



谨以此书献给复旦大学建校100周年

DEDICATED TO THE 100TH ANNIVERSARY OF THE FOUNDING OF FUDAN UNIVERSITY

分析化学原理

◎ 吴性良 朱万森 马林 编



化学工业出版社
教材出版中心

·北京·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

分析化学原理/吴性良, 朱万森, 马林编. —北京:
化学工业出版社, 2004. 4
ISBN 7-5025-5522-6

I. 分… II. ①吴…②朱…③马… III. 分析化
学 IV. 065

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 043842 号

分析化学原理

吴性良 朱万森 马 林 编
责任编辑: 杜进祥 任惠敏
文字编辑: 刘志茹
责任校对: 凌亚男
封面设计: 郑小红

化学工业出版社 出版发行
教材出版中心
(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)
发行电话: (010) 64982530
<http://www.cip.com.cn>

新华书店北京发行所经销
聚鑫印刷有限责任公司印刷
三河市延风装订厂装订
开本 787mm×1092mm 1/16 印张 42 $\frac{3}{4}$ 字数 1075 千字
2004 年 6 月第 1 版 2004 年 6 月北京第 1 次印刷
ISBN 7-5025-5522-6/0·52
定 价: 75.00 元

版权所有 违者必究
该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

分析化学是大学化学类各专业的基础课程之一。在过去的 50 年中，复旦大学化学系对分析化学基础课程进行了多次重大的改革。1961 年对分析化学课程进行了两项改革，其一是定性分析部分并入一年级的无机化学课程，其二是在传统的“分析化学（一）”（定量化学分析）之后，增加以仪器分析为内容的“分析化学（二）”。实践表明，这两项改革，方向正确，教学效果很好。20 世纪 80 年代初，又对教材内容进行重新编写，更名为《定量分析》和《仪器分析》（复旦版）出版，构成了完整的分析化学基础课教材。这一成果对推动我国化学专业的分析化学基础课程改革起了积极作用。

20 世纪后半叶分析化学的飞速发展表明，有必要对分析化学的基础内容作出调整和充实。1994 年我们尝试把原来的定量分析课程与仪器分析课程合并，根据分析化学的知识结构特点，把课程的目标定格在所需要解决的问题上，兼顾测试方法与手段，重新组合课程内容，设立以定量分析为主线的分析化学课程及以结构分析为主线的谱学导论课程。复旦大学化学系把这一改革纳入复旦大学化学类专业课程体系改革的总方案（此方案在 2002 年获上海市优秀教学成果奖）中，并在实践的基础上编写相应的基础课教材《分析化学原理》及《谱学导论》（高教版，2001 年）。

分析化学是化学测量和表征的科学，它所涉及的范围极其广泛。从方法和手段上讲，它涉及现代科学技术的各个领域，包括化学、物理学、生物学、数学、计算机科学等；从研究的物质对象上讲，可以是无机物、有机物和生物物质；从测量的信息特征上讲，它是在分子、原子水平上认知物质，即进行定性、定量或结构的测定，测量对象的认知区位可以是整体的、表面的、微区的，获得信息的测量环境可以是离线的、在线的或是原位的。显然，由这“三维坐标”组成的立体空间表明，分析化学拥有庞大的知识容量。如何取舍本教材的编写内容，我们遵循着以下几个原则。

① 其内容应满足教育部颁发的“化学专业本科基本培养规格和基本教学要求”以及“化学专业和应用化学专业化学教学基本内容”的要求。

② 围绕课程的主要教学目标，针对测定各类物质从常量组分至痕量组分，建立起系统的“量”的相关概念。以此，提炼基本概念、基本理论，取舍基础内容，在提供科学研究的基础和实际应用间寻求平衡点。

③ 从有利于科学思维和方法的训练出发，注意适当的理论深度，同时引入必要的学科前沿知识，介绍学科发展的轨迹，以启迪创新意识。

根据以上原则，作者在近 20 年的教学实践中逐渐形成了本教材的编写体系。在第 1，2 章对分析化学和定量分析的概念作简要介绍之后，按化学分析法、电化学分析法、光学分析法、分离分析法和化学计量学初步及分析过程五部分编写。与 20 世纪 80 年代两本复旦版的分析化学教材相比，提炼压缩了经典化学分析方法的内容，在电化学分析法中引入了生物电化学传感器、微电极及化学修饰电极等内容；光学分析法主要讨论以定量分析为主的光学光谱区域的各种分析方法，加强了现代光谱分析方法的内容；在分离分析方法中以色谱分析法为重点，加强了高效液相色谱的内容，新增了毛细管电泳分析及分析化学中的联用技术。化

学计量学的发展已使它成为分析化学基础理论的组成部分，教材中以单独立篇的方式加以介绍，以示这一内容在基础教材中的应有地位，在第五篇中同时介绍数据的统计处理、分析测量的质量控制、测量的不确定度、分析试验设计、多元校准方法等内容。最后一章分析过程向读者介绍如何开展分析工作，作为本教材的总结，并对流动注射技术及过程分析化学作简要介绍。本书主要讨论上述内容的基本原理及概念，因此取名为《分析化学原理》。但要真正理解和掌握所学的分析方法，还要与实验课程相结合，才能收到较好的效果。

分析化学中涉及的内容很多，我们仅选择一些重要的方法加以介绍，使学生掌握有关方法和测量的基本原理，了解它的应用特点，以便在今后的工作和学习中开拓思路，为深入学习提供基础。由于具体的分析方法众多，又涉及多种学科的基础知识，在教学实践中我们始终把握住以物质量的测量为主线索，把不同的方法串联起来，教学中仅讲授教材中的主要内容。我们尝试过108学时，90学时，甚至于72学时（辅以多媒体教学手段）实施教学。许多内容，特别是叙述性内容可由学生自学，通过比较、归纳等学习方法掌握知识，同时训练学生归纳思维的能力。近年来的讲授表明，这样做可收到较好的教学效果。

本教材在编写过程中，尽量注意其易读性，以便于学生自学。每章后给出基本的问题与习题，在“※”号之后的则是一些进一步思考的问题和习题；在每篇后还推荐了一批阅读材料，引导学生进一步深入学习，拓宽知识面，加深对教材内容的理解。

本书的编写得到了教育部人才培养基地创名牌课程项目和“十五”复旦大学教材建设项目的支持，并始终得到了化学系领导的大力支持；得到了陶增宁教授、朱世盛教授、杨芃源教授的热情鼓励；孔继烈、张祥民、陈治江、袁双生、邱德仁、汪乃兴、邓家祺等教授对教材原稿的部分章节的审阅，或对编写提供宝贵的资料或建议，在此由衷地向他们表示深深的感谢。

作者还要感谢章慧琴、董芳女士，她们为本教材打字绘图，付出了辛勤劳动。

在本教材编写过程中，参考了本教材所列的国内外有关著作，从中得到了许多启发和收益，在此一并表示感谢。

本教材的编写是教学改革的一种尝试，有些问题有待于作进一步的推敲，错漏和不当之处也难以避免，恳请读者批评指正。

编 者

2004年3月

目 录

第 1 章 绪论	1	2.1 定量分析的基本方法	8
1.1 分析化学的任务与作用	1	2.2 分析测量中的误差理论	9
1.2 分析化学的变革与发展	1	2.3 测量数据的表示和处理	15
1.3 分析化学的分类	2	2.4 定量分析的校准	21
1.4 分析过程的实际步骤与分析仪器的 概念	4	2.5 定量分析方法的评价	25
参考文献	7	问题与习题	28
第 2 章 定量分析引论	8	参考文献	29

第 1 篇 化学分析法

第 3 章 化学分析法导论	33	5.2 络合滴定的基本原理	105
3.1 溶液的浓度	33	5.3 络合滴定的选择性	117
3.2 溶液体系中的化学平衡	37	5.4 络合滴定的应用	122
3.3 化学分析中平衡处理及浓度计算的 一般方法	40	问题与习题	124
3.4 滴定分析法	52	第 6 章 氧化还原滴定法	127
3.5 滴定分析法的计算	54	6.1 氧化还原反应	127
3.6 化学反应的速率及动力学分析	58	6.2 氧化还原滴定	135
问题与习题	61	6.3 几种重要的氧化还原滴定方法	142
第 4 章 酸碱滴定法	64	问题与习题	149
4.1 酸碱平衡中氢离子浓度的计算	64	第 7 章 重量分析和沉淀滴定法	152
4.2 酸碱滴定曲线及滴定终点的检测	76	7.1 沉淀物的溶解度及其影响因素	152
4.3 酸碱滴定法的应用	92	7.2 沉淀的形成及纯度	157
4.4 非水溶液中的酸碱滴定	96	7.3 重量分析法	162
问题与习题	100	7.4 沉淀滴定法	168
第 5 章 络合滴定法	103	问题与习题	171
5.1 氨羧络合剂	103	参考文献	174

第 2 篇 电分析化学法

第 8 章 电分析化学法导论	177	9.2 离子选择性电极	200
8.1 电分析化学法及分类	177	9.3 离子选择性电极的性能参数	212
8.2 电化学电池	178	9.4 直接电位法	214
8.3 电化学过程中的几个问题	187	9.5 电位滴定法	219
8.4 电化学电池的重要部件	192	问题与习题	221
问题与习题	196	第 10 章 电解分析法与库仑分析法	224
第 9 章 电位分析法与离子选择性 电极	198	10.1 电解基本原理	224
9.1 电位分析法基本原理与实验装置	198	10.2 电解分析法	228
		10.3 库仑分析法	231

问题与习题	238	11.4 极谱及伏安分析的其他方法	256
第 11 章 极谱分析法和伏安分析法	241	11.5 伏安法的电极进展	264
11.1 直流极谱法的基本原理	241	问题与习题	268
11.2 极谱电流与极谱定量分析	244	参考文献	271
11.3 直流极谱波方程式	252		

第 3 篇 光学分析法

第 12 章 光学分析法导论	275	15.2 荧光发射及其影响因素	360
12.1 电磁辐射的基本特征	275	15.3 荧光分析法	366
12.2 辐射与物质的相互作用及其意义	277	15.4 磷光分析法	370
12.3 光学分析方法的分类	281	15.5 化学发光分析法	373
12.4 光学光谱法的仪器	284	15.6 光化学传感器	376
问题与习题	296	问题与习题	382
第 13 章 紫外-可见分光光度法	298	第 16 章 原子发射光谱法	383
13.1 选择吸收及吸收光谱的获得	298	16.1 原子光谱	383
13.2 紫外可见吸收光谱的主要类型	302	16.2 原子发射谱线的强度与试样浓度的 关系	387
13.3 光的吸收定律及定量分析方法	305	16.3 光谱仪器	390
13.4 显色反应与光度测量	313	16.4 光谱定性分析及半定量分析	397
13.5 吸光光度的其他分析技术	318	16.5 光谱定量分析	399
13.6 分光光度法在化学研究中的应用	326	16.6 电感耦合等离子质谱法	402
问题与习题	330	问题与习题	408
第 14 章 红外光谱法	333	第 17 章 原子吸收光谱法	410
14.1 分子吸收红外辐射的必要条件	333	17.1 基本原理	410
14.2 分子的转动光谱及振动光谱	334	17.2 仪器	414
14.3 红外光谱的特征性及影响因素	338	17.3 原子吸收分析方法	421
14.4 红外分光光度计	342	17.4 干扰及其消除方法	424
14.5 红外光谱分析	345	17.5 原子荧光光谱法	428
问题与习题	350	问题与习题	431
第 15 章 分子发光分析法	352	参考文献	433
15.1 光致发光及其测量	352		

第 4 篇 分离分析法

第 18 章 分离方法	437	19.4 柱色谱的总分离效能指标	473
18.1 分离方法中的一些概念	437	19.5 色谱定性及定量分析	475
18.2 沉淀分离法	438	问题与习题	481
18.3 溶剂萃取分离法	443	第 20 章 气相色谱法	483
18.4 离子交换分离法	449	20.1 气相色谱仪	483
18.5 其他分离方法	454	20.2 气相色谱的固定相	484
问题与习题	456	20.3 气相色谱峰展宽的因素	489
第 19 章 色谱分析法导论	458	20.4 色谱分离条件	493
19.1 色谱分离	458	20.5 气相色谱的检测器	496
19.2 色谱过程热力学	463	20.6 毛细管柱气相色谱法	504
19.3 色谱过程动力学	467	20.7 气相色谱的联用技术	506

20.8 气相色谱法的应用举例	513	问题与习题	536
问题与习题	515	第 22 章 毛细管电泳	537
第 21 章 高效液相色谱法	517	22.1 毛细管电泳的原理	537
21.1 高效液相色谱仪	517	22.2 分离模式	543
21.2 固定相和流动相	521	22.3 进样与检测	546
21.3 色谱峰扩展及其影响因素	522	22.4 毛细管电泳的应用	550
21.4 高效液相色谱法的主要分离类型	524	问题与习题	553
21.5 超临界流体色谱	531	参考文献	554

第 5 篇 化学计量学初步及分析过程

第 23 章 分析化学数据的统计处理	557	25.1 多元线性回归	611
23.1 分析中常用的分布函数	557	25.2 卡尔曼滤波	613
23.2 分析测量数据的参数估计	562	25.3 K 矩阵和 P 矩阵间接校正法	617
23.3 分析测量数据的统计假设检验	567	25.4 基于主成分分析的多元校准	619
23.4 回归分析	573	25.5 人工神经网络和遗传算法简介	623
23.5 分析测量的质量控制	576	问题和习题	627
23.6 分析测量的不确定度及其表达	580	第 26 章 分析过程	629
问题与习题	586	26.1 物质分析的一般思考	629
第 24 章 分析试验设计	588	26.2 试样的制备	630
24.1 分析试验的方差分析	588	26.3 复杂体系物质的分析	639
24.2 正交试验法	597	26.4 流动注射分析	644
24.3 单纯形试验法	603	26.5 过程分析化学	648
问题与习题	609	问题与习题	654
第 25 章 分析化学中的多元校准	611	参考文献	656

附 录

附表一 无机酸在水溶液中的离解常数 (25℃)	657	附表十 化合物的相对分子质量表(根据 1997 年国际原子量)	666
附表二 有机酸在水溶液中的离解常数 (25℃)	658	附表十一 元素相对原子质量表(录自 1997 年国际原子量表)	668
附表三 弱碱在水溶液中的离解常数 (25℃)	659	附表十二 标准正态分布表(α 值)	668
附表四 金属羟基络合物的稳定常数	659	附表十三 t 检验临界值 t_{α} (单侧)及 t_{α} (双侧)	669
附表五 络合物的稳定常数	660	附表十四 F 检验临界表(单侧)	670
附表六 EDTA 滴定中应用的掩蔽剂	662	附表十五 计算 3σ 控制限的参数表 (Wadsworth H M 1997)	672
附表七 标准电极电位表(25℃)	663		
附表八 某些氧化还原电对的条件电位	664		
附表九 难溶化合物的溶度积(25℃)	665		

第 19 章 色谱分析法导论

Introduction to Chromatography

最早发现色谱分离方法的是俄国植物学家茨维特 (Цвет)。1903 年他把植物的石油醚浸取液通过装有碳酸钙填充料的玻璃管, 在柱管上形成了不同颜色的色带, 茨维特称之为“色谱”, 并浸取各个色带中组分, 分离得到浸取液中叶绿素和其他物质。利用色谱分离技术, 再结合适当的检测手段, 对多组分混合物进行分析测定的方法就叫做色谱分析法, 简称为色谱法, 又称为色层分析法或层析法。

在色谱的发展史上, 1940~1943 年蒂西利斯 (A. W. K. Tiselius) 在吸附色谱和电泳方面的贡献; 1941 年马丁 (A. J. P. Martin) 及辛格 (R. L. M. Synge) 在发明分配色谱方面的贡献, 使他们分别在 1948 年和 1952 年获得诺贝尔化学奖。特别是马丁等的工作, 不仅建立了色谱塔板理论, 发明了液-液分配色谱, 而且对色谱法的发展做出了杰出的预言, 直接推进 20 世纪 50 年代初气相色谱法及 60 年代末高效液相色谱法的产生, 从而使色谱法成为分析化学的重要分支。80 年代以来高效毛细管电泳的发展, 又为生物大分子的分离和检测提供了新手段。

本章将介绍现代色谱法的一些重要概念、基本理论和方法。随后 3 章中将以色谱发展中的几次重大创新和突破为线索, 依次介绍气相色谱法、高效液相色谱法、高效毛细管电泳法以及某些相关技术。

19.1 色谱分离

19.1.1 色谱分离的定义及分类

19.1.1.1 色谱分离的定义

色谱分离的基本原理是利用不同物质的性质, 如吸附、分配、离子交换、亲和力、分子尺寸等的微小差别, 当不同组分在相互不溶的两相, 即固定相 (stationary phase) 和流动相 (mobile phase) 之间做相对运动时, 组分由于在两相间连续多次的质量交换, 从而使不同组分获得分离。例如不同物质在不同的两相间具有不同的分配系数, 当两相作相对移动时, 被测物质能在两相间进行多次分配, 从而使得有微小差异的不同物质得到分离。

现在较普遍的、公认的色谱定义由吉丁斯 (Giddings) 提出。色谱是指由于物质的吸着程度不同, 在外加流体作用下引起微小的滞留作用的差异而获得分离。也有人把色谱定义为是一种根据分子的不同迁移速度达到分离的方法。不同的定义引申的具体方法变体不同, 所指的色谱范围也不同, 尔后一种定义有更宽的范围, 包括了电泳等方法。本章的讨论从普遍的定义出发。

19.1.1.2 色谱的分类

色谱法的种类可以按以下原则进行分类, 从而形成各种变体。对同一色谱过程, 可以冠以不同的名称。

(1) 按固定相和流动相的物质状态不同 色谱分析可分为用气体作为流动相的气相色谱

法 (gas chromatography, GC), 用液体作为流动相的液相色谱法 (liquid chromatography, LC), 用超临界流体作为流动相的超临界流色谱法 (supercritical fluid chromatography, SFC); 又因为固定相也有不同的状态, 因此它们的组合就有了以下的分类:

气相色谱 气固色谱 (GSC): 固定相为固体吸附剂。

气液色谱 (GLC): 固定相为液体 (涂布在担体或毛细管壁上)。

液相色谱 液固色谱 (LSC): 固定相为固体吸附剂。

液液色谱 (LLC): 固定相为液体 (涂布在担体上)。

超临界流色谱 (SFC): 固定相为液体 (涂布在担体或毛细管壁上)。

(2) 按被测物质在两相之间相互作用时的行为不同, 即分离机理上的不同 色谱分析法可分为吸附色谱法 (adsorption chromatography)、分配色谱法 (partition chromatography)、离子交换色谱法 (ion exchange chromatography) 等。

(3) 按固定相的形状不同 色谱分析法可分为柱色谱法 (column chromatography) 和平板色谱 (planar chromatography)。按平板色谱的材料不同又可分为薄层色谱法 (thin layer chromatography) 和纸色谱法 (paper chromatography) 等。

(4) 按色谱的操作方式不同 色谱分析法可分为以试样气体作流动相的前沿法 (frontal method), 以吸附能力或其他作用能力比被测物质组分强的组分作流动相的置换法 (displacement method), 以及吸附能力或其他作用能力比被分离组分弱的物质作流动相的淋洗法 (elution method)。

此外, 还有按组分在两相间的浓度关系, 可分为线性或非线性色谱。

在本章讨论中, 以使用最为普遍的气液色谱、分配色谱、柱色谱、淋洗法, 并在两相间具有线性的浓度关系为重点。

19.1.1.3 色谱法的特点及发展

与其他分析方法相比较, 色谱法的最大特点是能在分析过程中分离出纯物质, 并可测定该物质的含量。此外还有着高效、快速、灵敏、样品量少、适用范围广等特点。

一般而言, 色谱的定性分析能力要差一些, 通常需要用纯物质进行对照。近年来, 色谱-红外光谱、色谱-质谱等联用技术的发展, 为色谱分析拓展了更广泛的应用空间。

随着分离要求的不断提高, 现已发展了多维色谱技术, 这种技术不仅是同一种色谱变体的多根性能不同色谱柱的联用, 如双柱或多柱气相色谱分离; 而且还可以是不同色谱变体间分离柱的联用, 如高效液相色谱分离柱与毛细管电泳柱间的分离联用。联用技术满足了复杂的多组分样品, 如生物样品、环境样品及天然药物成分的分离分析。

还需要指出的是, 色谱分析与其他方法相比, 它的分析系统要复杂一些, 信息的提取也要困难一些。应用计算机技术, 优化色谱条件和方法, 并实现智能化, 也是当前色谱发展的重要方向之一。

19.1.2 平板色谱分离

19.1.2.1 纸色谱

(1) 方法 纸色谱是用滤纸作支持体的一种色谱分离法。以滤纸纤维所吸附的水作为固定相, 用有机溶剂作流动相 [又称展开剂 (developer)], 就是一般的正相 (normal phase) 纸色谱法。由于滤纸纤维上的羟基常与水以氢键相连, 结合比较稳定, 所以, 有些与水互溶的有机溶剂如乙醇、丙酮等, 也能与水形成类似不相混溶的两相。若滤纸经硅烷化处理后用

含萃取剂的溶剂充分浸透，待溶剂挥发后便形成固定相，再以水相作为展开剂，就是反相(reversed phase)纸色谱法。

分离时，在滤纸一端用毛细管点加少量待分离试液，待干后，将滤纸悬挂在密闭的色谱缸中，点有试液的一端接触缸底的展开剂。由于毛细作用，展开剂自下而上不断上升，试液中的溶质被携带上升并在固定相和流动相之间反复分配。不同溶质的分配比不同，因而各自按不同速度上升。当展开剂上升至接近纸条上部边缘时，用铅笔划出前沿线，干燥。若被分离物质是有色的，就可看到各组分的色斑；若被分离物质无色，需以合适的反应使之显色，标记各斑点。对于荧光物质的分离，可在紫外灯下标记各斑点。剪下各个色斑，用溶剂浸取后进行定量测定。

(2) 比移值 R_f 纸色谱中，各种组分的分离情况常用比移值(flow rate) R_f 来衡量。

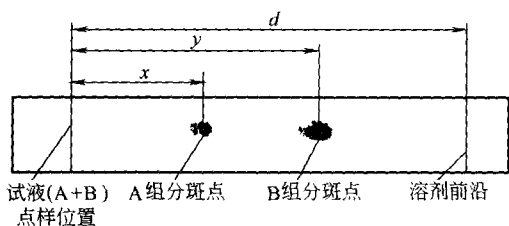


图 19-1 纸色谱分离后的斑点及其比移值的计算

R_f 值是组分斑点中心移动的距离与流动相前沿移动距离的比值，在 0~1 之间。两种物质的 R_f 值相差越大，分离效果越好。如图 19-1 所示，根据溶剂和 A、B 组分的移动距离可算出 A 与 B 两种物质的比移值。其中 A 组分的 $R_f = \frac{x}{d}$ ，B 组分的 $R_f = \frac{y}{d}$ 。

在一定条件下 R_f 值是物质的特征值，可以利用 R_f 值进行定性鉴定。但影响 R_f 值的因素很多，所以一般采用已知的标准样品与未知试样在同一操作过程中作对照。

纸色谱法分离效率高，取样少，方法简单、快速、经济，适用于微量物质的分离分析。

19.1.2.2 薄层色谱

(1) 方法 薄层色谱亦称薄板色谱。该法是在一平滑的薄板上均匀涂布一薄层硅胶或氧化铝等吸附剂作为固定相，或作为负载固定相的支持体；用展开剂渗过固定相，使试样展开、分离。薄层色谱的操作方法和纸上色谱相似，分离情况也用比移值 R_f 来衡量。另外还用分离度 R_s 来衡量各斑点分离的程度

$$R_s = \frac{x-y}{2(\sigma_2 + \sigma_1)} \quad (19-1)$$

式中， $x-y$ 表示两个斑点中心的距离； σ_1 、 σ_2 表示斑点宽度的标准差。显然，分离度显示了分离过程中各种原因引起斑点扩散、导致斑点间分离程度降低的状况。当 $R_s = 0.5$ 时，两斑点的间隔 $x-y$ 为 $\sigma_2 + \sigma_1 \approx 2\sigma_1$ ，这时的分离称为“ 2σ 分离”，两斑点间约有 20% 的重叠；当 $R_s = 1$ 即“ 4σ 分离”时，还有 3% 的重叠。为避免定量分析的误差，至少要达到“ 4σ 分离”。在有“拖尾”现象时，需要达到“ 10σ 分离”。

薄层色谱中使用各种吸附剂，它被制成均匀的细颗粒（通过 200 以上筛目），黏附在薄板上，形成均匀薄层，如硅胶常用于正相薄层色谱，聚四氟乙烯等常用于反相薄层色谱。吸附剂中加入胶黏剂如硫酸钙、聚乙烯醇、淀粉等，以保证薄层牢固性。其制备方法是用胶黏剂溶液把吸附剂调成糊状，均匀涂布于薄板上，再在一定温度下活化、备用。

(2) 特点及应用 薄层色谱展开快，操作更方便，比纸色谱的可分离量大，拖尾倾向小，重现性好，分离能力强，检测灵敏度高。

薄层色谱法在无机分析中已成功地用于稀土元素、铜系元素等难分离元素的分离上,例如用三异辛胺(TIOA)的反相薄层色谱可使U(VI)与Mo、Co、Ni、Zr、Th等元素分离开来。薄层色谱法在有机分析中的应用更为广泛,例如五个苯环构成的3,4-苯并芘是一种致癌物质,食品和环境样品中的痕量3,4-苯并芘可用薄层色谱法进行分离、富集和测定。方法是:将样品用环己酮或石油醚提取并浓缩,选用硅胶G(含有5%~20%熟石膏的硅胶)制备的薄板,将浓缩的试样和标准样点样对照,以异辛烷和氯仿的1:2混合液作为展开剂,使3,4-苯并芘与其他组分分离。将分离后的样品斑点取下,用乙醚浸取,转移至H₂SO₄体系中测量其荧光强度,与标准样的荧光强度比较就可测得试样中3,4-苯并芘的含量。也可直接测出薄板上斑点的面积大小或荧光强度,进行半定量分析。现代的薄层扫描装置还可以对所测面积的荧光信号强度积分,以此来定量分析。

19.1.3 柱色谱分离

19.1.3.1 柱色谱过程

柱色谱分离使用色谱柱(chromatographic column),它是由色谱固定相充填在惰性材质的圆柱管体内构成。以分配色谱为例,固定相是将固定液涂渍在有化学惰性的多孔材料[载体(carrier)]上或空心柱管内。当试样组分在气体或液体流动相中,并在柱管内移动时,同时在气液间或液液间进行不断地反复分配,因各组分的分配系数不同,各组分逐一在柱后流出,实现了组分分离。现代柱色谱法配有专门的检测器,对分离后各组分直接进行测量。试样中各组分在色谱柱内获得分离后,按先后顺序流经检测器,检测器将流动相中各组分浓度的变化转换为可检测的电信号,由记录仪记录下信号-时间曲线,这一曲线称为色谱图(chromatogram),也称色谱流出曲线。

19.1.3.2 色谱图及相关术语

(1) 色谱图 色谱图记录了色谱分离过程,反映了试样组分在色谱柱或色谱体系内的运行特点;反映了试样中不同组分在柱内的差速迁移,及同一组分子在柱内迁移过程中的分子分布离散形成的浓度分布。从而在色谱图上形成组分流出现时间的差异,以及形成峰形的强度信号分布。色谱图也就成了色谱分析定性定量的依据,也是研究色谱过程机理的依据。

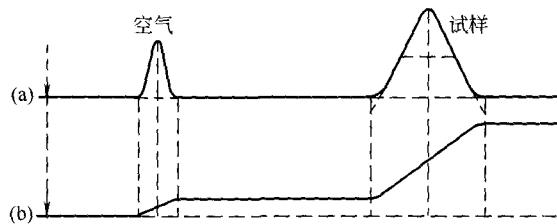


图 19-2 气相色谱的典型流出曲线

(a) 微分曲线; (b) 积分曲线

在淋洗法色谱过程中,检测器输出的信号有两种形式,即微分曲线与积分曲线,如图 19-2 所示。常见的色谱图是微分形式,它可用专门的术语来描述,如图 19-3 所示。

(2) 术语

① 基线 (base line)。色谱柱后没有试样组分流出现时的流出曲线,称为基线。见图 19-2 中 *ot* 线。在实验条件稳定时,为平行于横坐标的水平直线。它表示只有流动相通过检测器,没有发生组成上的变化。

② 保留值 (retention) 的表示。表示试样中被分离的各组分在柱内停留时间的数值,

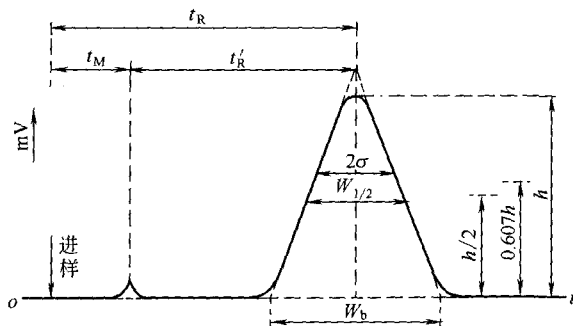


图 19-3 色谱图的基本术语示意

是各组分在色谱柱内差速迁移的反映。通常它可用时间或用将组分带出色谱柱的流动相的体积来表示。在同一流动相流速及记录纸速时，也可用色谱图上的距离来表示。

保留值反映了被分离的组分在性质上的差异，据此可进行定性判断。同时保留值也反映了组分分子与固定相之间的作用力，所以对色谱过程的机理研究有着重要的作用。

a. 用时间表示的保留值

(a) 死时间 (dead time) t_M 。惰性物质流过色谱柱所需的时间。

(b) 保留时间 (retention time) t_R 。试样组分通过色谱柱所需的时间，也就是待测组分从进样开始后到柱后出现信号极大值时所需的时间。

(c) 调整保留时间 (adjusted retention time) t'_R 。扣除了死时间的保留时间，表示试样组分通过色谱柱时，固定相所滞留的时间，即

$$t'_R = t_R - t_M \quad (19-2)$$

b. 用体积表示的保留值

(a) 死体积 (dead volume) V_M 。惰性物质从进样到柱后出现信号极大点时所通过的流动相的体积。它与死时间的关系为

$$V_M = t_M F_0 \quad (19-3)$$

式中， F_0 为色谱柱出口处的流动相的体积流速（通常用校正后的体积流速）。

(b) 保留体积 (retention volume) V_R 。试样组分通过色谱柱所需的流动相的体积，即进样开始后到柱后出现待测组分信号极大点时所通过的流动相的体积。并有

$$V_R = t_R F_0 \quad (19-4)$$

(c) 调整保留体积 (adjusted retention volume) V'_R 。从保留体积中扣除死体积后的体积。

$$V'_R = V_R - V_M \quad (19-5)$$

式 (19-5) 表示了试样组分通过色谱柱时，由于固定相的作用所消耗的流动相体积。

③ 色谱峰的区域宽度 (peak width) 表示。在色谱峰符合正态分布时，通常用以下一些术语来定义。

a. 标准差 (standard deviation) σ 。0.607 峰高 h 处的峰宽的一半，即峰宽为标准差 σ 的两倍，有

$$W_{\sigma} = 2\sigma \quad (19-6)$$

b. 半峰宽 (peak width at half-height) $W_{1/2}$ 。又称半宽度, 即为峰高一半 $h/2$ 处的峰宽。根据正态分布可求得

$$W_{1/2} = 2\sigma \sqrt{2 \times \ln 2} = 2.354\sigma \quad (19-7)$$

c. 峰底宽 (peak width at peak base) W_b 。又称基底宽度, 为峰两侧拐点处所作切线在基线上截取的距离。并有

$$W_b = 4\sigma \quad (19-8)$$

同样, 色谱峰的区域宽度也可用记录纸色谱图上的距离 (mm 或 cm), 或时间 (min 或 s)、体积 (ml) 表示。体积由时间和流动相的体积流速求出。

【例 19-1】 在某一色谱柱上, 分离苯 (b)、甲苯 (t), 测得其相应色谱峰的保留时间分别为 2.5min 和 5.5min, 死时间为 1.0min, 并在柱后测得流动相的体积流速经校正后为 40ml/min。求: (1) 计算苯、甲苯的保留体积与调整保留体积? (2) 甲苯停留在固定相中的时间为苯的几倍?

解 (1) 苯的保留体积 $V_R = t_R F_0 = 2.5 \times 40 = 100$ (ml)

甲苯的保留体积 $V_R = 5.5 \times 40 = 217$ (ml)

苯的调整保留体积 $V_R = (t_R - t_M) F_0 = (2.5 - 1.0) \times 40 = 60$ (ml)

甲苯的调整保留体积 $V_R = (5.5 - 1.0) \times 40 = 180$ (ml)

(2) 停留在固定相中的时间即为调整保留时间, 有 $\frac{t'_{R,t}}{t'_{R,b}} = \frac{5.5 - 1.0}{2.5 - 1.0} = \frac{4.5}{1.5} = 3$ (倍)

19.2 色谱过程热力学

混合组分在色谱柱内运行时, 其不同组分在柱内作差速迁移, 表现为组分先后从柱内流出, 获得分离; 同时同一组分在柱内发生分子分布离散, 表现在每一组分在色谱图上呈现峰形。差速迁移是基于试样各组分与柱内流动相及固定相作用力的差异, 各组分在两相中的分布系数 (distribution coefficient) 不同, 对 GLC 或 LLC 来说, 即为分配系数的不同, 分布系数大的迁移速度慢, 分布系数最小的迁移速度快, 其结果导致各组分分离。而分子分布离散是指同一组分分子沿色谱柱迁移时发生分子分布的扩展, 使同一组分分子的迁移速度不同。因此, 混合组分在色谱柱上分离的效果, 取决于色谱热力学因素确定的组分间分配系数或吸附性质等的差异, 以及色谱动力学因素确定的分子分布的离散。这两个问题在本节和下一节将分别讨论。

19.2.1 分布平衡

先将色谱过程用平衡状态的概念进行讨论。

平衡状态是指一个体系的宏观性质不随时间而变化时体系的状态。若溶质组分在两相间的分布达到平衡, 用热力学概念来描述时, 便是其自由能不再变化。

19.2.1.1 分布系数

组分在两相中的分布平衡性质可用平衡常数或分布系数 k 来量度。不同色谱对分布系数的表示有所不同。在分配色谱如 GLC、LLC 中, 可用萃取分离中相似的原理来描述组分在

两相中的分布, 见 18.3.1 节, 即可用分配系数 k_d 来描述, 有

$$k = \frac{c_s}{c_m} \quad (19-9)$$

式中, c_s 为单位体积固定相中组分的质量, g/ml; c_m 为单位体积流动相中组分的质量, g/ml。对吸附色谱, 可用吸附平衡常数 k_a 来表示, 有

$$k_a = \frac{c_s}{c_m} \quad (19-10)$$

式中, c_s 为每克固定相中吸附组分的量, mg/g, 或每平方米厘米吸附剂表面吸附组分的量, mg/cm²; c_m 为每毫升流动相中组分的量, mg/ml。

在恒定温度下, 将 c_s 对 c_m 作图, 得到的曲线称为分布等温线或吸附等温线。线性关系时, 分布系数是一个常数, 与溶质浓度无关, 此时获得色谱峰为对称型。在出现向上或向下凸形的非线性关系, 即分布系数随浓度变化时, 获得的色谱峰相应为拖尾或前伸色谱峰。

19.2.1.2 分配容量

分配容量 (partition capacity) k' 是分布平衡性质的另一个重要参数, 也称为容量因子或分配比, 定义为组分在固定相和流动相中的分配质量或摩尔数之比, 表示为

$$k' = \frac{n_s}{n_m} = \frac{c_s V_s}{c_m V_m} = k \frac{V_s}{V_m} = \frac{k}{\beta} \quad (19-11)$$

式中, n_s 、 n_m 依次为组分在固定相和流动相中的量; V_s 、 V_m 依次为固定相和流动相的体积; β 为 V_m/V_s , 称相比 (phase ratio), 是色谱柱的结构参数之一, 定义为柱内流动相与固定相的体积比。需要注意的是式 (19-11) 中 V_s 在不同原理的色谱中表示不同的含义, 如吸附色谱中表示吸附剂表面积, 离子交换色谱中表示离子交换剂的质量或交换容量, 凝胶色谱中表示凝胶的孔容。分配容量与固定相、流动相性质、温度、柱结构有关, 与流动相流速和柱长无关。

在实际工作中, k' 可由测量组分在色谱中的调整保留时间和死时间的比得到

$$k = \frac{t}{t_M} \quad (19-12)$$

【例 19-2】 对于一个分配比为 0.2 的组分, 它在色谱流动相中的百分率是多少?

解 因为 $k' = n_s/n_m = 0.2$, 所以 $n_s = 0.2n_m$

$$\frac{n_m}{n} \times 100\% = \frac{n_m + 100\%}{n_m + n_s} = \frac{n_m \times 100\%}{n_m + 0.2n_m} = \frac{1}{1.2} \times 100\% = 83.3\%$$

19.2.2 保留值

色谱的热力学因素主要由组分和固定相的性质决定, 具体表现为色谱保留值。也就是说组分在柱温条件下的热力学性质, 组分的色谱流出的最大点的位置是受热力学因素控制的。在气相色谱和液相色谱中, 由于流动相有气态和液态的差别, 造成它们保留体积的不同。

19.2.2.1 气相色谱保留体积

在 19.1.3 节中已经介绍了气相色谱的各种保留值的概念及表示。此外还经常用到以下一些保留值。

(1) 校正保留体积 (corrected retention volume) V_R^0

$$V_R^0 = t_R F_c \quad (19-13)$$

式中, F_c 为气相色谱流动相的柱内平均体积流速, 常用室温、大气压下皂膜流量计 (soap film flowmeter) 在色谱柱后测量单位时间内流动相的体积, 即柱后流速 F 来实现, F 也称为视体积流速。

将皂膜流量计测得的柱后体积流速应进行三项校正: ①水蒸气压校正, 校正皂膜流量计测量时所处温度 (一般为室温) 下的水的饱和蒸汽压 p_w 的影响; ②温度校正, 校正因柱温 T_c (K) 与柱后出口处温度, 即室温 T_r (K) 的差异, 造成对流速的影响; ③压力校正, 由于色谱柱的柱前压 p_i 比较大, 柱后出口压接近于大气压 p_o , 造成了在色谱柱内不同位置上的流速不同。有式

$$F_c = F \left(\frac{p_o - p_w}{p_o} \right) \times \left(\frac{T_c}{T_r} \right) j \quad (19-14)$$

式中, $(p_o - p_w) / p_o$ 为水蒸气压校正项; T_c / T_r 为温度校正项。由皂膜流量计测得的流速 F 进行上两项校正的流速, 称为色谱柱出口处的流动相体积流速 F_o , 也称为校正体积流速。式中 j 为压力校正因子或压缩性校正因子, 并有

$$j = \frac{3 [(p_i / p_o)^2 - 1]}{2 [(p_i / p_o)^3 - 1]} \quad (19-15)$$

式中, 柱的进口压 p_i 与柱的出口压 p_o 使用单位应一致。

(2) 净保留时间 (net retention time) t_N 及净保留体积 (net retention volume) V_N 净保留时间指校正气体可压缩性影响后的调整保留时间, 有

$$t_N = j t_R \quad (19-16)$$

则

$$V_N = j V_R = j F_c t_R \quad (19-17)$$

(3) 比保留体积 (specific retention volume) V_g 气相色谱的比保留体积定义为单位质量固定液由柱温换算到摄氏零度时的净保留体积 V_N , 计算公式如下

$$V_g = \frac{V_N}{W_L} \times \frac{273.15}{T_c} = \frac{t_R - t_M}{W_L} \times \frac{273.15}{T_r} \times \frac{p_o - p_w}{p_o} \times \frac{3 [(p_i / p_o)^2 - 1]}{2 [(p_i / p_o)^3 - 1]} F \quad (19-18)$$

式中, W_L 为固定液或吸附剂质量, g; T_c 为柱温, K; T_r 为室温, K。

V_g 值校正了同一种物质在不同固定液质量上引起的保留值差异, 并对柱温和压力进行了校正。这样, 校正后的 V_g 值仅与固定液的性质有关, 便于不同实验室、不同仪器上测得的保留值比较。因此, V_g 值具有通用性, 可以作为文献值用于定性分析。由于在色谱过程中总是存在着固定液的流失, 因此测得 V_g 值的精度就显得不够。

19.2.2.2 液相色谱保留体积

液相色谱的流动相常称为淋洗液或洗脱液, 柱内的压力变化对淋洗液的平均体积流速影响很小, 可认为柱后测定的体积流速 F_o 与柱内的平均体积流速 F_c 相等。显然, 液相色谱的保留体积 V_R 等于校正保留体积 V_R^0 , 调整保留体积 V_R' 便是净保留体积 V_N 。所以液相色谱

中体积保留值只使用保留体积 V_R 和调整保留体积 V_R' 。

19.2.2.3 相对保留值 $r_{1,2}$

针对 V_g 存在的问题, 相对保留值 (relative retention value) 的概念得到了应用。它定义为被测组分与标准物的调整保留时间之比, 公式为

$$r_{1,2} = \frac{t'_{R1}}{t'_{R2}} = \frac{V'_{R1}}{V'_{R2}} = \frac{V_{g1}}{V_{g2}} = \frac{k'_1}{k'_2} = \frac{k_1}{k_2} \quad (19-19)$$

式中, 1 表示被测组分; 2 表示标准物。

相对保留值也可作为定性分析依据。其优点是在相同条件下测量, 可以使实验条件对保留值的影响被抵消, 从而大大地提高了保留值的精度; 其缺点是标准物不统一。

相邻两组分的相对保留值也可作为色谱系统分离的选择性指标。

【例 19-3】 分配柱色谱测定组分 A、B, 测得出峰时间为 15.0min 和 25.0min, 而另有非滞留组分只需 2.0min 即出峰。求: (1) B 对 A 的相对保留值? (2) 组分 A 滞留在流动相中的时间分数 (保留比) 为多少? (3) 组分 A 的分配比为多少?

解 (1) 相对保留值 $r_{B,A} = t'_{R,B}/t'_{R,A} = (25.0 - 2.0)/(15.0 - 2.0) = 1.8$

(2) 保留比为 $t_M/t_{R,A} = 2.0/15.0 = 1/7.5$

(3) 组分 A 的分配比 $k' = t'_{R,A}/t_M = 6.5$

19.2.2.4 保留指数

保留指数 (retention index) 又被称为柯瓦 (Kováts) 指数, 在气相色谱中是将两个相邻正构烷烃保留值的对数值的差值定为指数 100, 被测得的保留指数即可用下式计算

$$I_x = 100 \times \left(\frac{\lg t'_{R_x} - \lg t'_{R_n}}{\lg t'_{R_{(n+1)}} - \lg t'_{R_n}} + n \right) = 100 \left(n + \frac{\lg \gamma_{(x,n)}}{\lg \gamma_{(n+1,n)}} \right) \quad (19-20)$$

式中, I_x 为待测组分的保留值指数; t'_{R_x} 为被测物的调整保留时间; t'_{R_n} 、 $t'_{R_{(n+1)}}$ 分别为 n 个碳原子数和 $n+1$ 个碳原子数的正构烷烃的调整保留时间; n 为正构烷烃的碳原子数; $\gamma_{(x,n)}$ 为组分 x 与 n 碳正构烷烃的相对保留值; $\gamma_{(n+1,n)}$ 为 $n+1$ 碳正构烷烃与 n 碳正构烷烃的相对保留值。

从定义可以看出, 正构烷烃的保留指数规定为 100 乘碳原子数, 被测物的指数可以用内插法来进行计算, 计算所得值与文献数据对照即可进行定性。

【例 19-4】 在固定相为阿批松 L 的气相色谱柱上, 柱温 100°C 时, 分离乙酸正丁酯、正庚烷及正辛烷。从色谱图上得到乙酸正丁酯的调整保留值为 310.0mm, 正庚烷为 174.0mm, 正辛烷 373.4mm, 求被测物乙酸正丁酯在该色谱条件下的保留指数?

解 由题意可知, 正构庚烷, 碳原子数 $n=7$ 。

根据式 (19-20), 可得

$$I_x = 100 \times \left[7 + \frac{\lg 310.0 - \lg 174.0}{\lg 373.4 - \lg 174.0} \right] = 775.6$$

保留指数仅与固定相的性质、柱温有关, 因此, 同一物质在不同性质的固定相上的保留指数之差, 可以反映固定相的分离特征。

用柯瓦指数确定气相色谱的相对保留值的方法, 已推广到高效液相色谱法中, 这时使用正构烷基苯作为标准化合物。