

第5章 紫外可见吸收光谱法

教学时数：4 学时

教学要求：

1. 理解紫外-可见吸收光谱的产生；
2. 较为系统、深入地掌握各种电子跃迁所产生的吸收带及其特征、应用；
3. 紫外吸收光谱与分子结构的关系（无机化合物的电子跃迁类型及紫外可见吸收光谱；有机化合物的电子跃迁类型及紫外可见吸收光谱）；
4. 紫外-可见分光光度计(结构与主要部件;仪器类型;单光束、双光束、双波长分光光度计)；
5. 紫外-可见分子吸收光谱的特点与应用（有机化合物的鉴定；定量分析方法）；
6. 熟练掌握吸收定律的应用。

教学重点和难点：

1. 物质对光的选择性吸收。吸收光谱与分子结构的关系。
2. 朗伯一比耳定律。摩尔吸光系数。
3. 紫外—可见吸收光度计仪器的基本部件及其作用(光源、单色器、吸收池、检测器)。单光束分光光度计、双光束分光光度计、双波长分光光度计的结构和特点。
4. 紫外—可见吸收光谱法的应用：有机物的定性分析。定量分析

紫外-可见分光光度法是基于分子外层价电子跃迁产生的吸收光谱进行分析的一种常用的光谱分析方法。它广泛用于无机和有机物质的定性和定量分析。

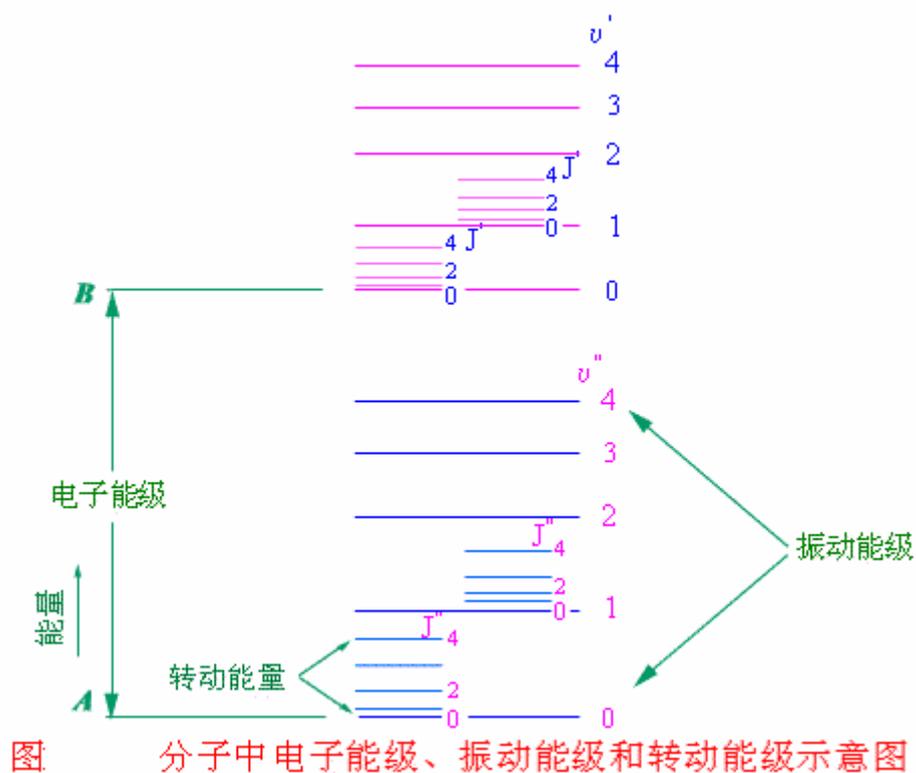
5-1 分子吸收光谱

一、分子吸收光谱的产生

分子，甚至是最简单的双原子分子的光谱，要比原子光谱复杂得多。这是由于在分子中，除了电子相对于原子核的运动外，还有组成分子的原子核之间相对位移引起的分子振动和转动。分子中的电子处于相对于核的不同运动状态就有不同的能量，处于不同的转动运动状态代表不同的能级，即有电子能级、振动能级和转动能级。分子总的能量可以认为是这三种运动能量之和。即

$$E = E_e + E_v + E_r$$

式中 E_e 为电子能量， E_v 为振动能量， E_r 转动能量。图 13.1 是双原子分子的能级示意图，图中A、B表示不同能量的两个电子能级，在每个电子能级中还分布着若干振动能量不同的振动能级，它们的振动量子数 $v=0、1、2、3、\dots$ 表示，而在同一电子能级和同一电子能级和同一振动能级中，还分布着若干能量不同的转动能量，它们的转动量子数 $J=0、1、2、3、\dots$ 表示。



当分子吸收外界的辐射能量时，会发生运动状态的变化，亦即发生能级的跃迁，其

中含电子能级、振动能量和转动能量的跃迁。所以整个分子能量的变化 ΔE 同样包含着电子能级的变化 ΔE_e ，振动能级的变化 ΔE_v 和转动能级的变化 ΔE_J ：

$$\Delta E = \Delta E_e + \Delta E_v + \Delta E_J$$

当有一频率 ν ，即辐射能量为 $h\nu$ (h 为普朗克常数 $h = 6.62 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$) 的电磁辐射照射分子时，如果辐射能量 $h\nu$ 恰好等于该分子较高能量与较低能量的能量差 时，即有：

$$\Delta E = h\nu$$

分子就吸收了该电磁辐射，发生能级的跃迁。若用一连续波的电磁辐射以波长大小顺序分别照射分子，并记录物质分子对辐射吸收程度随辐射波长变化的关系曲线，这就是分子吸收曲线，通常叫分子吸收光谱。

二、分子吸收光谱的分类

由于三种能级跃迁所需要的能量不同，所以需要不同的波长范围的电磁辐射使其跃迁，即在不同的光学区域产生吸收光谱。相应地将分子吸收光谱分为三类：远红外光谱、红外光谱和紫外—可见吸收光谱。

转动能级间的能量差 ΔE_r 约为：0.005~0.05eV。根据 $\lambda = hc/\Delta E$ ，可计算出产生转动能级跃迁需要吸收的光谱位于远红外区（250 ~ 25 m），称远红外光谱或分子转动光谱。

分子振动能级间的能量差 ΔE_v 约为：0.05~1eV。根据 $\lambda = hc/\Delta E$ ，可计算出，振动能级跃迁产生的吸收光谱位于红外区(25~1.25 μm)，称红外光谱或分子振动光谱。

振动能级跃迁时不可避免地会产生转动能级间的跃迁。即振动光谱中总包含有转动能级间跃迁，因而产生光谱也叫振动-转动光谱。

分子电子能级的能量差 ΔE_e : $1\sim 20\text{eV}$ 。根据 $\lambda=hc/\Delta E$, 可计算出, 电子跃迁产生的吸收光谱主要位于紫外—可见光区($1.25\sim 0.06\mu\text{m}$), 称紫外—可见光谱或分子的电子光谱。

电子能级跃迁时不可避免地会产生振动和转动能级间的跃迁。即电子光谱中总包含有振动能级和转动能级间跃迁, 因而产生的谱线呈现宽谱带。紫外—可见光谱实际上是电子-振动-转动光谱。

三、 分子吸收光谱的形状

分子振动能级跃迁的能量变化 ΔE_v 大约比 ΔE_e 小 10 倍, 一般在 $0.05\sim 1\text{eV}$ 之间, 在电子能级跃迁时, 必然伴随着分子振动能级的

跃迁; 分子转动能级跃迁的能量变化 ΔE_J ; 大

约比 ΔE_v 小 10 至 100 倍, 在分子的电子能级跃

迁和振动能级跃迁时, 必然伴随着转动能级的跃迁, 如图 13.2 所示, 能级跃迁可以从电子能

级 A 的 $V=0, J=0$ 跃迁至电子能级 B 的 $V=0,$

$J=1$ 或 $V=1, J=2$, 也可以由 A 能级的 $V=1, J=1$

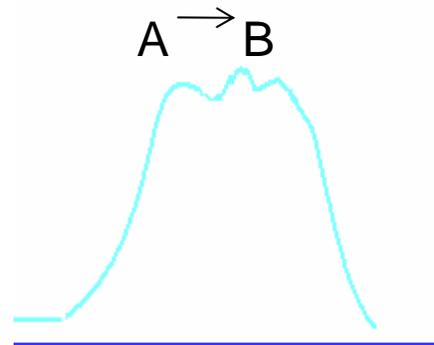
跃迁到 B 能级的 $V=0, J=2$ 或 $V=2, J=3$, 等等, 亦即在一个电子能级跃迁中可以包含

着许许多多的振动能级和转动能级的跃迁。因为 ΔE_v 比 ΔE_e 小约 10 倍, 所以振动能级跃

迁所吸收的电磁辐射的波长间距仅为电子跃迁的 $1/16$, 而 ΔE_J 又比 ΔE_v 小约 $10\sim 100$ 倍,

所以转动能级跃迁所吸收的电磁辐射的波长间距仅为电子跃迁的 $1/100$ 至 $1/1000$, 如

此小的波长间距, 使分子的紫外—可见光谱在宏观上呈现带状, 称为带状光谱。



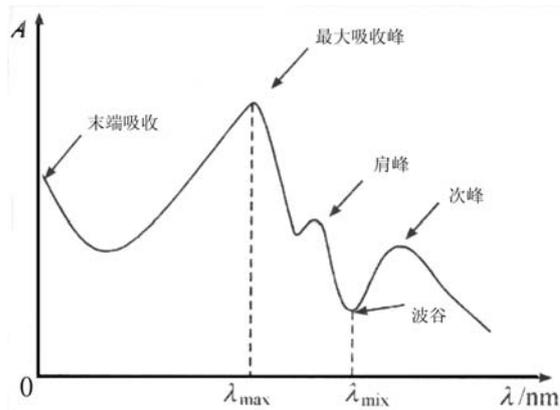
四、吸收光谱的特征及其表示方法

吸光度最大处对应的波长称为最大吸收

波长 λ_{\max}

λ_{\max} 和 ϵ 是定性的主要依据

吸收曲线可以提供物质的结构信息，并作为物质定性分析的依据之一。



透光率（透射比） T 表示透射光强度与入射光强度之比： $T = \frac{I}{I_0}$

吸光度 A 表示溶液对入射光的吸收程度，定义为： $A = \lg \frac{I_0}{I} = \lg \frac{1}{T} = -\lg T$

在朗伯-比耳定律 $A = Kbc$ 中， k 为比例系数，其数值及其单位与 b 和 c 的单位有关。

当 c : mol / L, k 为摩尔吸光系数，用 ϵ 表示，单位为 $L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，朗伯-比耳定律表示为 $A = \epsilon cb$;

当 c : g / L, k 为吸光系数，用 a 表示，单位为 $L \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，朗伯-比耳定律表示为 $A = acb$;

当 c : g / 100 mL, k 为比吸光系数，用 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 表示，朗伯-比耳定律表示为 $A = E_{1\text{cm}}^{1\%} cb$ 。

5-2 有机化合物的紫外-吸收光谱

一、电子跃迁类型

有机化合物紫外吸收光谱（电子光谱）是由分子外层电子或价电子跃迁所产生的。按分子轨道理论，有机化合物分子中有：成键 σ 轨道，反键 σ^* 轨道；成键 π 轨道，反键 π^* 轨道（不饱和烃）；另外还有非键轨道（杂原子存在）。各种轨道的能级不同，如图 9-2 所示。

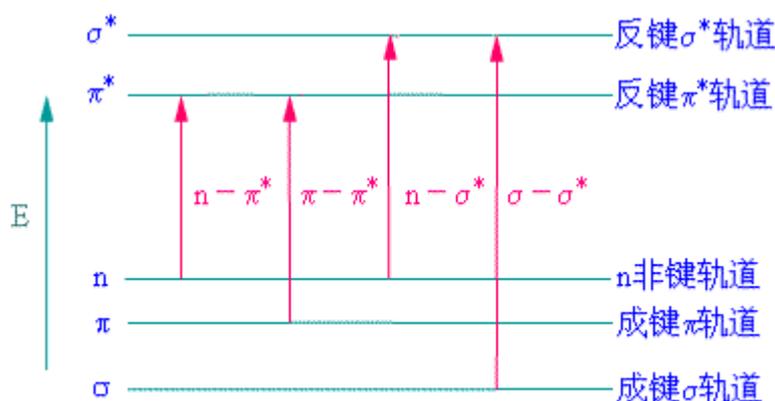


图13.3 有机分子的电子跃迁类型

相应的外层电子和价电子有三种： σ 电子、 π 电子和 n 电子。通常情况下，电子处于低的能级（成键轨道和非键轨道）。当用合适能量的紫外光照射分子时，分子可能吸收光的能量，而又低能级跃迁到反键*轨道。在紫外可见光区，主要有以下几种跃迁类型：

★ $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁

它是 σ 电子从 σ 成键轨道向 σ^* 反键轨道的跃迁，这是所有存在 σ 键的有机化合物都可以发生的跃迁类型。实现 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁所需的能量在所有跃迁类型中最大，因而所吸收的辐射的波长最短，处在小于 1200nm的真空紫外区。因此，一般不讨论 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁所产生的吸收带。而由于仅能产生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁的物质 200nm以上波长区没有吸收，故它们可以用紫外—可见分光光度法分析的溶剂，为乙烷、庚烷、环己烷等。

★ $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁

它是非键的 n 电子从非键轨道向 σ^* 反键轨道的跃迁，含有杂原子（如N、O、S、P和卤素原子）的饱和有机化合物，都含有 n 电子，因此，都会发生这类跃迁。 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁所要的能量比 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁小，所以吸收的波长会长一些， λ_{\max} 可在 200nm附近，但大多数化合物仍在小于 200nm 区域内， λ_{\max} 随杂原子的电负性不同而不同，一般电负性越大， n 电子被束缚得越紧，跃迁所需的能量越大，吸收的波长越短。 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁所引起

的吸收摩尔吸光系数通常为 $100 \sim 300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

★ $\pi-\pi^*$ 跃迁

是 π 电子从 π 成键向反键 π^* 轨道的跃迁，含有 π 电子基团的不饱和有机化合物，都会发生 $\pi-\pi^*$ 跃迁，如有 >C=C< 、 $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 、等的有机化合物。 $\pi-\pi^*$ 跃迁所需的能量比 $\sigma-\sigma^*$ 跃迁小，也一般比 $n-\sigma^*$ 跃迁小，所以吸收辐射的波长比较长，一般在200nm附近。摩尔吸光系数都比较大，通常在 $1 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 以上。

★ $n-\pi^*$ 跃迁

由 n 电子从非键轨道向 π^* 反键轨道的跃迁，含有不饱和杂原子基团的有机物分子，基团中既有 π 电子，也有 n 电子，可以发生这类跃迁。 $n-\pi^*$ 跃迁所需的能量最低，因此吸收辐射的波长最长，一般都在近紫外光区，甚至在可见光区。此外， $n-\pi^*$ 还具有以下特点：

λ_{max} 与组成 π 键的原子有关，由于需要由杂原子组成不饱和双键，所以 n 电子的跃迁就与杂原子的电负性有关，与 $n-\sigma^*$ 跃迁相同，杂原子的电负性越强， λ_{max} 越小；

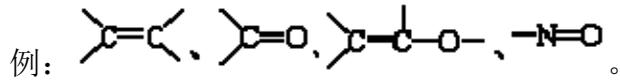
$n-\pi^*$ 跃迁的几率比较小，所以摩尔吸光系数比较小，一般为 $10 \sim 100$ ，比起 $\pi-\pi^*$ 跃迁小 $2 \sim 3$ 个数量级。摩尔吸光系数的显著差别，是区别 $\pi-\pi^*$ 跃迁和 $n-\pi^*$ 跃迁的方法之一；

在以上四种跃迁类型所产生的吸收光谱中， $\pi-\pi^*$ 、 $n-\pi^*$ 跃迁在分析上最有价值，因为它们的吸收波长在近紫外光区及可见光区，便于仪器上的使用及操作，且 $\pi-\pi^*$ 跃迁具有很大的摩尔吸光系数，吸收光谱受分子结构的影响较明显，因此在定性、定量分析中很有用。

二、常用术语

1. 生色团

能吸收紫外-可见光的基团叫生色团。主要为具有不饱和键和未成对电子的基团。



2. 助色团

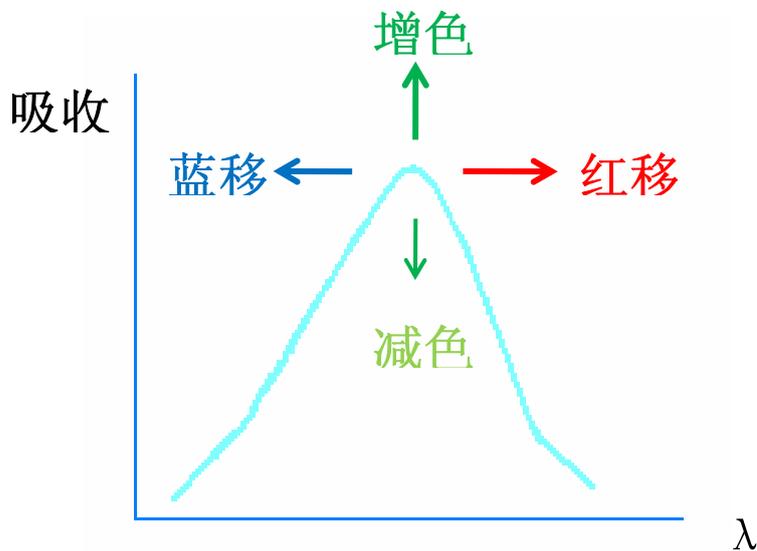
助色团是一种能使生色团的吸收峰向长波方向位移并增强其吸收强度的官能团，一般是含有未共享电子的杂原子基团，如 -NH_2 、 -OH 、 -NR_2 、 -OR 、 -SH 、 -SR 、 -Cl 、 -Br 等。这些基团中的 n 电子能与生色团中的 π 电子相互作用(可能产生 $p-\pi$ 共轭)，使 $\pi-\pi^*$ 跃迁能量降低，跃迁几率变大。

3. 红移、蓝移

吸收峰位置向长波方向的移动，叫红移。吸收峰位置向短波方向移动，叫蓝移

4. 增色效应和减色效应——波长不变

使吸收强度增加的现象称为增色效应。使吸收强度降低的现象称为减色效应



5 吸收带

(1) R 吸收带：为 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁。

特点： a. 跃迁所需能量较小，吸收峰位于 200~400nm； b. 吸收强度弱， $\epsilon <$

10^2 。

(2) K 吸收带：为共轭双键中 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。

特点：a. 跃迁所需能量较R带大，吸收峰位于 210~280nm； b. 吸收强度高， $\epsilon > 10^4$ 。

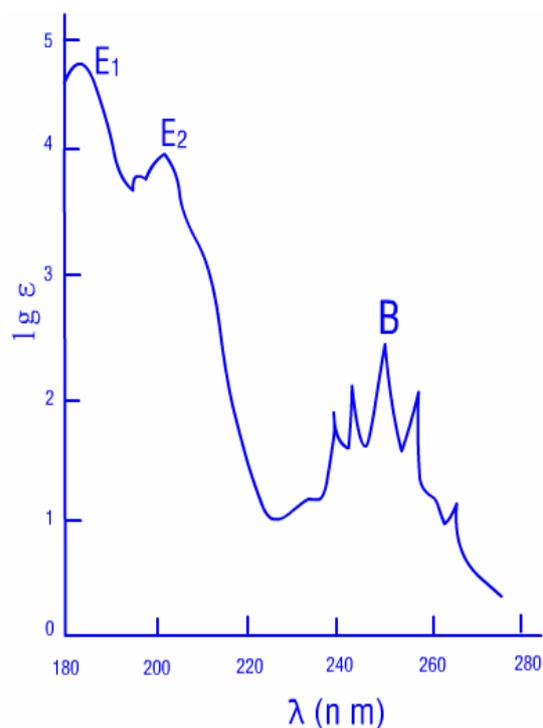
共轭体系的增长，K 吸收带长移，210 ~ 700nm， ϵ 增大。

K 吸收带是共轭分子的特征吸收带，可用于判断共轭结构。

3. B 吸收带和 E 吸收带 — 苯环带

B 吸收带：有苯环必有 B 带，230-270 nm 之间有一系列吸收峰，中强吸收，芳香族化合物的特征吸收峰

E 吸收带：由苯环结构中三个乙烯的环状共轭体系的跃迁产生的， $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁
 $E_1=185\text{nm}$ ，强吸收， $\epsilon > 10^4$ ； $E_2=204\text{ nm}$ ，较强吸收， $\epsilon > 10^3$ 。



三、有机化合物紫外-可见吸收光谱

1. 饱和烃及其取代衍生物

饱和烃：分子中只含有 σ 键，因此只能产生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁。饱和烃的最大吸收峰一般小于 150 nm，已超出紫外、可见分光光度计的测量范围，处于真空紫外区。

饱和烃的取代衍生物：如： CH_3OH 、 CH_3Cl 、 CH_3Br 、 CH_3I ，其O和卤素原子上存在n电子，可产生 $n\sigma \rightarrow \sigma^*$ 的跃迁。 $n\sigma \rightarrow \sigma^*$ 的能量低于 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 。其相应的吸收波长发生红移。例如， CH_3Cl 、 CH_3Br 和 CH_3I 的 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁分别出现在 173、204 和 258nm处。很多饱和烃及其取代衍生物是测定紫外和（或）可见吸收光谱的良好溶剂。

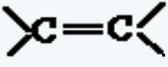
2. 不饱和烃及共轭烯烃

(A) 非共轭不饱和烯烃

在不饱和烃类分子中，除含有 σ 键外，还含有 π 键，它们可以产生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 两种跃迁。 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的能量小于 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁。

(B) 共轭烯烃

在不饱和烃类分子中，当有两个以上的双键共轭时，随着共轭系统的延长， $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的吸收带将明显向长波方向移动，吸收强度也随之增强。共轭双键愈多，红移愈显著，甚至产生颜色。

化合物	溶剂	λ_{\max}/nm	ϵ
1,3-丁二烯	己烷	217	21,000
1,3,5-己三烯	异辛烷	268	43,000
1,3,5,7-辛四烯	环己烷	304	
1,3,5,7,9-癸五烯	异辛烷	334	121,000
1,3,5,7,9,11-十二烷基六烯	异辛烷	364	138,000
番茄红素 () 11		470	18500 (红色)

3. 羰基化合物

羰基化合物含有 $>\text{C}=\text{O}$ 基团, 其中有 σ 电子, π 电子及 n 电子, 故不可发生 $n-\sigma^*$ 跃迁, $n-\pi^*$ 跃迁和 $\pi-\pi^*$ 跃迁, 产生三个吸收带。

$n\rightarrow\pi^*$ 吸收带又称 R 带, 落于近紫外或紫外光区 (270—310nm), R 带吸收较弱 ($\epsilon_{\max}<100$)。

➤ $-\beta,\alpha$ 不饱和醛酮

α 、 β -不饱和醛、酮, 产生了 $\pi-\pi$ 共轭, 使 π 电子进一步离域, π^* 轨道的成键性加大, 能量降低, 所以 $\pi-\pi^*$ 、 $n-\pi^*$ 跃迁所需的能量都降低, 吸收波长都发生了红移, 分别移至 220~210nm 和 310~330nm。

α、β-不饱和醛、酮的紫外-可见光谱数据

化合物	取代基	π-π*带 (K 带)		n-π*带 (R 带)	
		λ _{max}	ε _{max}	λ _{max}	ε _{max}
甲基乙烯基甲酮	无	219	3,600	324	24
2-乙基己-1-烯-3-酮	甲基	221	6,450	320	26
2-乙基己-1-烯-3-酮	单基	218		319	27
亚乙基丙酮	单基	224	9,750	314	38
丙炔醛	无	<210		328	13
巴豆醛	单基	217	15,650	321	19
柠檬酸	双基	238	13,500	324	65
β-环柠檬醛	三基	245	8,310	328	43

α、β-不饱和醛、酮的特征:

在 220~260 nm 有 π→π* 产生的 K 带, 强度高 (ε_{max} > 10⁴ L·mol⁻¹·cm⁻¹)。

在 310~330nm 有 nπ→* 产生的 R 带, 强度低 (ε_{max} < 10² L·mol⁻¹·cm⁻¹)。

这一特征可以用来识别 α, β-不饱和醛酮。

4. 芳香族化合物

封闭共轭体系的苯环有三个 π—π* 跃迁产生的特征吸收带, E₁ 带 180~184nm; ε=47000; E₂ 带 200~204 nm; ε=7000; B 带 230-270 nm, ε=204。

π → π* 与苯环振动能级跃迁叠加引起; 也称精细结构吸收带。B 吸收带的精细结构常用来辨认芳香族化合物。

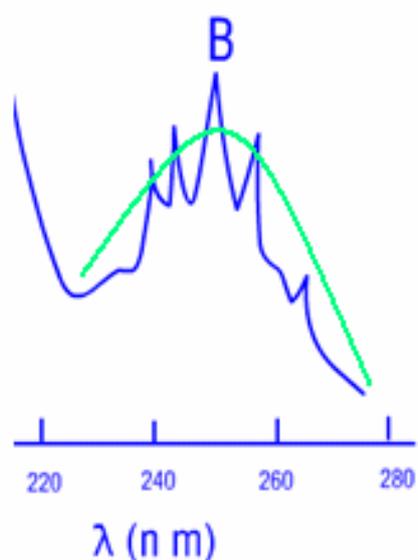
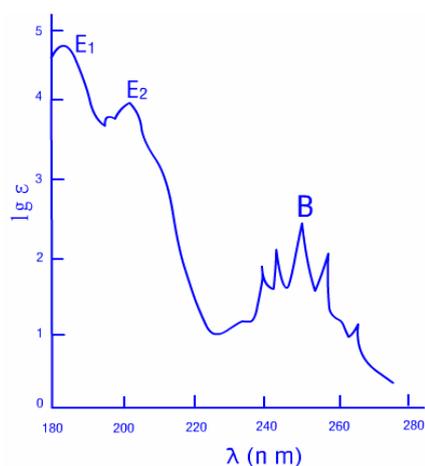


图 苯在乙醇中的紫外吸收光谱

(2) 取代苯

当苯环上有取代基时，苯的三个特征谱带都会发生显著的变化，其中影响较大的是 E2 带和 B 带，B 带简化，红移。

表 苯及其某些衍生物的吸收光谱 ϵ_{\max} 和 λ_{\max}

化合物	E ₂ 吸收带		B 带		R 带	
	λ_{\max}	ϵ	λ_{\max}	ϵ	λ_{\max}	ϵ
苯	204	7900	254	204		
甲苯	206	7000	261	225		
苯酚	210	6200	270	1450		
苯甲酸	230	11600	273	970	328	
苯胺	230	8600	287	1430		
苯乙烯	248	14000	282	750		
苯甲醛	249	11400			320	50
硝基苯	268	11000			330	200

(3) 稠环芳烃及杂环化合物

➤ 稠环芳烃

如萘、蒽、菲、芘等，均显示苯的三个吸收带。但是与苯本身相比较，这三个吸收带均发生红移，且强度增加。随着苯环数目增多，吸收波长红移越多，吸收强度也相应增加。

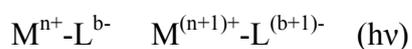
杂环化合物

当芳环上的—CH 基团被氮原子取代后，则相应的氮杂环化合物（如吡啶、喹啉、吲哚）的吸收光谱，与相应的碳环化合物极为相似，即吡啶与苯相似，喹啉与萘相似。此外，由于引入含有 n 电子的 N 原子，这类杂环化合物还可能产生 n→π*吸收带。

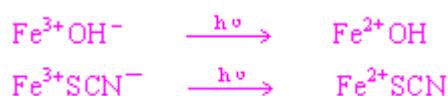
5-3 无机化合物的紫外吸收光谱

一、电荷转移跃迁

在电磁辐射作用下，分子中原定域在金属轨道上的电荷转移到配位体的轨道，或按相反方向转移，称为电荷转移跃迁。所产生的吸收光谱称为电荷转移光谱。一般可表示为：



不少过渡金属离子与含有生色团的试剂发生所生成的配合物及许多水合无机离子，故可发生电荷转移跃迁而产生吸收光谱。如：



二、配位体场跃迁

配位场跃迁包括 d - d 跃迁和 f - f 跃迁。元素周期表中第四、五周期的过渡金属元素分别含有 3d 和 4d 轨道，镧系和锕系元素分别含有 4f 和 5f 轨道。在配体的存在下，过渡元素五个能量相等的 d 轨道和镧系元素七个能量相等的 f 轨道分别分裂成几组能量不等的 d 轨道和 f 轨道。

当它们的离子吸收光能后，低能态的 d 电子或 f 电子可以分别跃迁至高能态的 d 或 f 轨道，这两类跃迁分别称为 d-d 跃迁和 f-f 跃迁。由于这两类跃迁必须在配体的配位场作用下才可能发生，因此又称为配位场跃迁。

5-4 溶剂对紫外—可见吸收光谱的影响

溶剂对紫外—可见光谱的影响较为复杂。溶剂对紫外-可见吸收光谱的影响有两个方面：

一、溶剂极性对最大吸收波长的影响

改变溶剂的极性，可能会使吸收带的最大吸收波长发生变化。原因是溶剂和溶质之间常形成氢键，或溶剂的偶极是溶质的极性增强，引起 $n-\pi^*$ 跃迁及 $\pi-\pi^*$ 跃迁的吸收带迁移。当溶剂的极性增大时，由 $n-\pi^*$ 跃迁产生的吸收带发生蓝移，而由 $\pi-\pi^*$ 跃迁产生的吸收带发生红移。因此，在测定紫外、可见吸收光谱时，应注明在何种溶剂中测定。

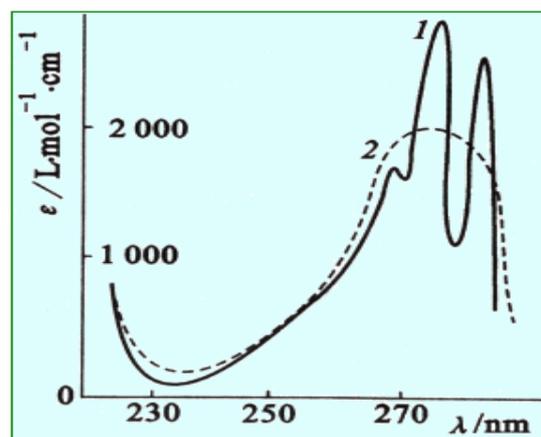
二、溶剂对光谱精细结构的影响

随着溶剂极性的增大，分子振动也受到限制，精细结构就会逐渐消失，合并为一条宽而低的吸收带。

三、溶剂的选择

选择溶剂时注意下列几点：

- (1) 溶剂应能很好地溶解被测试样，溶液应具有良好的化学和光化学稳定性。
- (2) 尽量选择极性较小的溶剂。
- (3) 溶剂在样品的吸收光谱区应无明显吸收。



苯酚的 B 吸收带
1. 庚烷溶液 2. 乙醇溶液

5-5 紫外可见分光光度计

紫外-可见分光光度计的基本结构是由五个部分组成：即光源、单色器、吸收池、检测器和信号指示系统。

1. 光源

(1) 对光源的要求

- a. 在较宽的波长范围内,能够发射连续辐射;
- b. 应有足够的辐射强度; 并且辐射能量随波长的变化应尽可能小;
- c. 良好的稳定性, 使用寿命长, 操作方便。

分光光度计中常用的光源有热辐射光源和气体放电光源两类。

热辐射光源用于可见光区, 如钨丝灯和卤钨灯; 气体放电光源用于紫外光区, 如氢灯和氘灯。钨灯和碘钨灯可使用的范围在 340 ~ 2500nm。这类光源的辐射能量与施加的外加电压有关, 在可见光区, 辐射的能量与工作电压 4 次方成正比。光电流与灯丝电压的 n 次方 ($n > 1$) 成正比。因此必须严格控制灯丝电压, 仪器必须配有稳压装置。

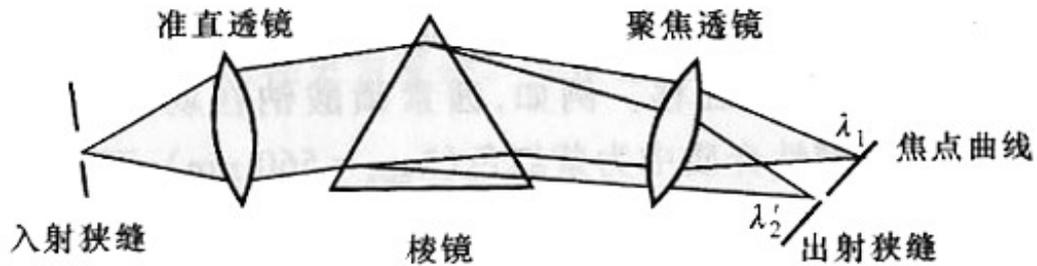
在近紫外区测定时常用氢灯和氘灯。它们可在 160 ~ 375 nm 范围内产生连续光源。氘灯的灯管内充有氘的同位素氘, 它是紫外光区应用最广泛的一种光源, 其光谱分布与氢灯类似, 但光强度比相同功率的氢灯要大 3~5 倍。

2. 单色器

单色器是能从光源辐射的复合光中分出单色光的光学装置, 其主要功能: 产生光谱纯度高的波长且波长在紫外可见区域内任意可调。

单色器一般由入射狭缝、准光器 (透镜或凹面反射镜使入射光成平行光)、色散元件、聚焦元件和出射狭缝等几部分组成。其核心部分是色散元件, 起分光的作用。单色

器的性能直接影响入射光的单色性，从而也影响到测定的灵敏度、选择性及校准曲线的线性关系等。



能起分光作用的色散元件主要是棱镜和光栅。

棱镜有玻璃和石英两种材料。它们的色散原理是依据不同的波长光通过棱镜时有不同的折射率而将不同波长的光分开。由于玻璃可吸收紫外光，所以玻璃棱镜只能用于 350 ~ 3200 nm 的波长范围，即只能用于可见光域内。石英棱镜可使用的波长范围较宽，可从 185 ~ 4000nm，即可用于紫外、可见和近红外三个光域。

光栅是利用光的衍射与干涉作用制成的，它可用于紫外、可见及红外光域，而且在整个波长区具有良好的、几乎均匀一致的分辨能力。它具有色散波长范围宽、分辨本领高、成本低、便于保存和易于制备等优点。缺点是各级光谱会重叠而产生干扰。入射、出射狭缝，透镜及准光镜等光学元件中狭缝在决定单色器性能上起重要作用。狭缝的大小直接影响单色光纯度，但过小的狭缝又会减弱光强。

3. 吸收室

吸收池主要有石英池和玻璃池两种。在紫外区须采用石英池，可见区一般用玻璃池。

4. 检测器

利用光电效应将透过吸收池的光信号变成可测的电信号，常用的有光电池、光电管或光电倍增管。

5. 信号指示系统

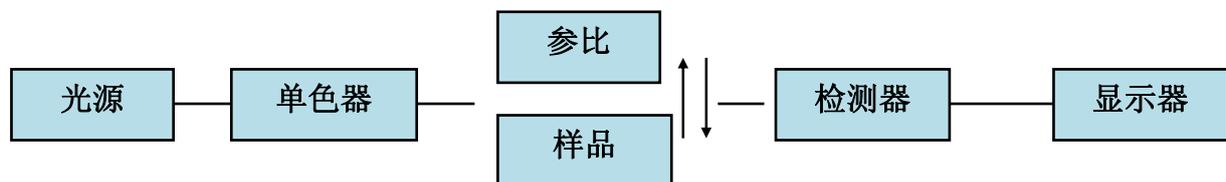
它的作用是放大信号并以适当方式指示或记录下来。常用的信号指示装置有直读检流计、电位调节指零装置以及数字显示或自动记录装置等。很多型号的分光光度计装配有微处理机，一方面可对分光光度计进行操作控制，另一方面可进行数据处理。

二、仪器的类型

紫外-可见分光光度计的类型很多，但可归纳为三种类型，即单光束分光光度计、双光束分光光度计和双波长分光光度计。

1. 单光束分光光度计

经单色器分光后的一束平行光，轮流通过参比溶液和样品溶液，以进行吸光度的测定。这种简易型分光光度计结构简单，操作方便，维修容易，适用于常规分析。



缺点：不能消除光源或监测器波动带来的影响。

2. 双光束分光光度计

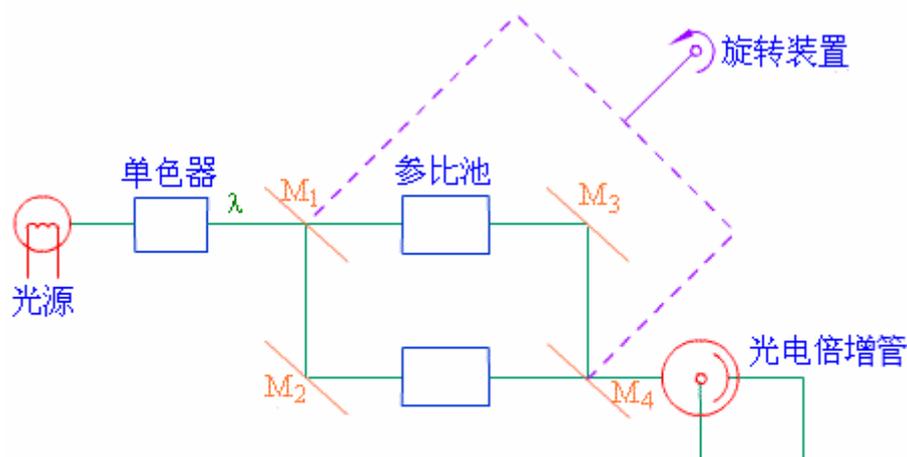


图 单波长双光束分光光度计原理图
 M_1, M_2, M_3, M_4 -反射镜

经单色器分光后经反射镜分解为强度相等的两束光，一束通过参比池，一束通过样品池。光度计能自动比较两束光的强度，此比值即为试样的透射比，经对数变换将它转换成吸光度并作为波长的函数记录下来。

双光束分光光度计一般都能自动记录吸收光谱曲线。由于两束光同时分别通过参比池和样品池，还能自动消除光源强度变化所引起的误差。

3. 双波长分光光度计

由同一光源发出的光被分成两束，分别经过两个单色器，得到两束不同波长 (λ_1 和 λ_2) 的单色光；利用切光器使两束光以一定的频率交替照射同一吸收池，然后经过光电倍增管和电子控制系统，最后由显示器显示出两个波长处的吸光度差值 ΔA ($\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$)。对于多组分混合物、混浊试样（如生物组织液）分析，以及存在背景干扰或共存组分吸收干扰的情况下，利用双波长分光光度法，往往能提高方法的灵敏度和选择性。利用双波长分光光度计，能获得导数光谱。

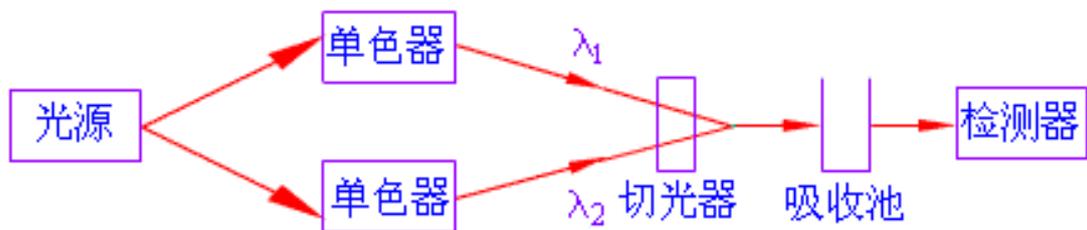


图13.18 双波长分光光度计光路示意图

通过光学系统转换，使双波长分光光度计能很方便地转化为单波长工作方式。如果能在 λ_1 和 λ_2 处分别记录吸光度随时间变化的曲线，还能进行化学反应动力学研究。

优点：可以完全消除吸收池或空白与样品溶液不匹配，所引起的测量误差。

5-6 紫外可见吸收光谱法的应用

一、定性分析

有机化合物紫外吸收光谱,反映结构中生色团和助色团的特性,不完全反映整个分子特性;根据化合物吸收光谱的形状、吸收峰的数目、强度、位置进行定性分析; λ_{\max} 和 ϵ_{\max} 是化合物的特性参数,可作为定性依据。

二、有机化合物的构型、构象的测定

1. 顺反异构体的判断

生色团和助色团处在同一平面上时,才产生最大的共轭效应。由于反式异构体的空间位阻效应小,分子的平面性能较好,共轭效应强。因此反式都大于顺式异构体。

例如,肉桂酸的顺、反式的吸收如下:



$$\lambda_{\max}=280\text{nm} , \epsilon_{\max}=13500$$

$$\lambda_{\max}=295\text{nm} , \epsilon_{\max}=27000$$

2. 互变异构体的判断

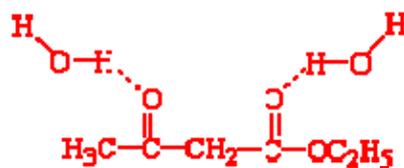
某些有机化合物在溶液中可能有两种以上的互变异构体处于动态平衡中，这种异构体的互变过程常伴随有双键的移动及共轭体系的变化，因此也产生吸收光谱的变化。最常见的是某些含氧化合物的酮式与烯醇式异构体之间的互变。例如乙酰乙酸乙酯就是和烯醇式两种互变异构体：



它们的吸收特性不同：

酮式异构体： $\pi-\pi^*$ 跃迁： $\lambda_{\text{max}}=204\text{nm}$ ， ϵ_{max} 小；烯醇式异构体（双键共轭）： $\pi-\pi^*$ 跃迁： $\lambda_{\text{max}}=245\text{nm}$ ， $\epsilon_{\text{max}}=18000$ 。

两种异构体的互变平衡与溶剂有密切关系。在像水这样的极性溶剂中，由于可能与 H_2O 形成氢键而降低能量以达到稳定状态，所以酮式异构体占优势；而像乙烷这样的非极性溶剂中，由于形成分子内的氢键，且形成共轭体系，使能量降低以达到稳定状态，所以烯醇式异构体比率上升。



3. 构象判断

三、纯度检查

如果一化合物在紫外区没有吸收峰，而其中的杂质有较强吸收，就可方便地检出该化合物中的痕量杂质。例如：要检定甲醇或乙醇中的杂质苯，可利用苯在 254 nm 处的 B 吸收带，而甲醇或乙醇在此波长处几乎没有吸收。

四. 定量分析

1. 单组分的定量分析

(1) 标准对照法

在一定条件下，配制标准溶液和样品溶液，在 λ_{\max} 下测 A

标准溶液 $A_s = kC_s$

被测溶液 $A_x = kC_x$

$$C_x = \frac{A_x}{A_s} C_s$$

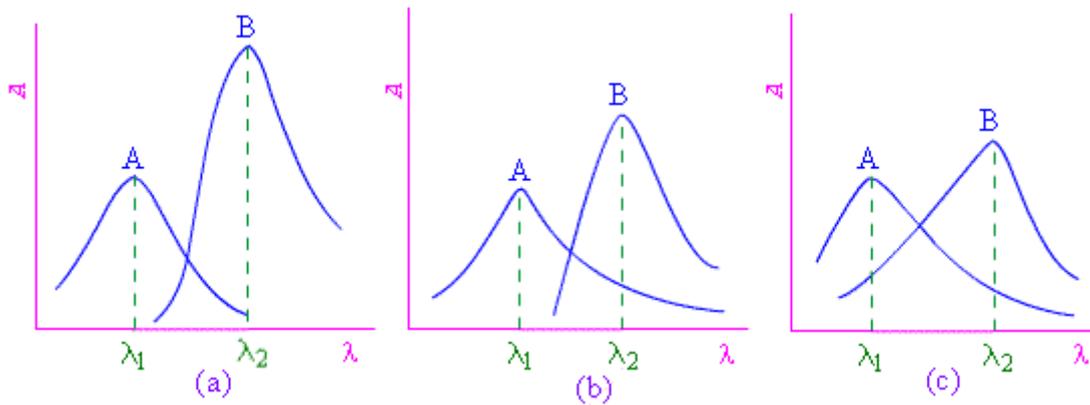
标准对照法因使用单个标准，引起误差的偶然因素较多，故往往较不可靠。

(2) 标准曲线法

2. 多组分的定量分析

根据吸光度具有加和性的特点，在同一试样中可以同时测定两个或两个以上组分。

假设要测定试样中的两个组分 A、B，如果分别绘制 A、B 两纯物资的吸收光谱，绘出三种情况，如图 13.20 所示。



①. (a)情况表明两组分互不干扰，可以用测定单组分的方法分别在 λ_1 、 λ_2 测定A、B两组分；

②. (b)情况表明A组分对B组分的测定有干扰，而B组分对A组分的测定无干扰，则可以在 λ_1 处单独测量A组分，求得A组分的浓度 C_A 。然后在 λ_2 处测量溶液的吸光度 $A_{\lambda_2}^{A+B}$ 及A、B纯物质的 $\epsilon_{\lambda_2}^A$ 和 $\epsilon_{\lambda_2}^B$ 值，根据吸光度的加和性，即得

$$A_{\lambda_2}^{A+B} = A_{\lambda_2}^A + A_{\lambda_2}^B = \epsilon_{\lambda_2}^A b C_A + \epsilon_{\lambda_2}^B b C_B,$$

则可以求出 C_B ；

③.(c)情况表明两组分彼此互相干扰，此时，在 λ_1 、 λ_2 处分别测定溶液的吸光度 $A_{\lambda_1}^{A+B}$ 及 $A_{\lambda_2}^{A+B}$ ，而且同时测定A、B纯物质的 $\epsilon_{\lambda_1}^A$ 、 $\epsilon_{\lambda_1}^B$ 及 $\epsilon_{\lambda_2}^A$ 、 $\epsilon_{\lambda_2}^B$ 。然后列出联立方程：

$$\begin{aligned} A_{\lambda_1}^{A+B} &= \epsilon_{\lambda_1}^A b C_A + \epsilon_{\lambda_1}^B b C_B \\ A_{\lambda_2}^{A+B} &= \epsilon_{\lambda_2}^A b C_A + \epsilon_{\lambda_2}^B b C_B \end{aligned}$$

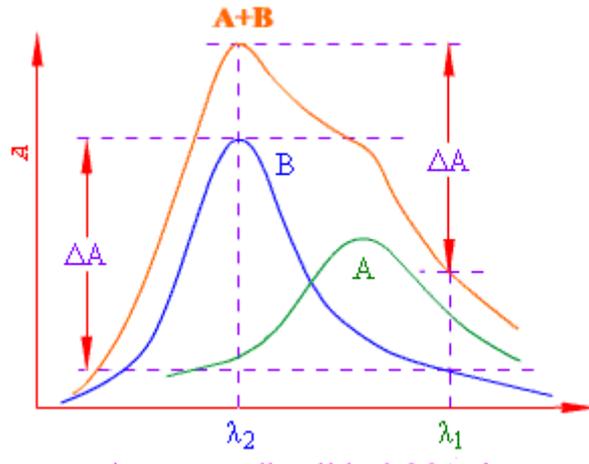
解得 C_A 、 C_B 。显然，如果有n个组分的光谱互相干扰，就必须在n个波长处分别测定吸光度的加和值，然后解n元一次方程以求出各组分的浓度。应该指出，这将是繁琐的数学处理，且n越多，结果的准确性越差。用计算机处理测定结果将使运算大为方便。

2. 双波长分光光度法

当试样中两组分的吸收光谱较为严重时，用解联立方程的方法测定两组分的含量可能误差较大，这时可以用双波长分光光度法测定。它可以进行一组分在其它组分干扰下，测定该组分的含量，也可以同时测定两组分的含量。双波长分光光度法定量测定两混合物组分的主要方法有等吸收波长法和系数倍率法两种。

①. 等吸收波长法

试样中含有A、B两组分，若要测定B组分，A组分有干扰，采用双波长法进行B组分测量时方法如下：为了要能消除A组分的吸收干扰，一般首先选择待测组分B的最大吸收波长 λ_2 为测量波长，然后用作图法选择参比波长 λ_1 ，作法如图所示。



在 λ_2 处作一波长为横轴的垂直线，交于组分B吸收曲线的另一点，再从这点作一条平行于波长轴的直线，交于组分B吸收曲线的另一点，该点所对应的波成为参比波长 λ_1 。

可见组分A在 λ_2 和 λ_1 处是等吸收点， $A_{\lambda_2}^A = A_{\lambda_1}^A$

由吸光度的加和性可见，混合试样在 λ_2 和 λ_1 处的吸光度可表示为

$$A_{\lambda_2} = A_{\lambda_2}^A + A_{\lambda_2}^B$$

$$A_{\lambda_1} = A_{\lambda_1}^A + A_{\lambda_1}^B$$

双波长分光光度计的输出信号为 ΔA ，

$$\Delta A = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = A_{\lambda_2}^B + A_{\lambda_2}^A - A_{\lambda_1}^B - A_{\lambda_1}^A$$

$$A_{\lambda_2}^A = A_{\lambda_1}^A$$

$$\Delta A = A_{\lambda_2}^B - A_{\lambda_1}^B = (\epsilon_{\lambda_2}^B - \epsilon_{\lambda_1}^B) b C_B$$

可见仪器的输出讯号 ΔA 与干扰组分 A 无关，它只正比于待测组分 B 的浓度，即消除了 B 的干扰。

3. 导数分光光度计法

采用不同的实验方法可以获得各种导数光谱曲线。

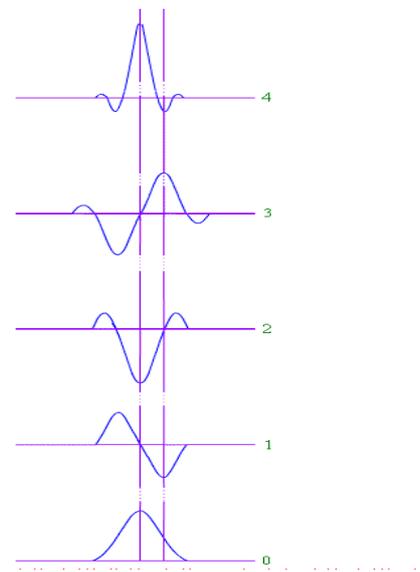
将 $A = \lg \frac{I_0}{I} = \epsilon bc$ 对波长 λ 求导:

$$\frac{dI}{d\lambda} = \exp(-\epsilon bc) \frac{dI_0}{d\lambda} - I_0 \exp(-\epsilon bc) bc \frac{d\epsilon}{d\lambda}$$

在整个波长范围 I_0 内可控制在恒定值, $dI_0/d\lambda = 0$, 则

$$\frac{dI}{d\lambda} = -Ibc \left(\frac{d\epsilon}{d\lambda} \right)$$

上式表明, 第一, 导数分光光度法的一阶导数信号与浓度成正比例, 不需要通过对数转换为吸光度; 第二, 测定灵敏度决定于摩尔吸光系数在特定波长处的变化率 $d\epsilon/d\lambda$, 在吸收曲线的拐点波长处 $d\epsilon/d\lambda$ 最大, 灵敏度最高。如图所示。



对于二阶导数光谱:

$$\frac{d^2 I}{d\lambda^2} = I b^2 c^2 \left(\frac{d\epsilon}{d\lambda} \right)^2 - Ibc \left(\frac{d^2 \epsilon}{d\lambda^2} \right)$$

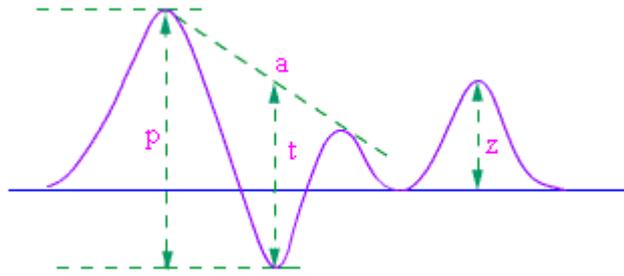
只有当一阶导数 $d\epsilon/d\lambda = 0$ 时, 二阶导数信号才与浓度成正比例。测定波长选择在吸收峰处, 其曲率 $d^2\epsilon/d\lambda^2$ 最大, 灵敏度就高。

三阶导数光谱:

$$\frac{d^3 I}{d\lambda^3} = I b^3 c^3 \left(\frac{d\epsilon}{d\lambda} \right)^3 + 3I b^2 c^2 \left(\frac{d\epsilon}{d\lambda} \right) \left(\frac{d^2 \epsilon}{d\lambda^2} \right) - Ibc \left(\frac{d^3 \epsilon}{d\lambda^3} \right)$$

当一阶导数 $d\epsilon/d\lambda = 0$ 时, 三阶导数信号与浓度成比例, 测定波长在曲率半径小的肩峰处 $d^3\epsilon/d\lambda^3$ 最大, 可获得高的灵敏度。

在一定条件下, 导数信号与被测组分的浓度成比例。测量导数光谱曲线的峰值方法有基线法、峰谷法、峰零法。如图所示。



基线法又称切线法在相邻两峰的极大或极小处画一公切线，在由峰谷引一条平行于纵坐标的直线相交于 a 点，然后测量距离他 t 的大小的。

峰谷法测量相邻两峰的极大和极小之间的距离 p，这是较常用的方法。

峰零法测量峰至基线的垂直距离 z。该法只适用与导数光谱曲线对称于横坐标的高阶导数光谱。

导数分光光度法对吸收强度随波长的变化非常敏感，灵敏度高。对重叠谱带及平坦谱带的分辨率高，噪声低。导数分光光度法对痕量分析、稀土元素、药物、氨基酸、蛋白质的测定，以及废气或空气中污染气体的测定非常有用。

本章小结

1. 紫外-可见分光光度法是基于分子外层价电子跃迁产生的吸收光谱进行分析的一种常用的光谱分析方法。紫外-可见吸收光谱是带光谱。其 λ_{\max} 和 ϵ 是定性的主要依据。
2. 紫外-可见分光光度法进行定量分析的依据是朗伯-比耳定律。在朗伯-比耳定律 $A = kcb$ 中，当浓度 c 的单位分别为 mol / L、g / L 和 g / 100 mL 时，k 相应地被称为摩尔吸光系数、吸光系数和比吸光系数。
3. 分子中外层电子的跃迁与键的性能有关。有机化合物会发生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁、 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁、 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。其中 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁主要位于紫外及可见区。可以通过吸收强度和溶剂极性的影响判断 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。
4. 理解术语：生色团、助色团、红移、蓝移、增色效应、减色效应、R 吸收带、K 吸

收带。

5. 影响有机化合物紫外吸收光谱的主要因素：位阻、异构现象、溶剂以及酸度等。其中随着溶剂极性的增大，精细结构逐渐消失。
6. 根据紫外-可见光谱可以对有机化合物进行定性、定量分析。
7. 紫外-可见分光光度计可分为单光束分光光度计、双光束分光光度计和双波长分光光度计。具有不同的结构和特点。