

## Chapter11 仪器分析概述

## 分析仪器的性能指标

1. 精密度：同一分析仪器的同一方法多次测定得到的数据间一致程度。表征随机误差大小。
2. 灵敏度：区别具有微小浓度差异分析物能力的度量。取决于校准曲线斜率和仪器设备的重现性或精密度。校准曲线斜率越大，方法越灵敏。
3. 检出限：一定置信度下检出分析物或组分的最小量或最低浓度。取决于分析物产生信号与本底空白信号波动或噪声统计平均值之比。

检出限与灵敏度的差别：灵敏度越高，检出限越低。但两者含义不同，灵敏度指分析信号随组分含量变化的大小，与仪器信号放大倍数有关；检出限与空白信号波动或仪器噪声有关，具有明确的统计含义。提高灵敏度，降低噪声，可以降低检出限。

4. 动态范围：定量检测最低浓度扩展到校准曲线偏离线性响应限的浓度范围。
5. 选择性
6. 响应速度
7. 分辨率

### 分析仪器方法校正

外标法：所使用的标准物质与被测定物是同一物质。

内标法：标准物与被测定物不是同一物质。

## Chapter12 光学分析概述

## 1. 核心原理

光谱作用	分类	原理
吸收	原子吸收: 气态自由原子主要吸收紫外或可见电磁辐射	基态向较高能态跃迁
	分子吸收: 对特定波段的电磁辐射的吸收, 连续光谱	
	磁场诱导吸收: 某些元素放入磁场, 其电子和原子核受到强磁场作用, 具有磁性质的简并能级发生分裂, 并产生具有微小能量差的不同量子化能级, 进而可以吸收低频率的电磁辐射	
发射	原子发射: 气态自由原子由激发态发射电磁波而回到基态, 所发射的电磁波处于紫外或可见光区。线光谱	较高能态向较低能态跃迁
	分子发射: 对特定波段电磁辐射的发射。连续光谱	
	发射跃迁: 当原子、分子和离子等处于较高能态时, 可以以光子形式释放多余的能量而回到较低能态, 产生电磁辐射	
弛豫	振动弛豫: 同一电子能级, 不同振动能级之间的非辐射跃迁。	非辐射弛豫: 以非发光形式释放能量
	内转移: 不同电子能级但能量相近的振动能级之间的非辐射跃迁。	
	外转移: 不同电子能级之间的非辐射跃迁。	
	系间窜越: 单重态电子能级向能量相近的三重态电子能级的非辐射跃迁。	

	辐射弛豫：通过分子发射电磁波的方式释放能量。	
--	------------------------	--

基于原子、分子外层电子跃迁的光谱法

类型	建立依据	定量测量基础	应用范围	核心技术
原子吸收光谱	基态原子外层电子对其共振发射的吸收的定量分析方法	Lambert-Beer 定律	低含量元素定量	原子化、锐线光源
原子发射光谱	受激原子或离子所发射的特征光谱	发射特征光强与原子或离子的量正相关	多元素同时测定	原子化、原子激发
原子荧光光谱	原子外层电子吸收跃迁、非辐射弛豫和发射跃迁		较原子吸收更灵敏	
紫外-可见吸收光谱法	分子外层电子的吸收跃迁	Lambert-Beer 定律	分子物质定量测定	
分子荧光和磷光	分子外层电子的吸收跃迁、非辐射弛豫和发射跃迁	共振荧光	物质的高灵敏度定量测定，应用范围小于紫外-可见	
化学发光	基于化学能激发外层电子发生发射跃迁	化学发光强度随时间变化的峰值与被分析物浓度呈线性关系	定量分析，应用范围小于分子荧光	

基于分子转动、振动能级跃迁的光谱法：红外吸收 Lambert-Beer 定律 通常不定量

基于原子内层电子能级跃迁的光谱法：X 射线

基于原子核能级跃迁的光谱法：核磁共振波谱法

基于 Raman 散射的光谱法：Raman 光谱法

2. 光谱分析仪器基本结构

表 2-5 原子 / 分子吸收光谱分析仪的组成

构 件	原子吸收光谱仪	分子吸收光谱仪	
	原子吸收光谱仪	紫外-可见吸收光谱仪	红外吸收光谱仪
光源系统	线光源	连续光源	
试样引入系统	带有进样功能的火焰原子化器和石墨炉原子化器	透光玻璃液池和透光 KBr 压片	
波长选择系统	通常在试样引入系统和检测系统之间	通常在光源系统和试样引入系统之间	通常在试样引入系统和检测系统之间
检测系统	光电检测器	光电检测器	热检测器
信号处理或读出系统	—	—	—

表 2-6 吸收 / 发射光谱分析仪的组成

构 件	吸收光谱分析仪		发射光谱分析仪	
	原子荧光光谱仪	分子荧光光谱仪和分子磷光光谱仪	原子发射光谱仪	化学发光光谱仪
光源系统	线光源或激光光源	连续光源	—	—
试样引入系统	带有进样功能的火焰原子化器	透光玻璃液池及池架	电弧、火花放电等激发源	透光容器
波长选择系统	通常在发射光路设置一个波长选择系统, 甚至不需要设置波长选择系统	通常在激发光路和发射光路分别设置一个波长选择系统	—	—
检测系统	光电检测器	光电检测器	光电检测器	光电检测器
信号处理或读出系统	—	—	—	—

### 3. 波长选择系统 (分光器、单色器)

典型的单色器的组成: 入射狭缝、准光装置、色散装置、聚焦透镜或凹面反射镜、出射狭缝。

入射狭缝: 限制杂散光进入; 准直装置: 使光束成平行光线传播; 色散装置: 将复合光分解为单色光; 聚焦透镜或凹面反射镜: 使单色光在单色器的出口曲面上成像; 出射狭缝: 将额定波长范围的光射出单色器。

棱镜: 光折射。光栅: 光的干涉与衍射。不同波长的光有不同衍射角, 据此把不同波长的光分开。

2-10 原子光谱为线光谱: 外层电子能级和电子跃迁相对简单, 只存在不同的电子能级, 外层电子跃迁仅仅在不同电子能级之间进行。分子光谱为带光谱: 外层电子跃迁复杂, 还存在振动和转动能级, 分子的外层电子在两个电子能级之间的跃迁, 包含这两个能级的不同转动能级和不同振动能级的跃迁。

原子光谱的谱线强度分布也是峰状的: 尤其体现在原子吸收光谱中, 谱线的形状成为吸收线的轮廓, 变宽是由于自然变宽、多普勒变宽、碰撞变宽、场致变宽和自吸变宽。

## Chapter13 X 射线光谱、光电子能谱

1. X 射线发生: 高能电子的减速运动或原子内层轨道电子跃迁产生的短波电磁辐射。

用高能电子束轰击金属靶; 将物质用初级 X 射线照射以产生二级射线——X 射线荧光; 利用放射性同位素源衰变过程产生的 X 射线发射; 从同步加速器辐射源获得。

2. X 射线特征光谱 特征 X 射线是基于电子在原子最内层轨道之间的跃迁产生的。

3. X 射线荧光 采用从 X 射线管或同位素源出来的 X 射线来激发试样, 此时试样中的元素

将初级 X 射线束吸收而激发并发射出它们自己的特征 X 射线荧光。

4. X 射线衍射 利用 X 射线在晶体物质中的衍射效应进行物质结构分析的技术
5. 光电子能谱 用单色光或电子束照射试样，使电子受到激发而发射，通过测量光电子的相对强度与能量分布关系得到有关信息。
6. 俄歇电子能谱 用具有一定能量的电子束或 X 射线激发试样，以测量二次电子中那些与入射电子能量无关，而本身具有确定能量的俄歇电子峰为基础的分析方法。
7. X-射线荧光定量依据 X 射线的荧光强度

## Chapter14 原子光谱

1. 既然有了锐线光源，为什么还要用单色器？

锐线光源的作用是发射待测元素特征谱线，使之被原子化器中待测元素原子核外层电子吸收。单色器将特征谱线与原子化器在原子化过程中产生的复合光谱色散分离，使检测器能够将特征谱线强度信号转换成电信号进行分析。

2. 原子发射、原子吸收、原子荧光光谱产生的原理。

原子吸收：外界提供特定光辐射能量恰好等于核外层电子基态与某一激发态间的能量差，外层电子将吸收特征能量的光辐射，由基态跃迁到相应激发态，产生原子吸收光谱。

原子发射：依据每种化学元素的原子或离子在热激发或电激发下，发射特征电磁辐射，进行元素定性、半定量和定量的分析方法。

原子荧光光谱：气态基态原子吸收了特征辐射后被激发到高能态，后又跃迁回到低能态或基态，同时发射出与入射光波长相同或不同波长的光。光致发光。

3. 原子发射、原子吸收、原子荧光光谱仪器异同。

原子吸收：锐线光源、原子化器、单色器、检测器、计算机工作站；原子发射：ICP 光源、反射镜、单色器、检测器；原子荧光：光源、原子化系统、单色器、检测器。

相同点：都有光源、单色器、检测器。不同点：原子发射光源作用是蒸发、解离、原子化、激发、跃迁，多采用 ICP，无单独的原子化系统。原子吸收光源多采用空心阴极灯，激发出待测元素的特征谱线，是锐线光源。原子荧光光源可以使用锐线光源，也可以使用连续光源。

4. 原子发射、原子吸收、原子荧光光谱用于定性和定量的理论依据。

### 2. 原子发射光谱：定性：铁谱比较法；标准试样光谱比较法

**定量：I=ac<sup>b</sup> 自吸系数**

**原子吸收光谱：定性：共振吸收线定性，多用于定量**

**定量：A=Kc**

**原子荧光光谱：定性：根据原子荧光的特征波长进行元素定性**

**定量**

**吸收** 
$$A = 0.434 \frac{2\sqrt{\pi \ln 2}}{\Delta \nu_D} \frac{e^2}{mc} N_0 \cdot f \cdot I = k l N_0$$

**发射** 
$$I_f = \phi I_0 k l N_0 \quad I_f = K c$$

上两式是原子荧光定量分析的基本关系式，即**原子荧光强度**  
**与被测定元素浓度或原子密度成正比。**

5. 内标法：待测元素中选出一分析线，于基体元素或基体中不存在的外加元素中选一条与分析线相称的谱线做内标线，二者组成分析线对，以分析线和内标线绝对强度比值与浓度的关系来进行定量分析的方法称为内标法。

## Chapter15-1 紫外-可见吸收光谱

如何解释羰基化合物共轭烯烃  $\pi$ - $\pi$  跃迁红移蓝移?

## Chapter15-2 荧光、磷光光谱

### 1. 荧光、磷光产生的机理

荧光: 处于激发单重态的电子经振动弛豫及内部转移后到达第一激发单重态的最低振动能级后, 以辐射形式跃迁回基态的各振动能级时的发光现象。

磷光: 处于第一激发单重态的最低振动能级的电子, 以系间窜越的方式转至第一激发三重态, 再经过振动弛豫转至其最低振动能级, 由此激发态跃迁回到基态时的光致发光现象。

### 2. 激发态→基态的能量传递途径

辐射跃迁和非辐射跃迁。

辐射跃迁: 荧光发射、磷光发射

非辐射跃迁: 振动弛豫、内转换、外转换 (激发分子与溶剂或其他分子间产生相互作用而

转移能量的非辐射跃迁; 外转换使荧光或磷光减弱或“猝灭”。)、系间跨越

### 3. 荧光、磷光与分子结构的关系

- ① 共轭效应。提高共轭度有利于增加荧光效率并产生红移。
- ② 刚性平面结构。降低分子振动, 减少与溶剂的相互作用, 故有很强的荧光。
- ③ 取代基效应。吸电子基妨碍电子共轭, 给电子基增加共轭, 红移, 对电子共轭体系作用较小的取代基对荧光的影响不明显。

### 4. 影响分子发光的环境因素

- ① 溶剂。溶剂的极性、氢键、配位键的形成都将使化合物的荧光发生变化。溶剂的介电常数增大, 极性增大, 红移; 溶剂粘度增大, 荧光效率增大。溶剂含重原子或溶液溶解氧等, 系间跨越几率增大, 荧光发光效率减小。磷光测定体系中有原子序数较大的原子存在时, 由于重原子的高核电荷引起或增强了溶质分子的自旋轨道耦合作用, 从而增大了  $S_0$ - $T_1$  吸收跃迁和  $S_1$ - $T_1$  体系间窜跃的概率, 即增加了  $T_1$  态粒子的分布数。有利于磷光的产生
- ② 温度升高, 外转换去活几率增大, 荧光效率小; 温度越低, 荧光效率越大。
- ③ 溶液 pH。通过影响有机酸碱与其共轭酸碱的比例对光谱形状产生影响。
- ④ 有序介质。表面活性剂、环糊精溶液。

### 5. 分子荧光 (磷光) 与荧光物质浓度的关系

### 6. 荧光光谱仪构成

激发光源、样品池、双单色器系统、检测器、数据处理、控制系统。两个单色器: 一个是选择激发光波长的单色器, 一个是选择发射光波长的单色器。

### 7. 名词解释: 激发光谱、发射光谱、Stokes 位移、荧光量子产率、荧光共振能量转移

激发光谱: 固定发射波长, 扫描激发波长, 即化合物发射的荧光 (磷光) 强度与激发光波长的关系曲线。

发射光谱: 固定激发光波长 (一般是最大激发光波长), 化合物发射的荧光 (或磷光强度)

与发射光波长关系曲线。

Stokes 位移：激发光谱与发射光谱之间的波长差值。原因：激发态分子通过内部能量转换和振动弛豫过程而迅速达到第一激发单重态最低振动能级，存在无辐射能量损失。

荧光量子产率：荧光物质吸光后所发射的荧光的光子数与所吸收的激发光的光子数的比值。

荧光共振能量转移：两种荧光分子，D 和 A，D 吸收激发光处于激发态 D'，如果附近存在 A，D' 的激发能传给 A，使 A 激发并发荧光。

## Chapter15-3 化学发光

### 1. 化学发光强度与化学发光分析的依据

定量依据：①在一定条件下，峰值光强度与被测物浓度成线性；②在一定条件下，曲线下面积为发光总强度 S，其与被测物浓度成线性。

### 2. 化学发光发生的反应过程

直接化学发光反应，间接化学发光反应。

### 3. 化学发光测量仪器的组成

发光反应室、光检测器、信号放大器、显示与记录

### 4. 名词解释：化学发光、生物发光

化学发光：由化学反应提供的能量激发物质所产生的光辐射

生物发光：产生于生物体系的化学发光

## Chapter15-4 红外吸收光谱

### 1. 名词解释：红外吸收光谱、特征吸收峰

红外吸收光谱：分子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跃迁产生的吸收光谱。

特征吸收峰：由基态跃迁到第一振动激发态产生的，能代表基团存在、并有较高强度的吸收谱带，它所在位置称为特征吸收峰。

### 2. 红外吸收光谱图的表示方法

纵坐标为吸收强度，横坐标为波长和波数（波长的倒数）可以用峰数、峰位、峰形、峰强来描述。

### 3. 产生红外吸收的条件

① 幅射光子的能量应与振动跃迁所需能量相等。

② 辐射与物质之间必须有耦合作用。（分子振动时，必须伴随有偶极矩的变化。

### 4. 影响基团频率的因素

内部因素：

① 电子效应。诱导效应：取代基电负性大，静电诱导电子云分布改变程度大， $k$  增加，移向高波数。

② 共轭效应。电子云密度均化， $k$  降低，移向低波数。

③ 中介效应。带有孤对电子，与多重键相连的取代基产生  $p-\pi$  共轭，类似于共轭效应。

④ 空间效应。空间位阻效应、环状化合物的环张力效应。

⑤ 氢键效应。氢键使伸缩振动频率向低波数方向移动，弯曲振动向高波数方向移动，峰形变宽。

⑥ 振动耦合。两振动频率相同或相近的基团连接在同一个原子上时，其振动频率相互

作用，结果是分裂为两个峰，一个高于原频率，一个低于原频率。

外部因素：

- ① 试样的状态
- ② 溶剂的极性

## 5. 仪器构成

色散型、干涉型

## Chapter15-5 激光拉曼光谱

1. 红外光谱和激光拉曼光谱有何相同点？又有什么重要差别？在物质结构鉴定上主要差异和各自优势？

相同点：都提供分子内部各种简正振动频率及振动能级的信息，可用来鉴定官能团。对于一个给定的化学键，其红外吸收频率与拉曼位移相等。

差别：①产生机理。红外光谱产生机理是分子对红外光的吸收，拉曼光谱的产生机理是分子对入射光的散射。②作用光区位置。红外光谱：入射光和检测光均是红外光；拉曼光谱则均为可见光。③研究对象。红外：会引起偶极矩变化的极性基团和非对称振动；拉曼光谱：适用于研究有相同原子构成的非极性键的振动或对称分子的骨架振动。

2. 名词解释：拉曼效应，拉曼位移，退偏比

拉曼效应：拉曼效应：单色光照射样品时，光子和分子间发生非弹性碰撞散射，交换能量使光子的方向和频率发生变化，这种与入射光频率不相同，且方向改变的散射为拉曼散射，这种现象为拉曼效应。

拉曼位移：Stokes 线或反 Stokes 线与入射光频率差。

退偏比：

3. 测定拉曼光谱的光源是什么？

高强度激光

## Chapter16 核磁

1. 核磁共振的条件

核自旋体系、静磁场、射频场

核自旋体系：质量数为偶数，原子序数为奇数的原子；质量数为奇数，原子序数为偶数或奇数的原子，自旋量子数都不为 0，有核自旋现象。

静磁场：当自旋核处在外磁场中时，会产生进动。由于磁矩与磁场相互作用，核磁矩相对外加磁场有不同取向，每种取向对应一定能量状态。

施加射频场时，处于低能态的核将吸收射频能量而跃迁至高能态，这种现象叫核磁共振现象。

2. 化学位移

氢核具有不同的屏蔽常数，引起外磁场或共振频率的移动，这种情况称为化学位移。

3. 自旋耦合、自旋裂分、耦合常数

自旋耦合：自旋核之间相互作用。

自旋裂分：自旋耦合引起的吸收峰裂分，使谱线增多的现象。

耦合常数：自旋耦合裂分峰之间的间距称为耦合常数。

## Chapter17 质谱分析



## 1. 质谱原理

试样中各组分在离子源中电离，生成不同荷质比的离子，经电场加速形成离子束，进入质量分析器。利用电场和磁场使离子在质量分析器中发生速度色散，分别聚焦到检测器上而得到质谱图或质谱表。

## 2. 质谱仪的基本结构

进样系统、离子源、质量分析器、检测器、信号记录与显示系统。

## 3. 离子化方法（离子源）

分为气相离子源和解吸离子源，也可分为硬电离源和软电离源。

电子电离源 (EI)：气相离子源，也称电子轰击电离源，硬电离源。主要用于挥发性样品的电离。

化学电离源 CI：气相电离源，软电离源。工作过程中要引进一种反应气体。

场电离源 FI：气相电离源，软电离源。应用强电场诱导样品电离的一种离子化方式。

场解吸电离源 FD：解吸电离源，软电离。使用了和场电离源相似的多针尖发射场，样品涂在针尖上，直接离子化，适用于非挥发性、热不稳定的生物样品或相对分子质量高达100000的高分子物质。

快原子轰击源 FAB：解吸离子源、硬电离。用中性原子代替离子以避免样品在分析过程中带电。该法以一束中性气体粒子轰击样品探头上的试样，产生的样品离子束通过组透镜聚焦到仪器的入口狭缝上，进入质量分析器。主要用于极性、难汽化，热稳定性差，高分子量的样品分析。

一次离子轰击源 PIB：解吸、硬电离。使用一定能量的一次离子轰击试样表面，使试样原子或分子产生二次离子进入质量分析器，构成了二次离子质谱仪。有机和生物样品的表面和深度分析。

热喷雾 TS：软电离。离子蒸发理论

电喷雾电离源 ESI：软电离。喷射器使喷出的液体分散成微滴，微滴蒸发过程中表面的电荷密度逐渐增大，当增大到某个临界值时，离子就可以从表面蒸发出来。离子产生后，借助于喷嘴与锥孔之间的电压，穿过取样孔进入分析器。适合极性的大分子和小分子化合物分析。

大气压化学电离源 APCI：软电离。与 ESI 结构大致相同，区别在于其喷嘴下游有一个针状放电电极，从 LC 流出的样品液进入具有雾化气套管的毛细管，被氮气流雾化，通过加热管时被气化。电晕放电完成电离。用来分析中等极性或非极性化合物。分子量不能太大。

解吸电喷雾电离源 DESI：软电离。

基质辅助激光解吸电离源 MALDI：软电离。将样品置于涂有基质的样品靶上，用脉冲激光束经聚焦后照射样品，基质和样品吸收激光能量而气化，激光先将基质分子电离，然后在气相中基质将质子转移到样品分子上使样品电离。生物大分子。

电感耦合等离子体 ICP：当高频发生器通电后，高频电流通过感应线圈产生交变磁场。开始时，管内为氩气，不导电，当用高压电火花触发，使气体电离后，在高频交流电场作用下，带电粒子高速运动，碰撞，形成“雪崩”式放电，产生等离子体气流。垂直于磁场方向将产生感应电流，其电阻很小，电流很大，产生高温。又将气体加热、电离，在管口形成稳定的等离子体焰炬。

## 4. 质量分析器

磁质量分析器

双聚焦分析器 消除离子能量分散对分辨率的影响 通常在扇形磁场前加一个扇形静电场，构成双聚焦质量分析器。



四极杆分析器 由四根电极杆和施加于 x, y 方向的高压射频组成的电场分析器。四极场只允许具有适当稳定振幅质荷比的离子通过, 进入检测器被检测。

飞行时间质量分析器 离子在加速电场在作用下得到动能, 到达检测器的时间与质荷比的平方根成正比, 可分开检测不同质荷比的离子。

离子阱质量分析器 将离子通过电场限定在有限空间内的装置, 被限定的离子处于“稳定区”, 通过调整电场参数, 使离子进入“不稳定区”, 质荷比从小到大的离子逐次脱离离子阱, 进入检测器被记录而获得质谱图。

傅里叶变换离子回旋共振分析器 离子在强磁场作用下作圆周运动, 回旋频率与离子质量成反比, 此时不产生可检出信号。如果施加以交变电场, 当其频率与离子回旋频率相等时发生共振, 离子吸收射频能量, 运动轨道半径增大, 在捕集板上会检测到感应电流信号。这种信号是一种正弦波, 振幅与共振离子数成正比, 在停止交变电场后观测到。在磁感应强度不变的条件下, 通过不同频率扫描, 可以获得不同质荷比离子的信息。

离子迁移分析器 待测物质分子加热气化后, 经过具有选择性能的半透膜进入迁移管。不同分子被电离源电离后形成的分子离子团在迁移管电场作用下以不同速度向检测器迁移, 最终在检测器上形成电流脉冲, 产生离子迁移谱图。

#### 5. 名词解释: 质谱分辨率、ICP-MS、分子离子峰、MALDI-TOF-MS、ESI-MS

质谱分辨率: 质谱仪区分两个质量相近的离子的能力。

ICP-MS 电感耦合等离子体质谱仪

分子离子峰 样品分子失去 1-2 个电子 (多数为 1 个电子) 而得到的离子称为分子离子, 其对应的离子峰为分子离子峰。

MALDI-TOF MS 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪

ESI-MS 电喷雾电离质谱仪

## Chapter18 电化学分析

### 1. 电位分析法

电位分析法: 利用电极电位与浓度的关系测定物质含量的电化学分析法。仪器结构: 测量体系有两个电极与测量溶液直接接触, 相连导线又与电位计连接构成一个化学电池通路。

### 2. 伏安法和循环伏安法

伏安法: 一种特殊的电解方法, 以小面积的工作电极和参比电极组成电解池, 电解被分析物质的稀溶液, 由所测得的电流-电压特性曲线来进行定性和定量分析的方法。极谱法和伏安法的不同点是工作电极不同。伏安法工作电极面积不变化, 使用固体点击和悬汞电极, 极谱法工作电极面积变化, 使用滴汞电极。

循环伏安法: 控制电极电势随时间以三角波形扫描, 使电极上交替发生还原和氧化反应, 记录电流-电势曲线。根据曲线形状可以判断电极反应的可逆程度, 中间体、相界吸附或新相形成, 偶联化学反应性质等。书 p390

### 3. 库伦分析

库伦分析法: 在电解分析法的基础上发展起来的一种分析方法, 不是测量电解析出物的重量, 而是测量被测物质在 100% 电流效率下电解所消耗的电量来进行定量的方法, 定量依据是法拉第定律。适用于痕量物质分析。

### 4. 化学修饰电极

化学修饰电极是将化学修饰剂 (单分子、多分子、离子或聚合物等) 固定在电极表面, 通过电子传递反应而使其呈现出某些电化学性质的一类电极。

### 5. 离子选择电极

离子选择电极是一类利用膜电势测定溶液中离子的活度或浓度的电化学传感器，当它与含待测离子的溶液接触时，在它的敏感膜和溶液的相界面上产生与该离子活度直接相关的膜电势。

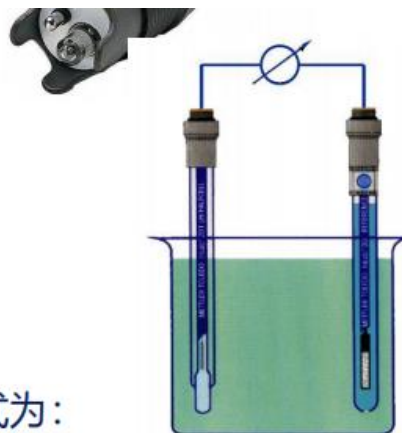
#### 6. pH 计的原理

当使用玻璃 pH 电极测量 pH 时，与饱和甘汞电极参比电极组成电池，电池图解为

### 18.3.5.1 pH值的实用定义及其测量

#### 1. pH值的实用定义

当使用玻璃pH电极测量pH时，与饱和甘汞参比电极组成电池。电池图解式为：



## Chapter19-1 分离分析概论

### 1. 分离方法的分类及依据

### 2. 概念：固相萃取 固相微萃取 超临界流体萃取 膜分离

固相萃取：以小颗粒多孔固相吸附剂选择性吸附目标物，再用小体积洗脱剂洗脱或热解吸得到目标物。

固相微萃取：目标物在溶剂和纤维表面涂层间选择性分配。

超临界流体萃取：用超临界流体为萃取溶剂的萃取分离、富集技术。

膜分离：以选择性透膜为分离介质，在膜两边施加一个推动力（如浓度差、压力差或电位差）时，使原料侧组分选择性地透过膜，以达到分离提纯的目的。通常膜原料侧称为膜上游。

## Chapter19-2 色谱分析导论

### 1. 概念和术语

基线：无样品时的电信号，反应仪器噪声的情况。

色谱峰：流出曲线上突起部分。

色谱峰高：组分洗出最大浓度时检测器输出的响应值。

色谱峰区域宽度：色谱峰的区域宽度是色谱流出曲线的一个重要参数。有三种表示方式：

标准差：利用色谱峰是标准的高斯曲线。半峰高宽度：峰高一半处的宽度。由色谱流出曲线方程导出。色谱峰底宽：色谱曲线两边的拐点作切线，与基线交点间的距离。

色谱峰面积：色谱曲线与基线间包围的面积。

### 2. 塔板理论、速率理论

### 3. 分离操作条件优化

- ① 提高理论塔板数。
    - A) 适当增加柱长。
    - B) 提高柱效
  - ② 调节、控制保留因子
  - ③ 提高选择性因子。 $\alpha$ 是影响 R 的最敏感因素。提高 $\alpha$ 值的措施：改变流动相组成，改变柱温，改变固定相。
4. 标准校正法、外标法、内标法
- 标准校正法（外标法）：最直接的定量方法。按标准浓度与相应峰面积或峰高作标准曲线，以标准曲线求出每个组分浓度或量。
- 内标法：选择一个一般不存在于样品中的合适内标化合物。
- 峰面积归一化法
5. 公式

## Chapter19-3

1. 气相色谱仪基本构成  
气路、进样、分离、控温、检测、数据系统。核心部件：色谱柱和检测器。
2. 气相色谱仪检测器  
Ppt20 书 p452
3. 毛细管柱的速率理论方程
4. 名词解释：程序升温、气固色谱、气液色谱  
程序升温：程序升温指柱温随时间由低温向高温变化，以达到用最短时间获得最佳分离的目的。  
气固色谱：固定相为固体吸附剂和高分子微球。如硅胶、活性炭、氧化铝、分子筛。  
气液色谱：固定相为载体颗粒表面涂覆的固定液（高沸点液态有机物）。

## Chapter19-4 平面色谱

1. 名词解释：薄层色谱、比移值  
薄层色谱：TCL 将固定相吸附剂均匀地涂在支撑板上，分析物在固定相和展开剂（流动相）之间不断地发生溶解、吸附过程。不同的物质在两项间分配系数不同，移动的距离不同，形成相互分开的斑点，从而达到分离。  
比移值：原点中心至斑点中心的距离/原点中心至溶剂前沿的距离
2. 薄层色谱的固定相、流动相、驱动力、分离的原理。  
固定相：吸附剂。  
流动相：即展开剂。  
驱动力：各成分对同一吸附剂的吸附能力不同。  
分离的原理：不同物质在两项间分配系数不同。

## Chapter19-5 液相色谱

1. 液相色谱的分离模式（保留机理）、  
吸附色谱 分配色谱 离子交换色谱 尺寸排阻色谱 亲和色谱
2. 高效液相色谱仪的组成  
高压泵系统、流动相贮器和溶剂处理系统、进样系统、色谱柱、检测器。
3. 高效液相色谱的检测器

光吸收检测器 荧光检测器 示差折光率检测器 蒸发光散射检测器 电化学检测器

4. 名词解释：正向色谱、反相色谱、梯度洗脱

正向色谱：固定相极性大于流动相极性。

反相色谱：固定相极性小于流动相极性。

梯度洗脱：在同一个分析周期中，按一定程序改变流动相的浓度配比，也成为梯度淋洗。

使复杂样品中的性质差异较大的组分能按各自适宜的容量因子  $k$  达到良好的分离目的。

## Chapter19-6 电泳

1. 名词解释：电泳淌度、电渗流、SDS-PAGE、等电聚焦电泳、毛细管电泳、Western Blot、Southern Blot

电泳淌度：定义为单位场强下离子的平均电泳速度。

电渗流：当在毛细管两端施加高压电场时，双电层中溶剂化的阳离子相阴极运动，通过碰撞作用带动溶剂分子一起向阴极移动，形成电渗流。

SDS-PAGE：十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS 破坏蛋白质分子间作用力，使其变性，改变构象，并与之结合形成椭圆棒状复合物。不同蛋白的椭圆短轴不变，长轴与分子量成正比。在凝胶网络中穿行时，短蛋白快于长蛋白，出现尺寸分离。

等电凝胶电泳：在凝胶中加入两性电解质载体，当直流电通过时，形成一个由阳极到阴极 pH 值逐步上升的梯度。两性化合物在此电泳过程中，被浓集在与其等电点相等的 pH 区域，使不同化合物按其等电点得到分离。

Western Blot：PAGE 凝胶比较脆，不利于后续处理，可转移到比较坚固韧性的膜上，再与一抗、酶标记二抗顺序反应，洗掉未反应抗体后置于底物溶液中培育，由底物显示出谱带，可特异性检测目标蛋白抗原。

Southern Blot：具有一定同源性的两条核酸单链在一定条件下，可按碱基互补的原则特异性杂交形成双链。一般利用琼脂糖凝胶电泳分离经限制性内切酶消化的 DNA 片段，将胶上的 DNA 变性并在原位将单链 DNA 片段转移至尼龙膜或其他固相支撑物上，经干烤或紫外线照射固定，再与相对应结构的标记探针进行杂交，用放射自显影或酶反应显色，从而检测特定 DNA 分子的含量。

2. 两种常规凝胶电泳及其应用

两种常规凝胶电泳：琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶电泳（利用凝胶对生物大分子的阻力不同，通过附加电场使不同分子按照分子量大小在凝胶中得到分离），脉冲场凝胶电泳（两个不同方向的电场周期性交替进行，DNA 分子在交替变换方向的电场中作出反应所需的时间取决于它的大小。。）

3. 毛细管电泳的分离原理

Slide54 电渗流 电泳

4. 毛细管电泳的分离模式 p517

毛细管区带电泳（CZE）

胶束电动色谱（MEKC）

毛细管等电聚焦（CIEF）

毛细管凝胶电泳（CGE）

非胶毛细管电泳(NGCE)

毛细管等速电泳（CITP）

## Chapter19-7 其他分离方法

名词解释：LC-MS,GC-MS,超临界流体色谱

## Chapter20 显微分析

### 1. SEM 与 TEM 的异同

相同点：都是通过检测电子束与样品相互作用产生的信号，得到样品的显微分析参数。

仪器结构都有照明系统、透镜系统、样品室、成像部分、图像观察和记录系统。

不同点：

- ① 基本原理。TEM 利用高速运动的电子穿透样品，与样品产生相互作用后，经电磁物镜成像，将样品内的结构与形貌特征反映出来。SEM 利用高速电子照射到固体样品表面，发生相互作用，产生背散射电子、二次电子、俄歇电子、特征 x 射线等信息，解析这些信息得到表面形貌和化学成分的信息。
- ② 像。TEM 的像是图像上不同区域间明暗程度的差别。SEM 主要采用二次电子和背散射电子信息成像，形成二次电子像和背散射电子像。
- ③ 仪器组成。TEM 成像部分有物镜、中间镜、投影镜，SEM 只有两块透镜。SEM 有扫描系统，将电子束聚焦到一点。
- ④ 制样。SEM 制样简单，可以直接观察样品表面或镀金属膜后观察。TEM 样品制备精细复杂，必须用专门制样设备，制成几个微米或 100nm 厚的薄片。
- ⑤ 应用。TEM 获得材料内部结构和形貌特征，可以观察原子晶格像，分辨率高。SEM 获得材料表面或者断面的组织形态。分辨率低。

### 2. 冷冻电镜

利用冷冻固定技术，低温下使用透射电子显微镜观察样品，使用三维重构技术得到生物大分子的结构。

仪器结构：与透射电子显微镜基本结构相似，只是在进样之前搭载了液态乙烷罐与冷冻仓，保证样品在快速冷冻后能够即刻转移到样品仓内。冷冻室、电子枪、图像生成系统、图像记录系统。

### 3. STM 与 AFM 的异同

相同点：都属于探针显微镜。设备结构大致相同，控制系统相同。

不同点：

- ① 工作原理。STM 利用针尖与样品之间隧道电流对样品表面进行表征。AFM 利用柔性悬臂梁感知针尖和样品之间的相互作用力。
- ② 应用。STM 目前分辨率最高的显微镜，可以分析得到局域电子态密度在能量空间上的分布，只能在导电物体表面测量。AFM 可用于不导电样品。

### 4. 荧光显微镜与激光共聚焦显微镜的异同

激光共聚焦显微镜：以激光作为激发光源，采用光源针孔与检测针孔共轭聚焦技术，对样品进行断层扫描，以获得高分辨率光学切片的荧光显微镜系统。荧光显微镜：用于研究荧光或荧光标记物质的光学显微镜。

相同点：都是获得样品的荧光信号。

区别：

- ① 激光共聚焦显微镜可以抑制图像的模糊，获得清晰的图像；
- ② 轴向分辨率。激光共聚焦显微镜轴向分辨率更大，并可获得连续的光学切片。
- ③ 侧向分辨率。激光共聚焦显微镜增加侧向分辨率。
- ④ 杂散光。激光共聚焦显微镜由于点对点扫描去除了杂散光的影响。
- ⑤ 光源。荧光显微镜光源不是激光。

### 5. 超分辨率荧光显微镜

Slide43-57