

分析仪器使用与维护丛书

高效液相 色谱仪器系统

李彤 张庆合 张维冰 编著



化学工业出版社

化学与应用化学出版中心

分析仪器使用与维护丛书

高效液相色谱仪器系统

李 彤 张庆合 张维冰 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

高效液相色谱仪器系统/李彤, 张庆合, 张维冰编著.
北京: 化学工业出版社, 2004. 8
(分析仪器使用与维护丛书/邓勃主编)
ISBN 7-5025-6095-5

I. 高… II. ①李…②张…③张… III. 液相色谱仪
IV. TH833

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 090036 号

分析仪器使用与维护丛书

高效液相色谱仪器系统

李彤 张庆合 张维冰 编著

责任编辑: 任惠敏

责任校对: 顾淑云 战利红

封面设计: 于剑凝

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

北京云浩印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 14 $\frac{3}{4}$ 字数 265 千字

2005 年 1 月第 1 版 2005 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6095-5/TH·232

定 价: 32.00 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（一）

科学技术发展的历史表明，科学仪器对认识自然界的规律，促进生产技术的进步和革命，起着非常重要的作用。科学仪器水平直接反映了一个国家科学技术和工业发展水平。世界发达国家都将科学仪器作为信息产业源头，列入新兴产业范畴，把发展科学仪器工业作为提高整个社会劳动生产力和社会经济效益的强有力的支柱。所以发展科学仪器对我国科技进步和经济、社会发展具有极为重要的战略意义。

分析仪器是科学仪器的重要组成部分。当前，分析仪器的仪器拥有量增加很快，据统计，2002年分析仪器全球销售额比2000年增长了23%。我国分析仪器进口额，2002年比2000年增长了78%。分析仪器的应用范围也越来越广，特别在营养与食品安全、药物与代谢产物、生态环境、材料科学、石化与油田化学、公共卫生等直接关系到人类生存和发展的各学科和领域的应用，更受到普遍的关注。同时，由于新原理、新技术、新材料和新工艺的广泛采用，分析仪器得到了日新月异的发展。仪器的小型化、微型化、智能化发展十分迅速；为适应过程分析要求，各种实时、非侵入式在线分析仪器得到快速发展，科学仪器也正从通用型转向专用型；各种新技术、新方法的广泛应用，使仪器灵敏度更高、分析速度更快、适用范围更广；仪器可靠性和自动化程度不断提高，仪器的操作更为简便。因此，加强分析仪器知识的继续教育，对分析仪器研究、开发、生产、使用者，乃至一切关心我国分析仪器发展的同志都是一个极为重要的问题。

为此目的，经化学工业出版社提议，中国仪器仪表学会分析仪器学会组织编写了《分析仪器使用与维护丛书》。这套丛书以“简明实用、选材新颖、特色鲜明、通俗易懂”为主导思想，着重介绍分析仪器结构、原理、应用领域，也扼要介绍仪器的使用方法、维护要点、故障处理与校正，力图反映分析仪器领域的基本知识、基本方法以及最新成果。这套丛书由长期从事仪器分析或分析仪器实际工作的专家撰写，其完整性、实用性非常突出，不失为从事和关心仪器分析的人员更好地了解和掌握分析仪器及其使用和维护保养知识的专业参考书。

中国仪器仪表学会分析仪器学会

王顺昌理事长

2004年10月

序 (二)

现代科技和产业的发展,促进了分析测试仪器的迅猛发展和推广应用。当今发展最快的科技领域如生命科学、生物工程、环境科学和生态保护、现代医学和中医药物、纳米科技等领域的基础研究和应用工作,都离不开各种类型的分析测试仪器,分析仪器已成为最基础的设备之一,其对国民经济的重要作用任何其他方法与手段所无法替代的。

分析测试是科技与生产的眼睛,是衡量一个国家经济与科技发展水平的主要标志。随着我国科学技术的飞速发展,分析仪器的应用领域越来越广阔,越来越深入,从事分析仪器使用和管理工作人员也在迅速增多。为了适应这一形势的需要,化学工业出版社与中国仪器仪表学会分析仪器学会组织编写了《分析仪器使用与维护丛书》,以帮助有关科技人员了解和掌握分析仪器的使用和维护保养,提高仪器使用效率与使用寿命。

这套丛书贯穿了“简明实用、选材新颖、特色鲜明、通俗易懂”的主导思想。不仅对于不同分析仪器的基本知识和基本方法扼要介绍,也重点对不同类型、用途分析仪器的使用方法、维护要点、故障处理与校正等作了较为详尽的介绍,为广大分析工作者提供了一套实用、便捷的案头书。

这套丛书的所有执笔者皆为长期从事仪器分析或分析仪器实际工作的专家学者,也有在第一线工作的年轻人。他们欲通过这套丛书把自己的经验与大家分享,因此当作者提出请我为《分析仪器使用与维护丛书》做序时便欣然应允。我真切地希望广大分析工作者可以通过这套书能更好地掌握和利用分析仪器,为各领域科研与生产,为提高国民经济总体目标服务。

张永庆 2004.10.29

前 言

随着科学技术的发展，液相色谱作为最强的分离分析手段之一，无论从理论、实践及仪器系统等诸多方面都得到了较大的发展。尤其是随着近年来液相色谱在环境、生命科学等领域的应用范围进一步拓宽，也推动了液相色谱技术的发展。在国家“九五”、“十五”攻关项目的支持下，由张玉奎院士主持，联合国内10余家研究单位、大专院校和生产企业对液相色谱不同组件的关键技术进行联合攻关，经过近10年的努力，使国产液相色谱仪器的生产技术和功能都有了很大的改进。

国外大多数关于高效液相色谱仪器类的图书皆由各大仪器生产厂商组织编写，通常为小册子的形式，主要介绍本公司的产品，有类似广告之嫌，侧重于仪器的具体结构和功能原理。国内目前尚没有一本全面介绍高效液相色谱仪器的专著。

根据我国液相色谱仪器品牌较多、档次不一的特点，本书在介绍液相色谱仪器基本原理的基础上，系统介绍液相色谱仪器的构造和功能，试图较全面地反映液相色谱仪器的近期发展和最新成果，在满足读者了解某些具体问题梗概的前提下，对液相色谱仪器系统的结构和功能提供最新的引导。以使读者根据自己的仪器特点，维护和保养仪器，也有利于更好地利用仪器的功能，使仪器的功能得到充分的发挥，发展完备的分析方法。

在编写过程中，得到了大连化学物理研究所、大连依利特分析仪器有限公司的关心和支持。洪群发博士、杨长龙博士、陶红女士参加了本书的部分编写工作。感谢杨芑原教授、关亚风教授、汪若梅女士的支持及提供有益的指导和帮助。感谢“十五”攻关项目组同仁的协助。感谢大连市政府为本书出版提供的资助。

由于作者水平有限，加之时间较为仓促，书中错误和不当之处难免，恳请诸位同仁谅解，并给予指正。

作者

2004年夏

内 容 提 要

本书全面介绍了高效液相色谱仪器系统中各组件的基本原理、构造和功能，对不同类型仪器的结构和特点作了较详细的阐述，同时对高效液相色谱仪器各组件的常见问题和解决方法也作了较详细的介绍。全书共分为：高效液相色谱仪器的构造与功能；液相色谱柱系统；输液系统；检测系统；液相色谱附件、连接系统及数据处理系统六部分。

书中突出反映了液相色谱仪器系统近年来所取得的成就，内容丰富，资料翔实，可作为仪器开发人员的案头书，也可供一般色谱工作者、大专院校教师和学生参考。

目 录

第 1 章 高效液相色谱仪器的构造与功能	1
1.1 高效液相色谱仪器的发展	1
1.1.1 液相色谱发展简史	1
1.1.2 高效液相色谱仪器发展现状	3
1.2 高效液相色谱分离原理与分类	7
1.2.1 分离原理	7
1.2.2 分类	8
1.3 高效液相色谱仪器构造	9
1.4 微柱液相色谱装置	12
1.4.1 泵系统	12
1.4.2 检测系统	13
1.4.3 进样系统	14
1.4.4 柱系统	14
1.4.5 展望	16
1.5 二维液相色谱仪器及切换技术	16
1.5.1 二维液相色谱原理	17
1.5.2 二维液相色谱切换技术	18
1.5.2.1 捕集柱切换技术	19
1.5.2.2 样品环储存切换技术	19
1.5.2.3 平行柱交替分析切换技术	20
1.5.2.4 切换辅助技术	21
参考文献	23
第 2 章 高效液相色谱输液系统	26
2.1 概述	26
2.2 高压输液泵的基本要求	26
2.3 高效液相色谱输液泵的种类与原理	28
2.3.1 气动放大泵	28

2.3.1.1	气动部分	30
2.3.1.2	液流部分	30
2.3.2	螺旋注射泵	32
2.3.3	往复式柱塞泵	33
2.3.4	隔膜泵	34
2.4	双柱塞和三柱塞往复式柱塞泵	36
2.4.1	并联式双柱塞泵	36
2.4.2	串联式双柱塞泵	37
2.4.3	并联式三头泵	38
2.4.4	流动相的脉动	39
2.4.4.1	降低单冲程排液体积	39
2.4.4.2	凸轮曲线设计	40
2.4.4.3	驱动方式改进	40
2.4.5	脉动阻尼器	41
2.4.6	泵头组件	43
2.5	梯度洗脱装置	46
2.5.1	高压梯度装置	46
2.5.2	低压梯度装置	47
2.5.3	梯度混合器	48
2.5.4	梯度滞后体积	49
2.6	高效液相色谱输液系统性能评价	51
2.6.1	流量准确性和流量稳定性	51
2.6.2	压力准确性	52
2.6.3	系统密封性	52
2.6.4	梯度准确性测试	52
2.6.5	分析结果重复性	53
2.6.6	流动相压缩系数的测量	54
2.7	液相色谱输液系统常见问题及处理方法	55
	参考文献	58

第3章 高效液相色谱检测器 59

3.1	紫外检测器	59
3.1.1	工作原理	59
3.1.2	仪器结构	61
3.1.2.1	固定波长 UV	62

3.1.2.2	可变波长 UV	63
3.1.3	仪器组件	63
3.1.3.1	光源	63
3.1.3.2	分光系统	64
3.1.3.3	光电转换组件	64
3.1.3.4	检测池	65
3.1.4	UV230 型紫外检测器简介	66
3.2	二极管阵列检测器	68
3.2.1	二极管阵列检测器的发展	68
3.2.2	DAD 230 二极管阵列检测器简介	70
3.2.2.1	硬件系统	70
3.2.2.2	软件系统	73
3.3	荧光检测器	75
3.3.1	工作原理	76
3.3.2	仪器结构	76
3.3.2.1	光源	76
3.3.2.2	单色器	77
3.3.2.3	检测池	78
3.3.2.4	光电转换系统	79
3.3.3	常见的 FLD 结构	79
3.4	激光诱导荧光检测器	80
3.4.1	LIFD 组件	81
3.4.1.1	激光器	81
3.4.1.2	光学透镜	82
3.4.1.3	单色仪	82
3.4.1.4	光电转换系统	82
3.4.2	光学结构	83
3.4.3	检测池结构	84
3.4.4	发光二极管 (LED) 为激发光源的模块化微型 LIFD 设计	84
3.4.4.1	模块化微型 LIFD 的特点	85
3.4.4.2	共聚焦 LIFD-HPLC 系统专用型检测池	85
3.4.4.3	激发光源	85
3.5	示差折光检测器	85
3.5.1	仪器原理及特点	86
3.5.2	仪器结构	87

3.5.2.1	折射式-偏转式 RID	87
3.5.2.2	反射式 RID	87
3.5.2.3	干涉式 RID	89
3.5.2.4	克里斯琴效应 RID	89
3.6	蒸发光散射检测器	90
3.6.1	工作原理和仪器结构	90
3.6.2	ELSD 的特点	92
3.6.3	影响 ELSD 检测性能的基本因素	93
3.6.3.1	漂移管温度	93
3.6.3.2	流动相组成	93
3.6.3.3	流动相流速	93
3.6.3.4	载气流速	93
3.6.4	几种商品化 ELSD 简介	93
3.7	质谱检测器	95
3.7.1	液-质联用接口技术	95
3.7.1.1	大气压化学电离 (APCI)	96
3.7.1.2	基体辅助激光解吸电离 (MALDI)	97
3.7.1.3	电喷雾电离 (ESI)	97
3.7.2	电喷雾离子源-垂直引入反射式飞行时间质谱仪简介	99
3.8	电化学检测器	101
3.8.1	安培检测器	102
3.8.1.1	工作原理	102
3.8.1.2	仪器结构	102
3.8.1.3	特点	104
3.8.2	电导检测器	104
3.8.2.1	工作原理	104
3.8.2.2	仪器结构	105
3.8.2.3	特点	106
3.8.3	其他电化学检测器	106
3.8.3.1	库仑检测器	106
3.8.3.2	极谱检测器	106
3.8.4	示例	106
3.8.4.1	Coulochem III 电化学检测器	106
3.8.4.2	CoulArray Detector 库仑阵列电化学检测器	107
3.9	其他类型液相色谱检测器	108

3.9.1	化学发光检测器	108
3.9.2	手性检测器	109
3.9.3	火焰光度检测器	110
3.9.4	其他检测器	110
	参考文献	111
第4章	高效液相色谱柱	113
4.1	色谱柱的结构与特征	113
4.1.1	色谱柱的类型	114
4.1.2	一般色谱柱的结构	114
4.1.3	一般制备柱结构	116
4.1.4	液相色谱锥形柱与锥尾柱	117
4.1.4.1	锥形柱	117
4.1.4.2	锥尾柱	118
4.1.5	径向色谱柱	118
4.2	色谱柱填料与固定相	119
4.2.1	柱填料特性	119
4.2.2	硅胶微粒	122
4.2.3	多孔聚合物	123
4.2.4	其他无机填料	125
4.2.5	键合硅胶	126
4.2.6	新型 HPLC 固定相	128
4.2.6.1	高稳定性化学键合硅胶固定相	129
4.2.6.2	有机-无机杂化基质固定相	130
4.2.6.3	包埋极性基团键合固定相	130
4.2.6.4	全氟烷基键合固定相	132
4.2.6.5	氧化铝基质 HPLC 固定相	132
4.2.6.6	HPLC 整体柱	133
4.3	色谱柱的装填、性能指标	134
4.3.1	色谱柱性能指标	134
4.3.1.1	理论塔板数	134
4.3.1.2	不对称与拖尾峰	136
4.3.2	保留值的重现性	136
4.3.3	压力降	136
4.3.4	色谱柱寿命	137

4.3.5	反相色谱柱性能评价	138
4.4	色谱柱常见问题分析	141
4.4.1	键合固定相的稳定性	141
4.4.2	色谱柱寿命	143
4.4.2.1	色谱柱滤板问题	144
4.4.2.2	强保留的样品组分	144
4.4.2.3	填充不良的色谱柱	145
4.4.2.4	压力影响	145
4.4.2.5	化学影响	145
4.4.3	保留值与选择性变化的原因	145
4.4.4	保留值与分离度重现性不好	146
4.4.5	谱峰拖尾	147
4.5	色谱柱的再生	148
4.5.1	正相填料	148
4.5.2	反相填料	149
4.5.3	离子交换填料	149
4.5.4	蛋白质凝胶过滤填料	149
4.5.5	多孔石墨化炭	149
4.5.5.1	酸碱再生	149
4.5.5.2	将色谱柱倒装	149
4.5.5.3	将色谱柱改为正向	149
4.5.6	带金属抗衡离子的聚合物填料	150
	参考文献	151
第5章 高效液相色谱仪配件		153
5.1	管路与连接件	153
5.1.1	管路	153
5.1.1.1	不同材质管路的性质与用途	153
5.1.1.2	柱外效应的控制	154
5.1.1.3	管路的常见故障及预防	155
5.1.2	连接件	155
5.1.2.1	低压接头	156
5.1.2.2	高压接头	156
5.1.2.3	通用连接件	157
5.2	进样阀	158

5.2.1	手动注射进样器	159
5.2.2	手动进样阀	160
5.2.3	进样阀故障及排除方法	161
5.2.3.1	噪声和漂移	162
5.2.3.2	怪峰或鬼峰	162
5.2.3.3	进样阀对分析结果准确度和精密度的影响	163
5.2.3.4	进样阀的冲洗	163
5.2.3.5	液相色谱系统的压力变化	164
5.2.3.6	泄漏	165
5.2.3.7	进样阀堵塞	165
5.3	自动进样器	166
5.3.1	给样模式及操作程序	166
5.3.2	自动进样器的设计思路	168
5.3.2.1	进样阀	168
5.3.2.2	全部、部分充满进样环进样	168
5.3.2.3	拉式自动进样器	169
5.3.2.4	推式自动进样器	170
5.3.2.5	集成进样环自动进样器	170
5.3.3	常见问题和解决办法	171
5.3.3.1	滞后体积	171
5.3.3.2	样品瓶过满	172
5.3.3.3	进针深度的调节	172
5.3.3.4	针位置的调整	172
5.3.3.5	堵针	172
5.3.3.6	样品滞留	172
5.3.3.7	样品浓度改变	173
5.3.3.8	清洗溶剂	173
5.3.3.9	旁路问题	173
5.4	其他配件	174
5.4.1	背压调节器	174
5.4.2	在线式过滤器	174
5.4.3	色谱柱恒温箱	175
5.4.4	储液瓶	176
5.4.5	脱气及脱气装置	176
5.4.6	注射器	178

5.4.7	馏分收集器	178
5.4.8	高压梯度混合器	179
5.4.9	保护柱	179
	参考文献	182
第6章 高效液相色谱数据处理系统		183
6.1	色谱数据处理系统及其功能	183
6.1.1	色谱数据处理方法的发展	183
6.1.2	液相色谱数据处理系统硬件设计	183
6.1.2.1	色谱信号采集接口	184
6.1.2.2	泵控接口	185
6.1.3	液相色谱数据处理系统软件	185
6.1.3.1	系统设置	185
6.1.3.2	仪器控制	186
6.1.3.3	色谱数据采集	186
6.1.3.4	色谱数据处理	186
6.1.3.5	与其他软件系统的接口	187
6.1.3.6	其他功能	188
6.1.4	ECHROM 2000 软件简介	189
6.1.4.1	工作原理	189
6.1.4.2	性能指标	189
6.1.4.3	工作站特点	190
6.2	凝胶色谱数据处理系统	190
6.2.1	凝胶色谱数据系统的基本功能和特点	191
6.2.2	凝胶色谱的校正曲线	191
6.2.2.1	单分散(窄分布)标样标定法	192
6.2.2.2	宽分布标样标定法	192
6.2.2.3	普适标定法	192
6.2.3	分子量校正曲线	193
6.2.4	凝胶色谱分析方法的选择	194
6.3	计算机辅助液相色谱方法的发展	194
6.3.1	流动相体系优化条件搜寻方法	194
6.3.1.1	重叠分辨率图法	195
6.3.1.2	响应值界面绘图法	195
6.3.1.3	窗口图形法	195

6.3.1.4	移动重叠分辨率图法	196
6.3.1.5	均匀-重复设计优化策略	196
6.3.1.6	智能梯度优化策略 (IMGOS)	196
6.3.2	基于色谱分离条件优化的液相色谱方法建立的软件	197
6.3.2.1	DryLab 软件	197
6.3.2.2	ICOS (Hewlett-Packard) 和 DIAMOND (ATI) 软件 ...	197
6.3.3	基于分子结构-保留值规律的液相色谱方法建立的软件	198
6.3.3.1	ELUEX	198
6.3.3.2	CHROMDREAM	198
6.3.3.3	特殊目的的程序	198
6.3.4	液相色谱专家系统	199
6.3.5	计算机辅助方法建立存在的问题	200
6.4	实验室信息管理系统	200
6.4.1	实验室信息管理系统的发展	200
6.4.2	Atlas 色谱数据系统 (CDS)	202
6.4.2.1	准备样品序列	202
6.4.2.2	仪器联结与设置	202
6.4.2.3	数据采集	202
6.4.2.4	数据处理	203
6.4.2.5	光谱数据处理	203
6.4.2.6	结果报告	203
6.4.2.7	归档和回溯	203
6.4.3	Atlas 2D 和 DataServer 技术	204
	参考文献	205
附录	206
I.	依利特公司色谱柱与美国药典色谱柱的对照表	206
II.	常见商品 HPLC 固定相的分类	212
III.	色谱固定相分类	215

第 1 章 高效液相色谱仪器的构造与功能

高效液相色谱 (HPLC) 是一种高效的分离和分析技术, 它能够将各种样品中各个不同的组分迅速分离, 然后逐一加以定性和定量分析。半个世纪以来, 随着科学技术的发展, 液相色谱仪器方法也得到了长足的发展, 目前已成为影响最大、发展最快、应用最广泛的现代分析方法之一, 广泛用于石油化工、有机合成、生理生化、医药卫生, 乃至空间探索等几乎所有应用科学领域, 也渗入到催化机理、吸附动力学、化学反应动力学、溶液理论研究等基础理论研究方面, 用于揭示物理化学领域内的某些基本现象和规律的微小差异, 成为多组分混合物分离分析的最重要研究手段, 成为人们认识客观世界必不可少的工具。本章我们对液相色谱法的历史、仪器原理、构造及相关分离模式的分类方法作一概述。

1.1 高效液相色谱仪器的发展

1.1.1 液相色谱发展简史

现代色谱法从发明到现在已有近百年的历史。实际上, 早在古代罗马时期, 人们已知道将一滴含有混合色素的溶液滴在一块布或一片纸上, 并通过观察溶液展开产生的一个个同心圆环来分析染料与色素。19 世纪中叶, 德国化学家 Runge 对古罗马人的这种方法作了重要的改进, 使其具有更好的重现性与定量能力, 使盐溶液在纸上分离; Goppalsroeder 也在长条纸上分离了染料和动植物色素。这些研究标志着纸色谱法的建立, 并发展成为今天的纸上色谱技术。

20 世纪初, 俄国植物学家 Tsweet^[1~3] 在 1903 年的华沙自然科学学会生物学会会议上发表了题为“一种新型吸附现象及其在生化分析上的应用”的论文中提出了应用吸附原理分离植物色素的新方法, 并首先认识到这种层析现象在分离分析方面有重大价值。他将碳酸钙装入竖直的玻璃柱中, 从顶端倒入植物色素的石油醚浸取液, 进一步采用溶剂冲洗, 使溶质在柱的不同部位形成色带, 第一次向人们公开展示了采用色谱法提纯的植物色素溶液以及色谱图——显示着彩色环带的柱管, 从而建立了液-液分配色谱法, 也建立了色谱法作为一门分离技术的基本框架。Tsweet 将这种方法命名为色谱, 管内填充物称为固定相 (stationary phase), 冲洗剂称为流动相 (mobile phase)。