

紫外可见分光光度法模块之 分析测试条件的选择

教学任务

- 能根据知识，合理选择显色条件和测量条件

教学方法

- 讲练结合法

学时

- 以 20 人为学习组，一人一台仪器，一单元需 6 学时

教学设计

针对水中微量铁的测定，提出问题



教师引导，学生讨论拟定显色条件和测量条件选择的实验步骤



学生完成实验，绘制 A-λ 曲线、A-C_R 曲线和 A-pH 曲线



教师引导，学生归纳总结显色条件和测量条件选择的方法



教师讲解影响测定误差的因素



课外思考，为下次课做准备

课程引入

- 问题：请同学们回答工作曲线法测定水中微量铁的具体实验条件？
- 工作波长 510nm，1mL100 g · L⁻¹ 盐酸羟胺溶液，2ml1.5 g · L⁻¹ 邻二氮菲溶液，5mL 醋酸钠（1.0 mol.L⁻¹）溶液，采用不加铁标液的试剂参比作为参比溶液。

教师分别在显色条件和测量条件两方面，引导学生讨论拟订实验步骤

学生设计实验，对分析条件进行选择

1、绘制光吸收曲线，确定工作波长

取两个 50mL 干净比色管；移取 10.00 μ g mL⁻¹ 铁标准溶液 5.00mL 于其中一个 50mL 容量瓶中，然后在两比色管中各加入 1mL100 g L⁻¹ 盐酸羟胺溶液，摇匀。放置 2min 后，各加

入 $2\text{mL} 1.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻二氮菲溶液， 5mL 醋酸钠 ($1.0\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液，用蒸馏水稀至刻线摇匀。用 2cm 吸收池，以试剂空白为参比，在 $440\sim 540\text{nm}$ 间，每隔 10nm 测量一次吸光度。在峰值附近每间隔 5nm 测量一次。以波长为横坐标，吸光度为纵坐标确定最大吸收波长 λ_{max} 。

2、显色剂用量的选择

取 6 只洁净的 50mL 容量瓶，各加入 $10.00\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 铁标准溶液 5.00mL ， $1\text{mL} 100\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸羟胺溶液，摇匀。分别加入 0 、 0.5 、 1.0 、 2.0 、 3.0 、 $4.0\text{mL} 1.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻二氮菲， 5mL 醋酸钠溶液，用蒸馏水稀至标线，摇匀。用 2cm 吸收池，以试剂空白溶液为参比溶液，在选定的波长下测定吸光度。

3、溶液酸度的选择

在 6 只洁净的 50mL 容量瓶中各加入 $10.00\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 铁标准溶液 5.00mL ， $1\text{mL} 100\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸羟胺溶液，摇匀。再分别加入 $2\text{mL} 1.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻二氮菲溶液，摇匀。用吸量管分别加入 $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 溶液 0.0 、 0.5 、 1.0 、 1.5 、 2.0 、 2.5mL ，用蒸馏水稀释至标线，摇匀。用精密 pH 试纸（或酸度计）测定各溶液的 pH 值后，用 2cm 吸收池，以试剂空白为参比溶液，在选定波长下，测定各溶液吸光度。

学生绘制 A- λ 曲线、A-C_R 曲线和 A-pH 曲线

教师引导，学生归纳总结显色条件和测量条件选择的方法

显色剂用量

配制一系列被测元素浓度相同不同显色剂用量的溶液，分别测其吸光度，作 A-C_R 曲线，找出曲线平台部分，选择一合适用量即可。**溶液酸度**

选择合适的酸度，可以在不同 pH 值缓冲溶液中，加入等量的被测离子和显色剂，测其吸光度，作 A-pH 曲线，由曲线上选择合适的 pH 范围。

稳定性绘制 A 对 t 的曲线，选择吸光度平坦的部分确定最佳的显色时间。**显色温度、溶剂选择**

大多数显色反应是在常温下进行的，有些反应必须在较高温度下。绘制工作曲线和进行样品测定时应该使溶液温度保持一致。有机溶剂常常可以降低有色物质的离解度，增加有色物质的溶解，从而提高了测定的灵敏度。**入射光波长**一般情况下，应选择被测物质的最大吸收波长的光为入射光。干扰物质存在时，依据“吸收最大，干扰最小”。

选择方法：绘制光的吸收曲线确定最佳波长。

干扰消除

干扰的消除：酸度、氧化剂、掩蔽剂、入射波长、参比溶液**参比溶液**

参比溶液的选择：溶剂参比、试剂参比、试液参比、褪色参比。

吸光度范围

吸光度测量范围的选择测定结果误差常用浓度的相对误差 $\Delta c/c$ 表示。由于透射比 τ 与浓度之间为负对数关系,故同样透射比读数误差 $\Delta \tau$ 在不同透射比处所造成的 $\Delta c/c$ 是不同的,那么 τ 为多少时 $\Delta c/c$ 最小?

根据朗伯—比尔定律,则 $-\lg \tau = \epsilon bc$

将上式微分后,经整理可得:

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{0.0434}{\tau \cdot \lg \tau} \cdot \Delta \tau$$

令上式的导数为零,可求出当 $\tau = 0.368 (A = 0.434)$ 时, $\Delta c/c$ 最小($\frac{\Delta c}{c} = 1.4\%$)。测量吸光度过高或过低,误差都很大,一般适宜的吸光度范围是0.2~0.8。实际工作中,可以通过调节被测溶液的浓度(如改变取样量,改变显色后溶液总体积等)、使用厚度不同的吸收池来调整待测溶液吸光度,使其在适宜的吸光度范围内。

教师讲解测定误差的影响因素

一种分析方法的准确度,往往受多方面的因素影响,对于分光光度法来说也不例外。影响分析结果准确度的因素主要是溶液因素误差和仪器因素误差二方面。

溶液因素误差

溶液因素误差主要是指溶液中有关化学方面的原因,它包含如下两方面:

- (1) 待测物质本身的因素引起误差
- (2) 溶液中其他因素引起误差

仪器因素误差

仪器误差是指由使用分光光度计所引入的误差。它包括如下几方面:

- (1) 仪器的非理想性引起的误差。
- (2) 仪器噪声的影响。
- (3) 吸收池引起的误差。

拓展：

采用单因素变化进行实验研究，是一种不同于正交实验的研究方法。在科学研究中广泛使用。希望同学们课后查阅有关如何设计正交实验方案。

课后思考：

这两次实训内容主要训练了采用可见分光光度计，通过工作曲线法测定水中微量铁。那么对于那些在可见区没有吸收，仅在紫外区产生吸收的物质如何设计方案进行测定？