

“仪器分析”讲课提纲

(Instrumental analysis)

华中农业大学食品科技学院 吴谋成

第一章 绪言(Chapter one introduction)

一、分析化学与仪器分析(analytical chemistry and instrumental analysis)

分析：是指对物质和事进行研究，取得信息，以确定物质的组成、结构或事物的变化特征和规律。

两类分析：物质分析(substance analysis)和事物分析(matter analysis)

事物分析研究方法：调查研究-归纳-思考-特征和变化规律。

物质分析的研究方法：分析化学(analytical chemistry) 分析化学：化学分析(chemical analysis)和物理物化分析(仪器分析, instrumental analysis)

化学分析：以物质的化学反应为基础的分析方法。物理物化分析：以物质的物理和物理化学性质为基础的分析方法。这类分析方法一般要依靠仪器来完成，故习惯上称为仪器分析。

二、仪器分析的分类(The class of instrumental analysis)

光谱分析(spectroscopic analysis)：以物质的光学性质为基础的仪器分析方法。

光学性质：吸收，发射，散射，衍射等。电分析(electrical analysis)：

电流分析，电位分析，电导分析，电重量分析，库仑法，伏安法。分离分析(separate analysis)：

色谱法，电泳法，质谱法。

其它(other analysis)：

电子显微镜，超速离心机，放射性技术等。

三、仪器分析的性质和过程(The characterization and process of instrumental analysis)

物质→取得物质的物理或物理化学性质的信息→进行数学处理→得到物质的组成和结构
(substance) { 分析仪器(硬件) } { 计算机(软件) }
(analytical instrument) (computer)

四、分析仪器(Analytical instrument) 1、分析仪器基本结构

计 算 机

分析信号发生器→信号检测器→信号处理器→结果显示器 2、分析仪器测定结果的可靠性：与仪器特性好坏、灵敏度、重复性、准确度有关。

与仪器使用是否得当有关。五、学习仪器分析应注意的几个问题

(The points for attention of studying instrumental analysis)

A、基本理论、分析仪器基本结构

B、实验操作技巧

C、文献资料的查阅与分析

六、参考书(Representative books)

教材：仪器分析 吴谋成主编 科学出版社

参考教材：

1、现代仪器分析 中国农业大学出版社

2、仪器分析 朱世盛编 复旦大学出版社

3、仪器分析 朱明华编 高等教育出版社

4、现代仪器分析 清华大学出版社 5、有机仪器分析 陈贻文编 湖

南大学出版社

6、仪器分析原理 斯科格等编(美) 上海科技出版社

7、农业仪器分析法 严国光等编 农业出版社

8、仪器分析原理及其在农业中的应用 严国光等编 科学出版社

第二章 光谱分析导论

Chapter Two Introduction of spectroscopic analysis

第一节 光的性质(The characterization of light)

一、光的波动性(Characterization of light waves) 波动性参数: λ (波长, Wavelength) ;

ν (频率, frequency) ;

C (光速, The velocity of light)

$\nu = 1 / \lambda$ (波数, wave number)

关系式 $C = \lambda \nu = C \nu$

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

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

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

光谱区	波长范围	常用单位	E	γ 射线
0.005-1.4 A	A	$>10^2$ eV	X 射线	0.1-100 A
远 紫 外	10-200 nm	A or nm	124-6.2 eV	紫 外
200-380nm	A or nm	6.2-3.26 eV		
可见光	380-780nm	A or nm	3.26-1.59 eV	近红外
780-2500nm	A or nm	1.59-0.50 eV	中红外	2.5-50 μ m
数) 0.50-0.025 eV	远红外	50--300 μ m	μ m or ν	0.025-0.004 eV
0.3 mm--1m	mm cm m	$<10^{-3}$ eV		微 波
无线电波	1--1000 M			

We "see" objects by means of either transmitted (透过) or reflected (反射) light. When "white light" containing a whole spectrum of wavelengths, passes through a medium (介质) such as a colored glass or a chemical solution which is transparent to certain wavelengths but absorbs others, the medium appears colored to the observer. Since only the transmitted wave reach the eye, their wavelengths dictate the color of the medium. This color is said to be complementary (互补) to the color that would be perceived (感觉) if the absorbed light could be inspected, because the transmitted and absorbed light together make up the original white light. Similarly opaque colored objects absorb some wavelengths and reflect others when illuminated with white light.

Visible Spectrum and Complementary Colors Wavelength, nm Color

Complementary color		
400-435	Violet	Yellow-green
435-480	Blue	Yellow
480-490	Green-blue	Orange
490-500	Blue-green	Red
500-560	Green	Purple (紫红)
560-580	Yellow-green	Violet
580-595	Yellow	Blue
595-610	Orange	Green-blue
610-750	Red	Blue-green

二、光的微粒性(Microparticle characterization of light)

Parameter of microparticle characterization : $E = h\nu = hc / \lambda$ h —Planck' s constant $h = 4.14 \times 10^{-15} \text{ eV} \cdot \text{sec} = 6.626 \times 10^{-27} \text{ erg} \cdot \text{sec}$
 $C = 3 \times 10^{10} \text{ cm/sec}$ One photon energy: $E = 1240 / \lambda$ (eV) λ 的单位为 nm

第二节 原子与分子的能级及电子在能级间的跃迁

Atoms and molecules energy levels and electronic transition on levels

一、原子能级及电子在能级间的跃迁 (Atoms energy levels and electronic transition on levels)

Atoms energy levels : ΔE 1--20 eV

on UV-Vis spectrum 原子光谱的特征 (Characterization of atoms spectrum): 电子能级间的跃迁, 属电子光谱, 线状光谱
(Transition on electronic levels, electronic spectrum, linear spectrum.)

二、分子的能级及电子在能级间的跃迁 molecules energy levels and electronic transition on levels)

UV-Vis: 电子、带状光谱。在特定条件下, 能反映振动能级的精细结构 Infrared: 振动、带状光谱, 在特定条件下, 能反映转动能级的精细结构 **Sum up atoms and molecules spectrum**

■Atoms spectrum:

Electronic transitions on electronic levels

Electronic spectrum

Linear spectrum

■Molecules spectrum:

UV-Vis:

Electronic transitions on electronic levels

Electronic spectrum with vibrational fine structure

Band spectrum

Infrared:

Electronic transitions on vibrational levels

Vibrational spectrum with rotational fine structure

Band spectrum

分子能级	能级差	反映的信息
ΔE 1--20 eV	反映价电子能量状 (紫外可见波区)	电子能级 况等信息可给出物质的化学性质的信息。 (主要用于定量测定)
振动能级	ΔE 0.05--1 eV (红外波区)	反映价键特性等结构信息。主要用于定性, 定量比 UV/Vis 差。转动能
级 ΔE 0.05-0.005eV	反映分子大小、键 (远红外区)	长度、折合质量等分子特性的信息。

二、物质和光的作用 (Interaction of light and matter)

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

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

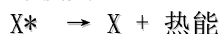
1. 物质吸收光的过程

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



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

A、激发分子与其它分子相碰, 损失能量产生热能后回到基态, 称无辐射退激。



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

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

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



荧光的发射波长比入射光的波长长。

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

2. 物质散射光的过程《拉曼(raman)散射》

入射光与分子碰撞后, 可发生弹性散射或非弹性散射。

弹性散射时, 光子与分子无能量交换, 仅光子方向改变, 这种散射称瑞利散射。非弹性散射有两种情况:

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

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

第三节 物质的光谱与光谱分析

Spectrum of matter and spectroscopic analysis

一、光谱的基本类型按照光谱产生的方式可分: 1. 吸收光谱(absorbed spectrum)

原子吸收光谱(如 AA); 分子吸收光谱(如 UV/VI, IR 等)。

2. 发射光谱(emission spectrum)

原子发射光谱(原子发射, 原子荧光); 分子发射光谱(分子荧光, 磷光)。

散射光谱(拉曼散射光谱, scatter spevtrum)

二、光谱分析法(spectroscopic analysis)

利用各种光谱包含着原子或分子能级结构和含量的信息, 作定性和定量分析的方法。

主要光谱分析法有:

1、吸收光谱法

原子吸收光谱法(AA)

分子吸收光谱法(如 UV/VI, IR 等)

2、发射光谱法

原子发射光谱法(原子发射, 原子荧光)

分子发射光谱法(分子荧光, 磷光)

3、散射光谱法(拉曼散射光谱法)

第四节 光谱仪

Spectroscopic instruments

光谱仪的作用:

通过分析过程的信息传递链, 取得样品的真实光谱。

光谱仪的基本构成:

1、*: 光源(Souse)

2、 \triangle : 单色器(Monochromator)

3、 \square : 样品池(Sample cell)

或 \odot : 原子化器(Atomiser) 4、 \odot : 检测器(Detector)

5、 ∞ : 信号转换、处理器(Transmodulator)

6、■：显示器 (Display)

分子光谱仪

吸收光谱

A. * → △ → □ → ⊙ → ∞ → ■

发射光谱

C.
□ → △ → ⊙ → ∞ → ■

荧光光谱

↑
△
↑
*

原子光谱仪

B. * → ⊙ → △ → ⊙ → ∞ → ■

D1. ⊙ → △ → ⊙ → ∞ → ■

D2. ⊙ → △ → ⊙ → ∞ → ■

↑
△
↑
*

光谱仪的几种基本模式

第三章 紫外可见吸收光谱分析法 (Ultraviolet Visible Spectrophotometer, 简称 UV-Vis)

第一节 紫外可见光谱法基本原理

The Theory of UV-Vis Spectrophotometry

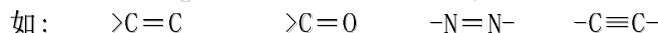
一、紫外可见吸收光谱与分子结构的关系 (UV-Vis absorbed spectrum - molecular structure relation)

1. UV-Vis 吸收的化学由来 (Chemical origins of UV-Vis absorption) 分子外层电子的分子轨道可以分为五种, 即 σ 成键与 σ^* 反键轨道, π 成键与 π^* 反键轨道, n 非键轨道。

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



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



C. n 键轨道 ((non-bonding) molecular orbital), 如: $-C-Br:$ $-C-O:H$ $-C-N:H$

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

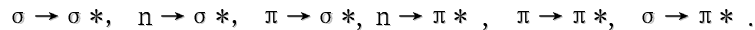
D. σ^* 反键轨道 (sigma star) orbital

E. π^* 反键轨道 (pi star) orbital

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

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

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



A. $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁 ($\sigma \rightarrow \sigma^*$ transition)

ΔE 较大, 跃迁发生在远紫外区, 波长范围低于 200nm。如甲烷 (125nm), 乙烷 (135nm)。

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

	(nm)		(nm)		(nm)
H ₂ O	167	1480	(CH ₃) ₂ S	229	140
CH ₃ OH	184	150	(CH ₃) ₂ O	184	2520
CH ₃ Cl	173	200	CH ₃ NH ₂	215	600
CH ₃ Br	204	200	(CH ₃) ₂ NH	220	100
CH ₃ I	258	365	(CH ₃) ₃ N	227	900

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

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

$n \rightarrow \pi^*$ 和 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的吸收特征

生色团	例 子	溶 剂	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	摩尔吸收系数	跃迁类型
$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$	正庚烷	177	13000	$\pi \rightarrow \pi^*$	烯
			178	10000	
炔	$\text{C}_5\text{H}_{11}\equiv\text{CCH}_3$	正庚烷	196	2000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			225	165	
酮	$(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$		280	16	$n \rightarrow \pi^*$
醛	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{O}$		293	12	$n \rightarrow \pi^*$ 其它
$\text{CH}_3\text{C}(\text{NH}_2)=\text{O}$		214	60	$n \rightarrow \pi^*$	
CH_3NO_2		280	22	$n \rightarrow \pi^*$	
	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$		339	5	$n \rightarrow \pi^*$

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

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

$\pi \rightarrow \pi^*$ transition, when occurring in isolated groups in a molecule, give to absorptions of fairly low intensity. However, conjugation of unsaturated groups in a molecule produces a remarkable effect upon the absorption spectrum. The wavelength of maximum absorption moves to a longer wavelength and the absorption intensity often increases greatly.

如:

	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	ϵ_{\max}
$\text{C}=\text{C}$	180--200	10000
$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$	217	21000
$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$	258	35000

The same effect occurs when groups containing n electrons are conjugated with a π electron group, e. g.

Acetone	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{CH}=\text{CH}_2 \end{array}$
$\lambda_{\max}(\text{nm})$ 290	$\lambda_{\max}(\text{nm})$ 325	

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

Aromatic systems, which contain π electrons, absorb strongly in the ultraviolet: C. 助色团:

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

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



Auxochromes can have the following effects:

λ_{\max} shifted to longer wavelength, "red shift" -Bathochromic effect.

λ_{\max} shifted to shorter wavelength, "blue shift" -Hypsochromic effect.

ϵ_{\max} increased, (increased intensity)- Bathochromic effect.

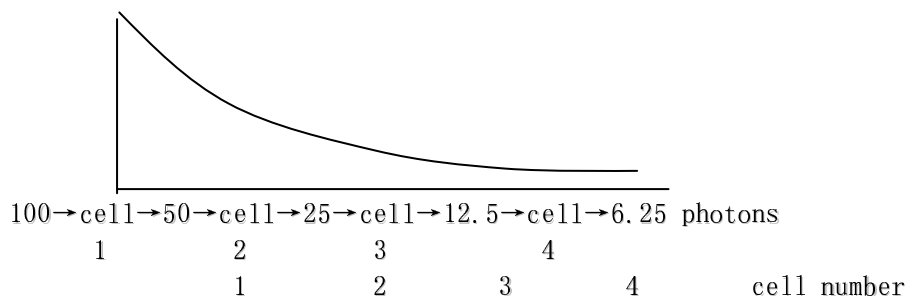
ϵ_{\max} decreased, (decreased intensity)-Hypsochromic effect.

二、定量分析的基础—Beer - Lambert 定律

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

1. Correlation of T and C

设 $T=0.5=50\%$ 100 Photons \rightarrow \rightarrow 50 photons



即 T 与 C 成对数关系。

2. The Beer-Lambert Law $I = I_0 e^{-kCL}$, $\frac{I}{I_0} = e^{-kCL} =$
 $10^{-0.4343kCL} = 10^{-KCL}$ $\therefore I / I_0 = T, \therefore$

$-\log T = KCL$ $A = -\log T = KCL$

A-吸光度 (absorbance)

L-The length of the radiation path through the sample.

K-The extinction coefficient - a constant dependent only on the nature of the molecule and wavelength of the radiation.

C-The concentration of absorbing molecules in the path.

The Beer-Lambert Law tell us that the concentration of a substance in solution is directly proportional to the "absorbance", A, of the solution.

K - absorbed coefficient (吸收系数) or extinction coefficient (消光系数)
 当 C 为摩尔浓度时, K 用 ϵ 表示, ϵ 称摩尔吸收系数。

ϵ 单位为: 升/摩尔. 厘米。

当 C 为 mg/ml 时, 用 K 表示, K 单位为 ml/mg. cm。

K

的常用单位还有: $K^{1\%}_{1cm}$ 或 $E^{1\%}_{1cm}$

即: 表示 1% 样品浓度在一厘米比色池中比色时的 K 值。

T 与 A 的关系

当 T 以 T % 表示时,

$$A = -\log T = \log 100/T = 2 - \log T$$

例: 当 $T=50\%$,

$$\text{则 } A = 2 - \log 50 = 2 - 1.699 = 0.301$$

列出 A 与 T 的关系表:

T	100%	50%	25%	10%	1.0%	0.1%	0.01%	0.001%	0%
A	0	0.301	0.602	1.00	2.0	3.0	4.0	5.0	∞

明: T 值为 0% 至 100% 内的任何值。

A 值可以取任意的正数值。

3. 浓度测量中相对误差与透光率和吸光度的关系 A 既然可取任何数值, 究竟取何数值最为合适? 这要由相对误差的大小决定。

$$-\log T = KCL \dots\dots\dots \textcircled{1} \quad \text{左边}$$

换成自然对数后, 求得:

$$-0.4343 \cdot dT/T = KLdC \dots\dots\dots \textcircled{2}$$

$$\textcircled{2}/\textcircled{1} \text{ 得: } dC/C = 0.4343 \cdot dT/T \log T$$

$$\text{即: } \Delta C/C = 0.4343 \cdot \Delta T/T \log T$$

设 T 的测量误差 ΔT 为 0.005, 则

浓度相对误差与 T 和 A 的关系见下表:

T	A	$(\Delta C/C) \times 100$
0.95	0.022	± 10.2
		0.80
		0.097

±2.80

0.70	0.155	±2.00	测
0.60	0.222	±1.63	量
0.40	0.399	±1.36	最
0.368	0.434	±1.36	理
0.20	0.699	±1.55	想

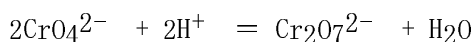
测量最理想范围为：
T=70% - 15%
A=0.150-0.700
此时相对误差少于±2.00%
0.30 0.523

±1.38 范

0.15	0.824	±1.76	围
0.10	1.000	±2.17	
0.01	2.000	±10.85	
0.001	3.000	±72.33	

4. Beer-Lambert 定律在混合物中的表达式

$$A_{\text{total}} = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n = \epsilon_1 C_1 L + \epsilon_2 C_2 L + \epsilon_3 C_3 L + \dots + \epsilon_n C_n L \text{ 例:}$$



已知：平衡常数为 4.2×10^{14} 。

不同波长测定时的摩尔吸收系数为：

λ (nm)	$\epsilon_1 (\text{CrO}_4^{2-})$	$\epsilon_2 (\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})$
345	1.84×10^3	10.7×10^2
370	4.81×10^3	7.24×10^2
400	1.88×10^3	1.89×10^2

求 $4.00 \times 10^{-4} \text{ M K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液在 PH 5.60 缓冲溶液中, 用一厘米比色池在 345、370、400nm 波长处测定时的吸光度?

解：∵ $K = [\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] / [\text{CrO}_4^{2-}]^2 \times [\text{H}^+]^2 = 4.2 \times 10^{14} \dots \dots \textcircled{1}$ 又∵ PH 5.60 故可求出 $[\text{H}^+]$ 。

$$\text{设 } [\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] = X, [\text{CrO}_4^{2-}] = 4.00 \times 10^{-4} \text{ M} - X$$

代入①式即可求出 $[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}]$ 、 $[\text{CrO}_4^{2-}]$ 的浓度。

$$\text{又 } \because A_{\text{total}} = A_1 + A_2 = \epsilon_1 C_1 L + \epsilon_2 C_2 L$$

不同波长下的 ϵ_1 、 C_1 、 L 、 ϵ_2 、 C_2 、均已知, 故可求出各波长下的吸光度 A。

5、偏离 Beer-Lambert 定律的因素

通常当 $C < 0.01 \text{ M}$ 时, 呈线性

偏离原因:

A. 定律本身偏离线性 $K = f(n)$ $n = f(C)$ ∴ $K = f(C)$, 故 K 不是常数。

B. 定律本身的假设难以满足 严格的单色光 理想溶液 C. 由仪器性能引起 如仪器的杂散光(非吸收光)引起偏离线性。

$$\text{正常时: } T = I/I_0, \text{ 但当有杂散光 } I_1 \text{ 时: } T = (I + I_1) / (I_0 + I_1)$$

第二节 紫外可见分光光度计

(UV-Vis spectrophotometer)

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

Any spectrophotometer will consist of the component parts illustrated in following Fig. * → △ → □ → ⊙ → ∞ → ■

source monochromator sample detector display transmodulator

(一)、光源(sources)

1. 理想光源的特性 (The characteristics of ideal source)

A. 高强度 (High intensity)

B. 宽波长范围 (Wide spectral range)

C. 稳定的输出 (Stable output)

D. 长寿命 (Long life) E 价格低 (Low cost)

F. 适宜的尺寸 (Optimum size) 2、常用光源 (Commonly used sources)

	钨灯	钨卤灯	氘灯
	Tungsten	Tungsten-halogen	Deuterium
	lamp	lamp	lamp
使用范围 (nm)	330-2500	200-900	190-370
输出能量	15%在可见区	高	高
	与 v^4 成正比	寿	命
		长	短

短

(二)、单色器 (Monochromators)

1. 要求特性 (Desirable characteristics of monochromatoes)

A. 高效能 (High efficiency or throughput)

B. 宽波长范围 (Wide wavelength range)

B. 容易调节波长 (Easily selected wavelength)

D. 好的波长精度和重现性 (Good wavelength accuracy and reproducibility)

E. 高的光谱纯度 (High spectral purity)

F. 好的机械稳定性 (Good mechanical stability)

2、滤光片单色器 (filter monochromator)

组成： 入口狭缝、 滤光片、 出口狭缝三部分组成。
(entrance slit) (filter) (exit slit)

性能：

	吸收滤片	干涉滤光片
	absorbed filter	Interference filter
光谱通带宽度 (nm)	20-30	10-15
透 过 率 (T%)	5-20%	40-60%

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

光谱通带宽度 少于 1nm 组成：

狭缝 (slit: entrance slit, exit slit)

色散元件 (dispersive element)

准直元件： 透镜 (focus

mirror)、反射镜 (mirror)。

棱镜和光栅单色器比较：

A、光栅为匀排光谱，棱镜为非匀排光谱。光栅所采用的狭缝可产生几乎恒定的光谱通带而与波长无关。棱镜要得到恒定的带宽时，长波时要求狭缝窄，短波时要求狭缝宽一些。光栅

200 400 600 800 1000 1200nm

棱镜

200 300 400 600 800 1000 1200 n m

B. 光栅对温度不敏感，棱镜对温度很敏感 (折射率 n 与温度有关)。

C、光栅存在着潜在的杂散光源。

D、光栅需要有一个“级消除滤光片 (order-sorting filters)”以消除 $\lambda/2$, $\lambda/3$, ... 等波长的干扰。 E、光栅光能量消耗大。

(三)、样品池 (Sample cell)

按材料不同分： 玻璃池 340-1000nm

石英池 200-340nm

紫外级石英池 185-220nm

按用途分： 常用比色池 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 厘米

微 量 池 0.5 毫升以下

动 池 5-11 微升

流

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

石英池：

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

(四) 检测器 (Detectors)

作用: 光信号转变为电信号。

A. 几种光检测器性能的比较

	光电池 (photocells)	光电管 (phototubes)	光电倍增管 (photomultipliers)
波长(nm) (Wavelength)	400-750	190-650(蓝敏) 600-1000(红敏)	180-900
响应速度 (Speed of response)	慢	约 10^{-8} 秒	10^{-9} 秒
灵敏度 (Sensitivity)	低	10^5 -- 10^6	10^8 - 10^9

B. 结构和作用

a. 真空光电管 (Vacuum Phototube)

蓝敏光电管阴极镀有光电发射材料金属铯和铯。

红敏光电管阴极镀有光电发射材料金属银和氧化铯。

b. 光电倍增管 (Photomultipliers)

作用: 除了将光信号转变为电信号作用外, 还具有放大作用。

构造:

二、分光光度计的结构 (Spectrophotometer configurations)

1、单光束分光光度计 (Single beam instruments) 优点: 结构简单, 易操作, 灵敏度高。

缺点: 光源不稳定影响结果的准确性和重现性。

2、双光束分光光度计 (Double Beam spectrophotometer)

特点: 消除光源不稳定的影响, 灵敏度没有单光束那么高

第三节 定性和定量分析

Quantitative and Qualitative Analysis

一. 仪器条件的选择 1. 测量波长的选择

A. 优先选择最大吸收波长

B. 最大波长受到共存杂质干扰时, 选择次强波长。

B. 最大波长的吸收峰太尖锐, 测量波长难以重复时, 选择次强波长。

2. 透过率或吸光度的范围的选择

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

3. 狭缝宽度的选择

定性分析: 选择较小的狭缝, 以尽量保留振动能级

跃迁的精细结构。

定量分析: 在吸光度稳定的情况下, 选用最少狭缝。

4. 样品池选择 根据测定波长、溶液浓度(选择 L)等选择。

二. 定性分析 (Qualitative Analysis)

1. 未知试样检定根据光谱形状(极大、极小和拐点波长)吸收峰数目, 位置与标准试样比较。

2、有机化合物分子结构的推测

3、同分异构体鉴别

如己二酮异构体鉴别

4. 纯度的检查

三. 定量分析 (Quantitative Analysis)

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

工作曲线: 标准溶液按样品处理进行测定得到的 A 与 C 的曲线。 1. 普通的光光度法 适用于 A 在 0.15-0.8 之间的组分的测定, 此时仪器所造成的相对误差 $< 2\%$ 。

2. 高浓度示差分光光度法

当透过率少于 15% 时 ($A > 0.8$), 仪器所造成的相对误差 $> 2\%$, 为了减少误差, 可以用示差分光光度法。

$$A = \epsilon (C_x - C_s)L$$

设 $C_y = C_x - C_s$ 则 $C_x = C_y + C_s$

设浓度测量相对误差 $\Delta C / C_y = 2\%$

又设 C_y 只占 C_x 的 10%, 则实际误差只有: $2\% \times 10\% = 0.1\%$

3. 低浓度示差分光光度法

精密示差分光光度法

第四章 原子吸收分光光度法 (Atomic absorption spectrographic analysis)

第一节 原子吸收光谱分析基础

一、原子结构、原子能级和原子光谱

二、共振线和共振吸收

共振吸收线：电子从基态跃迁至最低激发态所吸收的谱线。

共振发射线：电子从激发态返回基态时所发射的谱线。

共振线：共振吸收线和共振发射线的总称。

共振吸收：基态原子对共振线的吸收。

分析线：共振线和一般吸收线均可作为分析线。

能够测定的基础：1、原子是否处于基态？2、原子吸收线的宽度太窄，如何测量？

3、能否制备出比吸收线更窄的锐线光源？

三、原子是否处于基态？ 在一定的温度下，原子达到热平衡时，基态原子数 N_0 与激发原子数 N_i 的比值符合玻尔曼分布：

$$\frac{N_i}{N_0} = \frac{g_i}{g_0} e^{-E/KT}$$

E 为激发电位。 T 为绝对温度。

K —波兹曼常数, 1.38×10^{-16} 尔格/度。

g_i/g_0 分别为激发态和基态的统计权重。

不同温度下的 N_i/N_0 的值

元素	共振线 (nm)	g_i/g_0	激发能 (ev)	N_i/N_0		
				2000K	2500K	3000K
Cs	852.11	2	1.455	4.31×10^{-4}	2.33×10^{-3}	$7.19 \times$
K	766.49	2	1.617	1.68×10^{-4}	1.10×10^{-3}	3.84×10^{-3}
Na	589.00	2	2.104	0.99×10^{-5}	1.44×10^{-4}	$5.83 \times$
Ba	553.56	3	2.289	6.83×10^{-4}	3.19×10^{-5}	$5.19 \times$
Ca	422.67	3	2.932	1.22×10^{-7}	3.67×10^{-6}	3.55×10^{-5}
Fe	371.99	—	3.382	2.29×10^{-9}	1.04×10^{-7}	$1.31 \times$
Ag	328.07	2	3.778	6.03×10^{-10}	4.84×10^{-8}	8.99×10^{-7}
Cu	324.75	2	3.817	4.82×10^{-10}	4.04×10^{-8}	6.65×10^{-7}
Mg	285.21	3	4.346	3.35×10^{-11}	5.20×10^{-8}	1.50×10^{-7}
Zn	213.86	3	5.795	7.45×10^{-15}	6.22×10^{-11}	5.50×10^{-10}

从表中可看出，在原子吸收的测量条件下 ($T=3000^\circ \text{K}$)，是以基态原子存在的，因此测量基态原子就成为可能。

四、谱线轮廓和宽度与谱线变宽及原子谱线的测量

1、原子吸收线的轮廓和宽度

原子谱带半宽度为 10^{-3}\AA (分子谱带半宽度为 10^2\AA)。

2、影响原子谱带变宽的内、外部因素

A、自然宽度 10^{-4}\AA

原子发生能级间跃迁时，激发态原子寿命不一样而产生。

B、多普勒变宽(热变宽) 10^{-2} A

原子无规则的热运动产生。

C、压力(劳伦茨)变宽 10^{-2} A

原子间或原子同其它粒子的碰撞使原子的基态能级稍有变化, 因而吸收谱线变

宽。

a. 赫尔兹马克变宽(共振变宽)

由同种原子碰撞引起。

b. 罗伦茨变宽

由不同种原子碰撞引起。

D、自吸变宽

由光源周围温度较低的原子蒸气吸收同种原子发射线而导致的谱线变宽。

E、场致变宽

由强电场和强磁场引起。

五. 原子谱线的测量原子吸收与原子浓度之间的关系

根据电动力学理论, 在给定的频率范围内的积分吸收值为:

$$\frac{\pi e^2}{mC} \int k_{\nu} d\nu = \frac{f}{N_0} \quad \text{No}$$

数

m: 电子质量; e: 电子电荷; C: 光速;

f: 振子强度; No: 基态原子数

另: $(\pi e^2 / mc)$

f = K

则: $A = \int k_{\nu} d\nu = K N_0$

即: 积分吸收与基态原子数成线性关系。

但是, 原子的谱带 Δn 只有0.001-0.005nm, 要获得这样纯的发射单色光用以测量它的积分值, 目前的单色仪器是不可能的(如光栅单色器只有0.1nm)。

2、原子谱线的测量

1955年Walsh提出, 用峰值吸收来代替积分吸收的理论, 解决了这一问题。

即: 将积分吸收法测面积 $A = \int k_{\nu} d\nu$ 改变为用峰值吸收法测高度(即测k值)。

要将此理论变为实践, 则必须要获得一个单色光波长只有0.001nm的光源, 此光源称锐线光源。

第二节 AAS的仪器装置

基本部件:

光源→原子化器→单色器→检测器→转换装置→显示、纪录系统

一、光源

作用: 提供原子吸收所需要的足够尖锐的共振线。

空心阴极灯结构和机理

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

二、原子化器 作用: 将被测元素转变成基态原子。

1. 火焰原子化器 2. 无火焰原子化器:

常用石墨炉。

第三节 仪器主要技术指标的测试

一、波长精度

指谱线理论波长与波长指示的实测值之差值。

一般要求 $\Delta \lambda \leq \pm 0.5 \text{ nm}$

二、分辨率

表示单色器将相邻的两条谱线明确清晰的分开的能力。

一般用镍三线测量, 要求当232nm, T为100%时, 231.6与232nm两峰的波谷处的 $T \leq 25\%$, 233nm处的 $T \leq 10\%$ 。

三、稳定性 仪器在不通气、不点火、不喷雾的情况下的基线漂移透过率要少于 0.1%。它与光源稳定性、灯性能、检测系统稳定性有关。

四、灵敏度

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

公式：
$$S=0.0044C/A$$

例：0.25 $\mu\text{g/ml}$ 的镁测得 $T=48\%$, 求灵敏度。

解：
$$A=\log 1/T$$
$$=\log 100/48$$
$$=2-1.6812=0.3188$$
$$\therefore S=0.0044C/A$$
$$=0.0044 \times 0.25/0.3188$$
$$=0.0034\mu\text{g/ml}$$

灵敏度用途：

1. 检查仪器性能

仪器是否调整好；仪器部件性能是否降低；测试条件是否在最佳状态。

2. 估计最适宜的测量浓度和取样量 例 1： 某样品溶液中铁含量为 0.02 mg/L , 若用 AAS 测定, 问测定前溶液是否需要浓缩或稀释。仪器的 $S=0.08\mu\text{g/ml}/1\%$

解： \therefore 最佳分析范围在 $A=0.15-0.8$ 又 $\therefore S=0.0044C/A$

\therefore 最适宜的分析浓度为：

$0.08\mu\text{g/ml} \times (0.15/0.0044 \sim 0.8/0.0044) = 2.7 \sim 14.5\mu\text{g/ml}$ 之间。

现为 0.02 mg/ml , 故需要浓缩, 倍数为：

$(2.7-14.5)/0.02=135 \sim 725$ 倍

例 2： 有一配合饲料含钙约 0.2%, 应称取多少试样定容至 25 毫升体积进行测量较合适? $S_{\text{Ca}}=0.11\mu\text{g/ml}/1\%$

解：测量最合适浓度为：

$0.11 \times 0.15/0.0044 \sim 0.11 \times 0.8/0.0044 = 3.75 \sim 20\mu\text{g/ml}$,

又 $\therefore \text{Ca}\% = 100\text{VC}/G$

$\therefore G = 100\text{VC}/\text{Ca}\% = 100 \times 25 \times (3.75 \sim 20)/0.2 = 0.046 \sim 0.25\text{g}$

即称取 0.1 ~ 0.2g 试样合适。

五、检测限

定义： 产生两倍噪音的吸收信号时所对应的待测元素的浓度。

单位： $\mu\text{g/ml}$ 检测限公式： $D = C \ 2\sigma/A$

A —为多次测定吸光度的平均值

σ —噪音, 用空白溶液进行 10 次以上的吸光度测定, 计算其标准偏差来求取。

$$\sigma = \frac{\sum (A_i - A)^2}{n-1}$$

当 2σ 时置信度 95.5%。 3σ 时置信度 99.7%。

检出限取决于仪器的稳定性。

第四节 干扰及其消除

干扰主要表现在两个方面：

A. 其它谱线干扰分析线, 如光谱干扰和背景干扰

B. 干扰待测元素的原子化程度, 如化学干扰、电离干扰和物理干扰。

一、光谱干扰：

当测定某一元素时, 另一元素的光谱线相距很近, 亦参与吸收, 干扰测定。 消除办法：
另选分析线

二、背景干扰：由于背景吸收造成。 1. 背景干扰的来源

A. 共存元素在高温下形成化合物(氧化物, 氢氧化物, 盐类等)而造成分子吸收。

B. 火焰气体的吸收 C. 光散射

D. 试样中高浓度盐类、无机酸分子吸收 2. 背景干扰的消除办法

A. 化学消除法 分离干扰杂质或富集并分离被测元素后测定。

B. 氘灯连续光源扣除法

C. 利用塞曼效应扣除背景

三、化学干扰：待测元素与共存物在火焰中发生化学反应而引起原子化程度的改变。 消除办法：

A. 加入释放剂

加入与干扰物形成更稳定的或更难挥发的化合物，使待测元素从与干扰物相结合的化合物中释放出来。

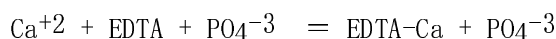
例：在含 PO_4^{3-} 溶液中加入 La、Sr 等，使形成更难溶的不挥发性的化合物，从而不干扰 Ca, Mg 的测定。 $2\text{Ca}^{+2} + 2\text{PO}_4^{-3} + 2\text{H}^+ = \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$



B. 加入保护剂：加入一种保护剂使其与待测元素形成稳定络合物，防止与干扰物作用。



加入 EDTA 后，



EDTA-Ca 在高温下易于离解成基态 Ca。

C. 加入络合剂使其与干扰物形成更稳定化合物。

D. 加入缓冲剂

在标准和试样中均加入过量干扰物，使干扰达到饱和，趋向于稳定。

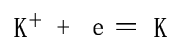
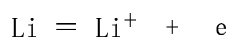
四、电离干扰基态原子进一步电离，使基态原子数减少。

消除办法：

A. 加入消电离剂

加入一种可提供自由电子的易电离的物质，使其优先电离。

例：K 测定时，可加入消电离剂 Li。



B. 改变火焰类型和燃烧状态如测定碱金属时，采用较低温度的空气-丙烷或空气-氢气火焰。

三、物理干扰

由于基体溶液引起物理性质变化，如密度，粘度，表面张力等，影响原子化程度的改变而产生的干扰。

消除办法：

A. 使标准溶液与试样溶液组成一致，从而抵消。

B. 采用标准加入法。

C. 稀释或加入适有机溶剂。

第五节 定量分析方法

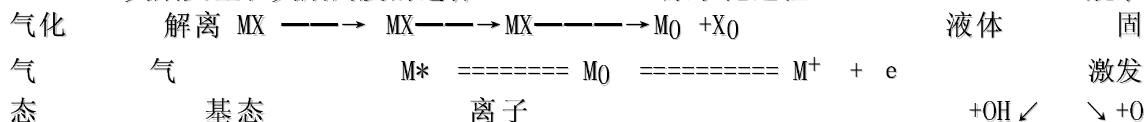
一、仪器条件的选择 1. 空心阴极灯灯电流的选择

保证稳定和获得足够的光强度的条件下，选择较低的灯电流。

2. 分析线(波长)的选择

3. 火焰类型和火焰高度的选择

原子化过程：



MOH* ← MOH MO → MO*
发态

激发态 氢氧化物 氧化物 激

4. 狭缝宽度选择
5. 燃气、助燃气流量选择
可根据仪器说明书选择
6. 雾化效率调节

二、分析方法

1. 标准曲线法或工作曲线法

标准曲线法:

A、直接分取标准溶液上机测定, 将测得的 A 与 C 作图得到的曲线称标准曲线。

B、将待测样品溶液上机测定, 得到的 A 值从标准曲线上查得待测元素的浓度, 计算待测元素的含量。

工作曲线法:

A、标准溶液按样品处理后, 进行测定得到的 A 与 C 作图得到的曲线称工作曲线。

B、将待测样品溶液上机测定, 得到的 A 值从工作曲线上查得待测元素的浓度, 计算待测元素的含量。

2. 标准加入法

a. 分别吸取几份等量的待测试样溶液, 从第二分开始按比例加入不同浓度标准溶液, 溶液浓度分别为 C_X , $C_X + C_0$, $C_X + 2C_0$, $C_X + 4C_0$ 。

b. 在相同条件下测定它们的吸光度, 以 A 和 C 作图, 曲线反向延伸与浓度轴的交点 C_X , 即为待测溶液中待测元素的浓度。

特点: 1、常用来检查分析结果的可靠性。

2、可消除物理干扰和与浓度无关的化学干扰。

3、不能消除电离干扰、背景干扰和与浓度有关的化学干扰。

第五章 红外光谱法

Infrared absorption spectrographic analysis

第一节 基本原理一. 红外光谱的基本概念 1. 红外区按波长分成三个波区:

A. 近红外区 $0.78 - 2.5 \mu\text{m}$ ($780 \text{ nm} - 2500 \text{ nm}$)

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

B. 中红外区 $2.5 - 25 \mu\text{m}$

绝大部分的有机化合物和许多无机化合物的化学键的振动基频都出现在此区, 是红外分析最重要的区域。此区又分二个区:

官能团区: $2.5 - 7.5 \mu\text{m}$

此区光谱主要反映分子中特征基团的振动, 受分子骨架影响小, 基团的波数位置较固定。鉴别基团结构。

指纹区: $7.5 - 25 \mu\text{m}$

反映分子结构的细微变化, 每一种化合物在该区的谱带位置、形状、强度都不一样, 相当于人的指纹, 故称指纹区。鉴别分子结构细微变化及异构体。

C. 远红外区 $25 - 1000 \mu\text{m}$

纯转动能级的跃迁。主要是鉴别气体分子纯转动能级的跃迁及卤素、硫等原子的伸缩振动引起。

2. 红外光谱图 线性波长表示法: 横坐标为波长(μm), 纵坐标为 A 或 T。

线性波数表示法: 横坐标为波数(cm^{-1}), 纵坐标为 A 或 T。

各种峰的描述:



宽峰



尖峰



肩峰



双峰峰强度的

描述:

V_S

S

M

W

V_W

(very strong)

(strong)

(medium)

(weak)

(very weak)

二. 分子振动的几种方式

1. 伸缩振动

----沿键轴方向伸缩, 使键长发生变化的振动。

伸缩振动有两种方式:

式:

对称伸缩振动 (用 V_S 表示);

反对称伸缩振动 (亦称不对称伸缩振动, 用 V_{AS} 表示)

2. 弯曲振动 (变形振动)

-----键角发生变化的振动。

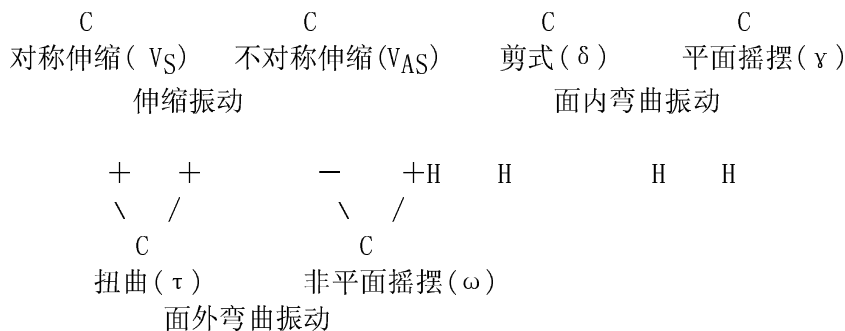
面内弯曲振动: 剪式振动 (δ) 和平面摇摆

振动 (γ)。

面外弯曲振动: 扭曲振动 (τ) 和非平面摇摆振动 (ω)。

例: 亚甲基中 (C-H) 的几种振动方式



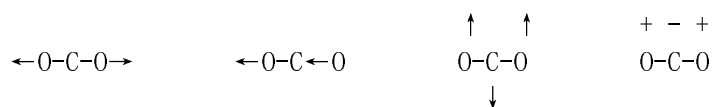


三. 振动自由度简正振动(基本振动)--基频谱带 ($V=0 \rightarrow V=1$)

简正振动数目--基频数目

一般分子: $3n-6$ 个自由度

线性分子: $3n-5$ 个自由度 例: CO_2 三原子线性分子, 振动自由度为 $3 \times 3 - 5 = 4$



$V_S \ 1388\text{cm}^{-1} \quad V_{AS} \ 2368\text{cm}^{-1} \quad \delta \ 668\text{cm}^{-1} \quad \delta \ 668\text{cm}^{-1}$ 但实际上 CO_2

只有二条基频数目, 少于简正振动数目。苯应有 $3 \times 12 - 6 = 30$ 个简正振动, 但只有四条基频。

四. 吸收红外辐射的选择定则 1. 只有在振动过程中偶极矩发生变化的那种振动方式, 才能吸收红外辐射, 在红外光谱中出现吸收谱带。这种方式称红外活性的, 否则称红外非活性的。

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

五. 一些术语

1. 倍频

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

2. 组合频

由二个或多个简正振动组合而成, 吸收带出现在基频之和或差附近。如基频 V_1, V_2 的组合频在 $V_1 \pm V_2$ 附近, 强度较弱。

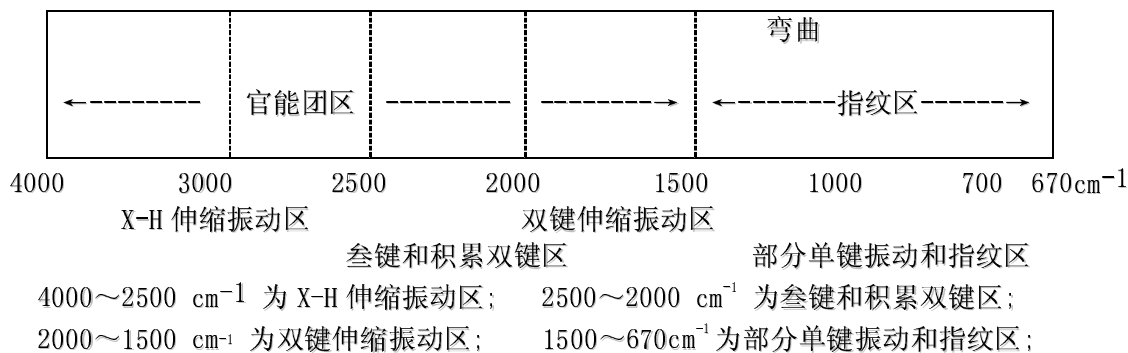
3. 耦合频 二个频率相同或相近的基团联结在一起时, 发生偶合作用, 结果发生分裂成一个较高和一个较低的双峰。

4. 费米共振倍频或组合频出现在基频附近时, 倍频或组合频的宽度常被加强, 而基频峰强度降低, 称费米共振。

第二节 定性分析

一、有机分子红外吸收光谱与分子结构之间的关系

OH NH C-H 烯 C-H 炔 烃 烃	C-H 脂肪 C=N C=C	C=O C=N C=C 烯烃 C=C 芳烃 N-H 弯曲	C=O C-H 伸, O-H 弯曲 C-C N-H C-H C-H 平面内弯曲 平面内
--	--	---	---



二、定性分析

1. 利用已知物与未知物图谱比较对照鉴定。
2. 未知物的结构测定

步骤:

- A. 用元素分析仪测定未知物的 C, H, O, N 等元素的比例, 求取分子式。
- B. 测定红外光谱。
- C. 计算不饱和度

$$U = 1 + n_4 + (n_3 - n_1) / 2$$

n_1, n_3, n_4 分别是价数为 1, 3, 4 的原子数

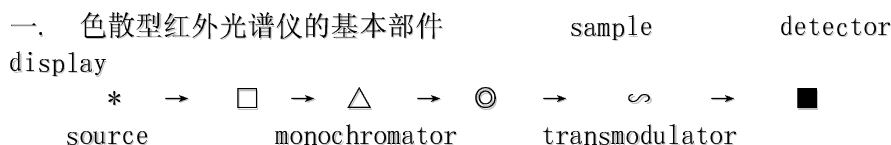
通常: 双键和饱和环

状化合物的 U 为 1,

叁键 U 为 2, 苯环 U 为 4。D. 先找官能团区, 后找指纹区证实。

第二节 红外光谱仪

一、色散型红外光谱仪的基本部件



(请注意样品池与单色器在光路中的位置与 UV-Vis 的不同)

A. 光源名称	波长范围 (cm^{-1})	用途
能斯特灯	400-5000	中红外
硅碳棒	400-5000	中红外
镍铬丝圈	200-5000	中红外
碘钨灯	10000-5000	近红外
高压汞灯	< 400	远红外

B、样品池

气体样品池

液体样品: a. 液膜法;

b. 固定池、可拆装式液体池、可变池

固体样品:

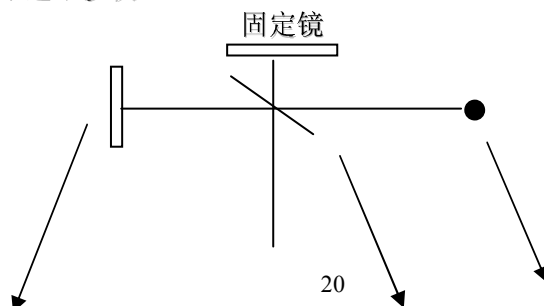
1-2mg 样品, 150-200mg KBr 研磨压成厚度为 1-2mm 透明薄片。

C. 单色器: 与 UV-Vis 相同。

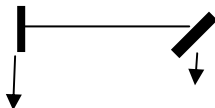
D. 检测器: 热电偶、测幅射热计、Golay Cell。

二、富立叶变换红外光谱仪

1、迈克尔逊干涉仪



动镜 D 反射镜 BS 光束分裂器 光源
 当动镜移动 $11/4$ 的奇数倍时：光程差 X 为 $11/2, \pm 31/2, \pm 51/2, \dots$ ，
 两光束位相差 180 度，发生相消干涉，亮度最小。当动镜移动 $11/4$ 的偶数倍时：
 光程差 X 为 1 的整数倍，发生相长干涉，亮度最大。



当动镜连续运行时，

其干涉图方程： $I(x) = B(v) \cos 2\pi v X$

其中： I -干涉强度； B -入射光强度； X -光程差。

当为复合光时，其方程为： $\int I(x) = B(n) \cos 2\pi v X dx$

当干涉光通过样品后，样品吸收某些频率的光，经计算机对方程进行富立叶变换后，得到透过率随波长变化的红外图谱。

2、FT-IR 的工作原理

3. 富立叶变换红外光谱仪的优点

- A. 分辨率高 在 1000cm^{-1} 处时：棱镜 3cm^{-1} ，光栅 0.2cm^{-1} ，
FT-IR $0.1-0.005\text{cm}^{-1}$
- B. 波数精度高 FT-IR 可精确至 0.01cm^{-1}
- C. 扫描时间快 FT-IR 1 秒钟可扫完全图谱
- D. 光谱范围宽 $10000-10\text{cm}^{-1}$
- E. 灵敏度高 可分析 10^{-9} g 样品

第六章 分子荧光光谱法

Molecular fluorescence spectroscopy

第一节 荧光光谱

一. 荧光光谱的产生

二. 磷光光谱的产生

三. 荧光光谱 激发光谱：在最大发射波长下，对激发波长进行扫描以测定荧光强度，绘制激发波长与荧光强度所得到的光谱图。

发射光谱：在最大激发波长下，对发射波长进行扫描以测定荧光强度，绘制发射波长与荧光强度所得到的光谱图。

表观激发(发射)光谱：直接扫描所获得的光谱

A. 与荧光物质的结构有关 B. 与光源、单色器、光电倍增管等的光学性质有关
真实激发(发射)光谱：直接扫描所获得的光谱扣除无样品时的光谱后的光谱。只与荧光物质的结构有关。

第二节 定性定量分析

一. 定性分析：利用吸收、发射光谱定性。

二. 定量分析 1. 荧光强度与浓度的关系

$$I_f = \Phi (I_0 - I) \dots\dots\dots ① \quad \Phi \text{ 称量子效率} = \text{荧光分子数} / \text{激发分子总数}$$

$$I/I_0 = 10^{-\epsilon LC} \dots\dots\dots ② \quad ② \text{ 代入 } ① \text{ 得:} \quad I_f = \Phi$$

$$I_0 (1 - 10^{-\epsilon LC}) \quad (2.3 \epsilon LC)^2 \quad (2.3 \epsilon LC)^3$$

$$I_f = \Phi I_0 \{ 2.3 \epsilon LC - \frac{(2.3 \epsilon LC)^2}{2!} + \frac{(2.3 \epsilon LC)^3}{3!} - \dots \}$$

2! 3! 当 C 很低时， $\epsilon LC \leq 0.05$ ，第二项以下可忽略，

$$\text{则} \quad I_f = 2.3 \Phi I_0 \epsilon LC$$

2. 影响 I_f 的因素

- A. 温度 $T \uparrow \quad \Phi \downarrow$, $1^\circ\text{C} \uparrow \quad I_f \downarrow 1-2\%$
- B. 激发光影响 激发光照射越长, 荧光强度下降越厉害。 C. PH 的影响 $\lambda_{\text{瑞利光}} = \lambda_{\text{激发光}}$
- D. 溶剂的拉曼散射光的影响 $\lambda_{\text{斯托克斯光}} \geq \lambda_{\text{激发光}}$
- $\lambda_{\text{反斯托克斯光}} \leq \lambda_{\text{激发光}}$ E. 其它杂质的影响

第三节 荧光光谱仪

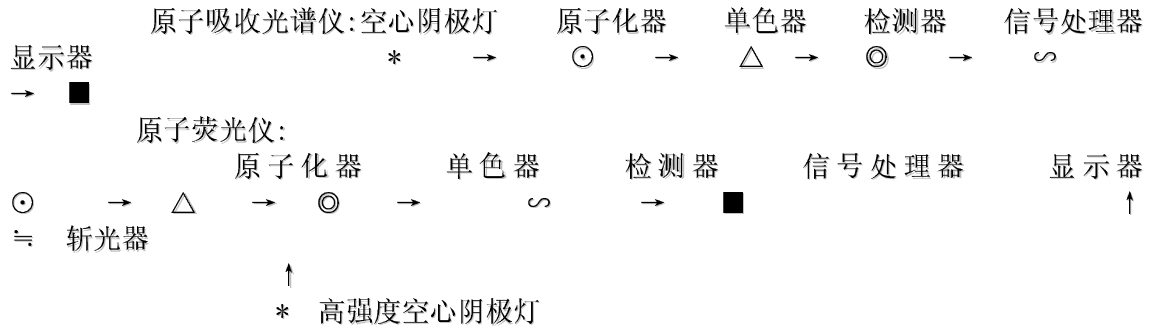
基本结构 :



与紫外可见光谱仪的部件完全相同, 只是多了一个单色器和光路有所改动。

第七章 原子荧光光谱法

一、原子荧光光谱的产生原子荧光仪



光谱分析总结

一、基本理论

方法	波长范围	光谱类型	跃迁轨道	谱带形状
紫外可见	200—800 (nm)	分子吸收光谱	电子能级	带状
原子吸收	200—800 (nm)	原子吸收光谱	电子能级	线状
近红外	800—2500 (nm)	分子吸收光谱	电子—振动能级	带状
中红外	2.5—50 μm	分子吸收光谱	振动能级	带状
远红外	50—300 μm	分子吸收光谱	转动能级	带状
分子荧光	200—800 (nm)	分子发射光谱	电子能级	带状
原子荧光	200—800 (nm)	原子发射光谱	电子能级	线状

能级	能级差	反映的信息
电子能级	ΔE 1—20 eV (紫外可见波区)	反映价电子能量状况等信息可给出物质的化学性质的信息。 (主要用于定量测定)
电子—振动	ΔE 1—0.05 eV (近红外区)	C-H, N-H, O-H 的振动能级跃迁所产生的泛频吸收或能量较低的电子能级的跃迁 C-H, N-H, O-H 的振动能级跃迁所产生的泛频吸收或能量较低的电子能级的跃迁 (用于定量—定性测定)
振动能级	ΔE 0.05—1 eV (红外波区)	反映价键特性等结构信息。主要用于定性, 定量比 UV/Vis 差。
转动能级	ΔE 0.05—0.005 eV (远红外区)	反映分子大小、键长度、折合质量等分子特性的信息。

二、光谱分析仪器的异同

1、光谱分析仪器基本部件组成相同

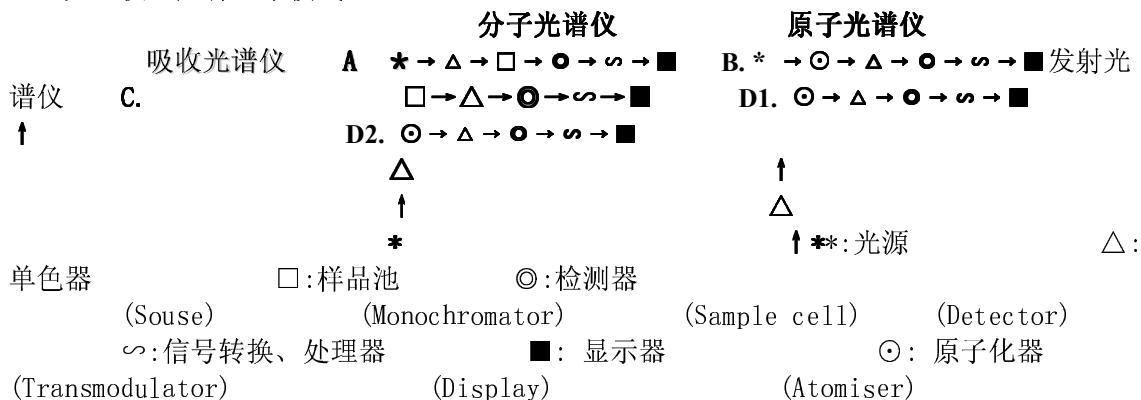
都由光源、单色器、样品池、检测器、信号转换处理器、显示器六大部件组成。

2、吸收光谱与发射光谱光路上有区别。

3、光源、单色器、样品池在光路上位置和作用上的差别。

4、光谱区和测定对象(分子或原子)相同, 各部件构造基本相同。光谱区和测定对象(分子或原子)不同, 各部件构造有差别。

三、光谱仪的几种基本模式



“仪器分析”讲课提纲（二）

(Instrumental analysis)

华中农业大学食品科技学院 吴谋成

第八章 色谱分析导论

第一节 色谱分析的历史、定义与分类

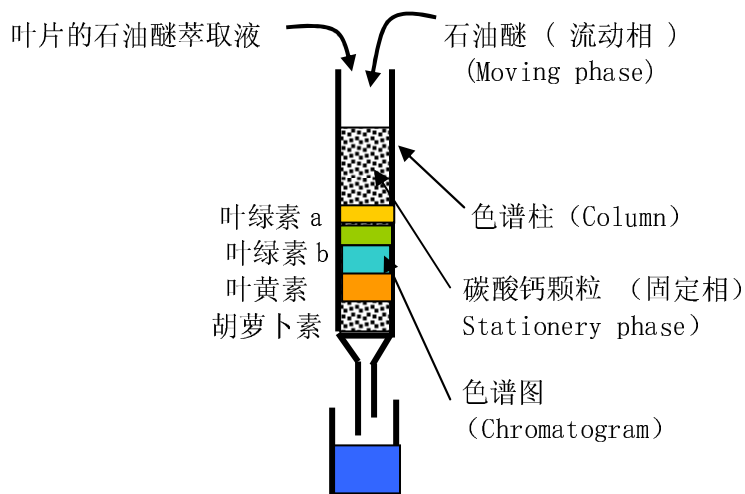
(History and definition and classification of chromatography)

色谱分析是从分离技术发展成为分离—分析技术的一门综合性学科。

一、色谱分离发展史 (History of chromatographic separation)

Although forerunner can be found in the nineteenth century, it is generally considered that a paper published in 1906 by Michael Tswett, a lecturer in botany at the University of Warsaw, provided the first description in nearly modern terms of a chromatographic separation. Tswett described the resolution of the chlorophylls and other pigments in a plant extract as follows:

If a petroleum ether solution of [crude] chlorophyll is filtered through a column of adsorbent (I use mainly calcium carbonate which is packed firmly into a narrow glass tube), then the pigment are resolved from top to bottom into various colored zones according to an adsorption sequence, where the more strongly adsorbed pigments displace the more weakly adsorbed ones and force them further downward. This separation becomes practically complete if, following the pigment solution, a stream of pure solvent is passed through the column. Like a spectrum of light rays, the different components of the pigment mixture are systematically resolved on the calcium carbonate column and can be identified and also determined quantitatively. Such a preparation I term a chromatogram, and the corresponding method the chromatographic method.



洗过程称为：洗脱 (Elution)

方法称为：色谱法 (Chromatography)

1、Tswett 的方法是借助于各组分在固定相中吸附能力的强弱不同而进行分离的，称为吸附色谱 (Adsorpting Chromatography)。

2、1941 年 Martin 和 Synge 把氨基酸的混合液注入到以硅胶作固定相的柱中，用氯仿作流动相，借助于氨基酸在硅胶中的水和有机溶剂氯仿两相中的溶解度不同而达到分离，故称为

分配色谱(Partition Chromatography)。

3、1944 年 Martin 和 Synge 用滤纸代替硅胶,不用色谱柱,固定相是滤纸中含有水份的纤维素,流动相用有机溶剂,也成功地分离了氨基酸,从而创立了纸色谱法(Paper Chromatography)。

4、1952 年 Martin 等又提出以气体作流动相的气相色谱法(Gas Chromatography)。

5、50 年代又出现了将固定相涂布在玻璃板上的薄层色谱法(Thin-Layer Chromatography)。

二、色谱分析的定义

Keulemans' definition serves as well as any:

chromatography is a physical method of separation, in which the components to be separated are distributed between two phases, one of these phase constituting a stationary bed of large surface area, the other being a fluid that percolates through or along the stationary bed.

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

三、色谱法分类(Classification of chromatography)

1、按固定相及流动相的状态分类 气相色谱:气液色谱、气固色谱

液相色谱:液液色谱、液固色谱 2、按固定相形状分类 柱色谱。纸色谱。薄层色谱。 3.按色谱过程的物理、化学机理分类

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

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

(3) 离子交换色谱:利用离子交换原理而进行分离的色谱。

(4) 排阻色谱:利用分子大小不同而进行分离的色谱。 (5) 电色谱:利用带电物质在电场作用下移动速度不同进行分离的色谱。

4、亦可按仪器分:

(1) 气相色谱(Gas chromatography)

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

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

裂解气相色谱(Pyrolysis gas chromatography)

顶空气相色谱(Headspace gas chromatography)

气相质谱联用技术(Gas chromatography-Mass spectrometry)

(2) 液相色谱仪(Liquid chromatography)

高效液相色谱(High performance liquid chromatography)

超临界流体色谱(Supercritical fluid chromatography)

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

毛细管电色谱(Capillary electrochromatography)

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

(3) 平面色谱法(Planar chromatography)

薄层色谱(Thin layer chromatography)

薄层电泳色谱(Thin layer electrophoresis)

纸色谱(Paper chromatography)

第二节 色谱学基本理论有平衡色谱理论、塔板理论、扩散理论、速率理论、块状液膜模型等,本文只介绍塔板理论和速率理论。在介绍之前,先对色谱图中一些重要参数和色谱分离中的一些重要参数作介绍。

一、色谱图的重要参数 1、色谱峰峰宽(用 W 或 Y 表示); 峰高(用 H 表示)

三、色谱与色谱分析

色谱法具有的三个共同点：凡是色谱分离都具有两个相，流动相和固定相。

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

$$K = \frac{C_s}{C_m} \quad \text{分配系数}$$

C_s 组分在固定相中的浓度 C_m 组分在流动相中的浓度

色谱学研究的三个重要问题：

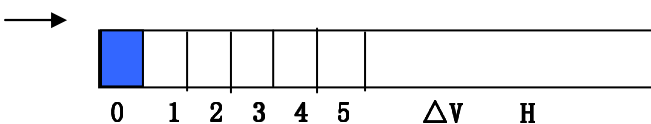
1、要想使二组分（特别是难分离的二组分，亦称物质对）分离，就要使它们的流出峰相距足够的远。二物质的流出峰的距离与它们在两相的分配系数 K 有关，而 K 与物质的分子结构和性质有关，因此必须研究这一分配过程中的热力学基础，它是发展高选择性色谱柱的理论基础。

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

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

四、塔板理论

1、塔板理论的基本假设



板高度 H 不变，柱子塔板数 $N = L/H$ B、在塔板高度 H 内，组分在两相间达到瞬时平衡。

C、流动相以脉冲方式进入一个体积。

D、分配系数 K 在每个塔板上均不变，是常数。

E. 组分加在 0 号塔板上，轴向扩散可忽略。

设有两组分 A、B， $K^A=1$ ， $K^B=0.25$ ， $N=5$

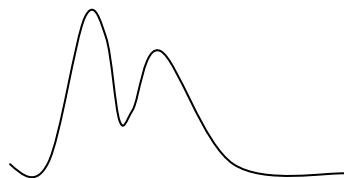
两组分 A、B 在柱中 H 塔板高度的分布如下表所示：

	0 号塔板	1 号塔板	2 号塔板	3 号塔板	4 号塔板	柱出口	进样	1.0A
1.0B								
1ΔV	0.5A	0.5A						
	0.2B	0.8B						
2ΔV	0.25A	0.5A	0.25A					
	0.04B	0.320B	0.640B					
3ΔV	0.125A	0.375A	0.375A	0.125A				
	0.008B	0.096B	0.384B	0.512B				
4ΔV	0.063A	0.250A	0.375A	0.250A	0.062A			
	0.0016B	0.026B	0.154B	0.410B	0.410B			
5ΔV	0.032A	0.156A	0.313A	0.313A	0.157A	0.032A		
		0.006B	0.052B	0.205B	0.410B	0.328B		
6ΔV	0.016A	0.095A	0.235A	0.313A	0.235A	0.079A		
		0.001B	0.015B	0.083B	0.246B	0.328B		
7ΔV	0.008A	0.056A	0.165A	0.274A	0.274A	0.118A	0.004B	0.029B
0.119B	0.197B							
8ΔV	0.004A	0.032A	0.110A	0.219A	0.275A	0.138A		

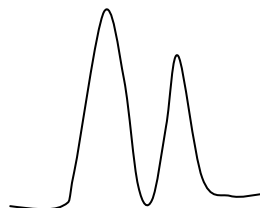
			0.001B	0.010B	0.047B	0.095B
9△V	0.002A	0.018A	0.071A	0.164A	0.248A	0.121A
0.003B	0.017B	0.038B				
10△V	0.001A	0.010A	0.045A	0.118A	0.206A	0.103A
0.006B	0.014B					
11△V		0.005A	0.028A	0.082A	0.162A	0.081A
					0.001B	0.005B
12△V		0.002A	0.016A	0.055A	0.122A	0.081A
						0.001B
13△V		0.001A	0.009A	0.036A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

注：数字右上角的 A, B 分别代表 A, B 组分在某一塔板上的分配值。

从上述数据可得如下模拟图：



当 N 大于 10^3 时，趋向于正态分布曲线，此时色谱图如下：



经推导，得流出曲线方程： $C = C_{\max} \times e^{-\frac{(N/2) \times (1-V/V_R)^2}{N}}$

$C_{\max} = \sqrt{N \times W / \sqrt{2\pi}} \times V_R$ 式中： C_{\max} -曲线中的浓度最大值

C-进入流动相体积 V 时的组分浓度

W-进样量

V_R -浓度最大时的保留体积

N-塔板数

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

2、塔板理论的物理意义 A、N 说明组分在柱中反复分配平衡的次数的多少，N 越大，平衡次数越多，组分与固定相的相互作用力越显，柱效越高。

✱、形象地说明了色谱柱的柱效，是反映柱效能的指标。

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

3、塔板理论的局限性及原因 ✱、不能解释同一色谱柱对不同组分 N 或 H 的不同。

✱、不能解释不同操作条件下，同一色谱柱对相同组分 N 或 H 的不同。

✱、不能找出影响 N 或 H 的内在因素。

✱、不能为操作与应用色谱方法提供改善柱效的途径和方法。

原因:

只考虑组分热力学因素, 而没有考虑动力学因素

五、速率理论 1、速率理论公式

$$H = A + B/U + (C_s + C_m)U$$

$$= 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_M}{U} + \left(\frac{f(d_f^2, K')}{D_S} + \frac{f(d_p^2, K')}{D_M} \right) U$$

A—涡流扩散项 (Eddy diffusion)

B/U—分子扩散项 (Molecular diffusion)

(C_s + C_m)U—传质阻力项 (Mass transfer)

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

B、分子扩散项 (Molecular diffusion)

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

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

B—分子扩散项系数; γ —弯曲因子

(扩散阻止系数);

D_M—组分在流动相中扩散系数; C、传质阻力项 (Mass transfer)

由组分在两相中质量传质阻力引起。

固定相传质阻力项: $C_S U = f(d_f^2, K') U / D_S$

d_f—固定相液膜平均厚度

D_S—组分在固定相中扩散系数

流动相传质阻力项: $C_M U = f(d_p^2, K') U / D_M$ 例: 速率理论公式中 A、B、C 的求取

方法: A、在三个相差较大的流速下, 测出三个色谱图。

B、在色谱图上选择某个色谱峰, 由公式求出三种 u 下的 H。

$$H = \frac{L}{N} = \frac{L}{16} \left(\frac{Y}{t_R} \right)^2$$

C、由 u 和 H 建立三条速率方程, 然后求取 A, B, C。

例: 氯苯甲酸甲酯在三种不同载气流速下的数据如下: L=2 米

t_R^0 (sec)	t_R (sec)	Y (sec)
47.0	361	48.2
37.5	295	39.3
25.0	198	27.7

求 $H=A+B/U+CU$ 中的 A, B, C。

解: 先求 U、N, 后求 H。

$$\text{如 } U_1 \quad U_1 = L / t_R^0 = 2 \times 100 / 47.0 = 4.26 \text{ cm/s}$$

$$N_1 = 16 (t_{R1} / Y_1)^2 = 16 (361 / 48.2)^2 = 897$$

$$H_1 = L / N_1 = 200 / 897 = 0.223 \text{ cm}$$

$$\text{则: } H_1 = A + B / U_1 + C U_1$$

依此类推, 得三个方程组, 解三方程组得 A, B, C。

意义: 从 A、B、C 可知, 三项中那一项影响柱效最大, 从而可采取相应措施加以改正。

2、速率公式在气相填充柱色谱中的应用 速率公式在 GC 中的表达式如下:

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

$$U = \frac{3(1+k')^2 D_S}{(1+k')^2 D_m} \quad \text{A. } U \text{ 与 } H \text{ 的关系}$$

当 H 最小时，一阶导数为零，

$$dH/dU = -B/U^2 + C = 0$$

$$\text{故 } U_{\text{最小}} = \sqrt{B/C} \quad \therefore H_{\text{最小}} = A + B/U + CU = A + 2\sqrt{BC}$$

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

B、载气的选择当 $U < U_{\text{最小}}$ 时，B 项起主要作用，要求： $D_M \downarrow, D_M \propto 1/M$,

选择分子量大的载气。

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

C、固定相的选择

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

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

固定液含量与柱温参考值

组分沸点 (°C)	固定液参考用量	参考柱温 (°C)
300-400	<3%	0-250
200-300	5-10%	150-200
100-200	10-15%	70-120
100以下	15-25%	室温-60

3、速率公式在液相填充柱色谱中的应用

速率公式在 LC 中的表达式如下：

$$2 \gamma D_M \quad d_p^2$$

d_f^2

$$H = 2\lambda d_p + \frac{\quad}{U} + (\Psi \frac{\quad}{D_m} + \text{conseq}(k') \frac{\quad}{U})$$

D_S 在液相色谱中， $\lambda=1-1.5$,

$$\gamma=1, D_S \approx D_m, d_f \ll d_p, 2D_M$$

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

Ψ 为 k' 的函数，当 $k'=1$ 时， $\Psi=0.047$ ，

当 $k'=5$ 时， $k'=0.09$ ，

故 Ψ 对 k' 的影响很小，以 $\Psi=0.047$ 代入：

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

A、H 与 U 的关系

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

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

B、谱带扩展 (H) 与粒度的关系将 $U_{\text{最小}}$ 代入方程得：

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

上式说明， d_p 小，柱效高。但 d_p 不能无限的小，因为： d_p 正比于 4 倍压力 (4P)，每增加 100 大气压，柱出口比柱入口的温度升高 5-7°C，所以， d_p 不能无限小，一般为 2-10 微米。

例：当粒度为 3 微米时， $H = 7.5 \sim 10.5$ 微米。

当柱长为 250mm 时，则

$$N = L / H = 250 \times 10^3 / (7.5 \sim 10.5) = 25000 \sim 30000$$

即：柱长为 250mm 的柱子，最大塔板数约为 30000。C、柱外效应当柱外死体积太大时（如进样部分死体积、柱和检测器之间连接的管道的死体积、检测器本身的死体积），组分在死体积中的轴向扩散就变得严重，对谱带的展宽有相当大的影响，使 B 项增大。形成柱外谱带变宽，产生柱外效应。D、管壁效应当固定相粒度很小，柱子装填又不理想时，往往柱中心粒度小、柱壁粒度大，这样柱内沿管壁部分的流速较大，柱中心流速较小，在管壁中的溶质分子流出色谱柱比柱中心快，形成峰的扩展，出现反常的拖尾峰和双重峰。当柱内直径较小时，组分分子就有可能不受管壁效应的影响。此时的柱内直径称“无限直径”。其内径可用经验公式表示：

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

例：装填一根 250mm，粒度为 $10\mu\text{m}$ 的无限直径柱，内径为：

$$d_C = (2.4 \times 10 \times 10^{-3} \times 250)^{1/2} = 2.5\text{mm}$$

综上所述，液相色谱速率理论修正公式：

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

第九章 填充柱气相色谱

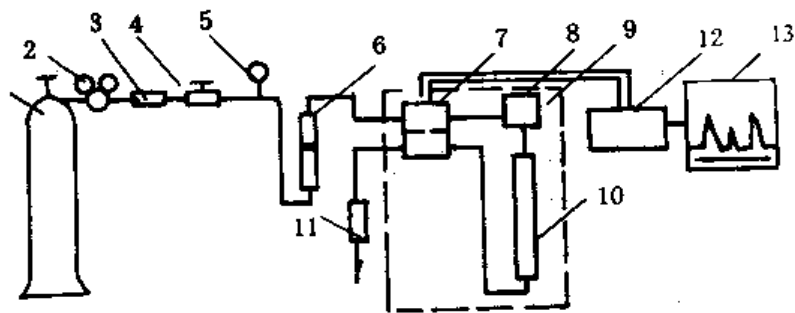
定义：气相色谱是用气体作为流动相的色谱法。

GC 特点：

- 1、高选择性：理化性质极为相似的组分均可分离。如二甲苯的三个异构体均可容易分离。
- 2、高效能：填充柱：几千塔板。毛细管柱：100 万塔板数
- 3、高灵敏度：可检测 10^{-7} 至 $10^{-13}g$ 的物质。
- 4、分析速度快 一般几分钟到几十分钟。
- 5、应用范围广：约占物质总量的 15% 以上，凡是能气化或衍生后能气化的物质均能测定。

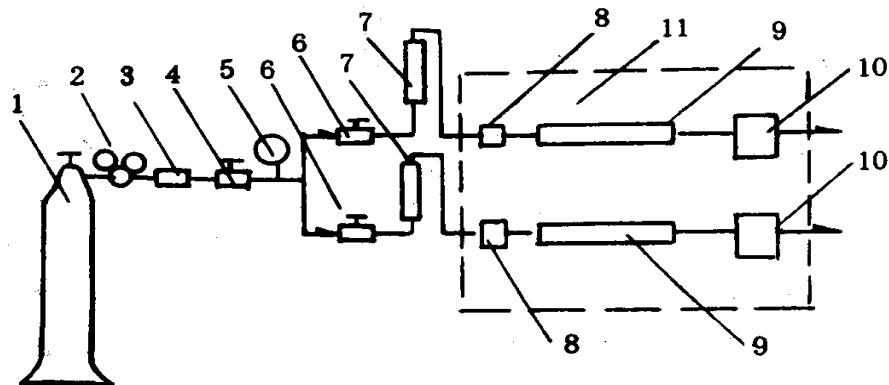
第一节 气相色谱仪

一、气相色谱仪的一般流程



气相色谱仪的单气路流程示意图 1 高压气瓶 2 减压阀 3 净化器 4 稳压阀 5 压力表 6 转子流量计 7 检测器 8 气化室 9 色谱恒温室 10 色谱柱 11 皂膜流速计 12 检测器桥路 13 记录仪

气相色谱仪的双气路流程示意图



1 高压气瓶 2 减压阀 3 净化器 4 稳压阀 5 压力表 6 稳流阀 7 转子流量计 8 净化室 9 色谱柱 10 检测器 11 色谱恒温室它由气路系统；进样系统；分离系统；检测系统；记录和数据处理系统；温度控制系统六部分组成。

二、气路系统

由载气源、载气压力和流速控制装置、载气压力和流速显示三部分组成。

1、载气源：

流路顺序：高压钢瓶→减压阀→净化器→稳压阀→压力表→转子流量计。

A、高压钢瓶：常用氮氢氦氩及二氧化碳等高压气体。

高压钢瓶外表颜色：

黑色—氮气；

灰色—CO₂，惰性气体；

绿色—氢气、氧气。

B、减压阀：

可从 50kg/cm²~150kg/cm² 减到 2 ~ 5kg/cm²。2、载气压力和流速控制装置

包括：开关阀，稳压阀，稳流阀，针阀，阻力管等

3、载气压力和流速显示

转子流量计：

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

皂膜流速计：

测定大气压下柱后流速，求出柱内平均流速。

三、进样系统

由汽化室和进样器组成。

进样器：微量注射器—重复性 2%。

进样阀—重复性 0.5%

汽化室：

四、分离系统

由固定相和柱组成。

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

五、检测系统

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

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

含氧化合物分析器

氮-磷检测器

光离子化检测器

电子俘获检测器 (ECD, Electron capture detector)

脉冲放电检测器

火焰光度检测器 (FPD, Flame photometric detector)

化学发光检测器

微波诱导等离子体原子发射光谱检测器

六、记录和数据处理系统

样品 → 色谱仪 → 采样开关 → 数据放大、模数转换

↓

数据处理程序 → 光电输入机 → 计算机 ← 接口

↓

打印机← 数模转换← 接口→ 数字图片显示

七、温度控制系统

要求：控温范围 $\pm 0.1 \sim \pm 0.3^\circ\text{C}$

温度梯度 $< \pm 0.5^\circ\text{C}$

第二节 GC 检测器

分类：通用型和选择型；破坏型和非破坏型；2.1 热导池检测器(Thermal conductivity detector, TCD) 适用范围：几十个 PPM 以上组分测定

属于通用型, 不破坏样品 设计原理：

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

热导池的结构：

检测原理：

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

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

1、对电负性基团具有高度选择性, 对非电负性基团无响应。

2、灵敏度高 (10^{-14}g/ml)。 3、线性范围窄。

结构与工作原理：

第三节 GC 定性分析和定量分析 3.1 定性分析 1. 根据保留值定性

(t_R, t_R', α)

2. 与其它分析仪器联用定性

3.2 定量分析 定量分析依据： $m_i = f_i \cdot A_i(h_i)$

$f_i = m_i / A_i(h_i)$ f_i 称校正因子

各种定量分析方法：

1. 外标法(标准曲线法)

2. 归一化法(面积归一化和峰高归一化)

m_i $A_i \times f_i$

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

A、不必知道准确进样量。

B、仪器操作条件变动对结果影响不大。

C、当 f 值相近或相同时, 可

不必求出 f 值。固特别适合同系物、同分异构体等分析。此时公式可简化为：

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

3. 内标法

试样中加入一定量的标准物, 再进样分析。

此时： m_i $A_i f_i$ $A_i f_i m_s$ m_s

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

$A_s f_s$ $A_s f_s W$

3.3 色谱分析误差及误差范围

色谱分析误差：用标准偏差或相对标准偏差表示。

色谱定量分析允许误差范围

试样浓度 (%)	σ %	试样浓度 (%)	σ %
0.01~0.05	<100	3~10	3~50
0.05~0.1	10~30	0.1~0.5	5~10
0.1~1	3~10	0.5~1	10~30
1~10	1~3	1~10	3~10
10~30	0.5~3	10~30	3~10
		30~100	<2

第四节 填充柱气相色谱

(Packed column gas chromatography)

基本内容

1. 填充柱最佳色谱条件的选择
2. 填充柱固定相
3. 填充柱的载体
4. 气液色谱填充柱固定液
5. 气固色谱填充柱固定相
6. 填充柱的装填
7. 速率理论在填充柱中的表达

五、速率理论在填充柱中的表达

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

λ - 填充不规则因子;

d_p - 固定相微粒直径;

B - 分子扩散项系数; γ - 弯曲因子 (扩散阻止系数);

D_M - 组分在流动相中扩散系数; D_S - 组分在固定相中扩散系数;

d_f - 固定相液膜平均厚度;

二、最佳色谱条件的选择

1. 流速的选择

当 H 最小时, 一阶导数为零,

$$dH/dU = -B/U^2 + C = 0$$

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

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

2. 载气的选择

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

$$D_M \downarrow \quad D_M \propto 1/M \quad \text{选择分子量大的载气。}$$

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

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

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

固定液含量与柱温参考值

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

三、固定相

1. 气液色谱填充柱的载体 (Support)

载体 - 承载固定液用的多孔结构支持物。

作用 - 提供一个大的惰性表面, 让固定液在上面形成一层薄的均匀的液膜。

要求 - 比面积要大, 孔隙要均匀, 化学惰性, 热稳定好, 机械强度高。

种类 无机担体 有机担体

— 非硅藻土担体 (玻璃担体, 素瓷。高分子多孔微球, 氟担体。)

硅藻土担体

原因:a.担体表面的微孔结构。

构(形成氢键)。c. 担体表面的金属氧化物活性中心。消除办法:

A. 酸洗: 6N HCl 处理半小时, 洗至中性。

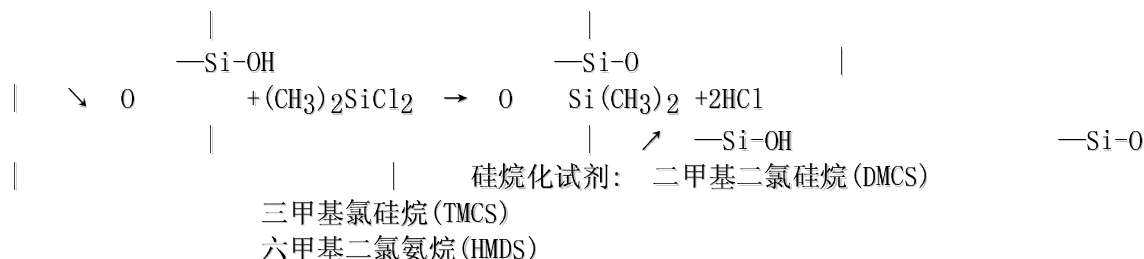
目的:除去担体中的金属氧化物。

B. 碱洗: 5% KOH—甲醇回流, 洗至中性。

目的:除去担体中的酸性氧化物,如三氧化二铝。

C. 硅烷化处理

目的：除去硅醇结构。



担体的常用表示式:

Chromosorb W

Chromosorb WAW

Chromosorb WAW—DMCS

Chromosorb G

Chromosorb GAW

Chromosorb GAW—DMCS

Chromosorb P 红色硅藻土担体

Chromosorb PAW

Chromosorb PAW—DMCS

硅藻十扣体

酸洗硅藻十担体

酸洗并经 DMCS 处理的硅藻土担体

白色硅藻十扣体

酸洗白色硅藻土担体

酸洗并经 DMCS 处理的白色硅藻十担体

酸洗红色硅藻十扣体

酸洗并经 DMCS 处理的红色硅藻十担体

五、气液色谱固定液要求:

蒸气压要低,使用温度下是液体;热稳定性要好;惰性,与组分不发生化学反应。

分类一:

常用的气液色谱固定液

耐高温的气液色谱固定液

液晶和高分子液晶固定相 (特别适用于位置异构体分离)

冠醚和 高分子冠醚固定相 (特别适用于位置异构体分离)

环糊精及其衍生物类手性固定相 (对映异构体)

氨基酸衍生物聚硅氧烷手性固定相(特别适合消旋氨基酸和氨基酸对映异构体的分离)

分类二：非极性、中等极性、强极性、氢键型。固定液选择原则：

a. 非极性样品选用非极性固定液(主要作用力为色散力)。

流出顺序:沸点低的先流出,同沸点的极性组分先流出。

b. 中等极性样品选用中等极性固定液(主要作用力为静电力)

流出顺序: 沸点低的先流出, 同沸点的极性小的组分先流出。

c. 强极性样品选用强极性固定液(主要作用力为静电力)。

流出顺序:极性低的先流出。

d. 利用固定液与组分之间的特殊作用力选择

例 1: CH_4 , C_2H_6 , C_3H_8 , C_4H_{10} , C_5H_{12}

例题 2: 油中脂肪酸的测定:

$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{COOC}_2\text{H}_5$ (棕榈酸乙脂), $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{COOC}_2\text{H}_5$ (硬脂酸乙脂)
 $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{COOC}_2\text{H}_5$ (油酸乙脂) $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{COOC}_2\text{H}_5$ (亚油酸乙脂) $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{COOC}_2\text{H}_5$
 (亚麻酸乙脂) $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{COOC}_2\text{H}_5$ (二十碳烯酸乙脂) $\text{C}_{22}\text{H}_{43}\text{COOC}_2\text{H}_5$ (芥
 酸乙脂)

序号	名称	商品代号	类别、特性
1	聚二甲基硅氧烷	OV-101, SE-30, SF96, SP2100	I, 不易极化非极性固定液
2	聚苯基甲基硅氧烷	OV-17, SP2250	II, 易极化非极性固定液
3	聚乙二醇 ($M > 4000$)	PEG20M	V ₁ , 给质子和受质子力同时存在固定液
4	聚醚	DEGS	V ₁ , 给质子和受质子力同时存在固定液
5	全氟基聚硅氧烷	SP2340, Silar10C	V ₃ , 给质子力较强的固定液
6	三氟丙基聚硅氧烷	OV-210, SP2401	V ₃ , 给质子力较强的固定液

常用的气液色谱固定液

六、气固色谱固定相-高分子多孔微球

名称	极性	与国外相类似的类型
GDX 101~105	很弱	porapak-Q, Par-1, Par-2
GDX 201~203	很弱	porapak-Qs,
GDX 301	弱	porapak-P, porapak-Ps,
GDX 401, 403	中等	porapak-S, porapak-N, Chromosorb 102, 103, 105, 107
GDX 501, 502 404有机载体	较强	
GDX 601	强	porapak-R, Chromosorb 104
401~403有机载体	很弱	

七、填充柱的装填

1、担体的选择与处理

选择:粒度适当,筛分要窄。固定液含量低的选用色担体,固定液含量高的选用红色担体。处理:酸洗或碱洗或硅烷化。

2、固定液的涂渍

涂布均匀,避免破碎。

3、色谱柱的填充

4、色谱柱的老化

目的:除去杂质和短链高聚物。使固定液更均匀牢固地分布在担体上。

担体上。

例:制备 $\Phi 5\text{mm} \times 2\text{M}$ 的2% OV-7 色谱柱。

固定液的涂渍:

1、计算色谱柱体积

$$V = \pi r^2 \times L = 3.1416 \times 0.5^2 \times 200 = 157.08\text{ml}.$$

2、用干的量筒量取已过筛的担体(设担体为100-120目的chromosorb W DMCS 200ml于已称重的培养皿中。再称重,得担体重量(假设为100g)。

3、称取 $100\text{g} \times 2\% = 2\text{g}$ 的固定液OV-7于一烧杯中,加入与担体体积相当的溶剂(此处为200ml氯仿),溶解OV-7。溶解后倒入到担体中。

4、迅速振(摇)动,以便将固定液均匀地涂布于担体上(注意:千万别用玻棒搅拌,以免将担体破碎)。

5、放在红外灯下烘干。

色谱柱的装填:

在柱的一端与带有一漏斗的橡胶管相连,另一端用少量玻璃纤维塞入柱头,并用一橡皮管与玻璃真空水泵相连,打开自来水开关,开动真空泵,向漏斗中加入已制备好的固定相。轻轻敲动色谱柱,使固定相均匀地填满柱中。填好后,取下,另一端塞入玻璃纤维,并将柱两头密封好。标记好柱的填充方向。

色谱柱的老化:

按柱的填充方向装入老化箱或色谱仪中,从低温开始,阶梯式的逐步升温到所需要的温度,再保持一段时间后,转接到色谱仪中,待基线平稳后即可测定柱效等指标和进样分析。

第五节

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

一、毛细管气相色谱的发展历史

1955年, M. J. E. Golay 发明了毛细管柱。

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

柱材料的发展:

聚乙烯-不锈钢-玻璃-弹性石英。

固定液的固定方式的发展:

涂渍固定相-交联固定相-键合固定相。

柱型发展:

小口径柱-大口径柱-集束毛细管柱-耐高温柱。

二、毛细管气相色谱柱的类型

填充毛细管柱 (packed capillary columns)

内径 $\leq 1\text{mm}$, 粒度与柱径比值: 0.2~0.3, 固定相为吸附剂。

微型填充柱 (micropacked columns)

内径 $\leq 1\text{mm}$, 粒度: 30~50 μm , 液体固定相。

涂壁开管柱 (wall coated open tubular columns)

多孔层开管柱 (Porous layer open tubular columns)

管壁上涂有固体或液体固定相。

键合型开管柱 (bonded open tubular columns)

交联型开管柱 (Cross-linked open tubular columns)

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

三、毛细管柱与填充柱的比较

载气在柱中的阻力比较

色谱柱类型	柱内径 / mm	$B_0/10^{-7}cm$
填充柱	>2.2	2 ~3
涂壁毛细管柱	0.25 0.27 0.50	200 230 780
多孔层开管柱	0.50	250 ~

B_0 为比渗透率 ↗ \ 载气流量的比较

毛细管柱载气流量上一般为每分钟几毫升，比填充柱少二多倍。

2、柱性能的比较：

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

3、速率理论在毛细管柱与填充柱中的比较填充柱：

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

毛细管柱：

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

无涡流扩散项；柱半径减少可以大幅度提高柱效；

第十章 高效液相色谱

High performance Liquid Chromatography

第一节 概述

一、经典液相色谱与 HPLC 的区别采用了高压输液泵

2. 采用了新型的固定相
3. 采用了高灵敏度的检测器
4. 自动化程度高

二、HPLC 与 GC 的比较

共同点：

1. 色谱基本理论一致
2. 定性定量分析原理一样

差异点：

1. 流动相差异 组分在液相中的扩散系数比在气相中的扩散系数小 $10^4 \sim 10^5$ 倍，与固定相与流动相的作用力不能忽略。 液体流动相多，气体流动相少，可供选择范围广。

2. 固定相差别。

3. 利用范围更广。

GC 15%, HPLC 85%以上的物质均可测定。

4. 仪器结构的原理上亦有差别。

三、HPLC 类型及类型的选择

1、液液色谱

正相色谱：固定相为极性的流动相为非极性或弱极性的液相色谱。

流出顺序：非极性向极性过渡。

反相色谱：固定相为非极性，流动相为极性的液相色谱。

流出顺序：极性向非极性过渡。

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

流出顺序：按离子对极性大小流出，极性小的先流出。

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

流出顺序：按离子对极性大小流出，极性大的先流出。

2、液固色谱

固体固定相表面的吸附活性中心对组分的吸附能力不同而达到分离的色谱。

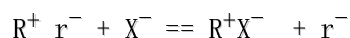
特点：1. 对同系物的选择性小，不利于同系物的分离，而有利于按族的分离。

2. 吸附中心的吸附力与分子的几何形状有关，有利于异构体的分离。

3. 由于吸附中心主要是表面的硅醇结构，吸附能力大小决定于羟基对组分分子吸附与解吸能力的强弱，因此对流动相含水量要严格控制，方能得到良好的重复性。

3、离子交换色谱

利用固定相中离子交换基团与组分离子的交换能力的不同而达到分离的液相色谱。



$R^+ r^-$ 阴离子交换树脂 X^- 组分离子 r^- 平衡离子 4、凝胶色谱(排阻色谱, 空间排代色谱)

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

凝胶过滤色谱(Gel Filtration Chromatography, GFC):

用含水的流动相的凝胶色谱。

凝胶渗透色谱(Gel permeation Chromatography, GPC)

非水流动相的凝胶色谱。

四、液相色谱分离机理示意图(略)

五、类型的选择(略)

第二节 HPLC 仪

HPLC 仪的流程(略)

2.1 HPLC 仪的基本构成

(一)流动相输送系统

1. 贮液槽

2. 高压泵

要求:

A. 较高压力 300~500KG/CM²

B. 无脉冲

C. 流速稳定性 ±

1%, 重复性 ±0.5%

D. 泵室体积小

E. 分析用泵最大流速 3 毫升/min 以上;

制备用泵最大流速 50 毫升/min 以上。

3. 梯度淋洗装置

(二)进样系统

进样阀, 注射器(与气相色谱相同)。

(三) 色谱分离系统 色谱柱: 不锈钢柱, 固定相

恒温器: (通常柱温: 室温~65℃)

- A、柱温升高 6℃, 组分保留值减少 30% 左右。
- B、温度升高, 传质阻力减少 (C 项降低), 柱效增加。
- C、降低流动相粘度, 压力下降。

(四) 检测系统 光学检测器: 紫外—可见光、荧光、红外、二极管阵列检测器、质谱等。

电学检测器: 库仑、电导检测器等。

(五) 数据处理和记录系统 与 GC 完全相同。

2.2 液相色谱固定相

2.2.1 液液色谱固定相

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

化学键合固定相特点:

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

2.2.2 液固色谱固定相

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

柱效以堆积型最好, 多孔层次之。全多孔最好。

固定相粒度对柱效影响很大, 粒度小, 板高低, 柱效高。

2.2.3 离子交换固定相

主要有两种类型: 硅质键合离子交换基团或涂覆一层离子交换树脂

2. 苯乙烯与二乙烯基苯共聚物为基质键合离子交换基团

2.2.4 凝胶色谱固定相

主要有三种类型:

- 1. 软性凝胶 Sephadex G 系列, 不适用于 HPLC。
- 2. 半软性凝胶 压力不能超过 150kg/cm², 主要为聚苯乙烯凝胶。
- 3. 刚性凝胶 多孔硅胶, 多孔玻璃, 主要用于 HPLC。

2.3 HPLC 流动相

2.3.1 对流动相的要求

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

2.3.2 溶剂的极性

溶剂的极性大小, 可用溶剂强度表示, 溶剂强度大致如下:

正庚烷 < 正己烷 < 环己烷 < CCl₄ < 苯 < 乙醚 < CHCl₃ < CH₂Cl₂ < 四氢呋喃 < 二氧六烷 < 丙酮 < 醋酸乙酯 < 乙腈 < 甲醇 < 水

2.3.3 液液色谱流动相的选择原则

1、正相色谱

- A、选择单一非极性溶剂, 使所有的组分的 $1 \leq k' \leq 10$ 。
- B、加极性改性剂 (甲醇、四氢呋喃、CHCl₃ 等)。

2、反相色谱

- A、以水作为基体。

B、加溶剂甲醇、乙腈等改性。

2、离子对色谱

主要选择反离子和浓度，然后按正相或反相色谱流动相选择原则选择即可。

2.3.4 液固色谱流动相选择原则

- 1、选择正确的溶剂强度 使所有的组分的分配比在 $1 \leq k' \leq 10$ 之间。
- 2、选择适当的溶剂组成。
- 3、严格控制流动相的含水量。

2.3.5 离子交换色谱流动相选择原则

- 1、选择 pH 值。
- 2、选择离子强度。
- 3、选择缓冲溶液。

2.3.6 凝胶色谱流动相选择原则

- 1、控制分离温度下的粘度。
- 2、流动相必须有较强的溶解样品的能力。

现代仪器分析复习题

- 一、实际光谱与理论光谱的主要差别，以及造成这些差别的主要原因是什么？
- 二、原子光谱、分子光谱、吸收光谱和发射光谱的量子解释。
- 三、荧光与磷光产生的量子解释。
- 四、用框框图画出分子吸收、发射光谱仪与原子吸收、发射光谱仪的基本模式，并加以简要说明。
- 五、在原子吸收光谱分析中，为什么要用峰值吸收代替积分吸收？
- 六、空心阴极灯的构造和工作原理？
- 七、朗伯-比尔定律的表达式及造成偏差的主要原因？
- 八、试述色散型红外与富立叶变换红外在原理上的区别？
- 九、简单化合物红外图谱的结构推测？
- 十、试用塔板理论来说明柱长和柱效的关系，用速率理论来说明流速对柱效的影响？
- 十一、画出 GC 和 LC 的流程示意图。并解释各部件的作用。
- 十二、试述火焰离子化检测器、热导池检测器和电子捕获检测器的工作原理和适用范围？
- 十三、有一用苯来合成苯酚的工厂，在合成过程中，常常会有苯、苯酚、苯甲酸、苯甲醛的混合物。请你选择一种仪器分析的方法来测定这几种物质，并说明方法的过程和理由。
- 十四、简述气相色谱与液相色谱的异同点。高效液相色谱与经典液相色谱的异同点。
- 十五、如何选择气相色谱固定液？
- 十六、在液相色谱中，如何选择分离类型？