



高职高专“十一五”规划教材

CHEMICAL INDUSTRY PRESS

仪器分析 ——色谱分析技术

王炳强 主编 王英健 副主编
吕宪禹 主审



化学工业出版社

高职高专“十一五”规划教材

仪器分析

——色谱分析技术

王炳强 主 编

王英健 副主编

吕宪禹 主 审



275177

广西工学院鹿山学院图书馆



d275177



化学工业出版社

· 北京 ·

本书是高职高专“十一五”化工技术类工业分析与检验专业规划教材。本书的编写主要是适应高职教育对教材需求，删繁就简，力求有一个通用的、简明的教材适合大部分高职院校选用。

《仪器分析》教材为方便教学，分为两个单独体系，即《光谱和电化学分析技术》和《色谱分析技术》，各院校可根据实际情况进行选用。

《色谱分析技术》内容分为：色谱分析法导论、气相色谱法、高效液相色谱法、质谱分析法四章。各章后都有实训项目，实训着重点放在基本操作技能要求，拓展知识可参阅其他专著和教材。

本书可作为高职高专化工技术类专业或其他相近专业“仪器分析”或“仪器分析检测技术”课程的教材；也可作为化学检验、药物分析检验的高级及中级分析人员培训用书；还可作为从事分析检验的高级及中级分析技术人员参考用书。

主 编 王炳强
副主编 王英
审 主 高家昌

图书在版编目 (CIP) 数据

仪器分析——色谱分析技术/王炳强主编. —北京：
化学工业出版社，2010.12
高职高专“十一五”规划教材
ISBN 978-7-122-09873-3

I. 仪… II. 王… III. ①仪器分析-高等学校：
技术学院-教材②色谱法-化学分析-高等学校：技术学
院-教材 IV. O657

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 216837 号

责任编辑：陈有华
责任校对：郑捷

文字编辑：颜克俭
装帧设计：于兵

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：三河市延风印装厂
787mm×1092mm 1/16 印张7½ 字数174千字 2011年1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：16.00 元

版权所有 违者必究

前 言

“仪器分析”是化学技术类专业（包括：化学、应用化学、工业分析与检验、高分子材料与工程、材料化学）教学计划中的一门专业课程。通过本课程的学习，应使学生基本掌握仪器分析的各类方法，其内容涵盖光、电、色、质及某些新技术的应用。要求学生对这些方法的基本原理、仪器设备及其基本结构、方法特点及应用能较深入地理解和掌握，初步具备根据分析对象选择合适的分析方法及理解相应问题的能力；并学习数据处理的各种方法，具有初步的处理数据的能力。

本教材是根据 8 所高职院校共同制定并通过的仪器分析教学基本要求而编写的，以解决目前高职教材内容偏难、偏多而不利于教学的问题；旨在体现高职院校仪器分析教材“够用为度”、“理论适当，重在技能训练”。

本书在编写过程中力求突出以下特色。

1. 努力使本教材适应我国高职高专院校培养目标的要求。因此，在教学内容安排上既重视仪器分析基本理论、基本知识方面的讲授，又重视对学生基本操作技能的培养训练。使学生既具有较为系统的仪器分析理论知识，又具有较强的职业实践操作能力，使学生在走上相关工作岗位之后，能够尽快适应岗位的要求，满足社会对高级技术应用型人才的需求。

2. 突出教材内容的先进性和实用性。根据目前仪器分析岗位对高职学生的基本要求而编写的，并适当反映国内外最新的仪器分析技术，以满足学生在后续的课程中能够对所从事的工作前沿有一个初步了解，开阔学生的眼界。

3. 本教材便于学生自学以及学有余力的学生在仪器分析课程上的进一步提高。每章之后都有小结，便于学生自己总结。同时每章都附有一定数量的思考题与习题，可供学生练习使用。

4. 注重教材体系和结构安排尽量符合教学规律，以利于教师组织教学。

《仪器分析》教材为方便教学，分为两个单独体系，即《光谱与电化学分析技术》和《色谱分析技术》，各院校可根据自身的实际情况选用教材。

本书内容包括：色谱分析法导论、气相色谱法、高效液相色谱法、质谱分析法四章。每章后都有实训项目，实训着重点放在基本操作技能要求，拓展知识可参阅其他专著和教材。

本书由天津渤海职业技术学院王炳强任主编，辽宁石化职业技术学院王英健任副主编。王英健编写第一、三章；河北化工医药职业技术学院高洪潮编写第二章；王炳强编写第四

章，并对全书进行了统稿。

南开大学生命科学学院博士生导师吕宪禹教授审阅全书并提出了很多宝贵意见，天津科技大学分析中心杨志岩教授、天津医科大学公共卫生学院任大林教授、天津理化分析中心王皎瑜教授、天津大学分析测试中心孙景教授等专家对本书编写也提出了很多修改建议，编者在此表示诚挚的感谢。

教材在编写过程中参考了有关专著、教材、论文等资料，在此向有关专家、作者致以衷心的感谢。

由于时间和水平所限，书中不当之处在所难免，欢迎广大读者提出宝贵意见。

编者

2010年10月

目 录

第一章 色谱分析法导论	1
第一节 色谱法及其分类	1
一、色谱法	1
二、分类	2
第二节 色谱流出曲线和术语	4
一、色谱流出曲线	4
二、术语	4
第三节 色谱分析基本原理	6
一、塔板理论	7
二、速率理论	8
三、分离度	10
四、基本色谱分离方程	11
五、基本色谱分离方程的应用	11
第四节 定性和定量分析	12
一、定性分析	12
二、定量分析	13
本章小结	16
思考与练习	17
实训 1-1 填充色谱柱的制备	18
第二章 气相色谱法	21
第一节 气相色谱仪	21
一、气相色谱仪的工作过程	21
二、气相色谱仪	21
第二节 气相色谱的固定相	31
一、固体固定相	31
二、液体固定相	32
三、合成固定相	36
第三节 气相色谱检测器	36
一、热导池检测器	36
二、氢火焰离子化检测器	39
三、电子捕获检测器	41

四、火焰光度检测器	43
五、检测器性能指标	44
第四节 分离操作条件的选择	46
一、载气及其线速的选择	46
二、柱温的选择	47
三、进样量和进样时间	47
第五节 气相色谱法应用	48
一、气相色谱在石油化工中的应用	48
二、气相色谱在食品分析中的应用	48
三、气相色谱在环境分析中的应用	50
四、气相色谱在药物分析中的应用	50
五、气相色谱在农药分析中的应用	50
本章小结	50
思考与练习	51
实训 2-1 乙醇中少量水分的测定——外标法定量	52
实训 2-2 二甲苯混合物分析——归一化定量法	53
实训 2-3 程序升温毛细管色谱法分析白酒中微量成分的含量	55
第三章 高效液相色谱法	58
第一节 高效液相色谱仪	58
一、高压输液系统	58
二、进样系统	59
三、分离系统	59
四、检测系统	60
第二节 液相色谱中的固定相和流动相	62
一、固定相	62
二、流动相	66
三、液相色谱操作的注意事项	69
第三节 液相色谱法的主要类型	70
一、液液分配色谱	70
二、液固吸附色谱	71
三、键合相色谱	72
四、离子交换色谱	73
五、离子对色谱	73
六、离子色谱	74
七、空间排阻色谱	76
八、高效液相色谱分离类型的选择	76
本章小结	77
思考与练习	78
实训 3-1 可口可乐、咖啡中咖啡因的高效液相色谱分析	79
实训 3-2 果汁(苹果汁)中有机酸的分析	80
第四章 质谱分析法	83

第一节 质谱法原理	83
一、质谱法原理	83
二、质谱分析工作过程	84
三、质谱法的主要作用	84
第二节 质谱仪	84
一、真空系统	84
二、进样系统	84
三、离子源	85
四、质量分析器	88
五、检测器	90
六、检测器的性能指标	91
第三节 质谱分析的应用	91
一、相对分子质量的测定	91
二、化学式的确定	93
三、结构式的确定	93
四、质谱定量分析	94
第四节 常见的有机物质谱图	95
一、饱和烃的质谱图	95
二、不饱和烃的质谱图	96
三、芳烃的质谱图	96
四、醇和酚的质谱图	97
五、醚的质谱图	100
六、醛、酮的质谱图	100
七、其他有机物质的质谱图	101
第五节 串联质谱和色谱联用技术	101
一、串联质谱	101
二、色谱联用技术	102
第六节 数据处理和应用	102
一、数据处理	102
二、应用	103
本章小结	104
思考与练习	105
参考文献	109

第一章 色谱分析法导论

色谱分析法具有高效、快速分离等特性，是现代分离、分析的一个重要方法，特别是由于气相色谱法和高效液相色谱法的发展与完善，以及离子色谱、超临界流体色谱等新方法的不断涌现，各种与色谱有关的联用技术如色谱-质谱联用、色谱-红外光谱联用的使用，使色谱分析法成为生产和科研中解决各种复杂混合物分离、分析任务的重要工具之一。

第一节 色谱法及其分类

一、色谱法

1. 色谱分析法

色谱分析法是由俄国植物学家茨维特 (Tswett) 首先认识到色谱分析在分离分析方面的重要价值的，并由他最先建立了色谱分析法。他使用竖直装填有细颗粒碳酸钙的玻璃管作为分离柱，上部用石油醚不断淋洗，分离了植物提取液中的叶绿素。由于分离时，在柱中出现了不同的色层即不同颜色的谱带，故有“色谱法”之名。后来色谱分析法不断发展，不仅可用于分离有色物质，而且大量用于分离无色物质，但仍沿用了色谱分析法这一名词。随着色谱理论的建立，色谱分析法进入快速发展期，先后建立了气相色谱、液相色谱、离子色谱及超临界流体色谱等一系列现代色谱分析法。20世纪80年代末，又出现了具有更高分离效能的毛细管电泳，构成了现代仪器分析的重要组成部分。

色谱分离过程一般是当试样由流动相携带进入分离柱并与固定相接触时，被固定相溶解或吸附。随着流动相的不断通入，被溶解或吸附的组分又从固定相中挥发或脱附，向前移时又再次被固定相溶解或吸附，随着流动相的流动，溶解、挥发或吸附、脱附的过程反复地进行，由于试样中各组分在两相中分配比例的不同，被固定相溶解或吸附的组分越多，向前移动得越慢，从而实现了色谱分离。色谱分离过程如图 1-1 所示，将分离柱中的连续过程分割成多个单元过程，每个单元上进行一次两相分配。流动相每移动一次，组分即在两相间重新快速分配并平衡，最后流出时，各组分形成浓度正态分布的色谱峰。不参加分配的组分最先流出。

两相的相对运动及单次分离的反复进行构成了各种色谱分析过程的基础。

2. 色谱分析法的特点

在色谱分析法中，将装填在玻璃或金属管内固定不动的物质称为固定相，在管内自上而下连续流动的液体或气体称为流动相，装填有固定相的玻璃管或金属管称为色谱柱。各种色谱分析法所使用的仪器种类较多，相互间差别较大，但均由以下几部分组成，如图 1-2 所示。

与其他类型的分析方法相比，色谱分析法具有以下显著特点。

- ① 分离效率高。可分离分析复杂混合物如有机同系物、异构体、手性异构体等。
- ② 灵敏度高。可以检测出 $\mu\text{g/g}$ (10^{-6}) 级甚至 ng/g (10^{-9}) 级的物质质量。

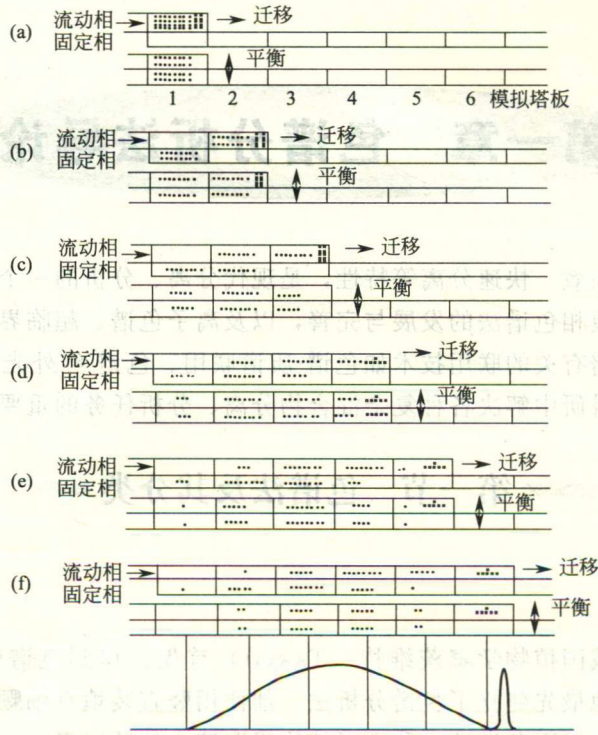


图 1-1 色谱分离过程

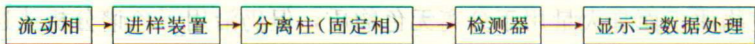


图 1-2 色谱分析法一般流程

③ 分析速度快。一般在几分钟或几十分钟内可以完成对一个试样的分析。

④ 应用范围广。气相色谱适用于沸点低于 400°C 的各种有机化合物或无机气体的分离分析。液相色谱适用于高沸点、热不稳定及生物试样的分离分析。离子色谱适用于无机离子及有机酸碱的分离分析。两者具有很好的互补性。

色谱分析法的不足之处是对被分离组分的定性较为困难。随着色谱与其他分析仪器联用技术的发展，这一问题已经得到较好解决。

色谱法在石油、化工、环境科学、医药卫生、有机合成等领域具有广泛的应用。

二、分类

1. 按两相物理状态分类

(1) 根据流动相状态

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；若流动相是超临界流体（流动相处于其临界温度和临界压力以上，具有气体和液体的双重性质），则称为超临界流体色谱分析法。至今研究较多的是 CO_2 超临界流体色谱。

(2) 根据固定相状态

固定相是活性固体（吸附剂）还是挥发液体或在操作温度下呈液体（此液体称为固定液，它预先固定在一种载体上），气相色谱分析法又可分为气固色谱分析法和气液色谱分析法；同理，液相色谱法可分为液固色谱分析法和液液色谱分析法，见表 1-1。

表 1-1 按两相物理状态分类

流动相	总 称	固定相	色谱名称
气体	气相色谱(GC)	固体	气-固色谱(GSC)
		液体	气-液色谱(GLC)
液体	液相色谱(LC)	固体	液-固色谱(LSC)
		液体	液-液色谱(LLC)

2. 按固定相的存在形式分类

按固定相不同的存在形式, 色谱分析法可以分为柱色谱、纸色谱和薄层色谱, 见表 1-2。

表 1-2 按固定相的存在形式分类

固定相类型	固定相性质	操作方式	色谱名称
柱	填充柱 在玻璃或不锈钢柱管内填充固体吸附剂或涂渍在载体上的固定液	液体或气体流动相从柱头向柱尾连续不断地冲洗	柱色谱
	开口管柱 在弹性石英玻璃或玻璃毛细管内壁附有吸附剂薄层或涂渍固定液		
纸	具有强渗透能力的滤纸或纤维素薄膜	液体流动相从滤纸一端向另一端扩散	纸色谱
薄层板	在玻璃板上涂有硅胶 G 薄层	液体流动相从薄层一端向另一端扩散	薄层色谱

(1) 柱色谱

一类是将固定相装入玻璃或金属管内, 称为填充柱色谱; 另一类是将固定液直接涂渍在毛细管内壁或采用交联引发剂, 在高温处理下将固定液交联到毛细管内壁, 称为毛细管色谱。

(2) 纸色谱(PC)

纸色谱以多孔滤纸为载体, 以吸附在滤纸上的水为固定相。各组分在纸上经展开而分离。

(3) 薄层色谱(TLC)

薄层色谱以涂渍在玻璃板或塑料板上的吸附剂薄层为固定相, 然后按照与纸色谱类似的方法操作。

3. 按分离过程物理化学原理分类

色谱分析法中, 固定相的性质对分离起着决定性的作用。按分离过程物理化学原理分类, 见表 1-3。

表 1-3 按分离过程物理化学原理、固定相的材料分类

色谱类型	原 理	平衡常数	流动相为液体	流动相为气体
吸附色谱	利用吸附剂对不同组分吸附性能的差别	吸附系数 K_A	液固吸附色谱	气固吸附色谱
分配色谱	利用固定液对不同组分分配性能的差别	分配系数 K_D	液-液分配色谱	气-液分配色谱
离子交换色谱	利用离子交换剂对不同离子亲和能力的差别	选择性系数 K_s	液相离子交换色谱	

(1) 吸附色谱

用固体吸附剂作固定相, 根据吸附剂表面对不同组分的物理吸附性能的差异进行分离。如气固吸附色谱、液固吸附色谱均属于此类。

(2) 分配色谱

用液体作固定相, 利用不同组分在固定相和流动相之间分配系数的差异进行分离。气相

色谱法中的气-液色谱和液相色谱法中的液-液色谱均属于分配色谱。

4. 按固定相的材料分类

根据固定相的材料不同可分为离子交换色谱、空间排阻色谱和键合相色谱，见表 1-3。

① 离子交换色谱是以离子交换剂为固定相的色谱法。

② 空间排阻色谱是以孔径有一定范围的多孔玻璃或多孔高聚物为固定相的色谱法。

③ 键合相色谱是采用化学键合相（即通过化学反应将固定液分子键合于多孔载体，如硅胶上）的色谱法。

第二节 色谱流出曲线和术语

一、色谱流出曲线

试样经色谱分离后的各组分的浓度经检测器转换成电信号记录下来，得到一条信号随时间变化的微分曲线，称为色谱流出曲线（色谱图），也称为色谱峰，理想的色谱流出曲线应该是正态分布曲线。色谱流出曲线如图 1-3 所示，色谱图上各个色谱峰，相当于试样中的各种组分，根据各个色谱峰，可以对试样中的各组分进行定性分析和定量分析。

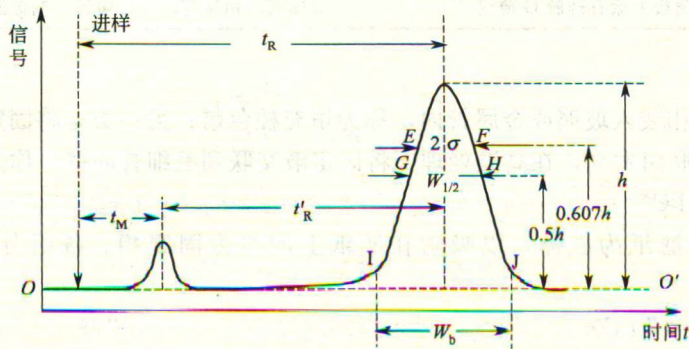


图 1-3 色谱流出曲线（色谱图）

二、术语

对色谱流出曲线如图 1-3 所示，通常用以下术语和关系式来表征。

1. 基线

在实验条件下，无试样组分通过检测器时，检测器记录到的信号称为基线 OO' 。基线在稳定的条件下应是一条水平的直线，它的平直与否可反映出实验条件的稳定情况。基线噪声是指由各种因素所引起的基线起伏，基线漂移是指基线随时间定向的缓慢变化。

2. 色谱峰

当某组分从色谱柱流出时，检测器对该组分的响应信号随时间变化所形成的峰形曲线称为该组分的色谱峰。色谱峰一般呈高斯正态分布。实际上一般情况下的色谱峰都是非对称的色谱峰，即非高斯峰，如前伸峰、拖尾峰、平顶峰、馒头峰等。

3. 峰高

峰高 (h) 是指峰顶到基线的距离。

4. 峰面积

峰面积 (A) 是指每个组分的流出曲线与基线间所包围的面积。峰高或峰面积的大小与

每个组分在样品中的含量相关，因此色谱图中，峰高和峰面积是 GC 进行定量分析的主要依据。

5. 峰宽

峰宽 (W_b) 是指色谱峰两侧拐点所作的切线与基线两交点之间的距离 IJ 。

6. 半峰宽

半峰宽 ($W_{1/2}$) 是指在峰高 $1/2h$ 处的峰宽 GH 。

7. 保留值

保留值表示试样中各组分在色谱柱中的滞留时间的数值。它反映组分与固定相之间作用力的大小，通常用保留时间（停留时间）或用将组分带出色谱柱所需载气的体积（保留体积）表示。在一定的固定相和操作条件下，任何一种物质都有一个确定的保留值，这样就可用作定性参数。

(1) 死时间 (t_M)

死时间是指不被固定相吸附或溶解的气体（如空气、甲烷）从进样开始到柱后出现浓度最大值时所需的时间，死时间正比于色谱柱的空隙体积。

(2) 保留时间 (t_R)

保留时间是指被测组分从进样开始到柱后出现浓度最大值时所需的时间。保留时间是色谱峰位置的标志。

(3) 调整保留时间 (t'_R)

调整保留时间是指扣除死时间后的保留时间，即

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

t'_R 更确切地表达了被分析组分的保留特性，是气相色谱定性分析的基本参数。

(4) 死体积 (V_M)

死体积是指色谱柱在填充后固定相颗粒间所留的空间、色谱仪中管路和接头间的空间以及检测器的空间的总和。若操作条件下色谱柱内载气的平均流速为 F_c (mL/min)，则

$$V_M = t_M F_c \quad (1-2)$$

(5) 保留体积 (V_R)

保留体积是指从进样开始到柱后被测组分出现浓度最大值时所通过的载气体积，即

$$V_R = t_R F_c \quad (1-3)$$

(6) 调整保留体积 (V'_R)

调整保留体积指扣除死体积后的保留体积，即

$$V'_R = t'_R F_c = (t_R - t_M) F_c = V_R - V_M \quad (1-4)$$

V'_R 与载气流速无关。死体积反映了色谱柱和仪器系统的几何特性，它与被测物的性质无关，故保留体积值中扣除死体积后将更合理地反映被测组分的保留特性。

(7) 相对保留值 (r_{is})

相对保留值指一定实验条件下某组分 i 的调整保留值与另一组分 s 的调整保留值之比：

$$r_{is} = \frac{t'_{R_i}}{t'_{R_s}} = \frac{V'_{R_i}}{V'_{R_s}} \quad (1-5)$$

r_{is} 仅仅与柱温和固定相性质有关，而与载气流量及其他实验条件无关，因此是色谱定性分析的重要参数之一。

(8) 选择性因子 (α)

选择性因子指相邻两组分的调整保留值之比。

$$\alpha_{is} = \frac{t'_{R_1}}{t'_{R_2}} = \frac{V'_{R_1}}{V'_{R_2}} \quad (1-6)$$

α 表示色谱柱的选择性，即固定相（色谱柱）的选择性。 α 值越大，相邻两组分的 t'_R 相差越大，两组分的色谱峰相距越远，分离得越好，说明色谱柱的分离选择性越高。当 $\alpha=1$ 或接近 1 时，两组分的色谱峰重叠，不能被分离。

(9) 相比率 (β)

相比率指色谱柱的气相与吸附剂或固定液体积之比。它能反映各种类型色谱柱的不同特点。

对于气-固色谱：

$$\beta = \frac{V_G}{V_S} \quad (1-7)$$

对于气-液色谱：

$$\beta = \frac{V_G}{V_L} \quad (1-8)$$

式中， V_G 为色谱柱内气相空间，mL； V_S 为色谱柱内吸附剂所占体积，mL； V_L 为色谱柱内固定液所占体积，mL。

(10) 分配系数 (K)

分配系数是指在一定温度和压力下，组分在固定相和流动相之间分配达平衡时的浓度之比，即

$$K = \frac{\text{每毫升固定液中所溶解的组分量}}{\text{柱温及柱平均压力下每毫升载气所含组分量}} = \frac{C_L}{C_G} \quad (1-9)$$

式中， C_L 、 C_G 分别表示组分在固定液、载气（气相）中的浓度。分配系数 K 是由组分和固定相的热力学性质决定的，它是每一个溶质的特征值，它仅与固定相和温度两个变量有关，与两相体积、柱管的特性以及所使用的仪器无关。

(11) 分配比 k (容量因子)

在一定温度和压力下，组分在两相间的分配达平衡时，分配在固定相和流动相中的质量比，称为分配比。它反映了组分在柱中的迁移速率。

$$k = \frac{\text{组分在固定相中的质量}}{\text{组分在流动相中的质量}} = \frac{m_L}{m_G} \quad (1-10)$$

分配比 k 值可直接从色谱图中测得：

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M} \quad (1-11)$$

式(1-11)表明测容量因子 k 较容易得到（因为只要测 t_R 、 t_M 就行），所以 GC 中常用容量因子 k 而不用分配系数 K 。当 $k=0$ 时，则 $t_R = t'_M$ ，组分无保留行为； $k=1$ 时，则 $t_R = 2t_M$ ； k 趋近于 ∞ ， t_R 很大，此时组分峰出不来。 $k=1 \sim 5$ 最好，如何控制 k ，主要选择合适的固定液，改变流动相（对液相色谱），改变样品本身的性质。

第三节 色谱分析基本原理

色谱分析研究的是混合物的分离、分析问题，色谱理论一方面需要解决的问题是如何评

价色谱的分离效果，以建立分离柱效的评价指标体系及柱效与色谱参数间的关系等；另一方面则是讨论影响分离及柱效的因素，在理论的指导下寻找提高柱效的途径。色谱分离过程涉及热力学和动力学两个方面，组分保留时间受色谱分离过程中的热力学因素控制（温度及流动相和固定相的结构与性质），色谱峰变宽则受色谱分离过程中的动力学因素控制（组分在两相中的运动情况）。色谱分析的基本理论有塔板理论和速率理论，塔板理论是一种半经验理论，从热力学的观点解释了色谱流出曲线，给出了分离柱效的评价指标。速率理论从动力学的角度出发，讨论了影响分离的因素及提高柱效的途径。

一、塔板理论

塔板理论 (plate theory) 是 1941 年由马丁 (Martin) 和詹姆斯 (James) 提出的，将色谱分离过程比拟成蒸馏过程，将色谱分离柱中连续的色谱分离过程分割成组分在流动相和固定相之间的多次分配平衡过程的重复，类似于蒸馏塔中每块塔板上的平衡过程，并引入了理论塔板高度和理论塔板数的概念。关于塔板理论的假设如下。

① 在每一块塔板的高度 H 内，组分在气液两相内迅速达到分配平衡。每一小段的高度 (H) 叫做理论塔板高度，简称为板高。整个色谱柱是由一系列顺序排列的塔板所组成的。

② 将载气看作做脉冲式进入色谱柱。

③ 试样沿色谱柱方向的扩散可忽略。

④ 假定组分在所有的塔板上都是线性等温分配，即组分的分配系数 (K) 在各塔板上均为常数，且不随组分在某一塔板上的浓度变化而变化。

单一组分进入色谱柱，在流动相和固定相之间经过多次分配平衡，流出色谱柱时，便可得到一个趋于正态分布的色谱峰，色谱峰上组分的最大浓度处所对应的流出时间或载气板体积即为该组分的保留时间或保留体积。若试样为多组分混合物，则经过多次的平衡后，如果各组分的分配系数有差异，则在柱出口处出现最大浓度时所需的载气板体积数也将不同。由于色谱柱的塔板数相当多，因此不同的组分的分配系数只要有微小的差异，仍然可以得到很好的分离效果。

对于一个色谱柱来说，其分离能力（叫柱效能）的大小主要与塔板的数目有关，塔板数越多，柱效能越高。色谱柱的塔板数可以用理论塔板数 n 和有效塔板数 $n_{\text{有效}}$ 来表示。

色谱柱长为 L ，理论塔板高度为 H ，则

$$H = \frac{L}{n} \quad (1-12)$$

显然，当色谱柱长 L 为固定时，每次分配平衡需要的理论塔板高度 H 越小，则柱内理论塔板数 n 就越多，组分在该柱内被分配于两相的次数就越多，柱效能就越高。

计算理论塔板数 n 的经验式为：

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 \quad (1-13)$$

式中， n 为理论塔板数； t_R 为组分的保留时间； $W_{1/2}$ 为以时间为单位的半峰宽； W_b 为以时间为单位的峰底宽。

在实际应用中，常常出现计算出的 n 值很大，但色谱柱的实际分离效能并不高的现象。这是由于保留时间 t_R 包括了死时间 t_M ，而 t_M 不参加柱内的分配，即理论塔板数还未能真实地反映色谱柱的实际分离效能。为此，提出了以 t'_R 代替 t_R 计算所得到的有效理论塔

板数。

$n_{\text{有效}}$ 来衡量色谱柱的柱效能。计算公式为：

$$n_{\text{有效}} = \frac{L}{H_{\text{有效}}} = 5.54 \left(\frac{t'_R}{W_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t'_R}{W_b} \right)^2 \quad (1-14)$$

式中， $n_{\text{有效}}$ 为有效理论塔板数； $H_{\text{有效}}$ 为有效理论塔板高度； t'_R 为组分调整保留时间； $W_{1/2}$ 为以时间为单位的半峰宽； W_b 为以时间为单位的峰底宽。

塔板理论给出了衡量色谱柱分离效能的指标，但柱效并不能表示被分离组分的实际分离效果，如果两组分的分配系数 K 相同，虽可计算出柱子的塔板数，但无论该色谱柱的塔板数多大，都无法实现分离。该理论无法解释同一色谱柱在不同的载气流速下柱效不同的实验结果，也无法指出影响柱效的因素及提高柱效的途径。由于流动相的快速流动及传质阻力的存在，分离柱中两相间的分配平衡不能快速建立，所以塔板理论只是近似地描述了发生在色谱柱中的实际过程。

二、速率理论

速率理论也称为动力学理论，其核心是速率方程，也称为范·弟姆特 (Van Deemter) 方程。色谱分离过程中峰变宽的原因之一是由于有限传质速率而引起的动力学效应影响所致，故理论塔板高度与流动相的流速间有着必然的联系，如图 1-4 所示。

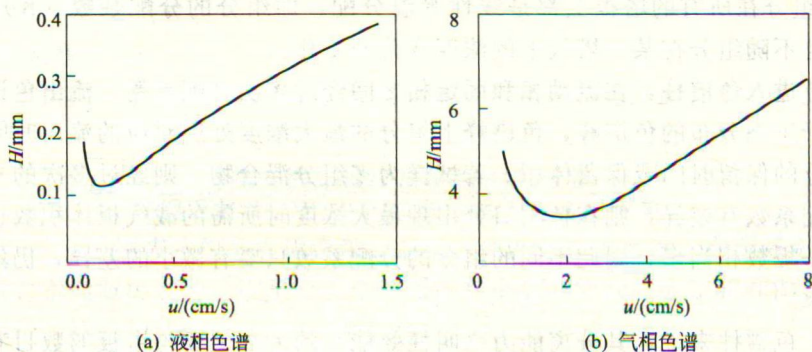


图 1-4 理论塔板高度 H 与流动相流速 u 的关系

由图 1-4 可见，理论塔板高度是流速的函数，通过数学模型来描述两者间的关系可得到速率方程：

$$H = A + B/u + Cu \quad (1-15)$$

式中， A 、 B 、 C 为常数，分别对应于涡流扩散、分子扩散和传质阻力三项； H 为理论塔板高度； u 为载气的线速度，cm/s。

减小 A 、 B 、 C 可提高柱效，所以这三项各与哪些因素有关是解决如何提高柱效问题的关键所在。

1. 涡流扩散项 A

流动相携带试样组分分子在分离柱中向前运动时，组分分子碰到填充剂颗粒将改变方向形成紊乱的涡流，使组分分子各自通过的路径不同，从而引起色谱峰变宽，如图 1-5 所示。

A 可表示为：

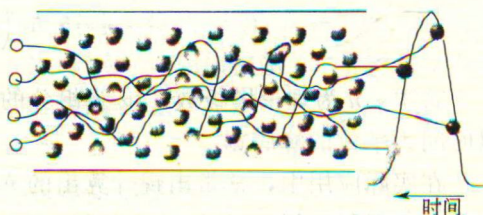


图 1-5 涡流扩散

$$A = 2\lambda d_p \quad (1-16)$$

式中, λ 为固定相的填充不均匀因子; d_p 为固定相的平均颗粒直径。

涡流扩散项的大小与固定相的平均颗粒直径和填充是否均匀有关, 而与流动相的流速无关。固定相颗粒越小, 填充得越均匀, A 项的值越小, 柱效越高, 表现在由涡流扩散所引起的色谱峰变宽现象减轻, 色谱峰较窄。

2. 分子扩散项 B/u

当试样组分以很窄的“塞子”形式进入色谱柱后, 由于在“塞子”前后存在着浓度差, 当其随着流动相向前流动时, 试样中组分分子将沿着柱子产生纵向扩散, 导致色谱峰变宽。分子扩散与组分所通过路径的弯曲程度和扩散系数有关:

$$B = 2\gamma D_g \quad (1-17)$$

式中, γ 为弯曲因子, 毛细柱(空心柱) $\gamma=1$, 填充柱 $\gamma=0.6\sim 0.8$; D_g 为气相扩散系数, cm^2/s , 分子扩散项与组分在载气中的扩散系数 D_g 成正比。

分子扩散项还与流动相的流速有关, 流速越小, 组分在柱中滞留的时间越长, 扩散越严重。组分分子在气相中的扩散系数要比在液相中的大, 故气相色谱中的分子扩散要比液相色谱中的严重得多。在气相色谱中, 采用摩尔质量较大的载气, 可使 D_g 值减小。

3. 传质阻力项 C_u

传质阻力包括流动相传质阻力相 C_M 和固定相传质阻力 C_S , 即

$$C = C_M + C_S$$

$$C_M = \frac{0.01k^2 d_p^2}{(1+k)^2 D_M}$$

$$C_S = \frac{2kd_f^2}{3(1+k)^2 D_S}$$

式中, k 为容量因子; D_M , D_S 为流动相和固定相中的扩散系数; d_p 为固定相颗粒半径; d_f 为液膜厚度。

由以上各关系式可见, 减小固定相粒度, 选择相对分子质量小的气体做载气, 减小液膜厚度, 可降低传质阻力。

速率方程中 B 、 C 两项对理论塔板高度的贡献随流动相流速的改变而不同, 在毛细管色谱中, 分离柱为中空毛细管, 则 $A=0$ 。流动相流速较高时, 传质阻力项是影响柱效的主要因素。流速增加, 传质不能快速达到平衡, 柱效下降。载气流速低时试样由高浓度区向两侧纵向扩散加剧, 分子扩散项成为影响柱效的主要因素, 流速增加, 柱效增加。

由于流速对 B 、 C 两项的作用完全相反, 流速对柱效的总影响使得存在一个最佳流速值, 即速率方程中理论塔板高度对流速的一阶导数有一极小值。以理论塔板高度 H 对应流动相流速 u 作图 1-6, 曲线最低点的流速即为最佳流速。

速率理论的要点归纳为组分分子在柱内运行的多路径、涡流扩散、浓度梯度造成的分子扩散及传质阻力使气液两相间的分配平衡不能瞬间达到等因素, 是造成色谱峰变宽及柱效下降的主要原因; 通过选择适当的固定相粒度、载气种类、液膜厚度及载气流速可提高柱效; 速率理论为色谱分离和操作条件选择提供了理论指导,

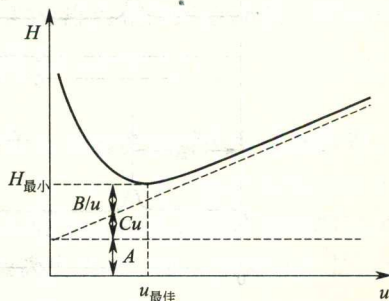


图 1-6 最佳流速