

《现代仪器分析》 实验指导书

（化工、生化、催化、造纸、发酵等专业研究生用）

青岛科技大学化工测试中心

二〇一六年十月十日修订

说 明

目前，现代仪器分析技术已经成为化工、轻工、医药和食品进行定性、定量分析的最重要手段之一。为拓宽知识面，满足未来研究工作的需要，化工、生化、催化、造纸、发酵等专业硕士研究生开设了《现代仪器分析》课程，其中理论部分为24学时，实验部分8学时。化工测试中心师生，在总结多年分析实践工作经验以及现有仪器设备条件的基础上，编写了本实验指导书。本书共有8个单项实验，2个综合试验，其中包括红外吸收光谱、原子吸收光谱、高效液相色谱、离子色谱分析实验，全部完成需要48学时。实验一、实验二由贾淑敏修订，实验三贾淑敏编写，实验五沈翠丽编写，实验六丁宁编写，综合实验由赵文英、贾淑敏、王树娟编写，其余实验范志先编写修订完成，全书最后由范志先统稿。2016年10月综合实验增加了质谱定性的内容。

在编写过程中，力求采用现代分析仪器手段，使实验内容与其专业相结合，同时也注重研究生实际操作动手能力的培养和提高。每个实验后均备有思考题，以便进一步培养学生提出问题，分析问题和解决问题的能力。书中的实验内容也可供其他有关专业的教师和学生参考使用。

限于编著者的水平和仪器设备条件，对于书中存在的缺点和错误，恳请使用者指正。

编 者

2016年10月

目 录

实验一 液体、固体样品红外吸收光谱的测定.....	1
1 实验目的	1
2 实验原理与制样方法	1
3 仪器与配件、试剂与样品	2
4 实验内容与步骤	2
5 实验谱图	3
6 注意事项	5
7 对实验报告的要求及说明	5
8 思考题	5
实验二 火焰原子吸收法测定自来水中的钠	7
1 实验目的	7
2 实验原理	7
3 仪器、试剂与溶液	8
4 实验内容与步骤	8
5 注意事项	9
6 对实验报告的要求及说明	9
7 思考题	10
实验三 石墨炉原子吸收法测定自来水中的铅.....	11
1 实验目的	11
2 实验原理	11
3 仪器、试剂与溶液	11
4 实验内容与步骤	12
5 注意事项	13
6 对实验报告的要求及说明	13
7 思考题	13
实验四 气相色谱法测定乙醇等 4 种溶剂的含量—内标法.....	14
1 实验目的	14
2 实验原理和仪器结构	14
3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品	15
4 气相色谱仪的操作条件	15
5 实验步骤	15
6 实验数据处理	17
7 注意事项	18
8 对实验报告的要求及说明	18
9 思考题	18
实验五 苯、甲苯和二甲苯的定性定量分析—高效液相色谱法.....	19
1 实验目的	19
2 实验原理和仪器结构	19
3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品	20
4 高效液相色谱仪的操作条件	20
5 实验步骤	20
6 实验数据处理	23
7 注意事项	24
8 对实验报告的要求及说明	24

9 思考题	24
实验六 反相离子对高效液相色谱法—蒸发光散射检测器测定杀菌剂三乙磷酸铝的含量.....	25
1 实验目的	25
2 实验原理和仪器结构	25
3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品.....	25
4 高效液相色谱仪的操作条件	26
5 实验步骤	26
6 实验数据处理	27
7 注意事项	28
8 对实验报告的要求及说明	28
9 思考题	28
实验七 化纤废水中二甲基亚砷和丙烯腈含量的测定.....	29
1 实验目的	29
2 实验原理和仪器结构	29
3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品.....	29
4 高效液相色谱仪的操作条件	29
5 实验步骤	30
6 数据处理	31
7 注意事项	31
8 对实验报告的要求及说明	31
9 思考题	32
实验八 自来水中常见7种阴、阳离子的测定—离子色谱法.....	33
1 实验目的	33
2 实验原理和仪器结构	33
3 实验仪器设备、试剂、溶液及用品.....	34
4 离子色谱仪的操作条件	35
5 实验步骤	35
6 数据处理	37
7 注意事项	38
8 对实验报告的要求及说明	38
9 思考题	38
综合实验一 一种除草剂的定性、定量分析	39
1 实验目的	39
2 实验原理	39
3 仪器与配件、试剂与样品	39
4 实验操作条件	40
5 实验内容与步骤	41
6 实验数据处理	49
7 注意事项	51
8 对实验报告的要求及说明	51
9 思考题	51
综合实验二 自来水中钠含量的测定.....	52
1 实验目的	52
2 实验原理	52
3 仪器与配件、试剂与样品	53
4 实验操作条件	53
5 实验内容与步骤	54
6 实验数据处理	56
7 注意事项	56

8 对实验报告的要求及说明	57
9 思考题	57

实验一 液体、固体样品红外吸收光谱的测定

1 实验目的

- 1.1 深入了解红外光谱仪的工作原理
- 1.2 熟悉 BRUKER TENSOR 27 型红外光谱仪及 OPUS 4.2 红外光谱工作站的使用
- 1.3 学习一般样品的制样方法
- 1.4 掌握红外数据库的建立、检索和谱图的解析
- 1.5 对部分已知化合物的谱图进行比较，并对某些未知化合物进行检索、定性
- 1.6 学习使用工作站中峰面积积分方法计算某些峰的峰面积。

2 实验原理与制样方法

2.1 实验原理

红外光谱研究的是分子的相对运动，也可归结为化学键的振动和转动。不同的化学键或官能团，其振动能级从基态跃迁到激发态所需的能量不同，因此要吸收不同频率的红外光。物质吸收不同频率的红外光，将在不同波长处出现吸收峰，通过仪器的一系列转换形成红外吸收光谱。

2.2 仪器结构

红外光谱仪分为光源、干涉仪、吸收池、单色器、检测器五大部分（见图 1-1）。

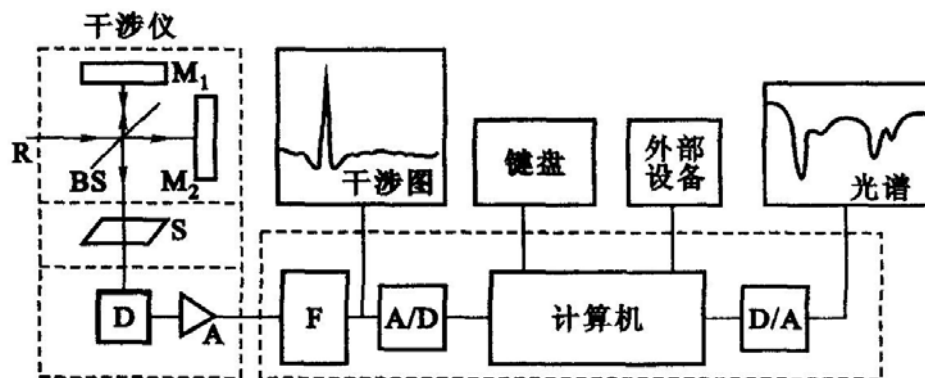


图 1-1 傅立叶变换红外光谱仪示意图

R 红外光源，M1 定镜，M2 动镜，BS 光束分裂器，S 试样

D 探测器，A 放大器，F 滤光器，A/D 模数转换器，D/A 数模转换器

2.3 对试样的要求

2.3.1 试样尽可能是单一组分的纯物质，纯度应 $>98\%$ ，便于与纯化合物的标准进行对照。多组分试样应在测定前尽量预先用分馏、萃取、重结晶、区域熔融或色谱法进行分离提纯。

2.3.2 试样中不应含有游离水。水本身有红外吸收，会严重干扰样品谱，而且还会侵蚀吸收池的盐窗。

2.3.3 试样的浓度和测试厚度应选择适当，以使光谱图中的大多数吸收峰的透射比处于 $10\% \sim 80\%$ 范围内。包括控制浓度和压片的厚薄尺寸。

2.4 制样方法

不同状态的样品需要相应的制样方法。制样方法的选择和制样技术直接影响谱图吸收峰的频率、数目和强度。

2.4.1 固体样品的制备

2.4.1.1 压片法: 将固体试样与纯 KBr 研细混合, 研磨到粒度小于 $2\ \mu\text{m}$, 在压片机上压成透明薄片, 即可用于测定。粉末样品常用此法。

2.4.1.2 糊状法: 将研细的固体粉末和石蜡油调成糊状, 涂在两盐窗上, 进行测试。此法可消除水峰的干扰。液体石蜡本身有红外吸收, 此法不能用来研究饱和烷烃的红外吸收。

2.4.2 液体样品的制备

2.4.2.1 液膜法: 对沸点较高的液体, 直接滴在两块盐片之间, 形成没有气泡的毛细厚度液膜, 然后用夹具固定, 放入仪器光路中进行测试。

2.4.2.2 液体吸收池法: 对于低沸点液体样品, 要用固定密封液体池。制样时液体池倾斜放置, 样品从下口注入, 直至液体被充满为止, 用聚四氟乙烯塞子依次堵塞池的入口和出口, 进行测试。

2.4.3 气态样品的制备

气态样品一般都灌注于气体池内进行测试。

2.4.4 特殊样品的制备—薄膜法

2.4.4.1 熔融制膜法: 对熔点低, 在熔融时不发生分解、升华和其它化学变化的物质, 用熔融法制备。可将样品直接用红外灯或电吹风加热熔融后涂制成膜。

2.4.4.2 热压成膜法: 对于某些聚合物可把它们放在两块具有抛光面的金属块间加热, 样品熔融后用压片机加压, 冷却后揭下薄膜夹在夹具中直接测试。

2.4.4.3 溶液制膜法: 将试样溶解在低沸点的易挥发溶剂中, 涂在盐片上, 待溶剂挥发后成膜来测定。如果溶剂和样品不溶于水, 使它们在水面上成膜也是可行的。比水重的溶剂在汞表面成膜。

3 仪器与配件、试剂与样品

3.1 仪器

BRUKER TENSOR 27 傅立叶变换红外光谱仪。

3.2 配件

压片机、模具、样品托架、玛瑙研钵、钢铲、镊子、液体检测池、万能托架、红外灯等。

3.3 试剂与样品

无水乙醇、苯、甲苯、环己烷、环己醇、试样 1、试样 2、薄膜试样。

4 实验内容与步骤

4.1 样品制备

4.1.1 压片法: 取 $2\sim 3\ \text{mg}$ 样品与 $200\sim 300\ \text{mg}$ 干燥的 KBr 粉末在玛瑙研钵中混匀, 充分研磨后, 用不锈钢铲取约 $100\ \text{mg}$, 均匀撒在压片模具上放到压片机上在 $20\ \text{MPa}$ 的压强下压制 $1\ \text{min}$, 制成透明薄片, 取出, 放于托架上, 准备扫描。背景最好采用纯溴化钾, 若溴化钾足够干燥, 可以用空气背景代替 (须在红外灯下操作)。

4.1.2 液膜法: 将熔融或溶解后的样品滴加在铝箔片上, 让其在室温下自然干燥, 成膜后用镊子小心地撕下薄膜, 并在红外灯下烘去溶剂, 放在样品架上测定。

4.1.3 液池法: 先在可拆液体池最下层放入聚四氟乙烯垫圈, 放入第一个洁净盐窗, 在透光孔处

滴一滴试样，放入第二片盐窗，加上压片压紧待测（随做随测，不可长时间放置以免样品挥发）。

4.2 实验样品测定步骤

4.2.1 实验样品的制备：按 4.1 样品制备方法分别制备环己烷、环己醇、环己酮、试样。

4.2.2 实验样品测定

4.2.2.1 开机：打开计算机电源、主机电源，检查主机面板上 status 指示灯应该黄灯亮。启动 Windows XP，双击 OPUS 快捷键，输入密码后登录，点击 OK 进入工作站主界面。

4.2.2.2 测定：点击 **measure**，出现下拉窗口，点击 **Advanced Measurement**；点击 **Basic**，编辑样品相关内容 Sample Name\ Sample Form；点击 **Advanced**，设定 File Name, Path；返回 **Basic**，点击 **Background Single Channel**，扫描空白背景；将已准备好的样品放入样品仓内的托架上，点击 **Sample Single Channel**，扫描样品，即可得到样品的红外光谱图。

4.2.2.3 检索谱图：首先打开要检索的谱图，基线校正后，点击 **evaluate**，点击 **spectrum search**，**select libraries**，**search library**，出现样品谱图与谱库中谱图的对照图。

4.2.2.4 峰面积积分：点击 **manipulate**，选择 **AB→TRconversion**，点击 **convert**，将透射峰改为吸收峰；点击 **evaluate**，点击 **integration**，选择 **setup method**，在左侧选择积分的类型，点击 **interactive**，移动白色条纹的位置选择要积分的峰，调节条纹宽度，定位积分区域；点击右侧箭头可以增加积分峰的个数，同样方法调节积分区域。点击 **store method**，命名方法并保存；点击 **load integration method**，加载建立的方法，点击 **integrate**，在左侧点击 **INTEG** 右键 **show report** 即可看到积分面积。

4.2.2.5 标峰：点击 **Evaluate**，点击 **peak picking**，调整 sensitivity(从 0 ~ 100 %)，滤掉杂峰，也可以手动选择目标吸收峰，点击 **peak pick**，即显示出吸收峰所在的波数。

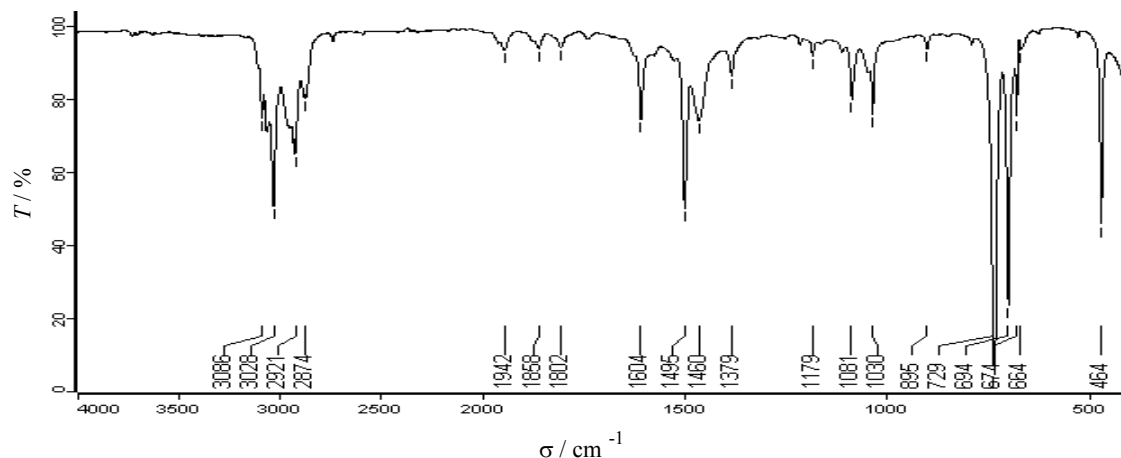
4.2.2.6 打印：点击 **quick print**，即可打印出谱图，亦可保存成电子文档（DPT 等格式）。

4.2.2.7 关机：退出工作站。关闭主机和计算机。关闭电源。

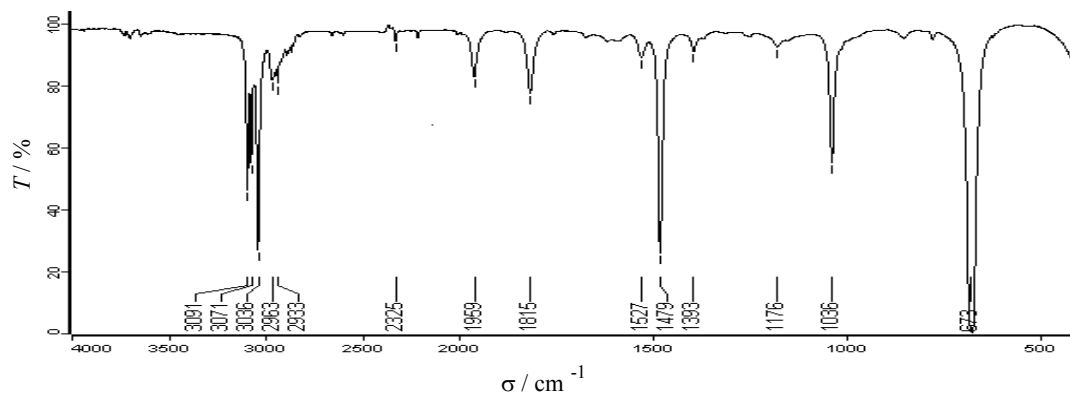
4.2.2.8 仪器日常维护与保养：如果主机上面 status 标有 I 的旁边亮起红色指示灯，则应打开主机上盖，更换干燥用的分子筛棒，并把换下来的分子筛棒，拧开上盖，倒出分子筛，在 150 °C 下烘 24 h，在干燥器中降温保存备用。样品室中的变色硅胶应根据情况烘干。

5 实验谱图

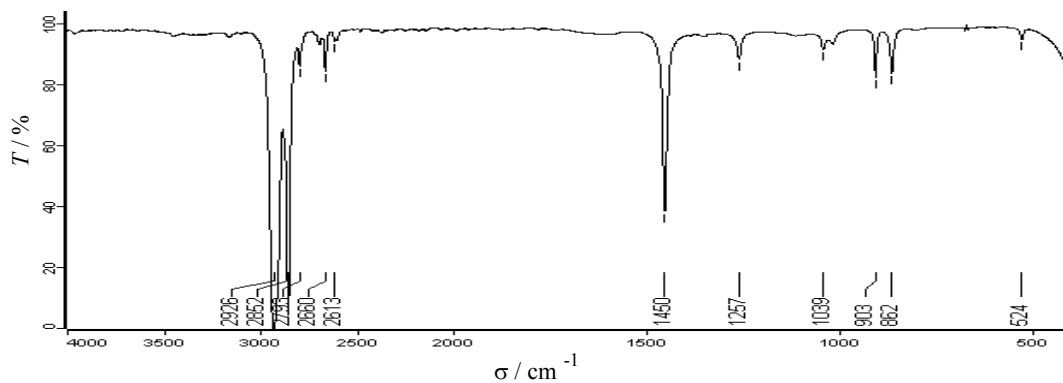
5.1 甲苯红外吸收光谱图



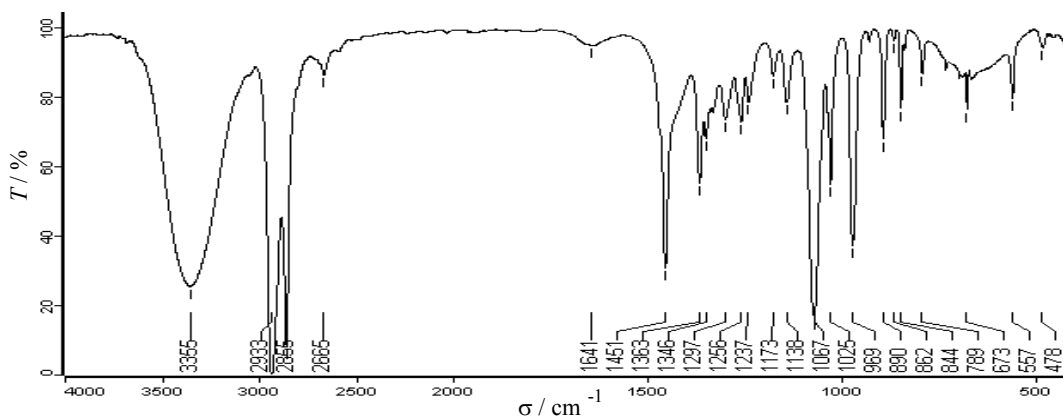
5.2 苯的红外吸收光谱图



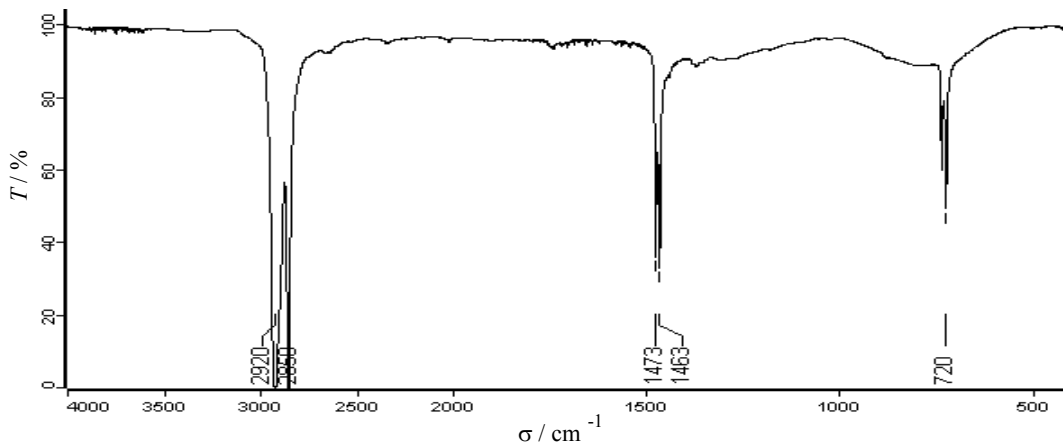
5.3 环己烷红外吸收光谱图



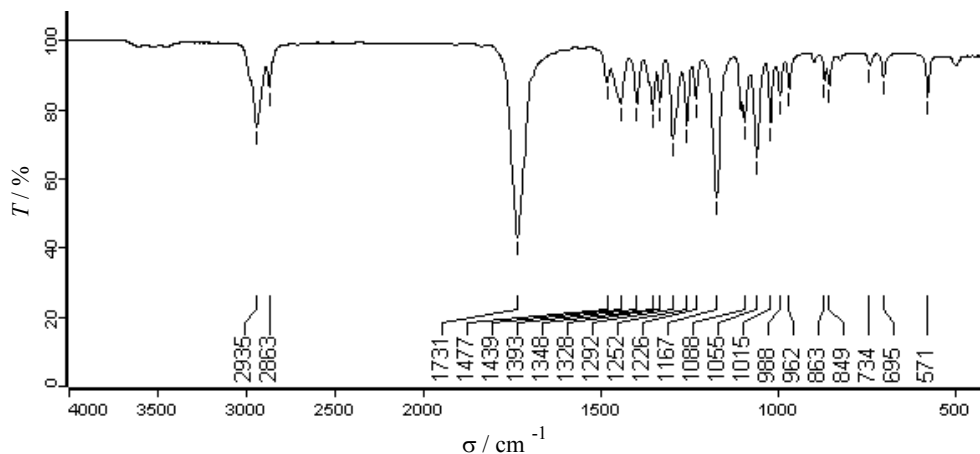
5.4 环己醇红外吸收光谱图



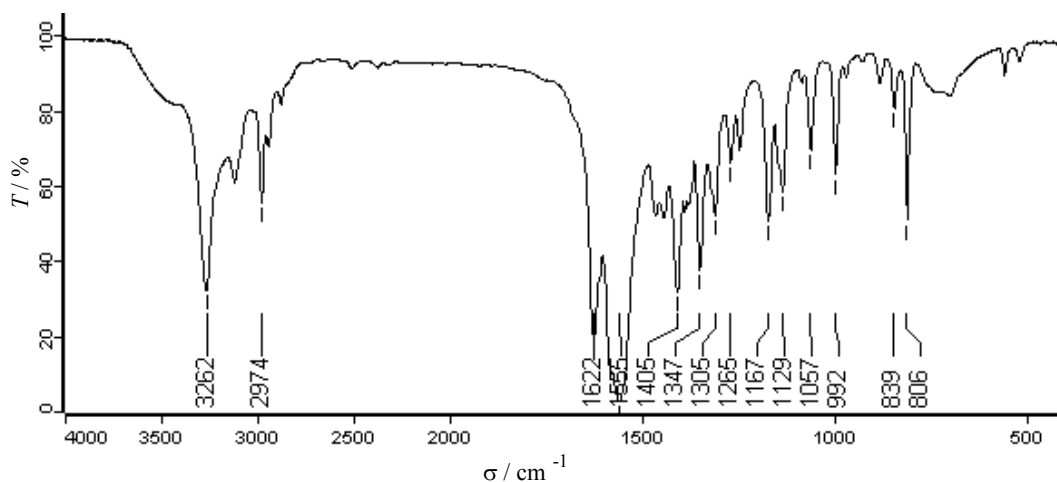
5.5 薄膜试样红外吸收光谱图



5.6 试样 1 的红外吸收光谱图



5.7 试样 2 的红外吸收光谱图



6 注意事项

- 6.1 在红外灯下用四氯化碳清洗窗片时，不能离红外灯太近，否则，清洗完后移开窗片容易使之破裂。
- 6.2 研磨苯甲酸和溴化钾粉末时，需带指套并在红外灯下操作。以免样品吸潮而影响测定结果。

7 对实验报告的要求及说明

- 7.1 比较结构类似的化合物苯和甲苯、环己烷和环己酮的红外光谱图，指出主要官能团的吸收峰。
- 7.2 初步解析试样 5.5 红外光谱图，提示该化合物是仅有一个官能团的聚合物。
- 7.3 初步解析试样 5.6 红外光谱图，在谱库中检索该化合物验证推断结果。
- 7.4 初步解析试样 5.7 红外光谱图，推断该化合物可能含有的官能团。

8 思考题

- 8.1 为什么溴化钾压片必须将其研磨至很细 ($< 2 \mu\text{m}$)?
- 8.2 对于有些很难研磨成细小颗粒的高聚物，采用哪种制样方法比较好?
- 8.3 低沸点的样品采用液池法的优点是什么?
- 8.4 除红外光谱法定性之外，举例列出还有哪些定性方法?

实验二 火焰原子吸收法测定自来水中的钠

1 实验目的

- 1.1 深入了解原子吸收光谱仪的工作原理和构造
- 1.2 进一步学习使用东西电子 AA 7003 原子吸收光谱仪及工作站 V 4.3
- 1.3 掌握测定条件优化的基本方法
- 1.4 掌握标准曲线法测定元素含量的操作步骤

2 实验原理

2.1 分析原理

原子吸收分光光度法是测定气态自由原子对特征谱线的共振吸收的定量分析技术。元素的基态原子可以吸收与其发射线波长相同的特征谱线。当光源发射的某一特征波长的光通过原子蒸汽时，原子中的外层电子将选择性地吸收该元素所能发射的特征波长的谱线，这时透过原子蒸汽的入射光将减弱，其减弱的程度与蒸汽中该元素的浓度成正比。吸光度符合朗伯—比耳定律（见式 2-1）

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = KcL \dots\dots\dots (2-1)$$

根据式 2-1 可以用标准曲线法来测定试样溶液中某一元素的含量。在火焰原子吸收光谱分析中，分析方法的灵敏度、准确度、抗干扰情况和分析过程是否简便快速，除与所用仪器有关外，在很大程度上取决于实验条件的选择，因此，最佳实验条件的选择是个重要的问题。本实验对自来水中钠进行测定时，分别对灯电流、狭缝宽度、助燃比等条件进行选择。

2.2 仪器结构

原子吸收光谱仪分为空心阴极灯、原子化器、检测器和数据处理系统四大部分（见图 2-1）。

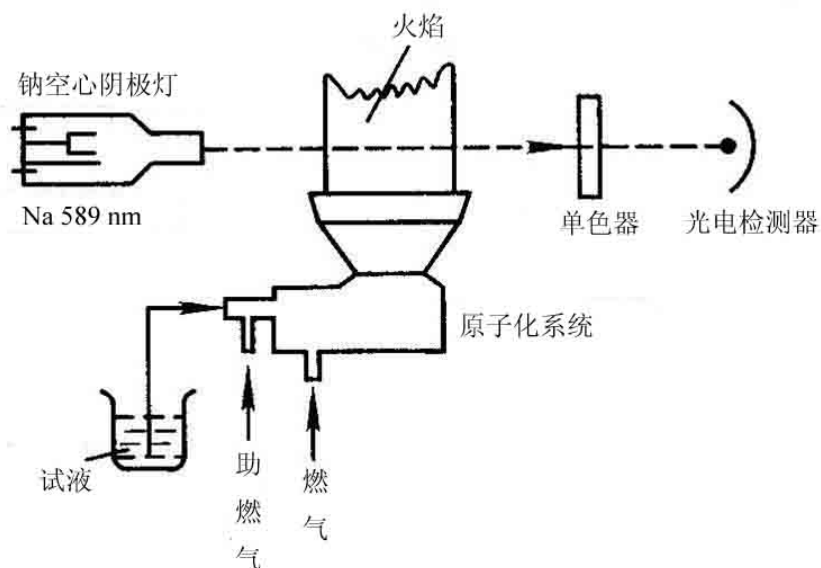


图 2-1 火焰原子吸收分析示意图

3 仪器、试剂与溶液

3.1 仪器

AA 7003 型原子吸收光谱仪；BS210S 型电子分析天平；容量瓶：50 mL 1 只、100 mL 8 只、500 mL 1 只；移液管：1 mL 1 支、5 mL 2 支、10 mL 1 支。

3.2 试剂与样品

浓盐酸（36 % ~ 38 %）：分析纯；氯化钠（99.8 %）：优级纯；二级水；试样：自来水。

3.3 溶液

1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准储备液、100 $\mu\text{g/mL}$ 钠标准溶液、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 钠标准工作溶液。

4 实验内容与步骤

4.1 标准溶液的配制

钠标准储备液的配制：称取 0.254 g 氯化钠（精确至 0.000 1 g）于 100 mL 容量瓶中，用二级水溶解定容，即配制成约 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准储备液。

取钠标准储备液 10 mL，置于 100 mL 容量瓶中，二级水定容，摇匀，即为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准溶液。

取 100 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准溶液 1 mL，置于 100 mL 容量瓶中，用二级水稀释至刻度，摇匀即得到 1 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准工作溶液。该标准工作溶液用于最佳条件的选择。

4.2 仪器操作

4.2.1 开机准备工作：首先打开排风扇，接着翻开主机右上方箱盖，可见六孔转灯塔，将所需元素灯安装到灯座上并记下灯的种类及相应位置（全装满或对称安装）。供气：使用火焰原子化器，打开空压机，输出压力为 0.3 MPa，打开乙炔钢瓶次级压力表输出为 0.07 MPa；

4.2.2 打开计算机电源，进入 win98 后，关闭至 DOS 命令行，输入 AA70032 回车，按 4 次 **enter**，进入工作站界面后，打开仪器主机电源。首先点击**设置元素灯**，出现一个选择元素灯的对话框，点击不同的序号使其后面的圆圈变绿，点击**确认**，按照所安装、使用灯的种类在元素周期表内点击相应的元素即可完成元素灯的设定。点击**设置仪器条件**，点击右上角已设置的元素灯号，主机可以自动完成**元素灯选择**、**波长回零**、**波长自动**、**灯位置调整**、**自动平衡**工作（注意平衡后的波长应与该元素吸收波长吻合，若不吻合需再点击相应的元素灯号重新平衡同时注意观察高压不能高于 400 V）。能量平衡完毕后，利用遮光片调整火焰原子化器与光通路平行。点击在左下角表格中**燃气**一栏，在相应位置设置燃气流量（通常 1.5 L/min 左右），点击右下角的**燃气流量**按钮，否则无燃气通过原子化器。按主机面板红色按钮点火（预热 10 min）。

4.3 最佳条件的选择

灯电流的选择：在初步固定的测量条件下，先将灯电流调到 5 mA，吸入钠标准工作溶液，读取相应吸光度值，然后在 4 ~ 12 mA 的范围内改变灯电流，每次改变 2 mA，分别读取相应吸光度值，计算平均值和标准偏差，并绘制吸光度与灯电流的关系曲线，选择灵敏度高、稳定性好的条件作为工作条件。

狭缝宽度调节：用以上选定的条件，分别在 0.1 nm、0.2 nm、0.4 nm、2.0 nm 的狭缝宽度下对钠标准工作溶液进行测定，绘制吸光度与狭缝宽度的关系曲线。以不引起吸光度减小的最小狭缝宽度为合适的狭缝宽度。

助燃比的选择：火焰种类确定后，助燃比的不同必然会影响火焰的性质、吸收灵敏度和干

扰的消除。

在上述固定的条件下，固定空气流量，依次改变燃气流量为：0.8 L/min、1.0 L/min、1.2 L/min、1.4 L/min、1.6 L/min、1.8 L/min、2.0 L/min，对所配制的钠标准工作溶液进行测定，绘制吸光度与燃气流量变化的影响曲线，从曲线上选取最佳燃气比。

4.4 火焰原子吸收法测定自来水中的钠

4.4.1 钠标准工作溶液的配制和标准曲线的建立：取 100 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准溶液，用二级水稀释配制浓度为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 钠标准溶液。以二级水作空白，建立标准曲线。在确定了最佳条件的前提下，点右键退出设置仪器条件界面。点击[分析参数]，点击[校准]，填入测量单位，其余设置缺省，点击[确认]；点击[校准曲线]，将空白及配制的标准曲线溶液浓度值按从低到高的顺序自上而下依次输入左边表格中[浓度]一栏内，并将[注]一栏设置为 $\checkmark$ ，曲线选择类型为一次曲线过零点，点右键退出。点击[采样分析]，先吸入二级水，待吸收曲线平稳后，点击[启动]，按 B 键扣空白值，按空格键采集 3 次数据（注意第一次按下空格键，等待显示出吸光度值后，再按第二次）为样品号 1。接着点击右下角[+]，增加样品号，将建立标准曲线的钠标准溶液按设定好的顺序依次从低到高浓度吸样，待吸光度值稳定后，按空格键采集数据（3 次），全部测完后，点击[结束]，点鼠标右键退出[分析报告]界面，点击[标准曲线]查看标准曲线相关系数，若相关系数大于 0.99，则可进行下一步，（否则需要重新测定或重新配制标准曲线标准溶液再测定）。

4.4.2 样品的测定：取新鲜的管道自来水，用二级水稀释 50 倍待测。点击鼠标右键，退出[标准曲线]界面，点击[分析参数]，在[工作模式]中设置[分析]，选取浓度直读，点击[确认]，点击[采样分析]，先吸入二级水，按照与标准曲线相同的方法操作，测定试样的吸光度值（注意每测完一个样品，需要将吸管放到二级水中清洗至吸光度值不变化为止），试样全部测完后，点击[结束]，在[AA 7003 分析报告]界面下点击[编辑报告]，可以观测到样品的吸光度值、浓度等结果；切记点击[报告存盘]，命名分析报告文件名（最多 8 个字符，不支持汉字），记住并确认，分析报告文件被保存到 C:/windows 路径下。按鼠标右键，退出相应界面，点击[文件管理]，点击退回 DOS，键入 win，启动 win 98。右键选中分析报告文件，用 word 打开，可以看到分析结果。在 win 98 下，启动 AA70032（该文件与分析报告文件在同一路径下），进入校准曲线界面，拷屏（按 Print Scrn 键），关闭工作站，将标准曲线和数据粘贴在分析报告的 word 文档中，编辑好相关信息，输出打印纸质分析结果报告。关闭乙炔钢瓶，待火焰熄灭后，先关闭原子吸收光谱仪主机，然后关闭计算机，最后切断总电源。

5 注意事项

- 5.1 所绘制的标准曲线相关系数至少要达到 0.99 以上，否则要重新配制溶液，重新测试。
- 5.2 试样吸光度值超过标准曲线范围，要稀释样品，重新测定。
- 5.3 乙炔为易燃、易爆气体，必须按照操作步骤进行。点火之前先通空气再通乙炔。实验结束后，先关乙炔，再关空气。
- 5.4 乙炔钢瓶阀门不能开的太大，否则，会有溶剂丙酮逸出而影响火焰原子化仪器正常工作。

6 对实验报告的要求及说明

- 6.1 实验报告内容应包括实验目的、实验原理、简要的实验过程记录及实验结果、结果分析与讨论。

6.2 请实验者提出见解及改进意见。

7 思考题

7.1 火焰原子吸收光谱法具有哪些特点？

7.2 试述最佳条件的确定对实际测量的意义。

7.3 为什么稀释后的溶液只能短时间存放，而储备液可以长时间存放？

7.4 空白校正的作用是什么？

实验三 石墨炉原子吸收法测定自来水中的铅

1 实验目的

- 1.1 了解石墨炉原子吸收光谱法的原理和特点
- 1.2 熟悉石墨炉原子吸收光谱仪的使用和操作技术
- 1.3 掌握饮用水中铅的测定方法

2 实验原理

石墨炉原子吸收光谱法是一种无火焰原子化的电加热原子吸收光谱法。它使石墨管升至 2000K 以上的高温，让石墨管内试样中的待测元素分解形成气态的基态原子，利用基态原子对特征谱线的吸收程度与浓度成正比的特点，进行定量分析。

石墨炉原子吸收法克服了火焰原子吸收法雾化及原子化效率低的缺陷，方法的绝对灵敏度比火焰法高几个数量级，最低可测至 10^{-14} g，试样用量少，还可直接进行固体试样的测定。目前已经成为痕量元素分析的一个重要手段，但该法仪器较复杂，背景吸收干扰较大。

石墨炉原子吸收法原子化过程可分为如下几步：

第 1 步 干燥 先通小电流，在稍高于溶剂沸点的温度下蒸发溶剂，将试样转化成干燥的固体试样。

第 2 步 灰化 将试样中复杂的物质分解为简单的化合物或将试样中易挥发的无机基体蒸发并使有机物分解，减小因分子吸收而引起的背景干扰。

第 3 步 原子化 即将试样中待测元素分解为基态原子。

第 4 步 清洗 在下一个试样测定前提高石墨炉的温度，高温除去遗留下来的试样，以消除记忆效应。

在这 4 个过程完成后，冷却水开关接通，使石墨管冷却至室温，便可以进行下一个样品的分析。

铅是对人体有害的元素之一，可以通过饮用水或食物进入人体。但是自来水中铅含量一般很难用其他方法直接进行检测，常用的测定方法就是用石墨炉原子吸收法，试样可直接分析测定，定量方法可用标准曲线法或标准加入法。

本实验采用标准曲线法测定自来水中铅的含量。

3 仪器、试剂与溶液

3.1 仪器

AA 7003 型原子吸收光谱仪；铅空心阴极灯；进样器；分析天平 1 台；容量瓶：1 000 mL 1 只、100 mL 8 只；移液管：0.1 mL 1 支、1 mL 1 支、2 mL 1 支、5 mL 1 支、10 mL 1 支。

3.2 试剂与样品

浓硝酸：优级纯；硝酸铅（99 %以上）：分析纯；二级水；试样：自来水。

3.3 溶液

0.2 % (V/V) 稀硝酸溶液；1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的铅标准储备液、1 $\mu\text{g/mL}$ 铅标准工作液、20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 、80 $\mu\text{g/L}$ 、120 $\mu\text{g/L}$ 、160 $\mu\text{g/L}$ 铅标准工作溶液。

4 实验内容与步骤

4.1 溶液的配制

4.1.1 0.2 % (V/V) 硝酸溶液：移取浓硝酸 2 mL 置于 1 000 mL 容量瓶中，用二级水稀释至刻度。

4.1.2 铅标准储备液：称取 0.1598 g 无水硝酸铅（精确至 0.0001 g）于 100 mL 容量瓶中，用 0.2 % 的稀硝酸溶液溶解定容，即配制成约 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的铅标准储备液。

4.1.3 铅标准工作溶液：取铅标准储备液 0.1 mL，置于 100 mL 容量瓶中，用 0.2 % 硝酸溶液定容，摇匀，即为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的铅标准工作溶液。

4.2 仪器操作

4.2.1 开机：首先打开排风扇，接着翻开主机右上方箱盖，可见六孔转灯塔，将所需元素灯安装到灯座上并记下灯的种类及相应位置（全装满或对称安装）。打开计算机电源，进入 win 98 后，关闭至 DOS 命令行，输入 AA 70032 回车，按 4 次 **enter**，进入工作站界面后，打开仪器主机电源。首先点击**设置元素灯**，出现一个选择元素灯的对话框，点击不同的序号使其后面的圆圈变绿，点击**确认**，按照所安装、使用灯的种类在元素周期表内点击相应的元素即可完成元素灯的设定。点击**设置仪器条件**，点击右上角已设置的元素灯号，主机可以自动完成**元素灯选择**、**波长回零**、**波长自动**、**灯位置调整**、**自动平衡**工作（注意平衡后的波长应与该元素吸收波长吻合，若不吻合需再点击相应的元素灯号重新平衡同时注意观察高压不能高于 400 V）（预热 10 min）。接通载气（高纯氩气 99.999 %），内气路 200 mL/min，外气路 1.5 L/min，通冷却水。设置**9：石墨炉控制**，输入相应数据，点击**制作曲线**。

4.2.2 采样分析：点击分析参数，设定时间常数为 1，延迟时间为 0；工作模式：校准；计算方式：峰高；统计方式：平均值、SD、RSD，单击 **ESC** 退出。在**校准曲线**中，将空白及配制的标准工作溶液按照从低到高的顺序自上而下依次输入左边表格中**浓度**一栏内，并将**注**一栏设置为 ☒。点击**采样分析**，将标准曲线标准溶液按设定顺序依次进样，进样后点击**启动**采集数据。每更换一个浓度增加一个样品号，最后点击**结束**退出。点击**校准曲线**，单击**曲线选择**可以选择不同的曲线，再点击**重绘曲线**即可。当相关系数达 0.99 以上，可点击**分析参数**选中工作模式中的**分析**、**浓度直读**，开始未知样品测定。分析结束，在**分析报告**中查看或打印分析结果（见实验二）。

4.2.3 关机：分析完毕后，关闭顶部的石墨炉电源，关闭保护气和冷却水后，关闭主机电源。点击文件管理，退至 DOS 界面后关闭计算机，切断总电源。

4.3 实验条件

吸收波长：283.30 nm；狭缝宽度：0.2 nm；灯电流：3 mA；载气：高纯氩气；进样量：10 μL ；石墨炉控制见表 3-1。

4.4 石墨炉原子吸收法测定自来水中的铅

4.4.1 标准曲线的建立：在 6 只 100 mL 容量瓶中，分别加入 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的铅标准工作液 0.0 mL、2.0 mL、4.0 mL、8.0 mL、12.0 mL、16.0 mL，用 0.2 % 的稀硝酸稀释至刻度，摇匀，建立标准曲线。按照 4.2 中的步骤，设置仪器条件，制作石墨炉升温曲线后，点击**分析参数**，点击**校准**，填入测量单位，其余设置缺省，点击**确认**；点击**校准曲线**，将空白及配制的标准工作溶液浓度值按由低到高的顺序自上而下依次输入到左边表格中**浓度**一栏内，曲线选择类型为一次曲线过零点，点右键退出。点击**采样分析**，将建立标准曲线的铅标准溶液按设定顺序由低到高依次进样，进样后点击**启动**采集数据，采集结束后，接着点击右下角**+**，增加样品号，进行下一次

进样（注意每测完一个样品，将进样器用二级水清洗多次，并用待测溶液润洗 3 次），全部测完后，点击[结束]，点鼠标右键退出[分析报告]界面，点击[标准曲线]查看标准曲线相关系数，若相关系数大于 0.99，则可进行下一步，否则需要重新测定或重新配制标准曲线标准溶液再测定。

4.4.2 样品的测定：点击鼠标右键，退出[标准曲线]界面，点击[分析参数]，在[工作模式]中设置[分析]，选取浓度直读，点击[确认]，点击[采样分析]，将自来水直接进样测定，点击[结束]，在[AA 7003] [分析报告]界面下点击[编辑报告]，可以看到样品的吸光度值、浓度等结果；点击[打印报告]输出纸质书面报告，也可以[报告存盘]。点鼠标右键，退出相应界面。按照 4.2.3 关机退出。

表 3-1 石墨炉控制程序表

序号	名称	起始温度	终止温度	时间 (s)	气体	测温
1	干燥	50	100	20	打开	功率
2	干燥	100	120	10	打开	功率
3	干燥	120	120	20	打开	功率
4	灰化	120	400	15	打开	功率
5	灰化	400	400	15	打开	功率
6	灰化	400	400	5	关闭	功率
7	原子化	2000	2000	5	关闭	功率
8	清除	2400	2400	3	打开	功率
9		0	0	100	关闭	功率
10		0	0	0	关闭	功率

5 注意事项

5.1 注意开机顺序，先通载气再接通石墨炉电源（否则主机报警），切记一定要打开冷却水（否则会烧坏冷却水管，造成漏水）。

5.2 进样器不能触到石墨管底部以免被污染。

5.3 石墨炉控制中，原子化阶段内气路一定要关闭。

6 对实验报告的要求及说明

6.1 实验报告内容应包括实验目的、实验原理、简要的实验过程记录。

6.2 对于实验结果综合分析与讨论。

6.2 请对本实验的设计给予评价和建议。

7 思考题

7.1 石墨炉原子吸收法中保护气的作用是什么？

7.2 与火焰原子吸收法相比，石墨炉原子吸收法的主要优点是什么？

7.3 简述石墨炉原子化法的基本过程及各阶段的目的。

实验四 气相色谱法测定乙醇等 4 种溶剂的含量—内标法

1 实验目的

- 1.1 充分理解气相色谱法的分离原理
- 1.2 深入学习掌握气相色谱仪的操作并理解氢火焰离子化检测器（FID）的工作原理
- 1.3 熟练掌握内标法定量测定化工产品
- 1.4 进一步学习使用 VARIAN Star 6.0 英文版色谱工作站处理数据形成报告

2 实验原理和仪器结构

2.1 色谱分离原理

在色谱分离中，组分在色谱柱上的保留程度取决于它们在固定相和流动相之间的分配系数 K （见式 4-1），分配系数的差异是色谱法组分被分离开的依据。

$$K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度}}{\text{组分在流动相中的浓度}} \quad (4-1)$$

在实际分析工作中，还常用另一表征色谱分配平衡过程的参数——分配比 k （容量因子或容量比）（见式 4-2）。被分离的组分在色谱柱上的保留程度最终取决于分配比。 k 越大，保留时间越长， $k=0$ ，则表示该组分在固定相上不保留。

$$k = \frac{\text{组分分配在固定相中的量}}{\text{组分分配在流动相中的量}} \quad (4-2)$$

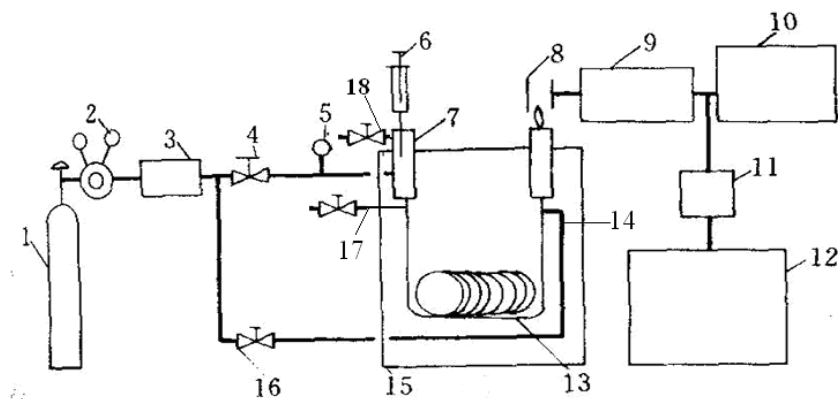
分配系数只取决于组分和两相的性质，与相比无关。分配比不仅取决于组分和两相性质，且与相比有关。

气相色谱主要是利用物质的分配系数及沸点、极性的差异来实现混合物的分离。被分析样品在汽化室汽化后被惰性气体（即氮气，也叫流动相）带入色谱柱，柱内含有液体或固体固定相，由于样品中各组分的分配系数或沸点、极性不同，每种组分都倾向于在流动相和固定相之间达到分配平衡。但由于载气是流动的，这种平衡实际上很难建立起来。也正是由于载气的流动，使样品组分在运动中进行反复多次的分配，结果是在载气中分配浓度大的组分先流出色谱柱，而在固定相中分配浓度大的组分后流出。

2.2 仪器结构

气相色谱主要由供气系统、进样系统、分离系统、检测系统、计算机控制及数据处理系统组成（见图 4-1）。

气相色谱的检测器有热导池检测器（TCD）、氢火焰离子化检测器（FID）、电子俘获检测器（ECD）、氮磷检测器（NPD）、火焰光度检测器（FPD）、质谱检测器（MSD）等。本实验采用的是氢火焰离子化检测器（FID）。该检测器是利用氢火焰作电离源，使有机物电离，产生微电流而响应的检测器，又称氢火焰离子化检测器，是破坏性的、典型的质量型检测器。其工作原理为：从毛细管柱后流出的气体在喷嘴处与进入的氢气以及尾吹气混合，点火灯丝点燃氢火焰，通入空气助燃。极化极和收集极通过高阻、基流补偿和直流电源组成检测电路，测定氢焰中产生的微电流。



1 高压气瓶（载气）；2 减压阀（氢气表或氧气表）；3 净化器；4 稳压表；5 压力表；6 进样器；7 汽化室；8 检测器；9 静电计；10 记录仪；11 模数转换器；12 数据处理系统；13 毛细管柱；14 尾吹气；15 柱恒温箱；16 针阀；17 分流阀；18 吹扫气

图 4-1 毛细管气相色谱仪流程示意图

3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品

3.1 仪器

气相色谱仪：VARIAN CP-3800，氢火焰离子化检测器（FID），VARIAN Star 6.0 英文版色谱工作站；BS 210S 型电子分析天平；10 μ L 微量进样器。

3.2 试剂与样品

甲醇（99.5%）、乙醇（99.8%）：优级纯；丙酮（99.5%）、二氯甲烷（99.0%）、乙腈（99.5%）、乙酸乙酯（99.5%）：分析纯；试样。

3.3 溶液

约 185 g/L 丙酮甲醇内标溶液；乙醇（约 30 g/L）、二氯甲烷（约 90 g/L）、乙腈（约 40 g/L）、乙酸乙酯（约 36 g/L）混合标准工作溶液；试样溶液。

3.4 实验用品

每小组按 4 人计，容量瓶：50 mL 2 只（公用）、100 mL 1 只（公用）；具塞刻度试管：10 mL 2 支；移液管：2 mL 2 支、5 mL 2 支、10 mL 2 支、25 mL 1 支。

4 气相色谱仪的操作条件

色谱柱：AC 10（60 m $\times$ 0.22 mm $\times$ 0.25 μ m）石英毛细管柱；

汽化室：200 $^{\circ}$ C；检测室：200 $^{\circ}$ C；

柱温：60 $^{\circ}$ C（保持 1 min） $\xrightarrow{7^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 180 $^{\circ}$ C；运行 9 min 后手动停止。

载气：普氮，柱前压：中间 EFC 20 psi；

分流比：20:1；

进样量：1 μ L；

保留时间：乙醇：约 7.4 min；丙酮（内标物）：约 7.7 min；二氯甲烷：约 7.9 min；

乙腈：约 8.0 min；乙酸乙酯：约 8.6 min。

5 实验步骤

5.1 内标溶液、混合标准工作溶液、试样溶液的配制

内标溶液的配制：先取少许甲醇加入 100 mL 容量瓶中，置于分析天平上，去皮归零，量取

24 mL 丙酮于容量瓶中，称重，精确至 0.001 g。用甲醇定容至刻度摇匀即制备成内标溶液。

混合标准工作溶液的配制：先取 10 mL 内标溶液加入 50 mL 容量瓶中，置于分析天平上，去皮归零，用移液管分别量取 2.0 mL 乙醇（约 1.5 g）、3.5 mL 二氯甲烷（约 4.5 g）、2.5 mL 乙腈（约 2 g）、2.0 mL 乙酸乙酯（约 1.8 g）于容量瓶中并依次称重，精确至 0.0001 g，然后用甲醇定容至刻度即为混合标准工作溶液。

试样溶液的配制：取 10 mL 内标溶液于 50 mL 容量瓶中，置于分析天平上，去皮归零，用移液管量取适量的试样溶液，称重，精确至 0.0001 g，用甲醇定容至刻度即为试样溶液。实验课教师负责配制含不同组分和含量的试样溶液，配制后分发给各实验小组。

5.2 开机测定样品

5.2.1 安装色谱柱：打开色谱仪柱箱，安装色谱柱，适当旋紧两端固定螺丝，保证不漏气。

5.2.2 通气：按气相色谱仪各种气体压力的要求接入气体：载气普通氮气 N_2 0.5 MPa，燃气 H_2 0.3 MPa；助燃气空气 0.3 MPa。必要时用检漏液（色谱仪外可用肥皂水，内部可用异丙醇）检查连接处是否漏气，如漏气，进一步旋紧螺丝或更换垫。

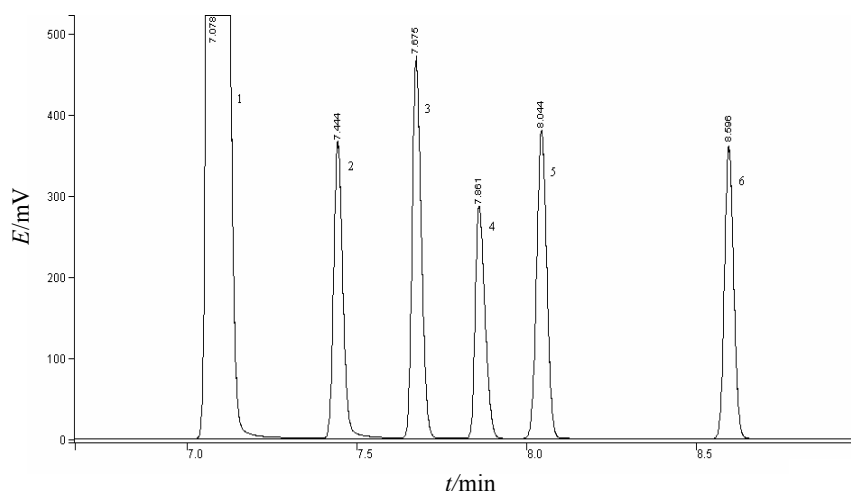
5.2.3 打开计算机电源，进入 WINDOWS XP 操作系统。双击 Star Toolbar，启动工作站。

5.2.4 打开 GC 主机电源开关。大约 1 min，听到各种阀动作声音后，工作站界面 Waiting 变为闪烁的红色 NOT READY。

5.2.5 建立新的方法文件：在工作站界面 **Method** 中，点击 **另存为** 快捷键，为新的方法文件命名，激活新建方法文件，设置色谱条件。汽化室：点击 Injector，中间 Injector Oven 为 On，设定温度 200 °C，分流比设定 20，前面 Injector Oven 设为 Off；压力：点击 FLOW/PRESSURE，设定前面的 EFC 压力为 0.1 mL/min，中间 EFC 压力为 138 KPa (20 psi)；柱温：点击 Column Oven，在柱温设置表中第一行设置 60 °C，保持 1 min，第二行中设置 180 °C，升温速率设为 7 °C/min，维持 1.86 min，总时间 20 min；检测器：设定前面的 FID 检测器为 On，温度为 200 °C，中间的 ECD 检测器为 Off。保存设定好的条件，重新激活该方法文件，平衡好后，界面上的灯均变成绿色，即可进样分析。

5.2.6 样品测定：在上述分析条件下，待基线平稳后，连续注入数针混标溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 % 时，按照进样规则的顺序（标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液）进样分析。本实验已对甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯单标溶液逐一进样分析，确定了它们的各自相对保留时间。接下来用混合标准工作溶液进样建标后，获得相应的色谱图（见图 4-2），并在相同分析条件下对试样溶液进行测定，确证各组分并计算结果。

5.2.7 关机：测试完毕，将柱温设置为 50 °C，平衡后，顺序关闭工作站、主机电源、气阀。处理数据，打印报告后关闭计算机和总电源开关。



1 溶剂（甲醇）；2 乙醇；3 丙酮（内标物）；4 二氯甲烷；5 乙腈；6 乙酸乙酯

图 4-2 混标溶液气相色谱分离图

6 实验数据处理

6.1 试样溶液中组分含量的计算

6.1.1 内标法手动计算试样中各组分的百分含量

本实验采用内标法。将测得的两针试样溶液以及其前后两针混标溶液，相应组分与内标物峰面积的比值，分别进行平均。

以质量百分数表示的各组分含量 X ，按下式（4-3）计算：

$$X = \frac{\bar{r}_2 \times m_1 \times P}{\bar{r}_1 \times m_2} \quad (4-3)$$

式中：

$\bar{r}_1$ — 标样溶液中，相应组分与内标物峰面积比的平均值

$\bar{r}_2$ — 试样溶液中，相应组分与内标物峰面积比的平均值

m_1 — 标样的质量，g

m_2 — 试样的质量，g

P — 混标样品中各标样纯度

每组至少计算出 2 个待测组分的含量的测定结果。

6.1.2 用 VARIAN Star 6.0 英文版色谱工作站自动计算试样中各组分的百分含量

点击工作站任务栏左数第三个图标 **View/Edit Chromatograms**，查找打开数据文件（在进样前指定的路径下）。双击混标工作溶液和试样溶液数据谱图文件，装入表中。点击右下角的 **Open Files**，点击 **Edit Method** → **Calibration Setup**，Calibration Type(校正类型)选 Internal Standard(内标法)。Numbers of Calibration Levels(校正水平级数)为 1（有几个标样浓度梯度选几）。Curve Defaults(曲线设置)为 Force，其他项为缺省值，点击 **Save**。点击 **Edit Method** → **Peak Table**，在 Retention Time 栏内自上而下按出峰顺序依次输入内标物和标样的保留时间（可以从色谱图上得到）。Peak name 下输入相应的内标物和标样的中文名称，在 Level 1 处输入内标物和标样称样量（注意标样纯度的手工校正）。内标物选定 std 项，标样不选。点击 save 保存。选择 **Results** → **Reintegration List**（再积分清单），Sample Type 项下，标样文件设置为 Calibration.；样品文件设置为 Analysis。在 Internal Standard 项下，点击 Amounts 按 Update List，对话框出现内标物名称和量值。注意标样文件和样品文件都要点击。按 Save Changes 退出。样品文件后面如用百分含

量表示结果，因标样溶液和样品溶液定容体积一致时，multipliers 设置为 100；divisor 设置为样品的称样量。选定 Incorporate New Calibration Into Data Set，点击 **Calculate Results** 积分计算分析结果。保存处理方法。点击 **Results** 指向样品文件处，**View Result Only** 或 **View Standard Report**，查看或打印实验数据或报告。

7 注意事项

- 7.1 气相色谱开机时先通载气后通电；关机时，先关电源后关载气。
- 7.2 经常检查气路的气密性和减压阀的压力指示。
- 7.3 用微量进样器进样时，切记防止用力过猛，避免折弯针柄。
- 7.4 养成进样后马上用溶剂洗针数次的习惯。

8 对实验报告的要求及说明

- 8.1 实验报告内容应包括实验目的、原理和实验结果。
- 8.2 对实验结果和实验过程的综合分析。
- 8.3 对本实验设计的评价和建议。
- 8.4 每小组公用计算机打印出的混和标准工作溶液和试样溶液的色谱图和数据。

9 思考题

- 9.1 如何选择色谱柱和色谱分析条件用于常用溶剂含量的测定？
- 9.2 程序升温的作用是什么？在多组分分析时如何设置？
- 9.3 何谓吹扫、分流、分流比、尾吹？它们的含义或作用是什么？
- 9.4 何种情况下采用内标法定量？比较内标法和外标法的异同点。
- 9.5 二氯甲烷的响应值为什么比乙醇的低？
- 9.6 本实验要求进样量十分准确吗？
- 9.7 如何判断样品中是否含有丙酮和/或甲醇？本实验以甲醇为溶剂、丙酮作为内标物，如果样品中含有甲醇和丙酮时，请问该如何建立分析方法？

实验五 苯、甲苯和二甲苯的定性定量分析—高效液相色谱法

1 实验目的

- 1.1 了解并掌握高效液相色谱法的分离原理
- 1.2 学习并掌握高效液相色谱仪的操作
- 1.3 掌握利用保留时间进行定性和外标法定量的方法
- 1.4 学习使用 Empower Pro 中文版色谱工作站处理数据

2 实验原理和仪器结构

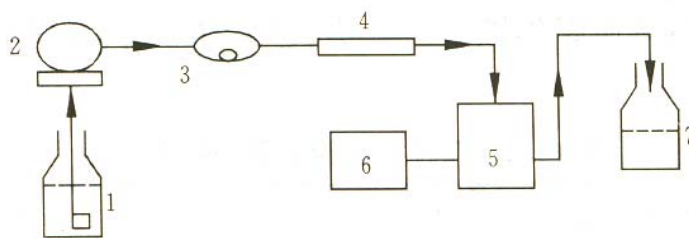
2.1 高效液相色谱法分离原理

高效液相色谱法分离原理参见实验五。

高效液相分配色谱法有两种分离模式，反相色谱法和正相色谱法。反相高效液相色谱法是指采用非极性固定相（如 C_{18} 、 C_8 等）、极性溶剂（如甲醇、乙腈等）作为流动相的一种分离模式。正相色谱法与反相色谱法相反，它是以极性固定相（如带有氨基和氰基的固定相），非极性溶剂（正己烷等）为流动相的一种液相色谱分离模式。极性较强或亲水的样品分子和反相柱中的固定相上的相互作用较弱，分配较少，因此随着流动相较快流出，反之，疏水性相对较强的分子和固定相间存在较强的相互作用，在柱内保留的时间相对较长。

2.2 仪器结构

高效液相色谱仪最基本的组件是高压输液泵、进样器、色谱柱、检测器和工作站（见图 5-1）。此外还可配自动进样器、在线脱气系统等。



1 流动相；2 输液泵；3 进样器；4 色谱柱；5 检测器；6 工作站；7 废液瓶

图 5-1 高效液相色谱仪流程图示意图

高压输液泵的作用是将流动相以稳定的流速和压力输送到色谱系统。现代液相色谱仪要求进样器耐高压、重复性好、操作方便，其中六通阀进样器最为常用。进样体积由定量管确定，常用的有 10 μL 、20 μL 、50 μL 的定量管。六通阀的结构及工作过程见图 5-2 所示。

高效液相色谱常用的检测器有紫外检测器（UV）、蒸发光散射检测器（ELSD）、安培检测器（AMD）、电导检测器（CD）、荧光检测器（FLD）、示差折光检测器（DRID）等。本实验采用二极管阵列紫外检测器（PDA），该检测器同时给出波长、吸光度和时间三维的色谱图。测定数据经计算机处理，可获得定量、定性的色谱和光谱信息。该检测器对各组分的定量是基于光的吸收定律朗伯-比耳定律。

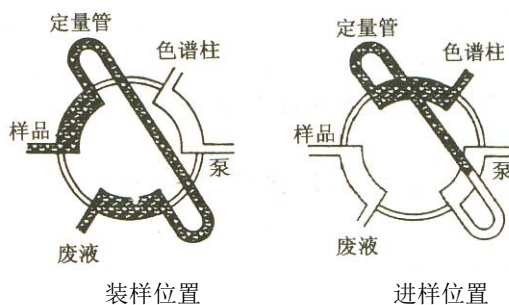


图 5-2 六通阀进样器工作原理

3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品

3.1 仪器

高效液相色谱仪：美国 WATERS 600 高压泵，WATERS 2996 型二极管阵列检测器和 Rheodyne 7725i 六通阀进样器；Empower Pro 中文版色谱工作站；BS210S 型电子分析天平；100 μL 微量进样器。

3.2 试剂与样品

甲醇（99.9 %）：色谱纯；水：二级水；苯（99.5 %）、甲苯（99.5 %）、二甲苯（99.0 %）均为分析纯；试样。

3.3 溶液

苯、甲苯和二甲苯混合标准工作溶液（约 30 $\mu\text{g/mL}$ ）；试样溶液。

3.4 实验用品

每小组按 4 人计，容量瓶：100 mL 1 只（公用）；具塞刻度试管：10 mL 5 支；移液管：0.1 mL 3 支（公用）、1 mL 1 支（公用）。

4 高效液相色谱仪的操作条件

流动相：甲醇:水=75:25；

流动相流速：0.8 mL/min；氦气鼓泡脱气；

色谱柱：Waters C_8 (150 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 5 μm) 不锈钢柱；

定量管：20 μL ；

柱温：25 $^{\circ}\text{C}$ ；

检测波长范围：195 nm ~ 400 nm；

提取波长：254 nm；

采样速率：1.0；

分辨率：1.2 nm；

仪器控制：自动曝光；

3D 数据采集；

保留时间：苯：约 3.0 min；甲苯：约 3.8 min；二甲苯：约 4.7 min。

5 实验步骤

5.1 标准工作溶液和试样溶液的配制

先取少许流动相置于 100 mL 容量瓶中，放入天平中去皮归零，用移液管分别量取 0.1 mL

苯、甲苯、二甲苯于容量瓶中并依次称重，精确至 0.000 1 g，然后用流动相定容制备成标准溶液母液。取标准溶液母液 0.3 mL 用流动相稀释定容至 10 mL 即配制成药 30 $\mu\text{g/mL}$ 的苯、甲苯、二甲苯标准混合工作溶液。

试样溶液由实验课教师配制编码并分发给各实验小组。

5.2 开机测定样品

5.2.1 使用 HPLC 级流动相，必要时自行制备；水为二次蒸馏水。用前均需过 0.22 μm 滤膜。

5.2.2 流动相脱气：打开氦气（99.999 %）高压钢瓶，调节减压阀输出压力 0.5 MPa。确认流动相管线和相对应的脱气管线。开始洗脱前，以 100 mL/min 的速率脱气至少 15 min，然后以 20 ~ 50 mL/min 速率维持脱气，直至分析工作完成。

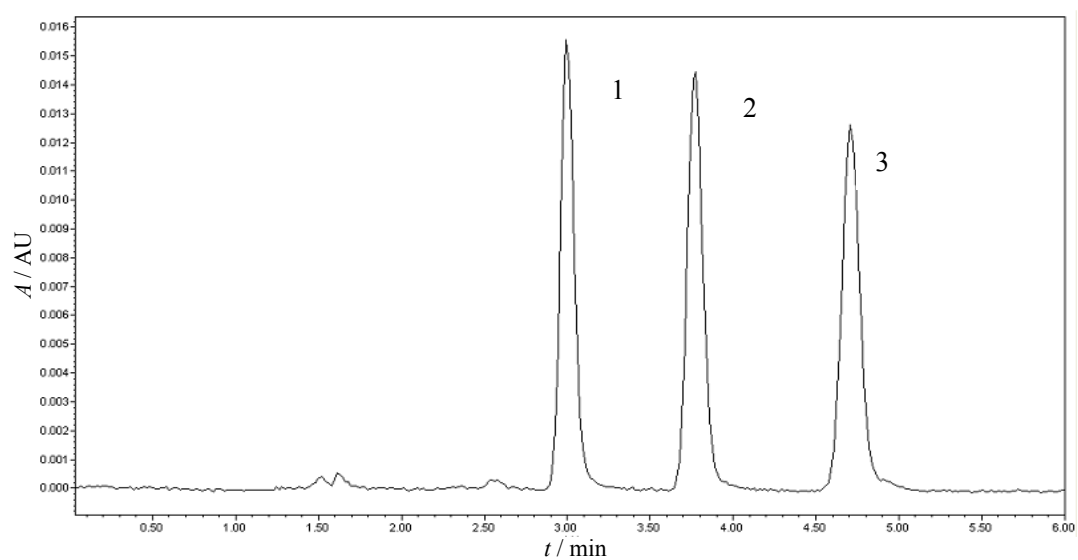
5.2.3 开机：顺序接通 WATERS 2996、600。打开计算机电源，进入 WINDOWS XP，启动 Empower Pro 中文版色谱工作站。

5.2.4 排除泵室气泡：当正常工作流速时显示无压力或压力波动时，此时一般要排气。方法是打开排液阀，设置流速 10 mL/min，待排出气泡后恢复原有设置。

5.2.5 双击配置系统，建立分析项目。双击运行样品，创建方法组。根据实际分析的样品和要求，设置 WATERS 600 泵和检测器的工作参数。顺序点击设置、进样按钮，准备开始分析。

5.2.6 进样：将六通阀手柄置于 LOAD 状态。用微量进样器装样，注入 5 倍于定量管体积的试样溶液；装样后将手柄顺时针置于 INJECT 状态开始进样，同时会听到蜂鸣声及屏幕提示，这时工作站开始记录。待进样后 2 ~ 3 min，将手柄转回 LOAD 位置，这时才能取下进样器，装样准备开始下次分析。注意必须使用液相色谱仪专用进样器，避免损坏阀片，造成漏液。在规定的液相色谱分析条件下，待基线平稳后，连续注入数针标准混和工作溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 % 时，按照进样规则的顺序（标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液）进样分析。本实验先对苯、甲苯、二甲苯单标溶液逐一进样分析，确定苯、甲苯、二甲苯的各自相对保留时间。接下来用苯、甲苯、二甲苯标准混和工作溶液进样建标后，获得相应的色谱图和典型光谱图（见图 5-3、图 5-4、图 5-5），并在相同分析条件下对试样溶液进行测定，确证组分，计算结果。

5.2.7 关机：测试完毕，先用 100 % 水冲洗至压力平衡，持续 10 min，改为 90 % 甲醇水溶液洗脱至柱压平衡，持续 5 min。将流速设置为 0 mL/min 后顺序关闭 WATERS 600、2996 电源开关。关闭氦气钢瓶气阀。处理数据打印报告后，关闭计算机和总电源开关。



1 苯; 2 甲苯; 3 二甲苯

图 5-3 苯、甲苯、二甲苯混标工作溶液高效液相色谱分离图

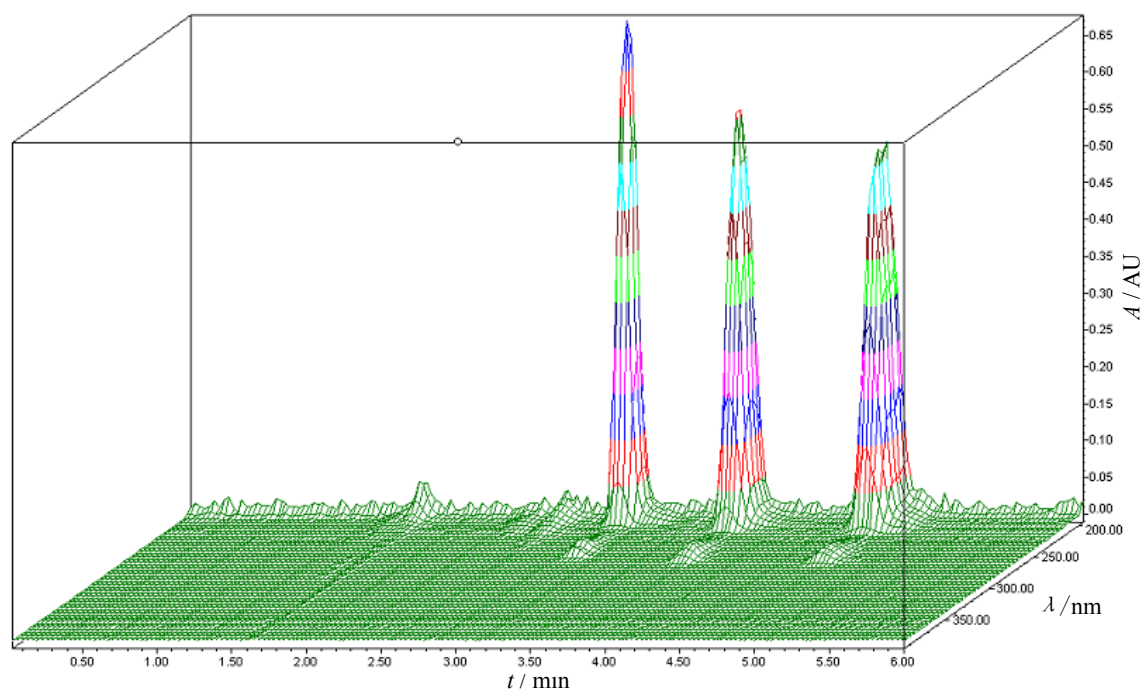


图 5-4 苯、甲苯、二甲苯混标工作溶液的 3D 图

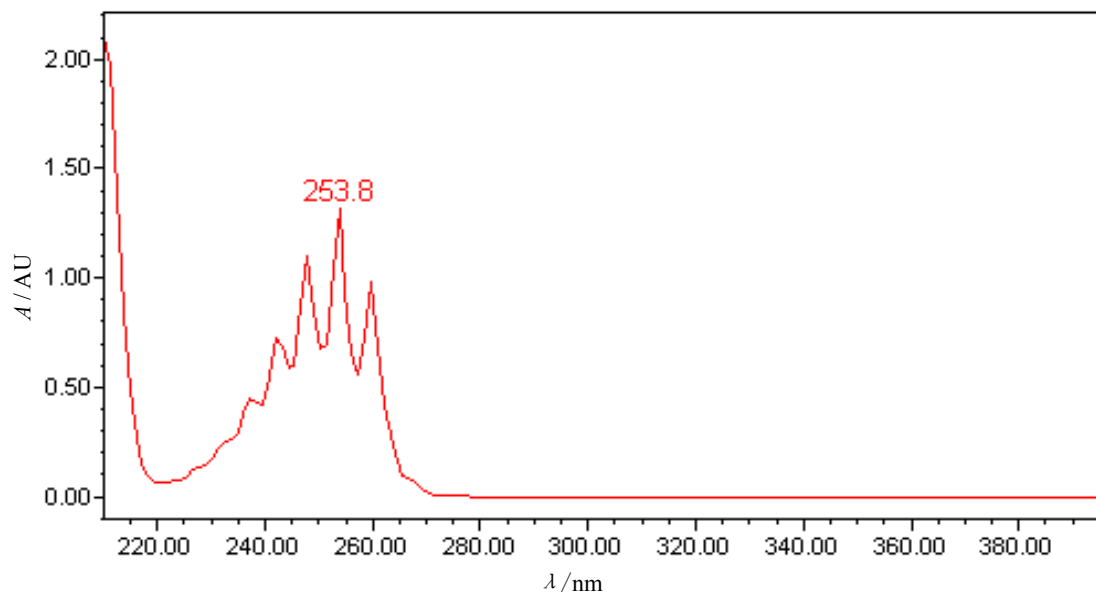


图 5-5 苯的紫外吸收光谱图

6 实验数据处理

6.1 试样溶液中组分的定性

根据标准样品溶液中组分的各自相对保留时间，对试样溶液中的组分进行对比定性确认。

6.2 试样溶液中组分含量的计算

6.2.1 外标法手动计算试样中各组分的浓度含量

定量分析就是要测定样品中某一组分的准确含量。常用色谱的定量方法有内标法和外标法。本实验采用定量管外标法。

外标法又可分为标准曲线法或单点或双点校正曲线法。本实验采用单点校正曲线法。将测得的两针试样溶液以及其前后两针标准混合工作溶液相对应组分的峰面积，分别进行平均。

以浓度表示的各组分含量 X ($\mu\text{g/mL}$)，按下式 (5-1) 计算：

$$X = \frac{C_1 \times A_2}{A_1} \dots\dots\dots (5-1)$$

式中：

C_1 — 标样溶液中，相应组分的浓度 ($\mu\text{g/mL}$)；

A_1 — 标样溶液中，相应组分峰面积的平均值；

A_2 — 试样溶液中，相应组分峰面积的平均值。

6.2.2 用 Empower Pro 中文版色谱工作站自动计算试样中各组分的含量并打印报告

选择标准工作溶液文件，双击进入主窗口，提取色谱图。点击[处理方法向导]→新建处理方法→处理类型：PDA→[下一步]→[下一步]→用鼠标拖放选择积分范围→[下一步]→最小面积：10000→[下一步]→[下一步]→输入色谱峰名称→[下一步]→输入标样中各组分的名称、含量及单位→[下一步]→外标校正→[下一步]→[下一步]→[下一步]→[下一步]→输入方法名称→完成。

返回主窗口界面。点击方法组，选择采集分析数据时用的仪器方法，点击[文件]保存到[方法组]，关闭。在项目窗口点击[修改样品]快捷键，将样品类型由未知改为标准样，点击[量]快捷键，输入量值和单位。点击[从方法组复制]快捷键，打开，确定，存盘退出。点击项目窗口中[更新]，

原来未知变为标准样。此时，标准样品建立完毕。将标准样品和试样文件选上，右键查看，从文件中打开方法组，按结果快捷键，即可显示标准样品结果。按浏览中下一个 3D 通道，可显示出试样的计算结果。点击文件保存全部，更新，选择结果选项卡，同时选中标准样品和试样文件，右键预览出版，选报告模版，打印测试报告。

7 注意事项

- 7.1 首先打开检测器，避免其他组件的干扰，避免检测器的自检不通过。
- 7.2 用微量进器吸取样品溶液时，不要将气泡注入色谱系统中，以免引起系统压力不稳。
- 7.3 分析样品前，首先吸取一定量的溶剂，注入色谱仪，记录溶剂色谱峰。
- 7.4 及时添加流动相，工作状态时切不可使液面低于泵头。

8 对实验报告的要求及说明

- 8.1 实验报告内容应包括实验目的、原理和实验结果。
- 8.2 对实验结果和实验过程的综合分析。
- 8.3 对本实验设计的评价和建议。
- 8.4 每小组公用计算机打印出的苯、甲苯、二甲苯标准混和工作溶液和试样溶液的色谱图和数据。

9 思考题

- 9.1 从仪器构造、分离原理和应用范围三方面比较 HPLC 和 GC 的异同点。
- 9.2 为获得对混和物较好的分离度，总结高效液相色谱法可以调整的分析条件。
- 9.3 试分析苯的保留时间为什么比甲苯的短？

实验六 反相离子对高效液相色谱法—蒸发光散射检测器测定杀菌剂三乙磷酸铝的含量

1 实验目的

- 1.1 了解并掌握反相离子对高效液相色谱法的分离技术
- 1.2 深入学习掌握高效液相色谱仪的操作
- 1.3 进一步掌握外标法定量技术
- 1.4 熟练使用 Empower Pro 中文版色谱工作站处理数据，打印报告

2 实验原理和仪器结构

2.1 反相离子对色谱法分离原理

反相离子对色谱法是在反相液相色谱的理论和应用基础上发展起来的一种色谱分离方法，兼有反相色谱和离子色谱的特点。由于三乙磷酸铝没有可直接应用于紫外检测器的生色团（见图 6-1），因此只有衍生化才能分析检测。这种方法不仅过程繁琐，而且其杂质硫酸盐、亚磷酸盐无法衍生的基团，也无法经柱前衍生后采用紫外检测器进行间接测定。蒸发光散射检测器是种通用型质量检测器，理论上讲它可以检测挥发性低于流动相的所有化合物。不挥发的目标化合物微粒化后进入光路发生光散射，散射光被光电倍增管捕获检测。在一定的角度测得的光散射强度与溶液中化合物浓度成正比。由于三乙磷酸铝在水溶液中呈离子状态，待测离子与离子对试剂正己胺生成中性“离子对化合物”分布于固定相与流动相之间，其分离原理类似传统的反相分离。

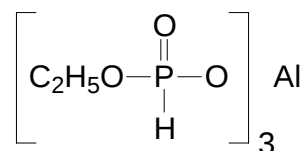


图 6-1 三乙磷酸铝化学结构式

Fig 6-1 Chemical structure of fosetyl Al

2.2 仪器结构

参见实验五。

3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品

3.1 仪器

高效液相色谱仪：美国 WATERS 600 高压泵，WATERS 2420 型蒸发光散射检测器和 Rheodyne 7725i 六通阀进样器；Empower Pro 中文版色谱工作站；BS210S 型电子分析天平；100 μ L 微量进样器。

3.2 试剂与样品

甲醇（99.9 %）：色谱纯；水：二级水；三乙磷酸铝：标准品（含量：99.3 %）、80 %可湿性粉剂；亚磷酸钠(含 5 个结晶水)、无水硫酸钠均为分析纯；正己胺（纯度 99 %）、冰乙酸（纯度 99.5 %）均为分析纯

3.3 储备液和工作溶液

1 000 mg/L 三乙磷酸铝标准储备液。标准工作溶液（约 400 μ g/mL）；约相应浓度的试样溶液。

3.4 实验用品

每小组按 4 人计，容量瓶：100 mL 2 只、0.22 μm 过滤头（公用）。

4 高效液相色谱仪的操作条件

流动相：（甲醇）：（水，含 0.5 %正己胺，冰乙酸调 pH 5.0）= 8:92（V/V）

流动相流速：1.5 mL/min；氦气鼓泡脱气；

色谱柱：SymmetryShield RP₁₈ (250 mm×4.6 mm×5 μm)不锈钢柱；

定量管：10 μL ；

柱温：25 $^{\circ}\text{C}$ ；

漂移管温度：60 $^{\circ}\text{C}$ ；

雾化气体空气压力：0.1 MPa；

雾化器级别：70 %；

增益：1 000；

保留时间（min）：亚磷酸盐：4.3；三乙磷酸铝：7.4；硫酸盐：14.5。

5 实验步骤

5.1 标准溶液和试样溶液的配制

分别称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）三乙磷酸铝标准品和原药，放入各自的 100 mL 容量瓶中，加入 90 mL 流动相，超声波振荡 30 min 后冷却到室温，用流动相定容适当稀释后待测。

5.2 开机测定样品

5.2.1 使用 HPLC 级流动相，必要时自行制备；水为二次蒸馏水。用前均需过 0.22 μm 滤膜。

5.2.2 流动相脱气：打开氦气（99.999 %）高压钢瓶，调节减压阀输出压力 0.5 MPa。确认流动相管线和相对应的脱气管线。开始洗脱前，以 100 mL/min 的速率脱气至少 15 min，然后以 20 ~ 50 mL/min 速率维持脱气，直至分析工作完成。通过空气压缩机给 WATERS 2420 供应空气（压力不低于 0.45 MPa）。

5.2.3 开机：顺序接通 WATERS 2420、600。打开计算机电源，进入 WINDOWS XP，输入密码，启动 Empower Pro 中文版色谱工作站。

5.2.4 排除泵室气泡：当正常工作流速时显示无压力或压力波动时，此时一般要排除泵室气泡。方法是打开排液阀，设置流速 10 mL/min，待排出气泡后恢复原有设置。

5.2.5 双击配置系统，建立分析项目。双击运行样品，创建方法组。根据实际分析的样品和要求，设置 WATERS 600 泵和检测器的工作参数。顺序点击设置、进样按钮，准备开始分析。

5.2.6 进样：将六通阀手柄置于 LOAD 状态。用微量进样器装样，注入 5 倍于定量管体积的试样溶液；装样后将手柄顺时针置于 INJECT 状态开始进样，同时会听到蜂鸣声及屏幕提示，这时工作站开始记录。待进样后 2 ~ 3 min，将手柄转回 LOAD 位置，这时才能取下进样器，装样准备开始下次分析。注意必须使用液相色谱仪专用进样器，避免损坏阀片，造成漏液。在规定的液相色谱分析条件下，待基线平稳后，连续注入数针标准工作溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 %时，按照进样规则的顺序（标准溶液、试样溶液、试样溶液、标准溶液）进样分析，获得相应的色谱图（见图 6-4）。

5.2.7 关机：测试完毕，先用 100 %水冲洗至压力平衡，持续 10 min，改为 90 %甲醇水溶液洗脱至柱压平衡后，持续 10 min。将流速设置为 0 mL/min 后顺序关闭 WATERS 600、2420 电源开关。关闭氦气钢瓶气阀。处理数据打印报告后，关闭计算机和总电源开关。

6 实验数据处理

6.1 试样溶液中三乙膦酸铝百分含量的计算

6.1.1 外标法手动计算试样中各组分的浓度含量

本实验采用定量管外标法。

外标法又可分为标准曲线法或单点或双点校正曲线法。本实验采用单点校正曲线法。将测得的两针试样溶液以及其前后两针标准工作溶液相对应组分的峰面积，分别进行平均。

以质量百分数表示的三乙膦酸铝的含量 X ，按下式 (6-1) 计算：

$$X = \frac{\bar{r}_2 \times m_1 \times P}{\bar{r}_1 \times m_2} \dots\dots\dots (6-1)$$

式中：

$\bar{r}_1$ — 标样溶液中，三乙膦酸铝峰面积比的平均值

$\bar{r}_2$ — 试样溶液中，三乙膦酸铝峰面积比的平均值

m_1 — 标样的质量，g

m_2 — 试样的质量，g

P — 标准品的纯度

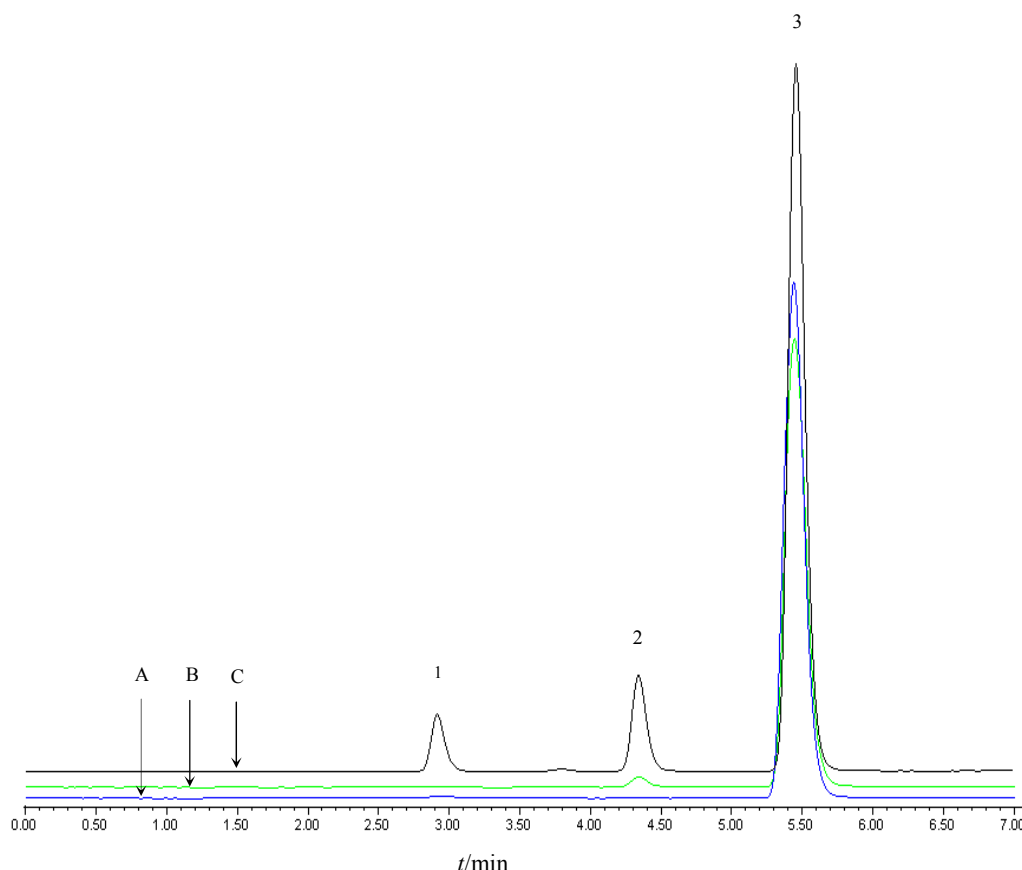


图 6-4 三乙膦酸铝标准品 (A)、三乙膦酸铝原药(B)、三乙膦酸铝可湿性粉剂 (C) 色谱分离图

Fig. 6-4 Chromatography of fosetyl-Al standard (A), technical (B), wettable powder (C)

1 亚磷酸盐 (phosphite); 2 硫酸盐 (sulfate); 3 三乙膦酸阴离子 (anion from fosetyl-Al)

6.1.2 用 Empower Pro 中文版色谱工作站自动计算试样中各组分的含量

选择标准工作溶液文件，双击进入主窗口，提取色谱图。点击 处理方法向导 → 新建处理方

法→处理类型：LC→**下一步**→**下一步**→用鼠标拖放选择积分范围→**下一步**→最小面积：10000（测试）→**下一步**→选择校正曲线拟合类型，log-log 线性→**下一步**→输入色谱峰名称→**下一步**→输入标样中各组分的名称→**下一步**→外标校正→**下一步**→输入方法名称→**完成**，关闭界面。选择 2 个标样文件右键，改变样品，将样品类型由未知改为标准样，点击**量**快捷键，输入量值和单位。点击**从方法组复制**快捷键，打开，确定，存盘退出。点击项目窗口中**更新**，原来未知变为标准样。选择标样 1 文件，打开文件，选择处理方法，**积分**，**校正**，文件保存全部；标样 2 依次处理，点击**校正曲线**此时可以观察到建立的 2 点校正曲线。关闭界面，**更新**。选择样品文件，右键处理，使用指定处理方法，确定。**更新**，点击**结果**，双击样品文件，即可显示出试样的计算结果。选择**结果**选项卡，右键预览出版，选报告模版，打印测试报告。

7 注意事项

- 7.1 首先打开检测器，避免其他组件的干扰，避免检测器的自检不通过。
- 7.2 用微量进器吸取样品溶液时，不要将气泡注入色谱系统中，以免引起系统压力不稳。
- 7.3 分析样品前，首先吸取一定量的溶剂，注入色谱仪，记录溶剂色谱峰。
- 7.4 及时添加流动相，工作状态时切不可使液面低于泵头。

8 对实验报告的要求及说明

- 8.1 实验报告内容应包括实验目的、原理和实验结果。
- 8.2 对实验结果和实验过程的综合分析。
- 8.3 对本实验设计的评价和建议。
- 8.4 每小组公用标准溶液和试样溶液的色谱图和数据。

9 思考题

- 9.1 试比较 UV 和 ELSD 检测器的优缺点及应用范围。
- 9.2 试分析如采用正丙胺、正戊胺离子对试剂时，各自生成的离子对化合物在 C_{18} 色谱柱上的保留值。
- 9.3 为什么不能采用正辛胺做离子对试剂？还可以采用什么化合物作为反相离子对试剂。

实验七 化纤废水中二甲基亚砷和丙烯腈含量的测定

1 实验目的

- 1.1 深入了解并掌握高效液相色谱法的分离原理
- 1.2 掌握高效液相色谱仪的常规操作
- 1.3 进一步学习使用 Empower Pro 中文版色谱工作站处理数据
- 1.4 解决化工生产排污监测、检测的实际问题

2 实验原理和仪器结构

- 2.1 高效液相色谱法分离原理
采用反相分配色谱法的技术对组分进行分离。
- 2.2 仪器结构
参见实验五。

3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品

3.1 仪器

高效液相色谱仪：美国 WATERS 600 高压泵，WATERS 2996 型二极管阵列检测器和 Rheodyne 7725i 六通阀进样器；Empower Pro 中文版色谱工作站；BS210S 型电子分析天平；100 μ L 微量进样器。

3.2 试剂与样品

甲醇（99.9%）：色谱纯；水：二级水；二甲基亚砷（99.8 %）、丙烯腈（98 %）：均为分析纯；化纤废水样品。

3.3 溶液

二甲基亚砷、丙烯腈混合标准工作溶液（常量分析：二甲基亚砷：240 mg/L，丙烯腈：100 mg/L；痕量分析：二甲基亚砷：2.4 mg/L，丙烯腈：1.0 mg/L；），化纤废水试样溶液。

3.4 实验用品

以每小组 4 人计，容量瓶：100 mL 4 只（公用）；具塞刻度试管：10 mL 4 支；移液管：1 mL 2 支、2 mL 1 支、5 mL 1 支、10 mL 1 支。

4 高效液相色谱仪的操作条件

流动相：甲醇:水=20:80；

流动相流速：0.8 mL/min；氮气鼓泡脱气；

色谱柱：Hypersil BDS C₁₈(250 mm×4.6 mm×5 μ m)不锈钢柱；

定量管：20 μ L；

柱温：25 $^{\circ}$ C（温度变化应不大于 2 $^{\circ}$ C）；

检测波长范围：195 nm ~ 400 nm；

提取波长：207 nm

采样速率：1.0；

分辨率：1.2 nm；

仪器控制：自动曝光；

3D 数据采集；

保留时间：二甲基亚砷：约 4.0 min；丙烯腈：约 7.8 min。

5 实验步骤

5.1 标准工作溶液和试样溶液的配制

先取少许二级水置于 100 mL 容量瓶中，放入天平中去皮归零，用移液管分别量取二甲基亚砷 2.18 mL (2.4 g)、丙烯腈 1.24 mL (1.0 g) 于容量瓶中并依次称重，精确至 0.0001 g，然后用二级水定容制备成标准溶液母液。用二级水稀释配制成常量分析混合工作标样溶液（二甲基亚砷：240 mg/L、丙烯腈：100 mg/L）和痕量分析混合工作标样溶液（二甲基亚砷：2.4 mg/L、丙烯腈：1.0 mg/L）。化纤废水试样由某工厂提供。

5.2 开机测定样品

5.2.1 使用 HPLC 级流动相，必要时自行制备；水为二次蒸馏水。用前均需过 0.22 μm 滤膜。

5.2.2 流动相脱气：打开氦气（99.999 %）高压钢瓶，调节减压阀输出压力 0.5 MPa。确认流动相管线和相对应的脱气管线。开始洗脱前，以 100 mL/min 的速率脱气至少 15 min，然后以 20 ~ 50 mL/min 速率维持脱气，直至分析工作完成。

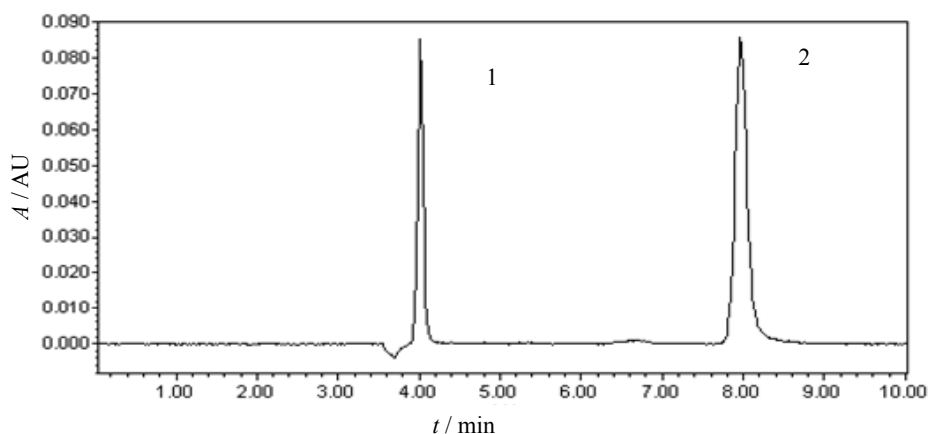
5.2.3 开机：顺序接通 WATERS 2996、600。打开计算机电源，进入 WINDOWS XP，启动 Empower Pro 中文版色谱工作站。

5.2.4 排除泵室气泡：当正常工作流速时显示无压力或压力波动时，此时一般要排气。方法是打开排液阀，设置流速 10 mL/min，待排出气泡后恢复原有设置。

5.2.5 双击配置系统，建立分析项目。双击运行样品，创建方法组。根据实际分析的样品和要求，设置 WATERS 600 泵和检测器的工作参数。顺序点击设置、进样按钮，准备开始分析。

5.2.6 进样：将六通阀手柄置于 LOAD 状态。注意排除气泡，用微量进样器装样，注入 5 倍于定量管体积的试样溶液；装样后将手柄顺时针置于 INJECT 状态开始进样，同时会听到蜂鸣声及屏幕提示，这时工作站开始记录。待进样后 2 ~ 3 min，将手柄转回 LOAD 位置，这时才能取下进样器，装样准备开始下次分析。注意必须使用液相色谱仪专用进样器，避免损坏阀片，造成漏液。在规定的高效液相色谱分析条件下，待基线平稳后，连续注入数针标准混和工作溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 % 时，按照进样规则的顺序（标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液）进样分析。本实验先对二甲基亚砷、丙烯腈单标溶液进样分析，确定二甲基亚砷、丙烯腈各自的相对保留时间。接下来分别用痕标和常标工作溶液进样建标后，获得相应的色谱图和典型光谱图（见图 7-1、图 7-2），并在相同分析条件下对试样溶液进行测定，确证组分，计算结果。

5.2.7 关机：测试完毕，先用 100 % 水冲洗至压力平衡，持续 10 min，改为 90 % 甲醇水溶液洗脱至柱压平衡，持续 5 min。将流速设置为 0 mL/min 后顺序关闭 WATERS 600、2996 电源开关。关闭氦气钢瓶气阀。处理数据打印报告后，关闭计算机和总电源开关。



1 二甲基亚砷 ($1.15\ \mu\text{g}$); 2 丙烯腈 ($0.48\ \mu\text{g}$)

图 7-1 混和标准工作溶液液相色谱分离图

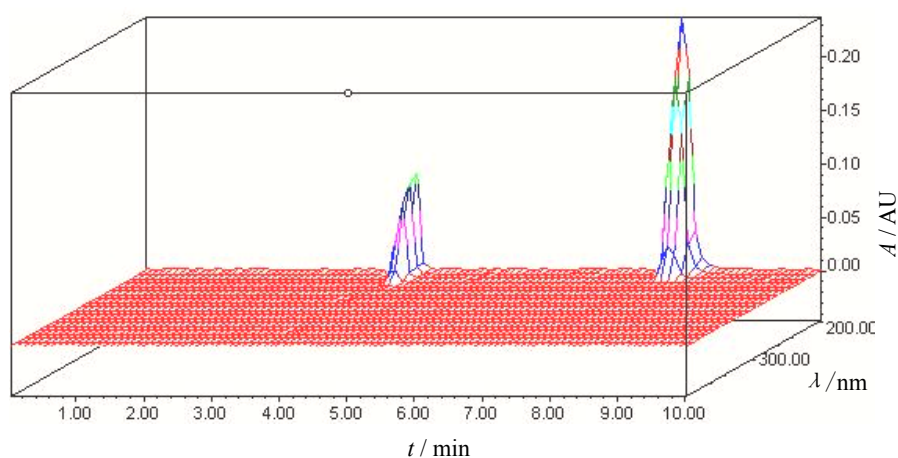


图 7-2 混和标准工作溶液 3D 色谱图

6 数据处理

6.1 试样溶液中组分的定性

根据标准样品溶液中组分的各自相对保留时间，对试样溶液中的组分进行对比定性确认。

6.2 试样溶液中组分含量的计算

6.2.1 外标法手动计算试样中各组分的浓度含量

参见实验六。以浓度表示的各组分含量 X (mg/L)。

6.2.2 用 Empower Pro 中文版色谱工作站自动计算试样中各组分的含量

参见实验六。以浓度表示的各组分含量 X (mg/L)。

7 注意事项

7.1 在配制溶液时，应先取少量溶剂于容量瓶中，再称取样品，以免样品挥发使称量不准确。

7.2 丙烯腈毒性较大、沸点较低，配制母液时应注意。

7.3 分析样品时，先进样分析痕量样品，后分析常量样品，以免高浓度样品残留影响痕量分析。

7.4 其它注意事项见实验六。

8 对实验报告的要求及说明

8.1 实验报告内容应包括实验目的、原理和实验结果。

8.2 对实验结果和实验过程的综合分析。

8.3 对本实验设计的评价和建议。

8.4 每小组公用打印的二甲基亚砆、丙烯腈混和工作溶液和试样溶液的色谱图和数据。

9 思考题

9.1 采用高效液相色谱法分析水中的二甲基亚砆、丙烯腈优点是什么？

9.2 可以通过改变哪些分析条件使二甲基亚砆色谱峰与水峰（倒峰）分离的更好？

9.3 化纤废水中二甲基亚砆、丙烯腈的限量标准是多少？如何制定、理解与执行。

实验八 自来水中常见 7 种阴、阳离子的测定—离子色谱法

1 实验目的

- 1.1 学习离子色谱仪和 N 2000 中文版色谱工作站的简单操作。
- 1.2 了解离子交换色谱法分离各种离子的原理。
- 1.3 使用离子色谱仪测定自来水中的阴、阳离子的含量。

2 实验原理和仪器结构

离子色谱仪是 20 世纪 70 年代中期由 H. Small 等人发明。目前离子色谱法是液相色谱法的一个重要分支，主要用于无机、有机的离子型化合物的分离、测定。与普通液相色谱不同之处在于它采用离子交换树脂为固定相，通常以电导检测器作为检测器。

2.1 离子交换色谱柱的分离原理

离子交换色谱的分离柱通常使用的是低交换容量的离子交换树脂，这种交换剂的表面有交换基团。带有负电荷的交换基团（如磺酸基或羧酸基）可用于阳离子的分离；带正电荷的基团（如季铵盐）可用于阴离子的分离。由于静电场的相互作用，样品离子及淋洗液离子都与固定相中带电荷的交换基团作用：样品离子不断进入固定相，又不断被淋洗液离子交换进入流动相。不同的样品离子与交换基团的作用力大小不同，电荷密度大的离子与交换基团的作用力强，因而在柱子上的保留时间长，于是不同的离子就会因为各自的自由电荷密度不同而相互分开（见图 8-1）。

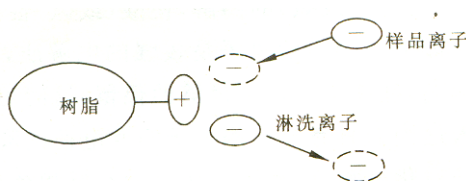


图 8-1 阴离子交换过程示意图

2.2 抑制器的作用和种类

抑制反应是构成离子色谱的高灵敏度和选择性的重要因素，也是选择分离柱和淋洗液时必须考虑的主要因素。抑制器主要起两个作用：一是降低淋洗液的背景电导，二是增加被测离子的电导值，从而提高信噪比。

抑制器先后经历了四个发展阶段：树脂填充抑制器（化学抑制器），主要缺点是不能连续工作，死体积也较大；管状纤维膜抑制器虽可连续工作，但其抑制容量和机械强度比较差；平板微膜抑制器可连续工作，而且具有较高的抑制容量，可满足梯度淋洗的需要。目前市场上最先进的抑制器是自身再生抑制器。这种抑制器不用化学试剂来提供 H^+ 或 OH^- ，而是通过电解水来提供化学抑制所需要的 H^+ 或 OH^- 。

2.3 自身再生式抑制器工作原理

以阴离子测定用的自身再生式抑制器为例，当直流电压施加于阳、阴极之间时，在电场作用下，在阳极，水被氧化成 H^+ 和氧气；在阴极，水被还原形成 OH^- 和氢气。在电场作用下，Na

⁺通过阳离子交换膜到废液中，同时， H^+ 通过阳离子交换膜进入到淋洗液中，与淋洗液阴离子结合形成弱电解质而降低背景电导。本实验的离子色谱仪采用自身再生式抑制器。

2.4 仪器结构

离子色谱仪最基本的组件是高压输液泵、进样器、色谱柱、抑制器、检测器和工作站（见图 8-2），此外还可配置一些辅助系统。

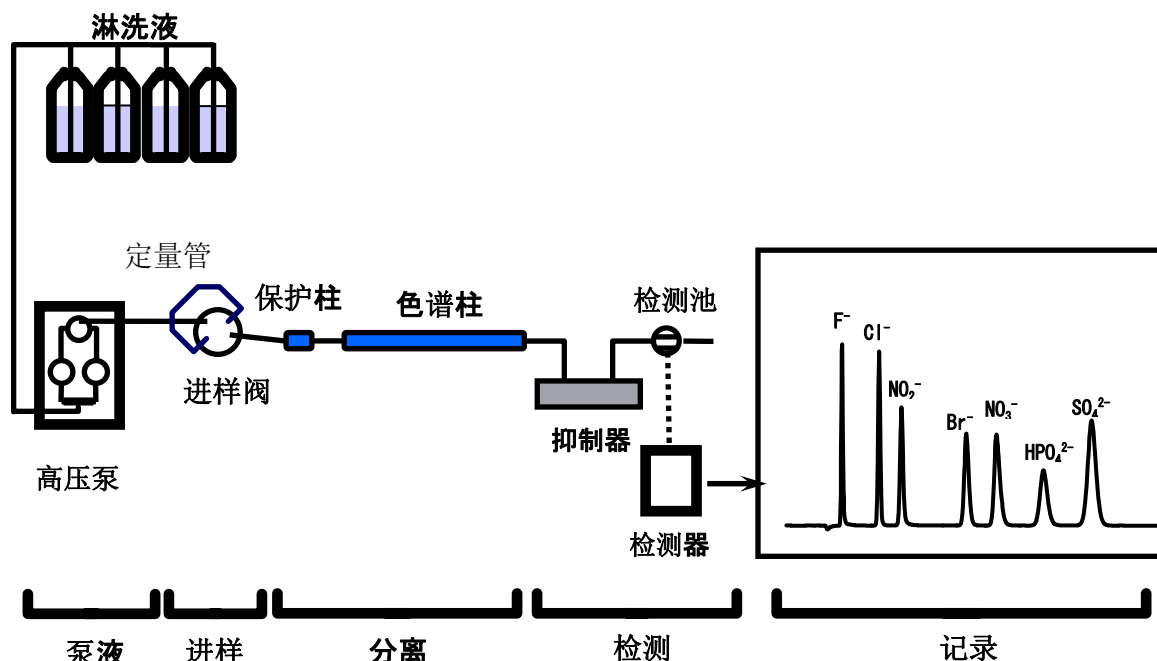


图 8-2 离子色谱仪流程示意图

3 实验仪器设备、试剂、溶液及用品

3.1 仪器

美国戴安公司 DX-120 离子色谱仪配备电导检测器；N 2000 中文版色谱工作站；BS210S 型电子分析天平；1 mL 注射器；微孔过滤系统。

3.2 试剂与样品

二级水；硫酸（95~98%）、无水碳酸钠（99.8%）、氯化钠（99.8%）、磷酸二氢钾（99.5%）、氯化铵（99.8%）均为优级纯；盐酸（36~38%）、氟化钠（98.0%）、亚硝酸钠（99.0%）、溴化钠（99.0%）、硝酸钠（99.0%）、无水硫酸钠（99.0%）、氯化锂（95%）、氯化钾（99.5%）、镁屑（99.0%）、二水氯化钙（98.0%）、氯化锶（99.5%）均为分析纯；自来水样品。

3.3 溶液

6 mol/L 盐酸溶液；7 种阴离子混合标准工作溶液（ F^- : 10 mg/L; Cl^- : 20 mg/L; NO_2^- : 40 mg/L; Br^- : 60 mg/L; NO_3^- : 60 mg/L; HPO_4^{2-} : 160 mg/L; SO_4^{2-} : 60 mg/L）；7 种阳离子混合标准工作溶液（ Li^+ : 5 mg/L; Na^+ : 20 mg/L; NH_4^+ : 50 mg/L; K^+ : 50 mg/L; Mg^{2+} : 30 mg/L; Ca^{2+} : 50 mg/L; Sr^{2+} : 100 mg/L）。

3.4 实验用品：每小组按 4 人计，容量瓶：100 mL 1 只（公用）；具塞刻度试管：10 mL 2 支；移液管：1 mL 2 支、2 mL 2 支、5 mL 5 支、10 mL 4 支、20 mL 1 支；塑料烧杯：50 mL 1 个。

4 离子色谱仪的操作条件

4.1 水中阴离子分离操作条件

色谱柱：美国戴安公司 AS 9-HC 型号阴离子分析柱；

淋洗液：在 1 L 二级水中加入 0.954 g Na_2CO_3 ，摇匀溶解后，通过水系微孔滤膜（0.22 μm ）抽滤，贮存备用；

流速：0.80 mL/min；

检测器温度：室温；

定量管：25 μL ；

保留时间： F^- ：约 4.1 min； Cl^- ：约 7.0 min； NO_2^- ：约 8.8 min； Br^- ：约 11.2 min； NO_3^- ：约 13.1 min； HPO_4^{2-} ：约 18.8 min； SO_4^{2-} ：约 21.3 min。

4.2 水中阳离子分离操作条件

色谱柱：美国戴安公司 CS 12A 型号阳离子分析柱；

淋洗液：在 1 L 二级水中加入 0.6 mL H_2SO_4 ，摇匀，然后通过水系微孔滤膜（0.22 μm ）抽滤，贮存备用；

流速：0.80 mL/min；

检测器温度：室温；

定量管：25 μL ；

保留时间： Li^+ ：约 3.8 min； Na^+ ：约 4.6 min； NH_4^+ ：约 5.3 min； K^+ ：约 6.7 min； Mg^{2+} ：约 9.9 min； Ca^{2+} ：约 11.9 min； Sr^{2+} ：约 13.7 min。

5 实验步骤

5.1 标准溶液的配制

5.1.1 阴离子标准溶液的配制

5.1.1.1 1 000 mg/L 标准储备液的配制 分别约称取 NaF (0.225 g)、 NaCl (0.165 g)、 NaNO_2 (0.151 g)、 NaBr (0.130 g)、 NaNO_3 (0.138 g)、 KH_2PO_4 (0.144 g)、 Na_2SO_4 (0.149 g)，精确至 0.0001 g，置于各自的 100 mL 容量瓶中，用二级水溶解定容，摇匀即得阴离子储备液。

5.1.1.2 7 种阴离子混合标准工作溶液的配制

用移液管分别取 1 mL NaF 、2 mL NaCl 、4 mL NaNO_2 、6 mL NaBr 、6 mL NaNO_3 、16 mL KH_2PO_4 、6 mL Na_2SO_4 储备液置于同一 100 mL 容量瓶中用二级水定容即得 7 种阴离子混合标准工作溶液。

5.1.2 1 000 mg/L 阳离子标准溶液的配制

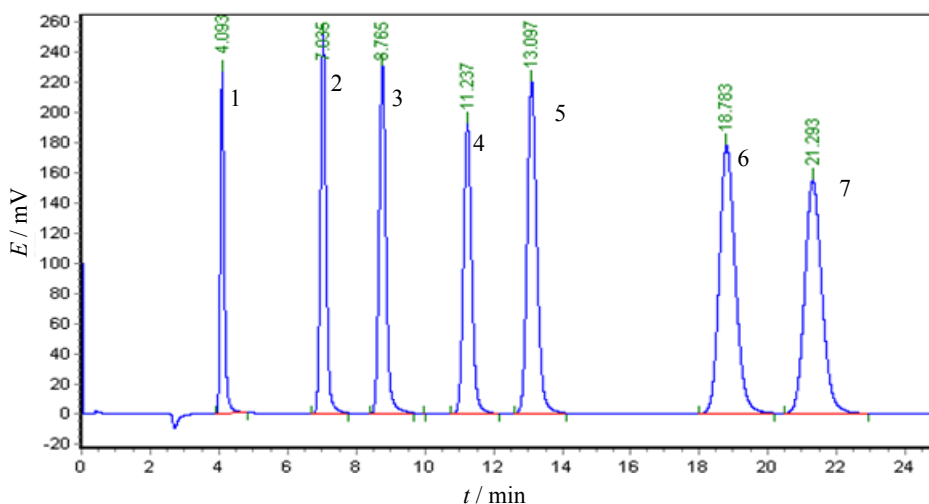
5.1.2.1 标准储备液的配制 分别约称取 LiCl (0.643 g)、 NaCl (0.254 g)、 NH_4Cl (0.297 g)、 KCl (0.191 g) 镁屑 (0.101 g，先用 2 mL 6 mol/L 盐酸溶液溶解)、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.374 g)、 SrCl_2 (0.305 g)，精确至 0.0001 g，置于各自的 100 mL 容量瓶中，用二级水稀释，摇匀，溶解定容即得阳离子储备液。

5.1.2.2 7 种阳离子混合标准工作溶液的配制

用移液管分别取 0.5 mL LiCl 、2 mL NaCl 、5 mL NH_4Cl 、5 mL KCl 、3 mL Mg^{2+} 、5 mL CaCl_2 、10 mL SrCl_2 储备液配置于同一 100 mL 容量瓶中用二级水定容即得 7 种阳离子混合标准工作溶液。

5.2 开机测定样品

- 5.2.1 根据样品和分析目的，确认使用安装的自动再生抑制器、保护柱、分析柱。
- 5.2.2 打开氮气（99.9 %）钢瓶，调节输出压力为 0.3 MPa。
- 5.2.3 接通离子色谱仪、计算机电源，进入到“N 2000 在线工作站”，选择通道 2。
- 5.2.4 依次按离子色谱仪操作面板的 Eluent Pressure、Pump、SRS 键。系统压力不稳，必要时开启主机前门，打开排液阀，排净气泡。关闭排液阀时，务必按下 Pressure 观察压力变化，压力能够持续上升且不漏液即可，严禁用力过猛扭断塑料阀芯。
- 5.2.5 打开主机前门，调整高压泵上的手轮，顺时针旋转提高流速，逆时针相反，按 Flow setting，观察调整并确认流速后，轻轻按回手轮。90 min 内无任何操作时，高压泵流量将自动减低至设定值流量的 1/20。
- 5.2.6 按 Offset Cond，显示补偿电导值，系统平衡 20 min 后，屏幕显示背景电导值，按 Auto Offset 将其补偿至 0。
- 5.2.7 在“N2000 在线工作站”中点击实验信息，填写“实验标题”、“实验人姓名”、“实验单位”、“实验简介”；点击方法，选择“采样结束自动积分”，文件保存方式选择“手动方式”，填写“采样结束时间（min）”，点击采用；点击数据采集选项卡，点击查看基线、零点校正，观察基线是否平稳。
- 5.2.8 进样分析：首先观察显示屏左下角的 Load 状态。在规定的分析色谱条件下，待基线平稳后，用 1 mL 注射器连续注入数针标准混和工作溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 %时，按照进样规则的顺序（标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液）进样分析。样品过滤后用进样器吸取样品溶液插入前门进样孔，注入数倍于定量管容量的试样溶液；按 Load/Inject 键，系统开始分析样品。（约 1 min 后进样阀自动切换至 Load 状态，会发出响声）（本色谱仪 Load/Inject 键与数据开始采集按钮联动）。
- 5.2.9 关机：样品测试完毕，用淋洗液冲洗 30 min 后，依次关闭 SRS、Pump、Eluent Pressure、钢瓶气阀、主机电源。用 N 2000 离线工作站处理数据，关闭计算机和总电源。



1 F⁻; 2 Cl⁻; 3 NO₂⁻; 4 Br⁻; 5 NO₃⁻; 6 HPO₄²⁻; 7 SO₄²⁻

图 8-3 7 种常见阴离子混合标准溶液离子色谱分离图

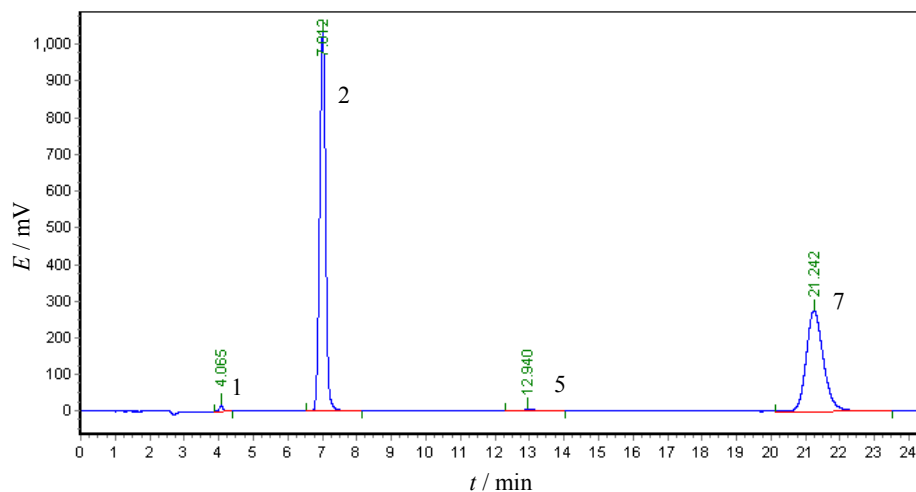
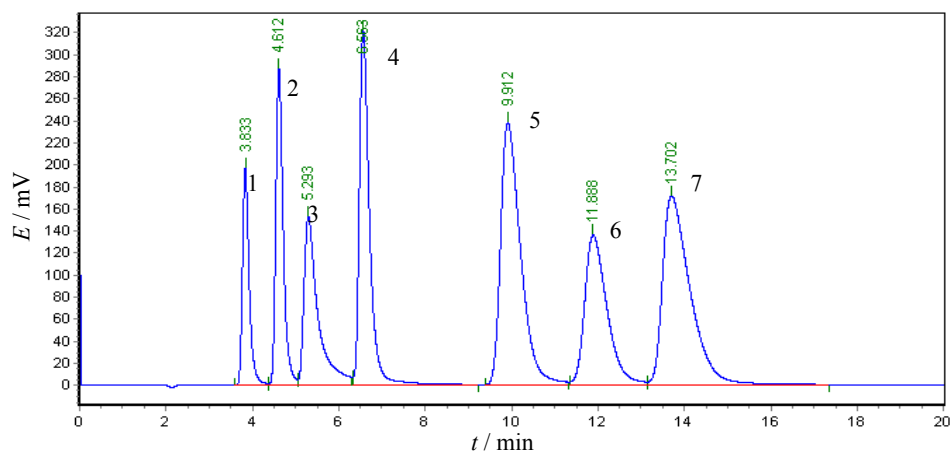


图 8-4 化工学院自来水中阴离子的离子色谱分离图



1 Li^+ ; 2 Na^+ ; 3 NH_4^+ ; 4 K^+ ; 5 Mg^{2+} ; 6 Ca^{2+} ; 7 Sr^{2+}

图 8-5 7 种常见阳离子混合标准溶液离子色谱分离图

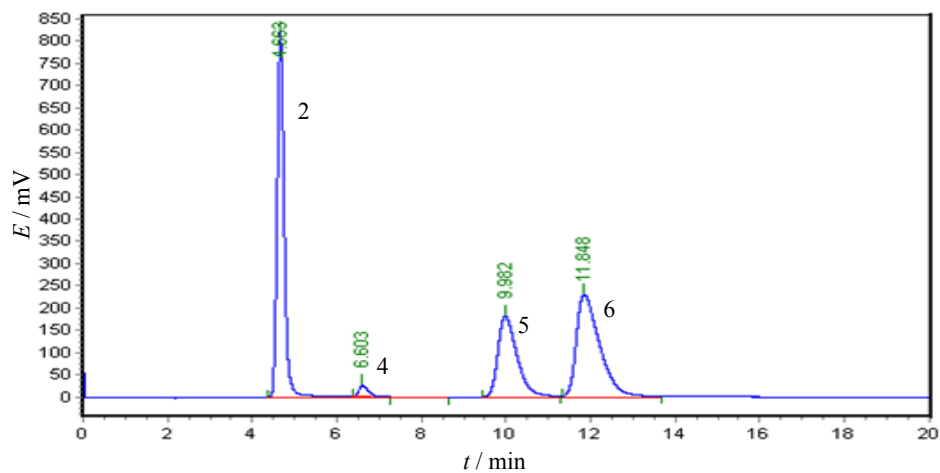


图 8-6 化工学院自来水中阳离子的离子色谱分离图

6 数据处理

6.1 试样溶液中组分的定性

根据标准样品溶液中组分的各自相对保留时间，对试样溶液中的组分进行对比定性确认。

6.2 试样溶液中组分含量的计算

6.2.1 外标法手动计算试样中各组分的浓度含量

本实验采用单点校正曲线法。将测得的两针试样溶液以及其前后两针标准混合工作溶液相应组分的峰面积，分别进行平均。

以浓度表示的各组分含量 X (mg/L)，按下式 (8-1) 计算：

$$X = \frac{C_1 \times A_2}{A_1} \dots\dots\dots (8-1)$$

式中：

C_1 — 标样溶液中，相应组分的浓度 (mg/L)；

A_1 — 标样溶液中，相应组分峰面积的平均值；

A_2 — 试样溶液中，相应组分峰面积的平均值。

6.2.2 用 N 2000 中文版色谱工作站自动建立标准曲线并计算试样中各组分的浓度含量

打开 N 2000 离线工作站；点击[打开]，打开混合标准工作溶液谱图；点击[报告编辑]选项卡，分别点击[谱图显示]、[报告内容]、[显示设置]、[实验信息]并根据需要选择和填写相关内容；点击[积分方法]选项卡，选择“面积”、“外标法”，点击[采用]；点击[组分表]选项卡，点击[全选]，将无关的峰删掉，输入各离子峰名，点击[采用]，然后点击[校正]；点击[标准含量]，根据标准溶液相应的浓度值输入，点击 [OK]，点击[加入标样]；打开相对应的标样文件，注意输入的标准含量和加入的标样文件必须一致，否则无法校正；点击[校正完毕]按钮；点击[输出]按钮，将“方法文件”保存在硬盘中。

点击[打开]，打开被测样品溶液谱图；点击[加载]按钮，选择上述保存的“方法文件”；点击[报告编辑]选项卡，即可得到被测样品的分析报告。点击[打印]按钮打印报告。

7 注意事项

- 7.1 离子交换柱的型号、规格不同时，色谱条件会有很大不同。
- 7.2 仔细阅读并理解离子色谱仪操作规程之后再开始进行仪器操作。
- 7.3 进样时，应避免将进样器中的气泡注入色谱系统中。
- 7.4 进样后，即使发现错误，也一定要等到所有组分流出色后，才能开始下次进样分析。
- 7.5 无论是淋洗液的储备液还是混标的储备液在冷藏室保存的时间不能超过 6 个月。

8 对实验报告的要求及说明

- 8.1 实验报告内容应包括实验目的、原理和实验结果。
- 8.2 对实验结果和实验过程的综合分析。
- 8.3 对本实验设计的评价和建议。
- 8.4 每小组公用打印的混和标准工作溶液和试样溶液的色谱图和数据。

9 思考题

- 9.1 判断 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 出峰顺序并说明原因。
- 9.2 解释水为什么会出倒峰。
- 9.3 简述自身再生式抑制器的作用。
- 9.4 离子色谱柱中的填料与高效液相色谱柱的有何不同？

综合实验一 一种除草剂的定性、定量分析

1 实验目的

- 1.1 了解并掌握红外吸收光谱仪的工作原理及使用方法
- 1.2 学习气相、液相色谱及其质谱分析仪器的原理和使用方法
- 1.3 掌握内标、外标定量分析方法
- 1.4 学习并掌握红外吸收光谱、气相、液相色谱工作站和气质、液质工作站的操作
- 1.5 掌握未知样品测定的一般程序，并对一种未知农药除草剂进行红外光谱法、色谱法定性、色谱法定量测定
- 1.6 在农药生产、储存或管理过程中，有时需要对农药进行定性和定量分析。

2 实验原理

2.1 实验原理

红外吸收光谱法原理：红外吸收光谱法是一种简单易行的定性手段，属于振转吸收光谱。由于每一种分子中各个原子之间的振动形式十分复杂，即使是简单的有机化合物，其红外光谱也是复杂而有特征的。通过对化合物的红外光谱图进行解析或检索数据库可以获得许多与分子结构相对应的定性确认信息。

气相、液相色谱分析的原理：在一定的色谱分析条件下，各组分均有确定的保留值，因此保留值可作为一种定性指标；气相、液相色谱分析方法主要用于定量分析，被测物质的量与其峰面积成正比的关系是色谱定量分析的依据。

质谱分析的原理：混合有机物，经色谱分离后，逐一进入质谱仪的离子源室。质谱分析是利用其独特的电离过程及分离方式来实现定性和定量分析。首先是将样品离子化，按离子质荷比分离，然后测量各种离子峰的质核比大小（定性）和强度（定量）而实现分析目的。

2.2 定量计算方法原理

内标法：将一定量的纯物质作为内标物，加入到准确称量的试样中，根据被测物和内标物的质量及其在色谱图上相应的峰面积比，求出某组分的含量。由于操作条件变化而引起的误差，都将反映在内标物及欲测组分上而得到抵消，所以可得到较准确的结果。

外标法：又称为定量进样 - 标准曲线法，用待测组分的纯物质加稀释剂配成不同质量分数的标准溶液，取固定量标准溶液进样分析，从所得色谱图上测出响应信号，绘制响应信号（纵坐标）对质量分数（横坐标）的标准曲线。分析样品时，取和制作标准曲线时同样量的试样，测得该试样的响应信号，由标准曲线即可查出其质量分数（目前由工作站软件自动计算完成）。该法操作简单、计算方便；但是计算结果的准确度与色谱操作者的经验有关，主要取决于进样量的重现性和操作条件的稳定性。

3 仪器与配件、试剂与样品

3.1 红外吸收光谱仪器与配件、试剂与样品

BRUKER TENSOR 27 傅立叶变换红外吸收光谱仪。

压片机、模具、样品托架、玛瑙研钵、钢铲、镊子、红外灯、溴化钾（IR 级）、无水乙醇等。

3.2 气相色谱仪器、试剂与样品

VARIAN CP-3800 气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器 (FID),

VARIAN Star 6.0 英文版色谱工作站; 10 μ L 微量进样器。

甲醇 (99.9 %): HPLC 级;

内标物三唑酮: 含量 96 %;

农药标准品; 农药待测样 1 或 2;

每小组按 4 人计, 具塞试管: 10 mL 2 只; 容量瓶: 25 mL 1 只; 移液管若干。

3.3 高效液相色谱仪器、试剂与样品

高效液相色谱仪: 美国 WATERS 600 高压泵, WATERS 2996 型二极管阵列检测器;

Rheodyne 7725i 六通阀进样器; Empower Pro 中文版色谱工作站; 100 μ L 微量进样器。

甲醇 (99.9 %): HPLC 级; 水: 二级水;

农药标准品; 农药待测样 1 或 2;

每小组按 4 人计, 容量瓶: 50 mL 2 只; 移液管若干。

3.4 气相色谱质谱联用仪、试剂与样品

气相色谱/质谱仪: Agilent 7890B-7000C, 美国安捷伦公司, 配置自动进样器。增强型 MassHunter 数据采集化学工作站。

乙腈: 色谱纯。

农药除草剂未知样品。

每小组按 4 人计, 刻度试管: 10 mL 2 只。

3.5 液相色谱质谱联用仪、试剂与样品

超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱联用仪(UPLC-Q/TOF) : WATERS ACQUITY H-Class(UPLC)、Xevo G2-XS(Q-TOF); MassLynx V4.1 工作站; 氮气发生器: PEAK NM32LA; 稳压器: SANTAK; 移液枪: 50 μ L、200 μ L、1000 μ L。

水: 一级水; 乙腈: LC/MS 级, Fisher Scientific。

与气质分析的同一农药除草剂未知样品。

每小组按 4 人计, 刻度试管: 10 mL 2 只。

4 实验操作条件

4.1 气相色谱仪器操作条件

色谱柱: DB-WAX (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m) 石英毛细管柱;

汽化室: 260 $^{\circ}$ C; 检测室: 260 $^{\circ}$ C;

柱温: 60 $^{\circ}$ C(保持 1 min) $\xrightarrow{40\text{ }^{\circ}\text{C/min}}$ 250 $^{\circ}$ C(保持 6.25 min);

载气: 普氮, 柱前压: 中间 EFC 206KPa (30 psi);

分流比: 5:1;

进样量: 1 μ L。

4.2 液相色谱仪器操作条件

流动相: 甲醇:水=80:20 (V/V);

流动相流速: 1.0 mL/min; 氮气鼓泡脱气;

色谱柱: SinoChrom ODS-BP (250 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 5 μ m)不锈钢柱;

定量管: 10 μ L;

柱温: 25 $^{\circ}$ C;

检测波长范围: 195 nm ~ 400 nm;

提取波长: 220 nm;

采样速率: 1.0;

分辨率: 1.2 nm;

仪器控制: 自动曝光。

4.3 气相色谱质谱联用仪操作条件

在增强型 MassHunter 数据采集化学工作站的主界面调用分析方法文件“研究生验证性实验”。

毛细管色谱柱: Agilent HP-5 MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm), 美国安捷伦公司;

载气高纯氦压力: 20 psi;

进样口温度: 260 °C;

进样方式: GC 自动进样器; 分流进样, 分流比 20:1;

进样量: 1 μL;

分流流量: 45.8 mL · min⁻¹;

隔垫吹扫流量: 2 mL · min⁻¹;

柱流量: 1.6 mL · min⁻¹;

辅助加热区: 280 °C;

程序升温: 初始温度 60 °C (1 min) $\xrightarrow{20\text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}}$ 260 °C (4 min);

离子源类型: EI 源, 70 eV;

离子源温度: 230 °C;

四极杆温度: 150 °C;

溶剂延迟: 2 min;

运行时间与气相色谱程序升温时间相对应 15 min;

3.5 循环周期/秒;

全扫描 (SCAN) 扫描段范围: m/z 35-600 amu。

4.4 液相色谱质谱联用仪操作条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 1.7 μm (2.1 mm×50 mm);

流动相: 乙腈:水 (含 0.1%甲酸) =40:60 (V/V);

流动相洗脱模式: 等度洗脱;

流动相流速: 0.3 mL · min⁻¹;

毛细管电压: 3 kV;

锥孔电压: 40 V;

离子源温度: 100 °C;

脱溶剂气流量: 800 L · h⁻¹;

脱溶剂气温度: 350 °C;

锥孔反吹气流量: 20 L · h⁻¹;

进样量: 2 μL;

保留时间: 未知物 1 约 1.10 min、未知物 2 约 1.10 min。

5 实验内容与步骤

5.1 未知样品定性分析

5.1.1 红外吸收光谱定性

5.1.1.1 红外样品制备

取 2~3 mg 样品与约 200 mg 干燥的 KBr 晶体在玛瑙研钵中混匀,充分研磨至粒径小于 2 μm , 用不锈钢铲均匀撒在压片模具上放到压片机上在 20 MPa 的压强下压制 1 min, 制成透明薄片, 取出, 放于托架上, 准备扫描(须在红外灯下操作)。

5.1.1.2 红外样品测定步骤

5.1.1.3 开机: 接通主机电源, 检查主机面板上 status 指示灯应为绿色。启动 Windows XP, 双击 OPUS6.5, 输入口令登录, 进入工作站主界面。

5.1.1.4 测定: 点击“高级数据采集”快捷键(绿色)。在“样品描述”栏输入“样品编号和样品名称”。将空白样品置于测量台上, 点击[测量背景单通道光谱]扫描后;再将待测样品置于测量台上, 点击[测量样品单通道光谱]扫描生成谱图。

5.1.1.5 峰处理: 依次点击[基线校正]、[平滑]; 点击左侧浏览器, 将鼠标指向点击[TR], 右键“改变颜色”为黑色。“标峰位”, 注意灵敏度选择。

5.1.1.6 生成文件: 点击[另存为], 模式, 数据点表, 保存。将生成文件扩展名更改为.xls; 选中左侧浏览器中文件, 点击[打印], 打印谱图, 将浏览器中[peaks]模块拖动到“要打印的文件框被选的框“framel””中, 点击选项, pdf, 注意更改文件名, 打印生成 pdf 文件。

5.1.1.7 谱库检索: 选中左侧浏览器中文件, 点击[谱图检索]、[谱库检索], 界面出现样品谱图与谱库中谱图的对照图。

5.1.1.8 打印: 点击[快速打印]按钮, 即可打印出所见谱图。

5.1.1.9 关机: 退出工作站。关闭主机和计算机。关闭电源。

5.1.1.10 日常维护与保养: status 标有 I 的旁边亮起红色指示灯, 则应打开主机上盖, 取出分子筛棒, 拧开上盖, 将分子筛倒入烧杯中, 置烘箱 150℃烘 24h, 干燥器中降温。样品室中的变色硅胶应根据情况烘干。仪器测定期间, 禁止登录 INTERNET。杀毒软件在线随时升级更新。

5.1.1.11 谱图解析: 依据相关资料和掌握的知识, 对获得的红外吸收光谱图进行解析。

5.1.2 气相色谱质谱联用仪操作步骤和定性报告

5.1.2.1 样品称量: 称量实验样品 1 或 2 (未知物), 0.01g(精确至 0.0002g)置于 10mL 刻度管中, 用色谱纯乙腈稀释到满刻度。振荡摇匀, 待溶解澄清后, 稀释 10 倍, 转移至自动进样瓶中待测。

5.1.2.2 安装色谱柱: 打开色谱仪柱箱, 安装色谱柱, 适当旋紧两端固定螺丝, 保证载气高纯氢(99.999%)不泄露。

5.1.2.3 通气: 次级表输出压力 0.5 MPa。必要时用检漏液(色谱仪外可用肥皂水, 内部可用异丙醇)检查连接处是否漏气, 如漏气, 进一步旋紧螺丝或更换密封垫。

5.1.2.4 通电: 接通计算机电源, 输入用户名和密码, 登录进入 Windows7 系统。依次打开 7890B GC、7000C 质谱仪电源。待 GC (显示开机正常)、MS (显示 Agilent 7000C GC-TQ) 自检通过, 双击桌面“7000C”图标(数据采集软件图标), 进入增强型 MassHunter 数据采集化学工作站的主界面。

5.1.2.5 抽真空(至少分析前 24 h 开始): 点击工作站主界面右上侧的[仪器真空控制]按钮, 点击[抽真空], 观察分子涡轮泵 1 运行状态。涡轮泵的速度在 10min 内应该达到 95% 以上。否则, 说明系统漏气严重, 旋片式真空油泵会停止运转, 这时需要质谱仪重新加电, 应检查并轻压质谱仪上的侧板, 压正、放空阀要拧紧、色谱柱重新接好。开机后要注意查看旋片式真空油泵运行状态, 发热及噪声。各级真空度至少应达到, 前级真空度为 1.00×10^{-2} ; 高真空度为 1.80×10^{-6} 。

5.1.2.6 自动调谐: 在仪器控制面板中, 点击调谐图标, 进入调谐窗口。在自动调谐的选项卡下的

自动调谐类型中内，选择所安装的离子源类型(注意本机为 EI 高灵敏度自动调谐)，点击自动调谐按钮（如涉及扩大质量范围等，必要时再点击手动调谐）。完成调谐后，注意在文件和报告选项卡中保存。调谐文件存为 atunes.ei.tune。也可以同时另存为其他名称，以备调用。支持中文名称文件。整个自动调谐过程完成需要 15min。注意：仪器在重新配置后必须调谐。发现质量数出现差异时要进行调谐。清洗离子源后要进行调谐。一般情况下没有必要调谐，避免浪费调谐液（全氟三丁胺，PFTBA）。

5.1.2.7 建立和调用分析方法文件：

色谱分析方法文件：点击增强型 MassHunter 数据采集化学工作站主界面[方法]中的[编辑方法信息]，建立新的分析方法，并设置其中相应参数。点击后弹出的[编辑方法界面]中的[方法信息]、[仪器/采集]勾选上，确定；弹出[方法信息]界面中只勾选[数据采集]，确定；弹出进样口和进样参数界面，进样口选择 [GC]；进样方式选择 [GC 自动进样器]；勾选上[使用 MS]，进样口位置[前]，确定；弹出[编辑 GC 参数]界面，首先编辑 [ALS 前进样器]，进样量 1 μ L，溶剂 A 或 B（清洗溶剂一般用样品稀释剂，或者 A 为己烷、B 为甲醇。清洗瓶应事先灌满，置于进样器转盘上）进样前、后各清洗 3 次。样品清洗次数 3 次，样品抽吸次数 5 次，体积最大。编辑[进样口]参数，首先选择内衬型号（必要时拧开压盖，取出衬管确认型号），勾选上加热器（气化室）温度，如设置 260 $^{\circ}$ C、压力，如设置 20 psi、隔垫吹扫流量，如设置 2 mL/min，模式：切换。分流模式。分流比 20:1。编辑[色谱柱]，选择色谱柱，更换色谱柱后，要点击[更换色谱柱]按钮，从目录中选择，选好点击[确定]。选择载气的控制模式[开启]，如设置恒定压力（20 psi）或恒定流量。点击碰撞池 EPC，不勾选 He 淬灭气、N₂ 碰撞气。编辑[柱箱]参数，设置程序升温条件，如初始温度 60 $^{\circ}$ C（1 min） $\xrightarrow{20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 260 $^{\circ}$ C（4 min）。还要注意平衡时间的设置，一般 1~3min。编辑辅助加热器（接口温度），如 280 $^{\circ}$ C。点击确定，弹出[实时谱图 GC]界面，4 项均不勾选（如配备了 FID 等对应的就要勾选）。确定后弹出[三重四极杆 MS 方法编辑器]界面。

质谱分析方法文件：选择最新的调谐文件（atunes.eiex.tune.xml）；运行时间 15min（与 GC 程序升温时间一致。），溶剂延迟 2min；离子源 230 $^{\circ}$ C。时间段设置：时间 15、扫描类型：MS1 扫描（SCAN）。编辑扫描段：扫描起点 35，扫描终点 600。点击确定、确定，方法另存为，输入文件名。点击确定，仪器将按照设定的方法准备工作。

自动进样序列文件：在工作站主界面左侧编辑[序列]，点击[编辑序列]，输入样品名称，样品瓶号，如 3,4 等，选择方法文件的路径，正常为（路径 D:\Method），点击方法文件后的按钮，选择前面建立的方法文件。制定数据文件存储的路径和文件名及样品的类型，点击确定。点击检查序列，是否有错，如正常，点击[保存序列]后，点击[运行序列]（绿色的小人），修改数据文件目录与序列文件中的一致。点击[运行序列]按钮，自动进样器开始工作。

5.1.2.8 样品测定：将未知样品稀释约 100 μ g/mL 后，装入 2mL 自动进样瓶后，依据编辑的自动进样序列文件，采集获得未知样品的总离子流图。

5.1.2.9 未知物定性分析：在电脑桌面上，双击[定性分析]图标，启动定性分析软件。点击[文件]，打开 MS1 采集的 SCAN 文件。在总离子流图上的目标峰附近（按住鼠标右键拖放可以放大目标峰），单击鼠标左键，将鼠标停放在基线上（注意停放在没有组分流出的曲线上），双击左键后，在下方的 MS 质谱图结果显示区域出现相应的背景质谱图。接着将鼠标转移放到质谱图显示区域，点击鼠标右键在展开的菜单上选择“移到背景质谱图”。然后将鼠标移回到色谱图结果显示的目标峰上，接近最高点处鼠标左键双击，出现相应目标化合物的没有扣除背景的质谱图。在质谱图上的显示区域鼠标右击在出现的菜单上选择“扣除背景质谱图”即完成扣除背景（样品

质谱图扣除背景后检索的目的是提高检索的匹配度，避免定性结果出错）。质谱图左上方显示有“扣除”。鼠标右键可用菜单上“在谱库中检索质谱图”对目标化合物进行谱库检索；也可用“使用 NIST MS 程序检索”进行检索定性（能提供更丰富的信息）。菜单上点击“使用 NIST MS 程序检索”的显示（注意需要对 NIST 2014 谱库提前进行定义），方法是打开方法编辑器：检索谱库，添加谱库，找到谱库安装的路径，选择后，保存方法文件。本机的方法文件路径：D:\LIBRARY\NIST2014.m。依据相似度（应不低于 90.0）和专业知識确认未知物。

5.1.2.10 打印报告：用桌面上的定性软件打开 SCAN 文件，点击快捷栏上的[方法管理器]下的“色谱图”展开项的“积分（MS）”进行积分，弹出点击[方法编辑器]，积分器选择 Agile 2，点击界面上方[积分并提取峰质谱图]，如果无关峰太多，可使用[峰过滤器]，加大绝对峰面积（添加 0），重新积分。使用[方法管理器]中的“查找化合物”，点击“按积分查找”，点击[方法编辑器]，接着点击“按积分查找化合物”（注意峰过滤器的设置，积分所想得到的峰）。点击并选中“数据浏览器（位置在工作站左上方）”中的“化合物”（不感兴趣的化合物可以不勾选），右键，选择“在谱库中检索化合物”，接着选择谱库（打开方法，选择 NIST2014.m 或选择谱库），选择完毕后，再点击“在谱库中检索化合物”，检索完毕后，再点击展开[方法管理器]中的“报告”项，选择“常规报告选项”，在弹出的“方法编辑器”对话框中按照用户自己的要求选择化合物报告类型（要预先选好报告的模板），如图中选择[打印化合物报告]，单击后在弹出来的对话框点击确定后，即生成定性化合物报告（PDF 格式）。存盘生成的定性报告文件，路径为 D:\2016 年定性分析报告。

5.1.2.11 关机：在工作站主界面上调用“关机方法文件（路径 D:\Method）”或将 GC/MS 接口温度和 GC 柱箱温度设置为环境温度（室温）。点击主界面最右侧的仪器真空控制，点击“放空”按钮。等待大约 40min 左右，分子涡轮泵转速完全降下来。再等待 GC/MS 接口和 GC 柱箱温度小于 100℃。状态栏出现“就绪”提示后，旋片式真空油泵会自动断电。手动关闭 GC 和 MS 电源。关闭工作站和计算机。关闭载气高纯氮气及碰撞气高纯氮。

5.1.3 液相色谱质谱联用仪操作步骤

5.1.3.1 称量实验样品 1 或 2（未知物），0.01g(精确至 0.0002g)置于 10mL 刻度管中，用色谱纯乙腈稀释到满刻度。振荡摇匀，待溶解澄清后，用 LC/MS 级的乙腈稀释 100 倍，转移至自动进样瓶中待测。

5.1.3.2 开机加电顺序

首先打开 UPS 直流蓄电池电源开关（电池开关，电池电源箱后面），接着打开控制器后面的交流电开关，功能指示灯黄色为仪器使用的是市电。按住控制器面板上的电源开关 5 秒钟后，电源按钮对应的一排灯全亮，松开后功能指示灯由黄灯，跳到绿灯，稳压输出正常，加电(稳压 220V)完成；

打开氮气发生器的电源开关（观察压力达到 100 psi）；

打开 UPLC 面板上的 sample manager-FTN（交换机）的开关，待右侧灯闪烁熄灭后(初始化时间较长，耐心等待)，接着打开下面的 Quaternary Solvent Manager 开关（有蜂鸣声，仪器自动冲洗泵头；右侧灯闪烁熄灭）(初始化时间较长，耐心等待)；

将质谱仪主机背板的下面的开关（electronics）轻轻向外拔出，向上掰到 on 的状态，切记其上方开关不要动。

打开碰撞气（高纯氩）钢瓶总阀，调节分压阀压力为 0.04MPa。

打开计算机电源，进入 WIN7 系统，5 min 后点击 Masslynx V4.1 快捷键，当 System status 下面显示 Not ready 及 Source turbo speed 时，表示液质联机完成。

5.1.3.3 抽真空

点击 Ms Tune 图标, 点击 Vacuum→Pump, 开始抽真空。点击 View→Vacuum, 可以看到分子涡轮泵的转速及工作时间。此时旋片式油泵和分子涡轮泵的转速缓缓提高, Backing, Collision, Tof 真空度开始上升时, 仪器即进入正常运行。当离子源、四极杆、TOF 的涡轮分子泵加速到 100%时, 约 20min 后, 真空界面显示 Vacuum OK, 质谱仪的状态指示灯由红色闪烁到熄灭。在 MS Tune 界面的右下角有 3 个显示模块, 最右端的颜色有 3 种状态, 红色为 TOF 真空度没有达到 10^{-7} ; 黄色为 source standby 状态; 点击最左侧的按钮变为绿色时, 为工作状态; 点击中间的电源按钮变回黄色。待仪器各部位真空度 Backing 大约达到 3.54×10^{-9} , Collision 大约达到 1×10^{-4} (source standby 时的真空度), Tof 大约达到 3.80×10^{-7} , 仪器即可正常工作了 (至少需要 24h 以上。)。加上碰撞气后的 Tof 真空度是 4.54×10^{-7} , Collision 约为 1×10^{-1} , 表明碰撞气压力合适, 否则应调整碰撞气分压表压力。

5.1.3.4 Lockspray setup、Create calibration 校正

依据仪器使用操作说明书进行准备和校正。Lockspray setup 校正完毕后显示 Pass; Calibration 校正结果报告中 RMS Residual Mass 数值小于 1 ppm 时, 即可接受。

5.1.3.5 启动平衡 UPLC

start up system-灌注系统: 在 Masslynx 主界面, 单击 MS Console, 进入 UPLC 交互显示界面, 点击 control > start up system, 选择 QSM, 选择 A, B, C, D, seal wash, 时间设为 2min。选择 SM, 选择 wash solvent 为 20s, purge solvent 为 5, 单击 Equilibrate to Method, 将流速设为 0。单击 Start 开始灌注。

在 Masslynx 主界面, 单击 Inlet Method 图标, 打开液相方法编辑窗口。单击 status>单击 ACQUITY Additional Status, 进入液相状态显示台, 单击 A 或 B 或 C 或 D 或设定流速的位置, 出现流速、比例设定对话框。设定液相流速与比例, 单击对勾, 运行。

5.1.3.6 建立项目

在 Masslynx 主界面, 点击 File, Project wizard, 在 create project 对话框中输入 project name, 创建项目组。根据实际分析样品和要求, 设置 UPLC 和 TOF 的工作参数。待仪器平衡后, 编辑样品序列, 准备开始分析。

5.1.3.7 样品测定: 在上述分析条件下, 待系统平衡后, 编辑好方法, 自动进样未知物溶液 (约 10mg/L) 获得相应的总离子流图和相对应的质谱图。

5.1.3.8 打印报告 调出相关文件, 打印本组样品的总离子流图和质谱图 (对照 GC-MS)。

5.1.3.8 关机

5.1.3.8.1 清洗

用 Wash 溶液清洗 Calibration 和 Lockspray 注射器和毛细管; 将 MS Tune, Fluidics 选项卡下的 Sample flow control 下的 Flow state 选择 waste, 以适当的溶剂清洗 UPLC 系统约 60min; Prime seal wash, 清洗泵头约 1min; Prime needle wash, 清洗进样针 1-2 次。

5.1.3.8.2 关闭 UPLC

在 MS CONSOLE 界面下, 点击 Quaternary Solvent manager, 设置 UPLC 的流速为 0; 点击 Sample manager-FTN, Column 的温度设置为 0。

5.1.3.8.3 关闭离子源

在 MS Tune 界面下, 将 Tof 处于 Source standby 状态 (界面的右下侧, 点击中间的电源按钮。紧挨着右侧的方框颜色由绿变黄)。

5.1.3.8.4 卸真空及断电

点击 Vacuum 中的 Vent, 在弹出的对话框中选择 Yes, Turbo speeds 开始降低, 当分子涡轮泵转速降到 3 以下时 (约 20min), 即可依次关闭下列电源开关, 将质谱仪后面板的下方开关 Electronics, 掰下到 off 的状态, 切记上面开关不要动。UPLC 面板上的 Quaternary Solvent manager (下)、Sample manager-FTN (上) 的电源开关。

5.1.3.8.5 关闭氮气发生器的电源。

5.1.3.8.6 关闭计算机。

5.1.3.8.7 按住 UPS 电源控制器面板上的开关 5 秒钟, 功能键对应的指示灯由绿色跳到黄色灯后, 关闭交流电开关、直流电源开关。

5.1.3.8.8 填写仪器使用记录。

5.2 定量分析

5.2.1 内标溶液、标准溶液、试样溶液的配制

内标溶液的配制: 称取 0.045 g (精确至 0.000 2 g) 三唑酮于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度摇匀即制备成内标溶液。

气相色谱标准、样品溶液的配制: 分别称取 0.025 g (精确至 0.000 2 g) 标准品和待测样, 置于 10 mL 具塞试管中, 用移液管移取 10 mL 内标溶液于试管中, 手动振荡至完全溶解待测。

高效液相色谱标准、样品溶液的配制: 分别用移液管取配制好的气相色谱标准、样品溶液 1 mL, 置于 50 mL 容量瓶中用甲醇定容, 待测。

5.2.2 气相色谱仪操作步骤

5.2.2.1 安装色谱柱: 打开色谱仪柱箱, 安装色谱柱, 适当旋紧两端固定螺丝, 保证不漏气。

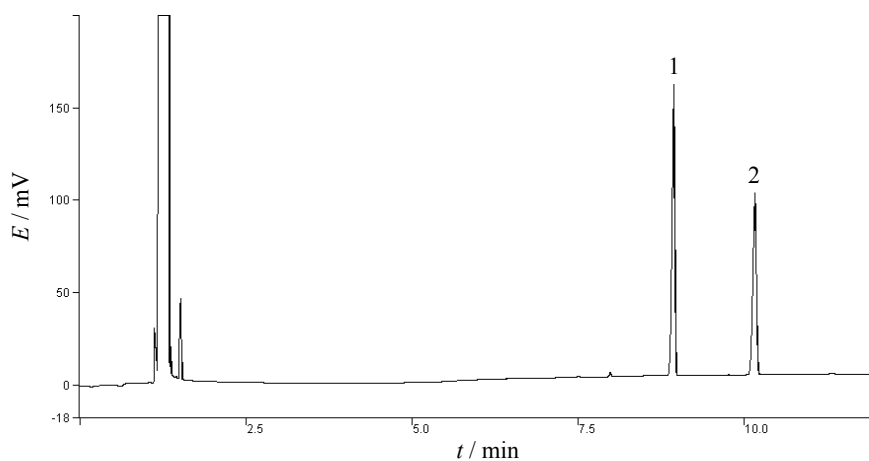
5.2.2.2 通气: 按气相色谱仪各种气体压力的要求接入气体: 载气普通氮气 N_2 0.5 MPa, 燃气 H_2 0.3 MPa; 助燃气空气 0.3 MPa。必要时用检漏液 (色谱仪外可用肥皂水, 内部可用异丙醇) 检查连接处是否漏气, 如漏气, 进一步旋紧螺丝或更换垫。

5.2.2.3 打开计算机电源, 进入 WINDOWS XP 操作系统。双击 Star Toolbar, 启动工作站。

5.2.2.4 打开 GC 主机电源开关。大约 1 min, 听到各种阀动作声音后, 工作站界面 Waiting 变为闪烁的红色 NOT READY。

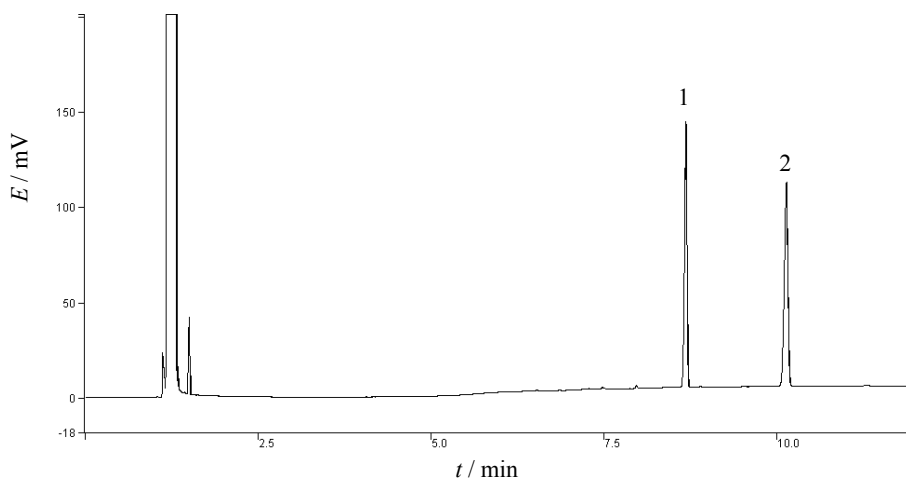
5.2.2.5 建立新的方法文件: 在工作站界面 **Method** 中, 点击 **另存为** 快捷键, 为新的方法文件命名, 激活新建方法文件, 设置色谱条件。汽化室: 点击 Injector, 中间 Injector Oven 为 On, 设定温度 260 $^{\circ}C$, 分流比设定 5, 前面 Injector Oven 设为 Off; 压力: 点击 FLOW/PRESSURE, 设定前面的 EFC 压力为 0.1 mL/min, 中间 EFC 压力为 30 psi (206 KPa); 柱温: 点击 Column Oven, 在柱温设置表中第一行设置 60 $^{\circ}C$, 保持 1 min, 第二行中设置 250 $^{\circ}C$, 升温速率设为 40 $^{\circ}C/min$, 维持 6.25 min; 检测器: 设定前面的 FID 检测器为 On, 温度为 260 $^{\circ}C$, 中间的 ECD 检测器为 Off。保存设定好的条件, 重新激活该方法文件, 平衡好后, 界面上的灯均变成绿色, 即可进样分析。

5.2.2.6 样品测定: 在上述分析条件下, 待基线平稳后, 连续注入数针混标溶液, 直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 % 时进样分析。用标准工作溶液进样建标后, 获得相应的色谱图 (见图 Z1-1, Z1-2), 并在相同分析条件下对试样溶液进行测定, 确证各组分并计算结果。



1-扑草净 2-三唑酮（内标物）

图 Z1-1 扑草净标准样品气相色谱分离图



1-莠去津 2-三唑酮（内标物）

图 Z1-2 莠去津标准样品气相色谱分离图

5.2.2.7 关机：测试完毕，将柱温设置为 50 °C，平衡后，顺序关闭工作站、主机电源、气阀。处理数据，打印报告后关闭计算机和总电源开关。

5.2.3 高效液相色谱仪操作步骤

5.2.3.1 使用 HPLC 级流动相，必要时自行制备；水为二次蒸馏水。用前均需过 0.22 μm 滤膜。

5.2.3.2 流动相脱气：打开氦气（99.999 %）高压钢瓶，调节减压阀输出压力 0.5 MPa。确认流动相管线和相对应的脱气管线。开始洗脱前，以 100 mL/min 的速率脱气至少 15 min，然后以 20 ~ 50 mL/min 速率维持脱气，直至分析工作完成。

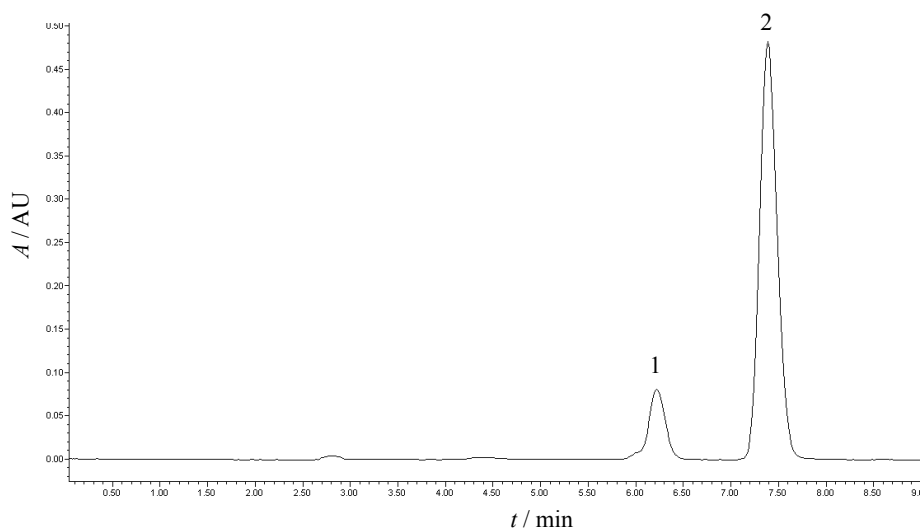
5.2.3.3 开机：顺序接通 WATERS 2996、600。打开计算机电源，进入 WINDOWS XP，启动 Empower Pro 中文版色谱工作站。

5.2.3.4 排除泵室气泡：当正常工作流速时显示无压力或压力波动时，此时一般要排气。方法是打开排液阀，设置流速 10 mL/min，待排出气泡后恢复原有设置。

5.2.3.5 双击配置系统，建立分析项目。双击运行样品，创建方法组。根据实际分析的样品和要求，设置 WATERS 600 泵和检测器的工作参数。顺序点击设置、进样按钮，准备开始分析。

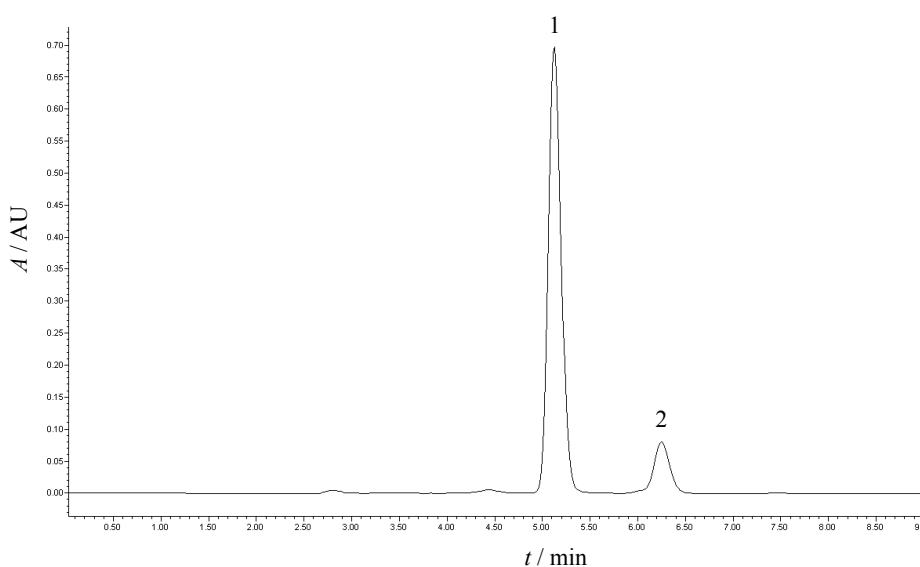
5.2.3.6 进样：将六通阀手柄置于 LOAD 状态。用微量进样器装样，注入 5 倍于定量管体积的试

样溶液；装样后将手柄顺时针置于 INJECT 状态开始进样，同时会听到蜂鸣声及屏幕提示，这时工作站开始记录。待进样后 2~3 min，将手柄转回 LOAD 位置，这时才能取下进样器，装样准备开始下次分析。注意必须使用液相色谱仪专用进样器，避免损坏阀片，造成漏液。在规定的高效液相色谱分析条件下，待基线平稳后，连续注入数针标准混和工作溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 %时进样分析。用标准工作溶液进样建标后，获得相应的色谱图和典型光谱图（见图 Z1-3~Z1-6），并在相同分析条件下对试样溶液进行测定，确证组分，计算结果。



1-三唑酮（内标物） 2-扑草净

图 Z1-3 扑草净标准样品高效液相色谱分离图



1-莠去津 2-三唑酮（内标物）

图 Z1-4 莠去津标准样品高效液相色谱分离图

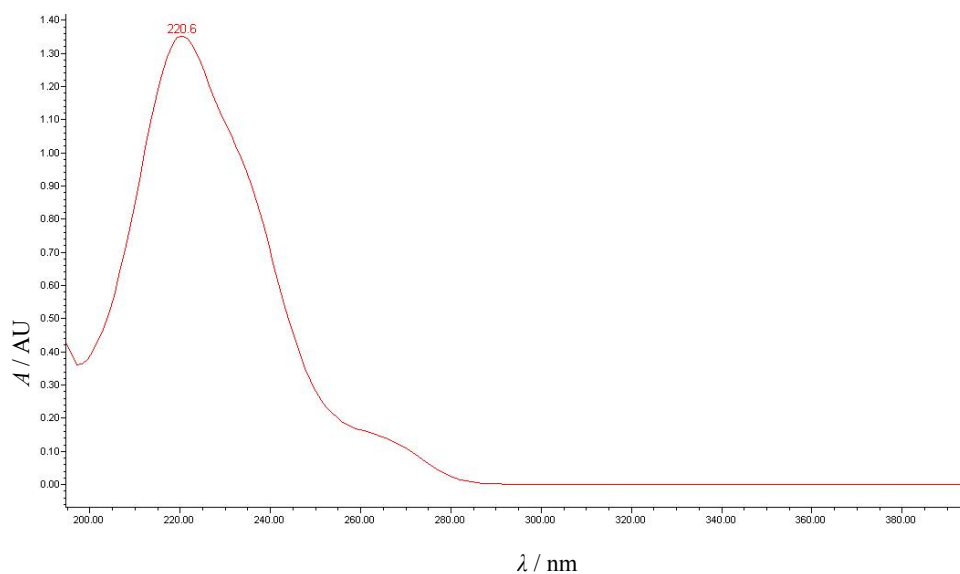


图 Z1-5 扑草净标准样品紫外吸收光谱图

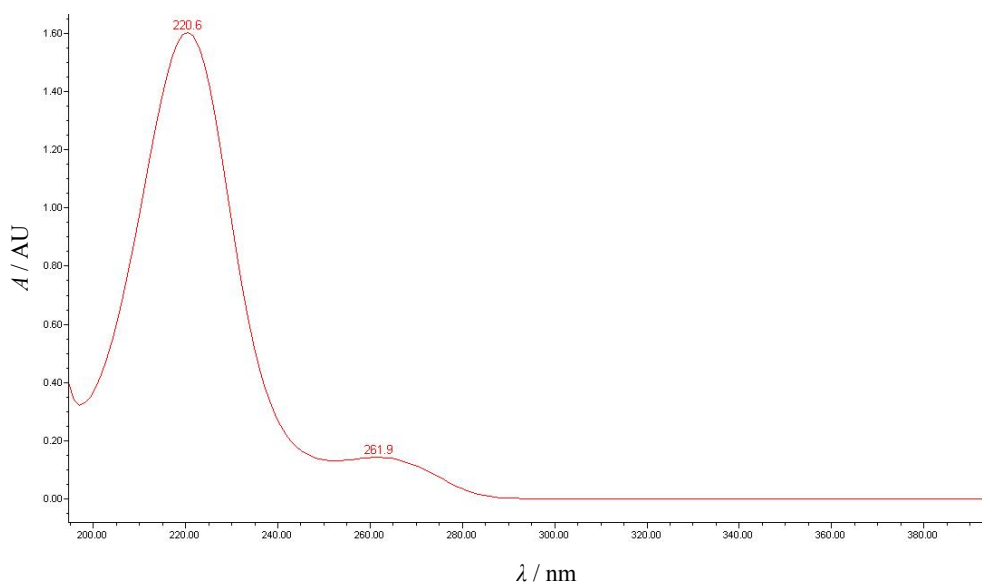


图 Z1-6 莠去津标准样品紫外吸收光谱图

5.2.3.7 关机：测试完毕，先用 100 % 水冲洗至压力平衡，持续 10 min，改为 90 % 甲醇水溶液洗脱至柱压平衡，持续 5 min。将流速设置为 0 mL/min 后顺序关闭 WATERS 600、2996 电源开关。关闭氦气钢瓶气阀。处理数据打印报告后，关闭计算机和总电源开关。

6 实验数据处理

6.1 气相色谱数据处理 – 内标法计算含量

6.1.1 内标法手动计算试样中各组分的百分含量

本实验采用内标法。将测得的两针试样溶液以及其前后两针混标溶液，相应组分与内标物峰面积的比值，分别进行平均。以质量百分数表示的各组分含量 X ，按下式 (Z1-1) 计算：

$$X = \frac{\bar{r}_2 \times m_1 \times P}{\bar{r}_1 \times m_2} \dots\dots\dots (Z1-1)$$

式中:

$\bar{r}_1$ — 标样溶液中, 相应组分与内标物峰面积比的平均值

$\bar{r}_2$ — 试样溶液中, 相应组分与内标物峰面积比的平均值

m_1 — 标样的质量, g

m_2 — 试样的质量, g

P — 标样纯度

6.1.2 用 VARIAN Star 6.0 英文版色谱工作站内标法自动计算试样中组分的百分含量

点击工作站任务栏左数第三个图标 **View/Edit Chromatograms**, 查找打开数据文件 (在进样前指定的路径下)。双击混标工作溶液和试样溶液数据谱图文件, 装入表中。点击右下角的 **Open Files**, 点击 **Edit Method** → **Calibration Setup**, Calibration Type(校正类型)选 Internal Standard(内标法)。Numbers of Calibration Levels(校正水平级数)为 1 (有几个标样浓度梯度选几)。Curve Defaults(曲线设置)为 Force, 其他项为缺省值, 点击 **Save**。点击 **Edit Method** → **Peak Table**, 在 Retention Time 栏内自上而下按出峰顺序依次输入内标物和标样的保留时间 (可以从色谱图上得到)。Peak name 下输入相应的内标物和标样的中文名称, 在 Level 1 处输入内标物和标样称样量 (注意标样纯度的手工校正)。内标物选定 std 项, 标样不选。点击 save 保存。选择 **Results** → **Reintegration List** (再积分清单), Sample Type 项下, 标样文件设置为 Calibration.; 样品文件设置为 Analysis。在 Internal Standard 项下, 点击 Amounts 按 Update List, 对话框出现内标物名称和量值。注意标样文件和样品文件栏都要点击 Amounts 和 Update List 按钮。按 Save Changes 退出。样品文件后面如用百分含量表示结果, 因标样溶液和样品溶液定容体积一致时, multipliers 设置为 100; divisor 设置为样品的称样量。选定 Incorporate New Calibrations into Data Set, 点击 **Calculate Results** 积分计算分析结果。保存处理方法。点击 **Results** 指向样品文件处, **View Result Only** 或 **View Standard Report**, 查看或打印实验数据或报告。

6.2 高效液相色谱数据处理 - 外标法

6.2.1 试样溶液中组分的定性

根据标准样品溶液中组分的相对保留时间, 对试样溶液中的组分进行对比定性确认。

6.2.2 试样溶液中组分含量的计算

用 Empower Pro 中文版色谱工作站自动计算试样中各组分的含量

选择标准工作溶液文件, 双击进入主窗口, 220 nm 提取色谱图。点击 **处理方法指南** → 新建处理方法 → 处理类型: PDA → **下一步** → **下一步** → 用鼠标拖放选择积分范围 → **下一步** → 最小面积: 10000 → **下一步** → **下一步** → 输入色谱峰名称 → **下一步** → 输入标样中各组分的名称、含量及单位 → **下一步** → 外标校正 → **下一步** → **下一步** → **下一步** → **下一步** → 输入方法名称 → **完成**。

返回主窗口界面。点击方法组, 选择采集分析数据时用的仪器方法, 点击 **文件** 保存到 **方法组**, 关闭。在项目窗口点击 **修改样品** 快捷键, 将样品类型由未知改为标准样, 在样品重量处填入标样的称样量; 点击 **量** 快捷键, 输入量值和单位。点击 **从方法组复制** 快捷键, 打开, 确定, 存盘退出。点击项目窗口中 **更新**, 原来未知变为标准样。此时, 标准样品建立完毕。选中试样文件, 点击 **修改样品** 快捷键, 在样品重量处填入试样的称样量, 保存。将标准样品和试样文件选上, 右键查看, 从文件中打开方法组, 按 **结果** 快捷键, 即可显示标准样品结果。按浏览中 **下一个 3D 通道**, 可显示出试样的计算结果。

按文件保存全部。更新，选择结果选项卡，同时选择标准样品和试样文件，右键预览/出版，选择使用以下的报告方法，缺省单个报告的报告模板，打印报告。

7 注意事项

7.1 红外吸收光谱实验

7.1.1 在红外灯下用无水乙醇清洗窗片时，不能离红外灯太近，否则，清洗完后移开窗片容易使之破裂。

7.1.2 研磨溴化钾粉末时，需带指套并在红外灯下操作。以免样品吸潮而影响测定结果。

7.2 气相色谱实验

7.2.1 气相色谱仪开机时先通载气后通电；关机时，先关电源后关载气。

7.2.2 经常检查气路的气密性和减压阀的压力指示。

7.2.3 用微量进样器进样时，切记防止用力过猛，避免折弯针柄。

7.2.4 养成进样后马上用溶剂洗针数次的习惯。

7.3 高效液相色谱实验

7.3.1 首先打开检测器，避免其他组件的干扰，避免检测器的自检不通过。

7.3.2 用微量进样器吸取样品溶液时，不要将气泡注入到六通阀，以免引起系统压力不稳。

7.3.3 分析样品前，清洗进样器后，首先吸取一定量的溶剂，注入色谱仪，记录溶剂色谱峰。

7.3.4 及时添加流动相，工作状态时切不可使贮液器液面低于泵头。

7.4 气质联用仪实验

7.4.1 进样浓度一般要低于 $100\mu\text{g/mL}$ 。

7.4.2 自动进样器在工作状态下，严禁触碰。

7.5 液质联用仪实验

7.5.1 进样浓度一般要低于 $10\mu\text{g/mL}$ 。

7.5.2 未经允许，不能进入液质联用仪放置房间。

8 对实验报告的要求及说明

8.1 实验报告内容只包括实验结果和综合分析。

8.2 对未知样品的红外吸收光谱图、质谱图进行详细解析。

8.3 每名同学至少进样分析标样、样品溶液各一次。分别用内标法、外标法手工计算待测样的百分含量、利用本组测定数据计算 RSD。

8.4 对比气相色谱法和液相色谱法测定结果，分析产生误差的原因。

8.5 对本实验设计的评价和建议。

8.6 测定报告根据情况打印（信息尽可能详细，如组别、谱图和测定结果等）。

9 思考题

9.1 比较实验所用各种定性方法的优缺点？

9.2 氢火焰离子化检测器工作原理是什么，如何优化操作条件？

9.3 气相色谱法常量分析时，如何减小测定误差？

综合实验二 自来水中钠含量的测定

1 实验目的

- 1.1 掌握原子吸收光谱仪和离子色谱仪的使用方法。
- 1.2 掌握原子吸收标准曲线法测定自来水中钠含量的方法
- 1.3 掌握离子色谱外标法测定自来水中钠含量的方法
- 1.4 分析比较原子吸收光谱法与离子色谱法对同一自来水样品中钠含量的测定结果

2 实验原理

原子吸收光谱分析是基于物质所产生的原子蒸气对特定谱线(通常是待测元素的特征谱线)的吸收作用来进行定量分析的一种方法。实际分析中测定的是试样中待测元素的浓度,根据朗伯-比尔定律,在一定实验条件下,吸光度与浓度呈正比关系。通过测定吸光度就可以求出待测元素的含量。这就是原子吸收光谱分析的定量基础。

离子色谱法与气相、液相色谱定量分析的依据相同,都是根据在一定操作条件下,分析组分的质量和浓度与检测器的响应信号成正比这一原理进行定量计算。

2.1 仪器结构

2.2.1 原子吸收光谱仪

原子吸收光谱仪分为空心阴极灯、原子化器、检测器和数据处理系统四大部分(见图 Z2-1)。

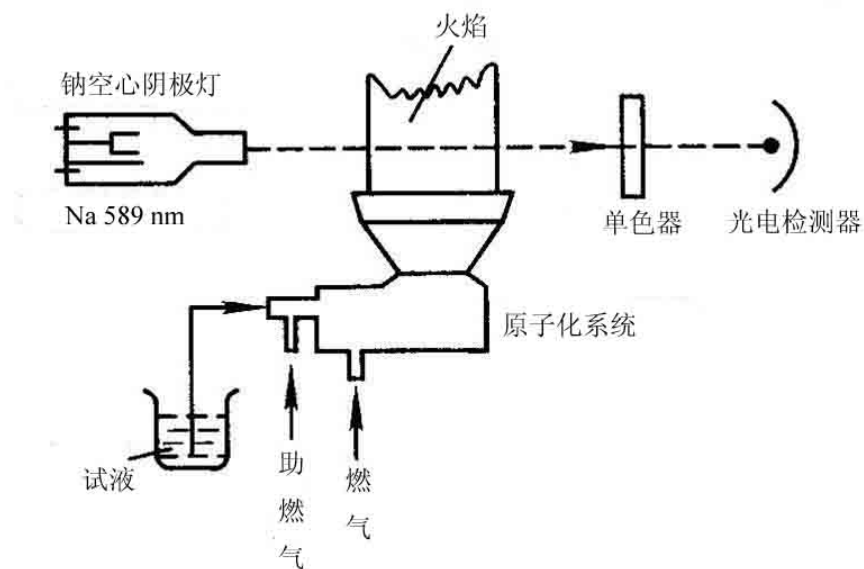


图 Z2-1 火焰原子吸收分析示意图

2.2.2 离子色谱仪

离子色谱仪最基本的组件是高压输液泵、进样器、色谱柱、抑制器、检测器和工作站（图 Z2-2），此外还可配置一些辅助系统。

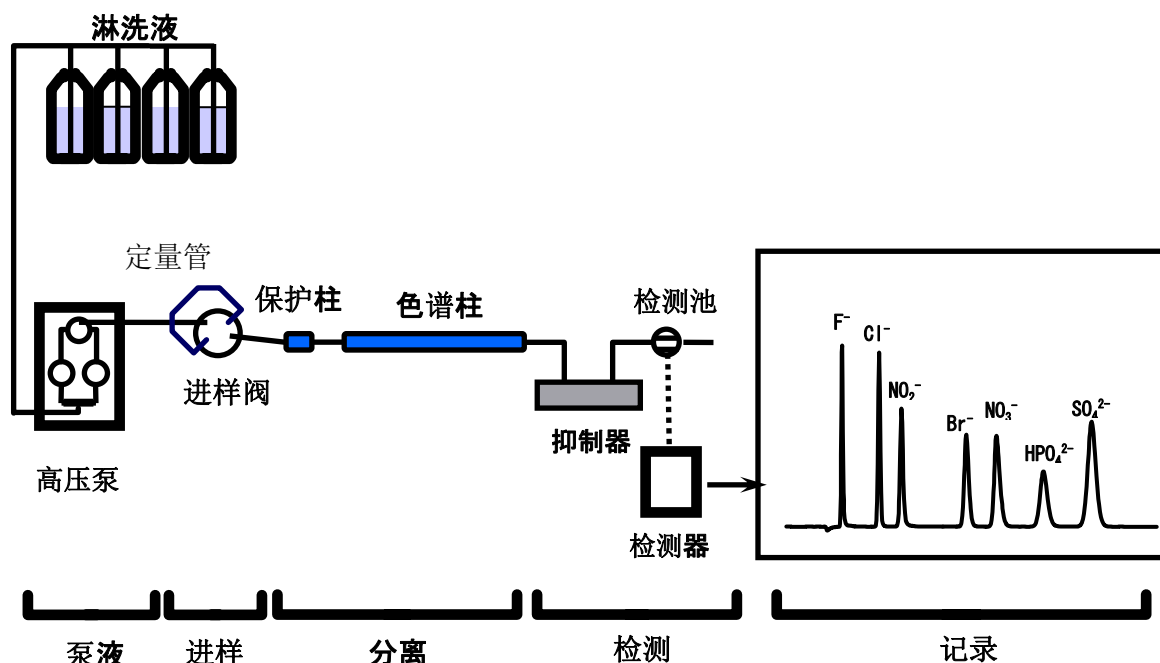


图 Z2-2 离子色谱仪流程示意图

3 仪器与配件、试剂与样品

3.1 原子吸收光谱仪器与配件、试剂与样品

AA 7003 型原子吸收光谱仪；BS210S 型电子分析天平；容量瓶：50 mL 2 只、100 mL 8 只；移液管若干。

氯化钠（99.8 %）：优级纯；二级水；试样：自来水。

1 000 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准储备液、用二级水稀释的 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 钠标准工作溶液。

3.2 离子色谱仪器与配件、试剂与样品

美国戴安公司 DX-120 离子色谱仪配备电导检测器；N 2000 中文版色谱工作站；1 mL 注射器；微孔过滤系统。

二级水；硫酸（95 ~ 98 %）、氯化钠（99.8 %）均为分析纯；自来水样品。

1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准储备液、含 60 $\mu\text{g/mL}$ 钠的 7 种阳离子混合标准溶液。
每小组按 4 人计，容量瓶：100 mL 1 只（公用）；具塞刻度试管、移液管若干。

4 实验操作条件

色谱柱：美国戴安公司 CS 12A 型号阳离子分析柱；

淋洗液：在 1 L 二级水中加入 0.6 mL H_2SO_4 ，摇匀，然后通过水系微孔滤膜（0.22 μm ）抽滤，贮存备用；

流速：0.80 mL/min；检测器温度：室温；定量管：25 μL ； Na^+ 保留时间：约 4.6 min。

5 实验内容与步骤

5.1 原子吸收光谱标准、样品溶液的配制

钠标准溶液的配制和工作曲线的建立：取 100 $\mu\text{g/mL}$ 的钠标准溶液，用二级水稀释配制浓度为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 钠标准溶液。

取 1 mL 自来水样品，用二级水稀释定容至 100 mL，待测。

5.2 原子吸收光谱仪器操作步骤和绘制工作曲线

在确定了最佳条件的前提下，以二级水作空白，建立工作曲线。点右键退出设置仪器条件界面。点击[分析参数]，点击[校准]，填入测量单位，其余设置缺省，点击[确认]；点击[校准曲线]，将空白及配制的标准曲线溶液浓度值按从低到高的顺序自上而下依次输入左边表格中[浓度]一栏内，并将[注]一栏设置为 $\checkmark$ ，曲线选择类型为一次曲线过零点，点右键退出。点击[采样分析]，先吸入二级水，待吸收曲线平稳后，点击[启动]，按 B 键扣空白值，按空格键采集 3 次数据为样品号 1。接着点击右下角[+]，增加样品号，将建立工作曲线的钠标准溶液按设定顺序依次从低到高浓度进样，待吸光度值稳定后，按空格键采集数据（3 次），全部测完后，点击[结束]，点鼠标右键退出[分析报告]界面，点击[标准曲线]查看工作曲线相关系数，若相关系数大于 0.99，则可进行下一步，（否则需要重新测定或重新配制工作曲线标准溶液再测定）。

样品的测定：点击鼠标右键，退出[标准曲线]界面，点击[分析参数]，在[工作模式]中设置[分析]，选取浓度直读，点击[确认]，点击[采样分析]，先吸入二级水，按照与工作曲线相同的方法操作，测定试样的吸光度值（注意每测完一个样品，需要将吸管放到二级水中清洗至吸光度值不变化为止），试样全部测完后，点击[结束]，在 AA 7003 分析报告界面下点击[编辑报告]，可以编辑观测到样品的吸光度值、浓度等结果；点击[报告存盘]，命名分析报告文件（最多 8 个字符，不支持中文），记住并确认，分析报告文件被保存到 C:/windows 路径下。点鼠标右键，退出相应界面，，点击[文件管理]，点击退回 DOS，键入 win，启动 win 98。右键选中分析报告文件，用 word 打开，可以看到分析结果。在 win 98 下，启动 AA70032（该文件与分析报告文件在同一路径下），进入校准曲线界面，拷屏（按 Print Scrn 键），关闭工作站，将标准曲线和数据粘贴在分析报告的 word 文档中，编辑好相关信息，打印报告。关闭乙炔钢瓶，待火焰熄灭后，点击[设置仪器条件]，点击[系统复位]，点鼠标右键，点击[文件管理]，点击[退回 DOS]，先关闭原子吸收光谱仪主机，然后关闭计算机，最后切断总电源。

5.3 离子色谱标准、样品溶液的配制

5.3.1 1 000 mg/L 阳离子标准溶液的配制

分别约称取 LiCl (0.643 g)、NaCl (0.254 g)、 NH_4Cl (0.297 g)、KCl (0.191 g) 镁屑 (0.101 g，先用 2 mL 6 mol/L 盐酸溶液溶解)、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.374 g)、 SrCl_2 (0.305 g)，精确至 0.0001 g，置于各自的 100 mL 容量瓶中，用二级水稀释，摇匀，溶解定容即得阳离子储备液。

5.3.2 7 种阳离子混合标准工作溶液的配制

用移液管分别取 0.5 mL LiCl、2 mL NaCl、5 mL NH_4Cl 、5 mL KCl、3 mL Mg^{2+} 、5 mL CaCl_2 、10 mL SrCl_2 储备液配置于同一 100 mL 容量瓶中用二级水定容即得 7 种阳离子混合标准工作溶液。

5.3.3 样品溶液的配制

取 5 mL 自来水样品于 10 mL 刻度试管中，加入 5 mL 二级水，待测。

5.4 离子色谱仪操作步骤

5.4.1 根据样品和分析目的，确认使用安装的自动再生抑制器、保护柱、分析柱。

5.4.2 打开氮气（99.9%）钢瓶，调节输出压力为 0.3 MPa。

5.4.3 接通离子色谱仪、计算机电源，进入到“N 2000 在线工作站”，选择通道 2。

5.4.4 依次按离子色谱仪操作面板的 Eluent Pressure、Pump、SRS 键。系统压力不稳，必要时开启主机前门，打开排液阀，排净气泡。关闭排液阀时，务必按下 Pressure 观察压力变化，压力能够持续上升且不漏液即可，严禁用力过猛扭断塑料阀芯。

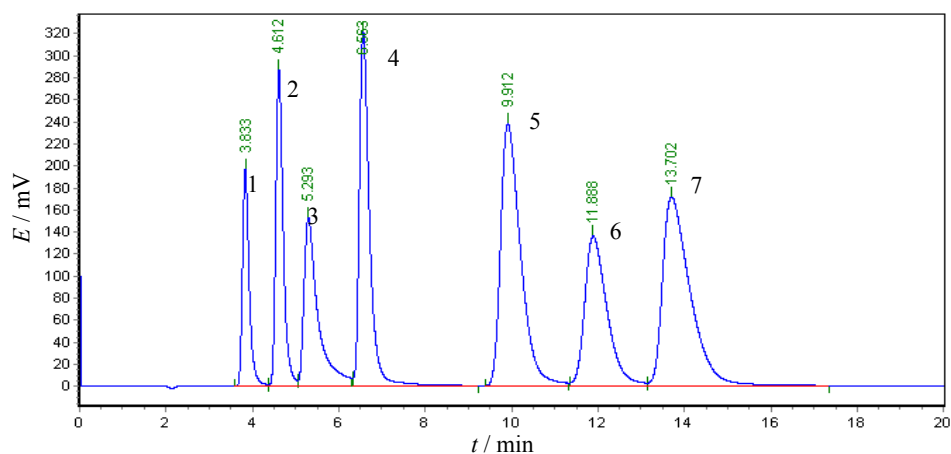
5.4.5 打开主机前门，调整高压泵上的手轮，顺时针旋转提高流速，逆时针相反，按 Flow setting，观察调整并确认流速后，轻轻按回手轮。90 min 内无任何操作时，高压泵流量将自动减低至设定值流量的 1/20。

5.4.6 按 Offset Cond，显示补偿电导值，系统平衡 20 min 后，屏幕显示背景电导值，按 Auto Offset 将其补偿至 0。

5.4.7 在“N2000 在线工作站”中点击实验信息，填写“实验标题”、“实验人姓名”、“实验单位”、“实验简介”；点击方法，选择“采样结束自动积分”，文件保存方式选择“手动方式”，填写“采样结束时间（min）”，点击采用；点击数据采集选项卡，点击查看基线、零点校正，观察基线是否平稳。

5.4.8 进样分析：首先观察显示屏左下角的 Load 状态。在规定的分析色谱条件下，待基线平稳后，用 1mL 注射器连续注入数针标准混和工作溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 %时，按照进样规则的顺序（标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液）进样分析。样品过滤后用进样器吸取样品溶液插入前门进样孔，注入数倍于定量管容量的试样溶液；按 Load/Inject 键，系统开始分析样品。（约 1 min 后进样阀自动切换至 Load 状态，会发出响声）（本色谱仪 Load/Inject 键与数据开始采集按钮联动）。采集的离子色谱分离图见图 Z2-3~4。采集后注意数据存盘。

5.4.9 关机：样品测试完毕，用淋洗液冲洗 30 min 后，依次关闭 SRS、Pump、Eluent Pressure、钢瓶气阀、主机电源。用 N 2000 离线工作站处理数据，关闭计算机和总电源。



1 Li^+ ; 2 Na^+ ; 3 NH_4^+ ; 4 K^+ ; 5 Mg^{2+} ; 6 Ca^{2+} ; 7 Sr^{2+}

图 Z2-3 七种常见阳离子混合标准溶液离子色谱分离图

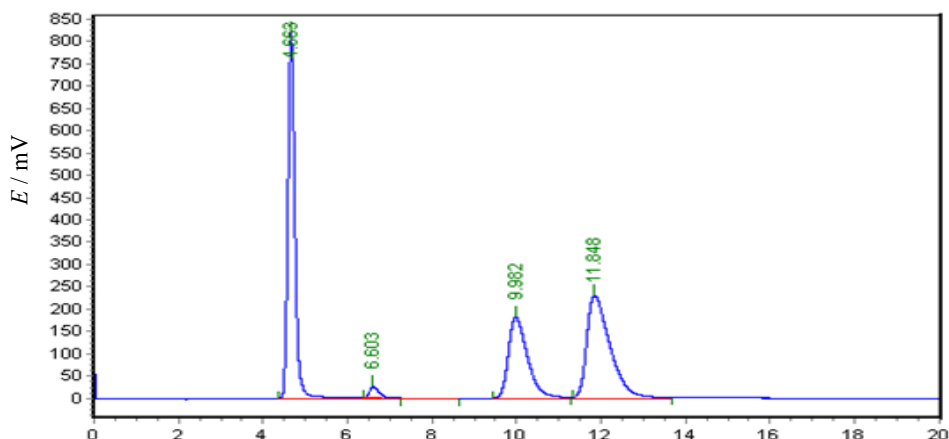


图 Z2-4 化工学院自来水中阳离子的离子色谱分离图

6 实验数据处理

6.1 试样溶液中组分的定性

根据标准样品溶液中组分的各自相对保留时间，对试样溶液中的组分进行对比定性确认。

6.2 试样溶液中组分含量的计算

6.2.1 外标法手动计算试样中各组分的浓度含量

本实验采用单点校正曲线法。将测得的两针试样溶液以及其前后两针标准混合工作溶液相应组分的峰面积，分别进行平均。

以浓度表示的各组分含量 X (mg/L)，按下式 (Z2-1) 计算：

$$X = \frac{C_1 \times A_2}{A_1} \dots\dots\dots (Z2-1)$$

式中：

C_1 — 标样溶液中，相应组分的浓度 (mg/L)；

A_1 — 标样溶液中，相应组分峰面积的平均值；

A_2 — 试样溶液中，相应组分峰面积的平均值。

6.2.2 用 N 2000 中文版色谱工作站自动建立工作曲线并计算试样中各组分的浓度含量

打开 N 2000 离线工作站；点击[打开]，打开混合标准工作溶液谱图；点击[报告编辑]选项卡，分别点击[谱图显示]、[报告内容]、[显示设置]、[实验信息]并根据需要选择和填写相关内容；点击[积分方法]选项卡，选择“面积”、“外标法”，点击[采用]；点击[组分表]选项卡，点击[全选]，将无关的峰删掉，输入各离子峰名，点击[采用]，然后点击[校正]；点击[标准含量]，根据标准溶液相应的浓度值输入，点击[OK]，点击[加入标样]；打开相对应的标样文件，注意输入的标准含量和加入的标样文件必须一致，否则无法校正；点击[校正完毕]按钮；点击[输出]按钮，将“方法文件”保存在硬盘中。

点击[打开]，打开被测样品溶液谱图；点击[加载]按钮，选择上述保存的“方法文件”；点击[报告编辑]选项卡，即可得到被测样品的分析报告。点击[打印]按钮打印报告。

7 注意事项

7.1 原子吸收光谱实验

7.1.1 所绘制的标准曲线相关系数 (r) 至少要达到 0.99 以上，否则要重新配制溶液，重新测试。

7.1.2 试样吸光度值超过标准曲线范围，要稀释样品，重新测定。

7.1.3 乙炔为易燃、易爆气体，必须按照操作步骤进行。点火之前先通空气再通乙炔。实验结束后，先关乙炔，再关空气。

7.1.4 乙炔钢瓶阀门不能开的太大，否则，会有溶剂丙酮逸出而影响火焰原子化仪器正常工作。

7.2 离子色谱实验

7.2.1 离子交换柱的型号、规格不同时，色谱条件会有很大不同。

7.2.2 仔细阅读并理解离子色谱仪操作规程之后再开始进行仪器操作。

7.2.3 进样时，应避免将进样器中的气泡注入色谱系统中。

7.2.4 进样后，即使发现错误，也一定要等到所有组分流出后，才能开始下次进样分析。

7.2.5 无论是淋洗液的储备液还是混标的储备液在冷藏室保存的时间不能超过 6 个月。

8 对实验报告的要求及说明

8.1 实验报告内容只包括实验结果和综合分析。

8.2 对分别采用 AAS 和 IC 测定自来水样品中钠含量的结果进行综合分析。

8.3 比较两种方法的 RSD 值。

8.4 对本实验设计的评价和建议。

8.5 测定报告根据情况打印（信息尽可能详细，如组别、AAS 的标准曲线，平均测定结果；IC 标准工作溶液和试样溶液的谱图和数据等）。

9 思考题

9.1 结合定量分析方法的原理分析哪种测定方法得到结果更为准确可靠，为什么？

9.2 对比分析 AAS 和 IC 测定自来水样品中钠含量的优缺点。

9.3 采取何种措施来提高离子色谱法定量分析的准确度？