

Chapter 7

Quantitative separation techniques in analytical chemistry

Lectured by S. Wu

Section 1

A brief introduction

1. 分离在定量分析中的作用

The role of quantitative separation

(1) 样品多种组分，测定时彼此干扰

Interference elimination

影响分析的准确度，或无法测定。

简单方法：控制分析条件或采用掩蔽剂。

但许多情况下，控制分析条件或加入掩蔽剂，并不能消除干扰。

分离方法：把被测元素与干扰组分分离后测定。**定量分离**是分析化学的重要内容之一。

(2) 试样中被测元素含量很低

Very low content

如饮用水中 Cu^{2+} 的含量不超过 0.1 mg / L 、 Cr (VI) 的含量不能超过 0.65 mg / L 等。

直接滴定难以进行，分离的同时把被测组分富集起来，再进行测定。

所以分离过程也是富集过程，提高了测定方法的灵敏度。

2. 回收率 Recovery

分离效果，是否符合定量分析的要求，用回收率来判断，例如，当分离物质A时，回收率

$$R_A = \frac{\text{分离后测得A的质量}}{\text{A在试样中的质量}} \times 100\%$$

式中 R_A 表示被分离组分回收的完全程度。

R_A 越大，（最大接近于1）分离效果越好。

常量组分的分析：要求 $R_A \geq 0.99$ ；

微量组分的分析，要求 $R_A \geq 0.95$ ；

痕量组分的分析（例如0.001-0.0001%）， $R_A \geq 0.95$

3. 分离因数 Separation factor

如果在分离时，是为了将物质A与物质B分离开来。则希望两者分离越完全越好，其分离效果可用分离因数 $S_{B/A}$ 表示。

$$S_{B/A} = \frac{R_B}{R_A}$$

式中： $S_{B/A}$ 表示分离的完全程度。在分离过程中， $S_{B/A}$ 越小，分离效果越好。对常量组分的分析，一般要求 $S_{B/A} \leq 10^{-3}$ ；对痕量组分分析，一般要求 $S_{B/A} = 10^{-6}$ 左右。

4. 常用分离方法 Common used methods

解决常规分离技术（蒸馏、重结晶）所不能解决的分离问题；性质特别接近的物质的分离。

(1) 沉淀分离法 Precipitation separation

传统分离方法，采用沉淀剂；液-固分离。

(2) 溶剂萃取分离法 Solvent extraction separation

被分离物质由一液相转入互不相溶的另一液相的过程；液-液分离

液-液两相；互不相溶。

超临界萃取。

(3) 离子交换分离法 **Ion exchange separation**

通过带电荷溶质与固体(或液体)离子交换剂中可交换的离子进行反复多次交换而达到分离。

(4) 膜分离法 **Membrane separation**

发展较快的一种分离方法；

模拟生物过程；

利用半透膜（高选择性）淡化海水。

(5) 色谱分离法 **chromatographic separation**

分析型色谱；柱层析；

制备型气相色谱；制备型液相色谱；

5. 现代分离技术的发展

Development of modern separation techniques

现代分离技术以膜分离技术、高效制备色谱、超临界萃取以及高效毛细管电泳为代表；

生物技术的发展需要高效分离技术：

核酸、酶、蛋白质、多肽等的活性物质的纯化；

6. 定量分离的应用

Applications of quantitative separation

(1) 分析对象的复杂性

天然产物——提取具有生理活性的组分，如紫杉醇
中草药——有效组分的测定、分离
生物样品——蛋白质、核酸、氨基酸等

(2) 药物、高纯试剂的制备

青霉素过敏：含其它微量组分，提纯后可口服。
 ^{235}U 、 ^{238}U 的分离是利用 $^{235}\text{UF}_6$ 和 $^{238}\text{UF}_6$ 蒸汽扩散速度的差别。

(3) 分析过程中的干扰分离

仪器分析的选择性和灵敏度不断提高，但在很多情况下有干扰存在。干扰组分分离。

Section 2

Solvent extraction separation

1. 萃取分离的原理与特点：

Principle and features

定义：被分离物质由一液相转入互不相溶另一液相的过程称为萃取。

原理：被分离组分在两液相中的溶解度具有较大的差异；

特点：萃取分离体系由互不相溶的两液相组成

优点：设备简单，操作快速，分离效果好，应用广泛

缺点：费时，工作量大，萃取溶剂易挥发，易燃，有毒

2. 分配系数 Distribution coefficient

在恒温、恒压、较稀浓度下，溶质(A)在两相中达到平衡时，溶质在两相中的平衡浓度比值为一常数。

$$K_D = \left(\frac{[A]_o}{[A]_w} \right)_{T,P}$$

$[A]_o$ 和 $[A]_w$ 是分配平衡后，溶质(A)在上、下层液相中的浓度。一般上层为有机相，下层为水相。

讨论

- 1) 不同溶质在**不同的溶剂**中具有**不同的 K_D** 值；
- 2) K_D 值越大表示该溶质在有机溶剂中溶解度越大；
- 3) 当混合物中各组分的 K_D 值很接近时，须通过不断更新溶剂进行多次抽提才能彼此分离；
- 4) 分配系数与物质在两相体系中的溶解度有关，但分配系数不等于溶质在两种溶剂中溶解度的比值。**溶解度是指饱和状态**，萃取则常用于稀溶液；

3. 分配比 Distribution ratio

$$D = \left(\frac{c_O}{c_W} \right)_{T,P}$$

c_O 、 c_W 是分配平衡后，溶质A（包括所有的存在形式）分别在上、下层液相中的总浓度。当溶质在两相中均以**单一形体存在**时，有

$$K_D = D$$

4. 分离系数 Separation Coefficient

$$\beta = \frac{D_A}{D_B}$$

$\beta=1$: $D_A=D_B$, A与B不能通过溶剂萃取被分离;

$\beta > 1$: $D_A > D_B$, A与B可以通过溶剂萃取被分离;

β 越大, 分离效果越好

$\beta < 1$: $D_A < D_B$, A与B不能通过溶剂萃取被分离;

β 越小, 分离效果越好

萃取步骤

1) 萃取液

两相溶剂系统：

水 相：水或水醇

有机相：烃类化合物、醚、酯等

2) 多次间歇萃取

当一次萃取不能满足要求时，采取多次萃取。

5. 间歇操作的萃取效率 Extraction rate

设试样水溶液体积为 $V_w(\text{mL})$ ，组分A的总量为 $n_S(\text{mmol})$ ，加入有机溶剂体积 $V_O(\text{mL})$ ，经过一次萃取后，A在水相中的残留量为 $n_A(\text{mmol})$ ，其分配比 D ：

$$D = \frac{c_O}{c_W} = \frac{(n_S - n_A) / V_O}{n_A / V_W}$$

以回收率表示萃取效率，则组分A的**萃取率** R_A 的定义是：

$$R_A = \frac{\text{A在有机相中的量}}{\text{A在两相中的总量}} = \frac{n_S - n_A}{n_S} = \frac{c_O V_O}{c_W V_W + c_O V_O}$$

$$\text{即 } R_A = \frac{D_A}{D_A + V_W / V_O}$$

$$\text{如果 } V_W = V_O, \text{ 则 } R_A = \frac{D}{1 + D}$$

残存在水相中A的量 n_A 与分配比 D 的关系是：

$$D = \frac{c_O}{c_W} = \frac{(n_S - n_A) / V_O}{n_A / V_W}, \quad n_A = n_S \times \frac{V_W}{DV_O + V_W}$$

如果用等体积溶剂进行 n 次萃取,则总萃取率为：

$$(n_A)_n = n_s \times \left(\frac{V_W}{V_W + DV_O} \right)^n = n_s \times \left(\frac{1}{1 + DV_O / V_W} \right)^n$$

萃取效率 E_A

$$E_A = \frac{n_s - (n_A)_n}{n_s} \times 100\% = \left[1 - \left(\frac{1}{1 + DV_O / V_W} \right)^n \right] \times 100\%$$

p.236例8-1

6. 重要萃取体系

Important extraction systems

1) 金属螯合物萃取 Extraction of metal chelates

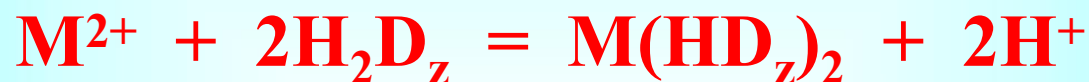
(1) 金属螯合物萃取原理 Principle

金属离子与螯合剂(亦称**萃取络合剂**)的阴离子结合而形成中性螯合物分子。这类金属螯合物难溶于水，而易溶于有机溶剂，因而能被有机溶剂所萃取：如丁二酮肟镍即属于这种类型。 Fe^{3+} 与铜铁试剂所形成的螯合物也属于此种类型。

常用的螯合剂还有8-羟基喹啉、双硫踪(二苯硫踪、二苯基硫卡巴踪)、乙酰丙酮和噻吩甲酰三氟丙酮(TTA)等。

(2)金属螯合物的萃取平衡 Extraction equilibrium

以双硫腙萃取水溶液中的金属离子 M^{2+} 为例来说明。双硫腙 H_2D_z 与 M^{2+} 的反应为



双硫腙为二元弱酸，可以用 H_2D_z 表示。它难溶于水，而溶于 CCl_4 (0.0021mol/L)和 $CHCl_3$ (约0.08mol/L)。若K为反应平衡常数。其大小与螯合剂的电离度、螯合剂的分配比、螯合物的稳定常数和螯合物的分配比有关。当萃取溶剂和螯合剂一定时，则萃取效率的高低，可以通过 M^{2+} 的分配比来判断。

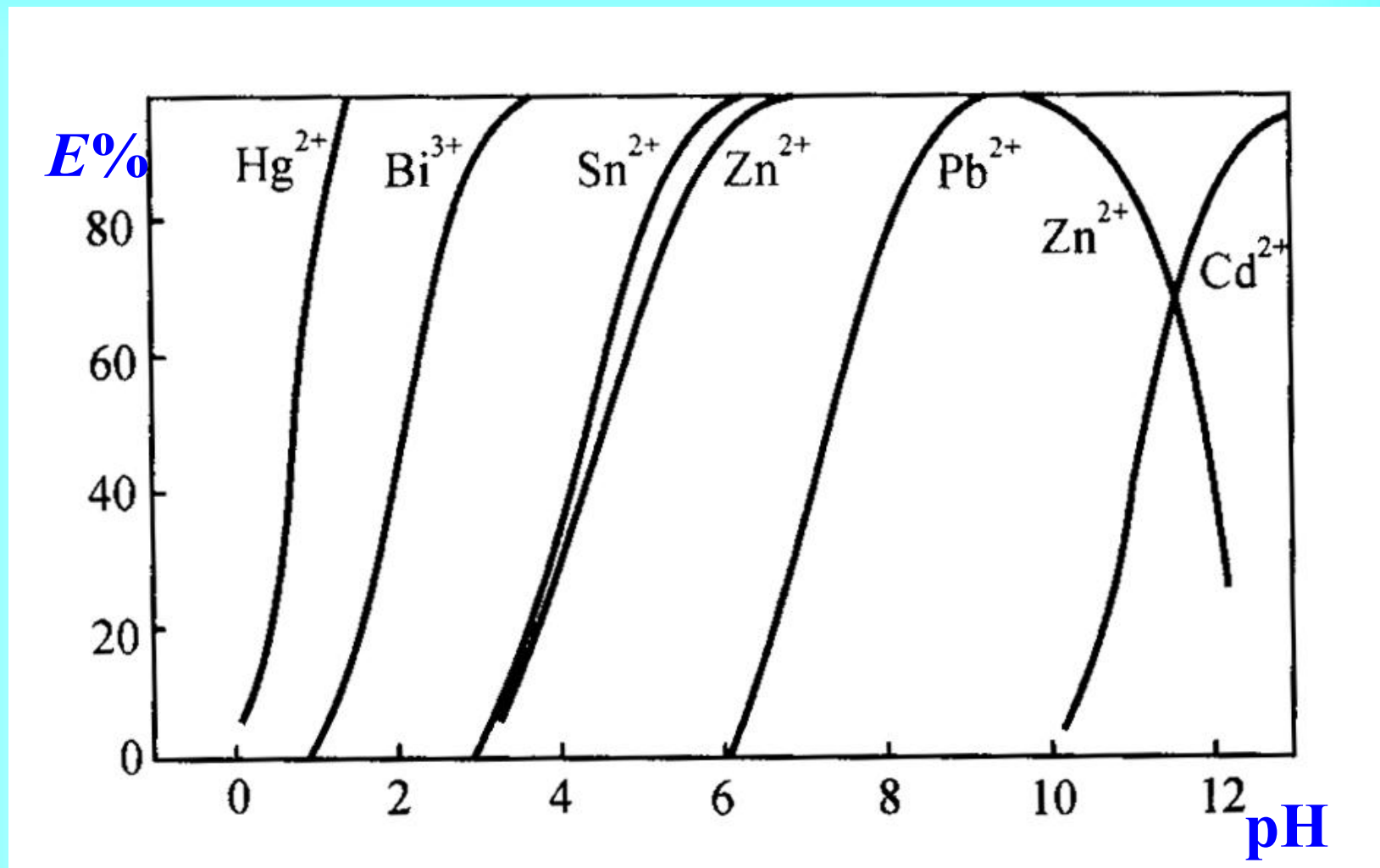
2) 萃取条件的选择 Extraction conditions

(1) 螯合剂的选择 所选择的螯合剂与被萃取的金属离子生成的螯合物越稳定，则萃取效率越高。此外螯合剂必须具有一定的亲水基团，易溶于水，才能与金属离子生成螯合物；但亲水基团过多了，生成的螯合物反而不易被萃取到有机相中。因此要求螯合剂的亲水基团要少，疏水基团要多。亲水基团有 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ ，疏水基团有脂肪基（ $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}_2\text{H}_5$ 等）、芳香基(苯和萘基)等。EDTA虽然能与许多种金属离子生成螯合物，但这些螯合物多带有电荷，不易被有机溶剂所萃取，故不能用作萃取螯合剂。

(2) 溶液酸度的控制 Acidity control

溶液的**酸度越小**，则被萃取的物质分配比越大，越**有利于萃取**。但酸度过低则可能引起金属离子的**水解**或其他干扰反应发生。因此应根据不同的金属离子控制适宜的酸度。

例如，用双硫腙作螯合剂，用 CCl_4 从不同酸度的溶液中萃取 Zn^{2+} 时，萃取 Zn^{2+} pH值必须大于6.5，才能完全萃取，但是当**pH值大于10**以上，萃取效率反而降低，这是因为生成难络合的 ZnO_2^{2-} 所致，所以萃取 Zn^{2+} 最适宜的pH范围为6.5-10之间。



二苯硫脲- CCl_4 萃取重金属离子的酸度曲线

(3) 溶剂选择的一般规律 General roles

(a) 选择一种对被分离物质溶解度大而对杂质溶解度小的溶剂，使被分离物质从混合组分中有**选择性地分离**；

(b) 选择一种对被分离物质溶解度小而对杂质溶解度大的溶剂，使**杂质分离**；

(c) 溶剂的选择原则：“**相似相溶**”；

常见溶剂的极性大小顺序：

饱和烃类<全氯代烃类<不饱和烃类<醚类<未全氯代烃类<酯类<芳胺类<酚类<酮类<醇类

3) 萃取操作方法 Operations

在分析中应用较广泛的萃取方法为**间歇法**(亦称**单效萃取法**)。这种方法是取一定体积的被萃取溶液，加入适当的萃取剂，调节至**控制酸度**。然后移入分液漏斗中，加入一定体积的溶剂，充分振荡至达到平衡为止。静置待**两相分层**后，轻轻转动分液漏斗的活塞、使水溶液层或有机溶剂层流入另一容器中，使**两相彼此分离**。如果被萃取物质的分配比足够大时，则一次萃取即可达到定量分离的要求。如果被萃取物质的分配比不够大，经第一次分离之后，再加入新鲜溶剂，重复操作，进行二次或三次萃取。但**萃取次数太多**、不仅操作费时，而且容易带人杂质或损失萃取的组分。

静置分层时，有时在两相交界处会出现一层乳浊液，其原因很多。

在萃取过程中，如果在被萃取离子进入有机相的同时还有少量干扰离子亦转入有机相时，可以采用洗涤的方法以除去杂质离子。洗涤液的组成与试液基本相同，但不含试样。洗涤的方法与萃取操作相同。通常洗涤1-2次即可达到除去杂质的目的。

分离以后，如果需要将被萃取的物质再转到水相中进行测定，可改变条件进行反萃取。例如 Fe^{3+} 在盐酸介质中形成 FeCl_4^- 与甲基异丁酮结合成**垚**盐而被萃取到有机相再用水反萃取到水溶液中(由于酸度降低)即可进行测定。

4) 超临界流体萃取分离法

supercritical fluid extraction

- 超临界流体萃取分离法原理
- **萃取剂**是超临界液体, 是一种介于气态与液态之间的一种既非气态又非液态的物质. 它只能在物质的温度和压力超过临界点时才能存在。常用的有二氧化碳、氨和氧化亚氮
- **超临界液体性质:**
 - 1. 密度较大, 接近于液体, 与溶质分子的相互作用力强, 很容易溶解其它物质
 - 2. 粘度较小, 接近于气体, 传质速率很高
 - 3. 表面张力小, 容易渗透固体颗粒, 并保持较大的流速, 可使萃取过程在高效、快速而又经济的条件下进行。

Section 3

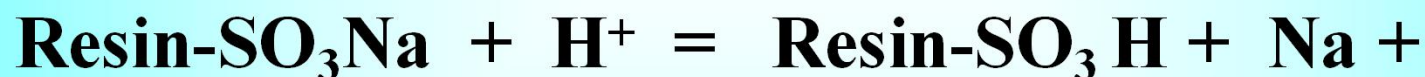
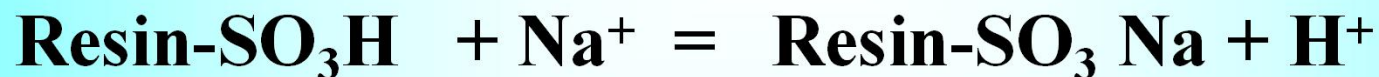
Ion exchange separation

1.离子交换反应

Ion extraction reaction

离子交换分离法是通过试样离子在离子交换剂（固相）和淋洗液（液相）之间的分配（离子交换）而达到分离的方法。分配过程是一离子交换反应过程。

阳离子交换反应：



阴离子交换反应：



2. 离子交换树脂 Ion exchange resin

离子交换反应发生在离子交换树脂上的具有可交换离子的活性基团上。离子交换树脂是以**高分子聚合物为骨架**，反应引入**活性基团**构成。高分子聚合物以苯乙烯-二乙烯苯共聚物小球常见，可引入各种特性的活性基团，使之具有选择性。

Resin-SO₃H（氢型）树脂的酸性最强，其**Resin-SO₃Na**（钠型）比氢型稳定，商品常为钠型，使用前用酸淋洗转型（再生）。阴离子交换树脂的**Cl型**稳定。

离子交换反应是一可逆反应。

离子交换树脂使用后需要进行再生处理。

3. 离子交换容量 Ion exchange capacity

离子交换树脂在交换反应中可交换离子的数目用交换容量表示，单位 $\text{m mol} / \text{g}$ 干树脂。

将离子交换树脂装入玻璃柱即构成离子交换分离柱，可用来分离干扰离子。当淋洗液为中性水溶液时，干扰离子保留在柱中。

离子交换反应是一可逆反应，被交换离子随淋洗液 pH 不同而在分离柱中移动，由于不同离子与离子交换树脂之间的作用力不同，流出分离柱的时间不同而被分离。

一般使用的离子交换树脂的粒度为50-100目。

4. 离子交换亲和力与选择性系数

Affinity and selective coefficient

离子交换分离中的分配系数是组分离子在树脂上的浓度与在溶液中的浓度之比，对阳离子 M^{n+} ，分配系数 K_D 为：

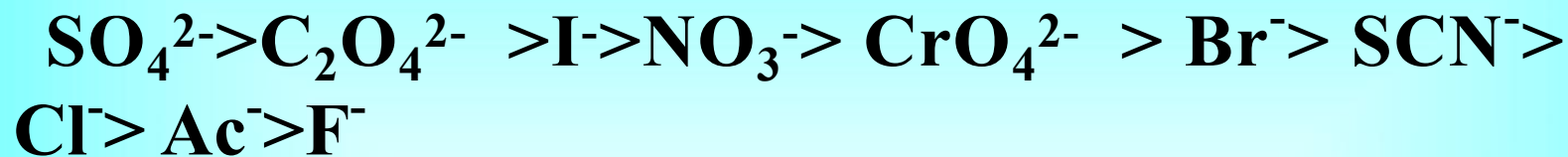
$$K_D = \frac{c_{R-M}}{c_{M^{n+}}}$$

分配系数 K_D 反映了离子与树脂的亲和力大小。

不同离子对树脂的亲和力大小具有如下规律：

- 1) 稀溶液中，离子电荷越大，亲和力越大；
- 2) 相同电荷时，水合半径越小，亲和力越大；

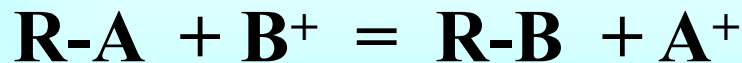
3) 阴离子亲和力的顺序为：



4) H^+ 对强酸性离子交换树脂的亲合力在 Na^+ 与 Li^+ 之间，离子交换树脂的酸性越弱， H^+ 与其亲合力越大；

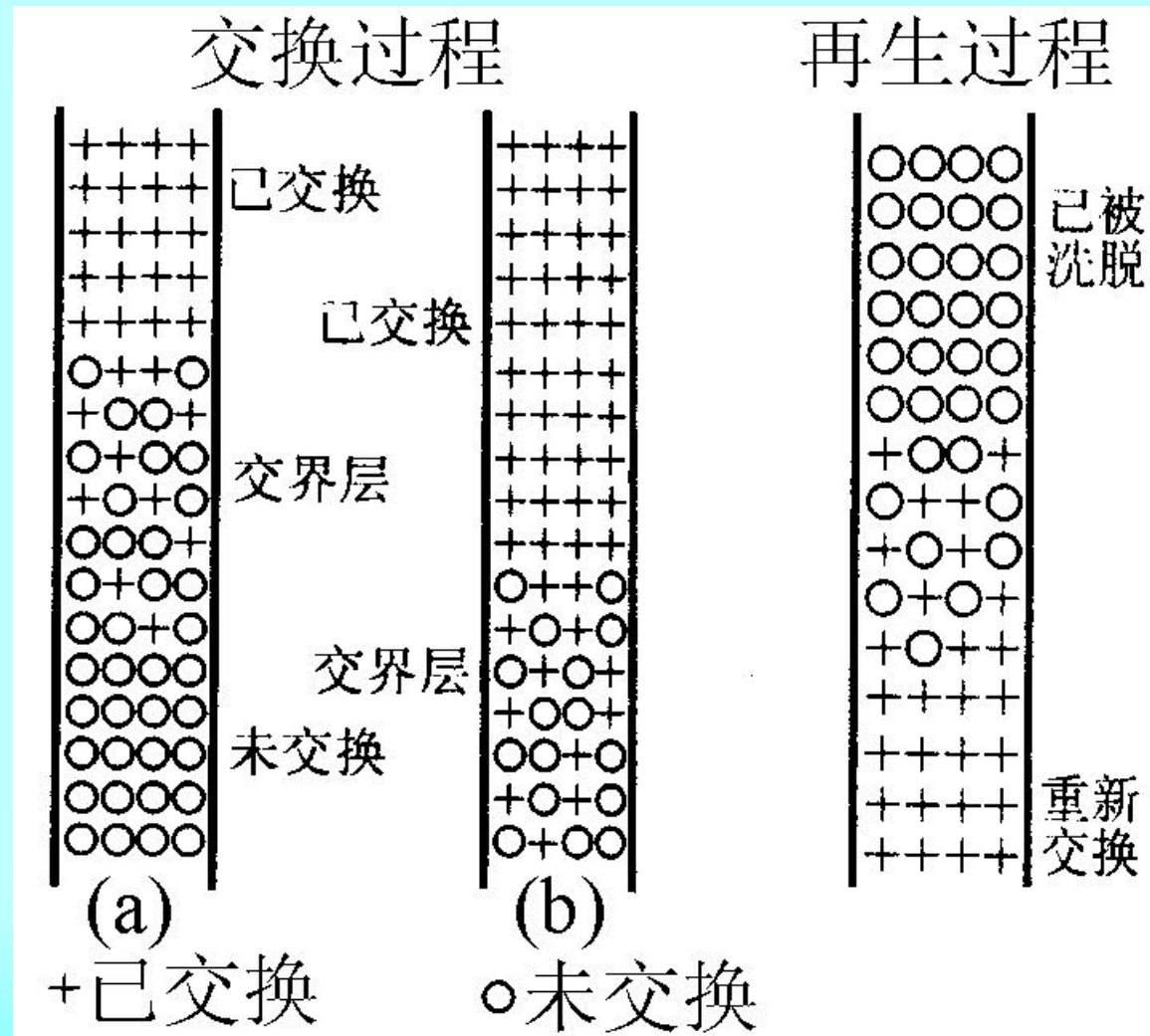
5) OH^- 对强碱性离子交换树脂的亲合力在 Ac^- 与 F^- 之间，离子交换树脂的碱性越弱， OH^- 与其亲合力越大；

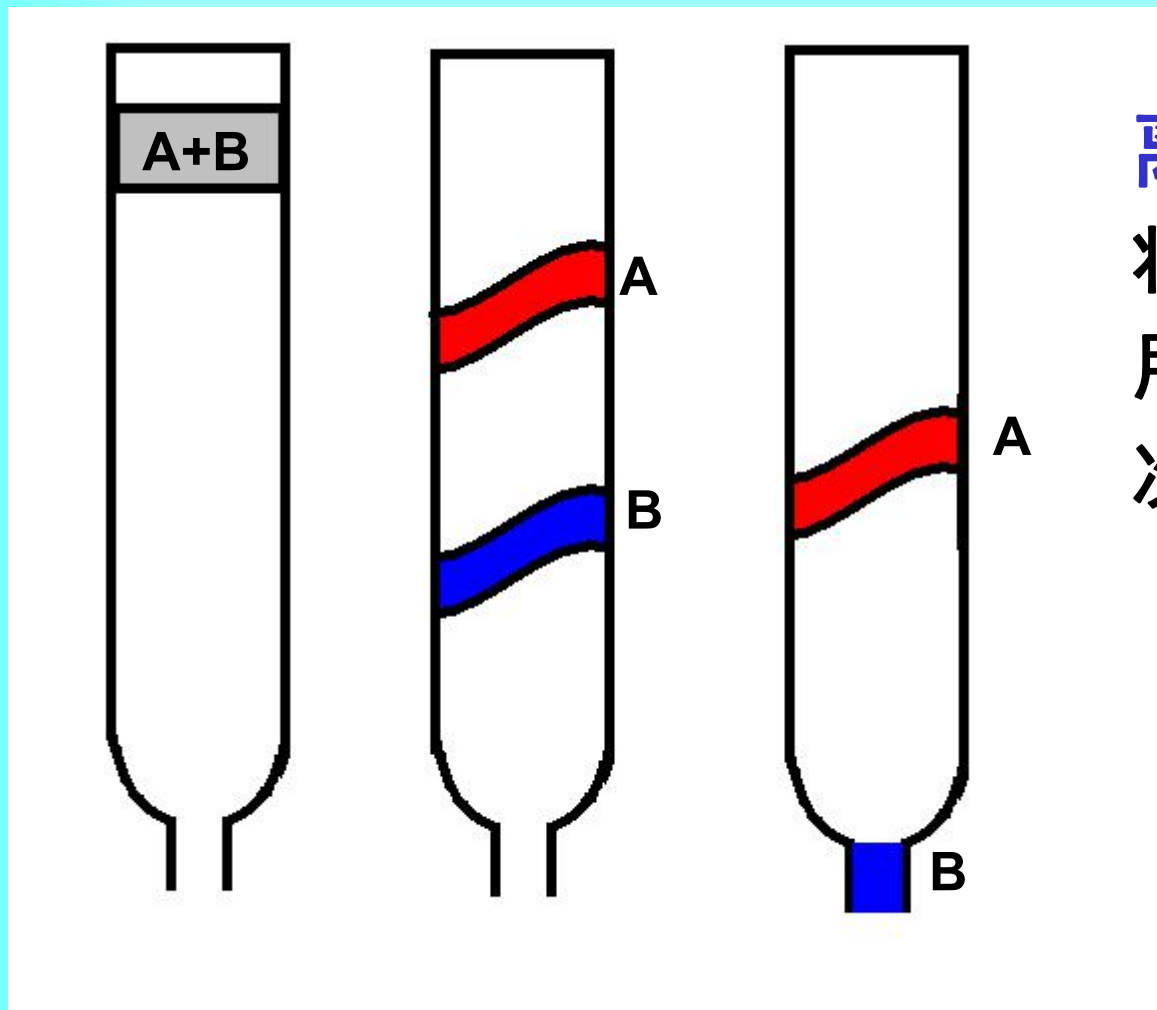
当溶液中有多种离子可与树脂发生交换时：



此反应的平衡常数称为离子交换的选择性系数 $K_{\text{B/A}}$ 。

离子交换过程示意图





离子交换层析法
将交换上去的离子，
用适当的洗脱剂依
次洗脱而分离。

柱层析

5. 离子交换分离法的应用 Applications

1) 去离子水的制备

实验室用去离子水及锅炉用水的软化。采用串联的阳离子交换柱和阴离子交换柱。

2) 干扰组分的分离

如测定矿石中的铀时，为了除去其它金属离子的干扰，将矿石溶解后处理成 0.1mol/L 的硫酸溶液， U(VI) 形成 $[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2]^{2-}$ 或 $[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_3]^{4-}$ ，在通过强碱性离子交换树脂时，被留在树脂上，其它金属离子则流出。之后，将其破坏成为 UO_2^+ 形式洗脱，回收率可达98%。

3) 痕量组分的富集

天然矿石中痕量钍的富集：钍在盐酸溶液中难以形成稳定的配位离子，保留；共存的稀土则形成稳定的配位离子，被洗脱。

Section 4

Chromatographic separation

1 基本原理

Basic principle

- 色谱法是一种物理化学分析方法。根据所用样品混合物中各组分物理、化学性质的差异，各组分程度不同的分配到互不相溶的两相中。当两相相对运动时，各组分在两相中反复多次重新分配，结果使混合物得到分离。
- 固定相：固定不动的一相
- 流动相：移动的一相

茨维特色谱图（1906）

叶绿素的石油醚溶液流经
装有 CaCO_3 的柱子，然后
用石油醚淋洗。

CaCO_3 对叶绿素各成分吸
附能力不同，而分离成为
色带。



2 色谱法的分类 Classification

- 1)根据流动相分类：
 - 气相色谱—以气体作流动相
 - 液相色谱—以液体作流动相
 - 超临界色谱—流动相是在接近它的临界温度和压力下工作的液体
- 2)根据固定相的附着方式分类
 - —固定相装在圆柱管中—柱色谱
 - —固定相涂敷在玻璃或金属板上—薄层色谱
(平板色谱)
 - —液体固定相涂在纸上—纸色谱(平板色谱)

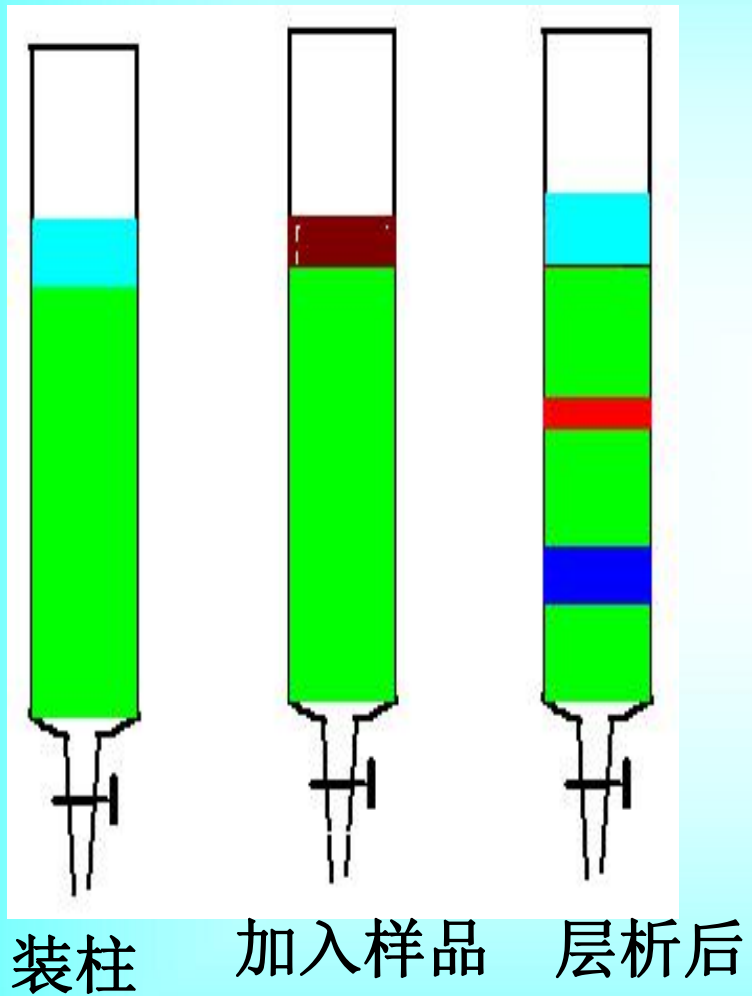
3) 根据分离机理分类

- **分配色谱**—样品组分的分配系数不同
- **吸附色谱**—样品组分对固定相表面吸附力不同

体积排阻色谱—利用固定相孔径不同，把样品组分按分子大小分开

离子交换色谱—不同离子与固定相上相反电荷间的作用力大小不同

3 柱色谱法 Column Chromatography



机理：吸附色谱

吸附剂： Al_2O_3 , SiO_2 (硅胶),
聚酰胺等

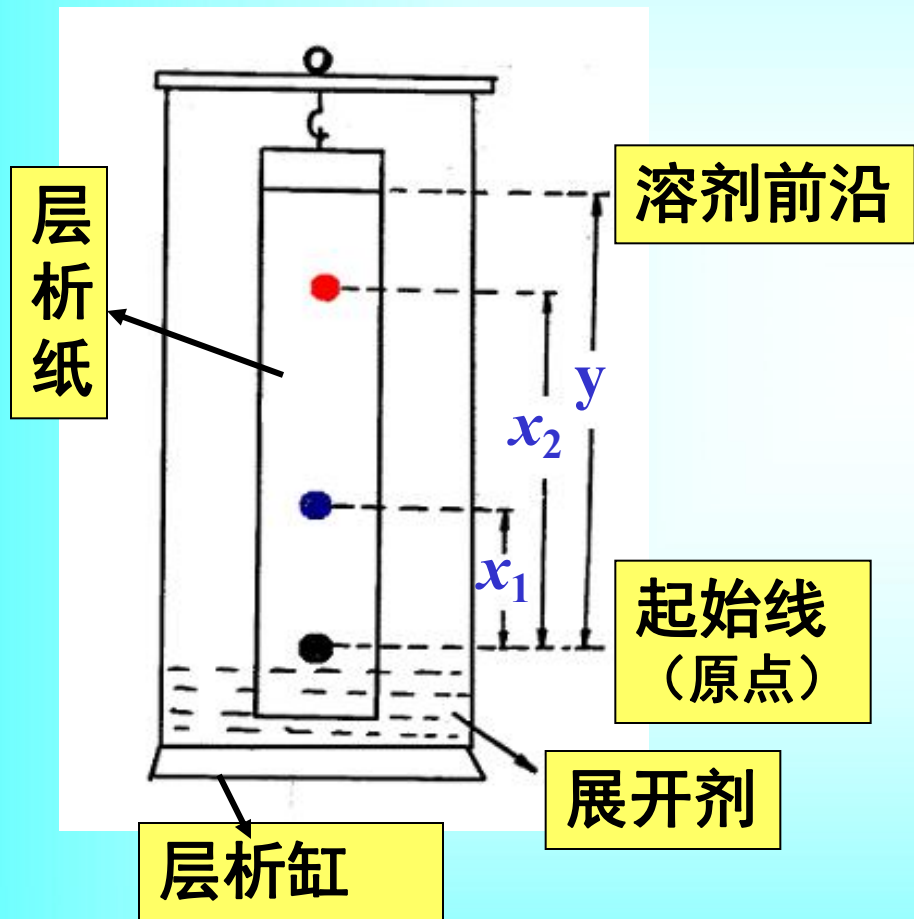
吸附剂和洗脱剂的选择：

物质极性	吸附活性	洗脱剂极性
强	小	强
弱	大	弱

常用洗脱剂极性次序：

石油醚 < 环己烷 < CCl_4 < 甲苯
< CH_2Cl_2 < CHCl_3 < 乙醚 < 醋酸乙酯 <
正丙醇 < 乙醇 < 甲醇 < 水

纸色谱示意图



比移值

$$R_f = \frac{x}{y}$$

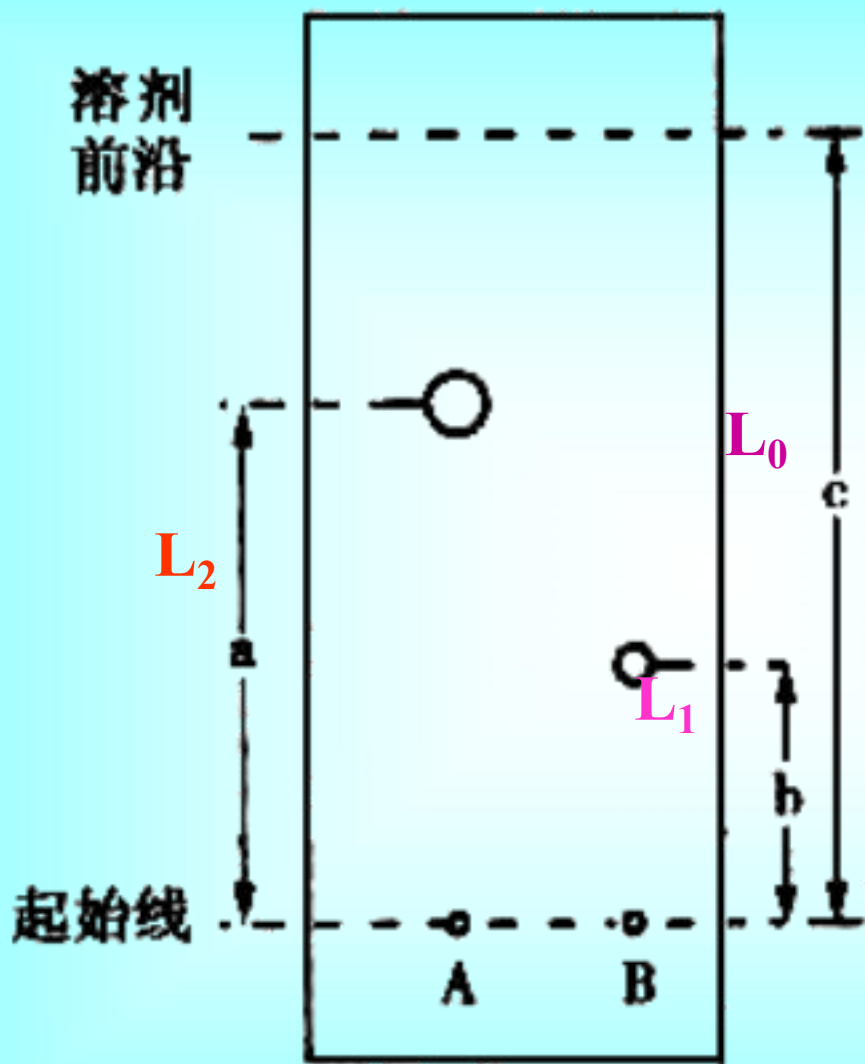
$$R_{f_1} = \frac{x_1}{y}$$

$$R_{f_2} = \frac{x_2}{y}$$

$R_f > 0.02$ ，A、B可分离。

与标样比较可定性鉴定

R_f 值测量示意图

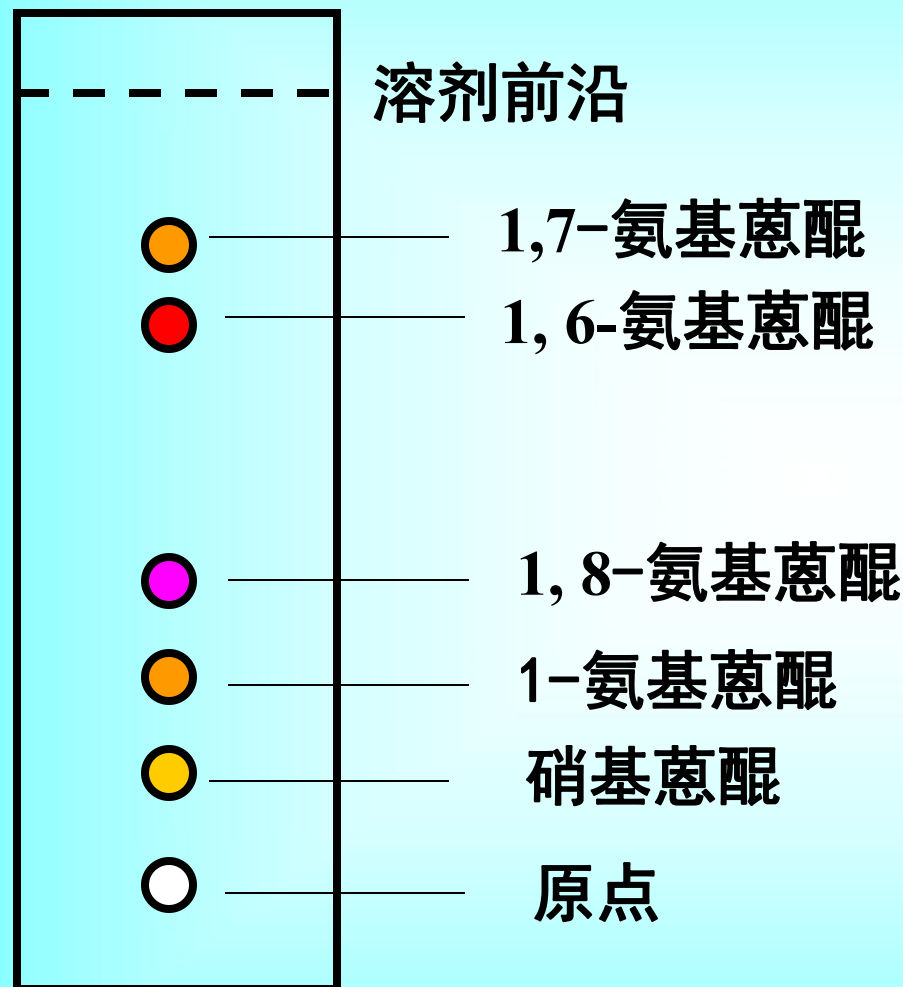


讨论： R_f 与组分性质、流动相及溶解度有关

极性组分 → 易保留， R_f 小 (流动相极性↑， R_f ↑)

非极性组分 → 易流出， R_f 大 (流动相极性↑， R_f ↓)

定性检出氨基蒽醌试样中的各种异构体



样品：

氨基蒽醌

固定相：

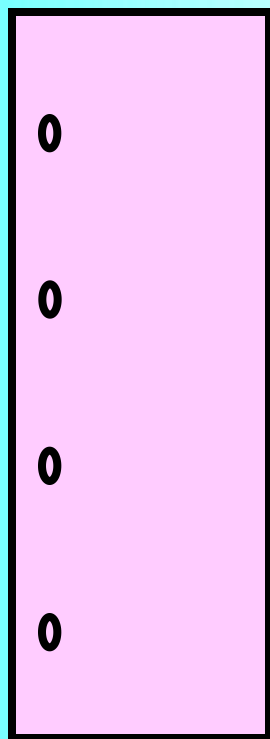
α -溴代萘附着于滤纸纤维素上.

展开剂：

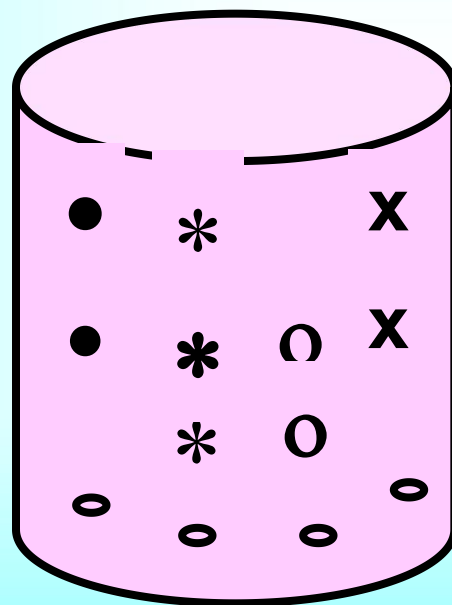
吡啶：水
(1:1)

双向纸色谱法

例：氨基酸混合液点在 $15 \times 15\text{cm}$ 滤纸边 2cm 处，风干，展开剂用 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}-\text{吡啶}$ （ $20:5:1$ ），当溶剂移动至 14cm 处，取出风干。（第一次展开）



第一次展开



第二次展开

将滤纸折成筒状，使斑点处于下方，再用叔丁醇-甲基乙基酮- H_2O -二乙胺（ $10:10:5:1$ ）展开至 14cm ，取出风干。（第二次展开）

显色：茚三酮-4-乙-2-甲氮苯-冰 HAc

氨基酸的 R_f 值

展开剂	天冬氨酸	甘氨酸	白氨酸	谷氨酸	丝氨酸	组氨酸
正丁醇+吡啶+水 1 : 1 : 1	<u>0.20</u>	0.29	0.60	<u>0.20</u>	0.33	0.24
正丁醇+醋酸+水 12 : 3 : 5	<u>0.23</u>	<u>0.23</u>	0.70	0.28	0.22	0.11

PC检测方法；

1. 颜色，
2. 显色(反应显色, I_2 蒸气, 紫外灯照)
3. 剪下斑点，用适当的溶剂洗脱后测定(比色, 荧光)

4 薄层色谱法 Thin Chromatography

薄层板



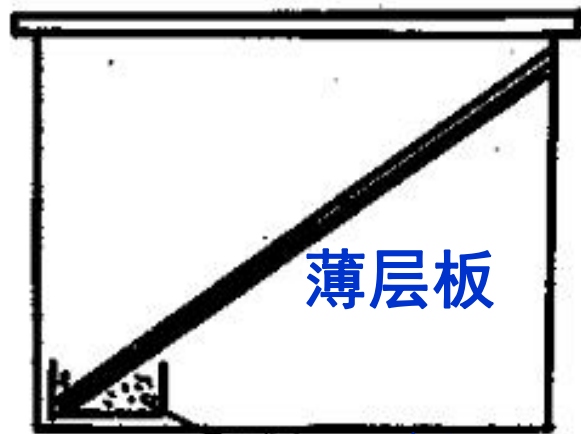
玻璃板
上涂吸附剂层

SiO_2
 Al_2O_3

上行法

下行法

层析缸



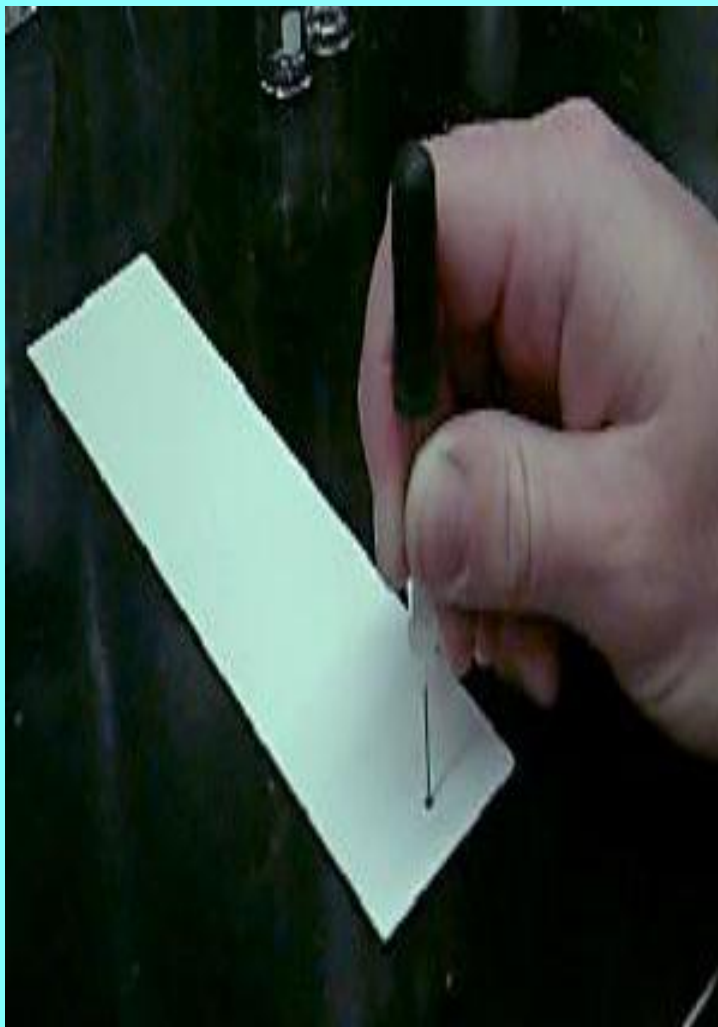
展开剂

层析缸



滤纸条
展开剂

薄层板



薄层色谱法点样及展开过程

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

展开后的薄层板



Known
Cocaine

Known
Heroin

Known
Methamphetamine

Unknown
From Case

薄层层析法的应用

天然产物和有机化合物的分离与鉴定
(药物, 香精, 氨基酸及其衍生物)

例: 3,4-苯并芘的检测

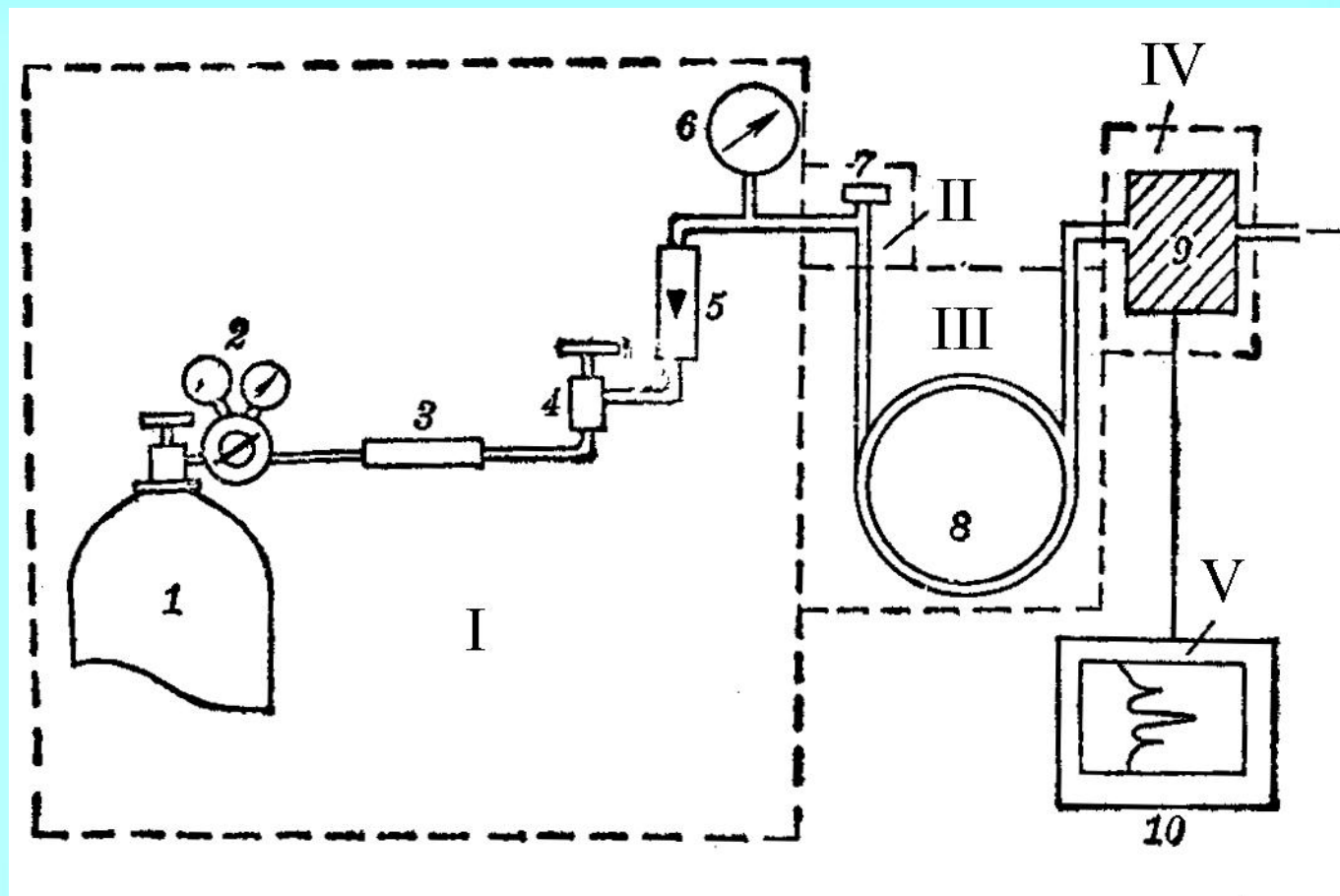
富集: 环己酮或石油醚提取, 脱水后浓缩至0.1mL;

层析分离: 制板, 点样, 展开;

测定: 截取-乙醚洗脱-蒸干-浓 H_2SO_4 溶解,
荧光法测定(对照标样).

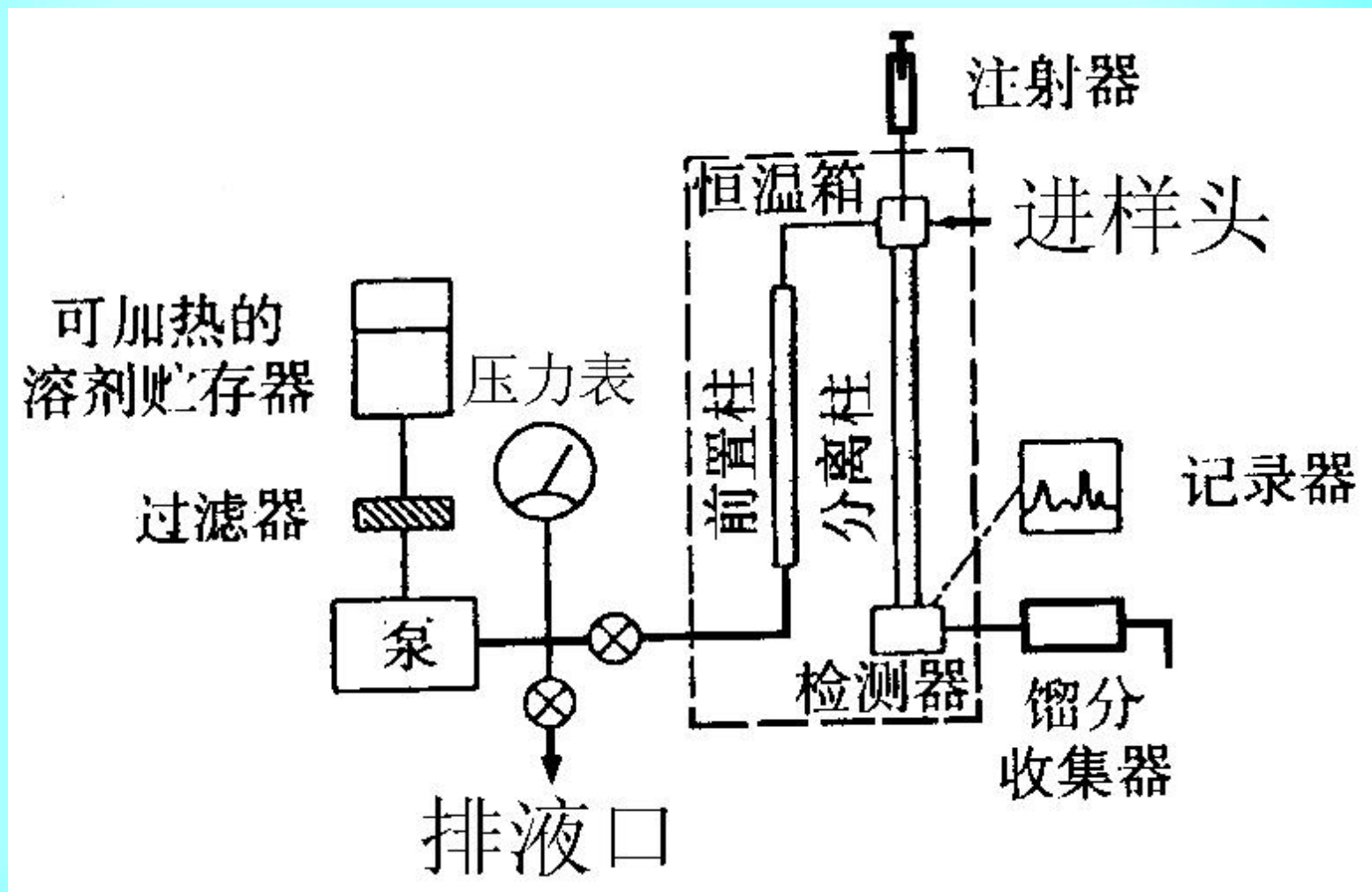
发展: 薄层层析胶片, 旋转薄层层析仪,
自动进样技术, 光谱扫描技术等。

气相色谱仪的流程



- I -载气系统; II -进样系统; III-色谱柱和柱箱;
IV-检测系统; V -记录系统

液相色谱仪的流程



硅胶孔结构对分离的影响

固定相:

**Lichrosorb Si 100,
500, 1000, 4000**

粒 径: $10\mu\text{m}$

色谱柱: $200\text{mm}\times 3\text{mm i.d.}$

流动相: 正庚烷

流 速: 5ml/min

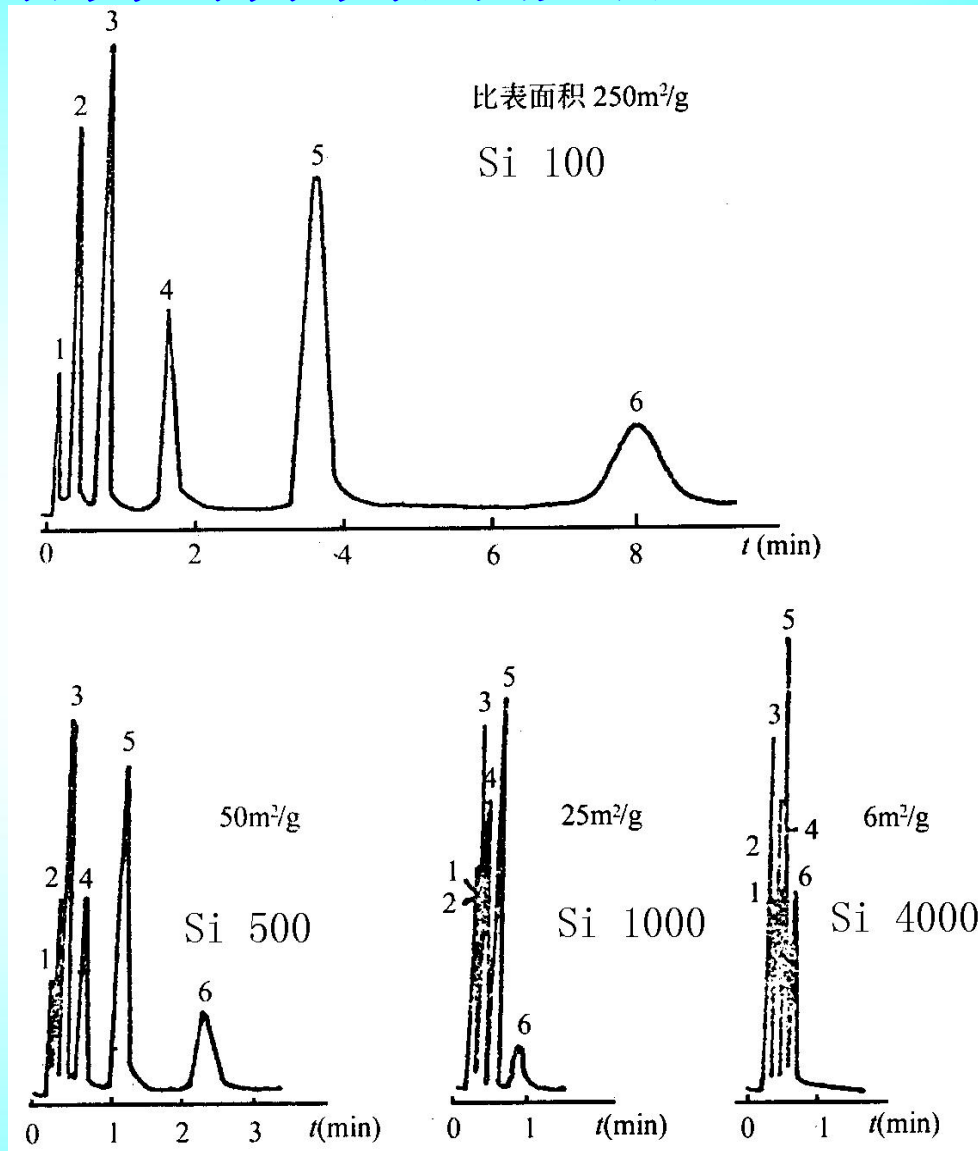
1----苯; 2----联苯

3----间三联苯;

4----间四联苯

5----间五联苯;

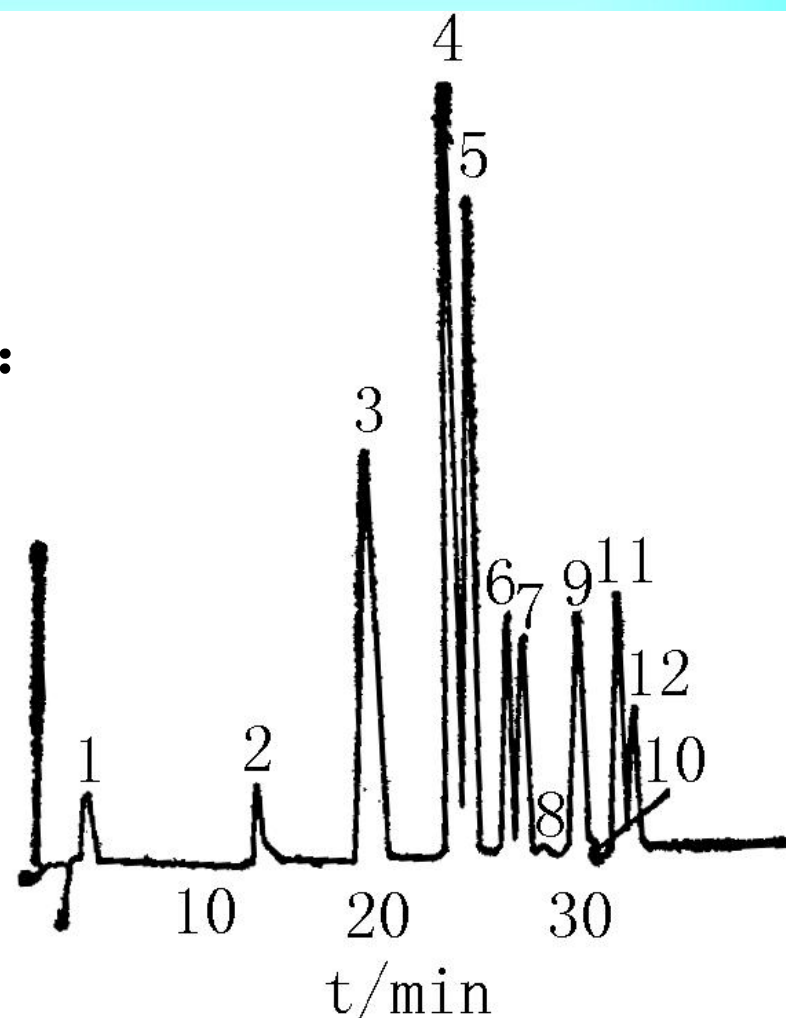
6---间六联苯



稠环芳烃的分析

固定相：ODS（薄壳型）；
流动相：线性梯度洗脱，
20%甲醇-水---100%甲醇-
水，2%/min；流速：
1ml/min；柱温：50；柱压：
70X10⁵Pa；检测器：UV

- 1--苯；2--萘；3--联苯；
4--菲；5--蒽；6--荧蒽
- 7--芘；9--芘
- 11--苯并芘[e]
- 12--苯并芘[a]



5 生物大分子的色谱分离法

Chromatographic separation of biomacromolecules

生物试样：酶、蛋白质、核酸、多糖

生命科学的发展需要提供高纯试剂；

色谱法是目前最有效的制备级的分离方法；

基因工程中，治疗用蛋白的分离纯化即采用高压制备液相色谱；

空间排阻液相色谱：蛋白质大小差异，通用型蛋白分离纯化工具；

亲和色谱：利用固定相配基与生物大分子之间的特殊生物亲和力的不同实现分离；

例如：将过渡金属离子 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 等以亚胺金属配合物的形式键合到固定相上，由于组氨酸和半胱氨酸能与这些离子形成配位键，形成亚胺-蛋白螯合物，故含有这两种氨基酸的蛋白质可以被这种亲和色谱固定相分离。

离子交换色谱：利用蛋白质具有不同的等电点分离。

Section 5

Membrane separation

1. 透析 ——超滤分离技术

Dialysis: ultrafiltration separation

原理：透析是采用半透膜作为滤膜，使试样中的小分子经扩散作用不断透出膜外，而大分子不能透过被保留，直到膜两边达到平衡。

特点：半透膜两边均为液体，一边为试样溶液，另一边为纯净溶剂（水或缓冲溶液）。可不断更换外层溶剂使扩散不断进行，直至符合要求。

应用：制备或提纯生物大分子时，除去小分子物质及其杂质，脱盐。

用于透析的半透膜应具备的条件

- 1) 在溶剂中能膨胀形成分子筛状多孔薄膜，只允许小分子溶质通过，而阻止大分子（如蛋白质）通过；
- 2) 化学惰性；
- 3) 在水、盐溶液、稀酸或稀碱溶液中稳定；
- 4) 有一定的机械强度和良好的再生性能。

2. 透析的装置与方法

Instrumentation and methods

半透膜可制成管状，按需要截取一定长度，将一端封闭后，装入需要透析的试样溶液后，放入盛有溶剂的透析缸中。

商品透析管常涂有甘油以防干裂，也可能含有其他微量杂质。

预处理：用50%乙醇慢慢煮沸一小时，再分别用50%乙醇、0.01mol/L碳酸氢钠溶液、0.001 mol/L EDTA 溶液依次洗涤，最后用蒸馏水洗涤三次；

透析过程注意点：

- 1) 透析前，对装有试液的透析袋检查是否有泄漏；
- 2) 透析袋装一半左右，防止膜外溶剂因浓度差渗入将袋涨裂或过度膨胀使膜孔径改变；
- 3) 搅拌；定期或连续更换外部溶剂可提高透析效果。

3. 超滤 Ultrafiltration

超滤是指外源加压的膜分离，其原理与过滤一样。依据所加的操作压力和膜的平均孔径的不同，可分为三种模式：

1) 微孔过滤

操作压力为0.07 MPa，膜的平均孔径为500埃至14 μm ，用于分离较大颗粒；

2) 加压超滤

操作压力为0.03-6 MPa，膜的平均孔径为10-100埃至14 μm ，用于分离大分子溶质；

3) 反渗透

操作压力为30-120 MPa，膜的平均孔径为10埃以下，用于分离小分子溶质；

4. 超滤装置与应用

Instrumentation and applications

超滤装置：目前应用最广的是采用中空纤维系统的超滤装置，其是由多根空心纤维细管成束地装配而成。

空心纤维细管横截面的内表层细密，向外逐渐疏松，形成各向异性微孔膜管结构，管内径一般为0.2 mm，有效面积约 1cm^2 ，表面积与体积的比率极大，故滤速很高。

DC-30型中空纤维系统的超滤装置：三组中空纤维套筒，膜表面积 2.7m^2 ，在3个大气压下，滤液流量可达 $1\text{L}/\text{min}$ 。

中空纤维系统的超滤装置用于透析、脱盐，在不到一小时可从溶液中除去99%的水。

应用：

应用：浓缩酶、蛋白质、核酸、多糖；
酶的浓缩回收率可达90%。

特点：简单、经济、高效、快速的分离方法。

Section 6

Solid-phase microextraction

原理: Principle

- 将涂有高分子固相液膜的石英纤维插入试样溶液或气样中,对待分离物质进行萃取,经过一定时间在固定相涂层和水溶液两相中达到分配平衡,从而使待测物质分离.是一种非溶剂型萃取法.
- 直接固相微萃取分离法
- 顶空固相微萃取分离法

Section 7

Capillary electrophoretic separation

- **1.电泳:**荷电物质在电场中因受到吸引和排斥而引起的差速流动.
- **2.电泳分离:**是依据在电场中溶质不同的迁移速率.
- **3.毛细管电泳分离原理:**在充有电解质的毛细管两端施加高电压，利用电位梯度和离子淌度的差别，实现流体中组分的电泳分离。其分离机理有：
 - 静电或离子相互作用、氢键作用、空间位阻作用、偶极-偶极相互作用、 $\pi-\pi$ 相互作用

毛细管电泳仪器结构示意图

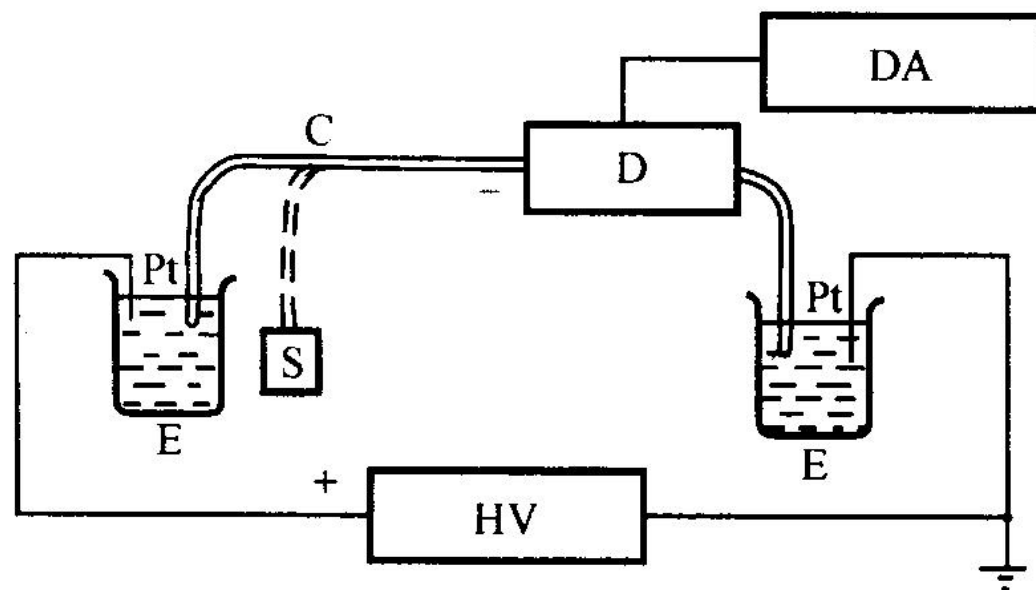
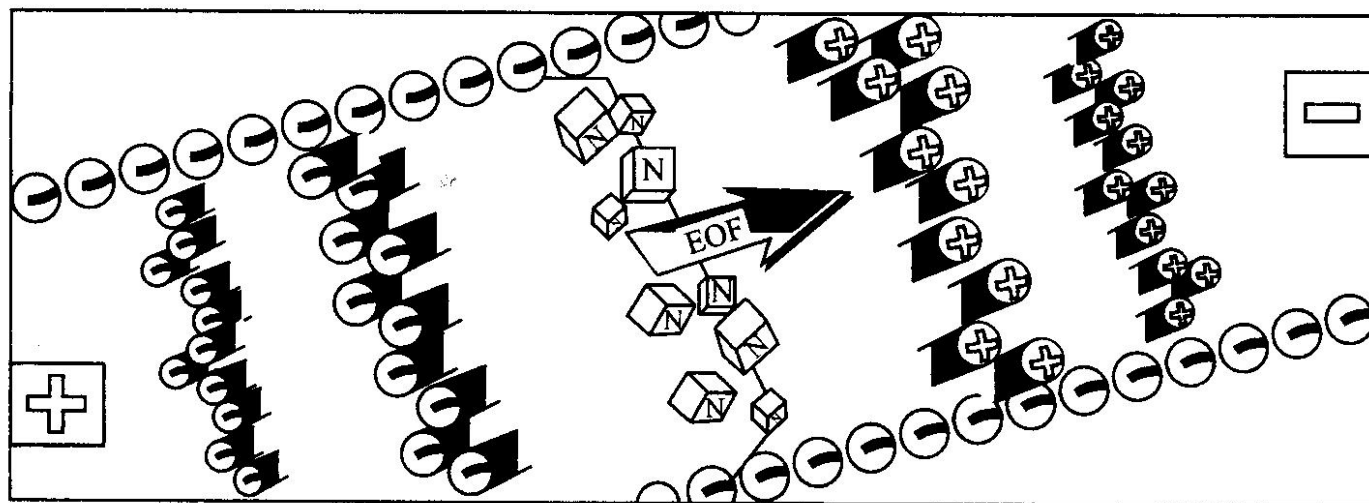


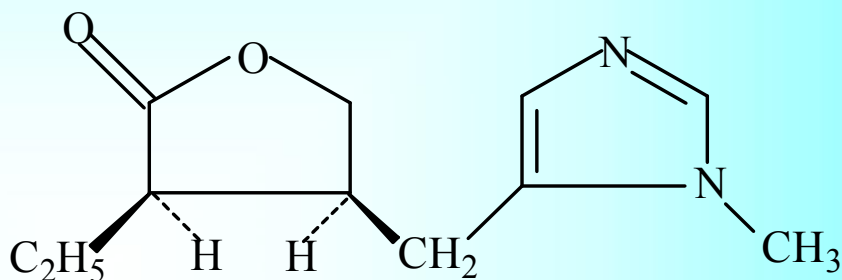
图 8-14 毛细管电泳基本仪器结构示意图
电源(0~30kV) C. 毛细管 E. 电极槽 Pt. 铂电极 D. 在线检测器
S. 试样 DA. 数据采集处理系统

毛细管区带电泳分离原理



毛果芸香碱对映体的毛细管区带电泳手性分离

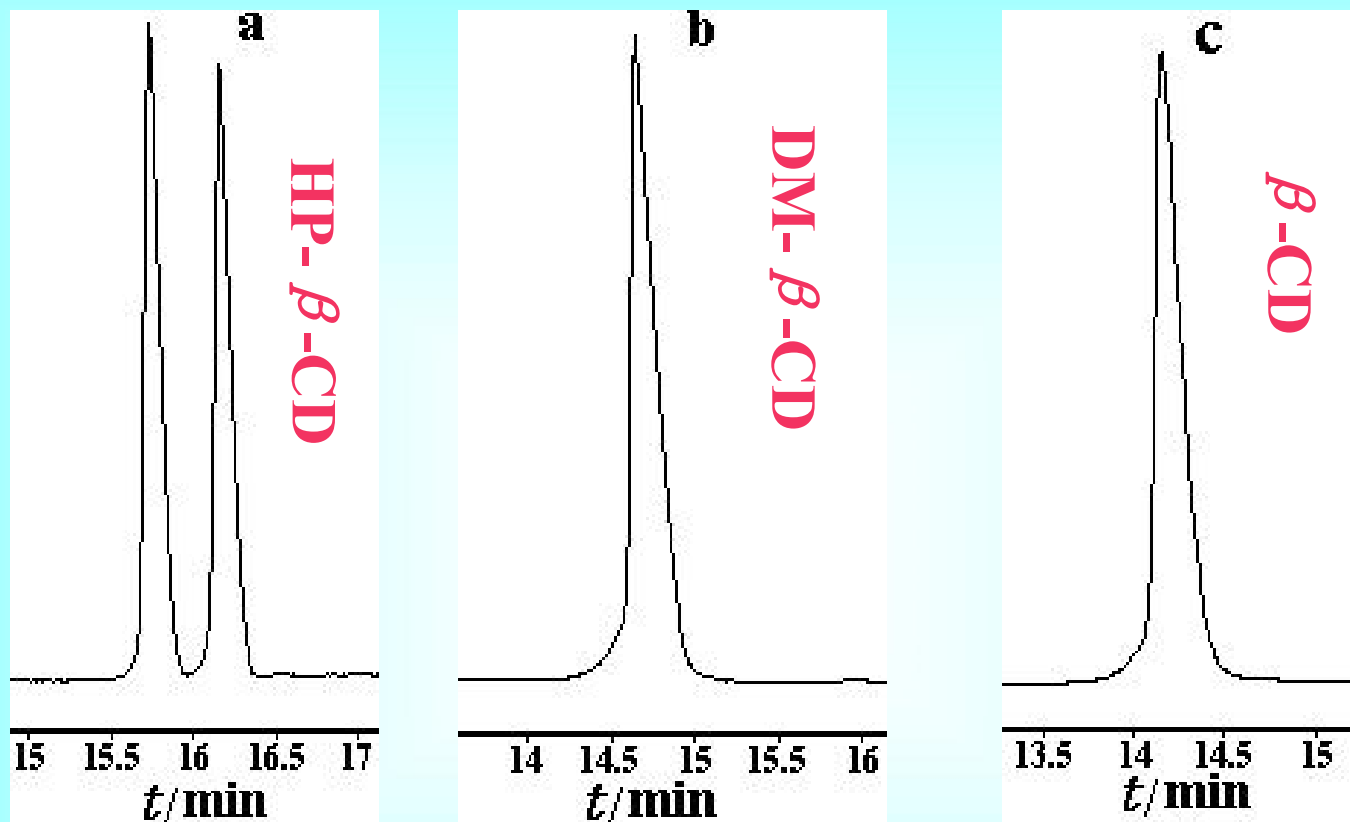
- **毛果芸香碱**是一种缩瞳药，可用于青光眼及调节性内斜视等眼科疾病的治疗。采用毛细管区带电泳对其进行手性分离尚未见报道。
- 采用 **β -环糊精**及其衍生物作为手性选择剂，运用CZE对毛果芸香碱对映体进行了分离。



毛果芸香碱的结构式

Structure of pilocarpine

环糊精类型对手性分离的影响



分离条件:背景电解质, 15mmol/L [CD]-50 mmol/L磷酸盐缓冲溶液, pH=2.5; 分离电压, 20kV; 柱温, 20°C