

# 项目三 紫外-可见分光光度法

## 学习目标

### 【技能目标】

- 熟练使用和操作紫外-可见分光光度计；能根据要求用紫外-可见分光光度计对待检样品进行定量、定性分析；
- 学会紫外-可见分光光度计的日常维护和常规故障排除；
- 对实验数据能进行处理分析，并撰写实验报告；
- 具有信息迁移能力，能根据不同型号的仪器说明书达到对该仪器的认知及操作。

### 【知识目标】

- 理解紫外-可见分光光度计的工作原理；
- 掌握分光光度法对样品进行定量分析、定性分析的常用方法；
- 熟悉紫外-可见分光光度计的结构和保养、维护及故障排除方法；
- 掌握定量分析数据处理的方法及仪器分析报告的标准格式和要求。

许多物质是有颜色的，如高锰酸钾水溶液呈紫红色，硝酸镍水溶液呈绿色，无色或浅色物质也可以通过化学反应生成有色或深色化合物，如二价铜离子与氨生成深蓝色配合物，二价铁离子与邻二氮菲生成橙红色配合物等。

物质颜色的深浅与物质的浓度有关，显然，浓度越大，溶液颜色越深。因此通过比较溶液颜色的深浅就可以确定溶液中有色物质含量的多少，这种方法称为比色分析法。比色分析根据检测方法的不同又分为目视比色法和光电比色法，目视比色法是以人的眼睛检测颜色深浅，进而确定物质含量；而光电比色法则是通过光电转换器（光电池）检测颜色深浅，来确定物质含量的。比色分析仪适用于可见光区。

随着近代测试仪器的发展，现今常用分光光度计来测定物质对特定波长光的吸收程度，以确定物质含量，这种方法称为分光光度法。在测定中，根据所利用光波区域的不同，又分为可见分光光度法( 400 ~ 780 nm )、紫外分光光度法( 200 ~ 400 nm )和红外分光光度法( 0.75 ~ 1 000  $\mu\text{m}$  )等。本项目中我们只学习可见和紫外分光光度法。

紫外-可见分光光度法是仪器分析中应用最广的分析方法之一，具有以下特点：

#### ( 1 ) 灵敏度高

化学分析法一般只适用于常量组分的测定，不能测定微量组分，而紫外-可见分光光度法可测  $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{ mol/L}$ ，相当于含量为 0.001% ~ 0.000 1% 的物质。

#### ( 2 ) 准确度高

一般比色分析的相对误差为 5% ~ 20%，分光光度法的相对误差为 2% ~ 5%，虽不如化学分析法 ( 0.2% )，但对微量组分分析是符合要求的。

#### ( 3 ) 操作简便，分析速度快

分光光度法的仪器操作简单，容易掌握。

#### ( 4 ) 仪器价格低廉，自动化程度高

现代的紫外-可见分光光度计一般都是数字显示，并且配备有工作站，可以直接对测定数据进行处理并报告分析结果。

#### (5) 应用广泛

大部分的无机离子和有机物都可以直接或间接地用紫外-可见分光光度法进行测定，随着灵敏度、选择性更好的显色剂、掩蔽剂的研究，紫外-可见分光光度法的前景更加诱人。

## 任务一 吸收光谱曲线的制作

### 【任务目的】

- (1) 学会吸收光谱曲线的制作；
- (2) 比较不同物质吸收光谱曲线，认识不同物质吸收光谱曲线各不相同；
- (3) 比较相同物质不同浓度的吸收光谱曲线，认识浓度与吸光度的关系；
- (4) 比较相同浓度相同物质，采用不同型号吸收池时的吸收光谱曲线，认识液层厚度与吸光度的关系。

### 【任务准备】

#### 1. 仪 器

- (1) 紫外-可见分光光度计 (752 型或 722 型)；
- (2) 比色皿 (1 cm、2 cm)。

#### 2. 试 剂

- (1) 重铬酸钾溶液： $3.12 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ；

(2) 高锰酸钾溶液： $1.56 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 、 $3.12 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 、 $4.68 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 、 $7.80 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。

## 【任务内容】

### 活动一：

分别在可见光区作同浓度不同物质的吸收光谱曲线 ( $3.12 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  重铬酸钾溶液、 $3.12 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  高锰酸钾溶液)，教师操作，学生观察并记录实验数据。

(1) 取两只已配对好的石英比色皿，一只盛装蒸馏水作为参比溶液，一只盛装重铬酸钾溶液，并放入紫外-可见分光光度计暗格中，在波长  $400 \sim 780 \text{ nm}$ ，每隔  $10 \text{ nm}$  测一次吸光度值，并由学生记下数值。

(2) 取两只已配对好的玻璃比色皿，一只盛装溶剂，一只盛装高锰酸钾溶液，并放入紫外-可见分光光度计暗格中，在波长  $400 \sim 780 \text{ nm}$ ，每隔  $10 \text{ nm}$  测一次吸光度值，并由学生记下数值。

(3) 学生根据测出数据，以波长为横坐标、吸光度值为纵坐标，分别作出重铬酸钾及高锰酸钾对不同波长光的吸收程度的曲线，即吸收曲线，比较两种不同物质吸收曲线的不同。

### 活动二：

作出相同物质不同浓度溶液的吸收光谱曲线，教师操作，学生观察并记录实验数据。

(1) 在波长  $400 \sim 780 \text{ nm}$ ，每隔  $10 \text{ nm}$  测一次浓度为  $1.56 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  高锰酸钾溶液吸光度值；用同样方法测定浓度分别为  $3.12 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 、 $4.68 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  的高锰酸钾溶液，并

由学生记下数值。

(2) 学生根据测出数据，在同一张坐标纸上，以波长为横坐标、吸光度值为纵坐标，分别作出不同浓度的高锰酸钾溶液的吸收曲线，比较本组曲线的异同。

### 活动三：

作同一浓度相同物质，采用不同型号吸收池的吸收光谱曲线，教师操作，学生观察并记录实验数据。

(1) 浓度为  $3.12 \times 10^{-4}$  mol/L 高锰酸钾溶液分别用 1 cm 和 2 cm 的玻璃比色皿盛装，在波长 400 ~ 780 nm，每隔 10 nm 测一次吸光度值，并由学生记下数值。

(2) 学生根据测出数据，在同一张坐标纸上，以波长为横坐标、吸光度值为纵坐标，分别作出不同吸收池盛装的高锰酸钾溶液的吸收曲线，比较本组曲线的异同。

## 问题探究一

1. 根据活动一，比较重铬酸钾及高锰酸钾的吸收光谱曲线是否相同。若现有一未知样，其吸收光谱曲线与重铬酸钾的吸收光谱曲线相同，则是否可由此判断该物质就是重铬酸钾？

2. 若将活动二与活动三中的高锰酸钾溶液换成重铬酸钾溶液，试画出其吸收光谱曲线；从活动二与活动三我们可看出，物质对光的吸收程度的大小与物质的浓度及入射光光程长度（液层厚度）之间是怎样的关系，试简要叙述之。

## 知识链接一 光的性质

## 一、光的基本特性

### 1. 光的波粒二象性

光是电磁波，既具有波动性也具有粒子性，其波动性可以用波的特征参数，如波长(  $\lambda$  )、频率(  $\nu$  ) 等来描述。光的折射、光的衍射等现象均是光的波动性的表现。其粒子性是指光具有能量，光电效应是光具有粒子性的表现。光的波动性与粒子性二者的关系如下：

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda} \quad (3-1)$$

式中  $h$  ——普朗克常数；

$\nu$  ——光的频率；

$\lambda$  ——光的波长；

$c$  ——光速 ( 真空中约为  $3 \times 10^{10}$  cm/s )。

由于光子能量小 (  $10^{-19}$  J )，因此，常用电子伏特 ( eV ) 为单位 (  $1 \text{ eV} = 1.602 \times 10^{-19} \text{ J}$  )。

由式 ( 3-1 ) 可知：波长越长，光子能量越小；波长越短，光子能量越大。

### 2. 单色光与互补光

由表 3-1 可看出，可见光和紫外光只是某一范围的电磁波。可见光的波长范围是 400 ~ 760 nm，它是由红、橙、黄、绿、青、蓝、紫七色按一定比例混合而成的白光。各种光的近似波长范围为：紫色( 400 ~ 450 nm )、蓝色( 450 ~ 480 nm )、青色( 480 ~ 500 nm )、绿色( 500 ~ 560 nm )、黄色( 560 ~ 590 nm )、橙色( 590 ~ 620 nm )、红色( 620 ~ 760 nm )，各种色光之间没有明显界限。紫外光波长范围为 200 ~ 400 nm。具有同一波长的光称为单色光，如 520 nm 的绿光；含有多种波长的光称为复合光，如白光。如果两种色光按一定的比例和强度混合，即可合成白光，则这两种色光互称为补色，如红光与绿蓝光可以按一定比例与强度合成白光，则红光和绿蓝光互为补色。各种光的互补关系如图 3-1 所示，直线上对应的两种光互为补色。

表 3-1 电磁波谱表

光谱名称	X 射线	远紫外光	近紫外光	可 见 光	近红外光	远红外光	微波	无线电波
				紫 蓝 青 绿 黄 橙 红				
波长范围	$10^{-1} \sim 10 \text{ nm}$	$10 \sim 200 \text{ nm}$	$200 \sim 400 \text{ nm}$	$400 \sim 760 \text{ nm}$	$0.76 \sim 50 \mu\text{m}$	$50 \sim 1\,000 \mu\text{m}$	$0.1 \sim 100 \text{ cm}$	$1 \sim 10^3 \text{ m}$
分析方法	X 射线光谱法	真空紫外光度法	紫外光度法	比色及可见光度法	近红外光谱法	远红外光谱法	微波光谱法	核磁共振光谱法

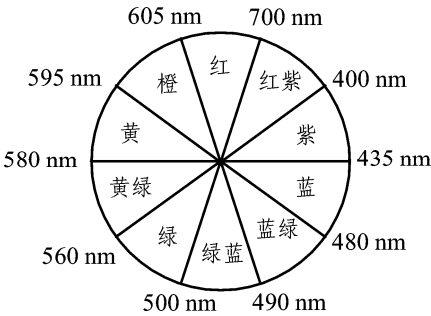


图 3-1 互补色光

二、物质对光的选择性吸收

1．物质颜色的产生

物质显色是物质对可见光具有选择性吸收的结果。当一束白光通过某溶液时，若该溶液对可见光区各波长的光都不吸收，即入射光全部通过溶液，该溶液为无色透明溶液；如果该溶液对可见光区各波长的光全部吸收，此时看到溶液应该是黑色的；如果该溶液选择吸收了可见光区某波长段的光，则溶液呈现被吸收波长段光的互补光的颜色。例如，一束白光通过高锰酸钾溶液时，高锰酸钾溶液选择吸收了 500～560 nm 的绿色光，透过了紫红色光，而其他色光两两互补成白光通过，所以溶液显现紫红色；同样的道理，铬酸钾溶液是由于其吸收了蓝色光，透过了黄色光，所以显黄色。可见，物质的颜色是基于物质对光的选择性吸收的结果，而物质呈现的颜色是被物质吸收的光的互补色。

在分光光度法中我们根据物质对光的选择性来对物质进行定性、定量分析。物质对光的选择性吸收的特性，可以用吸收光谱曲线来描述。

2．物质的吸收光谱曲线

吸收光谱曲线是通过实验方法获得的，将不同波长的单色光透过某一固定浓度和厚度的某物质的溶液，测量每一波长下溶液对光的吸收程度（用吸光度 *A* 表示），然后以波长为横坐标、吸光度为纵坐标作图，所得曲线即为该物质的吸收曲线（也称吸收光谱），它描述了同一溶液对不同波长光的选择性吸收程度。图 3-2 及图 3-3 分别是不同物质的吸收光谱曲线及同一物质不同浓度的吸收光谱曲线。

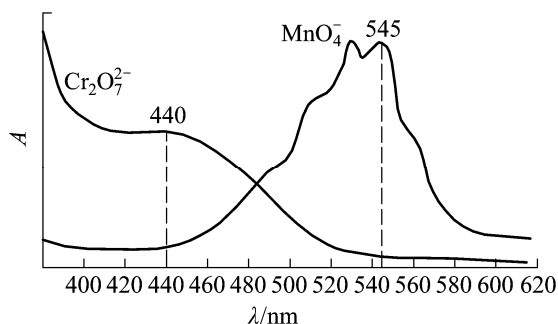


图 3-2 不同物质的吸收光谱曲线

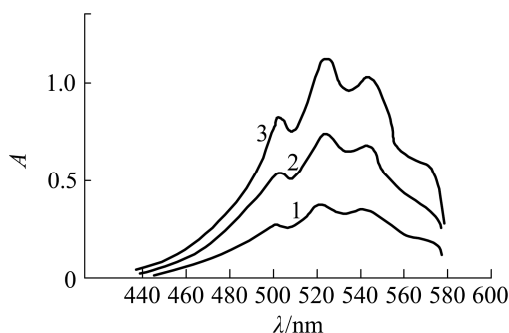


图 3-3 不同浓度的同一物质的吸收光谱曲线

1— $c(\text{KMnO}_4)=1.56 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$   
 2— $c(\text{KMnO}_4)=3.12 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$   
 3— $c(\text{KMnO}_4)=4.68 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

通过分析可知：

(1) 同一种物质对不同波长的光吸收程度各不相同。

(2) 在相同条件下，同一物质不同浓度的溶液，其吸收光谱曲线相似，且  $\lambda_{\text{max}}$ （光吸收程度最大处的波长，称最大吸收波长）相同；不同物质的吸收光谱曲线形状与最大吸收波长各不相同。所以可利用吸收光谱曲线作为物质初步定性分析的依据。

(3) 入射光波长一定时，溶液浓度越大，吸光度也越大，这是分光光度分析法进行定量分析的基础。为了获得较高的测定灵敏度，常用最大吸收波长  $\lambda_{\text{max}}$  的光作为入射光。

### 3. 分子吸收光谱曲线产生机理

物质总是在不断地运动，构成物质的分子、原子具有一定的运动方式，在一定的条件下，



分子处于一定的运动状态，物质分子内部运动状态有三种形式：

- ( 1 ) 电子运动：电子绕原子核作相对运动——电子能级；
- ( 2 ) 原子运动：分子中原子或原子团在其平衡位置附近作相对振动——振动能级；
- ( 3 ) 分子转动：整个分子绕其重心作旋转运动——转动能级。

所以，分子的总能量由上述三种运动的能量组成：

$$E_{\text{分子}}=E_e + E_v + E_j$$

( 3-2 )

式中  $E_e, E_v, E_j$ ——电子运动、原子振动和分子转动的能量。

当分子吸收一个具有一定能量的光量子时，就由较低的能级跃迁到较高的能级，被吸收光子的能量必须与分子跃迁前后的能量差  $\Delta E$  相等 ( 图 3-4 )，否则不能被吸收。能级跃迁与光谱对应关系见表 3-2。

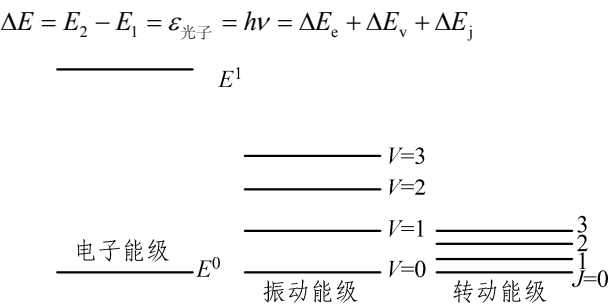


图 3-4 双原子分子中三种能级跃迁示意图

表 3-2 能级跃迁与光谱对应关系

多数分子	对应光子波长	光 谱
$\Delta E$ 为 1 ~ 20 eV	1.25 ~ 0.06 $\mu\text{m}$	紫外、可见区 ( 电子 )
$\Delta E$ 为 0.5 ~ 1 eV	2.5 ~ 50 $\mu\text{m}$	( 中 ) 红外区 ( 振动 )
$\Delta E$ 为 $10^{-4}$ ~ 0.05 eV	50 ~ 1 000 $\mu\text{m}$	( 远 ) 红外区 ( 转动 )

分子的能级跃迁是分子总能量的改变。当发生电子能级跃迁时，同时伴随振动能级和转动能级的改变，形成“带状光谱”，即由许多线光谱聚集在一起的带光谱组成的谱带。

综上所述，由于各种分子运动所处的能级和产生能级跃迁时能量变化都是量子化的，因此在此分子运动产生能级跃迁时，只能吸收分子运动相对应的特定频率（或波长）的光量子。不同物质分子内部结构不同，分子的能级也是千差万别，各种能级之间的能量差各不相同，这就决定了不同的物质对不同波长的光的选择性吸收。

### 三、光的吸收定律

#### （一）吸光度与透光率（透射比）

当一束平行的单色光通过一定浓度的均匀透明溶液时，光的一部分被溶液吸收，一部分透过溶液，一部分被吸收池表面反射。设入射光强度为  $I_0$ ，吸收光强度为  $I_a$ ，透过光强度为  $I_t$ ，反射光强度为  $I_r$ ，则它们之间的关系为

$$I_0 = I_a + I_t + I_r \quad (3-3)$$

若吸收池的质量和厚度都相同，则反射光强度  $I_r$  基本不变，在具体测定操作时  $I_r$  的影响可互相抵消，式（3-3）可简化为

$$I_0 = I_a + I_t \quad (3-4)$$

实验证明：当一束强度为  $I_0$  的单色光通过一定浓度、一定液层厚度的溶液时，一部分光被溶液中的吸光物质吸收后透过光的强度为  $I_t$ （图 3-5），则物质吸收光的程度即吸光度（ $A$ ）与透过光强度之间的关系为

$$A = -\lg \frac{I_t}{I_0} = -\lg T \quad (3-5)$$

式中， $\frac{I_t}{I_0}$  称为透射比，用  $T$  表示； $-\lg \frac{I_t}{I_0}$  称为吸光度，用  $A$  表示。

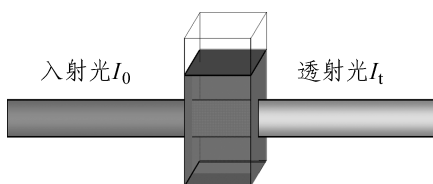


图 3-5 物质对光的吸收

## (二) 朗伯-比尔定律

布格 ( Bouguer ) 和朗伯 ( Lambert ) 先后于 1729 年和 1760 年阐明了光的吸收程度和吸收层厚度的关系，当一束平行单色光垂直照射到一定浓度的均匀透明溶液时，入射光吸光度 (  $A$  ) 与溶液厚度成正比，即  $A \propto b$ ；1852 年，比尔 ( Beer ) 又提出了光的吸收程度和吸收物浓度之间也具有类似的关系：当一束平行单色光垂直照射到不同浓度、相同液层厚度的均匀透明溶液时，入射光吸光度值 (  $A$  ) 与溶液浓度成正比，即  $A \propto c$ 。二者合并，被称为朗伯-比尔定律，也称光的吸收定律。朗伯-比尔定律可表述为：当一束平行的单色光通过溶液时，溶液的吸光度 (  $A$  ) 与溶液的浓度 (  $c$  ) 和厚度 (  $b$  ) 的乘积成正比。其数学表达式为

$$A = -\lg \tau = K \cdot b \cdot c \quad (3-6)$$

朗伯-比尔定律是分光光度法定量分析的依据。它的适用条件：① 入射光必须是单色光；

② 吸收发生在均匀的介质中；③ 吸收过程中，吸收物质相互不发生反应。

## (三) 吸收系数

式 ( 3-6 ) 中比例系数  $K$  称为吸收系数，它的物理含义为：单位浓度、单位厚度的一定溶液，在一定波长下测得的吸光度。 $K$  值的大小与吸光物质的性质、入射光的波长、溶液的温度及溶剂的性质等有关，而与溶液浓度及液层厚度无关。 $K$  值的大小因溶液浓度所采用的单位不同而异，其表示方法有两种：

### 1. 摩尔吸光系数 ( $\varepsilon$ )

当  $c$  用 mol/L、 $b$  用 cm 为单位时， $K$  用摩尔吸光系数  $\varepsilon$  表示，单位为 L/(mol·cm)。则式

( 3-6 ) 可表述为

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (3-7)$$

$\varepsilon$  与  $b$  及  $c$  无关。 $\varepsilon$  一般不超过  $10^5$  数量级，通常： $\varepsilon > 10^4$  为强吸收； $\varepsilon < 10^2$  为弱吸收； $10^2 \leq \varepsilon \leq 10^4$  为中强吸收。摩尔吸光系数是吸光物质的重要参数之一，它表示物质对某一波长光的吸收能力， $\varepsilon$  越大，说明该物质对某波长光吸收能力越强，测定的灵敏度也就越高。

摩尔吸光系数不可能直接用浓度为  $1 \text{ mol/L}$  的吸光物质测量，一般是由较稀溶液的吸光系数换算得到。

【例 3-1】 用邻菲罗啉显色测定铁，已知试液中的铁 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) 含量为  $50 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ ，吸收池厚度为  $1 \text{ cm}$ ，在波长  $510 \text{ nm}$  处测得吸光度  $A=0.099$ ，计算邻菲罗啉-亚铁配合物的摩尔吸光系数。

解：已知铁原子的摩尔质量为  $55.85 \text{ g/mol}$ ，则溶液中铁的摩尔浓度为

$$c(\text{Fe}^{2+})=8.9 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$$

邻菲罗啉与铁  $1:1$  配合，故邻菲罗啉-亚铁的浓度等于亚铁的浓度，即

$$c(\text{邻菲罗啉-亚铁})=8.9 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$$

由朗伯-比尔定律，得

$$\varepsilon = \frac{A}{c \times L} = \frac{0.099}{8.9 \times 10^{-6} \times 1} = 1.1 \times 10^4 \text{ [L/(mol} \cdot \text{cm)]}$$

## 2. 质量吸光系数 ( $a$ )

当  $c$  用  $\text{g/L}$ ， $b$  用  $\text{cm}$  为单位时， $K$  用质量吸光系数  $a$  表示，单位为  $\text{L}/(\text{g} \cdot \text{cm})$ ，则式 (3-6)

可表述为

$$A=a \cdot b \cdot \rho \quad (3-8)$$

$\varepsilon$  与  $a$  之间的关系为

$$\varepsilon = M \cdot a \quad (3-9)$$

$\varepsilon$  通常用于研究分子结构， $a$  通常用于测定含量。

#### (四) 影响吸收定律的主要因素

将某物质配制成一系列不同浓度的标准溶液，然后分别测定它们的吸光度，以吸光度  $A$  为纵坐标、以  $c$  为横坐标作图，得一直线，这条直线即为工作曲线或标准曲线。

根据吸收定律，在理论上，工作曲线应为一过原点的直线，即截距为零，斜率为  $k \times b$  的直线，但实际中吸光度与浓度的关系有时是非线性的，或者不过原点，这种现象称为

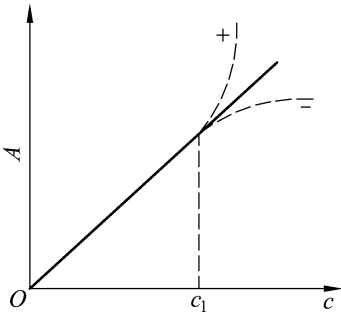


图 3-6 偏离吸收定律

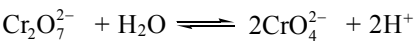
偏离吸收定律。如图 3-6 所示，如果溶液实际吸光度值比理论值大，则为正偏离吸收定律；如果溶液实际吸光度值比理论值小，则为负偏离吸收定律。

##### 1. 化学、物理因素

##### (1) 吸光物质不稳定

溶液中的溶质可因浓度 ( $c$ ) 的改变而有离解、缔合、配位以及与溶剂间的作用等，而发生偏离朗伯-比尔定律的现象。

例如，在水溶液中，Cr ( VI ) 的两种离子存在如下平衡：



$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 、 $\text{CrO}_4^{2-}$  有不同的  $A$  值，溶液的  $A$  值是两种离子的  $A$  值之和，如图 3-7 所示。但由于随着浓度的改变或溶液的 pH 改变， $c(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})/c(\text{CrO}_4^{2-})$  会发生变化，使  $c_{\text{总}}$  与  $A_{\text{总}}$  的关系偏离直线。因此，测量前的化学预处理十分重要，如控制好显色反应条件、溶液的浓度及化学平衡。

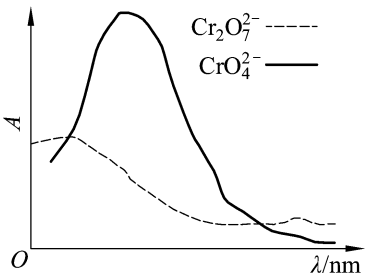


图 3-7 铬元素两种离子  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  和  $\text{CrO}_4^{2-}$  的吸收曲线

## (2) 吸光质点的相互作用

朗伯-比尔定律仅适用于稀溶液。在高浓度 ( $c > 0.01 \text{ mol/L}$ ) 时, 由于吸光粒子间的相互作用, 改变了对光的吸收能力, 吸光度  $A$  与浓度  $c$  之间的线性关系发生偏离。

## (3) 介质不均匀引起的偏离

当吸光物质是胶体溶液、乳浊液或悬浮物时, 由于吸光质点对入射光线的散射而发生偏离。

## 2. 仪器因素 (非单色光的影响)

朗伯-比尔定律的重要前提是“单色光”, 即只有一种波长的光。实际上, 真正的单色光难以得到。实验中由分光器得到的单色光, 实际是一小段波长范围的复合光, 由于吸光物质对不同  $\lambda$  的光的吸收能力不同 ( $\varepsilon$  不同), 吸光度与浓度间的线性关系发生偏离, 引起偏差。例如, 图 3-8 所示为某物质的吸收光谱曲线, 进行定量分析时, 若选择谱带 I 作为入射光, 吸光系数变化较小, 测量造成的偏离就比较小; 若选择谱带 II 的波长宽度作为入射光, 吸光系数的变化很大, 测量造成的偏离也就很大。所以通常选择吸光物质的最大吸收波长 (即吸收曲线峰所对应的波长) 作为分析的测量波长, 这样不仅能保证有较高的测量灵敏度, 而且此处的吸收曲线较为平坦, 吸光系数变化比较小, 对朗伯-比尔定律的偏离也比较小。

## 任务二 测定废水中微量铬含量

### 【任务目的】

- (1) 熟悉比色管的使用;
- (2) 掌握标准色阶的配制方法;

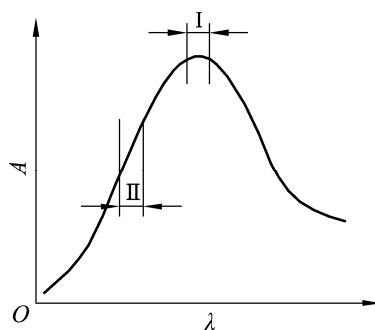


图 3-8 分析谱带的选择对吸收定律的影响

(3) 掌握目视比色法测定溶液中微量物质含量的步骤。

## 【任务准备】

### 1. 仪 器

(1) 50 mL 比色管一套；

(2) 250 mL 容量瓶；

(3) 5 mL 吸量管。

### 2. 试 剂

(1) 标准铬 (VI) 储备液 ( $\rho=50\text{ mg/mL}$ )；

(2) 标准铬 (VI) 操作液 ( $\rho=1.00\text{ }\mu\text{g/mL}$ )；

(3) 显色剂：二苯碳酰二肼无色溶液；

(4) 待测液。

## 【任务内容】

用目视比色法测定废水中微量铬含量。

### 一、实验原理

铬在水中常以铬酸盐 (六价铬) 形式存在，六价铬离子与二苯碳酰二肼反应，生成紫红色化合物，可以用目视比色法，根据颜色深浅，测定微量 (或痕量) 铬的含量。

### 二、实验步骤

(1) 选择一套 50 mL 比色管，洗净后置于比色架上 (图 3-9)。

(2) 配制铬的系列标准溶液：依次加入铬标准操作液 ( $\rho=1.00\text{ }\mu\text{g/L}$ ) 0.00 mL、0.50 mL、

1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL 于 50 mL 比色管中，加 40 mL 水混合均匀，分别加入 2 mL 二苯碳酰二肼溶液后，用蒸馏水稀释至刻线，混合均匀，放置 10 min，显色。

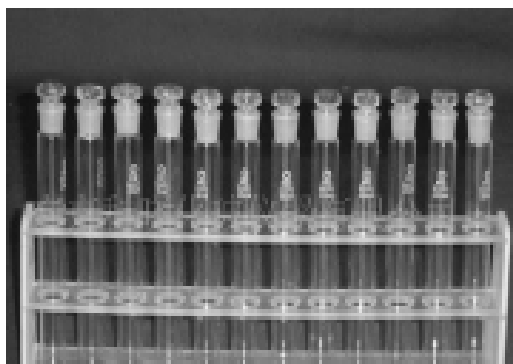


图 3-9 比色管与比色架

(3) 配制样品测试液：移取待测水样若干毫升（样品显色后色泽介于标准系列之间）于另一支 50 mL 比色管中，按步骤（2）的方法显色后用蒸馏水稀释至刻线，混合均匀，放置显色 10 min。

(4) 在自然光或日光灯下，自上而下比较样品测试液与系列标准溶液的颜色，根据颜色相近程度，求出样品中微量铬含量。

## 问题探究二

1. 用目视比色法测定样品含量时，若标准色阶溶液浓度太大，会出现什么问题？
2. 目视比色法测定样品含量时，若样品颜色不在色阶范围内，可不可以？若不可以？为什么？如何进行实验修正？
3. 目视比色法适用于哪些样品含量测定？



## 知识链接二 目视比色法

目视比色法是用眼睛观察比较溶液颜色深浅，以确定物质含量的分析方法。该方法虽然测定的准确度不高（相对误差 5%~20%），但其分析仪器简单，操作简便，现仍然广泛应用于准确度要求不高的一些中间控制分析和限界分析中。限界分析是指要求确定样品中待测杂质含量是否在规定的最高含量限界以下。

### 一、基本原理

将标准溶液与被测溶液在同样条件下显色并进行比较，若溶液液层厚度不变，两者颜色相同则浓度相同，即

$$c_{\text{标}} = c_{\text{样}}$$

### 二、测定方法

常用标准系列法，在一套等体积的直径、长度、玻璃成分、玻璃厚度等都相同的比色管中，加入不同体积的标准溶液，分别加入等量显色剂及其他试剂，稀释至刻度，摇匀。待测液在同样条件下显色。比较在相同条件下显色的待测液和标准色阶溶液的颜色深浅，确定待测液的浓度。如果待测溶液与标准色阶中某一标准溶液的颜色深度相同，则其浓度也相同；如果其颜色深度介于相邻两标准溶液之间，则被测溶液浓度为两标准溶液浓度的平均值。

### 三、目视比色法的特点

仪器简单，操作简便，不需要单色光；但准确度较差，带有较大的主观误差，且标准色阶不宜保存。

## 任务三 熟悉紫外-可见分光光度计的组成与使用

### 【任务目的】

- (1) 熟悉紫外-可见分光光度计的基本组成部件；
- (2) 熟练掌握紫外-可见分光光度计的使用方法；
- (3) 熟练掌握吸收池的配对方法与使用方法。

### 【任务准备】

#### 1. 仪 器

- (1) 752 型分光光度计；
- (2) 玻璃吸收池。

#### 2. 试 剂

高锰酸钾标准溶液： $3.12 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。

### 【任务内容】

(1) 在教师指导下，在 752 型分光光度计上分别找出分光光度计的五大部分（光源、单色器、吸收池、检测器、信号显示系统）的位置，并了解各部分的作用。

(2) 打开 752 型分光光度计电源开关，打开样品室暗箱盖，预热 20 min，在可见光区转动波长刻度旋钮，调节波长，观察单色光颜色。

(3) 调零：将遮光体放入样品架，并拉动样品架拉杆，使其进入光路中，调节零点。

(4) 吸收池的配对：将选定好的吸收池冲洗干净，在吸收池毛面上口附近用铅笔标上进光方向并编号，用手捏住吸收池的毛面，加入蒸馏水至吸收池容积的  $3/4$  处，用滤纸吸干池

外壁的水滴(不能擦),再用擦镜纸或丝绸巾轻擦透光面至无痕迹,按池上所标箭头方向放入吸收池架上,并固定好。盖上样品室盖,调节波长为 525 nm,将在参比位置上的吸收池推入光路中,调透光率为 100%,拉动样品槽拉杆,依次将被测溶液推入光路,读取相应的透光率值。若各吸收池透射比偏差小于 0.5%,则吸收池可配套使用。

(5) 样品测定:上一步配套的吸收池,取出一只加入蒸馏水,作为参比溶液,其余的装入高锰酸钾溶液,放入分光光度计样品室(注意进光方向),进行测定。

(6) 测量完毕,取出吸收池,关闭仪器电源,清洗吸收池及其他玻璃仪器,完成实验。