

Chapter 11

Absorption photometry

吸光光度法：分子光谱分析法的一种，又称分光光度法，属于分子吸收光谱分析方法基于外层电子跃迁。

分类： { 吸收光谱
发射光谱
散射光谱 } { 分子光谱
原子光谱 }

• 特点：

- **灵敏度高**：测定下限可达 $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{mol/L}$,
 $10^{-4}\% \sim 10^{-5}\%$
- **准确度**能够满足微量组分的测定要求：
相对误差 2~5% (1~2%)
- **操作简便快速**
- **应用广泛**

第一节 吸光光度法基本原理

一、物质对光的选择性吸收

(一) 单色光和复合光

- 单色光 (**monochromatic light**) : 具同一波长的光。
- 复合光 (**multiplex light**) : 由不同波长组成的光。

其他概念：

- 紫外光 (**ultraviolet light**) : 波长200~400 nm。
- 可见光 (**visible light**) : 人眼能感觉到的光, 波长在400~750 nm。它是由红、橙、黄、绿、青、蓝、紫等各种色光按一定比例混合而成的。
- 波段 (**wave band**) : 各种色光的波长范围不同。
- 互补色光 (**complementary color light**) : 按一定比例混合, 得到白光 (**white light**) 。

(二) 物质对光的选择性吸收

- * 物质的颜色是因物质对不同波长的光具有选择性吸收作用而产生的。

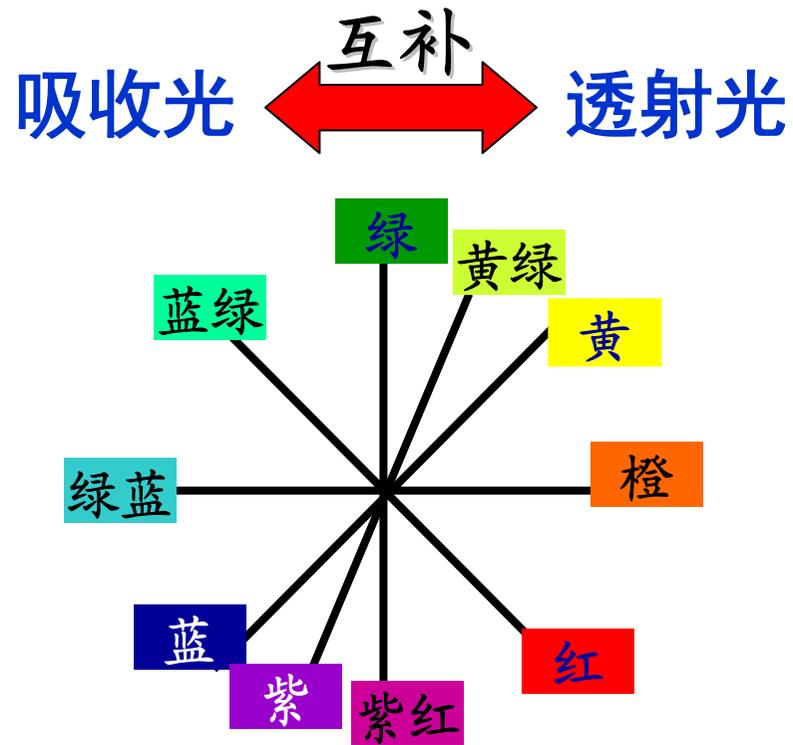
物质的电子结构不同，所能吸收光的波长也不同，这就构成了物质对光的选择吸收基础。

光作用于物质时，物质吸收了可见光，而显示出特征的颜色，这一过程与物质的性质及光的性质有关。

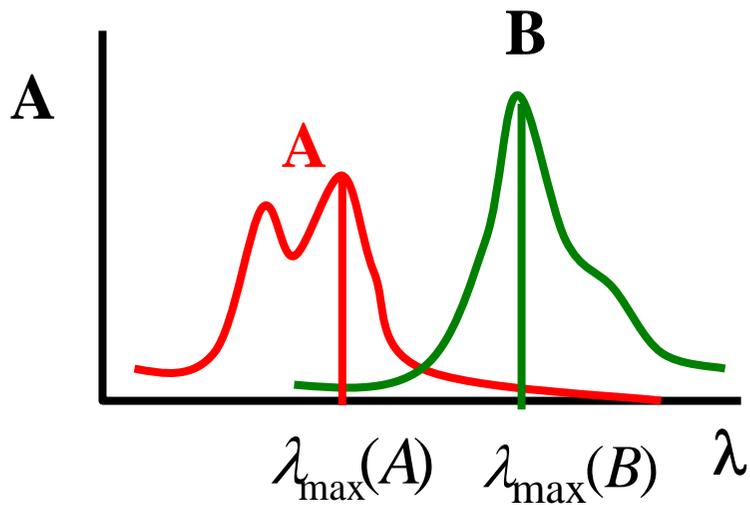
吸收光与透射光

当复合光照射到物体上时，一部分光被吸收，而另一部分光则被透射过去。即：

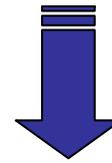
$$\text{入射光} = \text{吸收光} + \text{透射光}$$



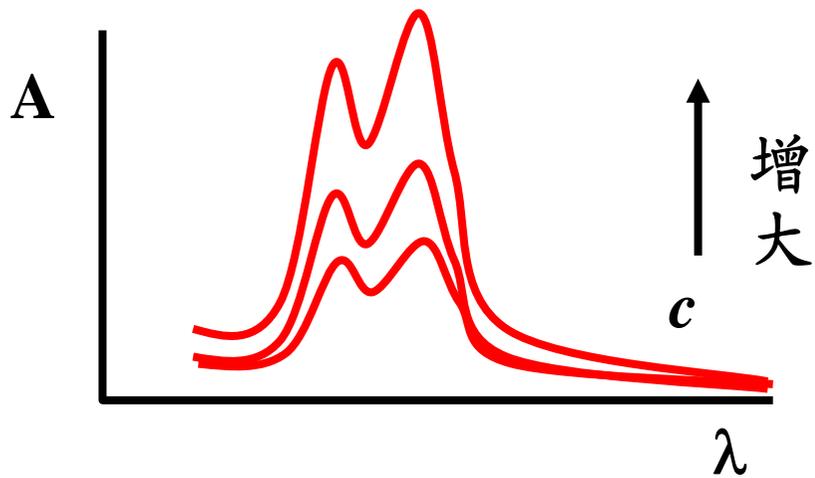
(三) 吸收曲线



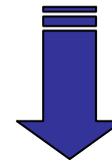
物质对光的选择性吸收



定性分析基础



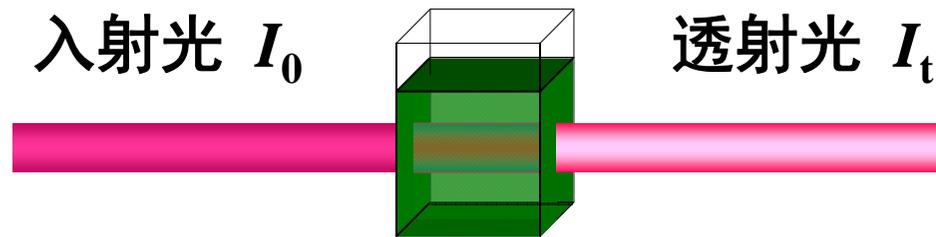
在一定实验条件下, $A \propto c$



定量分析基础

二、朗伯比尔定律

(一) 朗伯-比尔定律的数学表达



透射比T

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

T 取值为0.0 % ~ 100.0 %

全部吸收 T = 0.0 %

全部透射 T = 100.0 %

朗伯定律（1760年）：光吸收与溶液层厚度成正比

比尔定律（1852年）：光吸收与溶液浓度成正比

当一束平行单色光垂直照射到样品溶液时，溶液的吸光度与溶液的浓度及光程（溶液的厚度）成正比关系——朗伯比尔定律

数学表达： $A = \lg(1/T) = Kbc$

其中，A:吸光度，T:透射比，

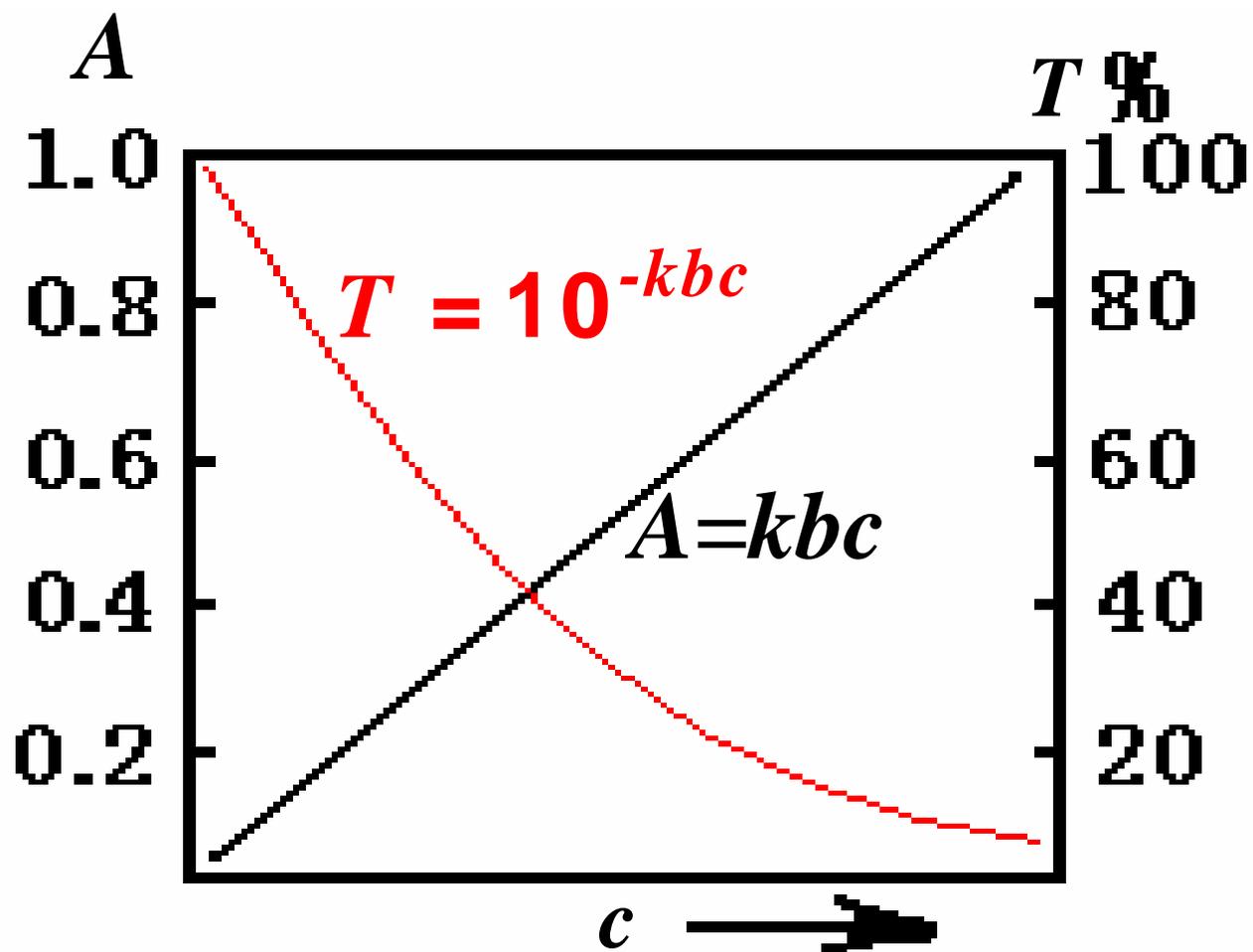
K:比例常数，b:溶液厚度，c:溶液浓度

注意：平行单色光

均相介质

无发射、散射或光化学反应

吸光度A、透射比T与浓度c的关系



吸收系数和桑德尔灵敏度S

$$A = Kbc \left\{ \begin{array}{l} \xrightarrow{\hspace{1.5cm}} A = \kappa bc \quad \text{摩尔吸光系数} \\ c: \text{mol/L} \\ \xrightarrow{\hspace{1.5cm}} A = abc \quad \text{吸光系数} \\ c: \text{g/L} \end{array} \right.$$

κ 表示物质的浓度为1mol/L,液层厚度为1cm时溶液的吸光度。单位: $(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$

κ 是物质的特征值,条件(测定波长等)一定,值一定。

桑德尔(Sandell)灵敏度: S

当仪器的检测极限为 $A=0.001$ 时, 单位截面积光程内所能检测出的吸光物质的最低含量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

$$S = \frac{M}{\kappa}$$

注意: 吸光度的加和性

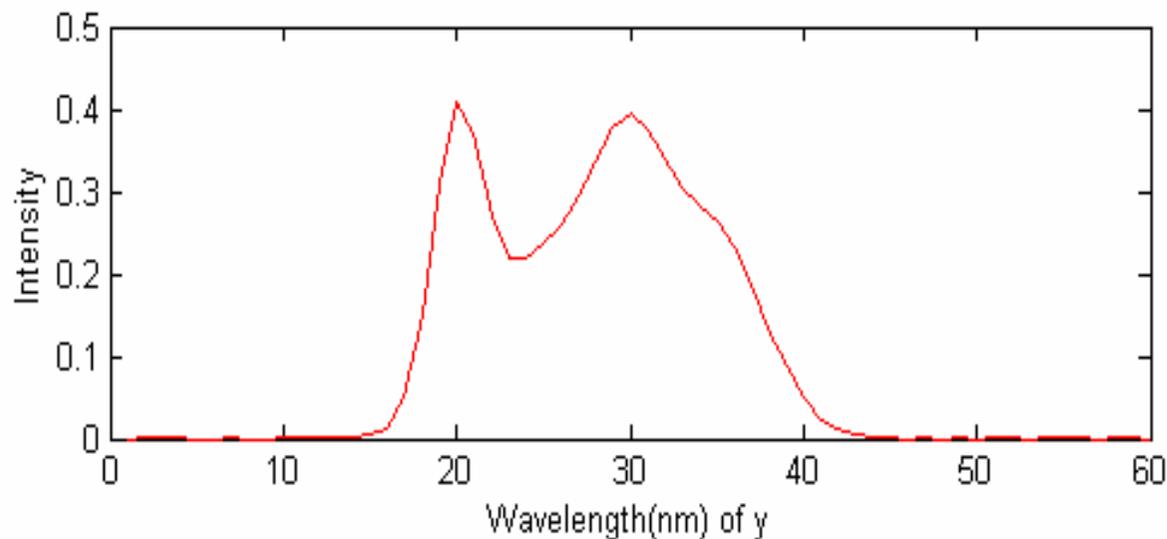
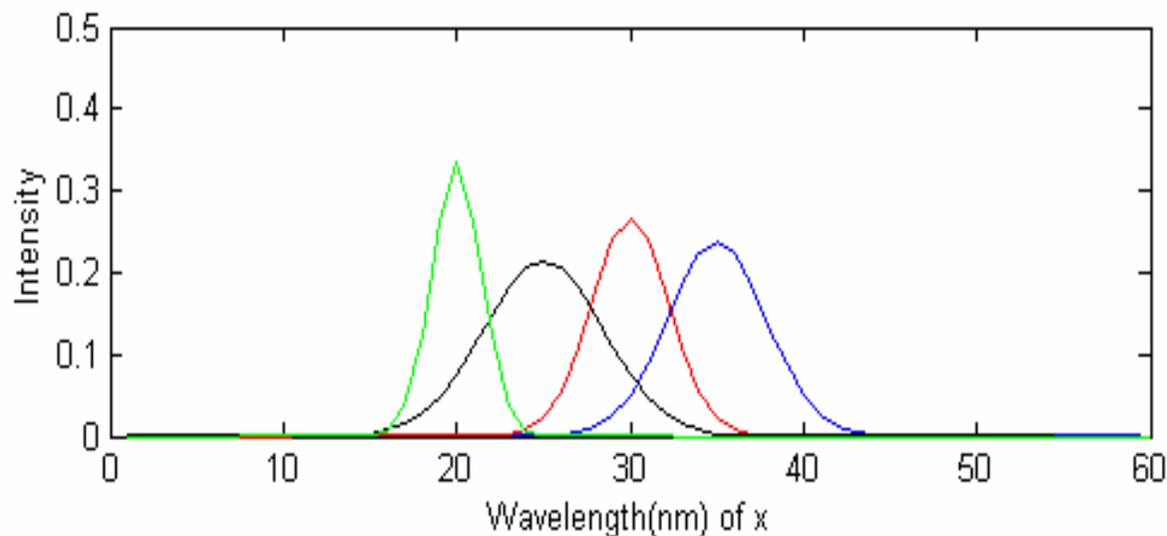
多组分体系中, 如果各组分之间无相互作用, 其同一波长下的吸光度具有加和性, 即

$$A = \sum_i A_i = \sum_i \kappa_i b c_i = b \sum_i \kappa_i c_i$$

$$A_1 = \kappa_1 b c_1$$

$$A_2 = \kappa_2 b c_2$$

$$A = \kappa_1 b c_1 + \kappa_2 b c_2$$



根据吸光度的加和性可以进行多组分的测定以及某些
化学反应平衡常数的测定

第二节 吸光光度法的仪器

1、分光光度计的组成



光源：发出所需波长范围内的连续光谱，有足够的光强度，稳定。

可见光区：钨灯，碘钨灯(320~2500nm)

紫外区：氢灯，氘灯(180~375nm)

单色器：将光源发出的连续光谱分解为单色光的装置。

棱镜：玻璃350~3200nm，石英185~4000nm

光栅：波长范围宽，色散均匀，分辨性能好，使用方便

吸收池：（比色皿）用于盛待测及参比溶液。

可见光区：光学玻璃池

紫外区：石英池

检测器：利用光电效应，将光能转换成
电流讯号。

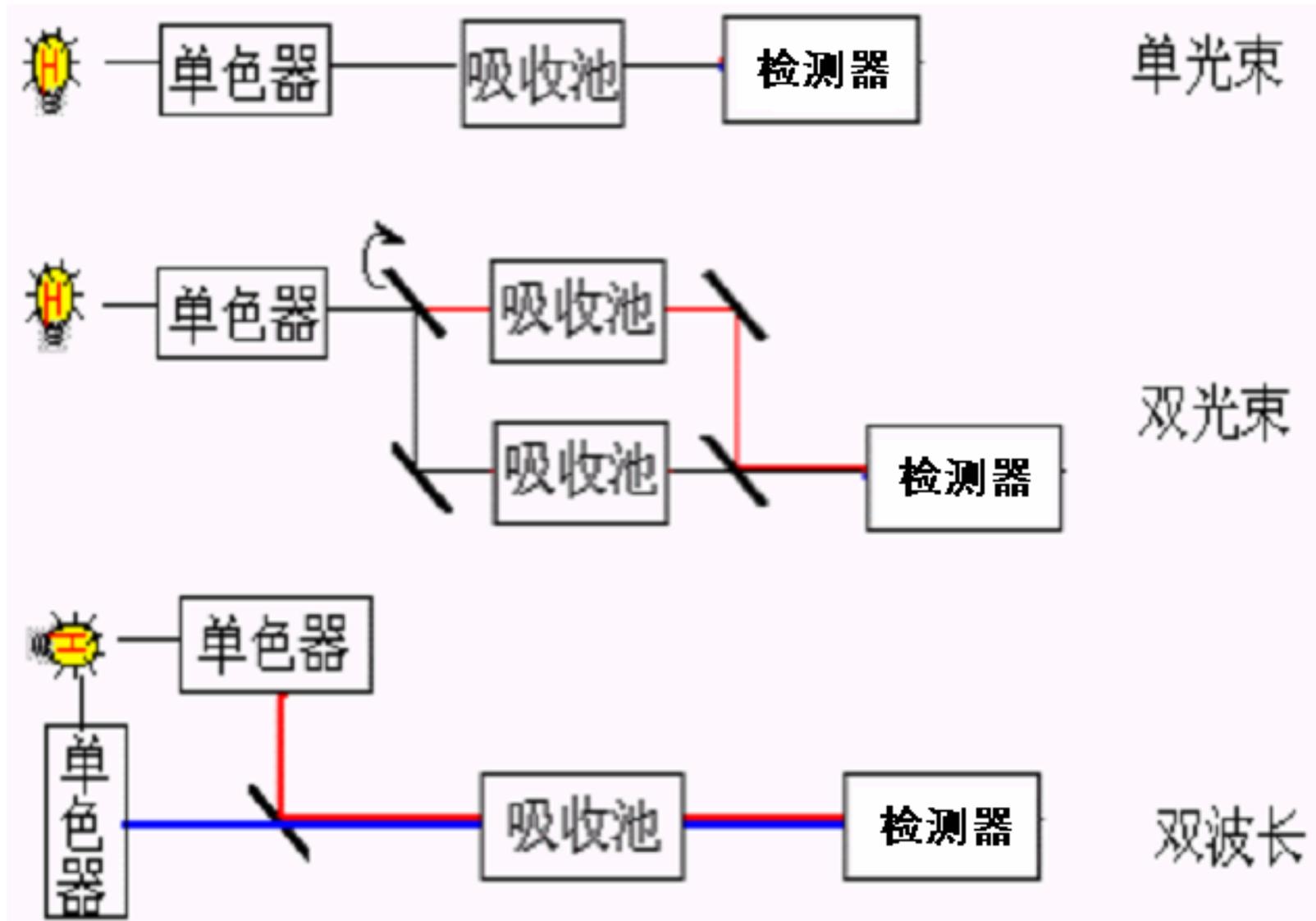
光电池，光电管，光电倍增管

指示器：

低档仪器：刻度显示

中高档仪器：数字显示，自动扫描记录

二、分光光度计的类型



✓ **单光束：**

- 使用时来回拉动吸收池
→ 移动误差
- 对光源要求高
- 比色池配对

✓ **双光束：**

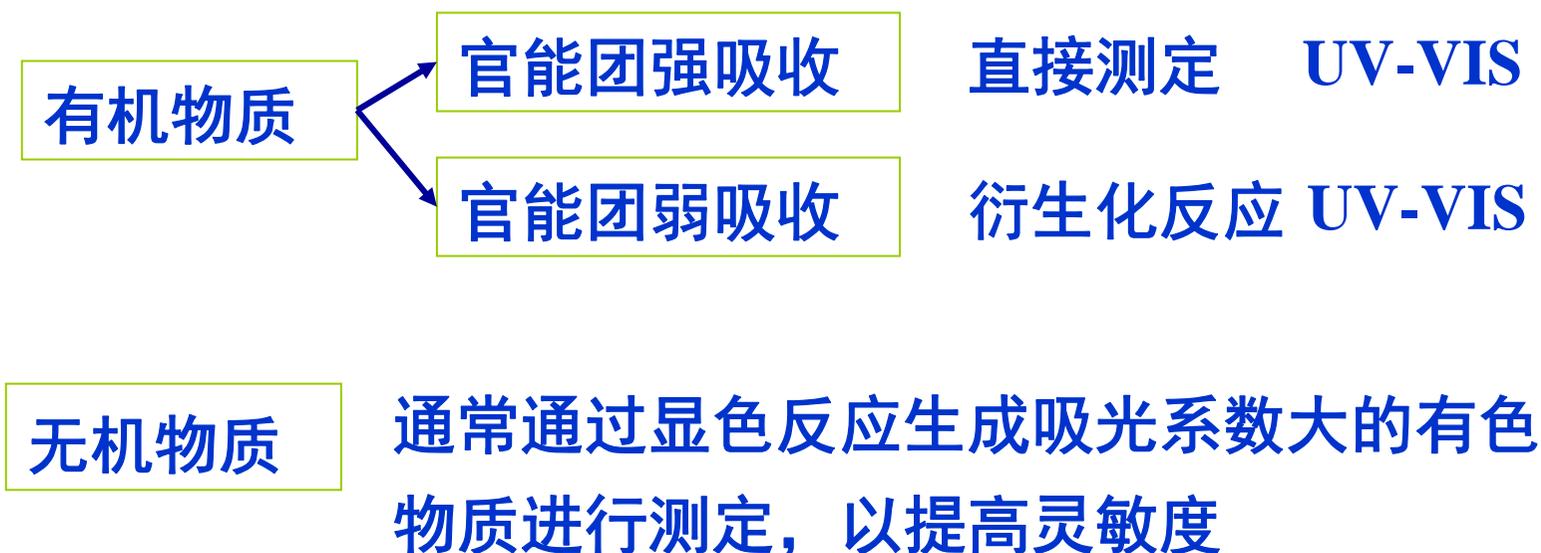
- 对光源要求不高
- 可以自动扫描吸收光谱
- 不用拉动吸收池，可以减小移动误差

✓ **双波长：**

- 利用吸光度差值定量
- 消除干扰和吸收池不匹配引起的误差

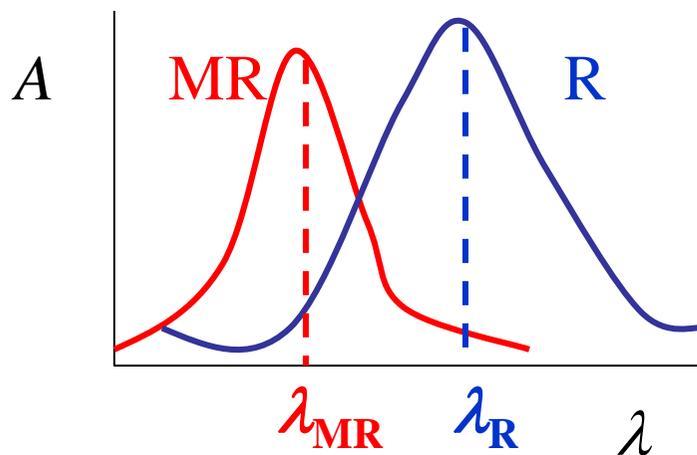
第三节 显色反应及其影响因素

一、 显色反应的类型及要求



显色反应的选择:

- 1.选择性好，干扰少或干扰易消除；
- 2.灵敏度高(吸光物质的 $\kappa \geq 10^4$)
- 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稳定；
- 5.有色化合物与显色剂之间的颜色差别大。



$$|\lambda_{\max,R} - \lambda_{\max,MR}| \geq 60 \text{ nm}$$

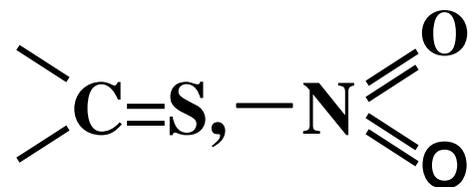
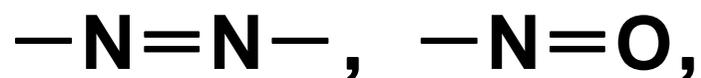
二、显色剂:

无机显色剂: $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, $[\text{TiO}\cdot\text{H}_2\text{O}_2]^{2+}$

有机显色剂:

1) 生色团 (发色团)

- 能吸收紫外-可见光的基团
- 有机化合物: 具有不饱和键和未成对电子的基团产生 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 跃迁 E 较低



(共轭双键) πe

2) 助色团

- 本身无紫外吸收，但可以使生色团吸收峰加强同时使吸收峰向长波方向移动的基团
- 有机物：连有杂原子的饱和基团
- ✓ 例：—OH，—OR，—NH—，—NR₂—，—X

3) 红移和蓝移

由于化合物结构变化（共轭、引入助色团取代基）或采用不同溶剂后，吸收峰位置向长波方向的移动，叫**红移(Bathochromic shift)**；吸收峰位置向短波方向移动，叫**蓝移(Hypsochromic shift)**.

4) 增色效应和减色效应

增色效应： 吸收强度增强的效应

减色效应： 吸收强度减小的效应

5) 强带和弱带

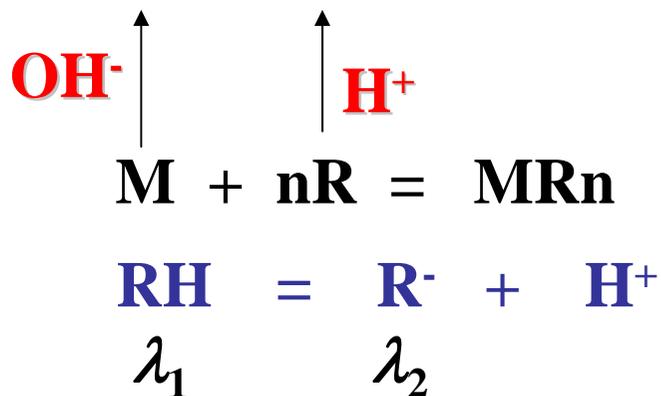
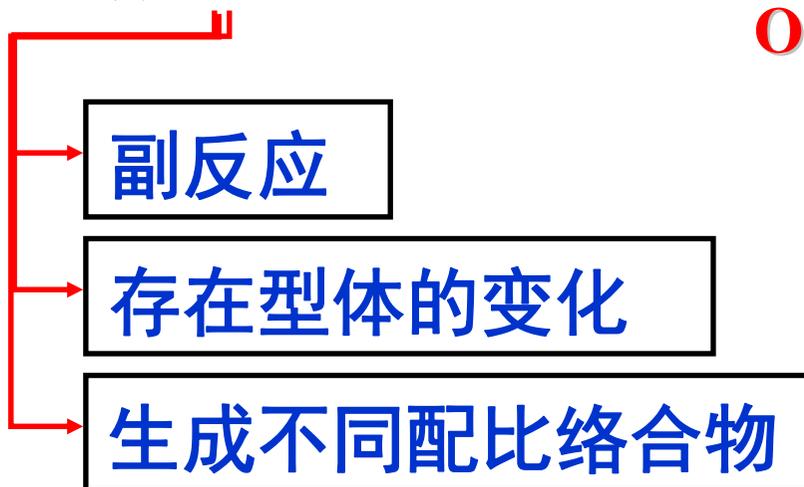
$\kappa_{\max} > 10^5$ → 强带(Strong band)

$\kappa_{\min} < 10^3$ → 弱带(Weak band)

三、影响显色反应的因素

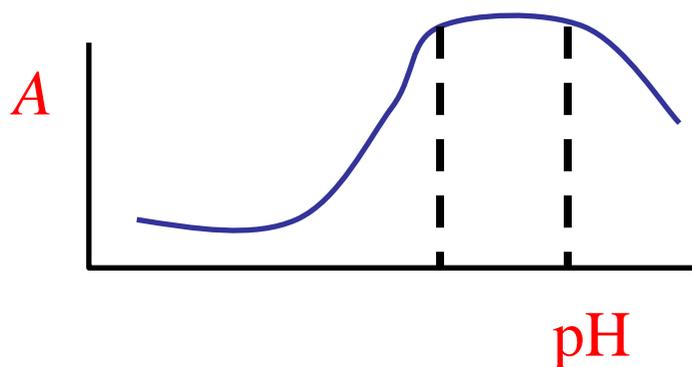
1、溶液酸度的选择

酸度的影响



例，磺基水杨酸 - Fe³⁺

pH = 2 ~ 3	FeR	紫红色
pH = 4 ~ 7	FeR ₂	橙色
pH = 8 ~ 10	FeR ₃	黄色

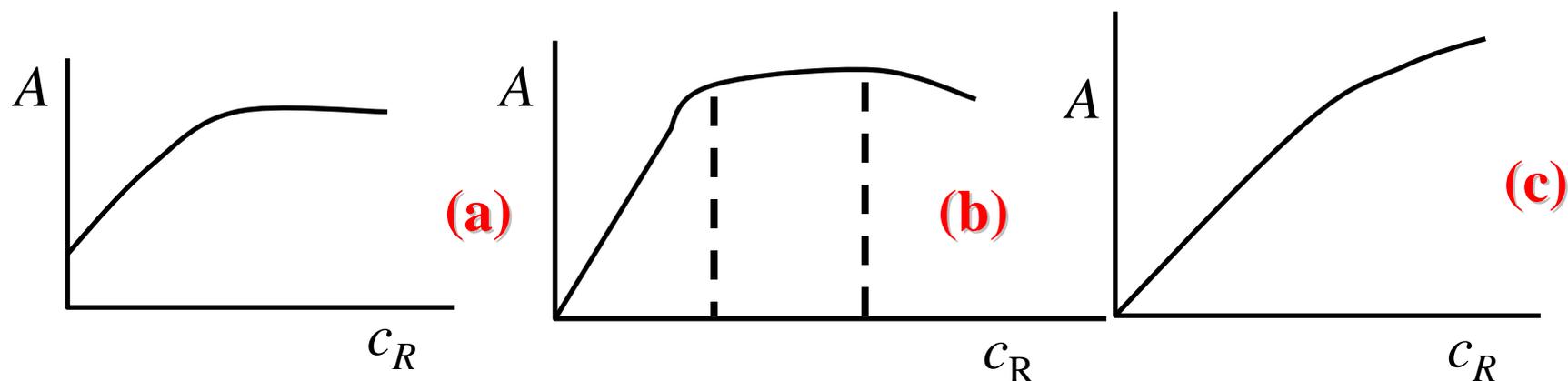


实际工作中，作 A ~ pH 曲线，寻找适宜 pH 范围。

2、显色剂用量的选择

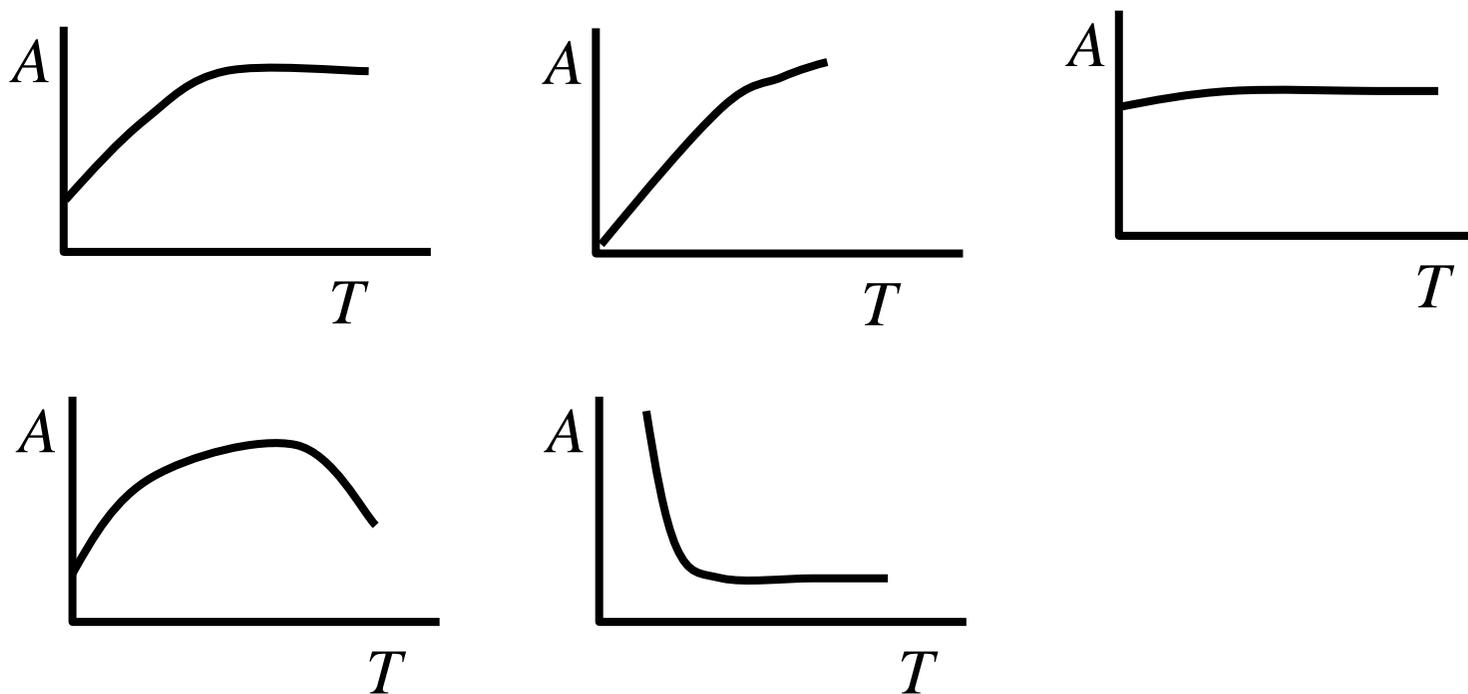


选择显色剂的用量的目的是要将金属离子全部转为有色配合物。其用量会影响测定结果准确度。



实际工作中, 作 $A \sim c_R$ 曲线, 寻找适宜的 c_R 范围。

3、显色温度的选择 作 $A \sim T$ 曲线,寻找适宜反应温度。

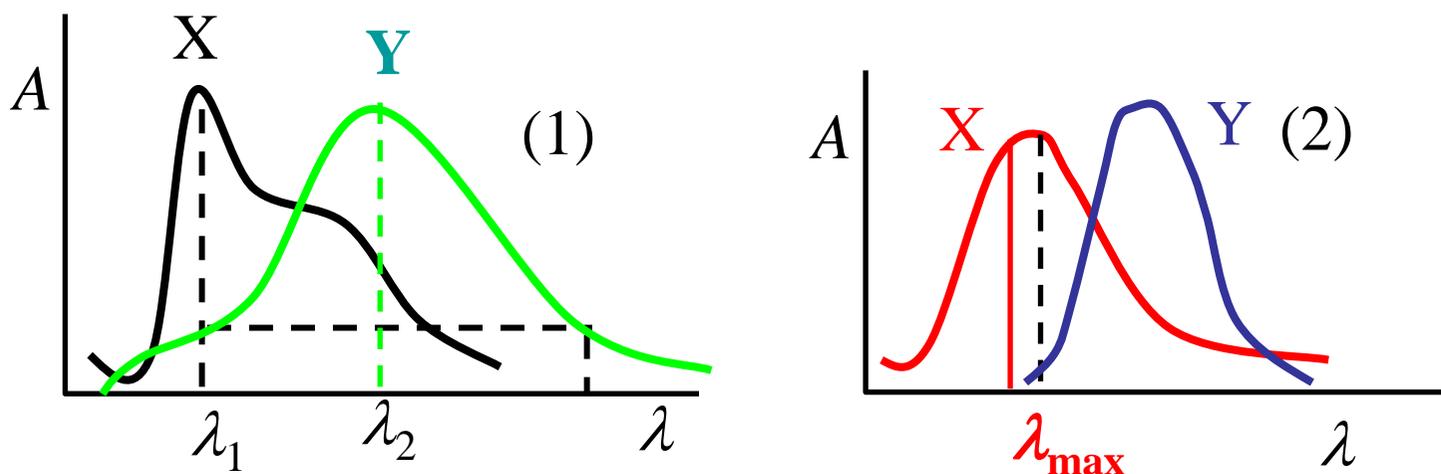


4、反应时间的选择

作 $A \sim t$ 曲线,寻找适宜反应时间。

5、有机溶剂和表面活性剂

6、干扰及其消除方法

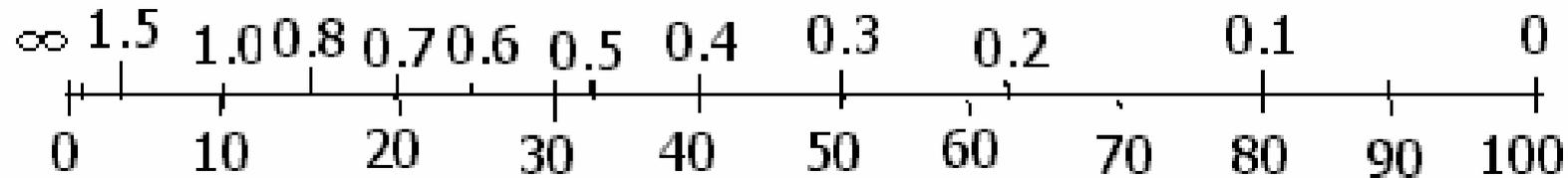


1. 控制溶液酸度
2. 加入掩蔽剂(配位掩蔽剂、氧化还原掩蔽剂)
3. 利用参比溶液消除显色剂和共存离子干扰
4. 选择适当的入射光波长(Fig. 2)
5. 增加显色剂的用量
6. 预分离

第四节 吸光度的测量及误差控制

一、误差产生的原因

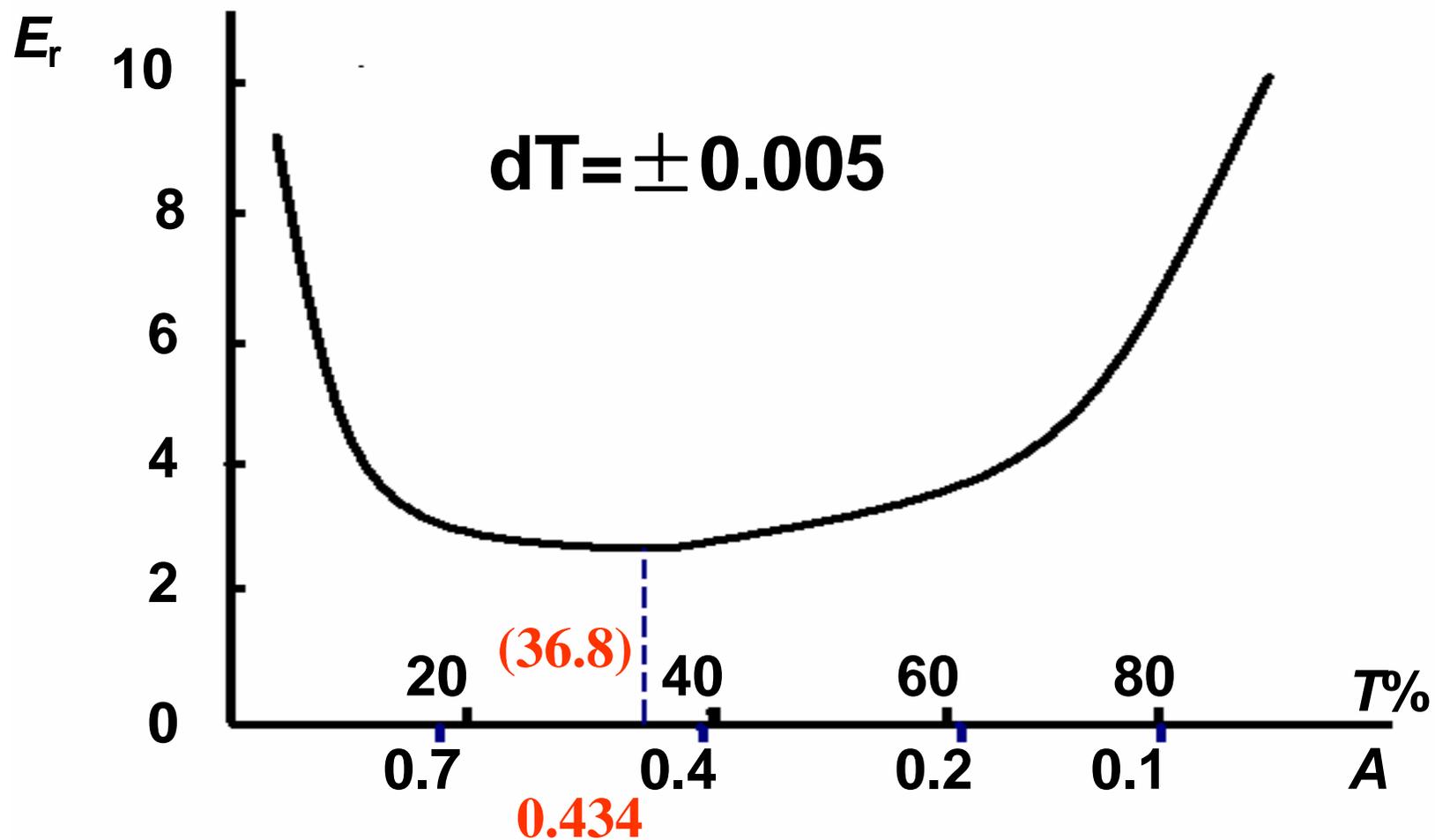
1、仪器测量误差



$$A = -\lg T = -0.434 \ln T$$

$$dA = -0.434 \frac{dT}{T}$$

$$E_r = \frac{dc}{c} = \frac{dA}{A} = \frac{0.434 dT}{T \lg T}$$



实际工作中，应控制 T 在15~70%， A 在0.15~0.8之间，相对误差 $<4\%$

$A=0.434$ ， $T=36.8\%$ 时，测量的相对误差最小

2、有色溶液偏离朗伯-比尔定律产生的误差

1) 物理因素

- 非单色光—— κ 不同
- 非平行光—— b 不同
- 介质不均匀——降低 I_t

2) 化学因素

- 浓度过高—— κ 变化
- 化学反应—— κ, c 变化

3、共存组分的干扰

二、测量条件的选择

- 测量波长的选择——吸收大，干扰小
- 吸光度范围控制——0.15-0.80
- 参比溶液的选择——用于扣除空白值
 - **试样、溶剂、显色剂均无色：**
 - 纯水/纯溶剂
 - **显色剂无色，试样中其他离子有色：**
 - 不加显色剂的试样
 - **显色剂、试剂均有色：**
 - 空白试剂

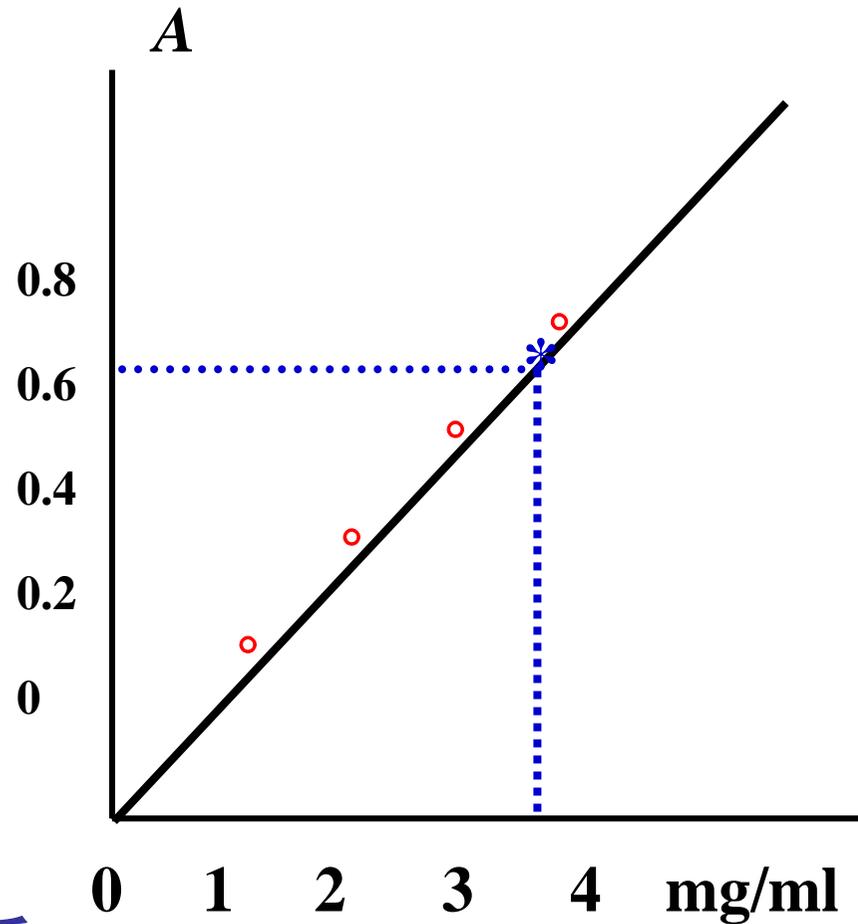
✓ **注：**采用空白对比消除因溶剂和容器的吸收、光的散射和界面反射等因素对透光率的干扰

第五节 吸光光度分析方法

一、经典光度分析方法

1、工作曲线法

$$A_x = \kappa b c_x$$



用于微量、痕量分析

2、示差分光光度法：用于常量分析

特点：以标准溶液作空白，调节 $A=0$

原理：

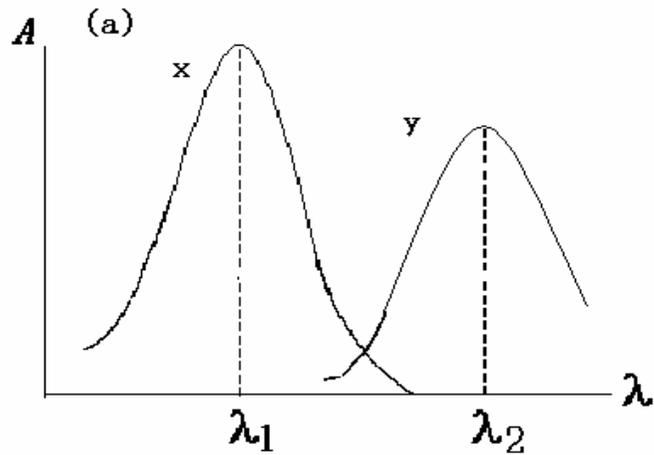
$$\left. \begin{array}{l} A_s = \kappa b c_s \\ A_x = \kappa b c_x \end{array} \right\} A_f = \Delta A = \kappa b \Delta c$$

$$c_x = c_s + \Delta c$$

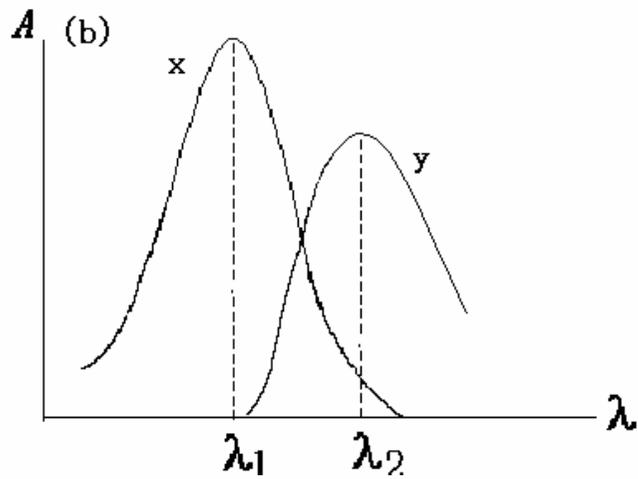
准确度：读数标尺扩展，相对误差减少， c_0 愈接近 c_x ，准确度提高愈显著

注意：示差分光光度法要用专门仪器！

3、多组分同时测定



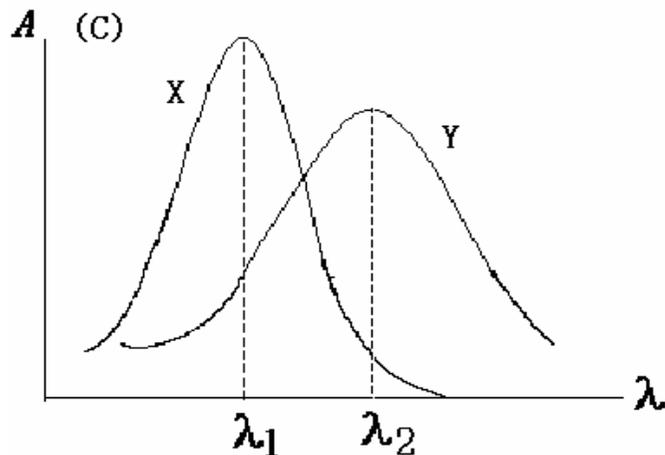
a) 在 λ_1 处测组分 x , 在 λ_2 处测组分 y



b) 在 λ_1 处测组分 x ; 在 λ_2 处测总吸收, 扣除 x 吸收, 可求 y

$$A_2 = \kappa_x^{\lambda_2} b c_x + \kappa_y^{\lambda_2} b c_y$$

c) x, y 组分不能直接测定

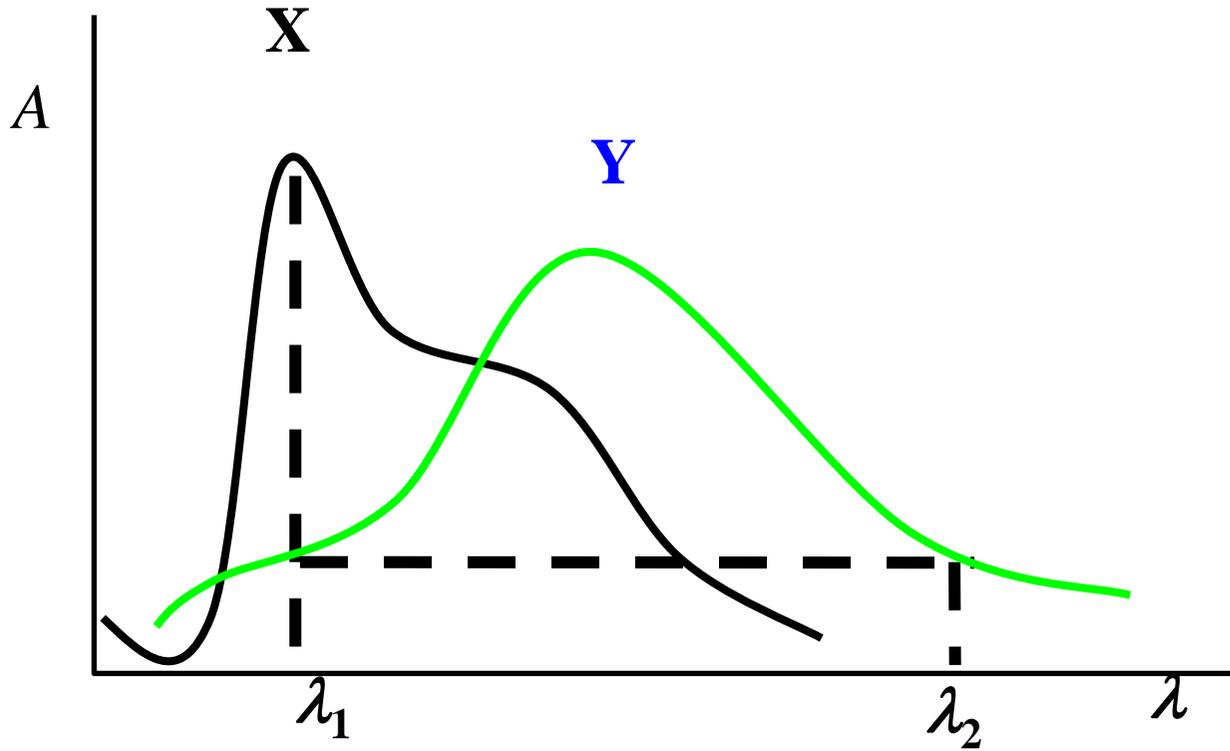


$$A_1 = \kappa_x^{\lambda_1} b c_x + \kappa_y^{\lambda_1} b c_y$$

$$A_2 = \kappa_x^{\lambda_2} b c_x + \kappa_y^{\lambda_2} b c_y$$

$\kappa_x^{\lambda_1}$, $\kappa_y^{\lambda_1}$, $\kappa_x^{\lambda_2}$, $\kappa_y^{\lambda_2}$ 由 x, y 标液
在 λ_1, λ_2 处分别测得

二、双波长分光光度法



$$A_{\lambda_1} = A_{\lambda_1, X} + A_{\lambda_1, Y} = A_{\lambda_1, X} + A_{\lambda_2, Y}$$

第六节 吸光光度法的应用

- 一、定量分析
- 无机、有机
- 微量、常量
- 单一组分、混合组分
- 二、物理化学常数的测定

1、测定弱酸和弱碱的离解常数

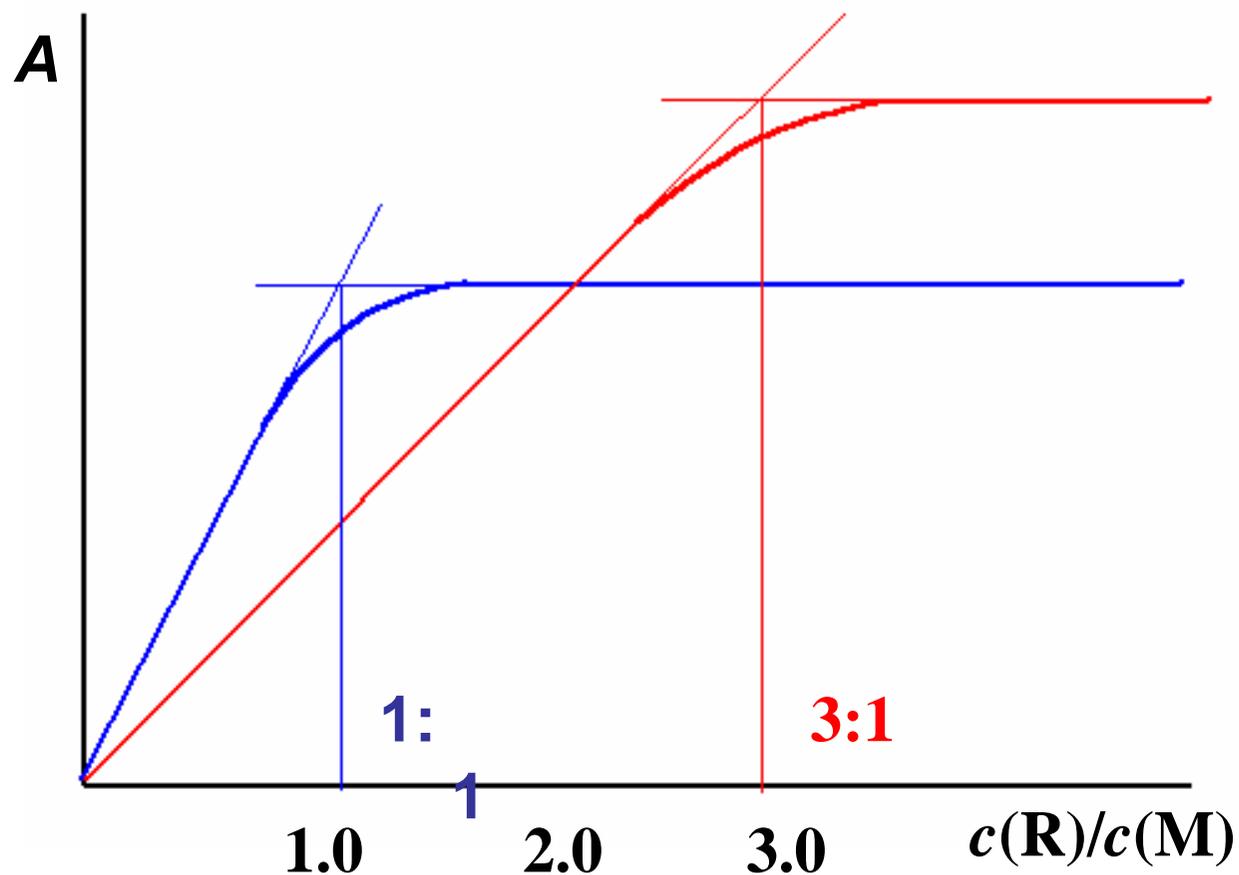


$$[\text{HB}] = \frac{c[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_a}, [\text{B}^-] = \frac{cK_a}{[\text{H}^+] + K_a}$$

- $\text{pH} \approx \text{pKa} - 2$ $[\text{HB}] = c$ $A_{\text{HB}} = \kappa_{\text{HB}} bc$
- $\text{pH} \approx \text{pKa}$ $[\text{HB}] + [\text{B}^-] = c$ $A = \kappa_{\text{B}} b[\text{B}] + \kappa_{\text{HB}} b[\text{HB}]$
- $\text{pH} \approx \text{pKa} + 2$ $[\text{B}^-] = c$ $A_{\text{B}} = \kappa_{\text{B}} bc$

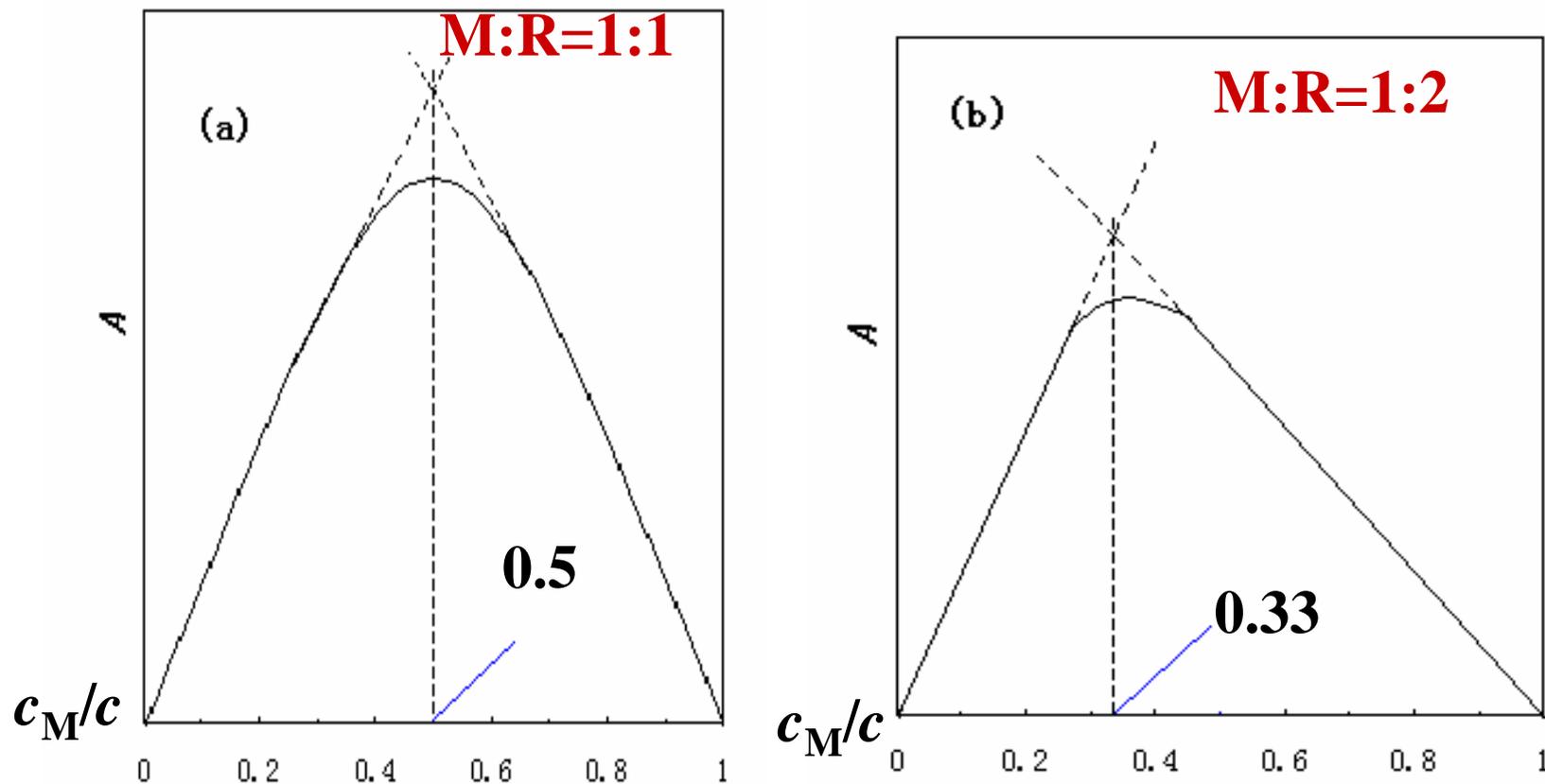
2、络合物组成的测定

(1) 摩尔比法：固定 c_M ，改变 c_R



该方法适用于解离度较小，络合比高的络合物组成的测定

2) 等摩尔连续变化法: $c_M + c_R = c(\text{常数})$



该方法适用于络合比低、稳定性较高的络合物组成的测定。