

第六章 紫外-可见分光光度法

一、概述

波长范围：紫外区 200-400nm

可见光区 400-760nm

能级跃迁类型：分子外层电子的能级跃迁

用途：定性、定量和结构分析

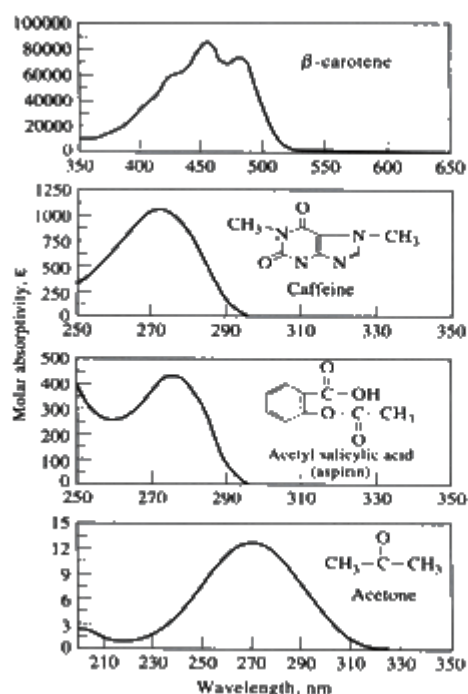
特点：灵敏度较高，检测限为 10^{-4} - 10^{-6} g/ml

相对误差一般为 2-5%

适用样品？

二、紫外-可见吸收光谱

几种有机化合物的紫外-可见吸收光谱图。



β -胡萝卜素

咖啡因

阿斯匹林

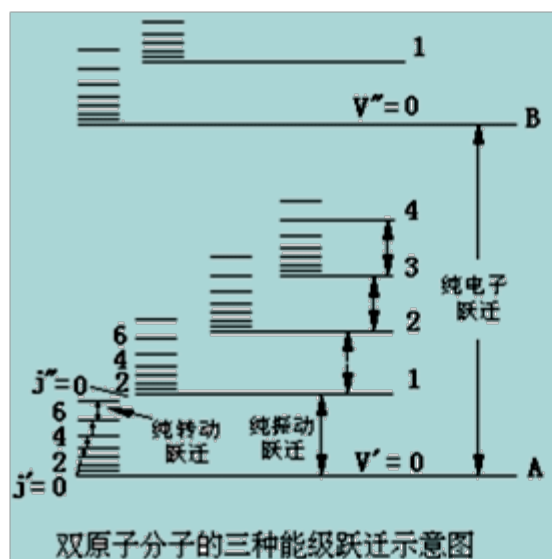
丙酮

1、吸收光谱的形成

分子内部三种运动形式和相应的能级

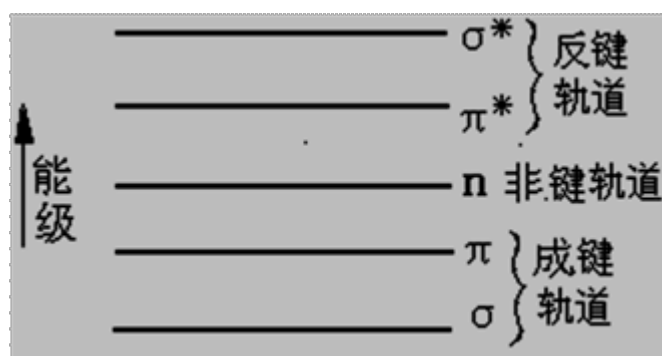
运动形式	能级类型	能级差
电子的运动	电子能级	1-20eV (60-1250nm)
原子间的振动	振动能级	0.05-1eV (1.25-25 μ m)
分子的转动	转动能级	0.005-0.05eV (25-250 μ m)

能级及能级跃迁示意图



- ◆ 三种能级都是量子化的，且各自具有相应的能量。
- ◆ 能级差的大小顺序为：
 $\Delta E_e > \Delta E_v > \Delta E_r$ 。
- ◆ 不同的能级跃迁需要不同波长的电磁辐射提供能量。
- ◆ 在发生电子能级跃迁的同时，总伴随有振动和转动能级跃迁。

电子能级——分子轨道能级



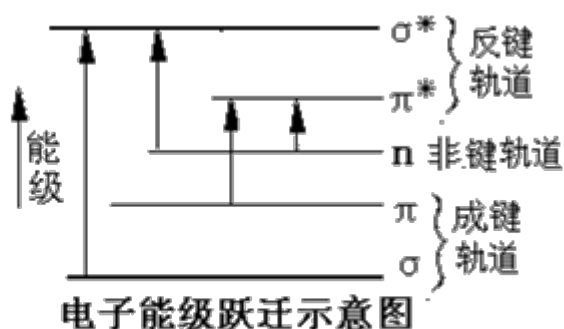
分子轨道能级示意图

- ◆ 不同分子轨道对应不同的能量，轨道的能级由低到高为 $s < p < n < p^* < s^*$ 。
- ◆ 通常外层电子均处于分子轨道的基态，即成键轨道或非键轨道上。

电子跃迁类型

电子跃迁类型

- $\sigma \rightarrow \sigma^*$
- $\pi \rightarrow \pi^*$
- $n \rightarrow \sigma^*$
- $n \rightarrow \pi^*$



此外还有：

电荷转移跃迁

配位场跃迁

吸收光谱的形成过程：

运动的分子外层电子-----吸收外来辐射-----

产生电子能级跃迁-----紫外-可见吸收光谱

有机化合物的吸收光谱主要由？类跃迁产生

$\pi \rightarrow \pi^*$ 、 $n \rightarrow \pi^*$
电荷转移跃迁

无机化合物的吸收光谱主要由？类跃迁产生

电荷转移跃迁
配位体场跃迁

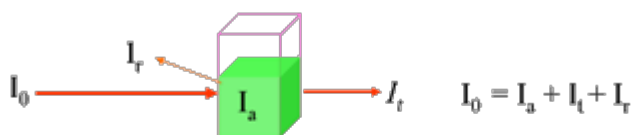
吸收光谱中吸收带位置和强度

电子跃迁 $\rightarrow$ 紫外-可见吸收光谱

◆吸收带的位置（最大吸收波长）是由电子跃迁能级间的能量差所决定，反映了分子内部能级分布状况，是物质定性的依据。

◆吸收谱带的强度（吸光系数）与跃迁几率有关，也是由物质的结构决定，也可作为定性的依据。

三、透光率和吸光度



实验中，被测溶液和参比溶液分别置于同样质地和厚度的比色皿中，反射光强度大小近似可相互抵消（以参比溶液校正），则上式简化为 $I_0 = I_a + I_t$

透射光的强度 I_t 与入射光的强度 I_0 的比值称为透光率

$T = \frac{I_t}{I_0}$ 透光率愈大，溶液对光的吸收愈少

透光率的负对数称为吸光度 A（absorbance）

$$A = -\lg T = \lg \frac{I_0}{I_t}$$

四、Lambert - Beer 定律

吸光度愈大，溶液对光的吸收愈多

溶液对光的吸收除与溶液本性有关外，还与入射光波长、溶液浓度、液层厚度及温度等因素有关。

$$A = -\lg T = -\lg \frac{I}{I_0} = ECL$$

式中 A 为吸光度，T 为透光率，E 为吸收系数，C 为被测物质溶液的浓度，L 为液层厚度。

1760 年，Lambert 从实验中找到了 A 与液层厚度的关系式：

$$A = k_1 b$$

k_1 为与被测物性质、入射光波长、溶剂、溶液浓度和温度有关的常数

当入射光波长、溶剂和吸光物质种类、浓度和溶液的温度都一定时，该溶液的吸光度只与液层厚度成正比

1852 年，Beer 从实验中找到了 A 与溶液浓度的关系式：

$$A=k_2c$$

k_2 为与被测物性质、入射光波长、溶剂、液层厚度和温度有关的常数

当入射光波长、溶剂和吸光物质种类、液层厚度和溶液的温度都一定时，该溶液的吸光度只与溶液浓度成正比

合并这两个式子，得到 Lambert - Beer Law

$$A=\epsilon lc$$

吸光度 = 吸光系数 × 介质厚度 × 浓度

$$\text{单位} \begin{cases} l \text{ 液层厚度: cm} \\ c \text{ 物质的量浓度: mol} \cdot \text{L}^{-1} \\ \epsilon \text{ 摩尔吸光系数: L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \\ E \text{ 百分吸光系数: L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \end{cases}$$

吸收系数：

吸收系数 E 是物质的物理常数，随浓度 C 单位的不同，吸收系数 E 有不同的意义和表示方法。

摩尔吸收系数：在某一波长下，溶液浓度为 1mol/L、液层厚度为 1cm 时的吸光度，用 ϵ 表示。

百分吸光系数：在某一波长下，溶液浓度为 1% (g/ml)、液层厚度为 1cm 时的吸光度。用 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 表示。（在药品检验中使用）

$$\epsilon \text{ 与 } E_{1\text{cm}}^{1\%} \text{ 的关系: } \epsilon = \frac{M}{10} \cdot E_{1\text{cm}}^{1\%}$$

吸收系数越大，表示该物质对光的吸收能力越强。

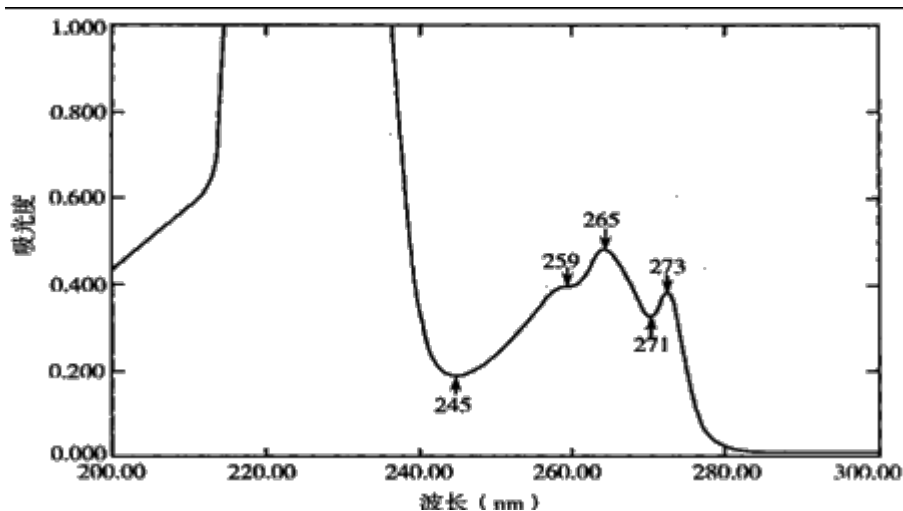
五、应用

1、定性鉴别

依据：相同的化合物有相同的光谱

核对吸收光谱的特征参数：最大吸收波长 (λ_{max})、吸收系数 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)、吸光度 (A)

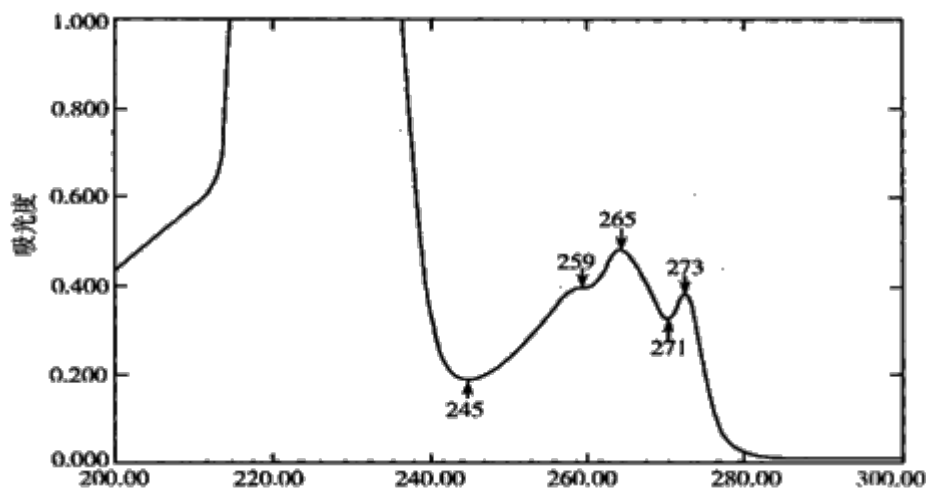
如图：布洛芬 0.4% 氢氧化钠溶液制成每 1ml 中含 0.25 mg 的溶液，在 265nm 与 273nm 的波长处有最大吸收，在 245nm 与 271nm 的波长处有最小吸收，在 259nm 的波长处有一肩峰。



对比吸收度（或吸收系数）比值：吸收峰较多，比较几个波长处的吸光度比值

$$A_{\lambda 1}/A_{\lambda 2} \rightarrow E_{\lambda 1}/E_{\lambda 2}$$

如图：布洛芬 265nm 和 273nm 下吸光度的比值应该为一定值。



对比吸收光谱的一致性：光谱曲线完全一致，才有可能是一物质（也有并非同一物质的可能性），光谱曲线有明显差别时，肯定两物不是同一物质

2、杂质检查

◆杂质检查

杂质的存在 $\xrightarrow{\text{改变}}$ 吸收曲线形状
吸光系数值的大小

◆杂质限量：

规定波长下，一定浓度的样品吸光度是否符合要求

3、含量测定

（1）单组分样品的定量方法

对照品比较法：条件苛刻，应用较少。

方法：分别配制供试品和对照品溶液，在规定波长处分别测定它们的吸光度，按黄框公式计算供试品溶液中被测组分的浓度。

$$\begin{array}{l} A_{\text{标}} = \varepsilon C_{\text{标}} L \\ A_{\text{样}} = \varepsilon C_{\text{样}} L \end{array} \xrightarrow[\text{相同}]{\text{两式的}\varepsilon\text{和}L\text{值}} \boxed{C_{\text{样}} = \frac{C_{\text{标}} \cdot A_{\text{样}}}{A_{\text{标}}}}$$

吸收系数法——应用最多。

方法：配制供试品溶液，在规定的波长处测定其吸光度，再以该品种在规定条件下的吸收系数，按下式计算供试品溶液的浓度。

$$C = \frac{A}{E_{1\%}^{1\text{cm}} \times l}$$

注意：某些时候吸收系数需要试验测定。

多组分样品的定量方法

计算分光光度法——如：双波长分光光度法、导数光谱法等，用于消除干扰组分的干扰

对于没有紫外吸收的样品

比色法——加入适当的显色剂显色后测定。影响因素较多。