



# 第十章 色谱分析导论

---

## 10.1 色谱法及其分类

### 10.1.1 色谱法

- 色谱法是一种分离分析方法，它是利用各物质在**两相中具有不同的分配系数**，当两相作相对运动时，这些物质在两相中进行多次反复的分配来达到分离的目的。



## 10.1.2 分类

---

### 1. 按两相状态分类

- 流动相：气相色谱、液相色谱、超临界流体色谱
- 固定相：气—固、气—液；液—固、液—液

### 2. 按分离原理分类

- 分配色谱：根据不同组分在固定液中溶解度的大小而分离
- 吸附色谱：根据不同组分在吸附剂上的吸附和解吸能力的大小而分离
- 离子交换色谱：不同组分对离子交换树脂的亲合力不同
- 凝胶色谱：依据分子几何尺寸大小不同进行分离



---

### 3. 按固定相的形式分类

- 柱色谱：填充柱色谱、毛细管色谱
- 平板色谱：纸色谱、薄层色谱

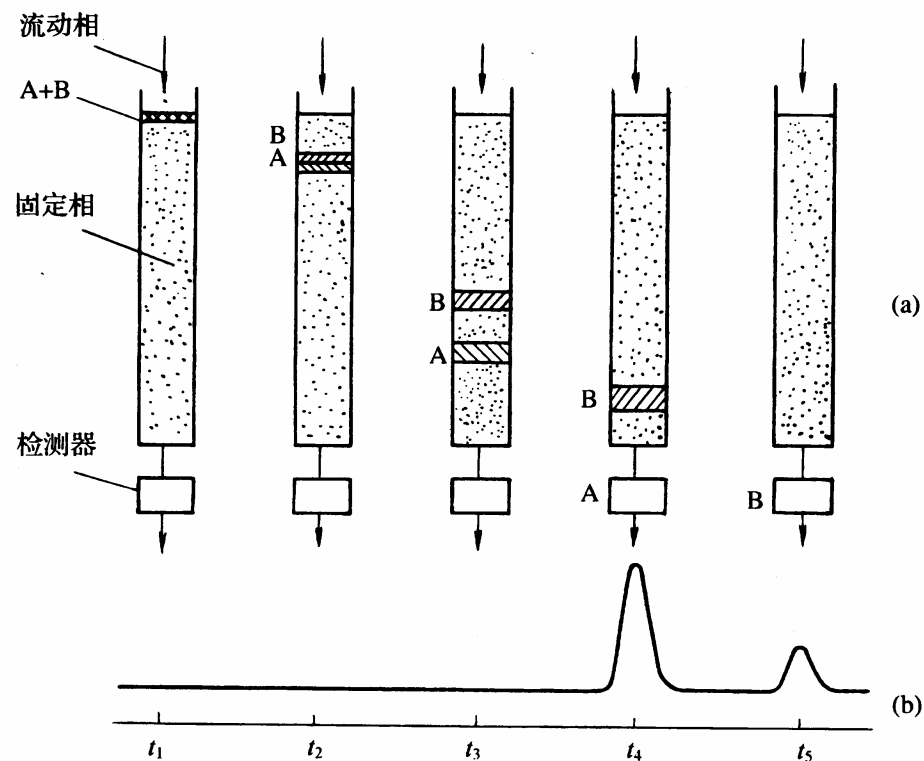
### 4. 按展开程序分类

- 洗脱法：弱 冲洗剂
- 顶替法：强 顶替剂
- 迎头法：以试样混合物作流动相

## 10.2 色谱流出曲线和术语

### 10.2.1 色谱流出曲线

- 在色谱法中，当样品加入后，样品中各组分随着流动相的不断向前而在两相间反复进行溶解、挥发，或吸附、解吸，如果各组分在固定相中的分配系数不同，它们就有可能达到分离。



二组分混合样的分离

(a) 柱内洗脱过程； (b) 所记录下来的色谱图。



## 分配系数K

---

$$K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度}}{\text{组分在流动相中的浓度}} = \frac{C_s}{C_m}$$

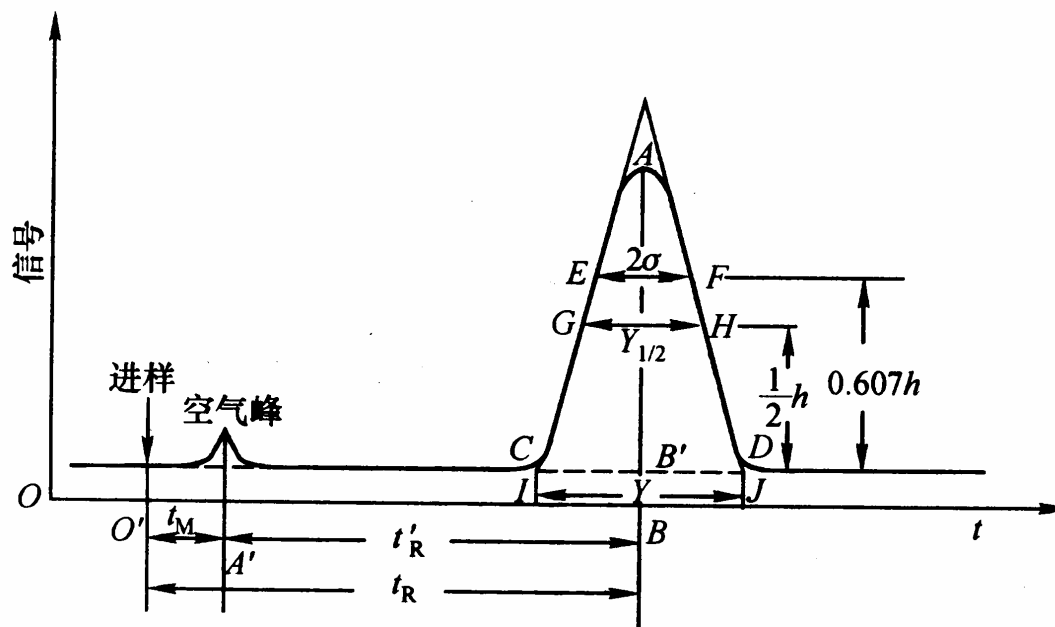
- K大的组分，滞留在固定相中的时间长，在柱内移动的速度慢，后流出柱子。
- 温度升高，K变小。
- K为常数时，是线性色谱。

- 基线
- 峰高  $h$
- 半峰宽  $Y_{1/2}$
- 峰宽  $Y$
- 标准偏差  $\sigma$

$$Y_{0.607} = 2\sigma$$

$$Y = 4\sigma$$

$$Y_{1/2} = 2.354 \sigma$$



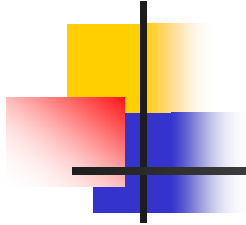
色谱流出曲线

## 10.2.2 保留值

- 死时间  $t_M$
- 保留时间  $t_R$
- 调整保留时间  $t'_R = t_R - t_M$  (组分在固定相中停留的总时间)
- 相对保留值  $\gamma_{2,1} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}}$  (难分离物质对)  $\alpha_{2,1} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}}$

(只与柱温及固定相的性质有关)

- 分配比  $k = \frac{\text{组分在固定相中的总量}}{\text{组分在流动相中的总量}} = \frac{n_s}{n_m}$   
$$K = \frac{C_s}{C_m} = \frac{n_s V_m}{n_m V_s} = k \frac{V_m}{V_s} = k\beta$$



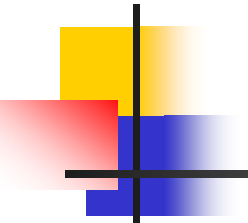
$$t_R = \frac{L}{\mu_{\text{组分}}} \quad t_M = \frac{L}{\bar{\mu}}$$

$$\frac{t_R}{t_M} = \frac{\bar{\mu}}{\mu_{\text{组分}}} = \frac{n_s + n_m}{n_m} = k + 1$$

$$\Rightarrow k = \frac{t_R}{t_M} - 1 = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M}$$

$$\Rightarrow \gamma_{2,1} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{k_2}{k_1} = \frac{K_2}{K_1}$$



- 
- 
- 由色谱峰的流出曲线可以实现一下目的：
    - (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



## 10.3 色谱分析基本原理

---

- 色谱分离是色谱体系热力学过程和动力学过程的综合表现。热力学过程是指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。

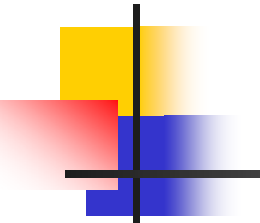


## 10.3.1 塔板理论（热力学）

---

塔板理论假定：

- 塔板和塔板之间不连续；
- 塔板之间无分子扩散；
- 组分在每块塔板的两相间的分配平衡瞬时达到，达到一次分配平衡所需的最小柱长称为理论塔板高度；
- 一个组分在每块塔板上的分配系数相同；
- 流动相以不连续的形式加入，即以一个一个塔板体积加入。



---

$$n = 5.54 \left( \frac{t_R}{Y_{1/2}} \right)^2 = 16 \left( \frac{t_R}{Y} \right)^2$$

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

$$n_{eff} = 5.54 \left( \frac{t'_R}{Y_{1/2}} \right)^2 = 16 \left( \frac{t'_R}{Y} \right)^2$$

$$H = \frac{L}{n_{eff}}$$

- 理论塔板数n越大，理论塔板高度H越小，色谱峰越窄，表明柱效越高；
- 理论塔板高度H与柱长无关。



## 10.3.2 速率理论（动力学）

---

$$H = A + \frac{B}{\bar{\mu}} + C\bar{\mu}$$

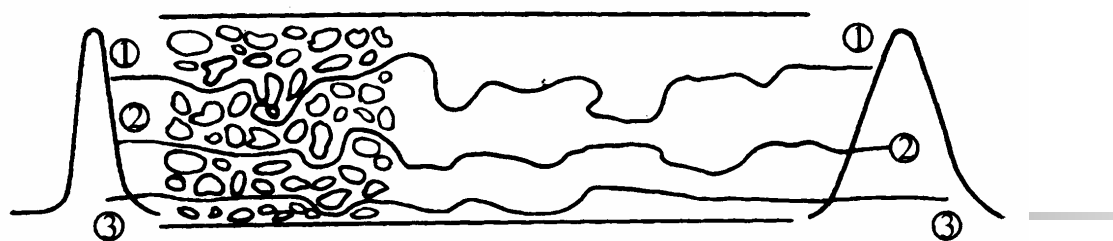
$\bar{\mu}$ : 流动相的平均线速

**A**: 涡流扩散项系数

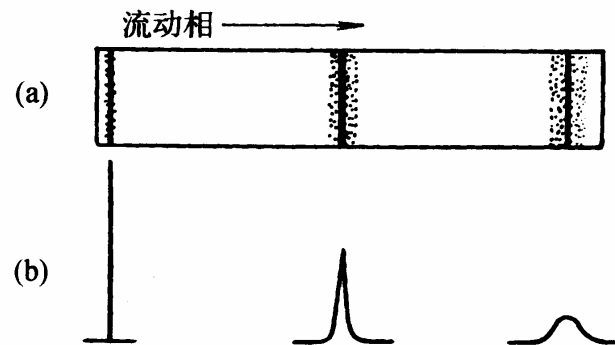
**B**: 分子扩散项系数

**C**: 传质阻力项系数

(流动项传质阻力项、固定相传质阻力项)

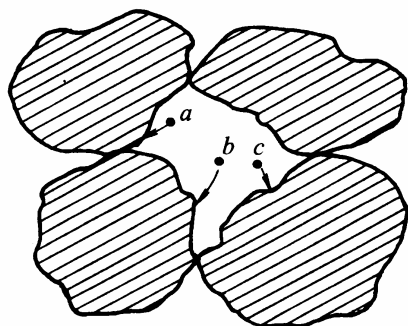


涡流扩散使峰展宽

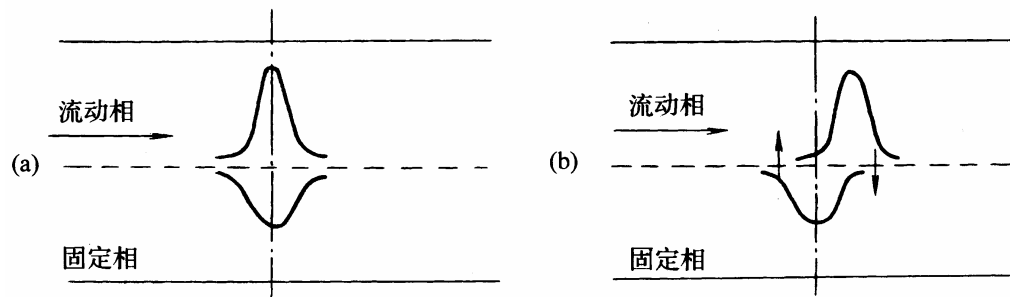


纵向分子扩散使峰展宽

(a) 柱内谱带浓度分布构型; (b) 相应的响应信号.

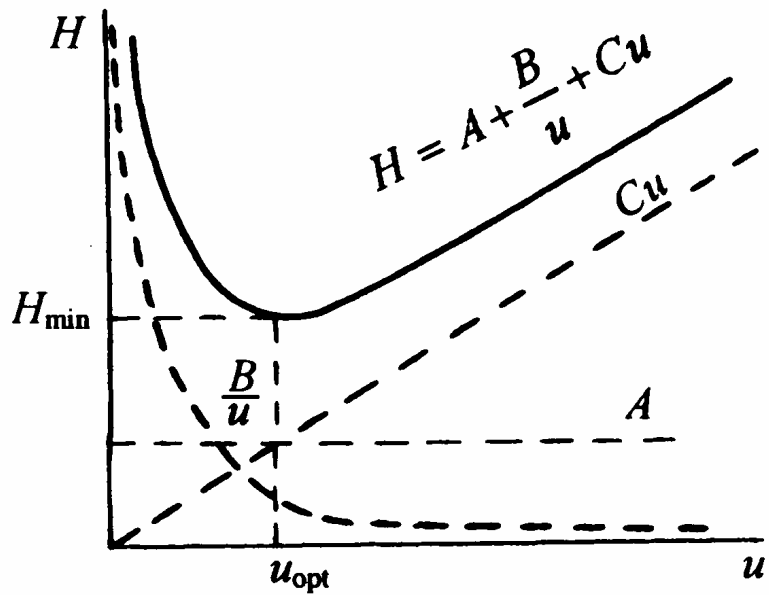


组分在流动相中的传质



固定相传质对谱带展宽的影响

(a) 两相达平衡时; (b) 达平衡后的瞬间内.



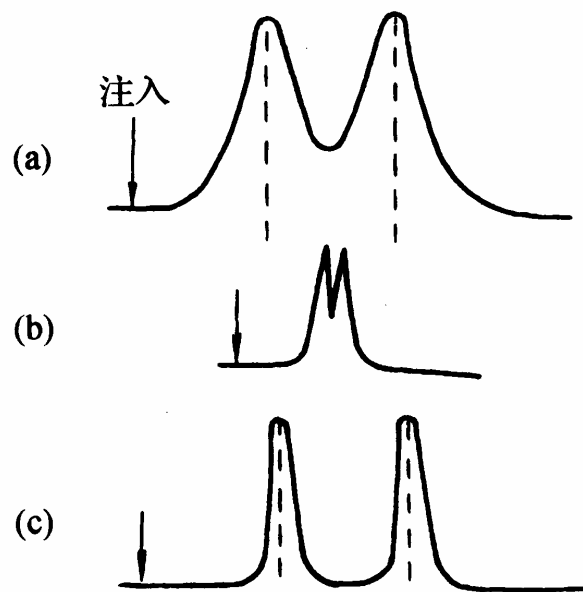
$H$ - $u$  曲线

$$\frac{dH}{d\mu} = -\frac{\beta}{\mu^2} + C = 0$$

$$\mu_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

$$H_{min} = A + 2\sqrt{BC}$$

## 10.4 分离度



柱的柱效和选择性对分离的影响

$$R_s = \frac{2(t_{R(2)} - t_{R(1)})}{(Y_1 + Y_2)}$$

$$R_s = \frac{\sqrt{n} \alpha - 1}{4} \frac{k_2}{1 + k_2}$$

$$R_s < 1 \quad \text{重叠}$$

$$R_s = 1 \quad \text{明显分离}$$

$$R_s = 1.5 \quad \text{完全分离}$$





$$n = 16 R_s^2 \left( \frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left( \frac{1 + k_2}{k_2} \right)^2$$

$$\frac{n_{eff}}{n} = \frac{t_R'^2}{t_R^2} = \left( \frac{t_R'}{t_R' + t_M} \right)^2 = \left( \frac{1}{1 + 1/k} \right)^2 = \left( \frac{k}{1 + k} \right)^2$$

$$\Rightarrow n_{eff} = n \cdot \left( \frac{k_2}{1 + k_2} \right)^2 = 16 R_s^2 \left( \frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2$$

$$t_M = \frac{L}{\bar{\mu}} = \frac{n \cdot H}{\bar{\mu}}$$

$$k = \frac{t_R'}{t_M} = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad t_R = (1 + k) \cdot t_M$$

$$\Rightarrow t_R = (1 + k_2) \frac{n \cdot H}{\bar{\mu}} = \frac{16 R_s^2 H}{\bar{\mu}} \left( \frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1 + k_2)^3}{k_2^2}$$



**例** 已知物质**A**和**B**的分配系数**K**分别为**6.50**和**6.31**，已知相比为**0.422**。试计算：

- (1) 两物质的分配比；
- (2) 选择性系数；
- (3) 欲得到分离度为**1.5**时需多少塔板数？
- (4) 若柱长为**806cm**，流动相的流速为**7.10cm.s<sup>-1</sup>**，则需多长时间可冲洗出各物质？



已知:

$K_A$ 和 $K_B$ 的分别为  
**6.50**和**6.31**,  
相比 $\beta=0.422$ 。

解

$$(1) \quad k_A = K\beta = 6.50 \times 0.422 = 2.74$$

$$k_B = K\beta = 6.31 \times 0.422 = 2.66$$

$$(2) \quad \alpha = \frac{k_A}{k_B} = \frac{2.74}{2.66} = 1.03$$

$$(3) \quad n = 16R_S^2 \left( \frac{\alpha}{\alpha-1} \right)^2 \left( \frac{1+k_A}{k_A} \right)^2 \\ = 16 \times 1.5^2 \times \left( \frac{1.03}{1.03-1} \right)^2 \times \left( \frac{1+2.74}{2.74} \right)^2 \\ = 7.9 \times 10^4$$

$$(4) \quad t_M = \frac{806}{7.10 \times 60} = 1.89 \text{ min}$$

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad t_R = (1+k)t_M$$

$$t_{R_A} = 7.07 \text{ min}$$

$$t_{R_B} = 6.92 \text{ min}$$



**例** 在3.0m色谱柱上，空气、组分X和组分Y的保留时间分别为1.0、14.0、17.0min，Y的峰宽为1.0min，计算X和Y完全分离时，柱长最短为多少？

解（一）

$$\alpha_{2,1} = \frac{t'_{R(Y)}}{t'_{R(X)}} = \frac{17.0 - 1.0}{14.0 - 1.0} = 1.23 \quad k_2 = \frac{t'_{R(Y)}}{t_M} = \frac{17.0 - 1.0}{1.0} = 16.0$$

$$n = 16 \left( \frac{t_{R(Y)}}{Y_{(Y)}} \right)^2 = 16 \left( \frac{17.0}{1.0} \right)^2 = 4624$$

$$R_s = 1.5 \text{ 时}$$

$$n_{\text{需要}} = 16 R_s^2 \left( \frac{\alpha_{2,1}}{\alpha_{2,1} - 1} \right)^2 \left( \frac{1 + k_2}{k_2} \right)^2 = 16 \times 1.5^2 \times \left( \frac{1.23 - 1}{1.23} \right)^2 \left( \frac{1 + 16.0}{16.0} \right)^2 = 1155$$

$$L_{\text{需要}} = L \times \frac{n_{\text{需要}}}{n} = 3.0 \times \frac{1155}{4624} = 0.75 \text{ m}$$



解 (二)

$$R_s = \frac{\sqrt{n}}{4} \cdot \frac{\alpha_{2,1} - 1}{\alpha_{2,1}} \cdot \frac{k_2}{1 + k_2} = \frac{\sqrt{4624}}{4} \times \frac{1.23 - 1}{1.23} \times \frac{16.0}{1 + 16.0} = 3.0$$

$$\frac{R_{s,需要}}{R_s} = \frac{\sqrt{L_{需要}}}{\sqrt{L}}$$

$$L_{需要} = \frac{L}{R_s^2} \cdot R_{s,需要}^2 = \frac{3.0}{3.0^2} \times 1.5^2 = 0.75m$$



## 10.5 定性和定量分析

---

### 10.5.1 定性分析

- 保留值定性
- 峰高增量法定性
- 与其它方法联用



## 10.5.2 定量分析

$$m_i = f_i^A A_i \quad m_i = f_i^h h_i$$

### 1. 响应信号的测量

$$A_i = 1.065 h_i Y_{\frac{1}{2}} \quad \text{对称峰}$$

$$A_i = \frac{1}{2} h_i (Y_{0.15} + Y_{0.85}) \quad \text{不对称峰}$$

### 2. 校正因子

$$\text{绝对校正因子: } f_i^A = \frac{m_i}{A_i} \quad f_i^h = \frac{m_i}{h_i}$$

$$\text{相对校正因子: } f_{is}^A = \frac{f_i^A}{f_s^A} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{m_i}{m_s}$$

$$\text{相对响应值 } S_{is} = \frac{1}{f_{is}}$$

## 10.5.3 定量方法

- 1. 外标法:
- 2. 内标法: 只测定试样中某几个组分, 或试样中所有组分不可能全部出峰时使用
- 3. 归一化法: 将试样中所有组分的含量之和按100%计算 (所有组分都要出峰)

$$\frac{A_i}{A_s} = \frac{f_{ss}^A}{f_{is}^A} \cdot \frac{m_i}{m_s} \quad m_i = \frac{A_i f_{is}^A m_s}{A_s f_{ss}^A}$$

$$\begin{aligned} \Rightarrow P_i &= \frac{m_i}{m} \times 100\% = \frac{A_i f_{is}^A m_s}{A_s f_{ss}^A m} \times 100\% \\ &= \frac{A_i}{A_s} \cdot \frac{m_s}{m} \cdot f_{is}^A \times 100\% \end{aligned}$$

$$W_i = \frac{A_i f_{is}^A}{\sum_{i=1}^n A_i f_{is}^A} \times 100\%$$

$$(f_{is}^A \text{ 相近的组分}) \quad W_i = \frac{A_i}{\sum_{i=1}^n A_i} \times 100\%$$





**例** 用一色谱柱分离乙酸甲酯，丙酸甲酯和正丁酸甲酯。它们的峰面积分别为**18.1**，**43.6**和**29.9**，如其相对校正因子分别为**0.60**，**0.78**，**0.88**。试计算各组分的质量分数。

**解**

$$W_i = \frac{A_i f_{is}^A}{\sum_{i=1}^n A_i f_{is}^A} \times 100\%$$

$$W_{\text{乙酸甲酯}} = \frac{18.1 \times 0.60}{18.1 \times 0.60 + 43.6 \times 0.78 + 29.9 \times 0.88} = 15.3\%$$

$$W_{\text{丙酸甲酯}} = \frac{43.6 \times 0.78}{18.1 \times 0.60 + 43.6 \times 0.78 + 29.9 \times 0.88} = 34.0\%$$

$$W_{\text{正丁酸甲酯}} = \frac{29.9 \times 0.88}{18.1 \times 0.60 + 43.6 \times 0.78 + 29.9 \times 0.88} = 37.0\%$$