

紫外可见分光光度计原理及应用

1852年，比尔(Beer)参考了布给尔(Bouguer)1729年和朗伯(Lambert)在1760年所发表的文章，提出了分光光度的基本定律，即液层厚度相等时，颜色的强度与呈色溶液的浓度成比例，从而奠定了分光光度法的理论基础，这就是著名的比尔朗伯定律。1854年，杜包斯克(Duboscq)和奈斯勒(Nessler)等人将此理论应用于定量分析化学领域，并且设计了第一台比色计。到1918年，美国国家标准局制成了第一台紫外可见分光光度计。此后，紫外可见分光光度计经不断改进，又出现自动记录、自动打印、数字显示、微机控制等各种类型的仪器，使光度法的灵敏度和准确度也不断提高，其应用范围也不断扩大。

紫外可见分光光度计法从问世以来，在应用方面有了很大的发展，尤其是在相关学科发展的基础上，促使分光光度计仪器的不断创新，功能更加齐全，使得光度法的应用更拓宽了范围。

1.原理

物质的吸收光谱本质上就是物质中的分子和原子吸收了入射光中的某些特定波长的光能量，相应地发生了分子振动能级跃迁和电子能级跃迁的结果。由于各种物质具有各自不同的分子、原子和不同的分子空间结构，其吸收光能量的情况也就不会相同，因此，每种物质就有其特有的、固定的吸收光谱曲线，可根据吸收光谱上的某些特征波长处的吸光度的高低判别或测定该物质的含量，这就是分光光度定性和定量分析的基础。分光光度分析就是根据物质的吸收光谱研究物质的成分、结构和物质间相互作用的有效手段。

紫外可见分光光度法的定量分析基础是朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律。即物质在一定浓度的吸光度与它的吸收介质的厚度呈正比

2 应用

2.1 检定物质

根据吸收光谱图上的一些特征吸收，特别是最大吸收波长 λ_{ax} 和摩尔吸收系数是检定物质的常用物理参数。这在药物分析上就有着很广泛的应用。在国内外的药典中，已将众多的药物紫外吸收光谱的最大吸收波长和吸收系数载入其中，为药物分析提供了很好的手段。

2.2 与标准物及标准图谱对照

将分析样品和标准样品以相同浓度配制在同一溶剂中，在同一条件下分别测定紫外可见吸收光谱。若两者是同一物质，则两者的光谱图应完全一致。如果没有标样，也可以和现成的标准图谱对照进行比较。这种方法要求仪器准确，精密度高，且测定条件要相同。

2.3 比较最大吸收波长吸收系数的一致性

2.4 纯度检验

2.5 推测化合物的分子结构

2.6 氢键强度的测定

实验证明，不同的极性溶剂产生氢键的强度也不同，这可以利用紫外光谱来判断化合物在不同溶剂中氢键强度，以确定选择哪一种溶剂。

2.7 络合物组成及稳定常数的测定

2.8 反应动力学研究

2.9 在有机分析中的应用

有机分析是一门研究有机化合物的分离、鉴别及组成结构测定的科学，它是在有机化学和分析化学的基础上发展起来的综合性学科。

原子吸收分光光度计发展史

20世纪50年代末，英国Hilger&Watts公司和美国PE公司分别在Uvispek和P-E13型分光光度计基础上研发了火焰原子吸收分光光度计。Hilger&Watts的Uvispek被称为第一台问世的火焰原子吸收光谱商品仪器。

1970年美国PE公司推出了第一台石墨炉原子吸收光谱商品仪器(HGA-70型)。

1969年 Prugger 和 Torge 申请了塞曼背景校正方法的专利。

1976年日本 Hitachi 公司的第一台恒定磁场塞曼原子吸收光谱仪器投放市场。

1983年有自吸背景校正方法的论文。同年有仪器参展

1990年第一个纵向磁场, 横向加热石墨炉塞曼原子吸收光谱仪, PE 的 ZL4100。

1997年北京瑞利分析仪器公司推出了带富氧空气-乙炔高温火焰原子化器的原子吸收光谱仪器。

21世纪前夕, 美国 Thermo 公司与 PE 公司先后将高分辨的分光系统——中阶梯光栅单色器引入原子吸收光谱仪

1802年, 渥拉斯通(Wollastone)发现了太阳暗线

1860年柯希霍夫(Kirchhoff)和本生(Bunsen)解释了太阳暗线产生的原因: 由于太阳周围较冷气体中存在的某些元素原子, 吸收了太阳的连续光谱而形成的。

原子吸收光谱法诞生于 1955年: 澳大利亚人瓦耳士(Walsh), 荷兰人艾柯蒙德(Alkemade) 米拉兹(Milatz) 分别独立发表了原子吸收光谱分析的论文。瓦耳士(Walsh)被全世界公认为原子吸收光谱分析的奠基人。他提出将原子吸收光谱法作为常规的分析方法并建立了原子吸收光谱分析法。

李·沃屋(L'vov)是石墨炉原子吸收光谱分析法(GFAAS)的提出者和奠基人, 又是石墨炉原理样机的发明者。

马斯美恩(Massmann)是商品石墨炉原子化器样机的发明者, 1968年 Massmann 炉问世。1970年美国 PE 推出第一台石墨炉原子吸收分光光度计商品仪器 ZL4100。

原子吸收发展四阶段:

- 1, 1954-1959年实验室仪器装置的研发阶段
- 2, 1960-1970年商品仪器初级阶段
- 3, 1971-1990年商品仪器完善阶段
- 4, 1991-现在商品仪器及技术发展进入了高水平的平台阶段。

1965年, 吴廷照等组装成功了实验型原子吸收光谱仪。1970年, 北京科学仪器厂生产了我国第一台单光束火焰原子吸收分光光度计。

分光光度计数据采集原理

1.1 双光束分光光度计原理

分光光度计利用的基本原理是郎伯特-比尔(Lambert-Beer)定律, 即溶液的吸光度 Abs 与溶液的吸收系数 a, 浓度 C, 液层的厚度 L 成正比。

$$\text{即: } Abs = -\lg T = \lg(I_0/I) = aCL \quad (1)$$

式中: T 为透过率, I_0 为人射光强, I 为透过光强。每种物质都有特定的吸收光谱曲线, 通过测量不同波长处待测物质的吸光度或透过率值得到其吸收谱线, 与已知谱线比较即可鉴别该物质或测定该物质的浓度。常用分光光度计基本结构如图 1 所示, 由光源、单色仪、样品池、探测器、放大器、记录仪 6 部分组成。

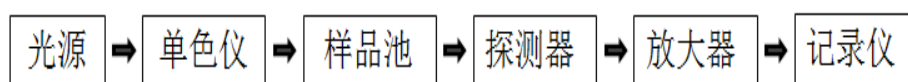


图 1 分光光度计基本结构框图

双光束分光光度计光路结构如图 2 所示。由钨灯和氘灯分别提供可见光和紫外光的连续光源。单色仪将光束分为单色光后通过一个快速转动的扇形旋转镜将光一分为二分别打到样品池和参照池上, 以此消除光源变化带来的误差(因此称为双光束式分光光度计), 用同一个探测器(光电倍增管 PMT)交替接收透过的光强信号。

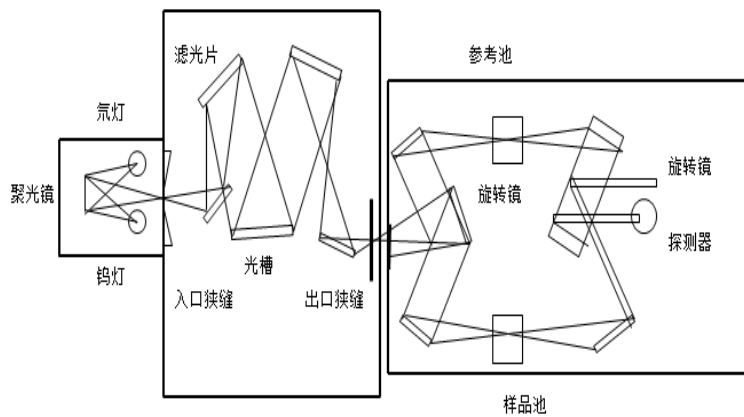


图 2 分光光度计信号特征

信号处理过程如图 3 所示。透过样品池光束 I 和参考池光束 I_0 ，通过旋转镜 M 交替打到光电倍增管上，其输出信号经运放 IC_1 放大成 $to -F L$ ，再经与旋转镜 M 同步的开关 so, si 将信号分离为 i_0 和 i 。参考信号 i_0 与标准电压 E 之差通过运放 IC_2 放大后控制 PMT (打拿极) 电压，使得 i 与 E 保持一致。在参考信号连续控制 PMT 的负电压下测量样品信号可以消除电压及光源的波动影响，提高测量精度。此时样品信号 i 输出为与样品池的透过率成正比的电压信号，也可再经对数运算电路得到与吸光度值成正比的连续变化的模拟电压信号。此电压信号变化速率主要由波长扫描速度和记录仪走纸速度决定，为低频信号。数量级为 $0-100\text{mv}$ 的模拟电压信号输出到记录仪经放大后驱动描记电路，使电信号转换为记录笔的机械动作从而画出吸收(或透射)光谱曲线。由上可知分光光度计输出信号是与所测参数成线性关系的电压模拟量信号，易于利用数字电路处理。

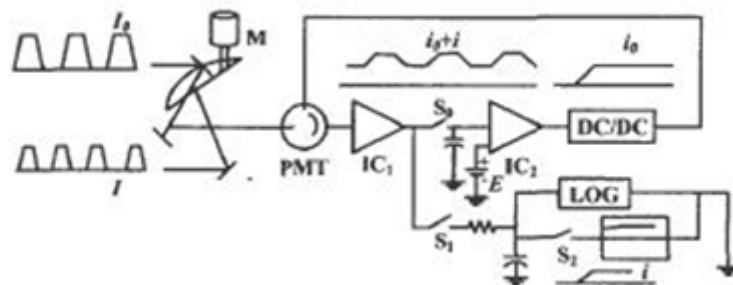


图 3 测量信号处理框图