



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

应用化学实验

YINGYONG HUAXUE SHIYAN

邢存章 主编

吕海亮 段洪东 副主编



化学工业出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

应用化学实验

邢存章 主 编

吕海亮 段洪东 副主编



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书根据教育部化学化工教学指导委员会关于应用化学专业实验的基本教学要求,并在教学实践的基础上编写而成。

全书共分五篇,包括现代分离与分析技术实验、合成化学实验、高分子化学及物理学实验、精细化学品实验及综合设计研究型实验,涵盖色谱、波谱、有机合成、无机合成、高分子化学、高分子物理、表面活性剂、日用化学品、涂料与黏合剂、轻工化学品、纳米材料、综合设计研究型实验等内容,共收录了59个实验项目。本书内容先进,突出综合实验和研究设计实验,着重培养学生的动手实践能力,以及分析和解决问题的能力。每个实验项目均附有思考题和部分参考文献,书后附有部分实验参考数据。

本书可作为应用化学及相关专业的教材,也可供其他学科有关专业教学选用和科研工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

应用化学实验/邢存章主编. —北京:化学工业出版社, 2010.5

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 978-7-122-08017-2

I. 应… II. 邢… III. 应用化学-化学实验-高等学校-教材 IV. O69-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第048627号

责任编辑:宋林青

文字编辑:刘志茹

责任校对:洪雅姝

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11¼ 字数283千字 2010年7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: 25.00 元

版权所有 违者必究

《应用化学实验》编写组

主 编：邢存章

副 主 编：吕海亮 段洪东

编写人员：（以姓氏笔画为序）

于志军	邢存章	吕海亮	刘 伟
周立国	周国伟	周建华	房士敏
段洪东	班 青	高 健	

前言

应用化学是化学与其他科学技术相互渗透而形成的一门工科应用性学科，以培养学生不仅要具有扎实的化学理论基础，而且应在实验技能、外语及计算机应用能力方面得到良好训练，并具有较强的应用意识。毕业生应具有从事科学研究和教学的能力，以及在高新技术部门从事开发和管理工作的能力。应用化学专业的培养目标和要求决定了本科生在实验理论和实践能力方面应具备更高的要求。

《应用化学实验》是相关高校应用化学专业本科学生的必修实验课，是培养应用型人才和创新人才的一个重要教学环节。应用化学实验是在各门化学基础实验完成后开设的专业实验课，目的是培养学生运用化学的基本理论知识和技能来解决科研、生产实际问题的能力，特别是新产品研制、开发的能力。

本书根据使用了多年的讲义改编补充而成，该讲义历经十几届学生的使用，反映良好，同时也受到了同行专家的好评。编者在总结多年实验教学改革和实践的基础上，借鉴和吸收其他高校在化学实验改革方面的经验，编写了这本《应用化学实验》教材。鉴于应用化学学科本身的宽泛性，本教材在内容的选取方面力求保持应用化学各部分知识的系统性及实验体系的完整性，所选实验尽量涵盖应用化学的各个方面，贴近社会和生活。各实验的编排顺序也是根据我校多年教学实践由浅入深，杂而不乱。

本教材经多次修改，实验内容更加丰富、完善，包括现代分离与分析技术实验、合成化学实验、高分子化学及物理学实验、精细化学品化学实验以及综合设计研究型实验等，有利于激发学生的专业兴趣，开阔学生的视野；在实验操作中，既有合成制造技术，又有分析测试技能，能够培养学生的综合实验能力；在实验原理中，有目的地介绍了一些产品生产工艺方面的内容，以期帮助学生获得工程科学素质的熏陶与训练；在思考题中，既有对实验现象的观察、分析和对实验结果讨论的提问，又有对多种方法思路进一步深入思考的提问及对与课程有关的最新科技成果动态的提问；同时介绍了一些产品目前所执行的质量标准，使产品与质量相联系，让学生了解分析检测在生产、科研中的重要作用；在设计性实验中，要求学生自查文献资料，设计实验方案，完成从实验试剂的配制到合成、分析及应用的训练，让学生有更多思考、发挥的空间，从而增强学生的科研能力。

本书是在邢存章教授领导下，由应用化学教研室的全体老师参与编写而成。参加编写的人员主要有：邢存章、吕海亮、刘伟、周立国、段洪东、周国伟、班青、于志军、周建华、高健、房士敏等，全书由邢存章教授审阅定稿。

本书在出版过程中，得到了山东轻工业学院化学工程学院领导和学校各级领导的大力支持，并提出了许多宝贵的建议和意见，在此，谨表谢忱！

感谢化学工业出版社编辑的辛勤劳动，并热忱期待读者的批评和指正！

编者

2010年1月于济南

目 录

□ 第一篇 现代分离与分析技术实验	1
第一部分 色谱部分	1
实验一 气相色谱法操作技术和定性定量方法	1
I 气相色谱填充柱的制备	1
II 混合物的保留值法定性分析及归一化法定量分析	3
实验二 气相色谱法测定酒或酊剂中 C_2H_5OH 含量	6
实验三 气相色谱法测定食品中山梨酸和苯甲酸的含量	8
实验四 气相色谱法测定草酸铁的热稳定性	10
实验五 高效液相色谱法操作技术和定性定量方法	15
附一 高效液相色谱仪操作指南	17
实验六 高效液相色谱法测定天然海藻中的水溶性维生素	20
附二 气相色谱常用的聚合物固定相、担体、固定液的性质和用途	21
第二部分 波谱部分	24
实验七 紫外光谱技术及应用	24
实验八 红外光谱法测定苯甲酸、苯甲酸乙酯、山梨酸和未知物	27
实验九 核磁共振波谱法测定乙苯、乙醇、苯甲酸乙酯和未知物	31
实验十 色谱-质谱联用法分离和鉴定大蒜中的有效成分	34
□ 第二篇 合成化学实验	37
实验十一 由薄荷醇合成薄荷酮	37
实验十二 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的合成	39
实验十三 抗氧化剂 BHT 的制备	40
实验十四 荧光纯硫酸锌溶液的提纯	43
实验十五 多步合成局部麻醉药物苯佐卡因	46
实验十六 氧载体模拟化合物的制备、表征和载氧作用	48
实验十七 新型添加剂氨基酸锌的制备及性质	52
实验十八 相转移催化法合成扁桃酸	59
实验十九 分子筛的制备及其物性测定	62
□ 第三篇 高分子化学及物理学实验	65
实验二十 丙烯酰胺水溶液聚合	65
实验二十一 反相悬浮聚合合法合成低交联度聚丙烯酸钠	68
实验二十二 醋酸乙烯酯的乳液聚合	69

实验二十三	差热分析	71
实验二十四	偏光显微镜法观察聚合物结晶形态	75
实验二十五	黏度法测定聚合物的分子量	77
附三	溶液黏度名称的对照	81

□ 第四篇 精细化学品实验 82

第一部分 表面活性剂	82
实验二十六 表面活性剂油酸钠表面张力曲线与泡沫性能的测定	82
实验二十七 非离子表面活性剂浊点的测定	84
实验二十八 表面活性剂的脱盐处理及水分、盐分含量测定	85
实验二十九 显色法鉴别表面活性剂类型	86
实验三十 洗衣粉中表面活性剂的分析	88
实验三十一 表面活性剂临界胶束浓度的测定	90
实验三十二 增溶能力的测定	93
第二部分 日用化学品	96
实验三十三 洗发香波的配制	96
附四 洗发香波常用配方	98
实验三十四 护发素的配制	101
附五 护发素配方	101
实验三十五 发乳的配制	102
附六 发乳配方	102
实验三十六 洗洁精的配制	103
附七 洗洁精配方	104
实验三十七 护肤化妆品(润肤霜)的制备	105
第三部分 涂料与黏合剂	107
实验三十八 涂料性能测试	107
实验三十九 纯丙外墙乳胶漆的制备	110
实验四十 胶黏剂拉伸剪切强度的测定	112
第四部分 轻工化学品	115
实验四十一 废纸脱墨剂的制备及应用	115
实验四十二 消泡剂的制备及应用	116
实验四十三 聚氨基丙烯酸涂饰剂的制备	117
实验四十四 三聚氰胺树脂的制备	118
第五部分 纳米材料	119
实验四十五 纳米 TiO_2 材料的制备与表征	119
实验四十六 湿化学法制备纳米级 ZrO_2 微粉	121

□ 第五篇 综合设计研究型实验 124

实验四十七 阿司匹林的合成、鉴定、含量测定和复方阿司匹林成分分析	124
I 阿司匹林的合成、鉴定、含量的测定	124

II 复方阿司匹林成分分析	127
实验四十八 毛发氨基酸的制备及分析	129
实验四十九 用蛋壳制备柠檬酸钙	131
实验五十 废干电池的综合利用	133
实验五十一 $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ 的制备、表征及脱水活性评价	135
实验五十二 油脂氢化催化剂的制备	140
实验五十三 生活中的化学	142
实验五十四 植物生长调节剂 2,4-D 的合成	147
实验五十五 水质稳定剂羟基亚乙基二磷酸的合成	148
实验五十六 超临界 CO_2 萃取油脂及油品评价	149
实验五十七 油脂分析	155
I 动植物油脂酸值和酸度测定	155
II 动植物油脂皂化值测定	157
III 植物油碘值测定	158
IV 植物油水分及挥发物含量的测定	160
V 动植物油脂不皂化物的测定	161
VI 动植物油脂脂肪酸甲酯的制备	165
附八 关于试剂和操作步骤的说明	169
VII 脂肪酸甲酯的气相色谱分析	169
实验五十八 有序介孔材料的制备与表征	175
实验五十九 天然产物的提取——从红辣椒中提取红色素	177

第一篇

现代分离与分析技术实验

第一部分 色谱部分

实验一 气相色谱法操作技术和定性定量方法

I 气相色谱填充柱的制备

一、实验目的

1. 学习和掌握气相色谱填充柱的制备方法。
2. 学习如何使用色谱分析手册，了解一些固定液和载体。
3. 学习使用气相色谱仪。

二、实验原理

色谱柱是气相色谱仪的核心部分，因此，制备一根分离效能高的色谱柱是分离多组分混合物的关键。色谱柱（可分为填充柱和空心毛细管柱）是由柱管和固定相组成的，其中填充柱具有制备容易、性能稳定、使用方便和柱容量大等优点而得到广泛应用。

气液色谱填充柱的制备通常包括五个步骤。

1. 固定相的选择 固定相由载体和固定液组成，常用载体和固定液的性质、特点及使用范围可参阅《仪器分析》、《分析化学手册》和《气相色谱实用手册》等有关书籍。根据待分析样品的性质选择载体的种类和粒度（常用60~80目和80~100目）；根据相似相溶原则选择合适的固定液；确定固定液和载体的液载比，一般液载（质量）比为5%~25%。

2. 涂渍固定液 在载体表面涂渍上一层薄而均匀的固定液液膜。

3. 色谱柱管的选择 色谱柱管有不锈钢、玻璃、聚四氟乙烯等材料供选择，常用柱长为1~5m，柱内径为2~6mm。

4. 装填色谱柱 把固定相均匀、紧密地填入色谱柱。

5. 色谱柱的老化 把装填好的色谱柱安装到色谱仪中进行老化处理。老化的目的是除去残留的溶剂和低沸点杂质，并使固定液均匀、牢固地涂渍在载体表面。

三、实验仪器与药品

1. 仪器

圆底烧瓶；气相色谱仪（任一型号）；玻璃棉；真空泵；红外线干燥箱（250W）；高纯氮气钢瓶；水泵；不锈钢色谱柱（管长2m，内径4mm）；漏斗；分液漏斗；蒸发皿。

2. 药品

固定液：邻苯二甲酸二壬酯（简称 DNP）。

载体：201 红色载体（60~80 目，液载比为 10%）。

无水乙醇；丙酮 CH_3COCH_3 ；NaOH 溶液。

四、实验步骤

1. 载体的预处理及称取

（1）载体的预处理 将载体通过 60 目、80 目筛，除去过粗或过细的载体，在涂渍固定液前需要在 105°C 烘约 4h，以除去吸附的水分。

（2）载体的称取 根据色谱柱管的容积计算载体的用量。

色谱柱管容积 $V_{\text{柱}} = \pi r^2 l = 3.2 \times 0.2^2 \text{ cm}^2 \times 200 \text{ cm} = 25.6 \text{ cm}^3 = 25.6 \text{ mL}$

载体用量需过量 20%~40%， $V_{\text{载}} = 25.6 \text{ mL} \times (1 + 0.30) = 33.3 \text{ mL}$

用量筒量取 33.3 mL 载体，并用台秤称出其质量 $m_{\text{载}}$ 。

2. 固定液的称取及涂渍

（1）固定液的称取 根据液载比计算所需固定液的用量，本实验选用液载比为 10%， $m_{\text{液}} = (10/90)m_{\text{载}}$ ，称取固定液（ $m_{\text{液}}$ ）于小烧杯中，用 43 mL 丙酮（ $1.3 \times V_{\text{载}} = 43 \text{ mL}$ ）将其溶解，转移至 250 mL 圆底烧瓶中。

（2）固定液的涂渍 将称好的载体倒入烧瓶并摇动，此载体应被液面浸没，用水泵抽真空，不断调节抽气速度，使丙酮缓慢挥发。在溶剂挥发过程中，应不断轻轻转动烧瓶，直到载体呈松散状态而不再抱团，将涂渍好固定液的载体直接转入蒸发皿中，在红外线干燥箱内烘烤 30 min，以除去残留的溶剂。也可不用水泵，而将已用溶剂溶解的固定液与载体在蒸发皿中混合，然后在通风橱中使溶剂自然挥发，并不断轻缓搅拌，直到溶剂挥发完，最后在红外线干燥箱内烘烤 30 min，即可准备填充。

3. 色谱柱的清洗与填充

（1）色谱柱的清洗 将不锈钢柱用热的 5%~10% 的 NaOH 溶液浸泡数分钟，抽洗，用水洗至中性，反复 2~3 次，再用蒸馏水冲洗，最后用无水乙醇或丙酮冲洗，烘干备用。

（2）色谱柱的填充 在色谱柱出口端塞入适量玻璃棉，再包上一块纱布后接在真空泵的橡胶管上，柱的入口端通过橡胶管接上漏斗，开启真空泵抽气，将固定相缓慢倒入漏斗中，要边抽气边轻轻敲打管壁，边加固定相，并保持固定相为不间断的细流，直至固定相不能再装进柱子为止。去掉漏斗，在入口端塞入适量玻璃棉，在柱子上贴上标签，标明入口端、出口端以及填充物。

4. 色谱柱的老化

将入口端与色谱仪的气化室相连，出口端直接通大气，不要接检测器（以免污染检测器），开启载气—— N_2 ，调载气流速为 $5 \sim 10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，控制柱温在 120°C ，老化处理 5~8 h。然后把色谱柱的出口端与检测器相连，开启检测器和记录仪，若记录的基线符合要求，说明老化处理完成，即可测柱效，然后用于分离分析。

五、思考题

1. 如何选择载体和固定液？
2. 载体颗粒过粗、过细或不均匀对色谱柱分析有何影响？
3. 涂渍和装填色谱柱时应注意哪些问题？

II 混合物的保留值法定性分析及归一化法定量分析

一、实验目的

1. 掌握气相色谱仪的使用方法及微量注射器的使用技术。
2. 熟悉保留值、相对校正因子、峰高和半峰宽的测定方法。
3. 学习保留值法定性分析及归一化法定量分析方法。

二、实验原理

1. 定性分析

定性分析的任务是确定色谱图上各个峰代表什么物质。各物质在一定色谱条件下有其确定的保留值, 因此, 保留值是定性分析的基础, 可利用标准物质对照法、保留指数 I 等方法进行定性分析。但有时不同物质具有相近或相同的保留值, 因此, 对于复杂样品, 色谱定性鉴定能力较弱, 可和其他仪器如质谱、光谱联用来进行定性分析。

当有待测组分的标准物质时, 可将未知样品各个色谱峰的保留值与其对应的标准物质的保留值 (在相同条件下测得的) 进行对照比较, 就能确定各色谱峰的归属, 此方法比较简单, 但操作条件要稳定。也可采用相对保留值定性, 它仅与所用的固定相和温度有关, 不受其他操作条件的影响。相对保留值 r_{is} 为

$$r_{is} = \frac{t'_{Ri}}{t'_{Rs}} = \frac{t_{Ri} - t_M}{t_{Rs} - t_M}$$

式中 t_M ——死时间;

t_{Ri} 和 t'_{Ri} ——待测物的保留时间和调整保留时间;

t_{Rs} 和 t'_{Rs} ——标准物的保留时间和调整保留时间。

2. 定量分析

定量分析的任务是测定混合样品中各组分的含量。定量分析的依据是待测物质的质量 m_i 与检测器产生的信号 A_i (色谱峰面积) 成正比:

$$m_i = f'_i A_i$$

式中, f'_i 为比例常数, 称为绝对校正因子。由于各组分在同一检测器上具有不同的响应值, 即使两组分含量相同, 在检测器上得到的信号往往不相等, 所以, 不能用峰面积来直接计算各组分的含量。因此, 在进行定量分析时, 引入相对校正因子 f_i (即通常所说的校正因子)。

$$f_i = \frac{f'_i}{f'_s} = \frac{m_i/A_i}{m_s/A_s} = \frac{m_i A_s}{m_s A_i}$$

式中, f'_s 、 m_s 、 A_s 分别为标准物质的绝对校正因子、质量和峰面积。由此式可知 $f_i A_i = m_i \frac{A_s}{m_s}$, 利用相对校正因子可将各组分峰面积校正为相当于标准物质的峰面积, 利用校正后的峰面积便可准确计算物质的含量。常用的定量分析方法有归一化法、内标法、外标法和内加法等, 它们各有一定的优缺点和适用范围。本实验将介绍归一化法。

归一化法是将所有出峰组分的含量之和按 100% 计算的定量方法, 它是分别求出样品中各个组分的峰面积和校正因子, 然后根据下式分别求出各组分的含量。

$$w_i = \frac{A_i f_i}{A_1 f_1 + A_2 f_2 + \cdots + A_n f_n} = \frac{A_i f_i}{\sum_{i=1}^n A_i f_i}$$

式中, 对称峰峰面积等于峰高乘半峰宽, 即 $A=1.065h Y_{1/2}$; 若色谱峰为不对称峰, 峰面积为 $A=1.065h \times \frac{1}{2}(Y_{0.15} + Y_{0.85})$ 。

归一化法的优点是简便、准确, 不必准确称量和准确进样, 操作条件的略微变化对结果影响较小, 是常用的一种定量方法, 但归一化法要求样品中的所有组分都出峰, 并且需测出它们的峰面积和校正因子。

三、实验仪器与药品

1. 仪器

气相色谱仪 (任一型号); 氢气钢瓶; 微量注射器; 热导池检测器; 色谱柱 ($2\text{m} \times 4\text{mm}$)。

2. 药品

固定液: 邻苯二甲酸二壬酯。

载体: 201 红色载体 (60~80 目, 液载比 10%)。

环己烷、苯、甲苯、乙苯均为分析纯; 未知样品。

四、实验步骤

1. 色谱操作条件

柱温 100°C 、热导池温度 120°C 、气化室温度 150°C 、桥电流 150mA 、载气流速 $20 \sim 40\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 、记录仪纸速 $600\text{mm} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

开启色谱仪, 按色谱仪器操作步骤和上面所列色谱操作条件进行调节, 待基线稳定后, 即可进样。

2. 配制混合标准溶液

配制环己烷、苯、甲苯、乙苯混合标准溶液, 它们的质量约为 0.4g 、 0.4g 、 0.5g 、 0.5g , 由于需测量校正因子, 所以一定要准确称量 (准确至 0.1mg)。

3. 保留值的测定

(1) 依次注入 $5\mu\text{L}$ 空气, 以及 $0.5 \sim 1\mu\text{L}$ 的环己烷、苯、甲苯、乙苯纯试剂, 记录色谱图。准确测量它们的死时间 t_M 和保留时间 t_R , 重复进样两次。

(2) 在完全相同条件下, 进 $2\mu\text{L}$ 未知样品, 记录色谱图, 准确测量各峰的保留时间 t_R , 重复进样两次。

(3) 在完全相同的条件下, 进 $2\mu\text{L}$ 混合标准溶液, 记录色谱图, 准确测量各峰的保留时间 t_R , 重复进样三次。

五、数据处理

1. 记录色谱条件

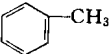
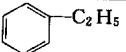
记录检测器的类型、操作条件, 柱子的柱长、内径、填充物、柱温, 气化室温度, 载气的种类、流速, 柱前压, 进样量, 衰减, 记录仪纸速等。

2. 定性分析

根据测得的 t_M 和 t_R , 计算各自的调整保留时间 t'_R 和以苯为标准的相对保留值 r_{is} , 比较纯物质和未知样品中各峰的 t_R 、 t'_R 、 r_{is} , 以确定未知样品的各个组分。数据处理格式见

表 1-1。

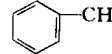
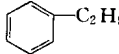
表 1-1 定性分析结果

标准样	$t_R/\text{min}, t'_R/\text{min}, r_{is}$		$t_R/\text{min}, t'_R/\text{min}, r_{is}$	定性结论
		未知物		
				
				
				

3. 定量分析

测量混合标准溶液中各个色谱峰的峰高和半峰宽 $Y_{1/2}$ ，计算以苯为标准的相对校正因子。用归一化法计算未知样品中各组分的含量，数据处理格式见表 1-2。

表 1-2 定量分析结果

混合标准溶液	h/cm	$Y_{1/2}/\text{cm}$	A/cm^2	m/g	f_i		h/cm	$Y_{1/2}/\text{cm}$	A/cm^2	含量
						未知样				
										
										
										

① 以苯为基准物。

六、思考题

- 1. 用 t_R 、 t'_R 、 r_{is} 定性时，哪种方法更好，为什么？
- 2. 为什么进样量准确与否不影响归一化法的结果？

实验二 气相色谱法测定酒或酊剂中 C₂H₅OH 含量

一、实验要求

1. 学习气相色谱法测定含水样品中 C₂H₅OH 的含量。
2. 学习和熟悉氢火焰离子化检测器的调试及使用方法。
3. 学习和掌握色谱内标定量方法。

二、实验原理

内标法是一种准确而应用广泛的定量分析方法，操作条件和进样量不必严格控制，限制条件较少。当样品中组分不能全部流出色谱柱，某些组分在检测器上无信号或只需测定样品中的个别组分时，可采用内标法。

内标法就是将准确称量的纯物质作为内标物，加到准确称取的样品中，根据内标物的质量 m_s 与样品的质量 m 及相应的峰面积 A ，求出待测组分的含量。

待测组分质量 m_i 与内标物质量 m_s 之比等于相应的峰面积之比。

$$\begin{aligned}\frac{m_i}{m_s} &= \frac{A_i f_i}{A_s f_s} \\ m_i &= \frac{A_i f_i}{A_s f_s} m_s \\ w_i &= \frac{m_i}{m} = \frac{A_i f_i m_s}{A_s f_s m} \\ \left(\text{或 } \rho_i &= \frac{m_i}{V} = \frac{A_i f_i m_s}{A_s f_s V} \right)\end{aligned}$$

式中 f_i, f_s ——组分 i 和内标物的相对质量校正因子；

A_i, A_s ——组分 i 和内标物的峰面积；

V ——待测样品的体积。

为方便起见，求定量校正因子时，常以内标物作为标准物，则 $f_s = 1.0$ 。选用内标物时需满足下列条件：①内标物应是样品中不存在的物质；②内标物应与待测组分的色谱峰分开，并尽量靠近；③内标物的量应接近待测物的含量；④内标物与样品互溶。

本实验样品中 C₂H₅OH 的含量可用内标法定量，以无水正丙醇 $n\text{-C}_3\text{H}_7\text{OH}$ 为内标物，以符合以上条件。

三、实验仪器与药品

1. 仪器

气相色谱仪；氢火焰离子化检测器（FID）；色谱柱（2m×3mm）；微量注射器；容量瓶（50mL）；吸量管（2mL、5mL）。

2. 药品

固定液：聚乙二醇 20000（简称 PEG-20M）。

载体：102 白色载体（60~80 目，液载比 10%，上海试剂厂）。

无水乙醇（分析纯）；无水正丙醇（分析纯）。

3. 其他

食用酒；酊剂检品。

四、实验步骤

1. 色谱操作条件

柱温 90°C ，气化室温度 150°C ，检测器温度 130°C ， N_2 （载气）流速 $40\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ， H_2 流速 $35\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，空气流速 $400\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，记录仪纸速 $600\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

2. 标准溶液的测定

准确移取 2.50mL 无水 C_2H_5OH 和 2.50mL 无水 $n-C_3H_7OH$ 于 50mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀。用微量注射器吸取 $0.5\mu\text{L}$ 标准溶液，注入色谱仪内，记录各峰的保留时间 t_R ，测量各峰的峰高及半峰宽，求以 $n-C_3H_7OH$ 为标准的相对校正因子。

3. 样品溶液的测定

准确移取 5.00mL 酒样及 2.50mL 内标物无水 $n-C_3H_7OH$ 于 50mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀。用微量注射器吸取 $0.5\mu\text{L}$ 样品溶液注入色谱仪内，记录各峰的保留时间 t_R ，以标准溶液与样品溶液的 t_R 对照，定性样品中的醇，测定 C_2H_5OH 、 $n-C_3H_7OH$ 的峰高及半峰宽，求样品中 C_2H_5OH 的含量。

五、数据处理

本实验 C_2H_5OH 的含量按下列公式计算：

$$f_i = \frac{m'_i/A'_i}{m'_s/A'_s}$$

$$\rho_i = \frac{m_i}{V} \times 10 = \frac{A_i f_i m'_s}{A'_s f_s V} \times 10$$

将上式代入下式，即得（其中 $m_s = m'_s$ ）：

$$\rho_i = \frac{A_i/A_s \cdot m'_s}{A'_i/A'_s \cdot V} \times 10$$

式中 ρ_i —— C_2H_5OH 的质量浓度， $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；

m_i ——样品中 C_2H_5OH 的质量， g ；

V ——样品溶液的体积， mL ；

10——稀释倍数；

A_i/A_s ——样品溶液中 C_2H_5OH 与 $n-C_3H_7OH$ 的峰面积比；

A'_i/A'_s ——标准溶液中纯 C_2H_5OH 与 $n-C_3H_7OH$ 的峰面积比；

m'_i ——标准溶液中纯 C_2H_5OH 的质量，它等于体积 V 与密度 ρ 的乘积。

对于正常峰，可用峰高代替峰面积计算。

$$\rho_i = \frac{h_i/h_s \cdot m'_i}{h'_i/h'_s \cdot V} \times 10$$

六、思考题

1. 内标物的选择应符合哪些条件？用内标法定量有何优缺点？
2. 热导检测器和氢火焰离子化检测器各有什么特点？

实验三 气相色谱法测定食品中山梨酸和苯甲酸的含量

一、实验目的

1. 学习和了解食品中山梨酸、苯甲酸的气相色谱测定方法。
2. 掌握外标法定量。
3. 进一步熟悉氢火焰离子化检测器。

二、实验原理

外标法是在一定操作条件下,用已知浓度的纯物质配成不同含量的标准溶液,定量进样,用峰面积或峰高对标准溶液含量作标准曲线,待测样品在相同色谱条件下进样,由所得的待测组分的峰面积或峰高从标准曲线上查出待测组分的含量。

外标法的优点是不必加内标物,不必用相对校正因子,操作、计算方便。但要求操作条件稳定,进样重复性好。

本实验采用外标法测定食品中山梨酸、苯甲酸的含量。山梨酸、苯甲酸及其盐是常用的食品添加剂,是抑制微生物生长繁殖的防腐剂,使用量一般为 $0.5 \sim 2 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,其效力随介质的 pH 值不同而有较大差异。

在 $\text{pH}=1.6$ 时,用乙醚萃取样品,选用二乙二醇丁二酸聚酯(简称 DEGS)固定液, FID 检测器。本方法可测定酱油、醋、果汁、罐头、葡萄酒、面条等食品中山梨酸和苯甲酸的含量。有文献报道用 GDX-103 固定相、TCD 检测器,以十一烷为内标也可以测定食品中的山梨酸和苯甲酸。

三、实验仪器与药品

1. 仪器

气相色谱仪;氢火焰离子化检测器;分液漏斗(30mL、50mL);电动振荡器;不锈钢柱($2\text{m} \times 3\text{mm}$);容量瓶(10mL、25mL)。

2. 药品

固定液:5% DEGS+1% H_3PO_4 。

载体:101 酸洗白色载体(60~80 目)。

$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 、 CH_3COCH_3 、 H_3PO_4 、山梨酸、苯甲酸均为分析纯。

3. 其他

汽水、雪碧、酱油等。

四、实验步骤

1. 色谱操作条件

柱温 180°C ,检测器温度 210°C ,气化室温度 210°C ,载气流速 $30\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, H_2 和空气选择最佳比例,进样量 $2\mu\text{L}$ 。

2. 标准溶液的测定

(1) 山梨酸、苯甲酸贮备液 准确称取 0.1250g 山梨酸和 0.1250g 苯甲酸,用 CH_3COCH_3 溶解后,全部转移到 25mL 容量瓶中,并稀释至刻度。此溶液含山梨酸、苯甲酸分别为 $5\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

(2) 标准系列的配制和处理 准确吸取 0.10mL 、 0.20mL 、 0.30mL 、 0.40mL 、 0.50mL 上述贮备液于 5 只 30mL 分液漏斗中,各加 2mL $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液,用

H_3PO_4 调节 pH 值为 1.6^①, 加 10mL $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$, 振荡 3min, 静置分层。将上层 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 溶液通过装有无水 Na_2SO_4 的滴管吸入 25mL 比色管中, 下层溶液用 5mL $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 再萃取一次, 合并两次 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 液, 在 50℃ 的恒温水浴上蒸发至干, 用 CH_3COCH_3 溶解后, 定容于 10mL 容量瓶中。

在一定的色谱条件下, 依次取 2 μL 溶液进行色谱分析, 记录 t_R 及色谱图, 测量各个峰的峰高和半峰宽。

3. 样品溶液的测定^②

(1) 不含固形物样品 (如汽水等) 的处理 取 5mL 样品 (或相当于 0.4mg 山梨酸、苯甲酸的样品), 准确称量, 放入 50mL 分液漏斗中, 加 H_3PO_4 调节 pH 值为 1.6, 用 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 萃取, 操作同标准溶液。

(2) 含固形物样品 (如酱油等) 的处理 取 5mL 样品 (或相当于 0.4mg 山梨酸、苯甲酸的样品), 准确称量, 放入 50mL 分液漏斗中, 加 H_3PO_4 调节 pH 值为 1.6, 加 2mL CH_3COCH_3 和 10mL $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 萃取。再用 2mL CH_3COCH_3 和 5mL $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 萃取, 操作处理方法同标准溶液。

在相同色谱条件下, 分别取 2 μL 处理过的试液进行色谱分析, 记录 t_R 及色谱图, 测量各个峰的峰高和半峰宽。

五、数据处理

1. 绘制标准曲线

以标准山梨酸、苯甲酸的峰面积或峰高为纵坐标, 含量为横坐标绘制标准曲线。

2. 计算含量

根据标准曲线, 计算出样品中山梨酸、苯甲酸的含量。

六、注释

① 山梨酸、苯甲酸在 pH 值较高时萃取不完全, 样品在 pH=1.6 时, 用 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 萃取效果最佳。

② 样品中含有胶质、色素等对测定有干扰, 需经过前处理消除。

七、思考题

1. 本实验在涂渍色谱柱时, 为何要加少量 H_3PO_4 ?

2. 样品为什么要控制为酸性, 并用 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ 萃取?