

現

相
色
譜

代

朱彭齡
云自序

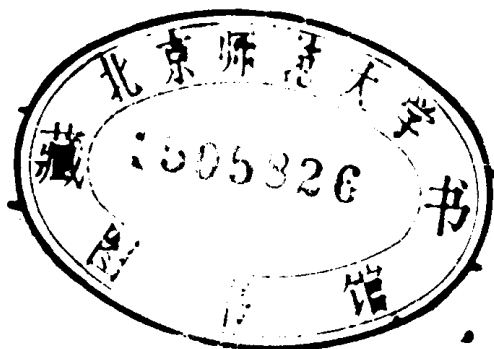
版社

JU11/160/10

高等学校教材

现代液相色谱

朱彭龄 云自厚 谢光华 编著



兰州大学出版社

1989·兰州

内 容 简 介

六十年代末期以来，液相色谱的理论和实践有了很大的发展。现在，凡涉及到化学物质的分离、鉴别的地方大都要使用液相色谱。高效液相色谱仪已经在化学、生化、药物、环保及工业分析中普遍使用。本书正是为适应这种发展而编写的，共包括五个部分：基础理论、仪器、各种色谱方法、液相色谱技术及应用。力图既适应教学需要又反映近代液相色谱的发展。本书可作为高等学校化学、化工、生化、药学等专业研究生和大学学生的教材，也可供有关工厂、科研、学校等单位从事液相色谱工作的同志阅读。

高等学校教材

现代液相色谱

朱彭龄 云自厚 谢光华 编著

兰州大学出版社出版

(兰州大学校内)

中科院近物所科技印刷厂印刷 甘肃省新华书店发行

开本：787×1092 毫米 1/16 印张：22.25

1989年1月第1版 1989年1月第1次印刷

字数：508千字 印数：1—3,900册

ISBN7-311-00124-2/O·22 定价：4.41

前 言

近年来随着现代液相色谱的发展,在我国,这种分离技术已不局限在科研机构 and 高等学校,而逐渐为工厂、医院、环保等部门所采用。高效液相色谱仪已成为实验室中比较常见的仪器。在高等学校仪器分析课程中增加了现代液相色谱的内容。为推广这种技术有关单位曾多次举办了高效液相色谱训练班和国内外知名专家的讲习班。在第四届全国色谱会议(上海、1983)上共提交94篇液相色谱论文,而在第五届(1985、成都)和第六届(上海、1987)会议上有关的研究报告分别增加到129篇和131篇。这些事实从不同的侧面反映出现代液相色谱在我国的发展。

作者在从事教学和科研的过程中,深感需要一部综合介绍现代液相色谱技术的参考书,以满足大学生、研究生、科技人员在学习和工作上的需要。为此,我们编写了“现代液相色谱”一书,其内容包括有:基础理论、各种液相色谱类型,仪器和实验技术、以及在无机分析、生化、食品分析、医药、环保等方面的应用。本书由三位作者合作完成。第1—4、12、14、21、22章由朱彭龄执笔,第5—10、17、25章由云自厚执笔,第11、13、15、16、18—20、23、24章由谢光华执笔,最后经朱彭龄整理。诚然,作者的愿望是把现代液相色谱的基础知识奉献给读者,但限于知识水平,书中难免出现缺点和疏漏之处,恳请专家和读者指正。

兰州大学出版社对本书的编写给予鼓励和督促,在此表示感谢。

作 者

1988年元旦

目 录

第一章 绪论	(1)	§ 7-5 示差折光检测器	(94)
§ 1-1 色谱法的分类	(1)	§ 7-6 电化学检测器	(98)
§ 1-2 色谱法的历史	(3)	第八章 梯度洗脱装置	(101)
§ 1-3 色谱学文献	(5)	§ 8-1 引言	(101)
§ 1-4 液相色谱的一般术语	(6)	§ 8-2 高压梯度装置	(102)
§ 1-5 现代液相色谱	(8)	§ 8-3 低压梯度装置	(103)
第二章 液相色谱热力学基础	(10)	§ 8-4 梯度洗脱对分离的影响	(104)
§ 2-1 溶质保留方程式	(10)	第九章 液固吸附色谱	(110)
§ 2-2 分辨率及其测量	(12)	§ 9-1 液固吸附色谱用固定相	(110)
§ 2-3 液相色谱中的分配平衡	(17)	§ 9-2 硅胶的表面结构及性质	(111)
§ 2-4 分子间的相互作用	(22)	§ 9-3 液固吸附色谱保留机制	(114)
§ 2-5 溶剂的强度和选择性	(27)	§ 9-4 液固吸附色谱的流动相	(115)
§ 2-6 次级化学平衡	(32)	§ 9-5 溶质分子结构对保留值的 影响	(122)
第三章 色谱动力学	(44)	第十章 化学键合相色谱	(127)
§ 3-1 色谱过程的速率理论	(44)	§ 10-1 引言	(127)
§ 3-2 柱外效应	(50)	§ 10-2 化学键合固定相	(128)
§ 3-3 色谱峰的对称性	(51)	§ 10-3 化学键合相色谱的流动相	(135)
第四章 色谱分离条件的选择	(55)	§ 10-4 化学键合相色谱保留机理	(140)
§ 4-1 分离条件的选择	(55)	§ 10-5 反相色谱的应用	(148)
§ 4-2 色谱分析选择性最优化	(57)	第十一章 离子对色谱	(150)
第五章 液相色谱仪	(62)	§ 11-1 方法原理	(150)
§ 5-1 概述	(62)	§ 11-2 正相离子对色谱	(152)
§ 5-2 溶剂贮存器及溶剂脱气	(64)	§ 11-3 反相离子对色谱	(153)
§ 5-3 输液系统	(65)	第十二章 离子交换色谱	(161)
§ 5-4 进样系统	(69)	§ 12-1 离子交换色谱固定相和离 子交换平衡	(162)
第六章 色谱柱	(73)	§ 12-2 离子交换色谱中影响保留 的因素	(167)
§ 6-1 色谱柱的结构	(73)	§ 12-3 带抑制柱的离子色谱	(169)
§ 6-2 色谱柱的填料	(77)	§ 12-4 单柱离子色谱	(175)
§ 6-3 色谱柱的填充方法	(79)	§ 12-5 离子排阻色谱	(178)
§ 6-4 柱性能考察	(82)	第十三章 分子排阻色谱	(180)
第七章 检测器	(85)	§ 13-1 概述	(180)
§ 7-1 检测器的性能指标	(86)	§ 13-2 色谱峰展宽	(182)
§ 7-2 紫外吸收检测器	(89)	§ 13-3 分子排阻色谱的填料	(183)
§ 7-3 快速扫描紫外/可见分光 检测器	(91)		
§ 7-4 荧光检测器	(93)		

§ 13-4	柱的分辨率和校正	(185)
§ 13-5	亲水性分子排阻色谱	(187)
§ 13-6	疏水性分子排阻色谱	(191)
第十四章	试样的预处理	(195)
§ 14-1	试样的过滤	(196)
§ 14-2	固相萃取法	(197)
§ 14-3	试样在线预处理	(198)
第十五章	柱切换技术	(202)
§ 15-1	试样的净化和痕量富集	(202)
§ 15-2	多功能柱切换	(206)
§ 15-3	区带切割和再循环	(208)
§ 15-4	反向冲洗法	(210)
第十六章	化学衍生法	(213)
§ 16-1	引言	(213)
§ 16-2	紫外衍生反应	(214)
§ 16-3	荧光衍生反应	(218)
§ 16-4	电化学衍生法	(223)
§ 16-5	柱后衍生技术	(225)
§ 16-6	固相化学衍生法	(229)
§ 16-7	固定化酶反应器	(233)
第十七章	定量分析	(236)
§ 17-1	峰高和峰面积的测量	(236)
§ 17-2	定量校正因子	(238)
§ 17-3	定量方法	(238)
§ 17-4	定量分析误差	(242)
§ 17-5	痕量分析	(247)
第十八章	高效制备色谱法	(250)
§ 18-1	制备型色谱柱	(251)
§ 18-2	制备色谱对色谱仪部件的要求	(253)
§ 18-3	操作过程中的注意点	(254)
§ 18-4	应用例	(256)
第十九章	色谱微处理机技术	(258)
§ 19-1	微处理机的主要功能	(258)
§ 19-2	岛津C-R3A数据处理装置	(260)
第二十章	维护和故障排除	(263)
§ 20-1	泵和输液系统	(263)
§ 20-2	进样阀	(264)
§ 20-3	色谱柱和流动相	(264)
§ 20-4	检测器	(270)

§ 20-5	其他	(272)
第二十一章	在无机分析中的应用	(274)
§ 21-1	阴离子	(274)
§ 21-2	金属元素	(279)
第二十二章	在生物化学中的应用	(291)
§ 22-1	氨基酸	(291)
§ 22-2	肽、蛋白质	(297)
§ 22-3	核酸	(309)
§ 22-4	生物胺	(312)
第二十三章	食品分析中的应用	(315)
§ 23-1	糖类	(315)
§ 23-2	人工甜味剂	(316)
§ 23-3	有机酸	(316)
§ 23-4	水溶性维生素	(318)
§ 23-5	脂溶性维生素	(319)
§ 23-6	类胡萝卜素	(319)
§ 23-7	氨基酸	(320)
§ 23-8	类脂物	(320)
§ 23-9	食品保存剂	(322)
§ 23-10	抗氧化剂	(322)
§ 23-11	黄曲霉毒素	(323)
§ 23-12	人工色素	(325)
第二十四章	在医药研究中的应用	(328)
§ 24-1	各类常用药的分析	(329)
§ 24-2	甾体药物	(336)
§ 24-3	抗菌素	(340)
§ 24-4	生物碱	(342)
第二十五章	在环境分析中的应用	(346)
§ 25-1	在环境样品前处理中的应用	(346)
§ 25-2	在环境污染分析中的应用	(347)
§ 25-3	在系统分析方法和标准分析方法中的应用	(348)
§ 25-4	各种分离技术和检测手段的应用	(348)

第一章

绪 论

§ 1—1 色谱法的分类

分析化学的一个重要组成部分是与分离科学相联系的。分离方法种类之多、分离对象组成之复杂、分离的目的及其规模差异之大，使我们难以给各种分离方法下一个广义的定义。尽管如此，就一般而论，分离可以看作是一个使混合物至少被分成具有不同组成的两部分的操作过程；分离的结果是，在某一部分中相对于其它组分，原混合物中一种或数种组分的摩尔分数有所增加。

分离通常是通过物理的途径达到，但是在该过程中有时候也可能包括化学反应。可以把实现分离所依据的物理的或物理化学的现象分成两大类：平衡过程和速度过程。以平衡为依据的分离技术是借助于被分离的各组分之间平衡性质的差异，实现彼此的分离。平衡分离系统必须是非均相的，包括组分在两个不同的、互不混溶的相之间的分配或迁移的过程。这些相可能由欲分离的组分所构成，如像蒸馏两种组分的混合物时所遇到的情况那样。我们称这样的分离为基于相平衡的分离。在另一情况下，相主要由欲分离的混合物以外的化学物质所组成，这是基于分配平衡的分离。仅当不同组分在两种不相混溶的相之间的分配有差异时，才能达到组分之间的彼此分离。在一个平衡分离体系中，两相的物理状态可以有不同的组合，如气—液、气—固、液—液和液—固。当一个相为固相时，平衡可以发生在固相整体与另一相之间，也可能是在固体表面与另一相之间。例如，沉淀分离属于前一种，而吸附属于后一种情况。

速度过程分离技术是依据混合物中各组分之间动力学性质的不同，包括有不同组分在通过某种障碍物时，或在电场、重力场或热场的作用下迁移速度的差异。在我们所熟悉的分离技术中，属于这一类的分离方法有电泳、超速离心、热扩散、渗析或渗透等。和基于平衡过程分离方法的差别在于，速度过程分离是时间的函数；而平衡过程分离的情况是，在平衡达到之后，时间对分离不产生影响。

色谱法是一种以分配平衡为基础分离方法。从字面上讲“色谱”一词

起源于分离植物色素的实验。在这个实验中,将植物色素的石油醚抽提液倾入填有碳酸钙的玻璃管内,再加入石油醚使之流下。其结果是,色素抽提液中不同的组分相互分开,形成不同颜色的谱带。1903年3月21日俄国植物学家Tswett在华沙自然科学协会上报告了上述实验结果,论文的题目是“关于一种新的吸附现象及其在生物化学分析中的应用”。当时他没有使用“色谱学”这个名称。三年之后,他在另外两篇论文中正式以色谱法称呼这种新的分离技术。

既然色谱法属于平衡过程分离方法,那么色谱分离体系也包含有两个相。与其它平衡过程分离的区别在于,色谱体系中的两相,一个是固定的,一个是流动的。当两相作相对运动时,反复多次地利用混合物中所含组分分配平衡性质的差异使其彼此得到分离。

至今,色谱学已经发展成为包括有许多分支的重要的分离技术。可以根据以下的一些原则,将色谱法作进一步分类。所根据的原则有:色谱床的物理形式、向色谱床提供试样方式以及是否使用洗脱液、两相的物理状态、分离机理、两相的相对极性。

在色谱操作中,固定相可以呈柱的形式,或分布在大面积的载体上,或由大面积的填料所组成。按照固定相使用的形式,可以将色谱法分为柱色谱(Column Chromatography)和平板色谱(planar或plane Chromatography)。在前一种情况下,固定相包含在一个圆柱形的管中,称作色谱柱;而在后一种情况下,固定相以平面的形式存在或附于一个平面上。纸色谱(Paper Chromatography)和薄层色谱(Thin Layer Chromatography)属于平板色谱。

考虑到导入试样的方式和是否使用流动相,我们可以将色谱法区分为迎头色谱(Frontal Chromatography)、顶替色谱(Displacement Chromatography)和洗脱色谱(Elution Chromatography)。

按照流动相的物理状态,可将色谱法分成气相色谱(Gas Chromatography)和液相色谱(Liquid Chromatography)。液相色谱的固定相可以是液体、固体或带有化学键合基团的固体。此外,超临界流体色谱(Super Critical Fluid Chromatography)采用临界温度和临界压力以上的流体作为流动相。超临界流体的密度比气体大得多,提高了被分离物质的挥发度。另一方面,溶质在超临界流体中的扩散系数比在液体中大。

为了提高分离效率和缩短分离时间,现代液相色谱以小粒径的填料作为固定相,同时提高色谱柱的进口压力。在较早的文献中,用高压液相色谱(High Pressure Liquid Chromatography),以示与经典液相色谱相区别。随后,又以“效率”(Performance)代替“压力”,称近代液相色谱为高效液相色谱,缩写为HPLC。

根据分离机理,我们可以区分出四种不同的色谱技术。分配色谱(Partition Chromatography)是基于试样组分在固定相和流动相中溶解度的不同。吸附色谱(Adsorption Chromatography)是通过试样组分对活性固体表面吸附亲合力的不同实现彼此的分离。离子交换色谱(Ion Exchange Chromatography)是根据试样组分离子交换亲合力的差异,而在排阻色谱(Size Exclusion Chromatography)中,分子的大小对分离起着主要的作用。以亲水凝胶为固定相并用水溶液为洗脱液时,排阻色谱又称为凝胶过滤色谱(Gel Filtration Chromatography);而以疏水性凝胶为

固定相并以有机溶剂为洗脱液时，排阻色谱又称为凝胶渗透色谱（Gel Permeation Chromatography）。

除上述四种色谱类型之外，还有一些与分离机理有关的类型。离子对色谱（Ion Pair Chromatography）是在离子对试剂存在下，分离离子组分的方法。其机理仍属争论的问题，可能的机理包括分配、吸附或离子交换。亲和色谱（Affinity Chromatography）利用蛋白质和配位体相互作用时所具有的生物特效性，分离蛋白质。

在较近的文献中，最常见到的是键合相色谱（Bonded Phase Chromatography），该技术是以化学键合相为固定相。从机理上讲，键合相色谱并未超出上述四种基本色谱类型的范围，但是对特定的固定相，哪种机理起主要作用仍是当前色谱理论研究较多的问题。

分类所依据的最后一个原则是两相的相对极性。这个原则主要用于液相色谱的分类，且存在有两种可能的情况。第一种是固定相极性大于流动相极性的情况，我们称之为正相色谱（Normal Phase Chromatography）。与上述相反的情况是反相色谱（Reversed Phase Chromatography）。

近年来，出现一种称为场流分级法（Field Flow Fractionation）的分离技术。严格地讲，场流分级法并不是色谱方法，因为不存在有固定相。事实上，该法已作为色谱方法的一个分支，出现在色谱科学的领域中。

§ 1—2 色谱法的历史

由1906年算起，色谱学已有近80年的历史。最初，色谱学并未被人们所重视。在实验室中将色谱方法真正作为一种工具使用始于三十年代初。在以后大约十年间，色谱法逐渐成为一种重要的实验技术。在此期间，新的色谱技术分支相继产生，如薄层色谱、离子交换色谱。在四十年代又发展了分配色谱、纸色谱以及气—固形式的气相色谱。五十年代初期气—液分配色谱的出现导致化学实验室技术上的一个史无前例的改革。五十年代其它重要的成就包括有：离子交换色谱分析氨基酸、色谱理论的发展和五十年代末凝胶过滤色谱的使用。到六十年代中期，在前二十多年色谱实践和理论发展的基础上，开始了液相色谱现代化的进程。六十年代末，液相色谱迅速地赶上气相色谱的发展，高效液相色谱成为当前最受重视的色谱技术。色谱学发展过程中的一些重要事件，按时间的顺序排列如下：

• 1903 Tswett发表了吸附色谱分离植物色素的论文，三年后他在另外两篇论文中正式提出色谱法。

• 1931 色谱法提出后，并未立即受到重视，经过大约20年，由于Lederer的工作，人们才重新重视色谱技术。

• 1938 Izmailov和Shraiber第一次使用薄层色谱法。

• 1938 Taylor和Uray用离子交换分离锂和钾的同位素。40年代，合成离子交换树脂商品出现后，离子交换色谱才得到广泛应用。1944年在美国橡树岭国家实验室和阿华州立大学分离和鉴定了稀土元素。在1944到50年代中，芝加哥大学和加州大学完成了

超铀元素的分离。

- 1941 Martin和Synge发展了分配色谱。
- 1944 Martin等发展了纸色谱。
- 1952 Martin和James发展了气—液分配色谱。
- 1956 Van Deemter等发表关于色谱效率的速率理论，并应用到气相色谱中。
- 1957 制作离子交换色谱氨基酸分析仪。
- 1959 在Gordon Conference上提出了第一篇凝胶过滤色谱的报告。
- 1963 Giddings的理论工作为现代液相色谱奠定了理论基础。
- 60年代中期 凝胶渗透色谱出现。
- 60年代后期 亲和色谱出现。
- 1969 现代液相色谱开始受到重视。

色谱法的应用范围相当广泛，除分析化学外，生物化学、石油化学、有机化学、无机化学等学科中都普遍采用色谱技术。色谱法中所处理的试样可以是微量的，也可以是大量的；色谱技术又具有各种各样的形式；使用的设备可以是自动化程度很高的色谱仪，也可以是简单的一般实验室中常见设备。

一个说明色谱学重要性的例子是关于色谱学和获得诺贝尔奖金研究工作间关系的调查。有两次诺贝尔化学奖是授与色谱学领域的研究工作：1948年瑞典科学家 Tiselins 由于他的关于电泳和吸附分析的研究获奖，1952年英国的Martin和Synge因为发展了分配色谱而获奖。此外，色谱法在许多获奖的研究中起了关键的作用，在表1—1中列举了有关的工作。当前，色谱和光分析技术构成了近代分析化学的主要部分，色谱法的应用远远超出了分析化学的范围，在各科学领域中发挥其作用。

表1—1 色谱法在一些获诺贝尔奖的研究工作中起了关键的作用

年代	类别	主题
1937	化学	类胡萝卜素化学，维生素A和B
1938	化学	类胡萝卜素化学
1939	化学	聚甲烯和高萜烯化学
1950	生理学、医学	性激素化学及其分离，肾皮素化学及其分离
1951	化学	超铀元素的发现
1955	化学	脑下腺激素的研究和第一次合成聚肽激素
1958	化学	胰岛素的结构
1961	化学	光合作用时发生的化学反应的确认
1970	生理学、医学	关于神经元触处迁移物质的研究
1970	化学	糖核苷酸的发现及其在生物合成碳水化合物中的作用
1972	化学	核糖核酸化学酶结构的研究
1972	生理学、医学	抗体结构的研究

§ 1—3 色谱学文献

和分析化学其它分支相比，色谱分析文献从数量上和增长速度上都是比较高的。据统计，截至到1978年已发表的有关色谱学文章已达到15万篇。除了与化学、生物、医学、环境科学、石油等学科有关的杂志外，色谱文章主要发表在一些色谱专业性期刊上，其中包括：

- Journal of Chromatography
- Journal of Chromatographic Science
- Chromatographia
- Journal of Liquid Chromatography
- Journal of High Resolution Chromatography and Chromatography Communications
- LC Magazine

Journal of Chromatography 中包括一些重要国际性色谱学会议的文集，例如：

- International Symposia of Chromatography
- International Symposia on Advances in Chromatography
- International Symposia on Column Liquid Chromatography

等，这些文集反映出色谱学的最新进展。

当需要系统地查阅色谱文献时，可以沿用一般的查阅方法，即查阅综合性的化学文摘期刊或索引期刊。查阅色谱文献的一个捷径是利用Anal. Chem. 双年度评论或查阅J. Chromatogr. 的Bibliography Section。此外，还有一些色谱专业性文摘期刊，如：

- C. A. Selects; High Performance Liquid Chromatography
- Liquid Chromatography Abstracts, PRM Science & Technology Agency, London.
- Liquid Chromatography Literature Abstracts and Index, Preston Technical Abstracts Co., Niles, Ill.

随着色谱科学的发展，与之有关的仪器设备需求量迅速上升。以液相色谱仪为例，由1977至1982年美国在世界市场销售额的年增长率为24.1%，1982年销售额达26,500,000美元。仪器公司为了推销产品，出版了大量商业性文献，其中包括有重要的第一手资料，尤其是在色谱应用和新产品的研制方面。这些出版物可以直接向厂家索取得到。

色谱进展丛书中的评论性文章和专著针对某一论题提供系统的论述。由这类文献入手，也可能比较迅速地获得某一专题的系统性资料。一些进展丛书与现代液相色谱有关，如：

- Giddings, J. C. ; Grushka, E.; Cazes, J.; Brown, P. R., Eds.,
"Advances in Chromatography", Marcel Dekker, New York.

- Horvath, C. Ed., "High Performance Liquid Chromatography", Academic, New York.
- Cazes, J., Ed., "Chromatographic Science Series", Marcel Dekker, New York. (A Series of Monographs)
- "Journal of Chromatography Library", Elsevier, Amsterdam. (A Series of Books)

关于现代液相色谱的主要参考书是:

Snyder, L. R.; Kirkland, J. J., "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2nd ed., Wiley-Interscience, N. Y. 1979.

这是学习现代液相色谱的必读教材。此外,美国化学学会还出版了同作者的关于现代液相色谱的录音教材。

§ 1—4 液相色谱的一般术语

和气相色谱的情况不同,至今,液相色谱中使用的术语和符号仍不统一。IUPAC和ASTM发表过有关资料,定义了液相色谱的各种方法、术语和参数。详细情况可见Ettre的有关文章。这里将就本书中出现的一些液相色谱术语作一简要讨论,其意义及表示符号列于表1—2。

在液相色谱文献中,常用不同的术语代表流动相,如:液相、溶剂、洗脱液等。

分配系数K与容量因子k'的关系为:

$$k' = \phi K \quad 1-1$$

对于不同类型的液相色谱,相比 ϕ 的定义也不相同。在分配色谱的情况下,

$$\phi = \frac{V_s}{V_l} \quad 1-2$$

因此,分配系数等于溶质在固定相中的浓度与溶质在流动相中的浓度比。在吸附色谱的情况下,

$$\phi = \frac{\text{与固定相吸附剂量成比例的各种参数 (如表面积、重量)}}{V_l} \quad 1-3$$

此时分配系数是吸附剂单位表面积或重量所吸附溶质的量与溶质在流动相中的浓度之比。

分配系数又常称为分配常数。考虑到在许多情况下K与流动相组成有关,当流动相组成变化时,K也相应地改变,因此,在本书中称K为分配系数,而不称作分配常数。仅当K不随流动相组分变化而改变时,可以称作分配常数。

溶质本身通过化学平衡能以数种形式存在时,也用分配比D表示分配系数,K和D的差别在于如何定义溶质,K只与溶质某种确定的形式有关,而D是对溶质整体而言。

流动相体积 V_M ,有时称作死体积(Dead Volume)或滞留体积(Hold-up Volume),表示在进样点和检测点之间所包含的流动相体积,即非保留溶质的保留体积。

表 1 - 2

液相色谱术语和符号

参 数	符号	说 明
容量因子	k'	表示某一溶质在柱中任意位置达到平衡后, 该溶质在固定相中的量与在流动相中的量之比
柱		
截面积	A_c	
间隙体积	V_i	填充柱中由流动相所占有的体积
内径	d_c	
长	L	
相比	ϕ	见正文
渗透度	K^0	定义见 § 4 - 1
流阻因子	ϕ	定义见 § 4 - 1
体积	V_c	色谱柱的几何体积, 等于 $\frac{\pi d_c^2 L}{4} = A_c L$
流动相体积	V_M	见正文
固定相体积	V_s	这里是指在分配色谱柱中固定液的体积
柱填料		
粒径	d_p	
孔率	ϵ	定义见 § 6 - 4
孔径	\bar{D}	
比表面积	S_p	
柱效		
有效塔板高度	H	$H = L/N$
理论塔板高度	h	$h = L/n$
有效塔板数	N	$N = 16 \left(\frac{t_R'}{w_b} \right)^2 = 5.545 \left(\frac{t_R'}{w_h} \right)^2$
理论塔板数	n	$n = 16 \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2 = 5.545 \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2$
折合塔板高度	h_r	$h_r = h/d_p$
溶质在流动相中的扩散系数	D_M	
溶质在固定相中的扩散系数	D_s	
分配系数	K	见正文
溶质在流动相中的分数	R	R 与 k' 的关系为 $R = 1/(k' + 1)$
溶质在固定相中的分数	$1-R$	

参 数	符 号	说 明
流动相		
流量	F	单位时间内通过色谱柱的流动相体积
线流速	u	$u = L/t_M$
最佳流速	u_{opt}	在 $h/u-u$ 图中, 斜率停止显著变化处的流速可视为最佳流速
折合流速	v	$v = u \cdot dp/D_M$
粘度	η	
峰面积	A	
峰宽		
基线峰宽	w_b	
半高峰宽	w_h	
拐点峰宽	w_l	
压力		
柱入口压力	P_1	
柱出口压力	P_0	
沿柱的压力降	ΔP	$\Delta P = P_1 - P_0$
分辨率	R_s	$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_{b1} + w_{b2}}$
保留时间		
调整保留时间	t'_R	$t'_R = t_R - t_M$
流动相保留时间	t_M	即非保留溶质的 t_R
保留时间	t_R	从进样开始至记录组分峰最大值所经过的时间
保留体积		
调整保留体积	V'_R	$V'_R = V_R - V_M = t'_R F$
流动相保留体积	V_M	$V_M = t_M F$
保留体积	V_R	$V_R = t_R F$
分离因子	α	$\alpha = t'_{R2} / t'_{R1} = K_2 / K_1 = k'_2 / k'_1 \quad (t'_{R2} > t'_{R1})$

在理想情况下, V_M 等于柱间隙体积. 实际上, V_M 代表柱间隙体积与柱外体积 (§ 3—2) 之和:

$$V_M = V_i + V_{ext}$$

§ 1—5 现代液相色谱

本书的主题是现代液相柱色谱, 如在 § 1—2 节中所指出的那样, 现代液相色谱是在气相色谱和经典液相色谱的基础上发展起来的. 现代液相色谱与经典液相色谱没有本质的差别, 不同点仅仅是现代液相色谱比经典液相色谱有较高的效率和实现了自动化

操作。这是因为：a 色谱柱是以特殊的方法用小粒径的填料填充而成，从而使柱效大大高于经典液相色谱；b 在仪器方面，采用了高压泵输送流动相。同时，在色谱柱后连有检测器，可以对流出物进行连续检测。仪器上的特点给现代液相色谱提供了连续操作和自动化的可能性。图 1—1 是现代液相色谱仪基本结构的方框图。

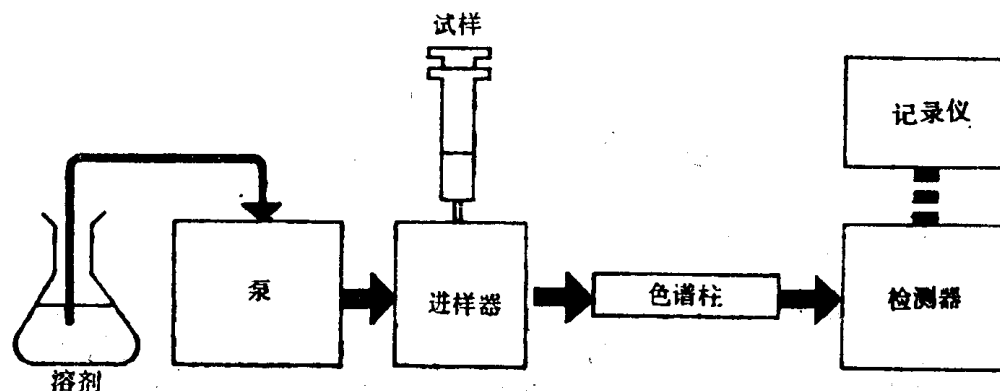


图1—1现代液相色谱仪示意图

在本书以下的章节里，将分成几部分介绍现代液相色谱，其中包括：基础理论，仪器与技术，色谱类型和应用。书中所用的术语与中国化学会编“英汉色谱学词典”（第二版）是一致的。若有不一致之处或是对一些还没有统一命名的词汇，我们将在这些术语后面附上英文原意。

在每一章之后有主要参考文献资料。当必要时，注明一些资料的主要内容，以便于读者使用。

参 考 文 献

- [1] Karger, B. L.; Snyder, L. R.; Horvath, C., "An Introduction to Separation Science", John Wiley & Sons, 1973.
- [2] Snyder, L. R.; Kirkland, J. J., "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2nd ed., Wiley-Interscience, N. Y. 1979.
- [3] Ettre, L.S.; Zlatkis, A., "75 Years of Chromatography—a Historical Dialogue", Elsevier, 1979.
- [4] Ettre, L. S., "Evolution of Liquid Chromatography: A Historical Overview", Horvath, C., Ed., "High Performance Liquid Chromatography: Advances and Perspectives", Vol I, Academic, 1980.
- [5] Ettre, L. S., J. Chromatogr., 220 (1981) 29—63, "The Nomenclature of Chromatography II Liquid Chromatography".

第二章

液相色谱热力学基础

混合物中不同组分在两相间平衡分配的差异是色谱法作为一种分离技术的依据。在一个色谱柱中，只有当被分离的组分处于流动相时，它们才能随流动相的移动通过色谱柱。因此，某一组分在两相间的分配有利于固定相时，该组分逗留在色谱柱的时间就长。换句话说，组分的保留行为是其平衡分配性质的函数。组分之间平衡分配性质的不同给色谱分离提供了可能性。与物质的分配平衡有关的问题属于色谱热力学研究的内容。

有两种途径，探讨和理解色谱中的平衡。一种是用热力学方法处理组分在两相间的分配，而另一种是通过分子结构及分子间的相互作用解释为什么不同物质平衡分配有所差异。前一种方法以其严格和普遍性为特征，而后一种方法能够将物质的性质与其色谱行为有机地联系起来。一些有关色谱机理的模型，就是在讨论分子间的相互作用与其结构关系的基础上，处理色谱过程的热力学关系。

本章首先介绍色谱法中有关保留和分辨率的两个基本方程式，从而说明溶质分配系数对保留和色谱分离的影响。其次，我们将讨论液相色谱的热力学基础以及流动相在液相色谱分离中的作用。在本章的最后将涉及到与次级化学平衡有关的问题。

§ 2—1 溶质保留方程式

溶质通过色谱柱的速度或保留值的大小取决于溶质在两相间分配的热力学性质，是由每一瞬间该溶质在流动相中的分子分数所决定的。分配在固定相中的分子不能随流动相通过柱子。 k' 大的溶质，其分子大部分留在固定相中，因此它随流动相移动通过色谱柱的速度低。设溶剂在柱中的平均流速是 u ，溶质 x 谱带的速度是 u_x ，显然 u_x 依赖于溶质在流动相中分子数与总分子数之比，即 R 值和 u 。

$$u_x = Ru \quad 2-1$$

一个不被保留的溶质 $R=1$ ，此时， $u_x=u$ ，谱带移动速度与流动相速度相等。由 R 和 k' 的定义可知：

$$R = \frac{1}{k' + 1} \quad 2-2$$

代入式2-1得:

$$u_x = \frac{u}{k' + 1} \quad 2-3$$

假设不考虑柱外体积的影响, 溶质x的保留时间 t_R 与柱长L和 u_x 有如下关系:

$$t_R = \frac{L}{u_x} \quad 2-4$$

对不保留的溶质, 其保留时间为:

$$t_M = \frac{L}{u} \quad 2-5$$

将式2-4和2-5代入式2-3得:

$$t_R = t_M(1 + k') \quad 2-6$$

两边乘以流量F, 得到以保留体积和流动相体积表示的保留方程式:

$$V_R = V_M(1 + k') \quad 2-7$$

在严格的意义上讲, 如果考虑柱外体积的影响, 应该从式2-7的 V_R 和 V_M 数值中减去柱外体积 V_{ext} 。

以柱长和流速 u 表示 t_M :

$$t_R = \frac{L}{u}(1 + k') \quad 2-8$$

上式说明了保留值与容量因子、柱长和流速的关系: 保留值与柱长成正比, 与流速成反比。

调整式2-6可得:

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad 2-9$$

这里提供了一个测量 k' 值的方法。由色谱图中溶质峰的保留时间 t_R 和非保留溶质峰的保留时间 t_M , 代入式2-9计算 k' 。在准确计算 k' 值时, 也应考虑柱外体积的校正。

t_M 是不为固定相所保留组分的出峰时间。一个溶质能否选择作为测定 t_M 的标记化合物, 决定于该溶质能否满足如下的要求:

·该物质全然不为固定相所保留。

·不存在有排阻效应, 标记化合物能够自由地进入到固定相的孔隙中。除了标记化合物分子的大小与排阻效应有关外, 在以电解质作为标记的情况下, 也可能由于Donnan电势的存在, 电解质不能完全渗透到固定相的孔隙中, 至使 t_M 的测得值小于实际值。

·当标记化合物符合上述两个要求时, 还要具有被检测的可能性。这里所说的可能性, 不是指有无合适的检测器, 而是指当标记化合物经过色谱柱后, 应具有与流动相不同的特征, 不“融合”在流动相之中。例如一个以 C_{18} 键合硅胶为固定相和以10%(v/v)乙腈水溶液为流动相的色谱体系。在这个富水的体系中, 若以水作为标记化合物, 可以满足前两个要求。但实际上, 把作为标记的水进样后, 在水的谱带处破坏了两相间的平衡, 吸附于固定相上的乙腈将解吸进入流动相, 达到新的平衡。其结果是, 水谱带处的