

有机仪器分析

(色谱分析部分)

上册

湖南大学分析化学教研室

一九八三年八月

目 录

第一章 色谱法概述.....	1—1
第一节 色谱法发展的简史.....	1—1
第二节 色谱法分类.....	1—2
第三节 色谱法的应用与发展.....	1—4
第二章 柱色谱法.....	2—1
第一节 液—固吸附柱色谱法.....	2—1
第二节 液—液分配柱色谱法.....	2—6
第三节 柱色谱的实验方法.....	2—7
习 题	2—10
第三章 纸层析法.....	3—1
第一节 纸层析法的分离原理.....	3—1
第二节 纸层析的实验方法.....	3—4
第三节 纸层析法的应用.....	3—10
习 题	3—11
第四章 薄层色谱法.....	4—1
第一节 薄层色谱的原理.....	4—2
第二节 薄层色谱固定相.....	4—2
第三节 薄层色谱展开剂的选择.....	4—4
第四节 薄层色谱的实验方法.....	4—5
第五节 薄层色谱的应用.....	4—13
习 题	4—14

第五章	气相色谱法	5—1
第一节	气相色谱法概述	5—1
第二节	气相色谱仪	5—4
第三节	气相色谱的基本理论	5—57
第四节	气相色谱固定相	5—107
第五节	定性、定量分析	5—130
第六章	毛细管色谱法	6—1
第一节	毛细管色谱的基本原理	6—1
第二节	各种毛细管色谱柱	6—10
第三节	毛细管柱的性能测试	6—13
第四节	毛细管柱的色谱系统	6—15
第七章	高压液相色谱法	7—1
第一节	概述	7—1
第二节	高压液相色谱仪	7—1
第三节	基本理论	7—12
第四节	液相色谱分离类型简介	7—30
习 题		

第一章 色谱法概述

第一节 色谱法发展的简史

俄国植物学家茨维特 (Tswett) 于1906年创立了色谱法。他在研究植物色素的组成时,把植物色素的石油醚提取液倒入一根装有碳酸钙颗粒的竖直玻璃管中,提取液中色素被吸附在碳酸钙颗粒上,然后再加入纯石油醚,任其自由流下,结果在玻璃管中形成了不同颜色的谱带,“色谱”(即“有色的谱带”)一词由此而得名。把这种分离方法命名为色谱法,把玻璃柱称为色谱柱。

茨维特的这一重大发现引起了人们的广泛注意,对这种分离技术进行了不断的研究和应用。1941年马丁 (Martin) 等人把含有一定量水份的硅胶作吸附剂填充到柱中,然后让氨基酸的混合物溶液通过柱子,再用氯仿淋洗柱子,结果各种不同的氨基酸被分离开来。这与茨维特的方法形式上相同,但其分离原理完全不同,他把这种方法称为分配色谱法。1944年提出了纸色谱法,它可以用于氨基酸的分离,对糖类、肽类、各种抗菌素以及几乎所有的无机物和有机物都可分离鉴定出来。

1952年研究成功气-液色谱法,用这种方法分离和鉴定、测定挥发性化合物,显示了巨大的优越性。由于马丁和辛格 (Synge) 在色谱法的研究中作出了重大贡献而荣获1952年的诺贝尔奖金。

在总结前人经验的基础上,1956年斯特尔 (Stahl) 成功地研究出了一种把薄层作成厚度比较均匀的涂布装置, E. Merck 公司把薄层用的硅胶加入一定量的石膏,制成规格化的硅胶商品,从此薄层法得到了迅速的发展。同年荷兰著名学者范第姆特 (Van Deemter) 等人提出范第姆特方程,使气相色谱的理论更加完善。戈雷提出并发明了高效能的毛细管柱。五十年代末实现了色谱-质谱联用。

由于各种新的色谱填充剂的研制成功、新的技术和工艺的发展,70年代初高压液相色谱法已发展成一种强有力的分离手段。

我国的科技工作者于1956年开展了气相色谱的研究与应用工作，20多年来在色谱仪器、色谱试剂、色谱理论与应用等方面都取得了许多成就，全国已召开了四次色谱学术报告会，全面的总结了我国色谱学术研究方面的成果，并将进一步取得更大的成就。

色谱法现今也称层析法，层离法，色层法等，下面将分别予以介绍。

第二节 色谱法分类

色谱法按不同标准可分成不同的类型，也有不同的分类方法。

(一)、按两相的状态分类

在色谱分析中有两相，即流动相和固定相。所谓流动相就是色谱过程中携带组分向前移动的物质。固定相就是色谱过程中不移动的具有吸附活性的固体或是涂渍在载体表面上的液体。用液体作为流动相的称为液相色谱，用气体作为流动相的称为气相色谱。又因固定相也有两种状态，按照使用流动相和固定相的不同，可将色谱法分为液—固色谱，即流动相为液体，固定相为具有吸附活性的固体。液—液色谱，即流动相为液体，固定相为液体。气—固色谱，即流动相为气体，固定相为具有吸附活性的固体。气—液色谱，即流动相为气体，固定相为液体。

(二)、按色谱过程的机理分类。

吸附色谱，就是利用吸附剂作固定相，对不同组分吸附性能的差别达到分离的目的。这种色谱法根据使用的流动相不同，又可分为气固色谱和液固色谱两种。它们主要用于气体分析。

分配色谱，是利用不同组分在流动相和固定相之间的分配系数（或溶解度）的不同而达到分离。根据使用的流动相不同，又可分为液液分配色谱和气液分配色谱。

离子交换色谱，利用不同组分对离子交换剂亲和力的不同而达分离的一种色谱方法。这种色谱方法在无机离子的分离及生物化学中各种核酸衍生物、氨基酸的分离得到广泛应用。

凝胶色谱法，是利用某些凝胶对不同组分子的大小不同而产生不同的滞留作用，以达到分离的色谱方法。主要用于较大分子的分离。这种方法也称空间排阻色谱法，分子排阻色谱法等。

(三)、按操作方法分类

柱色谱法，固定相装入色谱柱内，使样品沿一个方向移动以达分离的色谱法。

纸色谱法，以纸为载体，样品点在纸条的一端，然后用流动相展开，以达到分离的色谱法。

薄层色谱法，把吸附剂（或载体）均匀地铺在一块玻璃板或塑料板上，形成薄层，在此薄层进行色谱分离的方法。按分离机理，可分为吸附、分配、离子交换、排阻等法。

表 1—2 色谱法分类表

色 谱 法	气 相 法	气相分配色谱法，又称为气—液色谱法（GLC）	
		气相吸附色谱法，又称气—固色谱法（GSC）	
	液 相 色 谱 法	吸附层析又称液—固色 谱。	薄层色谱（TLC）
		分配色谱又称液—液色 谱。（LLC）	柱色谱（CC）
			纸色谱（PC）
			柱色谱 薄层色谱
	离子交换色谱（IEC）		
	凝胶色谱法（GPC）		

第三节 色谱法的应用与发展

色谱法从创立到现在已有70多年了,而现代的色谱法已成为从混合物中分离、纯化、鉴定物质的强有力的手段,在各种研究实验室及工农业生产中得到了广泛的应用。它已深入到化学、石油化工、医药卫生、轻化工、农业食品、环境保护、生物化学、冶金、机械、能源、宇航等领域,并已取得了很多的成就。

液相色谱法如柱色谱法、纸色谱法和薄层色谱法所需仪器设备比较简单,容易操作,特别是薄层色谱法具有相当高的灵敏度和分辨率,而且分析速度快,在糖类、氨基酸、染料、农药、贵金属等的分离、鉴定中得到广泛应用。

气相色谱法在近20多年来发展非常迅速,应用更加广泛,在理论研究与实际的应用方面都远远超过了经典的液相色谱法。近十年来高压液相色谱技术得到很快的发展;有超过气相色谱的趋势,据1982年3月在美国分析化学和应用光谱报告展览会上发表的849篇报告统计,有关色谱方面占331篇,占总数的39%。其中液相色谱的文章222篇,占色谱方面文章的67%。由此可见,色谱分析特别是液相色谱在分析仪器发展中占有十分突出的地位。

色谱法发展到今天仍在提出各种色谱新方法和联用技术的发展。色谱新方法有逆向色谱,离子色谱、有机水溶性高分子的凝胶色谱和临界色谱,以及高效薄层色谱。联用技术从色谱—质谱联用发展到三种方法的联用。如色谱—质谱—红外联用,色谱—质谱—质谱联用,色谱—色谱—质谱联用,同时电子计算机又将各种技术联合起来,使解决各种复杂物质的分离与鉴定取得了重大进展。

关于色谱谱图结果的智能解析,在我国已开展了这项重大课题的研究工作。从理论上推算气相色谱定性用有关 C_i ,以前烃类在各种固定液上的保留值以及液相色谱最佳溶剂组成的推算方面也都取得了初步成果。

第二章 柱色谱法

柱色谱法按分离机理可分为液—固吸附柱色谱法和液—液分配柱色谱法。

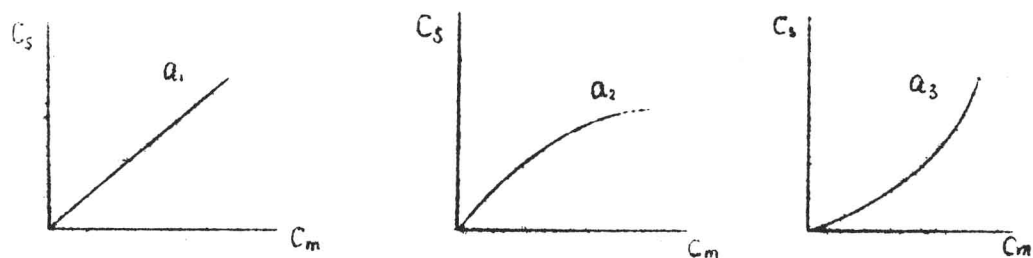
第一节 液—固吸附柱色谱法

吸附柱色谱法是一种经典的色谱法，但它的分离原理适用于其他色谱法。

(一) 吸附等温线

吸附柱色谱分离是样品各组分被色谱柱中的吸附剂吸附和被溶剂解吸附的反复过程而实现的。所谓吸附是指溶质在液—固或气—固两相的交界面上集中浓缩的现象，它发生在固体表面上。吸附剂是一种多孔性的物质，表面存在许多吸附活性中心，它的吸附能力的大小直接影响组分的分离。

在一定温度下，一个组分在吸附剂上的吸附规律，可用在平衡状态时，此组分在两相中的浓度的相对关系曲线来表示，称为吸附等温线，有直线形和非直线形两类，非直线形又分凸形等温线和凹形等温线两种，如图2—1所示：



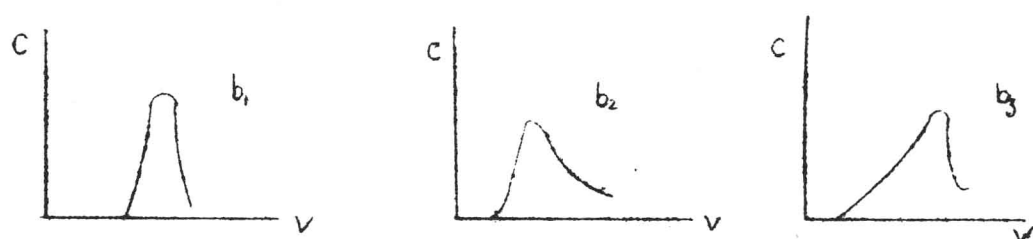


图 2—1
线性和非线性等温线（上图）
淋洗谱带（下图）

a_1 ——线性等温线 a_2 ——凸线等温线 a_3 ——凹线等温线。

吸附等温线表示在一定温度下吸附剂对溶液中某一物质的吸附能力。当组分 X 加入含固体吸附剂的柱头时，组分 X 被吸附，流动相连续不断地通过柱子，当组分吸附达到平衡时，组分 X 在流动相中的浓度 C_m 与在固定相中的浓度 C_s 之间有如下关系：

$$C_m \rightleftharpoons C_s$$

当流动相的流速保持一定时，测定流出液单位体积的浓度，以浓度 C_s 对流出液体积 V 作图，可得到它们的淋洗曲线，如图 2—1 b 所示。从图 2—1 a_1 中可见，线性等温线的斜率相当于物质在两相中的分配系数：

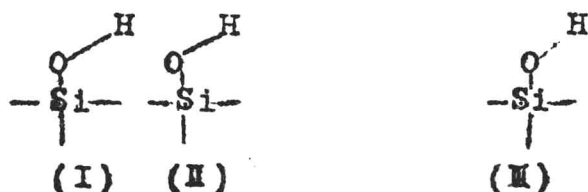
$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

当溶质浓度改变时，分配系数仍为常数。因此具有线性吸附等温线的物质在色谱柱中移动的速度与它在溶液中的浓度无关。在色谱柱一定的情况下， K 是决定谱带移动速度的，所以带谱各部分均以恒定的速度前进，流出曲线呈对称形状。

实际上，吸附等温线只有在溶质浓度较低的范围内是线性的，在浓度较高时，好象固定相被溶质所饱和，产生非线性等温线。如图 2

—1 a: 所示是呈凸形的。因为当 C_s 值较高时，溶质集中的区域比溶质稀少的区域前进的速度快，这样就会形成拖尾。反之，物质在溶液中的浓度愈大，它在色谱柱中移动愈慢。因此谱带区呈倾斜的前沿。吸附等温线呈凹形，如图 2—1 a。

由于使用的吸附剂（如硅胶）的表面上的吸附位置主要是硅醇基（ $-\text{Si}-\text{OH}$ ）上面的羟基：



其中（I）属于束薄型，（II）活泼型，（III）自由型。它们与溶质分子形成氢键而产生吸附作用，吸附能力的大小是（I）<（III）<（II）。硅胶表面的其余部分（ $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ ）也有较弱的吸附能力，溶质分子在不同的表面吸附中心上就产生不同的吸附力，溶质分子首先被强吸附中心所吸附，其次被中等强度吸附中心所吸附，再被弱吸附中心所吸附。而吸附系数总是随溶质浓度的增加而逐渐减小。吸附等温线呈凸形，所以吸附色谱中拖尾的现象是普遍存在的。假如减少溶质的量，只利用吸附等温线的开始的一段，这一段近似于一条直线，这时流出曲线就近似对称了。因此，在吸附柱色谱中，为克服拖尾，就应注意控制样品的加入量，样品超过了某一限度，就会出现拖尾，这叫做柱子超负载。

（二）吸附剂的选择

在吸附柱色谱分离中，吸附剂的选择直接影响分离。对吸附剂有如下要求：

1、具有较大的吸附表面和一定的吸附能力，能使样品各组分达到满意的分离。

2、化学惰性，即不与洗脱剂和样品组分起化学反应，不溶解于洗脱剂。

3、吸附剂颗粒均匀，具有一定的机械强度和细度，使用过程中

不会碎裂。

常用的吸附剂有硅胶、氧化铝、纤维素、聚酰胺等，可根据需要进行选择。

氧化铝是一种吸附能力较强的吸附剂，并具有较强的分离能力。市售的层析氧化铝分碱性、中性、酸性三种，而以中性氧化铝使用最多。碱性（ $\text{PH}=9\sim 10$ ）氧化铝适用于碱性和中性化合物的分离。中性（ $\text{PH}\approx 7.5$ 左右）氧化铝适用于分离生物碱类、挥发油、萜类、油脂、树脂、皂苷、甾体化合物、有机酸类等。酸性氧化铝可分离有机酸类、某些二羧酸氨基酸，酸性多肽类以及酯类等化合物。

层析用氧化铝按其活性分为五级。级数越大，吸附能力越小，而活性的大小与含水量有关：

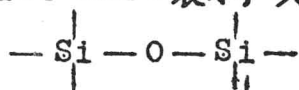
活性级	氧化铝含水量（%）
I	0
II	3
III	6
IV	10
V	15

在一定温度下，加热除去水份可使氧化铝活性提高，吸附能力增强，这个过程称为活化。反之，加入一定量的水份，可使活性降低，吸附能力下降，这个过程称为去活性。

氧化铝的活化方法是將氧化铝置于 400°C 左右的高温炉内，烧约6小时，取出放入密封干燥器内、冷却备用。所得到氧化铝活性为I~II级。温度过高会因内部结构改变而降低活性。

硅胶

硅胶是一种常用的微酸性吸附剂，其吸附能力较氧化铝微弱，一般可用 $m\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ 表示，具有硅氧环的交链结构：



由于硅胶表面存在 — Si — OH 基，能吸着大量水份，这种水当加热至 100°C 时，能可逆地失去。通常其吸湿量达17%时，吸附能力极低，这时可作为分配层析的载体。

交链结构内部含有“结构水”，加热至 500°C 时能不可逆地失去，这时硅醇结构变成硅氧环结构，使吸附能力降低。

硅胶的活性分为五级：

活性级	含水量 (%)
I	0
II	5
III	15
IV	25
V	38

因此硅胶的活性与含水量有密切关系，含水量高则吸附能力减弱。

（三）、流动相的选择。

在吸附柱色谱中溶解样品的溶剂最好就是洗脱剂，以免谱带在溶剂和洗脱剂接触处受到扰乱。流动相的性质对样品的吸附过程起重要作用，因为吸附剂对溶剂也有作用，如果溶剂被强烈地吸附就很难被样品置换，极性溶剂占据吸附剂表面的能力增强，吸附剂吸附溶质的能力减弱。因此，在选择流动相时应注意以下几点：

1、样品组分的性质。

样品中各组分的性质主要指其极性的大小和结构的特征。由于吸附剂多为极性，极性大的组分容易被吸附剂吸附，这时需选用极性大的溶剂才能将组分置换出来。组分的极性与其结构有关，化合物结构中各种官能团按其极性由小到大可排列以下次序：

烷烃 < 烯烃 < 醚类 ($-\text{OCH}_3$, $-\text{O}-\text{CH}_2-$) < 硝基化合物
< 二甲胺 < 酯类 < 酮类 < 醛类 < 胺类 < 酰胺 < 醇类 < 酚类 < 羧酸类。

2、吸附剂的性能。

吸附剂的性能主要由其活性来确定。吸附剂的活性一般用海氏 (Helmonek) 薄层色谱方法进行测定。活性分五级，其活性是 I 级 > II 级 > III 级 > IV 级 > V 级。如果要分离极性小的化合物，一般选用吸附活性大一些的吸附剂，分离极性大的化合物应选用活性小的吸附剂。

吸附剂的吸附能力也与吸附剂的性能有关。极性吸附剂选择性地吸附不饱和的、芳香族的和极性分子。非极性吸附剂如活性炭、硅藻

土，对极性分子无吸附能力。

3、流动相的极性。

柱色谱分离中，样品组分的极性和吸附剂的性能确定了，则选择不同极性的流动相是影响分离的主要因素。一般来说，极性大的溶剂对极性大的组分具有较大的亲和力，极性小的溶剂对极性小的组分有较大的亲和力，中等极性的溶剂对中等极性的组分有较大的亲和力。当混合样品中有不同极性的组分时，选择不同极性的流动相就可将各组分分离。如样品中有极性大与极性小的两种组分，选择极性小的溶剂就可将极性小的组分与极性大的组分分离。

常用的溶剂其极性大小有以下的次序：

石油醚 < 环己烷 < 四氯化碳 < 苯 < 甲苯 < 乙醚 < 氯仿 < 乙酸乙酯 < 正丁酯 < 丙酮 < 乙醇 < 水。

选择色谱分离条件时，应从以上三种情况即样品组分的性质，吸附剂性能、流动相的极性综合考虑。一般用亲水性吸附剂（如硅胶、氧化铝）作色谱分离时，如样品极性较大，应用吸附性较弱（活性较低）的吸附剂，用极性较大的洗脱剂。如组分的亲脂性较强，则应选用吸附性强（活性高）的吸附剂，极性较小的洗脱剂。对混合物的分离，很多情况下是采用二种以上成份的混合溶剂。

第二节 液—液分配柱色谱法

一、分离原理

分配色谱是根据物质在两不相溶（或部分混溶）的溶剂间溶解度的不同而有不同的分配系数来实现分离的。这两种溶剂，一种是流动相，另一种是吸附在载体上的液体，称为固定液。当被分离混合物加入柱头上，流动相沿载体流动时，溶质就在两相之间进行分配，混合物中不同组分在两相中有不同的分配系数。用下式表示：

$$K = C_s / C_m \quad (2-1)$$

其中：

K——分配系数。

C_s ——组分在固定相中的浓度。

C_m ——组分在流动相中的浓度。

在一定温度下，分配达平衡时，组分在固定液中的浓度和在流动相中的浓度之比，称为分配系数。它是分配色谱法中的重要参数。如果样品中两个组分具有相同的分配系数，它们的色谱峰就会重合，分离就不好。相反，两个组分的分配系数相差越大，则它们的色谱峰就相差较远，分离得就越好。所以，在分配柱色谱中其分离主要决定于各组分分配系数的差异。一般来说，各种类型的化合物都可应用，但特别适用于亲水性物质，能溶于水而又稍能溶于有机溶剂的物质，如生物碱、甙类，有机酸、酚类、糖类及氨基酸的衍生物等。

（二）、担体和固定液的选择。

分配色谱中的担体是起负载固定相作用的，不能有吸附作用，还要求是惰性，能吸留较大量的固定液，必须要纯净，颗粒要均匀。为此，使用前一般是将担体进行精制，过筛。常用的担体有硅胶、硅藻土、纤维素等。还有采用微孔聚乙烯粉做支持剂的。

在分配层析中常用的固定相是水，或各种水溶液，甲醇、甲酰胺、稀硫酸等强极性物质。而流动相为有机溶剂，主要分离一些极性较大的物质。

（三）、洗脱剂的选择。

分配层析中洗脱剂的选择一般是先选用对各成份溶解度大的溶剂来洗脱，再根据分离情况改变洗脱剂的组成，如果被分离组分很容易洗脱下来，则可能分离不好，故在洗脱剂中加另外一种溶剂，以改变洗脱剂的极性，这可以改善组分的分离。这种溶剂叫混合溶剂。它由基础溶剂和洗脱溶剂二部分组成，基础溶剂是使物质溶解，洗脱溶剂是改变溶剂极性以改变组分移动速度的。在实际分析工作中，混合溶剂使用得很普遍。例如，用 Al_2O_3 分离硬脂酸和油酸时，通常使用乙醚——乙醇（1：1）混合溶剂进行分离。

第三节 柱色谱的实验方法

柱层析实验操作包括柱子的选择，固定相和流动相的准备，加样及洗脱，组分的鉴定等。每一操作对混合物的分离都会带来影响，因此要实现混合物的良好分离，必须综合考虑和应用其实验原理和技术。

(一)、层析柱的准备。

用一根下端带有玻璃活塞的玻璃管（也可用实验室常用的酸式滴定管），将处理过的玻璃毛填紧下端。柱子的直径和长度一般为：1:10~1:50。如果柱太短，直径太大，则分离效果差。柱子太长，直径太细，则分离时间长。若被分离组分性质很相似，难以分离，可选稍长的柱子。若需制备较多量的纯品，可选用直径稍大的柱子。

在实际工作中，应结合自己的经验并根据被分离对象和要求选择柱子。

(二)、吸附剂的准备

在柱层析中选择适当的柱吸附剂对分离是很重要的。样品与吸附剂之比，一般来说是吸附剂用量为样品量的30~50倍，假如样品中组分性质相似，就要使用较多的吸附剂，可比一般用量高100倍或更高。吸附剂的颗粒大小，一般选择为80~200目。使用前先在恒温干燥箱中于105°C~110°C活化1小时。

(三)、装柱

装柱的方法通常有两种：

1、干法装柱。

将吸附剂盛于干净小烧杯中，置一干净漏斗于柱口，将吸附剂慢慢装入柱中，边装边轻轻敲打柱子，使其填充均匀、紧密。取溶剂由漏斗沿玻璃管壁轻轻加入，使吸附剂润湿。填装润湿后不能留有气泡，如有气泡，可在柱上口再加溶剂并加压，使气泡随溶剂流出，直到无气泡为止。

2、湿法装柱。

吸附剂放入小烧杯中，加洗脱剂于小烧杯中拌湿，柱中先加入洗脱剂并把活塞打开，连续不断加入吸附剂，洗脱剂带着吸附剂慢慢下降，直到装满为止。用洗脱剂继续洗1~2次，准备加样。

湿法装柱比干法装柱好，前者易装均匀紧密，气泡易赶出，杂质

易洗净。但干法装柱简单、快速，而气泡不易赶出，易形成“涡流”，影响组分的分离。

四、加样与洗脱。

柱子装好后就可加样，样品先用溶剂溶解，溶剂极性要小，溶液浓度适当，体积小，体积大了分离时谱带分散。

加样前轻轻旋动活塞，使洗脱剂液面刚好与吸附剂表面水平。将准备好的样品用小滴管沿管壁加入柱中，待全到达液面，轻轻旋动活塞，使样品慢慢下降刚与吸附剂表面水平，用滴管沿管壁加入洗脱剂进行淋洗。在洗脱剂的推动下，样品组分开始迁移，其迁移速度决定于吸附剂对组分的亲和力。若样品中各组分的吸附或溶解能力不同，则它们将彼此分离，最后出现在不同的区带中。原则上若各组分的 K 值差别大，用较长的柱子就可将各组分分离，先后流出层析柱。若 K 值差别较小，须用更长的柱子才能分离。

在分离时洗脱速度须严格控制，速度太快，分离不好，洗脱速度太慢，分离时间过长，一般控制在两秒钟三滴的流速。洗脱时要注意不让溶液流干，否则吸干后再加入洗脱剂时，柱中气泡难以除尽，严重影响分离。

对有色样品，分离是否好，可直接从柱中辨别。对无色样品的分离，可收集洗脱液进行分段分析，可得到如图2—2所示的浓度—体积曲线（或称洗脱曲线）。

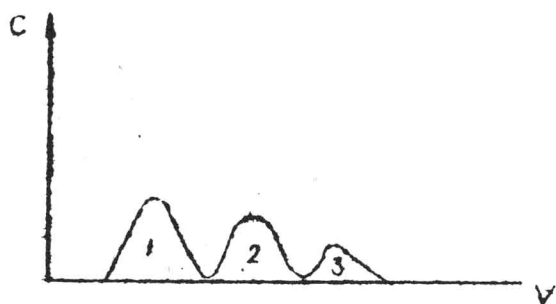


图2—2
柱层析洗脱曲线

分配柱层析的实验方法与吸附柱层析基本相同，不同的是分配柱层析中的担体要吸留一定量的固定液作为固定相。例如脂肪族氨基酸与芳香族氨基酸的分离，是将活性碳（担体）用KCN（固定液）处理，KCN吸留在活性碳表面，样品加入后脂肪族氨基酸通过柱子，芳香族氨基酸被吸留住，再用5%的苯酚+20%的乙酸溶液洗脱，即可将芳香族氨基酸与脂肪族氨基酸分离。

分配层析法经常还使用一种反相层析法，所谓反相层析法是指和正常层析法相反的一种层析法。正常分配层析法所用的固定相是水、甲醇等强极性物质，这正好是反相层析的流动相，正常层析法的流动相是有机溶剂，这是反相层析的固定相。由于反相层析的固定相极性小，流动相极性大，一些亲脂性有机物迁动较慢，十分有利于分离。在实际应用中，采用正常层析法分离不好的混合物可用反相层析法进行有效的分离。

习 题

- 1、吸附柱层析与分配柱层析有何相同与不同？
- 2、某层析柱上组分P和Q各自的分配系数为490和460，问哪一个组分先流出层析柱？为什么？
- 3、在柱色谱中如何选择洗脱剂？试举一例加以说明。