



# 现代仪器分析复习提纲

**Review Outline on Modern Instrumental Analysis**

作者：化生 81 期末资料编写组

组织：化生试验班 81

时间：2020 年 6 月 6 日

版本：v1.0



**西安交通大学**  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

## 作品信息

- 标题：现代仪器分析复习提纲 - *Review Outline on Modern Instrumental Analysis*
- 作者：化生 81 期末资料编写组
- 出品时间：2020 年 6 月 6 日
- 总页数：**73**

## 关于本提纲用途的说明

- 主要用于化生试验班的备考，并且会在西安交通大学范围内共享；
- 这份提纲旨在助力备考，内容比较精简，供理解的内容较浅，习题也不充足，所以对于希望补充专业知识为将来所用的同学可能是不够的，只能当做入门的读物。如果希望深入学习，可以参考最新的教材或网络课程资源；
- 如果将来有关专业的同学需要参考这份提纲，可能需要考虑到课程大纲的调整。
- 如希望补充本提纲的内容，或认为笔记有错漏或待完善之处，欢迎联系资料负责人。

- 化生 81 高旭帆  邮箱: gxf1212@stu.xjtu.edu.cn
- 化生 81 郭骐瑞  邮箱: bilianna1204@gmail.com

## 主要参考资料

- 刘密新等. 仪器分析（第二版）[M]. 北京: 清华大学出版社, 2002
- 三位老师的课件。在此要向三位授课教师：魏晶老师、武亚艳老师、赵永席老师表示衷心的感谢！
- 一些网络资源

## 许可证说明

知识共享 (Creative Commons) BY-NC-ND 4.0 协议

本作品采用 **CC 协议** 进行许可。使用者可以在给出作者署名及资料来源的前提下对本作品进行转载，但不得对本作品进行修改，亦不得基于本作品进行二次创作，不得将本作品运用于商业用途。

本作品已发布于 GitHub 之上，发布地址为：

<https://qyxf.site/bookhub>

本作品的版本号为 v1.0。

本提纲使用了 ElegantL<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X 模板进行排版，并进行了微小的调整，在此也要感谢模板的制作者。

## 编写说明

随着科技的进步，各种仪器逐渐成为科学研究中心必不可少的工具。为了探寻微观世界的奥秘，精确探测物质结构、含量、分布，获取有关研究体系的信息，研究人员都必须借助仪器这只“眼睛”。正是因为有了更精良的仪器，很多领域的科学问题才得以逐渐被科学家解决。可以说，没有仪器，就没有如今的科学成果。

《现代仪器分析》是化生试验班的一门专业核心课程，占 2 学分，讲授共 32 学时，由生命学院开设。课程涉及的主要学科是 **分析化学**，旨在帮助同学们掌握化学和生物研究中常用也是基础的仪器的原理、结构、适用范围等，为将来进入实验室进行实际操作打下理论基础。这些分析手段的主要目的有二：检测（定性、定量）和分离，几乎每一章节在两方面都有所涉及。不过，各章节之间并没有紧密的联系，几乎是独立进行学习的。这些检测手段相互补充，共同构成了这门课的知识体系。

本课程的期末考试占总成绩的 70%，所以期末综合复习显得比较重要。为了明确课程要求同学掌握的内容，授课教师提供了一份提纲，为同学指明了需要复习的重点内容。为了方便同学们复习，化生 81 班班委组织了一些成绩优秀的学生梳理了提纲涉及的具体知识点，并用 **LATEX** 整理成书。课程内容主要分为八章，分别列于下方框中。

### 编写组成员

- 张天翊：第一章 色谱
- 王炜喆：第二章 质谱
- 何琦璟：第三章 紫外-可见吸收光谱
- 张宇博：第四章 分子发光分析
- 郭骐瑞：第五章 红外光谱和拉曼光谱
- 程肖然：第六章 核磁共振波谱
- 高旭帆：第七章 电化学分析
- 刘祎宁：第八章 原子光谱
- 高旭帆、郭骐瑞：排版、设计、整理

在此要对组织、编写和排版人员表示衷心的感谢！

在这份提纲中，有大量知识点需要记忆，希望同学们根据提纲有侧重点地复习。同时，这是化生试验班的第一份集体复习资料，各位编写者、排版者的风格可能有一定差异，内容、细节也存在可能的疏漏，必要时读者可以查阅课本、课件等其他资料。欢迎大家对这份提纲提出建议，也更希望大家多多支持我们的作品！

最后，我们希望这份提纲能帮助同学们取得一个理想的成绩！

化生 81 期末资料编写组

2020 年 5 月 17 日

# 目录

<b>1 色谱</b>	<b>1</b>
1.1 色谱基本概念与术语 . . . . .	1
1.2 色谱两大理论 . . . . .	3
1.3 气相色谱仪 . . . . .	6
1.4 高效液相色谱法 . . . . .	8
1.5 几种色谱法 . . . . .	9
1.6 毛细管电动色谱和毛细管电泳 . . . . .	11
<b>2 质谱</b>	<b>14</b>
2.1 质谱 . . . . .	14
2.2 质谱仪 . . . . .	14
2.3 质谱谱图解析 . . . . .	20
<b>3 紫外-可见吸收光谱</b>	<b>25</b>
3.1 紫外可见光谱及其产生机理 . . . . .	25
3.2 影响紫外-可见光谱的因素 . . . . .	27
3.3 紫外-可见分光光度计 . . . . .	29
3.4 紫外可见吸收光谱 . . . . .	30
<b>4 分子发光分析</b>	<b>32</b>
4.1 分子发光及其产生原理 . . . . .	32
4.2 荧光定量分析基础 . . . . .	33
4.3 荧光分光光度计 . . . . .	36
<b>5 红外吸收光谱与拉曼光谱</b>	<b>38</b>
5.1 红外光谱的产生条件及原理 . . . . .	38
5.2 红外吸收仪的结构 . . . . .	39
5.3 红外谱图的官能团吸收与谱图解析 . . . . .	40
5.4 拉曼散射与拉曼光谱 . . . . .	44
<b>6 核磁共振波谱</b>	<b>47</b>
6.1 核磁共振产生的基本条件 . . . . .	47
6.2 核磁共振的基本概念 . . . . .	48
6.3 自旋-自旋耦合和裂分的规律 . . . . .	49
6.4 一级谱图的解析 . . . . .	50
6.5 核磁共振波谱仪 . . . . .	53
6.6 $^{13}\text{C}$ 谱 . . . . .	54

6.7	解谱例题	55
<b>7</b>	<b>电化学分析</b>	<b>57</b>
7.1	电化学的基本概念	57
7.2	电位分析法	58
7.3	电解和库仑分析法	60
7.4	伏安分析法	62
<b>8</b>	<b>原子光谱</b>	<b>66</b>
8.1	原子发射光谱的分析方法	66
8.2	原子发射光谱的仪器	67
8.3	原子吸收光谱	69

# 排版格式介绍

## 内容提要

- 概念及定义
- 公式
- 笔记
- 例子

以上是内容提要，大致概括本章的考点。

## 几种环境

我们将把每一个大问题作为一个 section。

排版过程中的定义我们使用如下格式：

### 概念及定义

definition



或者直接使用

### 原理

principle



一些比较重要的公式我们使用如下格式

### 公式/定理

theo



因为保留了老师提供的提纲的顺序，我们并没有编号，否则会有点乱。



**笔记** 需要补充、解释的我们加在这里

**例** 举例、例题我们放在这里

# 第一章 色谱

## 内容提要

- |                                |                     |
|--------------------------------|---------------------|
| □ 基本概念与术语（理解）                  | □ 几种色谱法的应用特点（熟悉）    |
| □ 塔板理论和速率理论（掌握）                | □ 色谱技术在生物分析中的应用（了解） |
| □ 气相色谱仪的结构、检测器特点、检测方法（掌握）      | □ 毛细管电动色谱、毛细管电泳（了解） |
| □ 高效液相色谱法的特点（了解）、主要部件及分析流程（熟悉） |                     |

## 1.1 色谱基本概念与术语

### 1.1.1 分类

色谱 (Chromatography) 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。

- 按流动相分：气相色谱 (GC)、液相色谱 (LC)、超临界流体色谱 (SFC);
- 按机理分：吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱、排阻 (凝胶) 色谱等等;
- 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);
- 按分离效率分：经典液相色谱和高效液相色谱 (HPLC)。

研究核心：选择最合适的色谱体系和条件，在最短的时间内达到最佳的分离效果。

### 1.1.2 概念

- 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（一般为高斯分布曲线）。
- 基线：无组分通过色谱柱时，检测器的噪声随时间变化的曲线。
- 峰宽：峰底宽  $W_b$ 、峰半宽  $W_{1/2}$ 、标准偏差  $\sigma$  的关系是（如图1.1）

#### 峰宽的关系

$$W_b = 4\sigma$$

$$W_{1/2} = 2\sqrt{2 \ln 2}\sigma$$



### 4. 保留值

- 保留时间  $t_R$ : 进样到出现色谱峰的时间。
- 保留体积  $V_R$ : 进样到出现色谱峰时消耗的流动相体积。

<sup>1</sup>保留：retention

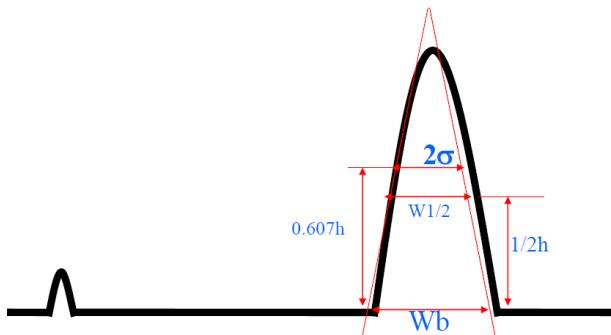


图 1.1: 色谱峰示意图

和保留时间的关系:  $V = t \times F$ ,  $F$  是流动相线速度。

- 死时间  $t_0$  ( $t_M$ ): 流动相流过色谱柱的时间。(另一种理解是不被固定相吸附的组分如甲烷、空气的保留时间。)
- 死体积  $V_0$  ( $V_M$ ): 色谱柱的空隙体积。
- 校正保留时间:  $t'_R = t_R - t_0$ 。
- 校正保留体积:  $V'_R = V_R - V_0$ ,

校正: 死时间/死体积反映柱和仪器系统的几何特性, 与被测组分性质无关, 故通过校正来更好地反应被测组分的保留特性。

## 5. 相对保留值

某一组分 1 的校对保留值和标准物 2 的校对保留值之比, 称为组分 1 对 2 的相对保留值。相对保留值仅随柱温及固定相变化。

### 相对保留值

$$r_{1,2} = \frac{t'_{R_1}}{t'_{R_2}} = \frac{V'_{R_1}}{V'_{R_2}}$$



## 6. 分配系数与分配比 (容量因子)

分配系数  $K$ : 一定  $T$ 、 $p$ , 两相达平衡后, 组分在固定相和流动相<sup>2</sup>质量体积浓度的比值。

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

分配比  $k$ : 一定  $T$ 、 $p$ , 两相达平衡后, 组分在固定相质量 ( $p$ ) 和流动相质量 ( $q$ ) 的比值。

$$k = \frac{p}{q}$$

$K$  与  $k$  的关系<sup>3</sup>:

$$K = \frac{C_s}{C_m} = \frac{p/V_s}{q/V_M} = k \frac{V_0}{V_s}$$

<sup>2</sup>流动相: moving phase; 固定相: stationary phase

<sup>3</sup>都是对于单个物质而言

**k 与保留值的关系**

$$k = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

$$t_R = t_0(1 + k)$$

**7. 分离效能的指标**

- 选择性（相对保留值）：相对保留值越大，选择性越好。仅由两组分热力学性质决定，与色谱柱无关。
- 峰宽度
- 分离度：考虑了保留时间和峰宽度，是一个综合指标。

**分离度**

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{(W_{b_2} + W_{b_1})/2} \quad (1.1)$$

这是最原始的表达式。



- $R < 1.0$ , 两峰明显重叠;
- $R = 1.0$ , 两峰分离度达 97.7%;
- $R \geq 1.5$ , 两峰完全分开。

## 1.2 色谱两大理论

### 1.2.1 塔板理论

- 目的：从理论上得出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。
- 两大假设：色谱柱存在多级“塔板”，每级塔板包含一个流动相和固定相，各自含一定量的各种组分；每种组分通过时，在每级塔板处，两相间达到一次平衡。

简单推导如下：

设某一组分的分配比  $k = \frac{p}{q}$ ，经过一次转移（流到下一个塔板）后，0 级塔板上组分的百分含量为  $p' = \frac{p}{q+p} = \frac{k}{1+k}$ ，1 级塔板上组分的百分含量为  $q' = \frac{q}{q+p} = \frac{1}{1+k}$ 。经多次转移，组分在各级塔板的百分含量将符合二项分布，即  $(p' + q')^N$ ， $N$  为转移次数。任一级塔板  $r$  对应的百分含量为：

$$f_{N,r} = \frac{N!}{r!(N-r)!} \left(\frac{1}{1+k}\right)^r \left(\frac{k}{1+k}\right)^{N-r}$$

以此作图即得流出曲线。

$N$  特别大时，将呈正态分布：

$$C = C_{max} \times \exp\left\{-\frac{n(t_R - t)^2}{2t_R^2}\right\}$$

$C_{max}$  其实就是峰高。对比标准正态分布曲线得：

$$\sigma^2 = \frac{t_R^2}{n}$$

由  $W_b$ ,  $W_{1/2}$  与  $\sigma$  的关系，得理论塔板数  $n$  的计算方法：

### 塔板数计算公式

$$n = \left( \frac{t_R}{\sigma} \right)^2 = 16 \left( \frac{t_R}{W_b} \right)^2 = 5.54 \left( \frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 \quad (1.2)$$

注意  $t_R$  是热力学常数，即样品、热力学条件不变时为定值。

有效塔板数  $n_{eff}$  为：

$$n_{eff} = \left( \frac{t'_R}{\sigma} \right)^2 = 16 \left( \frac{t'_R}{W_b} \right)^2 = 5.54 \left( \frac{t'_R}{W_{1/2}} \right)^2$$

$n$  与  $n_{eff}$  的关系为：

$$\frac{n_{eff}}{n} = \left( \frac{k}{k+1} \right)^2 \quad (1.3)$$

固定物质时，二者成正比。



小结： $H = L/n$  为塔板高度， $L$  为色谱柱长，其他条件不变只是增长色谱柱时， $H$  不变。

影响色谱柱效率的是  $H$  ( $n$ )， $H$  越小， $n$  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。

塔板理论的缺陷：半经验性理论；忽略了纵向扩散的影响；假设不可能完全实现；无法给出影响塔板高度的因素等。

## 1.2.2 速率理论

### Van Deemter 方程

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

$u$  是流动相线速度。



1.  $A$  是涡流扩散项：固定相填充不均匀引起的峰展宽，与颗粒直径正相关。使用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。对于空心毛细管柱， $A$  项为 0。

$$A = 2\lambda d_p$$

$\lambda$ : 填充的不规则因子； $d_p$ : 固定相颗粒粒径

2.  $B/u$  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  $B$ 。

$$B = 2rD_m$$

$r$ : 弯曲因子 (填充柱  $r < 1$ , 空心柱  $r = 1$ ),  $D_m$ : 组分在流动相的扩散系数

3.  $Cu$  是传质阻力<sup>4</sup>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。

$$C = q \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_f^2}{D_s} + \omega \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_p^2}{D_m}$$

两项分别为固定相和流动相传质阻力。

$H$  对  $u$  求导可推出:

$$H_{min} = A + 2\sqrt{BC}$$

$$u_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

### 1.2.3 分离条件的选择

联立上述公式<sup>5</sup>可得:

色谱分离的基本方程

$$R = \frac{(r_{2,1} - 1)k}{4r_{2,1}(1+k)} \sqrt{n} \quad (1.4)$$

可以变形为

$$n_{eff} = 16R^2 \frac{r_{2,1}^2}{(r_{2,1} - 1)^2} \quad (1.5)$$



备考时, 需要大家理解两个理论中公式的含义, 并掌握计算的方法。

**例** 有一根 1m 长的柱子, 分离组份 1 和 2, 色谱图数据为:  $t_M = 5\text{s}$ ,  $t_1 = 45\text{s}$ ,  $t_2 = 49\text{s}$ ,  $W_1 = W_2 = 5\text{s}$ 。若欲得到  $R = 1.2$  的分离度, 有效塔板数应为多少? 色谱柱要加长到多长?

**解** 首先计算相对保留值

$$r_{2,1} = \frac{t_2 - t_M}{t_1 - t_M} = 1.1$$

$R = 1.2$  时对应的塔板数:

$$n' = 16R^2 \frac{r_{2,1}^2}{(r_{2,1} - 1)^2} = 2788$$

计算 1m 长柱子中有效塔板数

$$n = 16 \left( \frac{t_2 - t_M}{W_2} \right)^2 = 1239$$

所以

$$L = \frac{n'}{n} \times 1 = 2.25(\text{m})$$

<sup>4</sup>传质: 溶解、扩散、转移的过程。传质阻力: 影响传质过程的阻力。

<sup>5</sup>这里近似  $W_{b_1} \approx W_{b_2}$ , 代入式(1.1),(1.2)即可推得。需注意,  $n_{eff}$  与被分离的组分无关, 只和色谱柱、条件有关, 此时代入  $n_{eff} = 16 \left( \frac{t'_R}{W} \right)^2$  对于不同组分会算出不同的结果, 这是前一步近似导致的。

## 1.3 气相色谱仪

### 1.3.1 气相色谱仪的结构组成

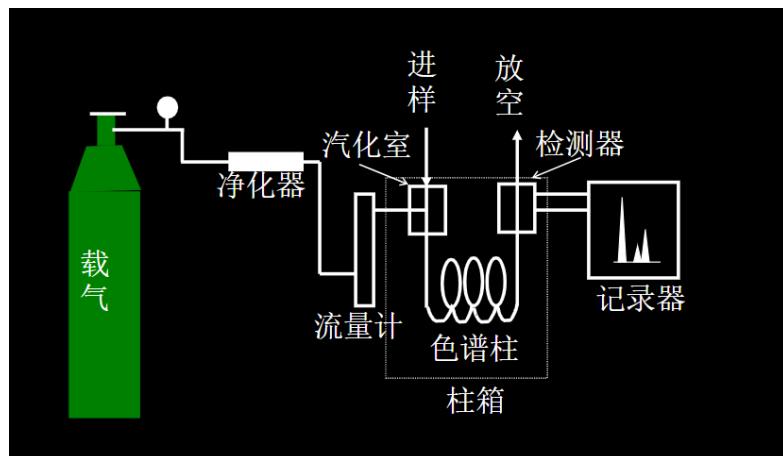


图 1.2: 气相色谱仪

1. 载气系统: 要求纯净 (净化器)、稳定 (稳压阀或双路气)。

常用  $H_2$ ,  $N_2$ , He。

2. 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）。

3. 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

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



4. 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。

5. 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。

### 1.3.2 气相色谱常用的检测器

检测器的性能指标:

- 灵敏度  $S$ : 样品量变化引起信号变化程度越大，灵敏度越高。 $S = \frac{\Delta R}{\Delta Q}$ ,  $R$ : 峰高

或面积； $Q$ ：浓度或质量

- 检测限：三倍噪音相当的物质的量称为检测限。 $D = \frac{3N}{S}$ ,  $N$  为噪音，单位为 mV
- 线性范围：指检测器信号与样品浓度之间成正比关系的范围。

常用检测器：

#### 1. 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）

#### 2. 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 ( $10^{-12} \text{ g/s}$ )，线性范围宽
  - 不能检测惰性气体、空气、 $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  等。
  - 检测物质：适于有机物的检测

#### 3. 电子俘获检测器 (ECD)

- 原理：载气在  $\beta$ -射线源下电离形成稳定的基流，卤素、S, P, O, N 等电负性高的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, N 有很强的响应
  - 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, N 等电负性较强原子的物质

#### 4. 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

### 1.3.3 气相色谱的分离

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：选择极性或氢键型固定液，不易形成氢键的后出峰。

如何判断极性：

**例** 选取两种分析对象 A, B:  $\beta, \beta$ -二丙酮、角沙烷，以待测固定液为固定液制成色谱

柱，求三种固定液中的：

$$q = \lg \frac{t_R(A)}{t_R(B)}$$

则该固定液的相对极性  $P_x$  为

$$P_x = 100 - 100 \frac{(q_{\beta\beta} - q_x)}{(q_{\beta\beta} - q_j)}$$

小练习：

**例** 已知在柱温为 50°C 和其他给定条件下，测定  $t_M = 0.42\text{min}$ 。用环己烷与苯在  $\beta,\beta$ -二丙酮柱上测得  $q_1 = 1.0086$ ，在角鲨烷上测得  $q_2 = 0.179$ ，在癸二酸壬酯柱上测的  $t_R(\text{环己烷}) = 4.22\text{min}$ ,  $t_R(\text{苯}) = 6.22\text{min}$ ，计算癸二酸壬酯的相对极性。

## 1.4 高效液相色谱法

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、极性强、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。

### 1.4.1 主要部件

#### 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

- 质谱

## 5. 数据处理

### 1.4.2 分析流程

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。

### 1.4.3 流动相的选择

- 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。

## 1.5 几种色谱法

### 1.5.1 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。

### 1.5.2 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 C<sub>18</sub> 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）。

### 1.5.3 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。

### 1.5.4 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。

### 1.5.5 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。

### 1.5.6 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空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。

## 1.6 毛细管电动色谱和毛细管电泳

### 1.6.1 毛细管电泳

以内径  $20 \sim 200\mu\text{m}$  的毛细管为分离通道，高压直流电场为驱动力，依据样品各组分淌度或和分配系数的差异实现分离的技术。

#### 1.6.1.1 原理

物质离子在电场中迁移速度不同：

$$v = \frac{qE}{f} = \frac{q}{6\pi\gamma\eta} E$$

$\gamma$  是离子的表观液态力学半径， $\eta$  为介质的粘度。

淌度  $\mu$ : 单位场强下的平均电泳速度。

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{q}{6\pi\gamma\eta}$$

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。

$$v_{eof} = \mu E = L_{ef}/t_{eo}$$

$L_{ef}$  为毛细管有效长度， $t_{eo}$  是电渗流标记物（中性物质）的迁移时间。

电渗流的方向：取决于毛细管内表面电荷性质，内表面带负电，则溶液带正电，电渗流流向阴极，内表面带正电则相反。可通过毛细管改性和加电渗流反转剂（阳离子表面活性剂等）使电渗流方向改变。

离子的表观迁移速度等于离子在电场中迁移速度和电渗流速度的矢量和。电渗流速度大，于是可以带动电场中原本朝两个方向运动的离子（包括中性分子！）同向移动，一次完成检测。

#### 1.6.1.2 影响电渗流的因素

- 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。

### 1.6.1.3 分离效果的评价

- 迁移时间（保留时间）

$$t = \frac{L_{ef}L}{\mu_{ap}E}$$

$E$  为外加电压， $L$  为毛细管总长度， $\mu_{ap}$  为表观淌度，即离子淌度和电渗流淌度的矢量和。

- 分离效率（塔板数）

$$n = 5.54 \frac{t_R}{W_{1/2}}$$

毛细管电泳中仅存在纵向扩散，扩散系数小的物质分离效率高，这也是分离生物大分子的依据。

- 分离度

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{W_1 + w_2}$$

### 1.6.1.4 影响分离的主要因素

影响分离度的主要因素：工作电压；毛细管有效长度与总长之比；有效淌度差。

影响分离效率的因素：

- 纵向扩散：大分子的扩散系数小，这是大分子试样分离的依据。
- 进样：进样长度太大时，引起的峰展宽大于纵向扩散，导致分离效率下降。实际进样长度应小于等于毛细管总长的 1% ~ 2%。
- 焦耳热和温度梯度：散热梯度中形成温度梯度（中心温度高）将破坏塞流，导致区带展宽。可通过减小毛细管内径和控制散热的方法缓解。
- 溶质与管壁间相互作用：蛋白、多肽等带电多，且含有较多疏水基，吸附问题比较严重。可用两性离子代替强电解质，浓度约为溶质的 100 ~ 1000 倍时，抑制吸附且不增加溶液电导，对电渗流影响不大。
- 其他因素：电分散作用、层流现象等。

### 1.6.1.5 毛细管电泳仪

(1) 高压电源：0 ~ 30kV，稳定、连续可调的直流电源。可恒压、恒流、恒功率输出，电源极性易转换。

(2) 毛细管：需电绝缘、紫外/可见透明、富有弹性，内径一般在 10 ~ 150μm。目前有玻璃、熔融石英和聚四氟乙烯等材质，在外围一般包一层聚合物薄膜。

(3) 进样方法：分为流体力学进样，电动进样（适合粘度大的试样，易导致进样不均或离子丢失）和扩散进样。

(4) 缓冲液池：要求化学惰性，机械稳定性好。

- (5) 柱恒温系统：要求稳定、快速。
- (6) 检测器：有紫外-可见、荧光和激光诱导荧光三种，灵敏度依次提高，后两种样品需衍生。

毛细管电泳仪的特点：

- 仪器简单，易自动化
- 分析速度快，分离效率高：理论塔板数达  $10^5 \sim 10^7/m$ 。
- 操作方便、消耗少：纳升级进样量，水介质中进行
- 应用范围极广

## 1.6.2 毛细管电泳分离模式

• 毛细管区带电泳：最基本、应用最广的分离模式，利用各组分荷质比的差异实现分离与检测，分离基础是组分间淌度的差别。

• 胶束电动毛细管色谱：缓冲液加入离子型表面活性剂（如 SDS），其浓度达到临界浓度，形成疏水内核、外部带负电的胶束（假固定相）。中性分子在胶束相和水相之间分配，疏水性强的组分与胶束结合的较牢，流出时间长。可用于分离中性物质。

• 毛细管凝胶电泳：将聚丙烯酰胺等在毛细管柱内交联生成凝胶，多孔性，具有分子筛作用。能有效减少组分扩散，所得峰形尖锐，分离效率高。蛋白质、DNA 等质荷比与分子大小无关，而利用凝胶电泳可以很好分离，是 DNA 排序的重要手段。

特点：抗对流性好、散热性好、分离度极高。

无胶筛分技术：利用低粘度线性聚合物溶液代替高粘度交联聚丙烯酰胺。柱便宜，易于制备。

• 毛细管等电聚焦：根据等电点差别分离生物大分子的高分辨率电泳技术。毛细管内充有两性电解质，在直流电（6 ~ 8V）作用下将形成由阳极到阴极逐渐升高的 pH 梯度。电渗流在该方法中不利，需尽量消除。

• 毛细管等速电泳：将两种淌度差别很大的缓冲液作为前导离子和尾随离子，试样离子的淌度全部位于两者之间并以同一速度移动。原理是淌度不同的离子形成区带的场强不同，可使同一淌度的离子聚集在一起。

特点：界面明显，具有富集、浓缩作用。

• 毛细管电渗色谱：在毛细管壁键合或涂渍高效液相色谱的固定液，以电渗流为流动相，试样组分在两相间的分配为分离机制的电动色谱过程。

## 第二章 质谱

### 内容提要

- 质谱峰基本知识（熟悉）
- 质谱仪结构（熟悉）

- 质谱定量分析（了解）
- 质谱谱图解析（了解）

### 2.1 质谱

#### 质谱

利用离子化技术，将物质分子转化为离子，按照其质荷比( $m/z$ )的大小依次排列构成质谱。并利用质谱进行定性、定量和结构分析的方法。



质谱的特点：

- 进样量少、灵敏度高、分析速度快
- 唯一可以给出分子量，确定分子式的方法

### 2.2 质谱仪

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（按用途）：

- 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）

#### 2.2.1 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 $10^5$ 的非挥发性或热不稳定性的样品的离子化。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。

## 2.2.2 电子源的类型

### 电子电离源 (EI)

#### 电子电离源

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

**笔记** 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)

#### 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

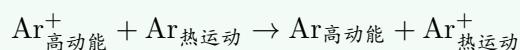
**例** 以  $\text{CH}_4$  稀释时，出现  $(M + 1)^+, (M - 1)^+, (M + 17)^+, (M + 29)^+$  等质谱峰

**笔记** EI 和 CI 主要用于气相色谱-质谱联用

### 快原子轰击 (FAB)

#### 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：



高动能的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量粒子轰击表面，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和并涂在金属靶上。
- 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  $(M + Na)^+$  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、极性强的大分子，如肽类、低聚糖、天然抗生素、有机金属配合物

## 场致电离源 (FI)

### 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
- 电极为一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)

### 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)

### 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；喷嘴前方的补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，也不会在电离过程发生分解
- 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

ACPI 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

## 基质辅助激光解吸电离

### 基质辅助激光解析电离（MALDI, matrix assisted laser desorption ionization）

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、 $\alpha$ -氨基-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）

### 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，就会产生异构垂直于管轴方向的环形涡电离，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。



### 2.2.3 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：

#### 磁分析器原理

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



测试时，固定  $H$ 、 $R$ 、 $U$  中任意两个，连续改变另一个，即得质谱图。现代质谱仪通常固定  $R$ ，改变  $U$  或  $H$  来得到质谱图。

## 单聚焦质量分析器

磁场是扇性磁场，扇性开角是  $180^\circ$  或  $90^\circ$ 。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。



## 2.3 质谱谱图解析

### 2.3.1 基本要素

#### 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** 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



**笔记** 辨认分子离子峰的方法

- 各类有机物分子离子峰稳定性顺序：芳香化合物 > 共轭链烯 > 烯烃 > 脂环化合物 > 直链烷烃 > 酮 > 胺 > 脂 > 醚 > 酸 > 支链烷烃 > 醇
- N 律：由 C、H、O 组成的有机物，M 一定为偶数；含 C、H、O 和偶数个 N 的化合物，M 一定为偶数；含 C、H、O 和奇数个 N 的化合物，M 一定为奇数
- 分子离子峰与相邻峰质量差必须合理，若质量差为 3 ~ 14, 19 ~ 25 等，则最高质量峰不是分子离子峰
- 可通过降低电子轰击源的电压，采用软电离或把不稳定样品制成适当衍生物的方法增强分子离子峰

#### 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  $M + 2$ ,  $M + 3$



可以利用峰强比初步判断有无Cl、Br、S等元素。Cl的同位素含量比为约为3:1，Br的同位素含量比为约为1:1。

### 碎片离子峰

一般有机化合物的电离能为7~13 eV，质谱中常用的电离电压为70eV，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C=O，C=N，C=S及C=C。与双键相连的链上有 $\gamma$ 碳，并在 $\gamma$ 碳上有H原子( $\gamma$ 氢)。六元环过渡， $\gamma$ -H转移到杂原子上，同时 $\beta$ 键发生断裂，生成一个中性分子和一个自由基阳离子。

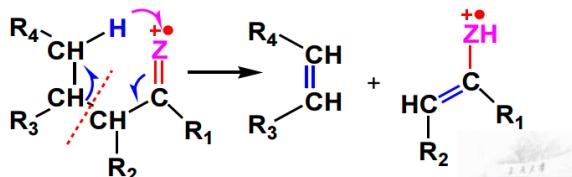


图 2.1: 麦氏重排

## 2.3.2 质谱定性定量分析

### 烃类

- 直链烷烃

直链烷烃分子离子峰强度不高，强度随碳链增长而降低，通常碳数<40的烷烃分子离子峰( $M^+$ )尚可观察到。有相差14个质量数的一系列奇质量数的峰( $C_nH_{2n+1}$ )强度逐渐减弱， $m/z$ 43和 $m/z$ 57的峰强度较大。在比 $C_nH_{2n+1}$ 离子小一个质量数处有一个小峰，即 $C_nH_{2n}$ 离子峰，其一系列弱峰是由H转移重排成的。系列 $C_nH_{2n-1}$ 的碎片峰，由 $C_nH_{2n+1}$ 脱去一个 $H_2$ 中性分子。

- 支链烷烃

分子离子峰的强度比正构烷烃的弱，支链越多分子离子峰( $M^+$ )强度越弱。在分支处容易断裂，正电荷在支链多的一侧，丢失最大烃基为最稳定。在质谱图中若有 $M-15$ 峰，则表明结构中存在甲基支链。

- 烯烃

分子离子峰较强；单烯的 $\sigma$ 断裂得到一系列 $m/z$ 相差14的 $C_nH_{2n-1}$ 碎片离子峰；易发生 $\beta$ 开裂，生成 $m/z=41$ 的烯丙基正碳离子 $C_3H_5^+$ 。

- 芳烃

分子离子稳定，有较强的分子离子峰；烷基取代苯易发生 $\beta$ 裂解，经苯甲基正离子重排产生 $m/z91$ 特征的卓鎓离子，很稳定，常为基峰。卓鎓离子可进一步裂解生成 $m/z65$ 的环戊二烯、 $m/z39$ 的环丙烯正离子。取代苯可发生 $\alpha$ 裂解，产生 $m/z77$ 的苯离子，进一步裂解生成环丙烯离子及 $m/z51$ 的环丁烯离子。具有 $\gamma$ 氢的烷基取代基，可发生麦氏重排裂解，产生 $m/z92$ (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>)重排离子。

## 羟基化合物

- 脂肪醇

分子离子峰很弱，随碳链增长减弱至消失，长链醇可发生 $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -, $\delta$ -裂解。 $\alpha$ -断裂是醇类的主要裂解，质谱图中的主要碎片几乎都是 $\alpha$ -断裂产生的，生成一组鎗鎓离子。易发生脱水重排反应，产生 $M - 18$ 离子

- 酚和芳香醇

分子离子峰很强，酚的 $M^+$ 往往是基峰。酚类和苄醇类最具有特征的峰是失去-C-O-和-CHO所形成 $M - 28$ 和 $M - 29$ 。

## 醚的质谱图

- 脂肪醚

脂肪醚的分子离子不稳定是弱峰，主要裂解方式是 $\alpha$ -断裂，生成较强的 $m/z45, 59, 73, 87\dots$ 的峰。断裂时-C-O-键断裂产生OR自由基及烷基正离子

- 芳醚

芳醚的分子离子峰较强；苯甲醚的 $\beta$ -裂解形成 $m/z93$ 碎片很容易脱去-C-O-产生稳定的 $m/z65$ 的离子（出现相应的亚稳离子）

## 羰基的质谱图

- 醛

脂肪醛的分子离子峰较明显，大于C<sub>4</sub>的脂肪醛分子离子峰强度明显递减。

芳香醛的分子离子峰更稳定。易发生 $\alpha$ 裂解，产生R<sup>+</sup>(Ar<sup>+</sup>)、 $m/z29$ 及 $M - 1$ 离子峰。具有 $\gamma$ 氢的醛，能发生麦氏重排，产生 $m/z44$ 的乙烯醇。如果 $\alpha$ 位有取代基，还会出现 $m/z(44 + 14n)$ 的重排离子。长链脂醛还可发生 $\beta$ 裂解，生成无氧碎片系列离子峰 $m/z29, 43, 57\dots(29 + 14n)$

- 酮

脂肪酮的分子离子峰很强，但随分子量的增加而减弱。易发生 $\alpha$ 裂解，具有 $\gamma$ 氢的酮也能发生麦氏重排。

- 酸和酯

一元饱和羧酸及其酯的分子离子峰较弱，芳酸与其酯的则较强。易发生 $\alpha$ 裂解，具有 $\gamma$ 氢的羧酸与酯易发生麦氏重排。

### 2.3.3 简单的质谱解析及其应用



**笔记** 谱图解析的一般方法：

- 由高质量端求出分子离子峰，用同位素峰初步判断有无重杂原子/H 原子个数；
- 根据分子离子峰的高分辨数据给出化合物组成式；
- 由组成式计算不饱和度；
- 研究高质量端离子峰，由于它们是分子离子失去碎片形成的，从失去碎片可以确定取代基；
- 研究低质量端离子峰，寻找不同化合物的特征离子和特征离子系列（见上一部分），推测化合物类型；
- 提出可能结果，必要时通过红外或核磁进一步确定；
- 验证所得结果。



**笔记**

$M-15(\text{CH}_3)$	$M-16(\text{O}, \text{NH}_2)$
$M-17(\text{OH}, \text{NH}_3)$	$M-18(\text{H}_2\text{O})$
$M-19(\text{F})$	$M-26(\text{C}_2\text{H}_2)$
$M-27(\text{HCN}, \text{C}_2\text{H}_3)$	$M-28(\text{CO}, \text{C}_2\text{H}_4)$
$M-29(\text{CHO}, \text{C}_2\text{H}_5)$	$M-30(\text{NO})$
$M-31(\text{CH}_2\text{OH}, \text{OCH}_3)$	$M-32(\text{S}, \text{CH}_3\text{OH})$
$M-35(\text{Cl})$	$M-42(\text{CH}_2\text{CO}, \text{CH}_2\text{N}_2)$
$M-43(\text{CH}_3\text{CO}, \text{C}_3\text{H}_7)$	$M-44(\text{CO}_2, \text{CS}_2)$
$M-45(\text{OC}_2\text{H}_5, \text{COOH})$	$M-46(\text{NO}_2, \text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$
$M-79(\text{Br})$	$M-127(\text{I})$ 等等

图 2.2：分子失去的常见碎片



**笔记** 总结上述物质的特征峰：

表 2.1：各基团的特征峰

基团类型	特征 $m/z$
直链烃基	29,43,57
烯烃	41
其他取代苯	51,77
烷基苯	39,65,91
烷氧基	45,59,73,87
芳香醚	65,93
苯甲酰基	105

### 补充：常用色谱仪种类

## 气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）

质谱仪是一种很好的定性鉴定用仪器，但对混合物的分析无能为力；色谱仪是一种很好的分离用仪器，但定性能力差。

GC-MS 由 3 部分组成：色谱部分、质谱部分、数据处理系统。色谱部分和一般色谱仪基本相同，混合样品在合适的色谱条件下被分离成单个组分进入质谱部分进行鉴定。质谱部分在高真空下工作，因此如果色谱仪使用填充柱必须使用经过一种接口——分子分离器，将色谱载气去除；色谱仪使用毛细管柱，可以将毛细管直接插入质谱仪离子源。质谱部分最常用四极质谱仪，离子源主要是 EI 源和 CI 源。

GC-MS 要求样品最好是液态，固态样品必须溶解。GC-MS 分析得到的主要信息有 3 个：总离子色谱图、每一个组分的质谱图、每个质谱图的检索结果。

## 液相色谱-质谱联用仪（LC-MS）

对于热稳定性差或不易汽化的样品，GC-MS 存在一定困难，需改用 LC-MS 分析，特别是生物大分子的分析。LC-MS 联用的关键是 LC 和 MS 之间的接口装置，主要作用是去除溶剂并使样品离子化。

目前几乎所有的 LC-MS 都是用大气压电离源作为接口装置和离子源，大气压电离源包括电喷雾电离源（ESI）和大气压化学电离源（APCI）。LC-MS 得到的信息与 GC-MS 类似。由于 ESI 只产生准分子离子，因此质谱图较为简单，质谱采集时刻采正离子、负离子或同时采集正、负离子。这种质谱过于简单，为克服这一缺点，在 LC-MS 中 MS 部分最好采用串联质谱仪。

## 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪（MALDI-TOF）

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。

# 第三章 紫外-可见吸收光谱

## 内容提要

- 紫外可见光谱及其产生机理 (理解)
- 分子对紫外可见光谱的影响 (了解)
- 紫外可见光谱仪 (熟悉)
- 紫外可见吸收分析 (熟悉)

## 3.1 紫外可见光谱及其产生机理

### 3.1.1 紫外可见光谱

#### 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。



特点：

- 灵敏度高，可用于微量组分的测定；
- 准确度能满足微量组分测定的要求，相对误差 2% – 5%；
- 测量仪器相对简单，价格便宜；
- 应用广泛，可测定无机物和有机物、可定量或定性分析、可同时测定单一组分或多组分等，还可用于测定络合物的组成、有机酸（碱）及络合物的平衡常数。

### 3.1.2 紫外可见光谱的研究对象

研究对象：在 200 ~ 380nm 的近紫外光区和 380 ~ 780nm 的可见光区有吸收的物质。



**笔记** 不能测量 < 200nm 的原因：氧气、氮气、水蒸气存在吸收区，造成严重干扰

### 3.1.3 紫外可见光谱的产生原理

紫外-可见吸收光谱是由于分子中价电子的跃迁而产生的。

## 有机化合物

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  $n \rightarrow \pi^*$  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  $200\text{nm}$  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。

## 无机化合物

对于无机化合物来说，存在两种跃迁：

- 电荷转移跃迁：

### 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。



**笔记** 电荷转移越迁摩尔吸光系数大 ( $>10^5$ )，可用于定量分析

电荷转移越迁有如下三种类型

- $L \rightarrow M$  电荷转移：较易还原的金属离子 + 较易氧化的配体  
**例**  $\text{TiI}_4$  紫色,  $\text{HgI}_2$  红色,  $\text{AgI}$  黄色,  $\text{VO}_4^{3-}$  无色,  $\text{CrO}_4^{2-}$  黄色,  $\text{MnO}_4^{2-}$  紫色
- $M \rightarrow L$  电荷转移：
  - 金属离子容易被氧化，如  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , V(II), Cu(I)。
  - 配体易被还原，具有空位反键轨道，可接受从金属离子中转移的电子：

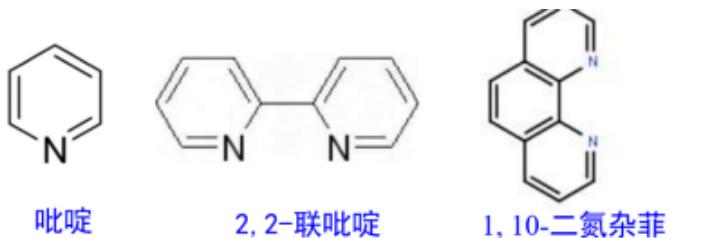


图 3.1: 易被还原的配体

- $M \rightarrow M$  电荷转移：配合物中含有两种不同氧化态的金属离子，电荷在不同氧化态金属离子之间转移。
- 配位场跃迁

## 普鲁士蓝

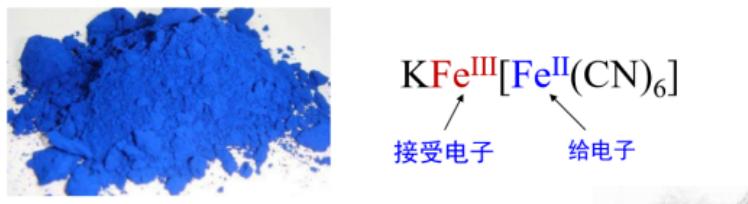


图 3.2: M → M 电荷转移示例

## 配位场跃迁

过渡元素、镧系和锕系元素在真空中，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。



- d-d 跃迁：一些d电子层未充满的第四周期、第五周期的过渡金属元素的吸收光谱，它们的吸收光谱往往比较宽，且容易受环境因素的影响，例如水合铜离子是浅蓝色的，它的氨络合物是深蓝色的；
- f-f 跃迁：大多数镧系和锕系元素的离子在紫外-可见区有吸收，并且吸收峰比较窄。



笔记 d-d 跃迁的吸收峰较宽，f-f 跃迁的吸收峰较窄的原因：

- 外层d电子跃迁时容易受外界环境（溶剂、配位体）的影响
- 电子在内层，受外层轨道电子的屏蔽，不易受溶剂、配位体影响。

## 3.2 影响紫外-可见光谱的因素

## 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、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}=\text{C}$ 、 $\text{C}\equiv\text{C}$  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 $\pi$ 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  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OR}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NR}_2$ ,  $-\text{SR}$ , 卤素等



## 3.2.1 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 $\lambda_{max}$ 红移， $\varepsilon$ （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  $\lambda_{max}$  红移， $\varepsilon$  增大。

### 3.2.2 红移与蓝移

#### 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（red shift）。



#### 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。



- 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， $\lambda_{max}$  红移， $\varepsilon$ （摩尔吸光系数）增大；
  - 空间阻碍使共轭体系破坏， $\lambda_{max}$  蓝移， $\varepsilon$ （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：烃基与  $\pi$  体系相连， $\pi - \sigma$  超共轭，紫外吸收红移；连接的烃基团越大，红移越强。

	$\lambda_{max}$
	nm
<chem>CC=CHCOCH3</chem>	219
<chem>CC(C)C=CHCOCH3</chem>	224
<chem>CCC(C)=CHCOCH3</chem>	235

图 3.3: 超共轭效应

- 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。

### 3.2.3 增色与减色效应

#### 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。



 **笔记** 在吸收光谱中， $\varepsilon$ （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， $\varepsilon$  值增大，吸收强度增加；反之  $\varepsilon$  值减小，吸收强度减弱。

### 3.3 紫外-可见分光光度计

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。

紫外可见光谱仪的分类

- 单光束分光光度计：

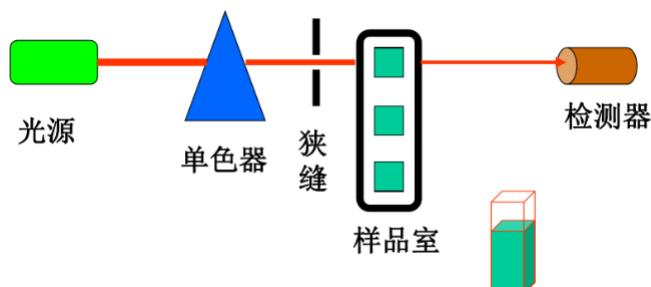


图 3.4: 单光束分光光度计

 **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。

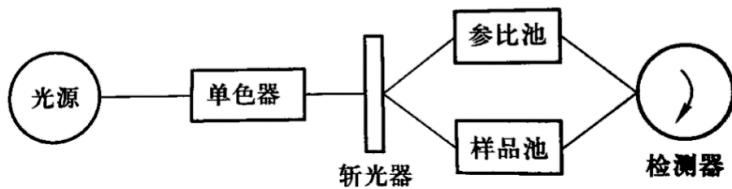


图 3.5: 单波长双光束分光光度计

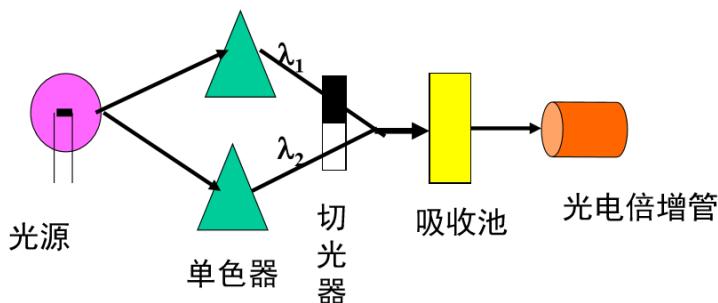


图 3.6: 双波长双光束分光光度计

## 3.4 紫外可见吸收光谱

### 3.4.1 紫外可见吸收分析的定量基础

#### 朗伯比尔定律

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

$$A = \varepsilon bc = \lg\left(\frac{1}{T}\right) = \lg\left(\frac{I}{I_0}\right)$$



**笔记 A:** 吸光度，无量纲

$\varepsilon$ : 摩尔吸光系数，指的是浓度为 1mol/L 的物质在 1cm 厚的吸收池内产生的吸光度，单位为 L/mol · cm；

b: 液层厚度，单位为 cm；

c: 溶液中吸光物质的浓度，单位为 mol/L。

吸收定律的性质：

- 吸收定律具有加和性：如果某一试液中多个组分对同一波长的光有吸收作用，则总吸光度等于各组分的吸光度之和；
- 吸收定律只适合单色光：描述吸光度值时需说明光源的波长；
- 吸收定律因化学反应而偏离：因解离、络合等原因，待测物质并不都以能对特定频率辐射进行有效吸收的形态存在，可能导致吸收定律结果的偏离。

### 3.4.2 紫外-可见吸收光谱的误差

- 溶液偏离朗伯-比尔定律所引起的误差：采用工作曲线的直线段测定待测溶液浓度。

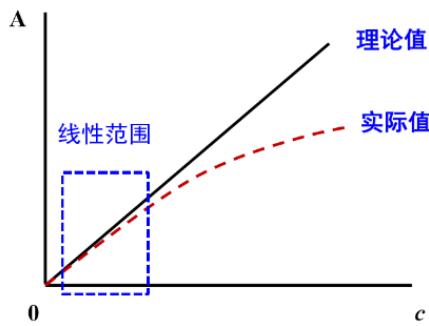


图 3.7: 溶液偏离朗伯-比尔定律

减少由入射光为非单色光所引起的误差。利用试剂空白以及确定适宜的浓度范围来减少溶液本身所引起的误差。

- 仪器误差：
  - 机械系统：吸收池的质量，检流计的灵敏度；
  - 光学系统：光源不稳定，棱镜的性能，光电管质量等。
- 操作误差：由所采用的实验条件与正确的条件有差别引起，如：显色条件和测量条件掌握不够好。

### 3.4.3 紫外-可见吸收光谱测量条件的选择

- 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：

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{0.434}{T \ln T} \Delta T$$

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。

# 第四章 分子发光分析

## 内容提要

- 分子发光及其产生原理（理解）
- 荧光分光光度计（熟悉）
- 荧光定量分析有关概念（熟悉）

某些物质的分子吸收一定能量跃迁到较高的电子激发态后，在返回电子基态的过程中伴随有光辐射，这种现象称为分子发光分子发光具有如下特点：

- 灵敏度高，检测下限比分光光度法低 2-4 个数量级
- 选择性比分光光度法好
- 分子发光分析体系应用有限，不如分光光度法广泛

## 4.1 分子发光及其产生原理

### 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  $10^{-8} \sim 10^{-11}$ 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，即激光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  $10^{-4} \sim 10$ s。



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



笔记 荧光与磷光的差别：

- 荧光是由第一激发单重态最低振动能级至基态各振动能级间跃迁产生的；磷光是由第一激发三重态的最低振动能级至基态各振动能级间跃迁产生的
- 磷光波长比荧光长，磷光寿命比荧光长，磷光寿命和强度对重原子和氧敏感。

### 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。



## 4.2 荧光定量分析基础

### 4.2.1 荧光量子产率

#### 荧光量子产率 $\Phi$

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%。

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



$\phi$  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。

### 4.2.2 荧光与分子结构的关系

#### 4.2.2.1 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；

#### 4.2.2.2 共轭效应

提高共轭度有利于增加荧光效率并产生红移；

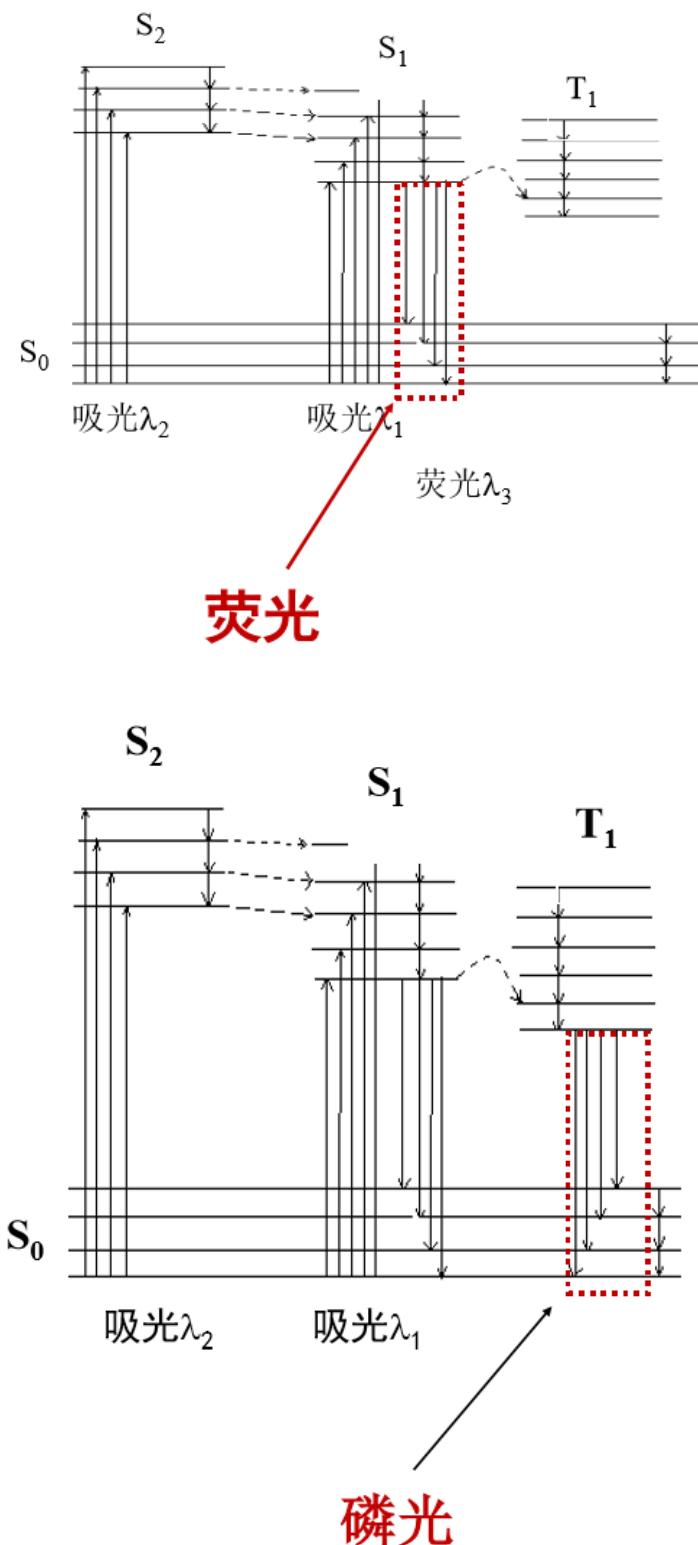


图 4.1: 荧光和磷光的原理

- 芳香族化合物的荧光最常见且最强，大多数未取代芳烃在溶液中发荧光，随着环的数目和共轭度增加，荧光峰红移， $\phi \uparrow$ 。简单杂环化合物不发荧光，但具有稠环结构的杂环化合物都发荧光；

- 任何有利于提高  $\pi$  电子共轭度的结构改变，都将提高荧光量子产率，或使荧光波长向长波长方向移动；
- 电子共轭程度越大，越容易产生荧光；环越大，发光峰红移程度越大，发光往往越强；
- 共轭环数相同的芳香族化合物，线性环结构的荧光波长比非线性者要长。

#### 4.2.2.3 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；

- 试剂与金属形成配合物后，刚性增强，荧光也增强；
- 荧光分子在固体表面荧光强度更高；

#### 4.2.2.4 取代基效应

- 芳环上有羧基、羰基、亚硝基、巯基等吸电子基团取代时，荧光减弱；取代基的  $n$  电子云并不与芳环上  $\pi$  电子云共平面；
- 给电子取代基如  $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CH_3$  等会使荧光强度增加；取代基上的  $n$  电子的电子云几乎和芳环上的  $\pi$  轨道平行，因而共享了共轭  $\pi$  电子结构，产生了  $p-\pi$  共轭效应，扩大了共轭双键体系。
- 重原子效应：含有重原子的分子中，使系间窜跃的几率大，荧光强度随卤素相对原子质量的增强而减弱，磷光增强。如： $Br$ ,  $I$ ；
- 取代基的位置：
  - 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。

#### 4.2.3 荧光定量分析基础

荧光物质浓度很稀时，所发射的荧光相对强度  $I_f$  可用下式表示：

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  $I_f = K_c$ ，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。

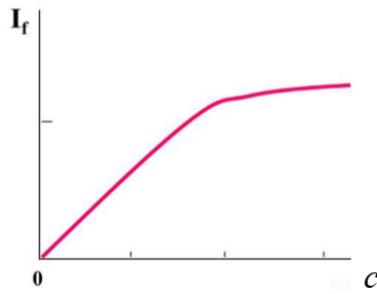


图 4.2: 荧光定量吸收的浓度效应

#### 4.2.3.1 荧光猝灭

##### 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。



猝灭种类：

- 自猝灭：荧光物质浓度较大时，会使荧光强度降低。
  - 荧光物质分子之间的碰撞能量损失：单重激发态的分子在发生荧光之前和未激发的荧光物质分子碰撞。
  - 荧光物质的自吸收；
  - 荧光物质分子的缔合：二聚体或多聚体。
- 电荷转移猝灭：激发态分子比基态具有更强的与其他物质发生氧化还原反应的能力，从而导致荧光猝灭，这种现象称为电荷转移猝灭，如：  
甲基蓝分子  $M^* + Fe^{2+} \rightarrow M^- + Fe^{3+}$ ；
- 转入三线态的猝灭：含溴化物、碘化物、硝基化合物、重氮化合物、羰基化合物及某些杂环化合物容易转变为三重态，因而易使荧光猝灭；

## 4.3 荧光分光光度计

基本组成：

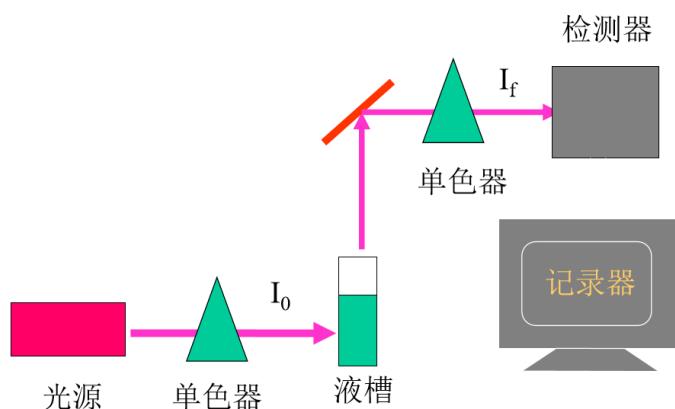


图 4.3: 荧光分光光度计

- 光源

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



**笔记** 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，而不是在一条直线上，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，让仪器检测一组衬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。

# 第五章 红外吸收光谱与拉曼光谱

## 内容提要

- 红外光谱及其产生（理解）
- 红外光谱解谱（熟悉）
- 红外光谱仪及其结构（了解）
- 拉曼光谱的散射（理解）

## 5.1 红外光谱的产生条件及原理

### 红外光谱

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。



### 5.1.1 产生条件

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：偶极矩变化

**笔记** 只有发生偶极矩变化 ( $\Delta\mu \neq 0$ ) 的振动才能引起可观测的红外吸收光谱，该分子称为红外活性的。所以对称分子 ( $\Delta\mu = 0$ ) 是非红外活性的。

### 5.1.2 振动形式

- 双原子分子振动——“谐振子模型”

#### 谐振子模型

化学键等于无质量的弹簧连接的两个可视为刚性小球的，质量等于两原子质量的分子模型，其中：

$$\bar{v} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

其中各符号意义：

- $c$ : 光速
- $k$ : 键力常数
- $\mu$ : 折合质量  $\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}$



- 多原子分子振动

- 伸缩振动——高频区



图 5.1: 伸缩振动

- 弯曲振动——低频区

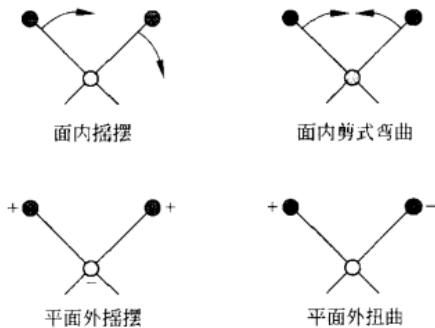


图 5.2: 弯曲振动

## 5.2 红外吸收仪的结构

### 5.2.1 色散型红外光谱仪

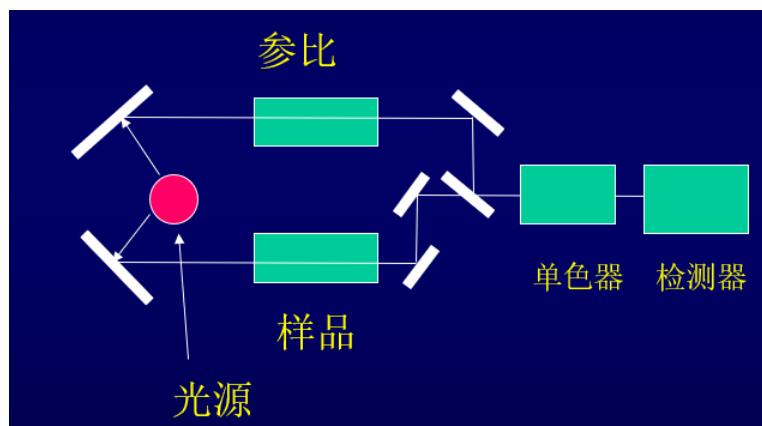


图 5.3: 色散型红外光谱仪

- 光源: Nernst 灯、炭化硅棒等
- 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  
样谱品, 如橡胶、高聚物等。

### 5.2.2 傅里叶红外光谱仪

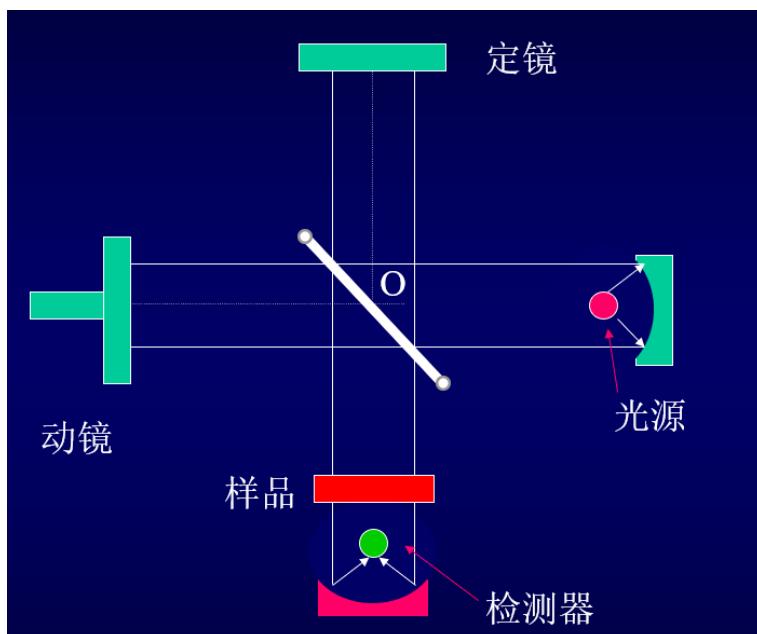


图 5.4: 傅立叶红外光谱仪

理论基础:

- O 点与动定镜距离相等——相长干涉
- O 点到两镜有光程差  $\delta$ 
  - $\delta$  是  $\frac{\pi}{4}$  偶数倍——相长干涉
  - $\delta$  是  $\frac{\pi}{4}$  奇数倍——相消干涉

由此, 通过傅里叶变换可得该物质红外吸收光谱图



**笔记** 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

### 5.3 红外谱图的官能团吸收与谱图解析



**笔记** 谱图解析一般步骤: 三要素: 位置、强度、波形

- 根据质谱、元素分析结果得到分子式。
- 由分子式计算不饱和度 U。

- 观察官能团区，寻找特征官能团
- 观察指纹区，找苯环取代

注意：本章图谱分度单位均采用  $\text{cm}^{-1}$ ，下文不再重复

### 5.3.1 主要物质的图谱轴

- 4000~2500 ( $\text{X}-\text{H}$ )
  - $\text{O}-\text{H}$ : 3200~2650
    - 气态游离：高频率，波尖
    - 形成氢键：低频率，波宽
  - $\text{N}-\text{H}$ : 3650~3200 伯胺有两吸收峰叔胺无吸收
  - $\text{C}-\text{H}$ : 以 3000 分界：不饱和  $>3000$ ；饱和  $<3000$
- 2500~2000 (三键/累积双键)
  - 例  $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{N}$ ,  $\text{C}=\text{C}=\text{C}$  ( $\text{CO}_2$  在 2365、2335 的吸收需扣除)
- 2000~1500 (双键)
  - $\text{C}=\text{C}$ : 1600~1670
  - 苯环：1450, 1500, 1580, 1600
  - $\text{C}=\text{O}$ : 脂肪酮：1715 左右<sup>1</sup>
- 1500~1300 ( $\text{C}-\text{H}$  弯曲振动)
  - $-\text{CH}_3$ : 1460
  -  **笔记** 1380 为谐二甲基特征吸收峰
  - $-\text{CH}_2-$ : 1470
- 1300~910 (单键伸缩、分子骨架振动、部分含氢基团弯曲振动)
  - $\text{C}-\text{C}$ : 1200
  - $\text{C}-\text{O}$ : 1100
  - $\text{C}-\text{N}$ : 1030
- $< 910$ 
  - 苯环取代
  - 烯的碳氢弯曲振动

 **笔记** 官能团吸收分类：4000~1300 为官能团区， $<1300$  为指纹区

### 5.3.2 化合物分类特征吸收

#### 烃类化合物特征频率

- 烷烃：如图5.5
- 烯烃
  - $=\text{C}-\text{H}$ : 3100~3010; 1000~800
  - $\text{C}=\text{C}$ : 1680~1620

<sup>1</sup>取代基会使双键键性减弱，频率下降

基团	振动形式	吸收峰位置	强度	备注
	$\nu_{asCH_3}$ $\nu_{sCH_3}$ $\delta_{as}CH_3$ $\delta_sCH_3$	2962±10 2872±10 1450±10 1380~1370	S S m S	异丙基和叔丁基在1380cm⁻¹附近裂分为双峰
	$\nu_{asCH_2}$ $\nu_{sCH_2}$ $\delta_{CH_2}$	2926±5 2853±10 1465±20	S S m	
	$\nu_{sCH}$ $\delta_{CH}$	2890±10 ~1340	w w	
	$\delta_{CH_2}$	~720	w	n≥4, n越大, 峰吸收强度越大。

图 5.5: 烷烃特征吸收

### • 烷烃

- $\equiv C-H$ : 3310~3300; 700~600
- $C\equiv C$ : 2200~2100 (当三键位于分子中间时产生)

### • 芳香烃

- $C-H$ : 3000~3100 (芳环C-H伸缩振动)
- $C=C$ : 1450、1500、1580、1600 (芳环骨架伸缩振动, 但后三峰不一定同时出现)
- 面外 $=C-H$ : 900~650 用于确定芳烃取代类型 (与芳环取代基性质无关, 而与取代个数有关, 取代基个数越多, 即芳环上氢数目越少, 振动频率越低。)
- 面外 $=C-H$ : 倍频 2000~1600 (弱峰) 用于确定芳烃取代类型。

**笔记** 如何判断双取代类型?

- 邻位: 750
- 间位: 810~750 或 725~680 或 900~860
- 对位: 860~800

## 醇与酚的特征频率

- 游离 $-OH$ 伸缩振动: 3600 尖峰
- 缔合 $-O-H$ 伸缩振动: 3600 又宽又强吸收峰
- $\nu_{C-O}$ : 1250~1000
- 面内 $-OH$ : 1500~1300
- 面外 $-OH$ : 650

## 醚的特征频率

- 脂族和环状的 $C-O-C$ : 1150~1070
- 脂肪 $R-OCH_3$ : 2830~2815
- 芳香 $Ar-OCH_3$ : 约 2850

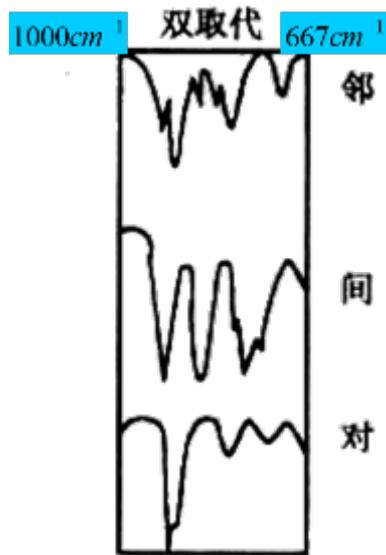


图 5.6: 双取代类型判断

### 胺的特征频率

- $-\text{NH}_2$ : 3390、3290 (双峰)
- N-H: 1650~1590/900~650 (宽)
- C-N:
  - 1230~1030 (脂肪胺)
  - 1340~1250 (芳香胺)

### 羰基化合物的特征频率

- C=O: 1750~1680 (强)
- O=C-H: 2720

### 5.3.3 吸收强度与结构的关系

- 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

 **笔记** 谱图解析一般步骤: 三要素: 位置、强度、波形

- (1) 根据质谱、元素分析结果得到分子式。
- (2) 由分子式计算不饱和度  $U$ 。
- (3) 观察官能团区, 寻找特征官能团
- (4) 观察指纹区, 找苯环取代

化合物	$\nu_{C=O}$	其它特征频率
脂肪酮	1730~1700(最强)	
脂肪醛	1740~1720	2850、2740(m)左右费米共振2个峰
羧酸	1720~1680 (缔合)	$\nu_{OH} 3200\sim 2500$ (宽) $\delta_{OH} \sim 930$ (宽)
羧酸盐	无	1650~1550, 1440~1350, -CO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 的 $\nu_{as}$ 和 $\nu_s$
酯	1750~1730	1300~1000两个峰 C-O-C的 $\nu_{as}$ (最强)和 $\nu_s$
酸酐	1825~1815和1755~1745	
酰胺	1690~1650	3500~3050 $\nu_{NH}$ 双峰, $\delta_{NH}$ 1649~1570(叔酰胺无)
酰卤	1819~1790	

图 5.7: 羰基化合物特征吸收

## 5.4 拉曼散射与拉曼光谱

### 5.4.1 拉曼散射与拉曼光谱

#### 拉曼散射和瑞利散射

当光线从一个原子或分子散射出来时，绝大多数的光子，都是弹性散射的，这称为瑞利散射。在瑞利散射下，散射出来的光子，跟射入时的光子，它的能量、频率与波长是相同的。然而，有一小部分散射的光子，散射后的频率会产生变化，通常是低于射入时的光子频率，原因是入射光子和介质分子之间发生能量交换。这即是拉曼散射。



**笔记** 瑞利散射：弹性碰撞，方向改变而未发生能量交换

拉曼散射：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。

#### 拉曼位移

斯托克斯线与反斯托克斯线（散射光）对应频率与入射光频率的差叫做拉曼位移。



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  $\mu$  改变时，则产生拉曼散射。



**笔记**

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。

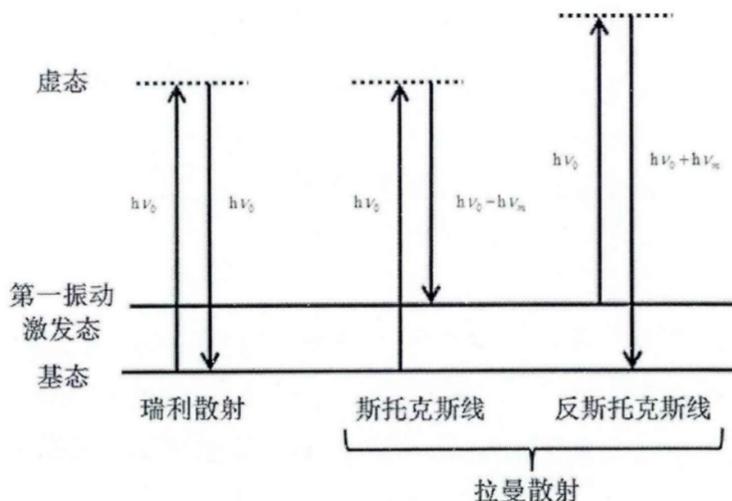


图 5.8: 拉曼散射的产生

**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。

拉曼散射的强度：和浓度、频率变化的四次方成正比。

## 5.4.2 表面增强拉曼效应

### 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, Surface-enhanced Raman Scattering)，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

**笔记** 化学理论仅适用于表面已形成化学键的物质，所以不能解释所有观察到的增强信号，而电磁理论可以应用于试样只是物理吸附在表面的情况下。

SERS 基质：

- 金属 Ag, Au, Cu, Ni, Al, Li, Na, K, Pt
- 半导体 CdS, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>

SERS 活性物质（必须能吸附在基质表面）

- 吡啶等杂环化合物
- 苯甲酸衍生物
- 氰基衍生物

- 一些染料，金属络合物，生物分子，无机分子

# 第六章 核磁共振波谱

## 内容提要

- |                     |                           |
|---------------------|---------------------------|
| □ 核磁共振的产生           | □ 一级谱图的解析（熟悉）             |
| □ 核磁共振的基本概念         | □ 核磁共振波谱仪和样品制备（了解）        |
| □ 自旋-自旋耦合和裂分的规律（掌握） | □ $^{13}\text{C}$ 谱（简要了解） |

NMR 的研究对象：磁性核与电磁波的相互作用。利用磁场中的磁性原子核吸收电磁波时产生的能级分裂与共振现象研究物质结构。

## 6.1 核磁共振产生的基本条件

### 6.1.1 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。

### 6.1.2 磁性核

#### 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  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$  等。
- $p$  与  $n$  一奇一偶， $I$  为半整数 ( $1/2$ ,  $3/2$ ,  $5/2$  等)。如  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$  等。
- $p$  与  $n$  同为奇数， $I$  为整数。如  $^2\text{H}$ ,  $^6\text{Li}$  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。

 **笔记** 磁距  $\mu$ , 自旋角动量  $P$ , 自旋量子数  $I$  的关系<sup>1</sup>:

$$\mu = \gamma P$$

$$P = \hbar \sqrt{I(I+1)}$$

<sup>1</sup> $\gamma$  是磁旋比，原子核的重要属性

### 6.1.3 特定频率的电磁波

用能量等于  $\Delta E$  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。

 **笔记** 推导：磁距  $\mu_z$  与磁场  $B_0$  的相互作用能  $E$  为

$$E = -\mu_z B_0 = \gamma P_z B_0$$

原子核间进行能级跃迁的能量为<sup>2</sup>

$$\begin{aligned}\Delta E &= E_{-1/2} - E_{1/2} \\ &= \gamma \hbar \Delta m B_0 \\ &= \gamma \hbar B_0\end{aligned}$$

所以磁场固定时，不同频率的电磁波可使不同的核（ $\gamma$  不同）产生共振；对于同样的核（ $\gamma$  一定），改变磁场时，吸收频率不同。

 **笔记** 补充概念：

- 驰豫过程：饱和状态（两能级间原子核数目相等）时观测不到 NMR 信号。要观测到净能量吸收，必须有核从高能态返回低能态，此即驰豫过程。
- 驰豫的两种方式：
  - 自旋-晶格弛豫：高能级核返回低能级时失去能量，该能量被周围分子吸收转变成热运动。
  - 自旋-自旋弛豫：高能态的核把能量传给低能态的核而自己回到基态。
- 谱线宽度与驰豫时间成反比。
- 灵敏度：

$$N_\alpha / N_\beta \approx 1 + \frac{\gamma \hbar B_0}{kT}$$

$N_\alpha, N_\beta$  分别是低、高能态核的数目。由上式可知，灵敏度与  $B_0$  呈线性关系。

## 6.2 核磁共振的基本概念

### 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  $B_0(1 - \sigma)$ 。

$\sigma$ ：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。

$$\delta = \frac{\nu_{\text{样}} - \nu_{\text{标}}}{\nu_{\text{标}}} \times 10^6 \text{ ppm}$$



<sup>2</sup>选率： $\Delta m = \pm 1$

**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)
- $^{13}\text{C-NMR}$ : TMS
- $^{14}\text{N-NMR}$ : 液氮
- $^{17}\text{O-NMR}$ :  $\text{H}_2\text{O}$
- $^{19}\text{F-NMR}$ :  $\text{CFCl}_3$
- $^{31}\text{P-NMR}$ : 85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$



TMS 的优势：

- 由于屏蔽系数几乎比所有其他物质的都大，一般化合物  $\delta$  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-d4 等钠盐替代品。

## 6.3 自旋-自旋耦合和裂分的规律

**化学位移**

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。



### 6.3.1 谱线分裂数的 $n+1$ 规则

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  $n + 1$ <sup>3</sup>。

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<sup>4</sup>，如图6.1。

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。

<sup>3</sup>推广：分裂谱线数为  $2nI + 1$ ， $n$  表示产生耦合的原子核（自旋量子数为  $1/2$ ）的数目。

<sup>4</sup>理解：相邻碳上  $n$  个质子的自旋角动量叠加，每个质子有两种取向，所以总自旋角动量的绝对值可以取  $n + 1$  个值。

$n$	二项式展开系数	峰形
0	1	单峰
1	1 1	二重峰
2	1 2 1	三重峰
3	1 3 3 1	四重峰
4	1 4 6 4 1	五重峰
5	1 5 10 10 5 1	六重峰

图 6.1: 裂分峰的强度比

### 6.3.2 耦合常数

#### 耦合常数

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  $\text{H}_A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{H}_B$ ,  $\text{H}_A$  与  $\text{H}_B$  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。

## 6.4 一级谱图的解析

### 6.4.1 一级谱图

- 满足  $(\Delta\nu/J) > 6$  条件的谱图称为一级谱图。 $\Delta\nu$  为化学位移之差;  $J$  为耦合常数。
- 相同  $\delta$  值得几个核对任一另外的核有相同的耦合常数。
- $(n+1)$  规律只适用于一级谱图: 见 6.3.1

### 6.4.2 谱图上能获得的主要信息

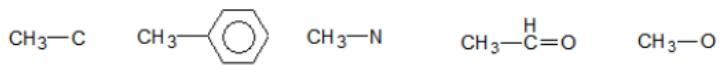
- 化学位移——判断核所处的化学环境;
- 耦合裂分——从峰的裂分个数及偶合常数鉴别谱图中相邻的核, 以说明分子中基团之间的空间关系;
- 积分线——高度代表了各组峰面积, 而峰面积与分子中相应的各种核的数目成正比, 通过比较积分线高度可以确定各组核的相对数目。

### 6.4.3 常见化合物的质子位移

#### 6.4.3.1 烷基

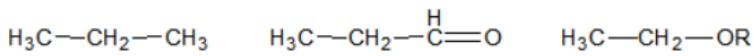
对于烷基,  $\delta$  值一般在 0~2 ppm。

- 饱和  $-\text{CH}_3$ : 在高场约 0.9 ppm 出峰, 峰强, 在连接烷基链时易于辨认。
- $-\text{CH}_2-$  一般较  $-\text{CH}_3$  大 0.3 ppm,  $-\text{CH}-$  又较  $-\text{CH}_2-$  大 0.3 ppm



0.8 ~1.2;      2.1~2.6;      2.2 ~3.2;      2.0 ~2.7;      3.2 ~4.0

图 6.2: 甲基



1.17

2.47

3.40

图 6.3: 亚甲基

### 6.4.3.2 烯

$\delta$  值一般在 4~7 ppm (6.5 ppm 左右较普遍); 当双键连有卤素原子时, 卤素所连碳上的另一个氢  $\delta$  最大, 即图中的  $\delta_{1\text{H}_c}$  最大。

### 6.4.3.3 苯环

- 无取代基时,  $\delta_{1\text{H}} = 7.3$  ppm, 单峰
- 烃基单取代: 如  $-\text{CH}_3, -\text{CH}_2-$  等, 一组峰, 分辨不开
- 活化基团单取代: 两组高场峰, 邻对位在较高场 (无法分辨), 间位在较低场
- 钝化基团单取代: 两组低场峰, 间对位在较高场 (无法分辨), 邻位在较低场

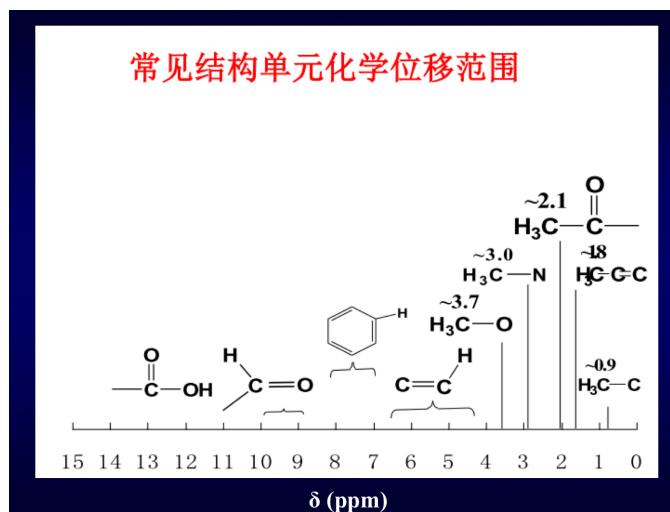
### 6.4.3.4 醛基氢

$\delta$  值一般在 9~10 ppm。

### 6.4.3.5 羧基氢

$\delta$  值一般在 12+ppm。

可参考下图:



需要说明化学等价的概念：指同一个碳上的原子（ $\alpha$  位有手性碳的不是）或在分子中处于对称（旋转轴、对称中心、对称面）位置的质子。

#### 6.4.4 化学位移的影响因素

##### 6.4.4.1 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。

**例** 相连碳原子的 sp 杂化。从  $sp^3$  到  $sp^2$ ，s 电子的成分从 25% 增加到 33%，键电子更靠近碳原子，对质子有去屏蔽效应，共振位置移向低场。如图6.4：

化合物	$\delta(\text{CH}_3)$
$(\text{CH}_3)_4\text{-Si}$ , TMS	0.0 定义
$(\text{CH}_3)_3\text{-Si}(\text{CD}_2)_2\text{CO}_2^- \text{Na}^+$ , TSP-d <sub>4</sub>	0
$\text{CH}_3\text{I}$	2.2
$\text{CH}_3\text{Br}$	2.6
$\text{CH}_3\text{Cl}$	3.1
$\text{CH}_3\text{F}$	4.3
$\text{CH}_3\text{NO}_2$	4.3
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	5.5
$\text{CHCl}_3$	7.3

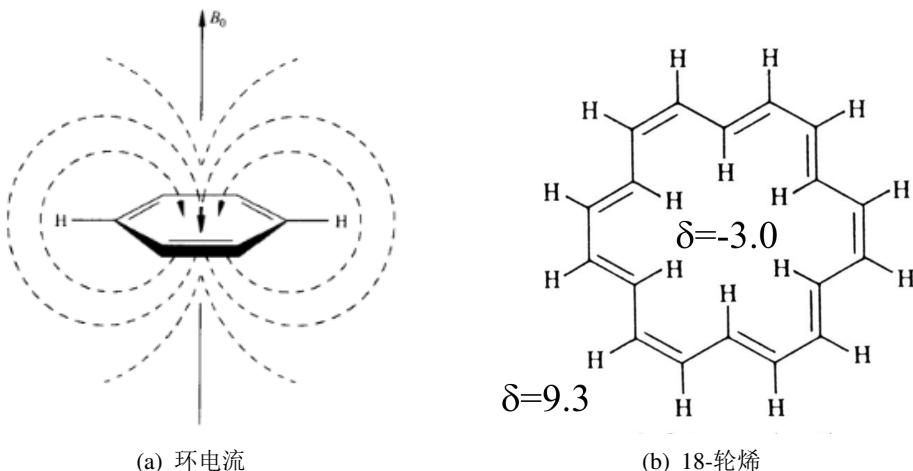
图 6.4：诱导效应的影响

##### 6.4.4.2 环电流效应

环状共轭体系 ( $4n+2$ ) 的离域  $\pi$  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。

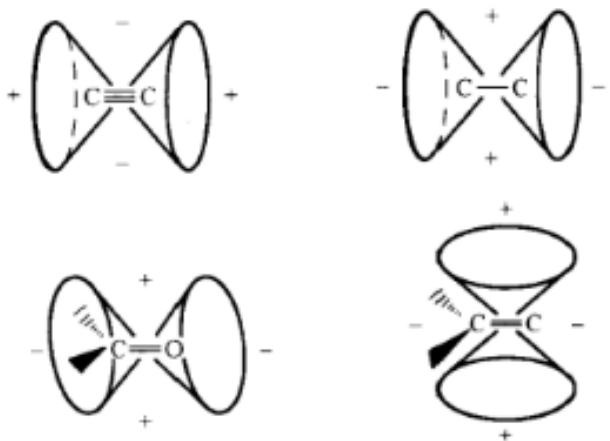
结果：环外氢为顺磁效应，去屏蔽， $\delta$  增大；环内侧氢为逆磁效应，屏蔽， $\delta$  减小。

**例** 18-轮烯：环外氢  $\delta$  为正；环内侧氢  $\delta$  为负。



#### 6.4.4.3 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， $\delta$  值高于饱和 C;
- 叁键 C 上的氢受屏蔽作用， $\delta$  减小。

#### 6.4.4.4 其他作用

电偶极和范德华力，介质，氢键等。

### 6.5 核磁共振波谱仪

#### 6.5.1 基本组成及功能

##### 6.5.1.1 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。

##### 6.5.1.2 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 ( $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ )
  - 四核探头 ( $^1\text{H}, ^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}, ^{31}\text{P}$ )
- 频率连续可调探头：如  $^{15}\text{N}$  和  $^{31}\text{P}$ 。

### 6.5.1.3 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  $\nu$ ；扫场方式：固定  $\nu$ ，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。

### 6.5.1.4 数据处理及记录部分

## 6.5.2 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  $\text{CDCl}_3, \text{C}_6\text{D}_6$  等。

## 6.6 $^{13}\text{C}$ 谱

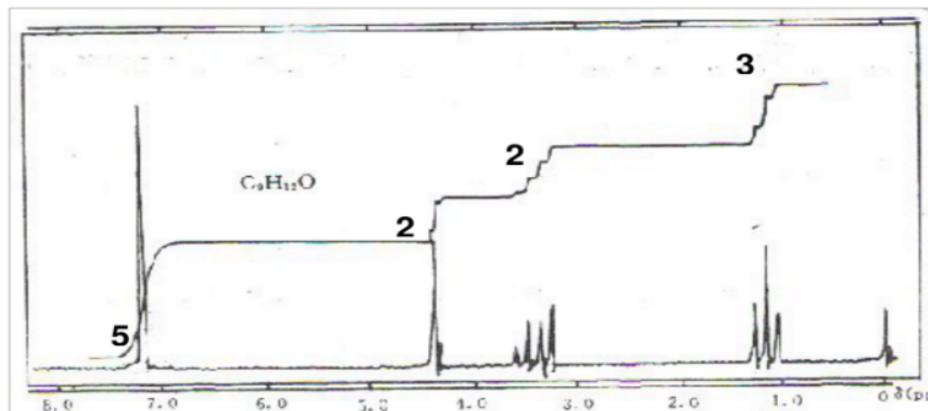
$^{13}\text{C}$  的自然丰度约为 1%，即样品中所有 C 只约有 1% 是  $^{13}\text{C}$ 。由于分子数是巨大的，而原子的分布是随机的，所以可以认为分子中每个碳原子都有 1% 几率是  $^{13}\text{C}$ ，这样就可测得代表整个分子的  $^{13}\text{CMR}$ 。由于  $^{13}\text{C}$  自然丰度低， $^{13}\text{CMR}$  的相对灵敏度仅为氢谱的 1/5600。特点：

- 碳的值范围 0-230ppm。因为 C 外层 p 电子云密度变化范围大，对 C 核的屏蔽效应变化范围也大。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。
- $^{13}\text{CMR}$  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  $^{13}\text{CMR}$  中，只提供有几类 C 的信息，没有提供各类 C 的相对比例。

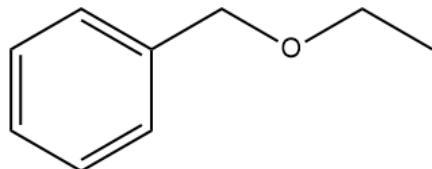
- $^{13}\text{C}$  和 H 有耦合：耦合的碳谱很乱，很难解析必须把  $^{13}\text{C}$  与  $^1\text{H}$  的偶合裂分峰去掉才行。（可以采用不同的技术进行测定）

## 6.7 解谱例题

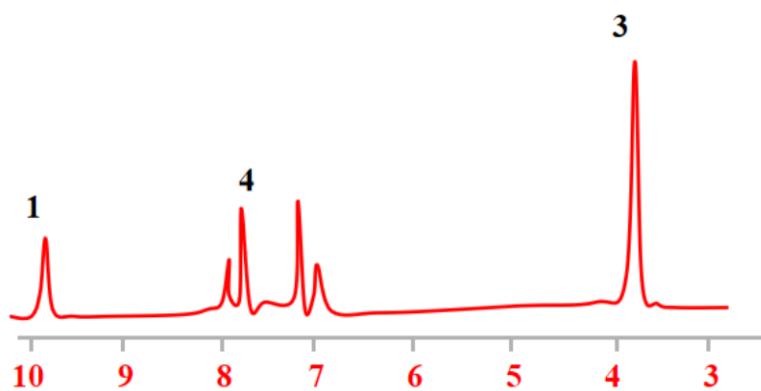
例 某化合物分子式为  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}$ ，其  $^1\text{H}$  NMR 谱如下，推测该化合物的结构。



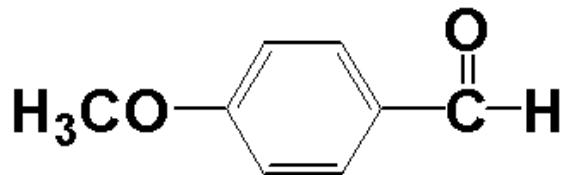
解 不饱和度为 4， $\delta = 7.2$  左右的是单取代苯的峰，所以没有其他双键和环，又无醇羟基峰，考虑醚类；3 氢的三重峰和 2 氢的四重峰对应乙基，后者化学位移大，可能与氧相连；剩下的 2 氢单峰化学位移更大，可能还和苯环相连。综上，最可能是苯甲醇乙醇醚。



例 某化合物分子式为  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$ ，其  $^1\text{H}$  NMR 谱如下，推测该化合物的结构。



解 不饱和度为 5,  $\delta = 7 \sim 8$  是芳环上氢, 四个峰对位取代;  $\delta = 9.87$  是醛基上氢, 低场;  $\delta = 3.87$  是  $-\text{CH}_3$  峰, 向低场位移, 与电负性基团相连, 所以可能的结构是



# 第七章 电化学分析

## 内容提要

- |                    |                |
|--------------------|----------------|
| □ 电化学的基本概念（掌握）     | □ 电解和库仑分析法（理解） |
| □ 电位分析法测定 pH 值（掌握） | □ 极谱分析法（了解）    |
| □ 电位分析法的电极（了解）     | □ 循环伏安法（了解）    |

## 7.1 电化学的基本概念

### 7.1.1 基本概念

#### 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。<sup>1</sup>

#### 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。

### 7.1.2 电池的书写

- 将阳极写在左边，阴极写在右边。
- 单竖线表示电极、溶液、气体的相界面。电极与溶液界面上存在的电位差，称为电极电位。
- 双竖线表示盐桥，消除了液体接界电位。



#### 笔记

- 标准电极电位：289.2K 时，以水为溶剂，当氧化态和还原态活度等于 1 时的电极电位。

<sup>1</sup>补充：

- 无液体接界电池：两个电极浸在同一个电解质溶液中；
- 有液体接界电池：两个电极分别浸在用半透膜或烧结玻璃隔开的或用盐桥连接的两种不同的电解质溶液中，以避免两种电解质溶液的机械混合，又可让离子通过。

- 当两个组成或浓度不同的电解质溶液相接触时，由于正负离子扩散速度不同，有微小的电位差产生，称为液接电位或扩散电位。如果没有消除液体接界电位，不同电解质溶液的界面也可以用单竖线。

例 Daniel 电池（铜锌原电池）： $(-) \text{Zn} | \text{ZnSO}_4 (x \text{ mol/L}) \parallel \text{CuSO}_4 (y \text{ mol/L}) | \text{Cu}(+)$

## 7.2 电位分析法

通过测量电极电位来测定物质量的分析方法，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。

### 7.2.1 理论基础

#### 能斯特方程

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

$n$  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。

### 7.2.2 指示电极

#### 指示电极

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。



一种指示电极往往只能指示一种物质，且工作时本体浓度不发生变化。

#### 7.2.2.1 玻璃电极（pH 电极）

- 内参比溶液： $0.1 \text{ mol/L}$  的  $\text{HCl}$  溶液
- 内参比电极：涂有  $\text{AgCl}$  的银丝
- 电势

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

$$= K + 0.0592 \lg \alpha_{\text{H}^+, out}$$

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

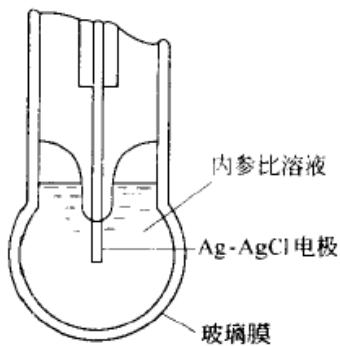


图 7.1: pH 玻璃膜电极

产生电势的关键在玻璃膜，其内外的  $\text{H}^+$  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  $E = K + 0.0592 \lg(\alpha_{\text{H}^+, \text{out}} + c\alpha^{1/n_j})$ ， $k_j$  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，现列举其他几种离子选择性电极：

- $\text{F}^-$  选择电极： $E = K - 0.0592 \lg \alpha_{\text{F}^-}$
- $\text{Na}^+$  选择电极
- $\text{Ca}^{2+}$  选择电极

### 7.2.2.2 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。

**例** 尿素在尿素酶催化下发生下面的反应：



反应生成的  $\text{NH}_4^+$  可用铵离子电极来测定。若将尿素酶涂在铵离子选择电极上，则成为尿素电极，可测出待测液中尿素含量。

葡萄糖氧化酶（葡萄糖酸）、氨基酸氧化酶（ $\text{NH}_4^+$ ）也能做成酶电极。

### 7.2.2.3 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。

**例** 将人绒毛膜促性腺激素（hCG）的抗体通过共价交联的方法固定在二氧化钛电极上，形成检测 hCG 的免疫电极。当该电极上 hCG 抗体与被测液中的 hCG 形成免疫复合物时，电极表面的电荷分布发生变化。该变化通过电极电位的测量检测出来。

### 7.2.3 参比电极

#### 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	$2 \text{Hg} + 2 \text{Cl}^- - 2e^- \longrightarrow \text{Hg}_2\text{Cl}_2$	$\text{Ag} + \text{Cl}^- - e^- \longrightarrow \text{AgCl}$
电极电势	$\varphi = \varphi^\ominus - 0.0592 \ln a_{\text{Cl}^-}$	$\varphi = \varphi^\ominus - 0.0592 \ln a_{\text{Cl}^-}$
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

### 7.2.4 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

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

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

其中  $E_{\text{SCE}}$  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。

## 7.3 电解和库仑分析法

这一部分所用的化学电池是电解池。

### 7.3.1 电解分析法

#### 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。



**例** 现以电解  $0.5\text{mol/L H}_2\text{SO}_4$  和  $\text{CuSO}_4$  的混合溶液为例说明电解过程。

- 阴极:  $\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Cu}$
- 阳极:  $2\text{H}_2\text{O} - 2\text{e}^- \longrightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+$

可以测量沉积于阴极表面的 Cu 的质量, 对溶液进行分析, 如测量  $\text{Cu}^{2+}$  浓度。

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<sup>2</sup>

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



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。

**笔记** 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。

电解分析的主要类别有:

### 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。



**例** 电解  $1\text{mol/L Cu}^{2+}$  和  $0.01\text{mol/L Ag}^+$  的混合溶液。

- $E_{\text{Cu}^{2+}} = 0.337\text{V}$
- $E_{\text{Ag}^+} = 0.681\text{V}$ , 故银先析出
- 当  $c_{\text{Ag}^+} = 10^{-6}\text{mol/L}$  时,  $E_{\text{Ag}^+} = 0.445\text{V}$ , 铜仍不会析出, 故能分离两种离子。

可以测量沉积于阴极表面的 Cu 的质量, 对溶液进行分析, 如测量  $\text{Cu}^{2+}$  浓度。

恒电流电解分析、汞阴极电解分析的例子在课本上, 不确定是否考, 暂未列入。

### 7.3.2 库仑分析法

#### 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。



#### 基本公式

$$m = \frac{MQ}{nF}$$

$$Q = \int idt$$

其中  $m$  为析出的物质的量,  $M$  为该物质的相对量,  $n$  为电极反应电子数,  $Q$  为通过的总电荷量。



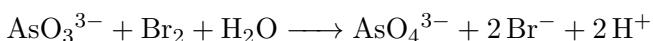
库仑分析法主要分为:

- 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。

**例** 恒电流库仑分析: 测  $\text{AsO}_3^{3-}$  含量。在一定浓度的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  介质、 $\text{KBr}$  辅助电解质中,

- 阴极:  $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2 \uparrow$
- 阳极:  $2\text{Br}^- - 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Br}_2$

电解产生的  $\text{Br}_2$  立即氧化  $\text{AsO}_3^{3-}$ :



恢复了电极反应的物质, 所以电动势不变, 电流也不变, 直到  $\text{AsO}_3^{3-}$  耗尽, 电流计指针偏转指示终点。此法叫死停终点法<sup>3</sup>。

## 7.4 伏安分析法

伏安分析法 (voltammetry) 是指以被分析溶液中电极的电压-电流行为为基础的一类电化学分析方法。与电位分析法不同, 伏安分析法是在一定的电位下对体系电流的测量。

### 7.4.1 极谱分析法

#### 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  $\text{Hg}$  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。

<sup>3</sup> 常用于氧化还原滴定体系, 特别是以电生卤素为滴定剂的库仑滴定中应用最广。



**笔记** 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。

**例** 以测  $\text{Cd}^{2+}$  离子浓度为例说明其原理。

- 阴极： $\text{Cd}^{2+} + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Cd}$
- 阳极： $2\text{Hg} + 2\text{Cl}^- - 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Hg}_2\text{Cl}_2$
- 逐漸增大外加电压，测量电流值。
- 电压很小，未达到  $E_{\text{分}}$  时，只有残余（背景）电流  $i_r$ 。
- 开始析出金属后，电流随电压的增大而增大。
- 可以想象，当电压增大到一定程度，反应速率很快，以致电极周围的  $\text{Cd}^{2+}$  被迅速消耗，此时需要周围溶液补充  $\text{Cd}^{2+}$ ，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。

典型的极谱图如图7.2。

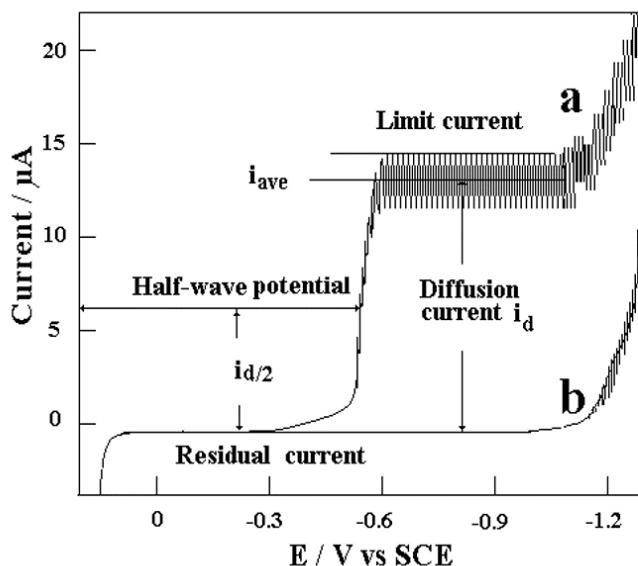


图 7.2: 极谱图

由此可以引出概念：

### 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  $i_d = i_{\text{ave}} - i_r$

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

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

$D$  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  $\gamma$  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  $0.5^{\circ}\text{C}$  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。

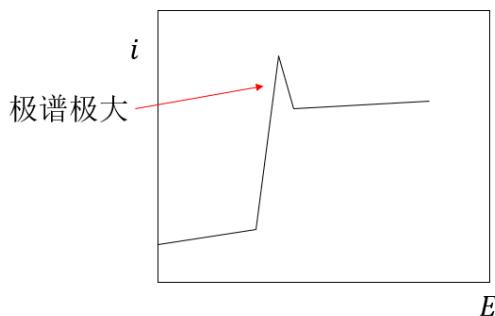


图 7.3: 极谱极大



**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。

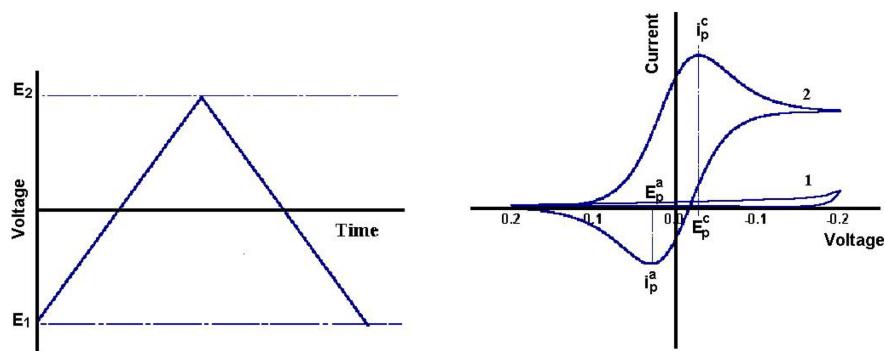
对于可逆波, 物质的氧化半波电位与该物质的还原半波电位相同。



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。

## 7.4.2 循环伏安法

如果以三角波电位进行扫描, 所获得的电流响应与电位信号的关系称为循环伏安扫描曲线。



正向扫描时，电位从  $E_1$  扫到  $E_2$ ，电位幅值为 0.4V，反扫时电位从  $E_2$  到  $E_1$ 。 $E_p^c, E_p^a$  分别代表阴极峰值电位和阳极峰值电位。 $I_p^c, I_p^a$  分别代表阴极峰值电流和阳极峰值电流。（p 代表峰值，a 代表阳极，c 代表阴极）。

例

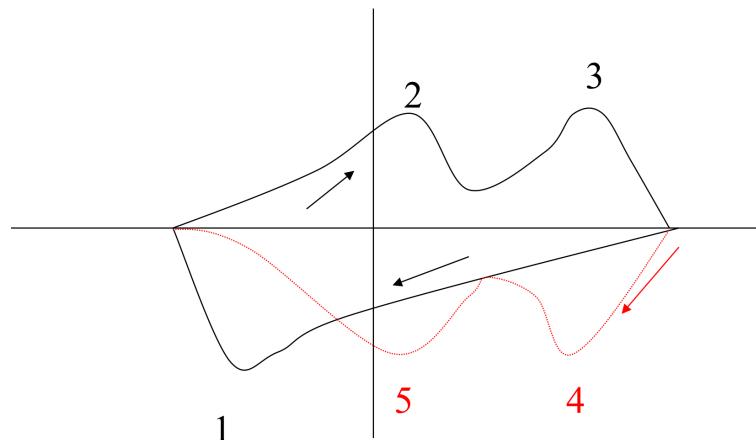
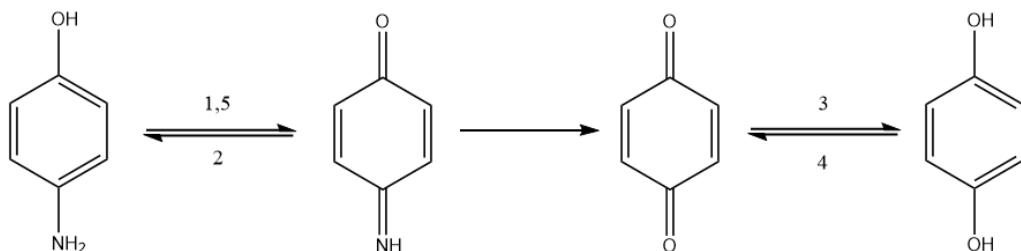


图 7.4

图 7.4 中的几个信号分别对应以下反应：



参考：<https://wenku.baidu.com/view/df58d5d309a1284ac850ad02de80d4d8d15a01f2.html>

循环伏安分析方法可用于研究氧化还原体系的反应粒子浓度以及该体系的电化学性质，如血红蛋白、细胞色素 C。

# 第八章 原子光谱

## 内容提要

- 原子发射光谱的分析方法
- 原子发射光谱的仪器

- 原子吸收光谱分析

## 8.1 原子发射光谱的分析方法

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。每一种元素的原子都有其特征光谱。

### 8.1.1 定性分析

#### 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，说明试样中不存在备件元素或元素含量在灵敏度以下。



### 8.1.2 定量分析

#### 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。



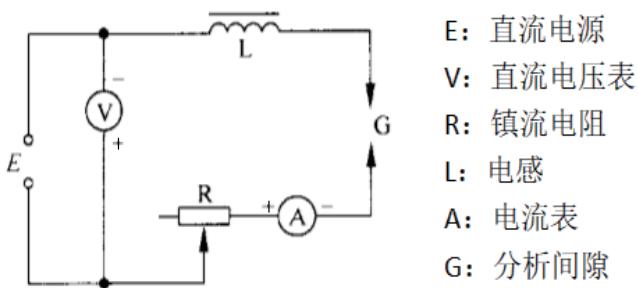
## 8.2 原子发射光谱的仪器

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）

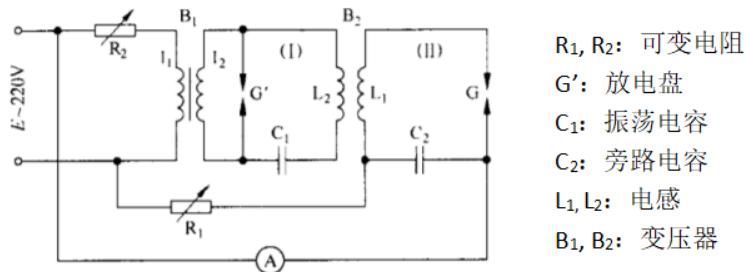
### 8.2.1 直流电弧光源

- 电机温度高，弧焰中心温度为  $5000 \sim 7000\text{K}$ ，有利于试样的蒸发；
- 除石墨电极产生的氰带光谱外，背景比较浅；
- 电弧在电极表面无常游动，且有分馏效应<sup>1</sup>，重现性比较差；
- 谱线容易发生自吸收现象。
- 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。



### 8.2.2 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。



### 8.2.3 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；

<sup>1</sup>不同物质因沸点不同而导致蒸发速度不同

- 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。

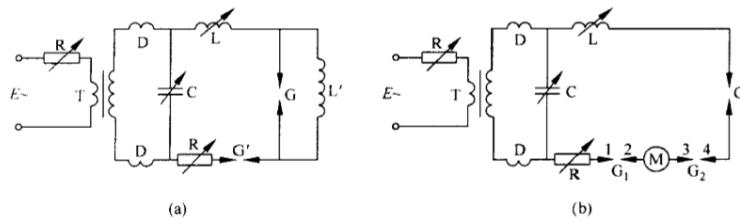


图 8.1: (a) 稳定间隙控制的火花电路; (b) 旋转间隙控制的火花电路

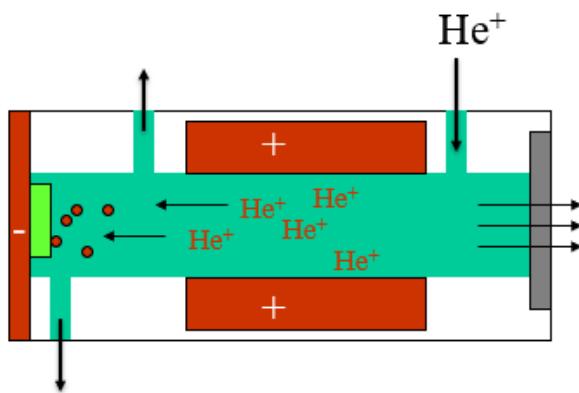
E: 电源; R: 可变电阻; T: 升压变压器; D: 扼流圈; C: 可变电容; L: 可变电感; L': 高阻抗自感线圈; G: 分析间隙; G': 控制间隙; G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>: 断续控制间隙; M: 同步电机带动的断续器

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，需要寻找更高蒸气、原子化和激发的光源。

**笔记** 基体效应：指试样组成对谱线强度的影响，主要发生在试样的蒸发和激发过程中。试样中占大多数的物质的沸点高低决定蒸发温度的高低；主体成分的电离电位越高，光源激发温度越高，影响谱线强度。不同蒸发顺序也影响谱线强度。

#### 8.2.4 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。

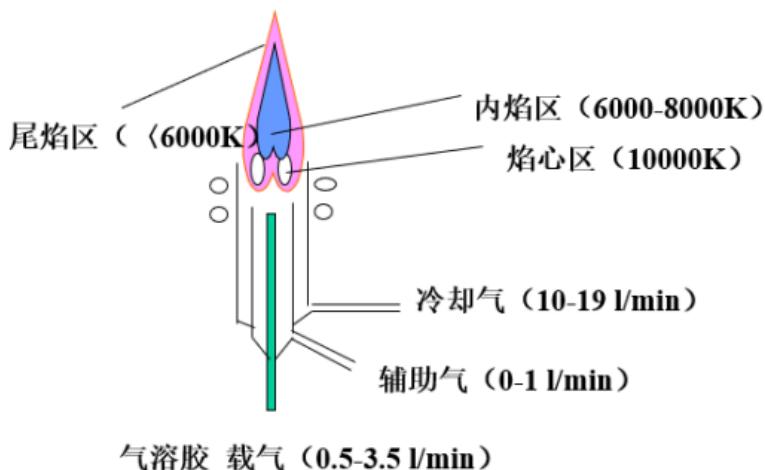


#### 8.2.5 ICP 光源 (inductively coupled plasma)

- 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<sup>2</sup>，自吸效应小；
  - 温度高，基底成分被分解，减小基底效应；
  - 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。

<sup>2</sup> 涡流主要集中在等离子体的表面层，气溶胶从中心通道进入

- 缺点：固体进样较困难，对气体和非金属灵敏度低；雾化效率低；设备和维持费高。



- 外管：通冷却气 Ar 使等离子体离开外层石英管内壁，避免它烧毁石英管。
- 中层石英管：出口做成喇叭形，通入 Ar 气维持等离子体作用。
- 内层石英管：把载气带试样气溶胶（由气动或超声雾化器产生）注入等离子体内。
- 内焰区：（测光区）分析物原子化、激发、电离与辐射的主要区域。
- 焰心区：（预热区）等离子体与高频感应线圈耦合获得能量的区域；试样气溶胶被预热、挥发溶剂、蒸发溶质。
- 尾焰区：温度低，只能激发低能级的谱线。

## 8.3 原子吸收光谱

### 8.3.1 原子吸收光谱定量分析

原子吸收光谱产生于基态原子对特征谱线的吸收。

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  $10^{-10} \sim 10^{-14} g$ ；
- 测量精度好；
- 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；

### 8.3.2 原子吸收光谱仪的结构

如图8.3

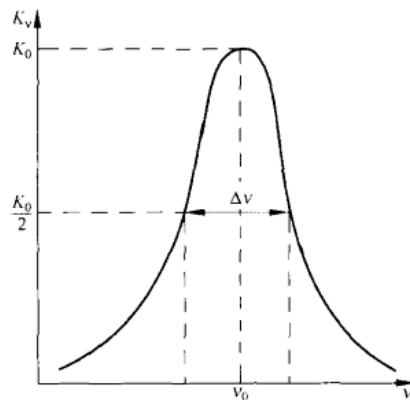


图 8.2

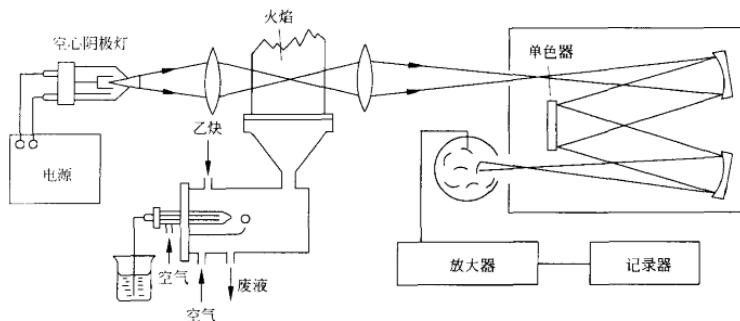


图 8.3: 原子吸收光谱仪

### 8.3.2.1 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，低于特征共辐射强度的 1%；
- 稳定性好；
- 使用寿命长于  $5A \cdot h$

工作原理：

- 由一个由被测元素材料制成的空心阴极和一个由钛、锆、钽或其他材料制作的阳极。
- 玻璃管内由  $260\sim1300Pa$  的惰性气体氩或氪来载带电流，使阴极产生溅射及激发原子发射特征的锐线光谱。
- 云母屏蔽片来使放电限制在阴极腔内，同时使阴极定位。
- 采用低压辉光放电，集中于阴极空腔内。
- 光源调制：使用脉冲供电方式来改善放电特性，同时便于使有用的原子吸收信号与原子化器的滞留发射信号区分开。

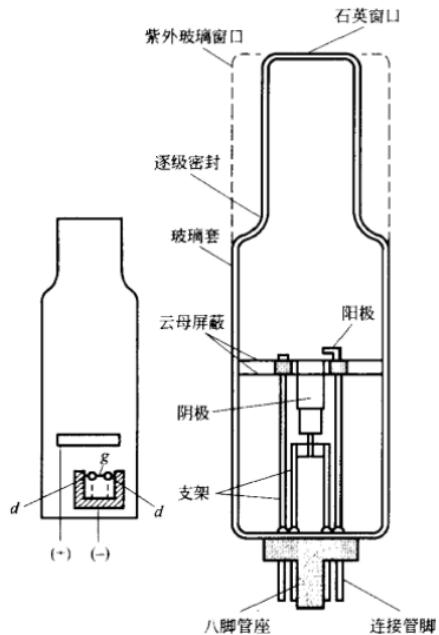


图 8.4

### 8.3.2.2 原子化器

作用：提供能量，使试样干燥、蒸发和原子化。

有三种原子化的方法：

- 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的灵敏度。
- 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 AsH<sub>3</sub>）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。

### 8.3.2.3 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。

### 8.3.2.4 检测系统

- 光电倍增管

光电倍增管的外壳由玻璃或石英制成，内部抽真空，阴极涂有能发射电子的光敏物质，如 Sb–Cs 或 Ag–O–Cs 等，在阴极 C 和阳极 A 间装有一系列次级电子发射极，即电子倍增极 D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> …等。阴极 C 和阳极 A 之间加有约 1000V 的直流电压，当辐射光子撞击光阴极 C 时发射光电子，该光电子被电场加速落在第一被增极 D<sub>1</sub> 上，撞击出更多的二次电子，依次类推，阳极最后收集到的电子数将是阴极发出的电子数的  $10^5 \sim 10^8$  倍。

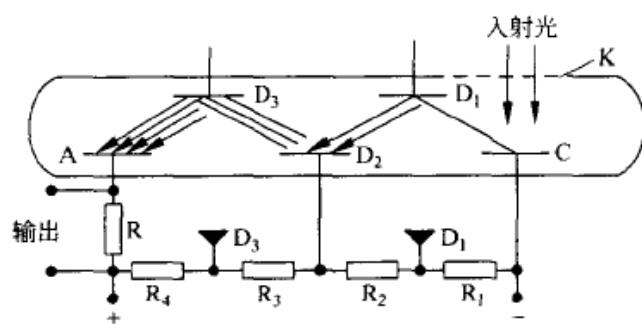


图 8.5: 光电倍增管

- 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。

## 钱院学辅——只做精美笔记

如果您对钱院学辅发布的笔记有建议和意见，欢迎通过以下方式联系我们，帮助我们进行改进：

-  钱院学辅信息发布站: <https://qyxf.site>
-  钱院学辅邮箱: qianyuanyuefu@163.com

同时也欢迎同学们扫码加入我们的 QQ 群：



群名称:钱院学辅交流分享群  
群号:852768981



群名称:钱院科粉群1.0  
群号:979670536

- 钱院学辅交流分享群：有钱院优秀的学长学姐为大家答疑平日学习中的问题，分享学习资料和经验；
- 钱院科粉群：分享科研资源、公开课、最新科技评论，转发创新竞赛相关信息，就科研方法、学习提供答疑。

如果你希望向我们投稿笔记，可以联系群内的化生 81 高旭帆同学。我们将用最整洁的排版，为你在钱院官方的平台发布一份完美的笔记！

期待与大家的见面！

钱院学辅  
2020 年 6 月 6 日