

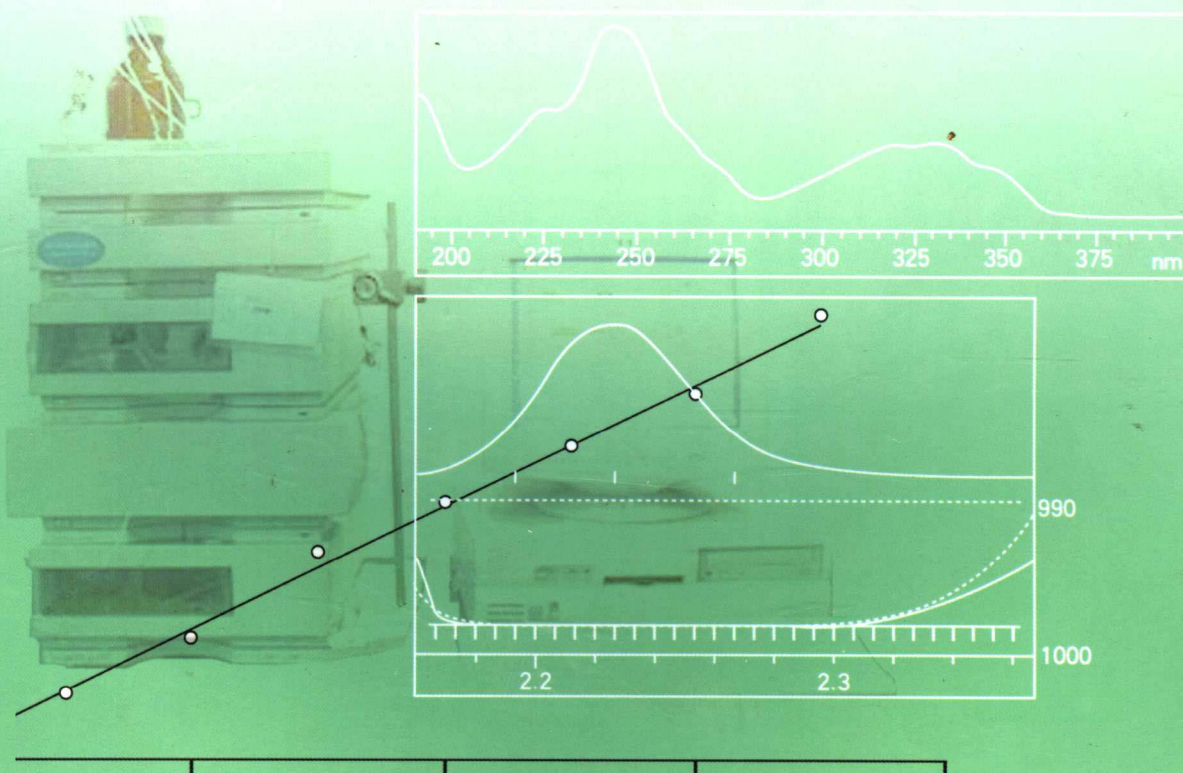


北京大学药 学 教 材
Pharmaceutical Textbook of Peking University

仪 器 分 析

Instrumental Analysis

徐秉玖 主编



北京大学医学出版社

北京大学药学教材

仪 器 分 析

Instrumental Analysis

主 编 徐秉玖

副主编 韩南银

编 委 徐秉玖 韩南银

刘 萍 彭会明

北京大学医学出版社

YIQI FENXI

图书在版编目 (CIP) 数据

仪器分析/徐秉玖主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2004. 9

ISBN 7-81071-645-X

I. 仪… II. 徐… III. 仪器分析—医学院校—教材 IV. 0657

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 072331 号

仪 器 分 析

主 编: 徐秉玖

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100083) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 莱芜市圣龙印务书刊有限责任公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 冯智勇 责任校对: 焦 娴 责任印制: 张京生

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 23.75 字数: 601 千字

版 次: 2005 年 1 月第 1 版 2005 年 1 月第 1 次印刷 印数: 1—3000 册

标准书号: ISBN 7-81071-645-X/R·645

定 价: 38.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

本书是长学制的药学学生仪器分析基础课教材。这里所说的仪器分析，除了尽可能地覆盖分析仪器方面的新进展外，较多地偏向用来进行定量测定的仪器。至于大量地用于定结构的分析仪器，将不在这本书中详细介绍。

作为编者，我们在确定本书中讨论什么，尤其是着重讨论什么时，考虑的依据是药学研究这样的现状：一方面，在医药分析的实践中，大量应用的，还是 20 世纪内发展起来的人们惯于使用的技术。事实上，原理上全新的分离技术，如果说也有的被提出来的话（如光色谱），那么它们也远远没有达到发展成熟、被广泛接受的程度。从这一点出发，如果学习者不把 20 世纪已经建立起来、并且达到相当完善程度的分析学科基础理论，以及各种技术的关键细节真正掌握好，就不可能达到用好仪器分析这个有力手段为药学研究服务的境界。

另一方面，作为生命科学研究的一个部分，医药学研究是处在飞速发展中的科学发展的前沿部分。有关的研究早就进入了分子水平。即使不去说那些生物技术在分析中的应用，在“化学的”分析技术中，一个明显的趋势是人们在把不同的分析技术组合起来，来处理复杂的样品分析问题。这样，从各自的原理上看并没有太新的东西，但整个技术的巧妙组合则形成了突破性的发展（如免疫色谱或免疫电泳）。如果我们的教材还停留在原来的经典水平（即从化学的理论出发，采用纯粹化学的手段做工作，又停止在用纯粹化学的观点来观察、用纯粹化学的手段来分析、诠释所得到的结果），那是很不够的，是不能适应药学研究的飞速发展的。从这一点出发，我们也需要掌握好已有仪器分析的理论 and 关键细节，因为只有做到了这一点，我们才有可能把组合技术应用好。

因此，本书的宗旨是紧跟科学技术的发展，尽量给读者提供这样的一本教科书，即通过对本书的学习，使读者能比较深入地从理论的深度上和在尽可能多的技术细节上把握现代的分析技术。

回顾自 20 世纪末叶以来人类在科学研究上的发展，可以说很大程度上是在生命科学和信息科学等核心科学技术的带动下实现的。在包括医药学在内的生命科学方面，人们所取得的进步更是有目共睹的。一个非常能说明问题的例子是，人们对众多“绝症”的治疗已经取得了很大的进展。许多以前不被人们认识的新的疾病也被识别、被或多或少地认识。在生命科学研究的进展中，分离分析科学的迅速进展起着相当大的作用。在人们对疾病的识别、认识和攻克的过程中，离不了对生物体内正常和非正常组分的分离分析。可以说，如果人们至今不能对生物体内生物大分子的分析取得进展，那么从分子水平认识正常的和病态下的生命过程，以及治疗过程中药物和医学手段所起作用的途径等等，都是无从谈起的。我们可以看到这样的一个互动：分离分析科学的发展支持了包括医药学在内的生命科学的发展，而后者则对前者提出了更严峻的挑战，从而成为前者发展最好的舞台。对于分离科学的发展中的影响因素我们还可以看到另外一个非常明显的互动：信息科学的发展对于分离分析科学研究起着非常大的促进作用；后者则由于所涉及的信息量极为巨大，对前者提出了非常高的要求，在一定程度上促进了信息科学的发展。比方说众所周知的人类基因组课题的迅速攻克就能说

明这一点。

容我们用一些篇幅以非常实际的例子说明分离分析科学技术方面的巨大进展：目前，在网上已有不少搜索工具，可以搜索任何一个特定课题有关的文献。以 Elsevier 公司的 SDOS 搜索工具为例，如果我们以“new chromatographic technologies”为关键词，在与生物医药科学相关领域中搜索，可以搜得 151 篇论文（注意所搜得的论文是随着时间变化的）。通过逐一阅读这些文章，剔除那些虽然以“色谱技术”为关键词，实则以其他技术与色谱技术比较，在色谱技术的进展方面新意不多的文献，还剩 136 篇。在这些论文中，就所采用的色谱技术而言，有如下的分布：

高效液相色谱（HPLC）：81 篇。此外，没有被归到 HPLC 领域内的液相色谱技术如亲和色谱：13 篇；各种离子交换色谱：10 篇；分子排阻和凝胶色谱：14 篇；疏水作用色谱：2 篇；亲水作用色谱：1 篇；各种形式的多维色谱：3 篇；灌注色谱：1 篇；快速蛋白质液相色谱：1 篇。这里列出的文献，其中有在一篇文献中同时用了两种或多种不同技术的情况，另外还有一些作者采用经典的柱色谱技术（非 HPLC），但可以看到，涉及生命科学研究的分离科学新技术，绝大多数采用液相色谱方法。为了解决复杂体系的分离问题，尤其是为了解决生物样品中复杂混合物的分离问题，很多情况下采用色谱技术的组合和生化与标准色谱的组合技术。

气相色谱（GC）：18 篇

超临界流体色谱（SFC）：3 篇

薄层色谱（TLC）：18 篇，包括纸色谱 1 篇

逆流色谱（CCC）：1 篇

毛细管电泳（CE）：15 篇

流动注射（FIA，严格地说，这不是一种分离技术）：1 篇

免疫分析：3 篇

各种形式的凝胶电泳，尤其是聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）：11 篇

有 5 篇论文不经色谱分离直接采用质谱（FAB-MS-MS、ICP-MS 等）分析。

以上当然不是与分离分析科学技术发展有关论文完整的统计，但从以上的结果可以看到，正如我们在前面所述的：（1）以上列举的文献中并没有出现全新的、革命性地变革了的技术。如果说在色谱领域中出现的一些新的方法，如灌注色谱等，那么从原理上说，并没有离开色谱的基本原理。（2）由于所研究对象的多样性和复杂性，人们不得不把各种各样的已有技术结合起来，比如把基于生物学的、免疫学的原理应用到分析技术中，为了完成困难的分离课题，人们往往需要将多种色谱技术组合起来应用。

从以上所引的文献中，可以看到其中有关手性分离的文章有 8 篇。考虑到这些文章所研究的对象从本质上讲不会涉及手性分离的问题（如单是对于蛋白质和酶等生物大分子纯化的研究就有 18 篇），这个比例应该说是很高的。手性分离的确是药学研究中非常受重视的问题。此外这些关于色谱新技术的文章中，还有很多采用了样品前处理的技术：液液萃取，7 篇；液固萃取（极性和非极性吸附剂），6 篇；衍生化，6 篇；微渗析，3 篇；还提出了空心纤维滤块（hollow fiber membrane module）、扩展床吸附（expanded bed absorption）、蛋白质自由电泳（protein free flow electrophoresis）、须状凝胶（tentacle gel）等新技术。

分析仪器的微型化是一个很热门的课题，这在上述的文献中也有提及。此外，在这些文献中也还有一些用到了稳定同位素和放射性同位素标记的技术。

从所研究的样品来看，在上述的文献中用到了人和动物的体液、细胞、各种组织、排泄物等，采自人、实验动物、植物、细菌等各界的生物，以及药品原料和制剂的样品。这里没有必要罗列所有涉及到的课题，但可以列出一些对于药学研究者意义非常大的，或者是很有趣的课题。这些课题是从上述一批文献中大量述及的课题中选出来的，编者无意把它们看作是代表性的，只想表明，分离科学的新技术可以用到范围多么广阔的领域，取得多少很有意义的结果：

原药和制剂的含量测定。

药物（抗生素、抗癌药、抗肿瘤疫苗等各种疫苗）的药代动力学、药效学研究和安全性评价。

药物在体内代谢途径的研究，包括手性代谢物分离的研究。

植物提取物的分离分析、食物和植物中花青苷、木质素、类黄酮、异黄酮、环多酮及各种药效成分的研究。

酶的制备、各种天然和重组 DNA 糖蛋白的制备、不稳定蛋白质的分离分析。

编码各种毒素的 DNA 表达于大肠杆菌的研究。

动物神经系统中 5-羟色胺、谷氨酸、脑啡肽、氨肽酶等的分析。

用射线自显迹技术对于³²P-标记 DNA 加合物的测定。

胶束液相色谱直接分析生物样品的研究。

与 γ -谷氨酰转肽酶中天门冬素连接的不同糖链结构的研究。

低密度脂蛋白的氧化研究。

一些酶在先天代谢障碍疾病中作用的研究。

引入蝎子基因片断的抗疟原虫蚊子研究。在这个课题中，首先需要完成的是蝎子毒液中有关肽的分析、归属确定。

在药学应用和研究的领域，光学分析的应用很大程度上是限于常规测定的范围内。如果我们像前述的那样，以“new spectral analytical techniques”作关键词，在前述的文献范围内搜索，可以看到能搜索到的文献数要少得多。在所搜得的文献中，剔除那些与光学分析新技术无关的文献，只得到 24 篇文献。其中，有 11 篇是关于对测定得到的数据进行化学计量学处理的，再加上有两篇是关于导数光谱的应用，和两篇是关于液相色谱—光度检测法分析中峰纯度的文献，所以在数据处理方面的新方法倒占了一半以上。在仪器的硬件方面，所使用的也就是近红外光谱法、拉曼光谱法、毫米波光谱法等，再加上在分离后将样品在 77K 下冷冻后进行的分子荧光检测法这样一种比较少见的方法，以及激光诱导裂解光谱法。显然，在我们这本用作药学学生在仪器分析学科的基础教学上使用的教材中，对上述的内容多做讨论是不妥的。因此，在本书中有关光学分析技术的讨论目标将限于更为常用的技术。

在网上对新的电化学分析技术做搜索，可以搜得的文献要多得多。但是考虑到在药学应用和研究的领域内，电化学分析技术使用的广泛程度要小得多，所以在大多数教材中，电化学分析技术的分量也是最轻的。在本书中，我们采用了相应的方式来确定这方面内容的分量。

本着上述的考虑，并且限于篇幅，本书中着重讨论的，是下述三类仪器分析方法：一、分离技术（主要是色谱技术。分为分离科学简介、色谱过程中的一些基本关系、气相色谱法、液相色谱法、高效薄层色谱五个课题分别在第一至第五章中讨论。近年来飞速发展的毛细管电泳和色-质联用技术等分别在第一、第三和第四章中做简单的讨论）；二、光谱分析技

术（光谱分析法绪论、紫外-可见分光光度法、荧光分析法、原子吸收分光光度法四个课题分别在第六至第九章中讨论）；三、药物分析中常用的电化学分析方法（在第十章中讨论）。对于上述的三大块，在讨论中尽可能地把近年来的进展包括进去。从分析这门科学发展的现状出发，本书中分别专门对样品预处理，以及应用于药物分析中的新兴仪器分析方法（免疫分析法和微分离系统 μ -TAS 等）在第十一和第十二章中做了简单的讨论。

本书尽可能地从各个方面都适应新的时代特征（科学技术飞速发展、信息爆炸、网络技术成为寻常百姓手中的武器、新的分离分析手段已经到了中国广大医药学工作者的手中，而他们还同时在工作中面临越来越困难的挑战，等等），并且考虑到目前盛行的按部就班的学习方式或许已经不再是最有效的，在本书写作的安排中试着做一些新的安排。比如本书中对大量中文术语附上对应的英语术语，相信这会大大有利于读者在网上搜寻有关课题的资料；另一方面，由于本书意在把读者的兴趣引导到充分利用网络这个新资源，对所论及的、尤其是读者感兴趣的课题做更多更深入的阅读，以这样的方式更好理解自己面前的课题，而不情愿地牺牲了一些教科书中常见的内容，比如思考题、习题等。

在本书的写作过程中，我们首先就阅读了大量的资料。如我们一再强调的，网络是非常有用和有效的资料库。它所提出的问题经常不是找不到资料或资料不足，而是资料过多。比如利用 Google 这个工具，以 Liquid chromatography 作为搜索词去搜索，搜得 434 000 个有关的网页；即使对于液相色谱中比较新的领域“hydrophobic interaction chromatography（疏水作用色谱）”，也可搜得 5460 个有关网页。对于这样多的资料，要想都去阅读并且从中提取出真正有用的东西是太困难了。所以我们更多地利用一些专业的搜索工具，比如基于 Elsevier 公司电子期刊全文数据库的 SDOS 搜索工具（<http://elsevier.lib.tsinghua.edu.cn>）；基于美国科学引文索引（SCI）网络版数据库的 Web of knowledge 搜索工具（<http://isi6.isiknowledge.com>）；基于 Springer 数据库的 Springer-Link 搜索工具（<http://springer.lib.tsinghua.edu.cn>），等等。可以利用的数据库还有很多，各自都有不同的覆盖范围和优缺点，读者应该根据自己的需要选择所采用的搜索工具（在这个问题上，也体现了网络技术提供了“太多”选择的问题）。

此外编者也参阅了很多书籍，如朱良漪主编的《分析仪器手册》（化学工业出版社，1997 年，第一版），J. A. Dean 著的“Analytical Chemistry Handbook”（世界图书出版公司/McGraw-Hill Book Co. 1998），D. A. Skoog, D. M. West 著、金钦汉译的《仪器分析原理》（上海科学技术出版社，1987 年版）。色谱这一块的第一至五章，以及第十一章，特别主要参阅了 C. F. Poole, S. K. Poole 所著的“Chromatography Today”（5th Edition. Elsevier Science, 1997）。对于毛细管电泳技术的叙述，参考了林炳承著的《毛细管电泳导论》（科学出版社，1996 年，第一版）一书。在光谱部分的第六至第九章参阅了《分析化学》的下册（孙毓庆主编，人民卫生出版社，1999 年，第四版），但考虑到所编的是长学制教材，在广泛阅读的基础上对内容做了增加。

本书中第一至第九章由我编写，第十章由刘萍编写，第十一章和第十二章则分别由彭会明和韩南银编写。霍芳霖参加了整本书的打印和校正错字等辅助工作。作为本书的第一个读者，研究生扈继萍参加了整书的校核工作。对于所有参加工作、认真地付出了艰苦劳动的人我都应该表示衷心的感谢。

在本书的写作过程中，参加工作的小小团体发生了很大的变化：上面提到的几个人中，就有两人（彭会明和我本人）离开了北京大学。这当然给编写工作带来了一些麻烦，但通过

不懈的努力，这本书还是得以完成。希望这本通过集体的努力完成的教科书能够对于药学教学事业发挥一些好的作用，不光是为了北大面临的长学制学生的教育，整体来说，也为了我们对于新形势下新的教育能探出一条更新更好的路来。

徐秉玖

2004 年 3 月 12 日

目 录

第一章 分离分析科学简介	(1)
第一节 色谱方法的现实意义	(1)
第二节 气相和液相色谱中的一些进展	(2)
第三节 色谱中其他分支简介	(3)
一、超临界流体色谱	(3)
二、毛细管电色谱	(5)
三、逆流色谱	(8)
四、场流分级分离法	(8)
五、光色谱	(9)
第四节 毛细管电泳介绍	(10)
一、毛细管电泳的特点	(10)
二、分离模式与仪器要求	(10)
三、基本概念	(11)
四、基本操作	(13)
五、毛细管电泳的各种操作模式简介	(14)
六、毛细管电泳的主要问题	(18)
第二章 色谱过程中的一些基本关系	(20)
第一节 保留值及有关的物理量	(20)
一、保留值	(20)
二、容量比	(22)
三、分离因子	(22)
第二节 色谱柱内流动相的流动	(23)
第三节 色谱带增宽的机理	(24)
一、柱效与色谱带的展宽	(24)
二、塔板模型及其不足之处	(24)
三、速率理论的基本假设	(24)
四、对塔板高度作出贡献的物理量	(25)
五、柱效与分析速度	(26)
第四节 影响分离的参数	(27)
第五节 峰形	(29)
第六节 保留指数系统	(30)
第七节 色谱中的定量分析	(32)
一、数据采集和信息处理	(32)
二、峰面积的测定	(33)

三、样品的相对组成的计算	(34)
四、关于测定极限	(37)
第三章 气相色谱法	(38)
第一节 气相色谱柱	(38)
一、气-液色谱填充柱	(38)
二、多孔高聚物小球填充柱	(46)
三、气-固色谱	(46)
四、毛细管色谱柱	(47)
第二节 气相色谱仪器的组成和总体性能上的考虑	(56)
第三节 进样器	(57)
一、对毛细色谱柱用的进样器的特殊要求	(58)
二、分流进样法	(58)
三、不分流进样法	(60)
四、冷柱上进样法	(61)
五、程序升温进样法	(62)
第四节 检测器种类及检测原理	(65)
一、概论	(65)
二、离子化检测器	(66)
三、整体性质检测器	(73)
四、光学检测器	(75)
五、电化学检测器	(77)
第五节 多维气相色谱	(79)
第六节 程序升温	(84)
第七节 色谱联用技术	(86)
一、导言	(86)
二、质谱仪器简介	(87)
三、气相色谱-质谱联用	(90)
第四章 液相色谱法	(94)
第一节 液相色谱柱	(94)
一、导言	(94)
二、分离方法的选择	(95)
三、高效液相色谱各种分离模式和分离方法简介	(96)
四、液相色谱柱的填料	(111)
五、柱的制备	(116)
六、柱的测试和评价	(120)
七、预柱	(128)
八、高效液相色谱中流动相的选择	(128)
九、液相色谱中的梯度淋洗	(133)

十、液相色谱柱技术方面的新进展·····	(135)
第二节 高效液相色谱在设备上的总体要求·····	(139)
一、导言·····	(139)
二、仪器总体各方面的因素对其性能的综合影响·····	(140)
第三节 溶剂储槽·····	(142)
第四节 液相色谱中使用的泵·····	(143)
第五节 梯度发生装置·····	(145)
第六节 进样装置·····	(148)
第七节 液相色谱中的检测器·····	(148)
一、示差折光检测器·····	(149)
二、紫外-可见分光光度检测器·····	(150)
三、荧光检测器·····	(153)
四、电化学检测器·····	(155)
五、其他各种检测器简单介绍·····	(156)
第八节 液相色谱检测器的特性指标·····	(158)
第九节 液相色谱-质谱联用·····	(161)
一、大气压化学电离·····	(163)
二、连续流动快原子轰击接口·····	(165)

第五章 高效薄层色谱 ·····	(167)
第一节 导言·····	(167)
第二节 常规和高效薄层色谱的比较·····	(167)
第三节 高效薄层色谱和 HPLC 的比较·····	(169)
第四节 高效薄层色谱的简化理论·····	(170)
第五节 高效薄层色谱的固定相·····	(173)
一、无机氧化物吸附剂·····	(174)
二、化学键合相·····	(174)
三、纤维素·····	(175)
四、手性固定相·····	(176)
第六节 展开技术·····	(176)
一、线性展开和径向展开·····	(176)
二、连续展开·····	(177)
三、多重展开·····	(177)
四、二维展开·····	(178)
第七节 流动相的优化·····	(179)
第八节 高效薄层色谱中的定量·····	(180)
第九节 高效薄层色谱仪器·····	(182)
一、进样和展开的仪器·····	(183)
二、薄层扫描仪·····	(184)

第六章 光学分析绪论	(186)
第一节 电磁辐射及其与物质的相互作用	(186)
一、电磁辐射和电磁波谱	(186)
二、电磁辐射与物质的相互作用	(187)
第二节 光学分析法的分类	(188)
一、光谱法与非光谱法	(188)
二、原子光谱法与分子光谱法	(188)
三、吸收光谱法与发射光谱法	(189)
第三节 医药分析中应用的光学分析仪器发展概况和简介	(190)
第七章 紫外-可见分光光度法	(198)
第一节 紫外-可见吸收光谱中的一些基本概念	(198)
一、跃迁类型	(198)
二、紫外-可见吸收光谱中一些常用术语	(200)
三、吸收带及其与分子结构的关系	(200)
四、影响吸收带的因素	(202)
第二节 定量原理	(203)
一、Lambert-Beer 定律	(203)
二、对基于 Lambert-Beer 定律测定的准确性有影响的因素	(205)
第三节 紫外-可见光谱分析方法	(211)
一、单组分样品的定量方法	(211)
二、多组分样品的定量方法——计算分光光度法	(213)
三、通过显色反应帮助分光光度法的测定	(221)
第四节 紫外-可见分光光度计	(223)
一、主要部件	(224)
二、分光光度计的光学性能与类型	(228)
三、分光光度计的校正	(231)
第五节 分光光度计的进展	(232)
一、应用全息光栅和双单色器系统	(232)
二、双波长、三波长和导数分光光度测量新技术的应用	(232)
三、电子计算机与单光束分光光度计结合	(232)
四、工作波段的扩展和附件的增加	(233)
五、二极管阵列检测器的应用和快速扫描分光光度计的出现	(233)
第八章 荧光分析法	(234)
第一节 概述	(234)
第二节 基本原理	(234)
一、分子荧光的发生过程	(234)
二、分子结构与荧光的关系	(238)
三、影响荧光强度的外部因素	(240)

第三节 定量分析方法	(243)
一、荧光强度与荧光物质浓度的关系	(243)
二、定量分析方法	(244)
第四节 荧光仪器分析新技术	(245)
一、仪器	(245)
二、荧光分析新技术简介	(247)
第五节 应用与示例	(249)
一、有机化合物的荧光分析	(249)
二、无机化合物的荧光分析	(251)
第九章 原子吸收分光光度法	(254)
第一节 概述	(254)
第二节 基本原理	(256)
一、原子的量子能级和能级图	(256)
二、原子在各能级的分布	(257)
三、原子吸收线的形状	(259)
四、原子吸收值与原子浓度的关系	(261)
五、灵敏度和检出限	(262)
第三节 原子吸收分光光度计	(263)
一、仪器的主要部件	(263)
二、原子吸收分光光度计的类型	(267)
三、原子吸收光谱分析仪器的进展	(268)
第四节 实验技术	(269)
一、样品处理	(269)
二、测定条件的选择	(270)
三、干扰及其抑制	(271)
四、定量分析方法	(274)
第五节 应用与示例	(275)
一、直接测定法	(275)
二、间接测定法	(276)
第六节 原子吸收分光光度法和其他分析方法的比较	(276)
第十章 电化学分析	(278)
第一节 概述	(278)
第二节 电位分析法	(278)
一、电位分析法原理	(278)
二、直接电位法	(287)
三、电位滴定法	(289)
第三节 伏安分析法	(290)
一、线性扫描(直流)伏安法	(291)

二、微分脉冲极谱法.....	(296)
三、溶出伏安法.....	(297)
四、伏安滴定法.....	(297)
第四节 库仑分析法.....	(299)
一、控制电位库仑法.....	(299)
二、控制电流滴定法.....	(299)
第十一章 仪器分析前样品的预处理	(301)
第一节 仪器分析中样品处理的必要性和重要性.....	(301)
第二节 样品的采集和分离、浓缩.....	(301)
一、如何获得一个具有分析意义的典型样品.....	(301)
二、液态样品物理的分离浓缩技术.....	(302)
第三节 利用溶剂萃取的分离技术.....	(305)
一、气体及有机蒸汽的提取.....	(307)
二、水溶液的提取.....	(307)
三、固体样品的提取.....	(308)
四、除溶剂的方法.....	(309)
五、微量溶剂萃取法.....	(310)
第四节 水中微量有机物的吸附富集技术.....	(310)
一、颗粒活性炭.....	(310)
二、大孔树脂吸附剂.....	(311)
三、离子交换树脂.....	(312)
第五节 液-固萃取方法	(313)
第六节 利用液相色谱预处理样品.....	(314)
一、多维或多模式气相和液相色谱技术用于制备样品.....	(316)
二、结合超临界流体萃取的各种样品制备技术.....	(318)
三、多维液相色谱用于样品制备.....	(320)
第七节 顶空技术.....	(321)
一、静态顶空分析.....	(321)
二、动态顶空分析.....	(323)
第十二章 一些新兴的仪器分析方法介绍	(326)
第一节 免疫分析法.....	(326)
一、概述	(326)
二、抗原	(326)
三、抗体	(329)
四、放射免疫分析法	(329)
五、荧光免疫分析法	(331)
六、克隆酶给予体免疫分析法	(332)
七、酶联免疫分析法	(332)

第二节 微全分析技术.....	(332)
一、概述	(332)
二、微芯片与微器件的材料与制备	(333)
三、 μ -TAS 系统的构成	(334)
四、微流控分析的检测系统	(334)
五、应用与实例	(336)
索引	(340)

第一章 分离分析科学简介

Introduction to the Separation Science

二十世纪的五十年代起，人们把该世纪初俄国植物学家 Tsvett 首创的色谱方法发展成为一种高度有效的分离技术。六七十年代，随着键合相色谱柱高效液相色谱和石英毛细管气相色谱技术的出现，这种技术更是被推到了分离技术的高峰，其应用深入到了从生产活动到科学研究的方方面面。但二十世纪七八十年代发展起来的毛细管电泳技术，更是把在流动相中所能实现的分离推到了最高效的程度：以后我们会看到，至少在理论上讲，影响分离效率的因素在这种技术中已经减少到不能再减少的程度。由于毛细管电泳技术拥有几种模式，再加上毛细管电色谱法，可以用于解决各种各样的分析课题。这种技术已经在基因组的研究中起着不可取代的作用，这种技术也将被载入 2005 版的《中国药典》中。这样，应该不能再把毛细管电泳说成是色谱法的一个分支，而应该把它们分为分离技术中两个平行的分支。考虑到毛细管电泳法在药物分析和药学研究中的应用尚不至达到像色谱法那样广泛的程度，我们将仅在本章中对这种技术做一定深度的介绍。在以后的几章中我们将着重对色谱方法做介绍。

作为在分离技术领域中应用最为广泛的一类技术，也许可以用以下的一句话对色谱方法做一个概括：它们利用了不同组分之间性质（如溶解度、吸附能力、挥发度、立体化学和离子交换等）上的微小差异，通过使组分在流动相和固定相之间反复分配，实现不同组分不同程度的保留，从而分离各组分。

第一节 色谱方法的现实意义

The Practical Significance of the Chromatographic Techniques

1985 年美国“化学科学中的机会调研委员会”通过 350 个以上的化学科学工作者的调查研究，在对美国科学院化学部提出的报告《化学中的机会》中强调了色谱方法的重要意义，并对色谱方法及其发展做了较详细的论述。文中指出：“在分离手段中没有任何一种单一的技术比色谱法更有效，更普遍适用”。在约 20 年后的今天再来看这个评价，尽管人们已经把毛细管电泳技术推进到非常先进的程度，说起分离的效率（所能实现的分离度），只要我们所说的是整根柱子的塔板数而不是每米的塔板数，就是毛细管电泳也比不上毛细管气相色谱法；而说到普遍适用，两者各自有自己的应用范围，在有些应用范围中，可以说都达到不可替代的程度；但至少在目前而言，色谱方法的应用还是更广泛些。并且随着时间的推移，色谱技术还一直在发展中。

仪器分析的广泛应用带来了巨大的市场，这从一个侧面反映了色谱方法的意义。表 1-1 是 1998~1999 年美国实验室分析仪器销售额，单位为百万美元。从表中可以看出分析仪器总的来说已经成为五十亿美元的大产业，而色谱则成为将近 9 亿美元的产业。1998~1999 年期间，总的增长率并不高，但其中色谱、电泳、荧光光谱和质谱四大项得到了高于平均水平的增长，很大程度上，这种增长是由于它们和包括医、药学研究在内的生命科学研究紧密相关。

表 1-1 1998~1999 年美国实验室分析仪器销售额 ($\times 10^6$ 美元)

分析仪器种类	年 度			分析仪器种类	年 度		
	1998	1999	增长率 (%)		1998	1999	增长率 (%)
pH 电极和 pH 计	65	60	-7.7	其他光度计	27	29	7.4
离子选择电极	32	39	21.9	热分析仪	134	137	2.2
电泳	61	63	3.3	扫描电镜	103	110	6.8
其他电化学仪器	14	10	-28.6	核磁共振波谱仪/表面分析仪	150	157	4.7
色谱	873	893	2.3	X-射线荧光光谱/衍射仪	76	76	0.0
发射光谱 (电弧/火花)	21	21	0.0	质谱仪	329	355	7.9
原子吸收/ICP/激光光谱	130	132	1.5	元素分析仪 (CHNOS)	84	68	-19.0
红外/傅立叶红外/近红外光谱	140	133	-5.0	气体检测器	94	100	6.4
紫外/可见/比色计	147	137	-6.8	其他分析仪器	1294	1339	3.5
荧光光谱	44	58	31.8	部件/元件/附件	1153	1077	-6.6
色度测量装置	82	79	-3.7	总计	5054	5071	0.3

第二节 气相和液相色谱中的一些进展

Advances in Gas and Liquid Chromatography

气相色谱 (gas chromatography, GC) 已经是一种非常成熟的技术, 在这种技术中, 一些突破性的进展都已经有至少二十年了。与此相应, 气相色谱的市场需求也处在平稳增加的状态。在 1994、1996、1998 和 2000 年时, 其全球需要量分别为每年 12.4、13.0、13.8 和 18.0 亿美元。在 1994~2000 年之间的 6 年, 年平均需求的增长率为 6.3%。从技术上讲, 气相色谱最大的进展是二十世纪五十年代末叶起毛细管色谱柱 (capillary column) 的应用。气相色谱法在最早发展起来时应用填充柱, 是用在柱内填充了颗粒状固体固定相, 或者涂在颗粒状载体上的液体固定相的方法制得的。毛细管色谱柱则是一种由高纯石英拉成的高柔韧性、高热稳定性的管子, 固定相涂在其内表面上。这种色谱柱在气相色谱法的应用中取得了很大的成功, 现在也转用于液相色谱, 特别是超临界流体色谱中。

现代毛细管的柱效可达几十万至几百万理论塔板数, 可以在一次分析中分离上千种化合物, 包括组成、结构上仅有极细微差别的化合物、光学异构物等。气相色谱法可以使用众多的检测器, 人们对这些检测器做了很多最优化工作, 这些检测器中有些已是已知最灵敏的测量器件。色谱柱和检测器方面的进展结合起来, 使得毛细管气相色谱可以用于低于皮克量化合物的分析测定。

毛细管气相色谱与质谱检测方法联用的技术已成为几乎是常规的 (但是非常强有力的) 分析方法。这些联用技术现在能对复杂混合物中, 仅有纳克级数量的组分进行定性和定量测定。气相色谱法也能和傅立叶变换红外吸收光谱法等有力的检测技术联用。

毛细管气相色谱很容易实现仪器小型化。小到火柴盒那么大的便携式仪器已经制造出来。在快速分析方面, 可以在十分之几秒的时间内完成一次分析。

液相色谱法 (liquid chromatography, LC) 是进展很快的技术领域。在 1994、1996、1998 和 2000 年中其全球需要量分别为每年 19.5、20.8、22.8 和 32.9 亿美元。在 1994~