

揭阳职业技术学院

Jieyang Polytechnic

教 案

系（部）： 化学工程系

讲授课程： 仪器分析（与“人才培养方案”同）

任课教师： 刘月颖

专业班级： 应用化工技术 241、（3+证书） 241

授课学期： 2025-2026 学年第一学期

揭阳职业技术学院化学工程系

2025 年 9 月

“仪器分析”课程综述

一、本课程的主要内容

通过学习本课程，学习和掌握仪器分析的基本原理、基本知识和基本操作技能，培养严谨的科学态度，提高分析问题和解决问题的能力，为学习后继课程和将来从事精细化学品、食品、药品及其它工业产品的质量检测、分析及科学研究工作打好基础。主要知识模块如下：

绪论

紫外可见分光光度法

电位分析法

原子吸收光谱法

气相色谱法

高效液相色谱法

红外吸收光谱法

二、本课程与其他课程的关系

本课程是商品检验技术、化妆品技术和应用化工技术专业的专业基础课，是安排在大二第一学期讲授的课程，前续课程有无机化学、分析化学（化学分析部分）、有机化学等，后续课程有分析方法选择与方案设计、其他各类分析检验技术等课程。

三、本课程的现状

一、本课程在环境科学、资源调查、医药卫生、生命科学和材料科学等领域有广泛应用，

二、本课程的教学现状：大部分学生普遍认为本课程太抽象，在没有仪器条件下上课，犹如纸上谈兵，传统的教学方式老师上面讲学生下面听，老师讲得辛苦学生听得疲惫，现已有大部分院校在本课程中应用 CAI (计算机辅助软件)，可将本课程大量抽象内容化具体，易突出重点和突破难点，提高信息量，减轻学生负担，提高学生兴趣，活跃课堂气氛，大大提高了教学质量。

四、本课程的发展

本课程是工业分析与检测、食品检测、环境监测与治理等专业的主干课程，发展趋势如下：

1. 方法创新
2. 仪器智能化
3. 新型动态分析检测和非破坏性检测
4. 多种方法联合使用
5. 扩展时空多维信息

本课程正在向快速、准确、自动、灵敏及适应特殊分析的方向迅速发展。

授课日期

第一周

教案编号 01

课程名称	仪器分析		专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	绪论			
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (<input type="checkbox"/>); 其它 (4 节)			
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (<input type="checkbox"/>); 见习 (<input type="checkbox"/>); 实训 (<input type="checkbox"/>); 其它 (<input type="checkbox"/>)			
教学目的	<p>一、能力(技能)目标</p> <p>1. 初步了解新课程的学习模式和学习方法。</p> <p>2. 积极准备,全方位地配合教学活动,培养职业观念、学习能力和职业专门能力。</p> <p>二、知识目标</p> <p>1. 了解仪器分析课程的性质、任务和基本要求。</p> <p>2. 掌握仪器分析课程的基本概念,与化学分析的区别与联系。</p> <p>3. 了解仪器分析的方法分类、分析特点、应用与发展趋势。</p>			
教学重点	掌握仪器分析课程的基本概念,与化学分析的区别与联系。 仪器分析的方法分类、应用与发展趋势。			
教学难点	掌握仪器分析的基本概念,与化学分析的区别与联系。			
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (<input type="checkbox"/>); 其它 (<input type="checkbox"/>)			
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input type="checkbox"/>); Author ware (<input type="checkbox"/>); 其它 (<input type="checkbox"/>)		
	无 (<input type="checkbox"/>)			
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (<input type="checkbox"/>); 标本 (<input type="checkbox"/>); 实物 (<input type="checkbox"/>); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 (<input type="checkbox"/>)			
教学过程 时间安排	<p>1、提出社会食品添加危害相关新闻引入课堂,培养大学生的价值观和社会责任感 15</p> <p>2、了解仪器分析课程的定义,内容,分类等。 30'</p> <p>3、了解仪器分析的应用 25</p> <p>4、了解仪器分析的特点和发展趋势 20</p> <p>5、积极准备,全方位地配合教学活动,培养职业观念、学习能力和职业专门能力。 20'</p> <p>6. 掌握仪器分析课程的性质、了解学习方。 15'</p> <p>7. 掌握仪器分析的基本概念,与化学分析的区别与联系。 25'</p> <p>8. 提出本门课程的学习要求 30'</p>			
思考题	<p>1. 你怎样看仪器分析的课程学习?有什么困难?怎样克服?</p> <p>2. 对于某一特定分析任务,怎样选择仪器分析方法?</p> <p>3. 对于仪器分析的应用,尤其在食品安全和工业生产中你能做什么?</p>			
作 业	仪器分析的定义、特点;与化学分析的区别与联系?			
教学后记	第1次课为入门课,重在让同学们明确本门课程在专业课程体系中的地位和作用,另外多想方法激发同学们学习本门课程的兴趣,端正学生的学习态度。			

[组织教学] 熟悉班级，清点人数。

[自我介绍] ……

[高职应化专业培养目标与课程性质]

1、高职应化专业培养目标——培养与我国社会主义市场经济建设相适应的，德、智、体、美等方面全面发展，具有全面素质（政治、思想、文化、身体、心理）和综合职业能力（专业、方法、社会）的应用化工专业技能型专门人才。从事技术要求较高的化工生产操作人员、管理人员、质量管理人员。

2、仪器分析课程——应用化工技术专业专业课程——与定量化学分析并称为分析科学的两大支柱！

[讲授新课]

绪 论

提问：你所想到的需要用分析化学方法解决的实际问题有哪些？

牛奶中蛋白质含量的检测

运动员比赛兴奋剂的检测

环境检测

事件回顾：大头娃娃事件（三聚氰胺）

在牛奶中添加了食品中不会出现的三聚氰胺，而牛奶蛋白质的检测使用的是凯氏定氮仪，该仪器的原理是凯氏定氮法。原理是有机物中的氮在强热和 CuSO_4 、浓 H_2SO_4 作用下，消化生成无机铵。在凯氏定氮器中与碱作用，通过蒸馏释放出 NH_3 ，收集于 H_2BO_3 溶液中。

该方法有机物经过了消化，成为无机物，在检测时具有局限性。

一些新的方法，比如：

蛋白质分析双缩脲法 不可靠，误差大

LC-MS/MS/MS 三重四级杆质谱（40 万美元一台）

HPLC.CE

RAMAN

这些新方法的成本较高，但是食品安全是企业的代价也是国奶粉的名誉。

通过这个事件讨论，我们在工业生产中要有职业道德，危害人体健康安全的事情杜绝，同时仪器分析可以分析出例如食品中不合规的添加物，在学习中学生更要注重社会责任感的培养，为有一个更安全美好的社会通过学习可以去创造。

一、仪器分析的内容与分类

概念

仪器分析：是利用分析仪器对物质进行分析的一门学科，是以物质的物理或物理化学性质为基础，探求这些性质在分析过程中所产生的分析信号与被分析物质组成的内在关系和规律，进而对其进行定性、定量、形态和结构分析的一类分析方法。

分类：

根据分析的基本原理可将仪器分析分为光学分析法、色谱分析法、电化学分

析法和其他分析法。

(1) 光学分析法

光学分析法可分为非光谱法和光谱法两大类。**非光谱法**：检测被测物质的某种物理光学性质，进行定性、定量分析的方法，如折射法、旋光法、浊度法、圆二色散法等。**光谱法**：基于物质与辐射能作用时，测量由物质内部发生量子化的能级之间的跃迁而产生的发射、吸收或散射辐射的波长和强度进行分析的方法。按物质能级跃迁的方向，可分为吸收光谱法（如紫外可见光谱法、红外光谱法、原子吸收光谱法、磁共振波谱法等）和发射光谱法（如原子发射光谱法、荧光分光光度法等）。按能级跃迁的类型可分为电子光谱、振动光谱及转动光谱等类型。按被测物质粒子的类型可分为原子光谱、分子光谱及磁共振波谱。本书主要介绍光谱分析法。

(2) 色谱分析法

色谱分析法是一种**分离**分析法，利用混合物中各组分在固定相和流动相中溶解、解析、吸附、脱附或其他亲和作用性能的差异，而互相分离。按流动相的物态，可分为气相色谱法、液相色谱法和超临界流体色谱法，按固定相使用形式，可分为柱色谱法、纸色谱法和薄层色谱法。按分离原理可分为吸附、分配、空间排阻、离子交换等诸多类型。

(3) 电化学分析法

应用电化学原理进行物质性质、成分分析的方法称为电化学分析。根据国际纯粹与应用化学联合会倡议，电化学分析法分为三大类：①既不涉及双电层，也不涉及电极反应，包括电导分析法、高频滴定法等；②涉及双电层，但不涉及电极反应，例如通过测量表面张力或非法拉第阻抗而测定浓度的分析方法；③涉及电极反应，包括电位分析法、电解分析法、库仑分析法、极谱法和伏安法等。

(4) 其他分析法

包括质谱分析、元素分析、表面分析、热分析等。

二、仪器分析主要特点

1、灵敏度高

大多数仪器分析法适用于微量、痕量分析。例如，原子吸收分光光度法测定某些元素的绝对灵敏度可达 10^{-14}g 。电子光谱甚至可达 10^{-18}g ，相对灵敏度可在 $10^{-7}\%$ ，乃至更小。

2、取样量少

化学分析法需用 $10^{-1} \sim 10^{-4} \text{g}$ ；仪器分析试样常在 $10^{-2} \sim 10^{-8} \text{g}$ 。

表 1-1 各种分析方法的试样用量

方法	试样的质量	试液的体积
常量分析	$> 0.1 \text{ g}$	$> 10 \text{ ml}$
半微量分析	$0.01 \sim 0.1 \text{ g}$	$1 \sim 10 \text{ ml}$
微量分析	$0.0001 \sim 0.01 \text{ g}$	$0.01 \sim 1 \text{ ml}$
超微量分析	$< 0.0001 \text{ g}$	$< 0.01 \text{ ml}$

3、快速

例如，发射光谱分析法在 1min 内可同时测定水中 48 个元素。

4、可进行无损分析

有时可在不破坏试样的情况下进行测定，适于考古、文物等特殊领域的分析。

有的方法还能进行表面或微区分析，或试样可回收。

5、在低浓度下的分析准确度较高

含量在 $10^{-5}\% \sim 10^{-9}\%$ 范围内的杂质测定，相对误差低达 $1\% \sim 10\%$ 。

6、能进行多信息或特殊功能的分析

有时可同时作定性、定量分析，有时可同时测定材料的组分比和原子的价态。

放射性分析法还可作痕量杂质分析。

7、专一性强

例如，用单晶 X 衍射仪可专测晶体结构；用离子选择性电极可测指定离子的浓度等

8、便于遥测、遥控、自动化

可作即时、在线分析控制生产过程、环境自动监测与控制

9、操作较简便

省去了繁多化学操作过程。随自动化、程序化程度的提高操作将更趋于简化。

10、其它

仪器设备较复杂，价格较昂贵。

三、仪器分析的发展过程

提问：在化学分析中误差是 0.1%，而仪器分析的误差是 1%到 10%。是否化学分析比仪器分析更合适定量分析？

分析化学的三个发展阶段，三次变革。

阶段一：

16 世纪，天平的出现。分析化学具有了科学的内涵；20 世纪初，依据溶液中四大反应平衡理论，形成分析化学的理论基础。分析化学由一门操作技术变成一门科学；

分析化学的第一次变革；

20 世纪 40 年代前，化学分析占主导地位，仪器分析种类少和精度低；

阶段二：

20 世纪 40 年代后，仪器分析的大发展时期。

仪器分析使分析速度加快，促进化学工业发展；

化学分析与仪器分析并重，仪器分析自动化程度低；

为什么出现在这一时期？一系列重大科学发现，为仪器分析的建立和发展奠定基础。

(1) Bloch F 和 Purcell E M；建立了核磁共振测定方法；诺贝尔化学奖 1952 年；

(2) Martin A J P 和 Syngge R L M；建立了气相色谱分析法；诺贝尔化学奖 1952 年；

(3) Heyrovsky J，建立极谱分析法，诺贝尔化学奖 1959 年
仪器分析的发展引发了分析化学的第二次变革。

阶段三：

八十年代初，以计算机应用为标志的分析化学第三次变革。

(1) 计算机控制的分析数据采集与处理：

实现分析过程的连续、快速、实时、智能；

促进化学计量学的建立。

(2) 化学计量学：利用数学、统计学的方法设计选择最佳分析条件，获得最大程度的化学信息。化学信息学：化学信息处理、查询、挖掘、优化等。

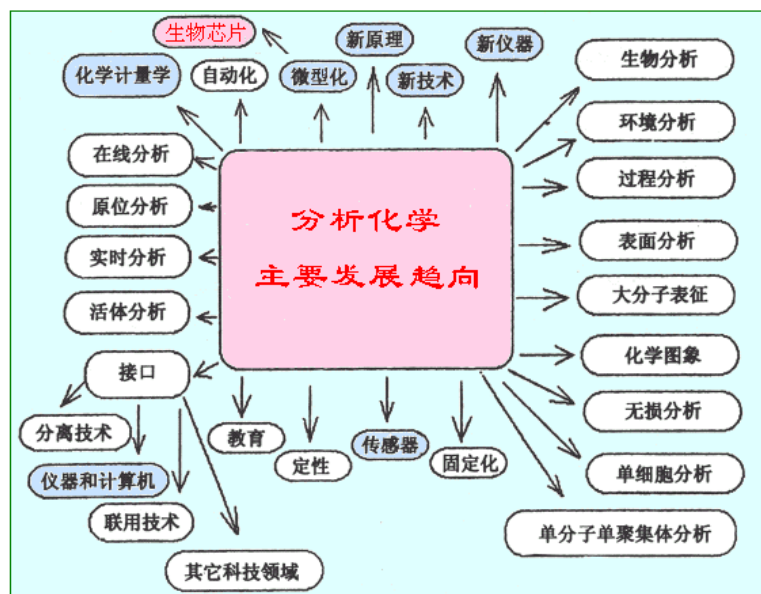
(3) 以计算机为基础的新仪器的出现:

傅里叶变换红外; 色-质联用仪。

四、仪器分析技术的应用及发展趋势

- (1) 提高选择性
- (2) 形态分析与表征
- (3) 非破坏性检测技术
- (4) 微型化与微环境的表征与测定
- (5) 生物大分子及生物活性物质的表征与测定
- (6) 发展有毒物质的非接触分析方法和遥测技术
- (7) 发展高灵敏度、高精密度、高空间分辨率的高效仪器和测量方法
- (8) 扩展时空多维信息, 建立包括信息学和数学在内的解释大量数据流的高通量测量方法

仪器分析的发展方向:



微型 高效 自动 智能

课程主要内容与学习方法

一、课程主要内容

四大类: 光分析法、电分析法、色谱分析法、其他分析法;

无机物分析; 有机物分析; 化合物结构分析;

特点: 内容繁多、各成体系;

每类方法有其特点、内在规律、应用范围；

学习主要内容：紫外-可见分光光度法、电位分析法、原子吸收光谱法、气象色谱法、高效液相色谱法、红外吸收光谱法。

二、课程性质与目标

1. 课程性质

仪器分析：化学+物理学+电子技术+计算机 (综合性学科)

基础课：应用化学；分析检验；化妆品技术等专业的基础课；

2. 课程目标

- (1) 掌握常用仪器分析方法原理、基本知识和基本操作技能
- (2) 使学习者具备选择适宜的分析方法的能力
- (3) 培养严谨的科学态度，提高分析问题和解决问题的能力

三、课程的学习方法

1. 抓住主线

特点——原理——用途；重点在原理（含概念、术语、定性和定量的依据、谱图解析方法等）

2. 归纳共性与个性

色谱法：共性：复杂混合物分离分析

个性：流动相-原理-对象

3. 处理好整体与局部

分析仪器——结构流程——关键部件

4. 勤

书山无路勤为径！

四、参考资料

1. 学习软件

《分析化学网络课程》

国家新世纪网络课程建设工程项目；大连理工大学研制

《分析化学电子教案》

高教出版社出版；大连理工大学研制

《仪器分析电子教案》

高教出版社出版；大连理工大学研制

2.参考书

《仪器分析》 北京大学出版社，北京大学

《仪器分析》 高等教育出版社 1990年，赵藻藩等

《仪器分析》（第三版） 高等教育出版社 2000年，朱明华

《仪器分析原理》方惠群等； 南京大学出版社 1994

授课日期

第二周

教案编号 02

课程名称	仪器分析		专业班级	
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第一章 紫外可见光谱 第一节 光谱分析基础			
授课学时	2节 (√); 3节 (); 其它 ()			
课 型	理论 (√); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够读懂光谱图 2. 了解光的互补光 二、知识目标 1. 掌握光波粒二象性特点及其方程式 2. 掌握光的是有能量的中粒子 3. 了解物质对光的吸收特点			
教学重点	掌握光波粒二象性特点及其方程式 读懂光谱图			
教学难点	掌握光波粒二象性特点及其方程式 读懂光谱图			
教学方法	讲授 (√); 讨论 (√); 指导 (√); 示教 (); 其它 ()			
电子教案	有 (√)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (√); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (√); 其它 ()			
教学过程 时间安排	1、光分析方法及特点		10'	
	2、电磁辐射的基本性质-波粒二象性。		30'	
	3、电磁波谱图及电磁波对应的能量		20'	
	4、光分析的分类		15	
	5、光分析方法的进展		15'	
思考题	1. 光的波长越长, 它的能量越? 2. 可见光的波长范围在多少波长中。			
作 业	绘制光谱图			
教学后记	学生们的物理知识较为薄弱, 补充适当的物理知识有助于掌握紫外基础。			

第一章 紫外可见光谱

第一节 概述+

光谱分析基础

一、概述

1.1 方法定义

紫外-可见光谱法又称紫外-可见分光光度法 (Ultra-violet Visible Spectrometry, UVS) 是基于物质对紫外 (200-400nm) 和可见波段 (400-800nm) 范围内单色光辐射吸收来进行物质的定性、定量或结构分析的分析方法。

1.2 发展历程

1665 年, 牛顿通过一个色散太阳光的实验, 发现了“光谱”, 揭示了太阳光是复合光的事实。

1815 年, 夫琅和费观察到了太阳光谱中的暗线, 并标注 8 条主要暗线, 这是人们最早认识吸收谱线。但还不能对此正确揭示。

1859 年, 本生和基尔霍夫发现食盐发出黄色谱线和“夫琅和费线”的 D 线一致。物质发射光的波长 (或频率), 与它所能吸收的波长 (或频率) 是一致的。

1862 年密勒测定了多种物质的紫外吸收光谱。认为吸收光谱与组成物质的基团, 分子和原子的性质有关。此后其他研究者发现了吸收光谱相似结构也相似, 并可以解释分子结构问题。

奠定理论基础

1852 年, 比尔参考了布给尔和朗伯所发表的文章, 提出了分光光度法的基本定律, 奠定了分光光度法定量分析的理论基础。

第一台比色计

1854 年, 杜包斯克 (Duboscq) 和奈斯勒 (Nessler) 等人将此理论应用于定量分析化学领域, 并且设计了第一台比色计。

紫外-可见分光光度计

1918 年紫外-可见分光光度计。1945 年商品仪器。1952 年光电倍增管紫外分光光度计。1981 年扫描型紫外分光光度计。此后, 准确度和灵敏度不断提高。

1.3 最新技术及发展趋势

紫外可见分光光度法经历了大约 100 年的发展历程, 紫外可见分光光度法已经成

为仪器分析中应用最为广泛的分析方法之一。新的技术仍不断涌现

1. 采用新光源，提高灵敏度

级联光源：电感耦合等离子体-辉光放电；激光蒸发-微波等离子体 LED 为光源的小型专用光度计应运而生，在食品安全检测、医学临床检验、野外环境监测得到快速发展。激光以其高强度、高单色性等优良特性成为分光光度计光源研究的重点。利用激光的高强度产生了光声和热透镜光度分析方法。

2. 联用技术

电感耦合高频等离子体（ICP）—质谱

激光质谱：灵敏度达 10^{-20} g

3. 新材料

光导纤维传导，损耗少；抗干扰能力强；

二、光谱分析基础

2.1、光分析法及其特点

光分析法：基于电磁辐射能量与待测物质相互作用后所产生的辐射信号与物质组成及结构关系所建立起来的分析方法；

电磁辐射范围：射线~无线电波所有范围；

相互作用方式：发射、吸收、反射、折射、散射、干涉、衍射等；

光分析法在研究物质组成、结构表征、表面分析等方面具有其他方法不可区代的地位；

三个基本过程：

- (1) 能源提供能量；
- (2) 能量与被测物之间的相互作用；
- (3) 产生信号。

基本特点：

- (1) 所有光分析法均包含三个基本过程；
- (2) 选择性测量，不涉及混合物分离（不同于色谱分析）；
- (3) 涉及大量光学元器件。

二、电磁辐射的基本性质

电磁辐射（电磁波）：以接近光速（真空中为光速）传播的能量；

$$c = \lambda \nu = \nu / \sigma$$

$$E = h \nu = h c / \lambda$$

c：光速； λ ：波长； ν ：频率； σ ：波数；

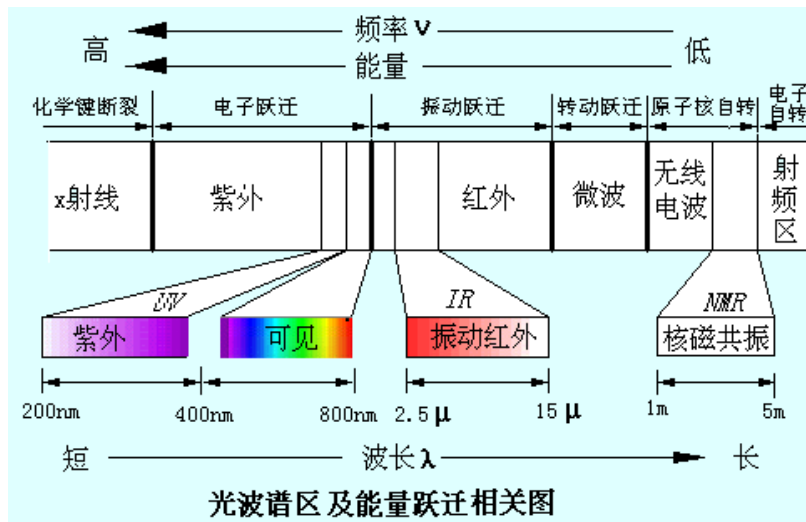
E：能量；h：普朗克常数

电磁辐射具有波动性和微粒性；

由上述算式可知，当电磁辐射的波长越长，频率越小，则能量越小；电磁波波长越短，频率越大，则能量越大。

辐射能的特性：

- (1) 吸收 物质选择性吸收特定频率的辐射能，并从低能级跃迁到高能级；
- (2) 发射 将吸收的能量以光的形式释放出；
- (3) 散射 丁铎尔散射和分子散射；
- (4) 折射 折射是光在两种介质中的传播速度不同；
- (5) 反射
- (6) 干涉 干涉现象；
- (7) 衍射 光绕过物体而弯曲地向他后面传播的现象；
- (8) 偏振 只在一个固定方向有振动的光称为平面偏振光。



光谱带从左到右是从短波长到长波长。其中可见光的波长从 400nm 到 800nm，小于 400nm 的波长光为紫外，200nm 到 400nm 为近紫外光，小于 200nm 为远紫外。

表 电磁波谱

波谱区名称*	波长范围**	波数 σ/cm^{-1}	频率范围 MHz	光子能量*** eV	跃迁能级类型
γ 射线	5—140pm	$2 \times 10^{10} - 7 \times 10^7$	$6 \times 10^{14} - 2 \times 10^{12}$	$2.5 \times 10^6 - 8.3 \times 10^3$	核能级
X 射线	$10^{-3} - 10\text{nm}$	$10^{10} - 10^6$	$3 \times 10^{14} - 3 \times 10^{10}$	$1.2 \times 10^6 - 1.2 \times 10^2$	
远紫外光	10—200nm	$10^6 - 5 \times 10^4$	$3 \times 10^{10} - 1.5 \times 10^9$	125—6	内层电子能级
近紫外光	200—400nm	$5 \times 10^4 - 2.5 \times 10^4$	$1.5 \times 10^9 - 7.5 \times 10^8$	6—3.1	
可见光	400—750nm	$2.5 \times 10^4 - 1.3 \times 10^4$	$7.5 \times 10^8 - 4.0 \times 10^8$	3.1—1.7	原子及分子的价电子能级
近红外光	0.75—2.5 μm	$1.3 \times 10^4 - 4 \times 10^3$	$4.0 \times 10^8 - 1.2 \times 10^8$	1.7—0.5	
中红外光	2.5—50 μm	4000—200	$1.2 \times 10^8 - 6.0 \times 10^6$	0.5—0.02	分子振动能级
远红外光	50—1000 μm	200—10	$6.0 \times 10^6 - 10^5$	$2 \times 10^{-2} - 4 \times 10^{-4}$	
微波	0.1—100cm	10—0.01	$10^5 - 10^2$	$4 \times 10^{-4} - 4 \times 10^{-7}$	分子转动能级
射 频	1—1000 m	$10^{-2} - 10^{-5}$	$10^2 - 0.1$	$4 \times 10^{-7} - 4 \times 10^{-10}$	

*紫外(包括远紫外和近紫外)、可见及红外(包括近、中和远红外)波谱区合称光学光谱区。由于远紫外为空气所吸收故亦称真空紫外区。

** 1pm(皮米) $=10^{-12}\text{m}$ (米), 1nm(纳米) $=10^{-9}\text{m}$, 1 μm (微米) $=10^{-6}\text{m}$; 波长单位也可用 \AA , 1 \AA (埃) $=10^{-10}\text{m}$ 红外区常用波数表示“波长”范围。

*** 1eV(电子伏特) $=1.6020 \times 10^{-19}\text{J}$ (焦耳), 或 $96.55\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, 相当于频率 $\nu=2.4186 \times 10^{14}\text{Hz}$, 或波长 λ 为 $1.2395 \times 10^{-6}\text{m}$ 或波数 σ 为 8067.8cm^{-1} 的光子所具有的能量。

三、光分析分类

光谱法——基于物质与辐射能作用时, 分子发生能级跃迁而产生的发射、吸收或散射的波长或强度进行分析的方法;

原子光谱、分子光谱、非光谱法

原子光谱(线性光谱): 最常见的三种

基于原子外层电子跃迁的原子吸收光谱(AAS);

原子发射光谱(AES)、原子荧光光谱(AFS);

基于原子内层电子跃迁的 X 射线荧光光谱(XFS);

基于原子核与射线作用的穆斯堡谱;

分子光谱(带状光谱):

基于分子中电子能级、振-转能级跃迁;

紫外光谱法(UV);

红外光谱法(IR);

分子荧光光谱法(MFS);

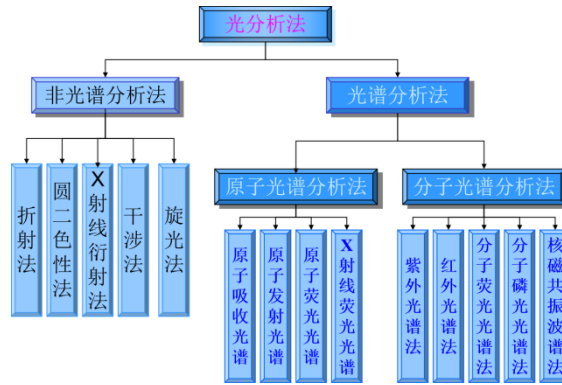
分子磷光光谱法(MPS);

核磁共振与顺磁共振波谱(N);

非光谱法:

不涉及能级跃迁, 物质与辐射作用时, 仅改变传播方向等物理性质;

偏振法、干涉法、旋光法等;



四、光分析方法的进展

1. 采用新光源，提高灵敏度

级联光源：电感耦合等离子体-辉光放电；激光蒸发-微波等离子体

2. 联用技术

电感耦合高频等离子体（ICP）—质谱

激光质谱：灵敏度达 10-20 g

3. 新材料

光导纤维传导，损耗少；抗干扰能力强；

4. 交叉

电致发光分析；光导纤维电化学传感器

5. 检测器的发展

电荷耦合阵列检测器光谱范围宽、量子效率高、线性范围宽、多道同时数据采集、三维谱图，将取代光电倍增管；

光二极管激光器代替空心阴极灯，使原子吸收可进行多元素同时测定；

授课日期

第 2 周

教案编号 03

课程名称	仪器分析		专业班级	
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第一章 紫外可见光谱 第二节 紫外分析对象及应用领域 第三节 仪器基本组成部件和作用(1)			
授课学时	2 节 (√); 3 节 (); 其它 ()			
课 型	理论 (√); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够合理选用紫外可见分光光度计 2. 能够正确使用吸收池 二、知识目标 1. 了解紫外可见分光光度计的工作原理 2. 了解紫外可见分光光度计的信号接收和处理 3. 掌握比色皿的使用方法			
教学重点	紫外可见分光光度计的工作原理 掌握比色皿的使用方法			
教学难点	紫外可见分光光度计的工作原理 掌握比色皿的使用方法			
教学方法	讲授 (√); 讨论 (√); 指导 (√); 示教 (); 其它 ()			
电子教案	有 (√)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (√); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (√); 其它 ()			
教学过程 时间安排	1. 复习紫外光吸收原理 10 2. 认识紫外可见分光光度计及内部结构 15' 3. 了解光源、单色器、样品池 35 4. 了解比色皿的种类和正确使用方法 15 4. 认识检测和显示 25			
思考题	1. 比色皿的磨砂面的作用是什么, 在使用时要注意什么?			
作 业	如何选择单光路还是双光路紫外可见分光光度计			
教学后记	第 1 次课为入门课, 重在让同学们明确本门课程在专业课程体系中的地位和作用, 另外多想方设法激发同学们学习本门课程的兴趣, 端正学生的学习态度。			

第一章 紫外可见光谱

第二节 紫外分析对象及应用领域

1.2.1 分析对象

可见分光光度法主要用于微量、常量有色物质的定量分析。对于无色物质，可通过加入适当的显色剂，生成有色物质，然后检测有色物质，间接测定无色物质。紫外分光光度法主要针对具有紫外吸收的有机物质进行结构鉴定、定性和定量分析。但也有少量无机物质具有紫外吸收能力。

1.2.2 应用领域

化工、纺织、农产品、食品、植物生化、饲料等分析；水和废水监测；药品检验等等……

但紫外可见分光光度法的应用领域还远远不限于此。



第一章

第三节 仪器基本组成部件和作用 (1)

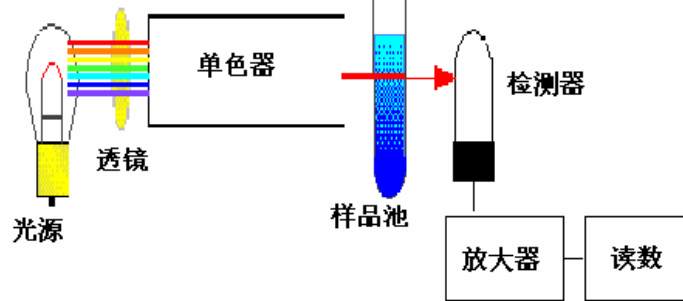


图 1-1 分光光度计的基本组成结构

1.3.1 光源

可见光常用的光源为钨灯（即白炽灯）或卤钨灯（发射波长 350~900nm）；钨灯的价格和使用寿命相对较低，卤钨灯具有较长的发光效率和使用寿命，价格也相对较高。

紫外光常用的光源为氘灯或氢灯（发射波长 190~400nm）。

氘灯的光谱分布于与氢灯相同，但光强比同功率氢灯大 3-5 倍，寿命也比氢灯长。

卤钨灯的工作原理：

在普通白炽灯中，灯丝（钨丝）的高温造成钨的蒸发，久而久之造成灯丝断裂，同时蒸发的钨沉淀在玻壳上，产生灯泡玻壳发黑的现象。卤钨灯（halogen lamp）是灯泡壳内填充有部分卤族元素或卤化物的充气白炽灯。卤钨灯的发明，消除了这一发黑的现象，灯的寿命也得到相应延长。卤钨灯的工作原理如下：在适当的温度条件下，从灯丝蒸发出来的钨在泡壁区域内与卤素物质反应，形成挥发性的卤钨化合物。由于泡壁温度足够高（250℃），卤钨化合物呈气态，当卤钨化合物扩散到较热的灯丝周围区域时又分化为卤素和钨。释放出来的钨部分回到灯丝上，而卤素继续参与循环过程。为了使灯壁处生成的卤化物处于气态，卤钨灯的管壁温度要比普通白炽灯高得多，灯丝工作温度和光效也大为提高。

近年来，具有高强度、高单色性的激光已被开发用于紫外、可见光源。已商品化的激光光源有氩离子激光器和可调谐染料激光器。

光源的作用就是提供分析所需的入射光。紫外、可见分光光度计使用的光源要求在整个紫外光区或可见光谱区可以发射连续光谱，且有足够的辐射强度、较好的稳定性、较长的使用寿命。为了保证灯的发光强度稳定，一般需要用稳压电源供电。

1.3.2 单色器

单色器

单色器也叫分光系统，其核心部分是色散元件，常用的色散元件有棱镜和光栅，因此单色器也有棱镜单色器和光栅单色器之分。

单色器的作用是把从光源发出的连续光谱（即复合光）分离出所需要的单色光。通常单色器由入射狭缝、准直镜、色散元件、物镜和出口狭缝构成。入射狭缝用于限制杂散光进入整个单色器，准直镜将入射光束变为平行光束后进入色散元件（棱镜或光栅）。色散元件将复合光分解成单色光，然后通过物镜将出自色散元件的平行光聚焦于出口狭缝。出口狭缝用于限制通带宽度。

棱镜单色器

棱镜由玻璃或石英玻璃制成。玻璃棱镜用于可见光区，石英棱镜可用于紫外和可见光区。当复合光通过棱镜时，由于棱镜材料的折射率不同而产生折射。但是，折射率与入射光的波长有关。对一般的棱镜材料，在紫外-可见光区内，折射率与波长之间的关系可用科希经验公式表示

$$n = A + \frac{B}{\lambda^2} + \frac{C}{\lambda^4} \quad (1-3)$$

式中 n 为波长为 λ 的入射光的折射率， A ， B ， C 均为常数。所以，当复合光通过棱镜的两个界面发生两次折射后，根据折射定律，波长小的偏向角大，波长大的偏向角小（参见图 1-2），故而能将复合光色散成不同波长的单色光。

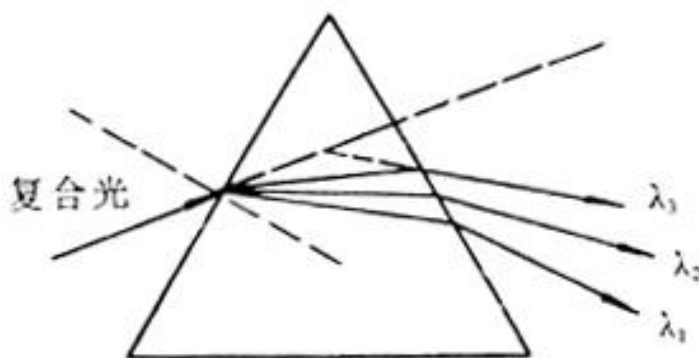


图 1-2 棱镜的色散作用

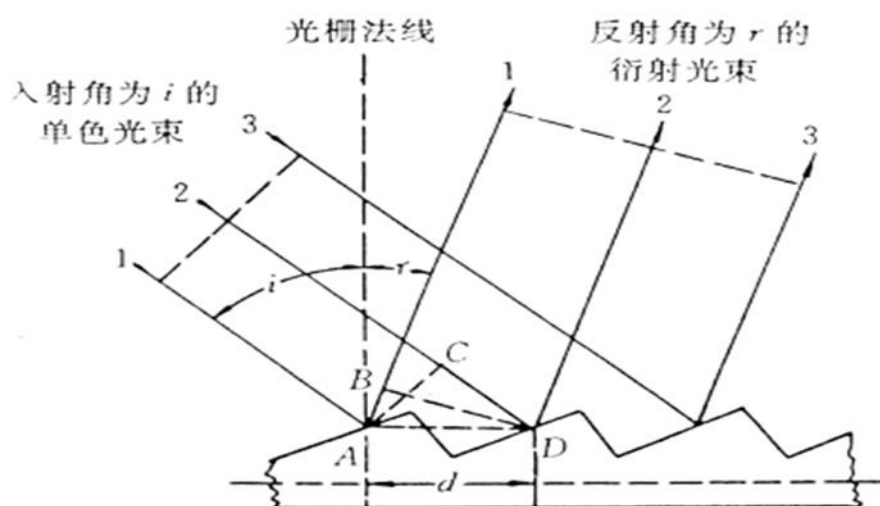
棱镜的缺点是色散不均匀，经色散后短波长的光排列比较疏，长波长的光排列比较密，且色散后光强度的损失较大。

光栅单色器

光栅可定义为一系列等宽、等距离的平行狭缝。光栅是利用光的衍射和干涉作用制成的，光栅作为色散元件具有良好的、均匀的分辨能力，而且比棱镜分

分辨率高（可达 $\pm 0.2\text{nm}$ ），可用的波长范围也比棱镜单色器宽，现在仪器多使用它作为色散元件。

光栅有多种，紫外可见分光光度计中多采用平面闪耀光栅（图 1-3）。它由高度抛光的表面（如铝）上刻划许多根平行线槽而成。一般为 600 条/mm，1200 条/mm，多的可达 2400 条/mm，甚至更多。光栅的色散原理是利用光的衍射和干涉作用，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。因此色散均匀，可供选择的波长范围较宽。图 1-3 是光栅衍射原理示意图。



但光栅也存在光谱重叠和杂散光的影响较大等缺点。杂散光会影响吸光度的正确测量，其产生的主要原因是光学部件和单色器内外壁的反射和大气或光学部件表面上尘埃的散射等。为了减少杂散光，单色器用涂以黑色的罩壳封起来，通常不允许随意打开罩壳。另外应注意的是，单色光的强度不仅取决于色散元件，而且与狭缝宽度有关。大多数分光光度计的出射狭缝是可调节的，应根据实际需要调节出射光的强度。

光的单色性和互补性

具有同一种波长的光称为单色光。含有多种波长的光称为复合光。如果把适当颜色的两种光按一定比例混合成白光，这两种颜色的光就为互补色光。

白光是一种复合光。例如日光、白炽灯光都是复合光。凡是能被人的肉眼识别的光称为可见光，其波长范围大致在 400-800nm。低于 400nm 或者高于 800nm

的光是人的眼睛无法“看”到的。在人眼可见的光的范围内，不同波长的光刺激人眼，人眼就会看到不同光的颜色，但由于人眼的视觉分辨能力有限，对光的分辨并不能对应到单一的波长，图 1-4 列出了各种色光的近似波长范围。图中处于对角线关系的两种颜色的光即为互补色光。

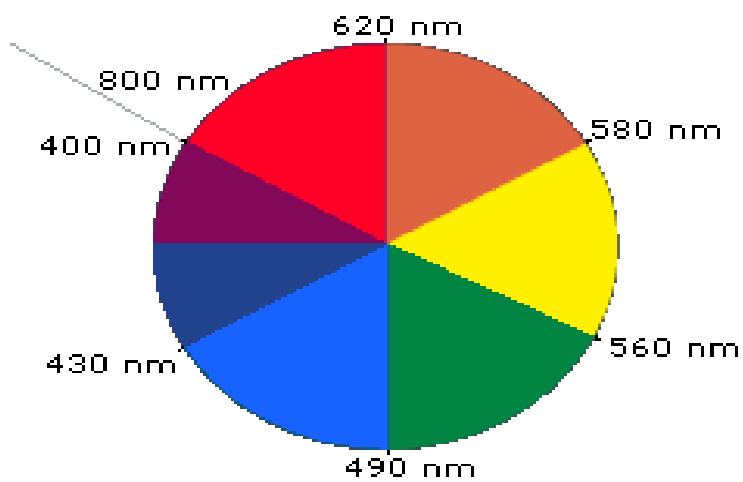


图 1-4 不同颜色的光所对应的波长

授课日期

第 3 周

教案编号 04

课程名称	仪器分析		专业班级	
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第一章 紫外可见光谱 第三节 仪器基本组成部件和作用 (2)			
授课学时	2 节 (√); 3 节 (); 其它 ()			
课 型	理论 (√); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够合理选用紫外可见分光光度计 2. 能够正确使用吸收池 二、知识目标 1. 了解紫外可见分光光度计的工作原理 2. 了解紫外可见分光光度计的信号接收和处理 3. 掌握比色皿的使用方法			
教学重点	紫外可见分光光度计的工作原理 掌握比色皿的使用方法			
教学难点	紫外可见分光光度计的工作原理 掌握比色皿的使用方法			
教学方法	讲授 (√); 讨论 (√); 指导 (√); 示教 (); 其它 ()			
电子教案	有 (√)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (√); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (√); 其它 ()			
教学过程 时间安排	1. 复习紫外光吸收原理 10 2. 认识紫外可见分光光度计及内部结构 15' 3. 了解光源、单色器、样品池 35 4. 了解比色皿的种类和正确使用方法 15 4. 认识检测和显示 25			
思考题	1. 比色皿的磨砂面的作用是什么, 在使用时要注意什么?			
作 业	如何选择单光路还是双光路紫外可见分光光度计			
教学后记	第 1 次课为入门课, 重在让同学们明确本门课程在专业课程体系中的地位和作用, 另外多想方设法激发同学们学习本门课程的兴趣, 端正学生的学习态度。			

第一章 紫外可见光谱

第三节 仪器基本组成部件和作用(2)

1.3.3 吸收池

吸收池亦称样品池、比色池、比色杯(皿),用于盛放试液。吸收池一般由无色透明耐腐蚀的硅酸盐玻璃或石英材料制成。由于玻璃本身可吸收紫外光,所以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。玻璃吸收池毛玻璃面上常常标记字母G,石英吸收池毛玻璃面上常常标注字母Q。使用时,应注意正确选择。

每台分光光度计都配有一套吸收池,每个吸收池在不同波长下的透光率都应大于84%。同种规格(如光程都是1cm)吸收池要匹配。包括吸收池内液层厚度匹配,以及吸收池透光面材料的厚度匹配。即两个空吸收池在整个可见光区的透光率之差小于0.5%,这是比较吸收池本身材料厚度;同种液层厚度吸收池装上相同溶液后,透光率之差也要小于0.5%,这是比较所装溶液液层厚度的一致性。

由于一般商品吸收池的光程精度不是很高,会存在微小误差。即使是同一厂家出品的同规格的吸收池往往也不能任意互换使用。要按照厂家出厂前已经配套好的吸收池一起使用。实际工作中,为了消除误差,在测量前还必须对吸收池进行匹配性检验。吸收池按用途不同,可制成矩形液体吸收池、流通吸收池、气体吸收池。也可根据需要制成不同形状和尺寸,见图1-5。其中,光程为1cm的吸收池最为常用。对于稀溶液可采用光程较长的吸收池,如2cm、3cm、4cm或5cm。对于微量试液的测定,可选用体积为5 μ L、10 μ L、50 μ L、200 μ L、500 μ L的微量吸收池。

吸收池在使用时还应特别注意以下几个方面:

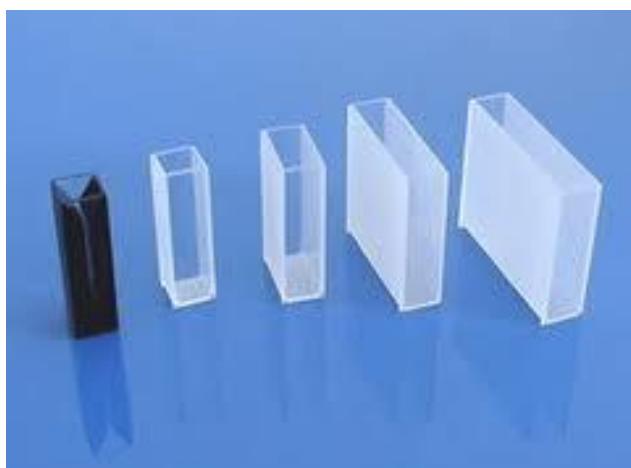
拿: 为保护透光面,使用时用拇指和食指拿毛玻璃面,不要接触两个光学面。

洗: 比色皿内、外壁可以用蒸馏水清洗。不能用洗液洗。因为比色皿是用胶粘成的,洗液腐蚀性很强,会使比色皿开胶。附着有色物质时,用1mol/L HCl-乙醇溶液(1:2)清洗,再用蒸馏水洗干净。附着油污时,用5%NaOH溶液清洗,再用蒸馏水洗净。

擦: 用镜头纸朝一个方向轻轻的擦。擦过的镜头纸面,不得重复使用。

装: 装至容积的2/3~3/4。

放：放置比色皿时，透光面朝向光通过的方向。



物质对光的吸收

物质颜色的产生

溶液呈现不同的颜色就是由于溶液中吸光物质的质点（离子或分子）对不同波长的光具有选择性吸收而引起的。溶液所呈现的颜色是被吸收光的互补色光的颜色。例如，当一束白光通过高锰酸钾溶液时，该溶液选择性地吸收 500-560nm 的绿色光，而其他的色光两两互补成白光通过，只剩下紫红色光未被互补，所以高锰酸钾溶液呈现紫红色。物质呈现的颜色与其吸收光的波长的关系见表 1-2。

表 1-2 物质的颜色与对光的选择性吸收之间的关系

物质所呈现的颜色	物质所吸收的单色光	
	颜色	波长范围 (nm)
黄绿	紫	380~435
黄	蓝	435~480
橙红	绿蓝	480~500
红紫	绿	500~560
紫	黄绿	560~580
蓝	黄	580~595
绿蓝	橙	595~650
蓝绿	红	650~760

吸收光谱曲线:

如果将不同波长单色光依次通过某种溶液,测量此溶液对不同波长单色光的吸收程度,以波长为横坐标,吸光度为纵坐标作图,可得到一条曲线,称为该溶液的光吸收曲线,亦称吸收光谱曲线。它清楚地描述溶液对不同波长光的吸收情况。图 1-6 是三种不同浓度 KMnO_4 溶液的吸收曲线。

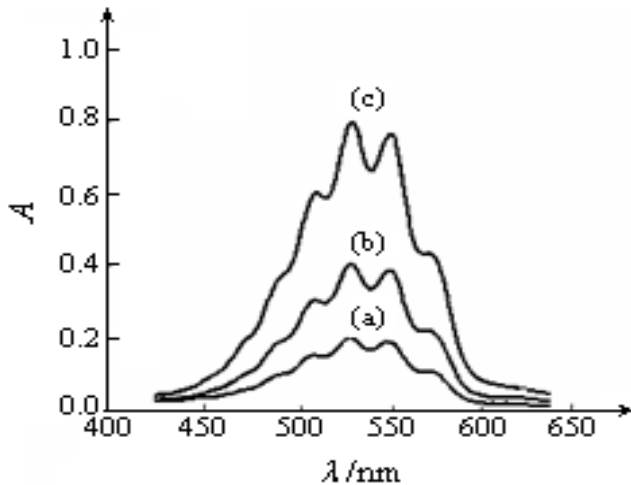


图 1-6 不同浓度高锰酸钾吸收曲线

$$(a) c(\text{KMnO}_4) = 1.4 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$$

$$(b) c(\text{KMnO}_4) = 2.8 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$$

$$(c) c(\text{KMnO}_4) = 5.6 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$$

由图 1-6 可以看出: KMnO_4 溶液对不同单色光的吸收程度是不同的。在吸收曲线上有一高峰,称为吸收峰。 KMnO_4 溶液对 525nm 单色光(绿色光)的吸收程度最大,此波长称为该物质的最大吸收波长,记作 λ_{max} ;相反, KMnO_4 溶液对红色和紫色光基本不吸收,所以 KMnO_4 溶液显紫红色。

不同浓度的 KMnO_4 溶液的吸收曲线的形状相似, λ_{max} 不变,其值与 KMnO_4 溶液的浓度无关。吸收曲线的形状取决于物质的结构,不同的吸光物质具有不同特征的吸收曲线。吸光物质的吸收曲线的特征性可作为物质定性分析的依据。

吸收曲线的讨论:

同一种物质对不同波长光的吸光度不同。吸光度最大处对应的波长称为最大吸收波长 λ_{max}

不同浓度的同一种物质,其吸收曲线形状相似 λ_{max} 不变。而对于不同物质,

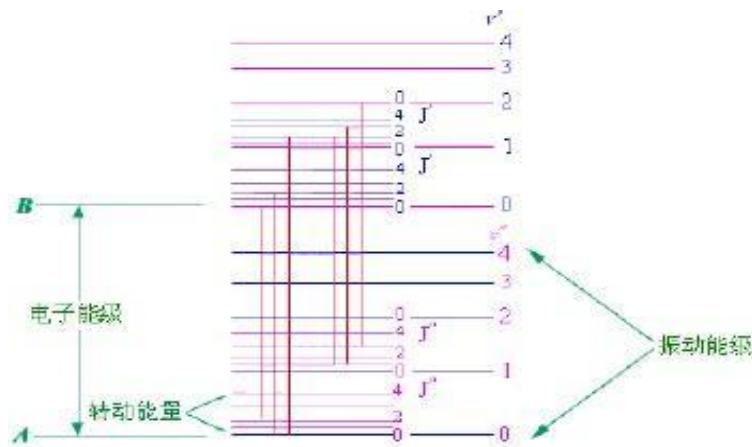
它们的吸收曲线形状和 λ_{\max} 则不同。

吸收曲线可以提供物质的结构信息，并作为物质定性分析的依据之一。

紫外-可见光谱吸收的机理

分子光谱与能级跃迁

紫外可见光谱吸收属于分子光谱吸收，是由于分子中价电子跃迁而产生的。分子内部的运动可分为价电子运动，分子内原子在平衡位置附近的振动和分子绕其重心的转动。因此分子具有电子（价电子）能级、振动能级和转动能级。对于双原子分子的电子、振动、转动能级如图 1-7 所示。



电子跃迁与分子吸收光谱

物质分子内部三种运动形式：

- (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。

分子具有三种不同能级：电子能级、振动能级和转动能级

三种能级都是量子化的，且各自具有相应的能量。

分子的内能：电子能量 E_e 、振动能量 E_v 、转动能量 E_r

$$\text{即： } E = E_e + E_v + E_r$$

$$\Delta E_e > \Delta E_v > \Delta E_r$$

能级跃迁

电子能级间跃迁的同时，总伴随有振动和转动能级间的跃迁。即电子光谱中总包含有振动能级和转动能级间跃迁产生的若干谱线而呈现宽谱带

讨论：

(1) 转动能级间的能量差 ΔE_r : 0.005~0.050eV, 跃迁产生吸收光谱位于远红外区。远红外光谱或分子转动光谱;

(2) 振动能级的能量差 ΔE_v 约为: 0.05~1 eV, 跃迁产生的吸收光谱位于红外区, 红外光谱或分子振动光谱;

(3) 电子能级的能量差 ΔE_e 较大 1~20eV。电子跃迁产生的吸收光谱在紫外—可见光区, 紫外—可见光谱或分子的电子光谱;

(4) 吸收光谱的波长分布是由产生谱带的跃迁能级间的能量差所决定, 反映了分子内部能级分布状况, 是物质定性的依据;

(5) 吸收谱带的强度与分子偶极矩变化、跃迁几率有关, 也提供分子结构的信息。通常将在最大吸收波长处测得的摩尔吸光系数 ϵ_{\max} 也作为定性的依据。不同物质的 λ_{\max} 有时可能相同, 但 ϵ_{\max} 不一定相同;

(6) 吸收谱带强度与该物质分子吸收的光子数成正比, 定量分析的依据。

授课日期

第4周

教案编号 04

课程名称	仪器分析		专业班级	
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第一章 紫外可见光谱 第三节 仪器基本组成部件和作用(3)			
授课学时	2节(√); 3节(); 其它(4节)			
课 型	理论(√); 实验(); 见习(); 实训(); 其它()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够比较价电子跃迁能级的大小 2. 理解物质能够吸收紫外光谱的原理-分子价电子跃迁 二、知识目标 1. 掌握分子外层电子跃迁的种类 2. 了解有机物不同的结构或者基团可以产生的不同电子跃迁 3. 了解生色团、助色团、红移和蓝移。			
教学重点	分子外层电子跃迁的种类以及电子跃迁能级的大小 有机物不同的结构或者基团可以产生的不同电子跃迁			
教学难点	分子外层电子跃迁的种类以及电子跃迁能级的大小 有机物不同的结构或者基团可以产生的不同电子跃迁			
教学方法	讲授(√); 讨论(√); 指导(√); 示教(); 其它()			
电子教案	有 (√)	Microsoft PowerPoint(); Author ware(); 其它()		
	无()			
教学资源	多媒体(√); 模型(); 标本(); 实物(); 音像(√); 其它()			
教学过程 时间安排	1. 回顾复习电磁波谱 2. 紫外吸收光谱的产生 3. 物质对光的选择性吸收及吸收曲线 4. 能级跃迁 5. 有机物吸收光谱与电子跃迁 6. 无机物吸收光谱电子能级跃迁 7. 生色团助色团红移蓝移溶剂效应			5' 10' 15' 15 60 10 45
思考题	1、生色团和助色团有什么不同?			
作 业	用什么办法可以试有机物产生红移。			
教学后记				

第三节 仪器基本组成部件和作用(3)

一、金属配合物的紫外光谱产生机理主要有三种类型：

1.配体微扰的金属离子 d-d 电子跃迁和 f-f 电子跃迁

在配体的作用下过渡金属离子的 d 轨道和镧系、铜系的 f 轨道裂分，吸收辐射后，产生 d-d、f-f 跃迁；

必须在配体的配位场作用下才可能产生也称配位场跃迁；

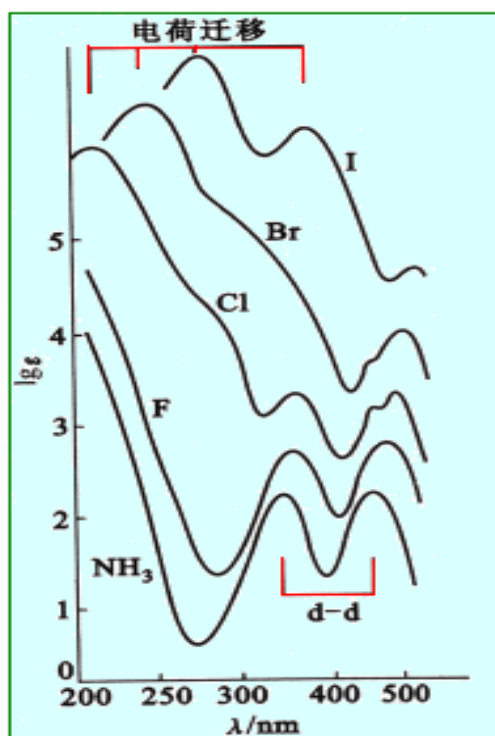
摩尔吸收系数 ϵ 很小，对定量分析意义不大。

2.金属离子微扰的配位体内电子跃迁

金属离子的微扰，将引起配位体吸收波长和强度的变化。变化与成键性质有关，若共价键和配位键结合，则变化非常明显。

3.电荷转移吸收光谱

电荷转移跃迁：辐射下，分子中原定域在金属 M 轨道上的电荷转移到配位体 L 的轨道，或按相反方向转移，所产生的吸收光谱称为荷移光谱。



$[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{X}]^{n+}$ 的吸收光谱

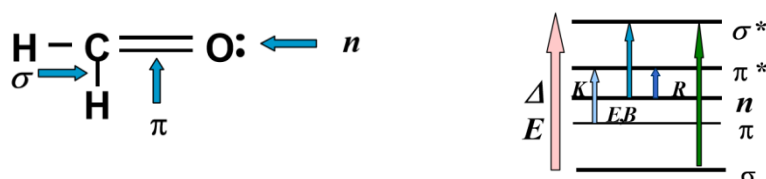
X = NH_3 时, $n = 3$;

X = F, Cl, Br, I 时, $n = 2$

二、有机物吸收光谱与电子跃迁

1. 紫外—可见吸收光谱

有机化合物的紫外—可见吸收光谱是三种电子跃迁的结果： σ 电子、 π 电子、 n 电子。



分子轨道理论：成键轨道—反键轨道

外层电子吸收紫外或可见辐射后，就从基态向激发态(反键轨道)跃迁。主要有四种跃迁所需能量 ΔE 大小顺序为： $n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$

2、 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁

所需能量最大； σ 电子只有吸收远紫外光的能量才能发生跃迁；

饱和烷烃的分子吸收光谱出现在远紫外区；

吸收波长 $\lambda < 200 \text{ nm}$ ；

例：甲烷的 λ_{max} 为 125nm，乙烷 λ_{max} 为 135nm。

只能被真空紫外分光光度计检测到；

作为溶剂使用；

3、 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁

所需能量较大。

吸收波长为 150~250nm，大部分在远紫外区，近紫外区仍不易观察到。

含非键电子的饱和烃衍生物(含 N、O、S 和卤素等杂原子)均呈现 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁。

化合物	λ_{max} (nm)	ϵ_{max}
H₂O	167	1480
CH₃OH	184	150
CH₃CL	173	200
CH₃I	258	365
CH₃NH₂	215	600

4 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁

所需能量较小，吸收波长处于远紫外区的近紫外端或近紫外区， ϵ_{max} 一般在 $10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 以上，属于强吸收。

(1) 不饱和烃 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁

乙烯 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的 λ_{\max} 为 162nm, ϵ_{\max} 为: $1 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

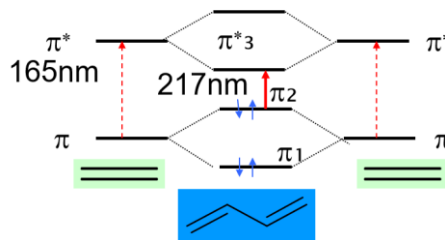
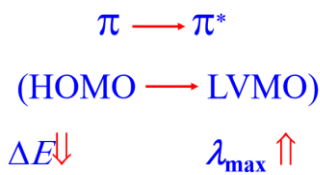
K 带——共轭非封闭体系的 $p \rightarrow p^*$ 跃迁

C=C 发色基团, 但 $\rightarrow \pi^*$ 200nm。



取代基	-SR	-NR ₂	-OR	-Cl	CH ₃
红移距离	45(nm)	40(nm)	30(nm)	5(nm)	5(nm)

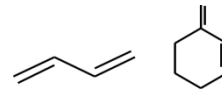
(2) 共轭烯烃中的 $\pi \rightarrow \pi^*$



共轭烯烃 (不多于四个双键) $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收峰位置可由伍德沃德——菲泽规则估算。 $\lambda_{\max} = \lambda_{\text{基}} + \sum n_i \lambda_i$

$\lambda_{\text{基}}$ ——是由非环或六环共轭二烯母体决定的基准值;

无环、非稠环二烯母体: $\lambda_{\max}=217 \text{ nm}$



异环 (稠环) 二烯母体:

$\lambda_{\max}=214 \text{ nm}$

同环 (非稠环或稠环) 二烯母体:

$\lambda_{\max}=253 \text{ nm}$

$n_i \lambda_i$: 由双键上取代基种类和个数决定的校正项

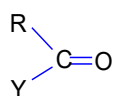
(1) 每增加一个共轭双键 +30 (2) 环外双键

+5

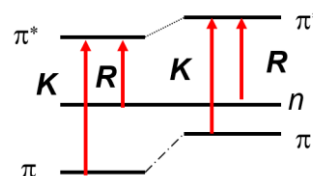
(3) 双键上取代基:

酰基 (-OCOR)	0	卤素 (-Cl, -Br)	+5
烷基 (-R)	+5	烷氧基 (-OR)	+6

(3) 羰基化合物共轭烯烃中的 $\pi \rightarrow \pi^*$



① Y=H,R $n \rightarrow \sigma^*$ 180-190nm



$\pi \rightarrow \pi^*$ 150-160nm

$n \rightarrow \pi^*$ 275-295nm

②Y= -NH₂, -OH, -OR 等助色基团

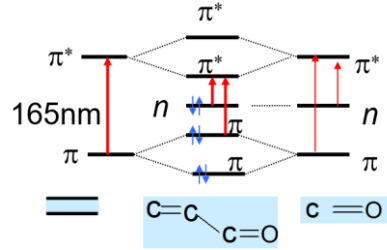
K 带红移, R 带兰移;

R 带 λ_{max} =205nm ; ξ =10-100

③不饱和醛酮

K 带红移: 165→250nm

R 带兰移: 290→310nm



(4) 芳香烃及其杂环化合物

苯:

E1 带 180 184nm; ξ =47000

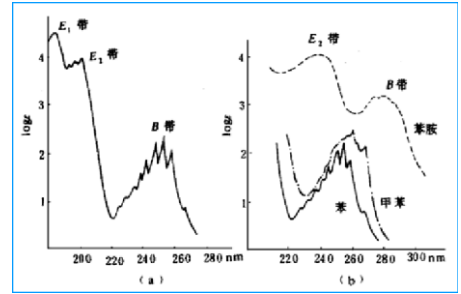
E2 带 200 204 nm ξ =7000

苯环上三个共轭双键的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁特征吸收带;

B 带 230-270 nm ξ =200

$\pi \rightarrow \pi^*$ 与苯环振动引起;

含取代基时, B 带简化, 红移。



	λ_{max} (nm)	ϵ_{max}
苯	254	200
甲苯	261	300
间二甲苯	263	300
1, 3, 5-三甲苯	266	305
六甲苯	272	300

乙酰苯紫外光谱图

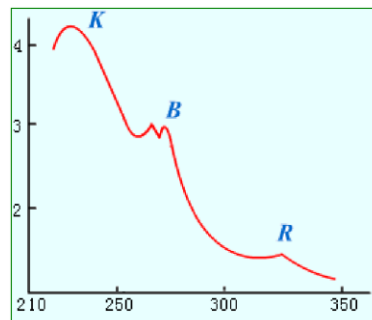
羰基双键与苯环共轭:

K 带强; 苯的 E2 带与 K 带合并, 红移;

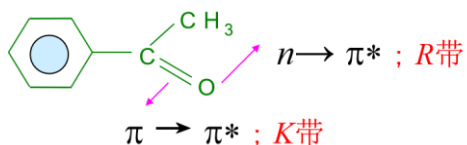
取代基使 B 带简化;

氧上的孤对电子:

R 带, 跃迁禁阻, 弱;



乙酰苯的紫外吸收光谱图



苯环上助色基团对吸收带的影响

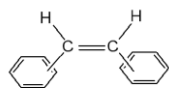
化合物	E 吸收带		B 吸收带		溶剂
	λ_{max} (m μ)	ϵ_{max}	λ_{max} (m μ)	ϵ_{max}	
苯	204	7900	256	200	正己烷
氯苯	210	7600	265	240	乙醇
硫酚	236	10000	269	700	正己烷
茴香醚	217	6400	269	1480	2% 甲醇
苯酚	210.5	6200	270	1450	水
酚盐	235	9400	287	2600	水(碱性)
邻-儿茶酚	214	6300	276	2300	水(pH3)
邻-儿茶酚盐	236.5	6800	292	3500	水(pH11)
苯胺	230	8600	280	1430	水
苯胺盐	203	7500	254	160	水(酸性)
苯醚	255	11000	272	2000	环己烷

苯环上发色基团对吸收带的影响

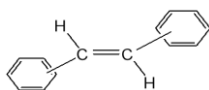
化合物	K 吸收带		B 吸收带		R 吸收带		溶剂
	λ_{max} (nm)	ϵ_{max}	λ_{max} (nm)	ϵ_{max}	λ_{max} (nm)	ϵ_{max}	
苯			255	215			乙醇
苯乙烯	244	12000	282	450			同上
苯乙炔	236	12500	278	650			正己烷
苯甲醛	244	15000	280	1500	328	20	乙醇
乙酰苯	240	13000	278	1100	319	50	同上
硝基苯	252	10000	280	1000	330	125	正己烷
安息香酸	230	10000	270	800			水
苯基氨	224	13000	271	1000			同上
二苯亚砷	232	14000	262	2400			乙醇
苯基甲基砷	217	6700	264	977			同上
苯胺	252	20000			325	180	同上
联苯	246	20000	(被掩盖)				同上
顺式-均二苯代乙烯	283	12300	(被掩盖)				同上
反式-均二苯代乙烯	295	25000	(被掩盖)				同上

5. 立体结构和互变异构的影响

顺反异构:

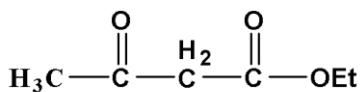


顺式: $\lambda_{max}=280\text{nm}$; $\epsilon_{max}=10500$

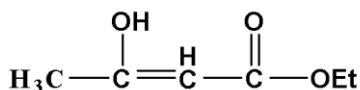


反式: $\lambda_{max}=295.5\text{nm}$; $\epsilon_{max}=29000$

互变异构:

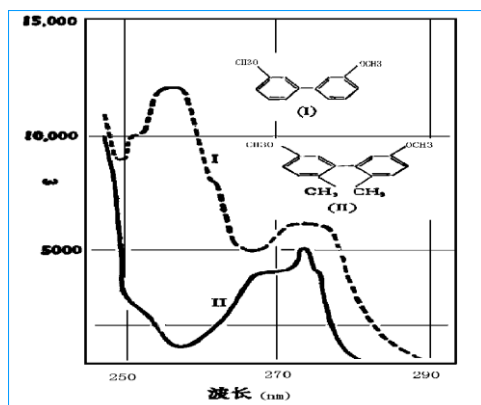


酮式: $\lambda_{max}=204\text{nm}$

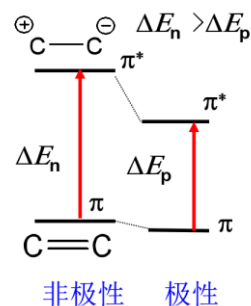
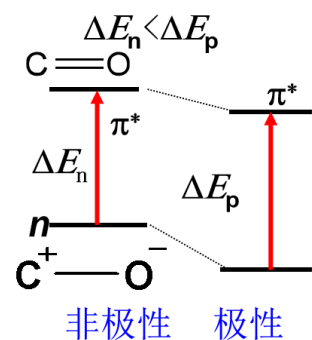


烯醇式: $\lambda_{max}=243\text{nm}$

立体结构和互变结构的影响



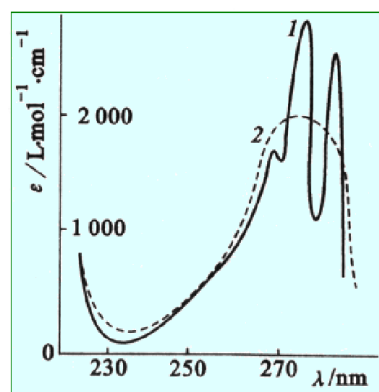
6. 溶剂的影响



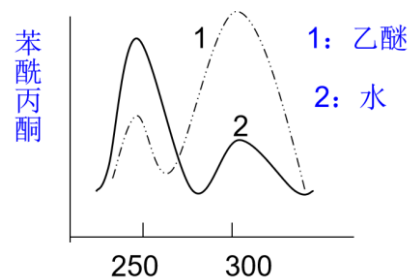
$n \rightarrow \pi^*$ 跃迁: 蓝移; $\lambda \downarrow$; $\epsilon \uparrow$

$\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁: 红移; $\lambda \uparrow$; $\epsilon \downarrow$

	λ_{\max} (正己烷)	λ_{\max} (氯仿)	λ_{\max} (甲醇)	λ_{\max} (水)
$\pi \rightarrow \pi$	230	238	237	243
$n \rightarrow \pi$	329	315	309	305



苯酚的 B 吸收带
1. 庚烷溶液 2. 乙醇溶液



非极性 \rightarrow 极性
 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁: 蓝移; $\lambda \downarrow$; $\epsilon \uparrow$
 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁: 红移; $\lambda \uparrow$; $\epsilon \downarrow$

极性溶剂使精细结构消失;

7. 生色团与助色团

生色团：最有用的紫外—可见光谱是由 $\pi \rightarrow \pi^*$ 和 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的。这两种跃迁均要求有机物分子中含有不饱和基团。这类含有 π 键的不饱和基团称为生色团。简单的生色团由双键或叁键体系组成，如乙烯基、羰基、亚硝基、偶氮基—N=N—、乙炔基、腈基—C \equiv N 等。

助色团：有一些含有 n 电子的基团(如—OH、—OR、—NH₂、—NHR、—X 等)，它们本身没有生色功能(不能吸收 $\lambda > 200\text{nm}$ 的光)，但当它们与生色团相连时，就会发生 n— π 共轭作用，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。

红移与蓝移

有机化合物的吸收谱带常常因引入取代基或改变溶剂使最大吸收波长 λ_{max} 和吸收强度发生变化：

λ_{max} 向长波方向移动称为红移，向短波方向移动称为蓝移 (或紫移)。吸收强度即摩尔吸光系数 ϵ 增大或减小的现象分别称为增色效应或减色效应，如图所示。

授课日期

第 4 周

教案编号 05

课程名称	仪器分析		专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第一章 紫外可见光谱 第三节 仪器基本组成部件和作用 (4)			
授课学时	2 节 (√); 3 节 (); 其它 ()			
课 型	理论 (√); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够合理选用紫外可见分光光度计 2. 能够正确使用吸收池 二、知识目标 1. 了解紫外可见分光光度计的工作原理 2. 了解紫外可见分光光度计的信号接收和处理 3. 掌握比色皿的使用方法			
教学重点	紫外可见分光光度计的工作原理 掌握比色皿的使用方法			
教学难点	紫外可见分光光度计的工作原理 掌握比色皿的使用方法			
教学方法	讲授 (√); 讨论 (√); 指导 (√); 示教 (); 其它 ()			
电子教案	有 (√)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (√); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (√); 其它 ()			
教学过程 时间安排	1. 复习紫外光吸收原理 10 2. 认识紫外可见分光光度计及内部结构 15' 3. 了解光源、单色器、样品池 35 4. 了解比色皿的种类和正确使用方法 15 4. 认识检测和显示 25			
思考题	1. 比色皿的磨砂面的作用是什么, 在使用时要注意什么?			
作 业	如何选择单光路还是双光路紫外可见分光光度计			
教学后记	第 1 次课为入门课, 重在让同学们明确本门课程在专业课程体系中的地位和作用, 另外多想方设法激发同学们学习本门课程的兴趣, 端正学生的学习态度。			

第三节 仪器基本组成部件和作用 (4)

吸收定律

朗伯—比耳定律 (Lambert-beer' s law)

当一束平行单色光通过任何均匀、非散射的固体、液体或气体介质时,光的一部分被吸收,一部分透过介质,一部分被器皿的表面反射。设入射光强度为 I_0 ,吸收光强度为 I_a ,透过光强度为 I_t ,反射光强度为 I_r ,

$$I_0 = I_a + I_t + I_r \quad (1-6)$$

在分光光度法测试中,通常将试液和空白溶液分别置于同样质料及厚度的吸收池中,让强度为 I_0 的单色光分别通过吸收池,测量透过光强度,此时反射光强度为 I_r 不变化,则 $I_0 = I_a + I_t + I_r$ 可以简化为 $I_0 = I_a + I_t$;

透过光强度 I_t 与入射光强度 I_0 之比,表示了入射光透过溶液的程度,称为透光度(或透光率),用 T 表示

$$T = I_t / I_0 \quad (1-7)$$

1760 年朗伯(Lambert)系统阐述了当吸收介质的浓度不变时,入射光被介质吸收的程度与介质厚度的关系为:

$$\lg I_0 / I_t = k_1 b \quad (1-8)$$

式中 k_1 为比例常数,它与入射光波长、溶液性质、浓度和温度有关; b 为溶液液层厚度,或称光程长度。

1760 年朗伯(Lambert)系统阐述了当吸收介质的浓度不变时,入射光被介质吸收的程度与介质厚度的关系为:

$$\lg I_0 / I_t = k_1 b \quad (1-8)$$

式中 k_1 为比例常数,它与入射光波长、溶液性质、浓度和温度有关; b 为溶液液层厚度,或称光程长度。

1852 年,比耳(Beer)又指出,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中吸光物质的浓度 c 成正比。数学表达式为

$$\lg I_0 / I_t = k_2 c \quad (1-9)$$

式中 k_2 为另一比例常数,它同样与入射光波长、溶液性质、浓度和温度有关。如果同时考虑溶液浓度与液层厚度对光吸收程度的影响,综合上两式,则可得

$$\lg I_0/I_t = kbc$$

(1-10)

该式则为朗伯—比耳定律的数学表达式。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。上式的物理意义为：当一束平行的单色光通过均匀的某吸收溶液时，溶液对光的吸收程度 $\lg I_0/I_t$ 与吸光物质的浓度和光通过的液层厚度的乘积成正比。

由于 (1-10) 式中的 $\lg I_0/I_t$ 项表明了溶液对光的吸收程度，定义为吸光度，并用符号 A 表示；同时， $I_t/I_0=T$ ，所以 (1-10) 式又可表示为

$$A = \lg I_0/I_t = \lg 1/T = Kbc \quad (1-11)$$

式 (1-11) 是进行定量分析的理论基础。朗伯—比耳定律不仅适合于可见光、紫外光的吸光光度法，也适合于应用红外光和原子光谱等进行测量的其它吸光光度法。它不仅适用于溶液，也适合于其它均匀的、非散射的吸光物质，包括固体和气体。

吸光系数

式 (1-11) 中的比例常数 K 值随 c, b 所用单位不同而不同。如果液层厚度 b 的单位为 cm，浓度 c 的单位为 $g \cdot L^{-1}$ 时，K 用 a 表示，a 称为质量吸光系数，其单位是 $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$ ，此时式 (1-11) 变为

$$A = abc \quad (1-12)$$

如果液层厚度 b 的单位仍为 cm，但浓度 c 的单位为 $mol \cdot L^{-1}$ ，则常数 K 用 ϵ 表示， ϵ 称为摩尔吸光系数，其单位是 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ，此时式 1-11 变为

$$A = \epsilon bc \quad (1-13)$$

摩尔吸光系数 ϵ 表示吸光物质对某一波长的单色光的吸收能力， ϵ 值越大，则吸收能力越强。它是该物质的特性常数，与吸光物质的分子结构有关，而与 c 和 b 的数值无关。 ϵ 的物理意义是当浓度为 $1mol \cdot L^{-1}$ ，液层厚度为 1cm 时有色溶液的吸光度，但在分析实践中不可能直接取浓度为 $1mol \cdot L^{-1}$ 的有色溶液测定 ϵ 值（因其吸光度太大，超出光度计可测范围），而是根据低浓度时的吸光度，通过计算求得。

例【1-1】 纯化后的胡萝卜素 ($C_{40}H_{56}$ ，其摩尔质量为 $536g \cdot mol^{-1}$)，用氯仿配成浓度为 $2.50mg \cdot L^{-1}$ 的溶液，在 $\lambda_{max}=465nm$ ，比色皿厚度为 1.0cm，测得

吸光度为 0.550, 试计算胡萝卜素的 ϵ 值?

解:

【解】

$$\begin{aligned}c(\text{C}_{40}\text{H}_{56}) &= \frac{m(\text{C}_{40}\text{H}_{56})}{M(\text{C}_{40}\text{H}_{56})V(\text{C}_{40}\text{H}_{56})} \\ &= \frac{2.50 \times 10^{-3} \text{ g}}{536 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \times 1.00 \text{ L}} = 4.66 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \\ \epsilon &= \frac{A}{bc} = \frac{0.550}{1.0 \text{ cm} \times 4.66 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}} = 1.2 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}\end{aligned}$$

摩尔吸光系数 ϵ 是吸光物质在一定条件 (如波长、温度和溶剂等) 下的特征常数。同一种物质与不同的显色剂反应, 可生成具有不同 ϵ 的有色化合物, ϵ 越大, 则显色反应越灵敏; 同一化合物在不同波长处的 ϵ 也不相同。

在吸光物质的吸收曲线上, 与最大吸收波长相对应的摩尔吸收系数 ϵ , 常以 ϵ_{\max} 表示。根据不同显色剂与待测物质所形成的有色化合物的 ϵ_{\max} 的大小, 可比较它们对测定该组分的灵敏度, ϵ_{\max} 的值越大, 则显色剂对待测组分的显色反应和分析测定的灵敏度越高。一般认为 $\epsilon < 1 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 灵敏度较低; ϵ 在 $(1 \sim 6) \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 之间属中等灵敏度; $\epsilon > 6 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 属高灵敏度。

应该指出的是, 对于不同的待测组分, 由于其摩尔质量不同, 不能简单地根据 ϵ_{\max} 的大小来判断显色反应的灵敏度, 还应结合摩尔质量的大小来综合考虑。

影响吸收定律的主要因素

根据光吸收定律, 在理论上, 吸光度对溶液浓度作图所得的直线的截距为零, 斜率为 ϵb 。实际上吸光度与浓度关系有时是非线性的, 或者不通过零点, 这种现象称为偏离光吸收定律。

如果溶液的实际吸光度比理论值大, 则为正偏离吸收定律; 吸光度比理论值小, 为负偏离吸收定律, 参见图 1-10。引起偏离光吸收定律的原因主要有下面几方面:

① 入射光非单色性引起偏离

吸收定律成立的前提是: 入射光是单色光。但实际上, 一般单色器所提供的入射光并非纯单色光, 而是由波长范围较窄的光带组成的复合光。而物质对不同波长光的吸收程度不同 (即吸光系数不同), 因而导致了对吸光定律的偏离。入射光中不同波长的摩尔吸光系数差别愈大, 偏离光吸收定律就愈严重。实验证明, 只要所选的入射光, 其所含的波长范围在被测溶液的吸收曲线较平坦的部分, 偏

离程度就要小。

②溶液的化学因素引起偏离

溶液中的吸光物质因离解、缔合，形成新的化合物而改变了吸光物质的浓度，导致偏离吸收定律。因此，测量前的化学预处理工作是十分重要的，如控制好显色反应条件，控制溶液的化学平衡等，以防止产生偏离。

③比尔定律的局限性引起偏离

严格说，比尔定律是一个有限定律，它只适用于浓度小于 0.01mol/L 的稀溶液。因为浓度高时，吸光粒子间平均距离减小，以致每个粒子都会影响其邻近粒子的电荷分布。这种相互作用使它们的摩尔吸光系数 ϵ 发生改变，因而导致偏离比尔定律。为此，在实际工作中，待测溶液的浓度应控制在 0.01mol/L 以下。

④吸光度的加合性

在多组分体系中，在某一波长下，如果各种对光有吸收的物质之间没有相互作用，则体系在该波长处的总吸光度等于各组分吸光度的和，即吸光度具有加合性，称为吸光度加合性原理。可表示如下：

$$A_{\lambda} = A_1 + A_2 + \dots + A_n = \sum_{i=1}^n A_n \quad (1-14)$$

式中，各吸光度的下标表示组分 1, 2, ..., n。吸光度的加合性对多组分同时定量测定、校正干扰等都极为有用。

授课日期

第五周

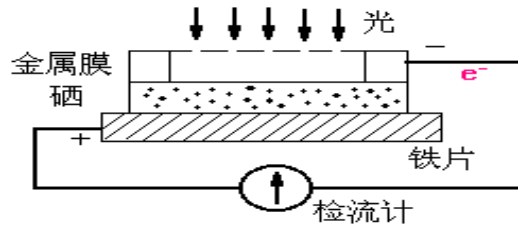
教案编号 06

课程名称	仪器分析		专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第一章 紫外可见光谱 第三节 仪器基本组成部件和作用(5)			
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)			
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够了解紫外可以对哪些物质进行定性和定量分析 2. 根据紫外图谱确定有机物结构和待测物含量 二、知识目标 1. 了解紫外可见图谱对有机物结构判定的依据和方法 2. 了解紫外光谱定量分析的方法			
教学重点	定性分析的依据 定量分析的方法种类以及显色法的特点和条件选择			
教学难点	定性分析的依据; 定量分析中标准曲线法的使用			
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()			
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()			
教学过程 时间安排	1. 复习紫外可见风光光度计的种类和 workflows 10' 2. 定性分的依据 5' 3. 定性分析推断分子结构和空间状态及一般规律和应用 30' 4. 定量分析的依据 5' 5. 单组分定量分析方法及应用 30' 6. 多组分定量分析方法及应用 10' 7. 显色反应的特点及显色剂 10' 8. 显色条件的选择 25' 9. 参比液的种类和选择 10' 10. 吸光度测量范围的选择 15' 11. 应用实例 30'			
思 考 题	1. 定性分析鉴定纯度时如何操作 2. 如何做好标准曲线			
作 业	课后习题 21、29、35、36			
教学后记	紫外是《仪器分析》课程的入门内容,掌握好最基本的光谱只是和风光光度法有利于后续相关分光光度法的学习。			

第三节 仪器基本组成部件和作用(5)

4.检测器

利用光电效应将透过吸收池的光信号变成可测的电信号，常用的有光电池、光电管或光电倍增管。



常用的检测器有光电管、光电倍增管。现在也有一些新型仪器采用二极管阵列检测器。检测器的作用就是检测透过吸收池后的光信号，并将光信号转变为电信号。作为检测器，对光电转换的要求是：光电转换有恒定的函数关系，响应灵敏度要高、速度要快、噪声低、稳定性高、产生的电信号易于检测放大等。

5. 结果显示记录系统

检流计、数字显示、微机进行仪器自动控制和结果处理

光电管

光电管在紫外-可分光光度计中应用广泛。它是一个阳极和一个光敏阴极组成的真空二极管。按阴极上光敏材料的不同，光电管分蓝敏和红敏两种，前者可用波长范围为 210~625nm；后者可用波长范围为 625nm~1000nm。与光电池比较，它具有灵敏度高、光敏范围广和不易疲劳等优点。

光电倍增管

检测弱光的最常用的光电元件，它不仅响应速度快，能检测 10^{-8} ~ 10^{-9} s 的脉冲管，而且灵敏度高，比一般光电管高 200 倍。目前紫外-可见光光度计广泛使用光电倍增管作检测器。

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。

当阴极 K 受到光撞击时，发出光电子，K 释放的一次光电子再撞击倍增极，就可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级撞击，电子数依次倍增，经过 9-16 级倍增，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 10⁶ 倍，最高可达 10⁹ 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。

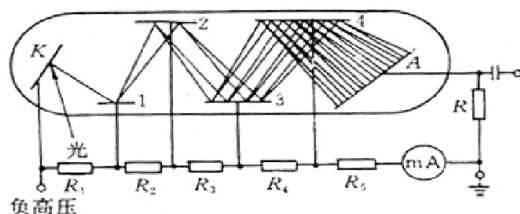


图1-11 光电倍增管的结构和原理图
K—光敏阴极；1-4—倍增极；R，R₁-R₅—电阻；A—阳极

二极管阵列检测器

二极管阵列检测器即光电二级阵列管检测器或光电二极管矩阵检测器，表示为 PDA (photo-diode array)、PDAD (photo-diode array detector) 或 (Diode array detector, DAD) 是 20 世纪 80 年代出现的一种光学多通道检测器。还有的商家称之为多通道快速紫外-可见光检测器 (multichannel rapid scanning UV-VIS detector)，三维检测器 (three dimensional detector) 等。

它的结构是在晶体硅上紧密排列一系列光电二极管，每一个二极管相当于一个单色器的出口狭缝，二极管越多分辨率越高，一般是一个二极管对应接受光谱上一个纳米谱带宽的单色光。它可以在同一时间检测所有波长的紫外吸收，快速获得全光谱信息，还可以做三维谱图，比较适合于研究工作，但其灵敏度比光电倍增管检测器略低。

二极管阵列元件的工作原理，如图 (1-11) 所示。当光照射到二极管阵列上时，受到光照的光敏二极管便产生光电流，光电流使与光二极管并联的电容器放电。光越强产生的光电流越大，电容器放电越快，放电后的电压就越低。电容器再充电电流值正比于电容器放电前后的电压差，因此，也正比于光强，所以充电电流可以代表待测的光强值。

电容器的充电电流信号由视频线传送，按照移位寄存器所确定的顺序，通过测量电容器的充电电流，可以连续获得照射到光敏二极管上的光强值。为了保证充电电流与光强成正比，电容器的放电电流需有一定限制。根据需要测量的最大光强和电容器的特性参数，可以确定所需要的最大放电电流。使用含 211 个二极管的阵列元件，每个二极管宽 50 μ m，各自测量一窄段的光谱，全波段扫描，最

快时 10 ms，每秒可以采集 20,000 多个数据。

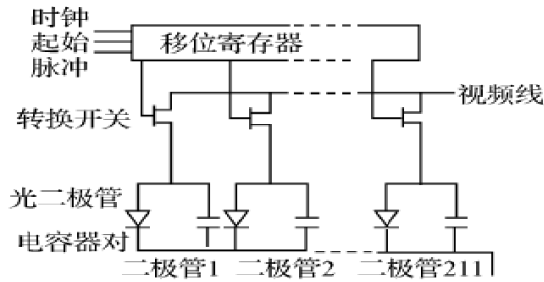


图1-12 光电二极管阵列工作原理

信号显示器

常用的信号指示装置有直读检流计、电位调节零装置以及数字显示或自动记录装置等。现在很多型号的分光光度计已装配有计算机，可进行数据显示、记录和处理。信号显示器的作用就是把经检测器产生的电信号，经放大处理后，用适当方式指示或记录下来。

以检流计或微安为指示仪表

数字显示及自动记录型

用光电管或光电倍增管作检测器，产生的光电流经放大后由数码管（数码管也称 LED 数码管，是由多个发光二极管封装在一起组成“8”字型的器件）直接显示出透射比或吸光度，也可以连接数据处理装置将结果显示在液晶显示屏上，或者与计算机相连，能自动绘制工作曲线，计算分析结果并打印报告，实现分析自动化。这种数据显示装置方便、准确，避免了人为读数错误，节省了人工计算。

这类指示仪表的表头标尺刻度值分上、下两部分，上半部分是百分透射比 τ （原称透光度 T，目前部分仪器上还在使用“T”表示透射比），均匀刻度；下半部分是与透射比相应的吸光度 A。由于 A 与 τ 是对数关系，所以 A 刻度不均匀，这种指示仪表的信号只能直读，不便自动记录，近年生产的紫外-可见分光光度计已不再使用这类指示仪表了。

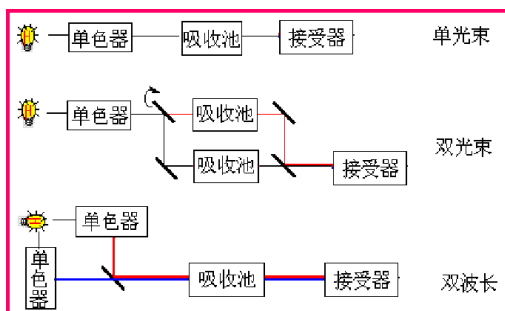
二、分光光度计的类型

1. 单光束

简单，价廉，适于在给定波长处测量吸光度或透光度，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。

2. 双光束

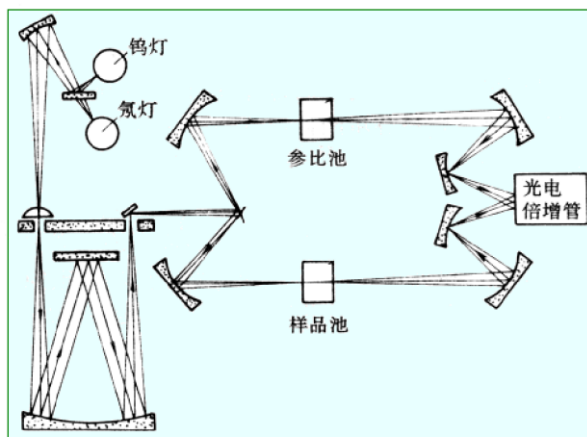
自动记录，快速全波段扫描。可消除光源不稳定、检测器灵敏度变化等因素的影响，特别适合于结构分析。仪器复杂，价格较高。



3.双波长

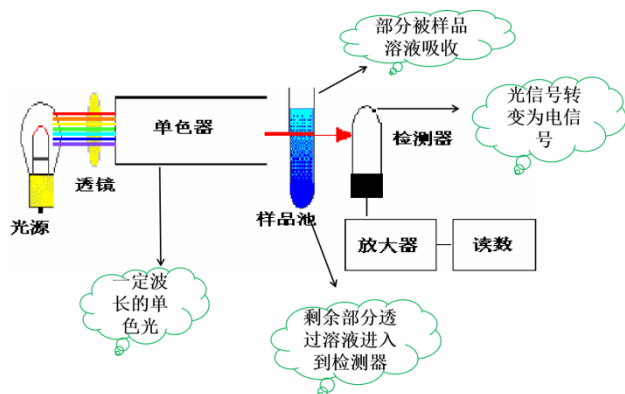
将不同波长的两束单色光(λ_1 、 λ_2) 快速交替通过同一吸收池而后到达检测器。产生交流信号。无需参比池。 $\Delta = 1\sim 2\text{nm}$ 。两波长同时扫描即可获得导数光谱。

光路图



双光束紫外可见分光光度计光路图

3、分析流程



授课日期

第 6 周

教案编号 08

课程名称	仪器分析		专业班级	
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第一章 紫外可见光谱 第四节 紫外吸收光谱的应用			
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (4 节 <input checked="" type="checkbox"/>)			
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 () ; 其它 ()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够了解紫外可以对哪些物质进行定性和定量分析 2. 根据紫外图谱确定有机物结构和待测物含量 二、知识目标 1. 了解紫外可见图谱对有机物结构判定的依据和方法 2. 了解紫外光谱定量分析的方法			
教学重点	定性分析的依据 定量分析的方法种类以及显色法的特点和条件选择			
教学难点	定性分析的依据; 定量分析中标准曲线法的使用			
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 () ; 其它 ()			
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint () ; Author ware () ; 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 () ; 标本 () ; 实物 () ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()			
教学过程 时间安排	1. 复习紫外可见风光光度计的种类和 workflows 10' 2. 定性分的依据 5' 3. 定性分析推断分子结构和空间状态及一般规律和应用 30' 4. 定量分析的依据 5' 5. 单组分定量分析方法及应用 30' 6. 多组分定量分析方法及应用 10' 7. 显色反应的特点及显色剂 10' 8. 显色条件的选择 25' 9. 参比液的种类和选择 10' 10. 吸光度测量范围的选择 15' 11. 应用实例 30'			
思 考 题	3. 定性分析鉴定纯度时如何操作 4. 如何做好标准曲线			
作 业	课后习题 21、29、35、36			
教学后记	紫外是《仪器分析》课程的入门内容，掌握好最基本的光谱只是和风光光度法有利于后续相关分光光度法的学习。			

第四节 紫外吸收光谱的应用

一、定性分析

不同的化合物具有不同的紫外或者可见光吸收光谱,因此物质的紫外或可见吸收光谱特征:形状、峰的数目、波长位置及 λ_{\max} 即化合物特性参数,可作为定性依据。

ϵ_{\max} : 化合物特性参数,可作为定性依据;

有机化合物紫外吸收光谱:反映结构中生色团和助色团的特性,不完全反映分子特性;

计算吸收峰波长,确定共轭体系等

甲苯与乙苯:谱图基本相同;

结构确定的辅助工具;

ϵ_{\max} , λ_{\max} 都相同,可能是一个化合物;

标准谱图库:46000种化合物紫外光谱的标准谱图

«The saddler standard spectra ,Ultraviolet»

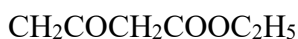
1.1 推测化合物的分子结构

(1) 判断异构体

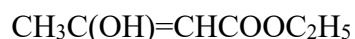
紫外吸收光谱的重要应用在于测定共轭分子。共轭体系越大,吸收强度越大,波长红移。



前者有紫外吸收,后者的 $\lambda_{\max}<200\text{nm}$ 。同样, $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_3$ 的 λ_{\max} 要短于 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}-\text{COCH}_2\text{CH}_3$ 。下面两个酮式和烯醇式异构体中,烯醇式结构的摩尔吸光系数 ϵ 要远大于酮式,也是由于烯醇式结构中有双键共轭之故。



酮式($\lambda_{\max}=275\text{ nm}$, $\epsilon=100$)



烯醇式($\lambda_{\max}=245\text{ nm}$, $\epsilon=18000$)

(2) 判断共轭状态

可以判断共轭生色团的所有原子是否共平面等。如二苯乙烯($\text{ph}-\text{CH}=\text{CH}-\text{ph}$)顺式比反式不易共平面,因此反式结构的 λ_{\max} 及 ϵ 要大于顺式。

顺式: $\lambda_{\max}=280\text{ nm}$, $\epsilon=13500$; 反式: $\lambda_{\max}=295\text{ nm}$, $\epsilon=27000$

有机化合物紫外光谱反映了化合物结构特征,可以提供化合物多方面结构信息,如生色团、助色团的种类、数目及其位置;化合物的共轭程度、空间效应、

氢键等；可对饱和与不饱和化合物、异构体及构象进行判别。

紫外—可见吸收光谱提供有机物发色体系信息的一般规律：

1、若在 200~750 nm 波长范围内无吸收峰，则可能是直链烷烃、环烷烃、饱和脂肪族化合物或仅含一个双键的烯烃等。

2、若在 270~350 nm 波长范围内有低强度吸收峰($\epsilon=10\sim 100 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$),($n\rightarrow\pi^*$ 跃迁),则可能含有一个简单非共轭且含有 n 电子的生色团,如羰基。

3、若在 250~300 nm 波长范围内有中等强吸收峰($\epsilon=10^3\sim 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$),则该有机物结构中可能含有一苯环。

4、若在 210~250 nm 波长范围内有强吸收峰($\epsilon\geq 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$),则该有机物结构中可能含有 2 个共轭双键；若在 260~300 nm 波长范围内有强吸收峰,则该有机物结构中可能含有 3 个或 3 个以上共轭双键

5、若某有机物的吸收峰延伸至可见光区,则该有机物可能是长链共轭或稠环化合物。

如果样品在可见光区有强吸收,则分子结构中含有五个以上共轭双键,例如二氢- β -胡萝卜素有八个共轭双键,在可见光区有吸收显橙黄色,番茄红素有十一个共轭双键,显红色。

例如干性油是含有共轭双键, 而不干性油是饱和脂肪酸, 或虽不饱和但双键不相共轭, 非共轭的双键具有典型的烯键紫外吸收, 其波长较短而共轭双键所吸收的谱带波长较长, 共轭双键越多吸收谱带波长越长。因此饱和脂肪酸酯及非共轭双键的吸收光谱多在 210nm 以下, 而含两个共轭双键的约在 220nm, 三个共轭双键的在 270nm, 四个的则在 310nm 左右。所以干性油的吸收谱带一股都有较长的波长。工业上常设法使非共轭双键转变为共轭双键, 从而使不干性油变为干性油, 应用紫外吸收光谱是观察和判断双键是否由非共轭转移为共轭的有效方法。

根据以上规律可初步确定有机物的归属范围, 但仅凭化合物的紫外可见光谱进行定性鉴定还不够充分, 常需要和红外光谱、核磁共振、质谱等结构鉴定方法配合。

(3) 化合物纯度的检测

1、紫外吸收光谱能够检查化合物中是否含有具有紫外吸收的杂质, 如果化合物在紫外光区没有明显的吸收峰, 而它所含的杂质在紫外区有较强的吸收峰, 就可以检查出该化合物所含的杂质。例如要检查乙醇中的杂质苯, 由于苯在 256nm 处有吸收, 而乙醇在此波长下无吸收, 因此可利用苯的这一特征峰检查乙醇中是否含有苯。又如要检查四氯化碳中是否有 CS_2 杂质, 只要观察在 318nm 处是否有 CS_2 的吸收峰就可以确定。

2、另外, 还可以用吸光系数来检查物质的纯度。一般认为, 当试样测出的摩尔吸光系数比标准样品测出的摩尔吸光系数小时, 其纯度不如标样。相差越大, 试样纯度越低。

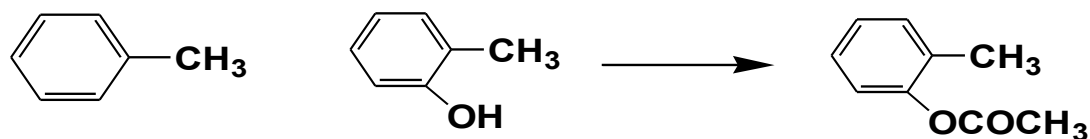
例如菲的氯仿溶液, 在 296nm 处有强吸收($1\text{g}\epsilon=4.10$), 用某方法精制的菲测得 ϵ 值比标准菲低 10%, 说明实际含量只有 90%, 其余很可能是蒽醌等杂质。

(4) 光谱解析注意事项

(1) 确认 λ_{max} , 并算出 $\log \epsilon$, 初步估计属于何种吸收带;

(2) 观察主要吸收带的范围, 判断属于何种共轭体系;

(3) 乙酰化位移



B 带: 262 nm(ϵ 302)
nm(ϵ 300)

274 nm(ϵ 2040)

261

(4) pH 值的影响

加 NaOH 红移→酚类化合物, 烯醇。

加 HCl 兰移→苯胺类化合物。

三、定量分析方法

紫外-可见吸收光谱是进行定量分析最广泛使用的、最有效的手段之一。可用于无机及有机体系。一般可检测 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ mol/L 的微量组分, 通过某些特殊方法(如胶束增溶)可检测 $10^{-6} \sim 10^{-7}$ mol/L 的组分。而且准确度高, 一般相对误差 1%~3%, 有时可降至百分之零点几。

3.1 单组分定量分析

(1) 标准对照法

该法是标准曲线法的简化, 即只配制一个浓度为 C_s 的标准溶液, 并测量其吸光度, 求出吸收系数 k , 然后测定 A_x , 再由 $A_x = KCx$, 求出 C_x 。该法只有在测量浓度范围内遵守朗伯-比尔定律, 且 C_x 与 C_s 大致相当时, 才可得到准确结果。

(2) 标准曲线法

该法应用广泛。即配制一系列浓度由小到大梯度增加的标准溶液(一般 5~8 个), 在选定的波长下分别测量各标准溶液的吸光度。然后以标准溶液的浓度为横坐标, 以相应的吸光度为纵坐标作图, 绘制标准曲线(见图 1-17)。在相同条件下测定试样溶液的吸光度后, 即可从标准曲线上查得待测组分的浓度。为了保证测定的准确度, 待测试液的浓度应在标准曲线范围内, 最好在标准曲线中部。标准曲线应定期校准, 如果实验条件变动, 如更换标准溶液、所用试剂重新配制、仪器经过修理、更换光源等, 标准曲线应重新绘制。如果实验条件不变, 每次实验只要带一个中间浓度的标样, 校验标准曲线, 符合要求后, 就可使用该标准曲线。

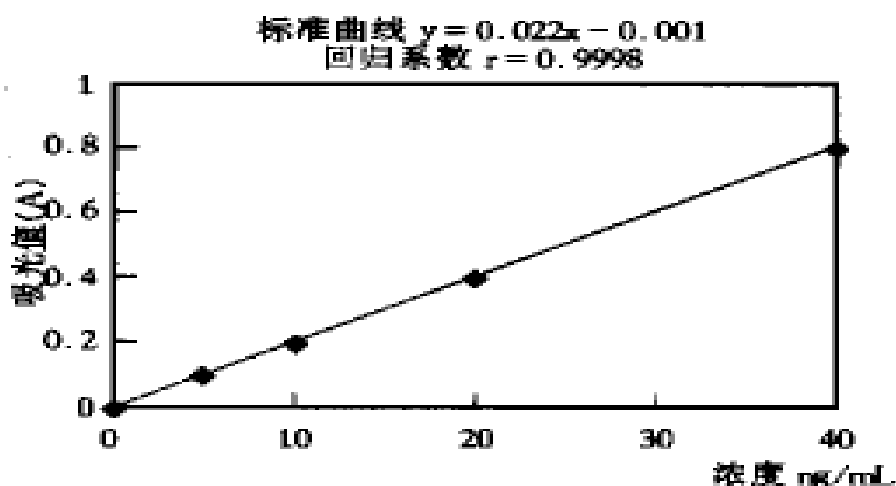


图 1-17 标准工作曲线

工作曲线与标准曲线略有不同，当标准溶液按照样品分析步骤同样处理时（如同样加掩蔽剂、过滤、加热等），得到的标准曲线又叫工作曲线。理论上讲，标准曲线应为一通过原点的直线。但由于误差的存在，标准曲线往往会有一个较小的截距，而且实验测出的点可能并不完全在一条直线上，这时如果用坐标纸作图，靠手工“画”出的直线随意性较大，相同的实验数据，不同的人“画”出的直线也可能不同。这时，如果我们采用最小二乘法确定直线回归方程，就可得到唯一的一条直线，方法的准确度也就提高了。

标准曲线法基本消除了偶然误差的影响，因此测定结果比较可靠。该法适合于同一测定对象的大批试样的常规分析。

(3) 标准加入法

标准加入法，又名标准增量法或直线外推法，是一种被广泛使用的定量分析方法。这种方法尤其适用于样品组成比较复杂，难于配置与样品溶液相似的标准溶液；或样品基体成分很高，而且变化不定；或样品中含有固体物质而对吸收的影响难以保持一定时。

具体做法是：将待测试样分成若干等份，分别加入不同已知量 $0, C_1, C_2 \dots, C_n$ 的待测组分配制溶液。由加入待测试样浓度由低至高依次测定上述溶液的吸光光谱，作一定波长下浓度与吸光度的关系曲线，得到一条直线，如图 1-18 所示。若直线通过原点，则样品中不含待测组分；若不通过原点，将直线在纵轴上的截距延长与横轴相交，交点离开原点的距离为样品中待测组分的浓度即 C_x 。

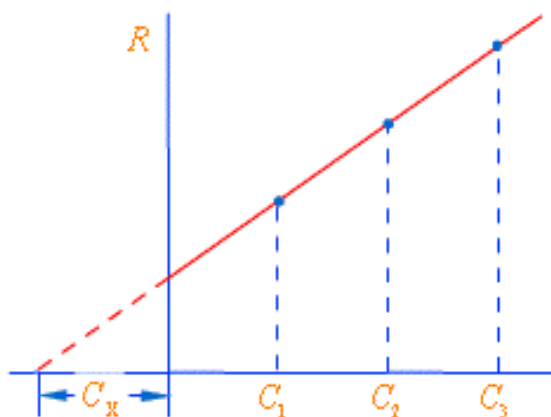


图 1-18 标准加入法工作曲线

(4) 差示分光光度法

紫外-可见分光光度法一般适用于含量为 $10^{-2} \sim 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围的测定。用普通分光光度法测定浓度过大或浓度过小(吸光度过高或过低)被测组分时，测量误差均较大。为克服这种缺点而改用浓度比样品稍低或稍高的标准溶液代替空白试剂来调节仪器的 100%透光率（对浓溶液）或 0%透光率（对稀溶液）以提高分光光度法精密度、准确度和灵敏度的方法，称为差示分光光度法。

常用的高浓度差示吸光光度法采用一个比待测溶液浓度稍低的标准溶液作参比溶液，测量待测溶液的吸光度，从测得的吸光度求出它的浓度。

用作参比的标准溶液浓度为 C_s ，待测试液浓度为 C_x ，且 $C_x > C_s$

根据朗伯-比耳定律得：

$$A_s = \varepsilon b c_s \quad A_x = \varepsilon b c_x \quad (1-19)$$

两式相减，得到

$$\Delta A = A_x - A_s = \epsilon b(c_x - c_s) = \epsilon b \Delta c \quad (1-20)$$

上式表明，所得吸光度之差与两种溶液的浓度差成正比。这样便可以采用直接比较法，根据测得的 ΔA 求出 Δc 值，再从 $c_x = c_s + \Delta c$ 求出待测试液的浓度。或采用标准曲线法，即用系列标准溶液浓度 c_1 、 c_2 、 $c_3 \cdots c_n$ 减参比标液浓度 c_s ，得到 Δc_1 、 Δc_2 、 $\Delta c_3 \cdots \Delta c_n$ ，再以参比标液为参比，分别测定每个标液的吸光度值，得 ΔA_1 、 ΔA_2 、 $\Delta A_3 \cdots \Delta A_n$ ，然后作 $\Delta A - \Delta c$ 标准曲线，再根据试样 ΔA ，求出 c_x 。

例如用试剂空白作参比溶液，测得某试液的透光度 $T_x = 5\%$ （差示分光光度法一般适用于分析 $T < 10\%$ 的组分），显然，这时的测量误差是很大的。采用示差吸光光度法时，若按试剂空白测得 $T_1 = 10\%$ 的标准溶液作参比溶液，使其透光率调至 $T_2 = 100\%$ ，如图 1-19 所示。则相当于把标尺扩展到原来的 10 倍（ $T_2/T_1 = 100\%/10\% = 10$ ）。使待测试液透光度读数能够落在测量误差较小的区域，此时试液的透光度 $T_x = 50\%$ ，此读数落在了适宜的范围内（紫外可见吸收测定时，应尽量使溶液透光度在 $T = 15\% \sim 65\%$ ，相应的吸光度为 $A = 0.20 \sim 0.80$ 之间）。从而提高了测定的准确度。高吸光度差示法相对误差可低至 0.2%。

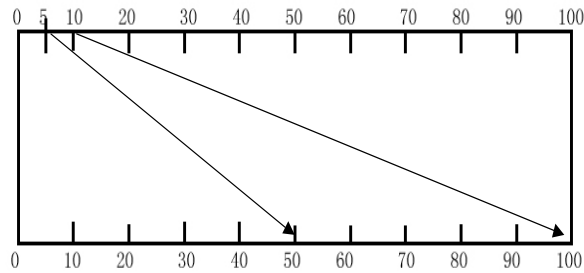


图 1-19 示差分光光度法标尺扩展原理

使用这种方法要求仪器光源强度要足够大，仪器检测器要足够灵敏。要能使标准参比溶液的透光度调到 100%，否则，无法应用差示分光光度法进行检测。

另外，当两种组分的吸收光谱有重叠时，可以根据吸光度的加和性，在多个波长下测定吸光度，并利用解联立方程的方法求解。

如图 1-20 所示。x、y 为两个吸收光谱重叠的情况。可找出两个波长，在该波长下，二组分的吸光度差值 ΔA 较大，在波长为 λ_1 和 λ_2 测定吸光度 A_1 和 A_2 ，由吸光度的加和性得联立方程：

$$A_1 = \epsilon_{x,1}bc_x + \epsilon_{y,1}bc_y \quad (1-21)$$

$$A_2 = \epsilon_{x,2}bc_x + \epsilon_{y,2}bc_y \quad (1-22)$$

其中： c_x 、 c_y 分别为 x 和 y 的浓度； $\epsilon_{x,1}$ 、 $\epsilon_{y,1}$ 分别为 x 和 y 在波长 λ_1 时的摩尔吸光系数； $\epsilon_{x,2}$ 、 $\epsilon_{y,2}$ 分别为 x 和 y 在波长 λ_2 时的摩尔吸光系数。

摩尔吸光系数值，可用 x 和 y 的标准溶液在两波长处测得，解联立方程可求出 c_x 和 c_y 值。

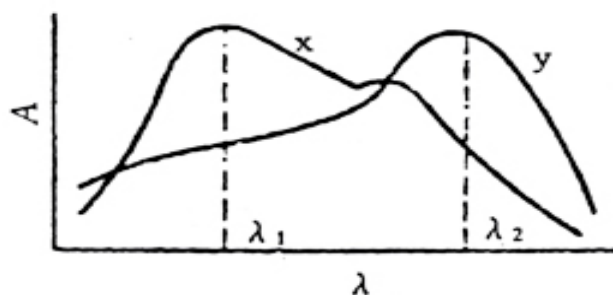


图 1-20 两种物质光谱重叠情况

(5) 双波长分光光度法

对于吸收曲线有重叠的单组分(显色剂与有色络合物的吸收光谱重叠)或多组分(两种性质相近的组分所形成的有色络合物吸收光谱重叠)试样、混浊试样以及背景吸收较大的试样,由于存在很强的散射和特征吸收,难以找到一个合适的参比溶液来抵消这种影响。用解联立方程的方法测定两组分的含量可能误差较大,这时可以用双波长分光光度法测定。它可以在有其他组分干扰时,测定某组分的含量,也可以同时测定两组分的含量。该法不仅简化了分析手续,还能提高分析方法的灵敏度、选择性及测量的精密度。

双波长吸光光度法利用从光源发射出来的光线分成两束,分别经过两个单色器,得到两束波长不同的单色光。借助切光器,使这两道光束以一定的频率交替照到装有试液的吸收池,最后由检测器显示出试液对波长为 λ_1 和 λ_2 的光的吸光度差 ΔA 。

设波长为 λ_1 和 λ_2 的两束单色光的强度相等,则有:

$$A_{\lambda_1} = \varepsilon_{\lambda_1} bc \quad A_{\lambda_2} = \varepsilon_{\lambda_2} bc \quad (1-23)$$

$$\text{所以} \quad \Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2} = (\varepsilon_{\lambda_1} - \varepsilon_{\lambda_2}) bc \quad (1-24)$$

可见 ΔA 与吸光物质浓度成正比。这是用双波长吸光光度法进行定量分析的理论依据。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。

双波长吸光光度法在实践中应用广泛。例如可以进行混浊试液中组分的测定,也可测定单组分,还可以在两组分共存时进行分别测定。

在一般吸光光度法中,混浊试液中组分的测定必须使用相同浊度的参比溶液,但在实际中很难找到合适的参比溶液。在双波长光度法中,作为参比的不是另外的参比溶液,而是试液本身,它只需要用一个比色皿盛装试液,用两束不同波长的光照射试液时,两束光都受到同样的悬浮粒子的散射,当 λ_1 和 λ_2 相距不大时,由同一试样产生的散射可认为大致相等,不影响吸光度差 ΔA 的值。一般选择待测组分的最大吸收波长为测量波长(λ_1),选择与 λ_1 相近而两波长相差在 40~60 nm 范围内且又有较大的 ΔA 值的波长为参比波长。

单组分

用双波长吸光光度法进行单组分的定量测定,是以试液本身对某一波长的光的吸光度作为参比,这不仅避免了因试液与参比溶液或两吸收池之间的差异所引起的误差,而且还可以提高测定的灵敏度和选择性。在进行单组分的测定时,以配合物吸收峰作测量波长,参比波长的选择:以等吸收点为参比波长、以有色配合物吸收曲线下端的某一波长作为参比波长或以显色剂的吸收峰为参比波长。

双组分

两组分共存时，尤其是当两种组分(或它们与试剂生成的有色物质)的吸收光谱有重叠时，要测定其中一个组分就必须设法消除另一组分的光吸收。对于相互干扰的双组分体系，它们的吸收光谱重叠，选择参比波长和测定波长的条件必须是：待测组分在两波长处的吸光度之差 ΔA 要足够大，干扰组分在两波长处的吸光度应相等；这样用双波长法测得的吸光度差只与待测组分的浓度成线性关系，而与干扰组分无关，从而消除了干扰。

【例】浓度为 $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液和浓度为 $1.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ KMnO_4 的溶液在波长 450 nm 处的吸光度值分别为 0.200 和 0.000 ，而在波长 530 nm 处的吸光度值分别为 0.050 和 0.420 。现测得两者混合溶液在波长 450 nm 和 530 nm 处的吸光度值分别为 0.380 和 0.710 。试计算该混合溶液中 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 和 KMnO_4 的浓度。

【解】设 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 和 KMnO_4 的浓度分别为 c_x 和 c_y ，根据朗伯比尔定律，二者在 450 nm 和 530 nm 处的吸光系数分别为：

$$\varepsilon_{450}^x = \frac{0.200}{1.00 \times 1.00 \times 10^{-3}} = 2.00 \times 10^2 [\text{L/mol} \cdot \text{cm}]$$

$$\varepsilon_{530}^x = \frac{0.050}{1.00 \times 1.00 \times 10^{-3}} = 50.00 [\text{L/mol} \cdot \text{cm}]$$

$$\varepsilon_{450}^y = 0$$

$$\varepsilon_{530}^y = \frac{0.420}{1.00 \times 1.00 \times 10^{-4}} = 4.20 \times 10^3 [\text{L/mol} \cdot \text{cm}]$$

根据式 (1-21) 和 (1-22) 得：

$$c_x = \frac{0.380}{1.00 \times 2.00 \times 10^{-3}} = 1.90 \times 10^{-3} [\text{mol/L}]$$

$$c_y = \frac{50.00 \times 0.380 - 2.00 \times 10^2 \times 0.710}{(0 - 4.20 \times 10^3 \times 2.00 \times 10^2) \times 1.00} = 1.46 \times 10^{-4} [\text{mol/L}]$$

(6) 导数分光光度法

导数光谱可用于定量分析。如果将 $A_\lambda = \varepsilon \lambda b c$ 式对波长 λ 进行 n 次求导，可得：

$$d^n A / d\lambda^n = (d^n \varepsilon / d\lambda^n) b c \quad (1-25)$$

可见，一阶导数值仍然与被测物质的浓度成正比。对一阶导数继续求导，可知，各阶导数值均与被测物质的浓度成正比，经 n 次求导后，吸光度 A 的导数值仍与吸收物的浓度 c 成正比，藉此可以用于定量分析。因此可以根据导数值计算物质的含量。这种方法称为导数分光光度法。

以吸光度的导数值 D 为纵坐标，吸收光的波长为横坐标绘制的曲线，称为导数吸收光谱。对吸收光谱曲线进行一阶或高阶求导，即可得到各种导数光谱曲线(见图 1-21)。

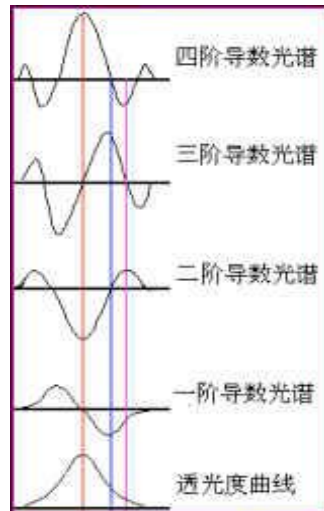


图 1-21 吸收光谱曲线及其 1 阶至 4 阶导数曲线示意图

导数光谱的特点在于灵敏度高，分辨率得到了很大的提高，这是因为通过求导以后，吸收曲线的形状发生了显著的变化。其中各种微小的变化能更好地显示出来。能够分辨两个或两个以上完全重叠或以很小波长差相重叠的吸收峰。当两个峰的峰高与半宽度的比值不同时，则可以认为它们的尖锐程度不同，如图 1-22 所示，图中两个尖锐程度不同的吸收峰 1 和峰 2 在同一波长处相互重叠，叠加成吸收峰 3。从吸收峰 3 的外形，很难辨别出它是由两个吸收峰叠加而成的。如果将其透光率曲线 4 进行一次求导，就得到如曲线 5 所示的导数光谱曲线。在曲线的正负两个方向上，各出现两个导数光谱峰，从而很容易地辨认出来。

从图 1-22 中可以看出，一阶导数信号与试样浓度呈线性关系，测定灵敏度依赖于摩尔吸光系数对波长的变化率 $d\varepsilon/d\lambda$ 。吸收曲线的拐点处 $d\varepsilon/d\lambda$ 最大，故其灵敏度最高。随着导数阶数的增加，谱带变得尖锐，分辨率提高，但原吸收光谱的基本特点逐渐消失。

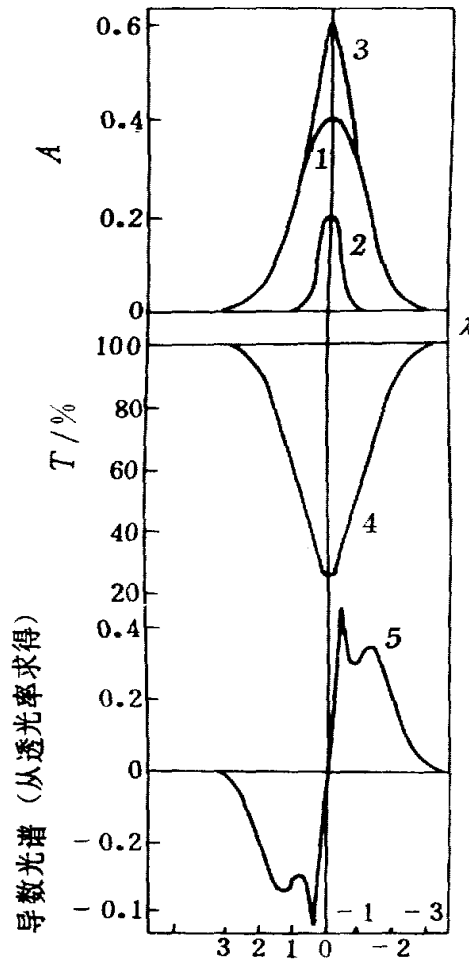


图 1-22 导数光谱能分辨峰高与半宽度的比不同的重叠峰

当二个完全相同的吸收峰以极小的波长差重叠时，将它们进行二次求导后，由于各峰的半宽度约为原峰半宽度的一半，因此也有可能将此两峰分开。而且导数光谱能够分辨吸光度随波长急剧上升时所掩盖的弱的吸收峰。还能够确认宽阔吸收带的最大吸收波长。应用中，常用二阶导数光谱。

导数光谱可减小光谱干扰。因而在分辨多组分混合物的谱带重叠、增强次要光谱(如肩峰)的清晰度以及消除混浊样品散射的影响时有利。导数分光光度法在多组分同时测定、浑浊样品分析、消除背景干扰、加强光谱的精细结构以及复杂光谱的辨析等方面，显示了很大的优越性。

测量导数光谱峰值的方法，有以下几种：

峰-谷法：如果基线平坦，可通过测量两个极值之间的距离 P 来进行定量分析；这是较常用的方法。如果峰、谷之间的波长差较小，即使基线稍有倾斜，仍可采用此法。

基线法：首先作相邻两峰的公切线，然后从两峰之间的谷画一条平行于纵坐标的直线，交公切线于 A 点，然后测量 t 的大小[见图 1-23]。当用此法测量时，不管基线是否倾斜，只要它是直线，都可测得较准确的数值。

峰-零法：此法是测量峰顶最高点与基线间的距离。[见图 1-23 中 z]。但它只适用于导数光谱是对称时的情况。

测量导数值时，一般采取峰-零法或峰-谷法。

虽然导数光谱具有分辨相互重叠的吸收峰的能力,但有时不一定能完全消除干扰物的影响。因此在进行定量分析时,必须注意选择测量波长在干扰成份影响最小处。

定量分析中,导数分光光度法最大的优点是可提高检测的灵敏度。例如测定乙醇中微量苯;利用一般的吸收光谱法,只能检测约 $10\mu\text{g/ml}$ 的苯;而用导数分光光度法,可检测低于 $1\mu\text{g/ml}$ 的苯。

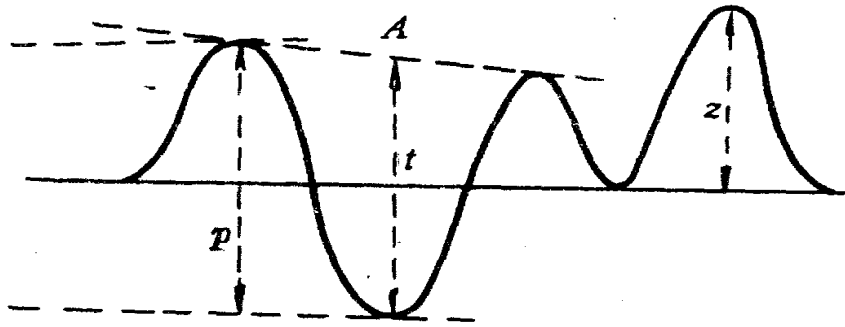


图 1-23 导数光谱的图解测定法 p 峰—谷法;t 基线法; z 峰—零法

★ (7) 目视比色法

用眼睛观察、比较溶液颜色深浅以确定物质含量的分析方法称为目视比色法。常用的目视比色法采用标准系列法,也叫标准色阶法。

取一套质料、大小和形状完全相同的具塞平底玻璃管(称为奈氏比色管),放在下面垫有反射镜的木架上,依次加入不同体积的标准溶液,再分别加入等量的显色剂和其它试剂,并控制其它实验条件相同,最后稀释至同一刻度线,摇匀,即可制成颜色由浅到深的标准色阶,参见图 1-24。



图 1-24 标准色阶

将一定量的试液置于另一支奈氏比色管中,在同样条件下显色后,与标准色阶比较溶液颜色的深浅。若试样溶液与某标准色阶溶液的颜色相同,则两者中吸光物质的浓度相等;若试液的颜色介于标准色阶某两个溶液的颜色之间,则试样中吸光物质的浓度等于这两个色阶溶液浓度的平均值。目视比色法具有仪器简单,操作快速方便,灵敏度比较高的特点;适合于大批试样的分析。而且比色管中溶液的液层较厚,微量的有色物质也可观察到,适合于试液中微量物质的分析。另外,目视比色法可利用日光或普通的白炽灯、日光灯作为光源,不需要分光光度计就可进行。同时因为比色是在完全相同的条件下进行的,使用的入射光为白光,

所以许多不符合光吸收定律的溶液（如胶体、乳浊液等），也可用目视比色法进行测定。因此该法广泛用于准确度要求不高的中间控制分析、限界分析（界限分析是指要求确定样品中待测组分含量是否在规定的含量界限以上或以下）中。

目视比色法的主要缺点是准确度不高，如果待测液中存在第二种有色物质，就无法进行测定。另外，由于许多有色溶液颜色不稳定，标准系列不能久存，经常需在测定时配制，比较麻烦。虽然可采用某些稳定的有色物质（如重铬酸钾、硫酸铜和硫酸钴等）配制永久性标准系列，或利用有色塑料、有色玻璃成永久色阶，但由于它们的颜色与试液的颜色往往有差异，也需要进行校正。

（8）其他分析方法

分光光度滴定法

分光光度滴定法是利用被测组分或滴定剂或反应产物在滴定过程中的吸光度的变化来确定滴定终点，并由此计算样品溶液中被测组分含量的方法。

动力学分光光度法

动力学分光光度法是利用反应速率与反应物、产物或催化剂的浓度之间的定量关系，通过测量与反应速率成正比例关系的吸光度，从而计算待测物质的浓度。

胶束分光光度法

胶束分光光度法是利用表面活性剂的增强、增敏、增稳、褪色、折向等作用，以提高显色反应的灵敏度、对比度或选择性，改善显色反应条件，并在水相中直进行光度测量的分光光度法。

三、实验技术

3.1 显色反应特点

灵敏度高

分光光度法一般用于微量组分的测定，故一般选择能生成吸光度高的有色化合物的显色反应。但灵敏度高后，反应不一定选择性好。故应全面加以考虑。对于高含量组分的测定，不一定选用最灵敏的显色反应。

选择性好

一种显色剂最好只与被测组分起显色反应。要么干扰少，或干扰容易消除。

有色化合物的组成要恒定，化学性质要稳定

对于形成不同配位比的配位反应，必须注意控制试验条件，使生成一定组成的配合物，以免引起误差。

有色化合物与显色剂之间的颜色差别要大

在这种情况下，显色时的颜色变化明显，而且试剂空白一般较小。一般要求有色化合物的最大吸收波长与显色剂最大吸收波长之差在 **60nm** 以上。

显色条件要易于控制

以保证有较好的再现性。

3.2 显色剂

无机显色剂

显色剂	测定元素	酸度/ (mol/L)	络合物组成及颜色	测定波长/nm
硫氰酸盐	铁	HCl: 0.1 ~ 0.2	$\text{Fe}(\text{SCN})_2^-$ 红色	480
	钼	H_2SO_4 : 1.5 ~ 2.0	$\text{MoO}(\text{SCN})_2^-$ 橙色	460
	钨	H_2SO_4 : 1.5 ~ 2.0	$\text{W}(\text{SCN})_4^-$ 黄色	405
	铌	HCl: 3 ~ 4	$\text{NbO}(\text{SCN})_4^-$ 黄色	420
钼酸铵	硅	H_2SO_4 : 0.15 ~ 0.30	$\text{H}_4\text{SiO}_4 \cdot 10\text{MoO}_3 \cdot \text{Mo}_2\text{O}_3$ 蓝	670 ~ 820
	磷	H_2SO_4 : 0.5	$\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 10\text{MoO}_4 \cdot \text{Mo}_2\text{O}_3$ 蓝	670 ~ 820
过氧化氢	钛	H_2SO_4 : 1 ~ 2	$\text{TiO}(\text{H}_2\text{O}_2)^{+2}$ 黄色	420

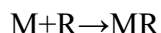
有机显色剂

大多数有机显色剂可与金属离子生成极其稳定的螯合物，而且具有特征颜色。其选择性和灵敏性都很高，许多生成的有色螯合物易溶于有机溶液，可先萃取，然后进行光度测定，从而进一步提高灵敏度和选择性。前面所介绍的多是一种金属离子（中心离子）与一种配位体配位的显色反应，这种反应生成的配合物是二元配合物。近年来以形成三元配合物为基础的分光光度法已被广泛应用。原因是利用三元配合物往往能够改善分析特性，提高分析灵敏度。

3.3 显色条件的选择

(1) 显色剂用量

设 M 为被测物质，R 为显色剂，MR 为反应生成的有色配合物，则此显色反应可以用下式表示：



从反应平衡角度上看，加入过量的显色剂显然有利于 MR 的生成，但过量太多也会带来副作用，例如增加了试剂空白或改变了配合物的组成等。因此显色剂一般应适当过量。在实际工作中显色剂用量具体是多少需要经实验来确定，即通过作 A-cR 曲线，来获得显色剂的适宜用量。其方法是：固定被测组分浓度和其他条件，然后加入不同量的显色剂，分别测定吸光度 A 值，绘制吸光度(A)一显色剂浓度(cR)曲线(一般可得如图 1-25 所示的三种曲线)。若得到的是图 1-25(a)的曲线，则表明显色剂浓度在 a~b 范围内吸光度出现稳定值，因此可以在 a~b 之间选择合适的显色剂用量。这类显色反应生成的配合物稳定，对显色剂浓度控制不太严格。若出现的是图 1-25 (b) 的曲线，则表明显色剂浓度在 a'~b'

这一段范围内吸光度值比较稳定，因此在显色时要严格控制显色剂用量。而图 1—25(c)曲线表明，随着显色剂浓度增大，吸光度不断增大，这种情况下必须十分严格控制显色剂加入量或者另换合适的显色剂。

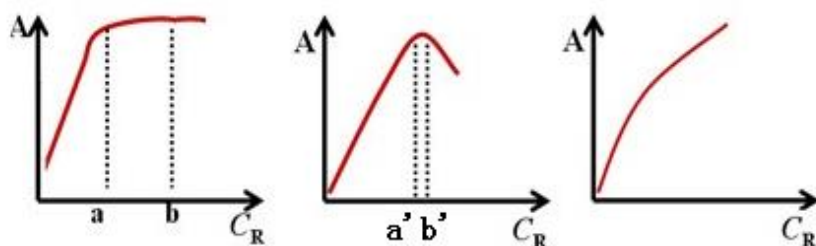


图 1-25 吸光度与显色剂浓度的关系曲线

(2) 溶液酸度

1、当酸度不同时，同种金属离子与同种显色剂反应，可以生成不同配位数的不同颜色的配合物。例如 Fe^{3+} 可与水杨酸在不同 pH 条件下，生成配位比不同的配合物。

pH < 4 $[\text{Fe}(\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3)]^+$ 紫红色(1: 1)

pH \approx 4~7 $[\text{Fe}(\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3)_2]^-$ 橙红色(1: 2)

pH \approx 8~10 $[\text{Fe}(\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3)_3]^{3-}$ 黄色(1: 3)

可见只有控制溶液的 pH 在一定范围内，才能获得组成恒定的有色配合物，得到正确测定结果。

2、溶液酸度过高会降低配合物的稳定性，特别是对弱酸型有机显色剂和金属离子形成的配合物的影响较大。当溶液酸度增大时显色剂的有效浓度要减少，显色能力被减弱。有色物的稳定性也随之降低。因此显色时，必须将酸度控制在某一适当范围内。

3、溶液酸度变化，显色剂的颜色可能发生变化。其原因是：多数有机显色剂往往是一种酸碱指示剂，它本身所呈的颜色是随 pH 变化而变化。例如 PAR(吡啶偶氮间苯二酚)是一种二元酸(表示为 H_2R)它所呈的颜色与 pH 的关系如下：

pH 2.1~4.2 黄色(H_2R)

pH 4~7 橙色(HR^-)

pH > 10 红色(R^{2-})

PAR 可作多种离子的显色剂，生成的配合物的颜色都是红色，因而这种显色剂不能在碱性溶液中使用。否则，因显色剂本身的颜色与有色配合物颜色相同或相近(对比度小)，将无法进行分析。

4、溶液酸度过低可能引起被测金属离子水解，因而破坏了有色配合物，使溶液颜色发生变化，甚至无法测定。

综上所述，酸度对显色反应的影响是很大的，而且是多方面的。显色反应适宜的酸度必须通过实验来确定。确定方法是：固定待测组分及显色剂浓度，改变溶液 pH，制得数个显色液。在相同测定条件下分别测定其相应的吸光度，作出 A—pH 关系曲线，如图 所示。选择曲线平坦部分对应的 pH 作为应该控制的 pH 范围。

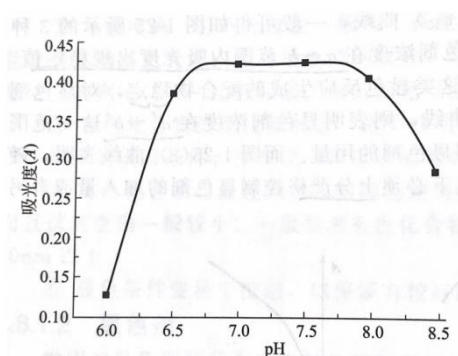


图 1-26 吸光度值与 pH 值关系曲线

(3) 显色温度

不同的显色反应对温度的要求不同。大多数显色反应是在常温下进行的，但有些反应必须在较高温度下才能进行或进行得比较快。例如 Fe^{2+} 和邻二氮菲的显色反应常温下就可完成。而乙酰丙酮法测定甲醛时，甲醛与乙酰丙酮需在 600°C 水浴加热显色反应较快，只需 15min，而在常温下则需 1h。也有的有色物质加热

时容易分解，例如 $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ ，加热时褪色很快。因此对不同的反应，应通过实验找出各自适宜的显色温度范围（见图 1-26）。由于温度对光的吸收及颜色的深浅都有影响，因此在绘制工作曲线和进行样品测定时应该使溶液温度保持一致。

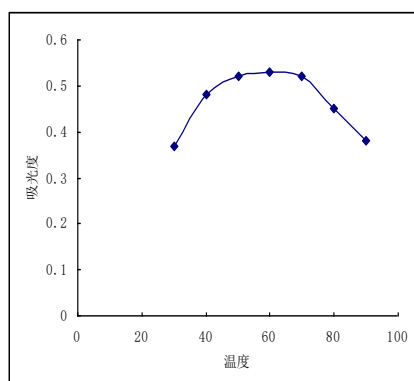


图 1-26 吸光度值与显色温度关系曲线

(4) 显色时间

在显色反应中应该从两个方面来考虑时间的影响。一是显色反应完成所需要的时间，称为“显色(或发色)时间”；二是显色后有色物质色泽保持稳定的时间，称为“稳定时间”。确定适宜时间的方法：配制一份显色溶液，从加入显色剂开始，每隔一定时间测吸光度一次，绘制吸光度—时间关系曲线。曲线平坦部分对应的时间就是测定吸光度的最适宜时间。

(5) 溶剂选择

有机溶剂常常可以降低有色物质的离解度，增加有色物质的溶解，从而提高了测定的灵敏度，例如 $[\text{Fe}(\text{CNS})]^{2+}$ 在水中的 K 稳为 200。而在 90% 乙醇中 K 稳为 5×10^4 ，可见 $[\text{Fe}(\text{CNS})]^{2+}$ 的稳定性大大提高，颜色也明显加深。因此，利用有色化合物在有机溶剂中稳定性好、溶解度大的特点，可以选择合适的有机溶剂，采用萃取光度法来提高方法灵敏度和选择性。

3.4 显色反应中的干扰及消除

1、干扰离子的影响

共存离子本身具有颜色。如 Fe^{3+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cr^{3+} 等的存在影响被测离子的测定。

共存离子与显色剂或被测组分反应，生成更稳定的配合物或发生氧化还原反应，使显色剂或被测组分的浓度降低，妨碍显色反应的完成，导致测量结果偏低。

共存离子与显色剂反应生成有色化合物或沉淀，导致测量结果偏高。若共存离子与显色剂反应后生成无色化合物，但由于消耗了大量的显色剂，致使显色剂与被测离子的显色反应不完全。

2、干扰的消除方法

控制溶液的酸度。这是消除共存离子干扰的一种简便而重要的方法。控制酸度使待测离子显色，而干扰离子不生成有色化合物。例如：以磺基水杨酸测定 Fe^{3+} 时，若 Cu^{2+} 共存，此时 Cu^{2+} 也能与磺基水杨酸形成黄色配合物而干扰测定。若溶液酸度控制在 $\text{pH}=2.5$ ，此时铁能与磺基水杨酸形成稳定的配合物，而铜就不能，这样就可以消除 Cu^{2+} 的干扰。

加入掩蔽剂，掩蔽干扰离子。采用掩蔽剂来消除干扰的方法是一种有效而且常用方法：该方法要求加入的掩蔽剂不与被测离子反应，掩蔽剂和掩蔽产物的颜色必须不干扰测定。（见表 1-6）

改变干扰离子的价态以消除干扰。利用氧化还原反应改变干扰离子价态，使干扰离子与显色剂反应，以达到目的。例如：用铬天青 S 显色 Al^{3+} 时，若加入抗坏血酸或盐酸应用便可以使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ，从而消除了干扰。

选择适当的入射光波长消除干扰。例如用 4-氨基安替吡啉显色测定废水中酚时，氧化剂铁氰化钾和显色剂都呈黄色，干扰测定，但若选择用 520nm 单色光为入射光，则可以消除干扰，获得满意结果。因为黄色溶液在 420nm 左右有强吸收，但 500nm 后则无吸收。

选择合适的参比溶液可以消除显色剂和某些有色共存离子干扰。

分离干扰离子。当没有适当掩蔽剂或无合适方法消除干扰时，应采用适当的分离方法，如：电解法、沉淀法、溶剂萃取及离子交换法等，将被测组分与干扰离子分离，然后再进行测定。其中萃取分离法使用较多，可以直接在有机相中显色。

可以利用双波长法、导数光谱法等新技术来消除干扰。

表 1-6 可见分光光度法部分常用的掩蔽剂

掩蔽剂	pH	被掩蔽的离子
KCN	>8	Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ag^+ 、 Ti^{4+} 及铂族元素
	6	Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+}
NH_4F	4~5	Al^{3+} 、 Ti^{4+} 、 Sn^{4+} 、 Zr^{4+} 、 Nb^{5+} 、 Ta^{5+} 、 W^{6+} 、 Be^{2+} 等
酒石酸	5.5	Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Sn^{4+} 、 Sb^{3+} 、 Ca^{2+}
	5~6	UO_2^{2+}
	6~7.5	Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 、 Mo^{6+} 、 Nb^{6+} 、 Sb^{3+} 、 W^{6+} 、 UO_2^{2+}
	10	As^{3+} 、 Sn^{4+}
草酸	2	Sn^{2+} 、 Cu^{2+} 及稀土元素
	5.5	Zr^{4+} 、 Th^{4+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+}
柠檬酸	5~6	UO_2^{2+} 、 Th^{4+} 、 Sn^{2+} 、 Zr^{4+} 、 Sb^{3+} 、 Ti^{4+}
	7	Nb^{5+} 、 Ti^{4+} 、 Mo^{6+} 、 W^{6+} 、 Be^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cr^{3+}
维生素 C	1~2	Fe^{2+}
	2.5	Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Fe^{3+}
	5~6	Cu^{2+} 、 Hg^{2+}

3.3 测量条件的选择

1、入射波长的选择

当用分光光度计测定被测溶液的吸光度时，首先需要选择合适的入射光波长。选择入射光波长的依据是该被测物质的吸收曲线。在一般情况下，应选用最大吸收波长作为入射光波长。在 λ_{max} 附近波长的稍许偏移引起的吸光度的变化较小，可得到较好的测量精度，而且以 λ_{max} 为入射光测定灵敏度高。但是，如果最大吸收峰附近有：干扰存在(如共存离子或所使用试剂有吸收)，则在保证有一定灵敏度情况下，可以选择吸收曲线中其他波长进行测定(应选曲线较平坦处对应的波长)，以消除干扰。

2、参比溶液的选择

在分光光度分析中测定吸光度时，由于入射光的反射，以及溶剂、试剂等对光的吸收会造成透射光通量的减弱。为了使光通量的减弱仅与溶液中待测物质的浓度有关，需要选择合适组分的溶液作参比溶液，先以它来调节透射比 100% ($A=0$)，然后再测定待测溶液的吸光度。这实际上是以通过参比池的光作为入射光来测定试液的吸光度。这样就可以消除显色溶液中其他有色物质的干扰，抵消吸收池和试剂对入射光的吸收，比较真实地反映了待测物质对光的吸收，因而也就比较真实地反映了待测物质的浓度。

溶剂参比：当试样溶液的组成比较简单，共存的其他组分很少且对测定波长的光几乎没有吸收，仅有待测物质与显色剂的反应产物有吸收时，可采用溶剂作参比溶液，这样可以消除溶剂、吸收池等因素的影响。

试剂参比：如果显色剂或其他试剂在测定波长有吸收，此时应采用试剂参比溶液。即按显色反应相同条件，只不加入试样，同样加入试剂和溶剂作为参比溶液。这种参比溶液可消除试剂中的组分产生的影响。

试液参比：如果试样中其他共存组分有吸收，但不与显色剂反应，则当显色剂在测定波长无吸收时，可用试样溶液作参比溶液，即将试液与显色溶液作相同处理，只是不加显色剂。这种参比溶液可以消除有色离子的影响。

褪色参比：如果显色剂及样品基体有吸收，这时可以在显色液中加入某种褪色剂。选择性地与被测离子配位(或改变其价态)，生成稳定无色的配合物，使已显色的产物褪色，用此溶液作参比溶液，称为褪色参比溶液。例如用铬天青 S 与 Al^{3+} 反应显色后，可以加入 NH_4F 夺取 Al^{3+} ，形成无色的 $[AlF_6]^{3-}$ 。将此褪色后的溶液作参比可以消除显色剂的颜色及样品中微量共存离子的干扰。褪色参比是一种比较理想的参比溶液，但遗憾的是并非任

何显色溶液都能找到适当的褪色方法。

总之，选择参比溶液时，应尽可能全部抵消各种共存有色物质的干扰，使试液的吸光度真正反映待测物的浓度。

3、吸光度测量范围的选择

任何类型的分光光度计都有一定的测量误差，但对一个给定的分光光度计来说，透射比读数误差 ΔT 都是一个常数(其值大约在 $\pm 0.2\% \sim 2\%$)。但透射比读数误差不能代表测定结果误差，测定结果误差常用浓度的相对误差 $\Delta c / c$ 表示。由于透射比 T 与浓度之间为负对数关系，故同样透射比读数误差 ΔT 在不同透射比处所造成的 $\Delta c / c$ 是不同的。

根据吸收定律：

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

则要使测定浓度的相对误差最小，应满足条件

$$d\left(\lg \frac{I}{I_0}\right) = -0.4343 \frac{d\left(\frac{I}{I_0}\right)}{\frac{I}{I_0}} = -\epsilon bdc$$

$$d \frac{\left[\frac{0.4343 \Delta \left(\frac{I}{I_0} \right)}{\frac{I}{I_0} \lg \frac{I}{I_0}} \right]}{\alpha \left(\frac{I}{I_0} \right)} = \frac{-0.4343 \Delta \left(\frac{I}{I_0} \right) \left(0.4343 + \lg \frac{I}{I_0} \right)}{\left(\frac{I}{I_0} \lg \frac{I}{I_0} \right)^2} = 0$$

即吸光度 $A=0.4343$ 时，吸光度测量误差最小。将吸光度值控制在 $0.2 \sim 0.8$ 之间，光度测量误差较小。

一般选择最大吸收波长以获得高的灵敏度及测定精度。但所选择的测定波长下其他组分不应有吸收，否则需选择其他吸收峰。

单组分定量分析要注意溶剂、测定浓度和测定波长等分析条件的选择。

所选择的溶剂应易于溶解样品并不与样品作用，且在测定波长区间内吸收小，不易挥发。表 1-7 为某些常见溶剂可用于测定的最短波长。

表 1-7 常见溶剂可用于测定的最短波长

可用于测定的最短波长/nm	常见溶剂
200	蒸馏水、乙腈、环己烷
220	甲醇、乙醇、异丙醇、醚
250	二氧六环、氯仿、醋酸
270	DMF、乙酸乙酯、 $\text{CCl}_4(275)$
290	苯、甲苯、二甲苯
335	丙酮、甲乙酮、吡啶、 $\text{CS}_2(380)$

四、应用实例

实例 1 目视比色法测定水中的铬

铬在水中常以铬酸盐(六价铬)形式存在，在酸性溶液中，六价铬与二苯碳酰二肼反应生成紫红色配合物，可以借此进行目视比色，测定微量(或痕量)Cr(VI)的含量。

仪器

50mL 比色管一套、比色管架、250mL 容量瓶一个，5mL 移液管一支，5mL 吸量管 2 支。

试剂

铬[Cr(VI)]标准贮备液($\rho=50.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 称取 0.1415g 已在 $105 \sim 110^\circ\text{C}$ 干燥过的分析纯 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶于蒸馏水中，定量转移至 1000mL 容量瓶中，用蒸馏水稀至标线，摇匀。

铬[Cr(VI)]标准操作液($\rho=1.00\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)移取 5.00mL 铬标准贮备液于 250mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度。

二苯碳酰二肼 称取 0.1g 二苯碳酰二肼于 50mL 的乙醇($\phi=95\%$)中，搅拌使其全部溶解(约 5min); 另取 20mL 浓 H_2SO_4 稀释至 200mL，待其冷却至室温后，边搅拌边将二苯碳酰二肼的乙醇溶液加入其中(此溶液应为无色溶液，如溶液有色，不宜使用)，贮于棕色瓶，存放在冰箱中，一月内有效。

实验步骤

1、准备工作选择一套 50mL 比色管，洗净后置比色管架上。

注意：比色管的几何尺寸和材料（玻璃颜色）要相同，否则将影响比色结果。洗涤时，不能使用重铬酸钾洗液洗涤，若必须使用，为防止器壁对铬离子的吸附，应依次使用 $H_2SO_4-HNO_3$ 混合酸、自来水、蒸馏水洗涤为宜。

2、配制铬系列标准溶液

依次移取铬[Cr(VI)]标准操作液($\rho=1.00\mu g \cdot L^{-1}$)0.00、0.50mL、1.00mL、2.00mL、3.00mL、4.00mL 于 50mL 比色管中，加 40mL 水，摇匀。分别加入 2.50mL 二苯碳酰二肼溶液后，再用蒸馏水稀至标线，混匀，放置 10min。

3、样品测试

移取水试样若干毫升(以试样显色后的色泽介于标准系列中为宜)于另一支干净比色管。按上步骤的方法显色，再用蒸馏水稀释至标线，混匀，放置 10min 后，与标准色阶比较颜色的深浅。

注意：比色时应尽量在阳光充足而又不直接照射的条件下进行。若夜间或光线不足时，尽量采用日光灯。

记录观察结果。

数据处理

根据观察结果和试样体积确定废水中 Cr(VI)含量(以 $\mu g \cdot L^{-1}$ 表示)。

注意事项

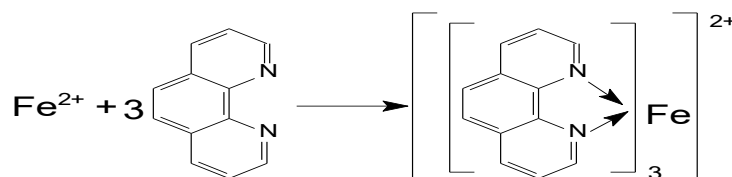
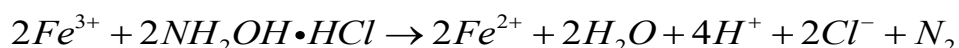
1、为了提高测定准确度，在与样品颜色相近的标准溶液的浓度变化间隔要小些。

2、不能在有色灯光下观察溶液的颜色，否则会产生误差。

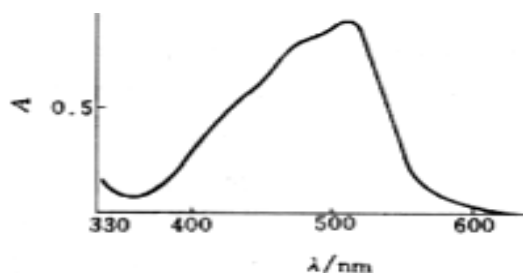
3、观察溶液颜色应自上而下垂直观察。

实验 2 吸收曲线绘制及微量铁含量测定

邻二氮菲(phen)与 Fe^{2+} 在 pH 3~9 的溶液中，生成一种稳定的橙红色配合物 $[Fe(phen)_3]^{2+}$ ，其 $\lg K=21.3$ ，配合物的摩尔吸光系数 $\epsilon=1.1 \times 10^4 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ，铁含量在 0.1~6 $\mu g/mL$ 范围内遵守比尔定律。其吸收曲线如图 1-27 所示，显色前需用盐酸羟胺或抗坏血酸 Fe^{3+} 全部还原为 Fe^{2+} ，然后再加入邻二氮菲，并调节溶液酸度至适宜的显色酸度范围。有关反应如下：



用分光光度法测定物质的含量，一般采用标准曲线法，即配制一系列浓度的标准溶液，在实验条件下依次测量各标准溶液的吸光度(A)，以溶液的浓度为横坐标，相应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，在同样实验条件下，测定待测溶液的吸光度，根据测得吸光底值从标准曲线直查得相应的浓度值，即可计算试样中被测物质的质量浓度。



仪器和试剂

仪器：721 或 722 型分光光度计

试剂：

0.1mg/L 铁标准储备液 准确称取 0.7020g $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 置于烧杯中，加少量水和 20mL 1:1 H_2SO_4 溶液，溶解后，定量转入 1 L 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

10-3mol/L 铁标准溶液：可用铁储备液配制。

100g/L 盐酸羟胺水溶液：用时现配。

1.5g/L 邻二氮菲水溶液：避光保存，溶液颜色变暗时即不能使用。

1.0mol/L 乙酸钠溶液。

0.1mol/L 氢氧化钠溶液。

实验步骤

显色标准溶液的配制

准确吸取 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.0mL 铁标准溶液(含铁 0.1g/L)于 50mL 容量瓶中，分别加入 1mL 100g/L 盐酸羟胺溶液，摇匀后放置 2min，再各加入 2mL 1.5g/L 邻二氮菲溶液、5mL 1.0mol/L 乙酸钠溶液，以水稀释至刻度，摇匀。

的绘制

以试剂空白液为参比，用 1cm 比色皿，选定波长 λ_{max} 处，测定由低浓度至高浓度测定系列标准溶液的吸光度，以铁的浓度为横坐标，相应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线。

铁含量的测定

于 λ_{max} 处，用 1cm 比色皿，以试剂空白为参比溶液，测定未知试样的吸光度，再利用标准曲线求得试样中铁的含量。

数据处理

吸收曲线的绘制

分光光度计型号： 吸收池厚度：

波长 /nm	440	460	480	500	505	510	515	520	540	560
吸光度值 (A)										

将所获数据以波长为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制吸收曲线。选择吸收曲线的峰值波长为铁的分析波长。

邻菲罗啉亚铁配合物的最大吸收波长 $\lambda_{\text{max}} = \underline{\hspace{2cm}}$ nm

授课日期

第六周

教案编号 09

课程名称	仪器分析		专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》			
授课题目	第二章 原子吸收分光光度法 第一节 概述&第二节仪器的基本组成			
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)			
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()			
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能够看懂光谱图, 再次了解光的波粒二象性, 尤其是粒子性具有能量 二、知识目标 1. 掌握原子吸收产生的原理; 2. 了解原子吸收仪器的结构组成 3. 掌握空心阴极的的工作原理			
教学重点	对原子吸收光谱的认识 空心阴极灯的工作原理			
教学难点	原子的共振线 空心阴极灯的工作原理			
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()			
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()			
教学过程 时间安排	1. 复习光谱图及对应的跃迁		10'	
	2. 原子吸收的定义		10'	
	3. 原子吸收的发展以及发展趋势		10'	
	4. 原子吸收的分析对象及应用领域		15'	
	5. 原子光谱与分析光谱的对比和应用		10'	
	6. 原子吸收分光光度计的基本结构		5'	
	7. 原吸所用的光源		5'	
	8. 原吸的空心阴极灯及其工作原理		20'	
	9. 总结布置作业		5'	
思考题	空心阴极灯的作用是什么			
作 业	复习下一节内容			
教学后记	原子吸收与紫外同属于分光光度内容, 前后连贯便于教学。此内容设计很多微观领域学生需要发挥想象力。			

第一节 概述

一、方法定义

原子吸收分光光度法 (Atomic Absorption Spectrophotometry), 通常又称原子吸收光谱法 (Atomic Absorption Spectroscopy), 简称原子吸收 (AAS)。该方法的应用对象为金属元素和部分非金属元素, 是原子对特征光吸收的一种相对测量方法。基本原理为特殊光源发出具有待测元素特征谱线的光, 在通过目标样品的原子化蒸气时, 被蒸气中待测元素的基态原子所吸收, 特征辐射光会产生一定程度的减弱, 其减弱规律遵循朗伯—比耳定律, 即检测系统检测到吸光度大小与原子化器中待测元素的原子浓度成正比关系, 从而求得待测元素的含量。

二、发展历程

原子光谱作为一种实用性方法是从 20 世纪 50 年代开始的, 1953 年锐线光源的发明开启了原子吸收光谱法应用的大门。1955 年澳大利亚的 A.Walsh 以及荷兰的 C.T.J.Akemade 和 J.M.W.Milatz 奠定了方法基础并开发了最早的火焰原子吸收光谱法, 1959 年前苏联学者 Б.В.Львов 发展了石墨炉电热原子化法, A.Walsh 和 Б.В.Львов 也因在原子吸收光谱分析技术的杰出贡献获得了第一届和第二届国际光谱学大会 CSI 奖。1961 年, 美国 Perkin-Elmer 公司推出了世界上首台原子吸收光谱商品仪器, 1968 年 Massmann 提出了便于推广的纵向加热石墨炉法, 1970 年 PE 公司推出了世界首台 HGA-70 型电热石墨炉原子吸收光谱仪, 同年, 中国第一台单光束火焰原子吸收分光光度计在北京科学仪器厂问世。随着连续光源、中阶梯光栅、二极管阵列多元素检测器和全面 PC 控制原子吸收光谱仪的产生, 原子吸收光谱法的应用越来越广泛, 并且逐渐向联用技术发展, 使原子吸收分光光度法成为测定痕量和超痕量元素的最有效方法之一, 在世界范围内获得了十分广泛的应用。

三、最新技术及发展趋势

最新技术: 光学系统最新技术、原子化最新技术、检测系统最新技术、连续光源火焰原子吸收技术

发展趋势: 开发光谱宽度更窄、能量更宽、可协调的稳定光源; 新的原子化方式; 联用技术; 自动化技术

四、分析对象及应用领域

分析对象: 大部分金属元素; 少量非金属元素; 过渡态元素

应用领域: 农药和食品领域; 石油化工和轻工领域; 生物医药和保健品领域; 环境领域; 地质、冶金及材料领域

五、原子光谱与分子光谱

原子光谱 (线性光谱): 最常见的三种

基于原子外层电子跃迁的原子吸收光谱 (AAS);

原子发射光谱 (AES)、原子荧光光谱 (AFS);

基于原子内层电子跃迁的 X 射线荧光光谱 (XFS);

基于原子核与射线作用的穆斯堡谱;

分子光谱 (带状光谱):

基于分子中电子能级、振-转能级跃迁;

紫外光谱法 (UV);

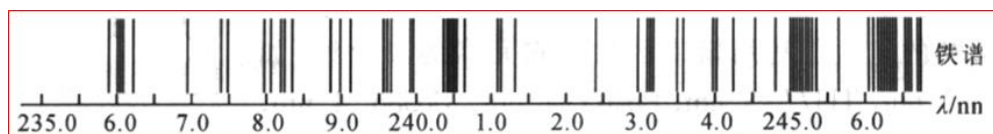
红外光谱法 (IR);

分子荧光光谱法 (MFS);

分子磷光光谱法 (MPS);

核磁共振与顺磁共振波谱 (N)

六、原子光谱



1. 光谱项符号

原子外层有一个电子时，其能级可由四个量子数决定：

主量子数 n ；角量子数 l ；磁量子数 m ；自旋量子数 s ；

原子外层有多个电子时，其运动状态用总角量子数 L ；总自旋量子数 S ；内量子数 J 描述；

2. 能级图

元素的光谱线系常用能级图来表示。最上面的是光谱项符号；最下面的横线表示基态；上面的表示激发态；

可以产生的跃迁用线连接；

线系：由各种高能级跃迁到同一低能级时发射的一系列光谱线；

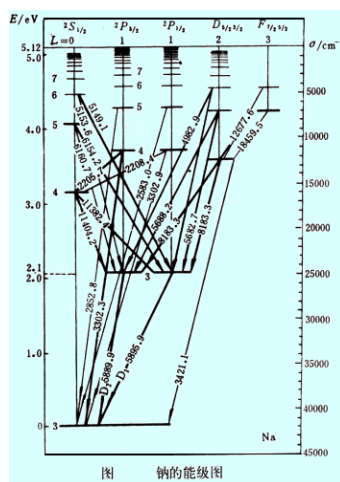


图 钠的能级图

3. 共振线

元素由基态到第一激发态的跃迁最易发生，需要的能量最低，产生的谱线也最强，该谱线称为**共振线**，也称为该元素的特征谱线；

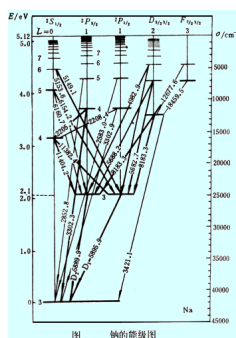


图 钠的能级图

第二节 仪器基本组成及作用

一、仪器组成

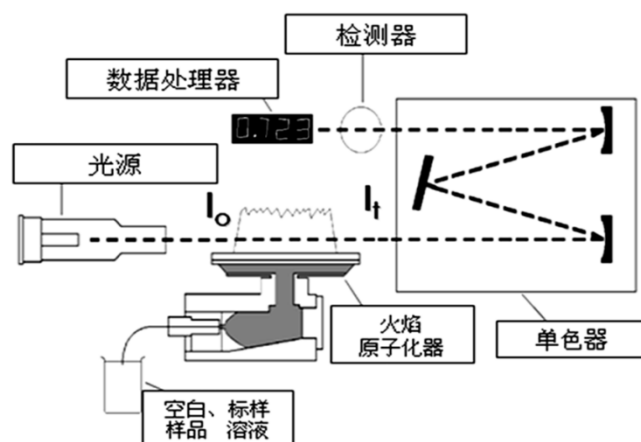


图 2-1 原子吸收分光光度计基本构造示意

1.1 光源

光源的作用是发射被测元素的特征共振辐射。它是原子吸收分光光度计极为重要的组成部分，它的性能指标直接影响分析方法的检出限、精密度及稳定性等。原子吸收法对光源的基本要求是发射的共振辐射的半宽度要明显小于吸收线的半宽度，光源的辐射强度要大，辐射光强要稳定，使用寿命要长等。原子吸收分光光度计采用的光源有空心阴极灯、蒸汽放电灯、无机放电灯、火焰光源和可协调连续光源。空心阴极灯是符合上述要求的理想光源，逐渐替代了其他的光源种类，成为目前应用最广的光源。

空心阴极灯（Hollow Cathode Lamps，简称 HCL）是一个内部充有低压惰性气体（氩气、氖气等）的玻璃管密封的放电管，内部压力一般为 $1/50$ 个大气压。氖气一般比氩气灵敏，当氖气产生干扰线时，采用氩气。其内部构件主要是一个阳极和一个空心阴极。阳极为钨棒或镍棒，上面装有钛丝或钼片作为吸气剂。阴极为空心圆柱形，由待测元素的高纯金属或合金直接制成，以贵重金属的箔衬在阴极内壁。空心阴极灯的圆柱形外壁一般为玻璃制品，灯的光窗材料则根据所发射的共振线波长而定，在可见波段可采用硬质硅硼玻璃，在紫外波段则必须采用石英玻璃以降低光损失。

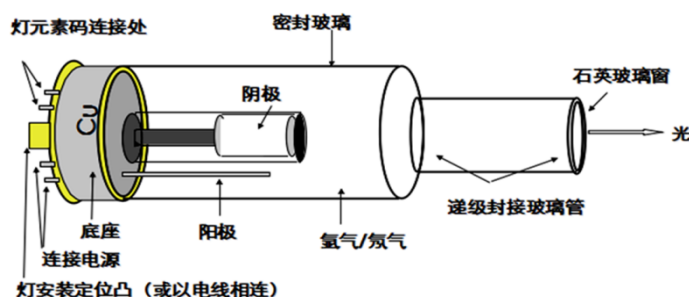


图 2-2 空心阴极灯构造图（Cu 元素灯）

注意：空心阴极灯使用前需预热一段时间，以使灯的发光强度达到稳定状态。预热时间一般在 $20\sim 30\text{min}$ ；使用时轻拿轻放，点亮后盖好灯室，避免测量过程中环境变化带来的不利影响；长期不用时，需要定期将其在工作电流下点燃 3h 处理，检查辉光正常与否。辉光颜色因灯内所充气体不同而有异，充氖气的灯为

橙红色,充氩气的灯为淡紫色,汞灯为蓝色,如颜色有异则说明灯内有杂质气体,需要进行处理。

空心阴极灯的工作原理

空心阴极灯通电后,由于外界电离源的作用,空心阴极灯中总是存在极少量的带电粒子。当极间加上 150-750V 电压后,管内气体中存在着的、极少量阳离子向阴极运动,并轰击阴极表面,使阴极表面的电子获得外加能量而逸出。逸出的电子在电场作用下,向阳极作加速运动,在运动过程中与充气原子发生非弹性碰撞,产生能量交换,使惰性气体原子电离产生二次电子和正离子。在电场作用下,这些质量较重、速度较快的正离子向阴极运动并轰击阴极表面,不但使阴极表面的电子被击出,产生阴极的“溅射”现象。“溅射”出来的阴极元素的原子,再与电子、惰性气体原子、离子等相互碰撞,获得能量被激发,当这些激发态的原子返回基态是,便发射出阴极物质的特征线状光谱。这些特征线状光谱是阴极物质元素的共振线,因而也是目标元素的吸收线。

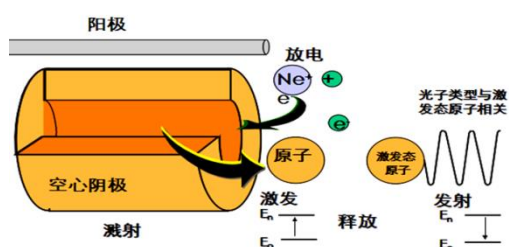


图 2-3 空心阴极灯的工作原理

授课日期

第七周

教案编号

07

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第二章 原子吸收分光光度法 第二节 仪器基本组成及应用		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (4 节 <input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 () ; 见习 () ; 实训 () ; 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1.能够认识原子化系统的种类 2.对不同的检测物能够选择相适应的火焰 二、知识目标 1.掌握原子化系统的工作原理和作用 3.掌握火焰原子化系统的工作顺序及结构组成 4.了解电热原子化器的结构组成和工作原理 5.认识其他原子化器 6.掌握其他仪器部分作用和工作原理		
教学重点	原子化器的作用, 火焰原子化器的工作原理和火焰选择		
教学难点	火焰原子化器的工作原理		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint () ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 () ; 标本 () ; 实物 () ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1. 复习原子吸收分光光度计结构 2.原子化系统的工作原理和作用 3.火焰原子化系统的结构和原理 4.电热原子化器的结构组成 5.其他原子化器 6.仪器其他部分作用和工作原理 7 总结		10' 15' 45' 15' 25' 60' 10'
思 考 题	火焰原子化器的作用是什么		
作 业	复习下一节内容		
教学后记	原子吸收与紫外同属于分光光度内容, 前后连贯便于教学。此内容设计很多微观领域学生需要发挥想象力。		

第二节 仪器基本组成及应用

二、原子化系统

试样中待测元素吸收能量变成气态的基态原子蒸气的过程称为试样的“**原子化**”过程。原子化系统的功能就是提供能量，使试样**干燥、蒸发和原子化**，期间所用的设备又叫做原子化器。此外，入射光在这里被基态原子吸收，因此原子化系统还兼具了**吸收池**的功能。按原子化能量方式的不同，原子化方法分为**火焰原子化法**和**非火焰原子化法**两种。火焰原子化法利用火焰的热能将试样转化为气态原子蒸气，而非火焰原子化法利用电加热或者化学还原等方法来实现试样的原子化过程。电加热原子化过程常采用石墨管加热的方法，因此常称之为石墨炉原子吸收法，低温原子化法主要有汞低温（冷）原子化法和氢化法。

原子化系统质量基本要求：

- 1、具有足够高的原子化效率
- 2、具有良好的稳定性和重现性
- 3、操作简单
- 4、干扰因素尽量少

2.1 火焰原子化器

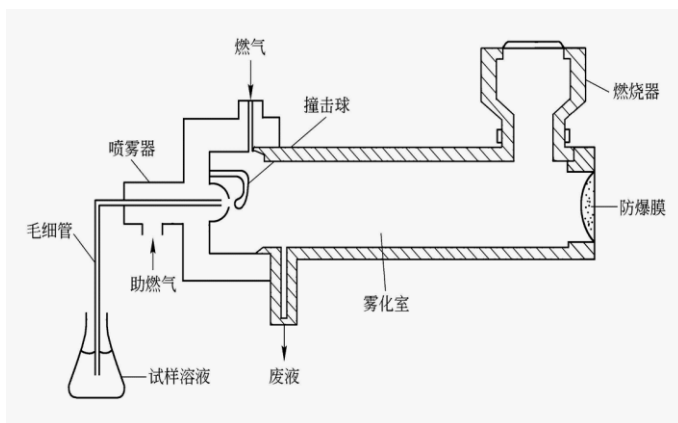


图 2-4 预混合型火焰原子化器结构示意图

2.1.1 雾化器

雾化器雾化器的作用是将试样转化成微小的雾滴。原子吸收法中应用最广的是气动同心型喷雾器，它所采用的是一种气压式、将试样转化成气溶胶的装置。

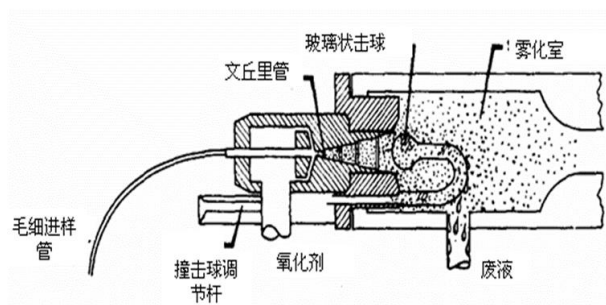


图 2-5 雾化器剖面图

当气体从喷雾器喷嘴高速喷出时，在进入文丘里管的喷嘴附近产生负压，使样品溶液被抽吸，经由吸液毛细管流出，并被高速的气流破碎成为小液滴。小液滴在高速前进的过程中冲击到撞击球上，从而破碎成直径更小的气溶胶。气溶胶的直径在微米数量级。直径越小，越容易蒸发，在火焰中就能产生更多的基态自由原子。雾化器的性能对分析结果有着重要影响，其需要达到的基本要求有：喷雾量可调，喷雾稳定，气溶胶粒度细微均匀（一般直径在 $5\sim 10\mu\text{m}$ ），雾化效率高。

调节毛细管的位置可改变负压强度而调节试样的吸入速度，调节撞击球的位置可影响雾化效果，两种操作都会影响测定的精密度和化学干扰的大小。

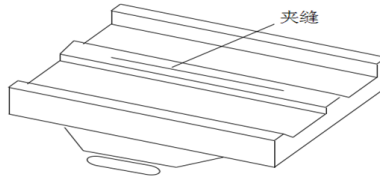
采用火焰原子法测定的均为液态样品，一般为强酸溶液，因此喷雾器多采用不锈钢、聚四氟乙烯或玻璃等抗腐蚀能力比较强的材料制成。

2.1.2 雾化室

雾化室又叫预混合室。其作用主要是去除大雾滴，进一步细化雾滴，并使燃气和助燃气充分混合均匀后再进入燃烧头，以便在燃烧时得到稳定的火焰。雾化室一般呈一定角度倾斜，以使大的雾滴从废液管顺利排走，防止其进入火焰，同时也防止前试样对本次测定的记忆效应。为防止回火危险，废液管常采用不同形式的水封方式。一般的喷雾装置的雾化效率为 **10%~20%**，雾化效率越高，试样的利用度越高。

2.1.3 燃烧器

燃烧器试液的气溶胶进入燃烧器，燃气在助燃气作用下形成火焰，试样在火焰中经过干燥、熔化、蒸发和离解等过程后，产生大量的基态自由原子及少量的激发态原子、离子和分子。燃烧器需要满足原子化程度高、火焰稳定、吸收光程长、噪声小等要求。燃烧器一般采用不锈钢制造，但全钛燃烧头的性能更加优良，器型以长缝居多（见图 4-7），缝长多在 50~100mm，缝宽约 0.5~0.7mm，具体需根据所用燃料确定。燃烧器有单缝和多缝之分，单缝燃烧器应用最广。



长缝型单缝燃烧器

燃烧器的高度可上下调节，以便选取适宜的火焰部位测量。为了改变吸收光程，扩大测量浓度范围，燃烧器可旋转一定角度。

2.1.4 气源设备

原子吸收法所用燃气多为高压钢瓶装载，当钢瓶内气体压力小于 0.5MP 就需重新充气。使用时需注意，乙炔气体的管道系统不可采用铜制品，因为铜会和乙炔产生易爆炸的乙炔铜，也不可在乙炔钢瓶中混入丙酮，否则会影响火焰稳定性。使用过程中需先开助燃气再开燃气并迅速点火，熄火时反顺序操作。所有燃气钢瓶附近不可有明火。高压钢瓶有规定的颜色和标准。

火焰的类型及特点

常用火焰类 A 型及特点

燃气	助燃气	燃烧速度 /cm.s ⁻¹	温度/℃	特点
C ₂ H ₂	空气	158~266	2100~2500	温度较高，最常用（稳定、噪声小、重现性好，可测定 30 多种元素）
C ₂ H ₂	O ₂	1100~2480	2500~3000	高温火焰，可作乙炔-空气火焰的补充，用于其它更难原子化的元素
C ₂ H ₂	N ₂ O	160~285	2600~3000	高温火焰，具强还原性（可使难分解的氧化物原子化），可用于多达 70 多种元素的测定。
H ₂	空气	300~440	1700~1900	较低温氧化性火焰，适于共振线位于短波区的元素（As、Se、Sn、Zn）
H ₂	O ₂	900~1400	1900~2500	高燃烧速度，高温，但不易控制
H ₂	N ₂ O	~390	~2800	高温，适于难分解氧化物的原子化
丙烷	空气	~82	~2000	低温，适于易解离的元素，如碱金属和碱土金属。

按火焰燃气和助燃气比例的不同，可将火焰分为三类：**化学计量火焰、富燃火焰和贫燃火焰**。

火焰类型	特点
化学计量火焰	燃气与助燃气之比与化学反应计量关系恰好相等或接近，又称其为中性火焰。此火焰温度高、稳定、干扰小、背景低，是比较常用的助燃比选择
富燃火焰	指燃气与助燃气之比大于化学计量关系的火焰。因为还原性气体（氢气、乙炔等）过量又称还原性火焰。火焰呈黄色，噪声大，温度稍低，火焰的还原性较强，适合于易形成难离解氧化物元素的测定，如Ca、Sr、Ba、Cr、Mo等
贫燃火焰	指燃气与助燃气之比大于小于化学计量关系的火焰，因氧化性助燃剂过量又称氧化性火焰。氧化性较强，火焰呈蓝色，温度较低，适于易离解、易电离元素的原子化（如碱金属、碱土金属）以及一些不宜生成氧化物的元素测定（如Ag、Cu、Fe、Co、Ni、Pb、Cd等）

2.2 电热原子化器

电热原子化技术是利用大电流把各种石墨管、石墨棒、金属丝、金属舟等加热到 2000~3000°C 的高温，使样品完全蒸发，被测元素转变成**基态原子蒸气**，产生共振吸收，由峰值法或积分法测量瞬时吸收信号和浓度之间的关系从而确定元素含量。这种方法所用的原子化器种类很多，例如电热高温管石墨炉原子化器、电热石墨炉丝、碳棒原子化器、钼舟（钼丝）原子化器、石墨杯原子化器等。在各种电热原子化器中，高温管式石墨炉是最有代表性也是应用最广泛的一种。

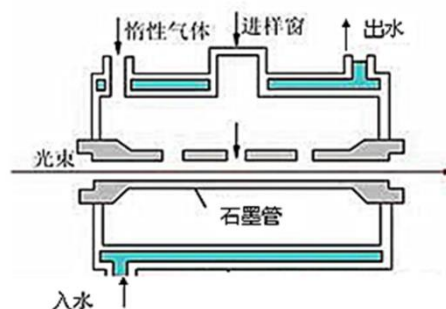
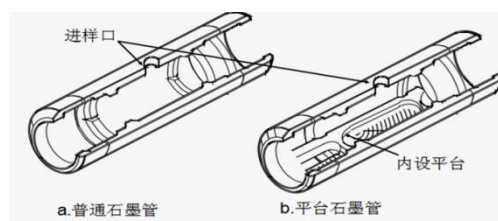


图 高温管式石墨炉原子化器结构

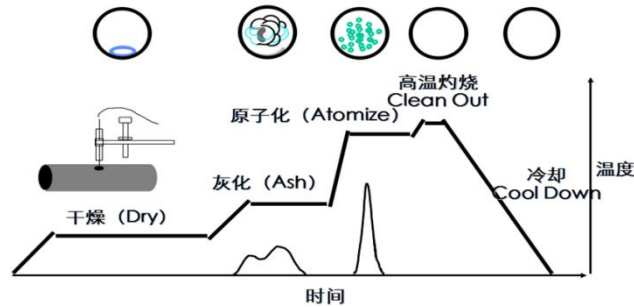
高温管式石墨原子化器的加热电源一般采用低压、大电流的交流电，为保证炉温恒定，要求提供的电流稳定。炉温可在 1~2s 内达 3000°C。炉体采用金属外壳，内设石墨管座、水冷却外套、石英窗和内外保护气路。试样的原子化在石墨管内进行。石墨管由致密石墨制成，长约 30-60mm，管上有 3 个小孔用于注入液体样品。目前广泛应用的标准型石墨管长约 28mm，内径 8mm，有的内部有样品平台，管中央开一孔，用于注入试样合适保护气体通过。石墨炉需要不断通入惰性气体，保护样品原子化后的基态原子不被氧化同时防止石墨管高温氧化，惰性载气还起到了清除反应物、清洗石墨管的作用，以方便下次进样测量。为了使石墨管在每次分析完样品后可以迅速降温，炉体内安装了冷却水套，内通冷却循环水来保证降温效果。



石墨管结构

2.2.1 电加热原子化过程

石墨炉原子化升温方式有斜坡升温、阶梯升温和最大功率升温，目前仪器配置的多为斜坡升温程序，采用阶段缓慢升温的方法。阶梯升温方式和斜坡升温类似，仅升温过程采用直跃式顺间升温，但这种方式常因升温过快导致溶液飞溅。最大功率升温是一种快速升温法，极短时间内用最大功率将石墨管升温至原子化温度，一般在分析样品之前或之后，为净化石墨管而采用。以管式石墨炉斜坡升温原子化法为例：样品以溶液状态直接进样，然后采用程序升温的方式使目标元素原子化，其过程包括干燥、灰化、原子化、净化四个阶段。



电热原子化升温过程

干燥阶段

从机载视频系统可清晰看到干燥阶段，样品溶液从水滴状态逐渐蒸发变成月牙状至消失。此过程的目的是较低温度下（一般 200°C 以下）除去试样中的水分和可挥发溶剂，避免因溶剂的存在引起灰化和原子化过程中溶液飞溅。干燥温度一般高于溶剂的沸点，干燥时间取决于试样溶剂类型和进样体积，一般需时 10-30s。

灰化阶段

试样的基体除溶剂外还有很多有机化合物和其他的干扰元素，灰化的目的是尽可能的去除试样中的基体而仅可能的保留目标元素。灰化温度的选择非常重要，过高则目标物会提前原子化被载气带走，导致测定结果偏低，过低则无法有效去除基体而使后面原子化测定过程受到严重干扰。适宜的灰化温度和时间取决于试样的基体复杂性和被测元素的性质，最高灰化温度以待测元素不挥发为限。一般灰化温度在 400-1000°C，内载气持续流通，将基体燃烧物带走，待测元素留在管中。灰化时间 10-30s，具体可以根据条件实验来确定。

原子化阶段

这个阶段最为重要，直接决定最后检测结果的准确性。在这个阶段，待测元素在瞬间高温下被蒸发解离为基态原子蒸气，吸收对应的特征辐射而产生较大的吸光度。之所以称瞬间是因为石墨管需要在 1~3s 内由灰化温度升至 2000-3000°C 的高温。此时为信号测定时间，内载气停止不动，样品原子云保持在石墨管中，最佳原子化温度和时间可以通过试验确定，以规定浓度样品吸光度信号最大为最佳。

净化阶段

在一个样品分析结束后，还需要用比原子化温度稍高的温度加热石墨管，使其中残留的物质充分蒸发，消除记忆效应，为下一次进样做好准备。如原子化的温度已经很高或者样品属于易挥发物质，也可采用原子化的温度，经 3-7s 即可达到消除记忆的效果。如除残效果不佳，还可以在分析样品前采用石墨管空烧的方式进行净化处理。

2.2.2 两种原子化特点的对比

原子化类型	优点	不足
火焰原子化	易操作，分析速度快；重现性好，RSD一般可控制在3%甚至1%以下；有效光程大，对大多数元素都有较高的灵敏度，应用非常广泛；仪器价格相对比较便宜	原子化效率低，一般在10-20%左右，样品的利用率很低；灵敏度相对石墨炉法不够高，对于低于ppm的样品分析准确度明显下降；仅能分析液态样品，不能分析固态样品，应用范围受限
石墨炉原子化	原子化效率高达90-100%，极大提高了方法灵敏度；绝对检出限可达 10^{-12} ~ 10^{-14} g，适用于痕量物质分析；可以直接以溶液、固体和悬浮液进样，用样量少，量以 μ L或mg计；温度最高可达3000 $^{\circ}$ C，升温速度快，允许在真空紫外区进行原子吸收光谱测定，可分析元素的范围广	管壁炉温存在时间和空间的不等温性会引起严重的基体干扰和记忆效应，需要校正背景；校正曲线的线性范围窄，一般小于两个数量级；测定的精密密度不如火焰原子化法，RSD一般可控制在为5%以下

2.3 其他原子化器

其他常用原子化器主要有汞低温（冷）原子化器和氢化物发生器。

汞在室温下有一定的蒸汽压，是唯一在常温下可以气化的金属元素，所以汞低温（冷）原子化器只适用于汞元素测定。常采用还原剂 SnCl₂ 将试液中的汞还原为汞蒸气，由载气（Ar 或 N₂）将汞蒸气送入吸收池测定。

氢化物发生器适用于 Ge、Sn、Pb、As、Sb、Bi、Se 和 Te 等可生成氢化物的元素的测定。在酸性条件下，将被测元素还原为极易挥发与分解的氢化物，如 AsH₃，SnH₄，BiH₃ 等。这些氢化物经载气送入被加热的石英管后，被分解成气态基态原子，测定其吸光度可以确定目标元素的含量。方法采用的还原剂多为硼氢化钠和硼氢化钾，试样的还原效率可达 100%，即被测元素可以完全转化为气体并被载气送入吸收管，所以样品的利用率非常高，方法灵敏度令人满意。

三、共振线和吸收线

任何元素的原子都是由原子核和绕核运动的电子组成，原子核外电子按其能量的高低分层分布而形成不同的能级，因此一个原子核可以具有多种能级状态。能量最低的能级状态称为基态（E₀=0），其余能级称为激发态能级，而能量最低的激发态则称为**第一激发态**。正常情况下，原子处于基态，这个状态的原子称为基态原子，核外电子在各自能量最低的轨道上运动状态最为稳定。当基态原子受到一定外界能量（如光能、热能等）激发时，如这个能量 E 恰好等于该基态原子中基态和某一较高能级之间的能级差 ΔE 时，该原子的外层电子将由基态跃迁到相应的激发态。故吸收能量不同，原子所处的激发态亦不同。如该能量以光的形式提供，基态原子吸收这一特征波长则产生原子吸收光谱。**核外电子从基态跃迁至第一激发态所吸收的谱线称为共振吸收线，简称共振线。**当核外电子从第一激发态跃迁回基态时所发射的同样频率的谱线称为第一共振发射线，也简称共振线。**因此共振线指的是满足基态和第一激发态之间能级能量要求的光能量谱线。**

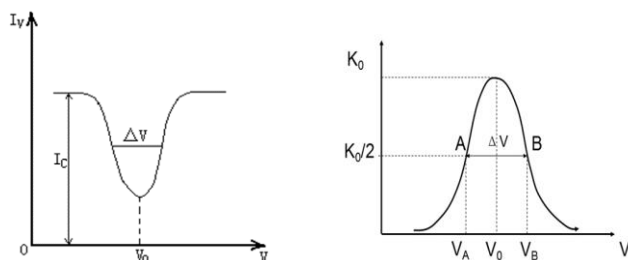
不同元素的原子结构不同，故其共振线也各有特征，可做元素特性参数。由于基态与第一激发态之间的能级差最小，电子跃迁能量要求最容易满足，故共振吸收线最易产生。对大多数元素来讲，共振线是所有吸收线中**最灵敏的**，原子吸收光谱分析中就常以元素的共振线做为分析线。

四、曲线轮廓及其变宽

谱线轮廓

理论上,原子吸收光谱应该是一系列不连续的线状光谱。但实际上任何原子吸收的谱线都不是绝对单色的“线”,而是有一定形状,占据着相当宽度的频率或波长范围的峰。它们不但占有一定的频率宽度,其强度还随频率急剧变化。

描绘发射线辐射强度随频率或波长变化的曲线称为发射线轮廓,描绘吸收率随频率或波长范围变化的曲线称为吸收线轮廓。通常是以 K_0-v 曲线或 I_v-v 曲线表示。



原子吸收光谱曲线轮廓反映了原子对不同频率的光具有选择性吸收的性质,其表征参数为中心频率 v_0 和半宽度 Δv 。极大值相对应频率称中心频率,由原子能级决定,相应的吸收系数称中心吸收系数或峰值吸收系数 K_0 。半宽度 Δv 为中心频率极大吸收系数一半 ($K_0/2$) 处,吸收光谱线轮廓上两点 (AB) 之间的频率差, Δv 的数量级为 $10^{-3} \sim 10^{-2} \text{nm}$ (折合成波长),具体情况受多种实验因素影响。

谱线轮廓变宽的因素

变宽类型	影响因素
自然宽度	原子本身性质决定
多普勒变宽	温度
碰撞变宽	压力
场致变宽和自吸变宽	电场效应和磁场效应

五、单色器

在原子吸收光谱仪器中,单色器由入射狭缝、准直镜、色散元件(棱镜或光栅)、物镜和出射狭缝组成,其功能是将复合光分解为单色光输出。衡量色散元件的参数有两个:一个是色散率,指的是色散元件将波长相差很小的两条谱线分开所成的角长或者两条谱线投射到聚焦面上的距离的大小;另一个是分辨率,指的是色散元件将波长相近的两条谱线分开的能力。

进行原子吸收测定时,为保证谱线强度,需选用适当的光栅色散率和夹缝宽度配合,以形成合适的光谱通带来满足测量的需要。光谱通带指单色器出射狭缝的辐射波长区间宽度,由光栅线色散率的倒数(又称倒数线色散率)和出射夹缝的宽度决定,其计算关系为:

$$\text{光谱通带 } \Delta\lambda = \text{线色散率倒数 } D(\text{nm} \cdot \text{mm}^{-1}) \times \text{出射狭缝宽度 } S(\text{mm})$$

在具体的分析过程中,常根据谱线结构和待测元素测量共振线附近是否有干扰来决定夹缝宽度。狭缝太宽,干扰谱线和被测元素特征谱线同时通过单色器狭缝,测定灵敏度下降。狭缝太窄,光源强度减弱,也可使灵敏度下降。所以在选择狭缝时,应尽量使被测元素的特征谱线通过,而干扰线不通过。有时为方便参数设定,部分仪器直接采用单色器通带来表示缝宽。

六、检测系统

在原子吸收光谱分析中，检测的一次信号是弱光信号，检测系统需要将其转换成较强的电信号输出。

6.1 光电原件

光电倍增管是一种多极的真空光电管，内部有电子倍增结构，内增益极高，是目前灵敏度最高、响应速度最快的一种光电检测器，广泛应用于各种光谱仪器上。光电倍增管的工作电源应有较高的稳定性。但需注意如工作电压过高、照射的光过强或光照时间过长，会引起光电倍增管的“疲劳”，造成光电转换不稳定。

6.2 放大器

将光电转换器输出的电压信号放大后送入显示装置。目前广泛采用的是交流选频放大器和相敏放大器。

6.3 显示装置

放大器放大后的信号经数字转换器换算成数字信号，在数字显示器或者电脑输出端显示出来。一般原子吸收光谱仪都采用电脑控制，配套有开发的仪器软件，可实现参数选择，信号输出界面调整、数据处理等多种功能。

七、背景校正装置

光谱背景吸收与分析信号的出现温度、时间和波长等方面常有差异，会导致背景干扰。在火焰原子吸收光谱分析中，背景干扰问题不大，但石墨炉原子吸收光谱分析中，该影响比较严重，必须考虑背景干扰和背景校正。因此，现在的商品仪器，除了少数只用于火焰原子吸收测定的简易型仪器之外，绝大多数都配有背景校正装置。背景校正装置主要有氘灯背景校正装置和塞曼效应背景校正器，也有的仪器还配置了自吸收背景校正装置。

7.1 氘灯背景校正装置

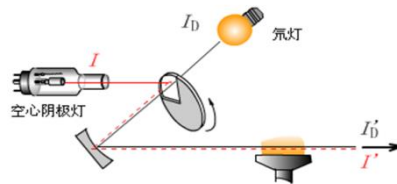


图 2-8 氘灯背景校正装置图

氘灯校正背景是连续光源校正背景最常用的技术，可以校正较低背景（吸光度 1.0 以下），其装置由一只氘灯、切光器及其相应的电源构成。氘灯安装在侧光路上，需要校正背景时，将它移入测量光路，或者通过一块反射镜将氘灯的光引入测量光路。旋转切光器将空心阴极灯和氘灯辐射交替地通过原子化器，分别测量总吸收及背景吸收的吸光度，从而进行校正。

氘灯点灯频率达 1000Hz，空心阴极灯调制频率达 500 Hz，不受火焰和石墨管发光噪声的影响。氘灯发射较强的波长区是 190~350nm，用来校正紫外光谱区的背景吸收。这种设计的优点是：校正与不校正背景时，不需改变测定条件，光能量利用充分，有利于提高信噪比，降低检出限。但在波长大于 350nm 的区域，氘灯辐射强度急剧下降，其背景校正能力很差，故校正可见区的背景吸收需用钨丝灯、碘钨灯或氙灯。另外因为测量总吸收及背景吸收采用了两种光源，光源结构存在差异，背景校正效果受一定影响。

7.2 塞曼效应背景校正器

塞曼效应校正背景是基于谱线在磁场中发生分裂和分裂组分偏振特性的一种校正背景的方法，是目前石墨炉原子吸收分光光度计普遍采用的背景校正方法。

塞曼效应校正背景光源调制法和吸收线调制法两大类，光源调制法是将强磁场加在光源上，吸收线调制法是将磁场加在原子化器上，以后者应用为最广。塞曼效应背景校正器由固定或可变磁场和起偏器、检偏器组成。以恒定磁场偏振调制方式为例，它是在原子化器上施加一个垂直于光束方向的恒定磁场。

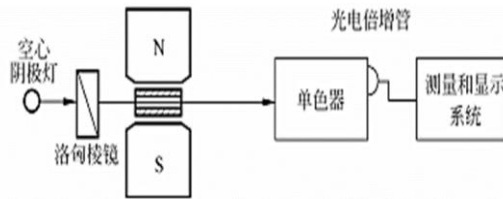


图 2-9 恒定磁场偏振调制结构

在磁场的作用下，吸收线分裂为 π 和 σ_{\pm} 组分，前者平行于磁场方向，后者垂直于磁场方向。经偏振处理后，磁场平行方向分析线 π 组分和背景均产生吸收，测得原子吸收和背景吸收产生的总吸光度；磁场垂直方向分析线不产生吸收，只有背景产生吸收，测得的是纯背景吸收产生的吸光度。两次测得的吸光度之差，便校正了背景吸收后的净原子吸收的吸光度。

塞曼效应校正背景可以全波段进行，可校正吸光度 1.5-2.0 的背景，准确度比较高，是石墨炉法普遍配置的扣背景装置。

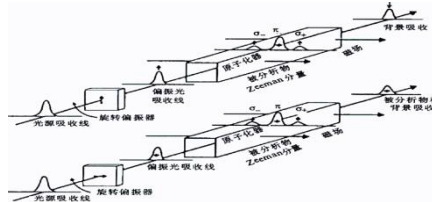


图 2-10 塞曼恒定磁场偏振调制扣背景原理图

7.3 吸收背景校正装置

自吸收背景校正器是一种供电方式不同的空心阴极灯，先以宽脉冲小电流供电，空心阴极灯发射锐线辐射，测得原子吸收与背景吸收的总吸光度，然后以窄脉冲大电流供电，空心阴极灯内积聚的原子浓度非常高使发射线产生自吸变为宽带光谱，测得分析线附近背景吸收的吸光度，实现背景校正。由于是用同一光源发射的元素正常分析线与自蚀谱线进行背景校正，两束光性质相同，所以校正背景能力强，可校正吸光度 2.0 的背景吸收，但对该法对灯的损伤较大，灵敏度损失严重，扣除背景准确性差，实际应用不多。

7.4 其他配套装置

火焰原子吸收仪需配套燃气和助燃气设备，燃气采用钢瓶装商品气，助燃气可采用钢瓶装商品气或空气压缩机。电热原子化仪器也需要配套载气（高纯氮或者氩气）钢瓶，还需要配备循环冷却水系统。这些属于基本配置附件。

随着技术的发展，人们对仪器的可操作性要求越来越高，各种功能性配套装置开始在仪器上发挥其卓越作用。例如全面自动化软件系统、自动监视安全报警系统、在线样品预处理系统、蒸气发生器、开槽管原子捕集（STAT）系统、探针自动进样系统和各种高性能的石墨管等。这些配件给用户提供了巨大便利，以自动进样系统中石墨炉自动进样器为例，一般有 50-100 个样品位，可加入至少三种基体改进剂，可自动配置校正曲线，全智能化自动稀释，多次重复进样富集和注射，进样量可调，精度准确重复性佳。

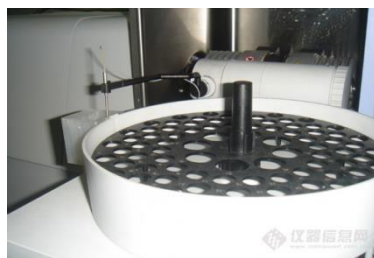


图 PEAA800 仪器配置的石墨炉自动进样系统

授课日期

第八周

教案编号

08

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第二章 原子吸收分光光度法 第四节 原子吸收光谱分析实验技术		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 学会原子吸收光谱分析的制样和标样配制操作及其规范; 2. 学会选择常用原子吸收光谱仪的分析线、灯电流、燃助比、燃烧器高度、狭缝宽度等测量条件。 二、知识目标 1. 掌握原子吸收光谱分析的最佳实验条件的选择方法和注意事项。 2. 了解物理干扰、化学干扰、光谱干扰、电离干扰等的产生、影响和消除方法。		
教学重点	原子吸收光谱分析的最佳实验条件的选择方法和注意事项		
教学难点	物理干扰、化学干扰、光谱干扰、电离干扰等的产生、影响和消除方法		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1. 试样制备, 测试条件选择 45' 2. 火焰原子化条件及其他因素干扰 45'		
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

原子吸收光谱分析实验技术（上）

一、试样的制备（简介）

1. 取样——代表性。注意取样量与待测元素含量、测定方法和精度等有关；防止污染；样品的存放。

2. 样品的预处理——与化学分析要求相同

（1）样品溶解 水、酸、熔融法。

（2）样品的灰化（消化） 除去有机物基体。

① 干法灰化 高温、氧化，不适于易挥发元素（加氧化剂，低温活化）。

② 湿法灰化 升温、酸氧化（ HNO_3 、 H_2SO_4 、 HClO_4 ），样品损失小，易污染（微波、溶剂）。

3. 待测元素的分离与富集 痕量分析灵敏度 \uparrow ，萃取、离子交换法。

二、标准样品溶液的配制（简介）

1. 标样的组成尽可能与试样接近；

2. 用待测元素的盐或高纯金属（4N）丝、片、棒等溶解，稀释制得；

3. $c < 0.1 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液应由储备液在临用时稀释，适当酸度保存， $< 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标液不稳定；

4. 标准溶液的 c 下限取决于检出限，控制 A 在 $0.2 \sim 0.8$ 。

三、测定条件的选择

1. 分析线

每种元素的基态原子都有若干条吸收线，为了提高测定灵敏度，一般选待测元素的共振线作为分析线。测量高浓度或为了消除邻近光谱线的干扰或 $\text{Air-C}_2\text{H}_2$ 在短波区透过性差等，也可选次灵敏线。

2. 光谱通带（调节狭缝宽度）

单色器的狭缝宽度主要是根据待测元素的谱线结构和所选的吸收线附近是否有非吸收干扰来选择的。无邻近干扰线（如测碱及碱土金属）时，选较大的通带，反之（如测过渡及稀土金属），在保证有一定强度的情况下，宜选较小通带。一般在 $0.5 \sim 4 \text{nm}$ 之间选择。

合适的狭缝宽度可以通过实验方法确定，具体方法是：逐渐改变单色器的狭缝宽度，使检测器输出信号最强，即吸光度最大为止。当然也可根据文献资料确定，或根据仪器说明书上列出的单色器线色散率的倒数，计算出不同的光谱通带所相应的宽度。

3. 空心阴极灯工作电流

原则：在保证有稳定和足够的辐射光通量的情况下，尽量选较低的电流。灯上都标明了最大工作电流，对大多数元素，日常分析的工作电流建议采用额定电流的 $40\% \sim 60\%$ 。对高熔点的镍、钴、钛等灯电流可以调大些；对低熔点易溅射的铋、钾、钠、铯等，工作电流小些为宜。

具体通过实验方法作出吸光度-灯电流曲线，选择有最大 A 读数时的最小灯电流。空心阴极灯在 5mA 工作电流下，使用寿命可达 1000h 。

4. 火焰原子化条件

（1）火焰——依据不同试样元素选择不同化学火焰。

① 火焰温度的选择——影响原子化效率

原则：保证待测元素充分离解为基态原子的前提下，尽量采用低温火焰；火焰温度越高，产生的热激发态原子越多；火焰温度取决于火焰类型，并与燃助比有关，常用空气-乙炔焰。在火焰中容易生成难解离化合物的元素以及易生成耐

热氧化物的元素，应选用高温火焰，而对于易电离易挥发的碱金属元素，应选用低温火焰。

② 火焰类型的选择 若改变助燃气与燃气的摩尔比（助燃比），可能改变火焰的形状及性质。根据火焰的燃助比不同，分为贫燃性火焰（助燃比大于化学计量。温度低，氧化性气氛，适用于碱金属测定）、富燃性（助燃比小于化学计量。还原性火焰，燃烧不完全，测定较易形成难熔氧化物的元素 Mo、Cr 稀土等）和化学计量性火焰（助燃气与燃气按照它们之间的化学反应计量关系提供。温度高，干扰少，稳定，背景低，常用）。

一般通过实验方法来确定最佳燃助比。方法是：配制一标准溶液喷入火焰，在固定助燃气流量的条件下，改变燃料气流量，测出吸光度值。A 最大时的燃料气流量，即为最佳燃料气流量。阅读理解.....

(2) 燃烧器高度（观测高度）

在火焰的不同部位，基态原子密度不同，测定灵敏度不同。为了提高测定灵敏度，应当使光源发出的光通过火焰中基态原子密度最大区域，火焰比较稳定，干扰少。由于不同性质的元素在不同火焰区域的原子化效率和自由原子的寿命是不同的，即使对同一元素，在使用不同的试剂浓度，不同的雾化器和燃烧器时其基态原子的分布密度也是不同的。调节观测高度时应当通过实验来选择 A 最大的位置，一般在燃烧器狭缝口上方 2~5mm 左右。

火焰名称	燃助比（乙炔/空气）	用途
化学计量火焰（中性火焰）	1/4	常用，主要用于 Cu、Pb、Zn、Cd、碱土
富燃火焰（还原性火焰）	1/3	较易形成难熔氧化物的元素，如 Mo、Cr、稀土等
贫燃火焰（氧化性火焰）	1/6	不易氧化的元素如 Ag、Cu、Ni、Co 等和碱金属

(3) 进样量（试液提取量）——影响测定灵敏度。

试液提取量是指单位时间内被吸入原子化器的体积， $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。试液提取量太小时，火焰中待测基态原子数较少，A 较小，灵敏度低；过大，火焰的热量除了用于分解盐类外，还要用于蒸发大量水份，降低了火焰温度，使原子化效率下降，灵敏度降低。最佳试液提取量应使测定灵敏度最高。一般选在 $3\sim 6\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 范围。在保持一定的燃助比与一定的总气体流量的条件下，可通过调节毛细管与喷嘴间的相对位置来改变提取量。

四、干扰及其消除技术——比化学分析、AES 少

1. 物理干扰与抑制——非选择性

(1) 定义 试样在转移、蒸发过程中物理因素变化引起的干扰效应，主要影响试样喷入火焰的速度、雾化效率、雾滴大小等（基体效应是试样中与待测元素共存的一种或多种组分所引起的干扰）。

(2) 消除 控制试液与标准溶液的组成尽量一致；标准加入法；稀释法。

2. 化学干扰与抑制——选择性，主要干扰源！

(1) 定义 待测元素与其它组分之间的化学作用所引起的干扰效应，主要影响待测元素的原子化效率。

(2) 类型（来源） 待测元素与其共存物质作用生成难挥发的化合物，使参与吸收的基态原子减少。例：钴、硅、硼、钛、铍在火焰中易生成难熔化合物；硫酸盐、硅酸盐与铝生成难挥发物。

(3) 抑制——使用高温火焰或在标准溶液和试液中加入某种光谱化学缓冲剂来抑制或减少化学干扰。

① 释放剂 与干扰元素生成更稳定化合物而使待测元素释放出来。例：锶和镧 (LaCl_3) 可有效消除磷酸根对钙的干扰。

② 保护剂 与待测元素形成稳定的络合物，防止干扰物质与其作用。例：加入 EDTA，生成 EDTA-Ca，避免磷酸根与钙作用。

③ 饱和剂 加入足够的干扰元素，使干扰趋于稳定（即饱和）。例：用 $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$ 火焰测钛时，在试样和标准溶液中加入 $300\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上的铝盐，使铝对钛的干扰趋于稳定。

其它：GFAAS 加入基体改进剂，化学分离（有机溶剂萃取）等。

3. 电离干扰与抑制（有时归入物理或化学干扰）

(1) 定义 待测离子发生电离反应，生成离子，不产生吸收，总吸收强度减弱，电离电位 $\leq 6\text{eV}$ 的元素易发生电离，火焰温度越高，干扰越严重，如碱及碱土元素。

(2) 消除 加入大量易电离的一种电离缓冲剂以抑制待测元素的电离。例：加入足量的铯盐，抑制 K、Na 的电离。

4. 光谱干扰与抑制

定义：待测元素的共振线与干扰物质谱线分离不完全，主要来自光源和原子化装置。分为以下两种：

(1) 谱线干扰

① 在分析线附近有单色器不能分离的待测元素的邻近线——调小狭缝。

② 空心阴极灯内有单色器不能分离的干扰元素的辐射——换用纯度较高的单元素灯。

③ 灯的辐射中有连续背景辐射——用较小通带或更换灯。

④ 待测元素分析线与另一元素的吸收线十分接近，产生光谱重叠干扰——另选分析线或用较小的光谱通带。

(2) 背景干扰

① 定义 待测元素的基态原子以外的其它物质，对共振线产生吸收而造成的干扰，使 $A \uparrow$ ，假吸收。分为——分子吸收：来源于火焰中的氧化物、氢氧化物、金属盐类的分子、无机酸分子以及火焰气体分子。注意避免使用 H_2SO_4 、 H_3PO_4 。

——光散射：是火焰中固体颗粒对入射光的阻挡和散射而造成的假吸收。

② 消除 配制一个组成与试样溶液完全相同的空白溶液来调零；标准加入法或稀释法；仪器配置氘灯自动扣除背景校正装置（GFAAS 干扰更严重，熟悉背景校正的其它仪器技术）。

[巩固]

讨论 AAS 实验过程的有关技术，熟悉测定条件选择方法和干扰消除方法。

授课日期

第九周

教案编号

09

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第二章 原子吸收分光光度法 第四节 原子吸收光谱分析实验技术		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (4 节 <input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 () ; 见习 () ; 实训 () ; 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 学会原子吸收光谱定量分析基本操作和工作曲线绘制及其应用技术。 2. 学会原子吸收分析的评价方法。等测量条件。 二、知识目标 1. 掌握标准曲线法和标准加入法的定量依据、操作方法和典型应用实例。 2. 了解原子吸收分析灵敏度、检出限和回收率的概念、表示方法和计算方法。		
教学重点	标准曲线法和标准加入法的定量依据、操作方法和典型应用实例		
教学难点	原子吸收分析灵敏度、检出限和回收率的概念、表示方法和计算方法		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint () ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 () ; 标本 () ; 实物 () ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1.定量方法以及例 4-1 的讲解	45'	
	2.标准加入法及其特点及例 4-2 的讲解	45'	
	3.浓度直读法、稀释法、内标法的	45'	
	4.衡量仪器性能指标	45'	
思考题			
作 业	见教案		
教学后记			

原子吸收光谱分析实验技术（下）

五、定量方法——直接法

1. 标准（工作）曲线法——与 UVS 相类似

(1) 原理 先配制一系列标准溶液，与试液在同一条件下依次测定它们的 A ，然后绘制 $A \sim c$ 工作曲线，查出试液的浓度，再通过计算求出试样中待测元素的含量。

(2) 特点与注意

① 如果标准溶液与待测试样溶液的基体差别较大，就会引入误差。因此为了消除“基体效应”，应在实验中保持标准溶液与试液的基体相同。

② 理想的标准曲线应该是一条通过坐标原点的直线，但实际工作中常常出现标准曲线弯曲的情况，这主要是由于待测元素含量较高时，吸收线产生热变宽和压力变宽，使锐线光源辐射的共振线的中心波长与共振吸收线的中心波长错位，使 A 减少而造成的。为了保证测定的准确度，在使用标准曲线法时，要注意：

a. 所配制的标准溶液及试液的浓度应在吸光度与浓度成线性关系的范围之内，并控制 A 在 0.2~0.8 之间，以减少测量误差。

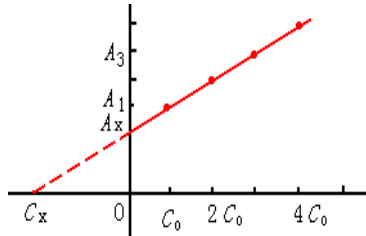
b. 在整个过程中要吸喷去离子水或空白溶液来校正零点的漂移。

c. 由于燃气或空气流量的变化引起吸喷速率变化，会引起测定过程中工作曲线斜率发生变化。因此在测定过程中，要用标准溶液检查测试条件有无变化，以保证在测定过程中标准溶液及试样溶液测试条件完全一致。

③ 标准曲线法简便、快速，适于组成较简单的大批样品分析。

例 4-1 的讲解

2. 标准加入法



(1) 原理 取若干份体积相同的试液 (c_x)，依次按比例加入不同量的待测物的标准溶液 (c_0)，定容后浓度依次为： c_x (第一份不加待测元素标准溶液)， c_x+c_0 ， c_x+2c_0 ， c_x+3c_0 ， c_x+4c_0以空白为参比，在相同测量条件下分别测得吸光度为： A_x ， A_1 ， A_2 ， A_3 ， A_4。以 A 对浓度 c 做图得工作曲线，并将它外推至浓度轴，图中浓度轴上的截距，即为未知浓度 c_x 。

(2) 特点与注意

① 标准加入法的最大优点是可以消除基体效应带来的影响，并在一定程度上消除了化学干扰和电离干扰，但不能消除背景干扰。因此只有在扣除背景之后，才能得到待测元素的真实含量，否则将使测量结果偏高。

② 适用于少量样品（基体不明、组成复杂时）的分析。

③ 相应的标准曲线应是一条通过坐标原点的直线，待测组分的浓度应在此线性范围之内。

④ 待测元素标准加入的浓度应和样品稀释后待测元素规格量的浓度相当 (c_0 接近 c_x)。而且第二份中加入待测元素的浓度应是该元素检出极限的 20 倍。

⑤ 为保证得到较准确的外推结果，至少要采用 4 点来制作外推曲线。

例 4-2 的讲解

3. 浓度直读法——仪器自动数据处理技术

4. 稀释法——同标准加入法，更简化，计算。

$$c_x = \frac{A_{s+x}(V_s + V_x) - A_s V_s}{A_s V_x} c_s$$

5. 内标法——加入内标元素 N 于试液中

在标准系列和试液中均加入相同量的 N，定容后在各自波长处测定 A，以 $A_x/AN \sim c_x$ ，图 4-39，内插法得 c_x 。注意内标元素的选择（实验法，表 4-10）和双波道仪器（消除物理干扰和实验条件的波动）的应用。

间接法：元素灵敏度太低[大于 $5\mu\text{g}(\text{mL}\cdot1\%)^{-1}$]，无法进行低含量测定。

应用：头发、水、水果、蔬菜中微量元素的测定。阅读理解.....

六、灵敏度、检出限和回收率——衡量仪器性能指标

1. 灵敏度 S——在一定浓度时，测定值（吸光度）的增量（ ΔA ）与相应的待测元素浓度（或质量）的增量（ Δc 或 Δm ）的比值：

$$S_c = \Delta A / \Delta c \quad \text{或} \quad S_m = \Delta A / \Delta m$$

(1) 特征浓度 对应与 1%净吸收 (IT-IS)/IT=1/100 或对应与 0.0044 吸光度的待测元素浓度 (C_c)。FAAS 用，也称相对灵敏度。

$$C_c = 0.0044 \Delta c / \Delta A, \quad \text{单位: } \mu\text{g}(\text{mL}\cdot1\%)^{-1}.$$

(2) 特征质量 GFAAS 用，也称绝对灵敏度。

$$m_c = 0.0044 \Delta m / \Delta A, \quad \text{单位: } \text{g}(\text{mL}\cdot1\%)^{-1}. \quad \searrow, \text{好}.$$

2. 检出（极）限 D——在适当置信度下（考虑噪声），能检测出的待测元素的最小浓度或最小量。反映仪器的稳定性和基体、溶剂的影响。

用接近于空白的溶液，经若干次（10~20 次）重复测定所得吸光度的标准偏差的 3 倍求得：

(1) 火焰法 相对检出限 $CDL = 3S_b / S_c$ ，单位： $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

(2) 石墨炉法 绝对检出限 $mDL = 3S_b / S_m$ ，单位： μg 。

式中， S_b —标准偏差； S_c (S_m)—待测元素的灵敏度，即工作曲线的斜率。

注意： $m_x > D$ ，才能分开待测信号。“未检出”— $m_x < D$ 。

3. 回收率——评价方法的准确度和可靠性

(1) 利用标准物质测定

标样与试样同法处理、同条件下同法测定，回收率 = $\frac{\text{测定值}}{\text{真实值}}$ 。

(2) 利用标准加入法测定

先测定试样；再在试样中加入一定量的标准物质，同条件下同法测定，

$$\text{加标回收率} = \frac{\text{加标样测定值} - \text{未加标样测定值}}{\text{标准加入量}} \quad \rightarrow 1, \text{越可靠。例 4-3。}$$

[巩固]

1. 掌握作图法定量分析规范、应用和评价；

2. 课堂练习 P139 4。

第三章 电位分析法

§3-1 基本原理（上）

一、概述

1. 电化学分析法简述

（1）电化学分析法的定义

将化学变化与电的现象紧密联系起来学科便是电化学。应用电化学的基本原理和实验技术，依据物质的电化学性质来测定物质组成及含量的分析方法称之为电化学分析或电分析化学。

☆重要特征：直接通过测定电流、电位、电导、电量等物理量，在溶液中有电流或无电流流动的情况下，来研究、确定参与反应的化学物质的量。

依据测定电参数分别命名各种电化学分析方法：如电位分析法，依据应用方式不同可分为：直接法和间接法（仪器作为滴定终点指示装置）。

（2）电化学分析法的特点

☆灵敏度、准确度高，选择性好，应用广泛。被测物质的最低量可以达到 10^{-12}mol/L 数量级。

☆电化学仪器装置较为简单，操作方便，尤其适合于化工生产中的自动控制和在线分析。电位滴定法尤其适合于滴定突跃小、浑浊、有色溶液。

◇传统电化学分析：无机离子的分析；测定有机化合物也日益广泛。

（3）电化学分析法的分类

① 电位分析法——图 1-3、1-4

☆直接电位法：电极电位与溶液中电活性物质的活度有关，通过测量溶液的电动势，根据奈斯特方程计算被测物质的含量；

☆电位滴定法：用电位测量装置指示滴定分析过程中被测组分的浓度变化，通过记录或绘制滴定曲线来确定滴定终点的滴定分析方法。

研制各种高灵敏度、高选择性的电极是电位分析法最活跃的研究领域。

② 电解与库仑分析法——

电解分析：在恒电流或控制电位的条件下，使被测物质在电极上析出，实现定量分离测定目的的方法。

电重量分析法：电解过程中在阴极上析出的物质质量通常可以用称重的方法来确定。

库仑分析法：依据法拉第电解定律，由电解过程中电极上通过的电量来确定电极上析出的物质质量的分析方法。

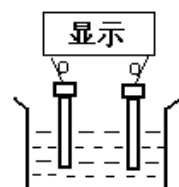
电流滴定或库仑滴定：在恒电流下，电解产生的滴定剂与被测物作用。

③ 极谱法与伏安分析——

伏安分析是通过测定特殊条件下的电流—电压曲线来分析电解质的组成和含量的一类分析方法的总称。而极谱法则是使用滴汞电极的一种特殊的伏安分析法。

④ 电导分析法——

2. 化学电池与电化学分析装置



(1) 化学电池：原电池和电解池——图 1-1、1-2 电池表达式（复习）。

(2) 电化学基本装置：两支电极、电源、放大、显示记录装置。

①参比电极 电极电位不随测定溶液和浓度变化而变化的电极。

②指示电极 电极电位则随测量溶液和浓度不同而变化。由电池电动势的大小可以确定待测溶液的活度（常用浓度代替）大小。

二、电位分析法的理论依据—— $E \sim a_i (c_i)$

1. 能斯特(Nernst)方程——电极的电位与其相应离子活度的关系 P4

例如，对于氧化还原体系

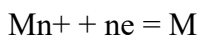


$$\varphi_{\text{Ox}/\text{Red}} = \varphi_{\text{Ox}/\text{Red}}^{\ominus} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{Ox}}}{a_{\text{Red}}}$$

式中 φ^{\ominus} 是标准电极电位；R 是摩尔气体常数 ($8.314\text{J}\cdot(\text{mol}\cdot\text{K})^{-1}$)；F 是法拉第常数($96500\text{C}\cdot\text{mol}^{-1}$)；T 是热力学温度；n 为电极反应时转移电子数； a_{Ox} 为电极反应平衡时氧化态 Ox 的活度， a_{Red} 为电极反应平衡时还原态 Red 的活度。在具体应用能斯特方程时常用浓度代替活度（当离子浓度很小时，活度系数接近 1，浓度与活度相近，可将活度近似看作为浓度）；用常用对数代替自然对数，在 25°C 时，能斯特方程可近似地简化成下式：

$$\varphi_{\text{Ox}/\text{Red}} = \varphi_{\text{Ox}/\text{Red}}^{\ominus} + \frac{0.059}{n} \cdot \lg \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]}$$

式中，[Ox]、[Red]表示电极反应达平衡时氧化态和还原态的物质的量浓度。如果参与电极反应的组分为气体，则表示以 $1.01325 \times 10^5 \text{Pa}$ 为基准的气体分压；如果参与电极反应的组分不溶于水，而以纯固体或纯液体的形态出现，其活度为常数，定为 1。例如金属电极的电极反应为.....



由于还原态为纯金属，因此在 25°C 时：

$$\varphi_{\text{M}^{+}/\text{M}} = \varphi_{\text{M}^{+}/\text{M}}^{\ominus} + \frac{0.059}{n} \cdot \lg [\text{M}^{+}]$$

可见，电极电位 φ 与离子浓度的对数成线性关系。测出电极电位，就可以确定出离子浓度（严格说是活度）。这就是电位分析法的理论依据。

2. 电位分析法测量的基本原理——P5

两大类电化学分析方法：

a. 无电极反应，如电导，电泳分析法，使用惰性金属铂电极；

b. 电极上有氧化还原反应发生，如库仑分析及伏安分析。

(-) M | Mn^{+} (a Mn^{+}) || 参比电极 (+) ——正负极由电极的 φ 高低决定

$$E = \varphi_{+} - \varphi_{-} = \varphi_{\text{参比}} - \varphi_{\text{Mn}^{+}/\text{M}}$$

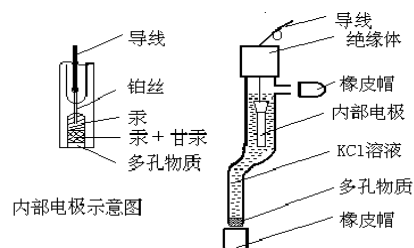
$$= \varphi_{\text{参比}} - \varphi_{\text{Mn}^{+}/\text{M}}^{\ominus} - 0.05916/n \cdot \lg a_{\text{Mn}^{+}}$$

$E_{\text{外}} = E_{\text{测}}$ ：外电位随两支电极间电位变化。

$I = 0$ ：测定过程中并没有电流流过电极。

液体接界电位：在两种不同离子的溶液或两种不同浓度的溶液接触界面上，存在着微小的电位差。产生的原因：各种离子具有不同的迁移速率而引起。使用盐桥减小，可忽略。

三、参比电极



1. 作用：提供电位标准
2. 要求： ϕ 已知、恒定；受外界影响小；对 T、c 无滞后；重现性、稳定性好。

3. 分类

(1) 标准氢电极：基准，电位值为零(任何温度)。

(2) 甘汞电极：演示实物——图 1-5 结构（单、双盐桥）

电极反应： $\text{Hg}_2\text{Cl}_2 + 2\text{e}^- = 2\text{Hg} + 2\text{Cl}^-$ 半电池： $\text{Hg}, \text{Hg}_2\text{Cl}_2 (\text{固}) \parallel \text{KCl}$

电极电位(25°C)：

$$E_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}} = E_{\text{Hg}_2^{2+}/\text{Hg}} + \frac{0.059}{2} \lg \frac{a(\text{Hg}_2\text{Cl}_2)}{a_{\text{Hg}}^2 a_{\text{Cl}^-}^2}$$

$$E_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}} = E_{\text{Hg}_2^{2+}/\text{Hg}} - 0.059 \lg a_{\text{Cl}^-}$$

电极内溶液的 Cl⁻活度一定，甘汞电极电位固定。

表 1-1 甘汞电极的电极电位 (25°C)

	0.1mol/L 甘汞电极	标准甘汞电 极 (NCE)	饱和甘汞电 极 (SCE)
KCl 浓 度 L	0.1 mol / L	1.0 mol / L	饱和溶液
电极电 位 (V)	+0.3365	+0.2828	+0.2438

温度校正，对于 SCE，t °C 时的电极电位为：

$$\phi_t = 0.2438 - 7.6 \times 10^{-4}(t - 25) \quad (\text{V})$$

SCE 的使用——7 条注意事项——理解——实训！

(3) 银-氯化银电极——图 1-6

结构：银丝镀上一层 AgCl 沉淀，浸在一定浓度的 KCl 溶液中。

电极反应： $\text{AgCl} + \text{e}^- = \text{Ag} + \text{Cl}^-$ ；半电池符号： $\text{Ag}, \text{AgCl} (\text{固}) \parallel \text{KCl}$

电极电位 (25°C)： $\phi_{\text{AgCl}/\text{Ag}} = \phi^\theta_{\text{AgCl}/\text{Ag}} - 0.0592 \lg a_{\text{Cl}^-}$

表 1-2 银-氯化银电极的电极电位 (25°C)

	0.1mol/L Ag-AgCl 电极	标准 Ag-AgCl 电极	饱和 Ag-AgCl 电极
KCl 浓度 / L	0.1 mol / L	1.0 mol / L	饱和溶液
电极电 位 (V)	+0.2880	+0.2223	+0.2000

温度校正，标准 Ag-AgCl 电极，t °C 时的电极电位为：

$$\phi_t = 0.2223 - 6 \times 10^{-4}(t - 25) \quad (\text{V})$$

Ag-AgCl 电极的使用：常作内参比电极，也可作外参比电极；使用注意！

[巩固]

1. 熟悉电化学分析基本知识。
2. 掌握电位分析法的基本原理—— $E \sim a_i(c_i)$ ——能斯特(Nernst)方程。

3. 阅读——理解。

[布置作业]

P16, 1. 预习§1-1 (中)。

[组织教学]

[复习]

1. 提问：电位分析法分类、特点→原理。

2. 电化学电池——原电池组成——参比电极——

[讲授新课]

授课日期

第十一周

教案编号

11

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第三章 电位分析法 第一节 基本原理		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (4 节 <input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 () ; 见习 () ; 实训 () ; 其它 ()		
教学目的	<p>一、能力(技能)目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 能解释 pH 玻璃电极的电位产生原理; 2. 学会电位法测定溶液的 pH 的操作; 3. 能理解酸度计的构造原理, 掌握酸度计的一般使用和日常维护保养方法。 4. 学会使用 pH 玻璃电极和 pH 复合电极。 <p>二、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 掌握 pH 玻璃电极、pH 复合电极的基本结构、主要技术性能、使用范围、使用方法及维护保养。 2. 理解电位法测定溶液 pH 的基本原理、工作电池的组成、电池电动势与溶液 pH 的关系、pH 操作定义、温度对 pH 测定的影响及其消除方法。 3. 掌握不同 pH 标准缓冲溶液的组成、配制和选择方法 		
教学重点	电位法测定溶液 pH 的基本原理、工作电池的组成、电池电动势与溶液 pH 的关系、pH 操作定义、温度对 pH 测定的影响及其消除方法		
教学难点	pH 玻璃电极、pH 复合电极的基本结构、主要技术性能、使用范围、使用方法及维护保养。		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint () ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 () ; 标本 () ; 实物 () ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	<ol style="list-style-type: none"> 1. pH 玻璃电极、pH 复合电极的基本结构、主要技术性能、使用范围、使用方法及维护保养 45' 2 电位法测定溶液 pH 的基本原理、工作电池的组成、电池电动势与溶液 pH 的关系、pH 操作定义、温度对 pH 测定的影响及其消除方法 45' 3.掌握不同 pH 标准缓冲溶液的组成、配制和选择方法 90' 		
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

§3-1 基本原理 (中)

四、指示电极——指示 a_i (c_i)

1. 金属基电极——以金属为基体，因电极表面的氧化还原反应产生 φ

(1) 金属-金属离子电极 (第一类电极、活性金属电极)

半电池: $M | Mn^+ (a_{Mn^+})$. $\varphi_{Mn^+/M} = \varphi^\theta_{Mn^+/M} + 0.0592 \lg a_{Mn^+} (25^\circ C)$

例如: Ag-AgNO₃ 电极 (银电极), Zn-ZnSO₄ 电极 (锌电极) 等。使用前应清洗表面。第一类电极的电位仅与金属离子的活度有关。

(2) 金属-金属难溶盐电极 (第二类电极)

半电池: $M | MX (s) || Xn^- (a_{Xn^-})$ 。二个相界面，常用作参比电极。

(3) 汞电极 (第三类电极)——EDTA 滴定 Mn^{2+}

半电池: $Hg | HgY_2, MY_{n-4}, Mn^{2+}$ 。金属汞 (或汞齐丝) 浸入含有少量 Hg^{2+} -EDTA 配合物及被测金属离子的溶液中所组成。根据溶液中同时存在的 Hg^{2+} 和 Mn^{2+} 与 EDTA 间的两个配位平衡，可以导出以下关系式: ($25^\circ C$)

$$\varphi(Hg^{2+}/Hg) = \varphi^\theta(Hg^{2+}/Hg) + 0.0592 \lg a_{Mn^{2+}}$$

(4) 惰性金属电极 (零类电极)

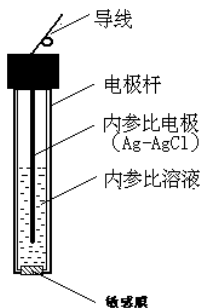
半电池: $Pt (Au) | Ma^+, M (a-n)^+$ 。电极不参与反应，但其晶格间的自由电子可与溶液进行交换，故可作为溶液中氧化态和还原态获得电子或释放电子的场所。如 $Pt | Fe^{3+}, Fe^{2+}$ ，使用前在 HNO₃ 中浸泡。

2. 膜电极 (离子选择性电极) SIE

特点: 仅对溶液中特定离子有选择性响应。

关键是一个称为选择膜的敏感元件。敏感元件: 单晶、混晶、液膜、高分子功能膜及生物膜等构成。

(1) 分类: IUPAC 表——P10



基本电极 (电极直接与试液接触) 和敏化电极——阅读。

(2) 结构——图 1-9, 演示 F 电极——

将膜电极和参比电极一起插到被测溶液中，则电池结构为:
外参比电极 || 被测溶液 (a_i 未知) | 内充溶液 (a_i 一定) | 内参比电极 (敏感膜)

内外参比电极的电位值固定，且内充溶液中离子的活度也一定，则电池电动势为:

$$E = E' \pm \frac{RT}{nF} \ln a_i$$

(3) 膜电位 φ 膜——P11

膜内外两个相界面由于被测离子活度的不同而产生离子交换和扩散，产生膜电位。

$$E_{膜} = K + \frac{RT}{nF} \ln a_{阳离子}$$

$$E_{膜} = K - \frac{RT}{nF} \ln a_{阴离子}$$

对阳离子响应的电极，K 后取正号；对负离子响应的电极，K 后取负号。

(4) 离子选择电极的性能.....

① 选择性——共存的其它离子对膜电位产生有贡献吗?

若测定离子为 i ，电荷为 z_i ；干扰离子为 j ，电荷为 z_j 。考虑到共存离子产生的电位，则膜电位的一般式可写成为:

$$E_{膜} = K \pm \frac{RT}{nF} \ln \left[a_i + K_{ij} (a_j)^{\frac{z_i}{z_j}} \right]$$

A K_{ij} 称为电极的选择性系数，其意义为：在相同的测定条件下，待测离子和干扰离子产生相同电位时待测离子的活度 α_i 与干扰离子活度 α_j 的比值 $K_{ij} = \alpha_i / \alpha_j$ ($z_i = z_j = 1$)。

B 通常 $K_{ij} < 1$ ， K_{ij} 越小，表明电极的选择性越高。例如： $K_{ij} = 0.001$ 时，意味着干扰离子 j 的活度比待测离子 i 的活度大 1000 倍时，两者产生相同的电位。

C 选择性系数严格来说不是一个常数，在不同离子活度条件下测定的选择性系数值各不相同。

D K_{ij} 仅能用来估计干扰离子存在时产生的测定误差或确定电极的适用范围。

② 响应时间——电位平衡在 1mV 内

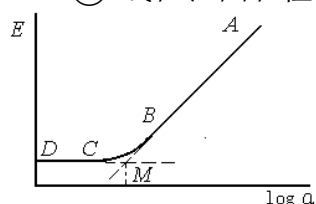
是指参比电极与离子选择电极一起接触到试液起直到电极电位值达到稳定值的 95% 所需的时间。

影响因素多。注意搅拌，减少响应时间；由低至浓测量，反之清洗数次。

③ 温度系数和 pH 范围——使用范围

离子选择性电极的电极电位受温度的影响是显而易见的：标准电位温度系数，取决于电极膜的性质，测定离子特性，内参电极和内充液等因素；奈斯特方程中的温度系数项，对于 $n=1$ ，温度每改变 1°C ，校正曲线的斜率改变 0.1984。离子计中通常设有温度补偿装置，对该项进行校正；溶液的温度系数项，温度改变导致溶液中的离子活度系数和离子强度改变。

④ 线性范围和检测下限——P12，图 1-10



线性范围：AB 段对应的检测离子的活度（或浓度）范围。一般为 $10^{-1} \sim 10^{-6} \text{mol/L}$ 。

检测下限：图中 AB 与 CD 延长线的交点 M 所对应的测定离子的活度（或浓度）， φ 不稳定。离子选择性电极一般不用于测定高浓度试液（ 1.0mol/L ），高浓度溶液对敏感膜腐蚀溶解严重，也不易获得稳定的液接电位。

⑤ 电极的斜率（级差）：AB 段的斜率，即活度相差一数量级时，电位改变的数值，用 S 表示。

理论上 $S = \pm 2.303 RT/nF$ ， 25°C 时，一价离子 $S = \pm 0.0592 \text{V}$ ，二价离子 $S = \pm 0.0296 \text{V}$ 。离子电荷数越大，级差越小，测定灵敏度也越低，电位法多用于低价离子测定。实际值达到理论值的 95% 以上的电极才能准测。

⑥ 电极的稳定性——注意预处理

8 (24) h 内在同一溶液中的响应值变化，也称响应值的漂移。

(5) 离子选择性电极的种类、结构和应用（简介）

① 晶体膜电极

分类：难溶盐的晶体 → 膜 → 均相（单晶膜和多晶膜）与非均相。

A. 单晶膜——氟电极——图 1-11

结构——敏感膜：氟化镧单晶，掺有 EuF_2 的 LaF_3 单晶切片；内参比电极： Ag-AgCl 电极（管内）；内参比溶液： 0.1mol/L 的 NaCl 和 0.1mol/L 的 NaF 混合溶液（F—用来控制膜内表面的电位，Cl—用以固定内参比电极的电位）。

原理—— LaF_3 的晶格中有空穴，在晶格上的 F—可以移入晶格邻近的空穴而导电。对于一定的晶体膜，离子的大小、形状和电荷决定其是否能够进入晶体膜内，故膜电极一般都具有较高的离子选择性。当氟电极插入到 F—溶液中时，F—在晶体膜表面进行交换。 25°C 时：

$$\varphi_{\text{膜}} = K - 0.0592 \lg a_{\text{F}^-} = K + 0.0592 \text{ pF}$$

应用——具有较高的选择性；需要在 pH5~7 之间使用，pH 高时，溶液中的 OH⁻与氟化镉晶体膜中的 F⁻交换，pH 较低时，溶液中的 F⁻生成 HF 或 HF₂⁻；Al³⁺、Ca²⁺需掩蔽。

B. 多晶膜电极——难溶盐粉末或混合粉末经高压制得。如：Ag₂S→Ag⁺、S₂⁻；AgX 分

散于 Ag₂S→X⁻、类 X⁻；Ag₂S + MS→Cu、Cd、Pd。

C. 非均相膜电极 Ag₂S、AgX + 惰性高分子材料——阴离子电极，表 1-3。

② 非晶体膜电极

A. 刚性基质电极——玻璃膜组成→pLi、Na、K、Ag、Pb、Cs、pH 等。

B. 流动载体膜电极（液膜电极）

多孔性支持体中含电活性物质金属配位剂和有机溶剂，分三类：带正电荷（NO₃⁻、ClO₄⁻、BF₄⁻）、负电荷（Ca²⁺）和中性（K⁺）载体电极。

钙电极：内参比溶液为含 Ca²⁺水溶液。内外管之间装的是 0.1mol/L 二癸基磷酸钙(液体离子交换剂)的苯基磷酸二辛酯溶液。其极易扩散进入微孔膜，但不溶于水，故不能进入试液溶液。二癸基磷酸根可以在液膜-试液两相界面间来回迁移，传递钙离子，直至达到平衡。由于 Ca²⁺在水相（试液和内参比溶液）中的活度与有机相中的活度差异，在两相之间产生相界电位。钙电极适宜的 pH 范围是 5~11，可测出 10⁻⁵ mol/L 的 Ca²⁺。

③ 敏化电极

结构特点：在原电极上覆盖一层膜或其它活性物质，通过界面敏化反应响应 i，使电极的选择性提高。分类——

A. 气敏电极：化学电池复合体，气敏氨电极——图 1-13。

$$\varphi = K - 0.0592 \lg a_{\text{NH}_3}$$

B. 酶电极：酶催化作用→细菌电极及生物电极等。

[巩固]

1. 了解指示电极的作用、分类、特性和典型应用。

2. 阅读——理解。

[布置作业]

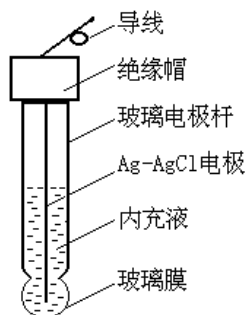
P16, 10、11。预习§1-1（下）、§1-2（上）。

§3-1 基本原理（下）

四、指示电极——指示 a_i (c_i)

2. 膜电极——非晶体膜电极——刚性基质电极——改变玻璃膜组成可制成对不同阳离子响应的玻璃电极→pH 玻璃电极

(1) 结构——图 1-7 演示



H⁺响应的玻璃膜电极：敏感膜是在 SiO₂ 基质中加入 Na₂O、Li₂O 和 CaO 烧结而成的特殊玻璃膜，厚度约为 0.05mm。水浸泡膜时，表面的 Na⁺与水中的 H⁺交换，表面形成水合硅胶层。

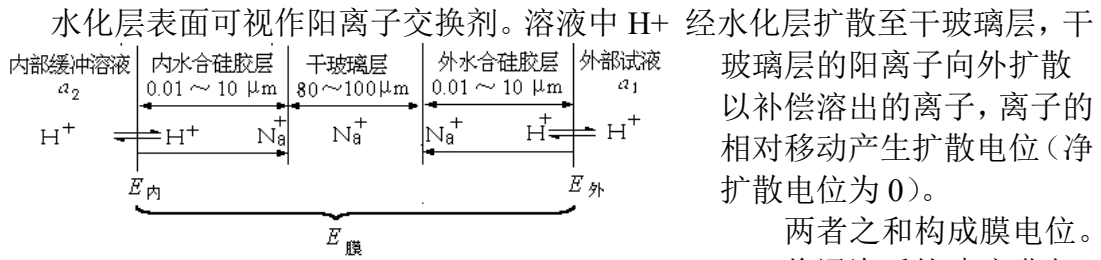
玻璃电极使用前，必须在水溶液中浸泡。

(2) 玻璃膜电位的形成

玻璃电极使用前，必须在水溶液中浸泡，使之生成一个三层结构，即中间的干玻璃层和两边的水化硅胶层。浸泡后

的玻璃膜示意图 1-8:

水化硅胶层具有界面，构成单独的一相，厚度一般为 $0.01 \sim 10 \mu\text{m}$ 。在水化层，玻璃上的或 Na^+ 与 H^+ 发生离子交换而产生相界电位（内、外）。

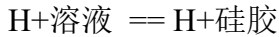


玻璃层的阳离子向外扩散以补偿溶出的离子，离子的相对移动产生扩散电位（净扩散电位为 0）。

两者之和构成膜电位。

将浸泡后的玻璃膜电

极放入待测溶液，水合硅胶层表面与溶液中的 H^+ 活度不同，形成活度差， H^+ 由活度大的一方向活度小的一方迁移，平衡时：



$$\varphi_{\text{内}} = k_1 + 0.0592 \lg(a_2/a_2') \quad ; \quad \varphi_{\text{外}} = k_2 + 0.0592 \lg(a_1/a_1')$$

a_1 、 a_2 分别表示外部试液和电极内参比溶液的 H^+ 活度； a_1' 、 a_2' 分别表示玻璃膜外、内水合硅胶层表面的 H^+ 活度； k_1 、 k_2 则是由玻璃膜外、内表面性质决定的常数。

由于玻璃膜内、外表面的性质基本相同，则 $k_1=k_2$ ， $a_1'=a_2'$

$$\varphi_{\text{膜}} = \varphi_{\text{外}} - \varphi_{\text{内}} = 0.0592 \lg(a_1/a_2)$$

由于内参比溶液中的 H^+ 活度 (a_2) 是固定的，则：

$$\varphi_{\text{膜}} = K' + 0.0592 \lg a_1 = K' - 0.0592 \text{pH}_{\text{试液}}$$

玻璃膜电位与试样溶液中的 pH 成线性关系。式中 K' 是由玻璃膜电极本身性质决定的常数。

(3) 不对称电位 $\varphi_{\text{不}}$

如果： $a_1 = a_2$ ，则理论上 $\varphi_{\text{膜}} = 0$ ，但实际上 $\varphi_{\text{膜}} \neq 0$ 。

产生原因：玻璃膜内、外表面含钠量、表面张力以及机械和化学损伤的细微差异所引起的。长时间浸泡后（24hr）恒定（ $1 \sim 30 \text{mV}$ ） $\rightarrow K'$ 。

(4) 玻璃电极的电极电位 $\varphi_{\text{玻璃}}$ (25°C)

$$\varphi_{\text{玻璃}} = \varphi_{\text{Ag/AgCl}} + \varphi_{\text{膜}} = \varphi_{\text{Ag/AgCl}} + K' - 0.0592 \text{pH}_{\text{试液}} = K_{\text{玻璃}} - 0.0592 \text{pH}_{\text{试液}}$$

(5) 高选择性：膜电位的产生不是电子的得失。其它离子不能进入晶格产生交换。当溶液中 Na^+ 浓度比 H^+ 浓度高 1015 倍时，两者才产生相同的电位。

(6) 酸差：测定溶液酸度太大 ($\text{pH} < 1$) 时，电位值偏离线性关系，产生误差，测得 pH 偏高。

(7) 碱差或钠差： $\text{pH} > 12$ (9) 产生误差，主要是 Na^+ 参与相界面上的交换所致，测得 pH 偏低。所以，一般适用于 $\text{pH} 1 \sim 10$ 。

(8) 优点：不受溶液中氧化剂、还原剂、颜色及沉淀的影响，不易中毒。

(9) 缺点：电极内阻很高，需电子放大；电阻随温度变化，一般适用于 $5 \sim 60^\circ\text{C}$ 。

(10) 使用注意事项——5 条——理解，实训.....

授课日期

第十二周

教案编号

12

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第三章 电位分析法 第一节 基本原理		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 掌握用标准曲线法和标准加入法测定溶液中离子浓度的定量方法; 2. 了解离子计的结构原理, 掌握离子计的使用和日常维护保养方法。 二、知识目标 1. 理解测定溶液离子活(浓)度的基本原理; 2. 掌握溶液中离子浓度的常用定量方法; 3. 理解总离子强度调节缓冲剂的组成及其作用。		
教学重点	溶液中离子浓度的常用定量方法		
教学难点	总离子强度调节缓冲剂的组成及其作用		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1.离子计的结构原理, 掌握离子计的使用和日常维护保养方法		45'
	2 溶液中离子浓度的常用定量方法		45'
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

§3-2 直接电位法（上）

一、直接电位法测定 pH

1. 测定原理

以 pH 玻璃电极作指示电极，饱和甘汞电极作参比电极，与待测溶液组成工作电池，用精密毫伏计测量电池的电动势。

电池为：pH 玻璃电极 | 试液 || 饱和甘汞电极

25°C时， $E = \varphi_{\text{SCE}} - \varphi_{\text{玻璃}} + \varphi_{\text{液接}}$

$= \varphi_{\text{SCE}} - K_{\text{玻璃}} + 0.0592 \text{ pH 试液} + \varphi_{\text{液接}}$

$= K' + 0.0592 \text{ pH 试液}$ (公式一)

式中， K' 在一定条件下是常数，包括外参比电极电位、内参比电极电位、不对称电位和液接电位。可见电池电动势 E 在一定条件下与溶液的 pH 成线性关系，据此可进行溶液 pH 的测定。

另外，也可以使用 E-209-C9 复合电极与待测溶液组成工作电池进行测量。该复合电极是 pH 玻璃电极和银-氯化银电极组合在一起的塑料壳可充式复合电极，使用更方便。

2. 溶液 pH 的比较法测定——pH 实用定义（pH 标度）

由于公式一中 K' 是一个很复杂的项目，是不固定的常数，很难通过计算得到。因此实际工作中不可能直接计算 pH，而是普遍采用已知 pH 的标准缓冲溶液在酸度计上进行校正。通过分别测定标准缓冲溶液和试液所分别组成的工作电池的电动势来确定试液的 pH。即先测定已知 pHs 标准缓冲溶液的电动势 E_s ，然后再测定试液（pHx）的电动势 E_x 。若测量 E_x 和 E_s 时的条件不变，采用同一对电极，则 $K_x' = K_s'$ ，根据（公式一）可得：

25°C时， $\text{pHx} = \text{pHs} + (E_x - E_s) / 0.0592$ (公式二)

这就是 pH 实用定义或 pH 标度。由公式二可知：

(1) $E_x - E_s$ 与 $\text{pHx} - \text{pHs}$ 成线性关系，在 25°C 时直线的斜率为 0.0592，或称玻璃电极转换系数。直线斜率是温度的函数，为保证在不同温度下测量精度符合要求，在测量中要进行温度补偿，酸度计设有此功能。

(2) pHx 与 pHs 相差 1 个 pH 单位时， E_x 与 E_s 相差 0.0592V，酸度计即按此间隔进行分度。

(3) pH 直读

根据 pH 操作定义，测定溶液 pH 时，必须先用已知 pH 的标准缓冲溶液在酸度计上进行校正，然后直接读取溶液的 pH。

校正酸度计的方法一般有“一点校正法”和“二点校正法”两种。

如果使用不带“斜率”调节器的酸度计，GB 9724-88 规定，应采用“一点校正法”。对于精密的 pH 测定，应用“二点校正法”，就是先用一种接近 pH7 的标准缓冲溶液“定位”，再用另一种接近待测溶液 pH 的标准缓冲溶液调节“斜率”调节器，此时不要动“定位调节器”，使仪器显示值与第二种 pH 标准缓冲溶液的 pH 相同。

由于公式二是在假设 $K_x' = K_s'$ 条件下得出的，而在实际测量过程中，往往因为某些因素的改变，导致 K' 值发生变化，因而带来误差。为此，测量过程应保持溶液的温度恒定，并选用 pH 与待测溶液 pH 相近的标准缓冲溶液（GB 规定，pHs 与 pHx 相差应在 3 个 pH 单位以内）。

3. pH 标准缓冲溶液

定义：具有准确 pH 的缓冲溶液。作用：作为 pH 测定的基准。

pH 工作基准：七种六类，按 GB11076-89 配置。其 pH 随温度变化而改变，可查表使用——表 1-4。

实验室常用标准缓冲物质：苯二甲酸氢钾（25℃时，pH =4.00）、混合磷酸盐（6.86）及四硼酸钠（9.18）。市售“成套 pH 缓冲剂”使用方便，按说明溶解、稀释即可。

注意：实验用水应符合 GB668-92 中三级水的规格；配好后应贮存于玻璃或聚乙烯试剂瓶中，防止空气中 CO₂ 进入；一般可保存 2~3 个月，若有浑浊现象，不能再用。

4. 测量仪器及使用方法

(1) 测量仪器

电位法测定溶液 pH 的仪器称为酸度计或 pH 计。酸度计是一种高阻抗的电子管或晶体管式的直流毫伏计，既可用于测量水溶液的酸度，又可用作毫伏计测量电池电动势。

酸度计分为普通型、精密型和工业型 3 类。读数值精度为 0.1~0.001pH。

实验室用酸度计型号很多，但其构造一般均由两部分组成，即电极系统和高阻抗毫伏计。电极与待测溶液组成原电池，以毫伏计测量电极间电位差，电位差经放大电路放大后，由电流表或数码管显示。目前应用较广的是数显式的 pH S-3 系列的精密酸度计。

(2) pH S-3F 型酸度计的主要部件、调节钮、开关和使用方法——CAI

(3) 离子计：离子选择性电极法测量离子活（浓）度（pX、pH）和电池电动势。电位测量精度高于一般的酸度计，稳定性好。国产型号较多，如 821、PXD-12 等——实训

[巩固]

1. 掌握 pH 玻璃电极的结构、原理、特点和使用；pH 测定原理和方法。
2. 阅读理解 pH S-3F 型精密酸度计和 PXD-12 型数字式离子计使用方法。

[布置作业]

P16, 7; P25, 8。

§3-2 直接电位法（下）

二、离子活（浓）度的电位法测定

1. 测定原理——与 pH 测定类似

图例：SCE||试液（aF—x）|F—选择性电极

25℃， $E = K' - 0.0592 \lg a_F = K' + 0.0592 \text{pF}$

将离子选择性电极（指示电极）和参比电极插入试液可以组成测定各种离子

活度的电池，电池电动势为：
$$E = k' \pm \frac{2.303RT}{nF} \lg a_i$$

离子选择性电极作正极时，对阳离子响应的电极，取正号；对阴离子响应的电极，取负号。

同理， K' 也是需用已知 a_i 的标准活度溶液比较 E 而得的复杂参数。但是目前标准活度溶液很少（Cl⁻、Na⁺、Ca²⁺、F⁻），在要求不高时， γ_i 不变， c_i 代替 a_i 。

2. 离子选择性电极测定离子浓度的条件——保持溶液中 γ_i ，I 不变

$a_i = \gamma_i c_i$ ， γ_i ——I（离子强度）—— c_i 、 i 电荷数

方法：在试液或标液中，加入相同量的惰性电解质（离子强度调节剂）或总

离子强度调节缓冲溶液 (Total Ionic Strength Adjustment Buffer, 简称 TISAB)。

TISAB 的作用: ①保持较大且相对稳定的离子强度, 使活度系数恒定; ②维持溶液在适宜的 pH 范围内, 满足离子电极的要求; ③掩蔽干扰离子。

e.g 测 F-过程所使用的 TISAB 典型组成.....

3. 定量分析方法

(1)标准曲线法——与 UVS 类似

测定方法: 用测定离子的纯物质配制一系列不同浓度的标准溶液, 并用 TISAB 保持溶液的离子强度相对稳定, 分别测定各溶液的电位值, 并绘制 E - lgci 关系曲线。同法测定试液 Ex, 查图得 lgcx, cx。使用注意:

- ① 离子活度系数保持不变时, 膜电位才与 logci 呈线性关系。
- ② 绘图时, E 有正负, 直线不一定过零点。一般选择 ±lgci 对应 ±离子和 μg/L、mol/L。
- ③ K'——T、搅拌、Ej 等, 易平移, 需校正。
- ④ 更换试剂或条件不稳定时, 应重绘。
- ⑤ 该法适于大批同类试样的测定。对于要求不高的少数试样, 也可用比较法测定:

$$\lg c_x = \lg c_s \pm \frac{E_x - E_s}{S} \begin{pmatrix} \text{阳} \\ \text{阴} \end{pmatrix}, S = \frac{E_1 - E_2}{\lg c_1 - \lg c_2} \text{ 电极斜率} \dots\dots\dots$$

(2)标准加入法——计算法

设某一试液体积为 Vx, 其待测阳离子的浓度为 cx, 测定的工作电池电动势

为 E1, 则:
$$E_1 = K + \frac{2.303RT}{nF} \lg(x_1 \gamma_1 c_x)$$

式中: χ1 为游离态待测离子占总浓度的分数; γ1 是活度系数。

往试液中准确加入一小体积 Vs(大约为 Vx 的 1/100)的用待测离子的纯物质配制的标准溶液, 浓度为 cs(约为 cx 的 100 倍)。由于 Vx >> Vs, 可认为溶液体积基本不变。浓度增量为: Δc = cs Vs / Vx。

再次测定工作电池的电动势为 E2:
$$E_2 = K + \frac{2.303RT}{nF} \lg(x_2 \gamma_2 c_x + x_2 \gamma_2 \Delta c)$$

可以认为 γ2 ≈ γ1, χ2 ≈ χ1。则:
$$\Delta E = E_2 - E_1 = \frac{2.303RT}{nF} \lg\left(1 + \frac{\Delta c}{c_x}\right)$$

令: $S = \frac{2.303RT}{nF}$; 则: $\Delta E = S \lg\left(1 + \frac{\Delta c}{c_x}\right)$

∴ $c_x = \Delta c (10^{\Delta E/S} - 1)^{-1}$

特点: 简便、准确, 适于组成复杂的个别试样的测定。应用时注意 ΔE 取+,

在同条件下测定 S: 测 Ex 后将溶液稀释 1 倍测 Ex',
$$S = \frac{|E_x' - E_x|}{\lg 2}$$
。

e.g1-2——读, 理解。

(3) 格氏作图法——多次标准加入法 (自学了解)

(4) 浓度直读法——与 pH 直读类似，校正离子计→pX→cx

三、测量仪器及使用方法

1. 离子计+电极对+电磁搅拌器→E、pX，精度、稳定性高。
2. PXD-12 型数字离子计的使用——指导书.....

四、影响测量结果准确度的因素

1. 测量温度：影响主要表现在对电极的标准电极电位、直线的斜率和离子活度的影响上，有的仪器可同时对前两项进行校正，但多数仅对斜率进行校正。温度的波动可以使离子活度变化而影响电位测定的准确性。在测量过程中应尽量保持温度恒定。

2. 电位测量误差：当电位读数误差 (ΔE) 为 1mV 时，对于一价离子，由此引起结果的相对误差 ($=0.039n\Delta E$) 为 3.9%，对于二价离子，则为 7.8%。故电位分析多用于测定低价离子。要求仪器精度高， $\Delta E=0.1\sim 0.01\text{mV}$ 。

3. 线性范围：一般在 $10^{-1}\sim 10^{-6}\text{mol/L}$ 。

4. 迟滞效应（电极存储效应）和电位平衡时间：平衡时间越短越好。测量时可通过搅拌使待测离子快速扩散到电极敏感膜，以缩短平衡时间。测量不同浓度试液时，应由低到高测量。测量前应清洗电极至空白值。

5. 溶液特性：溶液的总离子强度保持恒定。溶液的 pH 应满足电极的要求，避免对电极敏感膜造成腐蚀。干扰离子的影响表现在两方面：一是能使电极产生一定响应（正误差），二是干扰离子与待测离子发生络合或沉淀反应（负误差）。

五、应用——表 1-5，阅读了解

[巩固]

1. 掌握直接电位法测定离子浓度的条件、原理、主要方法、仪器和影响因素；
2. 实训与练习——巩固。

[布置作业]

P25, 9、10。预习§1-3；实验 2：氟离子选择性电极测定饮用水中的氟（P38, 6p），二组轮换

授课日期

第十三周

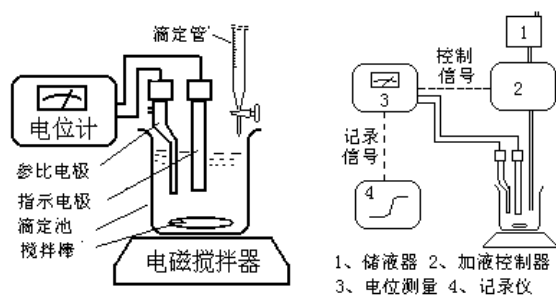
教案编号

13

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第三章 电位分析法 第一节 电位滴定法		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 掌握电位滴定法的基本仪器装置和电极选择方法。 2. 了解自动电位滴定仪的结构原理和应用特点, 掌握其使用方法。 二、知识目标 1. 理解电位滴定法的基本原理, 了解其方法特点和应用。 2. 掌握电位滴定法的终点确定方法(E - V 曲线法、 $\Delta E/\Delta V - V$ 曲线法、二阶微商法)		
教学重点	电位滴定法的基本原理, 了解其方法特点和应用		
教学难点	电位滴定法的终点确定方法(E - V 曲线法、 $\Delta E/\Delta V - V$ 曲线法、二阶微商法)		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1. 电位滴定法的基本原理, 了解其方法特点和应用		45'
	2 电位滴定法的终点确定方法		45'
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

第三章 电位分析法

§3-3 电位滴定法



一、基本原理

电极对+试液→滴定

→ $\Delta\phi_i \rightarrow V_{e.p} \rightarrow c_i$

1. 区别于直接电位法
定量参数不同： E 、 ΔE 、 $V_{e.p}$ ，
使 ϕ 不对称、 ϕ_j 减小。
2. 区别于化学分析法
终点指示方法不同：指示剂

$-\Delta E$ 。因此，电位滴定法能用于浑浊、有色、无合适指示剂（滴定突跃小）的滴定分析，并能自动、连续滴定。

二、电位滴定装置——图 1-20

1. 滴定管 常、微量—— cx 。
2. 电极 参比电极常用 SCE；

酸碱滴定、沉淀滴定、氧化还原滴定及配位滴定等不同类型的滴定需选用不同的指示电极，下表 1-7 列出了各类滴定常用的电极，供参考。实际工作中，应使用产品分析标准规定的指示电极和参比电极。

3. 高阻抗毫伏计和电磁搅拌器 酸度计、离子计、电位滴定仪

三、滴定终点的确定方法

1. 电位滴定实验方法

- (1) 准备 试液；组装仪器；读取试液的初始电位值（停止搅拌）。
- (2) 开始滴定 每滴加一次滴定剂，平衡后测量电动势。

滴定类型	电极系统	
	指示电极	参比电极
酸碱滴定（水溶液中）	玻璃电极或锑电极	饱和甘汞电极
氧化还原滴定	铂电极	饱和甘汞电极
银量法	银电极	饱和甘汞电极（双盐桥型）
EDTA 配位滴定	金属基电极 离子选择性电极 Hg/Hg-EDTA	饱和甘汞电极

滴定过程的关键是确定滴定反应的化学计量点时所消耗的滴定剂的体积。首先需要快速滴定寻找化学计量点所在的大致范围。

正式滴定时，滴定突跃范围前后每次加入的滴定剂体积可以较大（5mL），突跃范围内每次滴加体积应控制在 0.1mL。

- (3) 记录 每次滴定时的滴定剂用量（V）和相应的电动势数值（E）或 pH，

作图得到滴定曲线，并将滴定曲线突跃上的拐点作为滴定终点，该点与化学计量点非常接近。

滴入的 AgNO ₃ 体积 (mL)	测量电位 E(V)	$\Delta E/\Delta V$	$\Delta^2 E/\Delta V^2$
24.00	0.174		
		0.09	
24.10	0.183		0.2
		0.11	
24.20	0.194		2.8
		0.39	
24.30	0.233		4.4
		0.83	
24.40	0.316		-5.9
		0.24	
24.50	0.340		-1.3
		0.11	
24.60	0.351		-0.4
		0.07	
24.70	0.358		

e.g 表 1-7——理解数据处理方法.....

2. 电位滴定终点的确定方法

(1) E-V 曲线法：如图 (a)。拐点→V_{ep}，简单，但准确性稍差。适于滴定曲线对称的情况。

(2) $\Delta E/\Delta V$ -V 曲线法（一阶微商法）：如图 (b)。 $\Delta E/\Delta V$ 近似为电位对滴定剂体积的一阶微商，由电位改变量与滴定剂体积增量之比计算之。该曲线上存在着极值点（外推）对应着 E-V 曲线中的拐点。准确，但麻烦。

(3) $\Delta^2 E/\Delta V^2$ - V 曲线法（二阶微商法）：

$\Delta^2 E/\Delta V^2$ 表示 E-V 曲线的二阶微商，一阶微商的极值点对应于二阶微商等于零处。如图 (c)，曲线最高点与最低点的连线与横轴的交点即 V_{ep}。

$$\Delta^2 E/\Delta V^2 \text{ 值由下式计算： } \frac{\Delta^2 E}{\Delta V^2} = \frac{(\frac{\Delta E}{\Delta V})_2 - (\frac{\Delta E}{\Delta V})_1}{\Delta V}$$

例：用 0.1000mol/L AgNO₃ 标准溶液滴定含 Cl⁻ 试液，得到的原始数据如下（电位突越时的部分数据）。

滴加体积 (mL)	24.00	24.20	24.30	24.40	24.50	24.60	24.70
电位 E(V)	0.183	0.194	0.233	0.316	0.340	0.351	0.358

解：将原始数据按二级微商法处理，表中的一级微商和二级微商由后项减前

$$\frac{\Delta E}{\Delta V} = \frac{0.316 - 0.233}{24.40 - 24.30} = 0.83$$

项比体积差得到，例：
$$\frac{\Delta^2 E}{\Delta V^2} = \frac{0.24 - 0.88}{24.45 - 24.35} = -5.9$$

二级微商等于零时所对应的体积值应在 24.30~24.40mL 之间，准确值可以

由内插法计算出：
$$V_{\text{终点}} = 24.30 + (24.40 - 24.30) \times \frac{4.4}{4.4 + 5.9} = 24.34 \text{ mL}$$

GB9725-88 规定用二级微商算法确定滴定终点体积。

四、自动电位滴定法——以仪器代替人工

(1) 自动电位滴定终点的确定方式

- ① 滴速恒定，自动记录 E~V，按前法确定 V_{ep} ；
- ② E 与预设 E_{ep} 比较，用信号差控制滴定，到 ep 自动停止滴定，读 V_{ep} ；
- ③ 用 cmp 处 $\Delta^2 E/\Delta V^2$ 由大变小，自动停止滴定，读 V_{ep} 。

(2) 自动电位滴定仪简介——图 1-24

自动电位滴定仪型号甚多，一般分为两大类，一类是利用仪器自动控制滴定终点，另一类是利用仪器自动控制加入滴定剂，并自动记录滴定曲线。目前使用较多的国产 ZD-2（3、4）型自动电位滴定仪属于前一种类型。

ZD-2 型自动电位滴定仪器由“ZD-2 型电位滴定计”和“DZ-1 型滴定装置”两大部件组成，前者还可以单独作酸度计使用。

ZD-2 型自动电位滴定仪是根据“终点电位补偿”的原理设计的。

五、电位滴定法的特点和应用——表 1-9（读）

[巩固]

1. 以实例掌握电位滴定法原理、方法比较、仪器、数据处理和应用；
2. 实训与练习——巩固。

[布置作业]

P35, 4、7。预习第五章；实验 3：使用 ZD-2 型自动电位滴定仪（指导书）；自动电位滴定法测定 I⁻和 Cl⁻的含量（P43, 8p），4 组轮换。

授课日期

第十三周

教案编号

14

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第四章 气相色谱法 4-1 方法原理		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 掌握气相色谱流出曲线中关于色谱峰、保留值和分配平衡的常用术语的定义, 并理解其分析意义。 二、知识目标 1. 了解色谱法的由来、发展、分类、方法特点和应用范围。 2. 了解气固色谱和气液色谱分离原理。		
教学重点	气固色谱和气液色谱分离原理		
教学难点	气固色谱和气液色谱分离原理		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1. 色谱法的由来、发展、分类、方法特点和应用范围		45'
	2 气固色谱和气液色谱分离原理		45'
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

§4-1 方法原理

一、色谱法概述

1. 色谱法由来



俄国植物学家茨维特在 1906 年使用的装置：色谱原型图——
 色谱法是一种分离技术，试样混合物的分离过程也就是试样中各组分在称之为色谱分离柱中的两相间不断进行着的分配过程，其中的一相固定不动，称为固定相；另一相是携带试样混合物流过此固定相的流体（气体或液体），称为流动相。

当流动相中携带的混合物流经固定相时，其与固定相发生相互作用。由于混合物中各组分在性质和结构上的差异，与固定相之间产生的作用力的大小、强弱不同，随着流动相的移动，混合物在两相间经过反复多次的分配平衡，使得各组分被固定相保留的时间不同，从而按一定次序由固定相中流出。与适当的柱后检测方法结合，

实现混合物中各组分的分离与检测。

两相及两相的相对运动构成了色谱法的基础。

2. 分类——表 5-1、2、3

按流动相：液相色谱（LC）；气相色谱（GC）；超临界流体色谱（SFC）。

按固定相形状：柱色谱；平面色谱（纸色谱、薄层色谱）。

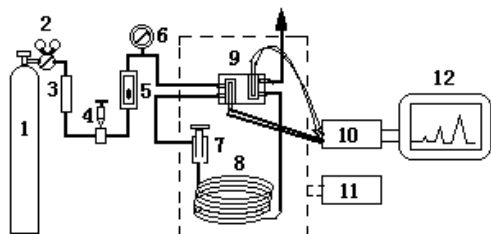
按固定相聚集态及利用原理：见下表——

3. 气相色谱法的分析流程——图示

GC 分为 GSC 和 GLC。

气相色谱的流动相为气体，即载气，其功能仅是携带试样、洗脱组分。

流动相具有可压缩性， F_c （操作条件下柱内载气的平均流速）需由 F_o （色谱柱出口处的载气流量，mL/min）校正而得。



$$F_c = F_o \cdot \frac{T_c}{T_a} \cdot \frac{P_o - P_{H_2O} \cdot j}{P_o}$$

1-载气钢瓶；2-减压阀；3-净化干燥管；

4-针形阀；5-流量计；6-压力表；7-进样器；

8-色谱柱；9-检测器；10-放大器；11-温度控制器；12-记录仪。

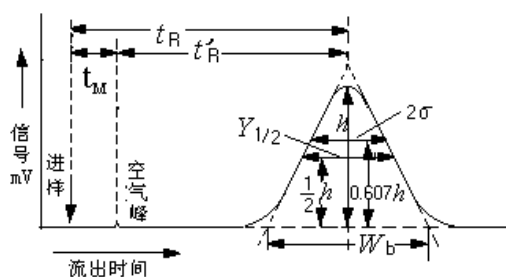
	名称	固定相	主要分离原理
C 法	液液色谱法	固定液涂渍于载体	分配作用
	键合相色谱法	化学键合相	
	液固色谱法	固体吸附剂	吸附作用
	离子交换色谱	离子交换剂	离子交换作用
	体积排除色谱	化学惰性的多孔物质	分子筛作用
C 法	气液色谱法	固定液涂渍于载体	分配作用
	键合相色谱法	化学键合相	
	气固色谱法	固体吸附剂	吸附作用

4. GC 的特点和应用范围

- (1) 分离效率高：复杂混合物，有机同系物、异构体。手性异构体。
- (2) 灵敏度高：可检出 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (10⁻⁶)级甚至 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (10⁻⁹)级的物质质量。
- (3) 分析速度快：一般在几或几十分钟内可以完成一个试样的分析。
- (4) 应用范围广：适用于沸点低于 400°C 的各种有机或无机试样及生物活性物质的分析。(分析无机物和高沸点有机物困难)
- (5) 试样用量少

不足：不能直接分析未知物，需已知纯物质对照定性.....

二、色谱流出曲线常用术语



1. 色谱图 (色谱流出曲线)

$\text{mV}\sim t(\text{V})$

2. 色谱有关名词术语

(1) 基线 当色谱柱后没有组分进入检测器时，在实验条件下，反映检测器系统电噪声随时间变化的曲线。稳定的基线是一条直线。

基线漂移：指基线随时间定向的缓慢变化。

缓慢变化。

基线噪声：指由各种因素引起的基线起伏。

(2) 色谱峰 当柱后有组分进入检测器时，反映检测器信号随时间变化的曲线。理论上是对称的。

(3) 峰高和峰面积 峰高 (h) 是指峰顶到基线的距离。峰面积 (A) 是指每个组分的流出曲线与基线间所包围的面积。峰高或峰面积的大小和每个组分在样品中的含量相关，因此是色谱定量分析的主要依据。

(4) 峰拐点

(5) 峰宽与半峰宽 衡量色谱峰区域宽度的参数有：

① 标准偏差 (σ)：即 0.607 倍峰高处色谱峰宽度的一半。

② 半峰宽 ($W_{1/2}$)：色谱峰高一半处的宽度， $W_{1/2}=2.354\sigma$ 。

③ 峰底宽 (W_b)：通过色谱峰两侧拐点作切线在基线上的截距， $W_b=4\sigma$ 。

(6) 保留值 是用来描述各组分色谱峰在色谱图中的位置，在一定实验条件下，组分的保留值具有特征性，是色谱定性的参数。保留值通常用时间或用将组分带出色谱柱所需载气的体积来表示。

① 时间表示的保留值

死时间 (t_M)：不与固定相作用的气体 (如空气) 从进样到出峰最大值所需时间，即流动相流经色谱柱的平均时间。反映色谱柱中未被固定相填充的柱内死体积和检测器死体积的大小，与被测组分的性质无关。

保留时间 (t_R)：组分从进样到柱后出现浓度极大值时所需的时间，即组分谱带通过色谱柱的平均时间。反映峰位。

调整保留时间 (t_R')： $t_R' = t_R - t_M$ ，即组分在固定相上的平均滞留时间。反映被分析组分与色谱柱中固定相发生相互作用，而在色谱柱中滞留的时间，它更确切地表达了被分析组分的保留特性，是色谱定性的基本参数。

② 用体积表示的保留值 保留时间受载气流速的影响，为此，保留值也可以用从进样开始到出现峰 (空气或甲烷峰，组分峰) 极大值所流过的载气体积来表示——

死体积 (VM): $VM = t_M \times F_c$; 保留体积 (VR): $VR = t_R \times F_c$; 调整保留体积 (VR'): $VR' = VR - VM = t_R' \times F_c$ 。

③ 相对保留值 r_{is} 在相同操作条件下, 组分 i 与参比组分 s 调整保留值之比: $r_{is} = t_{Ri}' / t_{Rs}' = VR_i' / VR_s'$ 。 r_{is} 只与柱温和固定相性质有关, 与其他色谱操作条件无关, 表示了固定相对这两种组分的选择性。

④ 分离(选择性)因子 α 相同条件下, 两相邻组分调整保留值之比: $\alpha = t_{R'}(2) / t_{R'}(1) = VR'(2) / VR'(1)$ 。

α 数值的大小反映了色谱柱对难分离物质对的分离选择性, α 愈大, 相邻两组分色谱峰相距愈远, 色谱柱的分离选择性愈高。当 α 接近 1 或等于 1 时, 说明相邻两组分色谱峰重叠未能分开。(∴ $\alpha \geq 1$)

(7) 相比率 $\beta = V_{\text{气}} / V_{\text{固}}$, 反映柱型特点。

(8) 分配系数和容量因子

分配系数 K: 平衡时, 组分在固定相 S 与流动相 m 间的浓度比。 $K = C_s / C_m$, 反映了组分与两相间相互作用的大小。 K 大则滞留时间长。

容量因子(分配比、容量比) k: 平衡时, 组分在固定相 S 与流动相 m 中总的质量比。

$k = (C_s V_s) / (C_m V_m) = K V_s / V_m = t_R' / t_M = K / \beta$, k 大, 滞留时间长。

三、色谱分离原理

1. 气固色谱法

吸附剂 → 反复吸附、脱附作用 → 易吸附组分后出峰。

2. 气液色谱法

固定液 → 反复溶解、挥发作用 → 易溶解组分后出峰。

总之, K 差大, 分离远; K 小的组分先出峰。

[巩固]

1. 熟悉色谱法基本知识和名词术语——P213, 练习。

2. 用参观展览的比喻来理解色谱法的分离原理。

[布置作业]

P213, 12。预习§4-2 (上)。

授课日期

第十四周

教案编号

15

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第四章 气相色谱法 4-2 气相色谱仪		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 初步掌握典型气相色谱仪使用 TCD 和 FID 的操作方法与日常维护保养。 2. 了解记录系统或色谱工作站的使用方法。 二、知识目标 1. 了解气相色谱检测器的种类和性能指标, 掌握 TCD 和 FID 的检测原理、基本构造、特点、工作条件和日常维护保养。 2. 掌握温控系统的作用, 了解程序升温方法。 3. 了解记录系统或色谱工作站的作用和使用。		
教学重点	温控系统的作用, 了解程序升温方法		
教学难点	TCD 和 FID 的检测原理、基本构造、特点、工作条件		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1.TCD 和 FID 的检测原理、基本构造、特点、工作条件		45'
	2 系统或色谱工作站的作用和使用		45'
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

§4-2 气相色谱仪

五、检测系统——色谱仪的眼睛

1. 作用和组成 检测器和检测室。

将经色谱分离的组分的物质信号转化为易于测量的电信号。

2. 检测器的类型和性能指标

(1) Det 类型 积分型和微分型。

微分型反映组分随时间瞬间量的变化信息，又分为：

① 浓度敏感型检测器：测量的是载气中通过检测器组分浓度瞬间的变化，检测信号值与组分的浓度成正比。

② 质（流）量敏感型检测器：测量的是载气中某组分进入检测器的速度变化，即检测信号值与单位时间内进入检测器组分的质量成正比。

(2) Det 性能指标——评价

① 噪声和漂移——基线？前图示

噪声 (N)：由于各种因素引起的基线波动， $\pm (0.01-0.05) \text{ mV}$ 。

基线漂移 (M 或 S)：基线随时间定向的缓慢变化， $<0.05 \text{ mV/h}$ 。小好

② 线性与线性范围

线性： $c \sim R$ 正比关系。线性范围：检测器的检测信号与被测物质的量呈线性关系的范围。检测器在线性工作时，被测物质的最大浓度（或质量）与最低浓度（或质量）之比。宽好

③ 灵敏度（响应值）S

通过检测器的物质量变化 Q 时，响应信号 R 的变化率， $S = \Delta R / \Delta Q$ 。S 值越大，检测器（也即色谱仪）的灵敏度也就越高。

计算公式与检测器类型有关，说明公式中各符号的意义。

$$\text{浓度型: } S_g = \frac{AC_1 C_2 F_c}{m} ; \text{质量型: } S_t = \frac{60AC_1 C_2}{m}, \text{与 } F_c \text{ 无关。}$$

④ 检测限 D 和最小进样量

从图中可看出，如果要把信号从本底噪声中识别出来，则组分的响应值就一定要高于 N。

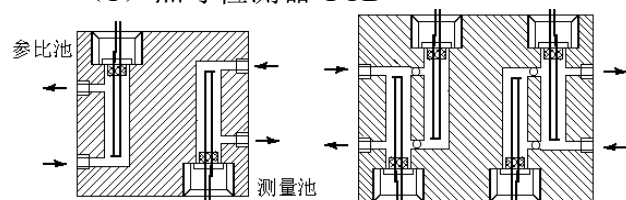
检测限：随单位体积的载气或在单位时间内进入检测器的组分所产生的信号等于基线噪声两倍时的量， $D = 2N/S$ 。S \uparrow ，D \downarrow ，好。例——实验测定。

最小进样量：产生两倍噪声信号时的进样量。

⑤ 响应时间（速度）和使用温度 组分输出达 63% 时，小好。

3. GC 常用检测器——表 5-6 读

(1) 热导检测器 TCD



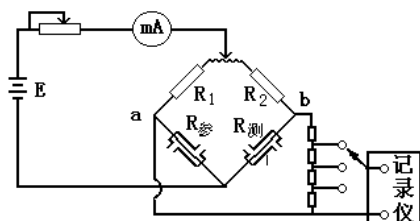
① 结构 图示，池体：一般用 SS、Cu 制成，双或四个对称孔道。气路形式， μ -TCD。热敏元件：电阻率高、电阻温度系数大、且价廉易加工的钨丝 (Re-W) 制成。

成。

参考臂：仅允许纯载气通过，通常连接在进样装置之前。

测量臂：需要携带被分离组分的载气流过，则连接在紧靠近分离柱出口处。

② 检测原理 平衡电桥，图示。



不同的气体有不同的热导系数；惠斯通电桥测量热丝阻值变化。

钨丝通电，加热与散热达到平衡后，两臂电阻值： $R_{参}=R_{测}$ ， $R_1=R_2$ 。则： $R_{参} \cdot R_2=R_{测} \cdot R_1$ ，无电压信号输出，记录仪走直线（基线）。

进样后，载气携带试样组分流过测量臂，而这时参考臂流过的仍是纯载气，使测量臂的温度改变，引起电阻的变化，测量臂和参考臂的电阻值不等，产生电阻差。 $R_{参} \neq R_{测}$ ，则： $R_{参} \cdot R_2 \neq R_{测} \cdot R_1$ 。这时电桥失去平衡，a、b 两端存在着电位差，有电压信号输出。信号与组分浓度相关。记录仪记录下组分浓度随时间变化的峰状图形。理解和实训……

③ 影响 TCD 灵敏度的因素(检测条件的选择)——热丝固定

◇载气种类（纯度、流量）：载气与试样的热导系数相差越大，在检测器两臂中产生的温差和电阻差也就越大，检测灵敏度越高。载气的热导系数大，传热好，通过的桥路电流也可适当加大，则检测灵敏度进一步提高。 H_2 最好， He 也具有较大的热导系数，但价格较高。表上某些气体与蒸气的热导系数(λ)，单位： $J/cm \cdot ^\circ C \cdot s$ 。（5N 纯； F_c 恒定、低）

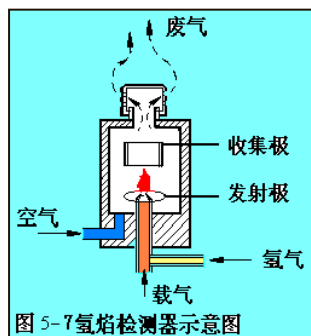
◇桥路电流 I ： $I \uparrow$ ，钨丝的温度 \uparrow ，钨丝与池体之间的温差 \uparrow ，有利于热传导，检测器灵敏度提高。 $S \propto I^3$ ，但稳定性下降，基线不稳。桥电流太高时，还可能造成钨丝烧坏。尽可能低

◇池体（Det）温度：池体温度与钨丝温度相差越大，越有利于热传导，检测器的灵敏度也就越高。但池体温度不能低于分离柱温度，以防止试样组分在检测器中冷凝。

④ TCD 特点 通用，浓度，非破坏型。

⑤ 应用 最广。控制分析与实例。

⑥ 维护 使用注意事项——先通气(0.5h)，后通电；关机时，降温至 $<100^\circ C$ ，先关电，后关气。专业人员清洗……读。



(2) 氢火焰离子化检测器 FID 简介

① 结构 图示，离子室——

在发射（极化）极和收集极之间加有一定的直流电压（150~300V）构成一个外加电场。

氢火焰检测器需要用到三种气体： N_2 为载气，携带试样组分； H_2 为燃气；空气为助燃气。使用时需要调整三者的比例关系，点火形成氢火焰，使检测器灵敏度达到最佳。

② 工作原理

化学电离产生的正离子和电子在外加恒定直流电场的的作用下分别向两极定向运动而产生微电流（约 $10^{-6} \sim 10^{-14} A$ ）。在一定范围内，微电流的大小与进入离子室的被测组分质量成正比，所以 FID 是质量型检测器。

③ 影响 FID 灵敏度的因素

各种气体流速和配比的选择： N_2 流速的选择主要考虑分离效能，低好， $N_2 : H_2 = 1 : 1 \sim 1 : 1.5$ ， $H_2 : Air = 1 : 10$ 。极化电压：正常选择在 150~300V 范围内。温度 $>120^\circ C$ 。电极形状（圆筒状收集极）和距离（5~7mm）等。

④ FID 特点 典型的质量型检测器，破坏型，专用。

对有机化合物具有很高的灵敏度，无机气体、水、四氯化碳等含氢少或不含氢的物质灵敏度低或不响应。结构简单、稳定性好、灵敏度高、响应迅速。比 TCD 的灵敏度高出近 3 个数量级，检测下限达 $10^{-12} g \cdot s^{-1}$ 。

⑤ 日常维护和应用——读

(3) 电子俘获检测器 ECD 浓度型，高选择性，仅对含有卤素、磷、硫、氧等元素的化合物有很高的灵敏度，检测下限 10-14g/mL，对大多数烃类没有响应。较多应用于农副产品、食品及环境中农药残留量的测定。

(4) 火焰光度检测器 FPD 高灵敏度、高选择性检测器，只对硫、磷化合物有信号。

六、数据处理系统和温度控制系统

1. 数据处理（记录）系统

老式记录仪是电子电位差计，记录直流电信号，满量程通常为 5mV 或 10mV，TCD 选用 0~5mV。由于 FID 输出电信号经放大器放大，选用 0~10mV。纸速太慢会增加峰面积的误差；太快则造成纸张浪费。

随着电子技术发展，记录器已逐渐改用色谱数据处理机和色谱工作站。记录色谱图，并能在同一张记录纸上打印出处理后的结果。

2. 温度控制系统

温度控制系统控制和测量色谱柱、检测器、气化室温度，是气相色谱仪的重要组成部分。温度影响柱的选择性和分离效率，影响检测器的灵敏度和稳定性。因此色谱柱、检测器、气化室三处都要进行温度控制（只是后二者温控要求不是非常严格）。三者最好分别恒温。采用可控硅连续式恒温控制电路，控温方式安全、可靠、精度高、调节操作简便。恒温箱温度可以用水银温度计或热电偶测量，通过测温毫伏计指示出柱的温度（已改用数字显示式温度指示装置）。

分析沸点范围很宽的混合物时，用等温分析的方法就难以完成分离的任务，此时要采用程序升温方法。在一个分析周期里，色谱柱的温度连续地随分析时间增加，从低温升至高温。多数采用电子程序升温装置。

[巩固]

掌握结构，理解原理，实际应用；实训掌握使用方法。

[布置作业]

P241，18、补。预习§5-3、4；实验 5-气相色谱仪的气路连接、安装和检漏（4p）、实验 6-热导检测器的使用（4p），二组轮换。

§4-3 气相色谱基本理论

一、塔板理论——1941年, Martin, James。半经验, 比拟为蒸馏塔

1. 基本假设

(1) 从统计的观点, 组分在两相的分配平衡可在一小段色谱柱内形成, 即一个理论塔板, 高为 H 。

(2) 长为 L 的色谱柱由一系列塔板顺序排列组成, 柱内各处板高为常数, 柱内有 $n=L/H$ 个塔板。

(3) 组分的分配系数在确定温度下为常数。

2. 柱分离效能指标

柱效能是色谱柱在色谱分离过程中只由动力学因素所决定的分离效能, 通常用理论板数 n 、理论板高 H 、或有效板高 n_{eff} 表示 (计算式见书)。

对 L 一定的色谱柱, 板高越小, 塔板数越多, 柱效能越高。

二、速率理论

由于柱内很难真正达到平衡, 随组分在柱内的迁移, 组分谱带宽度会逐渐增加, 称为谱带扩张, 程度用 H 表示。

塔板理论无法解释同一色谱柱在不同的载气流速下柱效不同的实验结果, 也无法指出影响柱效的因素及提高柱效的途径。速率理论为色谱分离和操作条件的选择提供了理论指导, 阐明了流速和柱温对柱效及分离的影响, 指导毛细管色谱和 HPLC 的发展。

1. 影响谱带扩张的因素

(1) 扩散 分子 (纵向) 扩散 (浓度梯度造成); 涡流扩散 (路径差别引起, 只在填充柱中存在); 流型 (径向) 扩散 (空心柱中流动相的流动呈抛物线分布, 填充柱中也存在)。

(2) 传质阻力 组分在流动相和固定相间分配必然有分子在两相间交换、扩散的过程, 称为传质。组分在两相间分配不能瞬时完成, 妨碍组分快速传递以达成平衡, 导致有限传质速率叫传质阻力。

① 流动相传质阻力: 组分分子由流动相内部到两相界面的扩散过程中。

② 固定相传质阻力: 组分分子由两相界面到固定相内部进行分配又返回两相界面的过程中。

③ 停滞流动相传质阻力: 部分流动相停滞在固定相颗粒间, 组分分子在两相间传递时通过这部分流动相时造成。

2. 速率理论方程式简介

将造成谱带扩张的动力学因素联系起来建立偏微分方程, 解出速率理论方程, 以板高 H 和流动相线速率 U 关系式来表达。

Van Deemter 方程: $H = A + B/U + C \cdot U$ 。1956, 适用于填充柱气液色谱, 各符号意义见书。

§4-4 实验技术 (上)

一、样品的采集与制备——阅读

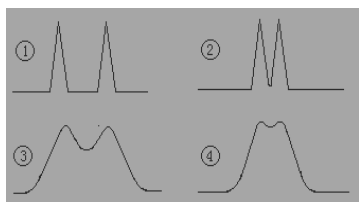
了解气相色谱法常用、现代样品采集与制备方法、规定及注意事项。

二、色谱柱的总分离效能指标——分离度

塔板理论和速率理论都难以描述难分离物质对的实际分离程度, 即柱效为多大时, 相邻两组分能够被完全分离。

难分离物质对的分离度大小受色谱过程中两种因素的综合影响:

(1) 保留值之差——色谱过程的热力学因素;



(2) 区域宽度 W ——色谱过程的动力学因素。

色谱分离中的四种情况如图所示：

- ① 柱效较高， ΔK 较大，完全分离；
- ② ΔK 不是很大，柱效较高，峰较窄，基本上完全分离；
- ③ 柱效较低， ΔK 较大，但分离的不好；
- ④ ΔK 小，柱效低，分离效果更差。

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_{b1} + W_{b2}} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{1.699(W_{\frac{1}{2}}^{(1)} + W_{\frac{1}{2}}^{(2)})}$$

分离度的定义：

$R=0.8$ ：两峰的分离程度可达 89%； $R=1$ ：分离程度 98%； $R=1.5$ ：达 99.7%，相邻两峰完全分离的标准，基线分离。

注意：对分离度的讨论要求相邻两色谱峰基本对称。阅读理解.....

[巩固与思考]

色谱理论及分配参数 n 、 H 、 R 的定义及对色谱分离的指导意义。

授课日期

第十五周

教案编号

17

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第四章 气相色谱法 § 4-4 气相色谱分离操作条件的选择		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能进行气相色谱分离条件的选择、优化和验证。 二、知识目标 1. 了解气相色谱分离条件(载气及流速、色谱柱、固定相、柱温、汽化室温度、检测器温度、进样量、进样技术等) 对分离度的影响和一般选择方法。		
教学重点	了解气相色谱分离条件		
教学难点	了解气相色谱分离条件(载气及流速、色谱柱、固定相、柱温、汽化室温度、检测器温度、进样量、进样技术等) 对分离度的影响和一般选择方法		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1.定气相色谱分离条件的选择	45'	
	2.优化和验证	45'	
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记	。		

§4-4-1 气相色谱分离操作条件的选择

三、分离操作条件的选择

原则：在保证难分离物质对有适当分离度的前提下，使分析时间尽可能短。

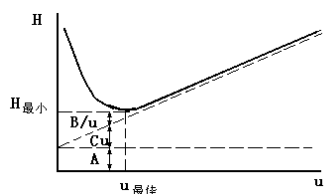
1. 载气种类及其流速的选择

(1) 载气种类——考虑载气对柱效的影响、检测器要求及载气性质。

由 $H=A+B/U+CU$ 得： u 小， B 项起主要作用，载气 M 大，可抑制试样的纵向扩散，提高柱效。 u 较大时， C 项起主要作用，采用较小 M 的载气（如 H_2 ， He ），可减小传质阻力，提高柱效。

TCD 需要使用热导系数较大的 H_2 有利于提高检测灵敏度。FID， N_2 首选。还应综合考虑载气的安全性、经济性及其来源是否广泛等因素。

(2) 载气流速



$H=A+B/U+C\cdot U$ ，可见 A 与 U 无关；流速对 B 、 C 两项有完全相反的作用，流速对柱效的总影响使得存在一个最佳流速，即速率方程式中 H 对 u 的一阶导数有一极小值。以 H 对应 u 作图，曲线最低点的流速即为最佳流速。

作 $H-u$ 图求出最佳流速 u_{opt} 。实际流速通常稍大于 u_{opt} ，以缩短分析时间，一般在 $20\sim 100\text{mL/min}$ 。

2. 色谱柱和固定相的选择

GC 中由于组分分子与载气间无相互作用，实现分离的关键是固定相。

(1) GSC——固体固定相（主要是具有表面吸附性的固体吸附剂）

① 种类 活性炭；活性氧化铝（有较大极性，适用于常温下 O_2 、 N_2 、 CO 、 CH_4 、 C_2H_6 、 C_2H_4 等气体的相互分离， CO_2 能被活性氧化铝强烈吸附而不能用于这种固定相进行分析）；硅胶（与活性氧化铝大致相同的分离性能，除能分析上述物质外，还能分析 CO_2 、 N_2O 、 NO 、 NO_2 等，而且能够分离臭氧）；分子筛（碱及碱土金属的硅铝酸盐（沸石），多孔性。除了广泛用于 H_2 、 O_2 、 N_2 、 CH_4 、 CO 等的分离外，还能够测定 He 、 Ne 、 Ar 、 NO 、 N_2O 等）。

② 特点 性能与制备和活化条件有很大关系；同一种固定相，不同厂家或不同活化条件，分离效果差异较大；种类有限，能分离的对象不多。表 6-8

(2) GLC——液体固定相=载体+固定液

① 固定液 涂渍在载体表面起分离作用的物质，在操作温度下不易挥发，高 $b.p$ 的有机化合物，种类繁多。

要求： P_{263} ，应对被分离试样中的各组分具有不同的溶解能力，较好的热稳定性，并且不与被分离组分发生不可逆的化学反应；最高最低使用温度（高于最高使用温度易分解、流失，温度低呈固体）。

分类方法：如按化学结构、极性、应用等分类。固定液的极性与固定液本身的化学组成有关，但与化学极性不同，是固定液与组分分子之间相互作用程度总的指标。可用保留指数 I 描述固定液的极性。读表 6-9、10。

选择：基本原则是“相似相溶”，选择与试样性质相近的固定相……混合固定相（对于复杂的难分离组分通常采用特殊固定液或将两种甚至两种以上配合使用）。

固定液用量：固定液在担体上的涂渍量即液相载荷量，一般指的是固定液与固定相的质量百分比。液载比低，担体上形成的液膜薄，传质阻力小，柱效高，分析速度也快。液载比过低时，固定相的负载量低，允许的进样量较小，载体上

的活性位可能暴露造成拖尾峰。分析工作中通常倾向于使用较低的配比。一般液载比控制在 10% 以内。

② 载体（担体） 负载固定液的化学惰性的多孔性固体颗粒，具有较大的比表面积。

要求：比表面积大，孔径分布均匀；化学惰性，表面无吸附性或吸附性很弱，与被分离组分不起反应；具有较高的热稳定性和机械强度，不易破碎；颗粒大小均匀、适度。一般常用 60~80 目、80~100 目。

种类：硅藻土（红色担体：孔径较小，表孔密集，比表面积较大，机械强度高，适宜分离非极性或弱极性组分的试样，缺点是表面存有活性吸附中心点。白色担体：煅烧前原料中加入了少量助溶剂（碳酸钠），颗粒疏松，孔径较大，表面积较小，机械强度较差，但吸附性显著减小，适宜分离极性组分的试样）；玻璃微球；氟担体。

预处理：硅藻土型载体表面有硅醇（-Si-OH）和硅醚（-Si-O-Si-）基团，并有少量金属氧化物和 Al_2O_3 酸性作用点及 Fe_2O_3 碱性作用点，会引起对组分的吸附造成色谱峰的拖尾，因此使用前需要经过处理。常用的处理方法有酸洗法（分析酸性物和酯类样品）、碱洗法（分析胺类碱性物质）、硅烷化处理、釉化处理等。

选择：表 6-11，载体粒度 dp 与 A、CgU 两相有关， dp 增大柱填充易均匀，A 减小利于柱效提高；同时却使气相传质阻力增加，柱效降低。因此 dp 一般在 0.05-0.10mm 即 60-120 目。

（3）合成固定相

① 高分子多孔微球（GDX 系列） 新型的有机合成固定相（苯乙烯与二乙烯苯共聚），既是吸附剂，又是载体，适用于水、气体及低级醇的分析。

② 化学键合固定相 固定液键合于载体表面，热稳定，快速对称峰。

（4）气-液色谱柱的制备——CAI 与实训

色谱柱分离效能的高低，不仅与选择固定液和载体有关，而且与固定液的涂渍和色谱柱的填充情况有密切关系。因此，色谱柱的制备是 GC 的重要操作技术之一。气液色谱柱的制备过程主要包括下面四个步骤：

① 色谱柱柱管的选择与清洗 色谱柱形（U）、柱内径（3~4mm）、柱长度（1~2m）都会影响柱的分离效果；柱管的试漏和清洗（酸、碱、溶剂）。

② 固定液的涂渍 选择固定液用量（5%）；要求固定液能均匀地涂敷在载体表面，形成一个牢固的液膜，其方法有静态法，或对于一些溶解性差的固定液，则需要采用回流法。

③ 色谱柱的装填 图 6-28，泵抽法（填充均匀）。

④ 色谱柱的老化 新装填好的柱不能马上用于测定，需要先进行老化处理。老化的目的是彻底除去固定相中残存的溶剂和某些易挥发性杂质，促使固定液更均匀、更牢固地涂布在载体表面上。老化方法见书。

3. 柱温的选择

（1）首先应使柱温控制在固定液的最高使用温度和最低使用温度范围之内，表 6-12。

（2）柱温一般选择在接近或略低于组分平均沸点时的温度。

柱温升高，分离度下降，色谱峰变窄变高，被测组分的挥发度 \uparrow ，即被测组分在气相中的浓度 \uparrow ， $K\downarrow$ ， $tR\downarrow$ ，低沸点组分峰易产生重叠。柱温 \downarrow ，分离度 \uparrow ，分析时间 \uparrow 。对于难分离物质对，降低柱温虽然可在一定程度内使分离得到改善，但是不可能使之完全分离，这是由于两组分的相对保留值增大的同时，两组分的

峰宽也在增加，当后者的增加速度大于前者时，两峰的重叠更为严重。

组分复杂，沸程宽的试样，采用程序升温。

4. 气化室温度的选择——实验验证峰形、峰数

气化温度一般较柱温高 30~70°C，或比组分中最高沸点高 30~50°C，防止气化温度太高造成试样分解。

5. 进样量与进样技术

进样量应控制在柱容量允许范围及检测器线性检测范围之内，一般液样为 0.1~10 μ L，FID < 1 μ L。

进样要求动作快、时间短。图 6-29，操作技术练习，达 2~5% 相对误差。

[巩固]

1. 运用色谱理论，讨论色谱分离操作条件的影响、选择方法和注意事项。
2. 不断实践，牢固掌握！

[布置作业]

P266, 6、8；预习实验 5.6.8-微量注射器的使用练习（P256 或《仪器分析实训指导书》，4P），气相色谱分离条件的选择与优化（载气流速及柱温变化对分离度的影响，P288, 4p），二组轮换。预习§5-4（下）。

授课日期

第十六周

教案编号

18

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第四章 气相色谱法 § 4-4-2 气相色谱定性定量分析		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 能运用常用的色谱定性和定量方法进行物质的分析。 二、知识目标 1. 掌握色谱定性定量的依据和常用定性定量分析方法。 2. 理解定量校正因子的意义和分类,掌握相对质量校正因子的测量方法。		
教学重点	色谱定性定量的依据和常用定性定量分析方法		
教学难点	定量校正因子的意义和分类,掌握相对质量校正因子的测量方法		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1. 色谱定性定量的依据和常用定性定量分析方法		45'
	2 定量校正因子的意义和分类,掌握相对质量校正因子的测量方法		45'
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记	气象色谱的定性分析与紫外之间的区别		

§4-4-2 气相色谱定性和定量分析

四、GC 定性分析——确定峰所代表的试样组成

依据：在一定的固定相和操作条件下，每种物质有一定的保留值或色谱数据。但应注意其特征性很有限，反之不一定成立，常作简单样品的初步定性。

1. 利用保留值（纯物质）定性——最基本方法

(1) 标样直接对照定性 通过对比试样中具有与纯物质相同保留值的色谱峰，来确定试样中是否含有该物质及在色谱图中的位置。图 6-30，对照峰位进行初步推测， t_R 受载气流速、柱温等条件影响，也可计算出 V_R 。不适用于不同仪器上获得的数据之间的对比。

(2) 利用加入法定性 将纯物质加入到试样中，观察各组分色谱峰峰高的相对变化。可克服实验条件和图形复杂的影响。

(3) 利用文献保留值（相对保留值 r_{21} ）定性 r_{21} 仅与柱温和固定液性质有关，与其它操作条件无关。在色谱手册中都列有各种物质在不同固定液上的保留数据，可用来进行定性鉴定。

2. 利用保留指数定性

(1) 保留指数 I (Kovats) 的定义

将正构烷烃作为标准，规定其保留指数为分子中碳原子个数乘以 100（如正己烷的 I 为 600）。其它物质的保留指数 (I_X) 是通过选定两个相邻的正构烷烃，其分别具有 Z 和 $Z+1$ 个碳原子。被测物质 X 的调整保留时间应在相邻两个正构烷烃的调整保留值之间，如图所示。某物质 X 的保留指数 I_X 计算式见书。

(2) 保留指数的测定和特点——例 P272

将测定出的 I_X 值与文献值对照定性。 I 的准确度很好，用同一色谱柱测定误差小于 1%，因此只要柱温和固定液相同，就可以用文献上发表的 I 定性。但在使用文献数据时，色谱实验条件要与文献一致而且要用几个已知组分验证，最好用双柱法(即在两根极性相差较大的柱子上，各自固定操作条件，都分别进样品和标准物，如果在两根柱上标准物与未知峰的保留值都各自相同，则可以确认未知峰代表的组分与标准物相同。否则，不属同一物质)确认。

3. 联机定性方法

除外，还有碳数规律法，沸点规律法，与化学反应结合定性，与红外光谱、质谱、核磁共振谱结合定性等方法，请查阅有关资料和专著。

五、GC 定量分析

依据：在一定的操作条件下，检测器的响应值与进入检测器的组分的量成正比， $m_i = f_i A_i$ (质量型 Det)， $c_i = f_i h_i$ (浓度型 Det)。

1. 峰值的测量—— A 、 h

关键是峰底（峰的起点与终点的连线，与基线重合）的确定。手工测量是基础，进一步理解自动处理方法。

(1) 对称峰 $A = 1.065 h \cdot W_{1/2}$ 相对运算时可将 1.065 略去。

(2) 不对称峰 可在峰高 0.15 和 0.85 处分别测定峰宽，由下式计算峰面积：
 $A = h \cdot (W_{0.15} + W_{0.85}) / 2$

(3) 峰高乘保留时间法 在一定操作条件下，同系物的半峰宽与保留时间成正比，对于难于测量半峰宽的窄峰、重叠峰（未完全重叠），可用此法测定峰面积： $A = h \cdot b \cdot t_R$ 。作相对计算时， b 可以约去。

(4) 自动积分仪法和微机处理法 自动积分仪可自动测出一曲线所包围的真实面积，有效数字大于 4 位，精密度好（相对偏差可达 0.2~2%）。自动积分仪

能将峰面积和保留时间的数据自动打印出来，提高了自动化程度。

(5) 以峰高表示峰面积 对一些对称的狭窄峰，可以直接以峰高代替峰面积测量，这样既简便快速，又准确。阅读理解.....

2. 定量校正因子 f 的测定

原因：峰面积的大小不仅与组分的量有关，而且还与组分的性质及检测器性能有关。用同一检测器测定同一种组分，当实验条件一定时，组分量愈大，相应的 A 愈大。但同一检测器测定相同质量的不同组分时，却由于不同组分性质不同，检测器对不同物质的响应值不同，因而产生的 A 也不同。因此不能直接应用 A 计算组分含量。为此，引入“定量校正因子”来校正 A。定量校正因子分为绝对校正因子和相对校正因子。

(1) 绝对校正因子 $f_i = m_i / A_i$ 或 $f_i(h) = m_i / h_i$

峰高定量校正因子 $f_i(h)$ 受操作条件影响较大，因而用峰高定量时，一般不直接引用文献值，必须在实际操作条件下用标准纯物质测定。显然要准确求出各组分的 f_i ，即要准确知道进入检测器的组分的量 m_i ，同时要求准确测量出 A 或 h，并要严格控制色谱操作条件恒定，这在实际工作中有一定困难。因此，实际测量中通常不采用 f_i ，而采用相对校正因子。

(2) 相对校正因子 $f_i' = f_i / f_s$

平时所指的校正因子都是相对校正因子（通常略去“相对”）。常用标准物，TCD 是苯，FID 是正庚烷。根据被测组分所用的计量单位不同， f_i' 分为相对质量校正因子，相对摩尔校正因子（指组分的量以物质的量 n 表示）和相对体积校正因子（气体样品以体积计量）。

相对质量校正因子：组分的量以质量表示时的相对校正因子，用 f_m' 表示，最常用。

$$f_m' = \frac{f_{i(m)}}{f_{s(m)}} = \frac{m_i / A_i}{m_s / A_s} = \frac{A_s \cdot m_i}{A_i \cdot m_s}$$

式中下标 i、s 分别代表被测物和标准物。

若将各式中的峰面积 A 用峰高 h 表示，则可以得三种峰高相对校正因子，

即： $f_{m(h)}'$ 、 $f_{M(h)}'$ 、 $f_{V(h)}'$ 。

(3) 校正因子的测定方法

相对校正因子数值可以从文献上查得，但实际工作中一般都是自行测得。测定时最好使用色谱纯试剂。测定时准确称取一定量的待测组分的纯物质 (m_i) 和一定量的标准物质 (m_s)，混匀后，在实验条件下进样分析，出峰后分别测量 A_i 、 A_s (或 h_i 、 h_s)，然后代入相应关系式求出。

(4) 相对响应值 S'

相对响应值是物质 i 与标准物质 S 的响应值（灵敏度）之比。单位相同时，与校正因子互为倒数，即： $S' = 1/f'$ 。

f' 和 S' 只与试样、标准物质以及检测器类型有关，而与操作条件和柱温、载气流速、固定液性质等无关，是一个通用常数，可查附 5、6。

3. 定量分析方法——按分析目的、要求和样品情况选择

(1) 归一化法

① 原理 以样品中被测组分经校正过的峰面积（或峰高）占样品中各组分经校正过的峰面积（或峰高）之和的比例来表示样品中各组分的含量。

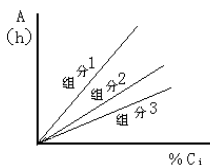
$$w_i = \frac{m_i}{m} = \frac{m_i}{m_1 + m_2 + \dots + m_n} = \frac{f'_i \cdot A_i}{f'_1 \cdot A_1 + f'_2 \cdot A_2 + \dots + f'_n \cdot A_n} = \frac{f'_i A_i}{\sum f'_i A_i} \quad (5-28)$$

式中各组分的校正因子均采用相对质量校正因子。

若试样中组分是同分异构体或同系物，各组分 f' 值很接近，可以不用校正因子，简化为面积直接归一化。

② 特点及要求 简便、准确；进样量的准确性和操作条件的变动对测定结果影响不大；仅适用于试样中所有组分全出峰的情况。

(2) 外标法（标准曲线法，直接比较法）



如果试样中待测组分的含量变化不大，例如生产过程控制分析，可采用单点校正法，而不必作标准曲线，即：

特点及要求：不使用校正因子，适用于大批量试样的快速分析；操作条件变化对结果准确性影响较大；对进样量的准确性控制要求较高。

性控制要求较高。

(3) 内标法

① 原理 若试样中所有组分不能全部出峰，或只要求测定试样中某个或某几个组分时，将一定量选定的标准物（称内标物 S）加入到一定量试样中，混匀后，在一定操作条件下注入色谱仪，出峰后分别测量组分 i 和内标物 S 的峰面积（或峰高），按下式计算组分 i 的含量。常以内标物为基准，即 $f'_S = 1.0$ 。

$$w_i = \frac{m_i}{m_{\text{试样}}} = \frac{m_s \cdot \frac{f'_i \cdot A_i}{f'_s \cdot A_s}}{m_{\text{试样}}} = \frac{m_s}{m_{\text{试样}}} \cdot \frac{A_i}{A_s} \cdot \frac{f'_i}{f'_s} \rightarrow w_i = f'_i \frac{m_s \cdot A_i}{m_{\text{试样}} \cdot A_s}$$

② 特点及要求 内标法的关键是选择合适的内标物（要求 P278）。

准确性较高，操作条件和进样量的稍许变动对定量结果的影响不大；每个试样的分析，都要进行两次称量，不适合大批量试样的快速分析。

[巩固]

1. 掌握 GC 定性、定量分析依据和主要方法。
2. 讨论方法特点和使用范围。

[布置作业]

P266, 11、12、16。预习第四章 AAS；实验 5.6.2-丁醇异构体混合物的 GC 分析（P273，归一化法，4p）；实验 5.6.3-甲苯试剂的气相色谱分析（P237，FID 使用；P277，内标法，色谱工作站使用，共 6~8p），二组轮换。

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第五章 高效液相色谱法 § 5-1 高效液相色谱的主要类型及选择 § 5-2 高效液相色谱仪		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	<p>一、能力(技能)目标</p> <p>1. 能指出高效液相色谱法与经典液相色谱法和气相色谱法的异同点;</p> <p>2. 能选择吸附色谱法、正相与反相分配色谱法、正相与反相键合相色谱法、凝胶色谱法等进行实际样品的分析</p> <p>二、知识目标</p> <p>1. 了解高效液相色谱法与经典液相色谱法和气相色谱法的异同;</p> <p>2. 了解 HPLC 的基本方法——吸附色谱法、正相与反相分配色谱法、正相与反相键合相色谱法、凝胶色谱法的分离原理及两相选择。</p>		
教学重点	高效液相色谱法与经典液相色谱法和气相色谱法的异同		
教学难点	HPLC 的基本方法——吸附色谱法、正相与反相分配色谱法、正相与反相键合相色谱法、凝胶色谱法的分离原理及两相选择。		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1. 高效液相色谱的主要类型及选择	45'	
	2. 高效液相色谱仪	45'	
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

第五章 高效液相色谱法 (HPLC)

概述

据统计,在已知的有机化合物中,能用 GC 分析的约占 20%,而用 HPLC 分析的达到 70~80% (高沸点化合物、非挥发性物质、热不稳定物、离子型化合物及高聚物、生物大分子、不稳定的天然产物等)。1967 出现 HPLC 仪。

一、HPLC 与经典液相色谱法的比较——表 6-1 说明

经典:柱效低

高效:高压、高效、高速;高沸点、热不稳定有机及生化试样的高效分离分析方法。

二、HPLC 与 GC 的比较——表 6-2 说明

GC: (1) 样品需先气化,对挥发性差的物质要求高气化温度和高柱温,给设备带来困难。

(2) 高分子化合物、热稳定性差的化合物和生化样品在气化中分解、失活。

(3) GC 中流动相分子与分离物质分子间作用小,改变流动相无法提高选择性。

HPLC: (1) 一般在室温下操作,试样只需在流动相中有一定溶解度。

(2) 不受样品挥发性和热稳定性限制。适于分离沸点高、极性、热稳定性差的化合物。

(3) 可通过改变流动相和固定相来提高选择性。

HPLC 与 GC 相似,但仍各有特点,应根据不同的分离对象适当选用。在实际应用中,凡能用 GC 分析的样品,一般不用 LC,这是因为 GC 更快,更灵敏、更方便,并且分析成本低。

§5-1 高效液相色谱的主要类型及选择

广义:薄层、纸色谱;狭义:柱色谱,再按分离机理分...

高效液相色谱法的分离类型

分离类型		分离对象			用途
		相对分子量	极性	溶解性	
吸附色谱法		102 至 5×10 ³	非极性 或弱极性	溶于非极性溶剂,在水中溶解度很差	异构体
分配 色谱 法	正相液相 色谱法		极性较 强	溶于烃类、氯仿等有机溶剂,在水中溶解度很差	同系物
	反相液相 色谱法		极性范 围广	溶于极性溶剂(水、醇),但不离解	
离子交换色谱法				离子型	溶于水且能离解,或不溶于水,但溶于 HCl 或 NaOH 溶液
体积 排除 色谱 法	凝胶渗透 色谱法	10 ³ 至 10 ⁶	非离子 型	溶于低极性的有机溶剂	合成高聚物
	凝胶过滤 色谱法			溶于水	天然高分子

一、液-固吸附色谱

1. 分离原理——类似 GSC

液-固吸附色谱是基于各组分吸附能力的差异进行混合物分离的。样品在硅胶色谱柱中的保留作用受两个因素控制：

(1) 样品分子和流动相分子对硅胶表面羟基的竞争吸附，即流动相极性大，硅胶间相互作用强，则溶质吸附越弱，保留值小。

(2) 流动相对样品的溶解能力，若流动相对组分有较大溶解度，则组分的保留时间短。

在吸附色谱中决定样品分子吸附作用的首要因素是样品分子的官能团，官能团极性增加或极性官能团增多，样品与硅胶的吸附作用增强。

因此吸附色谱法对同系物的选择性小而利于族分离。

2. 固定相——表 6-3

不同极性的固体吸附剂，如硅胶、氧化铝等。较常使用的是 5~10 μ m 的硅胶吸附剂。

3. 流动相（洗脱液）——可以是各种不同极性的一元或多元溶剂。

(1) 溶剂的极性：指溶剂分子与溶质分子之间总的相互作用力。

(2) 溶剂的强度：指溶剂洗脱色谱柱内组分的能力。

溶剂强度参数 ϵ_0 ：以溶剂为流动相在选定的吸附剂上的洗脱能力大小，相当于每一单位面积吸附剂表面上溶剂的吸附能。

(3) 洗脱序列： ϵ_0 越大，洗脱能力越强。表 6-4：

溶剂	己烷	氯仿	乙酸乙酯	甲醇	水	乙酸
溶剂强度 ϵ_0	0.00	0.26	0.38	0.73	大于 0.73	大于 0.73

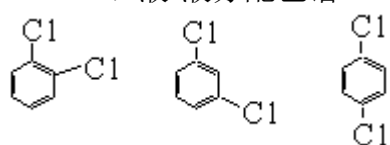
(4) 梯度洗脱：采用二元或多元组合溶剂作为流动相可以灵活调节流动相的极性 or 增加选择性，以改进分离或调整出峰时间。适于组分复杂的样品，分离过程中逐渐增加 ϵ_0 值。

(5) 选择要求：P297，6 点和基本原则。

4. 应用——极性不同的化合物，异构体

如：二氯代苯的保留时间由大到小为.....

二、液-液分配色谱



1. 分离原理

分配定律：利用混合物中各组分在固定相和流动相中溶解度的差异进行分离。流动相为与固定液不相溶的液体，与液液萃取相似。

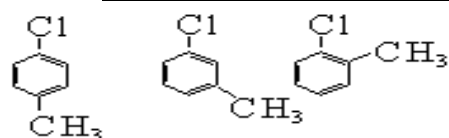
在液-液分配色谱中，通常为了避免固定液的流失，分为

(1) 正相液相色谱法 (NPLC)：固定相极性较流动相强。适于极性组分的分离。

(2) 反相液相色谱法 (RPLC)：固定相极性较流动相弱。适于非极性组分的分离。

色谱操作	正相色谱	反相色谱
固定相	极性	非（弱）极性
流动相	非（弱）极性	极性
流出次序	极性组分 k' 大	极性组分 k' 小
流动相极性影响	极性增加， k' 减小	极性增加， k' 增大

溶剂洗脱顺序	与洗脱强度顺序一致	与洗脱强度顺序相反
--------	-----------	-----------



正相液相色谱 k' : 大 \longrightarrow 小
反相液相色谱 k' : 小 \longrightarrow 大
己烷 甲醇 乙酸
正相色谱洗脱顺序: 小 \longrightarrow 大
反相色谱洗脱顺序: 大 \longrightarrow 小

2. 固定相

在载体上涂渍一层固定液 (表 6-5) 构成, 涂渍方法类似 GLC。

防止固定液流失方法: P299。

3. 流动相——尽可能不与固定液互溶。

正相用己烷、庚烷+20%改性剂, 反相用水+改性剂。

4. 应用——极性、非极性化合物。

三、键合相色谱法

特点: 稳定, 不易流失, 适用样品广, 逐渐取代分配色谱法。

1. 分离原理

与分配色谱法不同。正相为分配机理, 反相为疏溶剂作用 (图 6-2)。

(1) 正相键合相色谱法 适于油溶性或水溶性的极性、强极性组分分离。

(2) 反相键合相色谱法 适于非极性、极性或离子型组分分离。比正相的应用广, 完成 70~80%的分析任务。

2. 固定相——以全多孔或薄壳型微粒硅胶为基体

分非极性、弱极性和极性三类, 表 6-6。C18 反相键合相 (ODS) 最广。

3. 流动相——类似 LSC、LLC。

一般用甲醇-水体系。也用乙醇、丙醇、二氯甲烷等, 或二 (三、四) 元混合溶剂。

4. 应用——正相用于极性 (药物), 反相通用、简单、稳定、重现, P301。

四、凝胶色谱法 (分子排阻色谱、体积排除色谱法 SEC)

体积排除色谱法是用化学惰性的多孔物质为固定相, 试样组分按分子体积 (尺寸大小) 分离的液相色谱法。根据所用的流动相不同分为:

(1) 凝胶渗透色谱法 (GPC): 以有机溶剂 (四氢呋喃) 作流动相, 多用于高分子领域, 测定聚合物分子量分布或跟踪聚合物合成、降解反应。

(2) 凝胶过滤色谱法 (GFC): 以水或水溶液为流动相, 多用于生化领域分离天然高分子。

凝胶色谱的固定相凝胶是一种多孔性的聚合材料, 有一定形状和稳定性。当被分离的混合物随流动相通过凝胶色谱柱时, 尺寸大的组分不发生渗透作用, 沿凝胶颗粒间孔隙随流动相流动, 流程短, 流动速度快, 先流出色谱柱。尺寸小的组分则渗入凝胶颗粒内, 流程长, 流动速度慢, 后流出色谱柱。

[巩固]

1. 熟悉 HPLC 的特点, 与 GC 的区别。

2. 理解 HPLC 四类方法 (尤其是键合相色谱) 的分离原理、固定相、流动

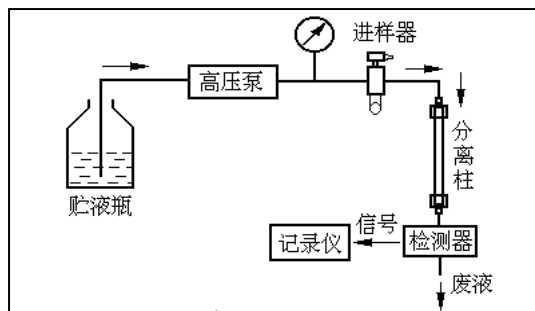
相和应用。

[布置作业]

P303, 1、4。预习§6-2。

§5-2 高效液相色谱仪

使用高压输液泵、全多孔微粒填充柱和高灵敏度检测器，实现高速、高效和高灵敏度，高智能化水平和高精度代表。



一、仪器工作流程

类似 GC，图 6-7：

单元组件：高压输液系统；进样系统；色谱柱；检测器；工作站等 5 个。

工作流程描述：P304...

还可以根据一些特殊要求配备一些附属装置，如梯度淋洗、自动进样、预柱、流动相在线脱气及自动控制装置等。

二、仪器基本结构

1. 高压输液系统（分四组件）

(1) 贮液器——要求（4 点）

贮液器一般由玻璃、不锈钢或特种制成，容量约为 0.5~2L。用来贮存作流的各种溶剂。

① 所有溶剂在放入贮液器前必须 0.45 μm 滤膜过滤，防止机械杂质阻塞。

② 附有脱气装置，以除去溶解在流动相中的气体（如 O₂），以免柱中或柱后的压力下降使溶解在流动相中的空气逸出气泡影响分离、检测，尤其是梯度洗脱。流动相脱气常使用抽真空或超声振荡方法，脱气后的流动相液体应密封保存，防止外部气体的重新溶入。

(2) 高压输液泵——主要部件之一，关键。压力：150~350 $\times 10^5$ Pa。

由于色谱柱柱径较细（约 2~6mm），为了获得高柱效而使用粒度很小的固定相（<10 μm ），液体流动相高速通过时，将产生很高的压力，因此用高压泵高速注入流动相。

① 要求 压力平稳无脉动，流速恒定，流量可调节，泵体材料耐化学腐蚀，死体积小，一般要求有 25~40MPa 的压力。P305

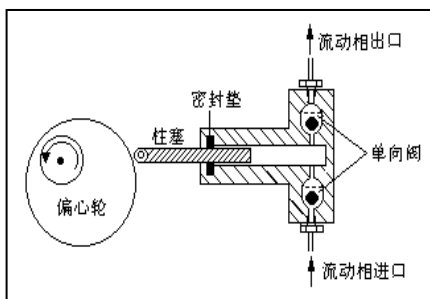
② 类型 可分为恒流泵和恒压泵。恒流泵在一定操作条件下可输出恒定体积流量的流动相。目前常用的恒流泵有往复型泵和注射型泵，其特点是泵的内体积小，用于梯度洗尤为理想。恒压泵又称气动放大泵，是输出恒定压力的泵，其流量随色谱系统阻力的变化而变化。这类泵的优点是输出无脉动，对检测器的噪声低，通过改变气源压力即可改变流速。缺点是流速不够稳定，随溶剂粘度不同而改变。目前 HPLC 仪一般都配备往复式恒流泵，恒压泵在 HPLC 仪发展初期使用较多，现在很少用了。表 6-7 性能比较。

(3) 过滤器——设置在泵进口、出口与进样阀之间。

防泵、阀损坏和柱压升高。图 6-9，溶剂、管道过滤器，滤芯 2~3 μm ，超声波清洗。

(4) 梯度洗脱装置——使保留值相差大的多组分分离更合理、及时。

① 流动相梯度 改变流动相组成或浓度。调节极性，致使每个流出的组分



塑料
相
经

都有合适的分配比,从而实现样品中每个组分的分离。可以提高柱效,加快分离速度,改善峰型,增加检测器灵敏度。类似于 GC 中的程序升温技术。

② 按流路数分为二元、三元梯度。

③ 按溶液混合方式分为内(高压)梯度——利用两台高压输液泵,将两种不同极性的溶剂按一定的比例送入梯度混合室,混合后进入色谱柱。贵!

外(低压)梯度——一台高压泵,通过比例调节阀,将两种或多种不同极性的溶剂按一定的比例抽入高压泵中混合。

2. 进样器——将样品溶液准确送入柱内。要求: P308。

① 六通阀进样器 流路中为高压工作状态,通常使用耐高压的和 GC 相同的六通阀进样器进样。进样量的可变范围大,耐高压,易于自动化,重现性好。操作时先将六通阀手柄转至采样位置,样口用平头微量注射器注入样品环(10~20 μ L)中,然后转动六通阀达到进样位置,样品被带入色谱柱。

② 自动进样器 由计算机自动控制定量阀工作取样、进样、复位、样品管路清洗和样品盘的转动,全部按预定程序进行。样品量可连续调节,进样重复性高,适于大量样品分析。但一次性投资高。.....

3. 色谱柱——高效分离柱,心脏。要求柱效高、选择性好、分析速度快。

(1) 结构——图 6-13,柱体为直型不锈钢管(要耐高压及流动相和样品的腐蚀)。为获得较高柱效能,柱管内表面必须光滑、无刻痕、裂缝及颗粒物,因此内壁必须作抛光处理。内径 1~6 mm,最常用 4mm 左右,柱长 5~40cm。发展趋势是减小填料粒度和柱径以提高柱效。

装柱是一项技巧性很强的工作,对色谱分离效果影响很大。根据固定相微粒的大小,填充色谱柱的方法有干法和湿法两种。微粒大于 20 μ m 可用干法填充,方法与 GC 相同。如果微粒直径在 10 μ m 以下,只能用湿法装柱,即先将填料配成悬浮液贮于容器中,然后在高压泵的作用下压入色谱柱。

用过滤片、垫圈堵住填料,以 \rightarrow 表示流动方向。

(2) 种类——填料粒度, 100~300nm 柱长, 500~20000m, ϕ 4~5mm。

直径 2mm 常用柱(细柱)的优点: 柱效相同,溶剂量 \downarrow ; 峰宽 \downarrow , h \uparrow , S \uparrow , 适于痕量分析。

(3) 评价 基本参数: LC 仪器系统 VM \downarrow , 样品及操作条件合理。表 6-8。

(4) 保护柱——损失少量柱效,保护分析柱(之前,短柱)。

(5) 恒温装置—— $\uparrow T$ 柱, \downarrow 溶剂粘度, \uparrow 样品溶解度, tR 稳定。

水浴、电加热、恒温箱—— $<100^{\circ}C$ 。

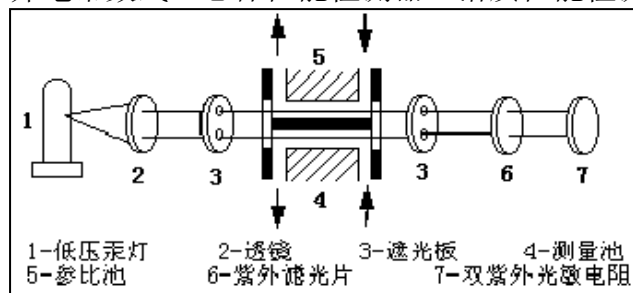
4. 检测器——关键! 连续监测柱流出组分组成、含量变化。

(1) 要求 P311, 理想化。

(2) 分类 通用型——检测流动相和样品的全部特性变化,不能用于梯度洗脱,有 RID、ELSD、ECD。

专用型——检测组分,能梯度洗脱,有 UVD、FD。

按检测原理分为光学式(紫外/可见吸收、荧光、示差折光率)、电化学式、介电常数式、总体性能检测器、溶质性能检测器等。



(3) 性能指标——表 6-9

(4) 几种常见的检测器(简介)

① 紫外-可见光检测器 (UVD)——最广, 通配, 70%

使用率，190~700nm。

原理 通过测定待测组分在流动池中吸收紫外-可见光后，其吸光度的变化来确定组分的含量。

结构 同 UVS，图 6-14，双光束，比较信号，自动选 λ 。有固定波长，可变波长，扫描式的几种类型。可变波长是在固定波长基础上发展的，由于波长可选择地改变，因而提高了选择性。扫描式的可记录待测组分的吸收光谱，作为定性的指纹数据。近年来发展起来的二极管阵列检测器 (PDA)，可以在一次色谱操作中同时获得吸光度、时间和待测组分的全部紫外-可见吸收光谱图在一起的三维谱图，信息量更多，可同时定性和定量。

由于紫外吸收对温度，流动相组成和流速变化不敏感，因此，可作梯度洗脱，并且对恒温要求不高。

② 折光指数检测器 (RID) ——也称示差折光检测器，通用型。

原理 每一种物质在一定温度、压力条件下都有固定的折光率 (n)，当待测组分从柱中随流动相流出时，它的折光率与纯溶剂和纯溶质都不同，RID 就是以纯溶剂 (流动相) 作参比，连续测量柱后流出物的折光率的变化，并以时间 (或流动相体积) 为横轴来记录出其微分曲线。因此，只要和流动相的折光率有差异的物质都可检出。表 6-10。

由于折光率对温度很敏感，所以要求检测器恒温良好 ($\pm 0.001^\circ\text{C}$)，并且不能梯度洗脱，灵敏度较低。仅次于 UVD，属于总体性能 Det，用于凝胶、制备色谱。

③ 荧光检测器 (FD) 检测产生荧光的物质。

④ 蒸发激光散射检测器 (ELSD) 类似 FID。

(5) 馏分收集器 自动收集、制备，图 6-21。

5. 色谱工作站——检出的色谱信号输入到色谱工作站记录并处理色谱分析数据。诊断、自控、智能，计量认证。

三、常用 HPLC 仪的使用及日常维护

1. 型号多——操作一致，如 PE LC200 的操作规程 (阅读了解)。

2. 日常维护——说明书!! 贮液器、高压输液泵、进样器、色谱柱和检测器。

[巩固]

1. 熟悉 HPLC 仪的特点，与 GC 仪的区别。2. 理解原理，实践应用。

[布置作业]

P329, 13. 预习 §6-3。

授课日期

第十七周

教案编号

20

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第五章 高效液相色谱法 § 5-3 高效液相色谱基本理论与实验技术 第六章 红外吸收光谱法 §6-1 基本原理		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	<p>一、能力(技能)目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 初步学会高效液相色谱方法的设计与实验技术。 2. 能指出红外吸收光谱法与紫外吸收光谱法的异同; 3. 能解释红外吸收光谱法的基本概念; 4. 理解红外吸收光谱与分子结构、基团的关系 <p>二、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 了解影响 HPLC 范特姆特方程式的因素; 2. 了解 HPLC 方法的建立与设计; 3. 了解 HPLC 的一般实验方法与技术。 4. 了解振动能级的跃迁和产生红外吸收光谱的条件, 初步熟悉红外吸收光谱的分区、影响基团频率位移的因素、影响吸收峰强度的因素和各类有机化合物的特征基团频度。 		
教学重点	了解 HPLC 方法的建立与设计		
教学难点	解影响 HPLC 范特姆特方程式的因素		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1.高效液相色谱基本理论与实验技术	45'	
	2.红外吸收光谱法基本理论	45'	
思 考 题			
作 业	见教案		
教学后记			

§5-3 高效液相色谱基本理论与实验技术

使用高压输液泵、全多孔微粒填充柱和高灵敏度检测器，实现高速、高效和高灵敏度，高智能化水平和高精度代表。

一、速率理论（简介）

1. 速率理论方程式——类似 GLC

$$H = H_E + H_L + H_S + H_{MM} + H_{SM} = A + B/U + CU \quad \text{各符号的意义 P329...}$$

2. 影响速率理论方程式的因素

涡流扩散项 H_E +分子扩散项 H_L +固定相的传质阻力项 H_S +移动流动相的传质阻力项 H_{MM} +滞留流动相的传质阻力项 H_{SM} 分别简要说明——图示理解...

(1) 由于流动相为液体，组分分子在流动相中的扩散系数很小，因此 B/U 分子扩散项的影响可忽略。

(2) CU 传质阻力项是影响谱带扩张的主要因素。而传质阻力的大小与填充剂颗粒的平均直径成正比，因此填充颗粒大小成为影响谱带扩张的主要因素。

(3) HPLC 中除色谱柱以外的流路部分仍有由于进样不当，管道死体积，柱后扩散等造成的柱外效应引起谱带扩张。

$H \sim u$, U_{opt} 小于 GC, HPLC 柱效高；平稳，高线速分析！

二、实验技术

1. 溶剂处理技术（3类）

(1) 溶剂的纯化

A.R, G.R, 色谱纯 (CH_3OH)——除紫外杂质、脱水、重蒸等。例如，乙腈、四氢呋喃、氯仿、正相中溶剂除水、避免卤代溶剂或现配现用。

(2) 流动相的脱气——重要作用（噪音、流速、负面影响）

三法：超声波振荡脱气——超声水槽（10~20min）-广；惰气鼓泡吹扫；在线真空。

(3) 流动相的过滤——堵塞流路或柱入口垫片——G4 微孔玻璃漏斗。

2. 色谱柱的制备——条件——干法、匀浆填充法（湿法）。漏斗、泵。

3. 梯度洗脱技术——改善复杂物的分离——重要（虽然复杂、基线不稳）

4. 衍生化技术

(1) 定义——物质+衍生化试剂→易检测物

分为柱前衍生化和柱后衍生化。成本高，仅在无法检测、分离时才用！

(2) 分类——紫外-可见光衍生化和荧光衍生化——表 6-18、19 试剂。

5. 样品的预处理技术——类似 GC。除干扰杂质，提高灵、准、重。

方法多——微渗析原理与分析细胞培养液、体外复杂生物样品。.....

三、HPLC 分析方法建立的一般步骤（6步）

1. 了解样品的基本情况——样品组成及有关参数。

2. 明确分离目的——6个条件 P340。

3. 了解样品的性质和需要的预处理——必须！最好用流动相溶解（稀释）。

4. 检测器的选择——目的（分析或制备）；尽量用 UVD。

5. 分离模式的选择——样品溶解度、 M_r 、分子结构、极性差异

读图 6-47——油溶或水溶...

6. 固定相和流动相的选择——常见方法

(1) 硅胶吸附色谱——流动相弱组分是正己烷，由溶质官能团信息确定其强组分——5条，P341。

(2) 正相键合相色谱——流动相选择引用硅胶法；固定相选择3条。

(3) 反相色谱——C18 常用填充载体；流动相强组分是甲醇、乙腈、四氢呋喃，弱组分是水。4 条。

(4) 凝胶色谱——微粒型交联亲水硅胶和亲水键合硅胶。

Mr104~2×106。实验室分析用平均粒度 3~13μm。一般无色谱柱的选择。

四、定性与定量方法

1. 定性方法——影响溶质迁移的因素多，比 GC 更难定性。

(1) 利用已知标准样品定性——同 GC，初步认定与改变流动相后确证。

(2) 利用检测器的选择性定性——双检测器定性体系 (UVD、FLD)
两 Det 对待测物的检测灵敏度比值~待测物性质 (串联和并联)。

(3) 利用紫外检测器全波长扫描功能定性——停泵扫描得谱图；标样对比。

2. 定量方法——类似 GC

归一化法 (少，因选择性 Det)；外标法；内标法。

[巩固]

1. 课堂练习——P345, 9。

2. 理论的指导作用——分析方法选择——实践应用。

3. 加强阅读理解——融通。

[布置作业]

P345, 5、11。预习实验 P346-6.4.1 高效液相色谱仪的基本操作与性能检查；
或 6.4.2 混合维生素 E 的正相 HPLC 分析条件的选择。6~8p。预习第三章 IR。

第六章 红外吸收光谱法 (IR)

§6-1 基本原理

一、概述

1. 红外光的发现 实验得不可见光——红外光区。

2. 物质对红外光的选择性吸收 实验得吸收不同。

3. 红外吸收光谱的产生 A~λ 定性——表 3-1

(1) 近、中 IR—振动——大量 g、l、s 分子，常用 2.5~25μm 中红外区。

(2) 远 IR—转动——简单气体。

4. 红外吸收光谱的表示法 图 3-1、2 比较——以波数等距为主。

纵坐标为吸收强度 τ，横坐标为波长 λ(μm) 或波数 $\bar{\nu}$ (cm⁻¹)。以 2000 cm⁻¹

$$\bar{\nu} = \frac{10^4}{\lambda}$$

(5μm) 为界。

5. 红外光谱法的特点

(1) 信息多，特征性——可用峰数，峰位，峰形，峰强来描述——有机化合物的结构解析：定性 (基团的特征吸收频率)、定量 (特征峰的强度)。

(2) 不受样品相态的限制 s、l、g 直接测定。

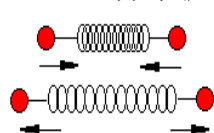
(3) 样品用量少，不破坏，快，简。

(4) 积累标准 IR 光谱图 Sadtler 图集可查。

(5) 局限 无吸收、干扰，定量的灵敏度、准确度低于 UVS。

二、产生红外吸收光谱的原因

1. 分子振动 能产生偶极矩 (μ) 周期性变化的分子才具有红外活性。



虎克定律

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$$

(1) 分子振动方程式 图 3-3

① 振动模型

化学键的振动类似于连接两个小球的弹簧。分子的振动能级（量子化）： $E_{振} = (V+1/2) h\nu$ ， ν ：化学键的振动频率； V ：振动量子数。

$$\Delta E = h\nu = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = 1307 \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

任意两个相邻的能级间的能量差为：

k 化学键的力常数，与键能和键长有关； μ 为双原子的折合质量= $m_1m_2/(m_1+m_2)$ 。发生振动能级跃迁需要能量的大小取决于键两端原子的折合质量和键的力常数，即取决于分子的结构特征（是分子固有性质）。

同样的基团在不同分子中，则键上电子云分布不同 K 不同，因此红外峰不在固定频率出峰。

化学键键强越强（即键的力常数 k 越大），原子折合质量越小，化学键的振动频率越大，吸收峰将出现在高波数区。

② 分子振动自由度与峰数关系

峰数与分子自由度有关。无瞬间偶基距变化时，无红外吸收。

分子的自由度=分子中各原子坐标总和。

含 N 个原子的分子自由度 $f=3N=ft+fv+fr$

非线性分子： H_2O $ft=3$, $fr=3$, 则 $fv=3N-3-3=3$ 。反对称伸缩 $3756cm^{-1}$ 、对称伸缩 $3657cm^{-1}$ 、剪式 $1595cm^{-1}$ 。

线性分子： CO_2 $ft=3$, $fr=2$, 则 $fv=3N-3-2=4$ 。对称伸缩无红外活性、反对称伸缩 $2350cm^{-1}$ 、面内剪式与面外弯曲简并 $666cm^{-1}$ 。

(2) 简正振动 不同频率的叠加。简谐振动——基频，图 3-4、5—理解。

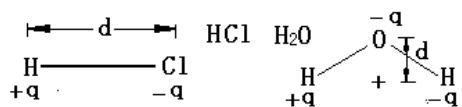
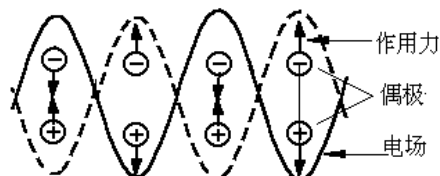
(3) 分子的振动形式——两类基本振动形式，图 3-6 理解...

① 伸缩振动 沿键轴方向，只有键长改变，无键角变化， ν (ν_s 、 ν_{as})。

② 变形(弯曲)振动 垂直于键的方向，只改变键角不影响键长。

面内 β (δ 、 ρ)、面外 γ (w 、 τ)、对称 δ_s 与不对称 δ_{as} 。

2. 振动能级的跃迁



(1) 偶极矩 μ ——衡量分子的极性

$\mu = \delta \cdot r$ (δ 不变) $\cdot r$ (变) 单位：德拜 (D)。

如图 3-7, H_2O 、 HCl , 对称分子 $r=0$, 振动不引起 μ 的变化。偶极子在交变电场中的作用示意图。

(2) 光的 ν 与基团的振动频率相同——

共振——红外吸收。同时伴有转动能级的跃迁，故 IR 也称振-转光谱。

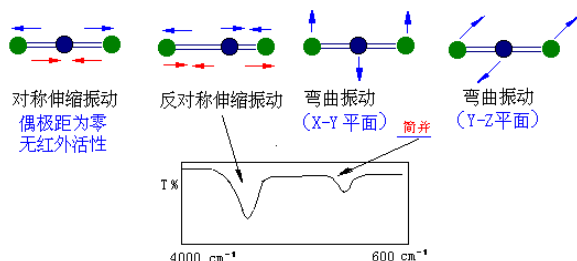
3. 产生 IR 的条件

(1) 必要条件 辐射应具有能满足物质产生振动跃迁所需的能量（即分子振动频率与红外光的频率一定要相等）；

(2) 充分条件 辐射与物质间有相互偶合作用（即瞬间偶极矩变化）。

对称分子：没有偶极矩，辐射不能引起共振，无红外活性。如： N_2 、 O_2 、 Cl_2 等。非对称分子：有偶极矩，红外活性。非极性多原子分子： $O=C=O$ ，对称伸缩无红外活性，而反对称伸缩有红外活性；极性多原子分子： H_2O 。.....

三、红外吸收光谱与分子结构关系的基本概念



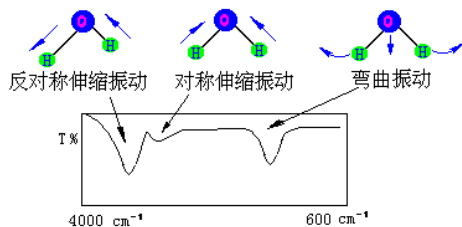
1. 红外吸收峰类型——3 类

(1) 基频峰 从 $\nu=0$ 跃迁到 $\nu=1$,

峰强，位于 $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$ ，中红外区。

(2) 泛频峰 倍频峰——从 $\nu=0$ 跃迁到 $\nu=2, 3, \dots$ ，峰弱（二倍能观察），多在近红外区，频率近似于基频两倍或数倍。

合频峰——电磁波能量恰为分子中两个不同基频跃迁能量之和，则产生吸收， $\nu_c = \nu_m + \nu_n$ ，峰很弱。



差频峰——电磁波能量恰为分子中两个基频跃迁能量之差，产生吸收 $\nu_c = \nu_m - \nu_n$ ，峰极弱。

例如，图 3-8——取代苯的泛频峰出现在 $2000\sim 1667\text{cm}^{-1}$ 的区间，主要是苯环上面外弯曲振动的倍频峰等构成，可用于鉴别苯环上的取代基位置，而且特征性很强。

(3) 特征峰和相关峰——鉴别与确认

特征峰——易辨认的、有代表性的、鉴定官能团（或化学键）存在的吸收峰，称为特征吸收峰。如 $\text{C}\equiv\text{N}$ 的特征吸收峰在 2247cm^{-1} 处。

相关峰——由于某个官能团的存在而出现的一组相互依存的特征峰，用以说明这些特征峰具有依存关系，并区别于非依存关系的其它特征峰，如、分子中如有 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 存在，则在红外光谱图上能明显观测到 $\nu_{\text{as}} (= \text{CH}_2)$ 、 $\nu (\text{C}=\text{C})$ 、 $\gamma (= \text{CH})$ 、 $\gamma (= \text{CH}_2)$ 四个特征峰。用一组相关峰鉴别官能团的存在是个较重要的原则。

2. 红外吸收光谱的分区——中红外区分二区——阅读理解

特征谱带区 $4000\sim 1330\text{cm}^{-1}$ ， $2.5\sim 7.5\mu\text{m}$ 。稀，易辨，基团频率区。如 $2800\sim 3000\text{cm}^{-1}$ ， $-\text{CH}_3$ 特征峰； $1600\sim 1850\text{cm}^{-1}$ $\text{C}=\text{O}$ 特征峰。

指纹区 $1333\sim 667\text{cm}^{-1}$ ， $7.5\sim 15\mu\text{m}$ 。复杂，密集，细微分子结构。

依据基团的振动形式，表 3-2 为重要的四个吸收区（八个吸收段）：

(1) $4000\sim 2500\text{cm}^{-1}$ X-H 伸缩振动区 (X=O, N, C, S)

① $-\text{O}-\text{H}$ $3650\sim 3200\text{cm}^{-1}$ ，确定醇，酚，酸。在非极性溶剂中，浓度较小（稀溶液）时，峰形尖锐，强吸收；当浓度较大时，发生缔合作用，峰形较宽。

② 饱和碳原子上的 $-\text{C}-\text{H}$ 3000cm^{-1} 以下

$-\text{CH}_3$ 2960cm^{-1} ，反对称伸缩振动； 2870cm^{-1} ，对称伸缩振动。

$-\text{CH}_2-$ 2930cm^{-1} ，反对称伸缩振动； 2850cm^{-1} ，对称伸缩振动。

$-\text{C}-\text{H}$ 2890cm^{-1} ，弱吸收。

③ 不饱和碳原子上的 $=\text{C}-\text{H}$ ($\equiv\text{C}-\text{H}$) 3000cm^{-1} 以上

苯环上的 $\text{C}-\text{H}$ ， 3030cm^{-1} ； $=\text{C}-\text{H}$ ， $3010\sim 2260\text{cm}^{-1}$ ； $\equiv\text{C}-\text{H}$ ， 3300cm^{-1} 。

(2) $2500\sim 1900\text{cm}^{-1}$ 三键 ($\text{C}\equiv\text{C}$ 和 $\text{C}\equiv\text{N}$) 和累积双键伸缩振动区

① $\text{RC}\equiv\text{CH}$ ($2100\sim 2140\text{cm}^{-1}$)； $\text{RC}\equiv\text{CR}'$ ($2190\sim 2260\text{cm}^{-1}$)， $\text{R}=\text{R}'$ 时，无红外活性。

② $\text{RC}\equiv\text{N}$ ($2100\sim 2140\text{cm}^{-1}$)。非共轭 $2240\sim 2260\text{cm}^{-1}$ ，共轭 $2220\sim 2230\text{cm}^{-1}$ 。

(3) $1900\sim 1200\text{cm}^{-1}$ 双键伸缩振动区

① $\text{RC}=\text{CR}'$ $1620\sim 1680\text{cm}^{-1}$ ，强度弱， $\text{R}=\text{R}'$ （对称）时，无红外活性。

② 单核芳烃的 $\text{C}=\text{C}$ 键伸缩振动 ($1626\sim 1650\text{cm}^{-1}$)

苯衍生物在 $1650\sim 2000\text{cm}^{-1}$ ，出现 $\text{C}-\text{H}$ 和 $\text{C}=\text{C}$ 键的面内变形振动的泛频吸收（强度弱），可用来判断取代基位置（图）——

酮	$\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{C}$	1715cm^{-1}	酯	$\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OR}$	$1725-1750\text{cm}^{-1}$
酰胺	$\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{N}$	1680cm^{-1}	羧酸	$\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$	1750cm^{-1}
					1820cm^{-1}

③ $\text{C}=\text{O}$ ($1850\sim 1600\text{cm}^{-1}$) 碳氧双键的特征峰，强度大，峰尖锐。醛，

酮的区分？基团所处化学环境不同，特征峰出现位置变化。

(4) 1200~670cm⁻¹ X-Y 伸缩，X-H 变形振动区 (<1650cm⁻¹)

C-H, N-H 的变形振动；C-O, C-X 的伸缩振动；C-C 骨架振动等。精细结构的区分。

基团频率区 (官能团区)				指纹区
3750cm ⁻¹ 至 2500cm ⁻¹	2500cm ⁻¹ 至 2000cm ⁻¹	2000cm ⁻¹ 至 1500cm ⁻¹	1500cm ⁻¹ 至 1300cm ⁻¹	1300cm ⁻¹ 至 650cm ⁻¹
含氢基团 (ν)	三键及累积双键 (ν)	双键 (ν)	单键区	
O-H N-H C-H	C=C=C -N=C=O 炔基 氰基	C=C 苯基 C=O N=O vsNO ₂	δC-H (CH ₂) vasNO ₂	除 X-H 以外的单键伸缩振动 如 ν C-C、ν C-O、 δX-H

3. 影响基团频率位移 (峰位) 的因素

化学键的力常数 K 越大，原子折合质量越小，键的振动频率越大，吸收峰将出现在高波数区 (短波长区)；反之，出现在低波数区 (长波长区)。

化学键的振动频率不仅与其性质有关，还受分子的内部结构和外部因素影响。相同基团的特征吸收并不总在一个固定频率上，而是在一定范围内波动。了解影响峰位变化的因素将有助于推断分子中相邻部分的结构。

(1) 外部因素 物态；溶剂极性；样品厚度；仪器 (分辨率太低、在仪器工作频率之外)。

(2) 内部因素

① 电 (子) 效应

a. 诱导效应 吸电子基团使吸收峰向高频方向移动 (蓝移)

R-COR νC=O 1715cm⁻¹; R-COH νC=O 1730cm⁻¹。

R-COCl νC=O 1800cm⁻¹; R-COF νC=O 1920cm⁻¹。

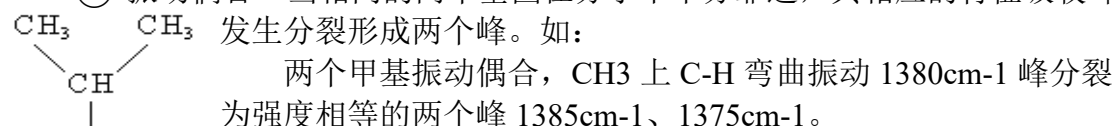
F-COF νC=O 1928cm⁻¹; R-CONH₂ νC=O 1920cm⁻¹。

b. 共轭效应 使 π 电子离域的共轭效应使吸收峰向低频方向移动 (红移)

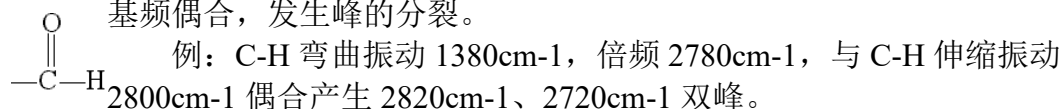
c. 偶极场效应

② 氢键效应 (分子内氢键；分子间氢键)：对峰位，峰强产生极明显影响，使伸缩振动频率向低波数方向移动。

③ 振动偶合 当相同的两个基团在分子中十分靠近，其相应的特征吸收峰发生分裂形成两个峰。如：



④ 费米共振：当倍频或组频峰位于某强基频峰附近时，弱的倍 (组) 频与基频偶合，发生峰的分裂。



⑤ 空间效应 场效应；空间位阻；环张力等。

4. 影响吸收峰强度（峰强）的因素

(1) 峰强的表示方法 ϵ 为摩尔吸收系数，是谱带绝对强度的标志。 ϵ 小，易变。分 5 级—— >200 VS 很强； $200 > \epsilon > 75$ S 强； $75 > \epsilon > 25$ m 中强； $25 > \epsilon > 5$ W 弱； $5 > \epsilon$ VW 很弱。

(2) 影响 ϵ 的因素——分子跃迁几率；分子 μ 。

瞬间偶基距变化大，吸收峰强；键两端原子电负性相差越大（极性越大），吸收峰越强。对称性、基团的振动形式（ $\nu_{as} > \nu_s > \delta$ ）等。

四、常见官能团的特征吸收频率——表 3-3 熟悉！记！

[巩固]

了解、熟悉 IR 的产生、特点、机理和表达——阅读与记忆！

[布置作业]

P120, 12、13。预习§3-2、3。

课程名称	仪器分析	专业班级	应化 231
教材名称	《仪器分析》		
授课题目	第六章 红外吸收光谱法 § 6-2 红外吸收光谱仪, § 6-3 实验技术		
授课学时	2 节 (<input checked="" type="checkbox"/>); 3 节 (); 其它 (4 节)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 实验 (); 见习 (); 实训 (); 其它 ()		
教学目的	一、能力(技能)目标 1. 熟悉现代红外光谱仪及其附属设备的使用和日常维护方法; 2. 熟悉固体、液体、气体红外样品的制备技术及相关设备。 二、知识目标 1. 了解红外吸收光谱仪的分类、工作流程和结构原理, 重点了解傅立叶变换红外光谱仪的工作原理和一般使用方法; 2. 了解红外吸收光谱法的制样技术和分析技术。		
教学重点	红外吸收光谱仪的分类、工作流程和结构原理, 重点了解傅立叶变换红外光谱仪的工作原理和一般使用方法		
教学难点	红外吸收光谱法的制样技术和分析技术		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>); 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>); 指导 (<input checked="" type="checkbox"/>); 示教 (); 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (); Author ware (); 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>); 模型 (); 标本 (); 实物 (); 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>); 其它 ()		
教学过程 时间安排	1. 红外吸收光谱仪	45'	
	2. 实验技术	45'	
思考题			
作 业	见教案		
教学后记	红外与之前紫外和原子吸收都属于光谱分析, 前面知识扎实有助于红外的学习, 同时区分三种光谱的应用范围和原理。		

§6-2 红外光谱仪

一、色散型红外吸收光谱仪

1. 工作原理——经典 IR 与 UVS 类似，图 3-9 双光束型。

光路结构：由光源发出的红外光经过一定频率转动的切光器，使它周期地切割成两束光，分别进入试样池和参比池，然后进入单色器。随着切光器的转动，检测器就能交替地接受这二束光。由检测器出来的信号通过交流放大器放大，然后通过自吸系统驱动光楔进行补偿，以达到两束光强度相等。若试样对某一频率红外吸收越多，光楔就越多地遮盖参比光路，以达到参比光强同样减弱，使两光束重新处于平衡。而记录笔与光楔相连，使光楔的变化转化为透射比的改变 ($\tau - \bar{v}$)。

2. 仪器主要部件——五部分

(1) 光源 (辐射源) ——发射高强度的连续红外光。表 3-4 种类，常用

① 能斯特灯 (Nernst) 由铈、锆、钍和钇等氧化物烧结而成的长约 2cm，直径约 1mm 的实心或空棒组成。△800°C 发光，工作前需要预热。发光后切断电流。工作温度可达 1300~1700°C，其发射的波长范围约为 1~30μm。它的寿命为 6 个月至一年，稳定性好。光强大，不需冷水。对短波范围，辐射效率优于硅碳棒，但价格较贵，机械强度较差。

② 硅碳棒 由碳化硅烧结而成的两端粗中间细的实心棒，中间发光。工作温度达 1200~1500°C。对于长波，其辐射效率高于能斯特灯，其使用波长范围比能斯特灯宽，发光面大，坚固，不需预热。缺点是工作时电极接触部分要用冷水冷却。

(2) 样品室 (池) ——样品槽——可插固体薄膜或液体池。附件。

不同的分析对象 (液体、气体和固体) 应选用相应的样品池。样品池的盐窗材料必须能很好地透过所需波长的辐射。

(3) 单色器——狭缝、准直镜和色散元件 (棱镜和光栅) 排列组合。

作用是把通过吸收池而进入入射狭缝的复合光成为单色光射到检测器上。棱镜主要用于早期仪器中，制作的材料与样品池一样，应能透过红外辐射。为了防止由于金属盐的水溶性而使水汽蚀刻棱镜表面，必须保持棱镜完全干燥，因此对实验环境要求较高。目前多用光栅作色散元件，其最大的优点是：不会受水汽的侵蚀；使用的波长范围宽；在操作范围内，分辨率恒定，而且改进了对长波部分红外辐射的分离。注意要滤光。

狭缝越窄，分辨率越高，但会使光源能量的输出减少，这在红外光谱分析中尤为突出。为了减少波长部分能量的损失，改善检测器的响应，可以采用程序增减狭缝的宽度办法，即随辐射能量减少，狭缝宽度自动增加，使能量在恒定范围内到达检测器。

(4) 检测器——主要有三种，另有 TGS、MCT。

① 高真空热电偶 密封，普遍。它利用不同导体构成回路时的温差现象，将温差转变成电位差，产生与光强对应的电流。

② 测热辐射计 少。热感元件作为电桥一臂，光→电阻。

③ 气体检测器——高莱池，图 3-10。软镜膜凸出度~光电流，不适于扫描。

(5) 放大器及记录机械装置 10—9V→放大，以带动光楔和记录笔的伺服电机绘出红外光谱图。

简易型→精密型 (自动更换、光谱更宽、分辨率更宽)。

二、傅立叶变换红外吸收光谱仪 (FTIR) 第三代

1. 工作原理

干涉型红外光谱仪是利用干涉方法,并经过傅里叶变换而获得红外光谱的仪器,又称 FTIR。图 3-11, 双光道单光束——复杂。

由光源发出的红外光进入干涉仪后被分为两束光,这两束光到达检测器时具有光程差,它们产生光的相干作用,于是得到光的干涉图。如果在光路中放置样品,则得到带有样品信息的干涉图。须利用数学上傅里叶函数变换,对不同频率的光强进行计算,由仪器中计算机来完成,才可以得透射比随频率变化的普通红外光谱图。

2. 仪器主要部件

(1) 光源、样品室 (同上)

(2) 迈克尔逊干涉仪——核心。结构一定,图 3-12, BS (分束器),表 3-6, 贵→干涉光→干涉图。

(3) 检测器 分为热 (DTGS、LiTaO₃) 和光 (MCT、铟化铟) 两类。

(4) 记录系统 红外工作软件,国内外。

3. FTIR 的优点——P125

具有极高的分辨率 (最高达 $0.005\sim 0.1\text{cm}^{-1}$); 极高的灵敏度 (与色散型红外光谱仪相比,其光通量高 50 倍左右,信噪比高 30 倍左右); 极高的出谱范围 ($10000\sim 10\text{cm}^{-1}$); 极快的扫描速度 (测绘 1 张全程光谱图只需数秒钟,从而实现了红外光谱和高效液相色谱的联用)。广泛应用,重要仪器。

三、常见红外吸收光谱仪的使用及日常维护

自动化-PE SPX1 FTIR-恒温、恒湿、防尘、小心——读.....

§6-3 实验技术

一、红外试样的制备

1. 制备试样的要求——样品纯;干燥;窗口材料为 NaCl 或 KBr 晶体。

样品的制备及处理占有重要地位,如果样品处理不当,即使仪器性能再好,也不能得到令人满意的红外吸收光谱图。

(1) 样品应是单一组分的纯物质 (纯度大于 98%), 否则会因杂质光谱干扰而引起光谱解析时“误诊”, 也不便与标准光谱图对照。多组分样应分离提纯。

(2) 样品应不含水份,包括游离水和结晶水。因为水不仅会腐蚀吸收池盐窗,还会干扰样品分子中羟基的测定。

(3) 样品的浓度和测试厚度应适宜。一般使红外谱图中大多数吸收峰透射比处于 $10\sim 80\%$ 范围为宜。样品太稀、太薄会使弱峰或光谱细微部分消失,但太浓、太厚会使强峰超出标尺。

2. 样品的制备方法

(1) 固体试样 5 法。一般常用三种方法 (压片法、糊状法及薄膜法)。

① (KBr) 压片法 $1\sim 2\text{mg}$ 固体样品放在玛瑙研钵中研细,加入 $100\sim 200\text{mg}$ 磨细干燥的碱金属卤化物 (多用 KBr) 粉末,混均匀后,加入压模内,在压片机上加压,制成厚约 1mm ,直径约 10mm 左右的透明片子,然后进行测谱。压片机如图 3-16,防损伤压舌 (光洁度高);压片过程操作 (读)。

② 石蜡糊 (糊状) 法 将固样研细,与糊剂 (如液体石蜡油) 混合成糊状,然后夹在两窗片之间进行测谱。石蜡油是一精制过的长链烷烃,具有较大的粘度和较高的折射率。用石蜡油做糊剂不能用来测定饱和碳氢键的吸收情况。此时可以用六氯丁二烯代替石蜡油做糊剂。

③ 薄膜法 把固体样品制成薄膜来测定。薄膜的制备有两种方法：一种是将样品熔融后直接涂在盐片上。这种方法适用于熔点低、熔融时不分解、不升华，没有其它化学变化的物质。另一种是先把样品溶于挥发性溶剂中制成溶液，然后涂在盐片上，待溶剂挥发后，样品遗留在盐片上而形成薄膜，大多数聚合物样品可这样处理。

④ 熔融成膜法 (mp 低) ⑤ 漫反射法 (衰减全反射法) 不稳定。

(2) 液体试样 (3 法)

① 液膜法 (夹片法) 低沸点样品可采用固定池，一般常用可拆卸池，即将样品直接滴于两块盐片之间，形成液体毛细薄膜进行测谱。

② 液体池 图 3-17, 7 部分, 间隔片 0.01~2mm。对于某些吸收很强的液体试样，需用溶剂配成浓度较低的溶液再滴入液体池中测谱。

装样和清洗方法——倾斜 30°，下孔注入；溶剂；干燥空气；烘烤。

液体池厚度的测定——均匀的干涉条纹数目——空池扫描，计算...

③ 溶液法 常用 CS₂、CCl₄、CHCl₃ 溶解 1、s 样→固体池中，适于定量分析。注意溶剂对溶质应有较大的溶解度，溶剂在较大波长范围内无吸收，不腐蚀液体池的盐片，对溶质不发生反应，无强溶剂效应等。

(3) 气体试样——图 3-19 气体池 (玻璃气槽)。

在样品导入前先抽真空，样品池的窗口多用抛光的 NaCl 或 KBr 晶片。常用的样品池长 5cm 或 10cm，容积为 50~150mL。由于水蒸气在中红外区有强的吸收峰，所以，气体池一定要干燥。样品测完后，用干燥的氮气流冲洗。

(4) 聚合物样品——物态、性质——7 类选择 P131。

二、载体材料的选择

中红外区 (4000~400cm⁻¹) 用 NaCl、KBr，置干燥器内，防吸水，湿度小的环境；脆，贵。含水样品用 KRS-5 窗片、ZnSe、CaF₂。

三、红外光谱分析技术简介

1. 镜面反射技术 收集平整、光洁的固体表面的光谱信息。K-K 变换。

2. 漫反射光谱技术 收集高散射样品的的光谱信息。粉末状样品，DR-KM 转换。

3. 衰减全反射光谱技术 (ATR) 收集材料表面的光谱信息。普通 IR 不能测的厚度 >0.1mm 的橡、塑、高聚物等样品。MIR 校正。

[巩固]

了解 IR 仪的分类、组成与特点；制样实验技术、要求与方法！

§6-4 红外光谱法的应用

一、定性分析

分为官能团定性 (特征基团频率→类别) 和结构分析 (结合其它实验资料→化学结构式)。采用对照定性法。

IR 是鉴定有机物结构的重要手段之一，但不能过分强调 IR 在结构分析中的作用，因为单单依靠 IR 准确确定化合物的机会很少。有时，有经验的化学工作者根据化合物的气味比利用 IR 更容易推测化合物的结构。例如，从质谱或作钠熔实验确定有机物存在卤素比用 IR 更可靠。

1. 定性分析的一般步骤 (4 步)

(1) 试样的分离和精制→单一的纯物质

(2) 收集未知试样的有关资料和数据——来源、元素分析、Mr、分子式、...

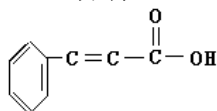
(3) 确定未知物的不饱和度 (U 或 Ω)

① 分子的不饱和度定义——指分子结构中达到饱和所缺一价元素的“对”数。如，乙烯变成饱和烷烃需要两个氢原子， $U=1$ 。

② 计算 若分子中仅含一，二，三，四价元素 (H, O, N, C)，则可按下式计算 U : $\Omega = (2 + 2n_4 + n_3 - n_1) / 2$

n_4, n_3, n_1 分别为分子中四价，三价，一价元素数目。

若有 N、P、S 等高价原子则: $\Omega = 1 + n_4 + 2n_6 + (n_3 + 3n_5 - n_1) / 2$



③ 作用 由分子的 U 可以推断分子中含有双键和饱和环状结构 ($U=1$), 三键 ($U=2$), 环, 芳环 ($U=4$) 的数目, 验证谱图解析的正确性。

例: $C_9H_8O_2$ $\Omega = (2 + 2 \times 9 - 8) / 2 = 6$

(4) 谱图解析——特征峰和相关峰。其程序有

① 按吸收峰强度顺序解析, 再用相关峰等资料验证。

4000	2500	2000	1800	1650	1500	650	波数
O-H	C-H	C=C		C=O	C=N	C-Cl	
		C≡N				C-O	
N-H		X-C-Y			C=C	C-N	
					N-O	C-C	
2.5	4	5	5.5	6.1	6.5	15.4	波长

② 按基团顺序解析 C=O、O—H、C—O、C=C (芳环)、C≡N、—NO₂—。再注意细节、相关峰及峰位变化。P134...

(5) 排除杂峰、溶剂峰

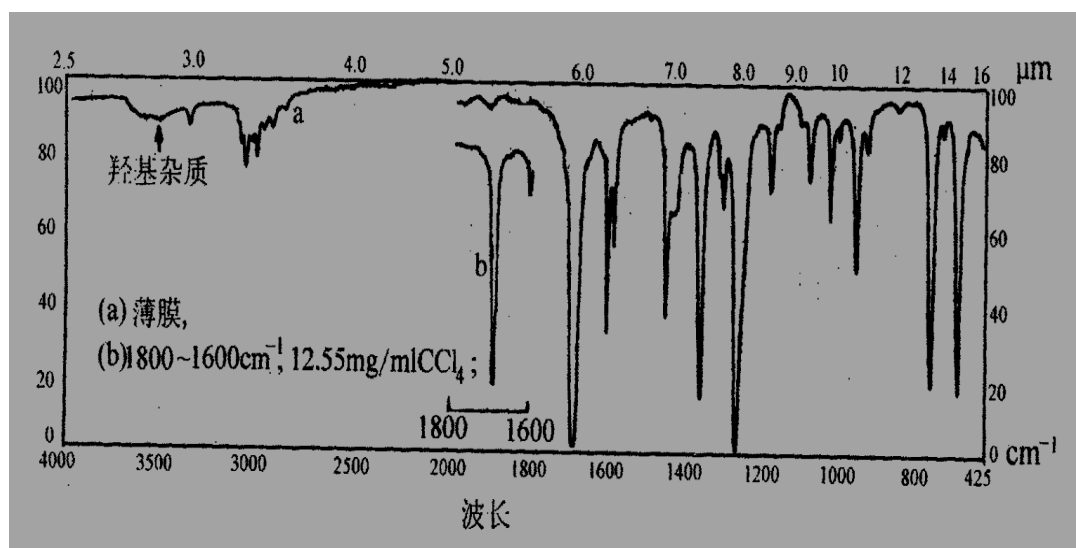
H₂O 3700cm⁻¹(溶剂中); 3450~3330cm⁻¹(样品或 KBr 中); 2000~1280cm⁻¹ (大气中)。CO₂ 2345cm⁻¹、667cm⁻¹。KBr 1100cm⁻¹。

2. 标准谱图的使用——无已知纯品的化合物时, 对照 3 种谱图。

Sadtler (最多, 150000 标准光谱和商品光谱)、DMS、ALDRICH。

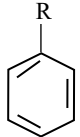
3. 红外光谱图的解析示例——例 3-1~3, 读、理解和指导.....

某无色液体, 其分子式为 C₈H₈O, 红外光谱如图所示, 试指出其结构。

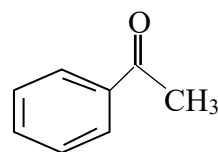


解: (1) 该化合物的不饱和度为: $\Omega = n_4 + 1 + \frac{n_3 - n_1}{2} = 8 + 1 - \frac{8}{2} = 5$

(2) 从红外光谱上得到如下信息:

cm ⁻¹	基团的振动类型	对应的结构单元	不饱和度	化学式
3100 0~3000	不饱和的 νC—H		4	C_6H_5
1600	芳香环的 νC=C			
1580				
1450	单取代芳环的 γC—H			
760 690				
1695	共轭酮羰基的 νC=O	$\text{R}-\text{CO}-\text{R}$	1	$\text{C}=\text{O}$
3000 0~2900	饱和碳氢键上的 νC—H	-CH ₃	0	H_3
1360	-CH ₃ 上的			
0	δC—H			

(3) 从上述信息, 可以得知该化合物为苯乙酮:



4. 解析红外光谱注意事项

(1) 从高频开始解析, 预测试样分子中可能存在的基团, 然后用指纹区吸收带进一步确证。

(2) 不要期望去解析谱图中的每一个吸收带, 因为一般有机化合物谱图吸收带中仅有 20% 属于定域振动, 仅对这部分吸收峰才能作出完全的归属。

(3) 要更多的信赖否定证据, 即在某一特殊区域里吸收带不存在的信息比吸收带存在的信息更有价值, 因为任一吸收带的产生, 有时会有几种可能的起源。

(4) 反复核对谱图中符合某一结构的证据, 预测某一取代基团可能会引起振动吸收向高波数或低波数移动的大概范围, 一般报导的基团振动频率区间常常考虑到电子效应影响的极端情况, 若无电子效应影响时, 化合物基团的振动频率值可预测在文献或手册中引征的波数范围中间数据。

(5) 处理谱图的谱带强度时要倍加小心, 特别是把在烃类化合物的数据运用于强极性化合物中时更要慎重。

(6) 研究不同制样技术得到的两张谱图之间的任何一点变化, 特别是聚集态(固态或纯液态)在非极性溶剂和稀溶液之间的差别, 这些差别揭示了缔合效应, 由此可识别出分子内或分子间氢键。通常, 缔合效应能引起基团伸缩振动频率降低而变形振动频率升高, 并使吸收峰峰形明显加宽。

(7) 怀疑试样中存在有杂质时, 谱图中有许多中等强度吸收带或具有肩峰的强带, 用适当方法纯化, 再制谱, 以至得到恒定不变的谱图。

(8) 在用溶液法作谱时, 要识别因不合适的吸收池长度造成的死区。

- (9) 核对仪器频率的标准化偏差，并作必要的校正。
 (10) 扣除样品介质（溶剂）或溴化钾压片吸潮产生的干扰吸收带。

二、定量分析

1. IR 定量分析基本原理 同 UVS, $A \sim c \rightarrow$ 吸收峰尖处 A

- (1) 峰高法 $\lambda (\lambda_{\max}) \rightarrow$ 同一吸收池（样品、溶剂） $\Delta\tau \rightarrow A$ ，误差大。
 (2) 基线法 直线表示分析峰不存在时的背景吸收线——100%

画基线方法：图 3-26——读 3 法， $A = \lg \frac{\tau_0}{\tau}$ 。一般用水平基线可保证分析准确度。

2. 定量分析测量和操作条件的选择

- (1) 定量谱带的选择 孤立、s、无干扰、避免 H₂O、CO₂ 峰位。
 (2) 溶剂的选择 溶样、不反应、不吸收——差谱技术。
 (3) 选择合适的透射区域 20%~65%
 (4) 测量条件的选择 FTIR 室温恒定，性能检查，背景检测。

3. IR 定量分析方法（4 法）

- (1) 工作曲线法 同 UVS（同厚度的液体吸收池）
 (2) 比例法 厚度不定，不易测准时。适于高分子物质。

主要分析二元混合物中二组分的相对含量，若定量谱带不重叠，

$$R = \frac{A_1}{A_2} = \frac{a_1 b c_1}{a_2 b c_2} = \frac{a_1 c_1}{a_2 c_2} = K \frac{c_1}{c_2}, c_1 + c_2 = 1 \Rightarrow c_1 = \frac{R}{K + R}; c_2 = \frac{K}{K + R}$$

K 由标样测得。

- (3) 内标法 KBr 压片、糊状法或液膜法的 b 不定。比例法特例——

$$A_s = a_s b_s c_s, A_r = a_r b_r c_r \Rightarrow \frac{A_s}{A_r} = \frac{a_s c_s}{a_r c_r} = K c_s$$

取一定量标准物质+样品，

$$\frac{A_s}{A_r} \sim c_s$$

工作曲线法。r 有 Pb(SCN)₂...

- (4) 差示法 测定样品中微量杂质。

[巩固]

重点应用——谱图解析；与 UVS 比较定量分析特点。

《仪器分析》实验课程教案

课程简介

(一) 仪器分析实验的基本要求

一、仪器分析实验的教学目的

仪器分析实验是仪器分析课的重要内容。它是学生在教师指导下，以分析仪器为工具，亲自动手获得所需物质化学组成和结构等信息的教学实践活动。通过仪器分析实验，使学生加深对有关仪器分析方法基本原理的理解，掌握仪器分析实验的基本知识和技能；学生会正确的使用分析仪器；合理地选择实验条件。正确处理数据和表达实验结果；培养学生严谨求是的科学态度、敢于创新和独立工作的能力。

二、仪器分析实验的基本要求

1. 仪器分析实验所使用的仪器一般都比较昂贵，同一实验室不可能购置多套同类仪器，仪器分析实验通常采用大循环方式组织教学。因此，学生在实验前必须做好预习工作，仔细阅读仪器分析实验教材，分析方法和分析仪器工作的基本原理，仪器主要部件的功能、操作程序和注意的事项。
2. 学会正确使用仪器。要在教师指导下熟悉和使用仪器，勤学好问，未经教师允许不得随意开动或关闭仪器，更不得随意旋转仪器按钮、改变仪器工作参数等。详细了解仪器的性能，防止损坏仪器或发生安全事故。应始终保持实验室的整洁和安静。
3. 在实验过程中，要认真地学习有关分析方法的基本要求。要细心观察实验现象和仔细记录实验条件和分析测试的原始数据；学会选择最佳实验条件；积极思考、勤于动手，培养良好的实验习惯和科学作风。
4. 爱护仪器的仪器设备。实验中如发现仪器工作不正常，应及时报告教师处理。每次实验结束，应将所用仪器复原，清洗好使用过的器皿，整理好实验室。
5. 认真写好实验报告。实验报告应简明扼要，图表清晰。实验报告的内容包括实验名称、完成日期、实验目的、方法原理、仪器名称及型号、主要仪器的工作参数、主要实验步骤、实验数据或图谱、实验中出现的现象、实验数据处理和结果处理、问题讨论等。认真写好实验报告是提高实验教学质量的一个重要环节。

三、仪器分析实验的操作规则

1.认真预习

实验前应准备一本预习报告本,认真预习,并做好预习报告。报告内容包括:实验目的、实验原理、操作步骤、主要的仪器和药品以及实验中的注意事项等。预习报告应简明扼要。

预习时,针对实验原理部分,应结合理论知识相关内容,广泛查阅参考资料,真正做到实践与理论融会贯通;针对操作步骤中初次接触的操作技术,应认真查阅实验教材中相关的操作方法,了解这些操作的规范要求,保证实验中操作的规范化,注重基本操作的规范化培养。

预习是做好实验的前提和保证,预习工作可以归纳为看、查、写。

(1) 看——认真阅读实验教材、有关参考书及参考文献,做到:

① 明确实验目的,掌握实验原理及相关计算公式;熟悉实验内容、主要操作步骤及数据的处理方法;提出注意事项,合理安排实验时间,使实验有序、高效地进行。

② 预习(或复习)仪器的基本操作和使用。

(2) 查——查问手册和有关资料,并列出实验中出现的化合物的性能和物理常数。

(3) 写——在看和查的基础上认真写好预习报告。

2.爱护仪器

要爱护仪器设备,对初次接触的仪器(尤其是大型分析仪器),应在了解其基本原理的基础上,仔细阅读仪器的操作规程,认真听从老师的指导。未经允许不可私自开启设备,以防损坏仪器。

3.注意安全

严格遵守实验室安全规则,熟悉并掌握常见事故的处理方法。保持室内整洁,保证实验台面干净、整齐。火柴梗、废纸等杂物丢入垃圾筐,要节约使用水、电等。

4.遵守纪律

严格遵守实验纪律,不缺席,不早退,有事要请假,并跟老师约好时间,另行补做。每次实验应提前 10 min 进实验室。保持室内安静,不要大声谈笑,不要到处乱走,禁止在实验室嬉闹。

5.严谨实验

(1) 认真听取实验前的课堂讲解,积极回答老师提出的问题。进一步明确实验原理、操作要点、注意事项,仔细观察老师的操作示范,保证基本操作规范化。

(2) 按拟定的实验步骤操作,既要大胆又要细心,仔细观察实验现象,认真测定数据。每个测定指标至少要做 3 个平行样。有意识地培养自己高效、严谨、有序的工作作风。

(3) 观察到的现象和数据要如实记录在预习报告本上,做到边实验、边思考、边记录。不得用铅笔记录,原始数据不得涂改或用橡皮擦拭,如有记错可在原数据上划一横杠,再在旁边写上正确值。

(4) 实验中要勤于思考,仔细分析。如发现实验现象或测定数据与理论不符,应尊重实验事实,并认真分析和检查原因,也可以做对照实验、空白实验或自行设计实验来核对。

(5) 实验结束后,应立即把所用的玻璃仪器洗净,仪器复原,填好使用记录,清理好实验台面。将预习报告本交给老师检查,确定实验数据合格后,方可离开实验室。

(6) 值日生应认真打扫实验室，关好水、电、门、窗后方可离开实验室。

(二) 实验报告和实验数据处理

一、评价分析方法和分析结果的基本指标

一个好的分析方法应该具有良好的检测能力，易获得可靠的测定结果，有广泛的适用性。此外，操作方法应尽可能简便。检测能力用检出限表征，测定结果的可靠性用准确度和精密度表示，适用性用标准曲线的线性范围和抗干扰能力来衡量。一个好的分析结果应是随机误差小，又没有系统误差。

二、实验报告

做完实验仅是完成实验的一半，更重要的是进行数据整理和结果分析，把感性认识提高到理性认识。要求做到：

(1) 认真、独立完成报告。对实验数据进行处理（包括计算、做图），得出分析测定结果。

(2) 将平行样的测定值之间或测定值与理论值之间进行比较，分析误差。

(3) 对实验中出现的问题进行讨论，提出自己的见解，对实验提出改进方案。

实验报告内容应包括实验目的、实验原理（简明）、实验步骤（简明）、数据处理、讨论等内容。

实验操作规则是保证良好的工作环境和秩序，防止意外事故发生的准则，人人都要遵守。要在实验中有意识地培养自己的动手能力、独立解决问题的能力以及良好的工作作风。

(三) 玻璃仪器的洗涤和分析实验室的安全规则

一、仪器分析实验室的安全规则

在仪器分析化学实验中,经常使用有腐蚀性的易燃、易爆或有毒的化学试剂,大量使用易损的玻璃仪器和某些精密分析仪器,实验过程中也不可避免用电、水等。为确保实验的正常进行和人身及设备安全,必须严格遵守实验室的安全规则:

(1) 实验室内严禁饮食、吸烟,一切化学药品禁止入口,实验完毕须洗手;水、电位用后应立即关闭;离开实验室时,应仔细检查水、电、门、窗是否均已关好。

(2) 了解实验室消防器材的正确使用方法及放置的确切位置,一旦发生意外,能有针对性地扑救。实验过程中,门、窗及换风设备要打开。

(3) 使用电气设备时,应特别细心,切不可用潮湿的手去开启电闸和电器开关。凡是漏电的仪器不可使用,以免触电。

(4) 使用精密分析仪器时,应严格遵守操作规程,仪器使用完毕后,将仪器各部分复原,并关闭电源,拔去插头。

(5) 浓酸浓碱具有腐蚀性,尤其是浓 H_2SO_4 配制溶液时,应将浓酸缓缓注入水中、而不得将水注入酸中,以防止浓酸溅在皮肤和衣服上。使用浓 HNO_3 、 HCl 、 H_2SO_4 、氨水时,均应在通风橱中操作。

(6) 使用四氯化碳、乙醚、苯、丙酮、三氯甲烷等有机溶剂时,一定要远离火源和热源。使用完毕后,将试剂瓶塞好,放在阴凉(通风)处保存。低沸点的有机溶剂不能直接在火焰上或热源上加热,而应在水浴上加热。

(7) 热、浓的高氯酸遇有机物常易发生爆炸,汞盐、砷化物、氰化物等剧毒物品使用时应特别小心。

(8) 储备试剂、试液的瓶上应贴有标签,严禁非标签上的试剂装入试剂瓶。自试剂瓶中取用试剂后,应立即盖好试剂瓶盖。决不可将已取出的试剂或试液倒回试剂瓶中。

(9) 将温度计或玻璃管插入胶皮管或胶皮塞前，用水或甘油润滑，并用毛巾包好再插，两手不要分得太开，以免折断划伤手。

(10) 加热或进行反应时，人不得离开。

(11) 保持水槽清洁，禁止将固体物、玻璃碎片等扔入水槽，以免造成下水道堵塞。

(12) 发生事故时，要保持冷静，针对不同的情况采取相应的应急措施，防止事故扩大。

二、玻璃器皿的洗涤

分析化学实验中所使用的器皿应洁净。其内外壁应能被水均匀地润湿，且不挂水珠。在分析工作中，洗净玻璃仪器不仅是一个必须做的实验前的准备工作，也是一个技术性的工作。仪器洗涤是否符合要求，对化验工作的准确度和精密度均有影响。不同分析工作（如工业分析、一般化学分析、微量分析等）有不同的仪器洗净要求。

分析实验中常用的烧杯、锥形瓶、量筒、量杯等一般的玻璃器皿，可用毛刷蘸去污粉或合成洗涤剂刷洗，再用自来水冲洗干净，然后用蒸馏水或去离子水润洗3次。

滴定管、移液管、吸量管、容量瓶等具有精确到度的仪器，可采用合成洗涤剂洗涤。其洗涤方法是：将配制0.1%~0.5%浓度的洗涤液倒入容器中，浸润、摇动几分钟，用自来水冲洗干净后，再用蒸馏水或去离子水润洗3次，如果未洗干净，可用铬酸洗液洗涤。

光度法用的比色皿，是用光学玻璃制成的，不能用毛刷洗涤，应根据不同情况采用不同的洗涤方法。经常的洗涤方法是，将比色皿浸泡于热的洗涤液中一段

时间后冲洗干净即可。

仪器的洗涤方法很多，应根据实验要求、污物性质、沾污的程度来选用。一般说来，附着在仪器上的脏物有尘土和其他不溶性杂质、可溶性杂质、有机物和油污，针对这些情况可以分别用下列方法洗涤。

1.刷洗：用水和毛刷刷洗，除去仪器上的尘土及其他物质，注意毛刷的大小，形状要适合，如洗圆底烧瓶时。毛刷要作适当弯曲才能接触到全部内表面，脏、旧、秃头毛刷需及时更换，以免戳破、划破或沾污仪器。

2.用合成洗涤剂洗涤：洗涤时先将器皿用水湿润，再用毛刷蘸少许去污粉或洗涤剂，将仪器内外洗刷一遍，然后用水边冲边刷洗，直至干净为止。

3.用铬酸洗液洗涤：被洗涤器皿尽量保持干燥，倒少许洗液于器皿内，转动器皿使其内壁被洗液浸润（必要时可用洗液浸泡），然后将洗液倒回原装瓶内以备再用。再用水冲洗器皿内残存的洗液，直至干净为止。如用热的洗液洗涤，则去污能力更强。

洗液主要用于洗涤被无机物沾污的器皿，它对有机体和油污的去污能力也较强，常用来洗涤一些口小、管细等形状特殊的器皿，如吸管、容量瓶等。

洗液具有强酸性、强氧化性和强腐蚀性，使用时要注意以下几点：

- ① 洗涤的仪器不宜有水，以免稀释洗液而失效。
- ② 液可以反复使用，用后倒回原瓶。
- ③ 液的瓶塞要塞紧，以防吸水失效。
- ④ 可溅在衣服、皮肤上。
- ⑤ 洗液的颜色由原来的深棕色变为绿色，即表示 $K_2Cr_2O_4$ 已还原为 $Cr_2(SO_4)_3$ ，去氧化性，洗液失效而不能再用。

4.用酸性洗液洗涤:

①粗盐酸

可以洗去附在仪器壁上的氧化剂（如 MnO_2 ）等大多数本溶于水的无机物。因此，在刷子刷洗不到或洗涤不宜用刷子刷洗的仪器，如吸管和容量瓶等情况下，可以用粗盐酸洗涤。灼烧过沉淀物的瓷柑蜗可用盐酸（1：1）洗涤。洗涤过的粗盐酸能回收继续使用。

② 盐酸—过氧化氢洗液：适用于洗去残留在容器上的 MnO_2 ，例如过滤 KMnO_4 用的砂芯漏斗，可以用此洗涤刷洗。

③ 盐酸—酒精洗液（1：2）：适用于洗涤被有机染料染色的器皿。

④ 硝酸—氢氟酸洗液：是洗涤玻璃器皿和石英器皿的优良洗涤剂，可以避免杂质金属离子的沾附。常温下储存于塑料瓶中，洗涤效率高，清洗速度快，但对油脂及有机物的清除效力差。对皮肤有强腐蚀性。操作时需备加小心。该洗液对玻璃和石英器皿有腐蚀作用，因此，精密玻璃仪器、标准磨口仪器、活塞、砂芯漏斗、光学玻璃、精密石英部件、比色皿等不宜用这种洗液。

5.用碱性洗液洗涤：适用于洗涤油脂和有机物。因它的作用较慢，一般要浸泡 24 h 或用浸煮的方法。

氢氧化钠—高锰酸钾洗液：用此洗液洗过后，在器皿上会留下二氧化锰，可再用盐酸洗。

氢氧化钠（钾）—乙醇洗液：洗涤油脂的效力比有机溶剂高，但不能与玻璃器皿长期接触；使用碱性洗液时要特别注意，碱液有腐蚀性，不能溅到眼睛上。

6.超声波清洗：超声波清洗是一种新的清洗方法，其作用原理：主要是利用超声波在液体中的空化作用，这种空化作用是由于液体在超声波的作用下，液体分子

时而受拉，时而受压，形成一个个微小的空腔，即所谓“空化泡”。由于空化泡的内外压力相差十分悬殊，在空化泡消失时其表面的各类污物就被剥落，从而达到清洗的目的，同时，超声波在液体中又能加速溶解作用和乳化作用。因此超声波清洗质量好、速度快，尤其对于采用一般常规清洗方法难于达到清洁度要求，以及几何形状比较复杂且带有各种小孔、弯孔和盲孔的被洗物件，超声波清洗的效果更为显著。

市售 CQ-250 型超声波清洗器用于分析实验室的玻璃仪器清洗效果很好。使用时将被洗件悬挂在处于工作状态的清洗液中，清洗干净即可取出。

实验（实训）项目

实验一（1） 可见分光光度计比色皿的配对与吸收曲线的测定（3 课时）

一、实验目的

- 1、了解分光光度计的基本构造及比色皿配对校正。
- 2、熟悉分光光度计的使用方法。
- 3、学习吸收光谱曲线的绘制、查找最大吸收波长 λ_{\max} 的方法。

二、实验原理

物质对不同波长光的吸收程度不同，通过测定不同波长光对应的吸光度，绘制 A- λ 吸收曲线，找出最大吸收波长 λ_{\max} ，并计算 ε_{\max} 。了解物质对光的选择性吸收的特性。

三、仪器及试剂

- 1、仪器：可见分光光度计、容量瓶（100mL）、移液管（1mL）、分光光度计、1cm 比色皿。
- 2、试剂：KMnO₄ 贮备液（0.04mol·L⁻¹）。

四、实验步骤

开机预热：打开电源开关，打开样品室盖，样品室内取出干燥剂，预热 20min。

（一）比色皿配对校正

- ① 用波长调节旋钮将波长调至 600nm。
- ② 检查吸收池透光面是否有划痕的斑点，吸收池各面是否有裂纹。如有则不应使用。
- ③ 在选定的吸收池毛面上口附近，用铅笔标上进光方向并编号。用蒸馏水冲洗 2~3 次[必要时可用（1+1）HCl 溶液浸泡 2~3min，再立即用水冲洗净。
- ④ 用拇指和食指捏住吸收池两侧毛面，分别在 4 个吸收池内注入蒸馏水到池高 $\frac{3}{4}$ ，可先用滤纸吸干池外壁的水滴（注意不能上下来回擦），再用擦镜纸轻轻擦拭光面至无痕迹。按池上所标箭头方向（进光方向）垂直放在吸收池架上，并用吸收池夹固定好。

注意：池内溶液不可装得过满以免溅出，腐蚀吸收架和仪器。装入水后，池内壁不可有气泡。

- ⑤ 盖上样品室盖，将在参比位置上的吸收池推入光路，调节 T=100%。打开盖

上样品室盖，调节 $T=0$ 。反复调节几次，直至稳定。

⑥ 拉动吸收池架拉杆，依次将被测溶液推入光路，读取相应的透射比或吸光度。若所测各吸收池透射比偏差小于 **0.5%**，则这些吸收池可配套使用。超出上述偏差的吸收池不能配套使用。

(二) 高锰酸钾溶液吸收光谱曲线的测定

(1) 配制 KMnO_4 溶液 (0.0004mol/L)。用移液管准确移取 KMnO_4 贮备液 ($0.04\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 1.00ml ，转入 100mL 容量瓶中，用水稀释至 100mL 。

(2) 在下表所列波长下，以蒸馏水为参比，用 1cm 比色皿分别测定 0.0004mol/L KMnO_4 溶液的吸光度。

λ/nm	420	430	440	450	460	470	480	490	500	502
A										
λ/nm	504	506	508	510	512	514	516	518	520	522
A										
λ/nm	523	524	525	526	527	528	529	530	532	534
A										
λ/nm	536	538	539	540	542	544	550	554	558	560
A										
λ/nm	570	580	584	588	590	592	594	596	598	600
A										

五、结果计算

- (1) 按照以上数据绘制 $A-\lambda$ 曲线；
- (2) 根据所绘制的 $A-\lambda$ 曲线，查出 λ_{max} ；
- (3) 计算 ϵ_{max} 。(根据朗伯比尔定律计算 $A_{\text{max}} = \epsilon_{\text{max}} b c$)

六、实验安全注意事项

- 1、注意用电安全；
- 2、严格按实验方法操作，注意安全。

七、721 型分光光度计使用步骤：

1. 在接通电源之前，电表的指针必须位于“0”刻线上，否则应旋动电表上的校

正螺丝调节到位。

2. 打开比色皿室的箱盖和电源开关，使光电管在无光照射的情况下预热 15 分钟以上。
3. 旋转波长调节器，选择测定所需的单色光波长。选择适当的灵敏度，一般先将灵敏度旋钮至中间位置，用零点调节器调节电表指针至 T 值为 0% 处。若不能调到，应适当增加灵敏度。
4. 放入空白溶液和待测溶液，使空白溶液置于光路中，盖上比色皿室箱盖，使光电管受光，调节光量调节旋钮使电表指针在 T 值为 100% 处。
5. 打开比色皿室箱盖（关闭光门），调节零点调节旋钮使针在 T 值为 0% 处，然后盖上箱盖（打开光门），调节光量调节旋钮使指针在 T 值为 100% 处。如此反复调节，直到关闭光门进和打开光门时指针分别指在 T 值为 0% 和 100% 处为止。
6. 将待测溶液置于光路中，盖上箱盖，由此时指针的位置读得待测溶液的 T 值或 A 值。
7. 测量完毕后，关闭开关取下电源插头，取出比色皿洗净擦干，放好。盖好比色皿暗箱，盖好仪器。

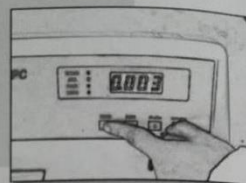
八、注意事项

1. 使用比色皿时，只能拿毛玻璃的两面，并且必须用擦镜纸擦干透光面，以保护透光面不受损坏或产生斑痕。在用比色皿装液前必须用所装溶液冲洗 3 次，以免改变溶液的浓度。比色皿在放入比色皿架时，应尽量使它们的前后位置一致，以减小测量误差。
2. 需要大幅度改变波长时，在调整 T 值为 0% 和 100% 之后，应稍等片刻（因钨丝灯在急剧改变亮度后，需要一段热平衡时间），待指针稳定后再调整 T 值为 0% 和 100%。
3. 当被测溶液浓度太大时，可在空白溶液处加一块中性滤光片（所谓中性是指它们在很宽的波长范围内的透光率基本相同），其 A 值有 0.5，1，和 1.5 三种。所谓 A 值为 1 是标称值，实际在 1 左右，须经使用的仪器在实际使用的波长下测定其实际数值，例如：测得吸光片的实际数值为 0.95，在空白溶液处加此吸光片后，被测溶液在电表上的读数为 0.74，则该溶液的实际值为： $0.74+0.95=1.69$

4. 根据溶液的含量大小选择不同光程长度的比色皿,使用权电表读数 A 在 0.1~1 之间, 这样可以得到较高的准确度。

2.2.6 选定测试功能项

开机初始模式为透射比测定, 以后每按一次①测定 **模式** 切换键, 依次为吸光度、浓度因子、浓度直读测定, 由各自指示灯表明模式状态, 并顺序循环。如右图为测定吸光度模式。



2.3 入门应用操作例集

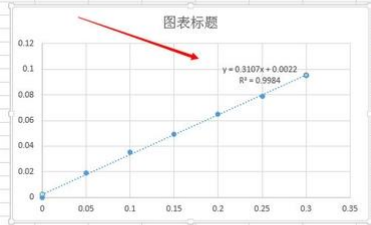
2.3.1 测定非浑浊性及具发光特性液体样品的吸光度

- (1) 按下⑬仪器总电源开关。
- (2) 主机预热30min。
- (3) 旋转⑰波长调节旋钮, 至所需波长。
- (4) 玻璃比色皿一盛蒸馏水或去离子水作参比, 玻璃比色皿二盛所需测定样品溶液, 分别用试镜纸将四壁擦拭干净。
(如以空气作为参比需移去比色皿, 跳过步骤4、5、6, 由3直接进入步骤7)
- (5) 将比色皿一置入样品室任一空白样品槽, 比色皿二置入样品室其它空白样品槽。
- (6) 拉动⑤样品室4联架移档拉杆使装入参比样品的样品槽对准光路, 合上⑱样品室盖。
- (7) 按①测定 **模式** 切换键, 使② **透射比** 功能指示灯亮, 运行透射比测定模式。
- (8) 按④ **↑100%** 调整键, 仪器自动调整100%, 如未至100可加按数次至⑥4位LED数据显示窗显示100.0±0.1%(τ)止。
- (9) 打开⑱样品室盖, 按⑤ **↓0%** 调整键, 仪器自动调整0%, 如未至0可加按数次至⑥4位LED数据显示窗显示0.0±0.1%(τ)止。
- (10) 闭合⑱样品室盖, 如发现100%有漂移, 按④ **↑100%** 调整键, 使⑥4位LED数据显示窗回复100.0±0.1%(τ)止。
- (11) 按①测定 **模式** 切换键, 使③ **吸光度** 功能指示灯亮, 运行吸光度测定模式。
- (12) 打开⑱样品室盖, 拉动⑤样品室4联架移档拉杆, 使待测样品槽对准光路, 闭合⑱样品室盖。
- (13) 由⑥4位LED数据显示窗读出仪器测得的样品吸光度值, 并记录。
- (14) 继续测定其它样品, 或关闭⑬仪器总电源开关。

2.3.2 测定非浑浊性及具发光特性液体样品的透射比

- (1) 按下⑬仪器总电源开关。
- (2) 主机预热30min。
- (3) 旋转⑰波长调节旋钮, 至所需波长。
- (4) 按①测定 **模式** 切换键, 使② **透射比** 功能指示灯亮, 运行透射比测定模式。
- (5) 打开⑱样品室盖, 若测试波长值在340-380nm区间内且做高精度测试, 可推动样品室

15	0.2	0.25	0.3
19	0.065	0.079	0.095



- 图表元素**
- 坐标轴
 - 坐标轴标题
 - 图表标题
 - 数据标志
 - 误差线
 - 网格线
 - 图例
 - 趋势线

趋势线选项

- 删除(D)
- 线性(L)
- 对数(O)
- 多项式(P) 阶数(P): 2
- 幂(M)
- 移动平均(A) 周期(A): 2

趋势线名称

自动(A) 线性 (系列1)

自定义(C)

趋势预测

向前(F) 0.0 日

向后(B) 0.0 日

显示 R 平方(R)

0.12

0.12

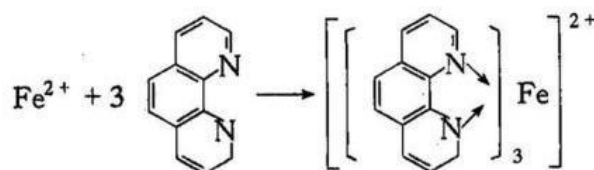
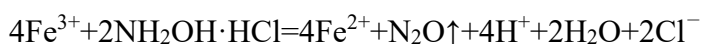
实验二 可见分光光度法：吸收曲线、工作曲线的绘制及水中微量铁测定（3 课时）

一、实验目的：

- 1、了解分光光度计的基本构造，熟悉分光光度计的使用方法。
- 2、学习吸收光谱曲线的绘制、查找最大吸收波长 λ_{\max} 的方法。
- 3、掌握邻菲罗啉分光光度法测定微量铁的原理和方法。
- 4、学会标准曲线的绘制方法及其使用。

二、原理：

- 1、物质对不同波长光的吸收程度不同，通过测定不同波长光对应的吸光度，绘制 A- λ 吸收曲线，找出最大吸收波长 λ_{\max} 。
- 2、定量分析依据： $A = \epsilon bc$ 。
- 3、邻二氮菲法测定铁有关反应：



橙红色配合物

4、显色条件：

pH 值控制：pH \approx 5.0

显色时间：15min

显色温度：室温

显色剂及用量：邻二氮菲 2.00mL

5、吸光度测量条件

λ_{\max} = nm

参比溶液：试剂空白

吸光度范围：0.2-0.8

三、仪器

100mL 容量瓶、100mL 烧杯、50mL 容量瓶、10mL 吸量管、20mL 移液管、1mL 移液管、2mL 移液管、5mL 移液管，吸耳球、722 型可见分光光度计，1cm

比色皿等。

四、试剂：

- 1、铁标准溶液 ($100.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)：准确称取 0.2159g 分析纯 $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ，置于 100mL 烧杯中，以 5mL $6\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}$ 溶解后移入 250mL 容量瓶中，以水稀释至刻度，摇匀。
- 2、铁标准溶液 ($10.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的配制：用 10mL 移液管移取铁标准溶液 ($100.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 于 100mL 容量瓶中，稀释至刻度线。
- 3、10%盐酸羟胺水溶液（还原剂）：称取 5g 盐酸羟胺，溶于 45mL 水中（不稳定，须新近配制）。
- 4、0.2%邻菲罗啉水溶液（显色剂）：称取 1g 邻菲罗啉，先用 $5\text{-}10\text{mL}$ 95%乙醇溶解，再用蒸馏水稀释至 500mL 。临用时配制或避光保存，两周内有效。
- 5、HAc-NaAc 缓冲溶液 ($\text{pH}\approx 5.0$)：称取 160g 分析纯乙酸钠，加入 60mL 冰乙酸，加水溶解后，稀释至 1000mL 。

五、实验步骤

1、标准系列溶液的配制：

用 10mL 吸量管分别吸取铁的标准溶液 0.00 、 1.00 、 2.00 、 4.00 、 6.00 、 8.00 、 10.00mL 于 7 支 50mL 容量瓶中，加少量水，再分别加入 1mL 盐酸羟胺溶液 (10%)，混匀，放置 2min 。用 5mL 移液管分别加入 5mL HAc-NaAc 缓冲溶液 ($\text{pH}\approx 5.0$)，摇匀，用 2mL 移液管分别加入 2mL 邻菲罗啉溶液 (0.2%)，摇匀，加水稀释至刻度，并贴上标签。

2、吸收曲线的配制：

选用 1cm 比色皿，以试剂空白（编号 $0^\#$ ）为参比，在 $440\sim 560\text{nm}$ 之间，每隔 10nm 测定一次待测溶液的吸光度 A ，以波长为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制吸收曲线，从而选定测定铁的最大吸收波长 λ_{max} 。

3、标准曲线的绘制：

于 λ_{max} 处，用 1cm 比色皿，以试剂空白（编号 $0^\#$ ）为参比，测定由低浓度至高浓度系列标准溶液的吸光度，以铁的浓度为横坐标，相应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线。

4、铁含量的测定：

取含铁未知试液 5.00mL 于 50mL 容量瓶中，加少量水（稀释了十倍）。再分

别加入 1mL 盐酸羟胺溶液 (10%), 混匀, 放置 2min。用 5mL 移液管分别加入 5mLHAc-NaAc 缓冲溶液 (pH≈5.0) 摇匀, 用 2mL 移液管分别加入 2mL 邻菲罗啉溶液 (0.2%) 摇匀, 加水稀释至刻度。

5、于 λ_{\max} 处, 用 1cm 比色皿, 以试剂空白 (编号 0[#]) 为参比, 测定未知试样的吸光度, 再利用标准曲线求得试样中铁的含量。相关系数 $R^2 > 0.999$ 比较好。

六、数据记录与处理:

1、吸收曲线的绘制:

分光光度计型号:

比色皿厚度:

波长 /nm	440	460	480	500	505	510	515	520	540	560
吸光度 /A										

注: 可再添加行。

将所获数据以波长为横坐标, 吸光度为纵坐标, 用软件 (excel 或 origin) 绘制吸收曲线图, 选择吸收曲线的峰值波长为铁测量波长 $\lambda_{\max} =$ nm。

打印吸收曲线图, 并粘贴。

2、铁含量的测定:

编 号	0 [#]	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	样品
V (铁标液) /mL	0.00	1.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00	5.00
ρ (Fe) / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	
A	0.00							

以吸光度 A 为纵坐标, 铁含量为横坐标, 用软件 (excel 或 origin) 绘制出标准曲线图, 打印曲线并粘贴。

通过标准曲线找出被稀释样品中铁的含量 $\rho\text{Fe}(x)$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$), 再按下式计算原样品中铁的含量 ρFe 。 $\rho\text{Fe} = \rho\text{Fe}(x) \times 10$

七、注意事项

(1) 配置溶液时，加入试剂的顺序不能随意改变。每加入一种试剂之前都应先摇匀(不要加盖)容量瓶中的溶液；显色过程中，每加入一种试剂均要摇匀。

(2) 试样和标准曲线测定的实验条件应保持一致，所以最好两者同时显色同时测定。

(3) 用刻度吸管取标液时，应从满刻度处开始，放出所需体积，以减小体积误差；

(4) 每改变一次波长,都要用参比溶液调“0”和“100%”。

八、思考题

T 与 A 两者关系如何？分光光度测定时，一般读取 A 值，该值在什么范围好？为什么？如何控制被测溶液的 A 值在此范围内？

九、问题讨论

(1) 显色时，还原剂、缓冲溶液、显色剂的加入顺序可否颠倒？为什么？

答：顺序不能颠倒，因为显色反应必须在一定的条件下进行，才能取得较好的显色效果。被测物质和各种试剂的加入顺序往往需经反复试验才能确定，所以对已经确定了的试剂加入顺序不能随意改动。

(2) 制作吸收曲线时，为什么每改变一次入射光波后，都必须用参比溶液调零？

答：由于比色皿和参比溶液对不同波长的入射光有不同的反射和吸收，所以当测量波长改变时，都要用参比溶液进行调零，这样才能测出有色物质在该波长下的实际吸光度。

试剂空白：还原剂（1.0ml 盐酸羟胺），显色剂（2.0ml 邻菲咯啉），5.0ml NaAc，用水稀释至刻度。

未知铁试样：用量筒量取约 8mL $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 铁标准溶液（ $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）于小烧杯中，加水稀释至 50mL，后转移至试剂瓶中。

实验三 电位分析法：缓冲溶液的配制及餐具洗涤剂 pH 值的测定(两点校正法)

(3 学时)

一、实验目的：

- 1.了解缓冲溶液的配制原理及缓冲溶液的性质。
- 2.掌握溶液配制的基本实验方法。
- 3.理解电位法测 pH 值原理。
- 4.会操作 pH 计测溶液 pH 值。

二、实验原理：

1.餐具洗涤剂 pH 值的测定：

本实训参照 GB 6368-2008《表面活性剂 水溶液 pH 值的测定 电位法》之规定测定。

在生产和科研中常会接触到有关 pH 的问题，粗略的 pH 测量可用 pH 试纸，而比较精确的 pH 测量都需要用电位法，即根据能斯特公式，用酸度计测量电池电动势来确定 pH。常用 pH 玻璃电极为指示电极（接酸度计的负极），饱和甘汞电极为参比电极（接酸度计的正极）与被测溶液组成电池（也可使用 pH 复合电极），则 25℃时： $E = K' + 0.0592 \text{ pH}_{\text{试液}}$

式中， K' 在一定条件下虽有定值，但不能准确测定或计算得到，在实际测量中要按 pH 实用定义，用标准缓冲溶液来校正酸度计（即进行“定位”）后，才可在相同条件下测量溶液 pH。酸度计上的 pH 示值是按 pH 实用定义中 $\Delta E/0.0592$ 分度，此分度值只适用于温度为 25℃时。为适应不同温度下的测量，在用标准缓冲溶液“定位”前要先要进行温度补偿（将“温度补偿”旋钮调至溶液的温度处）。在进行“温度补偿”和校正后将电极插入待测试液中，仪器就可以直接显示被测溶液 pH。

pH 测量结果的准确度决定于标准缓冲溶液 pH_S 的准确度，两电极的性能及酸度计的精度。

2.缓冲溶液的配制原理及性质：

（1）基本概念：在一定程度上能抵抗外加少量酸、碱或稀释，而保持溶液 pH 值基本不变的作用称为缓冲作用。具有缓冲作用的溶液称为缓冲溶液。

（2）缓冲溶液性质：

因为缓冲溶液中具有抗酸成分和抗碱成分，所以加入少量强酸或强碱，其 pH 值

基本上是不变的。稀释缓冲溶液时，酸和碱的浓度比值不改变，适当稀释不影响其 pH 值。缓冲容量是衡量缓冲溶液缓冲能力大小的尺度。缓冲容量的大小与缓冲组分浓度和缓冲组分的比值有关。缓冲组分浓度越大，缓冲容量越大；缓冲组分比值为 1:1 时，缓冲容量最大。

三、仪器与材料：

pHS-3C 酸度计、温度计、100mL 烧杯（3 个）、玻棒、洗瓶、pH 标准缓冲溶液在不同温度下的标准值表、广泛 pH 试纸，量筒(100mL，10mL)、吸量管(10mL)等。

四、试剂：

1.HAc(0.1mol·L⁻¹), NaAc(0.1mol·L⁻¹), NaH₂PO₄(0.1 mol·L⁻¹), Na₂HPO₄ (0.1 mol·L⁻¹),NH₃·H₂O (0.1 mol·L⁻¹), NH₄Cl (0.1 mol·L⁻¹), HCl (0.1 mol·L⁻¹), NaOH (0.1 mol·L⁻¹)。

2.标准缓冲溶液甲 (pH 4.01, 25°C) 、标准缓冲溶液乙 (pH 6.86, 25°C) 、标准缓冲溶液丙 (pH 9.18, 25°C)；

3.市售手洗洗洁精（称取试样 10.0 置于烧杯中，称准至 0.001g，用蒸馏水溶解，移入 1000mL 容量瓶中，稀释至刻度，摇匀，备用）。

五、实验步骤：

（一）餐具洗涤剂 pH 值的测定：

1.粗测样品的 pH

用广泛 pH 试纸测试上述样品溶液的 pH，如果测得 pH 呈碱性，则选择标准缓冲溶液组合为 pH 6.86 和 pH 9.18；如果测得 pH 呈酸性，则选择标准缓冲溶液组合为 pH 6.86 和 pH 4.01。

2.仪器校准

（1）酸度计使用前准备

接通电源，打开开关，预热 20min。

置选择按键开关于“pH”位置。

（2）电极选择、处理和安装

将在 3mol·L⁻¹KCl 溶液中浸泡活化 8h 的 pH 复合电极安装在多功能电极架上，组建测量装置。用蒸馏水冲洗电极，用滤纸吸干外壁水分。注意！玻璃电极球泡易碎，操作要仔细。电极引线插头应干燥、清洁，不能有油污。

(3) 校正酸度计（两点校正法）

- a. 用广泛 pH 试纸粗测待测溶液 pH 值，根据粗测的 pH 值选择标准溶液（pH = 6.86 和 4.01 组合或 pH = 6.86 和 9.18 组合）。
- b. 选用 pH = 6.86（25°C）的标准缓冲溶液，用温度计测量标准缓冲溶液温度，调节“温度补偿旋钮”，使指示的温度刻度为所测得的温度。
- c. 将电极插入标准缓冲溶液中，小心轻摇几下试杯，以促使电极平衡。注意！电极不要触及杯底，插入深度以溶液浸没玻璃球泡为限。
- d. 将“斜率旋钮”顺时针旋到底，调节“定位”调节器，使仪器显示值为所测温度下该标准缓冲溶液的 pH。随后将电极从标准缓冲溶液中取出，移去试杯，用蒸馏水清洗电极，并用滤纸吸干电极外壁水。
- e. 选用另一种与待测试液 pH 相接近的标准缓冲溶液（pH = 4.01 或 9.86(25°C)）用温度计测量标准缓冲溶液温度，调节“温度补偿旋钮”，使指示的温度刻度为所测得的温度。将电极插入溶液中，小心轻摇几下烧杯，使电极平衡。调节“斜率旋钮”，使仪器显示值为所测温度下该标准缓冲溶液的 pH。
- f. 重复校正。在以上两种标准溶液之间反复操作几次，直到不需要再调节定位和斜率钮，pH 计就可准确显示所测温度下两种标准缓冲溶液 pH 值，则校准过程结束。注意！校正后的仪器即可用于测量待测溶液的 pH，但测量过程中不应再动“定位”或“斜率”钮，若不小心碰动“定位”或“斜率”钮应重复中(b) - (f)步骤，重新校正。

(3) 样品的测定

- a. 移去标准缓冲溶液，清洗电极，并用滤纸吸干电极外壁水。取 100mL 烧杯，用待测试液润洗三次后倒入 50mL 左右试液。用温度计测量试液的温度，并将温度调节器置此温度位置上。
注意！待测试液温度应与标准缓冲溶液温度相同或接近。若温度差别大，则应待温度相近时再测量。
- b. 将电极插入被测试液中，轻摇试杯以促使电极平衡。待数字显示稳定后读取并记录被测试液的 pH，并报告结果 pH=_____。

(二) 缓冲溶液的配制及性质

1. 缓冲溶液的配制与 pH 值的测定

依表 1 进行实验。并将实验数据记录。

表 1 缓冲溶液的配制与 pH 值的测定

实验号	理论 pH 值	各组分浓度体积/mL (总体积 50mL)	精密 pH 试纸测 定 pH 值	pH 计测定 pH 值
1	4.0	0.1mol·L ⁻¹ HAc_____		
		0.1mol·L ⁻¹ NaAc_____		
2	7.0	0.1mol·L ⁻¹ NaH ₂ PO ₄ _____		
		0.1mol·L ⁻¹ Na ₂ HPO ₄ _____		
3	10.0	0.1mol·L ⁻¹ NH ₃ ·H ₂ O_____		
		0.1mol·L ⁻¹ NH ₄ Cl_____		

2.缓冲溶液的性质

根据表 2 进行实验，并将实验结果记录在表中。

表 2 缓冲溶液的性质

实验号	溶液类别	pH 值	加 5 滴 HCl 后 pH 值	加 5 滴 NaOH 后 pH 值	加 10mL 水后 pH 值
1	pH=4.0 的缓冲溶液				
2	pH=7.0 的缓冲溶液				
3	pH=10.0 的缓冲溶液				

六、实验结束工作

关闭酸度计电源开关，拔出电源插头。取出复合电极用蒸馏水清洗干净后，用滤纸吸干，套上小帽存放在盒内。用干净抹布擦净工作台，罩上仪器防尘罩。

七、注意事项

1、酸度计的输入端（即测量电极插座）必须保持干燥清洁。在环境湿度较高的场所使用时，应将电极插座和电极引线柱用干净纱布擦干。读数时电极引入导线和溶液应保持静止，否则会引起仪器读数不稳定。

2、标准缓冲溶液配制要准确无误，否则将导致测量结果不准确。

3、注意用电安全，合理处理、排放实验废液。

实验四 气相色谱仪、FID 和色谱工作站的基本操作及进样练习（3 课时）

一、实验目的：

- 1、掌握气相色谱仪的操作流程
- 2、了解有关气相色谱仪器的安全防护工作
- 3、掌握注射器进样有关操作技能

二、原理

定性分析：化合物在一定的色谱操作条件下，每种物质都有一确定的保留值（色谱峰在色谱图中的位置，从进样开始到组分浓度出现极大点时所需时间，即组分通过色谱柱所需要的时间），故可作为定性分析的依据。在相同的色谱条件下对已知样品和待测试样进行色谱分析，分别测量各组分峰的保留值，若某组分峰与已知样品相同，则可认为二者是同一物质，从而确定各个色谱峰代表的组分。（注意：两个相同的物质在相同色谱条件下具有相同的保留值，但是在相同色谱条件下，具有相同保留值的两个物质却不一定是同一物质）

对于组成简单的样品，且对其各组分有所了解，可以通过如下方式进行分析：

- 1、先将各组分的标准样品注入色谱柱，得到其各自的保留值。
- 2、再将样品注入色谱柱，得到样品中各组分的保留值。
- 3、所得保留值进行对照，即可知样品组份。

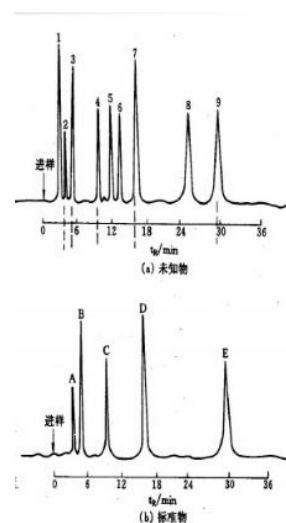
当未知样品中组分较多，所得色谱峰过密，用上述方法不易辨认时，或仅作未知样品指定项目分析时均可用此法。首先做出未知样品的色谱图，然后在未知样品加入某已知物，又得到一个色谱图。峰高增加的组分即可能为这种已知物。

已知标准物：

- A: 甲醇
- B: 乙醇
- C: 正丙醇
- D: 正丁醇
- E: 正戊醇

三、验仪器及试剂

1. 仪器：9310 气相色谱仪、0.5 μ L 注射器、滤纸等
2. 试剂：乙醇（色谱纯）、乙酸、乙酸乙酯等。



四、实验条件

- 1、温度：进样口（国产称气化室，进口称进样口）温度 200℃；柱温 160℃左右（或 140℃），测乙醇柱温 60℃；检测器温度 140℃。
- 2、气体流量：载气为氮气 40mL/min，空气 400 mL/min，氢气 35mL/min。
- 3、检测器 FID，灵敏度 10^{-7} 。
- 4、进样量：0.2μL

五、实验步骤

- 1、色谱仪器进样操作；
- 2、纯物对照法：
 - 1) 进标样：分别吸取乙醇、乙酸（或乙酸乙酯）各 0.2μL，依次进样，准确记录保留时间。
 - 2) 进待测样：用待测样（自己合成）把 0.2μL 微量进样器洗 3-5 次，然后往色谱仪内注射 0.2 μL 样品，准确记录保留时间。
 - 3) 将乙醇、乙酸（或乙酸乙酯）标样的保留时间与待测样的保留时间对比定性。
- 3、加入纯物增加峰高：
 - 1) 进待测样：用待测样把 0.2μL 微量进样器洗 3-5 次，然后往色谱仪内注射 0.2μL 样品，准确记录保留时间。
 - 2) 取上述待测样二份，分别加入适量乙醇、乙酸（或乙酸乙酯）标样，分别吸取配制的混合样品 0.2μL，依次进样，观察色谱峰变化。
 - 3) 根据色谱峰峰高变化定性。

六、结果处理：（气相色谱效果一直不是很理想。乙醇峰比较好，乙酸、异丙醇等都不是很好，需要重新选定物质）

（一）记录样品各峰保留时间，如下表：

样品	保留时间 t_{R1}/min	保留时间 t_{R2}/min
乙醇		
乙酸		
乙酸乙酯		

注意事项：

1、进样时注射器垂直于进样口，左手扶着针头以防弯曲，右手拿着注射器，右手食指卡在注射器芯子和注射管的交界处，这样可以避免当针进到气路中央由于载气压力较高而把芯子顶出。

2、注射器取样时，应用被测试液洗涤 5~6 次，然后缓慢抽取一定量试液，并不带有气泡，用滤纸吸去针尖外所沾试液。

3、排出气泡方法：吸样时要慢、快速排出再慢吸，反复几次。

4、进样时，要求操作稳当、连贯、迅速，进针位置及速度，针尖停留和拔出速度都会影响进样重现性

要经常注意更换进样器上的硅橡胶密封垫片，以防漏气。

严格按照 9310 气相色谱仪操作规程进行操作

● 开机到检测（约 30 分钟）

1. 开 机：

电脑开机后，先打开氮气钢瓶总阀（总阀逆时针开），调节输出压力表在 0.4MP 左右，同时查看毛细气路控制器“载气压力 A”（压力有 0.06MP 压力），这时打开仪器电源开关，仪器开始自检 OK 后自动进入控制界面。进样垫漏气时可更换，旋钮不可扭太紧，刚好即可。

2. 设置温度：

在温度界面，用“菜单及上下”键选择光标在“进样器”温度处闪烁，输入 200 按“输入”，光标进入“柱箱”温度处闪烁，输入需要用到的温度（如测乙醇则输入 60）按输入键，这时光标进入检测器 1 处闪烁，输入 200 按输入，光标在辅助 2 处闪烁，输入 200 按输入键，输入完毕按菜单键退出温度设置界面，这时再按“开始”键，进入加温程序；（如果是程序升温，则程序升温设置好，点火，基线走平，进样，每测完一个样，要停止程升，双击开始，重新程升再测下一个样，多次进样，进样间隔尽量相同，这样峰谱图便于对比。恒温则没必要。）

3. 打开电脑及数据工作站（在线工作站，通道 1）。

4. 当氢火焰检测器 1 温度达到 150 度以上时，打开氢气与空气总阀，待氢气输出压力调节到 0.2MP，空气输出压力调节到 0.4MP，这时按“点火”按钮进行点火（可用镜子看是否有水蒸气来判断是否点着，如没点着则再次按下点火按钮）。

5. 进样：当点火后 15-20 分钟后（因为温度上升很快，这个时间温度基本就达到指定温度了）基线走直后就可进样了；（有时基线看不到，就调整电压范围，使电压范围在-2，然后进行零点校正）。

取样动作明细：（1）注射器先用丙酮清洗 10 次以上，再用等测样品清洗 10 次以上，接着取 0.02 μ l 样品（如果峰高太大可适量减少进样量）

（2）将样品针完全插入进样口（INJ）快速注入样品（需做到“三快”，快打，快进，快拔），接着按电脑键盘的“F5”键（3）.待出峰完毕，再开始进下一个样品。

● 关机顺序

1. 关掉氢气与空气钢瓶总阀。

2. 降低主机温度：在温度界面按菜单键进入温度设定界面，把光标调到柱箱温度设置处，输入 30 按输入键，之后再按菜单键退出温度设置界面，这时把氢气和空气钢瓶总阀关闭，当柱箱温度降到 50 度后关掉主机电源。

3. 过 30 分钟关闭氮气钢瓶总阀。；

5. 退出工作站，关闭电脑。

四、实验注意事项：

1. 主机开机前要关好柱箱，不能打开箱门；

2. 不要在“载气压力”的情况下打开仪器并升高柱箱温度。

原始数据记录与处理表：

组分	保留时间 (s)	峰高 (mm)	半峰宽 (mm)	峰面积 (mm ²)
乙醇				

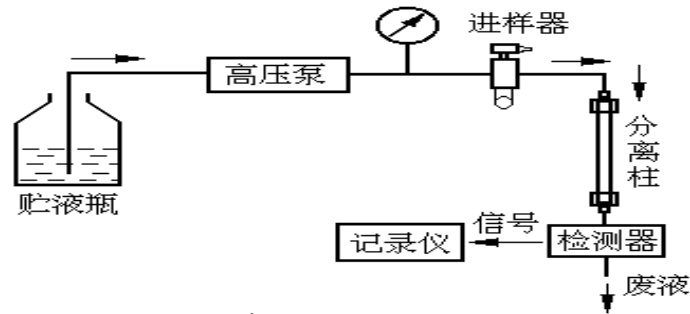
实验五 高效液相色谱仪仪器认知、操作及进样练习（3课时）

高效液相色谱法测食品中的苯甲酸

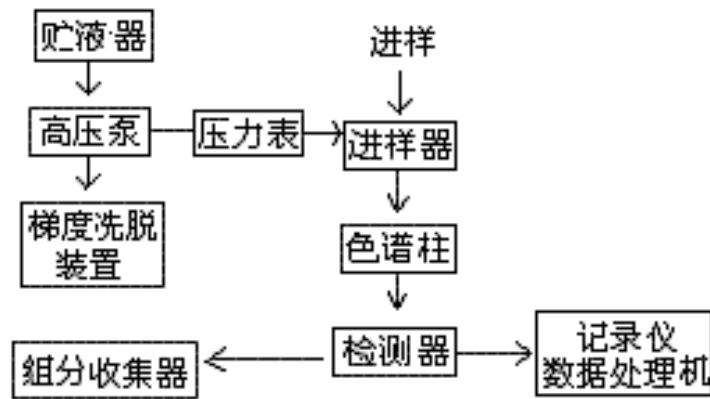
一、实验目的

熟悉高效液相色谱仪的结构；熟练掌握高效液相色谱仪的操作；掌握进样技术。

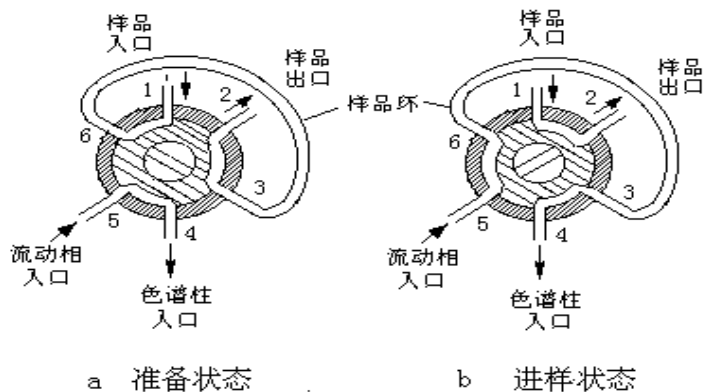
二、实验原理

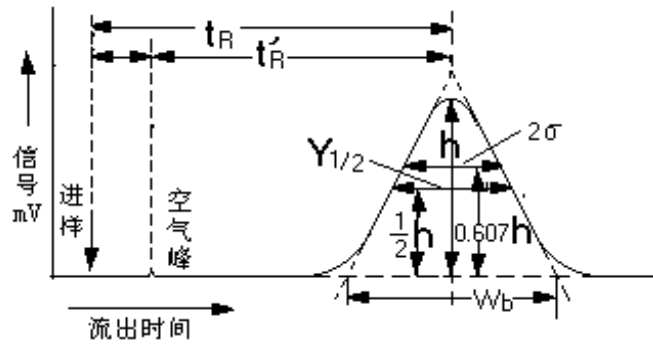


进样装置：流路中为高压力工作状态，其结构如图：



高效液相色谱流程示意图





定性方法:

1. 利用纯物质定性的方法

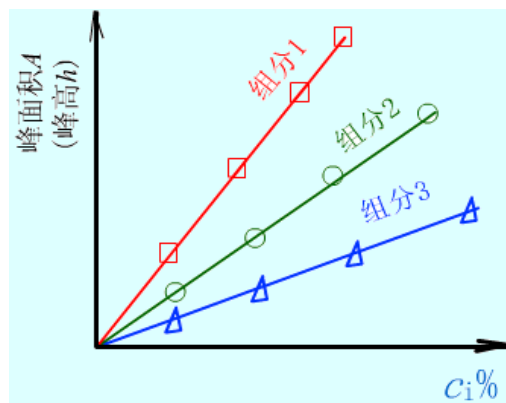
利用保留值定性: 通过对比试样中具有与纯物质相同保留值的色谱峰, 来确定试样中是否含有该物质及在色谱图中位置。不适用于不同仪器上获得的数据之间的对比 (我们定性的依据)。

利用加入法定性: 将纯物质加入到试样中, 观察各组分色谱峰的相对变化。

2. 利用文献保留值定性

常用的几种定量方法

(归一化法) 若试样中含有 n 个组分, 且各组分均能洗出色谱峰, 则其中某个组分的质量可按式计算

$$f_i\% = \frac{m_i}{m_1 + m_2 + \dots + m_n} \times 100 = \frac{f_i' \cdot A_i}{\sum_{i=1}^n (f_i' \cdot A_i)} \times 100$$


特点及要求:

归一化法简便、准确;

进样量的准确性和操作条件的变动对测定结果影响不大;

仅适用于试样中所有组分全出峰的情况。

(2) 内标法: 在一定试样中加入一定量的内标物, 根据待测组分和内标物的峰面积及物质量计算待测物质质量的方法。

内标物要满足以下要求：

- (a) 试样中不含有该物质；
- (b) 与被测组分性质比较接近；
- (c) 不与试样发生化学反应；
- (d) 出峰位置应位于被测组分附近，且无组分峰影响。

试样配制：准确称取一定量的试样 W ，加入一定量内标物 mS

计算式：

内标法特点：

- (a) 内标法的准确性较高，操作条件和进样量的稍许变动对定量结果的影响不大。
- (b) 每个试样的分析，都要进行两次称量，不适合大批量试样的快速分析。
- (c) 若将内标法中的试样取样量和内标物加入量固定，则：
- (3) 外标法：也称为标准曲线法

特点及要求：

- 外标法不使用校正因子，准确性较高；
- 操作条件变化对结果准确性影响较大；
- 对进样量的准确性控制要求较高，适用于大批量试样的快速分析。

本实验：不同样品经提取后，将提取液过滤，经反相高效液相色谱分离测定，根据保留时间定性，外标峰面积定量。

三、仪器和试剂

除另有说明，所用试剂均为分析纯，实验用水均为高纯水。

1、仪器

高效液相色谱仪，配有紫外检测器；超声波水浴振荡器。

2、试剂：

甲醇：色谱纯

乙酸铵溶液：称取 1.54g 乙酸铵，加水溶解并稀释至 1000mL，经微孔滤膜过滤。

氨水（1+1）：氨水与水等体积混合。

- 1、 苯甲酸标准储备液：准确称取 0.2500g 苯甲酸钠，加水溶解并定容至 250mL，此溶液相当于每毫升含苯甲酸 1.00mg。

样品处理

碳酸饮料（雪碧）：称取 20g 样品（精确至 0.001g）（加热去除二氧化碳）于 25mL 容量瓶中，用氨水（1+1）调节 pH 至近中性，用水定容至刻度，混匀，经微孔滤膜过滤，滤液待上机分析。（雪碧须含苯甲酸钠）

四、分析步骤

1、色谱条件：

色谱柱：C18 柱，250mm×4.6mm，5μm，或性能相当者。

流动相：甲醇 + 乙酸铵溶液（5+95）（配制好要进行脱气）

流速：1ml/min

检测波长：230nm

进样量：20μL

保护液：甲醇+超纯水（90+10）（配制好要进行脱气）

2、标准使用液：分别吸取不同体积的苯甲酸钠，将其稀释成浓度分别为 0.000mg/ml、0.020mg/ml、0.040mg/ml、0.080mg/ml、0.160mg/ml、0.320mg/ml 的标准使用液。（即分别吸取 0.00ml、0.50ml、1.0ml、2.0ml、4.0ml、8.0ml 苯甲酸钠标准储备液，定容至 25ml 容量瓶），标准使用液用注射器和水性滤膜过滤。取 20ul 进样，得出标准钱。（最后一个 0.032 峰与前面的峰高差太远，可适当将浓度改为 0.200 或 0.240）

3、测定：

取样品液 20μL（用注射器和水性滤膜过滤）注入高效液相色谱仪进行分离，以其标准溶液峰的保留时间为依据定性，以其峰面积求出样液中被测物质含量，供计算。

2、 结果计算：

样品中苯甲酸的含量计算公式：

样品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的含量按式(1)计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots$$

式中：

X——样品中待测组分含量，单位为克每千克(g/kg)；

c——由标准曲线得出的样液中待测物的浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

V——样品定容体积，单位为毫升(mL)；

m——样品质量，单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

5、精密度：在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

6、图谱：

高效液相色谱仪操作步骤(LC-1600 操作规程)

1. 配置好流动相（需过滤）（根据实验要求配置）。
2. 把配置好的流动相放到超声波清洗器上超声 5-10 分钟（脱气用）。
3. 把流动相放到溶剂盘上，把吸滤头放入对应的流动相中。
4. 打开仪器电源（从上到下，从检测器到泵），待自检通过后打开电脑。
5. 打开桌面上的伍丰工作站，进入软件连接正常后先进行排气，操作如下步骤：
首先打开高压恒流泵的前面盖，逆时针 180 度旋开排空阀，这时在“软件工作站”上（点击花朵样符号，输液泵设置）把初始流量设成 5 马上点击“设置”按键，再按泵启动（开泵），同时把泵开始排气这时可以把泵的吸滤头轻敲几下以便把气泡排出，泵运行 3 分钟的样子，再点击泵停止（关泵），泵停止后把初始流量改成 1 马上点击设置，之后关上泵的排空阀。
6. 这时把氙灯打开，设置好样品的检测波长，再点击设置，按泵启动，开始平衡色谱柱，请查看泵的压力如泵的压力不稳定(压力来回波动很大)则重复第 5 步，正常则等基线稳定（约需 10min）。
7. 基线稳定后，点击工作站的参数设置把停止时间(15min)、满屏时间、显示上限（1000mv）、显示下限（-10mv）、样品名称、保存的路径等设好，先进对照品(进样量大于 100ul,如不用定量环定量则用微量注射器自己定进样量)，进样步骤如下：首先对照品过滤好后用注射器在进样阀在 INJECT 状态下把进样针放进去，再打到 LOAD 状态这时把样品推入，之后把阀打到 INJECT 状态则仪器自动进样进去了，工作站从零开始采集数据。点击采样结束，保存。
8. 对照品做好后，把文件名称设成样品名称，接着进样品，待样品出完后计算出样品的含量。
9. 整个分析做完后关机，关机步骤如下：

A.首先点击关泵,待泵压力回到 0.2Mpa 左右时把流动相其中换成甲醇水(甲醇:水=90:10), 打开恒流泵的前面盖, 逆时针拧开排空阀, 这时在工作站上把初始流量设成 5 马上点击设置按键, 按泵启动, 同时可以把泵吸滤头轻敲几下以便把气泡排出, 泵运行 3 分钟的样子, 再点击泵停止, 泵停止后把初始流量改成 1 马上点击“设置”之后关上恒流泵的排空阀, 之后点击泵启动, 再次运行 30 分钟 (保护色谱柱), 这时用 20ml 的针筒接好进样针头抽 10ml 的甲醇水 (甲醇:水=90:10) 冲洗进样阀, 把阀打在 INJECT 状态把针筒的进样针头放进阀里面冲洗 5ml 后把进样阀打到 LOAD 状态在冲洗 5ml, 冲洗好后打回到 INJECT 状态。

B.30 分钟后点击泵停止, 待压力回到 0.2Mpa 左右时关闭色谱仪电源 (从上往下关) 和电脑。

。关氙灯、关泵。

流程图

开机:

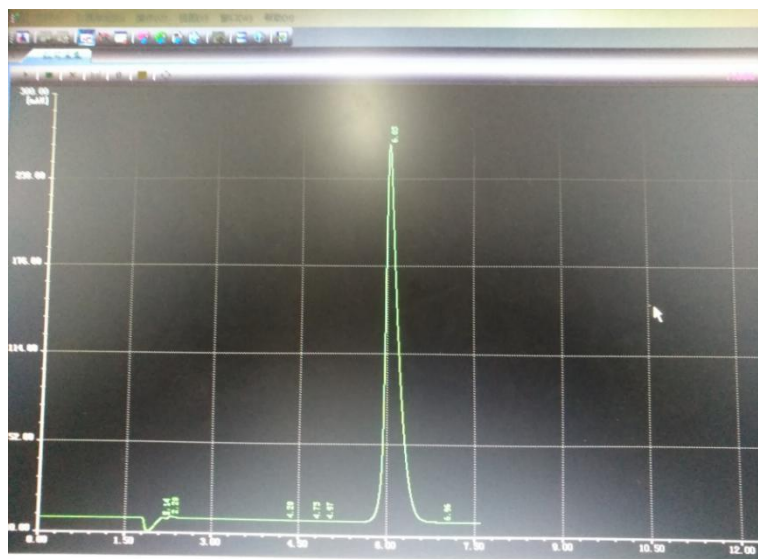
打开仪器电源 (从上到下, 从检测器到泵) --- 打开伍丰工作站, 进入软件连接正常后先进行排气 (逆时针 180 度旋开排空阀, 点击花朵样符号 (输液泵设置), 把初始流量设成 5 马上点击“设置”按键, 再按开泵, 同时把泵开始排气, 这时可以把泵的吸滤头轻敲几下以便把气泡排出, 泵运行 3 分钟的样子, 再点击关泵, 泵停止后把初始流量改成 1 马上点击设置, 之后顺时针关上泵的排空阀。) --- 氙灯打开, 设置好样品的检测波长, 再点击设置, 按泵启动 --- 进样 (进样步骤如下: 对照品过滤好后用注射器在进样阀在 INJECT 状态下把进样针放进去, 再打到 LOAD 状态这时把样品推入, 之后把阀打到 INJECT 状态则仪器自动进样进去了, 工作站从零开始采集数据。点击采样结束, 保存。)

关机:

点击关泵 (待泵压力回到 0.2Mpa 左右时把流动相其中换成甲醇水) --- 逆时针拧开排空阀
--- 把初始流量设成 5 马上点击设置按键 --- 开泵 --- 3 分钟左右, 关泵 --- 把初始流量改成 1 马上点击“设置” --- 关上恒流泵的排空阀
--- 开泵, 再运行 30 分钟 --- 用 20ml 的针筒接好进样针头抽 10ml 的甲醇水 (甲醇:水=90:10) 冲洗进样阀, 把阀打在 INJECT 状态把针筒的进样针头放进阀里面冲洗 5ml 后把进样阀打到 LOAD 状态在冲洗 5ml, 冲洗好后打回到 INJECT 状态。

30 分钟后点击泵停止, 待压力回到 0.2Mpa 左右时关闭色谱仪电源 (从上往下关) 和电脑。

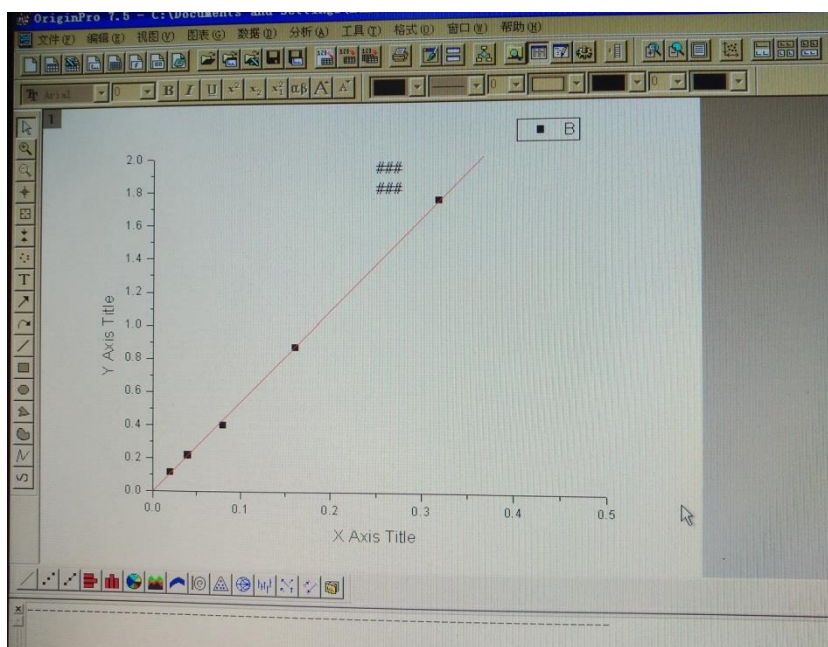
1、选择停止时间，得出的图谱，可以右击图谱添加名称，选择



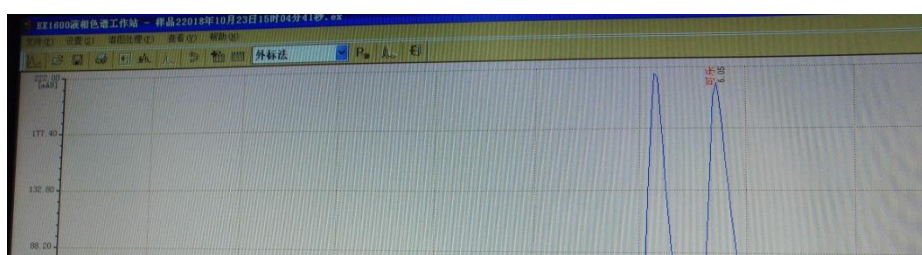
2、利用 Origin 做标准曲线

以 X 轴为浓度，Y 轴为峰面积做标准曲线。（峰面积较大，可以乘以 10 的负 4 次方）

选定数据区域，点击工具，选择线性拟合，过零点。如果没有呈现曲线，可以点击“图标”重新调整，调整坐标刻度。不小心关掉图谱，可以点击图谱还原，右侧滚动条调整。



3、测未知样，右击，手动画基线，得出峰面积，利用标准曲线公式求出浓度。



实验六：火焰原子吸收光谱法：测定水中的铜含量（标准加入法）（3 学时）

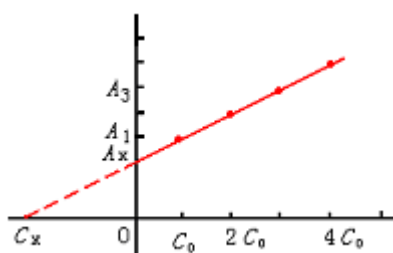
一、实验目的

1. 加强理解火焰原子吸收光谱法的原理。
2. 掌握火焰原子吸收光谱仪的操作技术。
3. 熟悉原子吸收光谱法的应用。

二、方法原理

原子吸收光谱法是基于气态基态原子外层的电子对共振线的吸收。气态的基态原子数与物质的含量成正比，故可用于进行定量分析。利用火焰的热能使样品转化为气态基态原子的方法称为火焰原子吸收光谱法。

当试样组成复杂，配制的标准溶液与试样组成之间存在较大差别时，常采用标准加入法。该法是取若干份体积相同的试液（ c_x ），依次按比例加入不同量（倍增）的待测物的标准溶液（ c_0 ），定容后浓度依次为： c_x ， c_x+c_0 ， c_x+2c_0 ， c_x+3c_0 ， c_x+4c_0 ；分别测得吸光度为： A_x ， A_1 ， A_2 ， A_3 ， A_4 。以加入标样的为横坐标，相应的吸光度为纵坐标，绘出标准曲线，如下图所示。图中横坐标与标准曲线延长线的交点至原点的距离 x 即为容量瓶中所含试样的浓度（ c_x ），从而求得试样的含量。以 A 对浓度 C 做图得一直线，图中 c_x 点即待测溶液浓度。

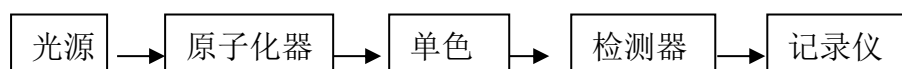


标准加入法

本法是一种成分分析法，常用于测定易挥发元素，可消除基体干扰和某些化学干扰。测定含量可达 10^{-9} g；精密度较高，一般小于 1%。

三、仪器和试剂

1. 原子吸收分光光度计



2. Cu 空心阴极灯等辅助装置；

25ml 移液管 (4 支)、250ml 容量瓶 (4 个)、50ml 比色管 (5 套)、2ml 吸量管 (4 支)、洗瓶 (若干)、洗耳球 (若干)、滴管 (若干)、烧杯 (若干)

3. 试剂:

(1) 铜标准贮备液 $\rho(c_u) = 1.000\text{mg/mL}$ 。(实验室提供)

(2) 稀硝酸溶液 (2+100): 20mL 浓硝酸溶于 1000mL 纯水中。

(3) 含铜标准溶液 [$\rho(\text{Cu}) = 0.1\text{mg/mL}$]: 用 10mL 移液管量取 10mL 铜标准储备 [$\rho(c_u) = 1.000\text{mg/mL}$], 用 (2+100) 的稀硝酸定容, 摇匀。

(3) 含铜水试样 ($2.0\ \mu\text{g/mL}$): 用 1mL 移液管移取铜标准贮备液 $\rho(c_u) = 1.000\text{mg/mL}$, 置于 500mL 容量瓶中, 用 (2+100) 的稀硝酸定容, 摇匀, 备用。
(这个好像用不到)

四、实验步骤

(1) 稀硝酸溶液 (2+100): 20mL 浓硝酸溶于 1000mL 纯水中。

(2) 含铜水试样 (约 $4\ \mu\text{g/mL}$): 用量筒量约 10mL $\rho(\text{Cu}) = 0.1\text{mg/mL}$, 置于 250mL 容量瓶中, 用 (2+100) 稀硝酸定容, 摇匀, 备用。

(3) 标准系列的配制:

用 25mL 移液管吸取 5 份 25.00mL 的含铜水试样 (约 $4\ \mu\text{g/mL}$) 分别置于 50mL 比色管中, 再用 10mL 吸量管各依次加入上述铜标准溶液 [$\rho(\text{Cu}) = 0.1\text{mg/mL}$] 0.00、1.00、2.00、3.00、4.00, 用 (2+100) 的稀硝酸定容, 摇匀。

(4) 测定各溶液的吸光度

由稀至浓逐个测量上述系列溶液的吸光度并列表记录。

容量瓶编号	1	2	3	4	5	备注
加待测试样体积 V_1/mL	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	
$\rho = 0.1000\text{mg/mL}$ 铜标液的 体积/mL	0.00	1.00	2.00	3.00	4.00	
定容体积 / mL	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	
铜浓度的增加量 $\rho(\text{Cu})/\mu\text{g mL}^{-1}$	0.00	2.00	4.00	6.00	8.00	横坐标

吸光度 A						纵坐标
-------	--	--	--	--	--	-----

4. 数据处理

- 用 EXCEL 绘制标准加入工作曲线，将其延长与浓度轴相交，记录交点的浓度 c_x 。
- 换算水样中铜的含量 ($\mu\text{g/mL}$)，公式如下：

$$\rho_{(\text{Cu})} = c_x \frac{V_0}{V_1}$$

式中：

- ρ (Cu)：水样中铜含量， $\mu\text{g/mL}$ ；
- C_x ：标准加入曲线与浓度轴交点， $\mu\text{g/mL}$ ；
- V_0 ：样品溶液定容体积，50mL；
- V_1 ：取样量，25.00mL。

AA4510 原子吸收分光光度计操作规程

一、 开机准备

检查仪器电路、气路连线是否正确，检测石墨炉是否有水，若无，须慢慢加入，以免着火。（点火前要确保废液管有水封；不能将进样毛细管置于液体里）

1、打开主机电源，然后在电脑上打开 AA4510 工作站原件，（速度较快，若相反也可，但速度较慢）各项自检正常点击“确定”，可以进入下一步操作。

2、检查灯管安置是否正确及对应序号，不正确就调整灯架。

调整光路，使得光斑在第二条线上。（仪器调整--升降台设置）

方法建立（也可点击“文件”选择“新建方法”）--选择铜元素--灯架位置（仪器默认铜元素在 2 号灯架）--确定

3、光电传感器信号强度设置：在工作站界面上点击“仪器调整”项，弹出的界面上点击“找峰”项，点击调零。观察峰面图，根据实际情况调整“负高压”（负高压尽量不超过 250，铜元素负高压大约 233，峰太高，则降低负高压），点发送，点找峰，使峰高在 80 左右，找最大吸收波长。 $\lambda_{\max}(\text{Cu})=324.82\text{nm}$ ，能量=99.6，

然后点击“确定”即可。然后点击“灯架调整”项再进行一次找峰操作（此项可省略）。（每一次实验均需要找峰）点击“下一步”→“关闭”出现主界面。

二、 检测准备

- 1、点击“原子化器设置”，观察弹出界面，先打开空压机电源，0.3MPA；然后打开乙炔钢瓶总阀，0.08MPA，不超过 0.09MPA（本仪器实际要调到 0.1MPA，旋钮越紧则为打开状态，压强越大，逆时针开，顺时针关）；然后进行气瓶检漏，用肥皂水。原子化器界面上空气和乙炔状态显示绿色后正常即可点击“点火”，点火完成后点击“确定”。如果火太小，则可将燃气量设大点。（点火前要确保有水封；不能将进样毛细管置于液体里）光线太暗则不容易点着火，有时需把灯罩取下。点火后，干烧 3min，然后放入超纯水湿烧稳定后即可。
- 2、点击“设置”项，在设置界面上添加空白和标样浓度，然后点击“确定”。设置平均 1 次即可。

三、 样品检测

- 3、调零，首先在进样管置于空气状态下点击“调零”，然后将进样管置于空白样品中，再进行一次调零操作，待稳定，吸光度显示为“0”。
- 4、测样，待显示稳定后，按顺序点击“标准空白”，“标准样品”，（每放入一个样品，点击一次“标准样品”）完成测定后，即可显示标准曲线，然后点击“测量样品”，将进样管放入样品液中，待吸光度稳定，读数即完成测定。

四、 关机（逆序关闭各电源开关）

- 1、测定完毕，在火焰点燃状态下，吸喷蒸馏水 5 分钟，清洗燃烧器。
- 2、等水份烘干后（即干烧状态）先关闭乙炔钢瓶。
- 3、火焰熄灭后再关空气压缩机（按排水按钮，再关电源）
- 4、关排风
- 5、退出工作软件
- 6、关闭主机电源
- 7、关闭电脑
- 10、填写仪器使用记录。

注意：

(1) 操作气瓶

一级压力表：钢瓶内的压力，注意不能用到零；

二级压力表：工作压力，对于乙炔气瓶，二级压力表调到小于 0.1MPa，建议使用 0.05MPa 即可。

(2) 乙炔气：火焰原子法时用；（用时开小点内有丙酮）。

氩气：石墨炉法时用；（用时开大点）。

总结：设置（确保废液管有水封）--调整灯架--找光路--找峰--点火（先空气压缩机，再乙炔钢瓶；先干烧，再湿烧）--检测样品--湿烧--干烧--关乙炔瓶--关空气压缩机。