



第一章 紫外-可见分光光度法



1.0 概述

1.1 紫外-可见分光光度法基本原理

1.2 紫外-可见分光光度计

1.3 可见分光光度法实验技术

1.4 目视比色法

1.5 紫外分光光度法

1.6 实验





1 概述

1. 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis) 是基于物质分子对200-780nm区域内光辐射的吸收而建立起来的分析方法。

由于200-780nm光辐射的能量主要与物质中原子的价电子的能级跃迁相适应，可以导致这些电子的跃迁，所以紫外可见分光光度法又称电子光谱法。





1 概述

2. 比色分析法 是利用比较待测溶液本身的颜色或加入试剂后呈现的颜色的深浅来测定溶液中待测物质浓度的方法。

适用范围：可见光区

(1) 目视比色法 以人的眼睛来检测颜色深浅的方法。

(2) 光电比色法 以光电转换器件（如光电池）为检测器来区分颜色深浅的方法。





1 概述

3. 分光光度法分类:

(按所有光的光谱区域不同可分为)

- (1) 可见分光光度法 (400-780 nm) ;
- (2) 紫外分光光度法 (200-400 nm) ;
- (3) 红外分光光度法 ($3 \times 10^3 - 3 \times 10^4 \text{nm}$) ;

其中紫外分光光度法和可见分光光度法合称为紫外可见分光光度法。





1 概述

4. 紫外-可见分光光度法的特点

- (1) 仪器设备和操作都比较简单，费用少，分析速度快；
- (2) 选择性好；
- (3) 灵敏度高：测试溶液的浓度下限可达到 $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ；某些条件下甚至可达 $10^{-7} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ；
- (4) 精密度和准确度较高；
- (5) 相对误差为 $2\% \sim 5\%$ ，某些精密分光光度计可达 $1\% \sim 2\%$ ；适用于低含量和微量组分的分析。
- (6) 用途广泛，能检测多种物质等。





1.1 基本原理

物质的颜色与光有密切关系，例如蓝色硫酸铜溶液放在钠光灯(黄光)下就呈黑色；如果将它放在暗处，则什么颜色也看不到了。

可见，物质的颜色不仅与物质本质有关，也与有无光照和光的组成有关。

1.光的基本特性：

(1)光的波粒二象性：

$$E = h \nu = h \frac{c}{\lambda}$$

由上式可知，不同波长的光能量不同，**波长愈长，能量愈小；
波长愈短，能量愈大。**

E为能量，eV(电子伏特)；

h为普朗克常数

($6.626 \times 10^{-34} \text{J}\cdot\text{s}$)；

ν 为频率，Hz(赫兹)；

c为光速；

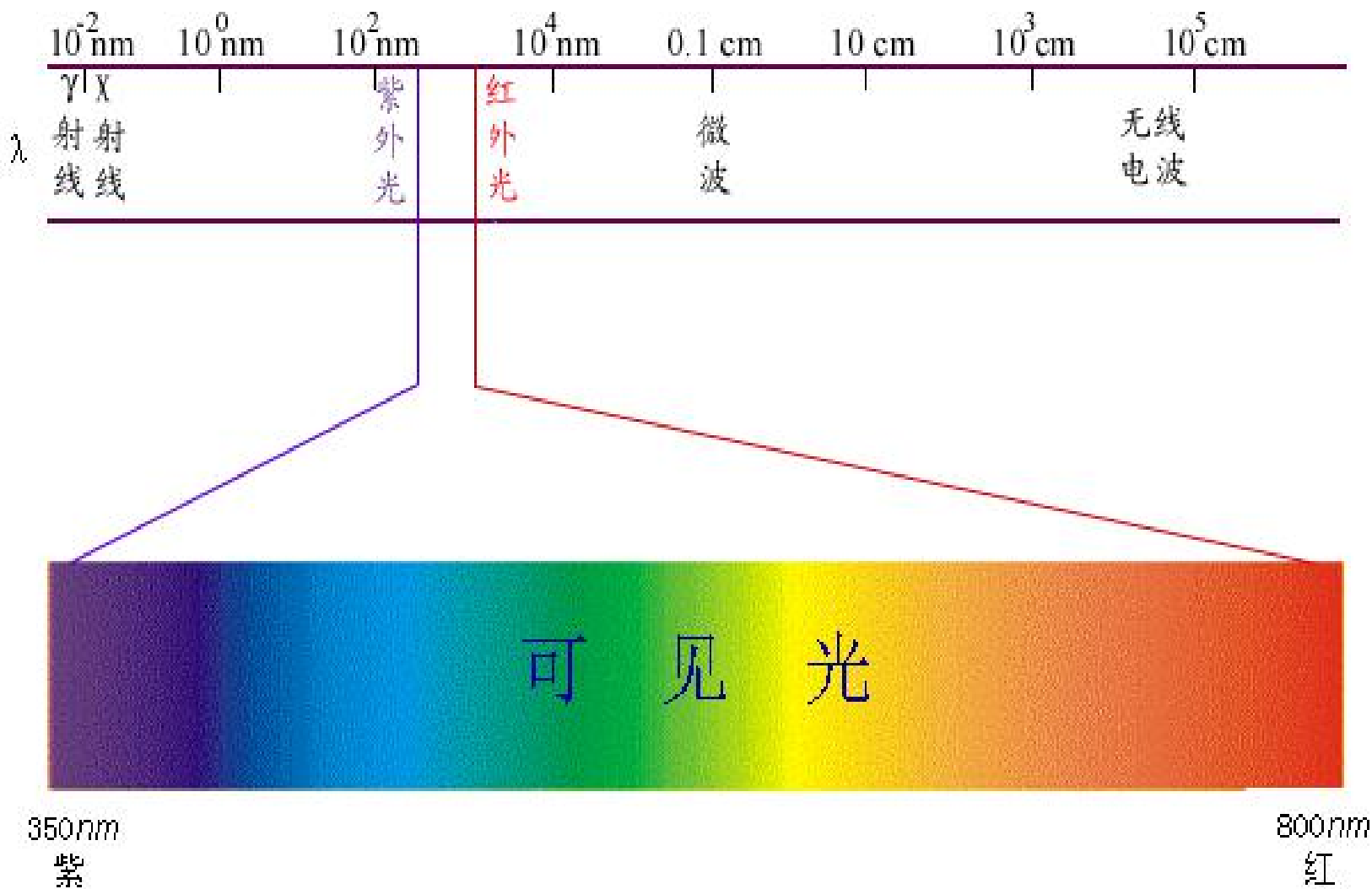
λ 为波长，nm(纳米)。





电磁波谱

波谱名称	波长范围	分析方法	跃迁能级类型
γ 射线	0.005~ 0.17nm	中子活化分析等	核能级
X射线	0.1~10nm	X射线光谱分析	内层电子能级
远紫外	10~200nm	真空紫外光谱法	
近紫外	200~400nm	紫外光谱法	原子及分子价电子或成键电子能级
可见光	400~750nm	比色、可见吸光光谱法(光度法)	
近红外	0.75~2.5 μ m	红外光谱法	分子振动能级
中红外	2.5~50 μ m	红外光谱法	
远红外	50~1000 μ m	红外光谱法	分子转动能级
微波	1~1000mm	微波光谱法	
射频	1~1000m	核磁共振光谱法	电子、核自旋 





1.1 基本原理

(2) 单色光、复合光和互补光

单色光:

具有同一种波长的光。

复合光:

含有多种波长的光。

如日光、白炽灯光

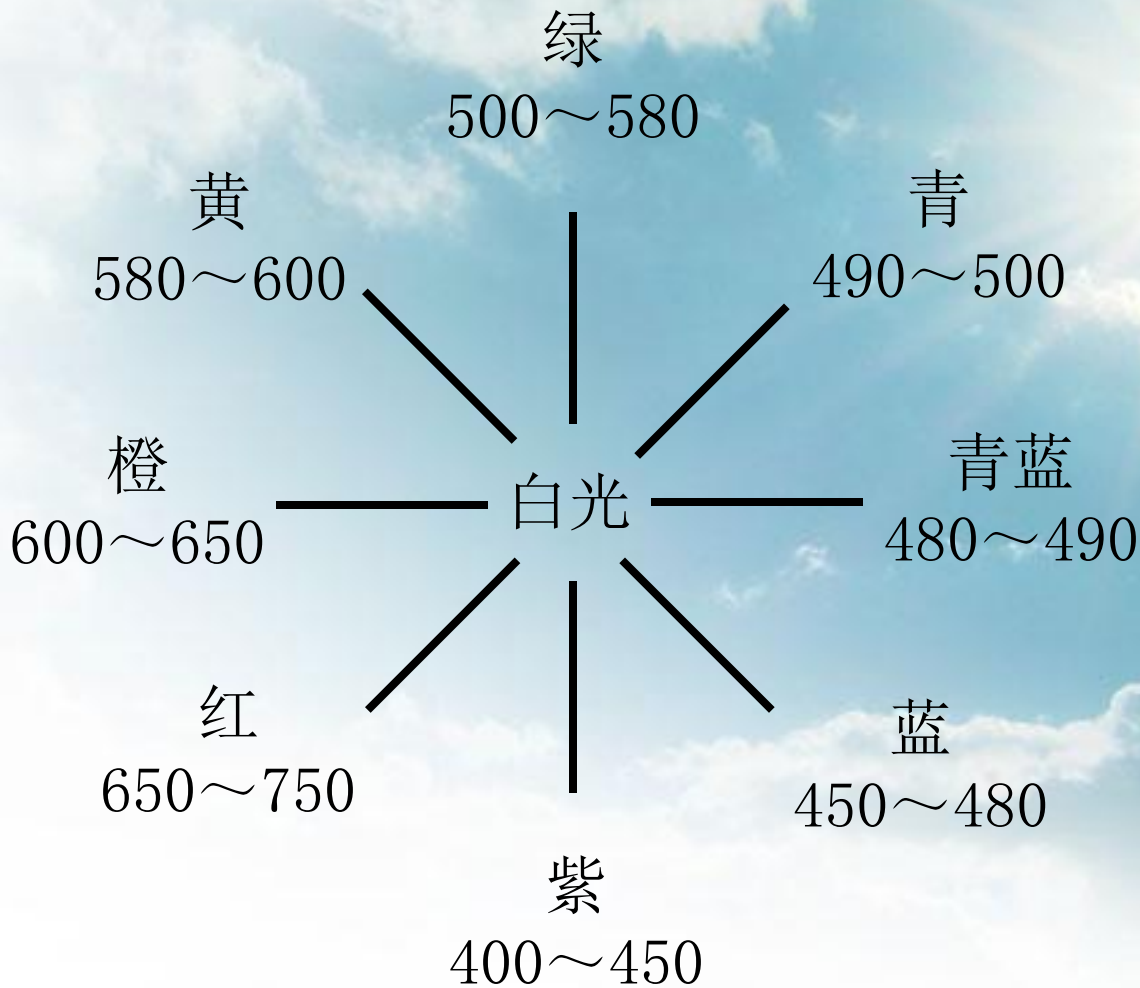


互补光:

互补光示意图

按一定强度比例混合为白光的两颜色
的光，称为互补光。



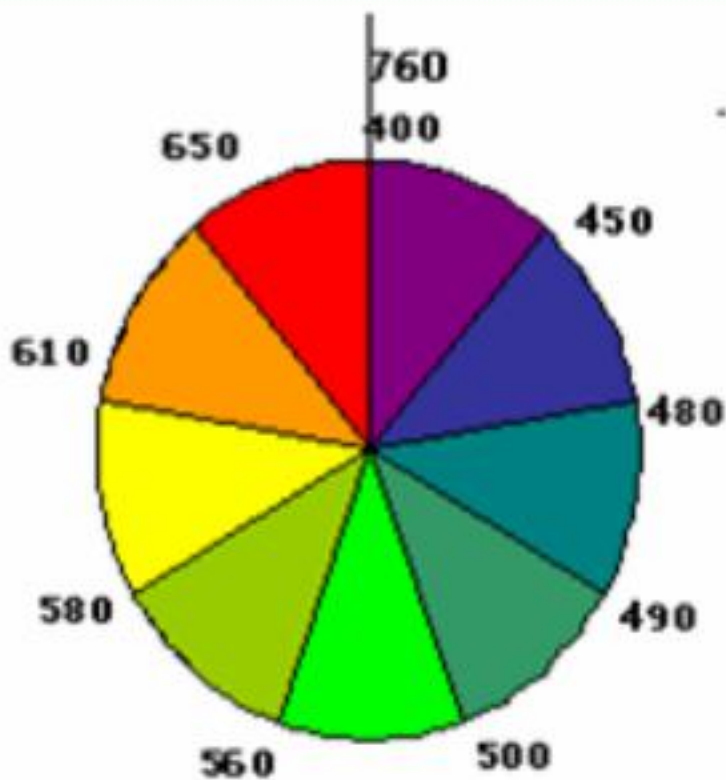


光的互补色示意图





不同颜色的可见光波长及其互补光



λ/nm	颜色	互补光
400-450	紫	黄绿
450-480	蓝	黄
480-490	绿蓝	橙
490-500	蓝绿	红
500-560	绿	红紫
560-580	黄绿	紫
580-610	黄	蓝
610-650	橙	绿蓝
650-760	红	蓝绿





物质颜色的产生

我们人眼看到的多彩世界是由于不同的物质能吸收不同颜色的光，不能被吸收的光则被反射后被人眼睛所感知的。



硫酸铜



铬酸钾



重铬酸钾



高锰酸钾溶液





物质颜色的产生

无色溶液：对可见区各波长的光都不吸收的溶液。

黑色溶液：对可见区各波长的光全部吸收的溶液。

有色溶液：选择性地吸收了可见区某波长的光，则该溶液呈现出被吸收光的互补色光的颜色。

例 KMnO_4 溶液吸收了500~560nm的绿光，呈互补光颜色-紫红色

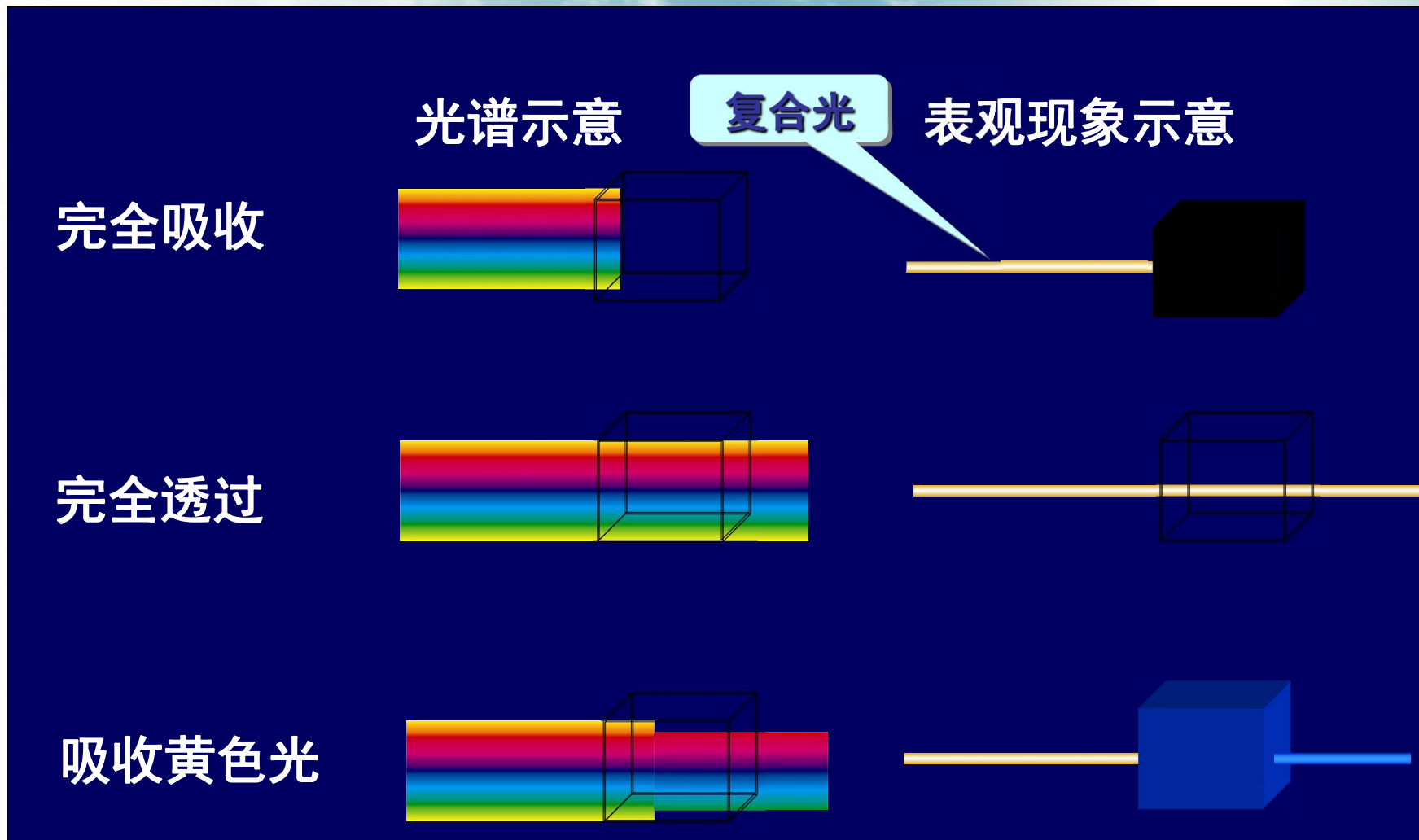
K_2CrO_4 溶液吸收了青色光，呈互补光颜色-黄色

可见物质的颜色是基于物质对光选择性吸收的结果，而物质呈现的颜色则是被物质吸收光的互补色。





溶液的颜色与光吸收的关系



物质呈现颜色与吸收光波长的关系见下表。





物质对光的选择性吸收

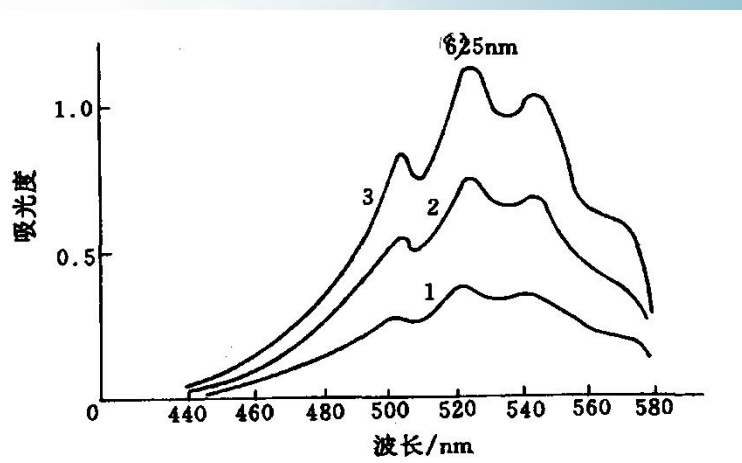
- 由于物质对光的吸收是选择性的，利用不同检测物质对某波长的光的吸收特性来了解物质浓度等特性，这就是光谱法的基础；
- 通过测定被测物质对不同波长的光的吸收强度（吸光度），以波长为横坐标，吸光度为纵坐标作图，得出该物质在测定波长范围的吸收曲线。如图1-3；
- 在吸收曲线中，通常选用最大吸收波长 λ_{\max} 进行物质含量的测定。





KMnO₄溶液的光吸收曲线

吸收曲线描述了物质对不同波长光的吸收后程度



1- $c(\text{KMnO}_4) = 1.56 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

2- $c(\text{KMnO}_4) = 3.12 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

3- $c(\text{KMnO}_4) = 4.68 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

2-1 KMnO₄溶液的光吸收曲线

①高锰酸钾溶液对不同波长的光的吸收程度是不同的，对波长为525nm的绿光吸收最多，在吸收曲线上有一高峰(称为吸收峰)。光吸收程度最大处的波长称为最大吸收波长(常以 λ_{max} 表示)。在进行光度测定时，通常取在 λ_{max} 的波长处来测量，因为这时可得到最大的灵敏度。

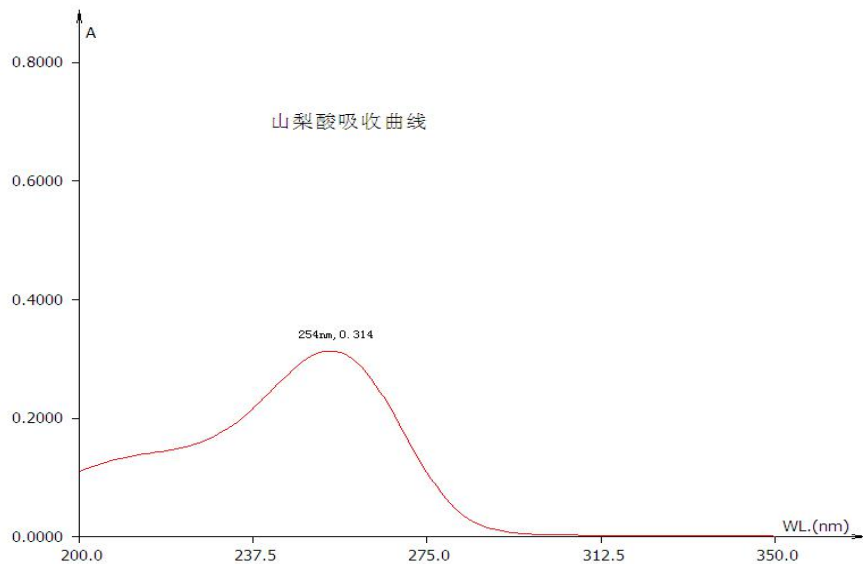
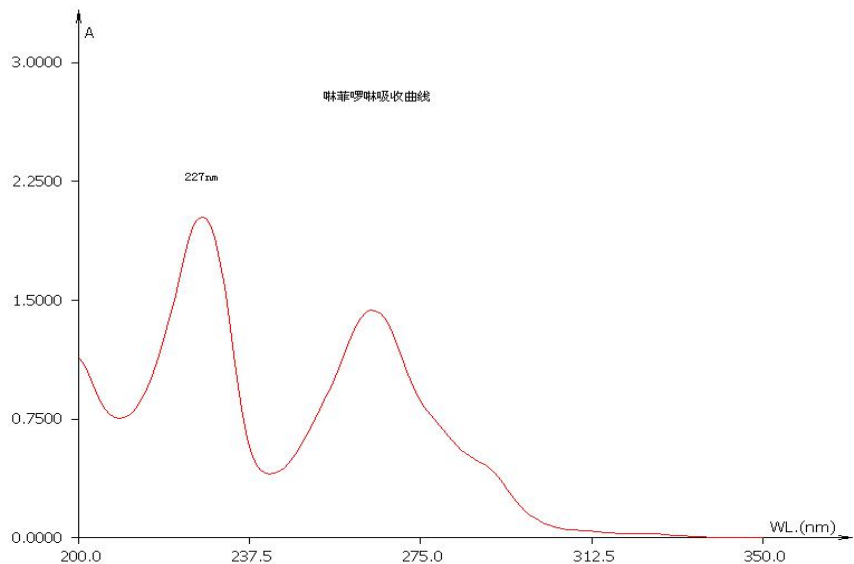
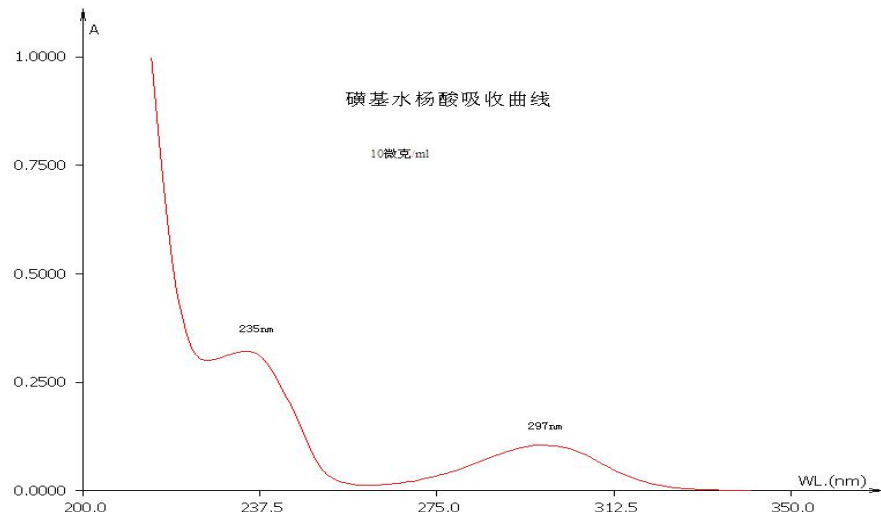
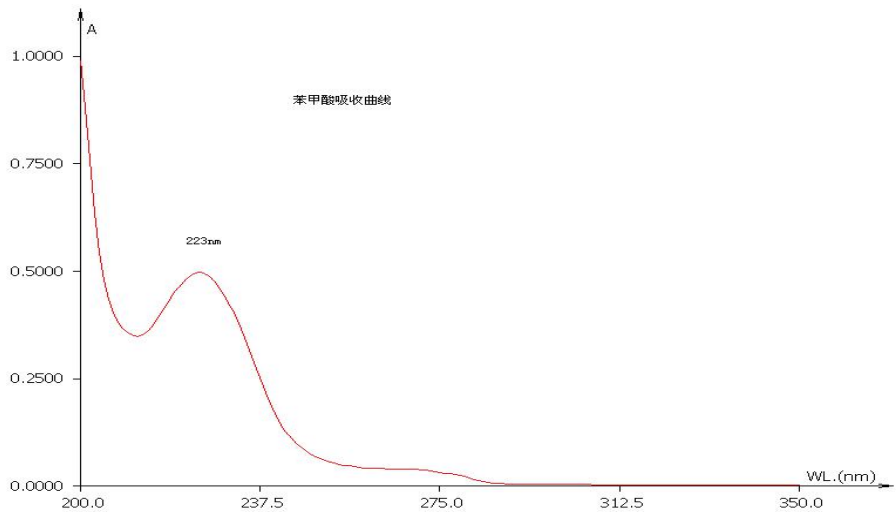
②不同浓度的高锰酸钾溶液，其吸收曲线的形状相似，最大吸收波长也一样。所不同的是吸收峰峰高随浓度的增加而增高。

③不同物质的吸收曲线，其形状和最大吸收波长都各不相同。因此，可利用吸收曲线来作为物质定性分析的依据。





吸收曲线





1. 1. 3 光吸收定律

$$I_0 = I_a + I_t + I_r$$

入射光强度为 I_0 ，吸收光强度为 I_a ，透过光强度为 I_t ，反射光强度为 I_r 。

若吸收池的质量和厚度都相同，则 I_r 基本不变，在具体测定操作时 I_r 的影响可互相抵消（与吸光物质的 c 及 b 无关）

上式可简化为：
$$I_0 = I_a + I_t$$

$$-\lg \frac{I_t}{I_0} = K \cdot b \cdot c$$





吸光度 $A = \lg(I_0/I_t)$

表示单色光通过溶液时被吸收的程度。

透射比 $\tau = \frac{I_t}{I_0}$

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \lg \frac{1}{\tau} = -\lg \tau$$

朗伯定律 $A = kb$

k 与入射光波长、溶液性质、浓度和温度有关。

比尔定律 $A = k'c$

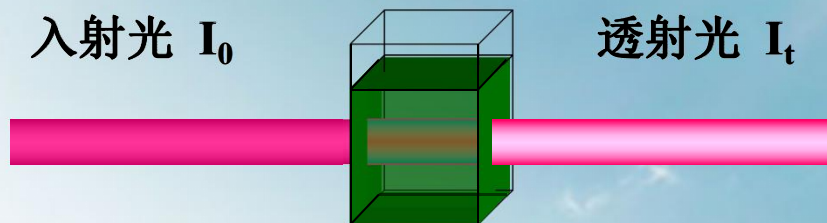
k' 与入射光波长、液层厚度、溶液性质和温度有关。





1.1.3 光吸收定律 $A = kbc$

朗伯-比尔定律：当一束平行单色光通过含有吸光物质的稀溶液时（**均匀透明**），溶液的吸光度与吸光物质浓度、液层厚度乘积成正比，



即： $A = Kbc$

式中：

- A ：吸光度；描述溶液对光的吸收程度；
- k ：摩尔吸光系数，单位 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ；
- b ：液层厚度（光程长度），通常以cm为单位；
- c ：溶液的摩尔浓度，单位 $mol \cdot L^{-1}$ ；





朗伯—比尔 定律应用的 条件

必须使用单色光

吸收发生在均匀的介质

吸收过程中，吸收物质互相不发生作用





吸光系数

吸光系数**K**的物理意义：

单位浓度的溶液液层厚度为1cm时，在一定波长下的吸光度。

吸光系数**K**的影响因素：

吸光物质的本性、入射光波长、溶液温度、溶剂性质等有关，与浓度采用的单位有关。

(1) 摩尔吸光系数 ϵ

浓度为1mol/L的溶液，于厚度为1cm的吸收池中，在一定波长下测得的吸光度。

单位： $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

$$A = \epsilon bc$$





摩尔吸光系数

ϵ 是吸光物质的重要参数之一，它表示物质对某一特定波长的吸光能力。

ϵ 愈大，表示物质对某波长光的吸收能力愈强，测定的灵敏度也愈高。

一般认为：

$\epsilon < 1 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，灵敏度较低；

$\epsilon = 1 \times 10^4 \sim 6 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，灵敏度中等；

$\epsilon > 6 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，灵敏度高。

ϵ 由实验测定，计算得到。





质量吸光系数

质量吸光系数 α

溶液浓度以质量浓度 $\rho(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ 表示，液层厚度以厘米(cm)表示的吸光系数。

单位：

$$\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$$

朗伯-比尔定律

$$A = \alpha b \rho$$

使用对象：

适用于摩尔质量未知的化合物





吸光度的加和性

吸光度加和性:

在某一波长下，多组分体系中，吸光度等于各组分吸光度之和。

$$A_{\text{总}} = A_1 + A_2 + \cdots + A_n$$

$$A_{\text{总}} = \varepsilon_1 bc_1 + \varepsilon_2 bc_2 + \cdots + \varepsilon_n bc_n$$

吸光度加和性可以对多组分同时测定，校正干扰等都极为有用。





偏离光吸收定律的主要因素

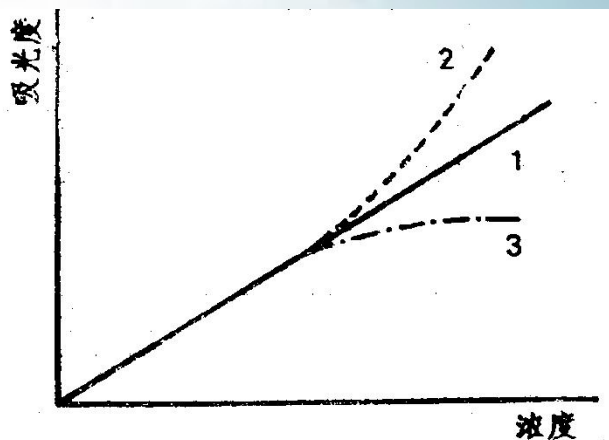
◆影响吸收定律的主要因素：

- **入射光非单色性引起偏离** 吸收定律成立的前提是入射光是单色光。但实际上，一般单色器所提供的人射光并非是纯单色光，而是由波长范围较窄的光带组成的复合光；
- **溶液的化学因素引起偏离** 实际样品的混浊，加入的保护胶体，蒸馏水中的微生物，存在散射以及共振发射等，均可吸光质点的吸光特性变化大；
- **定律本身的局限性** 只适用于浓度小于 $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的稀溶液；



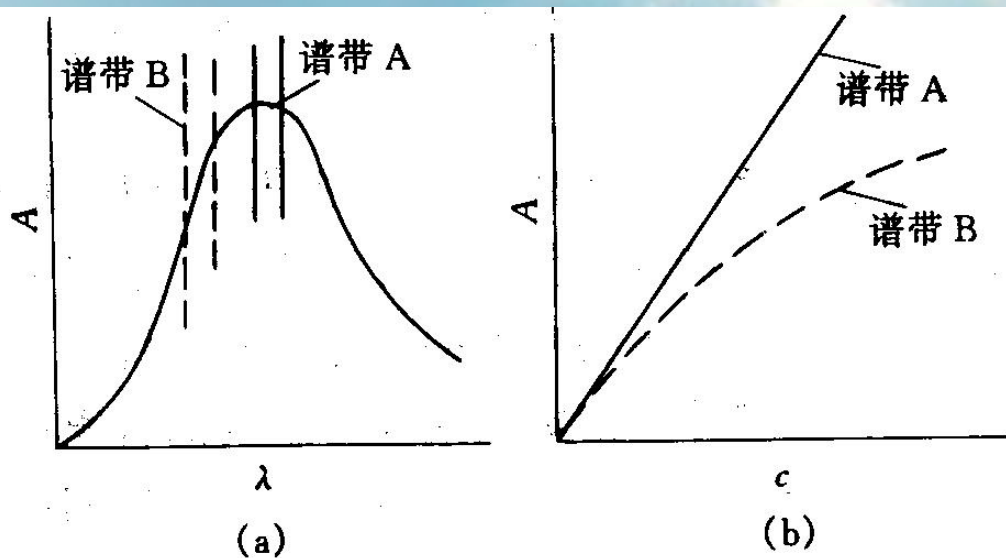


吸收系数



1—无偏离；2—正偏离；3—负偏离

1-5 偏离吸收定律



1-6 入射光的非单色性对吸收定律的影响





1.2 紫外-可见分光光度计



UV-1801紫外可见分光光度计



日本岛津**UV-2450**



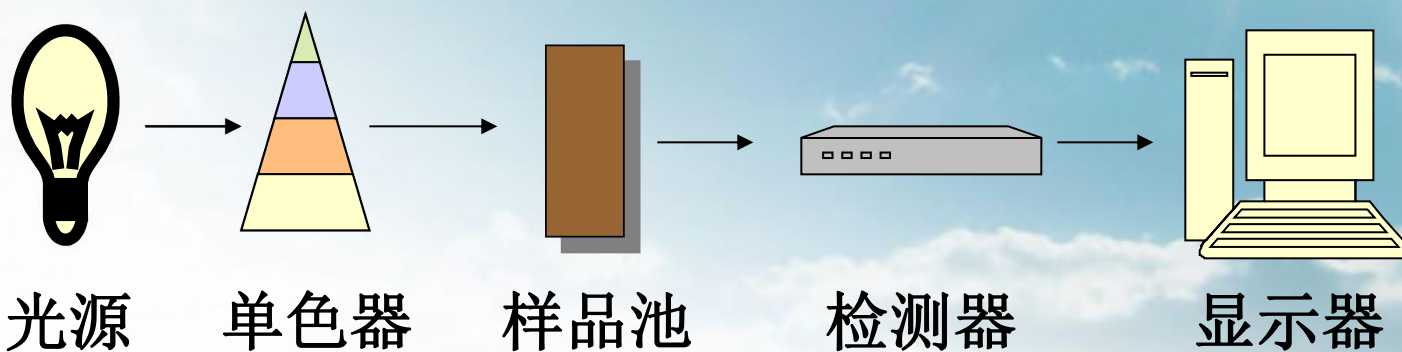
UV-7504C紫外可见分光光度计





紫外-可见分光光度计的基本构造

- 基本构造主要由光源、单色器、吸收池、检测器和显示器五大部分组成。





紫外-可见分光光度计的基本构造

1. 光源

在整个紫外光区或可见光区可以发射**连续光谱**，具有**足够的辐射强度**、**较好的稳定性**、**较长的使用寿命**。一般分为可见光源和紫外光源：

(1) 可见光源：

钨丝灯：波长范围为325~2500nm，最适宜使用范围为380~1000nm；

卤钨灯：在钨丝中加入少数卤化物 寿命更长更高效；

(2) 紫外光源：

氢灯或氘灯，使用波长范围是185-375 nm；





可见光源



辰睿电子科技有限公司(个体经营)
www.hc360.com

钨灯



卤钨灯





紫外-可见分光光度计的基本构造



HAMAMATSU公司的一些汞灯外形



HAMAMATSU公司的汞灯近视图





紫外-可见分光光度计的基本构造

• 2.单色器

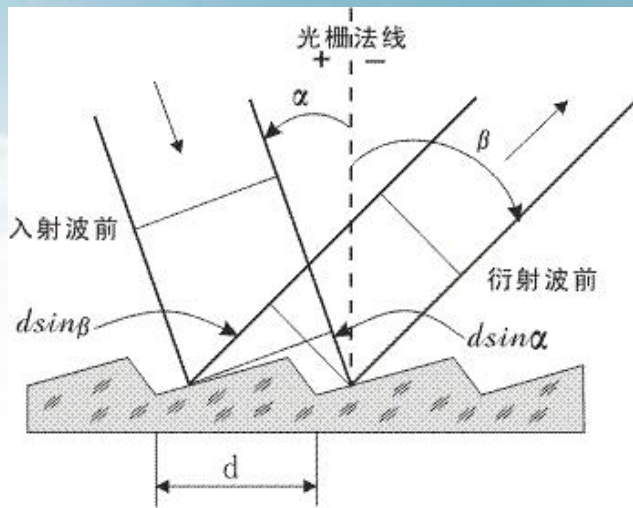
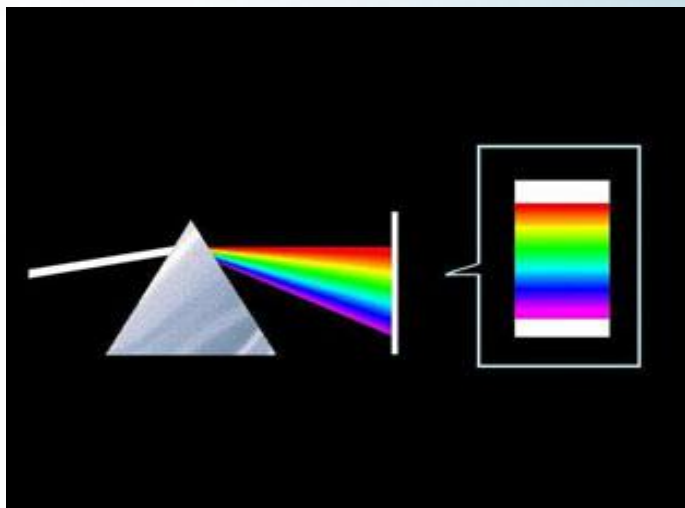
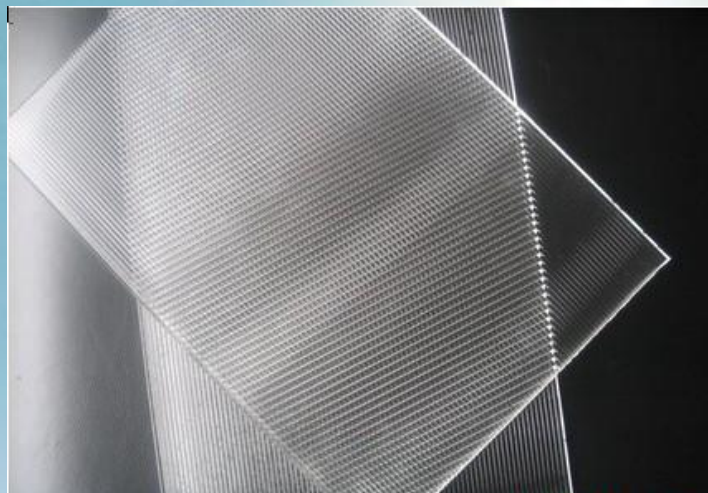
- 单色器是将光源辐射的复合光分成单色光的光学装置。它是分光光度计的“心脏”部分。单色器一般由狭缝、色散元件及透镜系统组成。关键是色散元件，最常见的色散元件是棱镜和光栅。
- 狭缝：将单色器的散射光切割成单色光。直接关系到仪器的分辨率。狭缝越小，光的单色性越好。分为入射狭缝和出射狭缝。
- 棱镜：玻璃350~3200 nm，石英185~4000 nm。
- 光栅：波长范围宽，色散均匀，分辨性能好，使用方便。

1. 入射狭缝 2. 准直透镜 3. 棱镜 4. 聚焦棱镜 5. 出射狭缝





单色器

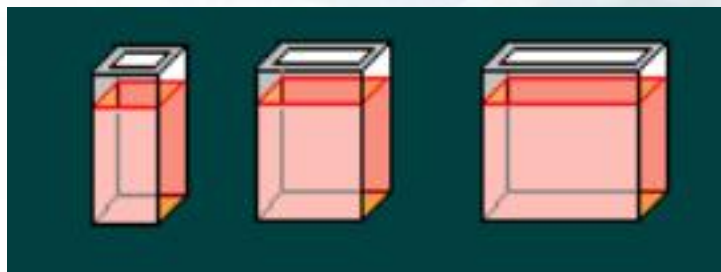




3. 吸收池

用于盛装试液的装置。吸收材料必须能够透过所测光谱范围的光。一般可见光区使用玻璃吸收池，紫外光区使用石英吸收池。规格有0.5、1.0、2.0、5.0cm 等。

在高精度的分析测定中（紫外区尤其重要）吸收池要挑选配对，因为吸收池材料的本身吸光特性以及吸收池的光程长度的精度等对分析结果都有影响。



操作注意事项：手执两侧的毛面，盛放液体高度约为吸收池的四分之三。





吸收池





紫外-可见分光光度计的基本构造

4. 检测器

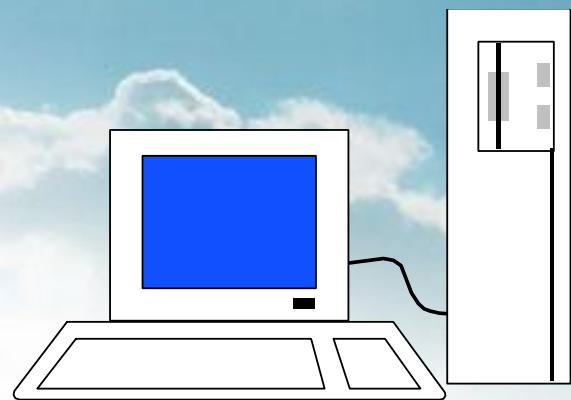
利用光电效应将透过吸收池的光信号变成可测的电信号，常用的有光电管、光电倍增管、光电二极管、光电摄像管等。

要求灵敏度高、响应时间短、噪声水平低、稳定性好的优点。

5. 显示器

将检测器输出的信号放大并显示出来的装置。

常用的液晶数字指示窗口和计算控制显示。





紫外可见分光光度计类型及特点

● 紫外可见分光光度计分类

波长范围

- 可见分光光度计 (400-780nm)
- 紫外可见分光光度计(200-1000nm)

光路

- 单光束分光光度计
- 双光束分光光度计

波长数

- 单波长分光光度计
- 双波长分光光度计



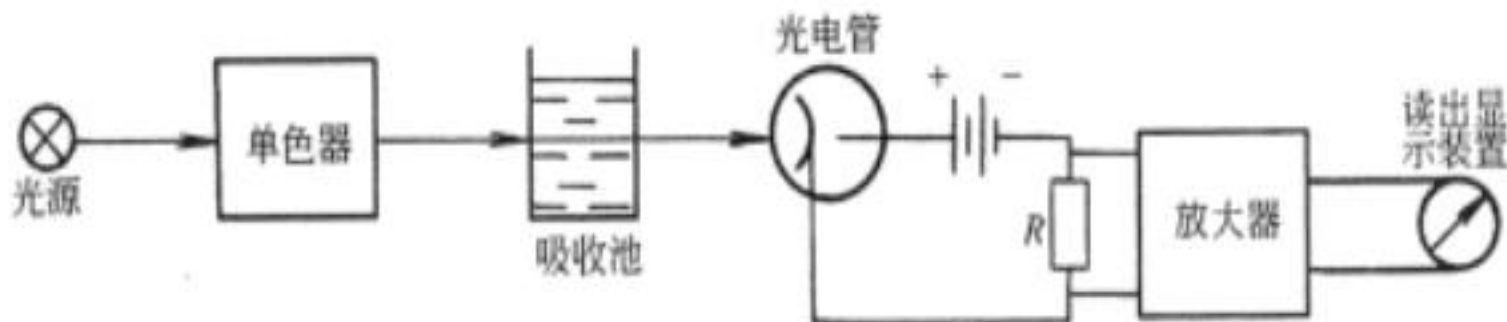


紫外可见分光光度计类型及特点

(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。

简单，价廉，适于在给定波长处测量吸光度或透光度，一般不能作全波段光谱扫描，要求光源和检测器具有很高的稳定性。



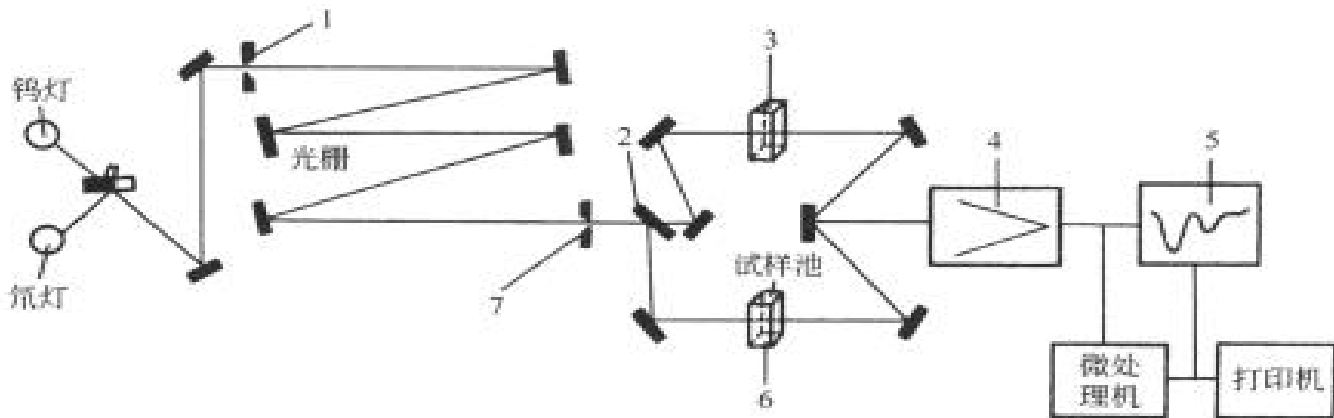


紫外可见分光光度计类型及特点

(2) 双光束分光光度计

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。

自动记录，快速全波段扫描。可消除光源不稳定、检测器灵敏度变化等因素的影响，特别适合于结构分析。仪器复杂，价格较高



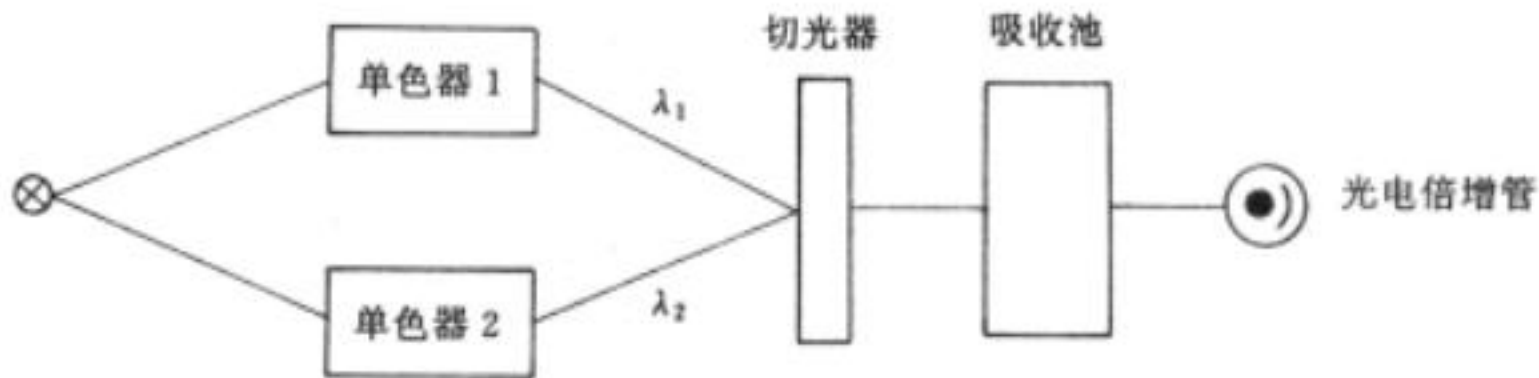
1-进口狭缝；2-切光器；3-参比池；4-检测器；5-记录仪；6-试样池；7-出口狭缝



(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；通过折波器以一定的频率交替通过同一样品池，然后由检测器交替接收信号，最后由显示器显示出两个波长处的吸光度差值 ΔA 。

无需参比池。 ΔA 就是扣除了背景吸收的吸光度。





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。

双波长
BECKMAN-DU_640





UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

◆ **仪器主要组成部件：**UV-1801紫外可见分光光度计（外形见图2-4）由光路、单色器、样品室、检测系统、电机控制、液晶显示、键盘输入、电源、RS232接口、打印接口等部分组成，其光学系统如图2-5所示。

◆ UV-1801紫外可见分光光度计软件操作

1、开机自检

- a, 检查各电缆是否连接正确、可靠，电源是否符合要求，全系统是否可靠接地等；
- b, 打开仪器主机；
- c, 连接主机与计算机；
- d, 仪器自检；





UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

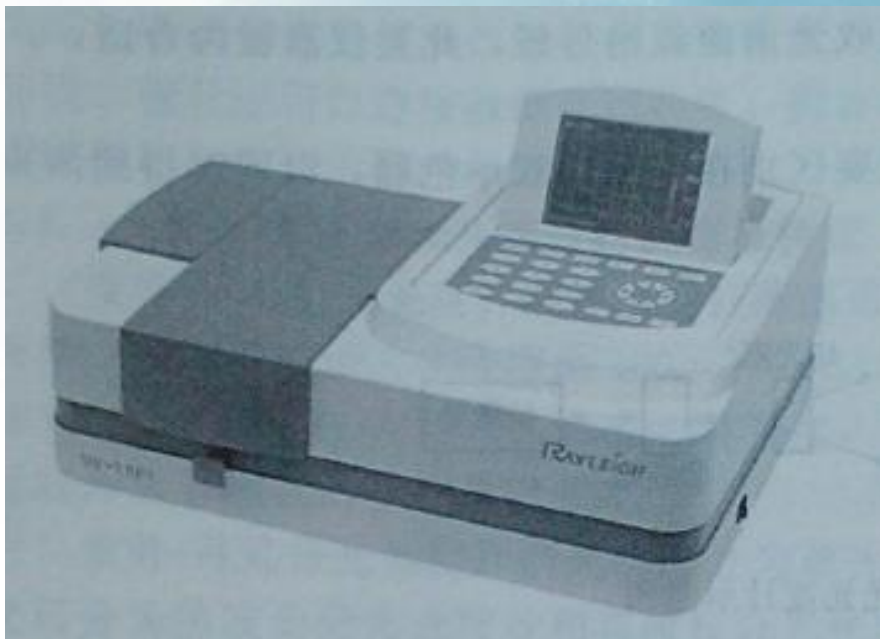


图2-4 UV-1801紫外可见分光光度计外形图

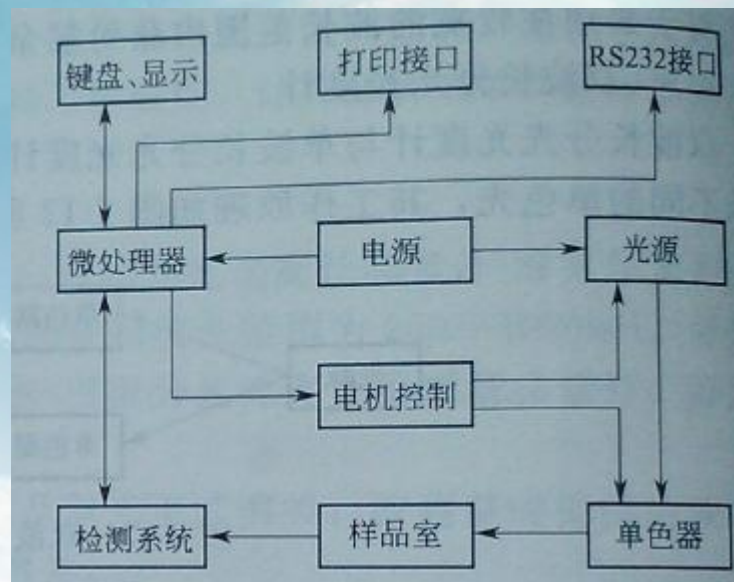
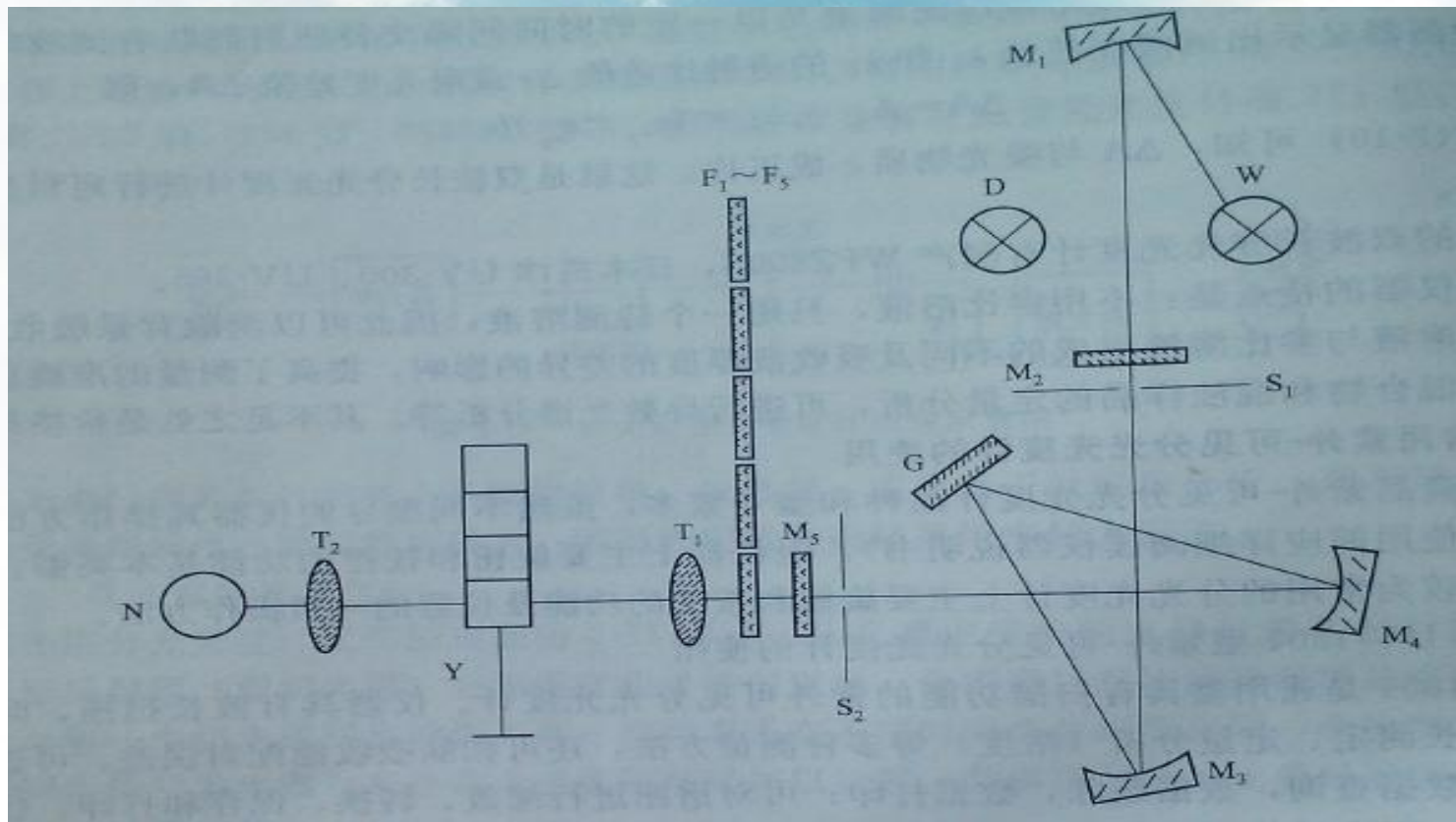


图2-5 UV-1801紫外可见分光光度组成框图





UV-1081紫外-可见分光光度计的使用



UV-1801紫外可见分光光度计光学系统图

D—氘灯；W—钨灯；G—光栅；N—接收器；M₁—聚光镜；
 M₂，M₅—保护片；M₃，M₄—准直镜；T₁，T₂—透镜；
 F₁~F₅—滤色片；S₁，S₂—狭缝；Y—样品池

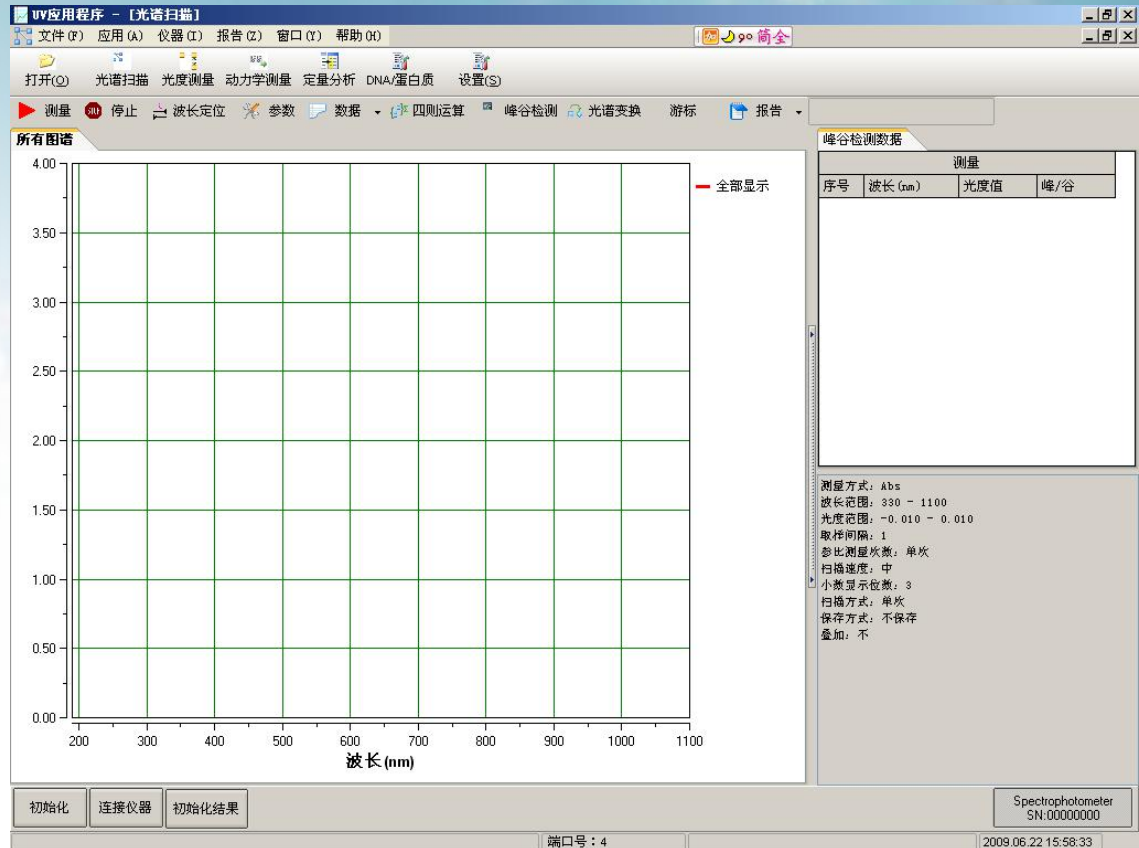




UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

2、扫描被测溶液的吸收光谱

a, 单击工具栏菜单上的，便进入光谱扫描测量方式，如图下所示。所有图谱标签页用来显示所有图谱，其他测量图谱均用新增标签页来显示；





安徽化工学校

UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

b, 进行参数设置

单击工具栏菜单上的  参数 进行参数设置，如图下所示；



设置参数：点击光谱扫描参数设置页上的“常规”按钮，对测量方式、波长范围(注意：设置波长最小值不得小于170nm,波长最大不得大于1100nm)、光度范围、取样间隔（一般设为1nm）、扫描速度（一般设为中速）、参比测量次数、扫描方式、保存方式、文件名称、样品名称等等。

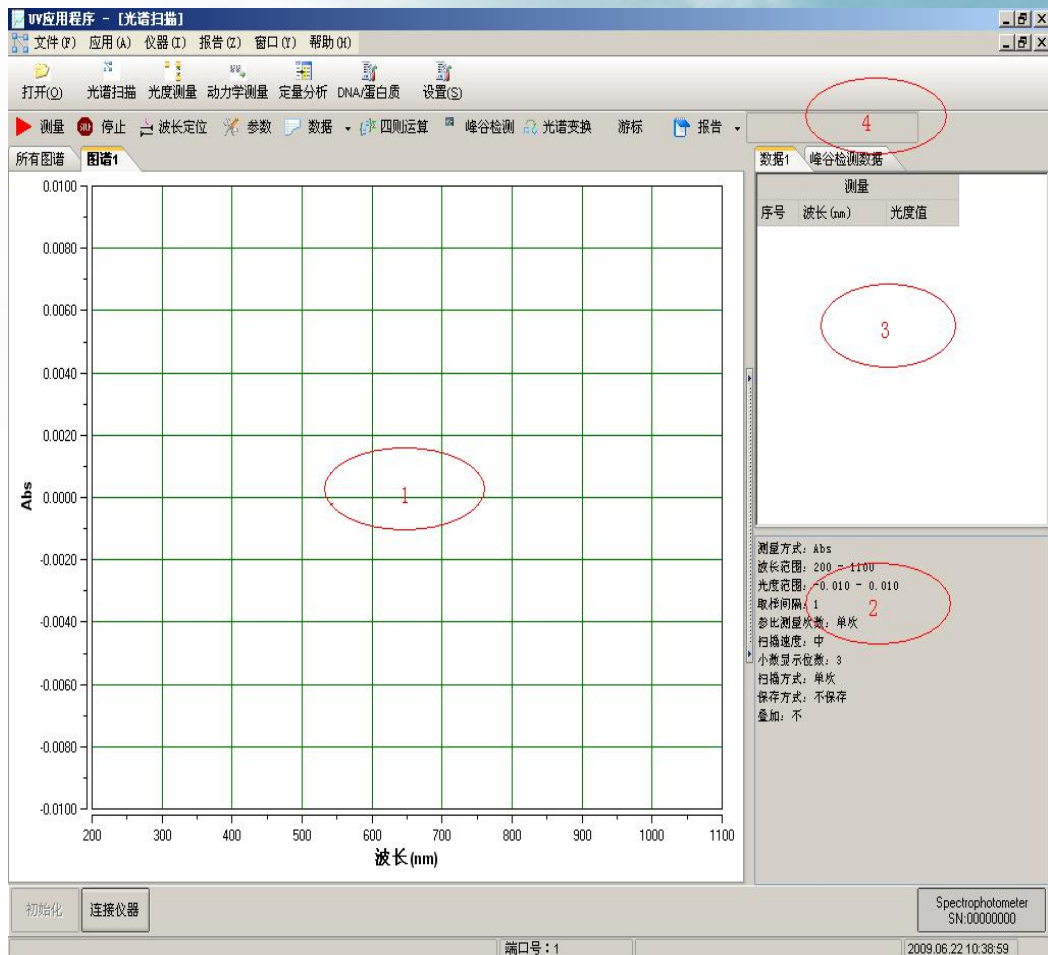
化工人才的摇篮






UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

c, 样品的检测



1、单击工具栏菜单上的  测量，开始进行测量，提示请将参比拉入光路，将参比液放入样品池内，根据提示，拉入光路，点击“确定”按钮。

2、参比测量完成，提示将样品拉入光路，根据提示，将参比液取出，放入样品液，点击“确定”按钮，开始测量样品光谱。

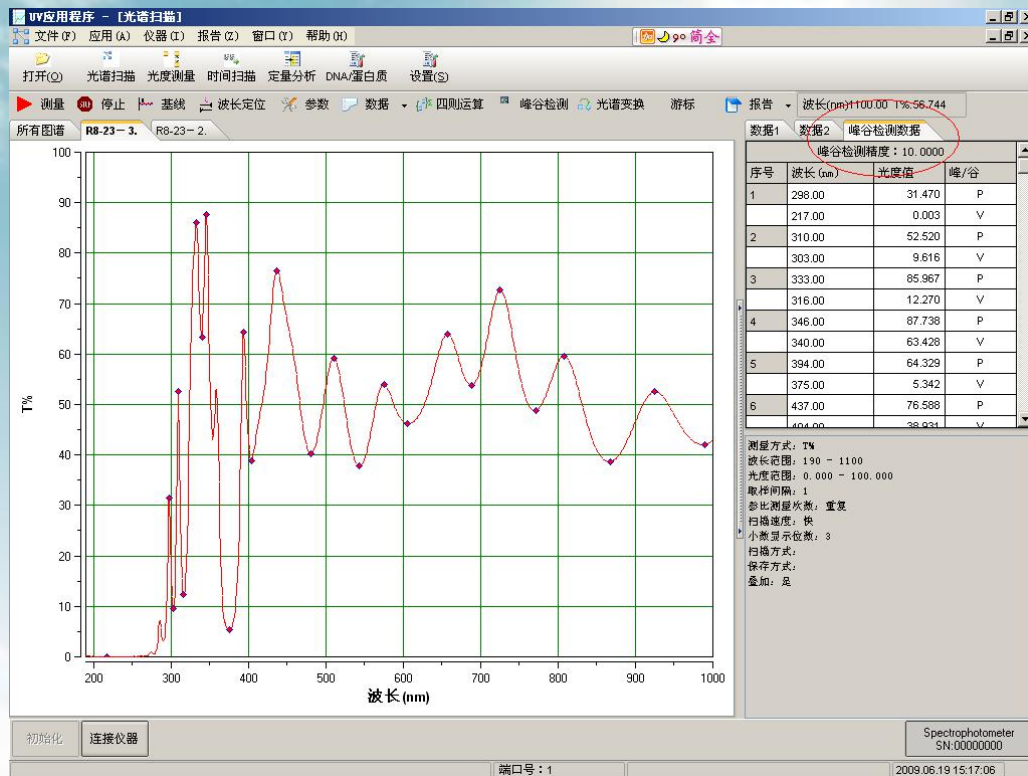
3、测量完成，提示扫描完成，点击“OK”，如左图所示，此时界面出现测量结果和相应的图谱





UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

d, 检测光谱峰谷波长



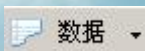
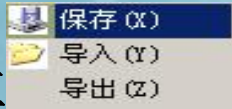
选择要进行峰谷检测的图谱，单击 **峰谷检测** 工具栏菜单上的按钮，弹出峰谷检测精度设置窗口，如图4-1-16下图所示，输入检测精度（峰谷差值满足条件），设置完毕，按确定按钮。系统将峰谷值标注在测量图谱上，并且用列表的形式（峰谷检测数据）将峰谷值显示出来，并且峰谷检测精度将在表格数据的上方显示，如图划红圈处；如图右图所示；





UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

e, 数据保存和导入

单击工具栏菜单上的  数据，下拉  选择保存项保存图谱；导入则导入数据，打开图谱，并且用多标签页显示；导出则导出测量数据到Excel。

f. 退出光谱扫描


测量完毕一个样品后开启一个新的测量不需要退出测量界面。

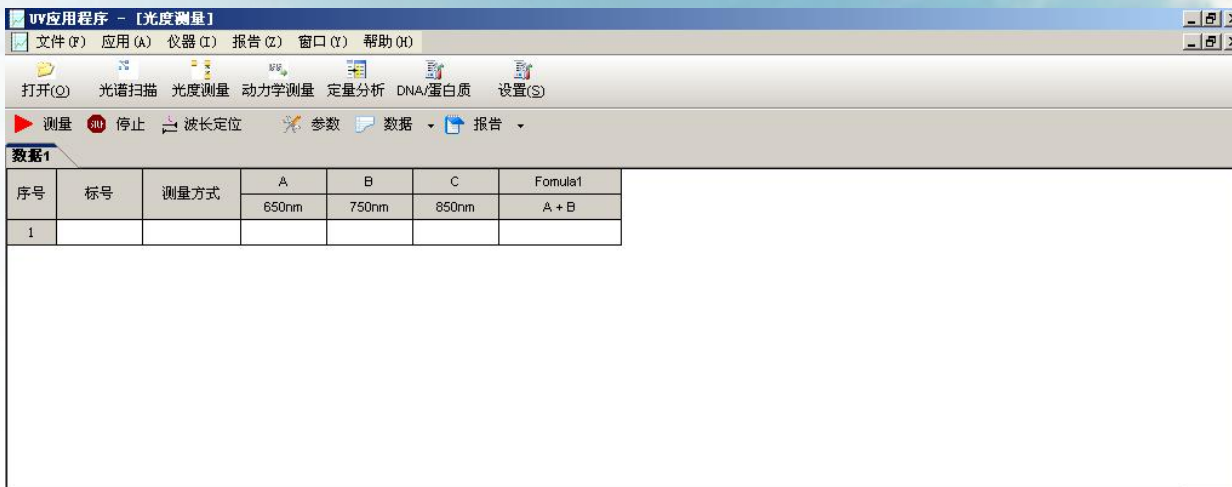




UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

3、光度测量

a, 单击工具栏菜单上的光度测量，进入光度测量方式，如下图所示。






安徽化工学校

UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

b, 光度测量参数设置及侧量

单击工具栏菜单上的  ，进行参数设置，如图下图所示。在对话框中可对测量方式、波长、参比测量等参数进行测量；点击“公式”可以输入计算公式等。设置完后点击“确定”进行检测。





安徽化工学校

UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

4、定量分析

a, 单击工具栏菜单上的  ，进入定量分析方式，如下图；

b, 比色皿校正: 在进行定量分析前, 应先完成比色皿校正。

化工人才的摇篮






UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

c, 设置定量分析参

数



单击工具栏菜单上的  参数，进行参数设置，如图下图所示。可对波长测量方法（包括单波长法，双波长系数倍率法，双波长等吸收点法，三波长法）、测量波长、参比测量方式、计算公式、测量方法、曲线拟合等进行设置；

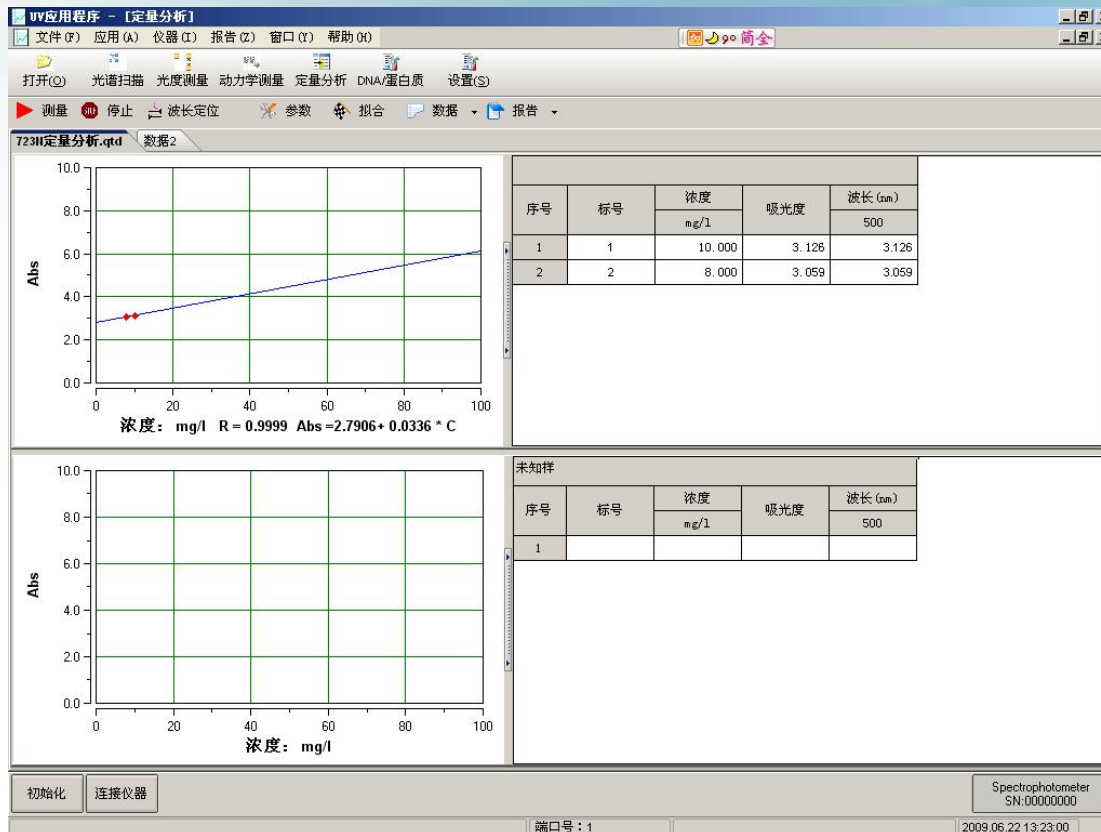




UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

c, 建立标准曲线 (针对浓度法)

点击标样栏上方“标样”进入标样测量单击工具栏菜单上  的  ，开始进行测量，提示请将参比拉入光路，将参比液放入样品池内，如下图所示，根据提示，拉入参比，点击确定按钮。





安徽化工学校

UV-7504C紫外-可见分光光度计的使用

- 具体操作步骤见教材72-73页



化工人才的摇篮





仪器维护及操作注意事项

- 一、仪器的维护
- 1.温度和湿度
- 室温保持在 $15\sim 35^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度宜控制在 $45\%\sim 80\%$ 。
- 防尘、防震、防电磁干扰，仪器周围不应有强磁场。不要暴露在阳光直射的地方，不要放在有腐蚀性气体或在UV波长范围内有吸收的有机和无机气体的环境内。
- 2.如果开机后钨灯和氙灯不亮，应首先检查保险丝。若断了应更换新的保险丝。注意更换保险丝时，关闭电源开关并切断电源。





仪器维护及操作注意事项

- 3.为了防止光电管疲劳，不测定时必须将比色皿暗箱盖打开，使光路切断，以延长光电管使用寿命。
- 4.光度计灯源寿命有限，若长时间不测量，应通过UVProbe软件断开连接（点击“Disconnect”），然后关闭光度计电源。
- 5.仪器自检和扫描的过程中，不要打开样品室盖。
- 6.软件不会自动保存数据，所有的数据要保存都必须点击“Save”或者“Save As”进行另存。否则数据会丢失。
- 7.样品室的出射和入射石英窗不应有污染，不要用手触摸样品室中透光窗面，若不小心接触过，要用无水乙醇擦拭。





仪器维护及操作注意事项

8. 比色皿的使用方法

- ① 拿比色皿时，手指只能捏住比色皿的毛玻璃面，不要碰比色皿的透光面，以免沾污。
- ② 清洗比色皿时，一般先用水冲洗，再用蒸馏水洗净。如比色皿被有机物沾污，可用盐酸-乙醇混合洗涤液（1：2）浸泡片刻，再用水冲洗。不能用碱溶液或氧化性强的洗涤液洗比色皿，以免损坏。也不能用毛刷清洗比色皿，以免损伤它的透光面。每次做完实验时，应立即洗净比色皿，用干净绸布或擦镜纸擦干，晾干后，放入吸收池盒中，防尘保存。
- ③ 比色皿外壁的水用擦镜纸或细软的吸水纸吸干，避免硬的物品把透光面划伤，以保护透光面。





仪器维护及操作注意事项

④ 测定有色溶液吸光度时，一定要用有色溶液洗比色皿内壁几次，以免改变有色溶液的浓度。另外，在测定一系列溶液的吸光度时，通常都按由稀到浓的顺序测定，以减小测量误差。

⑤ 吸收池装盛样品以池体的4/5为度，使用挥发性溶液时应加盖。

9. 注意软件的正常交流，防止计算机病毒感染。

10. 在停止工作期间，主机样品室内应放入袋装硅胶干燥剂。用防尘罩罩住整个仪器。





仪器维护及操作注意事项

三. 期间核查

(1) 外观检查

1.1 样品室应密封良好，无漏光现象。干燥剂的位置摆放合理，无阻挡光路情况。

1.2 吸收池的透光面应光洁，无划痕和斑点，任一面不得有裂纹。

1.3 仪器与计算机的接口处接触良好，光源工作正常，无灯丝熔断问题。





仪器维护及操作注意事项

(2) 波长准确度的校正

利用汞灯的两个特征波长峰486.0nm和656.1nm来检查波长的精确度。波长的漂移范围： $\pm 0.3\text{nm}$ 。

(3) 基线平坦度

扫描200~1000nm的基线，吸光度的漂移范围： $\pm 0.001\text{Abs}$ 以内。

(4) 时间扫描

用动力学分光光度法在500nm扫描，漂移范围： $\pm 0.004\text{Abs/h}$ (电源启动2h后)。





仪器维护及操作注意事项

四、操作规程问题处理：

1、仪器不能初始化

检查光路是否受堵；关机（电脑及UV）重启；如不成功，查看说明书；

2、数据或谱图波动大

调零是否正确（重新调零）、参比样值是否过大（如果吸收值大于2.0，可能会出现波动大）。

3、基线不能平整（允许波动范围在 ± 0.001 之间）

扫描速度是否过快（改“快速”扫描为“中速”扫描或更低）、波长范围是否过窄（扩大扫描波长范围）。





仪器维护及操作注意事项

4、吸收值异常

波长设置是否正确（重新调整波长，并重新调零）、测量时是否调零（如被误操作，重新调零）、比色皿是否用错（测定紫外波段时，要用石英比色皿）、样品准备是否有误（如有误，重新准备样品）。

5. 数据不稳

预热时间不够（预热20分钟以上）；环境振动过大、光源附近空气流速大、外界强光照射等；光电管、电路等其它原因（送修）。





2.4 可见分光光度法

2.5 目视比色法

请同学们自行学习





第四节 吸光光度法分析条件的选择

一、显色反应及其条件的选择

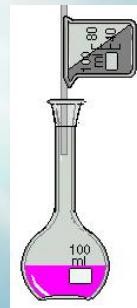
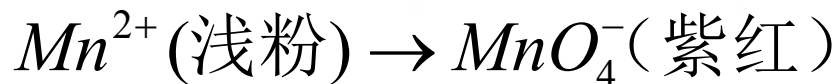
(一) 显色反应和显色剂

1、显色反应

显色反应：在分光光度分析中，将试样中被测组分转变成有色化合物的反应

显色剂：与被测组分反应使之生成有色物质的试剂

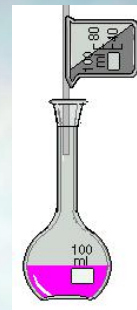
显色反应可分为：**配位反应**和氧化还原反应

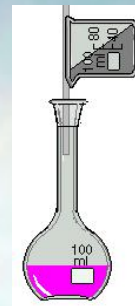




选择显色反应的一般标准

- 1. 选择性要好：**一种显色剂最好只与一种被测组分起显色反应，这样干扰就少。或者干扰离子容易被消除、或者显色剂与被测组分和干扰离子生成的有色化合物的吸收峰相隔较远
- 2. 灵敏度要高：**灵敏度高的显色反应对于微量组分的测定尤为重要。但应注意：灵敏度高的显色反应，并不一定选择性就好；对于高含量的组分不一定要选用灵敏度高的显色反应
- 3. 对比度要大：**即如果显色剂有颜色，则有色化合物与显色剂的最大吸收波长的差别要大，一般要求在60nm以上





4. 有色化合物的组成要恒定,化学性质要稳定
5. 显色反应的条件要易于控制

2、显色剂

(1) 无机显色剂

缺点：多数无机显色剂与金属离子形成的配合物的稳定性差、灵敏度和选择性都不高

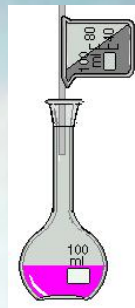
硫氰酸盐（测铁、钼、钨、铌）

钼酸铵（测硅、磷、钒）

氨水（测铜、钴、镍）

过氧化氢（测钛、钒、铌）





(2) 有机显色剂

优点：有机显色剂与金属离子形成稳定的、具有特征颜色的螯合物，**灵敏度和选择性**都较高

提高灵敏度的方法：增大有机显色分子的共轭体系和在显色分子中引入取代基

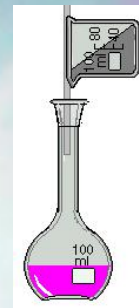


常用的有机显色剂：邻二氮菲、双硫脲、二甲酚橙、偶氮胂III、铬天青S等

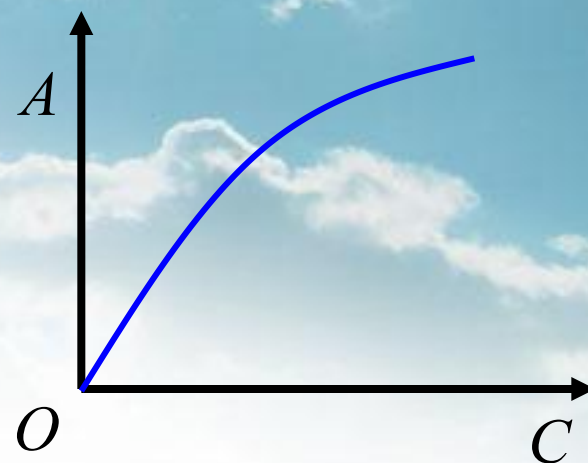
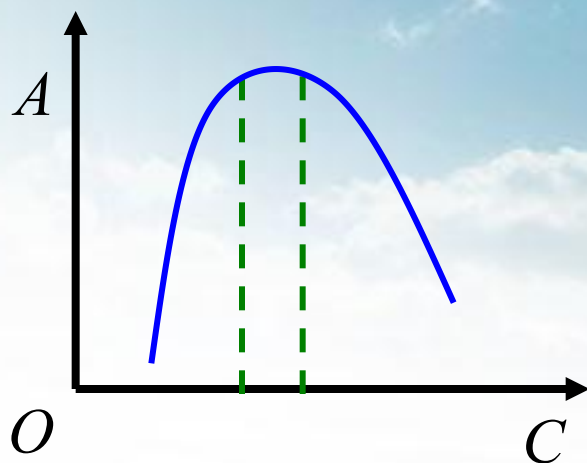
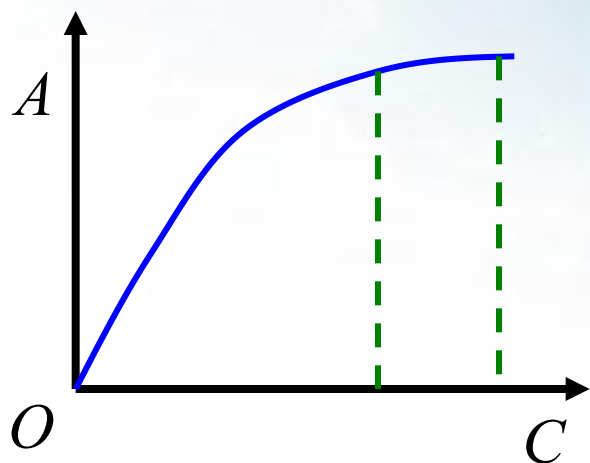




(二) 显色反应条件的选择



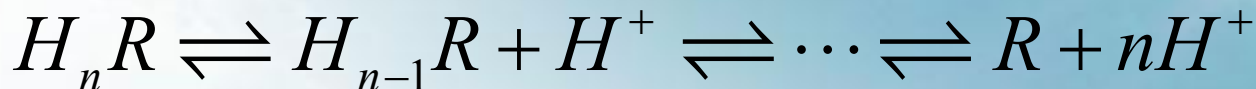
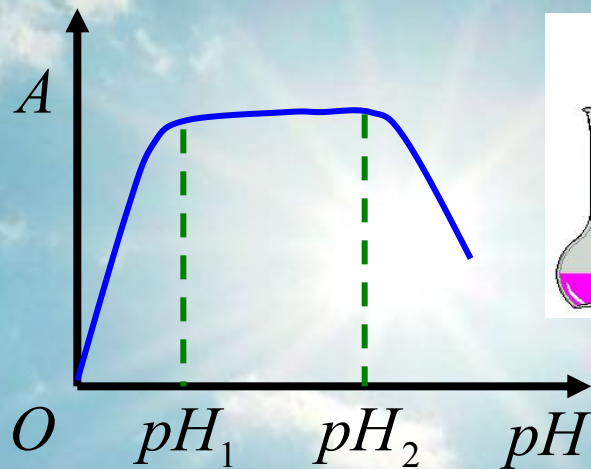
1、显色剂的用量



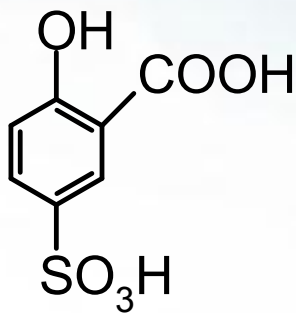


2、溶液的酸度

- (1) 对被测物质存在状态的影响
- (2) 对显色剂浓度和颜色的影响



- (3) 对络合物组成和颜色的影响



$pH < 4$

1:1 (紫红色)

$pH = 4 \sim 9$

1:2 (棕褐色)

$pH > 9$

1:3 (黄色)



红色

(吡啶偶氮+氨基甲苯)

$[H^+] \approx 1.0 mol / L$

蓝绿色

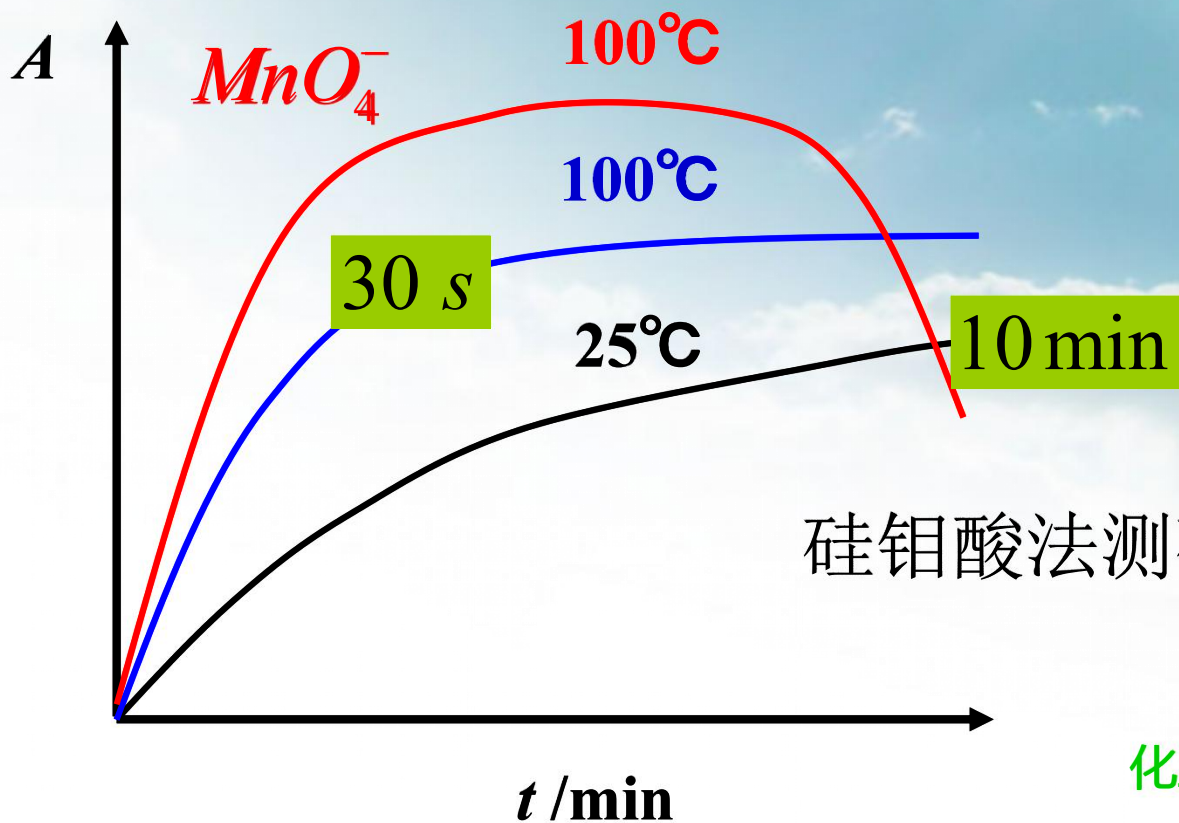
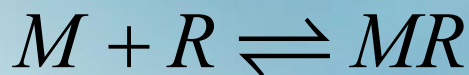
化工人才的摇篮





3、时间和温度

时间包括显色时间和稳定时间，温度对二者均产生影响



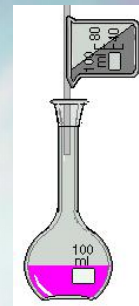


4、有机溶剂和表面活性剂

有机溶剂可以降低有色络合物的解离度，从而提高显色反应的灵敏度；此外，有机溶剂还可以影响反应速率，络合物的颜色、溶解度及组成等

表面活性剂的加入可以提高显色反应的灵敏度，增加有色化合物的稳定性。其作用原理一方面是胶束增溶，另一方面是可形成含有表面活性剂的多元络合物。

合适的有机溶解和表面活性剂及其用量均通过实验来确定

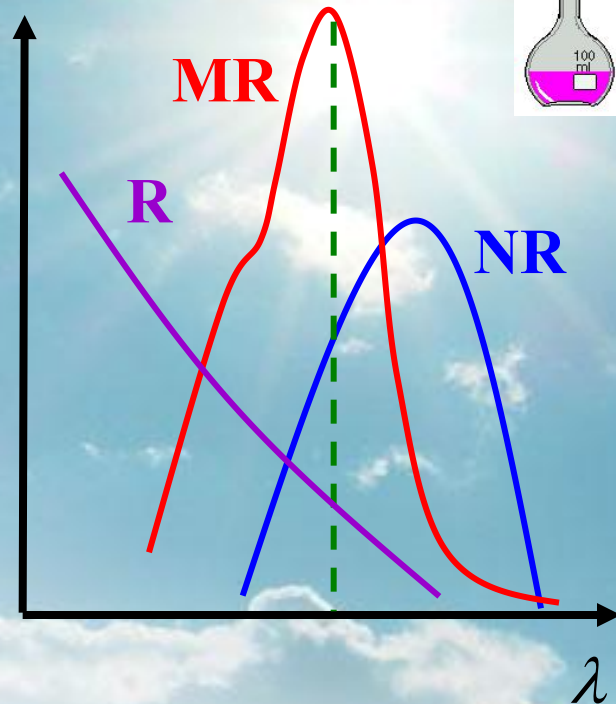
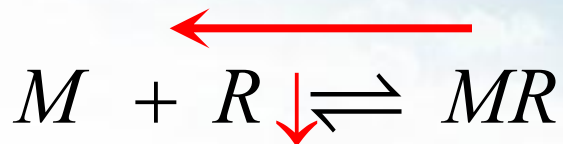




5、共存离子的干扰及消除

➤ 共存离子本身有颜色或与显色剂反应生成有色化合物，并在测量条件下有吸收，导致结果偏高

➤ $K_{NR} \gg K_{MR}$, $\lambda_{\max(MR)} : K = 0$

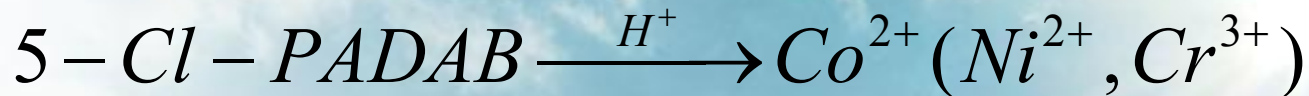


➤ 显色条件下，共存离子发生水解、析出沉淀，导致溶液混浊无法测定



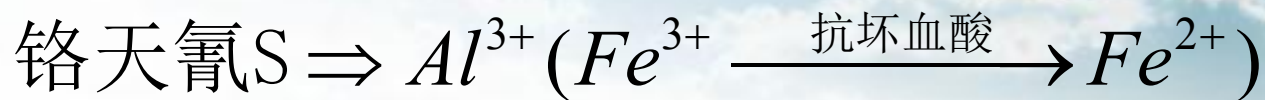
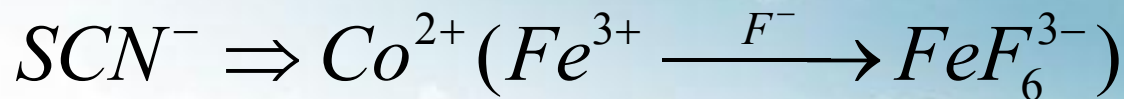


1. 控制溶液的酸度



2. 加入掩蔽剂

掩蔽剂的颜色(R)以及它与干扰离子反应产物的颜色(NR)不应干扰被测组分(MR)的测定



3. 将二元络合体系改为三元络合体系；选择适当的波长和参比溶液来消除干扰；干扰组分分离





二、吸光光度法的测量误差及测量条件的选择

(一) 仪器测量误差

$$\Delta T(0.001 \sim 0.01) \Rightarrow \Delta c/c$$

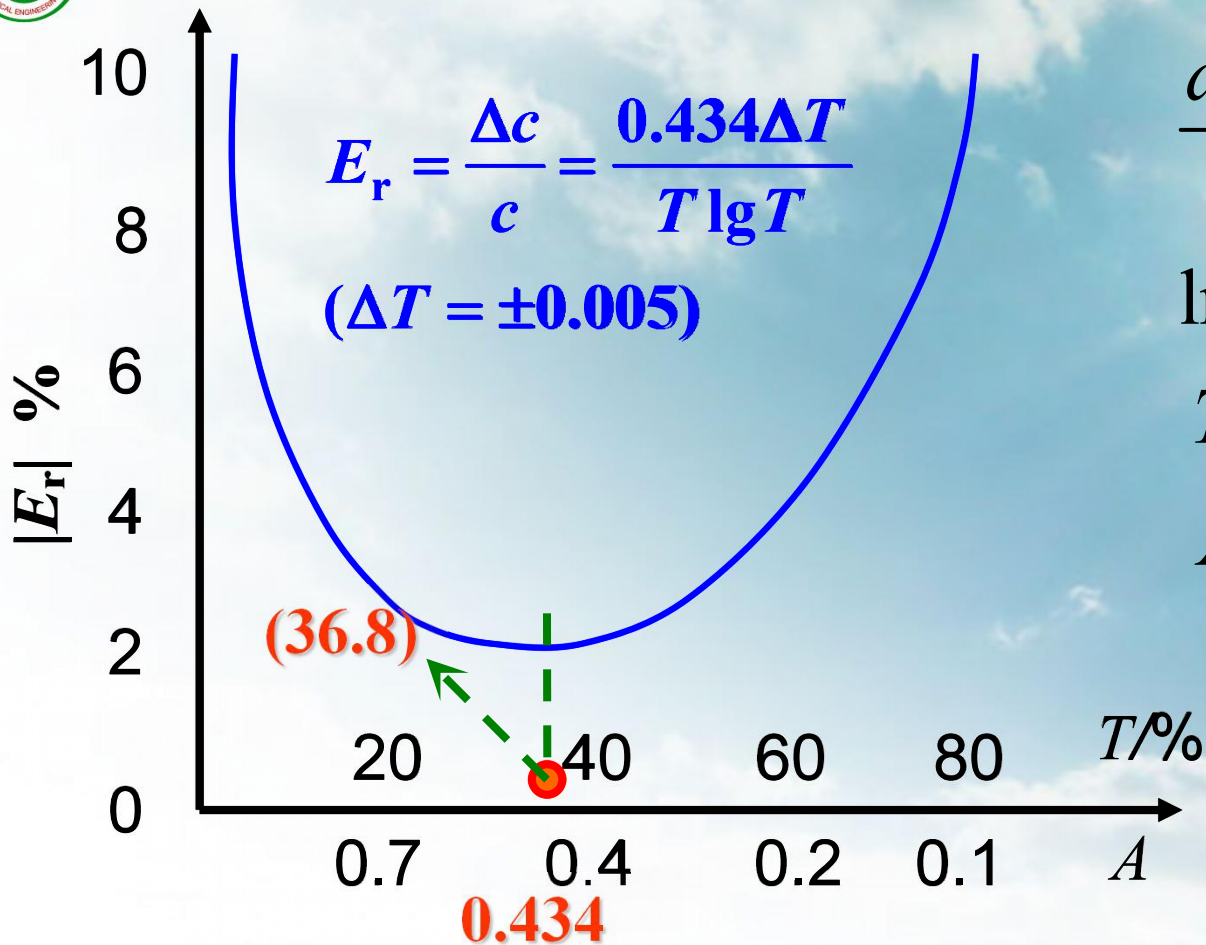
$$A = -0.434 \ln T = \kappa b c$$

$$c = \frac{-0.434 \ln T}{\kappa b} \quad dc = \frac{-0.434}{\kappa b} \cdot \frac{dT}{T}$$

$$E_r = \frac{dc}{c} \times 100\% = \frac{dT}{T \ln T} \times 100\% = \frac{0.434 dT}{T \ln T} \times 100\%$$

$$dT = \pm 0.005 \quad |E_r| \sim T$$





$$\frac{dT \ln T}{dT} = 0$$

$$\ln T + 1 = 0$$

$$T = e^{-1} = 0.368$$

$$A = -\lg T = 0.434$$

仪器最小误差: $T = e^{-1} = 0.368$

$A = 0.434$

仪器度数范围: $T : 15\% \sim 70\%$

$A : 0.15 \sim 0.80$

化工人才的摇篮

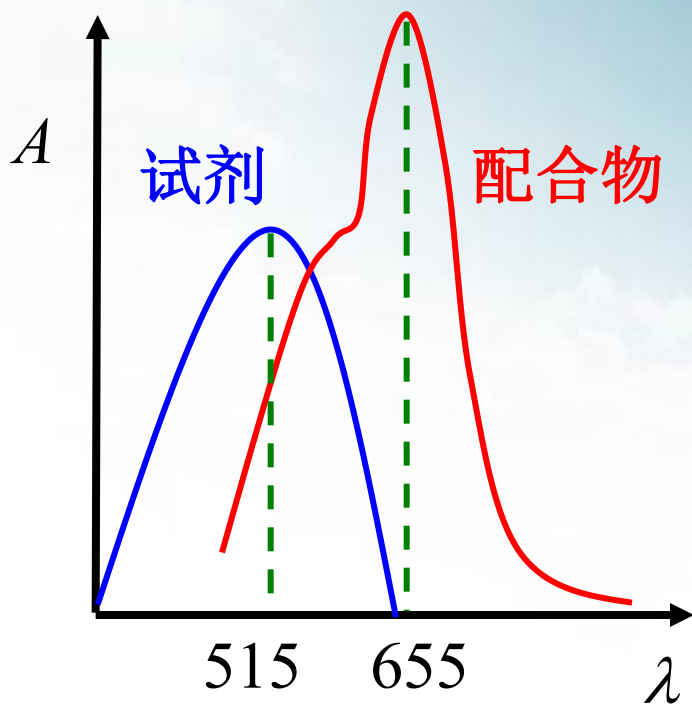




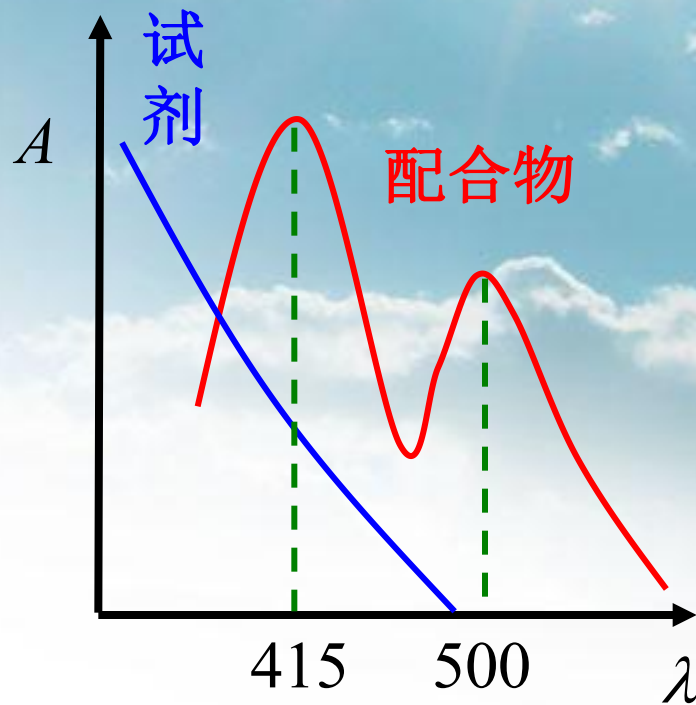
(二) 测量条件的选择

1、测量波长的选择

原则：吸收最大、干扰最小



钴-偶氮砷III



钴-亚硝基红盐





2、吸光度范围的控制

A: 0.15~0.80; T: 15%~70%

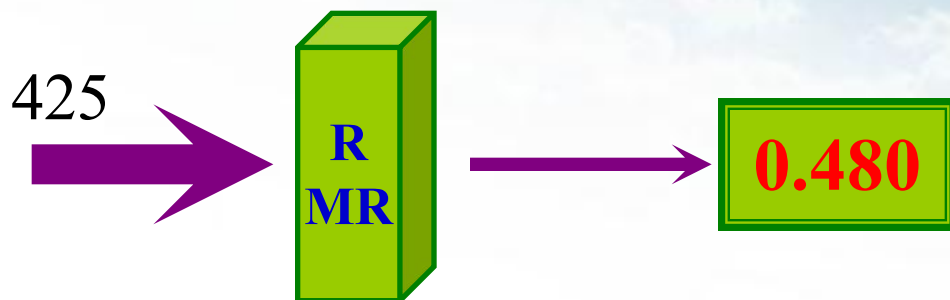
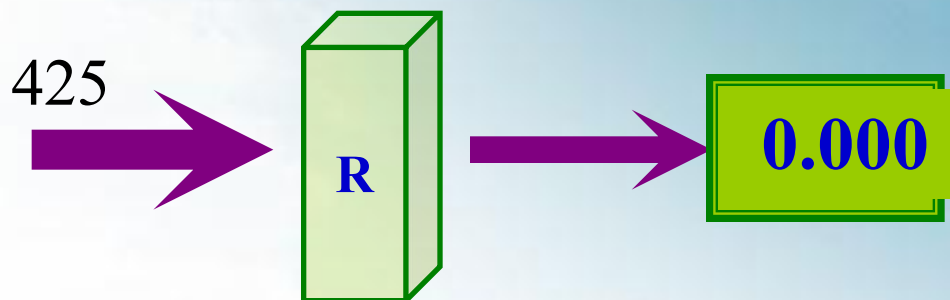
- a、计算而且控制试样的称出量，含量高时，少取样，或稀释试液；含量低时，可多取样，或萃取富集（浓度c）
- b、如果溶液已显色，则可通过改变比色皿的厚度来调节吸光度大小（光程长度b）
- c、选择适当的参比溶液（示差分光光度法）





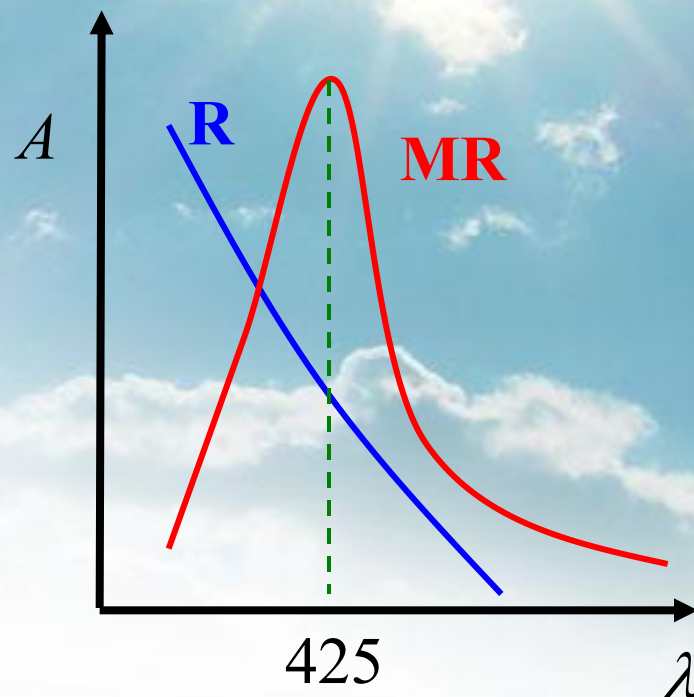
3、参比溶液的选择

参比溶液用来调节工作零点，以消除由于吸收池和溶液中某些共存物质对光的吸收、反射或散射所造成的误差



R **MR**

$$0.220 + 0.480 = 0.700$$





参比溶液组成: 在测量条件下对吸光度有影响的物质（除了被测组分MR外）

	测定条件下干扰物质	参比溶液组成
1	无	蒸馏水
2	R或其它试剂	R或其他试剂
3	R和其它试剂; NR	试样+ML+R+其它试剂

➤ KIO_3 氧化法显色法测 Mn^{2+} (Co^{2+} 粉红)

1、做标准曲线时：蒸馏水参比

2、测样时：试液参比（不加显色剂）

➤ 铬天氰S测 Al^{3+} (Ni^{2+} , Cr^{3+})

试样+ (AlF_6^{3-}) + 铬天氰S + 其它试剂





本节学习重点

- 1、吸光光度法的仪器基本构造、各部分的作用及测量原理
- 2、吸光光度法分析条件的选择
 - a、显色反应条件的选择：显色剂的用量、酸度、显色时间和温度、溶剂和表面活性剂
 - b、测量条件的选择：测量波长、吸光范围的控制、参比溶液的选择





复习与回顾

1、吸光光度法的仪器基本构造、各部分的作用及测量原理

2、吸光光度法分析条件的选择

a、显色反应条件的选择：显色剂的用量、酸度、显色时间和温度、溶剂和表面活性剂

b、测量条件的选择：测量波长、吸光范围的控制、参比溶液的选择





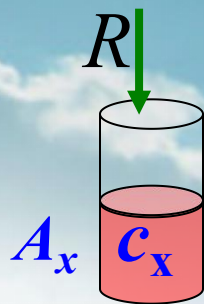
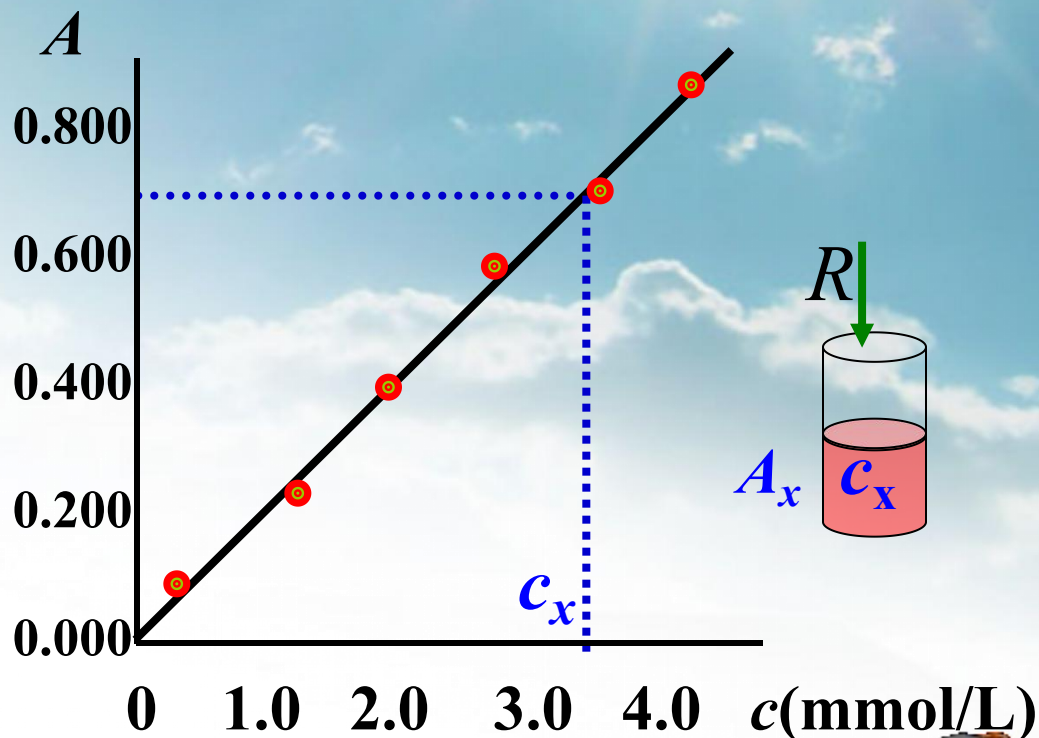
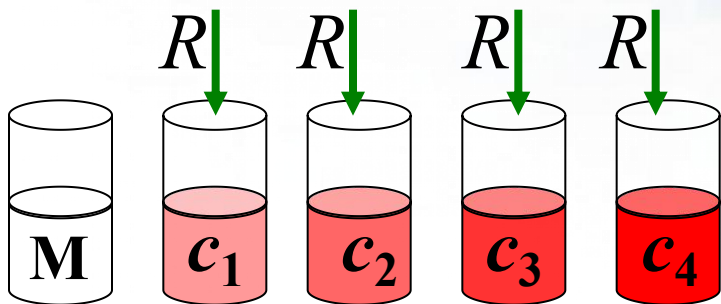
第五节 吸光光度法的应用

吸光光度法可应用于定性分析、定量分析和物质的某些物理化学常数的测量。

一、定量分析

(一) 单组分的测定

1、工作曲线法





(一) 单组分的测定

2. 比较法

$$A_s = \epsilon b c_s \quad \text{标准溶液}$$

$$A_x = \epsilon b c_x \quad \text{待测溶液}$$

$$C_x = A_x c_s / A_s$$

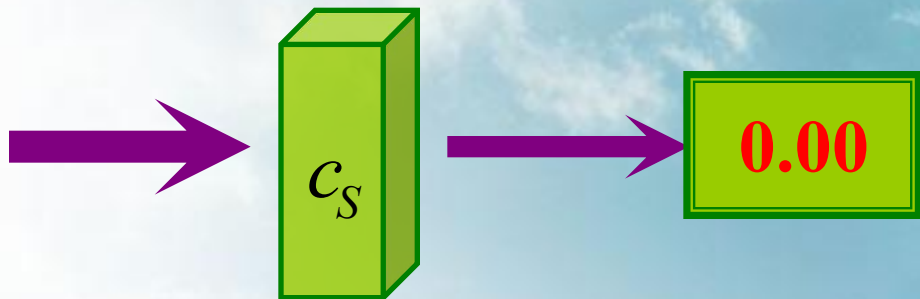
同一物质。浓度接近，且均符合吸收定律。

适用于个别样品的测定



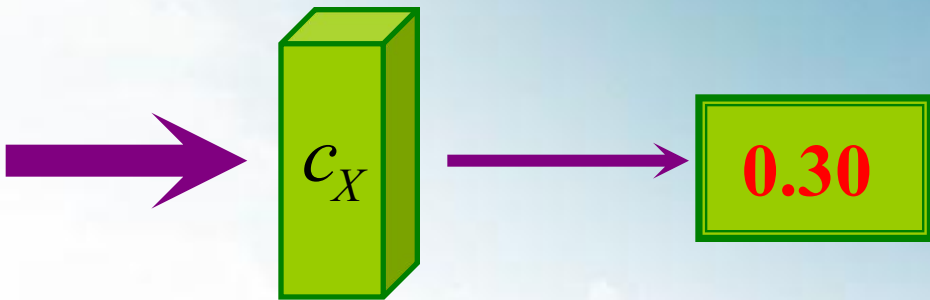


3、示差分光光度法



$$A_s = -\lg T_s = \kappa b c_s$$

10% \Rightarrow 100%



$$A_x = -\lg T_x = \kappa b c_x$$

5% \Rightarrow 50%

$$A_x - A_s = \lg T_s - \lg T_x = \kappa b c_x - \kappa b c_s$$

$$\Delta A = \lg \frac{1}{\Delta T} = A_x - A_s = \lg \frac{T_s}{T_x} = \kappa b c_x - \kappa b c_s = \kappa b \Delta c$$

$$c_x = \Delta c + c_s$$

$$\Delta A = A_x - A_s$$

$$\Delta T = \frac{T_x}{T_s}$$



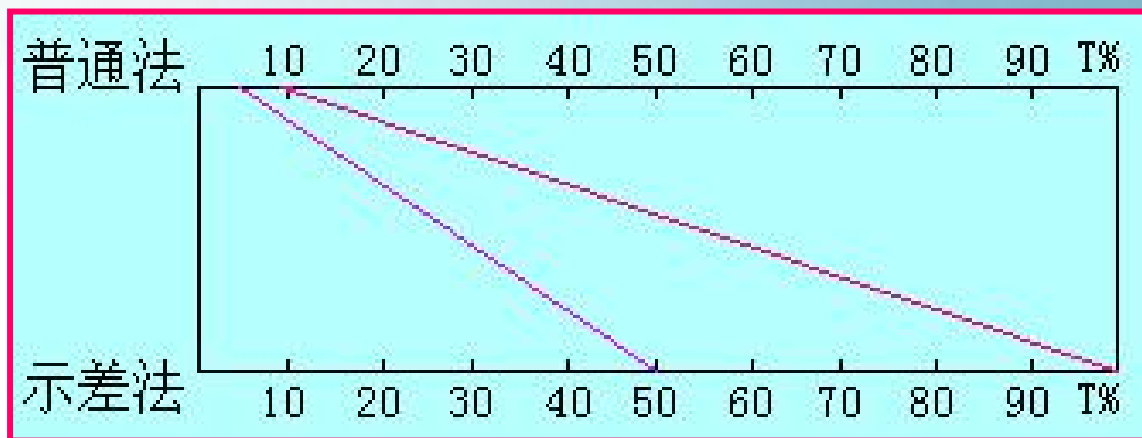


差示法标尺扩展原理:

普通法: c_s 的 $T=10\%$; c_x 的 $T=5\%$

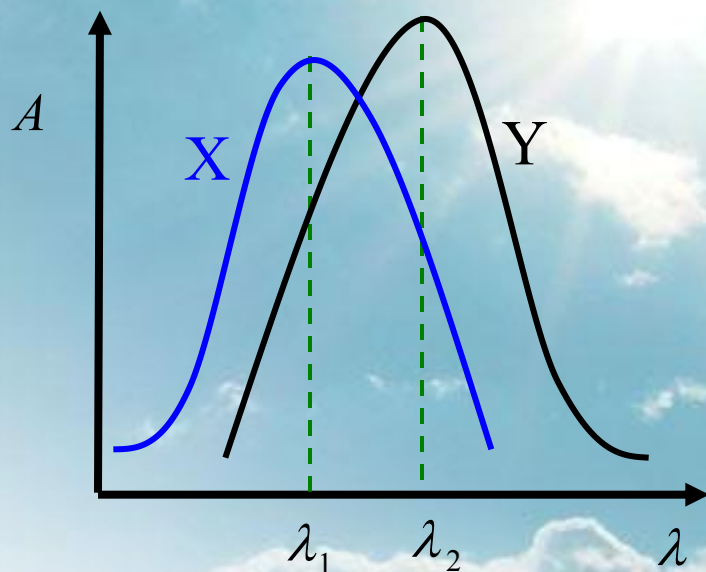
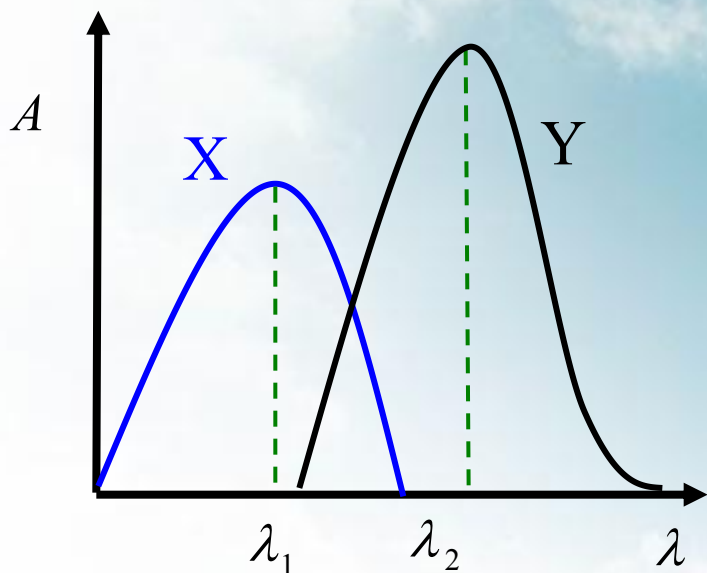
示差法: c_s 做参比, 调 $T=100\%$

则: c_x 的 $T=50\%$; 标尺扩展10倍





(二) 多组分的测定



$$\begin{cases} A_{\lambda_1} = A_{X,\lambda_1} + A_{Y,\lambda_1} = \kappa_{X,\lambda_1}bc_x + \kappa_{Y,\lambda_1}bc_Y \\ A_{\lambda_2} = A_{X,\lambda_2} + A_{Y,\lambda_2} = \kappa_{X,\lambda_2}bc_x + \kappa_{Y,\lambda_2}bc_Y \end{cases}$$

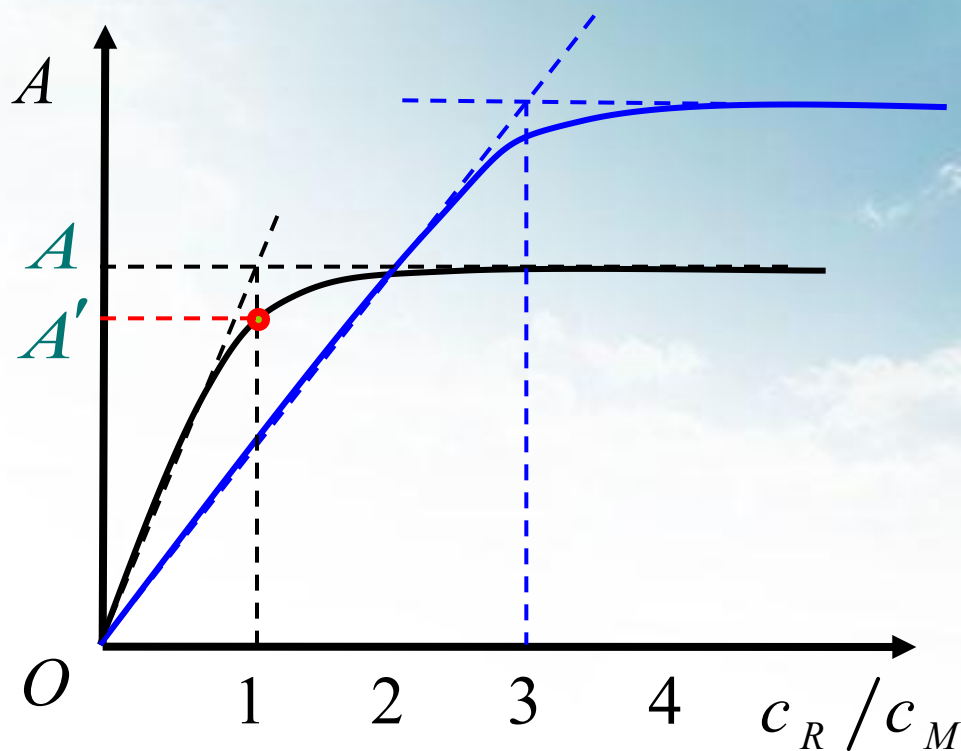




二、配合物组成和酸碱解离常数的测定

(一) 配合物的组成的测定

1、摩尔比法 $M + nR = MR_n$



适用于解离度小、配合比较高的络合物组成的测定

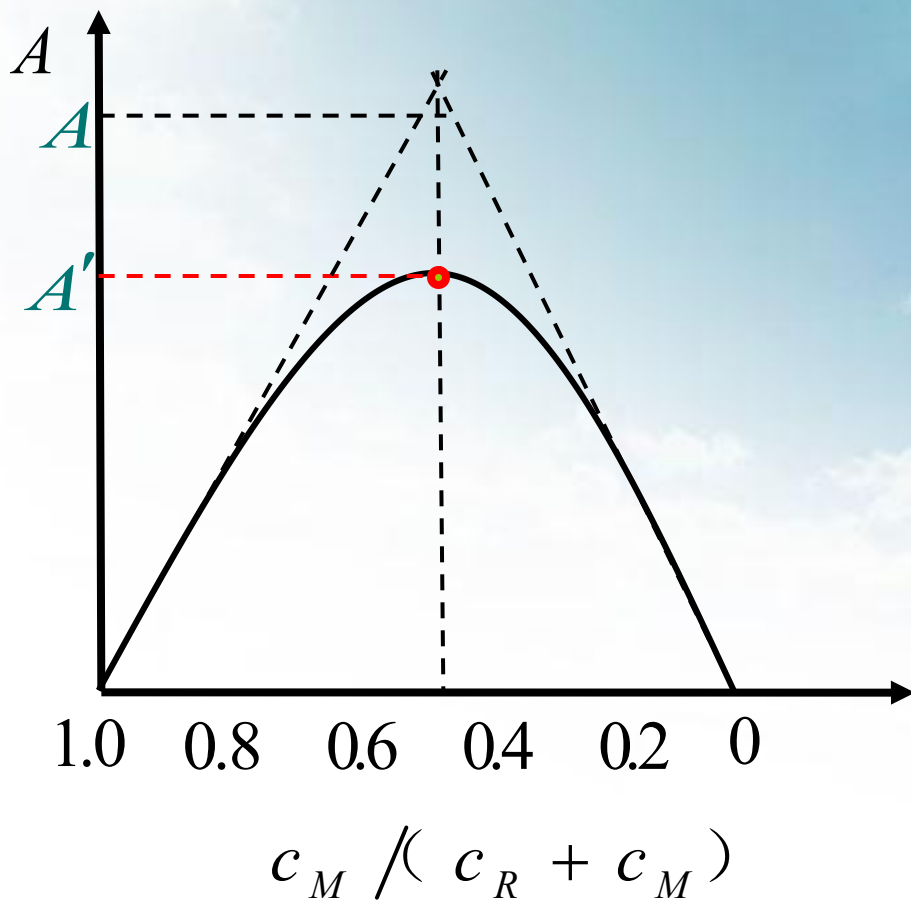
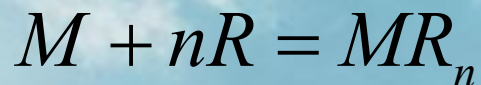
$$\alpha = \frac{A - A'}{A}$$

思考：配合物的形成常数(或解离常数)如何求解？





2、等摩尔连续变化法（等摩尔系列法）



$c_M + c_R$ 为常数

$$A \sim \frac{c_M}{c_M + c_R}$$

$$\alpha = \frac{A - A'}{A}$$





(二) 酸碱解离常数的测定



配制浓度相同，pH不同一系列溶液

pH	3.00	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00	9.00
A	0.18	0.18	0.25	0.58	0.78	0.78	0.78

$$B = 1cm \quad A = A_{HB} + A_{B^-} = \kappa_{HB}[HB] + \kappa_{B^-}[B^-]$$

$$A = \kappa_{HB} \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} c + \kappa_{B^-} \frac{K_a}{[H^+] + K_a} c$$

$$A_{HB} = \kappa_{HB}[HB] = \kappa_{HB}c \quad A_{B^-} = \kappa_{B^-}[B^-] = \kappa_{B^-}c$$

$$K_a = \frac{A_{HB} - A}{A - A_{B^-}} \cdot [H^+]$$

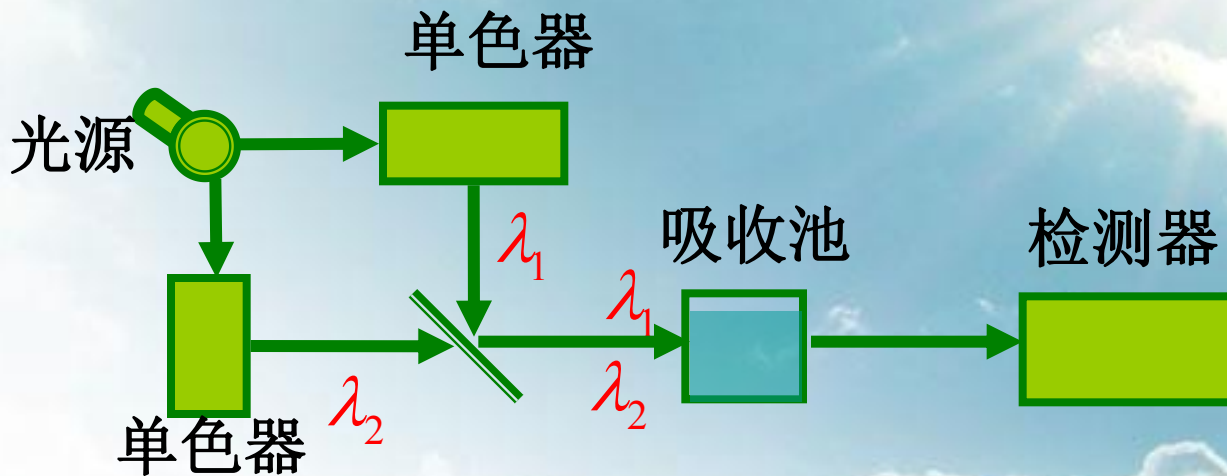
$$pK_a = pH + \lg \frac{A_{HB} - A}{A - A_{B^-}}$$





三、双波长分光光度法

(一) 基本原理



$$A_{\lambda_1} = \kappa_{\lambda_1} bc + A_{b_1} \qquad A_{\lambda_2} = \kappa_{\lambda_2} bc + A_{b_2}$$

$$\Delta A = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = (\kappa_{\lambda_2} - \kappa_{\lambda_1})bc + A_{b_2} - A_{b_1}$$

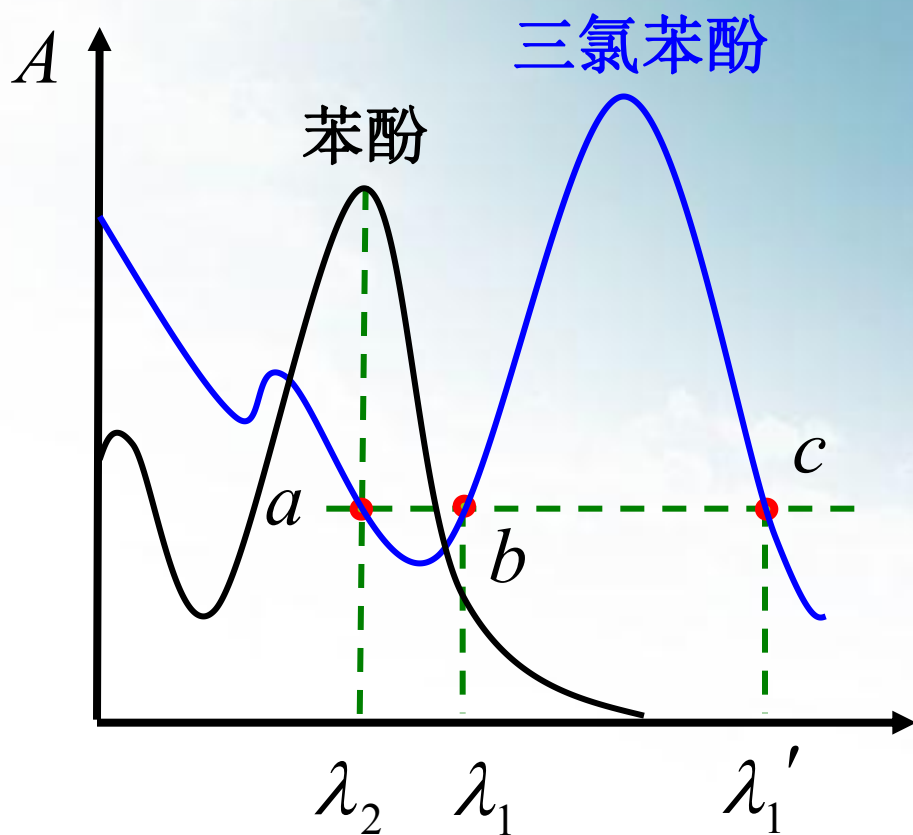
$$\Delta A = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = (\kappa_{\lambda_2} - \kappa_{\lambda_1})bc$$





(二) 波长组合的选择

等吸收点法：选择测量波长与参比波长



- 1、干扰组分在所选的两波长处具有相同的吸光度
- 2、被测组分在此二波长处具有较大的吸光度差。

$$\Delta A = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = (\kappa_{\lambda_2} - \kappa_{\lambda_1})bc$$

若是浑浊溶液，参比波长应选择何处？





双波长法的特点:

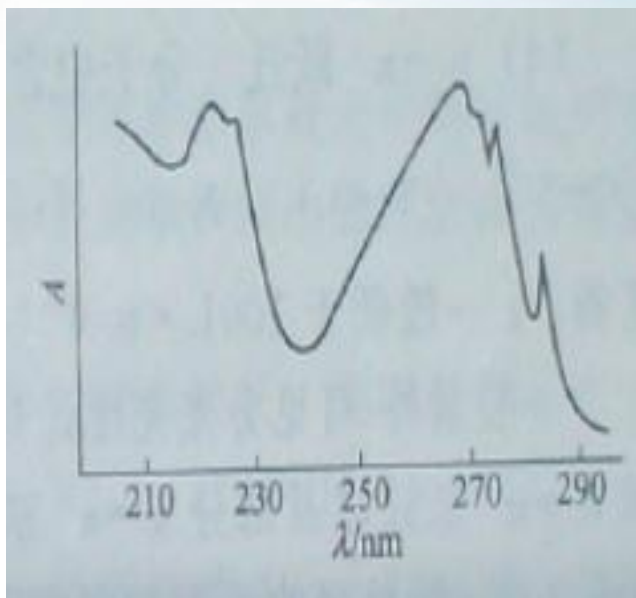
1. 双波长分光光度法中只有参比波长，无参比溶液
2. 双波长光高频率交替通过试液，可以减少因光源、检测器等的不稳定性而引入的误差，提高准确度
3. 可以避免单波长法中因被测试液和参比溶液在组成、均匀性上的差异以及两个吸收池的差异而引入的误差
4. 双波长法可以消除浑浊溶液背景和吸收光谱重叠的干扰





1.5 紫外分光光度法

- 紫外吸收光谱是由分子中价电子能级跃迁产生的，是基于物质对紫外线的选择性吸收来进行分析测定的方法。主要是利用200~400nm的近紫外光进行测定。
- 不过紫外光谱与可见光谱相比有自己突出特点：
 - ☞ 可用来对在紫外光区内有吸收峰的物质进行鉴定和结构分析；
 - ☞ 不用添加助色基团，可分析无色物质；
 - ☞ 灵敏度高、准确性好、相对误差小等特点。



紫外吸收光谱与可见吸收光谱一样，常用吸收光谱曲线来描述。即用一束具有连续波长的紫外光照射一定浓度的样品溶液，分别测量不同波长下溶液的吸光度，以吸光度对波长作图得到该化合物的紫外吸收光谱。如左图所示的紫外吸收光谱可以用曲线上吸收峰所对应的最大吸收波长 λ_{\max} 和该波长下的摩尔吸光系数 ϵ_{\max} 来表示茴香醛的紫外吸收特征。

茴香醛紫外吸收光谱





1 有机化合物的电子跃迁

有机化合物的紫外吸收光谱，取决于分子中外层电子的性质。与紫外—可见吸收光谱有关的电子有三种，即形成单键的 σ 电子、形成双键的 π 电子以及未参与成键的 n 电子（孤对电子）。处于基态的分子在吸收一定波长的光后，分子中的成键电子和非键电子可被激发跃迁至 σ^* 和 π^* 反键轨道，其跃迁类型有 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 和 $n \rightarrow \pi^*$ 四种，其相对能量大小次序为： $\sigma \rightarrow \sigma^* > n \rightarrow \sigma^* > \pi \rightarrow \pi^* > n \rightarrow \pi^*$

有机物最有用的吸收光谱是基于 $n \rightarrow \pi^*$ 和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁而产生的，这两类跃迁所需要的辐射能量大多处于波长大于200nm的区域。它们要求分子中含有**不饱和键**，这种含有不饱和键的基团称为**生色团**。





1.5 紫外分光光度法

1、电子跃迁的常见四种类型

1、 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 这类跃迁的吸收带出现在200nm以下的远紫外区。如甲烷的 $\lambda_{\max}=125\text{nm}$ ，它的吸收光谱曲线必须在真空中测定。

2、 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 含有氧、硫、卤素等杂原子的饱和烃衍生物都可以发生 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁。大多是 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁的吸收带低于200nm，通常仅能见到末端吸收。例如饱和脂肪胺在190nm，饱和脂肪族氯化物在170~175nm。





1.5 紫外分光光度法

3、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁 这类跃迁可以发生在任何具有**不饱和键**的有机化合物分子中，多为**强吸收**，其最大**摩尔吸光系数**很大，吸收峰随溶剂极性增加向长波方向移动，即产生**红移**。下表列出了一些常见生色团 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的吸收特性。

生色团	化合物	溶剂	λ_{\max} / nm	ϵ_{\max}
羰基	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	正己烷	188	900
烯	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$	正庚烷	177	13000
炔	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{CCH}_3$	正庚烷	178	10000





1.5 紫外分光光度法

4、 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁 这类跃迁发生在含有杂原子的不饱和化合物中，其最大摩尔吸光系数 ϵ_{\max} 比较小（ <100 ），吸收峰随溶剂极性增加而向短波方向移动，即产生**蓝移**，下表列出了一些常见生色团 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁的吸收特性。

生色团	化合物	溶剂	λ_{\max} / nm	ϵ_{\max}
羰基	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	正己烷	280	16
羧基	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{OH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	乙醇	204	41
硝基	CH_3NO_2	异辛烷	280	22
亚硝基	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$	乙醚	665	20





1.5 紫外分光光度法

2、紫外吸收光谱常见术语

◆ 生色团和助色团

生色团是指在200~1000nm波长范围内产生特征吸收带的具有一个或多个不饱和键和未共用电子对的基团。如 $-\text{N}\equiv\text{N}-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{N}$ 等；

助色团是一些含有未共用电子对的氧原子、氮原子或卤素原子的基团。如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{NH}_2$ 等；

◆ 红移和蓝移

由于取代基或溶剂的影响造成有机化合物结构的变化，使吸收峰向长波方向移动的现象称为**吸收峰“红移”**。能使有机化合物的 λ_{max} 向长波方向移动的基团(如助色团、生色团)称为**向红基团**。

由于取代基或溶剂的影响造成有机化合物结构的变化，使吸收峰向短波方向移动的现象称为**吸收峰“蓝移”**。能使有机化合物的 λ_{max} 向短波方向移动的基团(如 $-\text{CH}_3$)称为**向蓝基团**。





1.5 紫外分光光度法

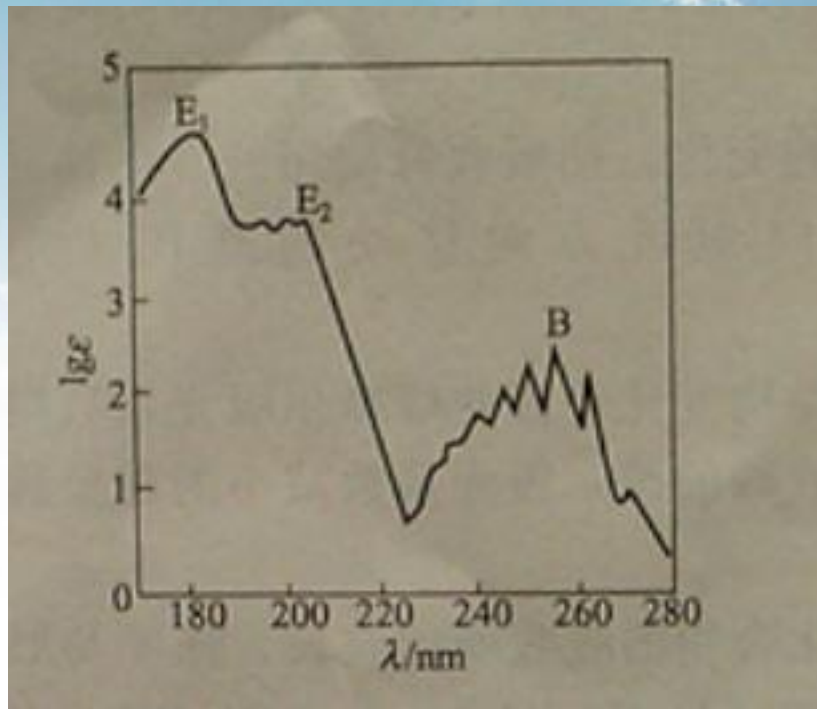
◆ 增色效应和减色效应

由于有机化合物的结构变化使吸收峰摩尔吸光系数增加的现象称为**增色效应**。由于有机化合物的结构变化使吸收峰的摩尔吸光系数减小的现象称为**减色效应**。

◆ 溶剂效应

由于溶剂的极性不同引起某些化合物的吸收峰的波长、强度及形状产生变化这种现象称为**溶剂效应**。

例如苯在非极性溶剂庚烷中(或气态存在)时, 在**230~270nm**处, 有一系列中等强度吸收峰并有精细结构, 但在极性溶剂中, 精细结构变得不明显或全部消失呈现一宽峰。





1.5 紫外分光光度法

◆ 吸收带

吸收带是指吸收峰在紫外光谱中谱带的位置。化合物的结构不同，跃迁的类型不同，吸收带的位置、形状、强度均不相同。根据电子及分子轨道的种类，吸收带可分为如下四种类型：

(1) R吸收带 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁 $\epsilon < 100$ $\lambda > 270\text{nm}$

随溶剂极性增加而蓝移

(2) K吸收带 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁 $\epsilon > 10000$ 随共轭数增加，产生红移和增色效应

(3) B吸收带 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁 芳香族化合物的特征吸收带 $230 \sim 270\text{nm} (\epsilon = 200)$ 谱带上有精细结构，极性溶剂红移

(4) E吸收带 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁 芳香族化合物的特征吸收带





1.5 紫外分光光度法

3、常见有机化合物紫外吸收光谱

◆ 饱和烃

饱和单键碳氢化合物只有 σ 电子，因而只能产生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁跃迁。由于 σ 电子最不易激发，需要吸收很大的能量，才能产生电子跃迁，因而这类化合物在**200nm**以上无吸收，所以它们在紫外光谱分析中常用作溶剂使用，如己烷、环己烷、庚烷等。

◆ 不饱和脂肪烃

含孤立不饱和键的烃类化合物具有孤立双键或叁键的烯炔或炔炔，它们都产生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁，但多数在**200nm**以上无吸收。如乙烯吸收峰在**171nm**，乙炔吸收基峰在**173nm**。





1.5 紫外分光光度法

◆含共扼体系的不饱和烃

具有共扼双键的化合物，相间的 π 键相互作用生成大 π 键，由于大 π 键各能级之间的距离较近，电子易被激发，所以产生了K吸收带，其吸收峰一般在217—280nm。K吸收带的波长及强度与共扼体系的长短、位置、取代基种类等有关，共扼双键越多，波长越长，甚至出现颜色。因此可据此判断共扼体系的存在情况。表2-10列出共扼双键增加与吸收波长变化关系。

◆芳香化合物

苯的紫外吸收光谱是由 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁组成的三个谱带，即 E_1 、 E_2 和具有精细结构的B吸收带。当苯环上引入取代基时， E_2 和B一般产生红移且强度加强。





1.5 紫外分光光度法

◆ 杂环化合物

在杂环化合物中，只有不饱和化合物在近紫外区才有吸收以O、S或NH取代环戊二烯的CH₂的五元不饱和杂环化合物。





2.6 紫外分光光度法

4、紫外分光光度法的应用

一、定性分析

紫外可见吸收光谱可用于进行紫外、可见区范围有吸收的物质的鉴定及结构分析，其中主要是有机化合物的分析和鉴定、同分异构体的鉴定、物质结构的测定等等。

(1)物质纯度检查

如果一化合物在紫外区没有吸收，而杂质有较强吸收，那么就可以利用紫外吸收光谱方便地检出该化合物中的痕量杂质。例如，无水乙醇中常含有少量的苯，苯的 λ_{\max} 为256nm，而乙醇在此无吸收。如果紫外吸收光谱中有256吸收峰，则无水乙醇中含有杂质苯。





1.5 紫外分光光度法

(2) 未知物的鉴定

每一种化合物都有自己的特征吸收光谱。吸收光谱曲线的形状，吸收峰的数目、最大吸收波长的位置和相应的摩尔吸光系数，是进行定性鉴定的依据。其中最大吸收波长 λ_{\max} 及相应的摩尔吸光系数是定性鉴定的主要参数。**比较吸收光谱法**是最常用的定性方法，就是在相同的测定条件下，比较未知物与已知标准物的吸收光谱曲线，如果它们的吸收光谱曲线完全相同，则可以认为待测样品与已知化合物有相同的生色团。

采用对比法进行未知物鉴定时，也可以借助前人汇编的以实验结果为基础的，各种有机化合物的紫外与可见光谱标准谱图。常用的标准图如**萨特勒标准图谱**共收集了**46000**种化合物的紫外光谱标准谱图





1.5 紫外分光光度法

(3) 分子结构中功能团的推测

根据化合物的紫外可见吸收光谱推测所含的官能团。例如一个化合物在200~800nm无吸收峰，它可能是脂肪族碳氢化合物、胺、腈、醇、醚、羧酸、氯化烃和氟化烃，不含共轭体系，没有醛基、酮基、溴或碘。如果210~280nm有吸收峰，可能含有两个共轭单位；在260~300nm内有强吸收，表示含有3个到5个共轭单位；在260~300nm内有弱吸收带，表示有羰基存在；在240~300nm内有中等强度吸收带，并有一定的精细结构，是苯环的特征。但是由于分子对紫外可见光的吸收性质上是分子中生色基团和助色团的特性，不是整个分子的特性，所以单独从紫外吸收光谱往往还不能决定分子结构，必须配合红外吸收光谱、质谱、核磁共振等其他方法才能得出结论。





1.5 紫外分光光度法

二、定量分析

分光光度法是属于相对测量法，对于某一组分的定量分析通常采用绘制工作曲线方法。首先选定测定波长，在无干扰情况下，一般选定吸光度最大波长 λ_{\max} 。其次配制一系列（5个左右）不同浓度的标准溶液，在溶液最大吸收波长下，逐一测它们的吸光度**A**，然后在方格坐标纸上以溶液浓度（mg/L）为横坐标，吸光度**A**为纵坐标作图。若被测物质对光的吸收符合光吸收定律，得到一条通过原点的直线，即工作（标准）曲线。按同样方法配制样品溶液并测定其吸光度**A**，在工作曲线上找出与此吸光度相应的浓度，即为样品溶液的浓度，再计算样品的组分含量。





安徽化工学校

1.6 实验

化工人才的摇篮

