

第十章 紫外-可见分光光度法

Ultraviolet and visible spectrophotometry, UV-vis

■ 是研究物质在紫外-可见光区分子吸收光谱的分析方法

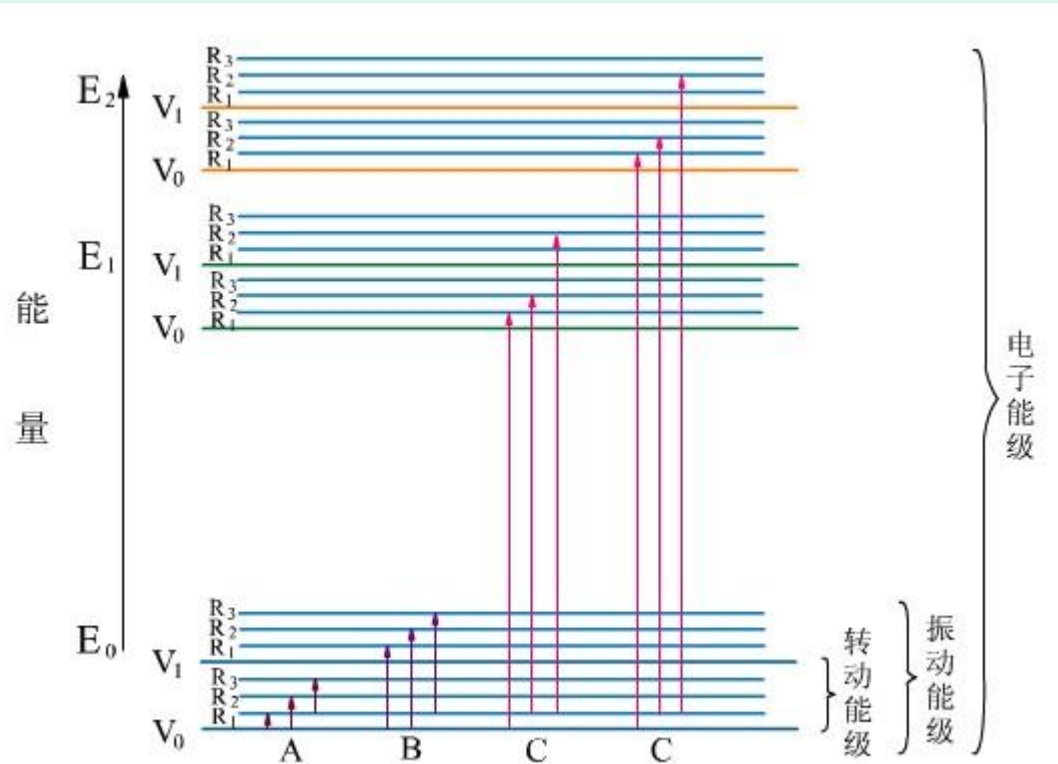
■ 方法特点

- 灵敏度高 $\sim 10^{-6}\text{g/ml}$
- 准确度高 $\sim 0.5\%$
- 定量分析、定性鉴别、结构推断



UV VIS

200nm ~ 400nm ~800nm



电子能级 1~20eV

60~1250nm

$$E = hc / \lambda$$

第一节 紫外可见分光光度法的基本原理和概念

一、跃迁类型

1. $\sigma \rightarrow \sigma^*$

无吸收

2. $\pi \rightarrow \pi^*$

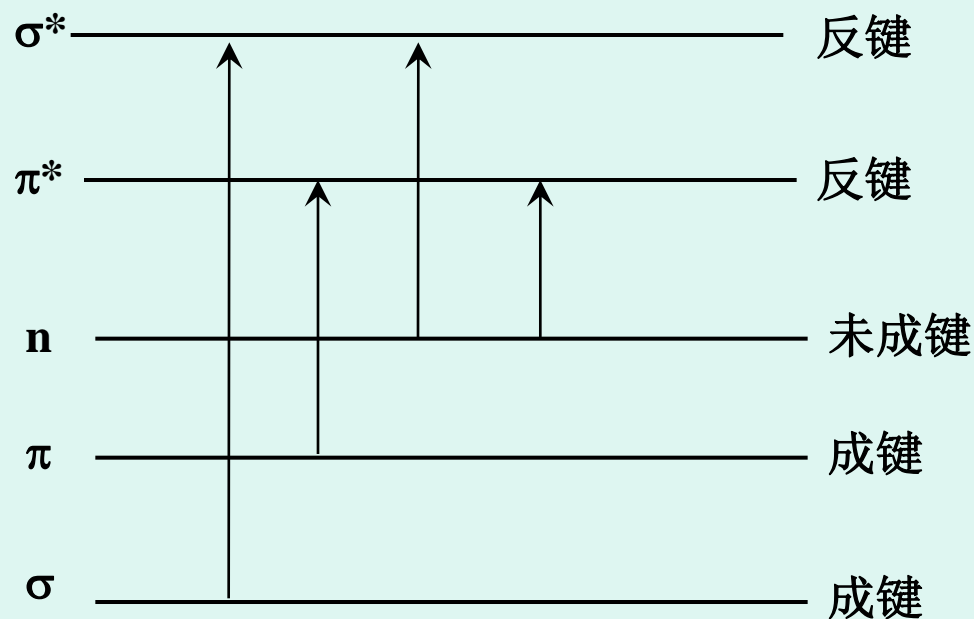
强吸收

3. $n \rightarrow \pi^*$

吸收强度较弱

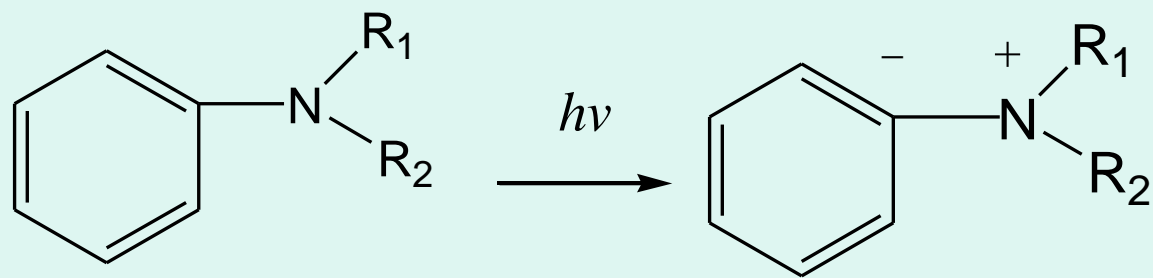
4. $n \rightarrow \sigma^*$

200nm



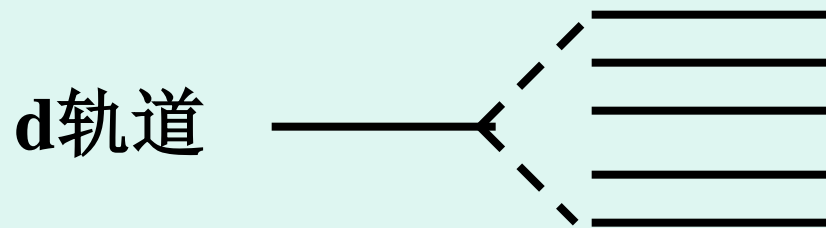
5. 电荷迁移跃迁

强吸收



6. 配位场跃迁

弱吸收



二、紫外-可见光谱的有关概念

■ 吸收光谱

吸收峰，谷，肩峰，末端吸收

■ 生色团

助色团

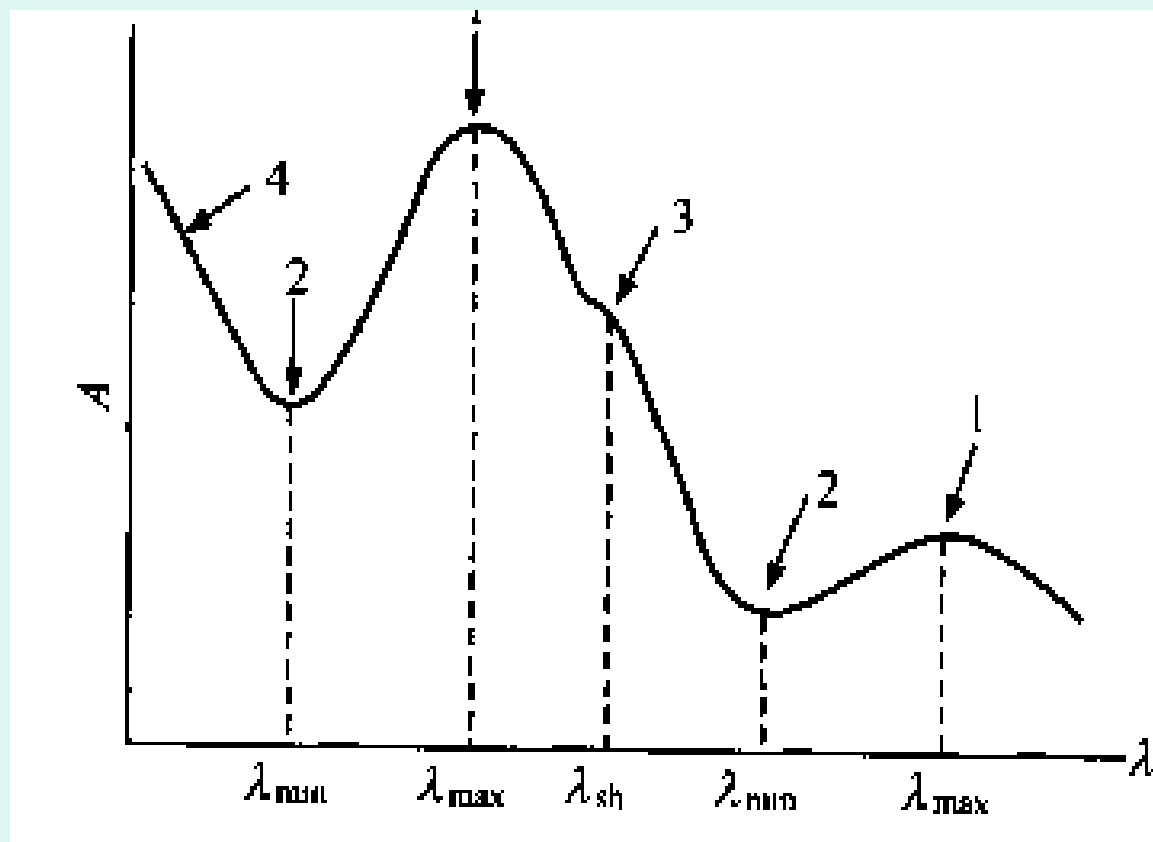
■ 红移

紫移

■ 增色效应

减色效应

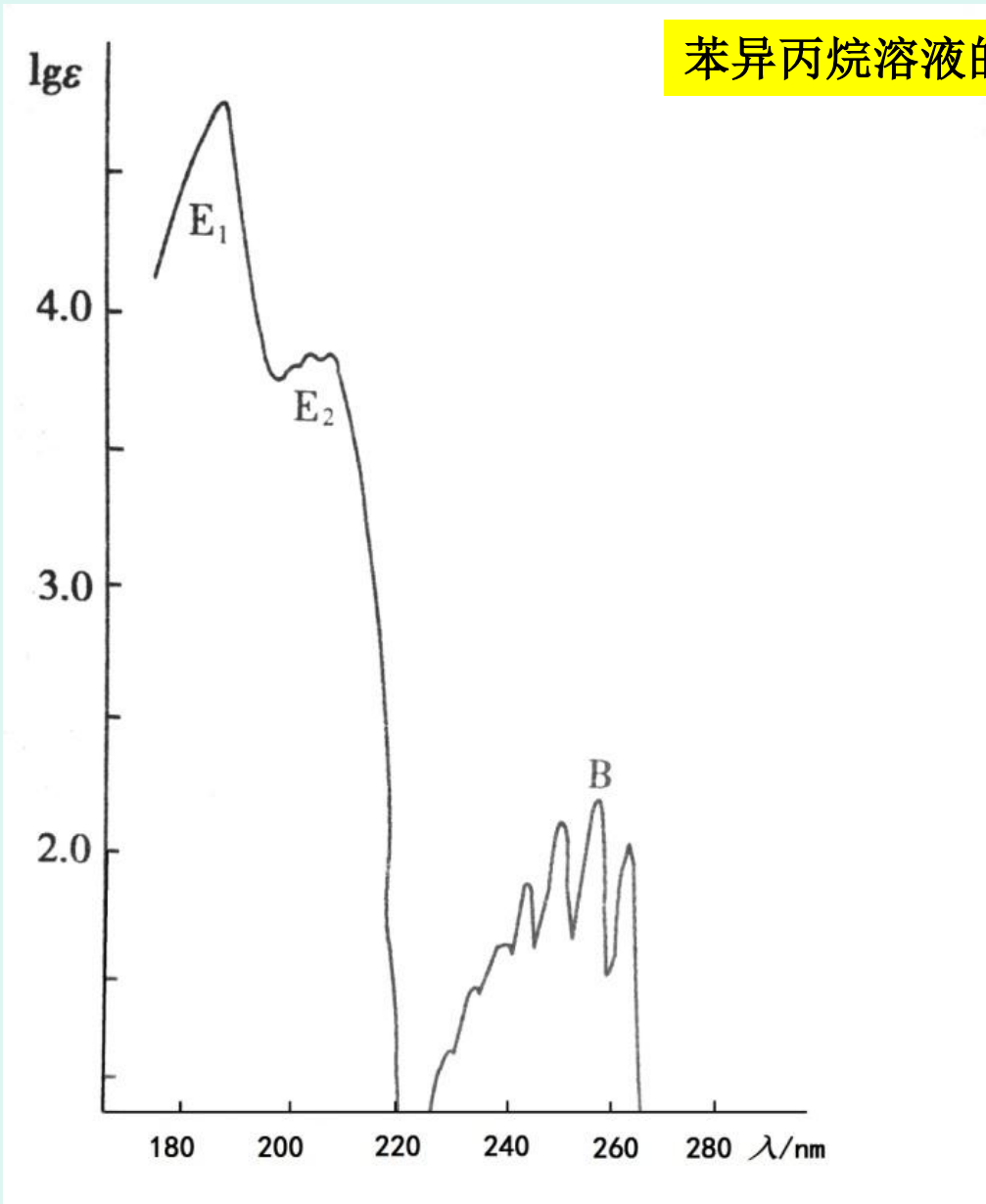
■ 强带和弱带



三、吸收带及其与分子结构的关系

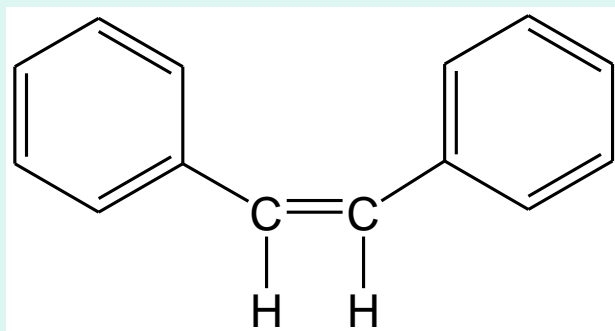
吸收带	特点 与分子结构的关系
R带	$n \rightarrow \pi^*$ $\lambda \approx 300\text{nm}$ $\epsilon < 100$ 杂原子的不饱和基团
K带	共轭双键中 $\pi \rightarrow \pi^*$ $\epsilon \geq 10^4$ 共轭体系
B带 E带	230~270nm 180nm、200nm 芳香族化合物
电荷转移吸收带	$\epsilon > 10^4$ UV~Vis 金属离子与某些有机物形成的配合物
配位体场吸收带	$\epsilon < 10^2$ Vis 过渡金属离子与显色剂形成的配合物

苯异丙烷溶液的紫外吸收光谱



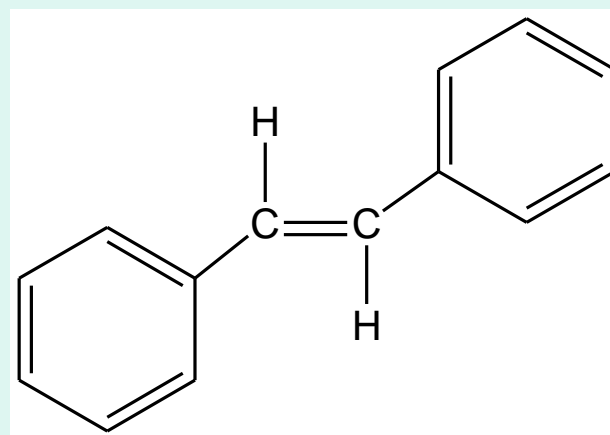
四、影响吸收带的因素

1. 位阻影响



$$\lambda_{\max} = 280\text{nm}$$

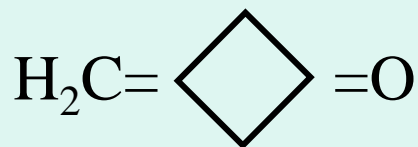
$$\epsilon 10,500$$



$$\lambda_{\max} = 295.5\text{nm}$$

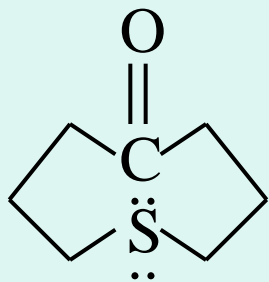
$$\epsilon 29,000$$

2. 跨环效应



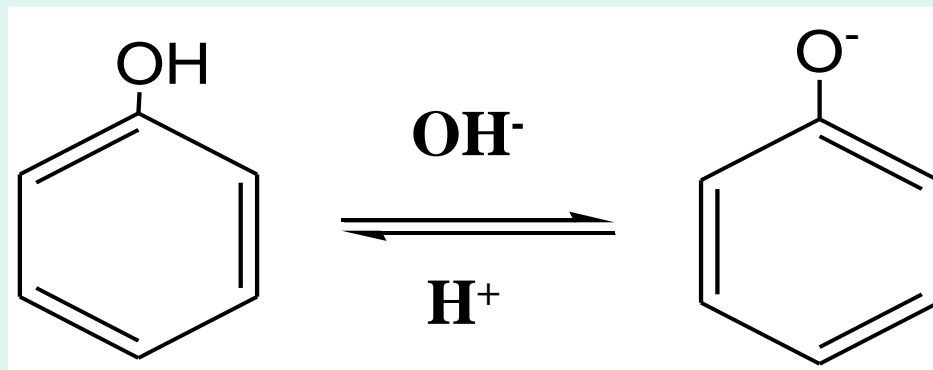
λ_{max} **214nm** 中等

λ_{max} **284nm** **R带**



λ_{max} **238nm** ϵ **2535**

3. pH值的影响



$$\lambda_{\max} = 210.5\text{nm}$$

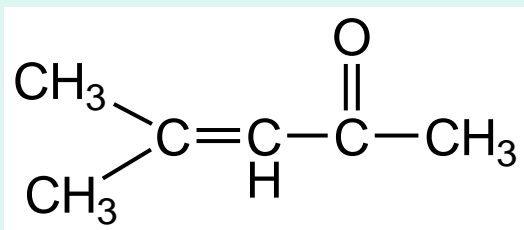
$$270\text{nm}$$

$$\lambda_{\max} = 235\text{nm}$$

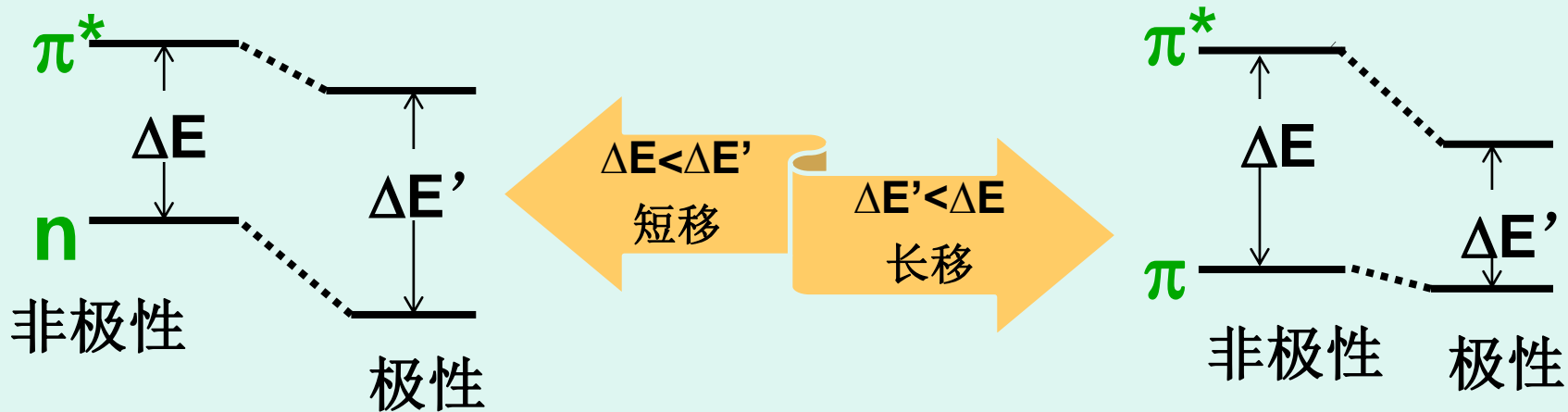
$$287\text{nm}$$

4. 溶剂效应

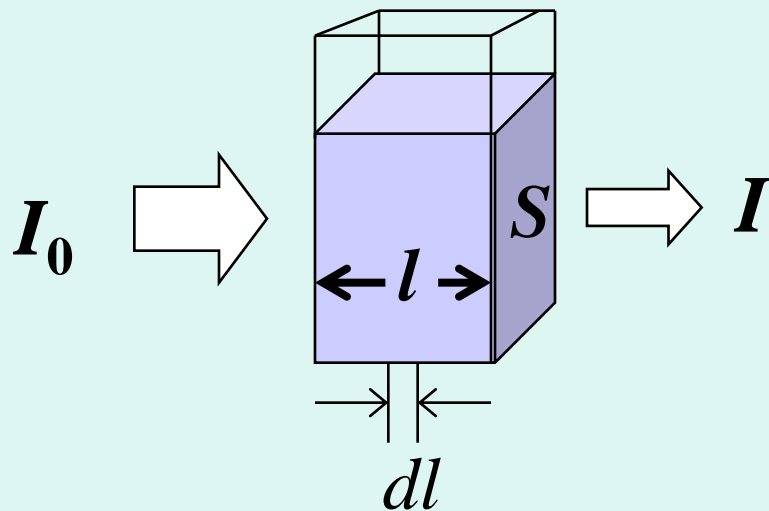
极性溶剂使 $\pi \rightarrow \pi^*$ 长移, $n \rightarrow \pi^*$ 短移



跃迁类型	正己烷	氯仿	甲醇	水
$\pi \rightarrow \pi^*$	230nm	238	237	243
$n \rightarrow \pi^*$	329	315	309	305



五、 Lambert-Beer定律



$$-dI / I_x \propto dn = cS dl$$

$$\therefore -dI_x / I_x = k c dl$$

$$\int_{I_0}^I -dI_x / I_x = \int_0^l k c dl$$

$$\lg \frac{I}{I_0} = \frac{k}{2.303} cl$$

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$$A = -\lg T = Ec l$$

T —透光率

A —吸光度

吸光系数 E –物理常数

1. 摩尔吸光系数 $\varepsilon \Rightarrow c \text{ mol/L}$

2. 百分吸光系数 $E_{1cm}^{1\%} \Rightarrow c \text{ 1\% (W/V)}$

两种吸光系数之间的关系

$$E_{1cm}^{1\%} = \varepsilon \times 10/M$$

$$\varepsilon > 10^4$$

强吸收

$$\varepsilon 10^3 \sim 10^4$$

中强吸收

$$\varepsilon < 10^2$$

弱吸收

吸光系数是定性和定量的依据

溶液中存在两种或两种以上吸光物质时

$$- dI_x / I_x = k_a c_a dl + k_b c_b dl + k_c c_c dl + \dots$$

$$A = - \lg T = E_a c_a l + E_b c_b l + E_c c_c l + \dots$$

$$= A_1 + A_2 + A_3 + \dots$$

六、偏离Beer定律的因素

Lambert 定律 c 一定 $A \propto l$

Beer 定律 l 一定 $A \propto c$

化学因素

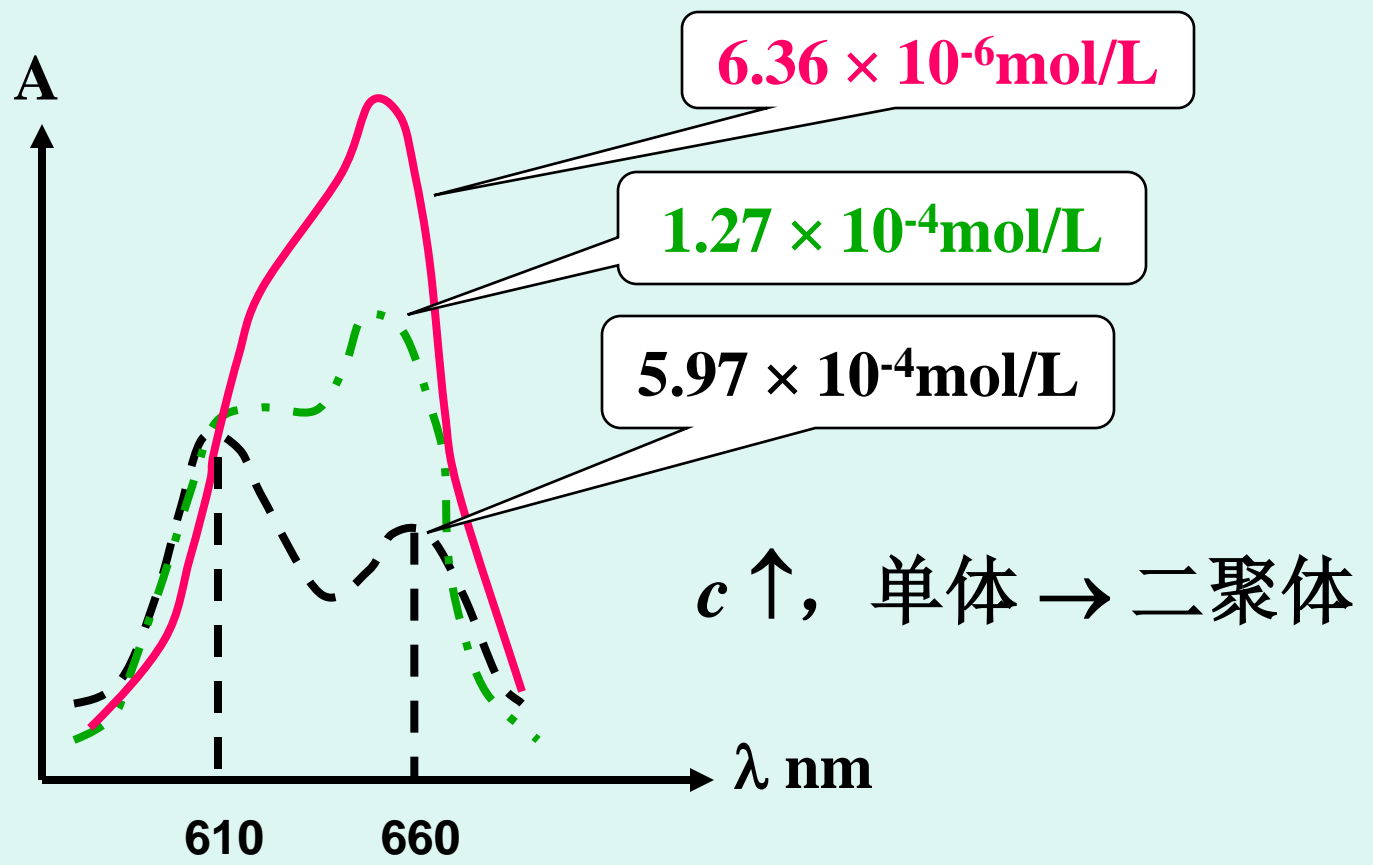
由于化学反应引起的偏离。离解、缔合、形成新化合物、互变异构等

光学因素

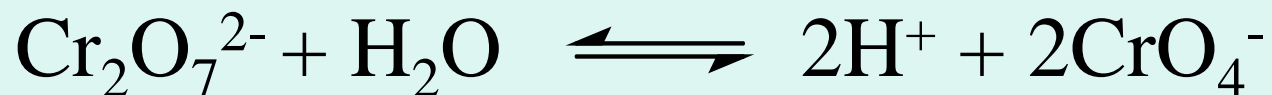
非单色光、非平行光、杂散光、散射光和反射光

(一) 化学因素

例如：亚甲基蓝阳离子的吸收光谱



例如：重铬酸钾水溶液

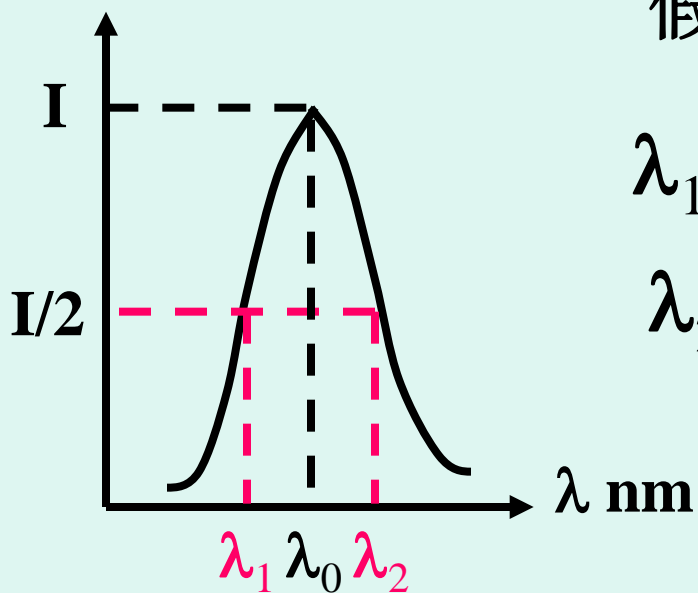


在低浓度时离解度大 吸光度降低严重

- 偏离原因：化学因素
- 减免措施：控制条件。如：浓度，pH等

(二) 光学因素

1. 非单色光

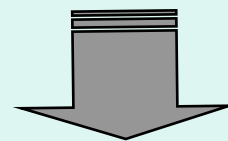


谱带宽度 $s = \lambda_2 - \lambda_1$

假设，两种单色光通过溶液：

$$\lambda_1: -\lg T_1 = -\lg I_1 / I_{01} = E_1 c l$$

$$\lambda_2: -\lg I_2 / I_{02} = E_2 c l$$



$$I_1 = I_{01} \cdot 10^{-E_1 c l}$$

$$I_2 = I_{02} \cdot 10^{-E_2 c l}$$

则混合光的透光率

$$I_1 = I_{0_1} \cdot 10^{-E_1 cl}$$

$$I_2 = I_{0_2} \cdot 10^{-E_2 cl}$$

$$T = \frac{I_1 + I_2}{I_{0_1} + I_{0_2}} = \frac{I_{0_1} \cdot 10^{-E_1 cl} + I_{0_2} \cdot 10^{-E_2 cl}}{I_{0_1} + I_{0_2}}$$

$$= \frac{(I_{0_1} \cdot 10^{-E_1 cl} + I_{0_2} \cdot 10^{-E_2 cl}) 10^{E_1 cl}}{(I_{0_1} + I_{0_2}) 10^{E_1 cl}}$$

$$= 10^{-E_1 cl} \cdot \frac{I_{0_1} + I_{0_2} \cdot 10^{(E_1 - E_2) cl}}{I_{0_1} + I_{0_2}}$$

$$T = 10^{-E_1 cl} \cdot \frac{I_{0_1} + I_{0_2} \cdot 10^{(E_1 - E_2) cl}}{I_{0_1} + I_{0_2}}$$

$$A = -\lg T = E_1 cl - \lg \frac{I_{0_1} + I_{0_2} \cdot 10^{(E_1 - E_2) cl}}{I_{0_1} + I_{0_2}}$$

当 $E_1 = E_2$

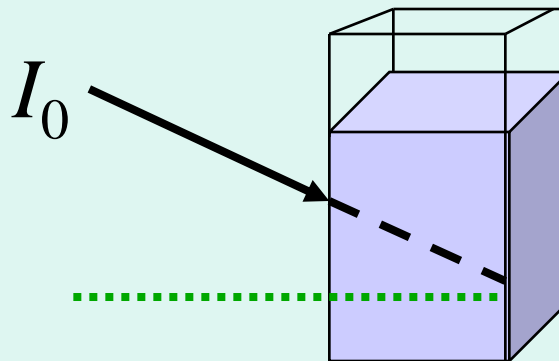
$$A = -\lg T = E_1 Cl$$

$E_1 \neq E_2$

产生偏离

- 偏离原因：入射光谱带宽度
- 减免措施：提高单色性

2. 非平行光

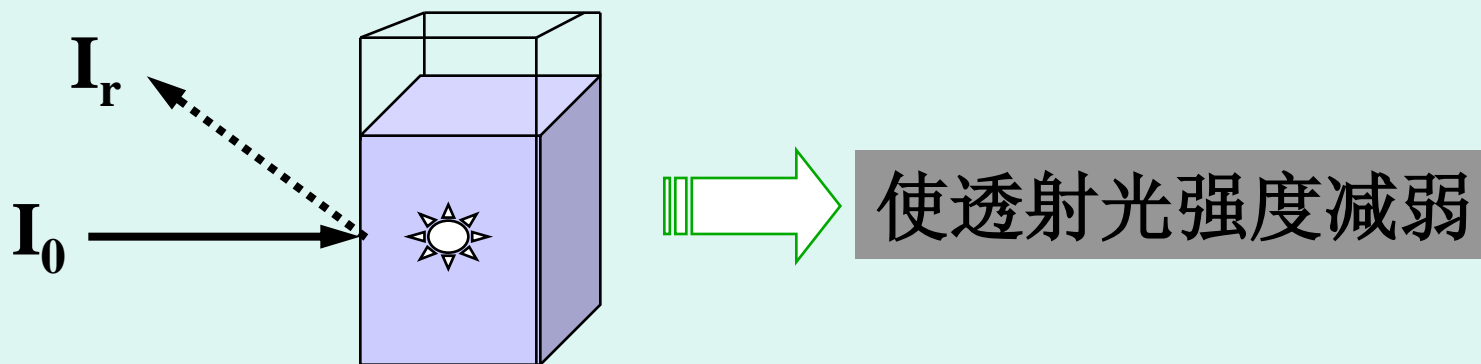


3. 杂散光

不在谱带范围内的与所需波长相隔较远的光。源自仪器本身光学元件的：制造、尘染、霉蚀等

➤ 减免措施： 光路、吸收池放置
制造工艺、保存环境

3. 散射光和反射光



➤ 减免措施： 空白溶液对照

(三) 透光率测量误差

$$A = -\lg T = Kc \quad dA = -0.434 \frac{dT}{T} = Kdc$$

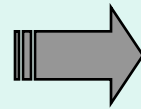
$$\frac{dA}{A} = -0.434 \frac{dT}{T \lg T} = \frac{dc}{c} \quad \rightarrow \quad \frac{\Delta c}{c} = \frac{0.434 \Delta T}{T \lg T}$$

测定结果的相对误差取决于

- ▶ 透光率T
- ▶ 透光率测量误差 ΔT

1. 暗噪音 检测器及放大电路， ΔT 可视为常数

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{0.434\Delta T}{T \lg T}$$



$$T = 0.368 \quad A = 0.434$$

$$\frac{\Delta c}{c}$$

具极小值

T = 0.368时:

$\Delta T = 1\%$	$\frac{\Delta c}{c} = 2.72\%$
$\Delta T = 0.5\%$	$\frac{\Delta c}{c} = 1.36\%$
$\Delta T = 0.01\%$	$\frac{\Delta c}{c} = 0.027\%$

测定时应使:

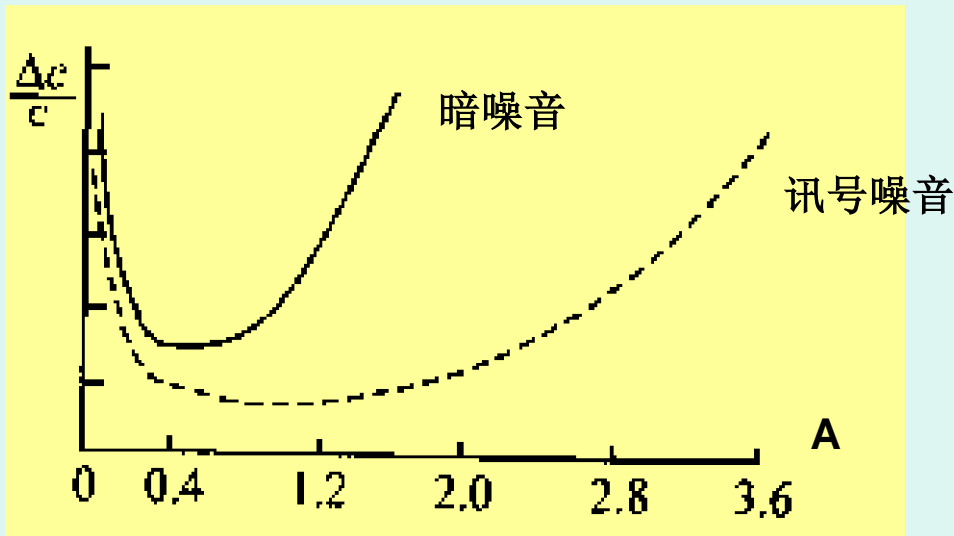
T 65% ~ 20%

A 0.2~0.7

2. 讯号噪音 随机讯号，与光敏元件有关

$$\Delta T = TK \sqrt{\frac{1}{T} + 1} \quad \Rightarrow \quad \frac{\Delta c}{c} = \frac{0.434 \Delta T}{T \lg T}$$

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{0.434 K}{\lg T} \sqrt{\frac{1}{T} + 1}$$



第二节 紫外-可见分光光度计



一、主要部件

1. 光源 提供辐射能

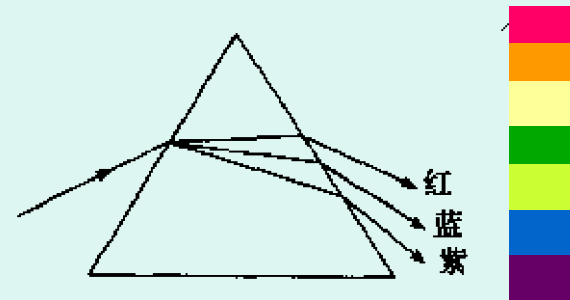
- 发射强度足够
- 稳定
- 具有连续光谱

钨灯或卤钨灯 — 可见光源
> 350nm

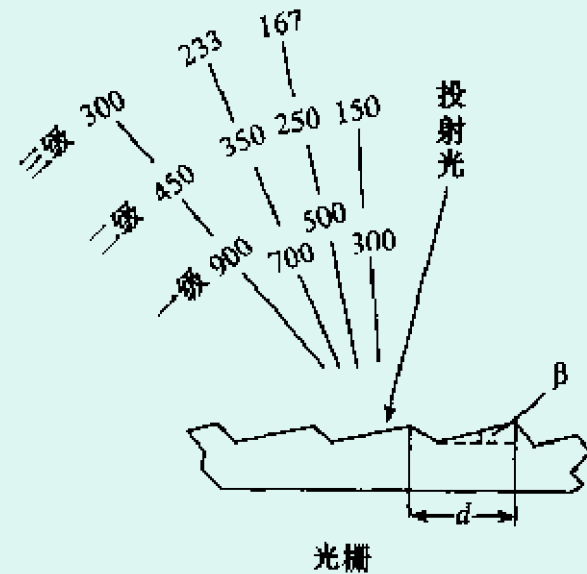
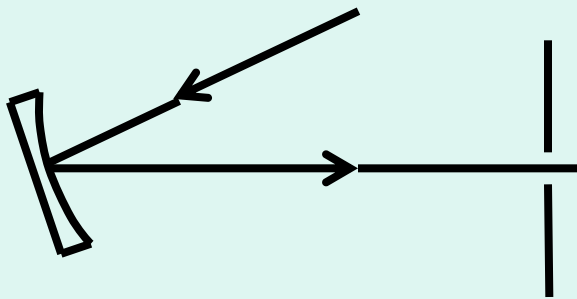
氢灯或氘灯 — 紫外光源
150~400nm

2. 单色器 将复合光色散成单色光

- 色散元件 棱镜
光栅



- 准直镜（聚光镜）
- 狭缝



3. 吸收池 盛放试液

可见光区—玻璃
紫外区—石英

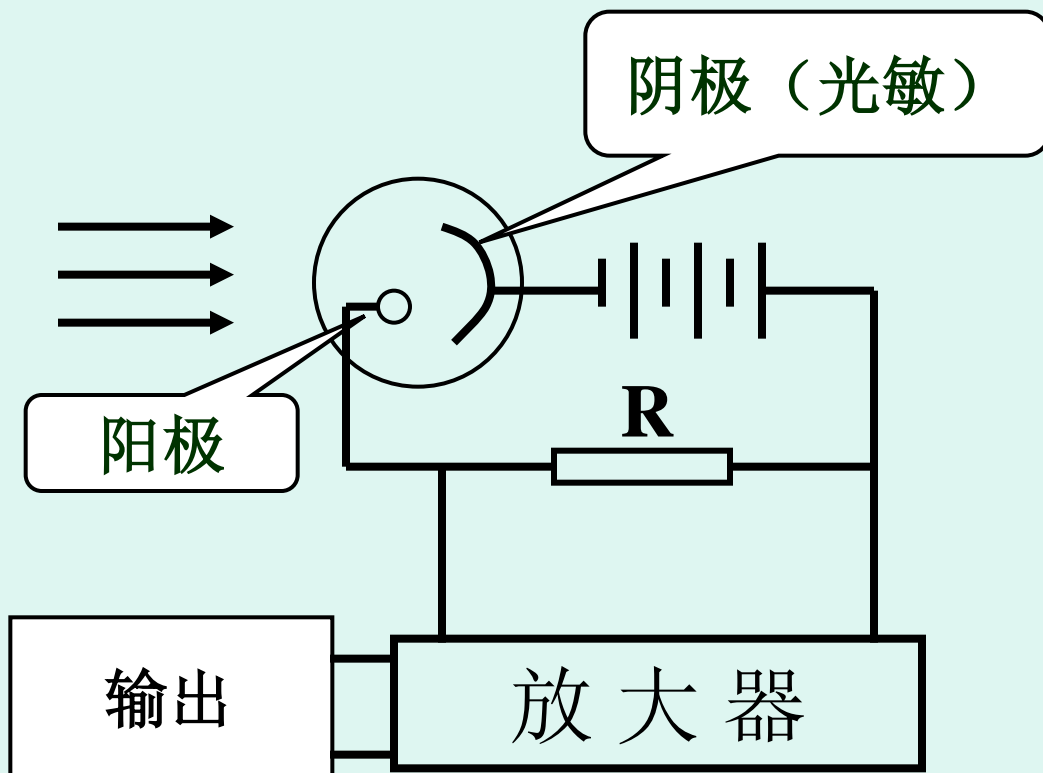
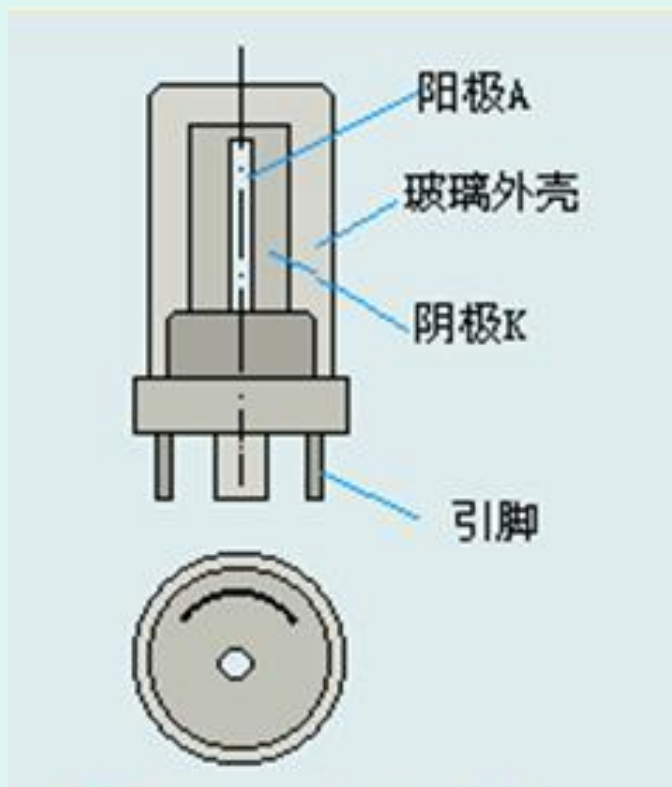


盛空白溶液的和盛样品溶液的吸收池
应互相匹配

4. 检测器 将辐射能转变成电信号

- 光电池
 - 硒光 可见光区
 - 硅光 紫外可见
- 光电管
- 光电倍增管
- 光电二极管阵列检测器

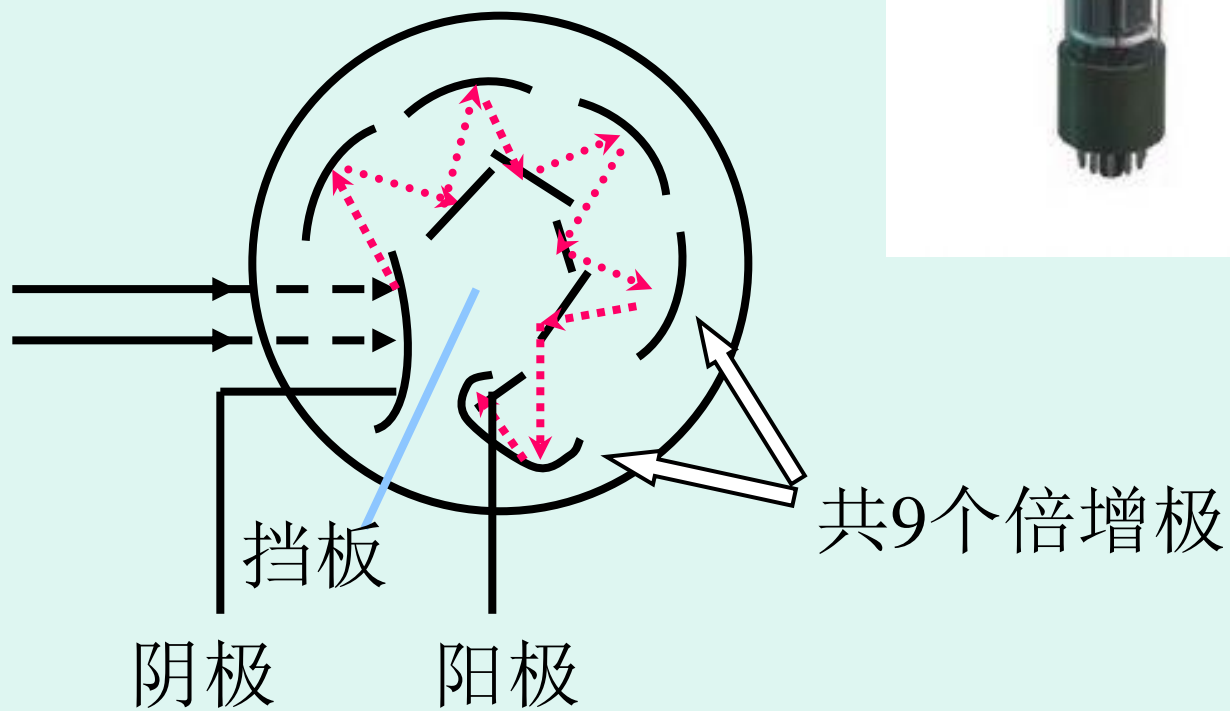
光电管、光电倍增管



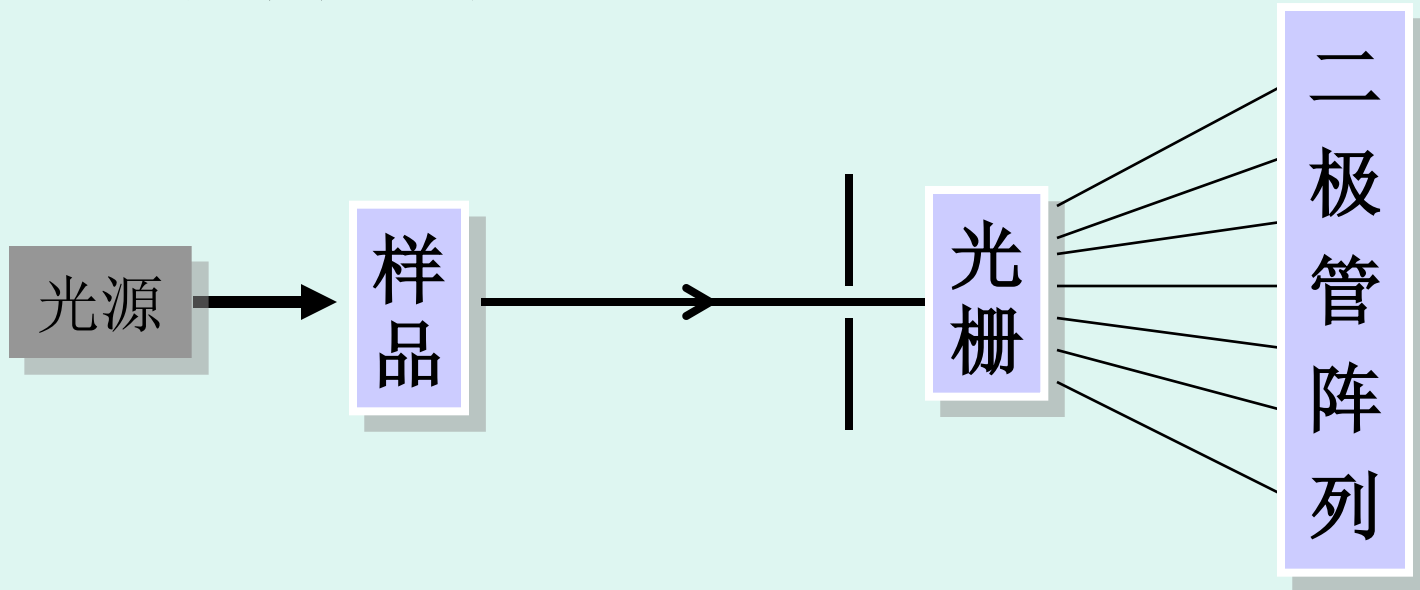
紫敏光电管 200 ~ 625nm

红敏 625 ~ 1000nm

光电倍增管

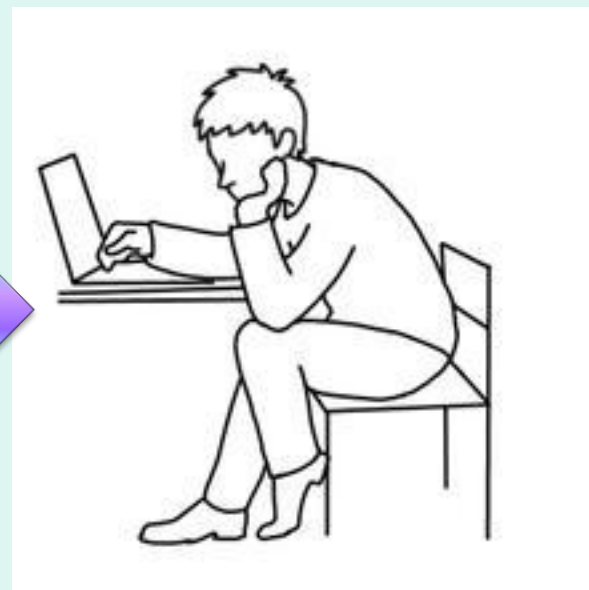
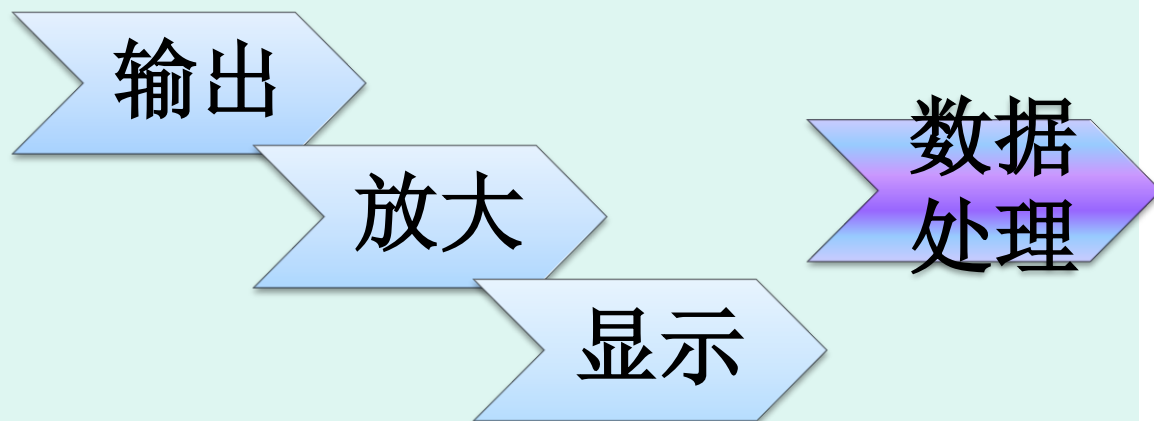


光二极管阵列检测器



- 例：二极管阵列，在190 ~ 820nm，由316个二极管组成，即2nm一个二极管。在1/10秒内即可获得全光谱图。

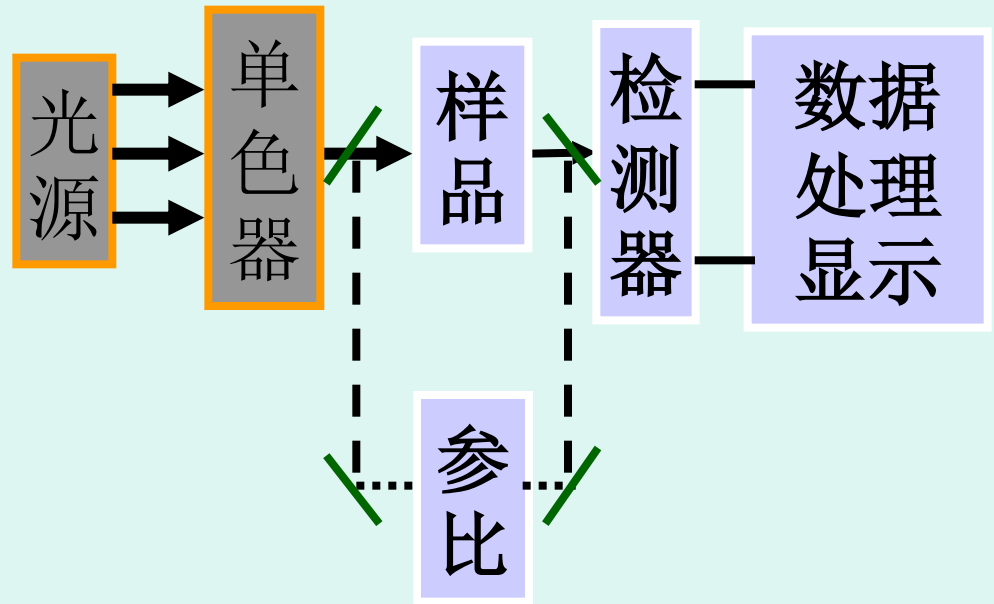
5. 讯号显示和处理



二、分光光度计的光学性能与类型

(一) 几种光路类型

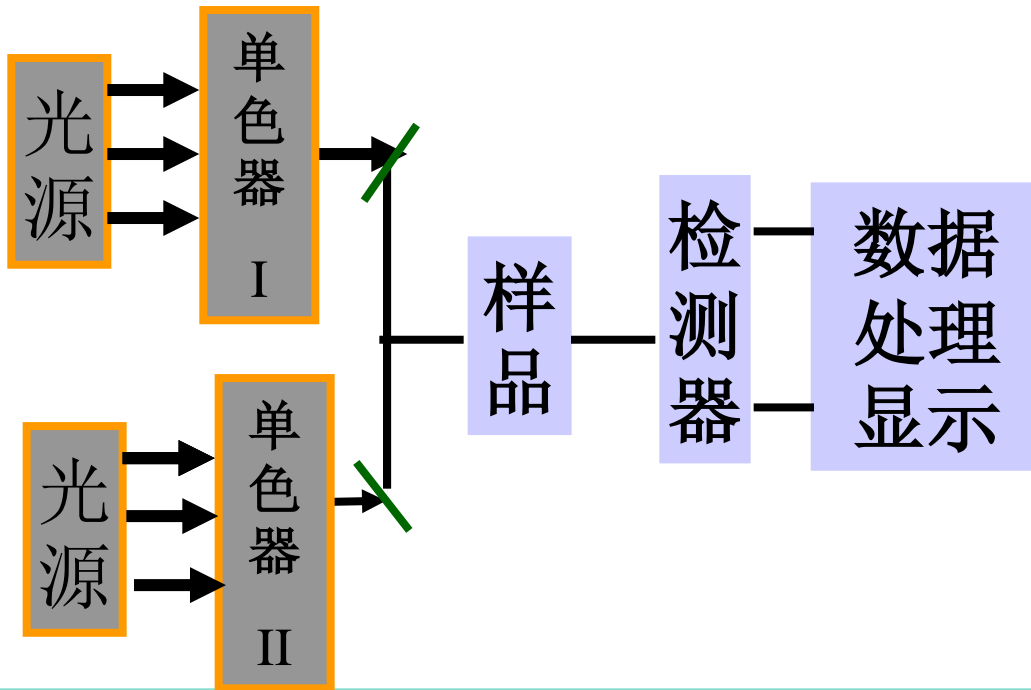
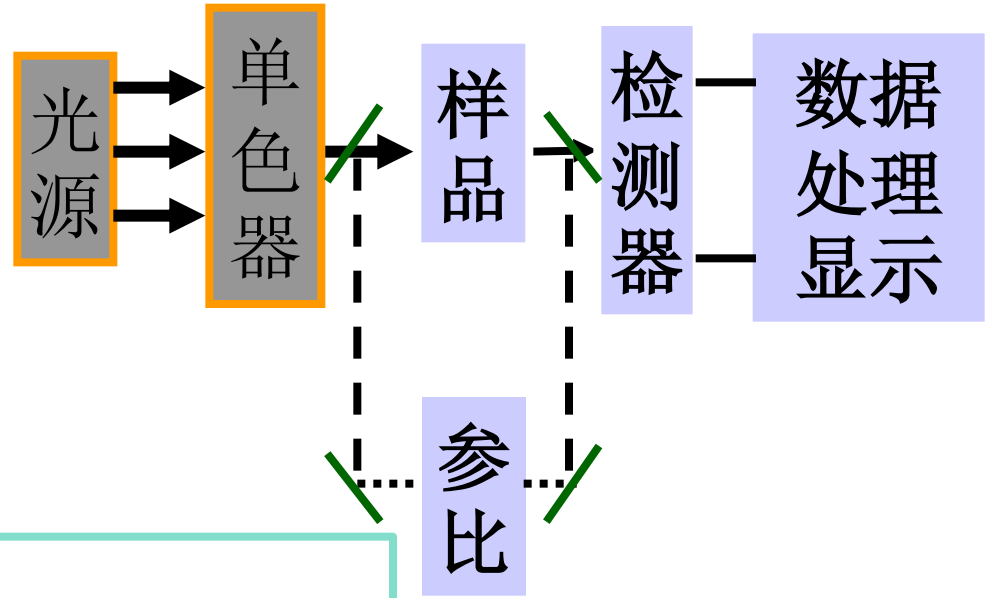
1. 单光束
2. 双光束
3. 双波长



光路类型

2. 双光束

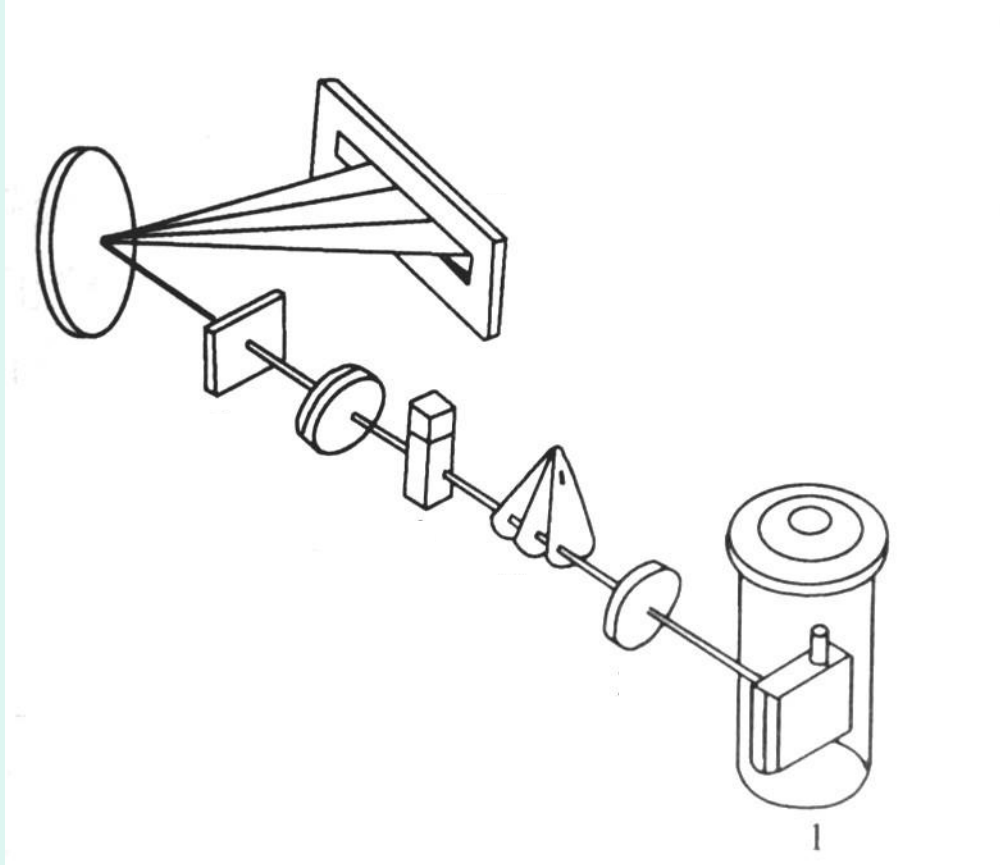
3. 双波长



光路类型

4.多光道二极管阵列检测

5.光纤探头式



(二) 光学性能

视不同厂商及型号不同而不同

主要指标:

波长范围, 波长准确度, 波长重现性,
透光率测量范围, 吸光度测量范围, 光
度准确度, 光度重复性, 分辨率, 杂散
光

(三) 仪器的校正

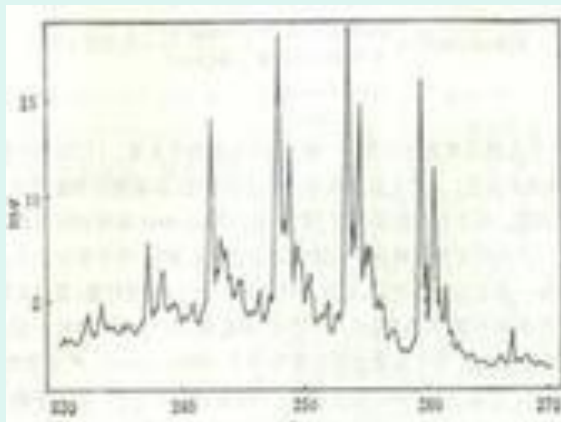
1. 波长的校正

氢灯或氘灯：486.13nm (F线)

656.28nm (C线)

稀土玻璃 (如锆钼玻璃、钽玻璃)

苯蒸汽



2. 吸光度的校正

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的硫酸溶液:

基准 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (60mg) 在的硫酸溶液中稀释并定容至1000ml (0.005mol/L) , 在规定的波长处测定并记算吸收系数。

3. 吸收池的校正（配对）

1. **a 样品** }
b 参比 } $A_1 = A_{\text{样}} - A_{\text{参}}$

2. **a 参比** }
b 样品 } $A_2 = A_{\text{样}} - A_{\text{参}}$

要求： $\Delta A = A_1 - A_2 < 1\%$