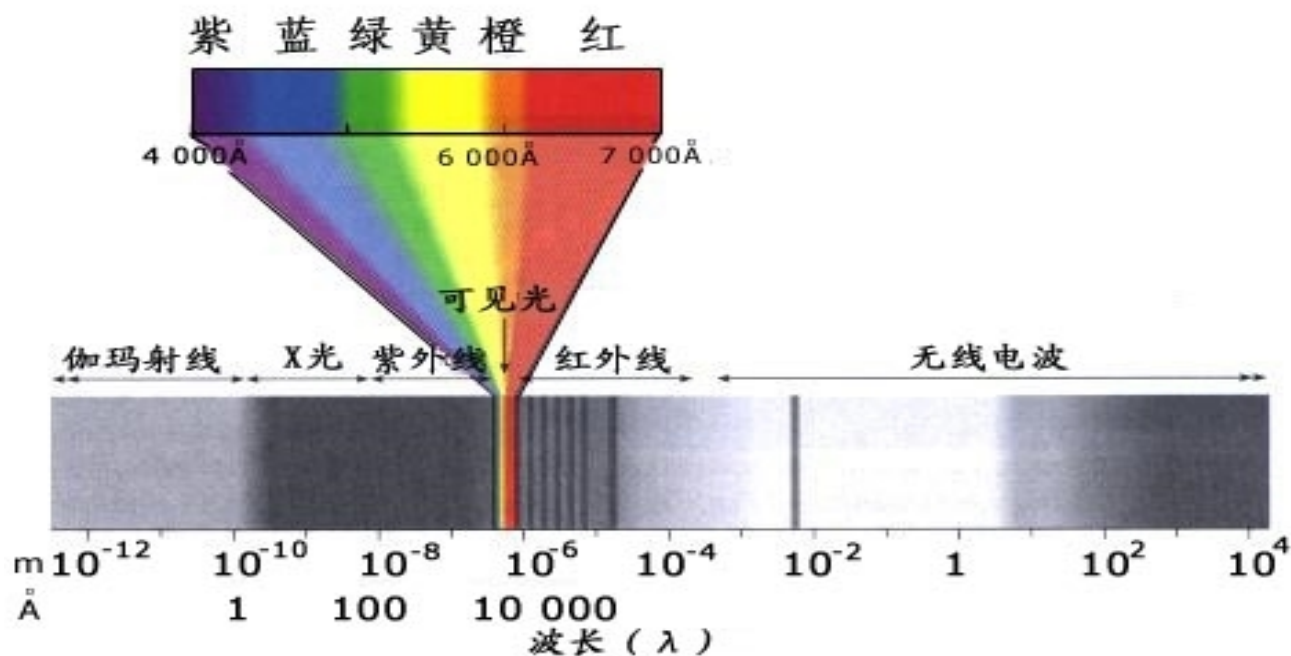


关于分光光度技术

第一节 光学原理

把电磁波按频率大小，从频率最小的无线电波到频率最大的 γ 射线排列，既为**电磁波的波谱**



电磁波谱

- 当光线通过某种物质的溶液时，透过光的强度会减弱。因为它分成了三部分：
- 一部分光在溶液的表面**反射或分散**，一部分被组成此溶液的物质所**吸收**，其余便是**透过光**的强度。即：

入射光=反射光+分散光+吸收光+透过光

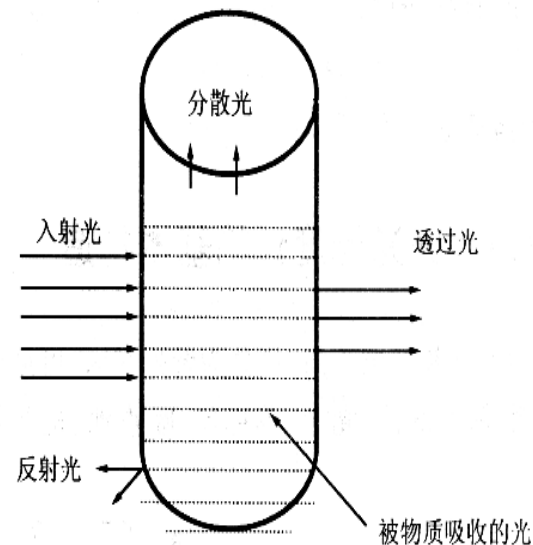
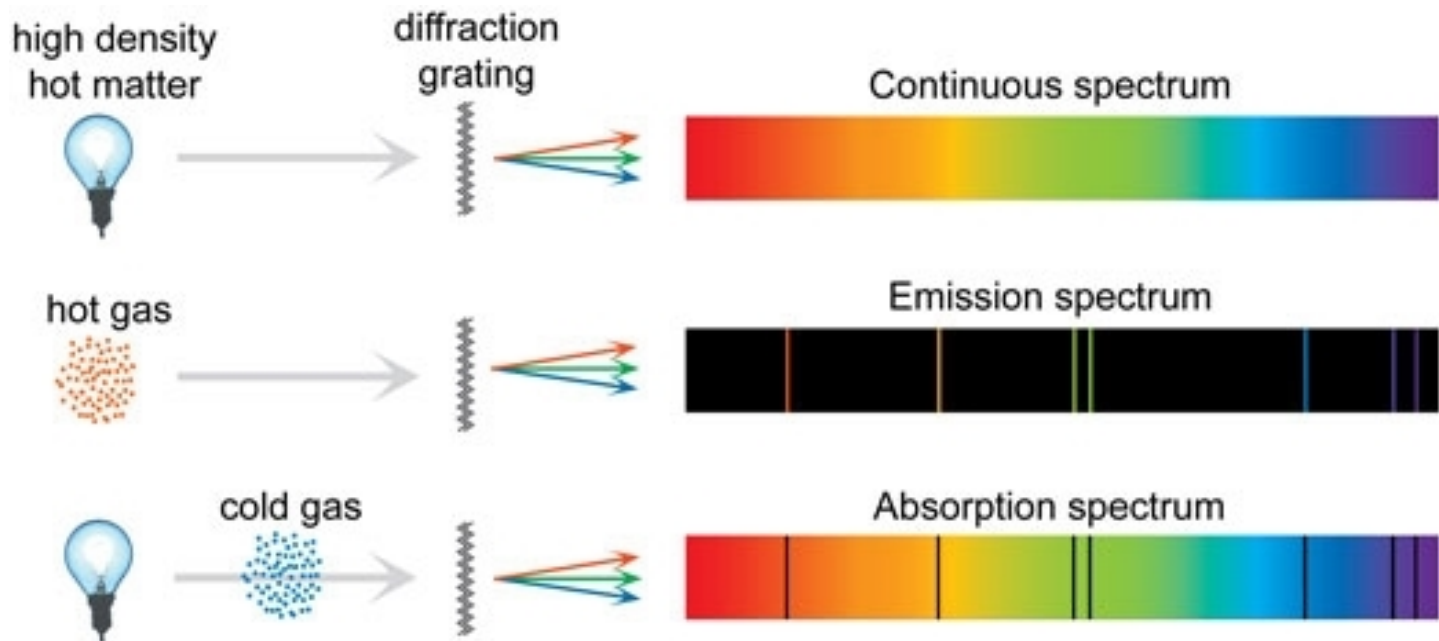


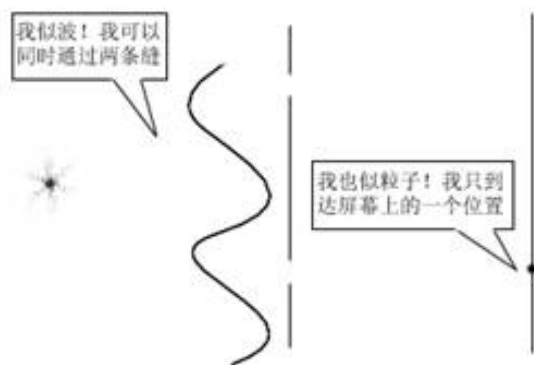
图 2-3-2 一束光透过溶液时的状况

- “**空白**”**校正**：在检测过程中，若用蒸馏水或待测溶液的溶剂作为“空白”校正反射、分散等因素所造成的入射光的损失，则：
- **入射光(I₀)=吸收光+透过光(I)**

- 分光光度法是利用物质所特有的吸收光谱来鉴别物质或测定其含量的技术。
- 吸收光谱 (absorption spectrum) 即物质对不同波长光的吸收程度不同而产生的光谱。
- 分子对各个波长的光吸收程度不同，这是分子的结构特性所决定的。



☺ 物质所发射的光是具有**波粒二象性**：



微粒性

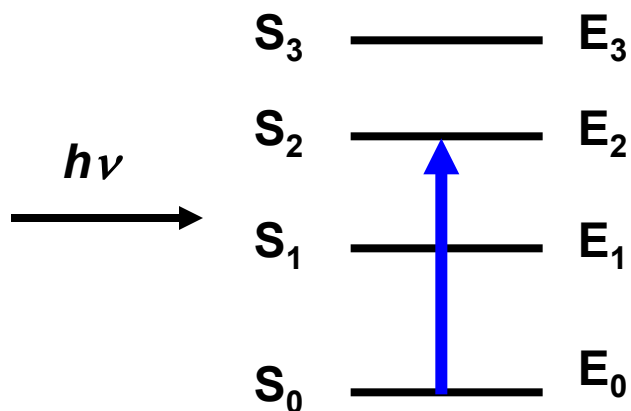
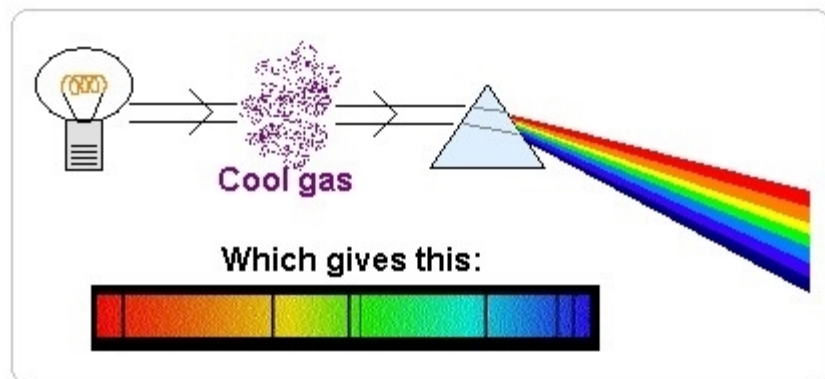
波动性

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

E 为光子的能量； ν 为光波的频率（ Hz ）； h 为普朗克常数（ 6.626 ）； c 为光速（ $2.9977 \times 10^8 m/s$ ）； λ 为光波的波长

- 光波具有一定的频率。不同单色光的颜色不同，即因其频率不同所致。
- 不同频率的光波在真空中的传播速度相同。根据光的速度(c)和频率(ν)可计算出它的波长(λ)

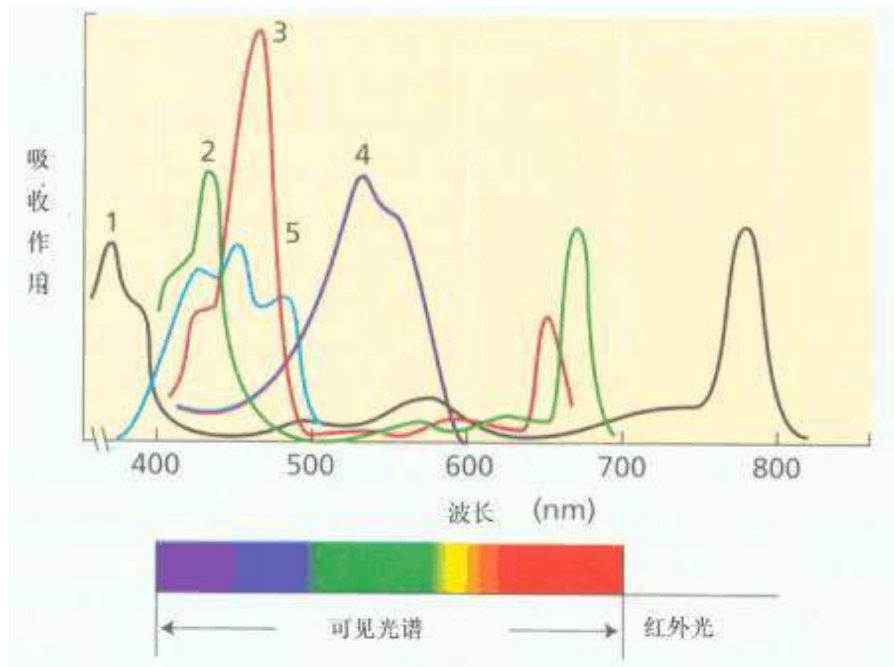
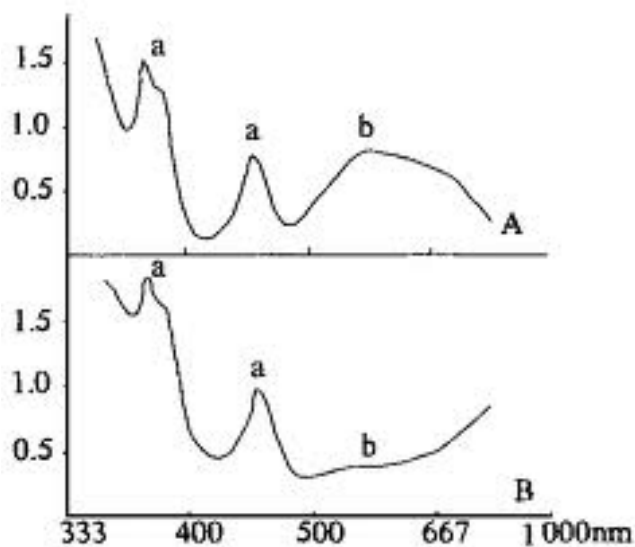
- 物质的吸收光谱: 在连续光谱中某些波长的光被物质吸收后产生的光谱被称作吸收光谱, 包括分子吸收光谱和原子吸收光谱。吸收光谱取决于物质的结构。



$$h\nu = E_2 - E_0$$

$$\Delta E = E_2 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

- 从一个有连续光谱的光源，逐步地分出各个波长的光，使其透过待测物的真溶液，测出其在不同波长时的光密度；
- 然后以波长为横坐标，光密度为纵坐标，就可以得到待测物的吸收光谱曲线；
- 由此找出其中吸收最强的波长，作为灵敏光波长对该物质未知液液进行定量测定。

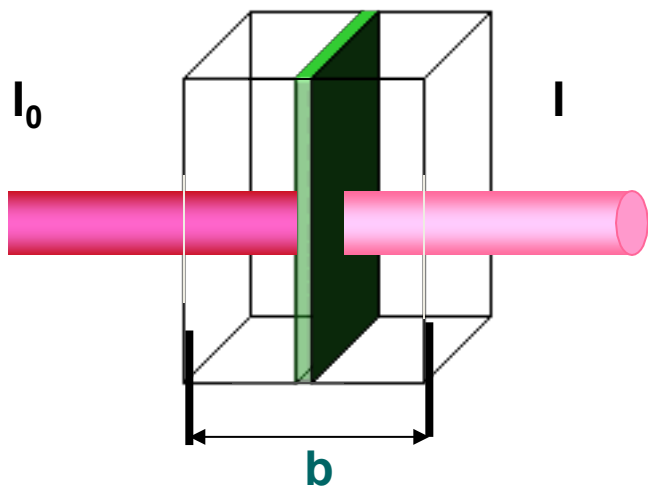


曲线1-细菌叶绿素a；曲线2-叶绿素a；曲线3-叶绿素b；曲线4-藻胆红素；曲线5-β-胡萝卜素

😊朗伯-比尔定律:

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-kbc}$$

$$A = -\lg T = -\lg \frac{I}{I_0} = \lg \frac{I_0}{I} = \lg \frac{1}{T} = kbc$$



I_0 : 入射光强度

b : 液层厚度

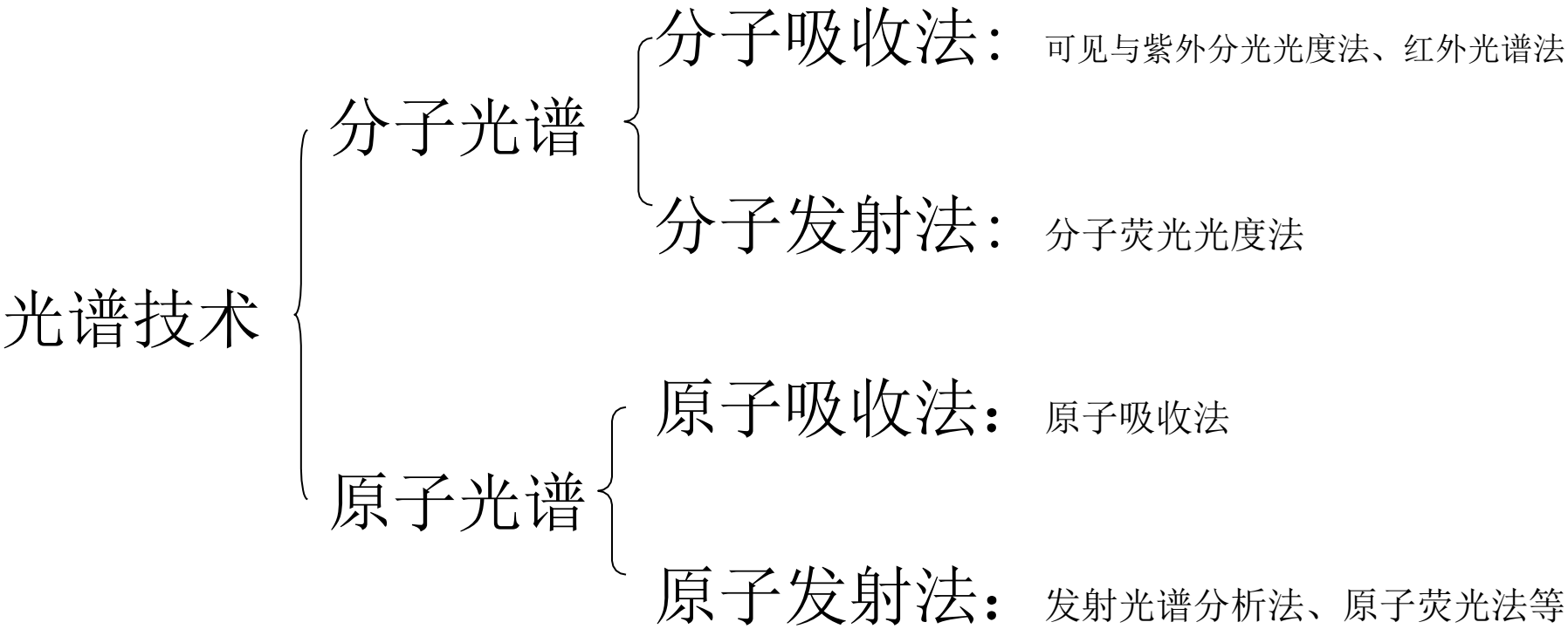
T : 透光度

k : 吸光系数

C : 溶液浓度

I : 透射光强度

A : 吸光度



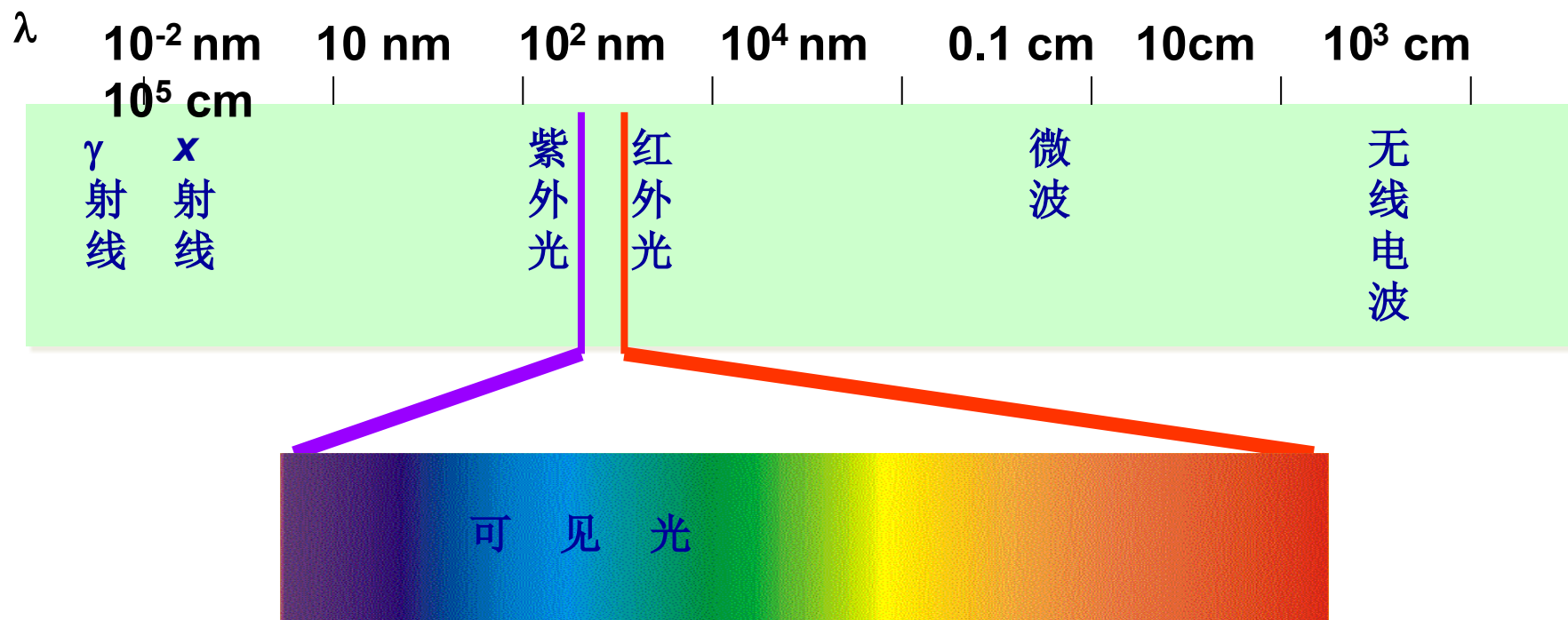
光谱分析技术的分类

第二节 紫外-可见分光光度计

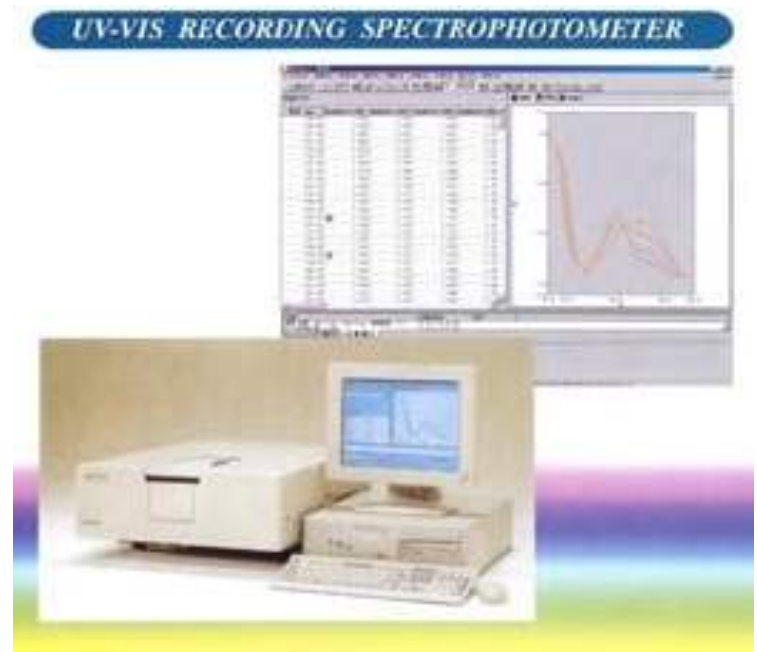
➤ **分光光度计**: 能从含有各种波长的混合光中将每一单色光分离出来并测量其强度的仪器。

- 分析精密度高
- 测量范围广
- 分析速度快
- 样品用量少

- 根据使用的波长范围不同分为紫外光区、可见光区、红外光区以及万用（全波段）分光光度计等。



- 紫外-可见分光光度计：工作波段在200nm ~800nm的分光光度计。其中：
 - 200nm~400nm为紫外光区。
 - 400nm~800nm为可见光区。
 - 属于分子吸收光谱仪。



- 721 可见分光光度计



- 722系列 可见分光光度计



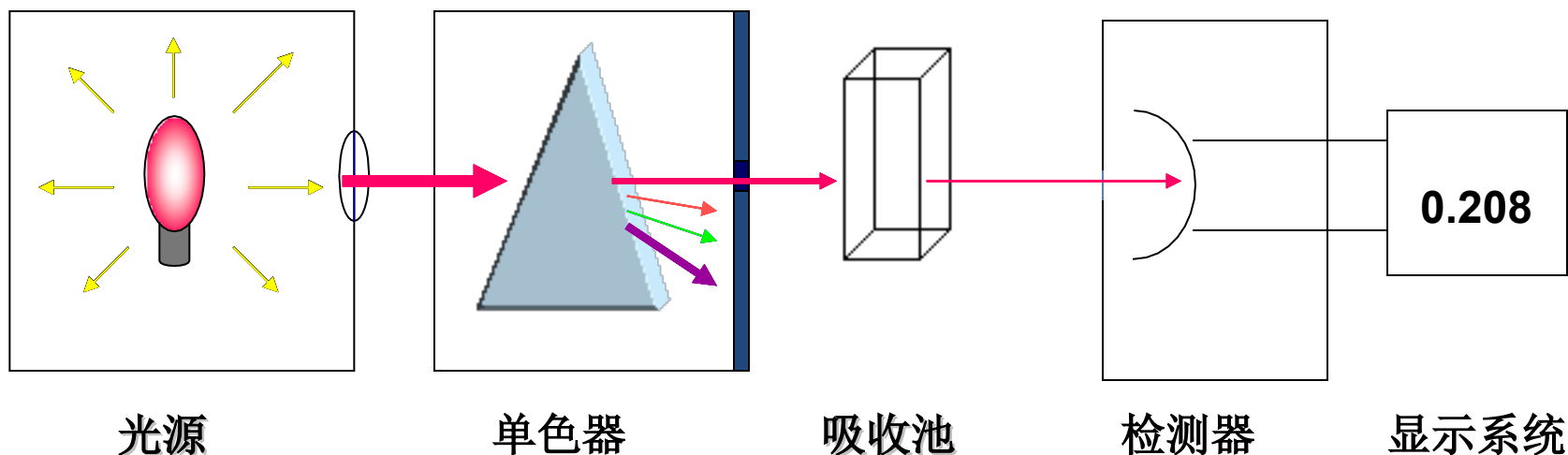
- SP-756P紫外可见分光光度计



- TENSOR系列红外光谱仪



一、紫外-可见分光光度计的基本结构和工作原理



它包括5个基本部件：光源、单色器、吸收池、检测器和测量仪表

紫外-可见分光光度计的基本结构示意图

➤ **光源 (light source)** : 提供入射光的装置。

要求:

1. 能在所需波长范围的光谱区域内发射连续光谱;
2. 有足够的辐射强度并能长时间稳定。

➤ 常用的光源有热辐射灯（钨灯、卤钨灯等），气体放电灯（氢灯、氙灯及氩灯等），金属弧灯（各种汞灯）等。



几种常见光源比较

| 光源 | 波长范围 (nm) | 特 点 |
|-----|--------------|------------------|
| 钨灯 | 320~2500 | 钨丝易蒸发，寿命短。用于可见光区 |
| 卤钨灯 | 320~2500 | 加入卤素使用寿命延长，稳定性好 |
| 氢灯 | 185~375 | 用于紫外区 |
| 氘灯 | 185~375 | 发光强度比氢灯高3~5倍 |
| 汞灯 | 254~734 | 用于紫外或荧光分析仪 |

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/598131014023006070>