

SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

# 液相色谱检测方法

第二版

云自厚 欧阳津 张晓彤 编著



化学工业出版社  
化学与应用化学出版中心

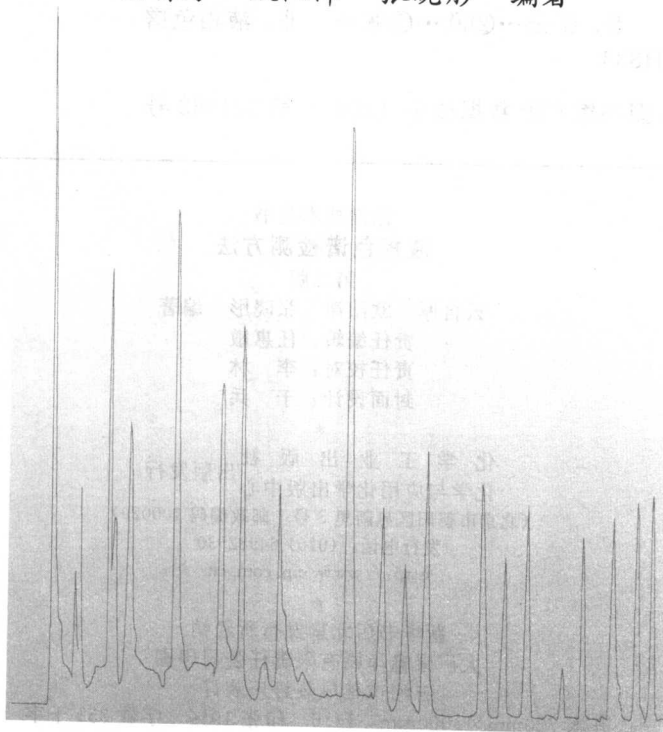
SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

# 液相色谱检测方法

第二版

云自厚 欧阳津 张晓彤 编著



化学工业出版社  
化学与应用化学出版中心

· 北京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

液相色谱检测方法 (第 2 版)/云自厚, 欧阳津, 张晓彤编著. 北京: 化学工业出版社, 2004. 10

(色谱技术丛书)

ISBN 7-5025-6175-7

I. 液… II. ①云…②欧…③张… III. 液相色谱仪 IV. TH833

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 101862 号

---

色谱技术丛书  
液相色谱检测方法  
第二版

云自厚 欧阳津 张晓彤 编著

责任编辑: 任惠敏

责任校对: 李 林

封面设计: 于 兵

\*

化学工业出版社 出版发行  
化学与应用化学出版中心  
(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)  
发行电话: (010) 64982530  
<http://www.cip.com.cn>

\*

新华书店北京发行所经销  
大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷  
三河市延风装订厂装订  
开本 720mm×1000mm 1/16 印张 19½ 字数 351 千字  
2005 年 1 月第 2 版 2005 年 1 月北京第 5 次印刷  
ISBN 7-5025-6175-7/TH·244  
定 价: 35.00 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

# 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		
《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》	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》	江桂斌	牟世芬	
《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		
《色谱在无机材料分析中的应用》	胡净宇		

## 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的发展，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。增加的10本新的书目为：邓玉林等的《色谱手性分离技术及应用》，江桂斌、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》及胡净宇的《色谱在无机材料分析中的应用》。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》，刘国诠、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《色谱定性与定量》，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基本知识、基本方法和他们自己的宝贵经验以及有关领域的最新成果。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

高效液相色谱是重要的现代分析手段之一。它具有分离效率高、分析速度快和应用范围广的特点，尤其适用于目前最活跃的研究领域之一——生命科学中的多肽、蛋白质及核酸等生物大分子的分离分析及制备提纯，是分析化学家和生物化学家解决各种实际分析和分离课题必不可少的工具。检测器是液相色谱仪的三大关键部件之一，在液相色谱仪器系统中起着非常重要的作用。目前已经有多种基于不同原理的检测器和重要的检测技术在液相色谱分析中获得应用，因此在实际工作中特别需要了解如何选择合适的检测器和检测方法。

近年来，国内已出版了一批色谱学著作和参考书，但还没有全面介绍液相色谱检测器和检测方法的专门著作。为了促进液相色谱技术的普及、推广和应用，我们编写了《液相色谱检测方法》一书，于2000年出版，书中介绍了液相色谱检测器的基本知识，检测技术的发展情况等内容，受到了广大读者的欢迎。

本书是在第一版的基础上修订改编而成的。在保持原有基本框架体系的前提下，增加了蒸发光散射检测器一章，对其他各章节做了必要的调整或增删，补充了新的知识内容，特别是注意对发展前沿的介绍。第二版的编写继续贯彻了“简明扼要，深入浅出，通俗易懂，新颖实用”的编写原则。

在第二版的编写过程中，得到了许多专家学者的热情帮助，为本书提供了重要的资料，本丛书主编傅若农先生审阅了书稿，在此一并表示感谢。

由于编者学识水平和经验有限，书中缺点和错误仍在所难免，恳请读者批评指正。

编 者

2004年10月

## 内 容 提 要

高效液相色谱是近些年来发展迅速的分析手段之一，在分析化学和生物化学中是必不可少的。检测器是色谱仪器的三大关键部件之一，在实际应用中选择合适的检测器和检测方法是完成分析任务的关键。

本书全面系统地介绍了高效液相色谱检测器的基本原理、仪器构造及应用。全书共分八章，对紫外-可见光检测器、荧光检测器、示差折光检测器、电化学检测器以及蒸发光散射检测器等分别作为一章予以详细介绍；对化学发光检测器、手性检测器、分子量检测器、放射性检测器、热学性质检测器等多种专用型检测器予以适当介绍。此外，还总结介绍了重要液相色谱检测技术及其发展情况。

本书适合于各行业中从事液相色谱分析工作的技术人员及大专院校有关专业师生学习参考。

# 目 录

<b>第一章 液相色谱检测器概述</b> .....	1
第一节 检测器的发展 .....	1
第二节 检测器的分类 .....	3
一、按检测器性质或应用范围分类 .....	3
二、按测量信号性质分类 .....	4
三、按测量原理分类 .....	5
四、其它分类 .....	5
第三节 检测器的性能指标 .....	5
一、噪声和漂移 .....	6
二、灵敏度 .....	8
三、检测限 .....	11
四、线性范围 .....	12
五、色谱系统的最小检测量和最低检测浓度 .....	13
六、影响色谱峰扩展的因素 .....	14
七、其它参数 .....	15
参考文献 .....	16
<b>第二章 紫外-可见光检测器</b> .....	17
第一节 工作原理和主要性能 .....	17
一、工作原理 .....	17
二、检测器的性能 .....	22
(一) 噪声和漂移 .....	22
(二) 线性范围 .....	23
(三) 温度影响 .....	23
(四) 其它 .....	24
第二节 仪器结构 .....	24
一、分类 .....	25
二、结构 .....	25
(一) 固定波长紫外-可见光检测器 .....	26
(二) 可变波长紫外-可见光检测器 .....	32
第三节 光电二极管阵列检测器 .....	39
一、工作原理和仪器结构 .....	41

二、主要特点和功能 .....	46
(一) 色谱峰的准确定性 .....	46
(二) 峰纯度检验 .....	47
(三) 峰抑制 .....	48
(四) 宽谱带检测 .....	49
(五) 选择最佳波长 .....	49
三、主要应用 .....	50
(一) 在药物学和毒物学中的应用 .....	51
(二) 在生物科学中的应用 .....	52
(三) 在环境科学中的应用 .....	54
(四) 在其它方面的应用 .....	55
参考文献 .....	57
<b>第三章 荧光检测器</b> .....	<b>58</b>
<b>第一节 荧光检测器的工作原理和仪器结构</b> .....	<b>58</b>
一、工作原理 .....	58
(一) 荧光的产生 .....	58
(二) 定量基础 .....	58
(三) 激发光谱和发射光谱 .....	60
二、仪器结构 .....	61
(一) 基本结构 .....	62
(二) 常用的荧光检测器 .....	67
三、荧光化合物的检测 .....	69
<b>第二节 荧光检测器的特点和适用范围</b> .....	<b>70</b>
一、荧光检测器的特点 .....	70
二、荧光化合物及影响荧光强度的因素 .....	72
(一) 荧光化合物 .....	72
(二) 影响荧光强度的因素 .....	74
三、荧光检测器在环境及生物科学等方面的应用 .....	74
<b>第三节 激光诱导荧光检测器</b> .....	<b>77</b>
一、激光诱导荧光检测器的组成 .....	77
(一) 激光器 .....	77
(二) 光学系统 .....	79
(三) 检测池 .....	79
(四) 光检测元器件 .....	82
二、双光子激发荧光检测技术 .....	82
<b>第四节 液相色谱的长寿命发光检测</b> .....	<b>85</b>
一、磷光检测法 .....	85

二、镧系离子溶液发光检测法 .....	88
参考文献 .....	92
<b>第四章 示差折光检测器 .....</b>	<b>93</b>
<b>第一节 工作原理 .....</b>	<b>93</b>
一、示差折光检测器的工作原理 .....	93
二、示差折光检测器的特点 .....	95
三、示差折光检测器对色谱系统的稳定性要求 .....	96
四、示差折光检测器的校正 .....	98
<b>第二节 仪器结构 .....</b>	<b>99</b>
一、折射式——偏转式示差折光检测器 .....	99
二、反射式示差折光检测器——弗列斯涅耳折光仪 .....	101
三、干涉式示差折光检测器 .....	105
四、克里斯琴效应示差折光检测法 .....	108
<b>第三节 无标准定量法 .....</b>	<b>111</b>
参考文献 .....	112
<b>第五章 电化学检测器 .....</b>	<b>113</b>
<b>第一节 安培检测器 .....</b>	<b>113</b>
一、工作原理 .....	114
(一) 基本工作原理 .....	114
(二) 扩散电流 .....	115
二、仪器结构 .....	116
(一) 电极 .....	117
(二) 电化学检测池 .....	120
三、测量技术 .....	125
四、对流动相的要求 .....	127
五、安培检测器的应用和发展 .....	128
<b>第二节 电导检测器 .....</b>	<b>131</b>
一、基本原理和仪器结构 .....	132
(一) 基本概念 .....	132
(二) 电导池的导电过程 .....	134
(三) 测量电路 .....	134
(四) 电导检测器的结构 .....	135
二、电导检测器的发展、应用和使用注意事项 .....	135
(一) 发展及应用 .....	135
(二) 使用注意事项 .....	138
<b>第三节 其它电化学检测器 .....</b>	<b>138</b>
一、库仑检测器类 .....	138

(一) 库仑检测器 .....	138
(二) 库仑电极阵列检测器 .....	139
二、电势检测器 .....	141
(一) 离子选择性电极 .....	141
(二) 应用 .....	142
三、极谱检测器 .....	142
四、介电常数检测器 .....	143
五、电化学生物传感器 .....	144
六、电化学检测器的应用和展望 .....	146
参考文献 .....	146
<b>第六章 蒸发光散射检测器 .....</b>	<b>148</b>
第一节 蒸发光散射检测器的工作原理和仪器结构 .....	148
第二节 蒸发光散射检测器的特点及限制 .....	154
第三节 影响蒸发光散射检测的基本因素 .....	159
一、雾化载气流速 .....	159
二、流动相的流速 .....	159
三、漂移管温度 .....	159
四、流动相中盐的组成和浓度 .....	160
第四节 蒸发光散射检测器的应用 .....	161
一、药物分析 .....	161
二、生化物质分析 .....	163
三、其它方面的应用 .....	164
参考文献 .....	164
<b>第七章 其它类型液相色谱检测器 .....</b>	<b>166</b>
第一节 化学发光检测器 .....	166
一、化学发光法的检测原理和仪器结构 .....	167
二、化学发光反应及应用 .....	168
(一) 过氧化草酸酯化学发光反应 .....	168
(二) 鲁米诺化学发光反应 .....	171
(三) 光泽精化学发光反应 .....	173
(四) 生物发光反应 .....	174
(五) 电致化学发光反应 .....	175
(六) 其它化学发光反应 .....	175
第二节 手性检测器 .....	176
一、旋光检测器 .....	178
(一) 工作原理 .....	178
(二) 基本结构 .....	180

(三) 应用 .....	181
二、圆二色检测器 .....	184
(一) 检测原理 .....	184
(二) 基本结构 .....	186
(三) 应用与发展 .....	187
第三节 分子量检测器 .....	191
一、间接法检测器 .....	192
二、直接法检测器 .....	193
(一) 自动黏度计检测器 .....	194
(二) 小角度激光散射检测器 .....	196
(三) 激光光散射检测器的发展 .....	198
第四节 放射性检测器 .....	199
一、检测原理 .....	199
二、离线和在线检测 .....	200
三、均相和非均相计数系统 .....	201
四、特点和发展 .....	202
五、应用 .....	203
第五节 热学性质检测器 .....	204
一、光声检测器 (PAD) .....	204
二、热透镜检测器 (TL) .....	206
三、光热偏转检测器 (PTD) .....	210
第六节 光电导检测器 .....	211
第七节 磁旋光检测器 .....	212
参考文献 .....	214
<b>第八章 液相色谱检测技术</b> .....	<b>216</b>
<b>第一节 液相色谱检测器的联用</b> .....	<b>216</b>
一、串联 .....	217
二、并联 .....	217
三、一体化设计 .....	220
(一) 一体化检测器 .....	221
(二) 微型池一体化检测器 .....	226
<b>第二节 液相色谱仪的联用技术</b> .....	<b>228</b>
一、液相色谱仪与质谱仪的联用 .....	228
(一) LC-MS 联机技术 .....	229
(二) LC-MS 能够提供的质谱信息 .....	232
(三) LC-MS 联用的应用 .....	232
二、液相色谱仪与其它仪器的联用 .....	237

(一) 与红外光谱仪的联用 .....	237
(二) 与核磁共振的联用 .....	240
(三) 与原子吸收、原子发射光谱仪的联用 .....	243
(四) 与电子自旋共振光谱仪的联用 .....	245
(五) 与表面增强的拉曼光谱仪的联用 .....	247
第三节 气相色谱检测器在液相色谱检测中的应用 .....	248
一、液相色谱仪和气相色谱检测器的连接 .....	249
二、氢火焰离子化检测器的应用 .....	250
三、热离子化检测器的应用 .....	252
(一) 火焰热离子化检测器 .....	252
(二) 无火焰热离子化检测器 .....	253
四、火焰光度检测器的应用 .....	253
五、光离子化检测器的应用 .....	255
六、电子捕获检测器的应用 .....	257
七、气相化学发光检测器的应用 .....	259
八、总结与展望 .....	261
第四节 间接光度液相色谱法 .....	262
一、检测原理 .....	262
二、应用 .....	263
(一) 含芳基的胺类及季铵盐 .....	263
(二) 芳香磺酸盐 .....	265
(三) 金属络离子 .....	266
第五节 化学衍生液相色谱法 .....	268
一、衍生反应 .....	269
(一) 紫外衍生反应 .....	269
(二) 荧光衍生反应 .....	274
(三) 电化学衍生反应 .....	278
(四) 手性衍生法 .....	282
二、柱后衍生技术 .....	287
三、固定化酶反应器 .....	289
(一) 固定化方法 .....	289
(二) 固定化酶反应器在液相色谱中的应用 .....	289
参考文献 .....	291
符号表 .....	293



# 第一章 液相色谱检测器概述

## 第一节 检测器的发展

液相色谱法是一种应用范围极为广泛的分离和分析方法，20世纪70年代以来由于高效色谱柱、高灵敏度检测器以及高压泵的使用，使高效液相色谱法（high performance liquid chromatography, HPLC）成为生命科学、环境科学和材料科学研究的重要分离分析手段。目前高效液相色谱法的研究范围可以从元素一直延伸到生物大分子，分析对象可以是中性分子、离子、高分子化合物以及配合物等。

高效液相色谱仪器的最基本部件包括三个部分，即高压输液泵、高效色谱柱和高灵敏度检测器。其中检测器（detector）是液相色谱仪的核心部件之一，在液相色谱系统中起着非常重要的作用。具体地说，液相色谱检测器是液相色谱仪的“眼睛”，它的作用是将色谱柱流出物中样品组成和含量变化转化为可供检测的信号，完成定性、定量及判断分离情况的任务。因此，液相色谱检测器是一种与色谱柱联用的信号接收和信号转换装置。如只在色谱柱中进行分离，却不进行检测，就达不到色谱分析的目的。检测器性能的好坏直接关系着定性定量分析结果的可靠性和准确性。

液相色谱检测器是液相色谱检测方法的基础。液相色谱检测器和液相色谱检测方法的发展与科学技术的进步、色谱理论和色谱技术的发展密不可分。

液相色谱检测器的发展经历了三个阶段，即目视检测、流出组分收集检测和在线检测阶段。目视检测是一种最早应用于液相色谱并仍在当今薄层色谱分离中应用的检测方法。在1906年M. Tswett所开创的色谱分离实验中，就是根据所观察到在碳酸钙上混合色素被分成不同色带的现象而进行色素的目视检测的，“色谱”法也是因此而得名的。但是，这种检测方法只适合于带颜色的化合物之间的相互分离，因此，应用范围极为有限。加之人眼判断颜色的不准确性，使这种方法只能作为色谱定性和半定量分析的手段，不能做精确的定量分析。