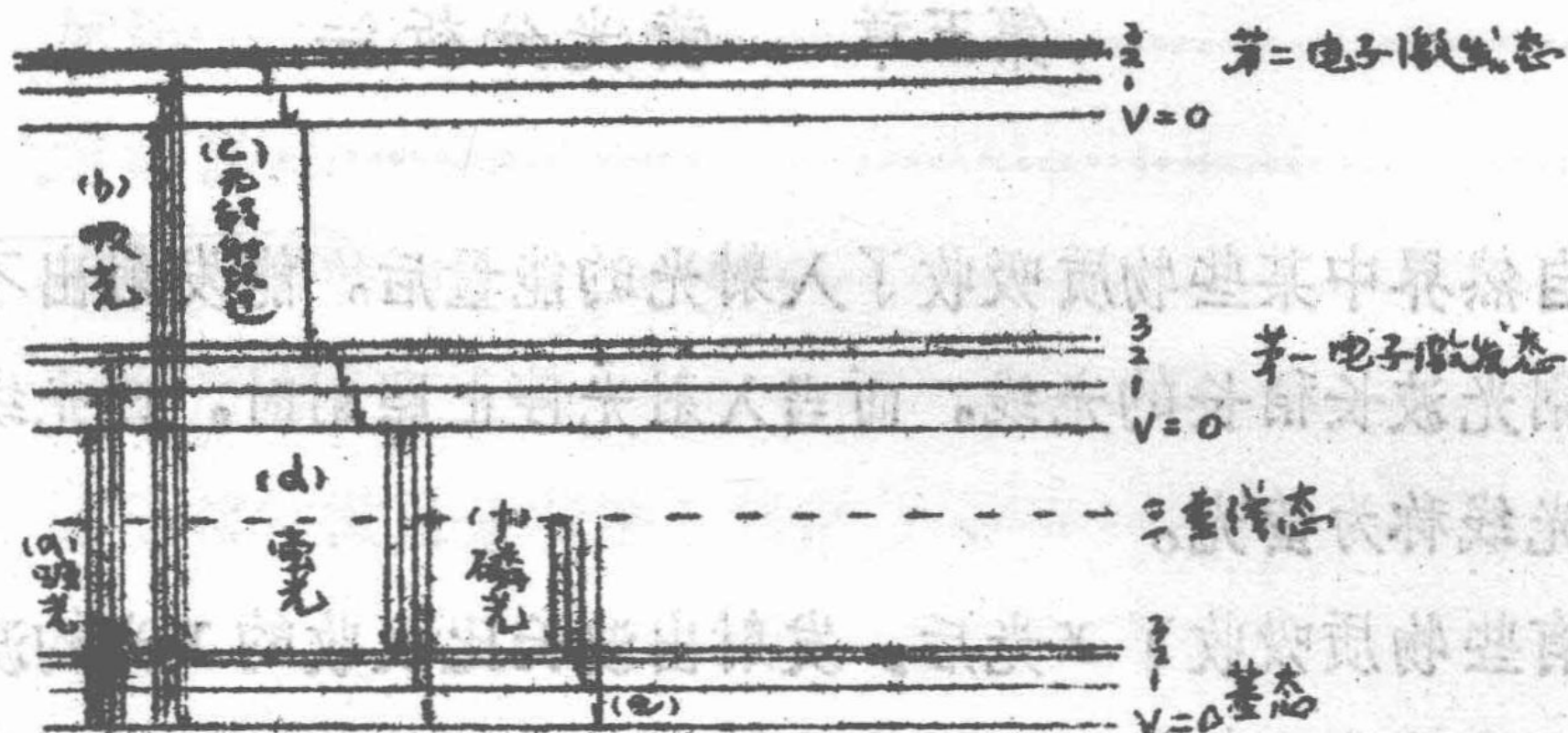


图 5—1 荧光，磷光光谱跃迁示意图

最低振动能级继续跃迁到基态的各个不同振动能级时，所发出的光就是荧光。（如图 5—1 中 c）。到达基态的各个不同振动能级的分子再通过无辐射跃迁，最后回到基态的最低振动能级。（如图 5—1 中 e）。

许多能吸光的物质，由于将吸收的能量消耗于与溶剂分子或其它溶质分子之间的相互碰撞，致使荧光效率不高，无法发出荧光。由此可见，荧光的产生取决于吸收结构和高的荧光效率。所谓的荧光效率系指发出荧光的量子数和吸收激发光量子数的比值。

$$\text{荧光效率} = \frac{\text{发出的量子数}}{\text{吸收的量子数}}。$$

如激发分子在下降至第一激发态的最低振动能级后，并不直接由此降落到基态的任何振动能级，而转入亚稳的三重线级，在这里逗留时间较长（有时长达 1 秒以上），然后跃迁到基态的任何振动能级。从三重线级跃迁到基态所发出的光称为磷光（如图 5—1 中 f）。

当入射光的频率太低，不足以使分子中电子激发到电子激发态，

但仍能被该分子所吸收，而把电子激发至基态中其他较高的振动能级。因为没有发生电子的跃迁，所以被激发的电子将在很短促的时间内（约 10^{-12} 秒）返回原来能级。而在各种不同方向放出和激发光同样波长的光。所放出的光称为瑞利散射光。

若分子吸收了光，它们的电子被激发到基态中的其他较高的振动能级后，在很短促的时间内（约 10^{-12} 秒）返回到比原来稍高或稍低的能级。所发生的散射光的波长略异于激发光的波长，这种散射光称为拉曼光。

瑞利散射光和拉曼光对荧光分析有显著影响，常常成为荧光分析方法灵敏度的主要限制因素，必须给予足够的重视。荧光，磷光，瑞利散射光和拉曼光的异同点列于表5—1供参考。

表 5—1

	荧 光	磷 光	瑞利散射光	拉 曼 光
能级范围	电子能级和 振动能级	电子能级和 振动能级	振动能级	振动能级
跃迁途径	从第一电子激 发态的最低振 动能级跃迁回 基态各振动能级	从三重线级 跃迁到基态 各振动能级	从基态的激发 态的振动能级 跃迁回原振动 能级	从基态的激发态 的振动能级跃迁 到比原来稍高或 稍低的能级
波 长	比激发光波长 稍长些	比激发光波长 长些	与激发光波长 相同	略异于激发光的 波长
光的强度			与波长的四次 方成反比。比 拉曼光强得多	为荧光的数千分 之一
发光时间	10^{-8} 秒	1 秒	10^{-12} 秒	10^{-12} 秒

二、荧光分析的特点

荧光分析是利用某些物质被紫外光照射后所发生的，能够反映出该物质特性的荧光，对该物质进行定性分析或定量分析的一种发光分析法。已被广泛地应用在工业、农业、医药、卫生和科学研究各个领域，测定的元素达六十余种，测定的有机化合物为数更多。

荧光分析法的灵敏度高达 10^{-10} 克，比分光光度法高二至三个数量级。与原子吸收法相比，因元素不同而互有高低，例如对铀、硼、硒、镍等元素的测定则比原子吸收法优越。

荧光分析的另一优点是选择性高，例如在大量锆存在下测定铅及在钐系元素存在下测定铈。特别是对有机物的分析，选择性高的特点较为突出。

另外，方法快捷，重现性好，取样容易，试样需要量少等也是荧光分析的优点。

但荧光法在操作上需要严格控制条件，哪怕是微不足道的外来杂质，也会产生相当强的发光，影响分析结果，而且仪器光源的亮度和液槽透光性质的改变等都会造成分析上的误差，使其应用受到一定的限制。

第二节 荧光定量分析的基本原理与方法

一、荧光强度和溶液浓度的关系

在紫外光照射下，溶液产生的荧光强度和该溶液的吸光程度以及溶液中荧光物质的荧光效率有关。而在一定条件下，溶液的吸光程度，取决于荧光物质的含量，这样就可通过测量其荧光的强度来测定物质的含量。

令 I_0 为入射的紫外光的强度

I_t 为透过液槽的紫外光的强度

C 为溶液中被测物质的浓度

l 为溶液的厚度

则被溶液吸收的紫外光的强度 $\Delta I = I_0 - I_t$

根据比耳定律 $I_t = I_0 \cdot 10^{-kcl}$

$$\Delta I = I_0 - I_0 \cdot 10^{-kcl} = I_0 (1 - 10^{-kcl}) = I_0 (1 - e^{-2.3kcl})$$

一定条件下荧光强度 F 与吸光强度 ΔI 成正比关系

$$F = K \Delta I$$

$$= k I_0 (1 - e^{-2.3kcl}) \dots \dots \dots (5-1)$$

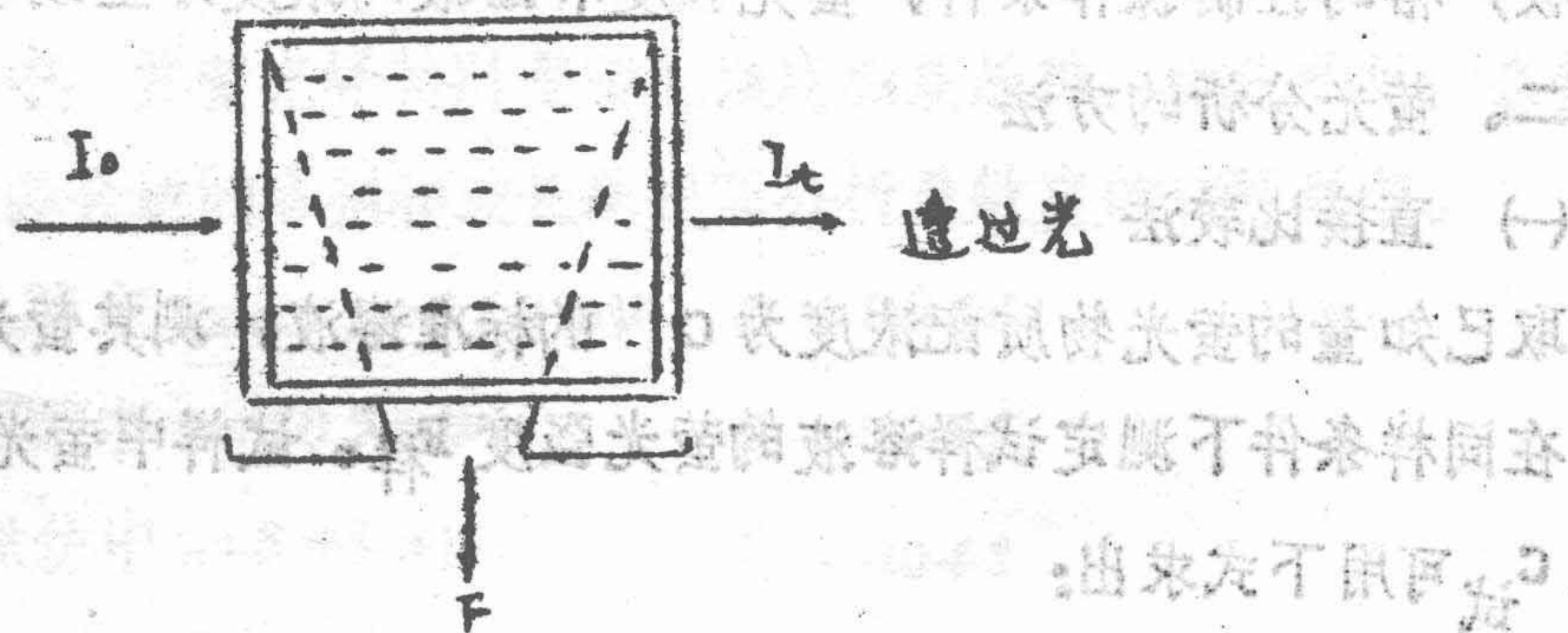


图 5-2 溶液的荧光

若 C 值很小, 当 $kcl < 0.05$ 时 $e^{-2.3kcl} = 1 - 2.3kcl +$

$$+ \frac{(-2.3kcl)^2}{2!} + \dots \dots$$

$$= 1 - 2.3kcl$$

将上式代入 4-1 式

$$\begin{aligned} \text{则 } F &= kI_0 [1 - (1 - 2.3 \epsilon c l)] \\ &= kI_0 \cdot 2.3 \epsilon c l \dots\dots\dots (5-2) \end{aligned}$$

目前在荧光分析中，通常采用克分子吸光系数 ϵ 而很少采用比吸光系数 k ，采用荧光效率 ϕ 而不用荧光比率 K ，因此，上式可改写为：

$$F = \phi \cdot 2.3 I_0 \epsilon c l \dots\dots\dots (5-3)$$

溶于某一溶剂的一种荧光物质，其荧光效率 ϕ 和克分子吸光系数 ϵ 是个定值。若入射光的强度 I_0 和溶液的厚度 l 不变，而被测物质浓度很低时，则物质产生的荧光强度 F 与被测物质的浓度 C 成正比，即 $F = A C \dots\dots\dots (5-4)$

(5-3) 式是在 $\epsilon c l < 0.05$ 时推导出来的，(5-4) 式，只有在 ϕ 、 I_0 、 ϵ 、 l 都是定值时才成立，由此可见，只有在极稀的溶液中，极严格的控制操作条件，荧光强度和溶液的浓度才呈线性关系。

二、荧光分析的方法

(一) 直接比较法

取已知量的荧光物质配浓度为 C 的标准溶液，测其荧光强度 $F_{\text{标}}$ ，然后在同样条件下测定试样溶液的荧光强度 $F_{\text{样}}$ 。试样中荧光物质的浓度 $C_{\text{试}}$ 可用下式求出：

$$C_{\text{样}} = \frac{F_{\text{样}}}{F_{\text{标}}} \cdot C_{\text{标}} \dots\dots\dots (5-5)$$

但实际上荧光强度和溶液浓度并不完全呈线性关系，所以用直接比较法常带来较大的误差，很少被采用。在荧光分析中常用的是工作曲线法。

(二) 工作曲线法

以已知量的标准物质经过和试样一样的处理后，配成一系列的标准溶液 $C_1, C_2, C_3, \dots\dots C_n$ ，将标准溶液中浓度最大的 C_n 的荧光

强度读数调节至10000,并将试剂空白的读数调节至0,然后测定系列中其他各标准溶液的荧光强度 $F_1, F_2, F_3 \dots$ 以荧光强度对标准溶液绘制工作曲线。然后,测定试样溶液的荧光强度,再从工作曲线上求出试样中荧光物质的含量。

第三节 影响荧光分析的因素

荧光分析是建立在荧光强度和溶液浓度呈线性关系的基础上的一种分析方法,因此,凡是能影响荧光强度的因素,都将影响荧光分析的准确度和灵敏度。

一、溶剂对荧光强度的影响

同一种荧光物质在不同的溶剂中,其荧光谱的位置和强度都可能会有显著的不同,例如8-巯基喹啉在乙腈,丙酮,氯仿和四氯化碳等不同溶剂中,其荧光峰特别是荧光强度相差悬殊,由此可见,在荧光分析中选择合适的溶剂和波长是提高分析灵敏度的重要环节。

A-在乙腈中 $\lambda_{max} = 410 m\mu$ $\phi = 0.064$

B-在丙酮中 $\lambda = 405 m\mu$ $\phi = 0.055$

C-在氯仿中 $\lambda = 398 m\mu$ $\phi = 0.041$

D-在四氯化碳中 $\lambda_{max} = 390$ $\phi = 0.002$

溶质浓度为 $1 \times 10^{-5} M$, 温度 $24^\circ C$

二、温度对荧光强度的影响

温度对于溶液的荧光强度有着显著的影响。一般荧光物质的溶液随着溶液温度的降低而荧光效率升高和荧光强度增大，图4—4是菲绕啉在不同温度下荧光改变的情况，又如荧光素钠的乙醇溶液在 0°C 以下每降低 10°C ，荧光效率约增加 3% ，冷却至 -80°C 时，荧光效率接近 100% 。为了防止在测定过程中溶液温度变化而引起荧光强度的改变，在新式的荧光计中，液槽的四周常设有冷却水套或配以恒温装置。为了获得更高的灵敏度，可给荧光计的液槽配上低温装置。

三、激发光的照射对荧光强度的影响

不同的荧光物质对激发光的稳定性不一样，有些荧光物质的溶液在激发光较长时间的照射下不致发生显著变化，但也有些荧光物质在稀溶液中受到光线的照射后，将所吸收的光线的能量用于断裂分子内的一个键或几个键，使该物质遭到分解，这种所谓的感光分解作用，导致荧光强度急剧降低。

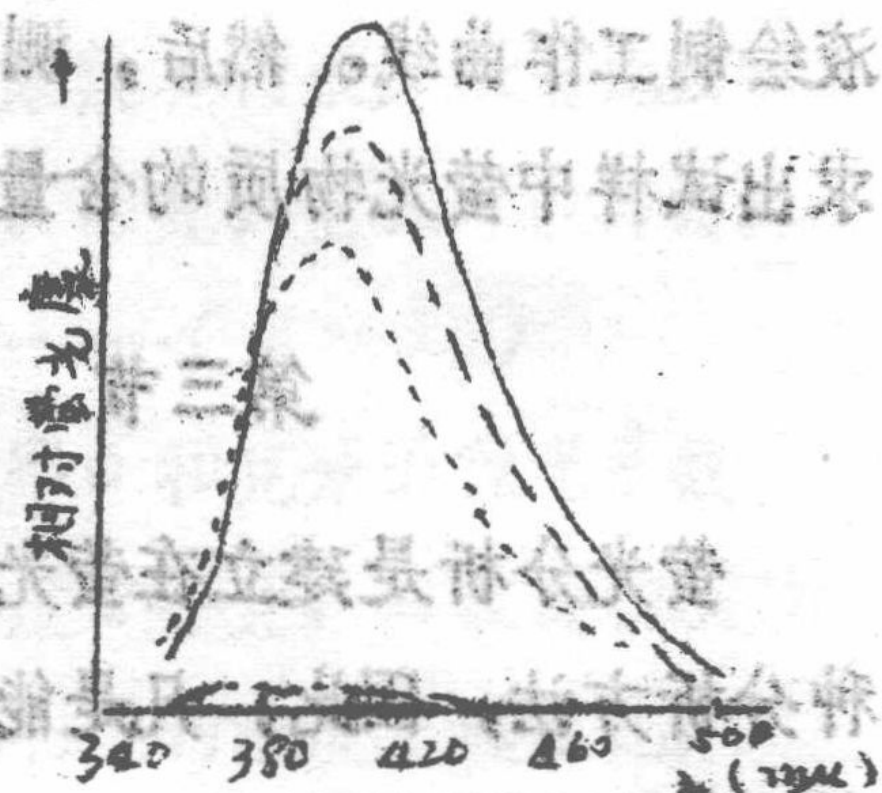


图5-3 8-基 啉在不同溶剂中的荧光光谱

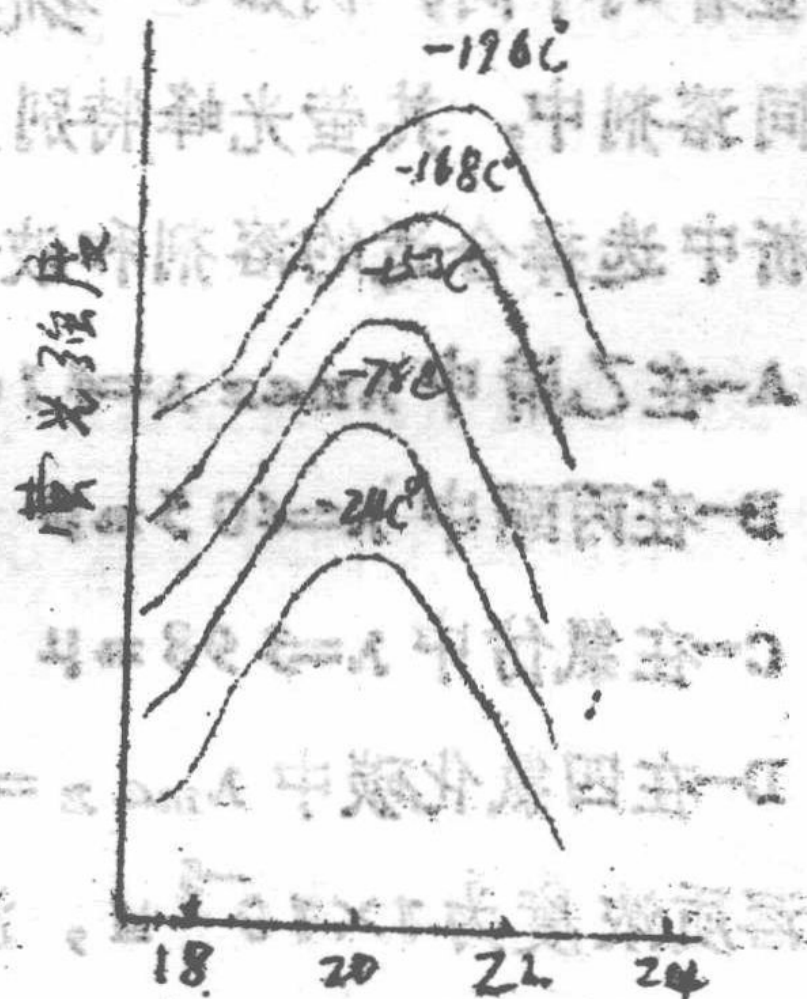


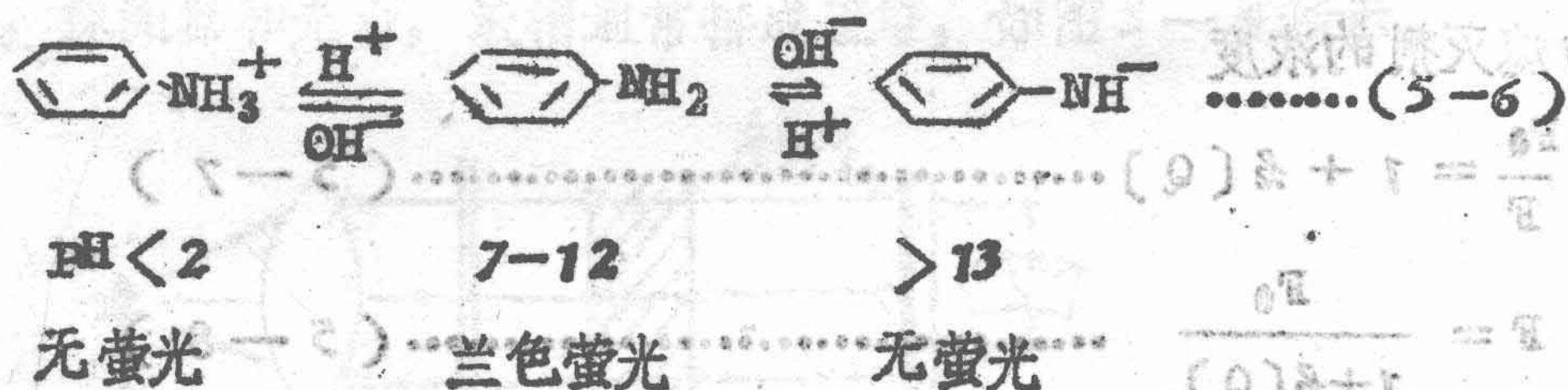
图5-4 菲绕啉在不同温度的荧光光谱（在联二苯中）

在荧光分析中增强光源强度可以提高分析灵敏度，但增强激发光强度常常加剧荧光物质的感光分解作用导致降低分析灵敏度，因此，提高荧光分析的灵敏度应着重于探测器的灵敏度的提高，而不在于激发光源强度的增强。

四、溶液的PH对荧光强度的影响

溶液的PH对荧光强度的影响是很大的。如果荧光物质为弱酸或弱碱而它们未离解的分子和离子的荧光性质又不同时，溶液PH值的改变对溶液的荧光强度将有很大的影响。

例如苯胺在PH 7~12 的溶液中会发生兰色荧光，而在PH < 2 的溶液和PH > 13 的溶液中都不发生荧光。



如果金属离子与有机试剂形成的不同配位数的络合物，其荧光性质不一样，则溶液的PH值的改变会引起络合物组成的改变，从而影响它们的荧光强度。

例如： Ga^{+3} 离子与邻，邻一二羟基偶氮苯在PH 3-4 溶液中形成1:1 络合物，这一组成的络合物会发生荧光；而在PH 6-7 溶液中则形成1:2 络合物，这一组成的络合物不会发生荧光。

另外溶液的PH值的改变还会影响到荧光物质的水解和环，的断裂，引起荧光强度的改变。

五、溶液荧光的熄灭对荧光强度的影响。

溶液中若含有卤素离子，重金属离子，氧分子，以及硝基化合物

等所谓的熄灭剂，它们和荧光物质分子之间发生相互作用而引起荧光物质分子的荧光效率降低或荧光物质激发态的寿命缩短，从而导致荧光强度的降低。

熄灭剂与荧光物质分子之间的相互作用是有选择性的，只要熄灭剂分子和荧光物质分子之间具有高度的亲合性，则痕量熄灭剂的存在都将使溶液的荧光强度显著降低甚至完全熄灭。为此在荧光分析中常须考虑到熄灭剂的分离。

荧光熄灭有若干种类型，其熄灭作用熄灭剂的种类和浓度有关。

令 F_0 为未加入熄灭剂时的荧光强度

F 为加入一定浓度的熄灭剂时的荧光强度

Q 为熄灭剂的浓度

$$\text{则 } \frac{F_0}{F} = 1 + k(Q) \dots\dots\dots (5-7)$$

$$F = \frac{F_0}{1+k(Q)} \dots\dots\dots (5-8)$$

式中 k 为常数。由 4—8 式可见：增大溶液中熄灭剂的浓度，将降低溶液的荧光强度即荧光熄灭作用加大。

上面讨论的是溶液中有荧光熄灭剂存在时的情况，即使溶液中没有荧光熄灭剂，在荧光物质溶液的浓度大于 1 克/升时，也常发生自熄灭现象。

综上所述，对试样溶液进行稀释，可以消除或降低荧光的熄灭作用，但是溶液经稀释后荧光强度随之降低，这可通过提高光源强度和探测器的效能加以补救。应当说明用来稀释的溶剂本身溶解一定量的氧气，用它稀释溶液并不能消除溶液中溶解氧所引起的荧光熄灭作用，为此新式荧光计附有用氮气鼓泡以消除氧的熄灭作用的附件。

第四节 荧光分析法的仪器装置

在荧光分析中，所用的仪器可分为目测荧光计，光电荧光计和荧光分光光度计等。每一种均由光源，滤光片或单色器，液槽及探测器等部件组成，与比色计和紫外可见分光光度计颇为相似，只是探测器排列的位置不同而已。比色和分光光度测量的是透射光的强度，所以探测器，液槽和光源排列在一条直线上，如图5—5所示。而荧光分析测量的是荧光物质在入射光照射下产生的荧光强度，若三者排成一条直线，探测器测量的是光源透射光和荧光强度之和，即使在液槽后加一个滤光片滤去紫外光，其效果也不佳，为此荧光计和荧光分光光度计中，探测器和光源，液槽通常排成直角，如图5—6所示。

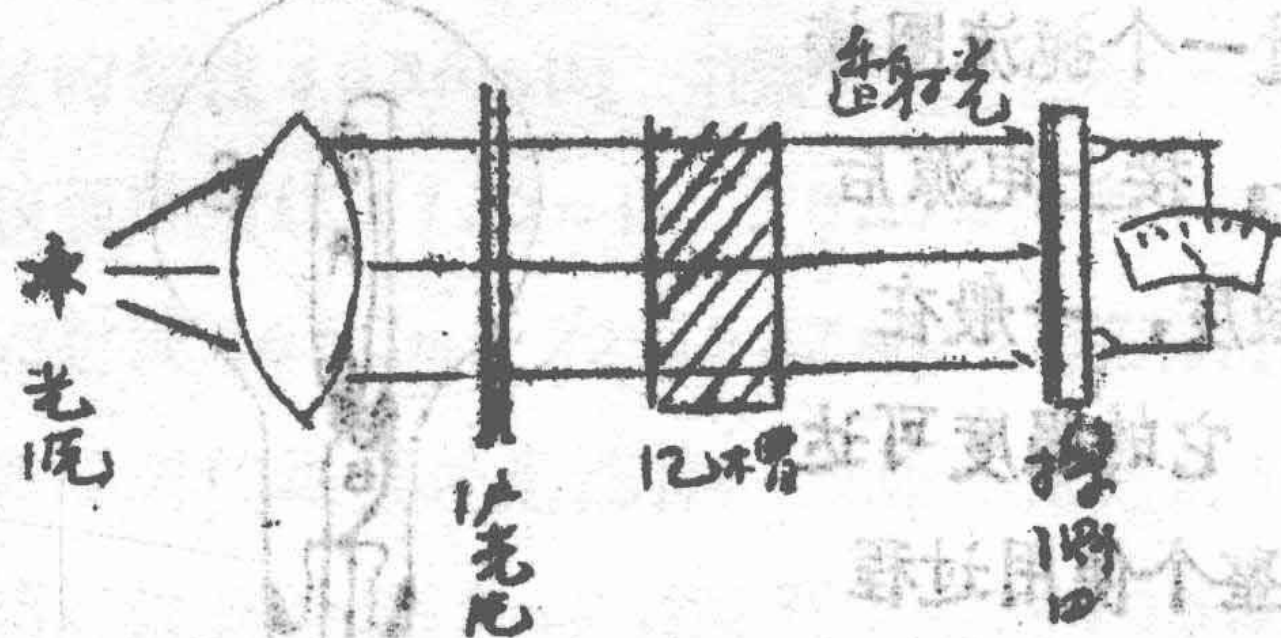


图5—5 比色分析光程示意图

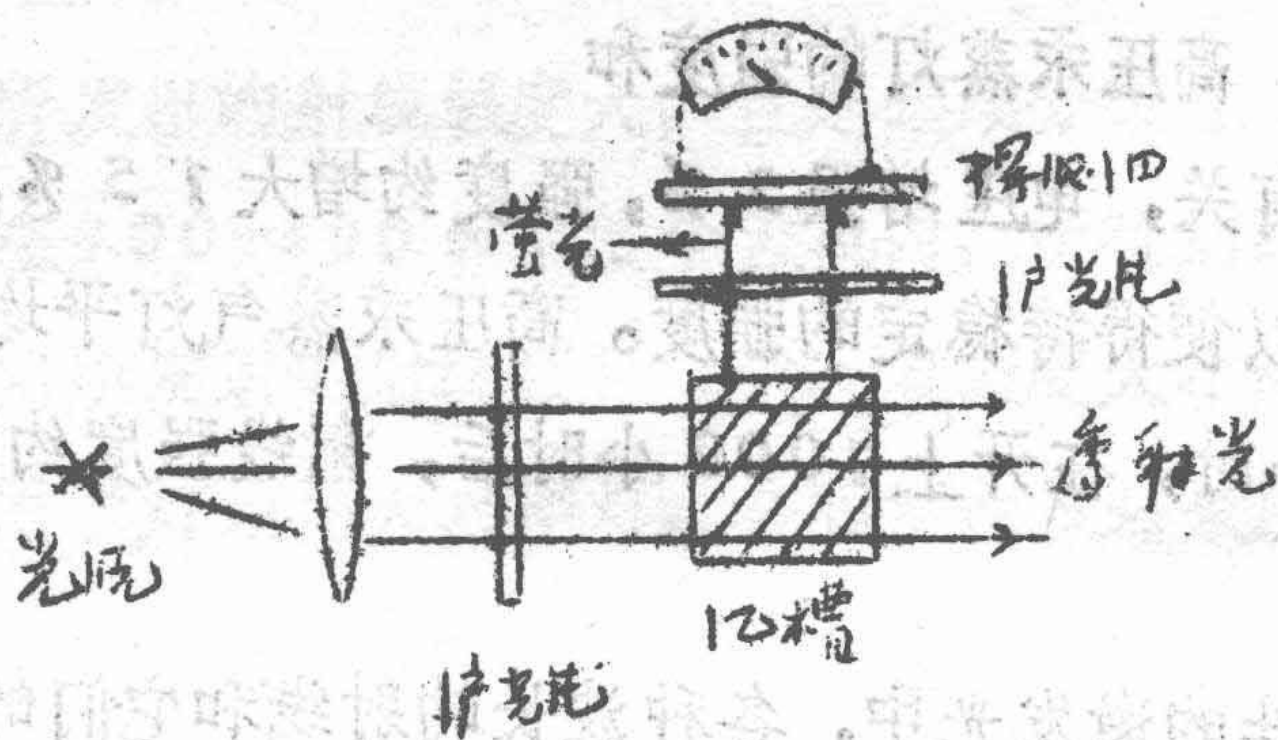


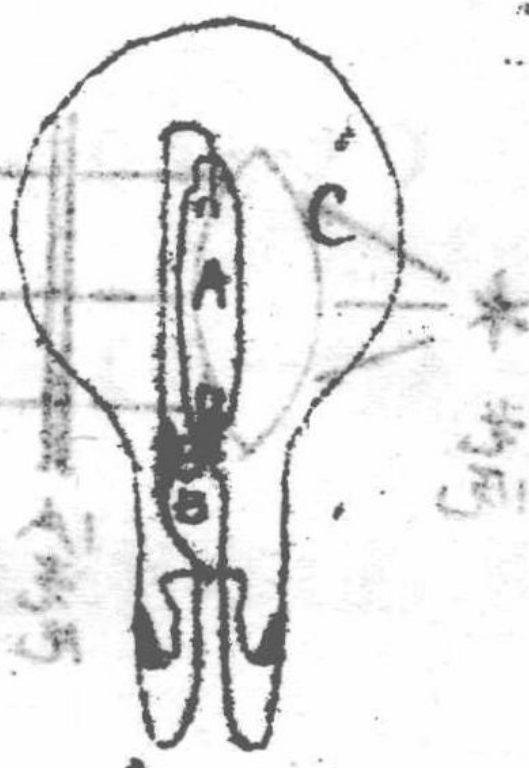
图5—6 荧光分析光程示意图

一、光源

太阳辐射，电弧，火花，白炽灯氢灯等都能激发荧光，现在荧光分析中应用最广的光源是高压汞蒸气灯，近年来氙灯的应用也日益增多。

常用的高压汞蒸气灯的构造如图4—7所示。图中A为一个小石英管，管内装有两个丝极和汞滴。当其中一个丝极被通过电阻B的电流所加热后，汞蒸发为蒸气，在石英管中两极之间形成了汞弧，发生了极为明亮的弧光。小石英管A和电阻B一起装置在一个抽成真空的玻璃泡C中。玻璃泡可用普通玻璃或用含有氧化镍的黑色玻璃制成，这种玻璃只让365mμ强汞线及少许其它汞线通过。

高压汞蒸气灯使用时通过一个扼流圈接上200—250伏特电路，接上电源后约需5分钟才能达到高强度，一般在10分钟后才开始使用，它的强度可达800烛光/厘米²。在整个使用过程中不可关闭电源，如果使用过程中汞灯



熄灭，必须等待汞灯完全冷却后，才可以重新接上电源。高压汞蒸灯的强度和外加电压的大小有关，电压增强5%，强度约增大15%，所以使用时须采用稳压器以便得持稳定的强度。高压汞蒸气灯平均寿命约1500—3000小时，在开上1000小时后，射线强度约降低三分之一。

在汞弧所发生的激发光中，各种波长的射线和它们的相对强度如图5—8所示，由图可见汞弧在可见光区有一对强黄线5790和

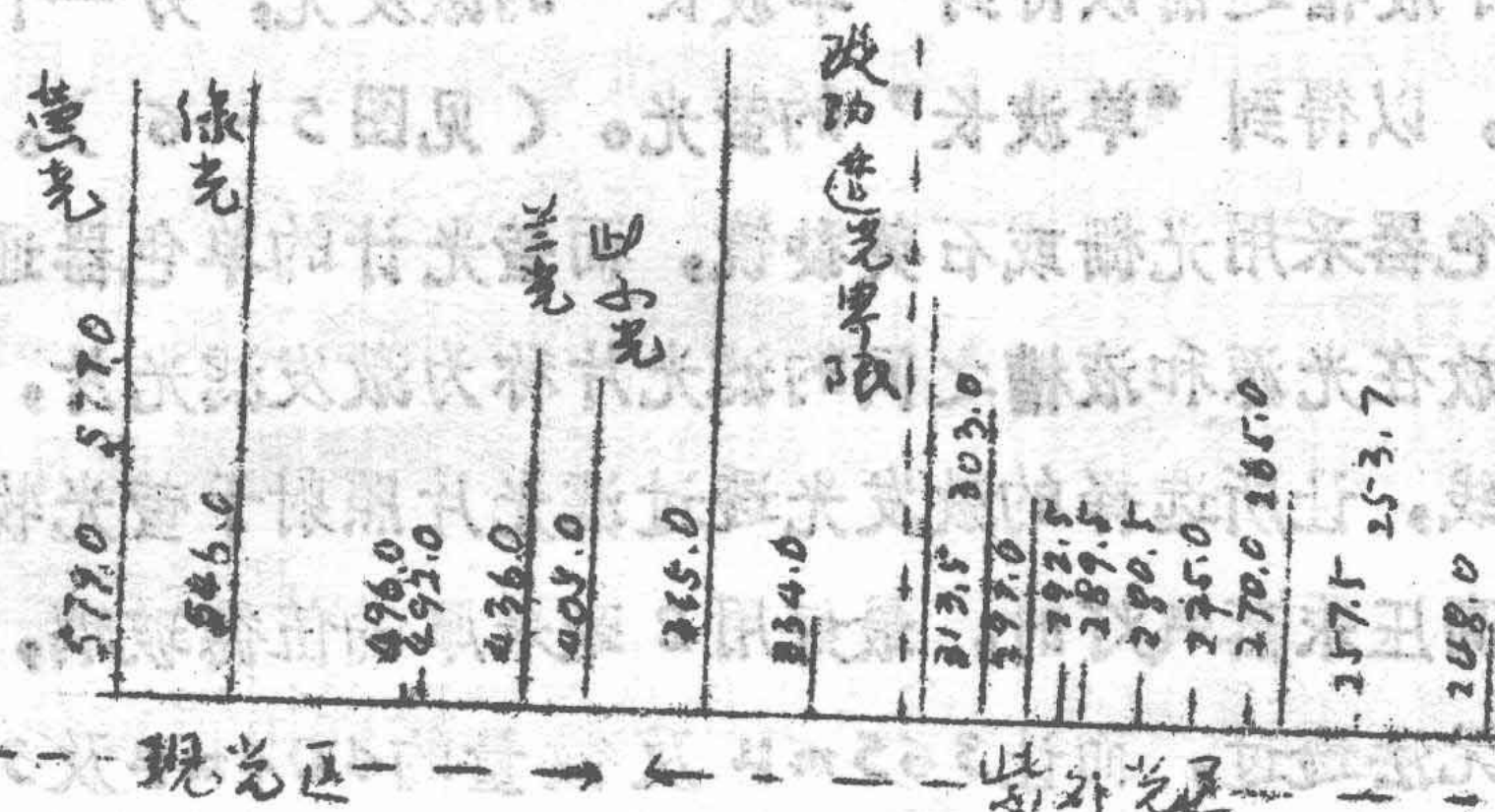


图5-8 汞弧射线的波长和比较强度

577.0nm 一条强绿线 546.1nm 还有一条较强的兰线436.0nm和一条较强的紫线405.0nm；在紫外光区有一条很强的射线365.0nm，还有较强的射线313.5nm，303.0nm和297.0nm；在远紫外区有较弱的射线265.0nm和253.7nm。玻璃灯泡会把波长小于310nm，会伤害眼睛的远紫外光滤掉，只让可见光及365nm射线透过。氧化镍玻璃灯泡只让365nm射线及少量的405nm和313.5nm射线透过。在荧光分析中最常用的激发光是365nm射线，其次是405nm紫线及436nm兰线。

氙弧灯所发出的射线强度大，且是连续分布在250-700nm光域内，而且在300-400nm整个波段内，所有射线的强度几乎相等，不象汞蒸气灯所发射的射线数目很少，且强度大小悬殊，这是它的优点，但是采用氙灯须用大功率灯，在稳定性及热效应方面还存在着不少问题。

二、单色器

紫外可见分光光度计和光电比色计只有一个单色器，以得到“单

波长”的入射光，而荧光分光光度计和光电荧光计通常有两个单色器，一个单色器置于液槽之前以得到“单波长”的激发光，另一个单色器置于液槽之后，以得到“单波长”的荧光。（见图5—6）。荧光分光光度计的单色器采用光栅或石英稜镜，而荧光计的单色器通常采用两个滤光片，放在光源和液槽之间的滤光片称为激发滤光片，用来滤去不必要的光线，让所选择的激发光透过滤光片照射于荧光物质的试样上。当采用高压汞蒸气灯时，最好用2毫米厚的伍德玻璃，它几乎使全部可见光无法透过，而让 $365\text{m}\mu$ 及微量的 $404\text{m}\mu$ 及 $3131\text{m}\mu$ 射线透过，在采用 $405\text{m}\mu$ 紫线和 $436\text{m}\mu$ 兰线复合光为激发光时，采用紫色滤光片以滤去 $365\text{m}\mu$ 射线；在采用 $436\text{m}\mu$ 兰线为激发光时，则要采用紫色及绿色复合滤光片以滤去 $365\text{m}\mu$ 及 $405\text{m}\mu$ 射线。

放在液槽和探测器之间的滤光片称为荧光滤光片，用来滤去由激发光所引起的反射光，瑞利散射光和拉曼光以及由溶液中杂质所产生的荧光。至于选取何种滤光片，须视要滤去的波长和滤光片的吸收曲线而定。例如用安息香和硼酸盐在碱性介质中形成的络合物，测定硼时其激发线峰值波长在 $370\text{m}\mu$ ，荧光峰在 $480\text{m}\mu$ 为此须用高压汞蒸气灯中 $365\text{m}\mu$ 射线作激发光，当用 $365\text{m}\mu$ 激发光时，水产生 $416\text{m}\mu$ 的拉曼光干扰测定，这时选用的滤光片要在 $480\text{m}\mu$ 处有较大的透过率，且能滤去 $416\text{m}\mu$ 以下的激发光和水溶液产生的拉曼光。由图5—9胶膜滤光片的吸收曲线可见，602或603胶膜滤光片在 $480\text{m}\mu$ 处有较大的透过率，而不透过 $450\text{m}\mu$ 以下的射线，为此，应选取602或603作为用安息香测定硼的荧光滤光片。

荧光分析所用的滤光片，有玻璃滤光片，胶膜滤光片和干涉滤光片三种。玻璃滤光片通带宽度太大，品种太少，但经久耐用；胶膜滤光片通带宽度较小，品种较多，但不稳定，易褪色；干涉滤光片通带