

高等医药院校讲义

分析化学

(下册)

于如嘏 主编

人民卫生出版社

供 药 学 专 业 用

分 析 化 学

(下 册)

—— 儀 器 分 析 ——

于 如 蔄 主 編

刘書田 陸明廉 閔知大 編 写
罗 旭 翁元凱 侯世兰

裘家奎 高 鴻 評 閱

人 民 卫 生 出 版 社

一 九 六 五 年 · 北 京

分 析 化 学

(下 册)

开本: 787×1092/16 印张: 7 ⁶/₈ 字数: 166 千字

于 如 赅 主 编

人 民 卫 生 出 版 社 出 版

(北京书刊出版业营业许可证出字第〇四六号)

• 北京崇文区禄子胡同三十六号 •

人 民 卫 生 出 版 社 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 • 各地新华书店经售

统一书号: 14048 · 3091

1965 年 2 月第 1 版—第 1 次印刷

定价: (科五)0.75元[K]

印 数: 1—4,000

目 录

第一章 比色法	1
一、概述	1
二、朗白-贝尔定律及其成立的条件	2
(一)朗白-贝尔定律	2
(二)影响朗白-贝尔定律的因素	3
三、目视比色法	5
(一)标准系列法	6
(二)平衡法	6
四、光电比色法	8
(一)光电比色计的主要部件	9
(二)单光电池光电比色计	11
(三)双光电池光电比色计	12
五、比色法的误差	15
(一)误差来源	15
(二)提高比色分析灵敏度和准确度的方法	15
六、示差比色法	17
七、光度滴定	19
八、应用	20
(一)定量测定	20
(二)络合物的组成测定	23
(三)离解常数的测定	24
(四)应用实例	24
铁的测定(24) 磷的测定(25) 硫代氰酸鉻鉍法测定生物硷和有机含氮化合物的含量(26)	
习题	26
第二章 分光光度法	28
一、概述	28
二、分光光度法的原理	29
(一)克分子消光系数和比消光系数	29
(二)物质的特征吸收光谱	29
(三)定量测定	33
单组分的测定(33) 混合组分的测定(34) 光度滴定(36)	
(四)定性测定	36
化合物的鉴定(36) 结构的确定(37) 纯度的检查(38)	
三、分光光度计的结构	38
(一)可见、紫外分光光度计的光学线路及主要元件	38
(二)红外分光光度计的结构及主要元件	41

四、分光光度法的误差	42
(一)分光光度计的校准	43
(二)溶剂	44
五、分光光度法的应用	45
应用实例	45
维生素 B ₁₂ 的测定(45) 重铬酸钾和高锰酸钾混合物的测定(45)	
习题	45
第三章 荧光分析法和比浊分析法	47
荧光分析法	47
一、基本原理	47
(一)荧光强度与物质浓度的关系	47
(二)荧光光谱与物性关系	48
二、仪器和使用方法	50
(一)荧光计的主要部件	50
(二)荧光计及其操作方法	51
三、影响荧光分析的各种因素	52
(一)激发光源	52
(二)温度	52
(三)溶剂	53
(四) pH 值	53
(五)无机盐类	53
(六)荧光的稳定性	53
(七)荧光的消灭	53
四、应用	53
应用实例	54
注射液中核黄素的测定(54) 奎宁的测定(54)	
比浊分析法	54
一、基本原理	54
二、仪器和方法	55
三、应用	56
习题	56
第四章 电位法	57
一、电位法测定 pH 值	57
(一) pH 值的概念	57
(二)电位法测定 pH 值的原理	57
(三)参比电极	58
标准氢电极(58) 甘汞电极(58)	
(四)指示电极	59
氢电极(59) 醌氢醌电极(60) 镉电极(61) 玻璃电极(61)	
(五)用电位计测定 pH 值	64
(六) pH 计	65

补偿型 pH 计(65) 直读型 pH 计(66)	
二、电位滴定法	67
(一) 电位滴定法的原理	67
(二) 指示电极和参比电极	68
(三) 测定方法和等当点确定法	68
古典法(68) 简化古典法(70) 双金属电极法(70) 示差法(71)	
(四) 电位滴定的应用	71
中和滴定(72) 沉淀滴定(73) 氧化还原滴定(75) 络合滴定(76) 非水溶液 滴定(76)	
(五) 应用实例	77
氯离子和碘离子混合液的测定(77) 锌盐的测定(77) 亚铁盐的测定(双金属电 极法)(77) 吡啶的测定(77)	
习题	77
第五章 极谱分析法	79
一、概述	79
二、基本原理	79
(一) 极化电极和非极化电极	80
(二) 支持电解质的作用	82
(三) 残余电流	82
(四) 扩散电流	84
(五) 极大现象及极大抑制剂	85
(六) 氧的极谱波和氧的除去	85
三、尤考维奇方程及其影响因素	86
(一) 尤考维奇方程式	86
(二) 影响扩散电流的因素	87
四、半波电位	89
五、极谱分析的方法	93
(一) 仪器装置	93
(二) 测定方法	99
定性测定(100) 定量测定(100)	
六、应用	103
(一) 无机阳离子	103
(二) 无机阴离子和气体	104
(三) 有机化合物	105
(四) 应用实例	106
黄铜中铜与锌的测定(106) 抗坏血酸的测定(106) 敌百虫的测定(107) 杀虫剂 666 中的 γ -666 的测定(107)	
习题	107
第六章 电流滴定法	109
一、概述	109
二、单极化电极电流滴定	109
(一) 原理	109

(二) 滴定曲线·····	109
(三) 仪器装置·····	112
三、双极化电极电流滴定·····	113
(一) 原理·····	113
(二) 滴定曲线·····	113
(三) 仪器装置·····	114
四、应用·····	114
(一) 沉淀滴定·····	114
(二) 氧化还原滴定·····	115
(三) 络合滴定·····	115
(四) 应用实例·····	116
单极化电极电流滴定(116)	
硫酸根的测定(116) 铅盐的测定(116) 三氧化二砷的测定(116)	
双极化电极电流滴定(116)	
硫代硫酸钠的测定(116) 亚铁盐的测定(116)	
习题·····	116
附录·····	118
试剂配制·····	118

第一章 比 色 法

一、概 述

利用辐射能与物质之间的相互作用,从而鉴别或测定物质的方法称为光量分析(photometric analysis)。光量分析是分析化学中的一个重要部分,它可分为发射光谱分析(emission spectroscopy)及吸收光谱分析(absorption spectroscopy)两个主要类型。发射光谱法对于无机物的分析非常重要,但是不能应用于有机物的测定;吸收光谱法既能用于无机物的分析,也能测定有机物质,因此对有机物的鉴别、反应历程等的研究也很重要,因而吸收光谱法为本专业的重要分析方法之一。

可见光、紫外线及红外线照射某些物质以后,引起物质内部分子、电子或原子核间的运动,消耗一部分能量,然后透射出来,再通过稜鏡,可得到一组间断的光谱,此光谱称为吸收光谱。由发生吸收光谱的原理建立的分析方法,有比色法及分光光度法。

此外,利用辐射能与物质之间的关系还可进行荧光分析、比浊分析及X射线衍射分析等。

本章仅讨论比色法。

比色法(Colorimetry)是将被测的有色物质配成溶液,或将被测的无色物质在适当条件下加入试剂使产生有色溶液,根据溶液颜色的深浅以测定物质的含量。如果将不同浓度的同一有色物质,在同一条件下进行比较,则颜色较深的溶液,其浓度较大。

与重量分析和容量分析方法不同,比色法的灵敏性很高,能测定含量极低的痕量物质。最低的测量浓度可达到每毫升 10^{-7} 克;也就是说,只要称取仅含有 $10^{-5}\%$ 的组分的试样 1 克,就可进行测定。如果通过浓缩、富集等技术,可以测定的量就更微。这种痕量组分若用重量法或容量法进行测定,不是误差很大,就是无法测定。例如,10 毫升试样中若含有 10 微克(10^{-5} 克)的铁,用高锰酸钾法测定,只消耗 $0.001N$ $KMnO_4$ 溶液 0.02 毫升(即半滴);在这种情况下,一般容量分析法就不能应用,重量法亦是如此。当然,各种分析方法各有其特点。比色法的特点是既能测定微量或痕量的组分又能达到相当满意的准确度(相对误差一般为 $1\% \sim 10\%$,有时可小至 $0.2\% \sim 0.5\%$),但对于含量高的组分,则比色法的准确度往往不及重量分析法及容量分析法。物质的浓度介于 $10^{-5} \sim 10^{-2}M$ 范围内,一般用比色法较为适宜。

比色法除具有高度的灵敏性以外,它的选择性也较高,有时可以不经过分离就能在混合物中测出某种组分的含量。

此外,比色法的操作简便,通常不一定经过繁复的化学处理就可直接显色测定。由于比色法具有这些优点,因而在定量分析中得到广泛的应用。例如,药物中的生物硷、维生素、激素及抗菌素等的测定,就常用到比色法。

欲求比色分析的结果准确可靠,必须要有合乎要求的显色反应和合乎要求的比色工具。一个适宜于比色分析的显色反应必须是:(1)有色产物的稳定度高;(2)有色产物的组成固定;(3)有色产物的色调够深;(4)选择性高。一个适宜于比色用的工具必须是:(1)灵

敏性高；(2)稳定性高；(3)操作简易；(4)坚固耐用。

比色法的理论基础是朗白-贝尔定律。因此，学习及掌握比色法应从了解朗白-贝尔定律着手。

二、朗白-贝尔定律及其成立的条件

在讨论朗白-贝尔定律(Lambert-Beer's Law)以前,先简要地叙述一下产生颜色的一般知识。物质的颜色是由于物质吸收了可见光谱中某种波长的光波而产生的。

就透明体而言,如果它对于可见光谱中各种波长的光波均没有显著的吸收现象,则用白光照射时,它就是无色的。如果透明体只能透过某些光波而吸收了其它的光波,透明体的颜色就由它所透过的光波来决定。例如,红色玻璃透过的光,绝大部分是红光,所以它呈现红色;硫酸铜溶液只让蓝光和蓝光附近的光波透过,所以它呈现蓝色。

不透明体用白光照射时,如果它吸收了某些光波而反射了其余的光波,则它所呈现的颜色就由反射的光波来决定。例如,某一物体的表面只能反射红光而吸收了其它的光波,则它在白光照射下便呈现红色。若用蓝光照射红色玻璃,红色玻璃就呈现暗黑色,这是因为红色玻璃把蓝光差不多完全吸收而又没有红光供它反射的缘故。

如果物体几乎把全部的照射光线都吸收了,我们就看到它是黑色的。如果它几乎把照射的白光的各种光波都反射了,我们就看到它是白色的。

定量地讨论物质吸收光能与其浓度和液层厚度之间关系的是朗白-贝尔定律。

(一) 朗白-贝尔定律 朗白定律和贝尔定律合起来称为朗白-贝尔定律。

朗白定律是:当一束单色光照射溶液时,透射光强度随着溶液厚度按算术级数增加而呈几何级数降低。关系式为 $I_t = I_0 \cdot 10^{-k'l}$; 式中 I_0 为入射光强度, I_t 为透射光强度, k 为吸收系数, l 为溶液层厚度。

贝尔定律是:当一束单色光照射溶液时,透射光强度随着溶液浓度按算术级数增加而呈几何级数降低。关系式为 $I_t = I_0 \cdot 10^{-k'C}$; 式中 k' 为吸收系数, C 为溶液的浓度, I_0 、 I_t 的意义同前。

将以上两定律合并,则得:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l C} \quad (1)$$

这个关系式称为朗白-贝尔定律,其意义为:当一束单色光照射溶液时,透射光强度随着溶液的厚度和浓度按算术级数增加而呈几何级数降低。式中 ϵ 为 k 及 k' 的乘积,称为消光系数(extinction coefficient),其它符号的意义与前同。

在实际应用时,常将(1)式写成:

$$\log \frac{I_0}{I_t} = -\log \frac{I_t}{I_0} = -\log T = E = D = \epsilon l C \quad (2)$$

$\frac{I_t}{I_0}$ 称为透光度(transmittancy),以 T 表示,说明透射光强度是入射光强度的几分之几,它的数值小于1。 $T \times 100$ 为 $T\%$,称为百分率透光度。 $1 - T = 1 - \frac{I_t}{I_0} = \frac{I_0 - I_t}{I_0}$ 称为吸收度,以 A 表示。为方便起见,我们经常用透光度的负对数($-\log T$)来表示溶液吸收光线的程度,称之为消光(extinction, E)或光密度(Optical density, D)。光线透过溶液愈

多, E 的值愈小, 这表示溶液的颜色愈淡(或浓度愈小); 如果光线完全透过溶液, 则 $I_0 = I_t$, $\log \frac{I_0}{I_t} = E = D = 0$ 。光线被吸收得愈多, $\log \frac{I_0}{I_t} = E = D$ 的数值也愈大; 如果光线完全被溶液吸收, 则 $I_t = 0$, $E = \infty$ 。消光系数的意义是: 纯物质在单位浓度及单位厚度时的消光值, 它是物质的特性数据, 与入射光的波长、溶剂及温度诸因素有关。物质的消光系数愈大, 则该物质可测定的浓度愈低, 亦就是灵敏度愈高。消光系数的数值亦随溶液的厚度及浓度单位而变; 如果溶液的厚度用厘米表示, 浓度以每升中所含的克分子数表示, 则 ϵ 便称为克分子消光系数。

根据朗白-贝尔定律:

$$E = \epsilon l C$$

当液层厚度一定时, 则消光与物质的浓度成正比。如以横轴代表浓度, 纵轴代表消光, 则二者成线性关系; 又, 若液层 l 为单位厚度时, 则 ϵ 就是直线的斜率。可见 ϵ 愈大, 表示溶液对光的吸收愈强烈, 也就是溶液浓度有较小改变时就有较大的消光值变化。在实际分析中, 如果选择一个已知含量的标准物质, 配成浓度为 $C_1, C_2, C_3, \dots, C_n$ 的标准系列, 则通过测定可得到一系列消光值, 作图以后就可得到标准曲线。如在同样条件下测定试样溶液的消光值, 从此标准曲线即可知试样中物质的含量。

如果将试样溶液(浓度为 C_x)及标准溶液(浓度为 C_s)置于厚度(l)完全相同, 并用同一材料制成的两个容器(比色杯)中, 则此两溶液的消光值之比等于其浓度之比, 即:

$$\frac{E_x}{E_s} = \frac{\epsilon l C_x}{\epsilon l C_s} = \frac{C_x}{C_s} \quad (3)$$

此外, 使同一光源的强度相等的两束光线, 分别通过标准溶液及样品溶液, 并用机械方法调节液层的厚度, 使通过两种溶液后两束光线的强度仍然相等, 此时两溶液的浓度与厚度成反比。

$$E_x = \epsilon l_x C_x; \quad E_s = \epsilon l_s C_s$$

当,

$$E_x = E_s \text{ 时, } C_x l_x = C_s l_s \quad (4)$$

式(3)及(4)是朗白-贝尔定律在比色法中的应用, 也就是比色分析的基本运算公式。朗白-贝尔定律不仅是比色法的基础, 而且也是整个吸收光谱分析的基础。

朗白-贝尔定律只适用于单色光及低浓度溶液。所以, 在实际工作中, 溶液的浓度与消光值之间, 有时并不呈线性关系; 其原因虽多, 但主要是光学因素及化学因素两方面。

(二) 影响朗白-贝尔定律的因素

1. 光学因素 前已指出, 朗白-贝尔定律只适用于单色光。事实上, 真正的单色光是难以实际获得的。如果光源是混合光, 则消光-浓度关系就会不符合朗白-贝尔定律。

为简便计, 假设光源是含有波长为 λ_1 及 λ_2 的混合光, 并令 f_1 、 f_2 分别表示它们的强度分数, 混合光的强度为 I_0 , 则:

$$I_{0(\lambda_1)} = f_1 I_0$$

$$I_{0(\lambda_2)} = f_2 I_0$$

而射经溶液后的透射光总强度 I_t 则为:

$$I_t = I_{t(\lambda_1)} + I_{t(\lambda_2)}$$

根据朗白-贝尔定律,

$$I_t = I_{0(\lambda_1)} 10^{-\epsilon_1 l c} + I_{0(\lambda_2)} 10^{-\epsilon_2 l c}$$

故消光为:

$$\begin{aligned} E &= -\log \frac{I_t}{I_0} = -\log \left(\frac{I_{0(\lambda_1)} 10^{-\epsilon_1 l c} + I_{0(\lambda_2)} 10^{-\epsilon_2 l c}}{I_0} \right) \\ &= -\log \left(\frac{f_1 I_0 10^{-\epsilon_1 l c} + f_2 I_0 10^{-\epsilon_2 l c}}{I_0} \right) \\ &= -\log (f_1 10^{-\epsilon_1 l c} + f_2 10^{-\epsilon_2 l c}) \end{aligned}$$

将上式对浓度 C 求导数, 得:

$$\frac{dE}{dC} = \frac{f_1 \epsilon_1 l 10^{-\epsilon_1 l c} + f_2 \epsilon_2 l 10^{-\epsilon_2 l c}}{f_1 10^{-\epsilon_1 l c} + f_2 10^{-\epsilon_2 l c}} \quad (5)$$

若 $\epsilon_1 = \epsilon_2 = \epsilon$ (在此处, 亦就是说光源是单色光), 则:

$$\frac{dE}{dC} = \epsilon l$$

这表示消光对浓度的导数是常数, 故消光与浓度呈线性关系, 即朗白-贝尔定律成立, ϵl 是此种线性关系的斜率。若 $\epsilon_1 \neq \epsilon_2$ 并对 (5) 式再求导数, 则得:

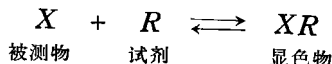
$$\frac{d^2 E}{dC^2} = - \frac{2.303 f_1 f_2 l^2 (\epsilon_1 - \epsilon_2)^2 10^{-(\epsilon_1 + \epsilon_2) l c}}{(f_1 10^{-\epsilon_1 l c} + f_2 10^{-\epsilon_2 l c})^2} \quad (6)$$

在 (6) 式中, 不论 ϵ_1, ϵ_2 为何值, 等号右边项恒为负值, 这表示消光-浓度曲线是向浓度轴弯曲的。

从上述讨论可以看出, 混合光之所以使消光与浓度不呈线性关系, 是因为不同光波的消光系数是各异的。

2. 化学因素 由比色法直接测得的是显色物的浓度。所以, 凡是能影响显色物浓度与被测物浓度间的恒定关系的因素, 都会使消光值与浓度的关系偏离线性, 主要的有下列几种:

(1) 显色物离解度的影响 用下式代表一般的显色反应:



如果 X 能和 R 完全结合, 则根据 XR 的颜色深度所测出的 XR 量就能代表 X 的量。但是实际上反应是不可能进行到理想完全的, 总有一部分 X 呈游离状态存在。根据比色分析的基本运算公式我们知道: 只要 $[XR]$ 与 $[X]_{\text{总}}$ 的比值能保持恒定, 则 X 虽然并未完全变成 XR , 用比色法仍会测得准确的结果。如果显色物的离解度是随浓度而变的, 那末测得的消光-浓度关系就会偏离线性, 其偏离程度与离解度的关系可解释如下:

设一有色溶液的消光值为 E_1 , 其显色物的离解度为 α_1 ; 将此溶液稀释 n 倍后若离解

度仍为 α_1 , 则其消光值为 $\frac{E_1}{n}$; 若显色物的离解度发生改变(设为 αn), 则其消光值便不再是 $\frac{E_1}{n}$, 而是 $\frac{E_n}{n}$ 。因此, 由于离解度的改变, 使消光值减小了 $\frac{E_1}{n} - \frac{E_n}{n}$ 。而且不同浓度时的离解度相差越大, 则偏离朗白-贝尔定律的情况越严重。离解度的改变越小, 越有利于比色分析。一般言之, 显色物在有机溶剂中的离解度及其改变程度均比在水中者为小。

(2) 溶液 pH 值的影响 显色反应受酸度的影响很大。当溶液 pH 值改变时, 常使显色物的组成改变, 甚至使络合物的中心离子水解; 对具有酸硷指示剂性质的试剂, 则溶液 pH 值的改变, 能使试剂本身发生颜色变化。

例如, 铁和水杨酸在不同 pH 时, 能生成三种组成不同、颜色各异的络离子:

pH = 2~3 生成 $[\text{FeSal}]^+$ 紫色

pH = 4~9 生成 $[\text{FeSal}_2]^-$ 红色

pH > 9 生成 $[\text{FeSal}_3]^{=}$ 黄色

又如, 以生成 FeSCN^+ 络离子的方法测定 $[\text{Fe}^{3+}]$ 时, 溶液必须保持足够高的酸度; 如果 pH > 2, 则由于生成铁的硷式盐而颜色显著地减弱。

显色反应的适宜 pH 值, 可以根据试剂(常是弱酸、弱硷)及显色物(常是络合物)的离解常数计算出来, 但通常则都由实验方法确定。

(3) 杂质的影响 如果溶液中含有能与被测金属离子结合的它种阴离子, 显色反应就要受到影响。例如, NH_4SCN 与 Fe^{3+} 离子显色时, 如用盐酸调节酸度, 则当盐酸浓度超过 0.01M 时, 红色便逐渐减弱, 这是因为 Cl^- 离子与部分 Fe^{3+} 离子结合成无色或黄色的 FeCl_4^- 或 $\text{FeCl}_6^{=}$ 络离子所致。此外, 象 $\text{C}_2\text{O}_4^{=}$ 、 $\text{PO}_4^{=}$ 、 F^- 以及多羟酸阴离子等, 都能和 Fe^{3+} 离子络合而影响硫氰酸铁的颜色。

大量电解质的存在, 能使显色物变形, 改变它的最大吸收波长, 使消光-浓度关系不符合朗白-贝尔定律。

(4) 反应速度的影响 显色反应的速度有的很快, 在短时间內就能达到平衡; 有的反应较慢, 必须要在一定时间之后才能完成, 则测定也须等待到反应完成之后进行, 否则会引起误差。有些反应在进行过程中又发生另一个反应, 如化合物的分解等; 在这种情况下, 必须在颜色稳定的一段时间内进行测定, 才能获得准确的结果。

此外, 温度较高、空气中的氧和日光等都有可能使显色物分解而改变它的浓度, 因此这些都要影响消光-浓度的线性关系。

了解到朗白-贝尔定律及其成立的条件以后, 进一步就可讨论比色方法。比色方法有目视比色法及光电比色法两类, 兹分别叙述如下。

三、目视比色法

用视力比较样品溶液与标准溶液的颜色深度以确定物质含量的方法称为目视比色法 (visual Colorimetry)。测定用的仪器称为目视(或视式)比色计。人的视力不能直接测定透光度或消光的数值, 只能比较颜色的深浅, 因此在目视比色法中, 我们是把被测溶液和标准溶液用同一光源照射比较其颜色。如果我们观察到这两种溶液的颜色相同, 也就是

说这两种溶液的透射光强度相同,则根据朗白-贝尔定律:

$$I_t = I_0 \times 10^{-\epsilon \cdot l \cdot C_s} = I_0 \times 10^{-\epsilon \cdot l_x \cdot C_x}$$

$$\therefore l_s C_s = l_x C_x$$

C_s 和 C_x 分别代表标准溶液和被测溶液的浓度, l_s 和 l_x 分别代表它们的厚度。

在目视比色法中,被测溶液的浓度 C_x 虽然是未知的,但却是固定的。要使得被测溶液和标准溶液所呈现的颜色相同,常采用改变标准溶液的浓度 C_s 或者改变标准溶液的液层厚度 l_s 或被测溶液的液层厚度 l_x 。因此,目视比色法又常分成两类:即改变溶液浓度不改变液层厚度及改变液层厚度不改变溶液浓度的方法,其中采用得较多的是标准系列法及平衡法。

(一) 标准系列法 标准系列法(standard series method)又称色阶法,是改变溶液浓度不改变液层厚度的比色法。用这种方法进行比色时,须制备一系列已知浓度的标准溶液。将一系列不同浓度的标准溶液分别放在质料相同、直径和高度相等的比色管中;加入显色剂并稀释至一定体积;混合后,按照由稀至浓的顺序排列成由浅至深的色阶。在相同条件下把被测溶液也放到比色管中显色,与标准溶液比较。例如,用奈氏试剂测定水中微量氨时,先吸取 0.00、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80 及 1.00 毫升的标准氨溶液(1 毫升 $\approx$ 0.05 毫克 NH_3),置比色管中,再将一定量的被测溶液亦放在同样的比色管中。然后尽可能同时向标准溶液及被测溶液中加入等体积的奈氏试剂(例如 1.0 毫升),并用水稀释至一定体积。在各标准溶液比色管中就产生深浅不同的黄棕色,这便制成了一组标准色阶。将被测液与标准色阶相比较,如果被测液的颜色和含有 0.40 毫升标准氨溶液的颜色相同,则此被测液中氨的浓度就与这一标准色阶中的氨浓度相同。如果被测液的颜色介于二种色阶之间,则被测液中氨的含量可以取这两个色阶含氨数值的平均值。

标准系列法也可采用带有玻璃磨口的小比色管,这样,更便于振摇混匀。比色时,可在自然光下进行,在白色背景上沿比色管的中心线垂直观察。白色背景可以用倾斜 45° 的白色玻板或厚纸放在窗前,使白光反射而入,应避免日光的直接照射。如果两个比色管中溶液的颜色非常相近时,应该把比色管互换位置后再行观察比较。为了弥补配制的色阶不够安定和配制耗时太多的缺点,可用某些有色的无机盐溶液混合制成标准色阶;也可用不同颜色的玻片或胶片做成标准色片。这些代用品,只有确定了它们的颜色和被测物数量间的关系以后,才有实用价值。

视力对颜色的鉴别是有限度的。若两份相同溶液的浓度相差 $1/15$ (或 7%) 以上时,视力能分辨两者颜色而不致发生偏差。因此,在制备标准系列时,相邻两标准溶液的浓度差不得小于 10%,以 10~20% 为适宜。用这种浓度差的标准色阶测定物质的含量时,对有经验的人来说,所发生的误差可在 5% 以内。

这种比色法在原理上最为妥善,因为被测物质的溶液不需要符合朗白-贝尔定律。但是,这种方法需要配制大量的标准色阶,而且这些色阶通常也不易保存,所以时间上很不经济。但是,在对同一物质进行大批测定时,这种方法还是很适用的。

(二) 平衡法 平衡法(balancing method)就是改变液层厚度不改变溶液浓度的比色法,须在特殊设计的仪器中进行比色;最常用的仪器是杜氏比色计,故通常又称为杜氏比色法。

杜氏比色计的外形如图 1-1 所示。在图中：1. 具有发光鏡及散热小孔的比色计座；2. 光源；3. 调节光源位置的螺絲；4. 具有齿轮装置的立柱；5. 调节齿轮装置的螺旋；6. 比色杯托；7. 比色杯；8. 玻璃柱；9. 复合稜鏡；10. 观察鏡；11. 标尺；12. 放大鏡；13. 滤光片；14. 消除光线干涉的平板。

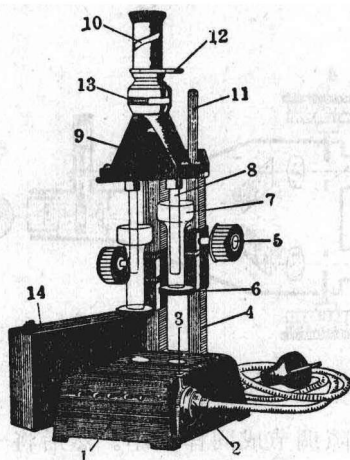


图 1-1 杜氏比色计的外形

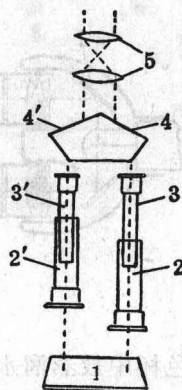


图 1-2 杜氏比色计的构造原理

比色计的內部构造原理如图 1-2 所示。比色计的底部 1 有一反光鏡或电灯用作光源，在它的上部有两个可以取下的玻璃杯 2 和 2'，用以盛装标准溶液和被测液。这两个玻璃杯各放在连有支柱的杯托上，随着升降螺旋的转动使玻璃杯上下移动来调节距离。玻璃杯的上面各有一根固定的玻璃柱 3 和 3'。当玻璃杯向上移动时，玻璃柱就全部浸入到杯內的溶液中，因此液层的高度（即自玻璃柱的底面到玻璃杯底面的距离）可以随意调节。这个距离可从比色计上所附的刻度标尺表示出来。玻璃柱上面有复合稜鏡 4 和 4'。当光线通过杯內液层后，经玻璃柱射入复合稜鏡，在复合稜鏡中发生二次折射作用，而后集中在一轴上，出现在一个视野中，通过透鏡 5 进入观察者眼中。从接目鏡观察时，视野成两个半圆形。由于折射的结果，视野中的左半圆光线来自右杯，而右半圆光线则来自左杯。

操作时，先将反光鏡对光或将电灯开亮，使接目鏡內所看到的左右两半圆视野的亮度相同。如果左右两半圆视野的亮度不同，则应放松调节光源位置的螺旋进行调整，至两半圆视野亮度相同时再行旋紧。然后旋转升降螺旋，将两玻璃杯徐徐向上移动。小心地使杯底和玻璃柱底面相接触。观察刻度标尺上的零点与游标的零点是否重合。如果不重合，就应放松标尺下面的两个螺絲，调节到零点，这就表示玻璃柱底面与杯底间的距离为零，即液层厚度为零。然后旋转升降螺旋，玻璃杯向下移动，取下玻璃杯。

在左杯中装入已知浓度 C 的标准溶液，溶液在杯中的厚度以稍微超过杯高的一半为宜。然后旋转螺旋使玻璃杯徐徐向上移动，固定在 20 刻度处；在此种高度进行比色能得到较准确的结果。再在右杯中装入被测溶液，也徐徐转动升降螺旋，同时观察接目鏡，直到两半圆视野亮度相同为止。从左右两侧标尺所示的液层厚度的读数，便可计算被测溶液的浓度。

除了上述的目视比色法外，还有借调节光源强度以达到颜色一致的方法。最简便的是调节光阑的大小。根据两光阑孔的比例就可以求算被测溶液的浓度。浦夫立许光度计

就是应用这个原理设计的。

浦夫立许光度计是视式比色计中很精密的一种仪器,它的构造如图 1-3 所示。从灯泡来的光线 1,经过比色杯 2 后进入光阑的孔隙 3,光阑附在转盘 4 上;光线再经过稜镜反射穿过滤光片 5,而入目镜 6 中。在目镜的视野中,可看到两个大小相等的半圆由一细线分开。

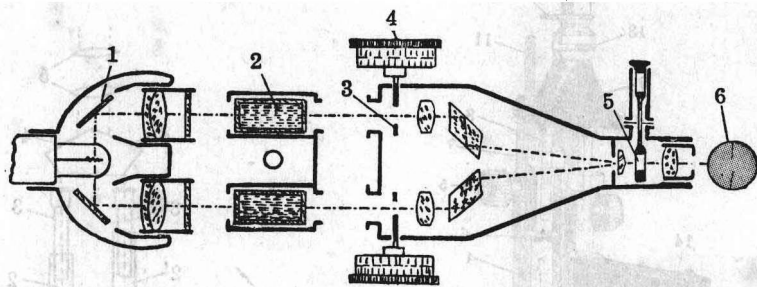


图 1-3 浦夫立许光度计的构造

先在两比色杯中放蒸馏水,把两光阑孔隙调节成同样大小。然后将一个比色杯中蒸馏水换以有色溶液,这时透过这个比色杯的光就比通过另一比色杯的光要弱,视野中两个半圆的深度就不同。这时把盛水的比色杯后面的光阑孔隙减小,以减低两束透射光的强度,直到视野中两半圆的颜色相等为止。因为有色溶液透射光减弱的程度和缩小光阑空隙而使光减弱的程度是一样的,所以有色溶液对光的吸收情况可以由调节光阑的转盘所转动的刻度表示出来。转盘上有二种刻度,一种是透光度,一种是消光。因此,浦夫立许比色计可用

$$E = \epsilon \cdot C \cdot l$$

的关系来测量被测溶液的浓度。先测定一系列已知浓度的标准液的消光值,然后用消光值对浓度作图,得到一标准曲线;再在同样条件下测量未知液的消光值,从曲线上可查得未知液的浓度。亦可根据下式:

$$\frac{E_s}{E_x} = \frac{C_s}{C_x}$$

由标准液与未知液的消光值以及标准液的浓度来求算未知液的浓度。

目视比色法多用白色散射光为光源,在比色时常有杂光干扰,因而影响灵敏度。同时目视比色法又都是用目力观察,容易造成主观误差。为弥补这些缺点,发展了光电比色法。

四、光电比色法

光电比色法(photoelectro Colorimetry)是用光电池和电流计测量溶液的透射光强度并直接表示出百分透光度或消光值的方法。这样就能免除主观误差,因此,光电比色法又称为客观比色法,所用的仪器称为光电比色计(photo-electric Colorimeter),亦称滤光光度计。

光电比色计是用滤光片让一定波段的光透过而将其他波段的光滤去。通过滤光片的

光应该是溶液最易吸收的光；以此光作为光源，通过溶液。一部分光的能量被溶液所吸收，剩余的光能透射而出，再用光电池及电流计等装置测定其强弱。光电比色计的形式是多种多样的，但总括起来可分为单光电池光电比色计及双光电池光电比色计两类，任何光电比色计都包括以下五个构成部件：(1)光源和聚光镜；(2)滤光片；(3)比色杯；(4)光电池；(5)电流计。在叙述光电比色计的类型以前，先讨论一下这五个部件。

(一) 光电比色计的主要部件

1. 光源和聚光镜 最常用的光源是 6~8 伏特的汽车灯灯泡，由蓄电池或市电供给电源。要得到准确的结果，电源的强度一定要保持不变，特别是在使用单光电池光电比色计时更属重要。要光源的强度不变，必须保持电源的电压不变。因此，在质量较好的光电比色计中，除了装有变压器外，还要有稳压装置。为了调节光源的照明度以适应各种溶液的比色需要，往往在电源与灯泡的电路中装有可以改变灯用电压的电阻，或在光路中装有可以调节光量的光阑或光隙。

为了使通过溶液的光线变为平行光，光电比色计中都装有聚光透镜。

2. 滤光片 滤光片(light filters)是一些有色玻片或胶片，以玻片较为常用。滤光片的作用是获得单色光，因为单色光光源是朗白-贝尔定律成立的条件之一。实际上，通过滤光片的光并不是真正的单色光，而是具有一定波段范围的光波带。滤光片上标明的数字是表示透光度最大的波长(如 550，表示最大透光度是在 550 毫微米的波长处)。滤光片透过的光波带愈窄愈好，因为光波带愈是狭窄就愈接近于单色光。在日常的比色分析中，也并不需要真正的单色光，因为物质的最大吸收是有一定的波段范围的，用具有一定波段的光源已能满足比色的条件；通常所用的滤光片，已能选择透过某一波段的光而除去其他的杂光。滤光片的颜色和最易透过滤光片的波段如表 1-1 所示。

表 1-1 滤光片的选择

波 长 mμ	滤光片的颜色	溶液的颜色	波 长 mμ	滤光片的颜色	溶液的颜色
400~435	青 紫	绿色带黄	560~580	绿色带黄	青 紫
435~480	紫 蓝	深 黄	580~595	深 黄	紫 蓝
480~490	蓝色带绿	桔 红	595~610	桔 红	蓝色带绿
490~500	绿色带蓝	深 红	610~750	深 红	绿色带蓝
500~560	暗 绿	深 紫			

选择合适的滤光片，可以增加比色分析的准确度。选择滤光片的原则是：滤光片的颜色应该是溶液最易吸收的光的颜色；也就是说，最易透过滤光片的光波应该是溶液最易吸收(透光度最小)的光波，即滤光片的颜色应该是溶液的补色。表 1-1 可作为选择滤光片的参考。

滤光片的好坏，可由其最大透光度值及其值的一半(图 1-4)之间的波段范围 4λ 来鉴定。显然，这一范围越广，滤光片的性能越差，一般在 30~100mμ 之间。为了使透过的波段较窄，可采取两块或更多的滤光片合并起来使用(叫做复合滤光片)以除去较长或较短的波长光(见图 1-5)。

例如，某溶液最易吸收的光的波长为 λ' ，若无合适的滤光片，而滤光片 1 最易透过的

光的波长为 λ_1 ，它比 λ' 短；滤光片 2 最易透过的光的波长为 λ_2 ，比 λ' 长，就可将滤光片 1 和 2 合并使用，使透过复合滤光片后的光以波长为 λ' 的为最多。

合适的滤光片，往往要通过实验来选择。通常最方便的方法是用不同的滤光片作溶液的消光-浓度关系线，关系线中斜率 $\left(\frac{\Delta E}{\Delta C}\right)$ 最大的一个是最合适的滤光片。

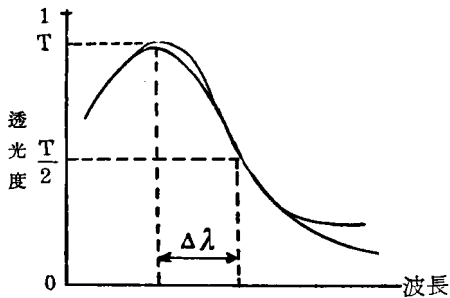


图 1-4 最大透光度及其半值间的波段范围

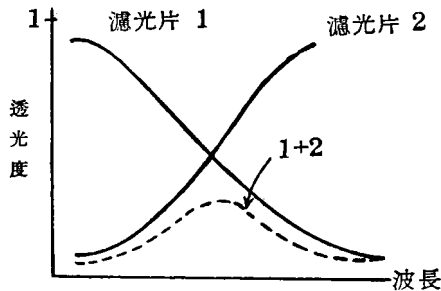


图 1-5 复合滤光片透光示意图

3. 比色杯 比色杯(或称吸收池)是盛比色溶液用的容器。它的厚度应该一定,且能通过所有光线,因此要用无色的、有很好透明度的、厚薄完全一致的并对化学试剂有一定抵抗性的玻璃做成。比色杯有长方形及圆柱形两种。在光电比色计中常备有厚度不同的几套比色杯,以适应多种情况的需要。比色杯的内外必须非常洁净,如不洁净,可浸于适当的溶剂中浸洗,但不可用毛刷刷洗,以防磨损。

4. 光电池 光电池是光电比色计的重要部件。光电比色计中所用的光电池大多为阻挡层光电池。

最常用的阻挡层光电池是硒光电池,其构造如图 1-6 所示。将厚薄约 0.1 毫米的半导体硒沉积在金属铁的表面,硒的表面有一薄层透明的金属(如金、铂等)。在硒与透明的金属层之间形成了所谓阻挡层。当光照射时,电子可以自由地由硒层至金属层,但由金属至硒层则遭到阻挡层很大的阻力,以致硒层放出的电子聚集于金属,使金属与铁之间产生电位差。金属层为负极,铁为正极,如果在光电池的外部连成通路,则产生电流。

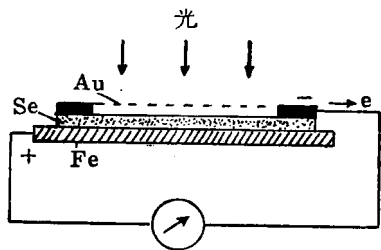


图 1-6 硒光电池

阻挡层光电池能感应的光波由 X 射线起一直至 1200 毫微米为止,其中对可见光的灵敏性最高。在 1 流明光的照射下,可产生电流 120 微安左右。它的内阻低,所产生的光电流不适于放大,但是它的灵敏度高,所以无需放大即可用电流计测量。在外电阻不高(100 Ω 左右)及光的强度不太大时,光电流的大小与光的强度成正比。

阻挡层光电池有较大的温度系数,并有“疲劳”现象(即在光的长期照射下,光电流逐渐减小)。如果发现光电池有“疲劳”现象,应将其置于黑暗处,使其恢复原有的灵敏度。阻挡层光电池应避免强光的直接照射;在使用比色计时,若没有安妥滤光片,就不要开亮光源,否则会缩短光电池的有效时间。阻挡层光电池切忌受潮;在受潮后光电比色计的灵