

色譜學 導論

达世禄 编著



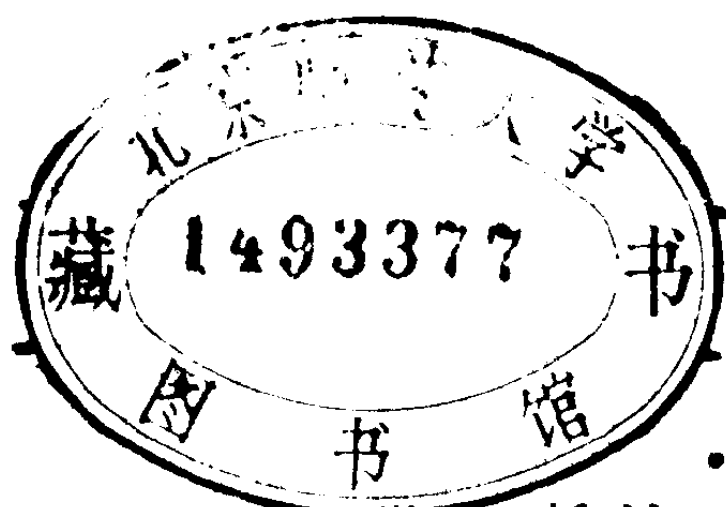
武汉大学出版社

学理科教材

色谱学导论

达世禄 编 著

541/185/11



武汉大学出版社

内 容 提 要

本书系统地论述了色谱学的基本概念和理论,详细介绍了气相和高压液相色谱仪的结构、原理及各种气相和高效液相色谱方法的分离机理和技术。对于色-质联用及微机化系统也有所介绍。全书共17章,每章附有练习、思考题及参考资料。

本书可作为高等学校化学化工、生物生化、医药卫生、轻工、食品、农林、地质冶金、环境科学等专业色谱分析课教材,也可作仪器分析、分离科学、有机分析等课程的参考教材,还可供上述专业研究生、生产和科研部门色谱工作者参考。

武汉大学理科教材

色 谱 学 导 论

达世禄 编 著

责任编辑 金丽莉

◆

武汉大学出版社出版

(武昌 珞珈山)

新华书店湖北发行所发行 武汉大学印刷厂印刷

◆

787×1092毫米 1/32 7.75印张35.7千字

1988年10月第1版 1988年10月第1次印刷

印数: 1—4000

ISBN 7-307-00350-3/0.31

定价: 3.05元

前 言

色谱法是近代分析化学中发展最快、应用最广的分离分析技术，在化学、生物学等许多领域发挥越来越重要的作用，并正在发展成为一门新兴学科。有关科学研究、生产部门的色谱实验室和色谱工作者人数迅速增加。70年代以来，我国大专院校的化学化工、生理生化、医药卫生、农林、轻工、食品、环境科学等有关专业，普遍开设了色谱学课程。然而国内还没有全面介绍色谱理论、仪器和方法的教材，参考书也十分缺乏，给从事色谱教学和研究的工作者，特别是初学者带来不少困难。教学与科研的实践都反映了对色谱教材的迫切需要。为此，编者在历年教学与科研的基础上，写成“色谱学导论”一书。

本书综合论述了色谱理论，较全面地介绍了色谱仪器的原理和结构，分别讨论各类色谱方法的分离机理和技术。全书共17章，第1章概述色谱法的产生、发展、在分析化学中的地位及几种主要色谱方法比较。第2、3章系统论述色谱学基本概念和理论。第4章介绍气相和高压液相色谱仪器。第5~7章介绍填充柱、开管柱、程序升温等气相色谱方法和技术。第8章重点讨论液相色谱流动相。第9~14章分别讨论硅胶、键合相、离子对、离子交换、凝胶等高效液相色谱方法及制备色谱。第15章论述色谱衍生化技术、色谱方法及操作条件选择的一般原则和规律。第16、17章分别讨论色谱定性、定量分析。每章附有练习和思考题，以帮助读者掌握基本概念和实用计算。各章还附有主要参考资料，以便读者深

入探讨有关专题。

在此，作者感谢为本书提供许多有益建议的学生，感谢赵藻藩教授、程介克教授、吴采模副教授为本书所提出的许多宝贵意见。本书能顺利与读者见面，要特别感谢王忠华同志在本书写作过程中所给予的支持和帮助。

由于编者学识水平和经验有限，书中缺点和错误在所难免，恳请有关专家和读者批评指正。

达世禄

1988年4月

目 录

前言	(1)
1 绪论	(1)
1.1 色谱和 色谱分 析	(1)
1.2 色谱法的产生和发展	(2)
1.3 色谱法分类	(6)
1.4 经典液相色谱、气相色谱和高效液相色谱比较	(12)
1.5 色谱文献	(16)
练习和思考题	(19)
参考资料	(19)
2 色谱学基本概念	(23)
2.1 色 谱 过 程	(23)
2.2 分 布 平 衡	(24)
2.3 分布等 温线和等温 线方程	(27)
2.4 色 谱 图	(31)
2.5 流 动 相 流 速	(35)
2.6 保 留 值	(39)
2.7 相 对 保 留 值	(47)
2.8 保 留 指 数	(48)
2.9 分 离 度	(51)
2.10 色 谱 柱 特 性 参 数	(53)
练习和思考题	(57)
参 考 资 料	(58)
3 色 谱 学 基 础 理 论	(59)

3.1	引言	(59)
3.2	色谱过程的理论分类	(60)
3.3	平衡色谱理论	(64)
3.4	塔板理论	(68)
3.5	速率理论	(8)
3.6	折合参数板高方程	(103)
3.7	柱外效应	(107)
3.8	经验关系式	(114)
3.9	色谱分离理论	(116)
3.10	分离速度和柱效	(15)
3.11	色谱柱的峰容量	(13)
	练习和思考题	(139)
	参考资料	(141)
4	色谱仪器	(143)
4.1	色谱仪基本流程和主要组成部分	(143)
4.2	气相色谱仪	(145)
4.3	色谱检测器	(152)
4.4	气相色谱检测器	(166)
4.5	高压液相色谱仪	(188)
4.6	高压液相色谱检测器	(207)
4.7	色谱仪记录和计算机系统	(225)
	练习和思考题	(231)
	参考资料	(232)
5	气相色谱填充柱	(233)
5.1	引言	(233)
5.2	固体吸附剂	(234)
5.3	多孔性高聚物	(237)
5.4	固定液	(238)
5.5	载体	(255)

5.6	色谱柱的制备	(260)
	练习和思考题	(262)
	参考资料	(262)
6	开管柱气相色谱	(264)
6.1	开管柱的特点和类型	(264)
6.2	开管柱速率理论方程	(268)
6.3	影响开管柱柱效的因素	(271)
6.4	开管柱制备	(276)
6.5	固定化固定相开管柱	(282)
6.6	开管柱的评价	(285)
6.7	开管柱色谱系统	(288)
	练习和思考题	(290)
	参考资料	(291)
7	其他气相色谱技术	(292)
7.1	程序升温气相色谱	(292)
7.2	裂解气相色谱	(299)
	练习和思考题	(305)
	参考资料	(305)
8	色谱流动相	(306)
8.1	气相色谱流动相	(306)
8.2	液相色谱流动相	(311)
8.3	溶剂的物理性质	(312)
8.4	溶剂强度与极性	(317)
8.5	混合溶剂	(320)
8.6	溶剂的选择性	(323)
	练习和思考题	(327)
	参考资料	(327)
9	硅胶高效液相色谱	(328)
9.1	引言	(328)

9.2	硅胶填料类型	(328)
9.3	硅胶的表面结构	(330)
9.4	液-固色谱	(332)
9.5	液-液色谱	(338)
	练习和思考题	(343)
	参考资料	(343)
10	键合相色谱	(345)
10.1	引言	(345)
10.2	键合相填料制备	(346)
10.3	键合相的类型和性质	(353)
10.4	极性键合相色谱	(357)
10.5	反相高效液相色谱	(360)
	练习和思考题	(378)
	参考资料	(378)
11	离子对色谱	(380)
11.1	引言	(380)
11.2	正相和反相离子对色谱	(381)
11.3	离子对色谱方法原理	(382)
11.4	影响色谱保留因素	(386)
11.5	离子对色谱保留机理	(391)
	练习和思考题	(394)
	参考资料	(394)
12	离子交换色谱	(396)
12.1	引言	(396)
12.2	离子交换剂	(397)
12.3	离子交换平衡	(406)
12.4	离子交换色谱流动相	(412)
12.5	离子色谱	(417)
	练习和思考题	(428)

参考资料	(429)
13 凝胶色谱	(430)
13.1 引言	(430)
13.2 凝胶色谱柱床的体积分布	(432)
13.3 凝胶色谱分离机理	(434)
13.4 凝胶色谱柱效和分离度	(439)
13.5 凝胶色谱填料和溶剂	(442)
13.6 凝胶色谱测定聚合物分子量分布	(447)
练习和思考题	(456)
参考资料	(457)
14 制备色谱	(458)
14.1 引言	(458)
14.2 制备气相色谱	(459)
14.3 制备高效液相色谱	(463)
练习和思考题	(476)
参考资料	(476)
15 色谱方法和操作条件选择	(477) ✓
15.1 样品	(477)
15.2 气相色谱衍生化技术	(478)
15.3 高效液相色谱衍生化技术	(483)
15.4 气相色谱分离操作条件选择	(492) ✓
15.5 高效液相色谱方法和色谱体系选择	(499) ✓
练习和思考题	(505)
参考资料	(505)
16 色谱定性分析	(507) ✓
16.1 引言	(507)
16.2 色谱方法定性	(507)
16.3 用其它仪器和化学方法定性	(513)
16.4 色谱-质谱联用技术	(515)

练习和思考题	(533)
参考资料	(533)
17 色谱定量分析	(535)
17.1 引言	(535)
17.2 峰高和峰面积测量	(536)
17.3 定量校正因子	(538)
17.4 定量分析方法	(541)
练习和思考题	(548)
参考资料	(549)

绪 论

1.1 色谱和色谱分析

色谱法或色谱学 (chromatography), 又称为色层法或层析法, 是一种物理化学分离和分析方法。这种分离方法是基于物质溶解度、蒸汽压、吸附能力、立体化学或离子交换等物理化学性质的微小差异, 使其在流动相和固定相之间的分配系数不同, 而当两相作相对运动时, 组分在两相间进行连续多次分配, 达到彼此分离的目的。极为精巧的设计使色谱法能将分子的各种性质用于分离分析, 并且只要极少量的样品。没有任何一种单一分离技术能比色谱更有效, 更普遍适用。色谱学是近代分离科学 (separation science) 的主要组成部分, 正是由于色谱学的发展, 色谱理论的形成, 导致了分离技术发展成“分离科学”。

早期色谱只是一种分离方法, 类似于萃取、蒸馏等分离技术, 不同的是分离效率高得多。许多不能或很难用蒸馏或萃取等分离的混合物及性质极为相近的化合物, 能用色谱分离。随着色谱检测技术的发展, 色谱法已不仅是一种分离技术, 也是一种分析方法。在色谱流程中, 利用物质的物理或化学性质, 例如光学性质、电学性质、热学性质、化学显色反应或微量自动酸碱滴定等, 设计各种检测装置, 对分离组

分进行连续检测。当今的色谱法，包括分离和检测两个部分，同时实现分离和分析，因而通常称为色谱分析（chromatography analysis）。

近30年来，各种色谱方法，如气相色谱、高效液相色谱、薄层色谱等在化学、生物学及相邻学科领域得到广泛应用，特别是分离和分析各种复杂的混合物，解决了大量其它分析方法不能解决的分析课题。在工业上，色谱法是自动分析和自动控制的重要技术。它还是研究物质物理化学性质、化学反应机理的有效手段。因此，色谱是现代分析化学中发展最快、应用最广、潜力最大的领域之一。

1.2 色谱法的产生和发展

色谱学是一个比较年轻的分析化学分枝学科。虽然19世纪就有人在滤纸和吸附剂上分离无机离子和石油烃类化合物，但直到1903~1906年，俄国植物学家 Tswett 提出应用吸附原理分离植物色素，才发现色谱法是一个大有可为的分离技术。他把菊根粉或碳酸钙装在一根玻璃管中，将植物叶子的石油醚提取液倒入管内，然后加入石油醚自上而下淋洗。随着淋洗进行，样品中各种色素向下移动的速度不同，逐渐形成一圈圈的连续色带，它们分别是胡萝卜素、叶黄素和叶绿素 A、B。这种连续色带称为色层或色谱，由 chroma（色彩）和 graphos（图谱）构成“色谱”一词，色谱法由此而得名。此法所使用的玻璃管称为色谱柱（chromatographic column）；管内的碳酸钙填充物称为固定相（stationary phase）；淋洗液称为流动相（mobile phase）或淋洗剂（eluent）。后来色谱法不断发展，普遍用来分离无色物质，并

不存在色谱，但色谱法这个名称一直被沿用下来。

Tsweet 发明的经典液相色谱方法，由于分离速度慢，分离效率低，长时间内未引起重视。虽然40年代出现纸色谱[paper chromatography(PC)]，50年代产生了薄层色谱[thinlayer chromatography (TLC)]，然而色谱学成为分析化学的重要分枝学科，则是以气相色谱的产生、发展为标志。有关色谱理论和技术上的创新，形成了色谱发展过程中几次重大的突跃。其中最重要的贡献当推 Martin 和 Synge 1941年的实验和理论上的成就。他们首次提出了色谱塔板理论，这是在色谱柱操作参数基础上模拟蒸馏理论，以理论塔板来表示分离效率，定量地描述、评价色谱分离过程。第二，基于液-液逆流萃取原理，发明了液-液分配色谱。第三，提出了色谱法进一步发展最有远见的预言：其一是“流动相可用气体来代替，对分离更有好处”。其二是“使用非常细颗粒的填料和柱两端施加较大的压差，应能得到最小的理论板高”。前者预见了气相色谱的产生。1952年 Martin 和 James 首次用气体作流动相，配合微量酸碱滴定，发明了气相色谱[gas chromatography(GC)]，它给挥发性化合物的分离测定带来了划时代的变革。后者预见了高压液相色谱的产生，在60年代末为人们所实现。由于对现代色谱法的形成和发展所作的重大贡献，Martin 和 Synge 被授予1952年诺贝尔化学奖。

色谱学发展的另一个重要推动力是生产发展和技术上的需要。气相色谱法产生于生物化学领域，Martin 是一个生物学家，而气相色谱的大发展是在石油化工领域。本世纪中期，石油开发、炼制及石油化工的出现和发展，迫切需要一种能分析多组分复杂混合物的手段，以解决石油及石油产品复

杂成份的分析。气相色谱出现以前，对含有几十个到上百个成份的石油馏份进行全分析，采用精密分馏配合光谱测定，分析一个样品需要几个月乃至一年以上。气相色谱能满足复杂混合物分析的需要，迅速成为石油和石油化工的一种主要分析手段。石油化工的发展又推动气相色谱以其它仪器分析方法不能比拟的速度向前发展。到60年代末色谱速率理论的产生使气相色谱理论、实验技术、仪器设备等各方面日趋完善和成熟。毛细管气相色谱的出现和发展，色谱柱效达到 $10^6 \sim 10^8$ 理论塔板数，与高灵敏度的检测器相结合，可以测定低于 10^{-14} 克级的痕量组分。60~70年代，气相色谱-质谱(GC-MS)、气相色谱-傅里叶变换红外光谱(GC-FTIR)等联用技术的成功，使色谱联用技术成为分离、鉴定、剖析复杂混合物的最有效工具。用GC-MS联用分析普通汽油中240个左右化合物，其中180种得到鉴定。气相色谱应用领域已扩展到环境检测、医药卫生、农业食品、空间研究等。

气相色谱的迅速发展和广泛应用，使色谱理论和技术进入了一个新的发展阶段，人们期望用气相色谱解决所有有关混合物的分析课题，气相色谱仪已装备了各类分析实验室。但是气相色谱也有各方面的技术限制。气相色谱仪和固定相的工作温度只能到 $350 \sim 500^\circ\text{C}$ ，因此，高沸点化合物无法用气相色谱分析。生命科学、生物工程技术的发展，迫切需要解决高沸点、强极性、热不稳定、大分子复杂混合物的分离分析课题。这种需要推动人们重新致力于液相色谱研究，气相色谱理论和技术上的成就为液相色谱的发展创造了条件。60年代中期，人们从气相色谱高速、高效、高灵敏度得到启发，着手克服经典液相色谱的缺点，采用高压泵加快液体流动相的流动速率，采用微粒固定相以提高柱效，设计高灵敏

度、死体积小检测器。到1969年，在经典液相色谱基础上发展成高速、高效的现代液相色谱法(modern liquid chromatography)，一般称为高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)、高压液相色谱(high pressure liquid chromatography, HPLC)或高速液相色谱(high speed liquid chromatography, HSLC)。作为现代色谱技术，推荐使用高效液相色谱(HPLC)这一名称。现在，柱效超过10000个理论塔板数的15厘米液相色谱柱已广泛用于常规分析。最近十年发展的微型柱高效液相色谱减少了价格贵而且污染环境的液体流动相，并且有可能探索新的检测方法。气相色谱使用的毛细管柱一般是200~300 μm 内径，液体色谱毛细管柱需用小得多的柱尺寸，小至5~10 μm ，而进样与检测器都要求 nL (纳升， 10^{-9} 升)级体积。

从色谱学领域全局来看，50~60年代是以气相色谱为代表的大发展时期；70年代进入以高效液相色谱为代表的现代色谱时期。80年代以来，HPLC的应用范围、文献数量已超过GC。在较长时期内，色谱法主要应用在有机分析领域。1975年，离子色谱的出现和各种金属螯合物色谱的迅速发展，正在改变现代色谱学的面貌。色谱法已相当广泛地用于无机阴、阳离子和金属元素的分离分析。与经典化学分析相比，它具有操作简单、快速、选择性好、灵敏度高的优点。近几年，离子色谱成为发展最快的一个色谱分枝。可以预期，色谱将成为无机分析的重要分析方法之一。

70年代，计算机技术进入色谱领域，出现了计算机控制的全自动色谱仪，导致现代色谱技术的又一个重要发展——智能色谱(chromatography with artificial intelligence)。

1981年, Dupont 公司生产的能自动选择最佳方法的液相色谱仪“探索者”(Sentinel)问世, 并相继出现了各种智能色谱研究报告。所谓智能色谱是根据色谱基础研究, 利用计算机技术, 在先进的硬件、软件结合的基础上, 解决色谱分析的主要技术关键, 即最佳条件选择和色谱定性、定量问题, 从而能自动设计色谱分析方法。智能色谱将是新一代色谱仪器。

1.3 色谱法分类

色谱法是包括多种分离类型、检测方法和操作方式的分离分析技术, 有多种分类方法。因而, 有时一种色谱体系或类型常有几种不同的名称。其主要分类方法如下:

1.3.1 按两相物理状态分类

用气体作流动相称为气相色谱, 用液体作流动相称为液相色谱, 而固定相可以是液体或固体, 这样可组合成四种主要色谱类型:

气-固色谱 (gas-solid chromatography, GSC)

气-液色谱 (gas-liquid chromatography, GLC)

液-固色谱 (liquid-solid chromatography, LSC)

液-液色谱 (liquid-liquid chromatography, LLC)

还有一种超临界流体色谱 (supercritical fluid chromatography), 流动相不是一般的气体或液体, 而是采用临界温度及临界压力以上高度压缩的气体作流动相, 其密度比一般气体大得多, 而与液体相似, 又称为高密度气相色谱法或高压气相色谱法。至今研究较多的是 CO_2 超临界流体