



实验报告

姓名:黄德勇 学号:222023319210132 专业班级:材料物理3班 成绩:

实验课程	材料学科基础实验 C		
实验名称	吸光度检测的原理与实践		
实验时间	2025 年 9 月 16 日	实验地点	25 教 108 实验室

一、实验预习

1. 实验目的

- ① 学习吸光度检测的基本原理;
- ② 掌握吸光度检测的基本方法;
- ③ 可以使用吸光度检测设备完成一次常规的吸光度检测。

2. 实验原理

光是电磁波的一种，电磁波根据其波长有不同的名称。图 1 显示了电磁波及其对应的波长。

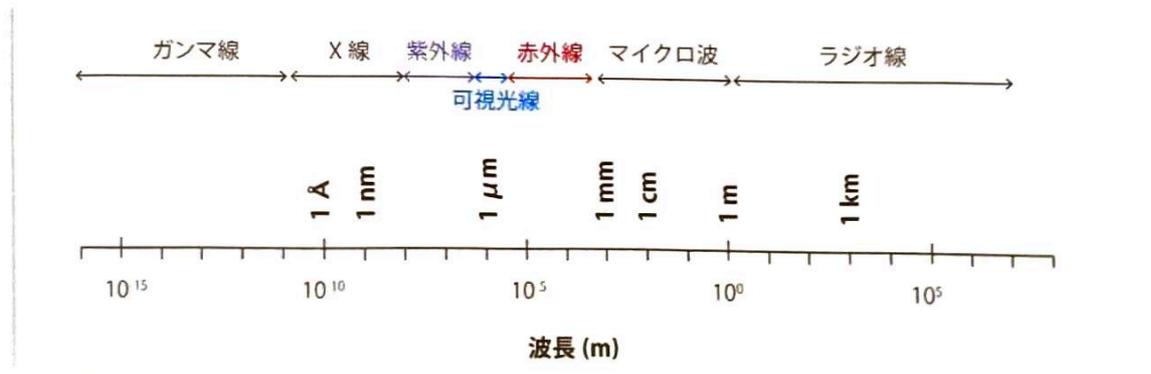


Figure 1 光的种类和波长

吸光度检测使用波长在紫外线和可见光范围内的光。当物质受到光照射时，它会吸收特定波长的光，导致电子能量从基态（最低能态）跃迁到激发态（更高能态）。吸收光的波长因物质的分子结构而异。

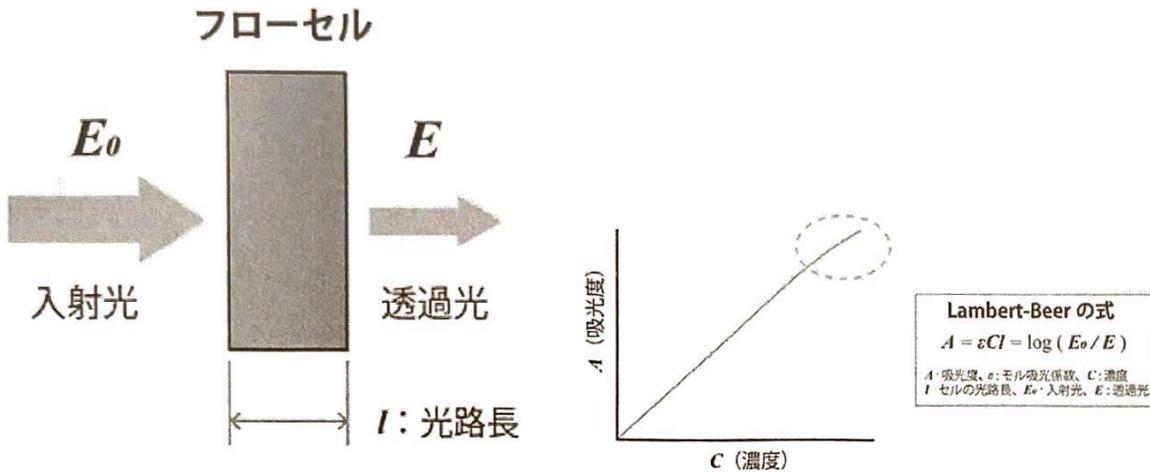


Figure 2 HPLC 分析中吸光度检测的原理

通过测量流经检测器流通池的流动相的吸光度变化，可以计算出峰成分的浓度。根据朗伯-比尔理论，吸光度与物质的浓度成正比，但在实际测量中，如果浓度过高，吸光度就会饱和，如图 2 右图所示。因此，必须在保证线性的浓度范围（动态范围）内进行定量。

图 3 显示了紫外吸光度检测器 (UV 检测器) 的示意图。氘灯 (D2 灯; 紫外区) 主要用作紫外检测器的光源。来自光源的光通过衍射光栅分成特定波长的光，然后进入并穿过流通池。穿过流通池的光进入光接收元件 (光电二极管)，在那里被转换成与光强度成比例的电信号，然后将数据处理为吸光度。为了检测紫外和可见光区，使用配备 D2 灯和钨灯 (W 灯) 作为光源的紫外-可见吸光度检测器 (UV-VIS)。图 4 为光电二极管阵列检测器 (PDA 检测器*) 的示意图。PDA 检测器中安装的光源发出的光进入流动池，穿过流动池的光被衍射光栅分光。PDA 检测器在检测部分使用包含 1024 个光接收元件的光电二极管阵列，分光光经光电二极管阵列检测后，仅将特定波长范围转换为电信号，并将数据处理为吸光度。*它也被

称为 DAD (二极管阵列检测器)。

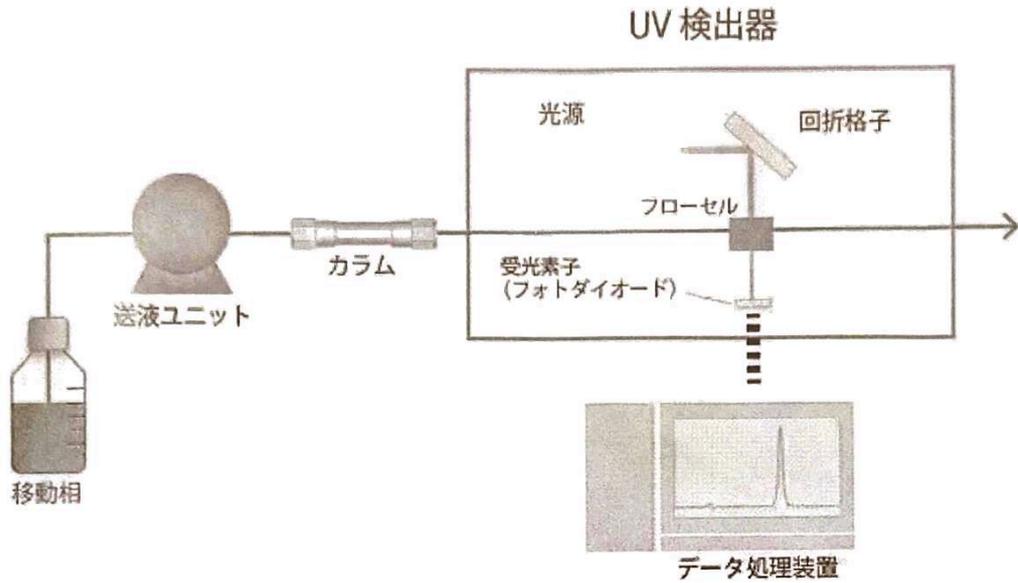


Figure 3 紫外探测器光学系统

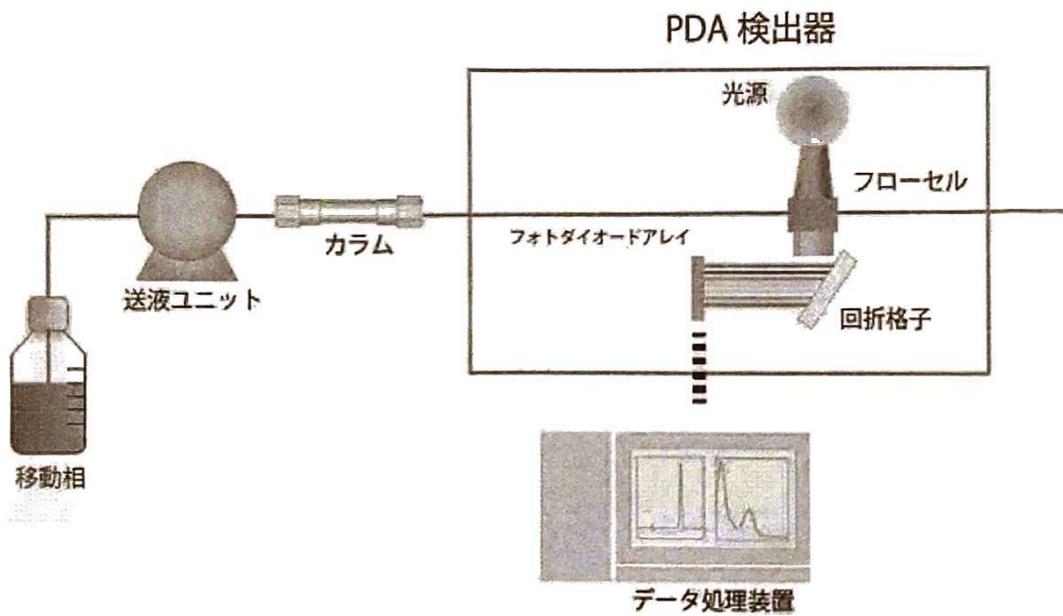


Figure 4 PDA 探测器光学系统

PDA 检测器可以测量连续的紫外光谱, 从而可以采集多波长色谱图。与紫外检测器获得的色谱图 (X 轴表示时间, Y 轴表示吸光度) 不同, PDA 检测器还能提供三维数据, Z 轴表示波长 (图 5)。

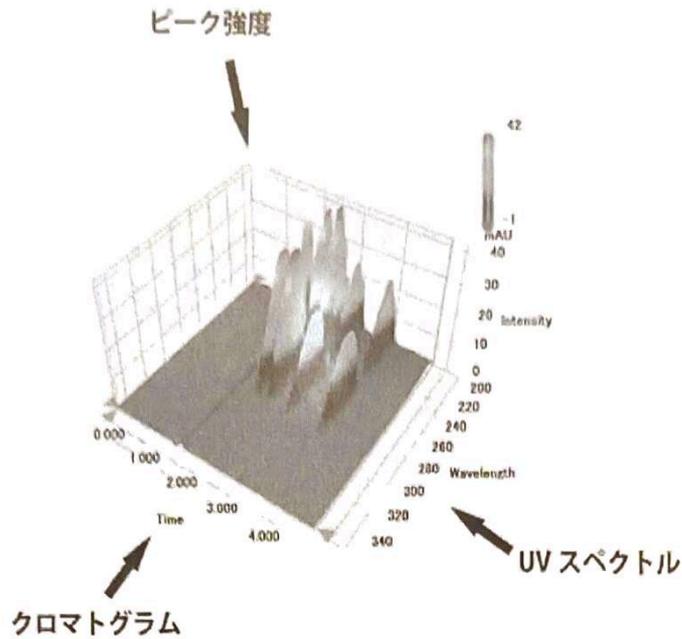


Figure 5 使用 PDA 探测器获取的数据图像

图 6 展示了使用 PDA 检测器分析化妆品中的有效成分紫外线吸收剂的示例。如图 6 左图所示，使用 PDA 检测器可以在单次分析中获得多个波长的色谱图。图 6 右图显示了色谱图中检测到的每种化合物峰顶的紫外光谱。

由于此分析中获得的每种成分的紫外光谱的最大吸收波长不同，因此可以同时分析不同的波长。虽然使用紫外检测器进行分析时获得的定性信息仅限于标准品和检测成分的保留时间的比较，但 PDA 检测器除了可以比较目标成分的保留时间外，还可以比较标准品的紫外光谱和检测成分的紫外光谱。

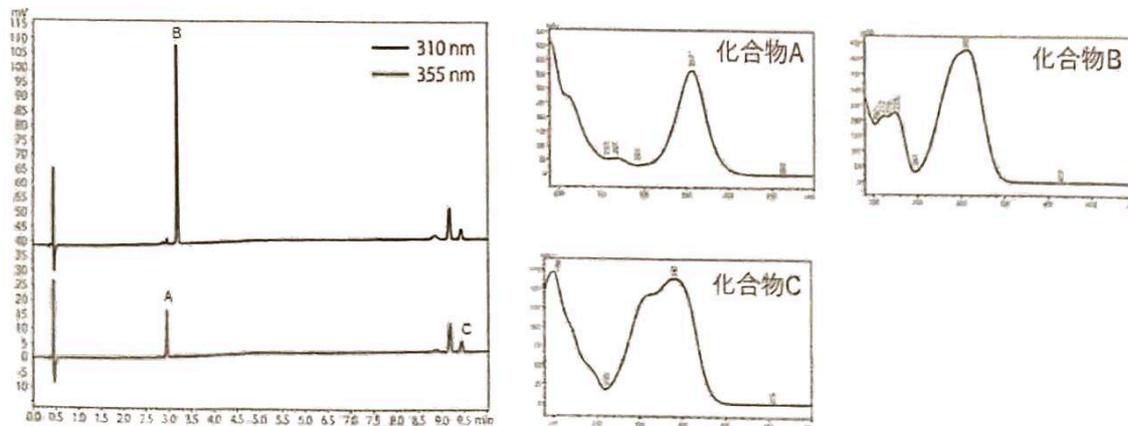


Figure 6 使用 PDA 检测器进行紫外线吸收剂分析的示例：(左) 化妆品色谱图，(右) 检测到的成分的紫外光谱

图 7 显示了标准品的紫外光谱与化妆品中检测到的化合物 B 在 310nm 处的紫

外光谱的叠加。两个紫外光谱吻合，表明化妆品中检测到的化合物与标准品为同一成分。因此，使用 PDA 检测器也可以获取紫外光谱信息，从而实现更可靠的定性分析。

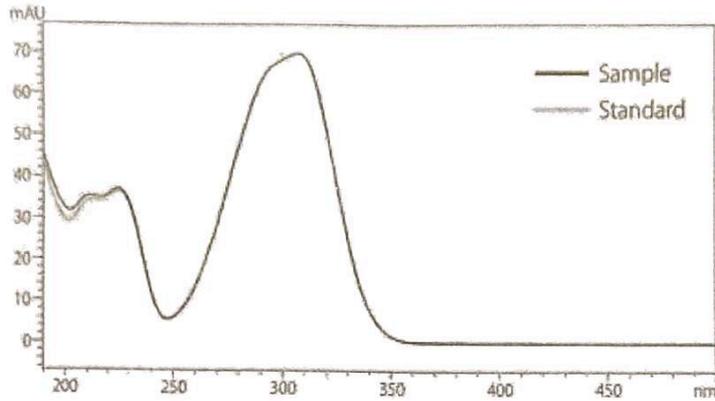


Figure 7 使用紫外光谱进行定性分析的示例

3. 实验内容

- ① 学习吸光度检测的基本原理和操作方法；
- ② 完成一次吸光度检测。

二、实验过程

1. 实验装置

悦丰仪器 单光束可见分光光度计 测试透射比/吸光度

2. 实验装置示意图



3. 实验步骤

一、配制检测用溶液 (50毫升的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钴和硫酸铜溶液)

1. 配制 50 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钴溶液

通常使用六水合氯化钴 ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 这是一种粉红色晶体. 其摩尔质量为 $\approx 237.93 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. 则所需的质量为 (单位 g):

$$\text{质量} = c (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) \times V (\text{L}) \times M (\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}) = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \times 0.050 \text{ L} \times 237.93 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \approx 1.19$$

2. 配制 50 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸铜溶液

通常使用五水合硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 即胆矾或蓝矾, 这是一种蓝色晶体. 其摩尔质量为 $\approx 249.69 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. 所需的质量为 (单位 g):

$$\text{质量} = c (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) \times V (\text{L}) \times M (\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}) = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \times 0.050 \text{ L} \times 249.69 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \approx 1.25$$

二、设备准备

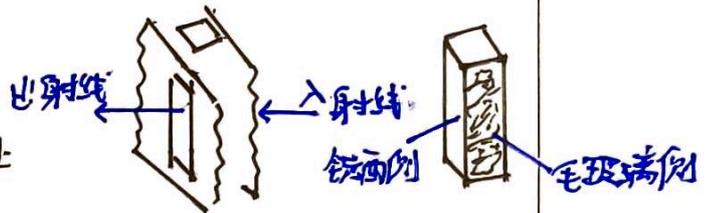
1. 打开设备后, 设备会提示正在预热, 此过程会持续约 20 分钟.

2. 将水 (纯净水)、氯化钴溶液和硫酸铜溶液转移到分光计检测池中, 并过筛装至约 $2/3$ 位置即可. 并盖上盖子.

3. 依次以水 (分散剂)、氯化钴和硫酸铜

顺序放入样品槽中. 并注意铜面相对开光处.

4. 拉动样品盒, 使分散剂对准检测口, 后关上盖子, 设置初始波长, 待设备切换与校准.



三、样品检测

切换波长前, 确保与检测口上的液体均为分散剂!

1. 检测校准后分散剂的 ABS (应为 0).

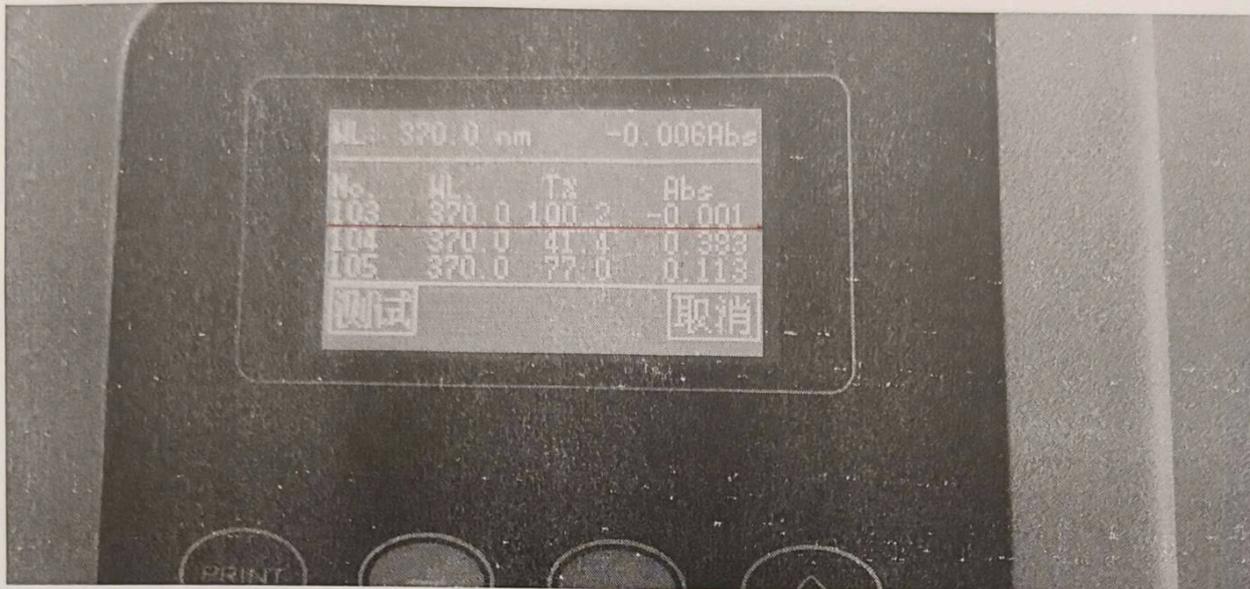
2. 依次检测实验样品

3. 回到分散剂

4. 检测波长切换, 并重复.

4. 实验现象记录和数据记录

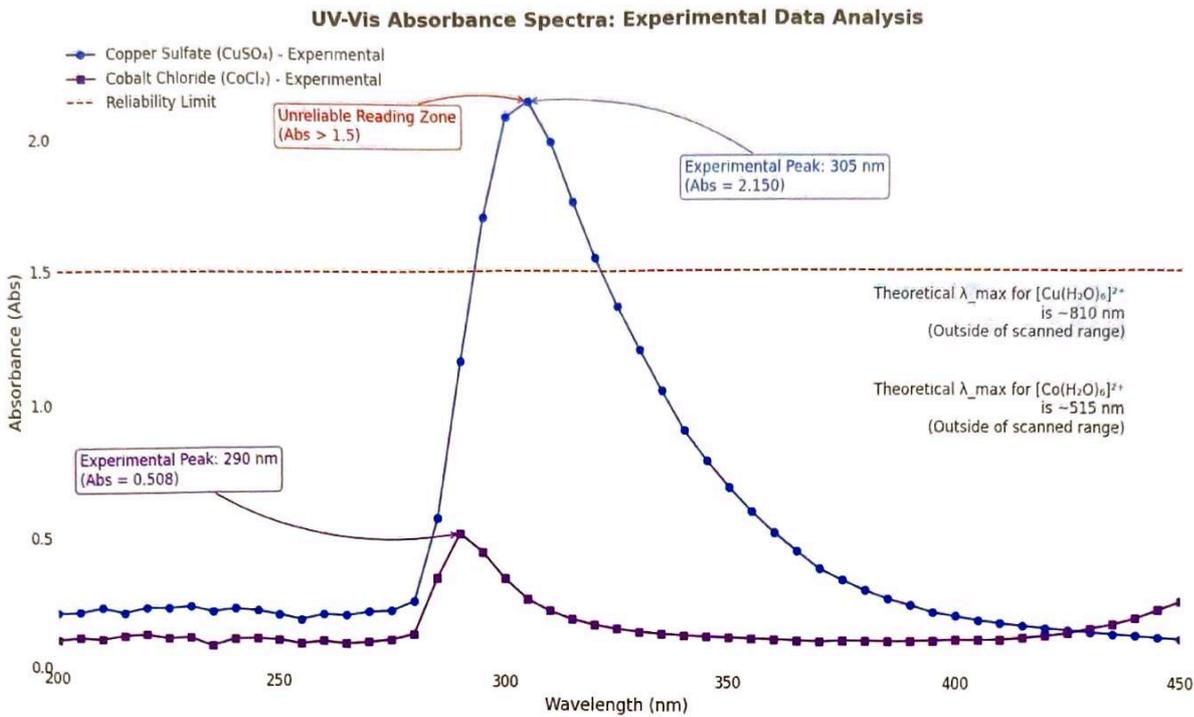
分散剂运行时记录



每个波长的首次数据均为分散剂，在改变时仪器会自动校准，故ABS=0.

三、分析讨论

1. 实验结果与分析



硫酸铜 (CuSO₄) 溶液分析

硫酸铜溶于水形成天蓝色的水合铜(II)离子 $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$ 。其颜色来源于d-d电子跃迁。该跃迁主要吸收可见光中的橙红光，因此其理论上的最大吸收波长 (λ_{max}) 应位于约810nm 近红外区，且吸收峰形较为宽泛。

氯化钴 (CoCl₂) 溶液分析

氯化钴溶于水形成粉红色的水合钴(II)离子溶液 $[Co(H_2O)_6]^{2+}$ 。其颜色是由d-d电子跃迁吸收了可见光中的绿光部分所致。因此，其理论最大吸收波长 (λ_{max}) 应位于约510-525nm 的绿色可见光区。

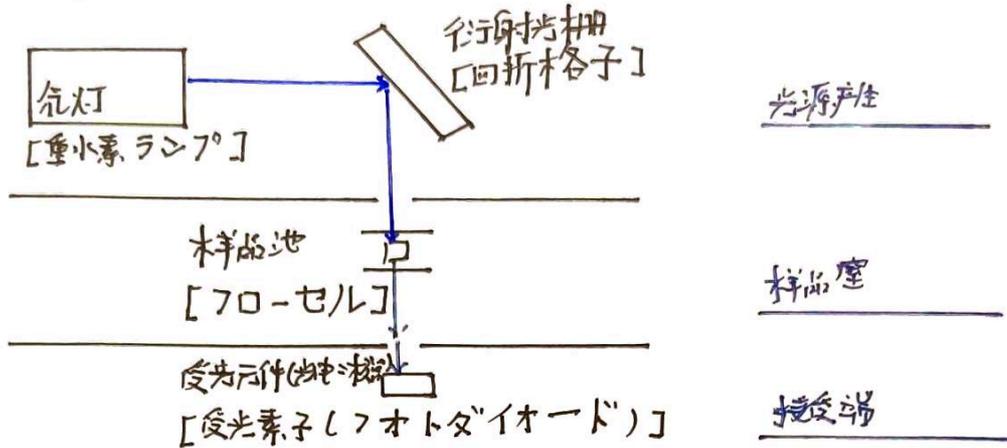
分析

本次实验测得的硫酸铜(305nm)和氯化钴(290nm)的最大吸收峰波长均与它们水溶液中由d-d跃迁决定的理论值严重不符，且均处于紫外光区。

2. 问题提出与讨论

紫外可见分光光度计主要由哪些组成部分,各有什么作用?

如实验原理所述,



来自氙灯 (D2 灯) 的紫外光通过衍射光栅分成特定波长的光, 然后进入并穿过样品池, 穿过样品池的光进入到光电倍增管后, 转换成与光强度成正比的电信号, 后将数据处理为吸光度

本实验的主要操作步骤是什么? 有什么注意事项?

如实验步所述,

实验尚未完成

启动设备并预热 → 装载样品到检测区 → 切换到分散剂 → 设置波长的值

依次检测样品 ← 分散剂的 ABS 是否为 0 或仅有微小值? ← 检查分散剂 ABS ← 确认并等待切换装置

↑ 偏差过大 → 用分散剂当前波长下的 ABS 置零

导出数据并关闭设备

显然, 装载样品时, 光谱仪对准检测盒透光位置, 并每次切换波长置零时, 回到分散剂以节约时间并注意验证自动置零。

指导教师签名:

日期: