

# 揭阳职业技术学院

Jieyang Vocational & Technical College

## 教 案

系（部）： 化学工程系

讲授课程： 仪器分析（与“人才培养方案”同）

任课教师： 谢晓龙

专业班级： 分检 241、242、分检 241（三加）

授课学期： 2025-2026 学年第一学期

揭阳职业技术学院化工系

2025 年 9 月

# “仪器分析”课程综述

## 一、本课程的主要内容

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

绪论

电位分析法

紫外可见分光光度法

红外吸收光谱法

原子吸收光谱法

气相色谱法

液相色谱法

## 二、本课程与其他课程的关系

本课程是分析检验技术专业专业的专业基础课，安排在大二第一学期讲授的课程，前续课程有分析化学（含实验）、无机化学、有机化学等，同时在学的有化工环保课程等；后续课程有化学分析综合实训和其他各类分析检验课程。

## 三、本课程的现状

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

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

## 四、本课程的发展

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

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

本课程正在向快速、准确、自动、灵敏及适应特殊分析的方向迅速发展。

课程名称	仪器分析	专业班级	
教材名称	仪器分析		
授课题目	绪论		
授课学时	2 节 ( )；3 节 ( <input checked="" type="checkbox"/> )；其它 ( )		
课 型	理论 ( <input checked="" type="checkbox"/> )；实验 ( )；见习 ( )；实训 ( )；其它 ( )		
教学目的	<p>一、能力(技能)目标</p> <p>1. 初步了解新课程的学习模式和学习方法。</p> <p>2. 积极准备,全方位地配合教学活动,培养职业观念、学习能力和职业专门能力。</p> <p>二、知识目标</p> <p>1. 了解仪器分析课程的性质、任务和基本要求。</p> <p>2. 掌握仪器分析课程的基本概念,与化学分析的区别与联系。</p> <p>3. 了解仪器分析的方法分类、应用与发展趋势。</p> <p>三、思政元素</p> <p>激发同学们学好课程的兴趣和信心,树立远大志向,立志成为本领域的能工巧匠。</p>		
教学重点	<p>掌握仪器分析课程的基本概念,与化学分析的区别与联系。</p> <p>仪器分析的方法分类、应用与发展趋势。</p>		
教学难点	掌握仪器分析课程的基本概念,与化学分析的区别与联系。		
教学方法	讲授 ( <input checked="" type="checkbox"/> )；讨论 ( <input checked="" type="checkbox"/> )；指导 ( <input checked="" type="checkbox"/> )；示教 ( )；其它 ( )		
电子教案	有( <input checked="" type="checkbox"/> )	Microsoft PowerPoint ( )；Author ware ( )；其它 ( )	
	无 ( )		
教学资源	多媒体 ( <input checked="" type="checkbox"/> )；模型 ( )；标本 ( )；实物 ( )；音像 ( <input checked="" type="checkbox"/> )；其它 ( )		
教学过程 时间安排	<p>1. 初步了解新课程的学习模式和学习方法。 20'</p> <p>2. 积极准备,全方位地配合教学活动,培养职业观念、学习能力和职业专门能力。 20'</p> <p>1. 了解仪器分析课程的性质、任务和基本要求。 15'</p> <p>2. 掌握仪器分析课程的基本概念,与化学分析的区别与联系。 15'</p> <p>3. 了解仪器分析的方法分类、应用与发展趋势。 15'</p>		
思考题	<p>1. 你怎样看仪器分析?有什么困难?怎样克服?</p> <p>2. 对于某一特定分析任务,怎样选择仪器分析方法?(提示:仪器型号易得?分析人员使用该仪器的经验?样品含量是否与仪器的有效浓度范围相符?分析准确度和精密度要求?分析过程中内在的干扰?必须取用的样品个数?给出结果的速度?每一次分析的开销?)</p>		
作业	仪器分析的定义、特点;与化学分析的区别与联系?		
教学后记	第 1 次课为入门课,重在让同学们明确本门课程在专业课程体系中的地位和作用,另外多想方设法激发同学们学习本门课程的兴趣,端正学生的学习态度		

[组织教学] 熟悉班级，清点人数。

[自我介绍] ……

[高职分析专业培养目标与课程性质]

1、高职分析专业培养目标——课程思政：培养与我国社会主义市场经济建设相适应的，德、智、体、美等方面全面发展，具有全面素质（政治、思想、文化、身体、心理）和综合职业能力（专业、方法、社会）的工业分析与检验专业技能型专门人才。

从事技术要求较高的分析与检验技术工作，技术管理工作、企业的产品质量监督和管理、化验室的常规组织管理等工作，也可进行工业分析与检验方法的改进和探索等科研工作。

2、仪器分析课程——分析专业主干专业课——与定量化学分析并称为分析科学的两大支柱！

[讲授新课]

## 绪论

### 一、仪器分析法及其特点

1. 分析化学的定义和方法分类——研究物质的组成、状态、结构及其它多种信息的科学（现代分析化学，分析科学），从原理分为化学分析和仪器分析两大方法。

(1) 化学分析——利用化学反应及其计量关系来确定被测物质组成和含量的一类分析方法。测定时需使用化学试剂、天平和一些玻璃器皿。

(2) 仪器分析——以物质的物理和物理化学性质为基础建立起来的一种分析方法。测定时，常常需要使用比较复杂的分析仪器。

仪器分析的内容广而新，已经成为分析化学的主要分析方法。仪器分析的产生为分析化学带来革命性的变化，仪器分析是分析化学的发展方向。

2. 仪器分析的特点——与化学分析比较有三优三不足

(1) 操作简便，分析速度快，容易实现自动化和智能化。

分析仪器多数由电路控制，其设计框图为：

样品→非电信号→转换器→电信号→放大及处理→交流电信号→读出部件

有利于理解操作、最佳使用、免除误差、修复故障。

(2) 灵敏度高，检出限量可降低。如样品用量由化学分析的 mL、mg 级降低到仪器分析的  $\mu\text{g}$ 、 $\mu\text{L}$  级，甚至更低。适合于微量、痕量和超痕量成分的测定。

方法	试样质量/mg	试液体积/mL
常量分析	>100	>10
半微量分析	10~100	1~10
微量分析	0.1~10	0.1~1
超微量分析	<0.1	<0.01

(3) 选择性好。很多的仪器分析方法可以通过选择或调整测定条件，使共存的组分在测定时，相互间不产生干扰。

(4) 相对误差较大。化学分析一般可用于常量和高含量成分分析，准确度较高，误差小于千分之几。多数仪器分析相对误差较大，一般为 5%，不适用于常量和高含量成分分析。

(5) 需要价格比较昂贵的专用仪器。

(6) 不少仪器分析方法还必须与试样处理、分离及掩蔽等化学分析手段相结合，才能完成分析的全过程。仪器分析有时还需要采用化学富集的方法提高灵敏度。

3. 仪器分析与化学分析的区别不是绝对的，仪器分析是在化学分析基础上的发展。

不少仪器分析方法的原理，涉及到有关化学分析的基本理论；有些仪器分析方法，如分光光度分析法，由于涉及大量的有机试剂和配合物化学等理论，所以在不少书籍中，把它列入化学分析。

应该指出，仪器分析本身不是一门独立的学科，而是多种仪器方法的组合。可是这些仪器方法在化学学科中极其重要。它们已不单纯地应用于分析的目的，而是广泛地应用于研究

和解决各种化学理论和实际问题。因此，将它们称为“化学分析中的仪器方法”更为确切。

总之，正如梁树权先生的名言……

## 二、仪器分析的基本内容和分类

1. 仪器分析内容多（按最后测量过程中所观测的性质列表 P<sub>2</sub>……光、声、磁、电、核、热），但总课时较少，结合我校实际情况我们采用分类办法安排教学。

2. 重点和基础——紫外-可见分光光度法，电位分析法；色谱法基础和气相色谱法，原子吸收光谱法。

难点和拓展——高效液相色谱法，红外吸收光谱法等（精讲与自学）。

## 三、仪器分析的发展趋势

1. 方法创新——20世纪40~50年代兴起的材料科学，60~70年代发展起来的环境科学都促进了分析化学学科的发展。80年代以来，生命科学的发展也促进分析化学一次巨大的发展。仪器分析是分析化学的重要组成部分，也随之不断发展和更新，为科学技术提供更准确、更灵敏、专一、快速、简便的分析方法。

如生命科学研究的进展，需要对多肽、蛋白质、核酸等生物大分子进行分析，对生物药物分析，对超微量生物活性物质，如单个细胞内神经传递物质的分析以及对生物活体进行分析。

信息时代的到来，给仪器分析带来了新的发展。信息科学主要是信息的采集和处理。

2. 计算机与分析仪器的结合，出现了分析仪器的智能化，加快了数据处理的速度。它使许多以往难以完成的任务，如实验室的自动化，图谱的快速检索，复杂的数学统计可轻而易举完成。信息的采集和变换主要依赖于各类的传感器。这又带动了仪器分析中传感器的发展，出现了光导纤维的化学传感器和各种生物传感器。

3. 联用分析技术已成为当前仪器分析的重要发展方向。将几种方法结合起来，特别是分离方法（如色谱法）和检测方法（红外光谱法、质谱法、核磁共振波谱法、原子吸收光谱法等）的结合，汇集了各自的优点，弥补了各自的不足，可以更好地完成试样的分析任务。

联用分析技术：GC-MS, GC-AES, HPLC-MS

## 四、学习与实训指导

1. 明确学习目标——仪器分析教学基本要求

仪器分析是人们获得物质化学组成和结构信息的重要手段。对于工科学生，学习仪器分析的目的是应用。为此，必须掌握方法原理（含概念、术语、定性和定量的依据、谱图解析方法等）；另一个重点是应用特点（含仪器的流程及主要部件、操作要领和注意事项以及方法的应用范围）。学好仪器分析必须注重实验。

要求学生初步具有根据分析的目的，结合学到的各种仪器分析方法的特点和应用范围，选择适宜的分析方法的能力。

知识——掌握常用仪器分析方法的基本原理、方法特点和应用范围；掌握常用分析仪器的基本结构和工作原理，了解其性能指标、操作条件和日常维护保养知识；掌握常用仪器分析法的定性和定量方法。

能力——能针对不同的分析方法对样品进行前处理；能正确使用分析仪器对样品进行分析检验，能正确分析和处理实验数据，准确表述分析结果；能正确维护保养常用分析仪器及辅助设备，并能排除简单的故障；具有查阅国家标准和其他有关技术资料的一般能力；能按仪器说明书制定仪器操作规程。

思想——基本具备辩证思维的能力；具有实事求是的科学作风和创新意识、创新精神；具有良好的职业道德；逐步树立全面质量管理意识。

2. 端正学习态度——好学习，学习好；积极主动地实训（分组分批）；课堂考勤！

3. 掌握学习方法——老老实实做学问（听、记、读、做、写）

4. 准备学习资料（<http://www.sccc.edu.cn/jpkc>）

——教材、参考书、仪器分析实训指导书；

仪器分析（第三版）黄一石主编（教材）

仪器分析（第三版）朱明华编（主要参考书），仪器分析教程 北京大学化学系 仪器分析教学组，仪器分析 赵藻藩等（武汉大学），仪器分析原理 方惠群等（南京大学），

学术期刊：国内——分析化学，高等学校化学学报，光谱学与光谱分析；国外——

Analytical Chemistry, Analyst.

5. 教学方法与评价——借鉴以能力为本位的 CBE 模式和教改经验，“立足实用、强化能力、注重实践”；以职业能力为目标，构建由实践情境构成，工作过程为中心，项目导向、任务驱动的“理论-实践”循环式教学体系。注重学生职业能力培养，素质教育贯穿整个教学过程。

——CAI、现场观摩等多种方法，及时反馈。综合平时表现与期末考试评价学生。

[讨论]

1. 你怎样看仪器分析？有什么困难？怎样克服？

2. 对于某一特定分析任务，怎样选择仪器分析方法？（提示：仪器型号易得？分析人员使用该仪器的经验？样品含量是否与仪器的有效浓度范围相符？分析准确度和精密度要求？分析过程中内在的干扰？必须取用的样品个数？给出结果的速度？每一次分析的开销？）

[布置作业]

思考：仪器分析的定义、特点；与化学分析的区别与联系？

预习第一章

## § 1-1 电位分析法基本原理 (上)

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 能解释电位分析法的基本术语、分类、原理、主要特点和应用范围; 2. 学会运用能斯特方程式进行相关计算; 3. 初步学会使用参比电极。	1. 了解电化学分析和电化学电池的一般知识,掌握电位分析法的分类、原理、特点和应用; 2. 理解电极电位的产生及其与溶液中离子活度的能斯特关系式,并掌握其应用; 3. 掌握指示电极和参比电极定义和作用,初步掌握典型的参比电极(饱和甘汞电极等)的基本结构、性能、使用方法及维护保养。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 演示法 3. 课堂练习	
参考资料		

## 第一章 电位分析法

## § 1-1 基本原理 (上)

## 一、概述

## 1. 电化学分析法简述

## (1) 电化学分析法的定义

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

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

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

## (2) 电化学分析法的特点

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

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

◇传统电化学分析：无机离子的分析；测定有机化合物也日益广泛。

(3) 电化学分析法的分类

① 电位分析法——图 1-3、1-4

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

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

研制各种高灵敏度、高选择性的电极是电位分析法最活跃的研究领域。

② 电解与库仑分析法——

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

电重量分析法：电解过程中在阴极上析出的物质通常可以用称重的方法来确定。

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

电流滴定或库仑滴定：在恒电流下，电解产生的滴定剂与被测物作用。

③ 极谱法与伏安分析——

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

④ 电导分析法——

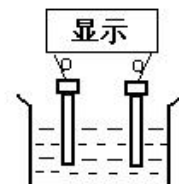
2. 化学电池与电化学分析装置

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

(2) 电化学基本装置：两支电极、电源、放大、显示记录装置。

①参比电极 电极电位不随测定溶液和浓度变化而变化的电极。

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



二、电位分析法的理论依据—— $E \sim a_i (c_i)$

1. 能斯特(Nernst)方程——电极的电位与其相应离子活度的关系 P4

例如，对于氧化还原体系

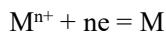


$$\varphi_{\text{Ox}/\text{Red}}^0 = \varphi_{\text{Ox}/\text{Red}}^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{Ox}}}{a_{\text{Red}}}$$

式中  $\varphi^0$  是标准电极电位； $R$  是摩尔气体常数 ( $8.314\text{J}\cdot(\text{mol}\cdot\text{K})^{-1}$ )； $F$  是法拉第常数 ( $96500\text{C}\cdot\text{mol}^{-1}$ )； $T$  是热力学温度； $n$  为电极反应时转移电子数； $a_{\text{ox}}$  为电极反应平衡时氧化态 Ox 的活度， $a_{\text{Red}}$  为电极反应平衡时还原态 Red 的活度。在具体应用能斯特方程时常用浓度代替活度（当离子浓度很小时，活度系数接近 1，浓度与活度相近，可将活度近似看作为浓度）；用常用对数代替自然对数，在 25℃ 时，能斯特方程可近似地简化成下式：

$$\varphi_{\text{Ox}/\text{Red}}^0 = \varphi_{\text{Ox}/\text{Red}}^0 + \frac{0.059}{n} \cdot \lg \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]}$$

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



由于还原态为纯金属，因此在 25℃ 时：

$$\varphi_{\text{M}^{n+}/\text{M}}^0 = \varphi_{\text{M}^{n+}/\text{M}}^0 + \frac{0.059}{n} \cdot \lg [\text{M}^{n+}]$$

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

2. 电位分析法测量的基本原理——P5

两大类电化学分析方法：

- a. 无电极反应，如电导，电泳分析法，使用惰性金属铂电极；
- b. 电极上有氧化还原反应发生，如库仑分析及伏安分析。

(-) M | M<sup>n+</sup> (a<sub>Mn+</sub>) || 参比电极 (+) ——正负极由电极的 φ 高低决定

$$E = \phi_+ - \phi_- + \phi_L = \phi_{\text{参比}} - \phi_{\text{Mn+/M}} \\ = \phi_{\text{参比}} - \phi_{\text{Mn+/M}}^0 - 0.05916/n \cdot \lg a_{\text{Mn}^+}$$

E<sub>外</sub> = E<sub>测</sub>：外电位随两支电极间电位变化。

I = 0：测定过程中并没有电流流过电极。

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

### 三、参比电极

1. 作用：提供电位标准

2. 要求：φ 已知、恒定；受外界影响小；对 T、c 无滞后；重现性、稳定性好。

3. 分类

(1) 标准氢电极：基准，电位值为零(任何温度)。

(2) 甘汞电极：演示实物——图 1-5 结构(单、双盐桥)

电极反应：Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> + 2e<sup>-</sup> = 2Hg + 2 Cl<sup>-</sup> 半电池：Hg, Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (固) || KCl

电极电位 (25℃)：

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

电极内溶液的 Cl<sup>-</sup> 活度一定，甘汞电极电位固定。

表 1-1 甘汞电极的电极电位 (25℃)

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

温度校正，对于 SCE，t °C 时的电极电位为：

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

SCE 的使用——7 条注意事项——理解——实训！

(3) 银-氯化银电极——图 1-6

结构：银丝镀上一层 AgCl 沉淀，浸在一定浓度的 KCl 溶液中。

电极反应：AgCl + e<sup>-</sup> = Ag + Cl<sup>-</sup>；半电池符号：Ag, AgCl (固) || KCl

电极电位 (25℃)：φ<sub>AgCl/Ag</sub> = φ<sup>0</sup><sub>AgCl/Ag</sub> - 0.0592lg a<sub>Cl<sup>-</sup></sub>

表 1-2 银-氯化银电极的电极电位 (25℃)

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

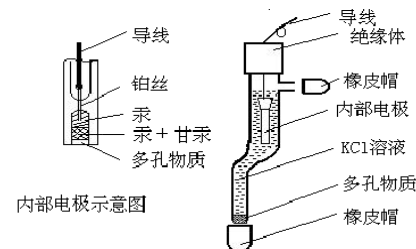
温度校正，标准 Ag-AgCl 电极，t °C 时的电极电位为：

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

Ag-AgCl 电极的使用：常作内参比电极，也可作外参比电极；使用注意！

[巩固]

- 1. 熟悉电化学分析基本知识。
- 2. 掌握电位分析法的基本原理——E~a<sub>i</sub> (c<sub>i</sub>) ——能斯特(Nernst)方程。



3. 阅读——理解。

[布置作业]

P<sub>16</sub>, 1. 预习§1-1 (中)。

### § 1-1 电位分析法基本原理 (中)

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 能区分金属基电极和离子选择性电极的电位产生原理; 2. 能运用能斯特方程式表示各型电极的电极电位; 3. 学会使用指示电极。	1. 掌握指示电极的分类、特点、结构、膜电位和主要性能; 2. 理解典型的金属基电极和离子选择性电极的基本结构、性能、使用方法及维护保养。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 演示法 3. 比较法	
参考资料		

[组织教学]

[引入]

仪器分析法学习指南→原理→仪器→实验技术→理论与实践。电分析—

[讲授新课]

[组织教学]

[复习]

1. 提问: 电位分析法分类、特点→原理。

2. 电化学电池——原电池组成——参比电极——

[讲授新课]

# 第一章 电位分析法

## § 1-1 基本原理 (中)

### 四、指示电极——指示 $a_i$ ( $c_i$ )

1. 金属基电极——以金属为基体，因电极表面的氧化还原反应产生  $\phi$

(1) 金属-金属离子电极 (第一类电极、活性金属电极)

半电池:  $M | M^{n+} (a_{M^{n+}})$ 。  $\phi_{M^{n+}/M} = \phi^0_{M^{n+}/M} + 0.0592 \lg a_{M^{n+}}$  (25°C)

例如: Ag-AgNO<sub>3</sub> 电极 (银电极), Zn-ZnSO<sub>4</sub> 电极 (锌电极) 等。使用前应清洗表面。

第一类电极的电位仅与金属离子的活度有关。

(2) 金属-金属难溶盐电极 (第二类电极)

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

(3) 汞电极 (第三类电极) ——EDTA 滴定  $M^{n+}$

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

$$\phi(Hg^{2+}/Hg) = \phi^0(Hg^{2+}/Hg) + 0.0592 \lg a_{M^{n+}}$$

(4) 惰性金属电极 (零类电极)

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

2. 膜电极 (离子选择性电极) SIE

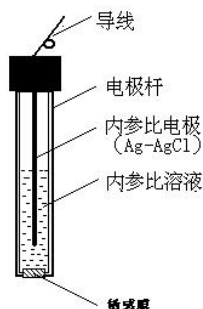
特点: 仅对溶液中特定离子有选择性响应。

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

(1) 分类: IUPAC 表——P<sub>10</sub>

基本电极 (电极直接与试液接触) 和敏化电极——阅读。

(2) 结构——图 1-9, 演示 F 电极——



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

内外参比电极的电位值固定, 且内充溶液中离子的活度也一定, 则电池电动势为:

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

(3) 膜电位  $\phi_{膜}$ ——P<sub>11</sub>

膜内外两个相界面由于被测离子活度的不同而产生离子交换和扩散, 产生膜电位。

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

对阳离子响应的电极, K 后取正号; 对负离子响应的电极, K 后取负号。

(4) 离子选择电极的性能——P<sub>11-12</sub> .....

① 选择性——共存的其它离子对膜电位产生有贡献吗?

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

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

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

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

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

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

② 响应时间——电位平衡在 1mV 内

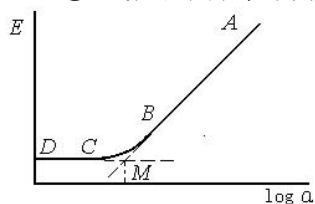
是指参比电极与离子选择电极一起接触到试液起直到电极电位值达到稳定值的 95%所需的时间。

影响因素多。注意搅拌，减少响应时间；由低至浓测量，反之清洗数次。

③ 温度系数和 pH 范围——使用范围

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

④ 线性范围和检测下限—— $P_{12}$ ，图 1-10



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

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

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

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

⑥ 电极的稳定性——注意预处理

8 (24) h 内在同一溶液中的响应值变化，也称响应值的漂移。

(5) 离子选择性电极的种类、结构和应用（简介）

① 晶体膜电极

分类：难溶盐的晶体  $\rightarrow$  膜  $\rightarrow$  均相（单晶膜和多晶膜）与非均相。

A. 单晶膜——氟电极——图 1-11

结构——敏感膜：氟化镧单晶，掺有  $\text{EuF}_2$  的  $\text{LaF}_3$  单晶切片；内参比电极： $\text{Ag-AgCl}$  电极（管内）；内参比溶液： $0.1 \text{ mol/L}$  的  $\text{NaCl}$  和  $0.1 \text{ mol/L}$  的  $\text{NaF}$  混合溶液（ $\text{F}^-$  用来控制膜内表面的电位， $\text{Cl}^-$  用以固定内参比电极的电位）。

原理—— $\text{LaF}_3$  的晶格中有空穴，在晶格上的  $\text{F}^-$  可以移入晶格邻近的空穴而导电。对于一定的晶体膜，离子的大小、形状和电荷决定其是否能够进入晶体膜内，故膜电极一般都具有较高的离子选择性。当氟电极插入到  $\text{F}^-$  溶液中时， $\text{F}^-$  在晶体膜表面进行交换。 $25^{\circ}\text{C}$  时：

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

应用——具有较高的选择性；需要在  $\text{pH} 5 \sim 7$  之间使用， $\text{pH}$  高时，溶液中的  $\text{OH}^-$  与氟化镧晶体膜中的  $\text{F}^-$  交换， $\text{pH}$  较低时，溶液中的  $\text{F}^-$  生成  $\text{HF}$  或  $\text{HF}_2^-$ ； $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  需掩蔽。

B. 多晶膜电极——难溶盐粉末或混合粉末经高压压制得。如： $\text{Ag}_2\text{S} \rightarrow \text{Ag}^+$ 、 $\text{S}^{2-}$ ； $\text{AgX}$  分散于  $\text{Ag}_2\text{S} \rightarrow \text{X}^-$ 、类  $\text{X}^-$ ； $\text{Ag}_2\text{S} + \text{MS} \rightarrow \text{Cu}$ 、 $\text{Cd}$ 、 $\text{Pd}$ 。

C. 非均相膜电极  $\text{Ag}_2\text{S}$ 、 $\text{AgX}$  + 惰性高分子材料——阴离子电极，表 1-3。

② 非晶体膜电极

A. 刚性基质电极——玻璃膜组成  $\rightarrow$   $\text{pLi}$ 、 $\text{Na}$ 、 $\text{K}$ 、 $\text{Ag}$ 、 $\text{Pb}$ 、 $\text{Cs}$ 、 $\text{pH}$  等。

B. 流动载体膜电极（液膜电极）

多孔性支持体中含电活性物质金属配位剂和有机溶剂，分三类：带正电荷（ $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{ClO}_4^-$ 、 $\text{BF}_4^-$ ）、负电荷（ $\text{Ca}^{2+}$ ）和中性（ $\text{K}^+$ ）载体电极。

钙电极：内参比溶液为含  $\text{Ca}^{2+}$  水溶液。内外管之间装的是  $0.1 \text{ mol/L}$  二癸基磷酸钙（液体离子交换剂）的苯基磷酸二辛酯溶液。其极易扩散进入微孔膜，但不溶于水，故不能进入试液溶液。二癸基磷酸根可以在液膜-试液两相界面间来回迁移，传递钙离子，直至达到平衡。由于  $\text{Ca}^{2+}$  在水相（试液和内参比溶液）中的活度与有机相中的活度差异，在两相之间产生相界电位。钙电极适宜的  $\text{pH}$  范围是  $5 \sim 11$ ，可测出  $10^{-5} \text{ mol/L}$  的  $\text{Ca}^{2+}$ 。

③ 敏化电极

结构特点：在原电极上覆盖一层膜或其它活性物质，通过界面敏化反应响应  $i$ ，使电极

的选择性提高。分类——

A. 气敏电极：化学电池复合体，气敏氨电极——图 1-13。

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

B. 酶电极：酶催化作用→细菌电极及生物电极等。

[巩固]

1. 了解指示电极的作用、分类、特性和典型应用。

2. 阅读——理解。

[布置作业]

P<sub>16</sub>, 10、11。预习§1-1（下）、§1-2（上）

### § 1-1 电位分析法基本原理（下）

	能力(技能)目标	知识目标
教学 目标	1. 能解释 pH 玻璃电极的电位产生原理； 2. 学会电位法测定溶液的 pH 的操作； 3. 能理解酸度计的构造原理，掌握酸度计的一般使用和日常维护保养方法。 4. 学会使用 pH 玻璃电极和 pH 复合电极。	1. 掌握 pH 玻璃电极、pH 复合电极的基本结构、主要技术性能、使用范围、使用方法及维护保养。 2. 理解电位法测定溶液 pH 的基本原理、工作电池的组成、电池电动势与溶液 pH 的关系、pH 操作定义、温度对 pH 测定的影响及其消除方法。 3. 掌握不同 pH 标准缓冲溶液的组成、配制和选择方法。
能力 训练 方式 方法	1. 引探法 2. 仿真演示法 3. 讨论法	
参考 资料		

[组织教学]

[复习与引入]

1. 提问：电位分析法基础→原电池→ $E \rightarrow \varphi \rightarrow a_i (c_i)$ 。
2. 电极对——参比电极——指示电极——应用

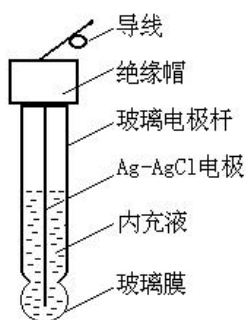
[讲授新课]

## 第一章 电位分析法

### § 1-1 基本原理（下）

#### 四、指示电极——指示 $a_i (c_i)$

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



(1) 结构——图 1-7 演示

$H^+$ 响应的玻璃膜电极：敏感膜是在  $SiO_2$  基质中加入  $Na_2O$ 、 $Li_2O$  和  $CaO$  烧结而成的特殊玻璃膜，厚度约为  $0.05mm$ 。水浸泡膜时，表面的  $Na^+$  与水中的  $H^+$  交换，表面形成水合硅胶层。

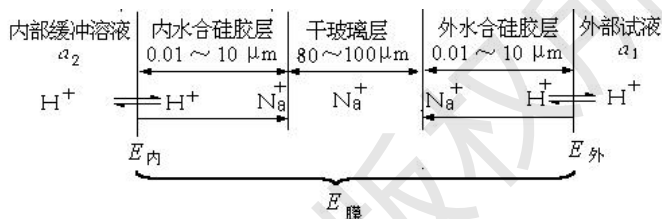
玻璃电极使用前，必须在水溶液中浸泡。

(2) 玻璃膜电位的形成

玻璃电极使用前，必须在水溶液中浸泡，使之生成一个三层结构，即中间的干玻璃层和两边的水化硅胶层。浸泡后的玻璃膜示意图 1-8：

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

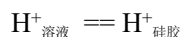
水化层表面可视作阳离子交换剂。溶液中  $H^+$  经水化层扩散至干玻璃层，干玻璃层的阳离子向外扩散以补偿溶出的离子，离子的相对移动产生扩散电位（净扩散电位为 0）。



两者之和构成膜电位。

将浸泡后的玻璃膜电极放入待测溶液，水合硅胶层表面与溶液中的  $H^+$  活度不同，形成

活度差， $H^+$  由活度大的一方向活度小的一方迁移，平衡时：



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

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

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

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

由于内参比溶液中的  $H^+$  活度 ( $a_2$ ) 是固定的，则：

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

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

(3) 不对称电位  $\varphi_{\text{不}}$

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

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

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

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

(5) 高选择性：膜电位的产生不是电子的得失。其它离子不能进入晶格产生交换。当溶液中  $Na^+$  浓度比  $H^+$  浓度高  $10^{15}$  倍时，两者才产生相同的电位。

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

pH 偏高。

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

(8) 优点: 不受溶液中氧化剂、还原剂、颜色及沉淀的影响, 不易中毒。

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

(10) 使用注意事项——5 条——理解, 实训……………

## § 1-2 直接电位法 (上)

### 一、直接电位法测定 pH

#### 1. 测定原理

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

电池为: pH 玻璃电极 | 试液 || 饱和甘汞电极

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

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

$$= K' + 0.0592 \text{ pH}_{\text{试液}} \quad (\text{公式一})$$

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

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

#### 2. 溶液 pH 的比较法测定——pH 实用定义 (pH 标度)

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

$$25^\circ\text{C} \text{ 时, } \text{pH}_x = \text{pH}_s + (E_x - E_s) / 0.0592 \quad (\text{公式二})$$

这就是 pH 实用定义或 pH 标度。由公式二可知:

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

(2)  $\text{pH}_x$  与  $\text{pH}_s$  相差 1 个 pH 单位时,  $E_x$  与  $E_s$  相差 0.0592V, 酸度计即按此间隔进行分度。

#### (3) pH 直读

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

校正酸度计的方法一般有“一点校正法”和“二点校正法”两种。

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

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

#### 3. pH 标准缓冲溶液

定义: 具有准确 pH 的缓冲溶液。作用: 作为 pH 测定的基准。

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

实验室常用标准缓冲物质: 苯二甲酸氢钾 ( $25^\circ\text{C}$  时,  $\text{pH} = 4.00$ )、混合磷酸盐 (6.86)

及四硼酸钠 (9.18)。市售“成套 pH 缓冲剂”使用方便,按说明溶解、稀释即可。

注意:实验用水应符合 GB668-92 中三级水的规格;配好后应贮存于玻璃或聚乙烯试剂瓶中,防止空气中  $\text{CO}_2$  进入;一般可保存 2~3 个月,若有浑浊现象,不能再用。

#### 4. 测量仪器及使用方法

##### (1) 测量仪器

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

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

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

(2) pHs-3F 型酸度计的主要部件、调节钮、开关和使用方法——CAI

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

#### [巩固]

1. 掌握 pH 玻璃电极的结构、原理、特点和使用; pH 测定原理和方法。

2. 阅读理解 pHs-3F 型精密酸度计和 PXD-12 型数字式离子计使用方法。

#### [布置作业]

P<sub>16</sub>, 7; P<sub>25</sub>, 8。预习《仪器分析实训指导书》表 3: PXD-12 型数字式离子计的操作考核表, P<sub>20</sub>, 24; 实验 1: 使用 pHs-3F 型精密酸度计和 PXD-12 型数字式离子计、电位法测量水溶液的 pH (P<sub>36</sub>, 6p), 二组轮换。

## § 1-2 直接电位法 (下)

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 掌握用标准曲线法和标准加入法测定溶液中离子浓度的定量方法; 2. 了解离子计的结构原理,掌握离子计的使用和日常维护保养方法。	1. 理解测定溶液离子活(浓)度的基本原理; 2. 掌握溶液中离子浓度的常用定量方法; 3. 理解总离子强度调节缓冲剂的组成及其作用。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 讲练结合	
参考资料	1. 中华人民共和国国家标准 GB9724-88, GB9775-88, GB11076-89, GB/T14666-93 2. 陈培榕、邓勃主编,现代仪器分析实验与技术,北京:清华大学出版社,1999 3. 梁述忠主编,仪器分析,北京:化学工业出版社,1998 4. 刘珍主编,化验员读本,北京:化学工业出版社,1998	

[组织教学] 清点人数

[回顾与引入]

1. 上期考试情况与分析——实际、全面、态度;本期内容多,复杂,努力面对学习、双选和技术等级证书考试等。

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

提问: 电位分析法基础→原电池→E→ $\phi$ → $a_i$  (ci)。

[讲授新课]

## 第一章 电位分析法

### § 1-2 直接电位法 (下)

#### 二、离子活(浓)度的电位法测定

1. 测定原理——与 pH 测定类似

图例: SCE || 试液 ( $a_{F^-}=x$ ) |  $F^-$  选择性电极

25°C,  $E = K' - 0.0592 \lg a_{F^-} = K' + 0.0592 \text{pF}$

将离子选择性电极(指示电极)和参比电极插入试液可以组成测定各种离子活度的电池,

$$E = k' \pm \frac{2.303RT}{nF} \lg a_i$$

电池电动势为:

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

同理,  $K'$  也是需用已知  $a_i$  的标准活度溶液比较 E 而得的复杂参数。但是目前标准活度

溶液很少 ( $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{F}^-$ )，在要求不高时， $\gamma_i$  不变， $c_i$  代替  $a_i$ 。

2. 离子选择性电极测定离子浓度的条件——保持溶液中  $\gamma_i$ ， $I$  不变  
 $a_i = \gamma_i c_i$ ， $\gamma_i$ —— $I$  (离子强度)—— $c_i$ 、 $i$  电荷数

方法：在试液或标液中，加入相同量的惰性电解质 (离子强度调节剂) 或总离子强度调节缓冲溶液 (Total Ionic Strength Adjustment Buffer, 简称 TISAB)。

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

e. g 测 F<sup>-</sup> 过程所使用的 TISAB 典型组成……

3. 定量分析方法

(1) 标准曲线法——与 UVS 类似

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

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

$$\lg c_x = \lg c_s \pm \frac{E_x - E_s}{S} \left( \frac{\text{阳}}{\text{阴}} \right), \quad S = \frac{E_1 - E_2}{\lg c_1 - \lg c_2} \text{ 电极斜率} \dots\dots\dots$$

(2) 标准加入法——计算法

设某一试液体积为  $V_x$ ，其待测阳离子的浓度为  $c_x$ ，测定的工作电池电动势为  $E_1$ ，则：

$$E_1 = K + \frac{2.303RT}{nF} \lg(x_1 \gamma_1 c_x)$$

式中： $x_1$  为游离态待测离子占总浓度的分数； $\gamma_1$  是活度系数。

往试液中准确加入一小体积  $V_s$  (大约为  $V_x$  的 1/100) 的用待测离子的纯物质配制的标准溶液，浓度为  $c_s$  (约为  $c_x$  的 100 倍)。由于  $V_x \gg V_s$ ，可认为溶液体积基本不变。浓度增量为： $\Delta c = c_s V_s / V_x$ 。

再次测定工作电池的电动势为  $E_2$ ：

$$E_2 = K + \frac{2.303RT}{nF} \lg(x_2 \gamma_2 c_x + x_2 \gamma_2 \Delta c)$$

$$\Delta E = E_2 - E_1 = \frac{2.303RT}{nF} \lg\left(1 + \frac{\Delta c}{c_x}\right)$$

可以认为  $\gamma_2 \approx \gamma_1$ ， $x_2 \approx x_1$ 。则：

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

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

特点：简便、准确，适于组成复杂的个别试样的测定。应用时注意  $\Delta E$  取+，在同条件

$$S = \frac{|E_x' - E_x|}{\lg 2}$$

下测定  $S$ ：测  $E_x$  后将溶液稀释 1 倍测  $E_x'$ ，

e. g 1-2——读，理解。

(3) 格氏作图法——多次标准加入法 (自学了解)

(4) 浓度直读法——与 pH 直读类似，校正离子计  $\rightarrow \text{pX} \rightarrow c_x$

### 三、测量仪器及使用方法

1. 离子计+电极对+电磁搅拌器  $\rightarrow E$ 、 $\text{pX}$ ，精度、稳定性高。

2. PXD-12 型数字离子计的使用——指导书……

### 四、影响测量结果准确度的因素

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

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

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

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

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

### 五、应用——表 1-5，阅读了解

[巩固]

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

[布置作业]

P<sub>25</sub>, 9、10。预习 § 1-3；实验 2：氟离子选择性电极测定饮用水中的氟 (P<sub>38</sub>, 6p)，二组轮换。

## § 1-3 电位滴定法

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 掌握电位滴定法的基本仪器装置和电极选择方法。 2. 了解自动电位滴定仪的结构原理和应用特点，掌握其使用方法。	1. 理解电位滴定法的基本原理，了解其方法特点和应用。 2. 掌握电位滴定法的终点确定方法 ( $E-V$ 曲线法、 $\Delta E/\Delta V-V$ 曲线法、二阶微商法)
能力训练方式方法	1. 讨论法 2. 讲练结合 3. 操作演示	
参考资料		

[组织教学]

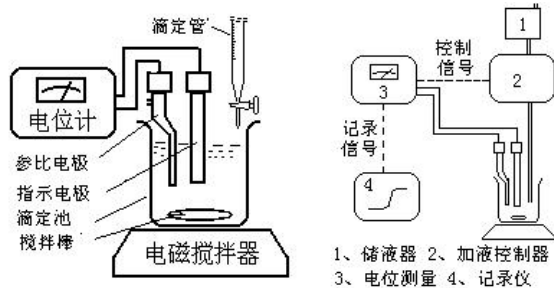
[复习与引入]

1. 提问：直接电位法→原电池→ $E\rightarrow a_i(c_i)$ ；TISAB，定量方法和仪器。
2. 电位滴定法——滴定过程中  $\Delta \phi_i \rightarrow e.p.$

[讲授新课]

# 第一章 电位分析法

## § 1-3 电位滴定法



### 一、基本原理

电极对+试液→滴定→ $\Delta \phi_i \rightarrow V_{e.p.}$

ci

1. 区别于直接电位法

定量参数不同： $E$ 、 $\Delta E - V_{e.p.}$ ，使  $\phi_{\text{不}}$ 、 $\phi_j$  减小。

对称、

2. 区别于化学分析法

终点指示方法不同：指示剂- $\Delta E$ 。因此，电位滴定法能用于浑浊、有色、无合

适指示剂（滴定突跃小）的滴定分析，并能自动、连续滴定。

### 二、电位滴定装置——图 1-20

1. 滴定管 常、微量—— $cx$ 。

2. 电极 参比电极常用 SCE；

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

3. 高阻抗毫伏计和电磁搅拌器 酸度计、离子计、电位滴定仪

### 三、滴定终点的确定方法

1. 电位滴定实验方法

(1) 准备 试液；组装仪器；读取试液的初始电位值（停止搅拌）。

(2) 开始滴定 每滴加一次滴定剂，平衡后测量电动势。

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

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

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

(3) 记录 每次滴定时的滴定剂用量（V）和相应的电动势数值（E）或 pH，作图得到滴定曲线，并将滴定曲线突跃上的拐点作为滴定终点，该点与化学计量点非常接近。

e. g 表 1-7——理解数据处理方法.....

滴入的 $AgNO_3$ 体积 (mL)	测量电位 $E(V)$	$\Delta E / \Delta V$	$\Delta^2 E / \Delta V^2$
24.00	0.174		
		0.09	

24.10	0.183		0.2
		0.11	
24.20	0.194		2.8
		0.39	
24.30	0.233		<u>4.4</u>
		0.83	
24.40	0.316		<u>-5.9</u>
		0.24	
24.50	0.340		-1.3
		0.11	
24.60	0.351		-0.4
		0.07	
24.70	0.358		

## 2. 电位滴定终点的确定方法

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

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

(3)  $\Delta^2 E/\Delta V_2$ -V 曲线法 (二阶微商法):

$\Delta^2 E/\Delta V_2$  表示 E-V 曲线的二阶微商, 一阶微商的极值点对应于二阶微商等于零处。如图 (c), 曲线最高点与最低点的连线与横轴的交点即  $V_{ep}$ 。

$$\frac{\Delta^2 E}{\Delta V^2} = \frac{\left(\frac{\Delta E}{\Delta V}\right)_2 - \left(\frac{\Delta E}{\Delta V}\right)_1}{\Delta V}$$

$\Delta^2 E/\Delta V_2$  值由下式计算:

例: 用 0.1000mol/L AgNO<sub>3</sub> 标准溶液滴定含 Cl<sup>-</sup> 试液, 得到的原始数据如下 (电位突越时的部分数据)。

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

解: 将原始数据按二级微商法处理, 表中的一级微商和二级微商由后项减前项比体积差

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

$$\frac{\Delta^2 E}{\Delta V^2} = \frac{0.24 - 0.88}{24.45 - 24.35} = -5.9$$

得到, 例:

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

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

GB9725-88 规定用二级微商计算法确定滴定终点体积。

## 四、自动电位滴定法——以仪器代替人工

(1) 自动电位滴定终点的确定方式

- ① 滴速恒定, 自动记录 E~V, 按前法确定  $V_{ep}$ ;
- ② E 与预设  $E_{ep}$  比较, 用信号差控制滴定, 到  $e_p$  自动停止滴定, 读  $V_{ep}$ ;
- ③ 用  $e_{mp}$  处  $\Delta^2 E/\Delta V_2$  由大变小, 自动停止滴定, 读  $V_{ep}$ 。

(2) 自动电位滴定仪简介——图 1-24

自动电位滴定仪型号甚多, 一般分为两大类, 一类是利用仪器自动控制滴定终点, 另一

类是利用仪器自动控制加入滴定剂，并自动记录滴定曲线。目前使用较多的国产 ZD-2（3、4）型自动电位滴定仪属于前一种类型。

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

ZD-2 型自动电位滴定仪是根据“终点电位补偿”的原理设计的。

### 五、电位滴定法的特点和应用——表 1-9（读）

[巩固]

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

[布置作业]

P<sub>35</sub>, 4、7。预习第五章；实验 3：使用 ZD-2 型自动电位滴定仪（指导书）；自动电位滴定法测定  $\Gamma$  和  $\text{Cl}^-$  的含量（P<sub>43</sub>, 8p），4 组轮换。

## § 2-1 紫外-可见分光光度法概述； § 2-2 基本原理（上）

	能力（技能）目标	知识目标
教学目标	1. 能解释紫外-可见分光光度法的有关术语、方法分类和主要特点。 2. 能描述物质吸收光谱的产生机理、特征和作用，学会吸收光谱曲线的绘制方法。	1. 掌握紫外-可见分光光度法的分类、特点和应用范围。 2. 了解光的基本特性和电磁波谱的划分。 3. 理解物质颜色和光吸收的关系，掌握吸收光谱有关术语、吸收曲线绘制方法和应用。
	3. 课程思政：通过省赛项目，有机融入思政元素：如工匠精神，技能报国、强国有我等思政素养，培养德智体全面发展人才	
能力训练方式	1. 引探法 2. 演示法	

方法	
参考资料	

[组织教学]

[引入]

1. 提问：仪器分析的定义、特点；与化学分析的区别与联系？

2. 分子光谱分析之一：物质分子与电磁辐射作用时，物质内部发生了量子化的能级之间的跃迁，测量由此产生的发射、吸收或散射辐射的波长和强度而进行分析的方法。

[讲授新课]

## 第二章 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

### § 2-1 概述

分子光谱分析类型——

☆紫外-可见：分子外层电子能级跃迁时吸收紫外-可见光（200~780nm）而建立的电子光谱法。

◇红外光谱：分子在振动-振动能级之间跃迁吸收红外光。

◇分子荧光：物质被紫外光或波长较短的可见光激发，再返回基态时发射出的波长与入射光相同或更长的光。

◇化学发光分析法：分子吸收了化学反应中放出的化学能而激发，回基态时发射一定波长的光。

◇拉曼散射：物质从基态被激发到非量子化的能量区所吸收的光辐射，及从非量子化能量区跃迁回基态时所发射的波长与入射光不同的辐射。

#### 一、紫外-可见分光光度法分类

1. 比色分析法——比较待测溶液颜色或加入试剂后呈现的颜色深浅来确定物质含量的分析方法。适合于可见光范围。按检测器不同分为：

(1) 目视比色法——眼睛

(2) 光电比色法——光电转换元件（如光电池）

2. 分（吸）光光度法——使用分光光度计，根据物质对不同波长的单色光吸收程度不同进行定性定量分析。

按光谱区分为：可见（400~780nm）、紫外（200~400nm）、红外（3000~30000nm）。

#### 二、紫外-可见分光光度法的特点

1. 灵敏度较高，适于微量分析，浓度下限  $10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ；

2. 精密度和准确度高，相对误差 2%-5%；

3. 操作简便、快速、成本低，易于推广；

4. 应用范围广，无机、有机分析、平衡研究等发展。

### § 2-2 基本原理（上）

#### 一、光的基本特性

1. 电磁波谱——波粒二象性。

(1) 波动性用  $\lambda$ 、 $\nu$ 、 $c$ 、波数 ( $\text{cm}^{-1}$ ) 描述： $\lambda \nu = c$  波数 =  $1/\lambda = \nu/c$

(2) 光由光子流组成，光子的能量： $E = h\nu = hc/\lambda \cdots \cdots P_{50}$

(Planck 常数： $h = 6.626 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{S}$ )

光的波长越短（频率越高），其能量越大（表 2-1）。

2. 单色光和光的互补

单波长光（由相同能量的光子组成）；白光（太阳光）由各种单色光组成的复合光；远（真空）紫外：10-200nm，近紫外：200-400nm，可见光：400-780 nm。

光的互补：蓝→黄 互补色光关系略图（图 2-2）.....

二、物质对光的选择性吸收

1. 物质所呈现的颜色与所选择性吸收的特征颜色互为补色。

举例说明：不透明物质（吸收与反射），透明物质（吸收与透过），如无色、黑色、KMnO<sub>4</sub>、CuSO<sub>4</sub>等。

2. 物质的吸收（光谱）曲线

(1) 定义：用不同波长的单色光依次通过一定浓度的均匀透明的溶液，分别测定其吸光度，以波长为横坐标，吸光度为纵坐标，用测定所得的数据绘制吸收曲线。实验获得。

(2) 作用：图 2-3——

① 同一物质对不同波长光的吸光度不同。

② 不同浓度的同一物质，吸收曲线形状相似，λ<sub>max</sub> 不变。在一定波长下吸光度 A 有异，定量的依据。在 λ<sub>max</sub> 处 A 随浓度变化最大，测定最灵敏。吸收曲线是定量分析选择波长的重要依据。

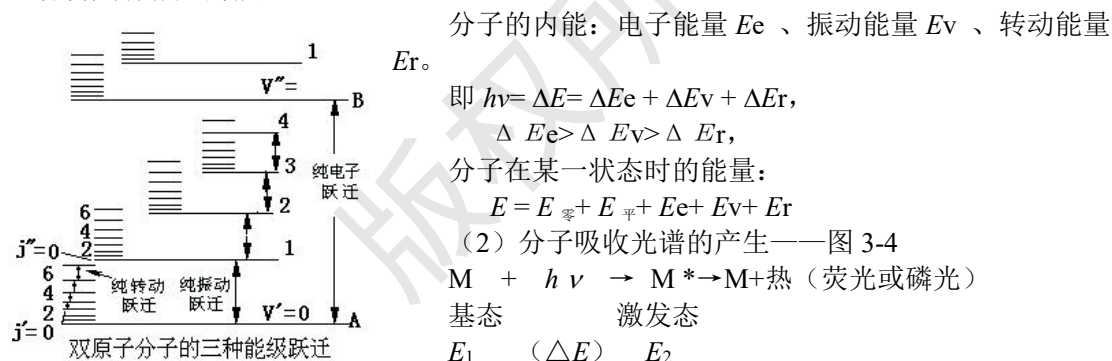
③ 物质不同，吸收曲线形状和 λ<sub>max</sub> 不同。提供物质的结构信息，定性分析。

3. 分子吸收光谱的产生机理（了解）

(1) 分子运动及其能级跃迁

物质分子内部三种运动形式：电子相对于原子核的运动，原子核在其平衡位置附近的相对振动，分子本身绕其重心的转动。

分子具有三种不同能级：电子能级、振动能级和转动能级。这三种能级都是量子化的，且各自具有相应的能量。



$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu$ ：量子化条件；选择性吸收。

三种能级跃迁：电子能级间跃迁的同时，总伴随有振动和转动能级间的跃迁。即电子光谱中总包含有振动能级和转动能级间跃迁产生的若干谱线而呈现宽谱带（非线光谱）。

讨论： $\Delta E_r$ : 0.005~0.050eV, 跃迁产生吸收光谱位于远红外区。远红外光谱或分子转动光谱；

$\Delta E_v$ : 0.05~1 eV, 跃迁产生的吸收光谱在红外区，红外光谱或分子振动光谱；

$\Delta E_e$ : 1~20eV, 电子跃迁产生的吸收光谱在紫外-可见光区，紫外-可见光谱或分子的电子光谱。

[巩固]

1. 吸收光谱的波长分布由产生谱带的跃迁能级间的能量差所决定，反映分子内部能级分布，物质定性依据。

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

3. 吸收谱带的强度与该物质分子吸收的光子数成正比，定量分析的依据。

4. 理解术语 P<sub>55</sub>, 2

[布置作业]

P<sub>50</sub>, 1; P<sub>55</sub>, 1。预习§2-2 (三)、§2-5。

§ 2-2 紫外-可见分光光度法基本原理 (下); § 2-5 目视比色

法

	能力 (技能) 目标	知识 目标
教学 目标	1. 能运用吸收定律进行单组分和多组分体系的定量测定和有关计算。 2. 学会目视比色法的测定方法和技术。	1. 掌握光吸收定律及其应用范围, 掌握吸光度、透射比、吸收系数、摩尔吸收系数等名词概念及其应用。 2. 理解吸光度的加和性及其应用。 3. 掌握目视比色法的测定原理、比色方法和应用特点。
能力 训练 方式 方法	1. 引探法 2. 演示法 3. 讲练结合法	
参考 资料		

[组织教学]

[复习]

1. 提问: 光的特性, 电磁波谱分类; 可见、紫外, 分光光度计?
2. 物质内部结构→物质对光的选择性吸收→物质颜色→吸收曲线

[讲授新课]

## 第二章 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

### § 2-2 基本原理 (下)

#### 三、吸收定律——紫外、可见、红外吸光光度法的理论基础和定量依据。

##### 1. 朗伯-比耳定律

(1) 透射比  $\tau$  和吸光度  $A$ ——图 2-5, 演示吸收池

当一束平行的单色光通过均匀而透明的溶液时, 一部分光被溶液所吸收, 因此透过溶液的光通量就要减少。设入射光通量为  $\Phi_0$ , 通过溶液后透射光通量为  $\Phi_{tr}$ , 则比值  $\Phi_{tr}/\Phi_0$  表示溶液对光的透射程度称为透射比, 符号为  $\tau$ , 其值可以用小数或百分数表示:  $\tau = \Phi_{tr}/\Phi_0$ 。也称透光度 (透光率)  $T$ 。

透射比倒数的对数表示溶液对光的吸收程度, 称为吸光度, 用  $A$  表示。

$$A = \lg \Phi_0 / \Phi_{tr} = -\lg \tau$$

当入射光全部透过溶液时  $\Phi_{tr} = \Phi_0$ ,  $\tau = 1$  (或 100%), 即  $A = 0$ ; 当入射光全部被溶液吸收时,  $\Phi_{tr} = 0$ ,  $\tau = 0$ , 即  $A \rightarrow \infty$ 。均无量纲。

(2) 朗伯-比耳定律

朗伯(Lambert)于1760年,布格(Bouguer)于1729阐明了 $A \propto b$ 的关系;比耳(Beer)1852年提出了 $A \propto c$ 的关系。二者的结合:当一束平行单色光通过单一均匀、非散射的吸光物质稀溶液时,溶液的吸光度与溶液浓度与液层厚度的乘积成正比。

$$A = -\lg \tau = kbc$$

$A$ :吸光度;  $b$ :液层厚度(光程长度), cm;  $c$ :溶液的浓度,  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $k$ :吸光系数——

(3) 吸光系数  $k$ : 物质性质、 $T$ 、 $\lambda$ 、溶剂等条件一定时,  $k$  不随  $c$ 、 $b$  而变, 仅与物质本性有关, 特征常数, 定性参数。

① 摩尔吸光系数  $\epsilon$ : 等于  $c$  为  $1\text{mol/L}$ 、 $b$  为  $1\text{cm}$  的吸光物质对特定波长光的吸光度, 其单位为  $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

同一物质在各不同  $\lambda$  下的  $\epsilon$  不同。  $\lambda_{\text{max}}$  处的  $\epsilon$  记为  $\epsilon_{\text{max}}$ , 表明了该物质最大的吸光能力, 该方法的最大灵敏度。  $\epsilon > 10^5$ : 超高灵敏;  $\epsilon = (6 \sim 10) \times 10^4$ : 高灵敏;  $\epsilon < 2 \times 10^4$ : 中等灵敏。

实验测定: 例 2-1——说明  $c$ 、 $\epsilon$ 、有效数字。

② 质量吸光系数: 若溶液浓度以质量浓度(即每升溶液中所含溶质的克数, 单位  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 表示, 液层厚度以厘米(cm)来表示, 相应的吸光系数则为质量吸光系数, 以  $a$  表示, 其单位为  $\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。质量吸光系数适用于摩尔质量未知的化合物。

$a$  与  $\epsilon$  的关系为:  $a = \epsilon/M$  ( $M$  为摩尔质量)

2. 吸光度的加合性

若多组分的吸收体系, 吸光物质之间不作用, 可同时定量测定。在一定波长下,  $A_{\text{总}} = \Sigma A_n$ 。.....应用及条件

3. 影响吸收定律的主要因素

朗伯-比耳定律在溶液浓度较高时常发生弯曲, 这种现象称为对朗伯-比耳定律的偏离。有两大类因素: 物理性因素, 即仪器的非理想性引起的; 化学性因素。

(1) 物理性因素

朗伯-比耳定律的条件: 平行单色光, 均一、非散射的溶液。但难获得真正的单色光, 分光光度计只能获得近乎单色的狭窄光带。复合光可导致对朗伯-比耳定律的正或负偏离。杂散光、非平行入射光都会引起对朗伯-比耳定律的偏离。

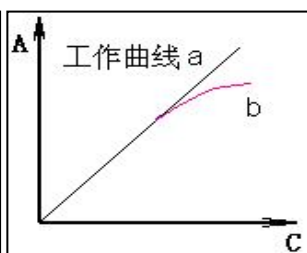
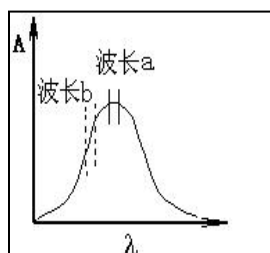
非单色光作为入射光引起的偏离, 假设  $\lambda_1$  和  $\lambda_2$  的两单色光分别单独通过浓度为  $c$  的溶液时:

$$A_1 = \lg(I_{01}/I_{t1}) = \epsilon_1 bc; \quad A_2 = \lg(I_{02}/I_{t2}) = \epsilon_2 bc$$

$$\text{故: } I_{t1} = I_{01} 10^{-\epsilon_1 bc}; \quad I_{t2} = I_{02} 10^{-\epsilon_2 bc}$$

当  $\lambda_1 + \lambda_2$  的复合光通过浓度为  $c$  的溶液时:

$$A = \lg \frac{I_{01} + I_{02}}{I_{t1} + I_{t2}} = \lg \frac{I_{01} + I_{02}}{I_{01} \cdot 10^{-\epsilon_1 bc} + I_{02} \cdot 10^{-\epsilon_2 bc}}$$



若:  $\epsilon_1 = \epsilon_2 = \epsilon$ , 则:  $A_{\text{总}} = \epsilon bc$ 。

若:  $\epsilon_1 \neq \epsilon_2$ , 则  $A_{\text{总}}$  随  $c$  增大而偏离  $\epsilon bc$ , 则标准曲线偏离直线, 向  $c$  轴或  $A$  轴弯曲。

若:  $\epsilon_1 \approx \epsilon_2$ , 可近似认为是单色光。在低浓度范围, 不发生偏离。高浓度范围, 即使  $|\Delta \epsilon|$  很小,  $A_{\text{总}} \neq \epsilon bc$ , 且随着  $c$  增大,

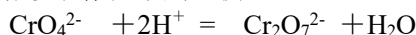
$A_{\text{总}}$  与  $\epsilon bc$  的差异愈大,  $A \sim c$  曲线上部弯曲愈严重。故朗伯-比耳定律只适用于稀溶液。

为克服非单色光引起的偏离, 应选较好的单色器。并将  $\lambda$  选在待测物的  $\lambda_{\text{max}}$  处。

(2) 化学性因素

朗伯-比耳定律只适用于稀溶液。定律假定: 吸光质点间不发生相互作用。当  $c > 10^{-2} \text{mol/L}$  时, 吸光质点间可能发生缔合聚合、互变异构、配合反应等化学平衡, 影响光的吸收。

溶液条件的变化而形成新的化合物或吸光物质的浓度发生改变, 也会引起 L-B 定律的偏移。例: 铬酸盐或重铬酸盐溶液中存在下列平衡:



375nm 黄

350nm 橙

(3) 介质不均匀引起的偏离

## § 2-5 目视比色法

定义：用眼睛观察比较溶液颜色深浅来确定物质含量的分析方法。

### 一、方法原理——光吸收定律

将有色的标准溶液和被测溶液在相同条件下对颜色进行比较，当溶液液层厚度相同，颜色深度一样时，两者的浓度相等。根据朗伯-比尔定律，标准溶液和被测溶液的吸光度分别为  $A_S = \epsilon_S \cdot c_S \cdot b_S$ ， $A_X = \epsilon_X \cdot c_X \cdot b_X$

当被测溶液颜色与标准溶液相同时， $A_S = A_X$ ，又因为是同一种有色物质，同样的光源，所以  $\epsilon_S = \epsilon_X$ 。而所用液层厚度相等，所以  $b_S = b_X$ ，因此  $c_X = c_S$ 。

### 二、测定方法

1. 标准系列法：所用仪器是一套以同样材料制成的、形状大小也完全相同的平底玻璃管，称为比色管。

标准系列的配制方法是：将已知浓度的标准溶液以不同体积依次放入各比色管中，分别加入等量的显色剂及其它辅助试剂，然后稀释至同一刻度，即形成颜色逐渐加深的标准色阶。

测定试样时，将一定量的待测试液置于另一比色管中，在同样条件下进行显色，并稀释至同样体积，然后与标准色阶对比。对比的方法是：从比色管口垂直向下观察，如果被测溶液的颜色深度与某管相同，则被测溶液的浓度等于该标准溶液的浓度。如果被测溶液的颜色介于相邻两种溶液之间，则被测溶液的浓度为这两个标准溶液浓度的平均值。

2. 限界分析：配制定界  $c$  的标准溶液，比较试液的颜色，确定试液是否超出限界。

### 三、特点

1. 优点：简便，适于大批样品分析和限界分析（确定样品中杂质含量是否在规定的最高含量限界以下）。灵敏。可在日光灯或日光下测定。

2. 缺点：主观误差较大，相对误差高达 20%，应用于要求不高的中间控制分析。为了提高测定准确度，在样品色度号附近多配几个色度标准，间隔小些，可以提高测定准确度。

标准色阶不宜久存，需临用时重新配制。

[巩固]

1. 光吸收定律意义、应用和条件。

2. 思考 P<sub>56</sub>，注意  $A$ 、 $k$ 、 $\epsilon$ 、 $b$ 、 $c$ 、 $\tau$  的意义和有效数字表示。

[布置作业]

P<sub>56</sub>，11、12；P<sub>83</sub>，3。预习§2-3；实验 1，P<sub>98-4p</sub>，二组轮换。

## § 2-3 紫外-可见分光光度计（上）

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 能描述紫外-可见分光光度计的组成和工作原理。 2. 认识各种类型紫外-可见分光光度计的光学系统 and 应用特点。	1. 掌握紫外-可见分光光度计的基本组成部分、各主要部件的作用和仪器工作原理。 2. 了解常用紫外-可见分光光度计的类型、型号和主要性能特点。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 动画演示法 3. 比较法	

参考

资料

[组织教学]

[复习与引入]

1. 提问：光吸收定律内容、应用、公式、加和性？评讲习题。
2.  $A \rightarrow$ 分光光度计——

[讲授新课]

## 第二章 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

### § 2-3 紫外-可见分光光度计 (上)

#### 一、仪器的基本组成部件

定义：UV 光区内测定溶液  $A$  的仪器，简称分光光度计。其基本组成如下

光源  $\rightarrow$  单色器  $\rightarrow$  样品吸收池  $\rightarrow$  检测器  $\rightarrow$  信号显示系统

图 2-8，工作原理描述：接通电源后，钨丝灯点亮发射光波；此光波经玻璃棱镜的色散作用被分解成不同波长的光；这些不同波长的光经狭缝后，就成为近似的单色光（单色光的波长是通过棱镜的旋转角度来加以控制和选择的）；此单色光经吸收池的吸收后，到达接受器“光电管”；光电管将接受到的光信号转变为微弱的光电流；此光电流再经微电流放大器放大后，可直接在微安表上指示出吸光度 ( $A$ ) 和透射比 ( $T$ )。

注意各部件的作用、种类、材质、要求和应用特点。

#### 1. 光源

(1) 作用和要求：在整个紫外或可见光区可以发射辐射强度大、稳定性好的连续光谱，使用寿命长。稳压电源。

(2) 分类：可见光区：钨灯（卤钨灯光更强，耐用），发射 320~2500nm 的连续光谱。紫外区：氢、氘灯，发射 185~400nm 的连续光谱。

#### 2. 单色器

(1) 作用：将光源发射的复合光分解成单色光，并可从中选出任一波长单色光的光学系统。“心脏”

(2) 构成：①入射狭缝：光源的光由此进入单色器；②准光装置：透镜或反射镜使入射光成为平行光束；③色散元件：将复合光分解成单色光，棱镜（玻璃或石英）或光栅（平面或凹面，分辨率达到  $\pm 0.2\text{nm}$ ，工作波长范围优于棱镜）；④聚焦装置：透镜或凹面反射镜，将分光后所得单色光聚焦至出射狭缝；⑤出射狭缝。

(3) 使用注意：部件、内外壁和尘埃反射产生的杂散光影响  $A$  测量。不能随意拆开！

#### 3. 吸收池 (比色皿)

(1) 作用：盛放待测样品溶液，决定  $b$ 。

(2) 分类：石英池和玻璃池两种。紫外区须用石英池，可见区一般用玻璃池。——演示结构

(3) 规格与成套性：0.5~5.0cm $\times$ 4，选择吸收池的规格应根据被测溶液颜色深浅来定，尽量把测得的吸光度调整在 0.2~0.8 之间。同一实验使用同一规格同一套吸收池。

在定量工作中，尤其是在紫外光区测定时，需要对吸收池作校正和配套工作，以便消除吸收池误差，提高测量准确度。

(4) 吸收池的使用、维护与保养——注意保护两个光学面。

☆ 拿取比色皿时，只能用手指接触两侧毛玻璃，绝不能接触光学面。

☆ 不得将光学面与硬物或脏物接触，只能用擦镜纸或丝绸擦拭光学面。

☆ 凡含有腐蚀玻璃的物质 ( $\text{F}^-$ 、 $\text{SnCl}_2$ 、 $\text{H}_3\text{PO}_4$  等) 的溶液，不得长期盛放在吸收池中。吸收池使用后应立即用水冲洗干净，必要时可以用  $\text{HCl}$  溶液 (1+1) 浸泡 2~3min，并立即用

水冲洗干净。

☆若样品溶液有易挥发的有机溶剂酸或碱时，应加盖防止挥发。

☆吸收池不可在火焰或电炉上加热烘烤。P<sub>58</sub>……………读与练……………

4. 检测器（接受器）

(1) 作用与要求：利用光电效应将透过吸收池的光信号变成可测的电信号。灵敏度高，响应快，稳定，噪声低，易于检测。

(2) 分类：三种——

光电池：三层组成，中层为半导体材料（Se250~750nm、Si）；内阻小，直接测量，但不适于微弱光测量。易“疲劳”，连续使用≤2h。

光电管：真空二极管，灵敏度高，波长宽，不易疲劳，应用广；按光敏阴极材料分为蓝敏（210~625nm）和红敏（625~1000nm）。

光电倍增管：检测弱光；10<sup>-8</sup>~10<sup>-9</sup>s 脉冲光，响应快；灵敏度很高。

5. 信号显示器

(1) 作用：显示、记录、计算输出的电信号。

(2) 分类：微安表或检流计（A/T）；数字显示（减少读数误差）；微机进行仪器自动控制和结果处理。

二、紫外-可见分光光度计的类型和特点

1. 按使用波长范围分为

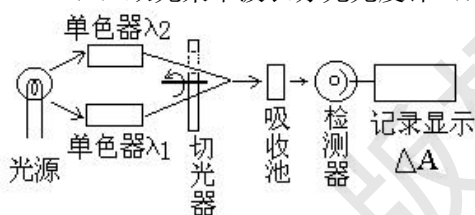
可见分光光度计（400~780nm，只测有色物）和紫外-可见分光光度计（200~1000nm，近紫外、可见、近红外吸收）。

2. 按光路及波长数分为

(1) 单光束单波长分光光度计（可见 721、722；紫外 752，7504）

工作原理见图 2-10；简单、价廉、适于定量分析；光源强度的波动影响较大，误差大。适于固定波长下测量 A 或 T，多不能作光谱扫描，光源和检测器的稳定性要高。

(2) 双光束单波长分光光度计（710、760CRT）



双波长分光光度计示意图

工作原理见图 2-11，切光器分光，得参比和试液的信号比；自动测绘吸收光谱曲线，消除光源强度变化和检测器灵敏度变化等引起的误差，精确。特别适合于结构分析。仪器复杂，价格较高。

(3) 双光束双波长分光光度计（WFZ800、UV-300，365）

工作原理见图 2-12，双单色器分出二波长，得信号差。不同波长的两束单色光快速交替通过同一吸收池后到达检测器，产生交流信号。

选合适的波长对λ<sub>2</sub>~λ<sub>1</sub>，使 A<sup>b</sup><sub>λ<sub>2</sub></sub> ≈ A<sup>b</sup><sub>λ<sub>1</sub></sub>

$$\Delta A = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} = (\epsilon_{\lambda_2}bc + A^b_{\lambda_2}) - (\epsilon_{\lambda_1}bc + A^b_{\lambda_1}) = (\epsilon_{\lambda_2} - \epsilon_{\lambda_1})bc$$

准确度高，适于混合物和浑浊样品的定量分析。无需参比池，消除背景吸收、组成不同及 b 误差。Δλ=1~2nm。两波长同时扫描即可获得导数光谱。但价昂。

[巩固]

1. 使用仪器的前提——结构原理，类型特点。

2. 识图理解 P<sub>60</sub>

[布置作业]

P<sub>66</sub>，1、4。预习§2-3（下）。

§ 2-3 紫外-可见分光光度计（下）

教学	能力(技能)目标	知识目标
----	----------	------

目标	1. 能描述紫外-可见分光光度计的一般操作步骤。 2. 学会紫外-可见分光光度计的性能检查和评价以及一般维护方法。	1. 熟悉常见紫外-可见分光光度计的使用方法； 2. 掌握紫外-可见分光光度计波长准确度、吸收池配套性检验方法和一般维护保养方法。
能力		
训练方式方法	1. 引探法 2. 演示法 3. 讲练结合法	
参考资料		

[组织教学]

[复习]

1. 提问：分光光度计组成及各部件作用？常用仪器的结构特点？
2. 理解仪器和工作原理→正确使用、检验和维护分光光度计——

[讲授新课]

## 第二章 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

### § 2-3 紫外-可见分光光度计 (下)

#### 三、常用紫外-可见分光光度计的使用

型号多，操作类似，按说明书使用——

##### 1. 7230 型分光光度计

(1) 光学系统、结构和工作原理——图 2-13

7230 型分光光度计是目前国内应用较多的一种简易型分光光度计，它属于单波长单光束类型，结构简单、价格便宜、操作方便，工作波长范围是 360-900nm。

7230 型分光光度计的结构和工作原理是：

钨丝灯→平面衍射光栅→玻璃吸收池→光电管→数字显示表。

(2) 7230 型分光光度计的面板控制钮及其作用——图 2-14

波长调节器 ( $\lambda$ ) ——选择所选波长

调 0%T 按钮 (0) ——开启吸收池暗箱盖，调  $T=0$

调 100%T 按钮 (100) ——关闭吸收池暗箱盖，将空白溶液置于光路时，调  $T=100\%$

吸收池拉杆——将吸收池依次送入光路

模式显示——选择不同的测定模式 (吸光度、透射比、浓度、斜率)，测定数据直接显示出来。

灵敏度选择钮 (有的无) ——调节  $T$  的放大倍数，尽量用低档

电源开关、数据显示屏

吸收池暗箱盖——控制光电管前的光路闸门，只有在调 100%T 和测量时才关闭暗箱盖

(3) 7230 型分光光度计的使用操作方法——P<sub>62</sub>——CAI

① 接通电源，打开电源开关 (指示灯亮)，开启吸收池暗箱盖，预热 20min。

- ② 调节波长旋钮，选定所需单色光波长。
- ③ 调节灵敏度旋钮，选择适宜的灵敏度档（共分五档），按下 0% $T$  按钮使电表显示  $T=0$  ( $A=\infty$ )。
- ④ 将空白溶液和被测溶液装入吸收池，依次放入吸收池架中，盖上吸收池暗箱盖，按下 100% $T$  旋钮，使电表指针指在 100% $T$  ( $A=0$ )。若数据达不到可增大灵敏度档次。
- ⑤ 按上述步骤反复调节 0% $T$  和 100% $T$  直至稳定不变。
- ⑥ 拉动拉杆将待测溶液依次推入光路，由表头读出吸光度  $A$  或透射比  $T$ 。
- ⑦ 测量完毕后，关闭仪器电源开关，取下电源插头，取出吸收池洗净，晾干后入盒保存，盖好吸收池暗箱盖。

## 2. 722 型分光光度计的结构、原理和使用——CAI

卤钨灯→光栅→吸收池→光电管→数字显示器

原理与 7230 类似，使用方法——与 7230 类似，预习《仪器分析实训指导书》表 1—722 型分光光度计的操作考核表——“开门调零，关门调百”。

## 3. UV-7504 型紫外-可见分光光度计的结构、工作原理和使用——图 2-15、16

紫外-可见分光光度计的结构与一般的可见分光光度计几乎完全相同，它也由光源、单色器、吸收池、接受器和显示系统五个部分组成。现以 7504 型紫外-可见分光光度计为例稍加说明。

7504 型紫外-可见分光光度计具有卤钨灯（30W）和氘灯（2.5A）两种光源，分别适用于 360~850nm 和 200~360nm 波段。它采用平面光栅作色散元件，GD 33 光电管作接受器。其测量显示系统装配了 8031 单片机，接受器输出的电信号经前置放大器放大和模/数转换器，将模拟信号转换为数字信号，送往单片机进行数据处理。通过键盘输入命令，仪器便能自动调 0  $T$  和调 100%  $T$ ，能输入标准溶液浓度数据，建立高准确的浓度计算方程。在显示屏上能显示出透射比  $T\%$ 、吸光度  $A$  及浓度  $c$  的数据，并可以由打印机打印出实际数据和分析结果。

7504 型紫外-可见分光光度计的使用练习——实训——CAI……

## 四、分光光度计的检验与维护保养——仪器说明书

### 1. 分光光度计的检验

目的——保证测试结果的准确可靠。检定规程规定的检定周期——半年。

#### (1) 波长准确度的检验

原因：分光光度计在使用过程中，由于机械振动，温度变化、灯丝变形、灯座松动或更换灯泡等原因，经常会引起刻度盘上的波长读数与实际通过溶液的波长不符合的现象，从而导致仪器灵敏度降低，影响测定结果的精度，需要经常校正。

方法一：在可见光区校正波长最简便的方法是采用锆钼滤光片，测出 528.7nm 和 807.7nm 处的 2 个吸收峰的最大吸收波长（图 2-17）。如果测出的最大吸收波长与仪器标示值相差 3nm 以上，则需要细微调节波长刻度校正螺钉（不同型号的仪器波长读数的校正方法有所不同，应按仪器说明书进行波长调节）。如果大于  $\pm 10$ nm，则需要重新调整钨灯泡位置，或检修单色器的光学系统。（应请计量部门或送生产厂检修，不可自己打开单色器）。

方法二：在紫外光区校正波长比较实用的方法是采用苯蒸汽的吸收光谱检查校正波长读数，苯蒸汽在紫外区有特征吸收峰（图 2-18）。只要在吸收池内滴一滴液体苯，盖上吸收池盖，待苯挥发充满整个吸收池后，就可测绘苯蒸汽的吸收光谱。若实测结果与苯的标准光谱曲线不一致，表示仪器有波长误差，可调整波长分度盘标值。

#### (2) 透射比正确度的检验

通常用标准溶液检查，如  $K_2Cr_2O_7$  溶液。

在选定波长下，测定标准溶液的透射比，与已知标准值比较，根据仪器等级，其差值应在 0.8%~2.5% 之内。

#### (3) 稳定度的检验

① 零点稳定度——在光电管不受光的条件下，观察仪器零点 3min，读取透射比的变化值。

② 光电流稳定度——在仪器测量波长范围两端向中间靠 10nm 处，使光电管受光，调节透射比为 95%（数显仪器调至 100%），观察 3min，读取透射比的变化值。

#### (4) 吸收池配套性检验——基础工作——CAI——实训

吸收池规格的选择？吸收池校正！

根据 JJG178-96 规定，石英吸收池在 220nm 处装蒸馏水；在 350nm 处装  $K_2Cr_2O_7$   $0.001mol \cdot L^{-1}HClO_4$  溶液，玻璃吸收池在 600nm 处装蒸馏水；在 400nm 处装  $K_2Cr_2O_7$  溶液（浓度同上）。以一个吸收池为参比，调节  $\tau$  为 100%，测量其它各池的透射比，透射比的偏差小于 0.5% 的吸收池可配成一套。

实际工作中还可以采用下面较为简便的方法进行校正：用铅笔在洗净的吸收池毛面外壁编号并标注放置方向，在吸收池中装入测定用溶剂，以其中一个为参比，在测定波长下，测定其它吸收池的吸光度。如果测定的吸光度为零或两个吸收池吸光度相等，即为配对吸收池。若不相等，可以选出吸光度最小的吸收池为参比，测定其它吸收池的吸光度，求出修正值（皿差）。测定样品时，将待测溶液装入校准过的吸收池中，将测得的吸光度值减去该吸收池的修正值即为测定真实值。

2. 分光光度计的维护和保养——精密！——读——意识！

正确安装、使用和保养是保证仪器性能和测试准确度的关键。

(1) 对仪器工作环境的要求——稳固、温度、湿度、干扰、腐蚀等——P<sub>65</sub>

(2) 仪器保养和维护方法——5 条

电源电压稳定。

保护光源灯，不用时关闭。

单色器不能随意拆开，经常更换干燥剂。

正确使用吸收池，保护光学面。

光电转换元件不能长时间曝光，应避免强光照射或受潮积尘。

[巩固]

1. 掌握仪器的基本组成部件、作用、要求、种类、材质、使用特点、检验方法和维护保养——素质；测量可靠。

2. 强化——实训——指导书。

[布置作业]

预习 P<sub>92</sub>，实验 2：722（7230）型分光光度计的使用（4p），实验 3：722（7230）型分光光度计的调校（6p），注意内容和预习记录表的设计——二组轮换。§2-4。

## § 2-4 可见分光光度法（上）

	能力（技能）目标	知识目标
教学目标	1. 能运用吸收定律解释可见分光光度法对显色反应的要求和条件选择。 2. 能设计分光光度法显色条件和光度测量条件选择的实验方法。	1. 掌握可见分光光度法对显色反应的要求，熟悉常用的显色剂及其应用； 2. 理解显色条件对显色反应的影响，掌握显色条件的选择方法。 3. 掌握光度测量条件对测量准确度的影响，掌握测量条件的选择和控制方法。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 演示法	
参考		

## 资料

[组织教学]

[复习与引入]

1. 提问：紫外-可见分光光度计组成、使用、检验和常用类型结构原理？
2.  $A=kbc$ →物质对光的选择性吸收→应用——

[讲授新课]

## 第二章 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

## § 2-4 可见分光光度法 (上)

可见分光光度法——有色物： $M + R \rightarrow MR$ 

## 一、显色反应和显色剂

1. 显色反应——主要是配位反应，氧化还原

定义：将一种无色物质与显色剂反应生成有色化合物的化学反应。

2. 显色剂：能与无色物质反应并将其转化成有色物质的试剂。

(1) 显色剂的选择方法——P<sub>67</sub>

由于一种显色剂可以与几种物质显色，而一种物质又可与几种显色剂显色，因此在选择显色剂时一般应遵循以下几条原则：

- ① 显色反应的灵敏度要高。即生成有色物质的摩尔吸光系数  $\epsilon$  要大；
- ② 显色剂选择性要好。即要求它的特效性强、干扰少
- ③ 试剂空白值低，即要求对比度（显色剂与显色后的有色物质最大吸收波长的差值）

 $\Delta \lambda > 60\text{nm}$ ；

- ④ 生成的有色物的组成要恒定，稳定性要高；

例如测铁时，用邻二氮菲为显色剂生成的配合物组成恒定，但用硫氰酸盐为显色剂的配合物组成不恒定。

(2) 显色剂分类

① 无机配位显色剂：许多无机显色剂能与金属离子发生显色反应，但由于灵敏度较差等原因，具有实用价值的并不多。只有硫氰酸盐（测  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mo}^{6+}$ 、 $\text{W}^{5+}$ ）、钼酸铵（测 P、Si、W）、过氧化氢（测  $\text{V}^{5+}$ 、 $\text{Ti}^{4+}$ ）、氨水等几种。

② 有机配位显色剂：种类繁多，应用范围也较大。偶氮类显色剂：本身有色，生成配合物后，颜色明显变化；性质稳定、显色反应灵敏度高、选择性好、对比度大等，应用最广泛。偶氮胂Ⅲ、PAR 等。三苯甲烷类：铬天青 S、二甲酚橙等。NN 型螯合剂。

此外，对于一种被测金属离子，可选用两种或两种以上的配位体（即显色剂）与被测离子形成三元（混配、离子缔合、胶束）或多元配合物，以提高显色反应的灵敏度、选择性以及有色物的稳定性。

## 二、显色条件的选择

1. 显色剂用量  $c_R$ 

从反应平衡角度看，加入过量显色剂显然能保证反应进行完全，但过量太多也会带来副作用。例如增加了空白溶液的颜色，改变了配合物的组成等。因此显色剂一般应适当过量。

在具体工作中，显色剂的用量需要用实验来确定，即通过作“ $A-c_R$ ”曲线的方法。如图 2-19 所示的三种情况。选择曲线变化平坦处（？）。

2. 溶液的酸度 (pH) ——显色反应的重要条件

(1) 对显色反应的影响

① 当酸度不同时，同种金属离子与同种显色剂反应，可以生成不同配位数的不同颜色的配合物。

② 溶液酸度过高会降低配合物的稳定性，特别是对弱酸型有机显色剂和金属离子形成的配合物的影响较大。

③ 当溶液酸度增大时显色剂的有效浓度要减少，显色能力被减弱。有色物的稳定性也随之降低。

④ 溶液酸度变化显色剂的颜色可能发生变化。其原因是多数有机显色剂是一种酸碱指示剂，它本身的颜色随 pH 变化。

⑤ 溶液酸度过低可能引起被测金属离子水解，因而破坏了有色配合物，使溶液颜色发生变化，甚至无法测定。

(2) 实验确定  $A$ -pH 曲线 (?)

### 3. 显色温度——实验确定

不同的显色反应对温度的要求不同。大多显色反应是在常温下进行的，但有些反应必须在较高温度下才能进行或进行得比较快。例如  $\text{Fe}^{2+}$  和邻二氮菲的显色反应常温下就可完成，而硅钼蓝法测微量硅时，应先加热，使之生成硅钼黄，然后将硅钼黄还原为硅钼蓝，再进行光度法测定；有的有色物质加热时容易分解，例如  $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ ，加热时褪色很快。

由于温度对光的吸收及颜色的深浅都有影响，因此在绘制标准曲线和进行样品测定时应该使温度保持一致。

实训掌握.....CAI.....

### 4. 显色时间

(1) 显色（或发色）时间：显色反应完成所需要的时间；

(2) 稳定时间：显色后有色物质色泽保持稳定的时间。

应该在充分显色以后，在稳定时间以内进行吸光度测定。对于不同显色反应，必须通过实验，作出一定温度（一般是室温）下的  $A$ - $t$  曲线，选择适宜的显色时间与稳定时间。

### 5. 溶剂

有机溶剂常常可以降低有色物质的离解度，从而提高显色反应的灵敏度。此外，有机溶剂还可以提高显色反应的速度，影响有色配合物的溶解度和组成等。萃取法。

### 6. 共存离子的干扰及消除

(1) 分光光度法中共存离子的干扰情况

① 共存离子本身具有颜色，如  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$  等。

② 共存离子与显色剂或被测组分反应，生成更稳定的配合物或发生氧化还原反应，使显色剂或被测组分的浓度降低，妨碍显色反应的完成，导致测量结果偏低。或共存离子与显色剂反应生成有色化合物或沉淀，致使测量结果偏高。若共存离子与显色剂反应后生成无色化合物，但由于消耗了大量的显色剂，致使显色剂与被测离子的显色反应不完全。

(2) 共存离子干扰的消除

① 加入掩蔽剂：掩蔽剂不与待测组分反应；掩蔽剂本身及掩蔽剂与干扰组分的反应产物不干扰待测组分的测定。例：测定  $\text{Ti}^{4+}$ ，可加入  $\text{H}_3\text{PO}_4$  掩蔽剂使  $\text{Fe}^{3+}$  (黄色) 成为  $\text{Fe}(\text{PO}_4)_2^{3-}$  (无色)，消除  $\text{Fe}^{3+}$  的干扰；又如用铬天菁 S 光度法测定  $\text{Al}^{3+}$  时，加入抗坏血酸作掩蔽剂将  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ ，消除  $\text{Fe}^{3+}$  的干扰。

② 选择适当的显色条件（如利用酸效应、降低显色剂浓度）和测量条件（改变入射光波长、利用参比液）。

③ 分离干扰离子。

## 三、测量条件的选择——仪器工作条件→准确度

### 1. 入射光波长的选择

一般选择  $\lambda_{\text{max}}$  (?)。但若  $\lambda_{\text{max}}$  处有共存组分干扰时，则应考虑选择灵敏度稍低但能避免干扰的入射光波长。

### 2. 参比溶液的选择

(1) 使用参比溶液的原因和作用

池的反射、散射、吸收、溶液微粒的散射、吸收。

把参比液放入光路，调  $T=100\%$ ，即  $A_{\text{参}} = 0$ ；把试液放入光路，

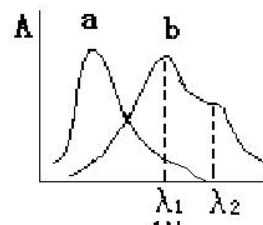
测  $A$ ，即

$$A = A_{\text{测}} - A_{\text{参}} = A_{\text{测}} - 0 = A_{\text{测}}$$

$$= -\log I_{\text{透}}/I_0 - (-\log I_{\text{透}}/I_0) = -\log I_{\text{透}}/I_{\text{透}}$$

(2) 参比溶液选择的一般原则

① 若仅待测组分与显色剂反应，产物在测定  $\lambda$  有吸收，其它所加试剂均无吸收，用纯溶



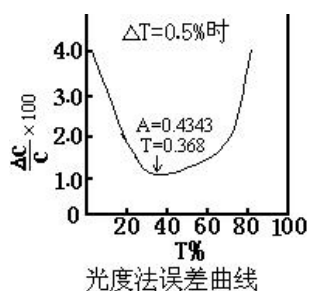
剂(水)作参比溶液(溶剂空白);

② 若显色剂或其它试剂在测定  $\lambda$  处略有吸收, 应使用不加试样溶液、但其他试剂均与显色试液相同的溶液(也叫试剂空白)作参比液;

③ 若待测试液的其他组分在测定  $\lambda$  处有吸收, 而显色剂等无吸收, 则可用“试样空白”(不加显色剂)作参比溶液;

④ 若显色剂、试液中其它组分在测量  $\lambda$  处有吸收, 则可在试液中加入适当掩蔽剂将待测组分掩蔽后再加显色剂, 作为参比溶液(褪色空白)。

### 3. 吸光度测量范围的控制



吸光度  $A \rightarrow$  浓度  $c$ ,  $\Delta A \rightarrow$  多大的  $\Delta c$ ?  
 $A$  在什么值或范围时,  $\Delta c$  最小?

$$sbdc = -0.434 \ln T, sbdc = -0.434 d \ln T, sbdc = -0.434 dT/T$$

$$dc/c = 0.434 dT/T \lg T$$

$$\Delta c/c = 0.434 \Delta T/T \lg T \text{——光度法误差公式}$$

$\Delta T$  约  $\pm 0.2\% \sim \pm 2\%$ , 仪器一定,  $\Delta T$  为定值,

$T = 36.8\%$ ,  $A = 0.4343$  时,  $\Delta c/c$  最小。

靠改变  $b$  或  $c$ , 使  $A$  落在  $0.15 \sim 0.7$ , 此时  $\Delta c/c$  在  $\pm 1.4 \sim \pm 1.6\%$ 。

普通分光光度法不宜于高含量或极低含量物质测定。

### [巩固]

1. 掌握条件实验的因素、方法和评价。
2. 阅读——理解——实训。

### [布置作业]

P<sub>81</sub>, 7、8。预习§2-4(下), 带指导书

## § 2-4 可见分光光度法(下)

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 学会样品中杂质测定用标准溶液的制备方法和一般要求。</li> <li>2. 能设计分光光度法定量分析的实验方法, 规范绘制工作曲线, 并计算待测组分的含量, 评价分析结果。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 掌握分光光度法的定量依据和常用定量方法(工作曲线法、比较法), 掌握工作曲线的绘制和线性回归方程的建立方法。</li> <li>2. 理解多种吸光组分体系的分析方法和应用。</li> <li>3. 了解可见分光光度法的分析误差和其它方法应用。</li> </ol>
能力训练方式方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 引探法</li> <li>2. 讨论法</li> <li>3. 讲练结合法</li> </ol>	
参考资料		

[组织教学]

[复习与引入]

1. 提问：实验技术过程→标液制备→条件选择→分光光度计→标液和试样溶液  $A$ ?
2. 科学思维与创新能力→多因素→定量技术——

[讲授新课]

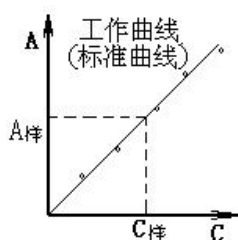
## 第二章 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

### § 2-4 可见分光光度法 (下)

#### 四、定量方法——按样品情况和分析要求而定

##### 1. 单组分样品的分析

(1) 工作曲线 (标准曲线) 法——最基本、最常用、最重要



① 工作曲线的绘制方法：按产品标准的规定配制 4 个以上浓度成适当比例的待测组分标准溶液，以空白溶液为参比溶液（必要时可选用溶剂作为参比溶液进行测定，同时用空白溶液的吸光度进行校正），在选定的波长下，分别测定  $A$ 。以标准溶液浓度为横坐标， $A$  为纵坐标，在坐标纸上绘制  $A-c$  工作曲线，如图 2-21。

☆作图规范性——《仪器分析实训指导书》

实验数据用图形表示，可以使测量数据之间的相互关系表达得简明直观，易于显示出图形的最高点、最低点、转折点等。在仪器分析的应用中，大量地使用图形处理来直接或间接求算分析结果，如标准曲线、滴定曲线等；也大量使用图形处理来进行实验条件的选择，如显色条件曲线、校正曲线、吸收曲线等。因此，正确地绘图形是实验后数据处理的重要环节，必须十分重视作图的方法和技能。

标绘的主要方法：选择合适的坐标纸；坐标的确定；比例尺（坐标标度）选择的重要原则；图纸的标绘步骤；图名和说明——标准溶液（或标准试样）名称、浓度（或含量）、吸光度、测量条件（仪器型号、波长、吸收池光程长度、参比液）。

☆配制标准系列显色溶液的方法——实验基本操作

实际工作中，工作曲线是否是理想的直线，与许多因素有关，合理地配置标准系列显色溶液是十分重要的关键性步骤。

通常，首先要根据待测样品的种类和特性，确定分析方法以及波长、温度、显色剂、pH 等分析条件（上述这些分析条件在产品标准中都有明确规定，可直接查阅）。按产品标准的规定配置 4 个以上浓度成适当比例的待测组份标准溶液，并在其中加入等量的显色剂、缓冲剂等辅助试剂，这样就完成了标准系列显色溶液的配制。

② 测定样品：按同样方法制备待测样品溶液，测定试液的  $A$ ，然后在工作曲线上查出待测物浓度。

③ 方法特点和注意事项

☆标样与试样的组成应一致。

☆待测物的浓度应在工作曲线范围内，最好在中部。

☆工作曲线应定期校准。当条件有变动时，例如仪器经过修理、更换光源或标准溶液、试剂重新配制等都必须重新制作工作曲线。

☆工作曲线法可消除一定的随机误差，同时通过工作曲线能判断被测溶液是否符合光的吸收定律。

☆适于成批样品的分析。

☆取曲线中点处的  $A$ 、 $c$  计算  $\epsilon$ 。

☆由于受到各种因素的影响，测出的各点可能不完全在一条直线上，这时可采用回归直线方程来表示，并能克服绘图误差，评价各实验点的线性关系。——《专业计算》

④ 举例：例 2-2；P<sub>81</sub>，10 说明——实训掌握……………

(2) 比较法 (标准对照)

在相同条件下，测定试样溶液和某一浓度的标准溶液的吸光度  $A_x$  和  $A_s$ ，由标准溶液的浓度  $c_s$  计算试样中被测物浓度  $c_x$ ：

$$c_x = \frac{c_s A_x}{A_s}$$

优点是简便，适于个别样品测定，但误差较大，只有在测定的浓度区间内溶液完全遵守朗伯-比尔定律，并且  $c_x$  和  $c_s$  很接近时，才较准确。

2. 多组分的同时测定——2 个吸光组分为例

(1) 若各组分的吸收曲线互不重叠或部分重叠，则可在各自的  $\lambda_{\max}$  处分别进行测定——图 2-22

(2) 若各组分的吸收曲线互有重叠，则可根据吸光度的加合性，求解联立方程组得出各组分的含量——图 2-23

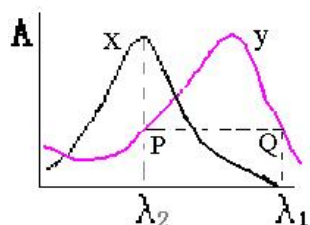
$$A_{\lambda 1} = \varepsilon_{a\lambda 1} b c_a + \varepsilon_{b\lambda 1} b c_b$$

$$A_{\lambda 2} = \varepsilon_{a\lambda 2} b c_a + \varepsilon_{b\lambda 2} b c_b$$

说明： $\varepsilon$  可用 a、b 的标准溶液分别测定；计算复杂， $n > 3$ ，误差大，PC 技术应用。例 2-3，理解。

3. 示差分光光度法（示差法）——阅读了解

普通分光光度法一般只适于测定微量组分，当待测组分含量较高时，将产生较大的误差。需采用示差法。示差法需要较大的入射光强度，并采用浓度稍低于待测溶液浓度的标准溶液作参比溶液。



4. 双波长分光光度法——了解

$\Delta A = A_{\lambda 2} - A_{\lambda 1}$ ，多组分混合物(待测 x + 干扰 y)测定，常用等吸收法。

关键：波长组合  $\lambda_2 \sim \lambda_1$  的选择：

(1) 使  $A_{y\lambda 2} = A_{y\lambda 1}$

即： $\Delta A_y = A_{y\lambda 2} - A_{y\lambda 1} = 0$

$\Delta A_{x+y} = A_{\lambda 2} - A_{\lambda 1} = (A_{x\lambda 2} + A_{y\lambda 2}) - (A_{x\lambda 1} + A_{y\lambda 1})$

$$= (\varepsilon_{x\lambda 2} b c_x + \varepsilon_{y\lambda 2} b c_y) - (\varepsilon_{x\lambda 1} b c_x + \varepsilon_{y\lambda 1} b c_y)$$

$$= \varepsilon_{x\lambda 2} b c_x - \varepsilon_{x\lambda 1} b c_x = (\varepsilon_{x\lambda 2} - \varepsilon_{x\lambda 1}) b c_x$$

(2) 使  $(A_{x\lambda 2} - A_{x\lambda 1})$  最大

特点：双波长分光光度法以  $A_{\lambda 1}$  为参比，来消除干扰。分析浑浊或背景吸收较大试样时有很大的优越性。灵敏度、选择性、测量精密度等比单波长法高。

五、分析误差

1. 溶液因素误差：溶剂、干扰、标准溶液配制（储备、保存、工作液）。

2. 仪器因素误差：精度、噪声，实际工作经验。

六、应用示例——广泛与典型

可见分光光度法测定微量铁：1. 磺基水杨酸法；2. 邻二氮菲（Phen）法——P94。

[巩固]

1. 掌握定量技术——实践训练。

2. 练习 P81, 10——指导。

[布置作业]

P81, 9、10、11、12。预习 § 2-6；实验 4——邻二氮菲分光光度法测定微量铁条件与定量（4×2p），二大组轮换。

§ 2-6 紫外分光光度法

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 掌握紫外分光光度法与可见分光光度法的区别； 2. 能设计紫外分光光度法定性和定量分析的实验方法，规范绘制吸收曲线和工作曲线，利用比较光谱法鉴定未知	1. 了解紫外吸收光谱的产生机理，掌握生色团、助色团、吸收带等有关术语。 2. 了解常见有机化合物的紫外吸收光谱，理解溶剂效应对吸收光谱的影响。 3. 理解紫外定性鉴别方法，掌握其定量

	物，以线性回归法计算待测组分的含量，评价分析结果。	分析依据、方法和应用。
能力 训练 方式 方法	1. 引探法 2. 讨论法	
参考 资料		

[组织教学]

[复习与引入]

1. 提问：可见分光光度法实验技术→标液制备→条件选择→可见分光光度计→定量分析？

2. 400~780nm 有色物→200~400nm 紫外法——

[讲授新课]

## 第二章 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

### § 2-6 紫外分光光度法

#### 一、概述

1. 定义——物质对紫外光的选择性吸收（除 10~200nm 的远紫外光）

2. 特点

① 与可见吸收光谱同属于电子光谱；

② 仅能提供分子中助色团、生色团、共轭程度的信息，对有机物的结构鉴定分析特征性不强；

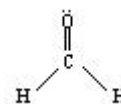
③ 无色透明物的定量分析简便、快速、灵敏、准确 (<1%RE)；

④ 以吸收曲线的  $\lambda_{\max}$ 、 $\epsilon_{\max}$  表示紫外吸收特征——图 2-30。

#### 二、方法原理

1. 电子跃迁类型与物质的特征吸收

有机物分子中的外层价电子有：形成单键的  $\sigma$  电子，形成复键的  $\pi$  电子，未共享电子对即非键  $n$  电子。



有机物的紫外-可见吸收光谱，是分子吸收辐射后，外层价电子向激发态（反键轨道）跃迁的结果。

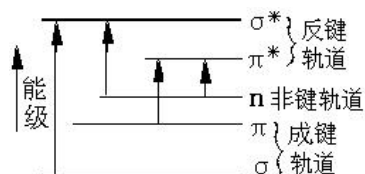
四种主要跃迁所需能量  $\Delta E$  大小顺序：

$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$

(1)  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁 需能量最大，远紫外光  $\lambda < 200\text{nm}$ 。饱和烃， $\text{CH}_4$   $\lambda_{\max}=125\text{nm}$ ，乙烷  $\lambda_{\max}=135\text{nm}$ 。

(2)  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁 需能量较大。150~250nm。  $\epsilon_{\max} < 300$ 。含 N、O、S 和卤素等的饱和烃衍生物。 $\text{CH}_3\text{Cl}$   $\lambda_{\max}=173$ 、甲醇  $\lambda_{\max}=183$ 、三甲基胺  $\lambda_{\max}=227\text{nm}$ 。

(3)  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁 需能量较小，近紫外光， $\epsilon_{\max} \sim 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$



电子能级跃迁示意图

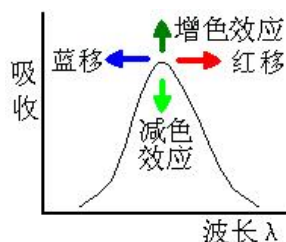
$^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 以上, 强吸收。不饱和烃、共轭烯烃和芳香烃类可发生。如: 己三烯 $\lambda_{\text{max}}=258\text{nm}$ ,  $\epsilon_{\text{max}}=35000$ 。

(4)  $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁 需能量最低,  $\lambda > 200\text{nm}$ 。 $n$ 电子和 $\pi$ 键同存时发生。跃迁选律上属于禁阻跃迁,  $\epsilon_{\text{max}}$ 多为 $10\sim 100$ , 吸收强度较弱。丙酮 $\lambda_{\text{max}}=275\text{nm}$ ,  $\epsilon_{\text{max}}=22$ (溶剂环己烷)。

## 2. 紫外吸收光谱常用术语

(1) 生色团: 能吸收紫外或可见光而跃迁的基团, 主要为含有 $\pi$ 键的不饱和基团。如 $-\text{C}=\text{C}-$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{N}=\text{N}-$ 、乙炔基、腈基等。表 2-8。

(2) 助色团: 含杂原子的饱和基团。如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}$ 、 $-\text{X}$ 、 $-\text{SH}$ , 本身无生色功能, 不能吸收 $\lambda > 200\text{nm}$ 光, 但当它们与生色团相连时, 会发生 $n-\pi$ 共轭,  $E_{\pi} \rightarrow \pi^*$ 降低, 使生色团的吸收波长移向长波, 强度增加。



### (3) 红移、蓝移、增色效应和减色效应

化合物吸收谱带常因引入取代基或改变溶剂, 使 $\lambda_{\text{max}}$ 和吸收强度发生变化。

红移和蓝移——使吸收峰位置( $\lambda_{\text{max}}$ )发生移动, 向长波方向移动称为红移, 向短波方向移动称为蓝移。

增色和减色——使 $\epsilon_{\text{max}}$ ↑或↓的效应。

### (4) 溶剂效应

溶剂极性增大, 使 $\pi \rightarrow \pi^*$ 红移, 吸收增强; 使 $n \rightarrow \pi^*$ 蓝移, 使苯 B 带精细结构消失。

例: 溶剂极性对异丙叉丙酮紫外光谱的影响——见下表……………

跃迁类型/nm	正己烷	氯仿	甲醇	水	影响
$\pi \rightarrow \pi^*$	230	238	237	243	红移
$n \rightarrow \pi^*$	329	315	309	305	蓝移

### (5) 吸收带的类型

吸收带是指吸收峰在紫外光谱中的谱带位置。根据电子和分子轨道的种类, 可以把吸收带分为四种类型——见下表

表中 B 吸收带是芳香族的化合物的特征吸收带, 在 $230\sim 270\text{nm}$ 成为精细结构。当芳香核与生色团连接时有 B 和 K 两种吸收带, 其中 B 带波长长。B 带的精细结构在取代芳香族化合物的光谱中一般不出现。E 带也是芳香族化合物的特征吸收带, 苯分为 $E_1(184\text{nm}, \epsilon=6000)$ 及 $E_2$ 带( $204\text{nm}, \epsilon=7900$ )。当有发色团与苯环共轭时,  $E_2$ 带与 K 合并吸收峰向长波方向移动。

吸收带类	跃迁类型	$\epsilon_{\text{max}}$	$\lambda_{\text{max}}$	吸收峰特征	典型实例
R	$n \rightarrow \pi^*$	$< 100$	270	弱	羰基、硝基
K	$\pi \rightarrow \pi^*$	$> 10^4$	217	很强	共轭烯(丁二烯、苯乙烯等)
B	$\pi \rightarrow \pi^*$	250~3000	230~270	多重吸收(精细结构)	苯、苯同系物
E	$\pi \rightarrow \pi^*$	2000~10000		强	芳环中 $\text{C}=\text{C}$

## 三、常见有机化合物的紫外吸收光谱——简介

1. 饱和烃 仅有 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁, 吸收光谱 $\lambda < 200\text{nm}$ , 常用作溶剂, 表 2-9 截止波长! 含杂原子饱和烃则有 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 及 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁, 需能量较大。 $150\sim 250\text{nm}$ 。

2. 不饱和烃 可有 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。

A. 单个双键,  $\lambda$ 在远紫外, 乙烯 $\lambda_{\text{max}}=162\text{nm}$ ,  $\epsilon=10000$ ;

B. 含两个双键, 但中间隔有两个以上的单键, 因此不共轭, 则吸收峰与单个双键类似;

C. 共轭双键(两个双键被一个单键隔开),  $\lambda$ 红移, 共轭体系越大红移越明显。丁二烯 $\lambda_{\text{max}}=217\text{nm}$ ,  $\epsilon=21000$ ;

D. 当双键与杂原子相联, 则 $\pi \rightarrow \pi^*$ 红移, 吸收增强;

E. 当双键上含杂原子又与杂原子相联, 则  $n \rightarrow \pi^*$  蓝移。

### 3. 醛、酮、羧酸、酯

有  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\lambda_{\max}=270\sim 300\text{nm}$ ,  $\epsilon 10\sim 20$ , R 带, 醛酮的特征。 $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $\lambda_{\max} \sim 180\text{nm}$ ,  $\epsilon 10\sim 20$ ;  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $\lambda_{\max} \sim 150\text{nm}$ ,  $\epsilon 10\sim 20$ 。

当  $\text{C}=\text{O}$  与双键共轭  $\pi \rightarrow \pi^*$  红移到  $226\sim 260\text{nm}$  形成 K 带, R 带红移到  $310\sim 340\text{nm}$ ; 当  $\text{C}=\text{O}$  与杂原子共轭  $n \rightarrow \pi^*$  蓝移。

### 4. 芳香化合物

环状共轭,  $\pi \rightarrow \pi^*$  产生三个吸收带:  $E_1$  带:  $\lambda_{\max} \sim 184\text{nm}$ ,  $\epsilon 47000$ ;  $E_2$  带:  $\lambda_{\max} \sim 203\text{nm}$ ,  $\epsilon \sim 7400$ ; B 带:  $\lambda_{\max} \sim 255\text{nm}$ ,  $\epsilon \sim 230$ , B 带是由于  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁和苯环的振动重叠引起, 也称为精细结构吸收带。

具精细结构 (由振动跃迁引起), 特征吸收带, 极性溶剂中精细结构消失。

#### (1) 单取代苯

A. 烷基取代, 超共轭效应, 红移, 作用小;

B. 含 n 电子基团取代,  $n-\pi^*$  共轭, 使  $E_2$  带和 B 带红移, B 带强度增加, 精细结构消失;

C. 生色团取代, B 带红移, 有时可被  $E_2$  带淹没。

#### (2) 双取代苯

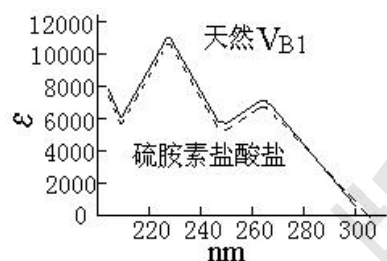
若苯环上有两个取代基则双取代苯光谱与两个取代基种类及取代位置有关。推电子基:  $\text{CH}_3 < \text{Cl} < \text{Br} < \text{OH} < \text{OCH}_3 < \text{NH}_2 < \text{O}^-$ ; 吸电子基:  $\text{NH}_3^+ < \text{CN} < \text{CO}_2\text{H} < \text{COCH}_3 < \text{CHO} < \text{NO}_2$ , 无论给电子基或拉电子基均使  $E_2$  带红移。

对、邻或间位取代: 红移波长大致为两个取代基单独取代影响之和。

### 5. 杂环化合物——仅不饱和的才有近紫外吸收

## 四、紫外吸收光谱的应用 (重点)

### 1. 定性分析



#### (1) 未知试样的定性鉴定

① 比较  $\lambda_{\max}$  的估算值与  $\lambda_{\max}$  实验值

② 比较实验所得的光谱与标准光谱

☆待测样品的吸收光谱;

☆待测物标准品吸收光谱;

☆标准光谱 (Sadtler)。

注意: 相同实验条件; 比较光谱形状、 $\lambda_{\max}$ 、 $\lambda_{\min}$ 、 $\epsilon_{\max}$ 、吸收峰数目、拐点等; 初步结果, 需配合其它方法定性。

(2) 结构分析: 推测官能团, 共轭体系, 共轭体系中取代基位置、种类、数目。示例——归属、同分异构体、顺反异构体。

(3) 纯度检查: 化合物无吸收, 杂质有吸收;  $\epsilon$  判断。——示例

### 2. 定量分析——与可见法相同。但注意区别 $\lambda$ 、溶剂、仪器。

### [巩固]

1. 理解方法原理与应用。2. 阅读——讨论——与可见分光光度法的区别。

### [布置作业]

P<sub>91</sub>, 1. 预习第一章; 实验 5、6——使用 7504 型紫外-可见分光光度计 (2p, P<sub>62</sub>), 有机化合物紫外吸收曲线的测绘和应用 (4p, P<sub>101</sub>), 二大组轮换。

“岗课赛证+思政融通”实战案例分析  
——紫外可见分光光度法测水样中铁含量

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 能够绘制吸收曲线 2. 能够绘制标准曲线 3. 掌握 n 倍方法技能 4. 掌握分光光度计操作技能 5. 数据记录与处理	1. 运用分光光度法理论知识分析本案例
思政	拼搏、竞技、工匠精神(执著、专注、精益求精、一丝不苟)、立志存高远(能工巧将、大国工匠)、技能报国、技能强国	
能力训练方式方法	1. 引探启发法 2. 案例分析法	
参考资料	各级职业技能竞赛资料 化学检验员 国家职业标准	

## 1 有关的技能大赛

## 1.1 世界职业院校技能大赛

## 1.2 世界技能大赛

## 2 实战案例分析

## 2.1 方法一 邻菲罗啉法

## (1) 工作曲线制作

①用已知浓度(2327  $\mu\text{g/ml}$ ?)的标准铁储备溶液配制成适合于分光光度法对未知铁试样(II)中铁含量测定的工作曲线使用的铁标准溶液,控制  $\text{pH}\approx 2$ 。

②标准系列溶液配制:用吸量管准确移取不同体积的工作曲线使用的标准溶液于 7 个 100mL 容量瓶中,配制成分光光度法测定未知铁试样溶液(II)中铁含量的标准系列溶液。

③显色:制作工作曲线的每个容量瓶中溶液按以下规定同时同样处理:加 2mL 抗坏血酸溶液,摇匀后加 20mL 缓冲溶液和 10mL 1,10-邻菲罗啉溶液,用水稀释至刻度,摇匀,放置不少于 15min。

④测定:以不加铁标准溶液的一份为参比,在 510nm 波长处进行吸光度测定。以浓度为横坐标,以相应的吸光度为纵坐标绘制工作曲线。

## (2) 未知铁试样溶液(II)中铁含量的测定

①显色与测定:确定未知铁试样溶液(II)的稀释倍数,配制待测溶液于所选用的 100mL 容量瓶中,加 2mL 抗坏血酸溶液,摇匀后 20mL 缓冲溶液和 10mL 1,10-邻菲罗啉溶液,用水稀释至刻度,摇匀。放置不少于 15min 后,按照工作曲线制作时相同的测定方法,在 510nm 波长处进行吸光度测定。平行测定 3 次。

②由测得吸光度从工作曲线查出待测溶液中铁的浓度,根据未知铁试样溶液(II)的稀释倍数,求出未知铁试样溶液(II)中铁含量。

(3) 未知铁试样溶液(II)中铁含量按下式计算:

$$p = p_x \times n$$

式中:

p ——未知铁试样溶液(II)中铁的浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ;

$p_x$  ——从工作曲线查得的待测溶液中铁的浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ;

n ——未知铁试样溶液(II)的稀释倍数。

2.2 方法二 磺基水杨酸法

2.3 两种方法的区别

1.邻菲罗啉法是  $\text{Fe}^{3+}$  还是  $\text{Fe}^{2+}$  与显色剂反应; 磺基水杨酸法呢?

2.两种方法加入的显色剂和调 pH 的顺序,

方法一 先 缓冲溶液 再加 显色剂?

方法二 先 显色剂 再加 氨水?

3 分检专业历年在省/市职业院校技能大赛战绩

4 思政: 拼搏、竞技、工匠精神(执著、专注、精益求精、一丝不苟)、立志存高远(能工巧将、大国工匠)、技能报国、技能强国

### § 3-1 红外吸收光谱法基本原理

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 能指出红外吸收光谱法与紫外吸收光谱法的异同; 2. 能解释红外吸收光谱法的基本概念; 3. 理解红外吸收光谱与分子结构、基团的关系。	1. 了解红外吸收光谱的表示、特点、分子振动方程式和分子的振动形式; 2. 了解振动能级的跃迁和产生红外吸收光谱的条件, 初步熟悉红外吸收光谱的分区、影响基团频率位移的因素、影响吸收峰强度的因素和各类有机化合物的特征基团频度。
能力训练方式方法	1. 引探启发法 2. 融通学习法 3. 仿真操作演示	
参考资料	1. 中华人民共和国国家标准 GB9724-88, GB9775-88, GB11076-89, GB/T14666-93 2. 陈培榕、邓勃主编, 现代仪器分析实验与技术, 北京: 清华大学出版社, 1999 3. 梁述忠主编, 仪器分析, 北京: 化学工业出版社, 1998 4. 刘珍主编, 化验员读本, 北京: 化学工业出版社, 1998	

[组织教学]

[引入]

1. 物质对光的选择性吸收→吸收光谱法→UV (200~780nm); IR ( $3 \times 10^3 \sim 3 \times 10^4$ )。
2. 分子运动— $\Delta E_{\text{振}} 0.05 \sim 1\text{eV}$ —振动光谱 (近红外、中红外区)。

[讲授新课]

## 第三章 红外吸收光谱法 (IR)

### § 3-1 基本原理

#### 一、概述

1. 红外光的发现 实验得不可见光——红外光区。
2. 物质对红外光的选择性吸收 实验得吸收不同。
3. 红外吸收光谱的产生  $A \sim \lambda$  定性——表 3-1
  - (1) 近、中 IR—振动——大量 g、l、s 分子，常用 2.5~25  $\mu\text{m}$  中红外区。
  - (2) 远 IR—转动——简单气体。
4. 红外吸收光谱的表示法 图 3-1、2 比较——以波数等距为主。

纵坐标为吸收强度  $\tau$ ，横坐标为波长  $\lambda$  ( $\mu\text{m}$ ) 或波数  $\bar{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ )。以 2000  $\text{cm}^{-1}$  (5  $\mu\text{m}$ ) 为界。

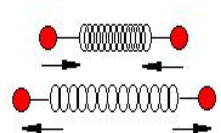
$$\bar{\nu} = \frac{10^4}{\lambda}$$

#### 5. 红外光谱法的特点

- (1) 信息多，特征性——可用峰数，峰位，峰形，峰强来描述——有机化合物的结构解析：定性（基团的特征吸收频率）、定量（特征峰的强度）。
- (2) 不受样品相态的限制 s、l、g 直接测定。
- (3) 样品用量少，不破坏，快，简。
- (4) 积累标准 IR 光谱图 Sadtler 图集可查。
- (5) 局限 无吸收、干扰，定量的灵敏度、准确度低于 UVS。

#### 二、产生红外吸收光谱的原因

1. 分子振动 能产生偶极矩 ( $\mu$ ) 周期性变化的分子才具有红外活性。



虎克定律

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$$

- (1) 分子振动方程式 图 3-3

##### ① 振动模型

化学键的振动类似于连接两个小球的弹簧。分子的振动能级 (量子化):  $E_{\text{振}} = (V+1/2) h\nu$

$h\nu$ ,  $\nu$ : 化学键的振动频率;  $V$ : 振动量子数。

任意两个相邻的能级间的能量差为:

$$\Delta E = h\nu = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

$k$  化学键的力常数, 与键能和键长有关; 子的折合质量  $= m_1 m_2 / (m_1 + m_2)$ 。发生振动能需要能量的大小取决于键两端原子的折合质的力常数, 即取决于分子的结构特征 (是分子固有性质)。

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = 1307 \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \mu \text{ 为双原级跃迁量和键}$$

同样的基团在不同分子中, 则键上电子云分布不同  $k$  不同, 因此红外峰不在固定频率出峰。

化学键键强越强 (即键的力常数  $k$  越大), 原子折合质量越小, 化学键的振动频率越大, 吸收峰将出现在高波数区。

##### ② 分子振动自由度与峰数关系

峰数与分子自由度有关。无瞬间偶基距变化时, 无红外吸收。

分子的自由度=分子中各原子坐标总和。

含  $N$  个原子的分子自由度  $f = 3N = f_t + f_v + f_r$

非线性分子:  $\text{H}_2\text{O}$   $f_t = 3, f_r = 3$ , 则  $f_v = 3N - 3 - 3 = 3$ 。反对称伸缩  $3756\text{cm}^{-1}$ 、对称伸缩  $3657\text{cm}^{-1}$ 、剪式  $1595\text{cm}^{-1}$ 。

线性分子:  $\text{CO}_2$   $f_t=3, f_r=2$ , 则  $f_v=3N-3-2=4$ 。对称伸缩无红外活性、反对称伸缩  $2350\text{cm}^{-1}$ 、面内剪式与面外弯曲简并  $666\text{cm}^{-1}$ 。

(2) 简正振动 不同频率的叠加。简谐振动——基频, 图 3-4、5—理解。

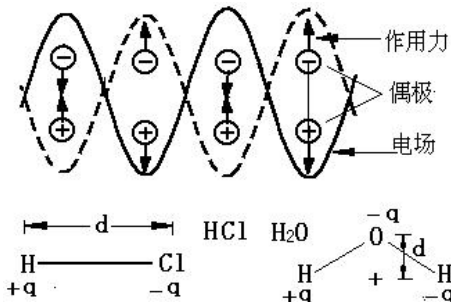
(3) 分子的振动形式——两类基本振动形式, 图 3-6 理解...

① 伸缩振动 沿键轴方向, 只有键长改变, 无键角变化,  $\nu$  ( $\nu_s, \nu_{as}$ )。

② 变形(弯曲)振动 垂直于键的方向, 只改变键角不影响键长。

面内  $\beta$  ( $\delta, \rho$ )、面外  $\gamma$  ( $w, \tau$ )、对称  $\delta_s$  与不对称  $\delta_{as}$ 。

### 2. 振动能级的跃迁



(1) 偶极矩  $\mu$ ——衡量分子的极性

$\mu = \delta$  (不变)  $\cdot r$  (变) 单位: 德拜 (D)。如图 3-7,  $\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{HCl}$ , 对称分子  $r=0$ , 振动不引起  $\mu$  的变化。偶极子在交变电场中的作用示意图。

(2) 光的  $\nu$  与基团的振动频率相同——共振——红外吸收。同时伴有转动能级的跃迁, 故 IR 也称振-转光谱。

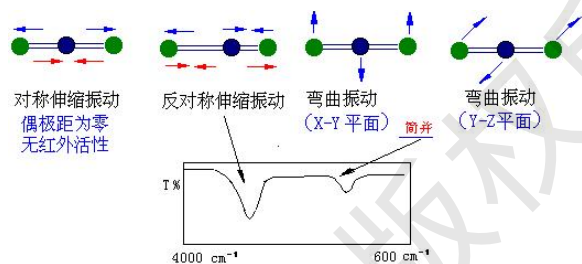
### 3. 产生 IR 的条件

(1) 必要条件 辐射应具有能满足物质产生振动跃迁所需的能量 (即分子振动频率与红外光的频率一定要相等);

(2) 充分条件 辐射与物质间有相互偶合作用 (即瞬间偶极矩变化)。

对称分子: 没有偶极矩, 辐射不能引起共振, 无红外活性。如:  $\text{N}_2$ 、 $\text{O}_2$ 、 $\text{Cl}_2$  等。非对称分子: 有偶极矩, 红外活性。非极性多原子分子:  $\text{O}=\text{C}=\text{O}$ , 对称伸缩无红外活性, 而反对称伸缩有红外活性; 极性多原子分子:  $\text{H}_2\text{O}$ 。.....

## 三、红外吸收光谱与分子结构关系的基本概念



### 1. 红外吸收峰类型——3 类

(1) 基频峰 从  $\nu=0$  跃迁到  $\nu=1$ , 峰强, 位于  $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$ , 中红外区。

(2) 泛频峰 倍频峰——从  $\nu=0$  跃迁到  $\nu=2, 3, \dots$ , 峰弱 (二倍能观察), 多在近红外区, 频率近似于基频两倍或数倍。

合频峰——电磁波能量恰为分子中两个

不同基频跃迁能量之和, 则产生吸收,  $\nu_c = \nu_m + \nu_n$ , 峰很弱。

差频峰——电磁波能量恰为分子中两个基频跃迁能量之差, 产生吸收  $\nu_c = \nu_m - \nu_n$ , 峰极弱。

例如, 图 3-8——取代苯的泛频峰出现在  $2000\sim 1667\text{cm}^{-1}$  的区间, 主要是苯环上面外弯曲振动的倍频峰等构成, 可用于鉴别苯环上的取代基位置, 而且特征性很强。

### (3) 特征峰和相关峰——鉴别与确认

特征峰——易辨认的、有代表性的、鉴定官能团 (或化学键) 存在的吸收峰, 称为特征吸收峰。如  $-\text{C}\equiv\text{N}$  的特征吸收峰在  $2247\text{cm}^{-1}$  处。

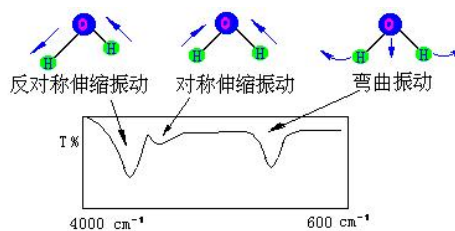
相关峰——由于某个官能团的存在而出现的一组相互依存的特征峰, 用以说明这些特征峰具有依存关系, 并区别于非依存关系的其它特征峰, 如、分子中如有一  $-\text{CH}=\text{CH}_2$  存在, 则在红外光谱图上能明显观测到  $\nu_{as} (= \text{CH}_2)$ 、 $\nu (c=c)$ 、 $\gamma (= \text{CH})$ 、 $\gamma (= \text{CH}_2)$  四个特征峰。用一组相关峰鉴别官能团的存在是个较重要的原则。

### 2. 红外吸收光谱的分区——中红外区分二区——阅读理解

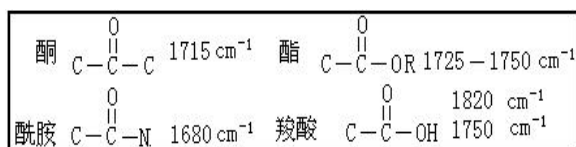
特征谱带区  $4000\sim 1330\text{cm}^{-1}$ ,  $2.5\sim 7.5\mu\text{m}$ 。稀, 易辨, 基团频率区。如  $2800\sim 3000\text{cm}^{-1}$ ,  $-\text{CH}_3$  特征峰;  $1600\sim 1850\text{cm}^{-1}$   $-\text{C}=\text{O}$  特征峰。

指纹区  $1333\sim 667\text{cm}^{-1}$ ,  $7.5\sim 15\mu\text{m}$ 。复杂, 密集, 细微分子结构。

依据基团的振动形式, 表 3-2 为重要的四个吸收区 (八个吸收段):



- (1) 4000~2500cm<sup>-1</sup> X-H 伸缩振动区 (X=O, N, C, S)
- ① -O-H 3650~3200cm<sup>-1</sup>, 确定醇, 酚, 酸。在非极性溶剂中, 浓度较小(稀溶液)时, 峰形尖锐, 强吸收; 当浓度较大时, 发生缔合作用, 峰形较宽。
- ② 饱和碳原子上的-C-H 3000cm<sup>-1</sup>以下
- CH<sub>3</sub> 2960cm<sup>-1</sup>, 反对称伸缩振动; 2870cm<sup>-1</sup>, 对称伸缩振动。  
 -CH<sub>2</sub>- 2930cm<sup>-1</sup>, 反对称伸缩振动; 2850cm<sup>-1</sup>, 对称伸缩振动。  
 -C-H 2890cm<sup>-1</sup>, 弱吸收。
- ③ 不饱和碳原子上的=C-H (≡C-H) 3000cm<sup>-1</sup>以上
- 苯环上的 C-H, 3030cm<sup>-1</sup>; =C-H, 3010~2260cm<sup>-1</sup>; ≡C-H, 3300cm<sup>-1</sup>。
- (2) 2500~1900cm<sup>-1</sup> 三键 (C≡C 和 C=C=C) 和累积双键伸缩振动区
- ① RC≡CH (2100~2140cm<sup>-1</sup>); RC≡CR' (2190~2260cm<sup>-1</sup>), R=R' 时, 无红外活性。  
 ② RC≡N (2100~2140cm<sup>-1</sup>)。非共轭 2240~2260cm<sup>-1</sup>, 共轭 2220~2230cm<sup>-1</sup>。
- (3) 1900~1200cm<sup>-1</sup> 双键伸缩振动区
- ① RC=CR' 1620~1680cm<sup>-1</sup>, 强度弱, R=R' (对称) 时, 无红外活性。  
 ② 单核芳烃的 C=C 键伸缩振动 (1626~1650cm<sup>-1</sup>)  
 苯衍生物在 1650~2000cm<sup>-1</sup>, 出现 C-H 和 C=C 键的面内变形振动的泛频吸收 (强度弱), 可用来判断取代基位置 (图) ——



③ C=O (1850~1600cm<sup>-1</sup>) 碳氧双键的特征峰, 强度大, 峰尖锐。醛, 酮的区分? 基团所处化学环境不同, 特征峰出现位置变化。

- (4) 1200~670cm<sup>-1</sup> X-Y 伸缩, X-H 变形振动区 (<1650cm<sup>-1</sup>)
- C-H, N-H 的变形振动; C-O, C-X 的伸缩振动; C-C 骨架振动等。精细结构的区分。

基团频率区 (官能团区)				指纹区
3750cm <sup>-1</sup> 至 2500cm <sup>-1</sup>	2500cm <sup>-1</sup> 至 2000cm <sup>-1</sup>	2000cm <sup>-1</sup> 至 1500cm <sup>-1</sup>	1500cm <sup>-1</sup> 至 1300cm <sup>-1</sup>	1300cm <sup>-1</sup> 至 650cm <sup>-1</sup>
含氢基团 (ν)	三键及累积 双键 (ν)	双键 (ν)	单键区	
O-H N-H C-H	C=C=C -N=C=C=O 炔基 氰基	C=C 苯基 C=O N=O νsNO <sub>2</sub>	δ C-H (CH <sub>2</sub> ) vasNO <sub>2</sub>	除 X-H 以外的单键 伸缩振动如ν C-C、ν C-O、δ X-H

### 3. 影响基团频率位移 (峰位) 的因素

化学键的力常数  $k$  越大, 原子折合质量越小, 键的振动频率越大, 吸收峰将出现在高波数区 (短波长区); 反之, 出现在低波数区 (高波长区)。

化学键的振动频率不仅与其性质有关, 还受分子的内部结构和外部因素影响。相同基团的特征吸收并不总在一个固定频率上, 而是在一定范围内波动。了解影响峰位变化的因素将有助于推断分子中相邻部分的结构。

(1) 外部因素 物态; 溶剂极性; 样品厚度; 仪器 (分辨率太低、在仪器工作频率之外)。

(2) 内部因素

① 电 (子) 效应

a. 诱导效应 吸电子基团使吸收峰向高频方向移动 (蓝移)

R-COR νC=O 1715cm<sup>-1</sup>; R-COH νC=O 1730cm<sup>-1</sup>。

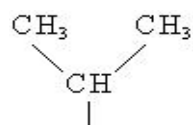
R-COCl νC=O 1800cm<sup>-1</sup>; R-COF νC=O 1920cm<sup>-1</sup>。

F-COF νC=O 1928cm<sup>-1</sup>; R-CONH<sub>2</sub> νC=O 1920cm<sup>-1</sup>。

- b. 共轭效应 使 $\pi$ 电子离域的共轭效应使吸收峰向低频方向移动（红移）  
 c. 偶极场效应

② 氢键效应（分子内氢键；分子间氢键）：对峰位，峰强产生极明显影响，使伸缩振动频率向低波数方向移动。

③ 振动偶合 当相同的两个基团在分子中十分靠近，其相应的特征吸收峰发生分裂形成两个峰。如：



两个甲基振动偶合， $\text{CH}_3$ 上 C-H 弯曲振动  $1380\text{cm}^{-1}$  峰分裂为强度相等的两个峰  $1385\text{cm}^{-1}$ 、 $1375\text{cm}^{-1}$ 。

④ 费米共振：当倍频或组频峰位于某强基频峰附近时，弱的倍（组）频与基频偶合，发生峰的分裂。

例：C-H 弯曲振动  $1380\text{cm}^{-1}$ ，倍频  $2780\text{cm}^{-1}$ ，与 C-H 伸缩振动  $2800\text{cm}^{-1}$  偶合产生  $2820\text{cm}^{-1}$ 、 $-\text{C}-\text{H}2720\text{cm}^{-1}$  双峰。

⑤ 空间效应 场效应；空间位阻；环张力等。

#### 4. 影响吸收峰强度（峰强）的因素

(1) 峰强的表示方法  $\epsilon$  为摩尔吸收系数，是谱带绝对强度的标志。 $\epsilon$  小，易变。分 5 级—— $>200$  VS 很强； $200 > \epsilon > 75$  S 强； $75 > \epsilon > 25$  m 中强； $25 > \epsilon > 5$  W 弱； $5 > \epsilon$  VW 很弱。

(2) 影响  $\epsilon$  的因素——分子跃迁几率；分子  $\mu$ 。

瞬间偶基距变化大，吸收峰强；键两端原子电负性相差越大（极性越大），吸收峰越强。对称性、基团的振动形式（ $\nu_{\text{as}} > \nu_{\text{s}} > \delta$ ）等。

### 四、常见官能团的特征吸收频率——表 3-3 熟悉！记！

[巩固]

了解、熟悉 IR 的产生、特点、机理和表达——阅读与记忆！

[布置作业]

P<sub>120</sub>, 12、13。预习§3-2、3。

## § 3-2 红外吸收光谱仪， § 3-3 实验技术

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 熟悉现代红外光谱仪及其附属设备的使用和日常维护方法； 2. 熟悉固体、液体、气体红外样品的制备技术及相关设备。	1. 了解红外吸收光谱仪的分类、工作流程和结构原理，重点了解傅立叶变换红外光谱仪的工作原理和一般使用方法； 2. 了解红外吸收光谱法的制样技术和分析技术。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 融通学习法 3. 仿真操作演示	
参考资料		

[组织教学]

[复习]

P<sub>120</sub> 习题提问——巩固 IR 基本知识。

引入——色散型和干涉型（付立叶变换红外光谱仪）。

[讲授新课]

## 第三章 红外吸收光谱法（IR）

### § 3-2 红外光谱仪

#### 一、色散型红外吸收光谱仪

1. 工作原理——经典 IR 与 UVS 类似，图 3-9 双光束型。

光路结构：由光源发出的红外光经过一定频率转动的切光器，使它周期地切割成两束光，分别进入试样池和参比池，然后进入单色器。随着切光器的转动，检测器就能交替地接受这二束光。由检测器出来的信号通过交流放大器放大，然后通过自吸系统驱动光楔进行补偿，以达到两束光强度相等。若试样对某一频率红外吸收越多，光楔就越多地遮盖参比光路，以达到参比光强同样减弱，使两光束重新处于平衡。而记录笔与光楔相连，使光楔的变化转化为透射比的改变（ $\tau \sim \nu$ ）。

2. 仪器主要部件——五部分

（1）光源（辐射源）——发射高强度的连续红外光。表 3-4 种类，常用

① 能斯特灯（Nernst）由铈、锆、钍和钇等氧化物烧结而成的长约 2cm，直径约 1mm 的实心或空棒组成。 $\Delta 800^\circ\text{C}$  发光，工作前需要预热。发光后切断电流。工作温度可达 1300~1700 $^\circ\text{C}$ ，其发射的波长范围约为 1~30 $\mu\text{m}$ 。它的寿命为 6 个月至一年，稳定性好。光强大，不需冷水。对短波范围，辐射效率优于硅碳棒，但价格较贵，机械强度较差。

② 硅碳棒 由碳化硅烧结而成的两端粗中间细的实心棒，中间发光。工作温度达 1200~1500 $^\circ\text{C}$ 。对于长波，其辐射效率高于能斯特灯，其使用波长范围比能斯特灯宽，发光面大，坚固，不需预热。缺点是工作时电极接触部分要用冷水冷却。

（2）样品室（池）——样品槽——可插固体薄膜或液体池。附件。

不同的分析对象（液体、气体和固体）应选用相应的样品池。样品池的盐窗材料必须能很好地透过所需波长的辐射。

（3）单色器——狭缝、准直镜和色散元件（棱镜和光栅）排列组合。

作用是把通过吸收池而进入入射狭缝的复合光成为单色光射到检测器上。棱镜主要用于早期仪器中，制作的材料与样品池一样，应能透过红外辐射。为了防止由于金属盐的水溶性而使水汽蚀刻棱镜表面，必须保持棱镜完全干燥，因此对实验环境要求较高。目前多用光栅作色散元件，其最大的优点是：不会受水汽的侵蚀；使用的波长范围宽；在操作范围内，分辨率恒定，而且改进了对长波部分红外辐射的分离。注意要滤光。

狭缝越窄，分辨率越高，但会使光源能量的输出减少，这在红外光谱分析中尤为突出。为了减少长波部分能量的损失，改善检测器的响应，可以采用程序增减狭缝的宽度办法，即随辐射能量减少，狭缝宽度自动增加，使能量在恒定范围内到达检测器。

（4）检测器——主要有三种，另有 TGS、MCT。

① 高真空热电偶 密封，普遍。它利用不同导体构成回路时的温差现象，将温差转变成电位差，产生与光强对应的电流。

② 测热辐射计 少。热感元件作为电桥一臂，光→电阻。

③ 气体检测器——高莱池，图 3-10。软镜膜凸出度~光电流，不适于扫描。

（5）放大器及记录机械装置  $10^{-9}\text{V}$ →放大，以带动光楔和记录笔的伺服电机绘出红外光谱图。

简易型→精密型（自动更换、光谱更宽、分辨率更宽）。

#### 二、傅立叶变换红外吸收光谱仪（FTIR） 第三代

1. 工作原理

干涉型红外光谱仪是利用干涉方法，并经过傅里叶变换而获得红外光谱的仪器，又称 FTIR。图 3-11，双光道单光束——复杂。

由光源发出的红外光进入干涉仪后被分为两束光，这两束光到达检测器时具有光程差，它们产生光的相干作用，于是得到光的干涉图。如果在光路中放置样品，则得到带有样品信息的干涉图。须利用数学上傅里叶函数变换，对不同频率的光强进行计算，由仪器中计算机来完成，才可以得透射比随频率变化的普通红外光谱图。

## 2. 仪器主要部件

(1) 光源、样品室(同上)

(2) 迈克尔逊干涉仪——核心。结构一定，图 3-12，BS(分束器)，表 3-6，贵→干涉光→干涉图。

(3) 检测器 分为热(DTGS、LiTaO<sub>3</sub>)和光(MCT、铟化钢)两类。

(4) 记录系统 红外工作软件，国内外。

## 3. FTIR 的优点——P<sub>125</sub>

具有极高的分辨率(最高达 0.005~0.1cm<sup>-1</sup>)；极高的灵敏度(与色散型红外光谱仪相比，其光通量高 50 倍左右，信噪比高 30 倍左右)；极高的出谱范围(10000~10cm<sup>-1</sup>)；极快的扫描速度(测绘 1 张全程光谱图只需数秒钟，从而实现了红外光谱和高效液相色谱的联用)。广泛应用，重要仪器。

## 三、常见红外吸收光谱仪的使用及日常维护

自动化-PE SPX1 FTIR-恒温、恒湿、防尘、小心——读……………

### § 3-3 实验技术

#### 一、红外试样的制备

1. 制备试样的要求——样品纯；干燥；窗口材料为 NaCl 或 KBr 晶体。

样品的制备及处理占有重要地位，如果样品处理不当，即使仪器性能再好，也不能得到令人满意的红外吸收光谱图。

(1) 样品应是单一组分的纯物质(纯度大于 98%)，否则会因杂质光谱干扰而引起光谱解析时“误诊”，也不便与标准光谱图对照。多组分样应分离提纯。

(2) 样品应不含水份，包括游离水和结晶水。因为水不仅会腐蚀吸收池盐窗，还会干扰样品分子中羟基的测定。

(3) 样品的浓度和测试厚度应适宜。一般使红外谱图中大多数吸收峰透射比处于 10~80% 范围为宜。样品太稀、太薄会使弱峰或光谱细微部分消失，但太浓、太厚会使强峰超出标尺。

#### 2. 样品的制备方法

(1) 固体试样 5 法。一般常用三种方法(压片法、糊状法及薄膜法)。

① (KBr) 压片法 1~2mg 固体样品放在玛瑙研钵中研细，加入 100~200mg 磨细干燥的碱金属卤化物(多用 KBr)粉末，混均匀后，加入压模内，在压片机上加压，制成厚约 1mm，直径约 10mm 左右的透明片子，然后进行测谱。压片机如图 3-16，防损伤压舌(光洁度高)；压片过程操作(读)。

② 石蜡糊(糊状)法 将固样研细，与糊剂(如液体石蜡油)混合成糊状，然后夹在两窗片之间进行测谱。石蜡油是一精制过的长链烷烃，具有较大的粘度和较高的折射率。用石蜡油做糊剂不能用来测定饱和碳氢键的吸收情况。此时可以用六氯丁二烯代替石蜡油做糊剂。

③ 薄膜法 把固体样品制成薄膜来测定。薄膜的制备有两种方法：一种是将样品熔融后直接涂在盐片上。这种方法适用于熔点低、熔融时不分解、不升华，没有其它化学变化的物质。另一种是先把样品溶于挥发性溶剂中制成溶液，然后涂在盐片上，待溶剂挥发后，样品遗留在盐片上而形成薄膜，大多数聚合物样品可这样处理。

④ 熔融成膜法(mp 低) ⑤ 漫反射法(衰减全反射法) 不稳定。

#### (2) 液体试样(3 法)

① 液膜法(夹片法) 低沸点样品可采用固定池，一般常用可拆卸池，即将样品直接滴于两块盐片之间，形成液体毛细薄膜进行测谱。

② 液体池 图 3-17，7 部分，间隔片 0.01~2mm。对于某些吸收很强的液体试样，需用溶剂配成浓度较低的溶液再滴入液体池中测谱。

装样和清洗方法——倾斜 30°，下孔注入；溶剂；干燥空气；烘烤。

液体池厚度的测定——均匀的干涉条纹数目——空池扫描，计算…

③ 溶液法 常用 CS<sub>2</sub>、CCl<sub>4</sub>、CHCl<sub>3</sub> 溶解 l、s 样→固体池中，适于定量分析。注意溶剂对溶质应有较大的溶解度，溶剂在较大波长范围内无吸收，不腐蚀液体池的盐片，对溶质不发生反应，无强溶剂效应等。

(3) 气体试样——图 3-19 气体池（玻璃气槽）。

在样品导入前先抽真空，样品池的窗口多用抛光的 NaCl 或 KBr 晶片。常用的样品池长 5cm 或 10cm，容积为 50~150mL。由于水蒸气在中红外区有强的吸收峰，所以，气体池一定要干燥。样品测完后，用干燥的氮气流冲洗。

(4) 聚合物样品——物态、性质——7 类选择 P<sub>131</sub>。

## 二、载体材料的选择

中红外区（4000~400cm<sup>-1</sup>）用 NaCl、KBr，置干燥器内，防吸水，湿度小的环境；脆，贵。含水样品用 KRS-5 窗片、ZnSe、CaF<sub>2</sub>。

## 三、红外光谱分析技术简介

1. 镜面反射技术 收集平整、光洁的固体表面的光谱信息。K-K 变换。

2. 漫反射光谱技术 收集高散射样品的的光谱信息。粉末状样品，DR-KM 转换。

3. 衰减全反射光谱技术（ATR） 收集材料表面的光谱信息。普通 IR 不能测的厚度 > 0.1mm 的橡、塑、高聚物等样品。MIR 校正。

[巩固]

了解 IR 仪的分类、组成与特点；制样实验技术、要求与方法！

[布置作业] P<sub>128</sub>, 13; P<sub>132</sub>, 9。预习§3-4。

## § 3-4 红外光谱法的应用

	能力（技能）目标	知识目标
教学目标	1. 初步掌握解析红外谱图的定性方法，能获得各官能团的基本信息，进而推导未知物的可能结构。 2. 能运用常用的红外光谱定量方法进行待测物质的含量测定。	1. 了解红外光谱法定性分析的一般步骤和按基团顺序解析红外吸收光谱的方法； 2. 了解红外光谱法定量分析的基本原理及定量分析方法。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 融通学习法 3. 练习法	
参考资料		

[组织教学]

[复习]

P<sub>132</sub> 习题提问——巩固 IR 仪的结构原理——特殊处理实验技术。

[讲授新课]

### 第三章 红外吸收光谱法 (IR)

#### § 3-4 红外光谱法的应用

##### 一、定性分析

分为官能团定性(特征基团频率→类别)和结构分析(结合其它实验资料→化学结构式)。采用对照定性法。

IR 是鉴定有机物结构的重要手段之一,但不能过分强调 IR 在结构分析中的作用,因为单单依靠 IR 准确确定化合物的机会很少。有时,有经验的化学工作者根据化合物的气味比利用 IR 更容易推测化合物的结构。例如,从质谱或作钠熔实验确定有机物存在卤素比用 IR 更可靠。

##### 1. 定性分析的一般步骤(4步)

- (1) 试样的分离和精制→单一的纯物质
- (2) 收集未知试样的有关资料和数据——来源、元素分析、Mr、分子式、...
- (3) 确定未知物的不饱和度(U或Ω)

① 分子的不饱和度定义——指分子结构中达到饱和所缺一价元素的“对”数。如,乙烯变成饱和烷烃需要两个氢原子, U=1。

② 计算 若分子中仅含一,二,三,四价元素(H, O, N, C), 则可按下式计算 U:

$$\Omega = (2 + 2n_4 + n_3 - n_1) / 2$$

$n_4, n_3, n_1$  分别为分子中四价, 三价, 一价元素数目。

若有 N、P、S 等高价原子则:  $\Omega = 1 + n_4 + 2n_6 + (n_3 + 3n_5 - n_1) / 2$



③ 作用 由分子的 U 可以推断分子中含有双键和饱和环状结构(U=1), 三键(U=2), 环, 芳环(U=4)的数目, 验证谱图解析的正确性。

例:  $C_9H_8O_2$   $\Omega = (2 + 2 \times 9 - 8) / 2 = 6$

(4) 谱图解析——特征峰和相关峰。其程序有

① 按吸收峰强度顺序解析, 再用相关峰等资料验证。

4000	2500	2000	1800	1650	1500	650 波数
O-H	C-H	C=C	C=O	C=N	C-Cl	
N-H		C≡N			C-O	
		X=C-Y		C=C	C-N	
				N-O	N-O	
2.5	4	5	5.5	6.1	6.5	15.4 波长

② 按基团顺序解析  
C=O、O—H、C—O、C=C  
(芳环)、C≡N、—  
NO<sub>2</sub>—。再注意细节、相  
关峰及峰位变化。P<sub>134</sub>...

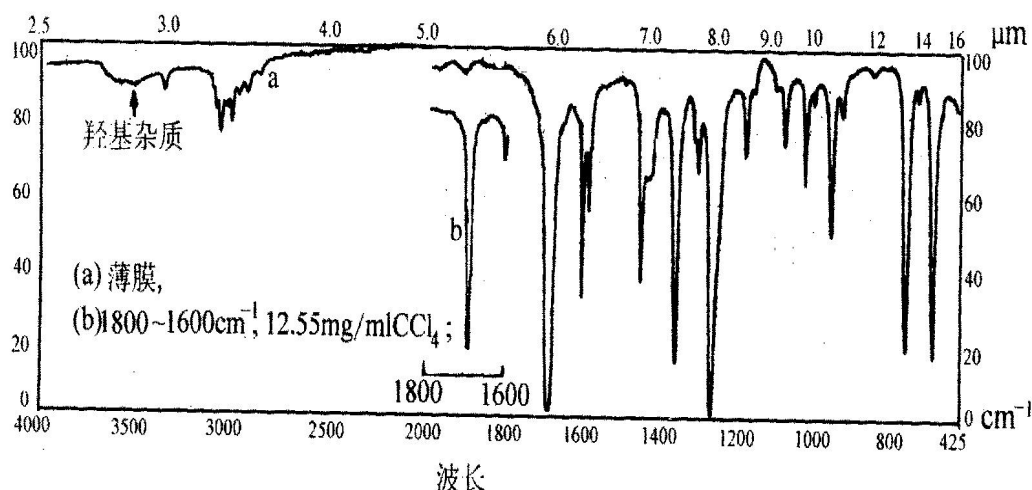
(5) 排除杂峰、溶  
剂峰  
H<sub>2</sub>O 3700cm<sup>-1</sup> (溶  
剂中); 3450~3330cm<sup>-1</sup>

(样品或 KBr 中); 2000~1280cm<sup>-1</sup> (大气中)。CO<sub>2</sub> 2345cm<sup>-1</sup>、667cm<sup>-1</sup>。KBr 1100cm<sup>-1</sup>。

2. 标准谱图的使用——无已知纯品的化合物时, 对照 3 种谱图。

Sadtler (最多, 150000 标准光谱和商品光谱)、DMS、ALDRICH。

3. 红外光谱图的解析示例——例 3-1~3, 读、理解和指导.....



某无色液体，其分子式为  $C_8H_8O$ ，红外光谱如图所示，试指出其结构。

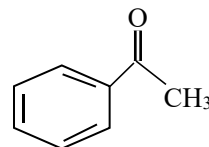
$$\Omega = n_4 + 1 + \frac{n_3 - n_1}{2} = 8 + 1 - \frac{8}{2} = 5$$

解：(1) 该化合物的不饱和度为：

(2) 从红外光谱上得到如下信息：

$cm^{-1}$	基团的振动类型	对应的结构单元	不饱和度	化学式
3100~3000	不饱和的 $\nu_{C-H}$		4	$C_6H_5$
1600	芳香环的 $\nu_{C=C}$			
1580				
1450				
760				
690				
1695	共轭酮羰基的 $\nu_{C=O}$	$R-CO-R$	1	CO
3000~2900	饱和碳氢键上的 $\nu_{C-H}$	-CH <sub>3</sub>	0	CH <sub>3</sub>
1360	-CH <sub>3</sub> 上的 $\delta_{C-H}$			

(3) 从上述信息，可以得知该化合物为苯乙酮：



#### 4. 解析红外光谱注意事项

(1) 从高频开始解析，预测试样分子中可能存在的基团，然后用指纹区吸收带进一步确证。

(2) 不要期望去解析谱图中的每一个吸收带，因为一般有机化合物谱图吸收带中仅有20%属于定域振动，仅对这部分吸收峰才能作出完全的归属。

(3) 要更多的信赖否定证据，即在某一特殊区域里吸收带不存在的信息比吸收带存在的信息更有价值，因为任一吸收带的产生，有时会有几种可能的起源。

(4) 反复核对谱图中符合某一结构的证据，预测某一取代基团可能会引起振动吸收向高波数或低波数移动的大概范围，一般报导的基团振动频率区间常常考虑到电子效应影响的极端情况，若无电子效应影响时，化合物基团的振动频率值可预测在文献或手册中引征的波数范围中间数据。

(5) 处理谱图的谱带强度时要倍加小心，特别是把在烃类化合物的数据运用于强极性

化合物中时更要慎重。

(6) 研究不同制样技术得到的两张谱图之间的任何一点变化,特别是聚集态(固态或纯液态)在非极性溶剂和稀溶液之间的差别,这些差别揭示了缔合效应,由此可识别出分子内或分子间氢键。通常,缔合效应能引起基团伸缩振动频率降低而变形振动频率升高,并使吸收峰峰形明显加宽。

(7) 怀疑试样中存在有杂质时,谱图中有许多中等强度吸收带或具有肩峰的强带,用适当方法纯化,再制谱,以至得到恒定不变的谱图。

(8) 在用溶液法作谱时,要识别因不合适的吸收池长度造成的死区。

(9) 核对仪器频率的标准化偏差,并作必要的校正。

(10) 扣除样品介质(溶剂)或溴化钾压片吸潮产生的干扰吸收带。

## 二、定量分析

1. IR 定量分析基本原理 同 UVS,  $A \sim c \rightarrow$  吸收峰尖处 A

(1) 峰高法  $\lambda (\lambda_{\max}) \rightarrow$  同一吸收池(样品、溶剂)  $\Delta \tau \rightarrow A$ , 误差大。

(2) 基线法 直线表示分析峰不存在时的背景吸收线——100%

$$A = \lg \frac{\tau_0}{\tau}$$

画基线方法: 图 3-26——读 3 法, 一般用水平基线可保证分析准确度。

2. 定量分析测量和操作条件的选择

(1) 定量谱带的选择 孤立、s、无干扰、避免  $H_2O$ 、 $CO_2$  峰位。

(2) 溶剂的选择 溶样、不反应、不吸收——差谱技术。

(3) 选择合适的透射区域 20%~65%

(4) 测量条件的选择 FTIR 室温恒定,性能检查,背景检测。

3. IR 定量分析方法(4法)

(1) 工作曲线法 同 UVS(同厚度的液体吸收池)

(2) 比例法 厚度不定,不易测准时。适于高分子物质。

主要分析二元混合物中二组分的相对含量,若定量谱带不重叠,

$$R = \frac{A_1}{A_2} = \frac{a_1 b c_1}{a_2 b c_2} = \frac{a_1 c_1}{a_2 c_2} = K \frac{c_1}{c_2}, c_1 + c_2 = 1 \Rightarrow c_1 = \frac{R}{K+R}; c_2 = \frac{K}{K+R}$$

K 由标样测得。

(3) 内标法 KBr 压片、糊状法或液膜法的 b 不定。比例法特例——

$$A_s = a_s b_s c_s, A_r = a_r b_r c_r \Rightarrow \frac{A_s}{A_r} = \frac{a_s c_s}{a_r c_r} = K c_s$$

取一定量标准物质+样品,

$$\frac{A_s}{A_r} \sim c_s$$

工作曲线法。r 有  $Pb(SCN)_2 \dots$

(4) 差示法 测定样品中微量杂质。

### [巩固]

重点应用——谱图解析;与 UVS 比较定量分析特点。

### [布置作业]

P<sub>138</sub>, 8、13。预习。实验 P<sub>141</sub>——苯甲酸的红外吸收光谱测定(压片法)或 P<sub>143</sub>——二甲苯的红外吸收光谱谱图比较。

## § 4-1、2 原子吸收光谱法概述及基本原理

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 掌握原子吸收光谱法的基本原理,能运用原子吸收值与待测元素浓度的定量关系。	1. 了解原子吸收光谱法的产生、分析过程、特点和应用范围。 2. 理解基态和激发态、共振吸收线和共振发射线的概念,了解原子吸收光谱轮廓和变宽因素。
能力训练方式方法	1. 讲述与启发提问法 2. 融通学习法 3. 仿真操作演示	
参考资料	1. 中华人民共和国国家标准 GB9724-88, GB9775-88, GB11076-89, GB/T14666-93 2. 陈培榕、邓勃主编, 现代仪器分析实验与技术, 北京: 清华大学出版社, 1999 3. 梁述忠主编, 仪器分析, 北京: 化学工业出版社, 1998 4. 刘珍主编, 化验员读本, 北京: 化学工业出版社, 1998	

[组织教学]

[引入]

1. 提问: 仪器分析的分类?
2. 吸收光谱法——UVS、AAS—— $A = \epsilon bc$ ——元素分析。

[讲授新课]

## 第四章 原子吸收光谱法 (AAS)

## § 4-1 概述

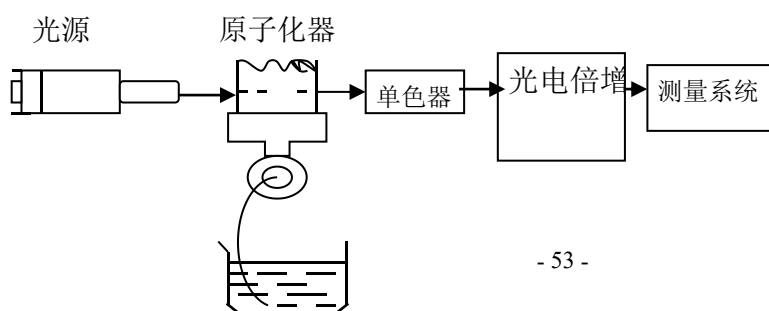
## 一、原子吸收光谱的发现和发

1. AAS 定义 当光源发出的特定辐射(通常是待测元素的特征谱线)通过待测元素的原子蒸气时,会被蒸气相中待测元素的基态原子所吸收,测量吸收的程度可进行元素定量分析。

2. 1859 年基尔霍夫解释太阳光谱中暗线而发现→1955, A.Walsh 发表论文→仪器→应用, 快速发展。

## 二、AAS 分析过程——图 4-1

## 1. 描述



2. AAS 与 UVS 的基本原理相同,但在吸光物质的状态(基态原子蒸气、分子或离子)和光谱外貌(线状、带状)是不同的。

### 三、AAS 特点

1. 灵敏度高 绝对检出极限达  $10^{-6}$  (FAAS),  $10^{-10}\sim 10^{-14}$  (GFAAS) g;
2. 准确度高 相对误差  $< 1\%$ , 3~5%;
3. 选择性好、简便、分析速度快;
4. 用途广泛 能测定 70 多种金属元素, 间接测定非金属元素和有机物。
5. 样品用量少 GFAAS 仅需  $1\sim 50\ \mu\text{L}$ ,  $0.1\sim 10\text{mg}$ 。

局限性: 测定每种元素均需更换相应的光源灯, 不利于同时进行多元素的分析; 对特征谱线处于远紫外区的元素测定有困难, 对某些元素 (如钷、钆、钇、镧等) 的测定, 灵敏度较低; 对于成分复杂的试样, 干扰很严重。

## § 4-2 基本原理

### 一、共振线和吸收线——元素的特征谱线

#### 1. 原子的能级与跃迁

基态→第一激发态, 吸收一定频率的辐射能量, 产生共振吸收线 (简称共振线) ——吸收光谱;

激发态→基态, 发射出一定频率的辐射, 产生共振发射线 (也简称共振线) ——发射光谱。

#### 2. 元素的特征谱线

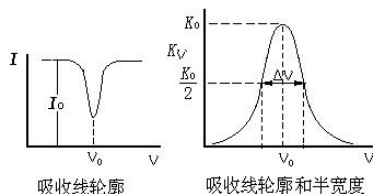
(1) 各种元素的原子结构和外层电子排布不同, 跃迁吸收能量不同, 具有特征性, 特征谱线。

(2) 各种元素的基态→第一激发态跃迁最易发生, 吸收最强, 最灵敏线。

(3) 利用特征谱线可以进行定量分析, 分析线。阅读理解……………

### 二、谱线轮廓与谱线变宽

#### 1. 吸收峰形状——图 4-2



原子结构比分子结构简单, 理论上应产生线状光谱吸收线, 实际上用特征吸收频率左右的辐射光照射时, 获得一峰形吸收, 具有一定宽度。

由  $I_t = I_0 e^{-K\nu b}$ , 透射光强度  $I_t$  和吸收系数  $K\nu$  与辐射频率  $\nu$  有关,  $K\nu$  是  $\nu$  的函数。

表征吸收线轮廓 (峰) 的参数:

(1) 中心频率  $\nu_0$  (峰值频率) 或中心波长  $\lambda$  (nm) 峰值吸收系数  $K_0$  对应的频率或波长。

(2) 半宽度  $\Delta\nu$ ,  $10^{-3}\sim 10^{-2}\text{nm}$ 。钨丝灯光源和氘灯, 经分光后, 光谱通带  $0.2\text{nm}$ 。

#### 2. 吸收峰变宽原因——原子本性和外界因素→ $\Delta\nu$ , $K_0$

(1) 照射光具有一定的宽度 (自然宽度)  $\Delta\nu_N$  没有外界影响, 谱线仍有一定的宽度。与激发态原子的平均寿命 ( $10^{-8}\sim 10^{-5}\text{s}$ ) 有关, 平均寿命越长, 谱线宽度越窄。不同谱线有不同的自然宽度, 多数情况下约为  $10^{-5}\text{nm}$ 。

(2) 多普勒变宽 (热、温度变宽)  $\Delta\nu_D$  由于辐射原子处于无规则的热运动状态, 因此, 辐射原子可以看作运动的波源。这一不规则的热运动与观测器两者间形成相对位移运动, 从而发生多普勒效应, 使谱线变宽。一般可达  $10^{-3}\text{nm}$ , 是谱线变宽的主要因素。

(3) 压力变宽 由于辐射原子与其它粒子 (分子、原子、离子和电子等) 间的相互作用而产生的谱线变宽, 通常随压力增大而增大。

凡是同种粒子碰撞引起的变宽叫 Holtzmark (赫尔兹马克, 碰撞变宽) 变宽; 凡是由异种粒子引起的变宽叫 Lorentz (劳伦兹) 变宽。

Stark 变宽 (场变宽)、Zeeman 变宽 (磁场影响): 在外电场或磁场作用下, 能引起能级的分裂, 从而导致谱线变宽, 这种变宽称为场致变宽。

### 三、原子蒸气中基态与激发态原子的分配

讨论基态原子数  $N_0$  与原子化温度的关系——原子吸收光谱是利用待测元素的原子蒸气中基态原子与共振线吸收之间的关系来测定的。需要考虑原子化过程中, 原子蒸气中基态原子与待测元素原子总数之间的定量关系。

在通常的原子吸收测定条件下, 原子蒸气中  $N_0$  近似等于总原子数。在原子蒸气中 (包

括被测元素原子), 可能会有基态与激发态存在。根据热力学的原理, 在一定温度下达到热平衡时, 基态与激发态的原子数的比例遵循 Boltzman 分布定律:  $N_j/N_0 = g_j/g_0 \exp(-E_j/kT)$

从上式可知, 温度越高,  $N_j/N_0$  越大, 即激发态原子数随温度升高而增加, 而且按指数关系变化; 在相同温度条件下, 激发能越小, 吸收线波长越长,  $N_j/N_0$  越大。尽管如此, 但是在原子吸收光谱中, 原子化温度一般小于 3000K, 大多数元素的最强共振线都低于 600nm,  $N_j/N_0$  绝大部分在  $10^{-3}$  以下, 小于 1%,  $N_j$  可以忽略。因此,  $N_0$  可以近似等于总原子数  $N$ 。

#### 四、原子吸收值与待测元素浓度的定量关系

##### 1. 积分吸收和峰值吸收

###### (1) 积分吸收

在吸收线轮廓内, 吸收系数的积分, 表示吸收的全部能量。从理论上可以得出, 积分吸

收与原子蒸气中吸收辐射的原子数成正比, 数学表达式为:

$$\int_{-\infty}^{+\infty} K_\nu d\nu = \frac{\pi e^2}{mc} N_0$$

这是原子吸收光谱分析法的重要理论依据。若能测定积分吸收, 则可求出原子浓度。但是, 测定谱线宽度仅为  $10^{-3}\text{nm}$  的积分吸收, 需要分辨率非常高的色散仪器。

###### (2) 峰值吸收

目前, 一般采用测量峰值吸收系数  $K_0$  的方法代替测量积分吸收系数。如果采用发射线半宽度比吸收线半宽度小得多的锐线光源, 并且发射线的中心与吸收线中心一致, 如图 4-3。这样就不需要用高分辨率的单色器, 而只要将其与其它谱线分离, 就能测出  $K_0$ 。

在一般的原子吸收测量条件下, 原子吸收轮廓取决于 Doppler 宽度, 通过运算可得  $K_0 = 2/\Delta\nu_D(\ln 2/\pi)^{1/2} \pi e^2 N_0 f/mc$ 。可知,  $K_0$  与原子浓度成正比, 只要能测出  $K_0$ , 就可得出  $N_0$ 。

以上是 1955 年, A.Walsh 解决的问题。

###### (3) 锐线光源 如空心阴极灯。

在使用锐线光源时, 光源发射线半宽度很小, 并且发射线与吸收线的中心频率一致。这时发射线的轮廓可看作一个很窄的矩形, 即峰值吸收系数  $K_0$  在此轮廓内不随频率而改变, 吸收只限于发射线轮廓内。这样, 一定的  $K_0$  即可测出一定的原子浓度。

##### 2. 定量基础 图 4-4

朗伯-比耳定律:  $I=I_0e^{-K_\nu b}$ ,

当使用锐线光源时, 可用  $K_0$  代替  $K_\nu$ , 则:  $I=I_0e^{-K_0 b}$ ,

又,  $A=\lg I_0/I$ , 所以,  $A=0.434K_0 b$  ( $b$  为火焰缝长),

稳定实验条件下:  $N_0 \propto N \propto c$ , 所以:  $A=K' c$ 。

#### [巩固]

1. 讨论 AAS 与 UVS 的区别与联系。
2. 理解共振线、峰值吸收和定量依据。

#### [布置作业]

P<sub>150</sub>, 2; P<sub>154</sub>, 5。预习§4-3。

### § 4-3 原子吸收分光光度计

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 学会常用单道单光束原子吸收光谱仪的使用方法、日常维护保养方法和安全防护。	1. 掌握原子吸收分光光度计的基本组成, 理解空心阴极灯、火焰原子化器、分光系统和检测系统的工作原理和工作条件。 2. 了解常用原子吸收分光光度计的类型、主要性能和一般使用维护方法。

能力	
训练	1. 融通学习法
方式	2. 仿真操作演示
方法	3. 讨论法
参考	
资料	

[组织教学]

[复习]

1. 提问：AAS 定义，AAS 与 UVS 的区别，测量原理？
2. 分析流程——

[讲授新课]

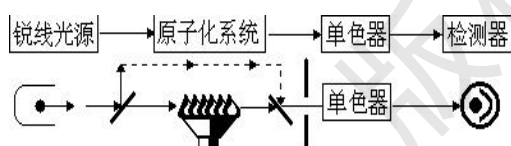
## 第四章 原子吸收光谱法 (AAS)

### § 4-3 原子吸收分光光度计

#### 一、原子吸收光谱仪的主要部件——图 4-5

流程——四部分——

原子吸收分光光度计与紫外可见分光光度计的不同：



(1) 锐线光源；

(2) 分光系统在火焰与检测器之间，吸收之后。

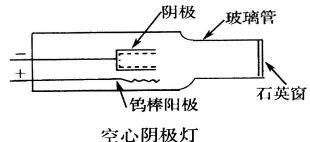
1. 光源

作用：提供待测元素的特征光谱，获得较高的灵敏度和准确度。

的灵敏度和准确度。

要求：能发射待测元素的共振线；能发射锐线；辐射光强度大，稳定性好。

(1) 空心阴极灯——使用最广的元素灯



① 结构——如图 4-6

② 工作原理 施加适当电压时，电子将从空心阴极内壁流向阳极；与充入的惰性气体碰撞而使之电离，产生正电荷，其在电场作用下，向阴极内壁猛烈轰击；使阴极表面的金属原子溅射出来，溅射出来的金属原子再与电子、惰性气体原子及离子发生碰撞而被激发，于是阴极内辉光中便出现了阴极物质和内充惰性气体的光谱。用不同待测元素作阴极材料，可制成相应空心阴极灯（单、多）。

③ 空心阴极灯的辐射强度与灯的工作电流有关。脉冲供电方式。

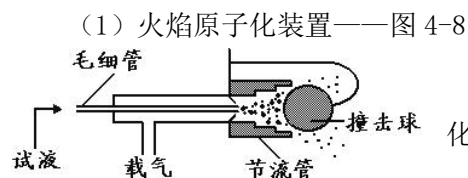
④ 优缺点和使用注意事项 辐射光强度大，稳定，谱线窄，灯容易更换；每测一种元素需更换相应的灯。P<sub>170</sub>，维护。

(2) 无极放电灯 图 4-7，微波激发，发射强度比空心阴极灯大 100~1000 倍，适于难激发的 As、Se、Sn 等测定，18 种。

2. 原子化系统——关键

作用：将试样中元素转变成原子蒸气。

原子化方法：火焰法与无火焰法（电热高温石墨管，氢化物原子化法）。



① 组成

雾化器：将试液雾化，目前较好的是同心气动型雾化器，其雾化效率为 10~30%。负压原理。

预混合室（雾化室）：进一步细化雾滴，并使之与燃料气均匀混合后进入火焰。要求“记忆效应”小，废液排出管要加以水封，防止回火！

燃烧器：形成火焰，使试样气化而解离，一般用 SS，长狭缝型。燃烧器高度（观测高度）的选择目的是使来自空心阴极灯的光束通过自由原子浓度最大的火焰区。

② 火焰种类及气源设备——表 4-2

常见火焰类型	最高温度/K	用途
空气-乙炔	2600	用途最广，可用于 35 种以上元素测定，但对于 Al、Ta、Ti、Zr 等不宜使用
N <sub>2</sub> O-乙炔	3300	可形成强还原气氛，能用于 Al、B、Be、Ti、W、V、Ta、Zr、Si 等元素测定，其安全性须注意

乙炔钢瓶使用注意，乙炔管道禁止使用铜材；N<sub>2</sub>O 有毒易爆，点燃和熄灭应采用过渡法；Air……

③ 火焰原子化过程 图 4-11，试样雾滴在火焰中，经蒸发，干燥，离解（还原）等过程产生大量基态原子，复杂，需控制测量条件。

④ 特点：简便、重现、灵敏度较高，应用广。主要缺点：雾化效率和原子化效率低，不能直接分析固体样品。阅读理解……

(2) 石墨炉原子化装置简介——图 4-12

① 结构 外气路中 Ar 气体沿石墨管外壁流动，冷却保护石墨管；内气路中 Ar 气体由管两端流向管中心，从中心孔流出，用来保护原子不被氧化，同时排除干燥和灰化过程中产生的蒸汽。

② 原子化过程 分为干燥、灰化（去除基体）、原子化、净化（去除残渣）四个阶段，待测元素在高温下生成基态原子。

③ 特点 优点：原子化程度高，试样用量少（1~100 $\mu$ L），可直接测固体及粘稠试样，灵敏度高（试样完全利用），检测极限 10<sup>-12</sup>g，适于难熔元素测定。

缺点：精密度差（试样组成不均匀），测定速度慢，干扰和背景大（需校正），操作不够简便，装置复杂。

(3) 低温（化学）原子化法简介 其原子化温度为室温至摄氏数百度。

① 汞低温原子化法 汞在室温下，有一定的蒸气压，沸点为 357 $^{\circ}$ C。只要对试样进行化学预处理还原（SnCl<sub>2</sub>）出汞原子，由载气（Ar 或 N<sub>2</sub>）将汞蒸气送入吸收池内测定。

② 氢化物原子化法 适用于 Ge、Sn、Pb、As、Sb、Bi、Se 和 Te 等元素。在一定的酸度下，将被测元素还原成极易挥发与分解的氢化物，如 AsH<sub>3</sub>、SnH<sub>4</sub>、BiH<sub>3</sub> 等。这些氢化物经载气送入石英管后，进行原子化与测定。

3. 单色器——将待测元素的共振线与邻近线分开，用狭缝调节，并有一定的集光本领。

(1) 组件 色散元件（棱镜、光栅），凹凸镜、入射或出射狭缝等。

(2) 单色器性能参数

① 线色散率（D） 两条谱线间的距离与波长差的比值  $\Delta X/\Delta\lambda$ ，实际工作中常用其倒数  $\Delta\lambda/\Delta X$ （nm/mm）。

② 分辨率 仪器分开相邻两条谱线的能力。用该两条谱线的平均波长与其波长差的比值  $\lambda/\Delta\lambda$  表示。

③ 通带宽度（W） 指通过单色器出射狭缝的某标称波长处的辐射范围。当倒线色散率（D）一定时，可通过选择狭缝宽度（S，mm）来确定， $W=D \times S$ 。

4. 检测系统——类似 UVS

(1) 检测器——光电倍增管（190~800nm）的结构和原理如下：

分光后的光照射到光敏阴极 K 上，轰击出的光电子又射向光敏阴极 1，轰击出更多的光电子，依次倍增，在最后放出的光电子比最初多到 10<sup>6</sup> 倍以上，最大电流可达 10 $\mu$ A，电流

经负载电阻转变为电压信号送入放大器。其重要特性是光谱灵敏度和暗电流，要注意“疲劳现象”。

(2) 放大器 将光电倍增管输出的较弱信号，经电子线路进一步放大。采用交流选频、相敏放大。

(3) 对数变换器 光强度与吸光度之间的转换。

(4) 显示、记录 CRT。

## 二、AAS 的类型和主要性能——类似 UVS

1. 单光束型和双光束型 如国产 WFD、WYX、361 等；国产 320、TAS990 等。

2. 双道单光束和双道双光束 同时测定二元素，可扣除背景；复杂。

## 三、AAS 的使用和维护保养——示教和实训

1. 以 TAS990 型原子吸收分光光度计为例

主要功能和技术参数；火焰法使用方法。

2. 火焰原子吸收分光光度计工作软件的使用方法——读 P<sub>164</sub>

实训——灯的安装；原子吸收光谱仪的使用

3. 使用方法举例——指导书

火焰点燃与熄灭——空气-乙炔火焰操作→检查燃烧器和废液排放管是否安装妥当→开启排风装置电源开关，进行室内排风→接通空气压缩机电源，将输出压力调至 0.3MPa→接通气路电源总开关和“助燃气”开关，调节助燃气稳压阀，使压力表指示为 0.2MPa→打开乙炔钢瓶总阀，调节乙炔钢瓶减压阀使乙炔表指示为 0.05MPa→按下点火钮（约 4s）左右，使点火喷嘴喷出火焰将燃烧器点燃→调节乙炔气流量选择合适的分析火焰→测量完成后，吸喷几分钟蒸馏水→然后关闭乙炔钢瓶总阀使火焰熄灭，待压力表指针回到零时再旋松针形阀→关闭助燃气和气路电源总开关→关闭空气压缩机电源并释放剩余气体→最后关闭排风装置电源。

4. 维护 读 P<sub>170</sub>——总结如下

(1) 使用人员必须详细阅读仪器的使用说明书，严格按操作规程进行仪器的安装、调试、操作和维护；

(2) 保证用电、用气的经常检查和安全防护；

(3) 定期进行仪器的性能指标检验，发现问题及时维修、处理；

(4) 做好大型精密仪器的管理工作。

### [巩固]

1. 讨论 AAS 与 UVS 仪器结构原理的区别与联系。

2. 理解光源和原子化器。

### [布置作业]

P<sub>173</sub>, 2、3。预习§4-4（上）；原子吸收分光光度计典型流程及安全防护的演示教学（4p）；实验 4.6.1-原子吸收分光光度计的基本操作-空心阴极灯的安装和火焰原子吸收法最佳实验条件的选择（P<sub>195</sub>, 6p）。指导书，分组轮换。

## § 4-4-1 原子吸收光谱分析实验技术（上）

	能力（技能）目标	知识目标
教学 目标	1. 学会原子吸收光谱分析的制样和标样配制操作及其规范； 2. 学会选择常用原子吸收光谱仪的分析线、灯电流、燃助比、燃烧器高度、狭缝宽度等测量条件。	1. 掌握原子吸收光谱分析的最佳实验条件的选择方法和注意事项。 2. 了解物理干扰、化学干扰、光谱干扰、电离干扰等的产生、影响和消除方法。

能力	
训练	1. 融通学习法
方式	2. 图片展示法
方法	3. 讨论法
参考	
资料	

[组织教学]

[复习]

1. 实理解仪器结构原理和分析流程；2. AAS 实验技术——专业技能。

[讲授新课]

## 第四章 原子吸收光谱法 (AAS)

### § 4-4-1 原子吸收光谱分析实验技术 (上)

#### 一、试样的制备 (简介)

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

2. 样品的预处理——与化学分析要求相同

(1) 样品溶解 水、酸、熔融法。

(2) 样品的灰化 (消化) 除去有机物基体。

① 干法灰化 高温、氧化，不适于易挥发元素 (加氧化剂，低温活化)。

② 湿法灰化 升温、酸氧化 ( $\text{HNO}_3$ 、 $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{HClO}_4$ )，样品损失小，易污染 (微波、溶剂)。

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

#### 二、标准样品溶液的配制 (简介)

1. 标样的组成尽可能与试样接近；

2. 用待测元素的盐或高纯金属 (4N) 丝、片、棒等溶解，稀释制得；

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

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

#### 三、测定条件的选择

1. 分析线 表 4-6

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

2. 光谱通带 (调节狭缝宽度) 表 4-7

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

合适的狭缝宽度可以通过实验方法确定，具体方法是：逐渐改变单色器的狭缝宽度，使

检测器输出信号最强,即吸光度最大为止。当然也可根据文献资料确定,或根据仪器说明书上列出的单色器线色散率的倒数,计算出不同的光谱通带所相应的宽度。

### 3. 空心阴极灯工作电流

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

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

### 4. 火焰原子化条件

(1) 火焰——依据不同试样元素选择不同化学火焰。

#### ① 火焰温度的选择——影响原子化效率

原则:保证待测元素充分解离为基态原子的前提下,尽量采用低温火焰;火焰温度越高,产生的热激发态原子越多;火焰温度取决于火焰类型,并与燃助比有关,常用空气-乙炔焰。在火焰中容易生成难解离化合物的元素以及易生成耐热氧化物的元素,应选用高温火焰,而对于易电离易挥发的碱金属元素,应选用低温火焰。

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

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

#### (2) 燃烧器高度(观测高度)

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

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

#### (3) 进样量(试液提取量)——影响测定灵敏度。

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

## 四、干扰及其消除技术——比化学分析、AES 少

### 1. 物理干扰与抑制——非选择性

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

(2) 消除 控制试液与标准溶液的组成尽量一致;标准加入法;稀释法。

### 2. 化学干扰与抑制——选择性,主要干扰源!

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

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

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

① 释放剂 与干扰元素生成更稳定化合物而使待测元素释放出来。例: 锶和镧 ( $\text{LaCl}_3$ ) 可有效消除磷酸根对钙的干扰。

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

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

其它: GFAAS 加入基体改进剂, 化学分离 (有机溶剂萃取) 等。

3. 电离干扰与抑制 (有时归入物理或化学干扰)

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

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

4. 光谱干扰与抑制

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

(1) 谱线干扰

① 在分析线附近有单色器不能分离的待测元素的邻近线——调小狭缝。

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

③ 灯的辐射中有连续背景辐射——用较小通带或更换灯。

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

(2) 背景干扰

① 定义 待测元素的基态原子以外的其它物质, 对共振线产生吸收而造成的干扰, 使  $A \uparrow$ , 假吸收。分为——分子吸收: 来源于火焰中的氧化物、氢氧化物、金属盐类的分子、无机酸分子以及火焰气体分子。注意避免使用  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{H}_3\text{PO}_4$ 。

——光散射: 是火焰中固体颗粒对入射光的阻挡和散射而造成的假吸收。

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

[巩固]

讨论 AAS 实验过程的有关技术, 熟悉测定条件选择方法和干扰消除方法。

[布置作业]

P186, 8. 预习§4-4-2 (下)。

### § 4-4-2 原子吸收光谱分析实验技术 (下)

	能力 (技能) 目标	知识 目标
教学 目标	1. 学会原子吸收光谱定量分析基本操作和工作曲线绘制及其应用技术。 2. 学会原子吸收分析的评价方法。	1. 掌握标准曲线法和标准加入法的定量依据、操作方法和典型应用实例。 2. 了解原子吸收分析灵敏度、检出限和回收率的概念、表示方法和计算方法。
能力 训练	1. 融通学习法 2. 图片展示法 3. 练习与讨论法	

方式	
方法	
参考	
资料	

[组织教学]

[复习]

提问：AAS 实验技术？如何准备与控制实验条件？

[讲授新课]

## 第四章 原子吸收光谱法 (AAS)

### § 4-4-2 原子吸收光谱分析实验技术 (下)

#### 五、定量方法——直接法

##### 1. 标准 (工作) 曲线法——与 UVS 相类似

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

##### (2) 特点与注意

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

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

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

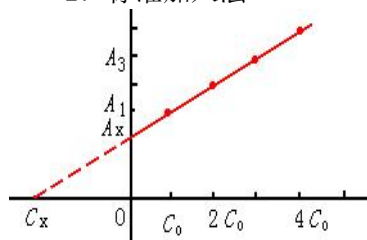
b. 在整个过程中要吸喷去离子水或空白溶液来校正零点的漂移。

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

③ 标准曲线法简便、快速，适于组成较简单的大批样品分析。

例 4-1——练习与说明……

##### 2. 标准加入法



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

##### (2) 特点与注意

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

- ② 适用于少量样品（基体不明、组成复杂时）的分析。
- ③ 相应的标准曲线应是一条通过坐标原点的直线，待测组分的浓度应在此线性范围之内。

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

⑤ 为保证得到较准确的外推结果，至少要采用 4 点来制作外推曲线。

例 4-2——练习与说明……

3. 浓度直读法——仪器自动数据处理技术

4. 稀释法——同标准加入法，更简化，计算。

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

5. 内标法——加入内标元素 N 于试液中

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

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

应用：头发、水、水果、蔬菜中微量元素的测定。阅读理解……

### 六、灵敏度、检出限和回收率——衡量仪器性能指标

1. 灵敏度 S——在一定浓度时，测定值（吸光度）的增量（ $\Delta A$ ）与相应的待测元素浓度（或质量）的增量（ $\Delta c$  或  $\Delta m$ ）的比值：

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

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

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

(2) 特征质量 GFAAS 用，也称绝对灵敏度。

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

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

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

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

(2) 石墨炉法 绝对检出限  $m_{DL} = 3S_b / S_m$ ，单位： $\mu\text{g}$ 。

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

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

3. 回收率——评价方法的准确度和可靠性

(1) 利用标准物质测定

测定值

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

(2) 利用标准加入法测定

先测定试样；再在试样中加入一定量的标准物质，同条件下同法测定，

$$\frac{\text{加标样测定值} - \text{未加标样测定值}}{\text{标准加入量}}$$

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

#### [巩固]

- 1. 掌握作图法定量分析规范、应用和评价；
- 2. 课堂练习 P187。

#### [布置作业]

P186, 10、12。预习实验 4.6.3-标准曲线法测定自来水中镁 (P199, 4p)，带《仪器分析实训指导书》，二组轮换

## § 5-1 色谱法方法原理

教学目标	能力(技能)目标	知识目标
	1. 掌握气相色谱流出曲线中关于色谱峰、保留值和分配平衡的常用术语的定义, 并理解其分析意义。	1. 了解色谱法的由来、发展、分类、方法特点和应用范围。 2. 了解气固色谱和气液色谱分离原理。
能力训练方式方法	1. 讲述与启发提问法 2. 仿真操作演示	
参考资料	1. 中华人民共和国国家标准 GB9724-88, GB9775-88, GB11076-89, GB/T14666-93 2. 陈培榕、邓勃主编, 现代仪器分析实验与技术, 北京: 清华大学出版社, 1999 3. 梁述忠主编, 仪器分析, 北京: 化学工业出版社, 1998 4. 刘珍主编, 化验员读本, 北京: 化学工业出版社, 1998	

[组织教学]

[引入]

仪器分析法第三类→物理化学中的分配性质→色谱分析法

[讲授新课]

## 第五章 气相色谱法 (GC)

## § 5-1 方法原理

## 一、色谱法概述

## 1. 色谱法由来



俄国植物学家茨维特在 1906 年使用的装置: 色谱原型图——

色谱法是一种分离技术, 试样混合物的分离过程也就是试样中各组分在称之为色谱分离柱中的两相间不断进行着的分配过程, 其中的一相固定不动, 称为固定相; 另一相是携带试样混合物流过此固定相的流体(气体或液体), 称为流动相。

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

两相及两相的相对运动构成了色谱法的基础。

## 2. 分类——表 5-1、2、3

按流动相: 液相色谱 (LC); 气相色谱 (GC); 超临界流体色谱 (SFC)。

按固定相形状：柱色谱；平面色谱（纸色谱、薄层色谱）。

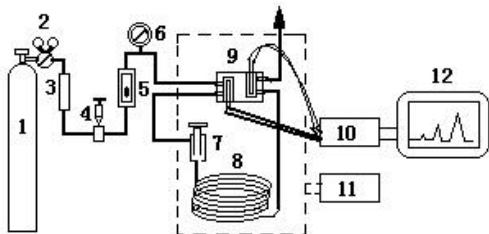
按固定相聚集态及利用原理：见下表——

3. 气相色谱法的分析流程——图示

GC 分为 GSC 和 GLC。

气相色谱的流动相为气体，即载气，其功能仅是携带试样、洗脱组分。

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



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

1-载气钢瓶；2-减压阀；3-净化干燥管；4-针形阀；5-流量计；6-压力表；7-进样器；8-色谱柱；9-检测器；10-放大器；11-温度控制器；12-记录仪。

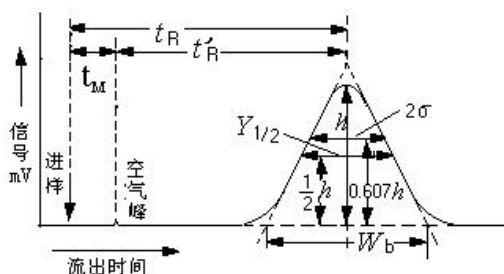
	名称	固定相	主要分离原理
LC	液液色谱法	固定液涂渍于载体	分配作用
	键合相色谱法	化学键合相	
	液固色谱法	固体吸附剂	吸附作用
	离子交换色谱法	离子交换剂	离子交换作用
	体积排除色谱法	化学惰性的多孔物质	分子筛作用
GC	气液色谱法	固定液涂渍于载体	分配作用
	键合相色谱法	化学键合相	
	气固色谱法	固体吸附剂	吸附作用

4. GC 的特点和应用范围

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

不足：不能直接分析未知物，需已知纯物质对照定性.....

二、色谱流出曲线常用术语



1. 色谱图（色谱流出曲线）

mV~t (V)

2. 色谱有关名词术语

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

基线漂移：指基线随时间定向的缓慢变化。

基线噪声：指由各种因素引起的基线起伏。

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

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

(4) 峰拐点

(5) 峰宽与半峰宽 衡量色谱峰区域宽度的参数有:

① 标准偏差 ( $\sigma$ ): 即 0.607 倍峰高处色谱峰宽度的一半。

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

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

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

① 时间表示的保留值

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

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

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

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

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

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

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

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

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

(8) 分配系数和容量因子

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

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

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

### 三、色谱分离原理

1. 气固色谱法

吸附剂 → 反复吸附、脱附作用 → 易吸附组分后出峰。

2. 气液色谱法

固定液 → 反复溶解、挥发作用 → 易溶解组分后出峰。

总之,  $K$  差大, 分离远;  $K$  小的组分先出峰。

[巩固]

1. 熟悉色谱法基本知识和名词术语——P<sub>213</sub>, 练习。

2. 用参观展览的比喻来理解色谱法的分离原理。

[布置作业]

P<sub>213</sub>, 12。预习§5-2 (上)。

## § 5-2-2 气相色谱仪 (下)

教学	能力 (技能) 目标	知识目标
----	------------	------

<p>目标</p>	<p>1. 初步掌握典型气相色谱仪使用 TCD 和 FID 的操作方法与日常维护保养。 2. 了解记录系统或色谱工作站的使用方法。</p>	<p>1. 了解气相色谱检测器的种类和性能指标,掌握 TCD 和 FID 的检测原理、基本构造、特点、工作条件和日常维护保养。 2. 掌握温控系统的作用,了解程序升温方法。 3. 了解记录系统或色谱工作站的作用和使用。</p>
<p>能力 训练 方式 方法</p>	<p>1. 图片演示法 2. 引探法</p>	
<p>参考 资料</p>		

[组织教学]

[复习]

1. 提问:气相色谱仪组成、流程、作用和工作原理?
2. 示教→核心→眼睛

[讲授新课]

## 第五章 气相色谱法

### § 5-2 气相色谱仪 (下)

#### 五、检测系统——色谱仪的眼睛

##### 1. 作用和组成 检测器和检测室。

将经色谱分离的组分的物质信号转化为易于测量的电信号。

##### 2. 检测器的类型和性能指标

###### (1) Det 类型 积分型和微分型。

微分型反映组分随时间瞬间量的变化信息,又分为:

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

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

###### (2) Det 性能指标——评价

###### ① 噪声和漂移——基线? 前图示

噪声(N):由于各种因素引起的基线波动,±(0.01-0.05) mV。

基线漂移(M或S):基线随时间定向的缓慢变化,<0.05 mV/h。小好

###### ② 线性与线性范围

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

###### ③ 灵敏度(响应值)S

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

计算公式与检测器类型有关, 说明公式中各符号的意义。

$$S_g = \frac{AC_1 C_2 F_c}{m} \quad ; \quad S_t = \frac{60AC_1 C_2}{m}$$

浓度型: ; 质量型: , 与  $F_c$  无关。

④ 检测限  $D$  和最小进样量

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

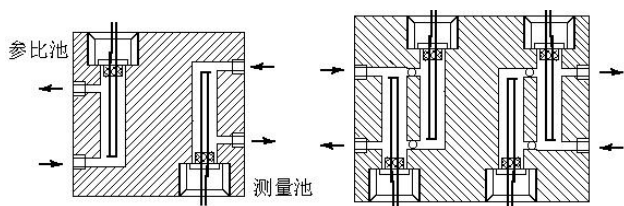
检测限: 随单位体积的载气或在单位时间内进入检测器的组分所产生的信号等于基线噪声两倍时的量,  $D = 2N/S$ 。  $S \uparrow$ ,  $D \downarrow$ , 好。例——实验测定。

最小进样量: 产生两倍噪声信号时的进样量。

⑤ 响应时间 (速度) 和使用温度 组分输出达 63% 时, 小好。

3. GC 常用检测器——表 5-6 读

(1) 热导检测器 TCD

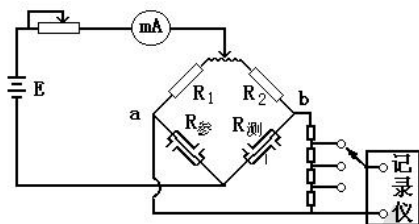


① 结构 图示, 池体: 一般用 SS、Cu 制成, 双或四个对称孔道。气路形式,  $\mu$ -TCD。热敏元件: 电阻率高、电阻温度系数大、且价廉易加工的钨丝 (Re-W) 制成。

参考臂: 仅允许纯载气通过, 通常连接在进样装置之前。

测量臂: 需要携带被分离组分的载气流过, 则连接在紧靠近分离柱出口处。

② 检测原理 平衡电桥, 图示。



不同的气体有不同的热导系数: 惠斯通电桥测量热丝阻值变化。

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

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

③ 影响 TCD 灵敏度的因素 (检测条件的选择)——热丝固定

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

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

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

④ TCD 特点 通用, 浓度, 非破坏型。

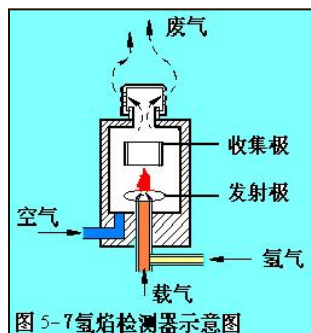
⑤ 应用 最广。控制分析与实例。

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

(2) 氢火焰离子化检测器 FID 简介

① 结构 图示, 离子室——

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



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

### ② 工作原理

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

### ③ 影响FID灵敏度的因素

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

### ④ FID特点 典型的质量型检测器，破坏型，专用。

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

### ⑤ 日常维护和应用——读

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

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

## 六、数据处理系统和温度控制系统

### 1. 数据处理（记录）系统

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

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

### 2. 温度控制系统

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

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

### [巩固]

掌握结构，理解原理，实际应用；实训掌握使用方法。

### [布置作业]

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

## §5-3 气相色谱基本理论

	能力(技能)目标	知识目标
教学 目标	1. 为发展高选择性和高效能的色谱柱，能解决色谱峰的一般分离问题。 2. 会计算色谱过程常用分配参数，如 $n$ 、 $H$ 、 $R$ 等。	1. 理解塔板理论和速率理论的重要贡献、内涵和对色谱实践的指导意义。 2. 进一步理解气相色谱分离过程、机理和影响因素。

能力	
训练	1. 图片演示法
方式	2. 讨论法
方法	3. 引探法
参考	
资料	

[组织教学]

[复习]

1. 气相色谱仪基本结构与 TCD 使用初步知识——实训；
2. 色谱分离过程、柱现象和术语的意义→理论解释→操作条件

[讲授新课]

## 第五章 气相色谱法

### § 5-3 气相色谱基本理论

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

##### 1. 基本假设

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

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

(3) 组分的分配系数在确定温度下为常数。

##### 2. 柱分离效能指标

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

对  $L$  一定的色谱柱, 板高越小, 塔板数越多, 柱效能越高。

#### 二、速率理论

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

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

##### 1. 影响谱带扩张的因素

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

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

① 流动相传质阻力: 组分分子由流动相内部到两相界面的扩散过程中。

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

程中。

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

2. 速率理论方程式简介

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

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

### § 5-4 实验技术（上）

#### 一、样品的采集与制备——阅读

了解气相色谱法常用、现代样品采集与制备方法、规定及注意事项。

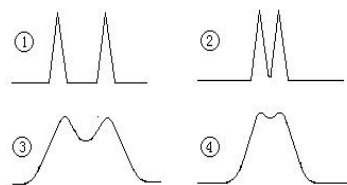
#### 二、色谱柱的总分离效能指标——分离度

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

难分离物质对的分离度大小受色谱过程中两种因素的综合影响：

(1) 保留值之差——色谱过程的热力学因素；

(2) 区域宽度 W——色谱过程的动力学因素。



色谱分离中的四种情况如图所示：

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

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

分离度的定义：

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

注意：对分离度的讨论要求相邻两色谱峰基本对称。阅读理解……

[巩固与思考]

色谱理论及分配参数 n、H、R 的定义及对色谱分离的指导意义。

### § 5-4-1 气相色谱分离操作条件的选择

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 能进行气相色谱分离条件的选择、优化和验证。	1. 了解气相色谱分离条件(载气及流速、色谱柱、固定相、柱温、汽化室温度、检测器温度、进样量、进样技术等)对分离度的影响和一般选择方法。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 讨论法	

参考

资料

[组织教学]

[复习]

气相色谱分离过程、柱现象和术语的意义→理论解释→操作条件

[讲授新课]

## 第五章 气相色谱法

### § 5-4-1 气相色谱分离操作条件的选择

#### 三、分离操作条件的选择

原则：在保证难分离物质对有适当分离度的前提下，使分析时间尽可能短。

##### 1. 载气种类及其流速的选择

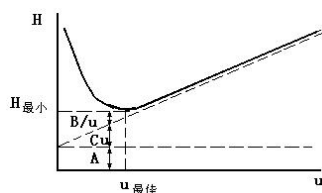
(1) 载气种类——考虑载气对柱效的影响、检测器要求及载气性质。

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

TCD 需要使用热导系数较大的  $H_2$  有利于提高检测灵敏度。FID， $N_2$  首选。

还应综合考虑载气的安全性、经济性及来源是否广泛等因素。

##### (2) 载气流速



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

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

##### 2. 色谱柱和固定相的选择

GC 中由于组分分子与载气间无相互作用，实现分离的关键是固定相。

(1) GSC——固体固定相（主要是具有表面吸附性的固体吸附剂）

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

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

(2) GLC——液体固定相=载体+固定液

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

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

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

选择：基本原则是“相似相溶”，选择与试样性质相近的固定相……混合固定相（对于复

杂的难分离组分通常采用特殊固定液或将两种甚至两种以上配合使用)。

固定液用量：固定液在担体上的涂渍量即液相载荷量，一般指的是固定液与固定相的质量百分比。液载比低，担体上形成的液膜薄，传质阻力小，柱效高，分析速度也快。液载比过低时，固定相的负载量低，允许的进样量较小，载体上的活性位可能暴露造成拖尾峰。分析工作中通常倾向于使用较低的配比。一般液载比控制在 10% 以内。

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

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

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

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

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

### （3）合成固定相

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

② 化学键合固定相 固定液键合于载体表面，热稳定，快速对称峰。

### （4）气-液色谱柱的制备——CAI 与实训

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

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

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

③ 色谱柱的装填 图 6-28，泵抽法（填充均匀）。

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

### 3. 柱温的选择

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

（2）柱温一般选择在接近或略低于组分平均沸点时的温度。

柱温升高，分离度下降，色谱峰变窄变高，被测组分的挥发度  $\uparrow$ ，即被测组分在气相中的浓度  $\uparrow$ ， $K \downarrow$ ， $t_R \downarrow$ ，低沸点组分峰易产生重叠。柱温  $\downarrow$ ，分离度  $\uparrow$ ，分析时间  $\uparrow$ 。对于难分离物质对，降低柱温虽然可在一定程度内使分离得到改善，但是不可能使之完全分离，这是由于两组分的相对保留值增大的同时，两组分的峰宽也在增加，当后者的增加速度大于前者时，两峰的重叠更为严重。

组分复杂，沸程宽的试样，采用程序升温。

### 4. 气化室温度的选择——实验验证峰形、峰数

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

### 5. 进样量与进样技术

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

进样要求动作快、时间短。图 6-29，操作技术练习，达 2~5%相对误差。

[巩固]

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

[布置作业]

P<sub>266</sub>, 6、8；预习实验 5.6.8-微量注射器的使用练习（P<sub>256</sub>或《仪器分析实训指导书》，4P），气相色谱分离条件的选择与优化（载气流速及柱温变化对分离度的影响，P<sub>288</sub>, 4p），二组轮换。预习 § 5-4（下）。

### § 5-4-2 气相色谱定性定量分析

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 能运用常用的色谱定性和定量方法进行物质的分析。	1. 掌握色谱定性定量的依据和常用定性定量分析方法。 2. 理解定量校正因子的意义和分类，掌握相对质量校正因子的测量方法。
能力训练方式方法	1. 引探法 2. 练习与讨论法	
参考资料		

[组织教学]

[复习]

1. GC 分离操作条件——实训掌握；
2. 色谱进样技术评价→重现性→色谱图及其处理

[讲授新课]

## 第五章 气相色谱法

### § 5-4-2 气相色谱定性和定量分析

#### 四、GC 定性分析——确定峰所代表的试样组成

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

##### 1. 利用保留值（纯物质）定性——最基本方法

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

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

(3) 利用文献保留值（相对保留值  $r_{21}$ ）定性  $r_{21}$  仅与柱温和固定液性质有关，与其它

操作条件无关。在色谱手册中都列有各种物质在不同固定液上的保留数据，可用来进行定性鉴定。

## 2. 利用保留指数定性

### (1) 保留指数 $I$ (Kovats) 的定义

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

### (2) 保留指数的测定和特点——例 P<sub>272</sub>

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

## 3. 联机定性方法

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

## 五、GC 定量分析

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

### 1. 峰值的测量—— $A$ 、 $h$

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

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

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

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

(4) 自动积分仪法和微机处理法 自动积分仪可自动测出一曲线所包围的真实面积，有效数字大于 4 位，精密度好 (相对偏差可达 0.2~2%)。自动积分仪能将峰面积和保留时间的数据自动打印出来，提高了自动化程度。

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

### 2. 定量校正因子 $f$ 的测定

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

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

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

#### (2) 相对校正因子 $f_i' = f_i / f_s$

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

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

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

式中下标 i、s 分别代表被测物和标准物。

若将各式中的峰面积 A 用峰高 h 表示，则可以得三种峰高相对校正因子，即： $f'_{m(h)}$ 、 $f'_{A(h)}$ 、 $f'_{V(h)}$ 。

(3) 校正因子的测定方法

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

(4) 相对响应值  $s'$

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

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

3. 定量分析方法——按分析目的、要求和样品情况选择

(1) 归一化法

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

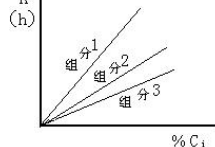
$$w_i = \frac{m_i}{m} = \frac{m_i}{m_1 + m_2 + \dots + m_n} = \frac{f'_i \cdot A_i}{f'_1 \cdot A_1 + f'_2 \cdot A_2 + \dots + f'_n \cdot A_n} = \frac{f'_i A_i}{\sum f'_i \cdot A_i} \quad (5-28)$$

式中各组分的校正因子均采用相对质量校正因子。

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

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

(2) 外标法 (标准曲线法，直接比较法)



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

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

(3) 内标法

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

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

量。常以内标物为基准，即  $f'_s = 1.0$ 。

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

② 特点及要求 内标法的关键是选择合适的内标物 (要求 P278)。

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

[巩固]

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

## [布置作业]

P<sub>266</sub>, 11、12、16。预习第四章 AAS; 实验 5.6.2-丁醇异构体混合物的 GC 分析 (P<sub>273</sub>, 归一化法, 4p); 实验 5.6.3-甲苯试剂的气相色谱分析 (P<sub>237</sub>, FID 使用; P<sub>277</sub>, 内标法, 色谱工作站使用, 共 6~8p), 二组轮换。

## § 6-1 高效液相色谱的主要类型及选择

	能力(技能)目标	知识目标
教学 目标	1. 能指出高效液相色谱法与经典液相色谱法和气相色谱法的异同点; 2. 能选择吸附色谱法、正相与反相分配色谱法、正相与反相键合相色谱法、凝胶色谱法等进行实际样品的分析。	1. 了解高效液相色谱法与经典液相色谱法和气相色谱法的异同; 2. 了解 HPLC 的基本方法——吸附色谱法、正相与反相分配色谱法、正相与反相键合相色谱法、凝胶色谱法的分离原理及两相选择。
能力 训练 方式 方法	1. 比较与启发提问法 2. 融通学习法 3. 仿真操作演示	
参考 资料	1. 中华人民共和国国家标准 GB9724-88, GB9775-88, GB11076-89, GB/T14666-93 2. 陈培榕、邓勃主编, 现代仪器分析实验与技术, 北京: 清华大学出版社, 1999 3. 梁述忠主编, 仪器分析, 北京: 化学工业出版社, 1998 4. 刘珍主编, 化验员读本, 北京: 化学工业出版社, 1998	

## [组织教学]

## [引入]

流动相分类→GC、LC→应用广泛, 如药物分析技术。

## [讲授新课]

## 第六章 高效液相色谱法 (HPLC)

## 概述

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

## 一、HPLC 与经典液相色谱法的比较——表 6-1 说明

经典: 柱效低

高效: 高压、高效、高速; 高沸点、热不稳定有机及生化试样的高效分离分析方法。

## 二、HPLC 与 GC 的比较——表 6-2 说明

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

(2) 高分子化合物、热稳定性差的化合物和生化样品在气化中分解、失活。

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

HPLC: (1) 一般在室温下操作, 试样只需在流动相中有一定溶解度。

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

(3) 可通过改变流动相和固定相来提高选择性。

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

### § 6-1 高效液相色谱的主要类型及选择

广义: 薄层、纸色谱; 狭义: 柱色谱, 再按分离机理分...

高效液相色谱法的分离类型

分离类型		分离对象			用途
		相对分子量	极性	溶解性	
吸附色谱法		10 <sup>2</sup> 至 5×10 <sup>3</sup>	非极性或弱极性	溶于非极性溶剂, 在水中溶解度很差	异构体
分配色谱法	正相液相色谱法		极性较强	溶于烃类、氯仿等有机溶剂, 在水中溶解度很差	同系物
	反相液相色谱法		极性范围广	溶于极性溶剂(水、醇), 但不离解	
离子交换色谱法				离子型	溶于水且能离解, 或不溶于水, 但溶于 HCl 或 NaOH 溶液
体积排除色谱法	凝胶渗透色谱法	10 <sup>3</sup> 至 10 <sup>6</sup>	非离子型	溶于低极性的有机溶剂	合成高聚物
	凝胶过滤色谱法			溶于水	天然高分子

#### 一、液-固吸附色谱

1. 分离原理——类似 GSC

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

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

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

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

因此吸附色谱法对同系物的选择性小而利于族分离。

2. 固定相——表 6-3

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

3. 流动相(洗脱液)——可以是各种不同极性的一元或多元溶剂。

(1) 溶剂的极性: 指溶剂分子与溶质分子之间总的相互作用力。

(2) 溶剂的强度: 指溶剂洗脱色谱柱内组分的能力。

溶剂强度参数  $\epsilon^0$ : 以溶剂为流动相在选定的吸附剂上的洗脱能力大小, 相当于每一单位面积吸附剂表面上溶剂的吸附能。

(3) 洗脱序列:  $\epsilon^0$  越大, 洗脱能力越强。表 6-4:

溶剂	己烷	氯仿	乙酸乙酯	甲醇	水	乙酸
溶剂强度 $\epsilon^0$	0.00	0.26	0.38	0.73	大于 0.73	大于 0.73

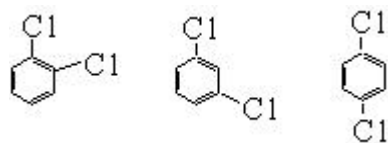
(4) 梯度洗脱：采用二元或多元组合溶剂作为流动相可以灵活调节流动相的极性或增加选择性，以改进分离或调整出峰时间。适于组分复杂的样品，分离过程中逐渐增加  $\epsilon^0$  值。

(5) 选择要求：P<sub>297</sub>，6 点和基本原则。

4. 应用——极性不同的化合物，异构体

如：二氯代苯的保留时间由大到小为.....

## 二、液-液分配色谱



### 1. 分离原理

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

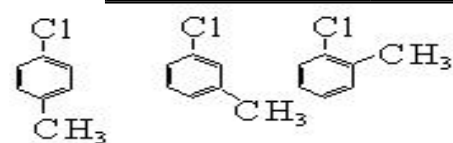
在液-液分配色谱中，通常为了避免固定液的流失，分

为

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

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

色谱操作	正相色谱	反相色谱
固定相	极性	非(弱)极性
流动相	非(弱)极性	极性
流出次序	极性组分 $k'$ 大	极性组分 $k'$ 小
流动相极性影响	极性增加, $k'$ 减小	极性增加, $k'$ 增大
溶剂洗脱顺序	与洗脱强度顺序一致	与洗脱强度顺序相反



例：

正相液相色谱  $k'$ ：大 → 小  
 反相液相色谱  $k'$ ：小 → 大  
 己烷                  甲醇                  乙酸

正相色谱洗脱顺序：小 → 大  
 反相色谱洗脱顺序：大 → 小

### 2. 固定相

在载体上涂渍一层固定液（表 6-5）构成，涂渍方法类似 GLC。

防止固定液流失方法：P<sub>299</sub>。

3. 流动相——尽可能不与固定液互溶。

正相用己烷、庚烷+20%改性剂，反相用水+改性剂。

4. 应用——极性、非极性化合物。

## 三、键合相色谱法

特点：稳定，不易流失，适用样品广，逐渐取代分配色谱法。

### 1. 分离原理

与分配色谱法不同。正相为分配机理，反相为疏溶剂作用（图 6-2）。

(1) 正相键合相色谱法 适于油溶性或水溶性的极性、强极性组分分离。

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

2. 固定相——以全多孔或薄壳型微粒硅胶为基体

分非极性、弱极性和极性三类，表 6-6。C<sub>18</sub>反相键合相 (ODS) 最广。

3. 流动相——类似 LSC、LLC。

一般用甲醇-水体系。也用乙醇、丙醇、二氯甲烷等，或二（三、四）元混合溶剂。

4. 应用——正相用于极性（药物），反相通用、简单、稳定、重现，P<sub>301</sub>。

## 四、凝胶色谱法（分子排阻色谱、体积排除色谱法 SEC）

体积排除色谱法是用化学惰性的多孔物质为固定相，试样组分按分子体积（尺寸大小）

分离的液相色谱法。根据所用的流动相不同分为：

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

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

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

[巩固]

1. 熟悉 HPLC 的特点，与 GC 的区别。
2. 理解 HPLC 四类方法（尤其是键合相色谱）的分离原理、固定相、流动相和应用。

[布置作业]

P303, 1、4。预习§6-2

## § 6-2 高效液相色谱仪

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 能指出高效液相色谱仪与气相色谱仪的异同点；</li> <li>2. 初步理解典型高效液相色谱仪及色谱工作站的使用方法和日常维护保养。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 了解高效液相色谱仪的工作流程；</li> <li>2. 了解仪器的基本结构原理（六通阀进样器的工作原理，液相色谱柱的种类及评价方法，紫外检测器、折光指数检测器、荧光检测器、馏分收集器、真空脱气装置等）。</li> </ol>
能力训练方式方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 比较与启发</li> <li>2. 融通学习法</li> <li>3. 仿真操作演示</li> </ol>	
参考资料		

[组织教学]

[复习]

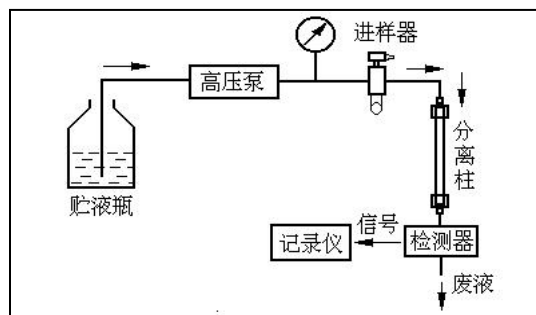
HPLC 定义、特点、与 GC 区别？LC 分类、分离机理、两相、正反相？

[讲授新课]

## 第六章 高效液相色谱法 (HPLC)

### § 6-2 高效液相色谱仪

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



## 一、仪器工作流程

类似 GC，图 6-7：

单元组件：高压输液系统；进样系统；色谱柱；检测器；工作站等 5 个。

工作流程描述：P<sub>304</sub>...

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

## 二、仪器基本结构

### 1. 高压输液系统（分四组件）

#### (1) 贮液器——要求（4 点）

贮液器一般由玻璃、不锈钢或特种塑料容量约为 0.5~2L。用来贮存作流动相的各种

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

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

#### (2) 高压输液泵——主要部件之一，关键。压力：150~350×10<sup>5</sup> Pa。

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

① 要求 压力平稳无脉动，流速恒定，流量可调节，泵体材料耐化学腐蚀，死体积小，一般要求有 25~40MPa 的压力。P<sub>305</sub>

② 类型 可分为恒流泵和恒压泵。恒流泵在一定操作条件下可输出恒定体积流量的流动相。目前常用的恒流泵有往复型泵和注射型泵，其特点是泵的内体积小，用于梯度洗尤为理想。恒压泵又称气动放大泵，是输出恒定压力的泵，其流量随色谱系统阻力的变化而变化。这类泵的优点是输出无脉动，对检测器的噪声低，通过改变气源压力即可改变流速。缺点是流速不够稳定，随溶剂粘度不同而改变。目前 HPLC 仪一般都配备往复型恒流泵，恒压泵在 HPLC 仪发展初期使用较多，现在很少用了。表 6-7 性能比较。

#### (3) 过滤器——设置在泵进口、出口与进样阀之间。

防泵、阀损坏和柱压升高。图 6-9，溶剂、管道过滤器，滤芯 2~3μm，超声波清洗。

#### (4) 梯度洗脱装置——使保留值相差大的多组分分离更合理、及时。

① 流动相梯度 改变流动相组成或浓度。调节极性，致使每个流出的组分都有合适的分配比，从而实现样品中每个组分的分离。可以提高柱效，加快分离速度，改善峰型，增加检测器灵敏度。类似于 GC 中的程序升温技术。

#### ② 按流路数分为二元、三元梯度。

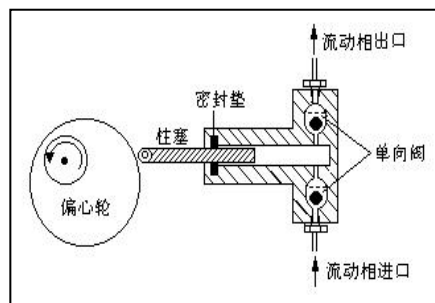
③ 按溶液混合方式分为内（高压）梯度——利用两台高压输液泵，将两种不同极性的溶剂按一定的比例送入梯度混合室，混合后进入色谱柱。贵！

外（低压）梯度——一台高压泵，通过比例调节阀，将两种或多种不同极性的溶剂按一定的比例抽入高压泵中混合。

### 2. 进样器——将样品溶液准确送入柱内。要求：P<sub>308</sub>。

① 六通阀进样器 流路中为高压工作状态，通常使用耐高压的和 GC 相同的六通阀进样器进样。进样量的可变范围大，耐高压，易于自动化，重现性好。操作时先将六通阀手柄转至采样位置，样口用平头微量注射器注入样品环（10~20μL）中，然后转动六通阀达到进样位置，样品被带入色谱柱。

② 自动进样器 由计算机自动控制定量阀工作取样、进样、复位、样品管路清洗和样



制成，溶剂。0.45 μ

中的气

品盘的转动,全部按预定程序进行。样品量可连续调节,进样重复性高,适于大量样品分析。但一次性投资高。……………

3. 色谱柱——高效分离柱,心脏。要求柱效高、选择性好、分析速度快。

(1) 结构——图 6-13,柱体为直型不锈钢管(要耐高压及流动相和样品的腐蚀)。为获得较高柱效能,柱管内表面必须光滑、无刻痕、裂缝及颗粒物,因此内壁必须作抛光处理。内径 1~6 mm,最常用 4mm 左右,柱长 5~40cm。发展趋势是减小填料粒度和柱径以提高柱效。

装柱是一项技巧性很强的工作,对色谱分离效果影响很大。根据固定相微粒的大小,填充色谱柱的方法有干法和湿法两种。微粒大于 20 μm 可用干法填充,方法与 GC 相同。如果微粒直径在 10 μm 以下,只能用湿法装柱,即先将填料配成悬浮液贮于容器中,然后在高压泵的作用下压入色谱柱。

用过滤片、垫圈堵住填料,以→表示流动方向。

(2) 种类——填料粒度, 100~300nm 柱长, 500~20000n, φ 4~5mm。

直径 2mm 常用柱(细柱)的优点:柱效相同,溶剂用量↓;峰宽↓,h↑,S↑,适于痕量分析。

(3) 评价 基本参数:LC 仪器系统  $V_M$ ↓,样品及操作条件合理。表 6-8。

(4) 保护柱——损失少量柱效,保护分析柱(之前,短柱)。

(5) 恒温装置——↑ $T_{柱}$ , ↓溶剂粘度, ↑样品溶解度,  $t_R$  稳定。

水浴、电加热、恒温箱——<100℃。

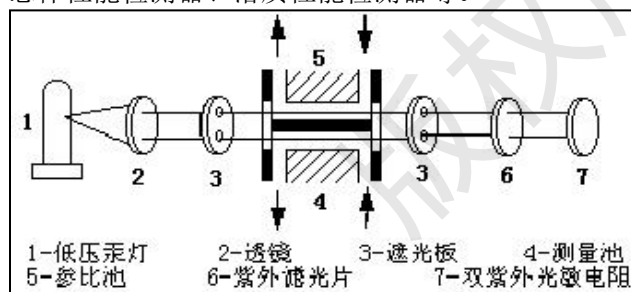
4. 检测器——关键!连续监测柱流出组分组成、含量变化。

(1) 要求  $P_{311}$ ,理想化。

(2) 分类 通用型——检测流动相和样品的全部特性变化,不能用于梯度洗脱,有 RID、ELSD、ECD。

专用型——检测组分,能梯度洗脱,有 UVD、FD。

按检测原理分为光学式(紫外/可见吸收、荧光、示差折光率)、电化学式、介电常数式、总体性能检测器、溶质性能检测器等。



(3) 性能指标——表 6-9

(4) 几种常见的检测器(简介)

① 紫外-可见光检测器(UVD)  
——最广,通配,70%使用率,  
190~700nm。

原理 通过测定待测组分在流动池中吸收紫外-可见光后,其吸光度的变化来确定组分的含量。

结构 同 UVS,图 6-14,双光束,比较信号,自动选λ。有固定波长,可变波长,扫描式的几种类型。可变波长是在固定波长基础上发展的,由于波长可选择地改变,因而提高了选择性。扫描式的可记录待测组分的吸收光谱,作为定性的指纹数据。近年来发展起来的二极管阵列检测器(PDA),可以在一次色谱操作中同时获得吸光度、时间和待测组分的全部紫外-可见吸收光谱图在一起的三维谱图,信息量更多,可同时定性和定量。

由于紫外吸收对温度,流动相组成和流速变化不敏感,因此,可作梯度洗脱,并且对恒温要求不高。

② 折光指数检测器(RID)——也称示差折光检测器,通用型。

原理 每一种物质在一定温度、压力条件下都有固定的折光率(n),当待测组分从柱中随流动相流出时,它的折光率与纯溶剂和纯溶质都不同,RID就是以纯溶剂(流动相)作参比,连续测量柱后流出物的折光率的变化,并以时间(或流动相体积)为横轴来记录出其微分曲线。因此,只要和流动相的折光率有差异的物质都可检出。表 6-10。

由于折光率对温度很敏感,所以要求检测器恒温良好(±0.001℃),并且不能梯度洗脱,灵敏度较低。仅次于 UVD,属于总体性能 Det,用于凝胶、制备色谱。

③ 荧光检测器(FD)检测产生荧光的物质。

④ 蒸发激光散射检测器(ELSD)类似 FID。

(5) 馏分收集器 自动收集、制备,图 6-21。

5. 色谱工作站——检出的色谱信号输入到色谱工作站记录并处理色谱分析数据。诊断、自控、智能，计量认证。

### 三、常用 HPLC 仪的使用及日常维护

1. 型号多——操作一致，如 PE LC200 的操作规程（阅读了解）。
2. 日常维护——说明书!! 贮液器、高压输液泵、进样器、色谱柱和检测器。

[巩固]

1. 熟悉 HPLC 仪的特点，与 GC 仪的区别。
2. 理解原理，实践应用。

[布置作业]

P<sub>329</sub>, 13。预习§6-3。

## § 6-3 高效液相色谱基本理论与实验技术

	能力(技能)目标	知识目标
教学目标	1. 初步学会高效液相色谱方法的设计与实验技术。	1. 了解影响 HPLC 范特姆特方程式的因素; 2. 了解 HPLC 方法的建立与设计; 3. 了解 HPLC 的一般实验方法与技术。
能力训练方式方法	1. 比较法 2. 融通学习法 3. 讨论法	
参考资料		

[组织教学]

[复习]

HPLC 仪器工作流程与基本组成部件? 梯度洗脱技术? 常用检测器?

[讲授新课]

## 第六章 高效液相色谱法 (HPLC)

### § 6-3 高效液相色谱基本理论与实验技术

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

#### 一、速率理论 (简介)

1. 速率理论方程式——类似 GLC

$$H = H_E + H_L + H_S + H_{MM} + H_{SM} = A + B/U + CU \quad \text{各符号的意义 P}_{329} \cdots$$

2. 影响速率理论方程式的因素

涡流扩散项  $H_E$  + 分子扩散项  $H_L$  + 固定相的传质阻力项  $H_S$  + 移动流动相的传质阻力项  $H_{MM}$  + 滞留流动相的传质阻力项  $H_{SM}$  分别简要说明——图示理解...

- (1) 由于流动相为液体，组分分子在流动相中的扩散系数很小，因此  $B/U$  分子扩散项

的影响可忽略。

(2)  $CU$  传质阻力项是影响谱带扩张的主要因素。而传质阻力的大小与填充剂颗粒的平均直径成正比，因此填充颗粒大小成为影响谱带扩张的主要因素。

(3) HPLC 中除色谱柱以外的流路部分仍有由于进样不当，管道死体积，柱后扩散等造成的柱外效应引起谱带扩张。

$H \sim u$ ,  $U_{opt}$  小于 GC, HPLC 柱效高；平稳，高线速分析！

## 二、实验技术

### 1. 溶剂处理技术 (3 类)

#### (1) 溶剂的纯化

A.R, G.R, 色谱纯 ( $CH_3OH$ ) ——除紫外杂质、脱水、重蒸等。例如，乙腈、四氢呋喃、氯仿、正相中溶剂除水、避免卤代溶剂或现配现用。

#### (2) 流动相的脱气——重要作用 (噪音、流速、负面影响)

三法：超声波振荡脱气——超声水槽 (10~20min) -广；惰气鼓泡吹扫；在线真空。

#### (3) 流动相的过滤——堵塞流路或柱入口垫片——G4 微孔玻璃漏斗。

2. 色谱柱的制备——条件——干法、匀浆填充法 (湿法)。漏斗、泵。

3. 梯度洗脱技术——改善复杂物的分离——重要 (虽然复杂、基线不稳)

### 4. 衍生化技术

#### (1) 定义——物质+衍生化试剂→易检测物

分为柱前衍生化和柱后衍生化。成本高，仅在无法检测、分离时才用！

#### (2) 分类——紫外-可见光衍生化和荧光衍生化——表 6-18、19 试剂。

5. 样品的预处理技术——类似 GC。除干扰杂质，提高灵、准、重。

方法多——微渗析原理与分析细胞培养液、体外复杂生物样品。……

## 三、HPLC 分析方法建立的一般步骤 (6 步)

1. 了解样品的基本情况——样品组成及有关参数。

2. 明确分离目的——6 个条件  $P_{340}$ 。

3. 了解样品的性质和需要的预处理——必须！最好用流动相溶解 (稀释)。

4. 检测器的选择——目的 (分析或制备)；尽量用 UVD。

5. 分离模式的选择——样品溶解度、 $M_r$ 、分子结构、极性差异

读图 6-47——油溶或水溶……

6. 固定相和流动相的选择——常见方法

(1) 硅胶吸附色谱——流动相弱组分是正己烷，由溶质官能团信息确定其强组分——5 条， $P_{341}$ 。

(2) 正相键合相色谱——流动相选择引用硅胶法；固定相选择 3 条。

(3) 反相色谱—— $C_{18}$  常用填充载体；流动相强组分是甲醇、乙腈、四氢呋喃，弱组分是水。4 条。

(4) 凝胶色谱——微粒型交联亲水硅胶和亲水键合硅胶。

$M_r 10^4 \sim 2 \times 10^6$ 。实验室分析用平均粒度  $3 \sim 13 \mu m$ 。一般无色谱柱的选择。

## 四、定性与定量方法

1. 定性方法——影响溶质迁移的因素多，比 GC 更难定性。

(1) 利用已知标准样品定性——同 GC，初步认定与改变流动相后确证。

(2) 利用检测器的选择性定性——双检测器定性体系 (UVD、FLD)

两 Det 对待测物的检测灵敏度比值~待测物性质 (串联和并联)。

(3) 利用紫外检测器全波长扫描功能定性——停泵扫描得谱图；标样对比。

2. 定量方法——类似 GC

归一化法 (少，因选择性 Det)；外标法；内标法。

### [巩固]

1. 课堂练习—— $P_{345}$ , 9。

2. 理论的指导作用——分析方法选择——实践应用。

3. 加强阅读理解——融通。

### [布置作业]

P<sub>345</sub>, 5、11。预习实验 P<sub>346</sub>-6.4.1 高效液相色谱仪的基本操作与性能检查；或 6.4.2 混合维生素 E 的正相 HPLC 分析条件的选择。6~8p。预习第三章 IR。

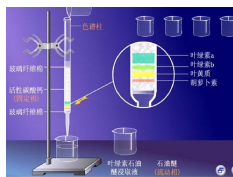
## 第五章气相色谱分析法

### §5.1 方法原理

#### §5.1.1 色谱法概述

##### 1. 色谱法的由来

色谱法是最早俄国植物学家茨维特 (Tswett) 于 1906 年首先提出来的。他在研究植物叶子的色素成分时,将植物叶子的萃取物倒入填有碳酸钙的直立玻璃管内,然后加入石油醚,使其自由流下,结果色素中各组分互相分离形成各种不同颜色的谱带。这种方法因此得名为色谱法。



以后此法逐渐应用于无色物质的分离,“色谱”二字虽已失去原来的含义,但仍被人们沿用至今。色谱法真正作为一种分析方法,是从上个世纪五十年代开始的,1952年,英国科学家 A.J.P.Martin 和 R.L.M.Synge 因开创了气液分配色谱法而获得了 Nobel 化学奖。今天,色谱法作为一种分离技术,以其具有高分离效能、高检测性能、分析时间快速而成为现代仪器分析方法中应用最广泛的一种方法。它的分离原理是,使混合物中各组分在两相间进行分配,其中一相是不动的,称为固定相(如,上例中 CaCO<sub>3</sub>),另一相是携带混合物流过此固定相的流体,称为流动相(如,上例中石油醚)。

##### 2. 色谱法分类:

色谱法有多种类型,从不同的角度可以有不同的分类法。

按流动相和固定相的物理状态分类——按流动相的物态,色谱法可分为气相色谱法(流动相为气体)和液相色谱法(流动相为液体);再按固定相的物态,又可分为气固色谱法(固定相为固体吸附剂)、气液色谱法(固定相为涂在固体担体上或毛细管壁上的液体)、液固色谱法和液液色谱法等。

按固定相使用的形式分类法——a.柱色谱法(固定相装在色谱柱中); b.纸色谱法(滤纸为固定相); c.薄层色谱法(将吸附剂粉末制成薄层作固定相)等。

按分离过程的机制分类法——a.吸附色谱法(利用吸附剂表面对不同组分的物理吸附性能的差异进行分离); b.分配色谱法(利用不同组分在两相中有不同的分配来进行分离); c.离子交换色谱法(利用离子交换原理); d.排阻色谱法(利用多孔性物质对不同大小分子的排阻作用)等。

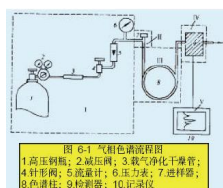
本章我们学习气相色谱法。

##### 3. 气相色谱法的分析流程

###### (1) 实验流程

气相色谱法是利用气体作为流动相的一种色谱法。在此法中,载气(是不与被测物作用,

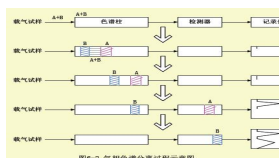
用来载送试样的惰性气体，如氢、氮等) 载着欲分离的试样通过色谱柱中的固定相，使试样中各组分分离，然后分别检测。其简单流程如图 6-1 所示。



由高压钢瓶由高压钢瓶 1 供给的流动相载气。经减压阀 2、净化器 3、流量调节器 4 和转子流量计 5 后，以稳定的压力恒定的流速连续流进气化室 6、色谱柱 7、检测器 8，最后放空。气化室与进样口相接，它的作用是把从进样口注入的液体试样瞬间气化为蒸汽，以便随载气带入色谱柱中进行分离，分离后的样品随载气依次带入检测器，检测器将组分的浓度（或质量）变化转化为电信号，电信号经放大后，由记录仪记录下来，即得色谱图。

(2) 分离过程

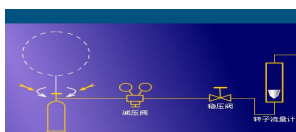
如图 6-2 所示，



由 A、B 两组分组成的混合物被载气（流动相）携带进入色谱柱。刚进柱内时，两组分是一条混合谱带。由于填充在色谱柱内的固定相对 A、B 两组分有不同的吸附或溶解能力，即组分 A 和组分 B 在固定相和流动相之间的分配系数不同。因此，当 A、B 两组分随载气沿柱向出口方向不断移动时，就会产生差速迁移而逐渐分离。其中分配系数小的组分 A 被载气带出色谱柱进入检测器。与检测器相连的记录仪先绘出组分 A 的色谱峰；此时，分配系数较大的组分 B 尚滞留在柱内。最后组分 B 也随载气流出色谱柱进入检测器，并产生与组分 A 分离良好的色谱峰。

4. 气相色谱仪组成

载气系统：



气相色谱仪具有一个让载气连续运行、管路密闭的气路系统通过该系统，可以获得纯净的、流速稳定的载气。它的气密性、载气流速的稳定性以及测量流量的准确性，对色谱结果均有很大的影响，因此必须注意控制。

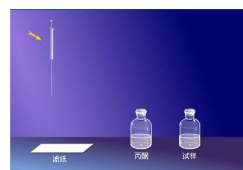
进样系统：

※进样和汽化



播放动画

※进样操作



播放动画

进样系统包括进样器和气化室两部分。进样系统的作用是将液体或固体试样，在进入色谱柱之前瞬间气化，然后快速定量地转入到色谱柱中。进样量的大小，进样时间的长短，试样的气化速度等都会影响色谱的分离效果和分析结果的准确性和重现性。

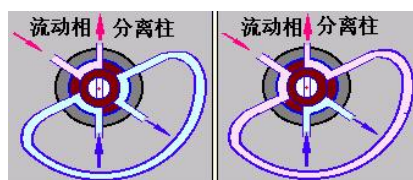
进样器

※微量注射器



液体样品的进样采用微量注射器，其外形与注射器类似，有 5, 10, 和 50  $\mu L$ 。将样品吸入注射器，迅速刺入色谱仪本身配置的推拉式六通阀或旋转式六通阀定量进样。

※六通阀进样器



[播放动画](#)

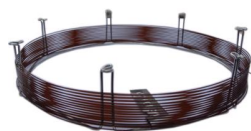
1, 目

气化室——气化室一般为一根在外管绕有加热丝的不锈钢管，液体样品进入气化室后，受热而瞬间气化。为了让样品在气化室中瞬间气化而不分解，因此要求气化室热容量大，无催化效应。为了尽量减少柱前谱峰变宽，气化室的死体积应尽可能小。

色谱柱和柱箱（分离系统）：

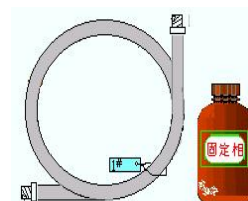
分离系统由色谱柱组成。色谱柱主要有两类：填充柱和毛细管柱。

※毛细管柱



[播放动画](#)

※填充柱



[播放动画](#)

填充柱:由不锈钢或玻璃材料制成，内装固定相，一般内径为 2~4 mm，长 1~3 m。填充柱的形状有 U 型和螺旋型二种。毛细管柱:空心毛细管柱材质为玻璃或石英。内径一般为 0.2~0.5mm，长度 20~200m，呈螺旋型。色谱柱的分离效果除与柱长、柱径和柱形有关外，还与所选用的固定相和柱填料的制备技术以及操作条件等许多因素有关。

检测系统：

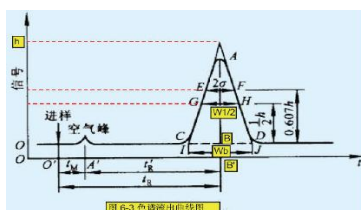
记录系统：

### 5. 气相色谱法的特点和应用范围

分离效率高、灵敏度高、分析速度快、应用范围广，但色谱峰不能直接给出定性的结果，不能用来直接分析未知物，必须用已知纯物质的色谱图与之对照；其次分析无机物和高沸点有机物时比较困难。

#### §6.1.2 色谱流出曲线常用术语

##### 1. 色谱图与色谱流出曲线



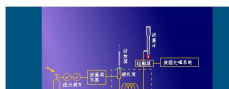
[播放动画](#)

色谱图——指色谱柱流出物通过检测器系统时所产生的响应信号对时间或流动相流出体积的曲线。

色谱流出曲线——指色谱图中随时间或载气流出体积变化的响应信号曲线,即以组分流出色谱柱的时间( $t$ )或载气流出体积( $V$ )为横坐标,以检测器对各组分的电信号响应值( $mV$ )为纵坐标的一条曲线。如图 6-3 所示。

## 2. 有关术语

### (1) 基线



指当没有组分进入检测器时,色谱流出曲线是一条只反映仪器噪声随时间变化的曲线。在操作条件变化不大时,稳定基线通常是一条直线。

基线噪声——指由各种因素所引起的基线起伏。

基线漂移——指基线随时间定向的缓慢变化。

### (2) 色谱峰

当某组分从色谱柱流出时,检测器对该组分的响应信号随时间变化所形成的峰形曲线称为该组分的色谱峰。色谱峰一般呈高斯正态分布。

### (3) 峰高和峰面积

峰高( $h$ )——指峰顶到基线的距离(图 6-3 中 AB);

峰面积——指每个组分的流出曲线与基线间所包围的面积。

峰高或峰面积的大小与每个组分在样品中的含量相关,因此色谱图中,峰高和峰面积是 GC 进行定量分析的主要依据。

### (4) 峰拐点

指在组分流出曲线上二阶导数等于零的点,如图 6-3 中 E、F 点。

### (5) 峰宽与半峰宽

峰宽( $Wb$ )——指色谱峰两侧拐点所作的切线与基线两交点之间的距离,如图中 IJ。

半峰宽( $W1/2$ )——指在峰高  $1/2h$  处的峰宽,如图中 GH。

### (6) 保留值

表示试样中各组分在色谱柱中的滞留时间的数值,它反映组分与固定相之间作用力的大小,通常用保留时间(亦称停留时间)和或用将组分带出色谱柱所需载气的体积(保留体积)表示。在一定的固定相和操作条件下,任何一种物质都有一确定的保留值,这样就可用作定性参数。

死时间( $t_M$ )——指不被固定相吸附或溶解的气体(如空气、甲烷)从进样开始到柱后出现浓度最大值时所需的时间。显然,死时间正比于色谱柱的空隙体积。

保留时间( $t_R$ )——指被测组分从进样开始到柱后出现浓度最大值时所需的时间。保留时间是色谱峰未知的标志。

调整保留时间( $t'_R$ )——指扣除死时间后的保留时间,即

$$t'_R = t_R - t_M \quad (6-1)$$

调整保留时间反映了组分在色谱过程中与固定相相互作用所消耗的时间,是各组分产生差速迁移的物理化学基础。

死体积( $V_M$ )——指色谱柱在填充后固定相颗粒间所留的空间、色谱仪中管路和接头间的空间以及检测器的空间的总和。若操作条件下色谱柱内载气的平均流速为  $F_c, mL/min$ , 则

$$V_M = t_M F_c \quad (6-2)$$

保留体积( $V_R$ )——指从进样开始到柱后被测组分出现浓度最大值时所通过的载气体积,即

$$V_R = t_R F_c \quad (6-3)$$

调整保留体积( $V'_R$ )——指扣除死体积后的保留体积,即

$$V'_R = t'_R F_c = (t_R - t_M) F_c = V_R - V_M \quad (6-4)$$

同样， $V_R'$ 与载气流速无关。死体积反映了色谱柱和仪器系统的几何特性，它与被测物的性质无关，故保留体积值中扣除死体积后将更合理地反映被测组分的保留特性。

相对保留值 ( $r_{is}$ ) ——指一定实验条件下某组分  $i$  的调整保留值与另一组分  $s$  的调整保留值之比：

$$r_{is} = \frac{t_{Ri}'}{t_{Rs}'} = \frac{V_{Ri}'}{V_{Rs}'} \quad (6-5)$$

$r_{is}$ 与柱温和固定相性质有关，而与载气流量及其他实验条件无关。

因此是色谱定性分析的重要参数之一。

选择性因子 ( $\alpha$ ) ——指相邻两组分的调整保留值之比。

$$\alpha_{2,1} = \frac{t_{R2}'}{t_{R1}'} = \frac{V_{R2}'}{V_{R1}'} \quad (6-6)$$

$\alpha_{2,1}$ 表示色谱柱的选择性，即固定相（色谱柱）的选择性。 $\alpha$ 值越大，相邻两组分的  $t_R'$ 相差越大，两组分的色谱峰相距越远，分离得越好，说明色谱柱的分离选择性愈高。当 $\alpha_{2,1}=1$ 时，两组分的色谱峰重叠，不能被分离。

相比率 ( $\beta$ ) ——指色谱柱的气相与吸附剂或固定液体积之比。

$$\beta = \frac{V_G}{V_S} \quad (6-7)$$

对于气—固色谱：

$$\beta = \frac{V_G}{V_L} \quad (6-8)$$

对于气—液色谱：

其中， $V_G$  ——色谱柱内气相空间， $mL$ ；

$V_S$  ——色谱柱内吸附剂所占体积， $mL$ ；

$V_L$  ——色谱柱内固定液所占体积， $mL$ 。

分配系数 ( $K$ ) ——指平衡状态时组分在固定相与流动相中的浓度比。

对于气—液色谱：

$$K = \frac{C_L}{C_G} \quad (6-9)$$

式中， $C_L$ ， $C_G$  ——分别表示组分在固定液、载气（气相）中的浓度。

$$k = \frac{\text{组分在固定相中的质量}}{\text{组分在流动相中的质量}} = \frac{m_L}{m_G} \quad (6-10)$$

容量因子(分配比,容量比, $k$ )——

又因为， $m_L = c_L V_L$ ， $m_G = c_G V_G$ ，故

$$k = \frac{C_L V_L}{C_G V_G} = K \frac{V_L}{V_G} = \frac{K}{\beta} \quad (6-11)$$

另外，由  $t_R = t_M (1+k)$  可得：

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_R'}{t_M} \quad (6-12)$$

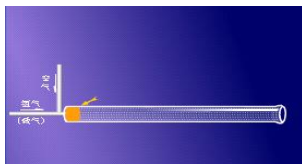
由上述各式还可得到： $V_R = V_G + K V_L$  (6-13)

### §6.1.3 色谱分离原理

色谱分离的基本原理：试样组分通过色谱柱时与填料之间发生相互作用，这种相互作用的差异使各组分互相分离而按先后顺序从色谱柱中流出。

{	气—固色谱	固定相：固体
		流动相：气相
{	气—液色谱	固定相：液体
		流动相：气相

### 1. 气—固色谱分析



固定相是一种具有多孔及较大表面积的吸附剂颗粒。试样由载气携带进入柱子时，立即被吸附剂所吸附。载气不断流过吸附剂时，吸附着的被测组分又被洗脱下来。这种洗脱下来的现象称为脱附。脱附的组分随着载气继续前进时，又可被前面的吸附剂所吸附。随着载气的流动，被测组分在吸附剂表面进行反复的物理吸附、脱附过程。由于被测物质中各个组分的性质不同，它们在吸附剂上的吸附能力就不一样，较难被吸附的组分就容易被脱附，较快地移向前面。容易被吸附的组分就不易被脱附，向前移动得慢些。经过一定时间，即通过一定量的载气后，试样中的各个组分就彼此分离而先后流出色谱柱。

### 2. 气—液色谱分析



固定相是在化学惰性的固体微粒（此固体是用来支持固定液的，称为担体）表面涂上一层高沸点有机化合物的液膜。这种高沸点有机化合物称为固定液。在气—液色谱柱内，被测物质中各组分的分离是基于各组分在固定液中溶解度的不同。当载气携带被测物质进入色谱柱，和固定液接触时，气相中的被测组分就溶解到固定液中去。载气连续进入色谱柱，溶解在固定液中的被测组分会从固定液中挥发到气相中去。随着载气的流动，挥发到气相中的被测组分分子又会溶解在前面的固定液中。这样反复多次溶解、挥发、再溶解、再挥发。由于各组分在固定液中溶解能力不同。溶解度大的组分就较难挥发，停留在柱中的时间长些，往前移动得就慢些。而溶解度小的组分，往前移动得快些，停留在柱中的时间就短些。经过一定时间后，各组分就彼此分离。

### 3. 分配过程

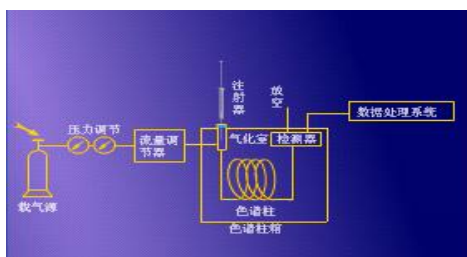
指物质在固定相和流动相之间发生的吸附——脱附和溶解——挥发的过程。显然，分配系数  $K$  或分配比  $k$  相同的两组分，它们的色谱峰永远重叠；分配系数  $K$  或分配比  $k$  的值差别越大，则相应的色谱峰距离越远，分离越好。一般来说，对气—固色谱而言，先出峰的是吸附能力而脱附能力大的物质；对气—液色谱而言，先出峰的是溶解度小而挥发性强的物质；总的来说，分配系数小的物质先出峰；分配系数大的物质后出峰。

## §6.2 气相色谱仪

### §6.2.1 概述

#### 1. GC 基本构造

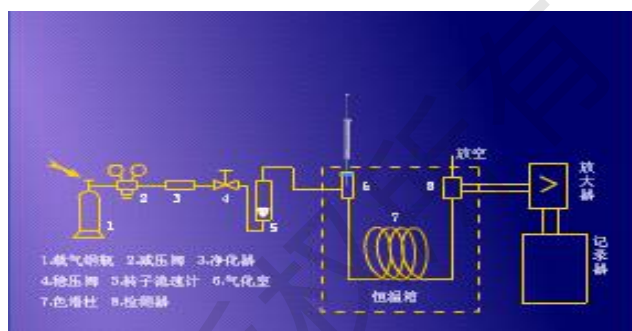
分为气路系统、进样系统、分离系统、检测系统、数据处理系统和温度控制等六大部分。



#### 2. GC 的分类和工作流程

类型:

单柱单气路



播放动画

载气由高压钢瓶供给，经减压阀减压，通过净化器的载气被稳压阀、针形阀调节控制到一定的流速上，并有压力表指示色谱柱的柱前压力。然后，载气进入热导池的参考池(A)并经过汽化室进入色谱柱，最后，通过热导池的测量池(B)出口接头放空。一般将皂膜流量计接在放空口处测量其往后实际流速。

双柱双气路

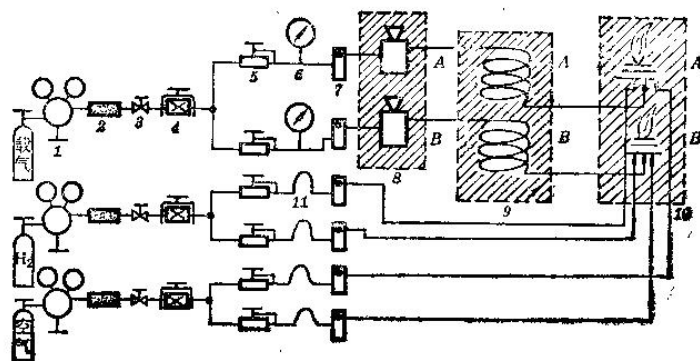


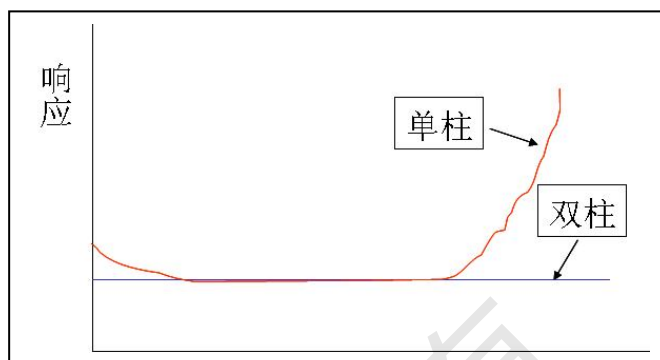
图 双柱双气路流程图

- |         |                      |         |         |         |
|---------|----------------------|---------|---------|---------|
| 1. 减压阀, | 2. 净化器,              | 3. 开关阀, | 4. 稳压阀, | 5. 稳流阀, |
| 6. 压力表, | 7. 转子流量计,            | 8. 汽化室, | 9. 色谱柱  | (A)、(B) |
|         | 10. 氢焰离子化检测室(A)、(B), | 11. 气阻器 |         |         |

播放动画

这是一种在单柱单气路的基础上发展起来的一种新型流路。在高精度的气相色谱仪中，双柱双气路系统已被普遍采用，因为它可以补偿操作条件和柱条件波动可能引起的分析误差，同时也可以补偿变温和高温下因固定液流失带来的噪声，从而提高仪器的稳定性。它特别适用于程序升温 and 痕量分析。

**双气路**可以补偿单柱时固定液的流失，因为固定相的流失在程序升温中不可能完全消除，由于流失会造成基线漂移，由于采用双柱，流失的影响在检测器中产生大小相等，方向相反的一对信号，可以互相抵消，如图所示：



**双柱双气路**与单柱单气路的不同点是载气经稳压阀后分成两路，分别进入两个平行的汽化室与色谱柱。图是氢焰离子化检测器适用于程序升温的气路流程图。

由于氢焰离子化检测器本身需么辅助气源，因此若采用 He、Ar、N<sub>2</sub> 为载气并分两路供给时，离子室所需辅助气源(H<sub>2</sub> 燃气气路和空气助燃气路)，亦必须分两路供给，因 2—3 表示了相应的供给方式。需要说明一点，由于流经离子室的 H<sub>2</sub> 和空气处于常压状态。为了保证稳压阀、稳流阀的正常操作，在各自的管路中增加了气阻器这一部件。

由于组份的分离在高温下进行，上述管路必须选择合适的材质加以连接。考虑到不锈钢具有耐高温、耐腐蚀、不生锈、易加工等特点、因此，在一般性能的气相色谱仪中，多采用内径为  $\Phi 3 - 4\text{mm}$  不锈钢管作为色谱柱，并用内径  $\Phi 1\text{mm}$  左右的不锈钢管进行气路连接。近年来，由于仪器的精度要求不断提高；**发现不锈钢柱以及不锈钢的汽化室其表面均有催化效应**，高于 160℃ 以上时易使某些样品发生分解，产生鬼峰、影响定性和定量。为了满足痕量分析，特别是农药残留量和易分解样品的分析，需使用高精度的气相色谱仪。高精度的气相色谱仪上的气路系统全部是玻璃管路，即从进样经汽化室、色谱柱、检测器到出口，都不使样品与任何金属表面接触，完全处在惰性的玻璃表面环境中。具有这一装置的气相色谱仪，一般有：

1. 玻璃管内衬的汽化室，
2. 玻璃色谱柱；
3. 汽化室与柱之间或柱与检测室之间的连接管道均采用玻璃细管或内衬玻璃的金梳管。

### §6.2.2 气路系统

#### 1. 气路系统的要求

GC 中的气路是一个载气连续运行的密闭管路系统。载气是载送样品进行分离的惰性气

体，是 GC 的流动相。常用的载气有氮气、氢气、氦气、氩气。其中氦气、氩气因价格高昂而应用较少。

## 2. 气路系统的主要部件

**气体钢瓶和减压阀**——GC 使用的气体压力为 0.2~0.4MPa，故需要减压阀使钢瓶气源的输出压力下降到规定值。

※高压钢瓶和减压阀

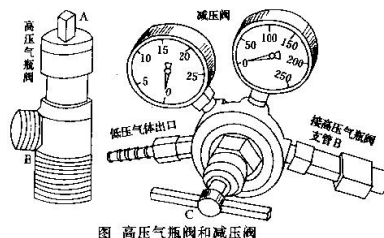


图 高压气瓶阀和减压阀

※减压阀示意图

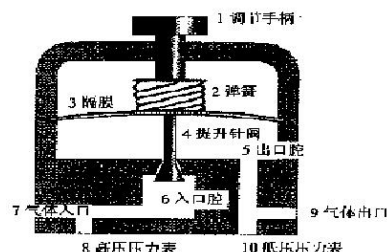


图 减压阀的结构示意图

减压阀的结构如图所示。图中 7 是高压气瓶与减压阀的连接口，气体经针阀 4 道进入装有调节隔膜的出口腔 5，出口压力是靠调节手柄 1 调节。逆时针旋松，针阀逐渐打开出口压力升高；顺时针拧紧，出口压力减小。通常将 10—15MPa 压力减小到 0.1—0.5MPa。由于气相色谱中所用载气流量较小，一般在 100ml/min 以下，所以单靠减压阀来控制流这是比较困难的，通常在减压阀输出气体的管线中还要串联稳压阀或针形阀，以精确的控制气体的流速。

不用时应先关闭气体钢瓶总阀，待压力表指针指向零点后，再将减压阀 T 形阀杆沿逆时针方向转动，旋松关闭（避免减压阀中的弹簧长时间压缩失灵）。实验室常用减压阀有  $H_2$ 、 $O_2$ 、 $CH_2$  等气体减压阀。每种减压阀只能用于规定的气体物质，比如， $H_2$  钢瓶选用  $H_2$  减压阀； $N_2$ 、空气钢瓶选用  $O_2$  减压阀；乙炔钢瓶选用  $CH_2$  减压阀；决不能混用。

**净化管**——气体钢瓶供给的气体经减压阀后，必须经净化管净化处理，以除去水分和杂质。



不同的检测器、各种色谱柱和不同的分析场合，对载气以及辅助气体纯度要求不同，净化的方法亦有差异。例如，ECD，特别是使用脉冲式 ECD 作农药残留分析时， $N_2$  气最好采用纯度为 99.99% 以上的气源，一定要把载气中电负性较强的氧含量控制在 10ppm 以下，也要把水的含量控制在 10ppm 以下。FID 这个检测器不论载气 ( $N_2$ ) 还是燃气 ( $H_2$ )，以及助燃气 (空气)，一定要除去干扰最大的烃和油污，而其中的一些永久气体影响就不大。再者，从分析角度来看，水份影响气—因色谱柱的活性、寿命以及气—液色谱柱的分离效率。因此，载气流路以及辅助气路根据上述要求必须有“去水”、“去氧”和“去总烃”的措施。

1. 去水 一般情况下，可以在载气管路中加上净化器，净化器内装硅胶和 5A 分子筛。

2. 去氧 含有微量氧的氮和氩气，在通过 300—400°C 装有活性铜胶催化剂的柱管后，可将氧含量降至 10ppm 以下。氢气中微量氧可在常温下通过装有 105 型铅催化剂的往管，使氢气中的氧降至 10ppm 以下。

3. 去总烃 不论载气，还是燃气 ( $H_2$ ) 以及助燃气 (空气)，从仪器的使用角度来看，采

用 5A 分子筛净化器是消除微量烃类最好的方法。

净化了的气体通入仪器后能否保持其纯度，主要取决于气相色谱仪气流系统的清洁度。因此，维护整个仪器的气路系统的清洁是十分重要的。气路系统的各控制阀的部件以及连接处事先都应进行极其严格的清洗，可采用对不锈钢柱或玻璃柱同样的清洗方法，除此之外使用者在操作中一定要防止气路的污染，并定期活化净化剂，否则，会给定性定量分析工作带来麻烦。

**稳压阀**——GC 中所用气体流量较小（一般低于 100mL/min），通常在减压阀输出气体的管线中串联稳压阀，以稳定载气（或燃气）的压力。常用的有波纹管双腔式稳压阀。

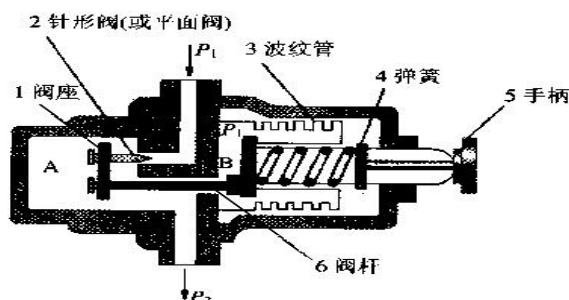


图 稳压阀的结构示意图

进口压力不超过 0.6MPa

出口压力一般在 0.1~0.3MPa

稳压阀的结构如图所示。为后面的针形阀提供稳定的气压，或为后面的稳流阀提供恒定的参考压力。旋转调节手柄，即可通过弹簧将针阀 2 旋到一定的开度，当压力达到一定值时就处于平衡状态。当气体进口压力  $P_1$  稍有增加时， $P_2$  处的压力也增加，波纹管就向右移动，并带动三根连动阀杆(图中只画出一根)也向右移动，使阀开度变小，使出口压力  $P_3$  维持不变，反之亦然。

**针形阀**——用来调节载气流量，也可用来控制燃气和空气的流量。但针形阀不能精确地调节流量。如图所示，在调节手柄 1 上连接一条直轴，即阀杆，在轴的下端呈尖锥形即阀针 5，通过改变阀针与阀门的相对位置来控制流量。当调节手柄依逆时针方向转动时，阀针与阀门的间隙增大，气体阻力减小。因此从针阀流出的气体流量增大。当调节手柄依顺时针方向转动时，使阀针密封圈将阀门压住，针形阀就关闭。在阀杆中间凹槽处嵌入一个氟橡胶垫圈。即密封环 4，其表面涂以硅油和真空脂，当阀杆移动时，密封环与阀体内壁始终紧密接触，使阀体保持密封状态。当针形阀不工作时，应使针形阀全开(此点和稳压阀相反)，以防止阀针密封圈粘在阀门入口处，也可防止压簧长期受压而失效。

由于针形阀结构简单，当进口压力发生变化时，处于同一位置的阀针，其出口的流量也发生变化，所以用针形阀不能精确的调节流量。针形阀常安装于空气的气路中，用以调节空气的流量。

**稳流阀**——自动控制载气的稳定流速。

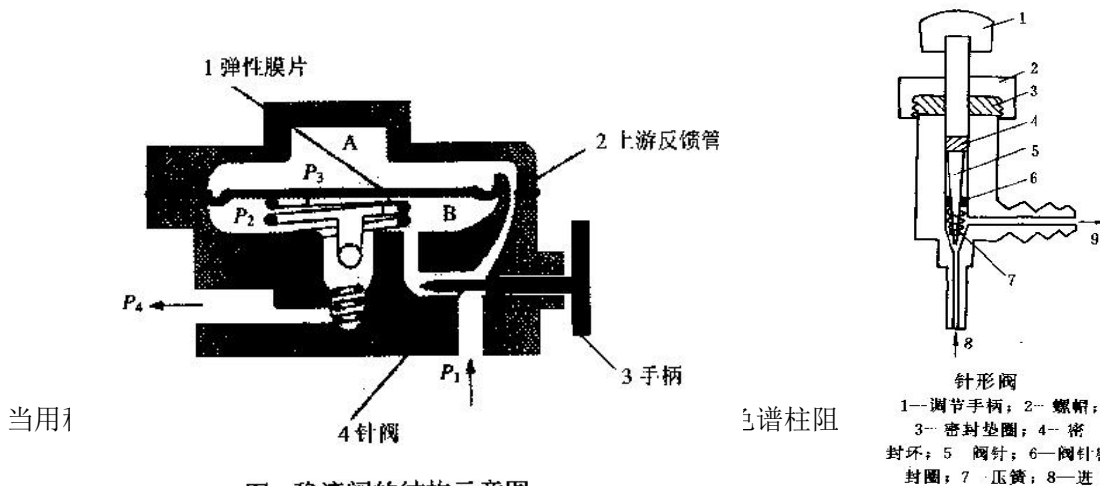


图 稳流阀的结构示意图

针形阀  
1—调节手柄；2—螺帽；  
3—密封垫圈；4—密封环；5—阀针；6—阀针密封圈；7—压簧；8—进

使载气流量发生变化。为了在气体阻力发生变化时，也能维持载气流速的稳定，需要使用稳流阀，来自动控制载气的稳定流速。稳流阀的结构如图所示。其工作原理是针阀在输入压力保持不变的情况下旋到一定的开度，使流量维持不变。当进口压力  $P_1$  稳定，针阀两端的压力差  $\Delta P = P_1 - P_2$ ，当  $\Delta P$  等于弹簧压力时，膜片两边达到平衡。当柱温升高时，气体阻力增加，出口压力  $P_2$  增加，流量降低。因为  $P_1$  是恒定的，所以  $P_1 - P_2$  小于弹簧压力，这时弹簧向上压动膜片，球阀开度增大，出口压力增大，流量增加，流量增加， $P_2$  也相应下降，直至  $P_1 - P_2$  等于弹簧压力时，膜片又处于平衡，使气体流量维持不变。

**管路连接**——GC 的管路多数采用内径为 3mm 的不锈钢管，依靠螺母、压环和“O”形密封圈进行连接。

**检漏**——检漏方法有：

皂膜检漏法——将肥皂水涂在各接头上看是否有气泡出现。

堵气观察法——用橡皮塞堵住出口处，转子流量计流量为零，同时关闭稳压阀，压力表压力不下降，则表明不漏气。反之，若流量计流量不为零，或压力表压力缓慢下降，则表明该处漏气。

**载气流量的测定**——载气流量是 GC 分析的一个重要操作条件，正确选择它可以提高色谱柱的分离效能，缩短分析时间。常用的测量仪器有转子流量计、皂膜流量计。

### ※ 检漏和载气流量测定



空气压缩机

#### 4. 气路系统

气路系统的  
阀的维护；

转子流量计和皂膜流量计的维护。

[播放动画](#)

#### §6.2.3 进样系统

GC 的进样系统包括进样器和气化室。

##### 1. 进样器

气体样品进样器——可用平面六通阀（又称旋转六通阀）进样。

液体样品进样器——可用微量注射器直接进样。常用的微量注射器规格有 1,5,10,50,100  $\mu L$  等。

固体样品进样器——固体样品通常用溶剂溶解后，用微量注射器进样。

详见 6.1

##### 2. 气化室

作用是将液体样品瞬间气化为蒸气。实际上，它是一个加热器，通常采用金属块作加热体。

### 3. 日常维护

气化室进样口的维护；

微量注射器的维护——使用前要先用丙酮等溶剂洗净；使用后应立即清洗处理，以免芯子因被样品中高沸点物质玷污而堵塞；切忌用重碱性溶液洗涤，以免玻璃受腐蚀失重和不锈钢零件受腐蚀而漏水漏气。

六通阀的维护——使用时应绝对避免带有颗粒固体杂质的气体进入此阀。

#### §6.2.4 分离系统

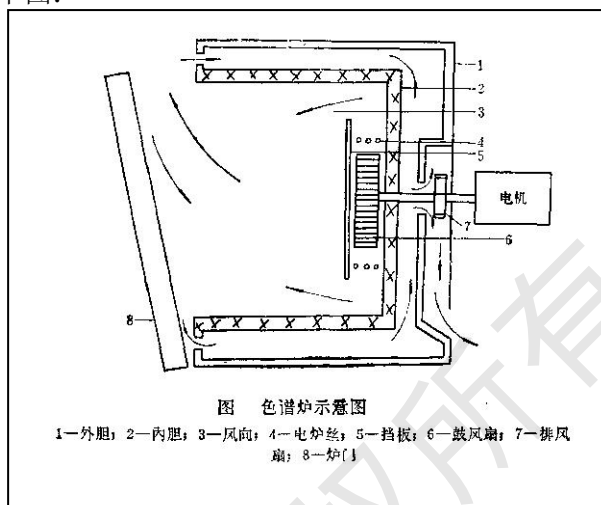
主要由柱箱和色谱柱组成。

1. 柱箱——为一个精密的恒温箱，其基本参数有两个：

柱箱的尺寸：GC 柱箱体积一般不超过  $15dm^3$ 。

柱箱的控温参数：一般温度范围为：室温~ $450^{\circ}C$ ，且均带有多阶程序升温设计，能满足色谱优化分离的需要。

结构见下图：



要求柱室温度梯度小，保温性能好，控温精度高，升温降温速度快。为了达到这个目的，许多国产气相色谱仪采用了空气夹层保温炉膛，带有强制鼓风与排风装置。其结构原理见上图。当仪器需要扇将夹层中的热空气迅速排出，冷空气进入夹层，进入炉膛，随着鼓风机、排风扇的运转，热空气不断排出，冷空气不断进来，迅速达到降温目的。仪器恒温工作时，可把门关上，随之排风门自动关闭。排风扇的作用是将夹层中的热空气循环至平衡，鼓风机持炉内产生的热量吹送到内胆各处，热空气由炉门挡回从挡板流入至风扇中心。这样反复多次的循环直至达到恒温目的。实践证明，这种柱室升温快，热惰性小，降温快，机械强度高，便于恒温和程序升温。炉温一般在  $0 \sim 350^{\circ}C$ ，或高温色谱为  $0 \sim 500^{\circ}C$ ，要求温度分布均匀，并且炉内的上下温度或同一截面不同点温度之差不超过  $\pm 0.5^{\circ}C$ ，控制点精度在  $\pm 0.1^{\circ}C$  以内。

#### 2. 色谱柱的类型

一般可分为填充柱和毛细管柱。

填充柱——指在柱内均匀、紧密填充固定相颗粒的色谱柱。特征是柱长一般在  $1 \sim 5m$ 、内径一般为  $2 \sim 4mm$ 。

毛细管柱（又称空心柱）——比填充柱的分离效率有很大的提高。常用的为涂壁空心柱（WCOT），其内壁直接涂渍固定液，柱材料大多用熔融石英。

#### 3. 色谱柱的维护

新制色谱柱使用前必须进行老化；

色谱柱使用一段时间后，柱效能可能发生变化，应测试；

色谱柱暂不使用时，应从仪器上卸下；

每次关机前都应将柱箱温度降至  $50^{\circ}C$  以下，然后再关电源和载气。若温度过高时就切断载气，则空气（氧气）就扩散进入柱管内，会造成固定液氧化和降解。

对毛细管柱，使用一段时间后如果柱效能显著降低，则表明固定液流失太多，或吸附了

一些高沸点的极性化合物，可在高温下老化，用载气将污染物冲洗出来。

### §6.2.5 检测系统

GC 检测器的作用是将经色谱柱分离后顺序流出的化学组分的信息转变为便于记录的电信号，然后对被分离物质的组成和含量进行鉴定和测量。

#### 1. 检测器的类型及性能指标

##### (1) 类型

目前广泛使用的是微型检测器，其显示的信号是组分随时间的瞬时量的变化。

按原理的不同可分为：

浓度敏感型检测器——响应值取决于载气中组分的浓度。常见的有热导检测器、电子捕获检测器等。

质量敏感型检测器——输出信号的大小取决于组分在单位时间内进入检测器的量，而与浓度关系不大。常见的有氢火焰离子化检测器、火焰光度检测器等。

##### (2) 性能指标

主要指灵敏度、检测限、噪声、线性范围和响应时间。

噪声——在没有样品进入检测器时，仅由于检测仪器本身及其他操作条件使基线在短时间内发生起伏的信号，单位常用  $mV$  表示。

漂移——使基线在一定时间内对原点产生的偏离，用  $mV/h$  表示。

检测器的线性——指检测器内载气中组分浓度与响应信号成正比的关系。

检测器的线性范围——指被测物质的量与检测器响应信号成线性关系的范围，以最大允许进样量与最小允许进样量的比值表示。

GC 检测器的灵敏度  $S$ ——指通过检测器物质质量的变化时，该物质响应值得变化率。

$$s = \frac{\Delta R}{\Delta Q} \quad (6-14)$$

式中， $R$  ——响应信号， $mV$ ；

$Q$  ——浓度

浓度敏感型检测器的灵敏度为：

$$s = \frac{Ac_1c_2F}{m} \quad (6-15)$$

式中， $A$  ——峰面积， $mm^2$ ；

$c_1$  ——记录器或数据处理机灵敏度， $mV/mm$ ；

$c_2$  ——纸速倒数， $min/mm$ ；

$F$  ——载气流速， $mL/min$ ；

$m$  ——样品质量， $mg$ 。

质量敏感型检测器的灵敏度为：

$$s_t = \frac{\Delta R}{\Delta m} = \frac{60Ac_1c_2}{m} \quad (6-16)$$

式中， $S_t$  表示有  $1g$  样品通过检测器时每秒钟产生的电位数， $mV.s/g$ 。

检测器的检测限  $D$ ——指产生两倍噪声信号时，单位体积的载气或单位时间内进入检测器的组分量。

$$D=2N/S \quad (6-17)$$

由于灵敏度  $S$  有不同的单位，故  $D$  亦有不同的单位：

$D_g=2N/S_g$ ， $mg/mL$

$D_v=2N/S_v$ ， $mL/mL$  (6-18)

$D_t=2N/S_t$ ， $g/s$

灵敏度  $S$  和检测限  $D$  是从两个不同角度表示检测器对物质敏感程度的指标。灵敏度越大，检测限越小，则表明检测器性能越好。

GC 检测器的响应时间——指进入检测器的组分输出达到 63%所需的时间。显然，检测器的响应时间越短，表明检测器性能越好。

#### 2. GC 常用检测器

最常用的检测器有热导检测器（TCD）、氢火焰离子化检测器（FID）。此外，电子捕获检测器（ECD）、氮磷检测器（NPD）及火焰光度检测器（FPD）使用得也比较多。

(1) TCD——利用被测组分和载气的导热系数不同而响应的浓度型检测器，也称为热导池。

TCD 结构——由池体和热敏元件构成，有双臂热导池和四臂热导池两种（见图 6-4 所示）。

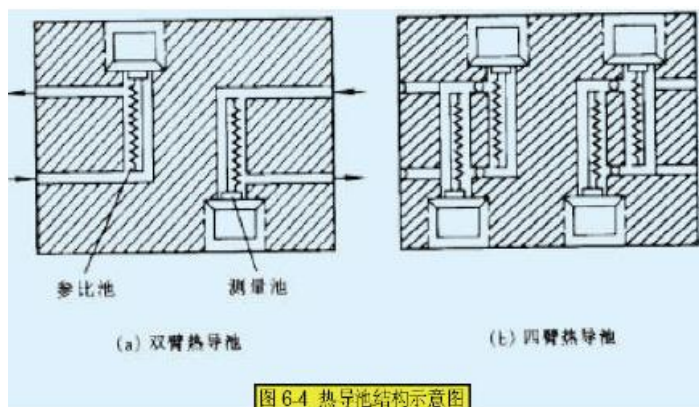


图 6.4 热导池结构示意图

播放动画

热导池的气路形式有直通式、扩散式、半扩散式三种。图中，a.用于单柱单气路，b.用于双柱

双气路，在金属池体上凿两个相似的孔道，里面各放一根长短、粗细和组织相等的钨丝（ $R_1=R_2$ ），钨丝是一种热敏元件，其阻值随温度的变化而灵敏的变化。如果将  $R_1$ 、 $R_2$  接入惠斯登电桥，即可用于 GC 检测。

测量电桥——TCD 中热敏元件电阻值的变化可以通过惠斯通电桥来测量。图 6-5 为四臂热导池的测量电桥。

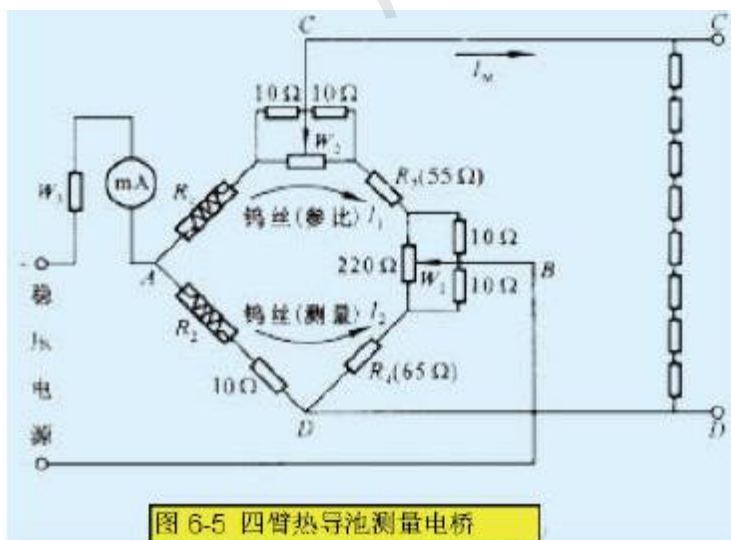


图 6-5 四臂热导池测量电桥

工作原理——TCD 作为检测器，是基于不同的物质具有不同的导热系数，而热丝具有电阻随温度变化的特性。

当电桥未接通时,  $R_1 / R_2 = R_3 / R_4$  或  $R_1 R_4 = R_2 R_3$ 。在没有任何外界条件影响的情况下, 电桥处于平衡状态,  $\Delta E_{CD} = 0$ , 没有电压输出。

当电桥接通时, 有电流通过钨丝, 钨丝被加热, 其温度升高, 钨丝的电阻值也就增加到一定值(一般金属丝的电阻值随温度升高而增加)。

在未进试样时, 通过热导池两个池孔(参比池和测量池)的都是载气。由于载气的热导作用使钨丝的温度下降, 电阻减小, 此时热导池的两个池孔中钨丝温度下降和电阻减小的数值是相同的, 亦即  $\Delta R_1 = \Delta R_2$ , 因此当两个池都通过载气时, 处于平衡状态, 能满足  $(R_1 + \Delta R_1) R_4 = (R_2 + \Delta R_2) R_3$ 。此时 C, D 两端的电位相等,  $\Delta E_{CD} = 0$ , 就没有信号输出, 电位差计记录的是一条零位直线, 称为基线。

如果从进样器注入试样(进样时), 经色谱柱分离后, 由载气先后带入测量池。此时由于被测组分与载气组成的二元导热系数与纯载气不同, 使测量池中钨丝散热情况发生变化, 导致测量池中钨丝温度和电阻值的改变, 而与只通过纯载气的参比池内的钨丝的电阻值之间有了差异, 即:

$\Delta R_1 \neq \Delta R_2$ ,  $(R_1 + \Delta R_1) R_4 \neq (R_2 + \Delta R_2) R_3$ 。这样电桥就不平衡, C, D 之间产生不平衡电位差,  $\Delta E_{CD} \neq 0$ , 就有信号输出。在记录纸上即可记录出各组分的色谱峰。

载气中待测组分的浓度越大, 测量池中气体热导系数改变就越显著, 温度和电阻值改变也愈显著, 电压信号就愈强。此时, 输出的电压信号(色谱峰面积或峰高)与样品的浓度成正比, 这正是 TCD 定量测量的基础。

**TCD 性能特征**——TCD 对单质、无机物及有机物均有响应, 且响应值与使用的 TCD 类型、结构以及操作条件无关, 因而通用性好。TCD 的线性范围为  $10^5$ , 定量准确, 操作维护简单、价廉。缺点是灵敏度较低。

**检测条件的选择**——影响热导池检测器灵敏度的因素主要有桥路电流、载气性质、池体温度、热敏元件材料及性质。

**载气的种类、纯度和流量**: TCD 通常用 He 或  $H_2$  作载气, 不使用  $N_2$  或 Ar 作载气, 因为其灵敏度低, 线性范围窄。载气的纯度影响 TCD 的灵敏度; 色谱峰的峰面积响应值反比于载气流量。因此, 检测过程中载气流速必须保持恒定。在柱分离许可情况下, 载气应尽量选用低流速。流速波动可能导致基线噪声和漂移增大。

**桥路工作电流 I 影响**: 电流增加, 使钨丝温度提高, 钨丝和热导池体的温差加大, 气体就容易将热量传出去, 灵敏度就提高。  $S \propto I^3$ , 但 I 不能太大, 否则, 噪声加大, 基线不稳, 数据的精密度降低, 甚至钨丝被烧坏。一般 100~200mA。

**热导池体的温度的影响**: 当桥路电流一定时, 钨丝温度一定。池体与钨丝的温差越大, 灵敏度越高, 显然池体温度越低越好, 但不能低于柱温, 否则, 被测组分可能在检测器内凝聚。

**热敏元件阻值的影响**: 选择阻值高, 电阻温度系数较大的热敏元件(钨丝、铼钨丝等), 当温度有一些变化时, 就能引起电阻明显变化, 灵敏度就高。

**应用**——TCD 是一种通用的非破坏型浓度型检测器, 特别适用于气体混合物的分析。在工厂中的应用最典型的实例就是石油裂解气的分析。

TCD 的维护——(略)

(2) FID——是 GC 检测器中使用最广泛的一种, 是典型的破坏型质量型检测器。

FID 结构——主要部件是离子室。离子室(见图 6-6)一般用不锈钢制成,

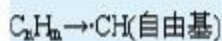


播放动画

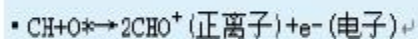
包括气体入口，火焰喷嘴，一对电极和外罩。被测组分被载气携带，从色谱柱流出，与氢气混合一起进入离子室，由毛细管喷嘴喷出。氢气在空气的助燃下经引燃后进行燃烧，以燃烧所产生的高温（约 2100℃）火焰为能源，使被测有机物组分电离成正负离子。在氢火焰附近设有收集极（正极）和极化极（负极），在两极之间加有 150V 到 300V 的极化电压，形成一直流电场。产生的离子在收集极和极化极的外电场作用下定向运动形成电流。

FID 工作原理——至今还不十分清楚其机理，普遍认为这是一个化学电离过程。有机物在火焰中先形成自由基，然后与氧产生正离子，再同水反应生成  $H_3O^+$  离子。以苯为例，在氢火焰中的化学电离反应如下：

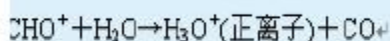
有机物  $C_xH_n$  在此发生裂解而产生含碳自由基  $\cdot CH$ ：



然后进入反应层，与外面扩散进来的激发态原子或分子氧发生反应，生成  $CHO^+$  及  $e^-$ ：



形成的  $CHO^+$  与火焰中大量水蒸气碰撞发生分子—离子反应，产生  $H_3O^+$  离子：



化学电离产生的正离子 ( $CHO^+$ ,  $H_3O^+$ ) 和电子 ( $e^-$ ) 在外加 150—300V 直流电场作用下向两极移动而产生微电流。经放大后，记录下色谱峰。

**性能特征**——特点是灵敏度高，比 TCD 的灵敏度高  $10^3$  倍；检出限低，可达  $10^{-12} g/s$ ；线性范围宽，可达  $10^7$ ；结构简单，响应时间仅为  $1ms$ 。主要缺点是不能检测永久性气体：水、 $CO$ 、 $CO_2$ 、氮的氧化物、 $H_2S$  等物质。

**检测条件的选择**——FID 可供操作者选择的主要参数有：载气种类和载气流速；氢气和空气的流速；柱、气化室和检测室的温度；极化电压；电极形状和距离等。

**气体种类、流速和纯度：**

**载气**——载气将被测组分带入 FID，同时又是氢火焰的稀释剂。 $N_2$ 、 $Ar$ 、 $H_2$ 、 $He$  均可作 FID 载气，而  $N_2$ 、 $Ar$  作载气时 FID 灵敏度高、线性范围宽。因  $2N$  比  $Ar$  低廉，故通常用  $2N$  作载气。

**氮氢比**——试验表明，氮稀释氢火焰的灵敏度高于纯氢火焰。

**空气的流速**——通常空气的流速约为氢气流速的 10 倍，约在  $300 \sim 500 mL/min$ 。

**气体纯度**——常量分析时，载气、氢气和空气纯度在 99.9% 以上即可；痕量分析时，则三者纯度应达 99.999% 以上。

**温度**：FID 为质量敏感型检测器，对温度变化不敏感，因为在 FID 中氢气燃烧产生大量水蒸气。若检测器温度低于  $80^\circ C$ ，水蒸气不能以蒸气状态从检测器排出，而冷凝成水，从而减小了灵敏度，增加了噪声。所以，要求 FID 温度必须在  $120^\circ C$  以上。

**极化电压**：极化电压的大小会直接影响检测器的灵敏度。

**电极形状和距离**

**日常维护**

**应用**——除用于各种常量样品的常规分析以外，由于其灵敏度高，还特别适合作各种样品的痕量分析。

(3) 电子捕获检测器 (ECD)

(略)

(4) 火焰光度检测器 (FPD)  
(略)

§6.2.6 数据处理系统和温度控制

1. 数据处理系统

基本功能——能够检测器输出的模拟信号随时间的变化曲线画出来。

类型——电子电位差计 (记录仪), 积分仪, 色谱数据处理机, 色谱工作站

2. 温度控制系统

功能——主要对色谱柱、气化室、检测器的温度进行控制。

色谱柱箱

检测器和气化室

温度控制系统的维护



[观看温度控制系统](#) [播放动画](#)

§6.2.7 常见 GC 的使用

1. 102G GC (氢焰) 的使用: 详见课本 P254-6。

§6.3 气相色谱基本理论

§6.3.1 塔板理论

~是 1941 年由马丁 (Martin) 和詹姆斯 (James) 提出的半经验式理论, 其要点是将色谱分离技术比拟为一个蒸馏过程, 即将连续的色谱分离过程看做是许多小段平衡过程的重复。

1. 塔板理论的基本假设

塔板理论  $\Leftrightarrow$  蒸馏  
 色谱柱 — — — 蒸馏塔  
 小段色谱柱 — — 塔板

在每一小段 (塔板) 内, 一部分空间为涂在载体上的液相占据, 另一部分充满载气 (气相), 载气占据的空间称为板体积  $\Delta V$ 。当欲分离的组分随载气进入色谱柱后, 就在两相间进行分配。由于流动相不停的移动, 组分就在这些塔板间隔的气液两相间不断地达到分配平衡。

塔板理论的基本假设有:

在每一小段间隔内, 气相平均组成与液相平均组成很快地达到分配平衡;

载气进入色谱柱, 不是连续的而是脉动式的, 每次进气为一个板体积;

试样开始时都加在 0 号塔板上, 且试样沿色谱柱方向的扩散 (纵向扩散) 可忽略不计;

分配系数在各塔板上是常数。

这样, 单一组分进入色谱柱, 在固定相和流动相之间经过多次分配平衡, 流出色谱柱时便可得到一趋于正态分布的色谱峰。色谱峰上组分的最大浓度处所对应的流出时间或载气板体积即为该组分的保留时间或保留体积。

2. 理论塔板数  $n$

$$n = \frac{L}{H} \quad (6-19)$$

其中,  $L$  ——色谱柱长;

$H$  ——理论塔板高度, 即组分在柱内达成一次分配平衡所需要的柱长。

计算理论塔板数  $n$  的经验公式为:

$$n = 5.54 \left( \frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 = 16 \left( \frac{t_R}{W_b} \right)^2 \quad (6-20)$$

其中,  $t_R$  ——组分的保留时间, s

$1/2 W$  ——半峰宽, s

$W_b$  ——峰底宽, s

### 3. 有效理论塔板数 $n_{eff}$

由于保留时间  $Rt$  中包括了死时间  $t_M$ , 而  $t_M$  不参加柱内的分配, 故以调整保留时间  $t'_R$  代替  $t_R$  计算有效理论塔板数  $n_{eff}$ , 用以衡量色谱柱的柱效能:

$$n_{eff} = \frac{L}{H_{EFF}} = 5.54 \left( \frac{t'_R}{W_{1/2}} \right)^2 = 16 \left( \frac{t'_R}{W_b} \right)^2 \quad (6-21)$$

式中,  $H_{eff}$  ——有效理论塔板高度;

$t'_R = t_R - t_M$  ——组分的调整保留时间, s

注意点: 同一根色谱柱对不同的组分的柱效能是不同的, 故在使用  $n_{eff}$  或  $H_{eff}$  表示柱效能时, 除了应说明色谱条件外, 还必须说明所针对的组分。

## §6.3.2 速率理论

### 1. 速率理论方程式

1956 年荷兰学者范第姆特(Van Deemter) 等提出了色谱过程的动力学理论, 他们吸收了塔板理论的概念, 并把影响塔板高度的动力学因素结合进去, 导出了塔板高度  $H$  与载气线速度  $u$  的关系:

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu \quad (6-22)$$

其中,  $H$  称为塔板高度,  $u$  为载气的线速度,  $cm/s$ ;  $A$  称为涡流扩散项系数,  $B$  为分子扩散项系数,  $C$  为传质阻力项系数。

### 2. 影响柱效能的因素

#### (1) 涡流扩散项 $A$ :

气体碰到填充物颗粒时, 不断地改变流动方向, 使试样组分在气相中形成类似“涡流”的流动, 因而引起色谱的扩张。由于  $A = 2\lambda d_p$ , 表明  $A$  与填充物的平均颗粒直径  $d_p$  的大小和填充的不均匀性  $\lambda$  有关, 而与载气性质、线速度和组分无关, 因此使用适当细粒度和颗粒均匀的担体, 并尽量填充均匀, 是减少涡流扩散, 提高柱效的有效途径。

#### (2) 分子扩散项 $B/u$ :

由于试样组分被载气带入色谱柱后, 是以“塞子”的形式存在于柱的很小一段空间中, 在“塞子”的前后(纵向)存在着浓差而形成浓度梯度, 因此使运动着的分子产生纵向扩散。而  $B = 2\gamma D_g$ ,  $\gamma$  是因载体填充在柱内而引起气体扩散路径弯曲的因数(弯曲因子),  $D_g$  为组分在气相中的扩散系数。分子扩散项与  $D_g$  的大小成正比, 而  $D_g$  与组分及载气的性质有关: 相对分子质量大的组分, 其  $D_g$  小, 反比于载气密度的平方根或载气相对分子质量的平方根, 所以采用相对分子质量较大的载气(如氮气), 可使  $B$  项降低,  $D_g$  随柱温增高而增加, 但反比于柱压。

弯曲因子  $\gamma$  为与填充物有关的因素。

#### (3) 传质项系数 $Cu$ :

$$Cu = (C_g + C_L) u \quad (6-23)$$

包括气相传质阻力系数  $C_g$  和液相传质阻力系数  $C_L$  两项。

所谓气相传质过程是指试样组分从气相移动到固定相表面的过程,在这一过程中试样组分将在两相间进行质量交换,即进行浓度分配。这种过程若进行缓慢,表示气相传质阻力大,就引起色谱峰扩张。对于填充柱:

$$C_g = \frac{0.01k^2 \cdot d_p^2}{(1+k)^2 \cdot D_g} \quad (6-24)$$

液相传质过程是指试样组分从固定相的气液界面移动到液相内部,并发生质量交换,达到分配平衡,然后以返回气液界面的传质过程。这个过程也需要一定时间,在此时间,组分的其它分子仍随载气不断地向柱口运动,这也造成峰形的扩张。

液相传质阻力系数  $C_L$  为:

$$C_L = \frac{2}{3} \cdot \frac{k^2}{(1+k)^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_L} \quad (6-25)$$

对于填充柱,气相传质项数值小,可以忽略。

将常数项的关系式代入简化式得:

$$H = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_g}{u} + \left[ \frac{0.01k^2}{(1+k)^2} \cdot \frac{d_p^2}{D_g} + \frac{2}{3} \cdot \frac{k}{(1+k)^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_L} \right] u \quad (6-26)$$

由上述讨论可见,范第姆特方程式对于分离条件的选择具有指导意义。它可以说明,填充均匀程度、担体粒度、载气种类、载气流速、柱温、固定相液膜厚度等对柱效、峰扩张的影响。

## §6.4 实验技术

### §6.4.1 色谱柱的总分离效能指标——分离度

#### 1. 引入

根据塔板理论,有效理论塔板数  $effn$  是衡量柱效能的指标,表示组分在柱内进行分配的次数,但样品中各组分在柱内能否得到分离,取决于各组分在固定相中分配系数  $K$  的差异,即取决于固定相的选择性,而不是由分配次数的多少来确定。因此柱效能不能说明难分离物质对的实际分离效果,而选择性却无法说明柱效率的高低。故引入一个既能反映柱效能、又能反映柱选择性的综合性指标——分离度  $R$ 。

定义:分离度  $R$  为相邻两组分色谱峰的保留时间之差与两峰底宽度平均值之比,即

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{\frac{1}{2}(W_{b_2} + W_{b_1})} \quad (6-27)$$

理论证明,若相邻两色谱峰对称且满足正态分布,则

$$\left. \begin{array}{l} \text{当 } R=1.5, \text{ 分离程度可达 } 99.7\% \\ \text{当 } R=1, \text{ 分离程度可达 } 98\% \\ \text{当 } R<1, \text{ 两峰有明显的重迭} \end{array} \right\} \Rightarrow \text{通常用 } R=1.5 \text{ 作为相邻两峰能完全分离的标志。}$$

#### 2. 色谱基本分离方程式

分离度  $R$  的意义——分离度  $R$  作为柱的总分离效能指标,既反映了两组分保留值得差值,即固定液对两组分选择性  $\alpha_{2,1}$ , 的大小(由固定液的热力学性质所决定);又考虑到色谱峰宽度对分离的影响,即柱效能  $n_{eff}$  得高低(取决于色谱过程的动力学因素)。

分离度  $R$  和选择性  $\alpha$  的关系——假设相邻两色谱峰峰底宽度相等,即

$$W_{b_2} = W_{b_1} = W_b, \text{ 则}$$

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{\frac{1}{2}(W_{b_2} - W_{b_1})} = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{W_b} = \frac{t'_{R_2} - t'_{R_1}}{W_b}$$

$$n_{eff} = \frac{L}{H_{eff}} = 16 \left( \frac{t'_R}{W_b} \right)^2$$

而

$$R = \frac{\sqrt{n_{eff}}}{4} \cdot \frac{t'_{R_2} - t'_{R_1}}{t'_{R_2}} = \frac{\sqrt{n_{eff}}}{4} \cdot \frac{\alpha_{2,1} - 1}{\alpha_{2,1}} \quad (6-28)$$

此式将分离度  $R$  与柱效能  $n_{eff}$ 、柱选择性  $\alpha_{2,1}$ ，联系起来，为色谱分离条件的选择提供了理论依据，故称为色谱基本分离方程式。

**例 6-1:** 在一根长度为 1 米的填充柱上，空气的保留时间为 5s，苯和环己烷的保留时间分别为 45s 和 49s，环己烷色谱峰峰底宽度为 5s。欲得到  $R=1.2$  的分离度，求有效理论塔板数、所需的柱长。

已知： $L_0=1m, t_M=5s, t_{R_1}=45s, t_{R_2}=49s, W_{b_2}=5s, R=1.2$ ，求  $n_{eff}, L$ 。

**解:** 首先求出环己烷对苯的相对保留值  $\alpha_{2,1}$ ，即

$$\alpha_{2,1} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{t_{R_2} - t_M}{t_{R_1} - t_M} = \frac{49 - 5}{45 - 5} = 1.1$$

$$R = \frac{t'_{R_2} - t'_{R_1}}{W_b} = \frac{49 - 45}{5} = 0.8$$

再求分离度：

该柱的有效理论塔板数为：

$$n_{eff} = 16 \left( \frac{t'_R}{W_b} \right)^2 = 16 \left( \frac{49 - 5}{5} \right)^2 = 1239$$

若使  $R=1.2$ ，则所需的有效理论塔板数为：

$$n_{eff} = \left( 4R \frac{\alpha_{2,1} - 1}{\alpha_{2,1}} \right)^2 = \left( 4 \times 1.2 \times \frac{1.1}{1.1 - 1} \right)^2 = 2788$$

因为  $n_{eff} = \frac{L}{H_{eff}}$ ，故有  $n_{eff} \propto L$

$$L = \frac{n_{eff}}{n_{eff_0}} L_0 = \frac{2788}{1239} \times 1 = 2.25(m)$$

故所需的柱长为：

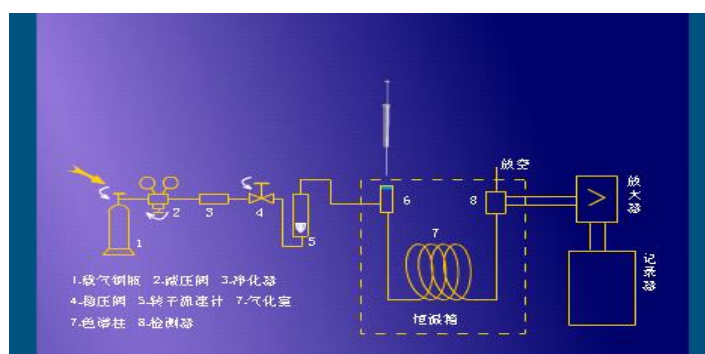
### §6.4.2 分离操作条件的选择

#### 1. 载气及其流速的选择

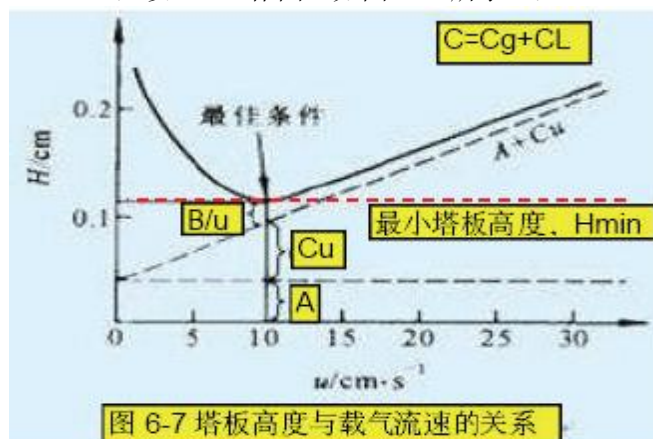
##### (1) 载气种类的选择

根据检测器种类来选：TCD——选用  $H_2$  或  $He$ ；FID——选用  $N_2$ 。

##### (2) 载气流速的选择



根据式  $H = A + \frac{B}{u} + Cu$ ，以  $H \sim u$  作图（如图 6-7 所示），



在曲线的最低点，理论塔板高度最小（ $H_{\min}$ ），柱效能最高。该点对应的流速即为最佳流速  $u_{opt}$ 。

$$\text{因 } \frac{dH}{du} = -\frac{B}{u^2} + c = 0, \text{ 故有}$$

$$u_{opt} = \sqrt{\frac{B}{c}} \quad (6-29)$$

$$\text{此时, } H_{\min} = A + 2\sqrt{BC} \quad (6-30)$$

实际工作中，为了加快分析速度，往往选择稍大于最佳流速  $u_{opt}$  的流速。

## 2. 色谱柱的选择

### (1) 气—固色谱柱的选择

在气—固色谱法中作为固定相的吸附剂，常用固体吸附剂。

固体吸附剂的种类有：有非极性的活性炭，弱极性的氧化铝，极性的分子筛，氢键型硅胶等。

活性炭：有较大的比表面积，吸附性较强。

活性氧化铝：有较大的极性。适用于常温下  $O_2$ 、 $N_2$ 、 $CO$ 、 $CH_4$ 、 $C_2H_6$ 、 $C_2H_4$  等气体的相互分离。 $CO_2$  能被活性氧化铝强烈吸附而不能用这种固定相进行分析。

硅胶：与活性氧化铝大致相同的分离性能，除能分析上述物质外，还能分析  $CO_2$ 、 $N_2O$ 、 $NO$ 、 $NO_2$  等，且能够分离臭氧。

分子筛：碱及碱土金属的硅铝酸盐（沸石），多孔性。如 3A、4A、5A、10X 及 13X 分子筛等（孔径：埃）。常用 5A 和 13X（常温下分离  $O_2$  与  $N_2$ ）。除了广泛用于  $H_2$ 、 $O_2$ 、 $N_2$ 、 $CH_4$ 、 $CO$  等的分离外，还能够测定 He、Ne、Ar、NO、 $N_2O$  等。

高分子多孔微球（GDX 系列）：新型的有机合成固定相（苯乙烯与二乙烯苯共聚所得到的交联多孔共聚物）。型号：GDX-01、-02、-03 等。适用于水、气体及低级醇的分析。它们对各种气体吸附能力的强弱不同，因而可根据分析对象选用。一些常用的吸附剂及其用途均可从有关手册中查得。

固体吸附剂的优点——吸附容量大，热稳定性好，无流失现象，且价格便宜。

缺点——吸附等温线不成线性，重现性差，柱效低，吸附活性中心易中毒等。

### (2) 气—液色谱柱的选择

柱中所用填料是液体固定相，它是由惰性的固体载体和其表面上涂渍的高沸点有机物液

膜所构成的。这种高沸点有机物常称为“固定液”。

担体(载体)——担体(载体)应是一种化学惰性、多孔性的颗粒，它的作用是提供一个大的惰性表面，用以承担固定液，使固定液以薄膜状态分布在其表面上。对担体有以下几点要求：

表面应是化学惰性的，即表面没有吸附性或和吸附性很弱，更不能与被测物质起化学反应；

多孔性，即表面积较大，使固定液与试样的接触面较大；

热稳定性好，有一定的机械强度，不易破碎；

对担体粒度的要求，一般希望均匀、细小，这样有利于提高柱效。

气——液色谱中所用担体可分为硅藻土型和非硅藻土型两类。

硅藻土型担体，天然硅藻土经煅烧而成的。常用的是此类担体，它又可分为红色担体和白色担体（煅烧时加  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  之类的助熔剂，使氧化铁转化为白色的铁硅酸钠）两种。

红色担体：孔径较小，表面孔穴密集，比表面积较大 ( $4 \text{ m}^2/\text{g}$ )，机械强度高。适宜分离非极性或弱极性组分的试样。缺点是表面存有活性吸附中心点。

白色担体：煅烧前原料中加入了少量助溶剂(碳酸钠)。颗粒疏松，孔径较大。表面积较小 ( $1 \text{ m}^2/\text{g}$ )，机械强度较差。但吸附性显著减小，适宜分离极性组分的试样。

硅藻土类担体的预处理：普通硅藻土类担体表面并非惰性，含有  $\equiv\text{Si-OH}$ 、 $\text{Si-O-Si}$ 、 $=\text{Al-O-}$ 、 $=\text{Fe-O-}$  等基团，故既有吸附活性又有催化活性。若涂渍上极性固定液，会造成固定液分布不均匀；分析极性试样时，

由于活性中心的存在，会造成色谱峰拖尾，甚至发生化学反应。因此，担体使用前应进行钝化处理，方法如下：

a. 酸洗（除去碱性基团）、碱洗（除去酸性基团）：用浓  $\text{HCl}$ 、 $\text{KOH}$  的甲醇溶液也分别浸泡，以除去铁等金属氧化物及表面的氧化铝等酸性作用点。

b. 硅烷化（消除氢键结合力）：用硅烷化试剂(二甲基二氯硅烷等)与担体表面的硅醇、硅醚基团反应，以消除担体表面的氢键结合力。

c. 釉化（表面玻璃化、堵微孔）：以碳酸钠，碳酸钾等处理后，在担体表面形成一层玻璃化釉质。

非硅藻土型担体：有氟担体、玻璃微球担体、高分子微担体等。

固定液——高沸点难挥发有机化合物，种类繁多。

### 对固定液的要求

挥发性小，在操作温度下有较低蒸气压，以免流失。

稳定性好，在操作温度下不发生分解。在操作温度下呈液体状态。

对试样各组分有适当的溶解能力，否则被载气带走而起不到分配作用。

具有高的选择性，即对沸点相同或相近的不同物质有尽可能高的分离能力。

化学稳定性好，不与被测物质起化学反应。

### 固定液的分离特征。

固定液的分离特征是选择固定液的基础。固定液的选择，一般根据“相似相溶”原理进行。在  $\text{GC}$  中，常用“极性”来说明固定液和被测组分的性质。如果组分与固定液分子性质(极性)相似，固定液和被测组分两种分子间的作用力就强，被测组分在固定液中的溶解度就大， $K$  就大，也就是说，被测组分在固定液中溶解度或  $K$  的大小与被测组分和固定液两种分子之间相互作用的大小有关。分子间的相互作用力包括：

a. 静电力(定向力)：由于极性分子的永久偶极间存在静电作用而引起的。在极性固定液柱上分离极性试样时，分子间的作用力主要是静电力。

b. 诱导力：极性分子与非极性分子共存时，由于在极性分子永久偶极的电场作用下，非极性分子极化而产生诱导偶极，此时两分子相互吸引而产生诱导力。用极性固定液分离非极性分子和可极化分子时，可极化分子容易被极化，而产生诱导力。例如，苯 ( $\text{B.P.}80.1^\circ\text{C}$ ) 和环己烷 ( $\text{B.P.}80.8^\circ\text{C}$ ) 沸点接近，偶极矩为零，均为非极性分子，若用非极性固定液却很难使其分离。但苯比环己烷容易极化，故采用极

性固定液，就能使苯产生诱导偶极矩，而在环己烷之后流出。固定液的极性越强，两者分离得越远。若  $\beta$ ， $\beta'$ -氧二丙腈固定液分离苯(80.10)和环己烷(80.81)，二者保留时间相差 6.3

倍。

c. 色散力：非极性分子之间的瞬间偶极所产生的吸引力。用非极性固定液分离非(弱)极性组分时，分子之间主要为色散力(正比于沸点)，按沸点顺序分离。

d. 氢键力：

可见，分子间的作用力与分子的极性有关。

#### 固定液的选择

分离非极性物质，一般选用非极性固定液，这时试样中各组分按沸点次序先后流出色谱柱，沸点低的先出峰，沸点高的后出峰。

分离极性物质，选用极性固定液，这时试样中各组分主要按极性顺序分离，极性小的先流出色谱柱，极性大的后流出色谱柱；

分离非极性和极性混合物时，一般选用极性固定液，这时非极性组分先出峰，极性组分(或易被极化的组分)后出峰。

对于能形成氢键的试样，如醇、酚、胺和水等的分离。一般选择极性的或是氢键型的固定液，这时试样中各组分按与固定液分子形成氢键的能力大小先后流出，不易形成氢键的先流出，最易形成氢键的最后流出。

#### (3) 色谱柱的制备

可以分三个步骤完成，即预处理、装柱和老化



播放动画

## 2. 柱温的选择



播放动画

柱温直接影响分离。柱温不能高于固定液的最高使用温度，否则固定液挥发流失。选择时可参考有关文献。

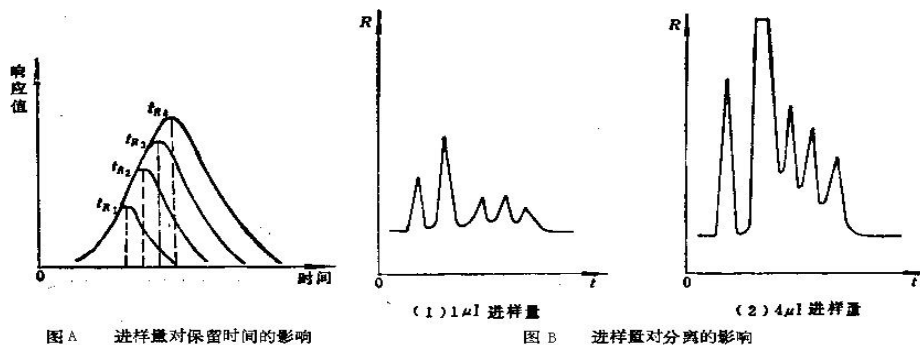
#### 4. 气化室温度的选择

在保证试样不分解的情况下，适当提高气化温度对分离及定量有利。一般比柱温高 30~70℃，或比样品组分中最高沸点高 30~50℃。

### 5. 进样时间和进样量

进样方式以及进样量的大小直接影响到色谱柱的分离结果和最终所得到的定量数据。

• 如果进样量太大，在色谱柱中会形成超负荷，色谱峰宽度明显增大，柱效下降，影响组份的保留时间(如图 A 所示)和定量分析(如图 B 所示)。进样量一般液体  $0.1 \sim 5 \mu L$ ，气体  $0.1 \sim 10 \mu L$ ，进样太多，会使几个峰叠加，分离不好。



进样要迅速，以便样品气在色谱柱顶端聚积成一个“塞子”形状，样品气既没有扩散现象，又能迅速进入色谱柱的第一块理论塔板上，这就实现了所谓“塞式进样”的要求。根据此要求，尤其是分析沸点低的样品时，进样速度应控制在 1S 以内，否则，会造成样品指数式的进入色谱柱，导致色谱降形扩张和变形如图 C 所示。

### 6. 固定液的性质和用量

固定液对分离是起决定作用的。一般来说，担体的表面积越大，固定液用量可以越高，允许的进样量也就越多。为了改善液相传质，应使液膜薄一些。固定液液膜薄，柱效能提高，并可缩短分析时间。但不能太低，否则，允许的进样量太少。

固定液的配比一般用 5:100 到 25:100，也有低于 5:100 的。不同的担体为要达到较高的柱效能，其固定液的配比往往是不同的。一般来说，担体的表面积越大，固定液的含量可以越高。

### 7. 担体的性质和粒度

要求担体的表面积大，表面孔径分布均匀。这样，固定液涂在担体表面上成为均匀的薄膜，液相传质就快，柱效就可提高。担体粒度均匀、细小，也有利于柱效提高。但粒度过小，柱压降增大，对操作不利。

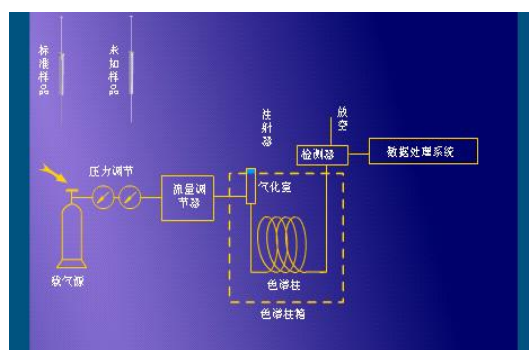
#### §6.4.3 气相色谱定性分析

GC 定性分析的目的：确定试样的组成，即确定每个色谱峰所代表的组分。

理论依据：在一定固定相和一定操作条件下，每种物质都有各自确定的保留值或确定的色谱数据，并且不受其他组分的影响。

#### 1. 利用保留值定性

基本依据：两个相同的物质在相同的色谱条件下应该具有相同的保留值。但在相同的色谱条件下，具有相同保留值的两个物质却不一定是同一物质。利用已知标准物质直接对照定性是一种最简单的定性方法。



采样动画

2. 利用保留指数定性 (略)

3. 联机定性 (略)

#### §6.4.4 气相色谱定量分析

1. 定量分析基础

定量分析的常用术语:

✿ 样品 (Sample): 含有待测物, 供色谱分析的溶液

✿ 样品类型 (Sample Type) 分为标样和未知两种:

标样 (Standard): 浓度已知的纯品;

未知样 (Unknow): 浓度待测的混合物

✿ 样品量 (Sample Weight): 待测样品的原始称样量

✿ 稀释度 (Dilution): 未知样品的稀释倍数

✿ 组分 (Componance): 欲做定量分析的色谱峰, 即含量未知的被测物

✿ 组分的量 (Amount): 被测物质的含量 (或浓度) 积分 (Integrity): 由计算机对色谱峰进行峰面积测量的计算过程

✿ 定量限: 可以准确定量的样品最低量, 一般要求色谱峰的  $S/N > 10:1$

✿ 校正曲线 (Calibration Curve): 组分含量对响应值的线性曲线, 由已知量的标准物建立, 用于测定待测物的未知含量

(1) 基本公式

依据: 一定条件下, GC 仪器检测器的响应值与被测组分的量成正比, 即色谱的峰高  $h_i$  或峰面积  $A_i$  与所测组分的浓度成正比。表示为:

$$\omega_i = f_i A_i \quad \text{或} \quad c_i = f_i h_i \quad (6-31)$$

式中,  $\omega_i$  —— 组分  $i$  的质量;  $c_i$  —— 组分  $i$  的浓度;  $f_i$  —— 组分  $i$  的校正因子。

一般地, 对浓度敏感型检测器常用峰高定量; 对质量敏感型检测器常用峰面积定量。

(2) 峰面积、峰高的准确测定

自动测量法 —— 积分仪、色谱工作站。

手工测量法 —— 当色谱峰峰形对称且不太窄时,

$$A = H W_{1/2} \quad (6-32)$$

$$A_{\text{实际}} = \frac{A}{0.94} = 1.065 h W_{1/2} \quad (6-33)$$

当色谱峰峰形不对称时, 先分别测出 0.15 倍和 0.85 倍峰高处的峰宽,

$$A = \frac{1}{2} (W_{0.15} + W_{0.85}) h \quad (6-34)$$

一定操作条件下, 同系物的半峰宽于保留时间成正比, 即  $W_{1/2} \propto t_R$ , 令  $W_{1/2} = b t_R$ , 有

$$A = h W_{1/2} = h b t_R \quad (6-35)$$

作相对计算时,  $b$  可约去, 即  $A \propto h t_R$ 。该法适合于狭峰。

(3) 定量校正因子的测定

峰面积的大小不仅与组分的量有关, 而且还与组分的性质及检测器性能有关, 故不能直接应用峰面积计算组分含量。引入定量校正因子来校正峰面积。

绝对校正因子  $f_i$  —— 指单位峰面积或单位峰高所代表的量, 即

$$f_i = m_i / A_i \quad \text{或} \quad f_i(h) = m_i / h_i \quad (6-36)$$

式中,  $m_i$  为组分质量 (或物质的量, 或体积)。实际应用时, 由于峰面积与峰高较难测定, 且色谱条件不易控制, 故通常不采用。

相对校正因子  $f_i'$  ——指组分  $i$  与另一标准物  $S$  的绝对校正因子之比，即

$$f_i' = \frac{f_i}{f_s} = \frac{m_i A_s}{m_s A_i} \quad (6-37)$$

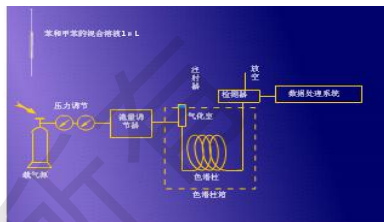
$$\text{或} \quad f_i' = \frac{f_i}{f_s} = \frac{c_i A_s}{c_s A_i} \quad (6-38)$$

式中， $c$  为物质的浓度。通常将  $f_i'$  称为校正因子，其种类有：

相对质量校正因子  $f_m'$  
$$f_m' = \frac{f_{i(m)}}{f_{s(m)}} = \frac{m_i / A_i}{m_s / A_s} = \frac{m_i / A_s}{m_s A_i} \quad (6-39)$$

相对摩尔校正因子  $f_M'$  
$$f_M' = \frac{f_{i(M)}}{f_{s(M)}} = f_m' \frac{m_s}{m_i} \quad (6-40)$$

相对体积校正因子  $f_V'$  ——对于气体样品，当温度和压力一定时， $f_V' = f_M'$ 。  
校正因子的实验测定方法



播放动画

相对响应值  $S_i'$  ——指物质  $i$  与标准物质  $S$  的响应值之比，单位相同时，与相对校正因子互为倒数，

$$\text{即} \quad S_i' = \frac{1}{f_i'} \quad (6-41)$$

## 2. GC 常用的定量方法

### (1) 归一化法

原理：若试样中含有  $n$  个组分，且各组分均能流出色谱柱，则其中组分  $i$  的质量分数  $\omega_i$  为

$$\omega_i = \frac{m_i}{\sum m_i} = \frac{f_i' A_i}{\sum (f_i' A_i)} \quad (6-42)$$

$$\text{或} \quad \omega_i = \frac{m_i}{\sum m_i} = \frac{f_{i(h)}' h_i}{\sum (f_{i(h)}' h_i)} \quad (6-43)$$

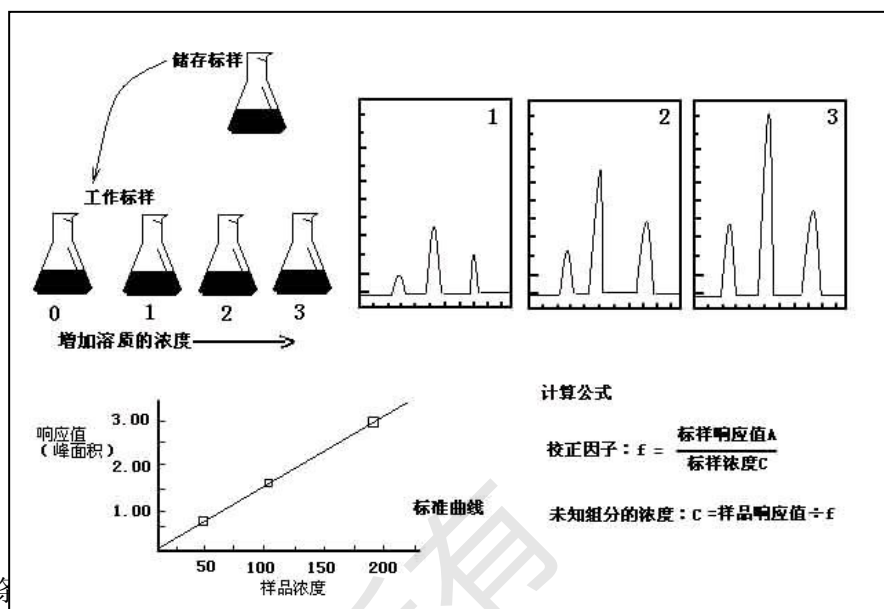
优点：简便、准确、操作条件对结果影响较小；

缺点：但试样中所有组分必须全部出峰，某些不需要定量的组分也要测出其校正因子和峰面积，因此，该法在使用中受到限制。

实验方法：



(2) 标准曲线法 (外标法)



原理: 在一定条件下, 测定一系列已知浓度的标准曲线, 在严格相同的操作条件下, 测定试样中待测组分的峰面积, 又测得的峰面积在标准曲线上查出被测组分的质量分数。

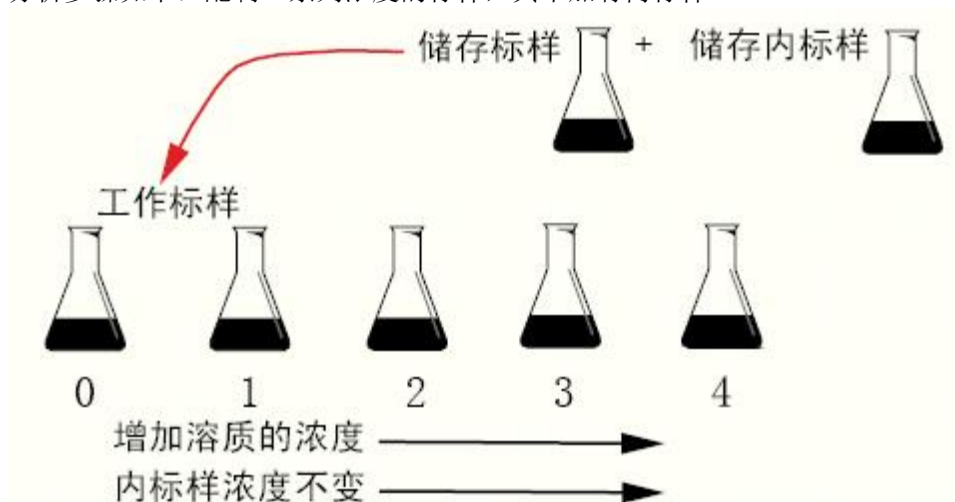
$$\omega_i = \frac{\omega_s}{A_s} A_i \quad (6-44)$$

优缺点: 操作、计算简便, 不用校正因子, 不加内标物, 但实验条件要严格控制且需要定量进样, 否则不易得到准确结果。

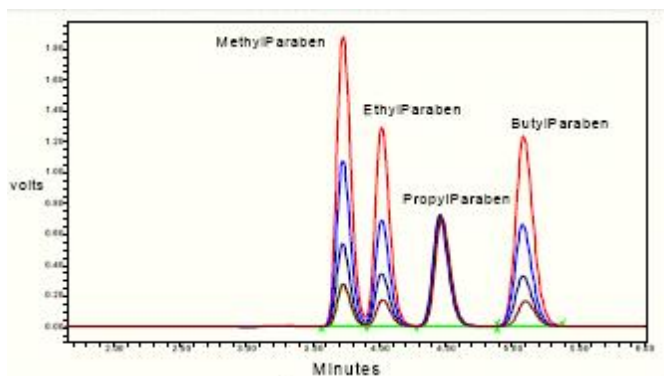
(3) 内标法

原理: 在一定量试样 ( $m_{\text{试}}$ ) 中加入一定量的内标物 (S), 根据待测组分和内标物的峰面积及内标物质量 ( $S_m$ ) 计算待测组分质量。

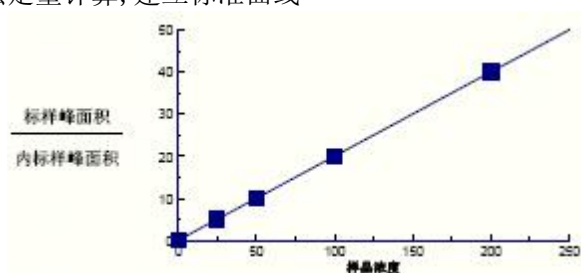
分析步骤如下: 配制一系列浓度的标样, 其中加有内标样



采集不同浓度标样的色谱图



积分, 按内标法定量计算, 建立标准曲线



计算公式:

$$\omega_i = \frac{m_i}{m_{\text{试}}} = \frac{m_s \frac{f'_i A_i}{f'_s A_s}}{m_{\text{试}}} = \frac{m_s}{m_{\text{试}}} \cdot \frac{A_i}{A_s} \cdot \frac{f'_i}{f'_s} \quad (6-45)$$

式中,  $f'_i, f'_s$  分别为组分  $i$  和内标物  $S$  的质量校正因子;

$A_i, A_s$  分别为组分  $i$  和内标物  $S$  的峰面积。

在内标法中常以内标物为基准, 即  $f'_s = 1.0$ , 则式 (6-45) 变为

$$\omega_i = f'_i \cdot \frac{m_s}{m_{\text{试}}} \cdot \frac{A_i}{A_s} \quad (6-46)$$

优点: 定量准确, 操作条件不必严格控制; 与归一化法相比, 限制条件较少。

缺点: 选择合适的内标物比较困难, 每次分析都要准确称量试样与内标物, 不适于快速分析。

#### (4) 标准加入法

~为一种特殊的内标法, 在选不到合适内标物时, 以欲测组分的纯物质为内标物, 在相同的色谱条件下测定加入待测组分纯物质前后的峰面积, 从而计算该组分在样品中的含量。

#### §6.5 气相色谱法的应用实例

气相色谱分析可以应用于分析气体试样, 也可分析易挥发或可转化为易挥发的液体和固体, 不仅可分析有机物, 也可分析部分无机物。一般地说, 只要沸点在  $500^{\circ}\text{C}$  以下, 热稳定良好, 相对分子质量在 400 以下的物质, 原则上都可采用气相色谱法。目前气相色谱法所能分析的有机物, 约占全部有机物的 15% ~

20%, 而这些有机物恰好就是目前应用很广的那一部分, 因而气相色谱法的应用是十分广泛的。广泛应用于各个领域: 石油化工、高分子材料、药物、食品、香料与精油、农药、环境保护等。

对于难挥发和热不稳定的物质, 气相色谱法是不适用的。具体应用详见课本 P281-4。

练习:



## 一. 教学内容

1. 液相色谱仪的组成和各系统的工作原理
2. 液相色谱柱的分离原理
3. 液相色谱的类型

## 二. 重点与难点

1. 高效液相色谱与气相色谱的异同点
2. 高效液相色谱速率理论方程式在实验条件优化中的应用
3. 分离柱和流动相的选择和匹配
4. 不同种类液相色谱分离的原理上的差异

## 三. 教学目标

1. 掌握液相色谱分离的工作原理
2. 了解液相色谱仪器各个系统的组成以及工作原理
3. 熟练掌握液相色谱中的反向和正相色谱的分离原理和工作条件
4. 了解各种液相色谱分离方法以及色谱柱的工作原理
5. 掌握液相色谱分离分析中的定性和定量方法

## 四. 建议学时安排

6 学时

## 第七章 高效液相色谱法

引言：请打开动画观看高效液相色谱仪



[播放动画](#)

发展与应用——液相色谱法是指流动相为液体的技术。早期的液相色谱(经典液相色谱)是将小体积的试液注入色谱柱上部，然后用洗脱液(流动相)洗脱。这种经典色谱法，流动相依靠自身的重力穿过色谱柱，柱效差(固定相颗粒不能太小)，分离时间很长。20世纪70年代初期发展起来的高效液相色谱法，克服了经典液相色谱法柱效低，分离时间很长的缺点。成为一种高效、快速的分离技术。高效液相色谱法是在经典色谱法的基础上，引用了气相色谱的理论，在技术上，流动相改为高压输送(最高输送压力可达 $4.9 \times 10^7 \text{ Pa}$ )；色谱柱是以特殊的方法用小粒径的填料填充而成，从而使柱效大大高于经典液相色谱(每米塔板数可达几万或几十万)；同时柱后连有高灵敏度的检测器，可对流出物进行连续检测。

突出特点——

**高压：**液相色谱法以液体为流动相(称为载液)，液体流经色谱柱，受到阻力较大，为了迅速地通过色谱柱，必须对载液施加高压。一般可达 $150 \sim 350 \times 10^5 \text{ Pa}$ 。

**高速：**流动相在柱内的流速较经典色谱快得多，一般可达 $1 \sim 10 \text{ mL/min}$ 。高效液相色谱法所需的分析时间较之经典液相色谱法少得多，一般少于1h。

**高效：**近来研究出许多新型固定相，使分离效率大大提高。

**高灵敏度：**高效液相色谱已广泛采用高灵敏度的检测器，进一步提高了分析的灵敏度。

如荧光检测器灵敏度可达  $10^{-11}\text{g}$ 。另外，用样量小，一般几个微升。

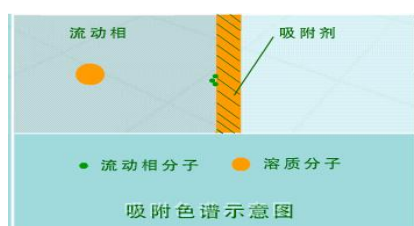
适应范围宽：气相色谱法与高效液相色谱法的比较：气相色谱法虽具有分离能力好，灵敏度高，分析速度快，操作方便等优点，但是受技术条件的限制，沸点太高的物质或热稳定性差的物质都难于应用气相色谱法进行分析。而高效液相色谱法，只要求试样能制成溶液，而不需要气化，因此不受试样挥发性的限制。对于高沸点、热稳定性差、相对分子量大（大于 400 以上）的有机物（这些物质几乎占有有机物总数的 75% ~ 80%）原则上都可应用高效液相色谱法来进行分离、分析。据统计，在已知化合物中，能用气相色谱分析的约占 20%，而能用液相色谱分析的约占 70~80%。

### §7.1 HPLC 的主要类型及选择

广义地讲，除柱色谱外，薄层色谱（液—固色谱）和纸色谱（液—液色谱）也属于 LC。狭义的 LC 指柱色谱。按分离机理，柱色谱法可分为液—固吸附色谱、液—液分配色谱、键合相色谱、离子色谱等。

#### §7.1.1 液—固吸附色谱法

##### 1. 分离原理



播放动画

吸附色谱是经典的色谱分离过程。流动相是以非极性烃类为主的溶剂，固定相为吸附剂（如硅胶、氧化铝等）。这是根据物质吸附作用的不同来进行分离的。其作用机制是：当试样进入色谱柱时，溶质分子( $X$ )和溶剂分子( $M$ )对吸附剂表面活性中心发生竞争吸附（未进样时，所有的吸附剂活性中心吸附的是  $M$ ），溶质的分离取决于溶质与流动相分子在吸附剂表面上的吸附竞争，可以表示为：

$X_m + nMa \rightleftharpoons Xa + nM_m$ 。其吸附平衡常数为：

$$K = \frac{[X]_a [M]_m^n}{[X]_m [M]_a^n} \quad (7-1)$$

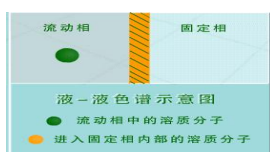
式中， $X$  ——溶质分子； $M$  ——流动相分子； $a$  ——吸附剂； $n$  —— $M$  被  $X$  取代的分子数目。

不同组分分子与吸附剂分子间作用力不同，从而表现出不同组分的吸附平衡常数不同，因此得到最终分离。

##### 2. 应用

液—固吸附色谱由于传质快，装柱容易，重现性较好，70 年代前期曾得到广泛应用。其不足之处是试样容量小，需配用高灵敏度的检测器。

#### §7.1.2 液—液分配色谱



播放动画

~是以溶质在流动相和固定相中的分配为基础，在液相色谱中，固定相是通过化学键合的方式固定在基质上。组分分离时依据不同的组分在互不相溶的两相中分配系数不同，可表示为： $X_m \rightleftharpoons X_s$ 。当分配达到平衡时，分配系数为：

$$K = \frac{[X]_s}{[X]_m} \quad (7-2)$$

式中， $X_m$  ——流动相中的组分分子； $X_s$  ——固定相中的组分分子。

不同组分的分配系数不同，这是液—液分配色谱中组分之所以能被分离的根本原因。按照固定相和流动相的相对极性，液—液分配色谱可分为：

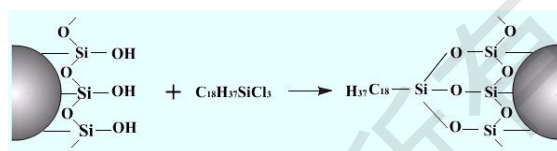
正相液—液分配色谱法(Normal Phase Liquid Chromatography)：流动相的极性小于固定相的极性，组分在柱内的洗脱顺序按极性从小到大流出。

反相液—液分配色谱法(Reverse Phase Liquid Chromatography)：流动相的极性大于固定相的极性。极性大的组分先流出，极性小的组分后流出。

液—液分配色谱法的缺点：尽管流动相与固定相的极性要求完全不同，但固定液在流动相中仍有微量溶解；流动相通过色谱柱时的机械冲击力，会造成固定液流失。上世纪 70 年代末发展的化学键合固定相（见后面介绍），可克服上述缺点。现在应用很广泛（70~80%）。

### §7.1.3 键合相色谱法

~指采用化学键合的液相色谱。将各种不同基团通过化学反应键合到硅胶（担体）表面的游离羟基上。C-18 柱（反相柱）（简称 ODS）。如，



它适用于各种各样样品的分离分析的原因有：

键合固定相非常稳定，在使用中不易流失；键合到载体表面的官能团可以是各种极性的。根据键合固定相与流动相相对极性的强弱，可将键合相色谱法分为：

正相键合相色谱法——键合固定相的极性大于流动相的极性，适用于分离油溶性或水溶性的极性或非极性化合物。

反相键合相色谱法——键合固定相的极性小于流动相的极性，适用于分离非极性、极性或非极性化合物，其应用范围比正相键合相色谱法广泛得多。

#### 1. 分离原理

详见课本 P307。

#### 2. 固定相

由于硅胶具有机械强度好、表面硅羟活性高、表面积和孔结构易控制的特点，化学键合固定相广泛使用全多孔或薄壳型硅胶作基体。按极性大小它可分为：

非极性化学键合固定相——非极性烷基键合固定相是目前应用最广泛的柱材料，尤其是 18 C 反相键合相（简称 ODS），在反相 LC 中发挥着重要作用。

弱极性化学键合固定相

极性化学键合固定相

#### 3. 流动相

正相键合相色谱——流动相的主体成分为己烷（或庚烷）。为改善分离的选择性，常加入优选溶剂，如质子接受体乙醚或甲基叔丁基醚；质子给予体氯仿；偶极溶剂二氯甲烷等。

反相键合相色谱——流动相的主体成分为水。为改善分离的选择性，常加入优选溶剂，如质子接受体甲醇、质子给予体乙腈和偶极溶剂四氢呋喃等。实际应用中，一般采用甲醇—水体系已能满足多数样品的分离要求。由于甲醇的毒性比乙腈小 5 倍，且价格便宜 6~7 倍，因此，在该法中应用最广泛的流动相是甲

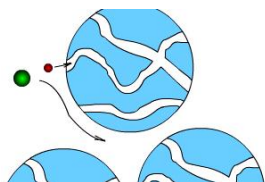
醇。此外，该法中也常采用乙醇、丙醇及二氯甲烷等作为流动相，其洗脱强度顺序依次为：水((最弱) <) 甲醇 < 乙腈 < 四氢呋喃 < 丙醇 < 二氯甲烷((最强))。

#### 4. 应用

正相键合相色谱法多用于分离各类极性化合物，如染料、炸药、甾体激素、多巴胺、氨基酸和药物等；

反相键合相色谱法已成为一种通用型 LC 分析方法。极性、非极性、水溶性、油溶性；离子性、非离子性；小分子、大分子；具有官能团差别或分子量差别的同系物均可采用该法实现分离。

#### §7.1.4 凝胶色谱法



[播放动画](#)

~亦称分子排阻色谱法（Size-Exclusion Chromatography），是按分子尺寸大小顺序进行分离的一种色谱方法。其固定相凝胶是一种多孔性的聚合材料，有一定的形状和稳定性。当被分离的混合物随流动相通过凝胶色谱柱时，尺寸大的组分不发生渗透作用，沿凝胶颗粒间孔隙随流动相流动，流程短，流动速度快，先流出色谱柱。尺寸小的组分则渗入凝胶颗粒内，流程长，流动速度慢，后流出色谱柱。

根据所用流动相的不同，凝胶色谱法可分为两类：

用水溶剂作流动相的凝胶过滤色谱法（GFC）

用有机溶剂（如四氢呋喃）作流动相的凝胶渗透色谱法（GPC）

应用：凝胶色谱法主要用来分析高分子物质的相对分子质量分布，以此来鉴定高分子聚合物。

#### §7.2 高效液相色谱仪

##### §7.2.1 仪器工作流程

HPLC 最基本的组件是高压输液系统、进样器、色谱柱、监测器和工作站（数据处理系统）。

工作流程——高压输液泵将储液器中的流动相以稳定的流速（或压力）输送到分析系统，在色谱柱

之前通过进样器将样品导入，流动相将样品依次带入预柱、色谱柱，在色谱柱中各组分被分离，并依次随流动相流至检测器，检测器的信号送至工作站记录、处理和保存（如图 7-1 所示）。

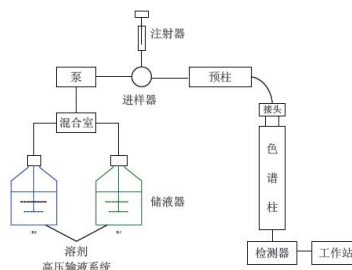


图 7-1 带有预柱的 HPLC 仪器结构图

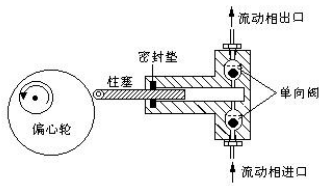
##### §7.2.2 仪器基本结构

###### 1. 高压输液系统

一般包括储液器、高压输液泵、过滤器、梯度洗脱装置等。

储液器——主要用来提供足够数量的复合要求的流动相以完成分析工作。制成材料有：不锈钢、玻璃、Teflon 或特种塑料聚醚醚酮（PEEK）衬里，容积一般在 0.5 ~ 2L。

高压输液泵



播放动画

HPLC 使用的色谱柱是很细的（1~6 mm），所用固定相的粒度也非常小（几 $\mu\text{m}$  到几十 $\mu\text{m}$ ），所以流动相在柱中流动受到的阻力很大，在常压下，流动相流速十分缓慢，柱效低且费时。为了达到快速、高效分离，必须给流动相施加很大的压力，以加快其在柱中的流动速度。为此，须用高压泵进行高压输液。高压、高速是高效液相色谱的特点之一。

HPLC 使用的高压泵应满足下列条件：

流量恒定，无脉动，并有较大的调节范围（一般为 1~10 mL/min）；

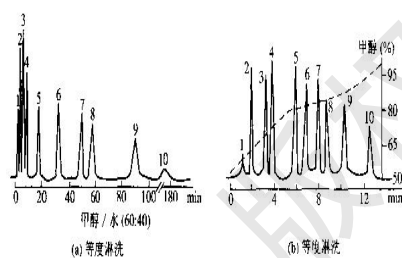
能抗溶剂腐蚀；

有较高的输液压力；对一般分离， $60 \times 10^5 \text{Pa}$  的压力就满足了，对高效分离，要求达到  $150 \sim 300 \times 10^5 \text{Pa}$ 。

过滤器

### 梯度洗脱装置

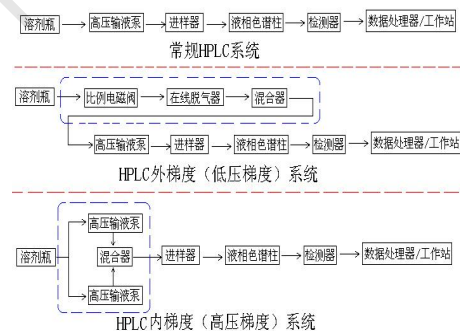
※不同洗脱方式对分离的影响



多组分混合物的等度和梯度洗脱图谱

$\text{C}_{18}$ 柱， $5\mu\text{m}$ ， $150\text{mm} \times 3\text{mm}$ ，UV-254 峰片；1. 苯甲酸；2. 苯胺；  
3. 硝基苯；4. 苯；5. 二苯酮；6. 萘；7. 联苯；8. 菲；9. 吡；10. 蒽

※不同洗脱方式示意图

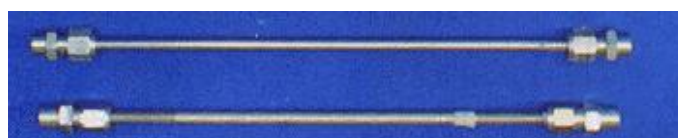


类似于 GC 中的程序升温。已成为现代高效液相色谱中不可缺少的部分。作用是使保留值相差很大的多种组分在合理的时间全部洗脱并达到相互分离。所谓梯度洗脱，就是载液中含有两种（或更多）不同极性的溶剂，在分离过程中按一定的程序连续改变载液中溶剂的配比和极性，通过载液中极性的变化来改变被分离组分的分离因素，以提高分离效果。它可以分为两种：

低压梯度（也叫外梯度）：在常压下，预先按一定程序将两种或多种不同极性的溶剂混合后，再用一台高压泵输入色谱柱。

高压梯度（或称内梯度系统）：利用两台高压输液泵，将两种不同极性的溶剂按设定的比例送入梯度混合室，混合后，进入色谱柱。

2. 进样器
  - 六通阀进样器
  - 自动进样器
2. 色谱柱



结构——色谱柱是色谱仪最重要的部件（心脏）。通常用厚壁玻璃管或内壁抛光的不锈钢管制作的，对于一些有腐蚀性的样品且要求耐高压时，可用铜管、铝管或聚四氟乙烯管。

种类——柱子内径一般为  $1\sim 6\text{mm}$ 。常用的标准柱型是内径为  $4.6$  或  $3.9\text{mm}$ ，长度为  $15\sim 30\text{cm}$  的直形不锈钢柱。填料颗粒度  $5\sim 10\mu\text{m}$ ，柱效以理论塔板数计大约  $7000\sim 10000$ 。发展趋势是减小填料粒度和柱径以提高柱效。

保护柱——在分析柱的入口端，装有与分析柱相同固定相的短柱（ $5\sim 30\text{cm}$  长），可经常且方便地更换，因此，起到保护延长分析柱寿命的作用。

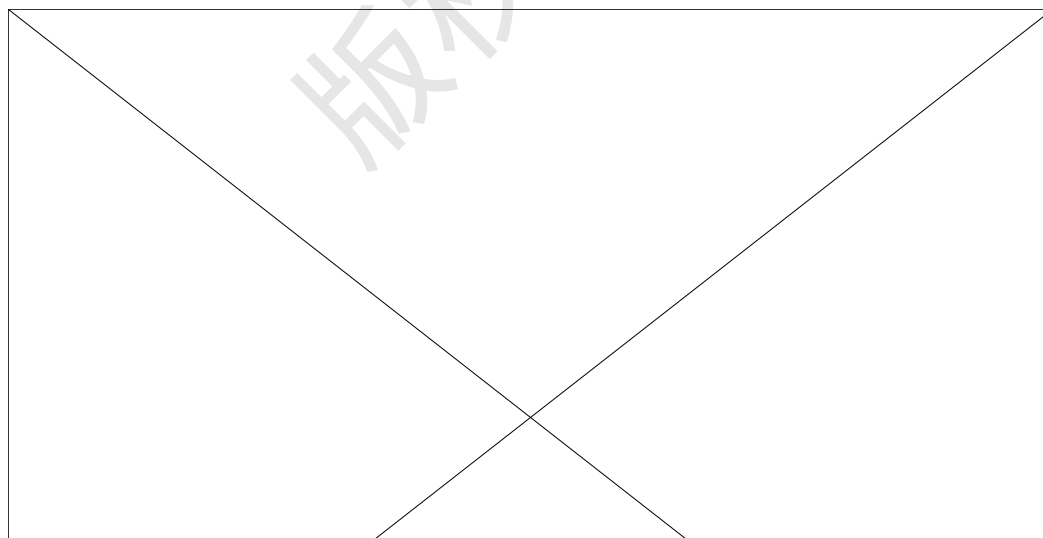
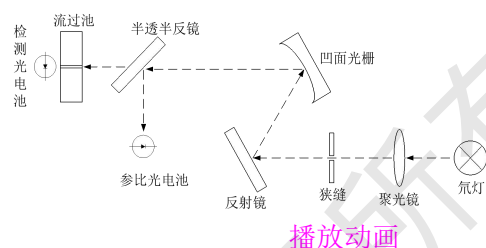
#### 4. 检测器

检测器、（高压输液）泵与色谱柱是组成 HPLC 的三大关键部件。

作用——检测器用于连续监测被色谱系统分离的柱流出物组成和含量变化，其作用是将柱流出物中样品组成和含量的变化转化为可供检测的信号，完成定量、定性分析的任务。

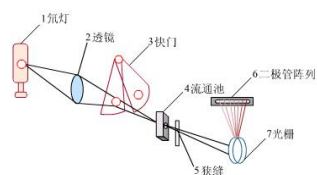
常见检测器——

#### 紫外—可见光检测器（UV-Vis）



可连续检测参比池和样品池中流动相之间的折光指数差值。差值与浓度呈正比；  
通用型检测器（每种物质具有不同的折光指数）；  
灵敏度低、对温度敏感、不能用于梯度洗脱；偏转式、反射式和干涉型三种；  
光电二极管阵列检测器

紫外检测器的重要进展：光电二极管阵列检测器：1024 个二极管阵列，各检测特定波长，计算机快速处理，三维立体谱图，如图所示。



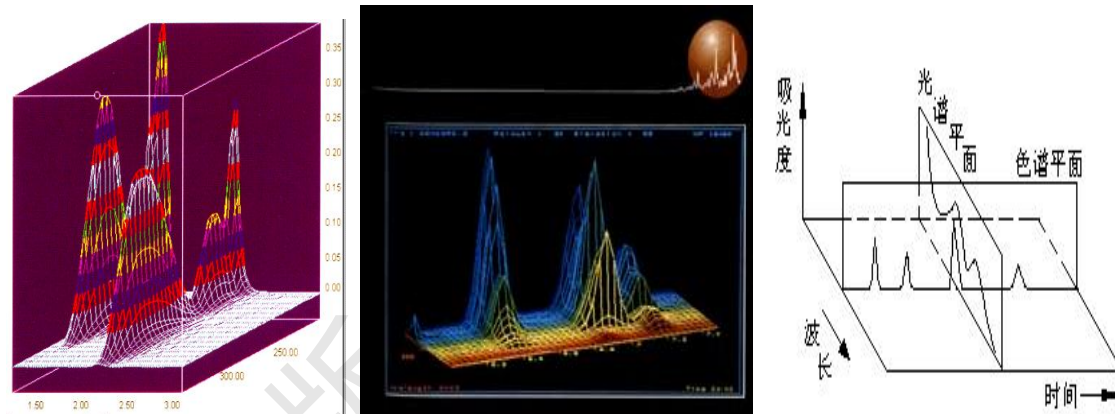
二极管阵列检测器结构示意图



光电二极管阵列检测器元件

可同时检测 180—600nm 的全部紫外光和可见光波长范围内的信号。由 211 个光电二极管构成的阵列元件，可在 10ms 内完成一次检测。因此在 1s 内可进行快速扫描以采集 20000 个检测数据。

下面是光电二极管阵列检测器绘制的三维色谱图



## 5. 色谱工作站

### §7.2.3 常见高效液相色谱仪的使用及日常维护

详见课本 P322-5。

### §7.3 HPLC 基本理论与实验技术

#### §7.3.1 速率理论

##### 1. 速率理论方程式

$$H = H_E + H_L + H_S + H_{MM} + H_{SM} = A + \frac{B}{u} + Cu \quad (7-3)$$

式中， $A$  —— 涡流扩散项  $H_E$  ；

$B$  —— 分子扩散项  $H_L$  ；

$C$  —— 传质阻力项，包括固定相的传质阻力项  $H_S$ 、移动流动相的传质阻力项  $H_{MM}$  以及滞留流动相的传质阻力项  $H_{SM}$  。

##### 2. 影响速率理论方程式的因素

涡流扩散项  $H_E$  ；

分子扩散项  $H_L$  ；

固定相的传质阻力项  $H_S$  ；

移动流动相的传质阻力项  $H_{MM}$  ；

滞留流动相的传质阻力项  $H_{SM}$  。

##### 3. 与 GC 的比较

液相色谱  $H \sim u$  曲线与其气相色谱不同（如图 7-2 所示），

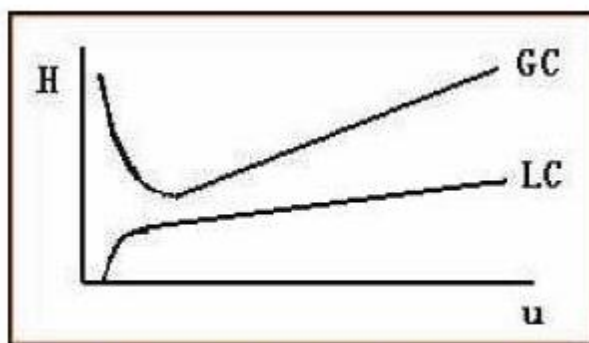


图 7-2 HPLC与GC速率影响的比较

是一段斜率不大的直线，只是因为分子扩散相对  $H$  值的影响可以忽略不计。在液相色谱中，使用较高流速，柱效不会明显下降，有利于实现快速分离。

### §7.3.2 实验技术

#### 1. 溶剂处理技术

##### (1) 溶剂的纯化

乙腈——分析纯乙腈中含有少量的丙酮、丙烯腈、丙烯酸和噻唑等化合物，产生较大的背景吸收。可用活性炭或酸性氧化铝吸附纯化，亦可用高锰酸钾/氢氧化钠裂解与甲醇共沸的方法进行纯化。

##### (2) 流动相的脱气

常用脱气方法有超声波振荡脱气、惰性气体鼓泡吹扫脱气以及在线（真空）脱气装置三种。

##### 1. 为什么要脱气

流动相溶液往往因溶解有氧气或混入了空气而形成气泡。气泡进入检测器后会在色谱图上出现尖锐的噪音峰。小气泡慢慢聚集后会变成大气泡，大气泡进入流路或色谱柱中会使流动相的流速变慢或出现流速不稳定，致使基线起伏。气泡一旦进入色谱柱，排出这些气泡则很费时间。在荧光检测中，溶解氧还会使荧光淬灭。溶解气体还可能引起某些样品的氧化或使溶液 pH 值发生变化

##### (3) 流动相的过滤

其目的是防止不溶物堵塞流路或色谱柱入口处的微孔垫片。

#### 2. 色谱柱的制备

填充色谱柱的方法：

干法

匀浆填充法

#### 3. 梯度洗脱技术

#### 4. 衍生化技术

#### 5. 样品的预处理技术

微渗透技术——利用两相中样品浓度的差别使样品通过渗析膜从一相传质到另一相，一般被用于样品溶液中盐和低相对分子质量化合物的去除，也可用于从被测定的低相对分子质量样品中去除高分子的干扰物。

### §7.3.3 HPLC 分析方法建立的一般步骤

1. 了解样品的基本情况
2. 明确分离目的
3. 了解样品的性质和需要的预处理
4. 检测器的选择
5. 分离模式的选择
6. 固定相和流动相的选择

### §7.3.4 定性与定量方法

## 1. 定性方法

利用已知标准样品定性

利用检测器的选择性定性

利用紫外检测器全波长扫描功能定性

## 2. 定量方法

归一化法——由于 LC 所用检测器为选择性检测器,对很多组分没有响应,因此,LC 较少使用此法。

外标法——可分为标准曲线法和直接比较法。

内标法

## 实验部分

### 实训一 气相色谱仪的典型操作过程\安全防护及进样练习

## 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 实验仪器及试剂

1. 仪器: 9310 气相色谱仪、0.5uL 注射器、滤纸等
2. 试剂: 乙醇(色谱纯)、丙酮等

## 三 操作步骤:

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:

先打开氮气钢瓶总阀,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。

## 2. 设置温度:

在温度界面按菜单键进入“温度”设定界面,这时用“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;

## 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 分钟后基线走直后就可进样了;

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 $\mu$ l 样品(如果峰高太大可适量减少进样量)

(2). 将样品针完全插入进样口(INJ)快速注入样品(需做到“三快”,快打,快进,快拔),接着按电脑键盘的“F5”键(3). 待出峰完毕,再开始进下一个样品。

## ● 关机顺序

1. 关掉氢气与空气钢瓶总阀。

## 2. 降低主机温度:

在温度界面按菜单键进入温度设定界面, 把光标调到柱箱温度设置处, 输入 30 按输入键, 之后再按菜单键退出温度设置界面, 这时把氢气和空气钢瓶总阀关闭, 当柱箱温度降到 50 度后关掉主机电源。

3. 过 30 分钟关闭氮气钢瓶总阀。;

5. 退出工作站, 关闭电脑。

## 四、实验注意事项:

1. 主机开机前要关好柱箱, 不能打开箱门;

2. 不要在“载气压力”的情况下打开仪器并升高柱箱温度。

## 实验二 高效液相色谱仪仪器认知、操作及进样练习

### 一、实验目的

1、熟悉高效液相色谱仪的结构

2、熟练掌握高效液相色谱仪的操作

### 二、仪器和试剂

#### 1、设备及试剂

高效液相色谱仪, 紫外检测器, C<sub>18</sub> 色谱柱。

苯酚(分析纯), 甲醇(色谱纯), 二次蒸馏水。

#### 2、操作条件

色谱柱为 C<sub>18</sub> 柱; 流动相为甲醇/ 二次蒸馏水= 80 : 20 (体积比); 检测波长为 270nm; 流速为 1.0 ml/ min; 进样量为 20 $\mu$ L。

3.进样练习样品: 称取纯苯酚 36 mg 于 100.0 ml 容量瓶中, 用甲醇溶解定容。

### 三、实验步骤

#### 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”上把初始流量设成 5 马上点击“设置”按键, 再按泵启动, 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, 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

8. 对照品做好后, 包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. 首先点击泵停止, 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

## 实验三 火焰原子吸收光谱法测水中的铜——标准加入法

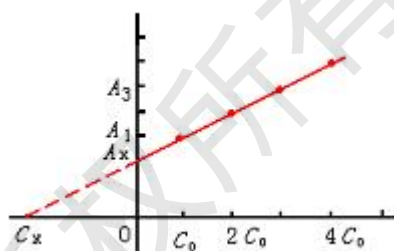
### 一、实验目的

1. 加强理解火焰原子吸收光谱法的原理。
2. 掌握火焰原子吸收光谱仪的操作技术。
3. 熟悉原子吸收光谱法的应用。

### 二、方法原理

原子吸收光谱法是基于气态基态原子外层的电子对共振线的吸收。气态的基态原子数与物质的含量成正比，故可用于进行定量分析。利用火焰的热能使样品转化为气态基态原子的方法称为火焰原子吸收光谱法。

当试样组成复杂，配制的标准溶液与试样组成之间存在较大差别时，常采用标准加入法。该法是取若干份体积相同的试液 ( $c_x$ )，依次按比例加入不同量 (倍增) 的待测物的标准溶液 ( $c_0$ )，定容后浓度依次为： $c_x$ ， $c_x + c_0$ ， $c_x + 2c_0$ ， $c_x + 3c_0$ ，……；分别测得吸光度为： $A_x$ ， $A_1$ ， $A_2$ ， $A_3$ ，……。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，如图 1—2 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。

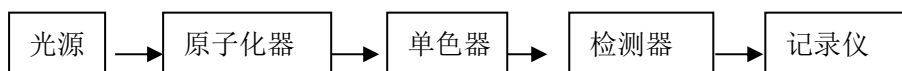


标准加入法

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 (4 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  $\rho(c_0) = 1.000\text{mg/mL}$
- (2) 稀硝酸溶液 (2+100)
- (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  $\rho(c_0) = 1.000\text{mg/mL}$ ，置于 500ml 容量瓶中，用 (2+100) 的稀硝酸定容，摇匀，备用。

### 四、实验步骤

1. 铜标准工作液  $\rho(\text{Cu}) = 0.1000\text{mg/mL}$ : 吸取 25.00mL 上述铜标准贮备液  $\rho(\text{Cu}) = 1.000\text{mg/mL}$ , 用 2+100 硝酸定容。

2. 标准系列的配制:

吸取 4 份含铜水试样分别置于 50mL 比色管中, 各依次加入上述 Cu 标准工作液 0.00、0.50、1.00、1.50, 用 (2+100) 的稀硝酸定容, 摇匀。

3. 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。

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:

式中: 
$$\rho(\text{Cu}) = c_x \frac{V_0}{V_1}$$

## 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)

检查灯管安置是否正确及对应序号

- 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、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, 观察峰面图, 然后点击“灯架调整”项再进行一次找峰操作。观察峰面图, 根据实际情况调整“负高压”, 点发送, 点找峰, 使峰高在 80 左右, 然后点击“确定”即可。(每一次实验均需要找峰)

### 二、检测准备

- 1、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”。
- 2、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; 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)

### 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”, 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

- 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、等水份烘干后关闭乙炔钢瓶
- 3、火焰熄灭后关空气压缩机 (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。

## 实训四 吸收池配对及吸收曲线绘制

### 一、实验目的

- 1、了解分光光度计的基本构造及比色皿配对校正
- 2、熟悉分光光度计的使用方法
- 3、学习吸收光谱曲线的绘制、查找最大吸收波长  $\lambda_{\max}$  的方法及  $\epsilon_{\max}$  的计算

### 二、实验原理

物质对不同波长光的吸收程度不同，通过测定不同波长光对应的吸光度，绘制 A- $\lambda$  吸收曲线，找出最大吸收波长  $\lambda_{\max}$ ，并计算  $\epsilon_{\max}$ 。了解物质对光的选择性吸收的特性。

### 三、仪器及试剂

- 1、仪器：容量瓶（100mL）、移液管（1mL）、分光光度计、1cm 比色皿
- 2、试剂：KMnO<sub>4</sub> 贮备液（0.04mol.L<sup>-1</sup>）

### 四、实验步骤

开机预热：打开电源开关，打开样品室盖，样品室内取出干燥剂，预热 20min

#### （一）比色皿配对校正

- ① 用波长调节旋钮将波长调至 600nm。
- ② 检查吸收池透光面是否有划痕的斑点，吸收池各面是否有裂纹。如有则不应使用。
- ③ 在选定的吸收池毛面上口附近，用铅笔标上进光方向并编号。用蒸馏水冲洗 2~3 次[必要时可用（1+1）HCl 溶液浸泡 2~3min，再立即用水冲洗净]。
- ④ 用拇指和食指捏住吸收池两侧毛面，分别在 4 个吸收池内注入蒸馏水到池高 3/4，可先用滤纸吸干池外壁的水滴（注意不能上下来回擦），再用擦镜纸轻轻擦试光面至无痕迹。按池上所标箭头方向（进光方向）垂直放在吸收池架上，并用吸收池夹固定好。
- ⑤ 盖上样品室盖，
- ⑥ 拉动吸收池架拉杆，依次将被测溶液推入光路，读取相应的透射比或吸光度。若所测各吸收池透射比偏差小于 0.5%，则这些吸收池可配套使用。超出上述偏差的吸收池不能配套使用。

#### （4）结束工作

检查完毕，关闭电源。取出吸收池，清洗后晾干入盒保存。在样品室内放入干燥剂，盖好样品室盖，罩好仪器防尘罩。

清理工作台，填写仪器使用记录。

#### （二）高锰酸钾溶液吸收光谱曲线的测定

- （1）配制 KMnO<sub>4</sub> 溶液（0.0004mol/L）。用移液管准确移取 KMnO<sub>4</sub> 贮备液（0.04mol.L<sup>-1</sup>）1ml，转入 100mL 容量瓶中，用水稀释至 100mL。
- （2）在下表所列波长下，以蒸馏水为参比，用 1cm 比色皿分别测定 0.0004mol/L KMnO<sub>4</sub> 溶液的吸光度。

## 六、实验安全注意事项

- 1、注意用电安全；
- 2、严格按实验方法操作，注意安全。

### 实验五 邻菲罗啉分光光度法测定水样中的铁——标准曲线法

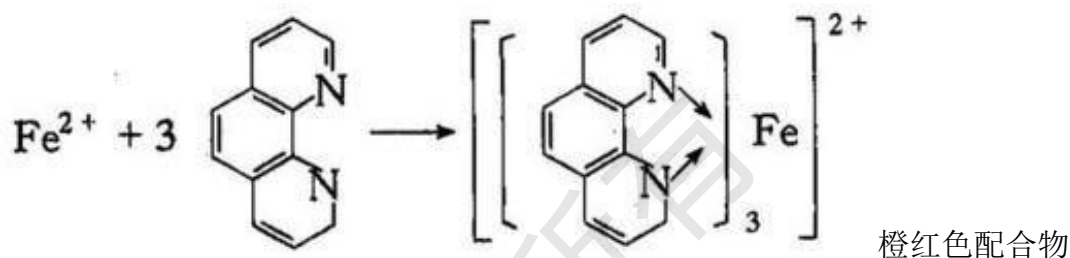
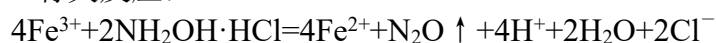
#### 一、实验目的：

1. 掌握邻菲罗啉分光光度法测定微量铁的原理和方法；
2. 学会标准曲线的绘制方法及其使用。

#### 二、原理：

1.定量分析依据： $A = \kappa bc$

2.有关反应：



3.显色条件

4.吸光度测量条件

#### 三、仪器：

100mL 容量瓶, 50mL 具塞比色管、色管架、10mL 吸量管、20mL 移液管、1mL 移液管、2mL 移液管、5mL 移液管, 吸耳球、可见分光光度计, 1cm 比色皿等

#### 四、试剂：

铁标准溶液 ( $100.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、10%盐酸羟胺水溶液、0.5%邻菲罗啉水溶液 (临用时配制) 或 (避光保存, 两周内有效)、HAc-NaAc 缓冲溶液 ( $\text{pH} \approx 5.0$ )

#### 五、测定步骤：

铁标准溶液 ( $20.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 的配制：

用 20mL 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。

1、标准曲线的绘制：

2、通过工作曲线找出被稀释样品中铁的含量  $\rho_{\text{Fe}(x)}$  ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )，再按下式计算原样品中铁的含量  $\rho_{\text{Fe}}$ 。

$$\rho_{\text{Fe}} = \rho_{\text{Fe}(x)} \times 10$$

## 六. 注意事项

## 七. 思考题

(1) 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?

## 实训六 电位法测餐具洗涤剂 pH 值 (两点校正法)

### 一 目的:

- 1.理解电位法测 pH 值原理
- 2.会操作 pH 计测溶液 pH 值。

### 二 原理

本实训参照 GB 6368-2008《表面活性剂 水溶液 pH 值的测定 电位法》之规定测定。

在生产和科研中常会接触到有关 pH 的问题, 粗略的 pH 测量可用 pH 试纸, 而比较精确的 pH 测量都需要用电位法, 即根据能斯特公式, 用酸度计测量电池电动势来确定 pH。常用 pH 玻璃电极为指示电极 (接酸度计的负极), 饱和甘汞电极为参比电极 (接酸度计的正极) 与被测溶液组成电池 (也可使用 pH 复合电极), 则 25℃时

$$E = K' + 0.0592 \text{ pH}_{\text{试液}}$$

式中,  $K'$  在一定条件下虽有定值, 但不能准确测定或计算得到, 在实际测量中要按 pH 实用定义, 用标准缓冲溶液来校正酸度计 (即进行“定位”) 后, 才可在相同条件下测量溶液 pH。酸度计上的 pH 示值是按 pH 实用定义中  $\Delta E/0.0592$  分度, 此分度值只适用于温度为 25℃时。为适应不同温度下的测量, 在用标准缓冲溶液“定位”前要先要进行温度补偿 (将“温度补偿”旋钮调至溶液的温度处)。在进行“温度补偿”和校正后将电极插入待测试液中, 仪器就可以直接显示被测溶液 pH。

pH 测量结果的准确度决定于标准缓冲溶液 pHs 的准确度, 两电极的性能及酸度计的精度。

### 三 仪器

pH 计 (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

### 四 试剂

标准缓冲溶液甲 (pH 4.01, 25℃)、标准缓冲溶液乙 (pH 6.86, 25℃)、标准缓冲溶液丙 (pH 9.18, 25℃)、广泛 pH 试纸、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 步骤

(一) 粗测样品的 pH

(二) 仪器校准

(三) 样品的测定

(四) 实验结束工作

六 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。

七 思考题：

(1) 测量过程中，读数前轻摇试杯起什么作用？读数时是否还要继续晃动溶液？为什么？

版权所有