



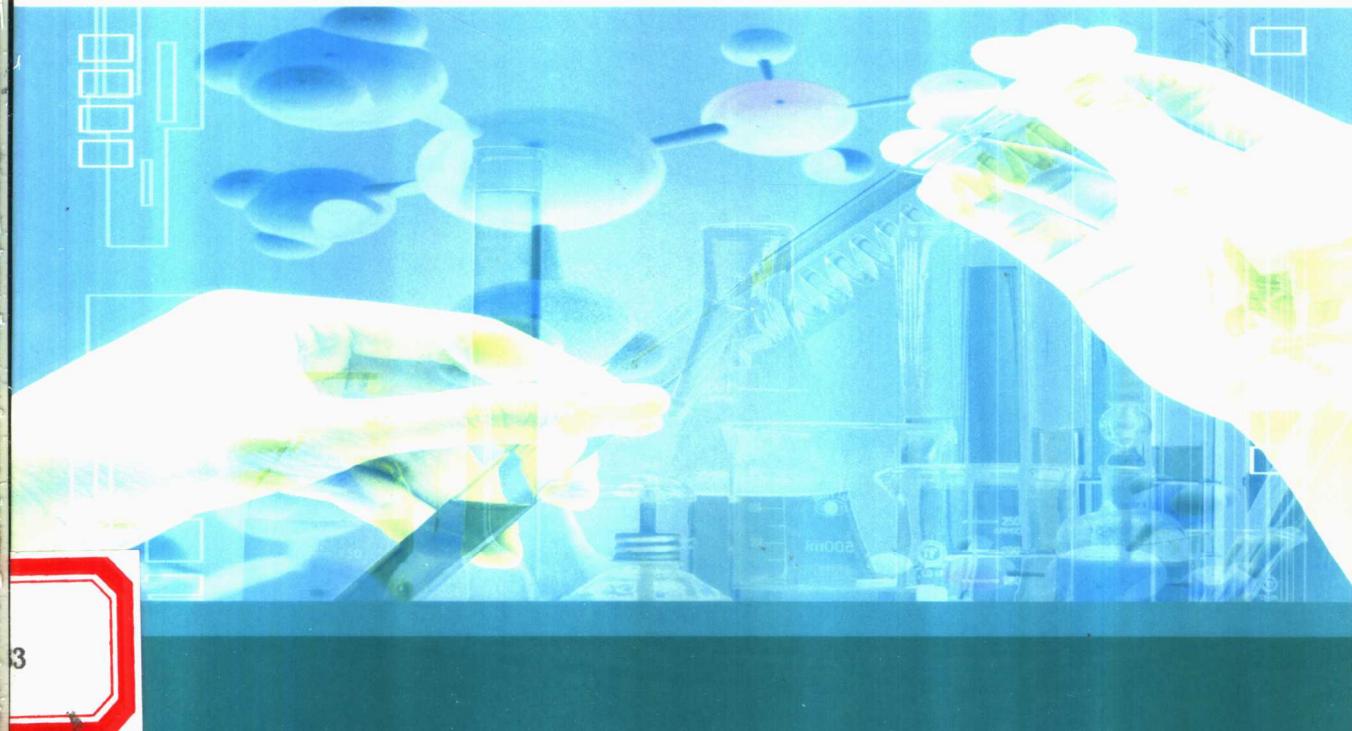
GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

# 生物工程分析与检验

## SHENGWU GONGCHENG FENXI YU JIANYAN

王福荣 主编



中国轻工业出版社  
ZHONGGUO QINGGONGYE CHUBANSHE

高等学校专业教材

# 生物工程分析与检验

王福荣 主编

 中国轻工业出版社

**图书在版编目(CIP)数据**

生物工程分析与检验/王福荣主编.一北京: 中国轻工业出版社, 2005. 6  
高等学校专业教材  
ISBN 7-5019-4804-6  
I . 生… II . 王… III . ①生物工程—分析—高等学校—教材  
②生物工程—实验—高等学校—教材 IV . Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 015257 号

责任编辑: 白洁 姚怀芝 责任终审: 滕炎福 封面设计: 邱亦刚  
版式设计: 丁夕 马金路 责任校对: 燕杰 责任监印: 吴京一

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: 北京公大印刷厂  
经 销: 各地新华书店  
版 次: 2005 年 6 月第 1 版 2005 年 6 月第 1 次印刷  
开 本: 787×1092 1/16 印张: 20.25 字数: 460 千字  
书 号: ISBN 7-5019-4804-6/Q·021 定 价: 34.00 元  
读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730  
发行电话: 010-65141375 65128898  
网 址: <http://www.chlip.com.cn>  
Email: [club@chlip.com.cn](mailto:club@chlip.com.cn)  
如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换  
30190J1X101ZBW

## 前　　言

高等学校轻工专业统编教材《工业发酵分析》、《工业发酵分析(续篇)》分别于1980年、1992年出版,该书对当时轻工专业的教学与科研起到了一定的积极作用。但事隔20余年,分析检测技术迅速发展,检测项目不断增加,检测灵敏度不断提高,随之现代仪器分析迅速普及并作为常规的分析手段而被广泛应用,因此,迫切需要对原教材进一步提高,从分析理论上需进一步扩展,增加分析检测项目,采用灵敏度高、快速的现代仪器分析进行检测,这是本书编写的目的。

《生物工程分析与检验》一书,在理论教育的内容上进一步规范、充实,归纳为四章,即光谱分析、色谱分析、电分析化学、免疫分析。实验项目安排上大幅度增加了与本专业相关的检测项目,并尽量介绍先进的、灵敏度高的仪器分析方法,共编写了近150个实验项目。各院校可根据具体情况选择性地进行分析理论教学与实验教学。

参加本书编写的有天津科技大学、无锡江南大学、郑州轻工业学院、山东轻工业学院。

由于我们的水平有限,教材编写过程中难免有不妥之处,望请读者批评指正。

## **本书编委会成员名单**

**主 编:** 王福荣 (天津科技大学)

**副 主 编:** 宋文军 (天津科技大学)

**编写人员:** 戚 薇 张 燕 王 硕 (天津科技大学)  
帅桂兰 陈 蕴 (无锡江南大学)  
刘凤珠 (郑州轻工业学院)  
马 霞 关凤梅 (山东轻工业学院)

# 目 录

## 第一篇 理 论 篇

<b>第一章 光谱分析</b> .....	1
<b>第一节 紫外、可见分光光度法</b> .....	1
一、物质对光的选择性吸收.....	2
二、仪器结构和原理.....	4
三、显色与操作条件的选择.....	5
四、紫外—可见分光光度法的应用.....	7
<b>第二节 荧光分析法</b> .....	8
一、荧光的产生.....	8
二、激发光谱与荧光光谱.....	9
三、荧光分光光度计.....	9
四、应用 .....	10
<b>第三节 原子吸收分光光度法</b> .....	10
一、基本原理 .....	11
二、原子吸收分光光度计 .....	12
三、干扰因素及消除 .....	14
四、灵敏度及检出极限 .....	16
五、测定条件的选择 .....	17
六、定量方法 .....	20
七、应用 .....	20
<b>第四节 红外光谱法</b> .....	21
一、基本原理 .....	22
二、傅里叶变换红外光谱仪 .....	27
三、样品的制备 .....	29
四、定性分析 .....	30
五、定量分析 .....	31
六、应用 .....	32

---

<b>第二章 色谱分析</b>	34
第一节 柱色谱	34
一、吸附柱色谱	34
二、分配柱色谱	36
三、离子交换柱色谱	37
四、凝胶柱色谱的原理与特点	38
第二节 纸色谱	42
第三节 薄层色谱	43
一、吸附剂和支持剂	44
二、展开剂	45
三、薄层板的制作	45
第四节 气相色谱分析	46
一、气相色谱的基本概念	46
二、气相色谱检测器	51
三、载气、固定液、担体	58
四、气相色谱的定性和定量分析	64
五、毛细管色谱分析	68
第五节 高效液相色谱分析	70
一、液相色谱流程与原理	70
二、色谱图与相关名词	71
三、高效液相色谱系统	72
四、定性与定量	78
<b>第三章 电分析化学</b>	80
第一节 经典极谱法	80
一、装置与电流-电压曲线	80
二、极谱定量分析	81
第二节 溶出伏安法	83
一、溶出伏安法的基本原理	84
二、几种主要的电积形式	85
三、溶出电流与影响因素	86
四、电极	86
五、定性与定量分析	87
六、仪器与应用	89
第三节 离子选择电极分析	89

一、离子选择电极的测量原理 .....	89
二、离子选择电极分析法的特点 .....	90
三、离子选择电极的类型 .....	90
四、离子选择电极的定量方法 .....	92
<b>第四节 电泳 .....</b>	<b>92</b>
一、电泳法的分类 .....	93
二、影响电泳迁移率的因素 .....	93
三、几种常用的电泳方法 .....	94
<b>第四章 免疫分析 .....</b>	<b>99</b>
<b>第一节 前言 .....</b>	<b>99</b>
一、抗原与抗体的概念 .....	99
二、抗原-抗体反应的基本原理 .....	100
三、抗体的制备 .....	100
<b>第二节 免疫分析方法 .....</b>	<b>103</b>
一、酶联免疫分析 .....	104
二、放射免疫分析 .....	113
三、荧光免疫分析 .....	114
四、发光免疫分析 .....	115
<b>第三节 分析方法的干扰 .....</b>	<b>116</b>
一、有效待测物浓度 .....	116
二、抗体结合效率 .....	116
三、信号产生的误差 .....	117

## 第二篇 实 验 篇

<b>第一章 蛋白质类化合物的测定 .....</b>	<b>118</b>
<b>第一节 蛋白质总量的测定 .....</b>	<b>118</b>
一、半微量凯氏定氮法(水蒸气蒸馏法) .....	118
二、Folin-酚试剂法 .....	120
三、双缩脲比色法 .....	122
四、紫外吸收法 .....	123
五、考马斯亮蓝染色法 .....	124
六、蛋白氮与非蛋白氮含量的测定 .....	125
<b>第二节 蛋白质降解产物的测定 .....</b>	<b>125</b>
一、游离 $\alpha$ -氨基氮的测定 .....	126

二、赖氨酸含量的测定.....	129
三、色氨酸含量的测定.....	130
四、蛋氨酸含量的测定.....	132
五、苯丙氨酸含量的测定.....	135
六、混合液中各种氨基酸含量的分离测定.....	136
<b>第二章 碳水化合物含量的测定.....</b>	<b>140</b>
<b>第一节 原料淀粉的测定.....</b>	<b>140</b>
一、粗淀粉含量的测定(旋光法).....	140
二、快速测定淀粉含量(蒽酮比色法).....	141
三、原料淀粉中粗纤维含量的测定.....	142
<b>第二节 发酵过程中糖的测定.....</b>	<b>144</b>
一、还原糖、非还原糖及淀粉含量的测定(砷钼酸比色法) .....	144
二、快速测定葡萄糖、果糖、蔗糖及淀粉含量(蒽酮比色法).....	146
三、还原糖的快速测定(3,5-二硝基水杨酸比色法) .....	148
四、还原糖的测定(费林法).....	148
<b>第三节 活性低聚糖与多糖的测定.....</b>	<b>150</b>
一、果低聚糖含量的测定(HPLC 法) .....	150
二、麦芽低聚糖含量的测定(HPLC 法) .....	151
三、香菇多糖含量的测定(HPLC 法) .....	152
四、黄原胶黄单胞多糖含量的测定(比色法和重量法).....	153
五、结冷胶多糖含量的测定(比色法和重量法).....	154
六、果胶含量的测定(咔唑法).....	156
七、糖醇淀粉含量的测定(GC 法) .....	157
八、膳食纤维含量的测定.....	158
九、枸杞子多糖含量的测定(分光光度法).....	160
十、灵芝多糖含量的测定(比色法).....	161
十一、葡聚糖含量的测定(HPLC 法) .....	162
十二、大豆低聚糖含量的测定(HPLC 法) .....	163
<b>第三章 脂肪与脂含量的测定.....</b>	<b>164</b>
<b>第一节 脂肪含量的测定.....</b>	<b>164</b>
一、粗脂肪含量的测定(索氏脂肪抽提法).....	164
二、脂肪含量的测定(折光法).....	165
<b>第二节 脂肪酸含量的测定.....</b>	<b>166</b>
一、游离脂肪酸含量的快速测定(中和法).....	166

---

二、脂肪酸含量的测定.....	167
第三节 活性脂含量的测定.....	169
一、磷脂含量的测定(分光光度法).....	169
二、蛋黃磷脂中 AA 和 DHA 含量的测定(GC/MS 法).....	170
第四章 水分及矿物元素的测定.....	172
第一节 水分的测定.....	172
一、水分含量的测定(烘干法).....	172
二、水分活度的测定(扩散法).....	173
三、水的硬度测定(络合滴定法).....	174
四、水的电导率测定(电导仪法).....	175
第二节 矿物元素的测定.....	175
一、灰分的测定(灰化法).....	175
二、钙含量的测定.....	176
三、镁含量的测定.....	178
四、锌含量的测定.....	180
五、铜含量的测定.....	182
六、铁含量的测定.....	184
七、锰含量的测定.....	186
八、钴含量的测定(亚硝基 R 盐比色法) .....	187
九、钼含量的测定(硫氯化钾比色法).....	188
十、钠、钾含量的测定(原子吸收分光光度法) .....	189
十一、磷含量的测定(比色法).....	190
十二、碘化物含量的测定.....	191
十三、硼化物含量的测定(姜黃素比色法).....	194
十四、氟化物含量的测定.....	195
第五章 酶活力的测定.....	199
第一节 $\alpha$ -淀粉酶活力测定 .....	200
一、分光光度法.....	200
二、目视比色法.....	202
第二节 糖化酶活力测定.....	203
第三节 蛋白酶活力测定.....	204
第四节 脂肪酶活力测定.....	207
第五节 葡萄糖异构酶活力测定.....	209
第六节 纤维素酶活力测定.....	210

第七节 果胶酶活力测定.....	213
第八节 植酸酶活力测定.....	214
第九节 葡萄糖氧化酶活力测定.....	215
第十节 葡聚糖酶活力测定.....	217
第十一节 $\beta$ -葡聚糖酶活力测定 .....	218
<b>第六章 有机酸含量的测定.....</b>	<b>221</b>
第一节 柠檬酸含量的测定.....	221
一、乙酸酐-吡啶比色法.....	221
二、五溴化丙酮比色法.....	222
三、HPLC 法.....	222
第二节 乙酸含量的测定.....	223
一、中和滴定法.....	223
二、GC 法 .....	224
第三节 甲酸、丙酸、丁酸含量的测定(GC 法) .....	225
第四节 葡萄糖酸含量的测定.....	226
一、酶分析法.....	226
二、比色法.....	227
三、络合滴定法.....	227
第五节 苹果酸含量的测定(紫外分光光度法).....	228
第六节 酒石酸、乳酸含量的测定(HPLC 法) .....	229
<b>第七章 风味物质的测定.....</b>	<b>231</b>
第一节 醇、醛、酮、酸、酯含量的测定(GC 法) .....	231
一、毛细管色谱法.....	231
二、填充柱色谱法.....	232
第二节 双乙酰含量的测定.....	233
一、GC 法 .....	233
二、紫外分光光度法.....	235
<b>第八章 生物抗氧化成分的测定.....</b>	<b>237</b>
第一节 SOD(超氧化物歧化酶)活力和含量的测定.....	237
一、SOD 活力的测定(邻苯三酚氯化法) .....	237
二、SOD 活力的测定(化学发光法) .....	238
三、SOD 活力和含量的测定(羟胺法) .....	239
第二节 谷胱甘肽过氧化物酶活力测定.....	241
第三节 类胡萝卜素与 $\beta$ -胡萝卜素含量测定 .....	243

---

一、类胡萝卜素含量测定(HPLC法) .....	243
二、 $\beta$ -胡萝卜素含量测定(HPLC法) .....	245
第四节 微量硒含量的测定(分光光度法).....	246
第五节 有机锗含量的测定(分光光度法).....	247
第六节 酚类物质含量的测定.....	248
一、茶多酚含量的测定(高锰酸钾滴定法).....	248
二、多酚类含量的测定(酒石酸铁比色法).....	249
三、儿茶素含量的测定(香英兰素比色法).....	250
四、儿茶素的分离与测定(纸层析法).....	251
五、多酚类的分离与测定(HPLC法) .....	253
六、儿茶素的分离与测定(HPLC法) .....	254
第七节 黄酮类化合物总量的测定(三氯化铝比色法).....	255
第八节 植酸含量的测定(分光光度法).....	256
第九节 白藜芦醇含量的测定(HPLC法) .....	257
<b>第九章 维生素含量的测定.....</b>	<b>258</b>
第一节 维生素A含量的测定 .....	258
一、三氯化锑比色法.....	258
二、HPLC法 .....	259
第二节 维生素C含量的测定 .....	260
一、2,6-二氯靛酚滴定法 .....	260
二、HPLC法 .....	261
第三节 维生素D含量的测定(HPLC法) .....	261
第四节 维生素E含量的测定(HPLC法) .....	262
第五节 维生素K <sub>1</sub> 含量的测定(HPLC法) .....	263
第六节 维生素K <sub>3</sub> 含量的测定(HPLC法) .....	264
第七节 维生素B <sub>1</sub> (硫胺素)含量的测定(荧光法) .....	265
第八节 维生素B <sub>2</sub> (核黄素)含量的测定(荧光法) .....	267
第九节 维生素B <sub>1</sub> 、维生素B <sub>2</sub> 含量的测定(HPLC法) .....	268
第十节 维生素B <sub>6</sub> 含量的测定(HPLC法) .....	269
第十一节 维生素B <sub>12</sub> 含量的测定(原子吸收分光光度法) .....	270
第十二节 维生素B <sub>11</sub> (叶酸)含量的测定(荧光法) .....	270
<b>第十章 其他活性成分和添加剂的测定.....</b>	<b>272</b>
第一节 绿原酸含量的测定(薄层扫描法).....	272
第二节 绞股蓝总皂苷含量的测定(比色法).....	272

---

第三节 甜菊糖苷含量的测定(薄层色谱法).....	273
第四节 核酸含量的测定(紫外分光光度法).....	274
第五节 果酸含量的测定(HPLC 法) .....	275
第六节 核苷酸含量的测定(HPLC 法) .....	276
第七节 甜味素含量的测定(HPLC 法) .....	276
第八节 食用合成色素含量的测定(纸色谱与薄层色谱法).....	277
第九节 山梨酸、苯甲酸含量的测定(GC 法) .....	279
第十节 糖精钠含量的测定(HPLC 法) .....	281
第十一节 甘草苷含量的测定(HPLC 法) .....	281
<b>第十一章 食品中有害成分的测定.....</b>	<b>283</b>
第一节 黄曲霉毒素的测定.....	283
一、黄曲霉毒素 B <sub>1</sub> 含量的测定(HPLC 法) .....	283
二、ELISA 试剂盒同时定量测定黄曲霉毒素 B/G .....	284
第二节 金属离子铅、铬、镉及砷含量的测定(原子吸收分光光度法).....	286
一、砷含量的测定 .....	286
二、铅含量的测定 .....	287
三、铅、镉含量的测定 .....	288
四、铬含量的测定 .....	289
第三节 汞含量的测定(冷原子吸收法).....	290
第四节 农药残留量的测定.....	293
一、有机氯农药残留量的测定(GC 法) .....	293
二、有机磷农药残留量的测定(GC 法) .....	295
三、竞争 ELISA 法定量检测农药西维因 .....	297
第五节 苯并芘含量的测定(荧光分光光度法).....	299
第六节 氰化物含量的测定(异烟酸-吡唑酮比色法).....	300
第七节 多氯联苯含量的测定(HPLC 法) .....	302
第八节 橘霉素含量的测定(HPLC 法) .....	303
第九节 氯丙醇含量的测定(GC/MS 法) .....	304
第十节 氨基甲酸乙酯(EC)含量的测定(GC/MS 法) .....	306
第十一节 啤酒中硝酸盐含量的测定(离子色谱法).....	307
第十二节 快速检测试剂盒定量检测盐酸克伦特罗(瘦肉精).....	308
<b>主要参考文献.....</b>	<b>312</b>

# 第一篇 理 论 篇

## 第一章 光 谱 分 析

光是一种电磁辐射,当一束白光透过一个介质,如一片有色玻璃或一杯化学溶液时,它将吸收一定波长的光,反射或透过另一部分波长的光。由于介质对光的选择性吸收,使其呈现不同的颜色。而有些物质分子,在吸收了能量后成为激发分子,然后又将能量以光的形式释放出来。光谱分析法即是以测定物质发射或吸收的电磁辐射的波长和强度为基础建立起来的分析方法。

光谱分析法是现代仪器分析中应用最为广泛的一类分析方法,在组分的定量和定性分析中,有的已经成为常规的分析方法。

光谱分析法涉及的内容很多,本章对紫外、可见分光光度法,荧光分析法,原子吸收分光光度法,红外光谱法的原理、仪器等作扼要的介绍。

### 第一节 紫外、可见分光光度法

许多物质都是有颜色的,如  $\text{KMnO}_4$  呈紫红色,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  呈橙色。无色物质也可以通过化学反应生成有色化合物,如三价铁离子与硫氰酸根离子生成血红色配合物,二价铁离子与邻菲罗啉生成橙红色配合物。这些溶液的颜色深浅与浓度有关,浓度越大,溶液颜色越深。因此,可以用比较溶液颜色深浅来确定物质的含量,这种方法就叫比色分析法。

利用可见分光光度计测定有色物质对某波长光的吸收程度来确定物质含量的方法,叫可见分光光度法。用紫外分光光度计测定物质含量的方法称紫外分光光度法。紫外、可见分光光度法有以下特点:

① 灵敏度高:容量分析和重量分析一般只适用于常量组分的测定,而紫外、可见分光光度法可测定含量为  $0.001\% \sim 0.0001\%$  的物质( $10^{-6} \sim 10^{-5}\text{ mol/L}$ )。

② 准确度较高:一般比色分析的相对误差为  $5\% \sim 20\%$ ,分光光度法相对误差为  $2\% \sim 5\%$ ,其准确度虽不如容量分析和重量分析,但对微量分析是符合要求的。

③ 操作简便、分析速度快:分光光度法的操作比较简便,容易掌握,试样处理成溶液

后,一般只要显色和测定两个步骤即可得到分析结果。近年来不断研究出灵敏度高、选择性好的显色剂,而掩蔽剂也不断增加,所以测定过程中一般不需要经过分离手续即可以测定。

④ 应用广泛:大部分有机化合物和无机离子,都可以直接或间接采用紫外、可见分光光度法进行测定。

## 一、物质对光的选择性吸收

### (一) 分子光谱的产生

分子,甚至双原子分子除了电子相对于原子核的运动外,还有核间相对位移引起的振动和转动。这三种运动能量都是量子化的,并对应有一定的能级。图 1-1-1 为能级跃迁示意图。

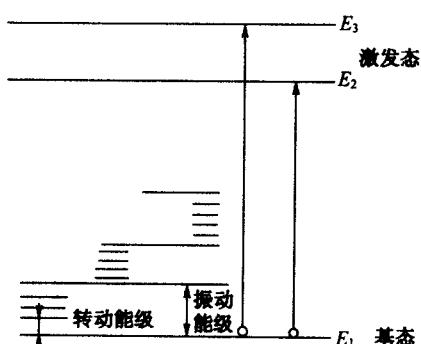


图 1-1-1 能级跃迁示意图

在每一电子能级上有许多间距较小的振动能级,在每一振动能级上又有许多更小的转动能级,即  $\Delta E_{\text{电子}} > \Delta E_{\text{振动}} > \Delta E_{\text{转动}}$ 。处在同一电子能级的分子,可能因其振动能级不同而处在不同的振动能级上。当分子处在同一电子能级和同一振动能级时,它的能量还会因转动能级不同,而处在不同的转动能级上。所以分子的总能量可以认为是这三种能量的总和。

物质对不同波长的光线有不同的吸收能力,物质也只能选择性地吸收那些能量相当于该分子能量变化总和的辐射,即有

$$\Delta E = h\nu$$

这里,  $h$  为普朗克常数,  $\nu$  为频率。此时,在微观上出现分子由较低能级跃迁到较高的能级;在宏观上则透射光的强度变小。若用连续辐射的电磁波照射分子,将照射前后光强度的变化转变为电讯号,并记录下来,就可以得到一张光强度变化对波长的关系曲线图——分子吸收光谱图。

由此可知,分子光谱图实际上指的是分子的吸收光谱。根据吸收电磁波的范围不同,分为远红外光谱、红外光谱及紫外—可见光谱三类。

分子的转动能级产生跃迁,需吸收波长为  $250\sim25\mu\text{m}$  的远红外光,因此,形成的光谱位于远红外区,又称远红外光谱;分子的振动能级产生跃迁,需吸收波长为  $25\sim1.25\mu\text{m}$  的红外光,因此,形成的光谱位于红外区,又称红外光谱;电子的跃迁能级所吸收光的波长为  $1.25\sim0.06\mu\text{m}$ ,主要在真空紫外到可见光区,所形成的光谱位于紫外到可见光区,又称紫外—可见光谱。当用紫外—可见光照射分子时,电子能级跃迁产生吸收光谱,包括了大量由

电子振动-转动组成的复杂带状光谱。由于分子间的相互作用和溶剂的极性影响,分子的电子光谱中转动光谱和振动光谱的精细结构消失,得到的是一条很宽的吸收光谱带,使得紫外-可见吸收光谱不能广泛用于有机化合物的鉴定,但对于含有生色团和共轭体系的有机化合物的鉴定仍然是有用的。

## (二) 紫外-可见光吸收光谱的主要类型

紫外-可见光吸收光谱主要有以下六种类型:

- ①  $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁引起的吸收谱带;
- ②  $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁引起的吸收谱带;
- ③  $\delta \rightarrow \delta^*$ 跃迁引起的吸收谱带;
- ④  $n \rightarrow \delta^*$ 跃迁引起的吸收谱带;
- ⑤ 电子转动引起的吸收谱带( $p \rightarrow d$ 跃迁);
- ⑥ 配位体场跃迁产生的吸收谱带( $d \rightarrow d, f \rightarrow f$ 跃迁)。

分子中能吸收紫外或可见光的结构单元称为生色团,含有非键轨道和 $\pi$ 键的不饱和基团,能引起 $n \rightarrow \pi^*$ 和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。

有些基团能使生色团吸收峰向长波长位移并增强吸收强度,这种基团称助色团。某些有机化合物经取代反应引入含有未共享电子对的基团之后,吸收峰的波长 $\lambda_{\max}$ 向长波方向移动,这种效应称为红移效应。与红移效应相反,有时在某些生色团一端引入一些取代基后,吸收峰的波长会向短波长方向移动,这种现象称为蓝移。溶剂极性的波动也会引起某些化合物吸收光谱的红移或蓝移,这种作用称为溶剂效应。

## (三) 光谱吸收曲线

溶液呈现不同颜色,是基于物质对光选择性吸收的结果。溶液对各种不同波长光的吸收情况通常用光谱曲线来描述:将不同波长的单色光依次通过固定浓度的被测溶液,用分光光度计测量每一波长下相对应光的吸收强度(吸光度),以波长( $\lambda$ )为横坐标,以吸光度( $A$ )为纵坐标作图,可得到一条曲线,这条曲线称为吸收光谱曲线(如图 1-1-2)。它描述了物质对不同波长光的吸收程度,反映了物质分子能级的变化,所以吸收曲线的形状和最大吸收波长 $\lambda_{\max}$ 的位置以及吸收强度等与分子的结构有着密切的关系。因此,利用吸收曲线可以对物质进行定性分析;而用某一波长下测得的吸光度与物质浓度的标准曲线,可以对物质进行定量分析。为了提高测定灵敏度,一般测定 $\lambda_{\max}$ 处的吸光度。

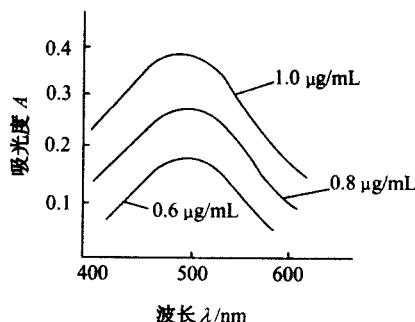


图 1-1-2 邻菲罗啉吸收光谱曲线

#### (四) 比尔吸收定律

当一束平行的单色光照射到一定浓度的均匀溶液时,入射光被溶液吸收的程度与溶液厚度( $L$ )和溶液的浓度( $c$ )关系为:

$$A = kcL$$

式中,  $A$  为吸光度; 等值符号有  $E$ —消光值;  $d$ —光密度;  $k$  为比消光系数。这就是在分光光度测定中常用的比尔定律。该定律表示入射光通过溶液时,透射光与该溶液的浓度和厚度的关系。如果溶液浓度为  $1\text{mol/L}$ , 溶液厚度为  $1\text{cm}$ , 则比消光系数  $k$  用  $\epsilon$  表示,  $\epsilon$  的单位为  $\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{cm})$ 。 $\epsilon$  越大, 表示溶液对单色光的吸收能力越强, 测定的灵敏度就越高。

根据比尔定律, 吸光度与溶液浓度应是通过原点的线性关系(溶液厚度一定)。但在实际工作中吸光度与浓度之间常常偏离线性关系, 产生偏离的因素有:

① 样品溶液因素: 比尔定律通常只有在稀溶液时才能成立, 随着溶液浓度增大, 吸光质点之间距离缩小, 彼此间相互影响和相互作用加强, 破坏了吸光度与浓度之间的线性关系。

② 仪器因素: 比尔定律只适用于单色光, 但是经仪器狭缝投射到被测溶液的光, 并不能保证理论要求的单色光, 这也是造成偏离比尔定律的一个重要因素。

## 二、仪器结构和原理

紫外-可见分光吸收光谱测定所用的仪器是紫外-可见分光光度计。主要部件包括光源、分光器、吸收池、检测器及记录仪器等。如图 1-1-3 所示。

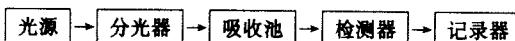


图 1-1-3 分光光度计组成方框图

### 1. 辐射光源

紫外-可见分光光度计对辐射光源的基本要求是: 能发射足够强度的连续光谱, 稳定性好, 辐射能量随着波长改变无明显变化, 使用寿命长。最常用的有两种光源: 钨灯和氘灯。

钨灯是可见分光光度计光源, 能发射  $320\sim2500\text{nm}$  的连续光谱。目前常用的卤钨灯, 其强度高, 稳定性好。氘灯是用作近紫外区的光源, 在  $160\sim375\text{nm}$  之间产生连续光谱, 氘灯的辐射强度比同样的氢灯大  $3\sim5$  倍, 寿命亦较长, 是紫外光区应用最广泛的一种光源。

### 2. 分光器(单色器)

分光器的作用是从连续光谱中分离出所需要的足够窄波段的光束, 它是分光光度计的核心部件, 其性能直接影响光谱的宽度, 从而影响测定的灵敏度、选择性和标准曲线的线性范围。

分光器由入射狭缝、反光镜、色散元件、出射狭缝等组成, 其核心部件是色散元件, 起分