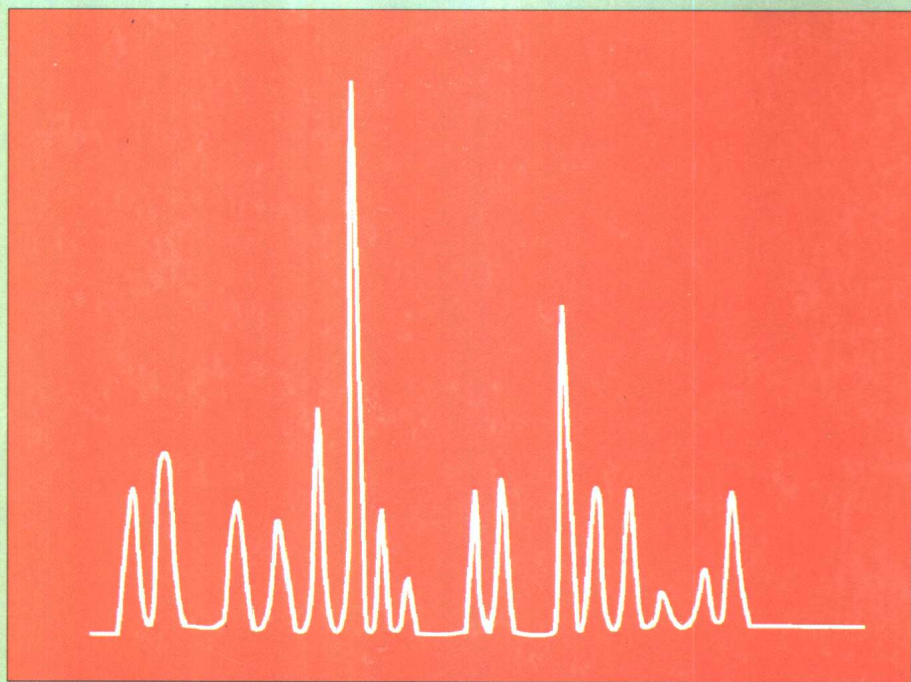


分析化学丛书

第三卷 第三册

高效液相色谱法

邹汉法 张玉奎 卢佩章 编著



科学出版社

内 容 简 介

本书比较系统、全面地介绍液相色谱分离分析技术和方法的原理、现状及发展动态。全书共分十四章。

内容包括绪论,液相色谱理论基础,液相色谱固定相和流动相,计算机在液相色谱分析中的应用,样品预处理,液相色谱仪器,液相色谱检测技术和色谱峰定性、定量,液相色谱应用,液相色谱手性化合物拆分,液相色谱的生物大分子分离、纯化和毛细管电色谱等。

本书内容新颖、丰富,注重理论与实际,原理与应用,现状与发展趋势的结合,可读性强,实用性好,可供化学、化工、生化、医学、药学和生物工程方面的研究人员和技术人员参考,也可作为高等院校本科生、研究生和教师的教科书和参考书。

图书在版编目(CIP)数据

高效液相色谱法/邹汉法等编著.-北京:科学出版社,1998.11
(分析化学丛书;第三卷;第三册)

ISBN 7-03-006716-9

I. 高… II. 邹… III. 液相色谱-基本知识 IV. O657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(98)第 11271 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

科地五印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

1998年11月第一版 开本:850×1168 1/32

2001年4月第二次印刷 印张:18 3/4

印数:2 101—4 100 字数:485 000

定价:42.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

《分析化学丛书》

编 委 会

顾 问	裘家奎	梁树权			
主 编	高小霞				
副主编	曾云鹗	周同惠	高 鸿		
编 委	梁晓天	史慧明	余仲建	赵藻藩	
	陈永兆	邓家祺	陈耀祖	罗文宗	
	黄贤智	童沈阳	操时杰		

《分析化学丛书》总目

第一卷

- 第一册 化学分析原理*
第二册 分析化学中的离子平衡*
第三册 分析化学中的多元络合物†
第四册 分析化学中的溶剂萃取*
第五册 络合滴定*
第六册 无机痕量分析
第七册 分析化学中的数理统计方法*

第二卷

- 第一册 近代有机定性分析
第二册 近代有机定量分析*

第三卷

- 第一册 色谱理论基础*
第二册 气相色谱法*
第三册 高效液相色谱法
第四册 无机色谱
第五册 纸色谱和薄层色谱*

第四卷

- 第一册 分光光度分析*
第二册 光度分析中的有机试剂†
第三册 原子吸收及原子荧光光谱分析*
第四册 现代原子发射光谱分析*

第五卷

- 第一册 电分析化学导论*
第二册 离子选择性电极
第三册 电解与库仑分析
第四册 极谱电流理论*
第五册 极谱催化波*
第六册 方波和脉冲极谱
第七册 溶出伏安法

第六卷

- 第一册 放射化学分析*
第二册 热量分析
第三册 金属中的气体分析
第四册 分析化学中的电子技术†

* 已出版; † 将出版.

前 言

随着科学技术的迅速发展，分析化学得到了日益广泛的应用。新方法、新技术层出不穷，日新月异。为了更好地适应我国生产、教学和科学研究工作的需要，充分发挥分析化学界从事编著的积极性，科学出版社于1979年4月在北京召开了《分析化学丛书》筹备会议，酝酿编辑、出版一套比较系统、完整的《分析化学丛书》，并成立了编委会。同年10月在武昌召开了编委扩大会议，确定了编写这套丛书的方针和任务。内容分化学分析、有机分析、色谱分析、光学分析、电化学分析等六卷共二十九册，由有关高等院校和科学研究单位从事分析化学工作的同志分头编写，由科学出版社陆续出版。

本丛书着重阐述分析方法的基本原理，评述这些方法的应用及国内外的最新研究成果和发展趋向，力求做到立论严谨，叙述深入浅出，使在教学、科研和生产岗位上从事分析化学工作的广大读者，都能从中获得比较系统的理论和实践知识，对工作有所帮助，从而推动我国分析化学的进一步发展。

由于作者水平所限，经验不足，本丛书中难免会有缺点和错误，诚恳欢迎读者批评指正。

《分析化学丛书》

编 委 会

序 言

高效液相色谱法是 70 年代以后发展最快的一个分析化学分支学科，现已成为生化、医学、药物临床、化学化工、食品卫生、环保检测、商检和法检等领域最常用的分离分析手段。高效液相色谱在生物样品纯化、手性药物拆分等方面也发挥了非常重要的作用。近年来，毛细管电色谱的出现有望使液相色谱的分离效能成倍地提高；高灵敏度检测器如 CCD 技术的出现，可以检测到 1×10^{-21} mol 甚至 1×10^{-24} mol 被分离的物质。计算机技术的发展早已实现了液相色谱仪器的自动化，而智能化已成为液相色谱仪器的发展方向。

在我国，高效液相色谱技术发展很快，开始时仅为少数研究实验室所拥有。现在已为很多的生产、研究、质检部门所掌握，广泛应用于质量控制、分析化验和制备分离。中国科学院大连化学物理研究所是我国最早开展高效液相色谱研究的单位之一，在 70 年代末期研制出高效液相色谱柱装柱技术和色谱柱填料的生产工艺。1984 年，在国家科委的支持下，大连化学物理研究所组建了国家色谱研究分析中心。80 年代中期以来，国家色谱研究分析中心广泛开展了色谱专家系统的研究，研制成功 2030 型智能色谱仪，并在第三届北京分析测试展览会上获得金奖。近年来，国家色谱研究分析中心又开展了生物液相色谱和毛细管电色谱等高新技术的研究，并取得了阶段性成果。国家色谱研究分析中心还以极大的热情致力于高效液相色谱技术在国内的推广与使用，曾多次举办全国性的液相色谱学习班、讨论班，并为此编写了高效液相色谱法讲义。为了反映近 20 年来国家色谱研究分析中心所取得的成果，我们以过去编写的讲义和国家色谱研究分析中心的研究成果为基础，结合国内外的最新发展动态和大量的应

用实例编写了这本书。本书共分十四章，包括色谱理论基础（第二至第四章），液相色谱固定相和流动相（第五章），计算机在色谱分析中的应用（第六、七章），样品预处理（第八章），液相色谱仪器（第九章），液相色谱检测技术和色谱峰定性定量（第十章），液相色谱应用（第十一章），液相色谱手性化合物拆分（第十二章），生物大分子的液相色谱分离分析（第十三章）和毛细管电色谱（第十四章）。本书内容涉及面较广，难免有不妥之处，敬请广大读者批评指正。

在本书的编写过程中，承蒙中国科学院大连化学物理研究所和国家色谱研究分析中心的大力支持，中国科学院出版基金和大连市学术著作出版评审委员会为本书的出版提供了经费资助，作者的亲人姜波、赵瑞环及导师卢佩章先生长期以来对作者的科研事业给予了全心全意的支持与鼓励。在本书出版之际，对于各方面的支持与帮助，谨致以衷心的感谢。

作者

1998年3月于大连

符号表

除正文中特别注明以外，本书所用符号一般具有如下物理意义。

(一) 英文符号

A	常数；峰面积；溶质作用面积
A_s	电极表面积
a	常数
B	常数
b	常数
C	流出组分浓度
C_B, C_b	流动相强组分浓度
C_m	溶质在流动相中传质阻力项；溶质在流动相中浓度
C_{max}	峰极大值处流出组分浓度
C_Q	离子对试剂浓度
c	常数
D	液-液分配常数；扩散系数
D_m	溶质在流动相中扩散系数
D_s	溶质在固定相中扩散系数
d_f	固定液厚度
d_p	固定相填料粒度
F	法拉第常量
f	校正因子
G	自由能
H	自由焓；塔片高度
H_{eff}	有效塔片高度
h	Planck 常量；折合塔片高度
I	电离能；离子强度
J	溶质流通量
K	分配系数

K_1	总分离效能指标
K_3	峰高分离度
K_a	酸解离常数
K_b	碱解离常数
K_{ow}	正辛醇/水分配系数
K_w	水自解离常数
k	Boltzmann 常量
k'	容量因子
k_a	吸附速率常数
k_d	脱附速率常数
L	色谱柱长
l	分子跳跃步长
m	分子量
m_1	一级矩
N	分子个数
N_0	Avogadro 常量
N_s	吸附点数
n	分子跳跃次数, 塔板数
n_{eff}	有效塔片数
n_Q	离子对试剂在固定相表面吸附量
q, q'	柱结构参数
R	气体普适常量; 溶质在流动相中的体积分数
R_s	半峰宽分离度
r	分子间的有效距离
S	自由熵
S_m	传质变化速率
T	绝对温度
t	时间
t'	积分目标变量
t_0	死时间
t_a	溶质在流动相跳跃平衡时间

t_d	溶质在固定相跳跃平衡时间
t_R, t_r	保留时间
$t_{进}$	进样时间
u	流动相线速度
V	体积
V_0	死体积
V_R	保留体积
V'_R	校正保留体积
V_m	柱内流动相体积
V_s	柱内固定相体积
V_{eff}	检测池有效体积
V_w	范德华体积
v	折合线速度
W	峰基宽
$W_{1/2}$	峰半宽
$X_{1/2}$	以长度为量纲的谱带峰半宽
Z	距离

(二) 希文符号

α'	相对保留值
α	校正后的相对保留值
α_m	质量分配系数; 氢键作用参数
β	相比; 热力学补偿温度; 塔片高度变异系数
β_m	氢键作用参数
δ	分子层间距离; 溶解度参数; 双电层厚度
ϵ	介电常数
ϵ_e	柱填充间隙率
ϵ_i	固定相孔隙率
ϵ_m	溶质在流动相平衡偏离因子
ϵ_s	溶质在固定相平衡偏离因子
χ	分子间作用位能场

κ_0	与柱结构相关的参数
λ	与柱结构相关的参数；填充规则因子；光波长
λ_i	电导率
λ_p	固定相电荷密度
μ_k	k 阶中心矩
ρ	固定相密度
γ	与柱结构相关的参数
η	粘度
θ	与固定相结构相关的参数
σ	均方差
Ω	与固定相结构相关的参数
ω	与柱结构相关的参数
ζ	Zeta 电势

目 录

第一章 绪论	1
§ 1.1 色谱法的定义和历史	1
§ 1.2 色谱法的特点、原理和应用范围	3
§ 1.3 色谱法的分类	5
§ 1.3.1 体积排阻色谱	6
§ 1.3.2 离子交换色谱和离子色谱	6
§ 1.3.3 反相色谱	7
§ 1.3.4 离子对色谱	8
§ 1.3.5 疏水作用色谱	9
§ 1.3.6 亲和色谱	9
§ 1.4 高效液相色谱与其它色谱方法的比较	10
§ 1.4.1 现代高效液相色谱与经典液相色谱的比较	10
§ 1.4.2 高效液相色谱与气相色谱的比较	11
第二章 液相色谱过程动力学	13
§ 2.1 液相色谱动力学理论	13
§ 2.1.1 塔片理论	13
§ 2.1.2 随机模型理论	17
§ 2.1.3 非平衡理论	22
§ 2.1.4 质量平衡理论	27
§ 2.2 影响色谱柱塔片高度的因素	29
§ 2.3 色谱峰形参数的规律性	31
§ 2.3.1 色谱峰半宽度的规律性	31
§ 2.3.2 色谱指数修正模型中参数的规律性	35
参考文献	36
第三章 液相色谱的热力学过程	38
§ 3.1 中性化合物的物理化学模型	38

§ 3.1.1	顶替吸附模型	38
§ 3.1.2	溶质-溶剂相互作用模型	41
§ 3.1.3	溶解度理论	42
§ 3.1.4	顶替吸附-相互作用模型	44
§ 3.1.5	疏溶剂理论	46
§ 3.1.6	以分子作用力为基础的液相色谱理论模型的比较	48
§ 3.2	基于离子静电作用力的色谱保留机理	50
§ 3.3	液相色谱中各种参数对保留值的影响	56
§ 3.3.1	有机溶剂浓度的影响	56
§ 3.3.2	无机盐浓度的影响	60
§ 3.3.3	柱温的影响	63
§ 3.3.4	固定相性质对保留值的影响	65
§ 3.3.5	流动相酸度对保留值的影响	69
§ 3.3.6	流动相中离子对试剂的影响	75
	参考文献	77
第四章 高效液相色谱中溶质分子结构与保留值的定量		
	关系	79
§ 4.1	色谱中的分子间相互作用	80
§ 4.1.1	离子-偶极作用力	80
§ 4.1.2	定向作用力	81
§ 4.1.3	诱导作用力	81
§ 4.1.4	色散作用力	82
§ 4.1.5	疏水作用力	82
§ 4.1.6	氢键作用力	82
§ 4.1.7	电子对给体-电子对受体相互作用	83
§ 4.2	影响分子间作用力的因素	83
§ 4.2.1	偶极矩 (μ)	83
§ 4.2.2	极化率 (α)	85
§ 4.2.3	电离能 (I)	86
§ 4.2.4	分子间的距离 (r)	86
§ 4.3	分子结构参数	87

§ 4.3.1	与分子体积相关的结构参数	87
§ 4.3.2	反映溶质分子电子分布的结构参数	88
§ 4.3.3	分子形状的结构参数	89
§ 4.3.4	拓扑参数	90
§ 4.4	分子结构与保留值定量关系的应用	91
§ 4.4.1	高效液相色谱中的自由能关系	91
§ 4.4.2	分子结构色谱保留值定量关系用于色谱保留机理的研究和保留值预测	92
§ 4.4.3	色谱保留值用于疏水性的测定	112
§ 4.4.4	液相色谱保留值与生物活性和一些环境化学参数的关系	122
	参考文献	123
第五章	液相色谱固定相和流动相	126
§ 5.1	液相色谱流动相	126
§ 5.1.1	正相色谱常用冲洗剂	130
§ 5.1.2	反相色谱常用冲洗剂	133
§ 5.1.3	反相离子对色谱法常用冲洗剂	135
§ 5.2	高效液相色谱常用固定相	136
§ 5.2.1	液-固吸附色谱固定相	136
§ 5.2.2	化学键合固定相	141
§ 5.2.3	键合固定相的分类	152
§ 5.3	其它基质材料的液相色谱固定相	161
§ 5.3.1	有机高分子基质的液相色谱固定相	161
§ 5.3.2	其它无机基质的液相色谱固定相	166
	参考文献	167
第六章	液相色谱专家系统及其柱系统推荐	170
§ 6.1	专家系统的结构	171
§ 6.1.1	知识库和知识表达	171
§ 6.1.2	推理机	173
§ 6.2	液相色谱专家系统及其应用	174
§ 6.3	色谱专家系统中的柱系统推荐规则库	179
§ 6.3.1	分离模式选择的基本条件	179

§ 6.3.2	液相色谱保留值和选择性的一些基本规律	182
§ 6.3.3	液相色谱分离模式的推荐	184
§ 6.3.4	反相色谱流动相和固定相的选择性原则	194
§ 6.3.5	液相色谱流动相和添加剂的推荐	197
§ 6.3.6	实际样品对柱系统推荐规则的验证	200
参考文献		204
第七章	液相色谱分离条件最优化	208
§ 7.1	优化参数与优化指标	208
§ 7.1.1	优化参数	208
§ 7.1.2	优化指标	210
§ 7.2	试验设计方法	217
§ 7.2.1	正交设计	217
§ 7.2.2	因子设计	218
§ 7.2.3	混合设计	219
§ 7.2.4	匀壳设计	221
§ 7.2.5	均匀设计	223
§ 7.3	优化方法及其应用	226
§ 7.3.1	单纯形优化方法	227
§ 7.3.2	复合形和重复设计优化方法	234
§ 7.3.3	“窗口图形法”和“重叠分辨分离度法”	245
参考文献		259
第八章	样品预处理技术	262
§ 8.1	液-液萃取	262
§ 8.1.1	萃取溶剂的选择	263
§ 8.1.2	pH值的控制	264
§ 8.1.3	液-液萃取其它操作因素的控制	265
§ 8.2	液-固萃取	266
§ 8.2.1	液-固萃取固定相和流动相	267
§ 8.2.2	固相萃取的影响因素	269
§ 8.2.3	固相萃取方法的建立	275
§ 8.3	膜技术在样品预处理中的应用	277
§ 8.3.1	微渗析	278

§ 8.3.2 超滤膜技术·····	281
§ 8.4 衍生化和柱浓缩样品预处理·····	282
§ 8.4.1 衍生化技术·····	282
§ 8.4.2 液相色谱柱浓缩预处理技术·····	295
参考文献·····	299
第九章 高效液相色谱仪器 ·····	301
§ 9.1 高压输液系统·····	301
§ 9.1.1 贮液系统·····	301
§ 9.1.2 高压输液泵·····	302
§ 9.1.3 梯度淋洗装置·····	309
§ 9.2 进样系统·····	312
§ 9.2.1 注射器进样·····	312
§ 9.2.2 阀进样·····	312
§ 9.2.3 自动进样器·····	313
§ 9.3 色谱柱系统·····	317
§ 9.3.1 色谱柱的结构·····	317
§ 9.3.2 色谱柱的填充·····	318
§ 9.3.3 色谱柱的评价·····	319
§ 9.3.4 色谱柱的使用技术·····	321
§ 9.3.5 色谱柱恒温装置与馏分收集器·····	323
参考文献·····	325
第十章 液相色谱检测技术和色谱峰定性定量 ·····	326
§ 10.1 检测器的性能指标·····	327
§ 10.1.1 噪声和漂移·····	327
§ 10.1.2 灵敏度·····	328
§ 10.1.3 敏感度·····	330
§ 10.1.4 最小检测量 (M_{min})·····	330
§ 10.1.5 线性范围·····	331
§ 10.1.6 谱峰的扩张·····	331
§ 10.2 液相色谱检测器·····	332
§ 10.2.1 紫外吸收和紫外可见分光光度计·····	332
§ 10.2.2 示差折光检测器·····	336

§ 10.2.3 荧光检测器	338
§ 10.2.4 电导检测器	339
§ 10.2.5 安培检测器	342
§ 10.3 离子对色谱的抑制柱反应	347
§ 10.4 间接检测方法	349
§ 10.4.1 间接检测方法的基本原理	350
§ 10.4.2 间接检测的理论基础	354
§ 10.4.3 间接检测系统的设计	357
§ 10.4.4 检测灵敏度	359
§ 10.5 定性分析	361
§ 10.5.1 利用已知标准样定性	361
§ 10.5.2 利用检测器的选择性定性	362
§ 10.5.3 利用紫外检测器全波长扫描功能定性	362
§ 10.5.4 利用改变流动相组成时被测组分的保留值变化规律 定性	365
§ 10.5.5 收集色谱柱流出各组分,再用其它化学或物理方法 定性	367
§ 10.6 定量分析	367
§ 10.6.1 峰面积的测量	368
§ 10.6.2 定量计算的几种方法	368
参考文献	371
第十一章 高效液相色谱法的应用	373
§ 11.1 正相色谱的应用	373
§ 11.2 反相色谱的应用	381
§ 11.2.1 反相色谱在生物医学上的应用	381
§ 11.2.2 反相色谱在食品分析中的应用	389
§ 11.2.3 反相色谱在环境分析中的应用	394
§ 11.3 反相离子对色谱的应用	399
§ 11.3.1 反相离子对色谱分离分析无机离子	399
§ 11.3.2 离子对色谱在生物医学分析中的应用	405
参考文献	412
第十二章 手性对映体的 HPLC 拆分	415