

SEPULISHU CONGSHU

色谱技术丛书

制备色谱技术及应用

第二版

袁黎明 编著



化学工业出版社

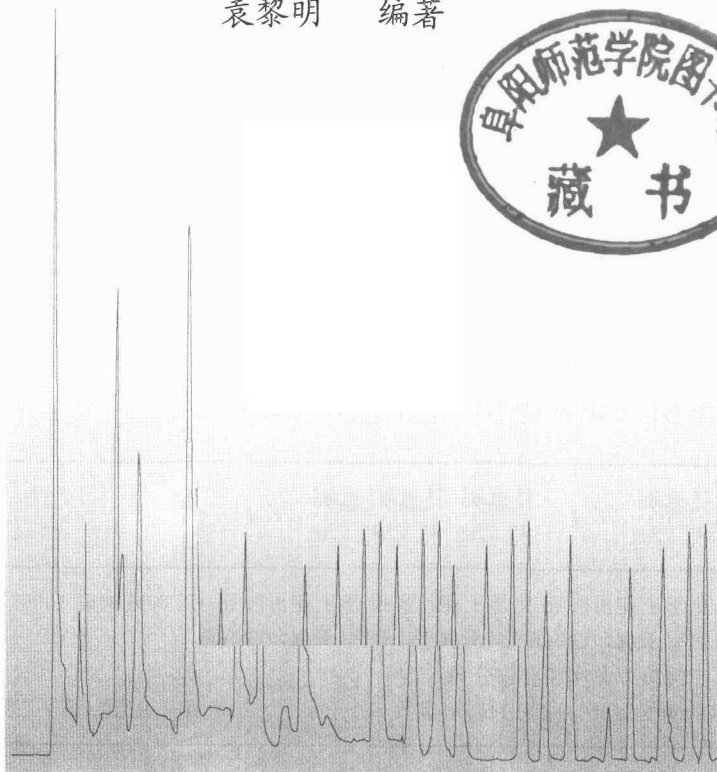
SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

制备色谱技术及应用

第二版

袁黎明 编著



化学工业出版社

· 北京 ·

本书从色谱科学的角度详细地阐述了制备色谱的原理、重要的实验技术、关键性色谱分离技巧及其应用。内容包括制备色谱的基础知识、制备薄层色谱、常压柱色谱、低压及中压柱色谱、高压制备液相色谱、高速逆流色谱、模拟移动床色谱、顶替色谱、制备气相色谱、电泳以及与制备色谱技术紧密相关的生物代谢产物的提取分离技术等。本书对制备色谱技术的系统介绍具有简明、系统、全面的特点。

本书适用于有机合成、植物化学、生物工程、精细化工、药物化学、生命科学以及色谱领域的读者,也可供有机化学、分析化学、农业、环境、食品、医学、材料等不同领域的科研人员、研究生、大学生、技术员和实验员学习参考。

图书在版编目(CIP)数据

制备色谱技术及应用/袁黎明编著. —2版. —北京:
化学工业出版社, 2011.9
(色谱技术丛书)
ISBN 978-7-122-11958-2

I. 制… II. 袁… III. 标准色谱-制备 IV. O657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 149133 号

责任编辑: 任惠敏

文字编辑: 刘砚哲

责任校对: 宋 玮

装帧设计: 韩 飞

出版发行: 化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

710mm×1000mm 1/16 印张14 $\frac{3}{4}$ 字数269千字 2012年1月北京第2版第1次印刷

购书咨询: 010-64518888(传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 48.00 元

版权所有 违者必究

色谱技术丛书（第二版）

傅若农 主编

汪正范 刘虎威 副主编

各分册主要执笔者：

《色谱分析概论》	傅若农			
《色谱定性与定量》	汪正范			
《气相色谱检测方法》	吴烈钧			
《液相色谱检测方法》	云自厚	欧阳津	张晓彤	
《气相色谱方法及应用》	刘虎威			
《高效液相色谱方法及应用》	于世林			
《平面色谱方法及应用》	何丽一			
《离子色谱方法及应用》	牟世芬	刘克纳	丁晓静	
《毛细管电泳技术及应用》	陈义			
《色谱分析样品处理》	王立	汪正范		
《色谱联用技术》	汪正范	杨树民	吴侔天	岳卫华
《色谱柱技术》	刘国詮	余兆楼		
《色谱仪器维护与故障排除》	吴方迪	张庆合		
《制备色谱技术及应用》	袁黎明			
《亲和色谱方法及应用》	于世林			
《裂解气相色谱方法及应用》	金熹高			
《色谱手性分离技术及应用》	戴荣继	邓玉林		
《气相色谱在石油化工中的应用》	杨海鹰			
《色谱在环境分析中的应用》	蔡亚岐	牟世芬	江桂斌	
《色谱在食品安全分析中的应用》	王绪卿	吴永宁		
《色谱在生命科学中的应用》	廖杰	钱小红		
《色谱在药物分析中的应用》	田颂九			
《色谱在材料分析中的应用》	胡净宇	梅一飞	刘杰民	

序

《色谱技术丛书》第一版是从2000年初开始出版的。由于这是一套较全面地介绍当代色谱技术的丛书，取材新颖，内容丰富，所以从一出版就受到了读者的普遍欢迎和肯定，同时也被众多的技术培训班选作教材，致使每一分册的发行量都突破了万册。但是，随着科学技术的突飞猛进和国家经济建设的快速发展，色谱作为主要的分离分析技术，需求与应用越来越广泛，从事色谱分析工作的人员也越来越多，年轻的和刚刚从事色谱分析的人员急需普及和提高色谱分析的理论和技术。再者，色谱技术本身也在不断地发展，新技术不断出现，有必要向广大读者尽早介绍这些知识。此次，化学工业出版社与丛书主编、作者合作，适时地将这套丛书重新修订，再版面世，是对普及并推动色谱技术发展的又一贡献。

在经历了近五个年头的实践检验后，这套丛书的第二版除了对第一版原有的13个分册分别进行了修改和充实，增加了新的内容，包括新近发展的仪器、技术、方法与应用等的介绍，提高了丛书的质量；同时还进一步完善了整个丛书体系，增加了一些新的书目，特别是有关应用的书目，形成一套更完整的色谱技术丛书，以进一步满足广大读者的需求。新增加的10个分册书目为：邓玉林等的《色谱手性分离技术及应用》，蔡亚岐、牟世芬等的《色谱在环境分析中的应用》，金熹高的《裂解气相色谱方法及应用》，廖杰、钱小红等的《色谱在生命科学中的应用》，田颂九等的《色谱在药物分析中的应用》，王绪卿、吴永宁等的《色谱在食品安全分析中的应用》，杨海鹰的《气相色谱在石油化工中的应用》，袁黎明的《制备色谱技术及应用》，于世林的《亲和色谱方法及应用》及胡净宇、梅一飞等的《色谱在材料分

析中的应用》。同第一版一样，这些分册的作者也都是长期在各自工作中具有丰富经验的色谱专家。还应提出的是，此书也再次得到安捷伦科技有限公司的热情赞助。相信第二版《色谱技术丛书》会同第一版一样受到读者们的欢迎，特再为此序。

周同惠

2004年10月22日

第一版序

色谱作为一种分离技术与方法，自本世纪初发表第一篇论文算起，已有100年的历史，虽然在前30多年间这种方法未受到应有的重视，但自40年代以后，逐渐得到发展，而且其势头越来越猛，从技术到理论，到各种分离模式，以及在各个科学领域内的应用，得到了突飞猛进的发展，现在已经成为分析化学学科中的一个重要分支。同时为许多重要学科的发展作出了极大的贡献。在人类进入21世纪之际，人们面临着在信息科学、生命科学、材料科学、环境科学等领域的快速发展的挑战，在这些领域人才的需求成为国家高度发展的至关重要的因素。而色谱技术是生命科学、材料科学、环境科学必不可少的手段和工具。根据最近的统计在全世界各类分析仪器中气相色谱仪和液相色谱仪的营销总额占25%~30%。2000年对各类分析仪器的需求量也以液相色谱仪最多。可以毫不夸张地说，如果没有色谱技术的应用，自然科学和生命科学能发展到今天的这个样子是很难想象的。

有关色谱的各种专著国内外已经出版了许多种，其中多是针对色谱专业人员而写的专著，而缺少一套系统的比较全面的介绍当代色谱技术的丛书，供广大的工厂企业中从事色谱分析的初中级技术人员和科研院所的科技人员，大专院校的研究生，甚至管理人员及有关领导学习参考的书籍。为此化学工业出版社提议，由北京理化分析测试学会组织编写了这套‘简明扼要，深入浅出，通俗易懂，新颖实用’的色谱技术丛书。这套书以傅若农教授为主编，汪正范教授和刘虎威副教授作副主编。为联系方便，主要请在京的专家来编写，并自1998年初开始运作。从方便读者学习角度出发，将色谱技术的主要内容分为13册。分别为：傅若农之《色谱分析概论》，刘国詮、余兆楼等之《色谱柱技术》，陈义之《毛细管电泳技术及应用》，于世林之《高效液相色谱方法及应用》，刘虎威之《气相色谱方法及应用》，云自厚、张晓彤之《液相色谱检测方法》，吴烈钧之《气相色谱检测方法》，汪

正范之《色谱定性定量》，汪正范等之《色谱联用技术》，牟世芬、刘克纳之《离子色谱方法及应用》，何丽一之《平面色谱方法及应用》，王立之《色谱分析样品处理》，吴方迪之《色谱仪器维护与故障排除》。这些编著者多是我国目前在教学与科研第一线为色谱科学努力奋进的中青年专家，在书中都反映了色谱领域的最新成果。这套丛书将给初学色谱的年轻科技工作者提供较完整的学习参考书，也为大中专学生提供一套有用的教学参考书。还应该提出的是，由于得到了安捷伦科技有限（原中国惠普）公司的赞助，这套书的出版才能顺利进行。值此书即将付梓之际，特书此以为序。

周同惠

1999年9月9日

前 言

色谱已有 100 余年的历史，它一开始就是为制备性分离而产生的，其目的在于分离制备一种或多种纯组分。虽然制备型色谱的研究目前处于一个相对平稳的阶段，但其应用却仍方兴未艾，常压柱色谱、低压柱色谱、中压制备色谱、高压制备液相色谱等仍是现代科学研究及生产实践中不可取代的制备性分离手段。一些专门进行有机合成的工作者往往一年可利用上百根色谱柱进行合成产物的制备性分离，甚至一天之内可进行三次以上的柱色谱操作；一些植物化学工作者 70% 以上的实验时间是用在使用制备色谱进行分离之上；在一些多肽、多糖、蛋白质、手性药物以及天然产物等的生产上，现代制备色谱是其必不可少的分离单元。

制备色谱技术在大多数情况下是在非线性条件下进行工作，它的理论深奥、公式复杂、进样量大、固定相和溶剂量多、成本较高，分离过程中常常因为操作者技术水平方面的原因达不到预期的制备性分离目的。其与线性条件下的色谱分析相比往往具有很大的不同，并且有些制备色谱技术本身只具备制备的特点。制备色谱技术包括了从实验室分离几毫克至几克样品的小型制备色谱直至工业用大规模制备纯物质的生产制备色谱。

本书的撰写紧紧围绕制备色谱的基础理论，避免制备色谱理论中繁杂的数学推导，充分注重方法的可操作性和实用性，比较系统、全面、详细地介绍多种制备色谱技术。第二版对各章进行了不同程度的调整或者补充，完善了不足的部分，加强了色谱操作技术；扩展了凝胶色谱，充实了高速逆流色谱的 pH-区带-提取、手性分离、粒子分离章节；新增了大孔吸附柱色谱、台锥形柱色谱、二维高压制备液相色谱、膜分离等内容。但读者要系统地了解色谱基础理论和知识，至少仍需阅读本丛书中的《色谱分析概论》（第二版）分册。

本书是在本人近 30 年的科研和教学实践基础上写成的，部分内容受到国家自然科学基金（No. 29665001、No. 30160092、No. 20775066、No. 21075109）、教育部第三届“高校青年教师奖”（No. 2001298）、云南省重点项目（No. 2005E0006Z、No. 99YBL-04）等 10 余个课题的资助。书中的较多素材直接取材于本人的研究或者与本人研究密切相关的资料文献，并与本人所编著的《手性识别材料》（科学出版社，2010）具有很好的相关性。

衷心感谢我的硕士生导师——云南大学宋文俊教授、博士生导师——北京理工大学傅若农教授、博士后导师——日本名古屋大学 Y. Okamoto 教授，是他们将我带入“手性识别材料及技术”领域，进行探索性的研究工作。感谢北京市新技术应用研究所张天佑教授在高速逆流色谱领域曾给予的细心指导，感谢丛书编委会以及责任编辑的辛勤工作。

本书的撰写得益于谌学先、艾萍、字敏、段爱红、李正宇等同事多年的合作以及课题组数十位博士及硕士研究生的研究，在此一并表示衷心的感谢。

由于水平的有限，书中错误和不足在所难免，敬请专家和读者给予批评指正。

袁黎明

2011 年 8 月于昆明

目 录

第一章 制备色谱基础	1
第一节 非线性色谱的特点	2
一、线性色谱	2
二、非线性色谱	3
第二节 制备分离的目标和策略	4
一、分离目标	5
二、分离策略	6
(一) 分离因子 α	8
(二) 柱效 N	8
(三) 容量因子 k	10
(四) 条件优化	11
参考文献	11
第二章 制备薄层色谱	12
第一节 实验材料与装置	12
一、薄层板	12
二、展开槽	14
第二节 实验方法	15
一、上样	15
二、展开	16
三、检测	18
四、收集	19
第三节 离心薄层色谱	20
参考文献	21
第三章 常压柱色谱	22
第一节 吸附柱色谱	22
一、硅胶吸附柱色谱	22
(一) 操作步骤	22
(二) 硅胶吸附柱色谱的原理及其技术	27
二、氧化铝吸附柱色谱	36
三、活性炭吸附柱色谱	38
四、聚酰胺吸附柱色谱	39

五、大孔吸附树脂色谱	42
(一) 大孔吸附树脂	42
(二) 种类	42
(三) 操作	44
(四) 应用	46
第二节 分配柱色谱	47
第三节 萃取柱色谱	48
第四节 离子交换柱色谱	52
一、离子交换色谱树脂	52
(一) 阳离子交换树脂	53
(二) 阴离子交换树脂	54
二、离子交换树脂的选用	55
(一) 种类的选定	55
(二) 树脂离子型式的选择	55
(三) 树脂颗粒、交联度及稳定性选择	56
三、离子交换柱的操作	56
(一) 离子交换树脂的处理	56
(二) 柱的操作	58
四、离子交换色谱的应用	59
第五节 凝胶柱色谱	62
一、原理	62
二、凝胶过滤	63
(一) 填料	64
(二) 操作	67
(三) 应用	70
三、凝胶渗透	71
第六节 亲和柱色谱	72
第七节 干柱色谱	74
第八节 并联多柱色谱	77
参考文献	79
第四章 低压及中压制备色谱	80
第一节 低压制备色谱	80
一、减压柱色谱	81
(一) 短柱	81
(二) 常规柱	82
二、加压柱色谱	83
(一) 空气泵加压	85

(二) 双链球加压	85
(三) 氮气钢瓶加压	86
(四) 蠕动泵加压	87
(五) 快速液相色谱	88
第二节 中压制备色谱	89
一、恒流泵	91
二、色谱柱	92
三、检测器	94
四、自动馏分收集器和进样阀	95
五、记录及数据处理	95
六、分离	96
第三节 色谱饼	98
第四节 径向柱色谱	99
第五节 台锥形柱色谱	100
参考文献	102
第五章 高压制备液相色谱	103
第一节 制备液相色谱仪	103
一、高压输液泵	104
二、进样器	105
三、色谱柱	105
(一) 制备柱的尺寸	106
(二) 制备柱的类型	107
四、检测器	110
第二节 分离设计	111
一、峰接触法	111
二、峰重叠法	113
(一) 微量组分的分离	113
(二) 难分离物质对的分离	114
第三节 实验条件选择	115
一、固定相	116
二、流动相	117
三、样品的溶解	119
四、制备性分离	120
第四节 大直径柱	122
第五节 二维制备液相色谱	125
参考文献	129
第六章 高速逆流色谱	130

第一节 逆流色谱	130
一、液滴逆流色谱	130
二、旋转小室逆流色谱	131
三、离心逆流色谱	132
(一) 非行星式逆流色谱仪	133
(二) 行星式逆流色谱仪	133
第二节 高速逆流色谱原理及操作	136
一、色谱仪	136
(一) 恒流泵	137
(二) 进样阀	137
(三) 主机	137
(四) 检测器	138
(五) 色谱工作站	138
(六) 馏分收集器	138
二、分离原理	138
三、实验操作	143
(一) 两相溶剂系统的选择	143
(二) 样品溶液的制备	150
(三) 分离	151
(四) 检测	153
四、pH-区带-提取逆流色谱	154
(一) 原理	154
(二) 操作	156
五、手性分离	158
六、粒子分离	162
(一) 碳纳米管	162
(二) 金属纳米粒子	165
(三) 微米离子	166
参考文献	167
第七章 模拟移动床色谱	169
第一节 模拟移动床色谱系统和基本原理	169
一、移动床色谱	169
二、模拟移动床色谱系统	171
(一) 大型模拟移动床色谱系统	171
(二) 模拟移动床色谱	171
三、模拟移动床色谱原理	175
第二节 模拟移动床工作参数的选择和优化	177

一、手性固定相的选择	177
(一) 多糖类手性固定相	178
(二) Pirkle 型手性固定相	180
(三) 环糊精类手性固定相	183
二、流动相的选择	184
三、分离柱	184
四、控制系统	185
五、操作参数的优化	185
六、模拟移动床的应用	188
参考文献	190
第八章 其他制备色谱方法	191
第一节 顶替色谱	191
一、填料类型	192
二、顶替剂的选择	192
三、操作参数	193
第二节 制备气相色谱	194
一、原理	194
二、气固色谱	196
三、气液色谱	196
(一) 载体	196
(二) 固定液	197
四、操作	199
第三节 电泳技术	200
一、纸电泳	201
二、琼脂平板电泳	201
三、聚丙烯酰胺凝胶电泳	203
四、凝胶聚焦电泳	204
参考文献	205
第九章 生物代谢产物的提取	206
第一节 生物大分子的提取	206
一、材料选择及预处理	207
二、细胞的破碎	207
三、细胞器的分离	208
四、蛋白质和酶的提取	208
(一) 水溶液提取	208
(二) 有机溶剂提取	208
五、核酸的提取	209

(一) DNA 的提取	209
(二) RNA 的提取	209
六、包涵体产品的分离	210
第二节 生物工程药物的提取	210
第三节 天然产物的分离提取	211
一、浸渍法	211
(一) 冷浸法	211
(二) 温浸法	211
二、煎煮法	211
三、渗漉法	211
四、回流法	212
五、水蒸气蒸馏法	212
第四节 中草药系统提取分离方法	213
第五节 膜分离	214
一、微滤和超滤	216
二、反渗透	217
三、电渗析	218
四、透析	218
参考文献	219

第一章 制备色谱基础

色谱法在一开始就是以制备色谱出现的，并且在开始的几十年间，色谱也是主要以纯物质的制备为目的。在经历了一个较长的过程后，它在分析上得到了广泛应用，并发展成今天的必不可少的分离分析手段^[1,2]。色谱技术早期曾广泛地称之为层析技术，直到现在仍将色谱与层析一词等同使用，尤其是在薄层色谱和常压柱色谱领域更为常见。下面是色谱发展的一个简明过程。

1903 年茨维特在华沙自然科学学会生物学会会议上提出了应用吸附原理分离植物色素的新方法，宣读的论文题目为“一种新型吸附现象及其在生化分析上的应用”。三年后，他将这个方法命名为色谱法。

1931 年 Kuhn 与 Lederer 使用了色谱法证实了蛋黄内的叶绿素系植物叶黄素与玉米黄质的混合物，使人们认识到色谱技术在分离科学中的重要性。

1937 年，纸电泳开始被应用。

1938 年 Izmailov 和 Shraiber 第一次使用薄层色谱法。

1938 年 Taylor 和 Uray 用离子交换分离锂和钾的同位素。40 年代后，合成离子交换树脂商品出现后，离子交换色谱得到了广泛应用。

1941 年 Martin 和 Synge 创立了分配色谱。其采用水饱和的硅胶为固定相，以含有乙醇的氯仿为流动相分离乙酰基氨基酸。

1944 年 Martin 等发展了纸色谱。

1952 年 Martin 和 James 发展了气-液分配色谱。

1956 年 Van Deemter 等发表了关于色谱效率的速率理论，并应用到气相色谱。

1957 年制作了离子交换色谱氨基酸分析仪。

1958 年 Golay 提出了毛细管柱气相色谱。

1959 年在 Gordon Conference 上提出了第一篇凝胶过滤的报告。

1962 年，Klesper 等人提出了超临界流体色谱。

1963 年 Giddings 的理论工作为现代液相色谱奠定了理论基础。

1966 年，Ito 等提出了逆流色谱。

20 世纪 60 年代中期，凝胶渗透色谱出现。

20 世纪 60 年代后期，亲和色谱出现。