

第 12 章 可见光分光光度法

CHAP. 12 VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

12.1 可见光分光光度法的基本原理

FUNDAMENTAL OF VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

12.1.1 物质对光的选择性吸收

1. 光的基本性质:光是一种电磁波,人眼所能感觉到的光称为可见光.

可见光在电磁波谱中大约处于 400-750nm. 单色光:

单波长的光(由具有相同能量的光子组成).

复合光:由各种单色光组成的光. 例如白光(太阳光)

电磁波谱:

2. 物质的颜色与颜色的互补关系:

(1) 物质的颜色:

当光束照射在物质上时,光与物质会发生相互作用.

溶液的颜色是溶液中物质对光选择性吸收引起的,由透过光波长所决定. 例如 Cu^{2+} 溶液以及 Fe^{3+} 溶液.

(2) 颜色的互补关系:

光与物质的作用:

互补色光:按一定的强度比例能组成白光的两种色光.

选择性吸收:同一物质对不同波长光表现出不同吸收能力的性质.

3. 选择性吸收的本质:

吸收的实质:价电子的能级跃迁.

产生吸收的条件: $\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu$.

选择性吸收的本质:不同的物质微粒因结构不同而具有不同的量子化能级,能量差也不同.

4. 选择性吸收的表征:

测量有色溶液对每一光吸收程度(即吸光度 A),作 $A \sim \lambda$ 曲线,即为吸收光谱(或吸收曲线).

最大吸收波长 λ_{max} : 吸收曲线中吸光度最大处对应的波长.

吸收光谱(或吸收曲线)描述了物质对不同波长光的吸收能力.

因此,可见光吸收光谱的产生是价电子能级跃迁的结果.

5. 吸收曲线的作用:

定量分析的依据:

同一物质, $c \uparrow, A \uparrow$, 尤其 λ_{max} 处.

选择测量波长的依据:

λ_{max} 处 A 随 c 变化的幅度最大,测定最灵敏.

定性和结构分析的依据:

不同物质的吸收曲线形状和 λ_{max} 一般也不同.

1. Lambert-Beer 定律: $I_0 = I_a + I_t$

溶液对光吸收程度:

$$A = \lg(I_0/I_t) = \lg(1/T) = Kbc$$

式中: T 称为透光率, $T = I_t / I_0$;

A 即吸光度(以前称 E :消光度, 或 Δ :光密度);

b 为液层厚度,通常以 cm 为单位;

K 是与吸光物质性质、 λ 、溶剂以及温度等有关的常数

2. 吸光系数与摩尔吸光系数:

当 c 取 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, b 取 cm 时, K 以 a 表示, 称为吸光系数, 单位为 $\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;

当 c 取 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, b 取 cm 时, K 以 e 表示, 称为摩尔吸光系数, 单位为 $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

$$a = e / M(\text{摩尔质量})$$

e 在数值上等于浓度为 $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吸光组分在光程为 1cm 时的吸光度.

表观摩尔吸光系数:

实验测定, 以吸光物质总浓度为基础求得的 e

例题: 每升含铁 3.00mg 的标准溶液, 处理后以邻菲罗啉显色, 以 2.0cm 的比色皿在 510nm 波长下测得吸光度为 1.20 . 求其摩尔吸光系数.

解: 已知: $M_{\text{Fe}} = 55.85$;

$$c(\text{Fe}^{3+}) = 3.00 \times 10^{-3} / 55.85 = 5.37 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$e = A/bc = 1.20 / (2.0 \times 5.37 \times 10^{-5}) = 1.1 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}.$$

3. 摩尔吸光系数的意义:

定性与结构分析的参数;

同一吸光组分, 不同 l 或不同溶剂中, e 不同;

不同吸光组分, 一定 l 和确定的溶剂中, e 也 不相同.

估量定量方法的灵敏度.

l_{max} 处的摩尔吸光系数常以 e_{max} 表示.

e_{max} 表明吸光物质最大限度的吸光能力, 也反映了光度法测定该物质可能达到的最大灵敏度.

$e > 10^5$: 超高灵敏度;

$e = (6 \sim 10) \times 10^4$: 高灵敏度;

$e = 10^4 \sim 5 \times 10^4$: 中等灵敏度;

$e < 2 \times 10^4$: 低灵敏度.

4. Lambert-Beer 定律的意义:

当一束平行的单色光通过均匀的、非散射的吸光溶液时, 溶液对光的吸收程度与吸光组分的浓度以及液程厚度的乘积成正比.

即:
$$A = e bc$$

Lambert-Beer 定律不仅适用于有色溶液, 也适用于其它均匀的、非散射性的吸光物质(固、液、气).

对于多组分系统, 若物质间无相互作用, 则:

$$A_{\text{总}} = A_1 + A_2 + \dots = e_1 bc_1 + e_2 bc_2 + \dots$$

吸光度具有加和性.

据: $A = \lg(1/T) = e bc$, 若 b 固定, $A = K' c$

$A \sim c$ 曲线称为标准曲线或工作曲线.

12. 1. 3 偏离朗伯比耳定律的主要因素

偏离朗伯-比耳定律:

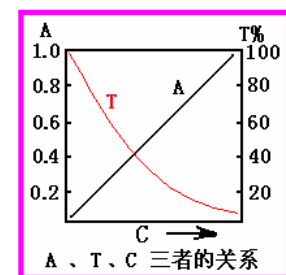
实际工作中, 特别是在浓度较高时, A 与 c 之间不成线性的现象.

造成偏离的主要原因在于实际情况不能满足定律的基本假设(入射光为单色光; 粒子独立, 无相互作用).

1. 非单色光:

由于实际所用单色光不纯导致随浓度增大吸光度不成线性增加

假设由波长为 λ_1 和 λ_2 的两种单色光组成的入射光通过浓度为 c 的溶液, 入射强度分别为 I_{01} 、 I_{02} , 透射强度分别为 I_{t1} 、 I_{t2} . 则:



$$A_{\text{总}} = \lg(I_{01} + I_{02}) / (I_{t1} + I_{t2})$$

根据 $A = \lg(I_0/I_t) = \lg(1/T) = \epsilon bc$, 可得:

$$I_0 = I_t 10^{\epsilon bc} = A_1 + \lg[I_{t1} + I_{t2} 10^{(\epsilon_2 - \epsilon_1)bc}] - \lg[I_{t1} + I_{t2}]$$

显然, 只要 $\epsilon_2 = \epsilon_1$, 则 $A_{\text{总}} = A_1 = \epsilon_1 bc$;

若 $\epsilon_2 > \epsilon_1$, 则 $A_{\text{总}} > A_1$, 导致正偏离;

若 $\epsilon_2 < \epsilon_1$, 则 $A_{\text{总}} < A_1$, 导致负偏离.

显然, 如果单色光较纯或所选择的测量波长处吸收峰较为平坦, $\lambda_1 \gg \lambda_2$, 即 $\epsilon_2 \gg \epsilon_1$, 就不易发生偏离.

另外, 这种偏离是随浓度的增大而加剧, 故朗伯-比耳定律只适用于稀溶液

2. 溶液的化学因素:

吸光组分间因缔合、离解、及其它相互作用, 且随浓度增大不成线性增加所产生的偏离.

例如 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 与 CrO_4^{2-} 在水溶液中的缩聚平衡:



黄色

橙色

当溶液酸度或系统浓度改变时, CrO_4^{2-} 与 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 的相对浓度也随之而变, 由此引起偏离

一般来说, 当溶液浓度 $c > 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 吸光质点间就可能发生缔合、离解等相互作用, 直接影响了对光的吸收.

所以, Lambert-Beer 定律只适用于稀溶液.

12.2 可见光分光光度法

VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

12.2.1 比色法与可见光分光光度法

1. (目视)比色法:

比色法按测定原理分: 目视比色法;

光电比色法.

目视比色法采用标准系列法, 通过人眼比较溶液颜色深浅进行测定.

(1) 方法原理:

通过比较透过光强度进行测定.

$$\text{若 } I_{t \text{ 标}} = I_0 10^{-\epsilon bc \text{ 标}} = I_{t \text{ 试}} = I_0 10^{-\epsilon bc \text{ 试}}$$

则 $c \text{ 标} = c \text{ 试}$.

目视比色法:

(2) 特点: 快速、简便; 可在复合光下测定; 准确度较差, 相对误差约 5~10%.

(3) 适用范围: 常用于中小型工厂的中控分析以及限量分析(杂质含量是否超过出厂指标).

2. 可见光分光光度法:

(1) 方法原理:

比较有色溶液对一定波长单色光的吸收程度.

(2) 仪器:

基本组成:

光源系统:

主要作用: 辐射出具有足够强度而且稳定的连续光谱.

主要元件: 白炽灯. 一般采用钨灯或钨卤素灯.

钨灯辐射的波长范围 320~2500nm, 但强度及稳定性不如钨卤素灯.

分光系统(或单色器)

分光系统是仪器整个光路系统的一部分.

主要作用: 将连续光谱分解为测定所需的单色光

主要元件: 色散元件. 一般采用棱镜或光栅.

使用时应注意出射狭缝调节的操作规程, 以防损坏.

吸收系统:

主要作用: 盛放吸光溶液, 固定吸收光程.

主要部件: 吸收池(或比色皿).

比色皿使用时应注意保持光洁, 特别是两个受光面.

检测显示系统

主要作用: 将通过吸光溶液的光信号转变为电信号, 再以适当的方式显示或记录.

主要元件: 光电转换元件. 一般为光电管或光电倍增管, 小型仪器为光电管.

光电管是由一个阳极和一个光敏阴极组成的真空二极管.

光敏阴极受足够能量光子照射时会发射电子, 在电场作用下形成光电流. 光电流的大小取决于光强度.

光电疲劳效应: 光强不变, 但产生的光电流逐渐下降的现象.

产生的主要原因:

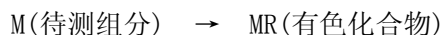
光敏元件长时间受光照射或受强光照射

使用数码管或记录仪的仪器还应注意不能在仪器处于 A 测量状态下长时间开着暗室盖.

12. 2. 2 显色反应及其影响因素

显色反应:

显色剂

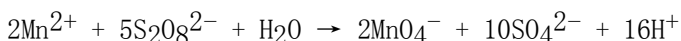


显色: 将待测组分转变为有色物质的过程.

显色剂: 使待测组分形成有色化合物的试剂.

1. 显色反应分类:

氧化还原反应:



配位反应:

多数显色反应以配位反应为主.

2. 显色反应的选择:

(1) 灵敏度与选择性: 含量低、干扰少时一般选择高灵敏度($\epsilon_{\max} > 6 \times 10^4$) 的显色反应; 含量较高、选择性较差, 且难以消除时选择中、低灵敏度($\epsilon_{\max} < 5 \times 10^4$) 的显色反应.

显色反应的选择性:

一定条件下显色反应的专一性.

(2) 显色剂的吸收以及有色物质的稳定性:

在测定波长处尽量无吸收, 或对比度尽可能大

$$\text{对比度 } \Delta I = \frac{1}{2} I_{\max}^{MR} - I_{\max}^{R/2} \geq 60nm$$

MR 应足够稳定.

3. 显色反应条件的选择:

酸度;

显色剂用量;

显色温度、显色时间、溶剂;

干扰的消除.

4. 显色剂:

无机显色剂: 硫氰酸盐、钼酸铵、过氧化氢等几种.

酸度对显色反应的影响:

显色剂有效浓度以及颜色;

待测离子的存在形式;

配合物组成.

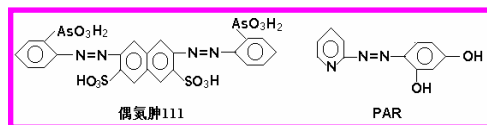
如 Fe^{3+} 与磺基水杨酸(SSal)的显色反应:

pH	配合物	颜色
1.8~2.5	$\text{Fe}(\text{SSal})^+$	紫红
4~8	$\text{Fe}(\text{SSal})_2^-$	棕褐
8~11.5	$\text{Fe}(\text{SSal})_3^{3-}$	黄

显色剂用量的影响有多种情况:

例如: Fe^{3+} 与 SCN^- 的显色反应会随 SCN^- 浓度的变化形成配位数为 1~6 的配合物, 颜色也会随之改变.

有机显色剂: 种类繁多. 如偶氮类显色剂:



三苯甲烷类: 铬天青 S、二甲酚橙等.

发色团(广义)(或生色团):

在分子中当形成共轭体系时能使物质产生颜色的不饱和基团.

如 $-\text{N}=\text{N}-$ 、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}=\text{S}$ 、 $-\text{N}=\text{O}$ 等

助色团: 具有孤对电子, 当与生色团相连时会使物质颜色加深的基团.

如 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{Cl}$ 等

1. 测量波长选择:

一般是以“最大吸收原则”选择测量波长. 即选择 λ_{max} 为入射光波长.

若 λ_{max} 处有共存组分干扰, 或吸收峰太尖锐等, 则

采取“吸收最大, 干扰最小”的原则选择测量波长.

2. 参比溶液的选择:

(1) 参比溶液的作用:

抵消有色溶液中非待测组分的吸收、散射等. 除此之外, 还能抵消比色皿对入射光的吸收、反射.

(2) 选择原则: 使测得的吸光度真正反映待测溶液吸光强度.

(3) 选择: 若试液、显色剂等测定波长处均无吸收, 用纯溶剂(水)作参比溶液

若显色剂或其它所加试剂在测定波长处略有吸收, 而试液本身无吸收, 用“试剂空白”(不加试样溶液)作参比溶液;

若试液在测定波长处有吸收, 而显色剂等无吸收, 则用“试样空白”(不加显色剂)作参比溶液;

若显色剂、试液中其它组分在测量波长处有吸收, 则可在试液中加入适当掩蔽剂将待测组分掩蔽后再加显色剂, 作为参比溶液

如用铬天菁 S(CAS)测定钢中的铝, 试液中 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 有色, CAS 也有色.

取一份试液,加 NH_4F ,再加入所需 CAS 以及其它试剂配成参比溶液.

3. 吸光度测量范围:

式中: $\Delta c/c$ 为浓度测量值的相对误差;

ΔT 为透光度测量的绝对误差

一般分光光度计的 ΔT 约为 $\pm 0.2\% \sim \pm 2\%$. 假定 ΔT 为 1%, 可得到浓度测量的相对误差 $\Delta c/c$ 与其透光度 T 的关系曲线。

用该仪器测定时应尽量使溶液透光度值控制在 $T = 20 \sim 65\%$ (吸光度 $A = 0.70 \sim 0.20$).

根据以上关系还可求得当 $T = 36.8\%$ 或 $A = 0.434$ 时浓度测量的相对误差最小.

控制吸光度测量误差较小的措施:

稀释或增大浓度;

改变比色皿厚度;

选择合适的测量波长.

12.3 可见光分光光度法的应用

APPLICATION OF VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

12.3.1 含量的测定

1. 单组分的测定:

(1) 标准曲线法: 固定 b 时: $A = K'c$

(2) 回归法: 由实验数据求回归方程, 将未知溶液的吸光度代入求得未知液的含量.

(3) 示差法: 适用于待测组分含量较高.

示差法与一般方法的主要不同点在于参比溶液, 其次需要较大的入射光强度.

示差法以浓度稍低于待测溶液浓度的标准溶液为参比.

设待测溶液浓度为 c_X , 标准溶液浓度为 c_S ($c_S < c_X$),

则: $A_X = \epsilon b c_X$

$A_S = \epsilon b c_S$

$\Delta A = A_X - A_S = \epsilon b (c_X - c_S) = \epsilon b \Delta c$

$\Delta A \sim \Delta c$ 同样呈线性关系.

示差法之所以能用于高含量组分测定, 原因在于透光度标尺相当于被扩展.

普通法: c_S 的 $T = 10\%$; c_X 的 $T = 5\%$.

示差法: c_S 做参比, 调 $T = 100\%$

则 c_X 的 $T = 50\%$; 标尺扩展 10 倍

2. 多组分的同时测定:

若各组分的吸收曲线互不重叠, 则可以在各自最大吸收波长处分别进行测定.

若各组分的吸收曲线互有重叠, 可据吸光度加和性原理进行测定.

常用方法为若各组分的吸收曲线互有重叠, 可据吸光度加和性原理进行测定.

解联立方程法.

$A_{11} = A_{a, 11} + A_{b, 11} = \epsilon_{a1} b c_a + \epsilon_{b1} b c_b$

$A_{12} = A_{a, 12} + A_{b, 12} = \epsilon_{a2} b c_a + \epsilon_{b2} b c_b$

求解联立方程组就能得出各组分的含量.

12.3.2 化学平衡的研究

1. 酸碱离解常数的测定:

测定原理是据酸碱平衡以及吸光度加和性.

假定有一种浓度为 c 的一元弱酸 HL; HL 与 L 具有不同的颜色; 在水中离解达平衡时:

据加和性原理: $A = A_{\text{HL}} + A_{\text{L}}$

当 $b = 1\text{cm}$ 时: $A = \epsilon_{\text{HL}}[\text{HL}] + \epsilon_{\text{L}}[\text{L}^-]$, 式

其中: $[\text{HL}] = \Delta_{\text{HL}} c$; $[\text{L}^-] = \Delta_{\text{L}} c$.

ϵ_{HL} 可在高酸度条件下测得: $A = A_{\text{HL}} = \epsilon_{\text{HL}} c \therefore \epsilon_{\text{HL}} = A_{\text{HL}} / c$, 式.

同理, 在低酸度, 同一波长下所测得的吸光度也可以认为是 A_{L} , 即: $A_{\text{L}} = \epsilon_{\text{L}} c$

$\therefore \epsilon_{\text{L}} = A_{\text{L}} / c$, 式.

将所得关系代入式, 整理后得:

例题: 某一元弱酸 HL 与其共轭碱 L 具不同的颜色. 现使用 1cm 比色皿, 在波长为 650nm 处测定. pH=0.0 时, 吸光度为 0.00; pH=7.0 时, 吸光度为 0.588; pH=11.0 时, 吸光度为 0.840. 求此一元弱酸的解离常数.

解:

2. 配合物组成及稳定常数的测定:

(1) 摩尔法测定配合物的组成: 基本原理: 配位未达到完全时, A 随 c_{L} , 或 $c_{\text{L}}/c_{\text{M}}$ 的改变而改变.

先配制标准系列, 一般固定 c_{M} , 改变 c_{L} , 并测出每一溶液的 A , 作 $A \sim c_{\text{L}}/c_{\text{M}}$ 曲线.

$c_{\text{L}}/c_{\text{M}} < n$ 时, 随 c_{L} 增大, A 也增大;

$c_{\text{L}}/c_{\text{M}} > n$, c_{L} 增大, A 几乎不变.

摩尔法适用范围: 离解度小, 尤其适用于配位比高的配合物.

(2) 摩尔法测定稳定常数: 对于配合物 ML:

由 MBE, $c_{\text{M}} = [\text{M}] + [\text{ML}]$, 式;

$c_{\text{L}} = [\text{L}] + [\text{ML}]$, 式.

若 M 和 L 在测量波长处均无吸收, 那么在 ML 最大吸收波长处进行测定:

当 $b = 1\text{cm}$ 时: $A = \epsilon_{\text{ML}}[\text{ML}]$

ϵ_{ML} 可以从 $c_{\text{L}}/c_{\text{M}}$ 比值较高时恒定的 A_0 求得,

这时 $c_{\text{M}} = [\text{ML}]$.

$$A_0 = \epsilon_{\text{ML}}[\text{ML}] = \epsilon_{\text{ML}} c_{\text{M}} \therefore \epsilon_{\text{ML}} = A_0 / c_{\text{M}}$$

代入上式中可得:

$$A = (A_0 / c_{\text{M}}) [\text{ML}], \text{式. 由以上关系式就能求得稳定常数}$$