

# 现代仪器分析

**马登龙 副教授**

# 第五章 紫外-可见吸收光谱法

(Ultraviolet-visible absorption spectrometry, UV-VIS)

## 5.1 紫外-可见吸收光谱法概述及基本原理

- 基于物质对**200~800nm** 光谱区辐射的吸收特性建立起来的分析方法;
- 属于**分子吸光分析法**。
- 分子外层电子跃迁能级迁移产生;
- 遵循**Lambert-Beer定律**:  $A(\lambda) = KCL$



硫酸铜

高锰酸钾

➤ 由于溶液对光的选择性吸收引起的，溶液呈现的是被吸收光的互补色；

## 5.2紫外 - 可见吸收光谱法的基本原理

### 1.紫外 - 可见吸收光谱的产生:

由待测物质分子的外层电子能级跃迁产生 (又称电子光谱)。它叠加在分子的**振动能级和转动能级**之上, 是具有一定频率范围的带状光谱。

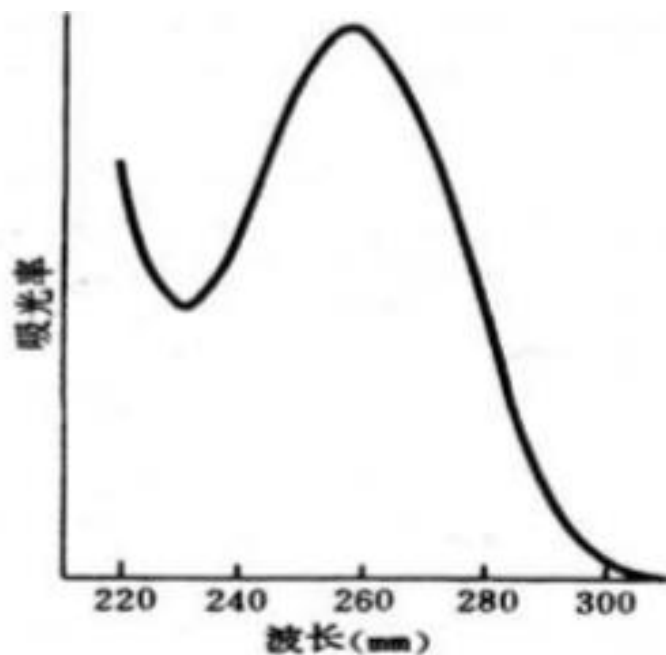


图2 酵母 RNA(钠盐) 的吸收光谱

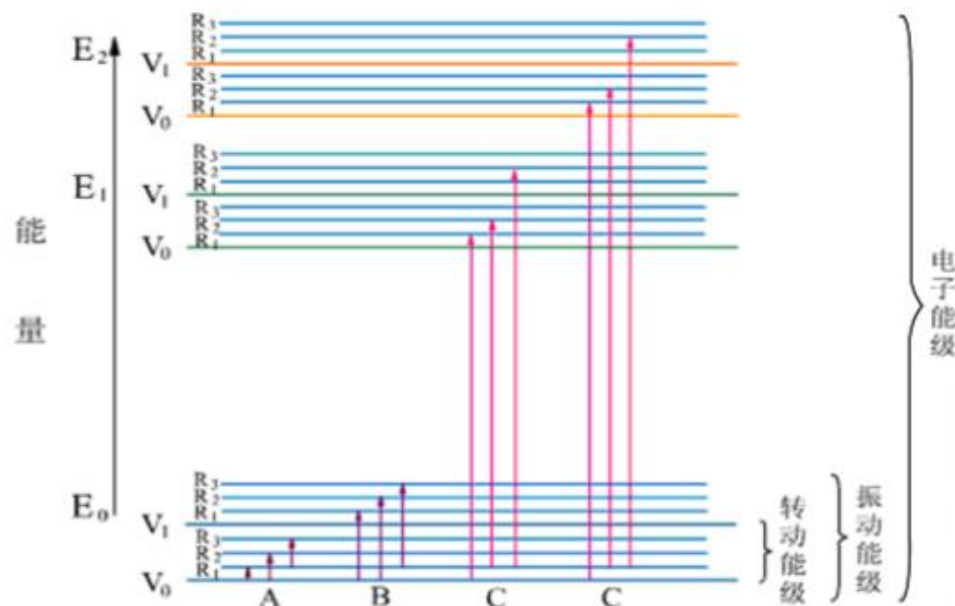


图 电磁波吸收与分子能级变化

A: 转动能级跃迁 (远红外区)    B: 转动/振动能级跃迁 (近红外区)  
C: 转动/振动/电子能级跃迁 (可见、紫外区)

## 2.分子吸收光谱的产生

- 由能级间的跃迁引起
- **能级**：电子能级、振动能级、转动能级
- **跃迁**：电子受激发，从低能级转移到高能级的过程

$$E_{\text{分}} = E_{\text{电}} + E_{\text{振}} + E_{\text{转}}$$

$$\text{能级差 } \Delta E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

### 3.分子吸收光谱的分类

- 分子内运动涉及三种跃迁能级：

$$\Delta E_{\text{电}} > \Delta E_{\text{振}} > \Delta E_{\text{转}}$$

$$\Delta E_{\text{电}} = 1 \sim 20 \text{ eV} \leftrightarrow \lambda = 0.06 \sim 1.25 \mu\text{m}$$



紫外-可见吸收光谱

$$\Delta E_{\text{振}} = 0.05 \sim 1 \text{ eV} \leftrightarrow \lambda = 25 \sim 1.25 \mu\text{m}$$



红外吸收光谱

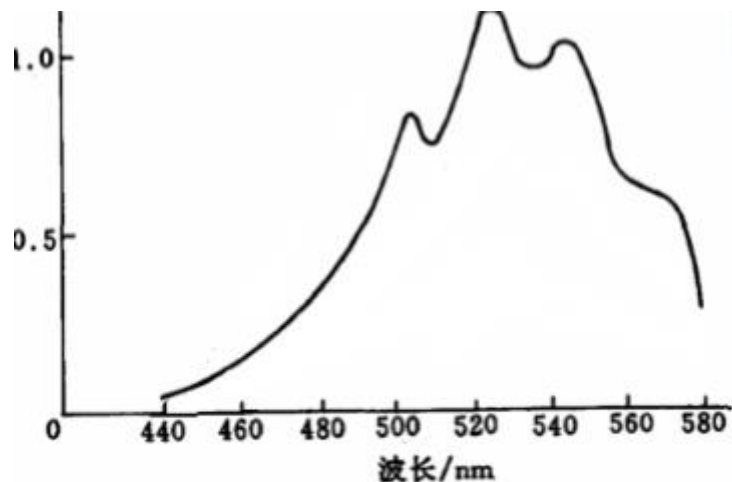
$$\Delta E_{\text{转}} = 0.005 \sim 0.05 \text{ eV} \leftrightarrow \lambda = 250 \sim 25 \mu\text{m}$$



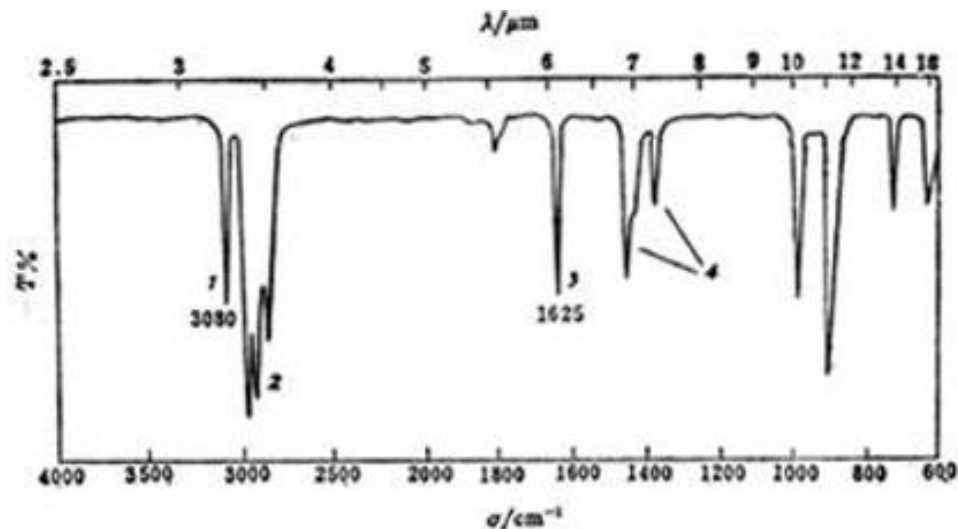
远红外吸收光谱

- **紫外-可见吸收光谱的产生：** 分子中价电子（或外层电子）的能级跃迁而产生（吸收能量=两个跃迁能级之差）

## 4.分子光谱和原子光谱形状:



紫外可见光谱



1-己烯的红外光谱

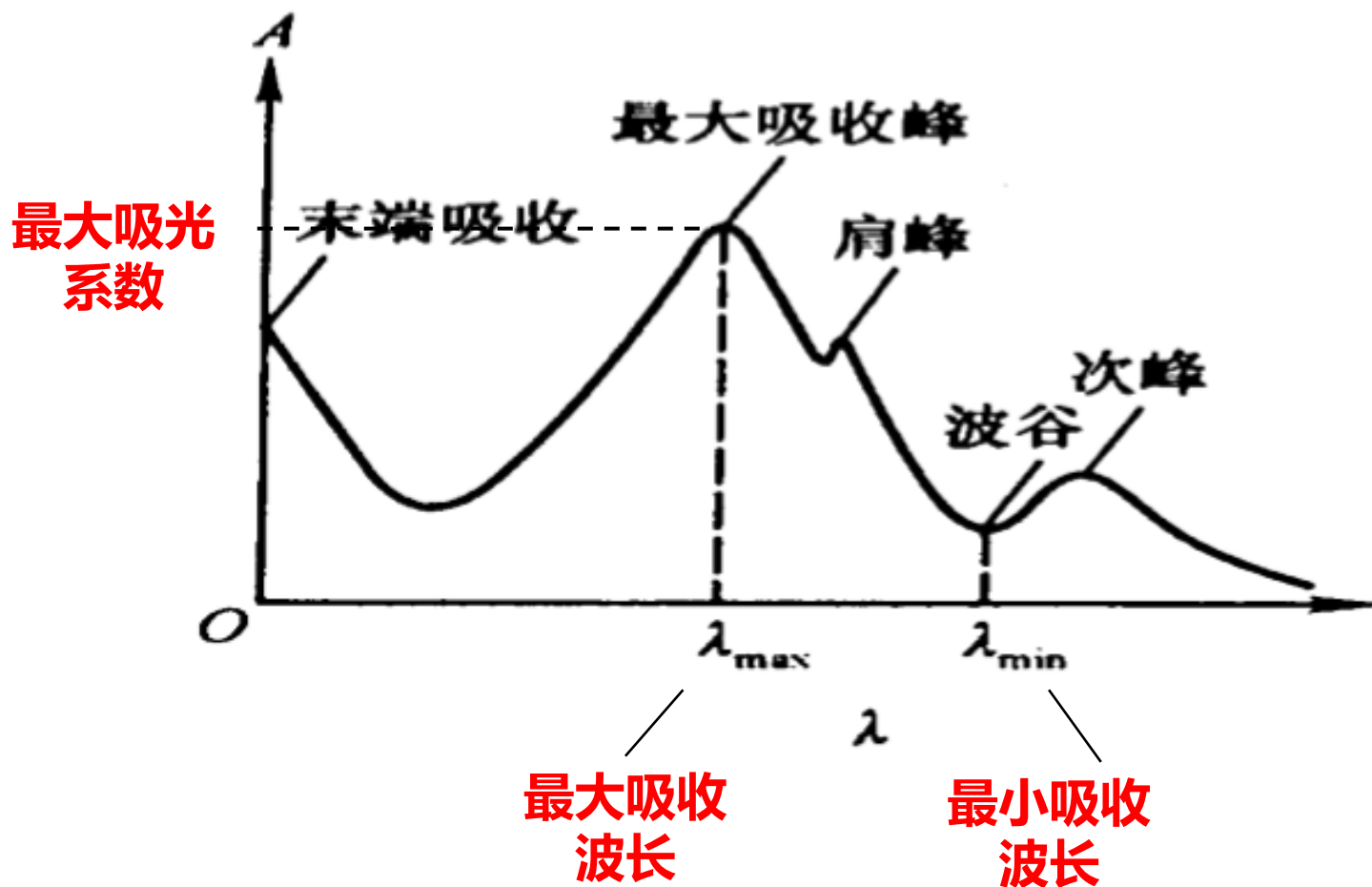


原子光谱——线状谱（不连续谱）

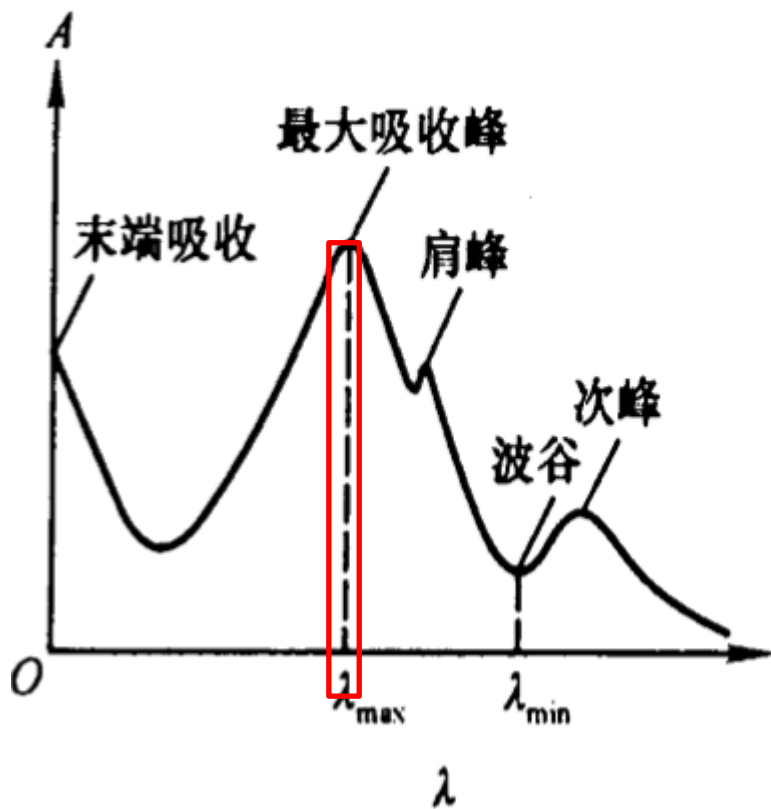
- **分子光谱为连续光谱**：分子中电子能级变化时，不可避免的伴随着分子振动和转动能级的变化

## 5.3 紫外 - 可见吸收光谱的吸收曲线

- 以波长 $\lambda$ 为横坐标，吸光度 $A$ 为纵坐标作图，得到的 $A-\lambda$ 吸收曲线也称为**紫外 - 可见吸收光谱图**







- 定量分析时一般选择 $\lambda_{\max}$ 下，测定吸光度A；
- $\lambda_{\max}$  ---即使被测物浓度低，也可得到较大的吸光度，以提高分析灵敏度；
- $\lambda_{\max}$  ---也作为**定性分析的依据**之一；

## 紫外 - 可见吸收光谱有如下特征：

- 1、物质不同，其分子结构不同，**吸收光谱曲线**也不同，可根据吸收光谱曲线对物质进行**定性和结构分析**；
- 2、对于**同一物质的不同浓度**，吸收曲线形状相同， $\lambda_{\max}$ 不变，只是相应的吸光度大小不同；
- 3、紫外 - 可见吸收曲线一般都是**宽峰**，这是由于电子能级跃迁与振动转动能级跃迁的能量变化相叠加所导致，所以分子的紫外 - 可见吸收光谱是**带状光谱**。

# 5.3 紫外-可见吸收光谱与分子结构的关系

## 1. 电子类型

分子外层

形成单键的 $\sigma$ 电子

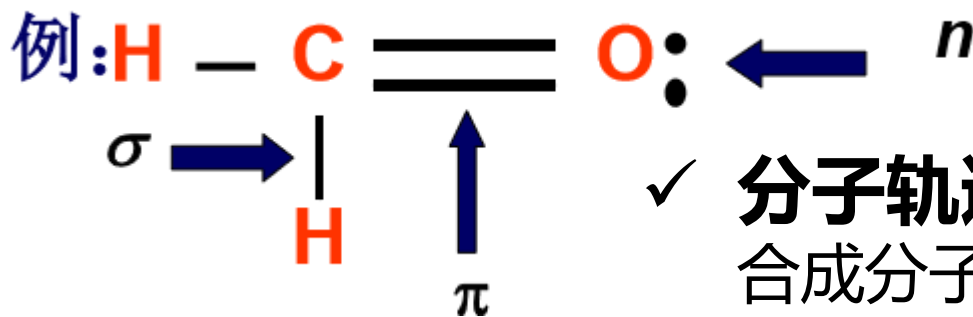
C-H、C-C

形成不饱和键的 $\pi$ 电子

C=C、C=O

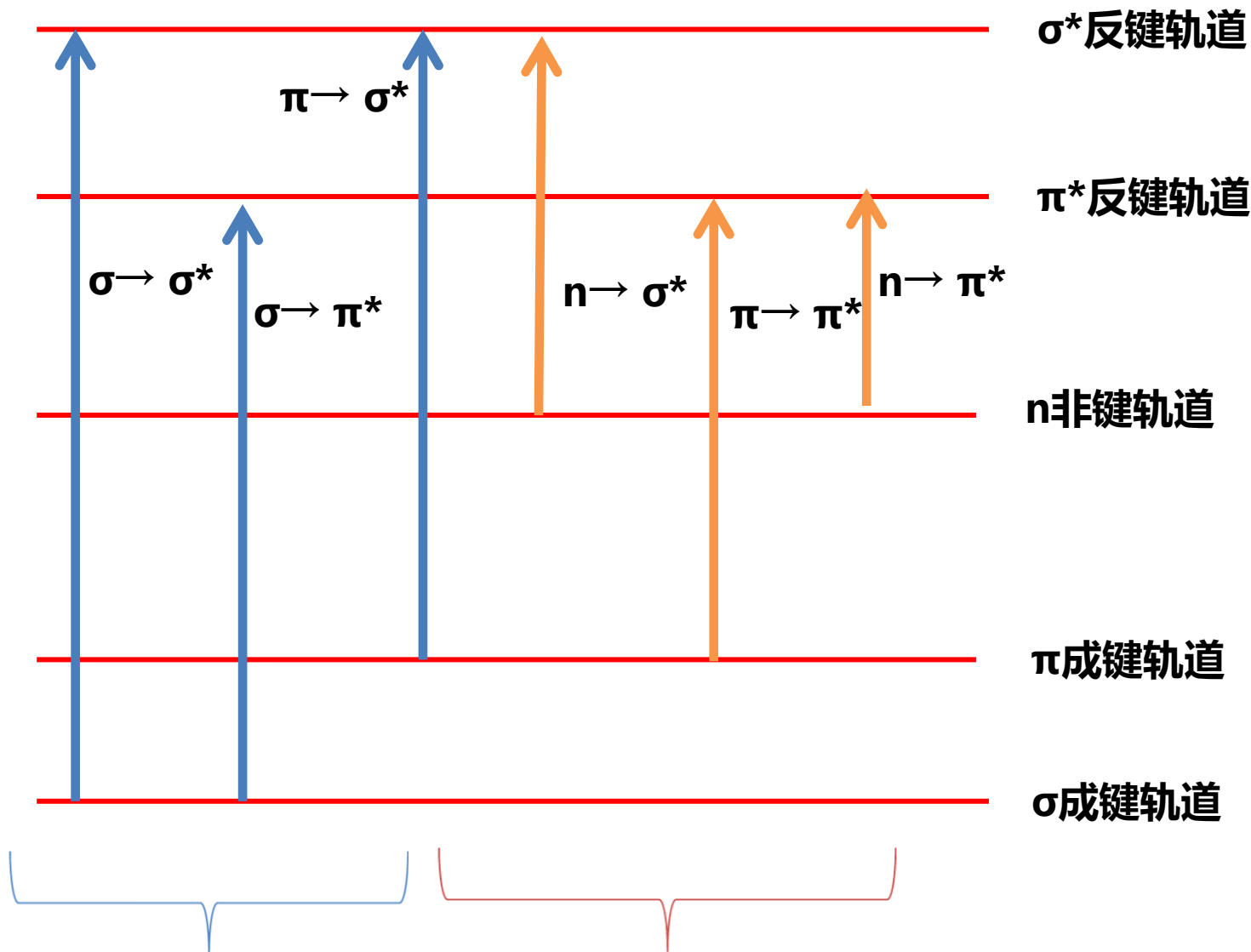
未成对的孤对电子n  
电子

C=O:



✓ **分子轨道理论:** 当两个原子成键结合成分子时, 组成一个能量较低的成键轨道和一个能量较高的反键轨道 (\*).

能量



远紫外区

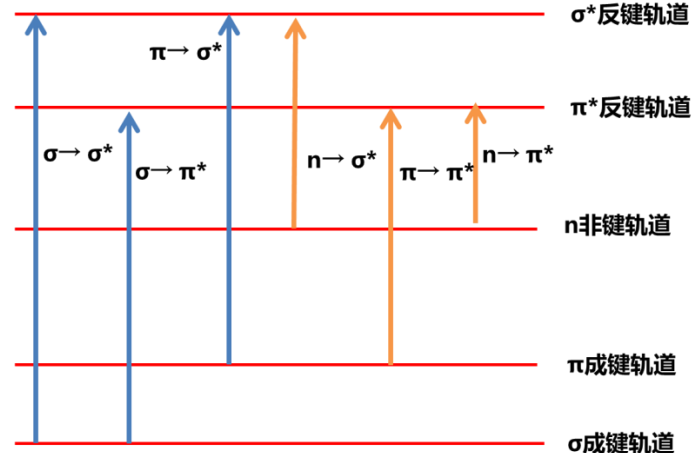
分光光度计难以检测，饱和烃，溶剂

紫外、近紫外区

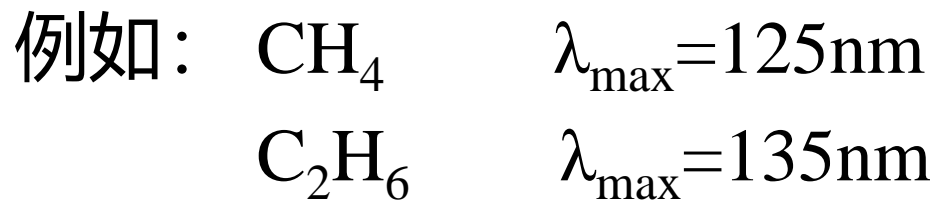
有机物常见吸收光谱

# (1) $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁

- 所需能量很大，相当于远紫外的辐射能， $< 200\text{nm}$



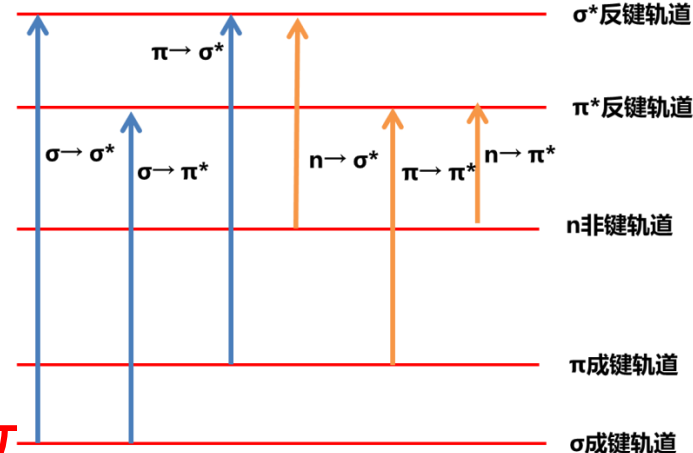
- 饱和烃只能发生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁



- 只能被真空紫外分光光度计检测到，常作紫外可见吸收光谱分析的溶剂。

## (2) $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁

- 200nm左右 (150~250nm)
- 吸收概率较小, 中等强度吸收
- $K_{\max} = 10^2 \sim 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

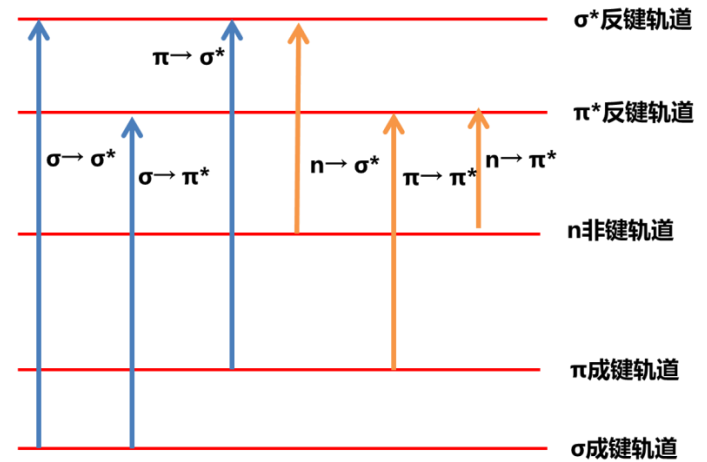


- 含有未共用电子对的杂原子 (N、O、S、X) 的饱和化合物发生  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁;
- 含  $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{X}$
- 例如:



### (3) $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁

- 若无共轭，与  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁差不多。200nm左右
- **吸收强度大**，强吸收
- $K_{\max} \geq 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- 若有共轭体系（能量降低），波长向**长波方向**移动，200~700 nm
- 含不饱和键的化合物发生  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁
- $\text{C}=\text{O}$  ,  $\text{C}=\text{C}$  ,  $\text{C}\equiv\text{C}$



## (4) $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁

➤ 吸收峰在200~400 nm左右

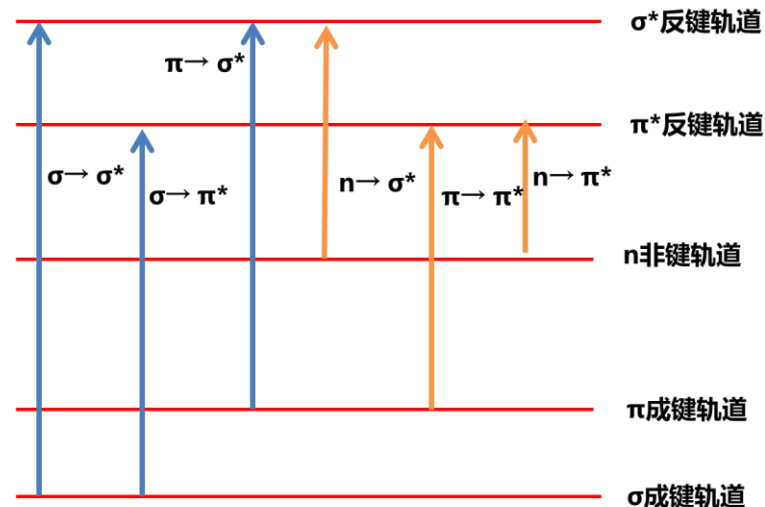
➤ **吸收强度小**，弱吸收

➤  $K_{\max} < 10^2$

➤ 含杂原子的双键不饱和有机化合物



例：丙酮  $\lambda_{\max} = 280 \text{ nm}$

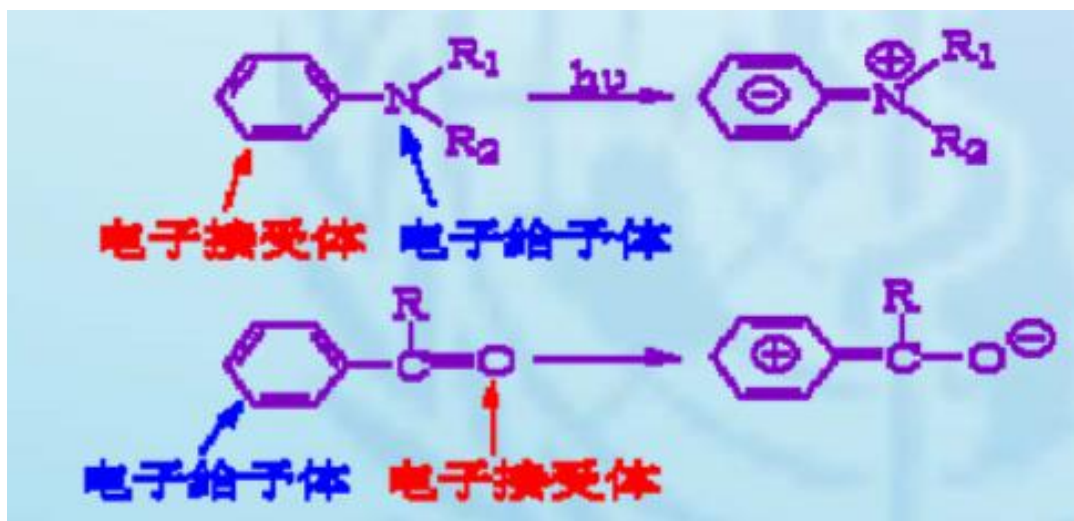


➤  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁比  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁所需**能量小**, 吸收**波长长**



## (5) 电荷转移迁移

- 某些分子同时具有电子给予体和接受体，当吸收紫外可见辐射后，使电子从给予体轨道向接受体轨道跃迁，产生吸收光谱。
- 实质是一个内氧化还原反应。



取代芳烃

# 金属配合物



$\text{Fe}^{3+}$  电子受体,  $\text{SCN}^{-}$  电子给体

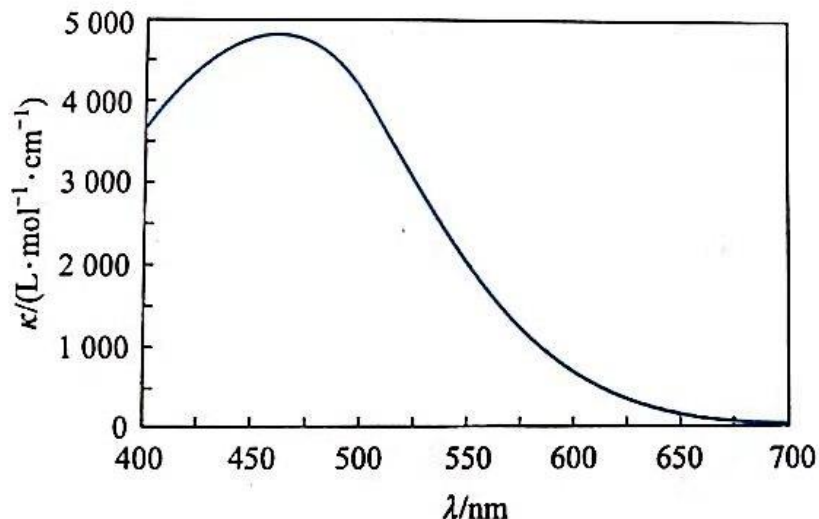


图 9-3  $[\text{FeSCN}]^{2+}$  的电荷转移吸收光谱

- $\text{AgBr}$ ,  $\text{PbI}$ ,  $\text{HgS}$ 等也可以通过这类跃迁产生颜色
- 电荷转移吸收带出现于**紫外区或可见区**;
- 特点是**吸收强度大**,  $K_{\text{max}} > 10^4$ , 被广泛应用于**微量金属的测定**;

# 跃迁与分子结构

- 1、紫外光谱**电子跃迁类型**： **$n \rightarrow \sigma^*$** ， **$n \rightarrow \pi^*$** 、 **$\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁,电荷转移跃迁。**
- 2、**饱和化合物无**紫外吸收
- 3、电子跃迁类型与分子结构及存在基团有密切联系
  - ✓ 根据**分子结构** → 推测可能产生的**电子跃迁类型**；
  - ✓ 根据吸收谱带**波长和电子跃迁类型** → 推测分子中可能存在的**基团**（分子结构鉴定）

## 5.4、常用术语

### 1、生色团 (发色团)

- 能吸收紫外或可见光的基团;
- 一般含有不饱和键 (提供 $\pi$ 轨道), 能产生 $\pi \rightarrow \pi^*$  或  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁;

例:  $C=C$ ;  $C=O$ ;  $C=N$ ;  $-N=N-$

- 当含有几个发色团且**不共轭**, 吸收带互不影响;
- 当出现几个发色团**共轭**, 则几个发色团所产生的吸收带将消失, 代之出现新的共轭吸收带, 其**波长将比单个发色团的吸收波长长**, 吸收强度也增强;  
(生色团的共轭效应)

## 2、助色团

- 含有未成键n电子，本身无紫外吸收，但与发色团相连时，能使发色团的吸收峰向**长波方向移动**（**红移**），吸收强度增强的杂原子基团称为**助色团**。

例：—OH，—OR，—NH—，—NR<sub>2</sub>—，—X

取代基	-SR	-NR <sub>2</sub>	-OR	-Cl	CH <sub>3</sub>
红移距离	45(nm)	40(nm)	30(nm)	5(nm)	5(nm)

### 3. 红移和蓝移:

- 由于化合物结构变化(共轭、引入助色团取代基)或采用不同溶剂后吸收峰位置,

✓ **向长波方向**的移动, 叫**红移**(长移)



✓ **向短波方向**的移动, 叫**蓝移**(紫移, 短移)

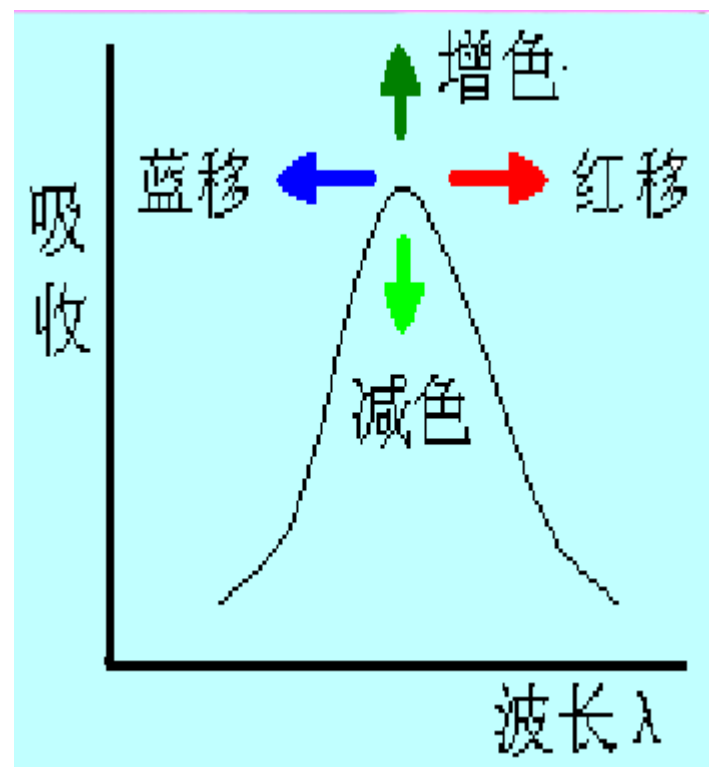


## 4. 增色效应和减色效

- 增色效应:  $K_{\max}$ 增大的效应
- 减色效应:  $K_{\max}$ 减小的效应

## 5. 强带和弱带

- $K_{\max} \geq 10^4 \rightarrow$  强带
- $K_{\max} < 10^3 \rightarrow$  弱带



## 6、R带：

- $n \rightarrow \pi^*$  跃迁产生的吸收带。
- 是由含杂原子的不饱和基团（如C=O、-N=O、-NO<sub>2</sub>等发色基团）的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁所产生。
- 特点：处于较长波长范围（250 ~ 500 nm），**吸收强度很弱**， $K < 10^2$ 。

## 7、K带：

- **共轭双键** $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带。从德文Konjugierte（共轭作用）得名。
- 特点：吸收峰范围：**210 ~ 280 nm**，**吸收强度大**， $K > 10^4$ 。
- 依此判断共轭体系存在



## 8、B带：

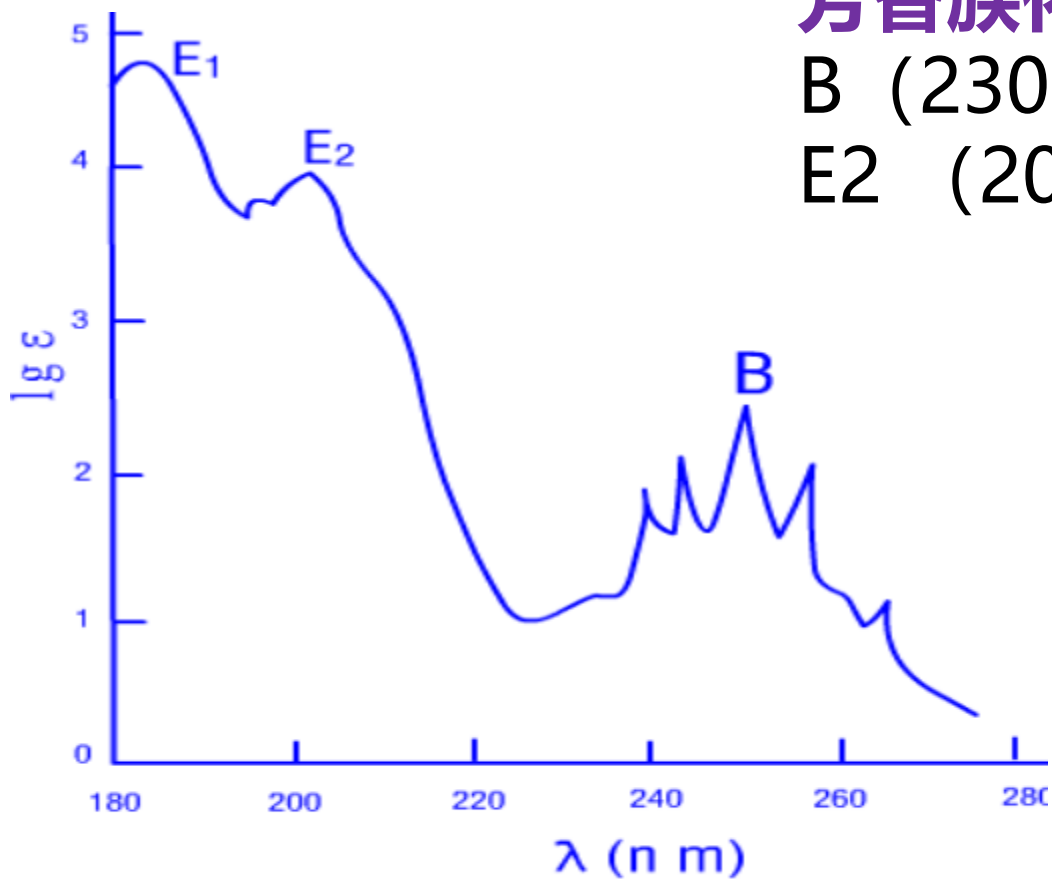
- **苯环的** $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁产生的吸收带。从英文 Benzenoid (苯的) 得名。
- 是**芳香族化合物**的特征吸收。
- 特点：吸收峰范围：**230 ~ 270 nm**，重心在256 nm 左右，K约为220。
- B带为一宽峰，在非极性溶剂中出现精细结构，在极性溶剂中精细结构消失。

## 9、E带：

- **苯环中烯键**  $\pi$  电子的  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁产生的吸收带。是芳香族化合物的特征吸收。
- E带分为E1带和 E2带
- 特点：苯的**E1带**吸收峰出现在**184 nm**，强吸收。**E2带**吸收峰出现在**204 nm**，中等强度吸收。

## 芳香族化合物特征峰：

B (230-270nm) E1(185nm)、  
E2 (204nm左右)。



苯的紫外吸收光谱（异丙烷溶液体系）

## 5.5 影响紫外可见吸收光谱的因素

### ◆ UV – VIS 的产生受到分子——

- ✓ **内部结构**——如**共轭效应**、**助色效应**和**超共轭效应**的影响。
- ✓ **外部环境**——**溶剂**的影响。

# 1、共轭效应

共轭效应使共轭体系形成大 $\pi$ 键，其结果是使吸收峰的波长向**长波方向**移动，吸收强度增强；

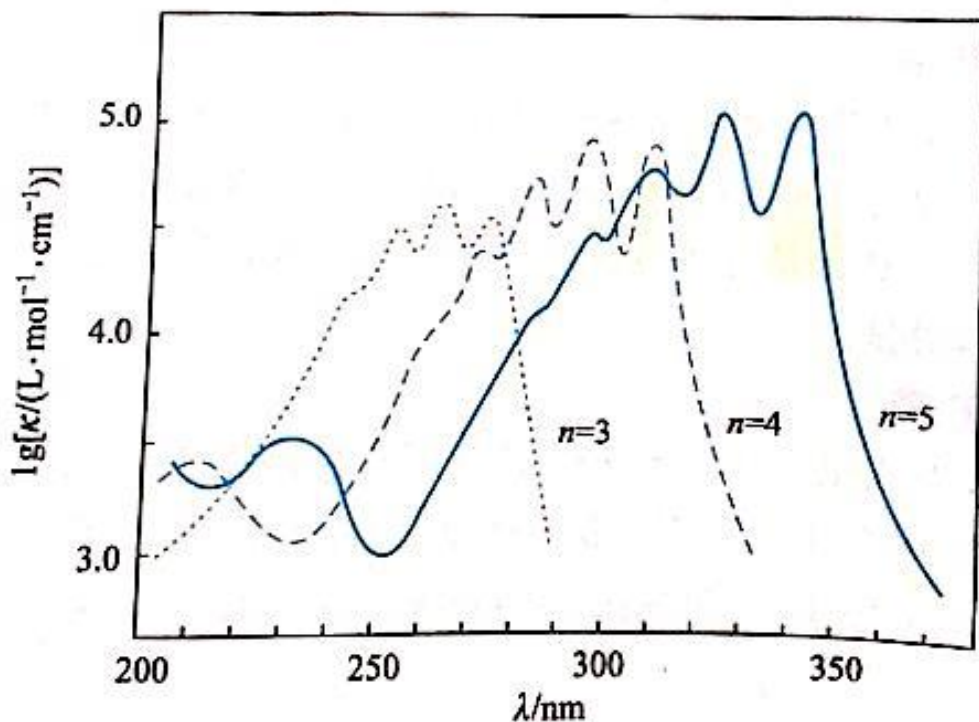


图 9-5  $\text{H}-(\text{CH}=\text{CH})_n-\text{H}$  的紫外吸收光谱图

➤ 共轭效应：**不饱和键越多，吸收强度越强**

## 2、助色效应

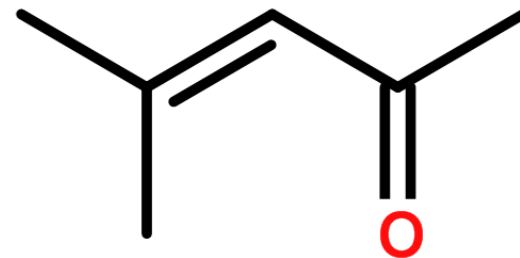
助色团的n电子与发色团的 $\pi$ 电子共轭，结果使吸收峰波长**向长波方向**移动，吸收强度增强；

## 3、溶剂极性的影响

- 溶液的极性和对 $n - \pi^*$ 与 $\pi - \pi^*$ 两类跃迁所产生的吸收峰位置影响不同。
- 当溶液**极性增强**时， $n - \pi^*$ 跃迁所产生的吸收峰通常向短波方向移动，K值升高；
- 而 $\pi - \pi^*$ 跃迁通常观察到相反的趋势；

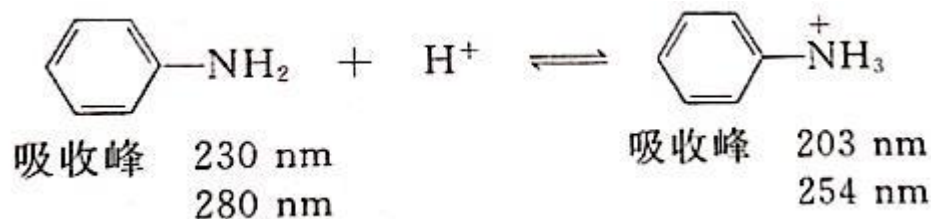
## 溶剂极性对异丙叉丙酮的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 和 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁谱带的影响

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

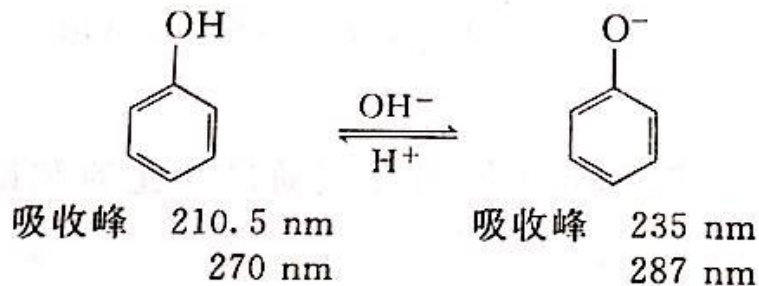


## 4、溶剂pH的影响

- 由于在不同的溶剂中，**酸性或碱性**物质有不同的存在形式，使分子中的**共轭效应**发生变化，从而产生红移或蓝移。
- 因此，测定紫外-可见光谱时应**注明所使用的溶剂**。



苯胺在酸性溶剂蓝移

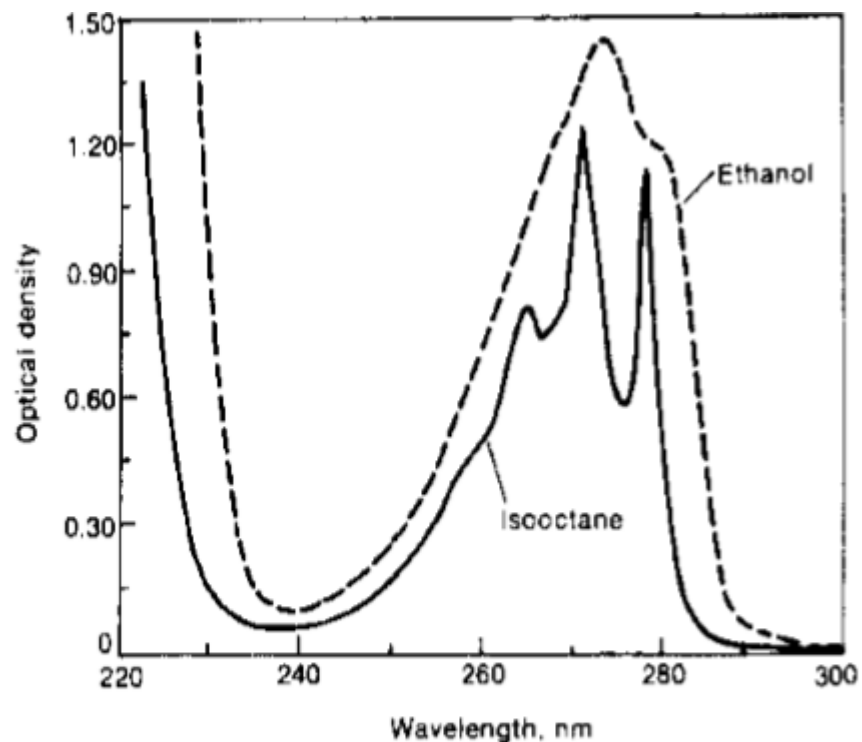


苯酚在碱性溶剂红移



# 溶剂的选择

- 常用溶剂有：环己烷、95%乙醇、甲醇、1,4-二氧六环等。
- **测定非极性化合物UV**，多用**环己烷（非极性）**，尤其是芳香族化合物，在环己烷中能显示精细结构。
- **测定极性化合物UV**，多用**甲醇或乙醇作溶剂（极性溶剂）**。



苯酚在乙醇和异辛烷中的紫外光谱

# 紫外-可见吸收光谱的特点

- (1) 灵敏度高：适于微量组分的测定,  $10^{-7} \sim 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ;
- (2) 准确度较高：相对误差一般在1%-5% ;
- (3) 方法简便：仪器设备简单, 容易操作 ;
- (4) 应用广泛：主要用于有机、无机化合物的定量分析 ;

## 5.6 紫外-可见分光光度计

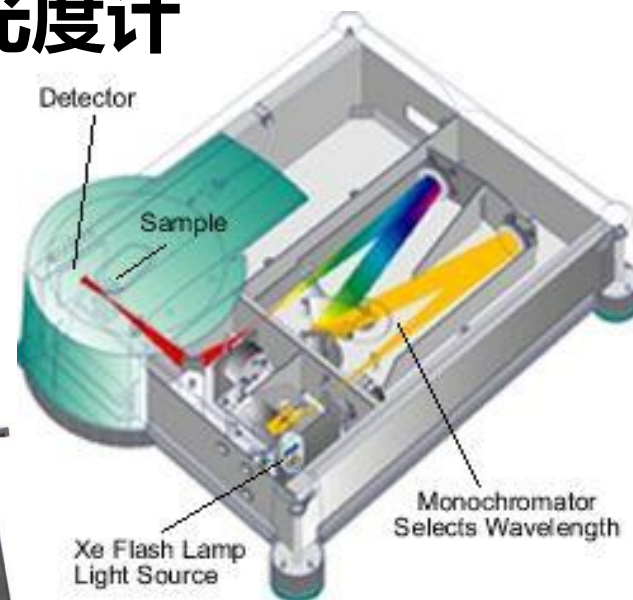
### 仪器类型

#### 按波长范围划分：

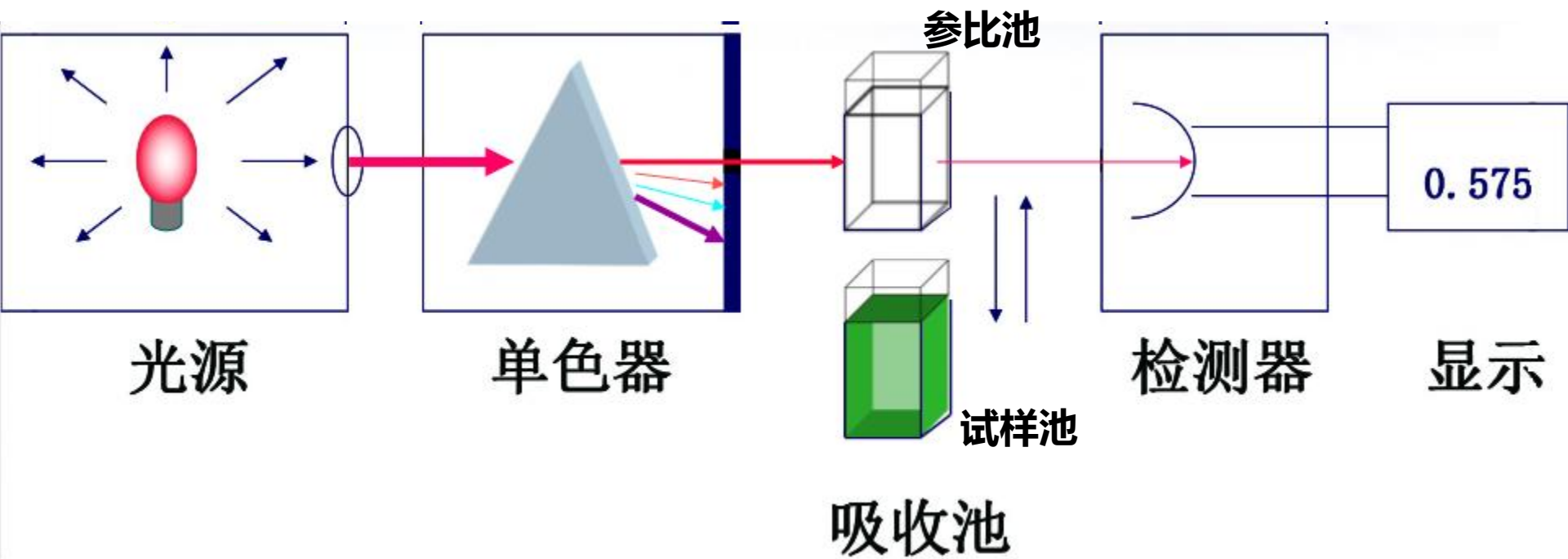
- 可见分光光度计
- 紫外可见分光光度计

#### 按光路划分：

- 单光束分光光度计
- 双光束分光光度计
- 双波长分光光度计

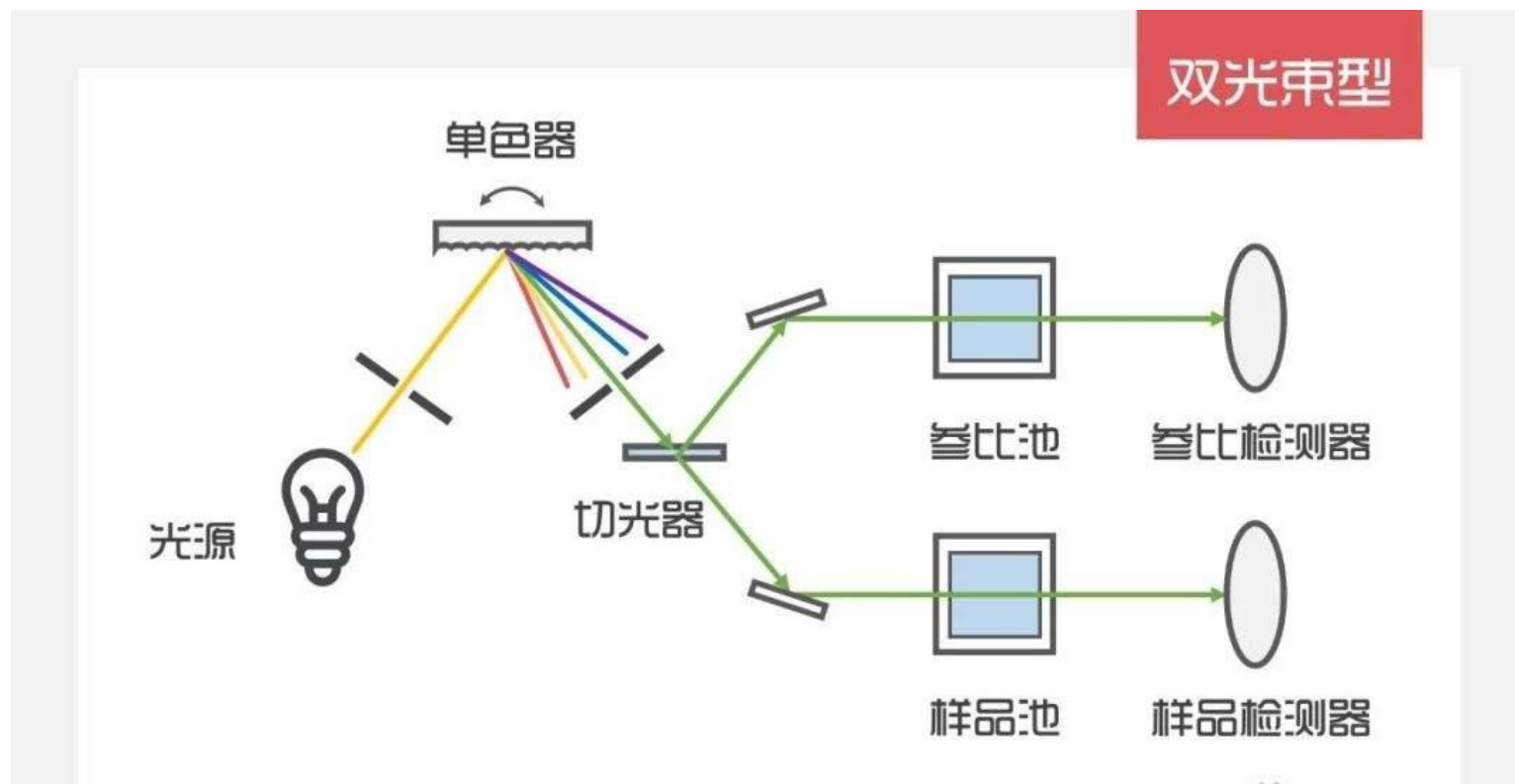


# 1、单光束分光光度计



- 单光束分光光度计只有一个光通道，**交互测定样品池和参比池**；
- 结构简单，适用于测定特定波长的吸收，进行定量。
- 但仪器受**电源、光源、检测器等波动的影响较大**，空白样品和待测样品单独测量，每换一个波长都要用空白溶液重新校正，不能**准确地扣除空白值**。

## 2、双光束分光光度计



- 切光器（**扇形镜**斩光器）将单色光分为两束；
- 一次测量可同时得到样品溶液相对空白溶液的透光度，因此双光束仪器**可以消除光源强度变化和电源不稳定可能引起的误差**，并且可以方便地对全波段进行扫描。
- **缺点：**仪器较单光束仪昂贵，要求待**测样品与参比以及它们的吸收池完全匹配**

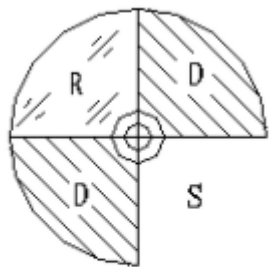
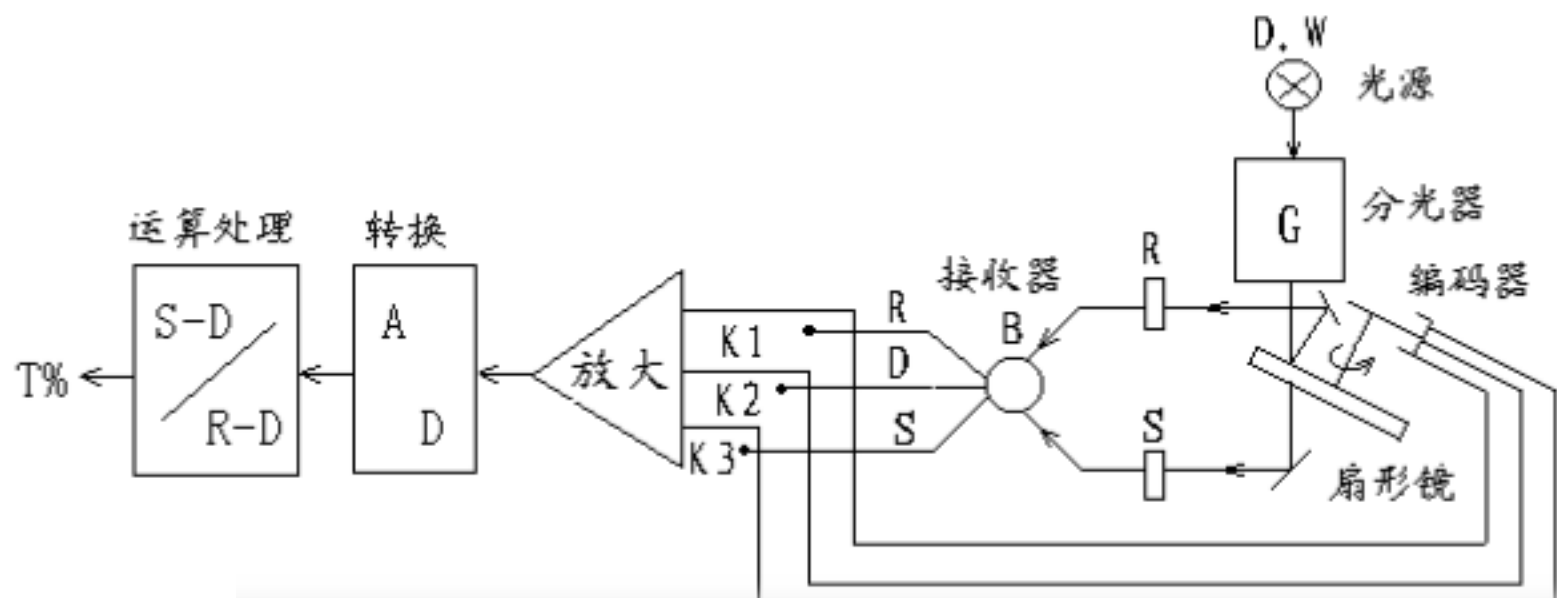
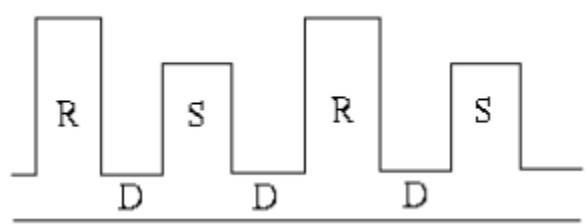
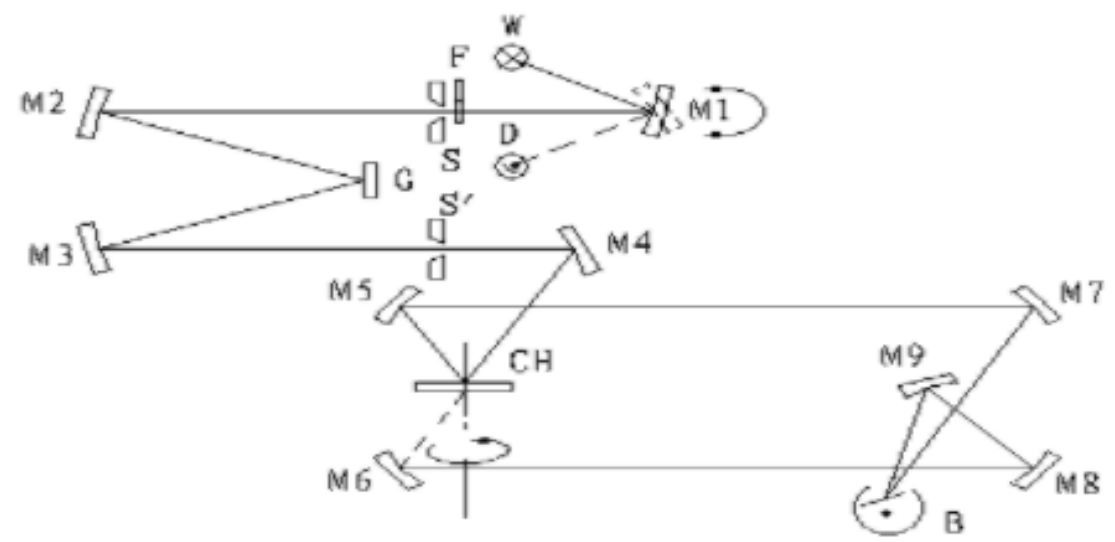


图 3-2 扇形镜



检测器输出信号



HB-404型频率可控双参考斩光器

南京鸿宾  
微弱信号检测有限公司

内孔

外孔

参考输出

0885.4

斩光频率显示与设置

内孔 外孔 显示 外孔  
设置

频率调节

外控输入  
(TTL电平)

微调

3

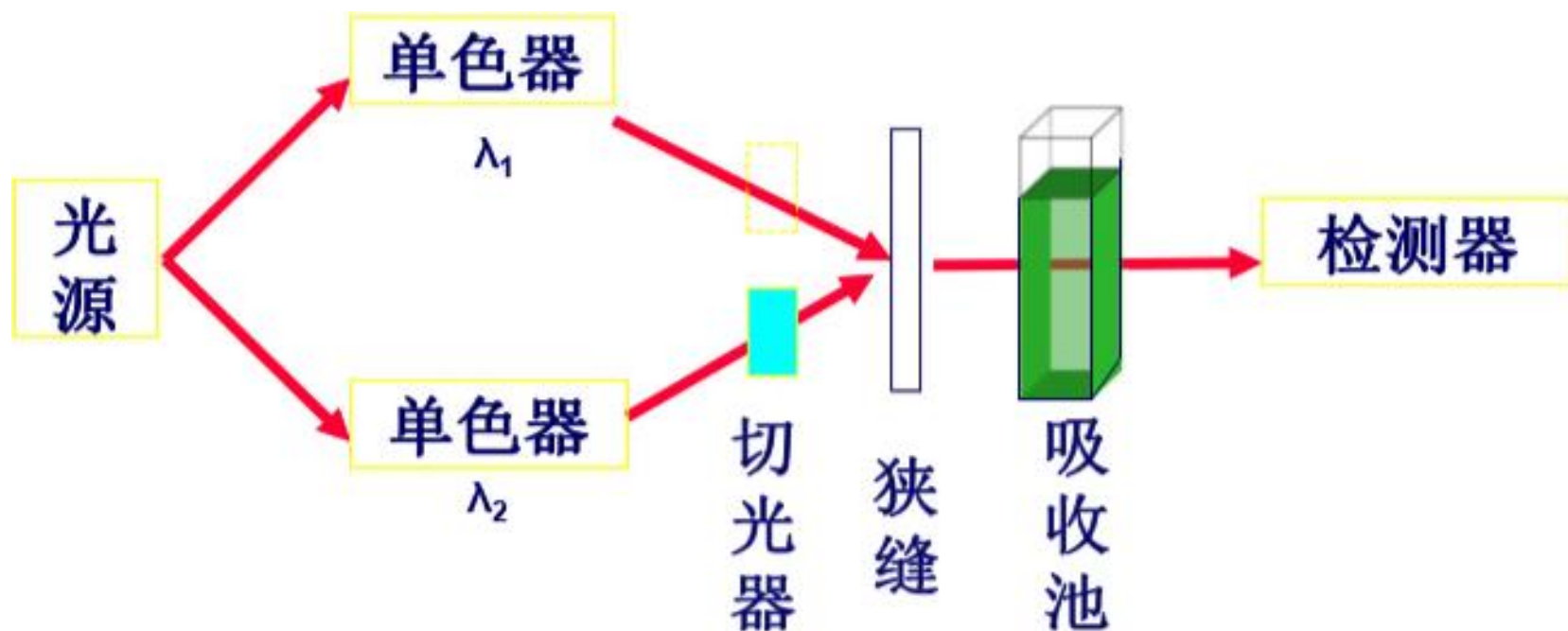
换挡

失控指示

开 关

电源

### 3、双波长分光光度计

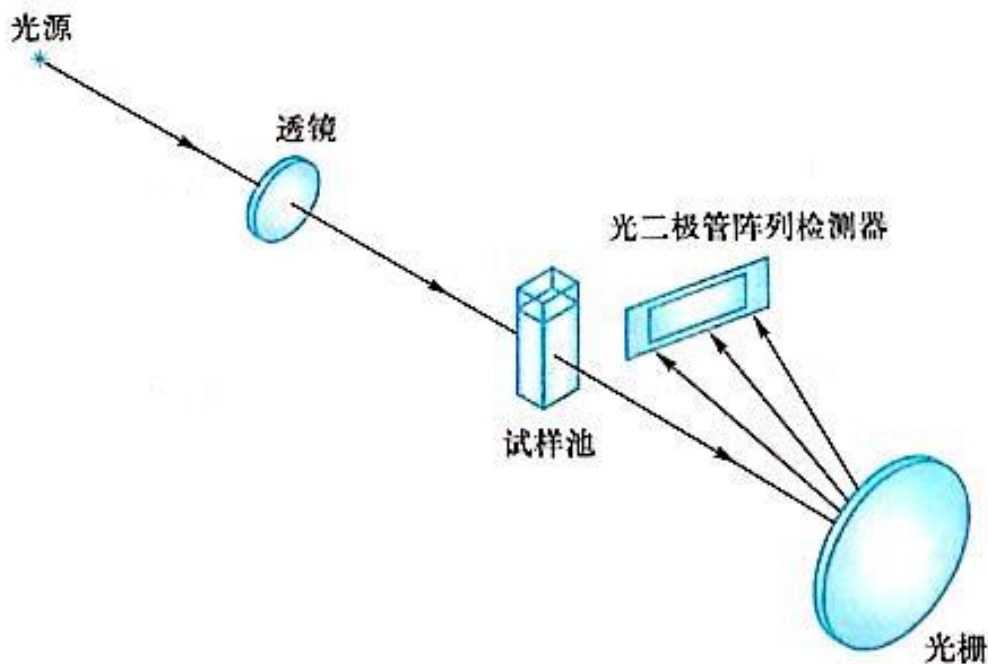


$$\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2} = (\kappa_{\lambda_1} - \kappa_{\lambda_2})bc$$

- 1) 不需要用参比吸收池，因此可以消除**参比池与样品池**的不同而引起的误差。
- 2) 对混浊样品进行测定时，可自动消除不同**混浊度**所引起的背景吸收。
- 3) 适当选择波长，简化混合组分同时测定过程。



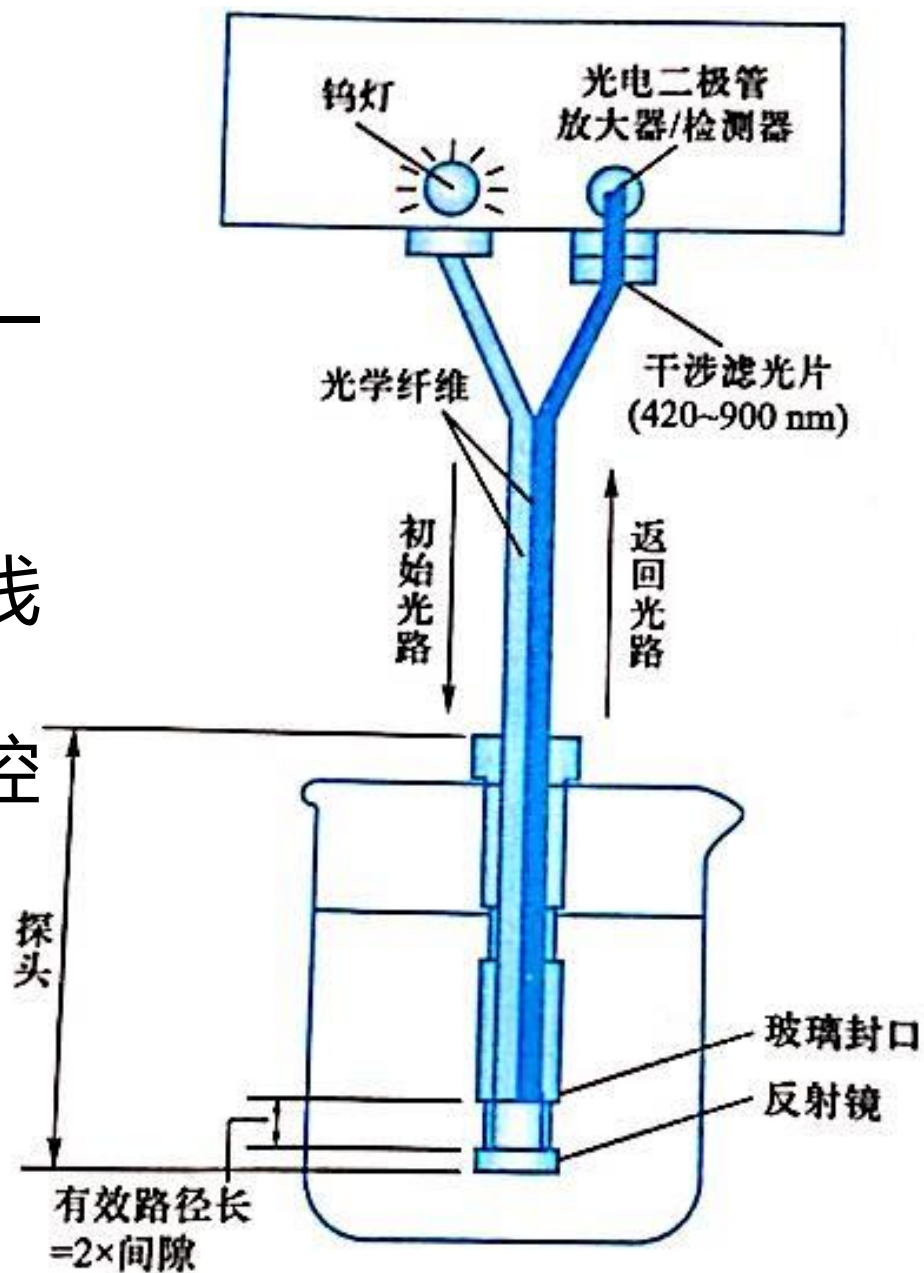
## 4.多通道分光光度计



- 钨灯或氘灯发光，透过试样池，通过光栅色散后，照射到阵列检测器；
- 检测器覆盖波长范围广（190~900 nm），**全波长同时检测（多光谱）**
- 响应快， $\leq 1\text{s}$
- 用作色谱仪和毛细管电泳仪检测器

## 5. 光导纤维探头式分光光度计

- 两根光纤，一根发射，一根接受；
- 有效路径，0.1~10cm
- **原位检测**，不受外界光线影响
- 用于环境分析或过程监控



## 5.7紫外 - 可见吸收光谱法的应用

### 1.定性分析

以紫外可见吸收光谱进行定性分析时，通常是**根据吸收光谱的形状、吸收峰的数目、最大吸收波长的位置以及相应的摩尔吸收系数**进行定性鉴定。

**比较光谱法**——相同的测定条件（仪器、溶剂、pH等）下，比较未知纯试样与**已知标准物的吸收光谱**，如果它们的吸收光谱完全等同（ $\lambda_{\max}$  和相应的 $\kappa_{\max}$ 等参数完全等同），则可以认为是同一物质。

- 但紫外光谱仅能反映分子中**共轭体系**的特征，不能反映整个分子结构，主要**适用于不饱和有机物**，特别是对在近紫外区**无吸收的分子**（如饱和烷烃）无能为力，必须配合其他波谱(红外光谱、核磁共振谱、质谱等)才能完成结构鉴定。
- 但紫外光谱可以提供 **$\lambda_{\max}$ 和 $K_{\max}$** 值这两个重要数据 及其变化规律，在结构研究中可解决很多问题。

# 根据化合物的紫外可见吸收光谱推测化合物所含的官能团

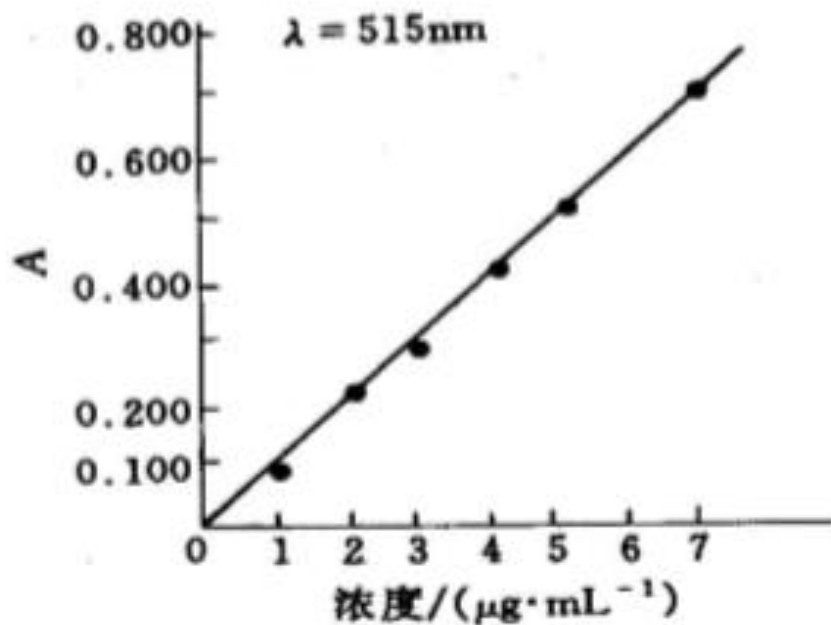
- ✓ 1、在**200 - 800nm**范围内（紫外-可见区）没有吸收带，说明此化合物是饱和烃或它们的衍生物，也可能是**单烯烃或孤立多烯**（共轭烯烃吸收峰发生红移）；
- ✓ 2、在**220 - 250 nm**范围内有**强吸收**带，说明有共轭的两个不饱和键存在，此吸收带为 $\pi - \pi^*$ 跃迁产生，该化合物为**共轭双烯或不饱和醛酮**；
- ✓ 3、在**270 - 350 nm**范围内（近紫外区）有弱吸收带，则该吸收带由**醛酮**中C=O的 $n - \pi^*$ 跃迁产生；
- ✓ 4、在**260 - 300 nm**范围内（近紫外区）有中等强度吸收带，则该化合物可能为**单个苯环或某些杂环**；
- ✓ 5、若在**> 300 nm**或延伸到可见光区有高强度的吸收，说明待测物可能是**稠环芳烃、稠环杂芳烃或其衍生物存在**。

## 2.定量分析

### (1) 单组分的定量方法

#### 标准曲线法

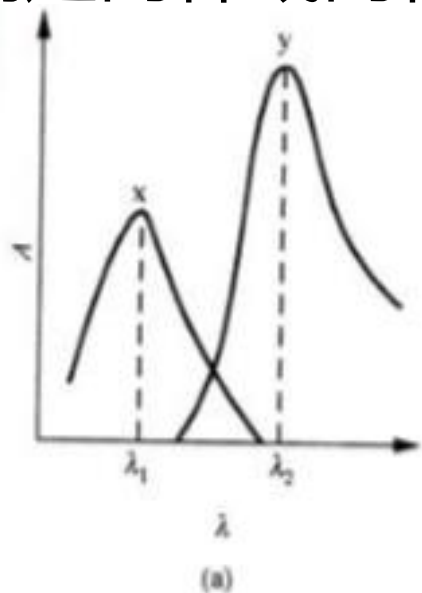
定量依据： $A = KC \cdot l$



➤ 利用工作曲线计算试样中被测组分的含量。

## (2) 多组分定量方法

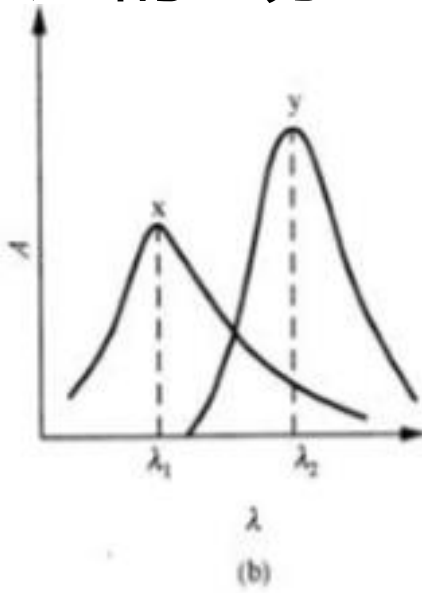
根据吸光度具有加和性的特点，在同一试样中可以测定两种或两种以上的组分



**不重叠**

**单组分测量**

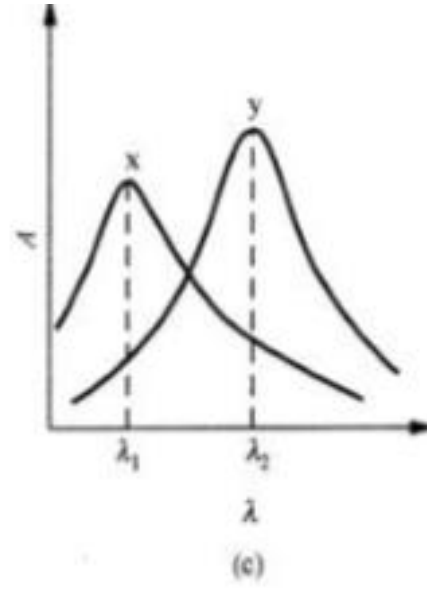
分别测量



**单向重叠**

$$A_{\lambda_2}^{x+y} = \kappa_{\lambda_2}^x bc_x + \kappa_{\lambda_2}^y bc_y$$

- ✓ X对y有干扰;
- ✓ Y对x无干扰;
- ✓ 先求x浓度, 然后求 y



**双向重叠**

$$\begin{cases} A_{\lambda_1}^{x+y} = \kappa_{\lambda_1}^x bc_x + \kappa_{\lambda_1}^y bc_y \\ A_{\lambda_2}^{x+y} = \kappa_{\lambda_2}^x bc_x + \kappa_{\lambda_2}^y bc_y \end{cases}$$

- ✓ 分别测量, 联立方程,
- ✓ n个组分, n个波长

### 3. 纯度检测

- 如果化合物在UV-VI区无吸收，杂质有较强吸收，可以方便检出改混合物中的痕量杂质。

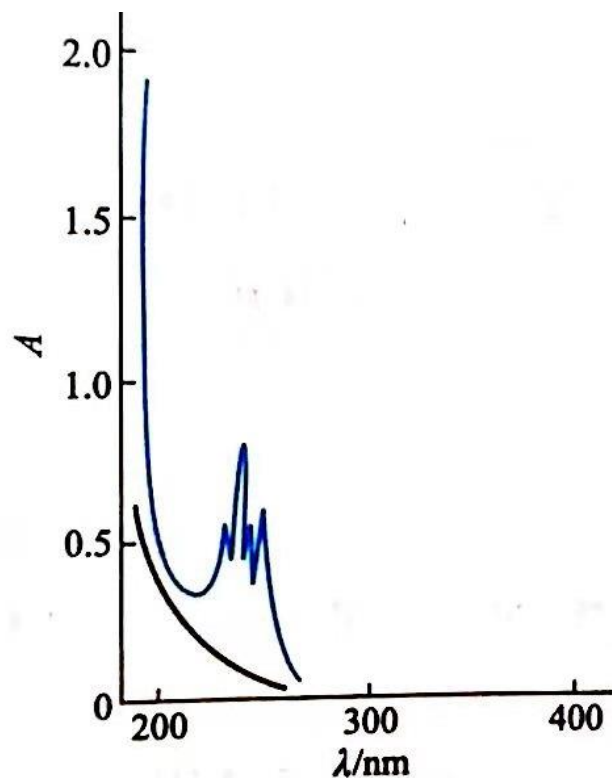


图 9-17 甲醇中杂质苯的检定  
— 纯甲醇；— 被苯污染的甲醇



# UV-VIS 在的其它应用

## ➤ (1)在土壤和植物分析中的应用

如在农业和林业上一些有重要意义的元素( $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、P、K、Ca、Mg、Si、S)以及微量元素(Fe、B、Mn、Cu、Zn等)都可进行定量分析。

## ➤ (2)污染物的成分及含量测定

如农药残留、空气污染物、食品污染物等的分析测定。

## ➤ (3)动、植物生物成分的分析

如动、植物中蛋白质、氨基酸、DNA的测定。

- 紫外-可见分光光度计在食品酶分析中的应用：  
**啤酒酿造过程多酚氧化酶；**
- 酸奶中维生素A的测定；
- 水果汁中果糖的测定（**结合显色剂**）；
- 检测食品中的镉（**镉离子与显色剂形成络合物**）；
- 测定肉制品中亚硝酸盐的含量（**氨基苯磺酸重氮化后，再于奈基盐酸二氨基乙烯基乙烯偶合生成红色络合物**）

# 本章重点

- 紫外-可见分光光谱法的原理；
- 产生紫外-可见吸收光谱的电子跃迁类型；
- 生色团、助色团、红移、蓝移等概念；
- 影响UV-VIS的影响因素；
- 不同UV-VIS 仪器结构原理；
- UV-VIS定性、定量分析原理；

# 作业

- 9-1,4,5,8,9
- 设计一种利用光导纤维测溶液**颗粒物浓度**的光学检测结构;

## 思考、练习题

9-1 有机化合物分子的电子跃迁有哪几种类型？哪些类型的跃迁能在紫外-可见吸收光谱中反映出来？

9-2 何谓溶剂效应？为什么溶剂的极性增强时， $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁的吸收峰发生红移，而  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁的吸收峰发生蓝移？

9-3 无机化合物分子的电子跃迁有哪几种类型？为什么电荷转移跃迁常用于定量分析而配位场跃迁在定量分析中没有多大用处？

9-4 何谓生色团和助色团？试举例说明。

9-5 采用什么方法，可以区别  $n \rightarrow \pi^*$  和  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁类型？

9-6 某化合物在己烷中的  $\lambda_{\max} = 305 \text{ nm}$ ，在乙醇中的  $\lambda_{\max} = 307 \text{ nm}$ 。试问，该吸收是由  $n \rightarrow \pi^*$  还是  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁引起的？

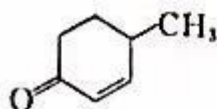
9-7  $(\text{CH}_3)_3\text{N}$  能发生  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁，其  $\lambda_{\max}$  为  $227 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 900 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )。试问，若在酸中测定时，该峰会怎样变化？为什么？

9-8 在下列化合物中，哪一个的摩尔吸收系数最大？

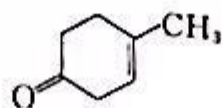
(1) 乙烯；(2) 1,3,5-己三烯；(3) 1,3-丁二烯

9-9 单光束、双光束、双波长分光光度计在光路设计上有什么不同？这几种类型的仪器分别由哪几大部件组成？

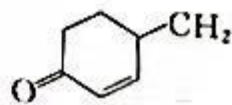
9-10 试估计下列化合物中，何者吸收的光波最长？何者最短？为什么？



(A)



(B)



(C)

9-11 某未知物的分子式为  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}$ ，其紫外吸收光谱如下表所示。