

实验二 分光光度法测溴酚蓝的电离平衡常数

一、实验目的与要求：

- 1、掌握一种测定酸碱指示剂电离平衡常数的方法。
- 2、熟悉并掌握 722 型分光光度计的性能和使用方法。并利用分光光度计测量溴酚蓝 (Bromphenalblue) 的最大吸收波长，了解溶液浓度对 λ_{\max} 的影响。
- 3、了解酸度对 B.P.B 的影响，学会用缓冲溶液调节溶液酸度的方法。

二、实验原理：

波长为 λ 的单色光通过任何均匀而透明的介质时，由于物质对光的吸收作用而使透射光的强度 (I) 比入射光的强度 (I_0) 要弱，其减弱的程度与所用的波长 (λ) 有关。又因分子结构不相同的物质，对光的吸收有选择性，因此不同的物质在吸收光谱上所出现的吸收峰的位置及其形状，以及在某一波长范围内的吸收峰的数目和峰高都与物质的特性有关。分光光度法是根据物质对光的选择性吸收的特性而建立的，这一特性不仅是研究物质内部结构的基础，也是定性分性、定量分析的基础。

根据贝尔—郎比定律，溶液对于单色光的吸收，遵守下列关系式：

$$D = \lg \frac{I_0}{I} = K \cdot l \cdot C \quad (6-1)$$

式中， D —消光（或光密度）；

I/I_0 —透光率；

K —摩尔消光系数，它是溶液的特性常数；

l —被测溶液的厚度（即吸收槽的长度）；

C —溶液浓度。

在分光光度分析中，将每一种单色光，分别、依次地通过某一溶液，测定溶液对每一种光波的消光。以消光 (D) 对波长 (λ) 作图，就可以得到该物质的分光光度曲线，或吸收光谱曲线，如图 6-1 所示。由图可以看出，对应于某一波长有着一个最大的吸收峰，用这一波长的入射光通过该溶液就有着最佳的灵敏度。



图 6-1 分光光度曲线

从 (1) 式可以看出，对于固定长度的吸收槽，在对应最大吸收峰的波长 (λ) 下，测定不同浓度 C 的消光，就可以作出线性的 $D \sim C$ 线，这就是定量分析的基础。也就是说，在该波长时，若溶液遵守贝尔—郎比定律，则可以选择这一波长来进行定量分析。

以上讨论是对于单组分溶液的情况，如果溶液中含有多种组分，情况就比较复杂，要进行分别讨论，大致有下列四种情况：

- 1、混合物中各组分的特征吸收不相重叠，既在波长 λ_1 时，甲物质显著吸收而其他组分的吸收可以忽略；在波长 λ_2 时，只有乙物质显著吸收，而其他组分的吸收微不足道，这样便可在 λ_1 、 λ_2 波长下分别测定甲、乙物质组分。
- 2、混合物中各组分的吸收带互相重叠，而且他们都遵守贝尔—郎比定律，对几个组分即可在几个适当的波长进行几次吸光度的测量，然后列几个联立方程式，即可求分别算出几个组分的含量。
- 3、混合物中各组分的吸收带互相重叠，但不遵守贝尔—郎比定律。
- 4、混合溶液中含有未知组分的吸收曲线。

第 3、4 种情况比较复杂，这里不作讨论。

本实验用分光光度法测定弱电解质溴酚蓝的电离平衡常数。溴酚蓝是一种酸碱指示剂，本身带有颜色且在有机溶剂中电离度很小，所以用一般的化学分析法或其他物理化学方法很难测定其电离平衡常数。而分光光度法可以利用不同波长对其组分的不同吸收来确定体系中组分的含量，从而求算溴酚蓝的电离平衡常数。

溴酚蓝在有机溶剂中存在着以下的电离平衡：



其平衡常数为： K_a

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (6-2)$$

溶液的颜色是由显色物质 HA 与 A^- 引起的，其变色范围 PH 在 3.1~4.6 之间，当 $\text{PH} \leq 3.1$ 时，溶液的颜色主要由 HA 引起的，呈黄色；在 $\text{PH} \geq 4.6$ 时，溶液的颜色主要由 A^- 引起，呈蓝色。实验证明，对蓝色产生最大吸收的单色光的波长对黄色不产生吸收，在其最大吸收波长时黄色消光为 0 或很小。因此，本实验我们所研究的体系应属于上述讨论的第一种情况。用对 A^- 产生最大吸收波长的单色光测定电离后的混合溶液的消光，可求出 A^- 的浓度。令 A^- 在显色物质中所占的分数为 X ，则 HA 所占的摩尔分数为 $1-X$ ，所以

$$K_a = \frac{X}{1-X} [\text{A}^-] \quad (6-3)$$

或者写成：

$$\lg \frac{X}{1-X} = \text{PH} + \lg K_a \quad (6-4)$$

根据上式可知，只要测定溶液的 PH 值及溶液中的 $[\text{HA}]$ 和 $[\text{A}^-]$ ，就可以计算出电离平衡常数 K_a 。

在极酸条件下，HA 未电离，此时体系的颜色完全由 HA 引起，溶液呈黄色。设此时体系的消光度为 D_1 ；在极碱条件下，HA 完全电离，此时体系的颜色完全由 A^- 引起，此时的消光度为 D_2 ， D 为两种极端条件之间的诸溶液的消光度，它随着溶液的 PH 而变化， $D = (1-X)D_1 + XD_2$ 。

$$X = \frac{D - D_1}{D_2 - D_1}$$

代入 (4) 式中得：

$$\lg \frac{D - D_1}{D_2 - D_1} = \text{PH} - \text{PK}_a \quad (6-5)$$

在测定 D_1 、 D_2 后，再测一系列 PH 下的溶液的光密度，以 $\lg \frac{D - D_1}{D_2 - D_1}$ 对 PH 作图应为一

直线，由其在横轴上的截距可求出 PK_a ，从而可得该物质的电离平衡常数。

本实验的 PH 值通过溶液配制而得。

四、仪器与药品：

722 型分光光度计	1 台，	超级恒温水浴	1 台
10mL 移液管	3 支，	25mL 移液管	1 支
25mL 量筒	1 只，	滴管若干	
100mL 容量瓶	11 个		

$5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的溴酚蓝溶液, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 HCl 溶液
 $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 HCl 溶液 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH 溶液
 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH 溶液 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 邻苯二甲酸氢钾溶液

五、实验步骤:

1、打开超级恒温水浴使之恒温在 25°C , 打开分光光度计, 预热仪器, 同时掀开样品室盖。

2、确定溶液的最大吸收波长。

(1) 用 20mL 移液管准确移取 $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 B.P.B 溶液 20mL, 置于一个洗干净的 100mL 的容量瓶中, 并用 50ml 的移液管准确加入 50mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的邻苯二甲酸氢钾缓冲溶液, 加 H_2O 稀释到刻度, 得 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 B.P.B 溶液。

(2) 取 1 cm 厚度的比色皿两只, 分别用 H_2O 和 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 B.P.B 溶液洗净, 再分别装入 $2/3$ 体积的 H_2O 和 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 B.P.B 溶液, 把比色皿两光面擦干, 正确插入光度计恒温比色槽中, 用蒸馏水作空白溶液, 用以校正仪器。放在最外面的一个槽内便于测量。

(3) 认真读书后附录, 了解 722 分光光度计的使用和操作及注意事项。

(4) 在 480—630nm 波长范围内, 从低到高逐一选择仪器的入射光波长, 用空白溶液蒸馏水在 T 档校正仪器的 0 点和 100, 并用吸光旋钮调 H_2O 的吸光度为 0, 再测量两种不同溶液的吸光度。在 480—560 的范围内每隔 10nm 测一次, 在 560—600nm 范围内每隔 5nm 测一次。将所得的结果以吸光度 D 对 λ 作图, 或从测量数据直接读出 B.P.B 溶液的最大吸收波长。

3、各个不同酸度的溴酚蓝溶液配置。

取 7 只 100mL 的干净容量瓶, 分别加入 20mL $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 B.P.B 溶液, 再分别加入 50mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 邻苯二甲酸氢钾溶液。加入的 HCl 和 NaOH 的量以下表为准, 再加稀释至刻度。可分别得到不同 PH 值下的 B.P.B 溶液。

溶液号	PH 值	X_1 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ HCl)	溶液号	PH 值	X_1 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH)
1	~3.2	16.00mL	5	~4.2	3.00mL
2	~3.4	10.00mL	6	~4.4	7.00mL
3	~3.6	6.00mL	7	~4.6	11.00mL
4	~3.8	3.00mL			

4、不同酸度下, 溴酚蓝溶液 pH 值的测定。

将上述七种不同酸度的溴酚蓝溶液用酸度计测量相应的 pH 值。

5、不同酸度下, 溴酚蓝溶液吸光度 D 的测定。

(1) 将波长固定在 λ_{max} 处, 把已经恒温的溶液逐一以蒸馏水作参比, 测量其吸光度, 可得一系列的 D 值。由于在 λ_{max} 的波长下, 对 HA 不产生吸收, 所以此时的 D 是 A^- 的吸收提供的。测量过程中注意溶液恒温。

(2) 取两只 100mL 容量瓶, 分别加入 20mL $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 B.P.B 溶液。在一支容量瓶中加入 50mL $0.2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 NaOH 溶液稀释到刻度, 得 B.P.B 的极碱溶液, 在另一支容量瓶中加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 HCl 溶液 10mL, 稀释至刻度, 得 B.P.B 的极酸溶液。

(3) 在分光光度计上迅速测量极酸溶液、极碱溶液的吸光度 D_1 和 D_2 , 测量结果应表明, 极酸时溶液呈黄色, 在 λ_{max} 情况下, 测得的吸光度为 0。

六、实验注意事项:

1、在不测量时, 应将暗室盖子打开, 以延长光电管寿命。

- 2、使用比色皿时，禁止用手触摸光面玻璃。
- 3、每改变一次波长，都要重新调“0”和“100%”。

七、数据记录和处理：

恒温槽温度： °C； D_1 ： ； D_2 ：

最大吸收波长 λ_{\max} ：

不同 PH 值时 B.P.B 溶液的吸光度：

溶液 PH:							
吸光度 D:								

1、根据公式计算 $\lg \frac{D - D_1}{D_2 - D}$ 的值。

2、以 $\lg \frac{D - D_1}{D_2 - D}$ 对 PH 作图，得截距为 PK_a ，计算 K_a 值。

八、思考题：

1、 本实验中使用的的仪器为 722 型紫外—可见分光光度计，针对的是什么样的物质能级跃迁？溶液对单色光的吸收遵守什么定律？

答：是物质分子中的价电子从最高占有轨道向最低空轨道跃迁。溶液对单色光的吸收遵守贝尔—朗比定律。

2、 在本实验中使用分光光度计来测定物质溶液的吸光度，要首先确定被测物质溶液的最大吸收波长，然后将波长固定在最大吸收波长位置上再测定数据。为什么？

答：有两个原因：①每一种物质有自己特征的最大吸收波长，在此最大吸收波长下测定则说明是在针对该物质进行的；②每次测量时分光光度计读数的直接绝对误差是固定的 $[\pm 0.004A \text{ (在 } 0.5A \text{ 处)}]$ ，在最大吸收波长处同物质同浓度的吸光度数据为极大值，灵敏度最高，则相对误差极小。

3、 使用分光光度计来测定物质溶液的吸光度时，要使用空白溶液来校正仪器零点，理论上应该使用什么样的溶液作为空白溶液？

答：理论上，应该使用被测溶液中不含有在测量波长处可吸收单色光的物质时所配置的溶液。

4、 使用分光光度计来测定物质溶液的吸光度，读取每一个或一组吸光度数据前，都要先对分光光度计进行透过率 T 调“0”和调“100”，为什么？

答：调“0”的目的是使仪器的光电管在感受不到光时透光率为“0”，实际上就是调仪器的电路基准；调“100”的目的是调整仪器的光强度，使得在某波长下空白参比溶液的透光率为“100%”，实际上就是调整仪器的光路基准。因为：①同一个灯所发出的不同波长的光，其光强度是不同的；②在测量过程中不能保证电源电压稳定、仪器状态稳定。

5、 本实验配备两只比色皿，整个实验中应该固定用其中一只装入空白溶液作参比用来调“0”和调“100”，在测定不同酸度下的 BPB 溶液以及极酸、极碱溶液的吸光度时，只使用另外一只比色皿来依此分别装入不同溶液后进行吸光度测定。为什么？

答：因为任意的两只比色皿的玻璃的厚度不同，玻璃片间的距离不同，同物质同浓度的溶液用不同的比色皿装入测定时，所得到的吸光度数据就会不同，这样一来就会引起测量误差。

6、 仪器开启后在暗室盖子打开的情况下，不能做什么？为什么？

答： 仪器开启后，在暗室盖子打开的情况下，不能按下暗室边上的小按钮，以免过强的自然光射入光电管后使光电管烧毁。

7、 如何消除误差？

答： （1）BPB 浓溶液的体积移取应保持一致；

（2）在进行极酸，极碱溶液的吸光度测定时，要现配现测，以免放置后溶液发生变化；

（3）为保证测定数据稳定，电源部份须加一稳压器。

8、 在使用 PHS-3B 型酸度计进行 PH 值测量时，要使用 PH=6.86 和 PH=4.00(或 PH=9.18) 的标准缓冲溶液对仪器上的两个旋钮“定位”和“斜率”进行调节，其作用是什么？

答： PH 计的测量原理是原电池电动势测定的应用，PH 值与原电池电动势之间理论上为直线关系。实验时要确定直线的截距和斜率。