

# 第四章 紫外-可见分光光度法

---

## (Ultra-violet and Visible Spectrometry)

§ 4.1 紫外-可见吸收光谱

§ 4.2 光的吸收定律

§ 4.3 紫外-可见分光光度计

§ 4.4 紫外-可见分光光度法的应用



# 一. 紫外-可见吸收光谱

---

## 1. 概述

紫外-可见分光光度法是利用物质的分子对紫外-可见光谱区（一般认为是200~800nm）的辐射的吸收来进行分析的一种方法。

**UV: 200-380 nm**

**VIS: 380-800 nm**



(1) 特点:

- ◆ 灵敏度较高 ( $10^{-4} \sim 10^{-7} \text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ );
- ◆ 精密度良好 (0.2~0.5%);
- ◆ 准确度比较高 (相对误差为2~5%);
- ◆ 应用广泛、仪器操作简、快速。

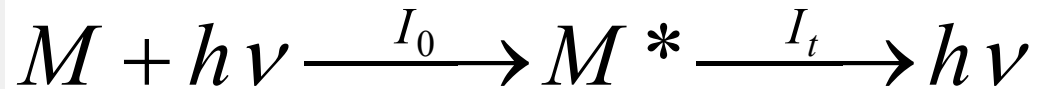
(2) 应用:

无机物和有机物的定量分析, 也可以进行有机物的定性及结构分析。

## 2. 紫外可见吸收光谱的形成

---

(1) 过程：运动的分子外层电子-----吸收外来外来辐射-----产生能级跃迁-----分子吸收谱。



分子体系吸收的电磁辐射的能量，总是等于分子体系所允许的两个能级状态的能量差：

$$\Delta E = h\nu = hc / \lambda$$

不同物质结构不同或者说其分子能级的能量(各种能级能量总和)或能量间隔各异，因此不同物质将选择性地吸收不同波长或能量的外来辐射，这是UV-Vis定性分析的基础。



(2) 能级组成:

(a) 分子具有特征的分子能级。在分子中,除了电子相对于原子核的运动外,还有分子内原子在平衡位置附近的振动和分子绕其中心的转动。因此分子具有**电子能级、振动能级和转动能级**。

(b) 当分子吸收外界的辐射能量时,会发生运动状态的变化,亦即发生能级的跃迁,除了电子能级(Electron energy level)外,分子吸收能量将伴随着分子的振动和转动,即同时将发生振动(Vibration)能级和转动(Rotation)能级的跃迁。

(3) 据量子力学理论, 分子的振-转跃迁也是量子化的或者说将产生非连续谱。因此, 分子的能量变化 $\Delta E$ 为各种形式能量变化的总和:

$$\Delta E = \Delta E_e + \Delta E_v + \Delta E_r$$

其中 $\Delta E_e$ 最大: 1-20 eV;  $\Delta E_v$ 次之: 0.05-1 eV;  $\Delta E_r$ 最小:  
<0.05 eV

可见, 电子能级间隔比振动能级和转动能级间隔大1-2个数量级, 在发生电子能级跃迁时, 伴有振-转能级的跃迁, 形成所谓的带状光谱。

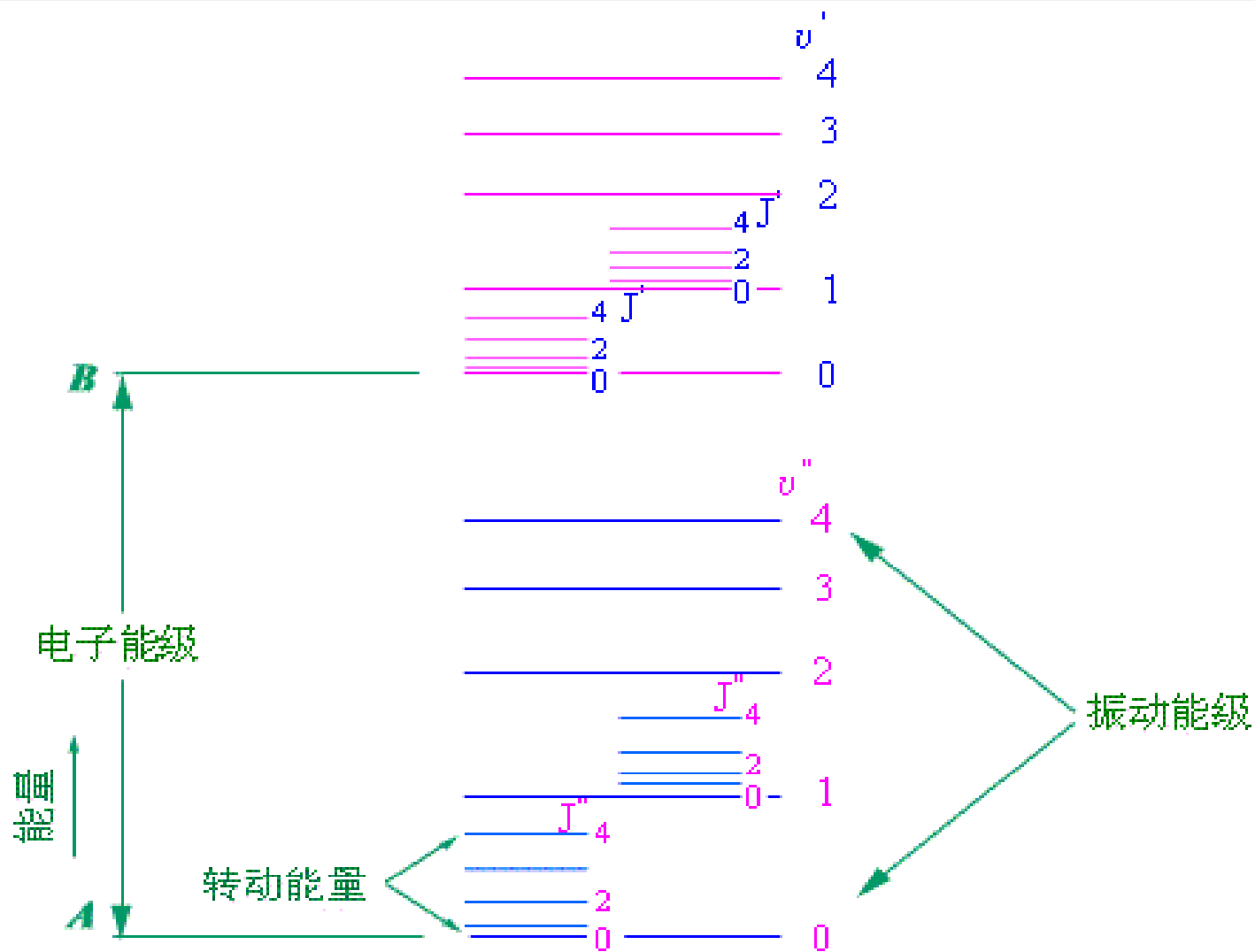
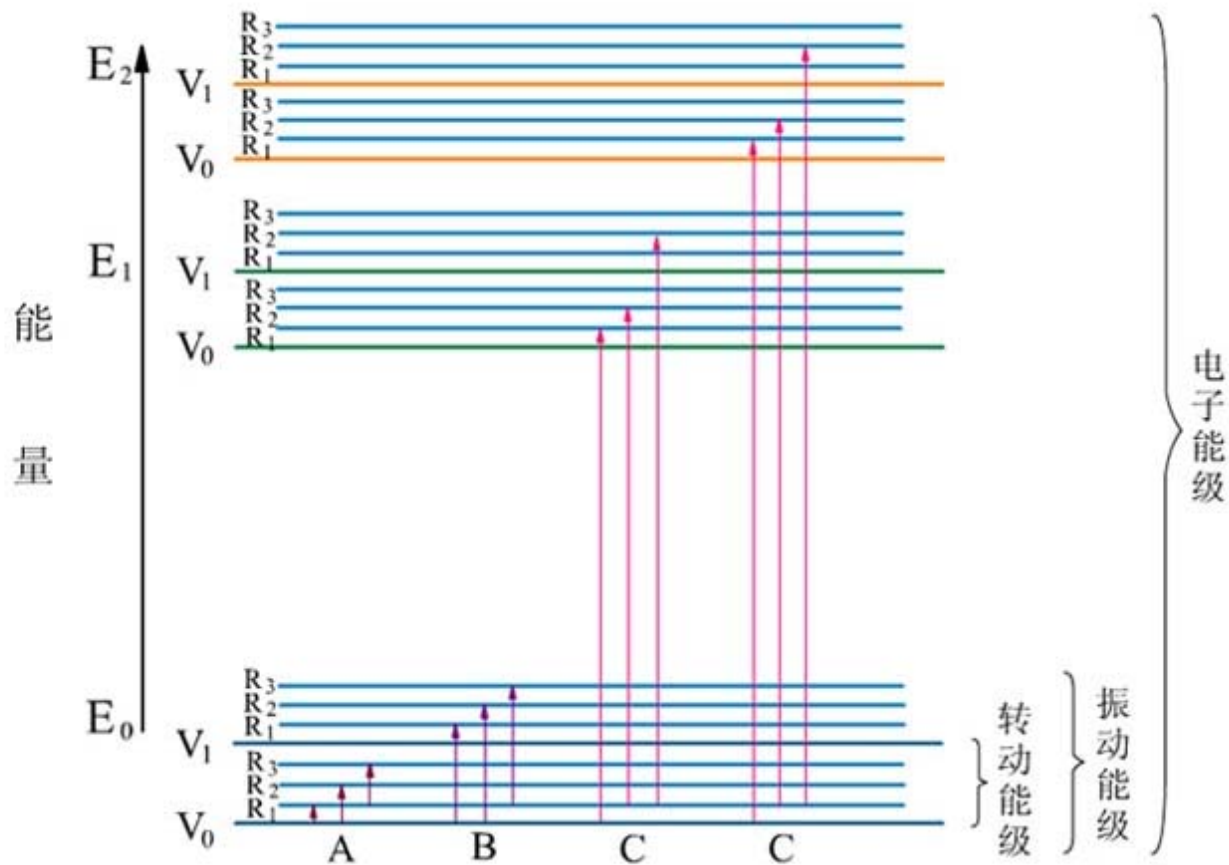


图13.1 分子中电子能级、振动能级和转动能级示意图





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)





## (4) 光谱组成

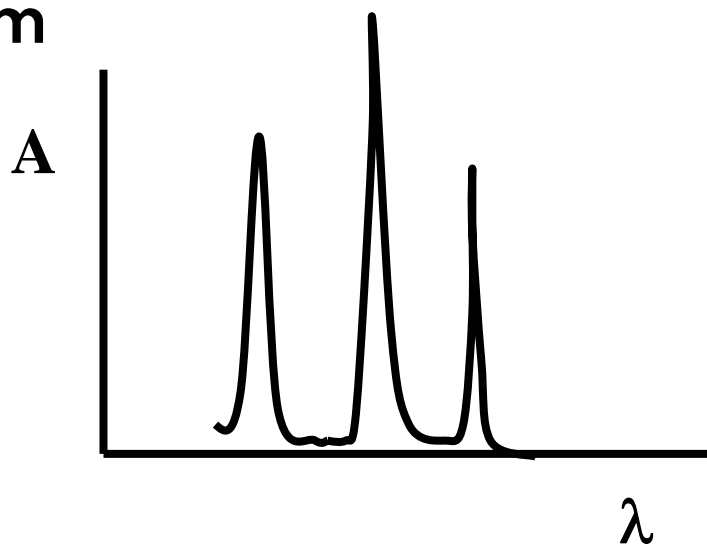
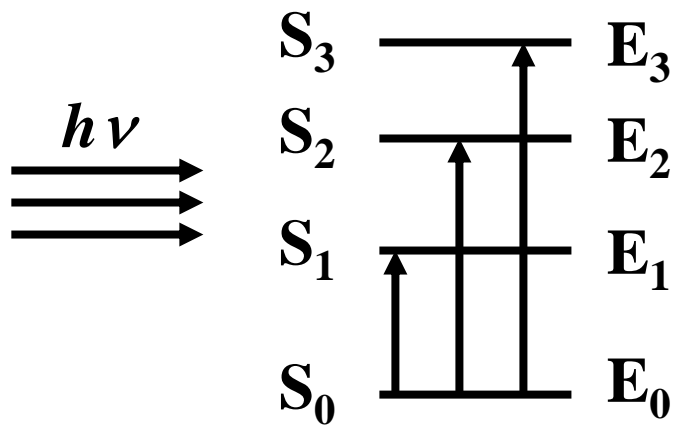
线光谱(*Line spectra*):

由处于气相的单个原子发生电子能级跃迁所产生的锐线 ( $10^{-5}$  nm ) 。

带状光谱(*Band spectra*):

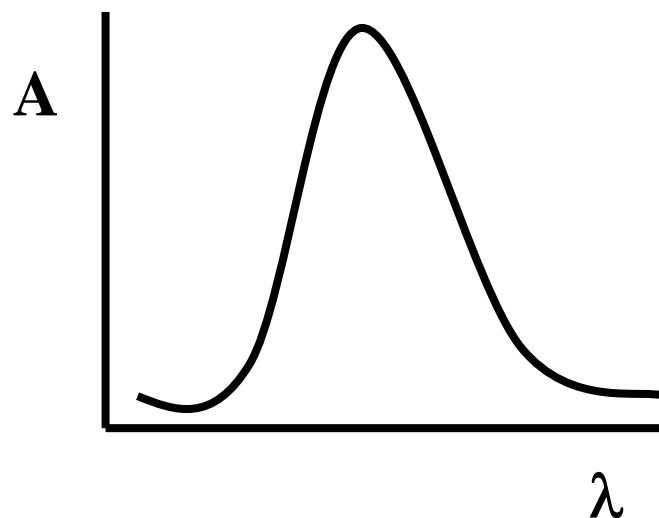
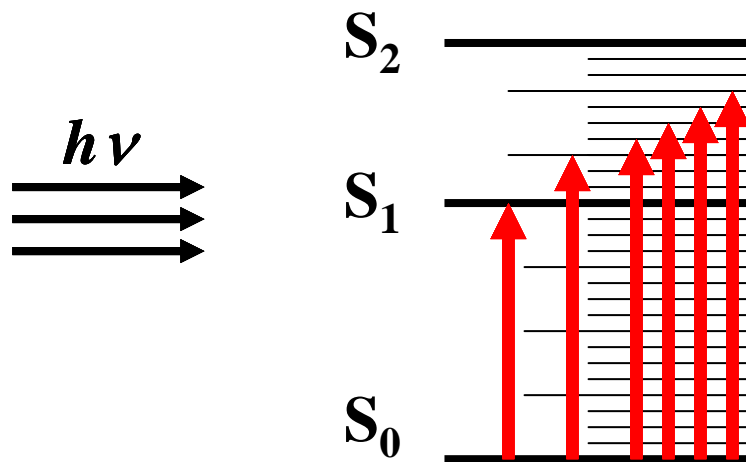
是由许多量子化的振动能级叠加在分子的基态电子能级上而形成的。由于各能级间的能量差较小，因而产生的谱线不易分辨开而形成所谓的带状光谱，其带宽达几个至几十个 $nm$ );

# 吸收光谱 Absorption Spectrum



纯 **电子能态** 间跃迁

锐线光谱

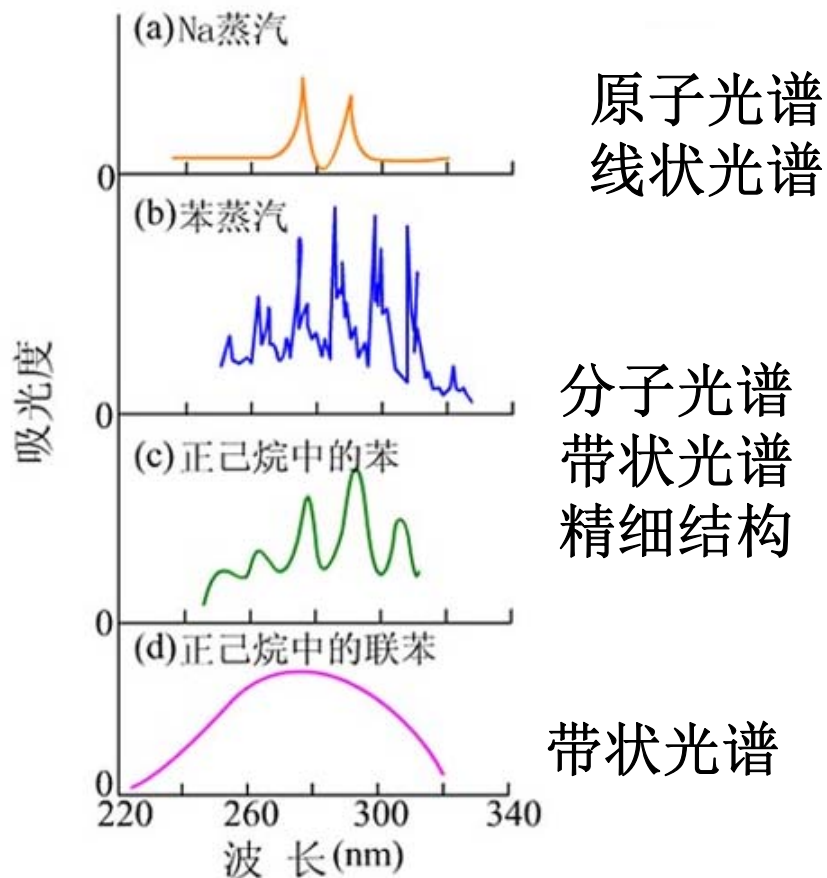


分子内电子跃迁

带状光谱

# 分子光谱是带状光谱

分子光谱是**带状光谱**  
原子光谱是**线状光谱**



物质存在状态对吸收光谱振动  
精细结构的影响

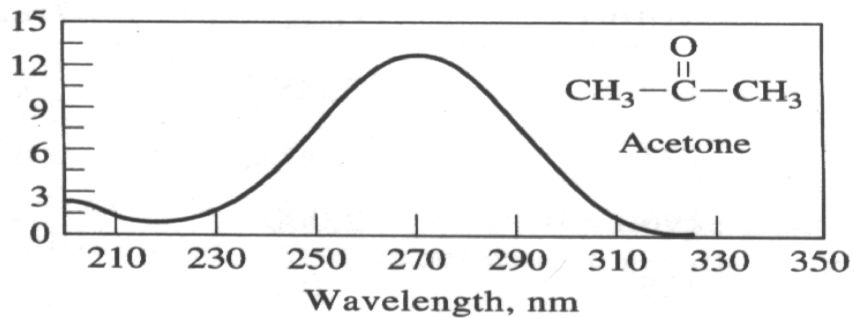
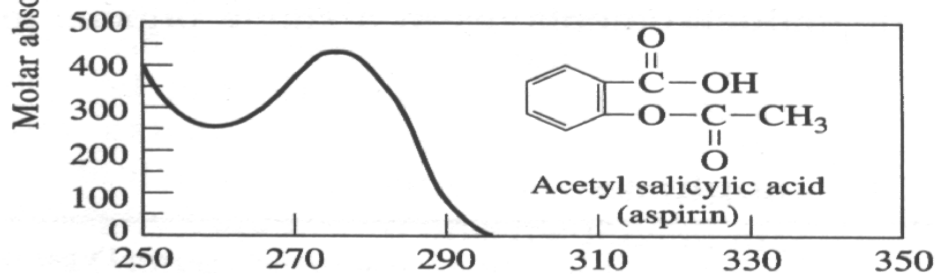
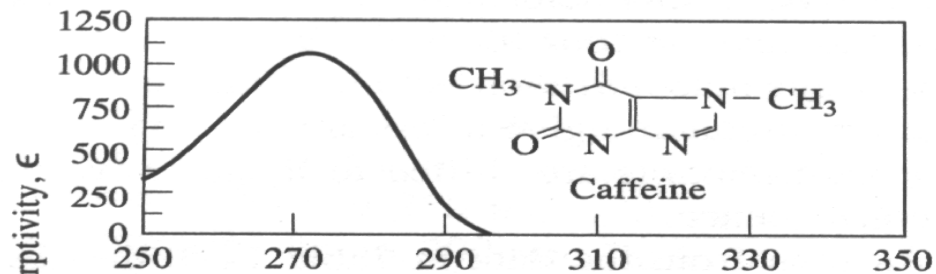
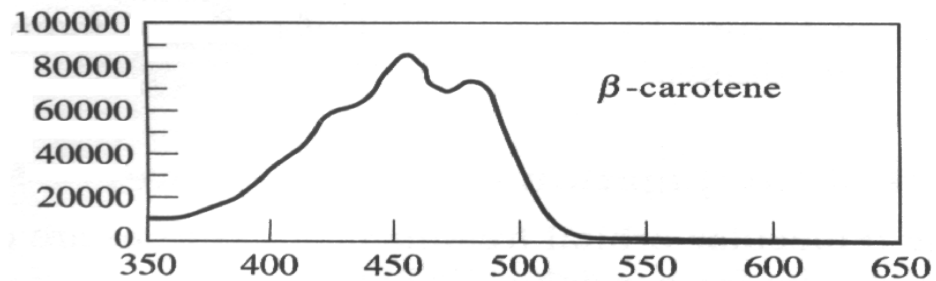
## 分子光谱是带状光谱的原因：

---

- 1) 分子对电磁辐射的吸收是分子能量变化的和。
- 2) 溶液中相邻分子间的碰撞导致谱带加宽。
- 3) 气相中的多普勒变宽和碰撞变宽会超过转动谱线间的间距。

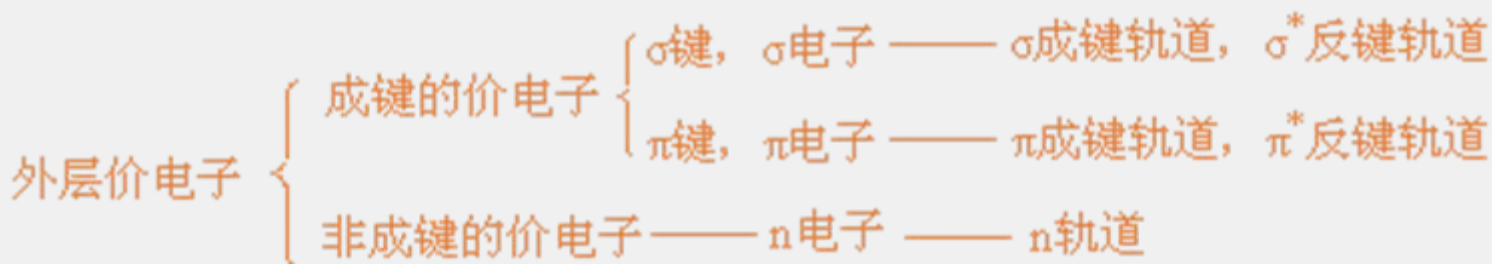


几种有机化合物的  
分子吸收光谱图。



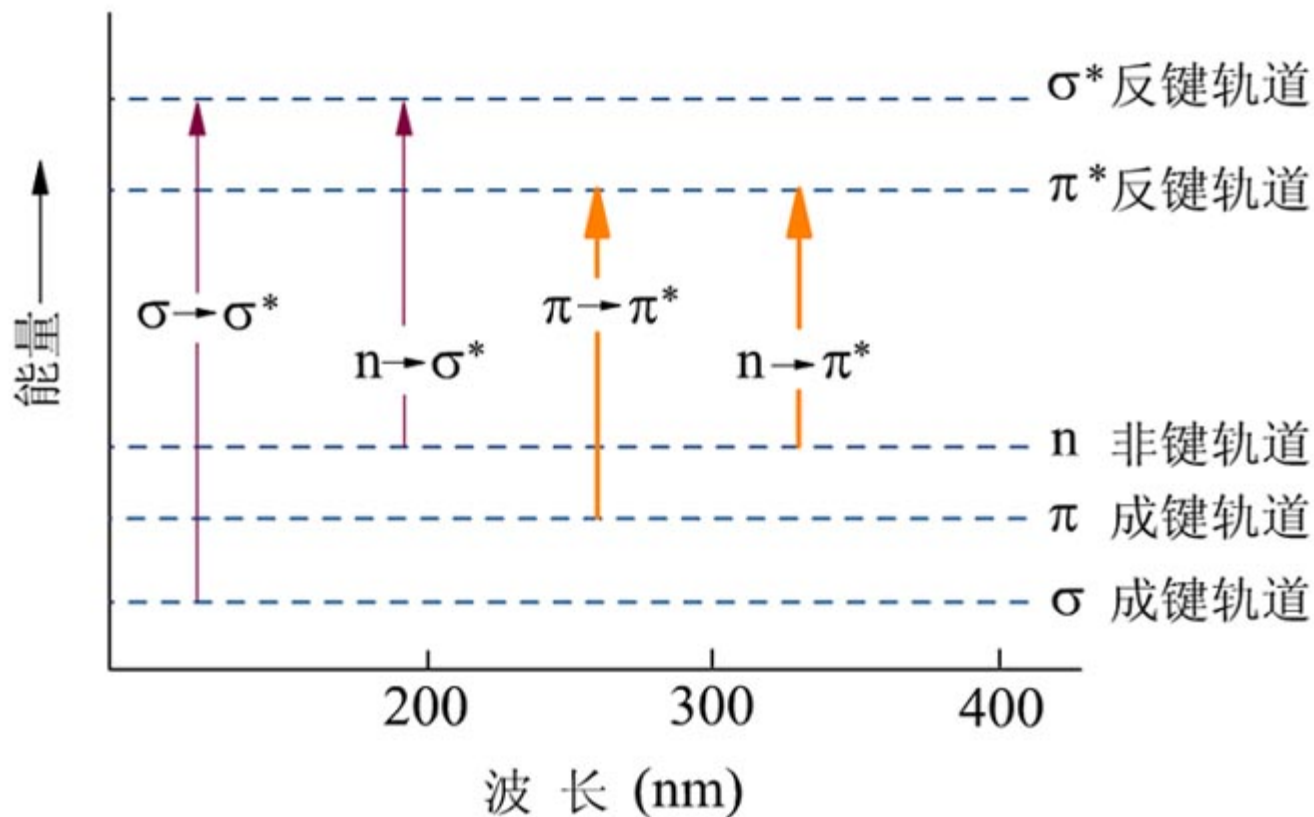
### 3. 电子跃迁的类型

有机化合物的紫外—可见吸收光谱是由于构成分子的原子的外层价电子跃迁所产生的，这些外层电子根据分子轨道理论分为三类：形成单键的 $\sigma$ 电子；形成双键的 $\pi$ 电子；杂原子O、N、S、卤素X等具有的未成键的n电子。

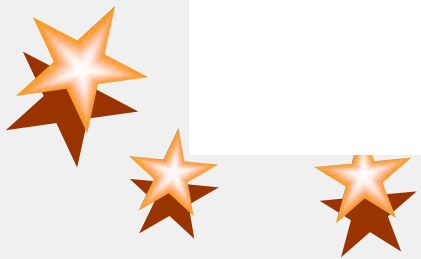


处于不同运动轨道的电子，即不同的运动状态，具有不同的能量，电子得到能量后可以从低能量轨道跃迁到高能量轨道。

下图表明各种电子轨道能量的高低及电子跃迁的类型。



电子能级及电子跃迁示意图



由图可知，各种跃迁所需能量不同，大小顺序如下：



由于  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁需要的能量大，吸收峰波长最短。因此产生上述三种跃迁所吸收的光辐射波长位于远紫外区 ( $< 220\text{nm}$ )。这是一切饱和有机化合物都可能产生的电子跃迁类型。它们在紫外、可见区无吸收带出现。

$n \rightarrow \pi^*$  和  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁需要的能量小，相应于  $200 \sim 700\text{ nm}$  的紫外-可见吸收光谱，非常重要，它们是有机试剂发色的基础。

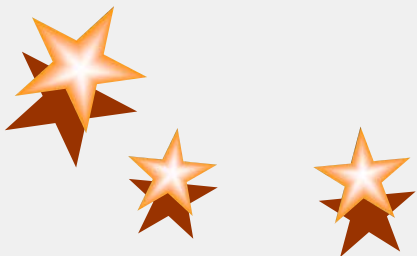




## (1) $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 (饱和烃)

这种跃迁需要能量最大，吸收峰波长最短。对于饱和烃来说，分子中含只有  $\sigma$  电子，最不容易激发，要产生  $\sigma - \sigma^*$  跃迁，需要提供足够的能量。因此，所产生的吸收峰均处在近紫外区 ( $< 200\text{nm}$ )，如甲烷的  $\lambda_{\text{max}} = 125\text{nm}$ ，乙烷  $\lambda_{\text{max}} = 135\text{nm}$ 。由此可见，饱和烃在紫外-可见光区内无吸收带。因此，在紫外吸收光谱分析中常用其作为溶剂，比如，己烷、环己烷，庚烷等常常作为溶剂使用。

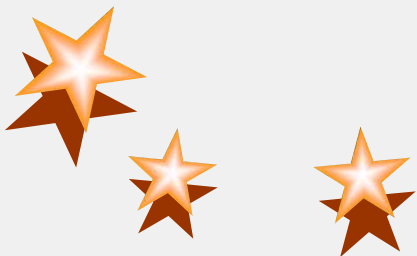
葛



## (2) $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 (杂原子取代的饱和烃)

含有杂原子基团(如-OH、OR、-SH、-NH<sub>2</sub>、-X等)的饱和有机化合物除了  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁外, 还要产生  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁, 这种跃所需能量较之  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁小, 所以吸收波长较长, 一般在200nm附近, 所以像水、醇、醚, 可作为紫外吸收的溶剂。

在  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁中, 吸收峰多为弱吸收峰 ( $\epsilon$  为100~300), 少数为中强吸收。



### (3) $n \rightarrow \pi^*$ 及 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁

$\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁一般发生在含有  $-C=C-$  和  $-C \equiv C-$  等基团的不饱和有机化合物中。

而  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁则发生在含有杂原子的双键 (为  $-C=O$ 、 $-N=O$ 、 $-N=N$ 、 $=C=S$  等) 的不饱和有机化合物中。

前者分子中含有  $\pi$  电子, 后者既含有  $\pi$  电子又含有未成键的  $n$  电子。这两类跃迁所需能量较  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  和  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁都小, 所以相应的波长要长一些。



## (4) 电荷转移跃迁

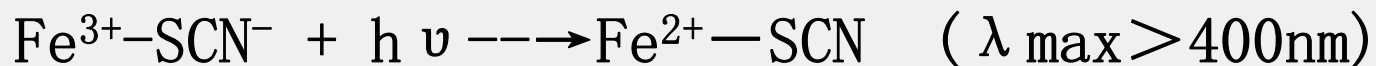
---

某些分子同时具有电子给予体和电子受体部分，这种分子在外来辐射的激发下，会强烈地吸收辐射能，使电子从给体向受体迁移，叫做电荷转移跃迁，所产生的吸收光谱称为电荷转移光谱。

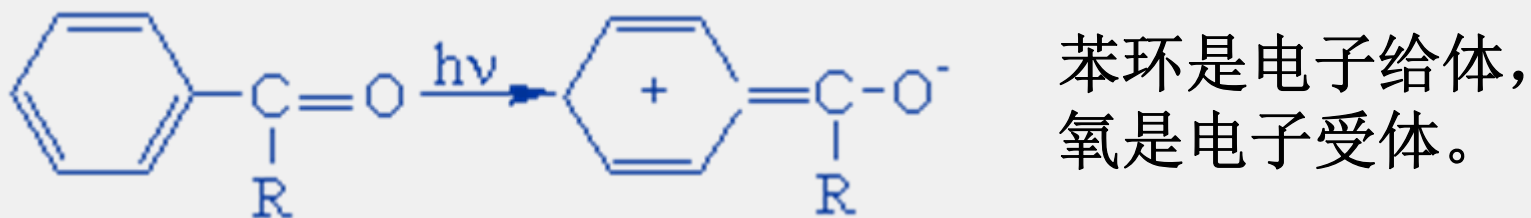
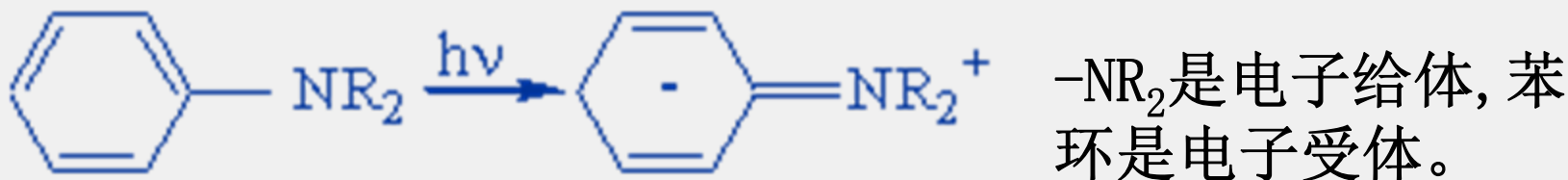
电荷转移跃迁实质上是分子内的氧化—还原过程，电子给予部分是一个还原基团，电子接受部分是一个氧化基团，激发态是氧化—还原的产物。电荷转移过程可表示为：



◆许多无机配合物能产生这种光谱；



◆某些取代芳烃可以产生电荷转移吸收光谱，如：



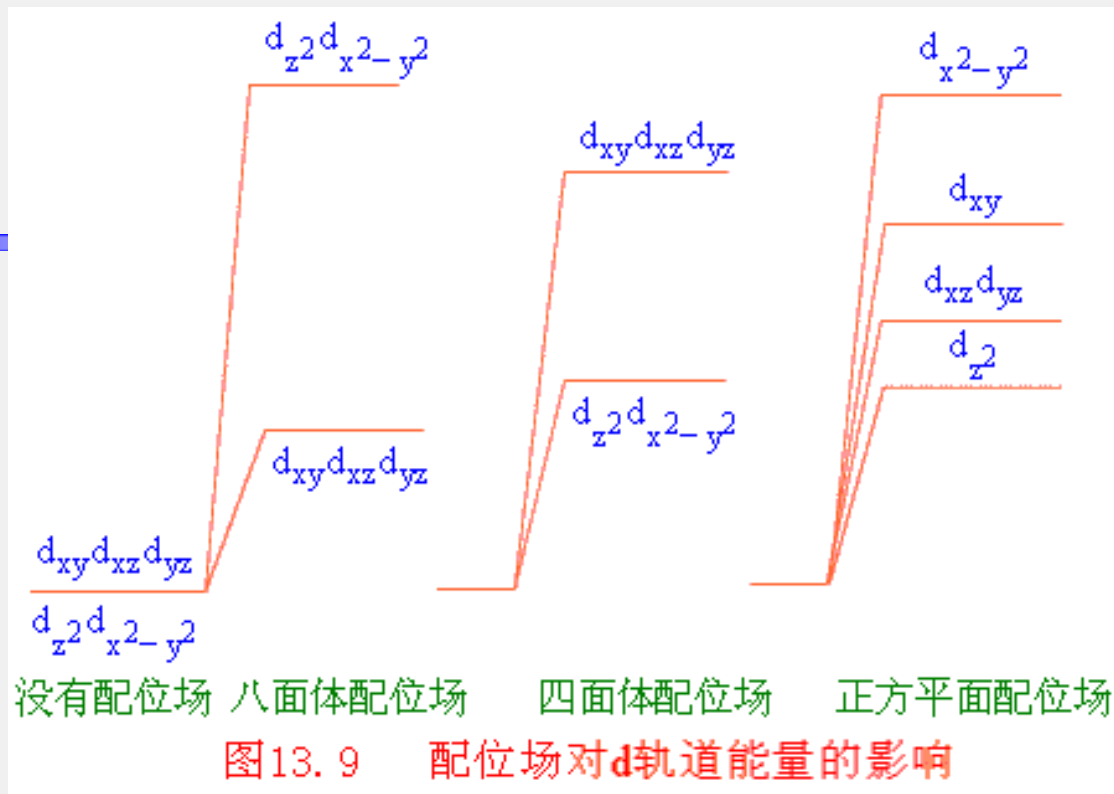
电荷转移吸收光谱的特点是谱带较宽，吸收较强，摩尔吸光系数通常大于 $10^4$ 。在分析上也较有应用价值。

## (5) 配位场跃迁

---

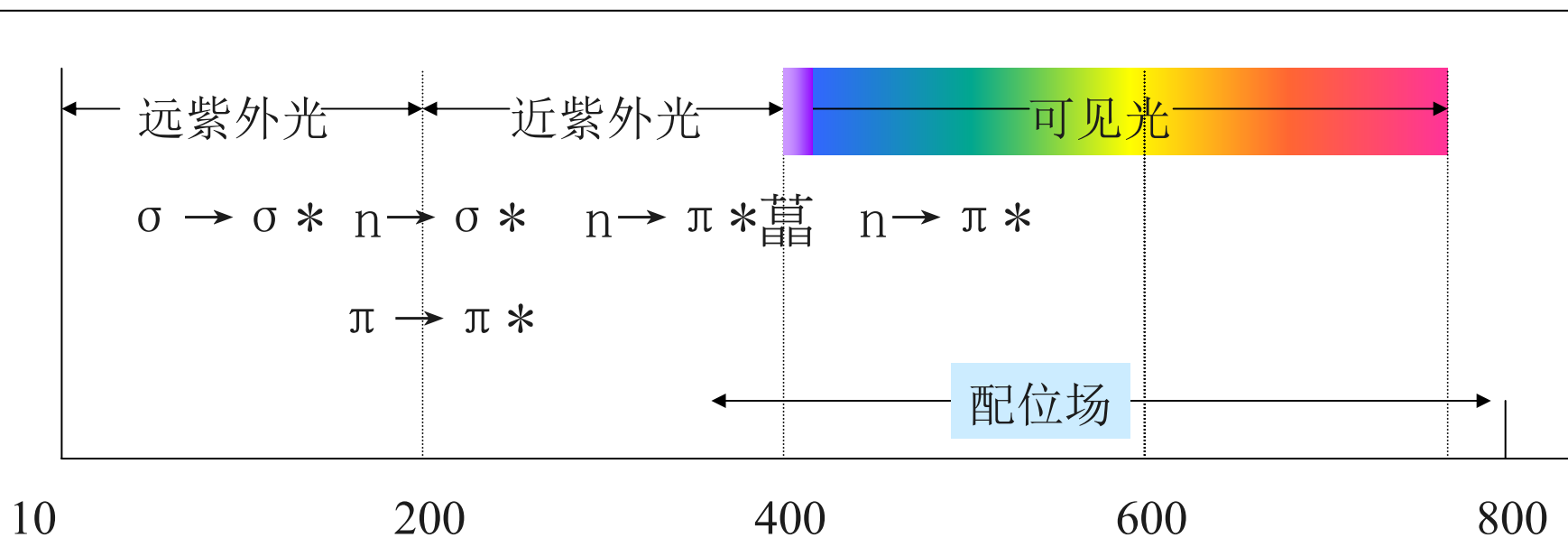
元素周期表中的第四、五周期的过渡金属元素分别含有3d和4d轨道，镧系和锕系元素分别含有4f和5f轨道。这些轨道的能量通常是相等的。在配体的存在下，过渡元素五个能量相等的d轨道及镧系和锕系元素七个能量相等的f轨道分别分裂成几组能量不等的d轨道及f轨道。当它们的离子吸收光能后，低能态的d电子或f电子可以分别跃迁至高能态的d电子或f电子轨道。这两类跃迁分别称为d-d跃迁和f-f跃迁。由于此两类跃迁必须在配位场的作用下才有可能产生，因此又称为配位场跃迁。





**特点：** 由于选择规则的限制配位场跃迁吸收谱带的吸光系数小，一般  $\epsilon_{\text{Max}} < 10^2$ 。这类光谱一般在可见光区。相对来说，配位场跃迁吸收谱较少用于定量分析中，但它可用于研究配合物的结构及无机配合物键合理论方面。

下图为有机物各种电子跃迁吸收光谱的波长分布图。



跃迁形式和吸收波长的关系示意图



## 4. 吸收带

---

在四种电子跃迁类型中  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁和  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁所产生的吸收带波长处于真空紫外区。  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁和  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁所产生的吸收带除某些孤立双键化合物外，一般都处于近紫外区，它们是紫外吸收光谱所研究的主要吸收带。由  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁和  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁所产生的吸收带可分为下述四种类型。 藹



## (1) R吸收带

---

Ⓒ R (Radical) 吸收带是含有氧、氮、硫等杂原子的发色基团，如羰基、硝基中未成键电子由n轨道向反键  $\pi^*$  轨道跃迁时所产生的。R 吸收带的吸收波长比较长，但吸收强度很弱。由于R吸收带的强度很弱，有时会被其它较强的吸收带所掩盖。



## (2) K 吸收带

---

K (Conjugate) 吸收带是含共轭双键分子。K 吸收带的特点是波长大于200nm，吸收强度很强，摩尔吸光系数大于 $10^5 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。芳环上若有发色取代基团如苯乙烯、苯甲酸等也会出现K吸收带。如丁二烯、丙烯醛发生  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁所产生的吸收带。 晶晶



### (3) B吸收带

---

B (Benzene) 吸收带是闭合环状共轭双键  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁所产生的，它是芳环化合物的主要特征吸收带。B吸收带波长较长，但吸收强度比较弱。例如苯的B吸收带波长为256nm，摩尔吸光系数为  $2.15 \times 10^2 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

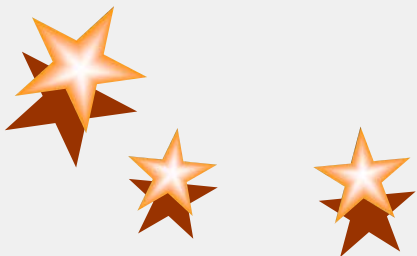
在非极性溶液剂中或呈气体状态时，B吸收带会呈现精细结构，但某些芳族化合物的B吸收带往往没有精细结构。使用极性溶剂会使精细结构消失。 葛

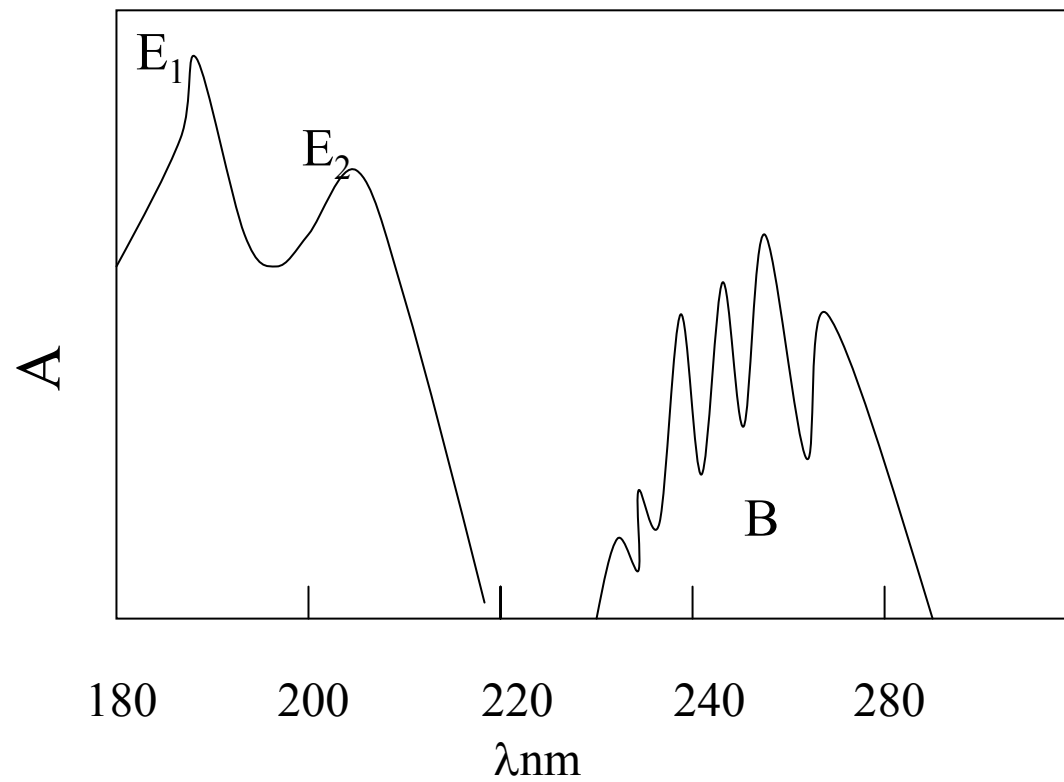
如果芳族化合物的紫外吸收光谱中同时出现K带、B带和R带，则R带波长最长，B带次之，K带最短，但吸收强度的顺序正好相反。 葛

## (4) E 吸收带

---

E 吸收带也是芳环化合物的特征吸收带，它起源于苯环中三个烯双键的  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁。E 吸收带又可分为  $E_1$  带和  $E_2$  带， $E_1$  带波长低于200nm， $E_2$ 带波长略高于200nm，但吸收强度则是 $E_1$ 带比 $E_2$ 带更强，它们的摩尔吸光系数分别在  $10^4 \sim 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  范围。当苯环与助色基团相连时，E吸收带发生红移，但一般不超过210nm。





溶剂为异辛烷的苯的紫外吸收光谱

## 吸收带的划分

跃迁类型	吸收带	特征	$\epsilon_{\max}$
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	远紫外区	远紫外区测定	
$n \rightarrow \sigma^*$	端吸收	紫外区短波长端至远紫外区的强吸收	
$\pi \rightarrow \pi^*$	<b>E<sub>1</sub></b>	芳香环的双键吸收	
	<b>K(E<sub>2</sub>)</b>	共轭多烯、-C=C-C=O-等的吸收	
	<b>B</b>	芳香环、芳香杂环化合物的芳香环吸收。有的具有精细结构	
$n \rightarrow \pi^*$	<b>R</b>	含 CO, NO <sub>2</sub> 等 n 电子基团的吸收	



---

紫外光谱谱带有：

<b>B带</b>	$\epsilon$	值约 <b>250 ~ 3000</b>
<b>E带</b>	$\epsilon$	值约 <b>2000 ~ 10000</b>
<b>K带</b>	$\epsilon$	值约 <b>10000 (或大于10000)</b>
<b>R带</b>	$\epsilon$	值 <b>&lt;100</b>





## 5. 常用术语

---

红移或蓝移 (*Redshift or blueshift*) :

在分子中引入的一些基团或受到其它外界因素影响，吸收峰向长波方向（红移）或短波方向移动（蓝移）的现象。

生色团 (*Chromogenesis group*) :

分子中含有非键或 $\pi$ 键的电子体系，能吸收外来辐射时并引起 $n-\pi^*$  和 $\pi-\pi^*$ 跃迁，可产生此类跃迁或吸收的结构单元，称为生色团。



## 助色团 (*Auxochromous group*) :

助色基团是指那些本身不产生吸收峰，但与生色团相连时，使生色团吸收峰向长波方向移动并提高吸收强度增强的基团。

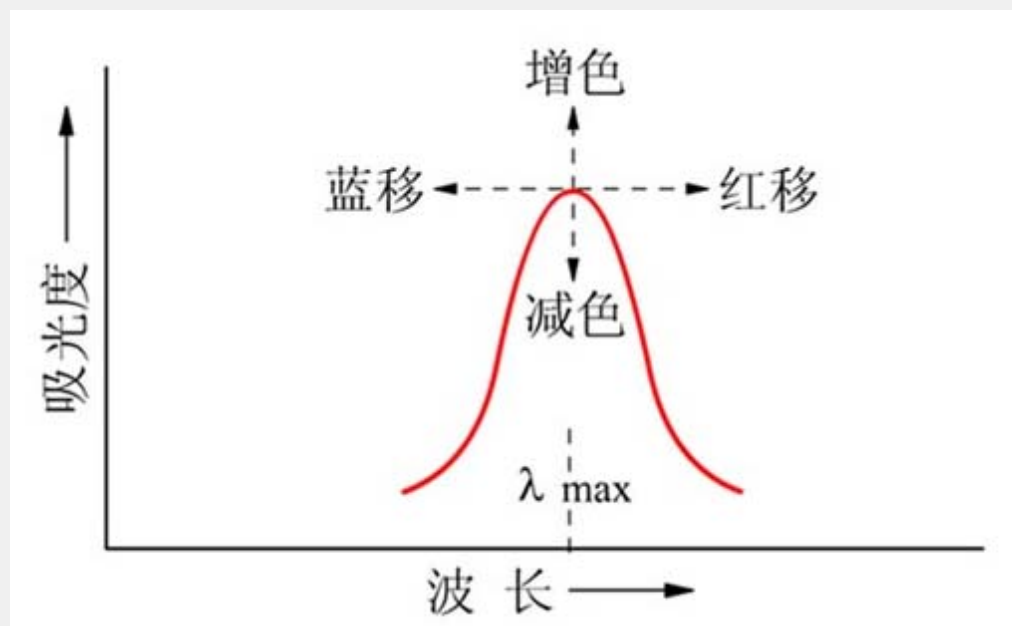
这些基团是由含有孤对电子的元素所组成，例如 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NR}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{Cl}$ 等。这些基团中的  $n$  电子能与生色团中的  $\pi$  电子相互作用(可能产生  $p-\pi$  共轭)，使  $\pi-\pi^*$  跃迁能量降低，跃迁几率变大。助色基团的助色效应强弱大致如下列顺序：



## 6. 影响紫外-可见吸收光谱的因素

影响结果:

1. 谱带位移
2. 吸收峰强度变化



★ 蓝移 (或紫移, hypsochromic shift or blue shift)  
★ 红移 (bathochromic shift or red shift)  
★

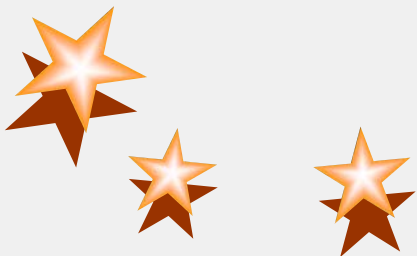
## (1). 共轭效应的影响

---

由于共轭效应，电子离域到多个原子之间，导致  $\pi \rightarrow \pi^*$  能量降低。同时跃迁几率增大， $\epsilon_{\max}$  增大。

◆  $\pi$  电子共轭体系增大， $\lambda_{\max}$  红移， $\epsilon_{\max}$  增大

◆ 空间阻碍使共轭体系破坏， $\lambda_{\max}$  蓝移， $\epsilon_{\max}$  减小。



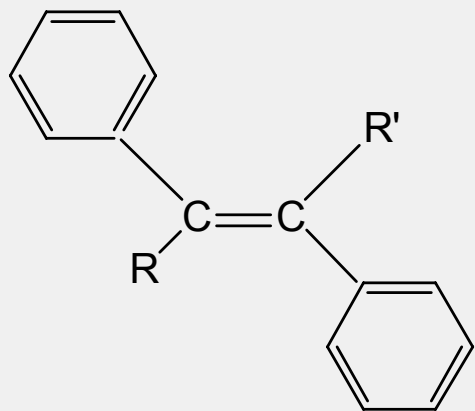


n	$\lambda_{\text{max}}$ nm	$\epsilon_{\text{max}}$ L/(mol·cm)
1	180	10,000
2	217	21,000
3	268	34,000
4	304	64,000
5	334	121,000
6	364	138,000

原因？

共轭效应使  
轨道能量降低





共平面性影响  
共轭效应

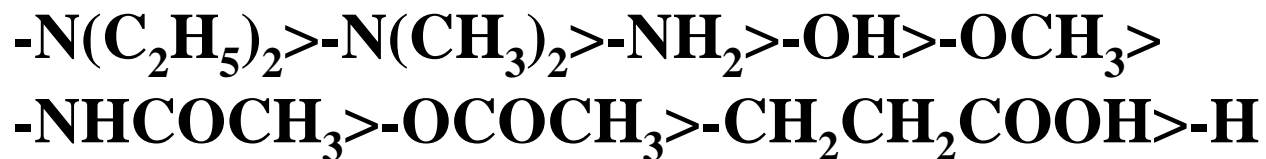
R	R'	$\lambda_{\max}$ nm	$\epsilon_{\max}$ L/(mol·cm)
H	H	294	27,600
H	CH <sub>3</sub>	272	21,000
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	243.5	12,300
CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	240	12,000
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	237.5	11,000

## (2) 取代基的影响

---

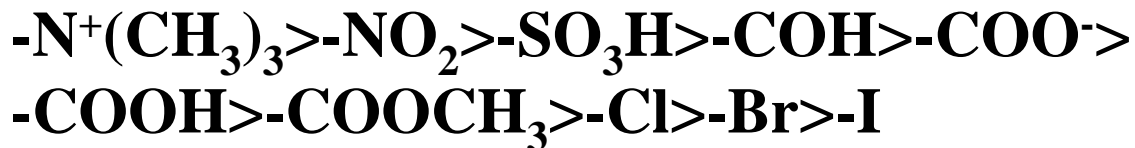
给电子基：含未共用电子对的原子的基团。  
如-NH<sub>2</sub>, -OH等。

给电子能力顺序：



吸电子基：易吸引电子而使电子容易流动的基团。  
如：-NO<sub>2</sub>, -CO等

作用强度顺序：



---

给电子基未共用电子对流动性大，形成p- $\pi$ 共轭，降低能量， $\lambda_{\max}$ 红移。

吸电子基的存在产生 $\pi$ 电子的永久性转移， $\lambda_{\max}$ 红移。  
 $\pi$ 电子流动性增加，吸收光子的吸收分数增加，吸收强度增加。

给电子基与吸电子基同时存在，产生分子内电荷转移吸收， $\lambda_{\max}$ 红移， $\epsilon_{\max}$ 增加。

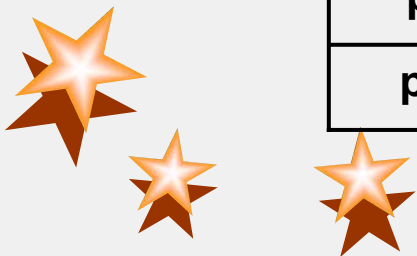




**K吸收带****B吸收带**

取代苯	$\lambda_{\max}$ nm	$\epsilon_{\max}$ L/(mol·cm)	$\lambda_{\max}$ nm	$\epsilon_{\max}$ L/(mol·cm)
$C_6H_5-H$	204	7,400	254	204
$C_6H_5-CH_3$	207	7,000	261	225
$C_6H_5-OH$	211	6,200	270	1,450
$C_6H_5-NH_2$	230	8,600	280	1,430
$C_6H_5-NO_2$			268	
$C_6H_5-COCH_3$			278.5	
$C_6H_5-N(CH_3)_2$	251	14,000	298	2,100
p-NO <sub>2</sub> , OH	314	13,000		
p-NO <sub>2</sub> , NH <sub>2</sub>	373	16,800		

分子内电荷转移吸收

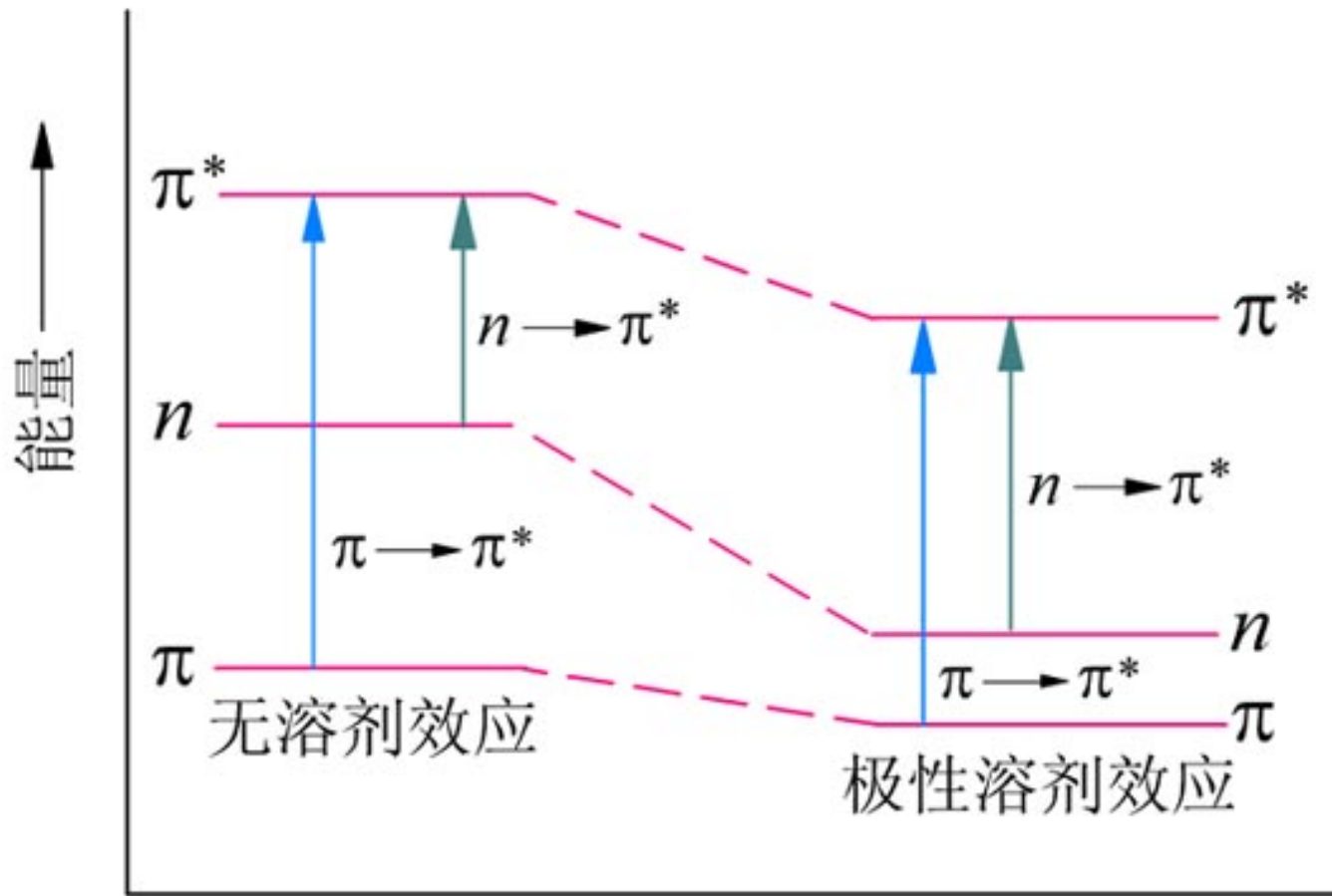


### (3) 溶剂的影响

---

分子吸光后，成键轨道上的电子会跃迁至反键轨道形成激发态。一般情况下分子的激发态极性大于基态。溶剂极性越大，分子与溶剂的静电作用越强，使激发态稳定，能量降低。即 $\pi^*$ 轨道能量降低大于 $\pi$ 轨道能量降低，因此波长红移。而产生 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁的 $n$ 电子由于与极性溶剂形成氢键，基态 $n$ 轨道能量降低大， $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁能量增大，吸收带蓝移。

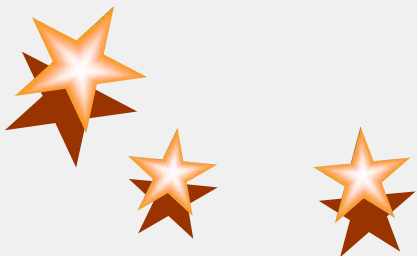




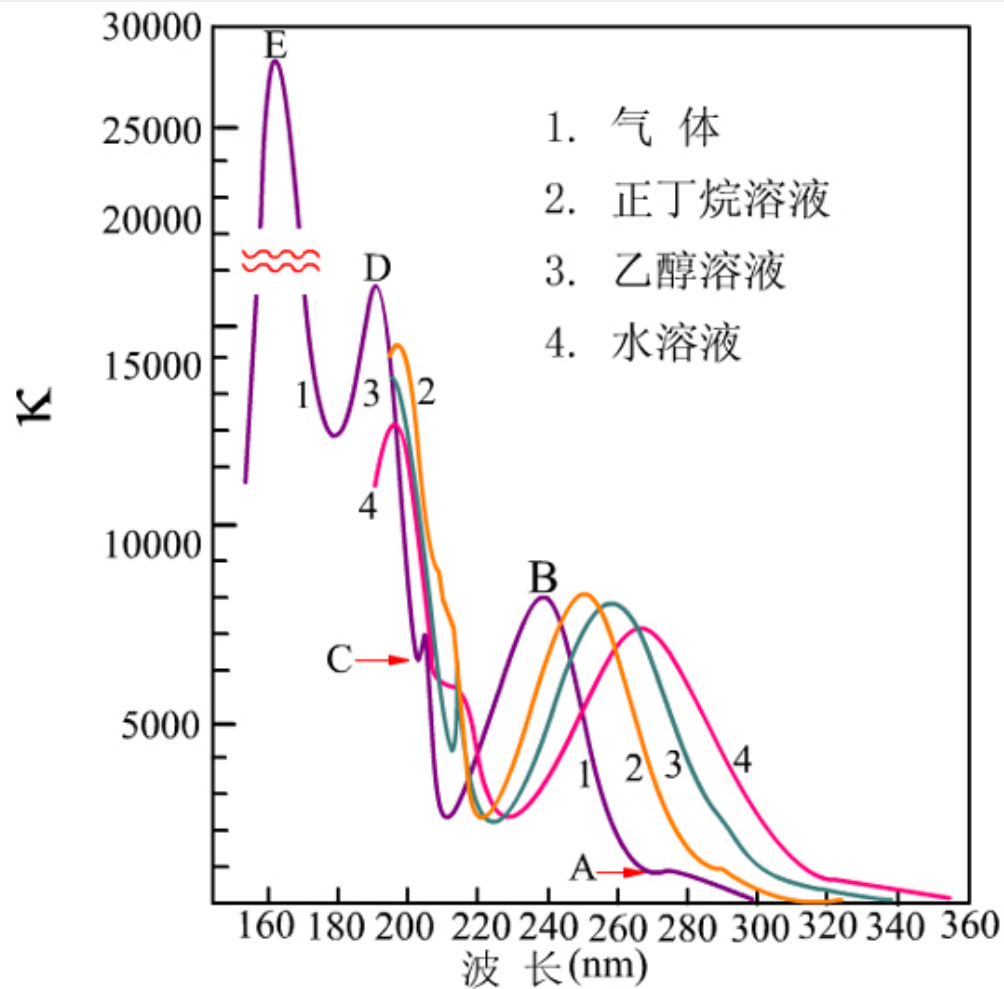
---

溶剂极性增大——  
 $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁吸收带红移  
 $n \rightarrow \pi^*$  跃迁吸收带蓝移

极性溶剂往往使吸收峰的振动精细结构消失



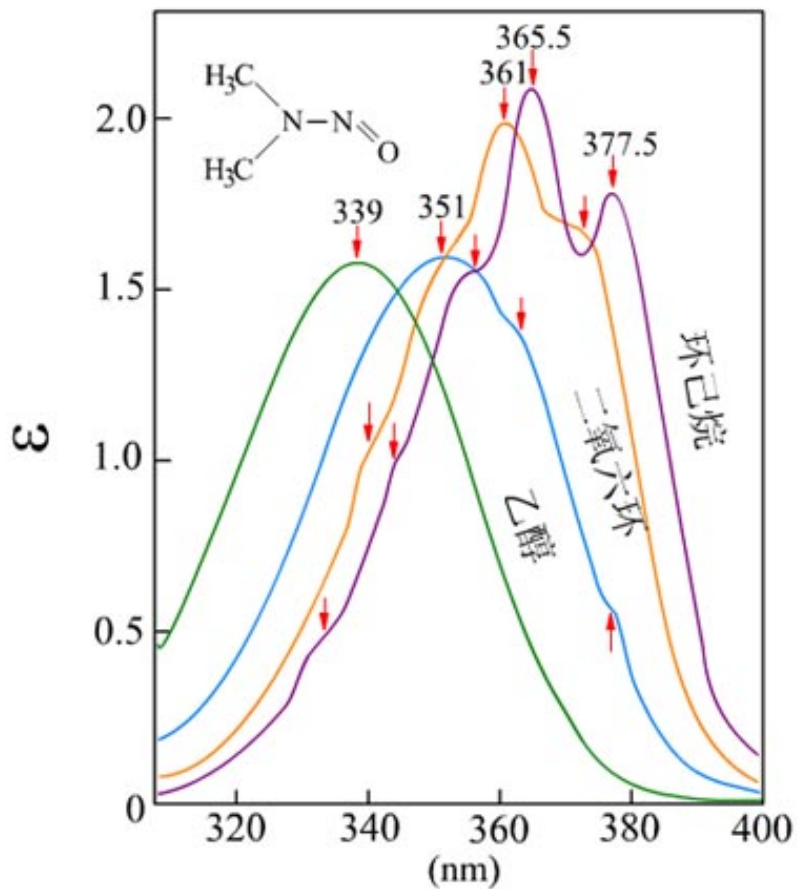
溶剂极性增大  
 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁波长红移



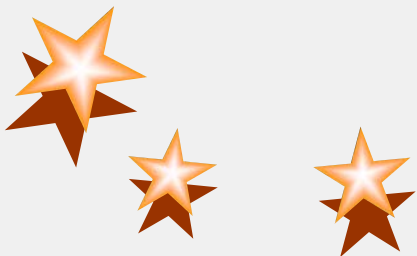
硝基苯的紫外吸收光谱



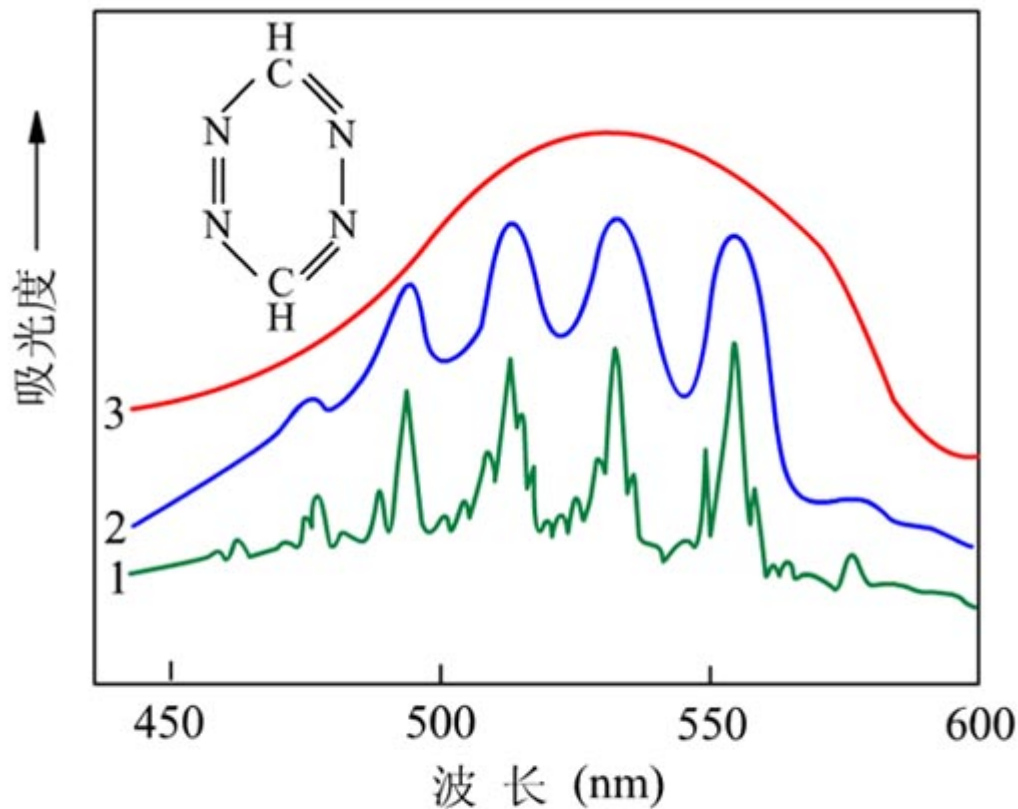
溶剂极性增大  
 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁波长蓝移



N-亚硝基二甲胺在不同溶剂中的紫外吸收光谱



极性溶剂中  
振动精细结构消失



对称四嗪的吸收光谱

曲线1 在蒸汽态中；曲线2 在环己烷中；曲线3 在水中。



# 吸收光谱的影响因素小结

---

1. 共轭体系增大,  $\lambda_{\max}$  红移,  $\epsilon_{\max}$  增大
2. 空间位阻增大,  $\lambda_{\max}$  蓝移,  $\epsilon_{\max}$  减小。
3. 含给电子基或吸电子基时,  $\lambda_{\max}$  红移,  $\epsilon_{\max}$  增加。
4. 分子内电荷转移吸收,  $\lambda_{\max}$  红移,  $\epsilon_{\max}$  增加。
5. 溶剂极性增大,  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁吸收带红移,  
 $n \rightarrow \pi^*$  跃迁吸收带蓝移。
6. 极性溶剂使振动精细结构消失

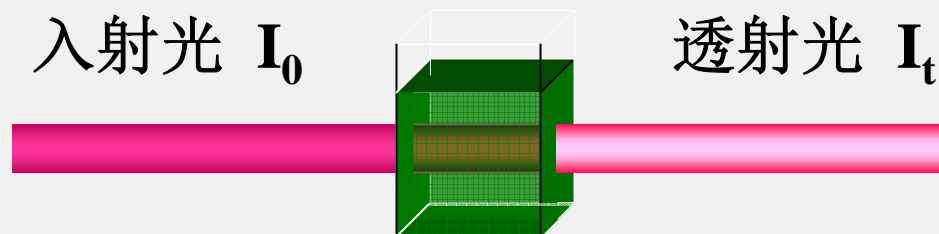




## 二. 溶液的吸光定律

### 透光率 (透射比) Transmittance

---



透光率定义:  $T = \frac{I_t}{I_0}$

T 取值为 0.0 % ~ 100.0 %

全部吸收 T = 0.0 %

全部透射 T = 100.0 %

吸光度(absorbance)

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

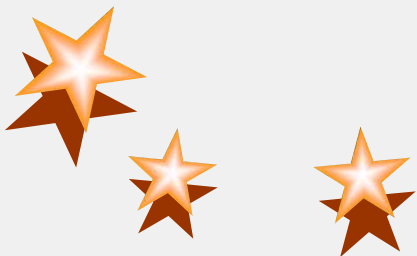


# Lambert-Beer定律

---

当一束平行单色光照射到任一均匀、非散射的介质(液体、气体或固体)时，溶液的吸光度 $A$ 是待测物质浓度和液层厚度的函数。

Lambert-Beer定律是光吸收的基本定律，也是分光光度法的依据和基础。



---

吸光度(absorbance)

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

$\epsilon$  摩尔吸光系数, molar absorptivity; L/mol cm

$c$  摩尔浓度, mol/L

$l$  光程, cm

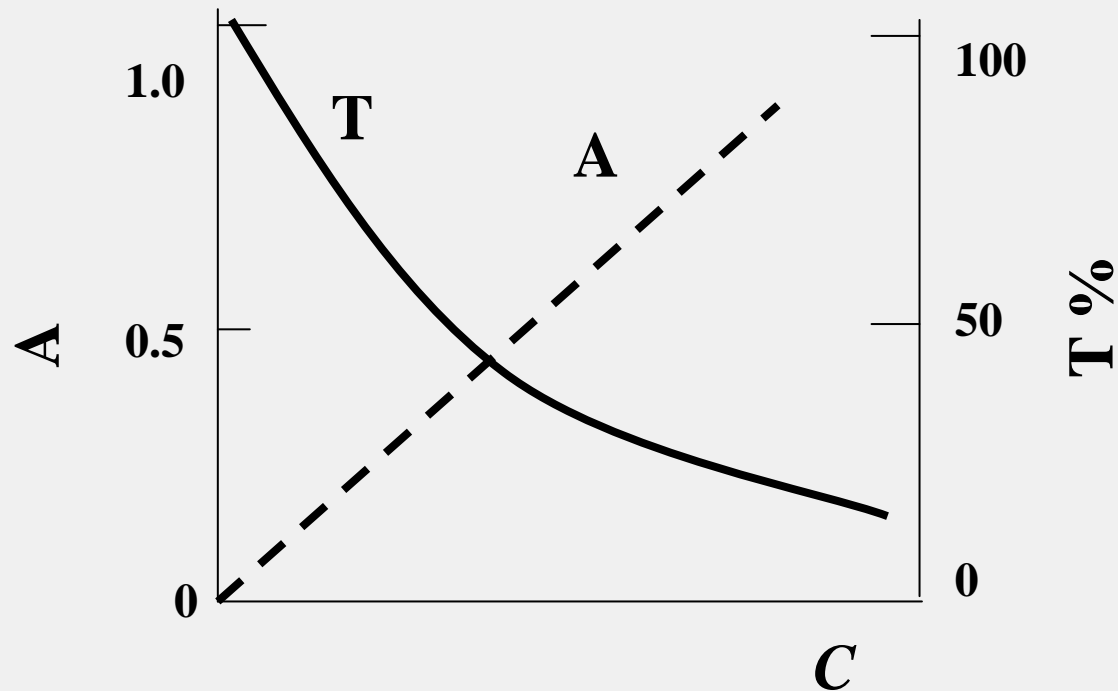


# 吸光度 与透光率 Absorbance and transmittance

$$-\lg T = \varepsilon l c = A \quad T = 10^{-A} = 10^{-\varepsilon l c}$$

T: 透光率

A: 吸光度



$$T = 0.0 \%$$

$$A = \infty$$

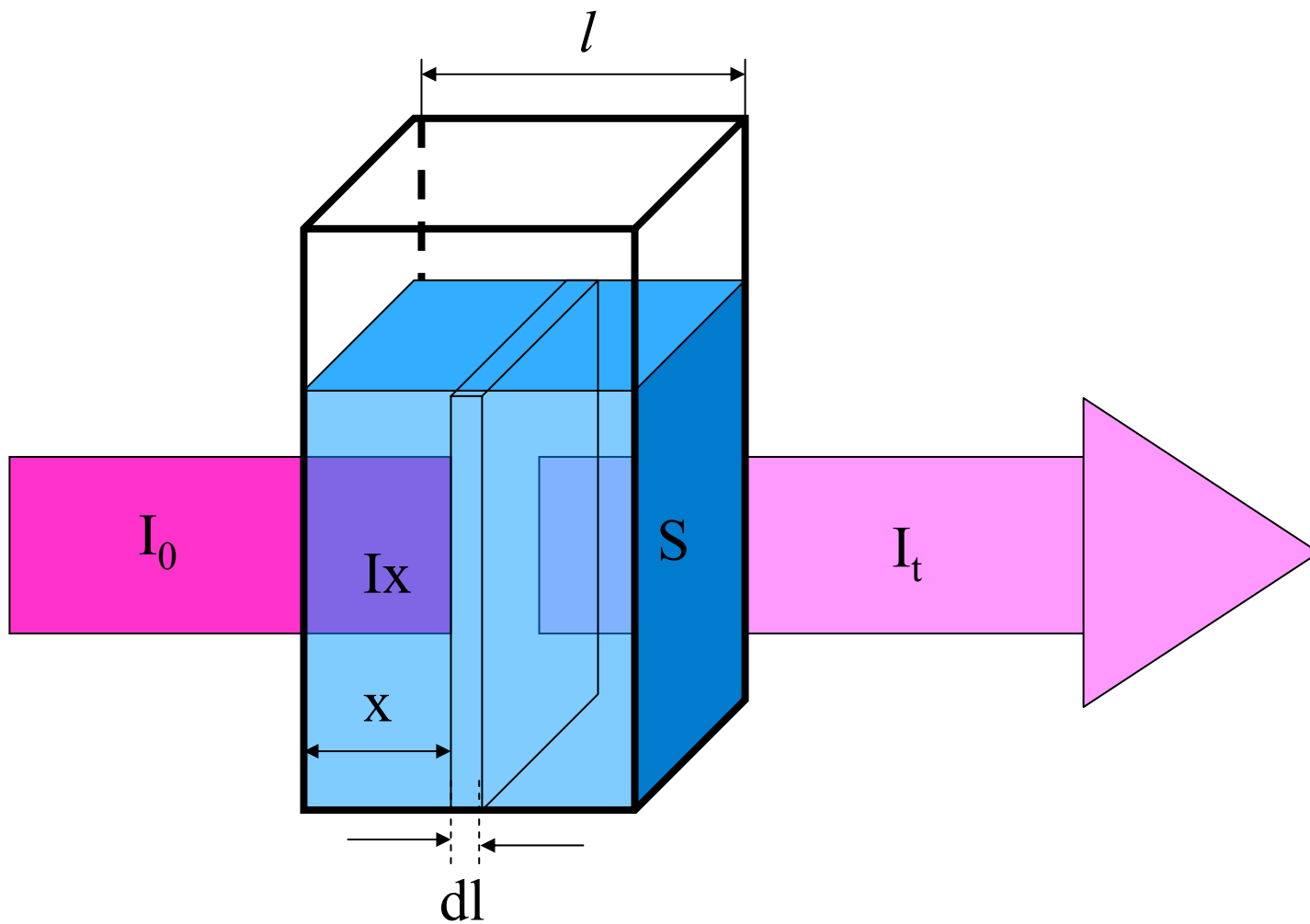
$$T = 100.0 \%$$

$$A = 0.0$$

$$T = 36.8 \%$$

$$A = 0.434$$

# Lambert-Beer定律的推导



光的吸收过程示意图

根据量子理论，光是由光子组成的，因此，**吸光过程就是光子被吸光质点所俘获，使它们的能量增加而处于激发态。**它们获得光子的几率与吸光质点的面积有关。

假设有一束强度为 $I_0$ 的单色平行光束，垂直通过一横截面积为 $S$ 的均匀介质。在吸收介质中，光的强度为 $I_x$ ，当通过吸收层（ $d1$ ）后，减弱了 $dI_x$ ，则厚度为 $d1$ 的吸收层对光的吸收率为 $-dI_x / I_x$ 。由于厚度 $d1$ 为无限小，所以横截面上所有吸光质点所占的截面积之和（ $ds$ ）与横截面积（ $S$ ）之比可看作为该截面积上光子被吸收的几率，即：

$$\frac{-dI_x}{I_x} = \frac{ds}{S}$$

设 $a$ 为吸光质点对指定波长光子的吸收截面积  
 $dn$ 为在距离 $dx$ 内共有的吸光质点数目  
在距离 $dx$ 内俘获光点总面积为

$$d s = dn \times a$$

带入上式，得：

$$\frac{-dI_x}{I_x} = \frac{ds}{S} = \frac{a \cdot dn}{s}$$

当光束通过厚度为 $l$ 的吸收层时，对上式两边积分，得到

$$\int_{I_0}^{I_t} \frac{-dI_x}{I_x} = \int_0^n \frac{a \cdot dn}{S}$$

$$-\ln \frac{I_t}{I_0} = \frac{a \cdot n}{s}$$

因为  $S = \frac{V}{l}$        $C = \frac{n}{V \cdot N_A}$        $N_A$  为阿佛加得罗常数

所以  $S = \frac{n}{l \cdot C \cdot N_A}$

带入上式，得：
$$-\ln \frac{I_t}{I_0} = N_A \cdot a \cdot l \cdot C$$

所以 
$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = 0.4343 N_A a l C$$



---

将 $0.4343N_A a$ 合并为常数  $\varepsilon$  ,

则上式变为:

$$A = \varepsilon l c$$

重要参数——

摩尔吸光系数  $\varepsilon_\lambda$  : 定量分析的灵敏度指标, 与波长有关



## 摩尔吸光系数的理解：

- ◆ 摩尔吸光系数  $\epsilon$  是吸收物质在一定波长和溶剂条件下的特征常数，不随浓度  $c$  和吸收光程长度  $l$  的改变而变化。
- ◆ 在温度和波长等条件一定时， $\epsilon$  仅与吸收物质本身的性质有关，可作为定性鉴定的参数。
- ◆ 同一吸收物质在不同波长下的  $\epsilon$  值是不同的。在最大吸收波长  $\lambda_{\max}$  处的摩尔吸光系数，常以  $\epsilon_{\max}$  表示。 $\epsilon_{\max}$  表明了该物质的最大吸光能力，也反映了光度法测定该物质可能达到的最大灵敏度。
- ◆  $\epsilon_{\max}$  越大表明该物质的吸光能力越强，用光度法测定该物质的灵敏度越高。
- ◆ 摩尔吸光系数  $\epsilon$  在数值上等于浓度为  $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，液层厚度为  $1\text{cm}$  时，该溶液在某一波长下的吸光度。通常是根据低浓度时的吸光度间接计算求得  $\epsilon$  值。

# 吸光系数

Absorptivity

$b$ : 吸光液层的厚度, 光程,  $cm$     $c$ : 吸光物质的浓度,  $g/L, mol/L$

$$A = Kcb$$

$K$ : 比例常数

物质的性质

入射光波长

温度

取值与浓度的单位相关

$c: mol/L$

$K \Rightarrow \epsilon$  摩尔吸光系数,  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

Molar Absorptivity  $A = \epsilon l c$

$c: g/L$

$K \Rightarrow a$  吸光系数,  $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$

Absorptivity  $A = a l c$

$c: g/100 mL$

$K \Rightarrow E_{1cm}^{1\%}$

比吸光系数

相互关系

$$E_{1cm}^{1\%} = 10 a = 10 \frac{\epsilon}{M}$$

$$A = E_{1cm}^{1\%} l c$$

# 吸光度的加合性

---

多组分体系中，如果各组分之间无相互作用，其吸光度具有加合性，即

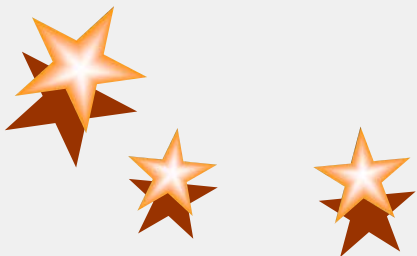
$$A = \sum_i A_i = \sum_i \varepsilon_i l c_i = l \sum_i \varepsilon_i c_i$$



## Lambert-Beer定律的成立条件

---

- 均一溶液，稀溶液 ( $<0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
- 入射光为单色光
- 溶液界面无反射，光度计内无杂散光 (stray light)
- 溶液为真溶液 (无溶质、溶剂及悬浊物引起的散射)
- 吸收体系中各组分物质之间相互不发生作用



# 影响Lambert-Beer定律的因素

---

## 1. 与测定样品有关的因素

(a) 高浓度样品

(b) 试液中各组份的相互作用，如缔合、离解、光化反应、异构化、配体数目改变等，会引起待测组份吸收曲线的变化；

(c) 溶剂的影响：对待测物生色团吸收峰强度及位置产生影响；

(d) 胶体、乳状液或悬浮液对光的散射损失。



### ◆高浓度样品的影响

在高浓度(通常 $>0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )时吸收质点之间的平均距离缩小到一定程度,邻近质点彼此的电荷分布相互受到影响,改变了它们对特定辐射的吸收能力,影响程度取决于浓度。

另外,  $\varepsilon$  是真实摩尔吸光系数  $\varepsilon_{\text{真}}$  和溶液折射率  $n$  的函数, 即

$$\varepsilon = \varepsilon_{\text{真}} \frac{n}{(n^2 + 2)^2}$$

由于  $n$  随浓度的改变而改变, 所以  $\varepsilon$  也随浓度而改变。(  $C \leq 0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $n$  基本不变), 使之在高浓度测定时, 吸收定律发生偏离。

## ◆ 化学因素的影响

### 解离、缔合、生成络合物或溶剂化

---

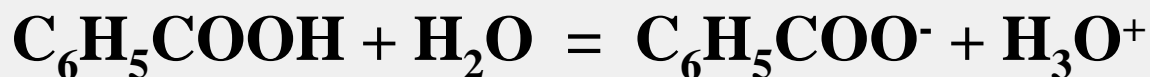
仪器分析大都涉及到一个化学反应问题。当然也涉及到化学平衡，如二聚平衡，酸-碱平衡，络合平衡等。反应中平衡的任何移动都会影响吸光度发生波动，任何一个条件变化都会引起平衡的移动，其结果将使吸光度变化，导致对 Lambert-Beer 定律的偏离。使测定结果与真正予期的吸光值发生偏差。





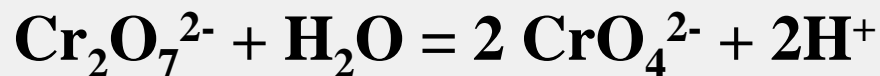
---

## 例1 苯甲酸的电离平衡



$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	273	268
$\varepsilon_{\text{max}}$ (l/mol·cm)	970	560

## 例2 重铬酸根的电离平衡



$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	350, 450	372
-----------------------------	----------	-----

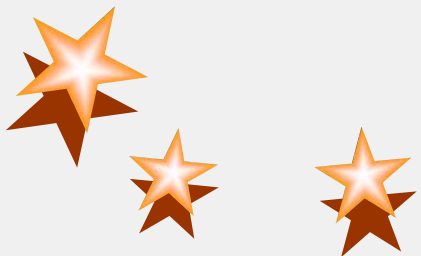
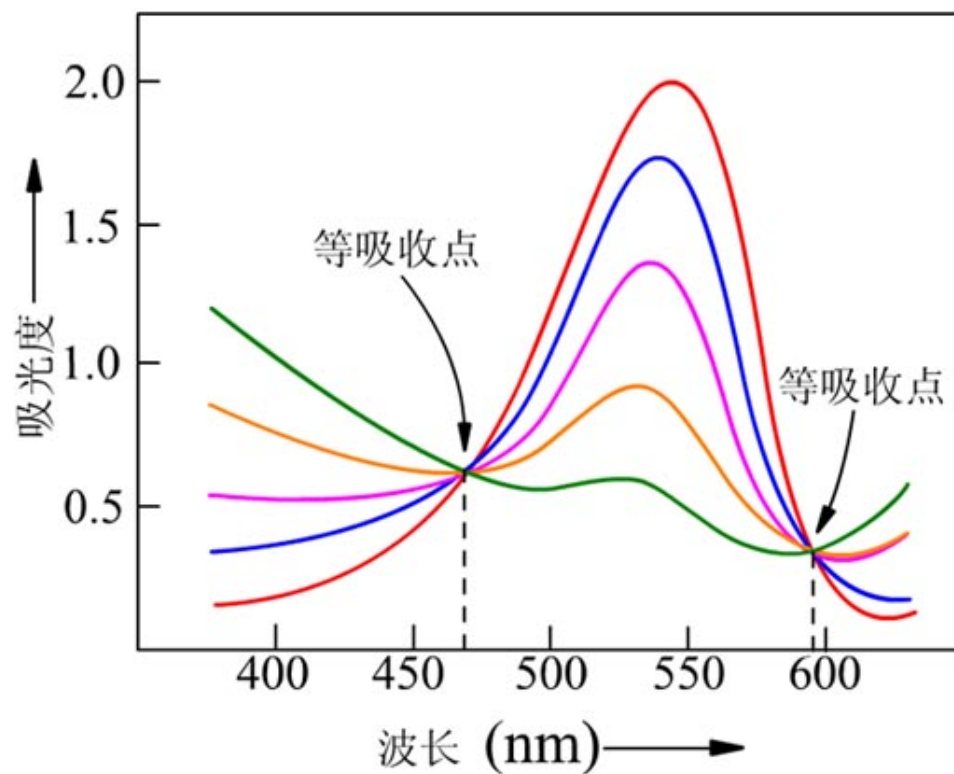


# 等吸收点 isobestic point

化学平衡存在时  
在等吸收点处作工作曲线！



测定总含量，  
不受条件变化的影响



## 2. 仪器因素的影响

---

- 非单色光的影响
- 杂散光的影响， **stray radiation**



## ➤ 非单色光的影响

单色器发出的光并非纯粹的锐线光源，而是有一定宽度。  
设光源分光后含 $\lambda_1$ (测量波长)和 $\lambda_2$ (干扰波长)两个波长的光，  
对应 $\varepsilon_1$ 和 $\varepsilon_2$ ，

$$A = \lg \frac{I_{01} + I_{02}}{I_1 + I_2}$$

$$I_1 = I_{01} 10^{-\varepsilon_1 bC}$$

$$I_2 = I_{02} 10^{-\varepsilon_2 bC}$$

$$A = \lg(I_{01} + I_{02}) - \lg(I_{01} 10^{-\varepsilon_1 bC} + I_{02} 10^{-\varepsilon_2 bC})$$



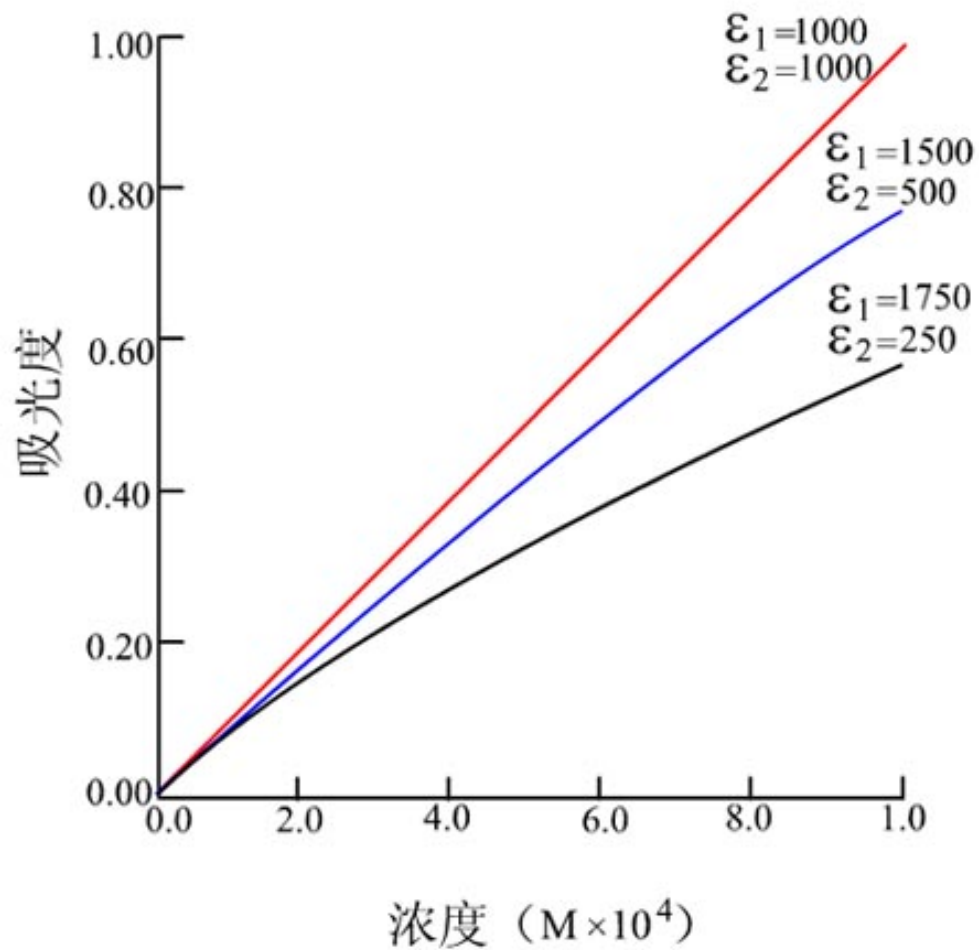
- 
- ◆ 当 $\lambda_1 = \lambda_2$ 时，或者说当 $\varepsilon_1 = \varepsilon_2$ 时，有 $A = \varepsilon bc$ ，符合***L-B***定律；
  - ◆ 当 $\lambda_1 \neq \lambda_2$ 时，或者说当 $\varepsilon_1 \neq \varepsilon_2$ 时，则吸光度与浓度是非线性的。二者差别越大，则偏离***L-B***越大；
  - ◆ 当 $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$ ，测得的吸光度比在“单色光” $\lambda_1$ 处测得的低，产生负偏离；反之，当 $\varepsilon_1 < \varepsilon_2$ ，则产生正偏离。



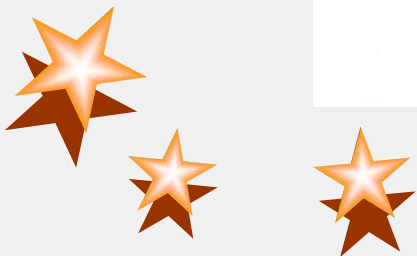
---

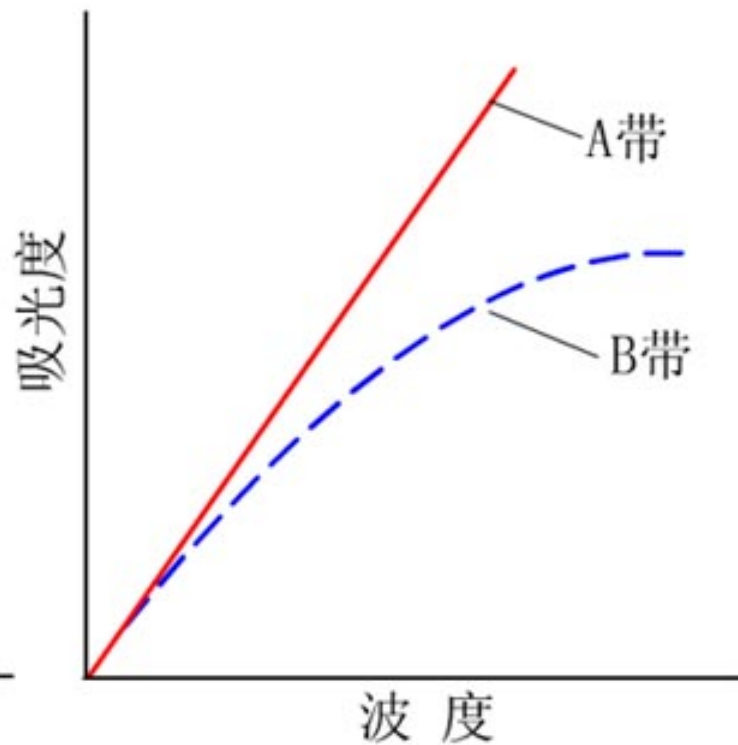
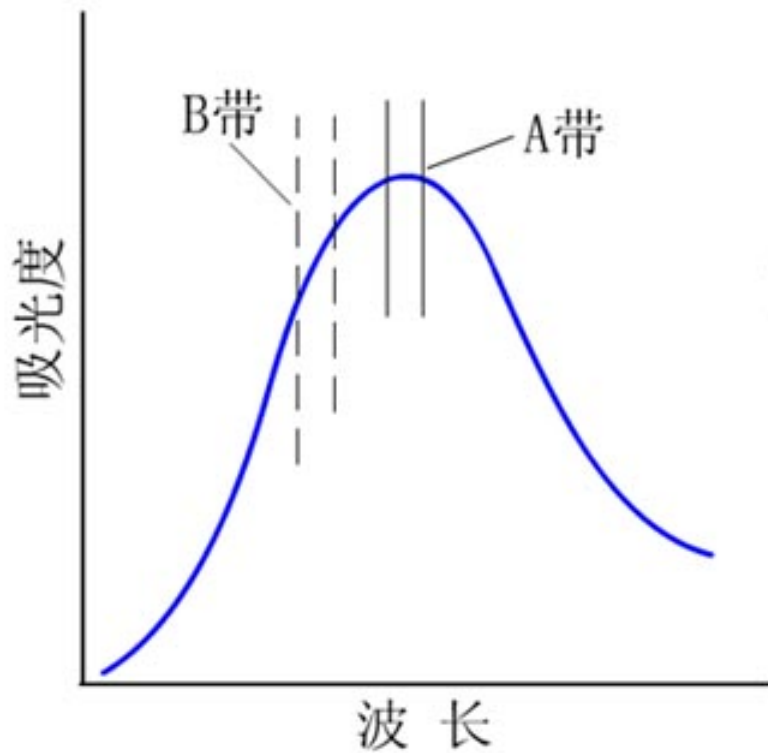
◆谱带宽度与狭缝宽度：“单色光”仅是理想情况，经分光元件色散所得的“单色光”实际上是有一定波长范围的光谱带(即谱带宽度)。单色光的“纯度”与狭缝宽度有关，狭缝越窄，它所包含的波长范围越小，单色性越好。





非单色光对比尔定律的偏离





在A带测定偏离小！





## ➤ 杂散光的影响, stray radiation

---

$I_s$ : 杂散光强度

测得的吸光度:

$$A' = \lg \frac{(I_0 + I_s)}{(I + I_s)}$$

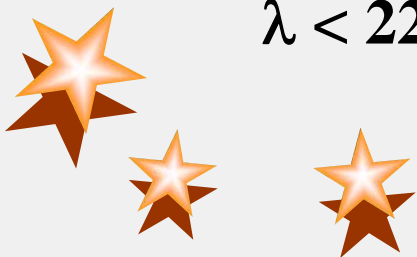
若  $I_s \ll I$

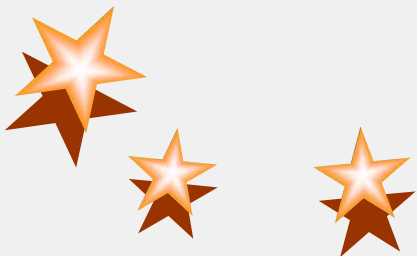
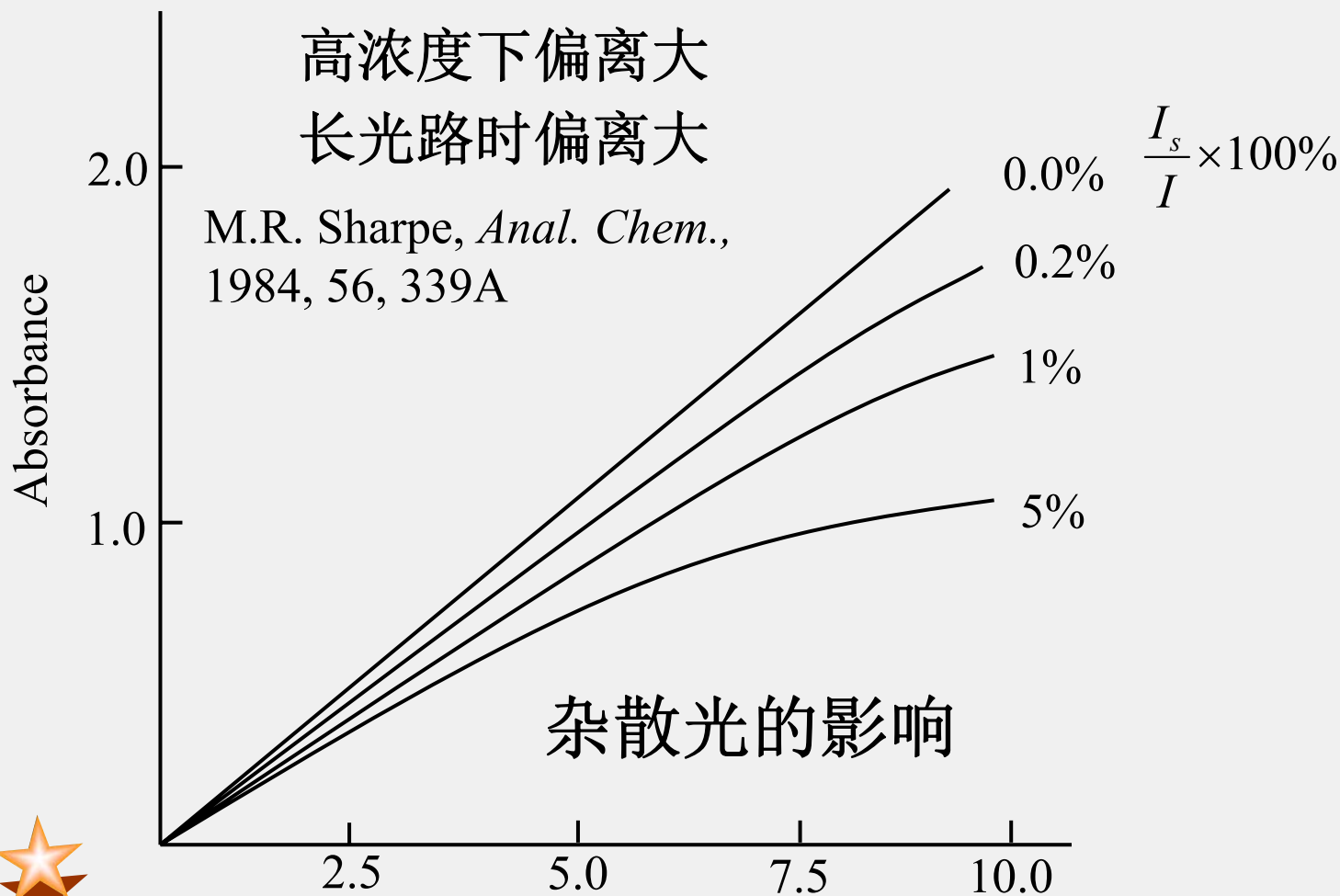
$$A = \lg \frac{I_0}{I}$$

$$A' < A$$

负偏离

$\lambda < 220 \text{ nm}$ 或在可见区测量, 杂散光的影响严重





# 分析条件的选择

---

## 1. 仪器测量条件的选择

➤ 包括测量波长的选择,  $\lambda_{\max}$

➤ 仪器狭缝宽度的选择



## ◆ 测量波长的选择

---

通常都是选择最强吸收带的最大吸收波长  $\lambda_{\max}$  作为测量波长，称为最大吸收原则，以获得最高的分析灵敏度。而且在  $\lambda_{\max}$  附近，吸光度随波长的变化一般较小，波长的稍许偏移引起吸光度的测量偏差较小，可得到较好的测定精密程度。但在测量高浓度组分时，宁可选用灵敏度低一些的吸收峰波长 ( $\epsilon$  较小) 作为测量波长，以保证校正曲线有足够的线性范围。如果  $\lambda_{\max}$  所处吸收峰太尖锐，则在满足分析灵敏度前提下，可选用灵敏度低一些的波长进行测量，以减少比耳定律的偏差。



## ◆ 仪器狭缝宽度的选择

---

狭缝的宽度会直接影响到测定的灵敏度和校准曲线的线性范围。

(1) 狭缝宽度过大时，入射光的单色光降低，校准曲线偏离比耳定律，灵敏度降低；

(2) 狭缝宽度过窄时，光强变弱，势必要提高仪器的增益，随之而来的是仪器噪声增大，于测量不利。

(3) 选择狭缝宽度的方法是：测量吸光度随狭缝宽度的变化。狭缝的宽度在一个范围内，吸光度是不变的，当狭缝宽度大到某一程度时，吸光度开始减小。因此，在不减小吸光度时的最大狭缝宽度，即是所欲选取的合适的狭缝宽度。



## 2. 适宜吸光度范围的选择

---

根据吸收定律  $A = -\lg T = \varepsilon bc$

微分后得:  $d \lg T = 0.4343 \frac{dT}{T} = -\varepsilon bdc$

写成有限的小区间为:

$$0.4343 \frac{\Delta T}{T} = -\varepsilon b \Delta c$$

因为:  $A = -\lg T = \varepsilon bc$

所以:  $\frac{\Delta c}{c} = \frac{0.43434 \Delta T}{T \lg T}$



要使测定结果的相对误差  $\left(\frac{\Delta c}{c}\right)$  最小，对T求导数应有一最小值，即：

$$\frac{d}{dT} \left[ \frac{0.4343\Delta T}{T \lg T} \right]$$
$$= \frac{-0.43434\Delta T(\lg T + 0.4343)}{(T \lg T)^2} = 0$$

解得： $\lg T = -0.4343$

$T = 36.8\%$

或  $A = 0.4343$

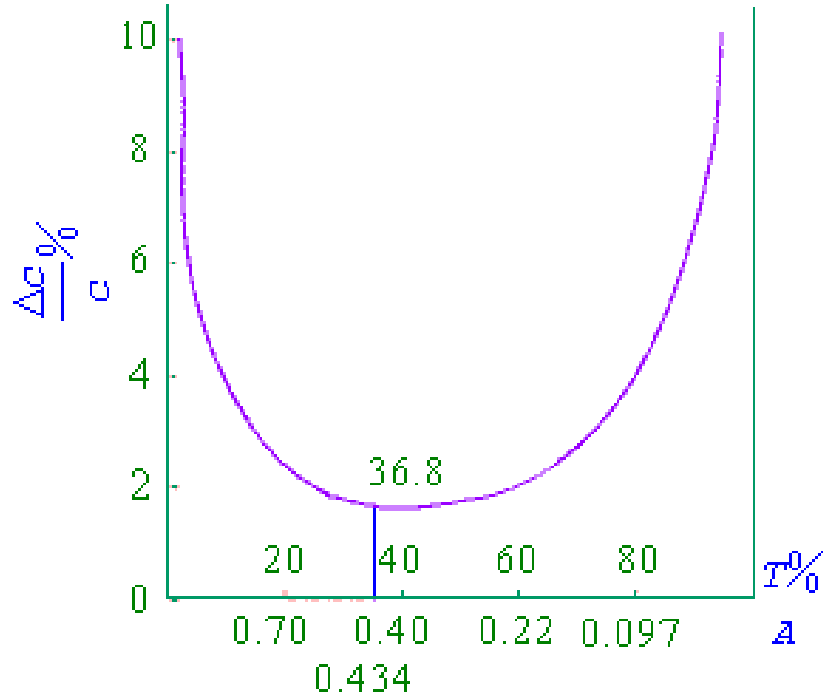


图13.19 浓度测量的相对误差  $\frac{\Delta c}{c}$  与溶液投射比( $T$ )的关系

在吸光分析中，一般选择A的测量范围为0.2~0.8(T%为65~15%)，此时如果仪器的透射率读数误差(ΔT)为1%时，由此引起的测定结果相对误差(Δc/c)约为3%。





---

3. 无机分析中： 显色剂的用量  
溶液酸度的影响  
显色的时间  
温度

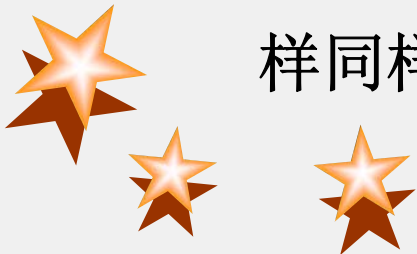


## 4. 参比溶液的选择

---

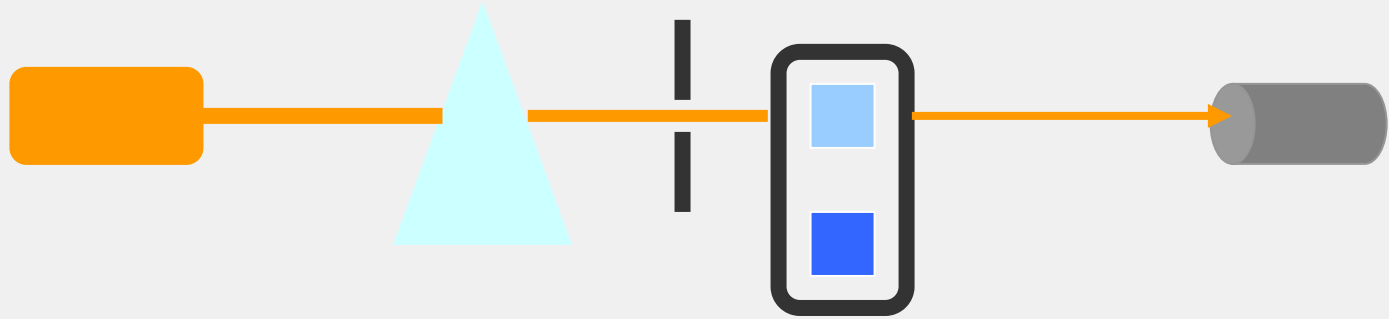
- ◆ 溶剂参比：试样组成简单、共存组份少（基体干扰少）、显色剂不吸收时，直接采用溶剂（多为蒸馏水）为参比；
- ◆ 试剂参比：当显色剂或其它试剂在测定波长处有吸收时，采用试剂作参比（不加待测物）；
- ◆ 试样参比：如试样基体在测定波长处有吸收，但不与显色剂反应时，可以试样作参比（不能加显色剂）。
- ◆ 平行操作溶液参比

用不含被测组分的试样，在相同条件下与被测试样同样进行处理，由此得到平行操作参比溶液。



# 三. 紫外-可见分光光度计

## 1. 基本结构



光源

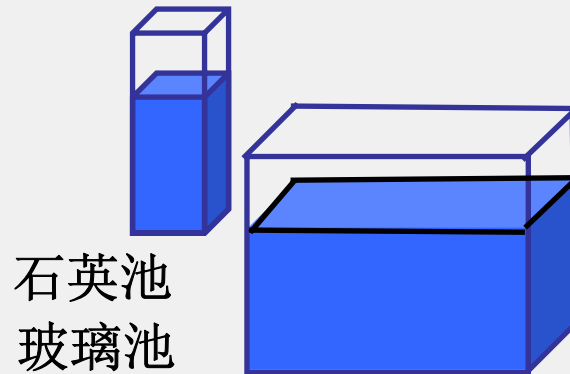
单色器

吸收池

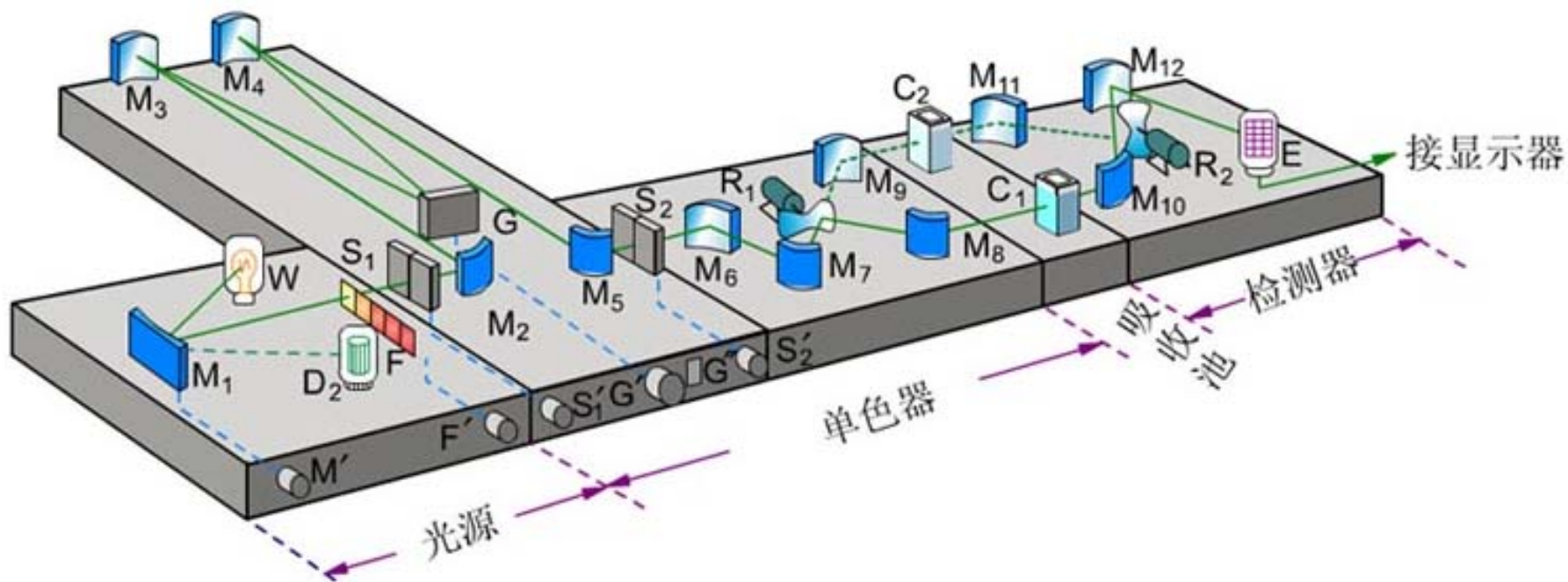
检测器



石英棱镜、光栅



光电倍增管



## ➤ 光源

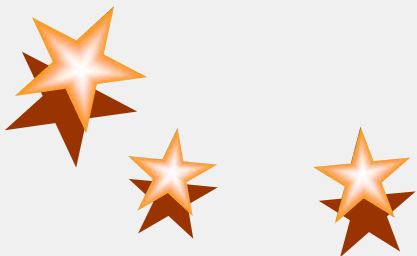
---

要求：连续光谱、辐射能量随波长无明显变化  
稳定性好、寿命长

**紫外区：** 氢灯或氘灯（气体放电光源）（160 – 375 nm）

由于受石英窗吸收的限制，通常紫外光区波长的有效范围一般为200~375nm。

**可见区：** 钨灯、卤钨灯（热辐射光源）（340~2500nm）



## ➤单色器

---

作用： 将复合光按照不同波长分开

光学性能： 有光栅和棱镜两类，用三个指标衡量



# 检测器

---

光电池 → 光电管 → 光电倍增管、二极管阵列检测器

可见区测量、价廉耐用、  
响应速度慢、灵敏度低

灵敏度、响应时间  
优于光电池

灵敏度高，响应快

响应速度最快。灵敏度  
低于光电倍增管



# 紫外-可见分光光度计的类型

---

- ◆ 单光束仪器
- ◆ 双光束仪器
- ◆ 双波长仪器

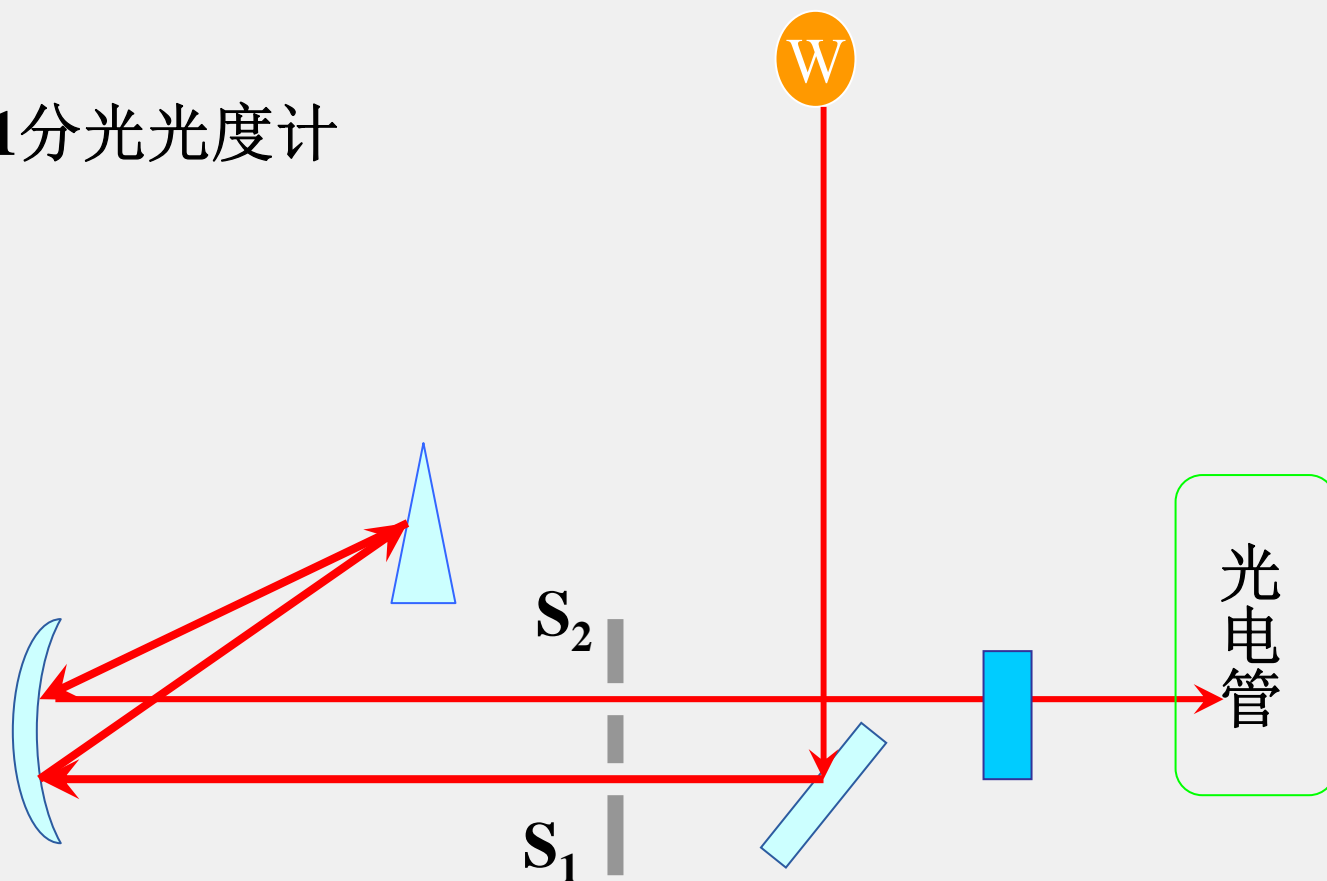




# 1 单光束仪器

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。这种简易型分光光度计结构简单，操作方便，维修容易，适用于常规分析。

例：721分光光度计



## 单光束仪器的不足：

---

### 1) 操作麻烦：

任一波长下      空白—— $I_0$   
                         样品—— $I$

### 2) 光源不稳定会影响测量精度



## 2 双光束仪器

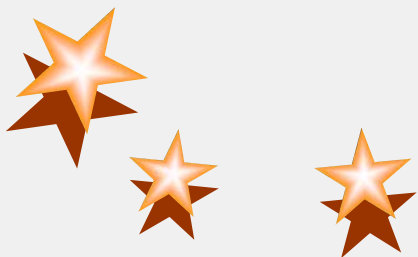
---

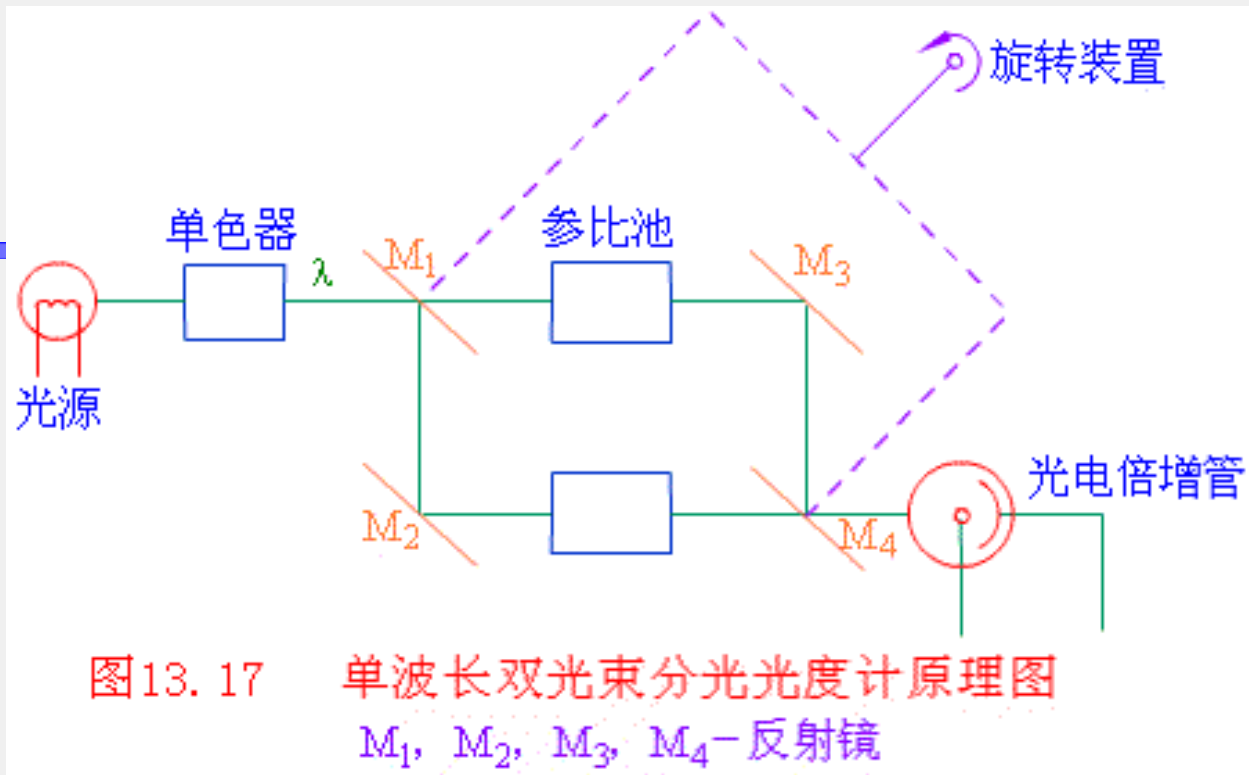
经单色器分光后经反射镜分解为强度相等的两束光，一束通过参比池，一束通过样品池。光度计能自动比较两束光的强度，此比值即为试样的透射比，经对数变换将它转换成吸光度并作为波长的函数记录下来。

$$A_1 = \lg \frac{I_0}{I_s} \qquad A_2 = \lg \frac{I_0}{I_R}$$

$$A = A_1 - A_2 = \lg \frac{I_R}{I_S}$$

由此可见，A值与光源强度无关





- 测量方便，不需要更换吸收池
- 补偿了仪器不稳定性的影响
- 实现了快速自动吸收光谱扫描

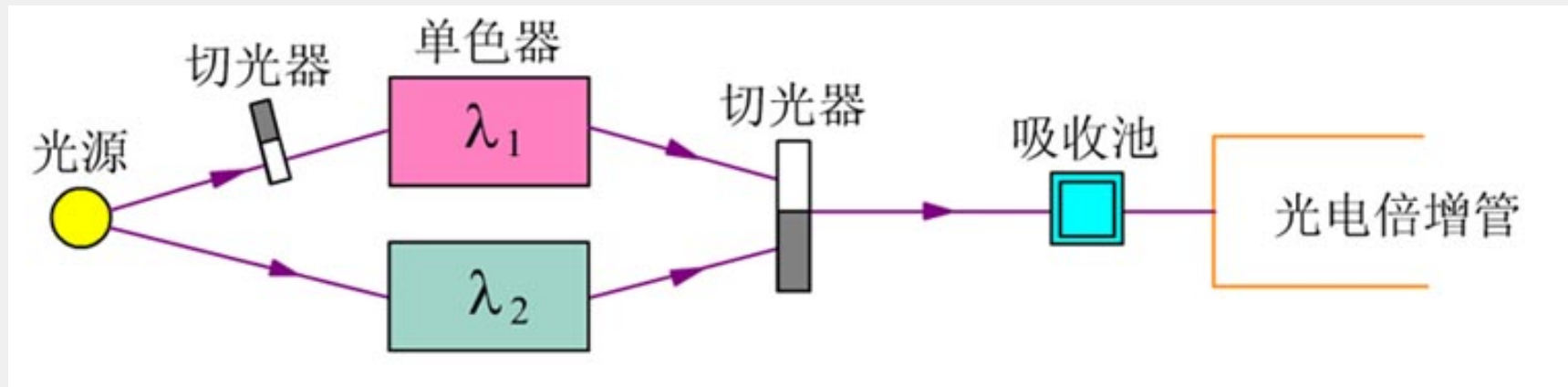


### 3 双波长仪器

---

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（ $\lambda_1$ 和 $\lambda_2$ ）的单色光；利用切光器使两束光以一定的频率交替照射同一吸收池，然后经过光电倍增管和电子控制系统，最后由显示器显示出两个波长处的吸光度差值  $\Delta A$ （ $\Delta A=A_{\lambda_1}-A_{\lambda_2}$ ）。





$$A_{\lambda_1} = \lg \frac{I_0}{I_{\lambda_1}} = \varepsilon_{\lambda_1} bc + \Delta A_{S1}$$

$$A_{\lambda_2} = \lg \frac{I_0}{I_{\lambda_2}} = \varepsilon_{\lambda_2} bc + \Delta A_{S2}$$

若  $\lambda_1$  和  $\lambda_2$  很相近，可视为相等，因此：

$$\Delta A = \lg \frac{I_{\lambda_1}}{I_{\lambda_2}} = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = (\varepsilon_{\lambda_2} - \varepsilon_{\lambda_1}) bc$$

## • 双波长分光光度法

---

- 1 可以降低杂散光，光谱精度高。
- 2 消除背景吸收，可用于悬浊液和悬浮液的测定。
- 3 无须分离，可用于混合组分的同时测定。



## 四. 紫外-可见分光光度法的应用

---

藹 紫外-可见分光光度法不仅可以用来进行物质的定量测定，定性分析及结构分析，还可以测量一些诸如摩尔比、分子量、稳定常数、离解常数等物理化学参数。





# 定量分析

---

## (一) 单组分的定量分析

标准对照法

标准曲线法

标准加入法

差示分光光度法

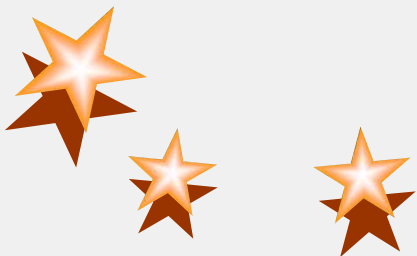


## 1、标准曲线法

---

该方法是实际工作中常使用的方法。

具体做法是：配制一系列浓度不同的标准溶液，以空白试剂为参比，在相同测量条件下测定其吸光度，以吸光度 $A$ 对浓度 $C$ 作图并绘制工作曲线。在相同条件下测量未知试样的吸光度 $A_x$ ，在工作曲线上查找 $A_x$ 所对应的浓度即为未知液的浓度。根据测定的标准系列的数值建立线性回归方程，并求出相关系数 $r$ (或 $R^2$ )。若 $r$ 在 $0.999X$ 以上时，认为所建立的方法是符合比尔定律的。



---

## 2、标准加入法

(1) 单标准加入法

(2) 多次加入法



### 3. 差示分光光度法

---

用普通分光光度法测定很稀或很浓溶液的吸光度时，测量误差都很大。若用一已知合适浓度的标准溶液作为参比溶液，调节仪器的100%透射比点（即0吸光度点），测量试样溶液对该已知标准溶液的投射比，则可以改善测量吸光度的精确度。这种方法称为示差分光光度法。

**A在0.2-0.8范围内误差最小。**

高浓度或低浓度溶液，吸光度测定误差较大。

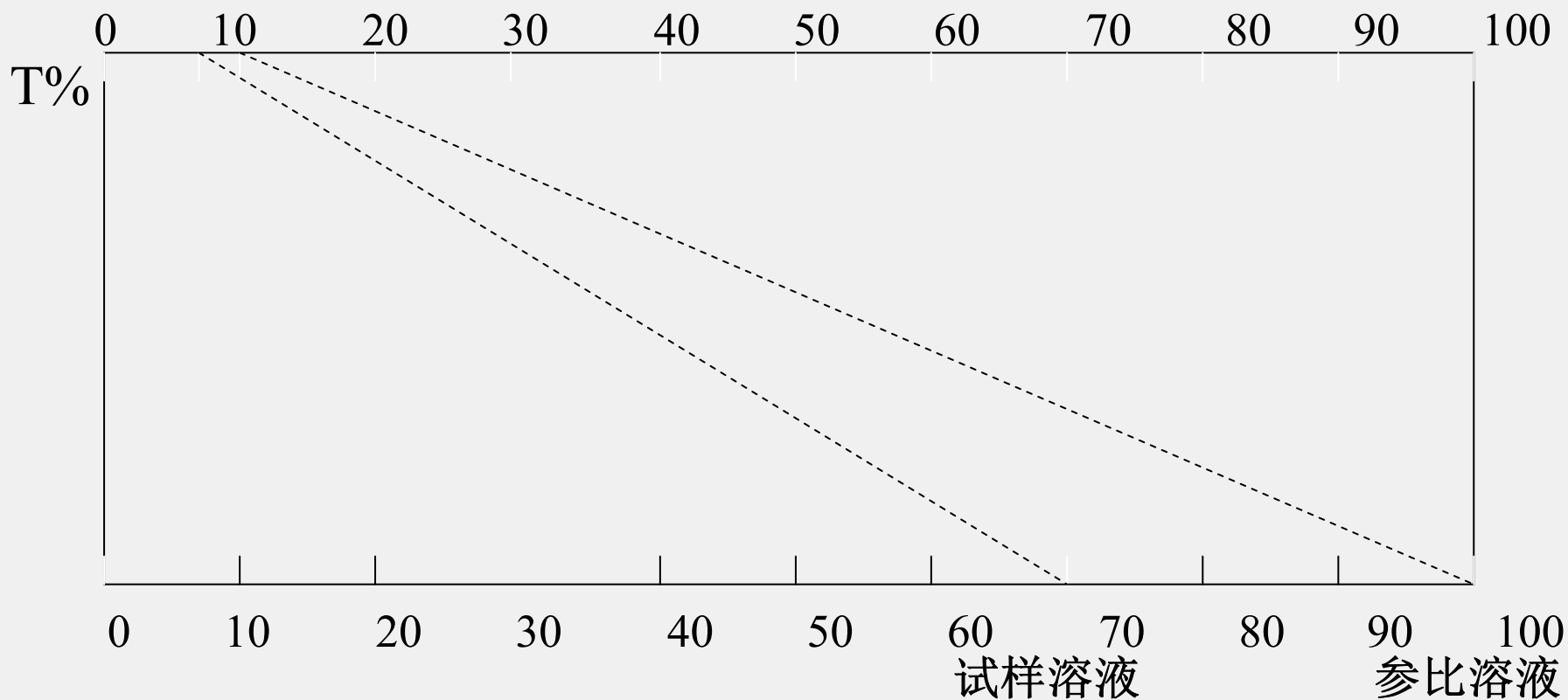


## (1) 高浓度差示法

这种方法是用一个比待测组分浓度稍低一点的标准溶液 ( $C_S$ ) 为参比，调节仪器透光率为100%，然后测量未知样品溶液的吸光度。

假定用普通法测量用作参比的标准溶液的透光率为10%，试液的透光度为7%，二者读数差仅为3%。当用差示法测量时，将参比液的透光率读数调到100%，此时，试液的透光率将会增加到70%，二者相差30%，相当于读数标尺放大了10倍。





高浓度差示法标尺扩展示意图

差示法：用已知浓度的溶液作参比。  
该法的实质是相当于透光率标度放大。

在差示法所测得的吸光度为  $\Delta A = A_x - A_s$ ，而

$$A_x = \epsilon l c_x \text{ (待测物浓度)}$$

$$A_s = \epsilon l c_s \text{ ("空白"浓度)}$$

$$\Delta A = A_x - A_s = \epsilon l (c_x - c_s) = \epsilon l \Delta c$$

上式中  $C_s$  为一固定值，所以  $\Delta A$  与  $\Delta C$  呈线性关系，以  $\Delta A - C_x$  (或  $\Delta C$ ) 作图，在工作曲线上根据  $\Delta A$  就可查出相应的  $C_x$  (或  $\Delta C$ )， $C_x = C_s + \Delta C$ 。

根据吸收定律推导出其相对误差为  $\Delta C_x / C_x$ ，式中  $C_x = C_s + \Delta C$ ， $C_s$  是一个确定的较大值， $\Delta C$  或  $\Delta C_x$  很小，所以，测定结果非常准确，误差很小。

## 2. 多组分的定量分析

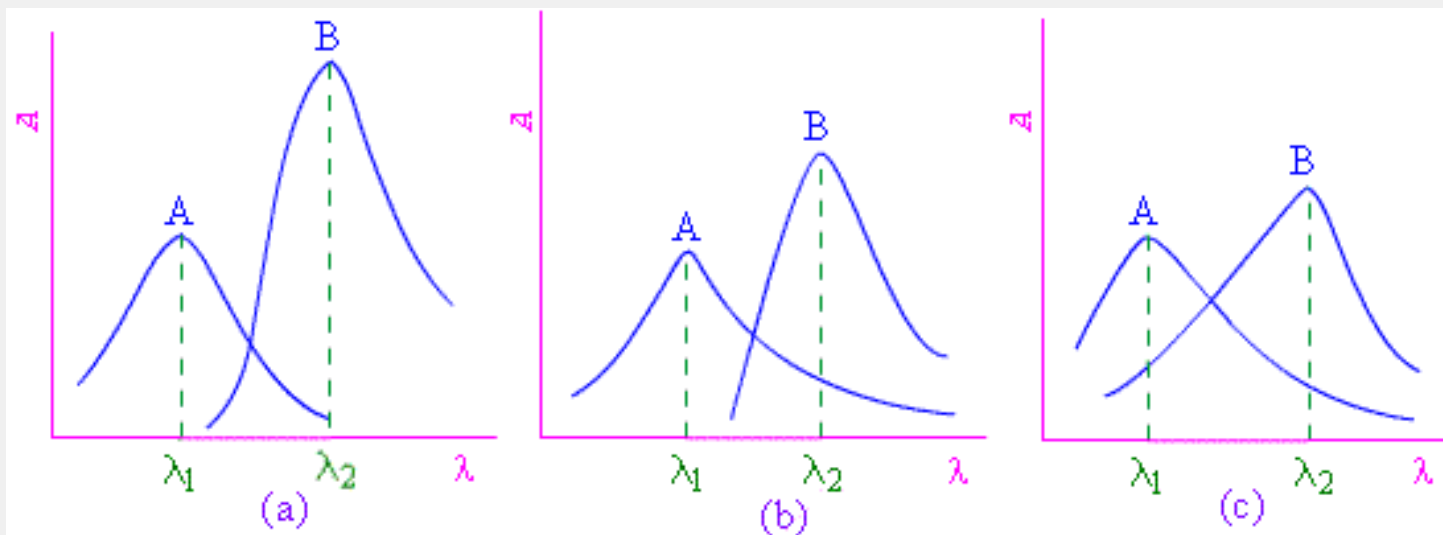


图13.20 混合物的紫外吸收光谱(a)不重叠(b)部分重叠(c)相互重叠

根据吸光度具有**加和性**的特点，在同一试样中可以同时测定两个或两个以上组分。





◆ 两组分互不干扰，可以用测定单组分的方法分别在  $\lambda_1$ 、 $\lambda_2$  测定A、B两组分；

◆ A组分对B组分的测定有干扰，而B组分对A组分的测定无干扰，则可以在  $\lambda_1$  处单独测量A组分，求得A组分的浓度  $C_A$ 。然后在  $\lambda_2$  处测量溶液的吸光度  $A_{\lambda_2}^{A+B}$  及A、B纯物质的  $\epsilon_{\lambda_2}^A$  和  $\epsilon_{\lambda_2}^B$  值，根据吸光度的加和性，即得：

$$A_{\lambda_2}^{A+B} = A_{\lambda_2}^A + A_{\lambda_2}^B = \epsilon_{\lambda_2}^A b C_A + \epsilon_{\lambda_2}^B b C_B$$

则可以求出  $C_B$ 。

## ◆ 解联立方程

---

情况表明两组分彼此互相干扰，此时，在  $\lambda_1$ 、 $\lambda_2$  处分别测定溶液的吸光度  $A_{\lambda_1}^{A+B}$  及  $A_{\lambda_2}^{A+B}$ ，而且同时测定A、B纯物质的  $\epsilon_{\lambda_1}^A$ 、 $\epsilon_{\lambda_2}^A$  及  $\epsilon_{\lambda_1}^B$ 、 $\epsilon_{\lambda_2}^B$ 。然后列出联立方程：

$$A_{\lambda_1}^{A+B} = \epsilon_{\lambda_1}^A b C_A + \epsilon_{\lambda_1}^B b C_B$$

$$A_{\lambda_2}^{A+B} = \epsilon_{\lambda_2}^A b C_A + \epsilon_{\lambda_2}^B b C_B$$

解得  $C_A$ 、 $C_B$ 。



## 双波长分光光度法

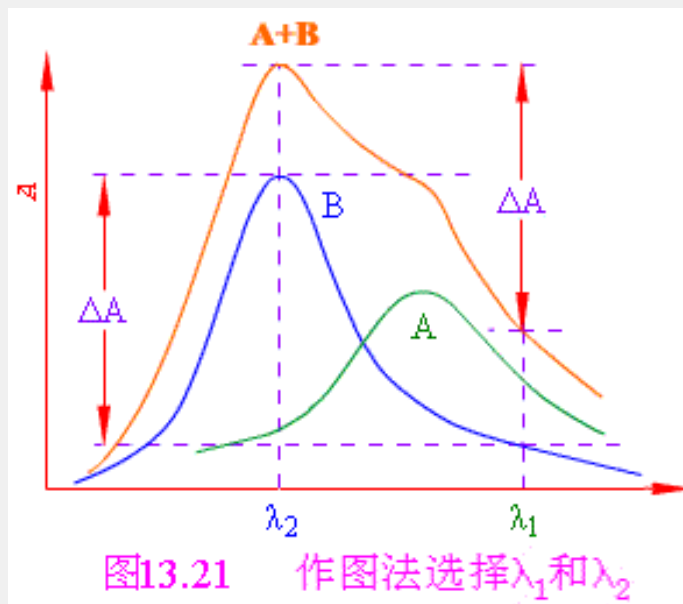
---

当试样中两组分的吸收光谱重叠较为严重时，用解联立方程的方法测定两组分的含量可能误差较大，这时可以用双波长分光光度法测定。它可以进行一组分在其它组分干扰下，测定该组分的含量，也可以同时测定两组分的含量。双波长分光光度法定量测定两混合物组分的主要方法有等吸收波长法和系数倍率法两种。



## (a) 等吸收波长法

试样中含有A、B两组分，若要测定B组分，A组分有干扰，采用双波长法进行B组分测量时方法如下：为了要能消除A组分的吸收干扰，一般首先选择待测组分B的最大吸收波长 $\lambda_2$ 为测量波长，然后用作图法选择参比波长 $\lambda_1$ ，作法如下图所示。



在  $\lambda_2$  处作一波长轴的垂直线，交于组分**B**吸收曲线的另某一点，再从这点作一条平行于波长轴的直线，交于组分**B**吸收曲线的另一点，该点所对应的波成为参比波长  $\lambda_1$ 。可见组分**A**在  $\lambda_2$  和  $\lambda_1$  处是**等吸收点**：

$$A_{\lambda_2}^A = A_{\lambda_1}^A$$

由吸光度的加和性可见，混合试样在  $\lambda_2$  和  $\lambda_1$  处的吸光度可表示为：

$$A_{\lambda_2} = A_{\lambda_2}^A + A_{\lambda_2}^B$$

$$A_{\lambda_1} = A_{\lambda_1}^A + A_{\lambda_1}^B$$

---

双波长分光光度计的输出信号为  $\Delta A$ :

$$\Delta A = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = A_{\lambda_2}^B + A_{\lambda_2}^A - A_{\lambda_1}^B - A_{\lambda_1}^A$$

因 为:  $A_{\lambda_2}^A = A_{\lambda_1}^A$

所 以:  $\Delta A = A_{\lambda_2}^B - A_{\lambda_1}^B = (\epsilon_{\lambda_2}^B - \epsilon_{\lambda_1}^B)bcC_B$

可见仪器的输出讯号  $\Delta A$  与干扰组分 **A** 无关, 它只正比于待测组分 **B** 的浓度, 即消除了 **B** 的干扰。



## (2) 系数倍率法

当干扰组分A的吸收光谱曲线不呈峰状，仅是陡坡状时，不存在两个波长处的等吸收点时，如图所示。在这种可采用系数倍率法测定B组分，并采用双波长分光光度计来完成。

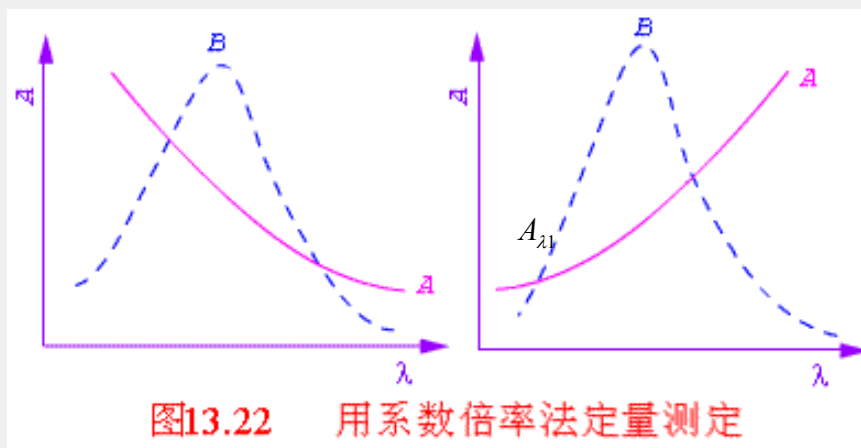


图13.22 用系数倍率法定量测定

选择两个波长  $\lambda_1$ 、 $\lambda_2$ ，分别测量A、B混合液的吸光度  $A_{\lambda_1}$ 、 $A_{\lambda_2}$ ，利用双波长分光光度计中差分函数放大器，把  $A_{\lambda_1}$ 、 $A_{\lambda_2}$  分别放大  $k_1$ 、 $k_2$  倍，获得、两波长处测得的差示信号S：

$$S = k_2 A_{\lambda 2} - k_1 A_{\lambda 1} = k_2 A_{\lambda 2}^B + k_2 A_{\lambda 2}^A - k_1 A_{\lambda 1}^B + k_1 A_{\lambda 1}^A$$

---

调节放大器，选取和，使之满足

$$K_2 A_{\lambda 2}^A = K_1 A_{\lambda 1}^A$$

得到系数倍率K为

$$k = \frac{k_2}{k_1} = \frac{A_{\lambda 1}^A}{A_{\lambda 2}^A}$$

则：
$$S = k_2 A_{\lambda 2}^B - k_1 A_{\lambda 1}^B = (k_2 \varepsilon_{\lambda 2}^B - k_1 \varepsilon_{\lambda 1}^B) b C_B$$

差示信号S与待测组分B的浓度 $C_B$ 成正比，与干扰组分A无关，即消除了A的干扰。





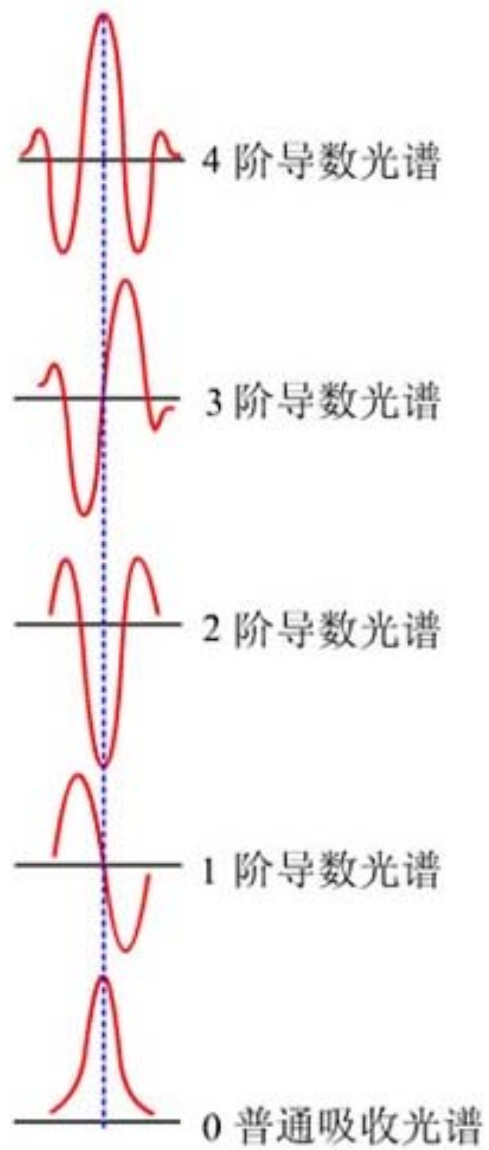
## • 导数分光光度法

---

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = \frac{d^n \varepsilon}{d\lambda^n} bC$$

固定 $\lambda_1$ 和 $\lambda_2$ 两波长差为**1-2nm**进行波长扫描，得到一阶导数光谱( $\Delta A/\Delta\lambda \sim \lambda$ )。有的仪器还带有测定二阶导数光谱的电路。





## • 导数分光光度法

---

(1) 灵敏度取决于  $\frac{d\varepsilon}{d\lambda}$ ，拐点  $\frac{d\varepsilon}{d\lambda}$  最大，灵敏度最高；

(2) 可减小光谱干扰。在分辨多组分混合物的谱带重叠、增强次要光谱(如肩峰)的清晰度以及消除混浊样品散射的影响时有利。



用于定量分析的导数光谱法有以下几种：

葛

---

### (1) 峰—谷法

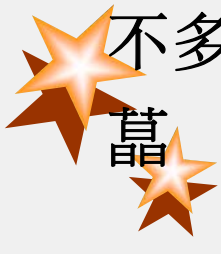
它是常用的分析方法，是通过测量两个相邻值(极大或极小)之间的距离 $L$ 作为测量信号一导数值。葛

### (2) 正切法

又叫基线法，它是先作两相邻峰的公切线，然后由两峰的谷引一条平行于纵坐标的直线交于公切线于A点，测量谷到A点的距离 $M$ 即为导数值。葛

### (3) 峰—零法

测量峰和基线之间的垂直距离 $N$ 即为导数值。此法用得不多。它只适用于信号对称于坐标的高阶导数光谱求值法。



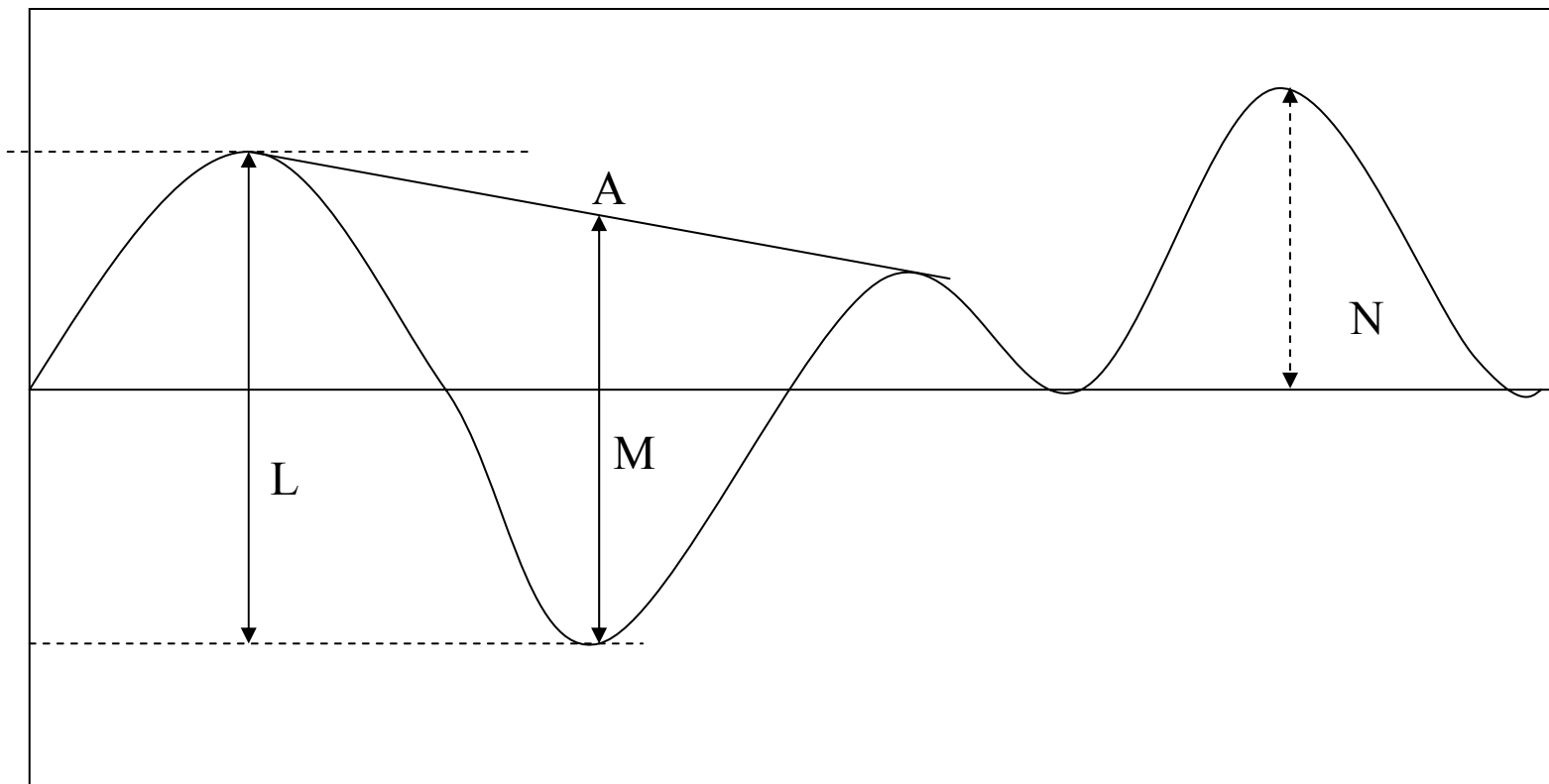


图9-28 导数光谱的测量法

葛

L-峰谷法，M-切线法，N-峰零法

# ◆ 配合物组分及其稳定性常数的测定

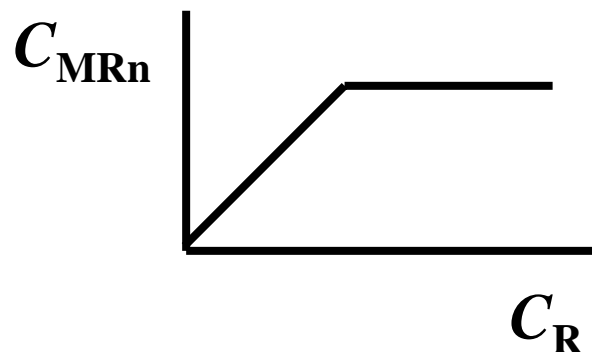
## 1. 摩尔比法测络合比（饱和法）



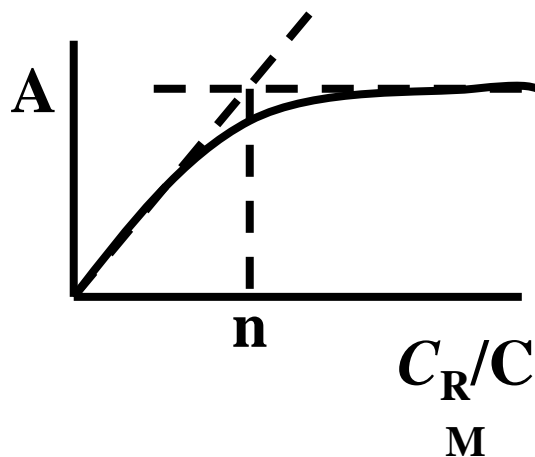
$C_M$ , 固定;

$C_R$ , 从 0 开始增大

在特定波长测定

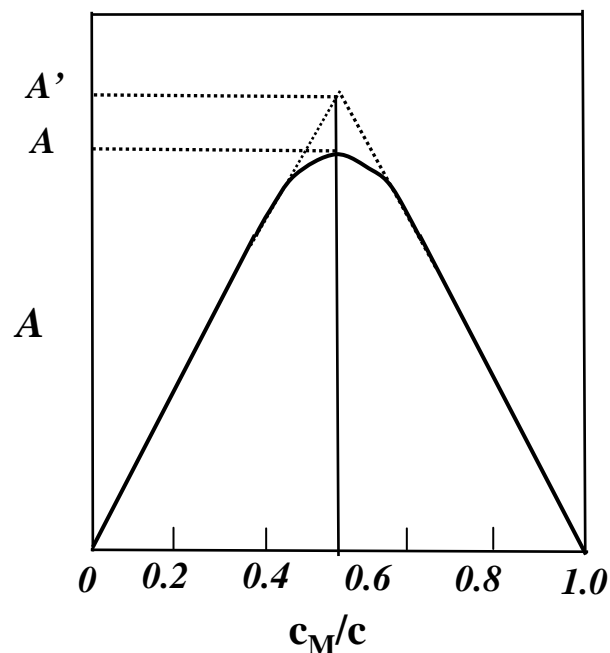


●  $\epsilon_R = 0$ ,  $\epsilon_M = 0$ ,  $\epsilon_{MR_n} > 0$

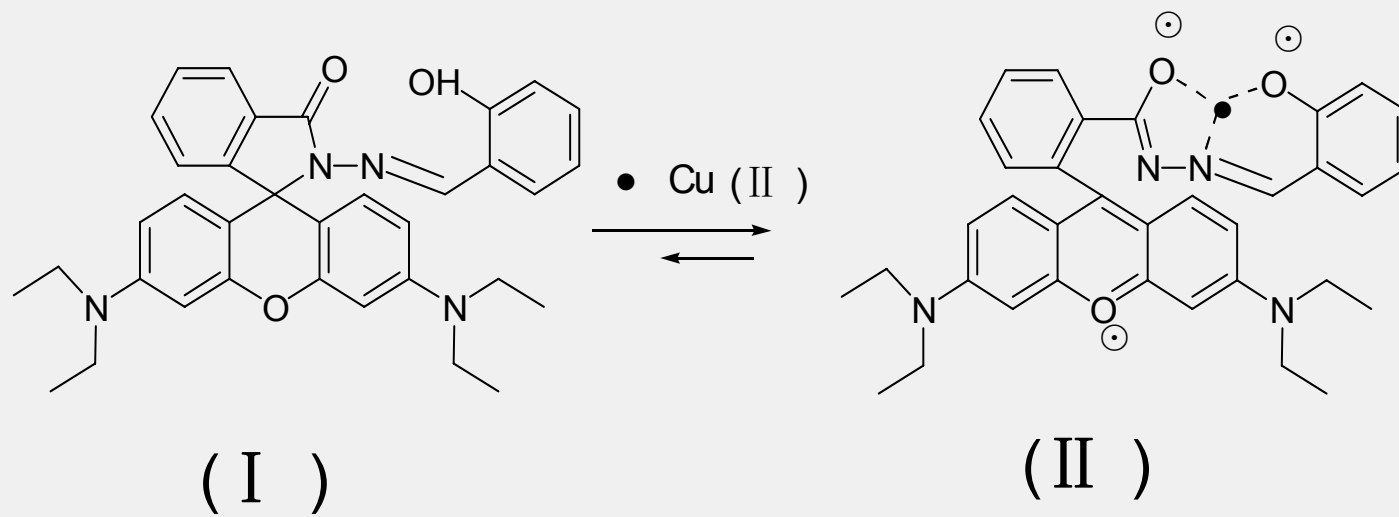


## 2) 等摩尔连续变化法(Job法)

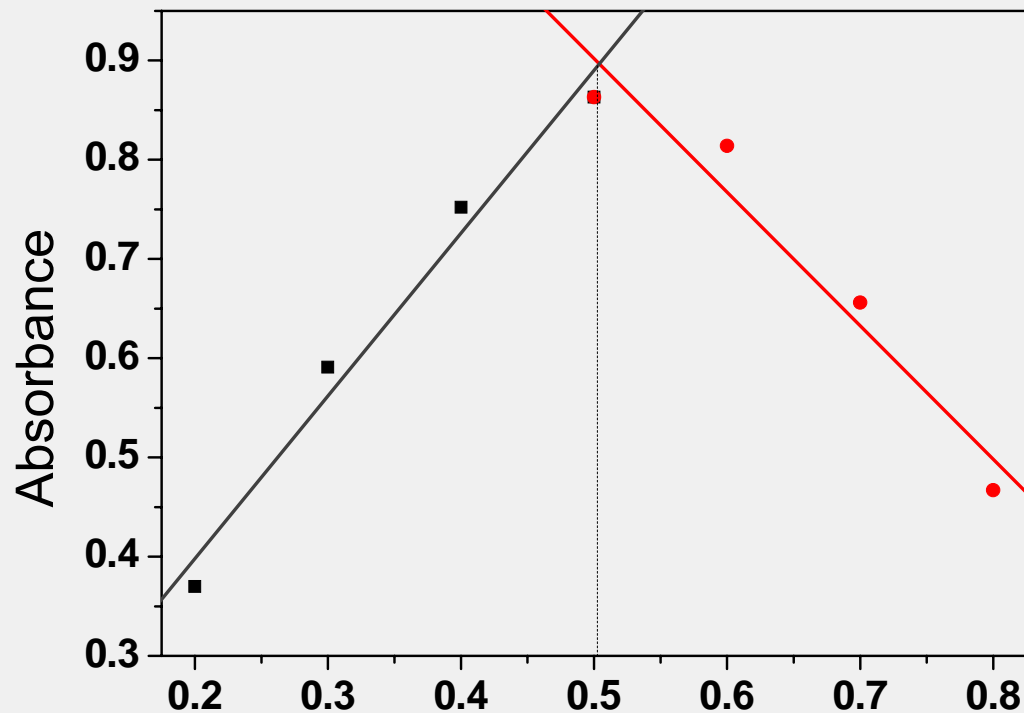
具体做法：保持 $c_R+c_M=c$  恒定，但改变 $c_M$ 与 $c_R$ 的相对比例，若以 $c_M/c$ 对吸光度A作图，当达最大吸光度时 $c_M/c_R$ 之比即为配位比。由两曲线外推的交点所对应的 $c_M/c$ 亦可得出配位比。若比值为0.5，则配位比 $n$ 为1:1；若比值为0.33，则配位比 $n$ 为1:2.....或者 $n=(1-c_M/c)/(c_M/c)$



该法适于离解度小、配合比低的配合物组成测定。







### 等摩尔连续变化法测Cu(II)与化合物 I 的配合比

The total concentration of I and copper was  $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . The absorbance was measured at 558 nm in 40% ethanol aqueous solution.

## ◆ 条件稳定常数的测定

由于络合物离解引起

$$A' < A$$

离解度  $a = \frac{A - A'}{A}$

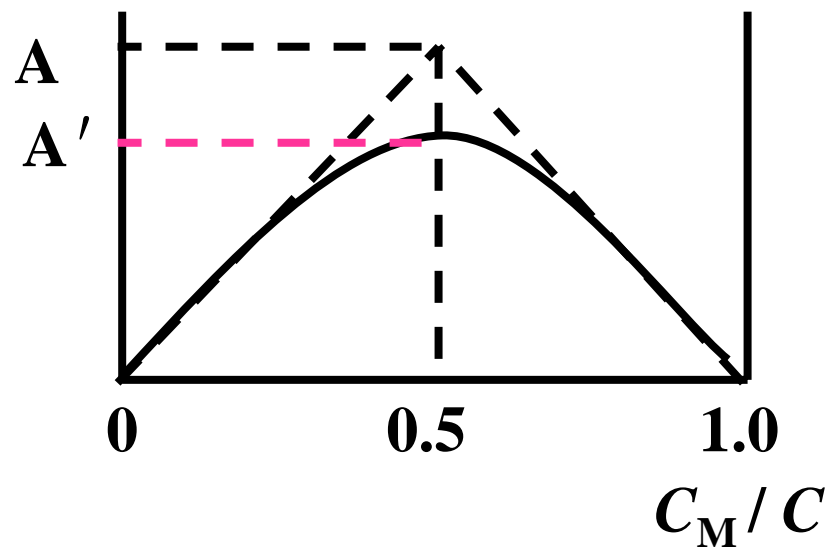


总浓度  $C$

平衡浓度  $C(1-a)$      $Ca$      $Ca$

$$K' = \frac{C(1-a)}{C^2 a^2} = \frac{(1-a)}{Ca^2}$$

将  $a = \frac{A - A'}{A}$  代入上式便可求出络合物的条件稳定常数



## ◆ 弱酸离解常数的测定

设有一元弱酸 $HB$ ，其离解反应如下：



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

$$pK_a = pH - \lg \frac{[B^-]}{[HB]}$$

若测出 $[B^-]$ 和 $[HB]$ ，即可求出 $K_a$ 。

测定时，配制 $n$ 份浓度 $c$ 相同而 $pH$ 值不同的溶液。在某确定的波长下测定各溶液的吸光度 $A$ 值。



---

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

$$c = [HB] + [B^-]$$

在强酸性介质中，近似认为该酸只以 [HB] 型体存在。

$$\varepsilon[HB] = \frac{A_{[HB]}}{c}$$

在强碱性介质中，近似认为该酸主要以 [B<sup>-</sup>] 型体存在。

$$\varepsilon[B^-] = \frac{A_{[B^-]}}{c}$$



整理后，得：

---

$$\text{p}K_{\text{a}} = \text{pH} + \lg \frac{A - A_{[\text{B}^-]}}{A_{[\text{HB}]} - A}$$

$A_{[\text{HB}]}$ ， $A_{[\text{B}^-]}$ 分别为弱酸定量的以**B-**和**HB**型体存在时在测得的吸光度值，该两值是不变的。 $A$ 为某一确定pH值时测定的吸光度。

对于一系列n个c相同而pH值不同的HB溶液，可测得n个pka值，然后取其平均值。



## 例 题:

---

若甲基橙的浓度为 $0.2 \text{ mmol L}^{-1}$ 时,在不同的pH缓冲溶液中,以 $1.0\text{cm}$ 吸收池于 $520\text{nm}$ 波长测得数据如下:

pH	0.88	1.17	2.99	3.41	3.95	4.89	5.50
A	0.890	0.890	0.692	0.552	0.385	0.260	0.260

计算甲基橙的pKa值。

