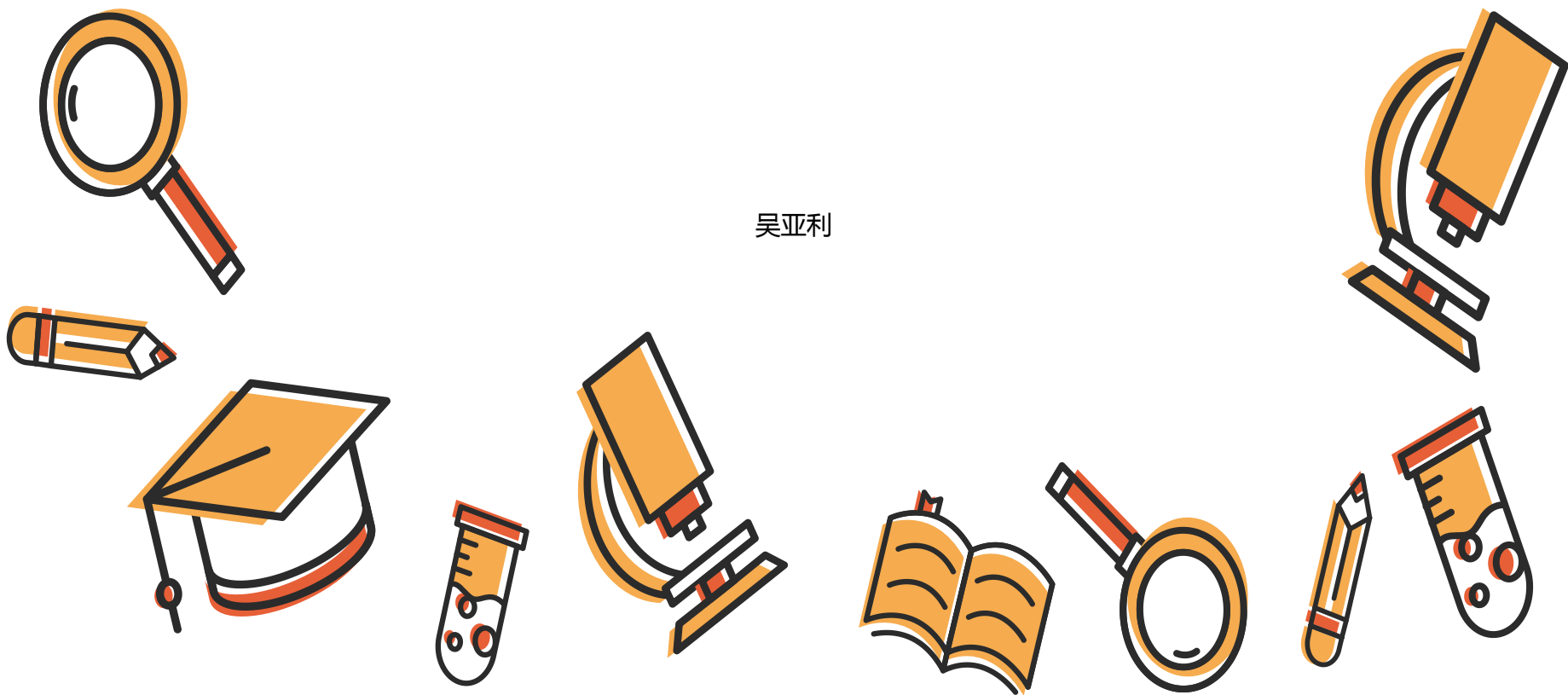


第一章 紫外-可见分光光度法

吴亚利



-
-  1.1 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（浊）法
.....
 -  1.5 紫外分光光度法
.....

概述

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。

- **分光光度法分类：**

按所有光的光谱区域不同又可分为：

- 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（ $3 \times 10^3 - 3 \times 10^4$ nm）；

其中紫外分光光度法和可见分光光度法合成为紫外可见分光光度法

紫外-可见分光光度法的特点

- 仪器设备和操作都比较简单，费用少，分析速度快；
- 选择性好；
- 灵敏度高：误差较小；
- 精密度和准确度较高；

测试溶液的浓度下限可达到 10^{-5} - $10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ；相对误差为2%~5%，某些精密分光光度计可达1%~2%；

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。

光的基本特性：

1、光的波粒二象性：

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

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；

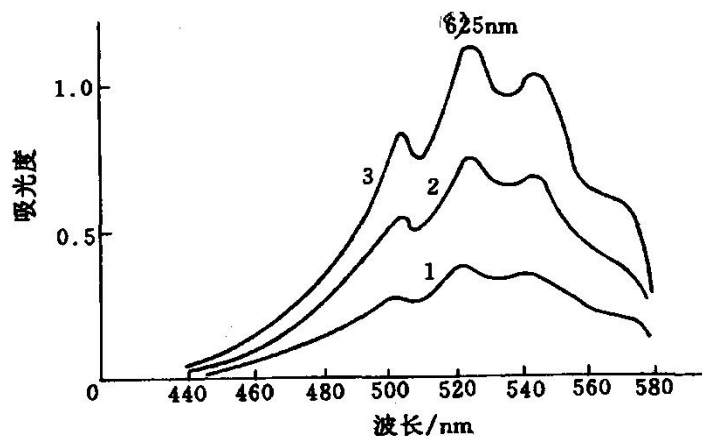
λ 为波长，nm(纳米)。

由上式可知，不同波长的光能量不同，波长愈长，能量愈小

物质对光的选择性吸收

- ☞ 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；
- ☞ 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2-1；
- ☞ 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



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

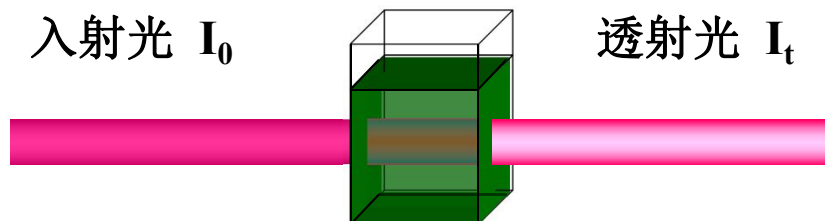
①高锰酸钾溶液对不同波长的光的吸收程度是不同的，对波长为525nm的绿光吸收最多，在吸收曲线上有一高峰(称为吸收峰)。光吸收程度最大处的波长称为最大吸收波长(常以 λ_{max} 表示)。在进行光度测定时，通常取在 λ_{max} 的波长处来测量，因为这时可得到最大的灵敏度。

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。

朗伯—比尔定律： $A = kbc$

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，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

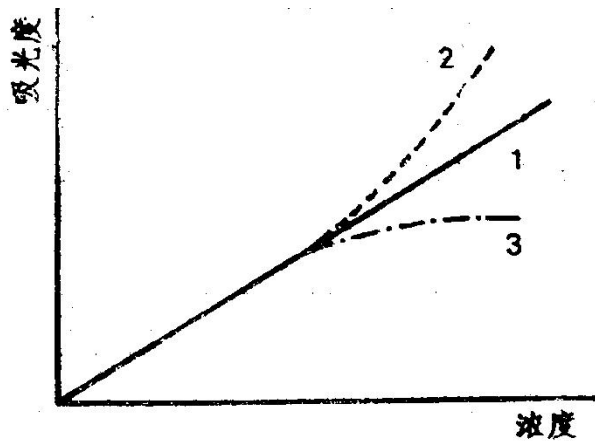
吸收发生在均匀的介质

吸收过程中, 吸收物质互相不发生作用

◆影响吸收定律的主要因素：

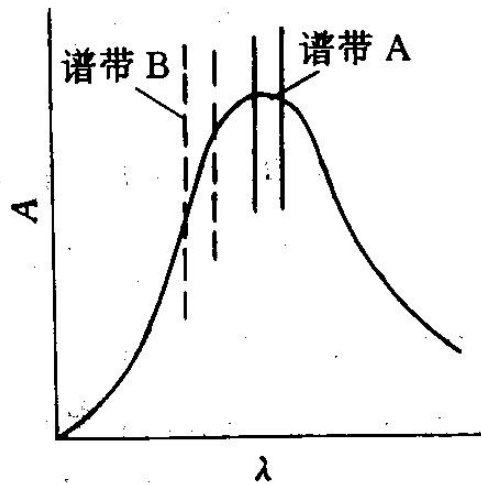
- 入射光非单色性引起偏离 吸收定律成立的前提是入射光是单色光。但实际上，一般单色器所提供的人射光并非纯单色光，而是由波长范围较窄的光带组成的复合光；
- 溶液的化学因素引起偏离 实际样品的混浊，加入的保护胶体，蒸馏水中的微生物，存在散射以及共振发射等，均可吸光质点的吸光特性变化大；
- 定律本身的局限性 只适用于浓度小于 $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的稀溶液；

吸收系数



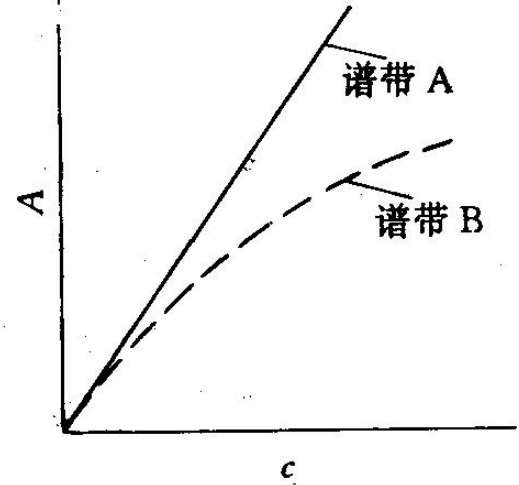
1—无偏离；2—正偏离；3—负偏离

偏离吸收定律



(a)

入射光的非单色性对吸收定律的影响



(b)

1.2 紫外-可见分光光度计



UV-1801紫外可见分光光度计



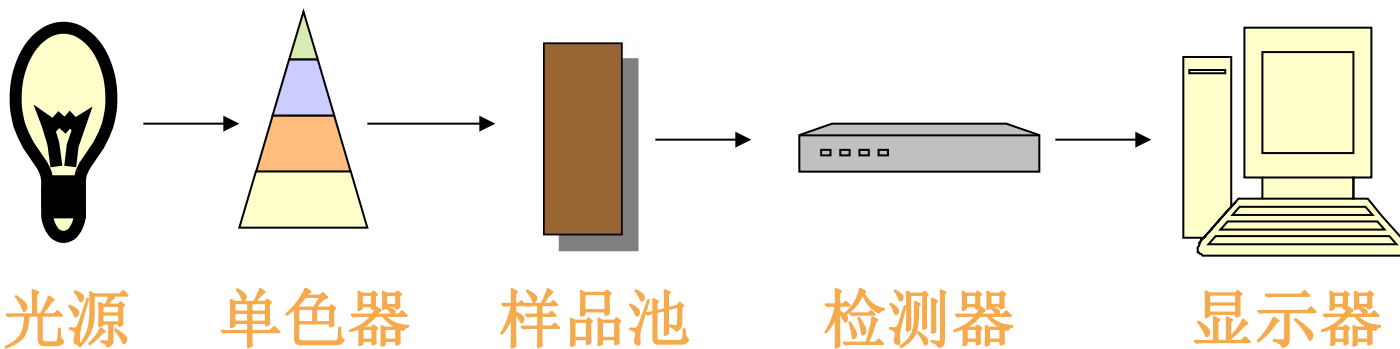
UV-7504C紫外可见分光光度计



UV-2450

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：

◆可见光源：

钨丝灯：波长范围为325~2500nm，最适宜范围为380~1000nm；

卤钨灯：在钨丝中加入少数卤化物 寿命更长更高效；

◆紫外光源：

氢灯或氘灯，发射的连续波长范围是180-360 nm；

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

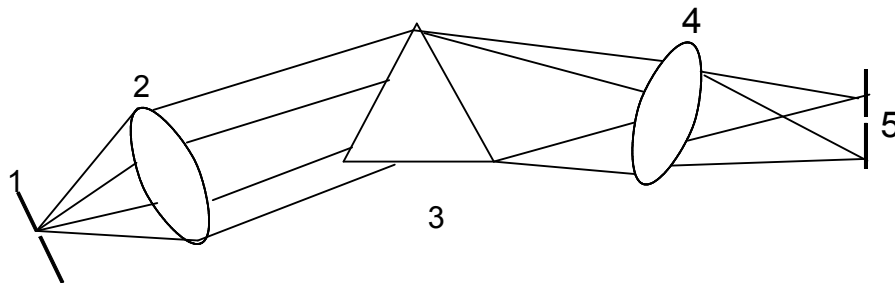
2. 单色器

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。



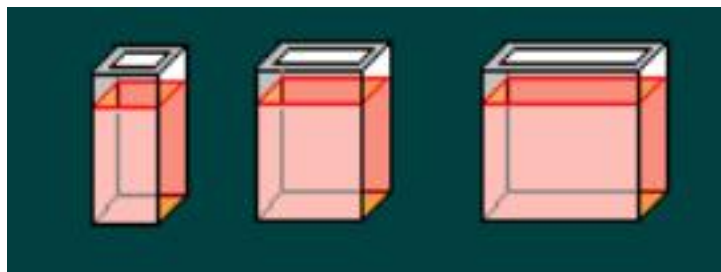
1. 入射狭缝 2. 准直透镜 3. 棱镜 4. 聚焦透镜 5. 出射狭缝

紫外-可见分光光度计的基本构造

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。

紫外-可见分光光度计的基本构造

4. 检测器

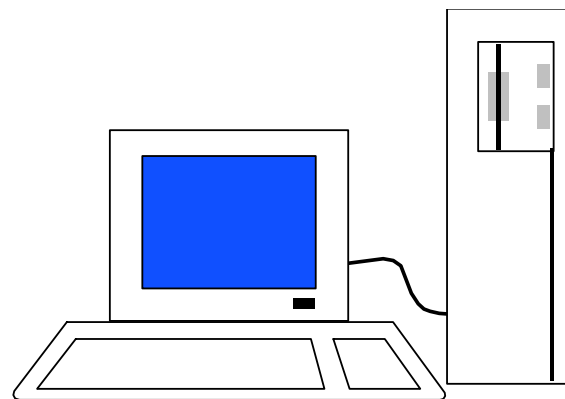
利用光电效应将透过吸收池的光信号变成可测的电信号，常用的有光电管、光电倍增管、光电二极管、光电摄像管等。

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

将监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

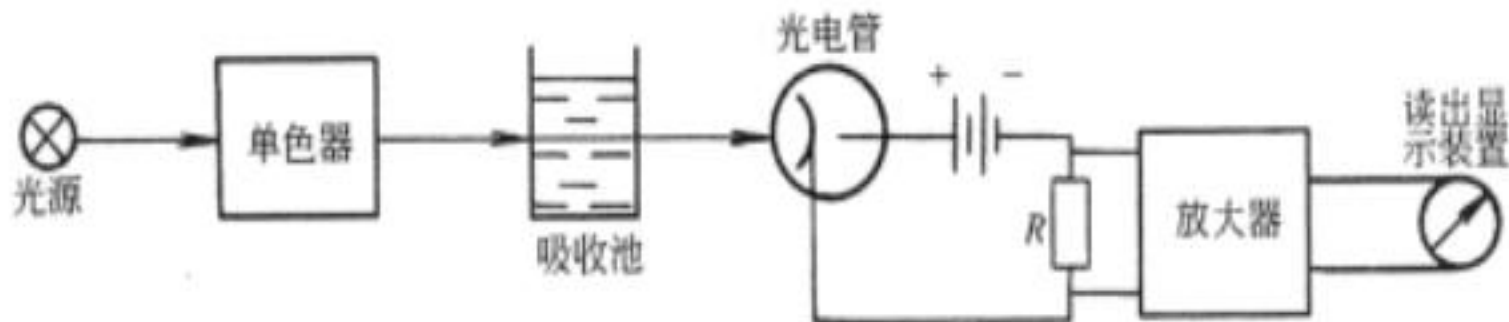
- 单光束分光光度计
- 双光束分光光度计
- 双波长分光光度计

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。

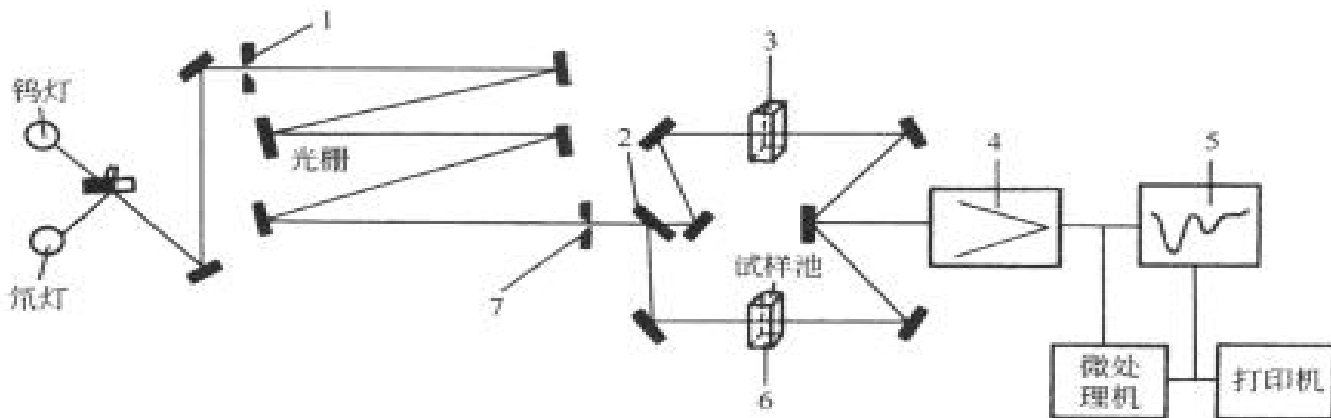


紫外可见分光光度计类型及特点

(1) 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



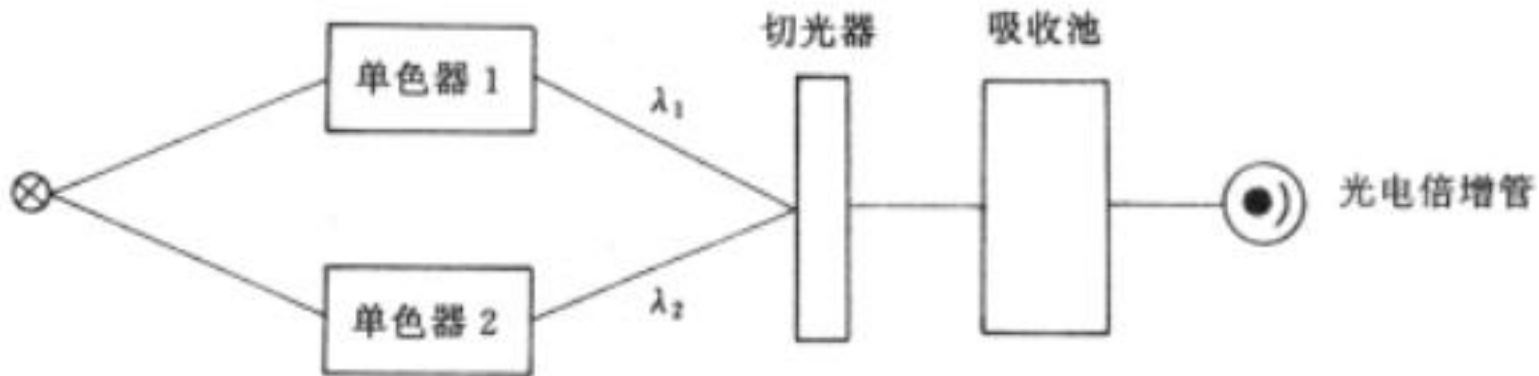
1-进口狭缝；2-切光器；3-参比池；4-检测器；5-记录仪；6-试样池；7-出口狭缝

紫外可见分光光度计类型及特点

(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

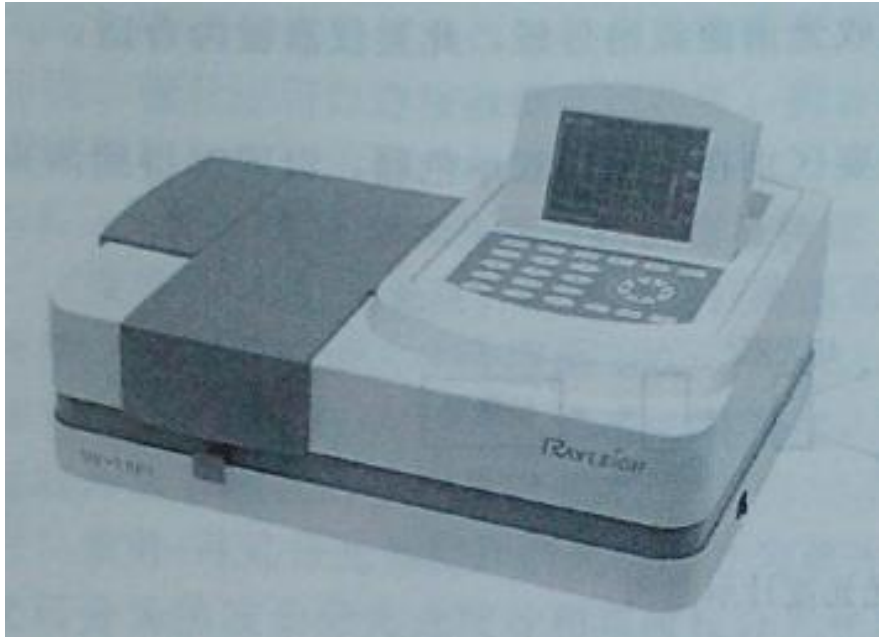
◆ **仪器主要组成部件：**UV-1801紫外可见分光光度计（外形见图2-4）由光路、单色器、样品室、检测系统、电机控制、液晶显示、键盘输入、电源、RS232接口、打印接口等部分组成，其光学系统如图2-5所示。

◆ UV-1801紫外可见分光光度计软件操作

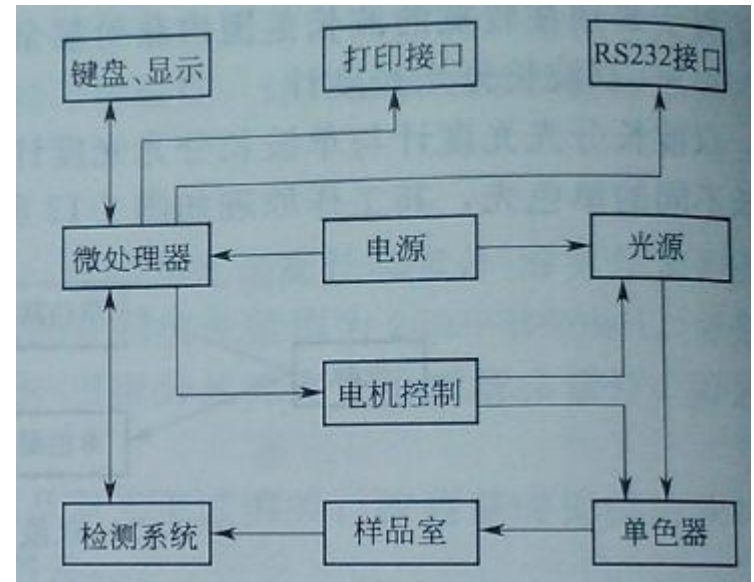
1、开机自检

- 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

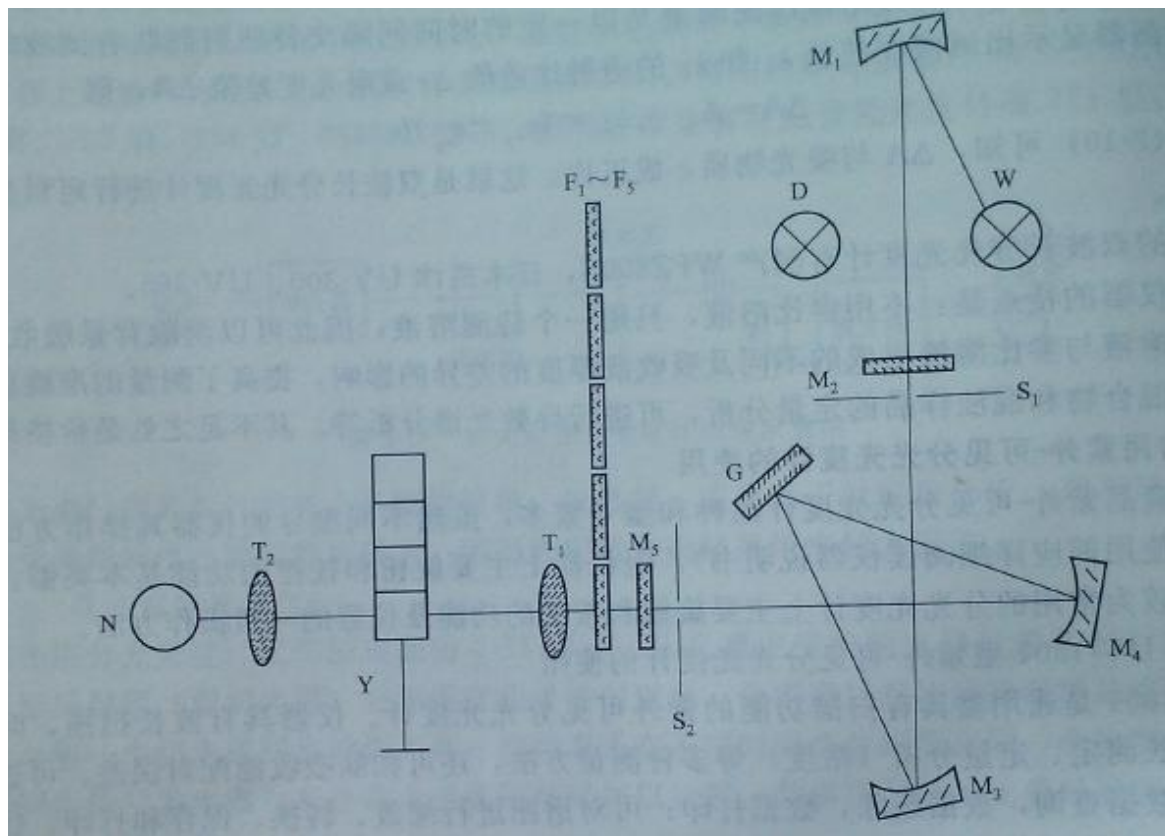


UV-1801紫外可见分光光度计外形图



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



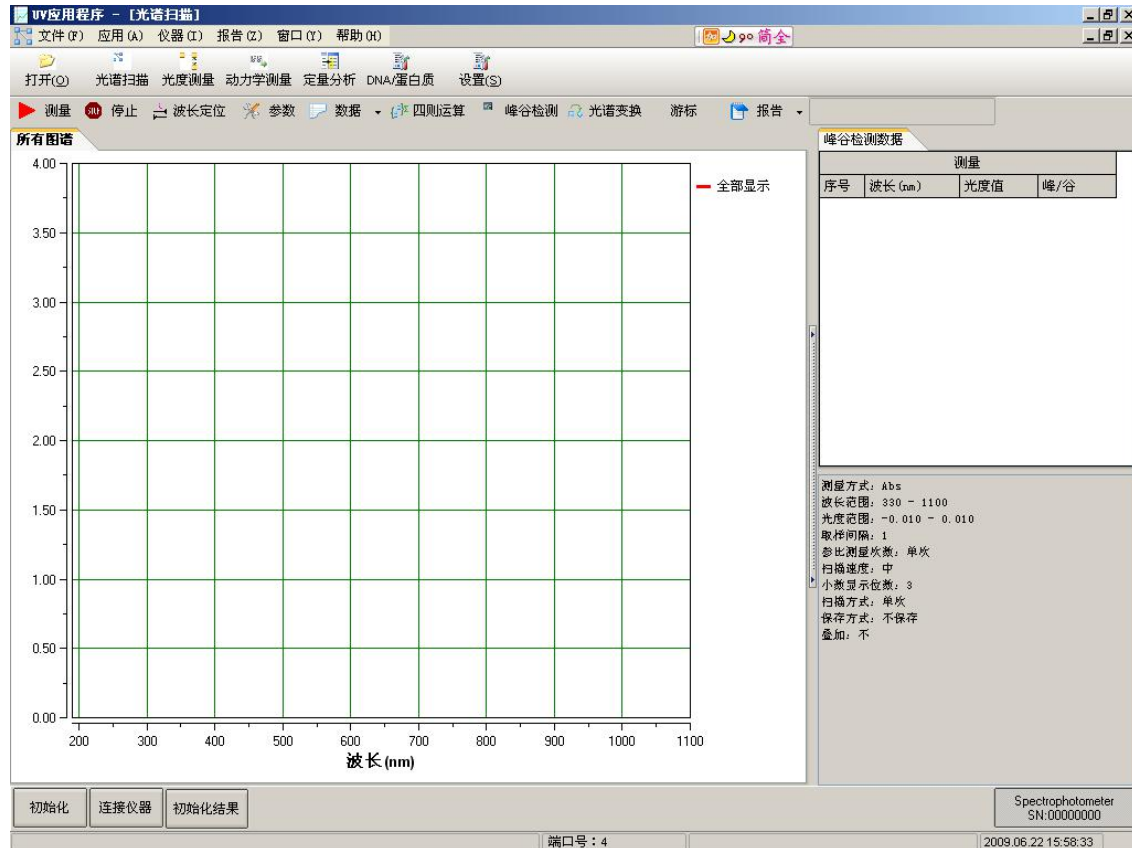
UV-1801紫外可见分光光度计光学系统图

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；



UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

b, 进行参数设置

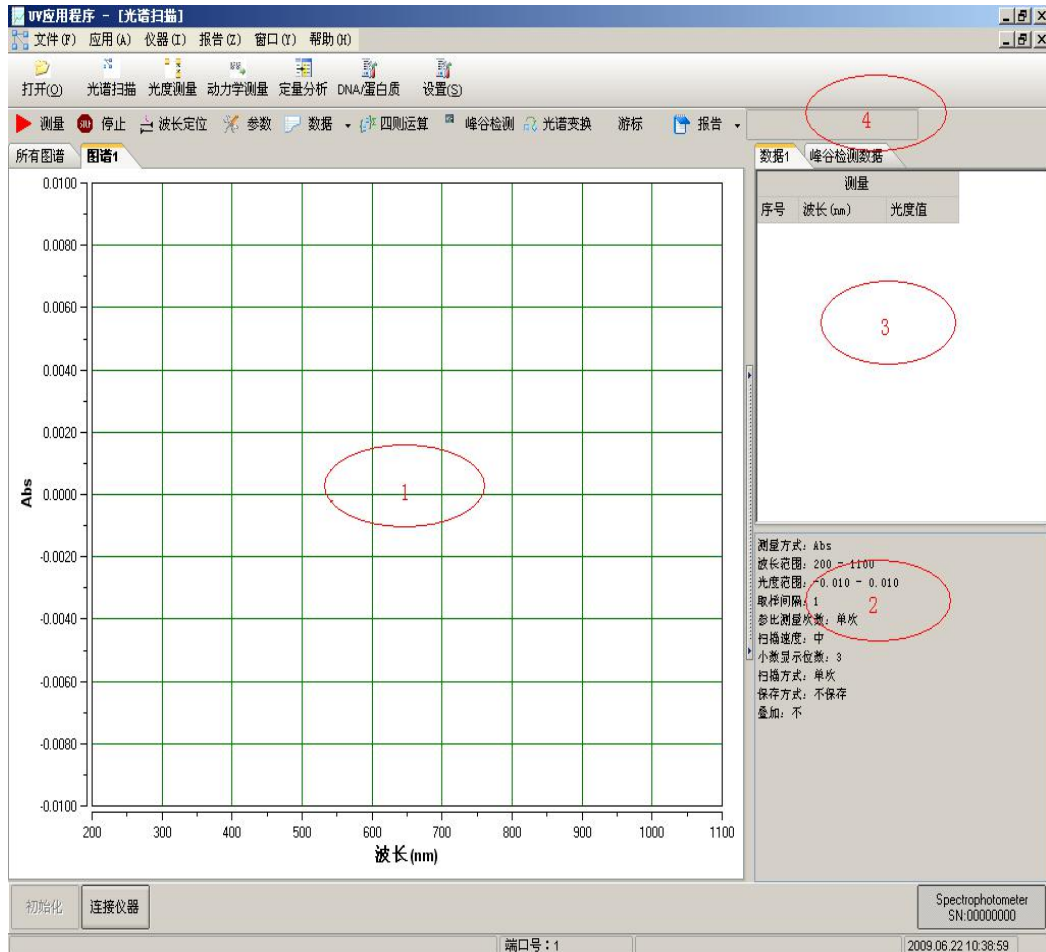
单击工具栏菜单上的  参数 进行参数设置，如图下所示；




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。

UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

c, 样品的检测



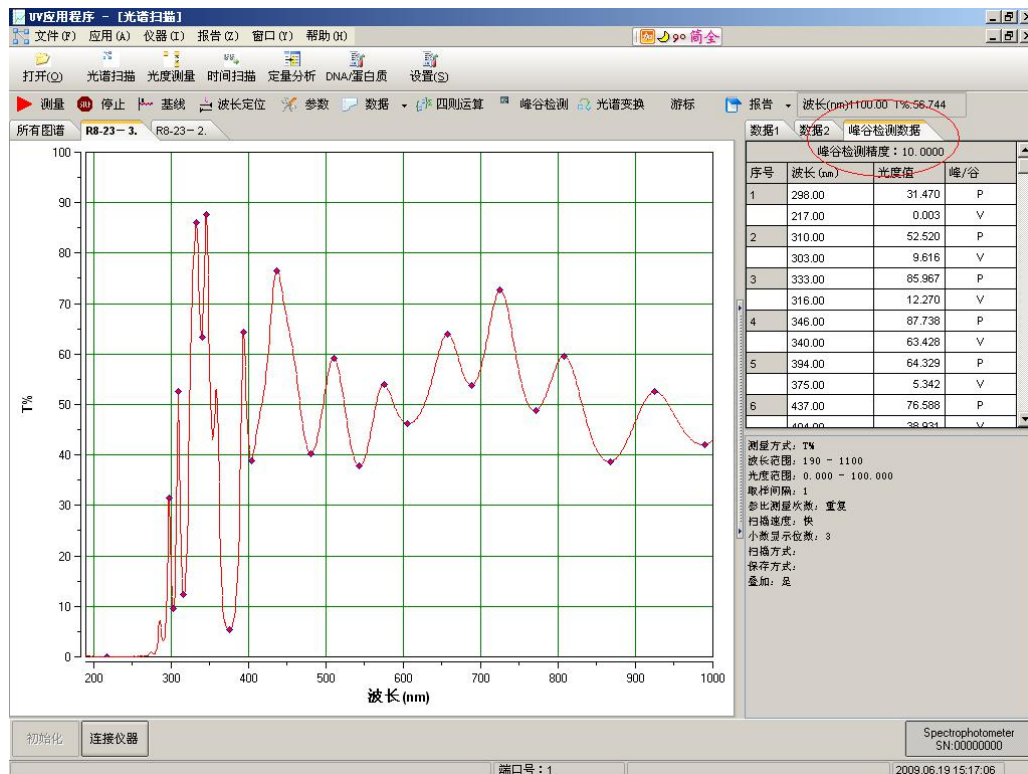
1、单击工具栏菜单上的  测量，开始进行测量，提示请将参比拉入光路，将参比液放入样品池内，根据提示，拉入光路，点击“确定”按钮。

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


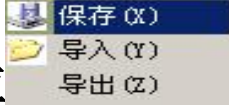
d, 检测光谱峰谷波长



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。

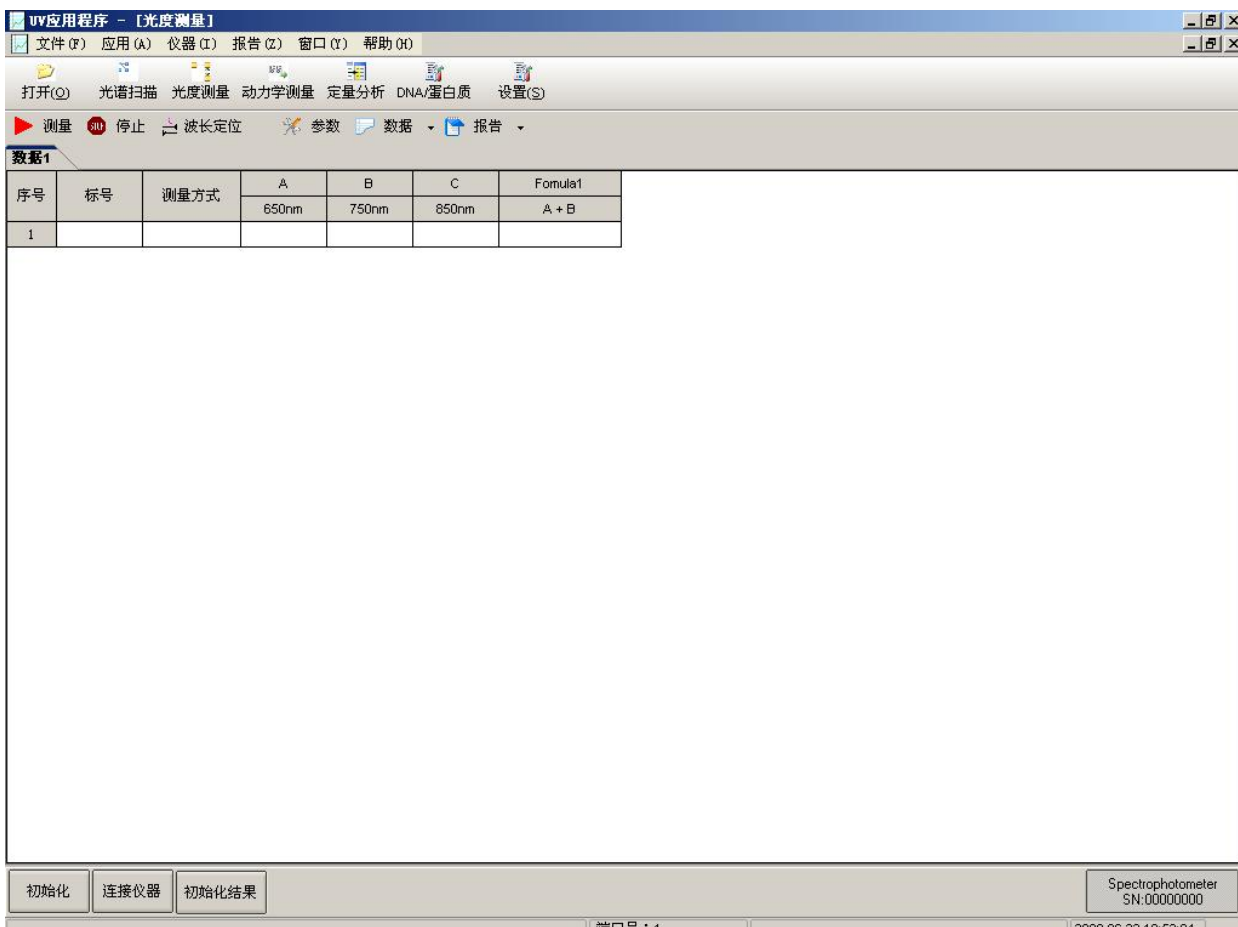
f. 退出光谱扫描

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

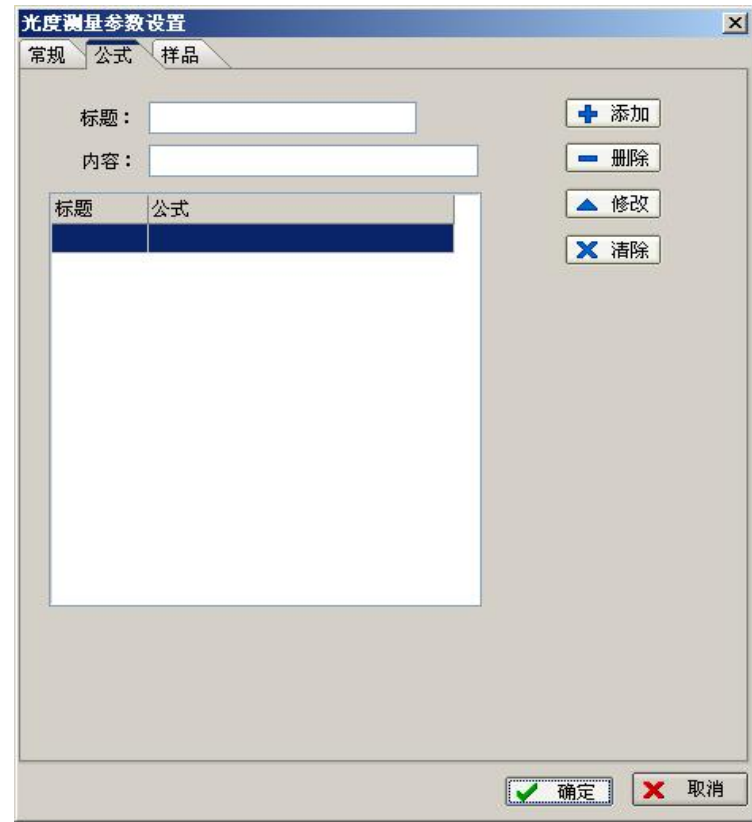
a, 单击工具栏菜单上的光度测量，进入光度测量方式，如下图所示。



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

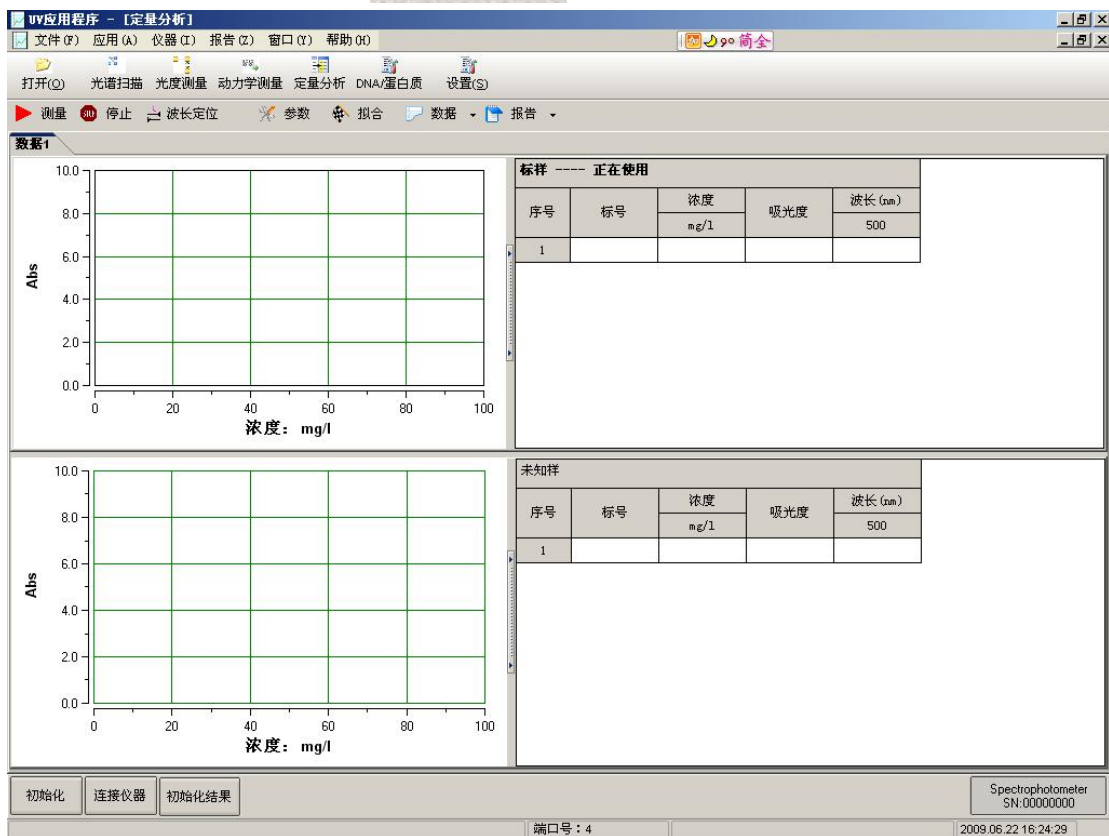
单击工具栏菜单上的  参数，进行参数设置，如图下图所示。在对话框中可对测量方式、波长、参比测量等参数进行测量；点击“公式”可以输入计算公式等。设置完后点击“确定”进行检测。



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  ，进入定量分析方式，如下图；




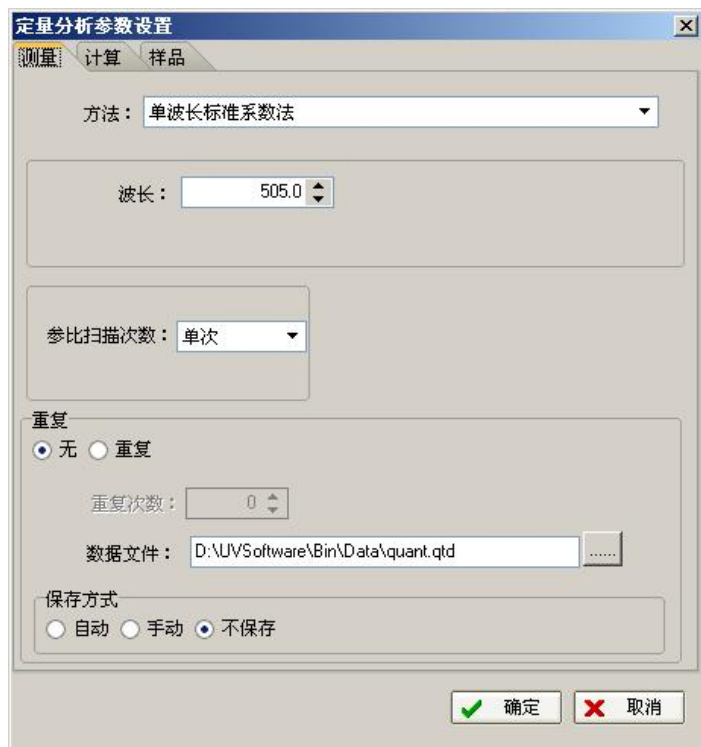
b, 比色皿校正: 在进行定量分析前, 应先完成比色皿校正。

UV-1081紫外-可见分光光度计的使用

c, 设置定量分析参


数

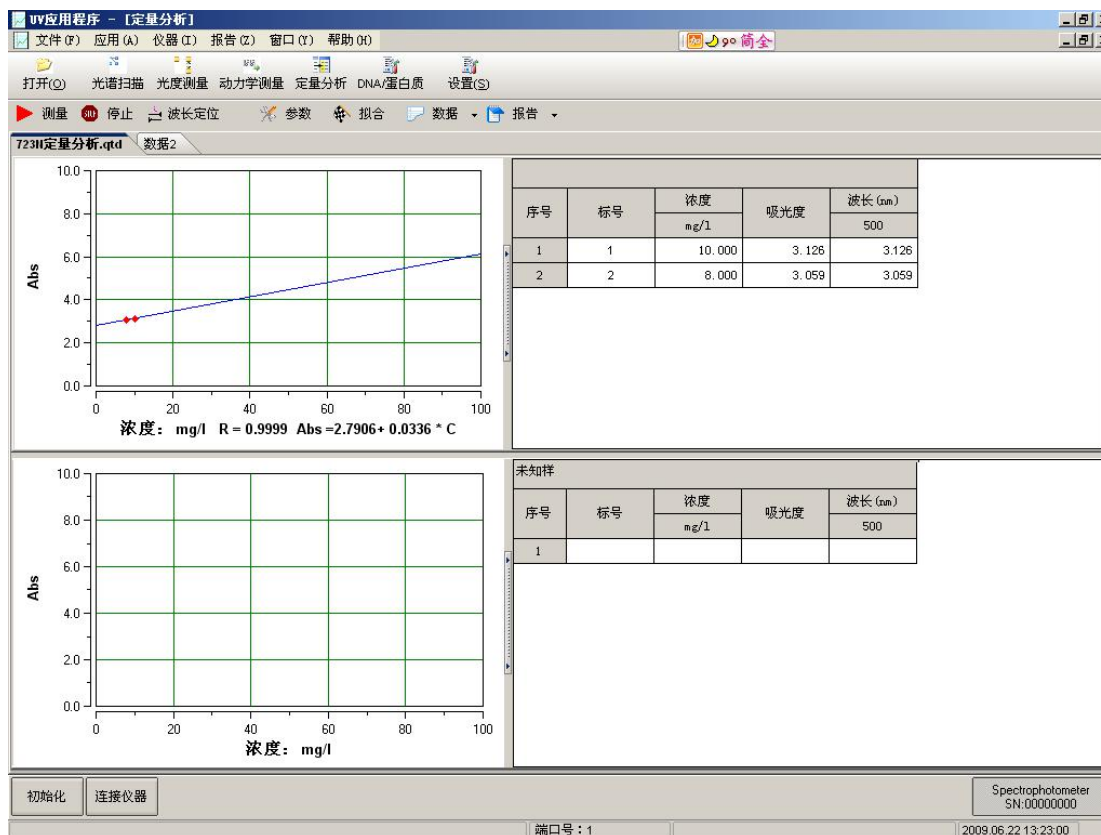
单击工具栏菜单上的  参数，进行参数设置，如图下图所示。可对波长测量方法（包括单波长法，双波长系数倍率法，双波长等吸收点法，三波长法）、测量波长、参比测量方式、计算公式、测量方法、曲线拟合等进行设置；



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  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，如下图所示，根据提示，拉入参比，点击确定按钮。



The screenshot displays the software interface for the UV-1081 spectrophotometer. The main window is titled "UV应用程序 - [定量分析]" and contains a menu bar, a toolbar, and two data panels.

The top panel, titled "72311定量分析.qtd 数据2", shows a graph of Absorbance (Abs) versus Concentration (浓度: mg/l). The graph displays a linear relationship with a regression equation: $Abs = 2.7906 + 0.0336 \cdot C$ and a correlation coefficient $R = 0.9999$. The x-axis ranges from 0 to 100 mg/l, and the y-axis ranges from 0.0 to 10.0 Abs. Two data points are plotted as red diamonds.

序号	标号	浓度 mg/l	吸光度	波长 (nm)
1	1	10.000	3.126	500
2	2	8.000	3.059	3.059

The bottom panel, titled "未知样", shows a similar graph of Absorbance (Abs) versus Concentration (浓度: mg/l). The x-axis ranges from 0 to 100 mg/l, and the y-axis ranges from 0.0 to 10.0 Abs. The graph is currently empty.

序号	标号	浓度 mg/l	吸光度	波长 (nm)
1				500

At the bottom of the interface, there are buttons for "初始化" (Initialize) and "连接仪器" (Connect Instrument). The status bar at the bottom right shows "Spectrophotometer SN:00000000" and the date/time "2009.06.22 13:23:00".

UV-7504C紫外-可见分光光度计的使用

● 具体操作步骤见教材15-16页



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中。

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）。

请同学们自行学习

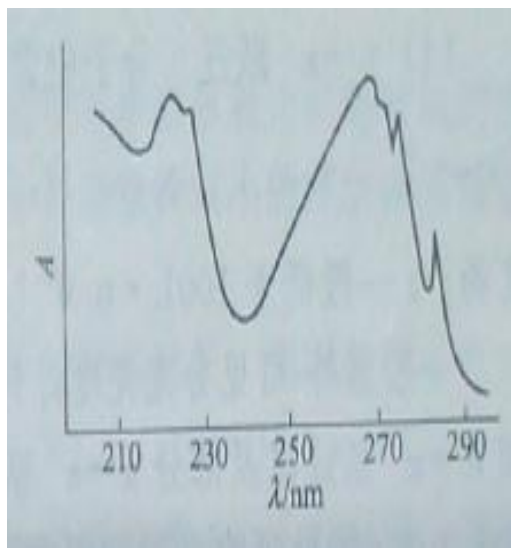
1.3 可见分光光度法

1.4 目视比色法

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，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，可分析无色物资；
- ☞ 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} 来表示茵香醛的紫外吸收特征。

茵香醛紫外吸收光谱

1.5 紫外分光光度法

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：



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、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**。

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，其最大摩尔吸光率很大，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

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} （表示物质对光吸收能力大小的参量）比较小，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

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**。

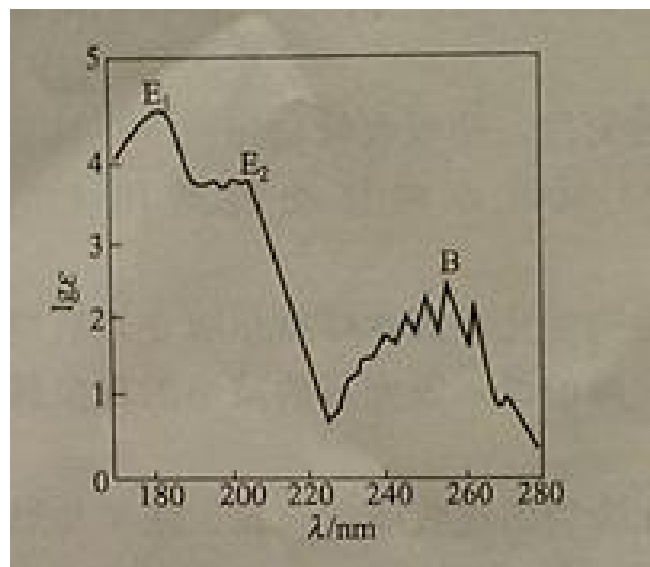
◆色效应和减色效应

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。



◆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

((2)) K吸收带

((3)) B吸收带

((4)) E吸收带

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。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烃或炔烃，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，乙炔吸收峰在173nm。

◆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。

◆ 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。

4、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。下面作一简单介绍。

(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。

(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。

(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。

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。