

高等医药院校试用教材

# 分析化学

(下册)

(供中药专业用)

主编 陈定一 副主编 洪筱坤

上海科学技术出版社

高等医药院校试用教材

# 分析化学

(下册)

(供中药专业用)

主 编 陈定一  
副主编 洪筱坤  
编 委 任镇章 田明煜  
协 编 王智华 黄世德

上海科学技术出版社

高等医药院校试用教材

分析化学

下册

(供中药专业用)

主编 陈定一

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路 450 号)

新华书店上海发行所发行 上海商务印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 23.5 插页 1 字数 560,000

1986 年 11 月第 1 版 1986 年 11 月第 1 次印刷

印数 1—9,800

统一书号: 13119·1408 定价: 3.45 元

## 编写说明

本教材系根据卫生部全国高等中医院校普通课、基础课教材审编委员会上海会议精神组织编写,供全国高等医药院校中药专业(四年制)用。

当前正处于科学技术迅猛发展的时代,新技术、新概念不断涌现,为了适应这一形势,在编写过程中对分析化学中的某些新进展,尽可能作扼要介绍,各院校可根据需要,在教学中作适当取舍。

本教材分上下两册,在内容上力求保持分析化学学科的系统性,同时体现中医药的特色。上册为化学分析,侧重介绍滴定分析及重量分析,按方法分别阐述基础理论及基本技术;下册为仪器分析,主要内容为色谱分析法及波谱分析法,对近代仪器分析如高效液相色谱法、气相色谱法、紫外及红外吸收光谱法、核磁共振波谱法和质谱法的基本原理以及谱图的解析,均作了适当的介绍,各章均附有应用示例。在上、下册书后,并附有部分实验内容,各院校可结合实际情况选用。

本教材所用的计量单位,一律采用国务院于一九八四年二月颁布的法定计量单位,并对习惯沿用的计量单位与法定单位的关系作简要介绍。

编写组具体分工如下:田明煜负责第一、三、四、五章,黄世德协编第五章,谢增松参加了第一、三章的编写工作;任镇章负责第二、六、七、八、九、十一章;洪筱坤负责第十、十四、十五、十六章;陈定一负责第十二、十三、十七、十八、十九章,王智华协编第十七章。

在编写过程中,特邀请全国十六所有关中医院校分析化学的任课教师对初稿进行了审议,并根据他们提出的宝贵意见进行适当修改和补充,在此,编写组表示深切谢意。本教材系由中医院校首次组织编写,缺点错误在所难免,诚恳欢迎批评指正。

《分析化学》编写组

1985年2月

11305/04

# 目 录

<b>10 仪器分析概论</b> .....	1
10.1 概述 .....	1
10.2 仪器分析的分类及某些方法简介 .....	2
10.2.1 辐射波的发射 .....	2
10.2.2 原子吸收波谱 .....	4
10.2.3 拉曼波谱 .....	5
10.2.4 X-射线法 .....	6
10.2.5 旋光法 .....	6
<b>11 吸收光度法</b> .....	8
11.1 概述 .....	8
11.2 光的本质 .....	8
11.2.1 电磁波谱 .....	10
11.2.2 电磁辐射与物质的相互作用 .....	11
11.3 物质吸光的定量关系 .....	11
11.4 吸光度的测量 .....	13
11.5 光吸收定律的偏离 .....	14
11.6 分光光度计 .....	15
11.7 光度法的误差 .....	18
11.8 光度法分析样品的条件 .....	19
11.8.1 显色反应的选择 .....	19
11.8.2 显色反应的条件 .....	19
11.9 干扰的消除 .....	20
11.10 定量分析方法 .....	21
11.10.1 标准对照法 .....	21
11.10.2 标准加入法 .....	23
11.10.3 吸光系数法 .....	22
11.10.4 工作曲线法 .....	23
11.10.5 示差光度分析法 .....	23
<b>12 可见-紫外分光光度法</b> .....	26
12.1 概述 .....	26
12.2 基本原理 .....	26
12.2.1 吸收光谱 .....	26
12.2.2 电子跃迁的类型 .....	29
12.2.3 发色团和助色团 长移和短移 .....	32
12.2.4 吸收带 .....	32
12.3 分光光度计 .....	35
12.3.1 分光光度计的分类 .....	35
12.3.2 分光光度计的结构 .....	36
12.3.3 可见-紫外分光光度计 .....	38
12.4 各类有机化合物的紫外吸收光谱 .....	39
12.4.1 饱和化合物 .....	40
12.4.2 不饱和有机化合物 .....	40
12.5 有机化合物紫外最大吸收波长的推算 .....	47
12.5.1 Woodward 定则 .....	47
12.5.2 Scott 规则 .....	51
12.5.3 Fiesel 和 Kuhn 经验式 .....	52
12.6 影响有机化合物紫外吸收光谱的主要因素 .....	53
12.6.1 位阻影响 .....	53
12.6.2 异构现象 .....	54
12.6.3 跨环效应 .....	55
12.6.4 溶剂效应 .....	55
12.6.5 体系 pH 值的影响 .....	57
12.7 紫外吸收光谱的定性、定量分析方法 .....	57
12.7.1 定性方法 .....	58
12.7.2 定量方法 .....	58
12.8 分光光度测定的新技术 .....	61
12.8.1 双波长测定法 .....	61
12.8.2 导数分光光度法 .....	62
12.9 紫外分光光度法在中药生产与研究中的应用 .....	64
12.9.1 中草药化学成分研究 .....	64
12.9.2 中草药的鉴别及其质量控制 .....	68
12.9.3 中草药制剂的质量检查 .....	69
12.10 紫外吸收光谱的解析 .....	69
12.10.1 解析紫外吸收光谱的经验规律 .....	70
12.10.2 解析示例 .....	70
<b>13 红外分光光度法</b> .....	73
13.1 概述 .....	73
13.2 基本原理 .....	73
13.2.1 振动-转动光谱 .....	73
13.2.2 振动形式 .....	76
13.2.3 峰数 .....	77
13.2.4 吸收带的强度 .....	81
13.2.5 吸收峰峰位 .....	82
13.3 影响谱带位置的因素 .....	84
13.3.1 诱导效应 ( <i>I</i> 效应) .....	84
13.3.2 共轭效应 ( <i>M</i> 效应) .....	84
13.3.3 偶极场效应 ( <i>F</i> 效应) .....	85
13.3.4 氢键效应 .....	85
13.3.5 键角效应 .....	85
13.3.6 空间位阻 .....	86
13.3.7 跨环中和 .....	86

13.3.8 溶剂影响 .....	86	14.7.1 TLC 的实验操作 .....	141
13.4 红外分光光度计 .....	87	14.7.2 平面色谱原理 .....	145
13.4.1 主要部件 .....	87	14.7.3 展开操作 .....	148
13.4.2 光路 .....	89	14.7.4 定性与定量 .....	155
13.4.3 付里叶变换红外光谱仪简介 .....	90	14.8 干柱色谱 .....	158
13.5 红外光谱与分子结构的关系 .....	90	14.8.1 干柱色谱的原理 .....	159
13.5.1 红外光谱中的八个区段 .....	90	14.8.2 干柱色谱的实验技术 .....	159
13.5.2 各类有机化合物红外光谱特征 .....	90	<b>15 气相色谱</b> .....	162
13.6 定性、定量分析 .....	100	15.1 概述 .....	162
13.6.1 样品的制备 .....	100	15.2 气相色谱的流程及色谱图 .....	163
13.6.2 定性 .....	101	15.2.1 流程图 .....	163
13.6.3 定量分析 .....	105	15.2.2 洗脱曲线和色谱图 .....	163
13.7 红外光谱法在中草药研究及生产中的 应用 .....	106	15.2.3 常用术语及色谱图所反映的信息 .....	164
13.7.1 中草药化学成分及结构的研究 .....	106	15.3 气相色谱的基本理论 .....	166
13.7.2 中药材真伪优劣的鉴别 .....	107	15.3.1 板理论 .....	166
13.7.3 中药生产过程中的质量控制 .....	108	15.3.2 速率理论 .....	167
13.8 中草药红外光谱解析示例 .....	108	15.4 流动相 .....	169
<b>14 液相色谱</b> .....	112	15.5 色谱柱 .....	169
14.1 概述 .....	112	15.5.1 各种色谱柱及柱体 .....	169
14.2 色谱法的基本原理与基本技术 .....	113	15.5.2 载体 .....	170
14.2.1 色谱分离过程的动力学观点 .....	113	15.5.3 固定液 .....	173
14.2.2 色谱分离过程的平衡观点 .....	113	15.5.4 聚合物固定相 .....	176
14.2.3 色谱分离的连续转移等效板模式 .....	114	15.6 检测器 .....	177
14.2.4 色谱柱分离效率的评定 .....	115	15.6.1 检测器的应答值 .....	177
14.2.5 色谱分析中的洗脱技术 .....	119	15.6.2 对检测器的要求 .....	177
14.3 吸附色谱法 .....	121	15.6.3 热导检测器 .....	178
14.3.1 吸附色谱的基本原理 .....	122	15.6.4 氢火焰离子化检测器 .....	179
14.3.2 吸附等温线 .....	122	15.6.5 其他 .....	180
14.3.3 洗脱曲线 .....	123	15.7 定性分析 .....	182
14.3.4 吸附剂 .....	123	15.7.1 利用保留值进行定性 .....	182
14.3.5 洗脱剂 .....	125	15.7.2 利用保留值的经验规律定性 .....	184
14.4 分配色谱法 .....	127	15.7.3 联用技术定性 .....	185
14.4.1 基本原理 .....	127	15.8 定量分析 .....	186
14.4.2 支持剂 .....	128	15.8.1 谱图信息的测量 .....	186
14.4.3 固定液相与流动液相 .....	128	15.8.2 定量分析方法 .....	187
14.4.4 分配色谱操作的注意事项 .....	129	15.8.3 微处理机的应用 .....	188
14.4.5 应用 .....	130	15.9 应用举例 .....	189
14.5 离子交换色谱 .....	130	15.9.1 某些中药中挥发性成分的气相色谱 分析 .....	189
14.5.1 离子交换的基本原理 .....	131	15.9.2 中成药的气相色谱分析 .....	190
14.5.2 离子交换树脂及其特性 .....	133	15.9.3 色-质联用技术的应用 .....	192
14.5.3 离子交换的经验规则 .....	135	<b>16 高效液相色谱</b> .....	195
14.5.4 应用 .....	136	16.1 概述 .....	195
14.6 凝胶色谱法 .....	137	16.2 基本原理 .....	195
14.6.1 凝胶色谱的原理 .....	137	16.2.1 热力学基础 .....	195
14.6.2 凝胶类型 .....	137	16.2.2 动力学条件 .....	196
14.6.3 实验条件的选择与实验方法 .....	139	16.2.3 影响 HPLC 效率的因素 .....	197
14.6.4 应用 .....	140	16.2.4 HPLC 的最佳条件 .....	198
14.7 平面色谱 .....	141	16.3 HPLC 的分离机理和担体 .....	198

16.3.1 液固吸附色谱	198	17.10.4 与卤原子相连的质子	233
16.3.2 化学键合相色谱	200	17.11 质子与其他磁核的偶合	233
16.3.3 离子对色谱	202	17.12 一级类型波谱	234
16.4 固定相与流动相的选择	205	17.13 高级偶合	237
16.5 仪器装置	205	17.13.1 AB系统	237
16.6 检测器及其选择	206	17.13.2 ABX系统	238
16.6.1 检测器的种类	206	17.13.3 复杂波谱的简化方法	239
16.6.2 检测器的选择	206	17.14 核磁共振波谱的应用	242
16.7 应用	207	17.15 $^{13}\text{C}$ NMR波谱	245
<b>17 核磁共振波谱法</b>	209	17.15.1 宽谱带噪音去偶	246
17.1 概述	209	17.15.2 付里叶转换	246
17.2 核磁共振的基本原理	209	17.15.3 $^{13}\text{C}$ 的NMR实验	246
17.2.1 原子核的自旋	209	17.15.4 $^{13}\text{C}$ NMR波谱的解析	247
17.2.2 核的进动	210	17.15.5 化学位移等同	249
17.2.3 自旋核在磁场中的共振	211	17.15.6 化学位移	251
17.2.4 核的弛豫	213	<b>18 质谱法</b>	255
17.3 核磁共振波谱仪	214	18.1 概述	255
17.3.1 磁铁	214	18.2 质谱仪器	256
17.3.2 射频振荡器	215	18.2.1 质谱仪器的类型	256
17.3.3 射频接受器	215	18.2.2 仪器构造	256
17.3.4 读数系统	215	18.2.3 色谱-质谱联用仪器	259
17.3.5 样品管	215	18.2.4 质谱仪器的主要性能指标	259
17.4 溶剂和样品	215	18.2.5 质谱图及其表示方法	260
17.4.1 溶剂的选择	215	18.3 基本原理	261
17.4.2 样品的制备	216	18.3.1 离子的产生	261
17.5 化学位移	216	18.3.2 质谱方程	263
17.5.1 核外电子的屏蔽效应	217	18.4 质谱中离子的主要类型	264
17.5.2 化学位移的表示方法	217	18.4.1 分子离子	264
17.6 影响化学位移的因素	218	18.4.2 亚稳离子	265
17.6.1 核外电子云密度的影响——电负性	218	18.4.3 同位素离子	266
17.6.2 化学键的磁各向异性	219	18.4.4 碎片离子	267
17.6.3 苯环的环电流效应	220	18.5 分子的裂解	268
17.6.4 单键的各向异性效应	220	18.5.1 离子质量数和离子电子数的关系	268
17.6.5 范德华效应	221	18.5.2 影响离子断裂的主要因素	269
17.6.6 氢键的去屏蔽效应	221	18.5.3 裂解类型	269
17.6.7 溶剂效应	221	18.5.4 各类有机化合物裂解过程摘要	278
17.6.8 化学位移与分子结构的关系	221	18.6 质谱解析	282
17.7 自旋-自旋偶合	223	18.6.1 分子离子峰的确定	282
17.8 化学位移等同和磁等同	225	18.6.2 分子式的确定	284
17.8.1 化学位移等同	225	18.6.3 质谱图的解析步骤	285
17.8.2 磁等同	226	<b>19 综合解析</b>	296
17.8.3 不等同质子	226	19.1 概述	296
17.9 偶合常数及其类型	227	19.2 综合解析的步骤	296
17.9.1 偶合常数	227	19.3 综合解析示例	301
17.9.2 偶合类型	227	<b>实验部分</b>	313
17.10 与杂原子相连的质子	230	实验一 分光光度计的性能检验	313
17.10.1 与氧原子相连的质子	231	附: 721型分光光度计使用方法	314
17.10.2 与硫原子相连的质子	232	实验二 药物中微量铁的测定	315
17.10.3 与氮原子相连的质子	232	实验三 紫外分光光度计的性能检验	316

附: 751 型紫外分光光度计使用方法 .....	318	实验十三 氧化铝活度测定法(薄层色谱法) .....	342
实验四 吸收曲线的测绘及吸收系数的测定 .....	319	实验十四 生物碱的薄层色谱 .....	343
实验五 丹皮酚注射液中丹皮酚的含量测定 .....	320	实验十五 气相色谱仪的使用方法 .....	345
实验六 双波长分光光度法测定安钠咖注射液中咖啡因的含量 .....	321	实验十六 固定液的涂渍与色谱柱的填充 .....	350
实验七 导数光谱法测定安钠咖注射液中咖啡因的含量 .....	322	实验十七 气相色谱仪性能检查 .....	351
实验八 红外分光光度计性能检验 .....	323	实验十八 气相色谱法定性分析 .....	356
实验九 样品红外光谱的测定(KBr 法) .....	324	实验十九 气相色谱法定量分析(外标法) .....	357
实验十 SADTLER 红外标准光谱查阅方法练习 .....	325	实验二十 气相色谱法定量分析(归一化法) .....	358
附: Sadtler 红外标准光谱查阅方法 .....	327	实验二十一 高效液相色谱仪性能检查 .....	359
实验十一 氧化铝活度测定法(柱色谱法) .....	338	实验二十二 高效液相色谱法定性分析 .....	360
实验十二 有机酸的纸层析色谱 .....	340	附 录 主要基团的红外特征吸收峰 .....	362



# 10 仪器分析概论

## 10.1 概 述

近年来,分析化学的理论和技術都有了飞跃发展。虽然它的使命仍然是解决各种样品的定性和定量问题,但由于创建了一系列崭新的分析方法和技術,并被迅速地运用到各个领域。例如各种色谱分析技术的发展、放射化学方法的应用、激光波谱的诞生、付里叶转换在分析技术中的应用以及各种联用技术的出现,把分析化学理论和技術推向一个新的高度。对于一些痕量组分的测定,已突破了超微量分析的范围,达到 ppb 级;激素类、氨基酸类及各种甙类等化合物的旋光异构体或空间异构体的分离问题现今都已解决;对于食品或药用动植物中农药残留量的测定也已成为常规的分析工作。上述这些分离分析问题的提出和解决,一方面反映了分析化学与各学科之间的密切联系,同时也显示了分析化学在当今科技发展中所占的地位。可以这么说,某一学科的发展速度在很大程度上取决于它在研究工作中所用的分析技术的先进程度。以英国化学协会出版的《分析化学》杂志 (Analytical Chemistry) 为例,在所发表的论文中,约 60% 的作者并非分析化学专业的。这说明了近代科学技术的发展需要多学科间的配合与协作,同时也对分析化学工作者提出了更高的要求,除了要熟悉经典化学分析的各项技术外,还要熟练掌握近代仪器分析的各种技术。

从目前分析化学理论的发展以及它在各方面的应用情况来看,分析化学的基本内容可分为四个主要方面:电化学分析法、酸-碱分析法、色谱分析法和分光光度法。其中电化学分析法和酸碱分析法已叙述于前,在以下的章节中,将以色谱分析法和光谱解析为主要内容。同时,根据中药专业的实际情况,对其他一些分析方法予以择要介绍。在介绍分析化学的一系列基本原理时,也强调各种分析技术在中药生产和中药有效成分研究中的应用。

色谱技术在本世纪初创立,近二十余年来的发展尤为突出,它不仅被广泛地应用于各门学科,而且在药物的分离分析和定量测定工作中已成为不可缺少的工具,因而列为本课程的重点教学内容之一。

紫外吸收波谱(UV)、红外吸收波谱(IR)、核磁共振波谱(NMR)和质谱(MS)已成为中药研究工作中定性、定量和测定结构的主要手段。本教材主要讲述它们的谱图解析、基本原理及利用谱图的解析结果来测定化合物的结构。要求学生具有基本的读谱或识谱能力,解析一些简单有机化合物的谱图,并能够独立地查阅化合物的标准波谱图。

在了解了分析化学的内容后,再纵览一下它的发展趋势也是颇为有益的。由于天平的出现,使分析化学脱颖而出,比色计、分光光度计的诞生则推动了仪器分析的迅速发展。从这些发展过程可以找出某种规律,即先产生某种新的分析仪器,然后在此基础上建立新的理论,再在此理论指导下使它更为完善,并成为一门新的学科分支。现代的许多分析技术都是遵循这一规律发展起来的。如色谱技术的发展史就明显地体现了这一过程,其他如红外吸收波谱、核磁共振波谱等也都如此。另一种发展趋势是引用其他学科中的某一理论或技术来创立一种新的分析技术或改善提高了原有的分析技术。例如激光波谱学的出现就是引进激光技术的结果。质谱计原是物理学家手中的工具,一旦为化学家所掌握,就显示了这一方

法的巨大的潜在力量,现在不仅可利用质谱技术测定分子量,其精确程度可达小数点后第六位,而且可作化合物的元素分析及结构测定之用。放射化学技术的采用也创立了分析化学的新领域。当然,这些分析技术的发展还有赖于仪器的改进,即使是一种较老的分析技术也需要不断地改进其仪器设备,例如天平的改进,目前已研制出操作方便、正确可靠、灵敏度高的微量电子分析天平,其感量可达 0.001 mg。其他正在发展中的分析技术,它们的仪器型号则是年年更新,不断改进。如气相色谱仪的发展,由一、二种检测器发展到多种检测器,柱温的控制由恒温发展到程序升温,实验操作由手动发展到用微处理机控制色谱条件并进行数据计算,最后自动打印出实验结果。目前又新增了屏幕显示器,随时可告知实验进程。由此可知,仪器改进不断地推动着分析化学的前进。1983 年在英国爱丁堡召开的第六届国际分析化学会议上,提出了不少新技术的进展报告,其中值得一提的是流动注射分析法。有关它的应用已发表 300 余篇论文。研究表明它可提高灵敏度,比一般吸光光度法提高二个数量级,比火焰光度法提高 20 倍,若先经离子交换富集可测到 1 ppb 的 Cd、Pb、Zn、Cu 等金属元素。

除了上面所述的情况外,另一个重要的发展趋势是各种分析技术的计算机化。计算机不仅可以控制实验的操作条件,而且将操作步骤编成程序后还可以使仪器操作自动化。这种情况在目前使用的各种专用微处理机上已能完成。人们对计算机不断地提出新的要求,希望它能协助进行化合物结构的测定,确定实验方案,选择分析方法,提供最新、最完整的信息资料,最终实现全面的人机对话,并为人们控制各种仪器设备,按人们的需要自动地进行实验,写出实验报告。要完全做到这些要求,还有待于世界各国各行各业的专家们共同努力,不过按现有的发展水平估计,要不了多久就能实现这一目标。

## 10.2 仪器分析的分类及某些方法简介

仪器分析的内容涉及面广,仪器的品种繁多,介绍很难面面俱到。现根据各种方法所依据的原理作一分类,使有一个概括的认识,分类情况见表 10-1。

表 10-1 中简要地罗列了一些主要的分析方法,其中有些内容已在分析化学(上)中介绍,有些内容是本课程的主要讲述内容,有些仅在本章予以简要说明,作为知识性介绍,有些则从略。

近来也有按分析的目的进行分类:

- (1) 分离分析——色谱分析、超离心分析等。
- (2) 结构分析——紫外可见吸收波谱、红外吸收波谱、核磁共振波谱和质谱等。
- (3) 化合物的元素分析——等离子体、发射波谱、原子吸收波谱、电子探针等。
- (4) 形态分析——电子显微镜、扫描电子显微镜等。

### 10.2.1 辐射波的发射

利用某些能源使原子或分子被激发而处于激发态,激发态是不稳定的,很容易以发射辐射波的形式释放能量,回到稳定态,即基态。这些激发源包括热能、电能和辐射波(X-射线、紫外线、可见光及放射线)等,因而形成了多种不同的分析方法及其相应的仪器。

1. 发射波谱(emission spectrometry) 一般有三种发射波谱:连续波谱(continuous spectrum)、带谱(band spectrum)和线谱(line spectrum)。连续波谱是由白炽固体发射的,不存在任何界限分明的谱线。线谱是原子或由原子形成的离子在受激后,以一定波长的

表 10-1 近代仪器分析的分类

测定方法及其原理		分析方法的名称
光学分析法	辐射波的吸收	1. 比色法 2. 分光光度法 3. 核磁共振波谱和电子自旋共振谱 4. 原子吸收波谱
	辐射波的发射	1. 火焰光度法 2. 发射波谱 3. 荧光波谱 4. 放射化学 5. X-射线法
	辐射波的散射	1. 浊度法和散射浊度法 2. 拉曼波谱
	辐射波的折射	1. 折射率 2. 干涉法
	辐射波的衍射	1. X-射线衍射 2. 电子衍射
电化分析法	电位的测量 电导的测量 电流的测量 电量的测量	电位法和离子选择性电极测定法 电导法 极谱法和安培滴定 库仑分析法
色谱分析法	吸附色谱 分配色谱 离子交换色谱 凝胶色谱 离子对色谱	1. 柱色谱 2. 平面色谱 3. 气相色谱 4. 高效液相色谱
其他分析法	质荷比的测量 热性质的测量 电子显微镜	质谱 热导法和热函法 电子显微镜

辐射波形式发射能量。

由于发射波谱法常用火焰、交流电弧、直流电弧和交流火花作为激发源，它们不仅使试样气化，并将已气化原子中的电子激发到较高能级，此时，气态中处于激发态的单原子发射出线光谱。因为它不存在振动和转动的精细结构，故而此处所指的发射波谱均系线波谱，因此它较多地用于各种元素的定性和定量工作。

2. 荧光波谱 (fluorescence spectrometry) 荧光波谱不同于上述发射波谱，一般采用辐射波作激发能源，例如氙弧灯等。试样分子吸收辐射能后跃迁到较高能级，如前所述，激发态分子也要放出能量而回到基态。但它首先在分子相互碰撞中消耗了相当的能量，使其能级下降到第一电子激发态中的最低振动能级，此时的能量转移形式称为无辐射跃迁。由此最低振动能级再下降到基态中的各振动能级，同时发射出比原来所吸收的频率较低、波长较长的辐射波，此即荧光。由于所用的激发能源是一种辐射波，在分子吸收过程中并未使分子遭受破坏，与上述发射波谱相比，这是它的长处。不过，并非所有的物质分子都能产生荧光，因此不能广泛地应用于对各种物质进行分析。产生荧光的必备条件是：必须具有紫外吸收的特征结构以及具有较高荧光效率的物质分子。

荧光法中常会遇到两种波谱: 激发波谱与荧光波谱。若要得到激发波谱, 则应在激发源与试样间置一单色器, 在激发光源对试样扫描时同时记录每一激发源波长所产生的荧光强度, 然后以荧光强度对激发源波长作图, 得到荧光物质的激发波谱。实际上, 激发波谱中荧光强度最强的频率位置, 就是能使荧光物质产生强烈荧光的激发源波长。如果保持激发源的波长和强度不变, 将试样产生的荧光通过单色器色散, 然后以荧光强度与其相对应的荧光波长作图, 此时所得之曲线称为荧光发射波谱, 简称荧光波谱。

### 10.2.2 原子吸收波谱(atomic absorption spectrometry)

在发射波谱的火焰激发源中, 绝大多数原子处于基态而不是处于激发态, 例如在  $2700^{\circ}\text{C}$  时, 钠谱线的跃迁, 其激发态原子与基态原子的比率约为  $6 \times 10^{-4}$ 。因而 Walsh 在 1955 年提出了改进分析的设想。采用一个外光源, 它所发射的谱线相当于某原子从基态到某一激发态的电子跃迁所需的能量, 即用该原子所发射的谱线波长作光源来辐照试样, 此时于基态的原子就会吸收该波长的辐射波而跃迁至高能级, 所得之谱线强度正比于试样量, 这样可大大地提高灵敏度, 对于那些难以激发的元素其效果更为显著。例如锌在发射波谱中的检测限量在 500 ppm 左右, 而在原子吸收波谱中可测到 0.5 ppm。

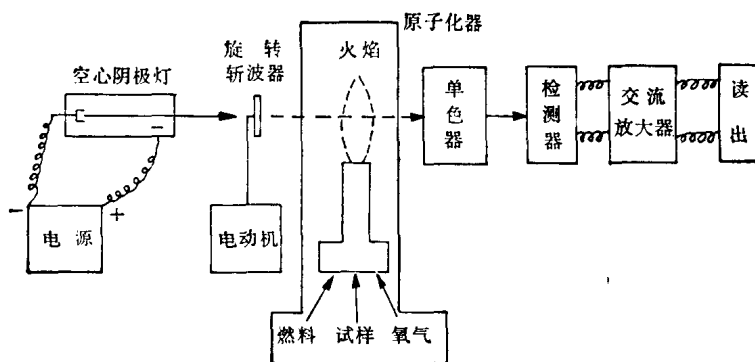


图 10-1 原子吸收波谱法测量技术示意图

图 10-1 显示了原子吸收波谱仪的基本结构。其中, 光源是一重要组成部分, 根据原子吸收波谱的特点, 光源应只能发射某一特定波长, 为此而设计了空心阴极灯。对于每一种欲测定的元素都有其相应的特制空心阴极灯。近来, 已由只能测定单一元素的空心阴极灯发展到复合灯, 并且出现了强烈的连续光谱光源, 例如氙弧灯、微波激发无电极放电灯等。原子化器也是重要组成部分, 有两种类型: 火焰原子化器和无火焰原子化器。火焰的用处是使样品气化, 再使分子态物质转变成原子蒸气, 即原子化; 最后激发原子(和分子)蒸气使发射辐射。对适用的火焰有两个要求: 具有正确的温度或燃料-氧化剂比值以承担火焰的上述功能; 火焰本身的光谱不会干扰待测的发射或吸收特性的测量。近年来发展的无火焰原子器, 可作痕量元素分析。双光速原子吸收分光光度仪的诞生, 使分析的灵敏度和正确性更为提高。原子吸收光谱的应用非常广泛, 约六十余种的元素可用本法测定, 文献中可查到四十多种金属在各种试样中的测定方法。近年来随着人体中微量元素的研究, 该分析方法在医学和药学领域中也显得重要了。总之, 原子吸收波谱是各种金属元素定性、定量的最有效方法之一。

### 10.2.3 拉曼波谱(Raman spectroscopy)

在讲到光的散射现象时,都认为散射光的频率与入射光的频率相同。拉曼在1928年观察到单色光被分子散射时,有一部分散射光的频率不同于入射光的频率,这一现象称为拉曼效应(Raman effect)。由于拉曼散射光的强度只有入射光的0.01%,直到激光(laser)问世后,有了功率强大的光源,才使其变得有应用价值。

散射现象的产生与物质的分子结构和入射光的波长有关。当物质颗粒的直径不超过入射光波长的十分之一时,颗粒将受到入射电磁场的作用。若颗粒可被极化的,则将产生诱导偶极。当光波通过时,即产生与之相同频率的振荡,这个振荡的偶极子就建立了它自己的电磁场,并成为第二个辐射源。它所发出的辐射波频率与入射波完全相同,并且在所有的方向上传播,呈散射现象。所有的原子和分子均能产生这类散射,称为瑞利散射(Rayleigh scattering)。瑞利散射光的强度与入射光频率的四次方成正比。由于分子是一振荡偶极子,分子极化度的变化将使散射光的振动频率产生变化,因此,散射光是由几种不同频率的辐射波所组成,一种是与入射光频率相同的辐射波,另一种是其辐射波频率相当于入射光频率与分子某一振动频率之和或之差。后一部分的散射光就是拉曼效应的结果。据实验,入射光子与试样分子之间的碰撞,大多是弹性碰撞,产生瑞利散射,在每一百万次的碰撞中大约有一次是非弹性的,即拉曼散射,故拉曼散射光是极微弱的。

图10-2表明了瑞利散射与拉曼散射在能量上的差异,同时也表明了产生两种拉曼散射光的情况。用量子力学对此可作简单的解释:一个处于基态能级的分子,吸收相当于振动能级跃迁所需的能量而处于激发态,当它回到比基态能级略高的能级时,它所释放的辐射能将比吸收辐射能小,且释放辐射波的频率要低于入射光的频率,见图10-2中的斯托克斯线(Stokes lines)。若分子处于略高于基态的能级,吸收同样的能量而处于激发态,当回到基态时所释放的能量将比吸收能量大,亦即释放辐射波的频率高于入射光的频率,见图10-2中反斯托克斯线。斯托克斯线和反斯托克斯线的频率位置以瑞利散射线频率为中心,呈对称分布。频率迁延与入射光的辐射频率无关,仅反映了分子振动情况。斯托克斯线比反斯托克斯线具有较大的强度,故一般对斯托克斯线研究较多。

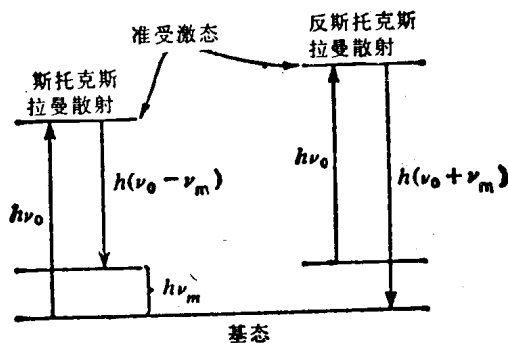


图10-2 瑞利散射和拉曼散射的谱线能级图

在研究分子结构时,拉曼波谱所提供有关分子振动情况的信息是与红外波谱的信息互补的,但仪器较昂贵,因而使它在广泛应用方面受到一定的限制。

### 10.2.4 X-射线法(X-ray method)

在表10-1中所列的许多方法都涉及X-射线,现予以简单的介绍。

当一束高能电子轰击某金属时,使被轰击原子的内层电子脱离原子,使原子处于受激态,此时处于某外层的一个电子将转移到内层的空位,同时以 X-射线形式发射出能量。X-射线的波长范围介于  $0.1 \sim 25 \text{ \AA}$  之间。英国物理学家 Moseley 研究了多种元素发射的 X-射线,他发现每种元素发射其特定波长的 X-射线,若按元素周期表的顺序将其排列,则发现它们发射的 X-射线波长按原子序数的增加而逐渐变短。于是 Moseley 在 1913 年首先提出了下列关系式。

$$\frac{c}{\lambda} = a(z - \delta)^2 \quad (10-1)$$

式中  $c$  为光速,  $a$  是比例常数,  $\delta$  是取决于各元素特定系列的常数。元素周期表中每一元素都产生特定的一系列发射谱线,对其中每一条谱线来说,在原子序数  $z$  和波长倒数  $1/\lambda$  之间存在一简单关系,这就是上式所表明的 Moseley 方程,这一性质有助于说明元素周期表中出现的原子量倒置的现象。

X-射线在分析化学中的应用正如上表 10-1 所列的三个方面,即发射波谱法、吸收波谱法和衍射法。

发射波谱法是利用受激元素发射特定波长的 X-射线来进行定性,且发射 X-射线强度与受激原子的数目呈比例关系,因此可用于定量分析。常用的激发方法是用电子直接轰击物质(直接发射分析法和电子探针微分析法),或用波长较短的 X-射线辐照物质(荧光分析法)。

当一种元素吸收特定的 X-射线使其内层电子脱离轨道时,则为 X-射线吸收波谱。

衍射分析法,是利用 X-射线的波动特征和晶体内晶面的有规律的间距而对晶相作定性鉴定。

X-射线的发射波谱和吸收波谱均较简单,只含有很少的谱线,这是因为 X-射线波谱是反映了最内层电子的激发及由此所发生的一系列内层电子的迁移。所以 X-射线的发射波谱或吸收波谱只与原子序数有关,而与试样的物理状态、化学组成(最轻的若干种原子除外)及化学键类型无关。

### 10.2.5 旋光法(polarimetry)

在以前的课程中已学过偏振光、旋光性物质等内容。在此基础上,旋光法已不仅仅限于旋光度的测量,已发展了旋光色散(optical rotary dispersion)和圆二色性(circular dichroism)的方法。

对于偏振光的旋光现象,我们都已有所了解,但究竟为什么会产生偏振光的旋转?在产生旋光现象的过程中虽然不存在光的吸收,但不可否认偏振光的振荡电场与试样分子的电子所产生的电场之间存在着相互作用。由于分子中的电子均按特定规律排列,若不同的偏振光与其相互作用就会得到不同的结果。实际上,由偏振器所得的偏振光应称为面偏振光(plane polarized light),是由两束旋转方向相反的圆偏振光(circularly polarized light)所组成,一为顺时针旋转,另一为逆时针旋转。若两束光在介质中的折光率相同,则它们以相同的角速度旋转。其旋转电场矢量和与原始面偏振光相位相同。若面偏振光经过一不对称物质分子,两束圆偏振光的折射率各不相同,此时两束光的角速度就出现差异,其矢量和不再与入射偏振光处于同一平面,使偏振面发生旋转,这就是我们通常所观察到的偏振现象。实际上,面偏振光代表着两束圆偏振光的矢量和。所以通常所读到的旋光度是两束圆

偏振光间的相位差的一半。

Cotton 对旋光性物质的旋光性质与光吸收能力之间的关系进行了研究。如果把一台旋光计和一台分光光度计结合起来使用, 于是就能测出某旋光物质在各种波长下的旋光性能, 以分子旋光度对波长作图, 就称为旋光色散(optical rotary dispersion)。图 10-3 所显示的旋光色散曲线表明了在某波段范围内旋光度的强烈变化, 即发生正负号的改变。这一

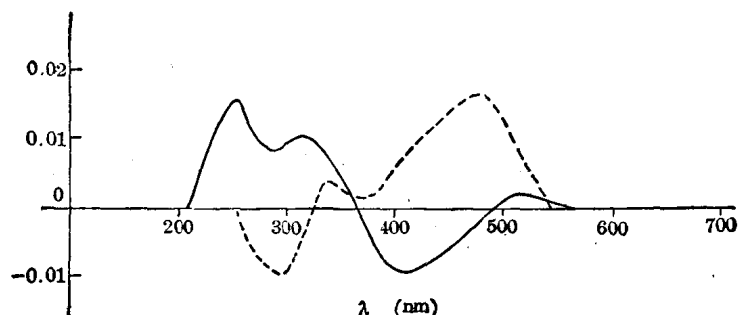


图 10-3 圆二色性曲线(虚线)和旋光色散曲线(实线)

现象称为 Cotton 效应。这是因为在该物质的吸收带范围内, 右旋和左旋圆偏振光的克分子吸收率不同。由于这一效应, 原来的偏振光被改变成椭圆偏振光, 此效应称为圆二(向)色性(circular dichroism)。

旋光色散和圆二色性主要用于氨基酸、多肽和蛋白质、甾族化合物、抗生素、萜烯和金属配合物等旋光物质的结构测定。例如脂族氨基酸所显示的独特的 Cotton 效应, 左旋结构的  $\alpha$ -氨基酸在 215 nm 附近显示出正 Cotton 效应, 而它们的右旋对映体表现出负 Cotton 效应。又甾族化合物中, 顺式和反式环连接导致不同类型的旋光色散曲线。

# 11 吸收光度法

## 11.1 概 述

物质在光照射下呈现特有的颜色,不但可以进行物质的定性分析,而且可以根据颜色的深浅进行物质的定量分析。例如,低价  $Mn^{2+}$  在水溶液中经氧化剂氧化为高价  $MnO_4^-$  后,可以与已知浓度的  $KMnO_4$  溶液的颜色进行比较,确定样品溶液中锰的含量。这种方法一般称为比色法(colorimetry)。随着科学的发展,人们已逐渐了解到,比色法的实质就是在日光(或称白光)照射下,物质吸收了白光中某种颜色的光后,比较未被吸收的余色,吸光的物质浓度愈大,被吸收光的程度愈大,因而所表现出的余色愈深。另一方面,用近代测试仪器先将白光中可被物质吸收的颜色分离出来,照射被测试物质,测量被物质吸收前后的光强,依据物质对光的吸收定律,确定吸光物质的浓度。所以,这种方法就称为吸收光度法(absorption photometry),或称为分光光度法(spectrophotometry)。这类方法具有灵敏、快速及选择性好等优点。

一般比色法和分光光度法所测物质的浓度下限可达  $10^{-5} \sim 10^{-6}$  mol/L,在某些情况下可以进一步提高其灵敏度。分光光度法的相对误差约为 2~5%,完全能满足微量组分测定准确度的要求。比色法测定快速,所用仪器简单,价格便宜,几乎所有的无机物质及许多有机物质都能用此法进行测定。分光光度法还可用于化学平衡和动力学研究,因此,生产和科学研究中都有广泛的应用。

比色法只能用于有色溶液的分析,而分光光度法既可用于可见光,亦可以扩大到紫外和红外等范围内进行物质的定性和定量分析。

通常,将使用光电比色计测定溶液的吸光度以进行定量分析的方法称为光电比色法,将使用分光光度计进行测定的方法称为分光光度法。这两种方法的原理相同,其差别在于获得单色光的方法不同,前者采用滤光片,后者采用棱镜或光栅等单色器。由于两者均基于吸光度的测定,所以可统称为吸收光度法。

## 11.2 光的本质

近代科学实验证明,光是电磁辐射的一种形式,具有波动和微粒两重相互并存的性质,

此种性质称为波粒二重性。光波是波长甚短的电磁波,电磁波是横波,具有相同相位的两个互相垂直的振动矢量,可用它的电场强度  $E$  和磁场强度  $H$  来表征,而  $E$  和  $H$  都与电磁波传播的方向相垂直,如图 11-1 所示。

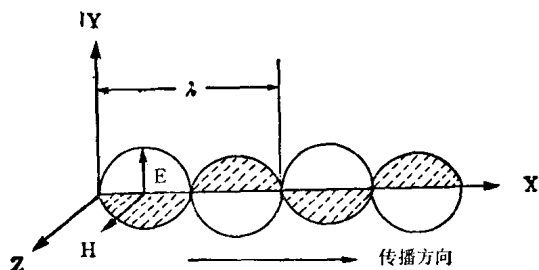


图 11-1 波长为  $\lambda$  的平面偏振电磁波

在光波中,产生感光作用与生理作用的是电场强度  $E$ ,因此,我们常将  $E$  称为光矢量,而将  $E$  的振动称为光振动。

既然光是一种电磁波,就可以用振动频



率( $\nu$ )、波长( $\lambda$ )、速度( $c$ )和波数( $\tilde{\nu}$ )等波的参数来描述。各种电磁波之间的差别仅在于频率(或波长等)的不同。电磁波在真空中传播时,其速度、频率和波长三者的关系为:

$$c = \nu\lambda = 3 \times 10^{10} \text{ cm/s} \quad (11-1)$$

在介质中传播时,因为辐射电场与介质价电子相互作用,而使传播速度减小。

波数与波长的关系为

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (11-2)$$

光与物质相互作用产生的光电效应、光的吸收和发射等现象,只能用光的微粒性才能得到合理的解释。即把光看作具有能量的微粒流,这种微粒称为光子(photon)或光量子(quanta)。光子的能量( $E$ )与其波参数具有以下的关系:

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda} = hc\tilde{\nu} \quad (11-3)$$

式中:  $h$  为普朗克常数(Planck's constant),其数值为  $6.62 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$ 。

电磁波频率单位为赫兹(Hz),波长单位为 cm、nm、Å 等,波数单位为  $\text{cm}^{-1}$ ,能量单位为焦耳(J)或电子伏特(eV)等,各个单位之间相互换算的因素如表 11-1 所列。

表 11-1 电磁辐射能量换算因素表

(表头所示单位的  $x$  值换算成其他各行的单位时应乘或除的因素)

$x$ 的单位	频率 Hz	波数 $\text{cm}^{-1}$	能 量			波 长	
			J	eV	kcal/mol	cm	nm
Hz	$1.00x$	$3.33 \times 10^{-11}x$	$6.62 \times 10^{-24}x$	$4.14 \times 10^{-15}x$	$9.54 \times 10^{-4}x$	$\frac{3.00 \times 10^{10}}{x}$	$\frac{3.00 \times 10^{17}}{x}$
$\text{cm}^{-1}$	$3.00 \times 10^{10}x$	$1.00x$	$1.98 \times 10^{-23}x$	$1.24 \times 10^{-4}x$	$2.86 \times 10^3x$	$\frac{1.00}{x}$	$\frac{1.00 \times 10^7}{x}$
J	$1.51 \times 10^{23}x$	$5.04 \times 10^{22}x$	$1.00x$	$6.25 \times 10^{18}x$	$1.44 \times 10^{20}x$	$\frac{1.98 \times 10^{-23}}{x}$	$\frac{1.98 \times 10^{-16}}{x}$
eV	$2.42 \times 10^{14}x$	$8.07 \times 10^8x$	$1.60 \times 10^{-19}x$	$1.00x$	$2.31 \times 10x$	$\frac{1.24 \times 10^{-4}}{x}$	$\frac{1.24 \times 10^3}{x}$
kcal/mol	$1.05 \times 10^{17}x$	$3.50 \times 10^{12}x$	$3.93 \times 10^{-21}x$	$4.34 \times 10^{-2}x$	$1.00x$	$\frac{2.86 \times 10^{-3}}{x}$	$\frac{2.86 \times 10^4}{x}$
cm	$\frac{3.00 \times 10^{10}}{x}$	$\frac{1.00}{x}$	$\frac{5.05 \times 10^{-23}}{x}$	$\frac{1.24 \times 10^{-4}}{x}$	$\frac{2.86 \times 10^{-3}}{x}$	$1.00x$	$1.00 \times 10^7x$
nm	$\frac{3.00 \times 10^{17}}{x}$	$\frac{1.00 \times 10^7}{x}$	$\frac{5.05 \times 10^{-16}}{x}$	$\frac{1.24 \times 10^3}{x}$	$\frac{2.86 \times 10^4}{x}$	$1.00 \times 10^{-7}x$	$1.00x$

光子能量与光的波长成反比,与光的频率成正比。若波长一定,光子的能量一定,具有同一能量的光子流或波长相同的光称为单色光;通常把由不同波长的光组合成的光称为复色光,人眼可以感觉到的太阳光或钨丝灯发出的光是波长在  $400 \sim 800 \text{ nm}$  范围内的复色光。

复色光在与物质相互作用时,往往表现出其中某些波长的光被物质所吸收,而另一些波长的光则透过物质或被物质所反射,透过物质的光(或反射光)能被人眼观察到的即为物质所呈现的颜色。不同波长的光具有不同的颜色。因此,物质的颜色由透射光(或反射光)的波长所决定。因为透射光(或反射光)和吸收光按一定比例混合而成白光,故称这两种光为互补色。如高锰酸钾溶液因吸收白光中的绿色光( $500 \sim 560 \text{ nm}$ )而呈现紫红色,绿色与紫红色即互为补色。表 11-2 列出了物质的颜色与吸收光颜色的互补关系。