

色谱及有关方法的 实验室手册

〔捷克〕奥·米克斯 主编

色 谱 及 有 关 方 法 的 实 验 室 手 册

〔捷克〕 奥·米 克 斯 主 编

杨文澜 马延林 王文高 蒋中华 译

马立人 校

机 械 工 业 出 版 社

在近代分离分析技术中, 色谱法发展得最快, 应用也最广。本书较为详细地介绍了纸色谱法、吸附柱色谱法、离子交换色谱法、凝胶色谱法、亲合色谱法、液相色谱法、薄层色谱法、气相色谱法、逆流分配法、电泳法等各种色谱法的基本类型及其理论、操作技术以及有关仪器设备及应用举例等。

本书可供从事石油、化工、医药、生化、环保、农林等方面的色谱工作者参考, 亦可供高等院校有关专业师生参考。

122/1911

LABORATORY HANDBOOK OF CHROMATOGRAPHIC AND ALLIED METHODS

O. MIKEŠ

ELLIS HORWOOD LIMITED

New York · Brisbane · Toronto

1979

色谱及有关方法的实验室手册

(捷克) 奥·米克斯 主编

杨文渊 马延林 王文高 蒋中华 译

马立人、校

机械工业出版社出版 (北京阜成门外百万庄南街一号)

(北京市书刊出版业营业许可证出字第117号)

重庆印制一厂印刷

新华书店北京发行所发行·新华书店经售

开本 850×1168 1/32·印张 21³/₄·字数 568 千字

1986年9月重庆第一版·1986年9月重庆第一次印刷

印数 0.001—5,100·定价 6.20 元

统一书号: 15033 5753

译者的话

色谱法是纯化和分离有机或无机物的一种分析方法，它对复杂混合物的分离、不稳定物质的分离及相似化合物（如异构体、同系物等）的分离，特别有效。在石油化工、医药卫生、环境保护等各个领域里，得到了广泛的应用。色谱法，不仅可用于定性、定量分析以及痕量分析工作；而且还可完成制备分离，如色谱纯试剂的制备、生化样品及生化试剂的提纯和精制等。

经典色谱法，主要靠手工操作。随着科学技术的发展，特别是电子技术、自动控制技术和精密机械加工技术的成功应用，大大提高了色谱法的仪器化水平。在各类经典色谱法的基础上，发展到今天的各类高效色谱法（例如，高效液相色谱法，高效薄层色谱法等）。

本书比较全面而系统地介绍了各类色谱法的工作原理、操作技术、仪器设备及应用举例。对在各个领域里从事色谱分析的工作者，有一定的参考价值。

由于译者水平所限，译文中难免有不妥之处，请广大读者批评指正。

译者

常用符号表

- A 色谱柱的横截面面积, 垂直于流动相的流动方向
- A_m 、 A_s 、 A_I 流动相(m), 吸附剂(s)和吸附剂的惰性载体(I)所占有的横截面面积
- $a_{i,m}$ 、 $a_{i,s}$ 色谱分离物质(溶质)在流动相和吸附剂中的活度
- b 公式(2.49)中的常数
- C_t 溶质在色谱系统中的总浓度
- $C_{i,m}$ 、 $C_{i,s}$ 溶质在流动相和吸附剂中的浓度
- $C_{i,m,0}$ 、 $C_{i,m,L}$ 在色谱柱起始端和末端处, 流动相中溶质的浓度
- D_m 、 D_s 溶质在流动相和吸附剂中的扩散系数
- d_f 液体吸附剂膜的有效厚度
- d_p 构成色谱床微粒的直径
- F_m 流动相的体积流速
- $f_{i,m}$ 、 $f_{i,s}$ 溶质在流动相和吸附剂中的逸度
- $f_{i,m}^\circ$ 、 $f_{i,s}^\circ$ 溶质在流动相和吸附剂中的标准逸度
- G 公式(2.49)中的常数
- ΔG° 标准摩尔量吸着吉布斯(Gibbs)自由能
- ΔG° 在气液色谱里; 标准摩尔量吸着吉布斯(Gibbs)自由能, 表示溶质在1个大气压力和系统温度下, 从纯气态到处于系统压力、温度下纯液态时的转换
- 在液-液色谱里, $\Delta G^\circ = 0$
- $\Delta G_{i,s}^*(LLC)$ 标准摩尔量吸着吉布斯(Gibbs)自由能, 表示溶质在流动相里无穷大稀释度状态到溶质在吸附剂里无穷大稀释度的转换, 在系统的温度和压力下
- $\Delta G_{i,s}^*(GLC)$ 标准摩尔量吸着吉布斯(Gibbs)自由能, 表示溶质从气

态（在1个大气压和系统温度下）到在吸附剂中无穷大稀释程度（在系统的温度和压力下）的转换

$$\Delta G_{cond}^0 \quad \Delta G_{cond}^0 = \Delta G_s^0 \quad (GLC)$$

H 理论塔板的等效高度

h_{im}, h_{is} 亨利 (Henry) 定律常数, 溶质在流动相和吸附剂中

I 吸附剂的惰性载体

i 色谱分离物质

J (扩散, m), J (扩散, s) 色谱分离物质通过在流动相和吸附剂中假想横截面的扩散通量

J (迁移) 溶质通过流动相中假想横截面的迁移通量 (单位时间的摩尔数)

$J(m \rightleftharpoons s)$ 在系统的给定体积里, 溶质通过相界面处的通量

ΣJ J (迁移) + J (扩散, m) + J (扩散, s)

j 詹姆斯-马丁 (James-Martin) 压缩因子

K_D 溶质的分配常数

K_s 色谱床的比渗透率

k 溶质的容量比

k_d 解吸速率常数 (解吸作为一次反应时)

L 色谱柱的长度

L_f 色谱图上溶剂前沿与展开溶剂水平线之间的距离 (在平板色谱法里)

M_m, M_s 流动相和吸附剂的分子量

m 流动相

N_i 系统中溶质的摩尔数

N_{im}, N_{is} 在流动相和吸附剂中溶质的摩尔数

n 柱子的理论塔板数

p 压力

p_i, p_o 柱入口和出口处的压力

$\bar{p}$ 柱子的平均压力

p_i^0 在系统温度下, 纯溶质的饱和蒸气压

q 表征液态吸附剂几何形状的因子

R 气体常数

R, R_F 溶质的阻滞因子

- r 毛细管的直径
- s 吸附剂, 固定相
- T 系统的绝对温度
- t 时间
- t_{i_m}, t_{i_s} 溶质分子在流动相和吸附剂中停留的平均时间
- t_M 死保留时间
- t_R 色谱分离物质的保留时间
- u 流动相的输送速度
- u_s 溶质区带中心的输送速度
- u_f 溶剂前沿的输送速度 (在平板色谱法里)
- $u(\bar{p})$ 在平均压力($\bar{p}$)和柱温下, 载气的输送速度
- $u(p_0)$ 在柱出口压力(p_0)和柱温下, 载气的输送速度
- V_M 死保留体积
- V_m 系统中流动相的总体积
- V_R 色谱分离物质的保留体积
- V_R' 色谱分离物质的约化保留体积($V_R - V_M$)
- V_s 系统中吸附剂的总体积
- V_m, V_s 流动相和吸附剂的摩尔体积
- z 长度坐标, 在柱上沿流动相流动方向测得的距离
- $\alpha_{i_m}, \alpha_{i_s}$ 在流动相和吸附剂中溶质的摩尔(份)数
- RS 色谱分辨率
- $\gamma_{i_m}^*, \gamma_{i_s}^*$ 在流动相和吸附剂中溶质的活度系数, 由作为参比物的无穷大稀释溶液的性能所决定的
- $\gamma_{i_m}^0, \gamma_{i_s}^0$ 在流动相和吸附剂中溶质的活度系数, 由作为参比物溶质的性能所决定的
- γ_m, γ_s 在流动相粒子间和吸附剂里, 溶质轴向扩散的阻滞因子
- γ_m', γ_s' 溶质在流动相粒子间和在吸附剂颗粒孔内横向扩散的阻滞因子
- σ 色谱床的总孔率
- σ_0 色谱床粒子间(外部)的孔率
- η 流动相的动态粘度
- χ 色谱系统的单位体积里, 流动相和吸附剂界面的面积
- λ 涡流扩散项系数

- v_{im} 溶质在气相里的逸度系数 (与载气的混合物)
 ξ 溶质通过流动相和吸附剂界面 (单位时间的长度) 的传质系数
 Q_m, Q_s 流动相和吸附剂的密度
 σ 色谱区带的标准偏差
 $\bar{\sigma}$ 两物质区带的平均标准偏差
 σ_L 长度标准偏差
 σ_t 时间标准偏差
 σ_V 体积标准偏差
 $\sigma^2(A)$ 涡流扩散造成的区带长度方差
 $\sigma^2(B_m), \sigma^2(B_s)$ 在流动相和吸附剂里轴向扩散造成的区带长度方差
 $\sigma^2(C_m), \sigma^2(C_m^*)$ 在微粒之间流动相的不平衡和微粒孔内流动相不平衡, 而造成的区带长度方差
 $\sigma^2(C_{sa}), \sigma^2(C_{se})$ 在吸附色谱固定相里不平衡和液体吸附剂 (分配色谱 (不平衡, 而造成的区带长度方差
 $\sigma^2(A, C_m)$ 涡流扩散和流动相微粒之间不平衡, 而造成的区带长度方差
 $\Sigma \sigma^2_{(i)}$ 对于给定的色谱系统, 考虑到的每项方差的总和
 ϕ_m, ϕ_s 流动相和吸附剂所占有的色谱柱总横截面的份数
 ϕ_m 在微粒之间流动相的份数
 ω 表征色谱床几何结构的因子

第十章用符号

- A 涡流扩散系数 (10.16)
 B 载气中溶质扩散系数 (10.17)
 C_L 液相中传质阻力系数 (10.18)
 C_g 气相中传质阻力系数 (10.19)
 G°_f 冷凝时的标准摩尔自由能 (10.47)
 I 保留指数 (10.44)
 $R_n, R_{1,n}$ 分离系数 (10.11)
 s 浓度响应型检测器的灵敏度 (10.27)
 s' 质量响应型检测器的灵敏度 (10.29)
 T_c 色谱柱的绝对温度
 T_m 测得的载气流的绝对温度 (10.7)

V_G 色谱柱内气体的体积 (10.1)

V_0 死保留体积 (10.8)

V_L 色谱柱内固定液的体积 (10.1)

V_N 净保留体积 (10.5)

V_R 总保留体积 (10.3)

V_R' 调整保留体积 (10.3)

Y 色谱峰在基线上的宽度, 以时间为单位 (10.11) (峰两侧的拐点作切线, 与基线相交之间的距离)

PTV_N 校正保留体积 (10.7)

$r_{1,2}$ 保留比 (相对挥发度) (10.23) (10.24)

n_{eff} 有效理论塔板数 (10.14)

w_s 固定相的重量 (10.8)

k_A 吸附平衡常数 (10.53)

γ 阻塞系数 (10.17)

γ_0 活度系数 (10.34)

ΔG^E 偏摩尔量剩余吉布斯 (Gibbs) 自由能 (10.36) (10.39) (10.31)

ΔG° 吸着标准自由能 (10.35)

目 录

译者的话

第一章 色谱法的基本类型.....	1
1.1 现代分离的一些方法	1
1.2 按照分离过程原理的色谱经典分类法	9
1.2.1 吸附色谱法	10
1.2.2 分配色谱法	11
1.2.3 离子交换色谱法	12
1.2.4 凝胶色谱法	13
1.2.5 生物亲和色谱法	14
1.2.6 色谱法的其它类型	15
1.3 按照展开程序的色谱分类法	15
1.3.1 迎头分析法	15
1.3.2 顶替色谱法	17
1.3.3 洗脱色谱法	18
1.3.4 按照分离方法的其它一些分类法	20
1.4 按照两相间产生分级分离过程的现代色谱分类法	22
1.4.1 液相色谱法	22
1.4.2 气相色谱法	22
1.5 其它型式的色谱分类法	23
参考文献.....	24
第二章 色谱法的理论	26
2.1 引言	26
2.2 色谱分离过程的一般描述	27
2.2.1 色谱系统中溶质的质量平衡	27
2.2.2 理想线性色谱法的模型	31
2.2.3 保留方程式	32
2.3 非理想线性色谱模型的理论描述	33
2.3.1 色谱区带的扩散	33

2.3.2 理论塔板的概念	35
2.4 流动相的流动	36
2.5 吸附平衡和分配常数	38
2.6 色谱分辨率	40
参考文献	41
第三章 纸色谱法	43
3.1 引言	43
3.1.1 色谱用纸	44
3.1.2 纸色谱法用的设备	46
3.1.3 溶剂的选择	55
3.1.4 R_F 和 R_M 的定义及其测量和使用	62
3.2 工作程序	67
3.2.1 样品的制备	67
3.2.2 点样	71
3.2.3 色谱图的处理及其展开	71
3.2.4 干燥	75
3.2.5 检测	76
3.2.6 斑点的洗脱	77
3.2.7 色谱图的贮存和归档	78
3.3 制备纸色谱法	78
3.4 定量纸色谱法	79
3.5 含氧有机化合物的纸色谱法	80
3.5.1 醇类	81
3.5.2 糖类	83
3.5.3 醛和酮	88
3.5.4 酸类	89
3.5.5 酚、黄酮类、香豆素	93
3.5.6 甾族化合物和萜类化合物	95
3.5.7 其它含氧化合物	97
3.6 含氮有机化合物的纸色谱法	99
3.6.1 氨基酸和肽的纸色谱法	99
3.6.2 核酸组分	104
3.6.3 生物碱	105

3.6.4	呋啉	107
3.6.5	胺	109
3.6.6	硝基化合物	111
3.7	含其它杂原子的物质的纸色谱法	111
3.7.1	含硫化合物	111
3.7.2	含磷有机化合物	113
3.8	维生素	113
3.9	抗菌素	115
3.10	其它有机化合物	116
3.11	无机化合物的纸色谱法	117
3.11.1	阳离子的分离与检测实例	119
3.11.2	阴离子的分离和检测实例	121
3.12	纤维素柱	122
	参考文献	123
第四章	吸附柱色谱法	127
4.1	引言	127
4.2	吸附剂	128
4.2.1	一般特性	128
4.2.2	硅胶	133
4.2.3	氧化铝	137
4.2.4	硅酸镁、合成硅酸镁载体	141
4.2.5	氧化镁	141
4.2.6	碳	142
4.2.7	聚酰胺	142
4.2.8	聚苯乙烯吸附剂	146
4.2.9	高压液相色谱法 (HPLC) 用的吸附剂	147
4.2.10	吸附剂上的反应	152
4.3	流动相	154
4.4	色谱法技术	158
4.4.1	原理和操作方法的选定	158
4.4.2	柱体及填料	159
4.4.3	洗脱系统的选择	161
4.4.4	色谱操作程序和结果评定	163

4.5 有机物柱吸附色谱法的实例	167
4.5.1 石油醚中倍半萜烯物的分离	167
4.5.2 在惰性气体中进行物质的萃取和色谱分离	168
4.5.3 在一根离子交换剂银盐柱上的银化色谱法	170
4.5.4 用氧化镁分离类胡萝卜素甙	174
4.5.5 在非极性吸附剂Amberlite XAD-2上用洗脱色谱法作类咕 啉 (Corrinoids) 的分离	175
4.5.6 在经典的和薄壳吸附剂上的高压液-固色谱法	176
4.5.7 制备高压液相色谱法	180
4.5.8 使用化学键合固定相的高压液相色谱法	182
参考文献	189
第五章 离子交换色谱法	192
5.1 引言	192
5.1.1 离子交换剂的本质	192
5.1.2 离子交换剂根据它的来源和载体骨架的化学组成的 分类	193
5.1.3 离子交换剂按离化基团的分类	193
5.1.4 按形状和状态的分类	196
5.2 离子交换剂的构造	199
5.2.1 无机离子交换剂	199
5.2.2 离子交换树脂	201
5.2.3 离子交换纤维素	204
5.2.4 葡聚糖和琼脂糖的离子交换衍生物	205
5.2.5 其它类型的离子交换材料	206
5.2.6 粒状离子交换剂的物理结构	206
5.3 吸收过程的本质	207
5.3.1 离子交换	207
5.3.2 伴随离子交换而发生的各种过程	209
5.3.3 两性离子的吸着作用	210
5.4 离子交换色谱法的原理	211
5.4.1 低分子物质的色谱法	211
5.4.2 蛋白质的色谱法	213
5.5 离子交换剂的基本特性	214

5.5.1	交换容量	214
5.5.2	滴定曲线	215
5.5.3	密度和溶胀度	216
5.5.4	颗粒的大小和形状	218
5.6	色谱分离前离子交换剂的准备、再生和贮存	219
5.6.1	适宜离子交换剂的选择	219
5.6.2	倾析和溶胀	221
5.6.3	实验室中按颗粒大小分级	221
5.6.4	离子交换剂的循环转型	237
5.6.5	缓冲剂的选择及离子交换剂的缓冲液处理	238
5.6.6	离子交换剂的再生和贮存	240
5.7	色谱法	241
5.7.1	色谱柱及其容量	241
5.7.2	离子交换剂柱的填充和平衡	243
5.7.3	加样	244
5.7.4	洗脱方法及其速度	245
5.7.5	馏分的大小及控制	247
5.7.6	各种色谱柱参数的换算	248
5.8	用离子交换剂分离无机物质混合物的实例	249
5.8.1	非色谱性应用	249
5.8.2	阳离子色谱法	252
5.8.3	阴离子色谱法	253
5.8.4	来自络盐溶液和混合溶剂的离子交换	255
5.9	有机化合物的分离实例	259
5.9.1	强离解离子交换剂的色谱法	260
5.9.2	用改良结构离子交换剂的色谱法	263
5.9.3	用聚合吸附剂的色谱法	266
5.10	离子交换剂在生物化学中的应用	267
5.10.1	氨基酸	270
5.10.2	肽类	275
5.10.3	蛋白质	281
5.10.4	微生物胞壁碎片的分离	283
5.10.5	抗菌素	286

5.10.6 维生素	289
5.10.7 碱基、核甙、核甙酸和核酸	291
参考文献	297
第六章 凝胶色谱法	304
6.1 引言	304
6.1.1 凝胶色谱法的原理	304
6.1.2 定义和基本术语	305
6.2 色谱用凝胶	308
6.2.1 对凝胶的要求	308
6.2.2 葡聚糖凝胶	310
6.2.3 聚丙烯酰胺凝胶	313
6.2.4 羟烷基丙烯酸酯凝胶	317
6.2.5 琼脂糖凝胶	317
6.2.6 其它凝胶	320
6.3 凝胶色谱法的实验技术	324
6.3.1 仪器、柱体、联接管和流速调节	324
6.3.2 凝胶的选择	327
6.3.3 准备工作	328
6.3.4 柱子尺寸、样品量及流速	332
6.3.5 加样	332
6.3.6 上行凝胶色谱法	334
6.3.7 填充材料的再生	334
6.3.8 凝胶的贮存	335
6.3.9 微生物感染的防止	335
6.4 增加有效柱高	336
6.4.1 色谱柱的串联连接	336
6.4.2 循环色谱法	337
6.4.3 间断循环色谱法	337
6.5 实验结果的计算	339
6.6 凝胶色谱法的应用	340
6.6.1 脱盐和组分离	341
6.6.2 混合物的分级分离	342
6.6.3 分子量的测定	346

参考文献	350
第七章 亲合色谱法	352
7.1 引言	352
7.1.1 固相载体的选择	354
7.1.2 亲合剂的选择和结合	355
7.1.3 吸附和洗脱的条件	359
7.2 亲合色谱法的固相载体	359
7.2.1 葡聚糖和它的衍生物	359
7.2.2 亲合剂与琼脂糖连接的方法和其改进	362
7.2.3 聚丙烯胺和羟烷基甲基丙烯酸酯凝胶	367
7.2.4 纤维素和它的衍生物	372
7.2.5 其它载体	373
7.3 供应结合了亲合剂的固相载体	377
7.4 应用	379
7.4.1 应用琼脂糖衍生物的亲合色谱法	379
7.4.2 在偶联半抗原的Bio-Gel p-6上细胞的亲合色谱法	382
7.4.3 纤维素衍生物的亲合色谱法	383
参考文献	386
第八章 柱液相色谱法的自动化和机械化	389
8.1 引言	389
8.2 流动相贮存器和液路联接	390
8.3 阀和泵	391
8.3.1 阀	391
8.3.2 泵	392
8.4 梯度发生器和程序控制装置	395
8.4.1 梯度发生装置	395
8.4.2 完全程序化	402
8.5 进样装置、注射器和色谱柱	403
8.5.1 进样装置和注射器	403
8.5.2 色谱柱的类型	405
8.5.3 色谱柱的填充	406
8.6 检测器	407
8.7 数据的记录和计算	413

8.8 流量计和馏分收集器	416
8.9 更复杂的系统及综合自动化的举例	418
参考文献	420
第九章 薄层色谱法	422
9.1 引言	422
9.2 薄层色谱仪器	423
9.2.1 板、涂布器、制层	423
9.2.2 展开槽、喷显箱	427
9.3 薄层色谱法用固定相	431
9.3.1 硅胶	431
9.3.2 氧化铝	434
9.3.3 硅酸镁	436
9.3.4 聚酰胺	436
9.3.5 纤维素	437
9.3.6 离子交换剂	438
9.3.7 凝胶色谱法用的载体	440
9.3.8 其他类型的吸附剂	441
9.4 薄层色谱法用洗脱液	441
9.5 薄层色谱法的操作步骤	443
9.5.1 点样	443
9.5.2 洗脱液的选择和展开法	444
9.5.3 检测	448
9.6 定量测定	449
9.7 制备薄层色谱法	451
9.7.1 层的制备	451
9.7.2 点样	451
9.7.3 色谱的展开	452
9.7.4 检测	453
9.7.5 组分从层上离析下来	453
9.7.6 制备薄层色谱法的优点	453
9.7.7 干柱色谱法	453
9.7.8 薄层色谱法的工作条件往柱色谱上推导	454
9.8 薄层色谱法的应用举例	455