

SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

色谱柱技术

第二版

刘国詮 余兆楼 编著



化学工业出版社

化学与应用化学出版中心

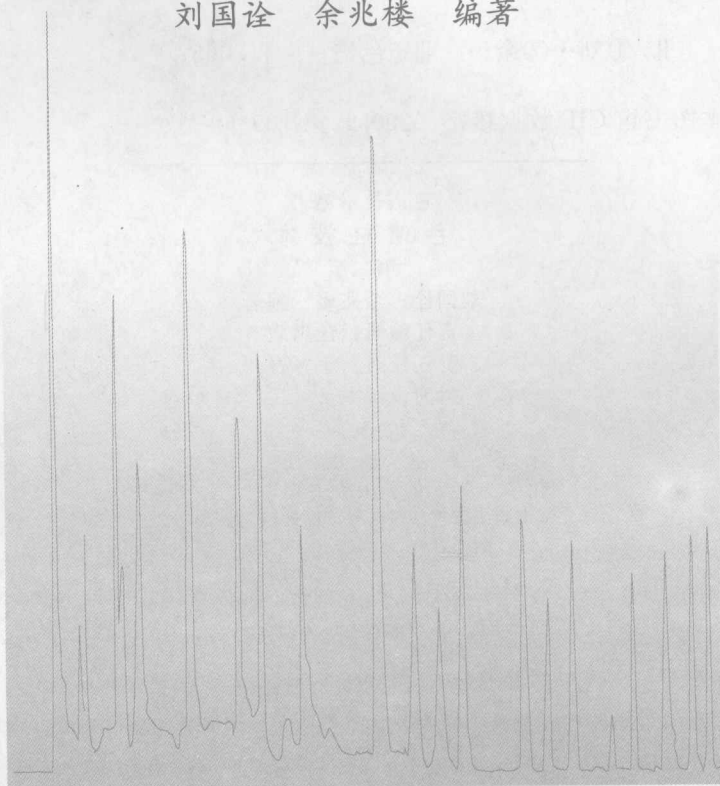
SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

色谱柱技术

第二版

刘国詮 余兆楼 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

色谱柱技术 (第 2 版) / 刘国詮, 余兆楼编著. —北京: 化学工业出版社, 2005. 9

(色谱技术丛书)

ISBN 7-5025-7672-X

I. 色… II. ①刘…②余… III. 色谱柱 IV. 0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 109369 号

色谱技术丛书
色 谱 柱 技 术
第二版

刘国詮 余兆楼 编著

责任编辑: 任惠敏

责任校对: 于志岩

封面设计: 于 兵

*

化 学 工 业 出 版 社
化学与应用化学出版中心 出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码: 100029)

购书咨询: (010) 64982530

(010) 64918013

购书传真: (010) 64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京永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 20 字数 358 千字

2006 年 1 月第 2 版 2006 年 1 月北京第 4 次印刷

ISBN 7-5025-7672-X

定价: 38.00 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

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

本书是《色谱技术丛书》中的一册，重点介绍色谱柱技术。

色谱主要是一种分离技术。色谱分离过程的本质是不同溶质在流动相和固定相之间分配的差异。这种差异，在多次反复进行之后被扩大，从而可以实现混合物的分离。固定相，可以是固体物质的表面，也可以是负载于固体表面的某些特定物质。它们在通常情况下均呈颗粒状（有时亦可是膜或纤维），故可称之为填料。填料填充于柱管中，即为色谱柱。作为分离的场所和工具，色谱柱性能的优劣，从根本上决定了分离效果的好坏。因此，有人将色谱柱誉为色谱仪的心脏，应是当之无愧的。为使读者对色谱柱技术有一个全面而概括的了解，本书拟从色谱的基本理论入手，进而分类介绍气相色谱柱和液相色谱柱技术。其中，以较多的篇幅介绍了高效液相色谱的填料和色谱柱，为给读者在实际工作中提供方便，还择要收集和介绍了一些主要的商品色谱柱，供选用时参考。

本书自2001年第一版面世以来已逾四年。四年间，色谱柱技术领域又取得了不少新的进展。如整体柱技术已走向实用化；小粒径填料的发展促进了超高效（压）色谱仪的问世；蛋白质组学和新药开发推动了高通分析和多维色谱的发展等。在本书的第二版中，对此进行了适当的介绍和反映。此外，接受读者建议，增加了关于“色谱柱的选择、使用和维护”方面的内容，为第八章；在第五章中增加了一节对亲水作用色谱的介绍。

由于本书是在第一版基础上加以修订、增补而成的，故仍由原作者修订或撰写。具体为刘国诠（第一章、第三章、第四章、第五章、第七章、第八章）、余兆楼、郭晴（第二章第一节、第二节）、徐桂云（第二章第三节）、赵睿（第三章、第五章第五节、第六节、第八节，第七章、第八章）、喻昕（第四章、第五章第一节、第二

节、第七节)和苏天升(第六章)等共同编著。

需要说明的一点是,色谱技术中所使用的术语在不同的分支领域和不同的著述中有时会有微小的差异。近年来,国外文献上多开始采用国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)于1993年推荐的色谱术语(Nomenclature for chromatography)。考虑到这一情况,本书参照IUPAC的命名法将“容量因子”改称“保留因子(retention factor)”,表示符号亦相应改为 k ,但其意义和内涵则是完全相同的。

在本书第二版即将出版之际,谨向本丛书主编傅若农先生,副主编刘虎威、汪正范先生,化学工业出版社编辑以及帮助本书出版的Agilent公司致以诚挚的谢意,感谢对本书再版给予的关怀、支持和帮助。

本书初版时,囿于著者学识和时间所限,致使疏漏之处颇多。借再版之机已尽力加以校勘,然恐很难彻底消除,深望专家和读者不吝指正。

刘国詮、余兆楼

于中国科学院化学研究所

2005.7

内 容 提 要

本书是《色谱技术丛书》中的一册，作为分离的场所和工具，色谱柱性能的优劣，从根本上决定了分离效果的好坏。本书从色谱的基本理论入手，进而分类介绍气相色谱柱和液相色谱柱技术。全书共 8 章，其中以较多的篇幅介绍了高效液相色谱的填料和色谱柱，对这一领域的新进展亦有所涉及。为给读者在实际工作中提供方便，还择要收集、介绍了一些主要的商品色谱柱，供选用色谱柱时参考。

本书可供从事气、液相色谱分析工作的技术人员、大中专院校相关专业师生以及从事色谱柱开发研制的技术人员参考。

目 录

第一章 色谱柱理论概要	1
第一节 色谱柱的塔板理论	2
一、塔板理论要点	2
(一) 色谱峰及色谱参数	2
(二) 色谱过程的塔板理论	2
二、保留体积与保留时间	5
三、保留因子 k	6
四、分离因子 α	7
五、色谱柱的死体积 V_0	8
六、色谱峰的对称性	9
七、柱效率	11
八、最大样品体积	13
九、色谱柱的峰容量	14
十、分离度	15
第二节 色谱柱的速率理论	18
一、影响谱带展宽的各种因素	18
二、柱外谱带展宽效应	19
三、柱内谱带展宽效应	19
(一) 多路径效应	20
(二) 纵向扩散	21
(三) 流动相中的传质阻力	22
(四) 固定相中的传质阻力	22
四、Van Deemter 方程	23
五、Van Deemter 方程的修正与发展	24
(一) Giddings 方程	25
(二) Huber 方程	25
(三) Horvath-Lin 方程	25
(四) Knox 方程	25
(五) 描述开管柱的 Golay 方程	26
一般参考文献	27

参考文献	27
第二章 气相色谱柱	29
第一节 气相色谱柱的类型	29
第二节 填充气相色谱柱	30
一、填充柱柱管的选择与处理	30
二、气固色谱填充柱	31
(一) 无机吸附剂	31
(二) 高分子多孔小球	33
(三) 化学键合固定相	38
三、气液色谱填充柱	38
(一) 载体	39
(二) 固定液	43
四、填充柱的制备方法	51
(一) 固定相的制备	51
(二) 固定相的填充	52
(三) 填充柱的老化与评价	53
第三节 毛细管气相色谱柱	53
一、毛细管柱的制备	53
(一) 毛细管柱的材料	53
(二) 毛细管柱的拉制	55
(三) 毛细管柱的内壁改性	57
(四) 毛细管柱的涂渍	64
二、毛细管柱的质量评价	68
(一) 毛细管柱的分离能力	68
(二) 毛细管柱活性的考查	69
(三) 毛细管柱热稳定性的考查	70
三、毛细管柱的安装	71
(一) 毛细管柱安装前的检查	71
(二) 毛细管柱的安装	71
(三) 毛细管柱的老化	72
四、毛细管柱的保护	72
五、商品毛细管柱	73
(一) 非极性毛细管柱	73
(二) 中等极性毛细管柱	74
(三) 极性毛细管柱	76
(四) PLOT 毛细管柱	77
(五) 超低流失毛细管柱	77

参考文献	78
第三章 高效液相色谱柱的类型和结构	81
第一节 高效液相色谱柱的类型	81
第二节 高效液相色谱柱的结构	83
一、柱子的形状	83
二、高效液相色谱柱系统	84
(一) 柱子的连接与密封	84
(二) 筛板及分配板	87
(三) 材料与加工	87
(四) 柱子的结构	88
(五) 保护柱	89
第三节 液相色谱柱的填装与评价	91
一、液相色谱柱的填装	91
二、色谱柱色谱性能的评价	95
三、色谱填料和色谱柱的生产厂家及供应商	97
一般参考文献	100
参考文献	100
第四章 用作色谱填料的无机基质材料	101
第一节 基质材料	101
一、色谱用硅胶基质材料	101
(一) 硅胶的化学结构	101
(二) 硅胶的表面	102
(三) 表面硅羟基的活性	104
(四) 硅胶表面硅羟基的测定	105
(五) 硅胶的化学稳定性	107
(六) 硅胶的物理性质	107
二、色谱用多孔硅胶的制备	109
(一) 多孔硅胶中孔的形成	110
(二) 硅溶胶的制备	110
(三) 溶胶-水凝胶过程中水凝胶的形成	112
(四) 干凝胶的形成(多孔硅胶的形成)	112
(五) 可控孔径球形多孔硅胶的制备	113
(六) 硅胶的扩孔	115
三、其他基质材料	115
(一) 氧化铝	115
(二) 氧化锆	118
(三) 可控孔径玻璃(CPG controlled porous glass)	122

87	(四) 羟基磷灰石 (HAP hydroxyapatite)	123
124	第二节 硅胶的改性与修饰	125
125	一、硅胶的表面化学修饰	125
125	(一) 表面修饰涉及的官能团及化学键	125
126	(二) 以 Si—C 键直接进行表面修饰	126
126	(三) 以 Si—X—R 型结构对硅胶进行表面修饰	126
127	(四) 硅烷化试剂及键合反应	127
132	(五) 键合相硅胶填料的制备	132
134	(六) 键合相硅胶的稳定性	134
136	二、整体修饰	136
138	三、聚合物包覆法 (polymer coated)	138
138	(一) 包覆型填料的制备	138
140	(二) 包覆型填料的特性与应用	140
143	四、无机基质填料的表征与评价	143
143	(一) 物理及表面性质的表征	143
143	(二) 填料化学性质的表征	143
145	参考文献	145
149	第五章 无机基质色谱填料及色谱柱	149
149	第一节 正相填料及色谱柱	149
149	一、分离机理	149
150	二、正相色谱填料	150
152	三、影响正相色谱分离过程的参数	152
152	(一) 比表面积和表面活性	152
152	(二) 样品在硅胶上的负载量及线性容量	152
152	(三) 硅胶的吸附选择性	152
153	(四) 极性化学键合相硅胶填料的选择性	153
154	(五) 一些常见的正相填料及色谱柱	154
154	第二节 反相填料及色谱柱	154
155	一、反相色谱的分离原理	155
155	(一) 疏溶剂理论	155
157	(二) 计量置换保留模型 (stoichiometric displacement model of retention)	157
158	二、反相填料的类型和制备方法	158
158	(一) 以十八烷基三氯硅烷制备反相硅胶	158
160	(二) 醚键型反相填料的制备	160
160	三、性质及特点	160
160	(一) 基质对色谱行为的影响	160

(二) 键合相对色谱行为的影响	164
四、常见的反相填料及色谱柱	168
第三节 离子交换填料及色谱柱	168
一、薄壳型离子交换填料	168
二、全多孔硅胶型离子交换填料	169
第四节 体积排除色谱填料及色谱柱	170
一、分离机理	171
(一) 溶质的保留行为	171
(二) 保留机理	172
(三) 分离机理及其理论模型	173
(四) SEC 中的峰展宽	175
(五) SEC 中的分离度	175
(六) 峰容量	176
二、SEC 的填料	176
(一) 凝胶的结构参数	176
(二) 凝胶的色谱指标	177
(三) 合成高分子凝胶	178
(四) 无机基质凝胶	178
三、SEC 实验技术	179
(一) 凝胶柱的选择与使用	179
(二) 流动相	180
(三) 标准样品及标准曲线	180
第五节 亲和色谱填料及色谱柱	180
一、高效亲和色谱的特点	181
二、用于高效亲和色谱的基质	182
三、硅胶的活化	182
四、一些常见的高效亲和填料	185
第六节 疏水相互作用填料及色谱柱	186
第七节 手性色谱填料及色谱柱	187
一、配体交换手性固定相	188
二、高分子型手性固定相	189
三、键合及涂敷型手性固定相 (CSP)	190
(一) Pirkle 型手性固定相 (刷型手性固定相)	190
(二) 多糖类手性固定相	193
(三) 其他手性固定相	198
四、蛋白质手性固定相	198
第八节 亲水作用色谱填料及色谱柱	199

一、亲水作用色谱	199
二、亲水作用色谱填料及色谱柱	199
三、亲水作用色谱的一般操作方法	200
参考文献	201
第六章 有机高分子基质液相色谱填料	205
第一节 有机高分子基质填料的结构特征	206
一、填料的物理结构	206
二、填料的化学结构	207
第二节 有机高分子类型填料的基质树脂	208
一、多糖型基质材料	208
(一) 葡聚糖系凝胶	208
(二) 琼脂糖系凝胶	209
二、聚合物型基质材料	210
(一) 交联聚苯乙烯树脂	210
(二) 交联聚甲基丙烯酸酯类树脂	211
(三) 其他类型树脂	211
第三节 有机高分子基质填料的性能评价	212
一、填料物化性质的表征	212
二、填料色谱性能的表征	212
(一) 保留值	213
(二) 选择性	213
(三) 柱效率	213
(四) 填充柱的总孔隙度和穿透性	213
(五) 分离度	214
第四节 有机高分子基质的反相色谱填料	214
第五节 有机高分子基质的离子交换色谱填料	218
一、多糖基质的离子交换层析介质	219
二、聚合物基质的高效离子交换色谱填料	220
(一) 多孔树脂的 IEC 填料	221
(二) 非多孔树脂的 IEC 填料	225
(三) 薄壳型树脂的 IEC 填料	228
三、高聚物型离子色谱填料	229
第六节 有机高分子基质的疏水性相互作用色谱填料	231
第七节 有机高分子基质的体积排除色谱填料	235
一、SEC 填料的一般特征与色谱指标	235
二、凝胶渗透色谱填料	236
三、凝胶过滤色谱填料	238

(一) 多糖型 GFC 填料	238
(二) 高聚物型 GFC 填料	240
第八节 有机高分子基质的亲和色谱填料	243
一、多糖基质的 AFC 填料	244
二、高聚物基质的 AFC 填料	244
参考文献	246
第七章 色谱柱技术的新进展	250
第一节 液相色谱柱技术进展概况	250
第二节 贯流色谱填料	253
第三节 石墨化碳填料	257
一、非极性化合物在石墨化碳上的保留行为	259
二、极性化合物在石墨化碳上的保留行为	259
第四节 整体柱	264
第五节 气相色谱柱技术新进展	267
参考文献	269
第八章 高效液相色谱柱的选择、使用和维护	271
第一节 高效液相色谱柱的选择	271
一、超大分子 ($M > 300000$) 物质的色谱分离、分析	272
二、大分子 ($10000 \leq M \leq 300000$) 物质的色谱分离、分析	273
(一) 合成高分子化合物的分离	273
(二) 合成高分子复合物的分离、分析	273
(三) 生物高分子化合物的分离、分析	274
三、小分子 ($M < 10000$) 物质的色谱分离	275
第二节 高效液相色谱柱的使用与维护	277
一、高效液相色谱柱使用中的一般注意事项	277
二、高效液相色谱柱的故障分析	278
三、高效液相色谱柱的清洗与再生	280
第三节 色谱填料和色谱柱的生产厂家及供应商	282
一般参考文献	287
附录	288
一、常见的商品硅胶	288
二、常见的商品氧化铝	290
三、常用的反相填料	291
四、常见的离子交换填料	297
符号表	300