

第一章 绪论

1.1 精细化学品的范畴和发展

精细化学品是化学工业中用来与通用化工产品 & 大宗化学品相区别的一个专用术语，至今尚无严格的定义。一般认为，精细化学品是由初级和次级化学品进行深加工而制得的具有特定功能、特定用途的小批量生产的系列产品。大多数欧美国家将中国和日本所称的精细化学品又分为精细化学品和专用化学品。销售量小的化学型产品为精细化学品，强调的是其规格和纯度而不是特殊的功能和专用性；销售量小的功能型产品为专用化学品，强调的是其特殊的功能和专用性而不是规格和纯度。事实上，在欧美国家广泛使用专用化学品一词，很少使用精细化学品这个词，这可能是因为广泛使用的是大量的具有特殊功能的专用化学品而非精细化学品所致。

生产精细化学品的工业通称为精细化学工业，简称精细化工。精细化工是随人们生活水平的不断提高，科学技术的迅猛发展而从化学工业中分离出来的一支新兴产业。由于一些新的精细化工行业正在不断出现，且又与许多学科相互交叉，所以很难确定其准确的范畴。各国对精细化工范畴的规定有着一定的差别，而且在不同年代其范畴也是不同的。日本 1984 年版《精细化工年鉴》中共分为 35 个行业类别，而到了 1985 年就增加到 51 个类别。

中国为了统一精细化学品的生产范畴，调整产品的结构，1986 年原化学工业部首先对精细化学品的分类作了暂行规定，包括了 11 类产品：1) 农药，2) 染料，3) 涂料，4) 颜料，5) 试剂和高纯物，6) 信息用化学品，7) 食品和饲料添加剂，8) 粘合剂，9) 催化剂和各种助剂，10) 化学药品和日用化学品，11) 功能高分子材料。必须指出的是，上述分类并未包含精细化学品的全部，例如医药、酶、化妆品、精细陶瓷等。

近十几年来，精细化学品的发展之迅速，应用领域之广泛都是其他工业难以相比的。尤其是 20 世纪 70 年代“石油危机”以来，化工产品的精细化是发达国家化学工业发展的一个重要标志，已经形成了与基础化学工业相对应的诸多分支。除了传统的精细化工行业，如医药、染料、颜料、涂料、油墨、农药、香料、粘合剂、化妆品等进一步发展外，纸张化学品、汽车化学品、表面活性剂、油田化学品建筑材料化学品以及助剂工业都得到了极大的发展。据统计，仅抗氧剂的有关研究报道在 1990~1994 年间就有十多万篇。而近年来许多新兴的精细化工新领域也正在迅速地发展建立起来，尤其是在功能材料领域，包括光敏、热敏、压敏与光电磁材料、功能树脂、精密陶瓷、信息储存及传输材料、能量转换及储存材料、有机导体和半导体材料、以及医用高分子材料和智能材料等。由此可见，精细化工具有广阔的覆盖面，它是化学工业中最具生命力、最有前途的行业之一。

从世界范围来看，精细化学品在化学工业中是更新速度最快、技术含量最丰、附加价值最高的产品之一；同时技术垄断性强，新品种开发费用高，国内外竞争激烈，这使得精细化工在化学工业中成为发展最快的领域之一。发达国家化学工业的精细化率均已超过 50%，与国外相比，中国的精细化学品工业还处于初级发展阶段，化学工业的精细化率较低，1980 年时仅为 19%，1985 年上升到 23%。基于以上情况，原化学工业部计划建立一批以中小城市为

主的精细化工发展基地，并建立 100 个精细化工重点企业，以使得我国化学工业的精细化率在 2000 年达到 40%~45% 的水平。

精细化学品的发展史是与化合物的分离和分析技术的发展紧密联系的，在某种意义上甚至可以说就是化合物分离和分析技术的发展史，分离和分析技术及设备的每一次突破和飞跃，都促进了精细化学品的进一步发展。对于任何一种精细化学品，不管是合成的、复配的、抑或是天然提取的，如果不能分离并确定反应混合物中各组分的结构，复合物中各组分的含量；如果不能分离并确定天然产物中的有效成分，则此精细化学品就无法生产，或者不可能优化其生产工艺条件。例如，芳香化合物的氯化是农药、染料等生产中经常采用的反应，众所周知，它是一个经过 σ -配合物的两步历程，其重要的根据之一就是成功的分离并确定了其不稳定中间体 σ -配合物的结构；而且上述反应是一串联反应，如果没有相应的分离和分析方法，那就无法知道反应液的组成，也无法实现工业化生产。再如中草药的分离亦是如此。

总之，精细化学品的发展是极为迅速的，也是国民经济发展中不可或缺的部分；而分离和分析设备及技术对于精细化学品的发展至关重要，所以作为化学及化工工艺专业的学生，特别是学习精细化工类的学生，掌握并熟悉现代分离和分析设备及技术就是十分必要的。

1.2 分离和分析方法的发展史

有关分离的历史已很悠久。在早期的炼金术和范·海尔蒙时代，人们在长期的实践中就已经采用了简单的精馏、结晶、升华、沉降、过滤等分离技术。在化学发展的早期，由于人们对自然界中许多能刺激人们感官的物质产生兴趣，如天然色素、天然香料、尤其是炼金术和炼丹术等，于是人们就想方设法分离并确定这些化合物的结构。首先就是利用物质的物理和化学性质的不同而对不同的化合物进行分离与分析。例如，利用不同化合物的沸点、熔点、气味以及在一定溶剂中溶解度的不同进行分离和定性分析，从而就产生了精馏、重结晶、萃取的分离方法。当然这些传统的技术经过数百年，已发展成为现代的分离工程，例如现在的吸附精馏、膜精馏、分子精馏、膜分离、分步结晶等。这些分离方法在工业生产中已得到了广泛的应用，但是它们对于天然化合物的提出、微量化合物的分离则显得无能为力。因此这些分离方法不是本书要讨论的范畴。

在化学发展的早期，化合物的分析主要是通过分析燃烧和焙烧所产生的气体和固体来推测化合物的结构。到了 19 世纪末 20 世纪初，以德国的利比西和费歇尔为代表的化学家所采用的确定化合物结构的方法则是利用化合物的特征反应和降阶反应。例如，芳胺的重氮化和偶合反应。但是，对于一个未知的、复杂的或物化性质十分接近的体系，采用上述经典的分离和分析方法则很难达到目的。例如，合成哌嗪的反应混合物中，未反应的原料羟乙基乙二胺和副产品羟乙基哌嗪的熔点、沸点及其在各种溶剂中的溶解度均十分接近，其化学性质也十分相似，采用经典的方法来分离和分析此混合物是十分困难的。又如，在研究多烯酰基自由基环合生成甾族化合物的过程中，发现此反应给出的是性能十分接近的旋光异构体，如图 1-1 所示。只有采用了现代的分离和分析手段，才能给出准确结构的化合物^[1]。

为了解决上述难题，自 20 世纪初，许多化学家就致力于此领域的工作。1903 年俄国植物学家茨维特（Tswett）在研究分离叶绿素的过程中首次采用了色谱技术。事实上，色谱就是因为他用石油醚洗脱碳酸钙柱上的植物色素而形成的不同颜色的谱带而得名。从而发现了色谱技术。但遗憾的是，直到 1931 年库恩等人采用此技术再次成功地分离了胡萝卜素才引起人们的重视。随后人们根据不同的化合物在固定相上吸附作用的差别发现了吸附色谱；根据混合

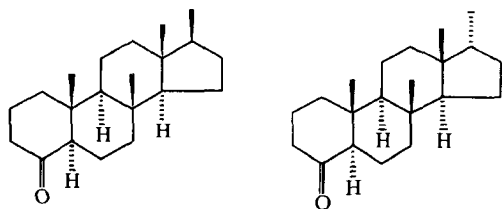


图 1-1

物各组分在两种互不相溶的液体中溶解度的差别发明了分配色谱等，如纸色层、薄板色层、柱层析、气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)、反相色谱、凝胶渗透色谱、离子交换色谱等。自此为有机化合物的有效分离开辟了一个新局面。在化合物的分析和结构确定方面，这曾经是经典有机化学中的重要内容之一。那时主要是通过被测化合物在一系列典型反应中的行为来推断它的结构，这就需要大量的试样，高度的智慧和技巧，以及大量的工作量。例如，鸦片中吗啡碱的分离、结构测定及合成，自 1805 年始历时近 60 年才得以完成。随着分析仪器和方法的发展，先后发明了紫外(UV)、红外(IR)和原子吸收光谱、质谱(MS)、X-射线衍射、元素分析等强有力的分析工具，借助化合物的物理性质来测定化合物的分子结构；更令人鼓舞的是 1946 年人们发现了核磁共振现象，并经过近 20 年的努力制造出了核磁共振(NMR)波谱仪。正是由于它的出现，使得化合物的分析与鉴定发生了翻天覆地的变化，并已成为了有机化合物分析中最基本、最有力的工具。从此以后在发达国家的实验室中 NMR、IR、MS 均成为基本的分析仪器。近些年来，分离和分析仪器的联用进一步提高了它们的应用范围，例如，GC-MS、HPLC-MS、IR-MS 等。

1.3 仪器分离与分析在精细化学品中的应用^[2]

精细化学品和专用化学品的应用非常广泛，涉及到人们日常生活的各个方面，且对于国民经济的发展影响很大，所以精细化学品和专用化学品的研究开发、生产以及产品质量标准的控制均是十分重要的。专用化学品既有单一化合物，也有混合物；既有人工合成的，也有天然提取的。无论是研究开发新的专用化学品品种，或是老品种的生产控制以及产品质量的检测，均涉及到精细化学品和专用化学品的分离与鉴定。例如， γ -丁内酯是一种重要的专用化学品，在国外普遍采用顺酐部分还原的工艺路线，在新工艺的研究开发过程中，可以采用 GC-MS 来分离和分析产品混合物中各组分的情况，并用气相色谱控制反应，就很容易得到反应的最佳工艺条件。

在国外发达国家的实验室中已普遍具备气相、液相和离子交换色谱，红外、紫外与可见、核磁、质谱、以及元素分析等仪器条件。所以，当今培养的学生至少应熟悉各种分离和分析设备的特点，尤其是能够解析各种谱图。一般而言，气相、液相和离子交换色谱是用于混合物的分离和含量分析；而红外、紫外与可见、核磁、质谱、以及元素分析则用于化合物的结构鉴定和定性分析。红外主要可用于化合物的官能团的确定，核磁可用于确定不同氢、碳的归属，质谱可用于确定化合物的相对分子质量、碎片的荷质比，元素分析主要用于确定化合物的实验式和检测化合物的纯度。

在确定一复杂化合物的结构时往往需要联合使用上述的分析仪器。对于某一样品，一般是先用分离仪器进行分离，制备出一定量的纯样品，然后再进行各组分的分析鉴定。例如，

脱模剂是光电二极管生产中必需的专用化学品，将除去溶剂前后的脱模剂采用红外光谱图进行分析比较，就不难发现溶剂的主要吸收峰为 710cm^{-1} 、 1082cm^{-1} 、 1380cm^{-1} 、 1442cm^{-1} 。可以初步推测溶剂为甲基氯仿，这与精馏得到的溶剂的分析相吻合。再据脱模剂的红外光谱图就可认为它是某种硅油化合物。又如，在研究无水哌嗪的过程中，采用色质联机分析反应混合物，发现在反应过程中除了生成主产品哌嗪外，还生成了其他的副产品，经与标准谱图比较，可以基本确定其结构，然后通过精馏、柱层析或液相制备色谱便得到各个组分，再经核磁和红外，就确定了在反应过程中主要生成羟乙基哌嗪和未反应的羟乙基乙二胺，以及少量的 1,2-二哌嗪基乙烷等副产品。这样就可以有的放矢地进行工艺条件的优化，从而得到了最佳的工艺条件。

中草药是中国重要的文化瑰宝，但由于其使用不便而难以向国外推广。为此，近些年来许多科技工作者积极的对此进行研究，以确定各种中草药中的有效成分，制成便以服用的新制剂。所以对中草药中有效成分的分离和分析确定，各种现代的分离和分析设备都是不可缺少的，尤其是在实验室的研究中。例如抗癌药物紫杉醇就首先是从紫杉树皮中经连续萃取，再经柱层析而分离得到的，然后经红外、核磁、质谱、元素分析等分析手段和核磁中特殊技术而确定了其结构。在 20 世纪 80 年代末以前，仅采用 ^{13}C 核磁共振技术探讨紫杉醇中碳的归属的学术论文就有数十篇。对于云南白药也曾有人进行了分离和分析。同样，对于化妆品、食品工业，分离和分析仪器也是十分重要的。

由于本书的目的旨在培养精细化工类和制药工程类的学生熟悉并能运用分离和分析仪器于科研与生产中，所以本书的内容主要包括：分离仪器（薄层、柱层析、气相和液相色谱等）的基本原理，主要用途和使用条件的选择，以及它们在精细化学品及医药工业中的应用；红外、紫外、核磁、质谱等分析仪器的基本原理，所获得谱图的解析，以及它们在精细化学品和医药领域的应用；同时还将涉及到某些仪器的联用，如色质联机、液质联机等新型分离和分析仪器。本书将尽力结合实际例子，以说明分离和分析对于精细化学品和医药工业的重要性。

参 考 文 献

- 1 Andrei Batsanov, Ligong Chen, G. Bryon Gill and Gerald Pattenden. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1996(1), 45~55; Ligong Chen, G. Bryon Gill and Gerald Pattenden. Tetrahedron Lett. . 1994. 35(16). 2593~2596
- 2 游效曾结构分析导论，北京：科学出版社，1980

第二章 现代分离方法

2.1 色谱法概述

分离科学是自然科学和应用科学的一个重要分支，化学的发展离不开分离科学。

分离科学中的各种分离方法，按其性质可以分为物理分离法和化学分离法两大类。物理分离法是以被分离对象所具有的不同物理性质为依据，采用合适的物理手段进行分离。这类方法中常用的有：气体扩散法，离心分离法，色谱分离法，过滤，萃取，精馏等。化学分离法主要按被分离的对象在化学性质上的差异，通过合适的化学过程使它们获得分离。这类方法常见的有：沉淀和共沉淀，溶剂萃取法，离子交换法等。在所有的这些分离方法中，色谱分离分析法是一种十分重要且很有效的分离技术。它也是一门新兴的学科，广泛应用于各个领域，如有机合成、精细化工、生理生化、医药卫生等。

色谱法是分离混合物、提纯物质以及结构同一性鉴定的有效方法之一。20世纪初由俄国植物学家 Tswett 创立。Tswett 让从绿叶中提取出来的色素石油醚溶液，通过一根填满碳酸钙的细长的玻璃柱，然后用纯净的石油醚加以冲洗，结果在玻璃柱内的植物绿叶色素就被分离成几个具有不同颜色的谱带，然后按谱带颜色对混合物进行鉴定分析。当时，Tswett 将这种分离方法命名为色谱法，分离出的谱带称为色谱。

色谱自从诞生后逐步发展完善。1935 年，Adams 和 Holmes 合成了离子交换剂并用于色谱分离，从而诞生了离子交换色谱。

1938 年，Izmailov 等将糊状氧化铝铺于玻璃板上形成薄层，以分析药用植物的萃取物，建立了薄层色谱法。

1941 年，Martin 和 Synge 设计了一个萃取容器，将乙酰化氨基酸从水相中萃取到有机相，使其离析出来。不久又用填充颗粒硅胶的色谱柱代替这种萃取器，奠定了液液分配色谱的基础。

1944 年，Consden 等人将纤维纸做成滤纸形式，利用毛细管作用使溶剂在滤纸上移动。由于混合物中各组分在两相中溶解度的差异使它们以不同速率穿过滤纸，从而得到分离。由此而创立纸色谱法。

1952 年，Jones 和 Martin 在惰性载体表面涂布一层薄而均匀的有机化合物液膜，并以气体作冲洗剂，从而产生了气-液色谱。

1953 年，Janak 根据某些固体物质能吸附气体而发展了气-固色谱法。

1959 年，Porath 和 Flodin 提出了大小排阻色谱法，其原理是基于柱内多孔填料对大小不同的分子具有选择渗透作用。

20 世纪 60 年代早期，Giddings 等将气-液色谱重要理论用于液相色谱，同时出现了高效能液相色谱填料。到 60 年代末，Kirkland 等研制了高效液相色谱仪。使液相色谱的分离效率和速度大大提高。

现在的色谱法是指这样的一种物理分离方法，它是根据不同的物质在由两相构成的体系中具有不同的分配系数而分离。当两相作相对运动时，这些物质也随流动相一起运动，并在

两相间进行多次反复的分配，这样就使得那些分配系数只有微小差别的物质在移动速度上能产生很大差别，从而使各组分达到完全分离（见图 2-1）。

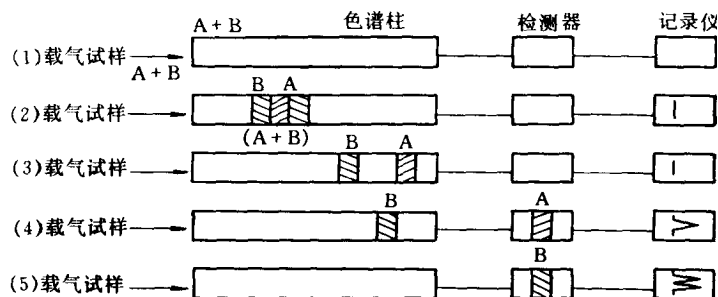


图 2-1 色谱分离示意图

2.1.1 色谱分析方法的分类

2.1.1.1 按两相状态分类

色谱中共有两相——固定相和流动相。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，用超临界流体作流动相的称为超临界流体色谱。若考虑到固定相的两种状态——固体吸附剂和载体固定液，则又可将色谱按两相状态分为五类：即气相色谱，包括气-固色谱和气-液色谱；液相色谱，包括液-固色谱和液-液色谱；以及超临界流体色谱。

2.1.1.2 按固定相性质分类

(1) 柱色谱 共分为两大类：一类是固定相装在一根玻璃或金属管内，称为“填充柱色谱”；另一类是固定相附在管子的内壁，中心是空的，称为“空心柱色谱”，或习称为“毛细管柱色谱”。

(2) 纸色谱 利用滤纸作为固定相，让样品溶液在纸上展开，根据纸上斑点的位置和大小进行鉴定和定量分析。

(3) 薄层色谱 将吸附剂研成粉末，在玻璃或瓷板上涂成薄薄一层，然后采取与纸色谱类似的操作方法。

(4) 棒色谱 类似薄层色谱，将吸附剂研碎后涂敷在石英棒上，再进行色谱操作。

2.1.1.3 按分离过程的物理化学原理分类

(1) 吸附色谱 利用吸附剂表面对不同组分具有的不同吸附能力，达到分离目的。

(2) 分配色谱 利用不同组分在给定的两相中具有不同的分配系数而使混合物实现分离与测定的方法。

(3) 其他色谱法 利用离子交换原理的离子交换色谱法；利用化学反应的反应色谱法；利用胶体的电动效应建立的电色谱（纸上电泳）法等。

2.1.1.4 按色谱动力学过程分类

按色谱动力学过程可分为冲洗法，顶替法（也叫排代法），迎头法（也称前沿法）。这种分类法并不常用。

2.1.2 色谱法和其他分析方法的比较

2.1.2.1 与经典的化学分析方法比较

化学分析方法是根据物质具有某种独特的化学性质来进行分析的方法。其特点是所用仪器简单、价廉、操作也不复杂，可进行同族、同系物的总含量测定（如滴定、氧化、还原等

方法), 对于单个组分的测定大都是准确可靠的; 但是难以测定化学性质迟钝或性质极为相近的复杂物质, 且有时费时很长。色谱法则具有高效、高选择与快速的特点, 能使许多化学性质相似的复杂组分相互分离。例如, 各种烃类异构体、光学对映体等, 用化学分析法难以分析, 用色谱法则可很好地分析分离。但如需测水中总酸度或气体中总含硫量等, 在不必将各组分分离的情况下, 采用化学分析法则更为方便。色谱法仪器较昂贵, 在定量时要做校正因子、校正曲线, 即使分析一个样品也要这样做, 因而比较费事, 而且难以分析腐蚀性或反应性较强的物质, 如 HF 、 O_3 、过氧化物等。在处理一些特殊样品的定性、定量工作中, 亦需与化学法结合起来才可解决, 如羧酸酯化, 羟基硅醚化等。

2.1.2.2 与光谱、质谱分析法比较

光谱、质谱主要为定性分析的工具, 色谱则主要是分离分析的工具。色谱法的最大优点是能分离、分析多组分混合物, 这是光谱、质谱法所不及的。一般色谱法的灵敏度与质谱法接近, 比光谱要高; 而色谱仪的价格比质谱与光谱仪要低。色谱法难以分析未知物, 如没有已知的纯样品或纯样品的色谱图与之对照, 则很难判断色谱峰所代表的组分; 而质谱仪能分析多组分混合物, 且可测定出未知物的相对分子质量。用光谱法可推测出未知物分子中所含的官能团。这些色谱法均难以做到。因而它们之间有一种互补作用, 可将色谱与质谱、光谱联用, 以更好地对未知物进行分析。

2.1.2.3 与精馏法比较

色谱柱的分离过程比精馏法快, 得到纯物质的纯度也比分馏法高, 但处理量小, 因而尚未能在工业上广泛应用。

2.1.2.4 与经典的物化常数测定法比较

气相色谱法设备简单, 操作方便, 可同时测定两种或多种物化常数相差微小的物质; 而经典的物化常数测定则需用纯物质, 同时手续多, 时间较长。但在用色谱法测定物化常数计算时需作一些简化假设, 如需假定载气与固定相不相互作用, 载体无吸附性等, 而且在作数学处理时需解一系列复杂的偏微分方程, 数学精度也较差。

2.2 色谱理论

在讨论色谱理论时, 一般以柱色谱为例。

2.2.1 分离原理^[1]

在色谱分析中, 当流动相携带样品通过色谱的固定相时, 样品分子与固定相分子之间发生相互作用, 使样品分子在流动相和固定相之间进行分配。与固定相分子作用力越大的组分向前移动速度越慢, 与固定相分子作用力越小的组分向前移动速度越快, 经过一定的距离后, 由于反复多次的分配 (柱色谱为 $10^3 \sim 10^6$ 次), 使原本性质 (沸点、极性等) 差异很小的组分之间也可得到很好的分离。

2.2.2 分配平衡

2.2.2.1 分配系数 (K)

在一定的温度和压力下, 当分配体系达到平衡时, 组分在两相中的浓度之比为一常数, 这个常数称为分配系数。即

$$K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度}}{\text{组分在流动相中的浓度}} = \frac{c_s}{c_m} \quad (2-1)$$

分配系数与组分和固定相的热力学性质相关, 随柱温而变化, 而与两相的体积无关。在

当色谱体系和分离对象给定以后， K 值便只与柱温相关，其关系为：

$$\ln K = -\frac{\Delta G^\ominus}{RT_c} \quad (2-2)$$

R ——气体常数；

 T_c ——柱温, K

2.2.2.2 分配比 (k)

分配比是指在一定温度和压力下，组分在两相间达到分配平衡时分配在固定相和流动相中的总量之比，即

$$k = \frac{c_s V_s}{c_m V_m} = K \frac{V_s}{V_m} \quad (2-3)$$

式中 V_s 与 V_m ——分别表示色谱中固定相与流动相的体积。

V_s 在不同类型色谱中的含义不同，分配色谱中指固定液体积，吸附色谱中为吸附剂表面积，离子交换色谱中为离子交换剂的交换容量。它是指真正参与组分在两相间分配的那一部分有效体积。

V_m 包括两个部分：一是在固定相颗粒间的流动相，是流动的；一是多孔固定相颗粒内部孔隙中的流动相，是静止的。

分配比是衡量分离体系对组分保留能力的重要参数，分配比不仅取决于组分和两相性质，而且与两相的体积相关。分配比越大，则停留在固定相中的分子数越多，组分移动得越慢。

2.2.3 色谱流出曲线

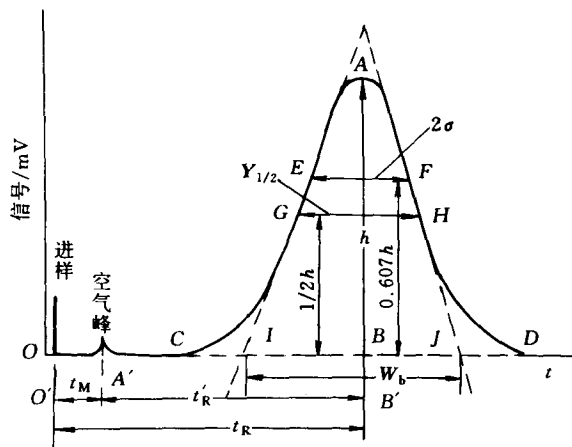


图 2-2 色谱流出曲线图

样品进入色谱柱后在色谱柱的两相之间反复多次分配而彼此分离，分离后的组分依次离开色谱柱进入检测器而形成了色谱流出曲线图。色谱流出曲线图是以组分的浓度或质量变化为纵坐标、以出峰时间为横坐标的，如图 2-2 所示。

2.2.3.1 基线

在只有流动相通过检测器时所得到的信号。通常为一水平线，如图中OC线。

2.2.3.2 峰

当流动相含有组分时通过检测器所得到的信号,对峰的描述主要有峰宽、峰高、半峰宽。

- (1) 峰宽(W_b) 峰两侧曲线在拐点作切线而在基线上相交的线段, 如图中 IJ 。
- (2) 峰高(h) 峰最高点至峰底的垂直距离, 以 h 表示, 如图中 AB 。
- (3) 半峰宽($Y_{1/2}$) 峰高的一半处峰的宽度, 如图中 GH 。
- (4) 标准偏差 σ : 0.607 倍峰高处色谱峰宽的一半, 如图中的 $1/2EF$

2.2.3.3 保留值

保留值是色谱定性的主要依据,主要包括以下方面。

(1) 死时间(t_M) 惰性物质(与固定相无相互作用的物质)从进样开始到出现峰极大值时所需的时间,如图中 $O'A'$ 。

(2) 保留时间(t_R) 试样组分从进样开始到出现最高峰时所需的时间称为保留时间,如图中 $O'B'$ 。

(3) 调整保留时间(t'_R) 扣除了死时间的保留时间称为调整保留时间,如图中 $A'B'$ 。

$$t'_R = t_R - t_M \quad (2-4)$$

(4) 死体积(V_M) 色谱柱中未被固定相占据的空隙体积,包括进样器和检测器的空间体积及从进样器到柱和从柱到检测器的连接管路的体积。死体积由下式计算:

$$V_M = t_M \cdot F_c \quad (2-5)$$

式中 F_c ——柱压与柱温下校正后的流动相体积流速, ml/min。

(5) 保留体积(V_R) 从进样开始到试样色谱峰出现最高点时所流过的流动相的体积。即

$$V_R = t_R \cdot F_c \quad (2-6)$$

V_R 是一个与流动相流速无关的参数。

(6) 调整保留体积(V'_R) 调整保留体积是扣除了死体积后剩下的保留体积。即

$$V'_R = V_R - V_0 = (t_R - t_M) F_c \quad (2-7)$$

(7) 相对保留值(r_{12}) 色谱中采用一种物质为标准,其他物质的调整保留值对此标准物质的调整保留值的比值,称为相对保留值。即

$$r_{12} = \frac{t'_{R1}}{t'_{R2}} = \frac{V'_{R1}}{V'_{R2}} \quad (2-8)$$

式中下标 1 表示其他组分,下标 2 表示被约定的标准物。

(8) 保留指数(I) 保留指数是国际上公认并广泛使用的定性指标,是以紧接组分的两个正构烷烃为基准进行计算的:

$$I_X = 100 \times \frac{\lg t'_{RX} - \lg t'_{Rn}}{\lg t'_{R_{n+1}} - \lg t'_{Rn}} + n \quad (2-9)$$

式中 I_X ——被测物 X 的保留指数;

t_{RX} ——被测物 X 的调整保留时间;

t'_{Rn} ——具有 n 个碳原子的正构烷烃的调整保留时间;

$t'_{R_{n+1}}$ ——具有 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃的调整保留时间;

n ——正构烷烃的碳原子数。

2.2.4 色谱法基本理论

色谱理论研究的主要目的是解释色谱流出曲线的形状;探求影响色谱区域宽度扩张的因素和机理,从而为获得高效能色谱柱系统提供理论上的指导。

最早出现的色谱理论是 1940 年 Wilson 提出的平衡色谱理论,这种理论对于谱线移动的速度和非线性分配等温线时的流出曲线形状能给予较好的说明;但该理论忽略了传质速率有限性与物质分子纵向扩散性的影响,因而对在线性色谱条件下区域扩张的现象不能给予解释。

1941 年 Martin 和 Synge 在色谱中引入理论塔板的概念。在该理论中他们将色谱过程比作精馏

过程，在色谱柱足够长，理论塔板高度足够小，分配等温线呈线性的情况下，对色谱流出曲线分布和谱带移动规律以及柱长和理论塔板高度对区域扩张的影响均等给予了近似说明。但塔板理论只是一个半经验理论，对影响理论塔板高度的各种因素未从本质上考虑。

首次揭露影响色谱区域宽度内在因素的是纵向扩散理论和速率理论。其后随着对色谱过程研究的深入，在气相色谱方面又出现了同时考虑传质速率和纵向扩散影响的 Van Deemter 方程式及进一步考察径向扩散的 Golay 毛细管色谱方程式等。而在液相色谱方面，根据其特点也提出了一些理论，更深入地揭露色谱本质，如 Horvath 和 Lin 根据间隙流滞流体模型导出描述液固色谱塔板高度关系式等。

这里主要介绍塔板理论和速率理论。

2.2.4.1 气相色谱法理论

(1) 塔板理论 该理论是在将色谱柱与精馏塔类比的基础上提出的半经验式的理论。它设想色谱柱是由若干小段组成，在每一小段内，一部分空间为固定相占据，另一部分空间充满流动相。组分随流动相进入色谱柱后，就在两相间进行分配而达到分配平衡。经过多次分配平衡，达到分离的目的。塔板理论是建立在如下假设的基础上的^[2]：

- a. 假设物质在一小段内两相之间能够很快达到平衡，这样的一个小段称作一个理论塔板，一小段的长度称作理论塔板高度，用 H 来表示；
- b. 假设流动相通过色谱柱时不是连续式而是脉冲式；
- c. 假设流动相不可压缩；
- d. 组分在开始时均存在于第零块塔板上；
- e. 物质分配系数不随浓度而变，同时忽略纵向分子扩散；
- f. 假设柱内各处塔板高度 H 为常数。

塔板理论中柱效率可用理论塔板数 n 或理论塔板高度 H 表示。柱效率的高低反映组分在柱内两相间的分配情况和组分通过色谱柱后峰加宽的程度。在实际应用中柱效率用有效塔板数和有效塔板高度表示。

①理论塔板数和理论塔板高度 由塔板理论可导出理论塔板数 n 的计算公式为：

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{Y_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 \quad (2-10)$$

式中 t_R 也可用 V_R 或 d_R (长度) 代替。由于 n 为无因次量，因而 $Y_{1/2}$ 、 W_b 也应采用相应的时间、体积、长度单位。

对于一根长为 L 的色谱柱，其理论塔板高度为：

$$H = \frac{L}{n} \quad (2-11)$$

对于长度相同的色谱柱，理论塔板高度 H 越小，理论塔板数 n 就越多，组分在柱内达到分配平衡的次数就越多，色谱柱效率就越高，色谱峰就越窄，峰形越对称。

②有效塔板数和有效塔板高度 由于理论塔板数 n 在计算时采用的是保留时间，未将不参加柱中分配的死时间扣除，因而往往使理论塔板数与理论塔板高度不能真实地反映色谱柱的分离效能。为此采用有效塔板数和有效塔板高度来表示柱效率。

$$n_{\text{有效}} = 5.54 \left(\frac{t'_R}{Y_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t'_R}{W_b} \right)^2 \quad (2-12)$$

$$H_{\text{有效}} = \frac{L}{n_{\text{有效}}} \quad (2-13)$$

由此可得理论塔板数与有效塔板数关系：

$$n_{\text{有效}} = \left(\frac{k}{1+k} \right)^2 n \quad (2-14)$$

其中

$$k = \frac{t_R'}{t_M}$$

塔板理论在解释流出曲线的形状，色谱峰极大点的位置及计算评价柱效率的塔板数等方面是有效的。但它不能反映塔板高度的实质，不能找出影响塔板高度的因素，也不能说明色谱峰为何会扩展，难以解释在不同流速下测得的理论塔板数为何不同，更无法提出降低塔板高度的措施。

(2) 速率理论^[3] 该理论是 1956 年荷兰学者 Van Deemter 等人在研究气液色谱时提出的色谱过程的动力学理论。它是在吸收了塔板理论中塔板高度概念的同时，考虑了影响塔板高度的动力学因素，指出理论塔板高度是峰展宽的量度，导出了塔板高度 H 与载气线速度 u 的关系式。即

$$H = A + B/u + C_g u + C_L u \quad (2-15)$$

式中 A ——涡流扩散项；

B/u ——分子纵向扩散项；

$C_g u$ ——气相传质阻力项；

$C_L u$ ——液相传质阻力项；

u ——载气线速度，cm/s。

此关系式被称为速率理论方程式，简称为范氏方程。

由于降低塔板高度 H 是提高柱效率、减少色谱峰扩展的有力途径，因而尽力减小关系式中各项的数值就很必要。下面分别讨论各项的意义。

① 涡流扩散项 A 对 H 的影响 涡流扩散项 A 与固定相颗粒大小及填充的均匀性有关：

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

式中 λ ——填充不规则因子；

d_p ——填充物颗粒的平均直径。

当流动相随组分通过色谱柱时，随时会碰到固定相而改变流动方向，使组分在流动相中形成紊乱的类似“涡流”的流动。由于填充物颗粒大小的不同以及填充的不均匀性，使得组分分子在通过填充柱时的路径长短不同，结果同一组分的不同分子在柱内停留的时间不同，到达检测器的时间也有先有后，从而造成了色谱峰的展宽，如图 2-3。

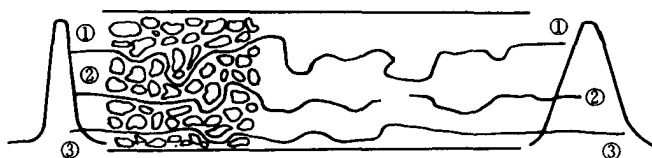


图 2-3 涡流扩散对峰展宽的影响

①②③—分别为组分分子通过填充柱时的三种不同路径

为了减小涡流扩散，应选用形状一致（最好为球形）、大小均匀（在 10 目范围内）的细粒填充物，色谱柱要装得均匀。

② 分子扩散项 (B/u) 在气相色谱操作中，样品被注入柱内是以塞子的形式存在于柱内

的某一段空间，这时在塞子前后沿轴的方向存在着浓度梯度，使组分由高浓度向低浓度方向扩散，引起色谱峰的扩展，称为纵向分子扩散。其计算为：

$$\frac{B}{u} = \frac{2rD_g}{u} \quad (2-17)$$

式中 D_g ——组分分子在载气中的扩散系数， cm^2/s ；

r ——弯曲因子，表示组分在柱中流路弯曲的情况 填充柱 $r=0.5\sim 0.7$ ，无填充物的空心柱 $r=1$ ；

B ——分子扩散项系数。

组分分子在载气中的扩散系数 D_g 与组分的性质、载气的性质、组分在气相中的停留时间及柱温等因素有关。组分的相对分子质量越大， D_g 就越小；载气的相对分子质量大， D_g 也小。 D_g 随柱温升高而增大。

③气相传质阻力项对 H 的影响 在气液填充色谱柱中，气相传质阻力是由于组分从气相移动到气液两相界面进行浓度分配时形成的。

$$C_g u = \frac{0.01k^2}{(1+k)^2} \cdot \frac{d_p^2}{D_g} \cdot u \quad (2-18)$$

式中 k ——分配比；

d_p ——填充物颗粒直径；

D_g ——组分在气相中的扩散系数；

u ——载气线速度；

C_g ——气液传质阻力系数。

从气相到气液界面所需时间越长，则传质阻力就越大，引起色谱峰的扩展越严重。

由于气相传质阻力与填充物颗粒直径的平方成正比，与组分在气相中的扩散系数成反比，因此采用粒度小的填充物和相对分子质量小的气体（如 H_2 ）作载气，可减小 C_g ，提高柱效。

④液相传质阻力项对 H 的影响 液相传质阻力是指组分从固定液的气液界面移动到固定液内部达到分配平衡后，又扩散到气液界面的传质过程中组分分子所受到的阻力。

$$C_L u = \frac{2}{3} \frac{k d_i^2}{(1+k)^2 D_L} \cdot u \quad (2-19)$$

式中 D_L ——组分分子在液相中的扩散系数；

d_i ——固定液的液膜厚度；

C_L ——液相传质阻力系数。

从式中可以看出，液相传质阻力与固定相的液膜厚度 d_i 成正比，与组分分子在固定液内的扩散系数 D_L 成反比。因此使用固定液与担体比例低的色谱柱，可降低液膜厚度，减小组分分子在固定液中传质所受的阻力，也可适当降低柱温，降低固定液的粘度，提高组分在固定液中的扩散系数，达到减小液相传质的目的。

当固定液含量较高、液膜较厚、载气流速为中等线速度时，塔板高度主要受液相传质阻力系数 C_L 的控制。此时气相传质阻力系数 C_g 值很小，可以忽略。而当采用低固定液含量和高载气线速度进行分析时，气相传质阻力系数就会成为影响塔板高度的重要因素。

⑤载气线速度 u 对 H 的影响 在进行色谱分析时，如果柱温和进样量一定，则 A 、 B 、 C_g 、 C_L 四项均不变，柱效率的高低取决于载气的流速。图 2-4 是塔板高度与载气线速度的关系图。

曲线上最低点所对应的流速叫最佳流速（ $u_{\text{最佳}}$ ），对应的板高称为最小板高（ $H_{\text{最小}}$ ）。 $H_{\text{最小}}$

可由式 (2-15) 对 u 微分求得：

$$-\frac{B}{u^2} + (C_g + C_L) = 0$$

因此

$$u_{\text{最佳}} = \sqrt{\frac{B}{C_g + C_L}}$$

而

$$H_{\text{最小}} = A + 2\sqrt{B(C_g + C_L)}$$

当载气流速控制在 $u_{\text{最佳}}$ 时，板高最小，柱效率最高。然而为了缩短分析时间，可将载气流速调整到略高于 $u_{\text{最佳}}$ 。

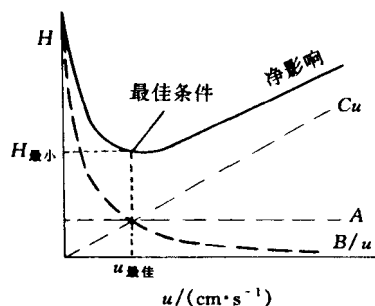


图 2-4 气相色谱的 $H-u$ 曲线

图中 $Cu = (C_g + C_L)u$

2.2.4.2 液相色谱理论^[4]

高效液相色谱法完全沿用了气相色谱法的概念和理论，如保留参数、柱效率、理论塔板数、分离度等概念以及塔板理论和速率理论。液相色谱也可用范氏方程来研究峰的变宽。液相色谱用液体做流动相，与气相色谱的气相相比，其特点是：液体的扩散系数只有气体的 $1/10^4$ 至 $1/10^5$ ；而密度大约比气体大 1000 倍，这导致气相色谱与液相色谱分析过程的不同。

速率理论对色谱峰的扩展及色谱分离的影响可讨论如下。

(一) 液相色谱的速率方程

$$H = 2\lambda d_p + \frac{C_d D_m}{u} + \frac{\phi d_p^2}{D_m} \cdot u + C_s \frac{d_i^2}{D_s} \cdot u + C_{sm} \frac{d_p^2}{D_m} \cdot u \quad (2-20)$$

(1) 涡流扩散项 $2\lambda d_p$ 式中 λ 为填充因子， d_p 为填料直径。液相色谱的涡流扩散项含义与气相色谱相同，它与载液流速无关。若柱子装填均匀，填料的颗粒也均匀，那么 λ 值小， H 值就小，柱效率高；若装填不均匀， λ 值大， H 值增大，柱效率低，色谱峰变宽。

(2) 纵向扩散项 $\frac{C_d D_m}{u}$ 式中 D_m 为分子在流动相中的扩散系数， C_d 为一常数。纵向扩散相是当试样分子在色谱柱内被流动相带向前时，由分子本身运动所引起的纵向扩散会引致色谱峰的扩展。由于分子在液体中的扩散系数比气体中要小 4~5 个数量级，因而在液相色谱中纵向扩散项是可以忽略的。

(3) 传质阻力项 传质阻力项包括固定相传质阻力项和流动相传质阻力项。

① 固定相传质阻力项 $C_s \frac{d_i^2}{D_s} \cdot u$ 式中 d_i 为固定相的平均膜厚， D_s 为溶质分子在固定相中的扩散系数， C_s 为常数。被分离组分随载液流经色谱柱时，一些分子会深深地渗入固定相中，分子的进出耗费时间长，沿柱子下移距离短。反之，一些分子较浅地渗入固定相，分子在颗粒的孔隙中停留时间短，出来后沿柱子下移的距离长，引起色谱峰变宽。在高效液相色谱中， d_i 一般很小，此项可忽略。

② 流动相传质阻力项 包括流动的流动相中的传质阻力项和滞留的流动相中的传质阻力项。

a. 流动的流动相中的传质阻力项 $\frac{\phi d_p^2}{D_m} \cdot u$ ，式中 C_{sm} 为柱系数，是容量因子的函数； D_m 为分子在流动相中的扩散系数； u 为流动相速度，被分离组分在同流路的不同位置具有不同的流速，靠近颗粒的载液流动慢，分子移动距离短，相反，在流路中间的分子移动距离长，会造成色谱峰变宽。

b. 滞留的流动相中的传质阻力项 $C_{sm} \frac{d_p^2}{D_m} \cdot u$, 式中 C_{sm} 为柱系数, 它与流动相在固定相颗粒孔中所占的分数及容量因子有关。一些流动相会

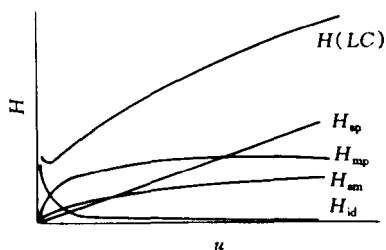


图 2-5 液相色谱的 $H-u$ 曲线

H_{id} ——纵向扩散相 $\frac{C_d D_m}{u}$;

H_{mp} ——流动的流动相中的传质阻力项 $\frac{\phi d_p^2}{D_m} \cdot u$;

H_{sm} ——滞留的流动相中的传质阻力项 $C_{sm} \frac{d_p^2}{D_m} \cdot u$;

H_{sp} ——固定相传质阻力项 $C_s \frac{d_f^2}{D_s} \cdot u$

滞留在固定相颗粒的孔内, 某些分子在滞留的流动相中扩散距离近, 能较快地从孔中再扩散出来回到流动相中, 沿柱下移较长的距离。另一些分子在滞留的流动相中扩散距离远, 从孔中出来较慢, 沿柱下移距离短, 造成峰的变宽。若担体颗粒大, 则微孔深, 传质速率就小, 色谱峰变宽就严重。一般应采用颗粒小、微孔浅、孔径大的担体。

(二) 液相色谱的 $H-u$ 曲线

从图 2-5 看出, 液相色谱的 $H-u$ 曲线与气相色谱的 $H-u$ 曲线明显不同。在气相色谱的 $H-u$ 曲线中, 有一个 $u_{最佳}$, 对应一个 $H_{最小}$, 当载气流速小于 $u_{最佳}$ 时, 分子扩散显得很突出, 柱效率明显下降, 谱峰严重变宽。对液相色谱来讲, 流动相的流速愈小, H 值逐渐减小, 柱效率提高, 但很难找出 H 的极小值, 因为在很小的流速下, 分子扩散不明显, 对 H

没什么影响。另外, 液相色谱的 $H-u$ 曲线比较平坦, 可以使用较高的流速, 柱效率损失不大, 有利于实现快速分离。

2.2.5 色谱分析

2.2.5.1 分离度

(1) 定义 分离度 R 是色谱柱总分离效率的指标。它表明了两种难分离的组分通过色谱柱后能否被分离, 两组分形成的峰距离的远近以及色谱柱的柱效率等。

分离度定义为相邻两色谱峰保留值之差与两峰底宽度总和的一半的比值, 即

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2} \quad (2-21)$$

式中 t_{R2} 、 t_{R1} ——分别为组分 2 和组分 1 的保留时间;

W_2 、 W_1 ——分别为组分 2 和组分 1 的峰宽。

组分的保留值与峰底宽度要采用相同的计量单位。

R 值越大, 表明相邻两组分分离得越好。一般而言, $R < 1$ 时, 两峰会有部分重叠, $R = 1$ 时, 两峰稍有重叠, $R > 1.5$ 时, 两峰才能完全分离。见图 2-6。

当峰形不对称或两峰稍有重叠时, 测量峰底宽度比较困难, 可用半峰宽代替, 此时:

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{Y_{1/2(1)} + Y_{1/2(2)}} \quad (2-22)$$

式中 $Y_{1/2(1)}$ 、 $Y_{1/2(2)}$ ——分别为组分 1 和组分 2 的半峰宽。

(2) 分离度与柱效率和选择性的关系 分离度 R 综合考虑了色谱的选择性和柱效率两方面的因素。

衡量柱效率的指标是 $n_{有效}$ 或 $H_{有效}$, 它表明了柱效率的高低, 即色谱峰的扩展程度, 却反映不出两种组分直接分离的效果。选择性以两个难分离物质的相对保留值 r_{21} 表示。它体现了

固定液对难分离物质对的选择保留作用， r_{21} 越大，两组分分离得越好，但它不能反映柱效率的高低。

分离度 (R) 与柱效率 ($n_{\text{有效}}$) 和选择性 (r_{21}) 关系为：

$$n_{\text{有效}} = 16R^2 \left(\frac{r_{21}}{r_{21} - 1} \right)^2 \quad (2-23)$$

分离所需柱长计算为：

$$L = 16R^2 \left(\frac{r_{21}}{r_{21} - 1} \right)^2 H_{\text{有效}} \quad (2-24)$$

2.2.5.2 色谱定性分析

气相色谱定性的方法可分为两类：一类是将未知组分保留值作为定性的标准来鉴别；另一类是将色谱数据与从其他仪器方法或化学方法获得数据加以比较鉴别。

(一) 利用保留值定性

(1) 利用已知物对照定性 在固定相和操作

条件不变时，将已知物的保留值与未知组分的保留值进行比较，若二者相同，则可判断未知组分可能是该已知物。采用这种方法的前提是对样品的组成有比较清楚的了解，同时还要获得需要定性的已知物。

(2) 利用加入已知物增加峰高定性 测定时首先作出未知样品的色谱图，然后将已知物直接加入未知样品中得色谱图。将两色谱图比较，则峰高增加的组分可能为该已知物。这种方法一般适用于相邻两组分的保留值接近且操作条件不稳的情况。

(3) 利用相对保留值和保留指数定性 当色谱的填充密度、固定液配比、载体惰性、柱使用时间长短以及其他操作条件有差异时，即使固定相相同，同一组分的保留值也会不同。为消除许多实验条件不一致而造成的误差，一般采用相对保留值来定性。

相对保留值 r_{12} 是指组分 1 与基准物 2 的调整保留值的比值。即

$$r_{12} = \frac{t'_{R1}}{t'_{R2}} = \frac{V'_{R1}}{V'_{R2}} \quad (2-25)$$

许多色谱手册上均列有相对保留值的数据以供使用。通常选用与被测组分保留值相近的物质作基准物。如正丁烷、正戊烷、苯、对二甲苯、环己酮等。

利用保留指数定性可以不使用纯物质，而是利用文献上发表的数据。利用保留指数定性的准确度和重现性较好，误差小于 1%。但在测定保留指数时一定要重现文献上的实验条件（如柱温）、固定液及其配比、载体等，而且要用已知组分验证在该条件下所测得的保留指数与文献值的吻合程度。现在利用保留指数定性已成为国际上公认的定性指标。

(4) 利用多柱定性 不同组分有可能在同一柱上具有相同的保留值，因此未知组分与已知物的保留值一致，以致难以进行定性分析。而在复杂样品中经常会有许多性质类似的组分，它们具有相同或相近的保留值。利用双柱或多柱进行同一样品的分离，使原来具有相同保留值的组分可能以不同保留值出现，然后进行定性分析，这就叫多柱定性。

(二) 其他方法

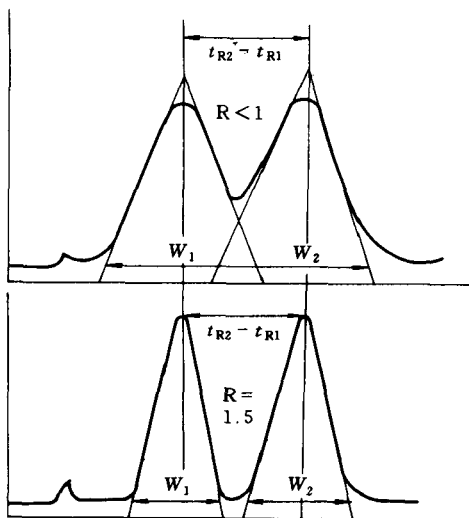


图 2-6 分离度示意图

(1) 利用选择性检测定性 选择性检测器是指在相同条件下，它对两类物质的响应值之比至少是 10 : 1，即对某类物质特别敏感，响应值很高。常见的有：电子捕获（对电负性物质敏感）、火焰光度（对含硫、磷物质敏感）、碱盐离子化（对含氮、磷物质敏感）等检测器。使用时可将一种选择性检测器与另一种非选择性检测器平行安装，让柱后流出物分为两部分分别输入两个不同检测器中，对所得到的两个不相同的色谱图进行对照鉴定。

(2) 色谱与其他仪器的联用 色谱与质谱、红外光谱等仪器联用，可对组分进行高效的定性分析。

色谱的突出特点是分离能力强、效率高；但对复杂的混合物的鉴定则较为困难。而质谱、红外光谱等仪器的特点是鉴别能力强，适合于单一组分的定性分析；但对复杂混合物既无分离能力，也无鉴别能力。因而利用色谱-质谱联机或色谱-红外联机，既发挥了色谱仪的高效分离能力，又充分利用了质谱、红外光谱的高鉴别能力。现在，这种方法已成为剖析复杂未知物的最有效的近代分析手段。

2.2.5.3 色谱定量分析

色谱定量分析的依据是：在一定的操作条件下被测组分的质量或在载气中的浓度与它在检测器上产生的响应信号（峰面积或峰高）成正比，可用下式来表示：

$$m_i = f_i A_i \quad (2-26)$$

或

$$m_i = A_i / S_i$$

式中 m_i ——被测组分 i 的质量；

A_i ——被测组分 i 的峰面积；

f_i ——被测组分 i 的绝对质量校正因子，即单位峰面积所代表的物质质量；

S_i ——被测组分 i 对检测器的绝对灵敏度。

数值上

$$S_i = 1/f_i \quad (2-27)$$

灵敏度也被称为响应值或应答值。

显然，进行定量分析时首先要准确测定峰面积（或峰高），测定校正因子，然后选择合适的定量计算方法进行计算。

(一) 峰面积的测量方法

峰面积的测量方法分为近似测量法和真实峰面积测量法。

(1) 近似测量法一般有三种情况。

① 峰高乘半峰宽法 当色谱峰呈现正态分布时，其峰面积近似等于峰高乘半峰宽，即

$$A = h Y_{1/2} \quad (2-28)$$

这样求得的峰面积偏低，实际峰面积应为：

$$A = 1.065 h \cdot Y_{1/2} \quad (2-29)$$

式中 A ——峰面积， cm^2 ；

h ——峰高， cm ；

$Y_{1/2}$ ——半峰宽， cm 。

在相对计算时，1.065 可略去。此法不适用于不对称峰、很窄或很小的峰。

② 峰高乘平均峰宽法 此法适用于不对称峰，在峰高的 15% 和 85% 处分别测出该处峰的宽度，取平均值与峰高相乘而得到峰面积。

$$A = \frac{1}{2} (Y_{0.15} + Y_{0.85}) \cdot h \quad (2-30)$$

③峰高乘保留时间法 此法适用于一些比较拥挤或狭窄的峰。

由于在一定操作条件下, 同系物的半峰宽与保留时间成正比, 即

$$Y_{1/2} = b t_R \quad (2-31)$$

因此

$$A = h b t_R$$

式中 b ——常数。

当样品中各组分含量相差很大及不属于同系物的峰时, 不可用此法。

(2) 真实峰面积测量法 常用第二种方法。

①剪纸称重法 用剪刀将色谱峰沿峰曲线剪下来, 分别在分析天平上称重, 以每个峰的质量替代峰面积, 此法少用。

②数字积分仪法 使用数字积分仪对峰面积进行测量计算, 快速准确。

(二)校正因子

色谱定量分析的基础是峰面积与被测物质成正比, 但由于峰面积的大小与物质的性质有关, 因此同一种检测器对同一质量的不同物质产生的峰面积往往不相等, 这样就不能直接利用峰面积计算物质的含量, 必须对峰面积进行校正, 因此引入校正因子的概念。

(1) 绝对校正因子 是指某组分通过检测器的量与检测器对该组分的响应信号的比值, 对于组分 i 其绝对校正因子 f_i 为:

$$f_i = \frac{m_i}{A_i} \quad (2-32)$$

(2) 相对校正因子 是某物质的绝对校正因子与某标准物质的绝对校正因子的比值。

$$f'_i = \frac{f_i}{f_s} \quad (2-33)$$

式中 f'_i ——被测物质的相对校正因子;

f_i 、 f_s ——分别为被测物质与标准物质的相对校正因子。

相对校正因子表示方法, 分为以下几种:

①相对质量校正因子 ($f'_{(m)}$)

$$f'_{(m)} = \frac{f_{i(m)}}{f_{s(m)}} = \frac{A_s m_i}{A_i m_s} \quad (2-34)$$

式中 m_i 、 m_s ——分别为被测物质与标准物质的质量;

A_i 、 A_s ——分别为被测物质与标准物质的峰面积。

②相对摩尔校正因子 (f'_M)

$$f'_M = \frac{f_i(M)}{f_s(M)} = \frac{A_s m_i M_s}{A_i m_s M_i} = f'_m \frac{M_s}{M_i} \quad (2-35)$$

式中 M_i 、 M_s ——分别为被测物质和标准物质的摩尔质量。

③相对体积校正因子 (f'_V)

$$f'_V = \frac{f_{i(V)}}{f_{s(V)}} = \frac{A_s m_i M_s \times 22.4}{A_i m_s M_i \times 22.4} = f'_M \quad (2-36)$$

相对校正因子通常可由文献查出, 也可通过测定得出。在分析天平上准确称量被测组分与标准物质, 混合均匀后进样, 测量对应的峰面积, 然后按式 (2-32)、式 (2-33) 计算。

(3) 相对响应 相对响应值 S'_i 是指物质 i 与标准物质 s 的响应值之比。 S_i 与 f'_i 互为倒数,