



教育部高职高专规划教材

生物工业分析

罗建成 主编

李晓华 主审



化学工业出版社
教材出版中心

教育部高职高专规划教材

生物工业分析

罗建成 主编

李晓华 主审



化学工业出版社
教材出版中心

· 北京 ·

本书是根据高职高专生物技术类专业教学需要而编写的教材。全书共分 11 章, 内容包括试样的采集、保藏和预处理, 物理和化学分析方法, 比色分析和分光光度法, 色谱法, 气相、液相色谱分析方法, 原子吸收分光光度法, 综合实训等。

本书的编写坚持“必需、够用”的原则, 充分考虑高职高专教学的特点, 内容简明扼要、重点突出、图文并茂、文字流畅, 并且结合当代生物技术的内容和现代分析方法。

本书可作为生物技术类专业高职高专和成人大专学生的教材, 也可作为相关专业的本科学生、教师和科研人员的参考书。

图书在版编目 (CIP) 数据

生物工业分析/罗建成主编. --北京: 化学工业出版社, 2006.7
教育部高职高专规划教材
ISBN 7-5025-8846-9

I. 生… II. 罗… III. 生物工程-工业分析-高等学校: 技术学校-教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 072850 号

教育部高职高专规划教材

生物工业分析

罗建成 主编

李晓华 主审

责任编辑: 于 卉

文字编辑: 焦欣渝

责任校对: 凌亚男

封面设计: 于 兵

*

化学工业出版社 出版发行
教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销
化学工业出版社印刷厂印装

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 17 $\frac{3}{4}$ 字数 440 千字

2006 年 8 月第 1 版 2006 年 8 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8846-9

定 价: 29.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

出版说明

高职高专教材建设工作是整个高职高专教学工作中的重要组成部分。改革开放以来,在各级教育行政部门、有关学校和出版社的共同努力下,各地先后出版了一些高职高专教育教材。但从整体上看,具有高职高专教育特色的教材极其匮乏,不少院校尚在借用本科或中专教材,教材建设落后于高职高专教育的发展需要。为此,1999年教育部组织制定了《高职高专教育专门课程基本要求》(以下简称《基本要求》)和《高职高专教育专业人才培养目标及规格》(以下简称《培养规格》),通过推荐、招标及遴选,组织了一批学术水平高、教学经验丰富、实践能力强的教师,成立了“教育部高职高专规划教材”编写队伍,并在有关出版社的积极配合下,推出一批“教育部高职高专规划教材”。

“教育部高职高专规划教材”计划出版500种,用5年左右时间完成。这500种教材中,专门课(专业基础课、专业理论与专业能力课)教材将占很高的比例。专门课教材建设在很大程度上影响着高职高专教学质量。专门课教材是按照《培养规格》的要求,在对有关专业的人才培养模式和教学内容体系改革进行充分调查研究和论证的基础上,充分汲取高职、高专和成人高等学校在探索培养技术应用型专门人才方面取得的成功经验和教学成果编写而成的。这套教材充分体现了高等职业教育的应用特色和能力本位,调整了新世纪人才必须具备的文化基础和技术基础,突出了人才的创新素质和创新能力的培养。在有关课程开发委员会组织下,专门课教材建设得到了举办高职高专教育的广大院校的积极支持。我们计划先用2~3年的时间,在继承原有高职高专和成人高等学校教材建设成果的基础上,充分汲取近几年来各类学校在探索培养技术应用型专门人才方面取得的成功经验,解决新形势下高职高专教育教材的有无问题;然后再用2~3年的时间,在《新世纪高职高专教育人才培养模式和教学内容体系改革与建设项目计划》立项研究的基础上,通过研究、改革和建设,推出一大批教育部高职高专规划教材,从而形成优化配套的高职高专教育教材体系。

本套教材适用于各级各类举办高职高专教育的院校使用。希望各用书学校积极选用这批经过系统论证、严格审查、正式出版的规划教材,并组织本校教师以对事业的责任感对教材教学开展研究工作,不断推动规划教材建设工作的发展与提高。

教育部高等教育司

2001年4月3日

前 言

“生物工业分析”为工业生物工程、生物技术、发酵工程等专业的基础课。它是学生在学习了物理学、无机化学、有机化学、物理化学、分析化学、生物化学、微生物学等课程，并具有一定的分析基础理论和基本操作技能后开设的。

生物工业范围很广，包括酒类、酒精、氨基酸、有机酸、酵母、酶制剂、抗生素、生物酶等。根据目前国家制订的生物技术相关专业范围及本课程教学大纲要求，本书主要以酒类、酒精和味精、抗生素生产中的分析测定为主，同时考虑到高职高专教科书的特点，编写中选择了部分分析实例并按其所属的分析方法类型进行编写。对属于化学分析、比色分析与分光光度分析范围的常规分析测定仅介绍典型的分析实例。对近年来迅速发展并广泛应用的仪器分析方法，结合各院校、有关科研单位和工厂的仪器设备条件，着重介绍色谱分析技术，并附有部分有关实例。本书还安排了部分综合实训的内容。各院校在使用本教材时可根据具体情况，对教材内容有所侧重与选择。

通过本课程学习，使学生能独立运用物理的和化学的分析方法，对生物工业中有关的原料、半成品、成品和副产物进行分析测定，同时初步培养学生的科学研究能力。

随着科学技术的迅速发展，新型的、现代化的分析仪器逐渐应用到生物工业中，如高效液相色谱法、气相色谱法、原子吸收分光光度法以及色谱-质谱联用、色谱红外光谱联用等，特别是电子计算机的使用，使分析方法更灵敏、更快速，本书在这方面作了重点介绍。

为适应高职高专教学的特点，本书编写坚持“以应用为目的，以必需、够用为度”的原则，以物理、化学分析方法为基础，现代仪器分析方法为重点，简明扼要地阐述了生物工业分析的核心内容和基本理论。主要内容包括试样的采集、保藏和预处理，物理和化学分析方法，比色分析和分光光度法，色谱法，气相、液相等色谱分析方法，原子吸收分光光度法，综合实训等。全书共分 11 章，潘宁编写第三章、第六章第五节，柴凤兰编写第五章、第九章，陈红霞、程小冬编写第四章、第六章的第三节，史政海老师编写第七章、第八章、第十章，罗建成编写第一章、第二章、第十一章、第六章的第一节、第二节、第四节和附录、附表。全书由罗建成负责最后的统稿，由李晓华主审。

生物工业分析的内容十分丰富而繁杂，本书的特点是将最基本且核心的内容汇集一体，取材新颖、简明扼要、条理清晰、语言精练，基本概念准确，具有一定的可读性和适用性，是指导学生在有限时间掌握生物工业分析基本方法和技能的实用教材。尽管编著者们付出了很大的辛勤劳动，努力把本教材编写成新颖实用、特色鲜明、质量上乘的佳作，但限于自身水平仍免不了有不妥之处。我们真诚地欢迎广大师生和读者批评指正，以便再版时改进。

编 者

2006 年 5 月

目 录

第一章 绪论	1
一、生物制品的一般特点	1
二、现代生物分析方法的选择和确立	1
第二章 样品的采集、保藏和预处理	3
第一节 样品的采集	3
一、固体样品的采集	3
二、液体样品的采集	4
三、气体样品的采集	4
第二节 样品的制备与预处理	4
一、样品的制备	4
二、样品的预处理	5
第三节 样品的保存	7
第三章 物理分析法	9
第一节 相对密度法	9
一、密度与相对密度	9
二、溶液浓度与相对密度的关系	9
三、几种相对密度测定的方法	10
四、相对密度法的应用实例	13
第二节 折光法	16
一、折射率	16
二、光的全反射	17
三、溶液浓度与折射率的关系	17
四、常用的折光计	18
五、折光法的应用实例	21
第三节 旋光法	21
一、偏振光和旋光活性	21
二、比旋光度及变旋光作用	22
三、旋光仪	23
四、旋光法的应用实例	24
第四节 其他物理分析方法	26
一、华勃呼吸仪的构造及应用	26
二、瓶装啤酒中二氧化碳含量测定——压力表法	32
第四章 化学分析	34
第一节 水分的测定	34
一、常压直接烘干法	35

二、减压干燥法	35
三、红外干燥法	36
第二节 酸及酯的测定	37
一、啤酒总酸度的测定	38
二、酒中总酸、总酯的测定	40
三、发酵醪总酸、挥发酸、不挥发酸的测定	41
第三节 糖类的测定	42
一、还原糖的测定	43
二、双糖的测定	47
三、多糖的测定	52
四、糖化淀粉酶活力的测定	57
第四节 含氮量的测定	59
一、凯氏定氮法测定粗蛋白质的含量	59
二、氨基酸态氮的测定	65
第五节 其他成分的测定	67
一、脂肪的测定	67
二、灰分的测定	68
三、酒精中醛的测定	70
四、水的总硬度测定	71
五、单宁的测定	73
第五章 比色分析和分光光度法	76
第一节 比色分析与分光光度法	77
一、基本原理	77
二、定量分析方法	80
三、应用实例	80
第二节 紫外分光光度法	92
一、紫外分光光度计	92
二、应用实例	94
第三节 红外分光光度法简介	96
一、红外分光光度法的基本原理	96
二、红外分光光度计	97
三、红外分光光度法的应用	98
第六章 色谱法	100
第一节 柱色谱	100
一、吸附柱色谱	100
二、分配柱色谱	103
三、离子交换柱色谱	105
四、柱色谱的使用装置与操作	108
第二节 纸色谱	109
一、原理	109

二、操作方法和操作条件的选择·····	110
三、定性、定量分析·····	113
四、应用实例——氨基酸的纸色谱·····	116
第三节 薄层色谱·····	117
一、分类·····	118
二、操作方法与操作条件的选择·····	118
三、影响薄层色谱的因素·····	125
四、啤酒中氨基酸的纸色谱·····	126
五、酿造酒中黄曲霉毒素的测定·····	128
第四节 凝胶色谱·····	131
一、基本原理及特点·····	131
二、凝胶的种类和性质·····	131
三、凝胶色谱的操作技术·····	132
四、凝胶色谱的应用·····	133
第七章 气相色谱·····	135
第一节 气相色谱法基本原理·····	135
一、气相色谱过程·····	135
二、色谱流出曲线·····	138
三、气相色谱中有关术语·····	138
第二节 气相色谱操作·····	140
一、操作条件的选择·····	140
二、操作步骤·····	146
第三节 色谱分析·····	146
一、定性分析·····	146
二、定量分析·····	148
第四节 应用实例——酒中醇酯类组分的分析·····	153
第八章 高效液相色谱分析·····	156
第一节 基本原理·····	156
一、液相色谱过程·····	156
二、色谱流出曲线·····	159
三、色谱中有关术语·····	159
第二节 液相色谱操作·····	160
一、操作条件的选择·····	160
二、操作步骤·····	161
三、色谱的定性、定量分析·····	161
第三节 应用实例·····	161
一、青霉素含量测定·····	161
二、葡萄酒中有机酸的定性、定量分析·····	165
第九章 原子吸收分光光度法·····	166
第一节 基本原理·····	166

第二节 仪器装置	168
一、原子吸收分光光度计的组成	168
二、原子吸收分光光度计的操作	172
第三节 定量分析方法	172
一、灵敏度	172
二、检出极限	173
三、定量方法	174
第四节 操作条件的选择和干扰现象的排除	176
一、操作条件的选择	176
二、干扰现象的排除	178
第五节 原子吸收分光光度法的应用	182
一、测定前的准备	182
二、原子吸收分光光度计的应用实例	183
第十章 其他分析新技术	186
一、气相色谱-质谱联用	186
二、液相色谱-质谱联用	187
三、毛细管电泳技术	191
第十一章 综合实训	195
实训一 样品常规理化指标综合分析	195
实训二 微量元素分析	202
实训三 农畜药残留分析	208
实训四 黑曲霉发酵生产和精制柠檬酸过程分析与检测	212
实训五 谷氨酸发酵、精制过程分析与检测	217
实训六 葡萄酒的酿制	218
附录	223
附录一 部分试剂的配制	223
附录二 《食品质量检验员》职业标准(试运行)	235
一、职业概况	235
二、工作要求	236
三、国家职业资格鉴定理论知识——细目表	239
附录三 实验数据处理	244
一、实验数据的误差分析	244
二、实验数据处理	249
附表	252
参考文献	273

第一章 绪 论

一、生物制品的一般特点

生物制品的特点是原料种类众多，其生产方法各不相同，有全合成，有发酵兼用提炼技术，有合成兼用生物技术，有发酵产品再进行化学加工，也有主要采用分离提纯方法。归纳起来有以下特点：

1. 生产流程长、工艺复杂。
2. 每一产品所需的原辅材料种类多，许多原料和生产过程中的中间体是易燃、易爆、有毒或腐蚀性很强的物质，对防火、防爆、劳动保护以及工艺和设备等方面有严格的要求。
3. 产品质量标准高（纯度高、杂质可允许的含量极微），对原料和中间体要严格控制其质量。
4. 物料净收率很低，往往几吨至上百吨的原料才生产 1t 产品，因而副产品多，三废也多。
5. 药物品种多、更新快、新药开发工作的要求高、难度大、代价高、周期长。制剂生产则需要有适合条件的人员、厂房、设备、检验仪器和良好的卫生环境以及各种必需的制剂辅料和适用的内、外包装材料相配合。

由生物制品的特点知道，要想生产出合格的生物产品，必须严格控制各个生产环节，每一个过程和步骤都要进行严格的分析和监控才能保证生产的顺利进行。

二、现代生物分析方法的选择和确立

现代分析方法是以测量物质的物理性质为基础的分析方法（表 1-1）。这类方法通常需要使用较特殊的仪器，故得名“仪器分析”。随着科学技术的发展，这种分析方法在生物工业中的应用越来越广泛，特别是新的仪器分析方法不断出现，且其应用日益广泛，从而使仪器分析在生物工业分析中所占的比重不断增长，并成为生物技术工作所必须掌握的基础知识和基本技能。

现代分析技术的特点（与化学分析比较）：

1. 灵敏度高，检出限量可降低。如样品用量由化学分析的 mL、mg 级降低到仪器分析的 μg 、 μL 级，甚至更低。适合于微量、痕量和超痕量成分的测定。
2. 选择性好。很多的仪器分析方法可以通过选择或调整测定的条件，使共存的组分测定时，相互间不产生干扰。
3. 操作简便，分析速度快，容易实现自动化。

仪器分析的缺点（与化学分析比较）：

1. 相对误差较大。化学分析一般可用于常量和高含量成分分析，准确度较高，误差小于千分之几。多数仪器分析相对误差较大，一般为 5%，不适用于常量和高含量成分分析。

表 1-1 现代分析方法分类

方法的分类	被测物理性质	相应的分析方法
光学分析法	辐射的发射	发射光谱法(X射线、紫外光、可见光等), 火焰光度法, 荧光光谱法(X射线、紫外光、可见光), 磷光光谱法, 放射化学法
	辐射的吸收	分光光度法(X射线、紫外光、可见光、红外线), 原子吸收法, 核磁共振波谱法, 电子自旋共振波谱法
	辐射的散射	浊度法, 拉曼光谱法
	辐射的折射	折射法, 干涉法
	辐射的衍射	X射线衍射法, 电子衍射法
	辐射的旋转	偏振法, 旋光色散法, 圆二色性法
电化学分析法	半电池电位	电位分析法, 电位滴定法
	电导	电导法
	电流-电压特性	极谱分析法
	电量	库仑法(恒电位、恒电流)
色谱分析法	两相间的分配	气相色谱法, 液相色谱法
热分析法	热性质	热导法, 热焓法
	质荷比	质谱法
	核性质	中子活化分析

2. 需要价格比较昂贵的专用仪器。

仪器分析与化学分析的区别不是绝对的, 仪器分析是在化学分析基础上的发展。不少仪器分析方法的原理, 涉及有关化学分析的基本理论; 有许多仪器分析方法, 还必须与试样处理、分离及掩蔽等化学分析手段相结合才能完成。

仪器分析方法的优点是:

1. 操作简便而快速, 对于含量很低(如质量分数为 10^{-8} 或 10^{-9} 数量级)的组分, 则更具独特之处。

2. 被测组分的浓度变化或物理性质变化能转变成某种电学参数(如电导、电位、电容、电流等), 故易于实现自动化和连接电子计算机。因此, 仪器分析具有简便、快速、灵敏、易于实现自动化等特点。对于结构分析, 仪器分析法也是极为重要和必不可少的工具。生产的发展和科学的进步, 不仅对分析化学在提高准确度、灵敏度和分析速度等方面提出更高的要求, 而且还不断提出更多的新课题, 一个重要的方面是要求分析化学能提供更多、更复杂的信息。

第二章 样品的采集、保藏和预处理

第一节 样品的采集

生物制品分析的一般程序与分析化学中定量分析的一般程序相同,包括:①生物样品的采集、制备和保存;②样品的预处理;③成分分析;④分析数据处理;⑤撰写分析报告。由于生物制品不同于一般的化学样品,其复杂、多变且易被污染,生物制品的样品采集显得尤为重要。所谓样品是指从被检测的对象中,按照规定的方法和使用适当的工具,采取一定数量的可代表整体质量的一小部分供分析检测用的被检测物质。采集样品的过程被称为采样或取样,抽样。

采样过程中应遵循两个原则:一是采集的样品要均匀具有代表性,能反映全部被检样品的组成、质量及卫生状况;二是采样中避免成分逸散或引入杂质,应保持原有的理化指标。

采样一般分以下三步:

- ① 首先是获取检样,从大批物料的各个部分采集少量的物料,称检样;
- ② 将所有获取的检样综合在一起得到原始样品;
- ③ 将原始样品经技术处理后,抽取其中的一部分作为分析检验的样品,称为平均样品。

采集数量应能反映该样品的卫生质量和满足检验项目对试样量的要求,样品应一式二份,分别供检验、复验、备查或仲裁,一般散装样品每份不少于0.5kg。具体采样方法因分析对象的性质而异。

采样时使用的工具、容器、包装纸等都应该是清洁的,不应带入任何杂质或被测部分。应在盛装样品的容器上贴上标签,注明样品名称、采样地点、采取日期、样品批号、采样方法、采样数量、分析项目和采样人。采样后应迅速分析检测,以免发生变化。

一、固体样品的采集

对于组成均匀的固体生物制品,样品的采集比较简单。对于颗粒大小不一、组成不均匀的生物制品,选取具有代表性的试样是一项既复杂又困难的工作,一般包括以下步骤:

第一步是采取大量的“粗样”。采取粗样的量取决于颗粒大小和颗粒的均匀性。粗样是不均匀的,但能代表整体的平均组成。一般应从被检测物料的上、中、下三层的不同部位分别采取部分样品混合后得到粗样。

第二步粗样经破碎、过筛、混合和缩分后,制成分析试样。常用的缩分法为四分法(图2-1):将粗样经破碎、过筛、混合均匀后,堆成圆锥形,略微压平,通过中心分为四部分,把任意对角的两份弃去,另外对角的两份收集在一起混合,再按上述方法对角取样,进行再次混合,连续进行几次,最后取

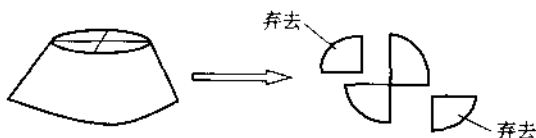


图 2-1 四分法示意图

有代表性样品。

应该注意的是,在试样的粉碎过程中,应避免混入杂质,过筛时不能弃去未通过筛孔的粗颗粒,而应再磨细后使其通过筛孔,以保证所得试样能代表整个物料的平均组成。

采集到的固体样品进行定量分析时,一般都需要制成溶液。在溶解试样时必须注意以下几点:

- ① 试样必须完全溶解,处理后的溶液中不得留有原试样的细屑或粉末;
- ② 试样溶解过程中待测组分不应挥发损失;
- ③ 不应引入被测组分和干扰物质。

溶样常用的溶剂有水、无机酸(如盐酸、硫酸)、有机溶剂(如醇类、酮类和芳香烃等)。

二、液体样品的采集

对于液体生物制品进行采样,任意采取一部分或稍混合或加取一部分,即成为具有代表性的分析试样。还应注意由于生物制品的性质和储存容器的不同造成的取样不均匀。

若自大型的储罐或槽车中取样,一般应在不同深度取几个样品混合后作为分析的试样。取样的工具可以使用装在金属架上的玻璃瓶,或特制的定额采样器。用绳索将取样器沉入液面下一定深度,然后拉绳拔塞,让液体灌入瓶中,取出。

自小型容器中取样,可以使用长玻璃管,插入容器底部后塞紧玻璃管的上口,抽出取样管,将液体样品转移到试样品中即可。

对于生产过程中生物半成品的分析控制,采样时是从取样阀取样,根据分析目的不同,按有关规程每隔一定时间打开取样阀,最初的流出液弃去,然后取样。取样量按规定或实际需要确定。

应当注意的是,采取液体试样前,取样器必须是洁净的,且要用少量待采液体润冲几次,以防止取样器沾污样品。

若采集的生物样品是特殊的液体(如血液、尿液等体液),应根据特定的测定要求进行取样。

三、气体样品的采集

气体的特点是密度小,流动性大,易扩散,比较容易混合均匀,但也易混入杂质。能否采取到具有代表性的试样,仍是一个十分重要的问题。但在生物制品分析中,很少遇到气体试样。对生物制品进行分析时,经常遇到的情况是检测经化学反应产生的气体,收集这些气体常用的方法有:

- ① 用液体吸收剂吸收,所选择的气体吸收剂必须能与气体进行定量反应,为进一步的分析作准备。
- ② 用量压计测定反应前后因产生气体导致的压力改变,同时确定试样某组分的含量。

第二节 样品的制备与预处理

一、样品的制备

为了保证分析结果的正确性,对分析的样品必须进行适当的制备。制备的目的是要保证

样品十分均匀,使在分析时取任何部分都能代表全部样品的成分。

样品的制备是指对采取的样品的分取、破碎及混合等过程。其方法因产品类别不同而异:

① 对液体、浆体或悬浮液体,一般是将样品摇动和充分搅拌。常用的简便的搅拌工具是玻璃搅拌棒,还有带变速的电动搅拌器,可任意调节搅拌速度。

② 对互不溶的液体,如油与水的混合物,分离后分别采取。

③ 对固体样品,应切细、捣碎,反复研磨或用其他方法研细。常用工具有组织捣碎机、万能粉碎机、研钵等。

二、样品的预处理

样品中有害物质及某些特殊成分的检验有许多共同之处,由于样品本身(如蛋白质、脂肪、糖类等)对分析测定常产生干扰,因此在分析测定之前必须进行样品处理。样品在处理过程中,既要排除干扰因素,又要不至于使被测物质受到损失,而且应能使被测物质达到浓缩,从而使测定能得到理想效果。所以在样品分析测定时,样品的处理是整个分析测定的重要步骤。

常用的样品的处理方法有以下几种:

1. 有机物破碎法

用于样品中无机盐或金属离子的测定。在高温或强烈氧化条件下,使样品中有机物质分解,并在加热过程中成气态而逸散掉。根据具体操作方法不同,又分为干法灰化和湿法消化两大类。

干法灰化时,样品在灰化炉中(一般 550°C)被充分氧化。为了避免测定物质的散失,往往加入少量碱性或酸性物质(固定剂),通常称为碱性干法灰化或酸性干法灰化。例如某些金属的氯化物在灰化时容易散失,这时就加入硫酸,使金属离子转变为稳定的硫酸盐。

湿法消化是加入强氧化剂(如浓硝酸、高氯酸、高锰酸钾等),使样品消化,而被测物质呈离子状态保存在溶液中。由于湿法消化是在溶液中进行,反应也较缓和一些,所以被分析物质的散失就大大减少。湿法常用于某些极易挥发散失的物质。除了汞以外,大部分金属的测定都能得到良好的效果。

干法灰化时间长,常需过夜完成,但不必工作者经常看管。由于试剂用量少,产品的空白值较少,对挥发性物质的损失较湿法消化大。

湿法消化时间短,而且挥发性物质损失较少,然而其试剂用量较大并需工作者经常看管。

2. 蒸馏法

利用液体混合物中各组分挥发度的不同分离为纯组分的方法叫蒸馏。常用的蒸馏方法如下:

(1) 常压蒸馏 当被蒸馏的物质受热后不发生分解,或在沸点不太高的情况下,可在常压进行蒸馏。常压蒸馏的装置比较简单。加热方法要根据被蒸馏物质的特性和沸点来确定,如果沸点不高于 90°C 可用水浴;如果超过 90°C ,则可改为油浴、沙浴、盐浴、石棉浴;如果被蒸馏物质不易爆炸或燃烧,可用电炉或酒精灯直接加热,最好垫以石棉网,使受热均匀且安全。当被蒸馏物质的沸点高于 150°C 时,可用空气冷凝管代替冷水冷凝器。

(2) 减压蒸馏 当常压蒸馏容易使蒸馏物质分解,或其沸点太高时,可以采用减压蒸

馏。减压装置可用水泵或真空泵。

(3) 水蒸气蒸馏 将水与与水互不相溶的液体一起蒸馏, 这种蒸馏的方法就成为水蒸气蒸馏。水蒸气蒸馏是用水蒸气来加热混合液体的。

(4) 分馏 是蒸馏的一种, 是将液体混合物在一个设备内同时进行多次部分气化和部分冷凝, 将液体混合物分离为各组分的蒸馏过程。这种蒸馏方法用于这种混合液体, 即它的两种或两种以上组分是可以互溶而且沸点相差很小的。

(5) 扫集共蒸馏法 在成套的专门装置中进行 (如图 2-2), 可用于农药。其原理是样品抽提液用注射器从施特勒管的一端注入后, 农药便和溶剂在加热的管中化为蒸气, 并借氮气流吹入冷凝管, 然后通过微色谱柱进入收集器内, 而脂肪和色素等杂质则被留在施特勒管和微色谱柱中。用此法净化只需 20~30min, 速度快且节省溶剂, 是一项颇有发展前途的净化方法。对试样中的色素及脂肪都可分离。

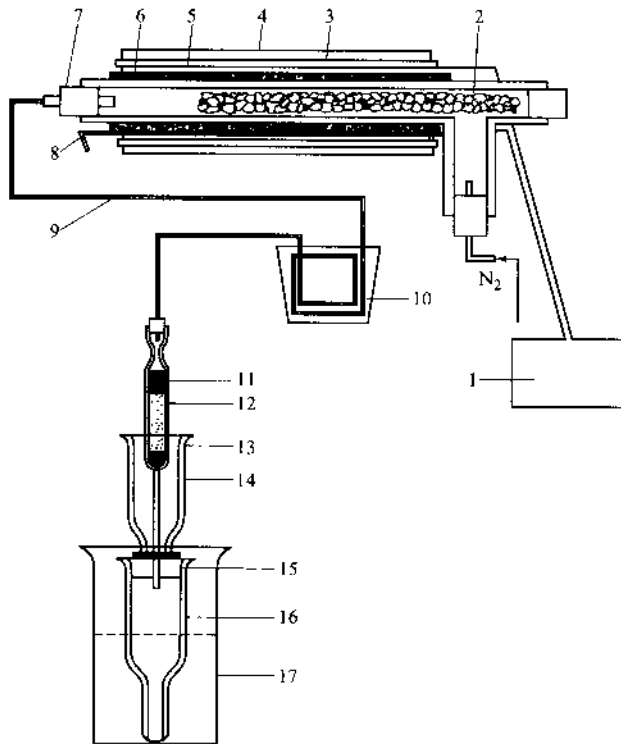


图 2-2 扫集共蒸馏装置

1—可变压器; 2—施特勒管 (填充 12~15cm 硅烷化的玻璃棉); 3—石棉; 4—绝缘套; 5—加热板;

6—铜管; 7—硅橡胶塞; 8—高温计; 9—聚氟乙烯管; 10—水或冰浴; 11—硅烷化玻璃;

12—ANAKROM ABS (一种吸附剂), 4cm; 13—尾接管; 14—硅烷化玻璃棉;

15—19~22 号标准磨口; 16—离心管; 17—盛水烧杯

先进的自动化扫集共蒸馏器装有 20 条净化管道, 可在 2.5h 内净化 20 份样品提取液。

3. 溶剂提取法

在任一溶剂中, 不同的物质具有不同的溶解度, 利用混合物中各物质的溶解度不同, 将混合物组分完全或部分地分离, 此过程叫萃取, 也称提取。提取的方法有很多, 最常用的是浸泡法和溶剂分层法。

(1) 溶剂分层法 要从溶剂中提取某一组分时,所选用的溶剂必须与溶液中原溶剂互不相溶,而且能大量溶解被提取的物质(或者与提取组分互溶)。当选用溶剂与溶液混合后,由于某一组分在两种互不相溶的溶剂中的分配系数不同,经多次提取可分离出来。抽提的仪器可采用各式各样的分液漏斗。

(2) 浸泡法 从固体混合物或有机体中提取某种物质时,一般采用浸泡法,所以这种方法称为浸提。所采用的提取剂,应既能大量溶解被提取的物质,又要不破坏被提取物质的性质。为了提高物质在溶剂中的溶解度,往往在浸取时,要加热。常用的是索克斯特提取器(简称索氏提取器)。

(3) 盐析法 在提取的操作方法中,还有一种叫做盐析法提取。向溶液中加入某一物质,使溶质溶解在原溶剂中的溶解度大大降低,从而从溶液中沉淀出来,这个方法叫做盐析。例如在蛋白质溶液中,加入大量的盐类,特别是加入重金属盐,蛋白质就从溶液中沉淀出来。例如用氢氧化铜或碱性醋酸铅将蛋白质从水溶液中沉淀下来,将沉淀消化并测定其中的氮量,据此以断定样品中纯蛋白质的含量。

在进行盐析工作时,应注意溶液中所要加入的物质的选择。这种物质应该不会破坏溶液中所要析出的物质,否则达不到盐析提取的目的。盐析沉淀后,要选择适当的分离方法,如过滤、离心分离、蒸发等。这要根据溶液、溶剂、析出物质的性质和实验要求来决定。在盐析工作中,经常伴随有 pH、温度等条件的要求,这点应注意。

4. 色谱分离法

这是应用最广泛的分离方法之一,尤其对一系列生物有机大分子物质的分析测定,色谱分离具有独特的优点。常用的色谱分离有柱色谱和薄层色谱两种,由于选用的柱填充物和薄层材料不同,所以有各种类型的柱色谱分离和薄层色谱分离。色谱分离的最大特点是不仅分离效果好,而且分离过程往往也就是鉴定的过程。

柱色谱法是净化抽提液中杂质的最通用的方法。在使用此法时调整吸附剂的活性及选用极性强弱适宜的溶剂是净化成败的关键。柱色谱法有吸附柱色谱法和分配柱色谱法。吸附柱色谱法常用氧化铝、活性炭和硅胶等作吸附剂;分配柱色谱法常用硅藻土和弗罗里硅土等作担体。

薄层色谱实际只包括从点样到样品中被测各组分在薄层板上进行分离的过程。不同组分在薄层色谱上得到分离,是其极性不同的结果,但必须给以适当的条件才能实现。所谓条件,就是在进行吸附薄层色谱或分配薄层色谱时,吸附剂和展开剂或静相溶剂和动相溶剂的选用与配合,一般称作色谱系统。

样品的处理方法很多,在实际操作时,为了达到最理想的处理效果,往往把两种或两种以上的处理方法结合起来使用。这里不再一一叙述,详见各章各项测定方法中的样品处理部分。

第三节 样品的保存

采取的样品应在当天进行分析,以防止其中水分或挥发性物质的散失及其他待测物质含量的变化。如果不能立即进行分析,必须加以妥善保存。应当把样品保存在密封洁净的容器内,必要时放在避光处,但切忌使用带有橡皮垫的容器。容易腐烂变质的样品需保存在 0~5℃,保存时间也不宜过长,否则会招致样品变质或待测物质的分解。

某些国家采用升华干燥来保存样品，又称冷冻干燥。在进行冷冻干燥时，先将样品冷冻到冰点以下，水分即变成固态冰，然后在高真空下将冰升华以脱水，样品即被干燥。所用真空度约为 $0.1 \sim 0.3 \text{ mmHg}$ ^❶ 的绝对压强，温度为 $10 \sim 30^\circ\text{C}$ ，而逸出的水分聚集于冷冻的冷凝器，并用干燥剂将水分吸收或直接用真空泵抽走。

预冻温度和速度对样品有影响，为此须将样品的温度迅速降到共熔点以下。共熔点是指样品真正冻结成固体的温度，有称完全固化温度。不同的物质其共熔点不同。

由于样品在低温下干燥，样品化学和物理结构变化极小，所以样品成分的损失比较少，保存时间可达数月或更长的时间。

❶ $1 \text{ mmHg} = 133.322 \text{ Pa}$ 。