

揭阳职业技术学院

JIEYANG POLYTECHNIC COLLEGE

教 案

系（部）： 化学工程系

讲授课程： 《仪器分析》

任课教师： 赖江钊

专业班级： 石油化工技术

揭阳职业技术学院化学工程系

石油化工技术教研室

授课日期	第 1 周	教案编号	01
课程名称	仪器分析	专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析		
授课题目	绪论		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
教学目的	思政教育目标：培养良好的职业道德。本章是《仪器分析》课程的介绍。主要是让学生了解《化学分析》与《仪器分析》的联系与区别，仪器分析方法的分类和它的发展情况，介绍仪器定量分析方法的评价指标。		
教学重点	1. 仪器分析方法的分类 2. 相关系数、检出限		
教学难点	相关系数、检出限		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()		
思考题	见教材		
作 业	课后习题		
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。		

授课主要内容

第一节 仪器分析简介

一、仪器分析和化学分析

分析化学(analytical chemistry) 是研究物质化学组成的测量和表征的科学。主要任务是鉴定物质的化学组成、结构和测量有关组分的含量。是研究物质及其变化的重要方法。

•化学分析：以物质的化学反应为基础的分析方法。

•仪器分析（物理物化分析）：以物质的物理和物理化学性质(光、电、热、磁等)为基础的分析方法这类分析方法一般要依靠仪器来完成，故习惯上称为仪器分析。

二、仪器分析方法的分类

(一) 光学分析法(spectroscopic analysis)

以物质的光学性质（吸收，发射，散射，衍射）为基础的仪器分析方法。

包括原子吸收光谱法、原子发射光谱法、紫外-可见吸收光谱法、红外光谱法、核磁共振波谱法等。(二)电分析(electrical analysis):

电流分析，电位分析，电导分析，电重量分析,库仑法，伏安法。

(三) 色谱分析(chromatography analysis) :

气相色谱法，液相色谱法

(四) 其它仪器分析方法(other analysis):

1. 质谱法 2. 热分析法 包括热重法、差热分析法、示差扫描量热法等。

3. 电子显微镜，超速离心机，放射性技术等。

三、仪器分析的特点

多学科交叉

(1) 仪器分析法具有很强的检测能力

绝对检出限可达微克、纳克、皮克、甚至飞克数量级。

(2) 仪器分析法的取样量较少。

可用于微量分析 ($0.1 \sim 10\text{mg}$ 或 $0.01 \sim 1\text{mL}$)和超微量分析 ($<0.1\text{mg}$ 或 $<0.01\text{mL}$)

(3) 仪器分析具有很高的分析效率

(4) 仪器分析法有更广泛的用途

可用于成分分析，价态、状态及结构分析，在线分析等。而化学分析一般只能用于离线的成分分析。

(5) 仪器分析的仪器设备比较复杂，价格比较昂贵。

四、仪器分析在生产实践及科学研究中的作用

1. 应用于传统领域：医药、食品、商检、公安、国防、材料、能源、环保等

2. 应用于前沿领域

例：遗传研究————→ 仪器确定 DNA 双螺旋结构

生命科学研究 —————→ 利用核磁共振、质谱确定蛋白质等大分子结构

五、仪器分析的发展历史及发展趋势

发展历史：

第一阶段：起始于 20 世纪初，这正是分析化学的第一次变革时期。

第二阶段：20 世纪 40 年代后，物理学和电子学的发展，促进了各种仪器分析方法的迅速建立，仪器分析成为分析化学中的重要支柱。并形成了第二次变革。

第三阶段：20 世纪 70 年代后，是仪器分析日新月异发展的时期。也是分析化学的第三次变革时期。

与分析仪器发明相关的诺贝尔奖获得者

The men awarded the Nobel prize relating to invention of analytical instrument

获奖时间	获奖者姓名	获奖内容
1907	Michelson, et al	首次制造精密光谱仪器
1922	Aston, et al	发明质谱测定同位素
1923	Pregl, et al	发明有机物微量分析
1930	Raman, et al	发现拉曼效应
1944	Rabi, et al	用共振方法记录原子核磁性
1948	Tiselius, et al	用电泳法发现血浆蛋白性质
1952	Bloch, et al	发展核磁共振精细测量法
1952	Martin, et al	发明分配色谱
1959	Heyrovsky, et al	发明极谱法
1981	Siegbahn, et al	发明高分辨电子光谱法
1986	Bloembergen, et al	发展激光光谱学
1986	Bining, et al	发明扫描隧道显微镜
1991	Ernst, et al	发展高分辨核磁共振方法

发展趋势：

1. 计算机技术在仪器分析中更广泛地应用，分析仪器实现了自动化。
2. 不同仪器分析方法联用，提高了仪器分析的功能。
3. 新型仪器更加微型化，智能化。

落地式—台式—移动式—便携式—手提式— Lab-on-a-Chip (芯片实验室)

第二节 定量分析方法的评价指标

• **灵敏度**：物质单位浓度或单位质量的变化引起响应信号值变化的程度，称为方法的灵敏度，用 S 表示。

• **精密度**：是指使用同一方法，对同一试样进行多次测定所得测定结果的一致程度。

精密度用测定结果的标准偏差 s 或相对标准偏差 (s_r) 量度。

• **准确度**：试样含量的测定值与试样含量的真实值（或标准值）相符合的程度称为准确度。

• **检出限**：某一分析方法可以检出被测物质的最小浓度或最小质量，称为该方法对该物质的检出限。以浓度表示的称为相对检出限，以质量表示的称为绝对检出限。

本章作业

1. 仪器分析方法的分类？
2. 仪器分析和化学分析的区别和联系？

授课日期	第 2、3 周	教案编号	02
课程名称	仪器分析	专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析		
授课题目	光谱分析导论		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
教学目的	思政教育目标：教育学生自觉遵守行业法律法规。本章是学习光学分析法之前应具备的基础知识。要求掌握光的波粒二象性，原子光谱和分子光谱基础知识，了解能级跃迁图，光谱仪的分类等。		
教学重点	1.光的波粒二象性 2.电磁波谱区 3.原子光谱项、分子光谱能及跃迁图		
教学难点	1.光的波粒二象性 2.电磁波谱区 3.原子光谱项、分子光谱能及跃迁图		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()		
思考题	见教材		
作 业	课后习题		
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。		

授课主要内容

第一节 光与光谱

一、光的波动性(Characterization of light waves)

波动性参数: λ (波长, Wavelength);

ν (频率, frequency);

C (光速, The velocity of light)

$\sigma = 1 / \lambda$ (波数, wave number)

关系式 $= C / \lambda = C\sigma$

单色光(monochromatic light)---只含一种频率或波长的光。

复合光(multichromatic lights)---多种频率或波长的光。

散射光(杂散光, (scattering light)---指定波长外的光。

二、光的微粒性

(Microparticle characterization of light)

Parameter of microparticle characterization : E

$E=h\nu=hC/\lambda$ h —Planck' s constant

$h=4.14 \times 10^{-15} \text{ev. sec} = 6.626 \times 10^{-27} \text{erg. sec}$

$C=3 \times 10^{10} \text{cm/sec}$

One photon energy:

$E=1240/\lambda$ (ev) λ 的单位为 nm

第二节 原子与分子的能级及电子在能级间的跃迁

原子光谱的特征 Characterization of atoms spectrum

电子能级间的跃迁, 属电子光谱, 线状光谱。

Transition on electronic levels, electronic spectrum, linear spectrum. 二、分子的能级及电子在能级间的跃迁

分子形成带状光谱的原因

能量离散, 导致谱线宽度扩展

测不准原理、相对论效应导致谱线宽度扩展。再加上能级之间的能量间距非常小, 导致跃迁所产生的谱线非常多, 间距非常小, 易于重叠。

仪器条件造成色散元件难以将谱线完全分开

真实分子光谱的特征

UV-Vis: 电子、带状光谱。在特定条件下, 能反映振动能级的精细结构

Infrared: 振动、带状光谱, 在特定条件下, 能反映转动能级的精细结构。

原子光谱和分子光谱小结

原子光谱:

电子能级上的电子跃迁

电子光谱

线状光谱

分子光谱:

紫外-可见 (UV-Vis) :

电子能级上的电子跃迁

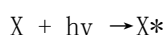
反映振动精细结构的电子光谱
带状光谱
红外光谱 (Infrared) :
振动能级上的电子跃迁
反映转动精细结构的电子光谱
带状光谱

三、物质和光的作用 Interaction of light and matter

当一束光照射到物体上时,除透过部分光与分子没有作用外,物质将吸收和散射一部分光。

1. 物质吸收光的过程

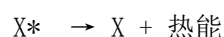
分子吸收光能,吸收时间极短,只有 10^{-15} sec.,电子由基态跃迁到较高能态的激发态。



激发态的寿命很短,约为 10^{-8} sec.,然后以发生光物理和光化学反应后,以下列形式回到基态。

1) 无辐射退激

激发分子与其它分子相碰,损失能量产生热能回到基态,称无辐射退激。



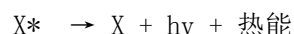
2) 共振发射

激发分子发射光子直接回到基态: $X^* \rightarrow X + h\nu$

如发射光的波长等于入射光的波长,这种发射称共振发射,其谱线称共振谱线。对分子来说,这种可能性很少,对原子来说,可能性较大。

3) 荧光

激发分子与其它分子相碰,一部分能量转化为热能后,下降到第一激发态的最低振动能级,然后再回到基态的其它振动能级并发射光子,这种发射光称荧光。



荧光的发射波长比入射光的波长长。

4) 磷光

激发分子与其它分子相碰,一部分能量转化为热能后,下降到第一激发态的最低振动能级,它不直接跃迁回到基态而是转入到亚稳的三重态,分子在三重态的寿命较长(从 10^{-4} sec. 到 10sec.),然后再回到基态的其它振动能级并发射光子,这种发射光称磷光。

2. 物质散射光的过程《拉曼(Raman)散射》

A 瑞利散射

入射光与分子碰撞后,可发生弹性散射或非弹性散射。弹性散射时,光子与分子无能量交换,仅光子方向改变,这种散射称瑞利散射。

B. 非弹性散射有两种情况:

① 斯托克斯散射

入射光与基态分子碰撞后,将一部分能量给了分子,于是散射光的能量比入射光的能量下降,即波长变长。散射光谱中的谱线称斯托克斯谱线。

② 反斯托克斯散射

入射光与振动能级处于较高能态的分子发生非弹性碰撞后,被碰撞分子由较高的振动能级跃回较低能级,其能量的差值给了光子,于是,光子能量增加,产生的谱线波长比入射光的波长更短,此谱线称反斯托克斯线。散射光的能量比入射光的能量下降,即波长变长。散射光

谱中的谱线称斯托克斯谱线。

第三节 物质的光谱与光谱分析 Spectrum of matter and spectroscopic analysis

一、光谱的基本类型

按照光谱产生的方式可分：

1. 吸收光谱 (absorbed spectrum)
原子吸收光谱 (如 AA)
分子吸收光谱 (如 UV/VI, IR 等)
2. 发射光谱 (emission spectrum)
原子发射光谱 (原子发射, 原子荧光)
分子发射光谱 (分子荧光, 磷光)
3. 散射光谱 (拉曼散射光谱, scatter spectrum)

第四节 光谱仪 Spectroscopic instruments

1. 光谱仪的作用：
通过分析过程的信息传递链, 取得样品的真实光谱。
2. 光谱仪的分类

本章作业

1. 玻尔兹曼常数的物理意义?
2. 原子光谱和分子光谱的区别?

授课日期	第 5、6、7 周	教案编号	03
课程名称	仪器分析	专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析		
授课题目	紫外可见吸收光谱分析法		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
教学目的	思政教育目标：培养学生具备自主学习的能力。要求掌握紫外-可见吸收光谱的产生，紫外-可见分光光度计仪器原理和结构以及紫外-可见吸收光谱法在有机定性及结构分析中的应用。		
教学重点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 生色团的共轭作用 2. 双波长分光光度计原理及构造 3. Beer - Lambert 定律 4. 化合物的鉴定、结构分析 		
教学难点	Beer - Lambert 定律		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()		
思 考 题	见教材		
作 业	课后习题		
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。		

授课主要内容

第一节 概述

定义：紫外-可见吸收光谱法是根据溶液中物质的分子或离子对紫外和可见光谱区辐射的吸收来研究物质的组成和结构的方法。

应用：主要用于有机物的定量及定性分析。

分子光谱：分子是由原子组成的，分子的运动包括分子中电子的运动、分子的振动及其转动，所有这些运动都必须由能量来维持，故分子的能量包括：

$$E_{\text{分子}} = E_e + E_v + E_r$$

第二节 紫外可见光谱法基本原理 The Theory of UV-Vis Spectrophotometry

一、有机化合物的紫外-可见吸收光谱

(一) 电子跃迁类型

分子外层电子的分子轨道可以分为五种，即 σ 成键与 σ^* 反键轨道， π 成键与 π^* 反键轨道， n 非键轨道。

A. σ 分子轨道 (σ (bonding) molecular orbital),

如： $-C-C-$

B. π 键轨道 (π (bonding) molecular orbital),

如： $C=C$ $C=O$ $-N=N-$ $-C\equiv C-$

C. n 键轨道 ((non-bonding) molecular orbital),

如： $-C-Br:$ $-C-O:H$ $-C-N:H$

In addition, two typed of antibonding orbital may be involved in the transitions:

D. σ^* 反键轨道 (sigma star)orbital

E. π^* 反键轨道 (pi star)orbital

σ , π , n 键轨道为基态轨道 (ground state orbital), σ^* , π^* 为激发态轨道 (excited state orbital).

根据轨道能量： $\sigma < \pi < n < \pi^* < \sigma^*$

2、分子电子能级和跃迁 Molecular-electronic orbital and transition

The following electronic transition can therefore occur by the absorption of ultraviolet and visible light :

1. $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 ($\sigma \rightarrow \sigma^*$ transition) E 较大, 跃迁发生在远紫外区, 波长范围低于 200nm。如甲烷 (125nm), 乙烷 (135 nm)。

2. $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 ($n \rightarrow \sigma^*$ transition) ΔE 较 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁要小, 跃迁发生在 150--250nm 波长范围内。如含有杂原子饱和烃衍生物。摩尔吸收系数一般在 100-300 范围内。由 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁而产生吸收的一些例子

3. $n \rightarrow \pi^*$ 和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁

这两类跃迁是最有用的。 ΔE 比较少, 最大吸收波长均大于 200 nm。这两类跃迁的差别在于吸收峰的强度不同。 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁摩尔吸收系数很少, 仅在 10-100 范围内。而 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁摩尔吸收系数很大, 比 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁大 100-1000 倍, 达到 1000-100000。

生色团的概念：含有 π 键的不饱和集团称为生色团。

(二) 分子结构和光谱的相互关系 Correlation of molecular structure and spectrum

1. 共轭效应 (Conjugation effect)

当分子含有多个 π 键, 并且被单键隔开时, 共轭效应增加, $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁能量更低, 吸收光谱最大吸收峰向长波方向移动, 摩尔吸收系数增大。称红移效应(red shift effect)。

2. 含有 π 电子芳香体系, 最大吸收向紫外方向移动。称蓝移效应(blue shift effect)。

Aromatic systems, which contain π electrons, absorb strongly in the ultraviolet

3. 助色团:

一些原子和原子团不吸收 200-800nm 范围内的光, 但与生色团结合后, 具有能使生色团的吸收峰向长波或短波方向移动的作用, 这样的原子或原子团称为助色团。

Auxochromes: An auxochrome is a group which does not absorb significantly in the region 200-800nm, but which affect the spectrum of the chromophore to which it is attached. Examples of auxochromes are

(三) 溶剂对吸收光谱的影响

Ø 影响最大吸收波长: 溶剂极性的改变会使由 $\pi - \pi^*$ 跃迁和 $n - \pi^*$ 跃迁产生的两种吸收峰的最大吸收波长向不同方向移动。

溶剂极性增加, $\pi - \pi^*$ 跃迁吸收峰发生红移 (长波方向)

$n - \pi^*$ 跃迁吸收峰发生蓝移 (短波方向)。

二、定量分析的基础—Beer—Lambert 定律

When a beam of radiation strikes any object it can be absorbed, transmitted, scattered, reflected or it can excite fluorescence.

1. Correlation of T and C
2. 朗伯-比尔定律
3. 浓度测量中相对误差与透光率和吸光度的关系
4. Beer—Lambert 定律在混合物中的表达式
5. 偏离 Beer-Lambert 定律的因素

第三节 紫外可见分光光度计(UV-Vis spectrophotometer)

1. 分光光度计的组成 (Spectrophotometer component parts)

紫外-可见分光光度计_结构 (一) 光源(sources)

1. 理想光源的特性 (The characteristics of ideal source)
 - A. 高强度 (High intensity)
 - B. 宽波长范围 (Wide spectral range)
 - C. 稳定的输出 (Stable output)
 - D. 长寿命 (Long life)
 - E. 价格低 (Low cost)
 - F. 适宜的尺寸 (Optimum size)
2. 常用光源 (Commonly used sources)

钨灯、钨卤灯、氘灯

(二) 单色器 (Monochromators)

1. 要求特性 (Desirable characteristics of monochromatoes)

- A. 高效能 (High efficiency or throughput)
- B. 宽波长范围 (Wide wavelength range)
- C. 容易调节波长 (Easily selected wavelength)
- D. 好的波长精度和重现性 (Good wavelength accuracy and reproducibility)
- E. 高的光谱纯度 (High spectral purity)
- F. 好的机械稳定性 (Good mechanical stability)

2. 滤光片单色器 (filter monochromator)

组成: 入口狭缝 (entrance slit)、滤光片 (filter)、出口狭缝 (exit slit) 三部分组成。

3. 棱镜和光栅单色器 (Prisms and Gratings Monochromator)

光谱通带宽度 少于 1nm

组成: 狭缝 (slit: entrance slit, exit slit)、色散元件 (dispersive element)、准直元件: 透镜 (focus mirror)、反射镜 (mirror)。

棱镜和光栅单色器比较

A、光栅为匀排光谱, 棱镜为非匀排光谱。光栅所采用的狭缝可产生几乎恒定的光谱通带而与波长无关。棱镜要得到恒定的带宽时, 长波时要求狭缝窄, 短波时要求狭缝宽

B. 光栅对温度不敏感, 棱镜对温度很敏感 (折射率 n 与温度有关)。

C、光栅存在着潜在的杂散光源。

D、光栅需要有一个“级消除滤光片 (order-sorting filters)”以消除 $\lambda/2, \lambda/3, \dots$ 等波长的干扰。

E、光栅光能量消耗大。

(三)、样品池 (Sample cell)

按材料不同分: 玻璃池	340-1000nm
石英池	200-340nm
紫外级石英池	185-220nm

按用途分: 常用比色池 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 厘米

微量池 0.5 毫升以下

流动池 5-11 微升

注意: 样品池使用前必需进行以下测定:

玻璃池: 365nm 时, 每个池之间 $\Delta T < 0.5\%$, 即 $\Delta A < 0.002$

石英池: 240nm 时, 每个池之间 $\Delta T < 1.5\%$, 即 $\Delta A < 0.007$

(四) 检测器 (Detectors)

作用: 光信号转变为电信号。

A. 几种光检测器性能的比较

	光电池 (photocells)	光电管 (phototubes)	光电倍增管 (photomultipliers)
波长 (nm) (Wavelength)	400-750	190-650 (蓝敏) 600-1000 (红敏)	180-900

响应速度 (Speed of response)	慢	约 10^{-8} 秒	10^{-9} 秒
灵敏度 (Sensitivity)	低	$10^5 - 10^6$	$10^8 - 10^9$

B. 结构和作用

a. 真空光电管 (Vacuum Phototube)

蓝敏光电管阴极镀有光电发射材料金属铯和铯。

红敏光电管阴极镀有光电发射材料金属银和氧化铯。

b. 光电倍增管 (Photomultipliers)

作用：除了将光信号转变为电信号作用外, 还具有放大作用。

二、分光光度剂的分类及特点

1. 单光束分光光度计

特点：光路系统简单，机械振动小，信噪比高。

2. 双光束分光光度计

特点：消除了光源不稳定造成的影响，具有较高的精密度和准确度。

3. 双光束分光光度计

特点：仅使用一个吸收池。

第四节 定性和定量分析 Quantitative and Qualitative Analysis

一. 仪器条件的选择

1. 测量波长的选择

A. 优先选择最大吸收波长

B. 最大波长受到共存杂质干扰时, 选择次强波长。

C. 最大波长的吸收峰太尖锐, 测量波长难以重复时, 选择次强波长。

2. 透过率或吸光度的范围的选择

选择 $T=15\%--70\%$ 或 $A=0.150-0.800$ 之间。

3. 狭缝宽度的选择

定性分析：选择较小的狭缝, 以尽量保留振动能级跃迁的精细结构。

定量分析：在吸光度稳定的情况下, 选用最少狭缝。

4. 样品池选择

根据测定波长、溶液浓度(选择 L)等选择。

二. 定性分析 Qualitative Analysis

1. 未知试样检定

根据光谱形状(极大、极小和拐点波长)吸收峰数目, 位置与标准试样比较。

2. 有机化合物分子结构的推测

有机化合物的吸收光谱_结构与光谱

1. 如在 200nm 到 400nm 区域内没有吸收峰, 则可以初步判断待测化合物无双键或不含环状共轭体系

2. 若 250nm 处有吸收峰, 而且 ϵ_{\max} 约 10^3-10^4 时, 化合物可能具有芳香环结构, 如果芳香环被取代而使共轭体系延长时, ϵ_{\max} 大于 10^4 。3. 如在 270-350nm 区域有弱的吸收峰,

ϵ_{\max} 大约 10 到 100，且 200nm 以上无其它吸收，说明该化合物含有带孤对电子的未共轭的生色团，如：

3. 同份异构体鉴别 4. 纯度的检查

三. 定量分析 Quantitative Analysis

标准曲线：直接分取标准溶液进行光度测定或显色测定所测得的 A 与 C 作图得到的曲线。

工作曲线：标准溶液按样品处理进行测定得到的 A 与 C 的曲线。

标准对比法：只配制一个浓度的标准溶液和样品比对，求出待测样品的浓度。

标准加入法（增量法）

本章作业

1. 生色团及助色团的概念？
2. 紫外可见分光光度计的基本组成有哪几部分？
3. 吸光度（A）与透光率（T）的转换？

授课日期	第 8、9 周	教案编号	04
课程名称	仪器分析	专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析		
授课题目	红外吸收光谱法		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
教学目的	思政教育目标：培养具有较强的获取信息、分析判断和学习新知识的能力。本章要求掌握红外吸收的基本理论，包括分子振动红外光谱产生的条件，红外吸收光谱仪结构及简单的红外图谱分析。		
教学重点	1. 红外光谱产生的条件 2. 吸收池、检测器、迈克尔逊干涉仪 3. 红外图谱解析		
教学难点	红外图谱解析		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()		
思 考 题	见教材		
作 业	课后习题		
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。		

授课主要内容

第一节 概述

一、红外吸收光谱 (IR) 基本概念

是依据物质对红外辐射的特征吸收建立的一种光谱分析方法。分子吸收红外辐射后发生振动能级和转动能级的跃迁, 故又称为分子振动-转动光谱。

红外光谱法是有机化合物结构分析的重要手段, 与紫外吸收光谱法、核磁共振波谱法及质谱法被称为四大谱学方法。

二、红外光区划分

红外区 (0.78~1000 μm) 按波长分成三个波区:

1. 近红外区 0.78 - 2.5 μm (780 nm - 2500 nm) C-H, N-H, O-H 的振动能级跃迁所产生的泛频吸收或能量较低电子能级的跃迁发生在此波区。主要用于蛋白质、脂肪、水分、淀粉、纤维、半纤维、木质素等的定性定量分析。

2. 中红外区 2.5~25 μm

3. 远红外区 25~1000 μm

4. 红外光谱图线性波长表示法: 横坐标为波长 (μm), 纵坐标为 T。

线性波数表示法: 横坐标为波数 (cm^{-1}), 纵坐标为 T。

第二节 红外吸收产生的原理与条件

一、红外吸收光谱产生的条件

1. 辐射具有能满足分子跃迁所需要的能量

2. 辐射与分子之间有耦合作用发生。

(一) 辐射光子具有的能量与发生振动跃迁所需的跃迁能量相等

基频峰: 分子由基态振动能级 ($n=0$) 跃迁至第一振动激发态 ($n=1$) 时, 所产生的吸收峰。

倍频峰: $n=0 \rightarrow n=2, 3, 4, \dots$ 跃迁产生的谱带, 称第一倍频, 第二倍频, \dots 等。

只有符合 $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \dots$ 的跃迁才会产生红外吸收带。例: CO_2 三原子线性分子, 振动自由度为 $3 \times 3 - 5 = 4$, 但 ν_s 1388cm^{-1} 为非活性的, δ 668cm^{-1} 频率相同, 发生简并, 故只有二条。

(二) 辐射与分子之间有耦合作用发生

只有在振动过程中偶极矩发生变化的那种振动方式, 才能吸收红外辐射, 在红外光谱中出现吸收谱带。这种方式称红外活性的, 否则称红外非活性的。

二、多分子振动的几种方式

1. 伸缩振动——沿键轴方向伸缩, 使键长发生变化的振动。伸缩振动有两种方式:

对称伸缩振动 (用 ν_s 表示);

反对称伸缩振动 (亦称不对称伸缩振动, 用 ν_{as} 表示)

2. 弯曲振动 (变形振动)——键角发生变化的振动。面内弯曲振动: 剪式振动 (δ) 和平面摇摆振动 (γ)。

面外弯曲振动: 扭曲振动(τ)和非平面摇摆振动(ω)。

三. 振动自由度 简正振动(基本振动)——基频谱带($V=0 \rightarrow V=1$)

四. 吸收红外辐射的选择定则 1. 只有在振动过程中偶极矩发生变化的那种振动方式, 才能吸收红外辐射, 在红外光谱中出现吸收谱带。这种方式称红外活性的, 否则称红外非活性的。2. 只有符合 $\Delta V = \pm 1, \pm 2, \dots$ 的跃迁才会产生红外吸收带。例: CO_2 三原子线性分子, 振动自由度为 $3 \times 3 - 5 = 4$ 但 $\nu_s 1388 \text{cm}^{-1}$ 为非活性的, $\delta 668 \text{cm}^{-1}$ 频率相同, 发生简并, 固只有二条。

五. 基团频率区和指纹区

1. 基团频率区 $4000 \sim 1300 \text{cm}^{-1}$

(1) $4000 \sim 2500 \text{cm}^{-1}$ 是 X-H 伸缩振动区

(2) $2500 \sim 1900 \text{cm}^{-1}$ 为叁键和累积双键区

(3) $1900 \sim 1200 \text{cm}^{-1}$ 是双键伸缩振动区

2. 指纹区 $1300 \sim 600 \text{cm}^{-1}$

(1) $1300 \sim 900 \text{cm}^{-1}$ 区域 cm^{-1} 是 C-O, C-N 等单键的伸缩振动和 C=S, S=O 等双键的伸缩振动。

(2) $900 \sim 650 \text{cm}^{-1}$ 区域可用来确认化合物的顺反异构。

第三节 红外光谱仪

一. 色散型红外光谱仪的基本部件

1. 光源

2. 样品池

液体样品: a. 液膜法;

a. 固定池、可拆装式液体池、可变池

固体样品: $1 \sim 2 \text{mg}$ 样品, $150 \sim 200 \text{mg}$ KBr 研磨压成厚度为 $1 \sim 2 \text{mm}$ 透明薄片。

3. 单色器: 与 UV-Vis 相同。

4. 检测器: 硫酸三甘肽 (TGS)、碲汞镉检测器、热电偶、测幅射热计、Golay Cell。

二. 富立叶变换红外光谱仪

1. 迈克尔逊干涉仪

当动镜移动 $1\lambda/4$ 的奇数倍时: 光程差 X 为 $1\lambda/2, \pm 3\lambda/2, \pm 5\lambda/2, \dots$, 两光束位相差 180 度, 发生相消干涉, 亮度最小。

当动镜移动 $1\lambda/4$ 的偶数倍时: 光程差 X 为 λ 的整数倍, 发生相长干涉, 亮度最大。

当动镜连续运行时, 其干涉图方程:

$$I(x) = B(\nu) \cos 2\pi\nu X$$

其中: I -干涉强度; B -入射光强度; X -光程差。

当为复合光时, 其方程为: $I(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} B(\nu) \cos 2\pi\nu X dx$ 当干涉光通过样品后, 样品吸收某些频率的光, 经计算机对方程进行富立叶变换后, 得到透过率随波长变化的红外图谱。

2. FT-IR 的工作原理

3. 富立叶变换红外光谱仪的优点

A. 分辨率高 在 1000cm^{-1} 处时: 棱镜 3cm^{-1} , 光栅 0.2cm^{-1} , FT-IR $0.1-0.005\text{cm}^{-1}$ 。

B. 波数精度高 FT-IR 可精确至 0.01cm^{-1} 。

C. 扫描时间快 FT-IR 1 秒钟可扫完全图谱光谱范围宽 $10000-10\text{cm}^{-1}$

E. 灵敏度高 可分析 10^{-9} g 样品

第四节 定性分析

一、有机分子红外吸收光谱与分子结构之间的关系

基团频率区和指纹区

1. 基团频率区 $4000\sim 1300\text{cm}^{-1}$

(1) $4000\sim 2500\text{cm}^{-1}$ 是 X-H 伸缩振动区

(2) $2500\sim 1900\text{cm}^{-1}$ 为叁键和累积双键区

(3) $1900\sim 1200\text{cm}^{-1}$ 是双键伸缩振动区

2. 指纹区 $1300\sim 600\text{cm}^{-1}$

(1) $1300\sim 900\text{cm}^{-1}$ 区域是 C-O, C-N 等单键的伸缩振动和 C=S, S=O 等双键的伸缩振动。

(2) $900\sim 650\text{cm}^{-1}$ 区域可用来确认化合物的顺反异构。

二、定性分析

1. 利用已知物与未知物图谱比较对照鉴定。

2. 未知物的结构测定

步骤: A. 用元素分析仪测定未知物的 C, H, O, N 等元素的比例, 求取分子式。B. 测定红外光谱。C. 计算不饱和度 $W=1 + n_4 + (n_3 - n_1)/2$

n_1, n_3, n_4 分别是价数为 1, 3, 4 的原子数通常: 双键和饱和环状化合物的 U 为 1, 叁键 U 为 2, 苯环 U 为 4。D. 先找官能团区, 后找指纹区证实。

本章作业

1. 产生红外吸收的条件是什么? 是否所有的分子都能产生红外吸收光谱? 为什么?
2. 简述色散型红外光谱仪与富立叶变换红外光谱仪在原理上的区别?

授课日期	第 10、11 周	教案编号	05
课程名称	仪器分析	专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析		
授课题目	原子吸收分光光度法		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
教学目的	思政教育目标：培养学生具有团队协作的能力。本章要求掌握原子吸收光谱法的基本原理；基本仪器装置和定量分析方法。		
教学重点	1.峰值吸收与被测定元素含量的关系 2. 光谱通带的概念和作用 3. 干扰的类型和消除方法		
教学难点	物理量的记录和单位的换算关系		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()		
思 考 题	见教材		
作 业	课后习题		
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。		

授课主要内容

第一节 概述

定义：原子吸收分光光度法（AAS）是根据物质的基态原子蒸汽对同种元素特征谱线的共振吸收作用来进行元素定量测量的方法。

原子吸收法的特点 1. 高选择性

2. 检出限低，可达 10^{-10}g ，无火焰法可达 10^{-14}g

3. 准确度高，一般 0.5%~2%测定误差。

4. 可测定的元素多，与采用的火焰类型有关。空气-乙炔火焰可测 36 种元素， N_2O -乙炔火焰可测 33 种元素，间接测定法可测 16 种元素，除交叉测定外，共可测 70 多种元素。

5. 分析速度快

6. 在通常情况下，分析一个元素，就要用该元素的空心阴极灯作光源。

原子吸收光谱分析原理原子吸收光谱法是基于基态原子对特征谱线的吸收而建立起来的一种元素分析方法。

原理：从空心阴极灯（光源）辐射出来的特征谱线，通过含有该待测元素的基态原子蒸气后，由于该待测元素对特征谱线进行吸收而使特征谱线的强度减弱，在一定范围内，特征谱线的减弱程度（吸光度）与待测元素的含量呈正比。

第三节 原子吸收光谱法基本原理

一、原子吸收线

（一）原子吸收线的产生：由于原子受外界能量激发，最外层电子从基态跃迁到不同的较高能态而产生。

（二）原子吸收谱线的轮廓

1、原子吸收线的轮廓和宽度 2、影响原子谱带变宽的内、外部因素

A、自然宽度 $10^{-6}\sim 10^{-5}\text{nm}$

原子发生能级间跃迁时，激发态原子寿命不一样而产生。

B、多普勒变宽(热变宽) 10^{-3}nm

原子无规则的热运动产生。

C、碰撞变宽(压力变宽) 10^{-3}nm

原子间或原子同其它粒子的碰撞使原子的基态能级稍有变化，因而吸收谱线变宽。

b. 赫尔兹马克变宽 (Holtzmark)

由同种原子碰撞引起, 也称为共振变宽

b. 罗伦茨变宽 (Lorentz)

由不同种原子碰撞引起。

D、自吸变宽

由光源周围温度较低的原子蒸气吸收同种原子发射线而导致的谱线变宽。

E、场致变宽

由强电场和强磁场引起。

结果：谱线的变宽导致原子吸收分析的灵敏度下降。

二、基态原子数与原子化温度的关系在一定的温度下，原子达到热平衡时，基态原子数 N_0 与

激发原子数 N_i 的比值符合波尔兹曼分布:

$$\frac{N_i}{N_0} = \frac{q_i}{q_0} = e^{-E/KT}$$

E 为激发电位。

T 为绝对温度。

K--波尔兹曼常数, 1.38×10^{-16} 尔格/度。

q_i, q_0 分别为激发态和基态的统计权重。

三. 原子谱线的测量

1、 原子吸收与原子浓度之间的关系根据电动力学理论, 在给定的频率范围内的积分吸

$$\int k \nu d\nu = \frac{\pi e^2}{mC} f N_0$$

收值为:

要将此理论变为实践, 则必须要获得一个单色光波长只有 0.001nm 的光源, 此光源称锐线光源。 峰值吸收理论认为: 当锐线光源发射的谱线, 其中心频率刚好与原子吸收的中心频率相同, 且能保证锐线光源的谱线宽度小于原子吸收谱线宽度的 1/5 时, 这样锐线光源的光理论上可以 100% 被原子吸收, 从而实现对峰值吸收的测量。

必须满足的条件:

- ①锐线光源发射的谱线, 其中心频率刚好与原子吸收的中心频率 ν_0 完全一致。
- ②锐线光源的谱线半宽度比原子吸收谱线半宽度更窄, 一般为 1/5

第三节 原子吸收光谱仪器

基本部件: 光源→原子化器→单色器→检测器→转换装置→显示、记录系统

一、锐线光源

1. 作用: 提供原子吸收所需要的足够尖锐的共振线。
2. 要求: 辐射强度大、稳定性好、背景小、寿命长、操作方便。

空心阴极灯结构和机理机理: 当施加 300-400 伏直流电压时, 阴极发射出的电子在电场作用下, 高速飞向阳极, 途中与惰性气体碰撞而使其电离, 正离子又在电场作用下被大大加速飞向阴极, 对阴极表面猛烈轰击, 使金属原子被溅射出来, 被溅射出来的原子再与电子、原子、离子等粒子互相碰撞而被激发, 从而发射出被测元素的特征谱线。

二、原子化器

作用: 将试样蒸发并使待测定元素转化为基态原子蒸汽。

分类: 火焰原子化法、非火焰原子化法、氢化物发生法 (Hydride Generation, HG)

1. 火焰原子化器 (雾化器、雾化室、燃烧器)
2. 无火焰原子化器 (最常用的是石墨炉)
3. 化学原子化器 (氢化物原子化法)

三、单色器

组成：入射狭缝、光栅、反射镜和出射狭缝。

作用：选出有用的谱线。

光谱通带：即单色器出光狭缝允许通过的波长范围。

$$W=D \cdot S$$

W：光谱通带 (nm)；

D：倒线色散率 ($\text{nm} \cdot \text{mm}^{-1}$)；

S：狭缝宽度 (mm)

位置：置于原子化器之后。目的是防止原子化时产生的辐射干扰进入检测器，避免强烈辐射引起的光电倍增管疲劳。

第四节 原子吸收光谱法的干扰及其消除方法

分类：物理干扰、化学干扰、电离干扰、光谱干扰和背景干扰。

一、物理干扰及其抑制方法

1. 物理干扰：是由于试液和标准溶液的物理性质的差异，引起进样速度、进样量、雾化效率、原子化效率差异所产生的干扰。

(1) 干扰因素：溶液的黏度；表面张力；密度；溶剂的蒸汽压；雾化气体的压力

(2) 干扰性质：非选择性干扰。对试样中各元素的影响基本相同。

2. 消除和抑制方法：

(1) 配制与待测试样溶液相似组成的标准溶液，并在相同条件下进行测定。如试样组成不详，采用标准加入法加以消除物理干扰。

(2) 避免使用黏度大的硫酸、磷酸来处理试样；稀释试液。

二、化学干扰及其抑制方法

化学干扰：化学干扰是由于待测元素与共存组分发生了化学反应，生成了难挥发或难解离的化合物，使基态原子数目减少所产生的干扰。

2. 消除和抑制方法：

(1) 提高火焰温度

提高火焰温度使难挥发、难解离的化合物较完全基态原子化。采用 $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$ 高温火焰代替常用的空气-乙炔火焰，可提高原子化效率。(适用于难挥发、难解离的金属盐类、氧化物、氢氧化物)

(2) 加入释放剂 (releaser)

加入释放剂与干扰元素生成更稳定或更难挥发的化合物，从而使被测定元素从含有干扰元素的化合物中释放出来。

(3) 加入保护剂 (有机络合物)

它与被测元素或干扰元素形成稳定的络合物，避免待测元素与干扰元素生成难挥发化合物。

(4) 加入基体改进剂

石墨炉原子吸收光谱分析中，加入某些化学试剂于试液或石墨管中，改变基体或被测定元素化合物的热稳定性，避免了化学干扰，这些化学试剂称为基体改进剂。

(5) 化学分离法

萃取法、离子交换法和沉淀法。

作用：可将待测定元素与干扰元素分离，不仅可以消除基体元素的干扰，还可以富集待测定元素。

三、电离干扰及其抑制

1. 电离干扰：某些易电离元素在火焰中产生电离，使基态原子数减少，降低了元素测定的灵敏度，这种干扰称为电离干扰。

2. 抑制方法：加入消电离剂。

常用的消电离剂有 CsCl、KCl、NaCl

四、光谱干扰及其抑制

谱线干扰和消除方法

1. 谱线干扰：它是指单色器光谱通带内除了元素吸收分析线外，还进入了发射线的邻近线或其它吸收线，使分析方法的灵敏度和准确度下降。

2. 消除和抑制方法：

- ① 减小狭缝宽度，提高仪器的分辨率，使元素的共振吸收线与干扰谱线完全分开。
- ② 降低灯电流，选择无干扰的其它吸收线。
- ③ 分离共存的干扰元素。

五、背景干扰和抑制方法

1. 光谱背景干扰：原子吸收光谱分析中的背景干扰主要是指原子化过程中产生的分子吸收和固体微粒产生的光散射干扰效应。

2. 光谱背景干扰的抑制和校正

(1) 光谱背景干扰的抑制

火焰法：改变火焰类型、燃助比和调节火焰观测区高度。

石墨炉原子吸收法：选用适当基体改进剂；采用选择性挥发来抑制分子吸收

(2) 光谱背景的校正

仪器调零吸收法

邻近非共振线校正背景法

连续光源校正背景法

塞曼（Zeeman）效应校正背景法。

校正原理：有背景吸收时，测得的分析线的吸光度 (A_{x+b}) 是分析物吸光度 (A_x) 与背景吸光度 (A_b) 之和，即

$$A_{x+b} = A_x + A_b = kc + Ab$$

$$A_x = A_{x+b} - A_b = kc$$

① 邻近非共振线校正背景

原理：由空心阴极灯发射波长跟分析线相邻近的非特征吸收线测量背景吸光度，而分析物对非特征吸收线无吸收。

② 连续光源校正背景法

紫外区：氘灯校正

可见区：碘钨灯、氘灯校正

氘灯校正原理：氘灯（连续光源）所测吸光度为背景吸收，而锐线光源（空心阴极灯）测定的吸光度为原子吸收和背景吸收的总吸光度。

第四节 原子吸收光谱定量分析

一、分析测量条件的选择

1. 分析线的选择：选择元素的共振线。
2. 狭缝的选择：以排除干扰和具有一定透光强度为原则。
3. 灯电流的选择：在保证空心阴极灯有稳定辐射和 足够的入射光强度条件下，使用最低灯电流。
4. 原子化条件选择
 - ① 火焰原子化法：选择火焰类型和调节燃气与助燃气比例。
 - ③ 石墨炉原子化法：通过实验选择合适的干燥、灰化、原子化及除残等阶段的温度和持续时间。

二、定量分析方法

1. 标准曲线法或工作曲线法
2. 标准加入法

三、方法灵敏度

(1) 特征浓度 C_0 (火焰原子化法)

某待测元素产生 1%吸收时(即 $A=0.0044$)的对应浓度。(单位为 $\mu\text{g}/\text{Ml}/1\%$)

$$C_0 = C_X \times 0.0044 / A \quad (\text{单位为 } \mu\text{g}/\text{Ml}/1\%)$$

(2) 特征质量 m_0

2. 检出限：指仪器能以适当的置信度检出元素的最低浓度或最低质量。在原子吸收法中，检出限 D.L 是指被测定元素能产生的信号为空白值的标准偏差 3 倍 ($3S$) 时元素的质量浓度或质量。

① 相对检出限 D.L

$$D.L = C_X \times 3S / A \quad (\mu\text{g}/\text{mL})$$

② 绝对检出限 D.L

检出限取决于仪器的稳定性。

3. 灵敏度用途 (1) 检查仪器性能仪器是否调整好；仪器部件性能是否降低；测试条件是否在最佳状态。(2) 估计最适宜的测量浓度和取样量例

本章作业

- 1、在原子吸收光谱分析中，为什么要用峰值吸收代替积分吸收？实现峰值吸收必需满足的条件是什么？
- 2、简述空心阴极灯的构造和工作原理？
- 3、在原子吸收光谱分析中，产生化学干扰、光谱干扰和背景干扰的因素有哪些？相应的消除方法是什么？
4. 已知用原子吸收法测镁时的灵敏度为 $0.005 \mu\text{g/mL}$ ，试样中镁的含量约为 0.01% ，配制试液时最适宜浓度范围为多少？若制备 50mL 试液时，应该称取多少克试样？

授课日期	第 12、13 周	教案编号	06
课程名称	仪器分析	专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析		
授课题目	色谱学导论		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
教学目的	<p>思政教育目标：培养学生具备较强交流沟通的能力</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 了解色谱法的分类； 2. 掌握色谱分析的基本原理； 3. 理解柱效率的物理意义及其计算方法； 4. 理解速率理论方程对色谱分离的指导意义。 5. 掌握分离度的计算及影响分离度的重要色谱参数 		
教学重点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 色谱图中的各种参数的含义 2. 塔板理论 3. 速率理论 		
教学难点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 色谱图中的各种参数的含义 2. 塔板理论 3. 速率理论 		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()		
思考题	见教材		
作 业	课后习题		
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。		

授课主要内容

第一节 色谱法概述

一、 色谱分析的历史、定义与分类(History and definition and classification of chromatography)

色谱分析是从分离技术发展成为分离—分析技术的一门综合性学科。1、 Tswett 的方法是借助于各组分在固定相中吸附能力的强弱不同而进行分离的，称为吸附色谱(Adsorpting Chromatography)2、 1941 年 Martin 和 Synge 把氨基酸的混合液注入到以硅胶作固定相的柱中，用氯仿作流动相，借助于氨基酸在硅胶中的水和有机溶剂氯仿两相中的溶解度不同而达到分离，故称为分配色谱(Partition Chromatography)。3、 1944 年 Martin 和 Synge 用滤纸代替硅胶，不用色谱柱，固定相是滤纸中含有水份的纤维素，流动相用有机溶剂，也成功地分离了氨基酸，从而创立了纸色谱法(Paper Chromatography)。4、 1952 年 Martin 等又提出以气体作流动相的气相色谱法(Gas Chromatography)。5、 50 年代又出现了将固定相涂布在玻璃板上的薄层色谱法(Thin-Layer Chromatography)。

(二) 色谱分析的定义 Definition of chromatography

色谱分析的定义

色谱法是一种物理化学的分离分析方法。它是利用样品中各种组分在固定相与流动相中受到的作用力不同，而将待分析样品中的各种组分进行分离，然后顺序检测各组分含量的一种分离分析方法。

(三) 色谱法分类

1、按固定相及流动相的状态分类

气相色谱：气液色谱、气固色谱

液相色谱：液液色谱、液固色谱

2、按固定相形状分类

柱色谱。纸色谱。薄层色谱。

3、按色谱过程的物理、化学机理分类

(1) 吸附色谱：用固体吸附剂作固定相的色谱。它是利用组分在吸附剂上吸附力的不同，因而吸附平衡常数不同而将组分分离的色谱。

(2) 分配色谱：用液体作固定相，利用组分在液相中的溶解度不同，因而分配系数不同而进行分离的色谱。

(3) 离子交换色谱：利用离子交换原理而进行分离的色谱。

(4) 排阻色谱：利用分子大小不同而进行分离的色谱。

(5) 电色谱：利用带电物质在电场作用下移动速度不同进行分离的色谱。

4.按仪器分类

气相色谱(Gas chromatography)

填充柱气相色谱(Packed column gas chromatography)

毛细管气相色谱 (Capillary column gas chromatography)
裂解气相色谱 (Pyrolysis gas chromatography)
顶空气相色谱 (Headspace gas chromatography)
气相质谱联用技术 (Gas chromatography-Mass spectrometry)
液相色谱 (Liquid chromatography)
 高效液相色谱 (High performance liquid chromatography)
 超临界流体色谱 (Supercritical fluid chromatography)
 高效毛细管电泳 (High performance capillary electrophoresis)
 毛细管电色谱 (Capillary electrochromatography)
 液相质谱联用技术 (Liquid chromatography- Mass spectrometry)
色谱法分类 (Classification of Chromatography)
 平面色谱法 (Planar chromatography)
 薄层色谱 (Thin layer chromatography)
 薄层电泳色谱 (Thin layer electrophoresis)
 纸色谱 (Paper chromatography)

二、色谱分离过程

色谱法具有的三个共同点:

- 1、凡是色谱分离都具有两个相，流动相和固定相。
- 2、固定相是不动的，流动相对固定相作相对的运动。
- 3、被分离的组分对流动相和固定相有不同的作用力。这种作用力有吸附力(吸附色谱)，溶解能力(分配色谱)，离子交换能力(离子交换色谱)等。在色谱分析中我们常用分配系数来描述组分对流动相和固定相的作用力的差别:

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

K : 分配系数

C_s : 组分在固定相中的浓度

C_m : 组分在流动相中的浓度

色谱学研究的三个重要问题

要想使二组分(特别是难分离的二组分,亦称物质对)分离,就要使它们的流出峰相距足够的远。二物质的流出峰的距离与它们在两相的分配系数K有关,而K与物质的分子结构和性质有关,因此必须研究这一分配过程中的热力学基础,它是发展高选择性色谱柱的理论基础。

两峰具有一定距离还不足以分离,还必须要求峰宽要窄。色谱峰的宽窄与物质在色谱过程中的运动情况有关,这就要求研究色谱过程中的动力学因素。

当改变操作条件时,色谱峰宽和距离均可能同时起变化,色谱分离条件的选择,就成了色谱学理论研究的第三个重要问题。

三、一些重要的参数

(一) 色谱图中一些重要参数

1、色谱峰

峰宽 (用 W 或 Y 表示); 峰高 (用 H 表示)

半峰宽 (用 $W_{1/2}$ 或 $Y_{1/2}$ 表示, 亦有用 $2\Delta X_{1/2}$ 表示)

标准偏差 (用 σ 表示)。标准偏差亦称曲折点峰宽, 即峰高 0.607 处峰的宽度。与峰宽和半峰宽的关系如下式表示:

$$Y=4\sigma \quad Y_{1/2} = 2\sigma\sqrt{2\ln 2} = 2.355\sigma$$

2、时间保留值

死时间 t_R^0 从进样至惰性组分出现浓度极大点时的时间。

保留时间 t_R 从进样至组分出现浓度极大点时的时间。

校正保留时间 t_R' $t_R' = t_R - t_R^0$

校正保留体积 V_R' $V_R' = t_R' \cdot F_C$

3、体积保留值

死体积 V_R^0 $V_R^0 = t_R^0 \cdot F_C$ F_C -流动相的流速

保留体积 V_R $V_R = t_R \cdot F_C$

从色谱图中可获得的信息:

- (1) 根据色谱峰的数目, 可以判断试样中所含组分的最少数;
- (2) 根据色谱峰的保留值可以进行定性分析。
- (3) 根据色谱峰高或面积可以进行定量测定。
- (4) 根据色谱峰峰间距及其宽度, 可对色谱柱的分离效能进行评价。

(二) 色谱分离中的一些重要参数

1、相对保留值 (α) 亦称分离因子或选择性因子

$$\alpha = t'_{R1}/t'_{R2}$$

2、分配比 (k')和相比 (β)

分配比亦称分配容量, 容量比, 容量因子或质量分配比。是指平衡时, 组分在固定相和流动相中的重量比。 k' 值一般控制在 3-7 之间。

3、塔板数 (N)

组分在柱中固定相和流动相中反复分配平行的次数。 N 越大, 平衡次数越多, 组分与固定相的相互作用力越显著, 柱效越高。 $N=16(t_R/Y)^2$

4、分离度 (R)

分离度亦称分辨率。是指相邻两个峰的分离程度。

各种参数对分离的综合影响

讨论:

1. 分离度与 k' 的关系

决定洗出峰位置, k' 值一般控制在 3-7 之间。改变 k' 有如下办法:

A. 改变流动相或固定相

对于 GC, 流动相只有少数几个, 难奏效。选择固定相较为理想。

对于 LC, 两者均有选择余地, 固定相一般为化学键合固定相价格太贵。选择流动相的配比较为合理。

B. 改变温度可以控制 k' 。特别是对于 GC, 可采用程序升温。对于 LC, 温度会影响柱效。

2. 分离度与柱效 N

$R = N$, N 由 L 与 H 来控制, H 与柱的填充、固定相的性质等有关。

3. 分离度与 α 的关系: α 决定洗出峰的位置。

综上所述, 对于 GC, 用选择固定液的办法。对于 LC, 用选择流动相配比的办法。再加上程序升温 (GC) 或梯度淋洗 (LC) 等技术, 将是提高分离度的有效办法。

第二节 色谱学基本理论

一、塔板理论

塔板理论的基本假设

- 1、柱内各段塔板高度 H 不变, 柱子塔板数 $N = L/H$
- 2、在塔板高度 H 内, 组分在两相间达到瞬时平衡。
- 3、流动相以脉冲方式进入一个体积。
- 4、分配系数 K 在每个塔板上均不变, 是常数。
- 5、组分加在 0 号塔板上, 轴向扩散可忽略

设有两组分 A、B, $K^A=1$, $K^B=0.25$, $N=5$

两组分 A, B 在柱中 H 塔板高度的分布如下表所示:

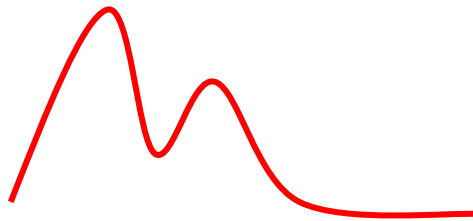
	0 号塔板	1 号塔板	2 号塔板	3 号塔板	4 号塔板	柱出口
进样	1.0 ^A					
	1.0 ^B					
1△V	0.5 ^A	0.5 ^A				
	0.2 ^B	0.8 ^B				
2△V	0.25 ^A	0.5 ^A	0.25 ^A			
	0.04 ^B	0.320 ^B	0.640 ^B			
3△V	0.125 ^A	0.375 ^A	0.375 ^A	0.125 ^A		
	0.008 ^B	0.096 ^B	0.384 ^B	0.512 ^B		
4△V	0.063 ^A	0.250 ^A	0.375 ^A	0.250 ^A	0.062 ^A	
	0.0016 ^B	0.026 ^B	0.154 ^B	0.410 ^B	0.410 ^B	
5△V	0.032 ^A	0.156 ^A	0.313 ^A	0.313 ^A	0.157 ^A	0.032 ^A
		0.006 ^B	0.052 ^B	0.205 ^B	0.410 ^B	0.328 ^B
6△V	0.016 ^A	0.095 ^A	0.235 ^A	0.313 ^A	0.235 ^A	0.079 ^A
		0.001 ^B	0.015 ^B	0.083 ^B	0.246 ^B	0.328 ^B
7△V	0.008 ^A	0.056 ^A	0.165 ^A	0.274 ^A	0.274 ^A	0.118 ^A

			0.004 ^B	0.029 ^B	0.119 ^B	0.197 ^B
8△V	0.004 ^A	0.032 ^A	0.110 ^A	0.219 ^A	0.275 ^A	0.138 ^A
			0.001 ^B	0.010 ^B	0.047 ^B	0.095 ^B
9△V	0.002 ^A	0.018 ^A	0.071 ^A	0.164 ^A	0.248 ^A	0.121 ^A
				0.003 ^B	0.017 ^B	0.038 ^B
10△V	0.001 ^A	0.010 ^A	0.045 ^A	0.118 ^A	0.206 ^A	0.103 ^A
					0.006 ^B	0.014 ^B
11△V		0.005 ^A	0.028 ^A	0.082 ^A	0.162 ^A	0.081 ^A
					0.001 ^B	0.005 ^B
12△V		0.002 ^A	0.016 ^A	0.055 ^A	0.122 ^A	0.081 ^A
						0.001 ^B
13△V		0.001 ^A	0.009 ^A	0.036 ^A	0.088 ^A	0.061 ^A
14△V			0.005 ^A	0.022 ^A	0.062 ^A	0.044 ^A

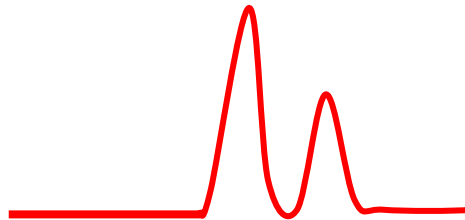
注：数字右上角的 A，B 分别代表 A，B 组分在某一塔板上的分配值。

模拟图

从上述数据可得如下模拟图：



当 N 大于 10³ 时，趋向于正态分布曲线，此时色谱图如下：



流出曲线方程

经推导，得流出曲线方程：

$$C = C_{\max} e^{-(N/2)(1-V/V_R)^2}$$

$$C_{\max} = \frac{\sqrt{N} \times W}{\sqrt{2\pi}} \times V_R$$

C_{\max} -曲线中的浓度最大值

C -进入流动相体积 V 时的组分浓度

W -进样量

V_R -浓度最大时的保留体积

N-塔板数

理论塔板数:

$$N = \frac{L}{H} = 16 \left(\frac{t_R}{Y_i} \right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_R}{Y_{1/2}} \right)^2$$

塔板理论的物理意义

N 说明组分在柱中反复分配平衡的次数的多少，N 越大，平衡次数越多，组分与固定相的相互作用力越显，柱效越高。

形象地说明了色谱柱的柱效，是反映柱效能的指标。

能很好地解释色谱图，如曲线形状、浓度最大值位置、色谱峰的宽度和保留值的关系等。

塔板理论的局限性及原因

不能解释同一色谱柱对不同组分 N 或 H 的不同。

不能解释不同操作条件下，同一色谱柱对相同组分 N 或 H 的不同。

不能找出影响 N 或 H 的内在因素。

不能为操作与应用色谱方法提供改善柱效的途径和方法。

原因:

只考虑组分热力学因素，而没有考虑动力学因素。

二、速率理论

1、速率理论公式

$$H = A + \frac{B}{U} + \frac{(C_s + C_m)U}{2\gamma D_m} = 2\lambda d_p + \frac{f(d_p^2, K')}{D_s} + \frac{f(d_p^2, K')}{D_m} \quad) U$$

A—涡流扩散项 (Eddy diffusion)

B/U—分子扩散项 (Molecular diffusion)

$(C_s + C_m)U$ —传质阻力项 (Mass transfer)

A、涡流扩散项 (Eddy diffusion)

当流动相带着被分离组分分子通过颗粒大小不同、填充松紧不同的固定相时，会形成紊乱的类似“涡流”的流动，形成流速不同的流路，造成组分谱带的展宽。固亦称多径项。

B、分子扩散项 (Molecular diffusion)

当样品进入色谱柱后，由于存在着浓度梯度，组分分子由浓度高的区域向浓度低的区域运动，产生浓度扩散，造成组分谱带展宽。

$$H_B = B/u = 2\gamma D_M/u$$

B—分子扩散项系数

γ —弯曲因子 (扩散阻止系数)

D_M —组分在流动相中扩散系数

C、传质阻力项 (Mass transfer)

由组分在两相中质量传质阻力引起固定相传质阻力项:

$$C_S U = f(d_f^2, K') U / D_S$$

d_f —固定相液膜平均厚度

D_S —组分在固定相中扩散系数

流动相传质阻力项: $C_M U = f(d_p^2, K') U / D_M$

2、速率公式在气相填充柱色谱中的应用

速率公式在 GC 中的表达式如下:

$$H = 2 \lambda d_p + \frac{2 \gamma D_M}{U} + \left(\frac{2k' d_f^2}{3(1+k')^2 D_s} + \frac{0.01(k')^2 d_p^2}{(1+k')^2 D_m} \right) U$$

(1) U 与 H 的关系

当 H 最小时, 一阶导数为零, $dH/dU = -B/U^2 + C = 0$

$$U_{\text{最小}} = B/C \quad \therefore H_{\text{最小}} = A + B/U + CU = A + 2(BC)^{1/2}$$

在最小流速下, 分析速度太慢, 一般采用双曲线的渐近线或切线与曲线的切点对应的流速, 称最佳实用流速, 约为最小流速的两倍。

对于填充柱, N_2 的最佳实用线速为 $10 \sim 12 \text{ cm/s}$, H_2 为 $15 \sim 20 \text{ cm/s}$;

用体积流速表示, N_2 则为 $40 \sim 60 \text{ mL/min}^{-1}$, H_2 为 $60 \sim 90 \text{ mL/min}^{-1}$ 。

(2) 载气的选择

当 $U < U_{\text{最佳}}$ 时, B 项起主要作用, 要求:

$D_M \downarrow$ D_M 反比于载气相对分子质量的平方根, 故选择分子量大的载气 (N_2 , Ar)。

当 $U > U_{\text{最佳}}$ 时, C 项起主要作用, 要求: $D_m \uparrow$ 选择分子量小的载气 (H_2 , He)。

(3.) 固定相的选择

希望 $d_f \downarrow$, 但太少, 填充不均匀, λ 值增大, 柱效反而降低。此外, 柱压增大, 易漏气。一般选取 100 目左右。 $d_f \downarrow$, C 项小, 缩短分析时间, 柱效亦高, 但进样量小。

(4) 柱温的选择

$T \uparrow$, D_M 、 D_S 增大, B/U 项 \uparrow , CU 项 \downarrow , 适当提高 U, 使 B/U 项减少, CU 项适当。

固定液含量与柱温参考值

组分沸点 (°C)	固定液参考用量	参考柱温 (°C)
300-400	<3%	200-250
200-300	5-10%	150-200
100-200	10-15%	70-120
100以下	15-25%	室温-60

速率公式在液相填充柱色谱中的应用

速率公式在 LC 中的表达式如下:

$$H = 2 \lambda d_p + \frac{2 \gamma D_M}{U} + \left(\Psi \frac{d_p^2}{D_m} + \text{conseq}(k') \frac{d_f^2}{D_s} \right) U$$

在液相色谱中, $\lambda = 1-1.5$, $\gamma = 1$, $D_s \approx \frac{2D_M}{d_p^2}$, $d_f \ll d_p$

$$\therefore H = (2-3)d_p + \frac{2D_M}{U} + \Psi \frac{U}{D_m}$$

Ψ 为 k' 的函数, 当 $k'=1$ 时, $\Psi=0.047$, 当 $k'=5$ 时, $k'=0.09$,

故 Ψ 对 k' 的影响很小, 以 $\Psi=0.047$ 代入:

$$\text{则 } H = (2-3)d_p + \frac{2D_M}{U} + 0.047d_p^2 U / D_m$$

H 与 U 的关系

$$U_{\text{最小}} = (B/C)^{1/2} = 6.25D_M/d_p = f(1/d_p)$$

即: $d_p \downarrow$, $U_{\text{最小}} \uparrow$, CU 项 \downarrow , 但柱压 \uparrow 。

谱带扩展 (H) 与粒度的关系

将 $U_{\text{最小}}$ 代入方程得:

$$H = (2 \sim 3) d_p + 0.6 d_p = (2.5 \sim 3.5) d_p$$

上式说明, d_p 小, 柱效高。但 d_p 不能无限的小, 因为:

d_p 正比于 4 倍压力 (4P), 每增加 100 大气压, 柱出口比柱入口的温度升高 5-7°C, 所以, d_p 不能无限小, 一般为 2-10 微米。

当粒度为 3 微米时, $H = 7.5 \sim 10.5$ 微米。

当柱长为 250mm 时, 则

$$N = L / H = 250 \times 10^3 \text{埃}^{-1} (7.5 \sim 10.5) = 25000 \sim 30000$$

即: 柱长为 250mm 的柱子, 最大塔板数约为 30000。

柱外效应

当柱外死体积太大时 (如进样部分死体积、柱和检测器之间连接的管道的死体积、检测器本身的死体积), 组分在死体积中的轴向扩散就变得严重, 对谱带的展宽有相当大的影响, 使 B 项增大。形成柱外谱带变宽, 产生柱外效应。

管壁效应

当固定相粒度很小, 柱子装填又不理想时, 往往柱中心粒度小、柱壁粒度大, 这样柱内沿管壁部分的流速较大, 柱中心流速较小, 在管壁中的溶质分子流出色谱柱比柱中心快, 形成峰的扩展, 出现反常的拖尾峰和双重峰。

当柱内直径较小时, 组分分子就有可能不受管壁效应的影响。此时的柱内直径称“无限直径”。其内径可用经验公式表示:

$$\text{无限直径柱: } d_C = (2.4d_p L)^{1/2}$$

例: 装填一根 250mm, 粒度为 10 μ m 的无限直径柱, 内径为: $d_C = (2.4 \times 10 \times 10^{-3} \times 250)^{1/2} = 2.5\text{mm}$

液相色谱速率理论修正公式:

$$H = (2-3)d_p + \frac{2D_M}{U} + 0.047d_p^2 U / D_m + H_{\text{柱外}} + H_{\text{管壁}}$$

本章作业

1. 简述塔板理论及其物理意义并用塔板理论说明柱长和柱效的关系。
2. 根据速率理论方程式, 讨论填充柱气相色谱操作条件的选择。

授课日期	第 14、15 周	教案编号	07
课程名称	仪器分析	专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析		
授课题目	气相色谱法		
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)		
教学目的	<p>思政教育目标：培养学生具有较强安全操作的能力。</p> <p>1. 了解气相色谱的优点及适用范围； 2. 理解固定相及重要操作条件的选择； 3. 理解常用检测器的原理及适用范围；</p>		
教学重点	<p>1. 气相色谱中各种固定相的应用 2. 相色谱各种检测器的适用范围</p>		
教学难点	<p>1. 气相色谱中各种固定相的应用 2. 相色谱各种检测器的适用范围</p>		
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()		
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()	
	无 ()		
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()		
思考题	见教材		
作 业	课后习题		
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。		

授课主要内容

第一节 气相色谱仪

一、气相色谱仪的一般流程

它由气路系统；进样系统；分离系统；检测系统；记录和数据处理系统；温度控制系统六部分组成。

(一) 气路系统

由载气源、载气压力和流速控制装置、载气压力和流速显示三部分组成。

1、载气源：

流程顺序：高压钢瓶→减压阀→净化器→稳压阀→压力表→转子流量计

高压钢瓶：常用氮氢氦氩及二氧化碳等高压气体。

高压钢瓶外表颜色：

黑色—氮气；

灰色—CO₂，惰性气体；

绿色—氢气、氧气。

减压阀：可从 50kg/cm²~150kg/cm² 减到 2 ~ 5kg/cm²。

2、载气压力和流速控制装置

包括：开关阀，稳压阀，稳流阀，针阀，阻力管等

3、载气压力和流速显示

转子流量计

显示柱前流速。由于气体的可压缩性，色谱柱内存在压力梯度。转子流量计显示的柱前流速只能作为分离条件的相对参数，不能反映色谱柱内真实流速。

皂膜流速计：

测定大气压下柱后流速，求出柱内平均流速。

(二) 进样系统

进样器：微量注射器—重复性 2% 进样阀—重复性 0.5%

气化室：

(三) 分离系统

由固定相和柱组成。

	填充柱	毛细管柱
柱型	U形，螺旋形	螺旋形
材料	不锈钢，玻璃	玻璃，弹性石英
柱长	0.5—6 米	30—500 米
柱内径	2—6mm	0.1—0.5mm
特性	渗透性小，传质阻力大，n 低，速度慢	渗透性大，C 小，n 高，速度快

(四) 检测系统

热导池检测器 (TCD, Thermal conductivity detector)
氢火焰离子化检测器 (FID, Flame ionization detector)
氮-磷检测器 (NPD)
电子俘获检测器 (ECD, Electron capture detector)

(五) 记录和数据处理系统

样品 → 色谱仪 → 采样开关 → 数据放大、模数转换
↓
数据处理程序 → 光电输入机 → 计算机 ← 接口
↓
打印机 ← 数模转换 ← 接口 → 数字图片显示

(六) 温度控制系统

要求: 控温范围 $\pm 0.1 \sim \pm 0.3^\circ\text{C}$ 温度梯度 $< \pm 0.5^\circ\text{C}$

第二节 GC 检测器

分类: 通用型和选择型; 破坏型和非破坏型;

2.1 热导池检测器 (Thermal conductivity detector, TCD)

适用范围: 几十个 PPM 以上组分测定

属于通用型, 不破坏样品

设计原理: 根据所有物质均具有不同的热传导系数, 当载气中混有其它气态物质时, 热导率会发生变化的原理而设计的。

对于热导池检测器, 被测物质与载气的导热系数相差越大, 测量的灵敏度越高。

2.2 氢火焰离子化检测器 (Flame ionization detector, FID)

特点: 灵敏度高 (10^{-13}g), 线性范围宽 (10^7) 响应快。

工作原理: $\text{R} \rightarrow \text{R}^{++} + \text{e}^-$ 约 10^5 个分子在氢焰中约有 1 个分子被电离, 产生 $10^{-5} \sim 10^{-14}\text{A}$ 的微弱离子流, 经放大, 被记录下来。

FID 检测原理

被测有机组分在高温环境中发生分解、产生碳的自由基 (CH), 自由基氧化产生电离, 在电场中, 正、负离子分别向两个电极迁移, 形成电流, 当电流通过测量电阻时产生压降, 再进行放大处理、记录色谱图。

测量电阻在有的仪器上表示为灵敏度, 有的仪器就叫做高阻, 测量电阻越大, 当电流通过时产生的压降就越大, 灵敏度越高。

理论上, 不含碳的组分 FID 没有响应, 如 H_2O , H_2 等。组分分子中含碳数目越多, 灵敏度越高。

2.3 电子捕获检测器 (Electron capture detector ECD)

特点:

- 1、对电负性基团具有高度选择性, 对非电负性基团无响应。
- 2、灵敏度高 (10^{-14}g/ml)。
- 3、线性范围窄。

使用电子捕获检测器的注意事项

- (1) 防止检测器污染，否则抑制正常电子俘获效应。
- (2) 载气选用高纯氮气（99.99%以上）。气路系统中加载净化管除去微量氧和微量水。
- (3) 检测室温度不允许超过最高使用温度。

第三节 GC 定性分析和定量分析

3.1 定性分析

1. 根据保留值与已知物（标准物）对照定性

(1) 利用保留时间定性

t_R 法定性需要严格控制色谱条件和进样量。

(2) 利用峰高增量定性

(3) 利用双柱或多柱定性

2. 与其它分析仪器联用定性（检测器定性法）

(1) 色-质联用定性（GC/MS）定性

(2) 色谱-红外光谱联用（GC/FT-IR）定性法

3.2 定量分析

定量分析依据：

在一定的操作条件下，被分析物质的质量与响应信号（峰面积或峰高）成正比。

$$m_i = f_i \cdot A_i(h_i)$$

$$f_i = m_i / A_i(h_i) \quad f_i \text{ 称校正因子}$$

各种定量分析方法：

1. 外标法（标准曲线法）

2. 归一化法（面积归一化和峰高归一化）

$$p_i\% = \frac{m_i}{m} \times 100\% = \frac{A_i \times f_i}{(A_1 \times f_1 + A_2 \times f_2 + \dots + A_n \times f_n)} \times 100\%$$

优点：

A、不必知道准确进样量。

B、仪器操作条件变动对结果影响不大。

C、当 f 值相近或相同时，可不求出 f 值。故特别 适合同系物、同分异构体等分析。此时公式可简化为：

$$p_i\% = \frac{A_i}{(A_1 + A_2 + \dots + A_n)} \times 100\%$$

3. 内标法

试样中加入一定量的标准物，再进样分析。

$$\text{此时: } \frac{m_i}{m_s} = \frac{A_i f_i}{A_s f_s} \quad \text{故 } p_i\% = \frac{A_i f_i m_s}{A_s f_s W} \times 100\%$$

3.3 色谱分析误差及误差范围

色谱分析误差：用标准偏差或相对标准偏差表示。

色谱定量分析允许误差范围

试样浓度 (%)	σ %	试样浓度 (%)	σ %
0.01~0.05	<100	3~10	3~5
0.05~0.5	<50	10~30	2~3
0.5~3	5~10	>30	<2

第四节 填充柱气相色谱 (Packed column gas chromatography)

一、固定相的种类

液相色谱固定相 气固色谱固定相

二、气固色谱固定相

用途：

气固色谱在分离分析永久性气体、无机气体和低分子碳氢化合物方面不可缺少。改性固体吸附剂、新型固体吸附剂及高灵敏度检测器的发展，气—固色谱在分析高沸点和极性样品方面取得某些进展。

不能广泛应用的原因：

比气—液色谱具有较大的平衡常数，因而保留值很高。

气—固色谱的分布等温线呈非线性，形成不对称的拖尾色谱峰，且保留值随进样量变化。

种类：

多孔高聚物（高分子多孔微球）；分子筛；氧化铝；硅胶；碳质吸附剂（活性碳）。

1、多孔高聚物（高分子多孔微球）

主要特点：

选择性强，分离效果好，尤其是对水、含烃化合物，作用力小，可提前洗出，是分析有机化合物中水的最有效的方法。

热稳定性好，无流失现象，能在 250 °C 长期保存。

具有一定比表面积，但吸附能力比较弱，对极性化合物亦能洗出对称峰。

粒度均匀，机械强度好，不易破碎。

耐腐蚀，耐辐射。

各种类型的高分子多孔微球

2、分子筛

具有特殊吸附活性的吸附剂，属于合成硅铝酸钠盐和钙盐，结构为：

A 型： $\text{Na}_2\text{O}(\text{CaO}) \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$

分为 3A、4A、5A 型。

X 型： $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{SiO}_2$

分为 10X、13X 型。

3、氧化铝

可分离 $C_1 \sim C_4$ 烃类，组分保留时间与氧化铝含水量有关，欲控制氧化铝含水量，可将载气通过恒温水泡或通过含 10 个结晶水的硫酸钠，然后进入色谱柱，带入恒量的水。

改性：减少时间。

无水氧化铝溶解在乙醚内；

异丙醇等有机铝涂到载体上。

4、硅胶

脱水硅胶，氢键型强吸附剂，分离能力取决于孔径的大小和含水量。

结构： $SiO_2 \cdot xH_2O$ 。

改性：

表面不均匀活性吸附点，采用涂渍固定液作减尾剂制成薄层硅胶。

5、碳质吸附剂（活性碳）

能用来分析永久性气体和低分子碳氢化合物，不宜分离高沸点化合物、极性化合物和活泼气体。

三、气液色谱固定相

1、气液色谱填充柱的载体（Support）

载体—承载固定液用的多孔结构支持物。

作用—提供一个大的惰性表面，让固定液在上面形成一层薄的均匀的液膜。

要求 比面积要大，孔隙要均匀，化学惰性，热稳定好，机械强度高。

种类 无机担体 有机担体

—非硅藻土担体（玻璃担体，素瓷，高分子多孔微球，氟担体。）

—硅藻土担体：如（国产 6201，国外 Chromosorb P，Chromosorb W，Celite. 国产 101，405）

硅藻土担体

红色担体 --主要用于非极性固定液。

白色担体 --主要用于极性固定液。

硅藻土担体的预处理：

原因：

- a. 担体表面的微孔结构。
- b. 担体表面的硅醇和硅醚基结构(形成氢键)。
- c. 担体表面的金属氧化物活性中心。

c. 消除办法：

A. 酸洗:6N HCl 处理半小时，洗至中性。目的:除去担体中的金属氧化物。

C. 碱洗:5% KOH—甲醇回流，洗至中性。目的:除去担体中的酸性氧化物，如三氧化二铝。

E. 硅烷化处理目的：除去硅醇结构。

2、气液色谱固定液

要求

(1) 挥发性小，在使用温度下有较低蒸气压，以免固定液流失。

(2) 热稳定性好，在使用温度下不发生分解。在使用温度下是液体。

(3) 有适当的溶解性能, 对易挥发的组分有足够的溶解能力。

(4) 选择性好, 对试样各组分分离能力强, 即各组分的分配系数差别要大。这对分离沸点相近的异构体以及难分离物质尤为重要。

(5) 化学稳定性好, 不与被分析物质起化学反应。

分类

按极性: 非极性、中等极性、强极性、氢键型

固定液选择原则:

1) 相似性原则

① 非极性样品选用非极性固定液(主要作用力为色散力)。

流出顺序: 沸点低的先流出, 同沸点的极性组分先流出。

② 中等极性样品选用中等极性固定液(主要作用力为色散力和诱导力)

流出顺序: 沸点低的先流出, 同沸点的极性小的组分先流出。

③ 强极性样品选用强极性固定液(主要作用力为静电力)。

流出顺序: 极性低的先流出。

2) 利用固定液与组分之间的特殊作用力选择形成氢键样品选择氢键型固定液。

流出顺序: 形成氢键能力小的先流出。

使用固定液时的注意事项

(1) 注意固定液的最高使用温度。

(2) 考虑固定液的热稳定性和化学稳定性。

四、色谱柱的制备

色谱柱的老化

目的: 除去固定液的残余溶剂和挥发性杂质, 并促进固定液在担体表面分布均匀。

注意事项: 老化温度高于操作温度而低于固定液的最高使用温度; 柱出口端不接检测器, 以免污染检测器。

第五节 毛细管气相色谱 (Capillary column gas chromatography)

一、毛细管气相色谱 的发展历史

1955 年, M. J. E. Golay 发明了毛细管柱。

1957 年, Golay 发表了第一篇毛细管气相色谱论文, 介绍 91m 长 12000 理论塔板数的用聚乙烯做的毛细管柱。

柱材料的发展: 聚乙烯—不锈钢—玻璃—弹性石英。

固定液的固定方式的发展: 涂渍固定相—交联固定相—键合固定相。

柱型发展: 小口径柱—大口径柱—集束毛细管柱—耐高温柱。

二、毛细管气相色谱柱的类型

填充毛细管柱 (packed capillary columns) 内径 $\leq 1\text{mm}$, 粒度与柱径比值: 0.2~0.3, 固定相为吸附剂。

微型填充柱 (micropacked columns) 内径 $\leq 1\text{mm}$, 粒度: 30~50 μm , 液体固定相。

涂壁开管柱 (wall coated open tubular columns)

多孔层开管柱(Porous layer open tubular columns)管壁上涂有固体或液体固定相。

键合型开管柱(bonded open tubular columns)

交联型开管柱 (Cross-linked open tubular columns)涂渍在管壁上的固定液在自由基引发下,产生原位分子间其价交联,使固定液固化。

石英开管柱 (Fused silica open tubular columns)

三、毛细管气相色谱与填充柱气相色谱的比较

1、载气在柱中的阻力比较

柱渗透性参数: B_0

$$B_0 = \frac{L \eta u}{j \Delta P}$$

2. 载气流量的比较

毛细管柱载气流量上一般为每分钟几毫升,比填充柱少二倍以上。

3. 柱性能的比较

色谱柱类型	涂壁毛细管柱	多孔层开管柱	填充柱
长度 / m	10—100	10—50	1—5
内径 / mm	0.1- 0.8	0.5—0.8	2—4
液膜厚度 / μm	0.1- 5	0.5—0.8	10
单峰容量 / ng	<100	50—300	10000
分离能力	高	中	低

4. 速率理论在毛细管柱与填充柱中的比较

填充柱

$$H = 2 \lambda d_p + \frac{2 \gamma D_M}{U} + \left(\frac{2k' d_f^2}{3(1+k')^2 D_s} + \frac{0.01(k')^2 d_p^2}{(1+k')^2 D_m} \right) U$$

毛细管柱

$$H = \frac{2D_M}{U} + \left(\frac{(k')^3}{6(1+k')^2} \cdot \frac{r^2}{K^2 D_s} + \frac{1+6k' + 11(k')^2}{24(1+k')^2} \cdot \frac{r^2}{D_m} \right) U$$

毛细管柱无涡流扩散项;柱半径减少可以大幅度提高柱效;

四、毛细管和填充柱气相色谱仪的比较

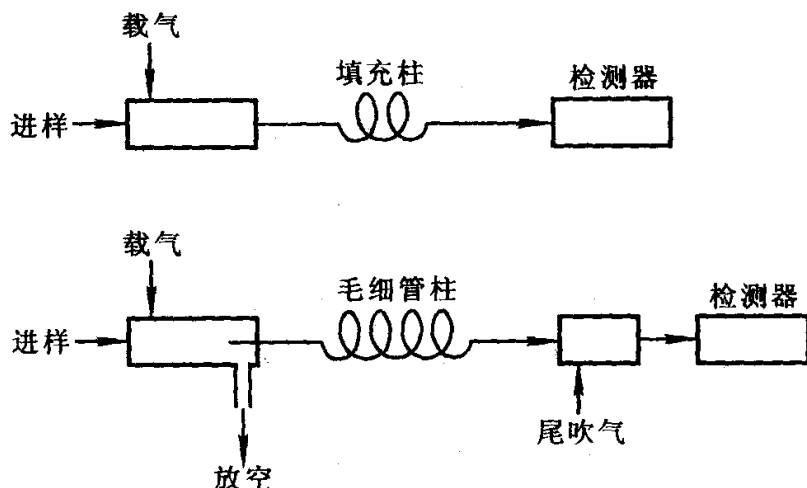


图 2-22 毛细管柱色谱仪和填充柱色谱仪流路比较

五、毛细管气色谱的操作方式的不同

1. 进样方式不同

常采用分流进样。

2. 增加了尾吹气

目的：减少死体积；提高检测器的灵敏度。

3. 通常采用程序升温

六、毛细管柱气相色谱的优点

其它类型的气相色谱

裂解气相色谱 (Pyrolysis gas chromatography)

顶空气相色谱 (Headspace gas chromatography)

气相色谱应用

应用范围：

碳氢化合物、有机含氧化合物、有机含氮化合物、有机含硫化合物、农药（含氯、含磷、含氮）、高分子材料、药物、香料和精油、临床医学样品、食品、环境保护等。

食品分析：

食品组成（水溶性类、类脂类、糖类）

污染物（农药、生产和包装中的污染物）

添加剂（防腐剂、香料和色素、乳化剂、营养补剂）

本章作业

1. 气相色谱仪有哪些主要部件，各有什么作用？

授课日期	第 16、17、18 周		教案编号	08
课程名称	仪器分析		专业班级	石油化工技术
教材名称	仪器分析			
授课题目	高效液相色谱			
授课学时	2 节 () ; 3 节 () ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)			
课 型	理论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 实验 () ; 见习 () ; 实训 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 (<input checked="" type="checkbox"/>)			
教学目的	<p>思政教育目标：培养学生具有节能环保的意识。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 了解高效液相色谱法的优点及适用范围； 2. 了解高效液相色谱仪的主要部件及高效液相色谱法基本流程； 3. 理解常用检测器的原理、适用的分析对象及适用范围； 4. 理解各种分离方式的原理及选择原则。 			
教学重点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 高效液相色谱法的各种分离类型 2. 高效液相色谱固定相 			
教学难点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 高效液相色谱法的各种分离类型 2. 高效液相色谱固定相 			
教学方法	讲授 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 讨论 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 指导 () ; 示教 () ; 其它 ()			
电子教案	有 (<input checked="" type="checkbox"/>)	Microsoft PowerPoint (<input checked="" type="checkbox"/>) ; Author ware () ; 其它 ()		
	无 ()			
教学资源	多媒体 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 模型 () ; 标本 () ; 实物 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 音像 (<input checked="" type="checkbox"/>) ; 其它 ()			
思考题	见教材			
作 业	课后习题			
教学后记	教学内容与工作实际情况尽量联系着讲。			

授课主要内容

第一节 概述

液相色谱(Liquid chromatography)

高效液相色谱(High performance liquid chromatography)

超临界流体色谱(Supercritical fluid chromatography)

高效毛细管电泳(High performance capillary electrophoresis)

毛细管电色谱(Capillary electrochromatography)

液相质谱联用技术(Liquid chromatography-Mass Spectrometry)

1、经典液相色谱与 HPLC 的区别

- (1) 采用了高压输液泵
- (2) 采用了新型的固定相
- (3) 采用了高灵敏度的检测器
- (4) 自动化程度高

2、HPLC 与 GC 的比较

共同点:

1. 色谱基本理论一致
2. 定性定量分析原理一样
3. 可对操作条件、数据处理进行程序控制, 自动化程度高

差异点:

1. 流动相差异 组分在液相中的扩散系数比在气相中的扩散系数小 $10^4 \sim 10^5$ 倍, 与固定相与流动相的作用力不能忽略。液体流动相多, 气体流动相少, 可供选择范围广。
2. 固定相差别。
3. 利用范围更广。GC 15%, HPLC 85% 以上的物质均可测定。
4. 仪器结构的原理上亦有差别。

第二节 HPLC 类型及类型的选择

一、液-液色谱

正相色谱: 固定相为极性的流动相为非极性或弱极性的液相色谱。

流出顺序: 非极性向极性过渡。

反相色谱: 固定相为非极性, 流动相为极性的液相色谱。

流出顺序: 极性向非极性过渡。

正相离子对色谱: 固定相为极性流动相为非极性或弱极性的并含有适当的有机反离子, 这种反离子能与组分形成离子对的液相色谱。

流出顺序: 按离子对极性大小流出, 极性小的先流出。

反相离子对色谱: 固定相为非极性流动相为极性的并含有适当的有机反离子, 这种反离子能与组分形成离子对的液相色谱。

流出顺序：按离子对极性大小流出，极性大的先流出。

二、液-固色谱

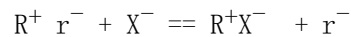
固体固定相表面的吸附活性中心对组分的吸附能力不同而达到分离的色谱。

特点：

1. 对同系物的选择性小，不利于同系物的分离，而有利于按族的分离。
2. 吸附中心的吸附力与分子的几何形状有关，有利于异构体的分离。
3. 由于吸附中心主要是表面的硅醇结构，吸附能力大小决定于羟基对组分分子吸附与解吸能力的强弱，因此对流动相含水量要严格控制，方能得到良好的重复性。

三、离子交换色谱

利用固定相中离子交换基团与组分离子的交换能力的不同而达到分离的液相色谱。



R^+ r^- 阴离子交换树脂 X^- 组分离子 r^- 平衡离子

四、凝胶色谱(排阻色谱,空间排阻色谱)

利用固定相凝胶内孔穴大小与组分分子大小而进行分离的一种技术，分子体积大，不能渗透到孔穴内部去，较快流出色谱柱，相反较慢流出色谱柱。

凝胶过滤色谱(Gel Filtration Chromatography, GFC):用含水的流动相的凝胶色谱。

凝胶渗透色谱(Gel permeation Chromatography, GPC)非水流动相的凝胶色谱。

五 液相色谱分离机理示意图

六、分离类型的选择

第三节 高效液相色谱仪

3.1 HPLC 仪的流程

3.1 HPLC 仪的基本构成

(一)流动相输送系统 1. 贮液槽 2. 高压泵

要求：A. 较高压力 300~500KG/CM²

B. 无脉冲

C. 流速稳定性±1%，重复性±0.5%

D. 泵室体积小

E. 分析用泵最大流速 3 毫升/min 以上；制备用泵最大流速 50 毫升/min 以上。

3. 梯度淋洗装置

(二)进样系统 进样阀,注射器(与气相色谱相同)。

(三)色谱分离系统 色谱柱:不锈钢柱, 固定相 恒温器:(通常柱温:室温~65℃)

A、柱温升高 6℃, 组分保留值减少 30%左右。

B、温度升高, 传质阻力减少(C 项降低), 柱效增加。

C、降低流动相粘度, 压力下降。

(四)检测系统

光学检测器: 紫外-可见光、荧光、红外、二极管阵列检测器、质谱等。

电学检测器: 库仑、电导检测器等。

(五)数据处理和记录系统 与 GC 完全相同。

第四节 高效液相色谱固定相

一、液-液色谱固定相

主要采用化学键合固定相：即以硅胶为担体，在其表面硅醇基团上，键合了特效基团。

化学键合固定相特点：

- 1、由于表面键合了特效基团，消除了表面的吸附活性点，使表面更均一。
- 2、柱效高，峰形对称。
- 3、可通过键合不同基团来改变选择性。
- 4、无固定液流失，柱寿命长，稳定性好。
- 5、耐各种溶剂，有利于梯度淋洗和样品、溶剂的回收。
- 6、价格高。

二、液-固色谱固定相

以硅胶为基体的各类硅珠，主要有三种类型：全多孔硅珠；多孔层硅珠；堆积型硅珠。

目前常用的是全多孔硅珠。

柱效以堆积型最好，多孔层次之。全多孔最好。

固定相粒度对柱效影响很大，粒度小，板高低，柱效高。

三、离子交换固定相

主要有两种类型：

1. 硅质键合离子交换基团或涂覆一层离子交换树脂
2. 苯乙烯与二乙烯基苯共聚物为基质键合离子交换基团

四、凝胶色谱固定相

主要有三种类型：

1. 软性凝胶 Sephadex G 系列，不适用于 HPLC
2. 半软性凝胶 压力不能超过 $150\text{kg}/\text{cm}^2$ ，主要为聚苯乙烯凝胶。
3. 刚性凝胶 多孔硅胶，多孔玻璃，主要用于 HPLC。

第五节 液相色谱流动相

一、对流动相的要求

1. 惰性
2. 对样品有较大的溶解度
3. 对所选用的检测器没有干扰
4. 粘度少，扩散系数要大，以减少传质阻力
5. 纯度高，成本低
6. 毒性少，稳定性好

二、溶剂的极性

溶剂的极性大小，可用溶剂强度表示，溶剂强度大致如下：

正庚烷 < 正己烷 < 环己烷 < CCl_4 < 苯 < 乙醚 < CHCl_3 < CH_2Cl_2 < 四氢呋喃 < 二氧六烷 < 丙酮 < 醋酸乙酯 < 乙腈 < 甲醇 < 水

三、液液色谱流动相的选择原则

1、正相色谱

A、选择单一非极性溶剂，使所有的组分的 $1 \leq k' \leq 10$ 。

B、加极性改性剂（甲醇、四氢呋喃、 CHCl_3 等）。

2、反相色谱

A、以水作为基体。

B、加溶剂甲醇、乙腈等改性。

3、离子对色谱

主要选择反离子和浓度，然后按正相或反相色谱流动相选择原则选择即可。

四、液固色谱流动相选择原则

1、选择正确的溶剂强度 使所有的组分的分配比在 $1 \leq k' \leq 10$ 之间。

2、选择适当的溶剂组成。

3、严格控制流动相的含水量。

五、离子交换色谱流动相选择原则

1、选择 pH 值。

2、选择离子强度。

3、选择缓冲溶液。

六、凝胶色谱流动相选择原则

1、控制分离温度下的粘度。

2、流动相必须有较强的溶解样品的能力。

第六节 液相色谱检测器

紫外吸收检测器

示差折光检测器

荧光检测器

二极管阵列检测器

电导检测器

安培检测器

高效液相色谱应用

（一）正相色谱的应用

适用范围：

1) 由反相色谱法很难分离的异构体可以采用以硅胶为固定相的正相色谱分离分析；

2) 根据被分离样品的极性差别进行族类分离；

3) 易于水解样品的分离分析；

4) 在极性有机溶液中溶解度很小的高油性样品的分离分析。

（二）反相色谱的应用

1. 反相色谱在食品分析中的应用

(1) 食品本身组成，尤其是营养成分的分析（蛋白质、氨基酸、糖类、色素、维生素、脂肪酸、香料、有机酸、有机胺、矿物质等）

(2) 食品添加剂分析（甜味剂、防腐剂、着色剂、抗氧化剂）

在食品的加工、贮运、保存过程中由周围环境引起的污染物分析（农药残留、霉菌毒素、病原微生物）

本章作业

- 1.在液相色谱中，如何选择分离类型？
2. HPLC 液液色谱流动相的选择原则？

实验一 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：

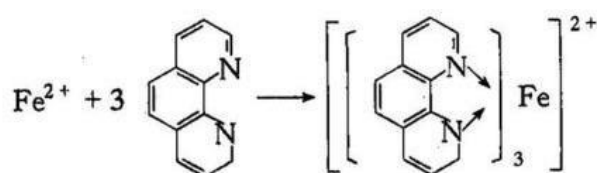
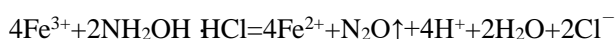
- 1、了解分光光度计的基本构造，熟悉分光光度计的使用方法。
- 2、学习吸收光谱曲线的绘制、查找最大吸收波长 λ_{\max} 的方法。
- 3、掌握邻菲罗啉分光光度法测定微量铁的原理和方法。
- 4、学会标准曲线的绘制方法及其使用。

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 $5\text{mL } 6\text{mol L}^{-1}\text{HCl}$ 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 $440\text{-}560\text{nm}$ 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 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。

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的测量波长 $\lambda_{\max} = \quad \text{nm}$ 。

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) / $\mu\text{g mL}^{-1}$	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 $\rho_{\text{Fe}}(x)$ ($\mu\text{g/mL}$)，再按下式计算原样品中铁的含量 ρ_{Fe} 。
 $\rho_{\text{Fe}} = \rho_{\text{Fe}}(x) \times 10$

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。

附：722S 分光光度计的操作步骤：

1.1 仪器的正常基本操作

1.1.1 预热：仪器开机后灯及电子部分需热平衡，故开机预热 30 分钟后才能进行稳定工作，如紧急应用时，请注意随时调 0%T，调 100%T。

1.1.2 调零：

目的：校正基本读数标尺二端（配合 100%T 调节），进入正常测试状态；

调整时：开机预热后，改变测试波长时或测试一段时间，以及作高精度测试前；

操作主：打开试样盖（关闭光门）或用不透光材料在样品室中遮断光路，然后按 0% 键，即能自动调整零位。

1.1.3 调整 100%T

目的：校正基本读数标尺两端（配合调零），进入正确测试状态；

调整时：开机预热后，更换测试波长或测试一段时间后，以及作高精度测试前。（一般在调整零前应加一次 100%T 调整以使仪器内部自动增益到位；

操作：将用作背景的空白样品置入样品室光路中，盖下试样盖（同时打开光门）按下 100% T 键即能自动调整 100%T（一次有误差可加按一次）；

1.1.4 调整波长

使用仪器上唯一的旋钮，即可方便地调整仪器当前测试波长，具体波长由旋钮左侧的显示窗显示读出波长时目光垂直观察。

1.1.5 改变试样位置让不同样品进入光路

仪器标准配置中试样槽架是四位置的，用仪器前面的试样槽拉杆来改变，打开样品室盖以前便观察样品槽中的样品位置最靠近测试者的为“0”位置，依次为“1”，“2”，“3”位置，当拉杆到位时有定位感，到位时请前后轻轻推动一下以确保定位正确。

1.1.6 确定滤光片的位置

本仪器备有减少杂光，提高 340~380nm 波段光度准确性的滤光片，位于样品室内的左侧，用一拨杆来改变位置。当测试波长在 340~380nm 波段内如作高精度测试可将拨杆置于在 400~1000nm。

1.1.7 改变标尺

本仪器设有四种标尺

透射比：用于对透明溶液和透明固体测量透射特点；吸光度：用于采用标准曲线法或绝对吸收法定量分析，在动力学测试时亦能利用本系统；光度因子：用于在浓度因子法浓度直读时设定浓度因子；深度直读：用于标样法浓度直读时，作设定和读出，亦用于设定浓度因子后的浓度直读；各标尺间的转换用模式键操作并由“透射比”，“吸光度”，“浓度因子”，“浓度直读”指示灯分别指示，开机初始状态为“透射比”，每按一次顺序循环。

1.2 应用操作

1.2.1 测定透明材料的透射比

预热 → 设定波长 → 置入空白 → 置标尺为“透射比” → 确定滤光片的位置 → 粗调 100%T → 调零 → 调 100%T → 置入样品 → 读出数据。

1.2.2 测定透明溶液的吸光度

预热 → 设定波长 → 置入空白 → 置标尺为“透射比” → 确定滤光片的位置 → 粗调 100%T →

调零→调 100%T→置标尺为“吸光度”→置入样品→读出数据。

实验二：紫外吸收光谱法：测定维生素 C 含量（3 课时）

一、目的要求

- 1、了解维生素 C 的紫外吸收光谱的特性。
- 2、学习在紫外吸收光谱区进行维生素 C 的测定方法。

二、实验原理

维生素 C 在食品中能起抗氧化作用，即在一定时间内能防止油脂变性。维生素 C 是水溶性的，但是可溶于无水乙醇，并在 220-320nm 紫外光谱中呈现吸收特性。

三、仪器与试剂

（1）仪器：紫外可见分光光度计（UV-1800）、石英比色皿 4 块、25mL 棕色容量瓶 4 只、500mL 棕色容量瓶 2 只、5mL，10mL 吸量管各两只。

（2）试剂：维生素 C（分析纯）、维生素 C 药片。

四、实验内容与操作步骤

（1）准备工作

清洗容量瓶、吸量管等玻璃仪器备用。

检查仪器，开机预热 20min，并调试至工作状态。

（2）配制维生素 C 系列标准溶液

称取 0.02640g 分析纯维生素 C，溶于少量蒸馏水中，超声约 2min 至完全溶解，定量转移至 500mL 棕色容量瓶中，用蒸馏水稀释至标线，摇匀。此溶液浓度为 52.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分别吸取浓度此溶液 2.00mL、4.00mL、6.00mL、8.00mL 于 4 只洁净干燥的 25mL 棕色容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀备用。

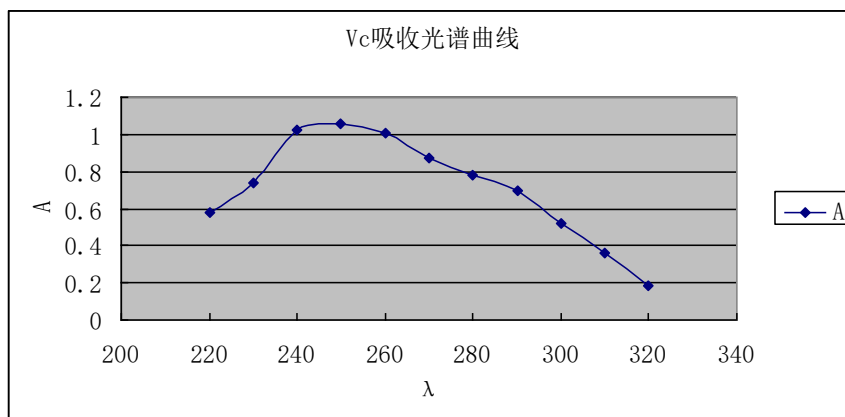
（维生素 C 质量为 0.0200g 时，标准系列最后一个点的吸光度可落在 0.8 以内）

（3）配制维生素 C 试样溶液

准确称取约 0.10g 维生素 C 药片，溶于少量蒸馏水中，超声约 2min 至完全溶解，定量转移至 500mL 棕色容量瓶中，用蒸馏水稀释至标线，摇匀。或准确称取约 0.20g 维生素 C 药片，溶于少量蒸馏水中，超声约 2min 至完全溶解，定量转移至 1000mL 棕色容量瓶中，用蒸馏水稀释至标线，摇匀。（稀释 10 倍吸光度在线性范围内）

（4）绘制维生素 C 的紫外吸收光谱曲线

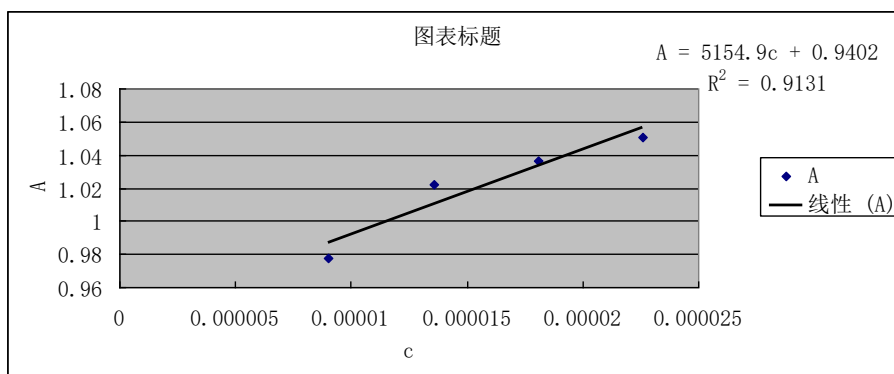
以蒸馏水作为参比，在 220~320nm 范围绘制维生素 C 的紫外吸收光谱曲线，并确定维生素 C 的最大吸收波长 λ_{max} 。实验报告背面粘贴维生素 C 的吸收光谱图，如下图所示：



由维生素 C 的吸收光谱图可知，维生素 C 的紫外最大吸收波长为 $\lambda_{\max} =$ nm。

(5) 绘制维生素 C 的标准工作曲线

以蒸馏水作参比，在 $\lambda_{\max} =$ nm 处测定维生素 C 系列标准溶液的吸光度，绘制吸光度-浓度标准工作曲线。实验报告背面粘贴维生素 C 的标准工作曲线图，如下图所示：



(6) 测定试样溶液的维生素 C 含量

采用标准工作曲线法测定试液中维生素 C 含量，并根据稀释倍数报告结果。

五、数据记录与结果处理

(1) 维生素 C 标准系列吸光度和浓度及未知液吸光度和浓度

V (mL)	2.00	4.00	6.00	8.00	试样溶液
ρ ($\mu\text{g/mL}$)					
A					

(2) 试样溶液中维生素 C 的含量

根据稀释倍数，报告结果：未知液中维生素 C 含量为：

UV-1800PC-DS2 操作步骤:

开机—预热—暗电流校正中（可省略）—点击“Enter”进入“系统应用”（再点击暗电流校正）—点击Z。

开机后点击“设备”--“获取暗电流”（开机时获取了暗电流，此处可以省略）

放入空白溶液—点击“操作”—设置（设置波长，数值由大到小 320--200）--点击确定—点击“操作”—校准背景—拉至任一标准溶液处，点击光谱扫描，测出 A_{max} （如果 A 值太大，则点放大镜的图标，进行坐标设置）。

点击定量分析—点击操作—设置（设最大波长）--选择样品数量（不包含空白的样品的个数）—拉到空白溶液进行校准背景—拉至标准样品测波长--点击▲|（开始）--得出标准曲线—放入未知样品测吸光度--样品名称可输入。

数据点击开始—选择打印—PDF 格式保存。

比色皿：Q 表示石英（适应于紫外波段，1~400nm 波长，200nm 以下又称真空紫外波长），G 表示玻璃（适应于可见光，一般指 380~760nm 波长）。

UV-1800PC 操作步骤:

开机密码：123456

按 8 键，再按 3 键，暗电流，Enter。（自动跳出设置波长等）

建立基线，双击浓度输入。

放入空白溶液—建立系统基线—点“零位/满刻度”—开始测试，拉至任何一标准溶液，点击放大镜图标（查找波峰），找出 A_{max} —点击锥形瓶图标（定量分析）--设置样品数， A_{max} —双击浓度，双击输入样品名称。

放入空白溶液—点击“零位/满刻度”调零—拉至标准样品—双击吸光度—得出标准曲线—放未知样品点击“开始”—得出未知样品的 A 和浓度。

实验三 电位分析法：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°C 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°C 时。为适应不同温度下的测量，在用标准缓冲溶液“定位”前先要进行温度补偿（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 pHs 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.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);

2.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:

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 $3\text{mol L}^{-1}\text{KCl}$ 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”组,若不小心碰动“定位”或“斜率”组应重复中(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=_____。

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：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）

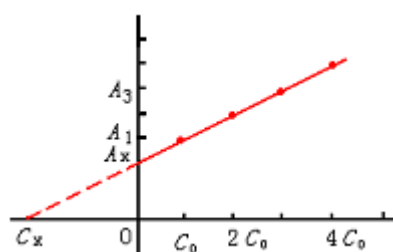
一、实验目的

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。

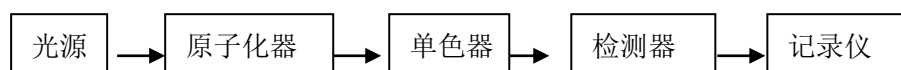


标准加入法

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:

$$\rho_{(Cu)} = C_x \frac{V_0}{V_1}$$

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

1、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”。

2、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）。

氙气：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。

实验五 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）

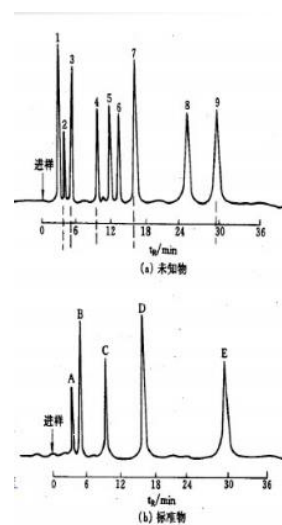
对于组成简单的样品，且对其各组分有所了解，可以通过如下方式进行分析：

- 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 μL 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 $^{\circ}\text{C}$ ；柱温 160 $^{\circ}\text{C}$ 左右（或 140 $^{\circ}\text{C}$ ），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：0.2 μ L

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 0.2 μ L，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 0.2 μ L 微量进样器洗 3-5 次，然后往色谱仪内注射 0.2 μ L 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 0.2 μ L 微量进样器洗 3-5 次，然后往色谱仪内注射 0.2 μ L 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 0.2 μ L，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. 不要在没有“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				

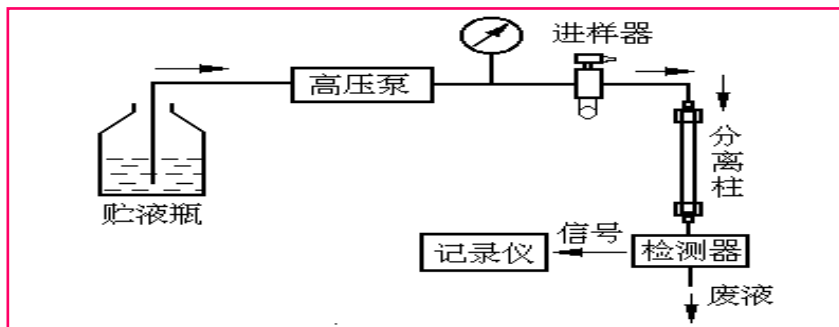
实验六 高效液相色谱仪仪器认知、操作及进样练习（3课时）

高效液相色谱法测食品中的苯甲酸

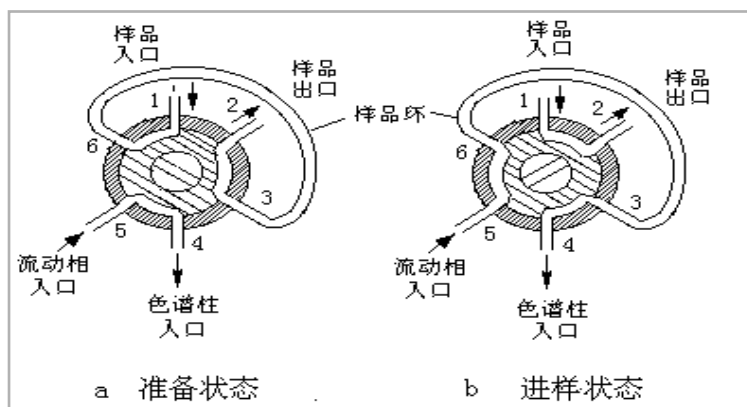
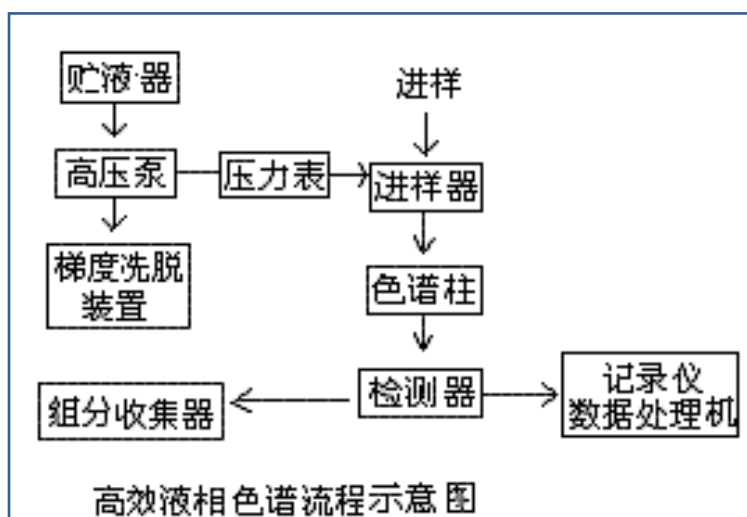
一、实验目的

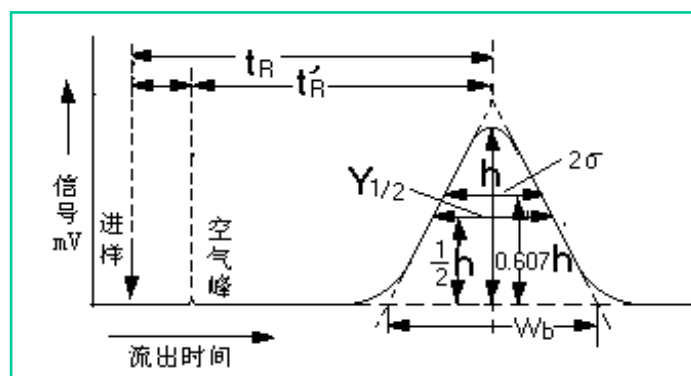
熟悉高效液相色谱仪的结构； 熟练掌握高效液相色谱仪的操作； 掌握进样技术。

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：





定性方法:

1. 利用纯物质定性的方法

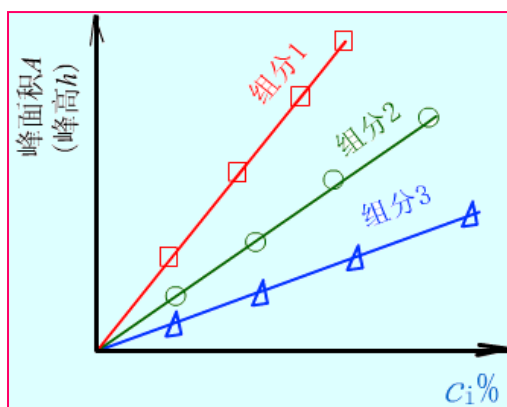
利用保留值定性: 通过对比试样中具有与纯物质相同保留值的色谱峰, 来确定试样中是否含有该物质及在色谱图中位置。不适用于不同仪器上获得的数据之间的对比(我们定性的依据)。

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

(1) 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下式计算 $c_i \% = \frac{m_i}{m_1 + m_2 + \dots + m_n} \times 100 = \frac{f_i \cdot A_i}{\sum_{i=1}^n (f_i \cdot A_i)} \times 100$



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。

- 3、 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, 5 μ m, 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: 20 μ L

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 20 μ l 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 20 μ L (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。

4、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。） --- 氘灯打开，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。