

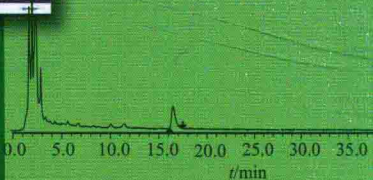
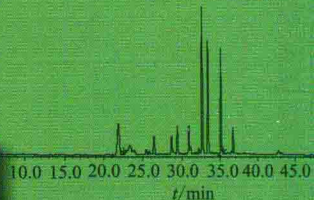
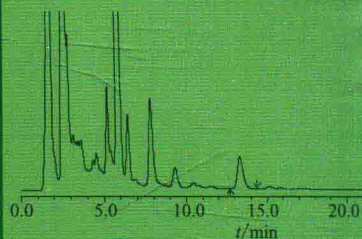
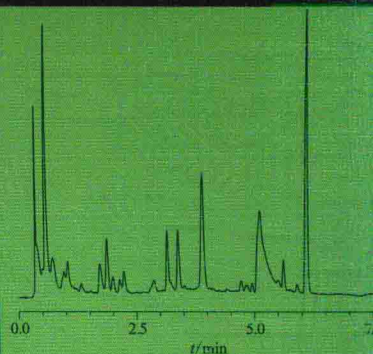
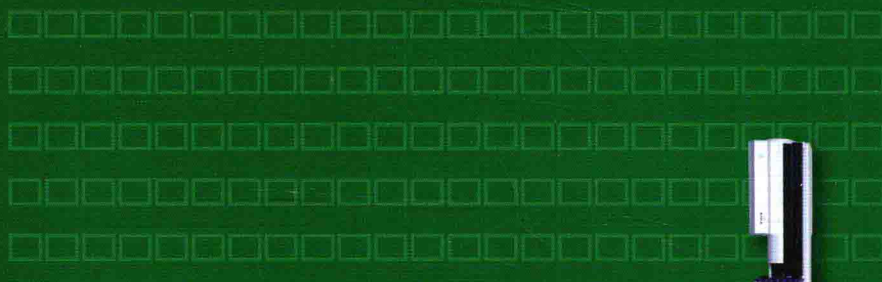
高等学校“十三五”规划教材



# 色谱分析 (双语版)

Chromatographic Analysis

王伟 主编      徐加应 骆爱兰 副主编



化学工业出版社

高等学校“十三五”规划教材

# 色谱分析(双语版)

王 伟 主编    徐加应 骆爱兰 副主编



化学工业出版社

· 北 京 ·

本教材的编写着眼于现代色谱科技进步、瞄准国际水平,反映当代色谱分析的最新成果。采用中英两种语言编写,具有启发性,激发学生学习兴趣。全书内容包括色谱法概述、色谱法的基本理论、气相色谱法、高效液相色谱法、高效毛细管电泳和高效毛细管电色谱,中文部分和英文部分并非简单的一一对应关系,而是按照中文和英文的书籍编排规律独立编排,两部分相互启发,促进理解。

本教材可作为高等院校化学专业及相近专业的色谱分析教材,对相关专业从事色谱工作的技术人员也有一定的参考意义。

### 图书在版编目(CIP)数据

色谱分析(双语版)/王伟主编. —北京:化学工业出版社,2016.1  
高等学校“十三五”规划教材  
ISBN 978-7-122-25893-9

I. ①色… II. ①王… III. ①色谱法-化学分析-双语教学-教材  
IV. ①O657.7

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第306581号

---

责任编辑:李 琰 宋林青  
责任校对:吴 静

装帧设计:王晓宇

---

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印 装:大厂聚鑫印刷有限责任公司

787mm×1092mm 1/16 印张10 $\frac{3}{4}$  字数276千字 2016年6月北京第1版第1次印刷

---

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

---

定 价:29.00元

版权所有 违者必究



# 前言

## Foreword

现代色谱分析领域发展迅速，新技术、新方法层出不穷。本教材的编写着眼于现代色谱技术进步，反映当代色谱分析的最新成果，具有启发性，便于激发学生的学习兴趣。本书采用中英文两种语言编写，中文部分和英文部分并非简单的一一对应关系，而是按照中文和英文的书籍编排规律独立编排，两部分相互启发，促进理解。

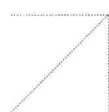
本书侧重于对色谱方法基础理论的系统论述，结合最新研究成果，力求全方位、立体化呈现色谱发展现状及未来发展的方向。本书可作为高等学校化学类及相关专业色谱分析课程教材。在内容的选择上，注重基础知识和基本理论，突出重点，体现最新的研究成果，力求内容精练。在内容编排上循序渐进，在文字叙述上深入浅出，力求条理清晰简洁，内容通俗易懂。英文部分的编写，可促进学生英文读写及交流能力的提高。

本书编写统筹工作由王伟和李恒业负责。具体章节的完成情况如下：中文部分第一章、第三章由骆爱兰完成，第二章、第四章由徐加应完成，第五章由徐加应、王伟共同完成；英文部分 Chapter 1 由吕伟欣编写，Chapter 2, Chapter 3 and Chapter 4 由李恒业完成，Chapter 5 由李恒业、王伟共同完成编写。本书得到了盐城工学院教材出版基金的资助。

由于时间仓促，编者水平有限，本书中难免有不妥或疏漏之处，恳请广大读者提出宝贵意见。

编者

2015 年 4 月



# 目 录

## Contents

### 第一章 色谱法概述

|               |   |
|---------------|---|
| 第一节 色谱法的发展简史  | 1 |
| 第二节 色谱法的分类和特点 | 2 |
| 一、色谱法的分类      | 2 |
| 二、色谱法的特点      | 3 |
| 第三节 色谱法的发展趋势  | 3 |

### 第二章 色谱法的基本理论

|                   |    |
|-------------------|----|
| 第一节 色谱流出曲线及色谱基本参数 | 5  |
| 一、色谱流出曲线          | 5  |
| 二、常用术语            | 5  |
| 三、由色谱流出曲线可以实现以下目的 | 7  |
| 第二节 色谱分析的基本原理     | 7  |
| 一、分配过程            | 7  |
| 二、塔板理论和速率理论       | 8  |
| 三、影响色谱带展宽的其他因素    | 12 |
| 四、色谱分离条件          | 13 |
| 思考题与习题            | 14 |

### 第三章 气相色谱法

|               |    |
|---------------|----|
| 第一节 概述        | 15 |
| 第二节 气相色谱系统    | 15 |
| 一、进样系统        | 16 |
| 二、气路系统(载气)    | 18 |
| 三、分离系统(色谱柱)   | 18 |
| 四、温度控制系统      | 19 |
| 五、检测器         | 19 |
| 第三节 气相色谱填充柱   | 25 |
| 一、填充柱柱管的选择与处理 | 25 |
| 二、气-固色谱填充柱    | 26 |
| 三、气-液色谱填充柱    | 27 |
| 四、填充柱的制备方法    | 36 |

|                       |    |
|-----------------------|----|
| 第四节 毛细管气相色谱 .....     | 37 |
| 一、毛细管柱的特点 .....       | 37 |
| 二、毛细管柱的类型 .....       | 38 |
| 三、毛细管柱的制备 .....       | 38 |
| 四、毛细管柱色谱系统 .....      | 39 |
| 第五节 气相色谱定性定量分析 .....  | 40 |
| 一、定性分析 .....          | 40 |
| 二、定量分析 .....          | 41 |
| 第六节 提高检测分离条件的技术 ..... | 43 |
| 一、载气及其流速 .....        | 43 |
| 二、固定液的配比 .....        | 44 |
| 三、柱温的选择 .....         | 44 |
| 四、气化温度的选择 .....       | 44 |
| 五、色谱柱长和内径的选择 .....    | 44 |
| 六、进样时间和进样量的选择 .....   | 44 |
| 第七节 气相色谱法的应用 .....    | 45 |
| 思考题与习题 .....          | 46 |

## 第四章 高效液相色谱法

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 第一节 概述 .....                | 47 |
| 一、液相色谱的分类 .....             | 47 |
| 二、液相色谱的特点 .....             | 48 |
| 第二节 高效液相色谱仪 .....           | 48 |
| 一、高压输液泵 .....               | 49 |
| 二、脱气装置 .....                | 50 |
| 三、进样器 .....                 | 51 |
| 四、色谱柱 .....                 | 52 |
| 五、检测器 .....                 | 52 |
| 第三节 反相色谱 .....              | 54 |
| 一、反相键合相色谱法的分离原理 .....       | 55 |
| 二、影响溶质保留值的三个因素 .....        | 56 |
| 第四节 离子交换色谱 .....            | 56 |
| 第五节 离子色谱 .....              | 57 |
| 第六节 离子对色谱 .....             | 59 |
| 第七节 体积排阻色谱 .....            | 60 |
| 第八节 疏水作用色谱 .....            | 61 |
| 第九节 超临界流体色谱 .....           | 62 |
| 一、原理 .....                  | 62 |
| 二、超临界流体色谱的结构与流程 .....       | 63 |
| 第十节 液相色谱应用的范围和局限性分析 .....   | 64 |
| 第十一节 HPLC 研究进展和研究前沿介绍 ..... | 65 |
| 思考题与习题 .....                | 65 |

## 第五章 高效毛细管电泳和高效毛细管电色谱

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 第一节 高效毛细管电泳概述 .....        | 67 |
| 一、高效毛细管电泳的发展 .....         | 67 |
| 二、高效毛细管电泳的特点 .....         | 68 |
| 三、高效毛细管电泳装置 .....          | 68 |
| 第二节 高效毛细管电泳的理论 .....       | 69 |
| 一、电泳法的基本原理 .....           | 69 |
| 二、毛细管电泳中电渗现象和电渗流 .....     | 70 |
| 三、淌度 .....                 | 73 |
| 四、毛细管电泳的分析参数 .....         | 74 |
| 第三节 高效毛细管电泳的柱效控制 .....     | 76 |
| 一、由进样引起的峰加宽 .....          | 77 |
| 二、由焦耳热和温度梯度引起的峰加宽 .....    | 77 |
| 三、由纵向扩散引起的峰加宽 .....        | 78 |
| 四、由溶质与管壁间的相互作用引起的峰加宽 ..... | 78 |
| 五、由电分散作用引起的峰加宽 .....       | 79 |
| 六、由其他因素引起的峰加宽 .....        | 79 |
| 第四节 胶束电动毛细管色谱法 .....       | 80 |
| 一、原理 .....                 | 80 |
| 二、MEKC 中常用的“准固定相” .....    | 81 |
| 第五节 高效毛细管电泳的应用 .....       | 82 |
| 第六节 毛细管电色谱法 .....          | 82 |
| 一、毛细管电色谱的发展 .....          | 83 |
| 二、毛细管电色谱的特点 .....          | 83 |
| 三、毛细管电色谱的基本原理 .....        | 83 |
| 四、毛细管电色谱实验条件的选择 .....      | 85 |
| 五、毛细管电色谱的应用 .....          | 86 |
| 思考题与习题 .....               | 87 |

## Chapter 1 Introduction to Chromatography

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| 1.1 Discovery of chromatography ..... | 88 |
| 1.2 Types of chromatography .....     | 90 |

## Chapter 2 Fundamental Theories of Chromatography

|                                                      |     |
|------------------------------------------------------|-----|
| 2.1 Introduction .....                               | 94  |
| 2.2 Chromatographic Theory .....                     | 95  |
| 2.3 Optimization of Chromatographic Conditions ..... | 101 |
| 2.4 Calibration of an Instrument/Detector .....      | 104 |



**Chapter 3 Gas Chromatography**

|     |                                 |     |
|-----|---------------------------------|-----|
| 3.1 | Introduction .....              | 106 |
| 3.2 | Theory .....                    | 108 |
| 3.3 | Instrumentation .....           | 112 |
| 3.4 | Detectors .....                 | 116 |
| 3.5 | Data Systems and Handling ..... | 117 |
| 3.6 | Applications .....              | 118 |
| 3.7 | Looking Forward .....           | 118 |

**Chapter 4 High Performance Liquid Chromatography**

|     |                                  |     |
|-----|----------------------------------|-----|
| 4.1 | Introduction .....               | 120 |
| 4.2 | Chromatographic principles ..... | 123 |
| 4.3 | Chromatographic theories .....   | 127 |
| 4.4 | Instrumentation .....            | 128 |
| 4.5 | Quantitative Analysis .....      | 137 |

**Chapter 5 High Performance Capillary Electrophoresis and Capillary Electrochromatography**

|     |                                                  |     |
|-----|--------------------------------------------------|-----|
| 5.1 | High Performance Capillary Electrophoresis ..... | 139 |
| 5.2 | Capillary Electrochromatography .....            | 149 |

**参考文献**



# 第一章

## 色谱法概述

### 第一节 色谱法的发展简史

虽然色谱分析在俄国植物学家茨维特 (M. S. Tswett) 之前有一些发现, 但通常认为茨维特是色谱法的创始人。茨维特于 1906 年首先提出色谱法 (chromatography), 他把植物绿叶的色素混合液加在一根装有干燥固体碳酸钙颗粒 (称固定相) 的玻璃长管 (称为填充色谱柱) 上端, 然后让洗脱剂 (亦称流动相) 石油醚自上而下流过。在石油醚不断冲洗下, 原来在柱子上端的色素混合液向下移动。由于色素中各组分的性质差异, 色素与碳酸钙的作用力大小不同, 作用力小的先流出, 作用力大的后流出, 最后分离成不同颜色的清晰色带, 如图 1-1 所示。然后将潮湿的碳酸钙挤出玻璃管, 用刀将各色带切下, 对各组分用合适的分析方法分别进行测定。

由于茨维特的开创性工作, 人们尊称他为“色谱学之父”, 以他的名字命名的茨维特奖也成为色谱界的最高荣誉奖。色谱法发明后的最初二三十年发展非常缓慢。液-固色谱的进一步发展有赖于瑞典科学家 Tiselius (获得 1948 年诺贝尔化学奖) 和 Claesson 的努力, 他们创立了液相色谱的迎头法和顶替法。分配色谱是由著名的英国科学家 Martin 和 Synge 创立的, 他们因此而获得 1952 年的诺贝尔化学奖。1941 年, Martin 和 Synge 采用水分饱和的硅胶作为固定相, 以含有乙醇的氯仿作为流动相分离乙酰基氨基酸, 他们在这一工作的论文中预言了用气体代替液体作为流动相来分离各类化合物的可能性。1951 年, Martin 和 James 报道了用自动滴定仪作为检测器分析脂肪酸, 创立了气-液色谱法; 1958 年, Golay 首先提出了分离效能极高的毛细管柱气相色谱法, 发明了玻璃毛细管拉制机, 从此气相色谱法超过最先发明的液相色谱法而迅速发展起来, 1959 年 Porath 和 Flodin 用交联的缩聚葡萄糖制成凝胶来分离水溶液中不同分子量的试样, 在生物化学领域得到了广泛的应用, 今天常用的气相色谱检测器也是在 50 年代发展起来的。70 年代发明了石英毛细管柱和固定液的交联技术。1970 年以后逐渐发展了高效液相色谱法以及各种模式、多种高性能的检测器和联用手段, 使液相色谱技术逐步产生了实质性的改进和极为广泛的应用。1975 年 H. Small 及其合作者发表了第一篇离子色谱论文, 同年离子色谱仪问世。初期, 离子色谱主要用于阴离子的分析, 目前已经成为在无机和有机阴、阳离子混合

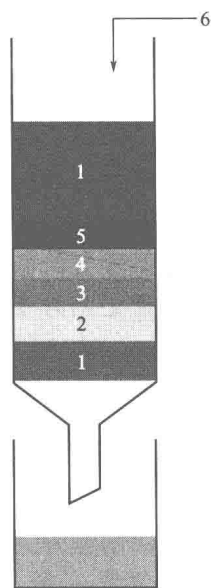


图 1-1 Tswett 色谱分离示意图

- 1—碳酸钙颗粒 (固定相); 2—胡萝卜素;  
3—叶黄素; 4—叶绿素 b;  
5—叶绿素 a; 6—石油醚

物分析中起重要作用的分析技术。1979 年弹性石英毛细管色谱柱商品化,使气相色谱的应用再次发生了飞跃。随着电子技术和计算机技术的发展,气相色谱仪已经实现了全自动化和计算机控制,并可通过网络实现远程诊断和控制。

虽然毛细管电泳以及后来发展的各种模式的相关技术可以上溯到 20 世纪 60 年代甚至 50 年代,但是迅速发展还是在 80 年代。1981 年, Jorgenson 和 Lukacs 使用  $75\mu\text{m}$  直径的熔融石英毛细管做 CZE (毛细管区带电泳),利用电迁移进样和荧光检测,在 30kV 的电压下获得了  $4\times 10^5$  塔板 $\cdot\text{m}^{-1}$ 的柱效,成为毛细管电泳发展史上的里程碑。此后发展了胶束电动色谱、毛细管凝胶色谱、毛细管电色谱等模式,主要应用领域是蛋白质分离、糖分析、DNA 测序、手性分离、单细胞分析等。

## 第二节 色谱法的分类和特点

### 一、色谱法的分类

色谱法涉及分离和仪器类型、分离机理、理论处理方法、检测和操作技术等,基于不同因素色谱有多种分类方法,通常按以下几种方式分类。

#### (1) 按两相状态分类

在色谱分离中固定不动、对样品产生保留的一相称为固定相,携带待测组分向前移动的物质称为流动相。在茨维特的实验中,碳酸钙是固定相,石油醚是流动相。根据流动相状态分类,流动相是气体的称为气相色谱法;流动相是液体的称为液相色谱法;流动相为超临界流体的称为超临界流体色谱法。根据固定相状态分类,在气相色谱法中,固定相为固体的称为气固色谱,固定相为液体的称为气液色谱;同理,液相色谱法也可分为液固色谱和液液色谱法。

#### (2) 按分离原理分类

分配色谱(partition chromatography) 根据不同组分在固定相中溶解度的大小而实现分离的色谱。气液色谱和液液色谱均属于分配色谱。

吸附色谱(absorption chromatography) 根据不同组分在吸附剂上的吸附和解吸能力大小而实现分离的色谱。气固色谱和液固色谱均属于吸附色谱。

离子交换色谱(ion exchange chromatography) 基于离子交换树脂上可电离的离子与流动相中具有相同电荷的溶质离子进行可逆交换,依据这些离子对交换剂具有不同的亲和力而将它们分离的色谱。

体积排阻(凝胶)色谱(size exclusion chromatography) 固定相是凝胶,利用分子大小的不同而进行分离的色谱。

#### (3) 按固定相的形式分类

固定相在柱内的称为柱色谱,柱色谱可分为填充柱色谱和开管柱色谱两种:固定相填充在玻璃或金属管中的称为填充柱色谱;固定相固定在管内壁的称为开管柱色谱或毛细管柱色谱。

固定相呈平面状的称为平板色谱,平板色谱可分为纸色谱和薄层色谱两种:纸色谱以纸为载体,以纸纤维吸附的水分(或吸附的其他物质)为固定相;薄层色谱以涂敷在玻璃板上的吸附剂作固定相。

#### (4) 按固定相材料分类

以离子交换剂为固定相的称为离子交换色谱;以孔径有一定范围的多孔玻璃或多孔高聚



物为固定相的称为体积排阻色谱；采用化学键合相（即通过化学反应将固定液分子键合在多孔载体如硅胶上）的称为键合相色谱。

#### (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，可分为冲洗色谱法、顶替色谱法和迎头色谱法。目前，色谱分析中主要使用冲洗法，顶替法和迎头法用的很少。

#### (6) 按使用领域分类

按使用领域对色谱仪分类可分为分析型色谱仪和制备型色谱仪。分析用色谱仪又可分为实验室用色谱仪和便携式色谱仪，分析型色谱仪主要用于各种样品的分析，其特点是色谱柱较细，分析的样品量少。制备型色谱仪又可分为实验室用制备型色谱仪和工业用大型制造纯物质的制备色谱仪，可以完成一般分离方法难以完成的纯物质制备任务，如纯化学试剂的制备和蛋白质的纯化。

## 二、色谱法的特点

色谱法在分离科学中占有很重要的地位，也是分析化学中发展最迅速的一个分支。与其他方法相比，色谱法可以同时进行分离和分析，特别是对复杂试样和多组分混合物，色谱的优势极其明显。色谱法已经成为一种极为重要的仪器分析方法，具有高效、灵敏、快捷和应用范围广的特点。

① 分离效能高 几十种甚至上百种性质相似的化合物可在同一根色谱柱上得到分离，能解决许多其他分析方法无法做到的复杂样品分析。

② 分析速度快 一般而言，色谱法可在几分钟至几十分钟的时间内完成一个复杂样品的分析。

③ 灵敏度高 随着信号处理和检测器制作技术的进步，不需要经过预浓缩就可以直接检测  $10^{-9}$  g 级的痕量物质。如采用预浓缩技术，检测下限可以达到  $10^{-12}$  g 数量级。

④ 样品用量少 一次分析通常只需几纳升至几微升的溶液样品。

⑤ 选择性好 通过选择合适的分离模式和检测方法，可以只分离或检测感兴趣的部分物质。

⑥ 多组分同时分析 在很短的时间内（20min 左右），可以实现几十种成分的同时分离与定量。

⑦ 易于自动化 色谱仪器已经可以实现从进样到数据处理的全自动化操作。

⑧ 应用范围广 色谱法的应用领域主要有石油工业环境保护、临床化学、药物与药剂、农药、食品、卫生防疫理化检验和司法检验等。

色谱法的缺点是对被分离组分的定性比较困难，这是由于检测器不能按物质的不同给出不同的特征信号。如果没有已知纯物质色谱图相对照，很难判断某一物质峰代表何种物质，发展高选择性的检测器、发展色谱与其他分析方法联用，如质谱、红外光谱等联用才能获得较可靠的结果，更能发挥色谱法高分离效能的特点从而大大提高分析水平。

## 第三节 色谱法的发展趋势

色谱法和分析化学中应用最广泛、发展最迅速的研究领域，新技术新方法层出不穷。

现代色谱法具有分离与在线分析两种功能，不仅能解决复杂物质的分离、定性和定量分析，还可以分离制备纯组分。色谱法在对复杂物质的分离及分析上具有其他技术不可替代的特点，其发展趋势如下所示。

### (1) 新固定相的研究

新固定相的研究不断扩展着色谱法的应用领域,如手性固定相使色谱法能够分离和测定手性化合物;反相固定相没有死吸附,可以简单地分离和测定血浆等生物药品。

### (2) 检测方法的研究

检测方法也是色谱学研究的热点之一,人们不断更新检测器的灵敏度,使色谱分析能够更灵敏地进行分析。除此以外,人们还将其他光谱技术引入色谱,如进行色谱-质谱联用、色谱-红外光谱联用、色谱-紫外吸收光谱联用等,在分离化合物的同时即可测定化合物的结构。色谱检测器的发展还伴随着数据处理技术的发展,检测获得的数据进行计算处理,使实验者获得更多信息。

### (3) 色谱新方法

色谱新方法也是色谱研究热点之一。高效毛细管电泳法是目前研究最多的色谱新方法,这种方法没有流动相和固定相的区分,而是依靠外加电场的驱动使带电离子在毛细管中沿电场方向移动,由于离子的带电情况、质量、形态等差异使不同离子相互分离。高效毛细管电泳法没有高效液相色谱法中存在的传质阻抗、涡流扩散等降低柱效的因素,毛细管壁的双电层的存在使纵向扩散也受到抑制,因而能够达到很高的理论塔板数,有极好的分离效果。

### (4) 色谱-光谱(或质谱)联用技术

把色谱作为分离手段,光谱(或质谱)作为鉴定工具,各用其长,互为补充。已有 GC-MS、GC-FTIR、SFC-MS、HPLC-UV、HPLC-MS、TLC-UV、CZE-MS 和 HPLC-NMR 等联用技术。由于计算机的运用,这些联用仪多数都能绘制光谱-色谱三维谱,在一张图上可以同时获得定性与定量信息。

### (5) 色谱-色谱联用技术

将两种色谱法联用称为二维或多维色谱法。两种色谱法可以互相弥补,分离一些难分离的物质对,常见的有 GLC-GSC、HPLC-GC、LC-SFC 和 HPLC-HPLC(如 LLC-IEC、LLC-SEC)等,还有非手性固定相与手性固定相联用的 HPLC。通过这种联用技术能够获得更多的定性信息,同时也可以提高定量的准确度。

### (6) 专家系统

专家系统是色谱学与信息技术结合的产物,使用色谱法进行分析要根据研究内容选择不同的流动相、固定相、预处理方法及其他条件,因此需要大量的实践经验,色谱专家系统是模拟色谱专家的思维方式为色谱使用者提供帮助的程序,专家系统的知识库中存储了大量的实验数据,可以为使用者提供关于色谱柱系统选择、样品处理方式、色谱分离条件选择、定性和定量结果解析等帮助。

# 色谱法的基本理论

### 一、色谱流出曲线

## 二、常用术语

(3) 死体积  $V_0$  (dead volume) 色谱柱被填充后未被固定相占有的空隙体积称为死体积 (色谱柱中固定相间隙、进样系统管道和检测系统的总体积)。当色谱柱载气流速为  $F_0$  ( $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 时, 它与死时间的关系为

$$V_0 = t_0 \cdot F_0 \quad (2-1)$$

(4) 保留值 色谱分析的定性参数,是在色谱分离过程中,试样各组分在色谱柱内滞留行为的一个指标。保留值是总称,具体参数的名称如下所示。

① 保留时间  $t_R$  (retention time) 组分从进样开始到柱后出现待测组分浓度最大值时(色谱峰顶点)所对应的时间,称为该组分的保留时间。如图 2-1 中所示  $t_{R(1)}$ 、 $t_{R(2)}$ ,是待测组分流经色谱柱时,在两相中滞留的时间和。

保留时间与固定相和流动相的性质、固定相的填充量、柱温、流速和柱体积有关,可用时间单位(min)表示。

② 调整保留时间  $t'_R$  (adjusted retention time) 扣除死时间后的组分保留时间,如图 2-1 所示的  $t'_{R_1}$ 、 $t'_{R_2}$ 。 $t'_R$  表示某组分因溶解或吸附于固定相比非滞留组分在柱中多停留的时间:

$$t'_R = t_R - t_0 \quad (2-2)$$

③ 保留体积  $V_R$  (retention volume) 从进样到柱后出现待测组分浓度最大值(色谱峰顶点)时,通过色谱系统载气的体积。

当色谱柱载气流速为  $F_0$  ( $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 时,它与保留时间的关系为

$$V_R = t_R \cdot F_0 \quad (2-3)$$

④ 调整保留体积  $V'_R$  (adjusted retention volume) 扣除死体积后的保留体积,即:

$$V'_R = V_R - V_0 = t'_R \cdot F_0 \quad (2-4)$$

在一定的实验条件下  $V_R$ 、 $V'_R$  与载气流速无关 ( $t_R \cdot F_0$  及  $t'_R \cdot F_0$  为一常数)。

⑤ 相对保留值  $r_{21}$  (relative retention value) 指组分 2 和组分 1 的调整保留值之比。

$$r_{21} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{V'_{R_2}}{V'_{R_1}} \quad (2-5)$$

相对保留值只与温度和固定相的性质有关,与色谱柱及其色谱操作条件无关,反映了色谱柱对待测两组分 1 和 2 的选择性,是气相色谱法中最常使用的定性参数。

(5) 峰高 ( $h$ ) 色谱峰顶与基线之间的垂直距离。

(6) 区域宽度 (peak width) 区域宽度是色谱流出曲线中很重要的参数,它的大小反映色谱柱或所选色谱条件的好坏。区域宽度有以下三种表示方法。

① 标准偏差  $\sigma$  (standard deviation) 标准偏差为正态分布曲线上拐点间距离之半。对于正常峰, $\sigma$  为 0.607 倍峰高处色谱峰宽度的一半。

② 半(高)峰宽  $W_{1/2}$  (peak width at half-height) 峰高一半处的色谱峰宽度。半峰宽与标准偏差的关系为:

$$W_{1/2} = 2\sigma \sqrt{2 \ln 2} = 2.35\sigma \quad (2-6)$$

③ 峰宽  $W_b$  通过色谱峰两侧的拐点作切线,切线与基线交点间的距离为峰宽。

峰宽与标准偏差的关系为:

$$W_b = 4\sigma = 1.699W_{1/2} \quad (2-7)$$

$\sigma$  的大小表示组分被带出色谱柱的分散程度, $\sigma$  越大,组分流出的分散度越大; $\sigma$  的大小与柱效有关, $\sigma$  小,柱效高。

组分在柱内理想的浓度分布构型可用正态分布曲线来表示:

$$c = \frac{m}{F\sigma\sqrt{2\pi}} \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{t-t_R}{\sigma} \right)^2 \right] \quad (2-8)$$

式中, $c$  为时间  $t$  时的浓度; $F$  为流动相的体积速度; $m$  为组分的质量; $t_R$  为组分保留

时间，其对应浓度为  $c_{\max}$ 。这里的  $\sigma$  是以时间为单位的，也可以以长度为单位。

该方程表示组分在柱内的浓度分布状况， $\sigma$  反映谱带展宽的程度。 $\sigma$  越小，表示谱带展宽的程度越小，即表示组分浓度相对集中，检测器给出的信号越大。更常用的是由方差  $\sigma^2$  来描述谱带展宽程度。

### 三、由色谱流出曲线可以实现以下目的

- ① 依据色谱峰的保留值进行定性分析；
- ② 依据色谱峰的面积或峰高进行定量分析；
- ③ 依据色谱峰的保留值以及峰宽评价色谱柱的分离效能。

## 第二节 色谱分析的基本原理

色谱分离是一个非常复杂的过程，它是色谱体系热力学过程和动力学过程的综合表现。热力学过程是与组分在体系中分配系数相关的过程，动力学过程是指组分在该体系两相间扩散和传质的过程。组分、流动相和固定相三者的热力学性质使不同组分在流动相和固定相中具有不同的分配系数，分配系数的大小反映了组分在固定相上的溶解-挥发或吸附-解吸的能力。分配系数大的组分在固定相上的溶解或吸附能力强，因此在柱内的移动速度慢。分配系数小的组分在固定相上的溶解或吸附能力弱，在柱内的移动速度快。经过一定时间后，由于分配系数的差别，使各组分在柱内形成差速移行，达到分离的目的。

### 一、分配过程

#### 1. 分配系数

在色谱分配过程中，考虑柱内极小一段的情况，在一定的温度、压力条件下，组分在这一小段柱内发生的溶解-挥发或吸附-解吸的过程称为分配过程。当分配达平衡时，组分在两相间的浓度之比为一常数，该常数称分配系数（或称分布系数） $K$ 。

$$K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度}}{\text{组分在流动相中的浓度}} = \frac{c_s}{c_m} \quad (2-9)$$

分配系数取决于组分和两相的热力学性质。在一定温度下，分配系数  $K$  小的组分在流动相中流速大，先流出色谱柱；分配系数  $K$  大的组分，后流出色谱柱。两组分  $K$  值的比值大（不是指每一组分的  $K$  的绝对值越大），是获得良好色谱分离的关键。柱温是影响分配系数的一个重要参数，在其他条件一定时，分配系数与柱温的关系为：

$$\ln K = \frac{\Delta_r G_m}{RT_c} \quad (2-10)$$

这是色谱分离的热力学基础。式中， $\Delta_r G_m$  是标准状态下组分的自由能； $R$  为气体常数； $T_c$  为柱温。

组分在固定相中的  $\Delta_r G_m$  通常是负值，所以分配系数与温度成反比，升高温度，分配系数变小。在气相色谱分离中，柱温是一个很重要的操作参数，温度的选择对分离影响很大，而对液相色谱分离的影响小。

#### 2. 分配比

在实际工作中，常应用另一参数——分配比（partition ratio）表征色谱分配平衡过程。分配比又称容量因子（capacity factor）或容量比（capacity ratio），以  $k'$  表示，是指一定的



温度、压力条件下,分配达平衡时,组分在两相中的质量之比,即

$$k' = \frac{\text{组分在固定相中的质量}}{\text{组分在流动相中的质量}} = \frac{m_s}{m_m} \quad (2-11)$$

$k'$  与  $K$  的关系为

$$K = \frac{c_s}{c_m} = \frac{W_s V_m}{W_m V_s} = k' \frac{V_m}{V_s} = k' \beta \quad (2-12)$$

或

$$k' = K \frac{V_s}{V_m} = \frac{K}{\beta} \quad (2-13)$$

式中,  $V_m$  为柱内的流动相体积,也称为柱的死体积(无效体积或孔隙体积),包括固定相颗粒之间和颗粒内部孔隙中的流动相体积;  $V_s$  为固定相体积,它指真正参与分配的那部分体积,若固定相是吸附剂、固定液、离子交换剂或凝胶,则分别指吸附剂表面积、固定液体积、离子交换剂交换容量或凝胶孔容。 $V_m$  与  $V_s$  之比称为相比(phase ratio),以  $\beta$  表示,它反映了各种色谱柱柱型及其结构的重要特性。例如,填充柱的  $\beta$  值约为 6~35,毛细管柱的  $\beta$  值为 50~1500。

对于有效的色谱分离,色谱柱必须具有保留溶质的能力,而且还能使不同溶质之间达到足够大的分离。色谱柱的容量因子  $k'$  是溶质离子与色谱柱填料相互作用强度的直接量度,由下式定义:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{V_R - V_0}{V_0} \quad (2-14)$$

分配比与分配系数的不同在于分配比不仅与组分及两相性质有关,而且还与两相体积有关。

## 二、塔板理论和速率理论

### 1. 塔板理论

Martin 等人于 1952 年提出的塔板理论是将一根色谱柱当作一个精馏塔,用塔板概念来描述组分在柱中的分配行为。塔板的概念是从精馏中借用而来,可以理解为极小的一段色谱柱。塔板理论是一种半经验理论,但它能成功地解释色谱流出曲线成正态分布。塔板理论把色谱柱比作一个精馏塔,这样,色谱柱可以视作由许多小段组成。连续的色谱过程视作一个小段中的两相平衡过程的重复,每小段代表一块塔板。组分进入色谱柱后,在每块塔板上进行两相间的分配。塔板数越多,组分在柱内两相间达到分配平衡的次数也越多,柱效越高,分离就越好。在气相色谱柱内,理论塔板数一般达  $10^3 \sim 10^6$ 。塔板数越多,其流出曲线越接近于正态分布曲线。根据塔板理论可计算柱子的塔板数,用以评价一根柱子的柱效。

如果其物质在色谱柱内的分配系数是 1 ( $K=1$ ),用载气将该物质带入色谱柱,使其在柱内进行分配,为了使理论简化做了下面一些假设:(1)塔板之间不连续;(2)塔板之间无纵分子扩散;(3)组分在每块塔板的两相间的分配平衡瞬间达到,达到一次分配平衡所需的最小柱长称为理论塔板高度;(4)一个组分在每块塔板上的分配系数相同;(5)流动相以不连续方式加入,即以一个一个的塔板体积加入。

在上述假设条件成立的情况下,设色谱柱由 5 节塔板 ( $n=5$ ,  $n$  为柱子的塔板数)组成,并以  $r$  表示塔板编号,  $r=0, 1, 2, 3, 4$ ; 某组分的分配比  $k=1$ 。开始时,单位质量(即  $m=1$ )的该组分进入第 0 号塔板上,然后将流动相以一个板体积 ( $\Delta V$ ) 的脉动形式进入色谱柱;此时组分将按表 2-1 所示在固定相和流动相进行分配。

从表 2-1 中看出,  $r=4$ ,  $n=5$ , 当  $n$  等于 5 时,柱尾端出口处就有一定量组分流进并

入检测器中产生信号。

表 2-1 组分在  $n=5, k=1, m=1$  柱内任一板上分配表

| 通入柱中载气的<br>塔板体积数 | 塔板号   |       |       |       |       | 柱出口   |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                  | 0     | 1     | 2     | 3     | 4     |       |
| 0                | 1     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     |
| 1                | 0.5   | 0.5   | 0     | 0     | 0     | 0     |
| 2                | 0.25  | 0.5   | 0.25  | 0     | 0     | 0     |
| 3                | 0.125 | 0.375 | 0.375 | 0.125 | 0     | 0     |
| 4                | 0.063 | 0.25  | 0.375 | 0.25  | 0.063 | 0     |
| 5                | 0.032 | 0.157 | 0.313 | 0.313 | 0.157 | 0.032 |
| 6                | 0.016 | 0.095 | 0.235 | 0.313 | 0.235 | 0.079 |
| 7                | 0.008 | 0.056 | 0.116 | 0.275 | 0.275 | 0.118 |
| 8                | 0.004 | 0.032 | 0.086 | 0.196 | 0.275 | 0.138 |
| 9                | 0.002 | 0.018 | 0.059 | 0.141 | 0.246 | 0.138 |
| 10               | 0.001 | 0.010 | 0.038 | 0.100 | 0.189 | 0.118 |
| 11               | 0     | 0.005 | 0.024 | 0.069 | 0.145 | 0.095 |
| 12               | 0     | 0.002 | 0.016 | 0.046 | 0.107 | 0.073 |
| 13               | 0     | 0.001 | 0.008 | 0.030 | 0.076 | 0.054 |
| 14               | 0     | 0     | 0.004 | 0.019 | 0.053 | 0.038 |
| 15               | 0     | 0     | 0.002 | 0.012 | 0.036 | 0.026 |
| 16               | 0     | 0     | 0.001 | 0.007 | 0.024 | 0.018 |

从图 2-2 中可以看出，组分从  $n=5$  的柱子中被载气冲洗出来的最大浓度是塔板数  $n=7\sim 9$  时，曲线似峰形，但不对称，这是因为柱子的总板数太少，当  $n>50$  以后，就可以获得较理想对称峰形。在气相色谱分析中  $n$  值一般来说很大，其数值在  $10^3\sim 10^6$  范围内，峰的对称性更好，可以用高斯分布加以处理，同时符合概率理论。

当然，色谱柱中并无真正的塔板，故塔板数又称理论塔板数。理论塔板数可按式(2-15)、式(2-16)计算：

或

$$n=5.54\left(\frac{t_R}{W_{1/2}}\right)^2=5.54\left(\frac{V_R}{W_{1/2}}\right)^2$$

(2-15)

$$n=16\left(\frac{t_R}{W_b}\right)^2=16\left(\frac{V_R}{W_b}\right)^2$$

(2-16)

从式(2-16)可以看出，理论塔板数取决于组分保留值和色谱峰宽度。

假设色谱柱长为  $L$ ，则每块理论塔板的高度可按下式计算：

$$H=\frac{L}{n}$$

(2-17)

显然，理论塔板高度相当于单位理论塔板所占的柱长度，与柱长无关，因此在比较柱效时采用理论塔板高度更可取。理论塔板数越多，理论塔板高度越小，色谱峰越窄，表明柱效越高，注意塔板数计算时量纲应一致。保留时间乘以记录器纸速即为保留距离；保留时间乘以流动相速度即为保留体积。