



全国普通高等中医药院校药学类专业“十三五”规划教材
(第二轮规划教材)

供药学类、中药学类、制药工程及相关专业使用

仪器分析

(第2版)

主编◎容蓉 邓赞



中国健康传媒集团
中国医药科技出版社



医药学堂
WWW.YIYAOXT.COM



全国普通高等中医药院校药学类专业“十三五”规划教材 (第二轮规划教材)

分析化学(第2版)
分析化学实验(第2版)
生物化学(第2版)
天然药物化学(第2版)
天然药物化学实验(第2版)
无机化学(第2版)
无机化学实验(第2版)
无机化学学习指导(第2版)
物理化学(第2版)
物理化学实验(第2版)
药剂学(第2版)
药剂学实验(第2版)
药理学(第2版)
药理学实验(第2版)
药理学思维导图与学习指导
药事管理学(第2版)
药物分析(第2版)
药物分析实验(第2版)
药物化学(第2版)
药物化学实验(第2版)
药用植物学(第2版)
► 仪器分析(第2版)
有机化学(第2版)
有机化学实验(第2版)

有机化学学习指导(第2版)
制药工程原理与设备(第2版)
中药分析学(第2版)
中药分析学实验(第2版)
中药化学(第2版)
中药化学实验(第2版)
中药鉴定学(第2版)
中药鉴定学实验(第2版)
中药炮制学(第2版)
中药炮制学实验(第2版)
中药商品学(第2版)
中药学(第2版)
中药药剂学(第2版)
中药药剂学实验(第2版)
中药药理学(第2版)
中药资源学(第2版)
生药学
中药栽培养殖学
中药传统技能
制药工程实训
中药商品学实验实训
理化基本技能训练
实验室管理与安全

获取图书免费增值服务的步骤说明:

1. 登陆医药学堂网站< <http://www.yiyaoxt.com>>或下载医药学堂客户端。
2. 注册用户,登录后输入激活码激活,免费阅读数字教材、配套数字资源。
3. 使用微信或客户端“扫一扫”功能,扫描书中二维码即可快速阅读数字资源。

尽享医科新资讯 开启微悦读时代



医药科技官方网站



医药科技官方微信



官方天猫旗舰店



官方京东旗舰店



医药学堂
WWW.YIYAOXT.COM

刮开涂层 获取图书激活码



上架建议
本科药学教材

ISBN 978-7-5214-0260-5



定价: 46.00元

责任编辑\刘丽英 封面设计\学雅阁书装

全国普通高等中医药院校药学类专业“十三五”规划教材（第二轮规划教材）

仪器分析

（第2版）

（供药学类、中药学类、制药工程及相关专业使用）

主 编 容 蓉 邓 贇

副 主 编 吕青涛 邓海山 卞金辉

编 者 （以姓氏笔画为序）

卞金辉（成都中医药大学）

邓 贇（成都中医药大学）

邓海山（南京中医药大学）

吕青涛（山东中医药大学）

刘慧琼（广东药科大学）

吴 良（海南医学院）

张 慧（山东中医药大学）

张国英（山东中医药大学）

张春丽（河南大学）

陈 丽（福建中医药大学）

容 蓉（山东中医药大学）

谢彩侠（河南中医药大学）

廖夫生（江西中医药大学）

秘 书 张 慧（山东中医药大学）



中国健康传媒集团
中国医药科技出版社

内 容 提 要

本教材是“全国普通高等中医药院校药学类专业‘十三五’规划教材（第二轮规划教材）”之一，依照教育部相关文件精神，根据本专业教学要求和课程特点，结合《中国药典》和相关执业考试大纲要求，编写而成。全书共分十五章，内容涵盖了药典通则中关于药物结构分析与含量测定等所涉及的主要仪器分析方法，重点介绍各种光谱分析法和色谱分析法。本教材为书网融合教材，即纸质教材有机融合电子教材、教学配套资源和数字化教学服务（在线教学、在线作业、在线考试），更好地满足大数据时代读者的阅读习惯。

本教材实用性强，主要供全国普通高等中医药院校药学类、中药学类、制药工程及相关专业使用，也可作为考研、医药行业考试与培训的参考用书。

图书在版编目（CIP）数据

仪器分析/容蓉，邓赞主编. —2 版. —北京：中国医药科技出版社，2018. 8

全国普通高等中医药院校药学类专业“十三五”规划教材（第二轮规划教材）

ISBN 978 - 7 - 5214 - 0260 - 5

I. ①仪… II. ①容… ②邓… III. ①仪器分析 - 中医学院 - 教材 IV. ①O657

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2018）第 097848 号

美术编辑 陈君杞

版式设计 诚达誉高

出版 中国健康传媒集团 | 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 发行：010 - 62227427 邮购：010 - 62236938

网址 [www. cmstp. com](http://www.cmstp.com)

规格 889 × 11194mm¹/₁₆

印张 18¹/₄

字数 387 千字

初版 2014 年 8 月第 1 版

版次 2018 年 8 月第 2 版

印次 2018 年 8 月第 1 次印刷

印刷 三河市国英印务有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5214 - 0260 - 5

定价 46.00 元

版权所有 盗版必究

举报电话：010 - 62228771

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国普通高等中医药院校药学类专业“十三五”规划教材（第二轮规划教材）

编写委员会

主任委员 彭 成（成都中医药大学）

副主任委员 朱 华（广西中医药大学）

杨 明（江西中医药大学）

冯卫生（河南中医药大学）

刘 文（贵阳中医学院）

彭代银（安徽中医药大学）

邱智东（长春中医药大学）

委 员 （以姓氏笔画为序）

王 建（成都中医药大学）

文红梅（南京中医药大学）

邓 赟（成都中医药大学）

池玉梅（南京中医药大学）

严 琳（河南大学）

杨 云（云南中医学院）

杨武德（贵阳中医学院）

李小芳（成都中医药大学）

吴 虹（安徽中医药大学）

吴啟南（南京中医药大学）

何 宁（天津中医药大学）

张 梅（成都中医药大学）

张朔生（山西中医药大学）

陈振江（湖北中医药大学）

周长征（山东中医药大学）

郑里翔（江西中医药大学）

胡 明（四川大学）

郭 力（成都中医药大学）

容 蓉（山东中医药大学）

巢建国（南京中医药大学）

蒋桂华（成都中医药大学）

傅超美（成都中医药大学）

裴 瑾（成都中医药大学）

王诗源（山东中医药大学）

尹 华（浙江中医药大学）

史亚军（陕西中医药大学）

许 军（江西中医药大学）

严铸云（成都中医药大学）

杨怀霞（河南中医药大学）

李 峰（山东中医药大学）

李学涛（辽宁中医药大学）

吴培云（安徽中医药大学）

吴锦忠（福建中医药大学）

张 丽（南京中医药大学）

张师愚（天津中医药大学）

陆兔林（南京中医药大学）

金传山（安徽中医药大学）

周玖瑶（广州中医药大学）

赵 骏（天津中医药大学）

夏厚林（成都中医药大学）

郭庆梅（山东中医药大学）

康文艺（河南大学）

彭 红（江西中医药大学）

韩 丽（成都中医药大学）

曾 南（成都中医药大学）

全国普通高等中医药院校药学类专业“十三五”规划教材（第二轮规划教材）

出版说明



“全国普通高等中医药院校药学类‘十二五’规划教材”于2014年8月至2015年初由中国医药科技出版社陆续出版，自出版以来得到了各院校的广泛好评。为了更新知识、优化教材品种，使教材更好地服务于院校教学，同时为了更好地贯彻落实《国家中长期教育改革和发展规划纲要（2010-2020年）》《“十三五”国家药品安全规划》《中医药发展战略规划纲要（2016-2030年）》等文件精神，培养传承中医药文明，具备行业优势的复合型、创新型高等中医药院校药学类专业人才，在教育部、国家药品监督管理局的领导下，在“十二五”规划教材的基础上，中国健康传媒集团·中国医药科技出版社组织修订编写“全国普通高等中医药院校药学类专业‘十三五’规划教材（第二轮规划教材）”。

本轮教材建设，旨在适应学科发展和食品药品监管等新要求，进一步提升教材质量，更好地满足教学需求。本轮教材吸取了目前高等中医药教育发展成果，体现了涉药类学科的新进展、新方法、新标准；旨在构建具有行业特色、符合医药高等教育人才培养要求的教材建设模式，形成“政府指导、院校联办、出版社协办”的教材编写机制，最终打造我国普通高等中医药院校药学类专业核心教材、精品教材。

本轮教材包含47门，其中39门教材为新修订教材（第2版），《药理学思维导图与学习指导》为本轮新增加教材。本轮教材具有以下主要特点。

一、教材顺应当前教育改革形势，突出行业特色

教育改革，关键是更新教育理念，核心是改革人才培养体制，目的是提高人才培养水平。教材建设是高校教育的基础建设，发挥着提高人才培养质量的基础性作用。教材建设以服务人才培养为目标，以提高教材质量为核心，以创新教材建设的体制机制为突破口，以实施教材精品战略、加强教材分类指导、完善教材评价选用制度为着力点。为适应不同类型高等学校教学需要，需编写、出版不同风格和特色的教材。而药学类高等教育的人才培养，有鲜明的行业特点，符合应用型人才培养的条件。编写具有行业特色的规划教材，有利于培养高素质应用型、复合型、创新型人才，是高等医药院校教育教学改革的体现，是贯彻落实《国家中长期教育改革和发展规划纲要（2010-2020年）》的体现。

二、教材编写树立精品意识，强化实践技能培养，体现中医药院校学科发展特色

本轮教材建设对课程体系进行科学设计，整体优化；对上版教材中不合理的内容框架进行适当调整；内容（含法律法规、食品药品标准及相关学科知识、方法与技术等）上吐故纳新，实现了基础学科与专业学科紧密衔接，主干课程与相关课程合理配置的目标。编写过程注重突出中医药院校特色，适当融入中医药文化及知识，满足21世纪复合型人才培养的需要。

参与教材编写的专家以科学严谨的治学精神和认真负责的工作态度，以建设有特色的、教师易用、学生易学、教学互动、真正引领教学实践和改革的精品教材为目标，严把编写各个环节，确保教材建设质量。

三、坚持“三基、五性、三特定”的原则，与行业法规标准、执业标准有机结合

本轮教材修订编写将培养高等中医药院校应用型、复合型药学类专业人才必需的基本知识、基本理论、基本技能作为教材建设的主体框架，将体现教材的思想性、科学性、先进性、启发性、适用性作为教材建设灵魂，在教材内容上设立“要点导航”“重点小结”模块对其加以明确；使“三基、五性、三特定”有机融合，相互渗透，贯穿教材编写始终。并且，设立“知识拓展”“药师考点”等模块，与《国家执业药师资格考试考试大纲》和新版《药品生产质量管理规范》（GMP）、《药品经营质量管理规范》（GSP）紧密衔接，避免理论与实践脱节，教学与实际工作脱节。

四、创新教材呈现形式，书网融合，使教与学更便捷、更轻松

本轮教材全部为书网融合教材，即纸质教材与数字教材、配套教学资源、题库系统、数字化教学服务有机融合。通过“一书一码”的强关联，为读者提供全免费增值服务。按教材封底的提示激活教材后，读者可通过 PC、手机阅读电子教材和配套课程资源，并可在线进行同步练习，实时反馈答案和解析。同时，读者也可以直接扫描书中二维码，阅读与教材内容关联的课程资源（“扫码学一学”，轻松学习 PPT 课件；“扫码练一练”，随时做题检测学习效果），从而丰富学习体验，使学习更便捷。教师可通过 PC 在线创建课程，与学生互动，开展在线课程内容定制、布置和批改作业、在线组织考试、讨论与答疑等教学活动，学生通过 PC、手机均可实现在线作业、在线考试，提升学习效率，使教与学更轻松。此外，平台尚有数据分析、教学诊断等功能，可为教学研究与管理提供技术和数据支撑。

本套教材的修订编写得到了教育部、国家药品监督管理局相关领导、专家的大力支持和指导；得到了全国高等医药院校、部分医药企业、科研机构专家和教师的支持和积极参与，谨此，表示衷心的感谢！希望以教材建设为核心，为高等医药院校搭建长期的教学交流平台，对医药人才培养和教育教学改革产生积极的推动作用。同时精品教材的建设工作漫长而艰巨，希望各院校师生在教学过程中，及时提出宝贵的意见和建议，以便不断修订完善，更好地为药学教育事业发展和保障人民用药安全有效服务！

中国医药科技出版社

2018 年 6 月

前言

PREFACE

仪器分析课程是药学类、中药学类、制药工程以及相关专业重要的专业基础课程。本课程旨在指导学生学习药学研究中常用的各类仪器分析方法，掌握各类方法的基本原理、分析仪器的组成和特点，熟悉各类仪器分析方法的应用及分析过程，为后期的专业课程学习和实际应用打好基础。

本教材为“全国普通高等中医药院校药学类专业‘十三五’规划教材（第二轮规划教材）”之一，内容涵盖了药典通则中关于药物结构分析、含量测定以及定性鉴别等所涉及的主要仪器分析方法，重点介绍各种光谱分析法和色谱分析法；做到重点突出、层次分明、语言简练、深入浅出。可供全国普通高等院校药学类、中药学类、制药工程以及相关专业使用，也可作为考研、医药行业考试与培训的参考用书。

为适应当前我国医药事业快速发展的要求，紧跟学科发展步伐，更加适应我国“十三五”高等中医药教育事业发展的新形势、新目标和新要求，更好地满足专业人才的培养需求，在上版内容的基础上进行了修订编写工作。为帮助学生更好地学习掌握仪器分析的基本理论、基础知识和基本技能，同时配合在线教育需求，本次修订增加了“书网融合”内容，即纸质教材有机融合电子教材、教学配套资源和数字化教学服务（在线教学、在线作业、在线考试）；相关的知识点覆盖面较全，内容上层次清晰、繁简得当，形式上图文并茂、界面美观；既便于学生在线同步学习，也方便教师创建在线课程，适应于数字化教学服务的需求。

教材由所有编者合作、分工编写，主编整理而成。第一章编写人员为容蓉，第二、十章为谢彩侠，第三章为张春丽，第四章为吴良，第五章为邓海山，第六章为刘慧琼，第七、八章为邓赞，第九章为廖夫生，第十一章为卞金辉，第十二章为陈丽、张慧，第十三章为容蓉、张慧，第十四章为吕青涛，第十五章为张国英。其中色谱部分由容蓉负责统稿审校，光谱部分由邓赞负责统稿审校。吕青涛和邓海山协助对部分章节的内容进行了审校。

在编写教材编写过程中得到各位编者所在学校的大力支持，在此一并深表谢意！受时间与水平所限，编写的教材还有待于进一步完善，欢迎批评指正。

编者

2018年6月



第一章 ● 绪论

第一节 仪器分析的分类与特点	1
一、仪器分析的分类	1
二、仪器分析法的特点	2
第二节 仪器分析的标准方法及其验证	3
一、仪器分析方法的标准化	3
二、分析方法验证的内容、方法和要求	3
第三节 仪器分析的发展和应用	5

第二章 ● 光谱分析法概论

第一节 电磁辐射及其与物质的相互作用	7
一、电磁辐射与电磁波谱	7
二、电磁辐射与物质的相互作用	8
第二节 光学分析法的分类	9
一、非光谱法	9
二、光谱法	9
第三节 光谱分析仪器	10
一、辐射源	10
二、分光系统	10
三、试样容器	11
四、检测器	11
五、信号处理器和显示装置	12

第三章 ● 紫外-可见分光光度法

第一节 基本原理	13
一、紫外-可见吸收光谱	13
二、紫外-可见吸收光谱的有关概念	16

三、吸收带及其与分子结构的关系	16
四、某些常见有机化合物的吸收光谱	17
五、影响紫外吸收光谱的主要因素	19
第二节 Lambert - Beer 定律	21
一、Lambert - Beer 定律	21
二、吸光度的加合性	22
三、偏离 Beer 定律的因素	22
四、测量条件的选择	24
第三节 显色反应及其显色条件选择	25
一、显色反应的类型	26
二、显色条件的选择	26
第四节 紫外 - 可见分光光度计	27
一、主要部件	27
二、类型及校正和检查	29
第五节 定性与定量分析	31
一、定性分析	31
二、纯度检查	32
三、单组分定量分析方法	33
四、多组分定量分析方法	34
五、结构分析	36

第四章 ● 分子荧光分光光度法

第一节 基本原理	39
一、分子荧光的产生	39
二、激发光谱和荧光光谱	41
第二节 荧光强度的影响因素	43
一、荧光效率和荧光寿命	43
二、荧光强度与分子结构的关系	43
三、影响荧光强度的外部因素	45
四、荧光强度与溶液浓度的关系	47
第三节 荧光光谱仪	48
一、荧光光谱仪的类型	48
二、仪器的主要部件	48
第四节 定性和定量分析方法	49
一、定性分析	49
二、定量分析	49
第五节 荧光分析法的应用和新技术简介	50
一、荧光分析法在药物分析中的应用	50

二、荧光新技术	51
---------------	----

第五章 ● 原子吸收分光光度法

第一节 基本原理	54
一、原子吸收线的产生	54
二、原子的各能级分布	55
三、原子吸收线的宽度	55
四、原子吸收光谱的测量	57
第二节 原子吸收分光光度计	58
一、主要部件组成	58
二、仪器的结构和类型	61
第三节 原子吸收光谱的测定	62
一、干扰及其抑制	62
二、实验条件的选择	64
三、定量分析方法	65
四、分析方法与仪器性能的评价	66
第四节 电感耦合等离子体质谱法简介	67
一、基本原理	67
二、仪器组成	68
三、分析方法	69
第五节 应用与示例	69
一、明胶空心胶囊中铬含量的测定	70
二、铅、镉、砷、汞、铜测定法	70

第六章 ● 红外分光光度法

第一节 基本原理	72
一、振动能级和振动光谱	73
二、基频峰与泛频峰	75
三、振动类型与振动自由度	75
四、特征区、指纹区与相关峰	76
五、吸收峰的峰数	77
六、吸收峰的强度	77
第二节 影响谱带位置的因素	78
一、内部因素	78
二、外部因素	80
第三节 红外光谱与分子结构的关系	80
一、红外光谱的九个重要区段	80
二、有机化合物的典型光谱	81

第四节	红外分光光度计及制样	89
一、傅立叶变换红外光谱仪简介	89	
二、样品的制备	91	
第五节	应用与示例	91
一、定性分析	91	
二、谱图解析	92	

第七章 ● 核磁共振氢谱

第一节	基本原理	97
一、原子核的磁性	97	
二、自旋角动量和核磁矩	98	
三、磁化矢量和弛豫	99	
四、核磁共振条件	100	
第二节	化学位移	100
一、化学位移的产生	100	
二、化学位移标准物质和化学位移的表示	100	
三、影响化学位移的因素	101	
四、不同类型质子的化学位移	103	
第三节	峰面积与氢核数目	105
一、峰面积	105	
二、氢核数目	105	
第四节	自旋耦合与自旋系统	106
一、自旋-自旋耦合	106	
二、核的等价性与自旋耦合系统	109	
第五节	核磁共振波谱仪及实验方法	113
一、核磁共振仪	113	
二、实验方法	114	
第六节	核磁共振氢谱的解析	115
一、核磁共振氢谱解析的一般程序	115	
二、解析示例	116	

第八章 ● 核磁共振碳谱和二维核磁共振谱

第一节	碳谱的特点及常见类型	120
一、碳谱的基本特点	120	
二、常见的碳谱类型	121	
第二节	碳谱的化学位移	123
一、影响碳谱化学位移的因素	123	
二、各类化合物 ¹³ C的化学位移	126	

第三节	核磁共振碳谱解析的一般程序	129
一、	利用 ^{13}C -NMR谱进行结构分析的一般步骤	129
二、	解析示例	129
第四节	二维核磁共振谱简介	131
一、	二维核磁共振谱类型	131
二、	常用二维核磁共振谱解析简介	131

第九章 • 质谱法

第一节	基本原理与仪器简介	135
一、	基本原理	135
二、	质谱仪的主要部件	135
三、	质谱仪的主要性能指标	139
四、	质谱的表示方式	139
第二节	离子的主要类型	140
一、	分子离子	140
二、	同位素离子	141
三、	碎片离子	142
四、	亚稳离子	142
第三节	离子的裂解类型	143
一、	共价键断裂方式	143
二、	离子的裂解类型	143
三、	常见有机化合物裂解规律	145
第四节	质谱解析	149
一、	分子离子峰的确定	149
二、	分子式的确定	150
三、	质谱解析步骤及示例	151

第十章 • 波谱综合解析

第一节	综合解析方法	155
一、	综合解析对分析试样的要求	155
二、	综合解析中常用的波谱学方法	155
第二节	综合解析的一般程序	156
一、	分子式的确定	156
二、	结构式的确定	157
三、	结构的验证	157
第三节	综合解析示例	157

第十一章 • 色谱法概论

第一节	概述	166
一、	色谱法历史	166
二、	色谱法的相关名词	167
三、	色谱法分类	167
第二节	色谱分离过程简介	168
第三节	色谱分析中的重要参数	168
一、	色谱流出曲线	168
二、	色谱分析中的一些重要参数	171
第四节	分配等温线	172
一、	三种分配等温线	172
二、	样品上样量对保留值的影响	173
三、	减小非线性等温线产生的色谱峰拖尾和前伸	173
第五节	色谱法基本理论	174
一、	塔板理论	174
二、	速率理论	176
三、	分离度 (R)	179
四、	色谱分离方程式	180

第十二章 • 经典液相色谱法

第一节	吸附色谱法	183
一、	基本原理	183
二、	常用吸附剂及其性质	184
三、	流动相 (洗脱剂)	185
四、	色谱条件的选择	185
五、	经典吸附柱色谱操作	186
六、	应用	187
第二节	分配色谱法	187
一、	基本原理	187
二、	固定相	187
三、	色谱条件的选择	188
四、	分配柱色谱操作	188
五、	应用	189
第三节	离子交换色谱法	189
一、	离子交换平衡	189
二、	离子交换树脂	190
三、	操作方法	191

	四、应用	191
第四节	分子排阻色谱法	192
	一、基本原理	192
	二、凝胶的分类	193
	三、实验操作	194
	四、应用	195
第五节	聚酰胺色谱法	195
	一、基本原理	195
	二、应用	196
第六节	平面色谱法	197
	一、平面色谱法概述	197
	二、平面色谱法基本原理	197
	三、薄层色谱法	198
	四、纸色谱法	201

第十三章 ● 气相色谱法

第一节	基本原理	203
	一、气相色谱法基本原理及特点	203
	二、气相色谱仪的基本流程及结构	203
第二节	进样口及进样方式	204
	一、分流/不分流进样口	204
	二、填充柱进样口	206
	三、其他类型进样口	206
	四、进样方式	206
第三节	色谱柱	207
	一、填充柱	207
	二、毛细管色谱柱	210
第四节	检测器	211
	一、检测器的分类与要求	211
	二、热导检测器	212
	三、氢焰离子化检测器	213
	四、电子捕获检测器	214
	五、火焰光度检测器	215
	六、氮磷检测器	215
第五节	色谱分离条件的选择	216
	一、气相色谱速率理论	216
	二、操作条件的选择	217

第六节	定性与定量分析	219
一、定性分析		219
二、定量分析		221
第七节	现代气相色谱法简介	224
一、气相色谱 - 质谱联用		224
二、顶空气相色谱法		225
三、裂解气相色谱法		226
第八节	应用与示例	226
一、中药成分的定性分析		226
二、药效物质及药用辅料的定量分析		226
三、溶剂残留分析		227
四、体内药物分析		228

第十四章 ● 高效液相色谱法

第一节	概述	230
第二节	高效液相色谱仪	230
一、基本组成		230
二、高压输液系统		231
三、进样系统		234
四、分离系统		234
五、检测器		235
第三节	高效液相色谱法中的速率理论	238
一、柱内展宽		238
二、柱外展宽		240
第四节	各类高效液相色谱分离方法	240
一、吸附色谱法		240
二、化学键合相色谱法		240
三、离子对色谱法		243
四、分子排阻色谱法		244
五、其他色谱法		245
第五节	流动相及洗脱方式	245
一、对流动相溶剂的一般要求		245
二、常用流动相溶剂的性质		245
三、洗脱方式		248
第六节	定性与定量分析方法	248
一、定性分析		248
二、定量分析		249
第七节	超高效液相色谱简介	249
一、理论基础		249

二、实现超高效液相色谱的必要条件	250
三、应用前景	250
第八节 高效液相色谱-质谱联用技术简介	250
一、仪器组成原理	251
二、实验条件的选择	251
三、定性、定量分析	251
第九节 应用示例	252

第十五章 ● 高效毛细管电泳与毛细管电色谱

第一节 基本原理	255
一、基本概念	255
二、分离原理	256
三、分析参数	257
第二节 高效毛细管电泳分离模式	258
一、毛细管区带电泳	259
二、胶束电动毛细管色谱	259
三、毛细管凝胶电泳	259
四、毛细管等电聚焦电泳	259
五、毛细管等速电泳	260
六、非水毛细管电泳	260
第三节 高效毛细管电泳仪	260
一、高压电源	260
二、毛细管	261
三、进样方法	261
四、缓冲液池	261
五、检测器	261
第四节 毛细管区带电泳分离条件的选择	261
一、缓冲溶液的选择	261
二、工作电压的选择	262
三、添加剂的选择	262
第五节 毛细管电泳的应用与示例	263
第六节 毛细管电色谱简介	263
一、基本原理	264
二、保留机制	264
三、仪器构造	265
四、应用展望	265

附录

附录一	有机化合物主要官能团的 ^{13}C 化学位移	267
附录二	质谱中常见的碎片离子（正电荷未标出）	269
附录三	质谱中经常失去的中性碎片	272
附录四	高效液相色谱法常用溶剂的性质 ^①	273

第十四章 高效液相色谱法



要点导航

1. 掌握高效液相色谱的检测器类型、原理和检测对象；高效液相色谱法的类型、原理和特点。
2. 熟悉高效液相色谱仪的组成和分析条件的选择。
3. 了解高效液相色谱法的最新进展和在药学研究中的应用。



扫码“学一学”

第一节 概 述

高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 是 20 世纪 60 年代末以经典液相色谱为基础, 引入了气相色谱的理论与技术, 采用高压泵、小颗粒高效固定相、高灵敏度在线检测器而发展起来的一种重要的分离分析方法。

气相色谱法具有分析速度快、分离效率高和灵敏度高等优点。但是气相色谱要求样品在操作温度下能气化且不分解。据估计, 在已知的约 300 万个化合物中能直接进行气相色谱分析的化合物占 15% ~ 20%。对于高沸点化合物、难挥发及热不稳定的化合物、离子型化合物及高聚物等, 很难用气相色谱法分析。

经典液相色谱法, 流动相在常压或低压下运行, 固定相颗粒粗, 传质速度慢, 柱效低, 分析时间长, 一般不能在线检测, 常用于制备分离。高效液相色谱由于采用了小颗粒高效固定相、高压泵和高灵敏度检测器, 因此具有分离效率高、分析速度快、检测灵敏度高、色谱柱可重复使用、适用范围广、可自动化操作等优点。按照其分离机制, 高效液相色谱可以分为吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱和凝胶渗透色谱等。



扫码“学一学”

第二节 高效液相色谱仪

一、基本组成

虽然目前高效液相色谱仪的品牌、配置多种多样, 但其基本工作原理、基本组成、基本流程相同。基本组成主要包括高压输液系统、进样系统、色谱柱分离系统、检测器、自动组分收集器、色谱工作站等, 如图 14-1 所示。流动相的溶剂经脱气后由高压泵系统恒流输出, 经进样器到色谱柱, 再到检测器; 样品由进样器导入, 随流动相进入色谱柱进行分离, 被分离组分进入检测器产生信号, 信号经色谱工作站采集、记录、处理, 获得色谱图和分析结果。如果是制备色谱, 还可通过色谱工作站控制组分收集器根据信号或时间间



隔自动分段收集，得到纯化的目标化合物。

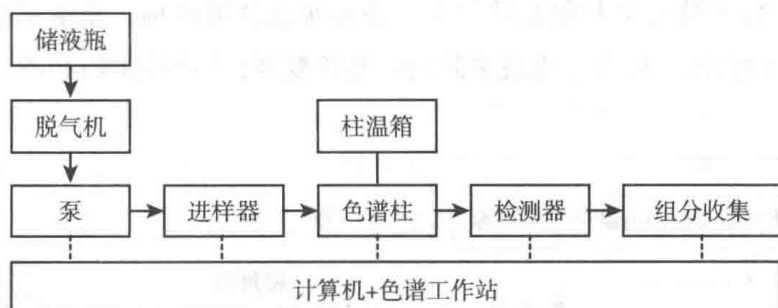


图 14-1 高效液相色谱仪基本组成

二、高压输液系统

1. 储液瓶 储液瓶用来储存流动相溶剂，其材质应耐腐蚀，一般为玻璃瓶，容积一般为 0.5 ~ 2.0L，无色或棕色，棕色瓶可起到避光作用，常用于盛放水溶液以减缓菌类生长，盛放水溶液的储液瓶应定期清洗。储液瓶的位置一般应高于泵，以保持一定的输液静压差。

流动相所用溶剂应经过 0.2 ~ 0.45 μm 滤膜过滤，除去溶剂中的固体杂质后放入储液瓶，以防止堵塞系统。插入储液瓶中的输液管路顶端为微孔过滤头，一般用不锈钢或玻璃制成，色谱仪工作时不能将过滤头摘除。

2. 溶剂脱气装置 HPLC 所用流动相必须预先脱气，如果脱气不好则容易产生气泡，影响泵的正常 work，造成压力波动；还会影响检测器的基线稳定性，使基线噪音增大，甚至无法检测待测组分；在梯度洗脱时会造成基线漂移过大或形成鬼峰。此外，溶解在流动相中的氧还可与样品、固定相反应使其降解；或者与某些溶剂（如四氢呋喃）形成有紫外吸收的络合物，增加背景吸收；在荧光检测中，溶解的氧在一定条件下还会引起荧光淬灭现象；在电化学检测中，氧的影响更大。

常用的脱气方法有：①加热回流脱气。使溶剂中溶解的气体逸出，使用回流冷凝器可减少挥发性溶剂的损失，最好不用于混合流动相的脱气。②抽真空脱气。减压至 0.05 ~ 0.07MPa 即可除去溶解的气体，使用真空泵连接抽滤瓶可以一起完成过滤和脱气的双重任务，由于抽真空会引起混合溶剂组成的变化，故此法适用于单一溶剂的脱气。③超声波震荡脱气。将盛放流动相的储液瓶置于超声波清洗器中，用超声波振荡 10 ~ 30 分钟即可脱气；④氦气鼓泡脱气。氦气在液体中的溶解度比空气低，以 60ml/min 的流速缓缓地通过流动相，鼓泡 10 ~ 15 分钟，可除去溶解的气体，此法适用于所有的溶剂，脱气效果较好，但也会影响混合溶剂的比例。⑤在线真空脱气机脱气。可实现流动相的连续不间断脱气，脱气效果优于其他方法，并适用于多元溶剂系统，其结构示意图见图 14-2，当溶剂流经管状半透膜时，溶剂中的气体可渗透出来进入真空腔而被脱去。

3. 高压输液泵 高压输液泵是 HPLC 系统中最重要部件之一。由于高效液相色谱所用色谱柱固定相粒度小，对流动相阻力大，因此，必须借助于高压泵使流动相以一定的速度流过色谱柱，泵的性能好坏直接影响到整个系统的工作质量和分析结果的可靠性。输液泵应具备如下性能：①流量稳定，这对定性、定量分析的准确性至关重要；②流量可以自由调节，可调范围宽；③输出压力高，无脉动；④适于梯度洗脱；⑤密封性好，耐腐蚀。常见的高压输液泵有单元泵、二元泵和四元泵。



高压输液泵的种类很多，按输出液体方式可分为恒压泵和恒流泵。恒流泵按结构又可分为螺旋注射泵、柱塞往复泵和隔膜往复泵。恒压泵受柱阻影响，流量不稳定；螺旋泵缸体太大，这两种泵已被淘汰，目前应用最多的是柱塞往复泵，结构见图 14-3。

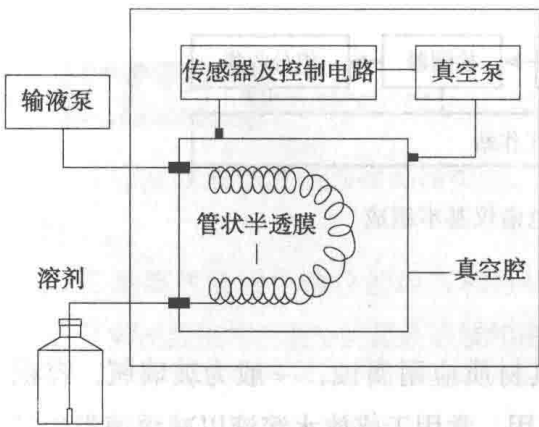


图 14-2 在线真空脱气机结构示意图

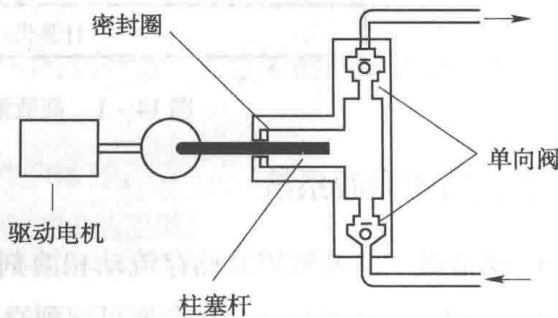


图 14-3 柱塞往复泵结构示意图

柱塞往复泵的泵腔容积小，易于清洗和更换流动相，特别适合于再循环和梯度洗脱；能方便地调节流量，流量不受柱阻影响；泵压可达 600 kg/cm^2 以上。其主要缺点是输出的脉动性较大，现多采用双柱塞补偿法及脉冲阻尼器来克服。双柱塞补偿按连接方式可分为并联泵和串联泵，一般说来并联泵的流量重现性较好，但因多一组单向阀，出故障的机会较多，价格也较贵，故现在串联泵较多，串联泵是将两个柱塞往复泵串联，其结构见图 14-4。

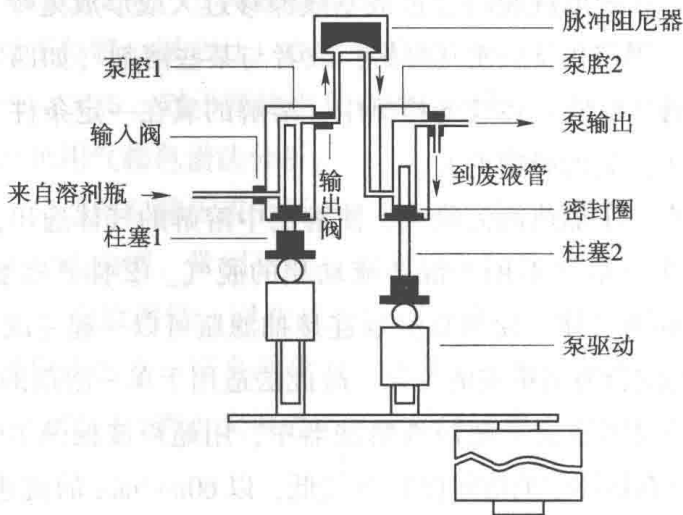


图 14-4 单元泵结构示意图

串联泵工作时两个柱塞杆运动方向相反，柱塞 1 的行程是柱塞 2 的 2 倍，即吸液和排液的流量是柱塞 2 的 2 倍。当柱塞 1 吸液时，柱塞 2 排液，液体由泵腔 2 输出；当柱塞 1 排液时，柱塞 2 吸液，其排出的液体 1/2 被柱塞 2 吸取到泵腔 2，1/2 输出；如此往复运动，输出恒定流量的流动相。

4. 梯度洗脱装置及四元泵和二元泵 高效液相色谱有等度（isocratic）洗脱和梯度（gradient）洗脱两种洗脱方式。等度洗脱是指在洗脱时流动相组成保持恒定不变，梯度洗脱是指在一个分析周期内由工作站控制，按一定速率连续改变流动相的组成，如溶剂的极性、pH 等，用于分析组分数目多、组分 k 值差异较大的复杂样品，可以在保证分离度的前提下缩短分析时间、改善峰形、提高检测灵敏度，但是常常引起基线漂移和重现性变差。



梯度洗脱有两种实现方式：低压梯度和高压梯度。

低压梯度是指溶剂在常压下混合。流动相所需的各种溶剂经脱气后，在常压下进入多通道比例阀，由多通道比例阀控制各种溶剂的比例，混合后进入高压泵，再由高压泵将流动相以一定的流量输出至色谱柱。最常见的低压梯度泵是四元泵，其结构见图 14-5。其特点是只需一个高压输液泵，由梯度程序控制四元比例阀来改变溶剂的比例，即可实现二元至四元的梯度洗脱，成本低廉、使用方便；由于溶剂在常压下混合，易产生气泡，故需要良好的在线脱气装置。

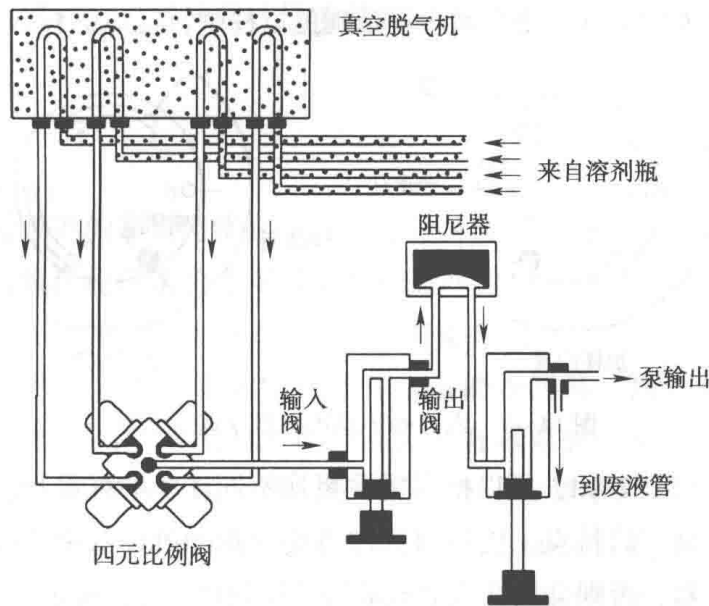


图 14-5 四元泵结构示意图

高压梯度是指溶剂在高压下混合。最常见的是二元泵，即用两个高压泵分别按设定比例输送两种不同溶剂至混合器，在泵后高压状态下将两种溶液进行混合，然后以一定的流量输出。其主要优点是，只要通过梯度程序控制改变两个泵各自的流量，并保持输出总流量不变，就能获得任意形式的梯度曲线，而且精度很高，其结构见图14-6。其主要缺点是必须使用两个高压输液泵，因此价格比较昂贵。由于溶剂在高压下混合，其中的气体不会逸出，所以二元泵可以不用脱气机。

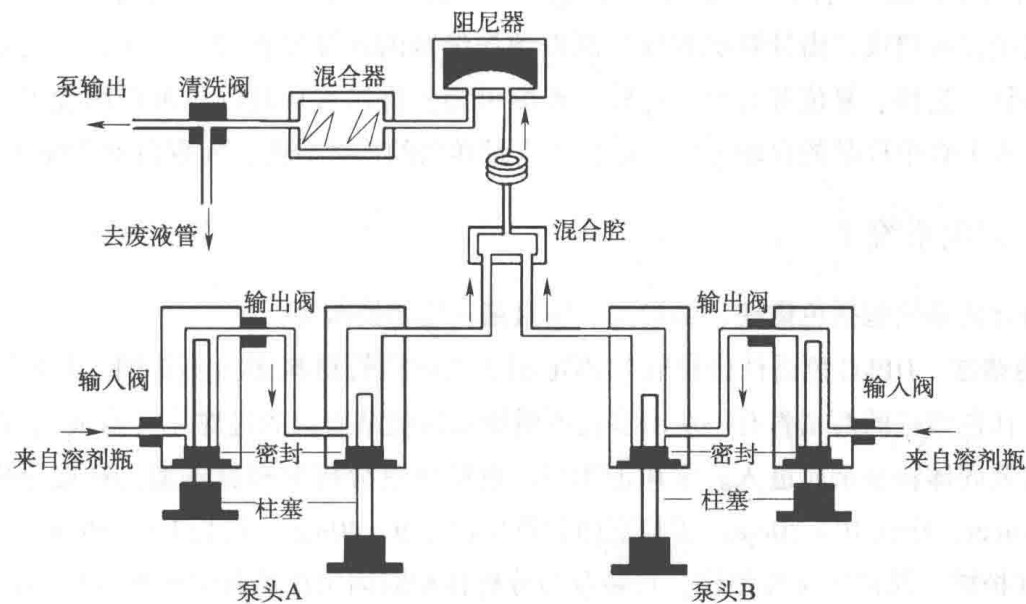


图 14-6 二元泵结构示意图



三、进样系统

进样系统连接在高压泵和色谱柱之间，作用是将样品溶液引入色谱柱，常用装置有六通阀手动进样器及自动进样器。

1. 六通阀手动进样器 结构原理见图 14-7。六通阀有 6 个接口，进样时先将阀切换到“加样位置”（load），流动相由泵直接进入色谱柱，用微量注射器将样品溶液由针孔注入样品环（多余的废液由 6 号口排除），然后将进样阀手柄顺时针转动 60°至“进样位置”（inject），流动相由泵进入样品环，将样品溶液带到色谱柱中，完成进样。

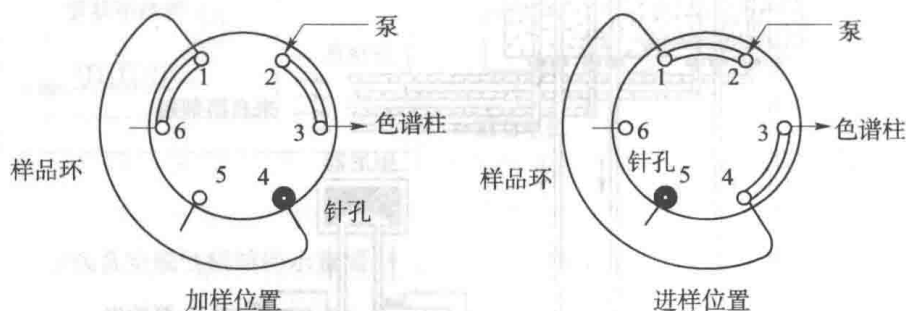


图 14-7 六通阀手动进样器原理示意图

常用的样品环体积是 20 μ l，可以根据需要更换不同体积的样品环。六通阀进样器具有进样重现性好、能耐高压的特点。使用时要注意必须用 HPLC 专用平头微量注射器，不能使用尖头的微量注射器，否则会损坏六通阀的转子密封垫，造成漏液。

六通阀的进样方式有满阀进样和非满阀进样两种。①满阀进样是指进样前在加样位置用样品溶液将样品环充满，然后再转到进样位置进样，实际进样体积即为样品环的体积。由于样品环的体积是一定的，所以满阀进样的定量重现性很好。满阀进样时，应注意注入的样品溶液体积应达到样品环体积的 5~10 倍，才能确保进样的准确度及重现性。②非满阀进样是指进样体积小于样品环的体积。用非满阀进样时，注入的样品溶液体积应不大于定量环体积的 50%，并要求每次进样体积准确、相同。此法的准确度和重现性取决于用注射器取样的精度和操作熟练程度。

2. 自动进样器 自动进样器主要由机械手、进样针、针座、进样六通阀、计量泵、进样针清洗组件等组成，由计算机软件控制按预先编制的进样操作程序工作，自动完成定量取样、洗针、进样、复位等过程，进样量连续可调，进样重现性好，可按照设置好的序列完成几十至上百个样品的自动分析，适合大批量样品的连续分析，实现自动化操作。

四、分离系统

色谱分离系统包括色谱柱、保护柱、柱温箱、柱切换阀等。

1. 色谱柱 HPLC 色谱柱由柱管和固定相组成，柱管材料多为不锈钢，其内壁要求镜面抛光，在色谱柱的两端各有一块由多孔不锈钢材料烧结而成的过滤片（筛板），以防止固定相流出及固体颗粒杂质进入。常用的 HPLC 色谱柱有分析型和制备型，普通分析柱的内径 2~4.6mm，柱长 10~30cm；实验室用制备柱内径 9~40mm，柱长 10~30cm。

2. 保护柱 保护柱又称预柱，是装有与分析柱相同固定相填料的短柱（5~50mm 长），接在色谱柱前，可以方便地更换，起到保护色谱柱、延长柱寿命的作用。



3. 柱温箱 柱温箱是用来使色谱柱恒温的装置，有些柱温箱还可选装柱切换阀，从而实现色谱柱选择、样品富集、预柱反冲、二维色谱分析等功能。

精确控制柱温可提高色谱分析结果的重现性。当使用示差折光检测器时，柱温会显著地影响检测器的基线波动大小和最小检出限。分析某些生物样品时，其柱温往往也有特殊要求，需要用柱温箱来控制柱温。

4. 色谱柱的评价 现行版《中国药典》中规定，用高效液相色谱法进行定量分析时，需进行“系统适用性试验”，给出分析状态下色谱柱应达到的最小理论塔板数、分离度和拖尾因子等。购买新色谱柱时也需检验柱性能是否合乎要求，检验条件可参考色谱柱附带的手册或检验报告。

五、检测器

高效液相色谱检测器的作用是将柱后流动相中待测组分的含量定量地转化为可供检测的电信号。理想的高效液相色谱检测器应灵敏度高、适用范围广、适用于梯度洗脱、死体积小、线性范围宽、不破坏待测组分，但实际中很难找到满足上述全部要求的检测器，应根据待测组分的性质和各种检测器的特点选择合适的检测器。高效液相色谱检测器有通用型检测器和专用型检测器，常见的通用型检测器有示差折光检测器、蒸发光散射检测器等，专用型检测器主要有紫外检测器、荧光检测器、安培检测器等。

1. 可变波长紫外检测器 可变波长紫外检测器 (variable wavelength detector, VWD)，是目前高效液相色谱中应用最广泛、配置最多的检测器，适用于有紫外吸收的化合物的检测，具有灵敏度高、精密度好、线性范围宽、对温度及流动相流速变化不敏感、可用于梯度洗脱等特点。缺点是不适用于无紫外特征吸收的组分的检测，不能使用有紫外吸收的溶剂作流动相（溶剂的截止波长必须小于检测波长）。

VWD 的光路示意图见图 14-8。光源（氙灯）发射的光经过入射狭缝、反射镜 1 到达光栅产生单色光，单色光经反射镜 2 至光束分裂器，透过光束分裂器的光通过样品流通池，到达样品光电二极管；被光束分裂器反射的光到达参比光电二极管；通过比较两者的光强可以获得吸光度 (A) 信号，同时可以消除光源光强波动造成的影响。

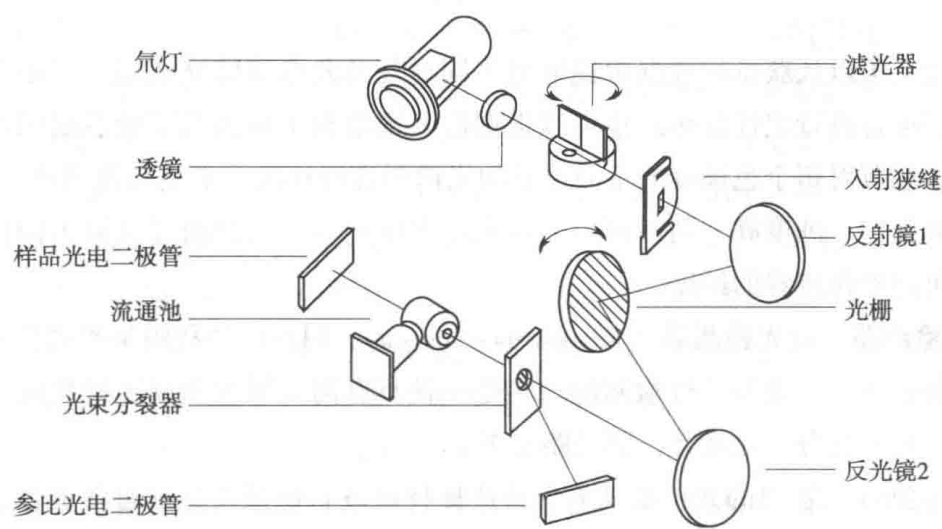


图 14-8 可变波长紫外检测器光路示意图

2. 二极管阵列检测器 二极管阵列检测器 (diode array detector, DAD; photo-diode ar-



ray detector, PDA, PDAD) 是 20 世纪 80 年代发展起来的的一种新型紫外检测器, 其光路示意图见图 14-9。与可变波长紫外检测器不同的是, 光源发出的复合光不经分光先通过流通池, 被流动相中的组分吸收, 再通过狭缝到光栅进行色散分光, 将含有吸收信息的各波长的光投射到一个由 1024 个二极管组成的二极管阵列上而被同时检测, 每一个二极管各自测量某一波长下的光强, 并用电子学方法及计算机技术对二极管阵列快速扫描采集数据。由于扫描速度非常快, 所以无需停止流动相, 即可获得柱后流出液的各个瞬间光谱图及各个波长下的色谱图, 经计算机处理后可得到色谱-光谱三维图谱, 如图 14-10 所示。

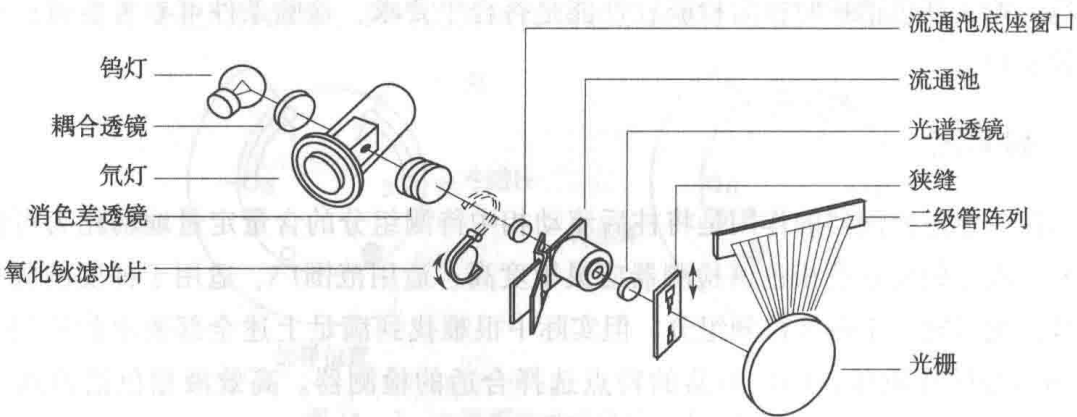


图 14-9 二极管阵列检测器光路示意图

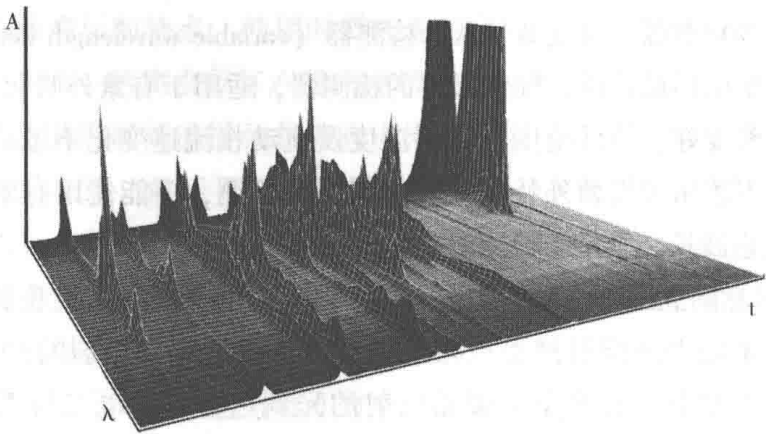


图 14-10 多组分混合物的三维图谱

分析完成后可以从获得的数据中提取出不同时刻及各色谱峰光谱图, 利用色谱保留值规律及光谱图综合进行定性分析; 也可以根据需要提取出不同波长下的色谱图作色谱定量分析。此外, 还可对每个色谱峰的不同位置的光谱图进行比较, 来进行色谱峰峰纯度检验, 若色谱峰分离良好、纯度高, 则不同位置的光谱图应一致, 因此通过计算不同位置光谱间的相似度即可判断色谱峰的纯度。

3. 荧光检测器 荧光检测器 (fluorescence detector, FLD) 是利用某些物质受紫外光激发后, 能发射荧光的性质来进行检测的。它是一种具有高灵敏度和高选择性的浓度型检测器, 相当于一台荧光分光光度计, 其光路见图 14-11。

由光源 (氙灯) 发出的光经激发单色器选择特定波长的激发光通过流通池, 流动相中的荧光组分受激发后产生荧光, 为避免透射光的干扰, 在与激发光成 90° 方向上经发射单色器选择特定波长的荧光, 由光电倍增管测定荧光强度, 此荧光强度与产生荧光物质的浓度成正比, 其灵敏度比紫外检测器高 2 个数量级。荧光检测器只适用于能发出荧光的组分;



对不产生荧光的物质,可利用柱前或柱后衍生化技术,使其与荧光试剂反应,生成可发生荧光的衍生物后再进行测定。

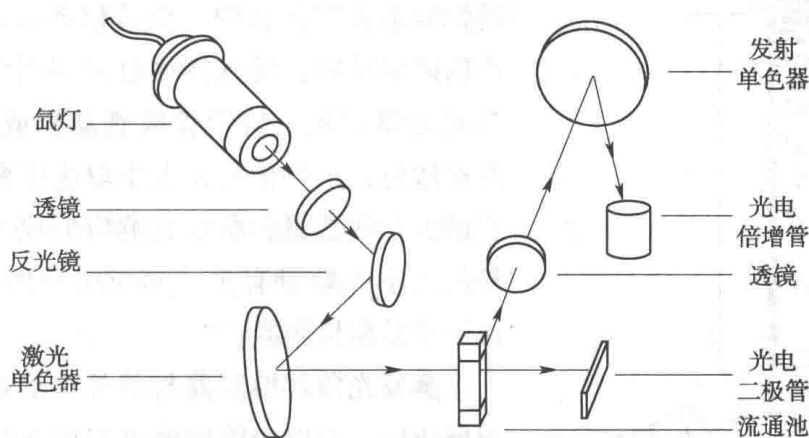


图 14-11 荧光检测器光路示意图

4. 示差折光检测器 示差折光检测器 (refractive index detector, RID) 是通过连续测定柱后流出液折射率的变化来对组分进行检测的,当一束光透过折射率不同的两种物质的界面时,此光束会发生一定程度的偏转,其偏转程度正比于两物质折射率之差。由于不同物质的折射率都不相同,因此 RID 是一种通用型检测器,其光路示意图见图 14-12。

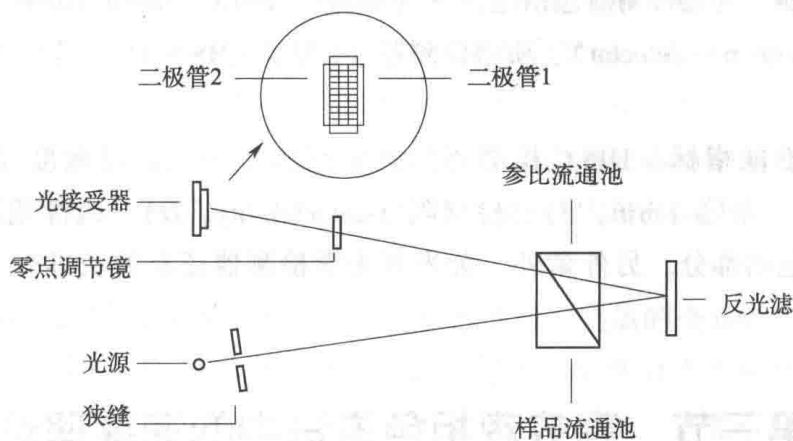


图 14-12 示差折光检测器光路示意图

光源发出的光通过样品流通池和参比流通池,由反光镜反射后照射到光接收器的两排光电二极管上。进样前先用流动相同时冲洗样品流通池和参比流通池,使两个流通池中的液体相同,并通过调节零点调节镜,使照射到两排光电二极管的光强差为零。进样后,参比池关闭,流动相只经过样品流通池,当有组分进入样品流通池内时,折射率改变,光线发生偏转,照射到两排二极管上的光强变化,其光强差不为零,产生信号。含有组分的流动相和纯流动相之间的折射率之差反映了组分在流动相中的浓度, RID 属于浓度型检测器。

RID 通用性强,但灵敏度较低,对温度、压力等变化很敏感,色谱柱和检测器本身都要恒温。此外,由于流动相组成的变化会使折射率变化很大,因此,这种检测器不适用于梯度洗脱,流动相须预先配好并充分脱气。

5. 蒸发光散射检测器 蒸发光散射检测器 (evaporative light scattering detector, ELSD) 是将含有样品组分的流动相先通过喷雾器雾化,溶剂在热的漂移管中蒸发使组分形成固体微粒,通过测定固体微粒对光的散射现象来检测组分含量,是一种通用型的高效液相色谱检测方法。结构原理见图 14-13。



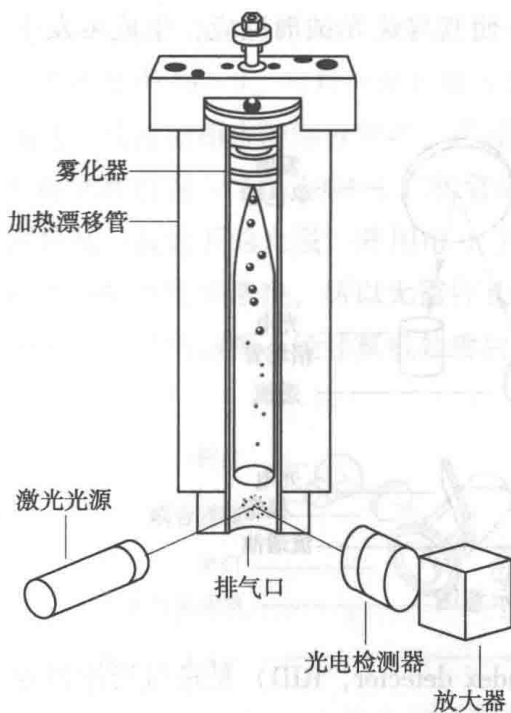


图 14-13 ELSD 原理示意图

柱后流动相在进入检测器后，与高速气体（一般为氮气）混合，由雾化器喷成雾状液滴，在加热的恒温蒸发漂移管中，流动相蒸发，使组分形成微小的固体颗粒，随气体通过检测系统。检测系统由激光光源和光电倍增管检测器构成，在散射室中，光被散射，产生信号，大小取决于散射室中组分颗粒的大小和数量，所以其响应值仅与光束中组分颗粒的大小和数量有关，而与组分的化学组成无关，属于质量型检测器。

蒸发光散射检测器与紫外检测器和示差折光检测器相比，可以消除因溶剂组成变化和温度变化而引起的基线漂移，特别适合于梯度洗脱，可以检测其他检测器难以检测的化合物，如磷脂、皂苷、糖类和聚合物等。但蒸发光散射检测器不适于测定具有挥发性的化合物，而且流动相必须是可挥发的，

如果流动相含有缓冲盐，则必须使用挥发性盐，如醋酸铵等，而且浓度要尽可能低。

6. 其他检测器 其他检测器包括电化学检测器（electrochemical detector）、化学发光检测器（chemiluminescence detector）、质谱检测器（HPLC-MS 联用）等，在此不一一详述，请参考相关专著。

7. 检测器的性能指标 HPLC 检测器的性能指标主要有：灵敏度（sensitivity, S ）、噪声（noise, N ）、漂移（drift, d ）、检测限（detectability; D ）、线性范围（liner range）等，请参见气相色谱部分。另外紫外、荧光等光学检测器还有波长准确度、光源光强度等指标。

第三节 高效液相色谱法中的速率理论

速率理论也适用于高效液相色谱，由于高效液相色谱用液体作流动相，所以其表现形式与气相色谱有所不同。

一、柱内展宽

高效液相色谱分析中，当样品进入液相色谱柱后，在液体流动相的带动下实现各个组分的分离，并引起色谱峰展宽，此过程与气相色谱类似，也符合速率理论方程式，参见第十一章式（11-27）。由于液体和气体性质的差异，液相色谱的速率方程式在纵向扩散项（ B/u ）和传质阻力项（ Cu ）上与气相色谱有所差异，1958 年 Giddings 等人提出了液相色谱速率方程：

$$H = A + \frac{B}{u} + (C_M + C_{SM} + C_S) \cdot u \quad (14-1)$$

式中， C_{SM} 为静态流动相传质阻力项系数，其余各项与 Van Deemter 方程含义相同。

1. 涡流扩散项（A） 当样品进入由全多孔微粒固定相填充的色谱柱后，在液体流动



扫码“学一学”

