

仪器分析实验的课后习题答案及讨论 2

高效液相色谱

1. 高效液相色谱法的特点

特点：检测的分辨率和灵敏度高，分析速度快，重复性好，定量精确度高，应用范围广。适用于分析高沸点、大分子、强极性、热不稳定有机及生化试样的高效分离分析方法。

2. 高效液相色谱与气相色谱的主要区别可归结于以下几点：

(1)进样方式的不同：高效液相色谱只要将样品制成溶液，而气相色谱需加热气化或裂解；

(2)流动相不同，在被测组分与流动相之间、流动相与固定相之间都存在着一定的相互作用力；

(3)由于液体的粘度较气体大两个数量级，使被测组分在液体流动相中的扩散系数比在气体流动相中约小 $4\sim 5$ 个数量级；

(4)由于流动相的化学成分可进行广泛选择，并可配置成二元或多元体系，满足梯度洗脱的需要，因而提高了高效液相色谱的分辨率（柱效能）；

(5)高效液相色谱采用 $5\sim 10\mu\text{m}$ 细颗粒固定相，使流体相在色谱柱上渗透性大大缩小，流动阻力增大，必须借助高压泵输送流动相；

(6)高效液相色谱是在液相中进行，对被测组分的检测，通常采用灵敏的湿法光度检测器，例如，紫外光度检测器、示差折光检测器、荧光光度检测器等。

3. 高效液相色谱的定性和定量分析的方法

定性：(1) 利用纯物质定性的方法

利用保留值定性：通过对比试样中具有与纯物质相同保留值的色谱峰，来确定试样中是否含有该物质及在色谱图中位置。不适用于不同仪器上获得的数据之间的对比。利用加入法定性：将纯物质加入到试样中，观察各组分色谱峰的相对变化。

(2) 利用文献保留值定性

相对保留值 r_{21} ：相对保留值 r_{21} 仅与柱温和固定液性质有关。在色谱手册中都列有各种物质在不同固定液上的保留数据，可以用来进行定性鉴定。

定量：有归一法、内标法、外标法

在定量分析中，采用测量峰面积的归一化法、内标法或外标法等，但高效液相色谱在分离复杂组分试样时，有些组分常不能出峰，因此归一法定量受到限制，而内标法定量则被广泛使用。

4. 高效液相色谱实验时，选择流动相时应注意的几个问题

(1) 尽量使用高纯度试剂作流动相，防止微量杂质长期累积损坏色谱柱和使检测器噪声增加。

(2) 避免流动相与固定相发生作用而使柱效下降或损坏柱子。如使固定液溶解流失；酸性溶剂破坏氧化铝固定相等。

(3) 试样在流动相中应有适宜的溶解度，防止产生沉淀并在柱中沉积。

(4) 流动相同时还应满足检测器的要求。当使用紫外检测器时，流动相不应有紫外吸收。

5. 影响分离的因素与提高柱效的途径

(1). 液体的黏度比气体大一百倍，密度为气体的一千倍，故降低传质阻力是提高柱效主要途径，降低固定相粒度可提高柱效。

(2). 液相色谱中，不可能通过增加柱温来改善传质；（恒温）

(3). 改变淋洗液组成、极性是改善分离的最直接的因素。

气相色谱

1. 气相色谱法常用的几种定量分析方法

(1) 归一化法：若试样中含有 N 个组分,且各组分均能洗出色谱峰,则其中某个组分 i 的质量分数可按下式计算：

$w(i) =$

$$\frac{m_i}{m_1 + m_2 + \dots + m_n} \times 100\% = \frac{A_i \cdot f_i}{A_i \cdot f_i + A_j \cdot f_j + \dots + A_n \cdot f_n} \times 100\%$$

f_i, f_j, f_n 分别为组分 i 和内标物 S 的质量校正因子

A_i, A_S 分别为组分 i 和内标物 S 的峰面积

特点及要求：

归一化法简便、准确；进样量的准确性和操作条件的变动对测定结果影响不大；仅适用于试样中所有组分全出峰的情况。

(2) 外标法,外标法也称为标准曲线法。是在一定条件下，测定一系列不同浓度的标准试样的峰面积，绘出峰面积 A 对质量分数的标准曲线，在严格相同的操作条件下,测定试样中待测组分的峰面积,同测得的峰面积在标准曲线上查出被测组分的质量分数。

特点及要求：外标法不使用校正因子，准确性较高；操作条件变化对结果准确性影响较大；对进样量的准确性控制要求较高，适用于大批量试

样的快速分析。

(3) 内标法

内标法是在一定量试样中加入一定量的内标物，根据待测物组分和内标物的峰面积及内标物质量计算待

$$f_i \cdot A_i = f_S \cdot A_S \cdot \frac{m_i}{m_S} \cdot 100\% \quad \text{或} \quad \frac{f_i \cdot A_i}{m_i} = \frac{f_S \cdot A_S}{m_S} \cdot 100\%$$

f_i 试样 m_i 试样 m_S 试样 A_S 测组分质量的方法。计算公式为：

f_i 、 f_S 分别为组分 i 和内标物 S 的质量校正因子

A_i 、 A_S 分别为组分 i 和内标物 S 的峰面积

特点：内标法的准确性较高，操作条件和进样量的稍许变动对定量结果的影响不大；每个试样的分析，都要进行两次称量，不适合大批量试样的快速分析。内标物要满足以下要求：

(a) 试样中不含有该物质；(b) 与被测组分性质比较接近；

(c) 不与试样发生化学反应；(d) 出峰位置应位于被测组分附近，且无组分峰影响。

2. 色谱柱及柱温

填充柱：3 米长，直径 3 毫米。柱温 $T_c \uparrow$ $K \downarrow$

毛细管柱：30~100 米长，直径 0.5 毫米。

选择 T_c 的原则：①在使组分尽可能分离的条件下使用低温。② T_c 不能超过固定相的使用温度和组分的分解温度。组分性质相差大的采用程序升温，否则采取恒温。

3. 气相色谱法特点：灵敏度高（ $10^{-11} \sim 10^{-15}g$ ），分离效率高（异构体、同系物），适合多组分同步分析，样品用量少（ $\mu g \sim ng$ ）

4.实验细节要求:

(1). 进样器有气化作用, 温度 $<350^{\circ}\text{C}$, 不能测沸点高于 350°C 的样品。

(2). 载气的要求: 纯度要高, 干燥, 不能与未知样反应 (H_2 , N_2 , He)。载气流入要恒压、恒速。

(3). 最大的允许进样量, 控制在峰面积或峰高与进样量呈线性关系的范围内。

进样时间: 越快越好。

(4). 气化温度: 大于沸点, 但要低于分解温度。一般选择气化温度比柱温高 $30-70$ 度。使液体试样迅速气化后被载气带入柱内。

六、思考题:

1、气相色谱有哪几种定量分析方法?

答: 气相色谱一般有如下定量分析方法: 内标法、外标法、归一法、标准曲线法、标准加入法。

2、本实验用的归一化法在什么情况下才能应用?

答: 归一法具有简便、准确、操作条件对结果影响小等优点, 但使用归一法时, 试样中所有组分必须全部出峰, 某些不需要定量的组分也要测出其校正因子各峰面积, 因此该法在使用中受到限制。当样品中各组分均能流出色谱柱且在色谱图上均显示色谱峰, 其它杂质峰干扰较小时可以使用归一法, 此方法适用于多组分同时测定。

离子分析法测 F 离子

1. 柠檬酸钠溶液在测量溶液中的作用:

柠檬酸钠作为缓冲溶液,起着缓冲作用,控制溶液的 PH 范围为 5.5~6.5 为最佳酸度,同时还可以消除 Al、Fe 对 F 的干扰,还可以使溶液中离子平均活度系数保持定值克服因非线性造成的误差,提高分析测试的精密度和准确度。

2. 氟离子选择电极性能的判断:

氟离子选择电极性能又称氟离子选择电极的斜率。氟离子选择电极性能的好坏,直接影响电极的响应极限、线性范围的大小和分析测试的准确度及精密度。氟离子选择电极性能的判别方法为:由 Nemst 方程可知,在 20℃至 25℃范围内,氟离子浓度每改变 10 倍,氟离子选择电极的电位变化值应在 $58 \pm 2\text{mV}$ 之间。若在此条件下测试,氟离子选择电极电位变化在此范围内,说明该电极性能良好。

3. 饱和甘汞电极对电位值的影响:

氟离子选择电极法中,电极电位示值是相对参比电极(即饱和甘汞电极)读取的。饱和甘汞电极的工作状态,直接影响电位计的示值。

应注意三个方面的问题:一是电极液中的氯化钾溶液应处于饱和状态,否则,甘汞电极的电位值升高,电位计的示值增大;二是饱和氯化钾电极液的液面不能低于要求的液面高度而使用。不用时将两个橡皮套套上,使用一周后,应将氯化钾饱和溶液清洗掉,并换新的氯化钾饱和溶液;三是饱和甘汞电极的温度滞后现象。克服温度滞后现象的方法为保持待测液的温度一致,或电极放入溶液后等待 3 至 5min,待电位计读数稳定后再进行读数。甘汞电极不正常,往往会出现电位计的示值不稳定,线性变差、精密度下降和最大空白值升高等问题。

4. 氟离子选择电极在使用时应注意的问题

①氟电极应浸入被测试液中

②在测量待测试液前应用去离子水将电极清洗干净

③氟离子选择电极测量 F 时，最适宜 pH 值范围应为 5.5~6.5 所以应控制溶液 pH 值范围为 5.5~6.5 ④测定标准溶液和样品溶液前，控制空白电位值相同，以提高测试的精密度和准确度。

5 影响测试结果的因素

影响测试结果的因素主要有 pH 值、待测液温度、搅拌速度和测定的顺序，所以应保持测试条件应一致。①氟离子选择电极工作时，pH 值的大小对测定结果有较大的影响，且这种干扰随着氟离子活度的降低而增大。实际测定过程中，最佳 pH 值范围应为 5.5~6.5 为宜，pH 值较大时，可造成氟离子浓度升高的假象；pH 值较低时，氟离子与溶液中氢离子生成 HF 或 HF_2^- ，从而降低溶液中氟离子的浓度，影响测试的准确度和精密度。

②标准溶液与待测液在同一温度下测量，并尽量保持测定体系温度的一致，避免因温度的变化而引起测量电位示值较大的漂移。1mV 的测量误差对一价离子引起的活度测量的相对误差约为 4%。

③测定标准溶液系列时，按照浓度先低后高的顺序进行(由低浓度向高浓度逐个测定)，以消除电极的“记忆效应”。切勿由高浓度向低浓度逐个测定，测定结束后，一定要用空白溶液将电极洗至接近空白溶液的电位值，然后进行样品待测液的测定。

④组分复杂样品的测试。若样品组分很复杂，如土壤样品，可采用一次标准加入法，以减少基体的影响，但需注意，加入到未知试样中的标准

溶液的量，应不使溶液体系的离子浓度发生较大变化，加入的体积为样品溶液的1%左右，且使电位的改变量 ΔE 在30mV至40mV之间。

6. 测试前应注意的问题

氟离子选择电极应在蒸馏水或去离子水中洗涤至最大空白电位值。洗涤时，烧杯中放入磁棒，调整磁力搅拌机的转速至合适后，不要轻易改变转速。在测定标准溶液和待测液时，更应注意这一点，否则会影响测定的精密度。

微分脉冲极谱法测定果汁中维生素C的含量

1. 脉冲极谱分析的特点

改变了方波极谱中方波电压连续的方式，代之以在每一滴汞滴增长到一定的时间时，在直流线性扫描电压上叠加一个10~100mV的脉冲电压，脉冲持续4~80ms。脉冲极谱允许支持电解质的浓度小很多(0.01~0.1mol/L)，这有利于降低痕量分析的空白值，还降低了毛细管噪声，对电极反应速度较慢的不可逆电对，其灵敏度亦有所提高。

2. 标准加入法

标准加入法的优缺点：标准加入法适用于样品组分复杂的情况，其缺点是，由于进样多次，进样误差加倍。优点是准确度高，因为加入的标准溶液体积很小，避免了底液不同所引起的误差。但是如果加入的标准溶液太少，波高增加的值很小，则测量误差大；若加入的量太大，则引起底液组成的变化。所以使用这一方法，加入标准溶液的量要适当。另外要注意的是，只有波高与浓度成正比关系时才能使用标准加入法。

使用标准加入法时应注意以下几点：

- 1) 待测元素的浓度与其相应的吸光度应呈直线关系；
- 2) 为了得到较为精确的外推结果，最少应采用 4 个点（包括试样溶液本身）来作外推曲线，并且第一份加入的标准溶液与试样溶液的浓度之比应适当，这可通过试喷试样溶液和标准溶液，比较两者的吸光度来判断。增量值的大小可这样选择，使第一个加入量产生的吸收值约为试样原吸收值的一半；
- 3) 本法能消除基体效应带来的影响，但不能消除背景吸收的影响，这是因为相同的信号，既加到试样测定值上，也加到增量后的试样测定值上，因此只有扣除了背景之后，才能得到待测元素的真实含量，否则将得到偏高结果；
- 4) 对于斜率太小的曲线（灵敏度差），容易引进较大的误差。

3、测定果汁中维生素 C 为什么要采用标准加入法？为什么需要缓冲溶液？

因为果汁组分复杂，待测物含量较低，难以保证试样组成与标准溶液的条件完全相同，易制成标准溶液。因而要采用标准加入法，并且测量出的信号峰高与待测物的浓度成正比，因而可以采用标准加入法。不缓冲溶液用于调节 PH 值。如果溶液的 PH 值不适宜的话，抗坏血酸的氧化会使电极表明的 PH 移动，从而导致峰形变宽，使用己酸缓冲溶液可避免此类情况。

六、思考题

1. 采用标准加入法有何优缺点？

答：标准加入法的优缺点：标准加入法适用于样品组分复杂的情况，

由于进样多次,进样误差加倍。优点是准确度较高,因为加入的标准溶液体积很小,避免了底液不同所引起的误差。但是如果加入的标准溶液太少,波高增加的值很小,则测量误差大;若加入的量太大,则引起底液组成的变化。所以使用这一方法,加入标准溶液的量要适当。另外要注意的是,只有波高与浓度成正比关系时才能使用标准加入法。

2.测定果汁中维生素 C 为什么要采用标准加入法?

答:因为果汁组分复杂,待测物含量较低,难以保证试样组成与标准溶液的条件完全相同,易制成标

准溶液。因而要采用标准加入法,并且测量出的信号峰高与待测物的浓度成正比,因而可以采用标准加入法

3.测定果汁中维生素 C 为什么需要缓冲液?

答:缓冲溶液用于调节 PH 值。如果溶液的 PH 值不适宜的话,抗坏血酸的氧化会使电极表明的 PH 移动,

从而导致峰形变宽,使用己酸缓冲溶液可避免此类情况。

用重铬酸钾电位滴定硫酸亚铁铵溶液

(1) .电位滴定: 每滴加一次滴定剂,平衡后测量电动势。

关键: 确定滴定反应的化学计量点时,所消耗的滴定剂的体积;快速滴定寻找化学计量点所在的大致范围;突跃范围内每次滴加体积控制在 0.1mL;记录每次滴定时的滴定剂用量 (V) 和相应的电动势数值 (E),作图得到滴定曲线。

(3). 在计量点时,二苯胺磺酸钠颜色如何变化

二苯胺磺酸钠的氧化态为紫色,还原态为无色,变色的条件电极电位

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/668070054010006106>