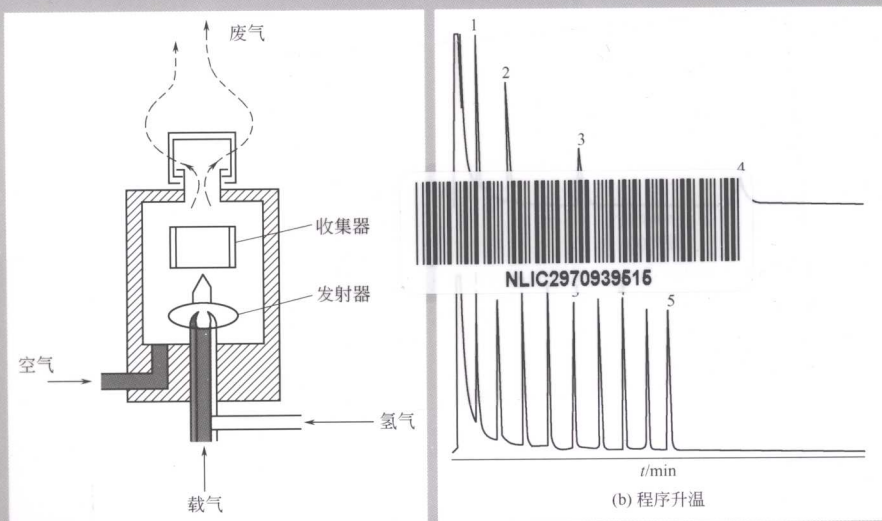


XIANDAI YAOWU FENXI



现代药物分析

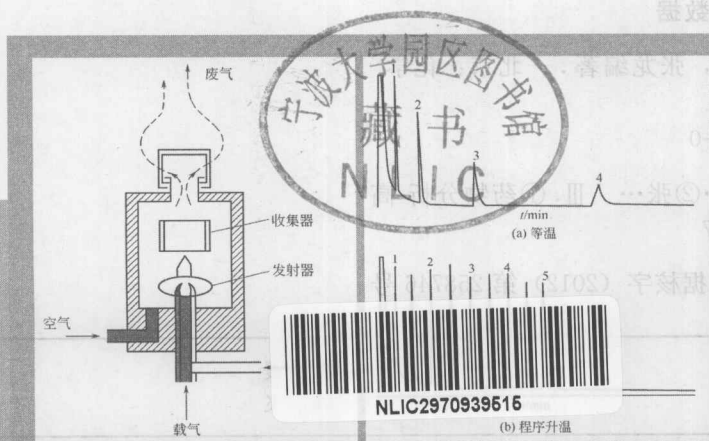
◎ 王道武 张龙 编著



化学工业出版社



◎ 王道武 张 龙 编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书对药物分析过程中常用的现代分析方法及应用实例进行了全面介绍和总结,包括紫外-可见分光光度法、红外分光光度法、荧光分光光度法、折光与旋光分析法、核磁共振波谱法、质谱法、原子吸收分光光度法、高效液相色谱法、气相色谱法及薄层色谱法等。其内容涉及方法原理、实验操作及实例应用。

本书可供药物分析、药物化学、有机化学、分析化学等相关专业的研究生、教师参考,亦可作为从事药物合成和分析的科研人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

现代药物分析/王道武,张龙编著. —北京:化学工业出版社, 2013. 1

ISBN 978-7-122-15756-0

I. ①现… II. ①王…②张… III. ①药物分析-高等学校-教材 IV. ①R917

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 258746 号

责任编辑:杜进祥

责任校对:洪雅姝

文字编辑:林媛

装帧设计:韩飞

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印刷:北京云浩印刷有限责任公司

装订:三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张16 字数411千字 2013年10月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 38.00 元

版权所有 违者必究

目 录

现代药物分析
XIANDAI YAOWU FENXI

前 言

现代药物分析
XIANDAI YAOWU FENXI

医药是世界贸易增长最快的五类产品之一，国际化日趋显著。因此医药工业是社会发展的重点领域。而医药工业的发展是与药物分析技术的水平紧密相关的。药物分析技术在药物研究开发的产业化、商品化的过程中，具有关键的作用和地位。对药品不断增长消费需求，又促进和推动药物的探索研究、制药工程技术等的发展。任何药物的探索与研究成果，只有通过药物分析技术，将其制成符合质量标准规范的药品，才能实现其价值。

现代药物分析是运用各种科学方法和现代技术研究和探索化学合成药物或天然药物及其制剂质量控制的一般规律的方法学科。其任务是为药品的实验研究、生产、供应，以及临床使用提供严格的质量标准和科学的分析方法，保证用药的安全、有效和合理。

与一些科学技术先进的国家相比，我国目前有关药物分析学科专业分析技术的专著还是很少，现有的药物分析专著又常将所用方法技术与应用分离，尤其近代方法的应用。为了确保全面控制药品质量，药物工作者必须从分析方法基本原理到应用全面掌握，才能保证药品的正确、合理的分析。本书基本包含了国内外药品质量标准中所采用的各种现代方法，从原理到实验操作到分析条件的选择，最后详细地讨论了该方法在药物分析中的应用实例。明确药物分析在药学科学领域中的重要地位，树立全面的药品质量管理观念；掌握药物及其制剂的现代分析技术的基本原理与分析方法，以及质量控制的一般规律。掌握所用方法的基本原理与操作，熟悉药品的质量标准制定的基本原则、内容与方法，最终培养具有独立思考、独立工作的能力。因此本书具有相当强的实用性，既能为学生掌握知识提供方便，又能为科研工作者提供思路和指导。

全书除第8章色谱分析法由张龙老师撰写外，其余由王道武老师撰写。感谢我的研究生郑金龙、李小龙、冯新霞及长春工业大学石化资源与生物质综合利用工程实验室的研究生们的参与，感谢长春工业大学出版基金对本书的支持。感谢我的夫人王兵在精神与生活上的支持，感谢长春工业大学化学工程学院朴明俊、石富强、李亚非、宋晓峰、孙林平、胡江磊、米浩宇、冼远方、程桂茹等老师的帮助。

由于作者水平有限，书中难免有诸多不足之处，敬请各位专家批评指正。

王道武

2012年9月于长春工业大学

第1章 紫外-可见分光光度法	1
1.1 概述	1
1.2 分子吸收光谱	2
1.2.1 光的本质	2
1.2.2 吸收和发射现象	2
1.2.3 紫外-可见光吸收谱的产生	3
1.2.4 紫外-可见光谱图	3
1.3 吸收定律	4
1.3.1 紫外-可见光谱测定中的定量关系	4
1.3.2 可见光分光光度法干扰的消除	7
1.4 紫外-可见分光光度计	7
1.4.1 主要部件	7
1.4.2 分光光度计的类型	9
1.4.3 仪器的校正和检定	9
1.5 紫外-可见光谱在药物分析中的应用	11
1.5.1 紫外-可见光谱法应用于定性分析	11
1.5.2 紫外光谱用于定量分析	15
参考文献	18
第2章 红外分光光度法	19
2.1 概述	19
2.1.1 红外吸收光谱基础知识	19
2.1.2 红外光谱的产生	20
2.1.3 红外吸收峰的类型	22
2.1.4 影响红外吸收峰位置的因素	22
2.1.5 红外吸收峰的强度	27
2.1.6 特征吸收谱带	28

2.1.7	红外光谱与紫外光谱的区别	28
2.2	红外光谱仪	29
2.2.1	光源	29
2.2.2	干涉仪	29
2.2.3	样品池	29
2.2.4	检测器	30
2.2.5	计算机系统	30
2.2.6	傅里叶变换红外光谱仪	30
2.2.7	仪器及其校正	30
2.2.8	试样的处理和制备	30
2.2.9	红外光谱用于定性定量分析方法	31
2.3	红外分光光度法在药物分析中的应用	35
2.3.1	化合物的鉴别	35
2.3.2	杂质的检查	38
2.3.3	定性分析	40
2.3.4	近红外技术在药物分析中的应用	42
	参考文献	45

第3章 荧光分光光度法 46

3.1	概述	46
3.2	荧光原理	46
3.2.1	荧光的产生	46
3.2.2	分子结构与荧光的关系	47
3.2.3	荧光定量的基本原理	48
3.2.4	定量分析方法	49
3.3	荧光分光光度计	51
3.3.1	荧光分光光度计部件	51
3.3.2	荧光计的校正	52
3.3.3	荧光计的分类	53
3.3.4	荧光分析条件的选择	54
3.3.5	荧光分析新技术简介	55
3.4	荧光法在药物分析上的应用	55
3.4.1	药物的鉴别	56
3.4.2	药物的含量测定	57
	参考文献	60

第4章 折光与旋光分析法及其应用 61

4.1	概述	61
4.2	折射率测定法及其应用	61
4.2.1	折光的一般原理	61

4.2.2	折光仪	63
4.2.3	折射率的测定	64
4.2.4	折光法在药物分析中的应用	65
4.3	旋光度测定法及其应用	66
4.3.1	偏振光	66
4.3.2	物质的旋光性	66
4.3.3	旋光性的表示法及影响因素	69
4.3.4	旋光度的测定	73
4.3.5	旋光法在药物分析中的应用	75
	参考文献	76

第5章 核磁共振波谱法 77

5.1	概述	77
5.2	核磁共振基本原理	77
5.2.1	原子核的自旋与磁矩	77
5.2.2	自旋核在磁场中的性质	78
5.2.3	共振条件	79
5.2.4	饱和与弛豫	79
5.3	核磁共振波谱仪	81
5.3.1	仪器主要部件	81
5.3.2	仪器主要性能指标	81
5.3.3	核磁共振波谱仪操作方法	83
5.4	核磁共振的氢谱	83
5.4.1	核磁共振的参数	83
5.4.2	自旋-自旋偶合	91
5.4.3	图谱分析	99
5.4.4	双照射	100
5.4.5	定量分析	101
5.5	核磁共振碳谱	103
5.5.1	^{13}C NMR 的特点	103
5.5.2	影响 ^{13}C NMR 化学位移的因素	103
5.6	二维核磁共振波谱	105
5.6.1	2D-NMR 的特点	105
5.6.2	几种常用的 2D-NMR	105
5.6.3	同核 J 分解谱	109
5.7	核磁共振波谱分析法的应用	109
5.7.1	核磁共振的具体应用示例	109
5.7.2	核磁共振波谱确定结构与测定含量的药物	114
	参考文献	115

6.1 概述	116
6.2 质谱仪器及基本原理	116
6.2.1 进样系统	117
6.2.2 离子源(离子化方式)	119
6.2.3 质量分析器	122
6.2.4 信号检测	125
6.2.5 数据获取	125
6.2.6 真空系统	126
6.2.7 质谱联用技术	126
6.2.8 质谱图中主要离子峰的类型	130
6.2.9 质谱在有机化合物解析中的应用	131
6.3 质谱在药物分析中的应用	137
6.3.1 化合物的结构确证	137
6.3.2 药物代谢方面的应用	144
参考文献	148

7.1 概述	149
7.2 基本原理	150
7.2.1 原子能级与原子光谱	150
7.2.2 原子吸收与紫外分光的比较	151
7.3 原子吸收光谱仪	151
7.3.1 光源	152
7.3.2 原子化器	153
7.3.3 单色器	156
7.3.4 检测器和信号处理器	156
7.3.5 原子吸收分光光度计的类型	156
7.4 实验技术	157
7.4.1 样品处理	157
7.4.2 测定条件的选择	157
7.4.3 原子化条件选择	158
7.4.4 进样量选择	158
7.4.5 背景校正系统	158
7.4.6 原子吸收法的干扰及其抑制	158
7.4.7 方法与应用	161
7.5 原子吸收分光光度法在药物分析上的应用	162
7.5.1 合成药物的含量测定	162
7.5.2 中草药无机微量元素的含量测定	163

参考文献	165
------------	-----

第8章 色谱分析法 167

8.1 概述	167
8.1.1 有关历史和专有名词	167
8.1.2 基本概念	167
8.1.3 色谱法分类	169
8.2 色谱法的基本原理	170
8.2.1 色谱过程	170
8.2.2 色谱保留行为与分配系数	170
8.2.3 色谱法的分离机制	171
8.3 色谱法用于药物分析的进展	173
8.3.1 纸色谱法	173
8.3.2 薄层色谱法	173
8.3.3 气相色谱法	174
8.3.4 高效液相色谱法	174
8.3.5 微柱液相色谱法	175
8.3.6 超临界流体色谱	175

第9章 高效液相色谱法 176

9.1 概述	176
9.1.1 高效液相色谱法特点	176
9.1.2 高效液相色谱的分析原理	176
9.1.3 高效液相色谱的固定相和流动相	177
9.1.4 高效液相色谱仪的分析方法	178
9.2 高效液相色谱仪	180
9.2.1 高压泵	180
9.2.2 进样装置	181
9.2.3 色谱柱	181
9.2.4 检测器	182
9.2.5 液相色谱与质谱联用 (HPLC/MS)	183
9.2.6 高效液相色谱仪的操作要求	185
9.3 高效液相色谱原理	187
9.3.1 速率理论	187
9.3.2 色谱峰扩展的影响因素	188
9.3.3 测定法	189
9.3.4 高效液相色谱法的验证	190
9.3.5 高效液相色谱分离方法的选择	190
9.3.6 定性和定量分析方法	192
9.4 高效液相色谱法在药物分析中的应用	194
9.4.1 鉴别	194

9.4.2	杂质的检查	194
9.4.3	含量测定	196
	参考文献	201

第10章 气相色谱法 202

10.1	概述	202
10.1.1	历史、概念	202
10.1.2	气相色谱法的分类	202
10.1.3	气相色谱法的特点	202
10.2	气相色谱分离的原理	203
10.2.1	塔板理论	203
10.2.2	速率理论	204
10.2.3	气相色谱图和参数	205
10.2.4	载体和固定液	206
10.2.5	定性、定量分析	208
10.3	气相色谱仪	210
10.3.1	气路系统	211
10.3.2	进样系统	211
10.3.3	柱分离系统	212
10.3.4	温控系统	213
10.3.5	检测器系统	213
10.3.6	气相色谱-质谱联用仪 (GC/MS)	216
10.3.7	气相色谱分离条件的选择	219
10.3.8	样品的预处理	220
10.4	气相色谱法在药物分析中的应用	221
10.4.1	杂质的检查	221
10.4.2	残留溶剂的检查	221
10.4.3	含量的测定	222
	参考文献	224

第11章 薄层色谱法 225

11.1	概述	225
11.2	TLC 法的分类及原理	225
11.2.1	基本概念	225
11.2.2	基本原理	226
11.2.3	分类	226
11.2.4	薄层色谱法的固定相和流动相	228
11.3	背材、吸附剂和展开剂的选择	228
11.3.1	背材的选择	228
11.3.2	吸附剂的选择	229

101	11.3.3	选择吸附剂的原则	230
101	11.3.4	展开剂的选择	232
103	11.3.5	薄层色谱法操作过程	234
	11.3.6	TLC 法常见问题和消除的方法	235
105	11.3.7	定性分析	236
	11.3.8	定量分析	237
105	11.4	薄层色谱法在药物分析中的应用	238
105	11.4.1	鉴别	238
105	11.4.2	杂质的检查	240
105	11.4.3	含量测定	241
105	参考文献		245

105	第六章 气相色谱法		245
105		本章学习要求	245
105	12.1	气相色谱法概述	245
105	12.1.1	气相色谱法的特点	245
105	12.1.2	气相色谱法的发展概况	245
105	12.1.3	气相色谱法的应用	245
105	12.2	气相色谱仪的组成	245
105	12.2.1	载气系统	245
105	12.2.2	进样系统	245
105	12.2.3	分离系统	245
105	12.2.4	检测系统	245
105	12.2.5	记录系统	245
105	12.3	气相色谱法的操作	245
105	12.3.1	仪器的准备	245
105	12.3.2	样品的处理	245
105	12.3.3	条件的选择	245
105	12.3.4	样品的进样	245
105	12.3.5	数据的记录	245
105	12.3.6	仪器的清洗	245

紫外-可见分光光度法

1.1 概 述

光谱分析法是以分子和原子的光谱学为基础建立起的分析方法。光谱学是研究物质对电磁辐射的吸收或发射现象的科学。光谱分析法是药物分析的重要方法，具有准确度高、精密度高、选择性好和分析快速的特点。它包括分光光度法、荧光光度法、红外光谱法、核磁共振法、原子吸收法、质谱法等。光谱分析法在药物分析中的应用较多，发展迅速，受到了药物分析工作者的关注。随着各种新的反应体系层出不穷，尤其是联用技术的发展，使得分析的范围更加广泛，分析样品逐渐从简单的药剂扩大到复杂的生物样品，为药物分析提供了更加广阔的发展空间。

当物质分子吸收一定波长的光能，分子外层电子或分子轨道电子由基态跃迁到激发态，产生的吸收光谱，一般在紫外-可见光区，称为紫外-可见光谱（UV-visible spectrum）。紫外-可见光谱为一种分子吸收光谱，吸收波长在 10~800nm 范围内。

紫外-可见光一般分为三个区域：

远紫外区	10~190nm
近紫外区	190~400nm
可见光区	400~800nm

氧强烈吸收远紫外光，远紫外光区的光谱研究，需在真空的环境中进行（或在适宜的惰性气体氛围中），称为真空紫外，其技术困难，研究较少。近紫外光区（190~400nm）、可见光区（400~800nm）其光的颜色及互补色大致如图 1-1 所示，

紫外-可见吸收光谱常用于研究不饱和有机化合物，特别是具有共轭体系的有机化合物。

许多药物是含有芳环或不饱和共轭结构的有机分子，大都有紫外吸收。利用物质的紫外-可见吸收光谱特性而建立的分析方法称为紫外-可见分光光度法。从紫外-可见光谱图的形状来看，是一种带状光谱，可提供的结构信息量十分有限。但紫外-可见分光光度法适用于微量和痕量组分分析，测定灵敏度可达到 $10^{-7} \sim 10^{-4} \text{ g/mL}$ 或更低范围。具有设备简单、适用性广、准确度高、精密度高、选择性好、干扰少或干扰易于消除等特点。在有机化学、生物化学、食品检验、医疗卫生、环境保护、肿瘤诊断、生命科学等各个领域和科研生产工作中都已得到了广泛的应用。对于药物质量的检验与控制、

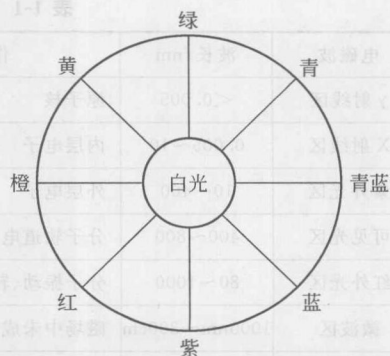


图 1-1 各种光的互补

有关药物含量的测定以及药代动力学研究均起着重要的作用。由于许多药物结构中具有吸收紫外或可见光的基团,或这些基团能与某些试剂、离子等发生颜色反应,从而很容易被检测,因此分光光度法在药物分析中得到了普遍应用。

1.2 分子吸收光谱

1.2.1 光的本质

光是一种电磁辐射或称电磁波,它具有波动性和粒子性(或波粒二象性)。电磁波和物质间相互作用及能量转换关系可以用下式表示:

$$E = hc/\lambda \quad (1-1)$$

式中, E 为电磁波能量, J; h 为普朗克常数, $6.63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$; c 为光速, $3 \times 10^{10} \text{ cm/s}$; λ 为电磁波波长, nm。式(1-1)表明电磁波的波长与其能量呈反比。

1.2.2 吸收和发射现象

1.2.2.1 吸收现象

当电磁辐射与物质作用时,将物质粒子(原子、离子和分子)吸收或发射光子的过程称为能级跃迁。当物质粒子的低能态(基态)与高能态(激发态)间的能量差与电磁辐射的能量相同时,则光子被粒子选择性地吸收,从而使粒子由基态跃迁到激发态,这个过程称为吸收过程或吸收现象。利用物质粒子对光的吸收现象而建立起的分析方法称为吸收光谱法,如紫外-可见吸收光谱法、红外吸收光谱法和原子吸收光谱法等。

1.2.2.2 发射现象

处在激发状态的物质粒子是不稳定的,在很短的时间内(大约 10^{-8} s),又从激发态回到基态,而将吸收的能量以光的形式释放出来,这个过程称为发射过程或发射现象。同样利用发射现象建立起的分析方法称为发射光谱法,如荧光发射光谱法和原子发射光谱法等。

1.2.2.3 电磁波的分类

将电磁辐射按波长的大小顺序排列成电磁波谱,可划分为不同的电磁波区。常见的有:紫外光区、可见光区和红外光区,其波长依次增长,而能量依次变小。利用不同电磁波区的电磁辐射和不同的吸收和发射现象可以建立不同的光谱分析方法,如表1-1列出了电磁波特性与光谱分析法的关系。

表 1-1 不同波长光与其光谱分析的关系

电磁波	波长/nm	作用对象	利用的现象
γ 射线区	<0.005	原子核	γ 射线吸收、活化、电子射线分析
X射线区	$0.005 \sim 10$	内层电子	X射线吸收、荧光、衍射分析
紫外光区	$10 \sim 400$	外层电子	原子荧光、吸收、发射及紫外吸收分析
可见光区	$400 \sim 800$	分子轨道电子	可见光度、荧光、拉曼、旋光分析
红外光区	$80 \sim 1000$	分子振动、转动	红外吸收分析
微波区	$1000 \text{ nm} \sim 300 \text{ cm}$	磁场中未成对电子的偶极矩	顺磁共振分析
无线电波区	$>300 \text{ cm}$	磁场中原子核的偶极矩	核磁共振分析



1.2.2.4 分子能级

分子内部各种运动状态所形成的能级结构。分子有如下三种运动方式：

- ① 形成化学键的电子云形状变化；
- ② 化学键振动；
- ③ 分子沿某一轴转动。

对应有三种能级：①电子能级；②振动能级；

③转动能级。

分子产生电子能级跃迁时所需能量较高。所以，发生电子能级跃迁的同时，总是伴随着分子振动能级与转动能级的跃迁，如图 1-2 所示不同能级对应不同的能级跃迁。因而在紫外-可见吸收光谱中，包含有各种振动能级与转动能级跃迁而产生的若干谱线，从而形成了吸收谱带，若干条吸收谱带就构成了整个分子的电子光谱。

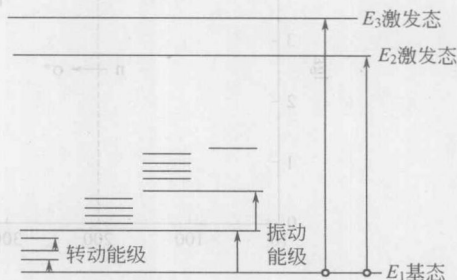


图 1-2 能级跃迁示意图

1.2.3 紫外-可见光吸收谱的产生

由于分子对可见-紫外光的吸收一般都涉及价电子的激发，因此吸收峰的波长与分子中存在的化学键类型相关，从而可以鉴定分子中的官能团并定量测定含有吸收官能团的化合物。

当分子吸收一定波长的紫外光时，电子发生跃迁，所产生的紫外吸收光谱，属于电子光谱。有机化合物的紫外-可见吸收光谱是三种电子跃迁的结果。如图 1-3 所示：形成单键的 σ 电子，形成双（叁）键的 π 电子，未成键的 n 电子。受到光的照射，基态电子吸收能量后变为激发态 π 电子和 σ 电子，同时产生吸收光谱，用紫外（可见）光照射有机分子，分子吸收紫外（可见）光后，从电子能级基态跃迁到激发态，一般得到比较强的近紫外（可见）吸收光谱。

紫外吸收光谱是由于分子中价电子的跃迁而产生的。分子吸收能量后，电子能从成键轨道跃迁到反键轨道，从不同成键轨道（ σ ， π ， n ）跃迁到反键轨道时，分子吸收的光能不同，如图 1-4 所示 $n \rightarrow \pi^*$ 及共轭烯烃的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸收的能量在 200nm 以上，落在近紫外区（200~400nm 为近紫外区），其他形式的跃迁都在 200nm 以下。紫外光的范围为 4~400nm，其中，4~200nm 为远紫外区。紫外吸收光谱的波长范围是 100~400nm，一般紫外光谱用来研究近紫外吸收，一般的紫外光谱也是指近紫外区。

1.2.4 紫外-可见光谱图

紫外-可见光谱图是由横坐标、纵坐标和吸收曲线组成的，横坐标表示吸收光的波长 λ ，

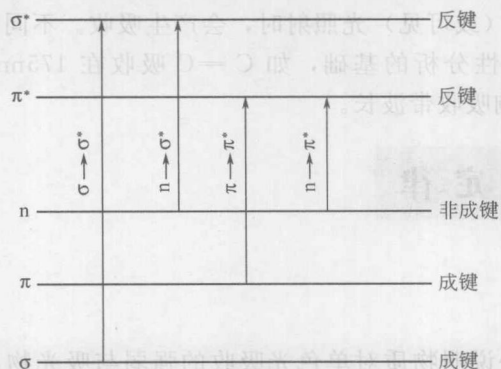


图 1-3 电子跃迁能级示意图

用 nm（纳米）为单位。纵坐标 A 表示吸收光的吸收强度，可以用 A （吸光度）、 T （透射比或透光率或透过率）、 $1/T$ （吸收率）、 K （吸收系数）中的任何一个来表示。在不同波长下，化合物的吸光度构成一条连续曲线。光谱图是描述化合物对各种频率（或波长）电磁波的吸收或透射情况的图形。习惯上，紫外光谱图采用波长 λ 为横坐标，吸光度 A 为纵坐标，在不同波长下，化合物的吸光度构成一条连续曲线，如图 1-5 所示。

吸收曲线上一般都有一些特征值。曲线上

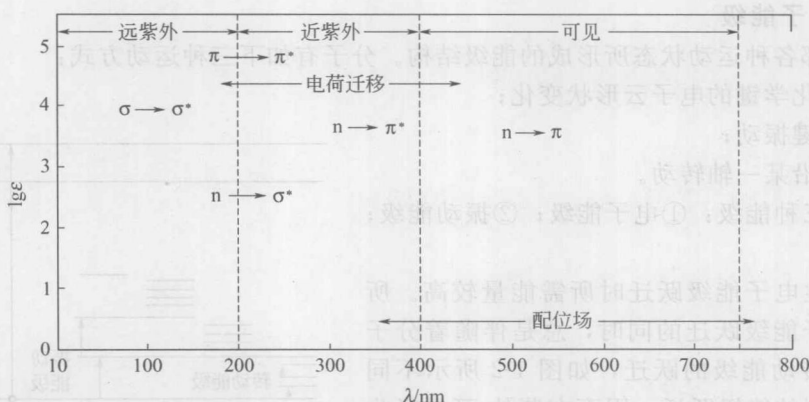


图 1-4 不同的轨道跃迁对应的不同紫外光谱

吸收最大的地方叫做吸收峰，它所对应的波长为最大吸收波长 ($\lambda_{\max}$)，峰与峰之间的部位叫做峰谷，该处的波长称为最小吸收波长 ($\lambda_{\min}$)。有的吸收峰较弱或两峰很接近，不容易显现出完整的吸收峰，而在一个吸收峰旁产生一个曲折称为肩峰 (λ_{sh})。在图谱短波端只呈现强吸收，而不成峰形的部分称为末端吸收 (在图的 4 部位)

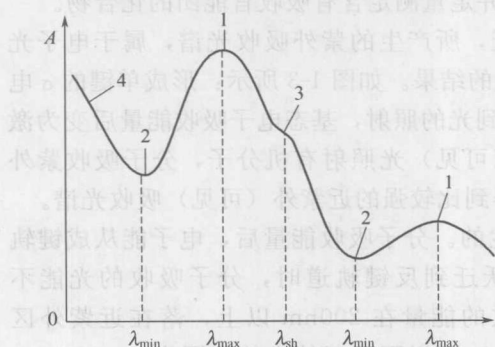


图 1-5 紫外-可见光谱图

1—吸收峰；2—峰谷；3—肩峰；4—末端吸收

某些物质的吸收光谱，可出现几个吸收峰。在正常情况下，选用同一物质的几种不同浓度的溶液所测得的吸收光谱曲线的图形是完全相似的。图 1-6 是四种不同浓度的 KMnO_4 溶液的四条吸收光谱曲线。从图中可以看出，四条曲线的形状完全相似， $\lambda_{\max}$ 值相同，这说明物质吸收不同波长的光的特性只与溶液中物质的结构有关，而与溶液的浓度无关。在分光光度法中，将吸收光谱曲线的特征值及整个吸收曲线的形状作为定性的依据，从图中还可以看出，同一物质，由于浓度不同，图上表现为吸收峰的高度不同，即浓度越大，吸收峰就越高。在分光光度法中，利用吸收

峰的高度与溶液浓度的正比关系进行定量分析。

吸收曲线表示化合物的紫外吸收情况，如含有共轭体系，会使吸收波长向长的方向移动，称红移，共轭体系越长，红移程度越大。含有共轭双键、苯环、羰基等能够发生红移的生色基团的有机化合物，在受到一定波长的紫外（或可见）光照射时，会产生吸收。不同的官能团有不同的特征吸收。光谱的特征性是定性分析的基础，如 $\text{C}=\text{C}$ 吸收在 175nm， $\text{C}=\text{C}$ 吸收在 213nm。另外，溶剂不同，也会影响吸收带波长。

1.3 吸收定律

1.3.1 紫外-可见光谱测定中的定量关系

1.3.1.1 朗伯-比尔 (Lambert-Beer) 定律

朗伯-比尔定律是吸收光谱法的基本定律，是说明物质对单色光吸收的强弱与吸光物质的浓度和厚度间关系的定律。朗伯定律说明吸收与浓度间的关系，比尔定律说明吸收与厚度

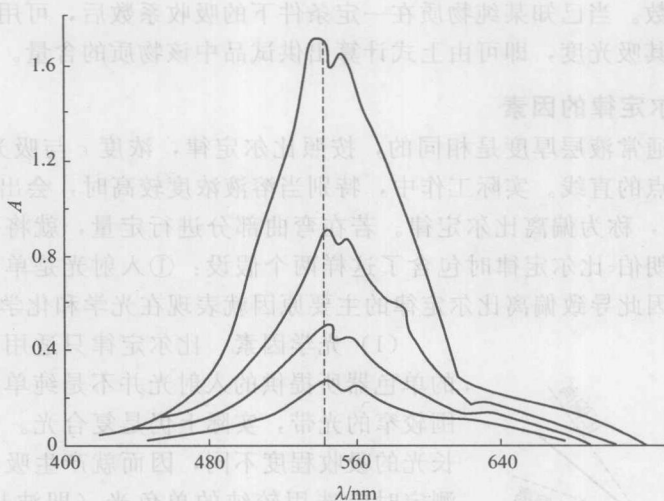


图 1-6 不同浓度样品吸光度的变化

间的关系。

当一定波长的单色光通过含吸光物质的被测溶液时，一部分光被吸光物质所吸收而使光强度减弱，减弱的程度用透光率表示，如图 1-7 所示单色光通过液层厚度为 l 的有色溶液时，溶质吸收了光能。光的强度就要减弱。溶液浓度愈大，光通过的液层厚度愈大，则光被吸收得愈多，光强度的减弱也愈显著。描述它们之间定量关系的定律称为朗伯-比尔定律。

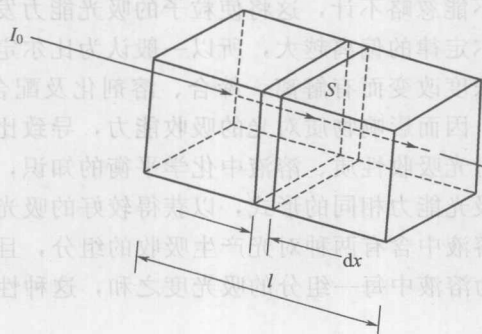


图 1-7 光通过吸光物质的情形

$$T = I_t / I_0 = 10^{-Ecl} \quad (1-2)$$

式中， I_t 为透射光强； I_0 为入射光强； E 为吸收系数； c 为吸光物质浓度； l 为吸光物质溶液的液层厚度或称光积长度。式 (1-2) 表明透光率与吸光物质的浓度和液层厚度之间是一种指数关系，如果将其转换为对数形式，则为：

$$\lg T = \lg(I_t / I_0) = -Ecl \quad (1-3)$$

定义透光率的负对数为吸光度 (absorbance, A)，所以，式 (1-3) 可以表示为：

$$A = \lg(1/T) = Ecl \quad (1-4)$$

式中， A 为吸光度； T 为透光率。

E 为吸收系数，采用的表示方法是 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ，其物理意义为当溶液浓度为 1% (1g/100mL)，液层厚度为 1cm 时的吸光度数值，是该物质的物理常数。

式 (1-4) 则为通常所称的朗伯-比尔定律，是分子光谱法的基本定律，它表明吸光度与浓度或液层厚度之间是简单的正比关系。物质对光的选择性吸收波长，以及相应的吸收系数

是该物质的物理常数。当已知某纯物质在一定条件下的吸收系数后,可用同样条件将该供试品配成溶液,测定其吸光度,即可由上式计算出供试品中该物质的含量。

1.3.1.2 影响比尔定律的因素

定量分析时,通常液层厚度是相同的,按照比尔定律,浓度 c 与吸光度 A 之间的关系应该是一根通过原点的直线。实际工作中,特别当溶液浓度较高时,会出现标准曲线弯曲现象(图 1-8 中虚线),称为偏离比尔定律。若在弯曲部分进行定量,就将引起较大的测定误差。实际上在推导朗伯-比尔定律时包含了这样两个假设:①入射光是单色光;②溶液是吸光物质的稀溶液。因此导致偏离比尔定律的主要原因就表现在光学和化学两个方面。

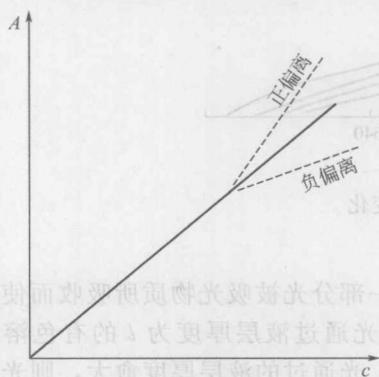


图 1-8 光度分析工作曲线

(1) 光学因素 比尔定律只适用于单色光,但一般的单色器所提供的入射光并不是纯单色光,而是波长范围较窄的光带,实际上仍是复合光。由于物质对不同波长光的吸收程度不同,因而就产生吸光度的不同。因此测定时应选用较纯的单色光(即波长范围很窄的复合光)。同时选择吸光物质的最大吸收波长的光作测定波长,因为吸收曲线此处较平坦,而且吸光系数大,测定有较高的灵敏度,对比尔定律的偏离就较小。

(2) 化学因素 朗伯-比尔定律假设溶液中吸光粒子是独立的,即彼此之间无相互作用。然而实际表明,这种情况只有在稀溶液才成立。高浓度时,溶液中粒子间距离减少,相互之间的作用不能忽略不计,这将使粒子的吸光能力发生改变,引起对比尔定律的偏离。浓度越大,对比尔定律的偏离越大,所以一般认为比尔定律仅适用于稀溶液。

另一方面,吸光物质可因浓度改变而有解离、缔合、溶剂化及配合物组成改变等现象,吸光物质发生存在形式的改变,因而影响物质对光的吸收能力,导致比尔定律的偏离。为了防止这类偏离,必须根据物质对光吸收性质、溶液中化学平衡的知识,严格控制显色反应条件。使被测物质定量地保持在吸光能力相同的形式,以获得较好的吸光度。

(3) 吸光度的加和性 当溶液中含有两种对光产生吸收的组分,且各组分间不存在相互作用时,则该溶液的总吸光度为溶液中每一组分的吸光度之和,这种性质称为吸光度的加和性。可以表示为:

$$A_T = E_1 c_1 l + E_2 c_2 l \quad (1-5)$$

式中, A_T 为总吸光度; E_1 、 E_2 和 c_1 、 c_2 分别为第一种和第二种组分的摩尔吸收系数和物质的量浓度。吸光度的加和性在多组分的定量测定中是十分有用的。

(4) 吸光度的测量

① 溶剂与容器 测量溶液吸光度的溶剂与吸收池应在所用的波长范围内有较好的透光性,即不吸收光或对光的吸收很弱。玻璃不能透过紫外光,所以在紫外区测定只能用石英池。许多溶剂本身在紫外光区有吸收峰,只能在它吸收较弱的波段使用。表 1-2 列出一些溶剂适用范围的最短波长。低于这些波长就不宜采用。

② 空白对比 测量吸光度,实际上是测量透光率。但在测量光强度减弱时,不只是由于被测物质的吸收所致,还有溶剂和容器的吸收,光的散射和界面反射等因素,都可使透光减弱。为了排除这些干扰因素,须用空白对比法。空白是指与试样完全相同的容器和溶液。只是不含被测物质。采用光学性质相同,厚度相同的吸收池装入空白液作参比,调节仪器。使透过参比吸收池的吸光度为零, $A=0$ 或透光率 $T=100\%$,然后将装有测量溶液的吸