

色谱法在精细化工 中的应用

高崑玉 编著

中国石化出版社

色谱法在精细化工中的应用

高崑玉 编著

中国石化出版社

内 容 提 要

本书重点介绍了薄层色谱及高效液相色谱的基本原理、仪器、操作方法及其在各类精细化学品生产中的应用；同时对纸色谱、离子交换色谱及凝胶色谱也作了介绍。各章列举了色谱法在多类精细化学品分离和分析中的应用方法及条件。每章后附有参考文献，便于读者查阅有关资料。

本书可供精细化工部门从事合成及分析的工程技术人员和科研人员阅读参考，也可作为高等院校有关专业师生的教学用书。

图书在版编目(CIP)数据

色谱法在精细化工中的应用/高崑玉编著. —北京:中国石化出版社, 1997

ISBN 7-80043-666-7

I. 色… II. 高… III. 色谱法—应用—精细化工
IV. TQ064

中国版本图书馆 CIP 数据核字(97)第 00388 号

中国石化出版社出版发行

地址:北京市东城区安定门外大街 58 号

邮编:100011 电话:(010) 64241850

海丰印刷厂排版印刷

新华书店北京发行所经销

*

850×1168 毫米 大 32 开本 19.75 印张 530 千字 印 1—3000

1997 年 11 月北京第 1 版 1997 年 11 月北京第 1 次印刷

定价:30.00 元

19.6001
28

前 言

精细化工是化学工业中近年来国内外都十分重视发展的一个部门。它涉及面广，与国民经济的各个领域都密切相关。随着各类精细化学品的发展，产品的各种分析方法正日益兴起。色谱法是其中一个重要分支，近年来发展极为迅速，是进行微量分离和分析不可缺少的手段。

本书是编者在使用多年的教材基础上进行补充而成。全书共分八章，以应用最为广泛的薄层色谱及高效液相色谱为主，并适当介绍纸色谱、离子交换色谱及凝胶色谱。有关气相色谱的资料很多，而在精细化学品方面的应用相对较少，因此本书未包括在内。全书各章均附有参考文献，便于读者在需要时可对有关问题作进一步了解。书后附录包括有薄层及纸色谱用显色剂，高效液相色谱用填料及衍生试剂等，以及书中涉及的某些化合物的结构，便于读者了解化合物的结构与色谱性能的关系。

彭勤纪教授参加编写本书之2.7.4节。在全书的编写过程中，周迎娣、张竹霞及张凤工程师为本书提供实验数据及资料，章越同志、许多、娄颖及张蓉工程师为本书的成稿做了大量工作，谨表示衷心的感谢！

由于作者水平有限，在编写过程中难免有许多不妥之处，敬请读者指正。

编 者

大连理工大学精细化工
(染料、表面活性剂)
国家重点实验室

目 录

第一章 色谱的分类

1.1 引 言	1
1.2 “色谱”的由来	2
1.3 按分离的原理分类	3
1.3.1 吸附色谱	4
1.3.2 分配色谱	5
1.3.3 离子交换色谱	5
1.3.4 凝胶色谱	6
1.3.5 亲和色谱	6
1.4 按洗脱方式分类	7
1.4.1 洗脱法	7
1.4.2 迎头分析	8
1.4.3 置换法	8
1.5 按两相的物态分类	9
1.5.1 液相色谱法	9
1.5.2 气相色谱法	9
1.6 几种色谱方法的比较	11
参考文献	12

第二章 薄层色谱

2.1 概 述	13
2.2 基本原理	14
2.3 吸附剂	17
2.3.1 硅 胶	18
2.3.2 氧化铝	20
2.3.3 纤维素	21
2.3.4 聚酰胺	22
2.3.5 硅藻土	22

2.3.6 化学键合硅胶	23
2.4 薄层色谱的操作技术	23
2.4.1 铺 层	24
2.4.2 活 化	28
2.4.3 点 样	30
2.4.4 展开技术	32
2.4.5 展开剂的选择	38
2.4.6 显层检出	43
2.5 定性薄层色谱	46
2.5.1 用薄层色谱定性的方法	46
2.5.2 薄层色谱提供的结构信息	50
2.6 定量薄层色谱	56
2.6.1 目测法	56
2.6.2 斑点面积法	56
2.6.3 斑点扫描定量法	57
2.6.4 洗脱测定法	60
2.7 制备薄层	62
2.7.1 薄层制备色谱	62
2.7.2 离心薄层色谱	63
2.7.3 上行柱色谱	65
2.7.4 快速色谱	68
2.8 高效薄层色谱	75
2.9 反相薄层色谱	78
2.9.1 化学键合相反相色谱	78
2.9.2 键合碳链长度的影响	79
2.9.3 离子对反相薄层色谱	79
参考文献	82
第三章 薄层色谱的应用	
3.1 薄层色谱的功能	84
3.2 胺、酚、酸	85
3.2.1 芳香胺	85
3.2.2 脂肪胺	95
3.2.3 酚类化合物	100

3.2.4 羧酸及磷酸	105
3.3 染料及色素	108
3.3.1 分散染料	108
3.3.2 荧光增白剂	110
3.3.3 含磷酸基的染料	112
3.3.4 专用色素	114
3.3.5 天然色素	119
3.4 食用化学品	122
3.4.1 食品中的营养素	122
3.4.2 食品添加剂	133
3.4.3 食品中的污染物	147
3.5 医药	150
3.5.1 镇静安眠药	150
3.5.2 磺胺药物	152
3.5.3 抗菌素	154
3.5.4 中草药	159
3.6 农药	164
3.7 表面活性剂	172
3.7.1 油脂及脂肪酸	173
3.7.2 聚氧乙烯醚型表面活性剂	176
3.7.3 商品清洗剂的分离及鉴定	180
3.8 无机离子	217
参考文献	220
第四章 纸色谱及其应用	
4.1 基本原理	225
4.2 比移值及其应用	228
4.2.1 比移值	228
4.2.2 影响 R_f 值的因素	228
4.3 纸色谱的操作技术	235
4.3.1 色谱用纸	235
4.3.2 样品的配制及点样	236
4.3.3 展开方法	237
4.3.4 展开剂的选择	240

4.3.5 显 层	241
4.4 纸色谱的应用	241
4.4.1 有机酸	241
4.4.2 氨基酸	243
4.4.3 糖 类	245
4.4.4 染料及中间体	248
4.4.5 无机化合物	271
参考文献	277
第五章 高效液相色谱	
5.1 概 述	278
5.2 基本原理	279
5.3 高效液相色谱装置	282
5.3.1 高压输液泵	283
5.3.2 色谱柱	285
5.3.3 进样装置	286
5.3.4 检测器	286
5.4 硅胶色谱	292
5.4.1 固定相	292
5.4.2 移动相	295
5.5 化学键合相色谱	297
5.5.1 概 述	297
5.5.2 反相色谱	301
5.5.3 反相离子对色谱	303
5.6 定性方法	307
5.7 定量方法	308
5.7.1 峰面积法	309
5.7.2 定量计算的几种方法	310
参考文献	314
第六章 高效液相色谱的应用	
6.1 高效液相色谱的功能及操作条件的选择	315
6.1.1 高效液相色谱的功能	315
6.1.2 固定相(色谱柱)的选择	316
6.1.3 移动相的选择	319

6.2 芳烃及其衍生物	323
6.2.1 芳 烃	323
6.2.2 胺类化合物	332
6.2.3 酚类化合物	353
6.2.4 芳磺酸及芳羧酸	358
6.3 染料及色素	369
6.3.1 分散染料	369
6.3.2 酸性、活性及直接染料	370
6.3.3 食用染料及化妆品染料	382
6.3.4 碱性染料	388
6.3.5 荧光增白剂	391
6.3.6 天然色素	394
6.4 食品中的营养素、添加剂及污染物	396
6.4.1 食品中的营养素	398
6.4.2 食品中的添加剂	411
6.4.3 食品中的污染物	417
6.5 药 物	421
6.5.1 抗菌素	422
6.5.2 磺胺类药	431
6.5.3 解热镇痛药	434
6.5.4 镇静安定药	435
6.5.5 甾类药物	437
6.5.6 天然药物	437
6.6 农 药	444
6.6.1 合成拟除虫菊酯	445
6.6.2 氨基甲酸酯类	447
6.6.3 有机磷及有机氯农药	448
6.6.4 收获后的杀菌剂	449
6.6.5 除草剂	450
6.6.6 其它农药	452
6.6.7 多种农药的综合分析	453
6.7 表面活性剂	456
6.7.1 甘油三脂	456

6.7.2 脂肪酸	460
6.7.3 阳离子表面活性剂	463
6.7.4 阴离子表面活性剂	464
6.7.5 非离子表面活性剂	466
6.7.6 混合表面活性剂的分离	474
参考文献	479
第七章 离子交换及离子色谱	
7.1 基本原理	486
7.2 离子交换树脂的类型	488
7.3 离子交换树脂的基本特性	494
7.3.1 交换容量	494
7.3.2 溶胀度	496
7.3.3 颗粒度	497
7.3.4 热稳定性	497
7.4 离子交换色谱操作技术	498
7.4.1 离子交换树脂的选择	498
7.4.2 离子交换树脂的溶胀及再生	499
7.4.3 装 柱	501
7.4.4 加样及洗脱	502
7.5 离子色谱	503
7.5.1 概 述	503
7.5.2 离子色谱法的实验技术	504
7.6 离子交换色谱的应用	507
7.7 离子色谱的应用	511
7.7.1 阳离子色谱	511
7.7.2 阴离子色谱	513
参考文献	516
第八章 凝胶色谱	
8.1 基本原理	517
8.2 色谱用凝胶	520
8.2.1 琼脂糖	520
8.2.2 葡聚糖凝胶	522
8.2.3 聚丙烯酰胺凝胶	524

8.3 凝胶色谱技术	526
8.3.1 普通凝胶色谱柱	526
8.3.2 凝胶色谱仪	527
8.3.3 凝胶的选择	527
8.3.4 溶剂的选择	528
8.3.5 色谱柱的标定	530
8.3.6 凝胶色谱图的解析	530
8.4 凝胶色谱的应用	531
8.4.1 脱盐和组分离	531
8.4.2 混合物的分级分离	534
8.4.3 分子量的测定	535
参考文献	535
附 录	
一、薄层色谱及纸色谱的显色剂	537
二、常用于紫外、荧光和电化学检测的衍生试剂结构	551
三、指示剂	553
四、缓冲溶液的配制	556
五、脂肪酸	564
六、氨基酸	569
七、食用色素	574
八、一些农药的化学结构	578
九、高效液相色谱柱用填料	605
十、粒度表示法——筛目与粒子直径	621

第一章 色谱的分类

1.1 引言

从混合物中分离出单一的化合物，至今仍然是化学工作者的基本任务之一。在开始对某种物质从化学的角度进行考察之前，一般首先需要制备足够量的纯物质。有许多分析方法在进行实际测定之前，同样首先要求把各个组分从试样中分离出来。自然界中的一些物质，主要以混合物的形式存在；例如，我国的中草药，每味药内大多含有多种成分。许多药物生产也就是要求从天然或合成产物中分离出纯物质。合成产品和许多化学反应的产物通常也不尽是单一物质，反应过程中除主反应外还伴随有副反应，甚至有的原料可能就是一种混合物，得到的产物非常复杂。因此，化学工作者最经常进行的工作之一，就是要把复杂的混合物分离成各个单一的组分。

有关分离的历史已很悠久，某些分离方法也非常古老，如沉降、澄清、沉淀、过滤、萃取、升华、重结晶、蒸馏和蒸发等。其中某些方法已经历了重大的发展和突破，成为现代的分离过程，例如分子蒸馏。但是上述分离方法，包括古老的和现代的，在应用中对被分离物质均要求有一定的数量。对于某些复杂的天然或合成产物的分离，例如碳氢化合物、氨基酸、染料、抗菌素和其它生物化学产物的混合物等，这些经典方法多数是无能为力的。

因此，人们探索了一些新的现代化的分离方法。譬如，根据十分相似的衍生物具有不同的吸附作用而发现了吸附色谱法；根据在两种互不混溶的液体中混合物各组分溶解度的不同而开创了分配色谱法；根据在一种液体中各种气体溶解度的差异而构成了气相色谱法；以及由于所带电荷或电离常数的差异而引出电泳和离子交换色谱。最新的

一种方法就是利用特殊的生物化学相互作用的原理选择性分离物质的生物亲和色谱法。上述几种现代的分​​离方法都已发展到了比较完善的地步，并已经成为专用的方法。

人们常将色谱法看作是一种有效的分离方法。实际上它也是一种有效的微量分析方法。将有机官能团的鉴定方法与薄层色谱和纸色谱相结合，可使被分离物质在谱图上显层而达到鉴定化合物的目的。将波谱技术与平床色谱、高效液相色谱或离子交换色谱相结合，就可以解决被分离各组分的结构测定问题，这也是当前正在研究发展的课题。色谱法正在经历着充分而深入的发展过程。今天，气相和液相色谱法的分离能力和分离速度已经达到了几十年前几乎不能想象的水平。人们预计 21 世纪将会是亲和色谱的时代。

1.2 “色谱”的由来^[1]

“色谱”这一术语是根据“Chromatography”一词翻译而来的。它是由俄国植物学家茨维特 (Tsvet) 于 1903 年首创的。茨维特在研究分离植物色素的过程中，将色素的石油醚溶液通过一根装有粉状碳酸钙作为吸附剂的玻璃柱，结果发现，由于叶绿素在碳酸钙上的吸附强度不同，在柱的上部原混合物被分离成一些有色的区带。再用石油醚冲洗吸附柱以后，原来相互重叠的色带又进一步分离开来，在柱内形成了不同颜色的谱带，“色谱”因而得名。图 1-1 所示就是茨维特当年所用的色层分析装置。尽管以后色谱法经常用于分离无色物质，已经没有颜色这个特殊含义，但“色谱”这个名词一直保留至今。

但这种高效的分离方面在茨维特之后被遗忘了 25 年，直到 1931 年库恩 (Kohn) 等人才用它分离了胡萝卜素，并开始应用。

其后，马丁 (Martin) 等人在 40 年代先后用硅胶微粒色谱柱及纤维素分离了蛋白质的水解产物氨基酸；继而又采用纤维素以滤纸形式作为固定相载体，试验了几种作为移动相的溶剂，介绍了液相分配色谱的原理，从而为纸色谱、薄层色谱及液相色谱的发展奠定了基础。

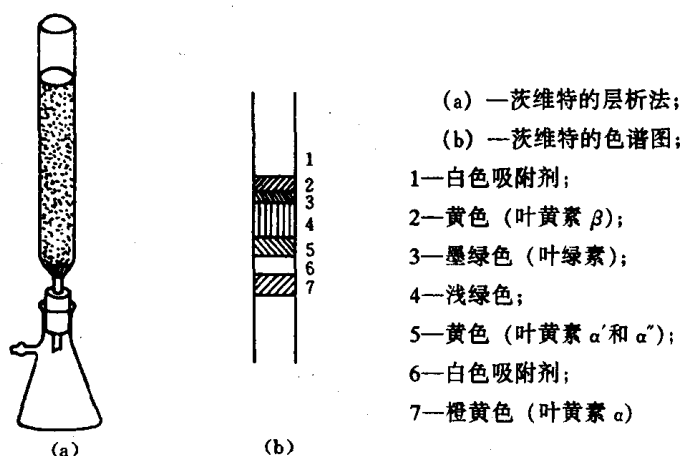


图 1-1 茨维特的色谱装置图

我国于50年代后期开展了这方面的工作,但所用名词不一致。由于所分离的物质不限于有色物质,因而除“色谱法”之外,不少人采用“色层法”或“层析法”等名词。最终于80年代全国统一用“色谱法”。

色谱法自本世纪初开始出现以来,前40年进展缓慢,后50年发展极为迅速,目前已成为一个专门的学科。

随着色谱理论的日趋完善及其技术的改进提高,色谱法有许多分支。它可以按照分离原理、两相的状态及操作方式等不同方法进行分类。但不论哪一种色谱,总是由一种移动相,带着被分离的物质流经固定相,从而使试样中的各组分得到分离。

1.3 按分离的原理分类^[1,2]

色谱法的基本原理是基于混合物中的组分在固定相和移动相之间的不均匀分配。不均匀分配的先决条件是各个单一组分对两相不同的“亲和力”和向两相不均匀扩散的可能性。

图1-2就是这种分离过程的模型。圆球 S_1 和 S_2 在两相中浸没的深度即表示“亲和力”的差别。如果物质 S_1 的分子主要处于移动相(MP)中(即对移动相的“亲和力”大),那么很明显它们被移动

相所带走的量，按平均数计算将会比 S_2 多，而后者对固定相（SP）结合较好，从而出现了组分的分离。

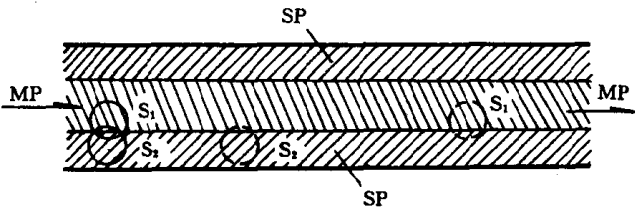


图 1-2 色谱分离一般原理示意图
 SP—固定相；MP—移动相；
 S_1 及 S_2 —被分离物质

表 1-1 列有按照分离过程原理分的色谱分类法。

表 1-1 按照分离过程原理的色谱分类法

名 称	主要分离过程的性质	测定被分离物对两相亲和能力大小的单位
吸附色谱法	吸 附	吸 附 系 数
分配色谱法	萃 取	分 配 系 数
离子交换色谱法	静电作用及扩散	电荷电离常数和有效离子直径
凝胶色谱法	扩 散	有效分子尺寸
亲和色谱法	依据生物特征和配基的相互作用	无通用单位

必须指出的是，在色谱应用中常常会遇到一些中间或混合类型的色谱，即一种色谱形式中同时有一种以上的分离原理同时起作用。

1.3.1 吸附色谱

由于物质对带有活性的固体（或液体）表面吸附力的差异，使混合物中的单一组分在固体（或液体）界面上呈现出浓度变化，出现该组分的浓缩。这种现象称为吸附。对于各组分来说，吸附系数的差异

决定于相界面上浓度的差异。若两相之间作相对移动，则这种差异就表现为色谱分离。

吸附亲和力主要取决于物质的极性大小。有机化合物分子中的官能团与非极性的碳链相比，对吸附色谱的分离效果有更大的影响。吸附色谱适宜于把混合物中的物质按其所含的极性基的数目和类型进行分类。

1.3.2 分配色谱

利用各个被分离组分在固定相和移动相两相之间分配系数的不同而进行分离的称为分配色谱。也就是说，分配色谱主要根据物质在两相中的溶解度差异而实现。分配系数 K 是固定相中一种组分的平衡浓度对移动相中同一物质浓度的比，因此，各组分的分离效率与其分配系数的差值成比例。

在分配色谱法中，通常使用一个两相系统。一相含有机溶剂较多，而另一相含水较多。水相通常固定在亲水性载体上，如滤纸、硅胶等。有机相通常是移动相。如果将它们的关系反过来，则称为反相色谱。

如果把一种非挥发性液体固定在适当的固体载体上，那么分配色谱法也可以在气相和非挥发性液相之间进行。液相中被分离组分溶解度的差异两次得到利用，溶解度较小或挥发的组分在一定温度下由载气迅速带走，从而使各个组分得到分离。

1.3.3 离子交换色谱

如果被分离的各组分在溶液中形成离子，那么这些离子就与溶液中离子交换剂的解离基团发生静电作用，这种静电的相互作用就是离子交换。带电荷多的离子对交换剂的亲和力大于带电荷少的离子。被分离混合物中各组分的离子交换能力，将取决于各组分电荷的差异。解离组分的平均电荷与离子电荷、基团的解离常数以及介质的 pH 值有关，同时还取决于溶液中的离子浓度。

在离子交换色谱中固定相是具有固定电荷的离子交换树脂，带有固定正电荷的称为阴离子交换树脂。固定电荷吸引相反符号的对立离子以保持中性。

1.3.4 凝胶色谱

待分离混合物中各组分分子的大小往往有所差异。如果含这些组分的溶液与多孔的固体相（如凝胶）接触，那么根据多孔凝胶对不同大小分子的排阻效应，各组分将得到分离。所以凝胶色谱又称排阻色谱或分子筛色谱。排阻是指大分子不能进入小的凝胶孔中而被排阻在凝胶颗粒之外，存在于液相之中；而中等尺寸的分子部分地透入固相，但大部分仍留在液相。在分离过程中，固定相和移动相产生相对运动，大分子随着移动相一起移动得较快，被溶剂带走，小分子进入凝胶内部移动较慢，这样大小分子就可以分开。控制凝胶的孔径就可以用来分离分子大小不同的物质。凝胶有亲水性和疏水性两大类，最常用的亲水性凝胶有交联葡聚糖、琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶等，它们均适用于水溶性物质，如生物高分子化合物等。疏水性凝胶有交联聚苯乙烯或橡胶等，它们可在有机溶剂中溶胀，适宜于分离疏水性有机化合物。此外，某些无机物，如多孔玻璃或硅胶也可以控制一定的孔径用于此目的。

1.3.5 亲和色谱

前几种色谱的原理是建立在被分离物质对固定相“亲和力”的差异上，而亲和色谱中的“亲和力”是建立在生物化学过程中，被分离物质与具有特异性质的配基相互作用的基础上。这种特异的相互作用产生在具有高选择性反应的一对物质之间，例如，抗体和抗原彼此特异地结合在一起，酶与其底物起反应，而不与其它物质作用等。如果上述一对物质中的一种以共价键的方式键合在一种适当的载体上，而又不丧失其功能，那么它就可以从溶液中选择性地结合与其配成对的另一物质。如果把这种带有键合物质的制剂装入色谱柱中，使溶液以慢速通过，则所需组分被结合而保留在柱中。柱子再经洗涤解吸之后，就得到所分离的物质。亲和色谱中成对物质的结合具有专一性，同时是可逆的。

上述不同类型色谱的分离原理示意如图 1-3 所示。