

应用分析化学专业“十二五”规划系列教材

色谱分析法

Chromatography

夏之宁 季金苟 杨丰庆 主编

Analysis
method



重庆大学出版社

<http://www.cqup.com.cn>

化学工业出版社“十二五”规划系列教材

Chromatography

色谱分析法

夏之宁 季金苟 杨丰庆 主编

重庆大学出版社

内 容 提 要

本书是应用分析化学专业“十二五”规划系列教材之一,主要内容包括:色谱分析法概论、色谱基本理论、气相色谱仪及其检测器、气相色谱柱技术、气相色谱辅助技术、液相色谱法概论、液相色谱分离方法、高效液相色谱装置与实验技术、毛细管电泳法、超临界流体色谱法等。内容涉及各种色谱分析方法的原理、仪器与相关技术、应用。本书配有电子教案(可在重庆大学出版社教学资源网上下载),供教师教学参考。

本书可作为应用分析化学专业本科教材、化学相关专业研究生以及分析测试技术人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

色谱分析法 / 夏之宁,季金苟,杨丰庆主编. —重庆:重庆大学出版社,2012.9

应用分析化学专业“十二五”规划系列教材
ISBN 978-7-5624-6549-2

I. 色… II. ①夏… ②季… ③杨… III. ①色谱法—化学分析—高等学校—教材 IV. 0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 003992 号

应用分析化学专业“十二五”规划系列教材

色谱分析法

主 编 夏之宁 季金苟 杨丰庆

策划编辑:何 明

责任编辑:谭 敏 金建宏 版式设计:何 明

责任校对:姚 胜 责任印制:赵 晟

*

重庆大学出版社出版发行

出版人:邓晓益

社址:重庆市沙坪坝区大学城西路 21 号

邮编:401331

电话:(023)88617183 88617185(中小学)

传真:(023)88617186 88617166

网址:<http://www.cqup.com.cn>

邮箱:fxk@cqup.com.cn(营销中心)

全国新华书店经销

重庆升光电力印务有限公司印刷

*

开本:787×1092 1/16 印张:22.25 字数:555 千

2012 年 9 月第 1 版 2012 年 9 月第 1 次印刷

印数:1—3 000

ISBN 978-7-5624-6549-2 定价:39.00 元

本书如有印刷、装订等质量问题,本社负责调换

版权所有,请勿擅自翻印和用本书

制作各类出版物及配套用书,违者必究

前 言

色谱分析法,作为一种分离分析技术,在分析化学、有机化学、生物化学等领域有着非常广泛的应用,并已在分析化学领域中成为现代仪器分析独立而重要的一个分支。根据我国应用分析化学专业本科教学的现状,应重庆大学出版社之邀,编写组在重庆大学出版社1995年出版的《色谱分析法》第二版的基础上,融入色谱分析的最新内容后形成了这本《色谱分析法》教材。该书的前身,即1995年出版的《色谱分析法》第二版,一直在国内畅销,一些高等院校每年选其作为教材。

作为一种新型的分离分析技术,毛细管电泳法近年来受到了广泛的重视并得到长足的发展,它具有多种分离模式,特别是胶束电动毛细管色谱、亲和毛细管电泳以及毛细管电色谱与传统的分配色谱有类似的分配行为。因此,编写组将毛细管电泳法归纳入本书并独立成章。

本书共有10章节,第1章简介色谱分析法的发展历史、基本原理以及主要分类方法;第2章主要介绍色谱相关参数以及一些基本理论包括塔板理论、速率理论以及色谱的定性定量分析;第3章重点介绍不同类型(填充柱、毛细管柱及制备型)气相色谱仪的组成,以及常用的检测器如热导检测器、氢火焰离子化检测器、电子捕获检测器和质谱检测器等;第4章紧接着第3章介绍气相色谱柱(填充柱和毛细管柱)的制备、评价及相关进样技术;第5章则介绍气相色谱的辅助方法如全二维气相色谱法、程序升温气象色谱法、裂解气相色谱法、衍生气相色谱法及液上气相色谱法;第6、7、8章着重介绍液相色谱法,包括液相色谱法的基本参数及基本理论,不同的高效液相色谱分离方法如吸附色谱和分配色谱、离子对色谱、离子交换与离子色谱、体积排阻色谱、亲和色谱、手性色谱等,高效液相色谱装置及相关实验技术;第9章主要介绍毛细管电泳法的分离原理、分离模式及相关仪器设备,此外还简要介绍了毛细管电色谱法;第10章介绍超临界流体色谱法的相关参数及基本理论、联用技术和相关应用。

本书有如下特点:(1)理论系统性强:除了第2章介绍色谱法的基本理论之外,在第3、4、5章介绍气相色谱法的相关理论,第6、7、8章介绍液相色谱法的相关理论,分别在第9章和第10章介绍毛细管电泳法和超临界流体色谱的相关理论。(2)灵活性强:除第1、2章的色谱法概述之外,可以根据需要选取特定的色谱方法进行讲述,如只需要介绍气相色谱法,则可以仅选取第3—5章进行讲授。(3)实践操作性强:本书除了介绍理论之外,分别在各色谱方法中穿插一些应用实例。(4)适用范围广:本书既可用于应用分析化学专业的本科教材,亦可作为化学相关专业研究生以及分析测试技术专业人员的参考书。

在本书的编写过程中,承蒙许多专家、学者的指导和帮助,在此表示衷心的感谢。

本书难免存在缺点和错误,希望广大读者批评指正。

夏之宁、季金苟、杨丰庆
2012年5月

目 录

第 1 章 色谱分析法概论	1
1.1 色谱分析法及其历史	1
1.2 色谱分析法的基本原理及流程	3
1.3 色谱分析法的分类	4
第 2 章 色谱基本理论	5
2.1 色谱图及色谱基本参数	5
2.2 色谱保留值与色谱分配平衡	9
2.3 塔板理论.....	15
2.4 速率理论.....	22
2.5 色谱分离度及其分离条件的选择.....	29
2.6 色谱的定性分析和定量分析.....	39
第 3 章 气相色谱仪及其检测器	52
3.1 气相色谱仪基本组成.....	52
3.2 填充柱气相色谱仪.....	56
3.3 毛细管柱气相色谱仪.....	58
3.4 制备型气相色谱仪.....	58
3.5 气相色谱检测器基本性能.....	58
3.6 热导检测器.....	63
3.7 氢火焰离子化检测器.....	67
3.8 电子捕获检测器.....	71
3.9 质谱检测器.....	73
3.10 其他常用检测器简介	86
第 4 章 气相色谱柱技术	88
4.1 填充柱.....	88
4.2 填充柱的制备和评价.....	95
4.3 填充柱气相色谱进样技术.....	99
4.4 新型填充柱简介	100
4.5 毛细管气相色谱法	101
4.6 毛细管柱的基本理论	110
4.7 毛细管色谱进样技术	117
第 5 章 气相色谱辅助技术	123
5.1 全二维气相色谱法	123
5.2 程序升温气相色谱法	129
5.3 裂解气相色谱法	137

5.4	衍生气相色谱法	147
5.5	液上气相色谱法	151
第6章	液相色谱法概论	154
6.1	概述	154
6.2	液相色谱过程的理论	155
6.3	高效液相色谱柱	164
6.4	液相色谱流动相及其选择性	169
6.5	液相色谱过程中溶质的分离和分离速度的控制	176
第7章	液相色谱分离方法	181
7.1	固定相的作用	181
7.2	吸附色谱	181
7.3	分配色谱	186
7.4	离子对色谱	193
7.5	离子交换与离子色谱	197
7.6	体积排阻色谱	206
7.7	亲和色谱	208
7.8	手性色谱	211
7.9	高效液相色谱的应用	216
第8章	高效液相色谱装置与实验技术	218
8.1	高效液相色谱装置	218
8.2	高效液相色谱-质谱联用技术	234
8.3	实验技术	248
第9章	毛细管电泳法	259
9.1	毛细管电泳法简介	259
9.2	毛细管电泳体系	262
9.3	毛细管电泳与其他分离技术的比较	265
9.4	毛细管电泳分离原理	266
9.5	毛细管电泳的分离模式	277
9.6	毛细管电泳的仪器设备	293
9.7	毛细管电色谱	313
第10章	超临界流体色谱法	318
10.1	超临界流体色谱法概述	318
10.2	超临界流体色谱操作条件及其影响因素	320
10.3	超临界流体色谱法基础	324
10.4	二氧化碳超临界流体色谱法	328
10.5	毛细管超临界流体色谱技术	332
10.6	超临界流体色谱联用技术	338
10.7	超临界流体色谱的应用	339
	参考文献	343

第 1 章 色谱分析法概论

1.1 色谱分析法及其历史

色谱分析法已有将近 200 年的历史。早在 1901 年,俄国植物学家 Tswett 就认识到色谱法对分离分析的重大价值。在 1903 年 3 月 21 日华沙自然科学学会生物学分会会议上,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。1906 年,Tswett 将这个方法命名为色谱法(chromatography)。后来他又在 1907 年的德国生物学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碳酸钙吸附剂颗粒的竖直玻璃柱管中,并不断地以纯净石油醚来冲洗柱子,使冲洗液流下。经过一段时间之后,发现在玻璃柱管内形成了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。如图 1.1 所示。

随着被分离样品种类的增多,该方法逐渐被广泛地应用于无色物质的分离。虽然现在的色谱分析法所分析的绝大多数物质是无色的,但“色谱”一词沿用至今,故“色谱”这个名词也就渐渐失去了它原来“色”的含意。这种有效的分离分析方法,因受当时社会发展的影响,再加上 Tswett 的论文仅用俄文发表,且他本人当时并不著名,故未引起科学界的足够重视。直到 20 世纪 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,色谱法得以开始广泛的应用。

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(金属离子)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,该方法于 1950 年成型。

1941 年 Martin 和 Synge 设计了一套萃取仪器,将蛋白质的水解产物乙酰化氨基酸由水溶液中提取到有机相中进行色谱分离,从而使色谱分析法达到了一个新的高度。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)之间的不等量分配,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,此方法称为纸色谱法。

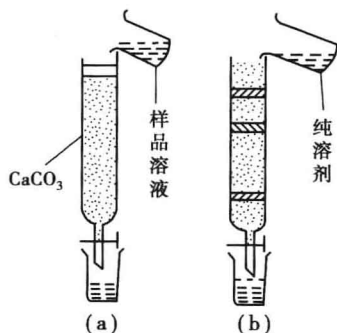


图 1.1 Tswett 色谱分离示意图

(a) 刚刚加入样品提取液;

(b) 已加入部分溶剂冲洗

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了药用植物提取物。该方法简单、快速,为今天薄层色谱法的发展奠定了基础。20世纪50年代以后,出现了硅胶薄层色谱法,使该法应用更为广泛,发展更为迅速。

1952年 Martin 和 Syngé 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;在气相色谱法迅速发展的10年中,液相色谱法相对而言处于缓慢发展阶段。到20世纪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,液相色谱法跃到了一个新的阶段,为20世纪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,检测能力大大提高,应用范围越来越广。

1956年 Martin 提出了使用小口径(0.2 mm)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特优点,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。

从色谱分析法的产生、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;20世纪40年代有突破性的发展;20世纪50年代有广度性发展;20世纪60年代有普遍性和广泛应用性的发展;20世纪70年代有深入的高阶段的发展;20世纪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的研究,还是色谱分析法的应用和色谱仪器进化,都是日新月异的。

我国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展。1954年该所做出了我国第一个体积色谱图,1959年又做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,同年又研制成功了玻璃毛细管控制机。自大连化学物理研究所开展色谱工作不久,相继在兰州、北京、上海、天津、山西、山东等地的一些科研院所先后开展了对色谱基础理论、色谱分析及色谱应用的研究工作;与此同时,大连、北京、天津、上海、重庆等地的仪器制造厂家,也先后开展了各种色谱仪研制工作。目前,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,极大地促进了我国色谱学科的迅猛发展,对我国经济建设和其他事业发展也都作出了很大的贡献。

1.2 色谱分析法的基本原理及流程

1.2.1 色谱分析法的基本原理

色谱分析法的基本原理在于色谱柱的高选择性及高效能的分离作用与检测器的高检测技术的结合。

混合组分的样品在色谱柱中分离的依据是:使混合物中各组分在两相间进行分配,其中一相是不动的,称为固定相,另一相为携带混合物流过此固定相的流体,称为流动相。当流动相中所含混合物经过固定相时,就会与固定相发生作用。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)的分配过程,使得原来分配系数具有微小差别的各组分,产生了滞留时间明显差异的效果,进而各组分在色谱柱中的移动速度不同,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。如图 1.2 所示。基于上述原理所建立的分析方法称为色谱法(又称色层法、层析法)。

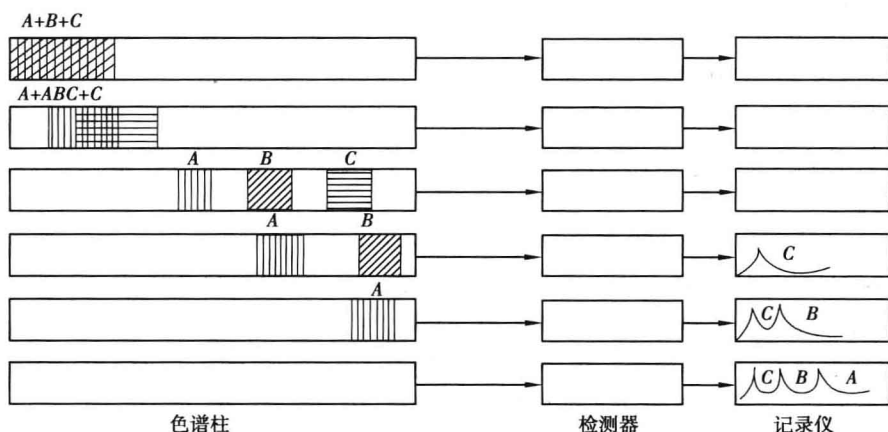


图 1.2 样品各组分在色谱柱中分离过程示意图

1.2.2 色谱分析法的装置系统及流程

色谱分析法的装置流程图见图 1.3。

流动相(例载气)1 流经流动相净化器 2,以除去流动相中的干扰组分(例水分),在色谱柱 3 前载着欲分离的组分进入色谱柱,将各组分分离,各组分再依次进入检测器 4,检测器信号由记录仪 5 记录,就可以得到相应的色谱图。

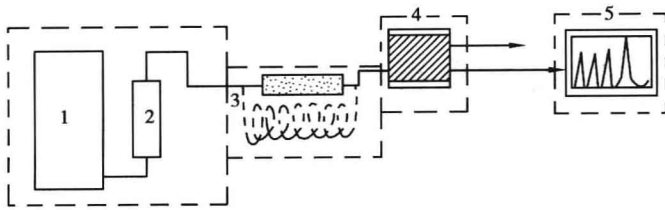


图 1.3 柱色谱流程图

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

1.3 色谱分析法的分类

随着色谱理论的不完善和色谱技术的逐渐进步,其方法分类众多,而且各类中的方法还在继续不断地扩展着。现就主要的常见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)等近九种方法。

(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,其中有的方法应用比较局限。

(6)高效毛细管电泳法 高效毛细管电泳法是目前研究较多的色谱新方法,这种方法没有流动相和固定相的区分,而是依靠外加电场驱动被分析物在毛细管中沿电场方向迁移,由于离子或分子的带电状况、质量、形态等的差异使不同离子或分子相互分离。高效毛细管电泳法没有 HPLC 方法中存在的传质阻抗、涡流扩散等降低柱效的因素,纵向扩散也因为毛细管壁的双电层的存在而受到抑制,因而能够达到很高的理论塔板数,有很好的分离效果。

第 2 章 色谱基本理论

2.1 色谱图及色谱基本参数

2.1.1 色谱图及相关名词

1) 色谱流出曲线——色谱图 (Chromatogram)

试样中各组分经色谱柱分离后,随流动相依次流出色谱柱,经过检测器转换为电信号,然后用记录系统将各组分的响应信号变化记录下来,即得色谱图。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。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。

2) 色谱图相关名词

(1) (色谱)峰 (Chromatographic) Peak 它是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。它是色谱定性分析的依据。

(2) 峰底 Peak base 峰底是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 峰高是从峰最大值到峰底的距离(见图 2.1 中的 BE)。它是用于定量分析的一个主要依据。

(4) 峰宽(W) Peak width 峰宽是在峰两侧拐点处所作切线与峰底相交的两点间的距离(见图 2.1 中的 KL)。

(5) 半高峰宽($W_{\frac{h}{2}}$) Peak width at half height 半高峰宽是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的两点之间的距离(见图 2.1 中的 HJ)。 $W_{\frac{h}{2}}$ 亦称区域宽度。

(6) 峰面积(A) Peak area 峰面积是峰与峰底之间的面积(见图 2.1 中的 $CHEJDC$),也是用于组分定量分析的另一主要依据。

(7) 标准偏差(σ) Standard error 标准偏差是 0.607 倍峰高处所对应峰宽的一半。

(8) 拖尾峰 Tailing peak 拖尾峰是后沿较前沿平缓的不对称峰。

(9) 前伸峰 Leading peak 前伸峰是前沿较后沿平缓的不对称峰。

(10) 假峰 Ghost peak 假峰是并非由试样所产生的峰。

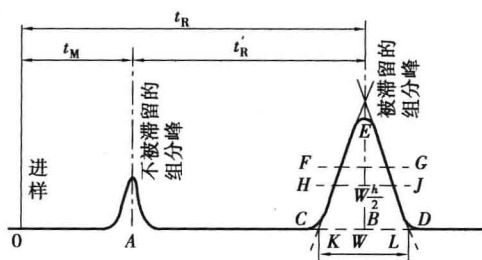


图 2.1 色谱流出曲线图

(11) 畸峰 Distorted peak 畸峰是形状不对称的峰,如拖尾峰、前伸峰。

(12) 基线 Baseline 它是在正常操作条件下,仅有流动相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 它是基线随时间定向的缓慢变化。

(14) 基线噪声(N) Baseline noise 它是由各种因素所引起的基线波动。

(15) 谱带扩张 Band broadening 它是由于纵向扩散、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 它是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。

2.1.2 色谱基本参数

1) 死时间(t_M) Dead time

死时间是不被固定相滞留的组分,从进样到出峰(往往是出现的第一个峰)最大值所需的时间(见图 2.1 中 t_M 标)。显然,死时间正比于色谱柱的空隙体积。

2) 保留时间(t_R) Retention time

保留时间是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 它是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 它是用压力梯度校正因子修正的保留时间。

$$t_R^0 = jt_R \quad (2.2)$$

(3) 净保留时间(t_N) Net retention time 它是用压力梯度校正因子修正的调整保留时间。

$$t_N = jt'_R \quad (2.3)$$

3) 死体积(V_M) Dead volume

死体积是不被固定相滞留的组分,从进样到出现峰最大值所需的流动相体积。

$$V_M = t_M \cdot F_C \quad (2.4)$$

式中: F_C ——流动相流速, mL/min。

4) 保留体积(V_R) Retention volume

它是组分从进样到出现峰最大值所需的流动相体积。

$$V_R = t_R \cdot F_C \quad (2.5)$$

(1) 调整保留体积(V'_R) Adjusted retention volume 它是减去死体积的保留体积。

$$V'_R = V_R - V_M \quad (2.6)$$

(2) 校正保留体积(V_R^0) Corrected retention Volume 它是用压力梯度校正因子修正的保留体积。

$$V_R^0 = jV_R \quad (2.7)$$

(3) 净保留体积(V_N) Net retention volume 它是用压力梯度校正因子修正的调整保留体积。

$$V_N = jV'_R \quad (2.8)$$

(4) 比保留体积 (V_g) Specific retention volume 它是每克固定液校正到 273 K 时的净保留体积。

$$V_g = \frac{273}{T_C} \cdot \frac{V_N}{M_L} \quad (2.9)$$

式中: T_C ——色谱柱温度;

M_L ——固定液质量。

5) 相对保留值 Relative retention value

在相同的操作条件下,组分与参比组分的调整保留值之比。它用以衡量这两种组分被分离的效果,是色谱选择性的量度。

$$r_{i,s} = \frac{t'_{R(i)}}{t'_{R(s)}} = \frac{V'_{R(i)}}{V'_{R(s)}} \quad (2.10)$$

6) 保留指数 (I) Retention index

保留指数是定性指标的一种参数。通常以色谱图上位于待测组分两侧的相邻正构烷烃的保留值为基准,用对数内插法求得。每个正构烷烃的保留指数规定为其碳原子数乘以 100。

$$I = 100 \left[\frac{\log V'_{R(i)} - \log V'_{R(z)}}{\log V'_{R(z+1)} - \log V'_{R(z)}} + Z \right] \quad (2.11)$$

式中: Z ——正构烷烃碳原子数目。

7) 相比率 (β) Phase ratio

色谱柱中流动相与用于分配的固定相体积之比。

$$\beta = \frac{V_G}{V_L} \quad (2.12)$$

式中: V_G ——色谱柱中流动相体积;

V_L ——色谱柱中用于分配的固定相体积。

8) 分配系数 Partition coefficient

在平衡状态时,组分在固定相与流动相中的浓度之比。它主要受柱温与柱压的影响。

$$K = \frac{C_L}{C_G} \quad (2.13)$$

式中: C_L ——在平衡状态时,组分在固定相中的浓度;

C_G ——在平衡状态时,组分在流动相中的浓度。

9) 容量因子 (K') Capacity factor

在平衡状态时,组分在固定相与流动相中的质量之比。它除了受柱温与柱压的影响外,也受流动相与固定相的体积影响。

$$K' = K \cdot \frac{V_L}{V_G} = K \cdot \frac{1}{\beta} = \frac{t'_R}{t_M} \quad (2.14)$$

10) 柱效能 Column efficiency

色谱柱在色谱分离过程中主要由动力学因素(操作参数)所决定的分离效能。通常用理论板高或有效板数表示。

(1) 理论板数 (n) Number of theoretical plate 它是表示柱效能的物理量,可由下式计算

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{\frac{h}{2}}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (2.15)$$

(2) 理论板高(H) Height equivalent to a theoretical plate 它是单位理论板的长度

$$H = \frac{L}{n} \quad (2.16)$$

(3) 有效板数(n_{eff}) Number of effective plate 它是减去死时间后表示柱效能的物理量,可由下式计算

$$n_{\text{eff}} = 5.54 \left(\frac{t'_R}{W_{\frac{h}{2}}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t'_R}{W} \right)^2 \quad (2.17)$$

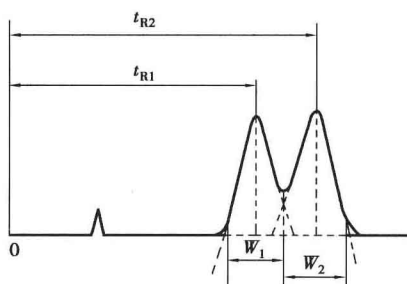


图 2.2 分离度参数示意图

11) 分离度(R) Resolution

两个相邻色谱峰的分离程度,以两个组分保留值之差与平均峰宽值之比来表示(见图 2.2)。它是衡量相邻两组分分离情况的尺度。

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_2 + W_1} \quad (2.18)$$

12) 分离数(TZ) Separation number

两个相邻的正构烷烃峰之间可容纳的峰数,可由下式

计算

$$TZ = \frac{t_{R(z+1)} - t_{R(z)}}{[W_{\frac{h}{2}}]_z + [W_{\frac{h}{2}}]_{z+1}} - 1 \quad (2.19)$$

13) 载气流速(F_c) Flow rate of carrier gas

在色谱柱出口的温度和压力下测得并校正到柱温(T_c)时的流动相体积流速。

$$F_c = F_o \frac{T_c}{T_a} \quad (2.20)$$

式中: F_o ——柱出口温度和压力下的流动相体积流速;

T_o ——室温。

14) 载气平均线速(\bar{u}) Mean linear velocity of carrier gas

载气沿色谱柱轴向移动的平均速度,可用下式计算

$$\bar{u} = \frac{L}{t_M} \quad (2.21)$$

式中: L ——色谱柱长。

15) 压力梯度校正因子(j) Pressure gradient correction factor

用以校正在色谱柱中由于流动相的可压缩性所产生的压力梯度的因子,可用下式计算

$$j = \frac{3}{2} \frac{\left(\frac{p_i}{p_o} \right)^2 - 1}{\left(\frac{p_i}{p_o} \right)^3 - 1} \quad (2.22)$$

式中: p_i ——色谱柱入口压力;

p_o ——色谱柱出口压力。

16) 液相载荷量 Liquid phase loading

在填充柱中,固定液与固定相(包括固定液和载体)的相对量,用质量百分数表示。

17) 柱外效应 Extra-column effect

从进样系统到检测器之间色谱柱以外的气路部分,由于进样方式,柱后扩散等因素对柱效能所产生的影响。

2.2 色谱保留值与色谱分配平衡

2.2.1 保留值

色谱保留值表示组分在柱内移动过程中被滞留的状况,即出峰时间的长短、流动相体积的大小、相对保留值或规定条件经特殊计算所得的保留值等,均可以表征某组分在一定色谱条件下的属性,可作为定性分析指标。它主要由组分在两相间分配及分离过程中的热力学因素所决定,可选用下述几个参数加以说明。

1) 阻滞因素——组分滞留在流动相中的时间分数

(1) 阻滞因素(R_r)——保留比(retention specific)的提出 由于组分在流动相和固定相中进行分配,固定相对组分分子的阻滞情况,可以决定组分分子全部位于起始零号塔板时,经通过 y 体积的流动相后,某一个分子出现在流动相中的概率(R_r)应等于该塔板上流动相中组分分子的数目与整个塔板上的组分分子总数目之比,即组分分子在流动相中保留时间(t_M)与整个在柱中移动时间(t_R)的比。显然,讨论 R_r 值的意义在于深入了解组分分子在柱中的移动状况和固定相对它保留的状况,从而可定量的描述组分的保留行为。

(2) 组分移动速率(\bar{u}_i) 根据 R_r 值的意义,可以用下式表示

$$R_r = \frac{\bar{u}_i}{\bar{u}} = \frac{\frac{L}{t_M}}{\frac{L}{t_R}} = \frac{t_M}{t_R} = \frac{t_M}{t_M + t'_R}$$

又

$$R_r = \frac{N_G}{N_G + N_L} = \frac{c_G V_G}{c_G V_G + c_L V_L} = \frac{1}{1 + \frac{KV_L}{V_G}} = \frac{1}{1 + K'}$$

故得

$$\bar{u}_i = \bar{u} \cdot R_r = u \cdot \frac{1}{1 + K'} \quad (2.23)$$

不难看出,组分在柱中的移动速率取决于流动相平均线速度、容量因子及影响容量因子等因素。当柱长一定时, t_R 值与组分移动的速率成反比。

(3) 真实线速度的讨论 以上采用的 \bar{u} 只是代表流动相在色谱柱中的平均速度,未考虑柱中各段的复杂情况。

对柱色谱而言,柱内任一截面上流动相线速可用达西(Darcy)定律表示

$$u = -\frac{K_0}{\eta} \cdot \frac{dp}{dL} \quad (2.24)$$

式中: K_0 ——柱的比渗透性, 对开管柱 $K_0 = \frac{r^2}{8}$, r 为毛细柱直径;

ε ——固定相颗粒间空隙度;

η ——流动相动态黏度;

$\frac{dp}{dL}$ ——沿流动方向的压降变化率。

在高效液相色谱中, 液体流动相的黏度要高于气体 100 多倍, 所以当 u, K_0 及 L 一定时, 液相色谱的压降要比气相色谱压降增加 100 倍才能使之动态平衡。对形状规则的填充柱而言, K_0 值可用康采尼-卡曼 (Kozeny-Carman) 方程表示

$$K_0 = \frac{d_p^2 \varepsilon^2}{180(1 - \varepsilon)^2} \quad (2.25)$$

式中: d_p 为固定相颗粒直径, 此式明显地说明 K_0 与 d_p, ε 之间的关系。常规填充柱中 ε 值为 0.4 左右, 则该式可简化为

$$K_0 = \frac{d_p^2}{1000} \quad (2.26)$$

这充分说明, 填充柱的比渗透性决定于 d_p^2 值, 对不可压缩的液体, 其 $\frac{-dp}{dL} = \frac{(p_i - p_o)}{L}$, 所以

HPLC 中的流动相线速度应为

$$u = \frac{K_0}{\eta L} (p_i - p_o) \quad (2.27)$$

在 GC 色谱柱中由于载气具有被压缩性而使情况变得更加复杂。对恒温柱而言, 柱内不同位置的截面积 (a) 处之流速 (u) 与相应的压力乘积相等

$$aup = au_o p_o = a\bar{u}\bar{p} \quad (2.28)$$

式中: a ——气相所占据的截面积;

\bar{p} ——柱内平均压力, 对应于 a 截面积的柱压力。

将式(2.28)代入式(2.24), 若 $dX = dL$, 则得

$$dX = \frac{-K_0 dp}{\eta u} = -K_0 \frac{p dp}{\eta u_o p_o} \quad (2.29)$$

因为 $\bar{p} = \frac{\int_o^L p dX}{\int_o^L dX}$, 故将式(2.29)代入此式, 则得 $\bar{p} = \frac{\int_{p_o}^{p_i} p^2 dp}{\int_{p_o}^{p_i} p dp}$ 积分结果为

$$\bar{p} = \frac{2}{3} p_o \frac{(p_i - p_o)^3 - 1}{(p_i - p_o)^2 - 1} = \frac{p_o}{j} \quad (2.30)$$

所以压力梯度校正因子为

$$j = \frac{2}{3} \frac{(p_i - p_o)^3 - 1}{(p_i - p_o)^2 - 1} \quad (2.31)$$

将式(2.29)变换则得

$$u_o p_o dX = -aK_o p \frac{dp}{\eta} \quad (2.32)$$

对式(2.32)求积分,当 $x=0$ 时, $p=p_i$, 则有

$$u_o p_o x = \frac{K_o(p_i^2 - p^2)}{2\eta} \quad (2.33)$$

当 $x=L$ 时, $p=p_o$, 则又有

$$u_o p_o L = \frac{K_o(p_i^2 - p_o^2)}{2\eta} \quad (2.34)$$

故

$$\frac{x}{L} = \frac{p_i^2 - p^2}{p_i^2 - p_o^2} = \frac{\left(\frac{p_i}{p_o}\right)^2 - \left(\frac{p}{p_o}\right)^2}{\left(\frac{p_i}{p_o}\right)^2 - 1} \quad (2.35)$$

由式(2.35)可以计算出柱内任何一点(x)处的压力 p 值。根据气体守恒定律: $p_i u_i = p_o u_o$, u 是 L 的函数, p_i/p_o 越小, \bar{u} 与 u_o 差值越大, 此时 u_o 值必须经 j 值校正, 即 $\bar{u} = j u_o$ 。

柱内压降是非线性变化的, p_i/p_o 比值越大, 则非线性越严重, 在入口处变化较慢, 越接近于出口变化越快。实验证明, 当 $p_i/p_o < 2$ 时, $\Delta p/\Delta x$ 接近于常数; 当 $p_i/p_o \approx 1.5$ 左右, 此时柱内流速状态最佳, 柱效率最高, 所以, 优良的色谱柱工作状态应是低压降柱。当 p_i/p_o 过大, $u/u_o \sim x/L$ 的曲线将在 $x/L > 0.5$ 后陡峭起来, 此时会产生一个极高的线速度(u_o) (见图 2.3(b))。因此, 有时在保证柱效一定的前提下, 选用一定长度填充柱的特定色谱体系中, 要黏度、柱长增加, 比渗透性下降时, 欲维持一个恒定 u 值, 必须使 p_i 增加, 但有所限度, 否则会引起柱后半段的分离效能大幅度下降。

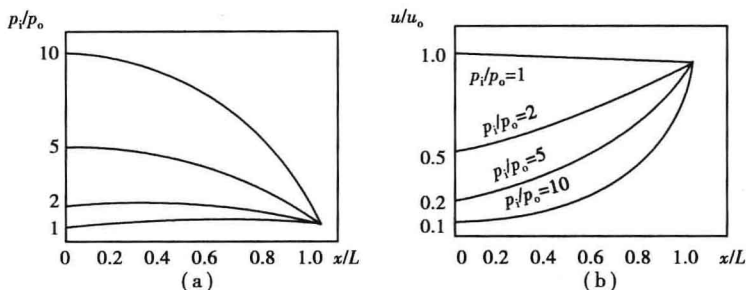


图 2.3 柱内各点压力降与线速度变化分布图

2) 保留时间

根据保留时间的定义, 由式(2.23)得

$$t_R = \frac{L}{\bar{u}_i} = \frac{L(1 + K')}{\bar{u}} \quad (2.36)$$

该式说明组分分子在柱内移动的时间(t_R)与 L 、 \bar{u} 及 K' 的关系, 当 L 及 \bar{u} 一定时, t_R 值决定于 K' 值的大小, 可将式(2.36)改写为

$$t_R = t_M(1 + K') \quad (2.37)$$

可以看出, 当 $K' = 0$ 时, 即 $K \cdot \frac{1}{\beta} = 0$ ($K = 0$), 则组分在柱中无保留行为, 故 $t_R = t_M$; 当 $K' = 1$