

全国高等中医药院校配套教材

供中药学专业用

# 仪器分析实验

主编 尹 华 张振秋



人民卫生出版社  
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

全国高等中医药院校配套教材

供中药学专业用

# 仪器分析实验

主 编 尹 华 张振秋

副主编 黄建梅 苏明武 王淑美

编 委 (以姓氏笔画为序)

韦国兵 (江西中医药大学)	苏明武 (湖北中医药大学)
王海波 (辽宁中医药大学)	吴 萍 (湖南中医药大学)
王淑美 (广东药学院)	邹 莉 (浙江中医药大学)
尹 华 (浙江中医药大学)	张 伟 (天津中医药大学)
冯 旭 (广西中医药大学)	张振秋 (辽宁中医药大学)
冯素香 (河南中医学院)	袁瑞娟 (北京中医药大学)
朱培芳 (云南中医学院)	黄建梅 (北京中医药大学)
许佳明 (长春中医药大学)	彭金咏 (大连医科大学)

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

仪器分析实验 / 尹华, 张振秋主编. —北京: 人民卫生出版社, 2013.7

全国高等中医药院校配套教材

ISBN 978-7-117-17467-1

I. ①仪… II. ①尹… ②张… III. ①仪器分析—实验—中医学院—教材 IV. ①0657-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 126356 号

人卫社官网	<a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	<a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

仪器分析实验

主 编: 尹 华 张振秋

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京市文林印务有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 6

字 数: 142 千字

版 次: 2013 年 7 月第 1 版 2013 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-17467-1/R·17468

定 价: 15.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

# 前 言

《仪器分析实验》是全国高等院校中医药类专业卫生部“十二五”规划教材、全国高等医药教材建设研究会规划教材《仪器分析》的配套教材，本书供全国高等院校中药学专业使用，也可供药学、药物制剂、制药工程、食品科学、生物科学、生物技术等其它相关专业使用，还可供相关领域的科研工作者、技术人员参考。

《仪器分析实验》是仪器分析课程的重要组成部分，本书的编写以《仪器分析》教材和教学大纲为依据，围绕教学重点，着重训练学生仪器分析的基本实验技能，培养其严谨求实的科学态度和解决实际分析问题的能力。为了便于学生预习和教学，本书保持一定的系统性和独立性。在编写内容的组织、实验项目的设计上，力求能反映仪器分析实验的特点和要求，体现教材的科学性、先进性和实用性。为了使本书具有普适性，尽可能对每种常用仪器分析方法设置多个实验，以便各院校在实际教学中选用。

全书共三章，第一章是仪器分析实验基本知识，介绍了仪器分析实验的要求、实验室安全常识、实验记录、精密容器及分析天平操作等知识；第二章是仪器分析实验基本操作，介绍了紫外光谱、红外光谱、薄层、气相色谱、液相色谱等方法的原理、仪器、性能指标、操作规程与注意事项；第三章是仪器分析实验，一共设置 30 个实验，包括了基础性实验和综合设计性实验，实验内容涵盖了紫外 - 可见分光光度法、红外分光光度法、荧光分光光度法、原子吸收光谱法、经典液相色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、核磁共振波谱法、色 - 质联用技术等仪器分析方法。

本教材由十多所高校的教师合作编写，参编教师均具有丰富的仪器分析教学经验和较高的学术水平，邹莉担任本版教材的编写秘书。参加本书编写的院校有浙江中医药大学、辽宁中医药大学、北京中医药大学、湖北中医药大学、广东药学院、湖南中医药大学、天津中医药大学、大连医科大学、长春中医药大学、江西中医药大学、广西中医药大学、河南中医学院、云南中医学院。

本书的编写得到了各编委所在院校的大力支持，在此一并致谢。

由于编者水平有限，书中如存有错误或不足之处，恳请各位专家和读者批评指正。

**编者**

2012 年 12 月

# 目 录

<b>第一章 仪器分析实验基本知识</b> .....	1
第一节 仪器分析实验的任务与要求.....	1
第二节 实验室安全常识.....	2
一、实验室安全规则.....	2
二、实验室安全标志.....	2
第三节 实验记录与实验报告.....	3
一、实验记录和报告注意事项.....	3
二、实验报告内容.....	3
三、有效数字的修约及运算.....	3
第四节 化学试剂的一般知识.....	4
一、化学试剂的规格.....	4
二、分析用纯水.....	5
第五节 精密容器的种类及操作.....	5
第六节 称量.....	6
一、分析天平.....	6
二、称量方法.....	7
第七节 常用辞典、手册及网上信息查询简介.....	7
一、辞典、手册.....	7
二、网上信息查询.....	8
<b>第二章 仪器分析实验基本操作</b> .....	9
第一节 紫外-可见分光光度法.....	9
一、测定原理与技术要求.....	9
二、紫外-可见分光光度计.....	10
三、紫外-可见分光光度计性能检查.....	10
四、紫外-可见分光光度计操作规程.....	11
五、注意事项.....	12
第二节 红外分光光度法.....	12
一、测定原理与技术要求.....	12
二、红外分光光度计.....	13
三、红外分光光度计性能检查.....	13

四、红外分光光度计操作规程	13
五、注意事项	14
第三节 薄层色谱法	15
一、测定原理与技术要求	15
二、薄层扫描仪	15
三、薄层扫描仪性能检定	16
四、薄层扫描仪的操作规程	16
五、注意事项	17
第四节 气相色谱法	17
一、测定原理与技术要求	17
二、气相色谱仪	18
三、气相色谱仪性能检查	19
四、气相色谱仪操作规程	20
五、注意事项	20
第五节 高效液相色谱法	21
一、测定原理与技术要求	21
二、高效液相色谱仪	21
三、液相色谱仪性能检查	22
四、液相色谱仪操作规程	23
五、注意事项	24
<b>第三章 仪器分析实验</b>	<b>25</b>
实验一 分光光度计的性能检查	25
实验二 分光光度法测定水中微量铁	27
实验三 紫外-可见分光光度法绘制丹皮酚吸收曲线及测定丹皮酚注射液含量	29
实验四 紫外-可见分光光度法测定维生素 B <sub>12</sub> 吸收曲线及定性、定量分析	30
实验五 紫外-可见分光光度法测定银黄口服液液中黄芩苷的含量	32
实验六 紫外-可见分光光度法测定芦丁含量	33
实验七 红外分光光度法测定苯甲酸和苯甲醇的结构	34
实验八 红外分光光度法测定苯乙酮和乙酰苯胺的结构	36
实验九 荧光分光光度法测定维生素 B <sub>2</sub> 含量	38
实验十 荧光分光光度法测定利血平片中利血平的含量	39
实验十一 原子吸收光谱法测定感冒冲剂中铜的含量	40
实验十二 柱色谱法测定氧化铝活度	42
实验十三 柱色谱法分离菠菜中的植物色素	45
实验十四 硅胶黏合薄层的活度测定	46
实验十五 薄层色谱法分离邻硝基苯胺和对硝基苯胺	48
实验十六 薄层色谱法鉴别丹参注射液中原儿茶醛	49
实验十七 薄层扫描法测定黄连药材中盐酸小檗碱的含量	51



实验十八 薄层扫描法测定天麻中天麻素的含量·····	53
实验十九 纸色谱法分离糖和氨基酸·····	55
实验二十 气相色谱法测定冰片中龙脑的含量·····	57
实验二十一 气相色谱法测定藿香正气水中乙醇的含量·····	58
实验二十二 高效液相色谱法的分离度测试·····	60
实验二十三 高效液相色谱仪的性能检查·····	61
实验二十四 高效液相色谱法测定丹参中丹参酮Ⅱ <sub>A</sub> 的含量·····	64
实验二十五 高效液相色谱法测定双黄连口服液中黄芩苷和绿原酸的含量·····	65
实验二十六 高效液相色谱法测定槐花中芦丁的含量(综合性实验)·····	66
实验二十七 核磁共振波谱法测定水杨酸甲酯的结构·····	69
实验二十八 气相色谱-质谱联用定性分析混合物中甲苯、氯苯和溴苯·····	73
实验二十九 液相色谱-质谱联用定性和定量分析黄芩中的黄芩苷·····	75
实验三十 中药牡丹皮中丹皮酚的含量测定(设计性实验)·····	76
<b>附录</b> ·····	<b>78</b>
附录一 元素的相对原子质量·····	78
附录二 常用缓冲溶液·····	79
附录三 常用溶剂的极性数据·····	80
附录四 常用酸碱的密度、含量和浓度·····	82
<b>主要参考书目</b> ·····	<b>83</b>

# 第一章 仪器分析实验基本知识

## 第一节 仪器分析实验的任务与要求

仪器分析是一门实践性很强的课程。仪器分析实验存在两个特点：一是技术要求高、操作比较复杂、影响因素较多、信息量大，还需要通过对大量实验数据进行细致的分析、图谱解析等来获取有用的信息；二是所用设备一般比较昂贵，实验教学多采用循环方式进行。

通过仪器分析实验的学习，能加深学生对仪器分析理论的理解，掌握常用分析仪器的使用方法和操作技能，熟悉所用仪器的结构和各主要部件的基本功能，使用分析仪器正确地获取实验数据。此外，仪器分析实验能培养学生运用分析仪器对实际物质进行分离分析的基本思路，树立严格“量”的概念，学会实验数据的处理方法，书写规范的实验报告，养成严格、认真、实事求是、一丝不苟的科学作风。

为了完成上述任务，首先在实验前应认真进行预习，写好预习报告，对要进行的实验做到心中有数。在实施仪器分析实验教学时，要求学生做到如下几点：

1. 学生在实验之前，应做好预习，仔细阅读实验教材，明确实验目的、任务、原理、实验操作的程序和应注意的事项，特别是安全事项。如有条件，宜先参观大型仪器的操作过程或观看多媒体教学短片。

2. 使用仪器时应爱护仪器设备，在了解其基本原理的基础上，仔细阅读仪器的标准操作规程，严格遵守实验操作规程及注意事项，听从教师指导。实验中若发现仪器工作异常，及时报告老师处理。在使用不熟悉其性能的仪器之前，应请教指导教师。不得随意开动或关闭仪器、旋转仪器旋钮、改变工作参数等。

3. 在实验过程中，为保证数据准确可靠，每个指标至少需做2个平行样。认真学习有关分析仪器的基本操作技术，细心观察实验现象，仔细记录实验条件和测定数据，积极思考，培养良好的实验习惯和科学作风。

4. 实验结束后，应按照仪器操作规程将仪器复原，清理使用过的仪器附件，填写仪器使用记录。

5. 认真书写实验报告，报告应简明扼要，内容包括实验题目、日期、原理、仪器名称及型号、仪器主要工作参数、简要步骤、实验数据和附图、表、数据分析和结果处理、讨论等内容。



## 第二节 实验室安全常识

保护实验室人员人身健康和安​​全,保护周围环境是进行化学实验的基本规范。实验时必须尽可能避免化学试剂的溅出、打碎玻璃仪器、火灾、辐射、触电等危险的发生。

### 一、实验室安全规则

每个实验者必须严格遵守以下实验室安全规则:

(1) 遵守实验室各项规章制度。

(2) 进入实验室穿实验服和不露趾的鞋。实验室内禁止饮食、吸烟。

(3) 未经老师同意不得擅自进行实验。

(4) 使用有毒、易燃易爆试剂时,须严格按照操作规程,远离火源和热源,尽可能在通风柜中进行。低沸点、低燃点的试剂不得在明火或电炉上加热,不可随意将试剂倒入水槽,实验废液应倒入指定容器,统一妥善处理。尽量避免打碎玻璃仪器。若不小心打碎,应将碎玻璃丢弃在合适的容器中统一处理。

(5) 使用高压钢瓶时,需严格按操作规程操作。离开实验室时,应先检查“水、电、气、门、窗”,并关闭或切断其开关、阀门。

(6) 实验室出口通道必须保持畅通,勿将个人物品放在地面。

(7) 若实验过程中不慎着火,应立即报告老师,尽快切断电源和燃气源,选择合适的灭火器材扑灭,迅速离开实验室,若事态严重应及时报警。

(8) 万一发生实验室意外事故,切勿惊慌失措,应沉着冷静及时采取措施,防止事故扩大。若化学试剂溅入眼睛,应立即张开眼睛用大量冷水冲洗。如果发生割伤立刻用大量水冲洗后按压止血;若出血量大,抬高患处,立刻联系老师送往医院。轻微烫伤则可用冷水冲患处,再涂上烫伤油膏,必要时应到医院治疗。

(9) 实验中配制的溶液均应贴上清晰的标签。标签内容包括溶液名称、配制者及配制日期,标签示例如下:

0.1mol/L NaOH 溶液

中药 10 级 张三

2011.09.20

### 二、实验室安全标志

化学实验室中有很多安全标志,常见安全标志如下:



剧毒品



爆炸品



易燃物



要求戴手套

图 1-1 实验室常见安全标志



图 1-1 实验室常见安全标志(续)

## 第三节 实验记录与实验报告

### 一、实验记录和报告注意事项

实验记录应是多年后可被查阅的永久记录,也是科研和书写论文的原始资料。在实验记录和书写实验报告时需注意以下几点:

(1) 实验原始数据的可读性和真实性非常重要。决不能拼凑数据。

(2) 必须用墨水笔记录实验数据。

(3) 在实验中应直接将数据填入实验记录本,而不可为保持记录本整洁在实验结束后再填写数据。

(4) 实验中获得的所有数据包括已知为无效的数据都应记录下来。科研工作中经常会出现实验失误导致数据无效,但即便是已知无效的数据也不得随意涂改。如果确实需要改正,可在不正确的数据上划一条线,然后在旁边写上正确的数据,同时应注明更改数据的原因。所有实验记录上的数据都要保持可读性。

(5) 记录数据和计算结果时应注意有效数字的取舍,只有最后一位数字是可疑数字,不能直接记录计算器或电脑计算后显示的数据。

### 二、实验报告内容

仪器分析实验报告一般包括以下内容:

(1) 实验名称。

(2) 日期,天气,温度,湿度。

(3) 实验目的。

(4) 实验原理。

(5) 仪器和试剂:记录仪器名称、型号,所用试剂名称、规格。

(6) 实验步骤:需表述详细使其他人能重复实验。

(7) 数据记录与处理:实验数据多以表格形式给出。

(8) 实验结论。

(9) 讨论。

### 三、有效数字的修约及运算

1. 有效数字的基本概念 有效数字系指在检验工作中所能得到有实际意义的数值,允

许其最后一位数字欠准,这种由可靠数字和最后一位不确定数字组成的数值,即为有效数字。

2. 有效位数 有效位数系指从左侧第一个非零数字向右数所得到的位数。

有效数字的首位数字为 8 或 9 时,其有效位数可以多计一位。如 85% 和 115% 均为三位有效数字,99.0% 和 101.0% 均为四位有效数字。

3. 数值修约及其进舍规则 数值修约原则为“四舍六入五留双”,即拟舍弃数字 $\leq 4$ 时舍弃; $\geq 6$ 时进位;等于 5 时,若 5 后数字不为 0,则进位;若 5 后数字为 0,则根据 5 前面的数字是奇数还是偶数,采用“奇进偶舍”的方式进行修约,使被保留数据的末位为偶数。

修约相对标准偏差(RSD)中,采用“只进不舍”的原则,RSD 保留 1~2 位有效数字。拟修约数字应在确定修约位数后一次修约获得结果,而不得多次连续修约。

4. 注意事项

(1) 正确记录检测所得的数值,记录全部准确数字和一位欠准数字。

(2) 根据取样的要求,正确选择相应的量具。

“精密称定”系指称取重量应准确至所取重量的 0.1%,可根据称样量选用分析天平或半微量分析天平;“精密量取”应选用符合国家标准移液管或移液枪;必要时应加校正正值。

取用量为“约  $\times\times$ ”时,系指取用量不得超过规定量的  $100\pm 10\%$ 。取用量的精度未作特殊规定时,应根据其数值的有效位数选用与之相应的量具;如规定量取 5ml、5.0ml 或 5.00ml 时,则应分别选用 5~10ml 的量筒、5~10ml 的刻度吸管或 5ml 移液管进行量取。

## 第四节 化学试剂的一般知识

化学试剂有无机试剂和有机试剂两大类。按用途分为标准试剂、高纯试剂、特效试剂、指示剂和生化试剂等。世界各国对化学试剂分类和分级的标准不尽相同。我国化学试剂产品有国家标准(GB)、行业标准(ZB)和企业标准(QB)等。选用试剂时应根据具体要求选用,注意节约,不盲目追求纯度高。取用试剂时要注意保持清洁,以免被污染。固体试剂应用洁净干燥的小勺取用。

### 一、化学试剂的规格

化学试剂的规格以其中所含杂质的多少划分,一般可分为四个等级,其规格和适用范围见表 1-1。

表 1-1 化学试剂规格

等级	名称	英文名称	符号	标签标志
一等品	优级纯(保证试剂)	Guaranteed reagent	GR	绿色
二等品	分析纯(分析试剂)	Analytical reagent	AR	红色
三等品	化学纯	Chemical reagent	CP	蓝色
四等品	实验试剂	Laboratorial reagent	LP	棕色等
	生物试剂	Biological reagent	BR	黄色等

此外,还有一些特殊用途的“高纯”试剂,如光谱纯试剂、基准试剂、色谱纯试剂等。

## 二、分析用纯水

根据分析的任务和要求的不同,对水的纯度要求也有所不同。实验中,应根据所做实验的水质要求,合理地选用不同规格的纯水。我国已颁布了“分析实验室用水规格和试验方法”的国家标准[GB6682-92]。标准中规定了分析实验室用水的级别、技术指标、制备方法及检验方法。表 1-2 为分析实验室用水的级别及主要技术指标。

表 1-2 分析实验室用水的级别和主要技术指标(引自 GB6682-92)

项目	一级	二级	三级
pH 值范围(25℃)	—	—	5.0~7.5
电导率(mS/m, 25℃)≤	0.01	0.10	0.50
比电阻(MΩ·cm, 25℃)≥	10	1	0.2
可氧化物质[以(O)计], mg/L	—	0.08	0.40
吸光度(254nm, 1cm 光程)≤	0.001	0.01	—
蒸发残渣(mg/L, 105℃±2℃)≤	—	1.0	2.0
可溶性硅[mg/L, 以(SiO <sub>2</sub> )计]<	0.01	0.02	—

## 第五节 精密容器的种类及操作

分析实验常用的玻璃器皿包括一般玻璃器皿和精密容器(图 1-2)。烧杯,称量瓶,干燥器、锥形瓶、试剂瓶、量筒和试管属于一般玻璃器皿;容量瓶和移液管属于精密容器,精密容器还包括移液枪。移液管和移液枪常用于准确移取一定量的溶液,容量瓶用于配制一定浓度的溶液。

移液管使用前应清洗干净。使用移液管吸取溶液时,当溶液吸至标线以上时,立刻用右手食指按住管口,管尖靠容器壁,稍松食指,使液面平稳下降,直至液面的弯月面与标线相切,立即按紧食指,将移液管垂直放入接受溶液的容器中,管尖与容器壁接触,放松食指,使溶液自由流出,然后再等待约 10 秒后取出移液管。若移液管上注明“吹”字则需将残留于管尖的液体吹入容器中。

移取少量或微量的液体也可用移液枪,移液枪有单通道和多通道两种,分别适合一个和多个溶液的移取。移液枪量程可调,配套的枪头可更换(图 1-3)。

容量瓶使用前要检查其是否漏水,并将其洗净。使用容量瓶配制溶液时,应先将固体物质在烧杯中溶解后,再将溶液转移至洁净容量瓶中,转移时,要使玻璃棒的下端紧靠

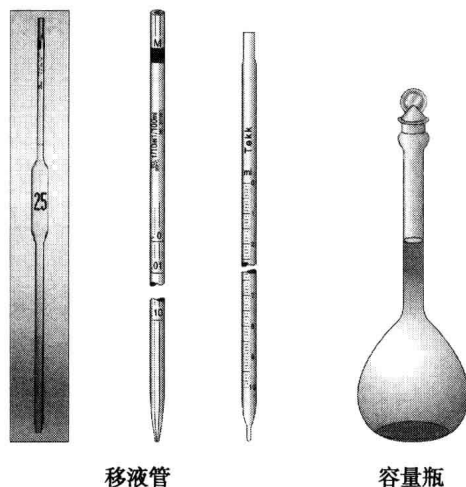


图 1-2 实验室常用精密容器

瓶颈内壁,使溶液沿壁流下,待溶液全部流完后,将玻璃棒轻轻沿烧杯上提,同时直立,使附着在玻棒与烧杯嘴之间的溶液流回到烧杯中,然后用少量蒸馏水洗涤烧杯三次,洗涤液一并转入容量瓶。当加入蒸馏水至容量瓶容量的 2/3 时,摇动容量瓶,使溶液混匀。接近标线时,要慢慢滴加,直至溶液的弯月面(图 1-4)与标线相切为止。然后盖上瓶塞,按住塞子,将容量瓶倒转,振荡溶液,如此反复数次使溶液混匀。

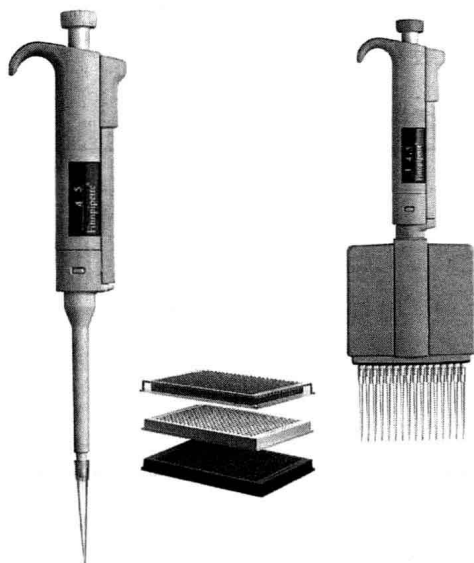


图 1-3 单通道及多通道数字移液枪

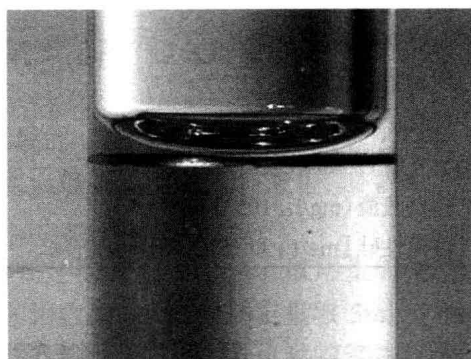


图 1-4 弯月面

## 第六节 称 量

### 一、分析天平

分析天平是精密称量物质质量的一种仪器。分析天平有阻尼天平、电光天平、微量天平和电子天平等(图 1-5),这些天平在构造和使用方法上虽有不同,但其基本原理均为杠杆原理。目前实验室最常用的是电子天平,其使用方法如下:

(1) 开机,预热 1 小时。

(2) 清洁天平及秤盘:天平使用前应用软刷将天平秤盘和底板清洁干净。

(3) 调节水平:天平使用前,必须调节水平。观察天平水平仪的气泡是否在圆圈中心,若不在中心,应调节天平脚处水平调节螺丝的高低使气泡回至中心。

(4) 清零:将容器或称量纸置于秤盘上,天平显示其质量,按<清零>键,显示“0.0000g”。

(5) 校准:用标准砝码进行校准,如万分之一电子天平需用 100g 标准砝码校准至仪器显示

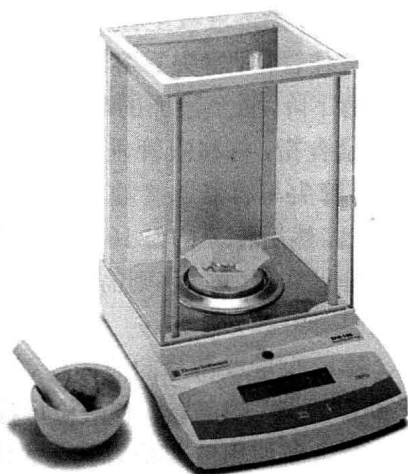


图 1-5 电子天平

“100.0000g”。

(6) 称量: 打开天平门, 置被称物于容器或称量纸中, 关闭天平门, 天平显示被称物重量。

(7) 关机并清洁天平: 实验结束后取出物品, 清扫秤盘, 关闭天平门, 关机。

## 二、称量方法

(1) 直接称量法: 对一些不易吸水、在空气中稳定、无腐蚀性的物品, 可将其放在称量容器中用天平直接称出其质量。

(2) 减量法称量: 对于易吸水、易氧化或易与  $\text{CO}_2$  反应的物质, 可采用减量法。将物质盛于称量瓶中进行称量, 简便准确。此方法称得的样品质量不要求有固定的数值, 只需在要求的范围内即可。接收试样的容器开口应较大, 以保证不会将试样撒落到容器外, 接收容器无需干燥。具体步骤如下:

① 在称量瓶中装入适量试样, 放于分析天平上精确称出其质量  $W_1$  克。

② 取出称量瓶, 用称量瓶盖轻轻敲瓶口的上部, 使试样慢慢落入接收容器中, 然后慢慢将称量瓶竖起, 用瓶盖敲瓶口上部, 使粘在瓶口的试样落入瓶中, 盖好瓶盖, 再将称量瓶放回天平盘上精确称出其质量  $W_2$  克, 如此重复操作, 直至倾出的试样质量达到要求为止(图 1-6)。

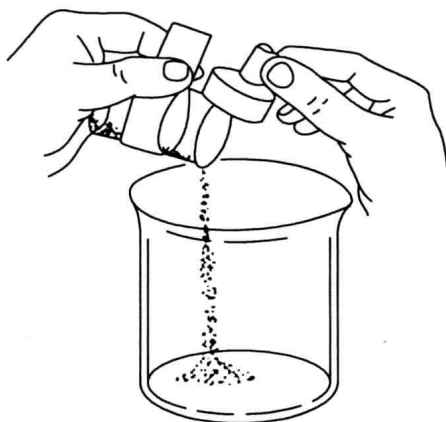


图 1-6 从称量瓶中敲出试样示意图

③ 倾入接收容器的试样质量  $W$  按下式进行计算:  $W = W_1 - W_2$

## 第七节 常用辞典、手册及网上信息查询简介

### 一、辞典、手册

(1) 《分析化学手册》: 化学工业出版社。

(2) 《中华人民共和国药典》: 中国医药科技出版社。

(3) 《分析化学辞典》: 化学工业出版社。

(4) 《试剂手册》: 上海科学技术出版社。



## 二、网上信息查询

- (1) 利用 Google, Baidu, Sogou 等搜索引擎检索。
- (2) 色谱世界·分析化学网·色谱网: <http://www.chemalink.net/>
- (3) 物质性质及图谱查询: <http://webbook.nist.gov/chemistry/cas-ser.html>
- (4) 药典在线: <http://www.newdruginfo.com/>
- (5) 仪器信息网: <http://www.instrument.com.cn/>
- (6) 色谱网: <http://www.sepu.net/>

## 第二章 仪器分析实验基本操作

### 第一节 紫外 - 可见分光光度法

#### 一、测定原理与技术要求

紫外 - 可见分光光度法是通过测定被测物质在紫外 - 可见光区某特定波长处吸光度或一定波长范围内的吸收光谱, 对该物质进行定性和定量分析的方法。物质对紫外 - 可见辐射的吸收是由于分子外层价电子的跃迁所产生, 分子中存在的电子跃迁形式有  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$  和  $n \rightarrow \pi^*$  四种, 其中  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁产生的吸收峰一般小于 150nm, 位于真空紫外区;  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁产生的吸收峰位于 200nm 附近;  $n \rightarrow \pi^*$  产生的吸收在 200~400nm 之间, 为弱吸收峰; 孤立双键  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁产生的吸收峰在 200nm 左右, 但形成共轭体系后, 吸收峰向长波方向移动, 因此紫外 - 可见吸收光谱主要是由化合物中能产生  $\pi \rightarrow \pi^*$  或  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁的基团引起的。一般有机化合物分子结构中如含有共轭体系、芳香环、含杂原子的不饱和基团等发色团, 均可在紫外区 (200~400nm) 或可见光区 (400~760nm) 产生吸收。

紫外 - 可见分光光度法在药物分析中主要用于药品的鉴别、检查和含量测定。其定性分析的依据是相同的化合物具有相同的吸收光谱特征, 如光谱形状、吸收峰数目、吸收波长、吸光系数等, 可通过比较吸收光谱的一致性、吸收光谱的特征数据及多个吸收峰处吸光度比值等进行定性分析。

紫外 - 可见分光光度法用于定量分析的依据是朗伯 - 比尔 (Lambert-Beer) 定律, 其数学表达式为:

$$A = \log \frac{1}{T} = Ecl$$

式中  $A$  为吸光度,  $T$  为透光率,  $E$  为吸收系数,  $c$  为溶液浓度,  $l$  为光程长度。若溶液的浓度 ( $c$ ) 为质量百分浓度 1% (g/100ml), 光程长度 ( $l$ ) 为 1cm, 相应的吸光度即为百分吸收系数, 以  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  表示。若溶液的浓度 ( $c$ ) 为摩尔浓度 1mol/L, 光程长度为 1cm 时, 则相应的吸光度即为摩尔吸收系数, 以  $\epsilon$  表示。

定量分析通常选择物质的最大吸收波长处测定吸光度, 溶剂要求在测定波长处无干扰。含有杂原子的有机溶剂通常均有较强的末端吸收, 因此用作溶剂时, 测定波长要大于溶剂的截止波长。例如甲醇、乙腈的截止波长为 210nm。另外, 当溶剂不纯时, 也可能增加干扰吸收。因此, 在测定供试品前, 应先检查所用的溶剂在供试品测定波长处是否符合要求, 即将溶剂置于 1cm 石英吸收池中, 以空气为空白 (即空白光路中不置任何

物质)测定其吸光度。溶剂和吸收池的吸光度,在 220~240nm 范围内不得超过 0.40,在 241~250nm 范围内不得超过 0.20,在 251~300nm 范围内不得超过 0.10,在 300nm 以上时不得超过 0.05。

## 二、紫外-可见分光光度计

紫外-可见分光光度计主要由光源、单色器、吸收池、检测器、记录仪、显示系统和数据处理系统等部分组成。

为了满足紫外-可见光区全波长范围的测定,仪器备有两种光源,即氢(氘)灯和钨灯,前者用于紫外光区,后者用于可见光区。

单色器通常由入射狭缝、色散元件、出射狭缝、聚焦透镜或反射镜等组成。色散元件有棱镜和光栅两种,目前多用光栅做色散元件。

吸收池通常由两种材料制作,由光学玻璃制作的吸收池可以透过可见光,用于可见光区测量;由石英玻璃制作的吸收池既可用于紫外光区又可用于可见光区。

检测器有光电管和光电倍增管两种。

紫外-可见分光光度计依据其结构不同可分为单光束和双光束分光光度计等。单光束分光光度计需分别测量样品和参比的透光率或吸光度,操作比较费时,用于绘制吸收光谱图时很不方便,适用于单波长的含量测定。双光束分光光度计藉扇形镜交替切换光路使分成样品(S)和参比(R)两光束,并先后到达检测器,几乎可以同时测定样品和参比,双光束分光光度计操作简单,测量快速,自动化程度高。

## 三、紫外-可见分光光度计性能检查

1. 比色皿的配对性 将几个厚度相同的比色皿,都装入空白溶液,以其中任一比色皿做空白(100%透光率),在所用波长处分别测定其他各比色皿的透光率,要求比色皿透光率差值应小于 0.5%。若不符合,则需做校正,以透光率最大的比色皿为 100%透光,测定其余各比色皿的透光率,换算成吸光度即为各比色皿的校正值。测定时,溶液的吸光度应为测得值扣除所用比色皿的校正值。

2. 波长精度的检查 紫外-可见分光光度计仪器波长的允许误差为:紫外区 $\pm 1.0\text{nm}$ , 500nm 附近 $\pm 2.0\text{nm}$ , 700nm 处 $\pm 4.8\text{nm}$ 。

用  $\text{KMnO}_4$  溶液的最大吸收波长 525nm 为标准,在待测仪器上测绘  $\text{KMnO}_4$  溶液的吸收曲线,若测得的最大吸收波长在  $525\pm 2\text{nm}$  以内,则仪器的波长精度符合使用要求。

近年来,也常使用高氯酸铋溶液校正双光束仪器。以 10% 高氯酸溶液为溶剂,配制含氧化铋( $\text{Ho}_2\text{O}_3$ )4% 的溶液,该溶液的吸收峰波长为 241.13nm, 278.10nm, 287.18nm, 333.44nm, 345.47nm, 361.31nm, 416.28nm, 451.30nm, 485.29nm, 536.64nm 和 640.52nm。

3. 重复性 以 0.02mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液的透光率为 100%,用同一  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  溶液连续测定 7 次,求出极差,如小于 0.5%,则重复性符合要求。

4. 吸光度的准确度考察 取 0.06mg/ml 的  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  溶液,以 0.005mol/L 硫酸溶液为空白,在以下规定波长处测定并计算其吸收系数,并与规定的吸收系数比较。若其吸光系数在表 2-1 规定的范围以内,则吸光度的准确度符合要求。