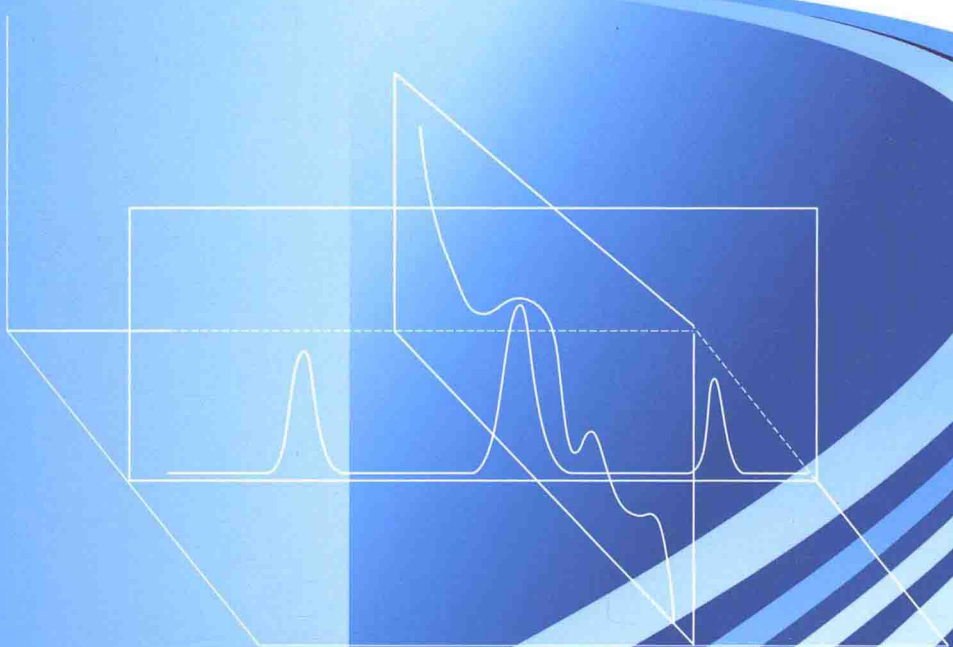
普通高等教育“十三五”规划教材

色谱分析

丁立新　编著



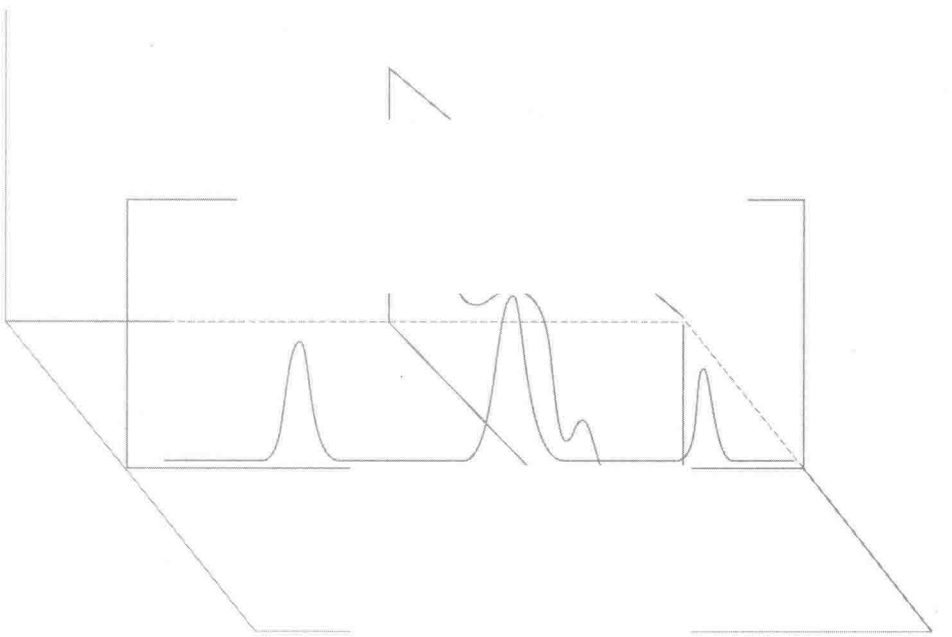
化学工业出版社

需要全本请访问 www.ertongbook.com

普通高等教育“十三五”规划教材

色谱分析

丁立新　编著



化学工业出版社

·北京·

《色谱分析》共分五章，包括色谱分析法概论、经典液相色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法和毛细管电泳法。本书的编写遵循“三基”（基本理论、基本知识、基本技能）、“五性”（思想性、科学性、先进性、启发性、适用性）的原则，紧紧围绕专业培养目标的要求，体现了学科的新发展和教学改革的新成果。

本书可供高等院校药学、制药工程专业师生使用，也适合中药、化学化工类、生物和环境类专业师生使用，还可供有关分析检验部门的技术人员参阅。

图书在版编目（CIP）数据

色谱分析/丁立新编著. —北京：化学工业出版社，2019.8

普通高等教育“十三五”规划教材

ISBN 978-7-122-34896-8

Ⅰ. ①色… Ⅱ. ①丁… Ⅲ. ①色谱法-化学分析-高等学校-教材 Ⅳ. ①O657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2019）第 147461 号

责任编辑：马 波 杨 菁 闫 敏　　文字编辑：陈 雨

责任校对：宋 玮　　装帧设计：张 辉

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 7¾ 字数 163 千字 2019 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888　　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：28.00 元

版权所有 违者必究

前言

色谱分析作为重要的分离分析技术，已广泛应用于医药卫生、生命科学、环境科学等领域。随着科技的发展，社会对以色谱分析为主要内容的书籍的需求不断增加。本书是在多年教学和科研的基础上编写而成的。编写中以“精、全、新”为指导思想，突出内容的科学性、先进性、可读性，旨在反映色谱分析的基本规律和新技术，力求概念准确、深入浅出、循序渐进、突出重点、语言简练、通俗易懂，便于教学和阅读。

全书共分五章：色谱分析法概论、经典液相色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法和毛细管电泳法。重点介绍分析方法的基本原理、仪器结构以及仪器的操作和维护，加强理论与实践相结合，更加注重提高读者分析问题和解决问题的能力。

为了提高读者的学习效果，在每章开头增加了学习提要，按照掌握、熟悉和了解三个层次提出了每章的学习要求。本书各章还在理论讲解之后给出了本章小结和习题。在部分习题后面附有参考答案，以便读者自学之用。为了适应双语教学的需要，书中的专业术语均以汉英两种形式表达。

本书贯彻“三基”“五性”的精神，“三基”即基本理论、基本知识、基本技能，“五性”即思想性、科学性、先进性、启发性、适用性。符合色谱分析的教学需要，系统性强，内容全面、新颖、简洁明了。

本书可作为高等院校药学、制药工程、中药、化学化工类、生物和环境类专业本科学生学习色谱分析的教材和各相关领域技术人员的参考书。

笔者旨在提供一本内容新颖、方便教学、又便于自学的书籍。

由于水平有限，书中难免存在疏漏之处，恳请专家和读者批评指正。

丁立新

目录

第1章 色谱分析法概论 1

1.1 色谱法的分类 …… 1

1.1.1 按两相的分子聚集状态分类 …… 2

1.1.2 按操作形式分类 …… 2

1.1.3 按分离机制分类 …… 2

1.2 色谱过程和色谱参数 …… 3

1.2.1 色谱过程 …… 3

1.2.2 色谱流出曲线 …… 4

1.2.3 定量参数 …… 5

1.2.4 定性参数 …… 5

1.2.5 柱效参数 …… 7

1.2.6 相平衡参数 …… 7

1.2.7 分离参数 …… 9

1.3 色谱法基本理论 …… 10

1.3.1 塔板理论 …… 10

1.3.2 速率理论 …… 15

1.4 色谱分离方程式 …… 19

1.4.1 分离度与柱效的关系 …… 20

1.4.2 分离度与容量因子的关系 …… 20

1.4.3 分离度与分离因子的关系 …… 20

本章小结 …… 22

本章内容概图 …… 23

习题 …… 24

第2章 经典液相色谱法 25

2.1 柱色谱法 …… 25

2.1.1 吸附色谱法 …… 25

需要全本请访问 www.ertongbook.com

2.1.2 分配色谱法…… 27
2.1.3 离子交换色谱法…… 27
2.1.4 空间排阻色谱法…… 28
2.1.5 柱色谱法的应用…… 29
2.2 平面色谱法…… 29
2.2.1 平面色谱法参数…… 29
2.2.2 薄层色谱法…… 31
2.2.3 纸色谱法…… 37
2.2.4 平面色谱法的应用…… 39
本章小结 …… 40
本章内容概图 …… 41
习题 …… 42

第3章 气相色谱法 43

3.1 气相色谱仪的基本工作流程…… 43
3.2 气相色谱仪的基本结构…… 44
3.2.1 气路系统…… 44
3.2.2 进样系统…… 45
3.2.3 分离系统…… 45
3.2.4 检测系统…… 46
3.2.5 数据处理系统…… 46
3.3 气相色谱法的固定相…… 46
3.3.1 气-液色谱固定相 …… 46
3.3.2 气-固色谱固定相 …… 52
3.4 气相色谱检测器…… 53
3.4.1 热导检测器…… 53
3.4.2 氢焰离子化检测器…… 55
3.4.3 电子捕获检测器…… 56
3.4.4 火焰光度检测器…… 57
3.4.5 检测器的性能指标…… 58
3.5 气相色谱分析条件的选择…… 60
3.5.1 色谱条件的选择…… 60
3.5.2 色谱系统适用性试验…… 63
3.6 定性和定量分析方法…… 64
3.6.1 定性分析方法…… 64
3.6.2 定量分析方法…… 65
3.7 气相色谱仪的操作及其维护…… 69

3.7.1 气相色谱仪的基本操作方法 …… 69
3.7.2 气相色谱仪的维护 …… 70
3.7.3 气相色谱分析中常见问题及解决方法 …… 71
3.8 气相色谱法的应用 …… 72
3.9 气相色谱-质谱联用技术简介 …… 73
3.9.1 气相色谱-质谱联用仪 …… 73
3.9.2 气相色谱-质谱法的特点和应用 …… 76
本章小结 …… 77
本章内容概图 …… 78
习题 …… 79

第4章 高效液相色谱法 80

4.1 高效液相色谱仪 …… 80
4.1.1 输液系统 …… 81
4.1.2 进样系统 …… 82
4.1.3 分离系统（色谱柱） …… 83
4.1.4 检测系统 …… 83
4.1.5 数据处理系统 …… 85
4.2 高效液相色谱法分析条件的选择 …… 85
4.2.1 高效液相色谱的速率理论 …… 85
4.2.2 分析条件的选择 …… 87
4.3 高效液相色谱仪的操作及其维护 …… 91
4.3.1 高效液相色谱仪的基本操作方法 …… 91
4.3.2 高效液相色谱仪的维护 …… 91
4.3.3 高效液相色谱分析中常见问题及解决方法 …… 92
4.4 高效液相色谱法的应用 …… 94
4.5 液相色谱-质谱联用技术简介 …… 94
4.5.1 液相色谱-质谱联用仪 …… 94
4.5.2 液相色谱-质谱联用的特点和应用 …… 95
本章小结 …… 96
本章内容概图 …… 97
习题 …… 98

第5章 毛细管电泳法 99

5.1 基本原理 …… 99
5.1.1 电泳和电泳淌度 …… 99
5.1.2 电渗和电渗率 …… 101

5.1.3 表观淌度 …… 102
5.1.4 分离效率和谱带展宽 …… 102
5.2 毛细管电泳仪 …… 104
5.2.1 进样系统 …… 104
5.2.2 分离系统 …… 105
5.2.3 检测系统 …… 105
5.2.4 数据处理系统 …… 106
5.3 毛细管电泳法常见的分离模式 …… 106
5.3.1 毛细管区带电泳法 …… 106
5.3.2 胶束电动毛细管色谱法 …… 106
5.3.3 毛细管电色谱 …… 107
5.4 毛细管电泳仪的操作及其维护 …… 108
5.4.1 毛细管电泳仪的基本操作方法 …… 108
5.4.2 毛细管电泳仪的维护 …… 108
5.5 毛细管电泳法的应用 …… 109
本章小结 …… 110
本章内容概图 …… 111
习题 …… 112

参考文献 113

第1章　色谱分析法概论

学习提要

掌握色谱分析法的有关术语和公式，色谱分析法的基本理论：塔板理论和速率理论。熟悉色谱分析法的分离过程。了解色谱法的分类、特点和应用。

色谱分析法简称色谱法（chromatography），是一种用于分离分析多组分混合物的极为有效的物理或物理化学的分析法。它是一种重要的分离分析技术，是将混合物中各组分分离，然后按顺序检测各组分的分析方法。色谱法始于20世纪初，是由俄国植物学家茨维特（M. Tswett）创立的。他在研究植物的色素（pigment）成分时，采用了一根竖立的玻璃管，管内填充碳酸钙（calcium carbonate）颗粒，然后从顶端加入植物色素的提取液，提取液中的色素吸附在碳酸钙上，再加入石油醚（petroleum ether）不断冲洗。一段时间后，在碳酸钙里形成了几个清晰可见的色带，在碳酸钙上混合色素被分成不同色带的现象，像一束光线通过棱镜时被分成不同色带的光谱现象一样，因此茨维特把这种现象称为色谱，相应的方法称为色谱法。茨维特用希腊文“chroma”（色）和“tographos”（谱）二字合并为“chromatography”（色谱）一词。

在上述实验中，装有碳酸钙的玻璃管称为色谱柱。在色谱柱中碳酸钙固定不动称为固定相（stationary phase）。用来淋洗色素的石油醚总在不断流动，称为流动相（mobile phase）。现在，色谱法的分离不仅用于有色物质的分离，而且广泛用于无色物质的分离。尽管“色谱”二字已失去原来的含义，但这一名称一直沿用至今。

目前，色谱法已广泛应用于医药卫生、生命科学、环境科学等领域，具有分离效能高、选择性高、灵敏度高、分析速度快及应用范围广等特点。色谱法是分析复杂混合物最常用的方法。

1.1　色谱法的分类

色谱法可从不同的角度进行分类，可根据流动相和固定相的状态、操作形式、分离

机制等对色谱法进行分类。

1.1.1 按两相的分子聚集状态分类

在色谱法中流动相可以是气体、液体和超临界流体，相应的色谱法可分为气相色谱法（gas chromatography，GC）、液相色谱法（liquid chromatography，LC）、超临界流体色谱法（supercritical fluid chromatography，SFC）。色谱法的固定相可以是固体也可以是液体，相应的气相色谱法又可分为气-固色谱法（GSC）和气-液色谱法（GLC），相应的液相色谱法则可分为液-固色谱法（LSC）及液-液色谱法（LLC）。

1.1.2 按操作形式分类

按操作形式分类可分为：柱色谱法（column chromatography）、平面色谱法（planar chromatography）、毛细管电泳法（capillary electrophoresis，CE）等类别。

柱色谱法是将固定相装于柱管内构成色谱柱，色谱过程在色谱柱内进行的色谱法。按色谱柱的粗细，又可分为：填充柱（packed column）色谱法、毛细管柱（capillary column）色谱法等。

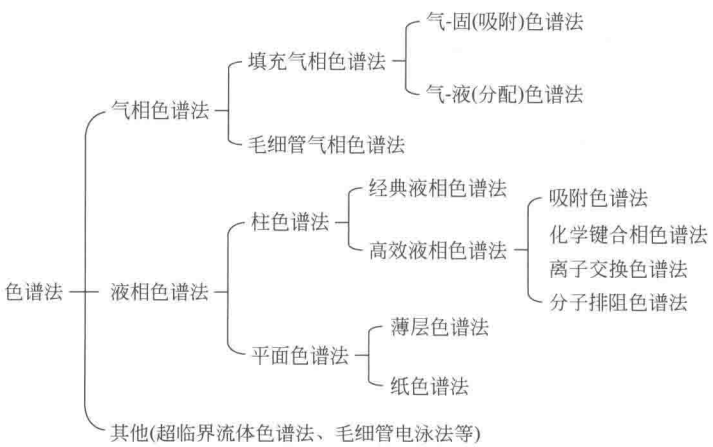
平面色谱法是色谱过程在平面内进行的色谱法，又分为薄层色谱法（thin layer chromatography，TLC）和纸色谱法（paper chromatography）。

毛细管电泳法的分离过程在毛细管内进行，利用组分在电场作用下的迁移速度不同进行分离。

1.1.3 按分离机制分类

按色谱过程的分离机制分类，可分为分配色谱法（partition chromatography）、吸附色谱法（adsorption chromatography）、离子交换色谱法（ion exchange chromatography，IEC）和空间排阻色谱法（steric exclusion chromatography，SEC）（也称分子排阻色谱法）。

色谱法的分类不是孤立的，而是相互关联的。现将色谱法分类总结如下：



1.2　色谱过程和色谱参数

1.2.1　色谱过程

色谱分离过程主要是利用样品中各组分在固定相与流动相之间具有不同的溶解能力或吸附能力而进行分离。

当样品被流动相带入色谱柱并在柱中移动时，样品中各组分在固定相与流动相中要反复多次地受到上述作用力的作用。由于各组分的分配系数存在差异，各组分在色谱柱中滞留时间也就不同，即它们在柱中向前移动的速率不同，随着流动相的不断流过，组分在柱中两相间经过了反复多次的分配和平衡过程，当移动一定距离以后，试样中各组分即可得到较好的分离。例如含 A、B 两个组分的样品，假如 A 组分的分配系数 K_A 比 B 组分的分配系数 K_B 小，当试样进入色谱柱后，分配系数小的 A 组分被流动相先带出色谱柱进入检测器，检测器将其浓度或质量转化成 A 色谱峰；分配系数大的 B 组分后流出色谱柱进入检测器，并在记录仪上形成 B 峰，如图 1-1 所示。

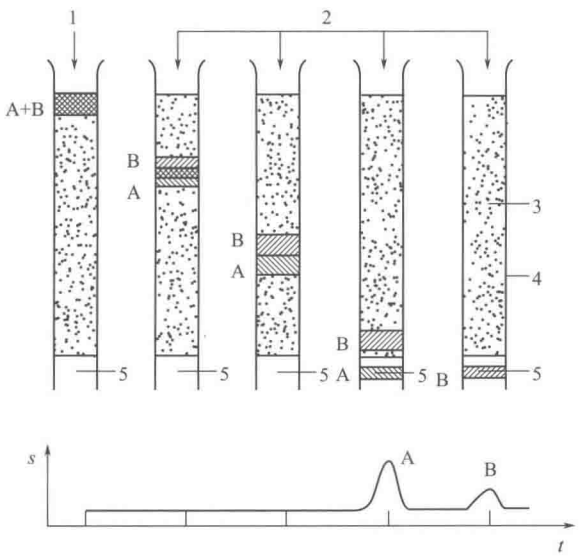


图 1-1　色谱分离过程

1—试样；2—流动相；3—固定相；4—色谱柱；5—检测器

由此可知，色谱分离过程有两个特点：

① 不同组分通过色谱柱时移动速率不等，它提供了实现分离的可能性。

② 各组分沿色谱柱的扩散分布不同，组分分子开始在柱前端的分布是一条很窄的线，当它们移动通过色谱柱时这条窄线就逐渐展宽，显然这种现象不利于实现不同组分的分离。

色谱过程实质上是一个分离过程。它是利用混合物中各组分在两相中作用性能的差异作为分离依据的。当流动相中所含的混合物经过固定相时，就会与固定相发生作用。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

由于混合物中各组分在结构和性质上存在差异，它们与固定相发生作用的大小、强弱就有差别。因此，在同一条件下，不同组分在固定相中滞留时间不同，形成差速迁移，使混合物中有微小差别的各组分得以分离。

1.2.2 色谱流出曲线

试样各组分经色谱柱分离后，从柱后流出进入检测器，检测器将各组分浓度（或质量）的变化转为电压（电流）信号，再由记录仪记录后，所得的电信号强度随时间变化的曲线，称为色谱流出曲线（chromatographic elution curve），也称为色谱图（chromatogram）。

下面以某一组分的流出曲线为例说明色谱法的常用术语，如图 1-2 所示。

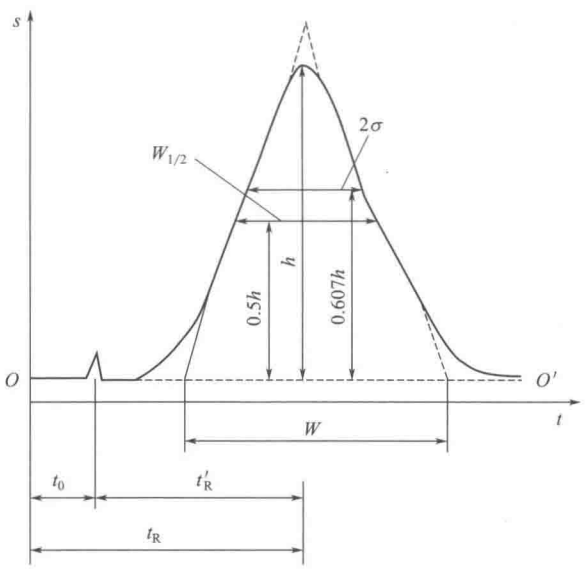


图 1-2 色谱流出曲线和区域宽度

（1）基线（baseline）

在操作条件下，色谱柱后没有组分流出时的流出曲线称为基线。稳定的基线就是一条平行于横轴的直线。如图 1-2 中 OO' 所示。基线反映仪器（主要是检测器）的噪声随时间的变化。

（2）色谱峰（chromatographic peak）

色谱峰是流出曲线上的突起部分（prominent part）。正常色谱峰为对称形正态分布曲线，也就是曲线有最高点，以此点的横坐标为中心，曲线对称地向两侧快速、单调下降。不正常色谱峰（abnormal chromatographic peak）有两种：拖尾峰及前延峰。

拖尾峰：前沿陡峭后沿平缓的不对称色谱峰，称为拖尾峰（tailing peak）。

前延峰：前沿平缓后沿陡峭的不对称色谱峰，称为前延峰（leading peak）。

正常色谱峰与不正常色谱峰可用对称因子 f_s（symmetry factor）来衡量。对称因

子在 0.95～1.05 之间为对称峰；小于 0.95 为前延峰；大于 1.05 为拖尾峰。

用式(1-1) 计算对称因子：

$$f_s=\frac{W_{0.05h}}{2A}=\frac{A+B}{2A} \tag{1-1}$$

式中，$W_{0.05h}$ 为 0.05 倍色谱峰高处的色谱峰宽；A、B 分别为在该处的色谱峰前沿与后沿和色谱峰顶点至基线的垂线（perpendicular）之间的距离。

对称因子的计算示意图如图 1-3 所示。

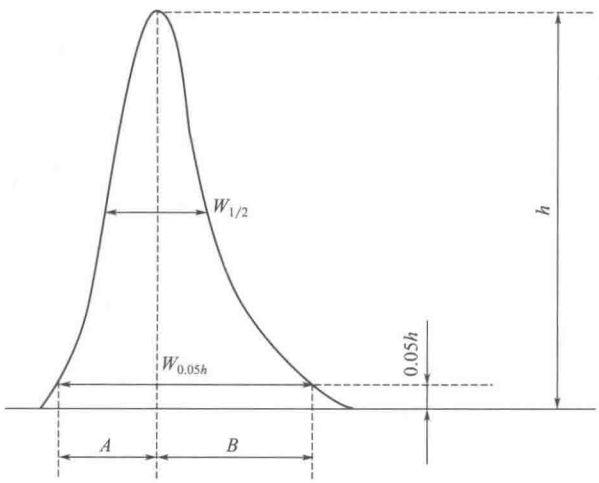


图 1-3 对称因子的计算示意图

1.2.3 定量参数

定量参数常用峰高或峰面积表示。

① 峰高（peak height） 从色谱峰峰顶到基线的垂直距离称为色谱峰高，简称峰高，用 h 表示，如图 1-2 所示。

② 峰面积（peak area） 某一色谱峰曲线和基线延长线所包围的面积称为峰面积，用 A 表示。

1.2.4 定性参数

色谱峰在色谱图中的位置用保留值表示。保留值（retention value）（也称滞流值）是表示试样中各组分在色谱固定相内的滞流的时间的数值，反映了组分分子与固定相分子间作用力的大小。

定性参数常用保留时间（组分被色谱柱所滞留的时间）和保留体积（将组分洗脱流出色谱柱所需要流动相的体积）等保留值表示。

(1) 保留时间包括的参数

① 保留时间（retention time）：从进样开始到色谱峰极大点出现时所需的时间，某组分的保留时间就是它通过色谱柱（chromatographic column）所需要的时间，也就是

组分在柱内运行的时间。如图 1-2 所示，t_R 为某组分保留时间。即从进样到柱后某组分出现浓度极大点的时间间隔。

② 死时间（dead time）：不被固定相保留的组分，从进样开始到出现峰极大值所需要的时间，用 t_M 或 t_0 表示。

③ 调整保留时间（adjusted retention time）：是某组分由于溶解或被吸附于固定相，比不溶解或不被吸附的组分在柱中多停留的时间，用 t'_R 表示。调整保留时间与保留时间及死时间有如下关系：

$$t'_R = t_R - t_0 \tag{1-2}$$

试样通过色谱柱所消耗的时间 t_R，实际上由两部分组成：一部分是由于组分与固定相之间的相互作用而引起组分在柱内滞留所消耗的时间，即组分在固定相滞留时间 t'_R；另一部分是组分在柱内流动相所占的空间内运行所消耗的时间 t_0。故 t'_R 反映了组分与固定相之间的作用，t_0 反映了柱内流动相所占体积大小，而与组分性质无关。因此在实验条件（experiment condition）（温度、固定相等）一定时，调整保留时间仅决定于组分的性质，所以调整保留时间是色谱法基本的定性参数。同一组分的保留时间受流动相流速的影响，因此又常用保留体积来表示保留值。

（2）保留体积包括的参数

①保留体积（retention volume）：流动相携带样品进入色谱柱，从进样开始，到某个组分在柱后出现浓度极大点时，所需要通过色谱柱的流动相的体积，用 V_R 表示。保留体积与保留时间及流动相流速有如下关系：

$$V_R = t_R F_c \tag{1-3}$$

式中，F_c 为流动相流速（mL/min）。流动相流速大，保留时间短，两者相乘为常数。因此 V_R 与流动相流速无关。

② 死体积（dead volume）：由进样器至检测器的流路中，未被固定相占有的空间称为死体积，用 V_M 或 V_0 表示。包括进样器至色谱柱导管的空间、色谱柱中固定相颗粒间间隙、柱出口导管及检测器内腔空间的总和。死体积和死时间及流动相流速有如下关系：

$$V_0 = t_0 F_c \tag{1-4}$$

死体积大，色谱峰扩张（展宽），柱效降低。死时间相当于流动相充满死体积的时间。

③ 调整保留体积（adjusted retention volume）：保留体积中扣除死体积后的体积，用 V'_R 表示。

$$V'_R = V_R - V_0 = t'_R F_c \tag{1-5}$$

V'_R 与流动相流速无关，是常用的色谱定性参数之一。

（3）相对保留值（relative retention value）

相对保留值是两组分的调整保留值之比，用 r 表示，有时也用 α 表示；也是色谱系统的选择性指标。组分 2 与组分 1 的相对保留值用下式表示：

$$r_{21} = \alpha = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{V'_{R_2}}{V'_{R_1}} \tag{1-6}$$

（4）保留指数（retention index）

将组分的保留行为换算成相当于正构烷烃的保留行为，即以正构烷烃系列作为组分相对保留值的标准，用两个保留时间紧邻待测组分的基准物质标定该组分，这个相对值称为保留指数，用 I 表示，又称 Kovats 指数。定义式如下：

$$I_x = 100\left[z + n\frac{\lg t'_{R(x)} - \lg t'_{R(z)}}{\lg t'_{R(z+n)} - \lg t'_{R(z)}}\right] \tag{1-7}$$

式中，I_x 为被测组分的保留指数，z 和 $z+n$ 为正构烷烃对应的碳原子数目；n 可为 1、2、3、…，通常为 1。

1.2.5　柱效参数

色谱峰区域宽度即色谱峰的宽度，是色谱峰的重要参数之一，可用于衡量色谱柱效（column efficiency）。区域宽度越小，柱效越好，表明分离效果越好。区域宽度可用标准差、半峰宽或峰宽三种方法来描述。

① 标准差 σ（standard deviation）：指正态色谱峰上两拐点间距离的一半，即正常色谱峰 0.607 倍峰高处峰宽的一半，见图 1-2。标准差的大小反映了组分流出色谱柱的离散程度，标准差越小，色谱峰越尖锐，说明组分流出色谱柱时越集中，分离效果越好。

② 半峰宽 $W_{1/2}$（peak width at half height）：峰高一半处的峰宽。半峰宽与标准差的关系为：

$$W_{1/2} = 2.355\sigma \tag{1-8}$$

③ 峰宽 W（peak width）：通过色谱峰两侧的拐点作切线（tangent line），在基线上的截距称为峰宽。峰宽与标准差或半峰宽的关系为：

$$W = 4\sigma \quad 或 \quad W = 1.699W_{1/2} \tag{1-9}$$

$W_{1/2}$ 与 W 都是由 σ 派生而来的，除用它们衡量柱效外，还用它们与峰高计算峰面积。

因此，一个组分的色谱峰可用三项参数来说明：峰高或峰面积用于定量分析；保留值用于定性分析；峰宽用于衡量柱效。

1.2.6　相平衡参数

色谱过程是物质在相对运动着的两相间分配平衡的过程。色谱分离是基于试样在固定相和流动相之间反复多次的分配过程，这种分配过程常用分配系数和容量因子来描述。

（1）分配系数（partition coefficient）

分配系数 K 指一定温度和压力下，达到分配平衡时，待分离组分在固定相和流动相中的浓度之比。可用式(1-10) 表示。

$$K = \frac{C_s}{C_m} \tag{1-10}$$

式中，C_s 为组分在固定相中的平衡浓度；C_m 为组分在流动相中的平衡浓度。

分配系数由温度、压力、被分离组分、固定相和流动相的性质决定。不同的物质分

配系数不同，这是色谱分离的前提，是组分的特征性常数。

(2) 容量因子 (capacity factor)

容量因子 k 指一定温度和压力下，达到分配平衡时待分离组分在固定相和流动相中的质量之比。可用式(1-11) 表示。

$$k=\frac{m_s}{m_m}=\frac{C_sV_s}{C_mV_m}=K\times\frac{V_s}{V_m} \tag{1-11}$$

式中，m_s为组分在固定相中的质量；m_m为组分在流动相中的质量；V_s为色谱柱中固定相的体积；V_m为色谱柱中流动相的体积。

容量因子不仅与组分和固定相、流动相的性质、温度、压力有关，还与固定相和流动相的体积有关系。

K 和 k 是两个不同的参数，但在表征组分的分离行为时，两者是完全等效的，都是衡量色谱柱对被分离组分保留能力的重要参数。

(3) 分配系数和容量因子与保留时间的关系

设流动相的线速度 (linear velocity) 为 u，组分的速度为 v，将 v 与 u 之比称为保留比 (retention ratio) R'。

$$R'=v/u$$

在定距展开柱色谱中，$v=L/t_R$，$u=L/t_0$，因此：

$$R'=v/u=t_0/t_R \tag{1-12}$$

死时间 t_0 近似于组分在流动相中的时间 t_m。而溶质分子只有出现在流动相中时才能随流动相前移，故保留比与溶质分子在流动相中的分数有关：

$$R'=\frac{t_m}{t_m+t_s}=\frac{N_m}{N_m+N_s}=\frac{C_mV_m}{C_mV_m+C_sV_s}$$

所以：

$$R'=1/(1+k) \tag{1-13}$$

由式(1-12) 和式(1-13) 得：

$$t_R=t_0(1+k)=t_0\left(1+K\times\frac{V_s}{V_m}\right) \tag{1-14}$$

式(1-14) 是色谱法的基本公式之一，称为色谱过程方程式 (chromatographic process equation)，说明保留时间与分配系数的关系。由此式可知，在色谱柱一定时，V_s 与 V_m 一定；若流速、温度一定，则 t_0 一定。这样 t_R 就取决于分配系数 K，K 大的组分 t_R 长。K 与温度、压力、组分的性质、流动相与固定相的性质有关。因此，在实验条件一定时，t_R 取决于组分的性质，因而 t_R 可用于组分的定性分析。

那么调整保留时间与分配系数和容量因子有何关系？

由式(1-14) 可知 $k=\dfrac{t_R-t_0}{t_0}=\dfrac{t'_R}{t_0}$ (1-15)

显然，组分的容量因子大，则表示组分有较长的保留时间。容量因子与柱效参数及定性参数密切相关，而且比分配系数易于测定，在色谱分析中一般用容量因子代替分配系数。因此容量因子也是在一定色谱条件下的定性参数。

(4) 容量因子不等是分离的先决条件

要想使两个组分通过色谱柱后能被分离，它们的保留时间必须不等，否则两者重叠（overlap）而不能分开。

由式(1-14) $t_R=t_0(1+k)$ 可知

$$\Delta t_R=t_{R_2}-t_{R_1}=t_0(k_2-k_1) \tag{1-16}$$

欲使 $\Delta t_R\neq 0$，必须使 $k_2\neq k_1$（或 $K_2\neq K_1$）。因此，容量因子（或分配系数）不等是分离的先决条件。

综上所述，当色谱条件一定时，t'_R 与 K 和 k 成正比。K 或 k 大，t'_R 长，说明组分在柱中滞留的时间长，晚出柱。由于混合物中各组分的分配系数不同，使得各组分在柱中滞留的时间不同，从而使混合物中有微小差别的组分得以分离。

1.2.7　分离参数

分离参数（separation parameter）包括分离因子和分离度。它们是描述相邻组分分离状态的重要指标。

（1）分离因子

分离因子（separation factor）是两种物质调整保留值之比，又称分配系数比或选择性系数（selectivity coefficient），以 α 表示。

$$\alpha=\frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}}=\frac{V'_{R_2}}{V'_{R_1}}=\frac{K_2}{K_1}=\frac{k_2}{k_1} \tag{1-17}$$

显然分离因子 $\alpha\neq 1$ 是色谱分离的前提条件（precondition）。

（2）分离度

分离度 R（resolution）是衡量色谱系统分离效能的总指标，评价待测组分与相邻组分之间的分离程度。通常用相邻两组分色谱峰保留时间的差值与两个色谱峰峰宽平均值的比值表示。如图 1-4，其大小可用式(1-18) 计算。

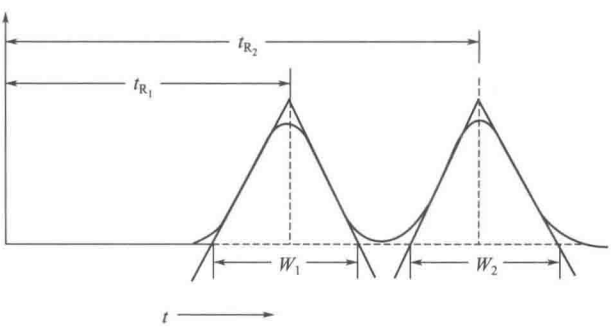


图 1-4　分离度的计算示意图

$$R=\frac{t_{R_2}-t_{R_1}}{(W_1+W_2)/2}=\frac{2(t_{R_2}-t_{R_1})}{W_1+W_2} \tag{1-18}$$

式中，t_{R_2} 为组分 2 的保留时间；t_{R_1} 为组分 1 的保留时间；W_1 为组分 1 的色谱峰的峰宽；W_2 为组分 2 的色谱峰的峰宽。

需要全本请访问 www.ertongbook.com