

Part III-B: Instrumental Analysis

Lecture by 刘翠

Note by THF

2025 年 3 月 14 日

目录

1 课程内容	1
1.1 课程概况	2
2 电位法和永停滴定法	3
2.1 化学电池	3
2.2 指示电极和参比电极	3
2.3 电位滴定法	3
2.4 永停滴定法	4
3 紫外-可见分光光度法	5
3.1 光谱分析分类	6
3.2 吸收带与分子结构的关系	7
3.3 影响吸收带的主要因素	7
3.4 朗伯比尔定律	8
3.5 紫外可见分光光度计	10
3.6 仪器类型	11
3.7 分光光度计校正	11
3.8 有机化合物的紫外吸收光谱	11
3.9 有机物化合物结构分析	11
3.10 定性分析方法	11
4 荧光分析法	13
4.1 概述	13
4.2 特点	13
4.3 分子荧光的产生	13

Lecture 1

02.25

1 课程内容

课程目标：

- 方法的基本原理
- 仪器的结构、工作原理、功能
- 分析步骤
- 分析实践

考试为闭卷考试，成绩组成：

- 平时成绩：30%
 - 作业（根据交作业的次数）
- 考试成绩：70%

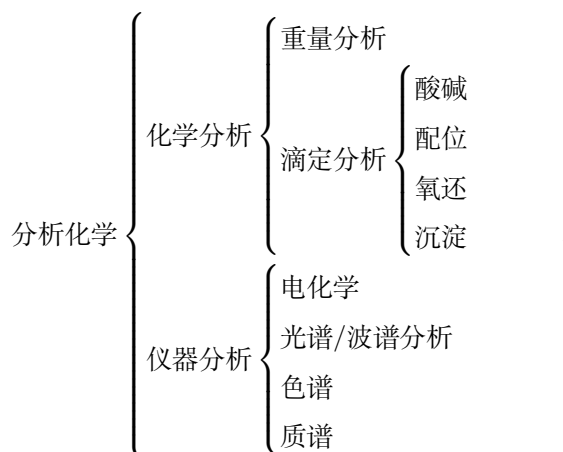
推荐教材：《分析化学》第九版

1.1 课程概况

仪器分析是用特定的科学仪器来测量物质的物理或化学性质，从而对样品进行定性、定量分析的学科，是一门应用广泛的学科。

Notation. 化学分析：利用特定的化学反应及计量关系对物质分析

仪器分析：测量物质的某些物理或物理化学性质的参数及其变化获取物质的化学组成、含量和结构等。



光谱分析法的内容：

- 原子光谱
 - 发射
 - 吸收
 - 荧光
- 分子光谱
 - 紫外-可见吸收
 - 红外吸收
 - 分子荧光与磷光
 - 化学发光
 - 拉曼
- 其他
 - 核磁共振、顺磁共振
 - X-射线电子能谱、俄歇电子能谱
 - X-射线荧光、X-射线衍射

仪器分析的特点：灵敏度高、检出限低、重现性好、样品用量少

Lecture 2

02.28

2 电位法和永停滴定法

2.1 化学电池

Notation. 相接电位：由于带电质点的迁移形成的电荷层，金属和溶液之间一共 3 层：双电层（金属表面）、致密层、扩散层

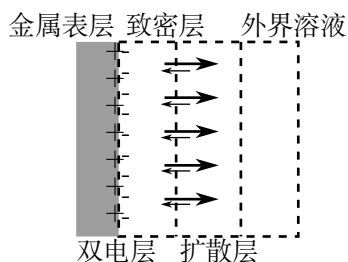


图 1: 化学电池的相接电位

Notation. 液接电位：在组成不同或组成相同而浓度不同的溶液之间的离子交换形成的电荷层

2.2 指示电极和参比电极

Definition. 指示电极：电极电位随被测离子的活度变化而变化

参比电极：电极电位不随被测离子的活度变化而变化

指示电极的要求：符合能斯特方程，响应快，结构简单

Notation. 金属基电极：第一种，基于电子转移反应的一类电极；第二种，金属-金属难溶盐；常用于金属离子的测定。第三种，惰性金属电极（铂族金属）

Notation. 膜电极：气敏电极、酶电极（葡萄糖和葡萄糖氧化酶 \rightarrow 葡萄糖酸 + 双氧水）

参比电极：

Notation. 最常见的参比电极：饱和甘汞电极

2.3 电位滴定法

手动滴定的缺点：

- 指示剂
- 主观性强
- 速度慢
- 现象不明显

自动滴定的优势：

- 快速准确
- 数据一致性好
- 不需要指示剂

Definition. 电位滴定法：根据电池电动势的变化来判断终点

需要使用：参比电极、指示电极、电子电位计、滴定仪

电位滴定法的原理：在指示电极中被测离子的浓度不断变化，指示电极的电位符合能斯特方程，在终点附近引起电极电位的突越。**使用原电池原理**

$$\varphi = \varphi^{\ominus} - \frac{2.303RT}{nF} \log \frac{C_1}{C_2} \quad (1)$$

终点的确定方法：

Notation. $E \sim V$ 曲线法（图 2）：最常见的滴定曲线

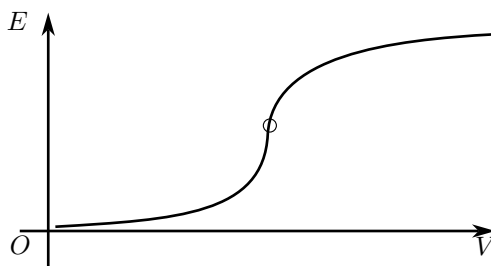


图 2: E-V 曲线

Notation. $\frac{\Delta E}{\Delta V} \sim \bar{V}$ 曲线法，或一阶微分法（图 3）：

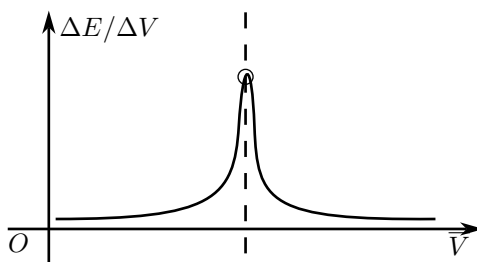


图 3: 一阶微分法

Notation. 二阶微分法或 $\frac{\Delta^2 E}{\Delta^2 V} \sim V$ 法（图 4）

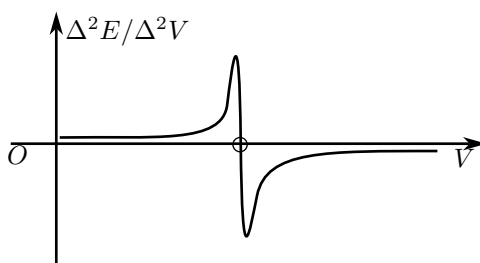


图 4: 二阶微分法

2.4 永停滴定法

把两个相同的指示电极插入待测溶液中，加一个小电压，根据电流的变化特性确定终点，**使用电解池原理**

Notation. 可逆电对：加一个小电压可以产生电解作用，当氧化态和还原态浓度一致时电流最大，不一致时电流取决于低浓度的物质

Notation. 不可逆电对：施加电压时不电解，只在阳极发生氧还反应

如硫代硫酸根 $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

使用永停滴定法的三种变化曲线：

Notation. 可逆电对滴定不可逆电对（图 5）：一开始不可逆电对存在，无电流，终点后可逆电对产生电流

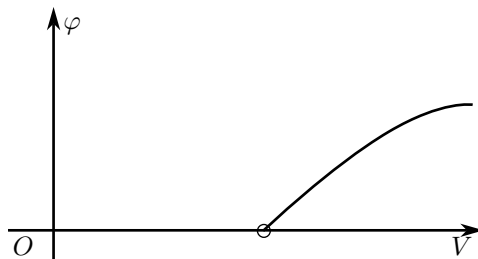


图 5: 可逆滴定不可逆

Notation. 不可逆电对滴定可逆电对（图 6）：一开始有电流，随不可逆电对滴入电流减小，终点后无电流

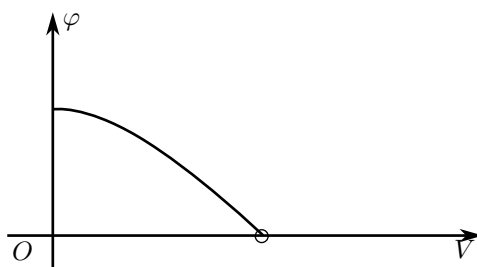


图 6: 不可逆滴定可逆

Notation. 可逆滴定可逆（图 7）：电流随滴定先增大后减小，在化学计量点处最小，然后增大

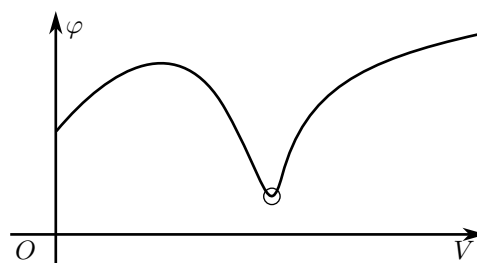


图 7: 可逆滴定可逆

作业：P140：1,2,7,8

3 紫外-可见分光光度法

掌握波数、波长、频率、光子能量的换算，掌握朗伯-比尔定律

Definition. 光学分析法: 检测物质受能量激发后产生的电磁辐射或与物质相互作用后产生的信号变化来获得物质的组成

光谱分析法: 物质和外界能量相互作用时内部产生能级跃迁, 记录有能级跃迁产生的辐射能强度随波长发生的变化, 得到的谱图称为波谱或光谱。强度取决于光子和分子的相互作用强度

复习物理内容:

Notation. 电磁辐射和电磁波的波动性: 使用波长 λ , 频率 ν , 波数 $\sigma = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c}$

波长越长、波数越小、频率越低, **能量越小**

Notation. 普朗克认为能量是量子化的, 能量的最小单位是光子, 使用 E 表示

$$E = h\nu = h\frac{c}{\lambda} = hc\sigma.$$

其中 h 为普朗克常数, $h = 6.62607015 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}^{-1}$

3.1 光谱分析分类

按照作用粒子的类型: 分子光谱、原子光谱

按照能级跃迁的方向: 吸收光谱、发射光谱 (必须先吸收能量)、散射光谱

Notation. 原子光谱: 测定气态原子外层或内层的能级跃迁产生的光谱, 是**线状光谱**

分子光谱: 测定分子内部发生的量子化的能级之间的跃迁, 是**带状光谱**

Lecture 3

03.04

Notation. 不涉及原子内部的能级跃迁的分析方法称为非光谱分析, 如 X 射线单晶衍射、反射分析

按照吸收或发射光的分类:

- 吸收光谱: 光子被原子吸收, 产生了能级跃迁
- 发射光谱: 原子发生能级跃迁, 产生一定波长的光
- 散射光谱: 光子与介质之间产生碰撞, 光直接反射的部分称为**瑞利散射**, 改变了频率后再被散射出来的部分称为**拉曼散射**

常见的几种跃迁方式:

Notation. $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁: 碳碳单键中的电子由 σ 成键轨道跃迁到 σ^* 反键轨道, 吸收峰在紫外区, 能量极高

Notation. $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁: 碳碳双键上的电子跃迁到双键的反键轨道, 摩尔吸光系数较大, 即 $\epsilon > 10^4$, 为强吸收, 如果是共轭双键吸收更强, 能量需求越小

Notation. $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁: 含有羟基、氨基、卤素原子、硫原子等杂原子, 吸收峰为紫外光, 吸收较强

Notation. $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁: 含杂原子的双键, 吸收较弱, 吸收近紫外光 (200-400 μm)

常见术语:

Definition. 透光率:

$$T = \frac{I_t}{I_0} \times 100\%.$$

其中:

$$I_0 = I_t + I_a + I_r.$$

I_t 为透过光, I_a 为吸收光, I_r 为反射光

当 $T = 0$, 代表光全部吸收

Definition. 吸光度:

$$A = \lg \frac{1}{T} = -\lg T = \lg \frac{I_0}{I_t}$$

即:

$$T = 10^{-A}$$

当 $T = 0$ 时, $A = +\infty$

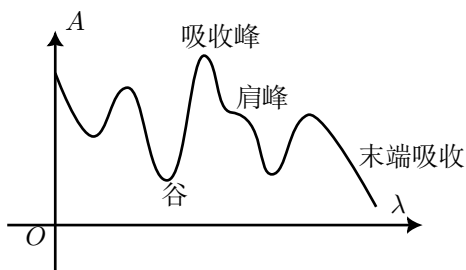


图 8: 吸收光谱示意图

Notation. 助色团: 一些含有 n 电子的饱和集团, 如羟基、氨基、亚胺等, 本身没有生色功能, 当与生色团相连时发生 $n - \pi$ 共轭来增强生色团的颜色

Definition. 红移: 或长移, 由于结构改变使得吸收峰向长波长方向改变

同理有蓝移、增色 (上移)、减色 (下移)

强吸收: $\varepsilon_{\max} > 10^4$

3.2 吸收带与分子结构的关系

Definition. R 带: 基团带, 由 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带, 杂原子的不饱和集团, 溶剂极性增强发生蓝移, 弱吸收

K 带: 共轭带, 由 $\pi \rightarrow \pi^*$ 的跃迁产生, 波长较短, 强吸收, 共轭增强发生红移

B 带: 芳香带, 又称苯的多重吸收带, 在极性溶剂中精细结构转为宽峰, 在 256nm 附近, 弱吸收

E 带: 芳香不饱和带, 由 $\pi \rightarrow \pi^*$ 产生, 共两个峰: 吸收峰为 180nm 和 200nm, 均为强吸收

还有一种是无机物的电子转移:

Notation. 电荷转移吸收带: 同时具有配位体和受体的分子在吸收外来辐射后, 电子从给体跃迁到受体, 强吸收, 可以用于定量分析, 发生在分子内部, 需要光照

Definition. 简并轨道: 过渡元素的 d 和 f 轨道

当与配位体配合时, 轨道的简并解除, 发生能级分裂, 轨道如果有没有填充电子的位置, 低轨道的电子会吸收能量跃迁到更高的 d 和 f 轨道, 产生吸收光谱

3.3 影响吸收带的主要因素

影响形状或位置:

- 结构
- 状态
- 温度
- 溶剂极性

影响吸收带强度:

- 能级差
- 空间位置

Notation. 共轭效应: 当 π 电子共轭增大, 如 1-3 二丁烯, 两个 π 轨道会形成能量一高一低的两个轨道 π_1, π_2 , 同样 π^* 会形成两个轨道 π_1^*, π_2^* , 导致 λ_{\max} 红移, 吸光系数 ε_{\max} 增大

Example. 蔡 \rightarrow 蒽 \rightarrow 四并苯 \rightarrow

Notation. 超共轭效应: σ 电子不受屏蔽效应的离域作用, 类似共轭效应

位阻效应: 空间阻碍使得共轭体系破坏, λ_{\max} 蓝移, ε_{\max} 减小

Notation. 跨环效应: 一些 β, γ 中由于空间结构可以发生 $\pi \rightarrow \pi^*$, 使得不在同一个平面的两个不饱和键可以发生共轭, 强吸收

Lecture 4

03.07

回顾: 电子跃迁的基础

Notation. MOT/分子轨道理论: 如果成键必然有成键轨道和反键轨道, 如 σ 和 σ^* , π 和 π^* , 其中反键轨道的能量更高, $E_\sigma < E_\pi$, 相应的 $E_{\sigma^*} > E_{\pi^*}$

对于非键轨道 n :

$$E_{\sigma^*} > E_{\pi^*} > E_n > E_\pi > E_\sigma.$$

其中发生跃迁的可能有: $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \pi^*$ 。注意 σ 无法跃迁到 π 相关的轨道 (空间结构)

Notation. 生色团: 含有不饱和键的基团; 助色团: 含有 n 电子的饱和基团

- R
- K
- B
- E (E_1, E_2)

共轭效应: 红移

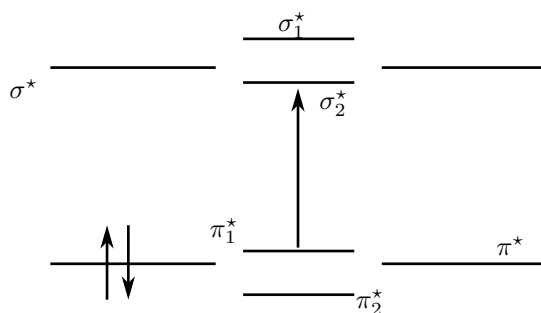


图 9: 共轭效应电子跃迁

溶剂效应: 在极性溶剂中 $n \rightarrow \pi^*$ 的跃迁能隙增大, 发生蓝移; 而 $\pi \rightarrow \pi^*$ 中, π 轨道的极性小于 π^* , 因此跃迁能隙减小, 红移

pH 影响: 质子化和去质子化, 质子化时, p 轨道上的电子不易发生 $p - \pi$ 共轭。

3.4 朗伯比尔定律

一束光通过样品后: 吸光度、透光率有哪些关系

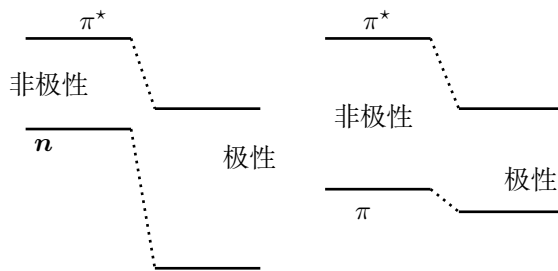


图 10: 溶剂效应

Notation. 光的吸收程度 A 和吸收层厚度 l 成正比, 即:

$$A \propto l.$$

后来比尔提出浓度越高吸收越大, 即:

$$A \propto c.$$

朗伯比尔定律:

$$A = -\lg T = Elc \quad (2)$$

其中 l 的单位为 cm, E 是吸光系数, 分为摩尔系数、浓度吸光系数和百分吸光系数, 根据溶液浓度的条件更改

Notation. 朗伯比尔定律描述物质对单色光的吸收

吸光系数的不同类型:

- 摩尔吸光系数: ε , 表示在一定波长时, 溶液浓度为 1 mol/L, 厚度为 1 cm 的吸光度
- 百分吸光系数 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$: 一定波长, 溶液浓度为 1% (w/v), 厚度为 1 cm 的吸光度

两个之间的换算:

$$\varepsilon = \frac{M}{10} \cdot E_{1\text{cm}}^{1\%}.$$

(通过 $E = A/lc$ 单位制计算)

Notation. 摩尔吸光系数需要通过实验测得吸光度 A 来间接计算

同一物质, 在最大吸收波长 λ_{max} 的摩尔吸光系数记为 ϵ_{max}

Notation. 朗伯比尔定律的成立条件:

- 单色光
- 均匀非散射介质
- 吸光物质之间不相互作用

朗伯比尔定律的偏离

影响:

- 非单色光
- 反射
- 散色光
- 浓度过高 (多聚体)
- 溶质离解
- 缔合
- 互变异构
- ...

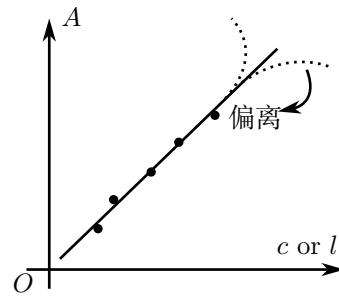


图 11: 朗伯比尔定律偏离

3.5 紫外可见分光光度计

分为光源、分光吸收池、探测和数据输出，在分光时通过光栅或棱镜得到一束近似的单色光。

Notation. 光源需要是连续、有足够强度、稳定的复合光，通过分光器分为不同的波长的光

Lecture 5

03.11

光源

常用氢灯、氘灯、钨灯，可以发出连续且较强且稳定的光

单色器

使用棱镜或光栅分光，将符合光分解为单色光

吸收池

可以使用玻璃、石英、高分子材料制作比色皿，用于盛放溶液

检测器

用于检测光的强度并转为电信号

信号处理和显示系统

具有放大功能

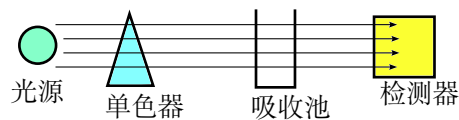


图 12: 紫外可见分光光度计示意图

3.6 仪器类型

单波长单光束分光光度计

只使用单光源、一种单色器；优点是简单、廉价；缺点是不能进行全波段扫描，且对单光源和检测器的稳定性有很高要求

单波长双光束分光光度计

科研最常用，将单色光在第二部分分为两束，一份透过参比池，一份经过吸收池，可以通过对比两个池的光强来相互补充；可以进行全波段扫描，自动记录，可以消除一些不稳定性；缺点是造价较高

双波长分光光度计

使用两个单色器得到两种不同波长，交替通过样品池

3.7 分光光度计校正

1. 波长校正：测定苯蒸汽的特征吸收峰
2. 交替测定：吸收池内交互加入参比溶液和测定溶液，吸光度差 1%

3.8 有机化合物的紫外吸收光谱

含孤立助色团和生色团的有机化合物

饱和碳氢键的氢被杂原子取代，具有 n 电子，发生 $n \rightarrow \sigma^*$ 的跃迁，吸收波长较长。孤立双键有 $\pi \rightarrow \pi^*$ 的跃迁，吸收峰一般在 150-180nm 之间，其中醛酮有三个吸收峰（ σ 键、双键、杂原子），一共可以发生： $n \rightarrow \pi^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 、 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 四种跃迁，但是由于 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 能量太大，在紫外可见区，因此一共三个吸收峰

共轭烯烃

同一个分子中有两个双键，由两个亚甲基隔开，因此吸收峰位置一致，能量翻倍；如果生成大 π 键，则 π 和 π^* 能级缩小，发生红移；随着共轭体系继续变大，继续红移，化合物逐渐变为有色

芳香族

3.9 有机物化合物结构分析

- i. 220-800nm 无吸收：脂肪族饱和、胺、无杂原子
- ii. 210-250nm 有吸收：可能含有两个共轭单元
- iii. 260-300nm 强吸收：含有较多共轭单元
- iv. 250-300nm 弱吸收：有羰基
- v. 250-300nm 中等吸收，有振动结构：苯环

异构体推定

分为结构异构和顺反异构

化合物骨架推定

Example. 维生素 B1

3.10 定性分析方法

对比两个物质对光的选择性吸收

Example. 在一定条件下： $A \propto c$

定性分析

常用的定性依据:

- E_{\max} : 化合物的特性参数
- 有机化合物的紫外可见吸收光谱: 反映生色团和助色团的特性
- 标准谱图库: 收集了约 46000 种化合物的标准谱图
- λ_{\max} : 同上

用于杂质检查

1. 杂质检查: 对比纯物质和杂质物质的吸收图
2. 杂质限量检查:

Example. 肾上腺素和肾上腺酮的对比: 肾上腺酮多一个杂原子, 吸光度较高, 规定 310nm 处的吸光度 $A \leq 0.05$

目视比色法

配置标准溶液系列然后直接对比颜色, 方法简便但准确度低

吸光系数法

$$A = \varepsilon bc \Rightarrow c = \frac{A}{\varepsilon b}.$$

对照法:

$$\begin{cases} A_1 = \varepsilon bc_1 \\ A_2 = \varepsilon bc_2 \end{cases} \Rightarrow \frac{A_1}{A_2} = \frac{c_1}{c_2}.$$

同时测定多组分

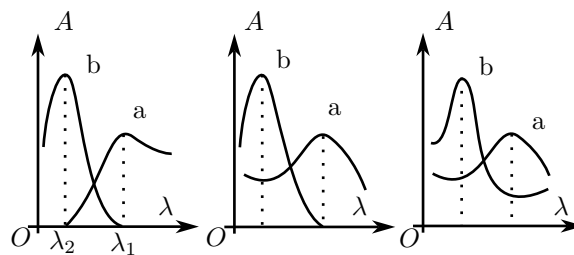


图 13: 混合组分的三种情况

Lecture 6

03.14

第一种: 无干扰, a 的最大吸光度 b 不吸收

第二种: a 干扰 b, b 不干扰 a; 先解出 a

第三种: 相互干扰; 通过计算分光光度法, 利用吸光度的加和性来测定

解方程:

$$\begin{cases} A_1^{a+b} = A_1^a + A_1^b \\ A_2^{a+b} = A_2^a + A_2^b \end{cases}.$$

第二个方法: 等吸收双波长法: 在吸收峰两侧选择一对吸光度相等的点, 其中一个点落在另一个吸收峰的垂线上:

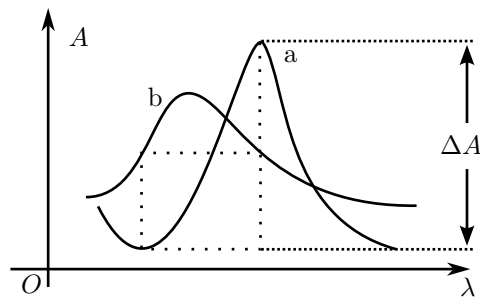


图 14: 等吸收双波长

计算:

$$A_1^b = A_2^b \quad \Delta A = A_2 - A_1 = (A_2^a + A_2^b) - (A_1^a - A_1^b) = A_2^a - A_1^a.$$

4 荧光分析法

4.1 概述

Definition. 发射光谱: 处于激发态的原子离子或分子返回基态发出的能量

分子发光: 能量以辐射的方式释放

Notation. 按激发模式分为: 光致发光、生物发光、化学发光

光致发光分为**荧光**和**磷光**, 分子荧光分析法通过荧光的位置强度测定物质含量和鉴定

4.2 特点

- 灵敏度高: 检出限极低, 比 UV-vis 还低 3 个数量级
- 选择性好
- 线性范围宽
- 有强荧光的物质不多, 应用范围窄, 大多用于生物物质

4.3 分子荧光的产生

基态原子吸收光能处于激发态 (S_1, S_2), 返回基态时通过辐射跃迁和无辐射跃迁释放能量, 如图:

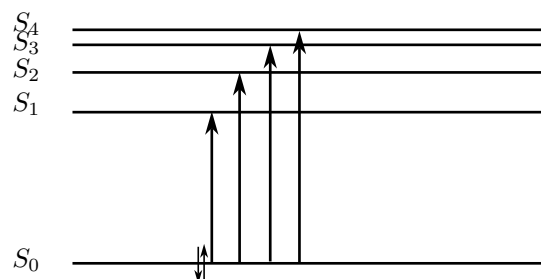


图 15: 基态分子激发态

电子能级的多重性

受到激发后, 电子的自旋方向不变, 称为激发单重态, 记为 S_n ; 激发后自旋方向改变, 成为三重态, 称为激发三重态, 记为 T_n , 一般比 S_n 的能量低

激发单重态的分子平均寿命短, 三重态的较长。单重态激发到三重态为禁阻跃迁, 进入的几率较小

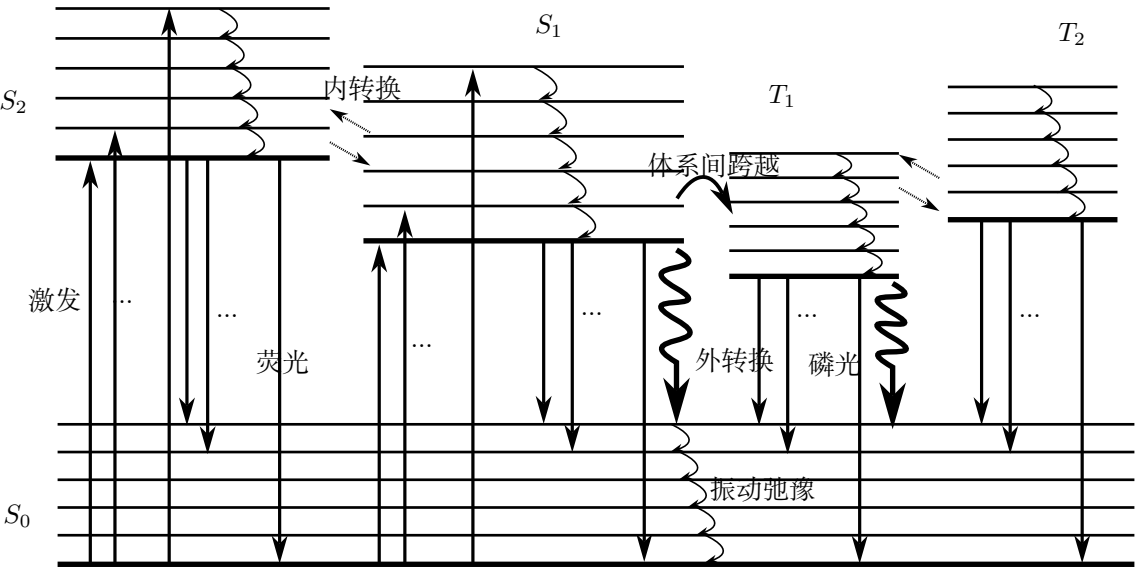


图 16: 振动弛豫、内转换和荧光