

## 紫外可见分光光度法模块之 紫外可见分光光度计的基本操作

### 教学任务

- 阅读说明书，编写仪器操作规程
- 练习操作紫外-可见分光光度计
- 对仪器进行校验，检验其是否合格
- 进行仪器的日常维护与保养

### 教学方法

- 引探法

### 学时

- 每 20 人一个学习组，一人一台紫外可见分光光度计，整个任务需 6 学时。

### 教学设计

问题：现代家装过程中经常会出现甲醛超标，如何进行测定？

↓  
学生根据查阅资料，回答各种分析方法

↓  
教师引出紫外可见分光光度法和紫外可见分光光度计

↓  
学生自学仪器使用说明书，

↓  
教师指导，认知仪器的结构、分析作用

↓  
教师示范仪器使用过程

↓  
学生进行仪器基本操作练习

↓  
学生归纳总结仪器的操作规程，教师分析仪器使用的注意事项，及日常维护与保养

↓  
讲解紫外可见分光光度计的类型与特点

↓  
教师讲授紫外分光光度法的基础知识、吸收曲线、朗伯比尔定律

↓  
教师总结讲解课堂重点内容



下次课程问题：如何对样品进行定量分析？

## 课程引入

- 问题：2005年中央12台曾报道，上海市的蔡女士一家刚住进新房没多久，丈夫就得了白血病去世。通过检测机构对室内的空气质量进行一次检测，发现储藏室和卧室中的甲醛含量竟然远远超出标准值的三倍。

现代家装过程中经常会出现甲醛超标，如何进行测定？

（上次课结束后即布置并安排学生在课后查阅资料）

- 国家标准《公共场所空气中甲醛测定方法》(GB/T18204.26-2000)：

第一法：酚试剂分光光度法（仲裁法）

第二法：气相色谱法

- 学生根据所查资料提出解决方案并进行现场讨论以决定各解决方案的优劣。

（分光光度法简单，实用，应用比较广泛。利用空气中的甲醛与酚试剂反应生成嗪，嗪在酸性溶液中被高铁离子氧化形成兰绿色化合物。根据颜色深浅，比色定量。）

（气相色谱法操作复杂，需要特殊的设备。空气中甲醛在酸性条件下吸附在涂有2,4-二硝基苯(2,4-DNPH)6201担体上，生成稳定的甲醛腙。用二硫化碳洗脱后，经OV-色谱柱分离，用氢焰离子化检测器测定，以保留时间定性，峰高定量。）

- 最后教师引出本次课程的教学内容：“紫外可见分光光度计的基本操作”。

## 学生自学仪器使用说明书

### 教师指导，认知仪器的构件、分析作用

- 对照说明书，认知相应的仪器部件

- 仪器的组成构造：**光源**→**单色器**→**吸收池**→**检测器**→**信号显示系统**

光源的作用：供给符合要求的入射光。可见光源：钨丝灯、卤钨灯；紫外光源：氢灯、氘灯等。

单色器的作用：把光源发出的连续光谱分解成单色光，并能准确方便地“取出”所需要的某一波长的光。

单色器的组成：单色器主要由狭缝、色散元件和透镜系统组成。棱镜单色器、光栅单色器。

吸收池的规格：0.5、1、2、3cm；材质：玻璃和石英。

检测器的作用：利用光电效应将透过吸收池的光信号变成可测的电信号。

信号显示系统：将检测器的电信号经过放大后，以一定的形式显示，方便计算和记录。

### 教师演示仪器操作过程

（本过程教师可以“图片”的形式展示测定过程，也可以“教学录像”演示测定过程，也可以“教师现场演示”的方式进行教学，目的是让学生掌握整个测定过程）

- 打开电源开关
- 检验吸收池的成套性（在下面单独列出）

- 选择工作波长（按设定键，以及增加、减小按钮，进行设定）
- 选择测量模式（按方式键选择）
- 润洗并依次装入参比溶液和测量溶液
- 参比溶液进行调 0，调 100
- 在吸光度模式下，测定测量溶液的吸光度

### 学生进行仪器基本操作练习

学生练习仪器 Uv-7504 的基本操作。同时教师引导学生学会操作其他类型的仪器。（研究性习题：如何操作可见分光光度计 7230）

### 教师演示仪器的校验

- 仪器波长的一般性检查

对仪器的波长作一般性检查，可采用此种方法。在吸收池位置插入一块白色硬纸片，将波长调节器，从 720nm 向 420nm 方向慢慢转动，观察出口狭缝射出的光线颜色是否与波长调节器所指示的波长相符，（黄色光波长范围较窄，将波长调节在 580nm 处应出现黄光）。

- 吸收池的成套性检验的方法

在紫外光区检验波长准确度比较实用的方法是：用苯蒸气的吸收光谱曲线来检查。

具体做法是：在吸收池滴一滴液体苯，盖上吸收池盖，待苯挥发充满整个吸收池后，就可以测绘苯蒸气的吸收光谱。若实测结果与苯的标准光谱曲线不一致表示仪器有波长误差，必须加以调整。

JJG178-96 规定，石英吸收池在 220nm 处装蒸馏水；在 350nm 处装  $K_2Cr_2O_7$  0.001mol.L<sup>-1</sup>HClO<sub>4</sub> 溶液；玻璃吸收池在 600nm 处装蒸馏水；在 400nm 处装质量分数  $W_{K_2Cr_2O_7} = 0.006000\%$ （即 1000g 溶液中含  $K_2Cr_2O_7$  0.06000g） $K_2Cr_2O_7$  的 0.001mol.L<sup>-1</sup>HClO<sub>4</sub> 标准溶液。）。以一个吸收池为参比，调节  $\tau$  为 100%，测量其他各池的透射比，透射比的偏差小于 0.5% 的吸收池可配成一套。

简便的方法进行配套检验：用铅笔在洗净的吸收池毛面外壁编号并标注光路走向。在吸收池中分别装入测定用溶剂，以其中一个为参比，测定其他吸收池的吸光度。若测定的吸光度为零或两个吸收池吸光度相等，即为配对吸收池。若不相等，可以选出吸光度值最小的吸收池为参比，测定其他吸收池的吸光度，求出修正值。测定样品时，将待测溶液装入校正过的吸收池，测量其吸光度，所测得的吸光度减去该吸收池的修正值即为此待测液真正的吸光度。

### 学生归纳、编写仪器的操作流程

- 可以提问让一位学生归纳仪器的操作流程，其他学生补充；
- 另外让一位学生给其他学生示范操作流程，（比色皿的正确操作、工作波长的设定、测定模式的设置）。

### 仪器的维护与日常保养

分光光度计是精密光学仪器，正确安装、使用和保养对保持仪器良好的性能和保证测试的准确度有重要作用。

#### 1、对仪器工作环境的要求：

- (1) 仪器应安放在干燥的房间内，使用温度为  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度不超过85%。
- (2) 仪器应放置在坚固平稳的工作台上，且避免强烈的震动或持续的震动。
- (3) 室内照明不宜太强，且应避免直射日光的照射。
- (4) 电扇不宜直接向仪器吹风，以防止光源灯因发光不稳定而影响仪器的正常使用。
- (5) 尽量远离高强度的磁场、电场及发生高频波的电器设备。
- (6) 供给仪器的电源电压为  $\text{AC}220\text{V} \pm 22\text{V}$ ，频率为  $50\text{Hz} \pm 1\text{Hz}$ ，并必须装有良好的接地线。推荐使用功率为1000W以上的电子交流稳压器或交流恒压稳压器，以加强仪器的抗干扰性能。
- (7) 避免在有硫化氢等腐蚀性气体的场所使用。

#### 2. 日常维护和保养：

(1) 光源 光源的寿命是有限的，为了延长光源使用寿命，在不使用仪器时不要开光源灯，应尽量减少开关次数。在短时间的工作间隔内可以不关灯。刚关闭的光源灯不能立即重新开启。

仪器连续使用时间不应超过3h。若需长时间使用，最好间歇30min。

如果光源灯亮度明显减弱或不稳定，应及时更换新灯。更换后要调节好灯丝位置，不要用手直接接触窗口或灯泡，避免油污沾附。若不小心接触过，要用无水乙醇擦拭。

(2) 单色器 单色器是仪器的核心部分，装在密封盒内，不能拆开。选择波长应平衡地转动，不可用力过猛。为防止色散元件受潮生霉，必须定期更换单色器盒干燥剂（硅胶）。若发现干燥剂变色，应立即更换。

(3) 吸收池 必须正确使用吸收池，应特别注意保护吸收池的两个光学面。

(4) 检测器 光电转换元件不能长时间曝光，且应避免强光照射或受潮积尘。

(5) 当仪器停止工作时，必须切断电源。

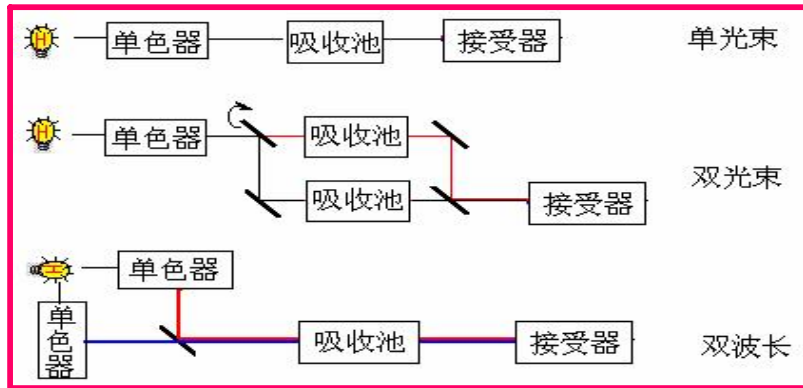
(6) 为了避免仪器积灰和玷污，在停止工作时，应盖上防尘罩。

(7) 仪器若暂时不用要定期通电，每次不少于20-30min，以保持整机呈干燥状态，并且维持电子元器件的性能。

### 紫外可见分光光度计类型

波长范围划分：可见分光光度计；紫外可见分光光度计

光路划分：单光束分光光度计；双光束分光光度计；双波长分光光度计



(请学生根据课本内容归纳出各种仪器的特点)

## 物质的颜色产生原因

- 问题：为什么分光光度法能测定空气中甲醛的含量？
- 主要是由于空气中的甲醛与酚试剂反应生成嗪，嗪在酸性溶液中被高铁离子氧化形成兰绿色化合物，可以对 630nm 的光产生选择性吸收，而可以建立相应的分析方法。
- 问题：那么为什么不同的物质可以呈现出不同的颜色呢？

由于溶液对光的选择性吸收而引起的，溶液呈现的是被吸收物质的互补色。

单色光：具有同一波长的光，称为单色光。

复合光：含有多种波长的光称为复合光。

互补光：如果把适当颜色的两种光按一定强度比例混合，可合成白色光，这两种颜色的光称为互补色。

## 紫外-可见分光光度法的概述、分类、特点

- 概念：基于物质分子对 200-780nm 区域的光辐射的吸收而建立起来的分析方法，又称电子光谱法。
- 比色分析法：利用比较待测溶液本身的颜色或加入试剂后呈现的颜色的深浅来测定溶液中待测物质的浓度的方法。
- 以人的眼睛来检测颜色深浅的方法称目视比色法；
- 以光电转换器件（如光电池）为检测器来区别颜色深浅的方法称光电比色法。
- 应用分光光度计，根据物质对不同波长的单色光的吸收程度不同而对物质进行定性和定量分

析的方法称分光光度法（又称吸光光度法）。

- 可见分光光度法（400~780nm）紫外分光光度法（200~400nm）和红外分光光度法（ $3 \times 10^3 \sim 3 \times 10^4 \text{nm}$ ）。
- 特点：高灵敏度，分析速度快，操作简便，价格低廉，应用广泛。

### 物质的吸收光谱曲线（定性分析的依据）

将不同波长的光依次通过某一固定浓度和厚度的有色溶液，分别测出它们对各种波长光的吸收程度（用吸光度  $A$  表示），以波长为横坐标，以吸光度为纵坐标作图，画出曲线，此曲线即称为该物质的光吸收曲线（或吸收光谱曲线）。

它描述了物质对不同波长光的吸收程度。

- 1、溶液对不同波长的光的吸收程度是不同的，存在最大吸收峰的位置称为最大吸收波长。
- 2、不同浓度的溶液，其吸收曲线的形状相似，最大吸收波长也一样。
- 3、不同物质的吸收曲线，其形状和最大吸收波长都各不相同，可利用吸收曲线来作为物质定性分析的依据。

### 光的吸收定律（定量分析的依据）

- 几个基本概念：光通量，透射比，吸光度
- 朗伯定律：研究了吸光度与液层厚度之间的关系
- 比尔定律：研究了吸光度与溶液浓度之间的关系

- 光吸收定律：
$$A = \lg \frac{\phi_0}{\phi_{tr}} = \lg \frac{1}{\tau} = Kbc$$

- 透射比与光吸收的关系
- 对吸光系数的讨论，以及吸收定律的应用

### 下次课程课程问题：

- 实际工作中我们进行分光光度法的应用时，测定出样品的吸光度后，采用何种方法进行定量计算。（提示：1、可查阅资料；2、也可提前预习课本内容。）