

## 實驗七 吸收光譜與比爾定律

**目的** 瞭解物質的吸收光譜與比爾定律 (Beer's Law) 的光譜分析應用。(參閱緒論部份 6-16)

**原理** 光譜學 (spectroscopy) 是研究物質與電磁輻射 (electromagnetic radiation) 的交互作用以探討物質的微觀結構，並應用於物質的定性與定量分析的一門學問。電磁輻射又稱為電磁波或光，光譜學的“光”包括了所有肉眼可見與不可見的電磁輻射。光譜的測量有吸收 (absorption) 與放射 (emission) 兩種方法。放射光譜法是將待測樣品以各種高能量予以激發後，測量由樣品所釋放出來的電磁波的強度與波長或頻率的對應關係。吸收光譜法則是將電磁波通過待測樣品，然後測量電磁波被吸收的程度與波長或頻率的對應關係。

在吸收光譜法中，通常以透光率 (transmittance, 符號  $T$ ) 或透光百分率 (percent transmission, 符號  $\%T$ ) 與吸收度 (absorbance, 符號  $A$ )，來表示光被吸收的程度。由於“光”被吸收的程度，與其波長或頻率有關，因此以上的三個名詞都是針對特定波長的“光”所定義的。其定義如下：

$$T = I / I_0 \quad (7.1)$$

$I$  = 通過樣品後的光強度

$I_0$  = 通過樣品前的光強度

$$\%T = T \times 100 \quad (7.2)$$

$$\begin{aligned} A &= -\log_{10} (I/I_0) = -\log_{10} (T) \\ &= \log_{10} (100/\%T) = 2 - \log_{10} (\%T) \end{aligned} \quad (7.3)$$

$$A = 2 - \log_{10} (\%T)$$

$$\%T = 10^{(2-A)}$$

(7.4)

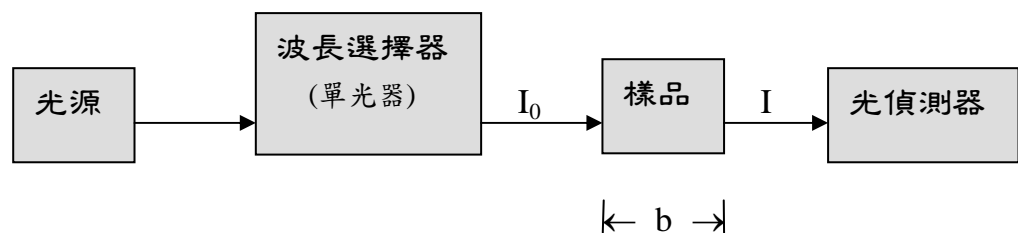


圖 7.1. 光通過試樣的路徑

由以上的定義，可知若光被吸收的程度愈高，則  $T$  與  $\%T$  的數值愈小，而  $A$  的數值愈大。通常吸收光譜儀的讀出計可選擇讀取透光百分率或吸收度。在做定量分析時，我們通常選擇讀取與試樣濃度有直接對應關係的吸收度。然而，因吸收度是對數指標，在高吸收度時所讀取的數值準確度較差，而透光百分率為線性，在整個透光範圍的讀取值具有較好的準確度，因此，當吸收度大於 0.7 時，我們通常選擇讀取透光百分率，再以式(7.4)計算出吸收度。

在一定的波長下，吸收度與樣品中吸光物質的濃度之間，有一個簡單的關係式，稱為比爾-朗伯定律 (the Beer-Lambert law)，簡稱比爾定律。比爾定律通常以“吸收度( $A$ )等於英文前三個小寫字母的乘積”的形式表示：

$$A = a \cdot b \cdot c \quad (7.5)$$

其中， $b$  是光穿過樣品的路徑長度， $c$  是樣品中吸光物質的濃度，而  $a$  則與樣品在特定的波長下的吸光能力有關，稱為消光係數 (extinction coefficient or absorptivity)。通常在分析化學上， $b$  的單位使用  $\text{cm}$ ， $c$  的單位使用  $\text{mol/L}$ ，而  $a$  則另以希臘文的小寫字母  $\epsilon$  表示 (單位為  $\text{L cm}^{-1} \text{mol}^{-1} = \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )，稱為莫耳消光係數。使用上述特定單位時，比爾定律以下列的形式表示：

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (7.6)$$

任何物質對於不同波長的光有不同的吸收度，即其消光係數或莫耳消光係數也因波長而異。實驗所得到的  $A$  (或  $\epsilon$  或  $\%T$ ) 與波長或頻率的對應關係圖就是所謂的吸收光譜 (參閱緒論 p.37 圖十六)。由於各種純物質 (化合物與元素) 各有其獨特的光譜就像每一個人的指紋一樣，因此由吸收波長的光譜位置可分辨出樣品的成份。即使是不吸收可見光的透明物質，也可以由其紅外光、紫外光等不可見光所得的光譜，予以辨別指認。

對於任一純物質，若根據其光譜特性，選擇適當的固定波長，在一定的溫度與溶劑的條件下，其稀溶液的莫耳消光係數( $\epsilon$ )趨近於一常數。測定光譜時，若使用一定規格的方形試液槽 (cuvet)，則光穿過樣品的路徑長度為一定值；若使用一定規格的圓柱形試液管，則雖然光穿過樣品的路徑長度並非為一定值，但由於大部份光穿過樣品的路徑長度接近試液管的內直徑 (參閱緒論 p.37 圖十五)，所以比爾定律中的  $b$  仍可視為一常數。

若  $\epsilon$  與  $b$  均為常數，則根據比爾定律，吸收度  $A$  與濃度  $c$  成正比。理論上，只要從一已知濃度的標準溶液的吸收度，由  $A/c$  即可求得  $\epsilon$  與  $b$

的乘積。若  $\epsilon \cdot b$  為一常數，則對於與標準溶液含有相同吸光物質的溶液，由其吸收度依式 (7.6) 就可以得其濃度。然而，一方面考慮到“測量的不準確性”，另一方面由於消光係數在一般的實驗條件下並不一定是常數（參閱緒論 p.38‘比爾定律的限制’），因此使用比爾定律做定量分析時，必須要先作一檢量曲線圖 (calibration curve)。其方法如下：在一定的濃度範圍內製備三或四個不同濃度的標準溶液，分別測量其在特定波長下之吸收度，以吸收度對濃度作圖，迴歸後即可得到檢量曲線。對於待測溶液，則可由其吸收度根據檢量曲線(以內插法)求得其濃度。

檢量曲線所依據的原理是：在固定波長以及一定的溫度與溶劑的條件下，雖然一純物質的莫耳消光係數( $\epsilon$ )在非稀溶液中並非一常數，但只與此一純物質的濃度有關。以數學的觀念說明如下：在使用一定規格的試液槽或試液管的條件下  $b$  為一常數，比爾定律可以函數  $f$  表示， $A = f(\epsilon, c) = \epsilon \cdot b \cdot c$ ；當  $\epsilon$  只與濃度有關，兩者的關係可以函數  $g$  表示， $\epsilon = g(c)$ ；將  $g$  代入  $f$ ， $f$  則成為  $c$  的複合函數也可表為  $c$  的簡單函數  $F$ ， $A = f[g(c), c] = F(c)$ ，即吸收度與濃度間存在著一對一的關係。在本實驗以及下一個實驗中，我們所測量的都是比較稀薄的溶液之吸收度，所得到的檢量曲線可能都會接近直線。但是，檢量曲線即使為非線性，或是由於儀器的因素沒有通過原點，只要圖形具再現性，仍可被用來做為定量分析之用。

在本實驗中我們將使用硝酸亞鈷水溶液，先測定其可見光的光譜，再由光譜選擇適當的固定波長，即光譜中吸收度最高值的對應波長（參閱緒論 p.39 圖十七及 p.38-39 的文字說明），然後由已知濃度的標準溶液作出硝酸鈷水溶液的檢量曲線圖。在下一個實驗中，我們將先作出碘分子水溶液的檢量曲線圖，用以定量未知溶液中的碘分子濃度，進而求得碘化鉛的溶解度積。

器材 單束分光光度計 (如圖 7.2)(Milton Roy SP-20 或其他廠牌型號)，光度計試液管，試管，試管架，50 mL 燒杯，50 mL 量筒，滴管，10 mL 量筒

藥品 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液，蒸餾水

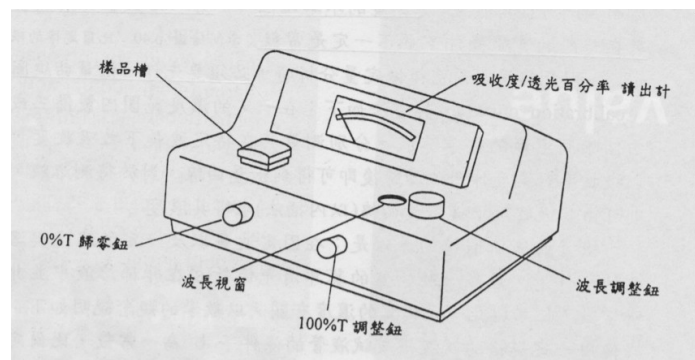


圖 7.2. 單束分光光度計

#### A. 光譜儀(分光光度計)的操作

1. 打開分光光度計的電源，充分暖機。(至少須 5 分鐘，有的儀器可能須要 1 小時暖機，才能穩定。)利用暖機時間先測量試液管內直徑長度。
2. 準備一長約 2 cm 寬稍小於試液管內直徑的白色紙條(須有足夠的厚度以反射來自波長選擇器的入射光)置於一支空白試液管內。
3. 將試液管放進樣品槽，樣品槽的蓋子不要蓋上，以便觀察由試液管內白色紙條所反射的單色光。
4. 使用波長調整鈕將波長調至約 650 nm(或其他單色光顏色較鮮明的波長)，並注視試液管內的反射光，升降或轉動試液管以提高可見到的反射光強度。假如光仍太弱，則用 100%T 調整鈕調整。
5. 利用波長調整鈕慢慢改變波長由 400 到 700 nm 範圍，注意觀察藍色、綠色及紅色光，並記錄其波長範圍。
6. 取出白色紙條，實驗結束後隨同數據交還助教。

#### B. 測定 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 水溶液的光譜

1. 以量筒取 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液 15mL 置於 50mL 燒杯內。
2. 取兩支相同(規格)的試液管，其中一支加入約 2/3 滿的蒸餾水當做“空白試液”(緒論 p.40)。
3. 將波長調整鈕調到 390 nm。

校正歸零：

4. 轉動歸零鈕，使指針讀數為 0%T。將空白試液(步驟 2)放入樣品槽，注意試液管上的白線與樣品槽內的參考記號(黑色突出物)對齊。
5. 關上樣品槽，轉動 100%T 調整鈕使指針讀數為 100%T。打開樣品槽，取出空白試液，再關上樣品槽，此時指針讀數應為 0%T。
6. 重複核對 0 與 100%T，到有很好的再現性。

7. 取另一支試液管，先以少量的 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液漱洗兩次，再加入 2/3 滿的 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液(所有 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  溶液都可留待步驟 C 使用)。
8. 將樣品試液管(步驟 7)插入樣品槽，注意試液管上的線與樣品槽內的參考記號對齊。關上樣品槽，讀取 A 或 %T (若 %T 在 20 以上，即 A 在 0.7 以下，可直接讀取 A，否則則選擇讀取 %T。)，儘可能準確。取出樣品試液管以供步驟 9 使用。
9. 每次以波長調整鈕調增波長 10 nm，由 400 到 600 nm，依步驟 4-6 校正歸

零，然後再以樣品試液管，依步驟 8 操作，讀取 A 或 %T。

10. 將所讀取的 %T 以式(7.4)計算出吸收度，連同直接讀取的吸收度以吸收度 (A) 對波長 ( $\lambda$ ) 作圖，並決定出最大吸收度的對應波長。
11. 將樣品試液管中 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液倒回步驟 1 的 50mL 燒杯內，以供步驟 C 使用。

### C. 檢量曲線

1. 取四支乾淨的普通試管並標號 1 到 4，置於試管架上。
2. 以 10 mL 量筒分別量取 7.0，6.0，4.0 及 2.0 mL 的蒸餾水，依序注入在試管架上的四支試管。
3. 以 10 mL 量筒分別量取 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液(步驟 B.11)1.0，2.0，4.0 及 6.0 mL，依序注入試管，使每支試管均有 8.0 mL 的溶液並混合均勻。(如下表所示)

	試管 1	試管 2	試管 3	試管 4
蒸餾水 (mL)	7.0	6.0	4.0	2.0
0.200M $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (mL)	1.0	2.0	4.0	6.0
總體積 (mL)	8.0			

4. 計算每支試管中， $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  的濃度，填入結果 C 的表格中。
  5. 將波長調整鈕調到步驟 B.10 所得的最大吸收度對應波長，並用空白試液 (步驟 B.2)，依步驟 B.4-6 調整 0 及 100%T。
  6. 先以蒸餾水漱洗試液管，再用少量最稀濃度溶液(1 號試管) 漱洗兩次後，加入 2/3 滿的 1 號試管溶液，測量其 A 或 %T。
  7. 依序由稀到濃(2，3，4 號試管)，按前一步驟測量 A 或 %T。
  8. 以 1 至 4 號溶液所得的吸收度 A 對  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  的濃度 C 作圖(加上步驟 B 的 0.200M 溶液，共 5 點)。由實驗的 5 點數據加上原點畫出一條最好的直線即為硝酸亞鈷水溶液的檢量曲線。
- \* (若以實驗的 5 點數據不加上原點，以電腦套裝軟體迴歸，可以得到較準確的非線性檢量曲線。)



## 實驗七 吸收光譜與比爾定律

### 實驗前問題

學系	學號	姓名	組別	日期
----	----	----	----	----

---

1. 在使用分光光度計時，為何每次改變波長就須對空白試液管重複校正？
2. 假設由一溶液測出的%T = 70.8，則此溶液的吸收度(A)為多少？
3.  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  溶液使用 1.02 cm 的正方形形試液槽在 370 nm 測出吸收度(A)為 0.566。其莫耳吸光率( $\epsilon$ )為  $3.63 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ，試求該溶液的濃度為多少？





## 實驗七 吸收光譜與比爾定律

## 實驗報告

學系 \_\_\_\_\_ 學號 \_\_\_\_\_ 姓名 \_\_\_\_\_ 組別 \_\_\_\_\_ 日期 \_\_\_\_\_

結果（網底之空格為實驗觀察或記錄之數據，其餘則填入計算數據）

## A. 光譜儀(分光光度計)的操作

試液管內直徑 \_\_\_\_\_ cm (讀至小數點下二位)

透過的光顏色	藍色	綠色	紅色
波長範圍, nm			

B. 測定 0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液的光譜

波長(nm)	390	400	410	420	430	440	450
透光率(%T)							
吸收度(A)							
波長(nm)	460	470	480	490	500	510	520
透光率(%T)							
吸收度(A)							
波長(nm)	530	540	550	560	570	580	590
透光率(%T)							
吸收度(A)							
波長(nm)	600						
透光率(%T)							
吸收度(A)							

由上表看出吸收度最大(亦即%T 最小)的波長 \_\_\_\_\_ nm



0.200M  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液的吸收光譜：以吸收度(A)對波長( $\lambda$ )作圖  
(請以方格紙作圖, 橫座標為波長, 縱座標為吸收度)



## 結果

C.  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液的檢量曲線

吸收度最大(亦即%T 最小)的波長 \_\_\_\_\_ nm

試管編號	試管 1	試管 2	試管 3	試管 4	From 步驟 B
濃度(M)					0.200
透光率(%T)					
吸收度(A)					

$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  水溶液的檢量曲線:以吸收度對濃度作圖

(請以方格紙作圖,橫座標為濃度,縱座標為吸收度)



問題：

1. 即使莫耳消光係數與濃度無關而在實驗的條件下為一常數，為什麼還須配製幾種標準濃度的溶液作檢量曲線圖？
  
2. 假如在步驟 C 的檢量曲線圖上，
  - (1) 有一“點”很明顯遠離迴歸曲線(或直線)時，則此點有何意義？
  - (2) 此檢量曲線是否須加以修正？
  - (3) 如須修正，應如何修正？
  
3. 由結果 C 檢量曲線上讀取最稀濃度溶液(步驟 C 的 1 號試管)的吸收度 (不是實驗數據)，由此吸收度、濃度、和試液管內直徑，以式(7.6)計算  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  的莫耳消光係數( $\epsilon$ )。

討論

