



高等学校“十一五”规划教材

仪器分析实验

白玲 石国荣 罗盛旭 主编

YIQI
FENXI
SHIYAN



化学工业出版社

本书共 13 章, 52 个实验, 内容包括紫外-可见分光光度法、分子荧光分析法、原子发射光谱法、原子吸收光谱法、红外吸收光谱法、电位分析法、电导分析法、电解和库仑分析法、伏安法和极谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、实验数据的计算机处理和模拟、其他仪器分析法等; 在内容上兼顾无机分析、有机分析、成分分析和结构分析, 以及定性分析、定量分析、物理参数的测定和计算机在仪器分析中的应用等实验。

本教材符合仪器分析实验教学的要求, 系统性强, 内容全面、新颖、简洁明了, 便于阅读。

本书可作为高等院校化学、应用化学等专业本科生及农学、动物科学、生物工程、环境工程、食品工程等近化学专业本科生开设仪器分析实验课程的教材, 同时也可作为其他分析测试人员的参考书。

图书在版编目 (CIP) 数据

仪器分析实验/白玲, 石国荣, 罗盛旭主编. —北京: 化学工业出版社, 2010. 8
高等学校“十一五”规划教材
ISBN 978-7-122-08605-1

I. ①仪… II. ①白… ②石… ③罗… III. ①仪器
分析-实验-高等学校-教材 IV. ①O657-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 115208 号

责任编辑: 宋林青
责任校对: 顾淑云

文字编辑: 刘志茹
装帧设计: 史利平

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 北京市彩桥印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张 10½ 字数 252 千字 2010 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 18.00 元

版权所有 违者必究

《仪器分析实验》编委会

主 编 白 玲 石国荣 罗盛旭

副主编 王宇昕 刘文杰 汪徐春 李铭芳

编 委 (以姓氏拼音排序)

白红进 白 玲 李铭芳 梁振益 刘灿明

刘文杰 罗盛旭 毛 杰 石国荣 孙红专

唐 婧 汪小强 汪徐春 王宇昕 吴东平

邢志勇 熊远福 杨 玲 杨晓红 朱金坤

主 审 张永忠

前 言

本书为高等学校“十一五”规划教材。本书根据仪器分析实验教学大纲的要求,汲取了近年来国内外仪器分析和仪器分析实验教材的众多优点编写而成。为适应 21 世纪高等院校化学类和非化学类本科专业实验教学改革的需要,我们增加了计算机在仪器分析中的应用等实验,以适应国内外仪器分析学科的飞速发展。本书可作为高等院校化学、应用化学等专业本科生及农学、动物科学、生物工程、环境工程、食品工程等非化学专业本科生开设仪器分析实验课程的教材,同时也可作为其他分析测试人员的参考书。

仪器分析实验是仪器分析课程的重要组成部分,是一门实践性很强的学科,是培养学生的基本操作技能,严谨求实的科学态度,观察问题、分析问题和解决问题能力极为重要的环节。编者力求体现教材的科学性、先进性与实用性。本教材符合仪器分析实验教学的要求,系统性强,内容全面、新颖、简洁明了,便于阅读和使用。

全书共 13 章,共编写了 52 个实验。实验内容包括紫外-可见分光光度法、分子荧光分析法、原子发射光谱法、原子吸收光谱法、红外吸收光谱法、电位分析法、电导分析法、电解和库仑分析法、伏安法和极谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、实验数据的计算机处理和模拟、其他仪器分析法等;在内容上兼顾无机分析、有机分析、成分分析和结构分析等,涉及定性分析、定量分析、物理参数的测定和计算机在仪器分析中的应用等实验。

参加本教材编写的教师均是长期从事仪器分析教学和科研工作的人员,具有丰富的教学经验和较高的学术水平。参加本书编写工作的有:江西农业大学白玲、李铭芳、吴东平、汪小强,湖南农业大学石国荣、熊远福、刘灿明,海南大学罗盛旭、梁振益、杨晓红,东北农业大学王宇昕、邢志勇,塔里木大学刘文杰、白红进、杨玲、孙红专,安徽科技学院汪徐春、毛杰、朱金坤、唐婧。全书由主编修改统稿,东北农业大学张永忠主审。

本书在编写过程中,得到了参编各学校和相关院系的大力支持和帮助,参阅了一些兄弟院校的教材,并吸收了一些内容,在此表示感谢。限于编者水平,难免有疏漏欠妥之处,恳请同行专家和使用本书的同学批评指正,以期再版时改正。

编 者
2010 年 5 月

目 录

仪器分析实验的基本要求	1
第 1 章 紫外-可见分光光度法	2
1.1 基本原理	2
1.2 紫外-可见分光光度计	5
1.3 实验部分	8
实验一 高锰酸钾和重铬酸钾混合物各组分含量的测定	8
实验二 紫外吸收光谱法测定苯甲酸的含量	9
实验三 双波长法同时测定维生素 C 和维生素 E 的含量	11
实验四 紫外吸收光谱法鉴定苯酚及其含量的测定	12
实验五 分光光度法测定混合液中 Co^{2+} 和 Cr^{3+} 的含量	13
实验六 紫外分光光度法测定水中总酚的含量	15
实验七 邻二氮菲分光光度法测定铁的含量	16
实验八 不同溶剂中苯酚的紫外光谱研究	18
第 2 章 分子荧光分析法	20
2.1 基本原理	20
2.2 荧光分析仪器	22
2.3 实验部分	23
实验九 以 8-羟基喹啉为络合剂荧光法测定铝的含量	23
实验十 荧光光度法测定维生素 B_2 的含量	24
实验十一 荧光法测定乙酰水杨酸和水杨酸含量	26
第 3 章 原子发射光谱法	29
3.1 基本原理	29
3.2 发射光谱分析仪器	30
3.3 实验部分	30
实验十二 火焰光度法测定样品中的钾、钠	30
实验十三 ICP-AES 同时测定矿泉水中钙、镁和铁	33
第 4 章 原子吸收光谱法	36
4.1 基本原理	36
4.2 原子吸收分光光度计	37
4.3 实验部分	40
实验十四 火焰原子吸收光谱法测定水中的钙	40
实验十五 原子吸收光谱法测定井水、河水中的镁	43

实验十六 原子吸收光谱法测定锌·····	44
实验十七 火焰原子吸收法测定样品中的铜含量·····	46
实验十八 石墨炉原子吸收光谱法测定水样中铜含量·····	48
第 5 章 红外吸收光谱法 ·····	51
5.1 基本原理·····	51
5.2 红外吸收光谱仪·····	52
5.3 实验部分·····	55
实验十九 溴化钾压片法测绘抗坏血酸的红外吸收光谱·····	55
实验二十 苯甲酸和丙酮红外吸收光谱的测定·····	57
实验二十一 红外光谱法鉴定黄酮结构·····	60
实验二十二 红外光谱法定性测定三溴苯酚·····	61
第 6 章 电位分析法 ·····	62
6.1 基本原理·····	62
6.2 电极和测量仪器·····	62
6.3 实验部分·····	68
实验二十三 氟离子选择性电极测定水中氟含量·····	68
实验二十四 红色食醋中醋酸浓度的自动电位滴定·····	71
实验二十五 电位滴定法测定某弱酸的 K_a 值·····	72
实验二十六 自动电位滴定法测定混合碱中 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 的含量·····	73
实验二十七 电位滴定法测定果汁中的可滴定酸·····	75
第 7 章 电导分析法 ·····	78
7.1 基本原理·····	78
7.2 电极及测量仪器·····	80
7.3 实验部分·····	84
实验二十八 电导法测定水质纯度·····	84
实验二十九 电导滴定法测定醋酸的解离常数·····	85
第 8 章 电解分析法和库仑分析法 ·····	87
8.1 基本原理·····	87
8.2 HDK-1 型恒电流库仑仪·····	90
8.3 实验部分·····	92
实验三十 库仑滴定法测定维生素 C 含量·····	92
第 9 章 伏安法和极谱法 ·····	95
9.1 基本原理·····	95
9.2 极谱仪·····	97
9.3 实验部分·····	98
实验三十一 阳极溶出伏安法测定水中微量镉·····	98

第 10 章 气相色谱法	101
10.1 基本原理	101
10.2 气相色谱仪	101
10.3 实验部分	102
实验三十二 气相色谱的定性和定量分析	102
实验三十三 气相色谱法测定食用酒中乙醇含量	103
实验三十四 气相色谱法测定生物柴油中脂肪酸甲酯含量	105
实验三十五 气相色谱法测定醇的同系物	106
实验三十六 气相色谱法测定农药残留量	107
实验三十七 内标法分析低度大曲酒中的杂质	109
实验三十八 气相色谱法测定白酒中的甲醇	110
第 11 章 高效液相色谱法	112
11.1 基本原理	112
11.2 高效液相色谱仪	113
11.3 实验部分	113
实验三十九 高效液相色谱法测定咖啡因含量	113
实验四十 内标法测定联苯	115
实验四十一 饮料中咖啡因的高效液相色谱分析	116
实验四十二 高效液相色谱法快速测定大豆异黄酮制品中的有效成分	118
实验四十三 反相液相色谱法分离芳香烃	119
实验四十四 高效液相色谱法测定对羟基苯甲酸酯类化合物	121
实验四十五 高效液相色谱法测定阿维菌素原料药中阿维菌素的含量	122
第 12 章 其他仪器分析法	124
实验四十六 常见阴离子色谱分析	124
实验四十七 核磁共振波谱法测定化合物的结构	125
实验四十八 油脂中脂肪酸的气相色谱-质谱联用分析	126
实验四十九 流动注射-分光光度法测定水中的痕量 Cr(Ⅲ) 和 Cr(Ⅵ)	127
实验五十 X 射线光谱法	128
第 13 章 实验数据的计算机处理和模拟	131
13.1 分析数据的统计处理	131
13.2 用最小二乘法处理标准曲线测量数据	137
13.3 实验部分	139
实验五十一 利用 Excel 软件处理实验数据	139
实验五十二 计算机模拟	144
附录	149
附录一 pH 标准缓冲溶液的组成和性质	149
附录二 极谱半波电位 (25℃)	149
附录三 KCl 溶液的电导率	151

附录四	无限稀释时常见离子的摩尔电导率 (25℃)	151
附录五	原子吸收分光光度法中常用的分析线	152
附录六	原子吸收分光光度法中的常用火焰	152
附录七	红外光谱的九个重要区段	153
附录八	气相色谱常用固定液	153
附录九	气相色谱相对质量校正因子 (f)	153
附录十	高效液相色谱固定相与应用	155
附录十一	高效液相色谱法常用流动相的性质	157
参考文献		158

仪器分析实验的基本要求

一、基本要求

1. 了解有关分析方法及其仪器结构的基本原理、仪器的主要组成部件和它们的简单工作过程。

2. 掌握有关分析方法的实验技术，正确使用仪器。未经教师允许不得随意改变操作参数，更不得改换、拆卸仪器的零部件。

3. 了解有关分析方法的特点、应用范围及局限性。学会根据试样情况选择最合适的分析方法及最佳测试条件。

4. 掌握有关分析方法的分析步骤和对测试数据进行处理的方法。

5. 维护实验室的仪器设备，每次实验完成后，要使仪器复原，罩好防尘罩。如发现仪器工作不正常，要做好记录并及时报告，由教师和实验室工作人员进行处理。

二、学生实验规则

1. 实验前要认真预习，明确实验目的、要求、步骤、方法和基本原理，并写好实验预习报告，方能进入实验室。

2. 实验时应遵守实验室各项制度和章程，以保证实验顺利进行和实验室安全。

3. 遵守纪律、不迟到、不早退，保持室内安静。

4. 爱护仪器，节约水、电、试剂等公共财物。

5. 实验过程中，应随时注意地面、桌面、仪器的整洁，火柴、纸张投入废纸篓中，废液只能倒入废液缸中，以免堵塞、腐蚀水槽及下水道。

6. 对实验中的一切现象和数据都应如实地用钢笔记录在报告本上，实验完毕，要将实验报告交给指导教师审阅。

7. 细心地操作分析仪器（紫外、红外光谱仪、原子吸收光谱仪、722 型分光光度计、分析天平等），如有损坏，立即报告指导教师。

8. 完成实验后，要清洗、整理仪器、药品，检查水、电开关，经指导教师检查、同意后，方可离开实验室。

第 1 章 紫外-可见分光光度法

1.1 基本原理

1.1.1 分子吸收光谱的产生

紫外-可见分光光度法也称紫外-可见吸收光谱法，属分子吸收光谱法，是利用某些物质对 200~780nm 光谱区辐射的吸收进行分析测定的一种方法。紫外-可见吸收光谱是由于分子的价电子在电子能级间跃迁产生的，故也称电子光谱。

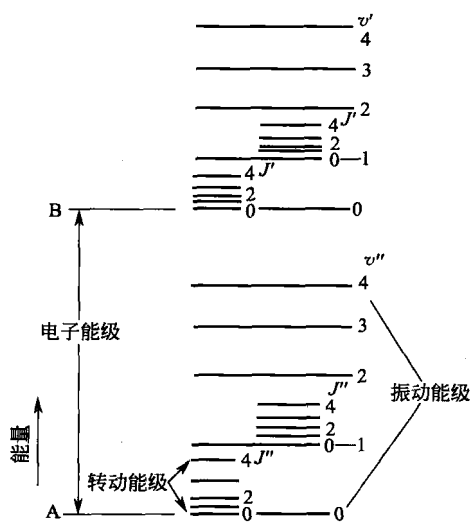


图 1.1 双原子分子中电子能级、振动能级和转动能级示意图

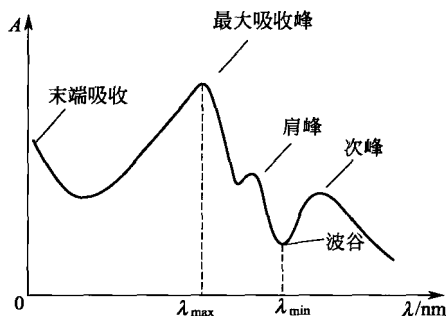


图 1.2 吸收曲线

图 1.1 是双原子分子的能级示意图。图中 A 是电子能级的基态，B 是电子能级的最低激发态。在同一电子能级内，分子的能量会因振动能量的不同而分成若干振动能级 ($v=0, 1, 2, 3, \dots$)。当分子处于某一电子能级中的某一振动能级时，分子的能量还会因转动能量的不同再分为若干转动能级 ($J=0, 1, 2, 3, \dots$)。显然，电子能级的能量差 ΔE_e 、振动能级的能量差 ΔE_v 和转动能级的能量差 ΔE_r 间的相对大小关系为： $\Delta E_e > \Delta E_v > \Delta E_r$ 。

根据量子理论，如果分子从外界吸收的辐射能 ($h\nu$) 等于该分子的较高能级与较低能级的能量差时，分子将从较低能级跃迁至较高能级。

当用紫外、可见光照射分子时，产生价电子跃迁，电子能级的跃迁会伴随若干振动能级和转动能级的跃迁，产生的吸收光谱包含了大量谱线，这些谱线很接近，相互叠加，在紫外-可见光谱仪上很难将它们分开，使得实际观察到的电子光谱不是线状，而是由无数条谱线组成的光谱带，因此，紫外-可见吸收光谱属于连续带状光谱。

物质分子的内部结构不同，分子的能级也千差万别，各能级之间的能级差也不同，因此它们会选择性地吸收不同波长的光。如果改变通过某吸收物质入射光的波长，记录该物质在每一波长处的吸光度，然后以吸光度 (A) 对波长 (λ) 作图，即得该物质的吸收光谱，亦称为吸收曲线，如图 1.2 所示。某物质的吸收光谱反映了它在不同的光谱区域内吸收能力的分布情况，吸收曲线的形状、吸收峰



的位置、强度及数目为研究物质的内部结构提供了重要的信息。

1.1.2 紫外-可见吸收光谱与分子结构的关系

1.1.2.1 有机化合物

有机化合物的紫外-可见吸收光谱取决于有机化合物分子的结构及分子轨道上电子的性质。按照分子轨道理论,有机化合物分子中的价电子包括形成单键的 σ 电子、形成重键的 π 电子和非成键的 n 电子。当分子吸收一定能量后,其价电子从能量较低的轨道跃迁至能量较高的反键轨道,如图1.3所示, σ 、 π 表示成键分子轨道; n 表示非成键分子轨道; σ^* 、 π^* 表示反键分子轨道。

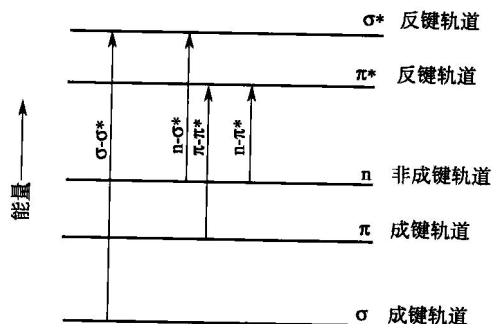


图1.3 各种电子跃迁相应的吸收峰和能量示意图

一个有机化合物分子对紫外、可见光的特征吸收,可以用最大吸收波长($\lambda_{\max}$)来表示。图1.3定性地表示了儿种分子轨道能量的相对大小和各种类型的电子跃迁所需能量大小。从化合物的性质来看,与紫外-可见吸收光谱有关的电子跃迁是 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \pi^*$ 和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 。

(1) $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 含有杂原子S、N、O、P、卤素原子的饱和有机化合物都可以发生这种跃迁。 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁的大多数吸收峰出现在波长200nm以下,在紫外区不易观察到这类跃迁。

(2) $n \rightarrow \pi^*$ 和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁 这两类跃迁一般出现在波长大于200nm的紫外区,要求有机化合物分子中含有 π 键的不饱和基团,例如碳碳双键、羰基、硝基等。还有一些含有非成键 n 电子的基团,例如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 及卤素元素等。 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生强吸收带,摩尔吸光系数可达 $10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,而 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收光谱的强度小,摩尔吸光系数一般在 $500 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 以下。

如果有机化合物含有几个生色团(分子中能吸收紫外或可见光的结构单元称为生色团,它是含有非键轨道和 π 分子轨道的电子体系),且生色团之间不产生共轭效应,该化合物的吸收光谱基本上由这些生色团的吸收带所组成。如果有机化合物中含有多个相同的生色团,其吸收峰的波长基本不变,而摩尔吸光系数将随生色团数目增加而增大。如果有机化合物分子中生色团产生共轭,则原有的吸收峰将发生红移,同时摩尔吸光系数也增大。

1.1.2.2 无机化合物

(1) 电荷转移吸收光谱 某些无机化合物的分子同时具有电子给予体和电子接受体部分,当辐射照射到这些化合物时,电子从给予体外层轨道跃迁到接受体轨道,这种由于电子转移产生的吸收光谱,称为电荷转移光谱。在配合物的电荷转移过程中,金属离子通常是电子接受体,配位体是电子给予体。许多无机配合物都能发生这种电荷转移光谱。电荷转移光谱的最大特点是吸收强度大,摩尔吸光系数一般超过 $10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,这为高灵敏度测定某些化合物提供了可能性。

(2) 配位体场吸收光谱 过渡元素都有未填满的 d 电子层,镧系和锕系元素含有 f 电子层,这些电子轨道的能量通常是相等的(简并)。当这些金属离子处在配体形成的负电场中时,低能态的 d 电子或 f 电子可以分别跃迁到高能态的 d 轨道或 f 轨道,这两类跃迁分别称为 d 电子跃迁和 f 电子跃迁。由于这两类跃迁必须在配体的配位场作用下才能发生,因此又

称为配位体场跃迁, 相应的光谱称为配位体场吸收光谱。配位体场吸收光谱通常位于可见光区, 强度较弱, 摩尔吸光系数为 $0.1 \sim 100 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 对于定量分析应用不大, 多用于配合物的研究。

在无机分析中, 因为金属离子本身的吸光系数值都比较小, 所以一般都是利用显色反应使它们生成对紫外或可见光有较大吸收的物质再测定。常见的显色反应类型主要有配位反应、氧化还原反应以及衍生化反应等, 其中配位反应应用最广。

利用紫外-可见吸收光谱对物质进行定性和定量分析的方法就是紫外-可见分光光度法。能直接吸收紫外、可见光的物质可直接进行定性、定量分析, 而那些不吸收紫外或可见光的物质可利用显色反应使其转化为可吸收紫外、可见光的物质后再进行测定。

1.1.2.3 影响紫外可见吸收光谱的因素

(1) 共轭效应 共轭效应使共轭体系形成大 π 键, 结果使各能级间能量差减小, 跃迁所需能量减小。因此共轭效应使吸收的波长向长波方向移动、吸收强度也随之加强。随着共轭体系的加长, 吸收峰的波长和吸收强度呈规律性变化。

(2) 助色效应 助色效应使助色团的 n 电子与生色团的 π 电子共轭, 结果使吸收峰的波长向长波方向移动, 吸收强度随之加强。

(3) 超共轭效应 是由于烷基的 σ 键与共轭体系的 π 键共轭而引起的, 其效应同样使吸收峰向长波方向移动, 吸收强度加强。但超共轭效应的影响远远小于共轭效应的影响。

(4) 溶剂的影响 溶剂的极性强弱能影响紫外-可见吸收光谱的吸收峰波长、吸收强度及形状。如改变溶剂的极性, 会使吸收峰波长发生变化。溶剂极性增大, 由 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁所产生的吸收峰向短波方向移动, 而 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收峰向长波方向移动。

1.1.3 朗伯-比耳定律

朗伯-比耳 (Lambert-Beer) 定律是光吸收的基本定律, 也是分光光度法定量分析的理论依据和计算基础。当一束平行的单色光通过浓度一定的均匀溶液时, 该溶液对光的吸收程度与溶液层的厚度 b 成正比, 这种关系称为朗伯定律。当单色光通过液层厚度一定的均匀的吸收溶液时, 该溶液对光的吸收程度与溶液的浓度 c 成正比, 这种关系称为比耳定律。如果同时考虑溶液浓度与液层厚度对光吸收程度的影响, 即将朗伯定律与比耳定律结合起来, 则可得

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \lg \frac{1}{T} = kbc \quad (1.1)$$

式(1.1)称为 Lambert-Beer 定律的数学表达式。上式中, I_0 、 I 分别为入射光强度和透射光强度; A 为吸光度; T 为透射比 (旧称透光度或透光率); b 为光通过的液层厚度; c 为吸光物质的浓度; k 为比例常数, 与吸光物质的性质、入射光波长及温度等因素相关。

应用 Lambert-Beer 定律时, 应注意: ①该定律应用于单色光, 既适用于紫外-可见光, 也适用于红外光, 是各类分光光度法进行定量分析的理论依据; ②该定律适用于各种均匀非散射的吸光物质, 包括液体、气体和固体; ③吸光度具有加和性, 指的是溶液的总吸光度等于各吸光物质的吸光度之和。根据这一规律, 可以进行多组分的测定及某些化学反应平衡常数的测定。这个性质对于理解分光光度法的实验操作和应用都有着极其重要的意义。

式(1.1)中的比例常数 k 值随浓度 c 所用单位不同而不同。如果 c 的单位为 g/L , k 常用 a 表示, a 称为吸光系数, 其单位是 $\text{L}/(\text{g} \cdot \text{cm})$, 则式(1.1)成为

$$A = abc \quad (1.2)$$



如果浓度 c 的单位为 mol/L , 则常数 k 用 ϵ 表示, ϵ 称为摩尔吸光系数, 其单位是 $\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 此时式(1.2) 成为

$$A = \epsilon bc \quad (1.3)$$

吸光系数 a 和摩尔吸光系数 ϵ 是吸光物质在一定条件、一定波长和溶剂情况下的特征常数。同一物质与不同显色剂反应, 生成不同的有色化合物时具有不同的 ϵ 值, 同一化合物在不同波长处的 ϵ 也可能不同。在最大吸收波长处的摩尔吸光系数, 常以 $\epsilon_{\max}$ 表示。 ϵ 值越大, 表示该有色物质对入射光的吸收能力越强, 显色反应越灵敏。

Lambert-Beer 定律是紫外-可见分光光度法定量分析的依据。当比色皿及入射光强度一定时, 吸光度与待测物质的浓度成正比。

1.2 紫外-可见分光光度计

紫外-可见分光光度计的基本结构都是由五部分组成的, 即光源、单色器、吸收池(样品室)、检测器和信号读出装置, 如图 1.4 所示。

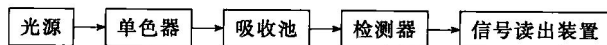


图 1.4 单波长单光束分光光度计基本结构示意图

1.2.1 仪器主要组成

1.2.1.1 光源

光源的作用是提供分析所需的连续光谱。紫外-可见分光光度计常用的光源有热光源和气体放电灯两种。

热光源有钨灯和卤钨灯。钨灯是可见光区和近红外区最常用的光源, 它适用的波长范围为 $320 \sim 2500\text{nm}$ 。钨灯靠电能加热发光。要使钨灯光源稳定, 必须对钨灯的电源电压严加控制。需要采用稳压变压器或电子电压调制器来稳定电源电压。卤钨灯即在钨灯中加入适量的卤化物或卤素, 灯泡用石英制成。卤钨灯有较长的寿命和较高的发光效率。

紫外区的气体放电灯包括氢灯和氘灯, 使用的波长范围为 $165 \sim 375\text{nm}$ 。氘灯的光谱分布与氢灯相同, 但其光强度比同功率的氢灯要大 $3 \sim 5$ 倍, 寿命比氢灯长。

1.2.1.2 单色器

单色器的作用是将光源发出的复合光分解为按波长顺序排列的单色光。它的性能直接影响入射光的单色性, 从而影响测定的灵敏度、选择性和校正曲线的线性关系等。单色器由入射狭缝、反射镜、色散元件、聚焦元件和出射狭缝等几部分组成, 其关键部分是色散元件, 起分光作用。色散元件有两种基本形式: 棱镜和光栅。

(1) 棱镜 由玻璃或石英制成。玻璃棱镜用于 $350 \sim 3200\text{nm}$ 的波长范围, 它吸收紫外光而不能用于紫外分光光度分析。石英棱镜用于 $185 \sim 400\text{nm}$ 的波长范围, 它可用于紫外-可见分光光度计中作分光元件。物质对光的折射率随着光的频率变化而变化, 这种现象称为“色散”。利用色散现象可以将波长范围很宽的复合光分散开来, 成为许多波长范围狭小的“单色光”, 这种作用称为“分光”。当复合光通过棱镜的两个界面时, 发生两次折射, 根据折射定律, 波长小的偏向角大, 波长大的偏向角小, 故能将复合光色散成不同波长的单色光。

(2) 光栅 光栅有多种, 光谱仪中多采用平面闪耀光栅, 即在高度抛光的表面(如铝)

上刻划许多根平行线槽而成。当复合光照射到光栅上时，光栅的每条刻线都产生衍射作用，而每条刻线所衍射的光又会互相干涉而产生干涉条纹。光栅正是利用不同波长的入射光产生的干涉条纹的衍射角不同，波长长的衍射角大，波长短的衍射角小，从而使复合光色散成按波长顺序排列的单色光。

1.2.1.3 吸收池

吸收池，也称样品室、比色皿等，用于盛放试液，由玻璃或石英制成。玻璃吸收池只能用于可见光区，而石英池既可用于可见光区，亦可用于紫外光区。一般分光光度计都配有不同厚度的吸收池，有 0.5cm、1.0cm、2.0cm、3.0cm、5.0cm 等规格供选择使用。

1.2.1.4 检测器

检测器是一种光电转换元件，其作用是将透过吸收池的光信号强度转变成电信号强度并进行测量。过去的光电比色计和低档的分光光度计中常用硒光电池。目前，紫外-可见分光光度计中多用光电管和光电倍增管。

(1) 光电管 光电管是一个真空或充有少量惰性气体的二极管。根据光敏材料的不同，光电管分为紫敏和红敏两种。前者是镍阴极涂有铯和铯，适用波长范围为 200~625nm；后者阴极表面涂银和氧化铯，适用波长范围为 625~1000nm。

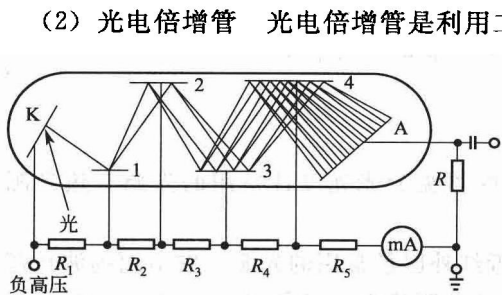


图 1.5 光电倍增管的结构和原理示意图

K—光敏阴极；1~4—倍增极；

R, R₁~R₅—电阻；A—阳极

(2) 光电倍增管 光电倍增管是利用二次电子发射放大光电流的一种真空光敏器件。它由一个光电发射阴极、一个阳极以及若干级倍增极所组成。图 1.5 是光电倍增管的结构和光电倍增原理示意图。

当阴极 K 受到光撞击时，释放出一次光电子，光电子撞击倍增极产生增加了若干倍的二次光电子，这些电子再与下一级倍增极撞击，电子数依次倍增，经过 9~16 级倍增极，最后一次倍增极上产生的光电子可以比最初阴极放出的光电子多约 10^6 倍，最高可达 10^9 倍。最后倍增了的光电子射向阳极 A 形成电流。阳极电

流与入射光强度及光电倍增管的增益成正比，改变光电倍增管的工作电压，可改变其增益。光电流通过光电倍增管的负载电阻 R，即可变成电压信号，送入放大器进一步放大。

(3) 光电二极管阵列检测器 20 世纪 80 年代出现了一种新型紫外检测器——二极管阵列检测器，这是紫外可见光度检测器的一个重要进展。这种检测器一般是一个光电二极管对应接受光谱上一个纳米 (nm) 谱带宽度的单色光。其工作原理为：当复合光透过吸收池后，被组分选择性吸收，透过光具有了组分的光谱特征。此透过光 (复合光) 被光栅分光后，形成组分的吸收光谱。吸收光谱同时照射到光电二极管阵列装置上，使每个纳米光波的光强变成相应的电信号强度，因信号弱需经多次累加，而后给出组分的吸收光谱。这种记录方式不需扫描，因此最短能在几个毫秒的瞬间内获得吸收光谱。如德国生产的 S-3150PDA 型光电二极管阵列紫外-可见分光光度计，采用 1024 管光电二极管阵列检测器能在 0.02s 内获取 190~1100nm 的全波长数据。

1.2.1.5 信号读出装置

早期的分光光度计多采用检流计、微安表作为显示装置，直接读出吸光度或透射比。近代的分光光度计则多采用数字电压表等显示，或者用 X-Y 记录仪直接绘出吸收 (或透射)



曲线，并配有计算机数据处理平台。

1.2.2 几种类型的分光光度计

紫外-可见分光光度计分为单波长和双波长分光光度计两类。单波长分光光度计又分为单光束和双光束分光光度计。

1.2.2.1 单波长单光束分光光度计

单波长单光束分光光度计的基本结构如图 1.4 所示。光源发出的复合光经单色器分光，其获得的单色光通过参比（或空白）吸收池后，照射在检测器上转换为电信号，并调节由读出装置显示的吸光度为零或透射比为 100%，然后将装有被测试液的吸收池置于光路中，最后由读出装置显示试液的吸光度值。这种分光光度计结构简单，价格低廉，操作方便，维修容易，适用于在给定波长处测量吸光度或透射比，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。

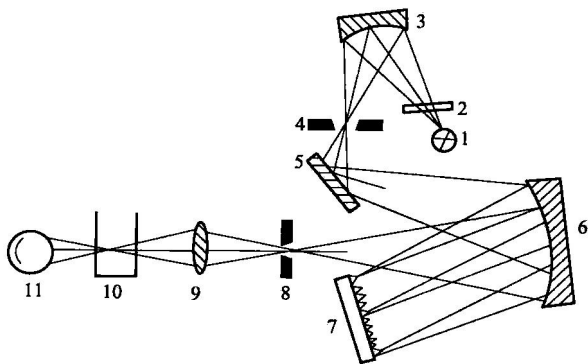


图 1.6 722 型光栅分光光度计光路图

1—钨卤灯；2—滤光片；3,9—聚光镜；
4—入射狭缝；5—反射镜；6—准直镜；7—光栅；
8—出射狭缝；10—吸收池；11—光电管

以 722 型光栅分光光度计为例。它是一种应用较广的简便的可见分光光度计，波长范围为 330~800nm。由钨卤灯光源、单色器、吸收池、光电管以及

微电流放大器、对数放大器、数字显示器和稳压电源等部件组成，光路图如图 1.6 所示。

由钨卤灯光源（1）发出的复合光经滤光片（2）后，再经聚光镜（3）至入射狭缝（4）聚焦成像，然后通过平面反射镜（5）反射至准直镜（6）使成平行光后，被光栅（7）色散，再经准直镜聚焦于出射狭缝（8）。调节波长调节器可获得所需要的单色光，此单色光通过聚光镜（9）和吸收池（10）后，照射在光电管（11）上，所产生的电流经放大后，由数字显示器可直接读出吸光度 A 或透射比 $T\%$ 或浓度 c 。

1.2.2.2 单波长双光束分光光度计

其工作原理为：光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，另一束通过样品池。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（见图 1.7）。双光束分光光度计一般都能自动记录吸收光谱曲线，进行快速全波段扫描。由于两束光同时分别通过参比池和样品池，能自动消除光源不稳定、检测器灵敏度变化等所引起的误差，特别适合于结构分析。不过仪器较为复杂，价格也较高。

1.2.2.3 双波长分光光度计

其工作原理为：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；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 ΔA （ $\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$ ）， ΔA 与吸光物质的浓度成正比，这是用双波长分光光度法进行定量分析的理论依据（见图 1.8）。由于只用一个吸收池，而且以试液本身对某一波长的光的吸光度

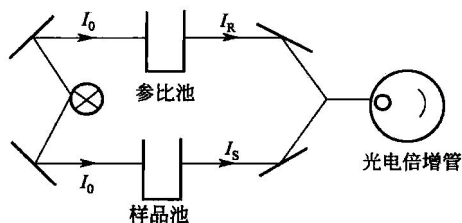


图 1.7 双光束分光光度计原理图

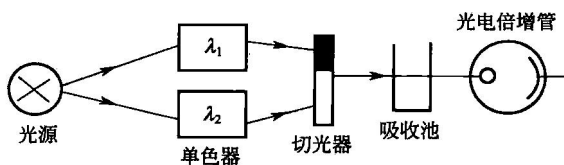


图 1.8 双波长分光光度计原理图

为参比，因此消除了因试液与参比液及两个吸收池之间的差异所引起的测量误差，从而提高了测量的准确度。对于多组分混合物、浑浊试样（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。

1.3 实验部分

实验一 高锰酸钾和重铬酸钾混合物各组分含量的测定

【实验目的】

1. 学习和掌握紫外-可见分光光度计的使用方法。
2. 熟悉测绘吸收曲线的一般方法。
3. 学会用解联立方程组的方法，定量测定吸收曲线相互重叠的二元混合物。

【实验原理】

有色溶液对可见光的吸收具有选择性。利用分光光度计能连续变换波长的性能，可以测绘出有色溶液在可见光区的吸收曲线，从吸收曲线上可找出最大吸收波长（ $\lambda_{\max}$ ），以作为测量时选择波长的依据。

本实验采用溶剂空白为参比，以紫外-可见分光光度计直接进行波长扫描，得出高锰酸钾和重铬酸钾溶液的吸收曲线和测量溶液的吸光度。

一般为了提高检测的灵敏度， λ_1 和 λ_2 应分别选择在 A、B 两组分最大吸收峰处或其附近。根据朗伯-比耳定律和高锰酸钾及重铬酸钾溶液吸收曲线的形状，可选择在 λ_1 为 440nm， λ_2 为 545nm 作为测量波长，测出两单一组分溶液的吸光度，算出两者在两波长下的摩尔吸光系数 ϵ 值，然后再测量混合物在此两波长下的吸光度。根据吸光度具有加和性，可建立联立方程组：

$$\text{在波长 } \lambda_1 \text{ 时: } A_{\lambda_1}^{A+B} = \epsilon_{\lambda_1}^A b c^A + \epsilon_{\lambda_1}^B b c^B$$

$$\text{在波长 } \lambda_2 \text{ 时: } A_{\lambda_2}^{A+B} = \epsilon_{\lambda_2}^A b c^A + \epsilon_{\lambda_2}^B b c^B$$

上两式中， $A_{\lambda_1}^{A+B}$ 、 $A_{\lambda_2}^{A+B}$ 分别是波长 λ_1 、 λ_2 时，组分 A 和 B 混合溶液的吸光度； $\epsilon_{\lambda_1}^A$ 、 $\epsilon_{\lambda_1}^B$ 分别是波长 λ_1 时，组分 A 和 B 溶液的吸光度； $\epsilon_{\lambda_2}^A$ 、 $\epsilon_{\lambda_2}^B$ 分别是波长 λ_2 时，组分 A 和 B 溶液的吸光度； c^A 、 c^B 分别是 A、B 两组分的浓度； b 为液层厚度。解联立方程组即可求出 A、B 两组分各自的浓度 c^A 和 c^B 。

【仪器和试剂】

1. 紫外-可见分光光度计或可见分光光度计。



2. 吸收池 (又称比色皿), 滤纸片, 擦镜纸。
3. KMnO_4 溶液 ($2.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 其中含 $0.25 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$)。
4. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液 ($1.20 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, 其中含 $0.25 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$)。
5. KMnO_4 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 混合溶液。
6. H_2SO_4 溶液 (0.25 mol/L)。

【实验步骤】

1. 仔细阅读仪器操作说明书, 在教师指导下, 开启仪器。测量之前应让仪器充分预热。
2. 在教师的指导下设定仪器扫描参数。
3. KMnO_4 溶液吸收曲线的测绘

以 $0.25 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$ 为参比, 在波长 $400 \sim 600 \text{ nm}$ 范围内进行波长扫描, 即得到吸收光谱图, 找出其最大吸收波长 λ_{max} , 以及相对应的吸光度 A (注意手拿比色皿时, 只能接触毛玻璃一面), 并加以记录。

4. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液吸收曲线的测绘

按上述同样的操作在同一谱图上扫描出 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的吸收曲线, 记录最大吸收波长 λ_{max} 及吸光度 A 。

5. 取 $2.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L KMnO}_4$ 溶液在 440 nm 及 545 nm 下测量吸光度 A_{440} 与 A_{545} 。根据朗伯-比耳定律 $A = \epsilon bc$ 分别计算出 KMnO_4 在此两个波长下的摩尔吸光系数 $\epsilon_{440} (\text{KMnO}_4)$ 与 $\epsilon_{545} (\text{KMnO}_4)$ 。

6. 同样方法可测出 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液在 440 nm 及 545 nm 下测量吸光度 A_{440} 与 A_{545} 。分别计算出 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液的摩尔吸光系数 $\epsilon_{440} (\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$ 与 $\epsilon_{545} (\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$ 。

7. 同样条件下测量出 KMnO_4 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 混合溶液在此两个波长下的吸光度 A_{440}^{mix} 与 A_{545}^{mix} 。

【数据处理】

将以上数据代入联立方程组中, 即可求解出混合溶液中 KMnO_4 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的浓度。

【注意事项】

1. 此仪器为高档分析仪器, 请同学们严格按仪器的使用方法进行操作, 切忌违反操作规程, 损坏仪器。
2. 出现问题及时报告老师, 等老师来处理, 不要随意开关仪器电源。
3. 操作完毕, 退出软件系统, 关机。
4. 洗净吸收池, 盖上防尘罩, 老师检查后, 方可离开实验室。

【思考题】

1. 对于两组分混合物的分析测定, 在选择测量波长时应注意什么?
2. 何为参比溶液? 它有什么作用? 本实验能否用蒸馏水作参比溶液?

实验二 紫外吸收光谱法测定苯甲酸的含量

【实验目的】

1. 进一步了解和熟悉紫外-分光光度计的原理、结构和使用方法。
2. 掌握紫外分光光度法测定苯甲酸的方法和原理。
3. 熟悉标准曲线法测定样品中苯甲酸的含量。