

# 第八章 分光光度法

基于物质对光的选择性吸收所建立起来的分析方法，包括：比色法、紫外可见分光光度法、红外光谱法等。

本章讨论可见区的吸光光度法（分光光度法或光度分析法）

# 第八章 分光光度分析法

- ◎ 本章内容
- ◎ 8.1 分光光度法基本原理
- ◎ 8.2 显色反应及显色条件的选择
- ◎ 8.3 比色和分光光度法及其仪器
- ◎ 8.4 分光光度法的应用

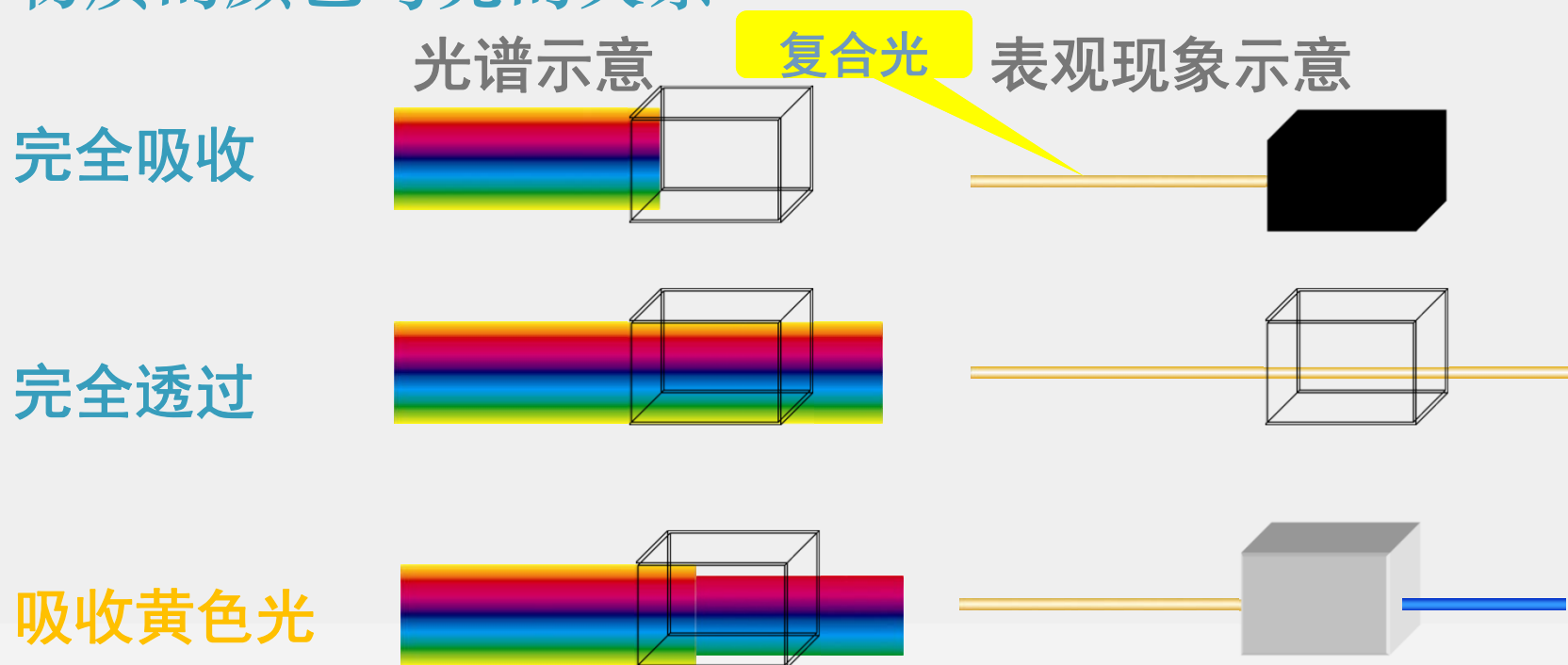
## 8.1.1 概述

### ◎ 1、吸光光度法的特点

- ◎ (一)灵敏度高 吸光光度法测定物质的浓度下限(最低浓度)一般可达 $1 \sim 10^{-3} \%$ 的微量组分。甚至可以测定 $10^{-4} \sim 10^{-5} \%$ 的痕量组份。如果对被测组分事先加以富集,灵敏度还可以提高 $1 \sim 2$ 个数量级。
- ◎ (二)准确度较高 相对误差为 $2 \sim 5 \%$ ,但对微量成分来说,还是比较满意的,因为在这种情况下,滴定分析法和重量法也不够准确了,甚至无法进行测定。
- ◎ (三)操作简便,测定速度快
- ◎ (四)应用广泛 几乎所有的无机离子和有机化合物都可直接或间接地用吸光光度法进行测定。

## 8.1.1 概述

- ② 物质对光的选择性吸收
- ③ 当光辐射作用于某一物质时，只有当入射光子的能量同吸收光体的基态和激发态之间的能量差相等时才会被吸收，因而物质对光的吸收是有选择性的。
- ④ 物质的颜色与光的关系



## 8.1.1 概述

表 8—1 物质颜色和吸收光的关系

物质的颜色	吸 收 光	
	颜 色	波长 (nm)
黄 绿	紫	400~450
黄	蓝	450~480
橙	绿 蓝	480~490
红	蓝 绿	490~500
紫 红	绿	500~560
紫	黄 绿	560~580
蓝	黄	580~600
绿 蓝	橙	600~650
蓝 绿	红	650~750

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

- 当一束平行光照射到任何均匀、非散射的介质（固体、液体、气体），例如溶液时，光的一部分被吸收，一部分透过溶液，一部分被器皿表面反射，若入射光强度为 $I_0$ ，吸收光的强度为 $I_a$ ，通过光的强度为 $I_t$ ，反射光强度为 $I_r$ ，则：

$$I_0 = I_a + I_t + I_r$$

- 在吸光光度法中，测量时都采用同样的比色皿，反射光的强度基本上是不变的，其影响可以相互抵消，所以上式简化为：

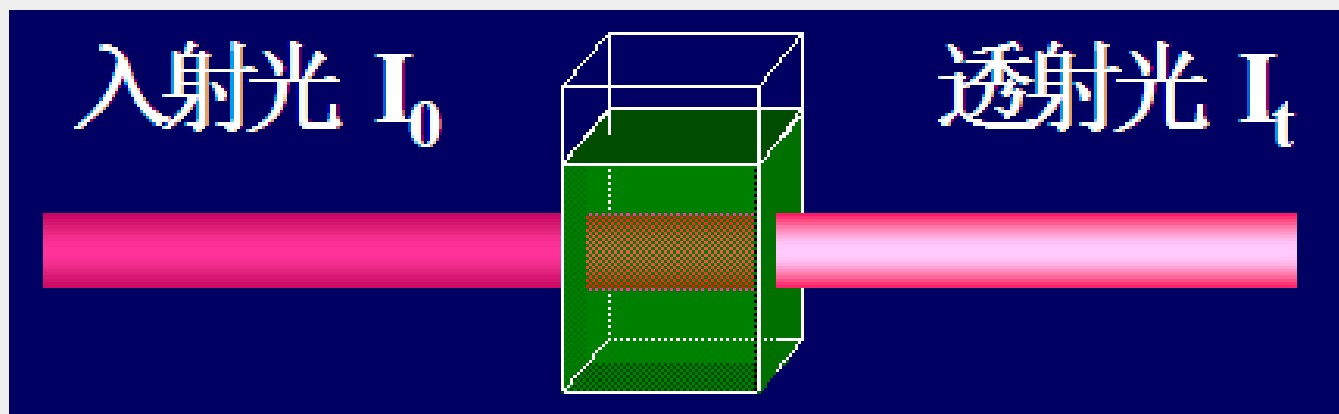
$$I_0 = I_a + I_t$$

- 透过光 $I_t$ 与入射光 $I_0$ 强度之比称为透光度或透光率，用 $T$ 表示：

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

- 溶液的透光率愈大，说明对光的吸收愈小；相反，透光度愈小，溶液的吸收愈大。

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理



透光率定义:  $T = \frac{I_t}{I_0}$

T 取值为0.0 % ~ 100.0 %

全部吸收  $T = 0.0 \%$

全部透射  $T = 100.0 \%$

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

### ◎1、朗伯定律

◎朗伯(Lambert J H) 于1760研究了光的吸收与溶液层的厚度定量关系，有： $-dI \propto Idb$

引入比例系数得： $-dI = K_1 Idb$

经变形积分后得： $\log \frac{I_0}{I_t} = K_2 b$

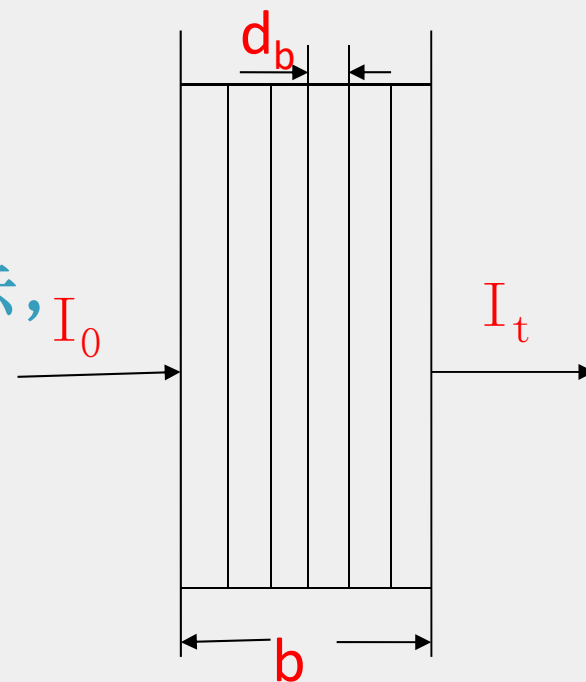
在吸光光度法中，透过光强度 $I_t$ 一般用 $I$ 表示，

则上式为： $\lg \frac{I_0}{I} = K_2 b$  朗伯定律

令  $A = \lg \frac{1}{T} = \lg \frac{I_0}{I}$ ， $A$ 称为吸光度，

则有： $A = \lg \frac{1}{T} = \lg \frac{I_0}{I} = K_2 b$

式中 $K_2$ 为比例常数，它与入射光以及溶液的性质、浓度、温度有关。





## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

### ◎ 2、比耳定律

- ◎ 比尔(Beer A)于1852年研究了光的吸收与溶液浓度的定量关系。

有： $-dI \propto Idc$

引入比例系数得： $-dI = K_3 Idc$

经变形积分后得： $\lg \frac{I_0}{I} = K_4 c$

即： $A = \lg \frac{I_0}{I} = K_4 c$  比耳定律

式中的 $K_4$ 为比例常数，与入射光的波长及溶液的性质、液层厚度和温度有关。

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

### ③ 朗伯—比耳定律

- ④ 若将朗伯定律与比耳定律合并，即同时考虑液层厚度 $b$ 和浓度 $c$ 对吸光度 $A$ 的影响，则有：

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = Kcb \text{ 朗伯—比耳定律}$$

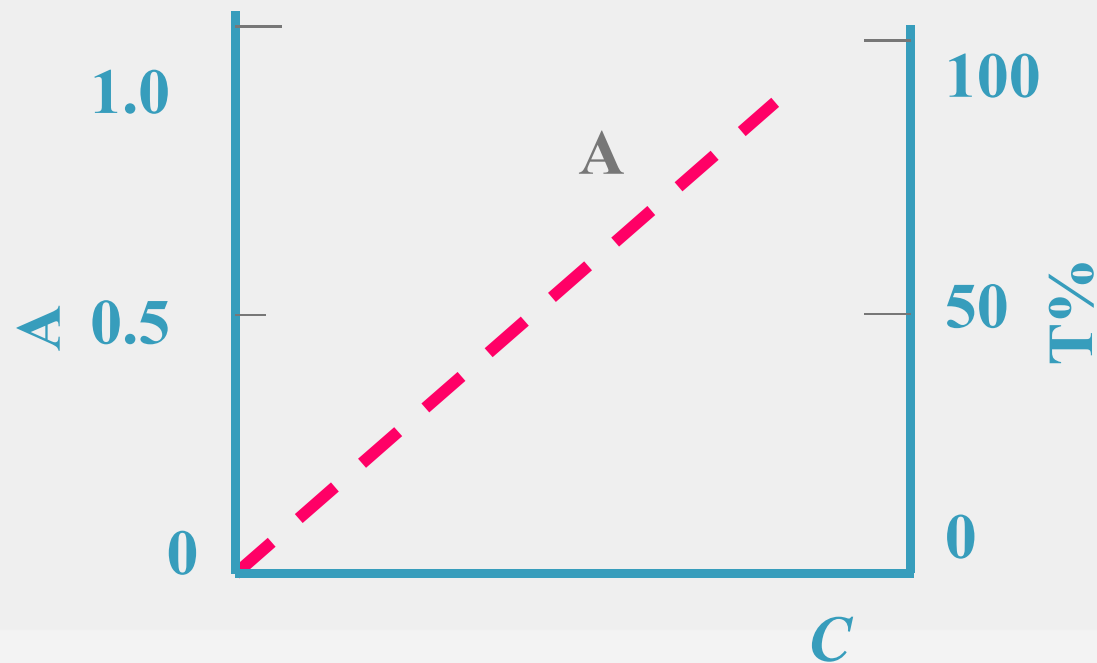
- ④  $K$ 为比例常数，也称为消光系数，与入射光的波长，物质的性质和溶液的温度有关。
- ④ 朗伯—比耳定律表明，当一束单色光通过均匀溶液时，其吸光度与溶液的浓度和厚度成正比。这是进行定量分析的理论基础。比例常数 $K$ 与吸光物质的性质、入射光波长及温度等因素有关。
- ④ 吸光度的加和性：当某一波长的单色光通过一种含有多种吸光物质的溶液时，溶液的总吸光度应等于各吸光物质的吸光度之和。这一规律称吸光度的加和性。利用这一性质，可进行多组分测定及某些化学反应平衡常数测定。

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

### ◎ 吸光度 与透光率的关系

$$-\lg T = Kcb = A \quad T = 10^{-A} = 10^{-Kbc}$$

T : 透光率



$$T = 0.0 \%$$

$$A = \infty$$

$$T = 100.0 \%$$

$$A = 0.0$$

$$T = 36.8 \%$$

$$A = 0.434$$

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

### ④ 4、吸光系数、摩尔吸光系数

④ 朗伯—比耳定律中的K值随c、b的单位不同有两种表达形式。

#### ④ (1) 吸光系数a

④ 当浓度c以克/升，液层厚度b以厘米表示时，常数K以a表示，称为吸光系数，单位为升/克·厘米，此时朗伯—比耳定律写为：

$$A = acb$$

#### ④ (2) 摩尔吸光系数 $\epsilon$

④ 当浓度c以摩尔/升，液层厚度b以厘米表示时，常数K以  $\epsilon$  表示，称为摩尔吸光系数，单位为升/摩尔·厘米，朗伯—比耳定律写为：

$$A = \epsilon cb$$

④ 摩尔吸光系数表明了物质对某一特定波长的吸收能力， $\epsilon$  愈大，该物质对某波长的光吸收能力愈强，测定的灵敏度就愈高，因此在测定中，必需选择摩尔吸光系数大的有色化合物，选择具有最大  $\epsilon$  值的波长作入射光。

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

### ◎ 5、桑德尔灵敏度

- ◎ 桑德尔 (Sandel) 灵敏度或称 (灵敏度指数) 用  $S$  来表示。  $S$  是指当仪器的检测极限  $A=0.001$  时, 单位截面积光程内所能检测出来的吸光物质的最小含量, 其单位为  $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。

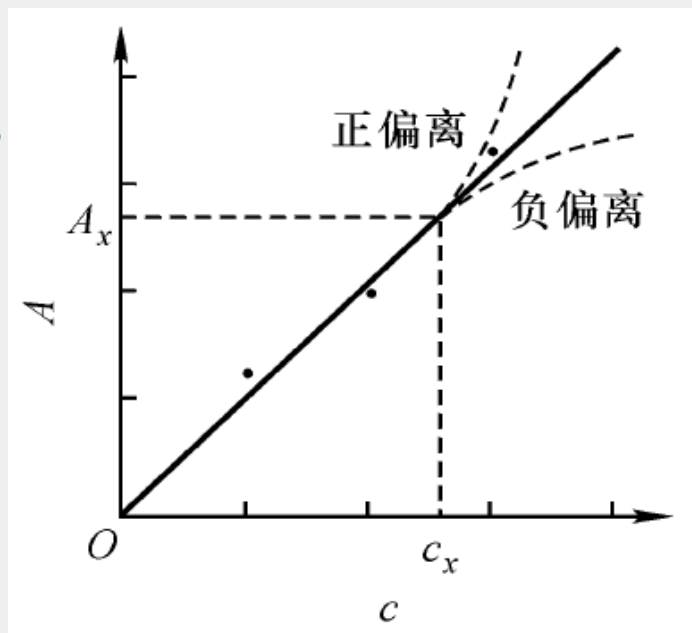
$$\begin{aligned} S &= \frac{1}{1000} \times bcM \times 10^6 \\ &= bcM \times 10^3 \\ &= \frac{0.001}{\varepsilon} \times M \times 10^3 = \frac{M}{\varepsilon} \end{aligned}$$

- ◎ 由上式可知, 某吸光物质的  $\varepsilon$  越大, 其  $S$  越小, 即该测定方法的灵敏度越高。对于比较灵敏的显色反应, 其  $S$  值一般在  $0.01 \sim 0.001 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  之间。

## 8.1.2 紫外—可见光吸收光度法的基本原理

### ⑥ 6、标准曲线的绘制及其应用

标准曲线即校准曲线，又称工作曲线，配制一系列具有不同浓度吸光物质的标准溶液（称标准系列），然后在确定的波长和光程等条件下，分别测量系列溶液的吸光度，绘制 $A - c$ （吸光度—浓度）曲线，从而得到一条通过原点的直线，即标准曲线。



- ⑦ 当需要对某未知液的浓度 $c_x$ 进行定量测定时，只需在相同条件下测得未知液的吸光度 $A_x$ ，就可由 $c_x = A_x / kb$ 计算得出或直接在标准曲线上查得 $c_x$ 。在实际操作中，应注意调整 $c_x$ 的大小，使其对应的 $A_x$ 处于标准曲线的范围之内。

# 课堂小结与习题

- ⊙ 课堂小结：
  - ⊙ (1) 光的复合互补性；
  - ⊙ (2) 朗伯—比尔定律；
  - ⊙ (3) 吸光系数；
  - ⊙ (4) 工作曲线。
- ⊙ 复习思考题及习题
- ⊙ 习题：2、3、4、5、15、19

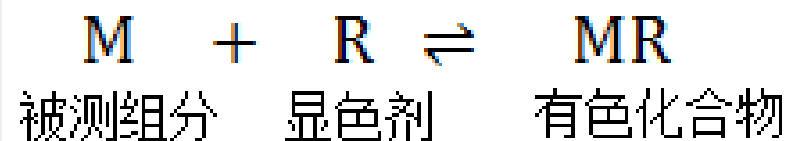
## 8.2 显色反应及显色条件的选择

- ⊙ 本章内容
- ⊙ 8.2.1 显色反应和显色剂
- ⊙ 8.2.2 影响显色反应的因素



## 8.2.1 显色反应和显色剂

- ① 待测物质本身有较深的颜色，直接测定；待测物质是无色或很浅的颜色，需要选适当的试剂与被测离子反应生成有色化合物再进行测定，此反应称为显色反应，所用的试剂称为显色剂。
- ② 吸光光度法的显色反应按反应类型来分主要有两类；氧化还原反应和配位反应，而配位反应是主要的。
- ③ 显色反应一般用下式表示：



- ④ 显色剂分为无机显色剂和有机显色剂，由于有机显色剂选择性强，稳定性好，应用范围广，而得到广泛应用。

## 8.2.1 显色反应和显色剂

◎ 显色反应的选择：

- A、选择性好，干扰少，或干扰容易消除；灵敏度高，有色物质的 $\epsilon$ 应大于 $10^4$ 。
- B、有色化合物的组成恒定，符合一定的化学式。
- C、有色化合物的化学性质稳定，至少保证在测量过程中溶液的吸光度基本恒定。这就要求有色化合物不容易受外界环境条件的影响。
- D、有色化合物与显色剂之间的颜色差别要大，即显色剂对光的吸收与络合物的吸收有明显区别，要求两者的吸收峰波长之差 $\Delta\lambda$ (称为对比度)大于60 nm。

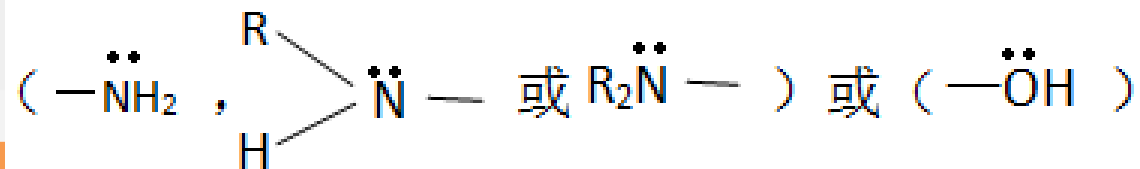
## 8.2.1 显色反应和显色剂

- ◎ 1、无机显色剂：许多无机试剂能与金属离子起显色反应，如 $\text{Cu}^{2+}$ 与氨水形成深蓝色的络离子 $\text{Cu}(\text{NH}_4)_4^{2+}$ ， $\text{SCN}^-$ 与 $\text{Fe}^{3+}$ 形成红色的络合物 $\text{Fe}(\text{SCN})_5^{2+}$ 或 $\text{Fe}(\text{SCN})_6^{3-}$ 等。但是多数无机显色剂的灵敏度和选择性都不高，其中性能较好，目前还有实用价值的有硫氰酸盐、钼酸铵、氨水和过氧化氢等。

显色剂	测定元素	酸 度	配合物组成和颜色	测定波长 (nm)
硫氰酸盐	铁	0.1~0.8M $\text{HNO}_3$	$\text{Fe}(\text{SCN})_5^{2-}$ 红	480
	钼	1.5~2M $\text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{MoO}(\text{SCN})_5^{2-}$ 橙	460
	钨	1.5~2M $\text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{WO}(\text{SCN})_4^-$ 黄	405
	铌	3~4M $\text{HCl}$	$\text{NbO}(\text{SCN})_4^-$ 黄	420
钼酸铵	硅	0.15~0.3M $\text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{H}_4\text{SiO}_4 \cdot 10\text{MoO}_3 \cdot \text{Mo}_2\text{O}_3$ 蓝	670~820
	磷	0.5M $\text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 10\text{MoO}_3 \cdot \text{Mo}_2\text{O}_3$ 蓝	670~820
	钒	1M $\text{HNO}_3$	$\text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{V}_2\text{O}_5 \cdot 22\text{MoO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ 黄	420
	钨	4~6M $\text{HCl}$	$\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 10\text{WO}_3 \cdot \text{W}_2\text{O}_5$ 蓝	660
双氧水	钛	1~2M $\text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{Ti}(\text{H}_2\text{O}_2)^{2+}$ 黄	420

## 8.2.1 显色反应和显色剂

- ② 有机显色剂：许多有机试剂，在一定条件下，能与金属离子生成有色的金属螯合物(具有环状结构的络合物)。
- ③ 有机显色剂大都含有生色团和助色团，在有机化合物分子中，一些含有不饱和键的基团，能吸收大于200nm波长的光，这种基团称为广义的生色团，如：偶氮基（ $-N=N-$ ）、羰基（ $>C=O$ ）、硫羰基（ $>C=S$ ）、硝基（ $-NO_2$ ）、亚硝基（ $-N=O$ ）
- ④ 某些含有孤对电子的基团，它们与生色团上的不饱和键相互作用，可以影响有机化合物对光的吸收，使颜色加深，这些基团称为助色团，如：



## 8.2.1 显色反应和显色剂

- ⊙ 重要有机显色剂：
  - ⊙ (1) 磺基水杨酸：OO型螯合剂，可与很多高价金属离子生成稳定的螯合物，主要用于测 $\text{Fe}^{3+}$ 。
  - ⊙ (2) 丁二酮肟：NN型螯合显色剂，用于测定 $\text{Ni}^{2+}$ 。
  - ⊙ (3) 1, 10-邻二氮菲：NN型螯合显色剂，测微量 $\text{Fe}^{2+}$ 。
  - ⊙ (4) 二苯硫脲：含S显色剂，萃取光度测定 $\text{Cu}^{2+}$ ， $\text{Pb}^{2+}$ ， $\text{Zn}^{2+}$ ， $\text{Cd}^{2+}$ ， $\text{Hg}^{2+}$ 等。
  - ⊙ (5) 偶氮胂Ⅲ(铀试剂Ⅲ)：偶氮类螯合剂，强酸性溶液中测 $\text{Th(IV)}$ ， $\text{Zr(IV)}$ ， $\text{U(IV)}$ 等；在弱酸性溶液中测稀土金属离子。
  - ⊙ (6) 铬天青S：三苯甲烷类显色剂，测定 $\text{Al}^{3+}$ 。
  - ⊙ (7) 结晶紫：三苯甲烷类碱性染料，测定 $\text{Tl}^{3+}$ 。

## 8.2.1 显色反应和显色剂

### ③ 多元配合物

④ 多元络合物是由三种或三种以上的组分所形成的络合物。目前应用较多的是由一种金属离子与两种配位体所组成的三元络合物。三元络合物在吸光光度分析中应用较普遍。

#### ④ (1) 三元混配配合物

④ 金属离子与一种配合剂形成未饱和配合物，然后与另一种配合剂结合，形成三元混合配位配合物，简称为三元混配配合物。如 $\text{Ti}^{4+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 和二甲酚橙在 $\text{pH}0.6 \sim 2$ 的酸性溶液中形成 $1:1:1$ 的配合物，用于测定钛。

## 8.2.1 显色反应和显色剂

◎ 形成三元混配配合物的条件是：

①金属离子与两种配位剂都有形成配合物的能力。

②金属离子有形成未饱和配合物的性质。通常高配位数的易形成未饱和配合，如 $\text{Be}^{2+}$ （配位数为6）、 $\text{Mo}^{6+}$ （配位数为8）。

③两种配合剂与金属离子配位时，要有适当的空间因素，通常其中一种配合剂的体积较小，如 $\text{F}^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{NH}_2\text{OH}$ 等，这样不致阻碍第二种配位体的配位。

◎ (2) 离子缔合物

金属离子先与络合剂生成络阴离子或络阳离子，再与带反电荷的离子生成离子缔合物。主要用于萃取光度法。

作为离子缔合物的阳离子，有碱性染料、1、10-邻二氮菲及其衍生物、安替比林及其衍生物、氯化四苯砷(或磷、锑)等；作为阴离子，有 $\text{X}^-$ ， $\text{SCN}^-$ ， $\text{ClO}_4^-$ ，无机杂多酸和某些酸性染料等。

## 8.2.1 显色反应和显色剂

- ◎ (3) 金属离子—配位剂—表面活性剂体系
- ◎ 金属离子与显色剂反应时，加入某些表面活性剂，可以形成胶束化合物，它们的吸收峰向长波方向移动(红移)，而测定的灵敏度显著提高。目前，常用于这类反应的表面活性剂有溴化十六烷基吡啶、氯化十四烷基二甲基苄胺、氯化十六烷基三甲基铵、溴化十六烷基三甲基铵、溴化羟基十二烷基三甲基铵、OP乳化剂。例如，稀土元素、二甲酚橙及溴化十六烷基吡啶反应，生成三元络合物，在pH 8~9时呈蓝紫色，用于痕量稀土元素总量的测定。
- ◎ (4) 杂多酸  
溶液在酸性的条件下，过量的钼酸盐与磷酸盐、硅酸盐、砷酸盐等含氧的阴离子作用生成杂多酸，作为吸光光度法测定相应的磷、硅、砷等元素的基础。杂多酸法需要还原反应的酸度范围较窄，必须严格控制反应条件。



## 8.2.2 影响显色反应的因素

- ◎ 1、吸光光度法对显色反应的要求
- ◎ (1) 选择性好，干扰少，或干扰容易消除；
- ◎ (2) 灵敏度高；
- ◎ (3) 有色化合物的组成恒定，符合一定的化学式；
- ◎ (4) 有色化合物的化学性质足够稳定；
- ◎ (5) 有色化合物与显色剂之间的颜色差别要大。

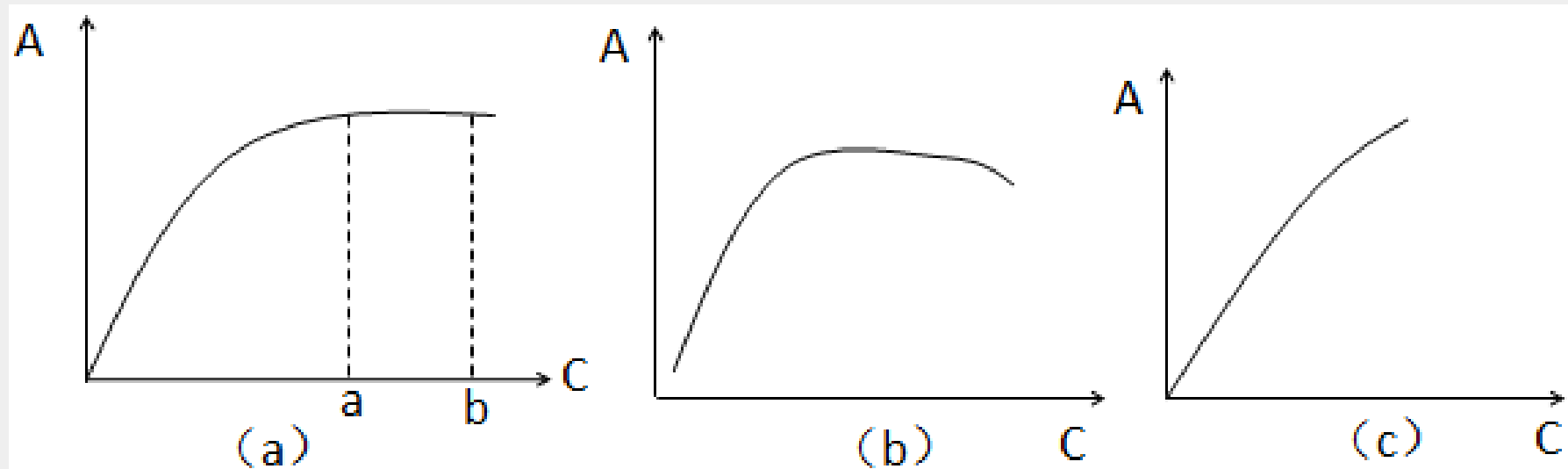
## 8.2.2 影响显色反应的因素

### 2、影响显色反应的因素

#### (1) 显色剂的用量

为了保证显色反应尽可能的进行完全，一般需加入过量的显色剂，但也不是显色剂愈多愈好，有些显色反应，显色剂过多反而会起副反应，不利于测定。

显色剂用量对显色反应的影响一般有以下三种情况，

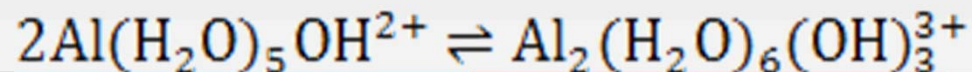


## 8.2.2 影响显色反应的因素

- ◎ (2) 溶液酸度的影响
- ◎ ①影响显色剂的浓度和颜色
- ◎ 显色反应所用到的显色剂很多是有机弱酸，溶液的酸度将影响显色剂的离解，并影响显色反应的完全程度，这可从下列反应看出。

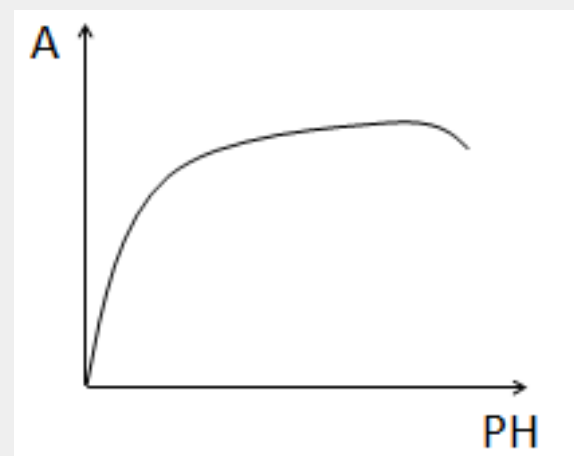


- ◎ 可见，酸度影响被测物质存在状态，提高酸度对显色反应不利。另一方面，若显色剂的离解常数 $K_a$ 大，则对显色反应是有利的。
- ◎ ②影响被测金属离子的存在状态
- ◎ 大多数金属离子由于水解，在不同pH值条件下的存在状态是不一样的。如 $Al^{3+}$ 在 $PH \approx 4$ 时，即可发生下列水解：



## 8.2.2 影响显色反应的因素

- ③影响配合物的组成
- 对于某些生成逐级配合物的显色反应，酸度的不同，配合物的配合比是不同的，其色调也不相同，如磺基水杨酸与 $\text{Fe}^{3+}$ 的显色反应，在不同的酸度条件下，可能生成1:1、1:2和1:3三种颜色不同的配合物，测定时必须控制溶液的酸度。
- 显色反应最适宜的酸度通常是通过实验来确定的，具体的方法是固定溶液中被测组分与显色剂的浓度，调节溶液的PH值，测定溶液吸光度，用PH值作横坐标，吸光度作纵坐标，作出PH值与吸光度关系曲线，如图8—4所示，从中找出最适宜的PH值。



## 8.2.2 影响显色反应的因素

### ◎ (3) 显色温度

- ◎ 通常显色反应大多在室温下，但有些显色反应必需加热至一定温度才能完成，如用过硫酸铵（在硝酸银存在下）氧化 $\text{Mn}^{2+}$ ，生成的显色反应就是如此。

### ◎ (4) 显色时间

- ◎ 有的有色化合物能瞬间形成，并达稳定状态，在较长时间内保持不变；有的有色化合物虽能迅速形成，便很快开始褪色；有的化合物形成缓慢，需经一定的时间后颜色才稳定。因此要根据情况确定合适的时间完成测定。

### ◎ (5) 溶剂

- ◎ 有机溶剂会降低有色化合物的离解度，从而提高显色反应的灵敏度，同时有机溶剂还可能提高显色反应的速度，以及影响有色化合物的溶解度和组成。如用偶氮氯膦Ⅲ测定 $\text{Ca}^{2+}$ ，加入乙醇后吸光度显著增加。

## 8.2.2 影响显色反应的因素

### ◎ (5) 溶剂

有机溶剂降低有色化合物的解离度，提高显色反应的灵敏度。如在 $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ 的溶液中加入丙酮颜色加深。还可能提高显色反应的速率，影响有色络合物的溶解度和组成等。

◎溶剂对显色反应的影响表现在下列几方面。

①溶剂影响络合物的离解度

②溶剂改变络合物颜色的原因可能是各种溶剂分子的极性不同、介电常数不同，从而影响到络合物的稳定性，改变了络合物分子内部的状态或者形成不同的溶剂化物的结果。

③溶剂影响显色反应的速度 表面活性剂的加入可以提高显色反应的灵敏度，增加有色化合物的稳定性。其作用原理一方面是胶束增溶，另一方面是可形成含有表面活性剂的多元络合物。

## 8.2.2 影响显色反应的因素

- ◎ (6) 溶液中共存离子的影响
- ◎ 试样中存在干扰物质会影响被测组分的测定。例如干扰物质本身有颜色或与显色剂反应，在测量条件下也有吸收，造成正干扰。干扰物质与被测组分反应或与显色剂反应，使显色反应不完全，也会造成干扰。干扰物质在测量条件下从溶液中析出，使溶液变混浊，无法准确测定溶液的吸光度。其消除方法主要有：
  - ①控制溶液的酸度；
  - ②加入掩蔽剂；
  - ③利用氧化还原反应改变干扰离子的价态，以消除干扰；
  - ④利用校正系数；
  - ⑤利用参比溶液消除显色剂和某些有色共存离子的干扰；
  - ⑥选择适当的波长。

# 课堂小结与习题

- ⊙ 小结：
  - ⊙ (1) 显色反应与显色剂；
  - ⊙ (2) 吸光光度法对显色反应的要求；
  - ⊙ (3) 影响显色反应的因素。
- ⊙ 复习思考题及习题
- ⊙ 习题：9、10、11



## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

- ① 1、目视比色法
- ② 用眼睛观察、比较溶液颜色深度以确定物质含量的方法。
- ③ 优点：仪器简单，操作简便，适宜于大批试样的分析。灵敏度高，可在复合光-白光下进行测定，故某些显色反应不符合朗伯-比尔定律时，仍可用该法进行测定。
- ④ 主要缺点：准确度不够高，标准系列不能久存，需要在测定时临时配制。

## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

### ◎ 目视比色法

#### 特点

利用自然光

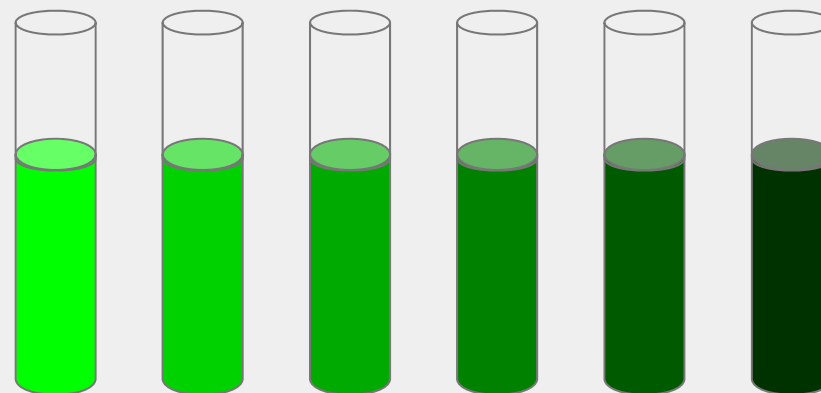
比较吸收光的互补色光

准确度低（半定量）

不可分辨多组分

方法简便，灵敏度高

#### 标准系列



#### 未知样品



## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

- ◎ 2、光电比色法
- ◎ 借助分光光度计来测量一系列标准溶液的吸光度，绘制标准曲线（工作曲线），根据被测试液的吸光度，从标准曲线上求得被测物质的浓度或含量。
- ◎ 吸光光度法特点：
  - (1) 入射光是纯度较高的单色光。偏离朗伯-比尔定律的情况大为减少，标准曲线直线部分的范围更大，分析结果的准确度较高。
  - (2) 可任意选取某种波长的单色光，故利用吸光度的加和性，同时测定溶液中两种或两种以上的组分。
  - (3) 许多无色物质，只要它们在紫外或红外光区域内有吸收峰，也可以测定。

## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

- ◎ 两种方法比较
- ◎ 原理不同：吸光光度法与目视比色法在上不同。吸光光度法是比较有色溶液对某一波长光的吸收情况，目视比色法则是比较透过光的强度。例如，测 $\text{KMnO}_4$ 的含量，吸光光度法测量的是 $\text{KMnO}_4$ 溶液对黄绿色光的吸收情况，目视比色法则是比较 $\text{KMnO}_4$ 溶液透过红紫色光的强度。

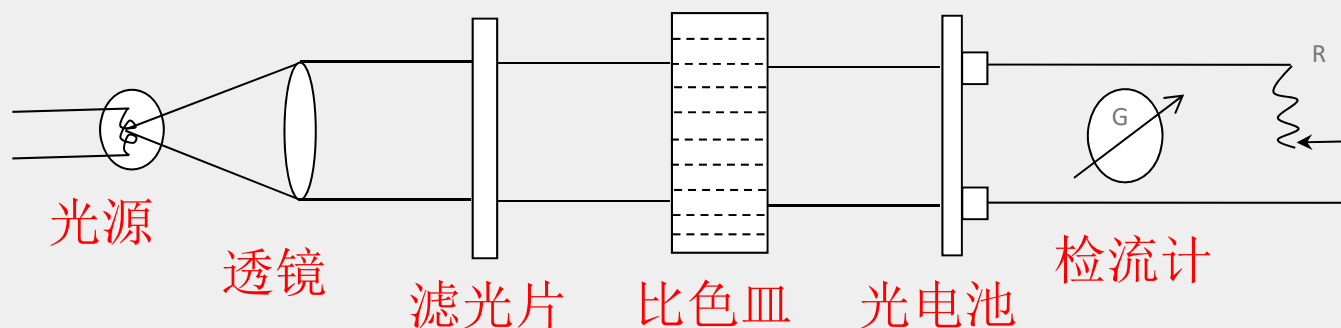
## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

- ◎ 2、光电比色法
- ◎ 光电比色法是以光电比色计来测量一系列标准溶液的吸光度，绘制标准曲线，然后根据被测试液的吸光度，从标准曲线上求得浓度或含量。

基本部件：

光源、单色器、比色皿、检测器和显示装置。

光电比色计结构示意图：



## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

### ③ 3、分光光度法

④ 分光光度法的基本原理和光电比色法是相同的，所不同的仅仅是获得单色光的方法不同，分光光度法是采用棱镜或光栅等分光器，而不是采用滤光片获得单色光。

④ 分光光度计的分类：

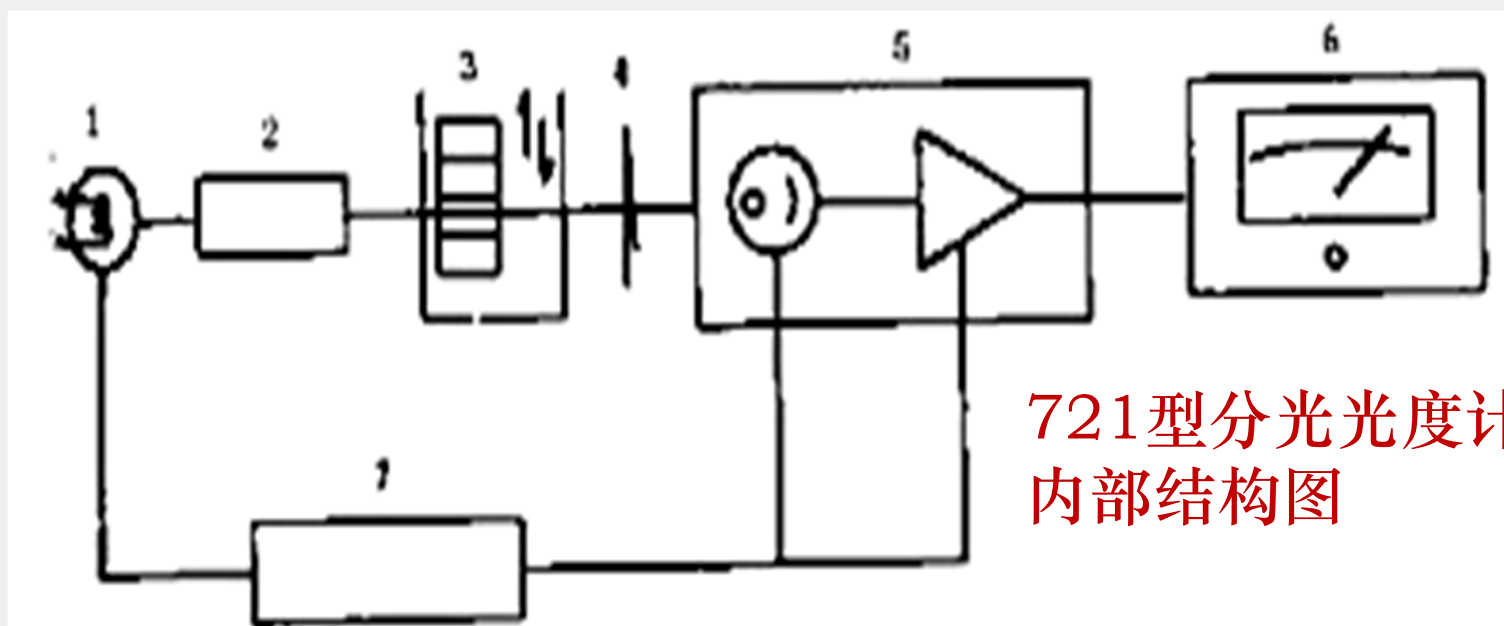
分光光度计根据仪器适用的波长范围，可分为：

- 1) 红外分光光度计 测定波长范围为大于760 nm的红外光区。
- 2) 可见光分光光度计 测定波长范围为400~760 nm的可见光区。
- 3) 紫外分光光度计 测定波长范围为200~400 nm的紫外光区。

红外分光光度计，主要用于有机物的结构分析，在此不予讨论。

## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

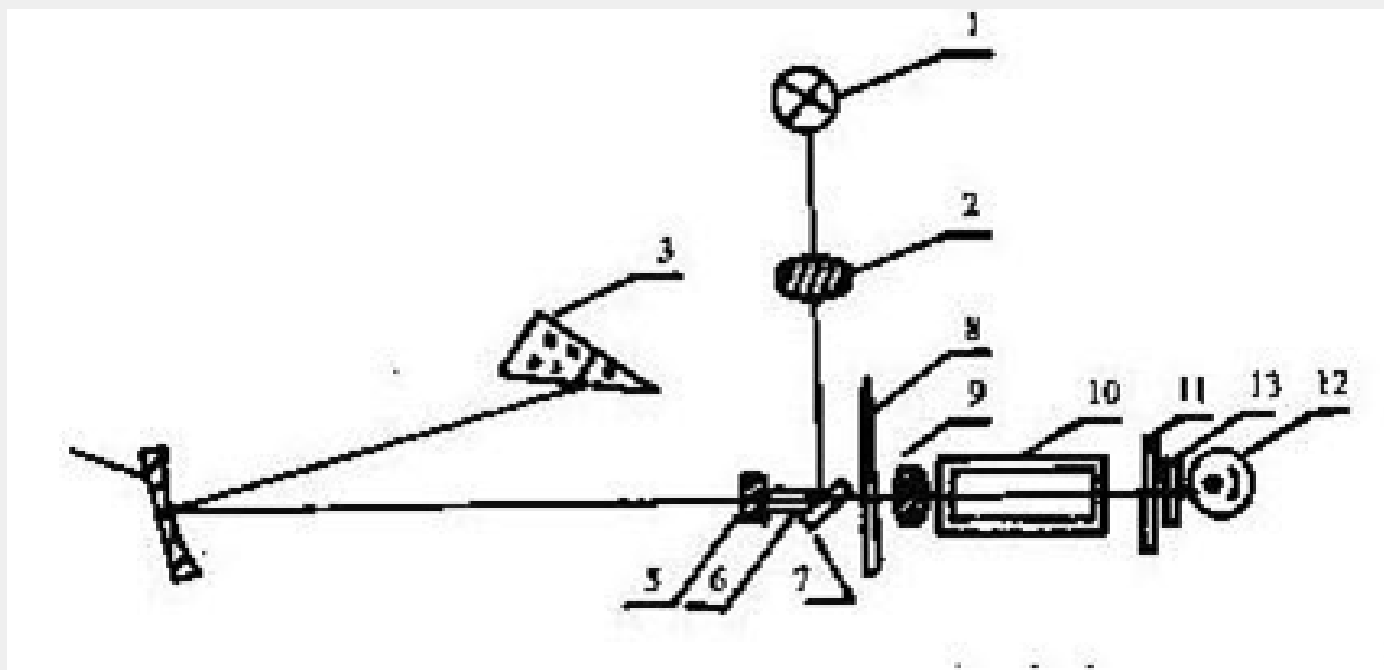
- ◎ 721型分光光度计
- ◎ 721型分光光度计为可见光分光光度计，适用波长范围368nm~800nm，主要用作物质定量分析。



721型分光光度计  
内部结构图

1、光源灯；2、透镜；3、棱镜；4、准直镜；5、  
13、保护玻璃；6、狭缝；7、反射镜；8、光栏；9、  
聚光透镜；10、比色皿；11、光门；12、光电管

## 8.3 比色和分光光度法及其仪器



721型分光光度计系统示意图

1、光源灯；2、透镜；3、棱镜；4、准直镜；5、13保护玻璃；6、狭缝；7、反射镜；8、光栏；9、聚光透镜；10、比色皿；11、光门；12、光电管



## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

### ◎ 721分光光度计的使用方法

- (1) 在接通电源之前，电表的指针必须位于“0”刻度线，否则应旋转电表上的校正螺丝调节到位。
- (2) 打开比色皿室的箱盖和电源开关，使光电管在无光照射的情况下预热15min以上。
- (3) 旋转波长调节器，选择测定所需的单色波长，选择适当的灵敏度，一般先将灵敏度旋钮调到中间位置，用零点调节器调节电表指至T值为10%外，若不能调到，应适当增加灵敏度。
- (4) 放入空白溶液和待测溶液，使空白溶液置于光路中，盖上比色皿盖，使光电管受光，调节光量调节旋钮，使电表在T值为100%处。
- (5) 打开比色皿室盖（关闭光门），调节零点调节器，使指针在T值为0%处，然后盖上箱盖，调节光量调节旋钮使指针在T值为100%处。如此反复调节，直到关闭光门时和打开光门时的指针分别在T值为0%和100%处为止。

## 8.3 比色和分光光度法及其仪器

- (6) 将待测溶液置于光路中，盖上箱盖，由此时指针的位置读得待测溶液的T值或A值。
- (7) 测量完毕后，关闭开关，取下电源插头，取出比色皿洗净擦擦干，放好，盖上比色器暗箱，盖好仪器。

### 721分光光度计的使用注意事项

- (1) 使用比色皿时只能拿毛玻璃两面，并且必须用擦镜纸擦干透光面，以保护透光面不受损坏或产生斑痕。
- (2) 在用比色皿装液前必须用所装溶液冲洗3次，以免改变溶液的浓度。
- (3) 比色皿放入比色架时，就尽量使它们的前后位置一致，以减少测量误差。

## 【实验】

- ① 测定 $0.01\text{mol/L}$ 的硫酸铜溶液的吸光度

## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ 8.4.1 单组分测定

#### ◎ 1、普通方法

当试液中只有一种被测组分在测量波长处产生吸收时，一般采用标准曲线法进行测定。分别移取不同量被测物质的标准溶液于一系列体积相同的容量瓶中，加入适量的显色剂和其它试剂，在所选择的最佳显色反应条件下使其显色完全，稀释定容，同时配制相应的参比溶液。然后在所选择的最佳测量条件下分别测量其吸光度，并绘制A—c标准曲线。最后按相同的步骤使试液显色后再测量其吸光度 $A_x$ ，利用标准曲线找出 $A_x$ 所对应的浓度 $c_x$ ，即可求得试液的浓度。

#### ◎ 2、示差分光光度法

吸光光度法一般仅适用于微量组分的测定，当待测定组分浓度过高或过低，会引起很大的测量误差，导致准确度降低。示差吸光光度法可克服这一缺点。目前，主要有高浓度示差吸光光度法、低浓度示差吸光光度法和使用两个参比溶液的精密示差吸光光度法。它们的基本原理相同，且以高浓度示差吸光光度法应用最多，仅介绍高浓度示差吸光光度法。

## 8.4 分光光度法的应用

- 示差光度法与普通光度法的主要区别在于它所采用的参比溶液不同，它是以一个浓度比待测试液  $c_x$  稍低的标准溶液  $c_s$  为参比（调节仪器的  $T = 100\%$ ,  $A = 0$ ），然后再测定试液的吸光度，测得的吸光度为  $A_f$ 。

$$A_f = A_x - A_s = Kb(c_x - c_s) = Kb \Delta c$$

- 相应的示差透射比为  $T_f = \frac{T_x}{T_s}$

- 示差吸光度  $A_f$  与浓度差  $\Delta c$  成正比。制作  $A_f - \Delta c$  标准曲线，从其中查得试液的  $\Delta c$ ，即可求出其浓度  $c_x = c_s + \Delta c$ 。

## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ 8.4.2 多组分测定

- ◎ (1) 各组分具有互不干扰时，以各组分的吸收波长为测量波长，按单组分的方法逐一测定。
- ◎ (2) 各组分的吸收曲线相互重叠时，则利用吸光度的加和性，用解联立方程的方法求得各组分的浓度。

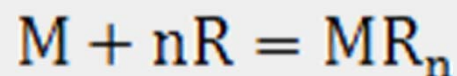
$$\begin{cases} A_{\lambda_1} = A_{x, \lambda_1} + A_{y, \lambda_1} = k_{x, \lambda_1}bc_x + k_{y, \lambda_1}bc_y \\ A_{\lambda_2} = A_{x, \lambda_2} + A_{y, \lambda_2} = k_{x, \lambda_2}bc_x + k_{y, \lambda_2}bc_y \end{cases}$$

## 8.4 分光光度法的应用

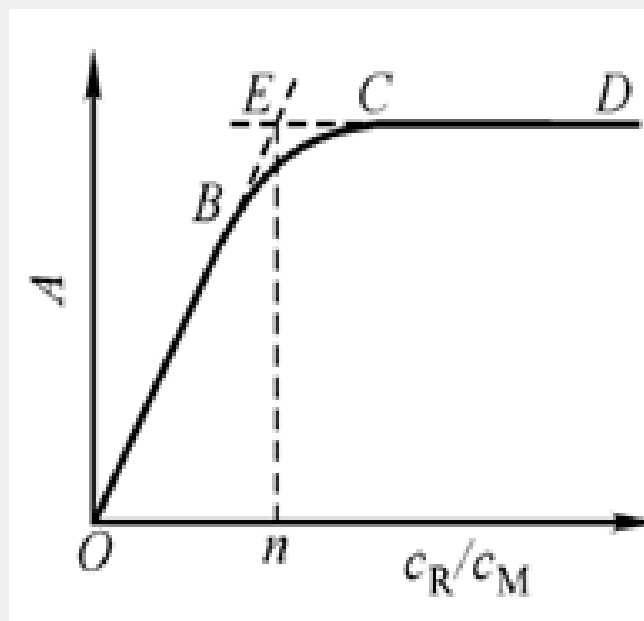
### ◎ 8.4.3 配合物组成的测定

#### ◎ 1、摩尔比法

- ◎ 在一定的条件下，假设金属离子M 与配合剂R 发生下述显色反应（略去离子电荷）：

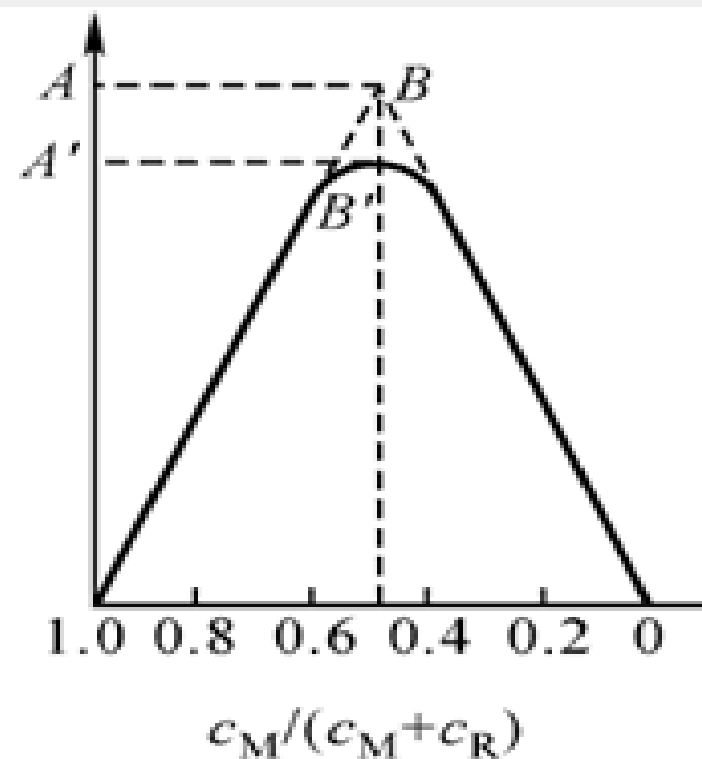


通常是固定金属离子M的浓度，逐渐增加络合剂的浓度。配位体为R，显然，R应是无色的或在选定的波长范围内无显著吸收。然后稀释至同一体积，得到[R]/[M]为1，2，3……的一系列溶液，配制相应的试剂空白，在一定波长下，测定其吸光度，绘制曲线，用作图法求得络合比。



## 8.4 分光光度法的应用

- ② 2、等摩尔连续变化法（等摩尔系列法）
- ③ 此法是保持溶液中 $c_M + c_R$ 为常数，连续改变 $c_R / c_M$ 配制出一系列溶液。分别测量系列溶液的吸光度 $A$ ，以 $A$ 对 $c_M / (c_M + c_R)$ 作图，曲线折点对应的 $c_R / c_M$ 值就等于络合比 $n$ 。





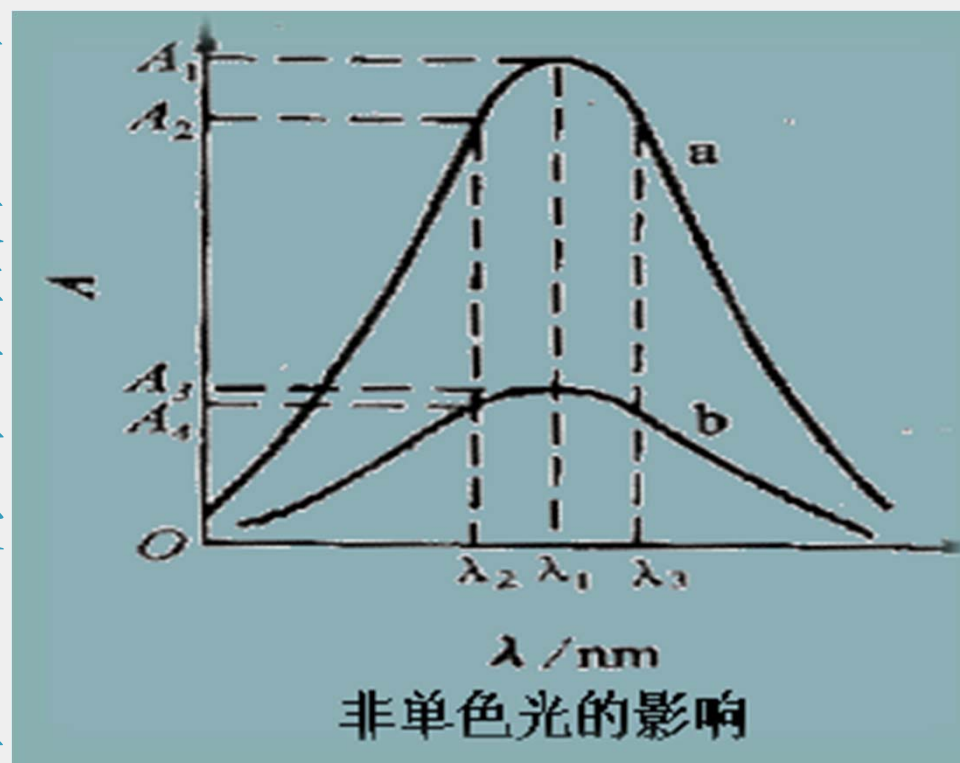
## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ 8.4.4 吸光光度法的测量误差及测量条件的选择

#### ◎ 1、标准曲线偏离朗伯—比耳定律的因素

##### ◎ (1) 物理因素的影响

◎ 1) 非单色光引起的偏离  
朗伯—比尔定律只适用于单色光，但由于单色器色散能力的限制和出口狭缝需要保持一定的宽度，所以目前各种分光光度计得到的入射光实际上都是具有某一波段的复合光。由于物质对不同波长光的吸收程度的不同，因而导致对朗伯—比尔定律的偏离。



## 8.4 分光光度法的应用

### ◎克服非单色光引起的偏离的措施

(1) 使用比较好的单色器，从而获得纯度较高的“单色光”，使标准曲线有较宽的线性范围。

(2) 入射光波长选择在被测物质的最大吸收处，保证测定有较高的灵敏度，此处的吸收曲线较为平坦，在此最大吸收波长附近各波长的光的 $\epsilon$ 值大体相等，由于非单色光引起的偏离要比在其他波长处小得多。

(3) 测定时应选择适当的浓度范围，使吸光度读数在标准曲线的线性范围内。

## 8.4 分光光度法的应用

- ② 非平行入射光引起的偏离
- ③ 朗伯—比尔定律要求采用平行光束垂直入射。若入射光束为非平行光，就不能保证光束全部垂直通过吸收池，可能导致光束的平均光程 $b'$ 大于吸收池厚度 $b$ ，实际测得的吸光度将大于理论值，从而产生正偏离。
- ③ 介质不均匀引起的偏离
- ④ 朗伯—比尔定律要求吸光物质的溶液是均匀的。如果被测溶液不均匀，是胶体溶液、乳浊液或悬浮液时，入射光通过溶液后，除一部分被试液吸收外，还有一部分因散射现象而损失，使透射比减少，因而实测吸光度增加，使标准曲线偏离直线向吸光度轴弯曲。故在光度法中应避免溶液产生胶体或混浊。

## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ (2) 化学因素的影响

#### ◎ 1) 溶液浓度过高引起的偏离

- ◎ 朗伯—比尔定律是建立在吸光质点之间没有相互作用的前提下的。但当溶液浓度较高时，吸光物质的分子或离子间的平均距离减小，由于相互作用就会改变吸光微粒的电荷分布，从而改变它们对光的吸收能力，即改变物质的摩尔吸收系数。浓度增加，这种相互作用也随之增强，由此导致在高浓度范围内因 $k$ 不恒定而使吸光度与浓度之间的线性关系被破坏，偏离了朗伯—比尔定律，因此朗伯—比尔定律只适用于稀溶液。

#### ◎ 2) 化学反应引起的偏离

- ◎ 朗伯—比尔定律中的浓度指的是吸光物质的平衡浓度，即吸光型体的浓度。而在实际工作中，常用吸光物质（甚至待测组分）的分析浓度来代替它。只有当吸光物质的平衡浓度等于或正比于其分析浓度时，按照分析浓度所制作的标准曲线才是一条通过原点的直线，即 $A$ 与 $c$ 的关系服从朗伯—比尔定律。但溶液中吸光物质常因解离、缔合、形成新化合物或互变异构等化学反应而破坏了其平衡浓度与分析浓度之间的正比关系，也就破坏了吸光度 $A$ 与分析浓度 $c$ 之间的线性关系，从而产生对朗伯-比尔定律的偏离。

## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ A 解离

大部分有机酸碱的酸式、碱式对光有不同的吸收性质，溶液的酸度不同，酸(碱)解离程度不同，导致酸式与碱式的比例改变，使溶液的吸光度发生改变。

### ◎ B 络合

显色剂与金属离子生成的是多级络合物，且各级络合物对光的吸收性质不同，例如在Fe(Ⅲ)与SCN<sup>-</sup>的络合物中，Fe(SCN)<sub>3</sub>颜色最深，Fe(SCN)<sup>2+</sup>颜色最浅，故SCN<sup>-</sup>浓度越大，溶液颜色越深，即吸光度越大。

### ◎ C 缔合

例如在酸性条件下，CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>会缔合生成Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>，而它们对光的吸收有很大的不同。

在分析测定中，要控制溶液的条件，使被测组分以一种形式存在，以克服化学因素所引起的对朗伯—比尔定律的偏离

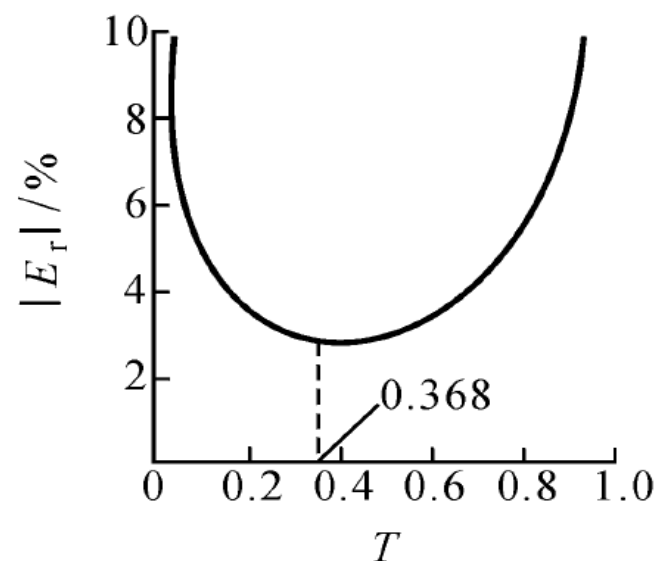
## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ 2、仪器测量误差

◎仪器测量误差是指在测量吸光度或透射比时所产生的误差。它来源于很多方面，如光源和检测器的不稳定性、吸收池位置的不确定性以及读数的不确性等。普通分光光度计主要的仪器测量误差是表头透射比的读数误差。光度计的读数标尺上透射比 $T$ 的刻度是均匀的，故透射比的读数误差 $\Delta T$ （绝对误差）与 $T$ 本身的大小无关，对于一台给定的仪器它基本上是常数，一般在 $0.002 \sim 0.01$ 之间，仅与仪器自身的精度有关。但光度分析的目的是通过

$T$  测得溶液的浓度 $c$ ，由读数误差 $\Delta T$ 引起的被测组分浓度测量的相对误差用 $\Delta c/c$ 表示（其中 $\Delta c$ 为浓度的绝对误差）。

如右图，当 $T = e^{-1} = 0.368$ ，即相应吸光度 $A = 0.434$ 时，浓度测量的相对误差最小，即图中曲线最低点所对应的 $T$  值。

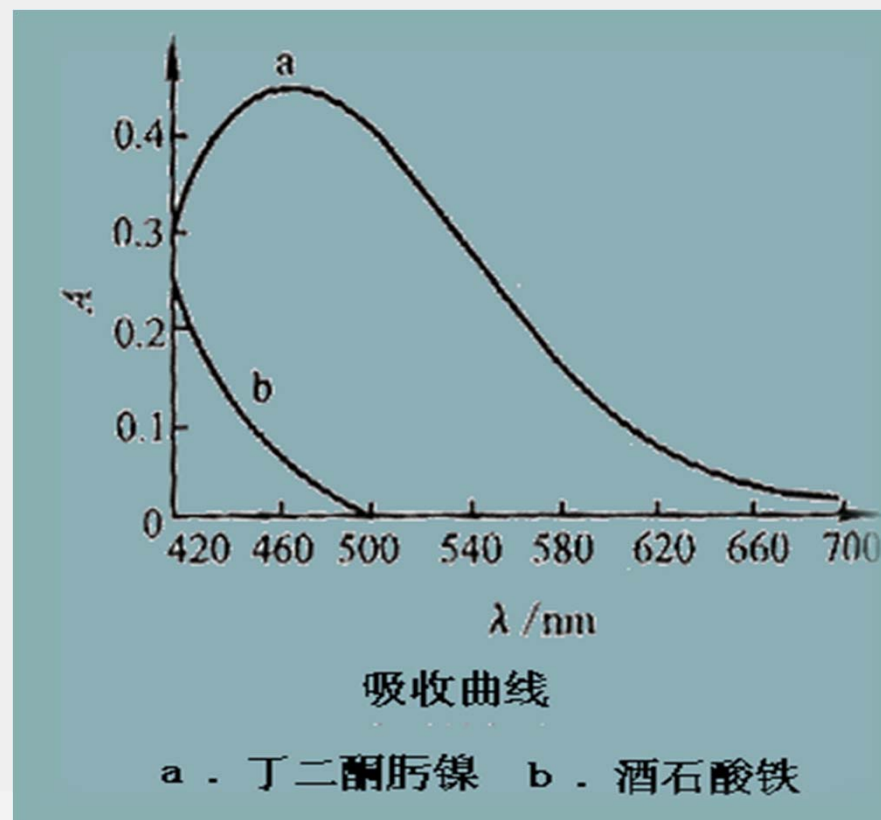


## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ 3、测量条件的选择

#### ◎ (1) 测量波长的选择

由于有色物质对光有选择性吸收，为了使测定结果有较高的灵敏度 and 准确度，必须选择溶液最大吸收波长的入射光。如果有干扰时，则选用灵敏度较低但能避免干扰的入射光，就能获得满意的测定结果。



## 8.4 分光光度法的应用

### ◎ (2) 吸光度范围的控制

◎从仪器测量误差的角度来看，为使测量结果得到较高的准确度，一般应控制标准溶液和被测试液的吸光度在0.2~0.8范围内。可通过控制溶液的浓度或选择不同厚度的吸收池来达到目的。

### ◎ (3) 参比溶液的选择

①当试液、试剂、显色剂均无色时，可用蒸馏水作参比液。

②试剂和显色剂均无色时，而样品溶液中其他离子有色时，应采用不加显色剂的样品溶液作参比液。

③试剂和显色剂均有颜色时，可将一份试液加入适当掩蔽剂，将被测组分掩蔽起来，使之不再与显色剂作用，然后把显色剂、试剂均按操作手续加入，以此做参比溶液，这样可以消除一些共存组分的干扰。



# 课堂小结与习题

- ⊙ 课堂小结：
  - ⊙ (1) 单组分与多组分的测定；
  - ⊙ (2) 示差分光光度法；
  - ⊙ (3) 影响朗伯—比耳定律的物理因素与化学因素；
  - ⊙ (4) 测定条件的选择。
- ⊙ 复习思考题及习题
- ⊙ 习题： 9、10、11