

史 坚 编

现代柱色谱分析

XIANDAIZHUSEPUFENXI

XIANDAIZHUSEPUFENXI

上海科学技术文献出版社

现代色谱分析

史 坚 编

上海科学技术文献出版社

现代柱色谱分析

史 坚 编

*

上海科学技术文献出版社出版发行
(上海市武康路2号)

经 售 处 经 销

昆 山 亭 林 印 刷 厂 印 刷

*

开本 787×1092 1/32 印张 14.75 字数 356,000

1988年7月第1版 1988年7月第1次印刷

印 数: 1—3,100

ISBN 7-80513-300-X/T·107

定 价: 7.50 元

《科技新书目》156-288

前 言

现代柱色谱分析已成为现代分析化学的一个重要分支。由于它的高分离能力、高灵敏度、高分析速度以及易于自动化等特点,使它在石油、化工、医药、卫生、生物、环境科学等领域中,得到了极为广泛的应用,成为最重要的成份分析方法之一。

从七十年代开始,现代柱色谱分析已成为我国高等学校仪器分析课程中必不可少的组成部分;是分析化学专业高年级学生的重要课程。因教学需要,我曾编写了给高年级学生使用的“色谱分析”讲义。本书即以这一讲授过数年的讲义为基础,结合科研工作中的体会,加以修改、补充而成。由于此书只介绍色谱学科中的气体色谱法和高效液体色谱法,因而定名为“现代柱色谱分析”。

到目前为止,国内出版的色谱专著几乎都是有关气体色谱分析的。介绍高效液体色谱的书籍则几乎都是译著。为了便于读者参阅,本书包括了这两种分析法,把共同的色谱基础理论单独列为一章,而具有各自特点的理论部分,则分别在相应的章节中阐述。

作为教学参考书,书中对色谱基础理论、各种分离方式的基本原理、特点等作了比较详细的介绍。为了便于学生复习、巩固基本概念,每章末都列有一定数量的思考题和习题。书中列出了180多篇文献,以供参阅。凡是对某些只作扼要介绍或仅仅提及的方法、技术,可参阅有关文献。考虑到此书能对从事具体色谱分析的人员有所裨益,因此对以下一些内容,例如开管柱

色谱、气体色谱-质谱联用、痕量分析以及色谱分析中的化学衍生化等,都作了一定篇幅的介绍。

在编写过程中,我力求做到概念准确,阐述清晰。但限于水平,良好的愿望未必能产生令人满意的效果,衷心地期待着专家及读者们的批评、指正。

在本书初稿完成之后,承蒙章秀猷副教授和都恒华副教授,分别对第一、二、三和第四章作了审阅、提出了修改意见。在此谨向她们表示衷心的感谢。曹众同志仔细阅读全稿,提出许多宝贵意见。在本书编写过程中,还得到了方惠群副教授等的关心和大力支持,在此一并致谢。

编者 于南京大学

1986年5月

目 录

第一章 色谱法概论	1
第一节 色谱法历史.....	1
第二节 色谱法分类.....	3
第三节 色谱分离依据.....	5
第四节 流出曲线及有关术语.....	6
第二章 色谱法基本理论	11
第一节 分配平衡.....	12
一、分配系数	12
二、分配比	14
第二节 保留值.....	16
一、保留比	16
二、保留时间	18
三、保留体积	18
四、相对保留值	19
第三节 流动相线速度.....	22
一、液体色谱	22
二、气体色谱	23
第四节 分配等温线.....	25
一、三种分配等温线	25
二、样品量对保留值的影响	28
三、峰拖尾的减小	28
第五节 塔板理论.....	29
一、精馏过程	30
二、塔板理论	31

三、柱效	36
四、塔板高度	37
五、气液色谱与精馏的差别	37
第六节 速率理论	39
一、塔板理论的缺点	39
二、色谱过程中的扩散和传质	40
三、速率理论方程式	47
四、涡流扩散理论	50
第七节 影响谱带展宽的其他因素	53
一、非线性色谱	53
二、活性中心的影响	53
三、柱外效应	53
第八节 分离度	57
一、分离度定义	57
二、基本分离方程	60
第九节 分析时间	64
第十节 多组分分离	68
第三章 气体色谱法	79
第一节 气液色谱理论	80
一、分配平衡	80
二、活度系数	82
三、净保留体积和比保留体积	85
四、相对保留值	89
五、分子间作用力	90
六、保留指数	92
第二节 气体色谱仪	100
一、气路系统	100
二、进样系统	101
三、温度控制系统	102

四、色谱柱·····	102
五、检测器和记录器·····	103
第三节 载体·····	104
一、对载体的要求·····	104
二、载体类型·····	104
三、载体的表面处理·····	105
第四节 固定液·····	107
一、对固定液的要求·····	107
二、固定液的分类·····	108
三、固定液的选择·····	119
第五节 气液色谱填充柱的制备·····	128
一、涂布固定液的要求·····	128
二、固定液的涂布·····	129
三、柱的填装·····	130
四、柱的老化·····	130
第六节 气固色谱·····	131
一、气固色谱特点·····	131
二、常用吸附剂·····	132
第七节 检测器·····	136
一、检测器的分类·····	136
二、对检测器的要求·····	138
三、热导检测器·····	146
四、氢火焰离子化检测器·····	151
五、电子捕获检测器·····	157
六、火焰光度检测器·····	169
七、碱盐离子化检测器·····	172
第八节 操作条件的选择·····	175
一、色谱柱及其柱长·····	175
二、载体及其粒度·····	177

三、固定液配比	178
四、柱温	180
五、载气及其流速	180
六、样品量	181
七、气化温度	182
第九节 定性分析	183
一、利用保留值定性	183
二、利用相对保留值和保留指数定性	184
三、利用多柱定性	185
四、利用调整保留值与碳数的关系定性	185
五、利用选择性检测器定性	186
六、气体色谱-质谱联用定性	187
七、非色谱方法定性	187
第十节 定量分析	191
一、峰面积的测量	191
二、定量校正因子	193
三、定量方法	200
四、误差来源	208
第十一节 化学衍生化	211
一、化学衍生化的目的	211
二、对衍生化反应的要求	215
三、衍生物制备的注意事项	215
四、硅烷基衍生物	216
五、常用硅烷化试剂	219
六、其他衍生物	224
第十二节 痕量分析	228
一、采用检测度好的检测器	228
二、选用高选择性和高柱效的色谱柱	229
三、痕量组分峰的位置	230

四、样品量	231
五、富集法	231
六、化学衍生化	233
七、柱切换技术	234
八、定量方法	235
九、降低空白值	236
第十三节 开管柱气体色谱法	236
一、速率理论方程式	237
二、开管柱的特点	238
三、玻璃表面的改性	240
四、柱的涂布	243
五、固定液	244
六、柱的评价	245
七、开管柱色谱系统	248
八、应用	252
第十四节 气体色谱-质谱联用	253
一、质谱仪	253
二、分辨率	260
三、质谱图	261
四、离子的类型	262
五、化合物的裂解	267
六、质谱的解析	279
七、气体色谱-质谱联用注意事项	279
第四章 高效液体色谱法	291
第一节 两个比较	291
一、液体色谱和气体色谱法	291
二、高效液体色谱和经典液体色谱法	293
第二节 速率理论方程式	295
一、折合参数	295

二、速率理论方程式	297
三、 $\lg k - \lg \nu$ 图	298
四、操作条件最佳化	299
第三节 高效液体色谱仪部件	305
一、贮液器	305
二、泵	305
三、进样装置	308
四、柱恒温箱	309
五、梯度洗脱装置	309
第四节 色谱柱	311
一、概述	311
二、壁效应	312
三、无限直径效应	313
四、柱技术指标	315
五、固定相	316
六、柱的填装	317
七、柱的保养	321
第五节 检测器	323
一、概述	324
二、紫外吸收检测器	324
三、折光率检测器	329
四、荧光检测器	331
五、其他检测器	334
第六节 流动相	335
一、概述	335
二、对溶剂的要求	336
三、分子间作用力与溶剂极性参数	341
四、分配色谱中的溶剂强度	343
五、吸附色谱中的溶剂强度	346

六、溶剂的分类	348
七、溶剂选择性的最佳化	350
八、流动相的脱气	352
九、溶剂的纯化	353
第七节 液固色谱法	355
一、概述	355
二、固定相	356
三、流动相	358
四、缓和剂	364
五、组分结构对保留值的影响	367
第八节 液液色谱法	368
第九节 键合相色谱法	368
一、概述	368
二、键合固定相	370
三、流动相	373
四、反相键合相色谱	375
五、离子抑制法	377
第十节 离子交换色谱法	378
一、概述	378
二、固定相	380
三、流动相	385
四、配体交换色谱法	390
五、离子色谱法	391
第十一节 离子对色谱法	394
一、概述	394
二、反相离子对色谱法	395
三、正相离子对色谱法	401
四、峰的拖尾	405
第十二节 大小排阻色谱法	407

一、概述	407
二、分离机理	407
三、分配系数及保留值	408
四、选择性	410
五、峰容量	413
六、固定相	414
七、流动相	416
第十三节 化学衍生化	417
一、衍生化类型	418
二、紫外衍生化试剂	419
三、荧光衍生化试剂	424
第十四节 开管柱液体色谱法	427
一、开管柱色谱体系	427
二、开管柱类型	428
三、其他	430
第十五节 分离方式的选择	430
一、水溶样品	431
二、非水溶样品	432
第十六节 主要分离条件的选择	433
一、液固色谱法	433
二、键合相色谱法	437
三、离子交换色谱法	438
四、离子对色谱法	440
五、大小排阻色谱法	441
第十七节 其他	442
一、定性分析	442
二、定量分析误差的来源	443
三、定量方法	445
四、痕量分析	445

第一章 色谱法概论

第一节 色谱法历史

作为色谱法基础的某些现象，实际上早被人们所了解。早在中世纪末期，就知道炭具有脱色性质，土壤能滞留矿物质肥料等。1903年，俄国植物学家 Mikhail Tswett 研究了植物绿叶中的色素^[1]。他让从绿叶中提取出来的色素石油醚溶液，通过一根填满碳酸钙的细长玻璃柱。起始，色素被吸附在碳酸钙上部，随着冲洗剂——石油醚不断冲洗柱子，原来混合的色带逐渐开始分离。最后，各个色带达到完全分离(图 1-1)。将柱内填充物挤压出来，按色带分段切割，然后分别鉴别和测定。

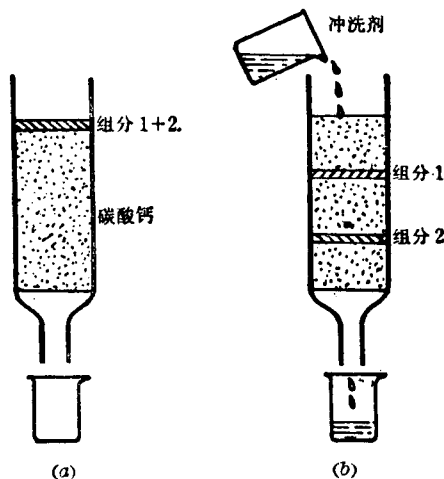


图 1-1 色谱分离示意图

(a) 刚加入样品

(b) 加入部分冲洗剂

在碳酸钙柱上,混合色素被分离成不同色带的现象,正象一束白光在通过棱镜时,被色散成不同的七色色带的光谱现象,因而将这种分离方法命名为“色谱”。色谱法也称色层法,或层析法。后来,色谱法虽用于无色物质的分离,而“色谱”这一名词仍沿用至今。这种有效的分离方法,当时并未引起重视,直到三十年代初,R.Kuhn 等^[2]用此法分离了类胡萝卜素后,开始得到广泛应用。

1850年,英国土壤化学家 F.T. Way^[3]发现了离子交换这一现象。1935年,Adams 和 Holmes^[4]合成了离子交换剂,并用于色谱分离,从而诞生了离子交换色谱法。

1941年,Martin 和 Synge^[5]设计了由四十个容器组成的萃取仪器,将来自蛋白质水解产物的乙酰化氨基酸,从水相萃取到有机相而使其离析出来。不久又用填充颗粒硅胶的色谱柱代替这种萃取器,并以氯仿作为冲洗剂,使各种氨基酸在流动的有机相和停滞在硅胶孔隙中的水相之间产生不等的分配,从而奠定了液液分配色谱的基础。

1944年,Consden、Cordon 和 Martin^[6]将纤维素做成滤纸形式,此滤纸含一定量水分。将滤纸一端浸入一种与水不相混溶的溶剂,由于滤纸的毛细管作用,溶剂从下向上渗透。由于混合物中各组分在两相中溶解度的差异。它们就以不同速率穿过滤纸,从而得到分离。这种色谱法称为纸色谱法(图 1-2)。

早在 1936 年就知道某些物质能吸附气体,这就成了气固色谱的基础。1953 年,Janák^[7]进一步发展了气固色谱法。

1938 年,Izmailov 等^[8]将糊状氧化铝铺展在玻璃板上,形成 2mm 厚的薄层,用于分析药用植物的萃取物。薄层色谱法装置如图 1-3。由于它简单可行,在许多应用中已代替了纸色谱,或吸附色谱,或离子交换柱色谱。

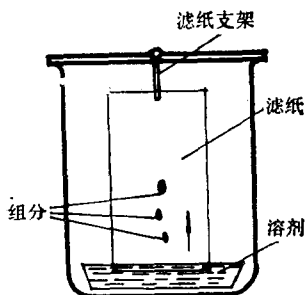


图 1-2 纸色谱法

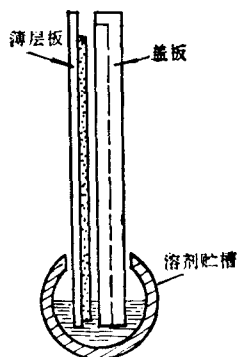


图 1-3 薄层色谱法

1959 年, Porath 和 Flodin^[9] 提出了大小排阻色谱法, 其基本原理是由于柱内多孔填料对大小不同的分子具有选择渗透作用。

1952 年, James 和 Martin^[10] 在惰性载体表面涂布一层薄而均匀的有机化合物液膜, 并以气体作冲洗剂, 气液色谱从此问世。在以后十年中, 气体色谱得到惊人发展。到六十年代早期, Giddings^[11] 将气液色谱重要理论用于液体色谱, 同时出现了高效能液体色谱填料。从 1967—1969 年, Kirkland^[12], Huber^[13], Horvath, Preiss 和 Lipsky^[14] 等研制了高效液体色谱仪。从此, 液体色谱的分离效率和速度大大提高, 达到可以和气体色谱相媲美的程度。

第二节 色谱法分类

在 Tswett 实验中, 装有碳酸钙的玻璃管称为色谱柱。柱内有两相: 一相是碳酸钙, 固定不动, 称为固定相; 另一相是石油醚, 不断流过固定相, 称为流动相。

