

目 录

第一章 绪论	1
一、农药分析的范畴和任务	1
二、农药分析方法的进展	1
三、农药质量评价	2
第二章 色谱法	4
一、产生及原理	4
二、发展史	4
三、分类	6
四、现代色谱技术	6
第三章 薄层色谱法	9
一、原理	9
二、吸附剂	10
(一) 硅胶	11
(二) 氧化铝	11
(三) 吸附剂的细度	12
三、展开剂的选配	12
(一) 被测物质的结构与性质	12
(二) 吸附剂的性能	12
(三) 展开剂的选择	12
四、薄层板的制备	13
五、点样与展开	15
六、检出	16
(一) 荧光硅胶板在紫外灯下显色	16
(二) 碘	16
(三) 氯化钼	16
(四) 硝酸银-氢氧化铵	16
七、定性分析	17
八、定量分析	18
(一) 直接测定法	18
(二) 溶出定量法	18
第四章 气相色谱法	23
一、概论	23
(一) 特点	23
(二) 仪器和流程	23
(三) 应用范围与局限	24

(四) 在农药分析中的应用	24
二、基本原理	25
(一) 气-液色谱分离过程	25
(二) 气相色谱流出曲线	26
(三) 塔板理论	26
(四) 速率理论——范第姆特(Van Deemter)方程	28
(五) 分离度	32
三、检测器	33
(一) 检测器的分类	33
(二) 检测器的性能指标	34
(三) 常用检测器	36
四、色谱柱	43
(一) 色谱柱的几种类型	43
(二) 柱管材料与形状	43
(三) 固定液	43
(四) 担体	46
(五) 色谱柱的制备	49
五、定性定量分析	51
(一) 气谱操作条件的选择	51
(二) 样品制备	52
(三) 定性分析	52
(四) 定量分析	53
六、色-质联用分析(GC-MS)	60
(一) 概述	60
(二) 工作原理	61
(三) 在农药分析中的应用	63
七、计算机的应用	66
第五章 高效液相色谱法	68
一、概论	68
二、基本原理	69
(一) 选择性(分离因子)	70
(二) 容量因子	70
(三) 柱效	71
(四) 分离度	72
三、装置	72
(一) 贮液容器	73
(二) 输液泵	73
(三) 梯度洗脱	73
(四) 进样系统	74
(五) 色谱柱	74
(六) 检测器	75
(七) 控温系统	75

四、分类	76
(一) 液固吸附色谱法	76
(二) 液液分配色谱法	80
(三) 离子交换色谱	86
五、在农药分析中的应用	88
(一) 分离类型的选择	88
(二) 内标物的应用	90
(三) 常用农药的高效液相色谱法的测定条件	97
第六章 可见紫外分光光度法	98
一、分光光度法的基本概念	98
(一) 光的波动性	98
(二) 光的微粒性——普朗克公式	98
(三) 可见紫外、红外光区的划分	98
二、可见紫外分光光度计	99
(一) 光源	99
(二) 单色器	100
(三) 吸收池	100
(四) 检测器	100
(五) 测量信号指示系统	100
三、分光光度法的基本定律	101
(一) 光吸收定律	101
(二) 吸收曲线	102
(三) 对比尔定律的偏离	103
(四) 精密度与检出限	104
四、分子结构与电子光谱	105
(一) 可见及紫外吸收光谱的产生	105
(二) 几个常用术语	106
(三) 有机化合物结构与电子跃迁及吸收谱带的关系	107
五、定量分析	111
(一) 试样的制备	111
(二) 测量条件的选择	112
(三) 反应条件	113
六、在农药分析中的应用	114
(一) 农药分析的特点	114
(二) 可见比色分析	114
(三) 紫外光谱定量分析	117
第七章 红外光谱法	122
一、基本概念	122
(一) 红外光谱的性能	122
(二) 红外区域的划分	122
(三) 分子的能量和分子振动类型	123
(四) 分子的振动形式	123

二、红外光谱仪	124
三、红外光谱的测定方法	125
(一) 气体样品的测定	125
(二) 液体样品的测定	125
(三) 溶液样品的测定	125
(四) 固体样品的测定	125
四、红外吸收光谱与有机农药分子结构的关系	126
五、在农药分析中的应用	129
(一) 定性分析	129
(二) 定量分析	130
第八章 核磁共振	142
一、基本原理	142
二、核磁共振仪	144
三、化学位移	144
(一) ^1H 的化学位移	144
(二) ^{13}C 的化学位移	146
(三) ^{31}P 的化学位移	148
四、自旋-自旋偶合和自旋-自旋裂分	148
五、决定质子数目的方法	151
六、在农药分析中的应用	153
(一) 在农药分析中的应用范围	153
(二) 农药样品的准备	153
(三) 内标物	153
(四) 农药样品的核磁共振测定	154
第九章 滴定分析法	157
一、容量分析法	158
(一) 酸碱滴定法	158
(二) 氧化还原滴定法	159
(三) 沉淀滴定法	165
(四) 亚硝酸钠滴定法	166
(五) 非水滴定法	167
二、电位滴定法和永停滴定法	167
(一) 电位分析的几个基本概念	168
(二) 参比电极与指示电极	169
(三) pH 值的电位测定法	170
(四) 电位滴定法	172
(五) 永停滴定法	175
第十章 极谱分析法	178
一、概述	178
(一) 极谱法的一般过程和极谱图	178
(二) 基本原理	179

(三) 干扰电流及其消除方法	180
二、极谱定性和定量分析方法	182
(一) 极谱定性分析原理	182
(二) 极谱定量分析方法	183
三、有机农药的极谱分析	185
(一) 有机化合物极谱分析的特殊条件	185
(二) 极谱活性的条件	185
(三) 间接极谱法	188
(四) 试样的预处理	189
四、在农药分析中的应用	189
(一) 含氯农药	189
(二) 含硝基农药	189
(三) 磷酸酯类农药	189
(四) 酰亚胺类衍生物	191
(五) 联吡啶阳离子类农药	191
(六) 含硫农药	191
(七) 其它类型农药	193
第十一章 农药理化性能测定法	194
一、水分测定方法	194
(一) 化学滴定法(卡尔·费休法)	194
(二) 共沸蒸馏法	196
二、酸度测定法	196
(一) 酸、碱滴定法	197
(二) 氢离子浓度测定方法	197
三、乳油稳定性测定方法	198
(一) 仪器和试剂	198
(二) 测定步骤	199
(三) CIPAC(MT36)乳液稳定性测定方法	199
四、粉剂细度测定方法	200
(一) 仪器	200
(二) 测定手续	200
五、可湿性粉剂润湿性测定方法	200
(一) 仪器	201
(二) 试剂和溶液	201
(三) 测定手续	201
六、可湿性粉剂的悬浮性测定方法	202
(一) CIPAC(MT 15)法	202
(二) 持久起泡性	203
第十二章 农药分析中的标准样品制备、取样方法和数据处理	205
一、标准农药样品制备	205
(一) 标准样品的重要性和类别	205

(二) 标准样品的制备和纯化	205
(三) 标准样品的定性	206
(四) 标准样品的定量和纯度	206
(五) 标准样品的贮藏	207
二、商品农药采样方法	207
(一) 总则	207
(二) 采样工具	208
(三) 原粉采样	208
(四) 乳剂和液体状态的采样	208
(五) 粉剂和可湿性粉剂的采样	208
(六) 其它	209
三、分析误差和数据处理	209
(一) 误差与准确度	209
(二) 偏差与精密度	210
(三) 置信界限	213
四、实验室注意事项	214

参 考 文 献

第一章 绪 论

一、农药分析的范畴和任务

农药分析可分为原药和制剂分析以及残留量分析两大类,前者属常量分析,后者属于微量分析。在农药残留量分析中,样品中所含的农药量极少,前处理十分复杂,测定样品时对方法的准确度和精密度要求不高,如回收率达 $100\% \pm 20\%$ 即可,但要求方法的灵敏度高,即能检出样品中的微量农药;在农药常量分析中,为了获得样品中农药的准确含量,方法的准确度(即测量值与真值之比)与精密度(同一试样重复测定结果的比较)应达到要求,但对灵敏度要求不高。因为制剂中农药含量较高,通常至少有百分之几的含量,本书主要介绍农药常量分析部分。

农药常量分析对农药生产和应用都有重要作用,农药工厂对中间体和产物的分析是控制合成步骤和改进合成方法的依据,农药产品分析是工厂保证出厂产品质量的主要方面,是农药检定部门和农业生产资料部门质量管理的重要措施,也是检测农药贮藏期的变化,改进制剂性能和改善农药应用技术等必不可少的手段。农药分析更是农药合成、加工、应用等科学研究工作的基础。

二、农药分析方法的进展

农药原药和制剂分析方法与农药的发展历史有关,亦与分析化学学科的进展有密切关系,早期应用铜、砷、铅无机农药时期,主要使用重量法和滴定法测定其含量,50年代使用有机氯农药时期将这些农药中的氯用碱或金属钠水解为无机离子,以银量法、电位滴定法或重量法测定其中的总氯;这些类似元素分析的化学分析法在农药分析历史上起过重要作用,不需特殊仪器设备,可在一般分析化学实验室进行。但方法没有特异性,类似结构的杂质或制剂中的辅助剂等都能影响测定结果,测定步骤多,花费时间长;此外在有机磷农药分析中,比色法即吸收光谱在可见光范围的分光光度法也得到广泛应用。

60年代开始使用紫外和红外分光光度法,它们和上述化学方法相比,操作简单、灵敏度高,而且可以对化合物进行确证,目前仍是农药分析中常用的方法,对于具有芳香基团和杂环的农药,经提取后可以直接使用紫外分光光度法;红外光谱法可根据特征吸收峰的强度进行农药常量分析,测定粉剂、可湿性粉剂或颗粒剂时,制备样品简单,测定较快速,方法具有特异性;但红外光谱仪比较昂贵,灵敏度差,测定时样品需要量较大,目前已很少用于定量分析,主要用于鉴定农药的分子结构。此外,极谱法适用于具有可还原和氧化基团的农药分析。

以上所述的方法都不具有分离杂质的能力,且只能测定单个成分,适用于分析有效成分含量较高的农药;我国有的原药中有效成分含量很低,仅 $60\% - 70\%$,杂质含量高,测定

时干扰大，误差很大，因此目前都使用薄层色谱法将农药与杂质分离后再进行测定。我国农业生产资料部门、农药检定部门和化工部门研究出一系列薄层色谱化学法、薄层色谱电位滴定法等，这些方法可有效地分离杂质，较准确地测定成分，达到农药常量分析的要求，能用于质量检验，尤其对于热稳定性差、易分解、蒸气压低的农药更为合适。在基层单位缺乏专用仪器和标准样品的情况下，具有一定实用价值，是控制农药产品质量现实可行的方法。此外薄层色谱比色法和薄层色谱紫外分光光度法等也可用于多种农药的常量分析。

60年代后期气相色谱法在农药分析中得到广泛应用，混合样品通过色谱柱后可分离为单个组分，依次通过检测器，在农药分析中能有效地分离杂质，它还具有选择性好，灵敏度高的特点，样品处理也比较简单。测定时使用内标物使气相色谱法的精密度能达到化学法和分光光度法的水平。在程序升温、衍生化技术、各种不同性能的色谱柱、尤其是粗径毛细管色谱柱等技术使用后，绝大多数农药都可使用气相色谱法，甚至苯氧乙酸类除草剂、氨基甲酸酯农药都可以测定。

最新技术上的突破是高效液相色谱法的开发和它在农药分析中的应用，液相色谱柱不仅具有较好的分离杂质能力，而且分离是在室温和较低温度下进行，绝大多数农药都可使用此法，对于热稳定性差和不易挥发的农药，省略了气相色谱法必须进行的衍生化步骤；特别适用于那些被认为难以用气相色谱法测定的农药。液相色谱法的最大限制是检测器的灵敏度不如气相色谱法，而方法的灵敏度在农药原药和制剂分析中是不重要的。最近几年新的分析方法中高效液相色谱法已占很大比重，使用固定进样环和自动进样装置，使高效液相色谱法测定结果的重现性可达到气相色谱内标法的水平；目前此两种方法是农药常量分析中用得最多的，约占90%以上，两者已形成有效的相互补充的方法，具有相当的准确度和精密度，一种方法测出的结果，可以用另一方法来确证。

三、农药质量评价

有了准确、易行的分析方法，才能对农药质量进行评价。农药质量的评价依据是各个农药的质量标准，凡是生产的农药产品必须具有农药标准。所谓标准，是指相应的权力机构对农药的质量规格和检验方法等所作的技术规定。国际上有“联合国粮农组织”(FAO)和“世界卫生组织”(WHO)两种农药标准，我国目前实行的有三级标准，为国家标准、地方标准和企业标准，制定标准时附有各项指标的测定方法，测定方法是否准确，直接影响到标准的合理性，也就是影响农药的质量，因此测定方法是正确执行标准的基础。

主要应从两个方面来评价农药的质量，一是有效成分含量是否与标准上标明的含量相符；另一方面是其物理化学性质是否达到标准上的要求，这些指标是根据原药及各种制剂，(如粉剂、可湿性粉剂、乳油和颗粒剂等)的特性而有不同规定，如细度、悬浮率、润湿性、乳化性、乳液稳定性、含水量和酸(碱)度等。

农药产品有效成分含量是保证药效的基本物质，有效成分含量不足，很难达到防治效果。伪劣农药的主要特点是有效成分含量低甚至没有，如有的所谓2.5%“敌杀死”，实际有效成分为零；50%甲胺磷乳油仅有0.8%—1%；又如在制剂中混有其它农药而造成药害的事例也是不少的，有的地方工厂加工分装农药时，在杀虫剂中混入除草剂如2,4-滴丁酯，造成大面积药害。此外，有的农药产品在贮藏过程中会逐渐分解，其有效成分含量下降，特

别是有机磷农药粉剂，加工过程中不加入适当稳定剂，分解率很高，如 2.5% 乐果粉剂贮藏两年，可分解 50% 以上；又如敌敌畏乳油等在贮藏过程中都有一定的分解。所以对各类农药制剂中有效成分的检测是至关重要的。现在卫生用气雾剂在我国发展很快，为避免煤油的臭味现在都用醇或水为溶剂，这些制剂中有效成分的稳定性也是一个问题。

有效成分含量达到要求，如果产品的物理、化学性能很差，药剂也不能充分发挥作用，粉剂标准中理化性能指标有细度、水分和 pH 值，我国产品的细度往往达不到要求（95% 通过 200 目）。可湿性粉剂标准中的指标有悬浮率、润湿性、水分、pH 等，悬浮率是重要的指标，如悬浮性能不好，药剂颗粒沉降下去，喷药时浓度不一致影响药效，还可能造成药害，堵塞喷头，由于我国常用的粉碎机械性能不好，不少可湿性粉剂的悬浮率达不到要求；润湿性能亦是重要的指标。乳油标准中乳化性和乳液稳定性是重要的指标，我国已能生产高效能的乳化剂，使乳油类农药的乳液稳定性基本上达到要求，其它如胶悬剂的悬浮率，颗粒剂的脱落率，颗粒大小均是应该控制的指标。

为了保证农药的使用效果，必须检测加工制剂的质量，通常至少应保证两年有效期（个别特殊农药例外），两年内各项指标都应合格。为及早了解制剂的稳定性，要进行热贮藏稳定性试验，即通过短期高温贮藏时的分解率，来预测常温下的分解率。

本书是根据农药质量检验的两个方面内容进行编排的，要求学生在学习分析化学、物理化学、有机化学、仪器分析和农用药剂学的基础上学习本课程。学生通过理论学习和基本操作训练，基本掌握农药检验分析工作以及具备分析和解决实际工作中存在问题的能力。

第二章 色 谱 法

一、产生及原理

1906年俄国植物学家茨维特 (M. S. Tswett) 较完整地提出了色谱法。他把碳酸钙装在一根玻璃管中, 将植物叶子的石油醚提取液倒入管内, 然后加入石油醚自上而下淋洗。随着淋洗进行, 样品中各种色素向下移动的速度不同, 逐渐形成一圈圈的连续色带, 它们分别是胡萝卜素、叶黄素和叶绿素 A、B。这种连续色带称为色层或色谱, 由 chroma (色彩) 和 graphos (图谱) 构成“色谱”一词, 色谱法由此而得名。所使用的玻璃管称为色谱柱 (Chromatographic column); 管内的碳酸钙填充物称为固定相 (Stationary phase); 淋洗液称为流动相 (mobile phase) 或淋洗剂 (eluent)。后来色谱法不断发展, 普遍用来分离无色物质, 并不存在色带, 但色谱法这个名称一直被沿用下来。

色谱是一种分离技术, 当它被用作分析目的时, 就是色谱分析。其分离原理是混合物中各组分在经过由固定相和流动相组成的体系时, 由于各组分性质上的差异, 在两相中具有不同的分配系数; 当两相作相对运动时, 各组分随流动相一起流动, 并在两相中进行反复多次的分配, 使各组分最终得以分离。

二、发 展 史

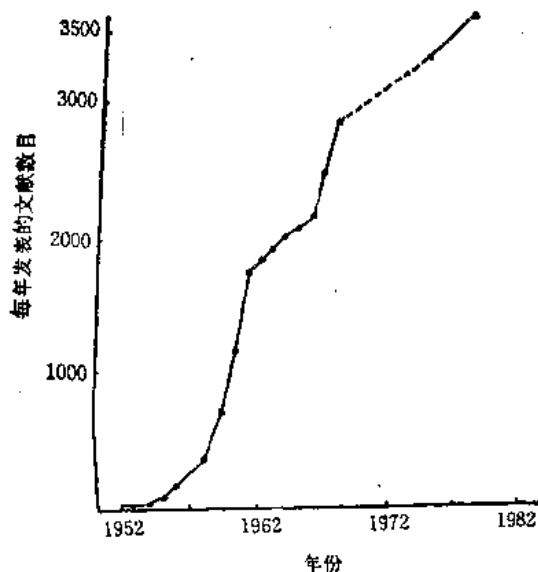


图 2-1 历年发表气相色谱文献数目及趋势表

工作, 提出了气液色谱法, 用于分离、分析脂肪酸和脂肪胺等混合物取得成功, 并对该法的

我们学习色谱法的历史, 研究色谱法发展的过程, 是为了从历史的观点了解该学科发展的规律, 同时也为了纪念有关的著名科学家对色谱学科所作的贡献。兹将色谱法发展年历简要列于表 2-1 中。

由上表可知, 有关色谱法的研究工作, 1834 年业已开始, 在前人工作的基础上茨维特于 1906 年提出了色谱法。这对科学事业是一项重要的贡献, 但当时并没有引起重视, 竟然事隔 25 年后, 到了 1931 年库哈才重复了茨维特的工作。这种情况在科学发展史上是罕见的。

梯塞勒、克莱生等人在早期色谱发展中作出许多重要贡献。在 1952 年马丁和捷姆斯一起进行了马丁在 1941 年发表论文中所预言的

理论和实验方法作出了精辟的论述。此后几年,气液色谱法得到飞速发展,每年发表几乎上千篇的论文(见图 2-1)。

表 2-1 色谱法发展年历

文献发表年份	科学家姓名	事 例
1834—1843	林棋 (Runge, F.F.)	在布片上对染料和植物萃取液进行点滴试验
1850	林棋 (Runge, F.F.)	在纸上分离盐溶液
1868	格伯斯洛特 (Goppelsroeder, F.)	在长条纸上分析染料和动植物色素等
1878	斯科朋 (Schonbein, C.)	在长条纸上分析液体溶液
1897—1903	戴 (Day, D. T.)	将粗石油试样通过装有白土的填充柱
1906	茨维特 (Tswett, S. M.)	在装有CaCO ₃ 粉末柱上,以石油醚作为流动相,分离叶绿素
1931	库哈 (Kuhn, R.)	利用碳酸钙柱上分离黄叶、叶绿素
1940	梯塞勒 (Tiselius, A.)	由于发表了吸附色谱和电泳法,于1948年获得了诺贝尔奖金
1940	惠乐森 (Wilson, J. N.)	发表第一篇线性等温平衡色谱理论文献
1941	梯塞勒	进一步提出与发展迎头法、冲洗法和顶替法的液相色谱法
1941	马丁和辛治 (Martin, A. J. P.; Snyge, R.L.M.)	首先提出柱效能模型。同时,发展了液液色谱法,于1952年获诺贝尔奖金
1944	康司登和马丁 (Consden, R. & Martin, A.J.P.)	提出纸上色谱法
1946	克莱生 (Claesson, S.)	用迎头法、顶替法来研究液固色谱法
1949	马丁 (Martin, A.J.P.)	提出了保留性质与热力学平衡常数的关系
1951	克莱姆 (Cremer, E.)	发展了冲洗法的气固色谱法
1952	飞利浦 (Phillips, C.S.G.)	研究迎头法的液液色谱法
1952	捷姆斯和马丁 (James, A.T. & Martin, A.J.P.)	首先提出气液色谱法
1955	格莱克夫 (Glueckauf, E.)	首先提出关于 HETP 和颗粒大小、颗粒扩散和离子交换膜内的扩散之间关系的方程式
1956	范第姆特 (Van Deemter, J. J.等)	发展了速率理论
1965	吉丁斯 (Giddings, J. C.)	总结与发展了早期色谱理论,并对近代液相色谱动力学理论作出重要贡献

引自参考文献[10]。

三、分 类

色谱法是包括多种分离类型、检测方法和操作方式的分离分析技术，有多种分类方法。因而，有时一种色谱体系或类型常有几种不同的名称。其主要分类方法如下：

1. 按两相物理状态分类 色谱法具有两个相（“相”指体系中某一均匀部分），即固定相和流动相。流动相的物理状态可以是气体，也可以是液体；固定相的物理状态可以是固体，也可以是液体。这样，按两相的物理状态可把色谱法分为如下4类，表见2-2。

表 2-2 按两项物理状态色谱法的分类

流动相	固定相	名 称
气体	固体	气固色谱法(GSC)
气体	液体	气液色谱法(GLC)
液体	固体	液固色谱法(LSC)
液体	液体	液液色谱法(LLC)

2. 按固定相所处的“形态”分类

柱色谱法：把固定相填充在玻璃管或金属管内，固定相被柱管所包围的称为柱色谱法。柱色谱法又分为填充柱色谱法和开管(毛细管)柱色谱法，前者把固定相均匀填充在管内，后者，一般把固定相附着在管壁，管中心形成一个细径孔道。

纸色谱法：利用滤纸作为固定相，把试样液体滴在滤纸上，用溶剂展开，根据纸上有色斑点的位置与大小，对试样进行定性鉴定与定量测定。与柱色谱法相比，纸色谱法中的纸暴露在空气介质中，所以固定相处于“开放床”的形态。

薄层色谱法：它是将固定相涂布在玻璃板上或压成薄膜，然后用与纸色谱相类似的方法进行操作。

3. 按分离原理分类

吸附色谱法：固定相为吸附剂，试样是根据固定相对各组分吸附强弱的差异来进行分离时，则称之为吸附色谱法，如气固色谱法和液固色谱法属于此类。

分配色谱法：固定相是液体，试样是根据固定相对各组分溶解分配系数的差异来进行分离时，则称之为分配色谱法，如气液色谱法属于此类。

离子交换色谱法：若固定相是一种离子交换树脂，试样是根据固定相对各组分的离子交换能力的差异来进行分离时，则称之为离子交换色谱法。

凝胶色谱法：若固定相是一种分子筛或凝胶，其分离机理是按照固定相对各组分的分子体积大小的差异而进行分离时，则称之为凝胶色谱法。

四、现代色谱技术

Tswett 发明的经典液相色谱方法，由于分离速度慢、效率低，长时间未引起重视。虽

然 40 年代出现纸色谱[paper chromatography(PC)], 50 年代产生了薄层色谱[thin-layer chromatography(TLC)], 然而色谱学成为分析化学的重要分枝学科, 则是以气相色谱的产生、发展为标志。有关色谱理论和技术上的创新, 在色谱发展过程中形成了几次重大的飞跃。其中最重要的贡献是 Martin 和 Synge 1941 年的实验和理论上的成就。他们首先提出了色谱塔板理论, 这是在色谱柱操作参数基础上模拟蒸馏理论, 以理论塔板来表示分离效率, 定量地描述、评价色谱分离过程; 第二, 基于液-液逆流萃取原理, 发展了液-液分配色谱; 第三, 提出了色谱法进一步发展最有远见的预言: 其一是“流动相可用气体来代替, 对分离更有好处”; 其二是“使用非常细颗粒的填料和柱两端施加较大的压差, 应能得到最小的理论板高”。前者预见了气相色谱的产生, 1952 年 Martin 和 James 首次用气体作流动相, 以微量酸碱滴度作为检测手段, 发明了气相色谱[gas chromatography(GC)], 它给挥发性化合物的分离测定带来了划时代的变革。后者预见了高压液相色谱的产生, 在 60 年代末期为人们所实现。由于对现代色谱法的形成和发展所作的重大贡献, Martin 和 Synge 被授予 1952 年诺贝尔化学奖。

色谱学发展的另一个重要推动力是生产和技术上的需要。气相色谱法产生于生物化学领域, Martin 是一个生物学家, 而气相色谱的大发展却在石油化工领域。本世纪中期, 石油开发、炼制及石油化工的出现和发展, 迫切需要一种能分析多组分复杂混合物的手段, 以解决石油及石油产品复杂成分的分析。气相色谱出现以前, 对含有几十个到上百个成分的石油馏分进行全分析, 采用精密分馏配合光谱测定, 一个样品需几个月乃至一年以上, 耗时甚长。气相色谱能满足复杂混合物分析的需要, 迅速成为石油和石油化工的一种主要分析手段。石油化工的发展又推动了气相色谱, 以其它仪器分析方法不能比拟的速度向前发展。到 60 年代末, 色谱速率理论产生后, 使气相色谱理论、实验技术、仪器设备等各方面日趋完善和成熟。毛细管气相色谱的出现和发展, 色谱柱效达到 10^5 — 10^6 理论塔板数, 与高灵敏度的检测器相结合, 可以测定低于 10^{-14} g 级的痕量组分。60—70 年代, 气相色谱—质谱 (GC-MS)、气相色谱—傅里叶变换红外光谱 (GC-FTIR) 等联用技术的成功, 使色谱联用技术成为分离、鉴定、剖析复杂混合物最有效的工具。用 GC-MS 联用分析普通汽油中 240 个左右化合物, 其中 180 种得到鉴定。气相色谱应用范围已扩展到环境检测、医药卫生、农业食品、空间研究等领域。

但是气相色谱也有各方面的技术限制。气相色谱仪和固定相的工作温度只能到 350—500°C, 因此, 高沸点化合物无法用气相色谱分析。生命科学、生物工程技术的发展, 迫切需要解决高沸点、强极性、热不稳定、大分子复杂混合物的分离分析课题。这种需要推动人们重新致力于液相色谱研究, 气相色谱理论和技术上的成就为液相色谱的发展创造了条件。60 年代中期, 人们从气相色谱高速、高效、高灵敏度得到启发, 着手克服经典液相色谱法的缺点, 采用高压泵加快液体流动相的流动速率; 采用微粒固定相以提高柱效; 设计高灵敏度、死体积小检测器。到 1969 年, 在经典液相色谱基础上发展成高速、高效的现代液相色谱法(modern liquid chromatography), 一般称为高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)、高压液相色谱(high pressure liquid chromatography, HPLC)或高速液相色谱(high speed liquid chromatography, HSLC)。作为现代色谱技术, 推荐使用高效液相色谱(HPLC)这一名称。现在, 柱效超过 10 000 个理论塔板数的 15 cm 液相色谱柱已广泛用于常规分析。最近十余年发展的微型柱高效液相色谱减少了使用价格贵而

且污染环境的液体流动相，并且有可能探索新的检测方法。气相色谱使用的毛细管柱一般是200—300 μm 内径；液体色谱毛细管柱需用小得多的柱尺寸，小至5—10 μm ，而进样与检测器都要求 nL(纳升， 10^{-9} L)级体积。

从色谱学领域全局来看，50—60年代是以气相色谱为代表的大发展时期；70年代进入以高效液相色谱为代表的现代色谱时期。80年代以来，HPLC的应用范围，文献数量已超过GC。在较长时期内，色谱法主要应用在有机分析领域。1975年，离子色谱的出现和各种金属螯合物色谱的迅速发展，正在改变着现代色谱学的面貌。色谱法已相当广泛地用于无机阴、阳离子和金属元素的分离分析。与经典化学分析相比，它具有操作简单、快速、选择性好、灵敏度高的优点。近几年，离子色谱成为发展最快的一个色谱分枝，可以预期，色谱法将成为无机分析的重要分析方法之一。

70年代，计算机技术进入色谱领域，出现了计算机控制的全自动色谱仪，导致现代色谱技术的又一重要发展——智能色谱(chromatography with artificial intelligence)。1981年，Dupont公司生产的能自动选择最佳方法的液相色谱仪“探索者”(Sentinel)问世，并相继出现了各种智能色谱研究报告。所谓智能色谱是根据色谱基础研究，利用计算机技术，在先进的硬件、软件结合的基础上，解决色谱分析的主要技术关键，即最佳条件选择和色谱定性、定量问题，从而能自动设计色谱分析方法。智能色谱将是新一代色谱仪器。

第三章 薄层色谱法

薄层色谱法又称薄层层析法，是利用色谱原理在薄层板上对混合物中各组分进行分离、纯化和分析的方法，是把吸附剂或载体均匀地铺在玻璃板上形成厚度一致的薄层，在其下端点加试样溶液后，放入底部带有溶剂（展开剂或移动相）的层析缸中，展开剂在薄层板上移动至一定高度，使样本中各组分得到分离，通常是对难挥发的、并可溶于一定的溶剂中的样品组分进行分离，薄层色谱属于液相色谱，是从柱色谱和纸色谱发展而来的，兼有两者的特点，所用的固定相和常规柱色谱是相同的，但薄层用吸附剂要求粒度细，所以分离效率比柱色谱高；薄层色谱和纸色谱一样，属于不用色谱柱的“开放式”色谱，但分离速度更快，效率更高，所需的设备简单易得，用于定性分析和半定量分析。1938年伊马洛夫(N. A. Izmailov)等首先用氧化铝、氧化镁在薄层板上分离植物成分，1949年梅赫特(J. E. Meinhard)等首先添加淀粉作为粘合剂研制性能稳定的薄层，1954年柯奇纳(J. G. Kirchner)等以玻璃板作为支持体来制备薄层，并将薄层色谱用于农药残留分析，直到1957年德国斯塔尔(E. Stahl)改进了仪器设备，提出了吸附剂规格和操作方法后，较快地发展为目的的薄层色谱法，60年代开始用于农药产品分析。

薄层色谱法曾广泛用于农药残留分析，经薄层色谱将农药有效成分与各种杂质分离后，与标准样品斑点进行面积比或吸光度比以求得样品中农药的残留量；但在农药的工业品分析中，不使用薄层色谱法直接测定其含量，因为在薄层板上直接定量的方法如色阶比色法和薄层扫描仪对斑点原位定量法等所得的结果，误差比较大，又由于薄层均匀度和点样器的重复性较差。测定结果的精密性不能满足工业分析要求。在农药常量分析中只是作为分离的手段，将薄层色谱法与其它检测方法连用，利用薄层色谱将农药有效成分与杂质分离，再使用滴定法、极谱法、可见和紫外分光光度法等，可以获得满意的结果。而薄层-滴定法（或称薄层-化学法）不需要贵重仪器，在一般实验室均可进行，测定时不需要农药标样，而且还可用于农药标准品的定值。薄层色谱法设备简单、易得、所需费用少，步骤简单，快速，根据样品性质选择吸附剂、展开剂或不同展开剂组合等，可对许多类型的农药工业品或制剂进行分离。

薄层色谱法的特点是：① 展开时间短：一般只需十至几十分钟；② 分离能力强，谱带集中；③ 灵敏度高，样品量很少时，点样几-几十微克即可以进行定性；④ 显色方便；⑤ 仪器简单，操作方便。

一、原 理

按分离机制可以分为吸附、分配、离子交换及凝胶色谱法等，后两者在农药分析中极少应用，分配色谱法是利用农药中各组分在固定相和移动相中不同的溶解度（或分配系数）而形成不同的迁移率来进行分离的。正相薄层分配色谱法是以纤维素或经水、缓冲液、极性有机溶剂处理过的硅胶为固定相，使用极性较弱的溶剂为移动相，对于极性较小的组分有较大

的比移值；反相薄层分配色谱法是使用硅酮、石蜡等非极性溶剂处理过的硅胶或纤维素作固定相，其极性很小，使用极性较强的溶剂为移动相，因此极性强的组分有较大的比移值，分配色谱法在农药分析中亦用得不多。

在农药分析中主要使用吸附薄层色谱法，其原理是由于样本各组分的理化性质不同，它们在吸附剂（或固定相）上的吸附作用不同，在展开剂（或移动相）中的洗脱作用（溶解度）亦不同，各组分随展开剂由原点向预定的前沿移动时，在两相间反复进行吸附和解吸附，吸附强的成分难于被展开剂溶解下来，移动速度小，吸附弱的成分较易被展开剂解吸附，移动速度较大，移动速度的差别，使各成分分离，在连续不断的多次吸附和解吸附过程中，分离效率是比较高的，各成分经展开后在薄层板上迁移距离的数值，可用比移值（ R_f 值）来表示，即试样移动的速度与展开剂移动速度之比。

$$\text{比移值 } (R_f \text{ 值}) = \frac{\text{农药谱带中心至原点的距离(cm)}}{\text{展开剂前沿至原点的距离(cm)}}$$

原点即在薄层板上点加样本的位置，一般在玻板下端约 2 cm 处。展开剂前沿是指展开剂移动的终止位置；同一农药在相同展开剂、吸附剂及相同环境条件下的比移值是不变的，可以作为农药定性的依据。影响分离效率的因素主要有以下 4 点：

(1) 展开剂的选择和移动速度：展开剂在一特定吸附剂上移动的速度与其极性和粘度有关，因此选择合适的溶剂或混合溶剂作展开剂达到适宜的展开速度是很重要的；

(2) 吸附剂的颗粒大小：吸附剂颗粒小，分离效率高；但颗粒小，展开速度慢，延长展开时间会增加分子横向扩散或拖尾现象，影响分离效率；为了获得较好的分离，吸附剂颗粒大小与展开的长度要协调好；如颗粒大展开剂推动过速而影响分离效果，则展开距离要延长，市售预制板颗粒直径为 10—15 μm ，预制的高效薄层板的直径为 5—7 μm ，自制板所用的吸附剂为 30 μm 或更大一些。

(3) 合适的展开距离，吸附剂颗粒在 30 μm 时，展开距离以 10—15 cm 为最适宜。

(4) 点样时应使用样本浓缩液，样点的直径尽可能小，如点样成条状，则其宽度应窄，即一边点样一边用吹风机吹干，可提高分离效率。点样距板端 2 cm，板的点样一端没在展开剂中 1 cm。

薄层色谱法根据铺板方式可分为干式法和湿式法两种，干式法制板容易，展开时间短，色谱带易取下，试样负载量大，用于样本纯化，但因吸附剂固着性差，涂层易剥落，其分离能力与重复性均不如湿式法，已不常用。在农药分析中主要使用湿式法铺板。

前已述及薄层吸附色谱法主要是利用农药各组分在吸附剂和展开剂中的可逆平衡以及吸附剂对不同物质吸附力的差异，因此吸附剂和展开剂的选择是吸附色谱成败的关键。

二、吸 附 剂

对吸附剂的基本要求是：① 表面积大的、内部是多孔颗粒状的固体物。② 具有较大的吸附表面和一定的吸附能力，吸附后又很容易用溶剂把样品成分从表面解吸附下来，即具有可逆的吸附性，使样品各组分达到预期的分离。③ 与展开剂和样品中各组分不起化学反应，在展开剂中不溶解。④ 吸附剂的细度要求在约 30—70 μm 之间（200—300 目）。

吸附剂的种类很多，如淀粉、菊根粉、滑石、碳酸钙、碳酸镁、硅胶、氧化铝、活性炭、

纤维素和聚酰胺等，但常用的吸附剂主要是硅胶和氧化铝。

(一) 硅 胶

硅胶是由硅酸钠溶液中加入盐酸而得的溶胶沉淀，经部分脱水而形成无定形多孔固体，具有微酸性，吸附能力较氧化铝稍弱，但它的线性负载量大，能分离的物质类别很多，几乎所有农药都可用它来分离，不适于分离强碱性物质。硅胶以 $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 表示，具有多孔性的硅氧交链结构，其骨架表面有很多硅醇基 (I) ($\equiv\text{Si}-\text{OH}$)，能吸附多量水分，此种表面吸附水称为“自由水”，当加热到 120°C 左右，能可逆地被除去，吸附剂具有各种不同的吸附力，这种性质称为活性度，硅胶的活性度与含水量有关，含水量高则吸附力减弱，活性降低 (表 3-1)；当“自由水”含量高达 17% 以上时，吸附能力极低，但可作为分配色谱法的载体。在一定温度下加热除去“自由水”，可以使硅胶的活性提高，而加强吸附力，称为活化。交链结构内部有的水称为“结构水”，于高温加热，将不可逆地失去“结构水”，由硅醇结构 (I) 变为硅氧环结构 (II)。由于硅胶的吸附力主要与硅醇基数量有关，加热温度过高，吸附能力反而降低；硅胶常以下列二种形式存在：



表 3-1 硅胶、氧化铝的含水量与活性关系

活性级别	硅胶含水量 (%)	氧化铝含水量 (%)
I	0	0
II	5	3
III	15	6
IV	25	10
V	38	15

用于薄层色谱的硅胶制剂有以下几种类型：

硅胶 H——为不加粘合剂的纯硅胶；

硅胶 HF——加有荧光指示剂的硅胶 H；

硅胶 G——硅胶 H 中混有 13% 左右的石膏粘合剂 ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$)；

硅胶 GF——加有荧光指示剂的硅胶 G

(二) 氧 化 铝

氧化铝有酸性、中性和碱性，在薄层色谱中选用中性氧化铝，色谱用氧化铝按含水量多少分为 5 级，如表 3-1。含水量多，活性级别大，吸附性能小，在一定温度下加热除去水分可以使氧化铝的活性提高而加强吸附力，如在 400°C 马福炉内，加热 6 h，可得活性在 I 级的氧化铝，使用时加入一定量的水分，可使活性降低，称为脱活。氧化铝常用于中性和碱性农药的分离，其作用机理尚不清，有人认为其表面吸附了水形成铝羟基，亦是以氢键作用吸附

其它化合物,但当氧化铝高温加热至 800°C,表面羟基已不存在,吸附活性反而增加,所以推测它可能是通过 Al—O 键而起吸附作用的。常用的氧化铝制剂与硅胶相似,有氧化铝 H、氧化铝 HF、氧化铝 G 和氧化铝 GF 等。

(三) 吸附剂的细度

吸附剂颗粒大小对层析速度、分离效果及 R_f 值有明显的影响,颗粒太大,表面积小,吸附量降低,展开速度过快而分离效果不好,颗粒太小则层析速度过慢,易出现拖尾或横向扩散等现象,吸附剂的细度在 30—50 μm 较好。

三、展开剂的选配

在选择展开剂时,应从被测物质的性质,吸附剂的活性和溶剂的极性三方面考虑。

(一) 被测物质的结构与性质

在吸附剂表面上所吸附的分子数量的多少,决定于吸附剂表面分子和被吸附物质分子之间亲和力的大小,这种亲和力的差异与被吸附物质的化学结构有关,吸附色谱所选用的吸附剂如硅胶和氧化铝都是极性吸附剂,与有机分子(如农药)之间的亲和力主要是静电力、诱导力和氢键作用力。在硅胶或氧化铝的极性表面与极性化合物分子间存在静电力;与非极性化合物分子相互作用,使非极性分子产生诱导偶极,因为分子互相吸引,这种作用力是诱导力;此外吸附剂表面羟基可以与化合物形成氢键,由此可见,极性大的化合物可以很容易被吸附剂吸附,需要极性溶剂才能使之解吸附而向前推动;如化合物是弱极性的,则不易被吸附剂吸附;被测物质的结构不同,其极性亦不同,化合物中各种官能团的极性由小到大的次序为:

烷烃 ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$) < 烯烃 ($-\text{CH}=\text{CH}-$) < 醚类 ($-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2-$) < 硝基化合物 ($-\text{NO}_2$) < 二甲胺 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ < 酯类 ($-\text{COOR}$) < 酮类 (>C=O) < 醛类 ($-\text{CHO}$) <

硫醇 ($-\text{SH}$) < 胺类 ($-\text{NH}_2$) < 酰胺 ($-\text{NHC}-\overset{\text{O}}{\text{CH}_3}$) < 醇类 ($-\text{OH}$) < 酚类 ($\text{Ar}-\text{OH}$) < 羧酸类 ($-\text{COOH}$)。化合物中双键或共轭双键多,则吸附力增大。

(二) 吸附剂的性能

分离弱极性的化合物,因不易被吸附剂吸附,须选用含水量少、活性大的吸附剂,反之,分离极性强的物质,须选用含水量多、活性小的吸附剂。吸附剂的活性 I 级 > II 级 > III 级 > IV 级 > V 级,如表 3-1 所示。

(三) 展开剂的选择

在一般情况下,农药的极性是固定的,吸附剂硅胶或氧化铝亦是固定的,但可以改变其活性,要想使待分离物质在薄层板上得到合适的比移值,主要是通过选择合适的展开剂,展开剂的解吸附能力(或洗脱能力)主要是由它的极性决定的,极性大的溶剂,溶出能力强,

在薄层板上能把农药推进得远些, R_f 值亦大; 如使用一种展开剂, R_f 值太小时, 可换用极性较大的溶剂或在原来的展开剂中加入一定量另一种极性较大的溶剂去展开, 即用单一溶剂展开洗脱效果不好时, 可加入一定量极性溶剂。在选择展开剂试验时, 最好利用小型薄层板, 可以节省试剂和溶剂。

各种溶剂的极性次序如下: 石油醚、己烷 < 环己烷 < 苯 < 甲苯 < 氯仿 < 乙醚 < 乙酸乙酯 < 丙酮 < 乙醇 < 甲醇 < 甲酰胺 < 水 < 乙酸。展开剂的正确选择是使农药有效成分与杂质分离的关键, 前已述及, 可以使用单一溶剂, 也可用两种或两种以上溶剂。如果分离非极性或中等极性的农药, 首先选用与它极性相当的溶剂, 如正己烷、苯等, 使农药能随展开剂向上移动或可选一个极性较强的溶剂如丙酮、甲醇等来调节; 如分离极性农药, 则以极性溶剂为底液, 用弱极性溶剂来调节其极性, 有时要根据农药所含的杂质来选择展开剂。如采用薄层溴化法测定氧乐果含量时, 以硅胶G制板, 使用苯:丙酮(2:3)作展开剂, 分离效果不理想, 靠近氧乐果的两个杂质未能分开; 改用氯仿:冰醋酸(8:2)作为展开剂时, 可将各种杂质分开, 见图 3-1。

在薄层色谱中, 农药样品、吸附剂和展开剂构成了色谱系统, 展开剂和试样都具有不同的极性, 三者的关系可按图 3-2 来确定。设图中的黑三角是可以旋转的, 当一角对准农药样品时, 其它两角分别指出应该选用的吸附剂活性级别和展开剂极性, 如分离极性弱的试样时, 必须选用含水量低吸附力强的即活性级别I-II的吸附剂和选用弱极性展开剂; 相反,

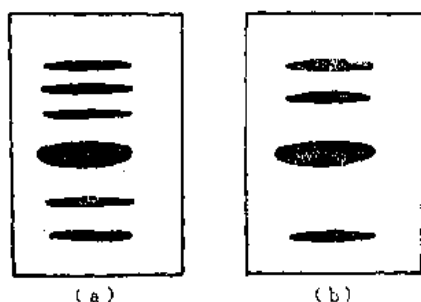


图 3-1 氧乐果在硅胶G板上的展开图
展开剂(a) 氯仿:冰醋酸(8:2); (b) 苯:丙酮(2:3)

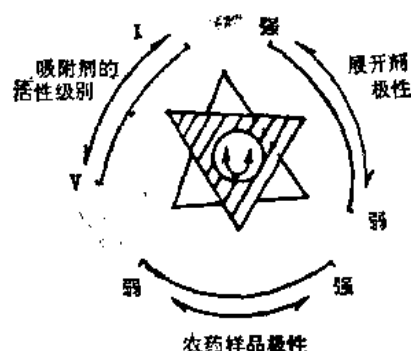


图 3-2 农药样品、吸附剂和展开剂三者关系图

分离极性强的试样, 则可用吸附力低的吸附剂和强极性溶剂。所以要将农药样本与杂质分离, 必须选择合适的吸附剂和展开剂。

在农药分析中, 薄层色谱仅仅是分离手段, 要求展开剂不能对以后的测定方法产生干扰。如使用薄层-银量法测定农药中所含的氯时, 应尽量避免使用三氯甲烷、二氯甲烷等溶剂。

四、薄层板的制备

将吸附剂均匀地铺在玻板上成为厚度一致的薄层, 薄层质量的优劣是分离测定成败的关键。玻板厚度为 2—3 mm, 可选用表面光滑平整的窗玻璃, 其规格根据需要而定, 如 20×15 (20)cm, 10×15 (20)cm, 7.5×15 (20)cm, 5×15 (20)cm 均可使用。吸附剂匀浆的调制, 加液

表 3-2 吸附剂的调制及薄层活化条件

吸附剂	调浆剂	吸附剂与溶剂之比	活化温度和时间
硅胶 G	蒸馏水	1:2	110—130°C 活化, 1 h
氧化铝 G	蒸馏水	1:1—3	80—100°C 活化 30 min

量和活化条件如表 3-2。以涂硅胶板为例, 称取 10—15 g 硅胶 G, 放入小烧板内, 加 20—30 ml 水, 迅速搅拌, 稠度以倾倒在板上能缓缓自由流动为宜, 涂在 15—20 cm 薄板上, 其厚度约在 0.5—0.8 mm, 可在薄板上负载 10—40 mg 农药, 对有些农药还可加大点样量。

一般用涂铺法或倾倒法制板, 使用涂铺法时, 需用涂铺器, 如图 3-3 所示的斯塔尔 (Stahl) 薄层涂铺器, 是具有盛糊状吸附剂的槽, 槽的一边有能调节薄层厚度的装置。首先把涂铺台放置在固定的水平实验室上, 将 20×20 cm 的玻璃板 4—5 块 (或 5×20 cm 玻板 16 或 20 块) 排列在涂铺台上, 前后各铺一块 5×20 cm 的辅助玻璃板, 如图 3-4 所示。

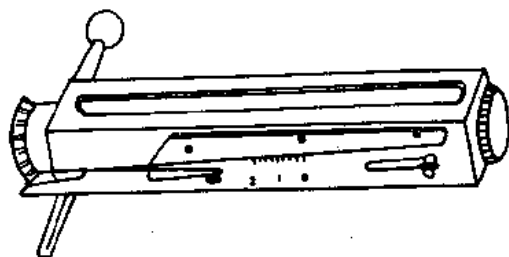


图 3-3 斯塔尔涂铺器

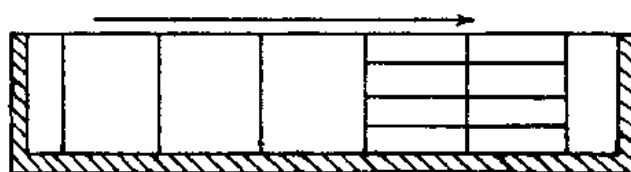


图 3-4 涂铺台

将已加水调配好的吸附剂倒入斯塔尔涂铺器内, 从图 3-4 的左端, 按箭头所示方向, 在玻璃板上均速移动, 便制得薄层板, 薄层表面应光滑均匀, 没有凹凸现象, 斯塔尔涂铺器是金属结构, 可以调节薄层的厚度, 图 3-5 为涂铺器的剖面图。图(a)槽口向上; 可装入吸附剂; 将柄转动 180°, 如图(b)所示; 将涂铺器按箭头所示方向移动而铺板, 见图(c)。亦可自制涂铺器如图 3-6 所示, 即用有机玻璃制成四面体, 底部三面是平的, 一面留有空隙, 空隙的

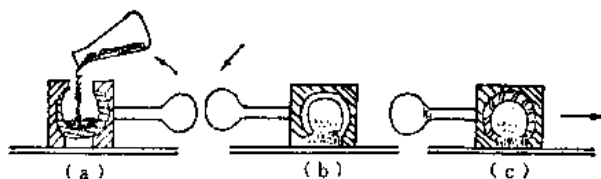


图 3-5 涂铺器剖面图

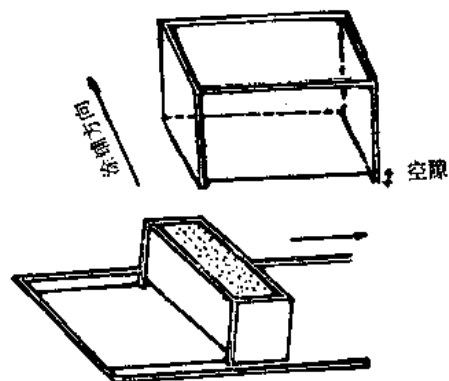


图 3-6 自制涂铺器

高度即为薄层的厚度，把几块玻璃板平放，涂铺器置于玻板上，倒入吸附剂后，立即迅速推

动涂铺器，即可得一系列均匀的薄层。如无涂铺器，可采用倾倒法，即把吸附剂糊状物直接倒在玻板上，轻轻摇动敲打，使糊状物均匀分布在玻板上。

涂好的薄板自然风干后要进行活化处理，即在一定温度下，适当去除薄层上所吸着的水分，以提高其对样品组分的吸附，含水量为零、活性度1级时，吸附力最强。 R_f 值偏低，分离效果差，当硅胶含水量大于17%、氧化铝含水量大于6%时，吸附作用弱，分离效果亦不好，硅胶板在105—120℃活化（烘）1 h，含水量在5%—15%，氧化铝在80—100℃活化0.5 h，含水量为3%—6%时，分别达到

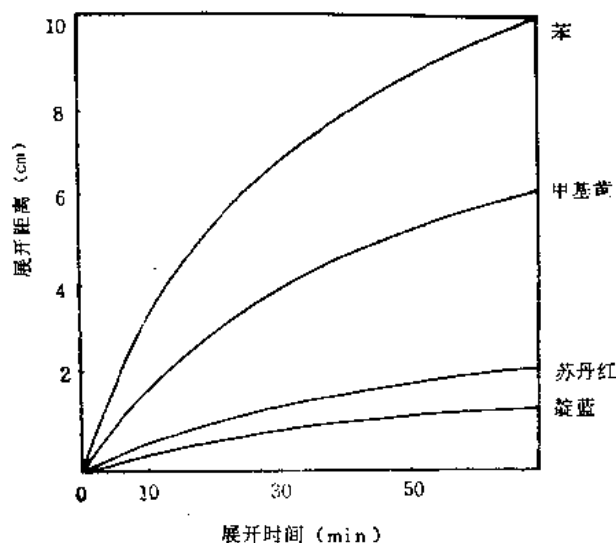


图 3-7 标准染料在硅胶板上的分离

2—3级活性度时，为最常用的测定条件，经活化的板放在干燥器中存放备用。

根据斯塔尔提出的方法，可以鉴定薄层的活性度，以三种偶氮染料作为标准物质：①甲基黄（对甲胺基偶氮苯）；②苏丹红G（二羟代偶氮苯）；③靛蓝。三种染料的混合物用苯展开约10 min，即应有适当的分离。它们的 R_f 值如图3-7。这时的活性度相当于2—3级，展开的速度约为30—45 min。通常定性分析时板厚度为250 μm ，定量分析时为500 μm ，制备板800—1000 μm （0.8—1 mm）。

五、点样与展开

在农药工业品及其制剂分析中，要求有效成分的点样量在20—40 mg，一般用微量注射

器或校正过的移液管将0.1—1 ml的样本溶液成带状点在薄层板上，点样点距薄层板底端2 cm，两端各留出1—1.5 cm。点样应尽量细直，最后用溶剂1—2滴冲洗移液管或注射器尖端，冲洗液也点在线上。

点样后待溶剂挥发，将薄层板放入展开缸中展开，最常用的是21×21×6 cm的带盖长方形层析缸，展开前先将展开剂放入缸内，缸内三面衬有滤纸，使缸内空间被展开剂饱和，将薄板点样的一端浸入展开剂中，待展开剂前沿上升到10—16 cm时即可。将薄板取出后晾干。如果样品与杂质分离不好，可用超板长展开法，即在溶剂前沿上升到顶端后再展开一段

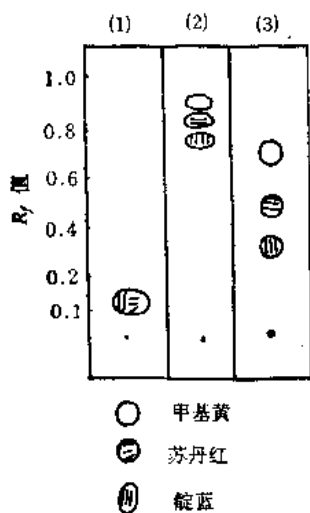


图 3-8 展开条件不同的分离效果

时间。

在展开操作中最大的问题之一，是薄层板上的溶剂蒸发问题，研究展开条件与 R_f 值的关系，得出以下不同的结果。将三种染料混合物点在硅胶薄层板距底端 1 cm 的原点上，用二氯甲烷作为展开剂，展开距离为 10 cm，采用上行展开法，按以下三种条件展开：① 第一块板放入盛有 0.5 cm 二氯甲烷的层析缸中展开，展开时没有用缸盖。② 第二块板放入到内有二氯甲烷的玻璃制的层析缸中，加盖密闭展开，但层析中没有使用被溶剂饱和的滤纸。③ 层析缸内壁衬上滤纸。先用展开剂蒸气饱和后再放入第三块薄层板，加盖展开，展开后的色谱图如图 3-8 所示，试样的移动速率，最初是依据溶剂的渗透速度，如图 3-8(1) 由于层析缸没有加盖，二氯甲烷蒸发很快，溶剂渗透的距离没有超过 1 cm，三种染料移动仅至该展开剂的前沿上(1 cm)；在(2)图上，展开 10 cm 需要 60 min，因为层析缸内未用被溶剂饱和的滤纸，三种染料虽然分离，但 R_f 值都偏高。并且呈横向椭圆形，分离差；在(3)图上展开速度最快，三种染料的移动率亦不同，分离很好，斑点呈竖向椭圆形。

六、检 出

分离无色物质的混合试样时，展开后需要对待测成分确认和检出，试样展开后的图称为色谱图。试样的种类不同，检出的方法亦不同，以薄层色谱分离农药，可以使用以下几种方法显出谱带或斑点。

(一) 荧光硅胶板在紫外灯下显色

最常用的是以硅胶 GF_{254} 或硅胶 GF_{305} 制成薄板，展开后去掉溶剂，将薄板放在紫外灯下照射，在紫外光区有吸收的农药可在白色背景上形成暗紫色谱带。具有芳香环、杂环及其共轭双键结构的组分可以用荧光硅胶板方法显色，大多数农药都可用此法。

(二) 碘

将固体碘放在层析缸或干燥器底部，使碘蒸气挥发，将薄层板放入碘蒸气中，有的农药几秒钟或数分钟即显出黄色谱带，多数农药可以使用此法，从板上刮下农药组分前应将碘挥发尽。

(三) 氯化钼

取 0.1 g 氯化钼，溶解于 5 ml 0.1 mol/L 硫酸中，加水 100 ml，放置后，直接喷洒于薄层板即可；含硫的农药都可用此法检出；谱带显黄棕色。

(四) 硝酸银-氢氧化铵

取 10 ml 1 mol/L 硝酸银溶液，加入 5 ml 氨水，用丙酮稀释至 200 ml，直接向展开后的薄层板喷洒，喷后在紫外灯下或日光下照射 5 min，含氯、溴的农药可显棕黑色谱带，前已述及使用此显色剂会干扰银量法测卤素。

七、定性分析

以化合物的 R_f 值作为定性的依据, 如在制备有机磷杀虫剂时, 往往会有各种 硫磷酸酯 杂质, 它们或降低药效、增加毒性或造成药害, 正确判断和分离这些杂质是很重要的, 同时区分 硫赶式 和 硫逐式 硫磷酸酯 异构体亦是分析中的一大难题, 可以利用薄层色谱法分离各种 异构体。用氧化铝 G 或用含 6% H_2O 的硅胶 G 制板, 以 己烷-丙酮 10:1 和 4:1 (V/V) 为展开剂, 上行展开 14 cm, 用 0.5% 氯化钼显色, 各种 硫磷酸酯 的 R_f 值列于表 3-3 由表中可见, 在含 6% 水的硅胶 G 板上, 以 己烷:丙酮=4:1 展开, 二硫代磷酸酯和硫逐式硫代磷酸酯的 R_f 值大, 前者为 ≥ 0.65 , 后者 ≥ 0.46 , 而硫赶式硫代磷酸酯的 R_f 值为 0.07—0.4 范围, 利用这一规律可分离和鉴定样本中硫代磷酸酯的各种异构体和杂质。

表 3-3 有机硫磷化合物的 R_f 值

结 构 式	Al ₂ O ₃		含 6% H ₂ O 的硅胶 G	
	己烷:丙酮 10:1	己烷:丙酮 4:1	己烷:丙酮 10:1	己烷:丙酮 4:1
(CH ₃ O) ₃ PS	0.51	0.58	0.54	0.64
(C ₂ H ₅ O) ₃ PS	0.65	0.74	0.72	0.80
(CH ₃ CH ₂ O) ₃ P(S)(OC ₂ H ₅ Cl)	0.51	0.65	0.63	0.70
(CH ₃) ₂ P(S)(OCH ₃)	0.24	0.44	0.25	0.46
(C ₂ H ₅) ₂ P(S)(OCH ₃)	0.45	0.60	0.52	0.67
(C ₂ H ₅) ₂ P(S)(OC ₂ H ₅)	0.58	0.70	0.64	0.71
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(S)(OCH ₃)	0.52	0.54	0.54	0.68
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(O)(SC ₂ H ₅)	0.12	0.33	0.08	0.38
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(O)(SC ₂ H ₅)	0.18	0.36	0.16	0.34
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(O)(SC ₂ H ₅ Cl)	0.14	0.35	0.10	0.40
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(O)(SCH ₂ OCH ₃)	0.04	0.32	0.07	0.23
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(O)(SCH ₂ C ₂ H ₅)	0.06	0.36	0.10	0.27
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(O)(SC ₂ H ₅ SC ₂ H ₅)	0.14	0.40	0.08	0.33
(CH ₃) ₂ P(O)(SC ₂ H ₅)(OC ₂ H ₅)	0.07	0.24	0.05	0.19
(C ₂ H ₅) ₂ P(O)(SCH ₃)	0	0.16	0	0.07
(C ₂ H ₅) ₂ P(O)(SC ₂ H ₅)	0	0.13	0	0.11
(C ₂ H ₅) ₂ P(O)(SC ₂ H ₅)	0	0.27	0.04	0.25
(C ₂ H ₅) ₂ P(O)(SCH ₂ C ₂ H ₅)	0	0.20	0	0.16
(C ₂ H ₅) ₂ P(O)SCH(C ₂ H ₅) ₂	0	0.20	0	0.16
(CH ₃ O) ₂ P(S)(SC ₂ H ₅)	0.58	0.62	0.60	0.65
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(S)(SC ₂ H ₅)	0.68	0.77	0.76	0.83
(C ₂ H ₅ O) ₂ P(S)-O-P(OC ₂ H ₅) ₂	0	0.19	0.04	0.16
(C ₂ H ₅) ₂ P(S)-O-P(S)(C ₂ H ₅) ₂	0.21	0.38	—	0.40
(C ₂ H ₅) ₂ P(S)N(C ₂ H ₅) ₂	0.74	0.80	0.77	0.84

引自参考文献[8]。

如工业硫赶式硫磷甲酯 $\left(\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{O} \\ \text{CH}_3\text{O} \end{array} \right) \text{P}(=\text{O})\text{S}-\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ 与一甲胺反应, 生成氧乐果, 而硫

逐式硫磷甲酯 $\left(\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{O} \\ \text{CH}_3\text{O} \end{array} \right) \text{P}(=\text{S})\text{O}-\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ 与一甲胺反应的生成物, 杀虫效果很差, 工

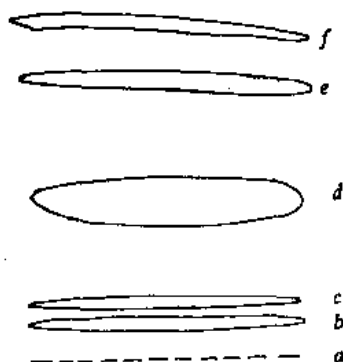


图 3-9 硫磷甲酯的色谱图

(a)——点样线, $R_f=0$; (b)—— $R_f=0.05$;
(c)—— $R_f=0.08$; (d)—— $R_f=0.26$;
(e)—— $R_f=0.65$; (f)—— $R_f=0.73$

业品硫磷甲酯中还有其它杂质, 正确地测出硫磷甲酯的质量, 对氧乐果的合成是非常重要的。使用硅胶G薄层板, 以氯仿:丙酮:醋酸=95:5:2为展开剂, 展开12 cm, 可将硫赶式硫磷甲酯与其它杂质分离。喷布0.5%氯化钼显色剂, 于波长254 nm的紫外光下照射约20 min, 显出5条黄色谱带。如图3-9所示。根据表3-3的规律,

(b)(c)(d)三个化合物的分子结构为 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}-\text{S}- \end{array}$, 而

(e)(f)的分子结构应为 $\begin{array}{c} \text{S} \\ \parallel \\ \text{P}-\text{O}- \end{array}$ 型, 而(d)为硫赶式硫磷甲酯的谱带。

八、定 量 分 析

薄层色谱的定量方法有两种, 即直接测定法和溶出定量法。直接测定法是在展开后的薄层上进行定量测定, 方法简便快速, 无须破坏薄层, 溶出定量法是待测物在薄层上定位或显色后, 用工具将色斑处的薄层取下, 用溶剂将组分萃取出来, 再用适当的方法测定, 在萃取回收时, 可能会不完全, 亦可能有杂质同时被萃取, 所以要采用特异性的显色剂。

(一) 直接测定法

直接测定法有目测法、测面积法、薄层扫描仪法, 由于测定的准确度稍差, 在农药常量分析中不使用此法。

(二) 溶出定量法

溶出定量法中谱带的定位或显色是重要一步, 显色剂必须不干扰样品的测定, 如无合适显色剂, 可采用标准样品定位法, 在薄板的两端点上标准样品, 展开后, 用玻板或硬纸将有样品的薄层盖住, 显色剂喷在标准样品上, 根据标准样品色斑的位置, 取样品相应部位的薄层, 由于并未显色, 所取部位的面积需稍扩大一些, 以防漏取, 经萃取后, 弃去吸附剂。

根据农药的结构和性质, 可以采用各种方法定量, 如滴定法、极谱法、可见紫外分光光度法等测定其含量, 将在以下各章中讨论, 如使用紫外分光光度法测定时, 不能用对紫外光有强吸收的溶剂。

表 3-4 薄层色谱法测定各类农药的条件与方法

农 药	展 开 剂	吸附剂	R _f	显色法	测 定 方 法
敌百虫	乙酸乙酯+石油醚(8+8+1)	硅胶 G	0.3	用碘蒸气显色	① 电位滴定法测氯, ② 极谱法
敌敌畏	石油醚+乙酸乙酯(3+1)	硅胶 G	0.5	喷 0.02% 高锰酸钾溶液显色	电位滴定法测氯
久效磷	丙酮+正己烷+氯仿(11+11+5)	硅胶 GF ₂₅₄	0.4	紫外灯照射显色	① 紫外分光光度法; ② 碘量法
对硫磷 甲基对硫磷	正己烷+乙酸乙酯(10+1)	硅胶 G	0.4	喷氯化钡显色	① 紫外分光光度法; ② 极谱法; ③ 比色法; ④ 直接碘化法; ⑤ 间接碘化法
杀螟硫磷	石油醚+乙酸乙酯(8+2)	硅胶 GF ₂₅₄		紫外灯照射显色	① 紫外分光光度法; ② 比色法; ③ 溴化法
二嗪磷	石油醚+乙酸乙酯(8+2)	硅胶 G 或 硅胶 GF ₂₅₄	0.6	喷氯化钡显色或紫外灯照射	① 紫外分光光度法; ② 溴化法; ③ 非水滴定法
倍硫磷	石油醚+乙酸乙酯(10+1)	硅胶 G	0.45	喷氯化钡显色	① 紫外分光光度法; ② 比色法; ③ 溴化法
辛硫磷	石油醚+乙醚(10+0.5)	硅胶 G	0.3	喷氯化钡显色	① 紫外分光光度法; ② 溴化法
甲基早柳磷 水胺硫磷	二次展开 第一次为: 石油醚+氯仿(1+1) 第二次为: 石油醚+乙酸乙酯(10+1)	硅胶 G	0.4	喷氯化钡显色	溴化法
噻硫磷	石油醚+丙酮(5:1)	硅胶 G ₁₀₀	0.7	紫外灯照射显色	① 紫外分光光度法; ② 溴化法
甲拌磷	苯+丙酮(10+1)	硅胶 G	0.6	喷氯化钡显色	溴化法
乐 果	苯+丙酮(7+3)	硅胶 G	0.4	喷氯化钡显色	溴化法
氧乐果	氯仿+正己烷+冰乙酸(5+3+1)	硅胶 G	0.35	喷氯化钡显色	溴化法
马拉硫磷	石油醚+乙酸乙酯(8+2)	硅胶 GF ₂₅₄	0.3	紫外灯照射显色	① 比色法; ② 溴化法
甲胺磷	乙酸乙酯+丙酮+水(8+4+1)	硅胶 G	0.75	灯光下照射显色	① 碘量法; ② 溴化法
乙酰甲胺磷	乙酸乙酯+丙酮+水(5+5+2)	硅胶 G	0.63	氯化钡显色	溴化法
速灭威	石油醚+乙酸乙酯+乙醇(80+20+2)	硅胶 G	0.5	碘蒸气显色	① 定酸法; ② 溴化法; ③ 比色法; ④ 紫外分光光度法
氯酯 基杀 甲虫 酸剂	石油醚+乙酸乙酯+乙醇(80+20+2)	硅胶 G	0.6	碘蒸气显色	① 定酸法; ② 比色法; ③ 紫外分光光度法

表 3-4(续 1)

农 药	展 开 剂	吸 附 剂	R _r	显 色 法	测 定 方 法
氨基甲酸酯杀虫剂	仲丁威	苯+丙酮(9+1)	硅胶 G	0.6	碘蒸气显色 ①定胺法; ②比色法; ③紫外分光光度法
	涕灭威	石油醚+乙酸乙酯+乙醇(80+20+2)	硅胶 G	0.3	碘蒸气显色 定胺法
	克百威	苯+丙酮(9+1)	硅胶 G	0.5	紫外灯照射显色 ①定胺法; ②比色法; ③紫外分光光度法
	甲萘威	石油醚+乙酸乙酯+乙醇(80+20+2)	硅胶 G	0.5	紫外灯照射显色 ①定胺法; ②比色法; ③紫外分光光度法; ④溴化法
	抗蚜威	苯+丙酮(9+1)	硅胶 GF ₂₅₄	0.45	紫外灯照射显色 ①非水滴定法; ②紫外分光光度法
	六六六	正己烷(或石油醚)	硅胶 GF ₂₅₄	0.2(丙体)	日光或紫外灯照射显色 ①电位滴定法测氮; ②极谱法
有机氯杀虫剂	DDT	正己烷(或石油醚)	硅胶 GF ₂₅₄	0.4 p,p'-DDT 0.5 (o,p'-DDT)	紫外灯照射显色 电位滴定法测氯
	拟除虫菊酯类	石油醚+丙酮(9+1)	硅胶 GF ₂₅₄	0.6	紫外灯照射显色 电位滴定法测氯
拟除虫菊酯类	溴氰菊酯	石油醚+丙酮(9+1)	硅胶 GF ₂₅₄	0.4	紫外灯照射显色 ①紫外分光光度法; ②电位滴定法测溴
	氯氰菊酯	石油醚+丙酮(9+1)	硅胶 GF ₂₅₄	0.4	紫外灯照射显色 ①紫外分光光度法; ②电位滴定法测氯
	氰戊菊酯	石油醚+丙酮(9+1)	硅胶 GF ₂₅₄	0.6	紫外灯照射显色 ①紫外分光光度法; ②电位滴定法测氯
	杀虫双	甲醇+乙酸乙酯(7+3)	硅胶 GF ₂₅₄	0.8	紫外灯照射显色 溴化法
其它杀虫剂	虫隆烷	乙醚+甲醇(95+5)	硅胶 GF ₂₅₄	0.4	紫外灯照射显色 ①非水滴定法; ②紫外薄层法
	杀虫眯	正己烷+乙酸乙酯+甲醇+氨水(12+6+2+0.1)	硅胶 GF ₂₅₄	0.8	紫外灯照射显色 电位滴定, ①定氮法; ②中和法
	三氯杀螨醇	石油醚+丙酮(100+4)	硅胶 GF ₂₅₄	0.3	紫外灯照射显色 电位滴定法测氯
	三氯杀螨酮	石油醚+乙醚(8+2)	硅胶 GF ₂₅₄	0.65	紫外灯照射显色 电位滴定法测氯
	多菌灵	苯+丙酮+冰乙酸(70+30+5)	硅胶 GF ₂₅₄	0.7	紫外灯照射显色 ①非水滴定法; ②紫外分光光度法; ③比色法
杀菌剂	甲基硫菌灵	苯+乙酸乙酯(7+3)	硅胶 G	0.5	氯化钡显色 ①溴化法; ②紫外分光光度法

表 3-4(续 2)

农药	展 开 剂	吸附剂	R _f	显色法	测 定 方 法
杀 菌 剂	三唑酮 苯+丙酮(9+1)	硅胶GF ₂₅₄	0.4	紫外灯照射显色	①非水滴定法; ②紫外分光光度法
	三环唑 乙酸乙酯+甲醇(9+1)	硅胶GF ₂₅₄	0.5	紫外灯照射显色	①非水滴定法; ②紫外分光光度法
	五氯硝基苯 石油醚+苯(10+0.5)	硅胶GF ₂₅₄	0.7	紫外灯照射显色	①银量法定氮; ②紫外分光光度法
	百菌清 石油醚+苯+乙酸乙酯(12+6+2)	硅胶GF ₂₅₄	0.7	紫外灯照射显色	①银量法定氮; ②紫外分光光度法
剂	福美双 苯+乙醚(10+0.5)	硅胶G	0.4	氯化钡显色	①溴化法; ②紫外分光光度法
	稻瘟净 正己烷+乙酸乙酯(9+1)	硅胶G	0.5	氯化钡显色	高锰酸钾氧化法
	克菌丹 苯+丙酮(8.5+1.5)	硅胶GF ₂₅₄	0.7	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	甲霜安 石油醚+乙酸乙酯+甲醇(6+3+1)	硅胶GF ₂₅₄	0.6	紫外灯照射显色	重量法
除 草 剂	2,4-D 乙酸乙酯+异丙醇+氨水(9+7+4)	硅胶GF ₂₅₄	0.6	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	2,4-D丁酯 石油醚+乙酸乙酯(9+1)	硅胶GF ₂₅₄	0.6	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	甲草胺 石油醚+乙酸乙酯(100+15)	硅胶GF ₂₅₄	0.4	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	丁草胺 石油醚+乙酸乙酯(100+15)	硅胶GF ₂₅₄	0.5	紫外灯照射显色	①电位滴定法测氯; ②紫外分光光度法
除 草 剂	敌 稗 苯+乙酸乙酯(5+1)	硅胶GF ₂₅₄	0.5	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	敌草隆 苯+丙酮(7+3)	硅胶GF ₂₅₄	0.3	紫外灯照射显色	①电位滴定法测氯; ②紫外分光光度法
	绿麦隆 苯+丙酮(8+2)	硅胶GF ₂₅₄	0.6	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	野麦畏 石油醚	硅胶GF ₂₅₄	0.4	用高锰酸钾显色	电位滴定法测氯
剂	禾草特 石油醚+甲醇+氯仿(10+2+1)	硅胶G	0.3	氯化钡显色	溴酸钾氧化法
	五氯酚钠 苯+甲醇(8+2)	硅胶GF ₂₅₄	0.3	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	除草醚 正己烷+乙醚(9+1)	硅胶GF ₂₅₄	0.7	紫外灯照射显色	电位滴定法测氯
	莠去津 苯+丙酮(4+1)	硅胶GF ₂₅₄	0.6	紫外灯照射显色	非水滴定法

薄层色谱法作为常规农药分析中的分离手段目前仍在使用，在我国的国家标准中，速灭威、异丙威等农药的薄层定胺法为仲裁法，甲胺磷为薄层碘量法，多菌灵为薄层-紫外分光光度法。日本农药公定检查法中亦使用薄层法作为分离手段。

根据文献资料，将农药常量分析中各类农药在应用薄层色谱法时，使用的展开剂、吸附剂、显色法、 R_f 值及测定方法列于表 3-4。供农药分析选用条件时参考，我国农业生产资料公司研制了一系列薄层溴化法、薄层电位滴定法、薄层定磷法测定对硫磷、甲基对硫磷、杀螟硫磷、磷胺、久效磷、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、溴氰菊酯和氰戊菊酯等农药的含量。该方法能将杂质分离，比较准确地测定有效成分，在基层农资部门和药检部门的实验室中，不具备气相色谱仪等设备，可应用此法于质量检验，而且亦是比较现实可行的。

第四章 气相色谱法

一、概 论

流动相是气体，固定相是固体或液体的色谱法称为气相色谱法。

19世纪末叶，随着钢铁工业的发展，炼焦副产品——煤焦油大量增加，引起有机化学工业的发展，不断出现分析有机物的新方法。色谱法正是在这种历史背景下发展起来的。20世纪50年代石油化学工业的出现以及医药、生物化学的发展，使气相色谱法高速度地发展起来，而且借助于近年来电子工业的高度发展，也使气相色谱仪日益完善。目前气相色谱法已成为分析化学中极为重要的一种手段。

在现代农业科研和农药工作中的应用也越来越普遍，对农药研究、农药生产、加强农药管理、制定农药安全使用标准、开展对外贸易搞好环境生态等均有重要现实意义。

当然，气相色谱法在应用中亦有局限性。但近年来的高效液相色谱法正好弥补气相色谱法的不足。这两种方法成为分离和测定有机化合物相辅相成互相补充的重要方法。

(一) 特 点

气相色谱法问世以后，很快即用于农药分析，目前占很重要的地位。该法迅速发展的原因与以下特点有关。

1. 应用范围广 农药沸点大都在气谱工作范围内，分子量大多小于400，且在载气流存在的情况下，可使高沸点化合物的气化温度比其沸点为低，再加气谱测定需用样品甚少，故检测范围广泛。

2. 分离效能高 农药分析的检测对象中，有的含杂质，有的为混合制剂，有的为异构体，用其它方法分离相当困难，但用气相色谱则比较容易。例如分离化学结构极为相近的六六六异构体早已用于日常分析。

3. 分析速度快 气相色谱的分析速度较快，适于农药生产中的流程控制分析和大量样本分析。进行一次色谱分析短者只需几十秒，长者几十分，一般几分钟即可。

4. 灵敏度高 农药污染环境的检样，要求分离和测定出极少量的物质。有时检测极限为PPb—PPt数量级 (10^{-9} — 10^{-12}) 气谱法可满足分析要求。

5. 准确度、精密度高 农药分析要求有一定的准确度和精密度，尤其制剂分析对此要求更高。用气谱内标法测定，准确度和精密度，均较经典方法和光学分析法等为好。

6. 分离和测定一次完成 用紫外、红外、质谱、核磁共振法测定农药样本时，均需先分离出纯品，而气相色谱法的分离和测定一次即可完成。

(二) 仪 器 和 流 程

根据使用目的的不同可分为分析用气相色谱仪、制备用气相色谱仪和工艺过程控制监测

用气相色谱仪（又称流程色谱仪）三大类。本书主要介绍第一类。

目前国内外气相色谱仪的型号虽有多种多样，但基本组成相同，即每台色谱仪都包含有气路系统（包括气源、稳压、稳流、流量测量），进样系统、柱恒温箱、检测系统、控温系统、电源的稳压和信号放大系统、数据的记录和处理系统。

气相色谱仪流程是指载气与试样流动的趋势，简称气路。

每种仪器都有自己的流程。例如：北京分析仪器厂生产的SP-2305 气相色谱仪是双气路流程，上海分析仪器厂生产的上分-100型气相色谱仪是单气路流程。

图 4-1 为典型气相色谱仪流程示意图，图中箭头（→）方向为载气流动的趋势，虚箭号（---→）为试样流动的趋势。

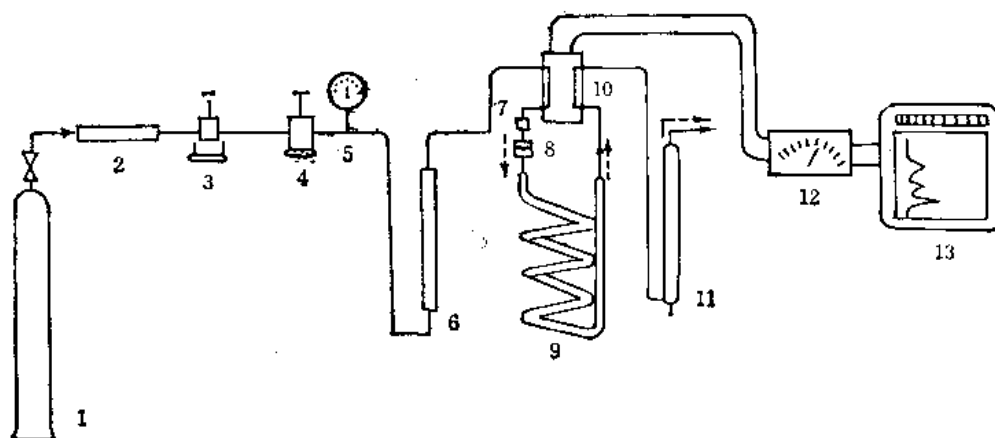


图 4-1 气相色谱仪流程示意图

1——气源钢瓶；2——净化器；3——稳压阀；4——针形阀；5——压力计；6——流量计；
7——进样器；8——气化室；9——色谱柱；10——检测器；11——皂膜流量计；12——
控制仪；13——记录仪

（三）应用范围与局限

气相色谱法以气体作为流动相，在检测农药时，被分离农药在色谱柱内运行时必须处于“气化”状态，而“气化”与农药的性质和其所处于的工作温度（主要指色谱柱所处的温度）有关。所以，被分离农药无论是液体或固体，是有机物或无机物，只要这些农药在气相色谱仪所能达到的工作温度下可以“气化”，而且不发生分解，原则上都可以采用气相色谱法。目前可能达到的工作温度一般为 $-196-450^{\circ}\text{C}$ ，在这个温度下，对蒸气压不小于 $20-1300\text{ Pa}$ ，热稳定性好的任何气体、液体、固体农药都可进行分析；或者说，凡是沸点大约在 500°C 以下，分子量在400以下的农药，原则上都可以采用气相色谱法进行分离和分析。

虽然气相色谱法有许多优点，但它作为一种分析方法，仍然有一些薄弱环节，局限了它的应用范围。譬如除分子量大，热分解和不挥发性农药不能使用外，而对于所接受的每一项分析任务，往往需要建立特定的分析方法；色谱峰的定性可信度较差；对化学性质极为活泼的及腐蚀性的试样，分析较为困难。

（四）在农药分析中的应用

气相色谱法是农药分析中必不可少的方法。气相色谱仪是农药分析实验室必备的仪器。该法在有关农药的研制创新、工业生产、科学管理、农业应用、污染防治等方面均广泛应

用。

研制创新：新农药的创制，新剂型的开发及其有关研究。

工业生产：农药生产中工艺流程的控制与改进，原料、中间体及产品质量的分析。

科学管理：制定与检验农药质量标准，监督保证农药质量。

农业应用：制定农药合理使用准则，为农业上施用提供科学依据。此外，尚有中毒原因及发生药害时的分析判断等。

污染防治：农田用药后，农药在农作物、畜产品、土壤、河川水中的残留量及其代谢物的残留规律和其对生态系的影响。

以上各项工作的分析测定，都离不开气相色谱法。目前国际上约70%的农药制剂，采用气谱法进行分析；在残留量分析中，则气谱法应用更多。

二、基本原理

气相色谱法亦称气体色谱法或气相层析法，是以气体为流动相的柱色谱分离技术。它分离的主要依据是利用样品中各组分在色谱柱中吸附力或溶解度不同，也就是利用各组分在色谱柱中气相和固定相的分配系数不同来达到样品的分离。对于气-固色谱（也叫吸附色谱），它的分配系数确切地讲，应称吸附平衡常数，主要用于永久性气体或气态烃等的分离分析。本文仅就常用于农药分析的气-液色谱加以介绍。

（一）气-液色谱分离过程

气-液色谱柱中装入一种具有一定惰性的多孔性固体物质（称为担体或载体），在它的表面涂敷一层很薄的不易挥发的高沸点有机化合物（即固定液），形成一层液膜。当载气把气化的

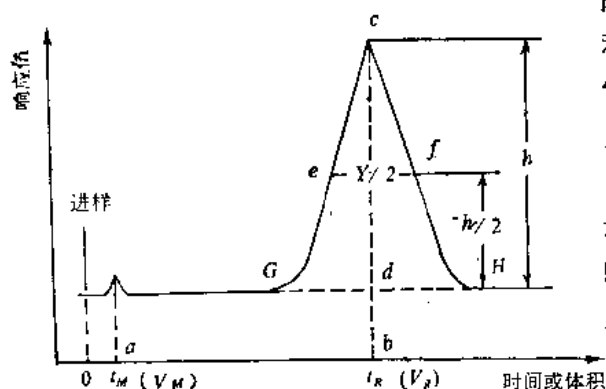


图 4-2 气相色谱流出曲线

的样品组分代入色谱柱后，由于各组分在载气和固定液膜的气-液两相中分配系数不同，在载气向前流动时，样品各组分从固定液中脱溶能力也就不同。当脱溶出来的组分随着载气在柱中往前移动时，再次溶解在前面的固定液中，这样反复地溶解→脱溶→再溶解→再脱溶多次的进行分配，有时可达上千次甚至上万次。最后，各组分由于分配系数的差异，在色谱柱中经过反复多次分配后，移动速度便有了显著差别。在固定液中溶解度小的组分移动速度快，溶解度大的则移动速度慢，这样在色谱柱出口

就可将各组分分离开来，可以分别对它们进行测定。

例如，在某一色谱柱中欲分离的两组分为 A 和 B，而且它们的分配系数 K_A 比 K_B 大一倍。显然经过第一次分配后，A 和 B 两物质的分离因数 (α) 为：

$$\alpha = \frac{K_A}{K_B} = \frac{2}{1}$$

若连续分配 n 次后，则：

$$\alpha = \left(\frac{K_A}{K_B} \right)^n = \left(\frac{2}{1} \right)^n = 2^n$$

可见, 当 $n=1$ 时, $\alpha=2$, $n=100$ 时, $\alpha=2^{100} \approx 10^{30}$, 此时分离效率已很大, 这表明 A、B 两物质已较好地分离, 也就是说分配次数愈多, 分离效率愈高。而在一般气相色谱法中, 分配次数远不只 100 次, 往往是上千次, 上万次, 因此, 即便 K_A 与 K_B 相差很微小, 经过反复若干次分配, 最终也可使两物质分离。例如, 六六六各异构体的化学性质极其相似, 用一般化学方法很难将它们分离, 但是利用 OV-17 和 QF-1 为混合固定液的气-液色谱法可将其很好地一一分离。

(二) 气相色谱流出曲线

样品中的组分经色谱柱分离后, 随着载气逐步流出色谱柱。在不同的时间, 流出物中组分的成分和浓度是不同的。一般采用记录仪将流出物中各组分及其浓度的变化依次记录下来, 即可得到色谱图。这种以组分的浓度变化 (或某种信号) 作为纵坐标, 以流出时间 (或相应流出物的体积) 作为横坐标, 所绘出的曲线称为色谱流出曲线。现以一种组分的流出曲线说明如下 (如图 4-2 所示)。

由图可见, 从进样开始 (以此作为零点), 随着时间的推移, 组分的浓度不断地发生变化, 当组分的浓度达到极大值时, 曲线上也出现最高点, 通常把这种曲线称该组分的色谱峰。每一个组分在流出曲线上, 都有一个相对应的色谱峰。

如横坐标以时间 (t) 表示, 那么从进样开始到柱后出现某组分的浓度极大值 (即 ob 段) 所需要的时间, 称为保留时间 (t_R)。 ab 段称为调整保留时间, 以 t'_R 表示, $t'_R = t_R - t_M$ 。其中, t_M 称为死时间, 即从进样到惰性组分流出色谱柱浓度极大点的时间, 如图中 oa 所表示。

如果横坐标以体积 (V) 表示, 则色谱峰最高处所对应的体积即 ob 段称为保留体积 (以 V_R 表示), 相应的 oa 段称为死体积 (V_M), ab 段为调整保留体积 $V'_R = V_R - V_M$ 。

保留体积与保留时间两者之间有以下关系:

$$V_R = F_c \cdot t_R, \text{ 同样, } V_M = F_c \cdot t_M$$

式中, F_c 为色谱柱内载气的平均流速, 即每 min 载气流出体积的平均值, 单位为 ml/min。

在一定实验条件下, 保留体积或保留时间为某一组分的特性。

在色谱流出曲线中, GH 叫基线, $GecfH$ 为某组分的峰面积 (A), cd 为峰高 (h), ef 为峰半高宽度简称半峰宽 ($Y_{1/2}$)。

在一定的实验条件下, 峰面积或峰高为某一组分浓度含量的特征, 因此, 色谱流出曲线是色谱分析的主要依据。利用它可以解决以下问题:

- (1) 色谱峰的位置 (即保留时间或保留体积) 决定于物质的性质, 是色谱定性的依据。
- (2) 色谱峰的高度或面积是组分浓度或含量的量度, 是色谱定量的依据。
- (3) 利用色谱峰的位置与其宽度, 可以对色谱柱分离的情况进行评价。

(三) 塔板理论

1. 塔板理论假定 为了研究谱峰的形状, 建立起一种半经验式的理论——塔板理论, 用于描述物质在两相间的分配状况和评价柱的效能。塔板理论是把柱子假想成由许多塔板组成,

在每个理论塔板里,组分在气液相间达成一次平衡,经过多次分配平衡后,使组分彼此分离。为简化起见,塔板理论有如下假设:

- (1) 在每块板上气液平衡是瞬间建立的。
- (2) 载气是脉冲式进入色谱柱进行冲洗的,每次恰好为一个板体积。
- (3) 所有组分开始都集中在第零块塔板上,且不考虑纵向扩散。
- (4) 在所有塔板上,分配系数是常数,也即和组分的量无关。

2. 理论塔板数 在上述理想情况下,可以认为进入柱子内的样品成分在载气中是呈“正态分布”的,因而,在记录纸上出现的色谱峰应为高斯(Gauss)曲线。所以色谱峰常用与高斯曲线宽度相关的某一标准偏差 σ 表示。图4-3表明在不同高度位置上峰宽度与 σ 的关系。其中:

曲线拐点处的宽度 $W_i = 2\sigma$

峰半高处的宽度 $W_{1/2} = 2\sigma(2\ln 2)^{1/2} = 2.354\sigma$ (4.1)

拐点的切线与基线交点之间的峰宽 $W = 4\sigma$ (4.2)

因而 $W = 2W_i = 1.699W_{1/2}$ (4.3)

最早提出峰形变宽的理论是Martin等人提出的塔板理论。

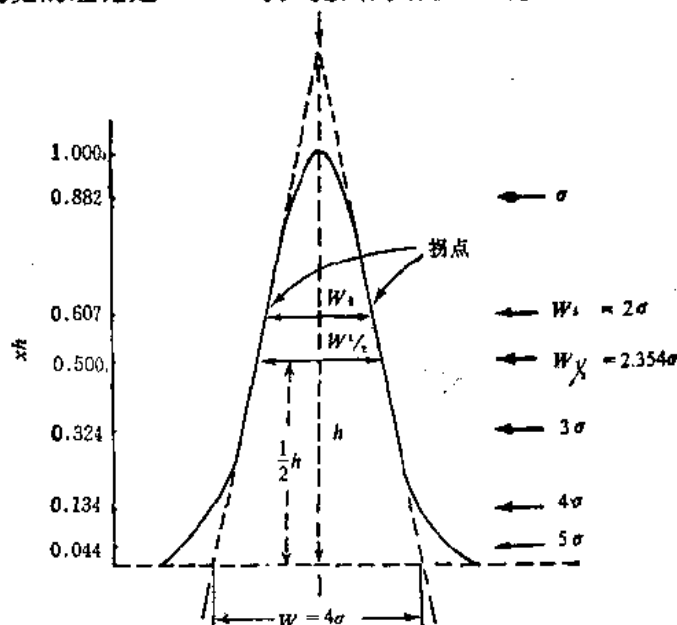


图 4-3 用高斯曲线表示的色谱峰

作为该理论的结论,理论塔板数 n 用下式表示:

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (4.4)$$

式中, t_R 是保留时间, W 是与保留时间使用同一单位测得的峰底宽度。在谱图上二者都可以用长度单位进行测量。现在在图 4-4 中利用甲苯色谱峰试计算一下理论板塔数。先测量出由进样点到峰顶点之间的距离(相当于保留时间),以mm为单位(记录纸速 10mm/min), $t_R = 68\text{mm}$,峰底宽度 $W = 8\text{mm}$,因此:

$$n = 16 \left(\frac{68}{8} \right)^2 = 1156$$

然后,将式(4.2)代入式(4.4)中,得:

$$n = \frac{t_R^2}{\sigma^2} \quad (4.5)$$

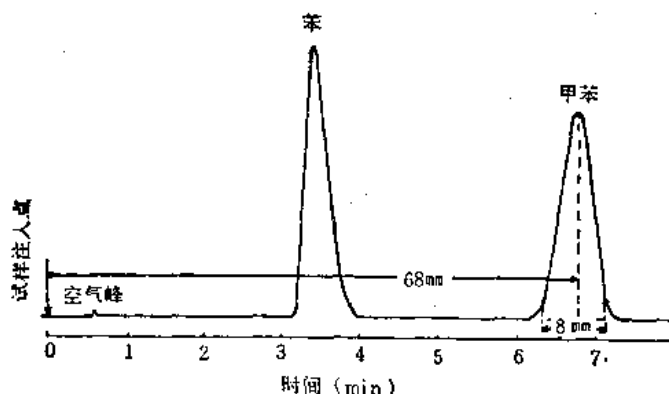


图 4-4 理论塔板数的求法

由此可知，理论塔板数与方差 σ^2 呈反比关系。设空气的保留时间为 t_M ，从空气峰作起点所测得的保留时间为 t'_R 。

$$t_R = t_M + t'_R \quad [\text{本式以保留时间表示}] \quad (4.6)$$

由于载气(流动相)中的组分是随着载气在柱内移动，所以全部组分在气相中的时间不论其保留时间大小，均为 t_M ；保留时间 t_R 中剩余部分 t'_R 可认为是组分在液相中停留时间。我们取组分在两相中的时间比定为组分的分

配比 k ，

$$k = \frac{t'_R}{t_M} \quad (4.7)$$

另外，仿照式(4.4)有效塔板 N 可按下式定义，

$$N = 16 \left(\frac{t'_R}{W} \right)^2 \quad (4.8)$$

从式(4.4)、(4.6)、(4.7)、(4.8)可得，

$$N = n \left(\frac{k}{k+1} \right)^2 \quad (4.9)$$

对于 k 值非常大的组分(其分配系数及保留时间也都比较大)，即，

$$\frac{k}{k+1} \approx 1, \text{ 因而 } N \approx n$$

在谱图上，只要测出某物质在柱上的保留值和峰宽，由(4.4)式便可算出所需要的理论板数。再由理论板数可算出理论板高度

$$H = \frac{L(\text{柱长})}{n}$$

H 是描述色谱柱效能的一个指标，但由于死时间的存在，不能完全反映柱效，特别是那些较早流出的组分更是如此。为了更切合实际，采用有效塔板数 n_{eff} 和有效板高 H_{eff} 。

$$H_{eff} = \frac{L}{n_{eff}} \quad (4.10)$$

(四) 速率理论——范第姆特(Van Deemter)方程

塔板理论是个半经验性的理论，它的假设不完全符合色谱的实际过程，只能定性的给出板高 H 的概念，而不能找出影响 H 的因素，也不能说明为什么峰会展宽。速率理论就是在塔板理论的基础上，引入影响板高的动力学因素而导出的，把色谱过程用随机模型来描述，可得速率理论方程(也称范氏方程)，从理论上说明了峰形加宽的原因和获得高柱效的条件。

1. 峰形加宽的原因 可以认为，凡满足下列条件的为理想的气-液色谱法：

- (1) 在色谱柱内任何点两相的比例恒定。
- (2) 载气流在色谱柱内任何部位均一样。

(3) 在两相中无论哪一相里都不发生成分分子的纵向扩散作用。

(4) 组分分子在两相间的分配平衡能瞬间完成。

而且, 如果分配系数与成分浓度无关, 那么以一定宽度注入柱子的成分可以在柱中按原来的样子向前移动, 而不引起峰形扩展。但在实际上多数不是这样情况。

① 如果正确地装填柱填料, 条件(1)可以满足。

② 由于沿柱长的方向存在压力降, 正如图 4-5 所表示的那样。

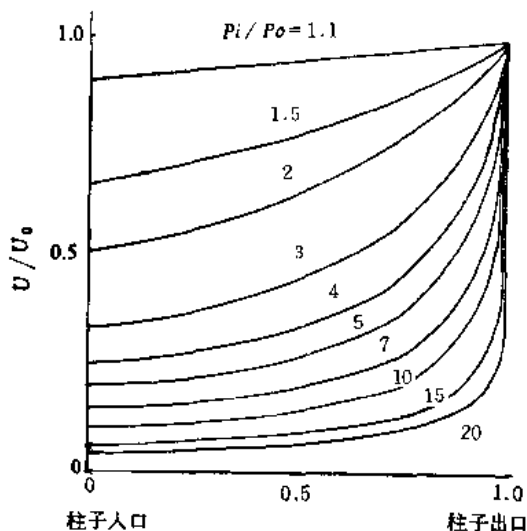


图 4-5 柱内载气线速度的变化
(以相对于出口的线速度 u_0 值表示)

载气的线速度从柱子入口到柱子出口是逐渐增加的。但是对于所有成分分子都同样起作用, 并不能成为峰加宽的原因。由于柱内有填料存在, 气体分子流过柱子的途径各不相同, 这些路程又长短不一, 因此, 气体分子和成分分子在柱内的停留时间使峰形加宽。这种现象类似湍流流动中的涡流扩散。所以引起峰形加宽的原因是柱内的填料形状、颗粒大小、填充方法等, 而与载气流速没有关系。

③ 由于柱内存在着分子纵向扩散, 因此成分分子的运动受到推进和阻滞作用, 这是造成峰形加宽的原因。在液相色谱中这样的扩散可以忽略不计。而在气相色谱中载气的流速越小, 分子扩散的影响越大, 它与载气的线速度成

反比。

④ 在通常使用的载气流速下, 成分既要在气-液两相间维持平衡分配, 又要向前移动, 这是很困难的, 无论是从气相到液相, 还是从液相到气相中的转移都要花费时间, 由于成分在柱内移动过程中有这种阻力存在, 而使峰形加宽, 并且随着载气流速的增加, 这个影响也增大。

由此可得出结论, 使峰形加宽的原因可归纳为: ① 涡流扩散; ② 分子扩散; ③ 传质阻力三种情况所造成。

2. 柱效率 由于在气相中的扩散作用比液相中大, 据此可假定传质阻力的影响只在液相中存在, 故 Van Deemter 等人创立的关于气-液色谱理论塔板高度 (HETP) 基本公式为:

$$H = 2\lambda d_p + \frac{\gamma D_g}{u} + \frac{8}{\pi^2} \frac{k'}{(1+k')^2} \frac{d_p^2}{D_l} u \quad (4.11)$$

式中: H ——理论塔板高度 (HETP);

λ ——柱填料特有的量;

d_p ——柱填料颗粒的平均直径;

γ ——气体通过细长弯曲路径时的校正系数;

D_g ——组分分子在气相中的扩散系数;

D_l ——组分分子在液相中的扩散系数;

u ——载气的线速度;

k' —— $K(F_1/F_2)$;

K 为分配系数, F_l/F_g 为柱横截面上液相和气相占有的面积比;

d_p ——担体上固定液的有效厚度。

式(4.11)可以改写为下式:

$$H = A + \frac{B}{u} + C_u \quad (4.12)$$

$$A = 2 \lambda d_p$$

$$B = \gamma D_g$$

$$C = \frac{8}{\pi^2} \frac{k'}{(1+k')^2} \frac{d_p^2}{D_l}$$

这个公式如图 4-6 所示是双曲线, 在 $u = \sqrt{B/C}$ 时, H 存在极小值, 其值 $H_{min} = A + 2\sqrt{BC}$ 。也就是说在 $u = \sqrt{B/C}$ 时, 柱效最好。然而, 如前所述, 色谱柱内载气的线速度不是恒定的。从柱子入口到柱子出口流速逐渐增大(参见图 4-5)。因而, 只有在柱子的某一狭窄部分其效率才是最高的。

因而, 在载气的线速度比较低时, H 值主要取决于分子扩散的影响, 而在载气的流速比较高时, 与分子扩散的影响相比, 传质阻力的影响更大。涡流扩散与 u 没有关系。

如上所述, u 值在柱中不是恒定的, 因而 H 值随着与柱子入口距离的不同而异。如图 4-5 所示, 当 P_i/P_0 值很大时, 柱子大部分与其入口的线速度差别不大, 而在柱出口附近线速度则急剧变大。在这样情况下, 若于柱子出口选择使 H 值最小的载气流速 u , 那么在柱子的大部分 H 值都增高, 而使柱效率降低。

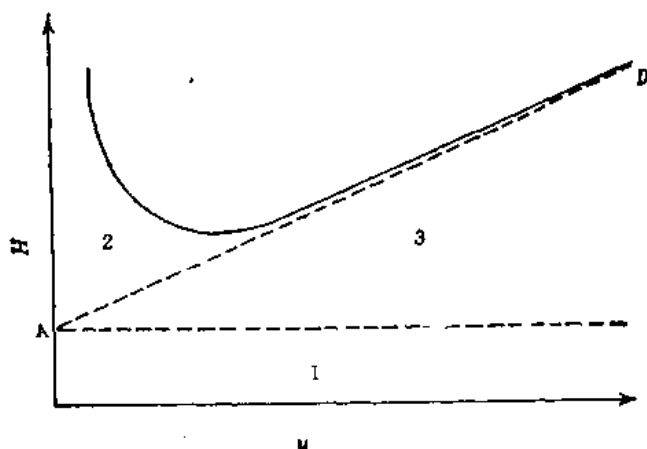


图 4-6 载气的线速度和理论塔板高度(HETP)的关系

图中设直线 AD 的方程为 $H = A + C_u$; 1——涡流扩散有关部分; 2——受分子扩散影响部分;
3——受传质影响部分

P_i/P_0 接近于 1 时, 载气线速度变化很小, 因而, 能通过选择适当的载气流速使整个柱子 H 值趋近于最小值。

结论, 为获得高柱效, 在适当调整载气流速的同时, 尽量选择使式(4.12)中的三个项尽可能小的操作条件是很重要的。

(1) 涡流扩散: 这一项 ($2 \lambda d_p$) 是柱填料所特有的, 不取决于样品和固定液和操作条件也无关。

为使该项数值减少, 可使 λ 、 d_p 尽可能变小。 λ 表示填充方法的不规则性。其值愈大,

表明填充的规则性愈差。 d_p 是填料颗粒直径,因此颗粒越细越好。但是颗粒要用固定液浸渍,颗粒越细,越不容易涂渍均匀,而使 λ 值变大,最后考虑还是使用不太细的填料为好,这样即可均匀涂渍,又能维持较小的 $2\lambda d_p$ 值。若使用粗粒的填料,由于透过性能好,可以降低入口、出口的压力差,增大载气流速,有利于分析。

(2) 分子扩散:该项为 $\gamma D_g/u$,其中 D_g 表示在载气中样品成分的分子扩散,因此它与载气和样品成分两者都有关。所以,选择何种载气,使用多大压力和柱温是非常重要的。

常用的载气有 H_2 、He和 N_2 ,前两种气体比 N_2 气的分子扩散系数要大。此外,压力越高,分子扩散现象越小,温度升高,分子扩散作用增大。

γ 表示柱填料对分子扩散现象产生影响的系数,其值为0.5—1.0。柱填料颗粒直径增大, γ 值接近其上限1。 γD_g 的实际值对于 N_2 和 CO_2 来说为0.05—1 cm²/s;对 H_2 和He为0.20—0.40 cm²/s。

虽然通过柱效率预测选择何种载气和使用什么样的操作条件并非轻而易举,但一般来讲它们具有如下规律:

① 与传质有关的系数 C 很小时,使用 H_2 、He等粘度比较低的气体作载气,载气流速大一些比较好。此时分子扩散项的值很小,可忽略不计。

② C 值比较大时,由于有第2,3项的关系,使用像 N_2 这样的分子量大的气体作载气,并使流速尽量减小为宜。

(3) 传质阻力:

该项为:

$$\frac{8}{\pi^2} \frac{k'}{(1+k')^2} \frac{d_p^2}{D_1} u$$

它比前两项较为复杂,表示在液相中扩散的影响。在 $k'=1$ 时, $k'/(1+k')^2$ 值最大,所以 k' 值越大, C 项越小。

$$k' = K \frac{F_1}{F_2}$$

表 4-1 影响柱效率的条件

条 件	影 响	柱 效 率
担体粒度		
变大	$d_p \nearrow, \lambda \searrow$	$\uparrow$
填充均匀	$\lambda \searrow, \gamma \searrow$	$H \searrow$
载气		
密度 $\nearrow$	$D_g \searrow$	$H \searrow$
压力 $\nearrow$	$D_g \searrow$	$H \searrow$
流速 $\nearrow$		在某一流速 H 极小
温度 $\nearrow$	$D_g \nearrow, D_1 \nearrow, k' \searrow$	$\uparrow$
固定液		
液量 $\searrow$	$k' \searrow, d_p \searrow$	$H \searrow$
粒度 $\searrow$	$D_1 \nearrow$	$H \searrow$

如果分配系数 K 增大, k' 也变大, 如柱温降低, K 值将增大。另一方面, 当柱温降低, 固定液的粘度增加, 由于 D_1 (液相中溶质扩散系数) 变小, 也会导致整个 C 项数值变大。

如果增加固定液的量, 虽然 F_1/F_g 值变大, 但是 d_r 也同时变大, 并且 d_r 再平方, 结果是不利的。

归根结底, 仅限于 K 非常小时, 适当增加固定液的涂渍量可提高柱效率。

总之, 为了获得较高的柱效率适当调节载气流速, 同时选择使式 4.12 中三个项都尽可能小的条件是非常重要的。现将这些主要条件汇总于表 4-1。

此外, 为了更确切地表达 H , 有人提出在 C 中增加正比于 d_p^2/D_g 项等若干修正意见。但是, 基本上用 Van Deemter 方程表示就足够了。

(五) 分 离 度

色谱柱的选择性 α , 只表明两种难分离的组分通过色谱柱后能否被分离, 二峰之间的距离远近, 但无法说明柱效率的高低。而柱效率 $N_{\text{有效}}$, $H_{\text{有效}}$ 只表明柱效率的高低, 即色谱峰扩展程度, 却反映不出两种组分直接分离的效果。为判断两种难分离组分在色谱柱中真实的分离效果, 常用分离度 R 作为色谱柱的总分离效率(能)指标, 其定义为相邻两组分的色谱峰保留值之差与两个组分峰宽总和之半的比值。

$$R = \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{1/2(Y_1 + Y_2)} \quad (4.13)$$

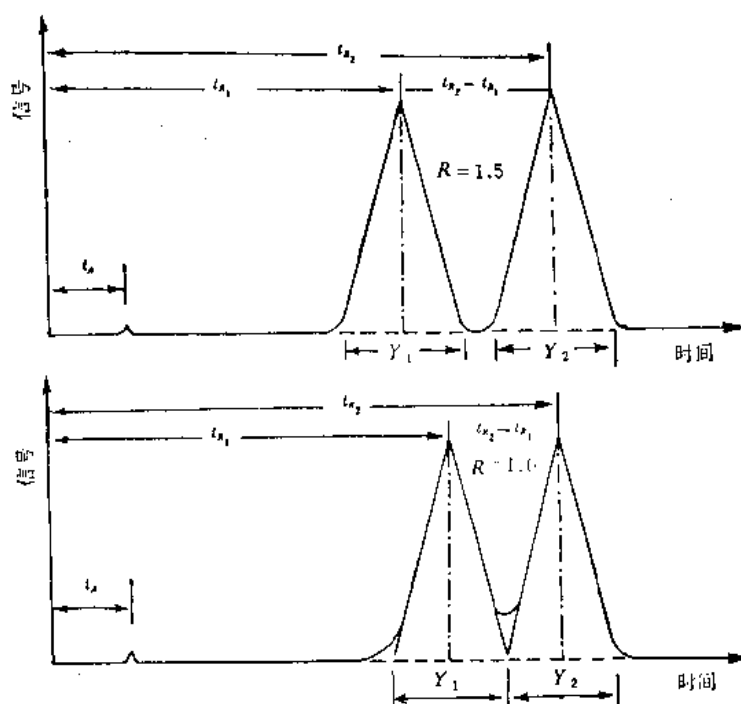


图 4-7 色谱分离度

式中: t_{R2} 、 t_{R1} ——组分 2 及组分 1 的保留时间;

Y_2 、 Y_1 ——组分 2 及组分 1 的峰宽。

上式 $(t_{R2} - t_{R1})$ 的大小表明柱子的选择性, 它反映组分在流动相和固定相中的分配情况, 差值越大, 两峰之间距离就越大。这主要决定于固定液的热力学性质。

上式 $1/2(Y_1 + Y_2)$ 的大小表明柱效率的高低, 即反映组分在柱内运动的情况, $1/2(Y_1 + Y_2)$ 越大, 两峰的扩展越严重, 它取决于所选择的操作条件, 是色谱过程的动力学问题。

分离度 R 综合考虑了色谱柱的选择性和柱效率两方面因素。 R 值愈大, 表示相邻两组分分离得越好。当 $R=1$ 时, 分离程度可达 98%; 当 $R=1.5$ 时, 分离程度可达 99.7%, 如图 4-7 所示。用 $R=1.5$ 作为相邻两色谱峰已完全分开的标志, $R=2$ 时, 分离效果虽好, 但分析时间必然加长。

色谱峰的峰形不对称或二峰之间有部分重叠时, 测量峰宽比较困难, 可用半峰宽代替峰宽。此时分离度 R 可用下式表示:

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{Y_{1/2}^{(1)} + Y_{1/2}^{(2)}} \quad (4.14)$$

式中: $Y_{1/2}^{(1)}$ ——组分①的半峰宽;

$Y_{1/2}^{(2)}$ ——组分②的半峰宽。

从式 (4.14) 看出, 色谱柱的总效率 R 很容易由实验得到的色谱图求得。式 (4.13) 及式 (4.14) 不完全等同, 在应用时要注意 R 的计算方法。

三、检 测 器

气相色谱检测器是一种测量载气中各分离组分及其浓度变化的装置, 实际上它是把组分及其浓度变化以不同的方式变换成易于测量的电信号, 所以亦称换能器。检测器性能的好坏直接影响色谱分析的定性定量结果。故正确地评价和科学地比较各种检测器, 合理地使用检测器, 充分了解检测器的工作机理以及它的各种参数的选择, 十分重要。如果没有适宜的和合乎要求的检测手段, 即使有最佳的柱分离, 也无济于事。因此, 我们将较系统地介绍气相色谱检测器的分类和一般性能, 以及常用的四种气相色谱检测器 (TCD、FID、ECD、FPD) 的工作机理、结构形式和使用方法等。

(一) 检测器的分类

检测器的分类方法很多, 通常分为积分型和微分型两大类。积分型检测器显示某一组分含量随时间的累加, 也就是说, 该检测器所给的响应信号与流出组分总量成比例。当纯载气通过检测器时, 记录纸上呈现一条直线; 当不同组分的物质通过检测器时, 记录器相应记录的是一系列地台阶图 (如图 4-8 所示)。每一阶高就代表某一组分的含量。

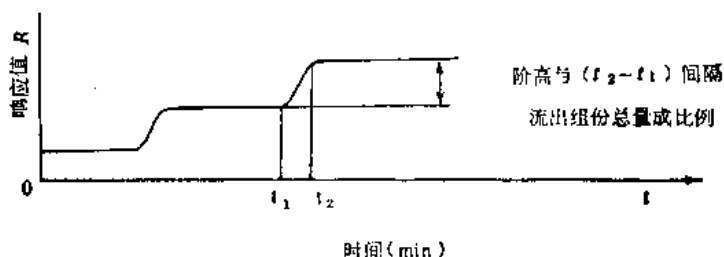


图 4-8 积分型检测器记录的台阶图

微分型检测器显示某一物理量随时间的变化, 所得色谱图 (如图 4-3 所示) 是由一系列类

似高斯正态分布形状的峰组成。每一个峰对应于一个不同的组分，每个峰所包括的面积正比于该组分的含量。

目前气相色谱仪所常用的热导、氢焰离子化、电子捕获、火焰光度等检测器均属于微分型检测器。(积分型不能给出保留数据)，亦为农药分析中常用的检测器。被采用的范围较为广泛。

微分型检测器又根据其响应值跟流出组分浓度成比例和跟质量流速成比例的不同，分为浓度型微分检测器与质量型微分检测器两类。

1. 浓度型微分检测器 这一类包括热导、电子捕获(非离解型)、气体密度、超声等检测器。它的含义简单地说：被测组分和载气相混合，检测器的响应值和组分的浓度成比例。确切地说：浓度型检测器测量的是载气中组分浓度瞬间的变化，即检测器的输出响应信号(R)取决于载气中组分的稀释程度(浓度)。这样一来，当进样量一定时(打进已知重量的液体或已知浓度的气体)，检测器的瞬间响应值(峰高)本质上与载气流速无关，而积分响应值(峰面积)则与流速成反比，如图4-9所示。图上虚线表示，若载气流速超过一定范围后，它对峰高也有影响，流速过大会使峰高降低。

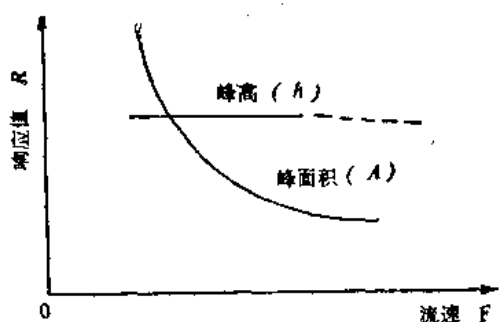


图 4-9 浓度型检测器响应值与流速的关系

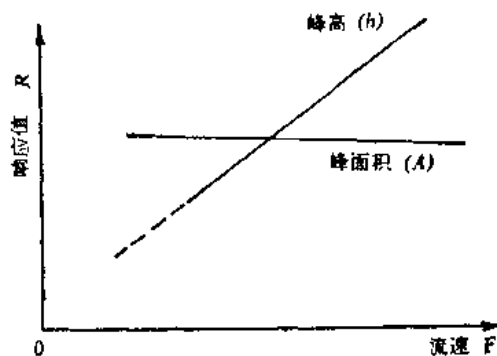


图 4-10 质量型检测器响应值与流速的关系

2. 质量型微分检测器 这一类包括氢焰离子化、火焰光度计以及氮磷检测器等。它的含义，简单地说，载气把被测组分带入检测器，检测器的响应信号和单位时间内进入检测器的组分的量成比例。确切地说，质量型检测器测量的是载气中组分进入检测器的速度变化，即检测器的响应值(峰高)取决于单位时间组分进入检测器的质量；也就是说当进样量一定时，峰高与流速成正比，而峰面积则与流速无关，如图4-10所示。

(二) 检测器的性能指标

在评价一个检测器时常用下列一些性能指标

1. 噪声 噪声有短时噪声和长时噪声两类，短时噪声是信号在有限的范围内较迅速的偏移。长时噪声是较长的时间内信号逐渐地偏移。短时噪声有时可叠加在长时噪声上，如图4-11所示。产生噪声的原因很多，检测器和放大器本身可产生噪声，如检测器温度太高会引起噪声增加。载气波动，如气化室硅橡胶垫小的漏气、气路系统某处漏气都会造成噪声加大。另外像载气被污染，固定液流失也会造成基线不稳使噪声加大。

2. 灵敏度 可用相当于单位量的被测成分的峰面积表示灵敏度。

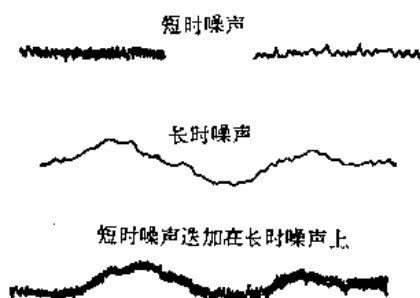


图 4-11 检测器的噪声



图 4-12 检测器检测限示意图

浓度型检测器由于其得到的峰面积和与组分同时流出的载气流量成反比，故灵敏度 S 可用下式表示：

$$S = \frac{\text{峰面积} \times \text{载气流量}}{\text{分量}}$$

若峰面积以 $\text{mV} \times \text{min}$ ，载气流量以 ml/min ，分量以 mg 表示，则：

$$S = \frac{\text{mV} \cdot \text{ml}}{\text{mg}}$$

质量型检测器，所得到的峰面积与载气流量无关，所以：

$$S = \frac{\text{峰面积}}{\text{分量的量}}$$

若峰面积以 $A \times S$ ，分量以 mg 表示，则：

$$S = \frac{C}{\text{mg}}$$

3. 检测限(亦称检测度或敏感度) 噪声水平是噪声连续存在时的平均值，而检测限 D 则是能区别于这个噪声水平 N 的最小检测量，通常它相当于噪声水平的 2 倍。见图 4-12 即：

$$D = \frac{2N}{S}$$

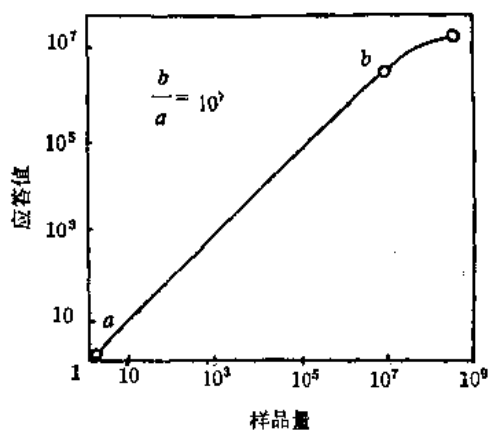


图 4-13 检测器线性范围
a——低浓度；b——高浓度

4. 选择性 各种检测器由于其工作原理不同，因而也就有不同的选择性。如热导检测器是基于样品和载气有不同的导热率，因而它是通用型检测器。而电子捕获检测器则是对捕获电子能力强的物质有很高的敏感度；火焰光度检测器对硫和磷化物比对烃类的灵敏度高几千倍，所以二者均为选择性检测器。

5. 线性范围 检测器的线性范围是指样品浓度和应答值呈线性关系范围内最大与最小浓度之比。如图 4-13 所示。

6. 响应时间 检测器的响应时间是指进入检测器的一个组分输出达到其真值的 63% 所需的时间。一般讲检测器的响应时间是可以满足要求的，而记录仪的响应时间却是一个限制性的因素。

7. 基流(亦称“本底电流”或“零电流”) 基流应理解为没有任何样品加到载气中时，检测器所产生的信号。这里我们倾向于称为“零电流”，因为这样更适用于所有检测器。

对于氢焰离子化检测器来说, 它的零电流越小越好, 其正常值为 $3 \times 10^{-11} \sim 10^{-12}$ A。如果载气、燃气和助燃气的本身含有杂质, 气路不清洁, 色谱柱流失等都会引起零电流增加, 这就要求使用该检测器时, 应特别注意上述几个因素。

对于电子捕获检测器的零电流通称基流 I_0 , 它是衡量检测器性能好坏的一个重要参数。它的正常值大约为 $10^{-8} \sim 10^{-9}$ A。操作参数(温度、压力和流速)对它有影响, 但不会超出上述数量级的范围。一旦发生较大幅度的变化, 多数是由于含有卤族元素的有机物质的沾污; 空气中 O_2 和水分的干扰造成。因此, 检测器零电流的大小, 是衡量检测器是否正常的重要数据之一。

8. 稳定性 稳定性系指检测器的噪声和基线漂移, 以及检测器对操作条件(气体流速、压力、温度)的波动, 对敏感度和响应值的重现性。检测器的稳定性和仪器的稳定性不同, 检测器的稳定性是检测器固有的性质, 它仅与检测器的设计、结构和操作条件有关, 而仪器的稳定性是仪器的综合性能。

(三) 常用检测器

检测器种类很多, 到目前为止至少有 25 种正式用作色谱的检测器, 不过常用的为以下 4 种, 现将主要性能列于表 4-2 中以示比较。

表 4-2 常用气相色谱检测器性能一览表

检测器	热 导 (TCD)	氢焰离子化 (FID)	电子捕获 (ECD)	火焰光度 (FPD)
用 途	所有化合物	有机化合物	卤化物及含氧化合物	硫、磷化合物
响应性质	浓度型	质量型	浓度型(非离解型); 质量型(离解型)	质量型
载 气	He, H_2, N_2	N_2, H_2	$N_2, Ar + 5\% CH_4$	N_2, He
检 测 度	$2 \times 10^{-9} mg/ml$	$10^{-11} \sim 10^{-13} g/s$	$10^{-12} \sim 10^{-13} g/ml$	$10^{-11} g/s(S)$ $10^{-13} g/s(P)$
稳 定 性	良	优	可	可
线性范围	10^4	$10^6 \sim 7$	$10^{2 \sim 3}$	10^5
温度极限	$400^\circ C$	$400^\circ C$	$225 \sim 350^\circ C$	$270^\circ C$
响应时间	$100 \sim 250 ms$	$1 ms$	$1 \sim 5 s$	$1 ms$
设备要求	流速、温度要恒定, 测量电桥用高精度供电电源	气源要严格净化, 放大器能测 $10^{-14}(A)$ 无干扰	载气要除 O_2 , 采用脉冲式 ECD	质量好的滤光片和光电倍增管、合适的 O/H 比

引自参考文献[12]。

1. 热导检测器(TCD) 热导检测器由于结构简单, 灵敏度适宜, 稳定性较好, 对所有物质都有响应、故被广泛用于常量分析。但在农药分析中, 近年国际上逐渐被氢焰离子化检测器所取代。

(1) 结构: 热导检测器的示意图见图 4-14, 它是由一个金属块(3)和装在通气室 A 和 B 的两个热敏元件所组成, 热敏元件是具有较大电阻温度系数的金属丝(如白金丝、钨丝或铼钨丝)。在 A、B 二室中的热敏金属丝电阻值完全相同, 往 A 室通入纯载气, 而 B 室则通入从色谱柱流出的含有样品蒸气的载气。为了测量热丝阻值的变化, 把热丝(4)和(5)作成

惠斯登电桥，如图 4-15 所示。

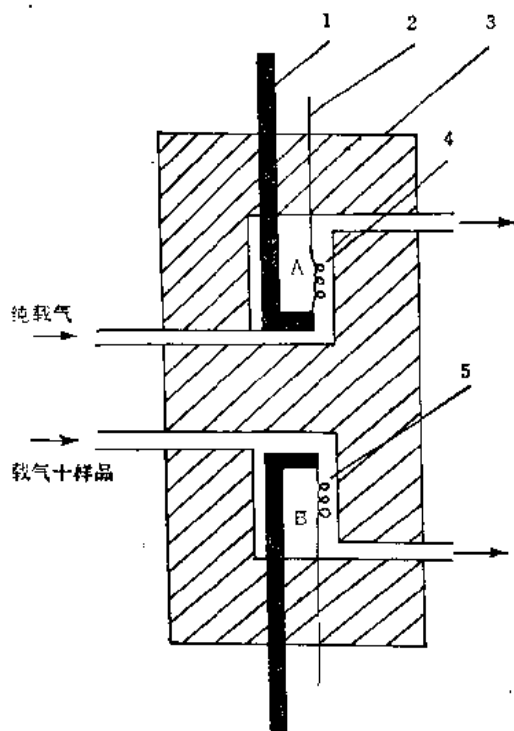


图 4-14 热导检测器示意图

1——热丝支架；2——热丝引线；3——金属块；
4——热丝(参考臂)；5——热丝(工作臂)

(2) 原理：热导检测器的原理是根据不同物质有不同的导热系数。如图中的 A 和 B 两个通气孔道都通入纯载气时，由于气体把热丝上的热量带走一部分，热丝(4)及(5)的温度均下降，但是因为(4)与(5)的阻值(即相当于图中的 R_s 和 S_1)相等，载气气流速度也相等，即带走的热量也相等，两根热丝(通过电流使其加热到一定的温度)的温度下降也相等。因而在平衡时， R_s 和 S_1 的电阻也相等。反映在惠斯登电桥上无信号输出。但是当 B 通气孔道有样品通过时，样品的导热系数和载气不同，因而从 A、B 二孔道带走的热量就不相等，热丝(4)与(5)温度就不同，相应的电阻值就不一样。所以惠斯登电桥就不平衡了，于是就有信号输出。而且当 B 孔道中样品浓度越大、两个孔道中热丝的电阻差别也越大，输出的信号也越大。

(3) 影响热导检测器灵敏度的因素

1) 桥路工作电流：电流增加，使热丝温度提高，热丝和热导池体的温差加大，则气体易

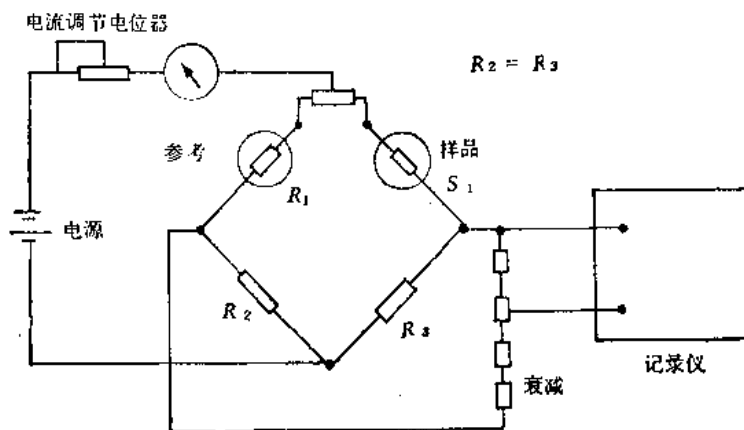


图 4-15 热导检测器电路

将热量传出，故灵敏度提高。一般工作电流与响应值之间有三方关系，即增加电流能使灵敏度迅速增加。但电流太大，将使热丝处于灼烧状态，致引起基线不稳，呈不规则抖动，甚至将热丝烧坏。一般桥路电流控制在 100—200 mA 左右(N_2 作载气时为 100—150 mA, H_2 作载气时为 150—200 mA)。

2) 热导池体温度：当桥路电流一定时，热丝温度一定。如果池体温度低，则池体和热丝温差大，可使灵敏度提高。但池体温度不能太低，否则被测组分将在检测器内冷凝。故一般

池体温度不应低于柱温。

3) 载气: 载气与试样的导热系数相差愈大, 则灵敏度愈高。由于一般物质的导热系数都比较小, 故选择导热系数大的气体(如: H_2 或 He)作载气, 灵敏度就较高。另外, 载气的导热系数大, 在相同的桥路电流下, 热丝温度较低, 桥路电流就可升高, 从而使热导池的灵敏度大为提高, 因此通常采用氢作载气。如用氮作载气, 除由于氮和被测组分导热系数差别小, 灵敏度低外, 还常因二元系导热系数呈非线性, 以及因导热性能差而使对流作用在热导池中影响增大等, 有时会出现不正常的色谱峰(如倒峰、W峰等)。

4) 热敏元件阻值: 选择阻值高, 电阻温度系数较大的热敏元件, 当温度有一些变化时, 就能引起电阻明显变化, 灵敏度就高。

(4) 使用方法

1) 先通气。同时调节每个支路上的稳流阀, 使载气流速调至所需数值上, 要求两支路上的流速基本一致。

2) 升温与控温调节。打开温度控制器的“电源开关”; 进行如下的操作:

① 调节“气化温度”与“检测室温度”旋钮, 加热并升温; ② 调节“柱温”旋钮加热并升温。

一般说来, 由于柱室温度采用强制鼓风的方式, 升温(或降温)比较快。为了防止色谱柱、气化室中的硅橡胶垫流失物污染检测器, 要求先升检测室温度, 柱室温度再跟踪进行调节, 最后调节气化温度。③ 各自的温度显示, 通过“温度测量选择开关”的调节, 由各自的热电偶配合测温毫伏计进行指示。为了准确测量柱温起见, 亦可在色谱炉内插入一支水银温度计进行对照。

3) 热导池控制器的使用与调节。待气流、温度趋于恒定后, 方可打开该控制器“电源开关”, 进行如下操作:

① 首先将控制器“桥电流调节”(或“热丝温度选择”)调到最低处。“输出衰减”置于 $\times 1/32$ 档, 利用“倒相”开关, 使记录笔指在记录仪的量程范围内。② 调节控制器的“零点调节”(粗、中、细), 将记录笔指在零处。③ 将桥电流以及衰减值按照实际需要设置。一旦记录仪的指示发生偏转, 再次使用“零点调节”将记录笔调回原处。④ 在上述实验条件下, 待基线稳定后, 方可进样分析。⑤ 工作完毕, 首先关闭所有电气单元电源开关, 然后关掉气源。

(5) 灵敏度和稳定性的测试实例

1) 灵敏度

① 测试条件: 色谱柱: 10% 邻苯二甲酸二壬酯(D. N. P), 101 白色载体(60—80 目), 柱长 2 m; 气体流速: 载气(H_2)为 30—40 ml/min; 温度条件: 柱温与检测室温度均为 $80^\circ C$, 气化室温度为 $120^\circ C$; 电气条件: 桥电流为 220~230 mA; 衰减 $\times 1$ 档; 记录仪纸速: 5 mm/min 或 10 mm/min; 样品: 苯(分析纯)。

② 灵敏度计算:

$$S = \frac{h \cdot Y_{1/2} \cdot F}{W} = \frac{h \cdot Y_{1/2} \cdot F}{V \cdot d}$$

式中: h ——峰高(mV); $Y_{1/2}$ ——半峰宽度(min); F ——柱后流速(ml/min); V ——进样体积(μl); d ——苯的比重($0.88 \text{ mg}/\mu l$)。

例如：使用热导池，苯的色谱峰高值为 2.5 mV。半峰宽度为 1.5 mm。记录仪纸速为 600 mm/h(即 1 cm/min)。柱后流速为 40 ml/min。衰减在 $\times 1/32$ 档时进样量为 0.4 μ l 的苯溶液。

则：

$$S = \frac{2.5(\text{mV}) \times 0.15/(\text{min}) \times 40(\text{ml/min}) \times 32}{0.88(\text{ng}/\mu\text{l}) \times 0.4(\mu\text{l})} \approx 1400 \text{ mV} \cdot \text{ml/mg}$$

2) 稳定性：仪器处于最高灵敏档，衰减置于最小档。在灵敏度合格的条件下，置记录仪为一合适的纸速后，启动仪器。连续运行 4 h，在最后 2 h 内，任取 1 h 内的最大基线漂移计算。使用 5 mV 记录仪时，其基线漂移值应在 0.1—0.05 mV·h⁻¹ 之内为佳。

3) 使用注意事项：

- ① 尽量采用高纯度的气源(纯度为 99.99%)。
- ② 载气与样品气中无腐蚀性物质、机械杂质或其它污染物。
- ③ 至少通气 0.5 h，保证将气路中的空气赶走，方可通电，以防热丝元件氧化。未通载气时一定不允许加桥电流。
- ④ 根据载气的性质，桥电流不允许超过额定值。
- ⑤ 不宜将热导池保温箱置于风口处。
- ⑥ 不允许有剧烈振动。
- ⑦ 热导池高温分析时，如果停机，除首先切断桥电流外，最好等检测室温度低于 100℃ 以下时，再关闭气源，这样可以提高热丝元件的使用寿命。

2. 氢焰离子化检测器 (FID) 氢焰离子化检测器是一种较理想的检测器，除少数永久性气体之外(N_2 、 NO 、 H_2S 、 SO_2 、 CO 、 CO_2 和 H_2O)，对有机化合物均有响应。FID 结构简单，性能稳定，灵敏度高，响应快，线性范围宽。在农药常量分析中广为应用。

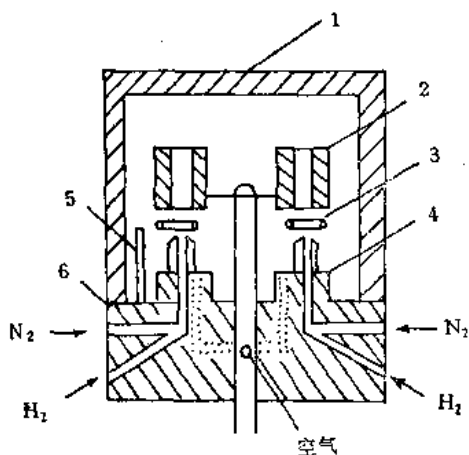


图 4-16 氢焰离子化检测器

1——罩；2——收集极；3——极化电压圈(白金)；4——火焰喷嘴；5——点火线圈；6——检测器主体

(1) 结构：FID 的结构很简单，一般用不锈钢制成。有一个火焰喷嘴，喷嘴内径 0.5 mm 左右。柱流出气体和氢气由喷嘴逸出，进行燃烧，助燃用空气则由喷嘴周围流出。在喷嘴上方有一个加高压直流电压的极化极和收集极。如 SP 2305 气相色谱仪的氢焰离子化检测器如图 4-16 所示。SP 2305 气相色谱仪上的 FID 是双火焰放在一个罩子里(这种设计不太合理)，收集极为圆形筒，以提高收集效率，极化电压圈用 $\phi 0.5-1.0$ mm 白金丝制成。喷嘴是非电性的，可减少噪声。点火线圈用 $\phi 0.2$ mm 白金丝绕成，由 3 V 交流电供电。极化极和收集极间电压为 250 V。载气和氢气在喷嘴入口混合，空气从喷嘴周围导入。废气由检测器底部圆孔排出。

(2) 原理：FID 虽然已被广泛应用，但关于离子生成的机理还不十分清楚。早期流行热离子理论，即离子由火焰的高温所产生。但后来被许多实验结果所否定。现在流行的是化学

离子化理论,即正离子的产生是由于有机物在火焰中产生裂解,生成被激发的分子、自由基和自由原子,它们进行碰撞和能量交换,从而形成正离子。也产生电子。

氢气在空气中燃烧也产生正离子,在电场作用下产生极微弱的电流,一般只有 10^{-12} — 10^{-11} A。但如果在火焰中引入有机物则电流急剧增加,可达 10^{-7} A 或更多一些。把这一电流放大记录下来可得被分析物质的色谱图。

(3) 影响检测器灵敏度的因素:色谱条件如载气、氢气和空气的流速的影响请参见有关内容。这里只把仪器结构等的影响加以简介。

1) 喷嘴直径的影响:喷嘴粗细对灵敏度和线性范围都有一定的影响。一般讲在一定的范围内,喷嘴愈细灵敏度愈高。如 0.5 mm 内径的喷嘴其灵敏度比 1.0 mm 的增加一倍。喷嘴变粗,线性范围也变宽。但喷嘴太细易于灭火,如上分 100 型色谱仪的喷嘴内径为 0.4—0.5 mm 就容易灭火;而北分 SP 2305 色谱仪氢火焰检测器喷嘴的内径为 0.8 mm 就不易灭火。

2) 电极形状和电极距离的影响:火焰产生的离子流要用一对电极在加电场的情况下进行收集和测量,因而电极形状和电极间的距离对灵敏度都有影响。

3) 电极电压的影响:要提高检测器的灵敏度就要提高电极对已形成正、负离子的收集率,因此要尽快地把正负离子流分开,避免它们复合。故需在两极间加以适当的电压促使离子流分开并收集。所加电压低于 40 V 时,灵敏度是电压的函数;高于 50 V 就逐渐趋于平滑;而高于 300 V 就引起噪声且不稳定。

(4) 使用方法

1) 通气。利用各自的调节阀,将载气、氢气、空气调至所需的流速值。

2) 升温与控温的操作,完全同热导池检测器使用方法的有关部分。考虑到此检测室温度对响应值影响不大,为了防止样品的冷凝,其温度选择的数值与气化温度基本相同,都比柱温高 50°C 为宜。

3) 放大器的使用和调节:

① 将放大器中“基流补偿调节”(粗调、细调)置于零。“灵敏度”、“输出衰减”置于合适的档级后,打开放大器的“电源开关”,以及“极化电源开关”。调节“零点调节”(粗调或细调),将记录仪指针指示在零处,观察离子室未点火前的放大器基线。

② 待温度、流速以及放大器基线稳定后,加大氢气流速,利用点火装置点火;点燃后再将氢气流速恢复原值,观察点火后的基线。如果记录仪指针发生一定幅度的偏转,使用双焰操作时,一般不加“基流补偿”调节。可以通过调节某一支路氢气流速大小,使其指针调回原处;若使用单焰操作,必须用“基流补偿”调到原处。应说明一点,由于放大器的基流补偿电压的极性已固定,它只能适用于某一种极化电压的离子室。

③ 待点火后的基线稳定时,方可进样分析。

(5) 灵敏度和稳定性测试实例

1) 灵敏度

① 测试条件:色谱柱同热导;气体流速:载气(N_2)为 30—40 ml/min, 氢气(H_2)为 30—40 ml/min, 空气为 500—800 ml/min;柱温:检测室温度与气化温度均同热导操作条件;电气单元:放大器灵敏度为 $10^{11} \Omega$, 极化电压为 $\pm 250 \text{ V}$ — $\pm 300 \text{ V}$, 衰减 $\times 1$ 档;记录仪纸速同热导;样品:0.05% 苯的二硫化碳溶液。

② 灵敏度的计算:

$$D_m = \frac{2 N \cdot V \cdot d \cdot f}{h \cdot Y_{1/2}} (\text{g/s})$$

式中, 符号的含义同热导, 需要说明的是, N ——总机噪声; f ——苯的浓度(0.0005)。

例如, 使用氢焰离子化检测器, 以 0.05% 苯的 CS_2 溶液为样品, 进样量为 $0.2 \mu\text{l}$ 。色谱峰高为 3 mV。半峰宽为 1.5 mm。记录仪纸速为 1 cm/min, 放大器置于 $10^{10} \Omega$ 档。衰减为 $\times 1/4$ 档。总机噪声为 0.02 mV。那么。

$$D_m = \frac{2 \times 0.02 (\text{mV}) \times 0.002 (\text{ml}) \times 0.88 (\text{g/ml}) \times 0.0005}{3 (\text{mV}) \times 4 \times 0.15/1 \times 60 (\text{s})} \approx 3.2 \times 10^{-11} \text{g/s}$$

2) 稳定性

仪器处于最高灵敏档, 衰减置于最小档。在灵敏度合格的条件下, 置记录仪纸速为适当值后, 启动仪器。连续运行 4 h, 在最后的 2 h 内, 任取 1 h 内的基线漂移和最大噪声作为它的稳定性指标。一般应能达到: 使用 5 mV 记录仪时, 基线漂移为 $0.1-0.05 \text{ mV/h}$ 。噪声为 $\pm 0.05 \text{ mV}$ 。

3) 使用注意事项:

① 尽量采用高纯的气源(例如采用纯度为 99.99% 的 N_2 和 H_2), 空气必须经过 $5 \text{ \AA}$ 分子筛净化。

② 在最佳的 N_2/H_2 比以及最佳空气流速的条件下操作。

③ 色谱柱必须经过严格的老化处理。

④ 离子室要注意外界干扰, 保证使它处于屏蔽、干燥和清洁的环境中。

⑤ 使用硅烷化或硅醚化的载体以及类似的样品时, 长期使用会使喷嘴堵塞。因而造成火焰不稳, 基线不佳, 校正因子不重复等故障。应及时注意维修。

⑥ 为了实测通过离子室的载气流速, 除了有的仪器可在离子室出口测量外, 目前大多数采用将色谱柱接至热导池检测器, 通过热导池出口用皂膜流量计测量。采用这种操作时, 一定要将离子室的氢气源切断。否则, 色谱柱一旦脱离氢焰离子室, 氢气迅速的流进炉膛, 一有火花形成爆鸣事故。切记!!。

3. 电子捕获检测器(ECD) 电子捕获检测器是选择性和灵敏度很高的检测器, 它对卤代烃、腈、硝酸酯和金属有机化合物等很敏感。在农药分析中 ECD 广泛用于残留量分析, 因本书内容主要为制剂分析法, 故仅介绍其结构、原理。对有关检测器的线性, 影响信号的因素, 使用方法及注意事项等不予介绍。

(1) 结构: 电子捕获检测器的结构示意图见图 4-17。检测器池体作阴极, 在这圆筒形池体内侧装有放射源(氡、 ^{63}Ni 、或 ^{85}Kr)。圆筒中心装一根不锈钢圆棒作阳极。阳极和阴极间用陶瓷或聚四氟乙烯绝缘。在阴阳极之间施加直流或脉冲电压。从色谱柱逸出的载气和样品组分, 从阳极棒中心进入检测池。载气 N_2 被放射源放出来的 β 射线电离, 生成正离子和低能量电子, 在此过程中大量的自由电子在电场作用下奔向阳极, 在大量电子向阳极运动的过程中有一部分又与正离子复合, 达到平衡时就形成检测器的基流。当有电负性的组分进入检测池时, 它就捕捉池中的电子, 于是基流就降低。形成色谱峰(倒峰)。

(2) 原理: 电负性物质捕获电子, 有两类主要反应:





(I)是非离解捕获反应,主要产生于温度较低的情况下;(II)是离解捕获反应,要离解就要有较高的能量,所以在比较高的检测温度下进行。在样品浓度和信号值之间存在下边的关系:

$$I = I_0 e^{KAC}$$

式中: I —— 信号电流;

I_0 —— C (浓度) 为零时的基流;

A —— 样品的吸电子系数;

K —— 结构常数。

当浓度低时可近似地表示为:

$$(I_0 - I)/I_0 = KAC$$

4. 火焰光度检测器 (FPD) 火焰光度检测器,对含磷、硫的化合物有比较高的灵敏度和选择性。用于微量分析,在农药的残留量分析中具有重要作用,本书仅介绍其结构和原理。

(1) 结构:广泛使用的火焰光度检测器是单焰的。主要由氢火焰和光度测定两部分组成,氢火焰部分包括火焰喷嘴,燃烧室和石英窗;光度测定部分包括滤光片、光电倍增管,见图 4-18。

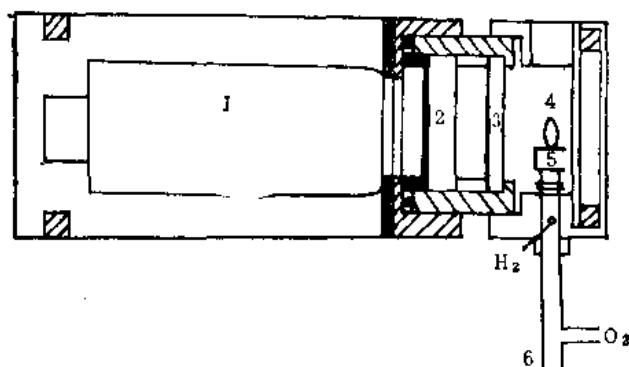
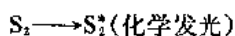
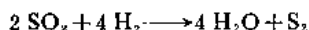
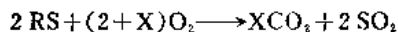


图 4-18 火焰光度检测器
1——光电倍增管; 2——滤光片; 3——石英窗; 4——火焰区; 5——喷嘴; 6——载气入口

(2) 原理:从色谱柱流出的含硫或含磷化合物的载气,先与空气混合,由检测器下部进入火焰喷嘴,喷嘴周围的小孔供给过量的氢气(富氢火焰),点燃后可形成一稳定的火焰。在适当的温度下硫化合物可生成激发态的 S_2^* 分子,当它回到基态时,发射出 350—430 nm 的特征光谱,在 394 nm 的最大波长处,借助滤光片测定其光强,从而测得化合物的含量。反应如下:



对含磷有机物在火焰中首先氧化成磷的氧化物,再被周围的氢气还原成 HPO ,这一被激发的含磷碎片在回到基态时发射出一系列特征波长的光,最大波长为 526 nm。

四、色 谱 柱

色谱分析是一种先分离后检测的分析方法。分离过程是由色谱柱来完成的。一个特定分离的成败，在很大程度上取决于色谱柱的选择。因此，色谱柱是气相色谱的心脏。本章仅对其基础知识，加以介绍。

(一) 色谱柱的几种类型

气相色谱分析所需要的色谱柱主要有气-固填充柱、气-液填充柱、毛细管柱以及最近发展起来的填充毛细管柱等。在农药分析中常用的为气-液填充柱。

气-液填充色谱柱 是在柱管中装填着表面涂有一薄层高沸点有机物液膜的惰性固体作为固定相，高沸点有机化合物是固定液，而惰性固体是载体。在气-液色谱中，可供选择的固定液品种很多，与其它分析方法相比，更加体现出效能高、选择性高、灵敏度高和分析速度快的特点，因此它的发展速度，应用范围大大超过了气-固色谱法。

(二) 柱管材料与形状

1. 柱管材料 可用于制做色谱柱的材料较多，如不锈钢、铜、玻璃、尼龙和塑料等。从实用角度来说，其中，不锈钢、铜和玻璃是比较理想的材质。选择柱管材料的主要依据之一是柱管壁表面的特性。农药分析主要用玻璃柱和不锈钢柱。

2. 柱管形状 柱的形状并无一定特殊要求，常用形状有U形和螺旋形两种。实践证明，只要填充的均匀紧密，柱形状对柱效没有显著的影响。做成螺旋管时，一般要求它的直径比管的内径大15—25倍，比例太小难以填充紧密，从而使填充物和柱壁产生裂缝，引起旁路，降低柱效和分离度。

3. 柱的内径和长度 填充柱的内径一般为2—6 mm，常用4 mm。柱内径细，柱效高，为了提高柱的装填量，最好采用细颗粒度的载体。柱长从0.5 m—6.0 m均可选用，具体柱长一般由分离任务的要求而定。在可能的情况下，色谱柱短比色谱柱长好，这样可以提高分析速度。实践证明，过长的色谱柱并不能显著提高柱效，反而加长了样品分析周期。

(三) 固 定 液

涂于色谱柱(空心柱除外)填充物表层的液膜状物质即固定液。它在气相色谱分析中对各组分的分离起着决定性的作用。据统计目前已发表的固定液品种已约千种之多，因此若在大量的固定液中选择合适的固定液甚为繁琐。为此，罗晋耐德(Rohrschneider)和麦克雷诺(W. O. McCreynolds)在固定液特征的研究上进行了大量的工作。所述固定液的特征并非指其一般的理化性质，而是指其分离特征而言，是固定液之间的联系与规律，是选择固定液的理论基础。详细内容请参阅气谱专著，本章仅从实用角度介绍与农药分析有关部分。

1. 对固定液的要求 用气相色谱分析农药时，柱温一般在150—250℃左右，且化合物组分、检样类型、干扰物质等情况较为复杂，故对固定液要求为：

(1) 在操作温度下蒸气压低，热稳定性好，与被分析物质或载气不产生不可逆反应。由蒸气压和热稳定性的情况决定固定液的最高使用温度。

(2) 在操作温度下呈液态, 而且粘度越低越好。物质在高粘度的固定液中传质速率慢, 因而柱效率降低。这个要求决定了固定液的最低使用温度。

(3) 选择性高, 即对两个沸点相同或相近的不同类型的组分, 要有尽可能高的分离能力。

(4) 对样品组分有足够的溶解能力。

2. 固定液的分类 目前色谱固定液已约有千种之多, 生产厂家、名称、型号各不相同, 组成、性质、用途亦异。如何把数量繁多的固定液进行科学分类, 对于选择和使用固定液非常重要。分类方法主要是根据固定液的分子结构、极性和保留指数, 把固定液按三种方法分类, 即: ① 按固定液的化学结构和所含官能团; ② 按固定液相对极性; ③ 按形成氢键能力的强弱。因按①分类, 简单、实用, 便于根据样品和固定液的“相似相溶原理”选择固定液, 故此种分类法在实际工作中, 对农药分析参考价值较大, 现介绍如下:

按固定液的化学结构和所含官能团分类, 可把固定液分为 10 类。仅重点介绍农药分析中常用的类别。

(1) 烃类: 包括烷烃、芳烃和其聚合物, 是非极性或弱极性固定液。其中角鲨烷是典型的非极性固定液, 通常把其相对极性定为零。有标准非极性固定液之称。

此外, 还有石蜡油、真空脂(如 Apiezon)、聚乙烯等。

(2) 硅氧烷类: 该类是目前使用最为广泛的固定液。农药分析中所用的固定液大多数包含在此类之内。其主要优点为① 温度粘度系数小, 柱温对柱效影响不大, 使用温度范围宽。② 蒸气压低, 热稳定性好, 固定液流失少。③ 对大多数有机物都有很好的溶解能力, 有通用型固定液之称。④ 硅原子上可以引入多种官能团, 使其成为具有不同极性的固定液, 大大扩大了应用范围。

按硅原子上引入的官能团不同, 又可分为以下类型, 即:

① 甲基硅氧烷: 其中包括硅油、硅橡胶两类。是极性很弱的固定液。商品名称为 SE-30、OV-1、OV-101 等。该类固定液可长期在 350°C 以下使用, 性能较好。如 OV-101, 常温下为液体, 低温柱效好, 高温热稳定性强, 是一种从室温到 350°C 性能良好的非极性固定液。

② 苯基硅氧烷: 因硅原子上引入了苯基, 故对芳香性组分溶解性增大, 对极性组分保留值升高, 随苯基含量增高, 固定液极性也增高, 按引入苯基的百分含量不同尚分为低苯基硅氧烷, 如: SE-52 等; 中苯基硅氧烷, 如 OV-17; 高苯基硅氧烷, 如: OV-25 等。

③ 氰烷基硅氧烷: 属中等极性固定液。如: OV-210, QF-1 等, 该类最高使用温度为 250°C, 在强碱作用下易解聚, 故应使用酸洗硅烷化担体。

④ 氟烷基硅氧烷: 是一类极性很强、选择性很高、热稳定性很好的固定液之一。其中包括氟烷基硅油, 商品名为 XF-1150、XF-1125 等; 氟烷基硅橡胶, 商品名称为 XE-60、OV-225 等。

(3) 醇和聚醇类: 是能形成氢键的强极性固定液。如: 聚乙二醇(PEG)、甘油、季戊四醇等。聚乙二醇是应用广泛的一种固定液, 随分子量的不同, 极性有一定差别。商品名称中的数字(如: PEG-6000、Carbowax-20 M 等)代表其平均分子量。

在农药分析中常用的固定液见表 4-3。

3. 固定液的选择 试样分离得好坏, 以及分析水平的高低往往取决于固定液选择恰当

表 4-3 常用于农药测定的固定液

国外商品名称 或缩写	化学名称	极性*	最高使用 温度(°C)	常用溶剂
Apiezon L	饱和烃润滑脂	非	250—300	三氯甲烷、二氯甲烷、苯
Carbowax 20M	聚乙二醇-20M	极	225—250	三氯甲烷、二氯甲烷
DEGA	己二酸二乙二醇聚酯	中	190—200	三氯甲烷、二氯甲烷、丙酮
DEGS	丁二酸二乙二醇聚酯	极	190—200	丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯
DC-11	甲基硅酮	非	300	苯、乙酸乙酯
DC-200	甲基硅酮	非	250	甲苯、三氯甲烷、二氯甲烷
DC-710	苯基甲基硅酮	中	250—300	丙酮、三氯甲烷、二氯甲烷
Epon 1001	环氧树脂	极	225	热三氯甲烷、热二氯甲烷
QF-1	三氟丙基甲基硅酮	中	250	三氯甲烷、二氯甲烷、丙酮
NPGA	己二酸新戊二醇聚酯	中	225—240	丙酮、三氯甲烷、二氯甲烷
NPGS	丁二酸新戊二醇聚酯	中	225—240	三氯甲烷、二氯甲烷
Reoplex 400	己二酸丙二醇聚酯	中	190—200	丙酮、三氯甲烷、二氯甲烷
OV-1	甲基硅酮	非	350	三氯甲烷、甲苯
OV-17	苯基甲基硅酮	中	300—375	三氯甲烷、甲苯
OV-101	甲基硅酮	非	300—350	三氯甲烷
OV-210	三氟丙基甲基硅酮	中	275	三氯甲烷
OV-225	氟丙基苯基甲基硅酮	中	275	三氯甲烷
SF-96	甲基硅酮	非	250—300	三氯甲烷、二氯甲烷
SE-30	甲基硅酮	非	300—375	甲苯、热三氯甲烷、热二氯甲烷
SE-52	苯基甲基硅酮	中	300	甲苯、热三氯甲烷、热二氯甲烷
XE-60	氰乙基甲基硅酮	中	250—275	三氯甲烷、二氯甲烷、丙酮
Tween 80	聚氧乙撑山梨糖醇单油酸酯	极	150	苯、三氯甲烷、二氯甲烷
Versamid 900	聚胺树脂	极	250—275	热三氯甲烷-丁醇(1:1) 丁醇-苯酚(1:1) 或三氯甲烷-甲醇(87:13)

*极性：非=非极性，极=强极性，中=中等级性。引自参考文献[27]。

与否。不少色谱工作者，为了探索一项分析方法，往往要换 10—20 根色谱柱，甚至化费几个月时间摸索如何选择好固定液。虽色谱柱中的作用较为复杂，选用固定液有一定困难，但经过色谱工作者的长期实践已总结出利用“相似相溶”原理、流出规律、近邻技术、以实验方法，查阅文献资料手册、固定液选择表、计算机检索等方法，为选择固定液的大致原则。

在农药分析中，多用“相似相溶”原理和“以实验方法”选择固定液。

(1) “相似相溶”原理：“相似相溶”原理是根据被分离组分与固定液之间有某些相似性，如官能团、极性、化学性质相似，则组分在固定液上的溶解度大，分配系数就大，选择性就好；反之，溶解度小，分配系数小，选择性就差。

在气相色谱中常用“极性”来说明固定液和被测组分的性质。所谓极性分子，就是由电负性不同的原子所构成的分子，它的正电中心和负电中心不重合时，就形成具有正负极的极性分子。如果组分分子与固定液分子的极性相似，固定液和被测组分的分子间作用力就强，被测组分在固定液中的溶解度就大，分配系数就大。被测组分在固定液中溶解度或分配系数的大小与在两者分子之间相互作用之静电力、诱导力、色散力和氢键力的大小有关。

(2) 以实验方法：由李拉提出的 12 种固定液中找出最常用的固定液，进行实验测定。一般选用 4 种固定液制得 4 根色谱柱，安装在两台双气路的气相色谱仪上。试样分别在这四根色谱柱上，以适当的操作条件进行初步分离。观察未知试样分离情况。然后进一步按 12 种固定液的极性顺序和选用与其极性相近的常用于农药测定的固定液（表 4-3）进行适当调整或更换，以选择较好的固定液。

4 种固定液一般选择 SE-30、OV-17、PEG-20M、DEGS。

这种方法不仅在对试样的性质不甚了解的情况下，是一种比较简便而且实用的方法。既使是对已知样品也行之有效。

李拉建议的 12 种固定液见表 4-4。

表 4-4 李拉建议的 12 种固定液

序号	名 称	差异度(极性距离)D	最高使用温度(°C)
1	角鲨烷(烷烃)	0	150
2	SE-30(甲基硅酮)	100	350
3	OV-3(苯基甲基硅酮)	194	350
4	OV-7(苯基甲基硅酮)	271	350
5	DC 710(苯基甲基硅酮)	377	225—240
6	OV-22(苯基甲基硅酮)	488	350
7	QF-1(氰烷基硅酮)	709	250
8	XE-60(氰烷基硅酮)	821	275
9	聚乙二醇-20M	1052	225—250
10	DEGA(二乙二醇己二酸酯)	1269	190—200
11	DEGS(二乙二醇丁二酸酯)	1612	190—200
12	TCEP(四氰乙氧基季戊四醇)	1885	175

(四) 担 体

担体是承担固定液的固体材料。担体又称载体。把固定液涂渍在担体表面上，形成均匀薄膜，就构成气液色谱柱的填充物(Packing)。理论上，组分与固定液之间形成热力学的分配关系，与担体的性质无关。显然，没有担体就无法把固定液形成大的表面积。所以，担体是必不可少的一种色谱材料。

担体颗粒直径、担体颗粒均匀度、担体表面积的大小均为影响柱效的因素。担体表面的物理化学性质，担体的物理结构是影响色谱柱峰形拖尾的主要原因。所以，本章从如何提高柱效，减小峰形拖尾的角度来介绍担体的基本性质和改进方法。

1. 对担体的要求

(1) 比表面积大：即指单位重量的担体具有较大的表面积，一般指每克担体具有若干平方米表面积。比表面积大，它的柱效就高；

(2) 表面对溶质无吸附或吸附性很弱；

(3) 热稳定性好；

(4) 化学惰性：即与固定液或被分析组分不起任何化学反应；

(5) 颗粒大小尽可能均匀;

(6) 具有足够的机械强度。

2. 担体种类 色谱担体大致可分为两大类:

色谱担体 { 硅藻土担体、红色担体、白色担体和灰色担体。
非硅藻土担体: 聚四氟乙烯担体、玻璃微球等。

目前硅藻土型担体, 在气-液色谱中普遍大量使用, 农药分析中用非硅藻土型担体甚少。故本书仅就前者加以简介。

硅藻土担体很多, 商品有百余种。国内生产的硅藻土担体有十几种。国内外常用担体见表4-5。

表 4-5 国产的载体

名 称	组成性质或用途	生产工厂
101白色载体	以 Na_2CO_3 为助溶剂灼烧成的载体。一般极性化合物的分离	上试一厂
101白色硅烷化载体	用 HMDS 处理的101白色载体。分离高沸点极性化合物	上试一厂
201红色载体	加粘合剂烧结的硅藻土载体, 用于非极性和弱极性化合物的分离	上试一厂
102白色载体	以 NaCl 为助溶剂灼烧成的载体, 中性。与 Chromosorb.W. 相近	上试一厂
102白色硅烷化载体	用 HMDS 处理的102载体, 分离高沸点强极性化合物	上试一厂
201红色硅烷化载体	用 HMDS 处理的201载体	上试一厂
202红色载体	硅藻土保温砖载体, 用于弱极性和非极性化合物的分离	上试一厂
301釉化红色载体	用 B_2O_3 处理过的201红色载体, 用于极性物质的分离	上试一厂
302釉化载体	用于极性物质的分离	上试一厂
6201红色载体	适于分析非极性化合物	大连红光化工厂
6201红色硅烷化载体	经硅烷化处理的6201载体	大连红光化工厂
6201釉化载体	经硼砂釉化处理的6201载体	大连红光化工厂
405载体	与 Celite 类似的白色载体	大连红光化工厂
硅烷化的405载体	经硅烷化处理的405载体	大连红光化工厂

本表引自参考文献[11]。

3. 担体表面的活性 色谱峰的拖尾现象, 是色谱分析中经常遇到的问题。这种现象既影响柱效, 又影响保留值的测量与峰面积的计算, 所以解决峰形拖尾问题, 一直是色谱分析中必须研究的重要课题之一。

担体表面的活性是造成色谱峰形成拖尾的主要原因。理想的担体表面无论对组分或固定液都是完全惰性的。除了特氟隆担体之外, 对经常使用的硅藻土担体来说, 由于表面存在相当数量的硅醚基团($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$)和硅醇基团($-\text{Si}-\text{OH}$), 存在杂原子基团, 如 $>\text{Al}-\text{O}-$, $>\text{Fe}-\text{O}-$ 等基团, 担体偏酸性或偏碱性, 以及晶格不均匀性, 因而表面既有催化活性作用点, 又有吸附活性作用点。

(1) 形成氢键的活性作用点: 无论哪一种硅藻土担体, 其表面都存在硅醇基(硅羟基), 若被分离的组分为醇、醛、酮、酯等, 能造成峰形的拖尾。

(2) 酸性活性作用点: 这系指表面上的酸性氧化物杂质, 分离碱性胺类化合物时能引起峰形拖尾。

(3) 碱性活性作用点: 这系指表面上碱性氧化物杂质, 能引起酸性化合物、脂肪族和芳

表 4-6 国外常见的载体

名 称	组成及处理	产地①
Anakrom P	非酸洗的红色硅藻土载体	美国 AEL
Anakrom U	非酸洗的白色硅藻土载体	美国 AEL
Celite	白色硅藻土载体	J.M.
Celite 545	水洗后高温烧结的硅藻土载体	J.M.
Chromosorb A	供制备色谱用的白色硅藻土载体	J.M.
Chromosorb G	红白之间的硅藻土载体,机械强度高	J.M.
Chromosorb G AW	经酸洗的 Chromosorb G	J.M.
Chromosorb GAW-DMCS	DMCS 处理的 Chromosorb GAW	J.M.
Chromosorb PNAW	非酸洗的红色硅藻土载体	J.M.
Chromosorb PAW	酸洗的红色硅藻土载体	J.M.
Chromosorb PAW-DMCS	经 DMCS 处理的红色硅藻土载体	J.M.
Chromosorb W	白色硅藻土载体	J.M.
Chromosorb WAW	酸洗的 Chromosorb W	J.M.
Chromosorb WAW-DMCS	经硅烷化处理的 Chromosorb WAW	J.M.
Chromosorb WAW-DMCS-HP	高效白色硅藻土载体	J.M.
Chromosorb WHMDS	用 HMDS 处理的 Chromosorb W	J.M.
Gas Chrom A	酸洗的白色载体,比表面 $7-9\text{m}^2/\text{g}$	美国 ASL
Gas Chrom P	经醇碱溶液处理的 Gas Chrom A	美国 ASL
Gas Chrom Q	用 DMCS 处理过的 Gas Chrom P	美国 ASL

① J.M.——John-Manville London & New York; J.M.——John-Manville New York;

AEL.——Analytical Engineering Lab. Inc USA; ASL.——Applied Science Lab, Inc. USA.

引自参考文献[11]。

香族羧酸酚类等峰形拖尾。

由于担体表面活性作用点的存在,它与组分之间发生的不是溶解分配作用,而是吸附作用(不可逆吸附现象)。它的分配等温线是非线性的,它的峰形是拖尾的。

峰形拖尾程度与组分的酸性、碱性或氢键结合力有关。结合力越大,其拖尾程度越严重。组分为烃类、芳烃类化合物,无论采用哪一类担体,峰形几乎没有什么拖尾;组分为水、酸类、酚类等,拖尾极为严重;组分为醛类、酯类、醚类,拖尾较小。

峰形拖尾是一种色谱现象,它既可能是由于担体表面存在活性作用点而造成的,也可能是由于担体表面微孔结构而造成的。

担体表面的活性是造成色谱峰拖尾的主要原因。而表面活性则是由形成氢键的活性作用点、酸性活性作用点和碱性活性作用点等所引起,故为了改善峰形,担体需经去活性处理。

4. 担体表面的去活性处理 吸附活性作用点,不仅存在于担体表面上,还存在于金属或玻璃色谱柱的管壁以及其它联结管路的管壁上。通常在色谱柱两端填充的玻璃毛为 $1\text{m}^2/\text{g}$ 的比表面积。故峰形的拖尾主要是由担体所引起的。消除担体表面活性的方法,大致有以下几种:

(1) 酸洗法:采用盐酸法、冰醋酸法、硝酸法、硫酸法和磷酸法处理担体能除去担体表面上大部分 Al、Fe、Ca、Mg 的杂质,从而使表面活性显著下降。

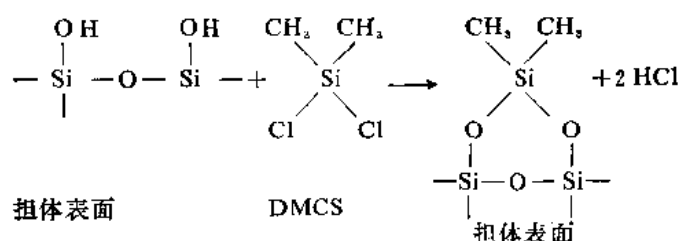
通常酸洗方法系用浓盐酸浸渍担体几个小时后,滤去盐酸,水洗至呈中性,然后用甲醇

或乙醇漂洗，烘干，备用。

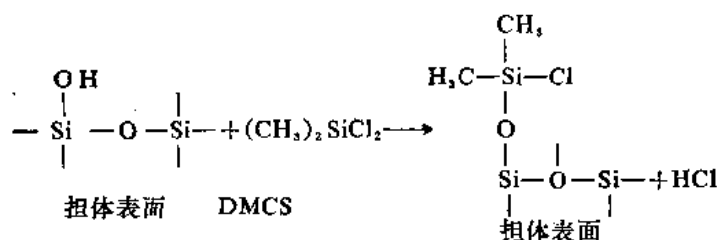
酸洗除去铁和铝杂质原子，可防止它们引起的催化作用。这对于分析天然产物如甾类、萜烯类以及亚硝基化合物很有意义。

(2) 碱洗法：一般用5%KOH-甲醇溶液浸泡，再用水冲至呈中性，烘干备用。碱洗目的是除去表面的 Al_2O_3 等酸性作用点。分析胺类等碱性化合物时，担体常用碱洗法处理，而非碱性物质，如酯类，有可能被碱洗后的担体分解。使用时应当予以注意。

(3) 硅烷化法：硅烷化法是改变担体表面硅醇基团的有效方法。用硅烷化试剂和担体表面的硅醇基团起反应，可以除去表面的氢键结合能力，从而可以改进担体的性能。常用硅烷化试剂有二甲基二氯硅烷(DMCS)和六甲基二硅胺(HMDS)。用 DMCS 硅烷化的办法一般是将担体浸泡于 DMCS 的甲苯溶液中，让其反应，然后用甲醇洗涤。反应式为：



如果担体表面不是存在两个相邻的羟基，而是存在一个羟基，则有如下反应：



在这种情况下，硅氯键($-\text{Si}-\text{Cl}$)的存在有可能形成氢键而具有活性；或者水解后又生成 $\text{Si}-\text{OH}$ 键，硅醇结构仍未能除去。此时若用甲醇洗涤，硅氯结构可能会与甲醇反应生成甲氧基衍生物而稳定存在。担体表面尚可用六甲基二硅胺试剂处理。

担体硅烷化处理过程中，切忌存在水。水的存在会降低硅烷化的效果。有时用 HMDS 处理过后，仍残留一些吸附作用点，若在 HMDS 中加入0.1%的聚乙二醇-400，这样处理效果就更佳。

(五) 色谱柱的制备

要制备一根分离效能较高的色谱柱，必须在担体上涂上一层薄而均匀的液膜，再把涂好的固定相均匀而紧密地装填到色谱柱管内。因此，固定液的涂渍和色谱柱的装填是色谱分析重要操作技术之一。这里主要介绍填充柱。

1. 色谱柱管的试漏和清洗 由于存放、运输等过程可能将色谱柱管沾污或损坏，使用前应将色谱柱进行试漏与清洗。

试漏的操作方法很简单，只要将柱管全部浸入水中，将其出口堵死，入口通入氮气(N_2)，在高于使用的操作压力下，以管壁没有气泡冒出为合格。

清洗的方法，因柱管的材料不同而异：

(1) 玻璃柱管：可注入洗液浸泡两次(必要时使用温热的清洗液，效果更好)，然后用自来水冲至中性，再用蒸馏水清洗。清洁的玻璃管内壁不应挂有水珠，否则还要用温热的洗液洗涤，洗后用自来水冲至中性，再用蒸馏水清洗，烘干后备用。

(2) 不锈钢柱管：可用5%—10%的热碱(NaOH 或 KOH)水溶液抽洗 4—5 次，以除去内壁的油污，然后用自来水冲洗至中性，再用蒸馏水清洗，烘干后备用。

(3) 已经用过的色谱柱：需要重换其固定相时，柱管也应当用相应的溶剂(如乙醚、乙醇、热碱液)依次洗涤，自来水冲至中性，然后用蒸馏水清洗，以除去柱管中的担体粉末及粘附在管壁上的固定液膜，烘干后备用。

2. 固定液的涂渍技术 为在担体上涂渍一层薄膜，首先，要选好能溶解固定液的溶剂，确保固定液完全溶解，不能有悬浮物，溶剂的本身不应造成检测器的污染；其次，由于载体强度不高，需避免在涂渍中因搅拌或过筛损坏液膜；第三，如果载体表面或其孔中存有空气，影响固定液渗入时，可以采用减压法，使固定液均匀涂敷在载体表面上。

下面介绍几种常用的涂渍方法：

(1) “常规”涂渍法：对配比大于5%以上(所谓配比，即固定液与担体的重量比)的固定液，可用“常规”法涂渍。其方法是：将一定量的固定液放置在一蒸发皿中，加入适量的溶剂，待固定液溶解后，再加入定量的载体。在一般实验室的条件下，固定液可借助溶剂作用涂敷在载体表面上。例如，10%鲨角烷固定相的制备即可采用“常规”涂渍法。在粗天平上称取3g的角鲨烷放在蒸发皿中，在通风柜中加入能保证完全浸没担体的乙醚溶剂，使3g的角鲨烷完全溶解后，再徐徐加入30g 60—80目的6201载体，固定液在溶剂的作用下涂敷在载体表面上。最后把涂渍上固定液的载体放在红外灯下轻轻搅拌，烘干并赶走溶剂。一般要求，烘干后的固定相基本上不应有溶剂气味，这样才可装入色谱柱老化后使用。

对于配比高的固定液，“常规”法完全可满足其涂渍要求，因为在高温老化时，固定液还有重新均匀分布的机会。但对于配比小于3%的固定液，由于固定液含量少，刚能铺盖其担体

表 4-7 各种载体与所需溶剂量

载 体	载体所需溶剂量/g
红色载体	1.5ml
白色载体	2.0ml

表面时，如果涂渍不均匀，老化也不能完全解决，只能采用下述两种方法涂渍。

(2) 抽空盘涂法：在蒸发皿或盘中，称取一定量固定液，加入适量的溶剂(合适的量可以按表 4-7 大致求出)，待其完全溶解后，再加入一定量的载体，将器皿置于真空干燥器中，接水泵抽空 5 min，然后取出放在通风柜中，

让溶剂自然蒸发或红外灯下烘干，不要搅拌也不要过筛。

例如，配制 20 g 红色担体的固定相，需要溶剂的量为 $20 \times 1.5 = 30 \text{ ml}$ 。

(3) 抽空蒸发法：将一定量的固定液置于圆底烧瓶中，加入适量溶剂，待完全溶解后加入一定量的担体。用旋转蒸发仪使溶剂蒸发至干，然后装柱使用。

3. 色谱柱的填充 固定相填充的好坏，直接影响柱效能。通常采用泵抽填充法，即把色谱柱的尾端(注意，即接检测器的那一端)塞上玻璃棉，再接真空泵，色谱柱的前端(即接气化室的那一端)接上一个漏斗。在真空泵的抽吸下，不间断地从漏斗中倒入要装的固定相，并不断轻轻敲打色谱柱管，直至固定相不再进入柱管为止。装好的色谱柱两头均应按要求堵

塞石英棉或硅烷化的玻璃棉,在不影响样品分析的条件下也可用清洁的铜网填塞。

4. 色谱柱的老化 装填好的色谱柱要进行老化处理后,才能接至检测器使用。老化的目的是:① 为了彻底除去固定相中残余溶剂和某些挥发性杂质,确保检测器不受污染,使之有较低的本底电流。② 进一步促使固定液均匀地、牢固地分布在载体表面上,可以提高柱效能。老化的方法是:把色谱柱接入载气气路系统(为安全起见,一般采用氮气作为载气,不可使用氢气),色谱柱的一端接在气化室上;另一端放空(不要接在检测器上,以免沾污),用与操作时相近的载气流速,略高于操作温度 $10-20^{\circ}\text{C}$ (但要低于固定液的最高使用温度)的条件下,通气 $4-8\text{ h}$ 甚至 24 h 。基本老化好后,再接上检测器检查。当记录仪基线平直以后,老化过程才算结束。

五、定性定量分析

(一) 气谱操作条件的选择

1. 色谱柱 色谱柱的选择总是整个分析工作中的中心工作。应针对试样的性质与要求选择柱长、柱材料、担体、固定液及吸附剂等,其中以固定液的选择为主。

固定相(包括固定液)选择的理论问题:从宏观上来说它属于热力学的问题,即要求被分离的两个组分的分配系数相差比较大。分配系数(K)又与组分纯态时的蒸气压 P^* 和活度系数 γ 有关,可用公式表示如下:

$$\alpha_{1,2} = \frac{K_2}{K_1} = \frac{\gamma_2 \cdot P_2^0}{\gamma_1 \cdot P_1^0}$$

$\alpha_{1,2}$ 为二个组分的选择性系数,注脚号 $1,2$ 为组分的编号。 $\alpha_{1,2}$ 值愈大,该固定相对组分的分离效果愈好。

2. 柱温的选择 大多数色谱柱是在等温下操作的。柱温的选择直接影响分析时间,在多数情况下,柱温升高,分析时间缩短;但柱温升高,经常引起柱的分离能力降低,因此实际选择柱温时应该兼顾这两个方面。此外,还应考虑在过高温度下固定液会因挥发而流失,以及在过低温度下固定液相态变化等问题。

3. 气化温度 进样后要有足够的气化温度,使液体试样迅速气化后被载气带入柱中。在保证试样不分解的情况下,适当提高气化温度对分离及定量有利,尤其当进样量大时更是如此。一般选择气化温度比柱温高 $30-70^{\circ}\text{C}$ 。

4. 流速的选择 根据色谱动力学理论,流速有一个最佳值,此时柱的分离效率最高。离开最佳值,其分离效率就下降。对于大多数试样来说,为了保证快速分析,经常选择较高的流速,但当采用热导检测器时,为了检测低含量的组分,有时采用低流速。通常流速选用范围在 50 ml/min 左右。

5. 试样用量的选择 应根据试样的状况与分析的要求来选择试样的用量,对痕量分析或纯度分析,为了显示检测器的信号,试样用量要较大;为了有利于瞬间气化,用量要减小。选择试样用量还应注意检测器的线性范围。

在实用上,若试样含有 $2-20$ 个组分,其浓度范围为 $0.1\%-100\%$,则一般液体试样用量为 $3-10\text{ }\mu\text{l}$,气体试样为 $0.3-10\text{ ml}$,固体试样为 $3-10\text{ mg}$,溶解在尽可能小量的溶剂中。

(二) 样 品 制 备

农药品种多, 剂型多, 检样复杂。在气相色谱分析中, 样品制备除应按一般化合物考虑外, 尚需注意农药制剂以下的特殊要求:

1. **提取溶剂** 选用之提取溶剂, 必须保证能把农药有效成分从检测对象中提取完全。在农药制剂中, 粉剂、可湿性粉剂、毒饵和颗粒剂的填料或辅助剂, 都有很强的吸附性, 选用合适的提取溶剂, 甚为重要。例如: 用甲醇或二氯甲烷提取粉剂中的有机磷农药, 比用正己烷、异辛烷效率为高。

2. **稀释溶剂** 选用乳剂、超低量油剂等稀释所用之溶剂时, 必须注意其要与有效成分能充分溶解, 并且在气谱上出峰快, 返回基线快。例如: 乳剂常用二氯甲烷, 油剂常用正己烷。

3. **溶剂的化学性质与规格** 溶剂的化学性质要稳定, 不应因其与制剂中的成分反应而影响测定结果。在试剂规格上, 应使用分析纯试剂, 以减少干扰, 若出现杂质峰时, 该峰必须与农药及内标物的峰分离。

4. **提取方法** 可用过沪、柱层析等多种方法, 但不能加热提取, 以免农药分解。

(三) 定 性 分 析

用气相色谱法进行定性分析, 长期以来经色谱工作者的努力建立了许多新方法和辅助技术, 使其在定性方面有了很大进展。在农药分析中, 常利用双柱或多柱、选择性检测器与化学方法相结合等方法进行定性分析或农药确证。虽仍有不足之处, 但近年来气谱与质谱、光谱等联用, 既充分利用了色谱的高效分离能力, 又利用了质谱、光谱的高鉴别能力, 再加电子计算机对数据的快速处理及检索, 为未知物的定性分析打开了一个广阔的前景。

1. **根据色谱保留值进行定性分析** 已如前述, 各种物质在一定的色谱条件(固定相、操作条件)下均有固定不变的保留值, 因此保留值可作为一种定性指标, 是最常用的色谱定性方法。这种方法应用简便, 但由于不同化合物在相同的色谱条件下, 往往具有近似或甚至完全相同的保留值, 因此这种方法的应用有很大的局限性。其应用仅限于当未知物通过其它方法(如来源, 其它定性方法的结果等)已被确定可能为某几个化合物或属于某种类型时作最后的确证; 其可靠性不足以鉴定完全未知的物质。

这种方法的可靠性与色谱柱的分离效率有密切关系。只有在高的柱效下, 其鉴定结果才可认为有较充分的根据。为了提高可靠性, 应采用重现性较好和较少受到操作条件影响的保留值。保留时间(或保留体积)由于受柱长、固定液含量、载气流速等操作条件的影响较大, 因此一般宜采用仅与柱温有关, 而不受操作条件影响的相对保留值作为定性指标。

对于较简单的多组分混合物, 如果其中所有待测组分均为已知。它们的色谱峰也能一一分离, 则为了确定各个色谱峰所代表的物质, 可将各个保留值与相应的标准样品在同一条件下所测得的保留值进行对照比较。

但更多的情况是需要对色谱图上出现的未知峰进行鉴定。首先充分利用对未知物了解的情况(如来源, 性质等)估计出未知物可能是哪几种化合物。再从文献中找出这些化合物在某固定相上的保留值, 与未知物在同一固定相的保留值进行粗略比较, 以排除一部分, 同时保留少数可能的化合物。然后将未知物与每一种可能化合物的标准样品在相同的色谱条件下进行验证, 比较两者的保留值是否相同。

如果两者(未知物与标准样品)的保留值相同,但峰形不同,仍然不能认为是同一物质。进一步的检验方法是两者混合起来进行色谱实验。如果发现有新峰或在未知峰上有不规则的形状(例如峰略有分叉等)出现,则表示两者并非同一物质;如果混合后峰增高而半峰宽并不相应增加,则表示两者很可能是同一物质。

应注意,在一根色谱柱上用保留值鉴定组分有时不一定可靠,因为不同物质有可能在同一色谱柱上具有相同的保留值。所以应采用双柱或多柱法进行定性分析。即采用两根或多根性质(极性)不同的色谱柱进行分离,观察未知物和标准样品的保留值是否始终一致。

保留指数,又称 Kovats 指数,是一种重现性较其它保留数据都好的定性参数,可根据所用固定相和柱温直接与文献对照而不需标准样品。(详见气谱专著)

2. 与其它方法结合的定性分析法

(1) 与质谱、红外光谱等仪器联用:较复杂的混合物经色谱柱分离为单组分,再利用质谱、红外光谱或核磁共振等仪器进行定性鉴定。其中特别是气相色谱和质谱的联用,是目前解决复杂未知物定性问题的最有效工具之一。

(2) 与化学方法配合进行定性分析:带有某些官能团的化合物,经一些特殊试剂处理,发生物理变化或化学反应后,其色谱峰将会消失或提前或移后,比较处理前后色谱图的差异,就可初步辨认试样含有哪些官能团。使用这种方法时可直接在色谱系统中装上预处理柱。如果反应过程进行较慢或进行复杂的试探性分析,也可使试样与试剂在注射器内或其它小容器内反应,再将反应后的试样注入色谱柱。

3. 利用检测器的选择性进行定性分析 不同类型的检测器对各种组分的选择性和灵敏度不同。例如热导池检测器对无机物和有机物都有响应,但灵敏度较低;氢焰离子化检测器对有机物灵敏度高,而对无机气体、水分、二硫化碳等响应很小,甚至无响应;电子捕获检测器只对含卤素、氧、氮等电负性强的组分有高的灵敏度。又如火焰光度检测器只对含硫、磷的物质有讯号。利用不同检测器具有不同的选择性和灵敏度,可以对未知物大致分类定性。

(四) 定量分析

气相色谱分析方法的特点是简便、灵敏、准确度较高,故适于定量分析。该法定量分析的根据是:被测组分的重量或该组分在载气中的浓度与色谱图上的峰面积或峰高成正比。常用的定量方法为归一化法、内标法、外标法等。

在农药分析中,因制剂分析对准确度、精密度要求较高,故多用内标法;而残留分析因检测含量极微,故对准确度、精密度较制剂要求为低,多用操作简单、计算方便的外标法。

1. 定量方法

(1) 归一化法:某组分的百分含量 $P_i\%$, 等于该组分的色谱峰面积 A_i 乘上相对校正因子 f'_i , 并除以各组分色谱峰的面积与相应组分的相对校正因子的乘积之总和。可用公式表示如下:

$$P_i = \frac{A_i f'_i}{\sum A_i f'_i} \times 100\%$$

式中: $\sum A_i f'_i = A_1 f'_1 + A_2 f'_2 + \cdots + A_i f'_i + \cdots + A_n f'_n$

若式中,采用相对质量校正因子 f'_m , 则 P_i 为组分的质量百分率。

若式中,采用相对摩尔校正因子 f'_n , 则 P_i 为组分的摩尔百分率。

若采用相对质量响应值 S'_i , 则上式改写为:

$$P_i = \frac{A_i/S'_i}{\sum A_i/S'_i} \times 100\%$$

归一化法计算要求已知每一个组分的定量校正因子，它可通过查阅手册、查阅原始文献获得或自行测定。

归一法定量的优点：一般来说，操作条件对定量结果影响不大；进样量的多少并不影响定量的准确性；归一化法适用于各组分含量属常量范围的样品。

归一法定量的局限性：当被分析样品中含有高沸点的组分时，在一定时间内该组分不能从色谱柱流出；或某组分在检测器上没有响应，例如在氢火焰离子化检测器上无机气体、水等响应极小；测定低含量尤其是微量杂质组分时，误差较大，这些情况下一般不宜采用归一化法定量计算。

(2) 内标法：若测定样品中某一组分或某几个组分的含量，可以把一定量的某一种纯物质，加入到样品内作为内标物，然后进行色谱定量计算。

内标物的选择：内标物必须能完全溶解于样品中，同时它的色谱峰能完全与被测组分分开；内标物峰的位置尽可能靠近被测组分的峰；内标物应该是色谱纯试剂，如果所用的内标物中含有杂质，必须预先测定内标物的准确含量；杂质峰不得干扰被测组分峰；内标物应与被测组分不发生化学作用。

方法的优点：定量结果比较准确，操作条件与进样量对分析结果影响不大，亦适用于低含量的组分定量。不受归一化法使用上的局限。

主要缺点是每次需要用分析天平准确地称出内标物和样品的质量，使工厂日常分析使用很不方便，其次，在样品中加入一个内标物，显然分离度比原样品要求更高。

计算方法为：通过测出内标物的峰面积和欲测定组分的峰面积后，计算该组分的含量。计算公式推导如下：

设：内标物的质量为 m_{si} ；原始被分析样品的质量为 m ；两者比值定义为

$$K = \frac{m_{si}}{m}$$

因为

$$P_i = \frac{m_i}{m} \times 100\%$$

所以

$$p_i = \frac{m_i}{m_{si}} \times K \times 100\%$$

式中： m_i/m_{si} 为试样中被测组分 i 与内标物 s 的质量之比。

$f'_i = m_i \cdot A_{si} \cdot A_i$ ，代入式得：

$$p_i = \frac{A_i}{A_{si}} \times f'_i \times K \times 100\%$$

式中： A_i 、 A_{si} 分别为被测组分和内标物的峰面积。

例：某工厂生产有机磷农药，要求测定其中杂质含量。

内标法定量计算：从天平上称量得样品质量 m 为 10.000g。内标物的质量 m_{si} 为 0.020g。二者的比值 K 为 2/1000；测得峰 1(杂质峰)的峰面积 A_i 为 0.16cm²， $f'_i = 0.85$ ；内标物峰面积 A_{si} 为 0.12cm²， $f'_{si} = 1.00$ ；求杂质含量。

$$\text{杂质} = \frac{0.85 \times 0.16}{1.00 \times 0.12} \times \frac{2}{1000} \times 100\% = 0.23\%$$

杂质的质量百分含量为 0.23%。

(3) 外标法：本方法系用配制已知浓度的标准样进行色谱分析，以各组分的峰高或峰

面积和与其相对应的浓度作标准曲线，然后在与标准试样测定时同样的操作条件分析试样并与标准样进行比较。根据试验结果，从标准曲线中计算出试样的浓度。工厂的日常控制分析，较多采用这种方法。

$$p_i = A_i k_i \times 100\%$$

式中： P_i ——样品中组分 i 的百分含量；

A_i ——组分 i 的峰面积；

K_i ——组分 i 的单位峰面积百分含量校正值。

如以峰高定量，则把式中面积 A_i 换成峰高 h_i ， k_i 需另行换算。

外标法的优点：操作简单和计算方便，分析结果的准确性主要取决于进样量的重复性和操作的稳定性。

对于液体样品，目前大多采用微量注射器进样，用 $10\mu\text{l}$ 注射器进样时能差 $0.02\mu\text{l}$ 或更多一些。液体进样量的误差常常是这种方法的误差来源之一。

外标法的缺点：若仪器和操作条件不稳定时，对结果影响很大。为此，需要用标准样及时校正。

各种定量方法的比较见表4-8。

表 4-8 各种定量方法的比较

项 目	归一化法	内 标 法	外 标 法
计算公式	$P_i = \frac{A_i f'_i}{\sum A_i f'_i} \times 100\%$	$P_i = \frac{A_i f'_i}{A_{s_i} f'_{s_i}} \times K \times 100\%$	$P_i = A_i K_i \times 100\%$
适用范围	适用于常量分析，试样中全部组分流出	适用于微量组分的精确定量等	适用于工厂常规分析
优 点	操作条件对结果影响不大	结果较精确，对操作条件要求不严	快速方便
缺 点	测定低含量和微量杂质时，误差较大，不宜采用	每次分析，要求称量较为麻烦，需要纯内标物	操作条件对结果影响较大。需要纯的外标物
对检测器线性要求	高	低	低
对组分要求	全部组分流出都有响应	被测组分与内标物流出，并有响应	被测组分流出有响应

表 4-9 气谱法测各类农药常用的内标物

农药中文名称	英文名称	内 标 物
杀虫剂		
1 敌敌畏	dichlorvos	联苯
2 久效磷	monocrotophos	苯二甲酸二(2-乙基)己酯
3 磷 胺	phosphamidon	邻苯二甲酸二正丁酯
4 治螟磷	sulfotep	
5 甲基对硫磷	parathion-methyl	邻苯二甲酸二丙烯酯
6 对硫磷	parathion	邻苯二甲酸二丙烯酯 邻苯二甲酸二戊酯
7 杀螟硫磷	fenitrothion	茴香
8 倍硫磷	fenthion	十八碳烷
9 甲基嘧啶硫磷	pirimiphos-methyl	十八碳烷

表 4-9(续1)

农药中文名称		英文名称	内 标 物
杀虫剂			
10	二嗪磷	diazinon	蚩葱, 邻苯二甲酸二丁酯 邻苯二甲酸二正丁酯
11	喹恶硫磷	quinalphos	邻苯二甲酸二正丁酯
12	辛硫磷	phoxim	十八碳烷
13	乐果	dimethoate	蚩葱
14	氧化乐果	omethoate	磷酸三苯酯
15	甲拌磷	phorate	二十二碳烷
16	灭克磷	ethoprop	666, 邻苯二甲酸二丙烯酯
17	马拉硫磷	malathion	邻苯二甲酸二丙烯酯
18	稻丰散	phenthoate	邻苯二甲酸二正丁酯
19	伏杀磷	phosalone	磷酸三苯酯
20	甲胺磷	methamidophos	磷酸三丁酯
21	乙酰甲胺磷	acephate	蚩葱
22	三氯杀螨砜	tetradifon	磷酸三苯酯
23	杀虫脒	chlordimeform	反式芪
24	虫螨脒	amitraz	二十四碳烷
25	溴螨酯	bromopropylate	邻苯二甲酸二甲酯
26	克螨特	propargite	二十二碳烷
27	杀灭菊酯	fenvalerate	邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二癸酯
28	分扑菊酯	fenpropathrin	磷酸三苯酯
29	氯氰菊酯	cypermethrin	邻苯二甲酸二(2-乙基己基酯) 邻苯二甲酸二环己酯
30	溴氰菊酯	decamethrin	邻苯二甲酸二(2-乙基己基酯)、氯氰菊酯
杀菌剂			
1	叶枯净	phenazine	邻苯二甲酸二正丁酯
2	乙嘧酚磺酸酯	bupirimate	二十四碳烷
3	三唑酮	triadimefon	邻苯二甲酸二异丁酯
4	三环唑	tricyclazole	三氯杀螨砜, 邻苯二甲酸二正辛酯
5	丙环唑	propiconazol	二十二碳烷
6	稻瘟灵	isoprothiolane	二十二碳烷, 邻苯二甲酸二正丁酯
7	四氯苯砒	phthalide	十八碳烷
8	百菌清	chlorothalonil	邻苯二甲酸二正丁酯
9	异稻瘟净	IBP	邻苯二甲酸二丙烯酯
10	克瘟散	edifenphos	磷酸三苯酯
11	二甲菌核利	procymidone	蚩葱
12	甲霜灵	metaxyl	十八碳烷
除草剂			
1	2,4-滴丁酯	2,4-D butylate	邻苯二甲酸二正丁酯
2	丁草胺	butachlor	蚩葱, 磷酸三苯酯
3	甲草胺	alachlor	十八碳烷, 邻苯二甲酸二戊酯
4	敌稗	propanil	十八碳烷

表 4-9(续2)

农药中文名称	英文名称	内 标 物
除草剂		
5 氟乐灵	trifluralin	反式芪
6 野麦畏	triallate	邻苯二甲酸二异丁酯
7 灭草猛	vernolate	十八碳烷
8 杀草丹	benthiocarb	邻苯二甲酸二异丁酯
9 扑草净	prometryne	邻苯二甲酸二丙酯
10 恶草酮	oxadiazon	蜚萘

①引自 A.O.A.C 1925—1986; ② 引自姜淑秀, 气相色谱教材(内部资料), 1989, 农药检定所。

表 4-10 农药制剂分析所用内标物的相对保留时间

内标剂	160°C (3%OV-1)		180°C (3%OV-1)		200°C (3%OV-1)	
	保留 时间	相 对 保留时间	保留 时间	相 对 保留时间	保留 时间	相 对 保留时间
邻苯二甲酸二甲酯	1.2	0.14	0.7	0.17	—	—
邻苯二甲酸二乙酯	2.0	0.23	1.1	0.27	—	—
二苯甲酮	2.4	0.28	1.3	0.32	—	—
邻苯二甲酸二丙酯	3.4	0.40	1.7	0.41	0.9	0.43
苯酸苄酯	4.0	0.47	2.0	0.49	1.1	0.52
邻苯二甲酸二异丁酯	6.1	0.71	2.7	0.66	1.4	0.67
邻苯二甲酸二正丁酯	8.9	1.0	3.7	0.90	1.8	0.86
毒死蜱	8.6	1.0	4.1	1.0	2.1	1.0
三苯甲烷	9.8	1.3	4.4	1.1	2.2	1.0
邻苯二甲酸二戊酯	18.9	2.2	7.3	1.8	3.3	1.6
邻苯二甲酸二苯基酯	—	—	21.6	5.3	8.4	4.0
邻苯二甲酸二辛酸酯	—	—	—	—	11.9	5.7

注: ①相对保留时间: 毒死蜱为1.00; ②引自参考文献[27]。

表 4-11 农药制剂分析所用内标物的相对保留时间

内标剂	160°C (3%OV-225)		180°C (3%OV-225)		200°C (3%OV-225)	
	保留 时间	相 对 保留时间	保留 时间	相 对 保留时间	保留 时间	相 对 保留时间
邻苯二甲酸二甲酯	2.8	0.20	1.4	0.21	0.7	0.23
邻苯二甲酸二乙酯	4.3	0.31	2.0	0.30	1.0	0.32
二苯甲酮	4.8	0.35	2.3	0.35	1.1	0.35
苯酸苄酯	7.4	0.54	3.3	0.50	1.6	0.52
邻苯二甲酸二丙酯	8.1	0.59	3.4	0.52	1.6	0.52
邻苯二甲酸二异丁酯	10.1	0.73	4.2	0.64	1.8	0.58
邻苯二甲酸二正丁酯	16.0	1.2	6.3	0.95	2.7	0.87
三苯甲烷	14.8	1.1	6.1	0.92	2.7	0.87
毒死蜱	13.8	1.0	6.6	1.0	3.1	1.0
邻苯二甲酸二苯基酯	32.4	2.3	11.9	1.8	4.8	1.5
邻苯二甲酸二辛酸酯	—	—	36.4	5.5	12.8	4.1

注: ①相对保留时间: 毒死蜱为1.00; ②引自参考文献[27]。

表 4-12 一些农药的气相色谱法 (AOAC法)

顺号	通用名	中文名	方法概要	适用范围
1	allethrin	丙烯菊酯	FID; 柱: 5%OV-1/chrom W-HP 80-100 目, 1.2 m × 4 mm; 内标物: 邻苯二甲酸二丁酯(溶剂: 丙酮)	d-trans-allethrin 右旋-反式-丙烯菊酯制剂分析
2	benfluralin	乙丁氟灵	FID; 柱: 5%DC-200/chrom W-HP 80-100 目, 1.5 m × 3.2 mm; 内标物: 邻苯二甲酸二异丁酯(溶剂: 丙酮)	乙丁氟灵、氟乐灵制剂分析
3	gamma-BHC (Lindane)	林丹	FID; 柱: 7.5%OV-210/chrom W-HP 100-120 目, 1.83 m × 2 mm; 内标物: 邻苯二甲酸二丙酯	CIPAC-AO-AC法, 用于六六六原药、制剂和林丹分析
4	bromoxynil octanoate	辛酰溴苯腈	FID; 柱: 10% SP-2100/su-pelcoport 100-120 目, 1.8 m × 2 mm; 内标物: 正一二十二碳烷(溶剂: 氯仿)	制剂分析
5	butylate	丁草特	FID; 柱: 3%OV-17/chrom Q 60-80 目和 3% SE-30 或 OV-1/chrom Q 60-80 目, 1.8 m × 6.3 mm; 内标物: 菌达灭、环草特、克草猛(溶剂: 二硫化碳-氯仿-甲醇 80+15+5)	用于硫代氨基甲酸酯类农药菌达灭 EPTC、丁草特 butylate、禾草特 molinate、环草特 cycloate、灭草猛 vernolate 和克草猛 Pebulate 的制剂分析
6	captan	克菌丹	FID; 柱: 3% XE-60/chrom G AW-DMCS, 1.5 m × 6.3 mm; 内标物: 狄氏剂(溶剂: 1,4-二氧六环)	AOAC-CIP-AC法, 用于制剂分析
7	cycloate	环草特	FID; 柱: 3% OV-17/chrom Q 60-80 目和 3% SE-30 或 OV-1/chrom Q 60-80 目, 1.8 × 6.3 mm; 内标物: 菌达灭、丁草特、克草猛(溶剂: 二硫化碳-氯仿-甲醇 80+15+5)	用于硫代氨基甲酸酯类农药: 菌达灭 EPTC、丁草特 butylate、禾草特 molinate、环草特 cycloate、灭草猛 vernolate 和克草猛 pebulate 的制剂分析
8	DCPA	敌稗	FID; 柱: 10% 硅酮 UC-98/Di-atoport S 80-100 目, 1.8 m × 3.2 mm; 内标物: 六氯苯 (HCB) (溶剂: 苯-丙酮)	制剂分析
9	diazinon	二嗪磷	FID; 10% DC-200/chrom Q 80-100 目, 1.8 m × 4 mm; 内标物: 艾氏剂(溶剂: 丙酮)	AOAC-CIP-AC法, 用于三嗪类制剂分析
10	dichlobenil	敌草腈	FID; 柱: 10% Carbowax 20M/chrom P AW-DMCS 100-120 目, 1.8 m × 3 mm; 内标物: 十四酸甲酯(溶剂: 二氯乙烷-乙醚 (1+1))	CIPAC-AO-AC法, 用于制剂分析

表 4-12 (续1)

顺号	通用名	中文名	方法概要	适用范围
11	endosulfan	硫丹	FID; 柱: 10% OV-210/chrom W HP 80—100目, 1.5m×3mm; 内标物: 邻苯二甲酸二己酯(溶剂: 甲苯)	CIPAC-AO-AC 法, 用于制剂分析
12	fentin	三苯基锡类	FID; 柱: 5%SE-30/chromW-HP(chromQ)100—120目, 1.5m×3mm; 内标物: 二十二碳烷(溶剂: 甲苯)	CIPAC-AO-AC 法, 用于三苯基锡类一代森锰混合制剂中三苯基锡类的分析
13	fluazifop-butyl	吡氟禾草灵	FID; 柱: 3%OV-17/chromW-HP 100—120目, 1.8m×2mm; 内标物: 丁二酸二苄酯(溶剂: 二氯甲烷)	用于原药和制剂分析
14	methyl parathion	甲基对硫磷	FID; 柱: 1.5% SE-30+1.5% OV-210/chrom Q 80—100目, 1.2m×4mm; 内标物: <i>p,p'</i> -DDE(溶剂: 二硫化碳)	制剂分析
15	metribuzin	噻草酮	FID; 柱: 3%OV-225/chrom Q 80—100目, 1.2m×2mm; 内标物: 邻苯二甲酸二(正)丁酯(溶剂: 二氯甲烷)	用于原药和制剂分析
16	molinate	禾草特	FID; 柱3%OV-17/chrom Q和3%SE-30或OV-1/chrom Q 60—80目, 1.8m×5.3mm; 内标物: 丁草特、环草特、克草猛(溶剂: 二硫化碳-氯仿-甲醇 80+15+5)	参见本表顺号7 环草特。
17	N-octyl bicycloheptene dicarboximide	增效胺	FID; 柱: 5%OV-1/chrom W-HP 80—100目, 1.2m×4mm; 内标物: 邻苯二甲酸二丁酯(溶剂: 丙酮)	用于原药和制剂分析
18	parathion	对硫磷	FID; 柱: 1.5% SE-30+1.5% OV-210/chrom Q 80—100目, 1.2m×4mm; 内标物: 邻苯二甲酸二戊酯(溶剂: 二硫化碳)	制剂分析
19	PCNB (quintozene)	五氯硝基苯	FID; 柱: 5%SE-30/chrom W DMCS 80—100目, 1.8m×4mm; 内标物: 邻-三联苯(溶剂: 氯仿)	制剂分析
20	piperonyl butoxide	增效醚	FID; 柱: 5%OV-101(5%OV-1)/chromW-HP80—100目, 1.22m×4mm; 内标物: 邻苯二甲酸二环己酯(溶剂: 丙酮)	用于增效醚和除虫菊制剂分析
21	pirimicarb	抗蚜威	FID; 柱: 10% SE-30/chrom W-HP, 1.8m×2mm; 内标物: 十九碳烷(溶剂: 氯仿)	用于原药和制剂分析
22	pyrethrins	除虫菊素	见增效醚分析方法	同增效醚
23	terbuthylazine	特丁津	FID; 柱: 3%Carbowax K 20 M/chrom Q 80—100目, 1.8m×2mm; 内标物: 邻苯二甲酸二(正)戊酯(溶剂: 二氯甲烷)	CIPAC-AO-AC 法, 用于制剂分析

表 4-12 (续2)

顺号	通用名	中文名	方法概要	适用范围
24	trifluralin	氟乐灵	见乙丁氟灵分析方法	同乙丁氟灵
25	metolachlor	异丙甲草胺	FID; 柱: 3%OV-101/chrom Q 80—100目, 1.83m×2mm; 内标物: 邻苯二甲酸二戊酯(溶剂: 丙酮)	AOAC-CIP-AC 试行法, 用于制剂分析
26	alachlor	甲草胺	FID; 柱: 10%SP-2250/Supel-coport 100—120目, 1.83m×2mm; 内标物: 邻苯二甲酸二戊酯(溶剂: 丙酮)	试行法, 用于制剂分析
27	fenitrothion	杀螟硫磷	FID; 柱: 3.0%PPE-6R/chrom W-HP 100—120目, 1.83m×2mm; 内标物: 萤蒎(溶剂: 氯仿)	试行法, 用于原药和制剂分析
28	chlordimeform	杀虫脒	FID; 柱: 3%CBWX-20 M/chrom Q 80—100目, 1.83m×2mm; 内标物: 对苯二酸二乙酯(溶剂: 二氯甲烷)	AOAC-CIP-AC 试行法, 用于制剂分析
29	cypermethrin	氯氰菊酯	FID; 柱: OV-1, 25m×0.32mm 毛细管玻璃柱; 分流比: 72.6:1; 内标物: 邻苯二甲酸二环己酯(溶剂: 二氯甲烷)	试行法, 适于制剂分析

2. 农药分析中的内标物 在农药分析中, 为了提高气相色谱法的准确度和精密度, 经常使用内标物, 特别是在制剂分析中, 更为需要。内标物的选择是根据农药的性质, 杂质及所用的溶剂而定。早期以常用农药为内标物, 近期已不再提倡使用。目前选用的为随分子量增加而沸点升高的邻苯二甲酸酯系列和正碳烷系列为内标物。现把各类农药常用的内标物和一些内标物在典型非极性柱和极性柱上的相对保留时间列于表 4-9, 4-10, 4-11 中, 供选用内标物时参考。

3. 有参考价值的气谱法 AOAC 分析方法是美国的公定分析方法, 也是许多国家经常采用的方法。现将一些有参考价值的气谱法列表 4-12 中。

六、色-质联用分析(GC-MS)

(一) 概 述

现代分析, 要求仪器灵敏度高, 鉴别能力强, 分析速度快, 分析范围广等。但目前还没有一种仪器能满足这些需要, 而往往是各据特点, 相互补充。对于一个复杂的多组分混合物的分析, 往往需要用两种或两种以上分析方法才能有效解决。仪器联用, 是现代分析仪器发展的趋势之一。

GC-MS 联用技术于 50 年代后期开始研究, 60 年代后期出现商品仪器, 不久即成为剖析复杂未知物的最有效手段之一, 广泛应用于石油、化工、医药、生化、农药、环境科学等

许多方面。

气相色谱法特点是分离能力强、灵敏度高、定量准、设备操作简便，适于做多组分混合物的定量分析。但对复杂混合物的定性分析，如果设有纯样品，就很难对未知峰做出定性鉴定；即使有纯样品有时也可能会由于组分复杂，两个组分保留时间相近分不开而得出错误的判断。这是用气谱法定性的局限性。

质谱法的特点是鉴别能力强、灵敏度高、响应速度快，适于做单一组分的定性分析。但对复杂的多组分混合物的定性鉴定却无能为力，质谱定量也不易得到满意的结果。

显然，如果把色谱和质谱联合起来，那就不仅可以发挥两种方法的长处，弥补两种方法的短处，还可以取得单独方法无法得到的数据。其优点是：

(1) 气相色谱仪是质谱的理想“进样器”，试样经色谱法分离后以纯物质形式进入质谱仪，就可充分发挥质谱法的特长。

(2) 质谱仪是气相色谱法的理想“检测器”，色谱法所用的检测器如氢焰、热导、电子捕获检测器等都有局限性，而质谱仪几乎能检出全部化合物，灵敏度又很高。

所以，色谱-质谱联用技术既发挥了色谱法的高分离能力，又发挥了质谱法的高鉴别能力。这种技术适用于作多组分混合物中未知组分的定性鉴定；可以判断化合物的分子结构；可以准确地测定未知组分的分子量；可以修正色谱分析的错误判断；可以鉴定出部分分离甚至未分离的色谱峰等等，因此日益受到重视，现在几乎全部先进的质谱仪器都具有进行联用的气相色谱仪，并配有电子计算机。

(二) 工 作 原 理

GC-MS联用工作原理是：随载气从色谱柱出来的样品，经过简单的分流引入部分馏分进入质谱计；或通过分子分离器除去载气，将样品分子导入质谱计。质谱计离子源中残余载气电离，构成本底讯号，样品分子电离，生成各种质谱离子。在离子源出口处设置一个总离子流(totallion current, TIC)检测电极，收集部分离子，它相当于气相色谱一个离子化检测器，记录质谱总离子流色谱图。大部分样品离子进入质量分析器，得到各组分相应质谱图。

1. GC-MS 直接联用 将气相色谱流出物直接导入质谱离子源，在两者联接处产生从760 Torr到 10^{-3} — 10^{-5} Torr的压力降。对于填充柱，一般在柱子出口接一个简单的分流装置，色谱流出物分成两部分，将质谱计真空系统抽气速率容许的一部分导入离子源，其余部分导入气相色谱检测器或放空。现代质谱计装有高抽速(约1500 L/s)真空泵，对于色谱柱出口流速 <10 ml/min，不经分流能直接联用。因此，毛细管柱能直接与MS联用；填充柱在低载气流速时亦可直接联用。

2. 分子分离器 分子分离器也称为接口，是GC-MS联用仪器的重要组成部分，主要技术要求：一是使气相色谱仪出口压力适应质谱计真空条件需要；二是提高样品/载气比。

下面以中国科学院仪器厂生产的SZ-1型色谱-质谱仪为例，具体说明其工作原理。

图5-19是SZ-1型色谱-质谱联用仪工作原理图，它是由色谱仪、分子分离器和质谱仪组成。混合物样品(包括A、B、C三种组分)注入色谱仪气化室后，样品被加热气化，由载气(氮)带入色谱柱中，经过色谱柱后，组分A、B、C得到分离。从色谱柱出来的被分离组分，不能直接进入质谱仪，因为色谱是常压操作。

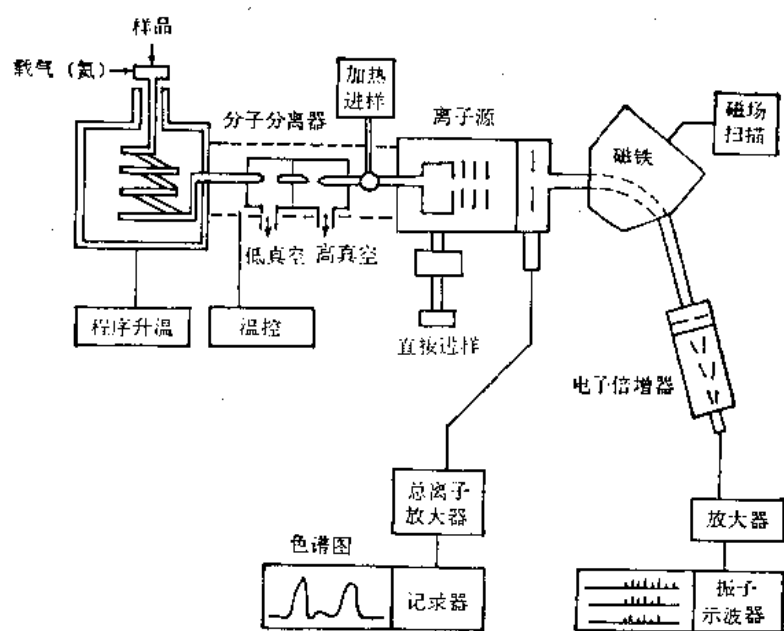


图 4-19 S Z-1 型色谱-质谱仪原理图

而质谱仪要求高真空；而且，色谱流出物中含有大量载气需要去除，因此，需要一个连接装置，能同时起到降低压强和分离载气的作用，这种装置就是分子分离器。

分子分离器的种类很多，图 4-20 是目前应用较广的喷射式分子分离器。它的分离原理是基于不同分子量的气体通过喷嘴时具有不同的扩散率，当用氮气作载气时，样品分子量远大

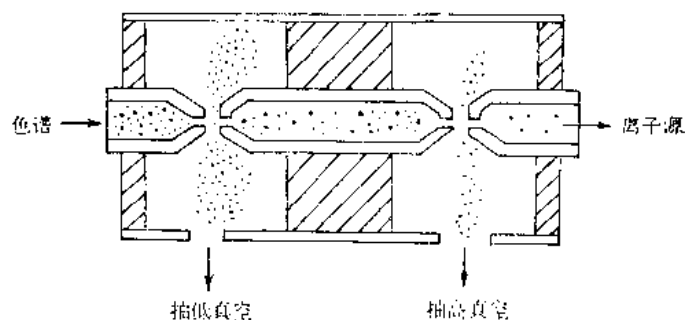


图 4-20 喷射式分子分离器

于载气分子量，色谱流出物由喷嘴喷出后，由于氮气分子量小、扩散快，容易被真空泵抽走；而分子量大的样品分子扩散慢，依靠惯性继续前进，进入第二级喷射器。经过一次喷射后，大部分载气被抽走，样品气则损失很少，总压强由 1 个 atm 降到 1 Torr 左右，样品气得到浓缩。同样，再经过一次喷射，压强可降至 10^{-4} Torr，样品再次得到浓缩最后进入离子源。

当一种组分进入离子源被电离成离子后，位于离子源出口缝之前的总离子检测器收集总离子流的一部分，经过放大、记录，得到该组分的色谱图。当某组分的色谱峰出现时，通过磁场扫描，可以记录下该组分的质谱图。

(三) 在农药分析中的应用

现用农药类型较多, 结构比较复杂, 在农药的研究、生产、使用过程中, 不断提出新的分析课题。色-质联用分析, 对农药的结构鉴定、残留分析、环境污染、代谢降解、毒理机制等研究而言, 都是一个极为重要的分析手段。我国农业部农药检定所在用色-质联用分离和鉴定农药方面作了不少工作。如: 在防治中发现 50% 甲胺磷乳油、50% 甲基-1605 乳油及 3% 克百威颗粒剂, 使用后效果很差, 有的甚至没有效果。经用色-质联用测定, 所谓 50% 甲胺磷乳油乃是过期的甲基-1605 和治螟磷的混合物; 50% 甲基-1605 乳油只含有少量甲基-1605, 其主要成分为早已禁用的六六六; 3% 的克百威颗粒剂不含克百威, 只是沙子着上萘酚类染料制成的假药。

附鉴定实例如下:

实 验 部 分

1. 仪器及操作条件

KYKY-QP 1000 A 型气相色谱-质谱联用仪, 色谱柱: 玻璃柱长 1 m, 内径 2.6 mm, 内填 2% 的 OV-17/Chromosorb W(AW, DMCS, 80—100 目)。柱温: 程序升温: 初始温度: 100°C; 停留 3 min; 升温速率: 8°C/min, 最终温度 200°C; 进样室温度: 240°C; 载气: 氮 30 ml/min; 离子源温度: 250°C; 分离器温度: 250°C; 电离方式: EI, 电子能量: 70 eV; 增益: 2.4。

2. 样品处理

编号: 50% 甲胺磷乳油——1 号样品;

50% 甲基-1605 乳油——2 号样品;

3% 克百威颗粒剂——3 号样品。

称取 1 号, 2 号样品各约 0.5 g, 溶于 5 ml 丙酮中, 微量注射器进样 1 μ l。

称取约 10 g 3 号样品, 溶于 22 ml 甲醇中, 充分萃取, 离心, 微量注射器进样 1.6 μ l。

结 果 和 讨 论

在上述操作条件下, 得到 1 号样品的总离子色谱图, 如图 I。图 I 中, 色谱峰编号 5, 20, 32 和 43 所对应的质谱图分别为图 I₅、图 I₂₀、图 I₃₂ 和图 I₄₃。

2 号样品的总离子色谱图, 如图 II。图 II 中, 色谱峰编号 10, 22, 33, 44, 54 和 66 所对应的质谱图分别为图 II₁₀、图 II₂₂、图 II₃₃、图 II₄₄、图 II₅₄ 和图 II₆₆。

3 号样品的总离子色谱图, 如图 III。图 III 中, 色谱峰编号 5 和 21 所对应的质谱图分别为图 III₅ 和图 III₂₁。

通过质谱图检索、分析 (借助于计算机与标准谱图对照及人工识谱), 确定:

图 I 中: 色谱峰 5 为: *o,o,s*-三甲基硫代磷酸酯; 色谱峰 20 为: *o,o,s*-三乙基硫代磷酸酯; 色谱峰 32 为: 治螟磷(苏化 203); 色谱峰 43 为: 甲基-1605; 1 号样品中未检出甲胺磷。

图 II 中: 色谱峰 10 为: α -六六六; 色谱峰 22 为: γ -六六六; 色谱峰 33 为: β -六六六; 色谱峰 44 为: σ -六六六; 色谱峰 54 为: ϵ -六六六; 色谱峰 66 为: 甲基-1605。

图 III 中, 色谱峰 5 为: α -萘酚; 色谱峰 21 为: β -萘酚; 3 号样品中未检出克百威。

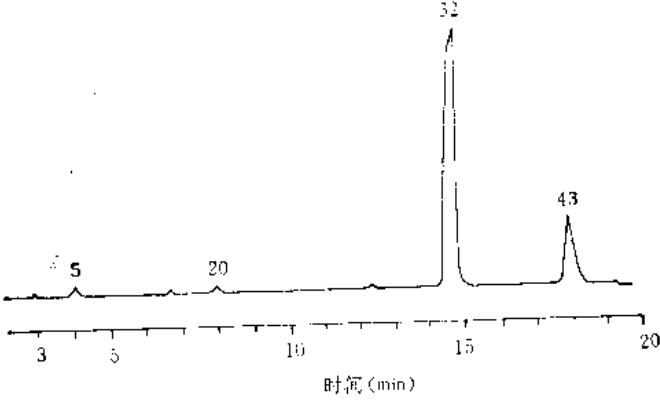


图 I 1 号样品总离子色谱图

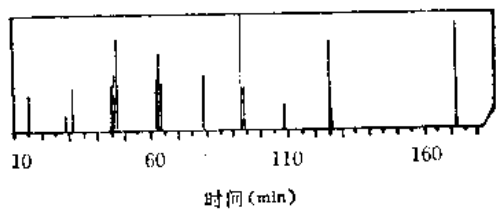


图 I₁ 图 I 中峰 5 的质谱图

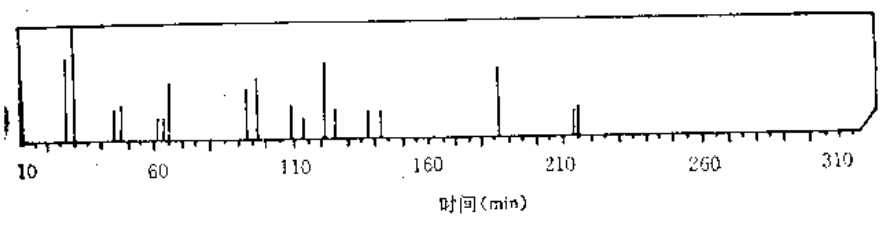


图 I₂ 图 I 中峰 20 的质谱图

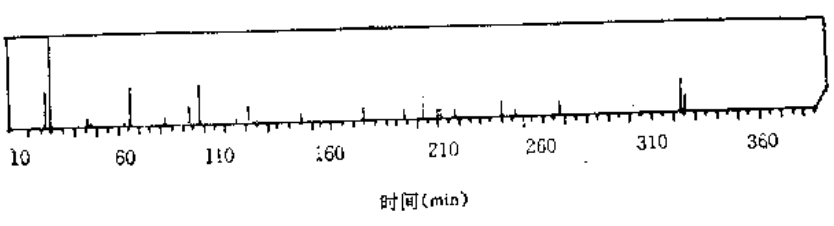


图 I₂ 图 I 中峰 32 的质谱图

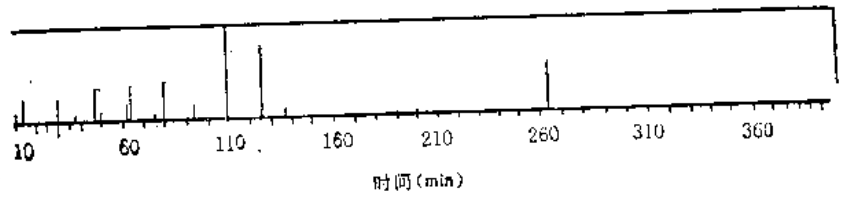


图 I₃ 图 I 中峰 43 的质谱图

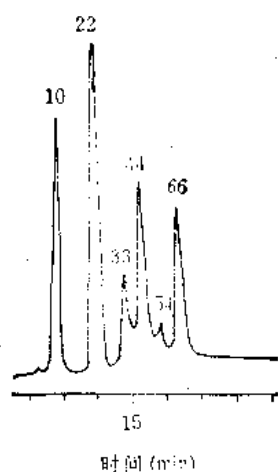


图 II 2号样品总离子色谱图

由上述实例说明了GC-MS法以下的优越性:

1. 分离好 各样品中的不同组分,均得到了较好的分离。

2. 定性准 利用质谱鉴别能力强的特点,用计算机检索标准图谱进行对照或人工识谱,均可鉴定化合物结构。对确定未知物为何物,较其它方法可靠性强。

3. 剖析快 计算机内可储存各种农药及其有关组分的大量标准图谱。把未知物的质谱图与所储标准图谱,用计算机检索对比,几分钟内就可鉴定出未知物为何物,甚为迅速。

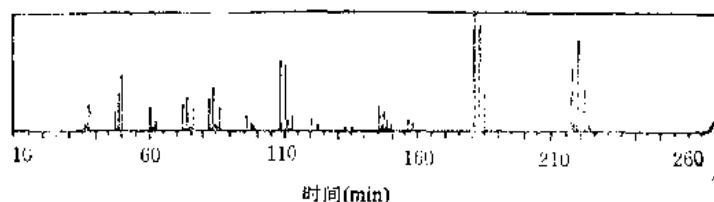


图 II₁₀ 图 II 中峰 10 的质谱图

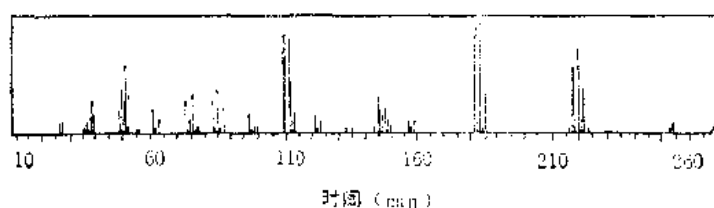


图 II₂₂ 图 II 中峰 22 的质谱图

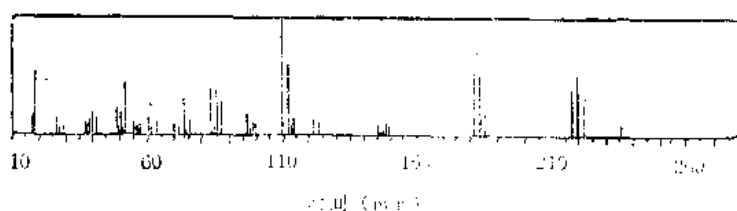


图 II₃₃ 图 II 中峰 33 的质谱图

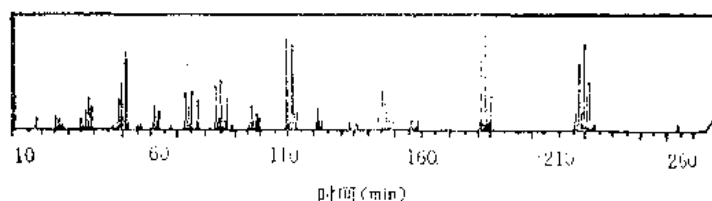


图 II₄₄ 图 II 中峰 44 的质谱图

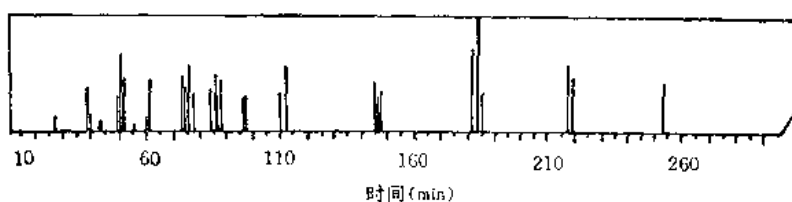


图 II₄ 图 II 中峰 54 的质谱图

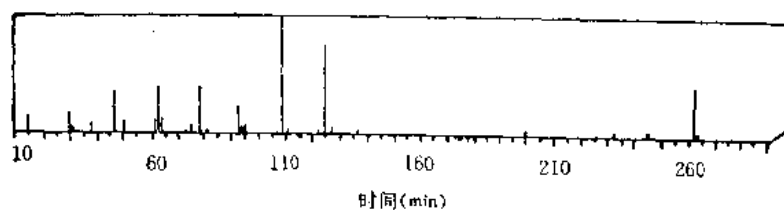


图 II₅ 图 II 中峰 66 的质谱图

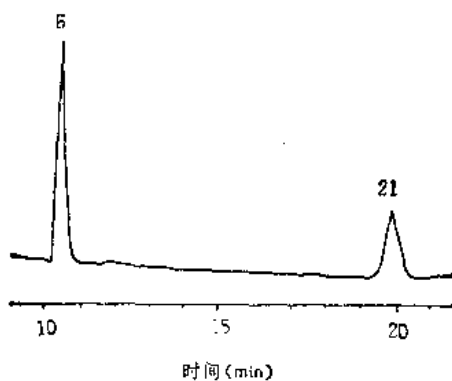


图 III 3 号样品总离子色谱图

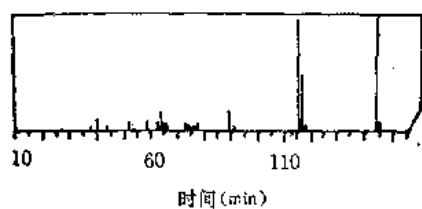


图 III₁ 图 III 中峰 5 的质谱图

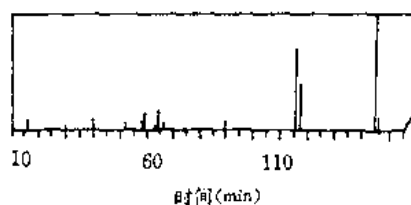


图 III₂ 图 III 中峰 21 的质谱图

七、计算机的应用

利用计算机能使气相色谱分析速度加快, 操作手续简化, 测定值的精确度提高, 计算机在气相色谱法中主要应用于以下几个方面。

1. 仪器控制 温度、流量的控制及进样自动化。
2. 信号处理 消除噪音, 自动调节基线漂移。自动转换仪器灵敏度的设定。
3. 峰的解析 峰的鉴别, 重叠峰的解析, 峰面积和保留时间的测量。
4. 数据处理 对测定结果进行统计处理, 制定标准曲线, 进行定性、定量分析, 打印分

析报告。

5. 信息管理 数据的存贮及调出, 数据库的管理。

气相色谱法的计算机处理最主要用于第2,3两项和第4项的一部分,现在仅利用市场上出售的装有廉价的微型计算机的自动积分仪就可完成。在气相色谱仪中装上这种小型的微处理机也能进行第一项的仪器控制,并作为自动气相色谱仪在市场上出售。由于微处理机的发展,气相色谱仪的自动化就能比较经济一些。采用微处理机或具有更高性能的计算机可以同时多台气相色谱仪进行控制,进行数据处理,并能贮存管理大量的数据。

由于计算机的采用,提高了峰面积测量的精确度,与其它方法测量精确度的比较如表4-13所示。

表 4-13 各种峰面积测量法的精确度

测量方法	相对标准偏差%
测面积仪	4.0
三角形法	4.0
半峰宽法	2.5
剪切称量法	1.7
圆盘积分仪	1.3
数字积分仪	0.4

表4-13用相对标准偏差来表示用不同的方法,对同一个峰的面积进行测量时的测量精度。其中所谓的圆盘积分仪是将机械的和电测定方法结合在一起的积分仪,数字积分仪是利用电子计算机的自动积分仪。电子计算机比通常使用手工计算半峰宽法的测量精度能提高6倍左右。

在气相色谱仪-质谱仪联机(简称GC-MS)的数据处理系统,由于计算机的应用,质谱仪能作为选择性极高的气相色谱检测器使用。促进了色-质联用技术的发展。

第五章 高效液相色谱法

一、概 论

以液体作流动相，液体或固体作固定相的分离分析技术称为液相色谱法。最早的液相色谱法是用菊根粉的吸附柱来分离植物的提取物，用石油醚淋洗，植物提取物中的成分以不同速度向下移动，分离成许多颜色带排列在柱上，这些黄色、绿色的色柱称为色层谱。后来，不仅用于有色物质，也可用于分离无色物质，这种借助于移动速度不同而达到分离和鉴定的技术随着生产和研究的需要不断地发展。

经典的柱色谱法是用碳酸钙或氯化铝等吸附剂填充于玻璃柱管内，吸附剂粒径大于 $100\ \mu\text{m}$ ，柱的装填不紧密，不均匀，分离效率不高，每根柱只能使用 1 次；流动相由柱管上端依靠重力向下流过柱子，分离速度慢；各组分依次被淋洗下来，收集分离后的组分，再进行测定，效率很低，分析速度很慢。40 年代出现了薄层色谱法，操作方便，分析速度加快，但重复性差，难以进行定量测定。直到 60 年代初吉丁斯(J·C·Giddings)将气相色谱理论修正后用于液相色谱，为其现代化奠定了理论基础。以后在技术上采用了高压泵、高效固定相和高灵敏度检测器，实现了分析速度快，分离效率高和操作自动化，这种色谱技术称为高效液相色谱法。和经典柱色谱法相比，具有以下特点：

1. **高压** 流动相经色谱柱时，受到的阻力较大，为了使流动相能迅速地通过色谱柱，必须施加高压。一般可达 $150\text{--}300\ \text{kg/cm}^2$ 。

2. **高速** 使用无脉动的高压泵，流动相的流速一般为 $1\text{--}10\ \text{ml/min}$ ，使样本的分离速度从过去几小时或几天，提高到几分钟或几十分钟。

3. **高效** 使用颗粒均匀的新型细粒固定相，提高了分离效率，一般柱效可达 50 000 塔板/m 以上，有时一根柱子可同时分离 100 种以上的组分。

4. **高灵敏度** 应用各种高灵敏度的检测器，可测定微量组分。使用紫外检测器，最小检测量可达 $1 \times 10^{-9}\ \text{g}$ 。

5. **高度自动化** 利用微处理机控制色谱操作条件和处理色谱数据，实现了高度自动化。

6. **流出组分容易收集** 高效液相色谱法和气相色谱法都是重要的分离分析方法，它们在许多方面是相同和相似的，但也存在着差异。它们的应用领域不同。在已知的化合物中，只有 20% 可用气相色谱测定，而液相色谱法可检测的对象占有机物总数的 80%—85%；气相色谱法局限于易挥发和热稳定农药的分离和分析；高效液相色谱可分离和分析不挥发的，热稳定性差的以及离子型的农药，而且样本前处理简便。70 年代至 80 年代初期，农药分析大多采用气相色谱法，因为气相色谱法对样本分离快、灵敏和方便，且大多数实验室已完善地配备了气相色谱仪和操作人员。目前液相色谱技术迅速发展，它不受样品挥发性和热稳定的限制，绝大多数农药都可以使用液相色谱法进行定量分析，而且液相色谱技术在分析中的主要障碍

——检测器的灵敏度，在农药常量分析中是不重要的，因为农药制剂中有效成分含量通常是百分之几。多数农药分子结构中有吸收紫外光的基团，对那些难于用气相色谱测定的农药，可以简便地使用带有紫外检测器的液相色谱法。测定样本时，使用定量的进样环和自动进样器，其精密度可以达到使用内标的气相色谱法。

国际农药分析协作委员会(CIPAC)出版发行的 CIPAC 农药分析手册共有 I、IA、IB、IC 和 D 五卷。1985 年出版的 IC 卷中气相色谱法约 26 个，液相色谱法约有 20 个；1988 年出版的 D 卷中 36 个农药原药和制剂的有效成分含量分析方法中，气相色谱法有 16 个，液相色谱法有 17 个；1989 年 5 月 CIPAC 第 33 届年会上讨论通过 10 个农药分析方法，其中就有乐果、磷胺、久效磷、保棉磷、磷苯腈和大隆等 6 个农药采用液相色谱法。从以上统计数字看，目前液相色谱法在农药分析中已和气相色谱法的数量相当，通常使用一种方法测定后，可以用另一种方法来鉴定，两种方法在常量分析中可以具有相同的准确度和精密度。随着液相色谱技术的发展和普及，更多的农药将会使用液相色谱法进行分析。

此外，高效液相色谱法和气相色谱法使用的流动相不同，亦存在以下差别：

(1) 气相色谱法的分离是基于混合组分在固定液中的溶解度不同，使用的流动相通常是惰性气体，由检测器的类型来决定，不论使用氢气、氦气或氮气，其作用只是运载样本组分通过色谱柱后进入检测器，而对色谱分离的影响一般很小，即仅有固定相对样本分子中各组分的选择性，因此气相色谱主要是通过改变固定相和改变柱温来改善分离效果。而液相色谱的流动相为液体，它对样本具有一定溶解性能，除了运载样本组分通过色谱柱和进入检测器外，还参与色谱分离过程；在液相色谱中除通过改变固定相改善分离效果外，通常用改变流动相组成来改善分离，流动相组成可以灵活改变，使用的流动相不同可得到完全不同的分离。

(2) 液相色谱的柱温受流动相沸点的限制，通常在室温或略高于室温的条件下测定，分离时温度较低是它的优点，能保留农药的原来分子。根据这一原理的制备色谱，可用于制备农药标准品。

(3) 农药分子在液体中的扩散系数比在气体中小 4—5 个数量级，所以在高效液相色谱中必须特别注意柱外效应对分离的不良影响。

(4) 液体的粘度比气体的粘度大 2—3 个数量级，所以液相色谱的柱长通常不超过 30 cm，而气相色谱可采用长柱，填充柱的长度为 0.5—3 m，空心柱柱长可达几十米。

(5) 液体是不可压缩的，而气体可被压缩，因此在气相色谱中与载气体积有关的参数都必须进行校正。

本章将讨论高效液相色谱的基本理论，色谱分离类型、流动相、检测器及其在农药分析中的应用。

二、基本原理

高效液相色谱的基本理论可参阅有关书籍，它是在经典液相色谱的基础上，引入了气相色谱的理论，加以改进而发展的。本书不再介绍与气相色谱有关的基本理论。使用液相色谱的最终目的是要求在最短时间内，使样本获得最好的分离和分析，因此分离度是最主要的。本节将从基本理论上探讨如何在最少的时间获得最好的分离。

(一) 选择性(分离因子)

色谱柱的选择性是衡量二个化合物能否分离的指标, 亦称分离因子。它是两个组分净保留时间的比(即相对保留值)或两个组分的平衡分配之比。

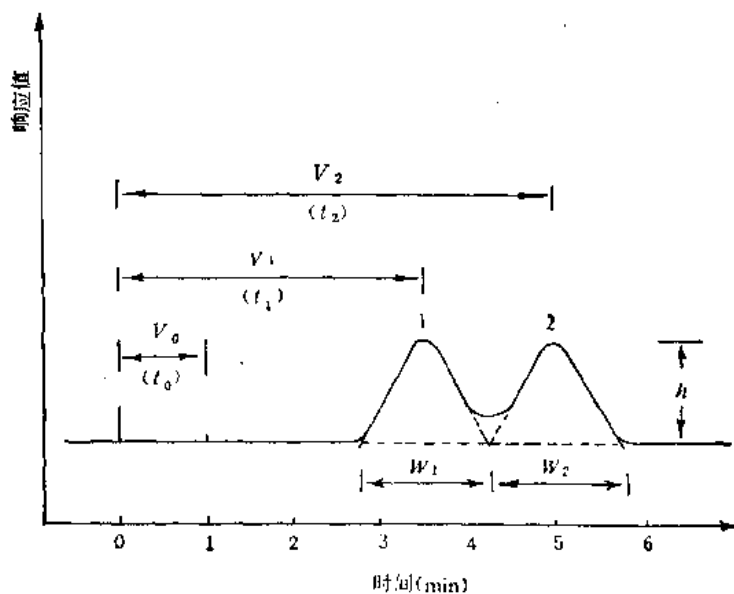


图 5-1 高效液相色谱图

V ——保留体积;

t ——保留时间;

W ——为峰宽;

h ——为峰高

根据图5-1的两个峰, 选择性可用下式表示:

$$\alpha(\text{选择性}) = \frac{t_2 - t_0}{t_1 - t_0} = \frac{k_2}{k_1} \quad (5-1)$$

t_0 为溶剂保留时间, t_1 和 t_2 为峰 1 和峰 2 的保留时间, 式中 k_1 和 k_2 是农药 1 和 2 的分配系数。

$$\text{分配系数 } K = \frac{\text{化合物在固定相中的浓度}}{\text{化合物在移动相中的浓度}} \quad (5-2)$$

(二) 容量因子

某一特定化合物在色谱柱上的容量因子是衡量该柱对此化合物的保留特性, 是化合物的保留体积与死体积之比, 根据图 5-1, 峰 1 的容量因子为:

$$K' = (\text{容量因子}) = \frac{v_1 - v_0}{v_0} \quad (5-3)$$

可改写为

$$K' = \frac{t_1 - t_0}{t_0} \quad (5-4)$$

因此，一个化合物的容量因子亦是该化合物的净保留时间与非滞留时间之比。

(三) 柱 效

柱效是衡量某一特定色谱柱对化合物的谱带展宽度和改善分离的能力，用理论塔板数来表示，根据图 5-1，理论塔板数(N)可用下式表示：

$$N = 16 \frac{(t_1)^2}{(w_1)^2} \quad (5-5)$$

根据式(5-5)，谱带宽度随 t 成正比地增大，洗脱的谱带宽度增加，高度下降。因半峰宽易测量准确，计算的 N 值也比较准确，可用 $W_{0.5}$ 来表示。

$$N = 5.54 \frac{(t_1)^2}{(w_{0.5})^2} \quad (5-6)$$

实际计算时，使用理论塔板的相当高度 $HETP$ (或 H) 较方便，它也是柱效率的度量。

$$HETP = \frac{L}{N} \quad (5-7)$$

L 为柱的长度， H 小则 N 大，即柱效高。

在气相色谱中已提及范·提姆特 Van Deemter 公式，总结的影响理论板高度的因素为：

$$H = A + B/u + Cu \quad (5-8)$$

其中 u 为流动相的线速度， B/u 为纵向分子扩散项，是物质分子由浓度高的区域向浓度低的区域运动。 $B = 2\gamma D_l$ ， γ 为一个常数，因此 H 与扩散系数(D_l)成正比，与流动相的线速(u)成反比。在气相色谱中，气体有较大的扩散系数，而分子在液相色谱中的扩散系数是很小的，比气体中约 4—5 个数量级，因此在液相色谱中，纵向扩展的影响是可以忽略不计的，而气相色谱中这一项很重要。液相色谱中式(5-8)可简化为：

$$H = A + C_u \quad (5-9)$$

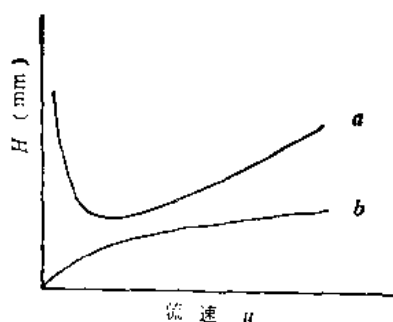


图 5-2 理论塔板高度与流动相流速的关系
a——气相色谱；b——液相色谱

论塔板高度与流动相流速的关系图。在气相色谱中，气体分子扩散快，流速影响特别大， H 随流速增加而急速下降，达到最低值，为实用最佳流速，当流速再加大时，传质影响起了主要作用， H 又加大；在液相色谱中分子扩散比在气相中低 10^4 — 10^5 倍，流速低时 H 不会有很大变化，流速快时对 H 也影响不大。在图 5-2 中，应尽可能使 b 线的斜率较小，才可不致因流速的提高而使塔板数下降。

(四) 分 离 度

相邻两个峰的分离程度称为分离度 R 。两个峰尖之间距离越大,分离度越大;两峰越宽,则分离度越低。分离度 R 按下式计算:

$$R = \frac{t_2 - t_1}{\left(\frac{1}{2}\right)(w_1 + w_2)} \quad (5-10)$$

按式(5-10)很容易比较两化合物分离的好坏,但此式不能指导如何改进实验设计,以达到更有效的分离,要求用一些与实验技术有关的参数来表示分离度。假定相邻两峰的峰宽相等,可导出分离度与上述三个基本色谱参数的关系:

$$R = \frac{1}{4} \underbrace{\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)}_{(1)} \underbrace{\left(\frac{K'}{K'+1}\right)}_{(2)} \underbrace{\sqrt{N}}_{(3)} \quad (5-11)$$

公式中(1)项中 α 是选择性或分离因子,与两组分的峰与峰之间的分离有关。如 $\alpha=1$,无论柱的理论塔板数有多大,分离度 R 等于 0。因此要获得分离,分配系数必须有差别,所以增加 α ,可使一个谱带的中心相对于另一谱带发生位移。 α 是通过变更流动相和固定相

组成来改变,固定相不易改变,所以 α 主要随流动相组成而变化。当然也可以通过衍生化等改变待测组分的性质。

公式中(2)项中 K' 是容量因子,可通过改变溶剂强度来改变。强溶剂出峰时间短,导致小的 K' 值,弱溶剂给出较大的 K' 值,分离度高,但峰变宽;

公式中(3)项中 N 是理论塔板数,可由改变色谱柱的长度,颗粒的大小,增减流动相的速度而变动。柱长和保留时间是正比的,柱长加倍,分离所需的时间亦加倍。最好是通过提高柱填充剂的效能来达到,近年来高效液相色谱发展快,主要是在高效能填充剂方面有很大进展。

图 5-3 表示不同因子对色谱的影响。图中 (a) 分离不良,两峰相距太近; (b) 加大 α 值

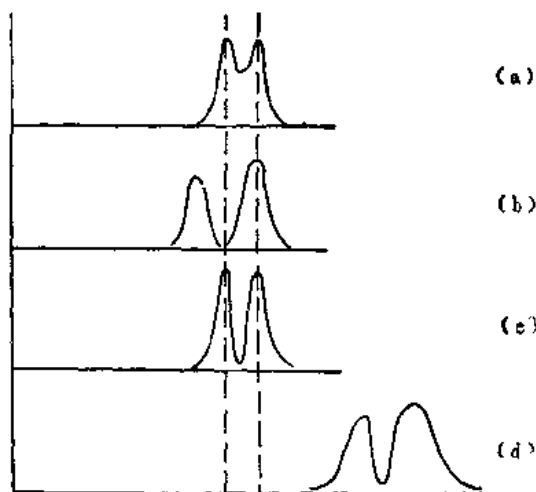


图 5-3 色谱分离最佳化条件

(a) ——分离不良; (b) 加大 α , 提高选择性; (c) 加大 N , 提高柱效; (d) 增大 K' , 改善分离

后,提高了选择性,两峰分开; (c) 在 a 的基础上,加大 N 提高柱效,使峰变窄,峰尖位置不变,但两峰可以分离; (d) 增大 K' 值,分离度好,但保留时间延长,峰拖尾后谱带变宽。因此利用式(5-11)使给定的分离最佳化时,首先调整 K' 值,使 K' 在 2—5 之间,谱带不太宽,分离的时间亦合适,其次是选择 N ,以提高柱效,如分离仍有问题,则可改变 α 使其具有更大的选择性。

三、装 置

高效液相色谱仪的设计与所采用的分离原理无关,可以购买完整的仪器,亦可以购买单

独的部件组装成适用的仪器，典型的液相色谱仪由以下部件组成，贮液器、梯度装置、输液泵、进样器、色谱柱、检测器，温控部件和记录仪等，其流程图，见图 5-4。

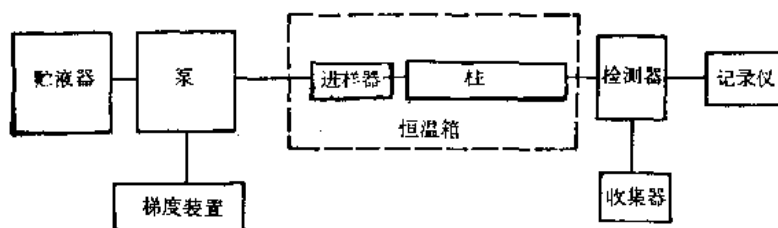


图 5-4 高效液相色谱仪流程图

(一) 贮液容器

某些商品贮液器配备有流动相脱气的装置，装有加热器，温度调节器和磁力搅拌器，流动相的脱气是非常重要的，因为溶剂中溶解的空气在低压部件如检测器里会逸出气泡来，气泡的出现会使检测器的噪声加大。常用的除气方法有三种：1) 加热法；2) 抽真空法；3) 超声波处理，有时为防止某种溶剂被氧化，可在贮液容器中充满氮气或氦气。

(二) 输 液 泵

在气相色谱中，用高压气瓶来提供一定压力和流速的气体；液相色谱是用泵来完成。流动相输送、选择泵系统时应满足以下要求：1) 输液压力高，早期液相色谱的进柱压为 $60\text{--}70\text{ kg/cm}^2$ ，现在液相色谱采用高速高效分离所需的小颗粒和小直径的色谱柱，则要求进柱压大到 $300\text{--}500\text{ kg/cm}^2$ 。2) 要求高压下通过柱子的液流是连续而无脉动，流动相的流量的变动不应超过 2%，输送的流量范围：分析型为 $0\text{--}10\text{ ml/min}$ ，制备型为 $50\text{--}100\text{ ml/min}$ 。3) 能耐流动相的腐蚀。4) 泵的密封性要好，死体积小，以便于迅速更换溶剂和梯度洗脱。能满足上述要求的有机械恒流泵和气体恒压泵，液相色谱中最常用的是机械往复泵。恒定的无脉冲的高压泵能保证流量恒定和准确，获得稳定的基线和保留值重现性好；沃特斯 (Waters) 使用的是双泵头往复柱塞泵，输出流量精度 $\pm 0.1\%$ ，流量的准确度为 $\pm 1\%$ ，最高压力 6000 psi (相当于 420 kg/cm^2)，流速调节范围为 $0.1\text{--}9.9\text{ ml/min}$ ，适于高精度的液谱分析工作，该泵配有压力传感器，可从压力表显示压力，并有压力安全选择器，设定压力极限值，压力超过时报警并自动停泵。

(三) 梯 度 洗 脱

气相色谱分析是为了改善分离和缩短分析周期，采用程序升温控制；而在液相色谱中，使用梯度洗脱。所谓梯度洗脱是在一个色谱分析周期里不断改变流动相的化学组分，使一些复杂混合物的分析能做到：1) 提高分辨能力；2) 峰形得到改善；3) 缩短分析周期。

梯度洗脱可分为低压梯度(外梯度)和高压梯度(内梯度)。低压梯度是在常压下将不同极性的溶剂按预先设定的比例在泵前混合，再由高压泵输入色谱柱，高压梯度装置是用高压泵分别将两种或三种不同极性的溶剂输入混合器，经充分混合后输入色谱柱。梯度洗脱装置的溶剂混合器应具有体积小，无死区、清洗方便和混合效率高等性能，才能获得重复的梯度曲线。

经梯度洗脱后的色谱柱必须回复到起始的溶剂条件,然后再进行下一次分析,如果梯度变化在10%—15%以内,直接泵入起始浓度的移动相即可。如梯度变化很大,则逐步改变溶剂组分,不可在100%甲醇的柱子中直接泵入20%甲醇/水,压力和流速的突然变化可引起柱床的损坏。在流动相为有机溶剂/水/盐类的体系中,必须保证盐类在整个梯度程序中完全溶解,如使用0.005 mol/L庚磺酸钠,它可完全溶于甲醇:水=2:8中,但不能溶于甲醇:水=8:2中,一旦盐类发生了不溶的沉淀,会损坏色谱柱,而且不能再生。

(四) 进 样 系 统

把样品引进色谱柱有两个基本方法,即注射器法和进样阀法。进样过程往往会影影响分离效果,当注入样品后,由扩散而导致峰形展宽;而在高压状态下进样,难度较大;还要求进样时不影响输液系统的压力和流速,也不出现漏液等现象。目前高效液相色谱仪多采用定量进样阀法,阀内装有环形定量管,样品溶液在常压下靠注射器注入贮样管,并把管中的溶剂顶出,再靠转动阀门,在保持高压不停流状态下将样品送入流路系统,其优点是进样时不受色谱系统压力的限制,可在常压下进样,进样量由定量进样阀调整,进样时不会发生漏液或堵塞进样口的现象,结果重现性好,适于按装自动进样器,由微处理机控制程序,可连续自动进几十个样品。

(五) 色 谱 柱

色谱柱是高效液谱仪的心脏部分。柱内填充填料的种类不同,性能也不同,通常采用不锈钢直形柱,内径为2—4 mm,长度为15—30 cm,柱子加长能改善分离,但要提高柱入口处的压力,且加长分析时间。近年来高效填充剂的出现,实现了分离的高速和高效;经典的液相色谱填充剂:1) 颗粒大,直径一般在100 μm 以上;2) 粒度不均匀;3) 没有一定形状;4) 经不住高压。高效液相色谱填充剂:1) 颗粒小,直径为10—30 μm , 最小为3—5 μm ;2) 粒度均匀;3) 一般为球形;4) 能在高压下工作。近年来采用直径3—5 μm 的填料制成3—5 cm长的高效短柱,适于快速分析。此外,有用弹性聚四氟乙烯材料制成的径向加压柱,靠径向加压器使填料呈均匀规则排列可改善柱效,保留值的重现性好,在一般常规分析中亦可应用。

样品中如有吸附性的组分,会影响色谱柱的使用寿命,除了应在进色谱柱前抽提或过滤外,最简单的办法是在分析柱前连接一根3—5 cm长的保护柱,内装与色谱柱性能相同的填料,使用0.2 μm 的过滤片,放在进样器和分析柱之间。保护柱可防止来自流动相和样品中的不溶性微粒对色谱柱的堵塞,还可避免硅胶或键合相的流失,可维护柱效,保护柱并不能无限止地吸附杂质,使用时应观察检测器讯号,如有基线漂移、怪峰或反压增加等现象,说明保护柱已被污染,应更换填料。

色谱柱的填充方法:通常有干法和匀浆法两种,填装方法取决于填料微粒的大小,直径大于20 μm ,可用干法填充;与填充气相色谱柱的方法相似。^[4] 直径10 μm 或5 μm 的微粒,不能用干法装柱,采用匀浆方法将它们填充到色谱柱中,通常有等比重匀浆法,是选择与硅胶比重相似的溶剂如四溴乙烷等配成浆状液;由于该溶剂毒性大,硅胶对溴有吸附作用,已不常用,改用二氧六烷和四氯化碳等,国内亦常用等比重匀浆法,其步骤如下:

(1) 根据柱体积称取所需之载体于三角瓶中, 每g载体加3 ml 二氧六环和6 ml 四氯化

碳匀浆液。

(2) 将三角瓶置于超声波清洗器中 10 min, 至匀浆液呈半透明状无明显结块为止。

(3) 将匀浆液倒入匀浆罐中, 化学键合相可在匀浆上部加一些水, 旋紧顶盖, 打开高压放空阀。

(4) 硅胶柱用脱水的己烷做顶替液, 正相键合相用己烷做顶替液, 反相键合相或离子交换剂可用甲醇或丙酮做顶替液。

(5) 开动泵, 打开放空阀; 待顶替液从放空阀出口流出即关闭阀, 压力保持在 300—400 kg/cm², 当压力下降到 100—200 kg/cm² 时, 说明匀浆液已被顶替液置换, 柱子装填完毕, 在该压力下保持一段时间。

(6) 将泵流量调至最小, 停泵, 卸下柱子即可。

(六) 检 测 器

检测器是用于连续检测柱流出物中不同组分及其含量的部件; 在农药分析中用得最多的是紫外检测器, 相当于把紫外分光光度计连接到色谱柱后。对于在特定波长下有较大吸收峰的样品, 有很高的灵敏度。它不易受温度和流速波动的影响, 有低噪声的特性, 早期使用单波长紫外检测器的工作波长为 254 nm, 以低压汞灯为光源, 结构简单、稳定性好, 但对在 254 nm 附近没有吸收的化合物不敏感, 适用范围小。现在使用可调波长的紫外可见分光检测器, 工作波长可在 190—700 nm 范围内任选, 应用范围大大增加, 以氘灯和钨灯为光源, 有关紫外分光光度法原理及常用溶剂的紫外吸收请参阅本书第六章。此外还有差示折光检测器, 是测量样品和流动相系统总的折光指数。为了得到足够的响应, 采用差分技术补偿流动相的折光指数, 任何物质只要其折光指数与洗脱液有足够的差别, 就可以检测, 所以适用范围广, 但灵敏度低, 选择性差, 受温度干扰较大在农药分析中不常用。

判定检测器性能的指标有以下几个: 即灵敏度、噪声和漂移、检测限、线性范围等。① 灵敏度是以组分响应曲线的斜率来表示, 即通过检测器的农药数量变化时, 相应的响应值变化率, 不同农药的响应曲线斜率是不同的, 斜率愈大, 表示灵敏度愈高。② 噪声是指与农药无关的输出信号的变化, 除了由于仪器的电子系统、电源电压或温度的波动外, 洗脱液的气泡和污染可能是出现噪声的主要原因。③ 漂移是基线随时间增加而产生的定向缓慢变化, 噪声和漂移都直接影响检测能力和分析工作的误差。④ 色谱峰高度为最大噪声的 2 倍时, 为最小检测限。⑤ 线性范围是检测器输出信号与被测组分量呈线性关系的范围。

(七) 控 温 系 统

早期液相色谱大多采用常温操作, 现在随着色谱技术的进展, 逐渐重视升温技术。一般说来, 温度低一些, 能提高分离度, 但高温可以加快分析速度, 因此要综合考虑以上两个因素, 在液固吸附色谱和液液分配色谱中, 温度恒定是极为重要的, 因为温度的改变, 会产生不均匀吸附和不均匀分配, 故液相色谱中不采用程序升温分析, 色谱填料往往随温度升降产生膨胀和收缩, 在某些情况下, 温度突然变化会损坏柱床, 使用时温度应逐渐升高, 实验结束后, 应将柱子慢慢降到室温再停泵。

四、分 类

根据固定相对样品分子的保留机理不同主要分为以下 4 种类型。

1. **液固吸附色谱** 是用高比表面积颗粒作固定相，根据物质对吸附剂活性表面的吸附能力的差异而进行分离。

2. **液液分配色谱** 其固定相是由在组成上与流动相互不相溶的另一种液体或是借化学键合到颗粒或载体上，物质的分离是由于不同溶质在两个液相中分配系数不同而达到的。

3. **离子交换色谱** 固定相是具有固定电荷的离子交换树脂，是根据移动相中样本的不同离子对固定相固定电荷部位的亲和力大小不同而进行分离。

4. **凝胶色谱或空间排阻色谱** 固定相为不同孔径的多孔凝胶，是根据多孔凝胶对不同大小的分子的排阻效应进行分离。排阻是指大分子不能进入小的凝胶孔中而被排阻在凝胶颗粒之外，而小分子可进入凝胶内部，在分离过程中，大分子随流动相一起移动得较快，小分子进入凝胶内部移动较慢，这样大小分子可以分开，其分离是严格按照分子尺寸进行的，适用于非离子型的、分子量高的化合物的分离或分子大小差别很大的样本分离，在农药常量分析中很少应用。

本章将着重讨论前三类液相色谱方法，上述分离机理，除用于分离分析色谱，还可用于制备色谱法，制备色谱是制备色谱纯物质的技术。用以分离、收集一种或多种色谱纯组分，供定性鉴定或作色谱标样，它与分离分析色谱的主要区别是色谱柱尺寸大，柱容量高，可分离的样品量高几个数量级。制备色谱有两种类型，一类是专用制备色谱仪，色谱系统和技术与常规色谱有较大差异，制备样品量为 0.1—1 000 g；另一类是在分析色谱仪上进行，色谱柱按比例放大，色谱条件与分析分离大致相同，制备量为 0.1—25 mg。

(一) 液固吸附色谱法

液固吸附色谱是液相色谱中研究和应用得最早的一种，以具有高比表面积的颗粒作为固定相。根据样本中各组分对固定相表面吸附作用的差异进行分离和分析的方法，适用于分离溶于有机溶剂、具有中等分子量、非离子型的化合物，对于具有不同官能团或不同数目的官能团的组分分子，具有很好的选择性，还特别适用于异构体的分离。

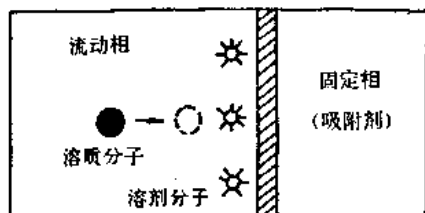


图 5-5 液固吸附色谱模型
(引自参考文献[5])

在装填有吸附剂的层析柱内，当流动相流过吸附剂时，吸附剂表面被溶剂分子(S)以单分子层形式完全占有，当样本分子(X)(或溶质分子)被流动相带入柱内，在移动的过程中便扩散到吸附剂表面和微孔内，并在所有表面上与已结合的溶剂分子(S)进行竞争吸附，见图5-5。



如果试样分子(X)对吸附剂表面吸附基团的(如硅胶的硅羟基)吸引力(包括色散力、诱导力，氢键等)大于溶剂分子(S)，溶剂分子被排斥，试样分子被吸附，则X取代S而吸附在吸附剂表面，称为竞争吸附现象。在一定的浓度范围内，这一吸附——脱吸附过程是热力学

平衡过程(线性等温吸附), 这种竞争吸附达到平衡后, 可用下式来表示:

$$K = \frac{(X_{\text{吸附}})(s)}{(x)(S_{\text{吸附}})} \quad (5-13)$$

式中 K 为分配系数。由此式可看出, 如果溶剂分子吸附性强, 则被吸附的试样分子(X)相应减少。但是在流动相中流动相(溶剂)分子与样品分子之间亦存在相互作用, 这种附加的作用增加了色谱过程的复杂性, 试样分子在吸附剂表面和在流动相中的存在也达到了动态平衡, 因此试样在色谱柱内的保留行为与吸附剂和流动相有关, 适当地选择与此二项有关的参数, 可以使试样在柱内获得良好的分离和保留。

1. 吸附色谱固定相的类别 常用的吸附剂主要有硅胶和氧化铝等, 氧化铝有时会发生催化反应, 已很少使用。硅胶吸附剂用得最多。其特点为: ① 化学性质稳定, 不会与试剂发生反应; ② 机械性能强, 不会溶胀; ③ 由于多孔结构而具有高的线性容量; ④ 在制造过程中可以控制其物理性能, 如比表面、孔结构等。

吸附色谱主要是利用物质在吸附剂和流动相中的可逆平衡, 以及吸附剂对不同物质吸附力的差异而使物质分离的, 因此吸附剂和流动相的选择是吸附色谱成败的关键。同一种吸附剂如制备方法、处理方法不同, 吸附能力也会相应改变, 分离情况也不同。改进色谱柱填料的结构、性能和填充均匀性, 可使液相色谱达到高速和高效。经典液相色谱使用全多孔大颗粒图 5-6, (c), 粒度范围广, 形状不规则, 柱内填充床很难达到均匀和紧密, 不均匀铺层所产生的涡流会引起色谱区带明显扩散, 此外, 这些多孔型吸附剂的深孔显著地延缓了试样分子的传质过程, 也引起了色谱区带的扩散。

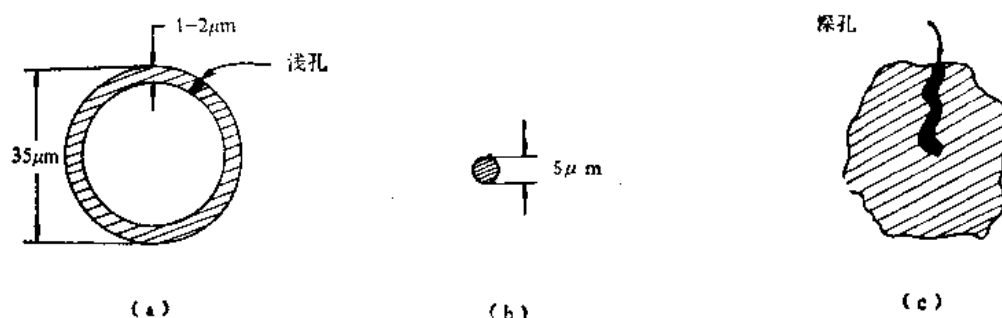


图 5-6 硅胶吸附剂结构类型
(a) 薄壳型(表面多孔型); (b) 微粒全多孔型; (c) 全多孔型大颗粒

为了克服以上缺点, 高效液相色谱主要采用以下两种结构型的吸附剂填料(图 5-6)。

(1) 薄壳型硅胶: 是在平均粒径为 $35\ \mu\text{m}$ 玻璃微球表面上涂覆 $1-2\ \mu\text{m}$ 厚的薄层硅胶, 这就提高了承受高压的机械强度和填充的均匀性; 有些薄壳型填料还采用大的孔径, 可显著减低分子在吸附剂深孔中缓慢传质过程所造成的色谱区带扩散, 这类填料称表面多孔珠, 多孔层珠或薄壳珠, 薄壳型硅胶的传质过程快, 有利于快速分析。其缺点是比表面积小, 样本负荷量小, 柱效不够高, 它的应用已逐渐减少。

(2) 全多孔微粒型硅胶: 粒径减小, 填料微孔的相对深度也减小, 可以加快传质速率, 因此高效液相色谱大多采用全多孔微粒型吸附剂, 常用 $5\ \mu\text{m}$ 和 $10\ \mu\text{m}$ 二种, 筛分范围一般为 $\pm 2\ \mu\text{m}$ 左右, 最高柱效可达 $80\ 000-100\ 000$ 板/ m , 它的优点是柱效高, 分离能力强, 可使用较短的柱子, 上样量大, 可降低最小检测量。

2. 吸附色谱固定相的性质 在液固吸附色谱中控制保留值和选择性的重要因素是吸附剂的比表面积和表面活性。

(1) 比表面积 S ：吸附作用是发生在相界面上，被吸附物质的量随着吸附表面增大而增加，所以吸附剂的表面积愈大，被吸附的粒子就愈多。从理论上讲，硅胶或氧化铝这类吸附剂比表面积的大小直接关系着容量因子 K' ，根据 $K' = K \frac{V_s}{V_m}$ ，其中 V_s 是固定相容积， V_m 是移动相容积，当平均孔径 D 保持恒定时， V_s 与比表面积成正比，因此， K' 取决于比表面积 S 。

吸附剂的孔径和孔容量是与比表面积相关的参数。吸附剂的比表面积与孔径大小成反比，孔径愈大，比表面积愈小。表 5-1 为球形微粒硅胶 (Lichrospher) 的平均孔径与表面积和孔容之间的关系。图 5-7 为用不同孔径的球形硅胶分离雌性激素的色谱图。可见，吸附剂的孔径越小，比表面积越大， K' 越大。用 Si-100 分离 4 个组分需 10 min，而用 Si-1000 只需 90 s，4 个组分全部从柱子流出，但孔径越大，比表面积越小，上样量少且分离不好。一般使用 100 Å 的硅胶吸附剂比较合适。

表 5-1 球形硅胶 (Lichrospher) 的规格

吸 附 剂	粒 度 (μm)	比表面积 (m^2/g)	平均孔径 (Å)	孔 容 (ml/g)
Lichrospher Si-100	5	250	100	1.2
Lichrospher Si-500	5	50	500	0.8
Lichrospher Si-1 000	5	20	1 000	0.8
Lichrospher Si-4 000	5	6	4 000	0.8

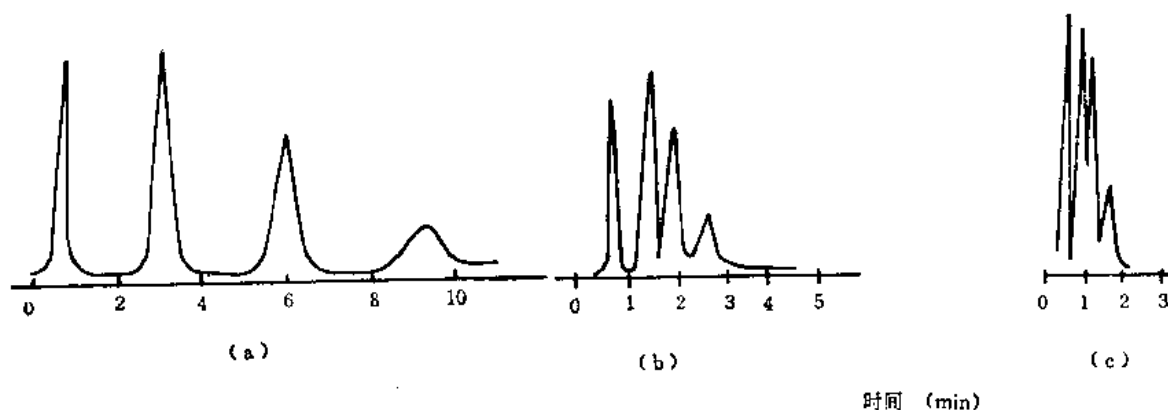
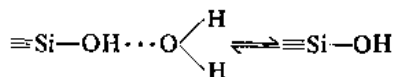


图 5-7 硅胶孔径对分离度和分离速度的影响

(a) Lichrospher Si-100; (b) Lichrospher Si-500; (c) Lichrospher Si-1000
 色谱柱：200×3mm(内径)，流动相：0.5%乙醇/正庚烷，流速 2.5 ml/min 试样：雌性激素。
 (引自参考文献[17])

(2) 表面活性 硅胶以 $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 表示，具有多孔性的硅氧烷 $\begin{array}{c} | \\ \text{—Si—O—Si—} \\ | \end{array}$ 交链结

构，其骨架表面有很多硅醇基—Si—OH，因此是极性的吸附剂，它的表面活性或吸附能力的大小与类型有关。在室温时，硅醇基能吸着多量水分，是借氢键力结合在表面的物理吸附水。温度升高，吸附水逐渐减少。到 200°C 时表面吸附水完全失去，表面活性最大，吸附力最强，这一过程称为吸附剂的活化。



温度超过 200°C 后，逐渐转变为硅氧烷基，称为去羟基作用，在冷却后加水，仍可转化为硅醇基；但若温度达 500°C，则全部醇基转变为硅氧烷基就不能再逆转。

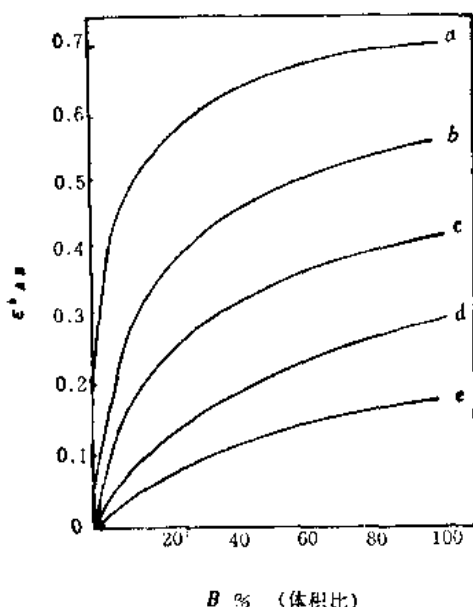
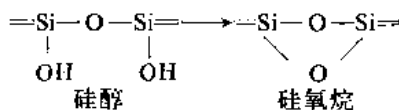


图 5-8 二元溶剂系统的溶剂强度(e^0_A)
a——戊烷(A)/吡啶(B)；b——戊烷(A)/丙酮(B)；c——戊烷(A)/二氯甲烷(B)；d——戊烷(A)/氯丙烷(B)；e——戊烷(A)/四氯化碳(B)；
(引自参考文献[17])

所以硅胶的吸附性能与其表面醇基和物理吸附水有很大关系。吸附剂的活性可借表面吸附水的量来加以调节控制，称为去活化作用。在实际应用中流动相中的含水量对吸附剂的活性也有很大的影响，严格控制其含水量是保证 K' 重复性好的很重要原因。

3. 液固色谱流动相 在液固色谱中，吸附剂的品种不多，主要是硅胶、氧化铝，有时亦用聚酰胺。选定了吸附剂后，提高分离度和选择性主要靠合适的流动相来实现，基本原则为：极性大的试样需要极性较强的洗脱液；反之，极性弱的试样，则用低极性的洗脱液，所以溶剂极性是很重要的。斯奈德(Snyder)首先采用溶剂强度的概念定量地表征流动相的极性。溶剂强度 e^0 为溶剂分子在单位面积标准吸附剂(A_s)上的吸附能(E^0) $_s$ ：

$$e^0 = (E^0)_s / A_s \quad (5-14)$$

e^0 值表示该流动相在选定吸附剂上相对极性的

大小， e^0 值大，表示流动相的极性大，反之流动

相的极性小。在不同的吸附剂上 e^0 值也不相同，但极性吸附剂的 e^0 值大致相同，在硅胶与氧化铝上的换算关系如下：

$$e^0_{\text{硅胶}} \approx 0.77 e^0_{\text{氧化铝}} \quad (5-15)$$

在实际应用中，复杂混合物的分离往往很难用一种溶剂来实现，必须采用两种或两种以上的混合溶剂系统来提高分离选择性。按其分离机理可分为洗脱剂和调节剂两大类。前者的作用是将样品溶解和将各组分分离，后者是调节保留时间的长短，并改善样品中某些分离不理想的组分。混合溶剂的极性略高于平均值，因为极性溶剂易被吸附剂吸附，所以极性强的溶剂对平均 e^0 值贡献大些。改变它的比例效果明显。图 5-8 为混以不同比例极性溶剂(B)

的戊烷(A)与混合洗脱强度 ϵ_{AB}^0 的关系。可见，在二元混合溶剂洗脱体系中，当B溶剂量超过40%时， ϵ_{AB}^0 的变化逐渐减小，需选另一溶剂系统才能得到所需的分离。图5-9和图5-10分别列出了以硅胶和氧化铝为吸附剂时，两种不同强度的流动相以一定比例混合后的 ϵ^0 值。从图中可以方便地找到欲选择某一溶剂强度的混合流动相时两者体积的百分数。如要配制强度 $\epsilon^0 = 0.35$ 的混和溶剂，查图5-9中，戊烷:乙醚=19:81，戊烷:乙腈=96:4；二氯甲烷:乙腈=97.4:2.6等。

作为流动相的溶剂不仅要 ϵ^0 值适当，还要求粘度小，纯度高，对样品有一定溶解度，与检测器相匹配等条件，表5-2为常用溶剂的性质和它们的基本参数。

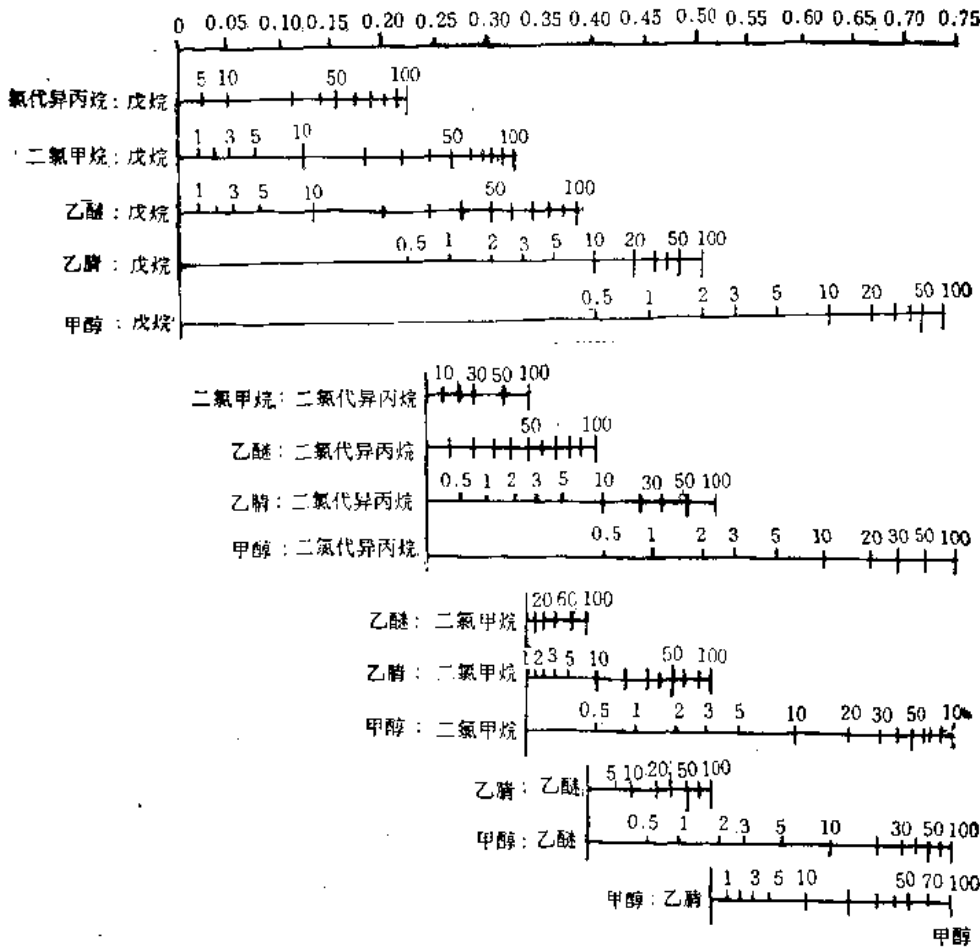


图 5-9 以硅胶为吸附剂时两种流动相混合后的 ϵ^0 值
(引自参考文献[5])

(二) 液液分配色谱法

液液分配色谱法是根据样品组分在互不相溶的两种液相中分配系数的不同，来实现分离分析的。色谱柱中的固定相是涂渍在惰性载体上的液体，或者将各种不同的有机基团化学键合到载体上，用与固定相互不相溶的液体作流动相。流过柱子的流动相在很大面积上与固定相接触，流动相中的样品组分在两相间进行平衡分配，由于样品组分在两相中的相对溶解度不同，以不同速度流出色谱柱而得到分离。当分配达到平衡状态时，组分在固定相中的浓度和在流动相中的浓度之比即为分配系数，以 K 表示。

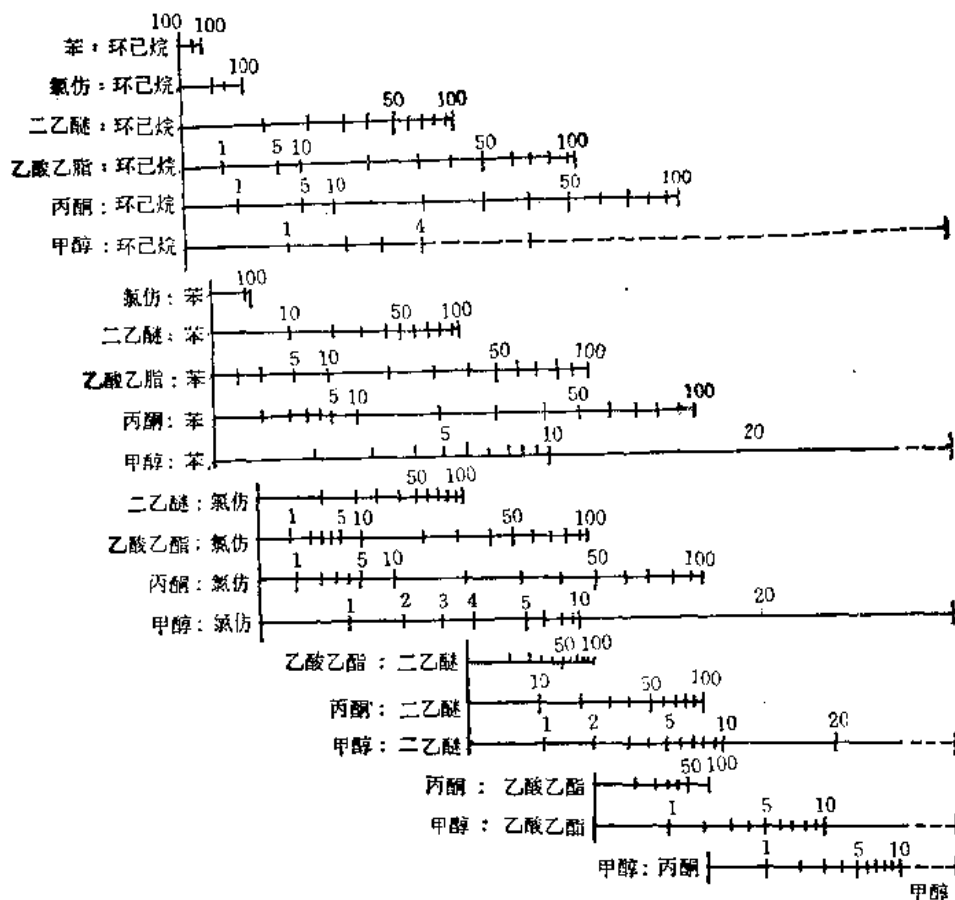


图 5-10 以三氧化二铝为吸附剂时两种流动相混合后的 e° 值
(引自参考文献[5])

$$K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度 } (c_s)}{\text{组分在流动相中的浓度 } (c_m)} = K' \frac{V_m}{V_s} \quad (5-16)$$

K 值大, 物质在柱中停留时间长, 移动速度慢, 保留体积大, 保留时间长; 反之 K 值小, 移动速度快, 保留时间短。液液分配色谱的分离机理如图 5-11。在动力学平衡状态下这个过程是可逆的。

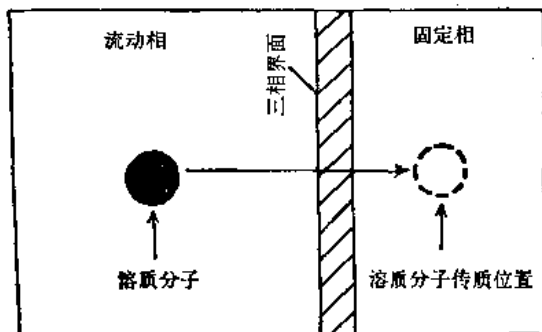


图 5-11 液液分配色谱模型
(引自参考文献[5])

液液色谱中采用极性固定相和非极性溶剂作流动相, 称为正相液液色谱。该两相也可以交换, 即采用非极性固定相和极性流动相, 称为反相液液色谱。所以通过选择适宜的固定相和流动相, 可以对非常广泛的样品类型进行分离。

1. 柱填充剂

(1) 薄壳型填料: 由 30—40 μm 的玻璃微球表面涂覆 1 μm 的表面多孔物质如硅胶、氧化铝等。

(2) 全多孔微粒型填料, 包括硅胶、多孔硅球等。颗粒细度为 3—10 μm , 柱效高, 试

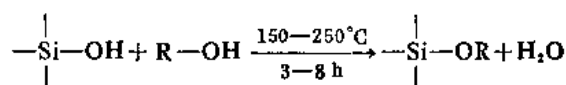
样容量大, 分析速度快。

以上两种填料可作为载体, 涂以适当的固定液即可作为固定相。正相液液色谱使用 β , β' -氧二丙腈、聚乙二醇, 反相液液色谱常用角鲨烷、氰乙基硅醇等固定液。

(3) 化学键合固定相: 液液分配色谱虽有较好的分离效果和温和的色谱条件, 但固定液是以机械的方法涂覆在载体表面, 很容易流失, 缩短了柱子的使用寿命, 并污染了分离后的组分, 基线噪音大, 因此其应用受到很大限制。化学键合固定相是为了克服以上这些问题而产生的。化学键合固定相是利用化学反应的方法, 通过化学键把有机分子结合到载体表面, 它具有以下特点: ① 无液相流失, 增加了柱子的稳定性和使用寿命, 消除了试样被污染的可能性; ② 消除了固体表面的活性点, 使表面性质均一, 减少了表面的催化作用; ③ 表面没有液坑, 比一般液体固定相传质快; ④ 对各种溶剂及不是太强的酸都具有化学稳定性, 应用时受流动相的限制较少, 且有利于梯度洗脱; ⑤ 载体表面可以键合各种不同的有机基团, 有助于灵活改变选择性, 适用于各种类型样本的分离。键合固定相最初于气相色谱中应用, 很快就被用于液相色谱, 并获得成功, 被认为是高压液相色谱发展中的里程碑, 占有极为重要的地位。几乎 80% 左右的分离和分析工作可用它来解决, 在农药分析中亦用得很多。

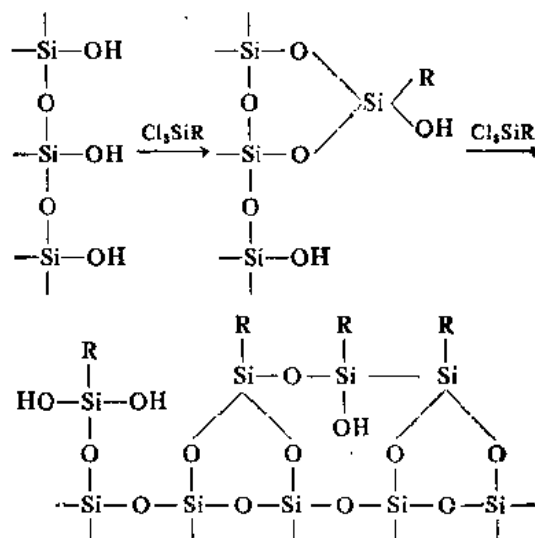
2. 化学键合固定相 化学键合固定相一般都以全多孔微柱或薄壳型硅胶为基体, 先将硅胶进行酸洗, 中和, 干燥活化, 使其表面保持自由硅醇基, 有机基团在硅胶表面的键合型主要有:

(1) 酯化键合 (Si—O—C 型), 它是由硅醇基与各种醇如氯乙醇、正辛醇、聚乙二醇等在一定温度下加热酯化后生成的单分子键合固定相。



酯化后的有机基团像刷毛一样排列在硅胶表面, 又称刷状固定相。这类固定相的 Si—O—C 键容易断裂, 当用极性强的溶剂如水、醇等, 键合的有机基团易被水解或醇解, 所以只能在正相色谱中使用极性小的溶剂。

(2) 硅烷化键合 (Si—O—Si—C 型) 是以氯硅烷与硅胶表面羟基作用并聚合交联成网状结构而得。



如使用较大的硅烷化试剂时, 硅胶表面的硅醇基不能完全参与键合反应, 在非极性键合

相中硅醇基使极性化合物色谱峰拖尾，为此可在键合反应后，用小分子的三甲基氯硅烷进行补充硅烷化，以尽量减少硅醇基。Si—O—Si—C型是目前应用最广泛的键合相，具有相当的耐热性与化学稳定性，在70°C以下和pH 2—8范围内都可工作。为了比较键合相的性能，常用表面键合相浓度 α 来评价，

$$\alpha = \frac{W}{MS} (\mu\text{mol}/\text{m}^2) \quad (5-17)$$

式中 W 为1g基体上键合的有机基团的重量(μg)， M 为键合有机基团的分子量， S 为基体的比表面积。

反相键合相色谱用的固定相表面都是极性小的烃基，如十八烷基、辛烷基和苯基等，而采用强极性溶剂如水、甲醇、乙腈或无机盐的缓冲液作为流动相。其洗脱次序与正相色谱相反，极性大的化合物先洗脱(K' 小)、极性小的化合物不易洗脱(K' 大)，十八烷基键合相(简称 C_{18} 或ODS)用得最多，可用于各种类型样品的分析，辛基和苯基键合相适用于分析极性样品。

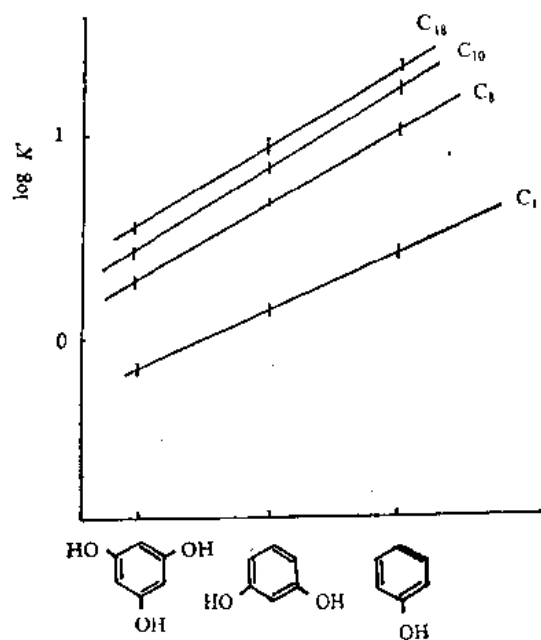


图 5-12 组分极性，键合相链长与 K' 的关系

固定相表面键合极性有机基团称为极性键合相，最常用的有氨基(CN)键合相，其性质与硅胶相似，极性较硅胶弱，在正相色谱中使用，以非极性或极性小的溶剂(如烃类)加入适量极性溶剂(如氯仿、甲醇、乙腈等)以调节控制洗脱液的强度，极性弱的先出峰。

反相键合相的机理已有不少研究，曾有人认为单分子层刷状的键合固定相以吸附为主，但目前多偏向于分配色谱的作用机理，以疏溶剂理论来解释，认为非极性烷基键合相是在硅胶表面键合一层非极性十八烷基(或其他烃基)，具有强的疏水特性，而极性溶剂与要分离分析的非极性组分相互间有排斥力，组分与键合相的结合是为了减少受溶剂的排斥，即组分的保留主要是由于疏水溶剂效应，组分 S 与键合相烷基 L 之间的缔合是可逆过程：



缔合作用的强度和组分的色谱保留值取决于以下三个因素：① 组分分子中非极性部分的总表面积，总表面积越大，缔合作用越强，在一定洗脱液和温度下 $\log K'$ 与它的总面积成正比，如增加极性基团，增加了组分分子与洗脱液极性分子间的作用力而使 K' 减小。② 键合相上烷基的总表面积，烷基越长， K' 越大。图5-12为几种酚类化合物在不同碳链的非极性键合相上所得 $\log K'$ 。组分上—OH增多，增加了极性，使 K' 减少，即易于洗脱。而键合相上的烷基碳链越长，则 K' 值亦越大。③ 洗脱液的表面张力也是影响保留的因素。组分的保留随表面张力的增加而增加。

3. 分配色谱流动相 在常规液液色谱中，使用极性固定相和非极性或弱极性流动相，极性最弱的组分先流出，增加流动相的极性将降低洗脱时间，反相色谱法则相反，是使用非

极性或弱极性固定相和极性流动相，极性最强的组分最先流出，流动相是水和甲醇或水和乙腈的混合物，增加流动相的极性将增加洗脱时间，即水的浓度加大，增加保留时间，甲醇或乙腈的浓度增大，使保留时间减少。

正相和反相液液色谱的区别：

	正相	反相
固定相极性	极性大或中等	极性小或中等
溶剂极性	极性小或中等	极性中等或大
样本洗脱次序	非极性先出来	极性先出来
增加溶剂极性的效果	降低洗脱时间	增加洗脱时间

反相色谱用的流动相是以水为基本溶剂，水的极性很大，用它分离非极性组分，保留值太大，加入与水互溶或部分互溶的有机溶剂为调节剂，最常用的是乙腈和甲醇，因为它们粘度较小，易于提纯，紫外吸收截止波长较低，且甲醇、乙腈作流动相时，洗出能力很强，与水或水缓冲溶液配成混合液，可得到中等强度的流动相，改变水-甲醇或水-乙腈的配比，可改变样品组分的 K' 值，因而获得较好的分离。目前在农药分析中反相色谱用得最多，因为甲醇、水等流动相易得，价格便宜，常用溶剂的性质见表 5-2。

水是反相色谱的主要流动相，水中非极性有机物会被吸附在 C_{18} 柱的填料上，不能用去离子水作流动相，可以采用二次蒸馏水或在 1 L 蒸馏水中加 1 g 高锰酸钾一起蒸馏以除去有机杂质。甲醇亦是反相色谱的主要流动相，其纯化方法是：1 L 甲醇加 3g 氢氧化钠和 1g 硝酸银回流 1h 后蒸馏。

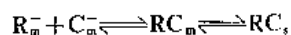
使用溶剂作流动相时必须注意以下问题：① 必须除去溶剂中任何小颗粒，所有溶剂在使用前必须通过 $0.5\ \mu\text{m}$ 聚四氟乙烯过滤纸过滤。② 所有溶剂必须除气，可使用超声波水浴除气或在磁力搅拌下用真空泵抽气数分钟。

4. 离子对色谱 各种强极性可电离的有机酸和有机碱的分离是液相色谱的重要课题，如用吸附色谱法往往需用强极性的洗脱液，如用离子交换色谱又缺少合适的离子交换剂。而强酸和强碱化合物在 pH 2-8 范围内完全离解，若在流动相中加入合适的带有与样品离子相反电荷的离子，使它与样品离子缔合成中性离子对化合物，可增大保留并取得良好的分离效果。

离子对色谱是离子对萃取法的原理在液相色谱中的应用和发展，又称离子对分配色谱。分为正相和反相离子对色谱，正相离子对色谱是将离子对试剂涂覆在硅胶或纤维素上，以非极性溶剂为流动相，但离子对试剂易流失，已不常使用。反相离子对色谱采用非极性烷基键合相为固定相，低浓度反离子的水/有机溶剂缓冲溶液为流动相，不存在离子对试剂的流失问题，操作简便，适用范围广。

(1) 分离机理：一般都用离子对模型解释，认为样品离子与反离子先在流动相中缔合成离子对，离子对复合分子如同中性分子或弱极性分子，可采用在键合相和流动相之间分配的液液分配方法进行分离，是先形成离子对，再进行分配。

一般情况下，样品离子和反离子都易溶于水相，而形成的离子对复合物，易溶于有机相中。一价阳离子 R^+ 和反离子 C^- 在流动相中先形成离子对，再在两相中进行分配：



式中下标 m 和 s 分别表示流动相和固定相，此反应的总平衡常数为：

表 5-2 常用溶剂的性质

	溶剂强度 ϵ°	介电常数	粘 度 $\eta(\text{c.p.})$ (20°C)	折 射 率 (20°C)	紫外吸收截止 波 长 (nm)
正戊烷	0.00	1.84	0.235	1.358	200
正己烷	0.01	1.88	0.33	1.375	200
正庚烷	0.01	1.92	0.42	1.388	200
异辛烷	0.01	1.94	0.50	1.391	200
环己烷	0.04	2.02	0.98	1.426	210
四氯化碳	0.18	2.24	0.97	1.466	265
二异丙基醚	0.28	3.88	0.37	1.368	220
甲苯	0.29	2.38	0.59	1.496	290
正氯丙烷	0.30	7.7	0.35	1.389	225
苯	0.32	2.28	0.65	1.501	290
溴乙烷	0.37	9.34	0.39	1.421	230
二乙基醚	0.38	4.33	0.23	1.353	220
氯仿	0.40	4.8	0.57	1.443	250
二氯甲烷	0.42	8.93	0.44	1.424	250
四氢呋喃	0.45	7.58	0.46	1.407	220
二氯乙烷	0.49	10.7	0.79	1.445	230
甲基·乙基甲酮	0.51	18.5	0.4	1.379	330
丙酮	0.56	21.4	0.32	1.359	330
二氧杂环己烷	0.56	2.21	1.54	1.422	220
醋酸乙酯	0.58	6.11	0.45	1.370	260
醋酸甲酯	0.60	6.68	0.37	1.362	260
硝基甲烷	0.64	35.9	0.65	1.382	380
乙腈	0.65	37.5	0.37	1.344	210
吡啶	0.71	12.4	0.94	1.510	310
正丙醇	0.82	21.8	2.3	1.38	200
乙醇	0.88	25.8	1.2	1.361	200
甲醇	0.95	33.6	0.6	1.329	200
乙二醇	1.11	37.7	19.9	1.427	200
水	} 很大	80.4	1.00	1.333	180
甲酰胺		110	3.76	1.448	
醋酸		6.1	1.26	1.372	

注：引自参考文献[17]。

$$K = \frac{[RC_2]}{[R_m][C_m]} \quad (5-19)$$

(2) 离子对试剂：选择合适的离子对试剂是很重要的，农药样品为阳离子，则采用烷基磺酸盐，若样品为阴离子，则采用季胺盐。反离子的类别如下：

① 季胺类：常用的有四甲基胺、四丁基胺和十六烷基三甲胺离子等，它们适用于强酸和弱酸混和物的分离。② 叔胺类：如三辛胺等，适用于磺酸盐化合物的分离。③ 烷基磺酸盐：如甲基和庚基磺酸盐，萘-2-磺酸盐等适用于强碱和弱碱混合物的分离。④ 高氯酸：可

与碱性化合物形成离子对。

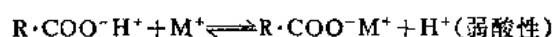
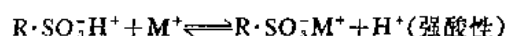
一般说来,反离子的烷基增大,保留增大,所以对性质相似的样品离子,应选用烷基较少的反离子。

反离子浓度是控制保留的重要因素,在一定范围内增加反离子浓度可使保留增加。流动相一般采用甲醇/水溶液,流动相的 pH 值亦是控制保留的因素,适宜的 pH 值是使样品完全离解,以获得最大的保留,但 pH 的选择受烷基键合相稳定性的限制, pH 只能在 2—7.5 范围内选择。烷基键合相都可用作反相离子对色谱的固定相,常用 C₈和 C₁₈烷基。

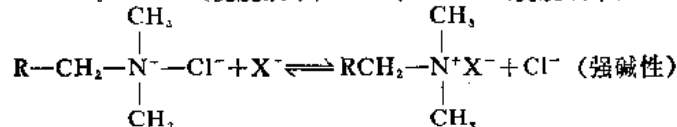
(三) 离子交换色谱

1. 原理 离子交换色谱是基于离子交换剂上可电离的离子与流动相中具有相同电荷的组分离子间进行可逆交换。凡是能在流动相中离解的组分都可以用离子交换色谱法进行分离和分析。离子交换剂是由一个不溶性的骨架(R)为基质,其突出部位带有共价键合的可以离解的官能团,根据官能团的性质分类,带有磺酸基和羧基的,为阳离子交换剂;带有季胺基或胺基的,为阴离子交换剂。当样本解离后产生的离子与离子交换剂上带相同电荷的离子交换而达到平衡时,可用下式表示:

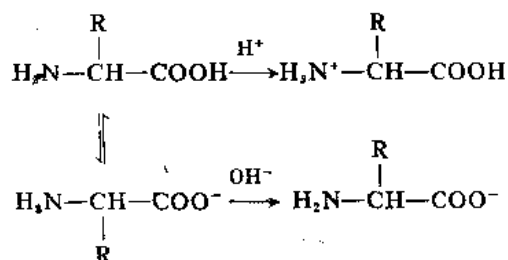
阳离子交换剂其骨架带负电荷,能吸引或保留带正电荷的离子,



阴离子交换剂,其骨架带正电荷,能吸引或保留带负电荷的离子,

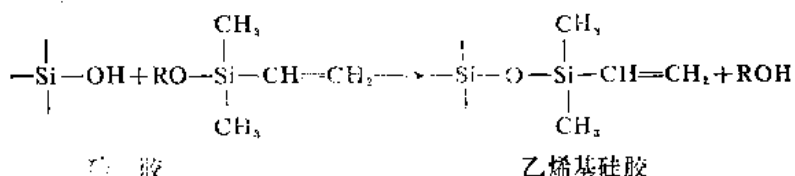


离子交换色谱是根据样品离子(阳离子混合物或阴离子混合物)和键合在骨架上的离子之间选择性吸附的差别而进行分离的。离子交换色谱主要是分离离子,一些中性有机化合物在一定条件下能转化为离子的也可用此法分离,如氨基酸在不同的 pH 值时可转变为阴离子或阳离子,调整 pH 可使不同氨基酸得到分离。

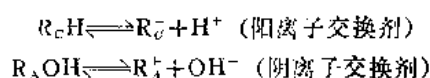


2. 离子交换剂 早期使用二乙烯基苯的聚苯乙烯树脂为骨架的离子交换树脂,由于其溶胀性,不耐高压,已很少用于高压液相色谱中,已被离子性键合相所替代。目前最常用的是以薄壳型或全多孔微粒硅胶为基质,在其表面再化学键合成各种离子交换剂。以硅胶作基质的离子交换剂具有较高的耐压性,化学与热稳定性,硅胶还有较好的机械强度,这类微粒型键合固定相可以高压匀浆装柱,但它只能在 pH=0~8 时适用, pH>9 时硅胶易溶胀。

全多孔硅胶离子交换剂是先将硅胶转化为乙烯基硅胶，然后将带有交换基团的分子聚合到乙烯基硅胶的孔内，粒径约 $5\sim 10\ \mu\text{m}$ 。



离子交换剂的交换容量是以结构内部起交换作用的离子基团的浓度来表示的，即每克干交换剂可交换离子的毫（微）克当量数。离子型键合固定相的交换容量与固定相的表面积有关，全多孔微粒型固定相的交换容量大，薄壳型由于表面积小，交换容量小，交换容量可用酸碱滴定法测定，它是 pH 的函数。



pH 低时，阳离子交换剂的离子化受到抑制，交换容量减少，阴离子交换剂 $\text{R}_\text{A}\text{OH}$ 在 pH 高时也受到抑制。pH 对离子交换容量的影响见图 5-13。pH 在 2 以上强酸性阳离子交换剂全部离子化，具有实用容量，而强碱性阴离子交换剂在 pH 约 10 以下才是实用的；弱酸性阳离子交换剂的 pH 为 8 以上，而弱碱性阴离子交换剂的 pH 仅在 6 以下才是实用的，说明强酸性和强碱性离子交换剂能用的 pH 范围比较弱酸性和较弱碱性的离子交换剂要宽得多，使用亦较普及，见图 5-13，几种国产离子交换剂的性能见表 5-3。

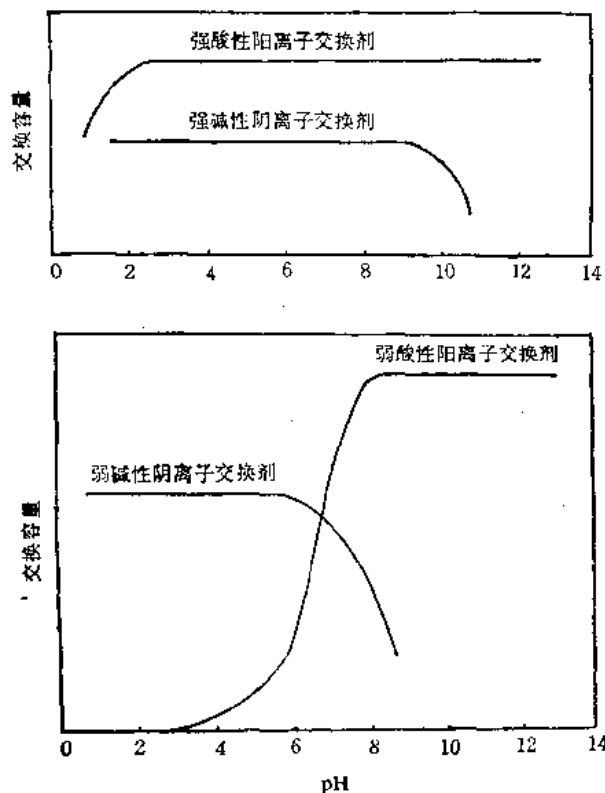
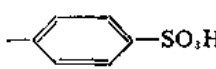


图 5-13 典型离子交换剂的滴定曲线

3. 流动相 在离子交换色谱中，流动相的性质亦是很重要的，流动相的 pH、离子强度、缓冲液的变化对保留值 K' 和分离系数 α 有很大影响。在实际使用中，大都采用一定的 pH 和一定浓度的缓冲液，并严格控制其离子强度。

流动相的 pH 值对弱酸性和弱碱性离子交换剂的交换容量有影响，还对弱酸或弱碱混合物的分离也有影响，因为它们如果是以不解离的分子形式存在，将无保留地通过离子交换剂。只有先离解为离子，才可进行离子交换而被分离；而流动相的 pH 值决定了它们的离子浓度，所以流动相 pH 值变化，引起 K' 的变化。在阳离子交换色谱中经常使用的缓冲液有醋酸、甲酸的钾、钠缓冲液；在阴离子交换色谱中常用阴离子缓冲液如氨、吡啶等来控制 pH。

表 5-3 几种国产离子交换剂性能

类 型	名 称	官 能 团	颗粒度 μm	形状	强度	基 体	供应 者
薄壳型阳 离子	薄壳玻璃 苯磺酸		25—37	球形	强	薄壳玻璃 (1)	①
薄壳型阳 离子	薄壳玻璃 丙氨基丙酸	$-(\text{CH}_2)_3-\overset{\text{H}}{\underset{ }{\text{N}}}-(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	25—37	球形	弱	薄壳玻璃 (1)	①
薄壳型阴 离子	薄壳玻璃 丙基苄基二 甲胺氯	$-(\text{CH}_2)_3\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{N}}}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{Cl}$	25—37	球形	强	薄壳玻璃 (1)	①
全多孔硅 质阳离子	堆积硅珠- 丙氨基丙酸	$-(\text{CH}_2)_3-\overset{\text{H}}{\underset{ }{\text{N}}}-(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	3—5	球形	弱	堆积硅珠	①
全多孔硅 质阳离子	YWG-SO ₃ H	$-\text{SO}_3^-\text{H}^+$	10±2	非球形	强	硅 胶 YWG-1	②
全多孔硅 质阴离子	YWG-R ₄ NCl	$-\text{R}_4\text{N}^+\text{Cl}^-$	10±2	非球形	强	硅 胶 YWG-1	②
树脂型阳 离子	YSG-HSO ₃	$-\text{SO}_3^-\text{H}^+$	10—15 15—25	—	强	聚苯乙烯- 二乙烯基苯	②
树脂型阴 离子	YSG-R ₄ NCl	$-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{N}^+\text{Cl}^-$	10—15 15—25	—	强	聚苯乙烯- 二乙烯基苯	②

①上海试剂一厂；②天津化学试剂二厂；③引自参考文献[5]。

五、在农药分析中的应用

前已述及，在农药制剂分析中，高效液相色谱法发展很快，除了氨基甲酸酯类农药外，热稳定性差的和分析前需要进行衍生化处理，才能使用气相色谱法的农药，都可使用此法。与农药残留分析不同，使用高效液相色谱法分析农药制剂的特点是样本处理比较简便，液体样本通常稀释后即可进样，固体农药制剂则需用适当的溶剂提取，过滤后即可进样。如果需要净化和浓缩，可以使用塑料 $2 \times 0.5 \text{ cm}$ 指形层析柱来净化和提取农药。在我国已商品化的指形层析柱有硅胶和弗罗里硅土柱，用来分离和提取溶于石油醚类溶剂中的稍带极性的农药，还有 C_{18} 小柱，可以分离、提取水和甲醇中的农药。

农药常量分析和残留分析是有区别的，残留分析要求灵敏度高和能检出其类似结构的有毒代谢物，但准确度要求不高；常量分析时样品中有效成分含量较高，对方法的灵敏度要求不高，但方法的准确度和精密度必须达到要求，而且要求样本负载量在较大范围内都有响应。因此在用液相色谱法测定农药时，必须具有以下最基本的设备：一个带有梯度洗脱的泵系统、可变波长的紫外检测器、柱加热器和定量进样环装置。可连续改变波长的紫外检测器是很有用的，如带有停留扫描装置可以选择最大吸收波长，测定时可根据需要选择合适的色谱柱和流动相以达到最好分离。

(一) 分离类型的选择

在进行液相色谱分析前，首先要仔细研究农药的特性及该项分离分析的目的，以选择最

合适的方法,任何一种分离类型都不是万能的,它们各适用于一定的分离对象,可根据农药的分子量、极性、溶解度、分子结构、解离情况等特性。选择分离类型,参见图 5-14。

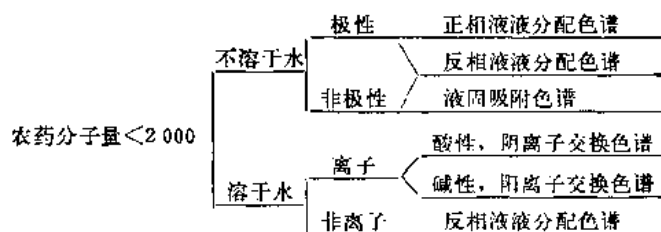


图 5-14 分离类型的选择

农药的分子量一般小于 2 000,在选择高效液相色谱的分离类型时,首先要了解农药的溶解度,将它们分为溶于水的和不溶于水而溶于有机溶剂两类。不溶于水、溶于有机溶剂的非极性农药,可以使用液固吸附色谱,菊酯类农药如溴氰菊酯、氯氰菊酯都可使用液固吸附色谱,尤其是对各异构体的分离,如氯氰菊酯的测定是使用 5 μm 的硅胶柱,以 0.5% v/v 乙酸乙酯/异辛烷作为流动相,柱温 50 $^{\circ}\text{C}$,以苯甲酸甲酯为内标,各异构体和内标均得到很好地分离,在柱温为 50 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$ 时,其出峰时间见图 5-15。

此外如辛硫磷、氯辛硫磷均可使用液固吸附色谱,前者以 (96 + 4) v/v 正己烷 + 四氢呋喃为流动相,后者以 (95 + 5) v/v 正己烷 + 乙酸乙酯为流动相,在 5 μm 的硅胶柱上可使有效成分与杂质分离;在早期对硫磷、甲基对硫磷、克百威、异丙威等农药都可使用液固吸附色谱分离和分析。

从图 5-15 可见,不溶于水的、极性或极性农药均可使用反相液液色谱法,由于液固吸附色谱重复性差,要使用价格较贵的正己烷和异辛烷等有机溶剂,现在普遍选用反相键合相色谱,事实证明许多农药都可使用 C_{18} 反相键合相色谱,这类色谱分离时使用乙腈或甲醇和水为流动相,我国都使用甲醇,价格低廉易得,近年 CIPAC 推荐的方法如乐果、磷胺、久效磷灭害威、残杀威、克百威以及三氯杀螨醇等都是使用反相键合相色谱,如在三氯杀螨醇原药分析中,使用 C_8 (Zorbax) 6 μm 250 $\times$ 4.6 (id) mm 不锈钢柱,以甲醇:水:乙酸 = 75:25:0.2 (v/v) 为流动相,紫外吸收波长为 254 nm,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 时, *o*, *p* 与 *p*, *p'* 三氯杀螨醇可以分开,DDT 各异构体和代谢物亦可分开,见图 5-16。又如我国辛硫磷乳油的国家标准 (GB 9557-88) 是采用反相键合相色谱,柱填充物为全多孔型硅胶硅烷化键合相 (C_{18}),样品用甲醇溶解,使用定量进样阀将样品溶液注入色谱系统,用 254 nm 紫外检测器检测,

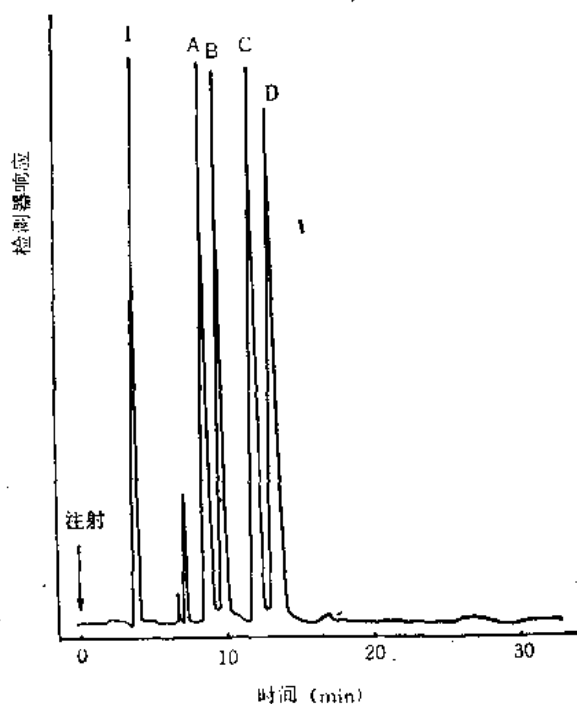


图 5-15 氯氰菊酯各异构体和内标的液相色谱图

I: 苯甲酸甲酯(内标) 3.9min

以下分别为氯氰菊酯4对映体的出峰时间:

A: α -(R)-(IR)-顺式 + α -(S)-(IS)-顺式 8.5min

B: α -(S)-(IR)-顺式 + α -(R)-(IS)-顺式 9.5min

C: α -(R)-(IR)-反式 + α -(S)-(IS)-反式 11.6min

D: α -(S)-(IR)-反式 + α -(R)-(IS)-反式 13.0min

采用外标法计算辛硫磷含量。

如果农药是溶于水的离子化合物，根据该离子的特性可以选用阳离子交换色谱或阴离子交换色谱，如草甘膦原药的测定是采用强阴离子交换色谱Partisil10 SAX，使用 250×4.6 mm 不锈钢柱，流动相是 960 ml 磷酸盐缓冲水溶液中加入 40 ml 甲醇，用 85 % 磷酸将此溶液的 pH 调至 1.9，用波长为 195 nm 紫外检测器和外标法测定。在测定强有机酸或有机碱农药时，可以使用离子对色谱法，测定弱有机酸或弱有机碱农药时，可以使用离子抑制色谱法，

因为常用的离子交换色谱需要选择农药解离和非解离的最佳平衡的 pH 条件，比较麻烦，而使用离子对色谱或离子抑制色谱时，实际上是将离子交换中的离子化合物与离子对试剂形成离子对可以使用常规反相键合相柱如 C_{18} 柱等来进行分离，比较方便。以茅草枯(CH_3CCl_2COOH)原药的分析为例，是用 $10 \mu m$ 的 C_{18} 键合相为填充剂， 100×8 (id) mm 的不锈钢柱，流动相为 200 ml 乙腈、1.6 ml 正辛胺和 2.4 g 磷酸氢二铵于 1 L 水中，用稀磷酸将 pH 调至 7.0 的溶液。在 214 nm 波长紫外检测器检测，使用固定进样环，以外标法定量，在此条件下，茅草枯与其它成分分开。其保留时间分别为：茅草枯 6.0 min、氯乙酸 1.8 min、2-氯丙酸 2.4 min、二氯乙酸 3.5 min、三氯乙酸 10.9 min、2,2,3-三氯丙酸 11.9 min；又如三环锡 $\left[\begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \diagdown \diagup \end{array} \right]_3 SnOH$ 的测定亦可算是离子对色谱法，柱填充剂为 $10 \mu m$ 的 C_{18} 反相键合相 (Lichrosorb RP-18)，流动相为水 69 ml，1 mol/L 盐酸 1 ml，NaCl 0.29 g 加 930 ml 甲醇于 1 L 瓶中，以正癸基苯为内标，以离子对色谱进行分离的，离子对色谱不仅可以对农药有效成分进行测定，当样本中既有离子的成分，又有非离子的成分时，如要分离非极性农药中的离子化杂质和代谢物时亦是很有用的。

在选择分离类型时，尽量选用实验室内已有的色谱柱和简便易行的方法，绝大多数农药是非极性和中等极性的，它们可以使用液固色谱也可以使用反相键合相色谱，如上述辛硫磷即是。从目前文献报道大多选用反相键合相色谱。

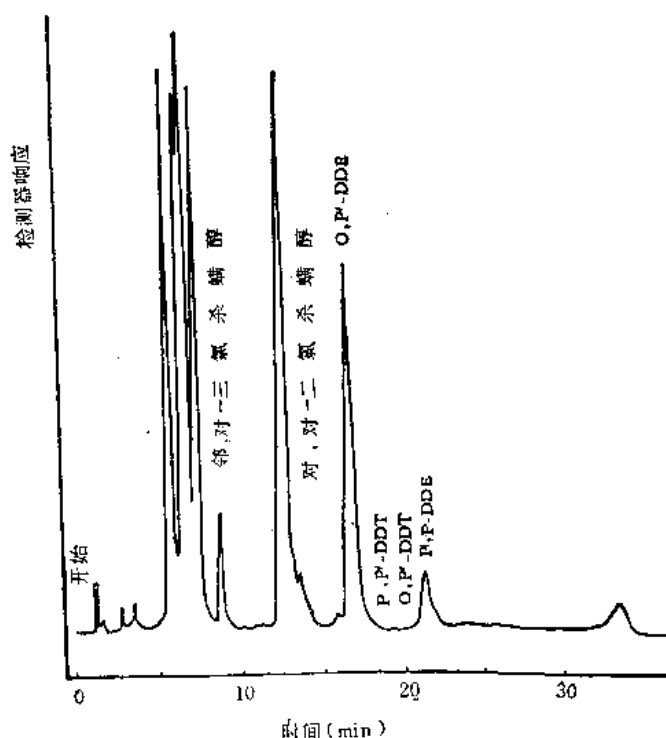


图 5-16 三氯杀螨醇工业品的典型色谱图(C_{18} 柱)

(二) 内标物的应用

在应用气相色谱进行农药分析时，有些因素如样本量、气体流速、柱温和检测器温度以

及所用溶剂的挥发性等，都能影响检测器的响应，使用内标物可以抵消这些影响，提高精密度和准确度。在液相色谱分析中，使用内标是否有优点还在争论中，特别是使用固定的进样环和自动进样器时，很多人认为可以使用外标法。但是在使用液相色谱分析方法对农药样本进行协作研究时，由于使用的进样系统很不相同，通常是使用内标的。

内标法是在试样中和标准样本中分别加入相同含量的内标溶液，最简单的方法，使用适当溶剂配制5倍于正常进样浓度的内标溶液于容量瓶中。分别于50 ml容量瓶中配制标准品和待测样本，各吸取10 ml内标溶液于其中，用溶剂稀释到刻度。标准品与样本溶液中具有相同浓度的内标，是为了便于计算。将配好的标准溶液重复进样，直至相邻两针进样后，其R值之差<2%。

$$R = \text{标准品的峰高或峰面积} / \text{内标的峰高或峰面积}$$

继续进样测定时，其次序为：① 标样溶液；② 样本溶液；③ 样本溶液；④ 标样溶液。按下式求得农药含量百分率：

$$\text{有效成分含量}(\%) = \frac{R_2 \times m_1 \times \rho}{R_1 \times m_2}$$

式中： R_1 ——标样与内标物峰高（或峰面积）比的平均值；

R_2 ——样本与内标物峰高（或峰面积）比的平均值；

m_1 ——标准品的称样量，g；

m_2 ——样本的称样量，g；

ρ ——农药标准品的百分含量。

通常内标物的选择必须符合以下条件：① 必须是在分析的样本中没有的成分；② 其保留时间应与样本接近；③ 农药成分与内标物之峰高（或峰面积）比应该基本一致；④ 内标物对样本组分不起化学或其它作用；⑤ 内标物应该与样本中所有的杂质峰分开。此外，在高效液相色谱中，选择内标物时，要注意化合物对紫外吸收光谱的响应。

表 5-4 反相高效液相色谱内标的保留时间(min)

内 标 物	CH ₃ OH/H ₂ O							
	25/75	40/60	50/50	60/40	65/35	70/30	75/25	80/20
苯酚(C ₆ H ₅ OH)	7.5	4.2	3.0	2.3	2.0	1.8	1.7	1.5
乙酰苯(CH ₃ COC ₆ H ₅)	—	9.5	5.3	3.5	3.0	2.5	2.3	2.0
对溴苯酚(C ₆ H ₄ ·Br·OH)	—	14.0	6.7	4.2	3.5	2.8	2.5	2.2
邻苯二甲酸二乙酯 C ₆ H ₄ ·(COOC ₂ H ₅) ₂	—	—	12.0	5.1	4.0	3.3	2.7	2.4
二苯甲酮(苯酰苯) (C ₆ H ₅) ₂ CO	—	—	20.0	9.0	6.3	4.7	3.5	2.7
苯酸苄酯 C ₆ H ₅ COOCH ₂ C ₆ H ₅	—	—	—	17.5	10.0	6.5	4.5	3.5
邻苯二甲酸二丁酯 C ₆ H ₄ ·(COOC ₄ H ₉) ₂	—	—	—	32.0	18.0	10.8	6.5	2.8
三苯甲烷(C ₆ H ₅) ₃ CH	—	—	—	—	40.0	19.0	11.0	7.0
邻苯二甲酸二戊酯 C ₆ H ₄ (COOC ₅ H ₁₁) ₂	—	—	—	—	—	—	12.0	6.0

注：①色谱柱：Varian MCH-10，流速2 ml/min，紫外检测器254nm。

②引自参考文献[27]，vol.14, 1985。

表 5-5 常用杀虫剂的高效液相色谱测定条件

农 药	色 谱 柱	流 动 相	检测器	保留时间	内 标	温 度	文 献
灭虫威 (aminocarb)	Partisil-10 ODS-3 10 μ m 254 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	四氢呋喃: 缓冲溶液 = 60:40 (v/v) 缓冲溶液: KH ₂ PO ₄ (13.8g), Na ₂ HPO ₄ $\cdot$ 7 H ₂ O (2.68g) 于 1 L 水中 流速: 1.5 ml/min	紫外 246	2.65 min 内标: 3.80 min	丁酰苯 (或丙基·苯基甲 酮)		CIPAC Vol. D
恶虫威 (bendiocarb)	Partisil-10 ODS-2 10 μ m 254 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	乙腈: 水 = 40:60 (v/v)	紫外 254	2.3 min 内标: 4.3—7.5 min	内酰苯 (或乙基·苯基甲 酮)		CIPAC Vol. D
克百威 (carbofuran)	Nucleosil反相柱 5 μ m 150 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	甲醇: 水 = 70:30 (v/v) 流速 1 ml/min	紫外 254	约 5 min 内标: 约 6.5 min	邻苯二甲酸二乙酯		农药科学与 管理 1990. No. 2
仲丁威 (BPMC)	C ₁₈ 反相柱 250 $\times$ 4.1 (i.d.) mm	甲醇: 水 = 50:50 (v/v) 流速: 1-2 ml/min	紫外 280	12-15 min	乙酰苯 (或甲基·苯基甲 酮)	40°C	CIPAC Vol. D
异丙威 (isoprocarb)	Lichrosorb Si 60 (or Zorbax Si) 7 μ m 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	正己烷: 异丙醇 = 95:5 (v/v) 流速: 2.8 ml/min	紫外 254 或 262 nm	2.8 min	外标法	30°C	CIPAC CIPAC Vol. D
灭线威 (methiocarb)	Lichrosorb Si 60 7 μ m 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	正己烷: 四氢呋喃 = 82:18 (v/v) 流速: 2.8 ml/min	紫外 254 nm	3 min	外标法	30°C	CIPAC Vol. D
残杀威 (propoxur)	C ₁₈ 反相柱 10 μ m 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	乙腈: 水 = 60:40 (v/v) 流速: 2.5 ml/min	紫外 266 nm	3.7 min 内标 2.5 min	乙酰苯		CIPAC Vol. D
溴氰菊酯 (deltamethrin)	C ₁₈ 反相柱 10 μ m 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	乙腈: 水 = 60:40 (v/v) 流速 1.5 ml/min	紫外 280 nm	3.75 min 内标: 6.5 min	丁酰苯		CIPAC Vol. D
	Lichrosorb Si 60 5 μ m (150-180) $\times$ 4.6 (i.d.) mm	异辛烷: 二氧六环 = 95:5 (v/v) 流速: 1-1.6 ml/min	紫外 254 nm	8.2 min	外标法		CIPAC Vol. D

表 5-5(续1)

农 药	色 谱 柱	流 动 相	检 测 器	保 留 时 间	内 标	温 度	文 献
溴氰菊酯 (deltamethrin)	Spherisorb S 5 NH 5 μ m 250 $\times$ 4.6(i.d.) mm	正己烷:异丙醇=1000+2(v/v) 流速: 1 ml/min	紫外 220nm	32.6 min	外标法		CIPAC Vol. D (可与其他7 个异构体分 开)
氯氰菊酯 (cypermethrin)	Spherisorb S 5W 5 μ m 150 $\times$ 4.6(i.d.) mm	0.5%(v/v)乙酸乙酯于异辛烷中 流速: 2 ml/min	紫外 278nm	参阅正文	苯甲酸甲酯	50 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C	CIPAC Vol. C (4个异构体 分开)
三氯杀螨醇 (dicofol)	Zorbax C 8 6 μ m 250 $\times$ 4.6(i.d.) mm	甲醇:水:乙酸=75:25:0.2(v/v) 流速 2.0 ml/min	紫外 254nm	<i>o,p</i> -异构 体8.84 <i>p,p</i> -异构 体12.7	外标法	30 $^{\circ}$ C	CIPAC Vol. D
辛硫磷 (phoxim)	YWG-CH 10 μ m 反相柱 150 $\times$ 5 (i.d.) mm	甲醇:水=75:25(v/v) 流速 1 ml/min	紫外 254nm		外标法		GB 9557- 88
氯辛硫磷 (chlorphoxim)	Lichrosorb Si 60 5 μ m 250 $\times$ 4(i.d.) mm	正己烷:四氢呋喃=96:4(v/v) 流速 2 ml/min	紫外 254nm	4.8 min	外标法		CIPAC Vol. C
甲基对硫磷 (methyl para- thion)	Lichrosorb Si 60 5 μ m 250 $\times$ 4.6(i.d.) mm	正己烷:乙酸乙酯=95:5(v/v) 流速 3 ml/min	紫外 254nm	4.6	外标法		
对硫磷 (parathion)	硅胶柱 10 μ m 300 $\times$ 4(i.d.) mm	200ml 用水饱和的氯仿与 300 ml 氯仿混合 流速: 1.2 ml/min	紫外 254nm	3.5—5.0 min 内标 5.6—8.0 min	乙酰苯		CIPAC Vol. 1B
对硫磷 (parathion)	硅胶柱 10 μ m 300 $\times$ 4(i.d.) mm	三氯甲烷 流速: 1.5 ml/min	紫外 254nm	4.0—5.5 min 内标 7—9 min	二甲苯甲酮		农药检定 1985, No. 1
乙硫磷 (ethion)	C ₁₈ 反相柱 300 $\times$ 3.9mm (i.d.)	甲醇, 水—90:10(v/v) 流速: 1 ml/min	紫外 230nm		五氯硝基苯		农药检定 1986, No. 3

表 5-5(续2)

农 药	色 谱 柱	流 动 相	检测器	保留时间	内 标	温 度	文 献
丰 索 磷 (fensulfothion)	Partisil PXS ODS-2 250 × 4.6 (i.d.) mm	甲醇:水:磷酸 = 800:200:0.156 (v/v) 流速: 0.8 ml/min	紫外 230nm		二苯甲酮		农药检定 1986, No. 3
毒死蜱 (chlorpyrifos)	Zorbax ODS 250 × 4.6 (i.d.) mm	乙腈:水:乙酸 = 82:17.5:0.5 (v/v) 流速: 2 ml/min	紫外 300nm		1,4-二溴素		农药检定 1986, No. 3
除虫脲 (diflubenzuron)	Zorbax BP-C8 250 × 4.6 (i.d.) mm	乙腈:水:二氧六环 = 45:45:10 (v/v) 流速: 3 ml/min	紫外 254nm		利谷隆		农药检定 1986, No. 3
鱼藤酮 (rotenone)	① Partisil ODS 3 10 μm ② Zorbax C8 10 μm ③ μ Bondapax C18 10 μm 250 × 4.6 (i.d.) mm	① 甲醇:水 = 75:25 (v/v) 1 ml/min ② 甲醇:水 = 68:32 (v/v) 1.5 ml/min ③ 甲醇:水 = 66:34 (v/v) 1.2 ml/min	紫外 280nm		外标法		农药检定 1986, No. 3
大 隆 (brodifacoum)	反相柱C18 250 × 4.6 (i.d.) mm	甲醇:水:乙酸 = 94.2:5.0:0.8 (v/v)	紫外 254nm	6.2 min 内标 11.7 min	1,3,5-三苯基苯		农药检定 1986, No. 3
乐 果 (dimethoate)	Nucleosil R-5 C8 125 × 4.6 (i.d.) mm	乙腈:水:冰乙酸 = 400:600:1 (v/v) 流速 1.5 ml/min	紫外 210nm	2 min	外标法		农药检定 1991, No. 3

表 5-6 常用杀菌剂的高效液相色谱测定条件

农 药	色 谱 柱	流 动 相	检 测 器	保 留 时 间	内 标	温 度	文 献
苯菌灵 (benomyl)	C ₁₈ 反相柱 10 μ m	乙腈:2%乙酸溶液=80:20 (v/v) 流速 1 ml/min	紫外 280或290nm	4—6 min	外 标 法		CIPAC Vol. D
三环锡 (cyhexatin)	Lichrosorb RP-18 10 μ m 250 $\times$ 4.6(i.d.) mm	1 mol/L 盐酸 1 ml, NaCl 0.29 g, 水 29 ml 加 930 ml 甲醇 于 1 升瓶中 流速 2 ml/min	紫外 214nm	7min 内标: 10min	正癸基苯		CIPAC Vol. D
甲基硫菌灵 (thiophanate- methyl)	Lichrosorb RP-8 10 μ m 250 $\times$ 4.6(i.d.) mm	乙腈:甲醇:水=25:25:50 (v/v) 流速 1 ml/min	紫外 269 nm	6.7 min 内标: 10.4min	对羟基苯甲酸丙酯	40°C	CIPAC Vol. D
福美双 (thiram)	Partisil-10 (硅胶柱) 5—10 μ m 250 $\times$ 4.6(i.d.) mm	正己烷:异丙醇=95:5(v/v) 流速 1.5ml/min	紫外 250 nm	5.0 min 内标: 3.5min	对羟基苯甲酸丙酯		CIPAC Vol. D
克菌丹 (captan)	Partisil-10 10 μ m 250 $\times$ 4.6(i.d.) mm	二氯甲烷 流速 2.5 ml/min	紫外 254nm		邻苯二甲酸二乙酯		CIPAC Vol. 1C
灭茵丹 (folpet)	Partisil-10 10 μ m 300 $\times$ 4 (i.d.) mm	二氯甲烷 流速 2ml/min	紫外 254nm	4 $\pm$ 1 min 内标: 7 min	邻苯二甲酸二丁酯		CIPAC Vol. 1B
三唑酮 (triadimefon)	Spherisorb ODS 5 μ m	乙腈:水=49:51 流速 2 ml/min	紫外 276nm	2.7 min	外 标 法		CIPAC Vol. C
多菌灵	C ₁₈ 反相键合柱	甲醇:水:氨水=50:50:0.6	紫外 285nm		外 标 法		农药科学与管理 1990, No.4.

表 5-7 常用除草剂的高效液相色谱测定条件

农 药	色 谱 柱	流 动 相	检 测 器	保留时间	内 标	温 度	文 献
杀草敏 (chloridazon)	Lichrosorb RP-18 7 μ m 250 $\times$ 4 (i.d.) mm	甲醇:水=60:40(v/v) 流速: 1 ml/min	紫外 286 nm	5 min 4-氨基-5-氯 异构体 7 min	外标法		CIPAC Vol. D
苯草枯 (dalapon)	C ₁₈ 反相柱 10 μ m 100 $\times$ 3 (i.d.) mm	200 ml 乙醇+1.6 ml 正辛烷+2.4 g(NH ₄) ₂ HPO ₄ 于 1 L 水中, 用磷酸 调 pH 至 7.0 流速 160 ml/h	紫外 214 nm	6 min	外标法	20—30°C	CIPAC Vol. D
苯嗪草酮 (metamitron)	Lichrosorb RP-8 7 μ m 250 $\times$ 4 (i.d.) mm	甲醇:缓冲液=30:70(v/v) 缓冲液:NaH ₂ PO ₄ 2 g/L 于水中 流速: 2.5 ml/min	紫外 254 nm	3 min		50°C	CIPAC Vol. D
草甘膦 (glyphosate)	Partisil 10 SAX 强阴离子交换剂 10 μ m 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	0.8437 g KH ₂ PO ₄ 溶于 980 ml 水 中, 加 40 ml 甲醇, 混合均匀, 用 85% H ₃ PO ₄ 将此溶液的 pH 调至 1.9 流速: 2.3 ml/min	紫外 195 nm	2.4—4 min	外标法		CIPAC Vol. C
灭草松(苯达松) (bentazone)	C ₁₈ 柱 <12 μ m 30 $\times$ 3 (i.d.) mm	甲醇:缓冲液=40:60(v/v) 缓冲液: 0.08 mol/L 醋酸钠 缓冲 液, 用冰醋酸调至 pH=6	紫外 340 nm		外标法		农药检定 1986, No. 3
稀禾啶(拿捕净) (sethoxymidim)	Zorbax SIL 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	A 泵: 正己烷/冰乙酸=100/1, 流速 1.55 ml/min B 泵: 乙酸乙酯, 流速 0.45 ml/min	紫外 283 nm		对硝基酚		农药科学与管理 1989, No. 2
2,4-滴 (2,4-D)	Partisil ODS C ₁₈ 反相柱 10 μ m 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	(乙醇:水=1+4), 加入 NaOH 溶 液, 使最后体积浓度为 0.3 mol/L, 以 H ₃ PO ₄ 调 pH 至 2.95 流速 0.9—3 ml/min	紫外 280 nm	2,4-滴的出峰 时间在 2,4-和 2, 6-苯酚之间	皂化对溴苯酚		CIPAC Vol.1C
2,4,5-滴 2,4,5 T	Partisil ODS C ₁₈ 反相柱 10 μ m 250 $\times$ 4.6 (i.d.) mm	(乙醇:水=1+4), 加入 NaOH 溶 液, 使最后体积浓度为 0.3 mol/L, 以 H ₃ PO ₄ 调 pH 至 2.95 流速 0.9—3 ml/min	紫外 280 nm		皂化对溴苯酚		农药检定 1986, No. 3

早期提倡使用其它农药来做内标,现在认为尽可能不使用农药作内标。在气相色谱法中,最常用的两类内标是:邻苯二甲酸酯和链烷,这两类化合物的沸点都随着分子量的增大而升高。高效液相色谱的内标,常用邻苯二甲酸酯 $C_6H_4(COOR)_2$ 、取代苯基酮 C_6H_5-CO-R 和苯酚类化合物,由于它们都带有苯环,在一定波长的紫外光下有选择性吸收,它们的极性随取代基的改变而不同。表 5-4 为反相液相色谱常用的非农药内标物及在不同配比甲醇/水作为流动相时的保留时间,在农药及其主要杂质的保留时间确定后,可根据表中所列数据,选择合适的内标物。

在开发一个液相色谱方法时,内标物和杂质分离是极为重要的。理想的内标物不应受杂质数量增加的影响,为了确定一内标物的保留时间,最好是取 10—20 倍于正常测定浓度的待分析农药;或增加仪器的灵敏度 10—20 倍,使用能将农药有效成分与杂质分开的色谱参数进样,这样可将样本中所有的微量杂质成分在色谱图上显出,根据色谱图可以清楚地选择合适的内标物,内标物的出峰时间最好在待测物之后,可以减少杂质对内标物的干扰,但要增加分析时间。

近期,农药常量分析的高效液相色谱法常不使用内标物,应用固定进样环和外标法定量。

(三) 常用农药的高效液相色谱法的测定条件

此条件列于表 5-5(杀虫剂),表 5-6(杀菌剂),表 5-7(除草剂)。从表中可见,绝大多数氨基甲酸酯农药都采用液相色谱法,使用硅胶柱或反相柱均可。菊酯类农药亦多用此法,主要是使用正相吸附色谱硅胶柱。有机磷农药除表中所提到的农药外,久效磷、磷胺等均已由 CIPAC 讨论通过使用反相键合相色谱测定,除草剂中绝大多数使用反相柱,杀菌剂则依其性质而定。随着液相色谱技术的不断普及,预计将会有更多的农药原药及制剂使用高效液相色谱分离和测定其有效成分。

第六章 可见紫外分光光度法

一、分光光度法的基本概念

分光光度法是根据物质对光具有选择性的吸收特征而建立起来的一种分析方法，通常又称为吸收光谱法。吸收光谱是可见光谱、紫外光谱和红外光谱的统称。

吸收光谱是由物质吸收光能而产生。光具有波粒二重性，它既是电磁波又是辐射能。

(一) 光的波动性

光作为电磁波，具有波动性的特征，可用波长(λ)、频率(ν)及波数(σ)来表示。三者的关系可用以下公式表示。

$$\lambda = \frac{c}{\nu}, \quad \nu = \frac{c}{\lambda}, \quad (6-1)$$

$$\sigma = \frac{1}{\lambda}. \quad (6-2)$$

式中： λ ——波长；

c ——光速；

ν ——频率；

σ ——波数，为每厘米长度中波的数目，即波长的倒数，单位为 $1/\text{cm}$ 。

(二) 光的微粒性——普朗克公式

光作为辐射能又具有微粒性的特征。所谓微粒性，即指光是由光量子(或光子)的一种粒子组成。光辐射的能量是一份一份的。单个光量子的能量与波长的关系可用普朗克 (plank) 公式表示：

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda} = hc \frac{1}{\lambda} \quad (6-3)$$

式中： E ——能量；

h ——普朗克常数。

从公式(6-3)可见，光量子的波长与其能量成反比，波长愈长，能量愈小。

(三) 可见紫外、红外光区的划分

根据电磁波具有波粒二重性的特点，可把自然界存在的各种电磁波按波长顺序排列成谱，称为电磁波谱，如表 6-1 所示。

可将电磁波波长划分为若干波段区域，如X射线区、远紫外区、紫外光区、可见光区和红外光区等，从表 6-1 可以看出各区的波长依次上升，而其能量则依次下降，各波段能量不同，引起物质运动的形式亦不同。物质吸收紫外光和可见光则引起分子中价电子的跃迁；物

表 6-1 电 磁 波 谱

光谱区	波长范围	能 量 (eV)	动形式
X-射线	0.1—10nm	10^4	原子内层电子跃迁
远紫外或真空紫外	10—200nm	124	分子中原子中层电子跃迁
紫外光区	200—400nm	4.1	分子中原子外层电子跃迁
可见光区	400—750nm	2.1	分子中原子外层电子跃迁
近红外光区	0.75—2.5 μ m	1.2	分子中涉及氢原子的振动
红外光区	2.5—50 μ m	0.12	分子中原子的振动及分子转动
远红外光区	50—1000 μ m	10^{-2}	分子的转动
微波区	1 000— $3 \times 10^3 \mu$ m	10^{-3}	分子的转动

引自上海化工学院分析教研组等编。分析化学，下册，北京：人民教育出版社，1988。

质吸收红外光则引起分子振动，因此可见紫外光谱又称为电子光谱，红外光谱又称为分子振动光谱。

本章讨论可见及紫外分光光度法，由于可见紫外吸收光谱是由电子跃迁产生的，因此波长为 100—800 nm 的光线才有足够的能量引起电子跃迁。在这个范围内又可分为三个区域，100—200 nm 为远紫外区；200—400 nm 为近紫外区；400—800 nm 为可见光区域。

二、可见紫外分光光度计

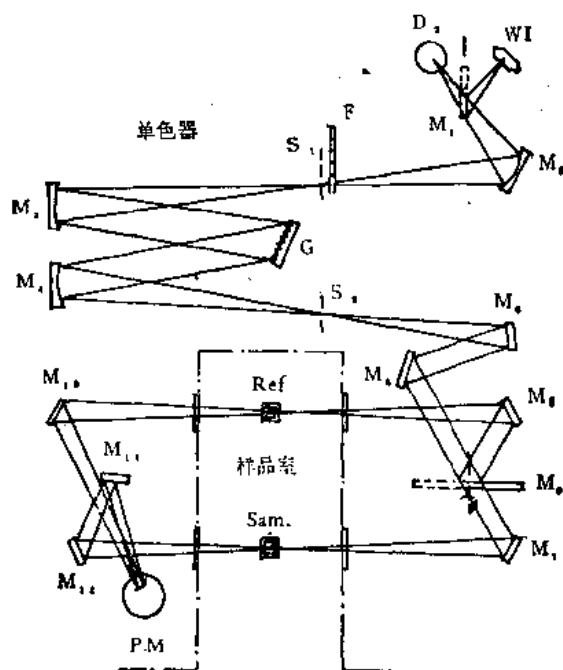


图 6-1 可见紫外分光光度计光路示意图
(UV-240 分光光度计)

D₁——氘灯；F——滤光片；G——光栅；Sam.——样品池；P. M——光电倍增管；WI——钨灯；S₁、S₂——连续变化狭缝；M₁—M₆——反射镜；Ref.——参比池

分光光度法使用的仪器是分光光度计。分光光度计的种类很多，其仪器结构的主要部件都是由光源、分光系统（单色器）、吸收池、检测器和记录仪所组成。见图 6-1。

(一) 光 源

在可见紫外分光光度计上常用的光源是钨丝灯和氢弧灯（或氘灯），可见光区用钨丝白炽灯，其波长在 320—2 500 nm 之间。紫外光区用氢弧灯或氘灯，其波长在 180—375 nm。现代化的光谱仪能在可见紫外区整个扫描过程中，自动更换光源。在相同条件下，氘灯的辐射强度比钨灯约大 4 倍。用氢灯或氘灯作为光源，灯管上必须装有石英窗（因玻璃对紫外光有吸收），灯管内充有低压的氢或氘气体，管内还插有一对电极，当施加一定电压的脉冲后，即激发气体分子发出连续的紫外光。灯泡固定在预先校准焦点的灯座上，发出的光经聚焦后直接射入入光狭缝，而进入单色器。

(二) 单 色 器

单色器是指能将不同波长的入射光分散为单色光的装置,主要由透镜(聚焦作用)、输入输出狭缝(阻挡不需要的光)和散射装置(把白光色散成不同波长的光,是一种分辨器)组成。散射器是单色器的核心,由棱镜或衍射光栅组成。玻璃棱镜只能用于可见光区;石英棱镜或反射光栅可用于紫外、可见及近红外光区。

棱镜的色散原理:不同波长的光在玻璃或石英中的折射率不同,波长短的光折射率大,波长长的光折射率小,当平行的混合光经过棱镜后,就会使不同波长的光按次序偏折分开,而成光谱。其光波由紫外线到长波方向越来越密。棱镜形状不一,有的是 $30-60-90^\circ$ 角,有的是正三角形。棱镜又分透射镜和反射镜两种。反射镜是在背面镀一层铝,使光射到铝面上又反射回去。

光栅的色散原理:光栅是在石英或玻璃表面上刻划许多等距离的平行线,大约每 2.45cm 刻 $15\,000-30\,000$ 条线。刻线处不透光,光只能在两条刻线中间的平面处透过去。这些平面形成极微小的缝,光透过小缝时即产生绕射现象。较长的光波偏折的角度大,较短的光波偏折角度小;并对各小缝射出的光在传播过程中起干涉使用。刻的线愈密,色散程度愈大,光栅也有透射和反射两种。

从棱镜或光栅射出的光经旋转反射镜就可依次射出狭缝,经聚焦后达到吸收池。旋转速度与记录器扫描速度是同步的,因此,可将各种波长的光被吸收的情况连续记录下来,而成为吸收光谱图。

现代高级分光光度计往往采用双单色器,即包含两个光栅或两个棱镜,或一个棱镜一个光栅,这样可以减少杂散光,提高仪器的分辨能力。

(三) 吸 收 池

吸收池是用以盛装样品溶液进行测定的容器。可见光区用玻璃吸收池;紫外区需用石英吸收池。池厚(内径)有 $0.5, 1, 2\text{cm}$ 等几种,一般使用 1cm 的,吸收池的光洁度对测定影响很大,透明光学面不得用手指捏拿,不得用毛刷等硬物擦洗,通常用擦镜纸擦洗。测定时如遇挥发性液体或气体样品,需盖上池盖,以免溶液挥发影响测定浓度或产生气体损害仪器部件。

(四) 检 测 器

检测器的功能是检测光信号并将其转变为电信号。检测器的主要部件为光电池或光电倍增管等。光电信增管是当前应用最多的一种检测器,它的作用是利用二次电子发射以放大光电流,放大倍数可达 10^8 倍。对检测器的要求是灵敏度高、对辐射响应时间短、对辐射能量响应的线性关系良好、噪音小、性能稳定等。

(五) 测量信号指示系统

用光电倍增管作检测器,需要将检测器信号放大以后用记录器记录下来,不同型号分光光度计记录装置不同,目前许多由微处理机控制的紫外可见分光光度计,可自动调零,自动筛选波长,自动设置参数、扫描与计算均自动完成,大大减少了人为误差。

三、分光光度法的基本定律

(一) 光吸收定律

用分光光度法进行定量分析是以朗伯-比尔定律(Lambert-Beer's Law)为依据的,它是描述各种类型的电磁辐射被介质吸收规律的基本定律,简称比尔定律。定律具体内容是:当一束平行的单色光(I_0)射入具有平行平面的吸光介质(溶液)时,一部分光(I)透过介质(溶液),一部分光被介质(溶液)所吸收。光的强度随介质的厚度及吸光物质的浓度的递增而依指数规律递减。基本公式如下:

$$T = \frac{I}{I_0}$$
$$A = -\log T = \log \frac{1}{T} = KCL$$

式中: A ——吸光度(absorbance);

T ——透光度(transmittance)或称透射率;

I_0 ——入射光强度;

I ——透过强度;

L ——光程长度即样品溶液的厚度(通常为吸收池的厚度);

C ——样品溶液的浓度;

K —— $\frac{A}{LC}$ 吸光系数(absorptivity)。

根据公式可见,当光程固定时,溶液的吸光度(A)与溶液的浓度(C)成正比关系。当溶液浓度(C)固定时,吸光度(A)与光程长度(L)成正比关系。此公式一般适合于稀溶液,也可用于气体或固体。

在具体应用时,被测溶液浓度可用 mol/L 或百分浓度来表示。

用 mol/L 来表示时,用 L 为 1 cm 比色池,相应的吸光系数称为摩尔吸光系数(molar absorptivity)用符号 ϵ 表示

用百分浓度 g/100 ml 来表示时, L 为 1 cm 比色池,相应吸光系数称为百分吸光系数,用符号 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 表示。

E 与 ϵ 的关系如下:

$$E_{1\%}^{1\text{cm}} = \frac{10 \times \epsilon}{m}$$

式中:

m ——物质的分子量

$$\epsilon = E_{1\%}^{1\text{cm}} \times 0.1 m$$

ϵ 和 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 的计算方法示例:

将三环唑纯品(分子量为 189.24)用氯仿配成浓度为 0.004% (即 40 mg/L) 的溶液,在 292 nm 处,用 1 cm 比色池测得吸光度 $A=0.51$,求在此浓度下 ϵ 和 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 值。

$$\epsilon = \frac{A}{L \cdot C} = \frac{A}{L \cdot \frac{W}{m}} = \frac{0.51}{1 \times \frac{0.004/100 \times 1000}{189.24}} = 2.4 \times 10^4$$

$$E_{1\%}^{1\text{cm}} = \frac{10 \times \epsilon}{m} = \frac{10 \times 2.4 \times 10^4}{189.24} = 1.3 \times 10^4$$

测定 ϵ 值的意义:

(1) 根据 ϵ 值的大小, 可以确定化合物吸光度的强弱, ϵ 值 $>10^4$ 为强吸收, $\epsilon=10^3-10^4$ 为较强吸收, $\epsilon=10^2-10^3$ 为较弱吸收, $\epsilon<10^2$ 为弱吸收。

(2) ϵ 值大小与电子跃迁种类及电子在两个能级间跃迁的几率有关, 如不饱和双键化合物, 可以产生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, ϵ 值则很大, 属于强吸收。又如 $n \rightarrow \sigma^*$ 及 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 所需能量相差不多, 但二者中 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁几率较大, 因此 ϵ 值比 $n \rightarrow \sigma^*$ 的大, 约为 10^4 , 属强吸收。

(3) ϵ 值可以衡量不同物质在同一波长下吸光能力的强弱。在同一波长下, ϵ 值越大吸光能力愈强。

(4) 对同一化合物而言, 在不同波长下具有不同的 ϵ 值, 但在一定波长下, 它又是一个特征常数, 因此可作为有机化合物定性鉴定的参数之一。

(5) ϵ 值是衡量分析灵敏度高低的依据之一, ϵ 值越大, 灵敏度越高。

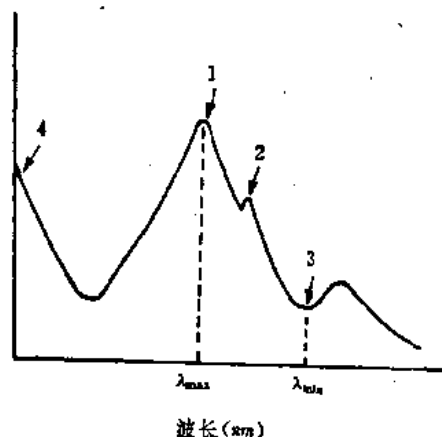


图 6-2 吸收曲线

1——吸收峰; 2——肩峰; 3——谷; 4——末端吸收
(引自参考文献[23])

(二) 吸收曲线

吸收曲线又称为光谱曲线或光吸收曲线, 是指用固定浓度及吸收池的厚度, 在不同波长下用分光光度计测得相应的吸光度 (A), 然后以波长为横坐标, 吸光度值为纵坐标作图, 所得的吸光度-波长曲线, 即为吸收曲线。如图 6-2 所示。

曲线的峰称为吸收峰, 它所对应的波长称为最大吸收波长, 用 $\lambda_{\max}$ 表示。曲线的谷所对应的波长称为最小吸收波长, 用 $\lambda_{\min}$ 表示。

峰旁一个小的曲折称为肩峰, 在吸收曲线的波长最短一端不成峰形的部分, 称为末端吸收。吸收曲线有时也可用 ϵ 或 $\log \epsilon$ 作为纵坐标。此外也可用百分透光度为纵坐标, 但应用较少。

图 6-3 绘出了不同浓度的“稀禾定”溶液的吸收曲线。从图中看出, 同一物质即使浓度改变, 其吸收曲线形状及最大吸收波长不变, 三种浓度的最大吸收波长均为 283 nm。

吸收曲线的用途:

(1) 吸收曲线的特征和形状是由分子的电子结构决定的, 它反映了物质分子中能级的变化情况;

(2) 它描述了物质对不同波长光的吸收能力, 在定量分析中可作为选择最大吸收波长的依据;

(3) 吸收曲线体现了物质的特性, 不同物质具有不同特征的吸收曲线, 因此可用作定性鉴定的依据。

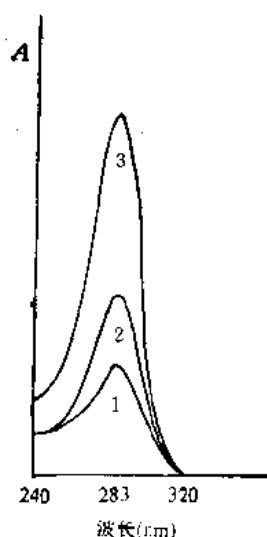


图 6-3 不同浓度溶液吸收曲线(除草剂稀禾定)
浓度比例: 1:2:3=0.5:1:2

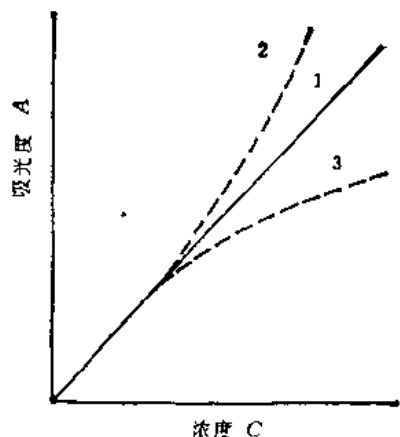


图 6-4 定量分析的校正曲线
1——遵守比尔定律; 2——产生正偏差; 3——产生负偏差

(三) 对比尔定律的偏离

根据比尔定律的原则, 当吸收池厚度不变, 以吸光度对浓度作图时, 应得到一条通过原点的直线, 但在实际工作中, 吸光度与浓度之间的线性关系常常发生偏离, 使曲线弯曲, 发生正偏差或负偏差。如图 6-4 所示。

偏离比尔定律的因素主要有:

1. 被测溶液浓度过大 比尔定律只适用于测定稀溶液, 在浓度高时由于产生吸收的组分中粒子密度变大, 以致每个粒子都可以影响邻近粒子的电荷分布, 这种粒子间的相互作用, 使吸收辐射的能力发生了改变, 以致发生偏离。

2. 化学偏离 由于吸收组分的缔合、解离、光化学作用或与溶剂的相互作用, 使吸收峰的形状、位置、强度以及精细结构都会发生变化, 导致偏离。

3. 杂光的影响 比尔定律要求被测溶液吸收的光是单色光, 但事实上由于分光光度计的单色器的输出狭缝分离出的光常混有与选定谱带无关的杂光, 这种多色光, 则导致对比尔

表 6-2 杂光对吸光度值的影响

真实吸收度 A^0	实 测 吸 光 度 A			
	$P = 0.01$	$P = 0.1$	$P = 1$	$P = 2$
0.1000	0.1000	0.0999	0.0989	0.0978
1.000	0.9996	0.9961	0.9926	0.9281
2.000	1.996	1.959	1.701	1.526

注: ① P 表示杂光所占的百分数。

引自参考文献[14]。

定律的偏离。一般良好的可见紫外分光光度计在全谱域杂光可保持低于 0.1%, 多数情况下可以不考虑杂光的影响。但是当被测试样浓度增加或波长接近紫外的短波界限时, 则会导致

检测器灵敏度下降,而且使工作曲线弯向横坐标。由表 6-2 可见,含杂光的比率越高,对测定灵敏度的影响就愈大。

4. 谱带宽度的影响 在实际测定样品时,为了保证足够的光强,分光光度计的狭缝必须保持一定宽度,因此,由出射狭缝投射到被测物质上的光,并不是真正的单色光,而是一个有限宽度的谱带,称为光谱带通。随着光谱带通宽度的增大,光源谱带增宽,谱带的精细结构逐渐消失,峰值吸光度降低,工作曲线的斜率也随之降低,从而偏离比尔定律。

5. 其它因素的影响 除上述主要因素外,试样中含有悬浮物或胶粒,以及会产生荧光的物质都会使透射光强度减少而偏离比尔定律。

(四)精密度与检出限

1. 精密度 可见及紫外分光光度计产生误差的主要来源,在于吸光度的测量误差。

根据比尔定律公式

$$\log \frac{1}{T} = \epsilon bc$$

可以改写为

$$-\log T = \epsilon bc \quad (6-4)$$

公式 (6-4) 等式左边换成自然对数,然后两边取微分,可得,

$$-\frac{0.434}{T} dT = \epsilon b dc \quad (6-5)$$

上述公式 (6-4), (6-5) 两式相除,经过整理可得下式,

$$\frac{dc}{c} = \frac{0.434}{T \log T} dT \quad (6-6)$$

如以有限值表示又可以写成

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{0.434}{T \log T} \Delta T \quad (6-7)$$

式中: $\frac{\Delta c}{c}$ ——浓度相对误差;

ΔT ——透光率 T 测量中的绝对误差。

通常市售的分光光度计透光率的测量误差一般在 ± 0.002 到 ± 0.01 之间。假设透光率测量误差 ΔT 为 0.005,通过公式 (6-7) 计算,可得到 $\frac{\Delta c}{c}$ 与 T 及 A 的函数关系数据列于表 6-3。并可画出 $\frac{\Delta c}{c}$ 与 T 的相关曲线如图 6-5。

从表 6-3 中可以看出,当所测吸光度值在 0.15~1.0 范围内时,可产生 1%~2% 的相对浓度误差。当吸光度小于 0.1 时,误差则大于 2%。从图 6-5 中可见,透光率在 20%~65% 的范围内,测定的相对误差较小。当 $T = 36.8\%$ 或 $A = 0.434$ 时,相对误差最小,因此测定时要减少相对误差,应控制被测溶液的浓度和吸收池的厚度,以使溶液的 T 介于 20%~65% 或 A 介于 0.2~0.7 的范围内,此范围测定的精密度约为 0.5%。

2. 检出限 检出限不仅决定于吸光系数,也决定于所用仪器的噪声水平。对多数商品分光光度计而言,1%吸收 ($T = 0.99$, $A = 0.004$) 与其最小可测信号相符。

在理想情况下,摩尔吸光系数可高达 10^5 ,如使用 1 cm 光程吸收池,吸光度范围在 0.1—

表 6-3 浓度百分误差的变差与透过率 T 、
吸光度 A 的函数关系
(假定 $\Delta T \pm 0.005$)

透过率 T	吸光度 A	浓度百分误差 $\frac{\Delta C}{C} \times 100$
0.95	0.022	± 10.2
0.90	0.046	± 4.74
0.80	0.097	± 2.80
0.70	0.155	± 2.00
0.60	0.222	± 1.63
0.50	0.301	± 1.44
0.40	0.399	± 1.36
0.30	0.523	± 1.38
0.20	0.699	± 1.55
0.10	1.000	± 2.17
0.030	1.523	± 4.75
0.020	1.699	± 6.38

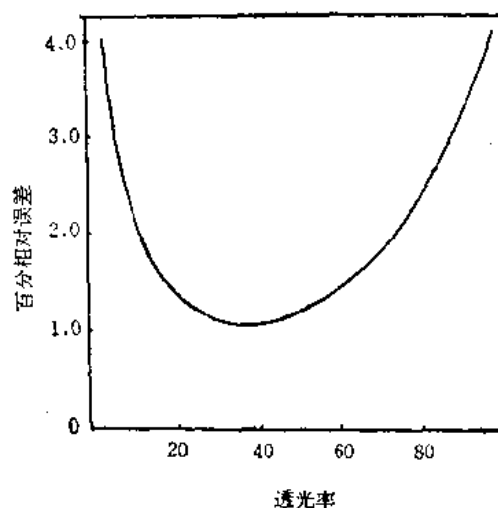


图 6-5 浓度相对误差——透光率曲线

(引自南开大学化学系编, 仪器分析上册,
北京: 人民教育出版社, 1978.)

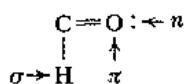
1.5 时, 浓度范围则为 $1 \times 10^{-6} - 1.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 。如果待测化合物的摩尔吸光系数为 10^5 , 使用 10 cm 吸收池则近似检出限将是 $4 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ 。

四、分子结构与电子光谱

(一) 可见及紫外吸收光谱的产生

物质的分子在室温下, 一般处于基态能级, 当它受到电磁辐射的作用时, 吸收一定能量的光子, 使分子受到激发, 就从原来能量较低的基态能级跃迁到能量较高的能级 (激发态), 而产生吸收光谱。分子跃迁有三种类型, 即电子跃迁, 振动跃迁及旋转跃迁, 这三种跃迁所需的能量不同, 可以产生三种不同的吸收光谱, 即电子光谱, 振动光谱及转动光谱。振动光谱及转动光谱能级跃迁需要能量较小, 位于红外区及远红外区, 电子跃迁所需能量最大, 约在 1—20 eV (电子伏特) 之间, 位于可见与紫外光区, 这种光谱又称为电子光谱或可见紫外光谱 (可参考表 6-1)。本章要讨论的可见紫外光谱就是由电子跃迁所产生的。

1. 有机化合物中价电子的类型 在有机化合物中有几种不同性质的价电子, 根据分子中电子成键的种类不同, 可分为三种类型: 形成单键的电子称为 σ 键电子; 形成双键的电子称 π 键电子, 氧、氮、硫、卤素等含有未成键的电子称为孤对 n 电子。以醛基为例示意如下:



当有机化合物吸收紫外光时, 这些价电子可以从基态跃迁到较高的能级状态 (受激态), 此时电子所占的轨道称为 σ^* , π^* 反键轨道。

2. 电子跃迁的类型 有机化合物分子中电子跃迁的方式与键的性能有关。电子跃迁主

要有下面几种类型,即 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \pi^*$ 及 $\pi \rightarrow \pi^*$ 。各种跃迁所需能量大小为 $\sigma \rightarrow \sigma^* > n \rightarrow \sigma^* > \pi \rightarrow \pi^* > n \rightarrow \pi^*$ 见图 6-6 所示。

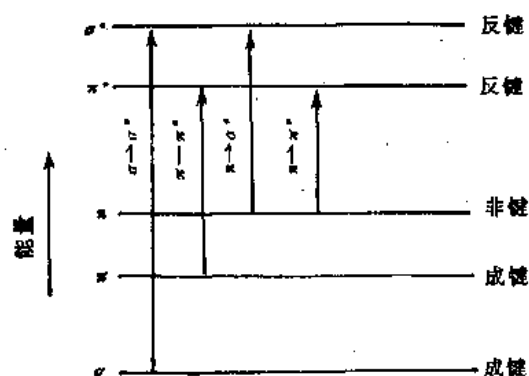


图 6-6 电子跃迁能级示意图
(引自参考文献[23])

通常当电子由一个能级跃迁到另一个能级时,同时伴随有振动能级和转动能级的跃迁。因此,所得到的吸收光谱不是线状光谱而是带状光谱。

(二)几个常用术语

1. 生色基(又称发色基团) 有机分子中能够吸收紫外或可见光而引起电子跃迁的不饱和基团叫做生色基 (Chromophores) 又称发色基团 (Chromophoric group)。生色基主要是指共轭多烯系统,含有未成键电子对的双键

结构或基团、芳香基团及部分含有未成键电子对杂原子的基团。常见生色基的最大吸收峰见表 6-4。

表 6-4 常见生色基的最大吸收峰

发色团	化合物	溶 剂	$\lambda_{\max}$ (nm)	ϵ
$>C=C<$	$H_2C=CH_2$	气态	193	10 000
$-C \equiv C-$	$HC \equiv CH$	气态	173	6 000
$>C=N-$	$(CH_3)_2C=NOH$	气态	$\begin{cases} 190 \\ 300 \end{cases}$	$\begin{cases} 5 000 \\ - \end{cases}$
$-C \equiv N$	$CH_3C \equiv N$	气态	167	—
$>C=O$	CH_3COCH_3	正己烷	$\begin{cases} 166 \\ 276 \end{cases}$	15
$-COOH$	CH_3COOH	水	204	40
$>C=S$	CH_3CSCH_3	水	400	—
$-N=N-$	$CH_3N=NCH_3$	乙醇	338	4
$-N=O$	$CH_3(CH_2)_3-NO$	乙醚	$\begin{cases} 300 \\ 665 \end{cases}$	$\begin{cases} 100 \\ 20 \end{cases}$
$-N \begin{smallmatrix} \nearrow O \\ \searrow O \end{smallmatrix}$	CH_3NO_2	水	270	14
$-ON \begin{smallmatrix} \nearrow O \\ \searrow O \end{smallmatrix}$	$C_2H_5ONO_2$	二氧六环	270	12
$-O-N \begin{smallmatrix} \nearrow O \\ \searrow O \end{smallmatrix}$	$CH_3(CH_2)_7ON=O$	正己烷	$\begin{cases} 230 \\ 370 \end{cases}$	$\begin{cases} 2 200 \\ 55 \end{cases}$
$C=C-C=C$	$H_2C=CH-CH=CH_2$	正己烷	217	21 000

引自参考文献[23]。

2. 助色基(又称助色团) 某些含有未成键电子对的原子或基团,称为助色基(Auxochrome),助色基本身在紫外区没有特征吸收带,但当它们与生色基连在一起时,可以使生色

基所产生的吸收峰向长波方向移动, 并使其强度增加。这类基团有—OH、—NH₂、—SH、—SO₃H、—COOH、—Cl、—Br 等。

3. 红移、蓝移、增色效应、减色效应 红移 (Bathchromic): 指因结构变化 (如顺反异构)、共轭体系加大、助色基效应、溶液 pH 变化等引起吸收峰向长波移动的效应。

蓝移 (Hypsochromic): 指由于取代基或溶剂等的影响, 使吸收峰向短波方向移动的效应。

增色效应 (Hyperchromic effect): 由于结构变化或其它原因使吸收强度增加的现象。

减色效应 (Hypochromic effect): 使吸收强度减弱的现象。

(三) 有机化合物结构与电子跃迁及吸收谱带的关系

1. 饱和单键碳氢化合物 只含 σ 键电子, 电子结合的很牢固, 只有吸收很大能量后才能产生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁。在近紫外区没有吸收峰, 只有在远紫外区 (10—200 nm) 才有吸收峰。这已超出了紫外可见分光光度计的范围, 应用不多。正因为饱和碳氢化合物在近紫外区内不产生吸收峰, 故常用作紫外光谱分析中的溶剂如己烷、庚烷、戊烷等。

2. 饱和烃中氢被氧、氮、硫、卤素等原子所取代 由于这类原子中有孤对 n 电子 (如 —NH₂、—OH、—S—、—X 等) n 电子较 σ 电子容易激发, 可产生 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁, 此种跃迁所需能量较 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 小。含这些原子的化合物在 150—250 nm 的紫外区有吸收峰, 少部分在近紫外区 (<200 nm) 有吸收。表 6-5 列出了能进行 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁的一些基团和原子。

表 6-5 能进行 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁的一些基团和原子

取代基	化合物	最大吸收波长 (nm)
—NH ₂	CH ₃ NH ₂ (蒸气)	215
—Br	CH ₃ Br(蒸气)	204
—I	CH ₃ I(饱和烃中)	258
—SH	C ₂ H ₅ SH(水)	220
—S—	CH ₃ —S—CH ₃ (乙醇中)	229
—S—S—	C ₂ H ₅ —S—S—C ₂ H ₅ (乙醇中)	252

3. 不饱和碳氢化合物 含有 π 键电子, 它比 n 电子更易于激发可以产生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 此种跃迁的能量较 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 及 $n \rightarrow \sigma^*$ 都小。吸收峰大都位于紫外区 (200 nm)。

具有共轭双键的化合物, 由于相间的 π 键与 π 键相互作用, 形成大 π 键, 使电子更容易激发, 可使吸收峰波长向长波方向移动。共轭分子的吸收光谱通常有两条谱带, 一种称为 K 带 (德文“共轭作用”得名), 是由 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁所产生。这种跃迁是整个共轭键的基态向激发态的跃迁。例如 $C=C-C=C \rightarrow C^+-C=C-C^+$; 另一种称为 R 带 (德文“基团”得名) 为 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁所产生。为共轭体系一端的单个生色基的跃迁。如 —C=O、—NO₂、—N=N—、—N=O 等。

K 带是强带, ϵ 值大约为 10 000~200 000。K 带的波长随共轭键的长度而异, 共轭体系越大, K 带波长越长, 甚至可移到可见光区, 使化合物带有颜色, 吸收强度也增大, 这是紫外光谱中一条重要的规律。

R 带是弱带, ϵ 值小于 1 000, 其波长不随共轭键的长度而变化。表 6-6 列出某些共轭分子的 K 带及 R 带。

表 6-6 某些共轭分子的吸收光谱

化 合 物	共轭体系	K 带		R 带	
		$\lambda_{max}(nm)$	ϵ	$\lambda_{max}(nm)$	ϵ
丁二烯	$C=C-C=C$	217	21 000	—	—
巴豆油醛	$C=C-C=O$	217	16 000	321	20
二甲基丁二炔	$C\equiv C-C\equiv C$	165	—	227	360
丁腈	$C=N-N=C$	205	13 000	—	—
丙基乙炔丙酮	$C\equiv C-C=O$	214	5 000	308	20
二乙酰	$O=C-C=O$	—	—	40	18

4. 芳香族化合物 主要包括苯及芳香杂环的衍生物:

(1) 苯: 苯为环状共轭体系。其紫外光谱特征是具有 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁所引起的三组谱带。在 180—184 nm 处 ($\epsilon=47\ 000$)、有强吸收的 E_1 带, 因在远紫外区, 实用意义不大。在 204 nm 处 ($\epsilon=7\ 900$) 有中强吸收的 E_2 带, E_2 带在末端范围, 也不常用, 在 230—270 nm 处 ($\epsilon=200$) 有弱吸收的 B 带。 B 带是由 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁及振动效应的重叠引起的一系列锐峰, 又称“精细结构”吸收峰。在气体或非极性溶剂中精细结构较清楚, 在极性溶剂中, 精细结构消失。图 6-7、图 6-8 分别为苯的紫外光谱及苯酚的 B 吸收带。

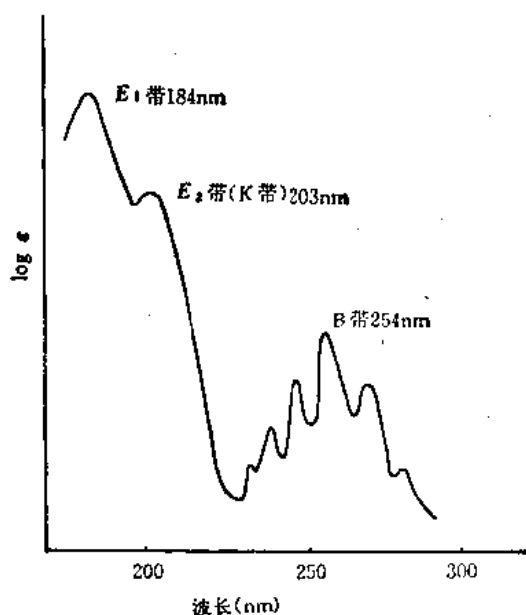


图 6-7 苯的紫外光谱图

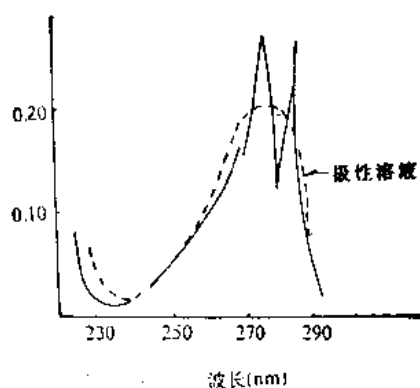


图 6-8 苯酚的 B 吸收带

(引自朱明华编. 仪器分析, 北京: 高等教育出版社, 1983.) (引自朱明华编. 仪器分析, 北京: 高等教育出版社, 1983.)

(2) 苯的单取代物: 在苯环上有取代基时, 复杂的 B 吸收带一般都简单化, 向长波移动, 同时吸收强度增加。

烷基取代: 由于超共轭作用(hyperconjugation)产生红移, 但效应不大。

带孤对电子基团取代: 如 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-OK$ 等由于孤对电子与苯环上的 π 电子产

生 $n-\pi$ 共轭使吸收强度增加, 产生红移。

与苯环共轭的不饱和基团取代: 如 $-\text{C}=\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ 、 $-\text{NO}_2$ 等。由于 $\pi-\pi$ 共轭, 产生新的电子轨道, 使波长显著红移。

总之, 取代苯对光谱红移影响的大小与取代基的拉电子和推电子的程度有关。表 6-7 列出一些单取代苯的紫外吸收数据。

表 6-7 一些单取代苯的紫外吸收数据

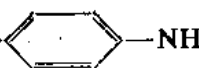
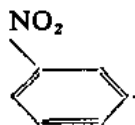
-R	E 吸收带		B 吸收带		R 吸收带	
	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$	ϵ	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$	ϵ	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$	ϵ
-H	204	7 900	254	204		
-NH ₂	203	7 500	254	160		
-CH ₃	206	7 000	261	225		
-I	207	7 000	257	700		
-Cl	209	7 400	263	190		
-Br	210	7 900	261	192		
-OH	210	6 200	270	1 450		
-OCH ₃	217	6 400	269	1 480		
SO ₂ NH ₂	217	4 700	264	740		
-CN	224	1 300	271	1 000		
-CO ₂	224	8 700	268	560		
-COOH	230	11 600	273	970		
-NH ₂	230	8 600	287	1 430		
-O ⁻	235	9 400	287	2 600		
-NHCOCH ₃	238	10 500	*			
-COCH ₃	245	13 000	278	1 100	320	50
-CH=CH ₂	248	14 000	282	750		
-CHO	249	11 400	*		320	50
-NO ₂	268	11 000	*		330	200
-N=N-C ₆ H ₅ (反)	320	21 300	*		443	510

* 为强的吸收带 E 所掩盖。

引自参考文献[23]。

(3) 苯的二取代物: 在二取代苯中, 由于取代基的性质和取代位置不同, 产生的影响也不同。

① 当一个吸电基(如 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{C}=\text{O}$)及一个供电基(如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{X}$)互为对位时, 由于两代基的效应相反, 产生协同作用, 使波长显著红移。若两个效应相反的取代基互为间位或邻位时, 则二取代苯与各单取代苯的波长区别很小。例如 -NH₂ 为

280 nm, -NH₂ 为 380 nm, -NH₂ 为 280 nm。

(2) 当两个取代基都是吸电基或都是供电基时, 由于效应相同, 两个基团不能协同, 则

吸收峰往往不超过单取代时的波长,且邻、间、对位三个异构体的波长也相近。例如

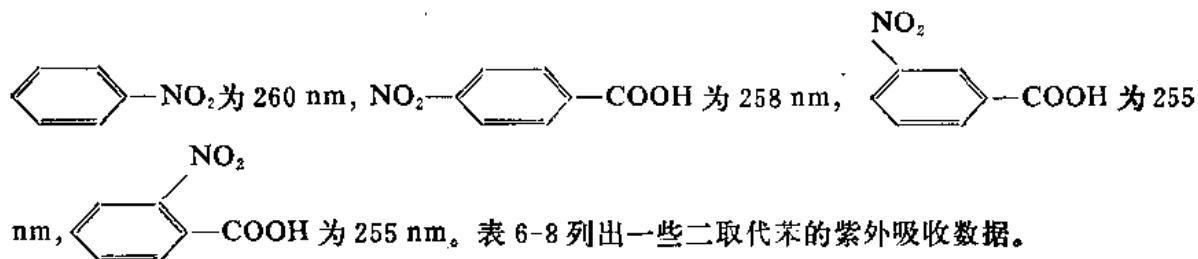


表 6-8 一些二取代苯紫外吸收数据

取代苯 R ₁	R ₂	对位取代 $\lambda_{\max}(\text{nm})$	ϵ	邻位取代 $\lambda_{\max}(\text{nm})$	ϵ	间位取代 $\lambda_{\max}(\text{nm})$	ϵ
CH ₃	CN	234*	(1720)	229	(11100)	230	(11000)
Cl	COOH	241	(16300)	229	(5900)	232	(9100)
Cl	NO ₂	280	(10300)	260	(4000)	264	(7100)
NO ₂	CH ₃	285	(9250)	266	(5300)	273	(7300)
NO ₂	OH	318	(10000)	279	(6600)	274	(6000)
NO ₂	NH ₂	381	(13500)	283	(5400)	280	(4800)
NO ₂	COOH	265	(12400)	—	—	—	—
NO ₂	NO ₂	266	(14500)	—	—	242	(16300)
NH ₂	COOH	284	(14000)	248	(2900)	250	(2400)
NH ₂	COCH ₃	312	(17100)	—	—	—	—
NH ₂	CN	270	(19800)	—	—	237	(8200)
OH	CHO	284	(16000)	256	(12600)	255	(10100)
OH	COOH	255	(13900)	237	(9000)	237	(7500)

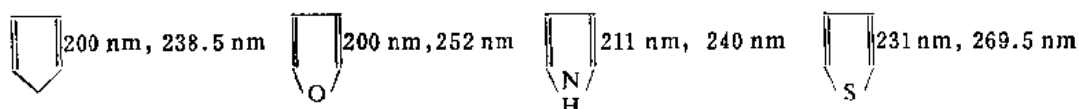
注: *在0.1mol/LNaOH中。

引自黄莹等编著。紫外光谱在有机化学中的应用(上册),北京科学出版社,1928。

(4) 稠环芳香族化合物: 此类化合物由于共轭体系增加,使波长红移,吸收强度增加。例如萘有三个吸收谱带, E_1 谱带为 220 nm, $\epsilon=100\,000$, E_2 谱带为 275 nm, $\epsilon=5\,700$, B 吸收带为 312 nm, $\epsilon=250$ 。菲的谱带 E_1 为 252 nm, $\epsilon=50\,000$, E_2 293 nm, $\epsilon=16\,000$, B 谱带为 330 nm, $\epsilon=250$ 。表 6-9 列出了一些稠环芳烃的吸收谱带。

(5) 杂芳环化合物

① 五元杂芳环化合物: 如吡咯、呋喃、噻吩,可看作是环戊二烯的 C_1 被杂原子取代。因此,紫外光谱与环戊二烯相似。一般有两个吸收峰,在 200 nm 附近有一个峰,属 A 带,在 238 nm 附近还有一个峰,类似苯环的 B 带。例如:



② 六元杂芳环化合物: 六元杂芳环化合物的紫外光谱与苯相类似,例吡啶在 257 nm 有吸收峰与苯的 B 带相似,也有精细结构,而其 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁引起的弱峰多被 B 带覆盖。极性溶剂可使吡啶的 B 带吸收强度明显增高,这可能是吡啶氮原子上的孤对电子与极性溶剂形成氢

表 6-9 一些稠环芳烃的吸收谱带

化 合 物	E_1 吸收带		E_2 吸收带		B 吸收带	
	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	ϵ	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	ϵ	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	ϵ
萘	220	100 000	275	5 700	312	250
菲	252	50 000	293	16 000	330	250
蒽	253	200 000	375	8 000	*	—
苯并蒽	278	200 000	474	13 000	*	—
二苯并蒽	310	270 000	580	15 000	*	—

注：* B 吸收带被掩盖。

引自参考文献[23]。

键的原故。

5. 吸收谱带 跃迁类型相同的吸收峰称为吸收谱带又称吸收带。化合物结构不同，跃迁类型不同，因而有不同的吸收带。在前面化合物结构与电子跃迁的关系中已提到各种吸收带。现将吸收带的种类与特点扼要总结如下：

(1) R 吸收带：由 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带，它具有杂原子和双键的共轭基团。如 >C=O ， $-\text{NO}_2$ ， $-\text{N}=\text{C}-$ 等。该带的特点是吸收强度很弱，处于长波方向，吸收峰波长一般在 270 nm 以上。

(2) K 吸收带：由共轭的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带，其特点是吸收峰很强 $\epsilon > 10^4$ 。共轭双键增加，波长红移，而且吸收强度增加。 K 带是共轭分子的特征吸收带，借此可判断化合物中共轭结构。

(3) B 吸收带：这是芳香族化合物的特征吸收带，由苯的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁所产生。为一宽峰并出现精细结构。吸收峰在 230—270 nm 之间， B 带的精细结构常用来识别芳香族化合物，但当苯环取代后或用极性溶剂时，精细结构消失。

(4) E 吸收带： E 带可分为 E_1 、 E_2 两个吸收带。二者可分别看成是苯环中的乙烯键和共轭乙烯键所引起的，也属 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。 E_1 带吸收峰在 184 nm 左右，在远紫外区不常用。 E_2 带在 203 nm 处有吸收， E_2 带有些书籍也称它为 K 带。 E_2 带可因苯环上引入助色基而向红移。当苯环上引入生色基时，吸收峰显著红移，此时 E_2 带就称为 K 带。

五、定 量 分 析

(一) 试 样 的 制 备

1. 溶剂的选择 可见紫外分光光度测定，通常都是在溶液中进行，因此选择合适的溶剂十分重要。选择溶剂应考虑的原则是：对试样有良好的溶解能力和选择性；在测定波段内溶剂本身无明显吸收；溶剂不得与被测组分发生化学反应，被测组分在溶剂中具有良好的吸收峰形。对于紫外光谱分析，选择溶剂更为重要，因为溶剂对电子跃迁产生的谱带有影响。极

性溶剂可使 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的 R 吸收带发生蓝移；使 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的 K 吸收带发生红移；可使芳香族的 B 吸收带精细结构消失。因此在紫外测定时，在溶解度允许的范围内，应尽量选择极性小的溶剂。分光光度法常用的有机溶剂见表 6-10。

表 6-10 分光光度法常用的有机溶剂

溶 剂	透明范围 (nm)	溶 剂	透明范围 (nm)
95%乙醇	210 以上	乙腈	210 以上
水	210 以上	乙醚	210 以上
正己烷	210 以上	异辛烷	210 以上
环己烷	210 以上	二氯甲烷	235 以上
二氧杂环己烷	230 以上	1,2-二氯乙烷	235 以上
氯仿	245 以上	甲酸甲酯	260 以上
苯	280 以上	四氯化碳	265 以上
正丁醇	210 以上	N,N-二甲基甲酰胺	270 以上
异丙醇	210 以上	丙酮	330 以上
甲醇	215 以上	吡啶	305 以上

引自洪出海编. 光谱分析法在有机化学中的应用, 北京: 科学出版社, 1980。

2. 样品的净化 样品中含有杂质，会直接影响分光光度法的测定结果，因此，测定前必须进行净化。农药原药和制剂中都含有许多杂质，测定前都必须进行净化处理，常用的方法有薄层层析、液液分配、柱净化等。也可以用水解、氧化还原或调节酸碱性方法等，消除干扰。

(二) 测量条件的选择

1. 波长的选择 应选择被测组分最强吸收带的最大吸收波长(λ_{max})作为测量波长。因为在 λ_{max} 处，待测组分每单位浓度的吸光度值变化最大，测量灵敏度较高，而且吸收曲线在最大波长附近较为平坦，可以较好的遵守比尔定律。但是实际工作中，往往由于待测液中含有杂质，为避开杂质的干扰，而选择灵敏度稍低的不受干扰的次强吸收峰或肩峰等进行测量。

2. 狭缝宽度的选择 狭缝宽度直接影响测定灵敏度和校正曲线的线性范围。狭缝宽度增大，在一定范围内可使灵敏度下降，校正曲线线性变坏，偏离比尔定律。狭缝也不是越小越好，狭缝太小，入射光强度变弱，也不利于测定。一般应选择不减少吸光度时的最大狭缝宽度为测量宽度。

3. 吸光度与浓度之间关系的确定 在确定了分析条件之后，必须用一系列标准溶液制作一条标准曲线，标准曲线的浓度范围应接近实际试样的浓度，并在此浓度上下一定范围包括待测样品的浓度范围，通过标准曲线的制作，可以了解遵循比尔定律的浓度范围。

4. 空白溶液的选择 空白溶液亦称为参比溶液，在分光光度法测定样品时都需要有空白溶液作为参比。在仪器上将空白溶液的透光率调成 100%，以作为测量时的相对标准，空白溶液除了具有参比作用外，在分光光度测定中，还可以用来抵消某些杂质的干扰。例如所

用试剂或溶剂不纯、显色剂本身有颜色、以及无法去除的杂质色泽等，都会影响吸光度的测定，此时可用相应的空白溶液消除其影响。

空白溶液应根据不同情况加以选择。当被测溶液在测定波长下，没有杂质干扰时，通常选用去离子水或溶剂作为空白溶液。

如果显色剂有颜色，并在测定波长下对光有吸收，则应用显色剂溶液作为空白溶液，加入显色剂的量应与试样中的量一致。

如果试样中的杂质颜色有干扰，而显色剂没有颜色，则可用不加显色剂的试样作空白溶液。

如在样品处理过程中，由于操作因子带入一些干扰，则可用不含被测物的试样进行平行操作，然后用此溶液作为空白。

(三) 反应条件

1. 显色剂的选择 在可见光区进行分光光度测定时，常需选择合适的显色剂将被测组分转变为有色化合物或络合物，然后进行测定。选择显色剂的原则是：显色反应灵敏度高，一般应在 100 ppm 以内；显色剂选择性好，对杂质无反应或反应小；显色稳定性好，生成的有色化合物颜色要稳定，组成要恒定；符合比尔定律；受溶液的酸度、温度等因子影响要小等。

2. 显色条件的选择 显色条件包括试剂的浓度、溶液的酸度、显色时间、反应温度、杂质的干扰等。

(1) 试剂的浓度：显色过程中加入的试剂或显色剂的量，会影响有色化合物的组成，常使颜色发生变化，因此试剂（显色剂）的加入量必须通过实验确定，应做一条吸光度与试剂（显色剂）浓度的变化曲线，在吸光度值恒定的范围内确定试剂（显色剂）的浓度。

(2) 溶液的酸度：显色过程都是在一定的酸度条件下进行的，酸度高低对络合物的形成，颜色的稳定性，水解、沉淀等都有很大影响。显色反应的最佳酸度范围可以通过实验确定，即做一条吸光度与溶液 pH 值的变化曲线，在吸光度值恒定部分对应的 pH 值，即为最佳酸度范围。

(3) 显色时间：显色过程中由于显色反应不同，需要的时间也不同，有时颜色不稳定，放置时间过长就会变色或退色，影响测定结果。因此，显色反应后，必须在适当时间内测定吸光度，通过实验确定合适的显色时间。

(4) 反应温度：显色反应一般在室温下进行，但个别反应需要在特定的温度下进行，因此，需要根据反应性质选择合适的反应温度。

(5) 杂质的干扰：试样中的杂质对显色反应会造成很大干扰，必须去除杂质干扰的影响。去除杂质的方法有：加入掩蔽剂，选择合适的显色条件；选择不受干扰的测定波长；利用空白溶液的抵消或通过薄板、柱层析、离子交换等方法，使被测组分与干扰杂质分离。

六、在农药分析中的应用

(一) 农药分析的特点

1. 测量范围广 大多数农药为芳香族化合物, 化合物本身或其衍生物在可见紫外区都有吸收峰。在农药分析上, 配合薄层法净化, 可用于测定原药及制剂中有效成分含量, 也可测定农药残留量及痕量农药, 其灵敏度和准确度可与近代仪器相比美。

2. 操作简便快速 可见紫外分光光度计, 仪器成本较低, 易于掌握, 随着近代分光光度计的产生, 在测量计算方面通过微机控制, 使测定结果既快速又准确。

3. 有较好的准确度 一般的浓度测量, 相对误差在 1%—3% 范围内。如用示差分光光度法, 误差可以减少到千分之几。

4. 既可定量也可用于定性 除可用于大多数农药的定量分析外, 还可以作为定性手段, 并常和红外光谱、核磁共振相配合, 作为定性鉴定的工具。

(二) 可见比色分析

比色分析法就是吸收光谱在可见光范围内的分光光度法。可见光波长范围是由紫色的 400 nm 到红色的 760 nm。

随着分光光度计的发展, 比色测定已由分光光度计代替了旧时的比色计。分光光度计与比色计相比, 具有准确、省时、选择性好的优点, 现代的分光光度计都具有扫描功能, 可以通过吸收曲线, 找出被测物质的最佳吸收波段, 还可以从吸收曲线上选择合适的条件, 以减少杂质的干扰。

农药的可见光比色分析有以下几种情况:

农药有效成分本身带有颜色, 可以直接进行比色, 这种农药数量很少, 如敌克松原药为黄棕色, 在波长 435 nm 处有最大吸收峰。故可直接进行比色测定。

农药本身无色, 经化学反应, 引入或生成一个显色基团而变成有颜色的化合物, 此过程称为“显色”, 大多数农药都需要显色, 才能进行测定。

(1) 经化学反应可以生成有色化合物, 如对硫磷经碱解后形成对硝基酚而呈黄色。五氯酚经氧化形成四氯代苯醌呈黄色。

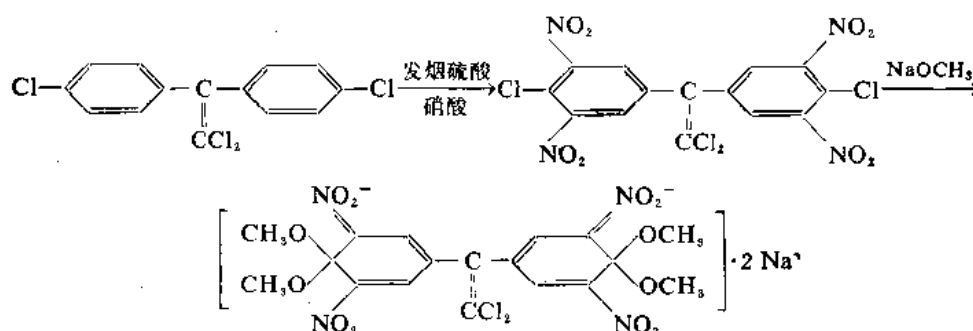
(2) 引入显色基团生成有色化合物: 如农药经酸、碱水解产生酚类或芳胺, 可与偶氮试剂进行偶合形成有色化合物, 偶氮试剂则称为显色剂。

1. 含氯农药的颜色反应

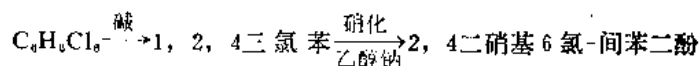
(1) 吡啶-碱显色反应 (Fujiwara 反应): 含卤农药在碱性溶液中, 与吡啶短时间加热, 至少有两个卤原子和一个碳原子成键, 产生红色或蓝色。如 DDT 与含有咕唑酚的吡啶溶液及氢氧化钾加热生成红色。可在 510 nm 处测定光密度。三氯杀螨醇在碱性条件下, 水解产生氯仿, 氯仿在碱-吡啶作用下生成红色, 可在 535 nm 处测光密度。氯丹可以产生紫色 (404 nm) 毒杀芬可产生黄色 (400 nm), 七氯、克菌丹、敌敌畏等都有此反应, 反应过程中, 含有水或乙醇对颜色形成有干扰。

(2) 硝化-甲醇钠法: 含氯芳香族农药, 经硝化后加甲醇钠, 形成四硝基衍生物, 经分子

重排变为醌式，呈蓝色。如对位 DDT、对位 DDD 及三氯杀螨醇均形成蓝色 (598 nm)；DDE，DDA 形成红色 (420 nm)，邻位 DDT 形成紫色 (590-511 nm)。



六六六需加碱水解成 1, 2, 4 三氯代苯再经硝化与甲醇钠反应形成 6 氯 2, 4 二硝基间苯二酚，呈黄色，可在 415 nm 处测定光密度。



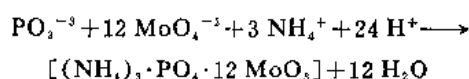
(3) 脱氯磺化显色反应：DDT、甲氧 DDT 等在 1% 乙醇氢氧化钾溶液中，脱掉一分子氯化氢，再与浓硫酸反应，即呈现颜色，DDT 为桃红色；甲氧 DDT 为紫色。

(4) 二苯胺-氯化锌显色反应：狄氏剂、毒杀芬等经与二苯胺、氯化锌混合熔融，而形成蓝绿色化合物，将此化合物用丙酮或冰醋酸溶解，即可进行比色。

(5) 浓硫酸与铬变酸显色反应：卤代苯氧乙酸类如 2, 4, D 与浓硫酸反应产生甲醛，再与铬变酸 (1, 8 二羟萘、3, 6 二磺酸) 加热到 150°C 出现紫色。

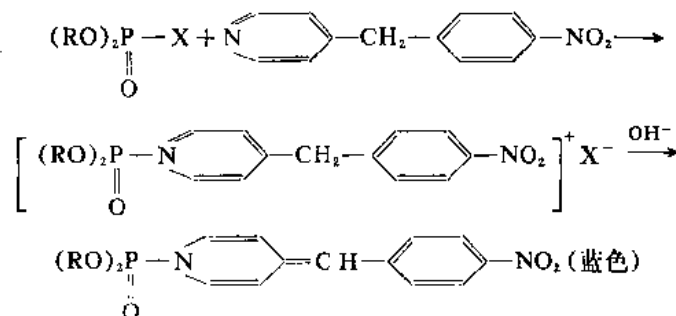
2. 含磷农药的颜色反应

(1) 钼蓝比色法测全磷：含磷农药用高氯酸及硫酸混合液，消化分解成无机磷，在酸性条件下与钼酸铵及偏钼酸铵反应形成磷钼杂多酸，显黄色，在 420 nm 处测定光密度。



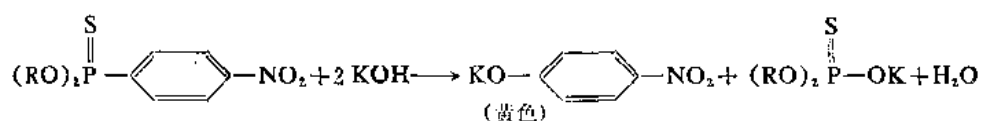
如在钼酸铵中加入 1 氨基-2 萘酚-4 磺酸试剂或 SnCl_2 则显蓝色，在 735 nm 处测定光密度，所有有机磷农药均可用此法测定全磷含量。

(2) 4-(对硝基苄基)吡啶 (NBP) 反应：有机磷农药在乙醇中与 4-(对硝基苄基)吡啶在 100°C 加热 12—17 min，冷却后加入四乙撑戊胺丙酮液 (或吗啉丙酮液) 30 min 呈蓝色，在 580 nm 处测定光密度。此法可测定马拉硫磷、乐果、倍硫磷等含硫或不含硫有机磷农药。



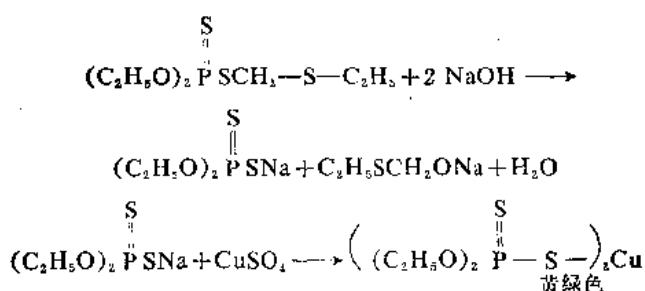
(3) 皂化比色法：含硝基有机磷化合物，碱解后，产生对硝基苯酚化合物，呈黄色，可

在 420~480 nm 波长范围内测光密度。如对硫磷、甲基对硫磷、杀螟松均可用此法测定。



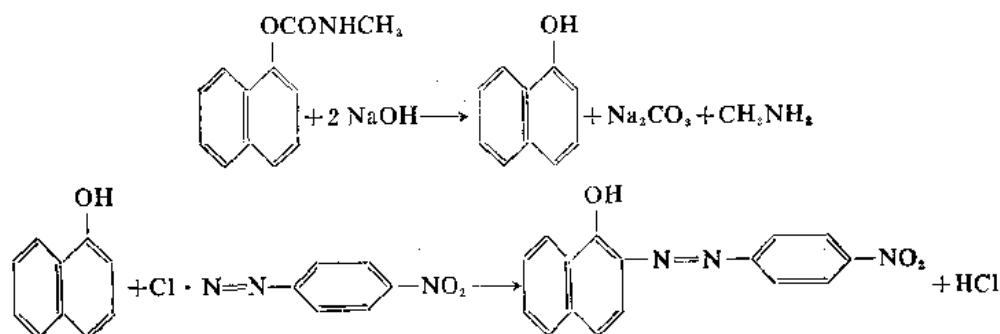
(4) 与氯化钼反应：含硫磷酸酯类在酸性条件下与氯化钼反应形成黄色或褐色螯合物。二硫代磷酸酯形成 1:1 螯合物；一硫代形成 1:2 螯合物。

(5) 形成铜盐络合物：二硫代磷酸酯类，在碱性条件下，水解成二烷基二硫代磷酸，与铜离子在四氯化碳溶液中反应，呈黄绿色，在 420 nm 下测定光密度。如马拉硫磷、甲拌磷、乙硫磷、亚胺硫磷等均有此反应。但乐果无此反应，因乐果碱解后生成硫代磷酸和硫醇：

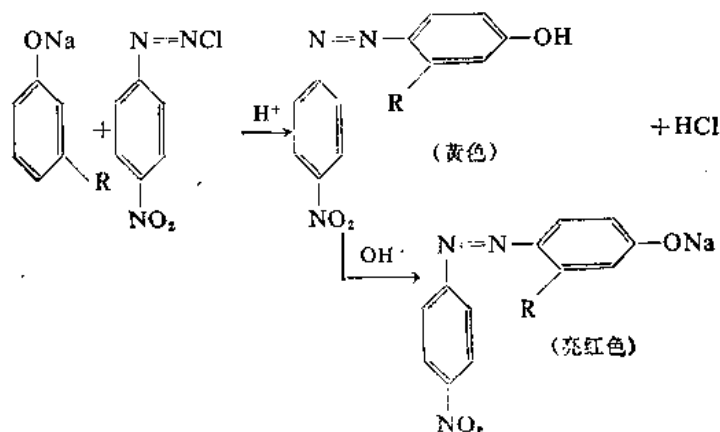


3. 氨基甲酸酯类 氨基甲酸酯类农药经碱解后形成酚类与偶氮试剂反应形成重氮盐而显色。

甲萘威、克百威等经碱解后生成 α -萘酚，与对硝基苯偶氮氟硼酸的甲醇溶液反应，呈黄色，在 590 nm 处测光密度或加入对硝基氯化重氮苯在酸性条件下呈黄褐色。

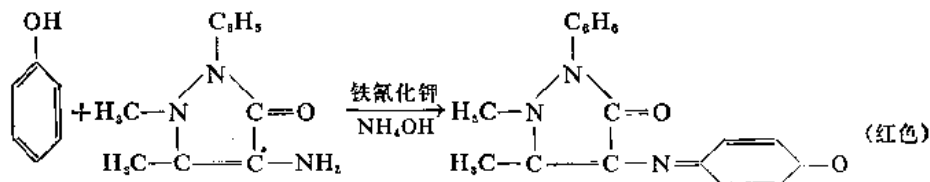


速灭威等经碱解后生成苯酚类，在弱酸下与对硝基氯化重氮苯反应呈黄色。如在碱性条件下，则形成亮红色染料可在 490 nm 处测定光密度。



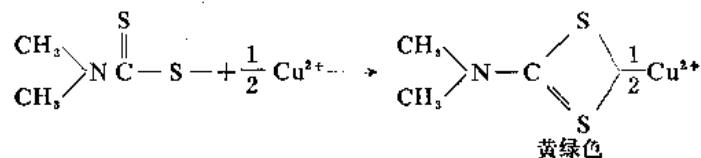
4. 其它

(1) 酚类的颜色反应：酚类化合物在微碱性溶液中与 4-氨基比林及氧化剂的作用下，形成红色，在 510—520 nm 处测光密度。



具有卤素、羧基、甲氧基等取代的酚类均有上述反应，五氯酚常用此法定量。

(2) 福美双的颜色反应：福美双在酸性溶液中分解为 $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{N} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array} \text{C}(=\text{S})\text{NCS}-$ ，与 Cu^{2+} 定量络合成铜的络合物，在 430 nm 处测定光密度。



(三) 紫外光谱定量分析

农药的有效成分在紫外区 (200—400nm) 大多有特征吸收，一些吸收不明显的农药，也可以通过适当的化学处理转化成有吸收特征的物质，再加以分析。

1. 一些农药的紫外光谱解析

(1) 有机氯农药：有机氯是典型的具有苯环的农药。在苯环上烷基或卤素的取代，可导致谱带的红移，由 254nm 移到 260—270nm 处。侧链的取代在近紫外区不会造成谱带的改变。图 6-9 为此类化合物的吸收曲线。表 6-11 列出了最大吸收波长。这些化合物都可看作为甲苯的衍生物，侧链用苯环取代，并不会改变最大吸收波长。例如二苯基甲烷与甲苯一样，吸收峰都在 262nm 处。然而苯环上卤素取代，可导致轻微的红移，(如 DDT, DFDT, TDE 与甲苯比较)。增加卤素取代，明显红移。例如苯基醋酸为 258nm，而三氯苯基醋酸则红移至 276 nm。

表 6-11 一些有机氯的最大吸收波长

名 称	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$	名 称	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$
甲 苯	262	DDT	267
二苯基甲烷	262	<i>o,p</i> -DDT	268.5
氯代苯	264	TDE	268.5
苯基醋酸	258	<i>o,o</i> -DDT	270
DFDT	265	1,2,4-三氯苯	278
乙DD	265	三氯苯基醋酸	276
三氯杀螨醇	265.5		

注：表 6-11—6-16 和图 6-9—6-15 引自参考文献 [32]。

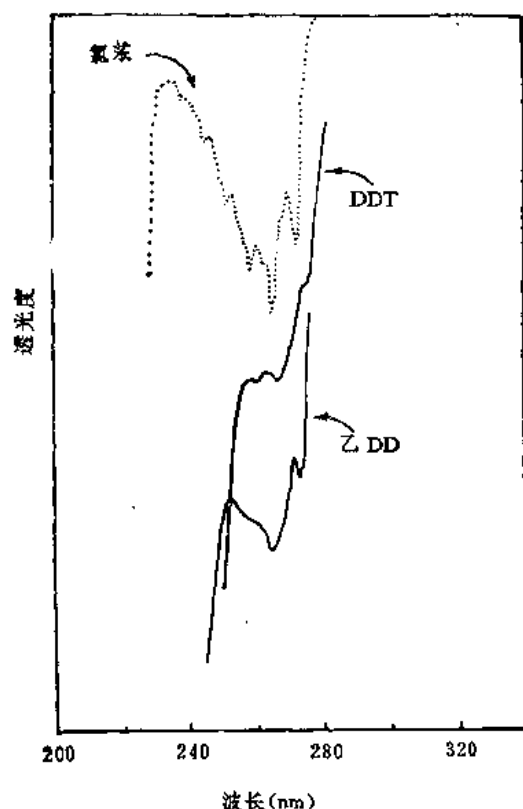


图6-9 氯苯、DDT及乙DD在乙醇中紫外吸收光谱图

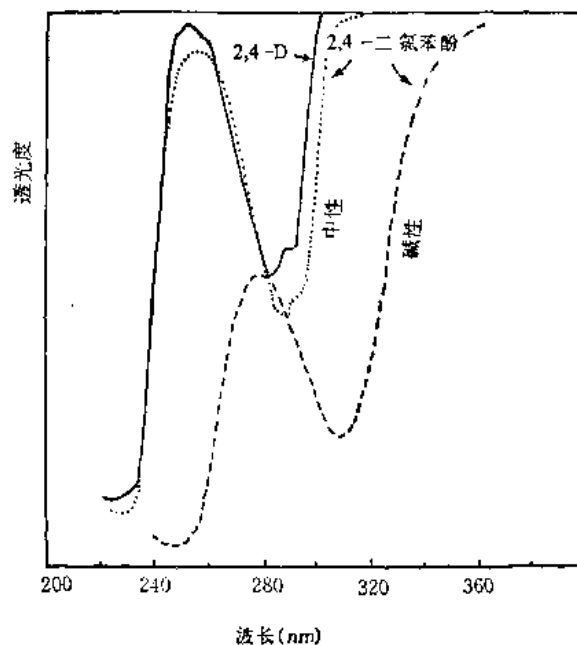


图6-10 2,4-D及2,4-二氯苯酚(在中性及碱性介质)在乙醇中紫外吸收光谱图

(2) 苯醚类农药: 此类农药可看作是苯酚上的氢用烷基取代, 其吸收波长与苯酚相似。如苯氧基化合物, 列于表6-12中。此类化合物与苯酚不同之处在于苯酚在碱性介质中波长红移, 而醚类衍生物在碱性介质中波长变化不大。例如2,4-D吸收峰在284nm处, 在0.1mol/L 氢氧化钠中吸收峰仍在284nm。而2,4-二氯苯酚则显著红移, 最大吸收峰在308nm处。图6-10, 表6-12给出了此类化合物的最大吸收波长。根据上述差别, 可以测定苯氧基化合物中存在的少量苯酚化合物, 也可以作为鉴定苯氧基化合物与苯酚的依据。

(3) 苯酯类农药: 苯酯类衍生物与母体酚的吸收波长不同, 因为酯的氧原子的 n 电子不能有效地转移至苯环上, 而是回到碳氢键上。这类农药包括氨基甲酸酯和磷酸酯, 如表6-13

表 6-12 一些苯醚类农药的最大吸收波长

名 称	$\lambda_{max}(nm)$
2-苯氧基乙醇	270
甲氧 DDT	273
杀螨特	275
2,4D	284
2甲4氯丙酸	287
2甲4氯	287
2,4,5 T	289

表 6-13 一些氨基甲酸酯的最大吸收波长

名 称	$\lambda_{max}(nm)$
二甲基苯胺	251
百克威	257
萘	276
甲萘威	280
残杀威	270

图 6-11 给出了这类化合物的最大吸收波长。从图中可以看出甲萘威吸收峰为 280 nm, 比萘 (λ_{max} 276) 有轻微红移, 而萘酚吸收峰在 296 nm 比萘红移了 +20 nm。同样, 磷酸酯类的对氧磷, 由于是对位取代, 其最大吸收峰在 268 nm, 比对硝基苯 (260 nm) 轻微红移。对硫磷由于是 $P=S$ 代替了对氧磷的 $P=O$, 对硫磷吸收峰在 274 nm, 比对氧磷又稍有红移。表 6-14 给出了一些有机磷酸酯农药及其母体生色基的最大吸收波长。

(4) 苯胺类农药: 苯胺有三个吸收峰, 即 207, 230 及 280 nm, 中间的谱带由于电子转移具有强吸收。通常苯胺的苯环取代或氨基中氢原子取代都会在 280 nm 的基础上红移。这类农药有取代脲类、氨基甲酸酯类等, 此类农药的最大吸收波长列于表 6-15 及图 6-12。

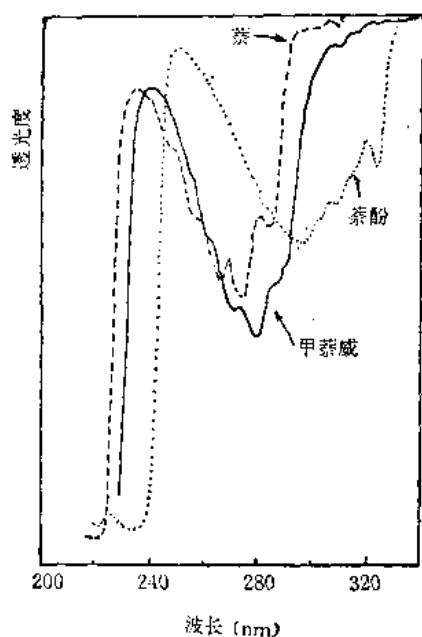


图 6-11 甲萘威萘酚及萘在乙醇中紫外吸收光谱图

表 6-14 一些有机磷酸酯农药的最大吸收波长

名 称	λ_{max} (nm)
硝基苯	260
三对位硝基苯磷酸酯	264
乙基二对硝基苯磷酸酯	267
对氧磷	268
对硫磷	274
噻啉	243
二噻磷	247.5

峰向长波移动至 257 nm。烟碱及假木贼碱均为典型的 β 取代物, 它们的吸收峰在 262 nm, 如图 6-14 所示。百草枯水溶液在 256 nm 处有吸收, 其分子内没有非成键电子, 但呈阳离子形式,

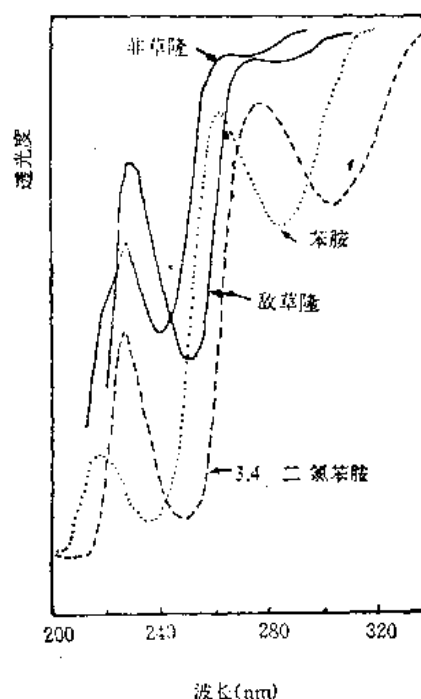


图 6-12 苯胺、3,4-二氯苯胺、非草隆、敌草隆在乙醇中紫外吸收光谱图

(5) 均三嗪类农药: 此类化合物的最大吸收峰均在 220 nm 处, 此为三嗪类的特征峰。西玛津及考去津的水液在 263 nm 有一弱吸收峰, 与苯环的 254 nm, $\pi \rightarrow \pi^*$ 相对应。表 6-16 及图 6-13 列出一些三嗪类农药的最大吸收波长。

(6) 吡啶类化合物: 吡啶在乙醇中的吸收峰为 247 nm。相当于苯的 254 nm 谱带 ($\pi \rightarrow \pi^*$)。在水溶液中吡啶在 251 及 270 nm 有两个吸收峰, 270 nm 谱带可以看作是 n 电子对苯环的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 当吡啶化合物在酸性溶液中则会偏离此长波吸收峰。吡啶环上 α, β 位的取代, 可使吸收

表 6-15 一些胺类农药的最大吸收波长

名 称	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	名 称	$\lambda_{\max}(\text{nm})$
苯 胺	238	敌 草 隆	246
苯 胺 灵	234	利 谷 隆	246
氯苯胺灵	237.5	3,4二氯苯胺	247
非 草 隆	237	敌 稗	248
灭 草 隆	244		

表 6-16 一些三嗪类农药的最大吸收波长

名 称	$\lambda_{\max}(\text{nm})$
莠去通	220
西玛通	220
朴灭通	220
西玛津	222
莠去津	222
朴灭津	223
草达津	228

与吡啶在酸性溶液中的谱带相类似。杀草快的谱带显著红移，吸收峰在308nm处，与 α -三氨基吡啶衍生物类似。图6-14列出了一些吡啶化合物的最大吸收波长。

(7) 其它：含唑类及咪唑类农药大多有很好的吸收峰，如三环唑、三唑酮、多菌灵等都可用紫外光谱法进行定量测定。

2. 测定方法

(1) 标准对照法：在同样条件下配制标准溶液及试样溶液，在所选波长处分别测量吸光度，根据吸光度与浓度成正比的关系，用下式求出样品浓度。

$$A_{\text{标}}/A_{\text{样}} = C_{\text{标}}/C_{\text{样}}$$

式中：A——吸光度；C——浓度。

(2) 吸光系数法：用标准品在最大吸收波长处的吸光系数 ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$) 值为依据，进行定量测定。将标准品分别在已校正过的不同型号分光光度计上进行多次测定，计算出百分吸光系数 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 作为标准，然后与样品的实验值比较。实例：纯三环唑 $E_{1\%}^{1\text{cm}} 292\text{nm} = 1.3 \times 10^3$ ，在相同条件下测定浓度为0.004%的三环唑的吸光度 $A = 0.49$ ，得出 $(E_{1\%}^{1\text{cm}})' = 1.2 \times 10^3$ ，因此，该样品中三环唑的含量为 $\frac{1.2 \times 10^3}{1.3 \times 10^3} \times 100\% = 92.3\%$ 。

(3) 标准曲线法：根据光的吸收定律，当液层厚度及入射光的波长不变，在一定浓度范

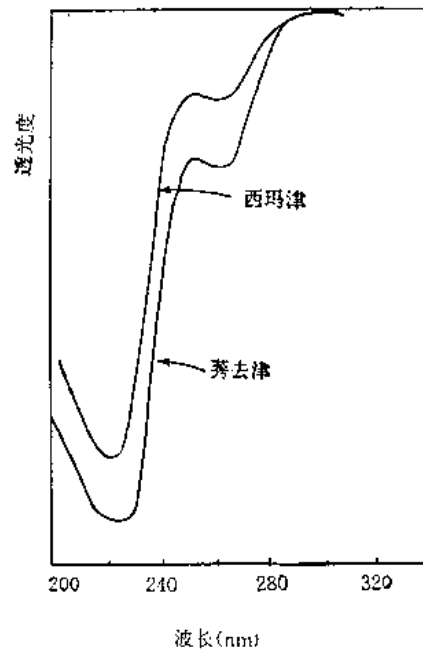


图 6-13 西玛津及莠去津（在水中）紫外吸收光谱图

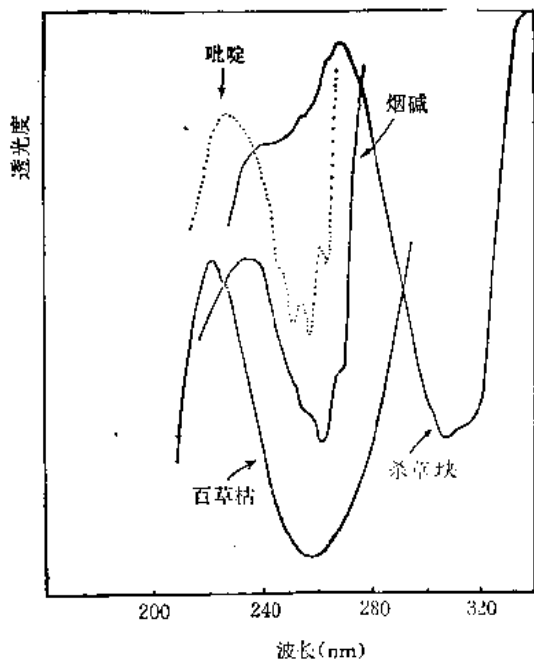


图 6-14 吡啶、烟碱（在乙醇中）、百草枯和杀草快（在水中）紫外吸收光谱图

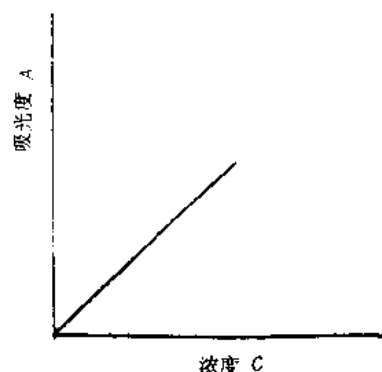


图 6-15 标准曲线

围内吸光度与溶液的浓度成正比。因此，配制一系列标准溶液，将测得的吸光度 A 为纵坐标，标准溶液的浓度 C 为横坐标，可绘制出 $A-C$ 关系图。如果符合比尔定律，则成为一条直线，称为标准曲线，如图6-15所示。在相同条件下，测量样品溶液的吸光度，可以在标准曲线上查出相应的浓度。

(4) 最小二乘法：最小二乘法是根据光的吸收定律具有线性函数的特性， $A = a \cdot c \cdot b$ 。配制若干不同浓度的标准溶液，测定出一系列相应的吸光系数，用最小二乘法处理，求出系数 a 和 b ，以求其最佳值，这样得到的吸光系数比较可靠。目前带有微机的分光光度计可以通过设置二个或多个浓度的标准溶液，根据最小二乘法校正系统，自动求出校正系数 a 及 b ，可以进行准确的定量分析。其原理及计算方法不在此处多述。

(5) 示差分光光度法：示差分光光度法是用一个与待测组分浓度相近的标准溶液作参比溶液与未知试样溶液相比较测量其吸光度，再从测得的吸光度值，求出未知浓度。利用示差分光光度法可以使相对误差减小到千分之儿，所以又称精密分析法，常应用于微量分析。示差分光光度法对仪器的灵敏度和稳定性要求较高，需用较高级的分光光度计，一般比色计不能测定，此处不作详细介绍。

第七章 红 外 光 谱 法

一、基 本 概 念

(一) 红外光谱的性能

红外光谱 (Infrared spectroscopy, 简称IR) 属于分子吸收光谱, 红外光谱是由分子振动能级的跃迁, 并伴随着分子中转动能级的跃迁而产生的, 所以红外光谱又称为分子振动-转动光谱。

红外光谱法在农药分析中的应用主要是了解农药的分子结构及其化学组成。根据红外光谱中吸收峰的位置和形状对农药已知物作定性鉴定, 对未知物作化学结构的初步判断和分析。按照红外光谱特征吸收峰的强度测定农药主成分的含量。红外光谱法用于农药分析主要是定性分析, 必要时才用于定量分析。

红外光谱分析具有以下一些特点:

1. 特征性强 农药分子中每一类骨架或官能团都具有一定的特征吸收峰, 特别是指纹区 ($1350-650\text{ cm}^{-1}$) 更为精细。
2. 快速 测定一个样品一般只需几分钟。
3. 测试样品量少 常量分析一般只需 $1-5\text{ mg}$, 微量分析只需 $10-20\text{ }\mu\text{g}$ 液体或固体样品。
4. 可分析各种物态的样品 气体、液体、固体、溶液均可分析测定。
5. 不破坏试样, 不改变样品的组成。
6. 测试方便 既可进行定性分析, 又可进行定量分析。

(二) 红外区域的划分

红外光区位于可见光区和微波区之间, 即在 $0.78\text{ }\mu\text{m}-300\text{ }\mu\text{m}$ 波长范围内。红外光区可按波长或波数不同的范围分为近红外区, 中红外区和远红外区。每个区的光谱测定所用的仪器不同, 所获得的信息也不相同。

红 外 区	近红外区	中红外区	远红外区
波长 μm	$0.78-2\mu\text{m}$	$2-25\mu\text{m}$	$25-300\mu\text{m}$
波数 cm^{-1}	$12820-5000\text{cm}^{-1}$	$5000-400\text{cm}^{-1}$	$400-330\text{cm}^{-1}$
能级跃迁类型	O—H、N—H C—H键的倍频吸收	分子中原子的振动	分子的转动

近红外区主要研究 O—H、N—H 及 C—H 键的倍频吸收。远红外区主要研究分子的转动和晶格的振动。中红外区主要用于研究分子振动能级的跃迁，是红外光谱研究的主要内容。

(三) 分子的能量和分子振动类型

分子的能量是由分子的内能、平动能、转动能、振动能和电子能组成的。

$$E_{\text{分子}} = E_0 + E_{\text{平}} + E_{\text{转}} + E_{\text{振}} + E_{\text{电}}$$

E_0 是分子的内在能，不随分子运动而改变即所谓零点能。 $E_{\text{平}}$ 为分子的平动能，它只是温度的函数。平动能不能使分子发生偶极矩的变化，所以不能产生光谱。与光谱有关的能量是分子的转动能 ($E_{\text{转}}$)、振动能 ($E_{\text{振}}$) 和电子能 ($E_{\text{电}}$)。

转动能级间距离最小，只需长波长的远红外光或微波照射就可使转动能级发生跃迁，即分子转动光谱。振动能级的间距较大，需吸收较短波长的光才能使振动能级跃迁。振动光谱出现在中红外区。振动能级跃迁过程中，常伴随着转动能级的跃迁。由此，中红外光谱亦称分子振动-转动光谱或简称振-转光谱。

(四) 分子的振动形式

分子的振动形式多种多样，大致可分为：

1. 伸缩振动 (Stretching vibration) 原子沿着价键方向来回运动。能改变化学键长度的运动。常以符号“ ν ”表示。

伸缩振动又分对称伸缩振动和不对称伸缩振动。它们分别以符号“ ν_s ”和“ ν_{as} ”表示。两个相同原子和一个中心原子相连，如果这两个相同原子沿着价键运动的方向相同，称为对称伸缩振动。方向相反，则称为不对称伸缩振动。

2. 弯曲振动或变形振动 (Bending vibration) 原子垂直于价键方向的运动，即能使基团键角发生变化的运动，称为弯曲振动或变形振动。常以符号“ δ ”表示。

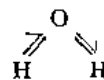
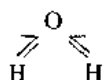
弯曲振动又分面内弯曲振动和面外弯曲振动。面内弯曲振动又分剪式振动和面内摇摆振动。面外弯曲振动又分卷曲振动和面外摇摆振动。

现以 H_2O 分子为例，将分子的振动图示如下：

伸缩振动

ν_s 对称伸缩振动

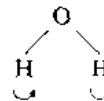
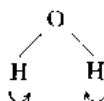
ν_{as} 不对称伸缩振动



弯曲振动

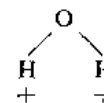
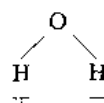
δ 剪式振动

ρ 面内摇摆振动



τ 卷曲振动

ω 面外摇摆振动



红外吸收光谱是由分子振动能级的跃迁(同时伴随转动能级的跃迁)而引起的。当一定频率(一定能量)的红外光照射农药分子时，如果该分子的某个基团的振动频率和红外辐射的

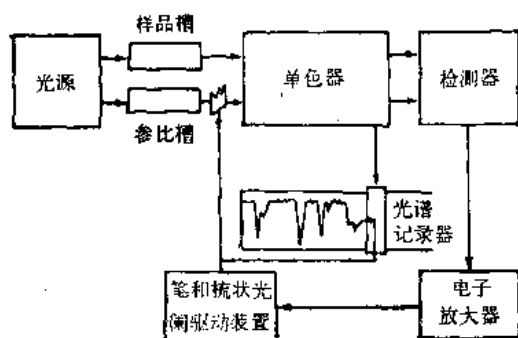
频率一致时, 辐射才具有能满足分子跃迁所需要的能量。这是红外吸收光谱的首要条件。对于化合物分子本身来说, 只有在分子振动过程中, 能引起偶极矩变化的, 才能观测到红外吸收谱带。这是红外吸收光谱的必要条件。 H_2 、 N_2 、 O_2 等非极性分子, 它们没有永久偶极矩, 因此, 不产生红外光谱。 CO_2 虽无永久偶极矩, 其对称伸缩振动不引起偶极矩的变化, 无红外吸收谱带, 但其不对称伸缩振动能引起偶极矩变化, 故仍有其红外吸收谱带。偶极矩变化大的, 吸收峰强。例如 $C=O$ 基的吸收峰就较 $C-C$ 的强。化学结构的对称性差的, 红外吸收较强, 对称性好的则红外吸收较弱。

综上所述, 可知农药分子的红外吸收光谱主要决定于农药分子本身的结构骨架和官能团。不同的官能团能吸收不同频率的红外光。不同官能团的极性 or 所能引起的偶极矩变化不同, 红外吸收峰的强弱就不同。

二、红外光谱仪

红外光谱仪型号很多, 但多为色散型双光束分光光度计, 其结构和组成成分下列 5 个部分, 见图 7-1。

(1) 光源; (2) 单色器; (3) 检测器; (4) 电子放大器; (5) 记录装置。



当连续的红外辐射通过物质, 其中某些频率被物质吸收。将通过物质后的红外辐射按波长或波数分开, 逐一地测量其透过率, 并记录下来, 就获得红外光谱图。

红外光谱图的记录全部由红外光谱仪自动进行。它由光学、电学和机械三个部分共同配合完成。

光学部分主要是一个红外辐射源, 由它产生一连续的红外辐射, 由单色器将它们按波长或波数分开, 使它们单色化。单色器, 过去多用棱镜, 目前精密型红外分光光度计多采用闪耀光栅。另有一个红外检测器用来接受红外辐射, 逐一地测量透过物质的辐射在不同波长的透过率。红外辐射源、单色器和检测器等形成了红外光谱仪的光学系统。现以日本岛津 IR-450 红外光谱仪为例。见图 7-2。

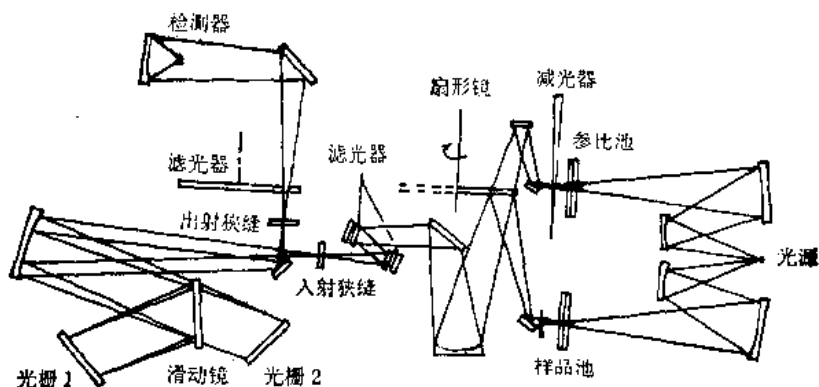


图 7-2 岛津 IR-450 型红外分光光度计光路图

电学部分主要是使射于检测器上的辐射，经过多级放大器推动平动光流和记录笔，进行光学平衡，完成光谱记录。

机械部分主要是一个波数扫描机构，使由单色器出射的红外辐射波长自动地连续变化和一个能改变狭缝开启宽度的狭缝程序机构以保证从单色器出口狭缝出射的红外辐射有足够的能量。

近年来，一种新型红外光谱仪傅里叶变换光谱仪 (Fourier Transform Spectrometer, FTS)，已逐渐被普遍使用。它具有光通量大，分辨率高，记录速度快，且可累积多次扫描后进行记录等优点。与一般红外光谱仪所不同的是不能直接获得样品的光谱，必须借助电子计算机变换成我们熟悉的光谱图，才能为人们所识别。

三、红外光谱的测定方法

红外光谱测定时，所需农药样品量极少，一般只需 1~5 mg，但在测定时样品必须进行一定的处理。首先样品必须纯净，否则图谱难以判别；其次，样品必须干燥，以免侵蚀污染吸收池盐窗。

(一) 气体样品的测定

气体样品一般置于气体池中测定。先将气体池用真空泵抽空，再注入样品，一般气体有 6666.1 Pa 压力就可得到满意的谱图。进行气体测定时，被测气体必须干燥。

(二) 液体样品的测定

液体农药样品可直接用液体池测定。对于粘度较大的液体，可选择有适当厚度的间隔片的可拆液池进行测定。粘度小且沸点低的液体，则需用固体密封池测定。重要的关键是用注射器将液体注入液体池内，必须使液体池全部充满不夹气泡，以免空气干扰光的散射。

(三) 溶液样品的测定

固体、气体以及某些吸收性能强的液体，可将它们溶于溶剂中，以溶液的形式进行测定。

一般对溶剂的要求是：对样品的溶解度大，对红外光透明，不腐蚀池窗，不与农药发生溶剂效应，必须干燥。常用的溶剂有： CS_2 、 CCl_4 、 CHCl_3 等。

(四) 固体样品的测定

样品的制备对固体的测定特别重要。固体农药样品的制备以溶液法为最简单，它能用于定性和定量分析。对难于找到合适溶剂的某些固体农药，则需采用其它一些制备技术。

1. 糊状法 先将固体样品在玛瑙研钵中研细，然后滴几滴液体石蜡继续研磨，直至呈匀浆为止。可将此浆状悬浮物置于两片盐片中进行测定。液体石蜡是粘度较大的长链烷烃，必须注意它本身在 $3000-2850\text{ cm}^{-1}$ ， 1468 ， 1379 和 720 cm^{-1} 处都有吸收峰。在测定饱和碳氢化合物时，最好用六氯丁二烯代替液体石蜡。糊状法只能用于定性分析。

2. 压片法 许多农药固体样品用压片法进行测定。以样品与 KBr 按 1:100—200 mg 比

例置于玛瑙研钵中研磨（两者事前都经研磨、干燥）后放入模具，在油压机内压成透明薄片，然后将薄片置于样品池架上进行测定。压片法的优点是能一次完整地获得红外吸收光谱而不受溶剂或糊剂的影响。此外，受散射的影响也小，且压成的薄片可在干燥器内保存。压片法一般只能用于定性分析，不能用于定量分析。

3. 薄膜法 固体样品制成薄膜进行测定。方法有两种：一种是将固体样品加热熔融后涂于盐片上。凡低熔点且达熔点时不分解、升华或不发生化学变化的固体样品可采用此法；另一种方法是将固体样品用挥发性溶剂（少量）先制成溶液，将它滴在盐片上，待溶剂挥发后，在红外灯下烘干，即可形成薄膜进行测定。

四、红外吸收光谱与有机农药分子结构的关系

红外光谱的最大特点是它具有特征性。农药分子中存在着许多原子基团，各个原子基团在分子被激发后都会产生特征的振动。分子的振动实质上是化学键的振动，因此，红外光谱的特征性与化学键振动的特征性是密切相关的。

红外光谱吸收峰的位置和强度取决于分子中各基团化学键的振动及其所处的环境和位置。有机农药分子往往是多个原子组成的复杂分子，其红外吸收谱峰也较多。反映在红外光谱中的吸收峰除基频（基本频率）外，还有倍频（强基频峰的一倍或几倍处出现的峰）、组频峰（两个或多个基频的和或差的附近出现的峰）、振动偶合（两个相同的基团在分子中靠得很近时，相应的特征吸收峰发生裂分，形成两个峰）和费米共振（倍频峰或组频峰位于某个强基频吸收峰附近时，弱的倍频峰或组频峰的吸收强度被强化）。

常见的化学基团在 $4\,000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ ($2.5\text{--}15\text{ }\mu\text{m}$) 范围内有特征基团频率。人们经常

表 7-1 红外光谱区的划分

$4\,000\text{--}2\,500(\text{cm}^{-1})$ X-H 伸缩振动区	$2\,500\text{--}1\,900(\text{cm}^{-1})$ 叁键和累积双键区	$1\,900\text{--}1\,200(\text{cm}^{-1})$ 双键伸缩振动区	$<1\,350(\text{cm}^{-1})$ 指纹区及 X-H 弯曲振动区
N-H	$\text{--C}\equiv\text{C--}$	$\text{C}=\text{C}$	C-H
O-H	$\text{--C}\equiv\text{N}$	$\text{C}=\text{O}$	N-H
C-H	$\text{--C}=\text{C}=\text{C--}$	C-N	C-O
S-H	$\text{--C}=\text{C}=\text{O}$	--NO_2	C-X
	$\text{--N}=\text{C}=\text{O}$	芳环骨架	C-C 单键骨架

表 7-2 烷烃的主要特征吸收峰

基 因	ν_{as}	ν_{s}	δ_{as}	δ_{s}
	(cm^{-1})			
CH_3	$2\,962\pm 10(\text{s})$	$2\,872\pm 10(\text{m})$	$1\,450\pm 20(\text{m})$	$1\,375\pm 5(\text{s})$
CH_2	$2\,926\pm 5(\text{s})$	$2\,853\pm 5(\text{s})$	$1\,465\pm 20(\text{m})$	$724\text{--}722(\text{m})$ $(\text{CH}_2)_n\geq 4(\text{H})$
CH	$2\,890\pm 10(\text{w})$			

将这个红外光谱范围分成 4 个大区。见表 7-1。

各类化合物主要特征吸收峰见表 7-2 至 7-9。

表 7-3 烯烃和炔烃的主要特征吸收峰

基 团	$\nu(\text{cm}^{-1})$			$\delta(\text{cm}^{-1})$
	$=\text{CH}_2$	$-\text{CH}-$	$\text{C}=\text{C}$ 或 $\text{C}-\text{C}$	$=\text{CH}$
$\begin{array}{c} \text{R} \quad \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \quad \text{H} \end{array}$	3 095—3 075(m)	3 040—3 010(m)	1 648—1 638(m)	910—905(s)
$\begin{array}{c} \text{R}_1 \quad \quad \text{R}_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \quad \text{H} \end{array}$	3 050—3 000(m)		1 662—1 631(m)	730—650(m) 顺式
$\begin{array}{c} \text{R}_1 \quad \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \quad \text{R}_2 \end{array}$	3 050—3 000(m)		1 678—1 668(w)	980—965(s) 反式
$\begin{array}{c} \text{R}_1 \quad \quad \text{R}_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \quad \text{R}_3 \end{array}$	3 050—2 990(w)		1 692—1 667(w)	840—790(m-s)
$\begin{array}{c} \text{R}_1 \quad \quad \text{R}_3 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R}_2 \quad \quad \text{R}_4 \end{array}$	—		1 680—1 665(w)	
$\text{RC}\equiv\text{CH}$	3 310—3 300(m) (C—H)		2 140—2 100(w)	
$\text{RC}\equiv\text{CR}$	—		2 260—2 190(w)	

表 7-4 芳烃的主要特征吸收峰

基 团	$\nu_{\text{C-H}}$	骨架振动 (cm^{-1})	$\delta_{\text{C-H}}$
苯	3 030(s)	1 600, 1 500(1 580)	2 000—1 660

表 7-5 含不同取代基的芳烃的特征吸收峰

芳环上氢原子的状态	吸 收 峰 cm^{-1}
5 个氢原子相邻	770—730
4 个氢原子相邻	770—735
3 个氢原子相邻	810—750
2 个氢原子相邻	860—800
单个氢原子	900—860

表 7-6 醇、酚、醚的主要特征吸收峰

基 团	ν_{O-H}	ν_{C-O}	δ_{C-O-C}
	(cm ⁻¹)		
伯 醇	3 640—3 610(s, 共) (游离)	1 050	
仲 醇	3 500—3 200(s, 宽) (缔合)	1 100	
叔 醇		1 150	
酚		1 200	
脂 醚			1 150—1 070
芳 醚			1 275—1 200 1 075—1 020

表 7-7 醛、酮、醌的主要特征吸收峰

基 团	$\nu_{C=O}$	ν_{C-H}
	(cm ⁻¹)	
脂 醛	1 725(s)	2 820, 2 720(w)
芳 醛	1 700(s)	2 820, 2 720(w)
脂 酮	1 715(s)	
芳 酮	1 690(s)	
醌	1 675(s)	

表 7-8 羧酸及其衍生物的主要特征吸收峰

基 团	ν_{O-H}	$\nu_{C=O}$	ν_{C-O}	ν_{CO_2}	ν_{C-O-C}	δ_{O-H}
	(cm ⁻¹)					
羧 酸	3 000—2 500(s)	1 760(s) 单体 1 710(s) 二聚体				1 420(s) 920(m-w)
羧酸盐				ν_{as} 1 610—1 500(s) ν_s 1 420—1 300(m)		
酯		1 735(s)	1 300—1 050(s)			
酸 酐		1 820—1 760(s)			1 300—1 050(s)	
酰 卤		1 800(s)				

表 7-9 胺、酰胺及硝基的主要特征吸收峰

基 因	ν_{N-H}	ν_{C-N}	$\nu_{C=O}$	δ_{N-H}	ν_{NO_2}
(cm ⁻¹)					
伯 胺	3 500(w)脂 3 400(s)芳	1 340—1 250(s)		1 640—1 560(s-m)	
仲 胺	3 500(w)脂 3 400(s)芳	1 181—1 139(m)			
叔 胺		1 360—1 310(s)			
伯酰胺	3 500—3 200(s-m)		1 690(游离)(s-m) 1 650(缔合)(s-m)	1 600(游离)(s-m) 1 640(缔合)(s-m)	
仲酰胺	3 500—3 200(s-m)	1 260(游离)(s-m) 1 300(缔合)(s-m)	1 680(游离)(s-m) 1 655(缔合)(s-m)	1 530	
叔酰胺			1 650(s-m)		1 560(s)
硝 基		870(m)			1 350(s)

五、在农药分析中的应用

红外光谱能够快速明显地反映出农药分子的骨架和官能团，因此，在农药分析中常用它来鉴定农药，作定性分析。此外，红外光谱对于一些农药工业品、加工制剂的分析也具有独特的效果，比紫外光谱和可见光谱更有其优越性，需要时也可用作定量分析。

(一) 定 性 分 析

农药分析中经常采用红外光谱法对农药进行确证试验，进行定性分析时，首先要求农药样品纯净、干燥，并了解其来源及基本理化性质。

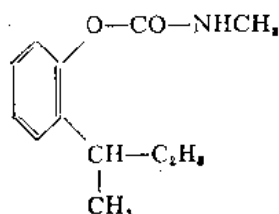
在测定并分析农药样品时，必须注意一些外部因素的影响，物态(固态、液态、气态)不同、结晶不同、测定时所采用的溶剂不同都会使所产生的红外光谱有较大的差异。

此外，一些农药分子本身结构的内部因素也往往导致红外光谱中官能团出现的吸收峰位置有很大的差异。这些内部因素如：分子内原子或基团之间的诱导效应、共轭效应、偶极场效应、分子内或分子间氢键的形成、立体位阻、分子间基团间的振动偶合和裂分等都会影响吸收峰的位置。

用红外光谱对未知物进行鉴定或对已知物进行验证，最后都需利用标准物质或标准红外光谱图进行校验。除特殊情况下，一般都要求与标准谱图完全一致，方可确证为同一化合物。例如：仲丁威(Fenobucarb)

化学名称：2-仲-丁基苯基甲基氨基甲酸酯

化学结构式：



分析方法：工业品 10 mg 在 KBr 片 (2.5 cm × 2.5 cm) 上，加热至 35°C，熔化，盖上另一片 KBr 片，在 4 000—650 cm⁻¹ 扫描。样品红外光谱与标准红外光谱无显著差异者，可确认为同一化合物。主要红外吸收峰：1 720 cm⁻¹ (C=O)，3 400 cm⁻¹ (NH)。见图 7-3。

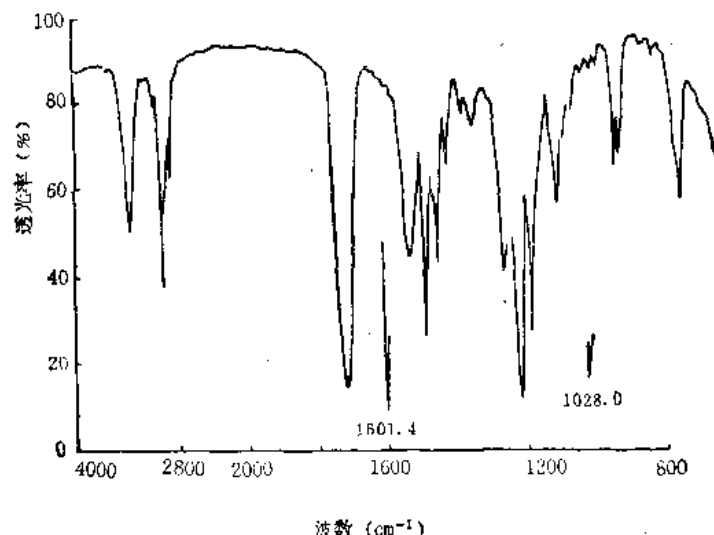


图 7-3 仲丁威的红外光谱(液膜)

乳油可用硅胶柱进行分离。柱 (20 cm × 1.5 cm i.d.) 装 4 g 硅胶。用 10 ml 正己烷和 5 ml 乙酸乙酯洗涤，再用 5 ml 乙酸乙酯淋洗。收集后面的 5 ml 淋洗液，蒸干，按上法进行红外光谱测定。

(二) 定 量 分 析

红外光谱的定量分析方法，与可见、紫外分光光度计一样，根据物质组分的吸收峰强度来进行的。它的依据是比耳-朗勃特(Beer-Lambert)定律。可简写为：

$$A = abc$$

式中：A——吸光度；(Absorbance)

a——吸光系数；

b——吸收池厚度；

c——物质浓度。

具体方法参见“可见、紫外分光光度法”。

下面举一些红外光谱法在农药分析中应用的实例：

1. 杀虫剂

(1) 有机氯农药

1) 六六六 (Benzenehexachloride, BHC)：六六六的各种异构体在红外光谱测定中，在以下波数具有吸收峰：

α-体 795 cm⁻¹，β-体 744 cm⁻¹，γ-体 847 cm⁻¹ 和 687 cm⁻¹

δ-体 753 cm⁻¹ ε-体 714 cm⁻¹

可在混合物中测定各异构体的含量。如混合样品中，主要含 α-体，只含少量 β-体，可用少量 β-体作参比后在 795 cm⁻¹ 处测定 α-体的含量。如混合样品中几种异构体都存在，可

以加入一定量($\pm 0.5\%$)的 α , β , δ , ε 体, 主要在 847 cm^{-1} 和 687 cm^{-1} 测定, γ -体的含量。见图 7-4。

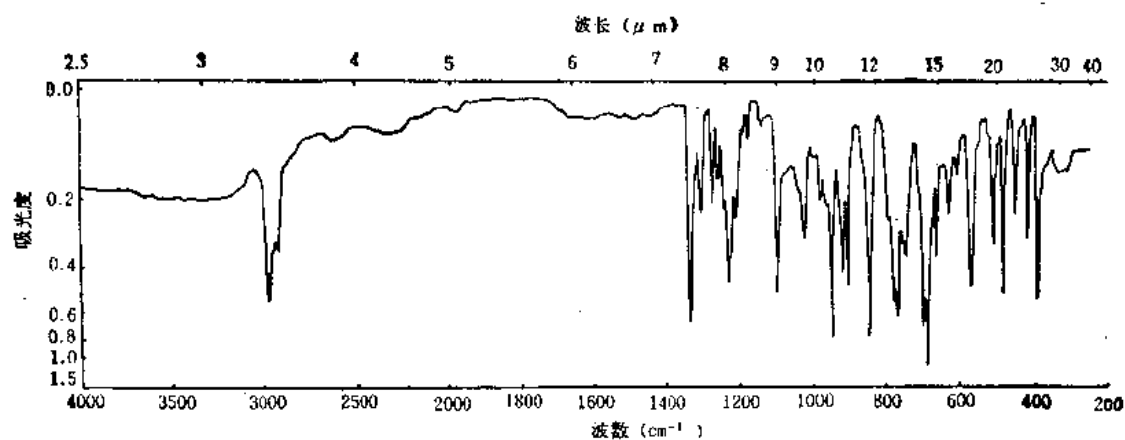


图 7-4-1 六六六工业品的红外光谱图

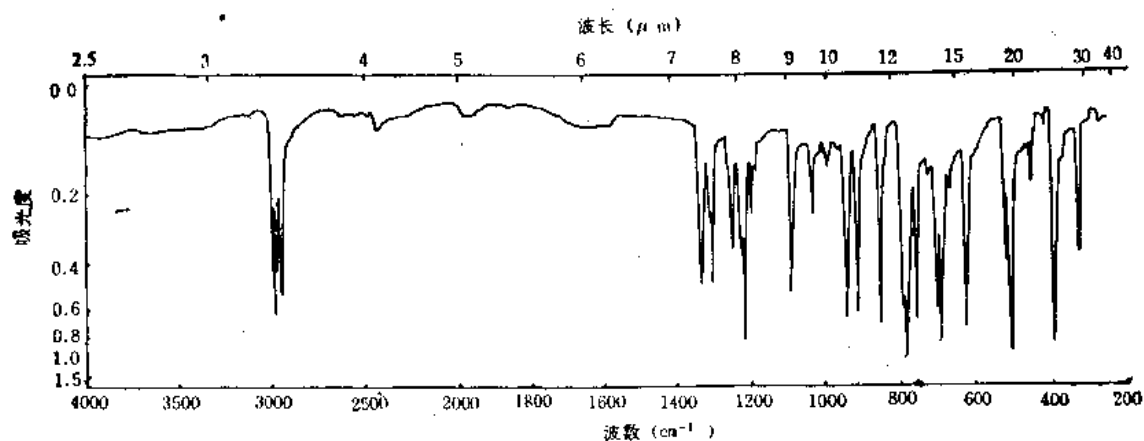


图 7-4-2 α -体六六六的红外光谱图

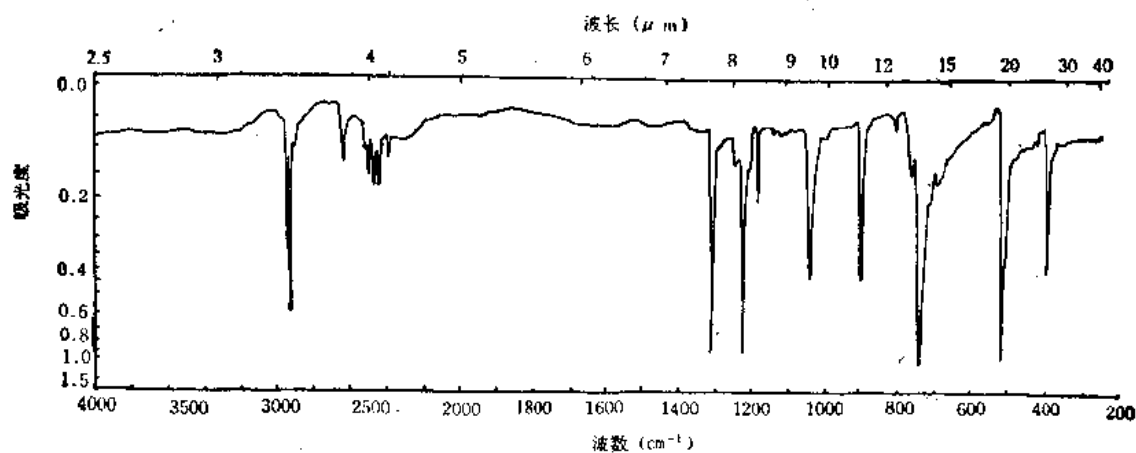


图 7-4-3 β -体六六六的红外光谱图

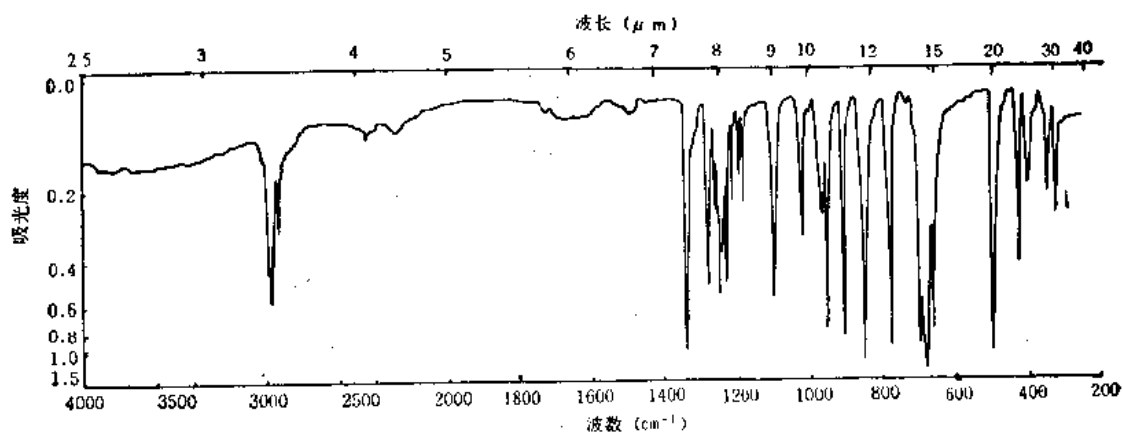


图 7-4-4 γ -体六六六的红外光谱图

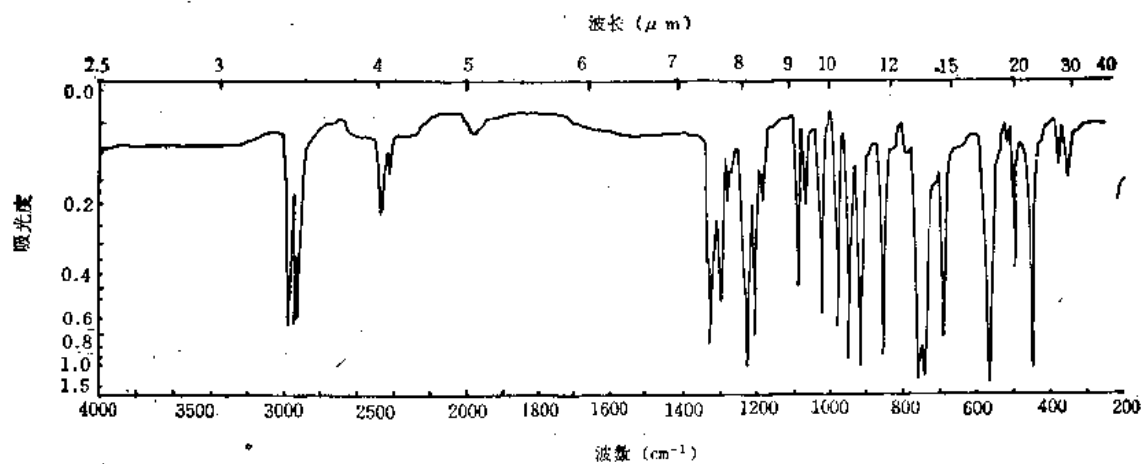


图 7-4-5 δ -体六六六的红外光谱图

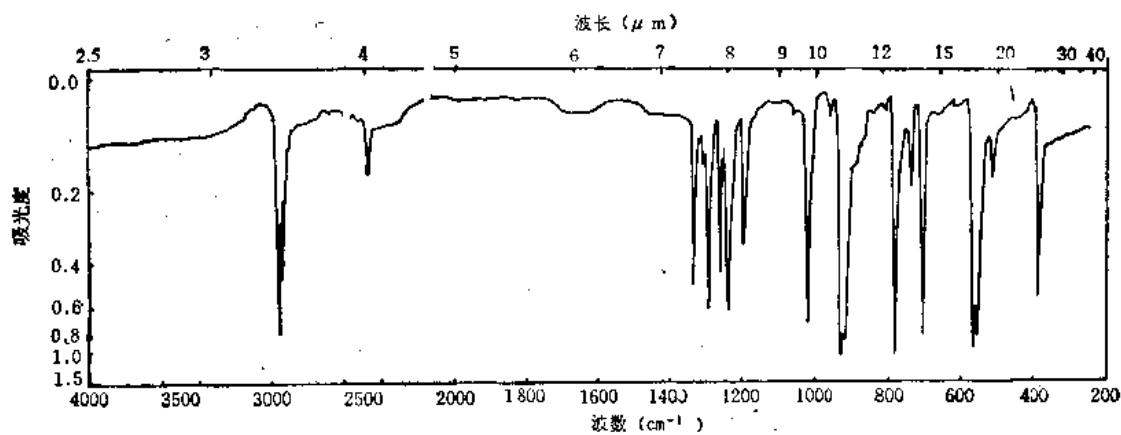


图 7-4-6 六六六各种异构体的红外光谱图

2) 滴滴涕(Dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT): p, p' -滴滴涕在红外光谱测定中, 其主要吸收峰为 1020 cm^{-1} 。可将待测样品溶于二硫化碳, 以标准 p, p' -滴滴涕作对比, 在 1020 cm^{-1} 处进行分析测定。可以此法测知滴滴涕产品中含杂质的状况、测定其纯度以及进行残留量分析。

3) 氯丹(Chlorodane): 工业品氯丹中常含有 α -体和 γ -体。可选用 945 cm^{-1} 测定红外吸收光谱。一般在分析工业品时, 先将它溶于二硫化碳。分析粉剂、可湿性粉剂和颗粒剂时则用5%丙酮-二硫化碳溶液进行萃取, 蒸去溶剂后再溶于二硫化碳进行测定。

(2) 有机磷农药

1) 敌敌畏(Dichlorovos): 将敌敌畏气溶胶制剂溶于氯仿, 测定 $980-1000\text{ cm}^{-1}$ 的红外吸收峰。也可测定 833 cm^{-1} 的红外吸收峰(P=S键)。乳油可直接进行测定, 粉剂则需用二硫化碳萃取后方可测定。见图 7-5。

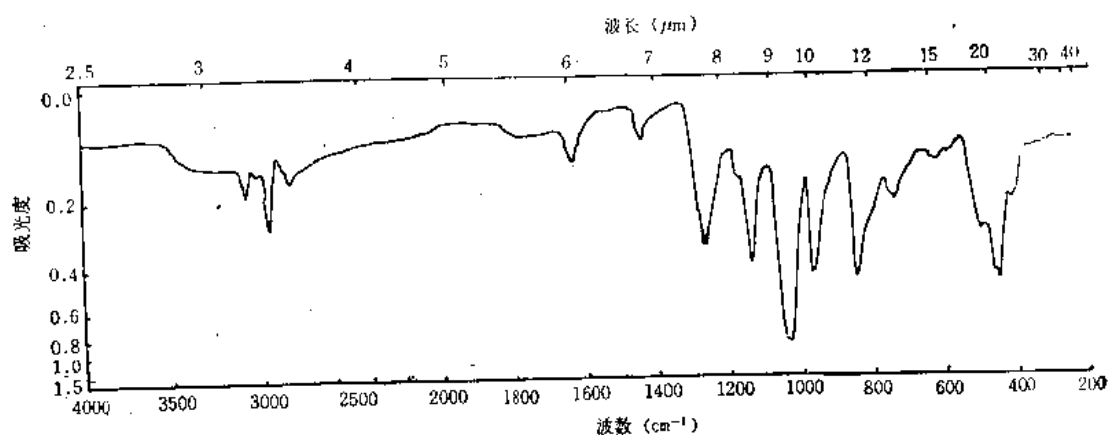


图 7-5 敌敌畏的红外光谱图

2) 二溴磷(Naled): 二溴磷乳油需用二硫化碳进行稀释, 测定 $893-952\text{ cm}^{-1}$ 的红外吸收峰。

3) 甲拌磷(Phorate): 甲拌磷颗粒剂可用乙腈萃取, 溶于环己烷, 蒸去溶剂后在 1202 cm^{-1} 处测定。

4) 速灭磷(Mevinphos)和对硫磷(Parathion): 制剂: 可分别用氯仿和5%丙酮-二硫化碳萃取后, 在 1127 和 1234 cm^{-1} 处测定。

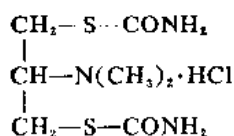
5) 谷硫磷(Azinophos-methyl): 可用溴化钾压片法进行红外光谱测定。其主要吸收峰为 896 和 540 cm^{-1} 。见图 7-6。

(3) 氨基甲酸酯类农药

1) 杀螟丹(Cartap):

化学名称: S,S'-2-二甲基氨基三亚甲基双 1-硫代氨基甲酸酯(盐酸盐)

化学结构式:



分析方法: 2g 杀螟丹工业品溶于 40 ml 甲醇, 加 1 mol/L 浓度的 NaOH 40 ml, 搅拌

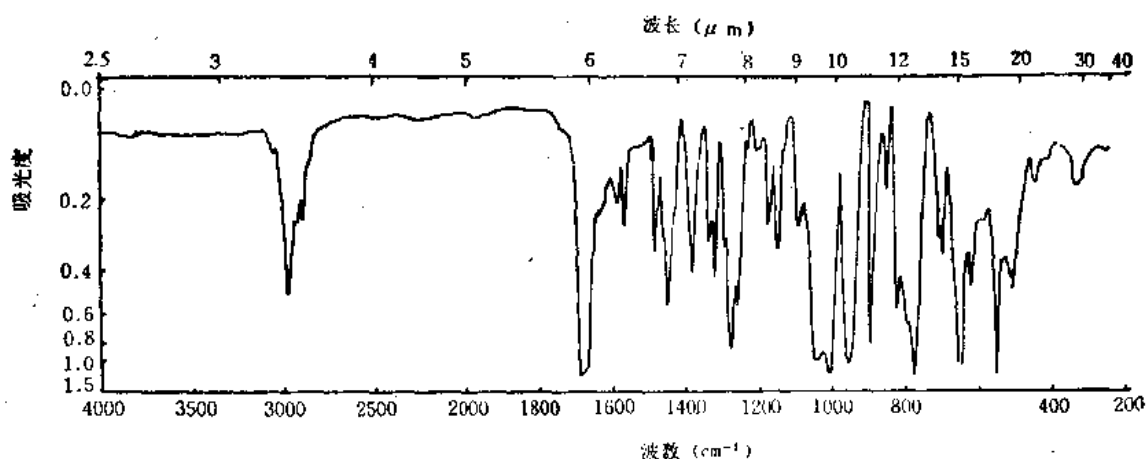


图 7-6 谷硫磷的红外光谱图

30 min。搅拌下缓慢滴加 35% H_2O_2 溶液，再搅拌 30 min。用 5 ml CHCl_3 萃取沙蚕毒，滤纸过滤。滤液加 30% w/v 草酸甲酯溶液 2 ml，过滤。真空干燥器干燥后，以 2 mg:KBr 150 mg 研磨压片，在 $4000-400\text{ cm}^{-1}$ 扫描。该样品红外光谱与标样红外光谱无显著差异时，可确认为同一化合物。见图 7-7。

其主要吸收峰为：

- 2900 cm^{-1} C—H 和 CH_3
- 2600 cm^{-1} SH
- 1400 cm^{-1} — CH_2S 和 CH_3
- 739 cm^{-1} C—S

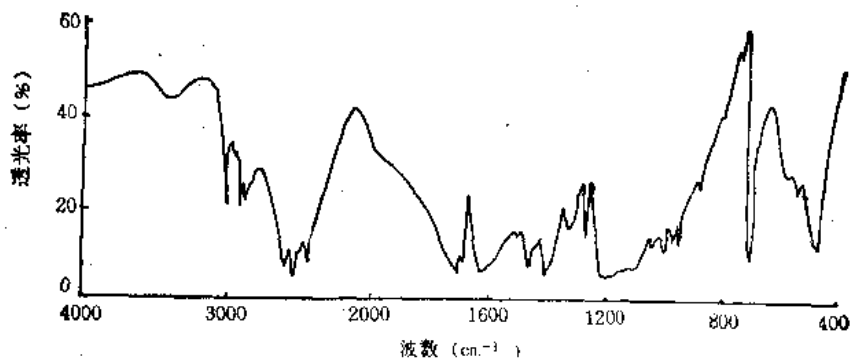
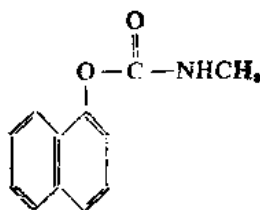


图 7-7 杀螟丹草酸盐的红外光谱图

② 甲萘威(Sevin)及其中间体

化学名称：1-萘基甲基氨基甲酸酯

化学结构式：



可用四氯化碳作溶剂,以甲苯/四氯化碳作参比,在 1811 cm^{-1} , 1275 cm^{-1} , 1210 cm^{-1} 和 1119 cm^{-1} 进行红外光谱测定。工业品中含有甲萘威、二-1-萘碳酸酯和 1-萘酚,可溶于氯仿中在 1722 , 1740 和 1725 cm^{-1} 处测定红外吸收。

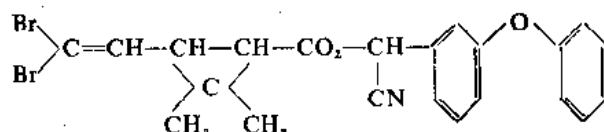
(4) 除虫菊酯类农药

1) 天然除虫菊: 可先用正己烷萃取,再用碱萃取,然后酸化,再用四氯化碳萃取,无水硫酸钠干燥后,在 $1162-1087\text{ cm}^{-1}$ 处测定,主要在 1111 cm^{-1} 测定其红外吸收峰高。

2) 溴氰菊酯(Deltamethrin);

化学名称: (σ)- α -氰基-3-苯氧苄基-(1R,3R)-3-(2,2-二溴乙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸酯

化学结构式:



分析方法: 样品加液体石蜡制备成糊剂,在 $4000-600\text{ cm}^{-1}$ 进行红外光谱测定。样品红外光谱与标样红外光谱无显著差异时,可确认为同一化合物。见图 7-8。

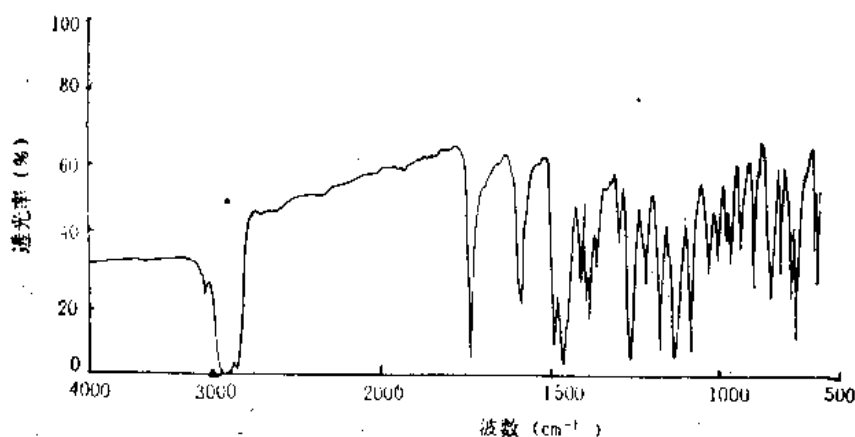


图 7-8 溴氰菊酯的红外光谱图(纯品、糊剂)

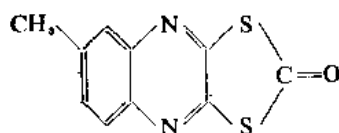
主要红外吸收峰: 1746 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ 酯键), 1590 cm^{-1} (芳醚键) 和 1490 cm^{-1} (芳烃)。

(5) 杂环类杀虫剂

灭螨猛(Chinomethionat)

化学名称: 6-甲基-1,3-二噻戊环并[4,5-b]噻嗪啉-2-酮

化学结构式:



分析方法: 将样品和标样分别配制成 $0.5-1\text{ mg}$ 的 KBr 压片,在 $4000-400\text{ cm}^{-1}$ 扫描。样品与标样的红外光谱无显著差异时,可确证为同一化合物。可湿性粉剂可采用 1 g 样品加

20 ml CHCl_3 ，超声波处理 10 min 后，过滤，蒸去溶剂，干燥后再按上法进行测定。见图 7-9。

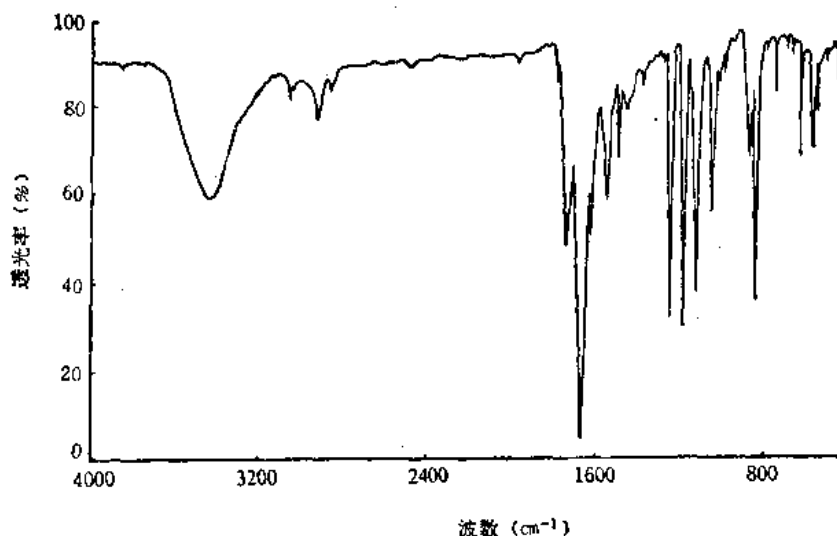


图 7-9 灭螨猛工业品的红外光谱(KBr 压片)主要红外吸收峰, $1665\text{ cm}^{-1}(\text{C}=\text{O})$

2. 杀菌剂

(1) 二噻农(Dithianon): 测定二噻农, 代森锌和硫的混合制剂中二噻农的含量, 可用氯仿萃取, 然后在 1257 cm^{-1} 处测量其峰高。

(2) 福美双(Thiuram disulfide)和二硫代氨基甲酸酯(Dithiocarbamates)的混合制剂, 可用丙酮萃取, 蒸去溶剂, 然后用 KBr 压片, 在 $850, 975\text{ cm}^{-1}$ 处测定。单独测定福美双可在 $1500, 975, 850\text{ cm}^{-1}$ 处测定。

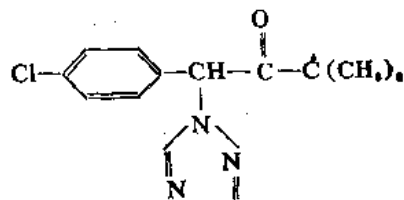
(3) 氯硝胺(Dicloran): 可将样品溶于氯仿, 以四氯苯醌和2-氯-4-硝基苯胺标准溶液作对照在 1145 cm^{-1} 处测定, 测知上述两个主要杂质的存在与否。欲测定粉剂中的活性成分含量, 可用乙醚萃取, 蒸去溶剂, 残留物溶于氯仿进行测定。

(4) 联苯(Diphenyl): 一般制剂可采用芳烃吸收峰范围 1486 cm^{-1} 处测定。柑桔等水果中联苯的残留量可采用水蒸气蒸馏提取。溶于四氯化碳后, 在 705 cm^{-1} 处测定, 测定浓度限 $0.08\% - 0.8\%$ 范围。

(5) 粉锈宁(Triadimefon)

化学名称: 1-(4-氯代苯氧基)-3, 3-二甲基-1-(1, 2, 4-三唑-1-基)-2-丁酮。

化学结构式:



分析方法: 粉锈宁工业品与标样分别研磨、压片(样品: KBr = 1 mg: 200 mg), 在 $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ 扫描。两者的红外光谱无显著差异时, 可确认为同一化合物。见图 7-10。

(6) 抑菌灵(Dichlofluamid)

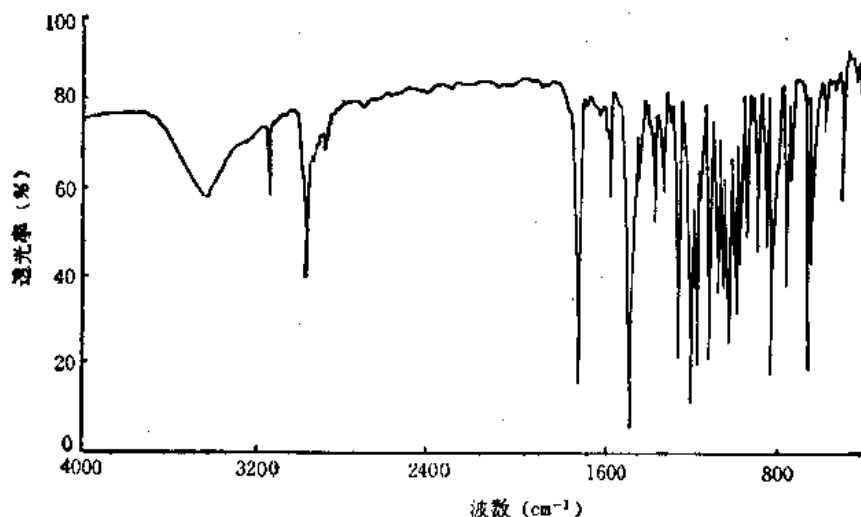
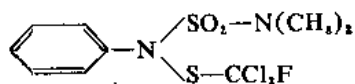


图 7-10 粉锈宁的红外光谱(KBr 压片)

化学名称: N-[(二氯氟代甲基)硫代]-N', N'-二甲基-N-苯磺酰胺

化学结构式:

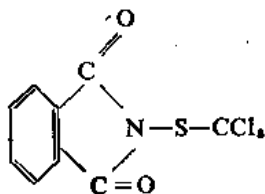


分析方法: 1 mg 样品与 200 mg KBr 研磨压片, 以标准样品作对照, 在 4 000—400 cm^{-1} 扫描。两者红外光谱无显著差异时, 可确证为同一化合物。

(7) 灭菌丹(Folpet)

化学名称: N-(三氯甲基硫代)邻苯二甲酰亚胺

化学结构式:



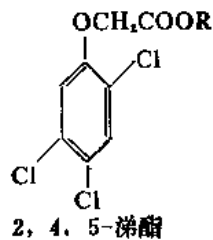
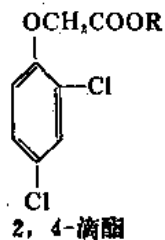
分析方法: 样品和标准样品分别压制成 0.5% KBr 片, 在 4 000—250 cm^{-1} 扫描。两者红外光谱无显著差异时, 可确证为同一化合物。

3. 除草剂

(1) 2, 4-滴(2, 4-D)和 2, 4, 5-涕(2, 4, 5-T)的酯类:

化学名称: (2, 4-二氯苯氧基)乙酸酯和(2, 4, 5-三氯苯氧基)乙酸酯。

化学结构式:

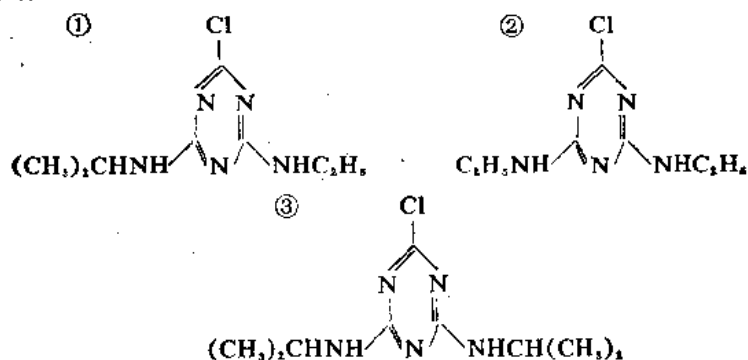


可用硅胶分离，氯仿淋洗，分别在 648 cm^{-1} 和 680 cm^{-1} 处测定。

(2) 三氮苯类除草剂：例如：① 莠去津(Atrazine)；② 西玛津(Simazine)；③ 扑灭津(Propazine)的混剂。

化学名称：① 6-氯-N-乙基-N'-(1-甲基乙基)-1, 3, 5-三氮苯-2, 4-二胺；② 6-氯-N, N'-二乙基-1, 3, 5-三氮苯-2, 4-二胺；③ 6-氯-N, N-双(1-甲基乙基)-1, 3, 5-三氮苯-2, 4-二胺。

化学结构式：

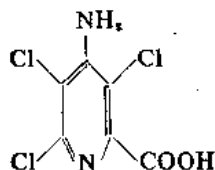


这类混剂可分别在 $1\ 059\text{ cm}^{-1}$, $1\ 112\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 020\text{ cm}^{-1}$ 处测定。

(3) 毒草定(Picloran, Tordon)制剂

化学名称：4-氨基-3, 5, 6-三氯-2-吡啶甲酸

化学结构式：

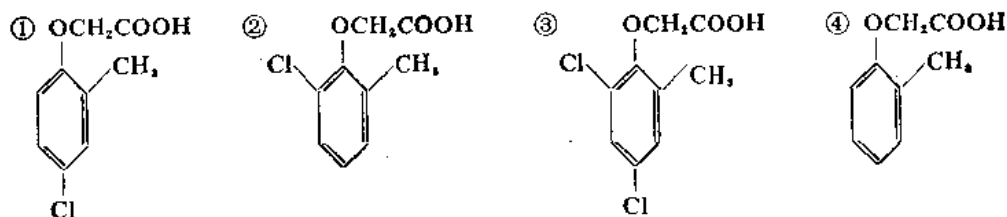


样品经酸化后，将溶剂蒸去，溶于 DMF(N, N-二甲基甲酰胺)中在 897 cm^{-1} 处测定；或用苯萃取，蒸去苯，然后溶于二硫化碳中在 964 cm^{-1} 处测定。

(4) 2甲4氯(MCPA)混剂：常含有① 2甲4氯；② 6-氯-2-甲基苯氧乙酸；③ 4, 6-二氯-2-甲基苯氧乙酸；④ 2-甲基苯氧乙酸。

化学名称：① 4-氯-2-甲基苯氧基乙酸

化学结构式：

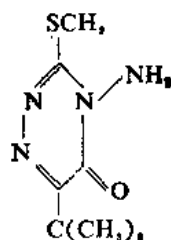


此混剂先用酸使之游离，再用氯仿萃取，然后转入碳酸氢钠溶液以除去氯代甲苯，进行酸化，用氯仿萃取，蒸去溶剂，溶于丙酮，分别在 808 cm^{-1} , 778 cm^{-1} , 755 cm^{-1} 进行测定。

(5) 噻草酮(Metribuzin)

化学名称：4-氨基-6-(1, 1-二甲基乙基)-3-(甲硫基)-1, 2, 4-三氮苯-5-(4H)-酮

化学结构式：

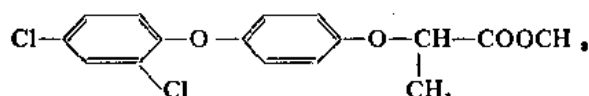


可将噻草酮溶于二氯甲烷，在 970 cm^{-1} 测定。

(6) 禾草灵(Diclofop-methyl)

化学名称：2-[4-(2, 4-二氯苯氧基)苯氧基]丙酸甲酯

化学结构式，



分析方法：工业品 $0.5-1\text{ mg}$ 与 $\text{KBr } 1.50\text{ mg}$ 研磨压片，在 $4000-800\text{ cm}^{-1}$ 扫描。样品红外光谱与标样谱图无显著差异，可确认为同一化合物。见图7-11。

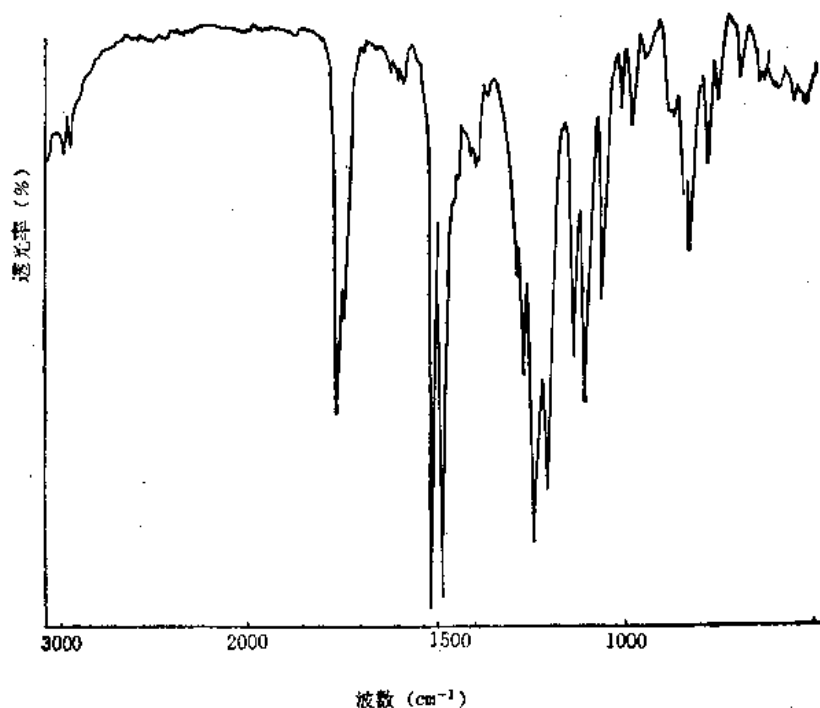


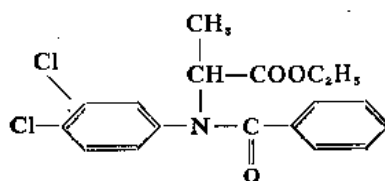
图 7-11 禾草灵的红外光谱(KBr 压片)

主要红外吸收峰： -1745 cm^{-1} (C=O)； -1500 cm^{-1} (芳烃)； -1240 cm^{-1} (醚键)

(7) 新燕灵(Benzoylprop-ethyl)

化学名称：N-苯甲酰-N-3, 4-二氯苯基)-DL-丙氨酸乙酯。

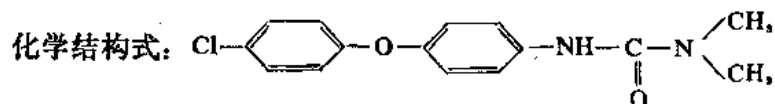
化学结构式：



分析方法：样品与 KBr 按 1:200 研磨压片、在 $4\,000-250\text{ cm}^{-1}$ 测定，以标准样品作对照。两者的吸收峰完全一致时，方可确证为同一化合物。

(8) 枯草隆(Chloroxuron)

化学名称：3-[4-(4-氯代苯氧基)苯基]-1, 1-二甲基脲

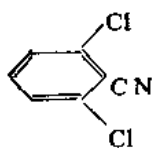


分析方法：样品溶于 CH_2Cl_2 ，配制成浓度 1% 的溶液，在 $3000-650\text{ cm}^{-1}$ 扫描，以溶剂作参比。1% 标准品作对照进行测定。

(9) 敌草腈(Dichlobenil)

化学名称：2, 6-二氯苯基腈

化学结构式：

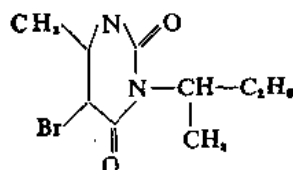


分析方法：样品 700 μg 与 KBr 150 mg 共同研磨压片，在 $4000-250\text{ cm}^{-1}$ 扫描。其红外光谱与标准样品的光谱无太大差异，可予以确证。

(10) 丁溴啉(Bromacil)

化学名称：3-(1-甲基丙基)-5-溴-6-甲基-2, 4-(1 H, 3 H)嘧啶二酮

化学结构式：

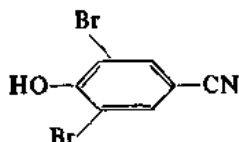


分析方法：1 mg 样品与 300 mg 干 KBr 研磨压片，在 $4\,000-600\text{ cm}^{-1}$ 扫描，与标准样品红外光谱无显著差异，可确证为同一化合物。

(11) 溴草腈(Bromoxynil)

化学名称：3, 5-二溴-4-羟基苯腈

化学结构式：

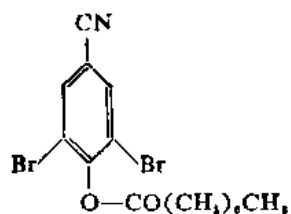


分析方法：样品和标样分别用液体石蜡和六氯丁二烯研制成糊剂，依次在 $2\,000-1\,480\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,340-200\text{ cm}^{-1}$ 测定石蜡油糊剂以及在 $4\,000-2\,000\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,480-1\,340\text{ cm}^{-1}$ 测定六氯丁二烯糊剂。两组样品和标样的糊剂的红外光谱一致时，方可确证为同一化合物。也可采用 0.5% 浓度的 KBr 压片法进行测定。

(12) 辛酰溴草腈(Bromoxynil octanoate)

化学名称：2, 6-二溴-4-氰基苯基辛酸酯

化学结构式：

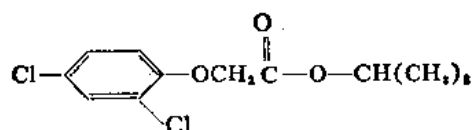


分析方法：分别将样品和标样用 CCl_4 和/或 CS_2 配制成 0.1 g/ml , CCl_4 溶液在 $4000-850 \text{ cm}^{-1}$ 和 $680-220 \text{ cm}^{-1}$ 扫描。 CS_2 溶液在 $850-680 \text{ cm}^{-1}$ 扫描。样品和标样的红外光谱完全一致时，方可确证为同一化合物。

(13) 2, 4-滴异丙酯(Chlorthal dimethyl)

化学名称：2, 4-二氯苯氧乙酸异丙酯

化学结构式：



分析方法，2, 4-滴异丙酯可湿性粉剂和颗粒剂，可用苯萃取样品，在 $1100-900 \text{ cm}^{-1}$ 扫描。亦可以此法测定其含量。

第八章 核 磁 共 振

核磁共振(Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy)是化学领域中广泛应用的分析技术和研究工具。但由于其灵敏度在某种程度上不如气相色谱和质谱。因此,过去在农药分析上未被普遍采用。近十余年来,由于核磁共振仪器从各方面进行了改进,灵敏度有很大的提高,才逐渐推广应用。

一、基 本 原 理

核磁共振谱是由具有磁矩的原子核受射频场的照射而发生跃迁所形成的吸收光谱。

众所周知,原子核由质子和中子组成。其质子数与核外电子数相等,亦与原子序数相等。原子质量数为质子数和中子数之和。原子的质量数和原子序数都是偶数时,自旋量子数为零($I=0$)。原子的质量数和原子序数至少有一个为奇数时,其自旋量子数才不为零($I \neq 0$)。

$I \neq 0$ 的原子核本身的自旋运动,将产生自旋角动量($\vec{P}$),并使核有一个磁矩($\vec{\mu}$)。具有磁矩的核在静磁场 H_0 中,就会有一定的运动和取向。除其原有的自旋运动外还会产生围绕 H_0 的陀螺式运动即进动(见图8-1),且有自己特定的自旋量子数。

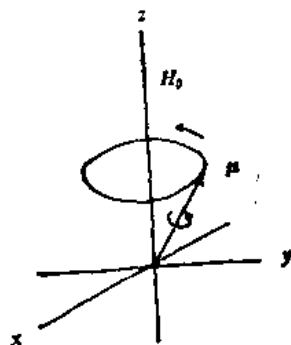


图 8-1 核的进动

$^{12}_6\text{C}$ 、 $^{16}_8\text{O}$ 、 $^{28}_{14}\text{Si}$ 、 $^{30}_{14}\text{Si}$ 、 $^{32}_{16}\text{S}$ 等原子核,它们的质量数和原子序数均为偶数,自旋量子数 $I=0$ 。它们没有磁矩,不产生核磁共振,因此,不能用于核磁共振研究。

^1_1H 、 $^{13}_6\text{C}$ 、 $^{15}_7\text{N}$ 、 $^{19}_9\text{F}$ 、 $^{31}_{15}\text{P}$ 等原子核,它们的质量数为奇数,原子序数为奇数或偶数,自旋量子数 $I = \frac{1}{2}$,原子核可看作电荷均匀分布的球体,能像陀螺一样自旋,自旋的核具有循环的电荷,因而可产生磁场,形成磁矩,即 $\mu \neq 0$ 。这类核适用于核磁共振研究。

自旋量子数 $I > 1$ 的原子核,例如 $^{11}_5\text{B}$ ($I=3/2$)、 $^{17}_8\text{O}$ ($I=5/2$),它们的质量数为奇数,原子序数为奇数或偶数;又如 ^2_1H ($I=1$)、 $^{10}_5\text{B}$ 、 $^{14}_7\text{N}$ ($I=1$),它们的质量数为偶数,原子序数为奇数,由于自旋核具有循环的电荷,能产生磁场,形成磁矩,即 $\mu \neq 0$,由此都可适用于核磁共振研究。(见表8-1)。

以上所列原子核,多可供核磁共振研究,其中以 ^1H 最容易测出,因此,目前农药分析中最常用的是 ^1H -NMR的测定也是本章的重点。其次,用的较多的是 ^{13}C 、 ^{31}P 和 ^{19}F 。虽然 ^{13}C 的天然丰度很小,只有1.069% (^1H 为99.9844%, ^{19}F 为100%, ^{31}P 为100%)。且其信号灵敏度只有质子的1/63,较难测定。但近年来,由于仪器和操作技术的改进,测定 ^{13}C NMR 谱在结构测定中已占十分重要的地位。

表 8-1 原子的自旋量子数

原子质量数	原子序数	自旋量子数(I)	实 例
偶	偶	$I=0$	^{12}C , ^{16}O , ^{28}Si , ^{32}Si , ^{32}S .
奇	奇或偶	$I=\frac{1}{2}, \frac{3}{2}, \frac{5}{2}$	^1H , ^{13}C , ^{14}N , ^{19}F , ^{31}P ($I=\frac{1}{2}$).
偶	奇	$I=1$	^{10}B ($I=\frac{3}{2}$), ^{17}O ($I=\frac{5}{2}$), ^1H ($I=1$).
			^{14}N ($I=1$), ^{51}V ($I=6$).

在磁场中, 各种核所产生的磁矩有一定的取向, 其可能的取向, 由磁量子数(m)决定, 而磁量子数 m 由核的自旋量子数决定, 即:

$m = I, (I-1), (I-2), \dots, -I$ 由此, 共有 $(2I+1)$ 个 m 值。 ^1H , ^{13}C 等核, 其 $I=1/2$, 则只可有两种取向, 即:

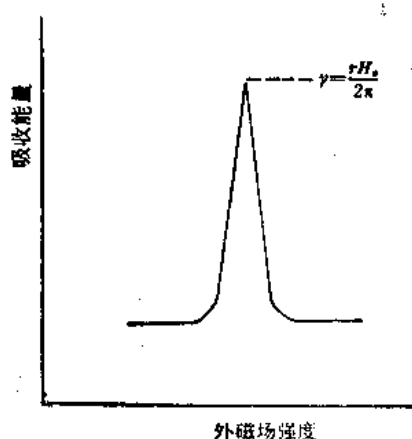


图 8-2 改变外磁场强度, 获得能量吸收曲线

$m = +\frac{1}{2}$, 表示核磁矩顺着 H_0 方向 ($\uparrow$)

$m = -\frac{1}{2}$, 表示核磁矩逆着 H_0 方向 ($\downarrow$)。

质子磁矩的两种取向相当于两个能态。磁矩方向与磁场相同(顺 H_0 方向)的, 质子能态低, 不相同(逆 H_0 方向)的, 质子能态高。

若以射频场照射磁场中的质子, 当射频场的能态与两个能态的能量差相等时, 处于低能态的质子就可吸收射频场的能量跃迁到高能态。这就是核磁共振, 上述两个能态间的能量差可以下式表示:

$$\Delta E = h\nu$$

式中: h ——普朗克(Plank)常数 $h = 6.626176 \pm 0.000036 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}$

ν ——共振频率。共振频率和外磁场强度之间又有如下的关系:

$$\nu = \frac{rH_0}{2\pi}$$

式中: r ——磁旋比, 即核的磁矩与角动量的比值, 是核固有的性质;

H_0 ——外磁场强度。

$$r = \frac{\vec{\mu}}{\vec{P}} (\vec{\mu} \text{ 与 } \vec{P} \text{ 都是矢量})$$

对于相同的原子核, r 为常数, 不同的原子核, 则 r 不同。由此, 改变外磁场强度 H_0 或改变辐射能频率 ν 都可保持上式的关系。目前, 一般核磁共振仪多采用固定辐射频率而改变磁场强度 H_0 的方法, 更便于获得能量吸收曲线, 即核磁共振谱图。见图 8-2。

二、核磁共振仪

目前各国生产的核磁共振仪器型号很多,其仪器示意图及主要组成部分简单介绍如下。见图8-3。

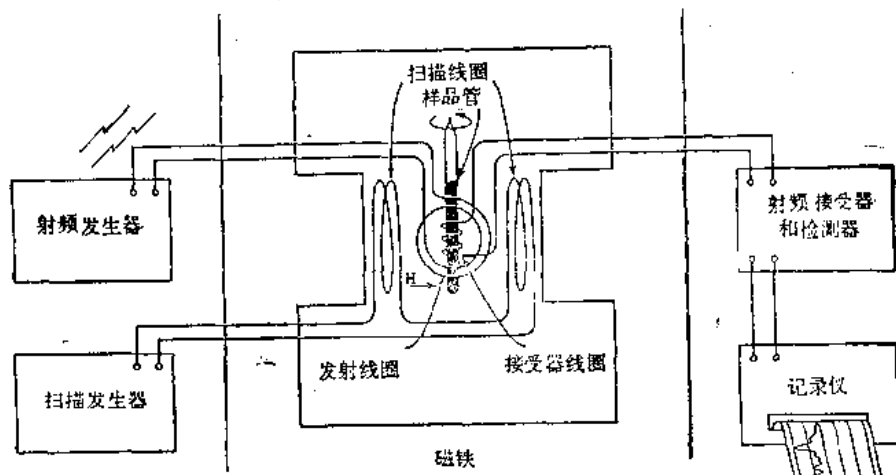


图 8-3 核磁共振仪示意图

1. 磁铁 磁铁上绕有扫描线圈(Holmholtz线圈),通以直流电,产生附加磁场,可以此调节磁铁原有的磁场。连续改变磁场强度(固定射频振荡器的频率)进行扫描,称为“扫描”。一般核磁共振谱都从低磁向高磁场递增,并折合成频率(周/s)而记录下来。

2. 射频振荡器 亦称兆赫频率器,其兆赫数一般是固定的,各射频数相应发生NMR信号的磁场强度值一定。例如,目前常用的60M周/s射频,其磁场强度为14 100Gs;100M周/s为23 500Gs。300M周以上的频率则采用液氮超导装置。

3. 射频接受器 放大器和记录仪主要用于记录核磁共振的结果与谱图。

4. 样品座架 样品玻管置于样品座架,快速旋转以达到样品受到均一磁场。

5. 积分仪 目前一般核磁共振仪都附有积分仪,可读出积分扫描所得各峰的面积比值。

此外,一些可用于测定 ^{13}C 、 ^{19}F 和 ^{14}N 等核磁共振仪,还附有双照射去偶装置、变温装置及异核射频振荡装置。有的还附有信号累计平均电子计算机(CAT)或脉冲傅里叶变换装置(PFT)以提高音噪比值(S/N值)。

三、化学位移(Chemical Shift)

(一) ^1H 的化学位移

有机化合物分子中的质子,其周围为电子所包围。在外磁场作用下,电子的运动能产生感应磁场,由此,质子所感受到的磁场强度并不完全等于外磁场强度。质子周围的电子使质子实际感受到的磁场强度往往比外加磁场强度要弱,这就是说,电子对外磁场有屏蔽作用。其屏蔽效应的大小一般决定于质子周围电子云密度的高低。电子云密度愈高,屏蔽效应愈大,该质子的信号需在更高的磁场强度下才能获得。反之,电子和外磁场平行排列,增加了外磁场强度,质子就受到去屏蔽作用。该质子的信号只需在较低的磁场强度下就能获得。上述两

种效应分别称为抗磁屏蔽效应和顺磁屏蔽效应。

在¹H NMR测定中, 化合物中的各种氢核, 处于不同的化学环境之中, 它们都受到核外电子的屏蔽, 这些核外电子的密度又受其邻近原子的电负性、原子间键的性质以及杂化等多种影响, 屏蔽程度亦各不相同, 由此, 不同的¹H, 其共振频率都各有差异。它们实受到的磁场往往小于H₀。

各种不同化学环境的¹H共振频率相差不大, 如在100MHz的仪器上¹H的共振频率的差别约为1500Hz。由于无法以裸核作标准测出其绝对值, 所以选用一种标准物质, 以标准物质的共振峰与测定化合物中的各种¹H的相对距离Hz数, 作为这些¹H的化学位移。

由此, 化学位移的定义可以下式表示:

$$\delta = \frac{\nu_{\text{样品}} - \nu_{\text{标准}}}{\nu_{\text{标准}}} \times 10^6$$

δ为化学位移, ν为频率, 单位为周/s。由于磁场强度与共振频率成正比关系, 上式亦可表示为:

$$\delta = \frac{H_0 \text{样品} - H_0 \text{标准}}{H_0 \text{标准}} \times 10^6$$

由于标准的共振频率数目较大, 且与辐射频率相差不多, 为方便起见, 即以ν辐射频率代替ν标准, 单位为周/s。因数值太小, 为便于计算, 各乘以10⁶并设单位为ppm (part per million)。

$$\delta = \frac{\nu_{\text{样品}} - \nu_{\text{标准}}}{\nu_{\text{辐射频率}}} \times 10^6$$

最常用的标准物质为四甲基硅烷(CH₃)₄Si, 简称TMS。由于Si的电负性低, 四甲基上氢的屏蔽效应大, 它的共振信号在高场位, 且为强而锐的吸收峰。以TMS的共振峰为零(δ_{TMS} = 0)。共振峰的共振频率与TMS相差60周/s时, δ为1; 相差120周/s时, δ为2; 依此类推。

$$\delta = \frac{60 - 0}{60 \times 10^6} \times 10^6 = 1 \text{ ppm}$$

$$\delta = \frac{120 - 0}{60 \times 10^6} \times 10^6 = 2 \text{ ppm}$$

表 8-2 CH₃, CH₂, CH基团的化学位移 (δ, TMS)

	X	CH ₃ X	RCH ₂ X	R ¹ R ² CHX
碳取代	烷基	0.90	1.25	1.50
	—C=C—	1.70	1.95	2.60
	—C≡C—R	1.8		
	—C≡C—Ph	2.9		
	—CO ₂ H	2.07	2.34	2.57
	—CHO	2.17	2.2	2.4
	—C ₆ H ₅	2.34	2.6	2.87
	—NH ₂	2.15	2.50	2.87
氮取代	—NO ₂	4.33	4.40	4.60
	—N≡C	2.9	3.3	4.9
卤取代	I	2.6	3.15	4.2
	Br	2.65	3.34	4.1
	Cl	3.02	3.44	4.02
	F	4.26	4.35	

核磁共振谱图中，常以化学位移 δ 为横坐标表示。化学位移也有用 τ 表示的。 τ 的定义为 $10 - \delta = \tau$ 。例如， $\delta = 2$ ，则 $\tau = 8$ 。

用 δ 表示时，0是高场；用 τ 表示时，10是高场。有些化合物的质子信号，发生在 $\delta = 0$ 以下， δ 是负数，表示屏蔽效应很强；反之， $\delta = 10$ 以上，表示去屏蔽效应很强。以 δ 表示化学位移，不因仪器不同而有所差异，使用方便，现为国际上采用。

下面列举一些基团中质子的化学位移(δ 值)。见表8-2、8-3、8-4。

表 8-3 一些芳环与杂芳环质子的化学位移 (δ , TMS)

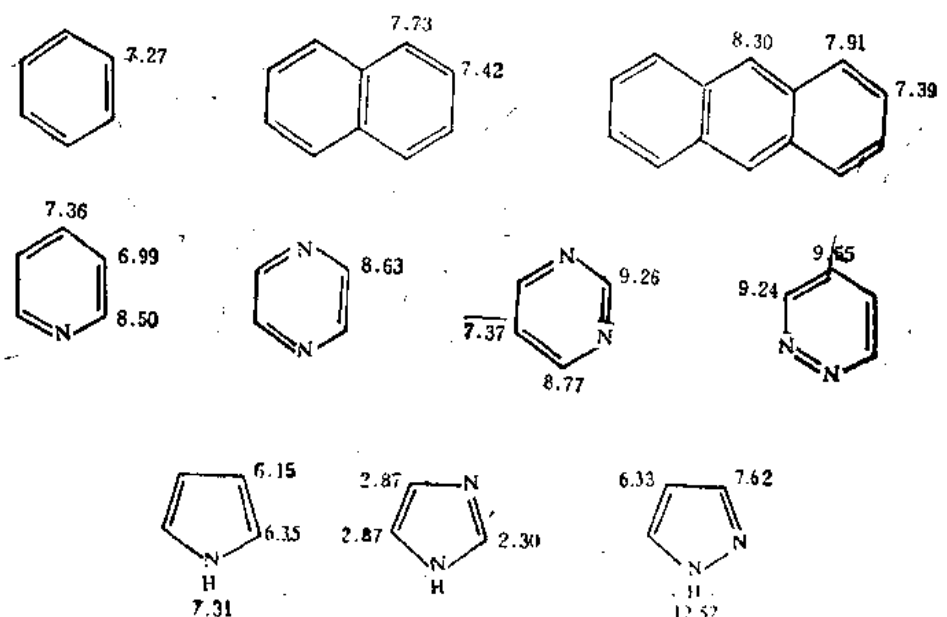


表 8-4 一些含N、O、S化合物的化学位移 (δ , TMS)

化合物类型	δ (TMS)	化合物类型	δ (TMS)
ROH	0.5—4.0	R—C=NOH	9—12
烯醇	11—16	RNH ₂ , RNHR	0.5—3
ArOH	4.5—9	ArNH ₂ , ArNHR	3.5—6
RCO ₂ H	10—13	RCONH ₂	5—8.5
RSO ₃ H	10—12	RSH	1—1.5
H ₂ O	4—5	ArSH	2.5—4

(二) ^{13}C 的化学位移

^{13}C 的化学位移范围很宽。一般有机化合物中各种碳原子的 δ 值范围在0—250ppm。一个不对称的分子，几乎每个碳原子都有各自的 δ 峰。

从下列各表中, 可以看到不同碳原子所处环境不同, 其化学位移亦各不相同。

δ_c 一般也以TMS为内标物。 $\delta_{TMS} = 0\text{ppm}$ 。下面列举一些化合物类型的 δ_c 。

(1) (取代)三元环、C—Si、长链-烷烃: 0—10ppm或15ppm;

(2) 烷烃、 CH_2 或 CH_3 上连有O、N、S、Br、Cl: 30—50ppm;

(3) 环氧化合物、—C—或CH—连有Br、Cl: 50—70ppm;

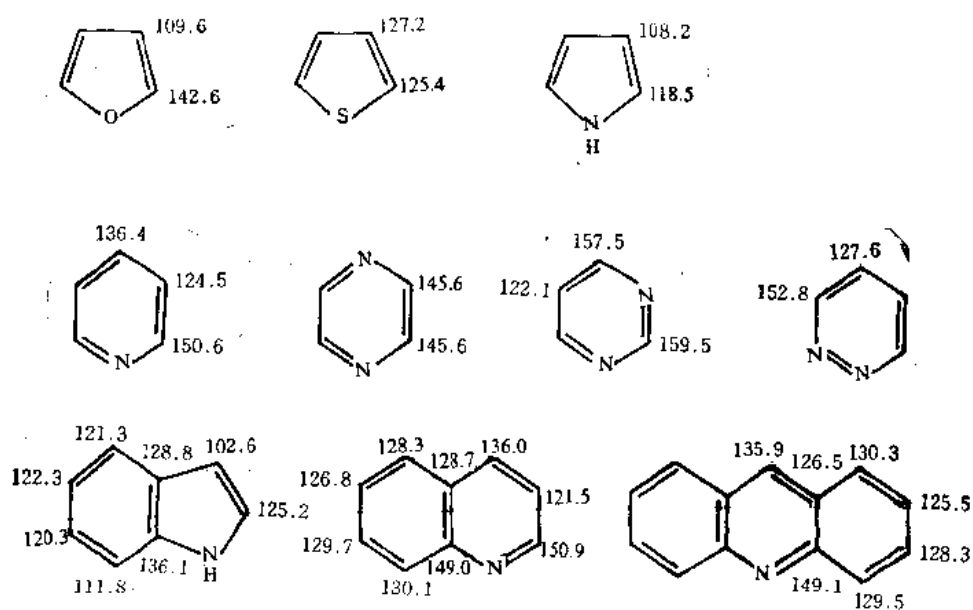
(4) 炔烃、 CH_2 上连有F: 70—90ppm;

(5) $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CHF}$ 、 $\text{O}-\text{C}-\text{O}$: 90—105ppm;

表 8-5 一些单取代烯烃($\text{CH}=\text{CH}-\text{X}$)的 ^{13}C 化学位移 (δ_c , TMS)

X	C-1	C-2	X	C-1	C-2
H	122.8	122.8	COCH_3	137.5	128.6
CH_3	133.1	115.0	I	85.3	130.4
CH_2Br	133.2	117.7	Br	115.5	122.0
C_2H_5	140.2	113.3	Cl	126.0	117.3
C_6H_5	136.7	113.2	NCOR	130.0	94.3
CO_2R	129.7	130.4	OCOCH_3	141.6	96.3
CO_2H	128.0	131.9	OCH_3	153.2	84.1
CHO	136.4	136.1			

表 8-6 一些杂芳环化合物的 ^{13}C 化学位移 (δ_c , TMS)



- (6) (取代)芳烃、杂芳烃、烯烃、 $\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{O}$; 105—150ppm;
 (7) 羧基化合物(羧酸、盐、酯、酰胺等), 羰: 150—180ppm;
 (8) 不饱和醛或酮、不饱和 $-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-$; 180—200ppm;
 (9) 饱和酮、饱和 $-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-$ 、正碳离子: >200ppm.

此外, 表8-5和表8-6还分别列出一些烯烃和杂芳环化合物的 ^{13}C 化学位移。

(三) ^{31}P 的化学位移

^{31}P -NMR具有较强的信号, 因为 ^{31}P 的丰度较大。 ^{31}P -NMR一般以85% H_3PO_4 为内标物。 $\delta_p = 0$, 由于 ^{31}P 谱线较宽, 且 δ_p 随温度而变化, 因此, 一般报道的数据有5ppm的出入。下面列举一些 ^{31}P NMR的数据。见表8-7。

表 8-7 一些磷化合物的化学位移 (δ_p , 85% H_3PO_4)

化合物	δ_p	化合物	δ_p
PO_4^{3-}	6.0	$(\text{C}_6\text{H}_5\text{O})_3\text{P}=\text{O}$	-18
PCl_5	-80	$(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2-\text{PH}=\text{O}$	12
$(\text{CH}_3)_3\text{P}=\text{O}$	36.2	$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{P}=\text{O}$	48.3
$(\text{CH}_3)_3\text{P}=\text{S}$	59.1	$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{P}=\text{S}$	54.5
$(\text{CH}_3)_3\text{P}$	-62	PF_5	97
$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{P}$	-20	PCl_3	220
$[(\text{CH}_3)_2\text{CH}]_3\text{P}$	19.4	PBr_3	227
$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}$	-6	$(\text{CH}_3)_2\text{PF}$	186
$(\text{CH}_3\text{O})_3\text{P}$	140	$(\text{CH}_3)_2\text{PCl}$	96.5
$(\text{C}_6\text{H}_5\text{O})_3\text{P}$	128	$(\text{CH}_3)_2\text{PBr}$	90.5

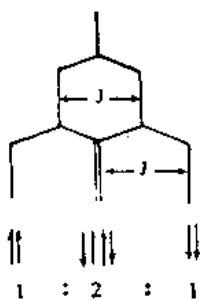
四、自旋-自旋偶合和自旋-自旋裂分

有机化合物的核磁共振谱图中, 有些质子的吸收峰不是单峰, 而是一组双峰、三峰或多重峰。这是由于磁核之间的相互作用所引起的能态裂分, 即一个质子受到邻近质子的自旋状态以及所产生的感应磁场的影响导致的裂分现象。这种相互作用称自旋-自旋偶合 (Spin-spin coupling)。其作用的大小可用 J 来表示。 J 为自旋-自旋偶合常数, 简称自旋偶合常数 (Coupling constant), 单位为 Hz。

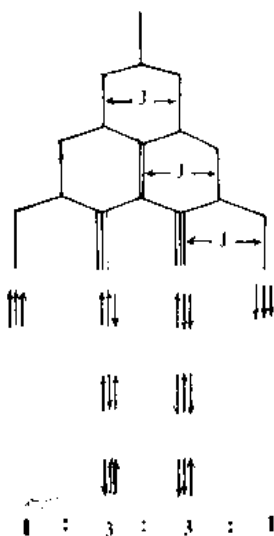


自旋-自旋偶合所产生的裂分现象称为自旋-自旋裂分(Spin-spin splitting), 简称自旋裂分。如果外磁场为 H_0 , 相邻的一个质子可增强外界的场力使总磁场强度为 $H_0 + H' = H_1$; 如相邻的一个质子减弱外界的场力, 则总磁场为 $H_0 - H' = H_2$ 。由此, 一个质子发出的信号就裂分为两个。这种自旋-自旋裂分系由于该质子和邻近质子自旋-自旋偶合而产生的。若一个质子受邻近一个质子的影响, 则裂分为两个信号, 即产生二重峰, 其信号强度为 1:1。

若一个质子受邻近两个质子的影响, 则裂分为三个信号, 即产生三重峰, 其信号强度为 1:2:1。



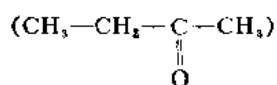
若一个质子受邻近三个质子的影响, 则裂分为四个信号, 即产生四重峰, 其信号强度为 1:3:3:1。



由此, 可见偶合裂分的峰数, 有一定的规律, 一组等同的质子, 可使一个邻近的质子发出的信号裂分为 $n + 1$ 个峰。

下面举两个例子说明自旋-自旋偶合和自旋-自旋裂分现象。

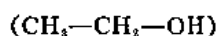
【例 1】3-戊酮



从图 8-4 可以看出, A 为三重峰, 系 $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ 分子中 CH_3 质子受相邻 CH_2

的影响而裂分为三重峰，而B为四重峰，系分子中CH₂质子受相邻CH₃的影响而裂分为四重峰的。

[例 2] 乙醇



乙醇分子中有三类不同的质子，因此，其核磁共振谱图（图 8-5）中出现三组峰。A组峰系乙醇分子中CH₃上的质子与相邻CH₂质子偶合裂分形成的三重峰；C组峰系OH上的质子与相邻CH₂上的质子偶合裂分为三重峰；而乙醇分子中CH₂上的质子，由于和相邻CH₃上的质子偶合，又与相邻OH上的质子偶合，因此，第一次偶合形成的四重峰，再进行一次偶合，裂分为双四重峰，从而形成一个分辨得不甚清楚的八重峰（B组峰）。

必须注意的是一个质子只能和化学位移不同的相邻质子发生偶合和裂分。凡两个质子被三个键分隔的，例如， $\begin{array}{c} \text{—C—C—} \\ | \quad | \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$ ，都可发生偶合裂分，但相隔三个键以上的质子，一般都



观测不到偶合和裂分。同一个碳上的质子，除非环境不同，两个质子不等同，一般不发生偶合裂分。

此外，还必须注意偶合裂分后峰与峰之间的距离。这种裂分距离即偶合常数，是测定两个质子偶合效力的标准。偶合常数与外磁场强度无关，仅取决于分子的结构和几何形象，且与核上电荷密度及两个相偶合的核所处的相对位置有关。偶合常数大，表示偶合效果好。因此，偶合常数也是物质结构、构型、构象的重要信息之一。

尤其在较复杂的分子中，偶合常数的测定显得更为重要。

下面列举一些质子-质子的偶合常数。见表 8-8 和表 8-9。

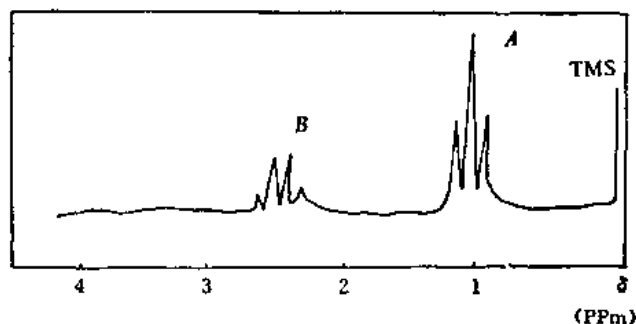


图 8-4 3-戊酮的核磁共振谱

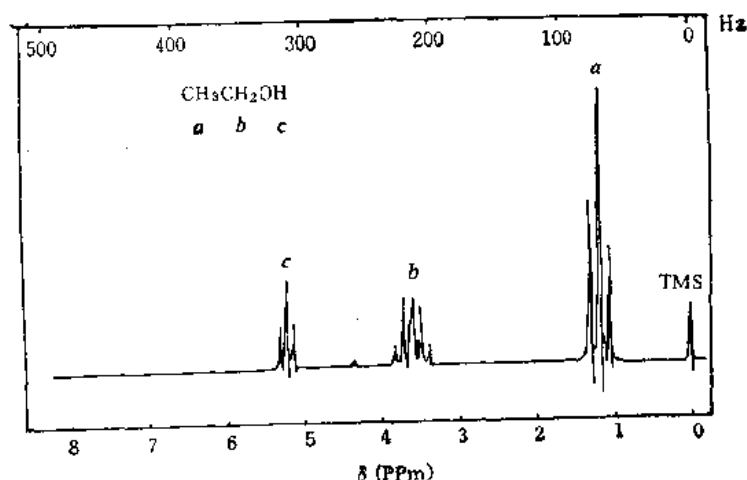


图 8-5 乙醇的核磁共振谱

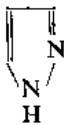
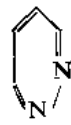
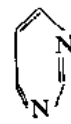
五、决定质子数目的方法

在核磁共振谱图上信号的面积与各质子的数目成正比例关系，由此，将各信号的面积进行比较，即可决定各质子的相对数目。信号面积一般用阶梯式积分曲线表示，积分线由低磁场画向高磁场。自积分线的出发点至终点的全高度与所有质子的数目成正比，每一阶梯的高度与相应的质子成正比。其高度可按记录纸上的小方格为单位表示。例如，某分子有7个质子，其核磁共振谱图（图8-6）上积分线总高度为14小格，则每一格相当于0.5个质子（即7个H/14格=0.5个H/格）。A处含4格，相当于2个质子；B处含8格，相当于4个质子；C处含2个质子，相当于1个质子。由此，质子数分别为2:4:1。

表 8-8 脂肪烃类质子-质子偶合常数(Hz)

化 合 物 类 型		J	
无环化合物			
$\begin{array}{c} \diagup \text{C} \diagdown \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$		10—18	
$\begin{array}{c} \diagup \text{CH} \diagdown \\ \diagup \text{CH} \diagdown \end{array}$		6—8	
$\begin{array}{c} \diagup \text{CH} \diagdown \\ \text{CHO} \end{array}$		1—3	
$\begin{array}{c} \diagup \text{CH} \diagdown \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \diagup \text{CH} \diagdown \\ \text{NH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \diagup \text{CH} \diagdown \\ \text{SH} \end{array}$	4—8
脂肪化合物			
环丙烷, 环氧乙烷	同碳	顺式	反式
环丁烷	4-6	4-9	3-6
环戊烷	10-17	6-11	5-9
环己烷	10-17	7-11	2-8
环己烷	10-17		
不饱和化合物			
$\begin{array}{c} \text{H}_a \diagup \text{C} = \text{C} \diagdown \text{CH}_d \\ \text{H}_b \quad \quad \quad \text{H}_c \end{array}$	$J_{a,b}$ 0-3, $J_{a,c}$ 12-18, $J_{b,c}$ 6-12 $J_{c,d}$ 5-10, $J_{a,d}$, $J_{b,d}$ 0-2		
$\begin{array}{c} \diagup \text{C} = \text{CH} \diagdown \\ \text{CHO} \end{array}$		5—8	
$-\text{HC}=\text{C}=\text{CH}-$		6—7	
$\begin{array}{c} \diagup \text{CH} \diagdown \\ \text{C} \equiv \text{CH} \end{array}$		2—3	
$\begin{array}{c} \diagup \text{CH} \diagdown \\ \text{C} \equiv \text{C} \diagdown \end{array}$		2—3	

表 8-9 芳环与杂芳环质子-质子偶合常数(Hz)

化合物类型		<i>J</i>			
		环的大小			
		3	0.5—2		
		4	2.5—4		
		5	5—7		
		6	9—11		
		7	9—13		
		8	10—13		
苯衍生物		邻位5-9		间位2-3	对位0-1
	X=O	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{2,4}$	$J_{1,4}$
	X—S	1.8	3.5	0.8	1.6
	X=NH	5.2	3.6	1.3	2.7
		2.7	3.3	1.4	1.9
		$J_{3,4}$ 1.9			
		$J_{2,3}$ 1-2; $J_{2,4}$ 2; $J_{4,5}$ 3-4			
		$J_{2,3}$ 5.5; $J_{3,4}$ 7.5; $J_{2,4}$ 1.9; $J_{2,5}$ 0.9; $J_{3,5}$ 0.9; $J_{2,6}$ 0.4			
		$J_{2,4}$ 4.9; $J_{3,5}$ 2.0; $J_{3,6}$ 3.0; $J_{4,5}$ 8.4			
		$J_{3,5}$ 1.5; $J_{4,5}$ 5.0; $J_{4,6}$ 2.5			
		$J_{2,4}$ 1.8; $J_{2,6}$ 0.5; $J_{2,5}$ 1.8			

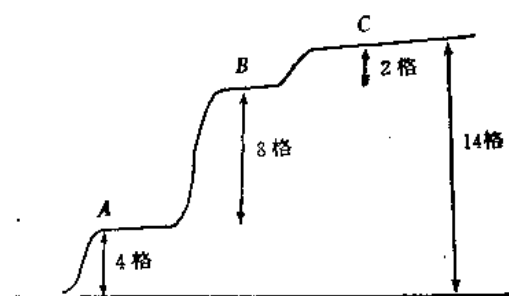


图 8-6 核磁共振谱积分线

六、在农药分析中的应用

(一) 在农药分析中的应用范围

在农药分析研究中，核磁共振可以从以下多个方面提供特殊的信息；

- (1) 农药分子结构的鉴定和确定；
- (2) 农药纯度的分析和控制；
- (3) 农药化合物分子的几何异构体、构象和立体化学的检测；
- (4) 农药分子内电荷的分布；
- (5) 农药分子间的相互作用，络合物的形成以及键合的倾向；
- (6) 农药分子间的运动、交换和化学平衡；
- (7) 农药分子的降解和生物代谢。

(二) 农药样品的准备

农药样品的核磁共振测定，必须在具盖的核磁共振样品玻管中进行。核磁共振样品管要求玻璃透明度好，且同心度和正直度高，有利于在磁场中均匀旋转。样品管具有一定规格和直径，一般可分为 1.7, 2.5, 5, 10, 15 mm 等多种规格，其中最常用的为 5 mm 和 10 mm 的样品管。样品管必须事先洗净、干燥、备用。

液体样品可直接装入核磁样品管，加入内标物进行测定。一般样品用量为 0.4 ml 或含样品 5—20 mg 即可。固体或粘稠液体样品必须加溶剂溶解后方可进行测定。所需溶剂要求对样品的溶解度好，最好本身不含氢，以避免峰的干扰。常用的溶剂为四氯化碳、二硫化碳、三氯一氟甲烷 (CCl_3F) 和三氟乙酸 (CF_3COOH) 等。必要时需用重水 (D_2O) 或氘代有机溶剂，例如，氘代氯仿 (CDCl_3)，氘代甲醇 (CD_3OD)，氘代丙酮 ($\text{CD}_3\text{COCOD}_3$)，氘代二甲亚砜 ($\text{CD}_3\text{S CD}_3$)，氘代三氟乙酸 (CF_3COOD)，氘代吡啶、氘代苯、氘代二甲



基甲酰胺、氘代乙腈 (CD_3CN) 等。由于氘代有机溶剂价值昂贵，需节约使用。

(三) 内 标 物

^1H 和 ^{13}C -NMR，一般采用四甲基硅烷 ($(\text{CH}_3)_4\text{Si}$) (简称 TMS)，为内标物。它是沸点

27°C的化学上很惰性的无色液体，易于挥发，可配制成10%—20%的CCl₄溶液，贮于磨口瓶中备用。

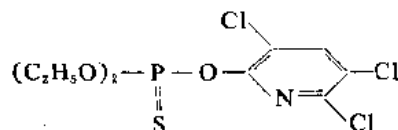
高温时，采用六甲基二硅烷（HMDS）或六甲基二硅醚（HMDSO）为内标物。它们是沸点高于100°C的无色液体。

有时也采用DSS[(CH₃)₃SiCH₂CH₂CH₂SO₃Na]作为内标物，由于它是水溶性的，以D₂O作溶剂时，用DSS十分适宜。但必须注意，它本身有许多谱线，用量切勿过多，以免在0.5—3.0 ppm范围内出现干扰峰，有人建议用(CH₃)₃SiCD₂CD₂CD₂Na代替DSS，可避免上述范围内三个亚甲基峰的干扰。

(四) 农药样品的核磁共振测定

下面列举一些农药样品的核磁共振测定。

1. 毒死蜱的结构测定 毒死蜱（Chlorpyrifos）是一种广谱杀虫剂，可用于防治蚊、蝇等卫生害虫、各种土壤害虫和许多叶类作物害虫。纯品为熔点42.5—43°C的白色结晶，化学名称为O,O-二乙基-O-3,5,6-三氯-2-吡啶基硫逐磷酸酯。化学结构式为：



毒死蜱溶于氘代丙酮，以TMS为内标物进行¹H-NMR测定。其核磁共振谱见图8-7。

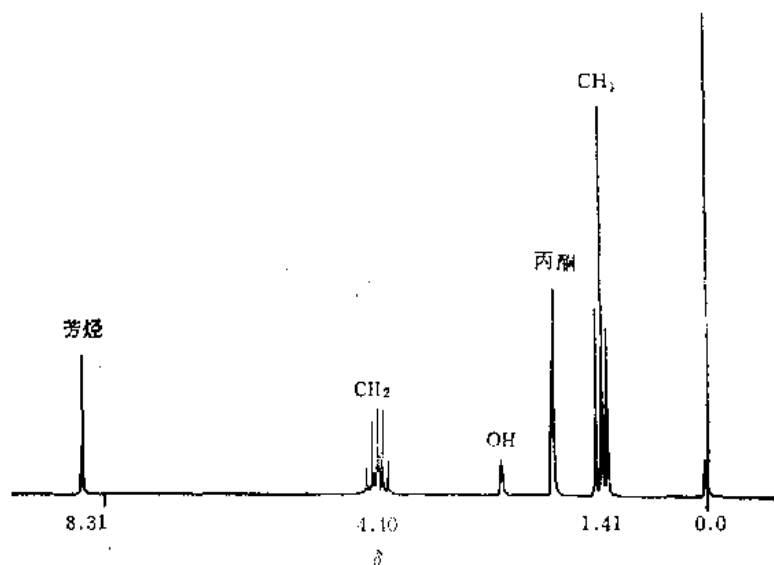


图 8-7 毒死蜱在氘代丙酮 d₆ 中的¹H-NMR

由上谱可见 δ_H 1.41 是 CH₃ 基的核磁共振峰，它与 CH₂ 基偶合而裂分为三重峰。三重峰中每一个峰又受 ³¹P 核的远程偶合的影响而进一步裂分。δ_H 4.40 是 CH₂ 基的核磁共振峰，它与 CH₃ 基偶合而裂分为四重峰，并受 ³¹P 的影响而进一步裂分。³¹P (I = 1/2) 与乙基质子通过氧原子连接，其偶合常数比 ³¹P 与乙基质子直接相连的要小得多，它们分别为 J_{P-CH₃} = 0.9 Hz 和 J_{P-CH₂} = 2.0 Hz。δ_H 8.31 为芳烃质子的核磁共振峰，由于它与 ³¹P 核偶合而裂分为二重峰。0 ppm 处为 TMS 内标物的核磁共振。一个宽峰为 OH 峰，可能是样品中有残留

的水。此外，还有未完全被氘代的丙酮五重峰。

2. 鱼藤酮的鉴定和纯度测定 鱼藤酮 (Rotenone) 是由鱼藤属植物根部提取获得的一类天然杀虫剂。可用核磁共振方法对鱼藤酮进行鉴定和纯度确定。

从核磁共振谱图 (图 8-8) 中可以看出样品 A 和 B 的峰形相似，而样品 C 的谱图中 (芳烃区) 还出现额外的峰，说明这个样品含有杂质。此外，样品 C 的谱图中，一些峰的位置有所偏移。例如，样品 A 和 B 的甲氧基核磁共振峰，分别为 δ_H 3.807 和 δ_H 3.764，而 C 则为 δ_H 3.392 和 δ_H 3.255。甲基和芳烃质子峰也有偏移，它只能是 A 和 B 的异构体或分解产物。

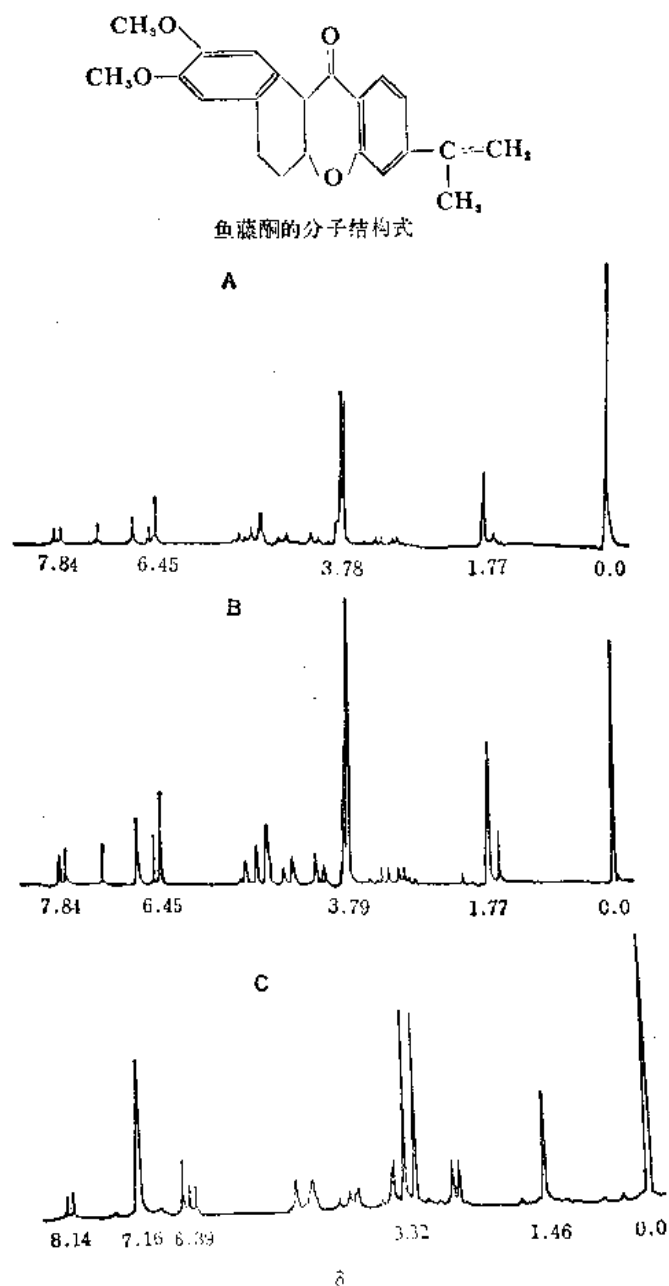
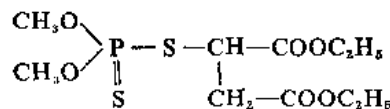


图 8-8 鱼藤酮的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图
(包括样品 A、B、C 三个样品的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图)

3. 马拉硫磷的降解和反应 马拉硫磷 (Malathion, 马拉松) 是一类非内吸广谱性杀虫剂, 有良好的触杀和一定的熏蒸作用, 适用于防治烟草、茶、桑树等的害虫及仓库害虫。



在生物体内和有水的环境中, 它被降解为马拉硫磷的单酸 (α -和 β -单酸)。在 ^{13}C NMR 谱 (图 8-9) 上, 可以见到 ^{13}C 的化学位移和 ^{13}C - ^{31}P 的偶合常数。

此外, ^1H -NMR 可用来测定马拉硫磷在 33% 甲醇水溶液和羟胺水溶液中的消除、羟胺化和乙酯化反应的相对速度。

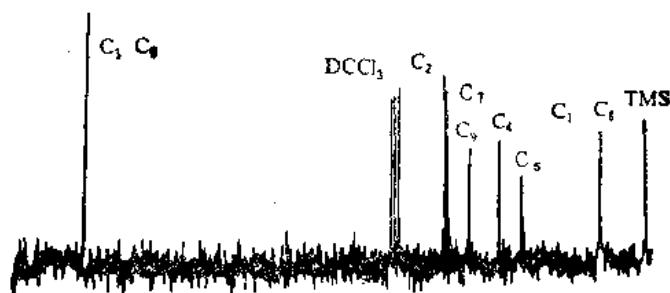


图 8-9 马拉硫磷的核磁共振谱 (δ_c , TMS)

4. 二氯代萘代谢产物的确定 根据 ^1H -NMR 测得二氯代萘的代谢产物为二氯代萘酚, 但尚无法测知该代谢产物是 2,6-二氯-1-羟基萘 (A) 还是 1,6-二氯-2-羟基萘 (B)。

经 ^{13}C NMR 的测定, 按照图 8-10 所测得的参数, 结构 A 的平均偏差为 1.95 ppm, 而结构 B 的平均偏差为 0.47 ppm。由此, 可知二氯代萘的代谢产物为 1,6-二氯-2-羟基萘 (B)。

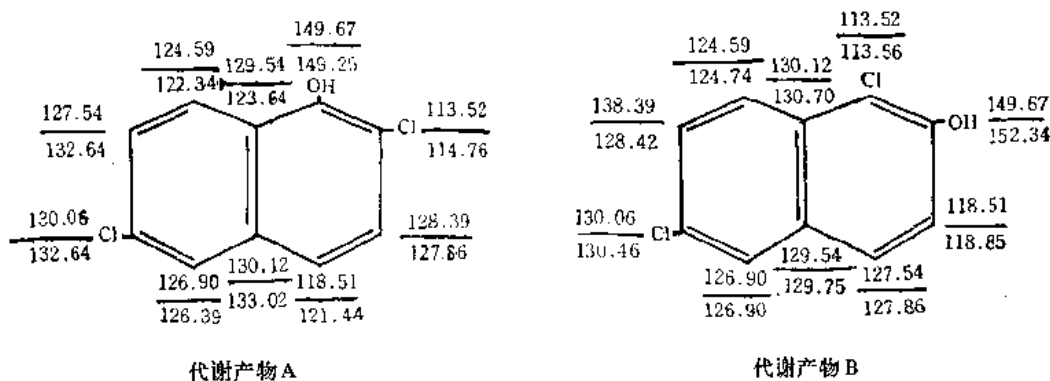


图 8-10 二氯代萘的代谢产物 (上列数字为预测数据; 下列数字为观察到的 ^{13}C 化学位移数据)

第九章 滴 定 分 析 法

滴定分析是将已知浓度的试剂溶液(或称标准溶液)从滴定管滴加到待测物质的溶液中,直至标准溶液与被测组分按化学计量反应完全,根据标准溶液的浓度,计算被测物质的含量,反应完全的这一点称为等当点。指示剂发生颜色变化的转变点为滴定终点。根据滴定终点可以确定等当点,但滴定终点与等当点不完全符合,两者之差称为终点误差。滴定分析法较准确,操作简便快速,仪器设备简单,在广泛应用光谱法和色谱法以前,农药分析中主要使用滴定法和重量法,重量法日前用得很少,滴定法仍然使用。

根据所利用的化学反应不同,在农药分析中常用的滴定分析法有:①酸碱滴定法;②氧化还原滴定法;③沉淀滴定法;④亚硝酸钠滴定法;⑤非水滴定法。

在不使用指示剂的其它指示终点的滴定分析方法,如电位滴定法、永停滴定法在农药分析中亦有应用。

滴定分析法是利用农药有效成分中某元素或原子团与标准溶液起化学反应作为计算有效成分含量的依据,适用于测定纯度较高的农药。如果农药纯度较低,其中杂质亦会产生相同反应时,误将杂质亦算作农药,使测定结果不准确,这样的例子是很多的,如杀螟硫磷乳油的测定,早期各工厂都用直接重氮化法,后将此法与气相色谱法进行对比,结果列于表9-1。说明直接重氮化法测定杀螟硫磷含量,一般比气相色谱法的结果高出6—8个百分点,

表 9-1 使用不同方法测定杀螟硫磷乳油的含量结果

样 品 号	含 量 %		两法相差 (百分点)
	重氮化法	气相色谱法	
乳油 1	50.3	44.6	5.7
乳油 2	51.1	42.3	8.8
乳油 3	50.2	42.3	7.9
乳油 4	51.7	50.8	0.9

引自农业部农药检定所。农药检定通讯,1980;(1)。

因此确定气相色谱法为标准方法。长期使用直接铜盐比色法测定马拉硫磷,结果偏高,改用薄层铜盐法才符合要求;又如采用碱解法测定50%辛硫磷乳油,原油中有能与碱反应的杂质,使测定结果偏高。样品经薄层分离后,用极谱法测定或直接使用高效液相色谱法测定,其含量只有35%左右,因此原药纯度低的农药样本不能直接使用滴定法,目前许多农药已经采用具有分离杂质手段的测定方法,如气相色谱法和高效液相色谱法,但有的农药在气谱条件下易分解,液谱仪价格昂贵,在一般工厂质量控制中,利用薄层色谱首先将农药与杂质分离,将薄层板上的农药洗脱下来进行化学测定,可以得到满意的结果。一般相对偏差在1.0%以下。此外,薄层-滴定法测定时不需要农药标准品,根据化学反应消耗的试剂可以直

接算出有效成分的含量。我国农药国家标准中,使用此法的有甲胺磷薄层碘量法(GB 3 724-83)乐果的薄层溴化法(HG 2-1 417-81),矮壮素的沉淀滴定法(HG 2-818-75)(1983年确认),氨基甲酸酯类农药异丙威(GB 9 560-88)和速灭威(GB-6 592-88)含量的测定均使用薄层定胶法和气相色谱法,但以薄层定胶法为仲裁法。

一、容量分析法

(一) 酸碱滴定法

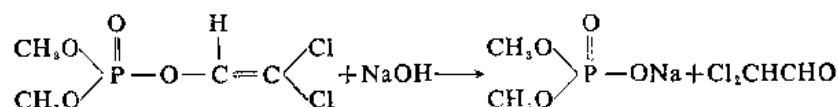
是以酸碱反应为基础的滴定分析法,选用适当的有机弱酸或弱碱作指示剂,它们在不同酸度下呈现不同的颜色,常见的酸碱指示剂如表 9-2。

表 9-2 常见的酸碱指示剂

指示剂名称	简称	变色范围 (pH)	酸色	碱色	配 制 方 法
百里酚蓝	TB	1.2—2.8	红	黄	0.1%的70%酒精溶液
甲基黄	MY	2.9—4.0	红	黄	0.1%的酒精溶液
溴酚蓝	BPB	3.0—4.6	黄	蓝	0.1%的20%酒精溶液或共0.1%钠盐水溶液
甲基橙	MO	3.1—4.4	红	黄	0.05%的水溶液
溴甲酚绿	BCG	3.8—5.4	黄	蓝	14.3ml 0.01mol/L NaOH溶解0.1g+水225ml
甲基红	MR	4.4—6.2	红	黄	60ml乙醇溶解0.02g+水40ml
溴百里酚蓝	BTB	6.0—7.6	黄	蓝	0.1%的20%酒精溶液或共钠盐水溶液
中性红	NR	6.8—8.0	红	橙	50ml乙醇溶解0.01g+水50ml
酚 红	PR	6.8—8.4	黄	红	0.1%的60%酒精溶液,或其钠盐水溶液
酚 酞	PP	8.0—9.6	无色	红	0.1%的70%酒精溶液
百里酚蓝	TB	8.0—9.6	黄	蓝	0.1%的70%酒精溶液
百里酚酞	TP	9.4—10.6	无色	蓝	50ml乙醇溶解0.04g+水50ml

1. 农药酸度的测定 很多农药特别是磷酸酯类、拟除虫菊酯类、氨基甲酸酯类农药等在碱性条件下会分解,因此酸度是农药质量的一个重要指标。在我国,农药制剂的酸度通常用 pH 表示;原药以酸含量表示,即以样品中所含硫酸或盐酸的质量百分数来表示,测定方法可参阅第十一章“酸度测定。”

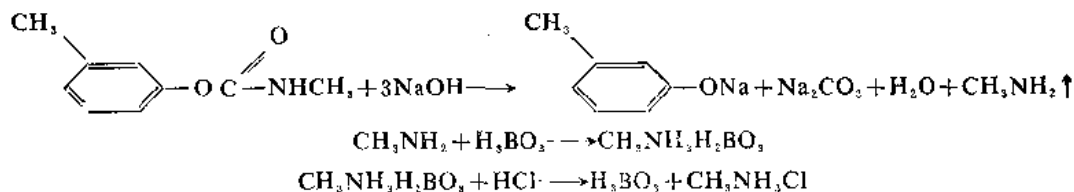
2. 农药含量测定 敌敌畏经薄层色谱分离杂质后,在 0—1°C 用 1 mol/L 氢氧化钠标准溶液反应 20 min,可定量地水解成二甲氧基磷酸钠和二氯乙醛,用标准酸溶液滴定反应后剩余的碱,根据消耗的碱量计算其含量。



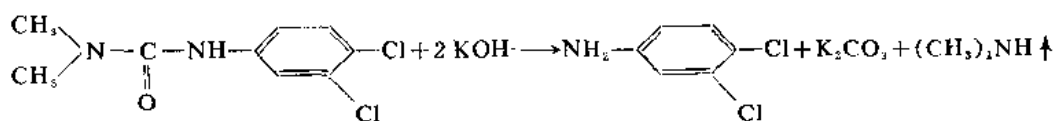
如果水解条件变化,二氯乙醛在碱性溶液中可继续分解而消耗碱液,因此测定时必须严格控制时间和温度。



氨基甲酸酯农药如异丙威、速灭威等，经薄层分离后，可通过碱解反应，定量地放出挥发性甲胺，用硼酸吸收，再用盐酸标准溶液滴定，从而计算出有效成分含量，这类农药的国家标准薄层定胺法是中和法。



滴定时不能用酚酞，只能使用甲基红或溴甲酚绿作指示剂。苯基脲类除草剂如敌草隆，在碱性溶液中水解出二甲胺，亦可使用蒸馏定胺法，水解产物二甲胺蒸入硼酸溶液中，用标准盐酸滴定二甲胺，计算敌草隆含量。



终点指示亦可使用电位法，甘汞电极—玻璃电极对，也可选用指示剂。

(二) 氧化还原滴定法

是以氧化还原反应为基础的滴定分析法。使用本方法有三点要求：① 反应能定量地完成；② 反应速度快；③ 有较简便可靠的方法确定等当点。用于分析农药的方法有：碘量法、溴酸钾法、高锰酸钾法等，这些方法的特点是反应时间短，操作简单，终点明显，空白值小。但如溴化法与薄层色谱法联用时，展开剂甲醇、乙醇、丙酮、石油醚等都可能消耗溴而有干扰，必须尽量除去展开剂或选用干扰小的展开剂。在进行氧化还原反应时，农药本身的官能团有时也会干扰，测定时必须严格遵守温度、反应时间和氧化剂的量。

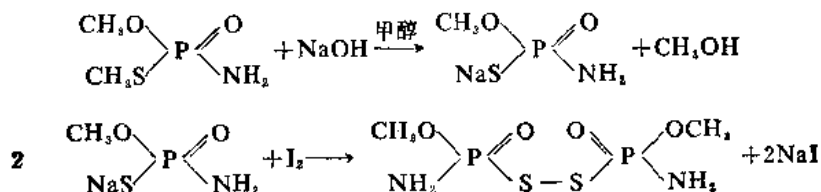
在处理氧化还原滴定结果时，以其摩尔质量(分子量(式量)/ n)作为氧化还原反应的基本单元， n 为一式量被测物质在滴定过程中得到或失去的电子数。

1. 碘量法 是利用 I_2 的氧化性和 I^- 的还原性进行滴定的方法。

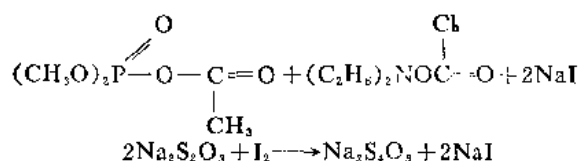
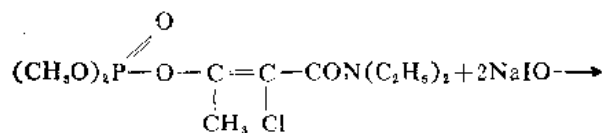
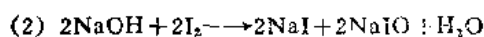
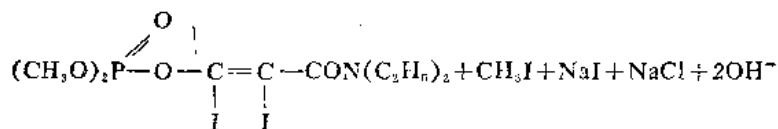
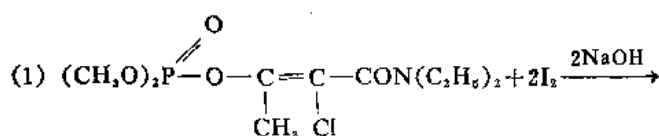


其摩尔质量为 $1/2 \text{I}_2 = 126.92$ ，含有不饱和烃或水解后生成—SH 键的组分都可试用碘量法，可分为直接碘量法和间接碘量法。

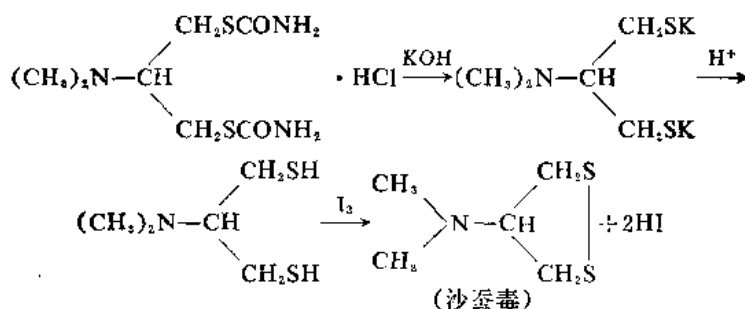
直接碘量法是利用碘标准溶液直接滴定还原物质的方法，如早期(1983年)甲胺磷的国标采用薄层-碘量法，先用薄层法将甲胺磷与杂质分离，经甲醇氢氧化钠碱解后，用标准碘溶液滴定至浅黄色，碘在此处为置换反应。



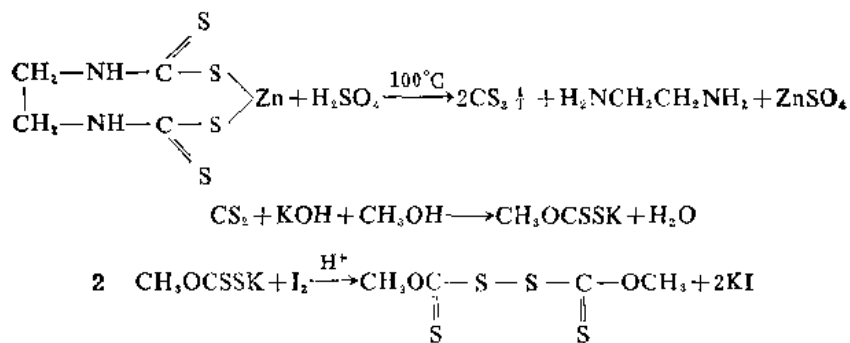
久效磷和磷胺亦可使用薄层-碘量法，薄层展开后，加入过量碘液反应后，用硫代硫酸钠回滴多余的碘，已知反应过程中消耗 2 个 I_2 ，其反应式推测可能为以下两种：



有机氮农药杀螟丹可采用碘量法测定，它在碱性溶液中分解为二氢沙蚕毒，在酸性介质中可被碘氧化为沙蚕毒。加入淀粉指示剂用碘滴定至微蓝色。

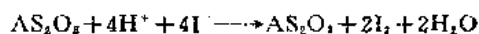


二硫代氨基甲酸酯类农药如代森锌、代森铵等都可用此法，这类农药遇酸能分解释放二硫化碳，用甲醇氢氧化钾吸收后生成黄原酸钾，然后用标准碘液滴定至淀粉指示剂变蓝，为了避免受氧气的影响而产生误差，必须立即滴定。



此外，测定样品水分的卡尔费休法，也是一种碘量法。

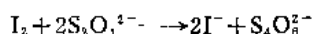
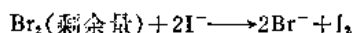
间接碘量法是利用 I^- 离子的还原作用与氧化性物质反应生成游离的碘，再用硫代硫酸钠标准溶液滴定后测出农药的含量。砷酸药剂就是利用此法测定。在样品中加入盐酸和碘化钾溶液，碘化钾将砷还原，生成的碘用硫代硫酸钠回滴。



进行间接碘量法时,由于碘易挥发,在酸性溶液中 I^- 易被空气氧化,反应应在碘量瓶中进行,同时加入过量的 KI 与 I_2 生成 I_3^- 以减少挥发,在室温下进行反应,温度不能太高,不要过度摇动,以避免与空气接触。

下面将讨论溴酸钾法和高锰酸钾法,它们亦可算作间接碘量法。

2. 溴酸钾法 是农药分析中应用最广的氧化还原滴定法。用过量的溴酸钾和溴化钾作标准溶液,在酸性条件下析出溴,溴与被测农药反应,剩余的溴再与碘化钾反应析出碘,用硫代硫酸钠滴定,其反应为



多数硫代磷酸酯如乐果、氧乐果、久效磷、磷胺、对硫磷、杀螟硫磷等,取代硫脲、沙蚕毒素类农药在一定条件下能定量地被溴氧化,一些水解后生成酚或苯胺的农药也能定量地被溴取代。有些农药分子中的基团与溴不定量反应,如稻瘟净,则不能使用此法。

溴化反应机理比较复杂,各种农药亦不相同,当反应时温度、时间及氧化剂数量改变,反应的结果亦不相同,因此必须严格遵守方法的测定条件,农药的溴化反应有以下几类: ①

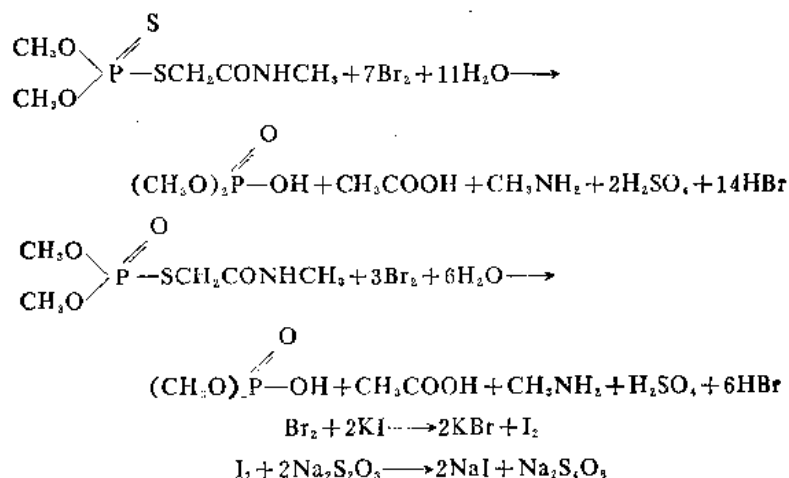
硫逐磷酸酯($-P \begin{smallmatrix} \nearrow S \\ \searrow \end{smallmatrix}$)被氧化为硫酸,此反应比较迅速,在室温下,氧化剂过量 20% 以上,超过 5 min, 反应即可完成。

② 硫赶磷酸酯上的硫($-P \begin{smallmatrix} \nearrow O \\ \searrow S \end{smallmatrix}$)较难氧化,但不同品种各不相同,氧乐果较易断开,溴化温度 30°C 较好,氧化剂必须过量; 伏杀硫磷不易断开,不能用

溴酸钾法,改用高锰酸钾法。③ 有的农药可能生成亚砷($-S \begin{smallmatrix} \nearrow O \\ \searrow \end{smallmatrix}$)或砷($-S \begin{smallmatrix} \nearrow O \\ \searrow O \end{smallmatrix}$)。④ 组分

中双键和苯环也能与溴反应,如速灭威、对硫磷等; ⑤ 其它含硫农药如福美锌、福美双、杀虫双、杀螟丹等,现将几类典型农药的反应式及氧化数叙述如下。

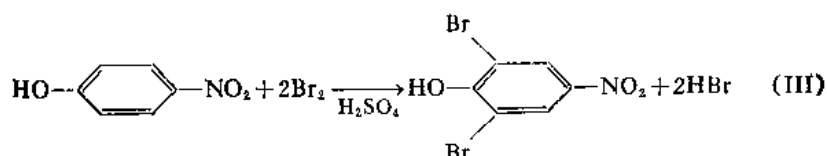
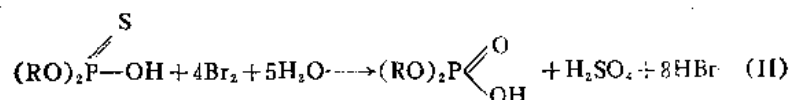
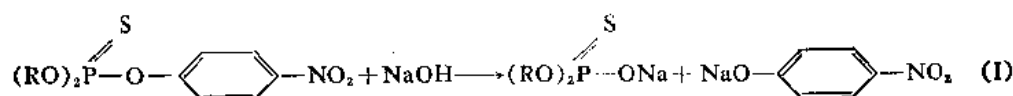
(1) 乐果和氧乐果:



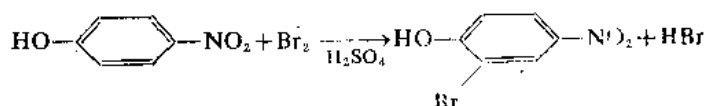
乐果的氧化数为 14, 氧乐果的氧化数为 6, 溴化法曾被作为乐果原油和乳油标准中的分析方法。

(2) 对硫磷和甲基对硫磷:

① 对硫磷先碱解, 后溴化, 其氧化数为 $8 + 4 = 12$

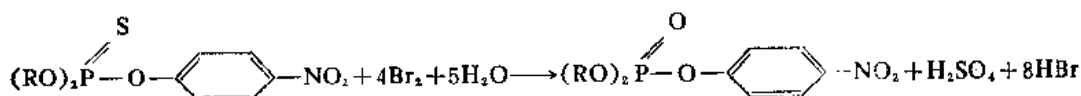


甲基对硫磷水解后除进行(II)式外, (III)式中在苯环上只取代一个溴:



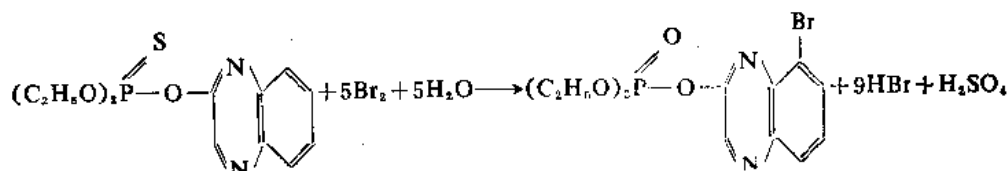
因此氧化数为 10。如果温度较高或放置时间较长, 苯环将进一步被溴代, 可使结果偏高。

② 不碱解, 在酸性介质中溴化, 其氧化数为 8:

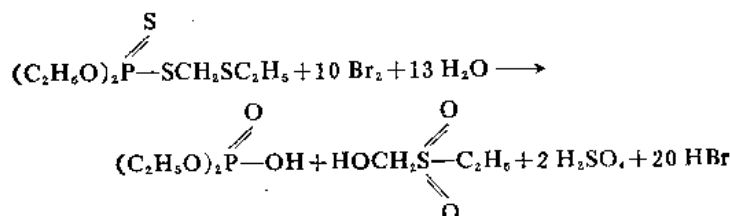


杀螟硫磷在苯环上比对硫磷多一个甲基, 一般在相同条件测定; 有时苯环上的甲基被氧化, 使测定值变高, 因此必须控制条件。

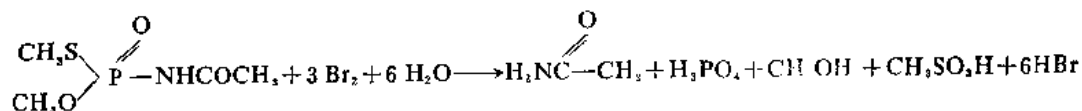
(3) 喹噁硫磷的氧化数为 10:



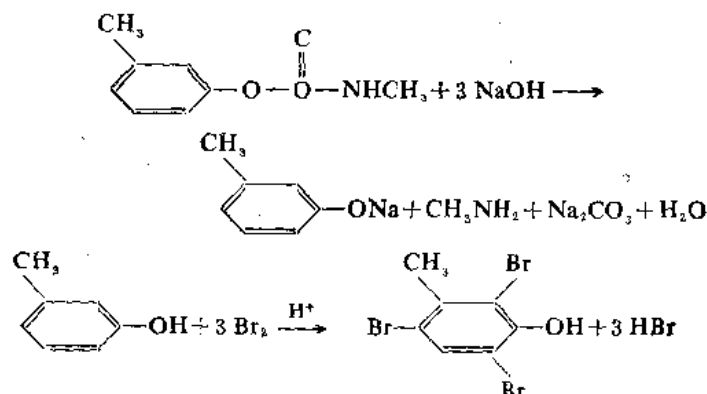
(4) 甲拌磷分子中的硫醚结构, 在一定条件下能定量地氧化成亚砷, 氧化条件加强, 可进一步氧化成砷, 必须严格掌握氧化成砷的反应条件, 其氧化数为 20:



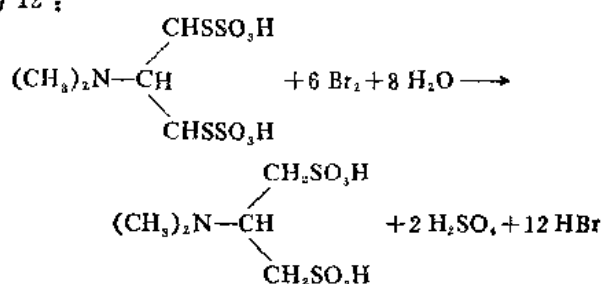
(5) 乙酰甲胺磷氧化数为 6:



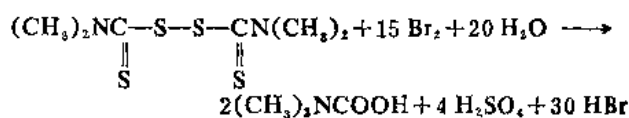
(6) 氨基甲酸酯农药速灭威水解后的间甲酚，可被溴定量取代，氧化数为 6：



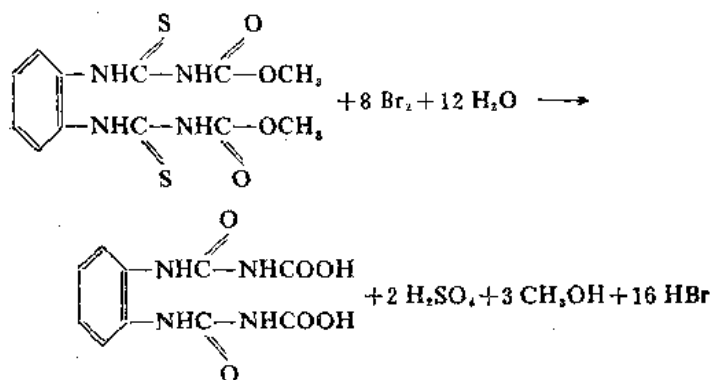
(7) 杀虫双氧化数为 12：



(8) 福美双氧化数为 30：

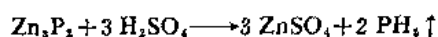


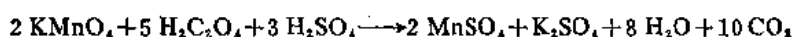
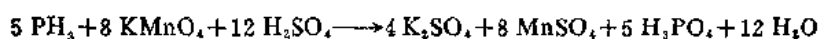
(9) 甲基硫菌灵氧化数为 16：



溴酸钾法也是一种间接碘量法，由于 $\text{KBrO}_3 - \text{KBr}$ 溶液比较稳定，实验误差主要来源于滴定碘的过程中，在碘量法中已讨论过，如果是薄层溴化法，板上的溶剂一定要完全挥发掉，因为醇、酮等溶剂与溴发生反应，会影响测定结果，农资部门王全忠等用薄层溴化法对十几种农药进行分析测定，一般偏差在 1% 以下。

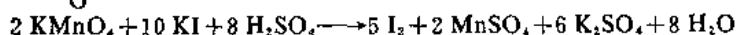
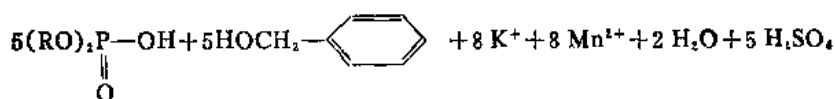
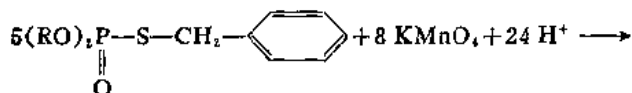
3. 高锰酸钾法 曾用于多种无机农药的测定，现在还用于磷化锌、磷化铝的测定。把磷化锌与稀酸作用放出磷化氢气体，通入定量的高锰酸钾标准溶液中，使其氧化成磷酸，加入过量的草酸标准溶液以还原剩余的高锰酸钾，最后再用高锰酸钾标准溶液回滴多余的草酸，高锰酸钾自身为指示剂，根据高锰酸钾消耗量可计算出磷化锌含量，反应式如下：





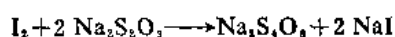
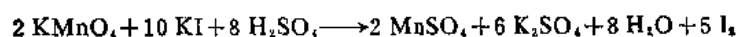
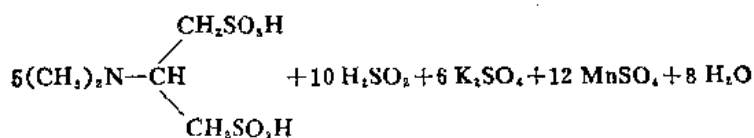
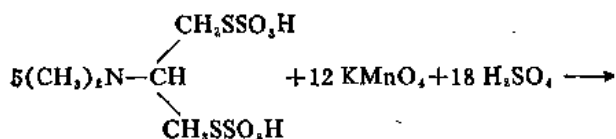
反应中通常使用硫酸而不用硝酸，因为硝酸是氧化性酸，可能与农药反应，亦不用盐酸，因盐酸中的 Cl^- 有还原性，能与高锰酸钾反应。

有的有机磷农药中的硫较难溴化，而且分子中有能和溴反应的部位，则不能使用溴酸钾法，如稻瘟净中的硫很难溴化，溴化时间长，则苯环上要起副反应，且不定量，改用高锰酸钾法，则硫易被氧化，其苯环上亦不起副反应。



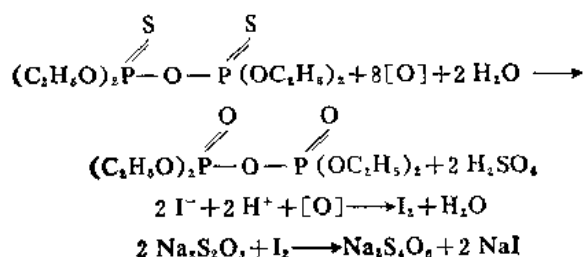
反应后在过量高锰酸钾中加入碘化钾，生成的碘再用硫代硫酸钠回滴至淀粉指示剂的蓝色消失。

杀虫双经薄层分离后，亦可用高锰酸钾氧化，分子中两个硫原子被氧化成硫酸，根据高锰酸钾消耗量，求出杀虫双含量。



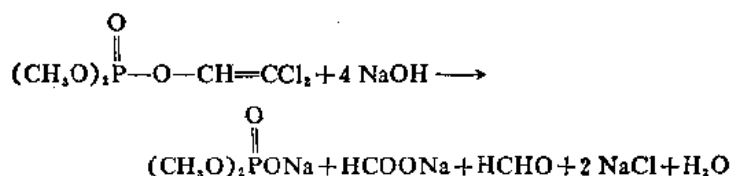
4. 氯胺 T 法 氯胺 T 是对甲苯磺酰氯胺钠 $\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2\text{N}(\text{Cl})\text{Na}$ ，在酸性介质中

能氧化硫代磷酸酯农药的 $\text{P}=\text{S}$ 键和其它农药的 $\text{C}=\text{S}$ 键，将硫氧化成硫酸，多余的氯胺 T 则与碘化钾作用析出碘，可用碘量法定量。如测定治螟磷(苏化 203)可用该法。



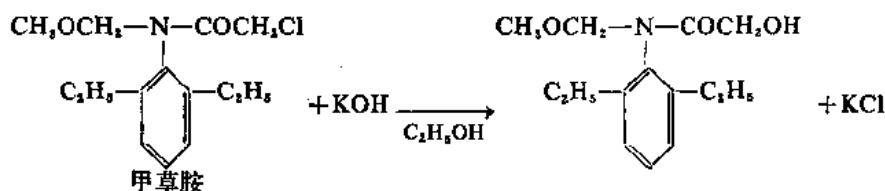
(三) 沉淀滴定法

沉淀滴定法是以沉淀反应生成难溶物为基础的滴定分析法，能满足以下要求的沉淀反应，才能用于此种滴定分析：①反应速度快、生成沉淀的溶解度小；②应定量进行；③有准确确定等当点的方法。由于以上条件限制，能用于沉淀滴定的反应较少，微溶性银盐的沉淀反应是最常用的，以这类反应为基础的沉淀滴定法称为银量法，含有氯、溴、碘的农药可以采用此法，但不同分子结构的农药脱卤素的方法亦不同，脂肪链上的卤素，如敌百虫、敌敌畏、磷胺、滴滴涕和矮壮素等在水解脱氯时，使用氢氧化钾或氢氧化钠水溶液，敌敌畏的水解脱氯反应如下：

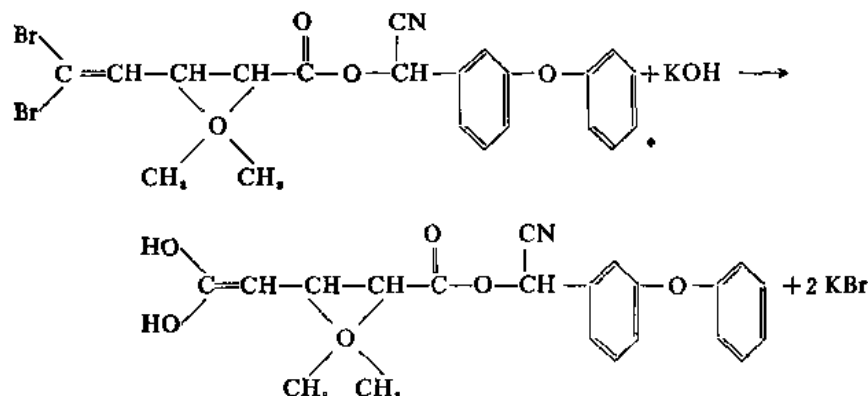


如矮壮素 $[\text{CH}_2\text{Cl}-\text{CH}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]\text{Cl}^-$ 国家标准中的分析方法是在碱水解后滴定总氯量后与水解前滴定游离氯之差来计算有效成分含量的，至今国际农药分析协作委员会仍应用此法。

三氯杀螨醇、甲草胺等则使用氢氧化钠(或钾)的乙醇溶液水解脱氯：

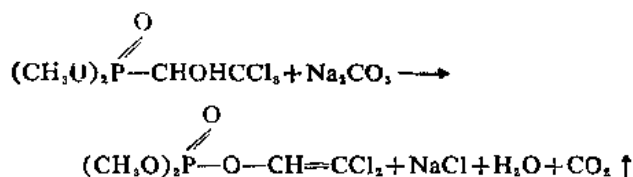


稳定直链上的卤素，如溴氰菊酯、氯氰菊酯、氯菊酯等使用氢氧化钾—乙二醇溶液脱氯，

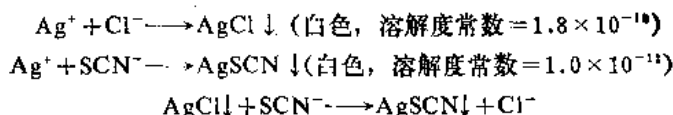


苯或杂环上的卤素，如氰戊菊酯、杀虫脒、百菌清、除草醚、敌草隆等农药，则需用金属钠在无水乙醇中回流脱下，以氰戊菊酯为例，测定样本时经薄层分离后，用二甲苯将组分洗入 50 ml 圆底烧瓶中，加 0.5 g 金属钠后回流，沸腾后由上口分 3—4 次加入 10 ml 无水乙醇，回流约 30 min，用水、丙酮洗入烧杯中，在这类农药测定前需加入甲醛溶液，以去除—CN 基的干扰。

现以敌百虫为例说明沉淀滴定法：



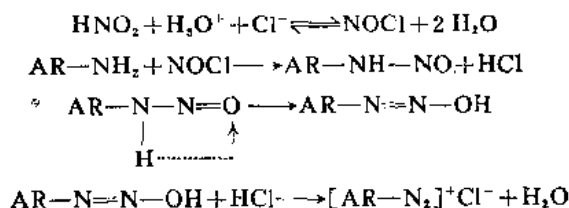
脱下的卤素用硝酸银标准溶液滴定,可以采用电位法,通过电位法滴定曲线指示终点,亦可用佛尔哈德法(Volhard),是用铁铵矾 $[\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2]$ 作指示剂的银量法。在农药分析中常用返滴定法测定卤素离子,以测定 Cl^- 为例,加入已知过量的硝酸银,使 Cl^- 全部形成 $\text{AgCl}\downarrow$,以铁铵矾为指示剂,用硫氰酸铵(NH_4SCN)标准溶液返滴过量的银,滴入的 NH_4SCN 首先与 Ag^+ 发生反应,生成 $\text{AgSCN}\downarrow$ 。在 Ag^+ 与 SCN^- 反应完全后,过量一滴 NH_4SCN 溶液便与 Fe^{3+} 反应,生成红色的 FeSCN^{2+} 络合物,指示终点已到,这时若再滴入 NH_4SCN 时,由于 AgCl 的溶解度比 AgSCN 大,过量的 SCN^- 将与 AgCl 反应,使 AgCl 沉淀转化为溶解度更小的 AgSCN ,溶液中出现红色后,如仍不断摇动溶液,红色又逐渐消失,会误认为终点未到而造成误差。



为了避免误差,在试液中加入过量的 AgNO_3 后,加入1—2 ml 邻苯二甲酸二丁酯或硝基苯,用力摇动使 AgCl 沉淀的表面上覆盖一层有机物,避免沉淀与外部溶液接触,阻止 NH_4SCN 与 AgCl 发生转化反应。用返滴定法测溴化物或碘化物时,由于 AgBr 及 AgI 的溶解度均比 AgSCN 小,不会发生上述转化反应。

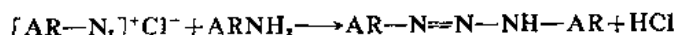
(四) 亚硝酸钠滴定法

亚硝酸钠滴定法又称重氮化滴定法,在农药分析中常用于测定含氨基和硝基的芳香化合物。其原理是利用芳香族伯胺类农药,在盐酸存在时能与亚硝酸作用,生成芳香族伯胺的重氮盐,其反应式为:



有的农药如对氨基苯磺酸钠 $\text{NaSO}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$,可用亚硝酸钠标准溶液直接滴定测定其含量,若是芳香族硝基取代时,如对硫磷、除草醚等,分子中的硝基可被冰醋酸-锌粉或醋酸-盐酸-锌粉等还原成氨基后,再用亚硝酸钠标准溶液滴定。在滴定中必须注意如下几个问题:

(1) 酸度:从反应式可看出,1克分子芳香胺需2克分子盐酸,实际测定时酸用量超过理论量,有时达3—4个克分子,因为在强酸介质中能加速反应,还能增加重氮盐的稳定性,当酸度不足时,生成的重氮化物与未被重氮化的芳香伯胺偶合,生成重氮氨基化合物造成测定结果偏低。

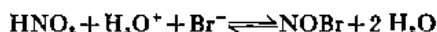


酸量过多时会阻碍芳香伯胺的解离,减慢重氮化速度,重氮化反应多使用盐酸,因为在盐酸中比在硝酸、硫酸中反应快。

(2) 温度:在 15—25°C 进行重氮化滴定较合适。

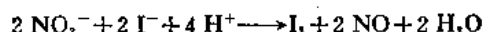
(3) 滴定过程中应不断搅拌,因接近终点时溶液中伯胺量很少,要逐滴加入并充分搅拌。

(4) 溴化钾可加速反应:在测定对硫磷、除草醚时,芳香胺的对位取代基对重氮化反应速度有影响,在滴定前加入溴化钾,可发生下列反应:



NOBr 的解离常数较 NOCl 小,能加快重氮化反应。

(5) 终点的判定,常用外指示剂法,以碘化钾淀粉为指示剂,滴定至终点时,由过量亚硝酸钠产生的亚硝酸将碘化钾氧化成碘,遇淀粉变蓝色。



将糊状淀粉指示剂倒在白瓷板上,铺成约 1 mm 均匀薄层,在近终点时,用玻棒尖端沾取溶液少许,划过涂有碘化钾淀粉的白瓷板,即时出现蓝色条痕,再搅拌后,沾取溶液划过白瓷板仍显蓝色即已达终点。

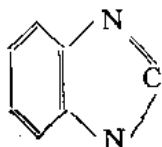
(五) 非水滴定法

弱酸性、弱碱性、在水中溶解度很小的农药难以在水溶液中进行酸碱滴定,采用各种非水溶剂作为滴定介质,从而扩大酸碱滴定范围,在水以外的溶剂中进行滴定分析称为非水滴定法。农药中含氮的杂环化合物很多,它们带有微弱的碱性或酸性,有的在水中溶解度小,有的在水溶液中滴定没有明显的突跃,难以掌握终点,采用有机溶剂或不含水的无机溶剂作为滴定介质,不仅能增加农药的溶解度而且可改变它们的酸碱性或其强度,使滴定反应能顺利进行。

对于弱碱性化合物,用乙酸、丙酮、苯、三氯甲烷等溶解,以高氯酸标准溶液滴定。

对于弱酸性化合物,用二乙胺、乙二胺和二甲基甲酰胺、苯、乙腈等溶解,以氢氧化四丁基铵标准溶液滴定。

具有含氮杂环的农药,大多数可以进行非水滴定,如多菌灵分子结构为:



但具有弱酸性,在乙酸中可增强它的碱性,因此多菌灵样

品经薄层色谱分离后,溶于三氯甲烷、乙酸酐后,加入冰醋酸,用高氯酸滴定。可测定其含量,我国多菌灵原药的国家标准中采用此方法(GB 6697-86)。其它含氮农药如二嗪磷、抗蚜威和三唑酮等亦可用此法测定。

二、电位滴定法和永停滴定法

利用测定溶液的电极电位和浓度之间的关系来确定物质含量的方法称电位分析法。电位分析法包括直接电位法和电位滴定法。

直接电位法是根据电极电位与离子浓度(活度)之间的对数关系,直接测出离子浓度的分析方法,如用酸度计测定溶液中的 pH 值等。

电位滴定法是利用滴定过程中电位变化的突跃来确定终点的容量分析方法,是一种不用指示剂的滴定方法,根据溶液中电位的跃变来作为滴定终点的指示,所以终点的确定比一般容量法准确,客观,在有色溶液和浑浊溶液中均可滴定。在农药分析中常用于中和滴定、沉淀滴定和氧化还原滴定等。根据农药分析要求,本章还将介绍永停滴定法。

(一) 电位分析的几个基本概念

1. 原电池 是借助于氧化还原反应得到电流的装置,以铜锌原电池为例(如图 9-1)锌和硫酸锌溶液、铜和硫酸铜溶液 各组成半电池,将锌片和铜片用导线联接,导线中串联一个电流表,同时将两溶液用含有琼胶的氯化钾饱和溶液的盐桥相连。锌失去电子发生氧化反应,电子由导线传到铜片上, Cu^{2+} 在铜片上得到电子发生还原反应析出金属铜。盐桥起通路作用,整个装置形成回路,放出的化学能变为电能,电流表指针发生偏转,锌极为负极,铜极为正极。

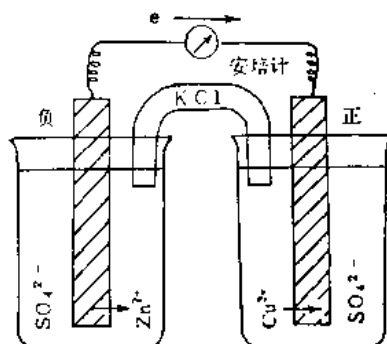


图 9-1 铜锌原电池

2. 电极电位 原电池的两个电极产生的电流是由于两电极间存在电位差的缘故。当金属片插入它的盐溶液时,金属越活泼,溶液越稀,金属离子进入溶液中的趋势则愈大,金属表面留下电子而带负电,溶液中存在的金属离子带正电,在金属的周围就聚集成双电层,金属和溶液间便产生电位差;另一方面,溶液中的金属离子亦有从溶液沉积到金属表面的趋势,溶液愈浓,这种趋势也越大,也会形成双电层产生电位差。金属和溶液之间的电位差称为电极电位。组成原电池两电极的电极电位是不同的,两电极用导线连接即产生电流,该两电极的电极电位差称电动势。

电极电位可由奈斯特(Nerst)方程式表示:

$$A_{ox} + ne = A_{red}$$

$$E = E_0 + \frac{0.059}{n} \lg \frac{[A_{ox}]}{[A_{red}]} \quad (25^\circ\text{C}) \quad (9-1)$$

E ——平衡时的电极电位;

E_0 ——标准的电极电位;

n ——电极反应中参加反应的电子数目;

$[A_{ox}]$ ——氧化态活度;

$[A_{red}]$ ——还原态活度。

电极电位的绝对值是无法测量的,为了测量其相对值,早期用氢电极作标准电极,为负极,人为地规定其电极电位为零;待测电极作正极组成电池,此电池的电动势就是待测电极的电极电位。在 25°C 溶液中金属离子浓度为 1 mol/L 时,所测得的电位值为该金属电极的标准电极电位,但实际测定时溶液的酸度、沉淀与络合物等都会有影响,标准电极电位与实际电位有很大差别,因此引入“克式量电位”。

(二) 参比电极与指示电极

标准电极电位的测量是由标准氢电极和欲测电极组成电池测其电动势而得。标准氢电极的电位规定为零。

表 9-3 银-氯化银电极的电极电位

KCl溶液(mol/L)	E(V)
0.1	0.2880
1.0	0.2223
饱和	0.2000

1. 参比电极 电位值已知的电极称参比电极。标准氢电极的电位是已知的,但由于装配复杂,使用不便,已不常用。在实际工作中常用银-氯化银电极或甘汞电极作参比电极。要求当有微弱电流通过参比电极、溶液浓度或温度发生变化时,电极电位基本保持不变,且装置简单,使用寿命长。

银-氯化银电极(图 9-2)是由银丝上镀一薄层氯化银,浸于一定浓度的 KCl 溶液组成的,Ag|AgCl(固),KCl 溶液,其电极电位间接决定于 Cl^- 的活度 $[a_{\text{Cl}^-}]$ 。如银-氯化银电极的反应是:



其电极电位决定于溶液中 Ag^+ 的活度 $[a_{\text{Ag}^+}]$,可用下式表示:

$$E_{[\text{Ag}]} = E^\circ_{[\text{Ag}^+/\text{Ag}]} + 0.059 \lg [a_{\text{Ag}^+}] \quad (9-2)$$

而溶液中 Ag^+ 的活度决定于 Cl^- 的活度,因为溶液中是难溶盐 AgCl 的饱和溶液, Ag^+ 的活度由下列反应的平衡决定:



其溶度积

$$K_{\text{sp}} = [a_{\text{Ag}^+}][a_{\text{Cl}^-}]$$

$$[a_{\text{Ag}^+}] = K_{\text{sp}}/[a_{\text{Cl}^-}]$$

以此式代入(9-2)式:

$$E_{[\text{Ag}]} = E^\circ_{[\text{Ag}^+/\text{Ag}]} + 0.059 \lg K_{\text{sp}} - 0.059 \lg [a_{\text{Cl}^-}]$$

前两项为常数,令

$$E^\circ' = E^\circ_{[\text{Ag}^+/\text{Ag}]} + 0.059 \lg K_{\text{sp}}$$

所以银-氯化银的电极电位为:

$$E_{[\text{Ag}]} = E^\circ' - 0.059 \lg [a_{\text{Cl}^-}] \quad (9-3)$$

即银-氯化银的电极电位决定于 Cl^- 活度,在固定 Cl^- 活度的条件下,可作为参比电极。在 25°C 时,不同浓度的 KCl 溶液的电极电位如表 9-3。

银-氯化银电极构造简单,体积小,电极电位不受温度变化的影响,广泛用作玻璃电极的内参比电极。

甘汞电极的构造如图 9-3 所示。它具有两个玻璃套管,内套管封接一根铂丝,铂丝插入厚度为 0.5—1.0 cm 的纯汞中,汞下装有甘汞、汞与少许氯化钾溶液研磨而成的糊状物,外套管装入 KCl 溶液。电极下端与被测溶液接触处熔接玻璃砂芯或陶瓷芯构成电极,其电极反应是:



甘汞电极的电极电位在一定温度下亦决定于 Cl^- 的活度,当电极内 KCl 溶液浓度一定时,电位值亦一定。其电极电位稳定,制备方便,经常用作参比电极。在 25°C 时浓度为 0.1 mol/

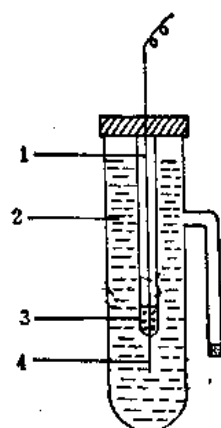


图 9-2 银-氯化银电极

1——导线；2——氯化钾；3——汞；
4——镀薄层氯化银的银丝

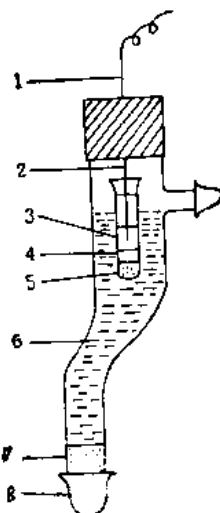


图 9-3 甘汞电极

1——导线；2——铂丝；3——汞；4——糊状物；
5, 7——砂芯；6——氯化钾；8——橡皮帽

L, 1 mol/L 和饱和 KCl 溶液的甘汞电极, 其标准电位分别为 0.3370, 0.2851, 0.2443 V。使用 0.1 mol/L KCl 的电极温度系数最小, 但制备不如饱和 KCl 溶液方便。

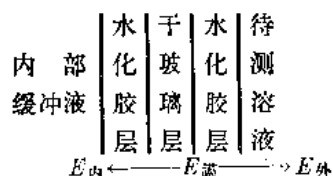
2. 指示电极 能指示被测离子活度 (或活度比) 的电极称指示电极。指示电极应符合如下要求: ①电极电位与被测溶液离子活度的对数值应成直线关系, 即应符合奈斯特方程式; ②对离子活度的变化响应快, 再现性好; ③使用方便, 结构简单。

在农药分析中常用的指示电极有活性金属电极, 如银电极, 是银丝浸在硝酸银溶液中构成; 惰性金属电极如铂电极, 它本身在溶液中并不参加反应, 只是作为氧化还原反应交换电子的场所; 测量 pH 值用的玻璃电极属于薄膜电极, 将在下一节中讨论。

(三) pH 值的电位测定法

用电位法可以测定溶液中的 pH 值, 是以玻璃电极为指示电极, 饱和甘汞电极为参比电极组成电池, 玻璃电极为负极, 甘汞电极为正极。装置如图 9-4。

1. 玻璃电极 玻璃电极是专用于测定 pH 值的指示电极。由一支玻璃管下端接一个特殊质料的球形薄膜制成, 膜厚约 30—100 μm , 膜内装一定 pH 值的缓冲溶液和一定浓度的氯化钾, 溶液中浸一根 Ag-AgCl 电极作内参比电极。当玻璃膜浸入水中, 其表面即吸收水分, 在膜内外形成两层溶胀的水化胶层。见图 9-5 所示。



当玻璃电极浸入被测溶液中, 玻璃膜处于 H^+ 活度一定的缓冲液和试液之间, 膜内的水化胶层与缓冲溶液间产生相界电位 $E_{\text{内}}$, 膜外水化胶层则与试液间产生相界电位 $E_{\text{外}}$, 水化

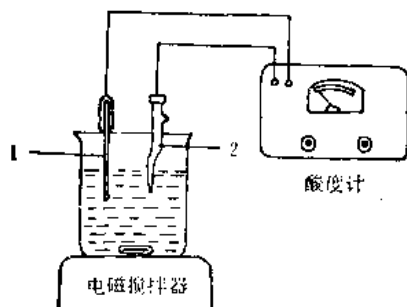


图 9-4 测定 pH 装置
1——玻璃电极；2——甘汞电极

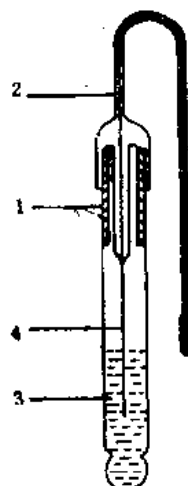


图 9-5 玻璃电极
1——静电隔离层；2——导线；3——缓冲溶液；4——Ag-AgCl 电极

膜层内外侧的电位差称膜电位 $E_{\text{膜}}$ 。

$$E_{\text{膜}} = E_{\text{外}} - E_{\text{内}} = 0.059 \lg \frac{\alpha_{\text{H}^+}(\text{试})}{\alpha_{\text{H}^+}(\text{内})}$$

缓冲溶液中氢离子活度是一定的， $\alpha_{\text{H}^+}(\text{内})$ 为一常数，则

$$E_{\text{膜}} = K + 0.059 \lg \alpha_{\text{H}^+}(\text{试}) = K_{\text{玻}} - 0.059 \text{ pH} \quad (9-4)$$

式中， K 是玻璃电极的常数。(9-4)式说明，玻璃电极的膜电位 $E_{\text{膜}}$ 与试液的 pH 成直线关系。

2. 测 pH 值的原理 测定 pH 装置如图 9-4，其电动势可表示为：

$$E_{\text{电动势}} = E_{\text{甘}} - E_{\text{玻璃}}$$

以(9-4)式代入：

$$\begin{aligned} E_{\text{电动势}} &= E_{\text{甘}} - (K_{\text{玻}} - 0.059 \text{ pH}) \\ &= E_{\text{甘}} - K_{\text{玻}} + 0.059 \text{ pH} \end{aligned}$$

由于电极与待测溶液之间的界面上有液体接界电位 $E_{\text{界}}$ ，玻璃膜内外产生不对称电位 $E_{\text{不对称}}$ ，则两电极间的电动势为：

$$E_{\text{电动势}} = E_{\text{甘}} - K_{\text{玻}} + 0.059 \text{ pH} + E_{\text{不对称}} + E_{\text{界}}$$

$E_{\text{甘}}$ ， $K_{\text{玻}}$ ， $E_{\text{不对称}}$ ， $E_{\text{界}}$ 对同一电极来说都是常数

以 $K_{\text{总}}$ 表示即：

$$K_{\text{总}} = E_{\text{甘}} - K_{\text{玻}} + E_{\text{不对称}} + E_{\text{界}}$$

则：

$$E_{\text{电动势}} = K_{\text{总}} + 0.059 \text{ pH} \quad (9-5)$$

这是电池电动势与待测溶液 pH 值的关系式，测定电池电动势即可求出溶液的 pH 值。

但是不对称电位和液接电位，在一定条件下，虽有定值却不易测量和计算。因此，总常数 $K_{\text{总}}$ 难以测定，通常采用两次测量法，即先用标准溶液进行校正，然后再测定待测溶液的 pH 值。

3. 标准缓冲溶液 电位法测定 pH 值是以标准溶液作基准的。因此，标准缓冲溶液的

准确配制十分重要。方法如下:

(1) 0.05 mol/L 邻苯二甲酸氢钾溶液: 称取 110°C 干燥 2—3 h 的邻苯二甲酸氢钾 10.12 g 溶于蒸馏水中, 稀释至 1 L。

(2) 0.025 mol/L 磷酸二氢钾和 0.025 mol/L 磷酸氢二钠混合溶液: 分别称取 120°C 烘干 2—3 h 的磷酸二氢钾 3.39 g 和磷酸氢二钠 3.53 g 于烧杯中, 加蒸馏水溶解, 稀释至 1 L。干燥温度切忌过高, 否则会产生缩合磷酸盐。

(3) 0.01 mol/L 硼砂溶液: 称取硼砂($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) 3.80 g 溶于蒸馏水中(硼砂不要烘), 稀释至 1 L。该溶液易吸收 CO_2 改变 pH 值, 故配制溶液的蒸馏水应预先煮沸并冷却, 同时瓶口应装置碱石棉管。

(4) 0.05 mol/L 四草酸氢钾溶液: 称取在 54°C 烘干 4—5 h 的四草酸氢钾 [$\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$] 12.61 g 溶于蒸馏水中, 稀释至 1 L。

(5) 25°C 饱和酒石酸氢钾溶液: 在磨口玻璃瓶中装入蒸馏水和酒石酸氢钾(约 20 g/L), 剧烈摇荡使其充分溶解, 使用前在 22—28°C 将清液倾出, 为防止溶液发霉, 溶液中可加入 0.9 g/L 百里酚。

(6) 饱和氢氧化钙溶液: 在磨口玻璃瓶或聚乙烯塑料瓶中, 加入蒸馏水和过量氢氧化钙(约 10 g/L), 温度控制在 25°C, 剧烈振动 30 min, 使用时倾出清液。

以上 6 种溶液系国家标准局颁发的 pH 基准缓冲溶液, 其不同温度下的 pH 值列于表 9-4。

表 9-4 不同温度下标准缓冲溶液的 pH 值

温度 °C	0.05mol/L 四草酸氢钾	饱和酒石 酸 氢 钾	0.05mol/L 邻苯二甲酸氢钾	0.025mol/L 磷酸二氢钾与 0.025mol/L 磷酸氢二钠	0.01mol/L 硼 砂	饱和氢氧化钙
10	1.67	—	4.00	6.92	9.33	13.01
15	1.67	—	4.00	6.90	9.28	12.82
20	1.68	—	4.00	6.88	9.23	12.64
25	1.68	3.56	4.00	6.86	9.18	12.46
30	1.68	3.55	4.01	6.85	9.14	12.29
35	1.69	3.55	4.02	6.84	9.10	12.13
40	1.69	3.55	4.03	6.84	9.07	11.98
45	1.70	3.55	4.04	6.83	9.04	11.83
50	1.71	3.56	4.06	6.83	9.02	11.70

(四) 电位滴定法

它是一种用电位法测定滴定终点的方法。与直接电位法不同, 不是由电极电位的数值来计算待测离子浓度, 而是以测量电位的变化为基础的。

电位滴定装置如图 9-6, 是由指示电极、参比电极浸于被测溶液中组成电池, 在电磁搅拌器不断搅拌下从滴定管缓缓滴入已知浓度的标准试剂, 溶液内发生化学反应, 被测离子的浓度发生变化, 指示电极的电位也相应发生变化, 到达等当点附近, 电位变化较大, 产生突

跃；等当点后，电位变化较小，根据电极电位变化的突跃可判断等当点。电位变化突跃不如指示剂直观，在等当点附近要求每滴加 0.1ml 测量一次电位，通过作图法来确定终点。

1. 终点确定

(1) $E-V$ 曲线法：以加入滴定剂的毫升数(V)为横坐标，电位计读数(E)为纵坐标，绘制如图 9-7(a)所示的滴定曲线。作两条与滴定曲线相切 45° 的直线，两切线间的平行等分线与滴定曲线的交点即为滴定终点。

以 0.1mol/L AgNO_3 溶液滴定 NaCl 溶液为例，银电极为指示电极，饱和甘汞电极为参比电极，滴定过程的电位值如表 9-5。

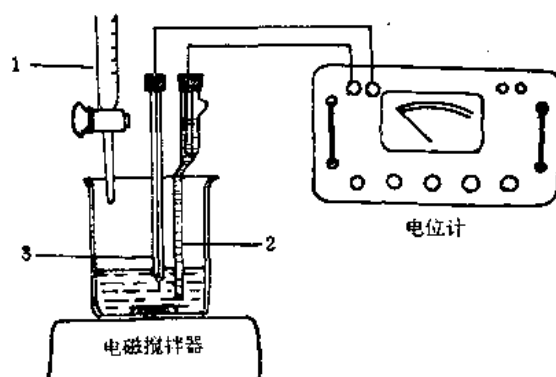


图 9-6 电位滴定装置

1——滴定管；2——参比电极；3——指示电极

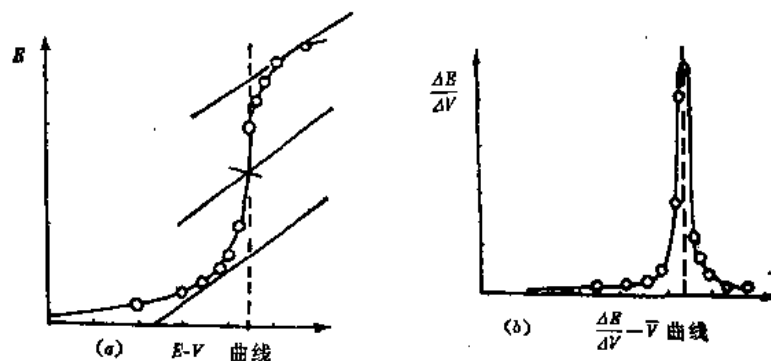


图 9-7 终点判断示意图

(2) 一级微商法：即 $\Delta E/\Delta V - \bar{V}$ 曲线法，当终点电位突跃变化不明显，用 $E-V$ 曲线法不易确定终点时，可采用此法。是以每单位滴定体积的改变所引起的电位改变($\Delta E/\Delta V$)对相邻滴定体积的平均值($\bar{V}$)作图，即根据表 9-5 数据以 $\Delta E/\Delta V$ 作纵坐标，以 $\bar{V}$ 为横坐标绘制图 9-7(b)。曲线最高点所对应的电位为终点电位，虚线指示滴定终点的体积。从表 9-5 可见，在 24.30~24.40ml 之间，电位的增量为 830mV，为最大突跃，因此终点体积约为 24.35ml。

(3) 二级微商法：即 $\Delta^2 E/\Delta^2 V - V$ 曲线法，为了更准确地确定终点体积，可采用二级微商法， $\Delta^2 E/\Delta^2 V$ 即 $\Delta(\Delta E/\Delta V)/\Delta V$ ，为相邻的一次微商之差除以 ΔV ，根据表 9-5 的数据一级微商最大，二级微商等于零时，所对应的体积为滴定终点。即在 24.30—24.40ml 之间，必要时，可用内插法计算其准确终点体积。

$V(\text{ml})$	24.30	V_0	24.40
$(\Delta^2 E/\Delta^2 V)$	4 400	0	-5 900

$$(24.40 - 24.30) : (-5\,900 - 4\,400) = (V_0 - 24.30) : (0 - 4\,400)$$

$$V_0 = 24.30 + \frac{0 - 4\,400}{-5\,900 - 4\,400} \times 0.1$$

$$V_0 = 24.30 + 0.043 = 24.34(\text{ml})$$

滴定达到终点时，消耗滴定剂的体积为 24.34ml。

表 9-5 AgNO₃ 滴定 NaCl 的数据

加入 AgNO ₃ 体积 (ml)	E (mV)	ΔE (mV)	ΔV (ml)	ΔE/ΔV ① (mV/ml)	V (ml)	Δ ² E/Δ ² V ②
23.80	161					
		13	0.20	65	23.90	
24.00	174					
		9	0.10	90	24.05	
24.10	183					
		11	0.10	110	24.15	
24.20	194					2 800
		39	0.10	390	24.25	
24.30	233					4 400
		83	0.10	830	24.35	
24.40	316					- 5 900
		24	0.10	240	24.45	
24.50	340					- 1 300
		11	0.10	110	24.55	
24.60	351					- 400
		7	0.10	70	24.65	
24.70	358					- 100
		15	0.30	50	24.85	
25.00	373					
		12	0.50	24	25.25	
25.50	385					

注：①ΔE/ΔV 算法，当加入 AgNO₃ 从 24.30 ml—24.40 ml 时：

$$\Delta E/\Delta V = \frac{E_{24.40} - E_{24.30}}{24.40 - 24.30} = \frac{316 - 233}{0.1} = \frac{83}{0.1} = 830$$

②Δ²E/Δ²V 算法，当加入 AgNO₃ 为：

$$\frac{\Delta^2 E}{\Delta^2 V} = \frac{(\Delta E/\Delta V)_{24.35 \text{ ml}} - (\Delta E/\Delta V)_{24.25 \text{ ml}}}{24.35 - 24.25} = \frac{830 - 390}{0.1} = 4 400$$

2. 农药分析中常用的电位滴定类型

(1) 中和滴定：一般选用饱和甘汞电极作参比电极，玻璃电极作指示电极，用 pH 计测定溶液的 pH 值作纵坐标，滴定体积作横坐标绘出曲线或上述二次微商法确定终点，前述容量法中可以使用酸碱滴定来测定其含量的农药，都可使用电位滴定法。氨基甲酸酯农药如速灭威、仲丁威、异丙威、甲萘威、涕灭威和克百威等，采用薄层-定胺法时，最后以盐酸标准溶液滴定水解生成的甲胺，接近终点时，每次准确加入 0.1ml、用二次微商法求出终点。

(2) 沉淀滴定：在农药分析中常用银量法，是以银电极为指示电极，饱和甘汞电极作参比电极，以硝酸银作标准溶液，可测 Cl⁻、Br⁻、I⁻、CNS⁻等离子。由于其它氯离子有干扰，甘汞电极不能直接插在待测溶液中，用硝酸钾盐桥将待测溶液与甘汞电极分开，根据滴定的电位跃迁确定等当点，计算出待测溶液的浓度。在第一节中讨论的可用容量法进行沉淀滴定的农药均可采用电位法。如敌敌畏样本经薄层板分离及碱解后，将有效成分溶于水及乙醇中，加 1+3 硝酸中和至甲基橙转红，并过量 2—3 滴，插入银-甘汞电极对，接电位计，在搅拌下用 0.01mol/L 硝酸银标准溶液滴定，接近终点时，每次准确滴入 0.1ml，以二次微商法求出终点，如氯菊酯用氢氧化钾乙醇溶液水解后，先用 1—3 硝酸中和至甲基橙变红并过量 2—3 滴，插入银-甘汞电极对，接电位计，用 0.01mol/L 硝酸银标准溶液滴定，以二次微商法求终点，在测定溴氰菊酯，氯氰菊酯，氰戊菊酯及百菌清等农药时，电位滴定条件与氯菊酯相同，但在加硝酸中和后，必须加 5ml 甲醛以除去—CN 基的干扰，否则结果偏高。

(3) 氧化还原滴定：在第一节容量分析法可进行氧化还原滴定的农药，都可以用电位滴定法完成。一般用铂电极作指示电极，甘汞电极作参比电极。为了响应灵敏，铂电极的表面必须洁净光亮。

(4) 非水滴定法：可进行非水滴定的农药如二嗪磷、抗蚜威、三唑酮等经薄层分离后，用氯仿和乙酸酐将有效成分洗入 50ml 干燥烧杯中，加 5ml 冰乙酸，1 滴结晶紫指示剂，以玻璃电极为指示电极和甘汞电极为参比电极，甘汞电极的夹层中放 1mol/L 乙酸钠的冰醋酸溶液，接通精密电位计，用高氯酸标准溶液滴定，临近终点结晶紫由紫变蓝色时，每次加 0.1ml 标准溶液并记录电位变化，用二次微商法求出终点。

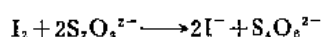
(五) 永停滴定法

它又称死停滴定法，是将两支相同的铂电极插入待测溶液中，在两个电极间另加一小电压(10—200mV)，然后进行滴定。观察滴定过程中两个电极间的电流变化，根据电流变化情况确定滴定终点，所以此法属于电流滴定范畴。永停滴定法装置简单，准确度高，容易确定终点，是重氮化法和卡尔·费休(Karl Fisher)水分测定法确定终点的法定方法。

当溶液中同时存在氧化还原电对，如 I_2 与 I^- 在溶液中同时插入相同的两支铂电极时，由于电极电位相等，其电动势等于零。若在两电极间外加一小电压，则接正端的铂电极将发生氧化反应： $2I^- \rightleftharpoons I_2 + 2e^-$ 。接负端的铂电极上将发生还原反应： $I_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2I^-$ 。溶液中进行电解反应，并有电流通过。这种外加很小电压就能产生电解反应的电对称可逆电对。若溶液中的电对是 $S_4O_6^{2-}/S_2O_3^{2-}$ 时，阳极可以发生还原反应： $2S_2O_3^{2-} \longrightarrow S_4O_6^{2-} + 2e^-$ ，而阴极不能发生氧化反应，这种电对称为不可逆电对，外加很小的电压不能产生电解反应。

不同电对间反应不同，有三种不同的电流变化情况，其终点判断亦不同。在农药分析中主要使用以下两种：

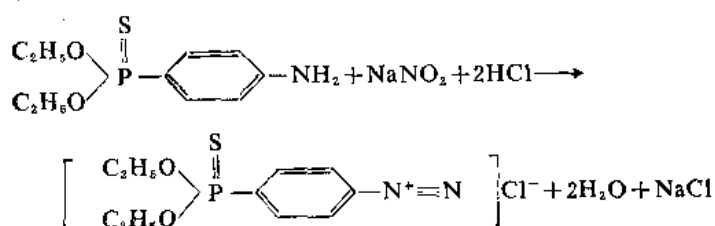
(1) 滴定剂是可逆电对，被测物是不可逆电对，如用碘滴定硫代硫酸钠。



等当点前，溶液中只有不可逆的 $S_4O_6^{2-}/2S_2O_3^{2-}$ 电对，它不发生电解反应，电极间没有电流通过，当到达等当点并过量半滴 I_2 后，溶液中存在 $I_2/2I^-$ 可逆电对，电极上即发生电解反应，溶液有电流通过，即可指示终点到达。等当点后， I_2 不断增加，电流不断增大，如图 9-8(a)。

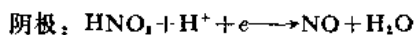
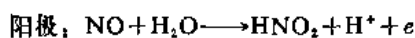
(2) 滴定剂为不可逆电对，被测物为可逆电对，如硫代硫酸钠滴定碘。等当点前溶液中存在 $I_2/2I^-$ 电对，有电流通过但逐渐减小，当滴定至等当点过量一点时， I_2 则全部变 I^- ，没有可逆电对，无电解发生，电流降到最低点，指示终点到达，如图 9-8(b)。

在上面讨论的亚硝酸钠滴定法，可以采用永停法确定终点，比使用内外指示剂都准确方便。如用 $NaNO_2$ 标准溶液滴定， $-NO_2$ 基被还原成 $-NH_2$ 基的对硫磷：



终点前溶液中不存在可逆电对，电流计指针停止在零位不动，达到终点并稍有过量

NaNO_2 ，则溶液中 HNO_2 及其分解产物 NO 作为可逆电对同时存在，两个电极上起如下的电解反应：



电路中有电流通过，电流计显示偏转并不再回到零位。

在进行卡尔-费休法测定微量水分时，采用永停法指示终点，比用碘作为自身指示剂更加准确方便，样品中的水与卡尔-费休滴定剂起如下反应：

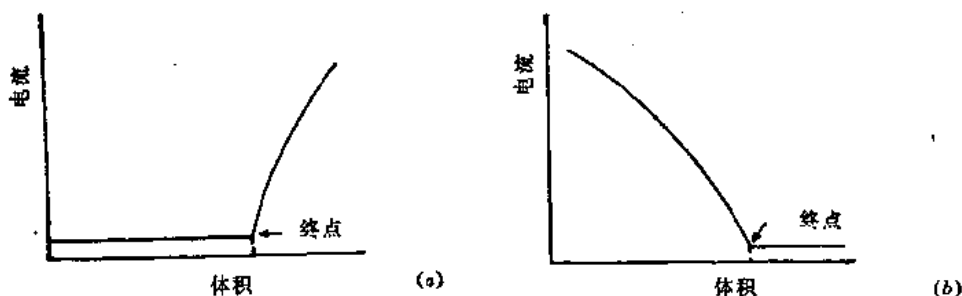
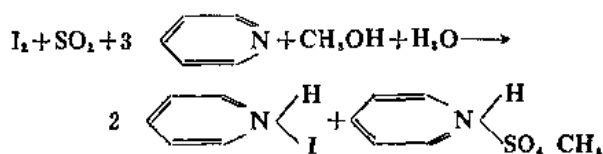
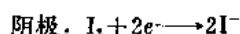
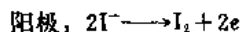


图 9-8 永停滴定法的滴定曲线



终点前溶液中不存在可逆电对，电流指针停止在零位不动。达到终点并稍有过量的 I_2 ，则溶液中便有 I_2 及 I^- 可逆电对同时存在两电极上起如下反应：



电路中有电流通过，电流计指针显示偏转并不再回到零位。

永停滴定法的仪器装置如图 9-9 所示。 B 为 1.5V 干电池， R 和 R_1 为变阻器， R 的电阻约 5000 Ω ， R_1 的电阻约 500 Ω ， G 为电流计， R_2 为电流计的分流电阻，可调节电流计的灵敏度， E' 、 E 是两个完全相同的铂电极。滴定开始时，先用 R_1 调节适当的外加电压（约几毫伏至几十毫伏），使溶液中通过电流，滴定时不断记录电流表数值，绘制滴定曲线确定终点。

(六) 电位滴定分析农药时电极的选择

电位滴定分析农药时电极的选择可参考表 9-6。

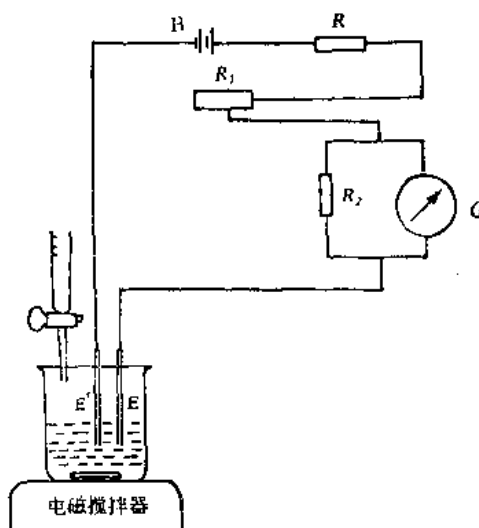


图 9-9 永停滴定法的装置

表 9-6 电 极 选 择 参 考

滴定方法	电极系统 (指示·参比)	说 明
1. 水溶液中和法	玻璃-饱和甘汞	(1) 玻璃电极, 使用前须在水中浸泡 24 h 以上; (2) 饱和甘汞电极, 应保证氯化钾溶液的饱和, 并注意电极液络部不被沾污或堵塞, 并保持液络部适当的渗出流速;
	铂-饱和甘汞	(3) 铂电极使用前用细砂纸将表面擦亮, 使用后应冲洗并擦干。
2. 氧化还原法	铂-饱和甘汞 铂-钨	(1) 铂电极使用前须注意铂表面不能有油污物质, 必要时在丙酮或铬酸洗液内浸洗后, 再用水清洗干净。
3. 银量法	银-饱和甘汞 (217型)	(1) 银电极在使用前用细砂纸将表面擦亮, 然后浸入含有少量硝酸钠的稀硝酸 (1:1) 溶液中, 直到有气体放出为止, 取出用水冲洗干净;
		(2) 饱和甘汞电极应采用双盐桥类型, 盐桥套管内装饱和硝酸铵或硝酸钾溶液。
4. 非水溶液酸量法	玻璃-饱和甘汞 (冰乙酸作溶剂)	(1) 玻璃电极使用后, 应立即清洗, 并浸于水中保存;
		(2) 饱和甘汞电极, 亦可采用双盐桥类型, 盐桥套管内装饱和氯化钾的无水乙醇溶液。
5. 非水溶液碱量法	玻璃-饱和甘汞(醇或乙腈作溶剂) 铂-玻璃(乙二胺、正丁胺等碱性溶剂)	(1) 玻璃电极或饱和甘汞电极的用法同非水溶液酸量法;
		(2) 铂电极为指示电极, 使用前用细砂纸将电极表面擦亮, 使用后应冲洗及擦干。

引自参考文献[6]。

第十章 极谱分析法

一、概 述

极谱分析法是捷克化学家海洛夫斯基(J. Heyrovsky)于1922年首先提出的一种电化学分析方法。方法的基础在于可还原或可氧化的物质在电解池中用滴汞电极进行电解时所获得的电流-电压曲线的特异性。通过对电流-电压曲线的解析,不仅可以确定某种物质的存在,而且可以测定溶液中相应物质的浓度。目前,极谱法可以分析几乎所有的无机元素和许多不同类型的有机化合物。

最近几十年来,极谱法在理论、仪器设备和分析技术等方面都有了很大的发展。出现了许多新型工作电极,如固体电极、振动电极、旋转电极等;另外,获得极化曲线的方法也有创新,如在原直流极谱法的基础上出现了极谱溶出法、催化极谱法、示波极谱法、方波极谱法、脉冲极谱法等。因此,人们把一切基于研究电流-电压曲线特性而建立起来的分析方法统称为“伏安法”。

极谱法分析时所需样品量少,灵敏度高,适合于测定物质浓度范围为 $10^{-2} \sim 10^{-5} \text{ mol/L}$,近代极谱法的灵敏度甚至可以达到 10^{-11} mol/L ,由于电解时通过的电流很小(通常小于 $100 \mu\text{A}$),所以分析完毕以后,试液的组成基本没有改变,需要时可以重复测定几次。极谱法分析速度快,操作方便,易于实现自动化。

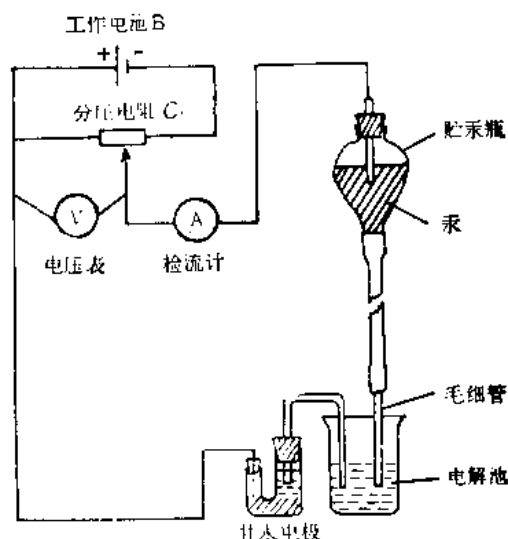


图 10-1 极谱分析的基本装置

(一) 极谱法的一般过程和极谱图

极谱法的基本装置如图10-1所示。电解池的一个电极为滴汞电极,此电极的上端为一贮汞瓶,瓶中的汞通过塑料管进入毛细管(内径约 0.05 mm)。再由毛细管一滴一滴地有规则地滴落。这种电极的特点是表面积很小,电解时电流密度很大。另一个电极为大面积汞层电极(或为甘汞电极)。汞层电极与电池的正极相连。滴汞电极通过一灵敏的检流计与电位器的接触键相连,这时滴汞电极为阴极,甘汞电极为阳极。如在进行甲基对硫磷极谱分析时,先将其配制成电解液,放入电解池中,通入纯净的氮气或氢气除去溶液中的溶解氧,然后使汞滴以 $2-3 \text{ 滴}/10 \text{ s}$ 的速度滴下,转动分压电阻C的接触键,自左使其向右逐渐而均匀地移动,此时工作电池B施加给两电极上的电压自零逐渐增加到 -1.2 V 左右,记录下各个不同电压时的电流值。以电压为横坐标,电流为纵坐标,即可得到甲基对硫磷的电流-电压曲线($i-E$ 曲

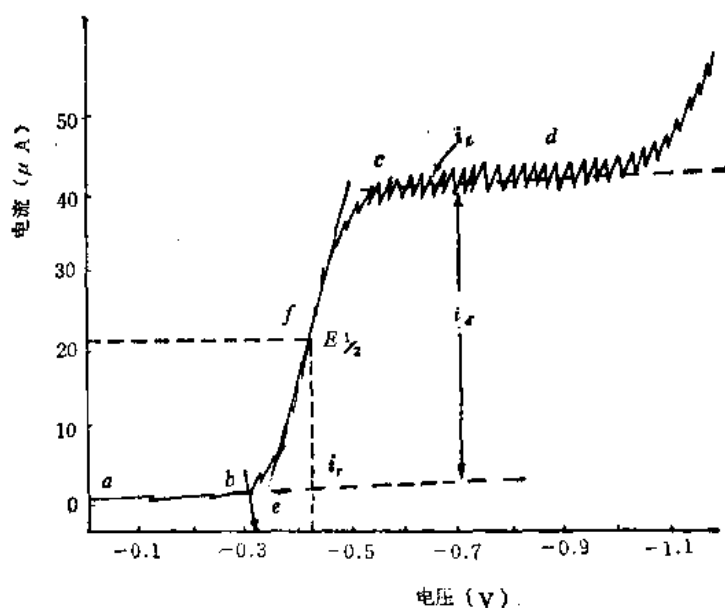


图 10-2 甲基对硫磷的极谱图

线)。

由上述极谱条件下得到的 $i-E$ 曲线称为“极谱图”或简称“极谱”。如图 10-2 所示, 当滴汞电极上的负电压开始增大时(约 $0 \sim -0.3$ V), 此时只有极微弱的电流通过, 相当于曲线的 $a-b$ 部分, 这种电流通常称为残余电流 i_r 。滴汞电极上的负电压达到分解电压(e 点)后再增加时, 在 $-0.35 \sim -0.5$ V 范围内电流增加很快, 这是由于甲基对硫磷中的硝基被滴汞电极还原为胺基时所产生的电流。当电压再增加到一定数值时, 电流将不再随外加电压的增加而增加, 保持为一恒定值时, 此时的电流称为极限电流 i_L (图 10-2 中 $c-d$ 部分)。极限电流 i_L 减去残余电流 i_r 后的值, 称为极限扩散电流, 用 i_d 表示。该电流的大小与甲基对硫磷的浓度成正比, 因此, 它是定量分析的基础。当扩散电流等于极限电流一半时的电位, 称为半波电位 $E_{1/2}$, 即极谱图 10-2 中的 f 点。不同的物质有不同的半波电位, 其数值一般不随物质浓度的改变而改变。因此, 半波电位可以作为定性分析的依据。

(二) 基本原理

极谱就是极化曲线的简称。电解时电解池中每一个电极都有它的极化曲线, 这一曲线是与在该电极上进行电极反应的离子有关的。极谱分析正是利用它在特殊条件下的电解所得到的特殊形状的极化曲线来进行定性和定量测定的。

滴汞电极的表面积很小, 在电解时, 电流密度很大, 电极反应的速度很快, 由于不进行搅拌, 电极附近的离子浓度就会迅速地降低, 造成电解过程中电极附近溶液浓度和本体溶液(指离开电极较远, 浓度均匀的溶液)的浓度产生了差别, 而引起了很大的浓差极化。

极谱分析时, 滴汞电极表面的一层离子存在浓差现象, 在电极表面形成一个扩散层, 这是很薄的一层溶液(约为 0.05 mm), 包围在电极表面。在扩散层内, 电极表面上的离子浓度 C^0 取决于电位; 在扩散层的外面, 本体溶液中的离子浓度为 C 。由于本体溶液中的离子浓度与电极附近溶液的离子浓度不同, 本体溶液中的离子就向电极表面扩散, 扩散速度显然与浓

差有关,即:

$$\text{扩散速度} \propto (C - C^0)$$

由于扩散电流的大小取决于电极表面离子的扩散速度,即单位时间内有多少离子扩散到电极表面就有多少离子起反应,从而产生相应大小的电流。因此,

$$i_d \propto (C - C^0)$$

当外加电压继续加入,使电极的电位变得更负时,作为一种极限情况,如果 C^0 降低到相对于 C 可以忽略不计的程度(即 $C^0 \rightarrow 0$),此时扩散电流取决于本体溶液的浓度,即使以后再增加外加电压,扩散电流也不会增加,极谱出现一个平台。该电流即为极限扩散电流,其大小与待测溶液中的离子浓度成正比,这就是极谱定量的基础。即:

$$i_d = KC$$

滴汞电极上的扩散电流可以用尤考维奇(Ilkovic)方程式表示:

$$\bar{i}_d = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C$$

式中: $\bar{i}_d$ 平均扩散电流,单位为 μA ;

n 电极反应的电子数;

D 电极上起反应的物质在溶液中的扩散系数,单位为 cm^2/s ;

m 汞流速,单位为 mg/s ;

t 滴汞周期,单位 s ;

C 电极上起反应物质的浓度,单位为 $mmol/L$ 。

在使用同一毛细管及相同溶液介质时,则 $n, D^{1/2}, m^{2/3}, t^{1/6}$ 均为常数,所以 i_d 与 C 成正比。

(三) 干扰电流及其消除方法

1. 残余电流 在极谱分析过程中,外加电压虽然未达到待测物质的分解电位,但仍有微弱的电流通过待测溶液,这种电流称为残余电流。如图 10-2 中的 a-b 段。残余电流一般是很小的(约十分之几 μA),但在进行高灵敏极谱测定时,其干扰是不容忽视的。

残余电流产生的原因是因为待测溶液中存在的微量易还原的杂质以及电容电流所引起的。一般多用作图法加以扣除,或使用仪器的残余电流补偿装置予以消除。

2. 迁移电流 正如上述,待测物质的离子在滴汞电极上被还原,由于浓差极化,使得溶液中的待测离子受扩散力的作用而向电极表面附近扩散。但是,待测离子除了受扩散力作用外,还受到电极上产生的静电作用的影响。正是由于这种作用,使得在一定时间内,有更多的待测离子趋向滴汞电极表面而被还原,因而观察到的电流比实际产生的扩散电流要高。这种由于电极上产生的静电作用而使得待测离子趋向电极表面,并在电极上还原所产生的电流称为“迁移电流”。迁移电流与待测离子的浓度不成正比关系,故必须加以消除。

如果向电解池中加入大量的电解质,电解质在溶液中电离为正离子和负离子,滴汞电极对所有的正离子都有静电吸引力,在大量电解质存在的情况下,作用于待测离子的静电吸引力就会大大地减弱,以致于由于静电吸引力引起的迁移电流趋近于零,从而达到了消除迁移电流的目的。

加入的电解质称为“支持电解质”,其极化电位必须在同一条件下,比待测离子的极化电位高 0.2 V 以上。其用量为待测物质的 80—100 倍。常用的支持电解质有 $NaCl, KNO_3, KCl, NH_4Cl, HCl, (CH_3)_4NBr$ 等。

3. 极大现象 在极谱分析中,常有一种特殊的现象发生:极谱波达到极限电流值以后仍迅速增长到一个极大的值,然后又迅速下降到极限电流值,形成一个突起的异常电流峰,如图 10-3 所示。这种不正常的峰形电流称为“极大电流”或“极谱极大”。

极大的形状没有一定,多数的情况是形成高耸的波峰(如图 10-3 ,a),有时则波峰较为平

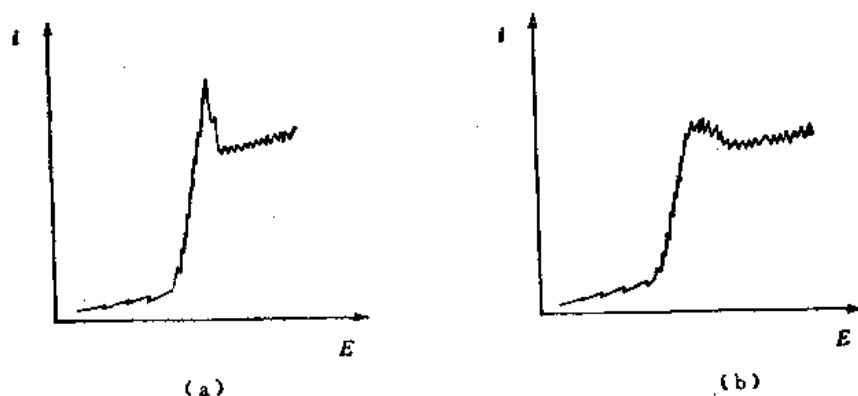


图 10-3 极谱极大
(a) 第一类极大; (b) 第二类极大

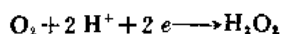
坦或呈弧状(如图 10-3 ,b)。极大也和 $i-E$ 曲线上的其它部分一样具有再现性,并且总是在一定电位下出现,其电流也是固定的。极大的高度与待测离子的浓度有关,但它的大小与待测离子的浓度没有简单的数学关系。极大的出现对极谱分析不利,它影响扩散电流和半波电位的准确测量,故应加以消除。

极谱极大可以通过在溶液中加入极少量的所谓“极大抑制剂”,即可有效地抑制极大电流的产生。常用的极大抑制剂有动物胶、甲基红、聚乙烯醇等。极大抑制剂的用量一般在 0.01% 以下,过多会降低扩散电流。因此在保证不发生极大的情况下,应尽量少用抑制剂。

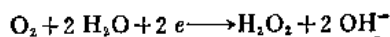
4. 氧波 溶解在溶液中的氧能在滴汞电极上发生电极反应而产生极谱波,称为氧波。在室温时,氧在水溶液中的溶解度约为 8 mg/L,当进行电解时,氧在滴汞电极上被还原,产生两个极谱波。

第一氧波发生在约 $-0.2 V_{\text{SCE}}$,其电极反应为:

酸性溶液中:

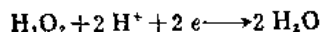


碱性或中性溶液中:

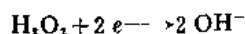


第二氧波发生在约 $-0.9 V_{\text{SCE}}$,其电极反应为:

酸性溶液中:



碱性或中性溶液中:



两个还原波将重叠在待测物质的极谱波上而干扰测定,因此应该预先除去。具体的方法有:

还原法:在溶液中加入适当的还原剂,使 O_2 与之化合而被除去。在酸性溶液中可以加入铁粉、抗坏血酸等;在中性或碱性溶液中,常加亚硫酸钠。

通气法：在溶液中通入纯 N_2 或纯 H_2 ，在酸性溶液中还可以通入 CO_2 。有机农药的极谱测定多数是采用这种方法。

二、极谱定性和定量分析方法

(一) 极谱定性分析原理

每一种反应物质的极化曲线都具有不同的特征；电极电位到达分解电压时开始观察到明显的电解电流，这一特征与离子的本性有关，因此可以利用这一特征作为定性分析的根据。但是这一特征又和反应物质的浓度有关，对于在电极上进行还原的物质，其浓度愈高，愈易还原，分解电压就愈正。为了解决这一问题，有必要研究极谱波的电流与滴汞电极电位之间的数学表达式，即极谱波方程式。如下式所示。

$$E_{d.e.} = E_{1/2} + \frac{2.303 RT}{nF} \log \frac{i_d - i}{i} \quad (10-1)$$

式 (10-1) 称做半波电位方程式。对数项前面取正号时为还原波方程式，取负号时为氧化波方程式。由上式可见，半波电位与溶液的浓度没有关系，是一个常数，是起电极作用的该种物质的固有属性。在含有不同离子的溶液中，某一离子的半波电位的数值与该离子单独在同一支持电解质溶液中存在时的半波电位的数值相同，两种物质的半波电位相差在 100 mV 以上，就可以在极谱图上很清楚地分开。因此，半波电位是极谱法定性分析的基础。

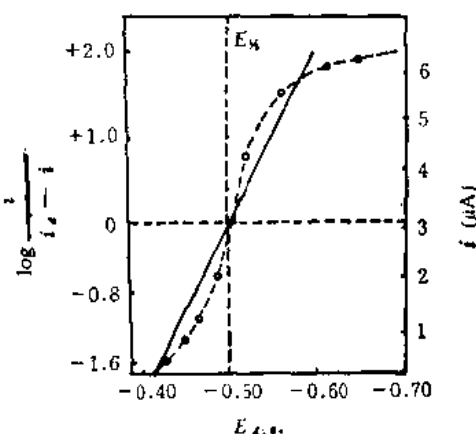


图 10-4 半波电位的测定

半波电位可由极谱图上查得，这种方法比较粗略。如果要准确测定半波电位，可以根据半波电位方程式 (10-1) 找出当 $\log \frac{i_d - i}{i}$ 等于零时的电极电位。通常以 $\log \frac{i_d - i}{i}$ 为纵坐标、 $E_{d.e.}$ 为横坐标绘图，得一直线，在此直线上当 $\log \frac{i_d - i}{i} = 0$ 时一点的电位即为半波电位。图 10-4 为 Tl^+ 离子在 0.9 mol/L KCl 溶液中所得的 $i-E_{d.e.}$ 曲线和 $\log \frac{i_d - i}{i} - E_{d.e.}$ 图。

从式 (10-1) 可以看出，当 $i = \frac{i_d}{2}$ 时，

$$\log \frac{i_d - i}{i} = 0$$

所以，

$$E_{d.e.} = E_{1/2}$$

可以认为半波电位相当于这种物质的滴汞电极体系的标准电位。从原理上看极谱分析可以进行定性分析，但是所有物质的半波电位都很接近，它们的氧化还原电位都只集中在很窄的范围 (3~4 V) 内，而且其电位又与溶液的体系有关，所以，除少数情况外，很少应用极谱法

来进行定性分析。然而,通过半波电位可以了解在某种溶液体系下,各种物质产生极谱波的电位,因此在设计具体分析步骤,考虑其它共存物质的干扰时,就可以广泛地运用在各种溶液体系下各种物质的半波电位的知识。

(二) 极谱定量分析方法

由于扩散电流正比于溶液中待测离子的浓度,因此,通过极谱图中扩散电流的测量,即可计算溶液中待测离子的浓度。下面分别讨论扩散电流的测定和定量分析的方法。

1. 波高的测量方法 极谱图上,扩散电流 i_d 可由极谱波的波高 h 来代表,因此,扩散电流的测定亦即极谱波波高的测量。通常只需测量相对的波高,而不必测量扩散电流的绝对值。所以,准确地测量波高是保证分析结果准确度的重要条件之一。

测量波高的方法很多,这里介绍两种常用的方法:

(1) 平行线法:在波形良好的极谱图上,残余电流与极限电流相互平行。对于这类极谱图可以采用简便的平行线法:分别沿残余电流和极限电流的锯齿波纹中心作两条相互平行的直线 AB 和 CD ,两线间的垂直距离 h 即为波高,如图 10-5 所示。

平行线法简便易行,但由于实际工作中,极谱波的残余电流和极限电流常不平行,所以这种方法的应用受到一定的限制。

(2) 三切线法:通过残余电流、极限电流和扩散电流的波纹中心分别作三条直线 AB 、 CD 和 EF ,其中 EF 与 AB 交于 O 点, EF 与 CD 交于 P 点。由 O 点和 P 点分别作平行于横轴的平行线,此平行线间的距离 h 即为波高,见图 10-6。

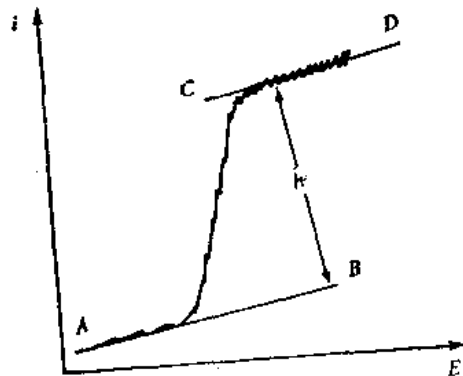


图 10-5 平行线法测量波高

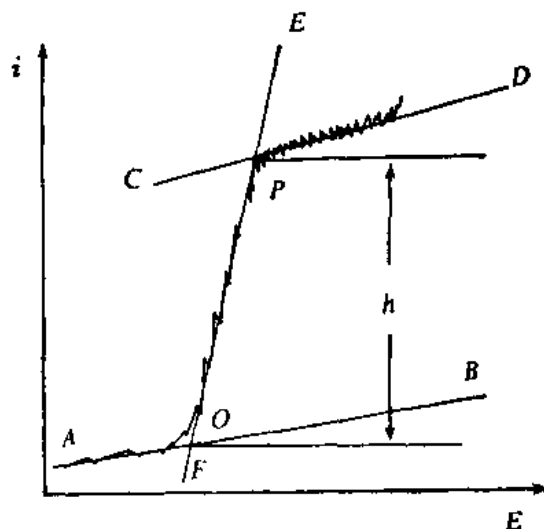


图 10-6 三切线法测量波高

2. 极谱定量方法 极谱定量分析的方法有很多种,但都是通过相同极谱条件下测得的标准溶液的波高和试样溶液的波高进行比较、计算而测定的。下面介绍三种常用的方法。

(1) 直接比较法:这个方法是将浓度为 C_s 的标准溶液和未知浓度为 C_x 的试样溶液,在同一实验条件下(电解液相同、温度相同、贮汞瓶高度和滴汞周期固定不变等),分别作出极谱图,测得波高 h_s 和 h_x ,则有:

$$h_s = KC_s$$

$$h_s = KC_s$$

两式相除, 得,

$$\frac{h_s}{h_x} = \frac{C_s}{C_x}$$

则:

$$C_s = \frac{h_s}{h_x} C_x \quad (10-2)$$

直接比较法简单易行, 适合于单个或少数试样的分析, 但这种方法要求试样溶液与标准溶液的浓度应当接近, 且最好能略低于标准溶液的浓度, 否则可能会有较大的误差。

(2) 工作曲线法: 又称标准曲线法。首先是配制一系列浓度递增的标准溶液, 在相同的实验条件下做出极谱图, 并测得波高。再以波高为纵坐标, 浓度为横坐标作图, 得一经过原点的直线, 如图 10-7 所示。然后在同一实验条件下对试样溶液进行测定, 测其波高, 并由工作曲线求出相应的浓度。如果所做工作曲线不超过原点, 应作空白试验给予校正。

工作曲线法适用于同一类大批试样的分析, 准确度也较直接比较法高。

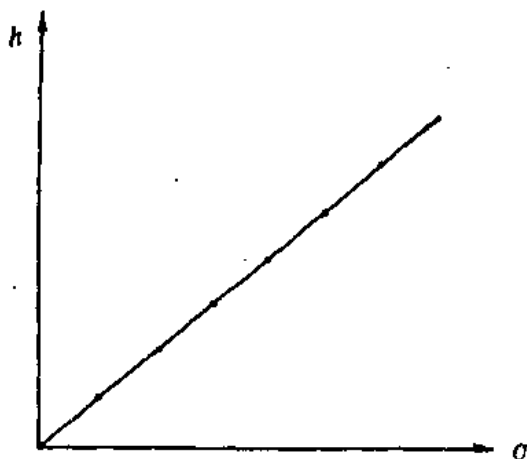


图 10-7 工作曲线 (波高-浓度曲线)

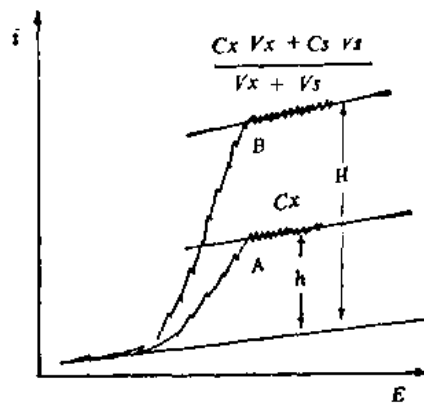


图 10-8 加入标准法的极谱图

A —— 未加入标准溶液的试液;
B —— 加入标准溶液的试液

(3) 加入标准法: 当分析个别样品时, 常采用这一方法。其方法是: 取体积为 V_x 的未知试样溶液, 做出极谱图, 测得波高为 h , 然后加入一定体积为 V_s 的相同物质的浓度为 C_s 的标准溶液, 在同一实验条件下做出极谱图, 并测得其波高为 H , 如图 10-8 所示。设未知试样溶液浓度为 C_x , 由扩散电流公式得:

$$h = kC_x$$

$$H = K \frac{V_x C_x + V_s C_s}{V_x + V_s}$$

由以上两式即可求得未知试样溶液的浓度 C_x (由于电解液浓度改变不大, 故可视 $h = K$)

$$C_x = \frac{C_s V_s h}{H(V_x + V_s) - h V_s}$$

用此法进行极谱分析时, 因为加入标准溶液的量很少, 故所引起的电解液浓度的改变可以忽略不计, 可视作两次极谱分析的实验条件基本一致, 所以准确度高。但加入标准溶液的量, 如果太少, 增加波高很小, 则测量误差大; 如果加入的量太多, 则不能在检流计的同一

灵敏度条件下记录,同时将会引起电解液浓度的改变,而对扩散电流产生一定的影响,造成较大的误差。

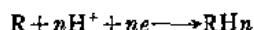
三、有机农药的极谱分析

有机化合物在微电极上的反应要比无机阳离子慢而且复杂,其极谱数据的理论解释也比较困难或根本无法解释。因此,为进行定量测定就必须更严格地了解其测定条件。

(一) 有机化合物极谱分析的特殊条件

有机化合物的微电极反应过程比较复杂,反应速度缓慢的居多,反应过程中易受干扰,波形易倾斜,所以其极谱测定条件除了要选择适当的电解液、合适的汞柱高度等以外,还必须考虑以下几个条件:

1. pH 值对极谱图的影响 有机化合物的电极过程通常包含有氢离子,最常见的反应可表示如下,



式中的 R 和 RH_n 分别是有机化合物的分子的氧化型和还原型。从上式可以看出,有机化合物的半波电位都明显地与 pH 值有关,而且, pH 值的改变经常会导致反应产物的改变。如五氯硝基苯在 pH 6 时,会产生两个很不规则的波;而在 pH 2.2 时只产生一个适合于定量分析的波。

应当强调的是电极过程消耗或者产生的氢离子往往会使得电极表面溶液的 pH 值发生变化,除非采用良好的缓冲溶液,否则在电解过程中电极表面膜内的 pH 值就会发生明显的改变。这些变化会影响反应的还原电位而导致极谱波轮廓不清和产生拖尾。因而,在电极过程中因 pH 值发生变化的地方,其扩散电流-浓度关系必定呈现非线性。所以,在有机化合物的极谱测定中,选用良好的缓冲溶液对于得到可重现的半波电位和扩散电流是很重要的。

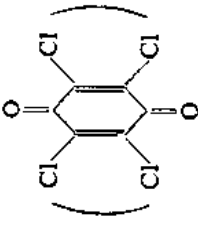
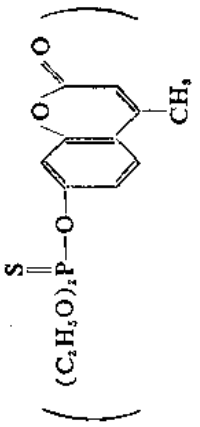
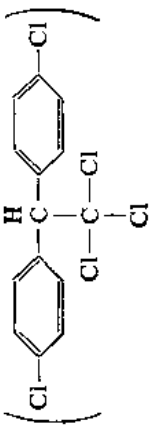
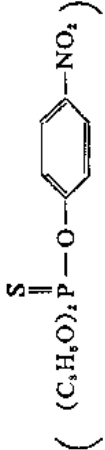
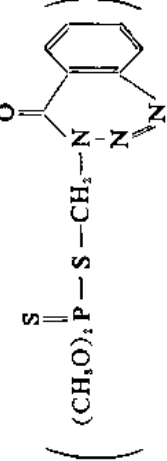
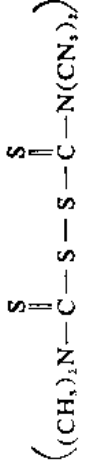
2. 温度对扩散电流的影响 为加速有机化合物的电极反应的速度,有机农药的极谱分析的温度一般都控制在 20—30°C。温度的变化对扩散电流是有影响的。因此,为使极谱波有良好的重现性,控温精度应 $< 0.5^\circ\text{C}$ 。

3. 溶剂的选择 配制有机农药极谱分析的电解液的一个重要问题就是选择适当的溶剂。由于多数农药不溶于水或微溶于水,因此,常使用有机溶剂,如 N, N-二甲基甲酰胺、乙腈(特别是在氧化反应中)、二甲基亚砷、乙醇或丙酮等。一般是采用两种方法:其一是采用有机溶剂,在惰性条件下,用锂盐或四烷基铵盐作支持电解质;其二是用水和与水能互溶的有机溶剂混合物。使用有机溶剂需要注意的是:首先,有机溶剂的使用会使构成的溶液的导电性很差,以致难于选择一个合适的支持电解质;其次,有机溶剂用量过多,会降低扩散电流。所以,在保证待测物质能够完全溶解的条件下,应尽量降低有机溶剂的比例。

(二) 极谱活性的条件

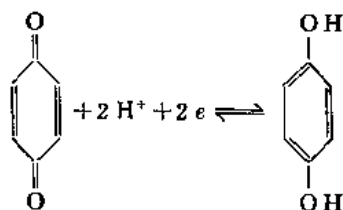
极谱活性是指待测物质在指示电极表面能够进行还原或氧化反应,亦即待测物质在指示电极表面获得电子或失去电子的能力。表 10-1 中列入了有机农药分析中常见的极谱活性基团。此外,还有如下一些规律:

表 10-1 某些极谱活性基团特性的示例

基 团	假 设 历 程	示 例
1,4-苯醌	可逆反应 $R + 2e + 2H^+ \rightleftharpoons RH_2$	四氯苯醌 
活化的 $C=C$ $>C=O$	不可逆反应 $R + e + H^+ \rightarrow RH$ 二聚物的形成	扑打散 
$C-X$	$RX + 2e + 2H^+ \rightarrow RH_2$	DDT 或 六六六 
$C-NO_2$	$RNO_2 + 4e + 4H^+ \rightarrow RNH_2OH$	对硫磷 
大多数的杂环中的 $C=N$	$+ 2e + 2H^+ \rightarrow CH-NH$	谷硫磷 
$R-S-S-R$ $R-SH$	$+ 2e + 2H^+ \rightarrow 2R-SH$ $+ Hg \rightarrow RSHg + e + H^+$	福美双 乙烯基双硫代氨基甲酸酯 

引自参考文献[31]

1. 可逆的电极反应 醌类：醌在滴汞电极上被还原，与其还原产物氢醌形成可逆的氧化还原电对，其电极反应为：



得到的还原波和氧化波的半波电位是相同的，见图10-9。

2. 不可逆的电极反应

(1) 单键类：单独的C—C单键(在碳原子上无其它取代基的基团)在滴汞电极可以达到的电压范围内通常是不能被还原的，但是有一个例外，就是C—CN中的C—C单键。如果在它的 α 位上引入吸电子基团，由于C—C键被活化，则可以被还原。例如，4-氨基吡啶和1,2-二氰基苯中的C—CN键，由于吡啶基和苯基而被活化，导致C—C单键断裂，生成

CN⁻离子或形成—CH₂NH₂。当然，这一反应能否进行还取决于电解液中的质子的效力。单独的C—N键的还原断裂只有在季铵盐阳离子参与的情况下，并且在很负的电位范围内才能发生，所以季铵盐常被用作支持电解质，而此时得到的电压范围也就很宽。单独的C—OH键也必须被活化才能够被还原，例如，当它与羰基结合而被活化即是如此。C—X(X为卤素)键的还原程度，在用半波电位值来表示时，将按照Cl<Br<I的顺序递增。而多卤化物的还原要比相应的单卤化物更容易一些。连位、双位取代的二卤化物的还原，如果没有接纳质子，则应生成一个新的双键。

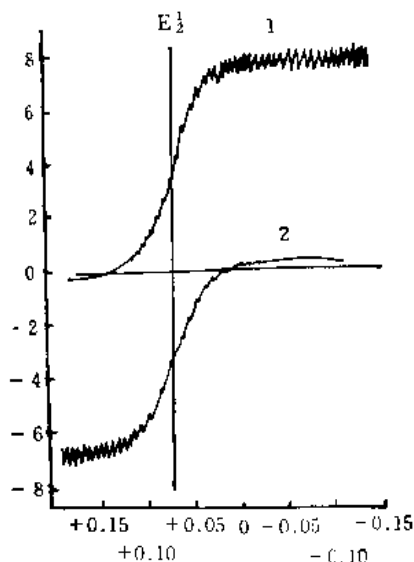


图 10-9 醌，氢醌极谱图 (pH=7.0)

1—— 1×10^{-3} mol/L 醌的还原波；
2—— 1×10^{-3} mol/L 氢醌的还原波

(2) C=C双键：单独的C=C双键在滴汞电极可以达到的电位范围内同样是不能够被还原的。在与吸电子基团连结时，例如，与另一

双键或芳香环或不饱和基团共轭时，其还原就要容易一些。这一规律同样适合于C=C叁键。

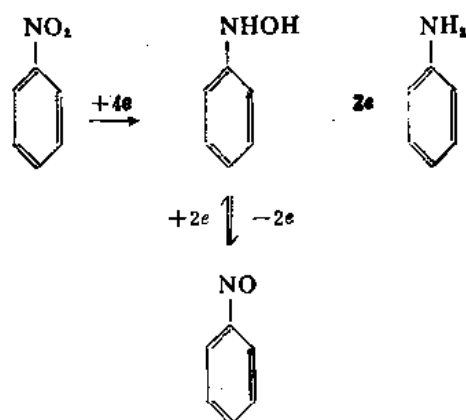
(3) 羰基：羰基的还原极易受到与其相连的取代基的影响。一般来说，酮类要比醛类在更负的电位处才能够被还原。连结在 α 位的氨基会促进羰基的还原，如果连结的是羟基，则羟基的还原断裂要比羰基的还原更容易进行一些。这些规律同样适合于硫酮类。

羰基的还原过程的第一步是得到一个电子，随后或是形成二聚物或是由于质子化的作用而进一步得到一个电子。依赖于不同的pH值，可以观察到一个一电子或二电子的极谱波(最终产物则分别是嘛哪醇或醇)。

酮的衍生物，如亚胺、肟或肼更容易被还原。

(4) 硝基：硝基(芳香烃硝基化合物较烷烃硝基化合物更多见)的还原产生一个四电子

波，生成相应的羟胺（或苯胺）。这一中间质子化的产物在更负的电位被还原生成相应的胺（或苯胺），并得到一个二电子的还原波。亚硝基苯得到二个电子被还原生成苯胺，并可以与苯胺形成可逆的氧化还原电对。



(5) C=N 双键：在极谱分析中，C=N 双键是较常利用的基团，比如上面提到的肟，以及该双键在杂环母核中的部分。其半波电位不仅由溶液的 pH 值来决定，还由环中杂原子所处的位置和取代基的特性来决定。

(6) 其它基团：其它的还原基团还有 C≡N、N—S、O—S、C—S、S—X 和 S—S 等。

(三) 间接极谱法

极谱法虽然是比较先进的分析方法，但它在有机化合物的分析测定上却有一定的局限性，因为，待测的有机化合物中如果不含有极谱活性基团就不能进行直接测定。因此，某些有机农药的分析测定就不得不采用间接极谱法。有机农药的间接极谱法常采用下面的几种方式：

1. 将待测物与试剂按要求进行化学反应，得到具有极谱活性的产物 最常使用的方法是在分子中引入硝基。硝基的引入既可以通过直接硝化，也可以通过在酸性介质中用苯酚与硝酸反应。西维因的极谱测定就是利用了这种方法。许多不能被还原的化合物，例如带有氨基的烷烃、醛和酮，以及伯胺、氨基脲等，都可以通过间接反应而使其生成更易还原的 C=N 基团。马拉硫磷在与强碱反应后生成的产物之一——反丁烯二酸钠因具有极谱活性而可以进行极谱测定。杀鼠灵只有在对质子有惰性的溶剂存在的条件下，于很负的电位才能被还原。但是，这一化合物由于在碱性介质中能与碘反应生成碘仿，因而极易被还原。

2. 酶抑制反应 有机磷和氨基甲酸酯类农药的极谱测定的一种特殊情况是利用酶抑制反应的间接方法。在含有醋酸-β-萘酯作基质的溶液中，这两类杀虫剂的存在抑制了血浆酯酶的活性，释放出的 β-萘酚进一步被亚硝酸钠和硫酸的混合物亚硝基化，生成的 α-亚硝基-β-萘酚能产生一个波形很好的四电子极谱波，其波高与杀虫剂的浓度成反比。物质的浓度是通过释放出另一种化合物后再进行一次化学反应而测定的，因此是一种二次间接测定方法。这种方法曾用于杀螟松和西维因的测定。

3. 极谱催化波的测定 羟基离子的还原催化波的测定也可以看作是一种间接方法。溶液中的羟基离子的还原在催化活性条件下很容易进行，产生催化还原波。这一方法的灵敏度比

具有极谱活性的普通极谱测定的灵敏度要高出1—2个数量级。但是这一方法具有很强的专一性，在农药的催化极谱法中，目前还仅见于尼古丁的测定。

最后需要指出的是间接测定方法的精确度要比普通的极谱法要低，通常在 $\pm 2\%$ — $\pm 5\%$ 。

(四) 试样的预处理

试样的预处理是农药进行极谱分析中的一个比较重要的问题。分析纯品是比较容易的，但是如果进行剂型分析，或者需要同时测定含有两种或者两种以上农药的混合物，就会有一定的困难。在前一种情况中，由于剂型中含有许多杂质，例如副产物、分解产物以及助剂等。这些杂质有的在指示电极上于稍负的电位就会产生还原波，有的会在电极反应过程中产生吸附；或者超前；或者发生平行的化学反应，这些都会给测定带来干扰。对于后一种情况，在直流极谱法中，如果两种化合物的半波电位之差小于100mV，产生的两个极谱波的分辨率较差，甚至完全不能分辨。因此，必须对试样进行预处理。

预处理的方法通常是用有机溶剂从样品中萃取待测物。目前，在农药的极谱分析中，已采用薄层色谱法作为对试样进行分离提纯的处理方法，既发挥了薄层色谱分离效果好的优点，又利用了极谱可以分析少量样品的特长。因此，在分析含杂质多的农药产品及分析混合农药制剂中，薄层色谱-极谱联用是很有应用价值的。

四、在农药分析中的应用

本节介绍有机农药的极谱测定。

(一) 含 氯 农 药

在这一类农药中，单一氯化物在滴汞电极电位范围内，可以接纳两个质子，产生一个二电子还原波。双位取代的二氯化物的还原不接纳质子而产生一个新的双键。表10-2列出了某些含氯有机农药的极谱测定条件。

(二) 含 硝 基 农 药

分子中含有硝基的农药是一类最适合于进行极谱分析的化合物，这是因为在酸性、中性或碱性溶液中，硝基(特别是芳香环上的)是很容易被还原的。由于可以接纳多个电子，并且可以获得很清晰的极谱波，因此能够进行低浓度的测量，甚至可以进行痕量分析。表10-3列出了某些含硝基的农药的极谱分析方法。

(三) 磷酸酯类农药

从这一类农药的化学结构来看，大部分均缺少极谱活性，下面仅举几例：

(1) 含有硝基的有机磷农药，见表10-3。

(2) 香豆素类有机磷农药(如扑打散)，是通过二聚物的形成而产生一个一电子还原波来测定的，见表10-1。

(3) 非电活性的有机磷农药，通过适当的化学反应而产生具有极谱活性的产物来测定(如马拉硫磷)，所以也是一类需要通过间接方法来测定的农药。

表 10-2 某些含氯有机农药的极谱测定条件

农药名称	电 解 液	$E_{1/2}$ (V vs. SCE)	附 注
六六六	50% C_2H_5OH + 1mol/L NaCl	-1.15	示波极谱法 (V vs. Ag-AgCl)
DDT	20% $(CH_3)_2CO$ + 30% C_2H_5OH + 0.2mol/L $(CH_3)_4NBr$	-0.73	
狄氏剂	40% $(CH_3)_2CO$ + 0.05mol/L $(CH_3)_4NBr$	-1.2	
艾氏剂	$(CH_3)_2CHOH$ + LiCl	-1.4	
异艾氏剂	$(CH_3)_2CHOH$ + LiCl	-1.4	为两个分离不明确的双 波, 定量测其总高度
三氯杀螨醇	50% C_2H_5OH + 0.2mol/L $(CH_3)_4NBr$	$\begin{cases} -0.65 \\ -0.85 \end{cases}$	
四氯苯醌	50% 二噁烷 + 0.1mol/L 酒石酸钠	-0.20	汞齐
二氯苯醌	50% 二噁烷 + 0.1mol/L 酒石酸钠	-0.51	
二氯甲烷	75% 二噁烷 + 0.05mol/L $(CH_3)_4NBr$	-2.23	
四氯化碳	75% 二噁烷 + 0.05mol/L $(CH_3)_4NBr$	$\begin{cases} -0.78 \\ -1.71 \end{cases}$	
三氯乙烯	75% 二噁烷 + 0.05mol/L $(CH_3)_4NBr$	-2.14	
1-氯萘	75% 二噁烷 + 0.05mol/L $(CH_3)_4NBr$	-2.35	

表 10-3 某些含硝基有机农药的极谱测定条件

农药名称	电 解 液	$E_{1/2}$ (V vs. SCE)	附 注
五氯硝基苯	50% CH_3OH + 0.2mol/L 醋酸盐缓冲液	-0.65	(V vs. Ag-AgCl)
	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.1mol/L 醋酸盐缓冲液	-0.58	
四氯硝基苯	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.1mol/L 醋酸盐缓冲液	-0.51	$\begin{cases} -0.26 \\ -0.67 \end{cases}$
二硝散	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.1mol/L 醋酸盐缓冲液	$\begin{cases} -0.26 \\ -0.67 \end{cases}$	
消螨普	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.1mol/L 醋酸盐缓冲液	$\begin{cases} -0.39 \\ -0.67 \end{cases}$	
氯硝散	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.1mol/L 醋酸盐缓冲液	$\begin{cases} -0.29 \\ -0.72 \end{cases}$	
三硝散	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.1mol/L 醋酸盐缓冲液	$\begin{cases} -0.18 \\ -0.72 \end{cases}$	(V vs. Hg)
对硫磷	50% $(CH_3)_2CO$ + pH4.8 醋酸盐缓冲液	-0.68	
甲基对硫磷	50% C_2H_5CO + 0.5mol/L KCl + 0.5mol/L HAc	-0.37	(V vs. Hg)
	50% $(CH_3)_2CO$ + pH4.8 醋酸盐缓冲液	-0.68	
氯硫磷	50% C_2H_5OH + 0.5mol/L KCl + 0.5mol/L HAc	-0.37	-0.56
	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.05mol/L KCl + 0.1mol/L HAc	-0.56	
异氯硫磷	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.05mol/L KCl + 0.1mol/L HAc	-0.55	-0.84
对硝酚	50% $(CH_3)_2CO$ + 0.05mol/L KCl + 0.1mol/L HAc	-0.84	
二氯硝铵	0.25mol/L NaOH	-0.55	
杀螟硫磷	60% 乙醇 + pH5 缓冲液		
乐散松	60% 乙醇 + pH5 缓冲液		记录0—1.8 V

(4) 某些硫赶式磷酸酯类农药(如乐果等), 经水解后生成巯基衍生物后, 与电极的汞离子生成络合物而产生阳极波。

表 10-4 是某些磷酸酯类有机农药的极谱测定条件。

表 10-4 某些磷酸酯类有机磷农药的极谱测定条件

农药名称	电 解 液	$E_{1/2}$ (V vs. SCE)	附 注
敌百虫	1mol/LKCl+pH6缓冲液	-0.68	
马拉硫磷	20% C ₂ H ₅ OH+1mol/L(CH ₃) ₄ NBr+0.2mol/LHCl +0.5mol/LNaH ₂ PO ₄	-0.07	加乙醇溶解后, 先加0.2 mol/LNaOH水解, 再加 支持电解质、缓冲液。
谷硫磷	50% C ₂ H ₅ OH+0.1mol/LNaCl+0.1mol/L邻苯二 甲酸氢钾		记录-0.5—-1.5V
辛硫磷	47.5% C ₂ H ₅ OH+0.1mol/LNa ₂ B ₄ O ₇ +0.2mol/LHCl		记录0—-1.65V
哒嗪硫磷	50% C ₂ H ₅ OH+pH1.4缓冲液	-0.90	(V vs. Hg)
二嗪磷	0.1mol/L(CH ₃) ₄ NBr+23% HAc	-0.90	(V vs. Hg)

(四) 酰亚胺类衍生物

这类农药的极谱测定见表 10-5。

表 10-5 某些酰亚胺类农药的极谱测定条件

农药名称	电 解 液	$E_{1/2}$ (V vs. SCE)	附 注
克菌丹	4% C ₂ H ₅ OH+16% (CH ₃) ₂ CO+1mol/LNaNO ₃ +pH4缓冲液	-0.14	
灭菌丹	4% (CH ₃) ₂ CO+16% C ₂ H ₅ OH+1mol/LNaCl +pH4缓冲液	-0.127	
亚胺硫磷	40% (CH ₃) ₂ CO+1mol/LNaCl+pH4缓冲液		记录-0.8—-1.6V

(五) 联吡啶阳离子类农药

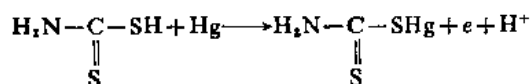
可以进行极谱测定的典型的三种四元联吡啶盐类除草剂为对草快、敌草快和伐草快。三种化合物在极谱测定中都产生两个一电子还原波, 第一个波是可逆波, 并且和溶液的 pH 值有关, 可以用来进行极谱定量测定。其产物是一个稳定的阳离子基团, 在除草机理中起着决定性的作用。测定方法见表 10-6。

(六) 含 硫 农 药

1. 二硫代氨基甲酸酯类农药 二烷基二硫代氨基甲酸酯类农药和乙撑——1, 2 双二硫代氨基甲酸酯类农药在直流极谱法中, 由于与来自滴汞电极的汞离子反应而产生一个一电子阳极波, 从而生成一个不溶性的盐;

表 10-6 四元联吡啶阳离子类农药的极谱测定条件

农药名称	电 解 液	$E_{1/2}$ (V vs. SCE)	附 注
对 草 快	pH8.3缓冲液	-0.69	
敌 草 快	pH8.3缓冲液	-0.61	
伐 草 快	pH8.3 缓冲液	-0.54	



由于这些化合物的不稳定性,在测定过程中,溶液的 pH 值不应低于 4。也可以利用这一类化合物中的金属阳离子进行极谱测定。例如,在合适的络合试剂(如氨)中,测定锌离子或亚铁离子的波。一些福美类农药的极谱测定方法见表 10-7。

表 10-7 某些福美类农药的极谱测定方法

农药名称	电 解 液	$E_{1/2}$ (V vs. SCE)
福 美 双	50% C ₂ H ₅ OH + 1mol/L NaCl + pH4 缓冲液	-0.43
福 美 锌	0.5mol/L NH ₄ Cl	-1.27

表 10-8 其它类型农药的极谱测定条件

农药名称	电 解 液	$E_{1/2}$ (V vs. SCE)	附 注
敌 磺 钠	0.05mol/L Na ₂ SO ₃		记录 0—-1.5 V
速 灭 威	10% C ₂ H ₅ OH + 1mol/L NaNO ₂		记录 0—-1.5 V
萎 锈 灵	5% 二甲基甲酰胺 + 20% C ₂ H ₅ OH + NH ₄ OH ⁻ Na ₂ B ₄ O ₇ 缓冲液		先在二甲基甲酰胺中硝化。 记录 0—-1.8 V
草 甘 膦	0.1mol/L HCl		用亚硝酸钠亚硝基化,然后用氨基磺酸钠与过量亚硝酸钠反应。 记录 -0.5—-1.5 V
抑 芽 丹	1mol/L NaCl + 0.1mol/L 邻苯二甲酸氢钾		记录 0—-1.2 V
除虫菊素	50% C ₂ H ₅ OH + 0.2mol/L (CH ₃) ₄ NBr + pH3.0 缓冲液	-1.25	
甲 萘 威	6.4% NaAc + 2.3% HNO ₃		用 65% HNO ₃ 硝化。 记录 +0.3—-0.8 V
杀 磷 脂	50% C ₂ H ₅ OH + 0.05mol/L (CH ₃) ₄ NBr + pH12 缓冲液	-1.45	

2. 杀虫双(单) 杀虫双水剂在 1mol/L NH₄Cl 电解液中可以产生三个极谱波,这三个波中由硫代硫酸钠产生的 A 波, $E_{1/2} = -0.34 \text{ V vs. SCE}$; B 波由沙蚕毒素产生, $E_{1/2} = -0.71 \text{ V vs. SCE}$; 由杀虫单钠盐产生的 C 波, $E_{1/2} = -1.05 \text{ V vs. SCE}$ 。极谱定量分析应以 B, C

波的总高度为定量依据。

3. 杀螟丹 杀螟丹也属于沙蚕毒素类农药,其碱解产物沙蚕毒素中的二硫醚键—S—S—能被滴汞电极还原。杀螟丹的异构体在碱性介质中与镍盐生成的络合物则很稳定,在滴汞电极上不被还原而不干扰杀螟丹的测定。

电解液为 12%CH₃OH+16%二甲基甲酰胺+0.2 mol/L(CH₃)₄NBr+pH10 缓冲液+氯化镍氨溶液, $E_{1/2} = -0.78V_{vs.SCE}$ 。

(七)其它类型农药

其它类型农药的极谱测定方法见表 10-8。

第十一章 农药理化性能测定法

农药质量如何,要从两方面去观察,一是有效成分含量是否与标明的含量相符;另一是其物理、化学性状是否符合规格标准的要求。如细度、乳化性、悬浮性、润湿性、含水量、酸碱度等。

本节方法大部分系国家标准中的测定法,适用于农药原药及其各种加工剂型的测定。

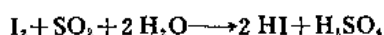
一、水分测定方法 (CB 1600-79)

本标准适用于农药及其各种加工剂型的水分测定。

(一) 化学滴定法(卡尔·费休法)

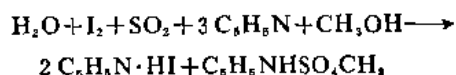
可采用目测终点法或永停电位终点法,而以永停电位终点法为标准方法。

1. 原理 基本原理是利用 I_2 氧化 SO_2 时,需要定量的 H_2O , 反应式为:



以上反应是可逆的,要使反应向右进行,需要加入适当的碱性物质以中和反应生成的酸,采用吡啶虽可满足此要求,又因其生成物很不稳定,能与水发生副反应,故尚需有醇存在以防止副反应之发生。

由上可知,滴定时的标准溶液是含有 I_2 、 SO_2 、 C_5H_5N 及 CH_3OH 的混合溶液。此溶液称费休试剂。该试剂中有吡啶与甲醇,能使反应顺利进行。同时 1 克分子碘能定量的只与 1 克分子水作用,反应式如下:



2. 试剂和溶液

(1) 无水甲醇:取 5-6 g 表面光洁的镁屑(或镁条)及 0.5 g 碘,置于圆底烧瓶中,加 70-80 ml 分析纯甲醇,在水浴上加热回流至镁屑全部生成絮状的甲醇镁,此时加入 900 ml 甲醇,继续回流 30 min, 然后进行分馏,在 64.5-65.0°C 收集无水甲醇。使用仪器应预先干燥,与空气相通处应连接装有氯化钙或硅胶的干燥管。

(2) 无水吡啶:分析纯吡啶,通过装有粒状氢氧化钾的玻璃管。管长 40-50 cm, 直径 1.5-2.0 cm。装入氢氧化钾使其高度为 30 cm 左右。处理后再进行分馏,收集 114-116°C 的馏分。

(3) 碘:重升华,并放在硫酸干燥器内 48 h 后再用。

(4) 硅胶:含变色指示剂。

(5) 二氧化硫:将浓硫酸滴加到盛有亚硫酸钠(或亚硫酸氢钠)的糊状水溶液的支管烧瓶中,生成的二氧化硫经冷阱(如图 11-1)冷至液状(冷阱外部加干冰和乙醇或冰和食盐混合)。使用前把盛有液体二氧化硫的冷阱放在空气中气化,并经过浓硫酸和氧化钙干燥塔进

行干燥。

(6) 酒石酸钠：分析纯。

(7) 费休试剂的配制：置 3.785 L 无水吡啶于细口瓶内，并在冷水浴中冷却，然后通入干燥的二氧化硫 755 g，此溶液为储备液。使用前三日取 680 g (660 ml) 贮备液置于 2.5 L 细口瓶中，加 893 g (1.13 L) 无水甲醇和 277 g 碘，摇动到碘全部溶解即封闭瓶口。此溶液每 ml 约相当于 5—5.3 mg 水。

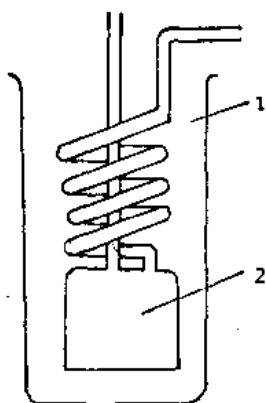


图 11-1 冷阱
1—广口保温瓶；2—250 ml 冷片

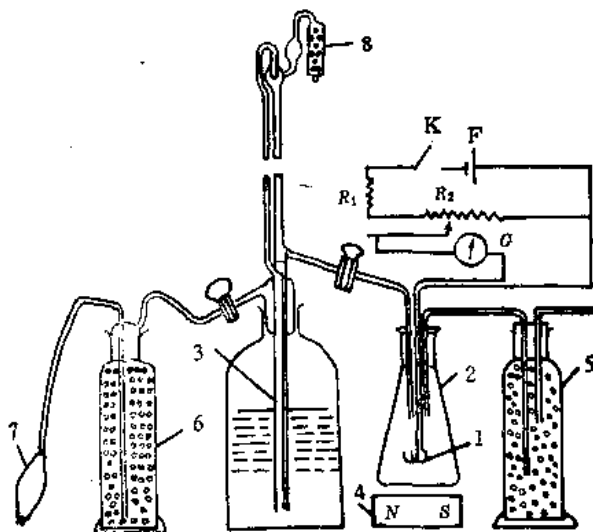


图 11-2 卡尔费休法测定水分装置
 R_1 ——2.5 k Ω 可变电阻； R_2 ——200 Ω 可变电阻； E ——1.5 V 电池； K ——开关； G ——0—100 μ A 电流表；
1——白金丝电极；2——磨口锥形瓶；3——10 ml 自动滴定管；4——电磁搅拌；5——盛有变色硅胶的洗气瓶；6——盛有变色硅胶的干燥塔；7——打气球；8——盛有变色硅胶的干燥管

3. 仪器和安装 秒表；冷阱；广口保温瓶；冷凝器；圆底烧瓶；支管蒸馏瓶；干燥塔；玻璃管；温度计。（见图 11-2）。

4. 终点的确定 采用目测终点法时，溶液由淡黄色滴定至转变为琥珀色即为终点，如测定有色物质或终点变化不明显时，应采用永停电位终点法。

取 50 ml 甲醇放入锥形瓶中，用费休试剂以 1 ml/min 的速度滴定之，当溶液由浅黄色转为浅棕色时，把开关 K 接通，继续滴定，每次加入 2—3 滴试剂，直到微安表指针停在某一位置，且 30 S 内不变化时，并调整 R_1 和 R_2 使指针指向微安表量程的三分之二，此处即为终点。

5. 费休试剂的标定

(1) 酒石酸钠为基准物：将 50 ml 甲醇放入锥形瓶中，用费休试剂滴至终点，此时迅速将 0.15—0.20 g（准确至 0.2 mg）酒石酸钠加入锥形瓶中，搅拌至完全溶解（约 3 min），然后以 1 ml/min 的速度滴加费休试剂至终点。

试剂浓度 C (mg 水/ml) 按下式计算。

$$C = \frac{36 \times m \times 100}{230 \times V}$$

式中：230——酒石酸钠的相对分子量；

36——二分子水的相对分子量；

m ——酒石酸钠的重量，(g)；

V ——消耗费体试剂的体积，(ml)。

(2) 水为基准物：将 50 ml 甲醇放入锥形瓶中，用费体试剂滴至终点，迅速用 0.25 ml 的注射器向锥形瓶中加入 35—40 mg 的水（准确至 0.2 mg），搅拌 1 min 后，用费体试剂滴定至终点。

试剂浓度 C (mg 水/ml) 按下式计算。

$$C = \frac{m \times 1000}{V}$$

式中： m ——称取水的重量 (g)；

V ——消耗费体试剂的体积，(ml)；

(3) 测定手续：将 50 ml 甲醇放入锥形瓶中，用费体试剂滴定至终点，迅速加入已称重的试样（准确至 0.01 g，含水约 5—15 mg）搅拌 3—5 min，然后以 1 ml/min 迅速滴加费体试剂至终点。读取消耗的费体试剂体积。

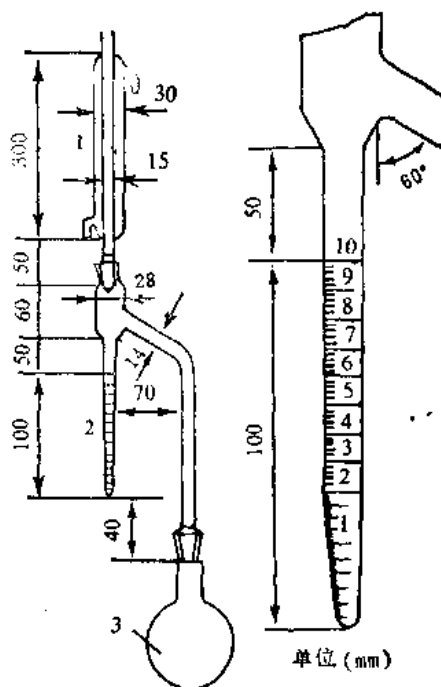
试样中水分百分含量(X)按下式计算。

$$X = \frac{C \times V \times 100}{m \times 1000}$$

式中： C ——费体试剂的浓度 [mg(水)/ml]；

V ——消耗费体试剂的体积，(ml)；

m ——试样的重量；(g)。



(二) 共沸蒸馏法

1. 试剂 甲苯：分析纯；苯：分析纯。

2. 仪器 水分测定器（见图 11-3）

图 11-3 共沸法水分测定器

1——直形冷凝器；2——受器；3——圆底烧瓶

3. 测定手续 将已称重的试样（准确至 0.01 g，含水约 0.3—1.0 g）放入圆底瓶中，加入 100 ml 甲苯（或苯）和数支长 10—12 cm 的毛细管，按图 11-3 所示安装仪器，加热回流速度为 2—3 滴/s。至接受器内水的体积不再增加时，再保持 10 min 后，停止加热。用拉细的玻璃管吸取少量的甲苯（或苯）冲洗冷凝器，直至没有水珠落下为止，冷却至室温，读取接受器内水的体积。

试样中水分百分含量(X)按下式计算。

$$X = \frac{V \times 100}{m}$$

式中： V ——接受器中水的体积，(ml)；

m ——试样的重量，(g)。

二、酸度测定法

很多农药的分解与 H^+ 或 OH^- 的浓度有直接关系，只有在一定的 pH 范围内才比较稳定。

且该范围因品种不同而异。

一般农药在中性或偏酸性物质中比较稳定，遇碱性物质极易分解失效。有机磷农药中，多数品种都具有这种特性。因此农药一般都不能与碱性物质接触。

但也有些农药，在酸性介质中不稳定，例如福美双、福美锌、退菌特等；遇酸性物质就会分解。

故酸（碱）度是农药质量指标之一。其测定方法如下：

（一）酸、碱滴定法

1. 试剂和溶液 丙酮：化学纯；氢氧化钠：分析纯，0.02 mol/L 标准溶液；盐酸：分析纯，0.02 mol/L 标准溶液；甲基红：0.2%溶液。

2. 测定手续 称取 10 g 样品（准确至 10 mg），置于 250 ml 锥形瓶中，加 25 ml 丙酮，待样品溶解后加 75 ml 中性蒸馏水。用塞盖紧，猛烈摇动后，加 3—4 滴甲基红指示剂，用 0.02 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定；同时不加样品作空白测定。测定空白时可能消耗少量的碱也可能消耗少量的酸。如果消耗少量的碱可按式计算：

$$\text{酸度(以H}_2\text{SO}_4\text{计)\%} = \frac{C_1(V_1 - V_2) \times 0.049}{m} \times 100\%$$

$$\text{酸度(以HCl计)\%} = \frac{C_1(V_1 - V_2) \times 0.03646}{m} \times 100\%$$

如果消耗少量的酸则应按下式计算：

$$\text{酸度(以H}_2\text{SO}_4\text{计)\%} = \frac{(C_1V_1 + C_2V_2) \times 0.049}{m} \times 100\%$$

$$\text{酸度(以HCl计)\%} = \frac{(C_1V_1 + C_2V_2) \times 0.03646}{m} \times 100\%$$

式中：C₁——氢氧化钠标准溶液的浓度，(mol/L)；

C₂——盐酸标准液溶的浓度，(mol/L)；

V₁——滴定样品时消耗氢氧化钠标准溶液的体积，(ml)；

V₂——滴定空白时消耗氢氧化钠标准溶液的体积，(ml)；

V₃——滴定空白时消耗盐酸标准溶液的体积，(ml)；

m——样品的重量，(g)；

0.049——1/2 硫酸分子摩尔质量，(kg/mol)；

0.03646——盐酸分子摩尔质量，(kg/mol)。

测定酸度时取样量要根据样品含酸多少来决定。一般含酸量在 0.1% 以下的，可取样 5—10 g；含酸量为 0.1%—1% 的，可取样 2 g 左右，含酸量在 1% 以上的，可取样 1 g。

（二）氢离子浓度测定方法（GB 1601-79）

本标准适用于农药原药及其各种加工剂型的氢离子浓度的测定。

1. pH 计法

（1）试剂和溶液 蒸馏水，pH 6~8；酒石酸氢钾：分析纯；四硼酸钠：分析纯；饱和酒石酸氢钾溶液：取过量的酒石酸氢钾溶于蒸馏水中，猛烈搅拌，静置沉淀后便可使用；四硼酸钠标准溶液：0.01 mol/L (Na₂B₄O₇·10 H₂O)。溶解 3.81 g，四硼酸钠于 1 L 之容量瓶中，

用蒸馏水稀释至刻度；标准溶液 pH 值的温度校正，标准溶液的 pH 值随温度变化情况如表 11-1。

表 11-1 两种缓冲液在不同温度下的 pH 值

温 度 °C	饱和酒石酸氢钾	0.01mol四硼酸钠
0	—	9.46
10	—	9.33
20	—	9.22
25	3.56	9.18
30	3.55	9.14
40	3.54	9.07
50	3.55	9.01
60	3.57	8.96

(2) 仪器及校正 pH 计：需要有温度补偿或温度校正图表；玻璃电极：使用前需在蒸馏水中浸泡一天后方能使用；饱和甘汞电极：电极的室腔中需注满饱和氯化钾溶液，并需保证在任何温度下都有少量的氯化钾晶体存在。

仪器开始使用时，首先将指针调整到零点，然后把电极放入标准溶液中，将仪器的指针调到该温度下标准溶液的 pH 值读数位置，重复进行几次，当标准溶液的读数不变时，此仪器可使用。如指针指示位置变动较大，则证明此仪器有缺陷，必须进行检查，直至符合以上要求时才能使用。

校正仪器时，使用的标准溶液应该尽量接近待测物 pH 值，如连续使用的时间较长，零点有改变时，应重新调整零点，按上述的手续对仪器进行校正。

(3) 测定手续 ① 粉剂与可湿性粉剂：在 50 ml 烧杯中，加入 10 g 样品，然后再加 50 ml 水，充分搅拌混合，静置，待沉淀完全后，将洗净的玻璃电极和饱和甘汞电极插入烧杯中进行测定。如指针在 2 min 内变化不超过 0.1 pH 时，此读数即为样品的 pH 值。② 乳油：在 50 ml 烧杯中，加入 10 ml 乳油，40 ml 水，充分搅拌混合，然后将冲洗干净的玻璃电极和饱和甘汞电极插入其中，进行测定。如指针在 2 min 内变化不超过 0.1 pH 时，此读数即为样品的 pH 值。

2. pH 试纸法 称取样品量和处理手续与 pH 计法①②相同，取 pH 试纸一条，浸入被测溶液中，0.5 min 后取出，立即与标准色板比较，即得 pH 值。(注：1,2 法以 pH 计法测得的结果为准)。

三、乳油稳定性测定方法(GB 1603-79)

(一) 仪器和试剂

1. 仪器 磨口具塞量筒：100 ml，内径 28 ± 2 mm，高 250 ± 5 mm；烧杯：1 000 ml，直径 80~90 mm；250 ml，直径 60~65 mm；玻璃搅拌棒：直径 6~8 mm；注射器或移液管：1 ml(刻度为 0.1 ml)；恒温水浴。

2. 硬水母液的配制

(1) 试剂: 碳酸钙: 分析纯; 无水氯化钙: 分析纯; 氧化镁: 分析纯; 氯化镁: 分析纯; 盐酸: 分析纯。

(2) 标准硬水母液配制(硬度以 碳酸钙 计为 34 200 ppm): ① 称取 27.400 g 碳酸钙 和 2.760 g 氧化镁于蒸发皿中, 用 2 mol/L(HCl) 盐酸溶解, 加热蒸发至干, 加入少量 蒸馏水, 再蒸发干。如此重复操作以除去多余盐酸, 使之为中性。然后用蒸馏水溶解, 并稀释至 1000 ml, 此液硬度为 34 200 ppm。②称取 30.400 g 无水氯化钙和带 6 个结晶水的氯化镁 13.900g, 溶于 1 000 ml 蒸馏水中。将溶液过滤, 滤液硬度为 34 200 ppm。

上述两种方法可任选一种。

(二) 测 定 步 骤

在 250 ml 烧杯中, 加入 99 ml $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 蒸馏水及 1 ml 34 200 ppm 的硬水母液配成 标准硬水(硬度以碳酸钙计为 342 ppm)。用注射器或移液管吸取乳油试样 1 ml, 在不断 搅拌下, 徐徐加入硬水中(按标准规定的稀释浓度), 使其成 100 ml 乳液。加完乳油后, 继续以 2—3 转/s 的速度搅拌 30 s, 立即将乳液移至清洁的 100 ml 量筒, 并将量筒置于 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温 水浴内, 静置 1 h 后, 取出观察乳液分离情况。如在量筒中没有浮油、沉油或沉淀析出, 则稳 定性为合格。

本项国家标准乳油稳定性测定方法制定较早, 经多年使用发现存在以下问题:

(1) 文中有“按标准规定的稀释浓度”, 各种不同农药在制订标准时, 规定用标准硬水稀释 的倍数不一致, 如敌敌畏乳油标准中为稀释 200 倍, 乐果乳油标准中为稀释 500 倍, 使乳油 的稳定性是否合格不是处在同一水平上。所以在硬水的稀释浓度上应该有统一的技术指标。

(2) 有些乳油标准, 规定用硬水稀释倍数过高, 与国际标准差别大。如: 我国目前规定辛 硫磷乳油稀释 1 000 倍, 乳油用量很少, 即使有少量乳油分离, 亦不易觉察, 产品合格与否难 以辨别, 起不到质量控制作用。现已引起我国农药有关部门的重视, 即将进行修订。

(三) CIPAC(MT 36)乳液稳定性测定方法

1. 仪器 量筒: 100 ml, 从 100 ml 刻度处至量筒塞底面的容量不 大于 40 ml, 不小于 35 ml; 恒温水浴: $30 \pm 1^\circ\text{C}$, 其高度能使水面浸到直立在水浴中后的 100 ml 量筒 的颈部。

2. 试剂 标准硬水配制: 将 1.85 g 碳酸钙及 0.74 g 氧化镁溶于最少量的稀盐酸中, 多 余的盐酸在水浴上蒸发至干, 残留物用 100 ml 蒸馏水溶解, 成为硬水母液。

将上述氯化钙、氯化镁母液 10 ml 加入蒸馏水使其总容量为 925 ml, 成为标准硬水。

3. 测定手续

(1) 初始乳化性: 往 100 ml 量筒中加入 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 标准硬水至 95 ml 刻度处, 用量筒往水 表面慢慢加入 5 ml 乳油样品, 盖好塞子, 并立即颠倒量筒一次, 30 s 后, 目测此混合 液应自 动形成 100 ml 均匀乳浊液, 无泡沫产生。

(2) 停放乳液稳定性: 将量筒颠倒 10 次后, 在不受晃动情况下在 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 的恒温 水浴中 停放 24 h。在停放 30 min, 2 h, 24 h 后, 观测量筒上层或底部油状物、及膏状物的容积。

(3) 停放 24 h 后的再乳化性: 停放 24 h 后, 将量筒再颠倒 10 次, 再乳化后的乳浊液停放

30 s, 观察有无油状物、膏状物等, 目测应为均匀乳浊液。

(4) 最终乳液稳定性: 在不受晃动情况下, 将量筒再停放 30 min 后, 观测油状物、膏状物的容积。

四、粉剂细度测定方法(HG2-896-76)

用作撒粉或悬液喷射的农用药剂, 在一定的颗粒细度范围内, 其粉粒愈细者, 药效愈好, 在虫体病菌或植物体上的附着力愈强。被处理单位面积上分布的粉粒亦愈多愈匀, 接触面亦愈大。因此对农药粉粒细度的测定有重大意义。测定方法如下(HG 2-896-76):

(一) 仪 器

标准筛: 200 目 (适用于粉剂); 烧杯: 500 ml; 烘箱: $200 \pm 1^\circ\text{C}$; 蒸发皿: 50 ml; 振荡机。

(二) 测 定 手 续

1. 湿筛法 称 20 g 样品(准确至 0.2 g)置于 500 ml 烧杯中, 加入 300 ml 自来水, 用玻璃棒(一端可套上 3—4 cm 乳胶管)搅拌 2—3 min, 使其呈悬浊状。然后全部倒至筛上, 再用水清洗烧杯, 洗水也倒至筛中, 直至烧杯底部的粗颗粒全部洗至筛中为止。然后用内径 9—10 mm 的橡皮管导出的自来水冲洗筛上的残余物, 水流速为 4—5 L/min。橡皮管末端出水口保持与筛缘平齐为度(距筛表面 5 cm 左右)。在筛洗过程中, 保持水流对准筛上的残余物, 使其能充分洗涤, 一直洗到通过筛的水清亮透明, 没有明显的悬浮物存在为止。把残余物冲至筛之一角, 并转至恒重的蒸发皿中, 将蒸发皿中的水分加热至近干, 再置于烘箱内在适当的温度下烘干, 冷却, 称至恒重(准确至 0.01 g)。

细度百分含量(X)按下式计算:

$$X = \frac{m - m_1}{m} \times 100\%$$

式中:

m ——粉剂样品的重量, (g);

m_1 ——筛上残余物的重量, (g)。

2. 干筛法 本法适用于膨润性的及水溶性的农药粉剂。称 20 g 样品(准确至 0.2 g), 均匀分散于 20 目的筛子上, 装上筛底和筛盖。振荡 10 min, 停止振荡, 打开塞盖, 用毛笔轻轻刷开形成的团粒, 盖上盖子再筛 20 min, 如此重复, 一直到筛上的残余物的重量比前一次减少小于 0.10 g 为止。筛上残余物转移到称量瓶中称重(准确至 0.01 g)。

粉剂细度百分含量(X)按上式计算。

五 可湿性粉剂润湿性测定方法

药粉润湿时间是可湿性粉剂的一个特性指标, 要求将药粉撒在水面后, 应能很快被水润湿。国外此种产品的润湿时间, 一般规定为 1 min。因此药液喷到受药表面, 易于在受药表

面润湿展布,提高防治效果。而我国有的产品因生产工艺改进不够,规定润湿时间长达 10 min,润湿性测定方法如下:

(一) 仪 器

容量瓶:1 000 ml,聚乙烯瓶;温度计:1/1 刻度,0—50°C或 0—100°C;烧杯:800 ml,1 000 ml,;内径为 6.5 ± 0.5 cm,高度 9.0 ± 0.5 cm,容量为 250 ml;秒表:精确到秒;量筒:20 ml,100 ml,500 ml;表面皿:直径为 9.0 ± 0.5 cm;恒温水浴;pH 计。

(二) 试剂和溶液

碳酸钙:分析纯,用前在 400°C烘 2h;氧化镁:分析纯,用前在 105°C干燥 2h;氨水:分析纯,1 mol/L 溶液;盐酸:分析纯,1 mol/L 溶液;甲基红:0.5%溶液;氢氧化钠:分析纯,0.1 mol/L 溶液;标准硬水:以碳酸钙计具有 342 ppm 的硬度。其配制方法如下:

1. 贮备液

(1) 溶液 (0.04 mol/L 的钙离子溶液):准确称取碳酸钙 4.00 g,用少量蒸馏水转入到 800 ml 烧杯中,缓缓加入 1mol/L 盐酸 82 ml,充分搅拌混合液,待碳酸钙全部溶解后,用蒸馏水稀释至 400 ml 左右,煮沸,除去多余的二氧化碳。冷却,加入 2 滴甲基红指示剂,用 1mol/L 氨水中和至橙色,将此溶液定量转移到 1 000 ml 容量瓶中,用蒸馏水稀释到刻度,混匀。贮存于聚乙烯瓶中备用。

(2) 溶液 (0.04 mol/L 镁离子溶液):准确称取氧化镁 1.613 g(准确至 0.2 mg),用少量蒸馏水转入到 800 ml 烧杯中,缓缓加入 1mol/L 盐酸 82 ml,充分搅拌混合液,缓缓加热待氧化镁全部溶解后,用蒸馏水稀释至 400 ml 左右,煮沸除去二氧化碳。冷却,加入 2 滴甲基红指示剂,用 1mol/L 氨水中和至橙色,将此溶液转移到 1 000 ml 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度。混匀,贮存于聚乙烯瓶中备用。

2. 标准硬水制备 移取 68.5 ml 溶液 (1) 和 1.70 ml 溶液 (2) 于 1 000 ml 烧杯中,用蒸馏水稀释至约 800 ml,滴加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液;或用 0.1 mol/L 盐酸调节溶液的 pH 为 6.0—7.0(用 pH 计),将溶液转移到 1 000 ml 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,混匀。

(三) 测 定 手 续

取 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 的 342 ppm 硬水 100 ± 1 ml,注入 250 ml 烧杯中,将此烧杯置于 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 的恒温水浴中,使其液面与水浴的水平面平齐。用表面皿称取 5 ± 0.1 g 试样^①,将全部试样从与烧杯口齐平位置一次均匀地倾倒在烧杯的液面上,但不要过分地扰动液面。加样品时立即用秒表记时,直至试样全部润湿为止。记下润湿时间^②。如此重复 5 次,取其平均值,作为该样品的润湿时间。

注:① 试样应为有代表性的均匀粉末,而且不允许成团、结块;② 润湿时间准确至秒,留在液面上少量的细粉膜可忽略不计。

六 可湿性粉剂的悬浮性测定方法

对于可湿性粉剂的理化性状, 主要应注意其悬浮率高低, 如悬浮性能不好, 则施药时喷洒出去的药液前后浓度不一, 致影响药效和产生药害。因此此类制剂均应具有较高的悬浮率。

该项指标的测定原理, 系根据物理学中的 Stoke's 定律: 即当粉粒在静止的分散介质中进行自由沉降(等速下降)时, 其所受的阻力=重力, 公式为:

$$6\pi r\eta \frac{h}{t} = \frac{4}{3}\pi r^3(\rho - \rho_0)g$$

η ——分散介质的粘滞度(泊 $\frac{g}{cm \times s}$);

r ——分散相(粉粒)的半径(cm);

h ——粉粒沉降高度(cm);

t ——沉降时间(s);

ρ ——分散相的密度(g/cm^3);

ρ_0 ——分散介质的密度(g/cm^3);

g ——重力加速度($981 cm/s^2$)。

由上式可导出:

$$r^2 = \frac{9h\eta}{2(\rho - \rho_0)gt}$$

r 即在一定时间内沉降一定距离的颗粒半径, 用规定的检测方法即可测出大于或小于某一直径的粉粒含量。具体方法如下:

(一) CIPAC(MT 15) 法

1. 定义 悬浮性定义为在给定的静止高度的液柱中, 经过一定时间后悬浮的有效成分的数量占最初悬浮液中有效成分的百分数。

2. 方法概述 用标准水或蒸馏水制备已知浓度的悬浮液, 放入恒温的规定量筒中, 在没有搅动情况下静置一定时间后, 从顶部抽出 9/10 的液体, 测定在底部 1/10 液体里有效成分含量, 从而可算出 9/10 液体中有效成分的含量。

3. 适用范围 本方法适用于活性组分含量 $\leq 1\%$ 的悬浮液, 不适用于较高浓度的悬浮液。

4. 测定方法

(1) 试剂: 标准硬水, 342 ppm, Ca:Mg=80:20。

(2) 仪器

量筒: 250 ml 玻璃带塞刻度量筒(图 11-4)刻度 0 至 250 ml 间的距离为 20 至 21.5 cm。250 ml 刻度线和塞底部间的距离应为 4—6 cm; 玻璃吸管: 长约 40 cm, 内径为 5mm, 管的一端抽细使其开口为 2—3 mm; 另一端与抽气系统相连; 烧杯: 250 ml; 秒表; 水浴: $30 \pm 1^\circ C$ 。

(3) 测定步骤

① 悬浮液的制备: 称取适量样品按使用说明书上推荐的浓度制成 250 ml 悬浮液。若推荐几个浓度时, 则应选择符合本方法范围内的最高和最低的浓度。

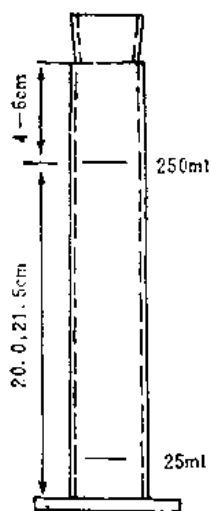


图 11-4 玻璃带塞刻度量筒 将量筒垂直无振动地放入水浴中，不要受日光直射，停放一定时间后，通常为 30 min。在 10—15 s 内用吸管吸出 225 ml (9/10) 的悬浮液，吸时注意不要搅动量筒里的沉淀物。吸液过程中应确保吸管的下口始终处于液面下很少几毫米处。①

③ 有效成分的测定：用规定的分析方法测定原样品及留在量筒内 25 ml 悬浮液中的有效成分百分含量。

按下式计算悬浮率 (%)

$$\begin{aligned}\text{悬浮率} &= \frac{10}{9} \times \frac{100(C-Q)}{C} \times 100\% \\ &= \frac{111(C-Q)}{C} \times 100\%\end{aligned}$$

式中：C——称取的样品中有效成分的重量，(g)；即 (ab/100)；

a——在加速贮存试验之前或之后样品中有效成分含量，(%)

b——样品重量，(g)；

Q——留在量筒中 25 ml 残留物的有效成分重量，(g)。

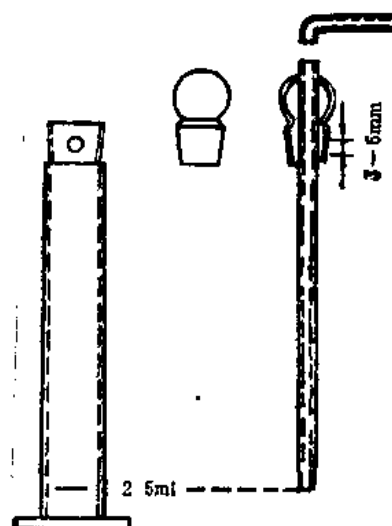


图 11-5 测定悬浮率的量筒

图 11-5 为测定悬浮率的 250 ml 刻度量筒。用作移出上部 9/10 悬浮液的装置。左边是刻度量筒，中间是磨口塞，右边是带专用塞的玻璃吸管。管的长度应是当将它插入量筒时，其尖端准确地处于 25 ml 刻度线上。专用塞上有个 5—6 mm 直径的小孔，当插入量筒时此孔应与量筒颈上的孔相重合。

(二) 持久起泡性

1. 试剂标准水

2. 仪器 100 ml 带塞玻璃刻度量筒，选用的量筒从塞底到 100 ml 刻度线之间的体积要

注：① 为确保精确吸出 9/10 的悬浮液，量筒(如图 11-5)可配制一个塞，以防吸管伸到量筒 25 ml 刻度线之下。除最后阶段吸管的下口始终浸入液面下很少几毫米处，以保证 25 ml 刻度线以下的悬浮液不被吸出。留心吸管在量筒里的位置，要随液面的下降而下降。

不大于 40 ml, 不小于 35 ml; 称量瓶。

3. 操作步骤 称取规定量的试样, 放入盛有 95 ml 标准水的量筒中, 加水至 100 ml, 盖塞后将量筒颠倒 30 次, 放在试验台上在搅动情况下静置规定的时间, 注明泡沫的体积。

第十二章 农药分析中的标准样品制备、 取样方法和数据处理

一、标准农药样品制备

(一) 标准样品的重要性和类别

农药标样是具有高纯度的农药原药，在农药分析中用以确定该同一农药量值的参比物质。过去，在农药分析中多使用重量法或滴定分析法，是利用农药有效成分中某原子团或元素与相应试剂的化学反应，作为计算有效成分含量的依据，不需使用农药标准品，但目前主要使用的仪器分析法如比色法、紫外、红外分光光度法、气相色谱法和液相色谱法等，都必须使用参比物质，样本中的农药含量是与参比物相比较而得的，一种仪器分析方法的准确与否，与所使用的农药“参比物质”纯度的准确性有关，使用纯度不正确的参比物质会导致样本的分析结果都不正确。因此，必须使用检验合格的参比物质 (certified reference material) 国际农药分析协作委员会 (Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, CIPAC) 于 1988 年正式发表了《农药产品中参比物质的定义、制备和纯度测定准则》准则中提出在农药分析中必须区分两类合格的参比物质。

(1) 农药基准参比物 (Primary Reference Standard) 是指经高度纯化的，具有对各项特性详细描述合格参比物，用于标定工作标样及测定其物理参数等。

(2) 农药工作标样 (Working Standard) 是用于日常分析工作的、具有一般纯度的参比物。其纯度和理化性质是与基准参比物在相同条件下测试比较而确定的，根据不同的目的和要求，工作标样可用于质量控制，用于残留分析和用于稳定性试验等。

(二) 标准样品的制备和纯化

通常使用纯度较高的工业品原药，经纯化得参比物；亦可使用纯化的原料和中间体制备原药，再进一步纯化。纯化技术是利用农药和杂质的不同物理性质进行的，主要有以下几种：

1. 重结晶法 利用固体农药和杂质在溶剂中的溶解度不同而进行纯化的方法，农药样品在适宜的溶剂中加热回流，趁热将不溶解的杂质滤去，滤液在室温或低温下冷却，析出的结晶经洗涤、干燥即可。样品中的有色杂质可在溶剂中加入 1%—10% 活性炭回流除去。重结晶时选用的溶剂应符合以下条件：① 与农药不发生化学反应；② 农药与杂质在该溶剂中的溶解度差异大；③ 农药在高温时溶解度大，低温时溶解度小；④ 不易挥发，沸点范围应在 40—150℃，在 100℃ 以下最为适宜；⑤ 无毒、价廉。重结晶法适于固体农药的纯化。

2. 萃取法 利用农药和杂质在两种溶剂中，分配系数不同在分液漏斗中进行纯化的方法，要求萃取所用的两种溶剂互不相溶，它们对农药和杂质具有选择性的溶解能力，热稳定

性和化学稳定性好。常用的溶剂有乙醚、异丙醚、四氯化碳、氯仿、二氯甲烷、石油醚和苯等。

3. 蒸馏法 利用农药和杂质沸点不同而进行纯化的方法,两者沸点相差较大,可用一般蒸馏法,否则需使用效率较高的分馏柱进行分馏,多数农药沸点较高,在常压下蒸馏易分解,需在减压下进行蒸馏,适于液体农药的纯化。

4. 色谱法 利用农药和杂质在固定相和流动相之间多次吸附、解吸附或平衡分配而进行分离纯化的方法。常用的方法有常规柱层析法,以硅胶或氧化铝等装柱,用适当的溶剂淋洗,亦可使用薄层层析法或高效液相制备色谱法。

(三) 标准样品的定性

经分离纯化制得的农药标准样品,需对其纯度进行测定,在进行定量测定前,必须定性确证,定性的方法有:

1. 物理常数的测定 ① 熔点测定,纯固体农药有恒定的熔点,其熔程 $<0.5^{\circ}\text{C}$,含有杂质的农药,其熔点不符,熔程加宽。② 沸点测定,纯液体农药在一定大气压力下,具有恒定的沸点,其沸程为 $0.5-1^{\circ}\text{C}$ 。其它如比重、折光率等。所测的各项物理常数必须与文献记载的数据完全一致。

2. 光谱法 紫外光谱法能有效地定性和定量测定双键、芳烃或有共轭体系的化合物;红外光谱法能快速测定化合物的骨架和官能团;核磁共振谱法,能精细地测定化合物的微细结构;将提纯样品的上述谱图与标准谱图相比,应完全相同,且无杂峰。

3. 色谱法 如薄层色谱法只呈现一个斑点、气相色谱法与液相色谱法的保留时间相同等,均可作为定性的依据。

4. 质谱法 可高效地测定分子量及化学组成。

(四) 标准样品的定量和纯度

对农药标准样品进行定量测定的方法有:重量法、滴定法、官能团测定法、元素分析、气相色谱法和液相色谱法。如果被测物质含有微量杂质,则单独使用上述任何一种方法都不能测出纯度的绝对值。需使用气-质联用仪对杂质进行定性,并在色谱仪上用外标法或归一化法测定其含量,再采用上述多种方法来确定其纯度,并重复多次以计算结果的精密性,但用不同方法测得的结果往往有较大差异,必须对数据作科学判断,评价数据并决定其取舍,最后用常规统计方法计算出总平均值,农药的含量值用 g/kg (或 $\%\text{m/m}$)表示。基准参比物的纯度值取三位有效数字,每批样品有合格证书,在证书上标明纯度值、物理性质测定值、定性鉴定图谱、定量测定方法等。并附有光谱图、色谱图及其它原始资料。

工作标样纯度的测定,国外原药含量在90%以上,可作为工作标样,大多数工作标样用于仪器分析中。通常使用气相色谱法或高效液相色谱法标定工作标样。在测定纯度前,首先检查标样制备的数量,是否能够在相当长的时间内使用(约100g左右),并应证实样品的质量均匀,不含有可能干扰分析的杂质。

称取5份重量相似的样品和3份重量相似的基准参比物配制成溶液,必要时加入内标物,按下列顺序进样,每试液进样3次。

标准1 样品1 样品2 标准2

样品 3	样品 4	标准 3	样品 5
样品 1	标准 1	样品 2	样品 3
标准 2	样品 4	样品 5	标准 3
样品 1	样品 2	标准 1	样品 3
样品 4	样品 2	样品 5	标准 3

通过与相邻两种标准试样比较计算每种样品的含量值，由此得到具有四位有效数字的15个量值。

样品 1	990	980	990
样品 2	980	970	990
样品 3	970	1000	980
样品 4	990	990	970
样品 5	970	960	980

用 n 个单次测定值 (x_i) 计算总平均值 ($\bar{x}$)，总标准偏差 (S) 和变异系数 CV 。

$$\text{总平均值: } \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = 980.07$$

$$\text{总标准偏差: } S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = 10.9978$$

$$\text{变异系数: } CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\% = 1.121\%$$

变异系数大于 0.8%，须考虑除分析方法外的其它因素，如称量上或其它系统误差，必须用统计上的 F -检验。

(五) 标准样品的贮藏

农药标准样品的正确贮存是至关重要的，液体样品通常装入充惰性气体的密封安培瓶中，装瓶时农药必须不沾瓶口，否则用火密封时会污染瓶口以至整瓶标准品，开瓶时亦需防止玻璃碎片的污染，标准品亦可装入可盖密的玻璃小瓶。贮存稳定期及有效期亦需标明。标准样品应置于低温贮藏，定期检查其含量。

二、商品农药采样方法^①

本标准适用于商品农药原药及各种加工剂型的采样方法

(一) 总 则

(1) 商品农药样品，是代表售出或购入的商品农药平均质量的样品。商品农药样品的检验结果，作为供需双方验收的依据。

(2) 在供需双方同意下，允许将生产厂所采样品的检验结果，作为商品样品检验结果。

(3) 所取商品样，仅能代表本批产品。所取样品均需注明：厂名、产品名称、批号、生产日期、取样日期及地点。

^① (GB 1605-79, 1983 年确认)。

(二) 采 样 工 具

(1) 一般用取样器如图 12-1 所示。长约 100 cm，一端装有木柄或金属柄。用不锈钢或铜管制成。

(2) 采取容易变质或易潮解的样品时，可采用双管取样器（图 12-2），其大小与一般取样器相同，外边套一（黄铜）管。内管与外管须密合无空隙，两管都开有同样大小的槽口 3 节。当样品进入槽中后，将内管旋转，使其闭合，取出样品。

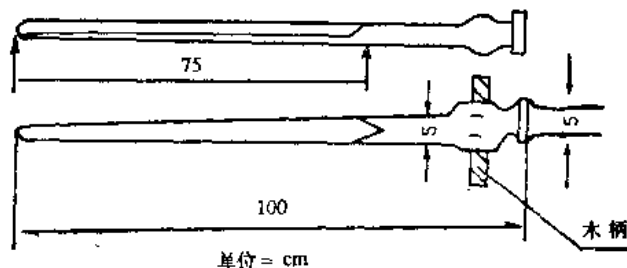


图 12-1 取样器

(3) 在需开采件数较多和样品较坚硬的情况下，可以用较小的取样探子和实心尖形取样器（图 12-3），小探子柄长 9 cm，槽长 40 cm，直径 1 cm。实心尖形取样器与一般取样器大小相同。

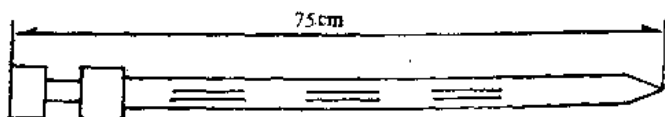


图 12-2 双管取样器

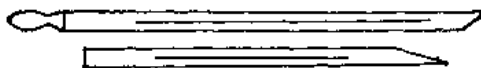


图 12-3 双样探子

(4) 对于液体产品，则采用取样管采样。取样管为普通玻璃或塑料制成，其长短和直径随包装容器大小而定。

(三) 原 粉 采 样

(1) 开采件数：农药原粉开采件数，取决于货物的批重或件数。一般每批在 200 件以下者，按 5% 采取，200 件以上者，按 3% 采取。

(2) 取样：从包装容器的上、中、下三部分取代表性样品，倒入混样器或贮存瓶中。

(3) 样品缩分：将所取得的样品，预先破碎至一定程度，用四分法反复进行缩分，直至适用于检验所需之量为止。

(4) 原粉样品每件取样量不应少于 0.1 kg。

(四) 乳剂和液体状态的采样

乳剂和液体状态的样品，取样时应尽量使产品混合均匀。然后用取样器取所需重量或容积。每批产品取一个样品。取样量不少于 0.5 kg，密封保存。

(五) 粉剂和可湿性粉剂的采样

粉剂和可湿性粉剂取样时，一次取够，不再缩分，取样量不得少于 200 g，保存于磨口容器内。

(六) 其 它

对于特殊形态的样品,应根据具体情况,采取适宜的方法取样。如溴甲烷,则自每批产品之任一钢瓶中取出。

三、分析误差和数据处理

(一) 误差与准确度

分析结果的准确度常用误差来表示。所谓误差是指测量值与真实值接近的程度。误差越小,表示分析结果的准确度越高。测量值小于真实值,即结果偏低时,称为负误差;测量值大于真实值,即结果偏高时,称为正误差。误差可用“绝对误差”和“相对误差”表示。

1. 对于单次测量

$$\text{绝对误差} = \text{测量值}(\%) - \text{真实值}(\%) \quad (12-1)$$

$$\text{相对误差} = \frac{\text{绝对误差}}{\text{真实值}} \times 100\% \quad (12-2)$$

【例 1】测定某农药中水分的含量,若测量值为 0.14%,标准值(即真实值)为 0.15%,求测定的绝对误差和相对误差各是多少?

解:

$$\text{绝对误差} = 0.14\% - 0.15\% = -0.01\%$$

$$\text{相对误差} = \frac{-0.01\%}{0.15\%} \times 100\% = -6.7\%$$

2. 对于多次测量

绝对误差按下式计算:

$$E_{\text{绝}} = \bar{X} - X_r \quad (12-3)$$

式中: X_r ——真实值;

$\bar{X}$ ——多次测量的平均值。

可由下式求得:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

n ——测量次数;

X_i ——单次测量值。

相对误差的计算公式:

$$E_{\text{相}} = \frac{X_i - X_r}{X_r} \times 100\% \quad (12-4)$$

【例 2】测定对硫磷乳油含量,若 3 次测量的结果为: 50.40%、50.25%、50.15%,求测定的绝对误差和相对误差(设样品的真实值为 50.20%)。

解: 绝对误差

$$\begin{aligned} X_r &= 50.20\%, n = 3 \\ \bar{X} &= \frac{50.40 + 50.25 + 50.15}{3} \times 100\% = 50.27\% \end{aligned}$$

$$\therefore E_{\text{绝}} = 50.27\% - 50.20\% = +0.07\%$$

相对误差:

$$E_{\text{相}} = \frac{50.27\% - 50.20\%}{50.20\%} \times 100\% = +0.14\%$$

(注: 在定量分析工作中, 通常把标准样品的含量和基准物质的含量视为“真实值”).

(二) 偏差与精密度

偏差表示在相同的条件下, 对同一试样进行重复测定时, 所得结果互相接近的程度, 即将某次测定值与其算术平均值比较, 其差值称为偏差。偏差越小, 表示测定的精密度越高。

d 偏差有下列几种表示方法。

1. 绝对偏差

$$d_{\text{绝}} = X - \bar{X} \quad (12-5)$$

式中

d —— 绝对偏差;

X —— 单次测量值;

$\bar{X}$ —— 多次测量值的算术平均值。

2. 相对偏差

$$d_{\text{相}} = \frac{X - \bar{X}}{\bar{X}} \times 100\% \quad (12-6)$$

3. 平均偏差

$$d = \frac{\sum |X - \bar{X}|}{n} \quad (12-7)$$

n 表示测量次数。由于 $|X - \bar{X}|$ 表示单次测量值与平均值之差的绝对值, 因此平均偏差 d 无正负号。

4. 标准偏差

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (12-8)$$

标准偏差比平均偏差能更好地反映出测量的精密程度, 因此比较常用。

【例 3】有二组测量数据, 各次测量的绝对偏差 ($d_{\text{绝}}$) 分别如下:

① $+0.3, +0.2, -0.4, +0.2, +0.1, +0.4, 0.0, -0.3, +0.2, -0.3;$

② $0.0, +0.1, -0.7, +0.2, -0.1, -0.2, +0.5, -0.2, +0.3, +0.1。$

求测量的平均偏差 (d) 和标准偏差 (S)。

解:

(1) 平均偏差

第①组:

$$d_1 = \frac{0.3+0.2+\cdots+0.2+0.3}{10} = 0.24$$

第②组:

$$d_2 = \frac{0.0+0.1+\cdots+0.3+0.1}{10} = 0.24$$

两组测量值的平均偏差相同。

(2) 标准偏差

第①组:

$$S_1 = \sqrt{\frac{(0.3)^2 + (0.2)^2 + \dots + (0.2)^2 + (0.3)^2}{10-1}} = 0.28$$

第②组:

$$S_2 = \sqrt{\frac{(0.0)^2 + (0.1)^2 + \dots + (0.3)^2 + (0.1)^2}{10-1}} = 0.33$$

显而易见, 第①组测量的精密度比第②组高。

5. 相对标准偏差

$$RSD = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\% \quad (12-9)$$

相对标准偏差(RSD)是标准偏差在平均值中所占的百分率, 它能更合理地反映出测定结果的精密度。是目前较为常用的一种表示测量精密度的方法。相对标准偏差又叫变异系数。

【例 4】测定敌敌畏乳油中酸度含量时, 5 次测量的结果如下: 0.505%, 0.502%, 0.496%, 0.499%, 0.498%。计算测量的平均偏差, 相对平均偏差, 标准偏差, 相对标准偏差。

解: 先计算出平均值和每次测量的绝对偏差如表所列:

测定结果(%)	平均值($\bar{X}$)	绝对偏差(%)
0.505	0.500%	+0.005
0.502		+0.002
0.496		-0.004
0.499		-0.001
0.498		-0.002

$$\text{平均偏差}(\bar{d}) = \frac{0.005 + 0.002 + 0.004 + 0.001 + 0.002}{5} = 0.003\%$$

$$\text{相对平均偏差} = \frac{\bar{d}}{\bar{X}} \times 100\% = \frac{0.003}{0.5} \times 100\% = 0.6\%$$

$$\text{标准偏差}(S) = \sqrt{\frac{(0.005)^2 + (0.002)^2 + (0.004)^2 + (0.001)^2 + (0.002)^2}{5-1}} = 0.0035$$

$$\begin{aligned} \text{相对标准偏差}(RSD) &= \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%, \\ &= \frac{0.0035}{0.50} \times 100\% = 0.7\%。 \end{aligned}$$

(注: 在求误差或偏差的运算中, 一般取一位有效数字, 最多取二位有效数字)

6. 平均值的精密度 平均偏差与标准偏差只解决个别测量值与平均值之间的偏差, 要解决平均值与真实值之间的误差, 就需要采用平均值的精密度。这是比较重要的一个概念。平均值的精密度有二种表示方法: 平均值的平均偏差($\bar{d}_x$)和平均值的标准偏差(S_x)。利用二者, 不仅可以推断出结果的误差大小, 而且可以判断真实值所在的范围。

(1) 平均值的平均偏差

$$\bar{d}_x = \frac{\bar{d}}{\sqrt{n}} \quad (12-10)$$

式中: $\bar{d}$ ——测量的平均偏差;

n ——测量的次数。

(2) 平均值的标准偏差

$$S_x = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (12-11)$$

平均值的标准偏差(S_x)等于标准偏差除以测量次数的平方根。

(3) 真实值的范围

$$\begin{aligned} \text{真实值} &= \bar{X} \pm \bar{d}_x \\ \text{真实值} &= \bar{X} \pm S_x \end{aligned} \quad (12-12)$$

(注: 这两种表示中, 第二种表示的可靠性较大。)

【例 5】测定 80% 敌敌畏乳油含量, 其结果如下: 79.58%, 79.45%, 79.47%, 79.50%, 79.62%, 79.38%。求① 平均偏差; ② 标准偏差; ③ 平均值的平均偏差; ④ 平均值的标准偏差; ⑤ 估计真实值的可能范围。

解: 将数据整理成下表所示:

DDVP%	79.58	79.45	79.47	79.50	79.62	79.38	$\bar{X} = 79.50$
$ X - \bar{X} $	0.08	0.05	0.03	0.00	0.12	0.12	$\sum X - \bar{X} = 0.40$
$(X - \bar{X})^2$	0.0064	0.0025	0.0009	0.00	0.0144	0.0144	$\sum (X - \bar{X})^2 = 0.0386$

$$\text{平均偏差}(\bar{d}) = \frac{\sum |X - \bar{X}|}{n} = \frac{0.40}{6} = 0.07$$

$$\text{标准偏差}(S) = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{0.0386}{6 - 1}} = 0.09$$

$$\text{平均值的平均偏差}(\bar{d}_x) = \frac{\bar{d}}{\sqrt{n}} = \frac{0.07}{\sqrt{6}} = 0.03$$

$$\text{平均值的标准偏差}(S_x) = \frac{S}{\sqrt{n}} = \frac{0.09}{\sqrt{6}} = 0.04$$

真实值的可能范围(假设系统误差已消除)如下:

按 $\bar{d}_x$ 值估计, 真实值可能在 $(79.50\% \pm 0.03\%)$ 之内, 即在 79.47%—79.53% 之间。

按 S_x 值估计, 真实值可能在 $(79.50\% \pm 0.04\%)$ 之内, 即在 79.46%—79.54% 之间。

7. 算术平均值的简便算法 在测量中, 当有效数字的位数较多或测量数据较多时, 如果将所有的单次测量值相加求平均值, 计算繁琐, 容易出错。遇此情况可采用下列简便方

法计算，即

$$\bar{X} = X_0 + \frac{\sum (X_i - X_0)}{n} \quad (12-13)$$

式中：\$X_0\$——从一组测量值中任意选定的一个测量值；

\$X_i\$——单次测量值；

\$n\$——测量次数。

【例6】设有一组测量值如表中\$X_i\$项所示。若任选其中的0.1326作为\$X_0\$，计算平均值\$\bar{X}\$。

\$X_i\$	0.1327	0.1325	0.1329	0.1326	0.1328	0.1327
	0.1326	0.1325	0.1328	0.1326	0.1327	
\$X_i - X_0\$	+0.0001	-0.0001	+0.0003	0.0	+0.0002	+0.0001
	0.0	-0.0001	+0.0002	0.0	+0.0001	
\$\sum (X_i - X_0)\$	+0.0008					

解 先计算出单次测量值与选定值的差值(\$X_i - X_0\$)和差值的总和\$\sum (X_i - X_0)\$，列于表中。因为测量次数\$n=11\$，因此平均值\$\bar{X}\$为

$$\bar{X} = 0.1326 + \frac{0.0008}{11} = 0.1327$$

(三) 置 信 界 限

偶然误差是按正态分布曲线分布的，当分析的次数有限时，则按\$t\$分布曲线分布。\$t\$分布曲线与正态分布曲线相似，当分布次数趋于无穷大时，与正态分布曲线一样。置信界限按下式(12-14)计算。

表 12-1 不同置信度(\$\alpha\$)时\$t\$值分布表

(\$n-1\$)	\$t\$ 值		
	\$\alpha=90\%(\alpha)\$	\$\alpha=95\%(\alpha)\$	\$\alpha=99\%(\alpha)\$
1	6.31	12.71	63.66
2	2.92	4.30	9.92
3	2.35	3.18	5.84
4	2.13	2.78	4.60
5	2.01	2.57	4.03
6	1.94	2.45	3.71
7	1.89	2.36	3.50
8	1.86	2.31	3.35
9	1.83	2.26	3.32
10	1.81	2.23	3.17
20	1.72	2.09	2.84
30	1.70	2.04	2.75
60	1.67	2.00	2.66
120	1.66	1.98	2.62
\$\infty\$	1.64	1.96	2.58

$$\mu = \bar{X} \pm \frac{tS}{n} \quad (12-14)$$

式中： μ ——置信界限；
 $\bar{X}$ ——测量的平均值；
 S ——标准偏差；
 t ——分布系数（见表12-1）；
 n ——测量次数。

化学分析中常采用95%置信度。当采用 $\alpha = 95\%$ 时，公式(12-14)的意义是：通过 n 次测量，有95%的把握认为真实值在 $(\bar{X} \pm tS/n)$ 范围内。

【例7】测定久效磷粉剂含量，若5次测量的结果如下：1.12%、1.15%、1.11%、1.16%、1.12%。计算①测量的标准偏差；②久效磷含量在95%置信度时的置信界限。

解 将所给数据列成下表：

久效磷%	1.12	1.15	1.11	1.16	1.12	$\bar{X} = 1.13$
$X - \bar{X}$	-0.01	+0.02	-0.02	+0.03	-0.01	
$(X - \bar{X})^2$	0.0001	0.0004	0.0004	0.0009	0.0001	$\sum (X - \bar{X})^2 = 0.0019$

测量的标准偏差：

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{0.0019}{5 - 1}} = 0.022$$

置信界限：当 $\alpha = 95\%$ 时， $n - 1 = 5 - 1 = 4$ ，查上表 得 $t = 2.78$ ，代入公式(12-14)得：

$$\mu = 1.13 \pm \frac{2.78 \times 0.022}{\sqrt{5}} = 1.13 \pm 0.027\%$$

即通过5次测量，有95%的把握粉剂中久效磷含量在1.10%~1.16%之间。

四、实验室注意事项

农药分析实验室是专门分析有毒物质农药的实验室，工作人员除应遵守一般分析室的安全守则外，应结合农药的特点，执行预防中毒和防火、防爆的措施，具体内容如下：

(1) 每个工作人员必须从思想上重视安全工作，以高度的革命责任感和严肃的科学态度认真工作，严格执行各项操作规程，杜绝事故的发生。

(2) 工作人员必须熟悉本实验室及其周围的环境，了解水门、气门、热源和电气开关的位置，以及救护用品、消防工具等的存放处所，万一发生事故时，可以及时关闭闸门，采取措施，避免故事扩大。

(3) 使用电器时，要阅读说明书、注意电器的电压匹配，严禁乱用。要谨防触电，不要用湿手、湿物接触电开关。

(4) 剧毒农药样品和剧毒药品应由专人负责保管、登记数量。用时向负责人领取，剩余的样品要及时销毁。

- (5) 所有农药样品都要装在玻璃瓶内，并贴好标签。
- (6) 所有产生刺激性、腐蚀性、恶臭和有毒气体的操作，毒剂的称量、加热、蒸发、蒸馏等操作都必须在通风橱内进行。
- (7) 用移液管吸取药液时，不要嘴吸，要用橡皮球或水抽气管吸取。
- (8) 如需辨别药的气味时，不能靠近鼻孔直接去嗅，应在 16.6 cm 以外用手挥动空气，使气流流经鼻口来辨别气味。
- (9) 残余的有毒溶液或洗涤盛毒物器的废液不能直接倒入下水道，应先将毒物分解后再倒入下水道。
- (10) 工作时要穿工作服，在有毒物可能飞溅的情况下，应戴防护眼镜。工作服要经常用浓肥皂液或 2.5% 苏打液浸泡和洗涤。
- (11) 不可在实验室内放置食物，不可在实验室内吸烟或饮食。
- (12) 工作完毕要洗手，洗脸后方能就餐。
- (13) 不少农药如各种乳油、油剂和烟剂等以及分析用的有机溶剂，均为易燃，易爆物质。必须严格遵守防火、防爆的有关规定。

参 考 文 献

- [1] 于如暇主编. 分析化学(上下册), 北京: 人民卫生出版社, 1986.
- [2] 陈耀祖主编. 有机分析, 北京: 高等教育出版社, 1983.
- [3] 农业部农药检定所主编. 新农药手册, 北京: 农业出版社, 1989.
- [4] 农药科学与管理(季刊)(原《农药检定》), 农业部农药检定所, 1980-1991.
- [5] 成都科学技术大学分析化学教研室编. 分析化学手册(第四分册), 北京: 化学工业出版社, 1984.
- [6] 中国农业科学院植物保护研究所、农牧渔业部农药检定所、商业部农业生产资料局合编. 农药分析(第三版), 北京: 化学工业出版社, 1988.
- [7] 王全忠, 蔡之斌等编著. 农药工业品薄层定量分析法, 北京: 学术期刊出版社, 1989.
- [8] 西北轻工业学院编. 薄层色谱基础和应用, 西安: 西北轻工业学院印, 1981.
- [9] 达士禄编著. 色谱学导论, 武汉: 武汉大学出版社, 1988.
- [10] 金鑫荣编. 气相色谱法, 北京: 高等教育出版社, 1989.
- [11] 傅若农、常永福编著. 气相色谱和热分析技术, 北京: 国防工业出版社, 1989.
- [12] 商登喜. 气相色谱仪的原理及应用, 北京: 高等教育出版社, 1987.
- [13] 朱士盛编. 仪器分析, 上海: 复旦大学出版社, 1983.
- [14] 清华大学分析化学教研室编. 现代仪器分析, 北京: 清华大学出版社, 1983.
- [15] [日]荒木峻著, 仇大器等译. 气相色谱法, 北京: 化学工业出版社, 1988.
- [16] 孙传经编著. 气相色谱分析原理与技术, 北京: 化学工业出版社, 1979.
- [17] [西德]H. 恩格哈特著, 杨文澜等译. 高效液相色谱法, 北京: 机械工业出版社, 1982.
- [18] [美]J. J. 柯克兰主编. 《液体色谱的现代实践》, 中国科学院上海有机化学研究所《液体色谱的现代实践》翻译组译. 科学出版社, 1978.
- [19] 陈国珍, 黄贤智等编著. 紫外-可见分光光度法(上下册), 北京: 原子能出版社, 1987.
- [20] 董庆年. 红外光谱法, 北京: 化学工业出版社, 1979.
- [21] 赵天增编著. 核磁共振氢谱, 北京: 北京大学出版社, 1983.
- [22] 化工部科技局标准处编. 化学工业标准汇编. 第12册, 农药, 北京: 中国标准出版社, 1986.
- [23] 沈淑娟主编. 波谱分析的基本原理及应用, 北京: 高等教育出版社, 1988.
- [24] 方惠群等. 电化学分析, 北京: 原子能出版社, 1984.
- [25] 缪征明. 仪器分析, 北京: 机械工业出版社, 1984.
- [26] A. Martijn, W. Dobrat, CIPAC Handbook, Vol D. Analysis of Technical & Formulated Pesticides, Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, 1988.
- [27] G. Zweig, J. Sherma, Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Vol. 5-17, Academic Press, 1971-1989.
- [28] J. Henriët, A. Martijn and H. H. Povlsen, CIPAC Handbook, Vol. 1C; Analysis of Technical & Formulated Pesticides, Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, 1985.
- [29] J. Henriët, J. F. Lovett, A. Martijn and H. H. Povlsen, CIPAC Handbook, Vol. 1B, Analysis of Technical & Formulated pesticides, Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, 1983.
- [30] J. F. Lawrence, High-Performance Liquid Chromatography of Pesticides, Academic Press, New York, 1982.
- [31] K. G. Das, Pesticide Analysis, Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, 1981.
- [32] Francis J. Biros, Pesticides Identification at the Residue Level, American Chemical Society, 1971.

