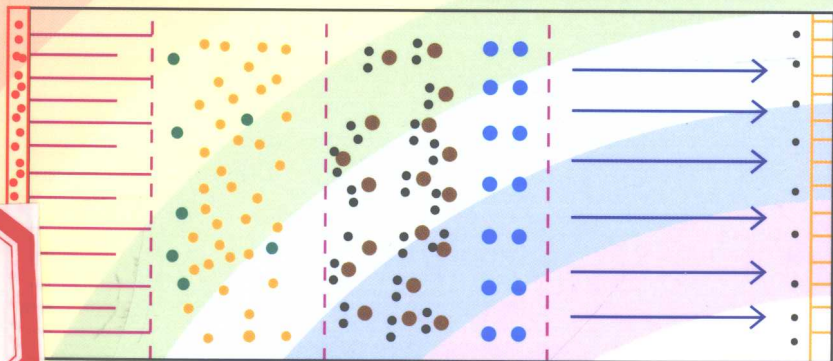


袁倚盛 编著

浅谈色谱

QIANTAN SEPU



化学工业出版社

袁倚盛 编著

0657.7
Y926

浅谈色谱

QIANTAN SEPU

0657.7
Y926



化学工业出版社

· 北京 ·

本书是介绍色谱分离分析方法的科普读本。书中作者从色谱与“色”的关系入手，回答了什么是色谱、色谱的分类、色谱能做什么等问题。语言通俗，可供想了解色谱技术的各类读者学习参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

浅谈色谱/袁倚盛编著. —北京: 化学工业出版社,
2010. 3
ISBN 978-7-122-07696-0

I. 浅… II. 袁… III. 色谱法-基本知识
IV. 0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 017222 号

责任编辑: 任惠敏

文字编辑: 陈 雨

责任校对: 边 涛

装帧设计: 刘丽华

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装: 北京云浩印刷有限责任公司

850mm×1168mm 1/32 印张 7½ 彩插 2 字数 178 千字

2010 年 5 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 25.00 元

版权所有 违者必究

前言

有人问我：“你是搞色谱的，请问‘色谱’是个什么东西？”

我说：“色谱不是东西，是一门科学，是分离、分析世界上万物的尖端技术。”

我们坐下来，他听我娓娓道完，叹息道：“想不到色谱有这么大的作用！你应该用科普的形式写出来，让众人明白色谱是什么？那样你就为普及科学知识做了件好事。”

是呀，我想到了我们色谱工作者济济一堂讨论色谱的时候；我们色谱工作者埋头研究色谱的时候；我们色谱工作者攻坚克难取得科研成果的时候；我们色谱工作者为色谱新技术、色谱新方法、色谱新设备的出现而欢欣鼓舞的时候；我们色谱工作者需要添置色谱设备而苦苦游说上司、打动上司下决心的时候……确实，这些巨细的事情不为众人所知道，不为众人所理解，不为众人所重视。难怪啊！因为许多人不知道色谱是什么。

于是我想写一本介绍色谱的科普读物。

从“一唱雄鸡天下白”到“日出光芒万丈”，世界变得五彩缤纷，婀娜多姿。这一切都是由红、橙、黄、绿、青、蓝、紫七色光组成的太阳光所赐予的。人们可以用棱镜分出太阳光的七种色彩，也可以用不同比例的色彩合成太阳光。

色谱也是太阳七色光所赐予的。古代西方人用汤汁滴在亚麻布上扩展成一圈一圈的不同色带检查食物中的毒素。这就是最原始的色谱。

1903年俄国植物学家茨维特（Tswett）用装碳酸钙的玻璃

柱和石油醚冲洗分离了植物叶绿素中的色素成分。叶绿素的不同色素成分在玻璃柱内的碳酸钙上形成一圈一圈不同颜色的谱带。茨维特称这种方法为色谱法。

经过 100 多年的发展，已经有了多种不同的色谱方法。不单对有色物质，尤其对其它无色气体、液体和固体物质也能有效地分离，而且多以无色物质为主。所以现代色谱不单是“色”的色谱。例如，分离空气中的氮、氧、氢、二氧化碳、一氧化碳、各种有害有毒气体和惰性气体的气相色谱法，何“色”之有？

色谱与多学科的结合显示了超凡的功能，色谱应用各种智能化的辅助设备如虎添翼。色谱对科学技术的发展和中国的强盛还将继续以其独特的功能做出贡献。

在本书中，我试着以图文并茂的形式，形象生动地描述了各种色谱方法分离原理和不同的检测程序。也列举了色谱在各个领域中有趣的应用例子。

当然，一个色谱工作者想写出精彩的科普作品是勉为其难的，也是万万不可能的。我试着用平时积累的工作经验和教训，也斗胆选用了部分著作和文献资料内容揉合一下整理出来。生怕不成功——也罢，姑且试一把。我只希望读完了本书的读者说道：“我明白了，这就是色谱，科学技术的发展还真离不开它呢！”

作者
2009 年 11 月

目录

1 万能的太阳照出了色彩斑斓的世界

- 1.1 太阳光的组成 2
- 1.2 万物的色彩从哪里来? 2

2 色谱之名的由来

- 2.1 古代原始色谱 5
- 2.2 俄国科学家发明色谱法 5
- 2.3 现代色谱发展的历程 6

3 色谱法原理

- 3.1 色谱分离原理 10
- 3.2 现代色谱方法的分类 11
- 3.3 各种色谱方法的原理 13
 - 3.3.1 气相色谱 (GC) 13
 - 3.3.2 液相色谱 (LC) 16
 - 3.3.3 离子交换色谱 18
 - 3.3.4 凝胶色谱 20
 - 3.3.5 薄层色谱 22
 - 3.3.6 纸色谱 23
 - 3.3.7 毛细管电泳 24

3.3.8 毛细管电色谱	29
--------------------	----

4 现代色谱的基本装置

4.1 气相色谱的基本流程	32
4.1.1 推动流动相前进的动力	33
4.1.2 引进样品进入 GC 系统的进样器	33
4.1.3 GC 柱	34
4.1.3.1 填充柱 GC	34
4.1.3.2 毛细管柱 GC	37
4.1.4 GC 的检测器	38
4.1.4.1 热导池检测器	38
4.1.4.2 氢火焰离子化检测器	40
4.1.4.3 电子捕获检测器	43
4.1.4.4 火焰光度检测器	47
4.1.4.5 热离子化检测器	50
4.2 HPLC 的基本流程	52
4.2.1 HPLC 装流动相的储液器	54
4.2.2 HPLC 的输液泵	56
4.2.3 HPLC 的进样器	59
4.2.3.1 外装式六通平面进样阀	61
4.2.3.2 内装式六通平面进样阀	62
4.2.3.3 GC 和 HPLC 的自动进样器	63
4.2.4 HPLC 的色谱柱	65
4.2.4.1 HPLC 柱的填料	65
4.2.4.2 HPLC 柱的结构	73
4.2.4.3 如何填装 HPLC 柱	75
4.2.4.4 与色谱柱相关的几个主要色谱参数	76
4.2.4.5 如何评价色谱柱	87
4.2.4.6 超高效液相色谱	88
4.2.4.7 如何保养和使用 HPLC 柱?	92

4.2.5	HPLC 的流动相	100
4.2.5.1	流动相的组成对分离的影响	103
4.2.5.2	流动相中加改良剂对分离的影响	104
4.2.5.3	流动相的 pH 和缓冲液离子浓度对 分离和色谱保留的影响	106
4.2.5.4	流动相中加离子对试剂改善色谱峰 的分辨率并能调整保留值	108
4.2.5.5	溶解样品的强溶剂与流动相不相 匹配, 出现异常色谱峰	112
4.2.6	HPLC 的检测器	113
4.2.6.1	紫外吸收检测器	117
4.2.6.2	荧光检测器	124
4.2.6.3	示差折光检测器	128
4.2.6.4	电化学检测器	130
4.2.6.5	蒸发光散射检测器	136
4.3	色谱的记录系统和数据处理系统	139

5 色谱检测组分的定量

5.1	外标法定量	143
5.2	内标法定量	144
5.3	实验结果的精密度和准确度	146
5.4	线性范围	147

6 建立有效的色谱方法

7 色谱的辅助技术

7.1	色谱联用技术	153
-----	--------------	-----

7.1.1 GC 联用技术	153
7.1.1.1 GC 与质谱仪 (MS) 的联用	153
7.1.1.2 GC 与傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR) 的联用	158
7.1.2 HPLC-MS (MS) 联用	160
7.1.2.1 电喷雾技术	161
7.1.2.2 大气压化学离子化技术	163
7.1.3 毛细管电泳 (CE)-MS 联用	165
7.2 GC 的程序升温	166
7.3 HPLC 的梯度洗脱	168
7.3.1 低压混合	169
7.3.2 高压混合	169
7.3.3 高低压混合	169
7.4 色谱的反冲技术	174
7.5 色谱的衍生化技术	177
7.5.1 GC 测定的组分衍生化	178
7.5.1.1 硅烷化	178
7.5.1.2 酰化	180
7.5.1.3 酯化	181
7.5.1.4 烷基化	184
7.5.1.5 环化	184
7.5.1.6 肟化	184
7.5.2 HPLC 测定组分的衍生化	185
7.6 色谱样品的预处理	190
7.6.1 液相萃取法	191
7.6.1.1 共沉淀法	191
7.6.1.2 液-液萃取法	193
7.6.2 固相提取法	195
7.6.2.1 固相萃取小柱和洗脱溶剂的选择	199

7.6.2.2	固相微萃取	202
7.6.2.3	固相提取小柱的在线萃取	206
7.6.2.4	固相微萃取在线色谱分析新技术	208
7.6.2.5	聚合物整体柱微萃取	208
7.6.3	免疫亲和法纯化样品	212

8 制备色谱

9 模拟移动床

10 高速逆流色谱

1

万能的太阳照出了色彩斑斓的世界

小时候，半夜起床跟着家人去赶海，脚下赶着东去的潮水，身后刮着湿润润的海风，头顶上深邃而又有点儿蓝莹莹的天空挂着几颗星星，一阵风刮过来，直刮得天上的星星颤抖着，跳动着。生怕星星掉下来灭了，忙问：

“没有星星了怎么走路啊？”

“这是刮晓风。你看，晨星出来了，过会儿太阳就出来了。”大人们安慰我。

太阳，太阳，有了太阳就好办了。

一阵阵晓风迎面扑来，东方天际露出一抹鱼肚白，大地一阵黑暗，远处却传来鸡鸣。黑暗迅速向西方退去，已经看到青沉沉的大海和脚下的路影。一条扁而长的黑色云岛横亘在海的上空，一会儿云岛给镶上一道金边，刹那间云岛又变得如火焰般鲜明，从海底射出白灼灼、亮晶晶的光芒，一个迸发着万道金丝的扁扁的大红球跃出海面。啊！太阳出来了。虽然还有黑暗的地方，但太阳照得我周身通明，照得满世界缤纷（见彩图1）。

这是许多年后读了郭沫若的《太阳礼赞》想起童年时日出的胜景：太阳多么伟大，没有太阳，没有色彩，就没有世界。

1.1 太阳光的组成

白炽透明的太阳光是由波长小于 10nm 到 10^{11}nm 的一组电磁波组成，其中 $400\sim 800\text{nm}$ 波长的光能为人的眼睛所感受，叫做可见光。它由红、橙、黄、绿、青、蓝、紫 7 种单色光组成。用棱镜可以把太阳光折射分成由红到紫的 7 种单色光，而且波长由长到短（见彩图 2 和彩图 3）。

列于可见光两端的非可见光的作用十分强大，与人类的生存也是息息相关的。波长短于紫色光的紫外光、X 光（X 射线）和波长长于红色光的红外光、微波、无线电波，都是人们熟悉的有用电磁波。特别一提的是紫外光和红外光，这两种不可见光用于色谱的检测占有重要的位置。

各种电磁波的波长大致如下所示：

X射线区	紫外-可见光区			红外区		微波区	超短波区	无线电波区		
波长 nm	10	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8	10^9	10^{10} 10^{11}

由棱镜分开的七色光如再经过一个相反放置的三棱镜可使之混合成白光。这就证明了太阳光是由不同色光组成的（见彩图 4 和彩图 5）。

1.2 万物的色彩从哪里来？

有人拍了一张彩色照片登载在报纸上，还写了一行字：“鲜艳的花朵配上艳丽的蝴蝶，在这样晴好的天气里，这些小家伙忙

得不亦乐乎。”“晴好”是在阳光下，在夜晚不能拍出“鲜艳”和“艳丽”的照片来（见彩图 6）。

世上万物对光有吸收和反射性质。某物体把可见光都吸收了，这种物体呈黑色，如蝴蝶翅上的黑色条纹。如果把所有的都反射出来就显白色，如蝴蝶翅上的白色斑点。花朵吸收了橙、黄、绿、青、蓝 5 种单色光，花朵就显剩下的两种单色光的颜色——红色和紫色。叶子吸收了其它 6 种单色光，反射绿色光，叶子显绿色。由于有的物体能反射几种可见光，而且反射的比例会各不相同，于是世界上就出现了绚丽多彩、五光十色的颜色。

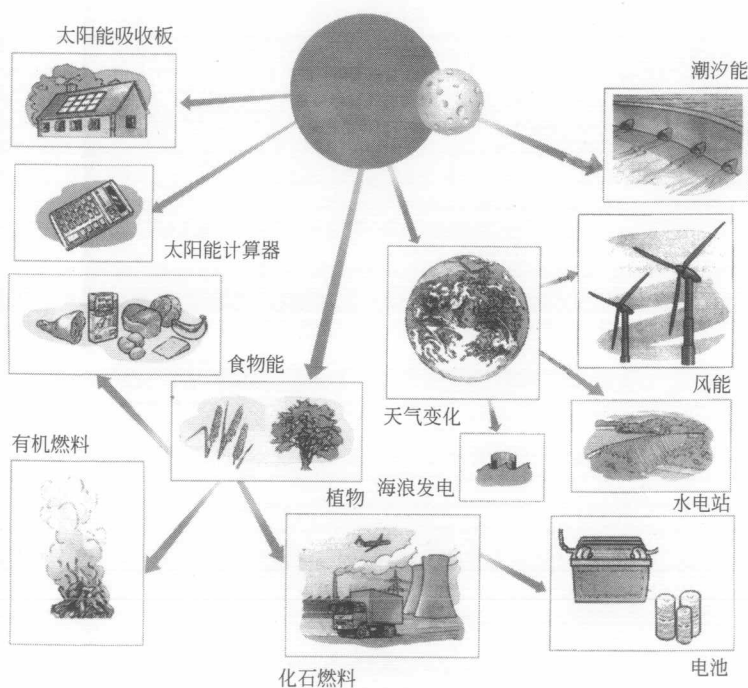


图 1 太阳的作用

如果物体是透明的，物体的颜色就由透过的可见光的颜色决定。

太阳不仅给人类带来光明和温暖，也是人类赖以生存和发展的主要能量来源。太阳的能量造就了大自然风起云涌，电闪雷鸣，江河奔腾，万物生长。使我们的世界变得如此美丽，如此生动，如此丰富，如此精彩（见图1）。



2

色谱之名的由来

2.1 古代原始色谱

中世纪西方人就知道炭能够脱色。我们的祖先用草木灰漂白衣服的方法在农村一直沿用至今。农民也懂得土壤能够滞留住有机质和矿物质肥料。西方贵族把菜肴的汤汁连续滴在亚麻布上向外扩展成了一圈一圈不同颜色的同心圆，以检查食品中的毒素。这些可能是最原始的色谱。

2.2 俄国科学家发明色谱法

1903年俄国植物学家茨维特（Tswett）用石油醚提取植物叶绿素，然后把叶绿素石油醚溶液通过一根装了碳酸钙吸附剂的竖直玻璃管。开始叶绿素被吸附在碳酸钙的顶部。随着纯石油醚不断冲洗玻璃柱，色带逐渐分离成多条颜色不同的色带。原来叶绿素是由好几种不同颜色的色素组成的（见图2）。

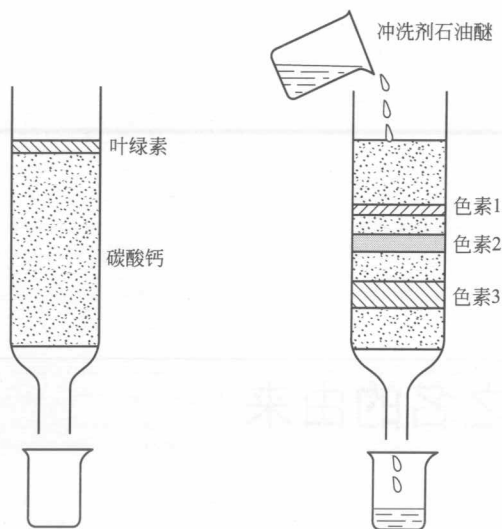


图2 最早的色谱法

茨维特小心地将柱内的碳酸钙挤压出来，按色带分段切割，再用另一种溶剂分别洗脱吸附在碳酸钙上的不同色带，获得了纯的叶绿素中的不同色素，并一一做了鉴定。

这就类似于一束白光通过棱镜色散成单色光的光谱现象。茨维特把这种分离物质的方法称为色谱法（chromatography, chromat——颜色，graphy——画法）。

由于人们认识客观事物的局限性和科学技术状况所致，茨维特发明的色谱法在当时没有受到重视。

2.3 现代色谱发展的历程

茨维特用玻璃管分离叶绿素中的色素有三方面的基本装置。动力部分——利用地心引力使石油醚向下流动，迫使叶绿素的色素也以不同速度向下流动。

分离部分——装了碳酸钙的玻璃管，叶绿素的色素在管中碳酸钙间彼此分离。

检测部分——分开的色素在碳酸钙上显不同颜色，按不同颜色的碳酸钙切割下来放入强溶剂中浸泡、提取、测量、鉴定。

70 多年来，色谱就在这三个部分做了全新的改进和发展。70 多年来，色谱法已经广泛地用于有色、无色物质的分离，用于气体、液体、固体物质的分离。现代色谱不单单是分离“色”的问题，例如分离空气中的氮、氧、氢、二氧化碳、一氧化碳、有害有毒气体和惰性气体的气相色谱法何“色”之有？但它还是叫色谱。

色谱的实际应用始于 1931 年，有人用色谱法分离了类胡萝卜素。此后科学家们发明了各种类型不同分离模式的色谱法：

1935 年发明了离子交换色谱；

1938 年发明了薄层色谱；

1940 年发明了吸附色谱和电泳，发明者获得了诺贝尔化学奖；

1941 年发明了分配色谱并成功地分离了氨基酸，发明者获得了诺贝尔化学奖；

1944 年发明了纸色谱；

1952 年发明了气相色谱；

1957 年发明了毛细管气相色谱；

1959 年发明了凝胶渗透色谱（排阻色谱）；

1967~1969 年发明高效液相色谱。

近几年又发展了属于液相色谱范畴的毛细管电泳，发明者也获得了诺贝尔奖。

色谱法最大的特点在于能将复杂的混合物分离成各相关的组成，然后再检测出来。因此它是组分分析和结构测定的重要手段。

中医、中药是中华瑰宝，数千年久盛不衰。有人说中医、中