

SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

制备色谱技术及应用

袁黎明 编著



化学工业出版社

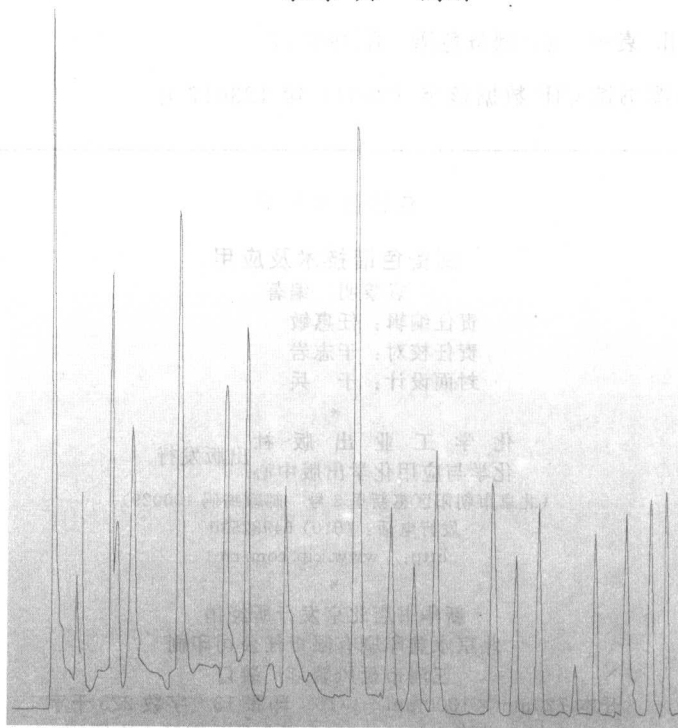
化学与应用化学出版中心

SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

制备色谱技术及应用

袁黎明 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

制备色谱技术及应用/袁黎明编著. —北京:
化学工业出版社, 2004. 12

(色谱技术丛书)

ISBN 7-5025-6378-4

I. 制… II. 袁… III. 制备色谱 IV. 0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 123617 号

色谱技术丛书

制备色谱技术及应用

袁黎明 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 出版发行
化学与应用化学出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<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 13 字数 225 千字

2005 年 3 月第 2 版 2005 年 3 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6378-4/O·83

定 价: 26.00 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

制备色谱是分离科学中最有效的制备性分离技术，是很多研究领域和生产车间必不可少的分离手段。但其技术性强、关键性操作较多，很多需要应用该技术的研究和生产人员并不是专门的色谱工作者，所以在分离过程中常常达不到预期的制备性分离目的。有一本从色谱科学的角度深入浅出地介绍制备色谱及其应用、比较详细地讲解具体的实验操作、技巧和必须注意的关键性技术的著作，是十分必要的。

据作者所知，一些专门从事有机合成的科研工作者往往一年可利用上百根色谱柱进行合成产物的制备性分离，如果目标物容易分离和易于流出，可以利用较短的色谱柱，一天之内可进行大约3次的经典柱色谱操作。有时我们直接进行一个合成反应也许只要几小时，但要从反应混合物中分离出纯的目标物往往要几天甚至数十天。植物化学工作者利用该技术的时间更多，要从非常复杂的植物浸膏中分离制备出一定量纯化合物供化合物的结构鉴定以及药理实验等之用，经典柱色谱、低压柱色谱、中压制备色谱甚至高压制备色谱几乎是必不可少的手段，也许一些植物化学研究工作者有60%以上的实验时间是花在使用制备色谱分离上，因此一个成功的有机化学或植物化学工作者往往具有很多宝贵的制备色谱的技术和经验，有些甚至同时就是一个制备色谱技术的研究者或者专家。

在我国虽然需要应用制备色谱技术的研究人员很多，但专门从事制备色谱研究的科研人员却相对较少，绝大多数的色谱工作者都是色谱分析研究者。由于色谱分析技术是在线性色谱的基础上开展工作的，而制备色谱在大多数情况下是在非线性条件下进行分离，它的进样量大，所需固定相和溶剂量多，两者往往有很大的不同，并且有些制备色谱技术本身只具备制备的特点，因此本书对很多色谱分析工作者也有参考价值。

本书只涉及《色谱技术丛书》中有关制备色谱的内容，要了解系统的色谱理论和知识，读者至少应该阅读本丛书的《色谱分析概论》分册。

本书是在作者科研和教学实践基础上写成的，部分内容得到云南省自然科学基金（No. 2000B0045M、No. 2004B0013R）、国家自然科学基金（No. 29 665 001、No. 30 160 092）以及国家教育部第三届“高校青年教师奖”课题的资助。书中的较多素材直接取材于作者的研究、或者与作者研究密切相关的科技文献及其专著，该书具有很强的可操作性。

作者衷心感谢自己的硕士生导师——云南大学宋文俊教授、博士生导师——北京理工大学傅若农教授、博士后导师——日本名古屋大学 Y. Okamoto 教授，是他们将我带入了“生化分离材料及技术研究”的殿堂，享受着科学创新的乐趣。我还想感谢北京市新技术应用研究所的张天佑教授在高速逆流色谱领域给我的悉心指导，感谢丛书编委会以及责任编辑的辛勤工作。

本书的撰写工作得到湛学先、艾萍、字敏及李正宇等同志的帮助和支持，在此一并表示感谢。

由于作者水平所限，书中错误和不足之处在所难免，敬请专家和读者给予批评指正。

袁黎明

2004 年 9 月 30 日

于昆明

内 容 提 要

本书从色谱科学的角度详细地阐述制备色谱的关键性技术、技巧、重要的实验操作、原理及其应用。内容包括制备色谱的基础知识、制备薄层色谱、经典柱色谱、低压及中压柱色谱、高压制备液相色谱、高速逆流色谱、模拟移动床色谱、顶替色谱、径向柱色谱、并联柱色谱、制备气相色谱、电泳以及与制备色谱技术紧密相关的生物代谢产物的提取技术。

本书具有很强的可操作性，尤其适用于有机合成、植物化学、生物工程、精细化工、药物化学、生命科学以及色谱领域的读者学习、参考。也可供有机化学、分析化学、农业、环境、食品、医学、材料等不同领域的科研人员、研究生、大学生、技术员和实验员学习或者参考。

目 录

第一章 制备色谱基础	1
第一节 非线性色谱的特点	2
一、线性色谱	2
二、非线性色谱	3
第二节 制备分离的目标和策略	5
一、分离目标	5
二、分离策略	6
(一) 分离因子 α	7
(二) 柱效 N	8
(三) 容量因子 k	10
(四) 条件优化	10
参考文献	11
第二章 制备薄层色谱	12
第一节 实验材料与装置	12
一、薄层板	12
二、展开槽	14
第二节 实验方法	15
一、上样	15
二、展开	16
三、检测	18
四、收集	19
第三节 离心薄层色谱	20
参考文献	21
第三章 经典柱色谱	22
第一节 吸附柱色谱	22
一、硅胶吸附柱色谱	22
(一) 操作步骤	22
(二) 硅胶吸附柱色谱的原理与技术	27

二、氧化铝吸附柱色谱	36
三、活性炭吸附柱色谱	38
四、聚酰胺吸附柱色谱	39
第二节 分配柱色谱	41
第三节 萃取柱色谱	43
第四节 离子交换柱色谱	47
一、离子交换色谱树脂	47
(一) 阳离子交换树脂	48
(二) 阴离子交换树脂	48
二、离子交换树脂的选用	49
(一) 种类的选定	49
(二) 树脂离子型式的选择	50
(三) 树脂颗粒、交联度及稳定性选择	50
三、离子交换柱的操作	51
(一) 离子交换树脂的处理	51
(二) 柱的操作	52
(三) 离子交换色谱的应用	54
第五节 凝胶柱色谱	56
一、原理	57
二、操作	60
第六节 亲和柱色谱	62
第七节 干柱色谱	64
参考文献	67
第四章 低压及中压制备色谱	68
第一节 低压制备色谱	68
一、减压柱色谱	69
(一) 短柱	69
(二) 常规柱	70
二、加压柱色谱	71
(一) 空气泵加压	72
(二) 双链球加压	73
(三) 氮气钢瓶加压	74
(四) 蠕动泵加压	75
(五) 快速色谱	75
第二节 中压制备色谱	77

一、恒流泵	78
二、色谱柱	79
三、检测器	81
四、自动馏分收集器和进样阀	81
五、分离	82
参考文献	85
第五章 高压制备液相色谱	86
第一节 制备液相色谱仪	86
一、高压输液泵	87
二、进样器	88
三、色谱柱	88
(一) 制备柱的尺寸	88
(二) 制备柱的类型	89
四、检测器	93
第二节 分离设计	94
一、峰接触法	94
二、峰重叠法	95
(一) 微量组分的分离	96
(二) 难分离物质对的分离	97
第三节 实验条件的选择	98
一、固定相	98
二、流动相	99
三、样品的溶解	101
四、制备性分离	102
第四节 色谱饼	104
第五节 大直径柱	105
参考文献	106
第六章 高速逆流色谱	107
第一节 逆流色谱	107
一、液滴逆流色谱	107
二、旋转小室逆流色谱	108
三、离心逆流色谱	109
(一) 非行星式逆流色谱仪	110
(二) 行星式逆流色谱仪	111
第二节 高速逆流色谱	113

一、色谱仪	114
(一) 恒流泵	114
(二) 进样阀	114
(三) 主机	114
(四) 检测器	115
(五) 记录仪	115
(六) 馏分收集器	115
二、分离原理	115
三、实验操作	119
(一) 两相溶剂系统的选择	119
(二) 样品溶液的制备	122
(三) 分离	122
(四) 检测	128
四、pH-区带-提取逆流色谱	129
(一) 原理	129
(二) 操作	131
五、手性分离	132
参考文献	135
第七章 模拟移动床色谱	137
第一节 模拟移动床色谱系统和基本原理	137
一、移动床色谱	137
二、模拟移动床色谱系统	138
(一) 大型模拟移动床色谱系统	138
(二) 模拟移动床色谱	139
三、模拟移动床色谱原理	142
第二节 模拟移动床工作参数的选择和优化	146
一、手性固定相的选择	146
(一) 多糖类手性固定相	146
(二) Pirkle 型手性固定相	149
(三) 环糊精类手性固定相	152
二、流动相的选择	153
三、分离柱	154
四、控制系统	154
五、操作参数的优化	155
六、模拟移动床的应用	157

参考文献	159
第八章 其他制备色谱方法	160
第一节 顶替色谱	160
一、填料类型	161
二、顶替剂的选择	162
三、操作参数	162
第二节 径向柱色谱	163
第三节 并联多柱色谱	165
第四节 制备气相色谱	167
一、原理	167
二、气固色谱	169
三、气液色谱	169
(一) 载体	169
(二) 固定液	170
四、操作	173
第五节 电泳技术	174
一、纸电泳	174
二、琼脂平板电泳	175
三、聚丙烯酰胺凝胶电泳	176
四、凝胶聚焦电泳	178
参考文献	179
第九章 生物代谢产物的提取	180
第一节 生物大分子的提取	180
一、材料选择及预处理	181
二、细胞的破碎	181
三、细胞器的分离	182
四、蛋白质和酶的提取	182
(一) 水溶液提取	182
(二) 有机溶剂提取	182
五、核酸的提取	183
(一) DNA 的提取	183
(二) RNA 的提取	183
六、包涵体产品的分离	184
第二节 生物工程药物的提取	184
第三节 天然产物的分离提取	185

一、浸渍法	185
(一) 冷浸法	185
(二) 温浸法	185
二、煎煮法	185
三、渗漉法	186
四、回流法	186
五、水蒸气蒸馏法	186
第四节 中草药系统提取分离方法	187
参考文献	188

第一章 制备色谱基础

色谱法在一开始就是以制备色谱出现的，并且在最初的几十年间，色谱也是主要以纯物质的制备为目的。在经历了一个较长的过程后，它在分析上得到了广泛应用，并发展成今天的必不可少的分离分析手段。下面是色谱发展的简明过程。

1903 年，茨维特在华沙自然科学学会生物学会会议上提出了应用吸附原理分离植物色素的新方法，宣读的论文题目为“一种新型吸附现象及其在生化分析上的应用”。三年后，他将这个方法命名为色谱法。

1931 年，Kuhn 与 Lederer 使用色谱法证实了蛋黄内的叶绿素系植物叶黄素与玉米黄质的混合物，使人们认识到色谱技术在分离科学中的重要性。

1937 年，纸电泳开始被应用。

1938 年，Izmailov 和 Shraiber 第一次使用薄层色谱法。

1938 年，Taylor 和 Uray 用离子交换分离锂和钾的同位素。20 世纪 40 年代后，合成离子交换树脂商品出现后，离子交换色谱得到了广泛应用。

1941 年，Martin 和 Synge 创立了分配色谱。他们采用水饱和的硅胶为固定相，以含有乙醇的氯仿为流动相分离乙酰基氨基酸。

1944 年，Martin 等发展了纸色谱。

1952 年，Martin 和 James 发展了气-液分配色谱。

1956 年，Van Deemter 等发表了关于色谱效率的速率理论，并应用到气相色谱。

1957 年，制作了离子交换色谱氨基酸分析仪。

1958 年，Golay 提出了毛细管柱气相色谱。

1959 年，在 Gordon Conference 上发表了第一篇凝胶过滤的报告。

1962 年，Klesper 等人提出了超临界流体色谱。

1963 年，Giddings 的理论工作为现代液相色谱奠定了理论基础。

1966 年，Ito 等提出了逆流色谱。

20 世纪 60 年代中期，凝胶渗透色谱出现。

20 世纪 60 年代后期，亲和色谱出现。

20 世纪 60 年代，美国 UOP 公司开发了模拟移动床色谱。