

YIQI FENXI
JIANMING JIAOCHENG

仪器分析简明教程

丁杰 主编
黄靖 副主编



西南交通大学出版社

仪器分析简明教程

丁 杰 主 编

黄 靖 副主编

仪器分析简明教程

丁 杰 主 编

第一章 绪论
第一节 仪器分析的发展概况
第二节 仪器分析的任务
第三节 仪器分析的特点
第四节 仪器分析的应用
第五节 仪器分析的发展前景
第二章 定性分析
第一节 定性分析的任务
第二节 定性分析的方法
第三节 定性分析的步骤
第四节 定性分析的结果
第三章 定量分析
第一节 定量分析的任务
第二节 定量分析的方法
第三节 定量分析的步骤
第四节 定量分析的结果

第四章 光谱分析
第一节 光谱分析的任务
第二节 光谱分析的方法
第三节 光谱分析的步骤
第四节 光谱分析的结果
第五章 色谱分析
第一节 色谱分析的任务
第二节 色谱分析的方法
第三节 色谱分析的步骤
第四节 色谱分析的结果
第六章 质谱分析
第一节 质谱分析的任务
第二节 质谱分析的方法
第三节 质谱分析的步骤
第四节 质谱分析的结果
第七章 其他仪器分析
第一节 其他仪器分析的任务
第二节 其他仪器分析的方法
第三节 其他仪器分析的步骤
第四节 其他仪器分析的结果

西南交通大学出版社

· 成 都 ·

图书在版编目 (C I P) 数据

仪器分析简明教程 / 丁杰主编. —成都: 西南交通大学出版社, 2014.10
ISBN 978-7-5643-3494-9

I. ①仪… II. ①丁… III. ①仪器分析—高等学校—教材 IV. ①O657

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 240499 号

仪器分析简明教程

丁 杰 主编

责任编辑	牛 君
封面设计	米迦设计工作室
出版发行	西南交通大学出版社 (四川省成都市金牛区交大路 146 号)
发行部电话	028-87600564 028-87600533
邮政编码	610031
网 址	http://www.xnjdcbs.com
印 刷	成都勤德印务有限公司
成品尺寸	185 mm × 260 mm
印 张	15.25
字 数	381 千字
版 次	2014 年 10 月第 1 版
印 次	2014 年 10 月第 1 次
书 号	ISBN 978-7-5643-3494-9
定 价	29.50 元

课件咨询电话: 028-87600533

图书如有印装质量问题 本社负责退换
版权所有 盗版必究 举报电话: 028-87600562

前言

近年来,以高新技术为依托的医药行业发展迅猛,相关专业(制药工程、生物制药等)的办学规模发展较快。培养适应新世纪医药企业发展需要的高素质人才,是当前工程教育面临的重要课题。以“强实践,重创新,知识、素质、能力协调发展”为培养原则,以培养学生的实践、创新能力为目标,探索培养模式的多样化,满足培养医药行业应用型创新人才的需要。

“药物仪器分析”课程是制药工程等专业重要的专业基础课。国内相关仪器分析教材内容偏多,多在50万字以上,篇幅过大,闲置内容多,对总学时数30左右,且学生基础相对较差的地方普通理工类高校制药工程专业,针对性不强,既造成教师难教、学生难学的局面,又使学生的经济负担过重。为此,针对工科院校开设的少学时仪器分析课程,编写一部内容起点适当、结构紧凑、定位准确、针对性强的仪器分析教材对该课程教学质量的提高、学生自学能力和创新意识的培养是相当重要的,《仪器分析简明教程》正是在这样的背景条件下编写而成的。现代仪器分析方法的范围相当广泛,本教材编写中努力做到:

(1) 突出实际应用。强调联系实际,突出应用,开阔学生视野,使学生的学习更主动,激发学生的求知欲望。

(2) 注重能力和思维方法的培养。注意介绍知识的过程中有意识地强化对科学思维和创新能力的培养。例如,既讲“是什么”,也讲“为什么”和“怎么做”,使学生“会”提问,“会”思维,“会”解决,启发学生,增强其创新意识。

(3) 充实和强化课前预习和课后训练。在每章(节)前编写较多的思考题,通过对这些问题的分析或讨论,让学生在课堂教学前对有关内容做到心中有数,提高其学习的主动性;同时减少一些简单的模仿性习题,增加一些联系实际、涉及面广、综合性强的题目,以引导学生举一反三;通过阅读参考书、查阅文献资料,深入探讨遇到的问题,从而提高学生解决问题的能力。

本教材由丁杰主编,负责全书的策划、编排、审订及最后的统稿工作,黄靖任副主编。全书共八章,第一至四章由丁杰编写;第五、六章由张英编写;第七、八章由黄靖编写。

本书在编写过程中,参考了国内外出版的一些优秀教材和专著,引用了其中某些数据和图表,在此向有关作者表示衷心的感谢。

本教材根据总学时 30~45 学时教学计划编写，加*号的部分为选讲内容，可根据需要灵活选择。本书可作为制药工程、生物制药、药学、化学、化工、生物工程、材料等专业及其他相关专业的教材或参考书，也可供社会读者阅读。

限于作者的学识和水平，书中错漏不妥之处在所难免，敬请广大师生在使用过程中提出批评指正。

编者

2014 年 7 月

目 录

第一章 绪 论	1
第二章 色谱分析法	7
第一节 色谱法概述及理论基础	8
第二节 色谱定性和定量方法	21
第三节 气相色谱法	26
第四节 气相色谱条件确定及其在药物分析中的应用	36
第五节 高效液相色谱法	39
第六节 液相色谱条件确定及其在药物分析中的应用	51
习 题	54
第三章 紫外吸收光谱法	57
第一节 光谱分析导论	58
第二节 分子吸收光谱	59
第三节 紫外吸收光谱法原理	62
第四节 紫外分光光度计	68
第五节 紫外吸收光谱的应用	71
习 题	78
第四章 红外吸收光谱法	81
第一节 概 述	82
第二节 红外光谱分析的基本原理	84
第三节 红外光谱解析	92
第四节 红外光谱仪及实验技术	94
第五节 红外光谱法的应用	99
习 题	100
第五章 原子吸收光谱法	102
第一节 基本原理	103
第二节 仪器及实验技术	107
第三节 原子吸收分光光度法在药物分析中的应用	123
习 题	126
第六章 电位分析法	129
第一节 电化学分析法概述	129

第二节 电位法	130
第三节 电位法在药物分析中的应用	145
习 题	152
第七章 核磁共振波谱法	153
第一节 核磁共振的基本原理	154
第二节 核磁共振波谱仪	159
第三节 化学位移和核磁共振谱	162
第四节 自旋偶合和自旋裂分	170
第五节 核磁共振试样的制备和一级谱图的解析	177
第六节 高级谱图的简化方法	181
第七节 ^{13}C -NMR 及其他核磁共振谱	183
习 题	188
第八章 质谱法	193
第一节 质谱概述	194
第二节 质谱仪及其工作原理	195
第三节 离子的类型	202
第四节 裂解过程和方式	208
第五节 相对分子质量和分子式的确定	212
第六节 常见有机化合物的质谱	216
第七节 应用实例	229
习 题	234
参考文献	237

第一章 绪 论

【教学要求】

- (1) 了解仪器分析概况、特点及发展趋势。
- (2) 了解仪器性能的主要指标及应用。
- (3) 明确本课程性质、目的和学习要求。

【思 考】

- (1) 学习仪器分析有何重要性？
- (2) 仪器分析法有何特点？它的测定对象与化学分析方法有何不同？
- (3) 仪器分析主要有哪些分析方法？请用图或表的方式进行归纳。

一、仪器分析概况

分析化学是研究获得物质化学组成、结构信息、组分含量的分析方法及相关理论的一门学科，它是生命科学、环境科学、能源科学、材料科学和宇宙探测获取信息的重要手段。根据分析所依据的信息，可分为化学分析和仪器分析两类。

1. 化学分析

化学分析是以化学反应为基础建立的分析方法，利用化学反应及其计量关系来进行定性和定量分析，如“滴定”分析法和“重量”分析法。化学分析是分析化学的基础。

2. 仪器分析

仪器分析是基于物质的物理或物理化学性质建立的分析方法，通常是测量光、电、磁、热等物理量来得到分析结果。而测量这些物理量，一般要使用比较特殊的仪器，故称为“仪器分析”。仪器分析除了可用于定性和定量分析外，还可用于结构、状态、表面分析、微区和薄层分析等，是分析化学发展的方向。

化学分析是基础，试样的处理（分离、富集及干扰的掩蔽等）涉及化学分析；建立仪器分析测定方法过程中，要把分析结果与已知的标准法进行比较，而标准则常以化学分析法测定。随着科学技术的发展，化学分析方法也在逐步实现仪器化和自动化（如自动滴定）。

二、仪器分析分类

仪器分析包括的分析方法很多，每一种分析方法所依据的原理不同，所测量的物理量不

同，操作过程及应用情况也不同。但某些方法具有共性（测量的信号相同等），仪器分析方法可分为若干类（表 1-1）。

表 1-1 仪器分析方法的分类

分类	被测对象性质	分析方法
光学分析法	辐射的发射	原子发射光谱、荧光光谱法等
	辐射的吸收	原子吸收、核磁共振、紫外、可见、红外分光光度法等
	辐射的折射	折射法、干涉法
	辐射的散射	拉曼光谱
	辐射的衍射	X 射线衍射、电子衍射等
电化学分析法	电位	电位分析法
	电导	电导分析法
	电流-电压	伏安法、极谱分析法
	电量	库仑分析法
色谱分析法	两相间分配	气相、液相、离子色谱法等
其他		质谱法、热重法、差热分析法等

1. 光学分析法

基于物质与电磁辐射相互作用（吸收、发射、散射、反射、折射、衍射、干涉和偏振等）而建立起来的分析方法，测量信号都是电磁辐射，通称为光学分析。基于光的吸收、发射、散射等作用，通过测量光谱的波长或强度进行分析，称为光谱法；按光信号谱区的不同，有紫外、可见、红外、X 射线、核磁共振等分析；根据光与物质相互作用方式，可分为吸收、发射、散射、衍射分析等。

2. 电化学分析

基于物质的电学或电化学性质而建立起来的分析方法，测量的物理量是电信号。

3. 色谱分析方法

基于物质在两相（流动相和固定相）的分配比 k 不同，当两相做相对运动时，由于各组分 k 存在差异，当它们随流动相流动时，流动速度不同，经过一段时间后达到分离，如纸色谱和薄层色谱。

4. 其他分析方法

如质谱法、热分析法等。

三、仪器性能主要指标及仪器分析的特点

在实际分析中，仪器性能指标对正确选用仪器是非常重要的。

（一）仪器性能主要指标

分析仪器种类多，检测原理不同，很难有完全统一的性能指标体系，本书仅进行一般性

描述。

分析仪器的主要性能指标包括灵敏度、噪音、检出限、线性范围、精度以及响应时间等，除响应时间是动态性能指标外，其余的都是静态性能指标。

1. 灵敏度 S

灵敏度指待测物质单位浓度的变化所引起的响应量（信号）变化的程度，它反映了仪器识别微小浓度或含量变化的能力。由于检测原理不同，灵敏度的表示方式也有所不同。

$$S = \frac{dx}{dc}$$

仪器分析通常测定的是微量、痕量组分，故要求仪器具有高灵敏度。

2. 信噪比 S/N

信号即仪器对被测物质的响应，理想的情况是仪器仅对待测组分有响应，但由于仪器本身的不足及干扰的存在，无待测组分时仪器也可能有响应，称为噪声，噪声增加了信号的不确定性。没有样品产生的信号，称为本底信号（仪器响应）；当样品中无待测组分时仪器所产生的信号称为空白信号（仪器和干扰响应）。通常用仪器输出信号与仪器噪声的比值来衡量仪器的性能好坏，称信噪比。仪器的信噪比越高表明它产生的干扰越少。

影响噪声的因素是多方面的，有外界干扰组分的贡献，有仪器本身元件材料和仪器的灵敏度大小的影响。在外界干扰相同时，提高仪器的灵敏度，往往噪音也会成比例增加，因此在调试仪器时，要兼顾这两方面的影响因素。

3. 最小检测量 LOD

最小检测量又称为检测限、检出限，指能被仪器检出的最小待测组分含量。检出限以浓度（或质量）表示，是指由特定的分析方法能够合理地检测出的最小分析信号对应的最低浓度或质量。

最小检测量这个指标在药物分析中很重要，是一种限度检验效能指标。在分析药物活性组分含量时，其含量往往是很低的，有时可达 $10^{-9} \sim 10^{-12} \text{ g}$ ，要求所用的分析仪器能测出其含量，即其最小检测量要足够小。

一般以信噪比 $S/N=3$ （或 2）时的相应浓度或注入仪器的量确定 LOD 值。

4. 线性范围

线性是在给定范围内获取与样品中待测组分浓度呈正比关系的程度，就是待测组分浓度的变化与试验结果（或测得的响应信号）呈线性关系。线性范围是指输入与输出呈线性关系输入量的范围，就是精密度、准确度均符合要求的试验结果，呈线性的待测组分浓度变化范围，其最大量与最小量之间的间隔，可用 $\text{mg/L} \sim \text{mg/L}$ 、 $\mu\text{g/mL} \sim \mu\text{g/mL}$ 等表示。线性范围的确定可用统计学方法，计算回归方程来研究建立。

准确配制一系列待测组分标准浓度（应包括一定梯度的 5~8 个浓度）的溶液，以测得的响应值作为被测物浓度的函数作图，观察是否呈线性，再用最小二乘法进行线性回归。对于含量测定，一般要求浓度上限为样品最高浓度的 120%，下限为样品最低浓度的 80%，相关系数 $r > 0.9900$

在实际应用中，线性范围至少有 2 个数量级，某些方法的应用浓度可达 5~6 个数量级。

5. 响应时间

响应时间指在样品含量发生变化以后输出信号随着发生变化的快慢程度。样品的浓度突然发生变化,仪器的指示就按反应曲线变化,反应最快,即响应时间最短。

6. 精密度

精密度指在规定的测试条件下,同一个均匀供试品,用该仪器多次测定所得结果之间接近的程度。它反映了仪器的稳定性,外界环境波动对仪器本身的影响程度。

(二) 仪器分析的特点

1. 优点

(1) 灵敏度高,比化学分析法高得多。如原子吸收可达 10^{-9} (火焰法) 和 10^{-12} (石墨炉法),因此,特别适用于微量及痕量成分的分析,这对于超纯物质的分析、环境监测以及生命科学研究具有重要意义。如电子工业中用的半导体材料单晶硅,要求 $w(\text{Si}) > 99.999\ 999\%$,而在剩余的 $0.000\ 001\%$ 的杂质中要求要检测出 20 余种杂质元素的含量。这样高的要求,化学分析法根本无法实现,只能借助于仪器分析方法实现。

(2) 易于实现自动化,操作简便。被测组分的浓度变化或物理性质变化能转变成某种电学参数(如电阻、电导、电位、电流等),易于连接计算机,实现自动化。计算机技术的普及和应用,使分析速度大大加快。仪器分析方法的分析速度一般较快,往往试样经预处理后,数十秒至几分钟即可得到分析结果。

(3) 选择性好,适应复杂物质的分析。一般来说,仪器分析比化学分析法的选择性好得多。如化学分析中的 EDTA 配位滴定,干扰因素多,选择性较差。

(4) 取样量少,可用于无损分析。如 X 射线荧光法,可在不损坏样品的情况下进行分析,这对考古、文物分析、生命科学有重要意义。

(5) 用途广、能适应各种分析要求。除可用于定性、定量分析外,还可以用于结构分析、价态分析、状态分析、微区和薄层分析,还可以测定有关的物理化学常数。

2. 局限性

(1) 相对误差较大,准确度不高,一般不适合常量和高含量组分的分析。

(2) 仪器分析方法大多都是相对的分析方法,一般要用标准溶液来对照,而标准溶液需要用化学分析方法来标定。

(3) 仪器设备复杂,价格昂贵。

(4) 专业化要求,对使用及维护者的要求较高。

(三) 发展趋势

现代科学的进步和工业生产的发展,不仅对分析化学在提高准确度、灵敏度和分析速度等方面提出更高的要求,而且还不断提出更多的新课题、新任务,要求分析化学能提供更多、更复杂的信息。包括从常量分析到超微量分析;从整体成分分析到微区分析,表面、区域分析;从成分分析到结构分析、状态分析;从静态分析到快速化学反应的跟踪等。对近代分析

化学的这些新任务和新要求，仪器分析有很大的适应性和发展潜力。因此，仪器分析已成为近代分析化学的发展方向。其发展趋势概括起来有以下几个特点：

(1) 计算机化。将计算机技术与分析仪器结合，实现分析仪器的自动化，是仪器分析的一个非常重要的发展趋势。在分析工作者的指令控制下，计算机不仅能处理分析结果，而且还可以优化操作条件、控制完成整个分析过程，包括进行数据采集、处理、计算等。现在，由于计算机性价比的大幅度提高，随着硬件和软件的发展，分析仪器将更为智能化、高效、多用途。因此，计算机技术对仪器分析的发展影响极大，已成为现代分析仪器一个不可分割的部件。

(2) 联用技术：把几种不同的分析方法联合起来使用。试样的复杂性、测量难度、要求信息量及响应速度在不断提高，这就需要将几种方法结合起来，组成联用分析技术，可以取长补短，起到方法间的协同作用，从而提高方法的灵敏度、准确度及对复杂混合物的分辨能力，同时还可获得两种手段各自单独使用时所不具备的某些功能，所以联用分析技术是仪器分析方法的主要方向之一。例如，将分离方法(GC、HPLC)与鉴定方法(MS、IR)结合起来。

(3) 现代科学技术相互交叉、渗透，各种新技术的引入、应用等，使仪器分析不断开拓新领域、创立新方法。如电感耦合等离子体发射光谱、傅立叶变换红外光谱、傅立叶变换核磁共振波谱、激光拉曼光谱、激光光声光谱等。

从仪器分析的特点看，它与化学分析相比有许多优点，但仪器分析和化学分析是相辅相成的。化学分析是分析化学的基础，仪器分析是分析化学的主干。一般情况下，精密仪器较昂贵，需要较好的工作环境，在安装调试和维护保养等方面花费也大，因此仪器分析的普遍推广受到了一定的限制。仪器分析在测量前一般要进行预处理，其中主要是化学分析步骤，如试样的溶解，共存组分的掩蔽、分离等；另外，仪器分析中需要纯试剂作为标准进行对照分析，这些化学品的准确含量常用化学分析来确定。所以，仪器分析虽有其优越性，但在实际分析试样时仍离不开化学分析手段。

如何在化学分析的基础上发挥仪器分析的独特性能，在解决实际问题时，应根据具体情况，参照各种方法的特点，选择适宜的分析方法。

(四) 仪器分析技术在医药领域中的应用

当今全球竞争已从政治转向经济，实际上就是科技竞争，整个社会要长期发展须考虑人类社会的五大危机：资源、能源、人口、粮食和环境。这些问题的解决都与分析化学特别是仪器分析密切相关，仪器分析在工业、农业生产、科学技术和保障人民健康等领域发挥了重要作用，下面主要叙述仪器分析在医药领域中的作用。

仪器分析是从事药物研究和应用的重要工具和手段。在新药研究、药物分析、临床检验、病因研究等方面应用广泛。

药物的报批，需提交有关生产工艺、药效、药理、毒性的资料，还需提供涉及分析化学特别是仪器分析的多种资料：确定化学结构或组成的试验资料、质量研究工作的资料、稳定性研究试验资料、临床研究用样品及其检验报告书、药代动力学试验资料等。

药物分析包括药物控制、新药研制、临床药学、毒理分析、兴奋剂检测和中草药检验等。可以说，没有药物分析的同步发展，就谈不上药学领域其他学科的突飞猛进。因此，在信息

时代来临的今天,中国药学事业若要有长足的发展,就必须在药物分析领域紧紧跟上发展步伐,争取带动和促进相关学科的巨变。

中药化学成分十分复杂,有效成分难于确定,与合成药相比,中药材及其制剂的质量控制和安全性评价,就更为复杂和困难。随着仪器分析方法的推广和使用,在我国广大药物分析工作者的努力下,近年来逐步建立起现代中药质量标准体系。《中国药典》(2010年版)中现代分析技术得到了进一步扩大应用,收载药材及饮片、提取物、成方制剂和单味制剂 4567 种中有 1138 个品种项的含量测定采用高效液相色谱法(HPLC),15 个品种项的含量测定采用薄层色谱法(TLC),40 个品种项的含量测定采用气相色谱法(GC),25 个品种项的含量测定采用紫外-可见分光光度法(UV-Vis)。此外,这些方法还广泛地应用于原料和制剂的鉴别和检查等,如 UV 主要用于药物制剂的含量测定、均匀度或溶出度检查,为《中国药典》仪器分析方法中应用频率最高的一种方法。红外光谱法(IR)则是有机原料药最有效的鉴别方法,可进行有机结构的“指纹”分析,新版药典有 580 个品种用 IR 鉴别。

药物的质量好坏,最终要靠临床效果判定。药物的药理作用强度取决于血药浓度而不完全取决于剂量,血药浓度应控制在一定范围内,该范围称为有效血药浓度(治疗浓度)。由于进入血液中的药物浓度很低,波动范围很大,血液样品又不能大量采集,再加上血液成分复杂,药物要降解,还可能和血液成分结合等,所以血液中药成分的分析成为仪器分析研究中的一大难题。近年来,HPLC-MS 等方法的成熟和应用,才使得血药浓度的检测成为可能。

医学检验是医学的一个重要分支,它所涉及的范围相当广泛。医学各专业为了获得自身所需要的信息,发展了各专业的医学检验。为了病人的诊断、治疗、预后而发展了临床医学检验,其中包括临床血液学检验、临床细菌学检验、临床免疫学检验、临床化学检验等。后者检验的项目有蛋白质、氨基酸、酶、糖类、激素、pH 和血气等,这些检测项都与生物化学有关,所以也称临床生物化学分析,分析上述各检测项所采用的都是仪器分析方法。在基础医学的各个领域中,都发展了相应的分析检验,如药物分析、毒物分析、卫生学检验、免疫学检验、预防医学检验等,在这些范畴,也不同程度地使用仪器分析方法。

与医学紧密相关的生命科学研究已经兴起,并取得了迅速发展。它所提出的新课题目前集中在多肽、蛋白质、核酸等生物大分子的分析上;还包括生物药品分析、超痕量生物活性物质的分析,如单细胞内神经递质多巴胺的分析、活体分析等(生物传感器微电极技术的应用)。在生物无机分析领域中,痕量元素分析已深入研究元素在生物组织层、单细胞(甚至细胞膜中)、人体蛋白质碎片内的微分布及蛋白质结合形式等(离子选择性电极的应用)。由此可见,仪器分析和医学检验之间的关系非常密切,它在医学检验中占有重要位置。

仪器分析是一门实验技术性很强的课程,想要有效地利用仪器分析法来获得所需要的信息,就必须经过严格的实验训练,包括实验方案的设计、实验操作和技能、实验数据的处理和谱图解析以及实验结果的表述等。

第二章 色谱分析法

【教学要求】

- (1) 了解色谱法的分类。
- (2) 掌握色谱分析的基本原理。
- (3) 理解柱效率的物理意义及其计算方法。
- (4) 理解速率理论方程对色谱分离的指导意义。
- (5) 掌握分离度的计算及影响分离度的重要色谱参数。

【思考】

- (1) 色谱法作为分析方法的最大特点是什么？
- (2) 色谱定性的主要方法有哪些？
- (3) 色谱定量常用哪几种方法？简述它们的主要优缺点。
- (4) 气相色谱仪一般由哪几部分组成，各有什么作用？
- (5) 试述热导、氢火焰离子化检测器的基本原理，它们各有什么特点？
- (6) 对载体和固定液的要求分别是什么？如何选择固定液？
- (7) 液相色谱仪的组成有哪些？从仪器构造、分离原理及应用范围等方面比较气相色谱与液相色谱的异同。
- (8) 什么叫梯度洗脱？液相色谱中，提高柱效的途径有哪些？
- (9) 选择流动相和检测器时应注意什么？

【内容提要】

在科研工作中，凡涉及复杂物质分析的领域都离不开分离分析技术，分离分析技术已经发展成分析化学中的一个重要组成部分。色谱法是一门发展迅速、涉及物理和物理化学的现代分离、分析技术，是各种分离分析技术中效率最高和应用最广的一种方法，广泛应用于医药、食品、环境监测等领域。色谱分析将分离和测定过程合二为一，降低了混合物分析难度，缩短了分析的周期，是主流的分析方法。它利用被分离的诸物质在互不相溶的两相中分配系数的微小差异进行分离。当两相作相对移动时，使被检测物质在两相之间进行反复多次分配，使原来微小的差异累加产生很大的效果，形成差速迁移，使各组分在柱内移动的同时逐渐分离，以达到分离、分析及测定一些物理化学常数的目的。在《中华人民共和国药典》中，共有超过 600 种化学合成药和超过 1 000 种中药的质量控制应用了色谱的方法。

本章着重介绍气相色谱和高效液相色谱分析。

第一节 色谱法概述及理论基础

色谱法最早是由俄国植物学家茨维特 (Tswett) 于 20 世纪初提出来的。他在研究植物叶子的色素成分时, 将植物叶子的萃取物倒入填有碳酸钙的直立玻璃管内, 然后加入石油醚, 使其自由流下, 结果色素中各组分互相分离, 形成各种不同颜色的色谱带, 因此得名为色谱法。以后, 此法逐渐应用于无色物质的分离, “色谱”二字虽已失去原来的含义, 但仍沿用至今。色谱法真正作为一种分析方法, 是从 20 世纪 50 年代开始的, 1952 年, 英国科学家 A. J. P. Martin 和 R. L. M. Synge 因开创了气液分配色谱法而获得了 Nobel 化学奖。今天, 色谱法作为一种分离技术, 以其具有高分离效能、分析速度较快等特点而成为现代仪器分析方法中应用广泛的一种方法。它的分离原理是, 使混合物中各组分在两相间进行分配, 其中一相是不动的, 称为固定相 (如上例中的 CaCO_3), 另一相是携带混合物流过此固定相的流体, 称为流动相 (如上例中的石油醚)。

一、色谱法分类

色谱法有多种类型, 从不同的角度可以有不同的分类法。

1. 按流动相和固定相的物理状态分类

按流动相的物态, 色谱法可分为气相色谱法 (流动相为气体) 和液相色谱法 (流动相为液体);

再按固定相的物态, 又可分为气固色谱法 (固定相为固体吸附剂)、气液色谱法 (固定相为涂在固体担体上或毛细管壁上的液体)、液固色谱法和液液色谱法等。

2. 按固定相使用的形式分类

(1) 柱色谱法: 固定相装在色谱柱中。

(2) 纸色谱法: 滤纸为固定相。

(3) 薄层色谱法: 将吸附剂粉末制成薄层作固定相等。

3. 按分离过程的机制分类

(1) 吸附色谱法: 利用吸附剂表面对不同组分的物理吸附性能的差异进行分离。

(2) 分配色谱法: 利用不同组分在两相中有不同的分配系数来进行分离。

(3) 离子交换色谱法: 利用离子交换原理。

(4) 排阻色谱法: 利用多孔性物质对不同大小分子的排阻作用等进行分离。

二、色谱法的特点

色谱法与其他分析方法相比, 以其高超的分离能力为特点, 分离效率远远高于其他分离技术, 如蒸馏、萃取、离心等方法, 同时能在分析过程中分离出纯物质, 并测定该物质的含量。

1. 优点

(1) 分离效率高。色谱法能很好地分离性质相近的混合物，如同系物、同分异构体，甚至同位素。

(2) 应用范围广。几乎可用于所有化合物的分离和测定，无论是有机物、无机物、低分子或高分子化合物，甚至有生物活性的生物大分子也可以进行分离检测。

(3) 高分析效率。一般在几分钟到几十分钟就可以完成一次复杂样品的分离和分析。气相色谱在 12 min 就可完成含有 12 个组分的混合物的分离分析，高效液相色谱在 15~20 min 即可完成对血浆蛋白质等的分离分析工作，毛细管色谱柱一次可完成含有 100 多个组分的烃类混合物的分离分析工作。

(4) 样品用量少。属微量分析，用极少的样品就可以完成一次分离和测定。

(5) 分离和测定同时完成，可以和多种波谱分析仪器联用。

(6) 易于自动化，可在线检测。

2. 局限性

(1) 在定量分析中需要标准品。

(2) 色谱过程本身定性较弱，不能解决物质的结构问题，需要对照品或其他检测方法支持。

(3) 色谱系统维护要求高，特别是液相色谱。

三、色谱术语

1. 色谱流出曲线——色谱图

样品被流动相带入色谱柱，经色谱柱分离后，样品中各组分随流动相依次进入检测器，检测器将组分的浓度（或质量）变化转化为电信号，电信号经放大后，由记录仪记录下来，称为色谱流出曲线，即色谱图（图 2-1）。

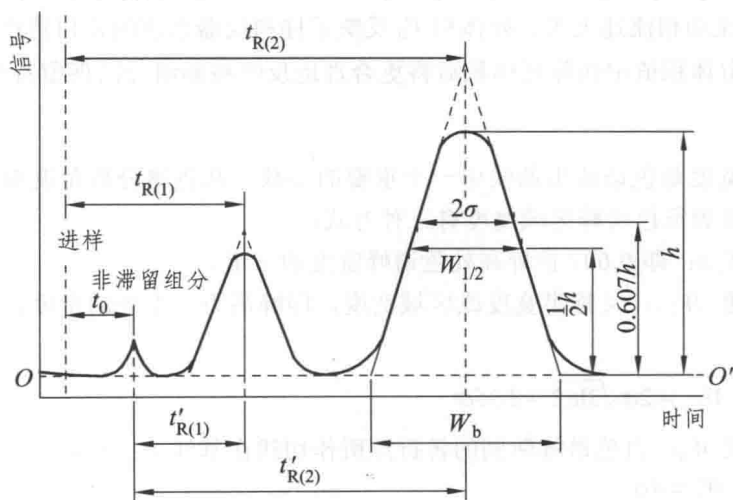


图 2-1 色谱图

2. 基线

当色谱柱后没有组分进入检测器时，在实验操作条件下，反映检测器系统噪声随时间变

化的线称为基线，稳定的基线是一条直线（图 2-1 中 $O-O'$ ）。

（1）基线漂移——指基线随时间定向地缓慢变化。

（2）基线噪声——指由各种因素所引起的基线起伏。

3. 保留值

表示试样中各组分在色谱柱中滞留时间的数值。通常用时间或将组分带出色谱柱所需流动相的体积来表示。在一定的固定相和操作条件下，任何一种物质都有一确定的保留值，所以，可将其作为定性的依据。

（1）死时间 t_0 ：指不被固定相吸附或溶解的组分（如空气）从进样开始到柱后出现浓度最大值时所需的时间。显然，它反映了流动相流过色谱系统所需的时间，也可称为流动相保留时间，正比于色谱柱的空隙体积。

（2）保留时间 t_R ：指被测组分从进样开始到柱后出现浓度最大值时所需的时间。

（3）调整保留时间 t'_R ：指扣除死时间后的保留时间，即

$$t'_R = t_R - t_0$$

它表示某组分因溶解或吸附于固定相，比不被固定相作用的组分在色谱柱中多停留的时间，即组分在色谱柱中的滞留时间。

（4）死体积 V_0 ：指色谱柱在填充后固定相颗粒间所留的空间、色谱仪中管路和连接头间的空间以及检测器的空间的总和。

$$V_0 = t_R \times F_0$$

式中 F_0 ——流动相的体积流量（流速）。

（5）保留体积 V_R ：指从进样开始到柱后被测组分出现浓度最大值时所通过的流动相体积，即

$$V_R = t_R \times F_0$$

（6）调整保留体积 V'_R ：指扣除死体积后的保留体积，即

$$V'_R = t'_R \times F_0 \quad \text{或} \quad V'_R = V_R - V_0$$

同样， V'_R 与流动相流速无关，死体积 V_0 反映了柱和仪器系统的几何特性，它与被测物的性质无关，故保留体积值中扣除死体积后将更合理地反映被测组分的保留特性。

4. 区域宽度

色谱峰区域宽度是色谱流出曲线中一个重要的参数。从色谱分离角度着眼，希望区域宽度越窄越好。通常表征色谱峰区域宽度有三种方式：

（1）标准偏差 σ ：即 0.607 倍峰高处色谱峰宽度的一半。

（2）半峰宽度 $W_{1/2}$ ：又称半宽度或区域宽度，即峰高为一半处的宽度，它与标准偏差的关系为

$$W_{1/2} = 2\sigma\sqrt{2\ln 2} = 2.35\sigma$$

（3）峰底宽度 W_b ：自色谱峰两侧的转折点所作切线在基线上的距离。

$$W_b = 4\sigma$$

5. 峰面积 A

即峰与峰底之间的面积，色谱峰的面积可由色谱系统中的微机处理得到，峰面积是定量分析的依据。