

大学化学实验指导

杨红丽 主编



液相色谱仪-正面全图



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

SHI YAN ZHI DAO

大学化学实验指导

杨红丽 朱四喜 主编



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

大学化学实验指导/杨红丽,朱四喜主编. —杭州:浙江大学出版社, 2009.7

ISBN 978-7-308-06897-0

I .大… II .①杨…②朱… III .化学实验—高等学校—
教学参考资料 IV .06-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 112952 号

大学化学实验指导

杨红丽 朱四喜 主编

策 划 王 镨

责任编辑 王 镨

封面设计 楼燕红

出版发行 浙江大学出版社

(杭州天目山路 148 号 邮政编码 310028)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 杭州求是图文制作有限公司

印 刷 富阳市育才印刷有限公司

开 本 889mm×1194mm 1/32

印 张 3.5

字 数 105 千

版 印 次 2009 年 7 月第 1 版 2009 年 7 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-06897-0

定 价 10.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部邮购电话 (0571) 88925591

目 录

第一章 紫外可见吸收光谱法

1.1 基本原理	1
1.2 仪器操作简介	3
实验 1 高锰酸钾紫外可见吸收光谱定性扫描及数据处理	5
实验 2 苯酚紫外吸收光谱的绘制及定量测定	9

第二章 红外吸收光谱分析法

2.1 基本原理	12
2.2 仪器操作简介	17
实验 3 红外吸收光谱法定性测定苯甲酸	18
实验 4 红外吸收光谱法测定液体有机化合物的结构 ...	21

第三章 分子荧光分析法

3.1 基本原理	23
3.2 仪器操作简介	25
实验 5 荧光分析法定性测定维生素 E	33
实验 6 荧光分析法测定维生素 B ₂	35

第四章 原子吸收和原子荧光光谱法

4.1 基本原理	38
4.2 仪器操作简介	41
实验 7 火焰原子吸收光谱法测定矿泉水中的镁	43
实验 8 原子吸收光谱法测定人发中的锌	45
实验 9 氢化物发生—原子荧光法测定海水中的砷	47

第五章 气相色谱法

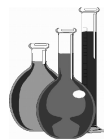
5.1 基本原理	51
----------------	----





5.2 仪器操作简介	54
实验 10 载气流速及柱温变化对分离度的影响	55
实验 11 气相色谱归一化法测定混合芳烃中各组分的百分含量	58
第六章 高效液相色谱法	
6.1 基本原理	61
6.2 仪器操作简介	61
实验 12 反相高效液相色谱法测定茶叶中咖啡因的含量	62
实验 13 反相高效液相色谱法分离测定汽水中的苯甲酸	65
实验 14 内标法测定艾司唑仑的含量	68
第七章 电位分析法	
7.1 基本原理	71
7.2 仪器操作简介	72
实验 15 离子选择电极法测定自来水中氟的含量	75
第八章 间隔流动水质分析仪	
8.1 仪器简介	79
8.2 试剂配制	83
8.3 仪器操作	84
附录:实验室规章制度	
1 实验室工作条例	86
2 学生实验须知	87
3 实验室安全制度	88
4 实验室财产管理规定	89
5 实验室危险品管理制度	90
6 实验室危险品发放制度	90
7 实验室仪器设备损坏、丢失的赔偿规定	90
8 实验室技术人员岗位职责	92

9 实验室管理员岗位职责	92
10 实验室实验课教师职责	93
11 实验室卫生制度	94
12 实验室三废处理暂行规定	94
部分仪器实物照片	96
主要参考文献	100



第一章 紫外可见吸收光谱法

紫外可见吸收光谱法 (ultraviolet and visible spectrophotometry, UV-VIS) 是基于物质的分子与光子相互作用过程中产生的吸收光谱的一种光学仪器分析方法。

1.1 基本原理

1.1.1 吸收光谱的产生

分子中电子处于某种运动状态,具有一定的能量,属于一定的能级(分子能级如图 1-1 所示)。当具有一定能量的光子作用于物质的分子时,处于基态的电子吸收了光子的能量,从低能态跃迁至高能态,由于电子能级跃迁产生了紫外可见吸收光谱,在电子能级的跃迁的过程中总伴随分子振动和转动能级的跃迁,使紫外可见吸收光谱呈现带状吸收。

有机化合物的吸收带主要由电子跃迁产生,无机化合物的吸收带主要由电荷转移和配位场跃迁产生。有机化合物主要存在以下几种跃迁类型: $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \pi^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$,各种跃迁所需能量大小为: $n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$

1.1.2 定性分析

以紫外吸收光谱鉴定有机化合物时,通常是在相同的测定条件下,比较未知化合物和已知标注物质的紫外光谱图,若两者的谱图相同(主要比较最大吸收波长 $\lambda_{\max}$),则可认为待测试样与已知化合物具有相同的生色团。

然而,紫外吸收光谱相同,两种化合物有时不一定相同,还要



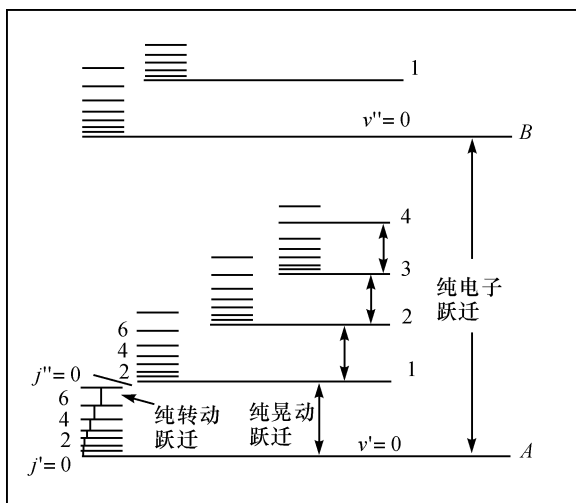


图 1-1 双原子分子的三种能级跃迁示意图

比较它们的 $\epsilon_{\max}$, 如果待测物和标准物的最大吸收波长相同、吸光系数也相同, 则可认为两者是同一物质。总之, 不同的物质, 具有不同的分子结构, 在与光作用过程中所表现出来的紫外可见吸收光谱便具有不同的特征, 因此有机化合物的紫外可见吸收光谱常被用作结构分析的依据。

1.1.3 定量分析

物质对光的吸收, 在一定实验条件下遵循朗伯—比尔定律, 即当一束平行的单色光照射到一定浓度的均匀溶液时, 入射光被溶液吸收的程度与溶液厚度、溶液的浓度成正比, 数学关系式为:

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \lg \frac{1}{T} = \epsilon b C$$

A 为吸光度; I_0 为入射光强度; I_t 为透射光强度; T 为透光率; ϵ 为摩尔吸光系数。

这就是朗伯—比尔定律。如果溶液浓度以表示 mol/L , 溶液厚度以 cm 表示, ϵ 的单位为 $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, ϵ 愈大, 表示溶液对单色光的吸收能力愈强, 分光光度测定的灵敏度就愈高。在确定的实验条件下, 吸光度正比于被测物的浓度。利用上式可进行

紫外吸收光谱的定量分析。

1.2 仪器操作简介

1.2.1 开机(以日本津岛 UV-1601 为例)

- (1) 开机前确认电源是否连接, 所连电脑是否开机;
- (2) 打开仪器电源开关;
- (3) 双击电脑桌面上 UVPC 图标或在开始菜单中找到 UVPC 图标并打开, 依次点“Configure”、“PC configuration”, 在“Photometer Serial Port”中选择 1, 等待仪器自检完毕。

1.2.2 测量

仪器自检结束后, 在菜单“Acquire Mode(测定模式)”下选中所需的测定方式: “Spectrum(光谱扫描)”、“Quantitative(定量)”或“Time Course(时间曲线扫描)”。

1.2.2.1 Spectrum(光谱扫描)

1.2.2.1.1 调节参数

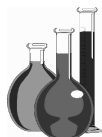
在菜单“Configure”中选中“Parameters”或用“Ctrl + P”调用参数表, 选择所需参数。通常改动波长范围(Wavelength Range)及吸光度范围(Abs)。点击“OK”, 等待仪器调整至准备状态。

1.2.2.1.2 调整基线

在参比槽(里面一个)中放入调整基线溶液的比色皿, 盖好上盖, 点击“Baseline”, 待仪器自动调整基线。

1.2.2.1.3 扫描谱图

将装有被测溶液的比色皿放入样品槽(外面一个)中, 盖好上盖, 点击“Start”, 待仪器自动测试完毕, 会自动出现“Save”状态, 输入文件名称, 点击“Save”保存光谱图即可。在菜单“Presentation”中点击“Copy Graph”, 可将光谱图复制至 word 文档。在菜单“Manipulate”中点击“Peak Pick”, 会给出 $\lambda_{\max}$ 报告。





1.2.2.2 Quantitative(定量分析)

1.2.2.2.1 调节参数

在菜单“Acquire Mode”中选中“Quantitative”,设定 $\lambda_{\max}$ 和吸光度(Abs)范围,点击“Concentration”,修改浓度单位及范围。在菜单“Configure”中选中“Parameters”调用参数表,选择所需参数,通常修改测定波长值(Wavelength)。如需绘制标准曲线,可再选中“Concentration”项,修改其中的浓度单位,如 g/mL、mg/mL等;在测定范围中输入测定范围值,如 0~100。如果样品做重复点,可在“Repetitions”项中选中重复数(但可选重复数不大于 5)。点击“OK”,等待仪器调整至准备状态。

1.2.2.2.2 绘制标准曲线

在参比槽中放入装有参比溶液的比色皿,盖好上盖,点击“Auto Zero”待仪器自动调零。再将装有标准溶液的比色皿放入样品槽中,盖好上盖,点击“Read”,会自动出现“Edit Standard”状态,在浓度项“Concentration”中,输入该溶液的浓度值,点击“OK”,仪器会自动记录并等待下一个标准品的测定。更换样品池中的标准品并逐一测定至全部标准品测定完毕。仪器会给出工作曲线和回归方程。在菜单“File”中选中“Save”,将该标准曲线存入所需位置。

1.2.2.2.3 测定样品

将样品槽中的比色皿中溶液换成被测溶液,盖好上盖,点击“Unknown”,仪器会自动记录被测溶液的吸光度 Abs 值,同时根据回归方程计算出对应的浓度值。仪器会自动等待下一个样品的测定。逐一更换样品池中的样品并测定至全部样品测定完毕。在菜单“File”中选中“Save”,将该样品结果存入所需位置。

1.2.3 关机

(1)将比色皿中的溶液倒尽,然后用蒸馏水或有机溶剂冲洗比色皿至干净,将比色皿保存在保存液中;将仪器外盖盖好。

(2)退出 UVPC 操作系统,关闭仪器。

实验 1 高锰酸钾紫外可见吸收光谱定性扫描及数据处理

一、目的要求

1. 学习紫外光谱分析方法的基本原理;
2. 熟悉 UV-1601 紫外可见分光光度计的定性/定量测量操作方法;
3. 掌握紫外可见光谱定性图谱的数据处理方法。

二、方法原理

紫外可见光谱是用紫外可见光测量获得的物质电子光谱,它研究由于物质价电子在电子能级间的跃迁,产生的紫外可见光区的分子吸收光谱。当不同波长的单色光通过被分析的物质时,测得不同波长下的吸光度或透光率,以吸光度为纵坐标、波长 λ 为横坐标作图,可获得物质的吸收光谱曲线。一般紫外光区为波长范围为 190~400nm,可见光区的波长范围为 400~800nm。

由于分子结构不同,但只要具有相同的生色团,它们的最大吸收波长值就相同。因此,通过未知化合物的扫描光谱,确定最大吸收波长值,并与已知化合物的标准光谱图在相同溶剂和测量条件下进行比较,就可实现对化合物的定性分析。

根据朗伯-比尔定律:

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

A : 吸光度;

I_0 : 透过光的强度;

I : 入射光的强度;

ϵ : 摩尔吸光系数 ($L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$);

b : 吸收池的长度 (通常 1cm、2cm 或 4cm);

c : 待测物的浓度 (mol/L)。





如果固定吸收池的长度,已知物质的吸光度和其浓度成线性关系,这是紫外可见光谱法进行定量分析的依据。

采用外标法定量时,首先配制一系列已知准确浓度的高锰酸钾溶液,分别测量它们的吸光度,以高锰酸钾溶液的浓度为横坐标,以各浓度对应的吸光度值为纵坐标,作图,即得到高锰酸钾在该实验条件下的工作曲线。取未知浓度高锰酸钾样品,在同样的实验条件下测量吸光度,就可以在工作曲线中找到它对应的浓度。

无机化合物电子光谱有电荷迁移跃迁和配位场跃迁二大类。无机盐 KMnO_4 在可见光区具有固定的最大吸收波长位置,在水溶液中它的最大吸收波长值 λ_{max} 为 525 和 544,并且它具有特征的峰形。在避光的环境下保存的水溶液其峰位置和峰形可长期稳定不变,它是作为校正紫外可见光波长的基准物质之一。因此,可以根据它们的紫外吸收光谱特征(见图 1-2),在紫外可见光谱分析仪的定性测量模式中通过光谱扫描,测量获得其波长—吸光度谱图,对它进行准确可靠的定性鉴别,并采用外标定量法进而进行定量分析。

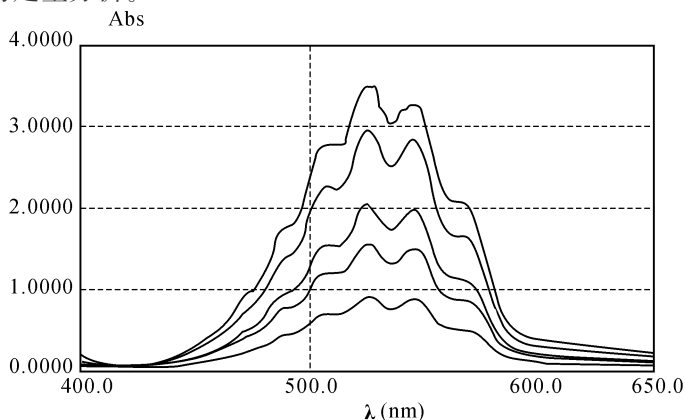


图 1-2 不同浓度的高锰酸钾(KMnO_4)紫外光谱定性扫描图

三、实验仪器和试剂

1. 仪器:UV-1601 紫外可见光谱仪(日本岛津),主要技术指

标如下:

- (1)测量波长范围:190~1100nm
- (2)光度范围:±3.99Abs
- (3)测量准确度:±0.5nm
- (4)光度系统:双光束,动态反馈直接比例记录系统
- (5)测量模式:定波长扫描、定性扫描、定量扫描、动力学
- (6)S/N 比:≤0.0005ABs (2nm 带宽,快速扫描 850~200nm),两面通石英、玻璃比色皿各一对(10mm×10mm),25mL 具塞容量瓶,2mL 移液管,250mL 烧杯,镜头纸,洗瓶等。
- (7)试剂:高锰酸钾(0.02mol/L)标准储备溶液(内含0.5 mol/L H_2SO_4 和 2g/L KIO_4),含有高锰酸钾的未知浓度的双组分混合物,二次蒸馏水等。

四、实验步骤

1. 打开紫外可见光谱仪(岛津 UV-1601)。

主机进行仪器初始化,预热 5 分钟。

2. 储备液和标准系列溶液的配制。

准确称取 1.58g KMnO_4 ,用二次去离子水溶解,加入 14mL 浓硫酸和 1g KIO_4 ,定容于 500mL 容量瓶,得到 0.02mol/mL 的储备液,暗处保存。

分别准确移取 0.25、0.50、1.00、2.00mL 的 KMnO_4 储备液于 50mL 容量瓶中,用二次去离子水定容,得到浓度分别为 0.10、0.20、0.40、0.80mmol/mL 的 KMnO_4 溶液。

3. 在应用菜单中选择定性光谱测量法(Spectrum),在菜单“Configure”中选中“Parameters”,设置好需要的横坐标(波长值,扫描范围 600~400nm)和纵坐标(Abs 值,0~2.5 测量所得参数值)。在定性对话上正确安装所需要的扫描波长范围(横坐标测量波长段)以及光度范围(Abs)、扫描次数(1)、扫描速度(Fast)、单位(M/L)、显示方式(Overlay)等相关值。

4. 在参比槽(里面一个)中放入盛有参比溶液的比色皿,盖好上盖,点击“Baseline”,待仪器自动调整基线。





5. 将装有被测溶液的比色皿放入样品槽(外面一个)中,盖好上盖,点击“Start”,待仪器自动测试完毕。完毕时会自动出现“Save”状态,点击“Save”。在菜单“File”中选中“Save”将该光谱图保存。在菜单“Presentation”中点击“Copy graph”可将光谱图复制至 word 文档。在菜单“Manipulate”中点击“Peak Pick”,自动给出 $\lambda_{\max}$ 报告,依次扫描 5 份高锰酸钾标准溶液,得到类似图 1-2 的光谱图。

6. 同样扫描含有高锰酸钾的未知浓度的双组分混合物,对测量获得的图谱与标准高锰酸钾谱图对照,分析结果。

7. 关机。将比色皿中的溶液倒尽,然后用蒸馏水或有机溶剂冲洗比色皿至干净,将比色皿保存在保存液中,将仪器外盖盖好,退出 UVPC 操作系统,关闭 UVPC 仪器。

五、结果处理

1. 打印标准高锰酸钾定性扫描曲线光谱图。
2. 确定高锰酸钾溶液的最大吸收波长值 $\lambda_{\max}$,并计算最大波长下的摩尔吸收系数 $\epsilon_{\max}$ 。
3. 确定未知浓度高锰酸钾溶液的最大吸收波长 $\lambda_{\max}$ 。

六、讨论

1. 综述紫外吸收光谱分析的基本原理。
2. 归纳影响最佳紫外光谱定性/定量/定波长测量分析结果准确性的各种操作因素,综述各类注意事项。
3. 综述紫外可见光谱仪(UV-1601)定性/定量/定波长测量模式的主要操作特点。

七、注意事项

1. 测定紫外波长时,需选用石英玻璃的比色皿。
2. 测定时,如有溶液溢出或样品槽被弄脏,要尽可能及时清理干净。

实验 2 苯酚紫外吸收光谱的 绘制及定量测定

一、实验目的

1. 了解紫外可见分光光度法的基本原理。
2. 掌握紫外可见分光光度计的基本操作。
3. 掌握紫外可见吸收光谱的绘制和定量测定方法。

二、实验原理

分子的紫外可见吸收光谱是分子中的某些基团吸收了紫外可见辐射光后,发生了电子能级跃迁而产生的吸收光谱。它是带状光谱,反映了分子中某些基团的信息,可以用标准光谱图再结合其他手段对未知物进行定性分析。

根据 Lambert-Beer 定律: $A = \epsilon bc$ (A 为吸光度, ϵ 为摩尔吸光系数, b 为液池厚度, c 为溶液浓度), 可以对溶液进行定量分析。

在紫外可见吸收分光光度分析中, 必须注意溶液 pH 值的影响。因为溶液的 pH 值不但有可能影响被测物的吸光强度, 甚至还可能影响被测物吸收峰的形状和峰位。

苯酚在紫外区有三个吸收峰: 在酸性或中性溶液中, $\lambda_{\max}$ 为 196.3nm、210.4nm 和 269.8nm; 在碱性溶液中, $\lambda_{\max}$ 位移至 207.1nm、234.8nm 和 286.9nm。图 1-3(A、B) 为 0.021g/L 的苯酚分别在 0.010mol/L 盐酸溶液与氢氧化钠溶液中的紫外吸收光谱。由图知, 在盐酸溶液与氢氧化钠溶液中, 苯酚的紫外吸收光谱有很大差别, 所以, 在用紫外可见吸收分光光谱分析苯酚时应加缓冲溶液。本实验通过加氢氧化钠强碱溶液来控制溶液的 pH 值。

三、仪器和试剂

1. 仪器: 日本岛津 UV-1601 紫外可见分光光度计, 1.0cm 石





英比色池。

2. 试剂: 0.5g/L 苯酚标准溶液, 0.25mol/L NaOH。

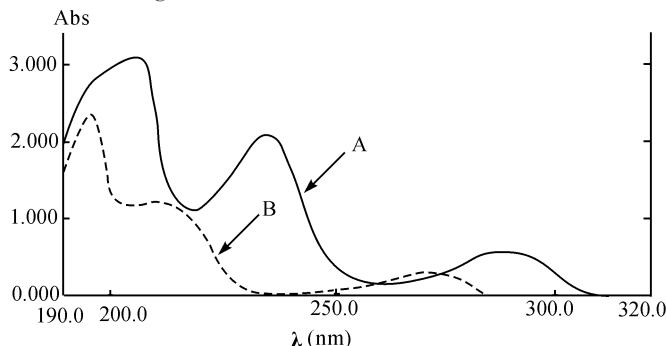


图 1-3 苯酚的紫外吸收光谱

曲线 A: 苯酚在 0.010mol/L 氢氧化钠溶液中的紫外吸收光谱;

曲线 B: 苯酚在 0.010mol/L 盐酸溶液中的紫外吸收光谱。

四、实验步骤

1. 准确移取 0.5g/L 的苯酚标准溶液 5.00mL 于 50mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀。分别准确移取上述苯酚溶液 0.00、5.00、10.00、15.00mL 于 25mL 容量瓶中,另准确移取 2 份合适体积的未知溶液(视未知溶液中苯酚溶液的浓度而定)于 25mL 容量瓶中,上述 6 个容量瓶中各加 1mL 0.25mol/L 的 NaOH 溶液,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀。

2. 开启紫外光谱仪,关闭钨灯,开启氘灯,按照下述步骤扫描谱图:

(1)用 1.00cm 石英比色池,以 0.01mol/L NaOH 溶液作空白,绘制上述苯酚标准溶液的紫外吸收光谱曲线,找出最大吸收波长 $\lambda_{\max}$ 。

(2)固定在最大吸收波长处,测量苯酚标准溶液的吸光度,在该波长下以浓度对吸光度绘制标准曲线,最后测量未知浓度苯酚溶液的吸光度,计算未知样品的浓度。打印出工作曲线和测定参数。

五、数据处理

1. 计算原始未知样中的苯酚的浓度。
2. 求出苯酚在碱性溶液中最大吸收波长 $\lambda_{\max}$ 处的摩尔吸光系数 ϵ 。

六、思考题

1. 实验中为什么加 NaOH?
2. 本实验是在紫外吸收光谱中波长最大的吸收峰下进行测定的,是否可以在波长较短的另外两个吸收峰下进行定量测定?为什么?

