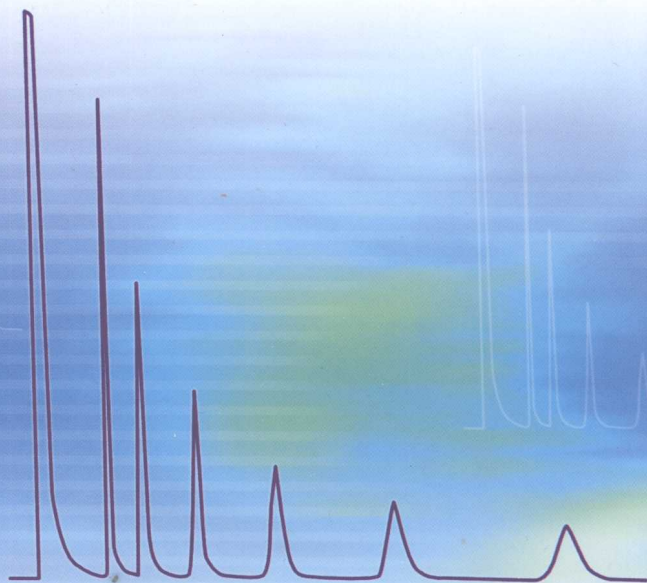


实用色谱法

Practical Chromatography

■ 詹益兴 编著



■ 科学技术文献出版社

图书在版编目(CIP)数据

实用色谱法/詹益兴编著. -北京:科学技术文献出版社,2008.6
ISBN 978-7-5023-5947-8

I. 实… II. 詹… III. 色谱法 IV. O657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 022682 号

出 版 者 科学技术文献出版社
地 址 北京市复兴路 15 号(中央电视台西侧)/100038
图书编务部电话 (010)51501739
图书发行部电话 (010)51501720,(010)51501722(传真)
邮 购 部 电 话 (010)51501729
网 址 <http://www.stdph.com>
E-mail: stdph@istic.ac.cn
策 划 编 辑 孙江莉
责 任 编 辑 孙江莉
责 任 校 对 赵文珍
责 任 出 版 王杰馨
发 行 者 科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销
印 刷 者 富华印刷包装有限公司
版 (印) 次 2008 年 6 月第 1 版第 1 次印刷
开 本 880×1230 32 开
字 数 422 千
印 张 16.625
印 数 3000 册
定 价 30.00 元

© 版权所有 违法必究

购买本社图书,凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责调换。

(京) 新登字 130 号

内 容 简 介

本书共六篇，内容涵盖气相色谱、液相色谱以及相关技术，是一本汇集多种色谱技术的简明实用的色谱法专著。

第一篇深入浅出地论述色谱基础知识和色谱基本理论，旨在为掌握色谱技术打下坚实的理论基础；第二篇分别讨论了填充柱色谱、毛细管色谱、顶空色谱、裂解色谱、色谱测比表面等各种气相色谱法的实用技术；第三篇系统介绍平面色谱、经典柱色谱、高效液相色谱中的各种液相色谱法的常用分离模式；第四篇精要介绍超临界流体色谱、毛细管电泳色谱、毛细管电色谱以及激光光谱等四种新的色谱技术；第五篇专题讨论各种定性定量方法，为了有助于总结和发现相关规律，本篇还介绍了色谱曲线拟合法；第六篇简要阐述样品处理的相关方法。

书中详细介绍了各种气相色谱、液相色谱的固定相和流动相的种类及应用，并系统讨论了色谱分析条件的选择方法和实践经验。此外，还融有作者的研究成果。为了开拓思路，书中还编有应用实例和复习思考题，其中有些是研究生试题；为了给读者提供方便，书中附有麦氏常数表等。

本书适合于从事色谱分析和相关分析的科技人员阅读，可供高等院校相关专业师生参考和使用，适于用作色谱教材。

科学技术文献出版社是国家科学技术部系统惟一家中央级综合性科技出版机构，我们所有的努力都是为了使您增长知识和才干。

前 言

色谱法不仅是一种高效的分离技术和快速的分析方法，而且也是一种不可或缺的物化研究手段。

色谱法具有分离效能好、分析速度快、检测灵敏度高以及适用范围广和操作简便等特点，在生产、科研、教学、宇宙探索等众多领域中得到了广泛应用。由于色谱法具有独特的优越性和广泛的适用性，因此，在近代所创立的各种仪器分析方法中，尚无一种能像色谱法那样得到如此迅速广泛的应用，其发展之快令人叹为观止。

随着我国国民经济的快速发展和科学技术的长足进步，色谱分离分析项目与日俱增，近年来，我国使用色谱仪的单位急剧增加，色谱工作者队伍迅速扩大。为了使分析人员或有一定基础的色谱工作者能较快较好地掌握色谱技术、提高独立解决问题的能力，本人根据三十多年从事色谱分析实践和教学过程中的体会，选取较为新颖实用的内容编写成本书，以满足广大读者的需要；为了便于自学者阅读，书中还编有分析实例、计算举例、复习思考题、常用数据表格等内容。

在编著本书过程中，参考了国内外许多色谱著作、文献资料，特向原作者表示衷心感谢！

本书的编著出版得到陈贻文教授、方洪钜教授、李荫材教授、张永康教授、黄良教授等的热情帮助，得到科学技术文献出版社和长沙市科学技术协会的大力支持，在此谨表谢意！

鉴于水平所限，书中难免存在错误和不当之处，祈望读者不吝指正。

詹益兴

目 录

第一篇 色谱法基础	(1)
第1章 色谱法概论	(1)
第1节 发展概要	(1)
第2节 主要特点	(5)
第3节 分离原理	(6)
第4节 色谱分类	(7)
第5节 分析记录	(10)
第2章 色谱流出曲线	(12)
第1节 色谱曲线	(12)
第2节 保留参数	(14)
第3节 分离效能	(18)
第3章 色谱基本理论	(26)
第1节 理想条件	(26)
第2节 塔板理论	(27)
第3节 速率理论	(29)
第二篇 气相色谱法	(45)
第1章 气相色谱仪	(45)
第1节 气相色谱仪流程	(45)
第2节 气相色谱仪部件	(46)
第3节 气相色谱检测器	(58)

第4节 色谱仪安装调试	(72)
第2章 气相色谱柱	(76)
第1节 色谱柱概念	(76)
第2节 固体吸附剂	(81)
第3节 高分子小球	(87)
第4节 固定液载体	(93)
第5节 色谱固定液	(101)
第6节 固定相选择	(111)
第7节 柱填料制备	(118)
第8节 色谱填充柱	(126)
第3章 分析条件选择	(130)
第4章 毛细管色谱	(141)
第1节 发展简史	(141)
第2节 主要特点	(142)
第3节 基础理论	(144)
第4节 仪器设备	(147)
第5节 柱子制备	(150)
第5章 顶空色谱法	(157)
第1节 主要特点	(157)
第2节 基本类型	(158)
第3节 应用实例	(160)
第4节 定性定量	(164)
第6章 裂解色谱法	(172)
第1节 发展简史	(172)
第2节 基本特点	(173)
第3节 仪器设备	(174)
第7章 色谱测比表面	(179)
第1节 方法概述	(179)
第2节 计算方法	(182)

第 3 节 简化计算	(186)
第 8 章 分析应用实例	(195)
第 1 节 烃及卤化物	(195)
第 2 节 含氧有机物	(200)
第 3 节 含氮有机物	(205)
第 4 节 农药分析例	(207)
第 5 节 其他化合物	(211)
 第三篇 液相色谱法	 (219)
第 1 章 液相色谱概述	(219)
第 2 章 平面液相色谱	(224)
第 1 节 纸色谱法	(224)
第 2 节 薄层色谱	(237)
第 3 章 经典柱色谱法	(257)
第 4 章 高效液相色谱	(270)
第 1 节 方法概述	(270)
第 2 节 仪器设备	(274)
第 3 节 固定相	(295)
第 4 节 流动相	(304)
第 5 节 基本类型	(311)
第 6 节 常用模式	(328)
第 7 节 应用实例	(349)
 第四篇 色谱新方法	 (363)
 第五篇 定性定量法	 (375)
第 1 章 色谱定性分析	(375)
第 1 节 方法步骤	(375)
第 2 节 定性参数	(377)

第3节	初步鉴别	(382)
第4节	元素分析	(384)
第5节	溶解度组	(386)
第6节	扣除技术	(388)
第7节	流出物分类	(391)
第8节	衍生物制备	(392)
第9节	其他定性法	(394)
第2章	定量分析	(397)
第1节	响应信号测量	(397)
第2节	定量校正因子	(403)
第3节	定量计算方法	(409)
第4节	定量分析误差	(413)
第3章	色谱曲线拟合法	(419)
第1节	拟合程序	(420)
第2节	线性函数	(421)
第3节	非线性函数	(429)
第六篇	样品处理法	(437)
第1章	样品处理概述	(437)
第2章	样品采集方法	(440)
第1节	气体样品采集	(440)
第2节	液体样品采集	(445)
第3节	其他样品采集	(446)
第3章	样品制备方法	(448)
第1节	结晶法	(448)
第2节	蒸馏法	(451)
第3节	萃取法	(456)
第4节	衍生法	(466)
第5节	其他方法	(478)

第 4 章 生物样品制备	(483)
附 录	(491)
附录 1 麦氏常数表	(491)
附录 2 本书符号表	(511)
参考文献	(517)

第一篇 色谱法基础

第 1 章 色谱法概论

色谱法 (Chromatography) 是一种重要的分离分析技术和物化研究方法, 由于具有分离效能好、分析速度快、检测灵敏度高、适用范围广和操作简便等特点, 因此在生产、科研、教学等的众多领域中得到了广泛应用, 特别是与计算机系统联用以来, 它已成为分析测试和分离提纯不可或缺的手段。

由于色谱法具有其独特的优越性和广泛的适用性, 因此, 在近代所创立的各种仪器分析方法中, 尚无一种能像色谱法那样得到如此迅速广泛的应用, 其发展之快令人叹为观止。

第 1 节 发展概要

一、发展简史

1850 年朗格 (Runge) 关于色谱分离的报告也许是迄今所能查阅到的最原始的色谱论文。

1903 年植物学家茨维特 (Tswett) 首先发现液一固洗脱技术能分离植物色素, 1906 年公开发表其研究成果, 他被公认为是柱

色谱法 (Column chromatography) 的创始人。他的实验装置如图 1-1 所示, 用碳酸钙作吸附剂, 把植物色素的石油醚提取液从一根装有固体吸附剂的玻璃管上端注入, 再加入石油醚淋洗, 结果使色素混合物获得分离, 于管内形成了不同颜色的谱带, “色谱”一词由此得名。这种分离方法被称为色谱法, 此玻璃管柱被叫做色谱柱, 装在柱内的固体吸附剂被称为固定相, 用于淋洗的石油醚被称作流动相; 而分离对象当今则不局限于有色物质。

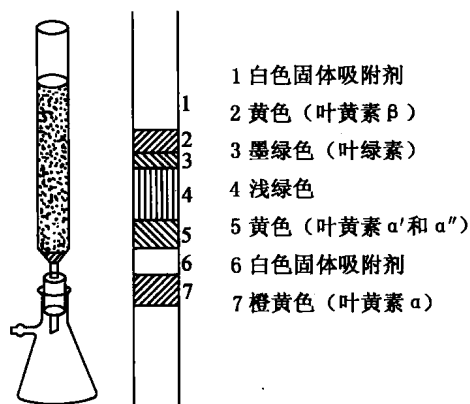


图 1-1 茨维特 (Tswett) 层析试验装置图

1941 年马丁 (A. J. P. Martin) 和辛格 (R. L. M. Synge) 把含有一定量水分的硅胶填充到色谱柱中, 然后将氨基酸的混合物溶液加于柱上, 再用氯仿淋洗, 结果氨基酸混合物得到分离。这种实验方法与茨维特的实验方法基本相同, 但其固定相为含水硅胶, 致使分离原理有所不同, 被称为分配色谱法 (Partition chromatography), 而茨维特的方法被称为吸附色谱法 (Adsorptive chromatography)。

1944 年马丁 (A. J. P. Martin) 和辛格 (R. L. M. Synge) 提出了纸色谱法和薄层色谱法, 成功地用于氨基酸的分离, 许多无机物 (如含铁、钴、镍、铜、镉的盐类) 和有机物 (如糖类、肽类) 都可用纸色谱法和薄层色谱法进行分离和鉴别, 从而创立了纸色谱法 (Paper

chromatography) 和薄层色谱法 (Thin layer chromatography)。

由于生物化学和石油化学等学科发展的需要, 1941 年马丁 (A. J. P. Martin)、辛格 (R. L. M. Synge) 及詹姆斯 (A. T. James) 等人提出了气液色谱法的设想并做了大量的研究工作, 于 1952 年创立了气液色谱法, 成功地分离分析了脂肪酸、脂肪胺等混合物, 并提出了塔板理论。由于他们在色谱学和生物化学领域里做出了重大贡献, 因而获得了 1952 年的诺贝尔奖。

1956 年荷兰学者范第姆特 (Van Deemter) 等人, 总结了前人的研究成果, 提出了范第姆特方程式, 为色谱技术的发展提供了重要的理论依据。

1956 年美国工程师戈雷 (Golay) 发明了毛细管柱, 使总理论塔板数提高了几个数量级, 分离效能得到显著提高。

1957 年霍姆斯 (Holmes) 等人首次把气相色谱与质谱联用。随后相继发明了氢焰检测器、火焰光度检测器、氘离子化检测器和电子捕获检测器等高灵敏度和高选择性的检测器。从而使气相色谱法获得了迅速的发展、广泛的应用。

马丁 (Martin) 和辛格 (Synge) 在 1941 年就提出高效相色谱的设想, 然而直到 20 世纪 60 年代, 将已经发展得比较成熟的气相色谱理论和技术应用到液相色谱上来, 使液相色谱得到了迅速的发展。特别是填料制备技术、检测器 and 高压输液泵性能的不断改进, 使液相色谱分析实现了高效化, 具有优良性能的液相色谱仪商品于 1969 年面世。

现代色谱法的奠基者马丁在 20 世纪 70 年代初的一次讲演中说: “色谱法的发展速度远远超出了辛格起先所预想的速度, 其中很大的因素是样品量问题。我们在开始研究氨基酸的分析时, 需要 500g 蛋白质, 时间要 6 个月; 而使用硅胶分配柱时, 需要样品量为几毫克 (mg), 纸层析法需数微克 (μg), 气相色谱法只需纳克 (ng) 的数量级 ($\text{ng} = 10^{-9} \text{g}$)。由此可见, 在目前, 这种分析方法是各种分析方法中灵敏度最高的一种, 在这 30 年中样品量减少的数量级达 10^{12} 。”

随着色谱理论、色谱技术、色谱仪器以及色谱试剂的发展和进步，特别是色谱仪与质谱等大型分析仪器和计算机系统联用以来，它已成为生产、科研、教学、宇宙探索中不可或缺的分分析方法和十分重要的物化研究手段。

计算机的应用，使色谱仪不仅能自动处理数据、打印图谱和打印分析结果，而且还可以自动控制色谱条件，使色谱系统于最佳状态下工作。

随着色谱技术和计算机技术的进步，现代色谱仪正朝着自动化和智能化方向快速发展。

二、应用概况

近年来的统计表明，全世界各类分析仪器销售中，色谱仪（包括各种气相色谱仪、液相色谱仪以及其他色谱仪）的销售额已占仪器销售总额的 30% 左右。在现代所创立的仪器分析方法中，色谱法是发展最为迅速、应用最为普及的一种方法，其应用可概括为如下三大方面。

1. 分析测试

在生产和科研工作中，色谱法除了用于定性定量分析之外，还用于多种物化数据测定。

2. 分离提纯

在分离提纯方法中，色谱法是分离能力最强的方法之一，被广泛用于现代科学各领域。

3. 宇宙探索

在宇宙探索中，色谱法也有重要应用，为此专门研制了超小型自动色谱仪（见表 1-1）。

表 1-1 宇宙考察专用超小型自动色谱仪

制造年份	1962—1963	1966	1970
色谱仪重量	5.6kg	1.2kg	70~150g
主要用途	月球上的样品分析	火星上的样品分析	火星上的样品分析

第2节 主要特点

1. 分离效能好

在色谱法中，经典的液相柱色谱每米柱长具有相当于数十至数百块塔板的分馏塔的分离效能；气相色谱填充柱每米柱长的理论塔板数为 $10^2 \sim 10^3$ 块，而毛细管柱每米的理论塔板数可达 $10^3 \sim 10^4$ 块；高效液相色谱柱每米理论塔板数可达 $10^3 \sim 10^4$ 块，微型液相填充柱和毛细管液相色谱柱每米理论塔板数 $10^4 \sim 10^5$ 块；毛细管电泳色谱柱每米理论塔板数超过 10^6 块。

因而色谱法可以使沸点十分相近的、性质十分相似的组分（例如：异构体、同位素、对映体等）以及极为复杂的多组分混合物等获得分离。

2. 样品用量少

样品用量一般以 μg 计，有时仅以 ng 计即可，因为高灵敏度检测器可以检测出 $10^{-11} \sim 10^{-13} \text{g}$ 的物质。因此，色谱法除了用于常规样品的分离分析之外，还广泛应用于杂质、超纯物质和痕量物质等的检测。

3. 分析速度快

色谱分析一般只需几分钟的时间，长的花几十分钟，某些快速分析则只需花几秒钟，这种速度为一般化学分析法所不及。

4. 适用范围广

色谱法广泛应用于气体、液体、固体样品的分离分析工作。色谱法除了用于一般的定性定量分析外，在其他方面也得到越来越多的应用。例如：物性数据的测定、混合物的分离、纯物质的制备、生产过程的自动控制等。

必须指出，色谱法虽然具有很多优点，但它并非完美无缺，更不是万能的，只有与其他方法相互配合，才能发挥更好的作用。例如：利用色谱法分离混合物成为单组分的能力，与质谱等波谱

仪器分析方法联用，则能更有效地进行定性分析。

第 3 节 分离原理

色谱法 (Chromatography)，又称色层法、层析法、层离法等，系指把混合物分离成为单组分的一种分离分析方法。

色谱法的分离原理是利用混合物中各组分在流动相和固定相中具有不同的溶解—解析能力、吸附—脱附能力，或其他亲和作用力的差异，当两相作相对运动时，样品各组分在两相中反复多次 ($\geq 10^3$ 次) 受到上述各种作用力的作用，从而使混合物各组分获得互相分离。

如图 1-2 所示，当样品（例如含 A、B 两组分的混合物）进入色谱柱头以后，流动相把样品带入色谱柱内，刚进入柱子时，组分 A 和 B 以混合谱带出现。

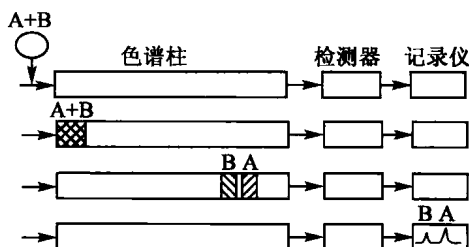


图 1-2 混合物在色谱柱中分离情况

由于各组分在固定相中的溶解—解析、或吸附—脱附、或其他亲和作用力的差异，各组分在色谱柱中的滞留时间也就不同，即它们在柱中的运行速度不同。随着流动相的不断流过，组分在柱中两相间经过了反复多次的分配和平衡过程，当运行一定的柱长以后，样品中各组分得到了分离。当组分 A 离开色谱柱出口流过检测器时，记录设备就记录出组分 A 的色谱峰；继之当组分 B 离开色谱柱流过检测器时，记录设备就记录出组分 B 的色谱峰。

由于色谱柱中存在着涡流扩散、分子扩散（纵向扩散）、传质

阻力以及其他因素的作用,使得所记录的色谱峰并不是以一条矩形的谱带出现,而是一条接近高斯分布曲线的色谱峰。

第 4 节 色谱分类

色谱有多种分类方法,这里按两相物态、固定相形式、色谱柱形式、分离机理、动力学等 5 种分类方法介绍。

一、按两相物态分类

1. 按流动相物态

以气体为流动相的色谱法称为气相色谱法 (Gas chromatography, GC); 以液体为流动相的称为液相色谱法 (Liquid chromatography, LC); 以超临界流体为流动相的称为超临界流体色谱法 (Supercritical fluid chromatography, SFC)。

2. 按固定相物态

固定相有两种状态,即在使用温度下呈液态的固定液和在使用温度下呈固态的固体吸附剂等两种状态。因此,按两相状态可将气相色谱法分为气-固色谱法 (Gas-solid chromatography, GSC) 和气-液色谱法 (Gas-liquid chromatography, GLC) 两大类; 液相色谱法分为液-固色谱法 (Liquid-solid chromatography, LSC) 和液-液色谱法 (Liquid-liquid chromatography, LLC) 两大类。

二、按固定相形式分类

按固定相形式可分为柱色谱法 (Column chromatography) 和平面色谱法 (Plane chromatography) 等两大类; 后者包括纸色谱法 (Paper chromatography) 和薄层色谱法 (Thin layer chromatography, TLC)。

三、按色谱柱形分类

按色谱柱形大体可分为填充柱色谱法 (Packed column chro-

matography) 和毛细管柱色谱法 (Capillary column chromatography) 等两大类。

四、按分离机理分类

按分离机理基本上可分为吸附色谱法 (Adsorption chromatography)、分配色谱法 (Partition chromatography)、离子交换色谱法 (Ion exchange chromatography)、体积排阻色谱法 (Size exclusion chromatography) 等四大类。

五、按动力学分类

1. 迎头法

迎头法 (Frontal method), 又称前沿法, 是色谱分离分析的操作技术之一。

此法为连续进样, 而且样品组成和进样量均保持恒定。流动相把样品带入色谱柱以后, 样品中吸附或溶解能力最弱的第一个组分以纯态流出, 相继流出的均含有在其前面流出的各个组分, 最后流出的则含有原混合物样品中的所有组分, 得到如图 1-3 所示的流出曲线。

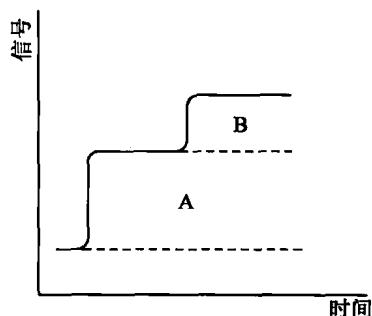


图 1-3 迎头法流出曲线

此法适用于从含有微量杂质的混合物中切割出一部分纯物质