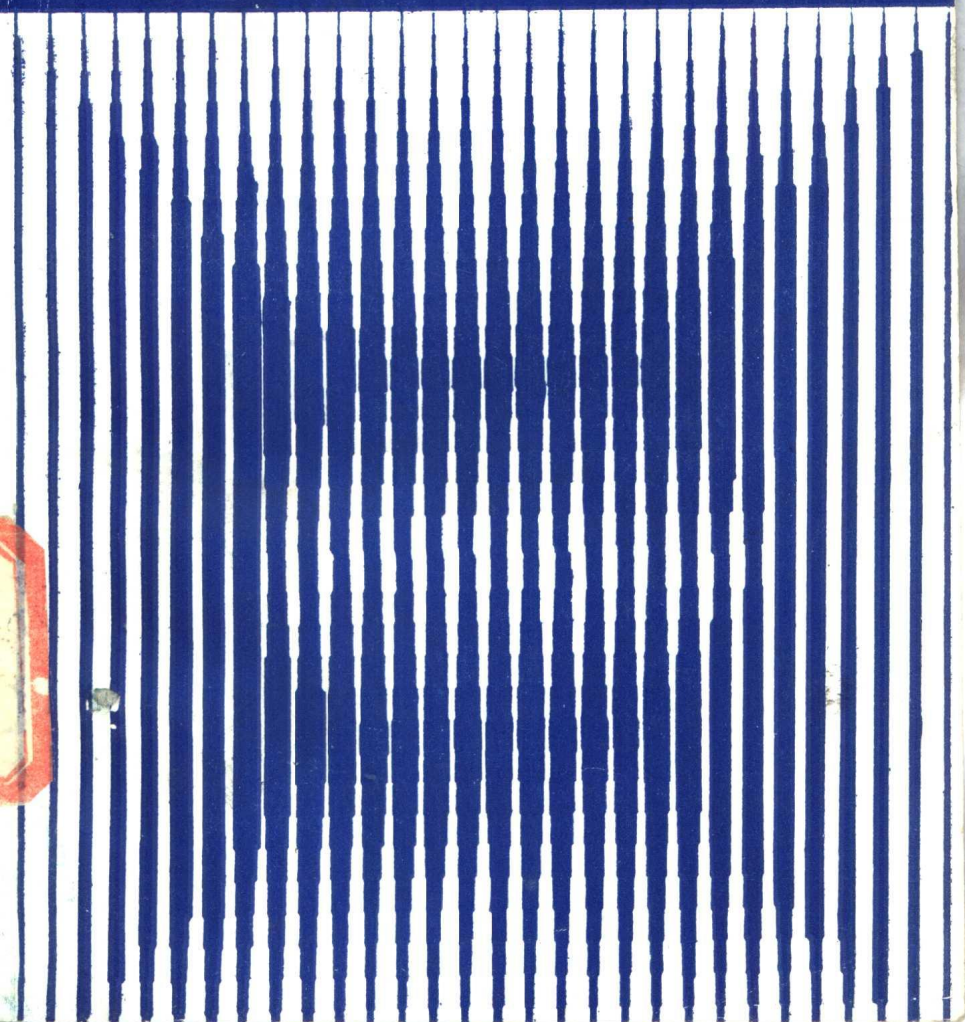


吸光度法的发展及其应用

冯胜 著

●广东科技出版社



吸光光度法的发展及其应用

冯 胜

广东科技出版社

吸光光度法的发展及其应用

Xiguang Guangdu Fa De Fazhan ji qi yingyong

冯 胜

•

广东科技出版社出版发行

广东省新华书店经销

韶关新华印刷厂印刷

787×1092毫米 32开本 9印张 1插页 180,000字

1990年4月第1版 1990年4月第1次印刷

印数1—1,260册

ISBN 7—5359—0488—2

O·25 定价3.20元

内 容 简 介

吸光光度法是仪器分析中应用最广泛的一种方法，近年来又有许多新的进展。

本书从物理和化学的角度，系统地阐述一般的和新发展的各种吸光光度法的原理、测定方法和应用技术。对于光吸收的本质、分子光谱及其与化合物结构的关系、有机试剂及其金属络合物的生色理论、光的吸收定律、吸光光度法的灵敏度及其提高的方法，以及对双波长光度法、导数光度法、离子交换光度法、流动注射光度法、动力催化光度法、差示光度法的基本原理、测定方法、仪器设备和应用均作了较详细的介绍，而且全面地综述用光度法测定络合物的组成和不稳定常数的各种方法。

本书对于从事化学、化工、物理、生物、医学、农林、食品、环保、冶金、地质等专业技术工作者、化验人员以及大专院校有关专业师生均有一定的参考价值和实用意义。

前 言

吸光光度法因具有灵敏度高、准确性好、简便快速、仪器价廉等突出的优点而有着广泛的用途。几乎所有的无机离子和有机化合物，都可以直接或间接用吸光光度法进行测定。在分析化学领域，国内外从事光度分析工作的人数很多，在实际生产和科研中，用光度法完成任务也很多。这都充分地说明吸光光度法是一种富有生命力的测试方法。近年来光度法又有了很大的发展，各种各样新的吸光光度法相继出现。

本书从物理和化学的角度，系统而深入地阐述了一般的和新发展的各种吸光光度法的原理、测定方法和应用技术。对于光吸收的本质、分子光谱及其与化合物结构的关系、有机试剂及其金属络合物的生色理论、光吸收定律、吸光光度法的灵敏度及其提高的方法，以及对双波长光度法、导数光度法、离子交换光度法、流动注射光度法、动力催化光度法、差示光度法的基本原理、测定方法、所用仪器设备和实际应用，均作了较详细的介绍，而且全面地综述了国内外用光度法测定络合物的组成和不稳定常数的各种方法。

本书对于从事化学、化工、物理、生物、医学、农林、食品、环保、冶金、地质等工作的广大科技工作者、化验人员和大专院校有关专业的师生均有一定的参

考价值和实用意义。

本书在编写过程中曾得到多方面的帮助。华南理工大学宋清教授、暨南大学周端赐教授、广东省地质科学研究所陈达仁高级工程师、广州有色金属研究院秦光荣高级工程师分别审阅了初稿并提出了许多宝贵的意见。广东地质研究所利炳芳工程师、广东工学院陈保华老师、罗杰斯同志以及广东工学院领导和许多老师，对本书的编写工作，都曾给予大力支持。在这里，作者仅向上述同志表示由衷的感谢！

限于本人水平，书中难免有缺点和错误，恳切希望广大读者批评指正。

编著者

一九八七年于广州

目 录

绪论	1
§ 1 吸光光度法	1
§ 2 吸光光度法发展简史	3
第一章 光吸收的本质	8
§ 1-1 电磁辐射及其与物质的相互作用	8
一、电磁辐射的性质	8
二、电磁波谱	12
§ 1-2 分子光谱	14
一、分子的内部运动和分子光谱	14
二、分子转动光谱	14
三、分子振动光谱	17
四、电子光谱	19
§ 1-3 有机试剂及其金属络合物的生色理论	20
一、有机试剂的颜色与分子结构	20
二、金属络合物的生色理论	27
第二章 光的吸收定律	33
§ 2-1 朗伯-比尔定律	33
一、朗伯定律	34
二、比尔定律	35
三、朗伯-比尔定律	36

四、偏离朗伯-比尔定律的原因	36
§ 2-2 灵敏度和提高灵敏度的方法	41
一、灵敏度及其表示方法	41
二、提高有机试剂与无机离子反应灵敏度的方法	50
第三章 双波长吸光光度法	57
§ 3-1 概述	57
§ 3-2 双波长吸光光度法的基本原理	59
一、双波长吸光光度法原理	59
二、三波长吸光光度法原理	62
三、双波长吸光光度法的灵敏度	64
四、双波长吸光光度法的准确度	68
五、双波长吸光光度法的精密度的	69
§ 3-3 双波长吸光光度法的测定方法	70
一、单组分的测定方法	70
二、双组份分别定量的方法	71
§ 3-4 双波长吸光光度法的应用	78
一、有色络合物组成的测定	78
二、在无机分析中的应用	79
三、在生物试样和有机分析中的应用	82
第四章 导数吸光光度法	87
§ 4-1 概述	87
§ 4-2 导数吸光光度法的原理和特点	88
一、导数吸光光度法的原理	88
二、导数吸光光度法的特点	90
§ 4-3 导数光谱的测定方法	94
一、导数曲线的波型特征	94
二、微分光谱的测定方法	94
§ 4-4 导数光谱的获得	96
一、双波长吸光光度法	96

二、固定狭缝法	97
三、波长调制法	98
四、电子微分法	99
五、位移记忆法	100
六、数值微分法	100
§ 4-5 导数吸光光度法的应用	101
一、痕量分析	101
二、浑浊、悬浮和乳浊液分析	102
三、多组份同时测定	102
四、异构物分析	102
五、蛋白质和氨基酸分析	103
六、其他	103
第五章 离子交换吸光光度法	105
§ 5-1 概述	105
一、离子交换光度法	105
二、离子交换剂	106
§ 5-2 离子交换的亲力和动力学	107
一、离子交换的亲合力	107
二、离子交换动力学	109
§ 5-3 离子交换光度法原理	111
一、树脂相显色的方法	111
二、树脂相吸光度的测量	112
三、离子交换光度法的灵敏度	113
四、离子交换光度法的影响因素	115
§ 5-4 离子交换光度法的应用	118
第六章 流动注射光度法	121
§ 6-1 概述	121
§ 6-2 流动注射光度法原理	122
一、扩散与对流的影响	122

二、分散度	123
§ 6-3 流动注射光度法的实验技术	126
一、实验设备	126
二、实验技术	128
§ 6-4 流动注射光度法的应用	132
第七章 动力催化光度法	135
§ 7-1 概述	135
一、动力催化光度法	135
二、动力学基础知识	137
§ 7-2 动力催化光度法原理	141
一、催化显色反应	141
二、催化退色反应	146
§ 7-3 催化方法	149
一、催化机理	149
二、氧化还原反应法	151
三、非氧化还原反应法	154
四、酶反应	155
五、非催化方法	155
六、诱导方法	157
§ 7-4 动力催化光度法的应用	158
第八章 差示吸光光度法	164
§ 8-1 概述	164
§ 8-2 差示吸光光度法原理	166
一、差示吸光光度法基本原理	166
二、差示光度法提高精确度和重现性的原因	167
§ 8-3 差示吸光光度法的测量误差	169
一、误差函数式的推导	169
二、误差函数式的物理意义	170
三、误差函数曲线图	171

§ 8-4 全差示吸光光度法	173
一、全差示吸光光度法	173
二、全差示光度法标尺放大的原理	174
三、全差示光度法的朗伯-比尔定律公式	176
§ 8-5 偏离比尔定律的差示光度法	177
一、改善偏离比尔定律的措施	177
二、误差函数	179
三、最佳参比液浓度的选择	181
§ 8-6 差示吸光光度法的应用	183
第九章 络合物组成的测定	186
§ 9-1 平衡移动法	186
§ 9-2 连续变化法	191
§ 9-3 摩尔比法	196
§ 9-4 限定对数法	199
§ 9-5 斜率比法	202
§ 9-6 直线法	204
§ 9-7 三元相图法	209
§ 9-8 曲线交叉法	212
§ 9-9 Jimenez Sanchez法	215
第十章 吸光光度法的其他应用	224
§ 10-1 混合物的分析	224
一、混合物组份的吸收带相互重叠而能遵守比尔定律	224
二、混合物组份的吸收带相互重叠而不遵守比尔定律	225
§ 10-2 络合物不稳定常数的测定	229
一、平衡移动法	229
二、连续变化法	230
三、根据络合物的浓度求 K 不	233
四、Carcia-Vargas法	235

五、Тармаева法	236
六、McConnell 法	238
七、摩尔比法	240
八、Frank法	241
九、何锡文-Poe法	242
十、稀释法	244
十一、求多元络合物的离解度	247
十二、对应溶液法	249
十三、等色点卡隆函数法	253
§ 10-3 络合反应中质子释放数的测定	257
一、平衡移动法	258
二、Конькова法	259
三、Назаренко法	260
四、Ганаго法	261
§ 10-4 弱酸性有机试剂离解常数与质子化常数的测定	263
一、Комарь法	263
二、洪水皆法	263
三、Perisic-Janjic法	264
四、等色点法	265
五、质子化常数的测定	269
§ 10-5 萃取光度法中溶剂分子数的测定	270
一、基本原理	271
二、测定方法	271
参考文献	273

绪 论

§ 1 吸光光度法

吸光光度法是根据物质对光辐射的吸收来进行分析的一种方法，它包括比色法和分光光度法。前者是以比较有色溶液颜色深浅来测定其中有色物质的含量；后者是通过欲测溶液对不同光辐射的选择性吸收而测定其中有色物质的含量（包括紫外、可见、红外光谱法）。由于在水溶液或有机溶剂中具有吸光作用的物质是分子或离子，很少是原子，因此有人称吸光光度法为溶液吸光光度法或分子(离子)光度法。

吸光光度法有许多特点。

1. 灵敏度高

它测定物质的浓度下限(最低浓度)一般可达 $10^{-5} \sim 10^{-6}$ M，相当于含量0.001~0.0001%的微量组份。如将组份事先富集，灵敏度还可以提高1~2个数量级。其中导数光度法、离子交换光度法和动力催化光度法等灵敏度更高。

2. 准确度高

吸光光度法的相对误差一般为2~5%，精密光度法可达0.2%。对于微量成分来说，2~5%的相对误差是很不错的。对于高含量来说，0.2%的误差已达到容量法测定的误差了。光度分析的测量信号(吸光度)与物质浓度间具有明

确的数学关系(服从朗伯-比尔定律),因此其精确度一般高于其他仪器分析。

3. 仪器设备简单、操作简便、测定速度快

吸光光度法所用的仪器设备不复杂,价格便宜,一般基层实验室都可以购置。进行测定时,将试样处理成溶液后,一般只需经历显色和比色两个步骤即可得到分析结果,操作简便快捷。如采用灵敏度高、选择性好的显色剂和掩蔽剂,一般不经分离即可直接进行测定,几分钟内即可得出结果。用快速比色分析甚至可在几十秒钟内得出结果。用流动注射光度法每小时可得出1200次结果。

4. 应用广泛

几乎所有的无机离子和有机化合物都可以直接或间接用吸光光度法进行测定。目前在生产和科学研究中,广泛地应用吸光光度法作为常规的分析方法。例如,对于矿物、合金、各种工农业原料和成品的微量成分的分析,在医药、合成橡胶、人造纤维、石油、化工以及环境保护中的废气、废渣、废水等有机物、无机物的定性和定量分析,均广泛地使用吸光光度法。在化学和各学科的研究工作中,吸光光度法一直是十分重要的手段。各种无机物和有机物的组成、结构的研究,各种化学、物理、物理化学常数的测定,各种反应的作用机理的确定,都普遍地采用吸光光度法。

吸光光度法在分析化学中一直占据十分重要的地位。据1967年的统计表明,全世界发表有关光度分析(以下简称光度法)论文,约占全世界分析化学论文总数的35~40%,1977年占25%左右。据不完全统计,我国1960年到1980年公开发表光度法文章600篇以上,约占发表的分析化学论文总数的40~45%,近七年来,其比例仍保持25~30%。在化学分析领

域，我国实际从事光度分析工作的人数，远比其他各种分析方法的人数多，用光度法完成的分析任务也远远超过其他分析方法，这都充分地说明了光度分析的重要性。近年来，由于各种新型仪器分析方法的建立和推广，特别是原子吸收光谱分析的发展，光度分析有了竞争对象。尽管如此，其他仪器分析包括原子吸收光谱分析，仍无法与吸光光度分析相比拟。原子吸收光谱法的设备比较复杂，价格昂贵，对于某些元素仍很难发挥其特长，在一些复杂物质分析中，某些元素的干扰影响很难清除。而光度法以其灵敏、准确、快速、简便、仪器价廉等突出的优点，在常规分析中占着十分重要的地位。

§ 2 吸光光度法发展简史

追溯到远古时代，人们就试图利用物质的颜色进行定量分析。我国古代就有关于金成色“七青八黄九紫十赤”的谚语。据文字记载，公元60年，古希腊普里尼(Pliny)曾用五倍子浸液估计醋中铁的含量。但比色法作为一种比较普遍存在的分析方法，大约开始于19世纪30、40年代，主要是利用一些金属离子本身颜色和一些无机显色剂，如以氨使 Cu^{2+} (1831年)及 Co^{2+} (1838年)显色，以硫氰酸盐测定铁(1837年)，以黄血盐测定铁(1841年)，以 MnO_4^- 形式测定锰(1845年)等。当时也曾用过一些有机显色剂，如利用天然染料茜素与铁、锡、铝、铬的含水氧化物生成深颜色的沉淀。虽然当时比色分析的方法不多，灵敏度也不高，但其测定方法的简便、快速引起人们很大兴趣。

迄今为止，人们总是从两方面对吸光光度法进行不断的

研究。一方面是寻求更多、更理想的显色反应，深入研究显色反应机理及其规律，以及总结物质分子结构与其吸光光谱间的相互关系；另一方面是不断改进量度电磁辐射强度的方法，使测量仪器日益灵敏、精确、有效、多功能，自动化程度逐步提高以扩大对电磁波的利用范围。

1729年法国布古厄(Pierre Bouguer)以蜡烛为光源，以玻璃为吸收层的试验表明：一束单色光通过一块玻璃片时，被吸收的份数与光线的强度无关；当光路中玻璃吸光片的层数以算术级数增加时，则光的强度以几何级数减弱。1760年德国朗伯(Johann Heinrich Lambert)指出，如果一束单色光通过某吸收层，(他用的是玻璃片)，则透光率的负对数与吸收层的厚度成正比。他还指出，一束光经过一个吸收层，如果被捕获的光量越大，那么就表明在光路中的捕光质点数目越多，或每个捕光质点的表面积越大。1852年著名德国科学家比尔(A·Beer)研究各种无机盐水溶液对红光的吸收，根据光度测量得出的结论是：光的吸收和光所遇到的吸收分子的数目有关，如吸收物质溶于非吸收的溶液中，则吸光度和吸收物质的浓度成正比，也就是说，溶液浓度起着液层厚度相似的作用。这就是众所周知的比尔定律，它奠定了吸光光度法的理论基础。

能起显色反应的试剂叫做显色剂。最初人们只是利用无机显色剂或天然染料类的有机显色剂，其灵敏度和选择性往往不够理想。而有机合成显色剂由于高选择性高灵敏度且能随人意合成及改造，故不断得到迅速发展，直至今天仍是光度分析发展和研究的重要方向。19世纪50年代，以煤焦工业为基础兴起了人工合成染料工业，使有机试剂的合成有了巨大的发展。例如，1847年人工合成了 α -亚硝基 β -萘酚，1866

年合成了过去价格昂贵的甲基紫、甲基绿，1870年合成了茜素，1888年合成了四羟基蒽醌，这些都是著名的有机显色剂，对推动当时的光度分析起了一定的作用。至今各种新的有机显色剂不断出现，用于光度分析上的不下千种。随着各种特效有机显色剂的应用，大大提高了显色反应的灵敏度和选择性，促使光度分析得到了突飞猛进的发展。

人们在广泛研究有机物质吸收光谱的基础上，开始探索吸收光谱与有机物结构之间的关系。1868年俄国布特列洛夫和德国格雷贝(Carl Graebe)，都注意到有机化合物的不饱和性和发色有密切关系。格雷贝指出：“有机化合物的发色是由于某种程度的不饱和性”。他发现凡是在饱和碳氢化合物中引入一个含双键的原子基团，它便能使该化合物在 $2000\sim 10000\text{ \AA}$ 波长的光谱区内产生吸收带。1879年德国维特(Otto Nicolaus Witt)提出了关于有机化合物中的发色团和助色团的观点，认为一个化合物的吸收光谱不是整个分子的特征，而仅仅是分子中某一基团的特征。例如简单的酮类都有一个吸收峰在 $2700\sim 3000\text{ \AA}$ 之间，所有酮类化合物的吸收曲线形状相似，不过随着所属化合物分子量的递增，吸收峰朝着长波方向移动，其吸收强度也随之增加。

最初的比色测定是在比色管中进行比较操作的。1853年缪勒(A. Müller)利用不同光线互补的原理，制造了一种仪器，可以得到比一般目视比色更准确的结果，并利用这种仪器研究了硫氰酸铁、铬酸盐及铜氨体系。1863年德姆(F. Dehm)利用目视比色中平衡的原理，制造了一种新型比色计，对铜进行测定。1870年杜包斯克(Jules Duboscq)参考了缪勒的设计，制成了著名的“杜包斯克比色计”。1873年维洛尔特(Carl Vierordt)根据朗伯-比尔定律，制造了最