

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： 王宜民

专业班级： 应用化工技术 石油化工技术

揭阳职业技术学院化学工程系

应用化工技术教研室

授课日期	第 1 周	教案编号	01
课程名称	仪器分析	专业班级	应用化工技术
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	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	应用化工技术
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	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

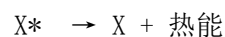
分子吸收光能, 吸收时间极短, 只有 10^{-15} sec., 电子由基态跃迁到较高能态的激发态。



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	应用化工技术
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	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 键的不饱和基团称为生色团。

(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	应用化工技术
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	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) $1300 \sim 900$ 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	应用化工技术
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	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	应用化工技术
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	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	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	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:

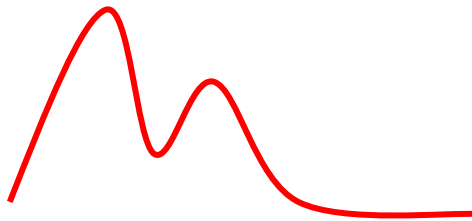
	0 号塔板	1 号塔板	2 号塔板	3 号塔板	4 号塔板	柱出口
进样	1.0 ^A					
	1.0 ^B					
1△V	0.5 ^A	0.5 ^A				
	0.2 ^B	0.8 ^B				
2△V	0.25 ^A	0.5 ^A	0.25 ^A			
	0.04 ^B	0.320 ^B	0.640 ^B			
3△V	0.125 ^A	0.375 ^A	0.375 ^A	0.125 ^A		
	0.008 ^B	0.096 ^B	0.384 ^B	0.512 ^B		
4△V	0.063 ^A	0.250 ^A	0.375 ^A	0.250 ^A	0.062 ^A	
	0.0016 ^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

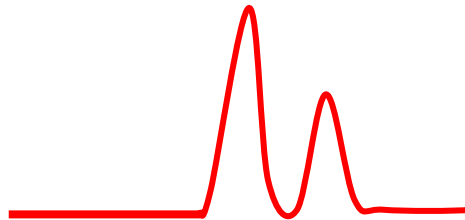
注：数字右上角的 A，B 分别代表 A，B 组分在某一塔板上的分配值。

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

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

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, $\Psi=0.09$,

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	应用化工技术
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	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;		
教学重点	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		
教学难点	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		
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

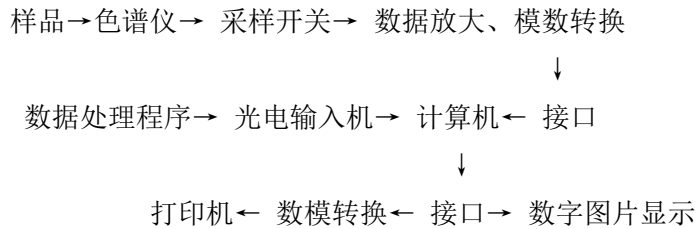
由固定相和柱组成。

	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



(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：



分为 3A、4A、5A 型。



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

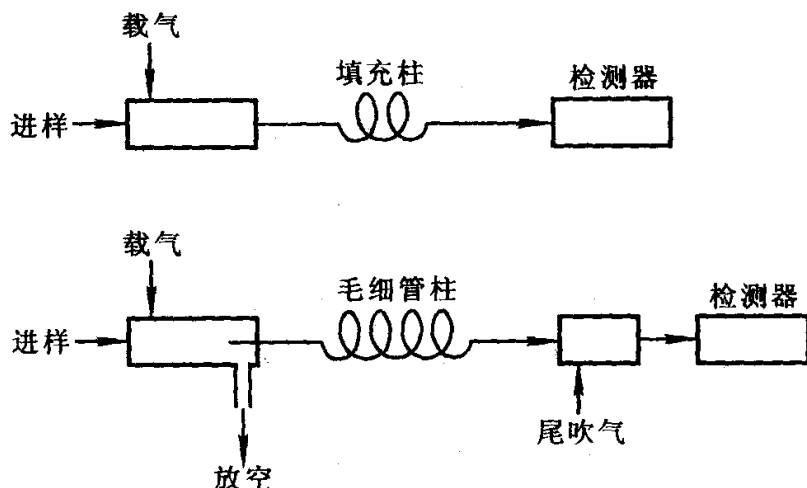


图 2-22 毛细管柱色谱仪和填充柱色谱仪流路比较

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	应用化工技术
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	<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

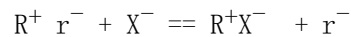
固体固定相表面的吸附活性中心对组分的吸附能力不同而达到分离的色谱。

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？