

## 液相色谱

### 思考题 Questions

1. 现需分离分析一氨基酸试样，拟采用哪种色谱？**离子交换色谱**
2. 提高液相色谱中柱效的最有效途径是什么？**减小填料粒度**
3. 何谓反相液相色谱？何谓正相液相色谱？**液相色谱中，如果采用流动相的极性小于固定相的极性，称为正相色谱，如果采用流动相的极性大于固定相的极性，称为反相色谱**
4. 在液相色谱法中，梯度淋洗适用于分离何种试样？**分离分配比相差很大的复杂混合物**
5. 在液相色谱中，范氏方程中的哪一项对柱效能的影响可以忽略不计？**分子扩散项**
6. 对下列试样，用液相色谱分析，应采用何种检测器：  
(1) 长链饱和烷烃的混合物 **紫外** (2) 水源中多环芳烃化合物。**荧光**
7. 对聚苯乙烯相对分子质量进行分级分析，应采用哪一种液相色谱法？**尺寸排阻色谱（又叫凝胶色谱）**
8. 什么是化学键合固定相？它的突出优点是什么？  
化学键合固定相指**通过化学反应将有机分子键合到载体或硅胶表面上得到的固定相。其突出优点是键合到载体上的基团不易流失，解决了固定相流失的问题，特别适用于梯度淋洗，且使固定相的功能得以改善。**
9. 什么叫梯度洗脱？它与气相色谱中的程序升温有何异同？  
梯度洗脱指将两种或两种以上不同性质但可以互溶的溶剂，随着时间改变而按一定比例混合，以连续改变色谱柱中冲洗液的极性、离子强度或 pH 等，从而改变被测组分的相对保留值，提高分离效率，加快分离速度。  
相同：都是通过逐渐改变分析条件，在保证物质分离度的前提下，让难流出的物质加速流出，以提高分析效率、更好地分离流动相中不同性质的物质。  
不同：程序升温是由于流动相中不同**组分的沸点不同**，通过程序式地升高温度使不同组分得以分离，而梯度洗脱是由于流动相中各**组分的极性不同**，通过一定梯度的改变固定相极性而使不同组分更好分离；程序升温只能从低柱温逐步升高，只能改变升温的速率，而梯度洗脱可以使用多种溶剂，采用复杂的比例变化来达到满意的分离效果，**更灵活**；程序升温多适用于气相色谱，梯度洗脱适用于液相色谱。
10. 指出下列各种色谱法，最适宜分离的物质。
  - (1) 气液色谱：分离相对分子量低、易挥发、受热稳定的物质
  - (2) 正相色谱：极性化合物的分离
  - (3) 反相色谱：非极性化合物的分离
  - (4) 离子交换色谱：分离离子化合物、有机酸和有机碱等能电离的化合物、能与离子基团相互作用的化合物
  - (5) 凝胶色谱：分离相对分子量高的化合物，常用于鉴定聚合物、大分子的分级
  - (6) 气固色谱：分离气体烃类、永久性气体
  - (7) 液固色谱：极性不同的化合物、异构体

## 气相色谱

### 思考题 Questions

1. 气相色谱的基本设备包括哪几部分,各有什么作用?

见课件

2. 试以塔板高度  $H$  做指标讨论气相色谱操作条件的选择。

见课件

3. 试述速率方程式中  $A$ 、 $B/u$ 、 $Cu$  三项的物理意义。

见课件

4. 为什么可用分辨率  $R$  作为色谱柱的总分离效能指标。

由基本色谱分离方程式  $R = \frac{\sqrt{n}}{4} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left( \frac{k}{1+k} \right)$  可知,  $R$  受柱效 ( $n$ )、选择因

子 ( $\alpha$ ) 及容量因子的控制, 故分离度是既能反映柱效率又能反映选择性的指标, 称总分离效能指标

5. 能否根据理论塔板数来判断分离的可能性? 为什么?

不能单独依靠理论塔板数来判断分离的可能, 理论塔板数描述的是液相色谱柱柱效, 塔板数越高, 说明色谱柱的分离性能越好, 柱效不能表示被分离组分的实际分离效果, 当两组分的分配系数  $k$  相同时, 无论该色谱柱的塔板数多大, 都无法分离, 具体到某些物质能否互相分离, 应用分离度描述,

6. 对载体和固定液的要求分别是什么?

见课件

7. 试比较红色担体和白色担体的性能, 它们各使用在哪些方面?

见课件

8. 固定液可分为哪几类? 为什么这样划分? 如何选择固定液。

见课件

9. 色谱定性的依据是什么, 主要有哪些定性方法。

保留时间, 定性方法见课件

10. 色谱定量分析中为什么要用校正因子? 在什么情况下可以不用?

色谱定量分析是基于峰面积与组分的量成正比关系。但由于同一检测器对不同物质具有不同的响应值, 即对不同物质, 检测器的灵敏度不同, 所以两个相等量的物质得不出相等峰面积。或者说, 相同的峰面积并不意味着相等物质的量。因此, 在计算时需将面积乘上一个换算系数, 使组分的面积转换成相应物质的量, 即校正因子。

外标法

## 光谱分析习题

1. 何谓元素的共振线、灵敏线、最后线、分析线，它们之间有何联系？

由激发态直接跃迁至基态所辐射的谱线称为共振线。由较低级的激发态（第一激发态）直接跃迁至基态的谱线称为第一共振线，一般也是元素的最灵敏线。当该元素在被测物质里降低到一定含量时，出现的最后一条谱线，这是最后线，也是最灵敏线。用来测量该元素的谱线称分析线。

一般来说，灵敏线多是共振线，最后线为最灵敏线，通常选共振线为分析线

2. 原子发射光谱定性分析的基本原理是什么？进行定性分析时可以有哪几种方法？说明各个方法的基本原理和使用场合。

定性：不同元素的原子，具有不同的电子层结构，因此原子在激发后，其价电子就有不同的跃迁，辐射出不同波长的光，经过光谱仪后，这些按一定波长顺序排列并保持一定强度比例的谱线，构成该元素的特征光谱。AES正是基于待测元素的激发态原子所辐射的特征谱线的波长，对元素进行定性分析。

(1)比较光谱法：

将试样与已知的欲测元素的化合物在相同条件下并列摄谱，然后将所得谱图进行比较（检查是否有上下重合的谱线），以确定某些元素是否存在。

特点：该法简便、快速，但只能作指定元素的定性分析，不能作全分析。

(2)元素光谱图法

将纯铁与试样并列摄谱，放大后，使元素标准光谱图上铁光谱谱线与谱片上摄取的铁谱线相重合，如果试样中未知元素的谱线与标准光谱图中已标明的某元素谱线出现的位置相重合，则该元素就有存在的可能。

特点：能用于复杂物质（矿物、岩石、土壤）的全分析

3. 原子发射光谱定量分析的依据是什么？为什么要采用内标？简述内标法的原理。内标元素和分析线对应具备哪些条件？为什么？

依据：特征谱线的强度， $I=ac^b$

由于  $b, a$  随被测元素含量和实验条件（蒸发、激发条件，取样量，感光板特性，显影条件等等）的改变而变化，在实验中很难保持为常数，这种变化往往很难完全避免，因此要根据谱线强度的绝对值来定量分析是不可以的。故常用内标法来消除工作条件变化对测定结果的影响。

在被测元素的谱线中选一条线作分析线，在基体元素（或定量加入的其它元素）的谱线中选一条与分析线均称的谱线作内标线（或称比较线），这两条谱线组成所谓分析线对。分析线与内标线的绝对强度的比值称相对强度。内标法就是借测量分析线对的相对强度来进行定量分析的。这样可使谱线强

度由于光源波动而引起的变化得到补偿。

## $\lg R = \lg(I_1/I_2) = b \lg c + \lg A$ ——内标法的基本公式

内标线与分析线的激发电位应尽量接近或相等，蒸发行为应相同，否则引入较大误差；分析线对的黑度值必须落在乳剂特性曲线的直线部分；在分析线对的波长范围内，乳剂的反衬度值不变；分析线对无自吸现象， $b=1$ 。

4. 简述原子吸收分光光度法的基本原理，并从原理上比较发射光谱法和原子吸收光谱法的异同点及优缺点。

**AAS** 是基于物质所产生的原子蒸气对特定谱线的吸收作用来进行定量分析的方法。

同：**AES** 是基于原子的发射现象，而 **AAS** 则是基于原子的吸收现象。二者同属于光学分析方法。

异：**AAS** 采用线光源而 **AES** 采用连续光源；**AAS** 的选择性高，干扰较少且易于克服。由于原子的吸收线比发射线的数目少得多，这样谱线重叠的几率小得多，而且空心阴极灯一般并不发射那些邻近波长的辐射线，因此其它辐射线干扰较小；**AAS** 具有更高的灵敏度；

在 **AAS** 的实验条件下，原子蒸气中基态原子数比激发态原子数多得多，所以测定的是大部分原子；原子吸收法比发射法具有更佳的信噪比，这是由于激发态原子数的温度系数显著大于基态原子。

5. 何谓锐线光源？在原子吸收光谱分析中为什么要用锐线光源？

锐线光源是发射线半宽度远小于吸收线半宽度的光源，如空心阴极灯。

比尔定律仅适用于单色光，且光源的带宽比吸收峰的宽度窄时，吸光度和浓度的线性关系才能成立。若采用连续光源和单色器分光的方法测定原子吸收，由于单色器所提供的有效带宽明显的大于原子吸收线的宽度，故不可避免会出现非线性的校正曲线。而在使用锐线光源时，光源发射线半宽度很小，并且发射线与吸收线的中心频率一致。这时发射线的轮廓可看作一个很窄的矩形，即峰值吸收系数  $K_v$  在此轮廓内不随频率而改变，吸收只限于发射线轮廓内。这样，求出一定的峰值吸收系数即可测出一定的原子浓度。

6. 原子吸收分析中，若产生下述情况而引致误差，应采用什么措施来减免之？

- (1) 光源强度变化引起基线漂移，
- (2) 火焰发射的辐射进入检测器（发射背景），
- (3) 待测元素吸收线和试样中共存元素的吸收线重叠。

(1) 选择适宜的灯电流，并保持灯电流稳定，使用前应该经过预热。

(2) 可以采用仪器调制方式来减免，必要时可适当增加灯电流提高光源发射强度来改善信噪比，或进行背景校正

(3) 可以选用其它谱线作为分析线。如果没有合适的分析线，则需要分离干扰元素

7. 石墨炉原子化法的工作原理是什么？与火焰原子化法相比较，有什么优缺点？为什么？

石墨炉原子化器是将一个石墨管固定在两个电极之间而制成的，在惰性气体保护下以大电流通过石墨管，将石墨管加热至高温而使样品原子化。

与火焰原子化相比，在石墨炉原子化器中，试样几乎可以全部原子化，因而测

定灵敏度高.对于易形成难熔氧化物的元素,以及试样含量很低或试样量很少时非常适用.

缺点:共存化合物的干扰大,由于取样量少,所以进样量及注入管内位置的变动会引起误差,因而重现性较差.

8. 应用原子吸收光谱法进行定量分析的依据是什么? 进行定量分析有哪些方法? 试比较它们的优缺点.

在一定的浓度范围和一定的火焰宽度条件下,当采用锐线光源时,溶液的吸光度与待测元素浓度成正比关系,即  $A=kc$ ,朗伯比尔定律。

常用两种方法进行定量分析:

(1) 标准曲线法:该方法简便、快速,但仅适用于组成简单的试样。

(2) 标准加入法:本方法适用于试样的确切组分未知的情况,不适合于曲线斜率过小的情况。

9. 用波长为  $213.8\text{nm}$ ,质量浓度为  $0.010\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的锌标准溶液和空白溶液交替连续测定 10 次,用记录仪记录的格数如下.计算该原子吸收分光光度计测定锌元素的检出限.

(缺数据)先由数据求出噪声的标准偏差 $\delta$ ,吸光度的平均值,

代入检测限的表达式:  $D = 3C\delta/A_m$

10. 用原子吸收法测锑,用铅作内标.取  $5.00\text{mL}$  未知锑溶液,加入  $2.00\text{mL}$

$4.13\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的铅溶液并稀释至  $10.0\text{mL}$ ,测得  $A_{\text{Sb}}/A_{\text{Pb}} = 0.808$ . 另取相同浓度的锑和铅溶液, $A_{\text{Sb}}/A_{\text{Pb}} = 1.31$ , 计算未知液中锑的质量浓度.

$$A_{\text{Sb}} = K_{\text{Sb}}C_{\text{Sb}}, A_{\text{Pb}} = K_{\text{Pb}}C_{\text{Pb}}$$

故:  $K_{\text{Sb}}/K_{\text{Pb}} = A_{\text{Sb}}/A_{\text{Pb}} = 1.31$ ,  $A_{\text{Sb}}/A_{\text{Pb}} = (K_{\text{Sb}} \times 5 \times C_x) / (K_{\text{Pb}} \times 2 \times 4.13) = 0.808$

得  $C_x = 1.02\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

11. 试简述产生分子吸收光谱的原因.

分子具有不同的特征能级,当分子从外界吸收能量后,就会发生相应的能级跃迁.同原子一样,分子吸收能量具有量子化特征.记录分子对电磁辐射的吸收程度与波长的关系就可以得到分子吸收光谱.

12. 电子跃迁有哪几种类型? 这些类型的跃迁各处于什么波长范围?

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $\sigma \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$ .  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$  所需能量较小,吸收波长大多落在紫外和可见光区,是紫外—可见吸收光谱的主要跃迁类型.四种主要跃迁类型所需能量 $\Delta E$ 大小顺序为:  $n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* \leq n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$ .

一般  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁波长处于远紫外区,  $< 200\text{nm}$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁位于远紫外到近紫外区,波长大致在  $150-250\text{nm}$  之间,  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁波长近紫外区及可见光区,波长位于  $250\text{nm}-800\text{nm}$  之间

13. 何谓助色团及生色团? 试举例说明.

带有非键电子对，与生色团相连时能使化合物分子的吸收峰波长向长波长方向移动的杂原子基团称为助色团，如  $\text{CH}_4$  的吸收峰波长位于远紫外区，小于  $150\text{nm}$  但是当分子中引入  $-\text{OH}$  后，甲醇的正己烷溶液吸收波长位移至  $177\text{nm}$ ， $-\text{OH}$  起到助色团的作用。

当在饱和碳氢化合物中引入含有  $\pi$  键的不饱和基团时，会使这些化合物的最大吸收波长位移至紫外及可见光区，这种不饱和基团成为生色团，广义上讲，是指分子中可以吸收光子而产生电子跃迁的原子基团。如， $\text{CH}_2\text{CH}_2$  的最大吸收波长位于  $171\text{nm}$  处，而乙烷则位于远紫外区，烯羟基即为生色团。

14. 何谓分子荧光？何谓分子磷光？何谓化学发光？试比较它们的异同。

荧光是分子第一单重激发态 ( $\text{S}_1$ ) 的最低振动能级到基态 ( $\text{S}_0$ ) 的不同振动能级的辐射跃迁；磷光是分子第一三重激发态 ( $\text{T}_1$ ) 的最低振动能级到基态 ( $\text{S}_0$ ) 的不同振动能级的辐射跃迁；化学发光是化学反应过程中产生的能量使反应物或生成物成为能发射光谱的激发态物质而发光。

荧光和磷光均为分子发射光谱，同属光致发光，而化学发光属于能致发光；一般，磷光的波长比荧光的波长长，因为  $\text{T}_1$  的能量低于  $\text{S}_1$  的能量；磷光寿命相对荧光较长，因为荧光电子能量的转移不涉及电子自旋的改变而磷光伴随电子自旋改变。

15. 分光光度法为什么必须采用单色光？

因为其定量原理基于朗伯比尔定律，改定律仅适用于单色光

16. 以丁二酮肟光度法测定微量镍，若配合物  $\text{NiDx}_2$  的浓度为  $1.70 \times 10^{-5} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，用  $2.0\text{cm}$  吸收池在  $470\text{nm}$  波长下测得透光度为  $30.0\%$ 。计算配合物在该波长的摩尔吸光系数。

17. 以邻二氮菲光度法测定  $\text{Fe}(\text{II})$ ，称取试样  $0.500\text{g}$ ，经处理后，加入显色剂，最后定容为  $50.0\text{mL}$ 。用  $1.0\text{cm}$  的吸收池，在  $510\text{nm}$  波长下测得吸光度  $A=0.430$ 。计算试样中铁的百分含量；当溶液稀释 1 倍后，其百分透射比将是多少？

( $\epsilon_{\lambda 510} = 1.1 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )

18. 某有色物质 X，摩尔质量为  $150 \text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ，在  $\lambda = 405 \text{nm}$  有一个吸收峰，浓度为  $3.03 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液，在  $2.00 \text{cm}$  比色皿中的吸光度为  $0.842$ ；当用  $1.00 \text{cm}$  比色皿、其吸光度为  $0.768$  时，求该  $100 \text{mL}$  溶液中含 X 的量为多少？

备注：

1. 光谱习题中其他计算题较简单，答案自行计算
2. 本答案为本人自己整理，有的地方为了便于大家理解，写的较多，大家可以自己简略记忆
3. 有几个同学问了吴老师课件中的一个问题，解释如下：  
吴老师课件上说的  $L=l$  的矢量和， $S=s$  的矢量和， $J=L+S$  的矢量和分别指： $L=l_1+l_2, l_1+l_2-1, l_1+l_2-2, \dots, |l_1-l_2|$ ； $S=s_1+s_2, s_1+s_2-1, \dots, |s_1-s_2|$ ； $J=L+S, L+S-1, \dots, |L-S|$ ，所以， $M=3$  时， $L=1, S=1$ ，故  $J=2,1,0$
4. 补充题目：

题目一：在原子吸收光度计中为什么不采用连续光源（如钨丝灯或氘灯），而在分光光度计中则需要采用连续光源？

解：虽然原子吸收光谱中积分吸收与样品浓度呈线性关系，但由于原子吸收线的半宽度很小，如果采用连续光源，要测定半宽度很小的吸收线的积分吸收值就需要分辨率非常高的单色器，目前的技术条件尚达不到，因此只能借助锐线光源，利用峰值吸收来代替。

而分光光度计测定的是分子光谱，分子光谱属于带状光谱，具有较大的半宽度，使用普通的棱镜或光栅就可以达到要求。而且使用连续光源还可以进行光谱全扫描，可以用同一个光源对多种化合物进行测定

题目二：从工作原理、仪器设备上对原子吸收法及原子荧光法作比较。

解：从工作原理上看，原子吸收是通过测定待测元素的原子蒸气对其特征谱线的吸收来实现测定的，属于吸收光谱，而原子荧光则是通过测量待测元素的原子蒸气在辐射能激发下所产生的荧光的强度来实现测定的，属于发射光谱。

在仪器设备上，二者非常相似，不同之处在于原子吸收光谱仪中所有组件排列在一条直线上，而荧光光谱仪则将光源与其它组件垂直排列，以消除激发光源发射的辐射对检测信号的影响。