



全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定



农药分析

● 钱传范 主编

● 农业应用化学专业用

北京农业大学出版社

(京)第 164 号

全国高等农业院校教材

农 药 分 析

钱传范 主编

责任编辑：吴肖菊

*

北京农业大学出版社出版
(北京市海淀区圆明园西路 2 号)

北京丰华印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行

*

787×1092毫米 16开本 14.5印张 346千字

1992年10月第1版 1992年10月第1次印刷

印数：1—1500册

ISBN 7-81002-338-1/S·339

定 价：3.80元

内 容 简 介

本书内容包括农药质量控制的两个方面，即农药有效成分含量分析方法及其理化性质的统一检验方法，着重阐述了8类农药分析方法，以最常用的气相色谱法、液相色谱法和紫外分光光度法为重点；还介绍了红外光谱法、核磁共振法、极谱法、滴定法和薄层色谱法。讲述了方法的原理及其在农药分析中的应用。

本书可作为高等农业院校教材、农业科研单位、农药检定、农业生产资料、卫生、商检、农药工厂质检部门科技人员和检验人员的参考书。

前 言

农药在防治病、虫、草、鼠害上起了极为重要的作用，我国农药年产量几十万吨，为了满足生产上的需要还在不断地开发新的农药和制剂，所有农药都必须通过分析对其质量进行鉴定。

为了适应生产上和学科发展的需要在北京农业大学和吉林农业大学开设了《农药分析》课，在十几年的教学实践与原有教材的基础上，由农业部全国高等农业院校教材指导委员会组织编写这本教材。

本书内容包括农药质量控制的两个方面，农药有效成分含量分析方法及其理化性能的统一检验方法，全书讲述了8种农药分析方法，以最常用气相色谱法、液相色谱法和紫外分光光度法为重点，还介绍了农药分析中比较老的、但仍在使用的方法，如滴定分析法和极谱分析法；分析与结构鉴定用的红外光谱法、核磁共振法。详述每种方法的发展简史、原理、影响方法准确度的因素和在农药分析中的应用，并增加了近年来发展的新内容和新方法。

本书不仅为农业应用化学专业和农药专业的基本教材，还可作为农业科研单位、各系统农药检定所、农业生产资料部门、商检部门、卫生部门和各农药工厂的研究人员和农药质量检验人员使用和参考。

在编审过程中，得到农药检定所卞绍庄教授的指导和帮助，并提出了宝贵的意见。朱寿衍教授审阅了部分章节，特此一并致谢。

农药学科和分析测试技术领域都发展很快，本书编写过程中，虽注意收集了新内容和新方法，但编写仓促，难免有遗漏、缺点和错误，恳请读者提出宝贵意见。

本书第一、三、五、九章由钱传范撰写（北京农业大学农业应用化学系）；第二、四、十一章由梁渡湘撰写（北京农业大学农业应用化学系）；第六章由刘伊玲撰写（吉林农业大学农业化学系）、第七、八章由陈复衡撰写（北京农业大学农业应用化学系），第十章由陈玮瑄撰写（吉林农业大学农业化学系）；第十二章由梁渡湘、钱传范撰写。

钱 传 范

目 录

第一章 绪论	1
一、农药分析的范畴和任务	1
二、农药分析方法的进展	1
三、农药质量评价	2
第二章 色谱法	4
一、产生及原理	4
二、发展史	4
三、分类	6
四、现代色谱技术	6
第三章 薄层色谱法	9
一、原理	9
二、吸附剂	10
(一) 硅胶	11
(二) 氧化铝	11
(三) 吸附剂的细度	12
三、展开剂的选配	12
(一) 被测物质的结构与性质	12
(二) 吸附剂的性能	12
(三) 展开剂的选择	12
四、薄层板的制备	13
五、点样与展开	15
六、检出	16
(一) 荧光硅胶板在紫外灯下显色	16
(二) 碘	16
(三) 氯化钼	16
(四) 硝酸银-氢氧化铵	16
七、定性分析	17
八、定量分析	18
(一) 直接测定法	18
(二) 溶出定量法	18
第四章 气相色谱法	23
一、概论	23
(一) 特点	23
(二) 仪器和流程	23
(三) 应用范围与局限	24

(四) 在农药分析中的应用	24
二、基本原理	25
(一) 气-液色谱分离过程	25
(二) 气相色谱流出曲线	26
(三) 塔板理论	26
(四) 速率理论——范第姆特(Van Deemter)方程	28
(五) 分离度	32
三、检测器	33
(一) 检测器的分类	33
(二) 检测器的性能指标	34
(三) 常用检测器	36
四、色谱柱	43
(一) 色谱柱的几种类型	43
(二) 柱管材料与形状	43
(三) 固定液	43
(四) 担体	46
(五) 色谱柱的制备	49
五、定性定量分析	51
(一) 气谱操作条件的选择	51
(二) 样品制备	52
(三) 定性分析	52
(四) 定量分析	53
六、色-质联用分析(GC-MS)	60
(一) 概述	60
(二) 工作原理	61
(三) 在农药分析中的应用	63
七、计算机的应用	66
第五章 高效液相色谱法	68
一、概论	68
二、基本原理	69
(一) 选择性(分离因子)	70
(二) 容量因子	70
(三) 柱效	71
(四) 分离度	72
三、装置	72
(一) 贮液容器	73
(二) 输液泵	73
(三) 梯度洗脱	73
(四) 进样系统	74
(五) 色谱柱	74
(六) 检测器	75
(七) 控温系统	75

四、分类	76
(一) 液固吸附色谱法	76
(二) 液液分配色谱法	80
(三) 离子交换色谱	86
五、在农药分析中的应用	88
(一) 分离类型的选择	88
(二) 内标物的应用	90
(三) 常用农药的高效液相色谱法的测定条件	97
第六章 可见紫外分光光度法	98
一、分光光度法的基本概念	98
(一) 光的波动性	98
(二) 光的微粒性——普朗克公式	98
(三) 可见紫外、红外光区的划分	98
二、可见紫外分光光度计	99
(一) 光源	99
(二) 单色器	100
(三) 吸收池	100
(四) 检测器	100
(五) 测量信号指示系统	100
三、分光光度法的基本定律	101
(一) 光吸收定律	101
(二) 吸收曲线	102
(三) 对比尔定律的偏离	103
(四) 精密度与检出限	104
四、分子结构与电子光谱	105
(一) 可见及紫外吸收光谱的产生	105
(二) 几个常用术语	106
(三) 有机化合物结构与电子跃迁及吸收谱带的关系	107
五、定量分析	111
(一) 试样的制备	111
(二) 测量条件的选择	112
(三) 反应条件	113
六、在农药分析中的应用	114
(一) 农药分析的特点	114
(二) 可见比色分析	114
(三) 紫外光谱定量分析	117
第七章 红外光谱法	122
一、基本概念	122
(一) 红外光谱的性能	122
(二) 红外区域的划分	122
(三) 分子的能量和分子振动类型	123
(四) 分子的振动形式	123

二、红外光谱仪	124
三、红外光谱的测定方法	125
(一) 气体样品的测定	125
(二) 液体样品的测定	125
(三) 溶液样品的测定	125
(四) 固体样品的测定	125
四、红外吸收光谱与有机农药分子结构的关系	126
五、在农药分析中的应用	129
(一) 定性分析	129
(二) 定量分析	130
第八章 核磁共振	142
一、基本原理	142
二、核磁共振仪	144
三、化学位移	144
(一) ^1H 的化学位移	144
(二) ^{13}C 的化学位移	146
(三) ^{31}P 的化学位移	148
四、自旋-自旋偶合和自旋-自旋裂分	148
五、决定质子数目的方法	151
六、在农药分析中的应用	153
(一) 在农药分析中的应用范围	153
(二) 农药样品的准备	153
(三) 内标物	153
(四) 农药样品的核磁共振测定	154
第九章 滴定分析法	157
一、容量分析法	158
(一) 酸碱滴定法	158
(二) 氧化还原滴定法	159
(三) 沉淀滴定法	165
(四) 亚硝酸钠滴定法	166
(五) 非水滴定法	167
二、电位滴定法和永停滴定法	167
(一) 电位分析的几个基本概念	168
(二) 参比电极与指示电极	169
(三) pH 值的电位测定法	170
(四) 电位滴定法	172
(五) 永停滴定法	175
第十章 极谱分析法	178
一、概述	178
(一) 极谱法的一般过程和极谱图	178
(二) 基本原理	179

(三) 干扰电流及其消除方法	180
二、极谱定性和定量分析方法	182
(一) 极谱定性分析原理	182
(二) 极谱定量分析方法	183
三、有机农药的极谱分析	185
(一) 有机化合物极谱分析的特殊条件	185
(二) 极谱活性的条件	185
(三) 间接极谱法	188
(四) 试样的预处理	189
四、在农药分析中的应用	189
(一) 含氯农药	189
(二) 含硝基农药	189
(三) 磷酸酯类农药	189
(四) 酰亚胺类衍生物	191
(五) 联吡啶阳离子类农药	191
(六) 含硫农药	191
(七) 其它类型农药	193
第十一章 农药理化性能测定法	194
一、水分测定方法	194
(一) 化学滴定法(卡尔·费休法)	194
(二) 共沸蒸馏法	196
二、酸度测定法	196
(一) 酸、碱滴定法	197
(二) 氢离子浓度测定方法	197
三、乳油稳定性测定方法	198
(一) 仪器和试剂	198
(二) 测定步骤	199
(三) CIPAC(MT36)乳液稳定性测定方法	199
四、粉剂细度测定方法	200
(一) 仪器	200
(二) 测定手续	200
五、可湿性粉剂润湿性测定方法	200
(一) 仪器	201
(二) 试剂和溶液	201
(三) 测定手续	201
六、可湿性粉剂的悬浮性测定方法	202
(一) CIPAC(MT 15)法	202
(二) 持久起泡性	203
第十二章 农药分析中的标准样品制备、取样方法和数据处理	205
一、标准农药样品制备	205
(一) 标准样品的重要性和类别	205

(二) 标准样品的制备和纯化	205
(三) 标准样品的定性	206
(四) 标准样品的定量和纯度	206
(五) 标准样品的贮藏	207
二、商品农药采样方法	207
(一) 总则	207
(二) 采样工具	208
(三) 原粉采样	208
(四) 乳剂和液体状态的采样	208
(五) 粉剂和可湿性粉剂的采样	208
(六) 其它	209
三、分析误差和数据处理	209
(一) 误差与准确度	209
(二) 偏差与精密度	210
(三) 置信界限	213
四、实验室注意事项	214

参 考 文 献

第一章 绪 论

一、农药分析的范畴和任务

农药分析可分为原药和制剂分析以及残留量分析两大类,前者属常量分析,后者属于微量分析。在农药残留量分析中,样品中所含的农药量极少,前处理十分复杂,测定样品时对方法的准确度和精密度要求不高,如回收率达 $100\% \pm 20\%$ 即可,但要求方法的灵敏度高,即能检出样品中的微量农药;在农药常量分析中,为了获得样品中农药的准确含量,方法的准确度(即测量值与真值之比)与精密度(同一试样重复测定结果的比较)应达到要求,但对灵敏度要求不高。因为制剂中农药含量较高,通常至少有百分之几的含量,本书主要介绍农药常量分析部分。

农药常量分析对农药生产和应用都有重要作用,农药工厂对中间体和产物的分析是控制合成步骤和改进合成方法的依据,农药产品分析是工厂保证出厂产品质量的主要方面,是农药检定部门和农业生产资料部门质量管理的重要措施,也是检测农药贮藏期的变化,改进制剂性能和改善农药应用技术等必不可少的手段。农药分析更是农药合成、加工、应用等科学研究工作的基础。

二、农药分析方法的进展

农药原药和制剂分析方法与农药的发展历史有关,亦与分析化学学科的进展有密切关系,早期应用铜、砷、铅无机农药时期,主要使用重量法和滴定法测定其含量,50年代使用有机氯农药时期将这些农药中的氯用碱或金属钠水解为无机离子,以银量法、电位滴定法或重量法测定其中的总氯;这些类似元素分析的化学分析法在农药分析历史上起过重要作用,不需特殊仪器设备,可在一般分析化学实验室进行。但方法没有特异性,类似结构的杂质或制剂中的辅助剂等都能影响测定结果,测定步骤多,花费时间长;此外在有机磷农药分析中,比色法即吸收光谱在可见光范围的分光光度法也得到广泛应用。

60年代开始使用紫外和红外分光光度法,它们和上述化学方法相比,操作简单、灵敏度高,而且可以对化合物进行确证,目前仍是农药分析中常用的方法,对于具有芳香基团和杂环的农药,经提取后可以直接使用紫外分光光度法;红外光谱法可根据特征吸收峰的强度进行农药常量分析,测定粉剂、可湿性粉剂或颗粒剂时,制备样品简单,测定较快速,方法具有特异性;但红外光谱仪比较昂贵,灵敏度差,测定时样品需要量较大,目前已很少用于定量分析,主要用于鉴定农药的分子结构。此外,极谱法适用于具有可还原和氧化基团的农药分析。

以上所述的方法都不具有分离杂质的能力,且只能测定单个成分,适用于分析有效成分含量较高的农药;我国有的原药中有效成分含量很低,仅 $60\% - 70\%$,杂质含量高,测定

时干扰大,误差很大,因此目前都使用薄层色谱法将农药与杂质分离后再进行测定。我国农业生产资料部门、农药检定部门和化工部门研究出一系列薄层色谱化学法、薄层色谱电位滴定法等,这些方法可有效地分离杂质,较准确地测定成分,达到农药常量分析的要求,能用于质量检验,尤其对于热稳定性差、易分解、蒸气压低的农药更为合适。在基层单位缺乏专用仪器和标准样品的情况下,具有一定实用价值,是控制农药产品质量现实可行的方法。此外薄层色谱比色法和薄层色谱紫外分光光度法等也可用于多种农药的常量分析。

60年代后期气相色谱法在农药分析中得到广泛应用,混合样品通过色谱柱后可分离为单个组分,依次通过检测器,在农药分析中能有效地分离杂质,它还具有选择性好,灵敏度高的特点,样品处理也比较简单。测定时使用内标物使气相色谱法的精密度能达到化学法和分光光度法的水平。在程序升温、衍生化技术、各种不同性能的色谱柱、尤其是粗径毛细管色谱柱等技术使用后,绝大多数农药都可使用气相色谱法,甚至苯氧乙酸类除草剂、氨基甲酸酯农药都可以测定。

最新技术上的突破是高效液相色谱法的开发和它在农药分析中的应用,液相色谱柱不仅具有较好的分离杂质能力,而且分离是在室温和较低温度下进行,绝大多数农药都可使用此法,对于热稳定性差和不易挥发的农药,省略了气相色谱法必须进行的衍生化步骤;特别适用于那些被认为难以用气相色谱法测定的农药。液相色谱法的最大限制是检测器的灵敏度不如气相色谱法,而方法的灵敏度在农药原药和制剂分析中是不重要的。最近几年新的分析方法中高效液相色谱法已占很大比重,使用固定进样环和自动进样装置,使高效液相色谱法测定结果的重现性可达到气相色谱内标法的水平;目前这两种方法是农药常量分析中用得最多的,约占90%以上,两者已形成有效的相互补充的方法,具有相当的准确度和精密度,一种方法测出的结果,可以用另一方法来确证。

三、农药质量评价

有了准确、易行的分析方法,才能对农药质量进行评价。农药质量的评价依据是各个农药的质量标准,凡是生产的农药产品必须具有农药标准。所谓标准,是指相应的权力机构对农药的质量规格和检验方法等所作的技术规定。国际上有“联合国粮农组织”(FAO)和“世界卫生组织”(WHO)两种农药标准,我国目前实行的有三级标准,为国家标准、地方标准和企业标准,制定标准时附有各项指标的测定方法,测定方法是否准确,直接影响到标准的合理性,也就是影响农药的质量,因此测定方法是正确执行标准的基础。

主要应从两个方面来评价农药的质量,一是有效成分含量是否与标准上标明的含量相符;另一方面是其物理化学性质是否达到标准上的要求,这些指标是根据原药及各种制剂,(如粉剂、可湿性粉剂、乳油和颗粒剂等)的特性而有不同规定,如细度、悬浮率、润湿性、乳化性、乳液稳定性、含水量和酸(碱)度等。

农药产品有效成分含量是保证药效的基本物质,有效成分含量不足,很难达到防治效果。伪劣农药的主要特点是有效成分含量低甚至没有,如有的所谓2.5%“敌杀死”,实际有效成分为零;50%甲胺磷乳油仅有0.8%—1%;又如在制剂中混有其它农药而造成药害的事例也是不少的,有的地方工厂加工分装农药时,在杀虫剂中混入除草剂如2,4-滴丁酯,造成大面积药害。此外,有的农药产品在贮藏过程中会逐渐分解,其有效成分含量下降,特

别是有机磷农药粉剂，加工过程中不加入适当稳定剂，分解率很高，如2.5%乐果粉剂贮藏两年，可分解50%以上；又如敌敌畏乳油等在贮藏过程中都有一定的分解。所以对各类农药制剂中有效成分的检测是至关重要的。现在卫生用气雾剂在我国发展很快，为避免煤油的臭味现在都用醇或水为溶剂，这些制剂中有效成分的稳定性也是一个问题。

有效成分含量达到要求，如果产品的物理、化学性能很差，药剂也不能充分发挥作用，粉剂标准中理化性能指标有细度、水分和pH值，我国产品的细度往往达不到要求（95%通过200目）。可湿性粉剂标准中的指标有悬浮率、润湿性、水分、pH等，悬浮率是重要的指标，如悬浮性能不好，药剂颗粒沉降下去，喷药时浓度不一致影响药效，还可能造成药害，堵塞喷头，由于我国常用的粉碎机械性能不好，不少可湿性粉剂的悬浮率达不到要求；润湿性能亦是重要的指标。乳油标准中乳化性和乳液稳定性是重要的指标，我国已能生产高效能的乳化剂，使乳油类农药的乳液稳定性基本上达到要求，其它如胶悬剂的悬浮率，颗粒剂的脱落率，颗粒大小均是应该控制的指标。

为了保证农药的使用效果，必须检测加工制剂的质量，通常至少应保证两年有效期（个别特殊农药例外），两年内各项指标都应合格。为及早了解制剂的稳定性，要进行热贮藏稳定性试验，即通过短期高温贮藏时的分解率，来预测常温下的分解率。

本书是根据农药质量检验的两个方面内容进行编排的，要求学生在学习分析化学、物理化学、有机化学、仪器分析和农用药剂学的基础上学习本课程。学生通过理论学习和基本操作训练，基本掌握农药检验分析工作以及具备分析和解决实际工作中存在问题的能力。

第二章 色 谱 法

一、产生及原理

1906年俄国植物学家茨维特 (M. S. Tswett) 较完整地提出了色谱法。他把碳酸钙装在一根玻璃管中, 将植物叶子的石油醚提取液倒入管内, 然后加入石油醚自上而下淋洗。随着淋洗进行, 样品中各种色素向下移动的速度不同, 逐渐形成一圈圈的连续色带, 它们分别是胡萝卜素、叶黄素和叶绿素 A、B。这种连续色带称为色层或色谱, 由 chroma (色彩) 和 graphos (图谱) 构成“色谱”一词, 色谱法由此而得名。所使用的玻璃管称为色谱柱 (Chromatographic column); 管内的碳酸钙填充物称为固定相 (Stationary phase); 淋洗液称为流动相 (mobile phase) 或淋洗剂 (eluent)。后来色谱法不断发展, 普遍用来分离无色物质, 并不存在色带, 但色谱法这个名称一直被沿用下来。

色谱是一种分离技术, 当它被用作分析目的时, 就是色谱分析。其分离原理是混合物中各组分在经过由固定相和流动相组成的体系时, 由于各组分性质上的差异, 在两相中具有不同的分配系数; 当两相作相对运动时, 各组分随流动相一起流动, 并在两相中进行反复多次的分配, 使各组分最终得以分离。

二、发 展 史

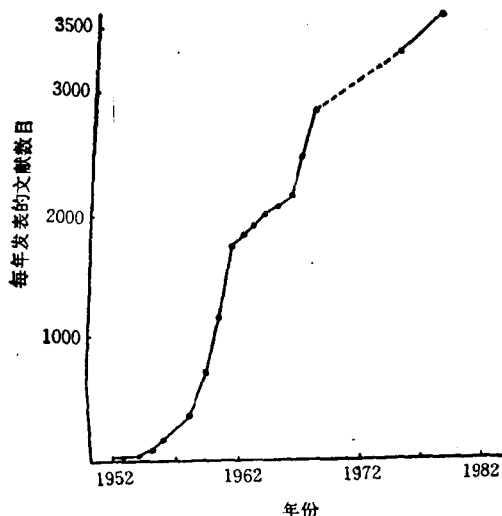


图 2-1 历年发表气相色谱文献数目及趋势表

我们学习色谱法的历史, 研究色谱法发展的过程, 是为了从历史的观点了解该学科发展的规律, 同时也为了纪念有关的著名科学家对色谱学科所作的贡献。兹将色谱法发展年历简要列于表 2-1 中。

由上表可知, 有关色谱法的研究工作, 1834 年业已开始, 在前人工作的基础上茨维特于 1906 年提出了色谱法。这对科学事业是一项重要的贡献, 但当时并没有引起重视, 竟然事隔 25 年后, 到了 1931 年库哈才重复了茨维特的工作。这种情况在科学发展史上是罕见的。

梯塞勒、克莱生等人在早期色谱发展中作出许多重要贡献。在 1952 年马丁和捷姆斯一起进行了马丁在 1941 年发表论文中所预言的工作, 提出了气液色谱法, 用于分离、分析脂肪酸和脂肪胺等混合物取得成功, 并对该法的

理论和实验方法作出了精辟的论述。此后几年,气液色谱法得到飞速发展,每年发表几乎上千篇的论文(见图 2-1)。

表 2-1 色谱法发展年历

文献发表年份	科学家姓名	事	例
1834—1843	林棋 (Runge, F.F.)	在布片上对染料和植物萃取液进行点滴试验	
1850	林棋 (Runge, F.F.)	在纸上分离盐溶液	
1868	格伯斯洛特 (Goppelsroeder, F.)	在长条纸上分析染料和动植物色素等	
1878	斯科朋 (Schonbein, C.)	在长条纸上分析液体溶液	
1897—1903	戴 (Day, D. T.)	将粗石油试样通过装有白土的填充柱	
1906	茨维特 (Tswett, S. M.)	在装有CaCO ₃ 粉末柱上,以石油醚作为流动相,分离叶绿素	
1931	库哈 (Kuhn, R.)	利用碳酸钙柱上分离黄叶、叶绿素	
1940	梯塞勒 (Tiselius, A.)	由于发表了吸附色谱和电泳法,于1948年获得了诺贝尔奖金	
1940	惠乐森 (Wilson, J. N.)	发表第一篇线性等温平衡色谱理论文献	
1941	梯塞勒	进一步提出与发展迎头法、冲洗法和顶替法的液相色谱法	
1941	马丁和辛治 (Martin, A. J. P.; Snyge, R.L.M.)	首先提出柱效能模型。同时,发展了液液色谱法,于1952年获诺贝尔奖金	
1944	康司登和马丁 (Consden, R. & Martin, A.J.P.)	提出纸上色谱法	
1946	克莱生 (Claesson, S.)	用迎头法、顶替法来研究液固色谱法	
1949	马丁 (Martin, A.J.P.)	提出了保留性质与热力学平衡常数的关系	
1951	克莱姆 (Cremer, E.)	发展了冲洗法的气固色谱法	
1952	飞利浦 (Phillips, C.S.G.)	研究迎头法的液液色谱法	
1952	捷姆斯和马丁 (James, A.T. & Martin, A.J.P.)	首先提出气液色谱法	
1955	格莱克夫 (Glueckauf, E.)	首先提出关于 HETP 和颗粒大小、颗粒扩散和离子交换膜内的扩散之间关系的方程式	
1956	范第姆特 (Van Deemter, J. J.等)	发展了速率理论	
1965	吉丁斯 (Giddings, J. C.)	总结与发展了早期色谱理论,并对近代液相色谱动力学理论作出重要贡献	

引自参考文献[10]。

422963

三、分 类

色谱法是包括多种分离类型、检测方法和操作方式的分离分析技术，有多种分类方法。因而，有时一种色谱体系或类型常有几种不同的名称。其主要分类方法如下：

1. 按两相物理状态分类 色谱法具有两个相（“相”指体系中某一均匀部分），即固定相和流动相。流动相的物理状态可以是气体，也可以是液体；固定相的物理状态可以是固体，也可以是液体。这样，按两相的物理状态可把色谱法分为如下 4 类，表见 2-2。

表 2-2 按两项物理状态色谱法的分类

流动相	固定相	名 称	
气体	固体	气固色谱法(GSC)	} 气相色谱法
气体	液体	气液色谱法(GLC)	
液体	固体	液固色谱法(LSC)	} 液相色谱法
液体	液体	液液色谱法(LLC)	

2. 按固定相所处的“形态”分类

柱色谱法：把固定相填充在玻璃管或金属管内，固定相被柱管所包围的称为柱色谱法。柱色谱法又分为填充柱色谱法和开管(毛细管)柱色谱法，前者把固定相均匀填充在管内，后者，一般把固定相附着在管壁，管中心形成一个细径孔道。

纸色谱法：利用滤纸作为固定相，把试样液体滴在滤纸上，用溶剂展开，根据纸上有色斑点的位置与大小，对试样进行定性鉴定与定量测定。与柱色谱法相比，纸色谱法中的纸暴露于空气介质中，所以固定相处于“开放床”的形态。

薄层色谱法：它是将固定相涂布在玻璃板上或压成薄膜，然后用与纸色谱相类似的方法进行操作。

3. 按分离原理分类

吸附色谱法：固定相为吸附剂，试样是根据固定相对各组分吸附强弱的差异来进行分离时，则称之为吸附色谱法，如气固色谱法和液固色谱法属于此类。

分配色谱法：固定相是液体，试样是根据固定相对各组分溶解分配系数的差异来进行分离时，则称之为分配色谱法，如气液色谱法属于此类。

离子交换色谱法：若固定相是一种离子交换树脂，试样是根据固定相对各组分的离子交换能力的差异来进行分离时，则称之为离子交换色谱法。

凝胶色谱法：若固定相是一种分子筛或凝胶，其分离机理是按照固定相对各组分的分子体积大小的差异而进行分离时，则称之为凝胶色谱法。

四、现代色谱技术

Tswett 发明的经典液相色谱方法，由于分离速度慢、效率低，长时间未引起重视。虽

然 40 年代出现纸色谱[paper chromatography(PC)], 50 年代产生了薄层色谱[thin-layer chromatography(TLC)], 然而色谱学成为分析化学的重要分枝学科, 则是以气相色谱的产生、发展为标志。有关色谱理论和技术上的创新, 在色谱发展过程中形成了几次重大的飞跃。其中最重要的贡献是 Martin 和 Synge 1941 年的实验和理论上的成就。他们首先提出了色谱塔板理论, 这是在色谱柱操作参数基础上模拟蒸馏理论, 以理论塔板来表示分离效率, 定量地描述、评价色谱分离过程; 第二, 基于液-液逆流萃取原理, 发展了液-液分配色谱; 第三, 提出了色谱法进一步发展最有远见的预言: 其一是“流动相可用气体来代替, 对分离更有好处”; 其二是“使用非常细颗粒的填料和柱两端施加较大的压差, 应能得到最小的理论板高”。前者预见了气相色谱的产生, 1952 年 Martin 和 James 首次用气体作流动相, 以微量酸碱滴定作为检测手段, 发明了气相色谱[*gas chromatography*(GC)], 它给挥发性化合物的分离测定带来了划时代的变革。后者预见了高压液相色谱的产生, 在 60 年代末期为人们所实现。由于对现代色谱法的形成和发展所作的重大贡献, Martin 和 Synge 被授予 1952 年诺贝尔化学奖。

色谱学发展的另一个重要推动力是生产和技术上的需要。气相色谱法产生于生物化学领域, Martin 是一个生物学家, 而气相色谱的大发展却在石油化工领域。本世纪中期, 石油开发、炼制及石油化工的出现和发展, 迫切需要一种能分析多组分复杂混合物的手段, 以解决石油及石油产品复杂成分的分析。气相色谱出现以前, 对含有几十个到上百个成分的石油馏分进行全分析, 采用精密分馏配合光谱测定, 一个样品需几个月乃至一年以上, 耗时甚长。气相色谱能满足复杂混合物分析的需要, 迅速成为石油和石油化工的一种主要分析手段。石油化工的发展又推动了气相色谱, 以其它仪器分析方法不能比拟的速度向前发展。到 60 年代末, 色谱速率理论产生后, 使气相色谱理论、实验技术、仪器设备等各方面日趋完善和成熟。毛细管气相色谱的出现和发展, 色谱柱效达到 10^5 — 10^6 理论塔板数, 与高灵敏度的检测器相结合, 可以测定低于 10^{-14} g 级的痕量组分。60—70 年代, 气相色谱—质谱(GC-MS)、气相色谱—傅里叶变换红外光谱(GC-FTIR)等联用技术的成功, 使色谱联用技术成为分离、鉴定、剖析复杂混合物最有效的工具。用 GC-MS 联用分析普通汽油中 240 个左右化合物, 其中 180 种得到鉴定。气相色谱应用范围已扩展到环境检测、医药卫生、农业食品、空间研究等领域。

但是气相色谱也有各方面的技术限制。气相色谱仪和固定相的工作温度只能到 350—500°C, 因此, 高沸点化合物无法用气相色谱分析。生命科学、生物工程技术的发展, 迫切需要解决高沸点、强极性、热不稳定、大分子复杂混合物的分离分析课题。这种需要推动人们重新致力于液相色谱研究, 气相色谱理论和技术上的成就为液相色谱的发展创造了条件。60 年代中期, 人们从气相色谱高速、高效、高灵敏度得到启发, 着手克服经典液相色谱法的缺点, 采用高压泵加快液体流动相的流动速率; 采用微粒固定相以提高柱效; 设计高灵敏度、死体积小检测器。到 1969 年, 在经典液相色谱基础上发展成高速、高效的现代液相色谱法(modern liquid chromatography), 一般称为高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)、高压液相色谱(high pressure liquid chromatography, HPLC)或高速液相色谱(high speed liquid chromatography, HSLC)。作为现代色谱技术, 推荐使用高效液相色谱(HPLC)这一名称。现在, 柱效超过 10 000 个理论塔板数的 15 cm 液相色谱柱已广泛用于常规分析。最近十余年发展的微型柱高效液相色谱减少了使用价格贵而