

全国轻化工类高等学校工业分析专业系列教材

色谱分析法

(第二版)

主编 史景江 马熙中 主审 卢佩章 李浩

重庆大学出版社

重庆大学

轻化工类高等学校工业分析专业系列教材

色 谱 分 析 法

(第二版)

主编 史景江
主审 卢佩章



重庆大学出版社

内 容 简 介

本书共分十二章。主要包括：色谱分析法概论和基本理论，定性定量分析方法，各种色谱分析方法的原理、应用及主要仪器和技术，以及计算机在色谱分析中的应用等。

本书在阐述基本理论的基础上，兼顾了实际应用和学科近期发展的重点内容。可供轻化工类高等学校工业分析等专业作教材；食品、环保、医药等专业作教学参考书；也可供有关专业的科技人员参考。

色 谱 分 析 法

(第二版)

主 编 史景江 马熙中

主 审 卢佩章 李浩春

责任编辑 陈晓阳

*

重庆大学出版社出版发行

新华书店经销

重庆通信学院印刷厂印刷

*

开本：787×1092 1/16 印张：18.25 字数：455千

1995年5月第2版 1998年1月第3次印刷

印数：9001—13000

ISBN 7-5624-0272-8/O·42 定价：14.60元

再版序言

从 1954 年以来,色谱法在我国不断地取得重大进展;理论研究成果正发挥重要的作用,应用技术在化学、化工、轻工、石油、环保和医药等领域广泛发展;为培养这方面的人材,许多学校开设了色谱分析法的课程,1990 年出版了此书,供作全国轻化工类高等学校工业分析专业系列教材。此书第一版问世后,已用于四轮教学,实践结果表明,它是一部优秀教材。

依据色谱法的发展,现在作者们对原著作了修订;写成的第二版修订本,其结构更合理,扩大了液相色谱和超临界色谱的篇幅;内容更丰富,增加了计算机方面的新技术;层次分明,理论联系实际。

深信修订版的问世,定会受到更广大的师生和有关专业读者的欢迎,并在教学实践中继续证明,这是一部佳作。

李浩春 卢佩章

1994 年于大连

第二版前言

全国轻化工类高等学校工业分析专业系列教材,自1990年3月至1993年9月先后由重庆大学出版社出版。系列教材主教材包括:色谱分析法、波谱分析法、电化学分析法、光化学分析法及分析仪器;配套教材包括:色谱分析法实验与习题、波谱分析法实验与习题、光谱分析法实验与习题、电化学分析法实验与习题、分析仪器实验与维修。此五门类十本教科书相继在全国几十所有关高等学校试用,普遍反映良好,受到广大师生欢迎。至1993年11月,主系列教材已第二次或第三次印刷,其中尚有相当数量售入企事业单位和科研单位,供科技工作者作参考书。

上述系列教材先后列入了轻工业部“七五”和“八五”高等学校教材编写计划,1992年又列入国家教委“八五”重点图书选题、出版计划。

为不断提高教材质量,教材编委会和重庆大学出版社决定将主系列教材修订再版。

为搞好修订再版工作,于1992年1月和1993年11月先后在北京化工大学和重庆大学出版社,召开了教材编委会主编工作会议,审定通过了修订原则、修订内容和修订计划。该系列书修订版同原版书相比有较大改变,它清除了原版书中存在的错误和不精炼的部分,增加了相当数量的已较成熟的学科发展中最新技术,但不增加过多字数。因此,该书将以全新面貌展现给广大师生和读者。

经全体院校参编者民主推荐和有关部门协商,调整了原系列教材编委会组成及部分主编、副主编。

编委会主任委员 史景江

编委会副主任委员 于世林、郭德济、张绍衡

编委会委员 马熙中、张达英、刘頔荣、李寅蔚、夏心泉、钟洪辉、高文秦、朱艳云、李国童、孙洪飞、张厚德、王儒富、廖兴兰、赵邦荣、黄兴云

该系列教材修订工作难度较大,时间有限,经编者与出版社同心协力,完成了修订再版工作。但由于编者水平有限,修订后仍会存在错误和不足,恳请广大师生及社会读者批评指正。

本书第一章,第二章第三、四、五节由齐齐哈尔轻工学院史景江编写;第二章第一、二节,第四章第一、二、三、四、五节,第八章第六节,第十二章由齐齐哈尔轻工学院郑永杰编写;第三章,第六章第一、二节由齐齐哈尔轻工学院苏立强编写;第四章第六、七、八、九、十节,第八章第一、二、三节由辽阳石油化工专科学校许苕珠编写;第五章第一、二、三、五节由北京轻工业学院廖兴兰编写;第五章第四节,第六章第三节,第八章第四、五节由齐齐哈尔轻工学院王清滨编写;第七章由北京化工大学于世林编写;第九章,第十章,第十一章第一节由北京化工大学马熙中编写;第十一章第二节由北京化工大学马熙中、齐齐哈尔轻工学院刘郁芬、连桂香、齐齐哈尔第一医院淳于嘉龙编写。全书由史景江统稿。

目 录

第一章 概 论

第一节	色谱分析的历史及其现代发展	(1)
第二节	色谱分析法的本质及流程	(5)
第三节	色谱分析法(GC、LC)的特点及SFC的出现	(7)

第二章 色谱基本理论

第一节	色谱图及色谱基本参数	(9)
第二节	色谱保留值及色谱分配平衡	(13)
第三节	塔板理论	(19)
第四节	速率理论	(26)
第五节	色谱分离度及其分离条件的选择	(33)

第三章 色谱的定性和定量分析

第一节	色谱定性分析	(44)
第二节	色谱定量分析	(49)

第四章 气相色谱仪及其检测器

第一节	填充柱气相色谱仪	(57)
第二节	毛细管柱气相色谱仪	(58)
第三节	制备型气相色谱仪	(59)
第四节	气相色谱—质谱联用仪(GC/MS)	(59)
第五节	气相色谱—傅里叶红外光谱联用仪(GC/FTIR)	(60)
第六节	气相色谱检测器基本性能	(61)
第七节	热导检测器	(65)
第八节	氢火焰离子化检测器	(69)
第九节	电子捕获检测器	(72)
第十节	其它常用检测器简介	(75)

第五章 填充柱气相色谱法

第一节	填充柱气相色谱系统及其特点	(77)
第二节	填充柱	(81)
第三节	填充柱的制备和评价	(92)
第四节	填充柱气相色谱进样技术	(96)
第五节	新型填充柱简介	(97)

第六章 毛细管柱气相色谱法

第一节	毛细管柱及其分析方法的特点	(99)
第二节	毛细管柱的基本理论	(108)
第三节	毛细管色谱进样技术	(115)

第七章 程序升温气相色谱法

第一节	方法概述	(120)
第二节	基本原理	(122)
第三节	操作条件的选择	(125)

第八章 气相色谱辅助技术及计算机应用

第一节	裂解气相色谱法原理	(129)
第二节	裂解装置	(132)
第三节	裂解气相色谱法的应用	(135)
第四节	衍生气相色谱法	(138)
第五节	液上气相色谱法	(143)
第六节	计算机应用技术	(145)

第九章 液相色谱法概论

第一节	概述	(157)
第二节	液相色谱过程的理论	(158)

第十章 液相色谱分离方法

第一节	固定相的作用	(182)
第二节	吸附色谱	(182)
第三节	分配色谱	(187)
第四节	离子对色谱	(194)
第五节	离子交换与离子色谱	(197)
第六节	体积排阻色谱	(206)
第七节	亲合色谱	(208)
第八节	手性色谱	(211)
第九节	高效液相色谱的应用	(215)

第十一章 高效液相色谱装置与实验技术

第一节	高效液相色谱装置	(227)
第二节	实验技术	(242)

第十二章 超临界流体色谱法

第一节	超临界流体色谱法概述	(255)
第二节	SFC 操作条件及其影响因素	(257)
第三节	超临界流体色谱法基础	(261)
第四节	二氧化碳超临界流体色谱法	(265)
第五节	毛细管超临界流体色谱技术	(268)
第六节	超临界流体色谱联用技术	(274)
第七节	SFC 的应用	(276)
参考文献		(281)
主要物理量符号表		(283)

第一章 概 论

第一节 色谱分析法的历史及其现代发展

一、色谱分析法的历史

应用极为广泛的且相当有效的色谱分离技术,在分析化学领域中已成为现代仪器分析的独立而重要的分支——色谱分析法,是一门新兴的学科。它的产生与发展已有80多年的历史。

俄国植物学家 Tswett 的一生致力于植物色素的分离与提纯工作,1901 年他就认识到色谱法对分离分析的重大价值。1903 年 3 月 21 日在华沙自然科学学会生物学会会议上,他发表了题为“On a new category of adsorption phenomena and their application to biochemical analysis”的文章,提出了应用吸附原理分离植物色素的新方法。到 1906 年 Tswett 命名这个方法为色谱法(chromatography)。以后他又在 1907 年的德国生物学会会议上第一次向人们公开展示了采用色谱法提纯的植物色素溶液及其色谱图——显现着彩色环带的柱管。

Tswett 将植物叶色素的石油醚提取液倾入一根装有颗粒碳酸钙吸附剂的竖直玻璃柱管中,并不断地以纯净石油醚来冲洗柱子,使其冲洗液自由流下。经过一段时间之后,发现在玻璃柱管内形成间隔明晰的不同颜色的谱带(即溶液中不同叶色素分离的结果),“色谱”因此得名。随着被分离样品种类的增多,该方法逐渐广泛地被用于无色物质的分离,故“色谱”这个名词也就渐渐失去了它原来“色”的含意。应该说现代色谱分析法所分离的样品,绝大多数是无色的,但“色谱”这一名词沿用至今。

将具有不同颜色的色带填充剂挤压出来,分段切割,然后对已分开的组分加以鉴定和测量,就形成了经典色谱法源头。

这种行之有效的办法,因受当时社会发展等原因的影响,加上 Tswett 的论文仅用俄文发表,同时他本人当时又不是著名植物学家,故未引起科学界各方人士的足够重视。直到 30 年代初,R. Kuhn 才把该方法用于天然产物——类胡萝卜素的分离,从此使色谱法得以复兴,并开始广泛应用。

1935 年 Adams 和 Holmes 第一次采用苯酚和甲醛合成了人工有机离子交换树脂,能交换阳离子(金属)和氢离子;其后又合成了阴离子交换树脂。它们不仅用于离子交换,同时也用于色谱分离,于是就诞生了现在盛行的离子交换色谱法,至 1950 年已成型。

1941 年 Martin 和 Syngge 设计了一套萃取仪器,将蛋白质水解产物的乙酰化氨基酸,由水溶液中提取到有机相而进行色谱分离,从而使色谱分析法达到了一个新的高峰。不久,他们又研究了颗粒硅胶柱中三种衍生化氨基酸混合物在水相和有机相(氯仿)之间的不等分配,获得

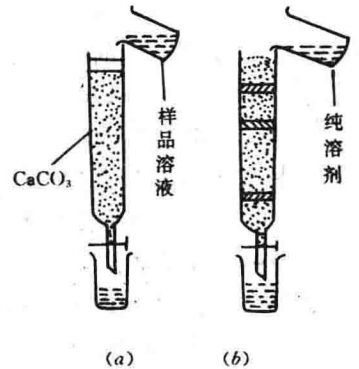


图 1-1 Tswett 色谱分离示意图
(a) 刚刚加入样品提取液;
(b) 已加入部分溶剂冲洗。

了成功,使三个组分得到了良好的分离。这一成就为液-液分配色谱奠定了基础。

1944年 Consden、Gordon 和 Martin 将纤维(滤纸)作固定相载体,以水吸附在滤纸上作溶剂,根据组分在两相中溶解度不同,即渗透速率不同而使各组分彼此分离,称此为纸色谱法。

1938年 Izmailov 等人将糊状 Al_2O_3 浆液在玻璃板上铺成均匀薄层,采用圆形展开法成功地分离药用植物提取物。方法简单、快速,为今天的薄层色谱法发展开拓了前景。到了50年代以后,出现了硅胶薄层色谱法,使该法应用更加广泛,发展更为迅速。

1952年 Martin 和 Synge 又研究成功了在惰性载体表面上涂渍一层均匀的有机化合物液膜,以此作固定相,并以气体作流动相,从而形成了气相色谱法中应用极为广泛的气-液色谱法。Martin 和 James 首次应用该方法成功地分离了脂肪酸混合物。

1953年捷克色谱工作者 Janak 进一步发展了气-固色谱法,使气体分析又有了新的突破。此后气相色谱法的应用得到了飞速发展,理论也更加趋于完善;在气相色谱法迅速进步的10年中,相对而言,液相色谱法处于缓慢发展阶段。到60年代初,Giddings 把气相色谱法验证了的并具有重要指导意义的理论用于液相色谱法。随着高效液相色谱固定相、高效分离柱、高压输液泵及高灵敏度检测器的使用,使液相色谱法跃到了一个新的阶段,为70年代高效液相色谱法的广泛应用打下了重要基础。

1954年 Ray 提出以热导池作为气相色谱检测器,从此使气相色谱法的应用更加广泛。以后又相继出现了其他类型的检测器,使它的检测能力大大提高,应用范围更加扩大。

1956年 Martin 提出使用小口径(0.2mm)色谱柱的建议;1957年 Golay 首先应用小口径毛细管柱进行色谱分离实验,结果证明它具有高分辨率和高效能,并且从理论上论述了毛细管色谱法独具特点,为今天的高效气相色谱法的发展开创了一条新路。

1959年 Porath 和 Flodin 提出了具有化学惰性的多孔凝胶作固定相的空间排阻色谱法,它根据固定相孔隙尺寸不同而具有不同的选择性渗透能力,从而对分子量分布不同的样品实现了分离,故适合测定聚合物的相对分子质量分布。

我国近代色谱研究工作起步于1954年,由中国科学院大连化学物理研究所首先开发。1954年该所作出了我国第一个体积色谱图,1959年又作出了我国第一个以空心塑料绳为色谱柱的毛细管色谱图,当时称带色谱,并进行了早期理论和技术研究工作;1962年毛细管气相色谱-火焰离子化检测器色谱仪问世,同年又研制成功玻璃毛细管拉制机。自大连化物所开发色谱工作不久,相继在兰州、北京、上海、天津、山西、山东等地一些科学院、研究所、石油开发及石油化工研究单位、高等学校以及地方的某些研究单位先后开展了对色谱基础理论、色谱分析技术及应用的研究工作;与此同时,大连、北京、天津、上海等地的仪器制造厂家,也先后开展了各种色谱仪研制工作。这些工作的结果,都极大地促进了我国色谱学科的迅猛发展。

二、色谱分析法的现代发展

从色谱法的产生、发展和现状,可以大体这样评价它的概貌。20世纪初叶提出,基本停滞30年之后方得启苏;40年代有突破性的发展;50年代有广度性发展;60年代有普遍性和广泛应用性的发展;70年代有深入的高阶段的发展;80年代有突飞猛进的全面的竞争性的高层次的大发展,引起全世界化学工作者及其他相关科技工作者的关注。色谱分析法发展到今天,无论是色谱基础理论研究和色谱技术开发,还是色谱方法应用和色谱仪器进化,都是日新月异。目前,全世界从事色谱研究工作的科技工作者数目仍十分庞大。就中国而言,初步估算有近

三四万人从事色谱工作,分布在国民经济中的各个领域,并且取得了丰硕成果,对我国经济建设和其他事业发展都作出了很大的贡献。

色谱分析法已成为当代科技迅速发展时期的最适宜的最重要的分离分析方法,形成了一门新兴学科——色谱法。近30年来,色谱学各分支,如气相色谱、液相色谱、薄层色谱、凝胶渗透色谱和离子色谱都得到了广泛深入的研究及应用。近年来色谱学发展迅速,成果累累,专著及色谱文献巨增;各种类型国际色谱学术会议和学术交流每年都层出不穷;智能色谱及超临界色谱以其独道而展新途;各种色谱仪器以高、精、全、普、专为重点而问世竞争……

我国色谱基础理论研究、色谱专家系统研究和应用技术研究等方面的工作都具有一定特色,居世界领先行列。现就色谱学科的现代发展基本状况,特别是在我国的发展,简述如下:

(一) 色谱理论方面

色谱法的提出是从经典液体色谱开始的,但其理论的发展是在气相色谱法中提出来的,并不断地进步与完善。色谱理论的发展推动了色谱学的迅速发展。尤其是色谱动力学理论的发展,对高效能、高选择性色谱柱的产生与进步,起到了根本性的指导作用和推动作用,同时为色谱分离条件选择的最优化提供了理论依据。例如,当代广大色谱工作者极感兴趣的毛细管气相色谱法和毛细管柱,就是在柱色谱速率理论指导下研究制备成功的;同时,不断发展着的理论还能及时指出色谱法前景和探索前进的步伐。简言之,色谱法的今天是与色谱法理论发展程度分不开的,没有色谱理论,就没有色谱方法、色谱技术和色谱应用。认真学习并掌握这些基本理论,对深入探讨色谱过程机理,提高色谱学术水平和色谱技术水平,都是必不可少的。

色谱法的独道在于它的高分离效能,实质是讨论谱峰间的距离和谱峰的宽窄,即所谓色谱柱的高效性和高选择性。这两个性能指标的理论本质,是由组分在两相中分配系数不同的热力学过程和组分在两相中扩散速度不同的动力学过程所决定的。因此,要达到多组分复杂混合物通过色谱柱理想地分离,就必须从热力学和动力学两个方面进行综合性地研究;同时对难分物质要选择最佳色谱分离条件,以达到快速的目的,进而形成色谱学较完善的理论。以上就是当代色谱学理论研究中的三个问题。本书将在第二章讨论几个基本理论问题。

许多学者在诸方面理论研究中都有不同程度的突破,并指导和推动了色谱学的发展。在我国,中国科学院大连化学物理研究所是从事色谱开发和理论研究的先行者,现在已成为“国家色谱研究分析中心”。该所许多同志早期从事色谱开发研究工作,对我国色谱学科的发展、色谱技术开发和应用都作出了历史的重要的贡献;中国科学院兰州化学物理研究所、北京化学研究所、山西煤炭化学研究所、上海有机化学研究所、中国石油化工科学研究院、中国医学科学院、高等学校以及某些地方研究单位等,也先后取得了可喜的理论成果。

近年来理论研究方面的工作,多集中在柱过程热力学和动力学参数;多维色谱匹配;开管和高效液相色谱柱;保留规律预测;最佳色柱分离条件选择;智能色谱及超临界流体色谱等方面。

(二) 色谱方法的分类

随着色谱理论的不完善和色谱技术的进步,其方法分类众多,而且各类中的方法还继续不断地扩展。现就常见主要色谱法分类简述如下:

1. 按两相状态分类:以流动相状态为准划分方法类型。用气体作为流动相的色谱法称为气相色谱法 Gas chromatography(GC);用液体作为流动相的色谱法称为液相色谱法 Liquid chromatography(LC)。

2. 按样品组分在两相间分离机理分类:利用组分在流动相和固定相之间的分离原理不同而命名的分类方法。包括,吸附色谱法、分配色谱法、离子交换色谱法、凝胶渗透色谱法、离子色谱法和超临界流体色谱法等十余种方法。

3. 按固定相存在形状分类:根据固定相在色谱分离系统中存在的形状,可分为柱色谱法(其中又含填充柱色谱法和开管柱色谱法)、平面色谱法(其中又含纸色谱法和薄层色谱法)等九种方法。

4. 按色谱技术分类:为提高组分的分离效能和高选择性,采取了许多技术措施,根据这些色谱技术的性质不同而形成的色谱分类法。例如,程序升温气相色谱法、反应气相色谱法、裂解气相色谱法、顶空气相色谱法、毛细管气相色谱法、多维气相色谱法、制备色谱法等七种方法。

5. 按色谱动力学过程分类:根据流动相洗脱的动力学过程不同而进行分类的色谱法,例如,冲洗色谱法、顶替色谱法和迎头色谱法等。其中有的方法应用受到局限。

各详细色谱分类法及其命名定义,请见国家标准(GB)“气相色谱术语”和“液相色谱术语”。

(三) 色谱技术问题

色谱技术有如下几方面(进样技术,特别是关于毛细管色谱的进样技术、色谱柱制备技术、固定相和流动相的选择技术、多维色谱系统组合切换技术、流出组分检测技术、程序升温技术和梯度洗脱技术、复杂样品衍生化技术、高纯流出组分制备技术、多组分样品分析方法联用技术、色谱系统与化学反应技术、色谱程序控制和数据处理技术、色谱专家系统的计算机技术等)。这些技术都在实践中得到了广泛应用和继续提高。色谱技术是色谱工作的一个重要方面,是分析专业学生必备色谱学术水平之量度。

(四) 色谱仪器进展

色谱仪器是验证色谱理论和色谱技术应用的重要手段,也是建立各种分析方法的必须条件。60年代以后,各国色谱仪器的制造技术有了迅速的进步,每年都制造出了各种门类的色谱仪器。80年代以来,色谱仪器的多样化、高精化、自动化、联用技术化、智能化等程度更是日新月异。我国的分析仪器厂家(北京、上海、南京、天津、四川、鲁南等分析仪器厂)生产出的许多质量较高的色谱仪,深受广大色谱工作者欢迎。

(五) 色谱法的应用

由于色谱法独具特点,使它在各领域中获得广泛的应用。近年来应用较为普遍的诸如石油工业、石油化学工业、环境科学 and 环境保护、医学及医药学、生物学、微生物化学、生命科学、食品工业、农林牧渔业等;此外,地质勘探开发、能源开发、冶金工业、航天及空间技术、核工业、航海业、国防工业、公安与安全技术、无机化工、金属有机化合物研究、建筑材料、有机化工、轻工业、纺织与印染、生产过程控制与产品质量检验、商品检验、卫生防疫与劳保、天体气象研究及其相关工业部门等。

(六) 色谱学术组织及学术活动

国际上有许多学术组织,定期组织召开各种类型的国际色谱学术报告会,我国均选派色谱学者参加会议,交流学术论文。世界上有多种专门色谱期刊,每年有数以千计的色谱学术论文发表。同时,每年也有相当数目的色谱专著、专论及专题报告发表,给广大色谱工作者以启迪和帮助。

我国色谱学术水平近10年来提高很快,涉及面很广。为推动色谱学术水平不断提高,国家

批准成立了“中国化学会色谱委员会”，“中国色谱学会”负责组织全国色谱学术活动和国际学术交流，组织领导学术刊物——《色谱》的编辑及发行，支持、指导各省、市色谱学术组织及色谱团体开展工作等，已收到了良好的社会效果。《色谱》期刊自创刊10年来，对促进色谱学术交流，发展色谱技术，扩展色谱法应用，提供色谱仪器、部件及试剂的信息等，都起到了重要的作用，现已列为国家自然科学核心期刊，“CA”连续多年摘登本刊论文。

第二节 色谱分析法的本质及流程

一、色谱法的本质(含定义)

本书着重于柱色谱法方面的内容，该方法的本质在于色谱柱高选择性的高效能的分离作用与高检测技术的结合。

混合组分的样品在色谱柱中分离的依据是：同一时刻进入色谱柱中的各组分，由于在流动相和固定相之间溶解、吸附、渗透或离子交换等作用的不同，随流动相在色谱柱中运行时，在两相间进行反复多次($10^3 \sim 10^6$ 次)地分配过程，使得原来分配系数具有微小差别的各组分，产生了保留能力明显差异的效果，进而各组分在色谱柱中的移动速度就不同，经过一定长度的色谱柱后，彼此分离开来，最后按顺序流出色谱柱而进入信号检测器，在记录仪上或色谱数据机上显示出各组分的色谱行为和谱峰数值。基于上述原理所建立的分析方法称为色谱法。

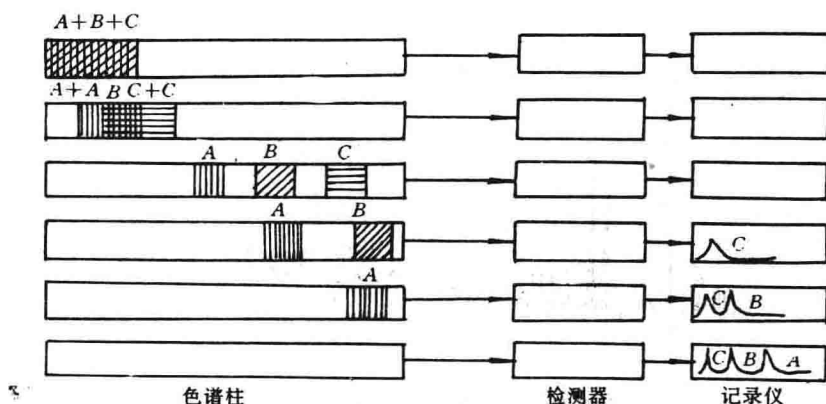


图 1-2 样品各组分在色谱柱中分离过程示意图

二、色谱方法的装置系统流程

色谱方法装置流程图见图 1-3。

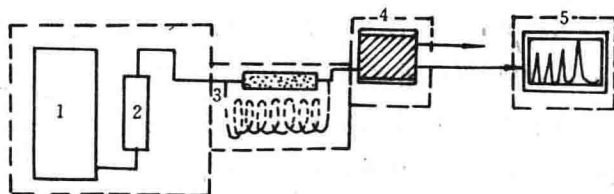


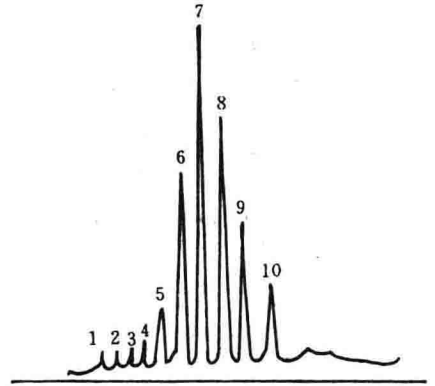
图 1-3 柱色谱流程图

1—流动相及控制装置；2—流动相净化器；3—色谱柱；4—检测器；5—记录仪(显示器)或色谱数据站。

三、样品色谱分析举例

(一) $C_5 \sim C_{14}$ 混合脂肪醇的填充柱气相色谱分离

以 C_{12} 脂肪醇为主的 $C_5 \sim C_{14}$ 人工脂肪醇混合物,属多元组分同系物。相邻组分极性及沸点相近,选最佳色谱填充柱及操作条件,可将它们较为理想地分离。见图 1-4。



(二) 脂肪酰胺聚氧乙烯非离子表面活性剂的反相 HPLC 分离

脂肪酰胺的环氧乙烷加成物,是良好的非离子表面活性剂,相对分子质量分布较宽,性能相近,组成复杂。在选优 HPLC 条件下,获得了 PEG 和 POE 两个系列 51 个组分的良好分离图谱,可见 HPLC 的选择性和分离效能是很高的。

图 1-4 $C_5 \sim C_{14}$ 脂肪醇混合物的色谱图

色谱条件:SP-2305 气相色谱仪;色谱柱 $200 \times 0.4 \text{cm}$;固定相为 20% PEGA + 1.5% H_3PO_4 /chromosorb W A DMCS(80 ~ 100 目);检测器 FID; $T_c = 190^\circ\text{C}$; $P_i = 0.085 \text{MPa}$;Air 流速 = 800ml/min; H_2 载气流速 = 71ml/min;汽化室温度 = 250°C ;记录纸速 = 10cm/min;进样量 0.4ml。

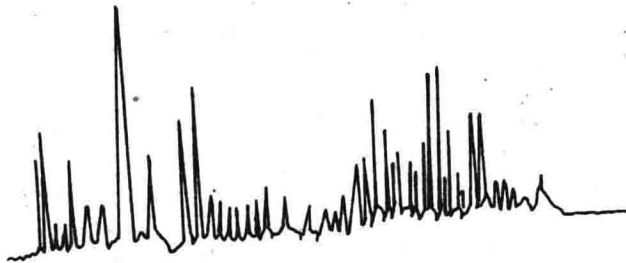


图 1-5 脂肪酰胺聚氧乙烯混合物的反相 HPLC 分离图

色谱条件,Varian 公司 Vista-5500HPLC 仪 + Vist-402 微机;色谱柱 Micropak MCH-N-cap-5C18/25cm $\times 3 \text{mm}$ 不锈钢柱; $T = 28^\circ\text{C}$;检测器 UV-200; $\lambda_{\text{opt}} = 235 \text{nm}$;进样量 = $10 \mu\text{l}$;样品浓度 = 7mg/ml;记录纸速度 = 0.5cm/min;衰减指数 = 4。

(三) 黑龙江地方名酒直接进样的毛细管气相色谱分离

五种地方名酒品味各异,组成复杂(醇、酯、酸、醛、酮、酚、吡嗪、吡咯等)。全组分分离鉴定需经柱前富集,化学衍生化处理,然后经色谱系统分离和鉴定,工作量较大,且有相当难度。此工作目前正在深入发展中,有许多色谱工作者在进行研究。对企业而言,快速掌握酒的主要技术指标,对控制生产工艺过程和评价产品质量都有现实的意义,故可以采用高效毛细管色谱柱对原酒样主组分进行高速分离,以适应生产厂的要求。

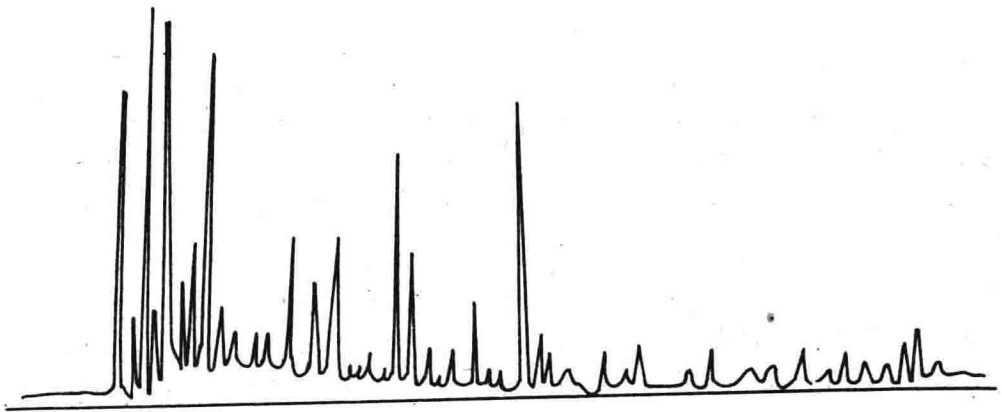


图 1-6 北大仓优质酒直接原样品毛细管气相色谱图

色谱分离条件: Varian 公司 Vista - 6000 气相色谱仪; 检测器 FID; 色谱柱 PEG - 200M SCOT 交联柱 $55\text{m} \times 0.45\text{mm}$; 柱温 $60^\circ\text{C} - 175^\circ\text{C}/8^\circ\text{C}/\text{min}$, 汽化室温度 200°C ; 检测器温度 230°C , 载气 N_2 , 线速度 $21\text{cm}/\text{s}$, 尾吹 $26\text{ml}/\text{min}$; 氢气 $30\text{ml}/\text{min}$, 空气 $270\text{ml}/\text{min}$; 分流比 $1:50$; 进样量 $6\mu\text{l}$; $f = \frac{1}{8}$ 。

第三节 色谱分析法(GC、LC)的特点及 SFC 的出现

一、色谱法的一般特点

(一) 高选择性

色谱分析方法对那些性质极为相似的物质,如同位素、同系物和烃类异构体等有良好的分离效果。这种选择分离,主要采用高选择性固定液,使各组分间的分配系数能产生较大的差别而实现保留值不同。

(二) 高效能

色谱分析法对那些沸点极为相近的多组分混合物和极其复杂的多组分混合物,有能力改善它们的峰形,使各组分彼此间有良好的分离效能。这种高效能作用,主要是通过色谱柱具有足够的理论塔板数(填充柱为几千块/m,毛细管柱可达 $10^5 \sim 10^6$ 块/m)来实现的。例如,采用一根 $50\text{m} \times 0.25\text{mm}$ OV - 101 交联玻璃毛细管色谱柱,一次进样 $0.2\mu\text{l}$ 吉普车汽油,可以分离出 185 个组分,因此色谱法就成为复杂石油烃及其燃烧产物等多组分混合物的不可缺少的重要分析工具。

(三) 高灵敏度

色谱分析法的高灵敏度检测信号,表现在检测器方面。目前在色谱界已出现几十种检测器,可检测出 $10^{-11} \sim 10^{-13}\text{g}$ 的物质。因此在痕量分析中可大显功效。例如超纯气体、高分子单体、半导体、高纯试剂中的 ppm \rightarrow ppb 级的痕量杂质测定,测定大气污染物中的 ppb \rightarrow ppt 级的痕量毒物(浓缩);测定农、副产品、水果、食品、水质中的 ppm \rightarrow ppb 级的农药残留物(卤、硫、磷等化合物)。

(四) 分析速度快

色谱分析法,特别是气相色谱法,分析速度是较快的。一般较为复杂的样品可在几分钟到几十分钟内完成。快速分析方法可以在一秒钟之内分析6~7个组分。在色谱仪器迅速发展的今天,多数已实现自动化、计算机化,配以高速分离的色谱系统,分析速度会更快。

(五) GC与LC特点之比较

两种色谱法的根本区别在于流动相状态。气相色谱法多由永久性气体作流动相,由于载气相对分子质量低,分子间空隙大,故粘度低、流动性好,组分在气相中输运速度快,流动相渗透性强,因此可以增加柱长,提高色谱柱理论塔板数,从而增加柱效;气体作流动相价格较液体的有机溶剂低廉;气相色谱法可以选择愈来愈多的合成新固定液;气相色谱法分析的对象多为相对分子质量 $M < 1000$ 、低沸点、易挥发、热稳定性较好的化合物,而且,样品必须在柱前变成气态分子,否则不能随载气输运分离。对于大分子,难挥发,热稳定性差的化合物较为困难。裂解气相色谱法,可以对高分子化合物进行裂解后分离分析,以求快速结果,但方法较一般气相色谱法复杂得多(详见第五章)。

液相色谱法采用液体作流动相。适于作液相色谱的流动相较仅有几种惰性气体的GC流动相多;流动相对样品组分有较好的溶解作用,且参与溶质的分配,可增大分离的选择性。液相色谱适于分析高沸点、难挥发、热稳定性差的、分子量($M = 1000 \sim 2000$)较大的液体化合物,这一点不同于气相色谱。样品可直接进样,一般不需作样品衍生化处理。而且选择好流动相是改善液相色谱分离的关键之一(液体种类繁多,选用二元或三元流动相同时洗脱,改变载液的种类浓度、比例、极性、pH、温度等,则可以提高LC的分离度);流动相因为是液体,所以密度较高,组分扩散系数(D_L)低(大约占气体的 10^{-5}),故LC分析速度慢;液体粘度大于气体100多倍,传质也较慢,故采用小颗粒,窄分布固定相和高压泵强制流动相通过色谱柱以获得高效率分离;高效液相色谱有其独特的检测器,如紫外检测器、示差折光检测器、荧光检测器等,它们都有高的灵敏度;高效液相色谱可进行大组分量制备,收集柱流出组分十分方便,较GC法制备优越得多。

二、超临界流体色谱的出现

根据GC和HPLC的特点,如果有一种流动相,既具有气体那样的低粘度和高扩散系数,同时又具有强的溶解样品(对高分子化合物或大分子难挥发化合物)能力,且参与溶质分配作用,则是兼双优而除弊的难得的色谱法。1962年Klesper首次采用处于临界温度和临界压力以上的单一相态的流体作流动相,建立了一种色谱法,成功地分析了吡啉衍生物,根据上述特点,则称此超临界流体色谱法(SFC法),是当前引人注目且有发展前景的色谱法。详见第十二章。

第二章 色谱基本理论

第一节 色谱图及色谱基本参数

一、色谱图及相关名词

(一) 色谱流出曲线—色谱图(Chromatogram)

色谱图是色谱柱流出物通过检测器系统时所产生的响应信号对时间或载气流出体积的曲线图(见图 2-1)。

色谱流出曲线是色谱基本参数的源流,而色谱基本参数又是用来观察色谱行为和研究色谱理论的重要标度。除此以外,还可以直接利用色谱流出曲线峰位置点(特性保留值)进行定性;根据在曲线上测得的峰高或峰面积进行定量;根据各峰不同的位置及其峰宽变化状态,可对色谱柱的分离性能进行评价;还可以根据色谱流出曲线的表征来判断色谱操作条件的优劣。

(二) 色谱图相关名词(Chromatogram name words)

1. (色谱)峰(Chromatographic)Peak

色谱柱流出组分通过检测器系统时所产生的响应信号的微分曲线。

2. 峰底 Peak base

峰的起点与终点之间连接的直线(见图 2-1 中的 CD)。

3. 峰高(h)Peak Height

从峰最大值到峰底的距离(见图 2-1 中的 BE)。

4. 峰宽(W)Peak Width

在峰两侧拐点处所作切线与峰底相交两点之间的距离(见图 2-1 中的 KL)。

5. 半高峰宽($W_{h/2}$)Peak Width at half height

通过峰高的中点作平行于峰底的直线,此直线与峰两侧相交两点之间的距离(见图 2-1 中的 HJ)。 $W_{h/2}$ 亦称区域宽度。

6. 峰面积(A)Peak area

峰与峰底之间的面积(见图 2-1 中的 CHEJDC)。

7. 标准偏差(σ)Standard error

0.607 倍峰高处所对应峰宽之一半。

8. 拖尾峰 Tailing Peak

后沿较前沿平缓的不对称的峰。

9. 前伸峰 Leading Peak

前沿较后沿平缓的不对称的峰。

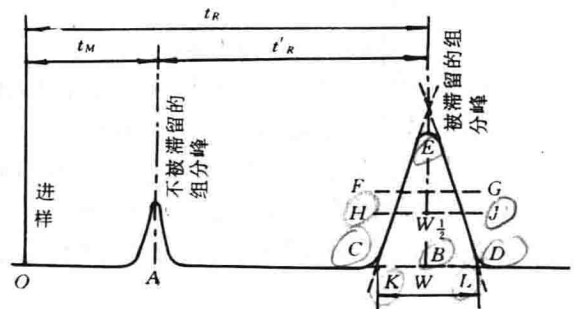


图 2-1 色谱流出曲线图

10. 假峰 Ghost Peak

并非由试样所产生的峰。

11. 畸峰 Distorted Peak

形状不对称的峰,如拖尾峰、前伸峰。

12. 基线 Baseline

在正常操作条件下,仅有载气通过检测器系统时所产生的响应信号的曲线。

13. 基线漂移 Baseline drift

基线随时间定向的缓慢变化。

14. 基线噪声(N) Baseline noise

由各种因素所引起的基线波动。

15. 谱带扩张 Band broadening

由于纵向扩散、传质阻力等因素的影响,使组分在色谱柱内移动过程中谱带宽度增加的现象。

16. 峰容量 Peak Capacity

在给定的色谱条件下(柱系统、柱温、流动相线速)和一定的时间内,最多能从色谱柱流出满足分离度要求的等高度色谱峰的个数。

二、色谱基本参数

✓ (一) 死时间(t_M) Dead time

不被固定相滞留的组分,从进样到出峰最大值所需的时间(见图 2-1 中 t_M 标)。

✓ (二) 保留时间(t_R) Retention time

组分从进样到出现峰最大值所需的时间(见图 2-1 中 t_R 标)。

✓ 1. 调整保留时间(t'_R) Adjusted retention time

减去死时间的保留时间(见图 2-1 中 t'_R 标)。

$$(t'_R = t_R - t_M) \quad (2-1)$$

✓ 2. 校正保留时间(t_R^0) Corrected retention time

用压力梯度校正因子修正的保留时间。

$$(t_R^0 = j t_R) \quad (2-2)$$

✓ 3. 净保留时间(t_N) Net retention time

用压力梯度校正因子修正的调整保留时间。

$$(t_N = j t'_R) \quad (2-3)$$

✓ (三) 死体积(V_M) Dead Volume

不被固定相滞留的组分,从进样到出现峰最大值所需的载气体积。

$$(V_M = t_M \cdot F_C) \quad (2-4)$$

式中 F_C —载气流速(ml/min)。

✓ (四) 保留体积(V_R) Retention Volume

组分从进样到出现峰最大值所需的载气体积

$$(V_R = t_R \cdot F_C) \quad (2-5)$$

1. 调整保留体积(V'_R) Adjusted retention Volume

V_R