

200-400nm:

400-750nm:

800nm-1000um:

## 理论

紫外的产生：价电子能级跃迁

有机分子常见的4种跃迁类型

紫外（延伸至可见）有机物吸收光谱主要由\_\_\_\_,\_\_\_\_跃迁产生

需要注意的是 $n \rightarrow \sigma^*$ 有的时候会红移至远紫外区

为什么实际上的分子吸收光谱是带状而不是线状？

生色团：能吸收紫外可见的结构单元 $C=C, C=O$ 等

助色团：使生色团 $\lambda$ 和 $\epsilon$ 增大的基团，如-OH（产生 $p \rightarrow \pi$ 共轭）

Lambert-Beer定律： $A = kcl$  or  $A = \epsilon cl$

吸光度  $A = \lg(I_0/I) = -\lg T$

透过率（透射比）  $T = I/I_0$

$\epsilon$ 正比于 $BE$ ，其中 $B$ 是跃迁概率， $E$ 为吸光粒子有效面积，由待测物结构决定

$E$ 是摩尔吸光系数  $1\text{mol/L } 1\text{cm}$ ， $a$ 是吸光系数  $1\text{g/L } 1\text{cm}$

偏离Lambert-Beer的因素

(1) 浓度应 $< 10^{-2}$ ,浓度过高则分子间相互作用加强，曲线弯曲

(2) 理论要求平行单色光但是实际上是具有一定波长范围的复合光（光栅性能有限）

## 仪器组成

光源、单色器、吸收池、检测器、信号显示

### 光源

钨灯或卤钨灯：一点点紫外+可见

氙灯：250-可见

氘灯：紫外+一点点可见

### 单色器

滤光片

棱镜：非线性色散、用的不多

光栅

### 比色皿

玻璃：可见光

石英：紫外可见

# 检测器

硒光：易疲劳、灵敏度低，先用硅光  
光电二极管：阴极阳极之间世家电压，灵敏度高，不宜疲劳  
光电倍增管PMT：灵敏度很高，适用于弱光甚至单分子检测  
阵列检测器：多波长同时检测，有半导体光电二极管阵列PDA，电荷耦合器件CCD

# 仪器类型

## 单光束

不能校正

## 双光束

单色光交替通过空白和样品，能自动扣除参比

## 双波长

不同波长的光交替通过样品池，用于消除背景或共存组分干扰

## 多道型分光光度计

所有波长，适用于在线监测、反应动力学研究、多组分分析

# 分析条件的选择

显色反应和显色剂

吸收光颜色	吸收光波长 / nm	物质颜色
紫	400~450	黄绿
蓝	450~480	黄
绿蓝	480~490	橙
蓝绿	490~500	红
绿	500~560	红紫
黄绿	560~580	紫
黄	580~610	蓝
橙	610~650	绿蓝
红	650~750	蓝绿



测量波长的选择：吸收最大、干扰最小；若有干扰，不一定要选择峰值

## 参比溶液

开门调零、关门调百

溶剂参比：仅产物有吸收

试剂参比：显色剂或其他试剂有吸收 常用

试样参比：试样共存组分有吸收，使用不加显色剂的试样溶液作参比

## 干扰及消除

干扰种类：共存组分有色、有浑浊沉淀、占位（副反应）

消除方法：控制酸度、掩蔽剂、波长选择、分离

## 有哪些途径可以提高UV的待测物吸光度响应

光程：全反射

加显色剂

调节pH和测量波长和溶剂

富集、预处理

## UV的应用

有机物UV吸收光谱，真要200nm以上无吸收的话最好用饱和脂肪烃。

顺反异构体、互变异构体的判别（酮与烯醇）

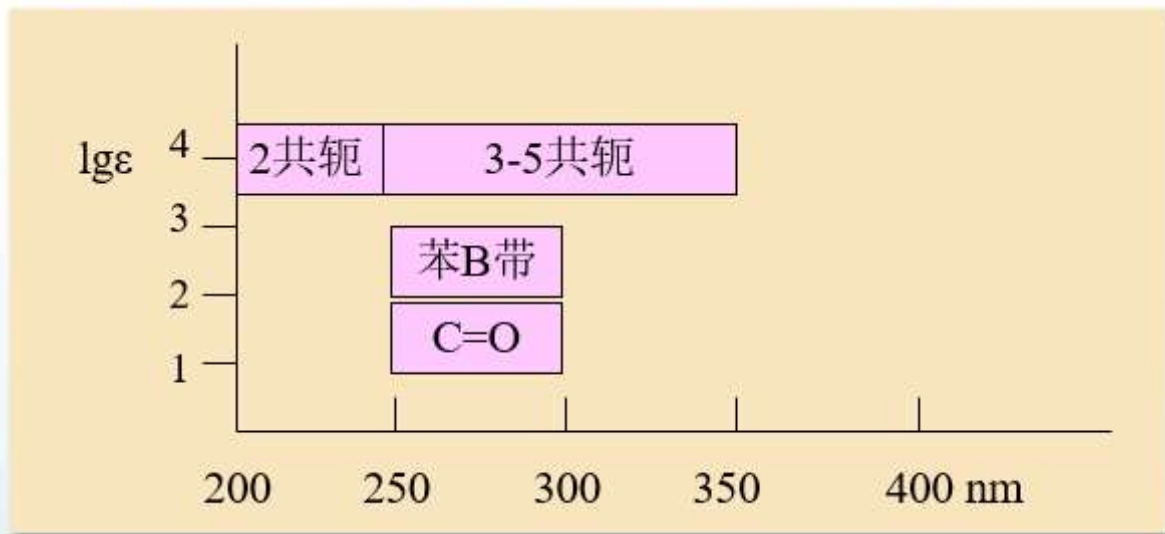
蛋白质含量测定：加显色剂。

核酸定量

Woodward-Felsher规则

溶剂极性：溶质能级均下降，但是 $\pi$ - $\pi$ 红移， $n$ - $\pi$ 蓝移

220--800 nm——无吸收——饱和化合物  
210--250 nm——强吸收——2个共轭双键  
250--350 nm——强吸收——3--5个共轭双键



## 定量分析

吸收系数法：不需要标准品，但是  $\epsilon$  变化多准确性不保证

单标准对照法：曲线一定过原点，再加上标准样品，可以得到一条经过原点的曲线，但是不准确，要求样品与标样性质、浓度接近。

标准曲线法：

多组分定量：多波长、列方程组求解

## 紫外-可见分光光度法方法特点和应用

- 灵敏度高（检测限可达  $10^{-4}$  -  $10^{-6}$  mol·L<sup>-1</sup>）
- 准确度高（相对误差 1%~5%）
- 稳定性好
- 仪器设备相对较为简单价廉、易于普及
- 用于无机、有机及生物物质的微量组份定量分析
- 测定配合物组成及稳定常数、弱酸解离常数、化学反应速率常数、催化反应活化能等
- 根据分子的紫外光谱判断有机化合物分子的结构