

普通高等院校实验教材系列  
云南民族大学十二五规划教材

# 仪器分析实验

YIQI FENXI  
SHIYAN

杨海英 郭俊明 王红斌 胡秋芬 主编



科学出版社

普通高等院校实验教材系列  
云南民族大学十二五规划教材

# 仪 器 分 析 实 验

杨海英 郭俊明 王红斌 胡秋芬 主 编

科 学 出 版 社

北 京

## 内 容 简 介

本书共十三章, 28 个实验, 内容包括紫外-可见分光光度法、红外光谱法、分子荧光光谱法、原子发射光谱法、原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、电位分析法、伏安法和极谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、核磁共振波谱法、热分析法等。内容全面、新颖、剪系统性强, 先进性与实用性相结合, 符合仪器分析实验教学的要求。

本书可用作高等院校化学、应用化学专业及生物技术、环境工程、化工制药等非化学专业仪器分析实验教材, 也可作为分析测试人员的参考用书。

### 图书在版编目 (CIP) 数据

---

仪器分析实验 / 杨海英等主编. —北京: 科学出版社, 2015. 1

ISBN 978-7-03-042978-0

I. ①仪… II. ①杨… III. ①仪器分析实验-实验-高等学校-教材 IV. ①O657-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 309840 号

---

责任编辑: 杨 岭 郑迷方/责任校对: 冯铂

责任印制: 余少力/封面设计: 墨创文化

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

成都创新包装印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2015 年 1 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2015 年 1 月第一次印刷 印张: 8 3/4

字数: 200 000

定价: 22.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

# 前 言

仪器分析实验是仪器分析化学课程的重要组成部分，是一门实践性很强的学科。通过学习本课程，使学生掌握和理解对各种现代仪器分析方法的基础理论和工作原理，正确和熟练地掌握各种仪器的基本操作，培养学生运用仪器分析手段解决实际问题的能力，为学习后续课程及今后工作打下良好的基础。

随着科研和生产的发展，仪器分析方法在分析检测工作中的比重越来越大，仪器分析课程在化学、应用化学、化工类及其他有关专业教学计划中的地位显得日益重要。本教材在总结云南民族大学化学与生物技术学院仪器分析实验教学经验的基础上，结合现代分析仪器在教学、科研、生产中的应用和发展及教师的科研成果编写而成。

参加本教材编写的教师均是长期从事仪器分析实验教学和科研工作的人员，他们是：高利斌（第一章）、杨丽娟（第二章）、张丽珠（第三章）、杨敏（第四章）、叶艳青（第五章）、郭俊明、胡秋芬、高云涛（第六章）、张艳丽（第七章）、庞鹏飞（第八章）、刘天成（第九章）、杨海英（第十章）、王韦（第十一章）、白玮、马林转（第十二章）、王红斌、黄相中（第十三章）。在此对相关作者表示衷心感谢！全书由杨海英、郭俊明、王红斌、胡秋芬共同审稿、修改，最后通读定稿。

本书得到了云南民族大学省级民族机动金民族文化教育项目资助出版，同时科学出版社郑述方编辑为本书的出版提供了大量帮助，在此一并表示感谢！

由于编者水平有限，书中错误在所难免，恳请读者批评指正。

编者  
2014年6月

# 目 录

<b>第一章 紫外-可见分光光度法</b> .....	1
第一节 方法原理 .....	1
第二节 紫外-可见分光光度计 .....	4
第三节 实验部分 .....	6
实验 1 硝基苯的紫外-可见光谱测定 .....	6
实验 2 紫外-可见光谱在黄酮类化合物结构鉴定中的应用 .....	7
附录 1 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计操作规程 .....	10
<b>第二章 红外光谱法</b> .....	12
第一节 方法原理 .....	12
第二节 红外光谱仪 .....	13
第三节 实验部分 .....	13
实验 3 聚苯乙烯膜的红外吸收光谱测定 .....	13
实验 4 谱法推测未知物的结构 .....	14
附录 2 傅里叶变换红外光谱仪操作规程 .....	16
<b>第三章 分子荧光光谱法</b> .....	18
第一节 方法原理 .....	18
第二节 荧光分光光度计 .....	19
第三节 实验部分 .....	21
实验 5 荧光法测定罗丹明染料 .....	21
实验 6 荧光法测定 $Y_2O_3 : Eu^{3+}$ .....	22
附录 3 瓦里安(Varian)荧光分光光度计操作规程 .....	24
<b>第四章 原子发射光谱法</b> .....	26
第一节 方法原理 .....	26
第二节 原子发射光谱仪 .....	27
第三节 实验部分 .....	28
实验 7 光谱定性分析 .....	28
实验 8 光谱半定量测定矿石中的铅 .....	31
附录 4 WPP1 型一米平面光栅摄谱仪操作规程 .....	32
附录 5 摄谱数据记录表 .....	33
附录 6 部分元素的特征灵敏线( $\text{\AA}$ ) .....	33

附录 7 电极和样品的制备 .....	33
附录 8 显影液、定影液的配制 .....	34
附录 9 标准样品配制 .....	35
附录 10 不同 Pb 含量的几条谱线特征参考 .....	35
<b>第五章 原子吸收光谱法</b> .....	<b>36</b>
第一节 方法原理 .....	36
第二节 原子吸收光谱仪 .....	38
第三节 实验部分 .....	40
实验 9 火焰原子吸收光谱法灵敏度和自来水中钙、镁的测定 .....	40
实验 10 原子吸收光谱法测定土壤中的镉 .....	43
附录 11 AA-6300 型原子吸收分光光度计功能简介与操作规程 .....	46
<b>第六章 原子荧光光谱法</b> .....	<b>48</b>
第一节 方法原理 .....	48
第二节 氢化物发生-原子荧光分析仪 .....	49
第三节 实验部分 .....	51
实验 11 氢化物发生-原子荧光光度法测定土壤中水溶性砷的含量 .....	51
实验 12 氢化物发生-原子荧光光度法测定饲料中添加的砷 .....	54
附录 12 AFS-230E 双道原子荧光分析仪的操作规程 .....	57
<b>第七章 电位分析法</b> .....	<b>60</b>
第一节 方法原理 .....	60
第二节 酸度计 .....	61
第三节 实验部分 .....	61
实验 13 玻璃电极响应斜率和溶液 pH 的测定 .....	61
实验 14 离子选择性电极法测定水中微量氟离子 .....	65
附录 13 梅特勒-托利多 Delta320 型酸度计操作规程 .....	69
<b>第八章 伏安法和极谱法</b> .....	<b>72</b>
第一节 方法原理 .....	72
第二节 电化学工作站 .....	73
第三节 实验部分 .....	74
实验 15 循环伏安法判断铁氰化钾的电极反应过程 .....	74
实验 16 芦丁在纳米金修饰玻碳电极上的电化学行为及其测定 .....	79
附录 14 CHI600D 系列电化学工作站操作规程 .....	82
<b>第九章 气相色谱法</b> .....	<b>84</b>
第一节 方法原理 .....	84
第二节 气相色谱仪 .....	85
第三节 实验部分 .....	86

实验 17 程序升温气相色谱法分离多组分混合样品 .....	86
实验 18 气相色谱毛细管柱测量废水中苯系物 .....	88
附录 15 气相色谱仪器操作规程 .....	88
<b>第十章 高效液相色谱法</b> .....	<b>90</b>
第一节 方法原理 .....	90
第二节 高效液相色谱仪 .....	91
第三节 实验部分 .....	92
实验 19 高效液相色谱法对联苯类化合物的定性定量分析 .....	92
实验 20 茶叶中咖啡因的高效液相色谱分析 .....	94
附录 16 Agilent1200 高效液相色谱仪操作规程 .....	96
<b>第十一章 核磁共振波谱法</b> .....	<b>98</b>
第一节 方法原理 .....	98
第二节 核磁共振波谱仪 .....	99
第三节 实验部分 .....	100
实验 21 乙苯的 <sup>1</sup> H-NMR 的结构鉴定 .....	100
实验 22 核磁共振监测阿司匹林的合成进程 .....	102
附录 17 布鲁克 AV-III 400 MHz 核磁共振波谱仪操作规程 .....	104
<b>第十二章 热分析法</b> .....	<b>106</b>
第一节 方法原理 .....	106
第二节 热分析仪器 .....	107
第三节 实验部分 .....	108
实验 23 用差热分析法测定市售安乃近片开环热焓和表观活化能 .....	108
实验 24 五水硫酸铜的热重分析 .....	111
附录 18 差热分析仪操作规程 .....	114
附录 19 差热-热重联用分析仪操作规程 .....	115
<b>第十三章 其他仪器分析方法</b> .....	<b>118</b>
实验 25 离子色谱法测定水中的无机阴离子 .....	118
实验 26 离子色谱法测定水中的阳离子 .....	120
附录 20 ICS 1500 离子色谱仪操作规程 .....	122
实验 27 薄荷油(Mint oil)的提取及气相色谱-质谱联用分析 .....	124
实验 28 气相色谱-质谱分析川芎挥发油化学成分 .....	127

# 第一章 紫外-可见分光光度法

## 第一节 方法原理

### 一、基本原理

紫外-可见分光光度法是利用物质的分子或离子对紫外和可见光的吸收所产生的紫外-可见光谱及吸收程度对物质的组成、含量和结构进行分析、测定、推断的分析方法。

#### 1. 紫外光谱的产生

分子和原子一样，也有它的特征分子能级。物质分子内部有三种运动形式。

- (1) 电子相对于原子核的运动。
- (2) 原子核在其平衡位置附近的相对振动。
- (3) 分子本身绕其重心的转动。

分子的内能由电子能量、振动能量、转动能量组成。分子的能量  $E$  等于下列三项之和：

$$E = E_e + E_v + E_r$$

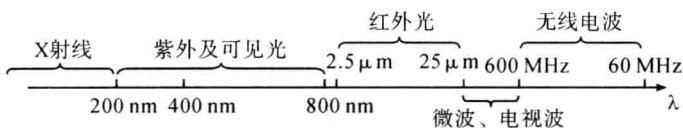
式中， $E_e$ ， $E_v$ ， $E_r$  分别代表电子能、振动能和转动能。

分子从外界吸收能量后，就能引起分子能级的跃迁，即从基态能级跃迁到激发态能级。分子吸收能量具有量子化的特征，即分子只能吸收等于两个能级之差的能量。

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

式中， $h$  为普朗克常数， $h = 6.624 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} = 4.136 \times 10^{-15} \text{ eV} \cdot \text{s}$ ， $c$  (光速)  $= 2.998 \times 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

由于三种能级跃迁所需能量不同，所以需要不同波长的电磁辐射使它们跃迁，即在不同的光学区出现吸收谱带。



电子能级的跃迁所需能量最大，约为  $1 \sim 20 \text{ eV}$ ，根据  $E = h\nu = hc/\lambda$ ，需要吸收光的波长范围在  $200 \sim 1000 \text{ nm}$ ，恰好落在紫外-可见光区域。因此，紫外吸



收光谱是由于分子中价电子的跃迁而产生的。根据分子轨道理论，在有机化合物分子中有几种不同性质的价电子：形成单键的电子称为  $\sigma$  键电子；形成双键的电子称为  $\pi$  键电子；氧、氮、硫、卤素等含有未成键的孤对电子，称为  $n$  电子（或称  $p$  电子）。当它们吸收一定能量  $\Delta E$  后，这些价电子将跃迁到较高的能级（激发态），此时电子所占的轨道称为反键轨道。而这种特定的跃迁是同分子内部结构有着密切关系的，一般可将这些跃迁分成如下四类。

(1)  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁 ( $\sigma^*$  表示  $\sigma$  键电子的反键轨道)：它需要的能量较高，一般发生在真空紫外光区。饱和烃中的一 C—C—键属于这类跃迁。

(2)  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁 ( $\pi^*$  表示  $\pi$  键电子的反键轨道)：它需要的能量低于  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁，吸收峰一般处于近紫外光区，在 200 nm 左右，其特征是摩尔吸光系数大，一般  $\epsilon_{\max} \geq 10^4$ ，为强吸收带。

(3)  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁：实现这类跃迁所需要的能量较高，其吸收光谱落于远紫外光区和近紫外光区。

(4)  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁：这类跃迁发生在近紫外光区。它是简单的生色团，例如，羰基、硝基等中的孤对电子向反键轨道跃迁。

各种跃迁所需能量是不同的，可用图 1-1 表示。

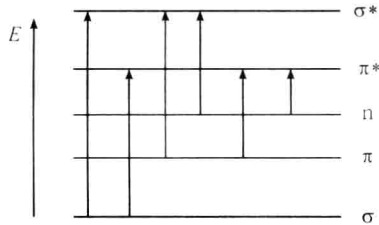


图 1-1 分子轨道的能级和电子跃迁

由图可见，各种跃迁所需能量大小为：

$$\sigma \rightarrow \sigma^* > n \rightarrow \sigma^* \geq \pi \rightarrow \pi^* > n \rightarrow \pi^*$$

电子跃迁类型、吸收能量波长范围与有机物关系如下：

跃迁类型	吸收能量的波长范围	有机物种类
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	~150 nm	烷烃
$n \rightarrow \sigma^*$	低于 200 nm	醇、醚
$\pi \rightarrow \pi^*$ (孤立)	低于 200 nm	乙烯、丙酮
$\pi \rightarrow \pi^*$ (共轭)	200~400 nm	丁二烯、苯
$n \rightarrow \pi^*$	200~400 nm	乙醛

在有机化合物中，只有  $\pi \rightarrow \pi^*$  和  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁与紫外吸收光谱有关。这两种跃迁均要求有机物分子中含有能导致化合物在紫外及可见光区产生吸收的发色基团 (chromophore)，例如，分子中含有  $\pi$  键的  $C=C$ 、 $C \equiv C$ 、苯环以及  $O=C$ 、 $N=N$ 、 $S=O$  等不饱和基团。

## 2. 影响紫外-可见吸收光谱的因素

### 1) 助色团的影响

有一些含有 n 电子基团(如—OH、—OR、—NH<sub>2</sub>、—NHR、—X 等), 它们本身没有生色功能(不能吸收  $\lambda > 200$  nm 的光), 但当它们与生色团相连时, 会形成非键电子与  $\pi$  电子的共轭( $p-\pi$  共轭), 从而使电子的活动范围增大, 吸收向长波方向位移, 增强生色团的生色能力(吸收波长向长波方向移动, 且吸收强度增加), 这样的基团称为助色团。

红移(bathochromic shift or red shift)是由于取代作用或溶剂效应导致吸收峰向长波方向移动。增色效应(hyperchromic effect)是因助色基团的作用使发色团红移, 其吸收强度通常都有所增加。蓝移(hypsochromic shift or blue shift)是由于取代作用或溶剂效应导致吸收峰向短波方向移动; 吸收强度降低的作用叫减色效应(hypochromic effect)。

### 2) 溶剂的影响

溶剂对紫外-可见光谱的影响较为复杂。改变溶剂的极性, 会引起吸收带形状的变化。当溶剂的极性增大时, 由  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁产生的吸收带发生蓝移, 而由  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁产生的吸收带发生红移。

## 二、分析方法

紫外-可见分光光度法基于 Lambert—Beer 定律:

$$A = \lg(I_0/I_t) = \epsilon bc$$

式中,  $A$  为吸光度;  $c$  为溶液的物质的量浓度,  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $b$  为液层的厚度,  $\text{cm}$ ;  $\epsilon$  为吸收系数(消光系数);  $I_0$  为入射光强度;  $I_t$  为透射光强度。

当入射光波长  $\lambda$  及光程  $b$  一定时, 在一定浓度范围内, 试样的吸光度  $A$  与该试样的浓度  $c$  成正比。应用紫外分光光度计, 使紫外光依次照射一定浓度的样品溶液, 分别测得消光系数  $\epsilon$ 。以消光系数  $\epsilon$  或  $\log \epsilon$  为纵坐标, 波长  $\lambda$ (单位 nm) 为横坐标, 作图得紫外光谱吸收曲线, 即紫外光谱图(如图 1-2 所示)。

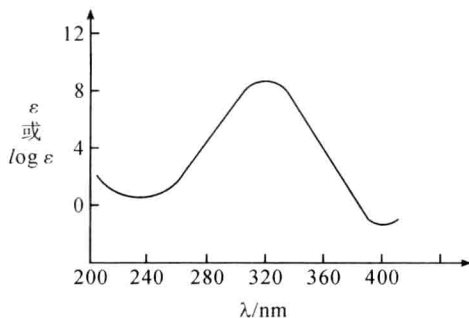


图 1-2 紫外光谱图

## 第二节 紫外-可见分光光度计

紫外-可见吸收光谱测定所用的仪器是紫外-可见分光光度计，按其光学系统可以分为：单光束分光光度计、双光束分光光度计和双波长分光光度计。

### 1. 单光束分光光度计

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。

### 2. 双光束分光光度计

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。双光束分光光度计一般都能自动记录吸收光谱曲线。由于两束光同时分别通过参比池和样品池，还能自动消除光源强度变化所引起的误差。

### 3. 双波长分光光度计

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 $\Delta A$ ( $\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$ )。

其中最常用的是双光束分光光度计，它由光源(辐射源)、分光器、吸收池、检测器和记录器等元件组成。

#### 1) 光源

对光源的基本要求是：应在仪器操作所需的光谱区域内能够发射连续辐射，有足够的辐射强度和良好的稳定性，而且辐射能量随波长的变化应尽可能小。钨灯或卤钨灯可提供 350~1000 nm 可见光源；氢灯或氘灯可提供 200~360 nm 紫外光源。

#### 2) 分光器

分光器是能从光源辐射的复合光中分出单色光的光学装置，其主要功能：产生光谱纯度高的波长，且波长在紫外可见区域内任意可调。分光器一般由入射狭缝、准光器(透镜或凹面反射镜使入射光成平行光)、色散元件、聚焦元件和出射狭缝等几部分组成。其核心部分是色散元件，起分光的作用。单色器的性能直接影响入射光的单色性，从而也影响到测定的灵敏度、选择性及校准曲线的线性关系等。

### 3) 吸收池

吸收池用于盛放分析试样，一般有石英和玻璃材料两种。石英池适用于可见光区及紫外光区，玻璃吸收池只能用于可见光区。为减少光的损失，吸收池的光学面必须完全垂直于光束方向。在高精度的分析测定中(紫外区尤其重要)，吸收池要挑选配对，因为吸收池材料本身的吸光特征、吸收池光程长度的精度等对分析结果都有影响。

### 4) 检测器

检测器的功能是检测信号、测量单色光透过溶液后光强度变化的一种装置。常用的检测器有光电池、光电管和光电倍增管等。光电倍增管是检测微弱光最常用的光电元件，它的灵敏度比一般的光电管要高 200 倍，因此可使用较窄的单色器狭缝，从而对光谱的精细结构有较好的分辨能力。

### 5) 记录器

记录器的作用是放大信号，并以适当方式指示或记录下来。常用的信号指示装置有直读检流计、电位调节指零装置以及数字显示或自动记录装置等。很多型号的分光光度计装配有微处理机，一方面可对分光光度计进行操作控制，另一方面可进行数据处理。

图 1-3 是 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计的光程原理图。

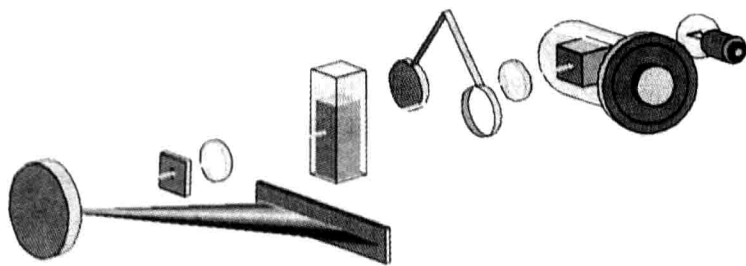


图 1-3 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计的光程原理图

钨灯和氘灯组合光源发出的连续辐射经透镜聚焦，通过滤光板进入比色皿，然后经过光谱透镜再次聚焦后通过狭缝投射到光栅上，最后进入光电二极管阵列检测器。

## 第三节 实验部分

### 实验 1 硝基苯的紫外-可见光谱测定

#### 一、实验目的

- (1)理解紫外-可见吸收光谱法的原理及应用范围。
- (2)了解紫外-可见分光光度计的基本构造及设计原理。
- (3)掌握 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计的应用。
- (4)理解影响有机化合物紫外-可见吸收光谱的因素。

#### 二、基本原理

苯的紫外光谱都是由  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁产生，其共有三个特征谱带，即  $E_1$ 、 $E_2$  和 B 带。 $E_1$  谱带强度较大，没有精细结构，是苯环的特征谱带。 $E_2$  带常与  $E_1$  带重叠，且含有振动结构。B 带强度低且有明显的振动精细结构，易受溶剂效应影响。在硝基苯中，由于苯环上的氢原子被  $-\text{NO}_2$  取代后， $-\text{NO}_2$  与苯环形成  $\pi$ - $\pi$  共轭体系，共轭程度增加，导致硝基苯中苯环骨架的  $E_1$ 、 $E_2$  和 B 吸收带红移。

溶剂极性对硝基苯紫外吸收光谱也有明显影响，当溶剂极性增大时， $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁产生的吸收带红移。另外，溶剂极性也影响硝基苯芳香苯环骨架吸收谱带的振动精细结构，溶剂极性增加，谱带精细结构逐渐消失，吸收曲线趋于平滑。

#### 三、仪器及试剂

##### 1. 仪器

Agilent 8453 紫外-可见分光光度计；1 mL 移液管 6 支；石英比色皿 1 对。

##### 2. 试剂

硝基苯(A. R.)，乙醇(A. R.)，环己烷(A. R.)。

#### 四、实验操作

- (1)启动 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计，预热 20 min。
- (2)分别用乙醇和环己烷作为溶剂，配制  $0.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的硝基苯溶液。
- (3)启动 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计测试程序，进入主界面。
- (4)在“mode”中选择“standard”。
- (5)在“method”中选择“spectrum/peaks”。

(6) 点击“setup”按钮，在“peak/valley find”中输入需标示的波峰/波谷数目，在“display spectrum”对话框中设定光谱显示范围。

(7) 抬起样品支架锁紧杆，插入盛有空白溶剂（环己烷）的比色皿，注意比色皿光路方向，压紧锁紧杆。

(8) 点击“blank”按钮开始扫描。

(9) 扫描完成后取出比色皿，并用待测试样（硝基苯环己烷溶液）润洗比色皿，装入待测试样，按前述操作将比色皿放入样品支架。

(10) 点击“sample”按钮开始扫描。

(11) 选定“file—save—sample as”，保存测试数据。

(12) 按如上操作分别测定乙醇空白样和硝基苯乙醇溶液的紫外吸收光谱。

## 五、实验结果与数据处理

分析硝基苯环己烷溶液、硝基苯乙醇溶液的紫外光谱，并与文献中苯的紫外光谱比较，分析讨论生色团及溶剂极性对化合物紫外吸收谱带的影响。

## 六、注意事项

在测定样品的紫外吸收光谱之前，必须对空白样品进行基线校正，以消除溶剂吸收紫外光的影响。

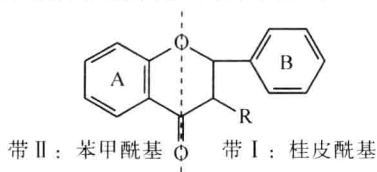
## 实验 2 紫外-可见光谱在黄酮类化合物结构鉴定中的应用

### 一、实验目的

- (1) 理解紫外-可见吸收光谱法的原理及应用范围。
- (2) 了解紫外-可见分光光度计的基本构造及设计原理。
- (3) 掌握 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计的应用。
- (4) 理解影响有机化合物紫外-可见吸收光谱的因素。
- (5) 掌握紫外-可见光谱在黄酮类化合物鉴别中的应用。

### 二、基本原理

在甲醇溶剂中，黄酮类化合物的紫外吸收光谱显示两个主要的吸收谱带，即带 I (300~400 nm) 和带 II (240~280 nm)。黄酮类化合物的紫外吸收光谱中带 I 和带 II 的紫外吸收峰位、峰形和吸收强度随化合物结构类型的不同而不同，因此可以通过紫外光谱判断黄酮类化合物的结构类型。



黄酮类化合物紫外吸收光谱的主要特征(甲醇溶剂)

结构类型	峰位(nm)		组内区别 (峰位)	组间区别 (峰强)
	带 I	带 II		
黄酮	310~350	250~280	带 I 不同	I、II 皆强
黄酮醇	350~385	250~280		
异黄酮	31~330(肩峰)	245~275	带 II 不同	I 弱 II 强
二氢黄酮(醇)	30~330(肩峰)	275~295		
查耳酮	340~390	230~270(低强度)	带 I 不同	I 强 II 弱
橙酮	380~430	230~270(低强度)		

黄酮类化合物中的酚羟基在甲醇钠(NaOMe)、乙酸钠(NaOAc)、乙酸钠/硼酸(NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)、三氯化铝(AlCl<sub>3</sub>)或三氯化铝/盐酸(AlCl<sub>3</sub>/HCl)这些诊断试剂作用下能发生离解或形成络合物,从而导致黄酮类化合物的紫外吸收光谱谱带发生变化。可以通过这种变化来判断黄酮类化合物的结构类型。

### 三、仪器及试剂

#### 1. 仪器

Agilent 8453 紫外-可见分光光度计; 10 mL 比色管(带塞)6 支; 1 mL 移液管 6 支; 石英比色皿 1 对。

#### 2. 试剂

甲醇, 甲醇钠, 乙酸钠, 乙酸钠/硼酸, 三氯化铝, 三氯化铝/盐酸, 蒸馏水。

### 四、实验操作

(1)启动 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计, 预热 20 min。

(2)将从银杏叶中提取浓缩的黄酮溶液用甲醇在比色管中稀释成一定浓度的溶液。

(3)用移液管将待测样品倒入石英比色皿中, 置于仪器液体样品测试附件内, 并以甲醇作参比。

(4)启动 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计测试程序, 进入主界面。

(5)在“mode”中选择“standard”。

(6)在“method”中选择“spectrum/peaks”。

(7)点击“setup”按钮, 在“peak/valley find”中输入需标示的波峰/波谷数目, 在“display spectrum”对话框中设定光谱显示范围。

(8)抬起样品支架锁紧杆, 插入盛有空白溶剂的比色皿, 注意比色皿光路方向, 压紧锁紧杆。

(9) 点击“blank”按钮开始扫描。

(10) 扫描完成后取出比色皿，并用待测试样润洗比色皿，装入待测试样，按前述操作将比色皿放入样品支架。

(11) 点击“sample”按钮开始扫描。

(12) 选定“file—save—sample as”，保存测试数据。

(13) 取上述同一黄酮提取液以甲醇作溶剂稀释，并依次加入甲醇钠、乙酸钠、乙酸钠/硼酸、三氯化铝及三氯化铝/盐酸作为诊断试剂。按前述操作分别测试所配溶液的吸收光谱曲线。

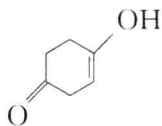
(14) 进行谱图解析，判断银杏叶提取黄酮的主要成分结构。

## 五、实验结果与数据处理

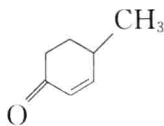
分析比较黄酮试样(以甲醇作溶剂)在不加诊断试剂和加入诊断试剂条件下的紫外吸收光谱，计算不同条件下黄酮的最大吸收波长红移或蓝移了多少，分析原因并推断试样中黄酮的结构类型。

## 六、思考题

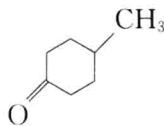
(1) 下列化合物的紫外吸收光谱中，哪一个化合物的 $\lambda_{\max}$ 最大，哪一个化合物的 $\lambda_{\max}$ 最小？为什么？



(a)



(b)



(c)

(2) 本实验中有哪些需要注意的事项？

(3) 诊断试剂对黄酮类化合物的紫外吸收光谱的影响及其在黄酮结构测定中的意义如何？

## 七、注意事项

(1) 注意保护比色皿透光面，每次测定新的试样时比色皿必须清洗干净，并用待测试样润洗三次，试样装入比色皿后要将其外壁用擦镜纸擦拭干净。

(2) 试样测定应在稀溶液中进行。

## 八、参考文献

- [1] 陈培榕, 邓勃. 现代仪器分析实验与技术. 北京: 清华大学出版社, 1999.
- [2] 清华大学分析化学教研室. 现代仪器分析(上册). 北京: 清华大学出版社, 1983.
- [3] 姚新生, 吴立军. 天然药物化学. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [4] 赵瑶兴, 孙祥玉. 有机分子结构光谱鉴定. 北京: 科学出版社, 2003.



## 附录 1 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计操作规程

### 一、开机

- (1) 启动计算机，进入 Windows 操作系统。
- (2) 开启 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计。
- (3) 仪器自检完成后，双击 instrument online 程序，进入 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计分析测试界面。
- (4) 点击“instrument——lamps——氘灯/钨灯——lamps on(右键)”，打开光源，待光源稳定后即可开始测试。

### 二、光谱扫描

- (1) 在“mode”中选择“standard”。
- (2) 在“method”中选择“spectrum/peaks”。
- (3) 点击“setup”按钮，在“peak/valley find”中输入需标示的波峰/波谷数目，在“display spectrum”对话框中设定光谱显示范围。
- (4) 抬起样品支架锁紧杆，插入盛有空白溶剂的比色皿，注意比色皿光路方向，压紧锁紧杆。
- (5) 点击“blank”按钮开始扫描。
- (6) 扫描完成后取出比色皿，并用待测试样润洗干净比色皿，装入待测试样，按前述操作将比色皿放入样品支架。
- (7) 点击“sample”按钮开始扫描。
- (8) 选定“file——save——sample as”，保存测试数据。

### 三、固定波长扫描

- (1) 在“mode”中选择“standard”。
- (2) 在“method”中选择“fixed wavelenths”。
- (3) 在“fixed wavelenths”对话框中设定测试波长，在“display spectrum”对话框中设定扫描波长范围。
- (4) 抬起样品支架锁紧杆，插入盛有空白溶剂的比色皿，注意比色皿光路方向，压紧锁紧杆。
- (5) 点击“blank”按钮开始扫描。
- (6) 扫描完成后取出比色皿，并用待测试样润洗干净比色皿，装入待测试样，按前述操作将比色皿放入样品支架。
- (7) 点击“sample”按钮开始扫描。
- (8) 选定“file——save——sample as”，保存测试数据。