

复习提纲

一、色谱 (Chromatography)

色谱法是一种重要的分离分析方法，它是根据组分在两相中作用能力不同而达到分离目的的。

- (1) 按流动相分：气相色谱 (GC)、液相色谱 (LC)、超临界流体色谱 (SFC)；
- (2) 按机理分：吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱、排阻色谱等等；
- (3) 按固定相在支持体中的形状分：柱色谱、平板色谱 (纸色谱 薄层色谱)；
- (4) 按按分离效率分：经典液相色谱和高效液相色谱 (HPLC)。

1. 理解基本概念与术语：

固定相：色谱内固定不动的活性物质。

流动相：色谱过程中携带试样混合物流过此固定相的流体 (气体或液体)。气相色谱以气体作为流动相；液相色谱以液体作为流动相；超临界流体作为流动相。

吸附色谱法：利用组分在吸附剂上的吸附能力强弱不同而得以分离的方法。

分配色谱法：利用组分在固定液中溶解度不同而达到分离的方法。

离子交换色谱法：利用组分在离子交换剂上的亲和力不同而达到分离的方法。

尺寸排阻色谱法：利用大小不同的分子在多孔固定相中的选择渗透而达到分离的方法。

基线：色谱柱中没有组分通过检测器时仪器记录到的信号。

峰高：色谱峰顶点与基线之间的垂直距离。

基线宽度：色谱峰两侧拐点上切线在基线上截距间的距离。

死时间：不被固定相吸附或溶解的组分 (如空气、甲烷)，从进样开始到出峰极大值所需要的时间。

保留时间：从进样开始到某组分色谱峰顶的时间间隔。

调整保留时间：某组分的保留时间扣除死时间后的部分。

死体积：色谱柱内固定相颗粒间所剩余的空间、色谱仪中管路和连接头间的空间即检测器的空间总和。

相对保留值：某一组分的调整保留值与标准物的调整保留值之比。

分配系数/K：在一定温度和压力下，组分在固定相和流动相中平衡时浓度的比值。

容量因子/k：在一定温度和压力下，组分在固定相和流动相中平衡时质量的比值。

选择因子/ r_s ：难分离物质对的调整保留值之比。

色谱流出曲线 (chromatogram)：指样品注入色谱柱后，信号随时间变化的曲线。

2. 色谱两大理论—塔板理论和速率理论。塔板理论描述色谱流出曲线的方程，并通过这一方程各参数来研究影响分离的因素。**要会计算**。速率理论 (van Deemter 方程) 是描述提高柱效的途径，理解范第姆特方程中各参数的含义？

塔板理论：将色谱柱内混合物分离过程与精馏塔的精馏类比得出的半经验理论。

$$n_{eff} = 16 \left(\frac{t'_R}{W} \right)^2$$

$$n_{eff} = 16R^2 \frac{r_{1,2}^2}{(r_{1,2} - 1)^2}$$

$$R = \frac{\sqrt{n}}{4} \frac{k}{k+1} \frac{r_{1,2}-1}{r_{1,2}}$$

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{W_2 - W_1}$$

影响色谱柱效率的是理论塔板数 n ， n 越大，色谱峰越窄，分离效率越好。从理论上可以通过该方程预测具有不同分配系数 K 的两种物质在塔板数为 n 的色谱柱上分离的情况。其中色谱分离不限于液-固相，也可是气-液相。

速率理论：描述提高柱效的途径。

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

H：塔板高度，越小越好。

A：涡流扩散项：固定相填充不均匀引起的峰展宽，与颗粒直径正相关。较细粒度和颗粒均匀的填料，并尽量填充均匀，可减少涡流扩散，提高柱效。

B/u 是纵向分子扩散项：由浓度差引起，分子延纵向扩散形成的展宽。由于组分在液相中扩散系数很低，因此液相色谱中可忽略 B。

Cu 是传质阻力项：组分在流动相和固定相之间传质的阻力。在非平衡状态下使有些分子较快向前移动，而另一些滞后，引起峰展宽。

3. 掌握气相色谱仪的结构组成，气相色谱常用的检测器及其特点（什么物质用什么类型的检测器）？什么是担体？气相色谱分离物质时，用极性或者非极性固定液，物质流出的先后顺序？

载气系统：纯净、稳定；氢气，氮气，氦气。

进样系统：进样装置和汽化室；进样通常用微量注射器和进样阀将样品引入。液体样品引入后需要瞬间汽化，汽化在汽化室进行。对汽化室有如下要求：体积小、热容大、对样品无催化作用。对高分子样品，则采用裂解装置（管式炉、热丝、居里点裂解器等）。

分离系统：色谱柱和固定相。色谱柱包括填充柱和毛细管柱。毛细管柱较细长。固定相有固体固定相和液体固定相。固体固定相是固体吸附剂。液体固定相由担体和固定液组成。

担体是一种多孔的、化学惰性的固体颗粒，可以提供较大面积的惰性表面以承担固定液

控温系统：控制恒温或程序升温。K 是热力学常数，温度越高，K 值越小，保留时间越短。因此可通过柱温调节分离程度。

检测器：将分离后各组分的量转变为电信号并记录。要求灵敏度高、线性范围宽、响应速度快、结构简单、通用性强。

热导检测器（TCD）：

原理：基于各物质热导系数的不同

特点：结构简单；灵敏度不高

检测物质：对所有物质都有响应（无机物和有机物）

氢火焰离子化检测器（FID）

原理：有机物在火焰中电离形成离子流，根据离子流的出现和大小进行分析。

特点：灵敏度高（10⁻¹²g/s），线性范围宽

不能检测惰性气体、空气、H₂O, CO, CO₂, NO, SO₂, H₂S 等。

检测物质：适于有机物的检测

电子俘获检测器（ECD）

原理：载气在 β-射线源下电离形成稳定的基流，卤素、S、P、O 等电负性原子捕获电子形成负离子并与载气正离子结合，使基流信号下降，据此检测组分。

特点：对卤素、S、P、O 有很强响应；灵敏度高，可用于痕量农药残留的分析；线性范围较窄

检测物质：含卤素、S、P、O 等电负性较强原子的物质

火焰光度检测器（FPD）

原理：S、P 在燃烧中被激发，从而发生特征的光信号（S-394nm, P-526nm）

检测物质：含硫、磷的化合物

极性原则（选择固定液）：

非极性组分分离：用非极性固定液，出峰顺序由蒸汽压决定，沸点高的保留时间长。

中等极性组分分离：用中等极性固定相，沸点与分子间力同时起作用。

强极性组分分离：用强极性固定相，分子间力起作用，按极性大小出峰，极性小的先出峰。

极性和非极性分离：用极性固定相，非极性先出峰。能形成氢键的试样：选择极性或非极性固定液，不易形成氢键的后进峰。

4. 了解高效液相色谱法的特点，熟悉高效液相色谱仪的主要部件及分析流程，理解液相色谱流动相的选择？

气相色谱只适合分析较易挥发、且化学性质稳定的有机化合物，而高效液相色谱法（High Performance Liquid Chromatography, HPLC）则适合于分析那些用气相色谱难以分析的物质，如挥发性差、极性大、具有生物活性、热稳定性差的物质。

特点：

色谱柱可反复使用，流动相可选择范围宽，流出组分容易收集；
分离效率高，灵敏度高；
操作自动化，应用范围广。

1. 输液系统

高压输液泵：以稳定的流速或压力将流动相输送到色谱系统。

在线脱气装置：也使用超声、真空等脱气方式。脱气的目的是去除气泡，保证流动相流速稳定，减小噪音。

梯度洗脱装置：通过两个输液泵流速的变化，改变流动相洗脱能力，作用与气相色谱的程序升温类似。

2. 进样系统：通常采用六通阀。

3. 色谱柱是核心部件。要求柱效高、柱容量大、性能稳定。柱性能与柱结构、填料特性、填充质量和使用条件有关。

4. 检测器连续监测流出物的组成和含量变化的装置。

紫外-可见检测器

荧光检测器：灵敏度高，选择性好，适用于药物、生化样品的分析。

蒸发光散射检测器：适用于无紫外吸收、无电活性、不发荧光的样品的检测。

电化学检测器

由泵将储液瓶中的溶剂吸入色谱系统，然后输出，经流量与压力测量之后，导入进样器。被测物由进样器注入，并随流动相通过色谱柱，在柱上进行分离后进入检测器，检测信号由数据处理设备采集与处理，并记录色谱图。废液流入废液瓶。遇到复杂的混合物分离（极性范围比较宽）还可用梯度控制器作梯度洗脱。这和气相色谱的程序升温类似，不同的是气相色谱改变温度，而 HPLC 改变的是流动相极性，使样品各组分在最佳条件下得以分离。

对样品有一定溶解度；

适用于选用的检测器，如用紫外检测时，不能选择对紫外光有吸收的溶剂；

化学惰性好，液液色谱中不能与固定相互溶，硅胶吸附剂不能用碱性溶剂，氧化铝吸附剂不能用酸性溶剂。

黏度低。黏度太大会降低样品的扩散系数，导致传质减慢，柱效降低，同时柱压也会升高。

高纯度。宜采用色谱纯试剂，否则会导致噪音增加，干扰定性、定量。

安全低毒，环境友好。

5. 了解吸附色谱法、分配色谱法、离子交换色谱法和体积排除色谱法的应用特点，选择分离类型的原则，了解色谱技术在生物分析中的应用。

吸附色谱法 (absorption chromatography)

原理：各组分在固定相表面的吸附作用不同；

固定相：活性硅胶、氧化铝、活性炭、聚乙烯、聚酰胺等固体吸附剂，所以吸附色谱也称液固吸附色谱。活性硅胶最常用；

流动相：弱极性有机溶剂或非极性溶剂与极性溶剂的混合物，如正构烷烃（己烷、戊烷、庚烷等）、二氯甲烷/甲醇、乙酸乙酯/乙腈等；

应用特点：用于结构异构体分离和族分离。如农药异构体分离、石油中烷、烯、芳烃的分离。缺点是易产生不对称峰和拖尾现象。

分配色谱法

原理：样品分子在流动相、固定相间溶解度不同（分配作用）。可分为液-液分配色谱和键合固定相分配色谱。

固定相：

非极性键合固定相：键合在载体表面的功能分子是烷基、苯基等非极性有机分子。如最常用的 ODS（十八烷基键合硅胶）柱或 C18 柱就是最典型的代表，其极性很小。

极性键合固定相：键合在载体表面的功能分子是具有二醇基、醚基、氰基、氨基等极性基团的有机分子

流动相：

正相 HPLC (normal phase, HPLC)：是由极性固定相和非极性（或弱极性）流动相所组成的 HPLC 体系。其代表性的固定相是改性硅胶、氰基柱等，代表性的流动相是正己烷。吸附色谱也属正相 HPLC。

反相 HPLC (reversed phase, HPLC)：由非极性固定相和极性流动相所组成的液相色谱体系，与正相 HPLC 体系正好相反。其代表性的固定相是 ODS 柱，代表性的流动相是甲醇和乙腈。

应用特点：考虑流动相极性、选择性（按接受质子能力、给出质子能力和偶极作用能力分）。

离子交换色谱法 (ion exchange chromatography, IEC)

原理：通过不同离子与交换基团的作用力大小不同（则保留时间不同）来进行分离。

固定相：离子交换剂，表面有离子交换基团。

带负电：分离阳离子。如磺酸基、羧基；

带正电：分离阴离子。如季铵盐。

应用特点：适于分离带电的物质，流动相常用含盐的缓冲液，有时也加入有机溶剂以增加某些组分的溶解度。

体积排斥色谱/凝胶色谱/分子筛色谱

原理：多孔物质做固定相，样品分子受孔径大小影响而分离。

应用特点：不需要通过改变流动相组成的方法来控制分离度，故流动相仅需考虑对样品的溶解性、低粘度和与柱填料匹配的要求。

选择分离类型的原则

根据各方法的特点来选择，如分离结构异构体和族分离时用吸附色谱，组分在两相中溶解性明显不同时用分配色谱，分离带电组分用离子交换色谱，分离大小差异很大的分子（如生物大分子等）时使用体积排斥色谱。

色谱在生物分析中的应用

用于分离提纯，如毛细管电泳分离和富集维甲酸异构体。

用于研究未知反应的生成物，如通过峰的多少来判断生成物数量等。

用于生物分子的鉴定、分析，可通过色谱分析氨基酸、DNA、兴奋剂等分子。

用于疾病诊断。如用气相色谱检测肿瘤早期病人呼吸气中特有的挥发性有机物（VOCs）或原有的 VOC 含量改变。

对单个细胞上的特定蛋白进行检测。如毛细管电泳法检测单个细胞上 Pgp 的含量。

6. 了解细管电动色谱、毛细管电泳概念。

淌度 μ ：单位场强下的平均电泳速度。

电渗流：固液间形成双电层，液体两端施加电压时就会形成电渗流。电渗流为平流，展宽很小。速度一般为离子迁移速度的 5 ~ 7 倍。

电场强度：电渗流速度与电场强度成正比。

毛细管材料表面电荷特性的影响。

pH 值的影响。溶液 pH 影响毛细管表面的电离。适应毛细管中，pH=7 时电渗流最大，pH<3，表面完全被氢离子中和，电渗流为 0。

缓冲液离子浓度：离子浓度越高，双电层厚度越小，电渗下降。此外也可影响溶液粘度和工作电流。

温度：温度变化来自焦耳热。温度越高，粘度越低，电渗流增大。

添加剂：高浓度中性盐使离子强度增大，溶液粘度增大，电渗流减小。不同电荷的表面活性剂可改变电渗流大小和方向。

二、质谱

1. 掌握质谱仪的基本构造和原理（重点掌握各种质量分析器和电离源的特点，适用什么物质的分析？），MALDI-TOF-MS 是什么？主要用于什么物质分析？

基本构造：进样系统 → 离子源 → 质量分析器 → 检测器 → 真空系统

原理：分子在气态、液态或固态被电离，离子在高压电场中加速，在磁场中偏转到达收集器，产生信号。强度与到达的离子数目成正比。

质谱仪的种类

有机质谱仪：气相/液相色谱-质谱联用仪、基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪、傅里叶变换质谱仪

无机质谱仪：电感耦合等离子体质谱仪、火花源双聚焦质谱仪、二次离子电离质谱仪

同位素质谱仪：小型低分辨率同位素质谱仪（轻元素——H,C,S）、大型同位素质谱仪（重元素——U,Pu,Pb）

气体分析质谱仪：呼气质谱仪、氦质谱检漏仪

电离源/离子源

气相源：先蒸发再激发，适于沸点低于 500°C、对热稳定的样品的离子化，包括电子轰击源、化学电离源、场电离源、火花源。

解吸源：固态或液态样品不需要挥发而直接被转化为气相，适用于分子量高达 105 的非挥发性或热不稳定性样品的离子化。包括场解吸源、快原子轰击源、激光解吸源、离子喷雾源和大气压化学（热喷雾）电离源等。

硬源：离子化能量高，伴有化学键的断裂，谱图复杂，可得到分子官能团的信息，如电子轰击，快原子轰击。

软源：离子化能量低，产生的碎片少，谱图简单，可得到分子量信息，如化学电离源，场电离源，场解吸电离源，激光解吸电离源，电喷雾电离源，大气压化学（热喷雾）电离源。

电子源的类型

电子电离源 (EI)

在热丝阴极与阳极之间加上电压，热阴极发射出高能电子束，在高速向阳极运动时，撞击来自进样系统的样品分子，使样品分子发生电离。

特点：工作稳定可靠，结构信息丰富，有标准质谱图。但只适用易汽化的有机物样品分析，并且有些化合物得不到分子离子峰。

适用范围：主要适用于易挥发性有机样品的电离

形成离子的途径：分子被打掉一个电子形成分子离子、分子离子化学键断裂形成碎片离子、分子离子结构重排形成重排离子、分子离子反应生成加合离子

化学电离源 (CI)

高能量的电子轰击反应气体使之电离，电离后的反应分子再与试样分子碰撞发生分子离子反应形成准分子离子和少数碎片离子。

特点：

准分子离子峰即 $(M + 1)^+$ 峰很强，可提供相对分子质量

软电离源，碎片峰较少，谱图简单，因为电离样品分子的不是高能电子流，而是能量较低的二次离子，键断裂的可能性较小

用 CI 时需要将试样气化后进入离子源，因此不适用于难挥发，热不稳定或极性较大的有机物分析。对于不稳定的有机化合物，可得到较强的分子离子峰不是标准质谱，所以不能进行库检索

适用范围：适用于易汽化的有机样品分析品的离子化

例 以 CH_4 稀释时，出现 $(M + 1)^+$, $(M - 1)^+$, $(M + 17)^+$, $(M + 29)^+$ 等质谱峰

笔记 EI 和 CI 主要用于气相色谱-质谱联用

快原子轰击 (FAB)

惰性气体 Ar 或 Xe 的原子依靠放电首先被电离并被加速，使之具有高的动能，在原子枪 (atom gun) 内进行电荷交换反应： $\text{Ar} + \text{高能} + \text{Ar 热运动} \rightarrow \text{Ar 高能} + \text{Ar 热运动}$

高能 Ar 或 Xe 原子束再轰击样品分子使其离子化

特点：

属于二次离子质谱，使用中性原子束作为初级高能粒子轰击表面，再对由此产生的二次离子进行质谱分析。

以液体基质负载样品，实验时通常预先将试样和底物调并涂在金属靶上。

理想的基质必须蒸汽压低，对试样的质谱干扰小，同时是被分析样品的良好溶剂（常用的有甘油、硫代甘油、三乙醇胺等）

质谱的分子量信息不是分子离子峰 M，而往往是 $(M + H)^+$ 或 $(M + \text{Na})^+$ 等准分子离子峰；谱图碎片少会出现基质分子产生的相应的峰及基质分子与样品分子的结合峰

适用范围：适用于难气化、极性强的分子，如肽类、低聚糖、天然抗生素、有机金属配合物

场致电离源 (FI)

样品溶液涂于发射器表面 → 通电加热蒸发除溶剂 → 解吸样品分子 → 强电场 → 分子电离 → 奔向阴极 → 引入质量分析器

特点：

场致电离源的能量约为 12eV，因此分子离子峰强度很大，也很清楚，碎片峰较少也较弱，利于相对分子质量的测定，缺乏分子结构信息

电极为尖锐的叶片或金属丝，其上长满微针，故称金属胡须发射器。

使用微碳针构成多尖阵列电极可提高电离效率

场解析电离源 (FD)

应用强电场诱导样品电离。强电场 → 分子电子的量子隧道效应 → 分子热分解或碰撞 → 带正电荷的碎片离子 → 阳极排斥出并加速进入质量分析器

特点：

谱图最为简单（解吸所需的能量远低于气化所需的能量，所以有机化合物不会发生热分解）

离子源的工作温度略高于室温，分子离子几乎不具有过剩的能量，因此基本上不断裂，分子离子峰的强度比 FI 强

适用范围：非挥发性且分子量高的样品

电喷雾电离 (ESI)

被分析的样品溶液从毛细管流出时在电场作用下形成高度荷电的雾状小液滴；喷嘴前方的辅助气喷嘴使小液滴进一步雾化，加速溶剂蒸发，阻止中性的溶剂分子进入质量分析器。液滴因溶剂的挥发逐渐缩小，其表面上的电荷密度不断增大。当电荷之间的排斥力足以克服表面张力时，液滴发生裂分；经过反复的溶剂挥发－液滴裂分过程，最后产生单个多电荷离子。

特点：

主要应用于 LC-MS（液相色谱-质谱联用），既是接口装置，又是电离源即使分子量大，稳定性差的化合物，也不会电离过程发生分解产生的离子带有多电荷两层套管组成的电喷雾喷嘴，内层是 LC 流出物，外层是雾化气，喷嘴上加 3-5kV 正电压，与相距约 1cm 接地的反电极形成强静电场适用范围：适用于强极性，大分子量的样品分析如肽，蛋白质，糖等

大气压化学电离源 (APCI)

大致类似 ESI

共同点：使用高电压元件和雾化气喷雾法产生离子通常产生 $(M + H)^+$ 或 $(M - H)^-$ 等准分子离子产生极少的碎片，可以控制产生结构碎片非常灵敏的电离技术

不同点：

生成离子的方式不同

ESI：液相离子化

APCI：气相离子化

样品兼容性不同

ESI：极性化合物和生物大分子

APCI：非极性，小分子。化合物（相对 ESI 而言）且有一定挥发性

流速兼容性

ESI：0.001 到 1 mL/min

APCI：0.2 到 2mL/min

ESI 的适用范围要远远大于 APCI

APCI 适用中等极性（小于 1000 Da）的化合物，产生单电荷离子与 ESI 大致相同，不同之处在于 APCI 喷嘴的下游放置一个针状放电电极，通过它的高压放电，使空气中某些中性分子电离，产生 H_3O^+ ， N_2^+ 和 O_2^- 等离子，溶剂分子也会被电离，这些离子与分析物分子进行离子-分子反应，使分析物分子离子化

基质辅助激光解析电离 (MALDI)

待测物质与基质的溶液混合后蒸发，使分析物与基质成为晶体或半晶体，利用一定波长的脉冲式激光照射样品激光照射到样品靶上，基质分子吸收并传递激光能量，与样品分子一起蒸发到气相，并使样品分子电离

特点：得到分子离子峰，无明显碎片峰。此电离方式特别适合于飞行时间质谱计。

笔记 常用的基质有：2,5-二羟基苯甲酸、芥子酸、烟酸、 α -氰基-4-羟基肉桂酸

适用范围：MALDI 适用于生物大分子，如肽类、蛋白质和核酸类化合物。

电感耦合等离子体 (ICP)

高频电流通过感应线圈产生变化的高频磁场，此时向矩管的外管内切线方向通入 Ar，中层管内轴向通入辅助气体 Ar，并用高频点火装置引燃，产生载流子（离子或电子）。电子密度增加，达到足够的导电率时，就会产生异向垂直于管轴方向的环形涡电电离，迅速将载气加热到几千乃至上万度，并在石英管口形成等离子炬。样品气溶胶瞬间在等离子体中被解离，形成被电离的分析原子。

质量分析器

将离子源中形成的不同离子按质荷比 (m/z) 的大小分开，将质荷比相同的离子聚集在一起。主要为磁分析器：

原理：主要部分是一对电磁铁（常用扇形），当离子源中产生的离子束经加速电场加速后，以一定的速度进入垂直于离子运动方向的均匀磁场时，离子在磁场施加的向心力的作用下，改变运动方向（磁场不改变离子的运动速度）作圆周运动，运动轨道半径与运动速度、磁场强度、离子的质荷比有关公式：

$$\frac{m}{z} = \frac{H^2 R^2}{2U}$$

单聚焦质量分析器

磁场是扇性磁场，扇性开角是 180° 或 90° 。只能实现方向聚焦。无法实现能量聚焦，故其分辨率较低，一般为 500，只能用于同位素和气体质谱。

双聚焦质量分析器

在扇形磁场前加一同轴扇形电极组成的静电场（场强 E ），离子做半径为 $R_e = \frac{2U}{E_e}$ 的圆周运动，对于动能不同的离子，通过调节电场能，达到聚焦的目的。

特点：同时具有方向聚焦和能量聚焦，分辨率高（十几万甚至上百万）但是体积较大

四级杆分析器

四根截面为双曲面或圆形的平行杆组成，对角的电极为一组，在两个相对的极杆之间加电压 $U + V \cos \omega t$ (U 为直流电压， $V \cos \omega t$ 是射频电压)，在另两个相对极杆间加 $-(U + V \cos \omega t)$ 高速运动的离子束穿过准直小孔进入四极杆之间的空间时，在高频电场的作用下发生振荡，在一定的电压和频率下，只有一种质荷比的离子会形成稳定的振荡通过四极杆到达检测器，其余离子则因振幅不断增大，撞在电极上而被真空泵抽出。使交流电压的频率不变，连续的改变直流和交流电压的大小（保持他们的比例不变）（电压扫描）或保持电压不变连续的改变交流电压的频率（频率扫描），就可使不同质荷比的离子依次到达检测器。

特点：分辨率比磁分析器略低 ($\max. 2000$); m/z 范围与磁分析器相当；传输效率较高；扫描速度快，可用于 GC-MS 联用仪。

飞行时间质量分析器

离子漂移管加速后的离子具有相同的动能。 m/z 小的离子，漂移运动的速度快，最先通过漂移管，到达检测器； m/z 大的离子，漂移运动的速度慢，最后通过漂移管，到达检测器。检测通过漂移管的时间

(t) 及其相应的信号强度。适合于生物大分子，灵敏度高，扫描速度快，结构简单，分辨率随 m/z 的增大而降低。

线性飞行时间质谱分辨率较低的改进方法：

引进反射器：两个质量相同，初始动能不同的离子，动能大的在反射器内飞行时间较长，动能小的在反射器内飞行时间较短。因此在反射器的作用下，飞行时间得以补偿，最终使得这两个离子几乎同时到达检测器。

延迟引出：样品分子电离后延迟再加速，可以补偿离子初始动能分布对分辨率的影响。

特点：

仪器结构简单，操作容易，不需要磁场、电场等无聚焦狭缝，灵敏度很高可用于大分子的分析（几十万原子量单位）

扫描速度快 (1000 幅/s)，可用于研究快速反应或与 GC 联用

分辨率比磁分析器稍差，受飞行距离的限制

离子阱质量分析器

上下端罩电极与左右环电极构成可变电场形成阱，当直流电压和射频电压一定时，只有特定 m/z 的离子能在阱中指定的轨道上稳定旋转，并可长时间留在阱内，其它离子将偏出轨道并与环电极发生碰撞而消失。

特点：结构简单、易于操作、GC-MS 联用可用于 $m/z = 200 \sim 2000$ 的分子分析。

MALDI-TOF-MS:

基质辅助激光解析电离飞行时间质谱，是一种软电离技术（详细内容见上表）。适用于混合物及生物大分子的测定，如肽类、蛋白质和核酸类化合物。

基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪 (MALDI-TPF)

样品放置在可以移动的靶板上，依靠激光将样品电离，并由飞行时间质谱仪得到质谱。主要特点是质量范围宽，分辨率高，利用源后裂解技术 (PSD) 可以得到结构信息。主要用于生物大分子的分析。

2. 熟悉质谱中的常见的离子类型：什么是分子离子峰、同位素离子峰、亚稳离子峰、碎片离子峰等。

分子离子峰：在电子轰击下，分子失去一个电子所形成的离子叫分子离子，所出的峰便是分子离子峰。

标记方式：奇电子离子 (OE) 标为“+·”，偶电子离子 (EE) 标为“+”。若分子含杂原子，则电荷标在杂原子上；若不含杂原子而含双键，则标在双键的一个碳上；若既无杂原子又无双键，则标在分支碳原子上；若位置不确定则在右上角标“+”。

作用：

获得相对分子量

根据分子离子和相邻荷质比较小碎片离子的关系，可判断化合物类型及可能含有的官能团

由分子离子及同位素峰的相对强度，可推导分子式

同位素离子峰：由于同位素的存在，可以看到比分子离子峰大一个质量单位的峰；有时还可以观察到 $M + 2$, $M + 3$

碎片离子峰：一般有机化合物的电离能为 $7 \sim 13 \text{ eV}$ ，质谱中常用的电离电压为 70 eV ，使结构裂解，产生各种“碎片”离子

亚稳离子峰：离子在离开离子源被加速过程中或在加速之后进入质量分析器之前在无场区内发生裂解而形成的离子所产生的峰，称为亚稳离子峰。可用于寻找裂解途径。

特点：峰弱，峰钝，质荷比一般不是整数

麦氏重排：

要求：含有 $\text{C}-\text{O}$, $\text{C}-\text{N}$, $\text{C}-\text{S}$ 及 $\text{C}-\text{C}$ 。与双键相连的链上有 γ 碳，并在 γ 碳上有 H 原子 (γ 氢)。六元环过渡， γ -H 转移到杂原子上，同时 β 键发生断裂，生成一个中性分子和一个自由基阳离子。

3. 了解质谱定性定量分析。

4. 熟悉简单的质谱谱图解析方法。

三、紫外-可见吸收光谱

1. 理解紫外-可见吸收光谱产生的机理。

分子光谱：处于气态或溶液中的分子，当发生能级跃迁时，发射或吸收一定频率范围内电磁辐射所组成的带状光谱。

紫外-可见吸收光谱法：利用紫外-可见分光光度计测量物质对紫外-可见光的吸收程度（即吸光度）或紫外-可见吸收光谱来确定物质的组成、含量等，推理物质结构的分析方法。紫外-可见分光光度法又分为比色法和分光光度法，均属于微量分析。

研究对象：在 $200 \sim 380 \text{ nm}$ 的近紫外光区和 $380 \sim 780 \text{ nm}$ 的可见光区有吸收的物质。

不能测量 $< 200 \text{ nm}$ 的原因：氧气、氮气、水蒸气存在吸收区，造成严重干扰

对于有机化合物来说，其分子中存在的电子跃迁有四种： $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$, $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ 。其中 $n \rightarrow \sigma^*$ 能量大，波长短，吸收峰处于远紫外区。

在紫外-可见吸收光谱中，可能观测到的跃迁有：

非共轭体系：所有可能的跃迁中，只有 $n \rightarrow n^*$ 的跃迁的能量足够小，相应的吸收光波长在 $200 \sim 800 \text{ nm}$ 范围内，其他的跃迁能量都太大，它们的吸收光波长均在 200 nm 以下，无法观察到紫外光谱

共轭体系：除 $n \rightarrow n^*$ 外，还可能有 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁，它们的吸收光可能落在紫外-可见区。

对于无机化合物来说，存在两种跃迁：

电荷转移跃迁：配合物分子吸收辐射后，分子中的电子从主要定域在金属离子 M 的轨道上转移到配位体 L 的轨道上或按相反方向转移，这种跃迁叫电荷转移，产生的吸收光谱叫电荷转移光谱。

配位场跃迁：过渡元素、镧系和锕系元素在真空下，原子、离子的 d 轨道和 f 轨道是简并的，在配位体场影响下，简并能级发生分裂成不同能量组轨道，包括 d-d 跃迁，f-f 跃迁。

2.什么是生色团、助色团、红移和紫移、增色和减色效应？

生色团：在某一段光波内发生吸光的基团，

例 碳碳共轭结构、含有杂原子的共轭结构、C=O、C=C、C≡C 等。

助色团：具有非键电子的基团连在双键或共轭体系上，形成非键电子与 π 电子的共轭，即 $p - \pi$ 共轭，使电子活动范围增大，吸收向长波方向位移，使颜色加深的基团。这些基团本身在 200nm 以上不产生吸收，但这些基团的存在可以增强生色团的生色能力。

例 -OH，-OR，-NH₂，-NR₂，-SR，卤素等

红移：由于取代基或溶剂的影响，最大吸收峰向长波方向移动的现象称为红移现象 (redshift)。

紫移：又叫蓝移 (blue shift)，是指物质受取代基或溶剂的影响，最大吸收峰向短波方向移动的现象。

增色和减色效应：指由于化合物结构改变或其他原因，使吸收强度增加（或减弱）的效应，称为增色（减色）效应。

3.了解影响紫外-可见光谱的因素。

在吸收光谱中， ϵ （摩尔吸光系数）值与电子跃迁前后所占据轨道的能差及它们的相互位置有关，轨道间能差越小，分子越处于共平面时，电子的跃迁概率较大， ϵ 值增大，吸收强度增加；反之 ϵ 值减小，吸收强度减弱。

取代基的影响：共轭双键两端有容易使电子流动性增强的基团（给电子基或吸电子基）时，极化现象增强，均使得 λ_{\max} 红移， ϵ （摩尔吸光系数）增大。当给电子基与吸电子基同时存在时，产生分子内电荷转移吸收，同样使 λ_{\max} 红移， ϵ 增大。

共轭效应的影响： $\pi - \pi$ 共轭，吸收光红移，最大吸收波长由远紫外向近紫外移动；共轭双键数越多，红移越强。

电子共轭体系增大， λ_{\max} 红移， ϵ （摩尔吸光系数）增大；

空间阻碍使共轭体系破坏， λ_{\max} 蓝移， ϵ （摩尔吸光系数）减小；取代基越大，分子共平面性越差，最大吸收波长蓝移，摩尔吸光系数降低。

超共轭效应：烷基与 π 体系相连， $\pi - \sigma$ 超共轭，紫外吸收红移；连接的烷基基团越大，红移越强。

溶剂的影响：由于受到溶剂和溶质分子间形成氢键、偶极极化等影响，会使溶质吸收波长发生位移：

溶剂极性增大时， $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收带红移， $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收带蓝移；

质子性溶剂容易与吸光分子形成氢键，生色团为质子供体时吸收峰红移，生色团为质子受体时吸收峰蓝移。

4.熟悉紫外-可见分光光度计的基本结构及各部分的功能，了解双光束分光光度计的结构与工作原理。

结构：由光源、单色器、样品室和检测器构成。光从光源发出后，经单色器分光，穿过狭缝进入样品室，最终由检测器接收光信号并转换为电信号。

光源：提供入射光，要求发射连续的具有足够强度并且稳定的紫外和可见光，辐射强度随波长变化尽可能小，如：**钨丝灯（可见光区）、氢灯和氘灯（紫外区）**；

单色器：将复合光色散成单色光的光学装置。一般由狭缝、色散元件及透镜系统组成。最常用的色散元件是光栅和棱镜；

样品室：用于盛放试液的装置，可见光区使用玻璃吸收池，紫外光区使用石英吸收池；

检测器：将光信号转变成电信号的装置，如光电管、光电倍增管、光电二极管阵列检测器等。

单光束分光光度计：

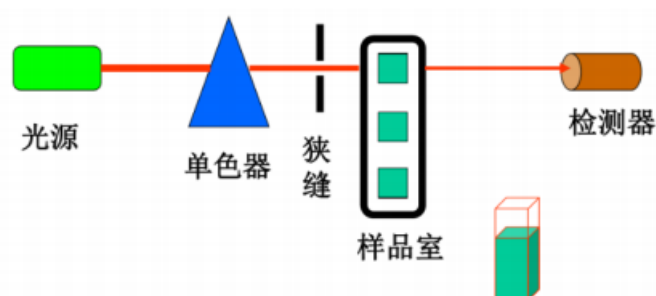


图 3.4: 单光束分光光度计

笔记 单光束光度计缺点：

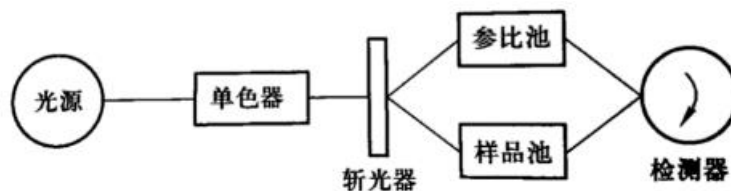
操作麻烦，需扣除背景；

不能进行吸收光谱的自动扫描；

光源不稳定性影响测量精密度。

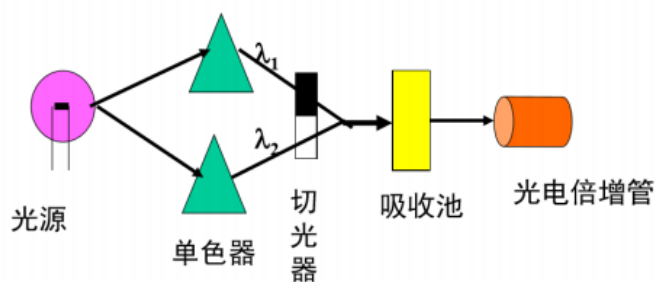
双光束分光光度计：

单波长双光束分光光度计



从光源发出的光经分光后分成两束，交替通过参比池和样品池，测得的是透过样品溶液和参比溶液的光信号强度之比，克服了光源不稳定引起的误差，实现了对全波段、快速自动吸收光谱扫描。

双波长双光束分光光度计



可消除光谱重叠干扰和背景干扰，主要特点是可以降低杂散光，光谱精度高。

6．掌握紫外-可见吸收光谱分析的定量基础？吸收定律 $A = \epsilon b c$ ，要会计算？

当一束平行单色光垂直通过某一均匀非散射的吸光物质时，其吸光度 A 与吸光物质的浓度 c 及吸收层厚度 b 成正比，而与透光度 T 呈反相关

入射光波长的选择：

以最大吸收波长为入射光波长。此处波长的吸光系数最大，测定的灵敏度更高，且此处波长处吸光度有一小的平坦区，能减少和消除由于单色光的不纯而引起的对朗伯-比尔定律的偏移，从而提高测定的准确度。

吸光度读数范围的选择：透射率 T 为 20% ~ 65% 时，测量误差 $< 2\%$ 。可通过控制溶液的浓度来控制透射率。

参比溶液的选择：

纯溶剂空白：当试液、试剂、显色剂均为无色时，可直接用纯溶剂（或蒸馏水）作为参比溶液；

试剂空白：试液无色，而试剂或者显色剂有色时，可在同一显色反应条件下，加入相同量的显色剂和试剂，稀释同一体积，以此作为参比溶液；

试液空白：试剂和显色剂均为无色，试液中其他离子有色时，可采用不加显色剂的试液作为参比溶液。

四、分子发光分析

1. 理解荧光、磷光和化学发光产生的原理？

荧光的原理

受光激发的分子从第一激发单重态的最低振动能级回到基态所发出的辐射。寿命为 $10^{-9} \sim 10^{-11}s$ 。由于是相同多重态之间的跃迁，几率较大，速度快，速率常数 k_f 为 $10^6 \sim 10^9 s^{-1}$ 。

荧光光谱形状的决定因素：

固定激发光波长的荧光发射光谱（荧光光谱），测定某波长处的荧光发射强度与发射波长有关；

斯托克斯位移（激发光谱和发射光谱之间波长差值）：振动、热辐射会使分子失去能量，即激发与发射荧光间的能量损失；

荧光发射光谱与激发波长无关；

吸收光谱和发射光谱镜像对称

磷光的原理

是由第一激发单重态的最低能层，经系间跨越跃迁到第一激发三重态，并经振动弛豫至最低振动能层，然后跃迁回到基态发生的。由于磷光的产生伴随自旋多重态的改变，辐射速度远小于荧光，磷光寿命为 $10^{-4} \sim 10s$ 。

激发三重态 T 与激发单重态 S 之间的区别：

S 是抗磁性， T 是顺磁性

S_1 比 T_1 寿命短

基态单重态到激发单重态的激发为允许跃迁，基态单重态到激发三重态的激发为禁阻跃迁

激发三重态的能量较激发单重态的能量低

化学发光的原理

某些物质在进行化学反应时，由于吸收了反应时产生的化学能，而使反应产物分子激发至激发态，受激分子由激发态回到基态时，便发出一定波长的光。这种吸收化学能使分子发光的过程称为化学发光。化学发光也发生于生命体系，这种发光称为生物发光。

2. 什么是荧光量子产率？和物质结构的关系？荧光的定量分析的基础（公式）？什么是荧光猝灭？

4.2.1 荧光量子产率

荧光量子产率 Φ

表示物质发射荧光的能力，如果一个分子将吸收的光子全部释放，则其量子产率为100%。

$$\Phi = \frac{\text{发射荧光的分子数}}{\text{激发态的分子数}} = \frac{\text{发射的光子数}}{\text{吸收的光子数}}$$

ϕ 与失活过程的速率常数 k 有关：

$$\Phi = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_{ec} + k_{ic}} \quad (4.1)$$

笔记

- k_f : 荧光辐射速率
- k_i : 系间跨越速率，重原子存在下 k_i 较大
- k_{ec} : 外转换速率
- k_{ic} : 内转换速率

分子碰撞几率越大， k_{ec} 与 k_{ic} 越大。

凡是使荧光速率常数 k_f 增大而使其他失活过程（系间窜越、外转换、内转换）的速率常数减小的因素都可使荧光增强。

跃迁类型

$\pi^* \rightarrow \pi$ 的荧光效率高，系间跨越过程的速率常数小，有利于荧光的产生，故发射 $\pi^* \rightarrow \pi$ 跃迁比 $\pi^* \rightarrow n$ 跃迁更常见；

共轭效应 提高共轭度有利于增加荧光效率并产生红移

刚性平面结构 可降低分子振动，减少与溶剂的相互作用，故具有很强的荧光；

取代基效应 吸电子→荧光减弱

给电子取代基→荧光增强（p- π 共轭）

重原子效应

取代基位置：**对位、邻位取代增强荧光，间位取代抑制荧光**；双取代或多取代基的影响较难预测；取代基之间能形成氢键增加分子的平面性，荧光增强；两种性质和作用不同的取代基共存时，其中一个起主导作用。

荧光强度表达式： $I_f = K' \phi_f I_0 (1 - e^{-A})$

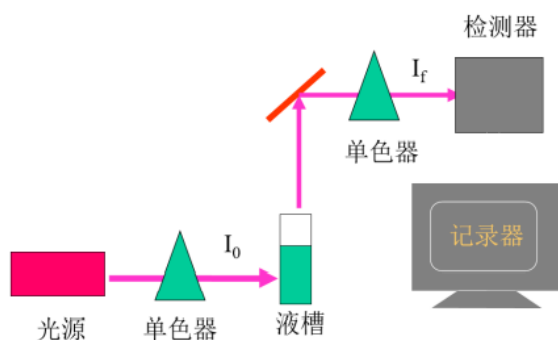
随着荧光物质浓度增加，吸光度 A 增加，相对荧光强度增加。

当溶液很稀，吸光度 $A < 0.05$ 时， $e^{-A} \approx 1 - A$ ，则 $I_f = Kc$ ，在一定条件下，用 I_0 一定的入射光激发荧光溶液时，其发射的荧光强度与荧光物质的浓度成正比。

当溶液的 $A \geq 0.05$ 时将产生浓度效应，使荧光强度与浓度的关系偏离线性。

荧光猝灭： 荧光分子与溶剂或其他物质分子作用使荧光强度减弱的现象叫荧光猝灭，能使荧光强度降低的物质称为荧光猝灭剂。

3. 熟悉荧光分光光度计的基本组成及各部分功能？如两个单色器的作用？



光源:

高压汞灯, 平均寿命 1500-3000 h, 发射 365, 405, 436 nm 作为激发光;

氙灯, 寿命 2000 h, 发射 250-800 nm 的连续光谱;

激光, 发光强度大, 能极大地提高荧光分析的灵敏度。

单色器: 常用光栅

第一单色器选激发光波长, 第二单色器选荧光波长

灵敏度较高, 波长范围较宽, 能扫描光谱

主要缺点: 杂散光较大, 有不同级次的谱线干扰

试样室: 固体样品使用固体试样架, 液体样品使用四面透光的石英池

光电倍增管 (PMT): 较高级仪器采用光电二极管阵列检测器 (PDA), 它具有检测效率高、线性响应好、坚固耐用和寿命长等优点, 最主要的优点是扫描速度快, 可同时记录下完整的荧光光谱 (即三维光谱)

读出装置: 记录仪、阴极示波器、显示器等。记录仪用于扫描光谱, 阴极示波器的显示速度比记录仪更快。

4. 和紫外-可见吸收光谱相比较, 荧光为什么灵敏度较高?

因为荧光分析的荧光和入射光之间成直角, 而不在一条直线上, 所以是在黑背景下检测荧光; 而分光光度法的接收器与入射光在一条直线上, 所以它是在亮背景下检测的, 当试样浓度很低时, 吸收微弱, 分光光度法的 I 与 I_0 非常接近, 在这种情况下, 让仪器检测一组对比度较低的信号是十分困难的, 因此荧光分析法比分光光度法灵敏度高。

五、红外吸收光谱法和激光拉曼光谱

1. 理解红外吸收光谱的产生条件? 红外光谱定性分析的原理?

分子能选择性吸收某些波长的红外线, 而引起分子中振动能级和转动能级的跃迁, 检测红外线被吸收的情况可得到物质的红外吸收光谱, 又称分子振动光谱或振转光谱。

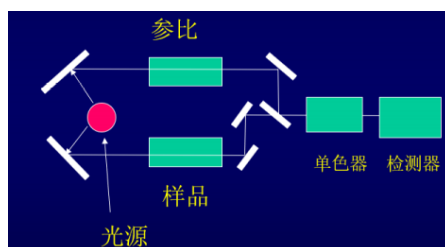
辐射照射 → 分子振动 → 偶极矩变化 → 产生红外活性

并且辐射也要恰当:

辐射恰好具有能使物质产生振动跃迁的能量

辐射与物质间具有耦合作用

2. 了解色散型红外光谱仪器基本结构, 了解傅立叶红外光谱仪 (光学系统的主体是迈克尔逊 (Michelson) 干涉仪)。



光源：Nerst 灯、碳化硅棒等

单色器可采用棱镜和光栅，为了使波长范围增宽，通常可采用几块光栅。由于红外辐射的强度低，狭缝不能太窄，因此单色性差

检测器

热检测器——热电偶等

光检测器——InSb、InAs、PbSe 等半导体材料，受光照射后导电性变化而产生信号

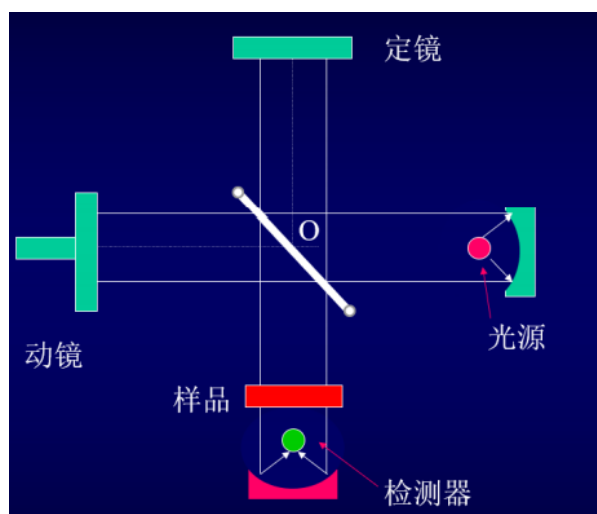
笔记 光检测器的灵敏度比热检测器高几倍，但需要液氮冷却。

吸收池

固体：KBr 研磨压片；氧化煤油或重烃调糊

液体/气体：盐类单晶吸收池（KBr/LiF）

笔记 采用光声光谱：强吸收、高分散、不透明的样品，如煤等；常规难制样样品，如橡胶、高聚物等。



傅里叶红外光谱仪的优点：

不需要分光，信噪比和灵敏度优良，有利于弱光谱的检测

扫描速度快

性能好，价格较低

3. 熟悉红外光谱的官能团吸收特征和一般图谱解析方法(先计算不饱和度)

基频：由基态跃迁到第一激发态，产生一个强的吸收峰，称为基频峰

倍频：由基态跃迁至第二、第三激发态所产生的谱带

组合频：两个或两个以上基频之和或之差、或基频与倍频的结合产生的谱带

振动耦合：两个基团相邻且振动频率相差不大时，振动耦合引起吸收频率偏离基频，移向高频或低频方向

费米共振：倍频和组合频与某基频相近，相互作用而产生强吸收或发生峰分裂

4. 理解拉曼散射的理论基础，什么是拉曼位移？

Rayleigh 散射——弹性碰撞（方向改变而未发生能量交换）

Raman 散射——非弹性碰撞（方向改变并发生能量交换）

斯托克斯线：材料吸收能量，导致散射光子能量低于入射光子；

反斯托克斯线：材料失去能量，导致散射光子能量高于入射光子。

拉曼散射实质：在交变电场作用下，当分子的振动引起分子极化度 μ 改变时，则产生拉曼散射

5. 红外和拉曼光谱的异同点？

拉曼光谱与红外光谱比较：

·拉曼光谱与红外光谱都来自于分子振动，但是具有对称中心的分子，其红外和拉曼活性是互相排斥的，红外吸收强则拉曼吸收弱。

例 极性基团振动时常伴随偶极矩变化，因而产生较强的红外吸收，非极性基团振动时极化度变化越大，拉曼散射越强，故非极性基团分析常用拉曼光谱

·凡是没有对称中心的分子，红外和拉曼都是活性的

·对于少数分子的振动，其红外和拉曼光谱都是非活性的。

例 如乙烯分子的扭曲振动，既没有偶极矩的变化，亦没有极化度的变化，在红外和拉曼光谱中均得不到谱峰。

6. 了解表面增强拉曼散射效应 Surface-enhance Raman Scattering (SERS) ？

表面增强拉曼效应：表面增强拉曼光谱或表面增强拉曼散射 (SERS)，是一种通过吸附在粗糙金属表面上的分子或等离子体磁性二氧化硅纳米管等纳米结构增强拉曼散射的表面敏感技术

SERS 原理：有两种机理基本不同的理论，实验中仍无法准确地区分它们。

电磁理论：局部表面等离子体的激发导致 SERS 的生成

化学理论：电荷转移配合物的形成导致 SERS 的生成

六、核磁共振波谱

1. 核磁共振产生的基本条件？

外加磁场 无外加磁场时，样品中的磁性核任意取向，能量相等；放入磁场中，核的磁角动量取向统一，与磁场方向平行（低能量）或反平行（高能量），产生能量差。

磁性核 具有磁矩的原子核称为磁性核。自旋量子数 $I \neq 0$ 的核为磁性核，可以产生 NMR 信号； $I = 0$ 的核为非磁性核，无 NMR 信号。

原子核组成（质子数 p 与中子数 n ）与 I 的经验规则：

p 与 n 同为偶数， $I = 0$ 。如 ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S 等。

p 与 n 一奇一偶， I 为半整数 ($1/2, 3/2, 5/2$ 等)。如 ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{31}P 等。

p 与 n 同为奇数， I 为整数。如 ^2H , ^6Li 等。

$I = 1/2$ 的原子核（标为红色的几种同位素），其电荷均匀分布于原子核表面，这样的原子核不具有四极矩，其核磁共振的谱线窄，最宜于核磁共振检测。

特定频率的电磁波 用能量等于 ΔE 的电磁波照射磁场中的磁性核，则低能级上的某些核会被激发到高能级上去，或核自旋由与磁场平行方向转为反平行。

2. 什么是屏蔽效应？什么是化学位移？常用的基准物质是什么？熟悉常见化合物的质子位移（例如苯环上的氢、醛基氢、羧酸氢等）。

屏蔽效应：核外电子对原子核有一定的屏蔽作用，使实际作用于核的静磁感应强度不是 B_0 而是 $B_0(1 - \sigma)$ 。

σ ：屏蔽系数/屏蔽常数。

化学位移：特定质子的吸收位置与标准质子的吸收位置之差，称为该质子的化学位移，用 $\delta(\text{ppm})$ 表示。

常用的基准物质

主要分两类：**秃核（无屏蔽作用）**或**电子云密度非常大的核**（屏蔽系数非常大， $\delta=0$ ）

常见基准物质：

$^1\text{H-NMR}$ ：TMS（四甲基硅烷）

^{13}C -NMR: TMS

^{14}N -NMR: 液氮

^{17}O -NMR: H_2O

^{19}F -NMR: CFCl_3

^{31}P -NMR: 85% H_3PO_4

TMS 的优势:

由于屏蔽系数几乎比其他物质的都大, 一般化合物 δ 值都为正;

等价质子多, 低含量的 TMS 可得到足够强的尖峰, 且是单峰;

性质稳定, 在大多数有机液体中的溶解性好, 沸点低, 蒸汽压高, 可挥发除去, 便于回收样品;

不溶于水, 但对于水溶液, 有 DDS 和 TSP-d_4 等钠盐替代品。

3. 什么自旋-自旋耦合和裂分? 掌握自旋-自旋耦合和裂分的规律, 什么是耦合常数?

自旋-自旋耦合: 核自旋通过成键电子与附近相邻磁性核自旋间的相互作用所引起的 NMR 谱线分裂现象。

裂分: 核磁共振谱谱峰的分裂。

在 H 谱中, n 为相邻原子上 H 的数量。当只有一个相邻原子时, 受耦合作用而产生的谱线裂分数为 $n + 1$ 。

每相邻两条谱线间距离相等, 谱线间强度比为 $(a + b)^n$ 展开式的各项系数。

有多个相邻碳原子时, 对于低分辨率核磁 (J 相差不大), 会有 $n_1 + n_2 + 1$ 个峰, 对于高分辨率核磁, 会有 $(n_1 + 1) \times (n_2 + 1)$ 个峰。

耦合常数 J : 谱线裂分所产生的裂距, 反映两个核之间的作用力强弱, 单位 Hz。与两核之间相隔的化学键数目关系很大。在 J 的左上方标以两核相距的化学键数目。

2J: 同碳上的氢, 无耦合。不同种磁性核时, 有耦合。

3J: 相邻碳上的氢。如 $\text{HA}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{HB}$, HA 与 HB 的耦合。

4J: 相隔 4 个化学键, 耦合作用很弱。若 $J \neq 0$, 则称长程耦合。

4. 熟悉一级谱图的解析。

化学位移的影响因素

取代基电负性—诱导效应

取代基电负性越强, 吸电子作用越强, 价电子偏离质子, 屏蔽效应减弱, 信号峰在低场出现。(左)

环电流效应

环状共轭体系 ($4n+2$) 的离域 π 电子产生环电流, 环电流产生的磁力线方向在苯环上下方与外磁场磁感应强度方向相反, 在苯环侧面方向相同。类似物理中的楞次效应。

结果: 环外氢为顺磁效应, 去屏蔽, δ 增大; 环内侧氢为逆磁效应, 屏蔽, δ 减小。

相邻键的磁各向异性

一般的, 三键电子云磁感应强度与键轴共线, 而双键电子云产生的磁感应强度则与分子平面垂直

双键 C 上的氢受去屏蔽作用, δ 值高于饱和 C;

叁键 C 上的氢受屏蔽作用, δ 减小。

其他作用

电偶极和范德华力, 介质, 氢键等。

5. 核磁共振波谱仪的基本组成及各部分功能, 了解样品的制备。

外加磁场

强弱的表示: 磁场强度 B_0 , 单位: T。不过习惯用氢核的共振频率来表示。如 100M 的仪器, $B_0 = 2.35\text{T}$ 。

要求：强而稳定、均匀

磁铁：分为永久磁铁、电磁铁和超导磁铁。

性能影响因素：

磁场强度越强，低能级上核的数目越多，灵敏度越高。

磁场越强，以频率表示的化学位移越大，分辨率越高。

磁场的均一性越好，分辨率越高。

探头

呈圆柱形，安装于在磁体中心。作用：对样品管发射脉冲电磁波，检测核磁共振信号。

分类：

产生固定频率的探头

双核探头 (^1H , ^{13}C)

四核探头 (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P)

频率连续可调探头：如 ^{15}N 和 ^{31}P 。

高频电磁波发生器及接受器

连续波 NMR 仪器 (CW-NMR)——最简单

有两种扫描方式。扫频方式：固定 B_0 ，扫描电磁波频率 ν ；扫场方式：固定 ν ，扫描磁场强度 B_0 。

不足：连续变化一个参数使不同基团的核依次满足共振条件，任一瞬间只有一种原子核处于共振状态，其它核处于等待状态。样品利用率低，灵敏度低，分辨率低。

傅里叶变换 NMR (FT-NMR)

磁场强，产生强而短的脉冲（高频脉冲）。在这一脉冲下，所有的核都发生共振。脉冲停止后，这些核都产生相应的核磁共振信号。这些信号含多种频率，总信号是多种频率信号的叠加，这些信号以时间为变量，也是随时间衰减的。因此，信号是时间的函数（时域谱），通过 FT 转换变为频域谱。

优点：所有的核同时共振；灵敏度高，样品用量少；测定时间短，可多次去平均能降低噪声。

样品制备技术

样品要制成粘度不高的液态：2-15% 的溶液

NMR 溶剂不应含氢，可用卤化或氘代溶剂，如 CDCl_3 , C_6D_6 等。

6. 了解碳-13 谱，和氢谱相比，有什么特点？

碳的 δ 值范围 0~230ppm。因为 C 外层 p 电子云密度变化范围大，对 C 核的屏蔽效应

化范围也大。因此其信号不像 PMR 那样容易重叠，往往分子中有几个不同类 C，就有几组峰，能直接提供有机物碳骨架的信息。

^{13}C MR 没有积分曲线。峰的强度与 C 个数无关，却正比于碳上所连的 H 数。在

^{13}C MR 中，只提供有几类 C 的信息，没有提供各类 C 的相对比例。

^{13}C 和 H 有耦合：耦合的碳谱很乱，很难解析必须把 ^{13}C 与 ^1H 的偶合裂分峰去掉才行。（可以采用不同的技术进行测定）

七、原子光谱分析

1. 原子发射光谱分析原理：不同元素的原子能级结构不同，因此能级跃迁所产生的谱线具有不同的波长特征。根据谱线特征可以进行发射光谱定性分析。

原子根据测定发射特征谱线的强度就可以进行定量分析（罗马金-赛伯公式）。什么是共振线？什么是自吸收？

共振线（特征谱线）：元素由基态到第一激发态的跃迁对应的谱线称为共振线。这种跃迁最容易发生，需要的能量最低，产生的谱线也最强。

灵敏线：元素特征谱线中强度较大的称为元素的灵敏线。

如果在光谱中检出了某元素的灵敏线，可以确证试样中存在该元素，但是至少要有两条灵敏线出现，才可以确认该元素的存在。

如果未检出灵敏线，说明试样中不存在该元素或元素含量在灵敏度以下。

罗马金-赛伯公式

$$I = A \cdot c^b$$

$$\lg I = b \lg c + \lg A$$

I 是两个能级之间的谱线强度； A 代表两个能级间每个原子单位时间内发生 A 次跃迁（即跃迁几率）； c 是样品中分析物的浓度； b 是自吸系数，随浓度 c 增加而减小，当浓度很小而无自吸时， $b = 1$ 。

一般采用内标法、标准加入法进行分析。

自吸收：光源等离子体中心部位原子发射的光子通过温度较低的外层时，被外层基态原子吸收的现象。

2. 原子发射光谱仪的光源有什么作用？都有哪些类型？

原子发射光谱的光源称为激发光源。

作用：提供试样中被测元素蒸发、原子化和原子激发发光所需要的能量。

要求：灵敏度高、重现性好、光谱背景小，结构简单、操作安全。

类型：火焰光源、电弧光源、高压电容火花光源、辉光放电光源、电感耦合高频等离子体光源（ICP 光源）

直流电弧光源

电极温度高，弧焰中心温度为 $5000 \sim 7000\text{K}$ ，有利于试样的蒸发；常用于定性分析以及矿石、矿物难熔物质中痕量组分的定量测定。

低压交流电弧光源

电极温度较直流电弧略低；因电弧弧温较高，灵敏度比直流电弧高；弧焰稳定，适于定量分析。

高压电容火花光源

火花作用于电极的面积小，时间短，电极温度低，不适于难蒸发的物质；火花放电的能量高，能激发电位很高的原子线或离子线；稳定性好，适于定量分析；电极面积小，适于微区分析。

电弧和火花光源适用于固体样品分析，但温度低，基体影响严重，需要寻找更高蒸发、原子化和激发的光源。

辉光放电光源

Grimm 辉光放电管用于固体样品表面分析，能检测 B, C, Si, P, S 等元素。

ICP 光源 (inductively coupled plasma)

组成：高频发生器和感应圈、等离子炬管和供气系统、试样引入系统；

优势：

具有趋肤效应，自吸效应小；

温度高，基体成分被分解，减小基体效应；

不需要电极，无电极污染、加热方式具有良好稳定性；

电子密度高，电离干扰可不考虑。

3. 原子吸收光谱定量分析机理？测定共振吸收

原子吸收光谱产生于基态原子对特征谱线的吸收。

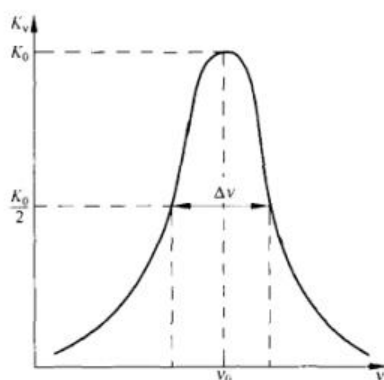


图 8.2

实验条件一定时，基本关系式可以简写为 $A = kc$ ，即吸光度和（质量体积）浓度成正比。原子吸收光谱轮廓图如图 8.2，以原子吸收谱线的中心波长和半宽度来表征。中心波长由原子能级决定；半宽度指在中心波长附近，极大吸收系数一半处，吸收光谱线轮廓上两点之间的频率差或波长差。

原子光谱分析的优点是：

检出限低，灵敏度高。检出限最低可达 $10^{-10} \sim 10^{-14}g$ ；

测量精度高；

分析速度快；

应用范围广，可测定金属元素，也可通过间接原子吸收法测非金属和有机化合物等；

仪器简单，操作方便；

4. 原子吸收光谱仪的结构组成？光源——空心阴极灯。原子化器（火焰和石墨炉）。

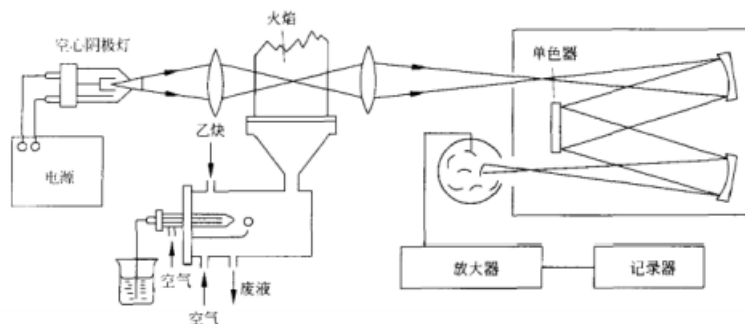


图 8.3: 原子吸收光谱仪

光源

空心阴极灯是最理想、应用最广的光源，用来发射被测元素的特征共振辐射。它满足对光源的各项基本要求：

发射的共振辐射的半宽度要明显小于吸收线的半宽度；

辐射强度大；

背景低，低于特征共振辐射强度的 1%；

稳定性好；

使用寿命长于 5A·h

原子化器

作用：提供能量，使试样干燥、蒸发和原子化。

火焰原子化法

采用最多的是乙炔-空气火焰，其燃烧稳定，重现性好，噪声低，燃烧速度不太高，温度足够高，对大多数元素有足够灵敏度。

氢-空气火焰是氧化性火焰，燃烧速度高于乙炔-空气，优点是背景较弱，透射性好，但温度较低。

乙炔-氧化亚氮高温火焰温度在三者中最高，燃烧速度不快，可测定 70 多种元素。

非火焰原子化法常用管式石墨炉

优点是试样原子化在惰性气体和强还原性介质进行，利于氧化物分解和自由原子生成；用样量小，样品利用率高，绝对灵敏度高；固、液试样均可直接进样。

缺点是试样组成不均匀性影响较大，背景吸收强，精密度不如火焰原子化法。

低温原子化法利于某些元素（如 Hg）单质或其氢化物（如 AsH₃）在低温下的易挥发性，将其导入气体流动吸收池反应出单质或氢化物后，进行原子化。目前通过该方法测定 Hg, As, Sb, Se, Sn, Bi, Ge, Pb, Te 等。

分光器

将所需要的共振吸收线分离出来，由入射和出射狭缝、反射镜和色散元件（光栅）组成。

检测系统

光电倍增管

CCD：

是一种电荷耦合器件，是在大规模硅集成电路工艺基础上研制而成的模拟集成电路芯片。由于其输入面空域上逐点紧密排布着对光信号敏感的像元，因此它对光信号的积分与感光板的情形颇相似。但是，它可以借助必要的光学和电路系统，将光谱信息进行光电转换、储存和传输，在其输出端产生波长-强度二维信号，信号经放大和计算机处理后在末端显示器上同步显示出人眼可见的图谱。优点是速度快、动态响应范围和灵敏度均可能达到或超过光电倍增管，且性能稳定、体积小、耐用。

5. 了解原子荧光法、x 射线荧光法机理。

八、电化学分析

1. 什么是电化学电池？什么是原电池和电解池？

电池 是指两个电极被至少一个电解质相所隔开的体系。它是电化学分析法中必不可少的装置。是电化学研究的体系和对象。分为原电池和电解池。

原电池 化学能转化成电能的装置。

电解池 将电能转化为化学能的装置。

三要素：电极、电解质、外电路。

不管是原电池还是电解池，发生氧化反应的电极称为阳极，发生还原反应的电极称为阴极。

2. 掌握电位分析法测定 pH 值的方法。了解电位分析法的电极——指示电极（玻璃电极即 pH 电极、离子选择性电极、生物电极（酶电极和免疫电极等））和参比电极（饱和甘汞电极和银/氯化银电极）。测量的是电池的电动势（电极电位），根据能斯特方程，把待测物的浓度和电位联系起来。电位分析用的是原电池。

电位分析法

通过测量电极电位来测定物质质量的分析方法，可用于求出物质的活度或浓度。有以下特点：

仪器简单，价格较光学分析仪器便宜；

分析速度快，一次可同时测多种分析物；

可用于活体分析。

这一部分所用的化学电池是原电池。

能斯特方程

$$\varphi = \varphi^{\ominus} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{\prod a_{ox}}{\prod a_{red}} = \varphi^{\ominus} + \frac{0.0592}{n} \lg \frac{\prod a_{ox}}{\prod a_{red}}$$

n 为电极反应电子数, $F = 96485 \text{C/mol}$ 为法拉第常数, 对数的真数为氧化态、还原态活度幂之比, 一般可用浓度代替。

在一个测量电池中, 需要使用两支或三支电极, 电解质溶液由被测试样和其他一些物质组成。

指示电极(indicator electrode) 是指示与被测物质的浓度相关的电极电位的电极。

玻璃电极 (pH 电极)

内参比溶液: 0.1mol/L 的 HCl 溶液

内参比电极: 涂有 AgCl 的银丝

• 电势

$$\begin{aligned} E &= E_{\text{参比}} + E_{\text{膜}} = E_{\text{参比}} + V_{\text{外}} - V_{\text{内}} = E_{\text{参比}} + 0.0592 \lg \frac{\alpha_{\text{H}^+, \text{out}}}{\alpha_{\text{H}^+, \text{in}}} \\ &= K + 0.0592 \lg \alpha_{\text{H}^+, \text{out}} \end{aligned}$$

K 为常数。 $\alpha_{\text{H}^+, \text{out}}$ 是玻璃膜外待测液的 H^+ 浓度。

产生电势的关键在玻璃膜, 其内外的 H^+ 浓差梯度导致了扩散电位的形成。若改变其成分, 则可以响应不同离子的浓度差。

当 $[\text{Na}^+]$ 浓度很大时, 出现误差, 称为钠差。修正电势大小为 $E = K + 0.0592 \lg(\alpha_{\text{H}^+, \text{out}} + c\alpha_{\text{Na}^+}/n_j)$, k_j 称为选择性系数, 值越小, 选择性越好。

玻璃电极本质上是一种离子选择性电极。

酶电极

酶电极 (enzyme electrode) 的分析原理是基于用电位法直接测量酶促反应中反应物的消耗或反应物的产生而实现对底物分析的一种分析方法。它将酶活性物质覆盖在电极表面, 这层酶活性物质与被测的有机物或无机物 (底物) 反应, 形成一种能被电极响应的物质。

免疫电极

抗体与抗原结合后的电化学性质与单一抗体或抗原的电化学性质有较大的差别。将抗体 (或抗原) 固定在膜或电极的表面, 与抗原 (或抗体) 形成免疫复合物后, 膜中电极表面的物理性质, 如表面电荷密度、离子在膜中的扩散速度发生了改变, 从而引起了膜电位或电极电位的改变。

参比电极

与被测物质无关的, 提供测量电位参考的电极称为参比电极。

条件:

能迅速建立热力学平衡电位, 这就要求电极反应是可逆的;

电极电位是稳定的, 能允许仪器进行测量。

常用的参比电极如表7.1所示。

表 7.1: 常用的参比电极

| 参比电极 | 饱和甘汞电极 | 银/氯化银电极 |
|------|--|--|
| 电解液 | KCl 溶液 | KCl 溶液 |
| 电极反应 | $2\text{Hg} + 2\text{Cl}^- - 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Hg}_2\text{Cl}_2$ | $\text{Ag} + \text{Cl}^- - \text{e}^- \longrightarrow \text{AgCl}$ |
| 电极电势 | $\varphi = \varphi^\ominus - 0.0592 \lg a_{\text{Cl}^-}$ | $\varphi = \varphi^\ominus - 0.0592 \lg a_{\text{Cl}^-}$ |
| 优缺点 | 电势稳定、重现性好 可以通过陶瓷塞/多孔玻璃与指示电极相连 具有一定的阻抗和电流负载能力 温度滞后性大，有毒性 | 电势稳定、重现性好 容易制备，能在更高温度下使用 体积小，可以很灵活 在外参比溶液中应先加入 AgCl 饱和，否则易溶解 |

电位分析法测定 pH 值

pH 玻璃电极是测量氢离子活度最重要的指示电极，它和甘汞电极组成的体系是最常用的体系。溶液 pH 值的测量通常采用与已知 pH 值的标准缓冲溶液相比较的方法进行。对于 pH 已知的标准缓冲溶液 (s) 和未知溶液 (x)，测得的电动势分别为

$$E_x = K + 0.0592 \lg \alpha_{\text{H}^+,x} - E_{SCE}$$

$$E_s = K + 0.0592 \lg \alpha_{\text{H}^+,s} - E_{SCE}$$

其中 E_{SCE} 是饱和甘汞电极的电势。可以求得：

$$\text{pH} = \text{pH}_s - \frac{E_x - E_s}{0.0592}$$

有多组缓冲液时，还可以用标准曲线法。

该法适用于 $\text{pH} = 1 \sim 9$ 的情况。 $\text{pH} < 1$ 时，读数偏低； $\text{pH} > 9$ 时，读数偏高。

3 理解电解和库仑分析法的原理。用的化学电池是电解池。什么是分解电压？控制阴极电位分析法的机理？

电解分析法：通过测量电解中沉积于电极表面的沉积物质量进行分析的一类方法。

结合标准电极电势和能斯特方程可计算出阴阳极的实际电位 $E_{\text{阴}}, E_{\text{阳}}$ 。

理论分解电压

$$E_{\text{分,理}} = E_{\text{阳}} - E_{\text{阴}}$$

但由于 iR 降（克服电解质溶液的电阻）、过电位（阴阳极的极化现象），使电解发生所需的实际电压要高于 $E_{\text{分,理}}$ 。

（实际）分解电压²

$$E_{\text{分}} = E_{\text{分,理}} + iR + \eta_{\text{阳}} - \eta_{\text{阴}}$$

其中

- i 为电解电流， R 为电解回路总电阻；
- $\eta_{\text{阳}}, \eta_{\text{阴}}$ 分别是阳极、阴极的超电位，即电极电位与可逆电极电位的差值。

电极极化：是指电流流过电极时，电极电位偏离可逆电极电位的现象。可分为：

浓差极化：由于电解过程中电极表面附近的溶液浓度与本体浓度的差异引起的，使正极电位增大，负极电位减小。**减小浓差极化的方法**：增大电极面积、减小电流密度、强化机械搅拌。

电化学极化：电极反应速度慢，电极上聚集了一定的电荷。阴极聚集过多正电，使电极电位减小；反之增大。

控制电位电解分析：工作电极的电位控制在某一合适的电位值或某一个小范围内，使被测离子在工作电极上析出，其它离子则留在溶液中，以达到分离和测定的目的。

库仑分析法：通过测量电解中消耗的电量进行分析的一类方法。

库仑分析法主要分为：

控制电位库仑分析：通过库仑计求出电量 Q ，直接计算。

恒电流库仑分析：控制电解电流一定，又称库仑滴定法。

4. 极谱分析是一种特殊的电解分析法？有什么特殊性？使用的电极？极谱定量、定性分析的基础？什么是极限扩散电流？什么是半波电位？

极谱分析法采用滴汞电极的伏安分析法。

阴极（指示电极）：滴汞电极。电极表面仅有能斯特扩散层，从而产生了极谱分析所必需的浓差极化条件。

阳极（参比电极）：甘汞电极。表面积大，电流密度小，电位稳定。

优势：汞滴可不断更新；氢的超电势很大，金属离子与 Hg 生成汞齐，便于析出。

局限：汞对环境的污染、对人体的伤害；存在充电电流，现在有许多改进。

极谱分析的充电电流：当无电压时，甘汞电极带正电，滴汞电极不带电，甘汞电极向滴汞电极充电，产生充电电流，与电解方向相反，为负充电电流。当电压很大时，甘汞电极带负电，形成正充电电流。充电电流是提高灵敏度的障碍。

电压增大到一定程度，反应速率很快，以致电极周围的 Cd^{2+} 被迅速消耗，此时需要周围溶液补充 Cd^{2+} ，补充的快慢取决于离子的扩散速率。扩散速率决定了反应速率（即电流）的上限。

极限扩散电流 扩散电流是指在极谱分析中由溶液本体扩散到电极表面的金属离子所形成的电流。当扩散速率达到最大时所形成的电流就称为极限扩散电流。即图中的 $i_d = i_{ave} - i_r$

不过一般 i_r 较小，若不是分析微量组分时影响不大。

尤可维奇方程

$$i_{d,ave} = 607nD^{\frac{1}{2}}m^{\frac{2}{3}}t^{\frac{1}{6}}c$$

62

7.4 伏安分析法

D 为扩散系数， m 为汞滴的流速， t 为汞滴的寿命。
 h 为汞柱的高度，毛细管常数 $m^{\frac{2}{3}}t^{\frac{1}{6}} \propto h^{\frac{1}{2}}$ 。

所以实验条件相同时， $i_{d,ave} \propto c$ ，可以用标准曲线法测样品浓度。

📌 笔记 影响扩散电流的因素：

- 残余电流：杂质的法拉第电流，电容电流；
- 极谱极大：电流变平稳之前有一个峰，如图7.3；
- 毛细管特性：见上。实验过程中 h 应该保持一致。
- 滴汞电极电位： t 受滴汞与溶液界面的表面张力 γ 影响。
- 温度：对扩散系数 D 有显著影响，电解池内溶液的温度波动应控制在 0.5°C 以内。
- 溶液组成：引起溶液粘度的变化，扩散电流与粘度系数成反比。
- 氧波：溶解氧参与电极反应。

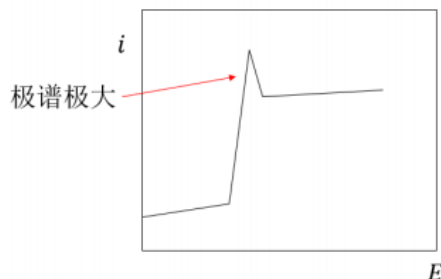


图 7.3: 极谱极大

📌 笔记 消除误差的方法：

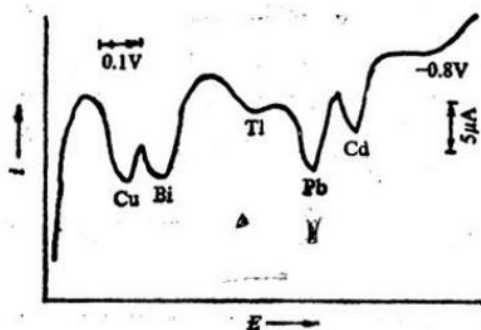
- 减小电容电流：减小电极表面积；
- 消除迁移电流：加支持电解质，使池内阻变小，电压降低。
- 消除对流电流：不搅拌。
- 消除氧波：通入惰性气体，把溶解在水中的氧气驱除。
- 消除极谱极大：加入表面活性剂，如明胶等。

半波电位 在极谱曲线半峰高处的电位称为半波电位，即 $i = i_r + i_d/2$ 处的电位。对于可逆波，物质的氧化半波电位与该物质的还原半波电位相同。

半波电位只与离子本性有关，与浓度无关，是离子的特性常数，可作为定性分析的基础。在实际工作中，半波电位主要应用于分析实验条件的选择，以防止共存离子的干扰。

5. 什么是溶出伏安法？

溶出伏安法是将电化学富集与测定方法有机地结合在一起的一种方法。先将被测物质通过阴极还原富集在一个固定的微电极上，再由负向正电位方向扫描溶出，根据溶出极化曲线来进行分析测定。



溶出伏安法最大的优点是灵敏度非常高，阳极溶出法检出限可达 10^{-12} mol/l ，阴极溶出法检出限可达 10^{-9} mol/l 。溶出伏安法测定精度良好，能同时进行多组分测定，且不需要贵重仪器，是很有用的高灵敏分析方法。