

第10章 紫外-可见分光光度法 及分子荧光分析法

- 10.1 紫外-可见吸收光谱
- 10.2 朗伯-比尔定律
- 10.3 紫外-可见分光光度计
- 10.4 紫外-可见分光光度法的灵敏度与准确度
- 10.5 分析条件的选择
- 10.6 紫外-可见分光光度法的应用
- 10.7 分子荧光分析法简介

化学分析与仪器分析方法比较

化学分析： 常量组分($>1\%$), $E_r : 0.1\% \sim 0.2\%$

准确度高

依据化学反应, 使用玻璃仪器

仪器分析： 微量组分($<1\%$), $E_r : 1\% \sim 5\%$

灵敏度高

依据物理或物理化学性质, 需要特殊的仪器

例： 含Fe约0.05%的样品, 称0.2 g, 则 $m(\text{Fe}) \approx 0.1 \text{ mg}$

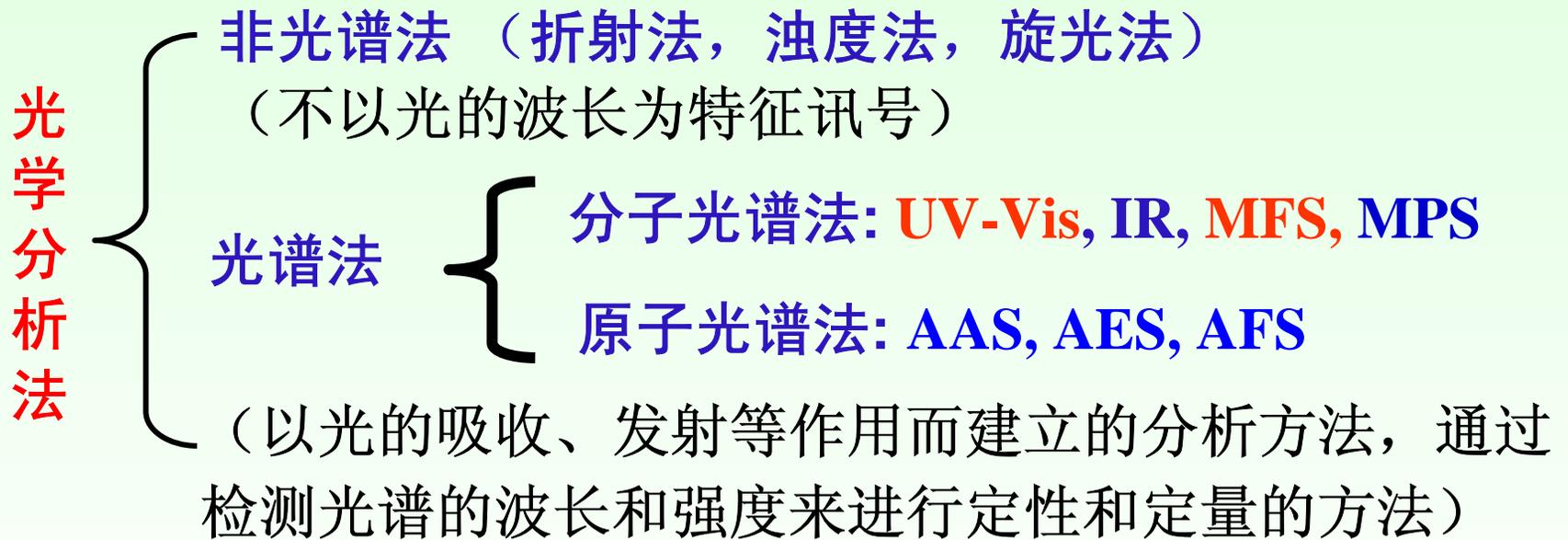
重量法 $m(\text{Fe}_2\text{O}_3) \approx 0.14 \text{ mg}$, 称不准

容量法 $V(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) \approx 0.02 \text{ mL}$, 测不准

光度法 结果0.048%~0.052%, 满足要求

仪器分析方法分类

1. 光学分析法：基于电磁辐射与物质的相互作用。



2. 电化学分析法：依据物质的电化学性质及其变化

3. 色谱法：气相色谱，液相色谱

4. 质谱法、热分析法、放射化学法等

分子光谱学

- 紫外-可见分光光度法(UV-Vis)
Ultra Violet-Visible Spectrophotometry
- 红外吸收光谱法(IR)
Infrared Spectroscopy
- 分子荧光光谱法(MFS)
Molecular Fluorescence Spectroscopy

➤ **分子磷光光谱法(MPS)**

Molecular Phosphorescence Spectroscopy

➤ **光声光谱法 (PAS)**

Photo Acoustic Spectroscopy

➤ **拉曼光谱法 (RS)**

Raman Spectroscopy

➤ **核磁共振波谱法(NMR)**

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

➤ **质谱法 (MS)**

Mass Spectroscopy

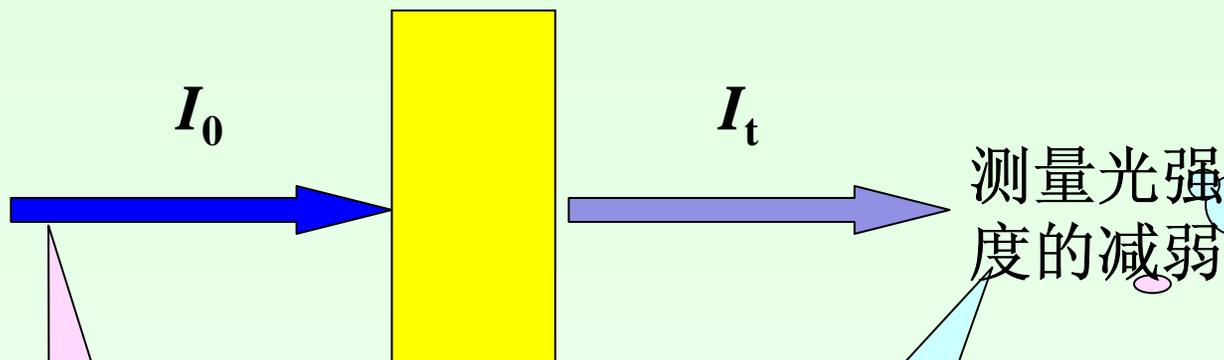
发展联用技术是趋势!

10.1 紫外—可见吸收光谱

吸光光度法是基于被测物质的分子对光具有选择性吸收的特性而建立起来的分析方法。

特点

- **灵敏度高**：测定下限可达 $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,
 $10^{-4} \% \sim 10^{-5} \%$
- **准确度**能够满足微量组分的测定要求：
相对误差 $2 \% \sim 5 \%$ ($1 \% \sim 2 \%$)
- **操作简便快速**
- **应用广泛**



测量光强度的减弱

分光光度法的应用：
定量测定与定性分析

光强的减弱与物质浓度的关系？
—朗伯-比尔定律

光强的测量
—分光光度计

物质对光有选择性吸收
—准备知识

10.1.1 分子吸收光谱的产生

光的基本性质 电磁波的波粒二象性

波动性

光的传播速度: $V = \frac{c}{n} = \lambda \cdot \nu$

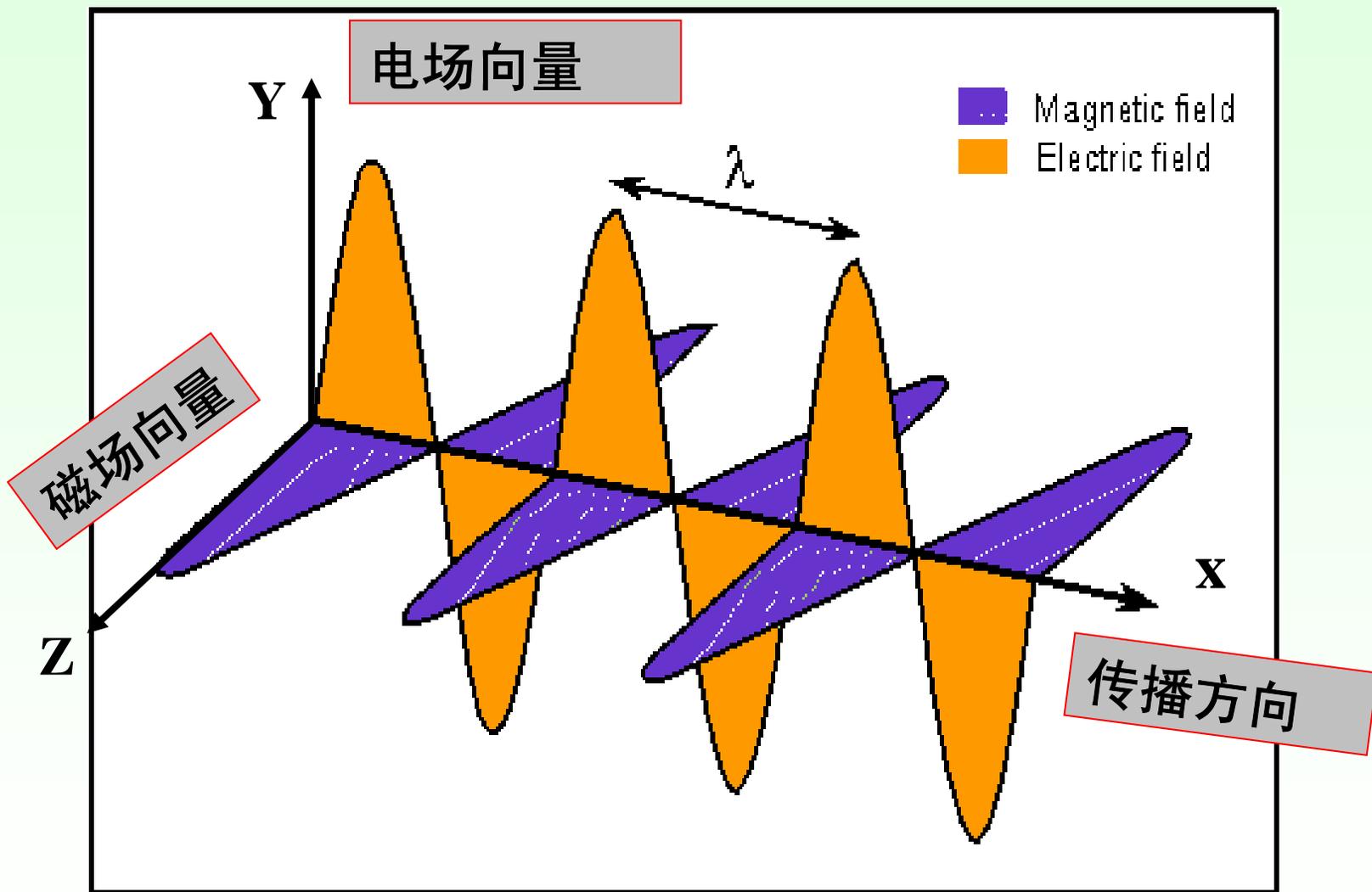
c —真空中光速 $2.99792458 \times 10^8 \text{ m/s}$
 $\sim 3.0 \times 10^8 \text{ m/s}$

λ —波长, 单位: m, cm, mm, μm , nm, \AA

$1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$, $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$, $1 \text{\AA} = 10^{-10} \text{ m}$

ν —频率, 单位: 赫兹(周)Hz 次/秒

n —折射率, 真空中为1



微粒性

光量子，具有能量.

$$E = h \cdot \nu$$

h —普朗克 (Planck) 常数 $6.626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$

ν —频率

E —光量子具有的能量

单位: J(焦耳), eV(电子伏特)

$$1 \text{ eV} = 1.602 \times 10^{-19} \text{ J}$$

波粒二象性

$$E = h \frac{c}{n\lambda} = h \frac{V}{\lambda} = h\nu \quad \text{真空中: } E = h \frac{c}{\lambda}$$

结论:一定波长的光具有一定的能量，波长越长(频率越低)，光量子的能量越低。

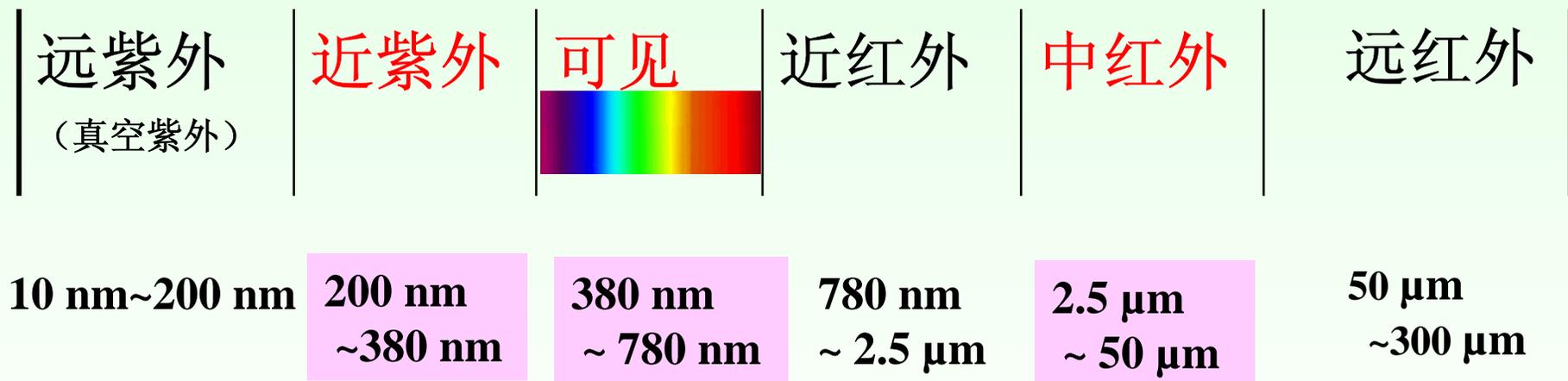
单色光: 具有相同能量(相同波长)的光。

混合光: 具有不同能量(不同波长)的光复合在一起。例如白光。

电磁波谱及分析方法

电磁波长 (cm)	$10^{-8} \sim 10^{-13}$	$10^{-6} \sim 10^{-9}$	$10^{-4} \sim 10^{-6}$	10^{-4}	$10^{-1} \sim 10^{-4}$	$10^{-1} \sim 10^{-2}$	10^2
Å	$10^{-5} \sim 1$	0.1~100	100~ 10^4	10^4	$10^4 \sim 10^7$		
nm			10~400	400~780	$780 \sim 3 \times 10^5$		
名称	γ 射线	X射线	紫外线	可见光	红外线	短波	中波
能量(eV)	$10^4 \sim 10^9$	$10^2 \sim 10^5$	$1 \sim 10^2$	1	$10^{-3} \sim 1$	$10^{-6} \sim 10^{-3}$	$\sim 10^{-6}$
能级跃迁	原子核	内层电子	外层价电子	分子轨道电子	分子转动 或振动	未成对电 子的偶极 矩	原子核的 偶极矩
利用吸收的分 析方法	γ 射线吸 收法	X射线吸 收法	原子吸收法 紫外吸收法	可见光分光光 度法	红外吸收 分析	顺磁共振	核磁共振
利用发射的分 析方法	活化分析	X射线 荧光 发射X 射线	原子荧光分析 火焰光度分析 发射光谱分析	荧光分析 磷光分析 拉曼分析			
利用相互作用的 分析方法	电子射线 分析	X射线 衍射分析	比浊法	旋光光谱法 圆偏光二向性 法			

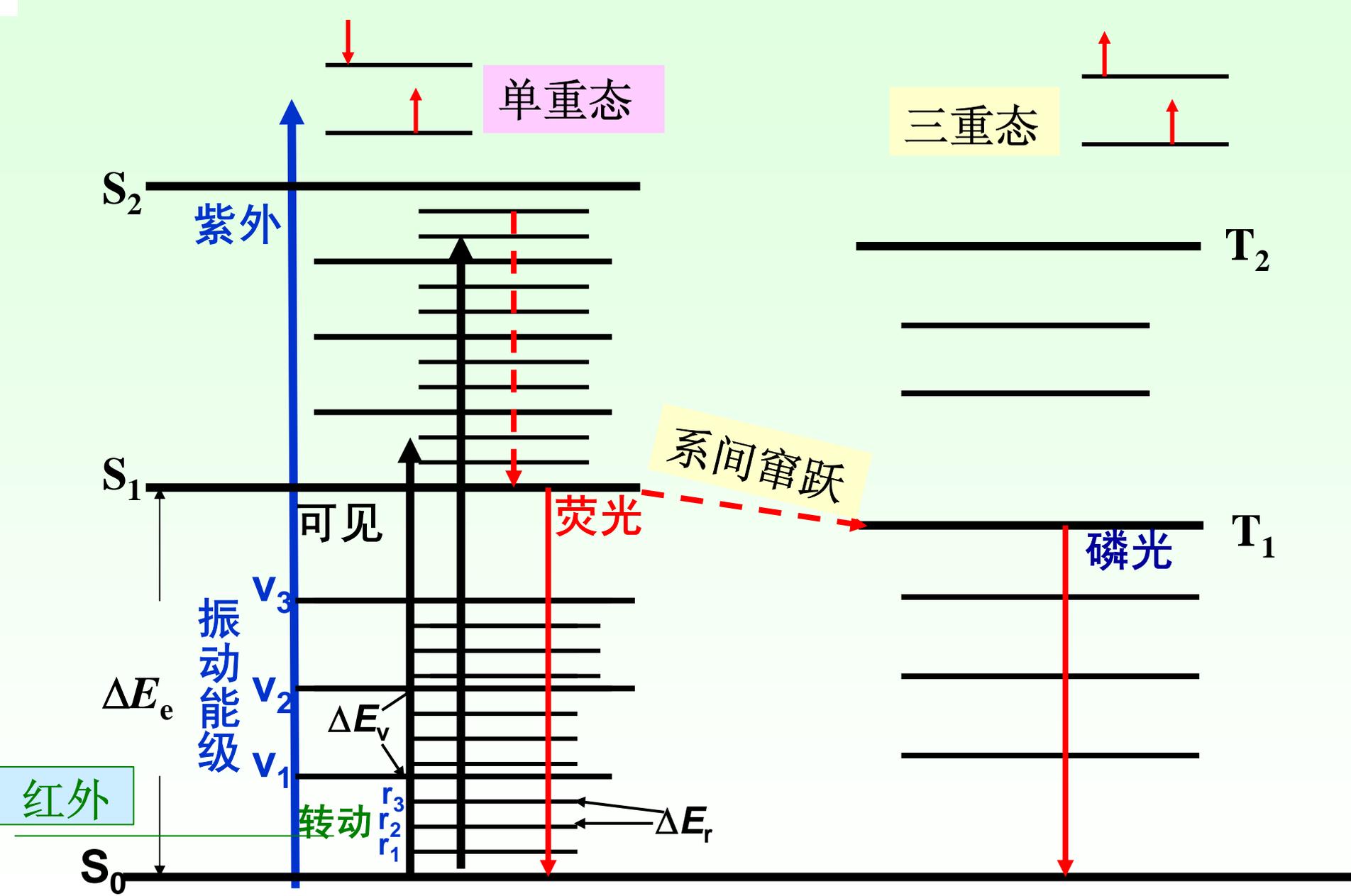
光学光谱区



物质对光的吸收与发射

物质分子内部3种运动形式及其对应能级：

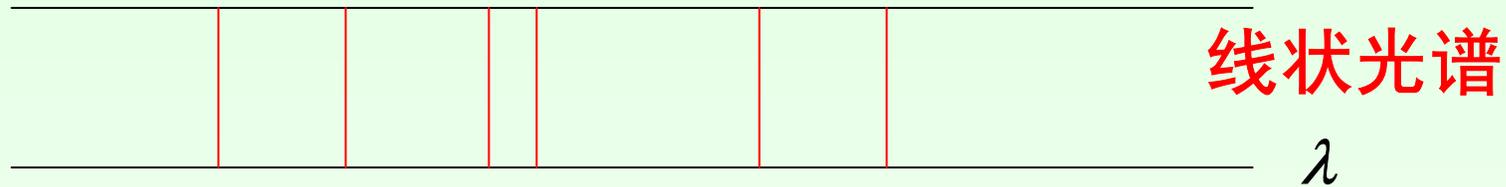
1. 电子相对于原子核的运动—— **电子能级**；
单重态：激发态与基态中的电子自旋方向相反。
三重态：激发态与基态中的电子自旋方向相同。
2. 原子核在其平衡位置附近的相对振动
—— **振动能级**；
3. 分子本身绕其重心的转动—— **转动能级**。



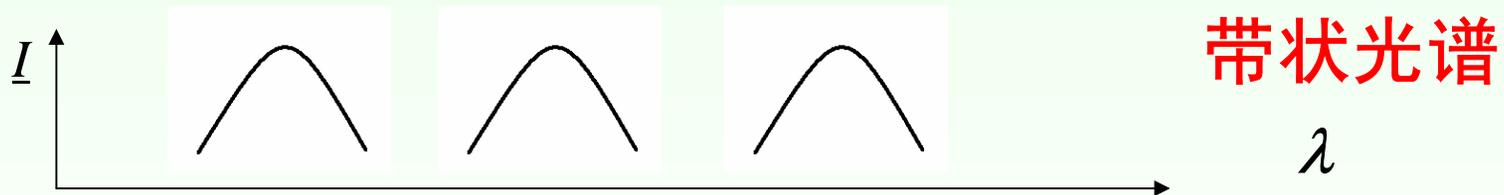
分子吸光与发光示意图

光谱种类

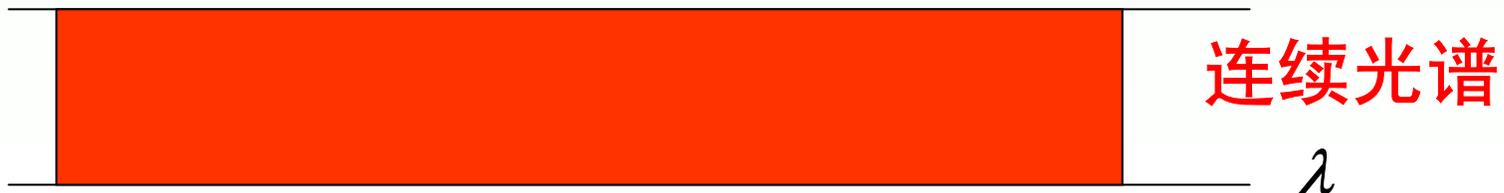
原子光谱：吸收、发射、荧光



分子光谱：紫外、可见、红外等吸收光谱



黑体辐射：白炽灯、液、固灼热发光



分子对光的吸收与吸收光谱

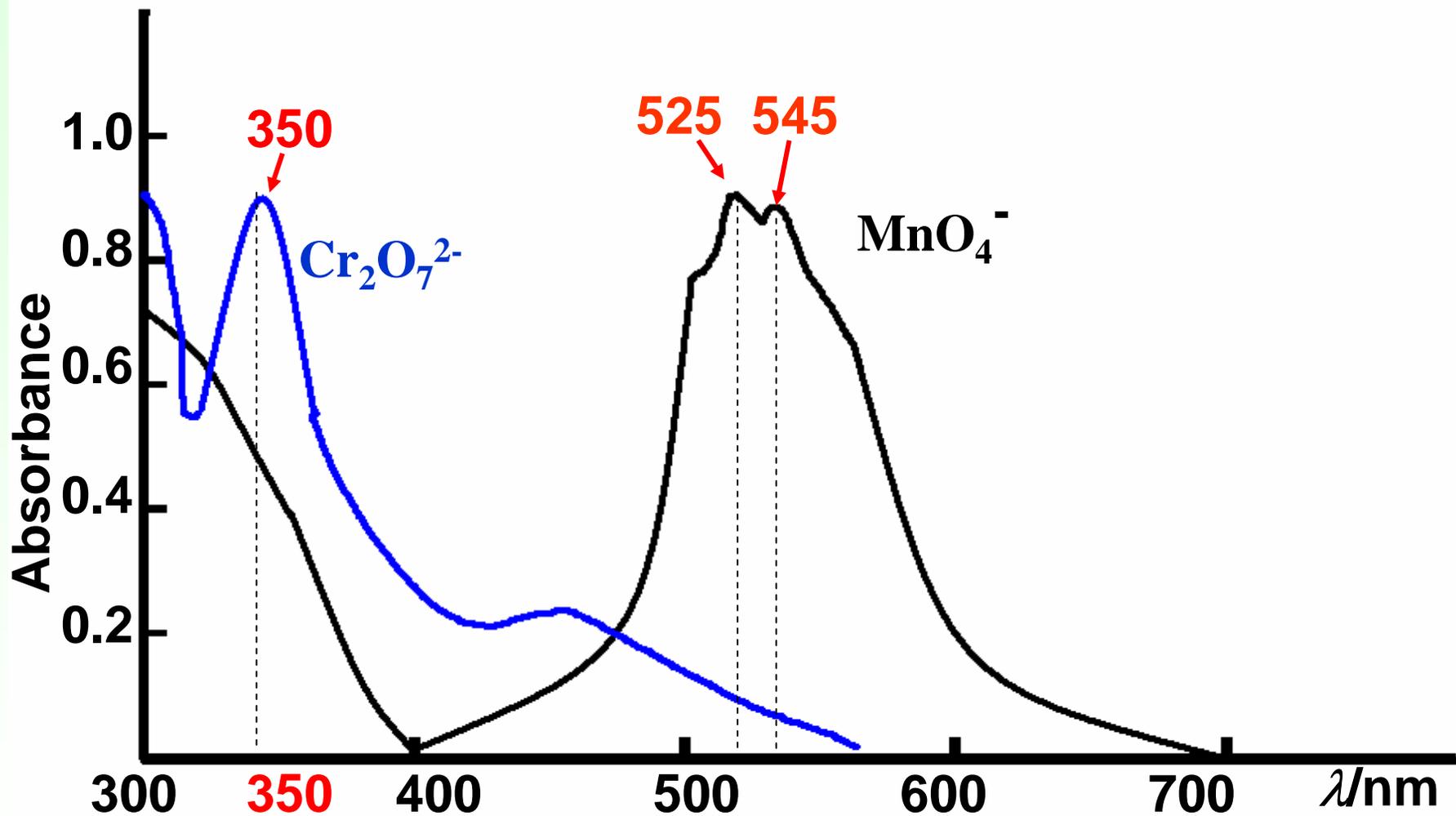
不同颜色的可见光波长及其互补光

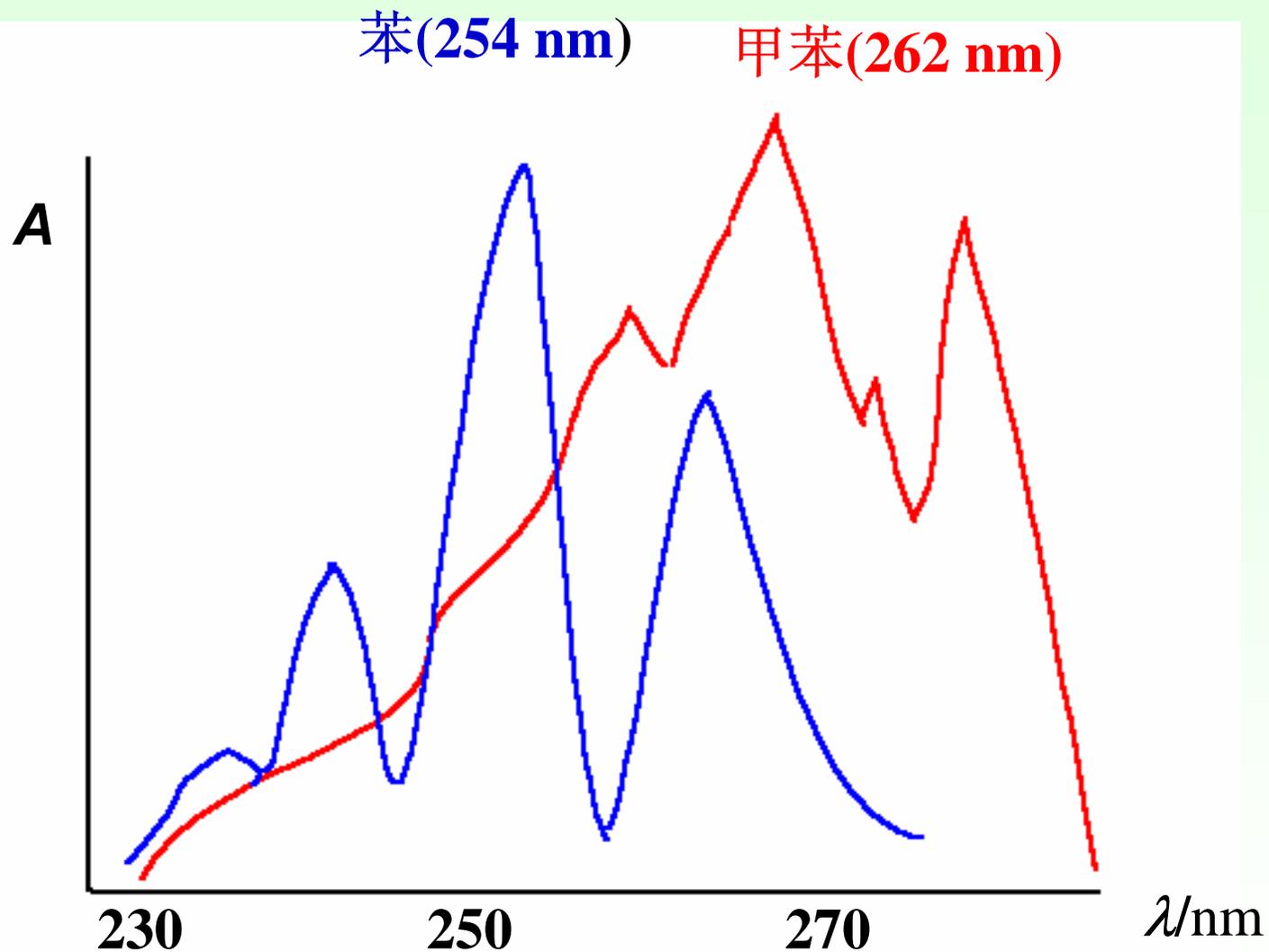
λ/nm	颜色	互补光
400 ~ 450	紫	黄绿
450 ~ 480	蓝	黄
480 ~ 490	绿蓝	橙
490 ~ 500	蓝绿	红
500 ~ 560	绿	红紫
560 ~ 580	黄绿	紫
580 ~ 610	黄	蓝
610 ~ 650	橙	绿蓝
650 ~ 760	红	蓝绿

一些材料的有效透明区

熔融石英	晶体石英	玻璃	NaCl
170 nm~3.6 μm	200~600 nm 2 μm~3.5 μm	360 nm~2.5 μm	200 nm~15 μm
KCl	KBr	CsI	
200 nm~18 μm	230 nm~25 μm	230 nm~50 μm	

$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 、 MnO_4^- 的吸收光谱





苯和甲苯在环己烷中的吸收光谱

➤ 不同物质吸收光谱的形状以及 λ_{\max} 不同
——定性分析的基础

➤ 同一物质，浓度不同时，吸收光谱的形状相同， A_{\max} 不同
——定量分析的基础