

化学工业出版社

色谱技术丛书

SEPULSHU CONGSHU

色谱定性与定量

汪正范 编著

色 谱 技 术 丛 书

色谱定性定量

汪正范 编著

化 学 工 业 出 版 社

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

色谱定性与定量/汪正范编著. —北京: 化学工业出版社, 2000. 1

(色谱技术丛书/傅若农等主编)

ISBN 7-5025-2747-8

I. 色… I. 汪… II. 化学分析-色谱法
N. 0657. 7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 01004 号

色谱技术丛书
色谱定性与定量

汪正范 编著

责任编辑: 田 桦 任惠敏

责任校对: 蒋 宇

封面设计: 于 兵

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

http://www.cip.com.cn

新华书店北京发行所经销

北京市昌平印刷厂印刷

三河市东柳万龙装订厂装订

开本 850×1168 毫米 1/32 印张 10 $\frac{3}{4}$ 字数 280 千字

2000 年 3 月第 1 版 2000 年 3 月北京第 1 次印刷

印 数: 1—4000

ISBN 7-5025-2747-8/TQ·1027

定 价: 24.00 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

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》 | 张晓彤 | 云自厚 | | |
| 《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 | | |
| 《毛细管电泳技术及应用》 | 陈 义 | | | |
| 《色谱分析样品处理》 | 王 立 | | | |
| 《色谱联用技术》 | 汪正范 | 杨树民 | 吴侔天 | 岳卫华 |
| 《色谱柱技术》 | 刘国铨 | 余兆楼 | | |
| 《色谱仪器维护与故障排除》 | 吴方迪 | | | |

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。为此化工出版社提议，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》，吴烈均之《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

色谱分析的最终目的就是要对未知组分进行定性和对已知组分进行定量。各种模式的色谱分离机理及方法有很大差异,但其定性和定量的依据和方法却都大同小异。为此本书较详细地集中讨论了目前色谱分析中定性和定量的各种常用方法,希望能对色谱分析工作者在进行色谱定性和定量分析时有所帮助。

色谱的定性分析过去多是依据色谱峰的保留值,但是随着质谱和红外光谱的迅速发展,特别是色谱-质谱,色谱-傅里叶红外光谱的迅速发展,使色谱的定性分析越来越多地依据质谱和红外光谱的解析。为此,本书用较大的篇幅对质谱和红外光谱的谱图解析作了较详细的介绍,以便色谱工作者利用色谱-质谱和色谱-傅里叶红外光谱进行定性分析时参考。

关于数据处理和误差分析已有很多专著,但在各种色谱专著的定量分析中对这方面的论述过于简单。为了便于色谱分析工作者在碰到有关数据处理和误差分析的问题时,不用再去查阅数据处理和误差分析的专著,笔者在本书中用了较大篇幅介绍了与色谱定量分析有关的数据处理和误差分析的内容。特别是根据国家质量技术监督局文件“测量不确定度评定与表示”(JJF1059—1999),从1999年5月1日起,在一些重要领域的数据报告中要用不确定度来表示测量结果的分散性。为此,在定量分析的最后一节中介绍了有关不确定度的评估和表示的方法,供色谱分析工作者参考。

为了使色谱定性和定量分析结果准确、可靠,就要有一个好的质量保证体系,为此,本书的最后一章介绍了有关优良实验室规范和实验室认证的有关内容。为了使色谱分析工作者能及时对自己使用的气相色谱仪和液相色谱仪工作状态的优劣有所了解,在本书的附录中列出了气相色谱仪和液相色谱仪的国家检定规程,供色谱分析工作者

参考。

由于笔者的知识和能力有限，本书中一定存在很多错误和不足之处，望广大读者原谅，并希望能及时指出，以便更正。

本书编写过程中得到安捷伦（原惠普）公司大力支持，提供了很多有关材料，在此表示感谢。

全书承傅若农教授审阅，并提出很多宝贵意见，在此表示衷心感谢。

本书编写过程中我中心主任丁辉研究员给了笔者大力支持，使全书编写得以顺利完成，在此对他表示衷心的感谢。

汪正范

1999 年 12 月

内 容 提 要

本书介绍了色谱分析中常用的定性和定量方法。在定性分析中除介绍了经典的保留值定性的各种方法外,对近年来在色谱定性分析中越来越多使用的质谱和红外光谱的谱图解析作了较详细的介绍。在定量分析中除介绍了各种定量分析方法外,对数据处理中的误差分析、定量分析结果的评价和表达方法作了较详细介绍。本书还对色谱定性定量分析常用的积分仪和色谱工作站作了介绍。最后对于保证色谱定性和定量分析结果准确的优良实验室规范作了较详细介绍。

本书适于从事色谱分析实验的科技人员阅读。对广大工矿企业及科研院所从事色谱分析的工作人员,大专院校非色谱专业的本科生和研究生,以及有关领导和管理人员是一本有用的参考书。

目 录

第一章 绪 论	1
第一节 色谱图的获得	1
第二节 色谱图中得到的信息	3
第二章 定性分析	11
第一节 利用保留值定性	11
一、气相色谱中用保留值定性的方法	11
二、液相色谱中用保留值定性的方法	17
三、平面色谱中用保留值定性的方法	18
四、影响保留值测定准确性的因素	19
第二节 联机定性	27
一、色谱-质谱联机定性	28
二、色谱-红外光谱联机定性	63
第三节 其他定性方法	108
一、收集洗脱物后进行定性分析	108
二、化学衍生法定性	110
三、选择性检测器定性	118
第四节 多种方法配合定性	121
一、GC-MS 和保留指数配合定性	121
二、GC-MS 和 GC-FTIR 配合定性	122
第三章 定量分析	127
第一节 定量分析基础	127
一、定量分析的基本公式	127
二、峰高和峰面积的准确测定	127
三、定量校正因子的测定	143
第二节 定量方法	163
一、峰高法和峰面积法的选择	163
二、归一化法	168
三、标准曲线法	169

四、内标法	170
五、标准加入法	172
第三节 影响定量分析结果准确性的因素	174
一、样品制备	174
二、进样技术	175
三、色谱条件的选择	177
四、检测器特性	177
五、分离度	178
第四节 痕量分析	178
一、分离度对痕量分析的影响	179
二、痕量分析中的进样技术	180
三、富集和预分离	181
四、检测方法对痕量分析的影响	181
五、色谱-色谱联用技术在痕量分析中的应用	184
六、痕量分析的校准	186
第五节 色谱定量分析误差及数据处理	186
一、误差的定义和分类	186
二、色谱定量分析中的误差来源及校正方法	189
三、误差和偏差的表示方法及准确度和精密度	191
四、数据的统计处理及分析结果的表示方法	196
五、标准物质在色谱定量分析中的应用	234
六、不确定度评定与表示	242
第四章 积分仪和色谱工作站	256
第一节 概述	256
一、积分仪	256
二、色谱工作站	258
第二节 积分仪的工作原理	260
一、峰的识别	260
二、基线的建立	262
三、峰面积和峰高的测量	264
四、积分参数	266
第三节 积分仪和色谱工作站中的定量计算方法	268
一、面积百分比法和峰高百分比法	268

二、归一化法	269
三、外标法	269
四、内标法	271
五、外标法和内标法中校正曲线的一些特殊处理	272
第四节 HP 3396A 积分仪简介	273
一、绘图功能	273
二、积分和重新积分	274
三、计算和校准	274
四、报告	275
五、贮存数据	275
六、处理方法	275
七、自动分析	276
八、与其他设备之间的通讯	276
第五节 化学工作站 (HP Chemstation) 简介	276
一、方法编辑	277
二、数据采集	278
三、积分	278
四、峰鉴别	279
五、定量	279
六、自动分析	280
七、批处理	281
八、报告	281
九、评价系统适用性	281
十、系统验证	282
十一、多仪器控制化学工作站 (HP Multitechnique Chemstation)	282
第五章 优良实验室规范和实验室认可制度	286
第一节 实验室的组织和管理	287
一、合理的组织机构	287
二、质量保证体系 (部门)	288
三、合理的工作制度	289
第二节 实验设备和方法的认证	289
一、实验设备的认证	289
二、实验方法的认证	291

第三节 实验室人员的培训与考核	296
一、人员培训	296
二、考核	297
第四节 原始记录和实验报告的规范化	297
一、原始记录	297
二、实验报告	299
第五节 仪器供应方对实施优良实验室规范的贡献	300
一、降低与优良实验室规范有关的费用	300
二、选择具有优良实验室规范意识的仪器供应方的标准	300
主要参考文献	303
附录	305
附录一 气相色谱仪检定规程 (JJG 700—1990)	305
附录二 液相色谱仪检定规程 (JJG 705—1990)	314

第一章 绪 论

第一节 色谱图的获得

色谱法 (chromatography) 是一种目前使用最广泛的和有效的分离、分析方法。色谱 (chromatogram) 这一概念最早是由俄国植物学家 Tswett 提出, 1903 年他在一根细长的玻璃管中装入碳酸钙粉末, 然后把植物绿叶的石油醚的萃取液倒入管中的碳酸钙上, 萃取液的色素就被吸附在管上部的碳酸钙上, 再用纯净的石油醚洗脱这些被吸附的色素, 于是在碳酸钙上形成了一圈一圈的色带 (图 1-1), 这些色带被称为色谱, 这就是世界上得到的最早的色谱图。柱中的碳酸钙被称为固定相 (stationary phase), 而用作洗脱液的石油醚则被称为流动相 (mobile phase), 流动相可以是气体、液体和超临界流体。将欲被分离的混合物放在固定相上, 然后用流动相去洗脱放在固定相上的混合物, 这一过程称为洗脱 (elution)。在洗脱过程中混合物中的不同组分得到分离, 陆续从固定相中洗脱下来。记录这一分离和洗脱过程的图谱就是色谱图 (chromatogram)。

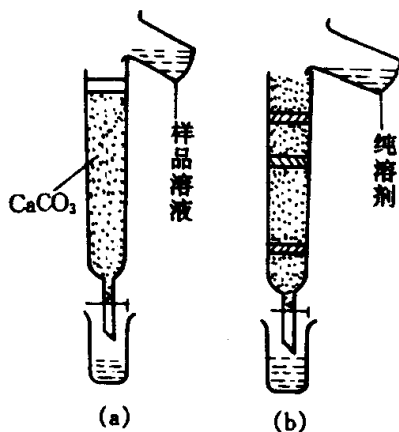


图 1-1 Tswett 色谱分离示意图

(a) 刚刚加入萃取液;

(b) 已加入部分溶剂淋洗

色谱方法种类很多, 分类的方法也很多。根据流动相是气体还是液体, 色谱可分为气相色谱 (gas chromatography) 和液相色谱 (liquid chromatography)。当流动相是在接近它的临界温度和压力下工作的液体, 而这种液体在常温和常压下是气体时, 这种流动相就不能简单地

说是气体或液体了，这种色谱就称为超临界流体色谱 (supercritical fluid chromatography)。每种流动相又可与液体的固定相或固体的固定相配对使用，这样就气相色谱而言，有气-液色谱 (gas-liquid chromatography) 和气-固色谱 (gas-solid chromatography) 之分；就液相色谱而言，有液-液色谱 (liquid-liquid chromatography) 和液-固色谱 (liquid-solid chromatography)；就超临界流体色谱而言，有超临界流体-液色谱 (supercritical fluid-liquid chromatography) 和超临界流体-固色谱 (supercritical fluid-solid chromatography) 之分。

按固定相的几何形状来分，色谱又可分为：平面色谱 (planar chromatography) 和柱色谱 (column chromatography)。在平面色谱中，固定相涂布在平板 (玻璃板，铝箔等) 上的称为薄层色谱 (thin layer chromatography)，固定相是经过特殊处理的纸的称为纸色谱 (paper chromatography)。柱色谱的固定相填充在玻璃柱或不锈钢柱内，当柱内径小到由 0.5mm, 0.25mm 到几十个 μm 时，称为毛细管柱色谱 (capillary column chromatography)。

液相色谱中按流动相和固定相的极性大小可分为正相液相色谱 (normal phase liquid chromatography) —— 固定相的极性大于流动相的极性和反相液相色谱 (reversed phase liquid chromatography) —— 固定相的极性小于流动相的极性。液相色谱中按分离机理可分为吸附色谱 (adsorption chromatography)，分配色谱 (partition chromatography)，离子色谱 (ion chromatography)，亲和色谱 (affinity chromatography)，疏水色谱 (hydrophobic interaction chromatography)，体积排除色谱 (size exclusion chromatography) 等。

上述色谱被分离物质运动的动力是各种压力——气相色谱是载气压力，液相色谱和超临界流体色谱是泵的压力，平板色谱是毛细管虹吸作用产生的压力。而当被分离物质运动的动力来自电压时，这就是近年来发展很快的毛细管电泳 (capillary electrophoresis) 中的一个分支——毛细管电色谱 (capillary electrochromatography)。

尽管色谱方法的种类很多，但上述各种色谱 (包括毛细管电泳) 所得到的色谱图却大同小异，都是在横坐标为时间 (或流动相流出体

积)，纵坐标为分离出的各组分在检测器上的响应值（或浓度）的直角坐标系内的，带有峰形的曲线（图 1-2）。

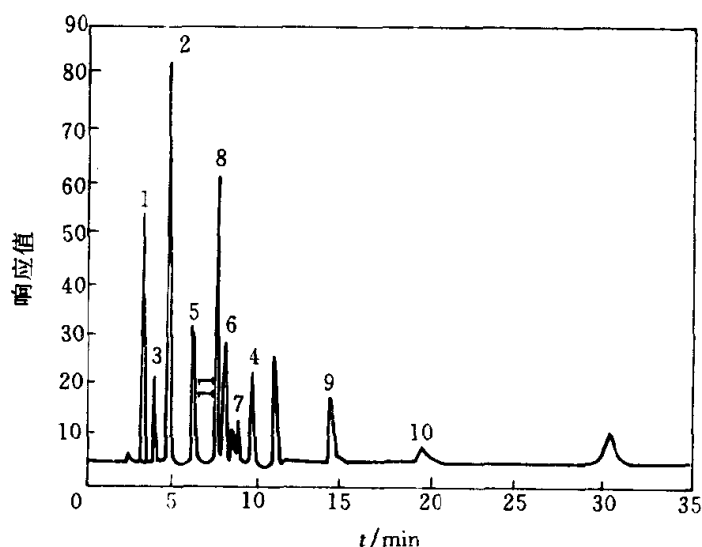


图 1-2 典型的色谱图

在柱色谱中，可以将色谱柱中的流出物通过检测器时产生的信号值对时间或流动相流出体积作图，就可以得到色谱图。

在平面色谱中，可以用扫描的方法得到色谱图。将对平面色谱斑点扫描时产生的响应信号值对此斑点与原点间距离作图，得到的就是平面色谱的色谱图。

由上所述，从各种不同类型的色谱方法所得到的色谱图上可以得到一些相似的信息（数据）。通过对这些信息（数据）的处理，可以得到所需要的定性、定量结果。对于同类型的色谱方法，处理这些信息（数据）的方法十分相近，本书就是专门讨论这些处理方法的。

第二节 色谱图中得到的信息

从各种色谱仪（包括毛细管电泳仪）上得到的色谱图横坐标均为与流动相有关的信息，一般为流动相流动时间或流动相流出体积；纵坐标均为与流动相中被分离组分含量有关的信息，一般为检测器的响

应值。因此，从每一张色谱图上可以得到每个色谱峰的流出时间（或出峰时流动相流出体积）和该色谱峰在检测器上的响应强度这两个基本信息（数据）。根据这两个基本信息，结合其他一些方法，就可以对这一色谱峰进行定性和定量的分析。

为了规范色谱图中出现的一些术语，国家标准局制定了有关色谱图的一些术语^[1,2]，现介绍如下：

① 色谱图 (chromatogram)：色谱柱流出物通过检测器系统时所产生的响应信号对时间或流动相流出体积的曲线图 (图 1-3)。

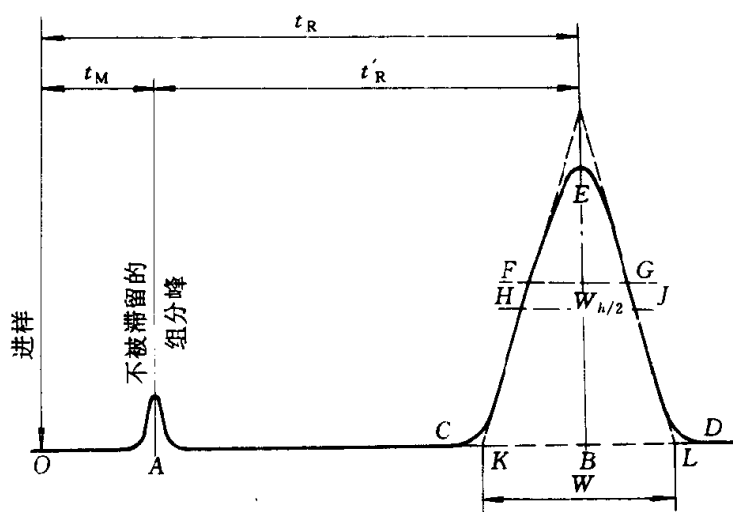


图 1-3 标准色谱图

② (色谱) 峰 [(chromatographic) peak]：色谱柱流出组分通过检测器系统时产生的响应信号的微分曲线。

③ 峰底 (peak base)：从峰的起点与终点之间的连接直线 (图 1-3 中的 CD)。

④ 峰高 (h) (peak height)：从峰高最大值到峰底的距离 (图 1-3 中的 BE)。

⑤ 峰宽 (W) (peak width)：在峰两侧拐点 (图 1-3 中的 F, G) 处所作切线与峰底相交两点间的距离 (图 1-3 中的 KL)。

⑥ 半高峰宽 ($W_{h/2}$) (peak width at half height)：通过峰高的中点