

分析化学手册

〔美〕 J.A.迪安 主编



科学出版社
www.sciencep.com

第 5 章 电子吸收和发光光谱法

5.1 光谱法和光度法的信息	5.3
图 5.1 电磁辐射波谱	5.3
5.1.1 电磁辐射的种类	5.4
表 5.1 电磁辐射的化学符号与定义	5.4
表 5.2 波长换算表	5.5
5.1.2 定义与符号	5.5
表 5.3 透光率-吸光度换算表	5.6
表 5.4 标准光谱的透光率值	5.9
5.1.3 分光光度法的基本定律	5.9
5.1.4 特殊分光光度法	5.10
表 5.5 精密光度测量:直接法	5.11
图 5.2 差示(或扩展标尺)分光光度法	5.11
表 5.6 精密分光光度测量:间接法	5.12
5.1.5 多组分体系	5.12
表 5.7 多组分体系分析的同时分光光度法	5.13
5.1.6 分光光度分析中的误差及其最小化	5.13
图 5.3 浓度的相对误差曲线	5.14
5.1.7 差谱法	5.15
5.2 有机分析的分光光度法	5.15
表 5.8 代表性生色团的电子吸收带	5.15
表 5.9 光谱级溶剂的紫外截止波长	5.17
表 5.10 二烯烃类化合物的吸收波长	5.18
表 5.11 烯酮和二烯酮的吸收波长	5.19
表 5.12 紫外-可见分光光度法的溶剂校正	5.20
表 5.13 取代苯和杂芳族化合物在甲醇中的主要吸收带	5.20
表 5.14 在乙醇中取代苯衍生物主要吸收带的波长计算	5.20
5.3 元素测定的分光光度法	5.21
表 5.15 测定金属的分光光度法	5.21
表 5.16 测定非金属的分光光度法	5.35
5.4 光度滴定	5.41

图 5.4 光度滴定曲线的可能形状	5.41
表 5.17 无机物的光度滴定	5.43
表 5.18 有机物的光度滴定	5.45
5.5 比浊法和浊度法	5.46
5.5.1 原理	5.46
5.5.2 灵敏度和准确度	5.46
5.5.3 校正曲线	5.46
5.5.4 条件	5.46
5.5.5 应用	5.47
表 5.19 元素测定的比浊法(T)和浊度法(N)	5.47
5.6 荧光分析	5.48
5.6.1 与浓度相关的光致发光	5.48
5.6.2 影响光致发光的结构因素	5.49
5.6.3 荧光测量仪器	5.50
表 5.20 荧光量子产率值	5.50
5.6.4 发光法与紫外-可见分光光度法的比较	5.51
5.6.5 应用	5.51
表 5.21 无机物测定的荧光法	5.51
表 5.22 一些有机化合物的荧光光谱法	5.54
参考书目	5.61
5.7 磷光法	5.61
表 5.23 一些有机化合物的磷光光谱法	5.61
5.8 流动注射分析	5.64
参考书目	5.65
参考文献	5.65

5.1 光谱法和光度法的信息

电磁波能够传播能量,电磁波的表征采用其频率 ν ,即每秒钟通过某固定点的波数,以及其波长 λ ,即任两个连续波的波峰间距离.随频率增大,波长减小.反之,随频率减小,波长增大.

任何电磁波中,波长和频率是与光子能量 E 相关的,且涉及普朗克常量 h ($6.62 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}$)和辐射能在真空中的速度 c ($2.998 \times 10^{10} \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$):

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (5.1)$$

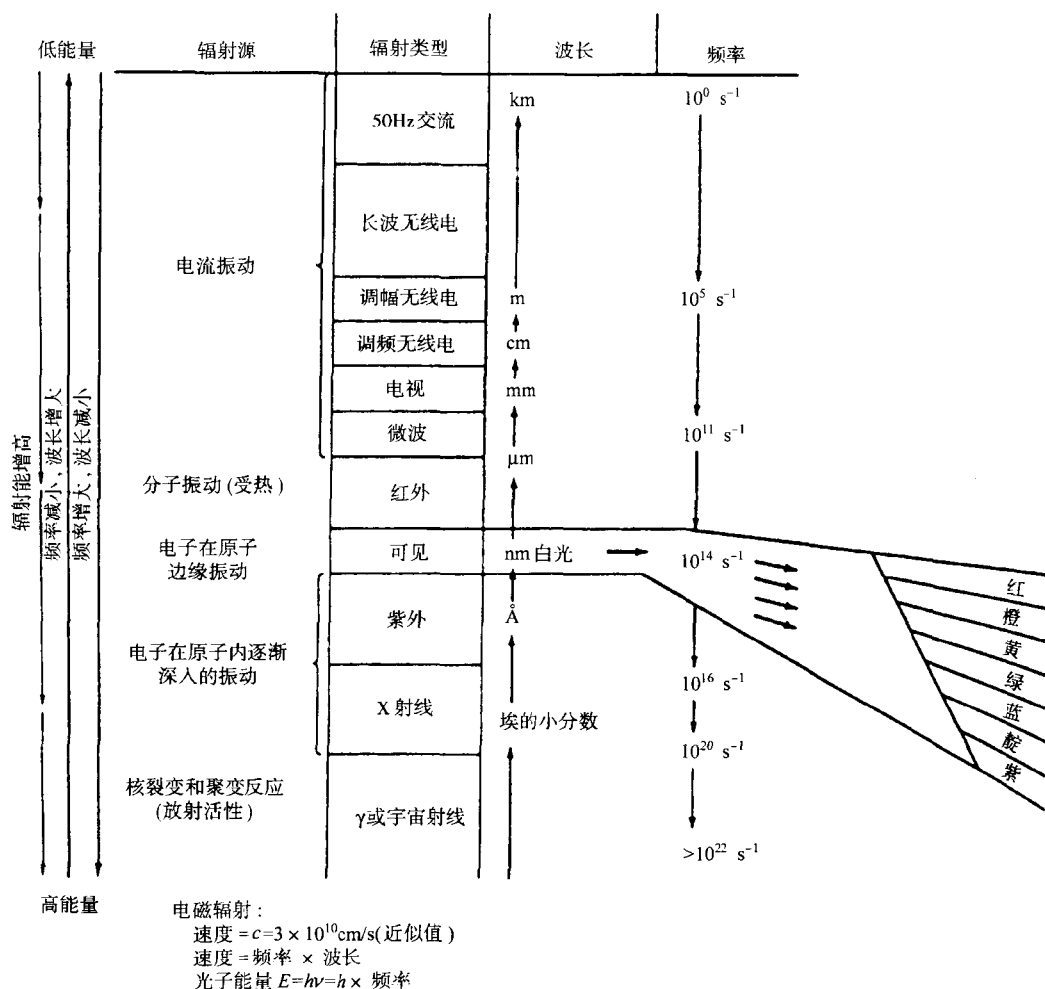


图 5.1 电磁辐射波谱

5.1.1 电磁辐射的种类

波长和频率的数值把电磁波谱中的一种辐射与其他辐射区别开来,电磁波谱是指从波长短至 10^{-9} nm 的宇宙射线一直扩展到长于 1000 km 的无线电波的广阔范围的辐射. 图 5.1 表示出电磁波谱的不同分区以及物质与辐射相互作用所致变化的特性.

在电磁波谱中波长以不同单位表示. 在试图决定等效值,或在阅读所采用单位不同于国际纯粹化学与应用化学联合会(IUPAC)推荐单位的老文献时,这可能引起混淆和错误. 表 5.1 列出了电磁辐射的符号,国际单位制(SI)单位与定义. 表 5.2 说明如何将波长在不同单位间互换.

表 5.1 电磁辐射的化学符号与定义

名 称	符 号	SI 单位	定 义
吸光度	α		$\alpha = \Phi_{\text{abs}}/\Phi_0$
吸收系数			
线性	a, K	m^{-1}	$a = A/l$
摩尔	ϵ	$\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$	$\epsilon = B/l$
光旋转角度	α	rad	
角频率	ω	$\text{s}^{-1}, \text{rad} \cdot \text{s}^{-1}$	$\omega = 2\pi\nu$
爱因斯坦跃迁几率			
自发发射	A_{nm}	s^{-1}	$dN_n/dt = -A_{nm}B_n$
受激吸收	B_{mn}	$\text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$	$dN_n/dt = \rho_\nu(\nu_{nm})B_{mn}N_m$
受激发射	B_{nm}	$\text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$	$dN_n/dt = \rho_\nu(\nu_{nm})B_{nm}N_n$
初级辐射常数	c_1	$\text{W} \cdot \text{m}^2$	$c_1 = 2\pi\hbar c_0^2$
频率	ν	Hz	$\nu = c/\lambda$
发光(被接收的辐射通量)	$E, (I)$	$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$	$E = d\Phi/dA$
摩尔折射度	R, R_m	$\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$	$R = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} V_m$
(吸收)光程长度	l	m	
旋光强度	$[\alpha]_D^\theta$	rad	$[\alpha]_D^\theta = \alpha/\nu l$
普朗克常量	h	J·s	
普朗克常量/ 2π	$\hbar$	J·s	$\hbar = h/2\pi$
辐射强度	I	$\text{W} \cdot \text{sr}^{-1}$	$I = d\Phi/d\Omega$
辐射功率,单位时间内的辐射能	Φ, P	W	$P = dQ/dt$
折射率	n		$n = c_0/c$
二级辐射常数	c_2	$\text{K} \cdot \text{m}$	$c_2 = \hbar c_0/k$
光速			
在介质中	c	$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	$c = c_0/n$
在真空中	c_0	$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	
透光率	T		$T = \Phi_{tr}/\Phi_0$
波长	λ	m	
波数			
在介质中	σ	m^{-1}	$\sigma = 1/\lambda$
在真空中	$\tilde{\nu}$	m^{-1}	$\tilde{\nu} = \nu/c_0 = 1/n\lambda$

表 5.2 波长换算表

为获得……的数目	乘 以			
	埃 (Å)	纳米 (nm)	微米 (μm)	毫米 (mm)
埃(Å)	1	10	10 ⁴	10 ⁷
纳米(nm ¹⁾)	10 ⁻¹	1	10 ³	10 ⁶
微米(μm ²⁾)	10 ⁻⁴	10 ⁻³	1	10 ⁻³
毫米(mm)	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻³	1
厘米(cm)	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁴	10 ⁻¹
米(m)	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁹	10 ⁻⁶	10 ⁻³

1) 较老的文献中常称为毫公丝;

2) 较老的文献中常称为公丝.

5.1.2 定义与符号

5.1.2.1 辐射功率

辐射功率(P)是单位时间内以电磁辐射形式传播的能量,以瓦(W)为单位表示.这正是光学检测器测量的物理量.不要把它与辐射强度(I)混淆,后者是单位立体角在一个时间周期内发射的辐射能,以瓦/球面度表示.

5.1.2.2 透光率

透光率(T)是透过样品的辐射光束功率(P)与入射光束功率(P_0)的比值,

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (5.2)$$

对分析家更有意义的是液池内容物的内在透光率,也就是当使用相同或匹配液池时,来自吸收介质的未被吸收的(被透过的)辐射功率与透过空白(通常为溶剂空白)的辐射功率的比值

$$T = \frac{P_{\text{sample}}}{P_{\text{blank}}} \quad (5.3)$$

百分透光率是将透光率乘以 100.

5.1.2.3 吸光度

吸光度(A)定义为

$$A = \log \frac{P_{\text{blank}}}{P_{\text{sample}}} = \log \frac{1}{T} \quad (5.4)$$

是透光率倒数的(以 10 为底)的对数.表 5.3 给出了透光率向吸光度的换算(和吸光度换算为透光率).表 5.4 所列的数值对检查分光光度计的光度标尺也是有用的.

5.1.2.4 比吸收系数

当吸光度定义为

$$A = abC \quad (5.5)$$

时,比例常数 a 称为比吸收系数,以单位 $\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 表示. 光程 b 以厘米(cm)为单位, C 为摩尔浓度.

5.1.2.5 摩尔吸光系数

摩尔吸光系数(ϵ),也称摩尔消光系数,是用以厘米为单位表示的光程 b 和吸光物质摩尔浓度 C 的乘积去除溶液吸光度:

$$A = \epsilon b C \quad (5.6)$$

式中, ϵ 以 $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 为单位.

表 5.3 透光率-吸光度换算表

经允许,引自 Meites, *Handbook of Analytical Chemistry*, 1963, McGraw-Hill.

本表给出 3 位有效数字的百分透光率值相对应的 4 位有效数字的吸光度值. 左栏和顶行列出百分透光率值. 例如, 8.4% 透光率相当于 1.076 的吸光度.

若百分透光率在 1 和 10 之间, 将该值乘以 10, 找到所得值对应的吸光度, 再加 1 可实现插入和提高准确度. 例如, 要找到 8.45% 透光率对应的吸光度, 先注意到 84.5% 透光率对应的吸光度为 0.0731, 所以 8.45% 透光率对应的吸光度为 1.0731. 对在 0.1 和 1 之间的百分透光率, 乘以 100, 找到所得值对应的吸光度, 再加 2.

反过来, 要找到介于 1 和 2 间吸光度对应的百分透光率, 将吸光度减去 1, 找到所得值对应的百分透光率, 再除以 10. 例如, 吸光度 1.219 换算为百分透光率时, 最好找到 0.219 吸光度对应于 60.4% 透光率, 除 10 后得所要的值 6.04%. 对介于 2 和 3 间的吸光度, 将吸光度减 2, 找到所得值对应的百分透光率, 再除以 100.

透光率/%	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
0	...	3.000	2.699	2.523	2.398	2.301	2.222	2.155	2.097	2.046
1	2.000	1.959	1.921	1.886	1.854	1.824	1.796	1.770	1.745	1.721
2	1.699	1.678	1.658	1.638	1.620	1.602	1.585	1.569	1.553	1.538
3	1.523	1.509	1.495	1.481	1.469	1.456	1.444	1.432	1.420	1.409
4	1.398	1.387	1.377	1.367	1.357	1.347	1.337	1.328	1.319	1.310
5	1.301	1.292	1.284	1.276	1.268	1.260	1.252	1.244	1.237	1.229
6	1.222	1.215	1.208	1.201	1.194	1.187	1.180	1.174	1.167	1.161
7	1.155	1.149	1.143	1.137	1.131	1.125	1.119	1.114	1.108	1.102
8	1.097	1.092	1.086	1.081	1.076	1.071	1.066	1.060	1.056	1.051
9	1.046	1.041	1.036	1.032	1.027	1.022	1.018	1.013	1.009	1.004
10	1.000	0.9957	0.9914	0.9872	0.9830	0.9788	0.9747	0.9706	0.9666	0.9626
11	0.9586	0.9547	0.9508	0.9469	0.9431	0.9393	0.9355	0.9318	0.9281	0.9245
12	0.9208	0.9172	0.9136	0.9101	0.9066	0.9031	0.8996	0.8962	0.8928	0.8894
13	0.8861	0.8827	0.8794	0.8761	0.8729	0.8697	0.8665	0.8633	0.8601	0.8570
14	0.8539	0.8508	0.8477	0.8447	0.8416	0.8386	0.8356	0.8327	0.8297	0.8268
15	0.8239	0.8210	0.8182	0.8153	0.8125	0.8097	0.8069	0.8041	0.8013	0.7986
16	0.7959	0.7932	0.7905	0.7878	0.7852	0.7825	0.7799	0.7773	0.7747	0.7721
17	0.7696	0.7670	0.7645	0.7620	0.7595	0.7570	0.7545	0.7520	0.7496	0.7471
18	0.7447	0.7423	0.7399	0.7375	0.7352	0.7328	0.7305	0.7282	0.7258	0.7235
19	0.7212	0.7190	0.7167	0.7144	0.7122	0.7100	0.7077	0.7055	0.7033	0.7011

续表

透光率/%	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
20	0.6990	0.6968	0.6946	0.6925	0.6904	0.6882	0.6861	0.6840	0.6819	0.6799
21	0.6778	0.6757	0.6737	0.6716	0.6696	0.6676	0.6655	0.6635	0.6615	0.6596
22	0.6576	0.6556	0.6536	0.6517	0.6498	0.6478	0.6459	0.6440	0.6421	0.6402
23	0.6383	0.6364	0.6345	0.6326	0.6308	0.6289	0.6271	0.6253	0.6234	0.6216
24	0.6198	0.6180	0.6162	0.6144	0.6126	0.6108	0.6091	0.6073	0.6055	0.6038
25	0.6021	0.6003	0.5986	0.5969	0.5952	0.5935	0.5918	0.5901	0.5884	0.5867
26	0.5850	0.5834	0.5817	0.5800	0.5784	0.5766	0.5751	0.5735	0.5719	0.5702
27	0.5686	0.5670	0.5654	0.5638	0.5622	0.5607	0.5591	0.5575	0.5560	0.5544
28	0.5528	0.5513	0.5498	0.5482	0.5467	0.5452	0.5436	0.5421	0.5406	0.5391
29	0.5376	0.5361	0.5346	0.5331	0.5317	0.5302	0.5287	0.5272	0.5258	0.5243
30	0.5229	0.5214	0.5200	0.5186	0.5171	0.5157	0.5143	0.5129	0.5114	0.5100
31	0.5086	0.5072	0.5058	0.5045	0.5031	0.5017	0.5003	0.4989	0.4976	0.4962
32	0.4949	0.4935	0.4921	0.4908	0.4895	0.4881	0.4868	0.4855	0.4841	0.4828
33	0.4815	0.4802	0.4789	0.4776	0.4763	0.4750	0.4737	0.4724	0.4711	0.4698
34	0.4685	0.4672	0.4660	0.4647	0.4634	0.4622	0.4609	0.4597	0.4584	0.4572
35	0.4559	0.4547	0.4535	0.4522	0.4510	0.4498	0.4486	0.4473	0.4461	0.4449
36	0.4437	0.4425	0.4413	0.4401	0.4389	0.4377	0.4365	0.4353	0.4342	0.4330
37	0.4318	0.4306	0.4295	0.4283	0.4271	0.4260	0.4248	0.4237	0.4225	0.4214
38	0.4202	0.4191	0.4179	0.4168	0.4157	0.4145	0.4134	0.4123	0.4112	0.4101
39	0.4089	0.4078	0.4067	0.4056	0.4045	0.4034	0.4023	0.4012	0.4001	0.3989
40	0.3979	0.3969	0.3958	0.3947	0.3936	0.3925	0.3915	0.3904	0.3893	0.3883
41	0.3872	0.3862	0.3851	0.3840	0.3830	0.3820	0.3809	0.3799	0.3788	0.3778
42	0.3768	0.3757	0.3747	0.3737	0.3726	0.3716	0.3706	0.3696	0.3686	0.3675
43	0.3665	0.3655	0.3645	0.3635	0.3625	0.3615	0.3605	0.3595	0.3585	0.3575
44	0.3565	0.3556	0.3546	0.3536	0.3526	0.3516	0.3507	0.3497	0.3487	0.3478
45	0.3468	0.3458	0.3449	0.3439	0.3429	0.3420	0.3410	0.3401	0.3391	0.3382
46	0.3372	0.3363	0.3354	0.3344	0.3335	0.3325	0.3316	0.3307	0.3298	0.3288
47	0.3279	0.3270	0.3261	0.3251	0.3242	0.3233	0.3224	0.3215	0.3206	0.3197
48	0.3188	0.3179	0.3170	0.3161	0.3152	0.3143	0.3134	0.3125	0.3116	0.3107
49	0.3098	0.3089	0.3080	0.3072	0.3063	0.3054	0.3045	0.3036	0.3028	0.3019
50	0.3010	0.3002	0.2993	0.2984	0.2976	0.2967	0.2958	0.2950	0.2941	0.2933
51	0.2924	0.2916	0.2907	0.2899	0.2890	0.2882	0.2874	0.2865	0.2857	0.2848
52	0.2840	0.2832	0.2823	0.2815	0.2807	0.2798	0.2790	0.2782	0.2774	0.2765
53	0.2757	0.2749	0.2741	0.2733	0.2725	0.2716	0.2708	0.2700	0.2692	0.2684
54	0.2676	0.2668	0.2660	0.2652	0.2644	0.2636	0.2628	0.2620	0.2612	0.2604
55	0.2596	0.2588	0.2581	0.2573	0.2565	0.2557	0.2549	0.2541	0.2534	0.2526
56	0.2518	0.2510	0.2503	0.2495	0.2487	0.2480	0.2472	0.2464	0.2457	0.2449
57	0.2441	0.2434	0.2426	0.2418	0.2411	0.2403	0.2396	0.2388	0.2381	0.2373
58	0.2366	0.2358	0.2351	0.2343	0.2336	0.2328	0.2321	0.2314	0.2306	0.2299

续表

透光率/%	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
59	0.2291	0.2284	0.2277	0.2269	0.2262	0.2255	0.2248	0.2240	0.2233	0.2226
60	0.2218	0.2211	0.2204	0.2197	0.2190	0.2182	0.2175	0.2168	0.2161	0.2154
61	0.2147	0.2140	0.2132	0.2125	0.2118	0.2111	0.2104	0.2097	0.2090	0.2083
62	0.2076	0.2069	0.2062	0.2055	0.2048	0.2041	0.2034	0.2027	0.2020	0.2013
63	0.2007	0.2000	0.1993	0.1986	0.1979	0.1972	0.1965	0.1959	0.1952	0.1945
64	0.1938	0.1931	0.1925	0.1918	0.1911	0.1904	0.1898	0.1891	0.1884	0.1878
65	0.1871	0.1864	0.1858	0.1851	0.1844	0.1838	0.1831	0.1824	0.1818	0.1811
66	0.1805	0.1798	0.1791	0.1785	0.1778	0.1772	0.1765	0.1759	0.1752	0.1746
67	0.1739	0.1733	0.1726	0.1720	0.1713	0.1707	0.1701	0.1694	0.1688	0.1681
68	0.1675	0.1669	0.1662	0.1656	0.1649	0.1643	0.1637	0.1630	0.1624	0.1618
69	0.1612	0.1605	0.1599	0.1593	0.1586	0.1580	0.1574	0.1568	0.1561	0.1555
70	0.1549	0.1543	0.1537	0.1530	0.1524	0.1518	0.1512	0.1506	0.1500	0.1494
71	0.1487	0.1481	0.1475	0.1469	0.1463	0.1457	0.1451	0.1445	0.1439	0.1433
72	0.1427	0.1421	0.1415	0.1409	0.1403	0.1397	0.1391	0.1385	0.1379	0.1373
73	0.1367	0.1361	0.1355	0.1349	0.1343	0.1337	0.1331	0.1325	0.1319	0.1314
74	0.1308	0.1302	0.1296	0.1290	0.1284	0.1278	0.1273	0.1267	0.1261	0.1255
75	0.1249	0.1244	0.1238	0.1232	0.1226	0.1221	0.1215	0.1209	0.1203	0.1198
76	0.1192	0.1186	0.1180	0.1175	0.1169	0.1163	0.1158	0.1152	0.1146	0.1141
77	0.1135	0.1129	0.1124	0.1118	0.1113	0.1107	0.1101	0.1096	0.1090	0.1085
78	0.1079	0.1073	0.1068	0.1062	0.1057	0.1051	0.1046	0.1040	0.1035	0.1029
79	0.1024	0.1018	0.1013	0.1007	0.1002	0.0996	0.0991	0.0985	0.0980	0.0975
80	0.0969	0.0964	0.0958	0.0953	0.0947	0.0942	0.0937	0.0931	0.0926	0.0921
81	0.0915	0.0910	0.0904	0.0899	0.0894	0.0888	0.0883	0.0878	0.0872	0.0867
82	0.0862	0.0857	0.0851	0.0846	0.0841	0.0835	0.0830	0.0825	0.0820	0.0814
83	0.0809	0.0804	0.0799	0.0794	0.0788	0.0783	0.0778	0.0773	0.0768	0.0762
84	0.0757	0.0752	0.0747	0.0742	0.0737	0.0731	0.0726	0.0721	0.0716	0.0711
85	0.0706	0.0701	0.0696	0.0691	0.0685	0.0680	0.0675	0.0670	0.0665	0.0660
86	0.0655	0.0650	0.0645	0.0640	0.0635	0.0630	0.0625	0.0620	0.0615	0.0610
87	0.0605	0.0600	0.0595	0.0590	0.0585	0.0580	0.0575	0.0570	0.0565	0.0560
88	0.0555	0.0550	0.0545	0.0540	0.0535	0.0531	0.0526	0.0521	0.0516	0.0511
89	0.0506	0.0501	0.0496	0.0491	0.0487	0.0482	0.0477	0.0472	0.0467	0.0462
90	0.0458	0.0453	0.0448	0.0443	0.0438	0.0434	0.0429	0.0424	0.0419	0.0414
91	0.0410	0.0405	0.0400	0.0395	0.0391	0.0386	0.0381	0.0376	0.0372	0.0367
92	0.0362	0.0357	0.0353	0.0348	0.0343	0.0339	0.0334	0.0329	0.0325	0.0320
93	0.0315	0.0311	0.0306	0.0301	0.0297	0.0292	0.0287	0.0283	0.0278	0.0273
94	0.0269	0.0264	0.0259	0.0255	0.0250	0.0246	0.0241	0.0237	0.0232	0.0227
95	0.0223	0.0218	0.0214	0.0209	0.0205	0.0200	0.0195	0.0191	0.0186	0.0182
96	0.0177	0.0173	0.0168	0.0164	0.0159	0.0155	0.0150	0.0146	0.0141	0.0137
97	0.0132	0.0128	0.0123	0.0119	0.0114	0.0110	0.0106	0.0101	0.0097	0.0092
98	0.0088	0.0083	0.0079	0.0074	0.0070	0.0066	0.0061	0.0057	0.0052	0.0048
99	0.0044	0.0039	0.0035	0.0031	0.0026	0.0022	0.0017	0.0013	0.0009	0.0004

表 5.4 标准光谱的透光率值

以下为 25℃ 下, $0.0400 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_2\text{CrO}_4$ 的 0.05 mol/L KOH 溶液在厚度 10.0 mm 的液池中的数值. 参看 Haupt, J. Res. Natl. Bur. Stds, 48: 414(1952). 在 375 nm 处透光率和吸光度的温度系数分别为 $\Delta T/\Delta t = 0.0022$ 和 $\Delta T/\Delta t = 0.00093 \text{ 度}^{-1} (\text{deg}^{-1})$.

波长/nm	T%	A	波长/nm	T%	A
220	35.8	0.446	340	48.3	0.316
225	60.1	0.221	345	37.3	0.428
230	67.4	0.171	350	27.6	0.559
235	61.6	0.210	355	19.9	0.701
240	50.7	0.295	360	14.8	0.830
245	40.2	0.396	365	11.6	0.935 ₅
250	31.9	0.496	370	10.3	0.987
255	26.8	0.572	375	10.2	0.991
260	23.3	0.653	380	11.7	0.932
265	20.2	0.696	385	15.0	0.824
270	18.0	0.745	390	20.2	0.695
275	17.5	0.757	395	29.4	0.532
280	19.4	0.712	400	40.1	0.396
285	25.7	0.590	410	63.2	0.199
290	37.3	0.428	420	75.1	0.124
295	53.3	0.273	430	82.4	0.084
300	70.9	0.149	440	88.2	0.054 ₅
305	83.4	0.079	450	92.7	0.033
310	89.5	0.048	460	96.0	0.018
315	90.0	0.046	470	98.0	0.009
320	86.4	0.063 ₅	480	99.1	0.004
325	80.4	0.095	490	99.7	0.001
330	71.0	0.149	500	100	0.000
335	60.0	0.222			

5.1.3 分光光度法的基本定律

5.1.3.1 朗伯-比尔定律

朗伯定律叙述为平行、单色的辐射透过浓度恒定的吸光物质, 辐射功率随光程长度 b 的算术增大而对数地减小.

比尔定律叙述为: 稳定溶液的透光率是吸光性溶质浓度的指数函数.

若浓度和液池厚度都是可变的, 组合成的朗伯-比尔定律(经常简称为比尔定律)是式(5.6)所表达的形式. 吸光度对浓度作图应该是通过原点的一段直线, 其斜率为 ϵb (或当 C 为 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时为 ab). 为读出吸光度和透光率, 要经常校正读数标尺.

5.1.3.2 线性与比尔定律

对比尔定律的偏离分为三类情况: 真实的、仪器的和化学的. 真实的偏差来自于分析体系折射率的改变; 折射率改变只在高吸光度差示测量中才是显著的.

5.1.3.2.1 仪器偏差

仪器偏差主要来自滤光片或单色器的带通(带宽)。比尔定律假定辐射为单色的,宽带通和窄吸收带对比尔定律的偏离最严重。重要的是光谱狭缝宽度与吸收带带宽间的比值。

5.1.3.2.2 化学偏差

化学偏差是涉及吸光物质的化学或物理平衡状态移动引起的。通常必须使 pH 和离子强度保持恒定。对弱离解的一元酸,应把 pH 调节到至少比 pK_a 值大(对阴离子形式)或小(对酸形式)3 个 pH 单位。或者,可使用等吸光点对应的波长。等吸光点是可相互转化的两种物质摩尔吸光系数相同的波长。当吸光物质是络合离子时,游离(过量)配体的浓度必须恒定且最好过量 100 倍。

5.1.3.3 校正曲线

若已知在要利用的浓度范围内校正曲线是线性的,可用多种方法制作校正曲线:

1. 用试剂空白来设定零吸光度,用一个标准物(最好接近样品的浓度)获得一定的吸光度。
2. 用试剂空白来设定零吸光度,并用一个已知的浓度因子(事先测定的吸光度对浓度的校正曲线斜率)。
3. 用高低浓度涵盖样品浓度的两个标准物。
4. 用一个标准物和一个已知的浓度(斜率)因子。

当用一系列吸光度-浓度数据点来绘制线性校正曲线时,通常发生某种程度的数据点散布。有必要对标准物的数据点进行线性回归分析以决定数据中从相关性程度来看时给出最佳拟合的校正直线。对这项工作来说,计算机是非常重要的。

对非线性校正曲线,需使用贮存的程序。先保存吸光度-浓度数值。当需要在输入的标准物间进行点到点的内插时,该程序产生一系列接近非线性曲线的短直线。

5.1.4 特殊分光光度法^[1]

在普通光度法中透光率标尺的两端精确设定为 0% (用遮光板) 和 100% (让光束照射纯溶剂)。其中 P_0 的最大值受限于电位计滑动导线的长度,因为滑动导线一端对应于零辐射功率,而另一端相当于零浓度下的满功率或 P_0 。这是制造仪器的需要。也可用含有不同浓度吸光物质的两个参比溶液来校正透光率标尺。惟一的条件是其中一个参比吸光物质必须比待测量样品透射更多的辐射能,而另一个参比吸光物质必须比样品透射更少的辐射能。对普通方法进行可能的改变,产生了 3 种可用来提高精密度的差示或标尺扩展技术。如表 5.5 和图 5.2 所示的这些技术,都是直接测定法可以应用的。在直接测定法中吸光度随被测物质浓度增大而增大。

间接法所需要的改进,请参看表 5.6。在间接法中吸光度通常随被测物质浓度的增大而减小。

5.1.4.1 最佳精密法的液池校正

为使最佳精密法中完全“匹配的”液池光程长度在与可获得的测量精密度相称的可能差异所引起的误差最小化,设计了以下的操作^[1]。绝不应该使用圆柱形液池,因为光束中

表 5.5 精密光度测量:直接法

需 要	方 法		
	透光率比值法	痕量分析法	最佳精密法
未知的透光率范围, % (相对于纯溶剂) 0% T 设定	0~50 光电管在黑暗中	50~100 参比溶液的浓度高于未知或标准溶液的最大浓度. 以纯溶剂参比, 该溶液的 A , 随所需灵敏度而变化	0~100 参比溶液的浓度高于未知或标准溶液的最大浓度
100% T 设定	参比溶液浓度低于待测溶液最低浓度. 为在 0~1% T 范围有最佳精密密度, 使用参比溶液, 其 A 以纯溶剂作参比时最好接近 2.0. 需要使用比一般狭缝更宽的狭缝	纯溶剂或空白	参比溶液浓度低于未知或标准溶液最低浓度. 以纯溶剂作参比 $A = 0.43$ (37% T) 时和两个参比溶液尽可能接近地涵盖 A 时可获得最佳准确度
校正曲线	推荐使用, 因为不一定服从比尔定律	推荐使用, 因为经常不服从比尔定律	是必需的, 因为经常不服从比尔定律. 若服从比尔定律, 用 $10^{-\epsilon b C}$ 对仪器读数作图, 可避免每当改变参比溶液时重新校正的必要性; 详细叙述参阅文献[1]
特征	提高精密密度, 可与用于更浓溶液的滴定法和重量法相当	对更稀溶液, 可获得比常规光度技术更高的精密密度. 然而对很稀的溶液, 仍可能有相对高的误差	在接近的浓度下, 精密密度好于透光率比值法或痕量分析法. 液池的校正参看文中
文献	[2~4]	[5]	[5]

- [1] C. V. Banks, J. L. Spooner, and J. W. O'Laughlin, *Anal. Chem.* 28:1894 (1956).
 [2] R. Bastian, *Anal. Chem.* 21:972 (1949).
 [3] C. F. Hiskey, *Anal. Chem.* 21:1440 (1949).
 [4] R. Bastian, R. Weberling, and F. Palilla, *Anal. Chem.* 22:160 (1950).
 [5] C. N. Reilley and C. M. Crawford, *Anal. Chem.* 27:716 (1955).

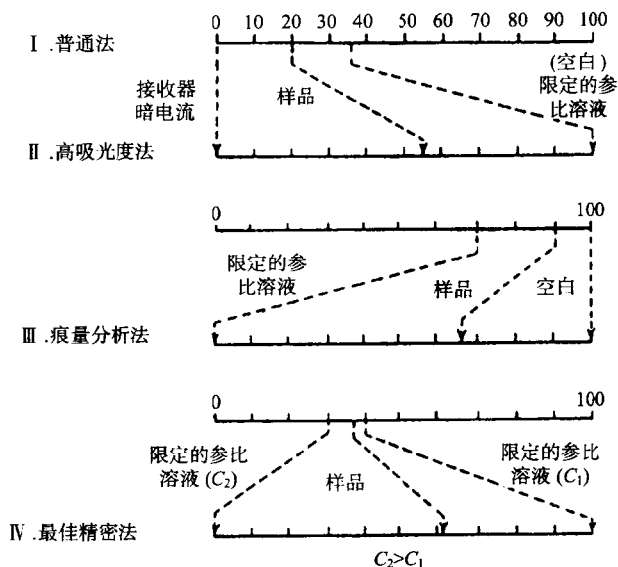


表 5.6 精密分光光度测量:间接法

需 要	方 法		
	扩展标尺法	痕量分析法	透光率比值间接法
未知的透光率范围, %	0~50(未知的低浓度)	50~100(未知的痕量浓度)	10~100(未知的低浓度)
0% T 设定	光电管在黑暗中	光电管在黑暗中	光电管在黑暗中
100% T 设定	% T 高于任何未知或标准溶液的参比溶液, 用浓度高于任何未知或标准溶液中可能存在的待测组分漂白显色剂来配制	用显色剂稀释未知或标准溶液. 对每个标准或未知溶液有必要使用不同的狭缝宽度	与痕量分析法同
未知或标准溶液的 % T 读数		纯显色剂	% T 低于任何未知或标准溶液的参比溶液, 用浓度低于任何未知或标准溶液中可能存在的待测组分漂白显色剂来配制
校正曲线	在常规间接法中只有不服从比尔定律时才是必要的. 同在常规间接法中一样, % T 随浓度增大而增大	推荐使用, 因为可能不服从比尔定律. 同在常规直接法中一样, % T 随浓度增大而减小	推荐使用, 因为可能不服从比尔定律. 同在常规直接法中一样, % T 随浓度增大而减小
特征	与常规间接法相比, 在未知的低浓度下精密度提高了. 避免校正曲线在待测组分与显色剂间反应不完全(不利的平衡)区域的弯曲	与常规间接法相比, 痕量分析精密度提高了, 因为可获得吸光度在 0~0.3 间的溶液的读数. 由于对每个标准或未知溶液有必要使用不同的狭缝宽度, 方法是费时的	与相近浓度下痕量分析法相比, 精密度提高了. 由于对每个标准或未知溶液有必要使用不同的狭缝宽度, 方法是费时的
文献	[1~3]	[3]	[3]

[1] J. J. Lothe, *Anal. Chem.* 27:1546 (1955).

[2] J. J. Lothe, *Anal. Chem.* 28:949 (1956).

[3] C. N. Reilley and G. P. Hilderbrand, *Anal. Chem.* 31:1763 (1959).

一部分的光程长度不同于另一部分的光程长度.

配制两个参比溶液, 一个比所用的未知或标准溶液更浓, 而另一个更稀. 用它们设定 0% 和 100% 的透光率读数. 在测量中始终使用相同的液池设定这两个读数.

配制浓度为 c_1 和 c_2 两个标准溶液, c_1 和 c_2 介于前面配制的两个参比溶液浓度间, 且让 c_1 在测量波长下的透光率比 c_2 的透光率大约 0.30 透光率单位 (30% T). 测量每种溶液在液池 1, 2, 3 等等中的透光率.

对每一液池, 将所得两个标准溶液的透光率对作为参比液池的液池 1 中所得的透光率作图. 在用液池 2 测量未知溶液的透光率的随后分析中, 使用液池校正图, 用垂直投影的方法找到溶液在液池 1 中时应有的透光率. 若只有一个待分析未知溶液, 则使用液池 1.

5.1.5 多组分体系^[2]

表 5.7 概括了多组分体系分析的同时分光光度法. 计算机软件程序可处理多组分混

合物和对比尔定律的偏离,已设计了一个分辨重叠光谱带的快速算法^[2].

表 5.7 多组分体系分析的同时分光光度法

测量类型	光谱类型	步 骤
n 组分体系在 n 个波长下的吸光度测量	在任意组分的 $\lambda_{\max}$ 处其他组分无吸收 仅一组分在一个 $\lambda_{\max}$ 处有吸收;在其他 $\lambda_{\max}$ 处两个或更多组分有吸收 在各 $\lambda_{\max}$ 处各个组分都有显著吸收	在各自的 $\lambda_{\max}$ 处制作对应组分的校正曲线(或测量吸收系数).对混合物,从适当波长下 A 独立计算各组分浓度 对两组分体系,在只有一组分吸收的 $\lambda_{\max}$ 处测量 A ,由比尔定律和事先测定的吸光系数,或者由校正曲线计算该组分浓度.依比尔定律或校正曲线确定在另一组分 $\lambda_{\max}$ 处该组分的 A ,把它从在第二个 $\lambda_{\max}$ 处测得的总 A 中减去,以得到第二组分在自己的 $\lambda_{\max}$ 处的 A .当两个以上的吸收组分存在时,这样能简化为 $(n-1)$ 组分体系 ¹⁾ 在 n 个 $\lambda_{\max}$ 处测量只含其中一组分的溶液的吸光度,计算各组分在这 n 个波长下的吸光系数.假定遵守比尔定律.测量混合物在 n 个波长下 A 建立和求解方程组 $A_{\lambda_1} = (a_x)_{\lambda_1} bC_x + (a_y)_{\lambda_1} bC_y + \cdots$ 和 $A_{\lambda_2} = (a_x)_{\lambda_2} bC_x + (a_y)_{\lambda_2} bC_y + \cdots$
用参比溶液扣除		参比池中加入相同浓度的该组分,以扣除该组分的吸光度

1) J. J. Lingane and J. W. Collat, *Anal. Chem.* 27:1546 (1955).

5.1.6 分光光度分析中的误差及其最小化

5.1.6.1 光度法的准确度^[3]

在此假设,由化学预处理在最后结果中引入的误差与仪器误差相比是可忽略的^[3].光度测量的最终精密度由仪器噪声决定——也就是,到达检测器的信号的统计性波动.要考虑两种极端情况:(1) 热噪声决定的和(2) 散射噪声决定的.前一种情况出现于有较高辐射功率的较老的仪器中(比如使用光生伏打检测器的仪器).后一种情况在低辐射功率入射检测器的现代紫外-可见分光光度计中更普遍.

在常规光度法(情况 1)中获得最高光度准确度的条件可将比尔定律表达式

$$A = \log(P_0/P) = abC \quad (5.7)$$

的二阶导数设定为 0 来推导.若服从比尔定律,则每单位光度测量误差 ΔP 对应的浓度相对误差 $\Delta C/C$ 为

$$\frac{\Delta C/C}{\Delta P} = -\frac{1}{2.303A(10^{-A})} \quad (5.8)$$

当 $A = 0.434(36.8\% T)$ 时该式的左侧有最小值;这一最小值为

$$\left(\frac{\Delta C/C}{\Delta P}\right)_{\min} = -2.72 \quad (5.9)$$

因此在 36.8% 透光率时,1% 的光度测量误差引起的浓度相对误差是 2.72%. 在 $T = 20\% \sim 60\%$ 间,每 1% 光度测量误差引起的浓度相对误差不大于 2.7%. 故在常规光度法中为使误差最小,光度测量应限制在约 20% ~ 60% 的透光率间(吸光度在约 0.2 ~ 0.7 间)(图 5.3).

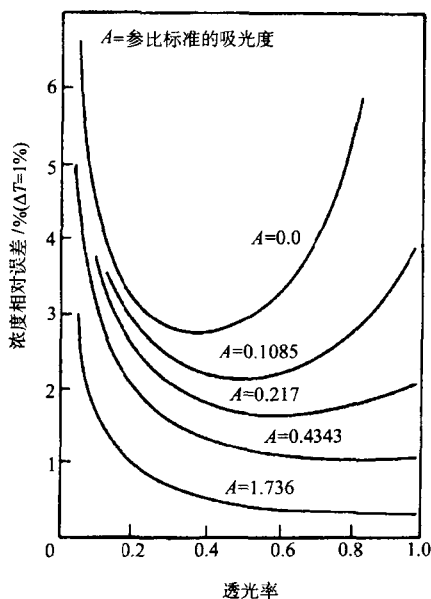


图 5.3 浓度的相对误差曲线

$A=0.0$ 的曲线是热噪声限定的检测器的相对误差曲线。

散射噪声占主要(情况 2)的大多数现代紫外-可见光度计的最小相对浓度误差可用相似方法确定。噪声(ΔP 或 ΔT)与辐射功率的平方根成正比——也就是, $\Delta T = k\sqrt{P}$ 。用 $k\sqrt{P}$ 代替式(5.8)中 ΔT , 同前处理得到

$$\frac{\Delta C}{C} = -0.434k \left(\sqrt{P} \log \frac{P_0}{P} \right)^{-1} \quad (5.10)$$

对 P 微分后, 当

$$\log \frac{P_0}{P} = 2(0.434) = 0.868 = A \quad \text{或} \quad T = 0.135 \quad (5.11)$$

时, 函数 $\Delta C/C$ 的值最小。对散射噪声占主要的检测器, 最小误差的区域扩展到 0.3~2.0 的很宽的吸光度范围 ($T=0.5\sim 0.01$)。对单光束和双光束分光光度计这一结论是正确的。所以可使用更浓的溶液, 这样可减小溶液制备和液池匹配的误差, 清洁的窗口和无划痕的液池表面也就不太重要了。

5.1.6.1.1 透光率比值法

在透光率比值法(也称为高吸光度法)中误差函数为

$$\frac{\Delta C}{C} = \frac{0.434\Delta T}{(TA)_{\text{sple}} + A_{\text{ref}}} \quad (5.12)$$

其中的下标 sple 和 ref 分别代表样品和参比溶液。最小误差的位置随参比浓度增大而逐渐向透光率标尺上的 100% T 移动; 这相当于在同一标尺设置上比较参比和未知溶液。为

减小容量误差,应该称量取样.透光率比值法可达到的精密度接近 0.01%.

5.1.6.1.2 痕量分析法

在痕量分析法中浓度相对误差的表达式为

$$\frac{\Delta C}{C} = \frac{0.434(1 - T_{ref})}{TA} \Delta T \quad (5.13)$$

5.1.6.1.3 最精密法

在最精密法中浓度相对误差由

$$\frac{\Delta C}{C} = \frac{0.434(T_{100\%ref} - T_{0\%ref})}{TA} \Delta T \quad (5.14)$$

决定.理论上,把两参比溶液的浓度差异变小可以提高本法精密度.但是,这是在假设仪器有很高的灵敏度和稳定性的基础上的结论.

5.1.6.2 波长校正

用于紫外-可见光谱区的仪器的波长,可以用美国国家标准技术研究所(NIST)研制的、商业上有售的氧化钛滤光片来校正.

5.1.7 差谱法

使用两个样品,其一置于双光束分光光度计的参比光束中,而另一个置于样品光束中.通常用记录笔程扩展来进行记录,得到两个样品透光率(或吸光度)差值.这样,就消掉了两个光谱的共同特征.通常两个样品中吸收物质的浓度是相同的,但某溶液参数如 pH 是不同的.

5.2 有机分析的分光光度法

有两个或更多孤立生色团(吸光基团)的分子吸收的光,波长与只含特定种类的一个生色团分子所吸收的基本相同.吸收强度与分子中存在的该类型生色团的数目成正比.表 5.8 列出了代表性生色团.

表 5.8 代表性生色团的电子吸收带

生色团	结 构	λ_{max}	ϵ_{max}
乙炔基	$-\text{C}\equiv\text{C}-$	175~180	6 000
醛基	$-\text{CHO}$	210	强
		280~300	11~18
胺基	$-\text{NH}_2$	195	2 800
酰亚氨基	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{N}- \\ \diagdown \end{array}$	190	5 000
偶氮基	$-\text{N}=\text{N}-$	285~400	3~25
溴	$-\text{Br}$	208	300
羰基	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$	195	1 000
		270~285	18~30
二硫键	$-\text{COOH}$	200~210	50~70
酯基	$-\text{S}-\text{S}-$	194	5 500

续表

生色团	结 构	$\lambda_{\max}$	$\epsilon_{\max}$
醚基	— COOR	255	400
乙烯基	— O —	205	50
碘	— C=C —	185	1 000
硝酸酯基	— I	190	8 000
腈基	— ONO ₂	260	400
亚硝酸酯基	— C≡N	270(肩峰)	12
	— ONO	160	...
		220~230	1 000~2 000
		300~400	10
硝基	— NO ₂	210	强
亚硝基	— NO	302	100
肟基	— NOH	190	5 000
砒基	— SO ₂ —	180	...
亚砒基	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{S}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$	210	1 500
硫代羰基	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{S} \\ \diagdown \end{array}$	205	强
硫醚基	— S —	194	4 600
		215	1 600
硫醇基	— SH	195	1 400
	— (C=C) ₂ — (非环)	210~230	21 000
	— (C=C) ₃ —	260	35 000
	— (C=C) ₄ —	300	52 000
	— (C=C) ₅ —	330	118 000
	— (C=C) ₂ — (脂环)	230~260	3 000~8 000
	C=C—C≡C	219	6 500
	C=C—C=N	220	23 000
	C=C—C=O	210~250	10 000~20 000
		300~350	弱
	C≡C—NO ₂	229	9 500
苯基		184	46 700
		204	6 900
		255	170
联苯基		246	20 000
萘基		222	112 000
		275	5 600
		312	175
		252	199 000
蒽基		375	7 900
		251	66 000
菲基		292	14 000
丁省基		272	180 000
		473	12 500
戊省基		310	300 000
		585	12 000
吡啶基		174	80 000
		195	6 000
		257	1 700
喹啉基		227	37 000