

# 第7章 色谱分析法

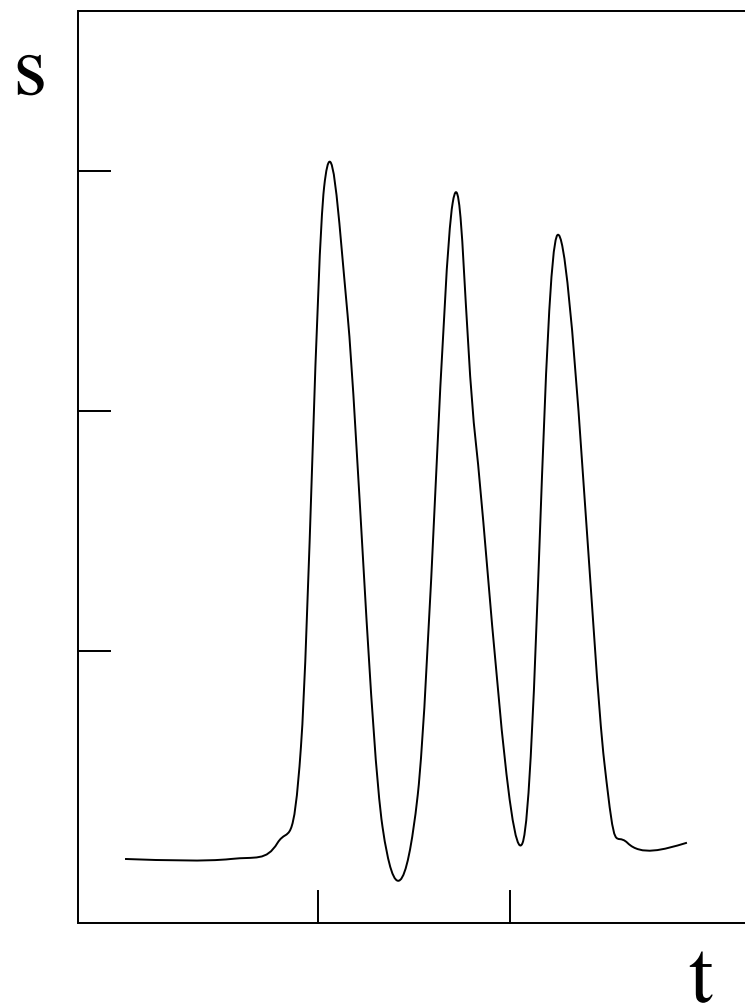
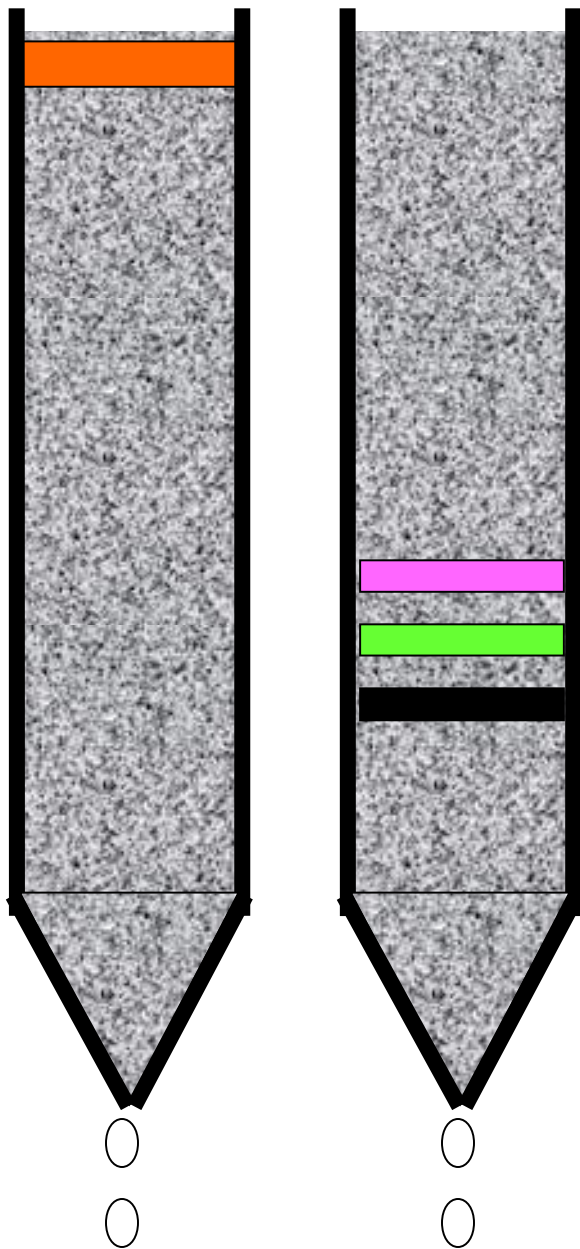
## Chromatography

### 第一节 概述

色谱法是一种重要的分离分析方法，它是根据组分在两相中作用能力不同而达到分离目的的。

#### 一、历史

1906 Tswett 研究植物色素分离，提出色谱法概念；



1941 Martin 和 Synge 提出液 - 液色谱理论

;

1952 James 和 Martin 发展了气相色谱;

1956 Van Deemter 提出速率理论;

1967 Kirkland 等研制高效液相色谱法;

80 年代以后

出现毛细管电泳和毛细管电动色谱等一系列新的色谱分析方法。

## 二、分类

按流动相分 { 气相色谱 ( GC )  
液相色谱 ( LC )  
超临界流体色谱 ( SF  
C )

按机理分 { 吸附色谱  
分配色谱  
离子交换色谱  
排阻色谱

按固定相在支持体中的形状分

- 柱色谱
- 平板色谱
  - 纸色谱
  - 薄层色谱

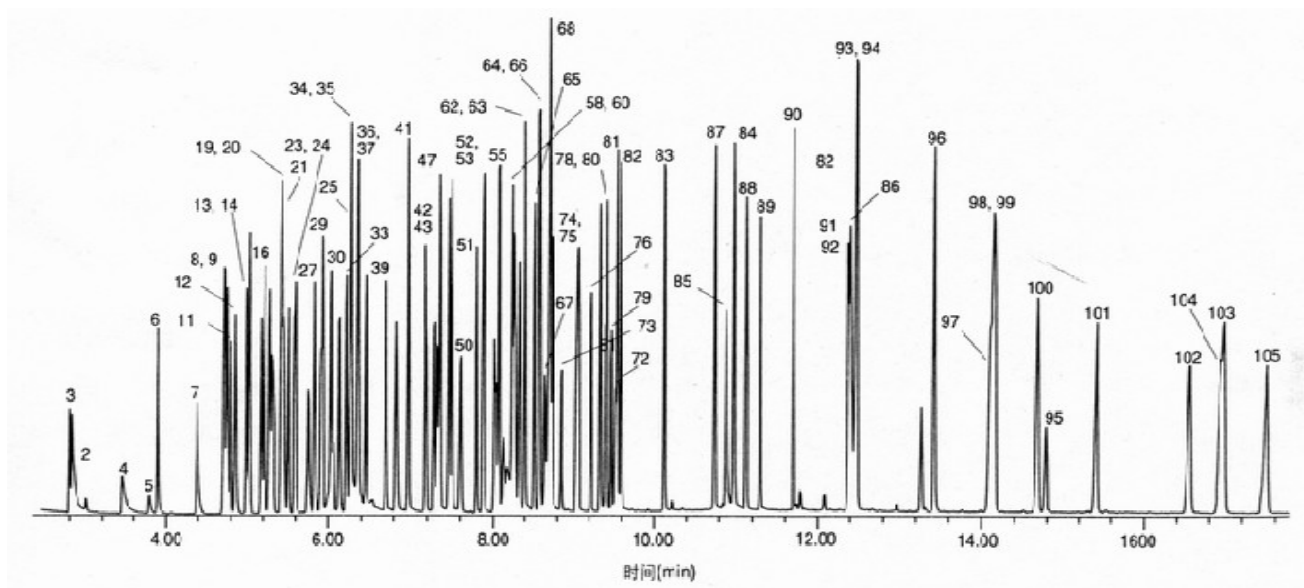
按分离效率分

- 经典液相色谱
- 高效液相色谱

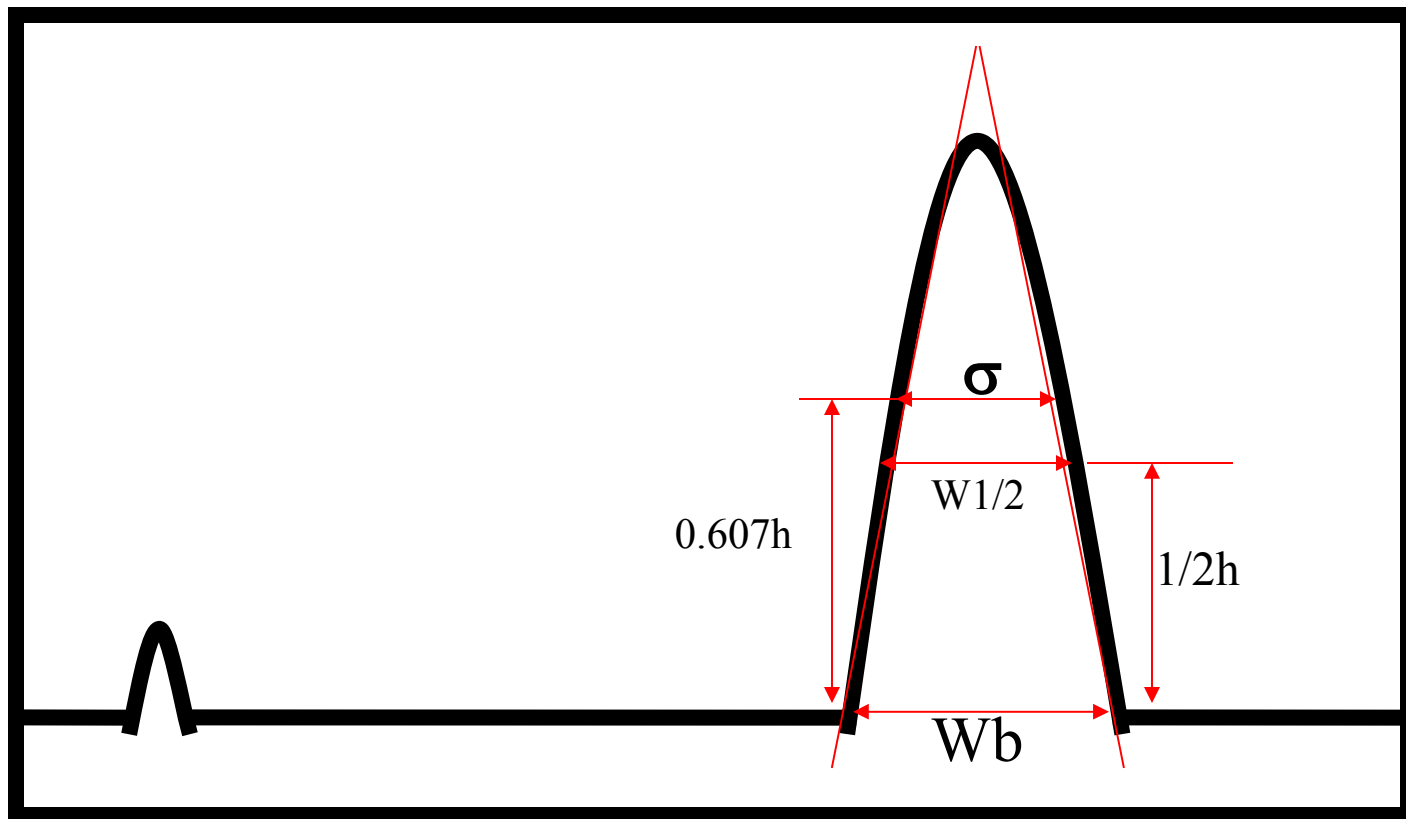
### 三、基本概念与术语

#### 1、色谱流出曲线（chromatogram）

指样品注入色谱柱后，信号随时间变化的曲线。



# 色谱流出曲线示意图



## 2、常用术语

### ( 1 ) 基线

无组分通过色谱柱时，检测器的噪音随时间变化的曲线。

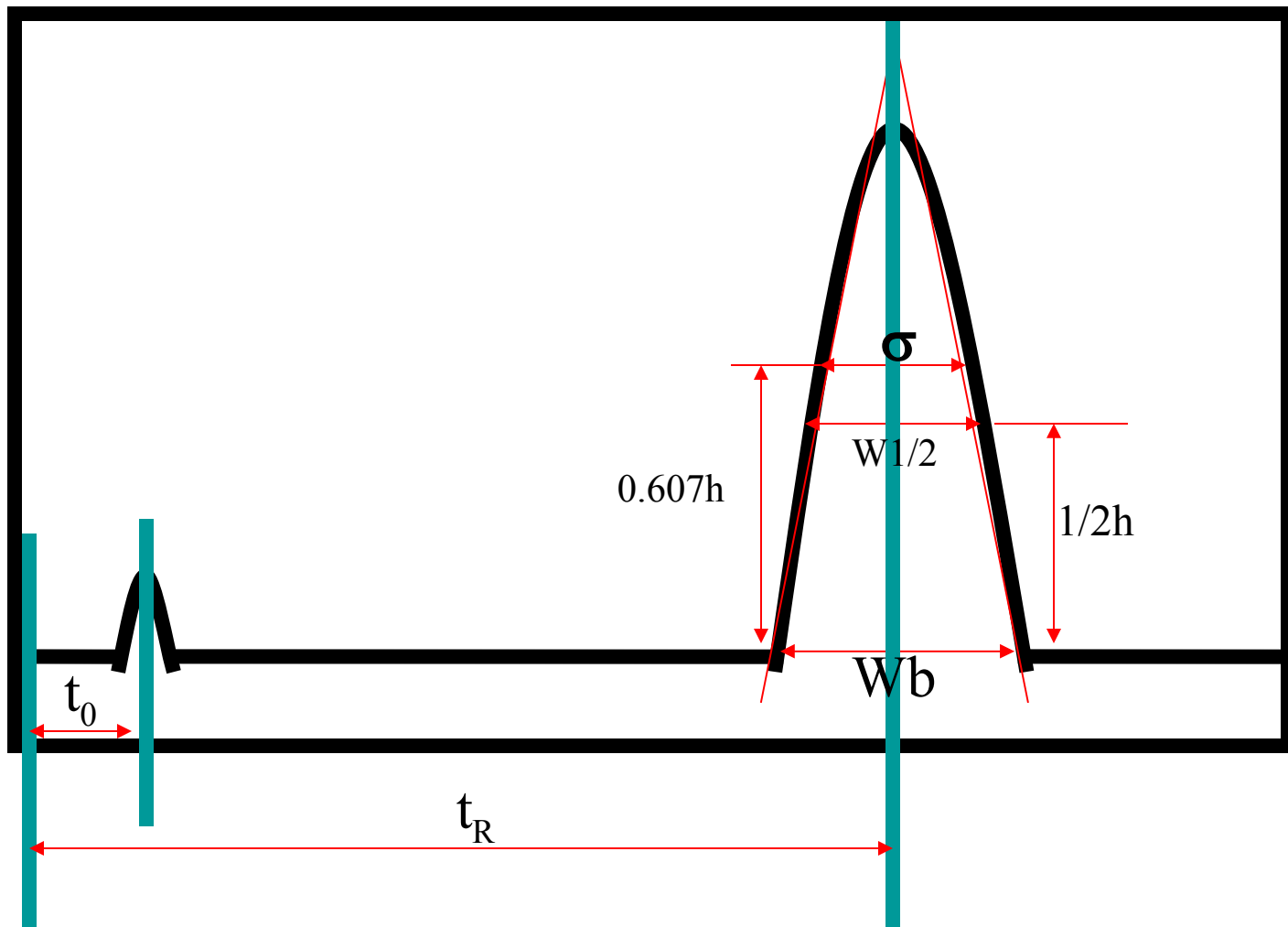
### ( 2 ) 峰宽

峰底宽  $W_b$       峰半宽  $W_{1/2}$       标准偏差  $\sigma$

$$W_b = 4\sigma \qquad W_{\frac{1}{2}} = 2\sigma\sqrt{2\ln 2}$$



# 色谱参数示意图



### ( 3 ) 保留值

保留时间  $t_R$ —— 进样到出现色谱峰的时间

保留体积  $V_R$ —— 进样到出现色谱峰时消耗的流动相体积

死时间  $t_0$ —— 流动相流过色谱柱的时间

死体积  $V_0$ —— 色谱柱的空隙体积

校正保留时间  $t'_R$   $t'_R = t_R - t_0$

校正保留体积  $V'_R$   $V'_R = V_R - V_0$

$V_R = t_R \times F$   $F$ ——流动相流动线速度

( 4 ) 相对保留值

$$r_{2.1} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{V'_{R_2}}{V'_{R_1}}$$

## (5) 分配系数和分配比 (容量因子)

分配系数: 一定温度与压力下两相达平衡后, 组分在固定相和流动相浓度的比值

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

分配比 (容量因子): 一定温度与压力下两相达平衡后, 组分在固定相和流动相量的比值

$$k = \frac{p}{q} \quad \begin{array}{l} \text{—— 固定相重量} \\ \text{—— 流动相重量} \end{array}$$

K 与 k 的关系:

$$K = \frac{C_s}{C_m} = \frac{p / V_s}{q / V_0} = k \frac{V_0}{V_s}$$

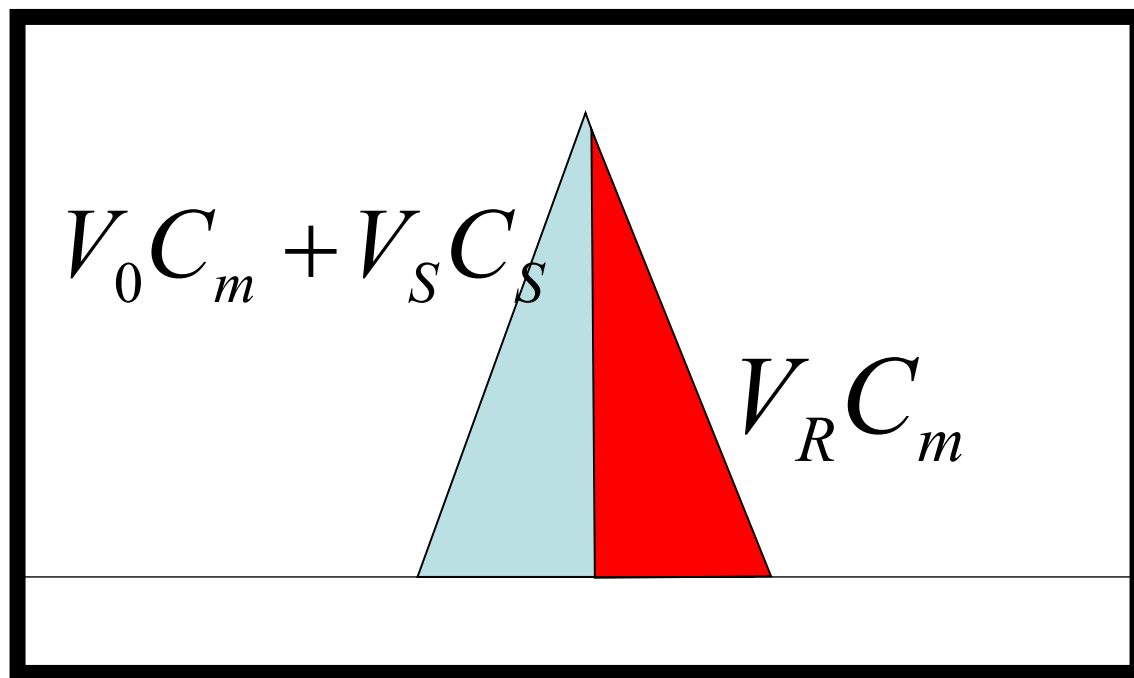
( 6 ) 容量因子 k 与保留值的关系

$$k = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

$$t_R = t_0(1 + k)$$

证明： 当组分一半流出色谱柱时

$$V_R C_m = V_0 C_m + V_S C_S$$



$$V_R C_m = V_0 C_m + V_S C_S$$

$$V_R = V_0 + V_S \frac{C_S}{C_m}$$

$$= V_0 + K V_S$$

$$= V_0 + k \frac{V_0}{V_s} V_S$$

$$V_R = V_0 + k V_0$$

$$= V_0 (1 + k)$$

$$t_R = t_0 (1 + k)$$

色谱基本保留方程

## 四、分离效能指标

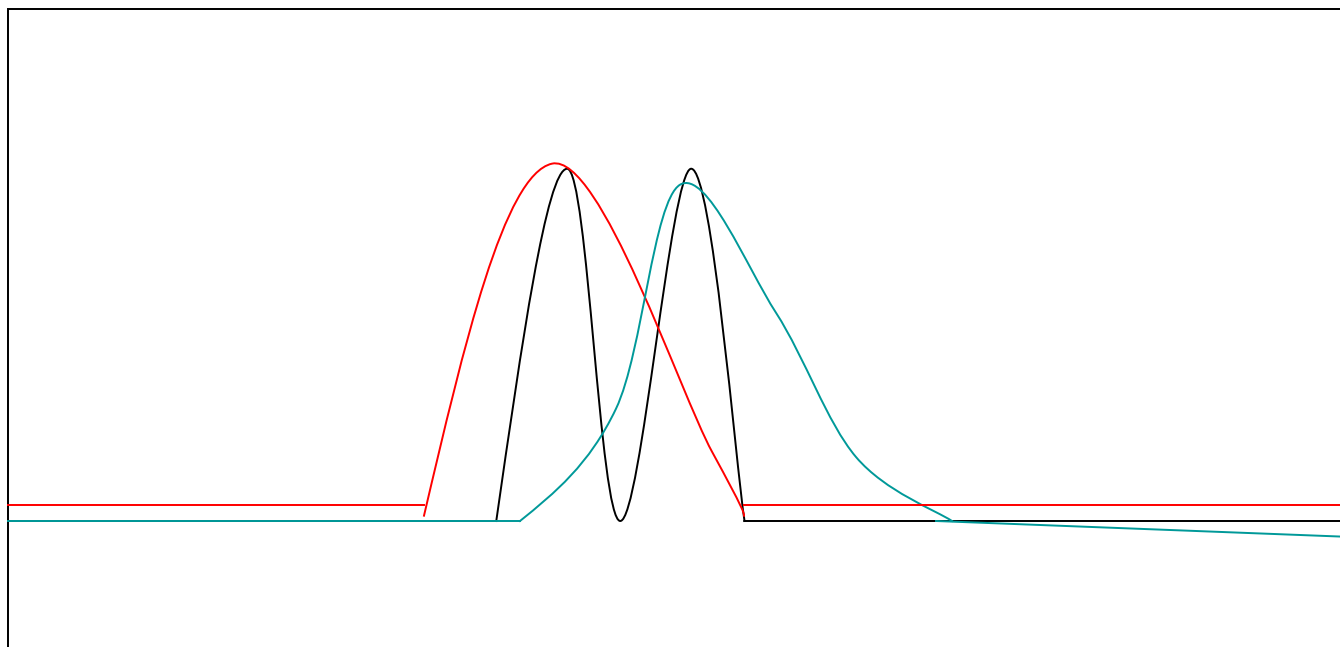
### 1、选择性（相对保留值）

$$r_{2.1} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{k_2}{k_1} = \frac{K_2}{K_1}$$

相对保留值由两组分的热力学性质决定，与色谱柱的长短粗细无关。



## 2、峰宽度



### 3、分离度

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{\frac{W_{b_2} + W_{b_1}}{2}}$$

分离度考虑了保留时间和峰宽度，是一个综合指标：

**R < 1.0**

**两峰明显重叠**

**R = 1.0**  
**离**

**两峰达 97.7% 分**

**R ≥ 1.5**

**两峰完全分开**

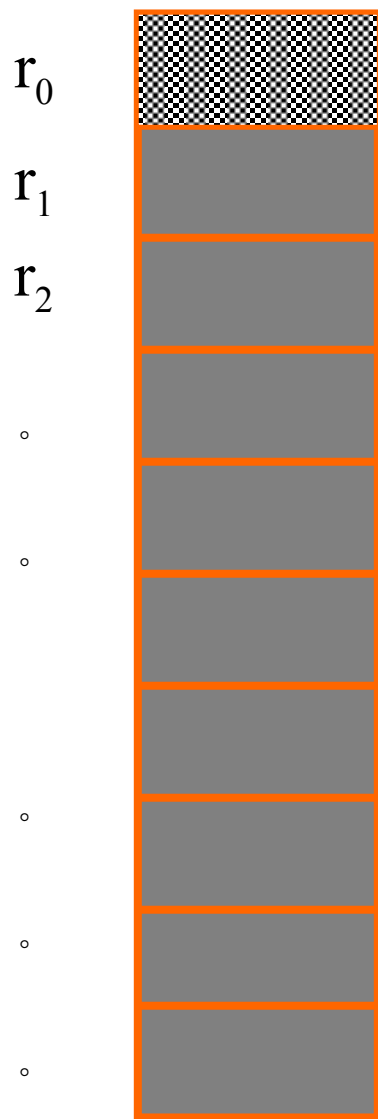
## 第二节 色谱理论

### 一、塔板理论

目的——从理论上得到描述色谱流出曲线的方程，并通过这一方程各参数来研究影响分离的因素。

假设 （1）色谱柱存在多级塔板；

（2）组分通过时在每级塔板两相间达到一次平衡；



$r$  —— 塔板数

$N$  —— 转移次数

设：有 A、B 两组分， $k_A = 2$

$$k_B = 1/2$$

当  $N = 0$        $r = 0$

A 组分在两相分配达平衡后：

$$\text{流动相分量} = \frac{q}{q + p} = \frac{1}{1 + k} = \frac{1}{3} = 0.333$$

$$\text{固定相分量} = \frac{p}{q + p} = \frac{k}{k + 1} = \frac{2}{3} = 0.667$$

下表列出经过各级转移后组分在每一级塔板中的量：

塔片号	0		1		2		3		4		5		6	
组分	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
N=0	进 样 (I)	1.0	1.0											
N=0	分配平衡	0.334	0.666											
		0.666	0.334											
N=1	进流动相 (II)			0.334	0.666									
		0.666	0.334											
N=1	分配平衡	0.222	0.223	0.111	0.444									
		0.444	0.111	0.223	0.222									
N=2	进流动相 (III)			0.222	0.223	0.111	0.444							
		0.444	0.111	0.223	0.222									
N=2	分配平衡	0.148	0.074	0.148	0.297	0.037	0.296							
		0.296	0.037	0.297	0.148	0.074	0.148							

塔片号	0		1		2		3		4		5		6	
组分	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
进流动相 (IV)			0.148	0.074	0.148	0.297	0.037	0.296						
	0.296	0.037	0.297	0.184	0.074	0.148								
分配平衡	0.099	0.025	0.148	0.148	0.074	0.297	0.012	0.197						
	0.197	0.012	0.297	0.074	0.148	0.148	0.025	0.099						
进流动相 (V)			0.099	0.025	0.148	0.148	0.074	0.297	0.012	0.197				
	0.197	0.012	0.297	0.074	0.184	0.148	0.025	0.099						
分配平衡	0.066	0.008	0.132	0.066	0.099	0.197	0.033	0.263	0.004	0.131				
	0.131	0.004	0.264	0.033	0.197	0.099	0.066	0.132	0.008	0.066				
进流动相 (VI)			0.066	0.008	0.132	0.066	0.099	0.197	0.033	0.264	0.004	0.131		
	0.131	0.004	0.264	0.033	0.197	0.099	0.066	0.132	0.008	0.066				
分配平衡	0.044	0.003	0.110	0.027	0.114	0.106	0.055	0.222	0.014	0.222	0.001	0.087		
	0.087	0.001	0.220	0.014	0.219	0.053	0.110	0.111	0.027	0.111	0.003	0.044		
进流动相(VII)			0.044	0.003	0.110	0.027	0.110	0.106	0.055	0.222	0.014	0.222	0.001	0.087
	0.087	0.001	0.220	0.014	0.219	0.051	0.110	0.110	0.027	0.111	0.003	0.044		

N=3

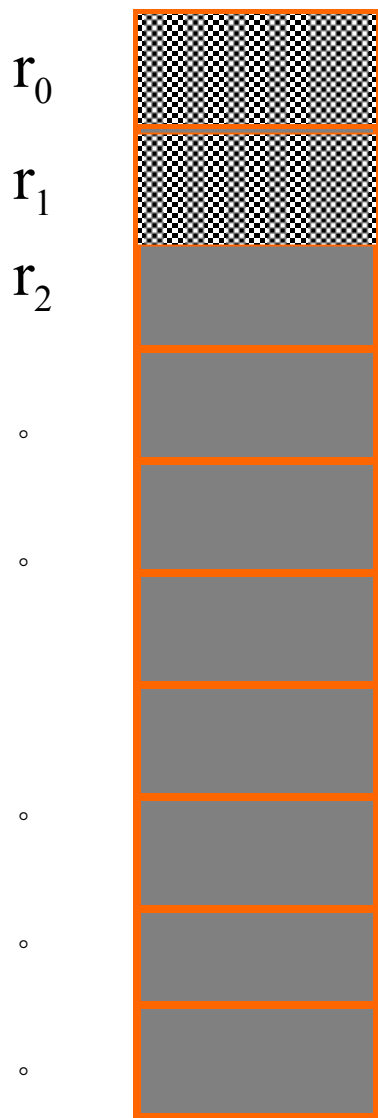
N=4

N=5

N=6

若抽象成一个规律：

当经过 1 次转移（ $N=1$ ）以后：



第 0 级塔板：  $r = 0$

$$\text{组分的分量} = \frac{2}{3} = \left(\frac{p}{q+p}\right) = p'$$

第 1 级塔板：  $r = 1$

$$\text{组分的分量} = \frac{1}{3} = \left(\frac{q}{q+p}\right) = q'$$

组分在两级塔板上的量可表示为：

$$(p'+q')^1$$

由上表可以看出，经 N 次转移后，组分在各级塔板上的量符合二相式分布，即

$$(p'+q')^N$$

当 N = 4 时，组分分布在 5 级塔板上：

$$(p'+q')^4 = p'^4 + 4q' p'^3 + 6q'^2 p'^2 + 4q'^3 p' + q'^4$$

以 A 组分为例，5 级塔板上的分量分别是：

$$(0.667 + 0.333)^4 = 0.198 + 0.395 + 0.296 + 0.099 + 0.012$$



塔片号	0	1	2	3	4	5	6	
组分	A	B	A	B	A	B	A	B

进流动相 (IV)		0.148	0.074	0.148	0.297	0.037	0.296				
	0.296	0.037	0.297	0.184	0.074	0.148					

流动相  
固定相

N=3

分配平衡	0.099	0.025	0.148	0.148	0.074	0.297	0.012	0.197			
	0.197	0.012	0.297	0.074	0.148	0.148	0.025	0.099			

流动相  
固定相

进流动相 (V)		0.099	0.025	0.148	0.148	0.074	0.297	0.012	0.197		
	0.197	0.012	0.297	0.074	0.184	0.148	0.025	0.099			

流动相  
固定相

N=4

分配平衡	0.066	0.008	0.132	0.066	0.099	0.197	0.033	0.263	0.004	0.131			
	0.131	0.004	0.264	0.033	0.197	0.099	0.066	0.132	0.008	0.066			

流动相  
固定相

$$0.198 + 0.395 + 0.296 + 0.099 + 0.012$$

进流动相 (VI)		0.066	0.008	0.132	0.066	0.099	0.197	0.033	0.264	0.004	0.131		
	0.131	0.004	0.264	0.033	0.197	0.099	0.066	0.132	0.008	0.066			

流动相  
固定相

N=5

分配平衡	0.044	0.003	0.110	0.027	0.114	0.106	0.055	0.222	0.014	0.222	0.001	0.087	
	0.087	0.001	0.220	0.014	0.219	0.053	0.110	0.111	0.027	0.111	0.003	0.044	

流动相  
固定相

N=6

进流动相(VII)		0.044	0.003	0.110	0.027	0.110	0.106	0.055	0.222	0.014	0.222	0.001	0.087
	0.087	0.001	0.220	0.014	0.219	0.051	0.110	0.110	0.027	0.111	0.003	0.044	

流动相  
固定相

任一级塔板上的分量为  $(p'+q')^N$  的  
展开式对应的一项，可用一个通式表示：

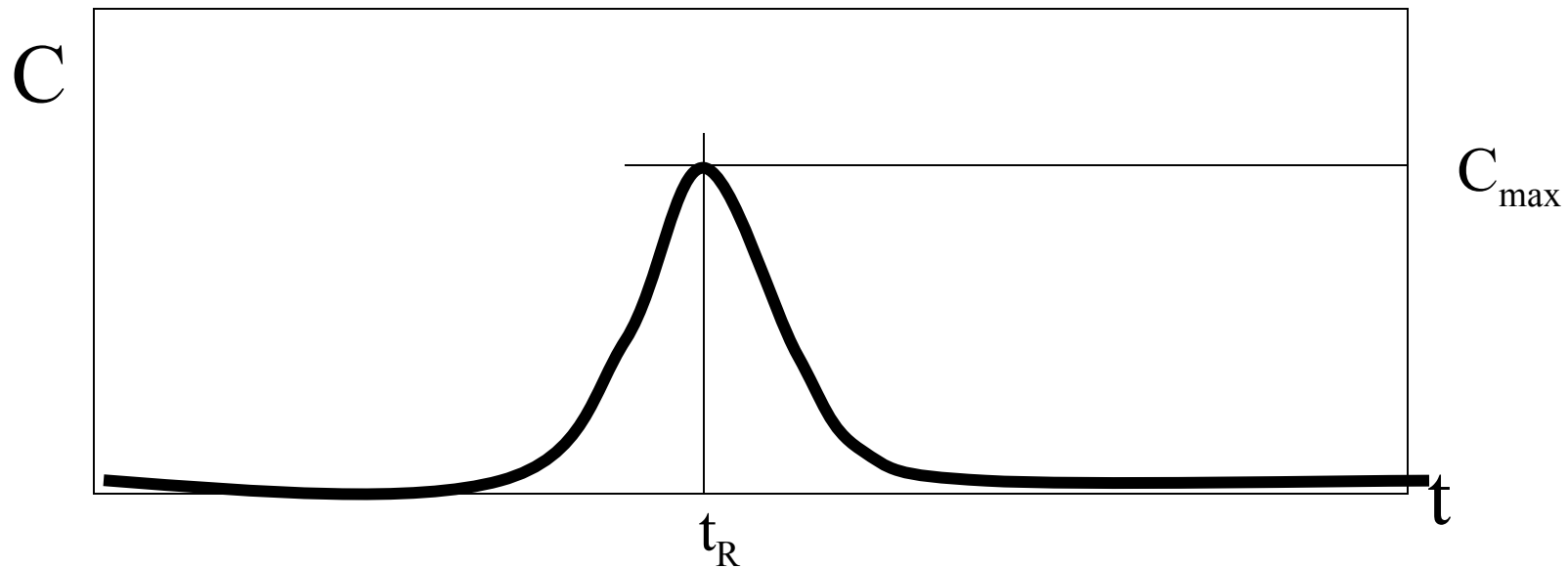
$$f_{N,r} = \frac{N!}{r!(N-r)!} q'^r p'^{(N-r)}$$

$$f_{N,r} = \frac{N!}{r!(N-r)!} \left(\frac{1}{1+k}\right)^r \left(\frac{k}{1+k}\right)^{(N-r)}$$

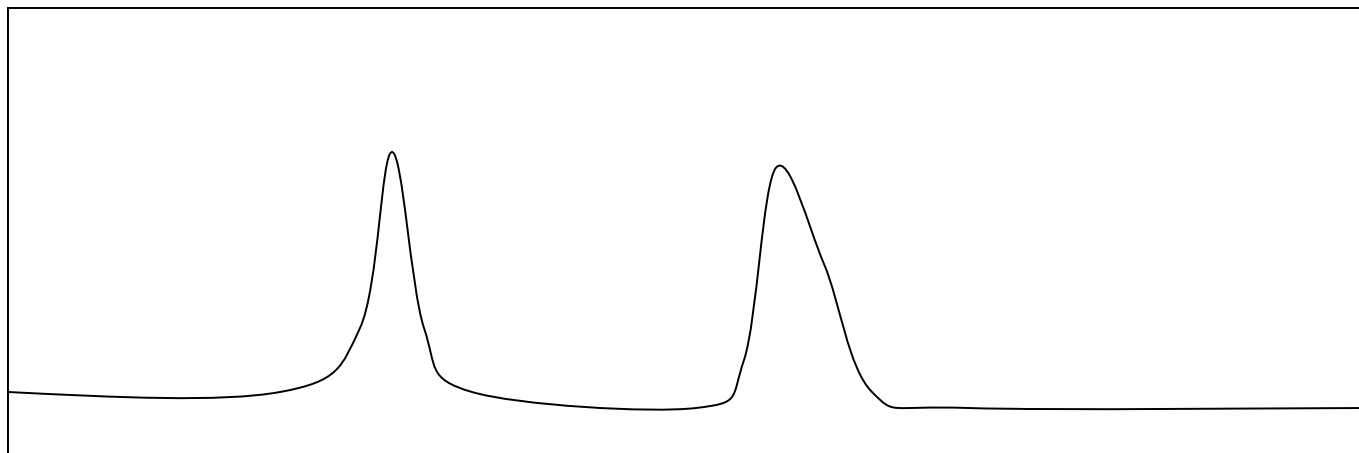
当求 最后一级塔板的组分的量时，  $r = n$  ， 以

$$f_{N,n} \sim N$$

作图，即得色谱流出曲线，因此上式称为流出曲线方程。



对于两个组分 A 和 B，如果  $k$  不同，则流出曲线的形状不同：



由于所获得的流出曲线在 N 很大时呈正态分布，因此可将流出曲线方程转化为正态分布方程形式：

$$C = C^* \exp \left\{ -\frac{n}{2} \frac{(t_R - t)^2}{t_R^2} \right\}$$

将此方程与标准正态分布曲线方程比较：

$$y = y^* \exp \left\{ -\frac{(x^* - x)^2}{2\sigma^2} \right\}$$

可知：

$$\frac{1}{2\sigma^2} = \frac{n}{2} \frac{1}{t_R^2}$$

所以：

$$\sigma^2 = \frac{t_R^2}{n}$$

或：  $n = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2$

根据：  $W_b = 4\sigma \quad W_{\frac{1}{2}} = 2\sigma\sqrt{2\ln 2}$

所以：  $n = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2 = 16\left(\frac{t_R}{W_b}\right)^2 = 5.54\left(\frac{t_R}{W_{\frac{1}{2}}}\right)^2$

$$n_{eff} = \left(\frac{t'_R}{\sigma}\right)^2 = 16\left(\frac{t'_R}{W_b}\right)^2 = 5.54\left(\frac{t'_R}{W_{\frac{1}{2}}}\right)^2$$

n 称为色谱柱的理论塔板数。

因为  $t_R$  是热力学常数，当色谱柱的长度一定，理论板数目 n 越大，色谱峰越窄。

$n_{\text{eff}}$  与  $n$  的关系:

$$n_{eff} = \left(\frac{t_R'}{\sigma}\right)^2$$

$$n = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2$$

$$\frac{n_{eff}}{n} = \left(\frac{t_R'}{t_R}\right)^2 = \left[\frac{t_0 k}{t_0(k+1)}\right]^2$$

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

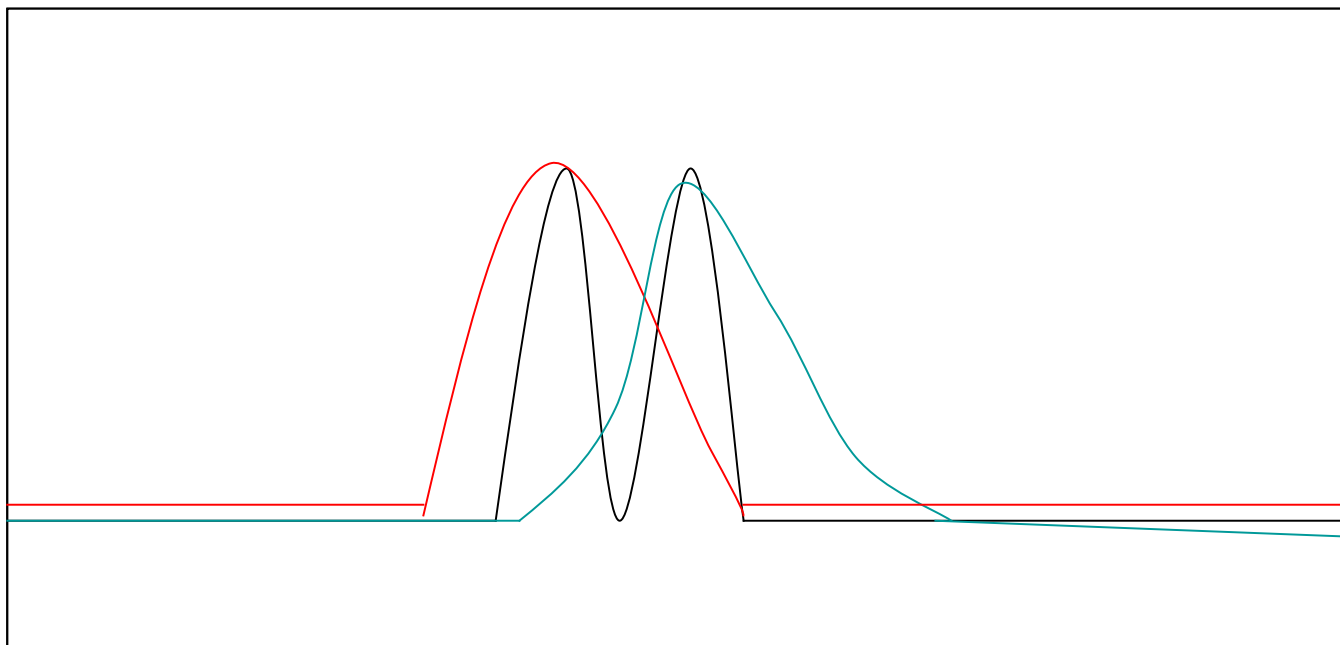
# 小结

1、从理论上得到了描述色谱流出曲线的方程，通过该方程可以预测具有不同分配系数  $K$  的两种物质在塔板数为  $n$  的色谱柱上分离的情况；

$$f_{N,r} = \frac{N!}{r!(N-r)!} \left(\frac{1}{1+k}\right)^r \left(\frac{k}{1+k}\right)^{(N-r)}$$

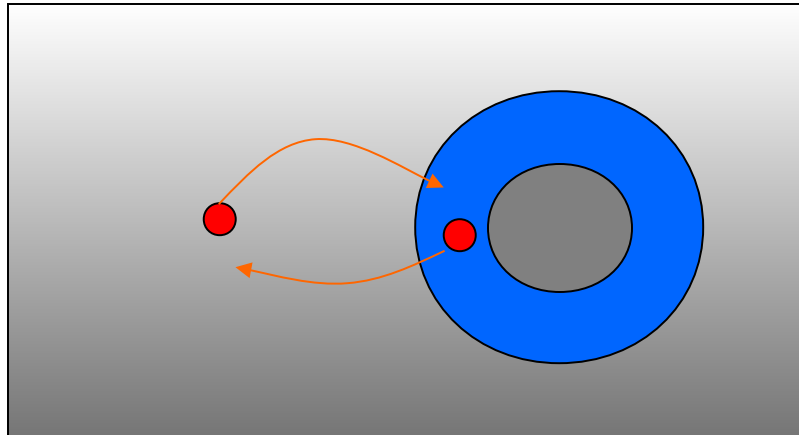
2、通过这一方程看出影响柱效率的因素是理论板数  $n$ ，其值越大，色谱峰越窄，分离效果越好；

$$n_{eff} = \left(\frac{t'_R}{\sigma}\right)^2 = 16\left(\frac{t'_R}{W_b}\right)^2 = 5.54\left(\frac{t'_R}{W_{\frac{1}{2}}}\right)^2$$





3、既然色谱分离的依据是组分在两相中的分配能力差异，因此，两相不限于液 - 固相，对气体成分而言，亦可是气 - 固项或气 - 液相。



# 问题

怎样提高色谱柱的理论塔板数  $n$   
，从而提高色谱柱的效率？

## 二、速率理论

### 1、塔板理论的不足

塔板理论虽然指出了理论板数  $n$  或理论板高度  $H$  对色谱柱效率的影响，但是没有指出影响塔板高度的因素，因此无法在理论指导下从实验上提高色谱柱的效率。

### 2、Van Deemter 方程

1956 年 Van Deemter 提出速率方程，指出了提高柱效率的途径：

单位柱长的峰展宽表示一个理论板高度  $H$

色谱峰的展宽是由于分子的扩散，有多种因素会影响分子扩散

按照正态分布的原理，这些因素是叠加的

Van Deemter 分析认为，有三个因素影响色谱峰的展宽  $A, B, C$

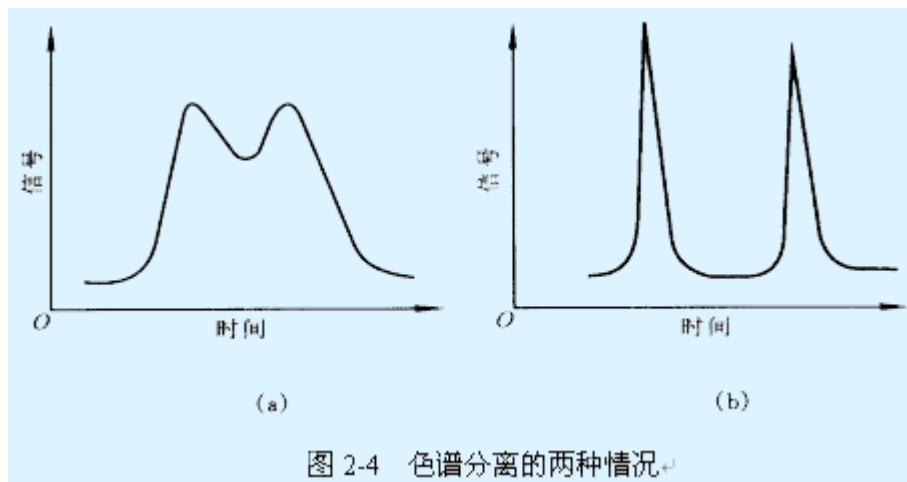


图 2-4 色谱分离的两种情况

$$H = \frac{\sigma^2}{L} = \frac{\sigma_1^2}{L} + \frac{\sigma_2^2}{L} + \frac{\sigma_3^2}{L} \dots\dots + \frac{\sigma_n^2}{L}$$

$$H = \frac{\sigma_1^2}{L} + \frac{\sigma_2^2}{L} + \frac{\sigma_3^2}{L}$$

Van Deemter 方程

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

式中  $u$ ——流动相流动的线速度

( 1 )  $A$ ——涡流扩散项:

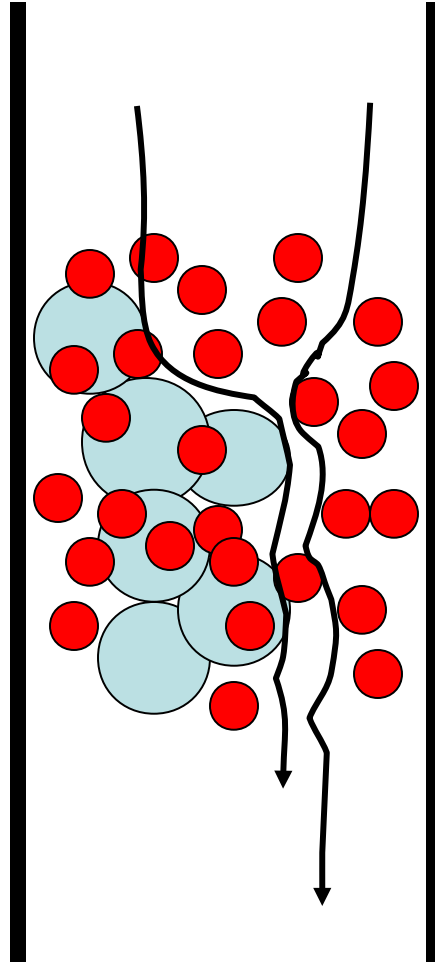
指固定相填充不均匀引起的扩散

$$A = 2\lambda dp$$

$\lambda$ ——为填充的不  
规则因子

$dp$ ——固定相颗  
粒粒径

# 涡流扩散示意图



( 2 )  $B/u$  —— 纵向分子扩散项

指分子沿色谱柱轴向扩散引起的色谱谱带展宽

$$B = 2 r D_m$$

式中:  $r$  —— 弯曲因子, 填充柱  $r < 1$

空心柱  $r = 1$

$D_m$  —— 组分在流动相中的扩散系数

由于组分在液相中的扩散系数只有气体中的  $1/10^5$ , 因此在液相色谱中  $B$  可以忽略。

### ( 3 ) Cu——传质阻力项

指组分在流动相和固定相之间传质的阻力

$$C = q \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_f^2}{D_s} + \omega \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_p^2}{D_m}$$

固定相传质阻力

流动相传质阻力

$q$  和  $\omega$  为与两相的构型和性质有关的常数

$d_p$  和  $d_f$  为固定相颗粒直径和固定液膜的厚度



综上所述，速率方程为：

$$H = 2\lambda dp + 2r \frac{D_m}{u} + q \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_f^2}{D_s} u + \omega \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_p^2}{D_m} u$$

问题：

- 1、怎样装柱才能使色谱柱的效率提高？
- 2、空心柱是否能够用于色谱分离？
- 3、如何获得色谱最佳流速？

u 在上述方程各项中存在矛盾，因此，应求出最佳值：

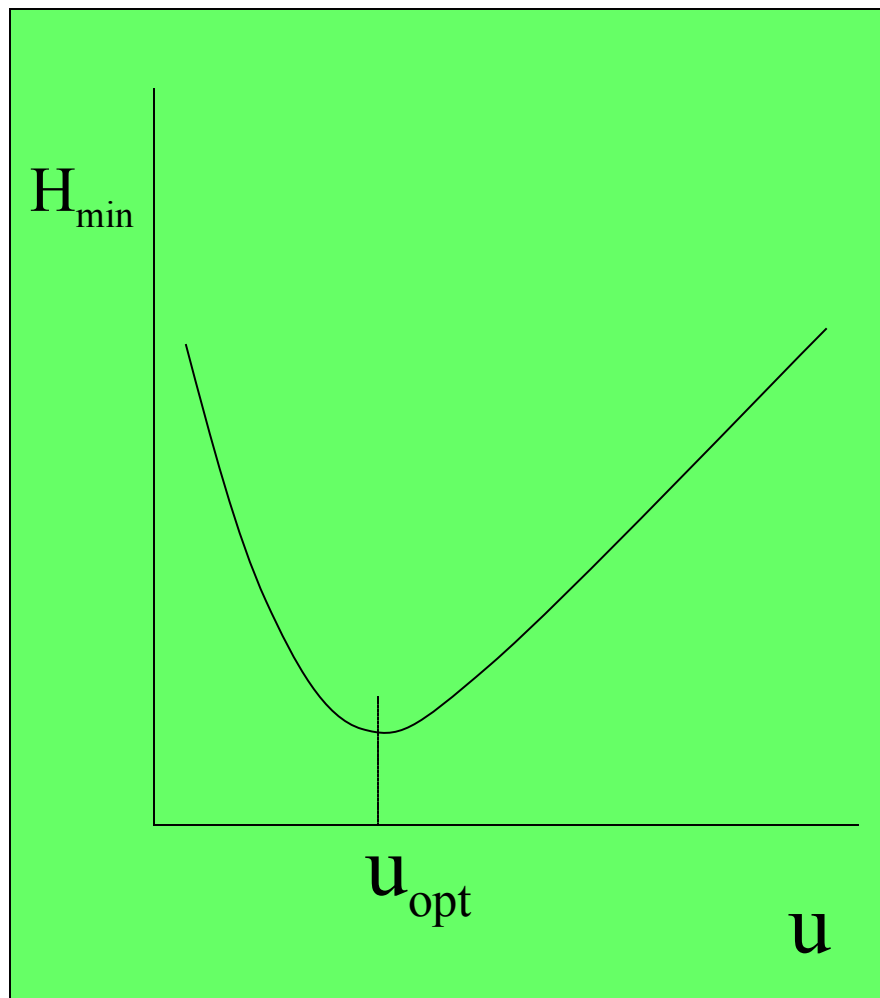
$$dH = dA + d \frac{B}{u} + dCu = 0$$

$$\frac{dH}{du} = -\frac{B}{u^2} + C = 0$$

$$\frac{B}{u^2} = C$$

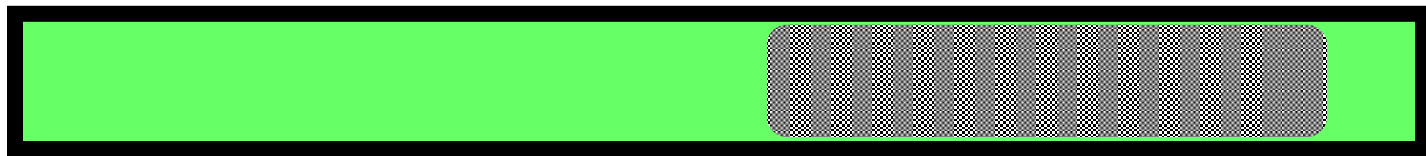
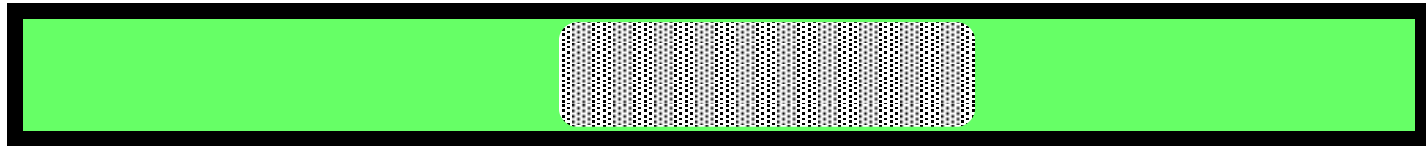
$$u_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

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



### 3、影响谱带展宽的其它因素

柱前展宽、柱后展宽、柱外效应



### 三、分离条件的选择

综合塔板理论和速率理论，可获得影响色谱分离效率的因素：

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{\frac{W_{b_2} + W_{b_1}}{2}} \approx \frac{t'_{R_2} - t'_{R_1}}{W_{b_2}}$$

$$n_{eff} = 16 \left( \frac{t'_{R_2}}{W_{b_2}} \right)^2$$

$$W_{b_2} = \frac{4t'_{R_2}}{\sqrt{n_{eff}}}$$

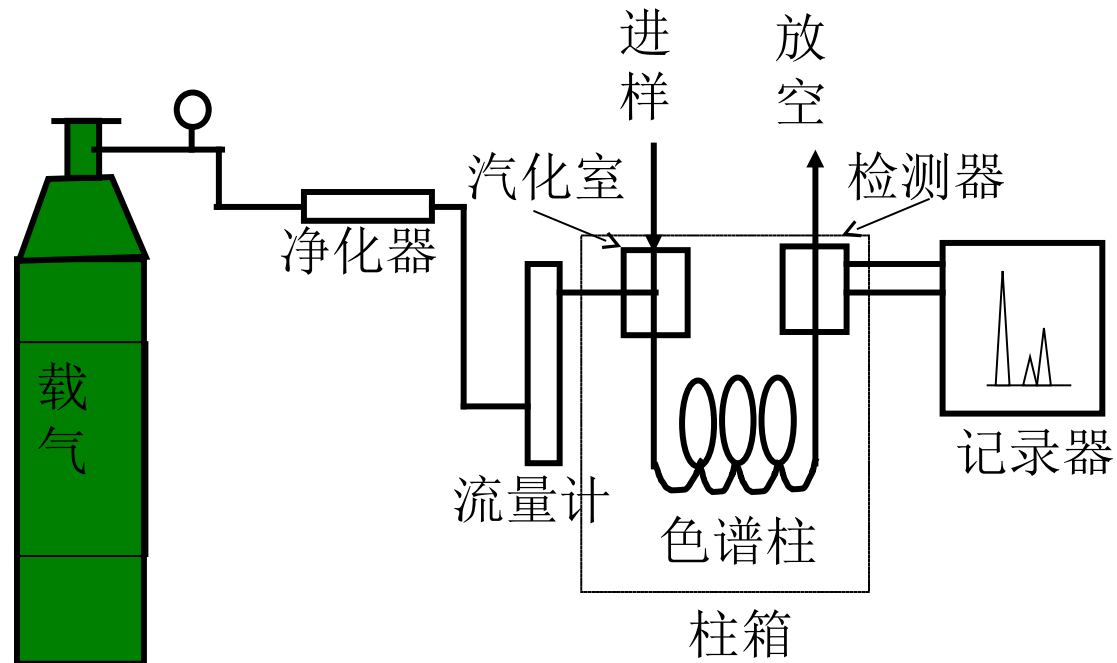
$$R = \frac{t'_{R_2} - t'_{R_1}}{W_{b_2}} = \frac{t'_{R_2} - t'_{R_1}}{4t'_{R_2}} \sqrt{n_{eff}}$$

$$R = \frac{r_{2,1} - 1}{4r_{2,1}} \sqrt{n_{eff}}$$

$$R = \frac{1}{4} \frac{r_{2,1} - 1}{r_{2,1}} \frac{k}{1 + k} \sqrt{n}$$

# 第三节 气相色谱法

## 一、气相色谱仪



气相色谱仪流程图

气相色谱仪主要包括四部分：

- 1、载气系统
- 2、进样系统
- 3、分离系统
- 4、检测系统

## 1、载气系统

载气由压缩气体钢瓶供给，经减压阀、稳压阀控制压强和流速，由压强计指示气体压强，然后进入检测器热导池的参考臂，继而进入色谱柱。最后通过热导池、流量计而放入大气。



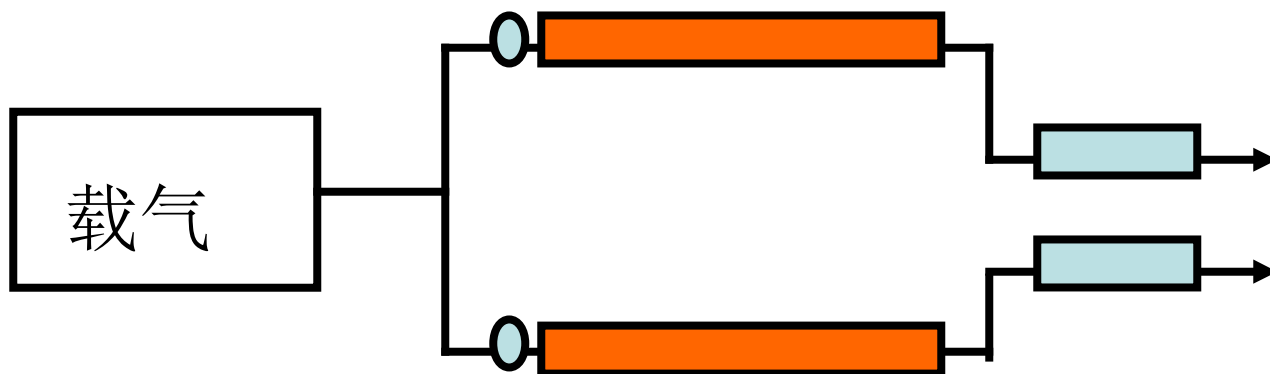
气相色谱对载气的基本要求：

( 1 ) 纯净

通过活性炭或分子筛净化器，除去载气中的水分、氧等有害杂质。

( 2 ) 稳定

采用稳压阀或双气路方式：



( 3 ) 常用的载气:

氮气

氢气

氦气

## 2、进样系统

包括进样装置和汽化室。

进样通常用微量注射器和进样阀将样品引入。液体样品引入后需要瞬间汽化。汽化在汽化室进行。

对汽化室的要求是：( 1 ) 体积小；  
( 2 ) 热容量大；( 3 ) 对样品无催化作用

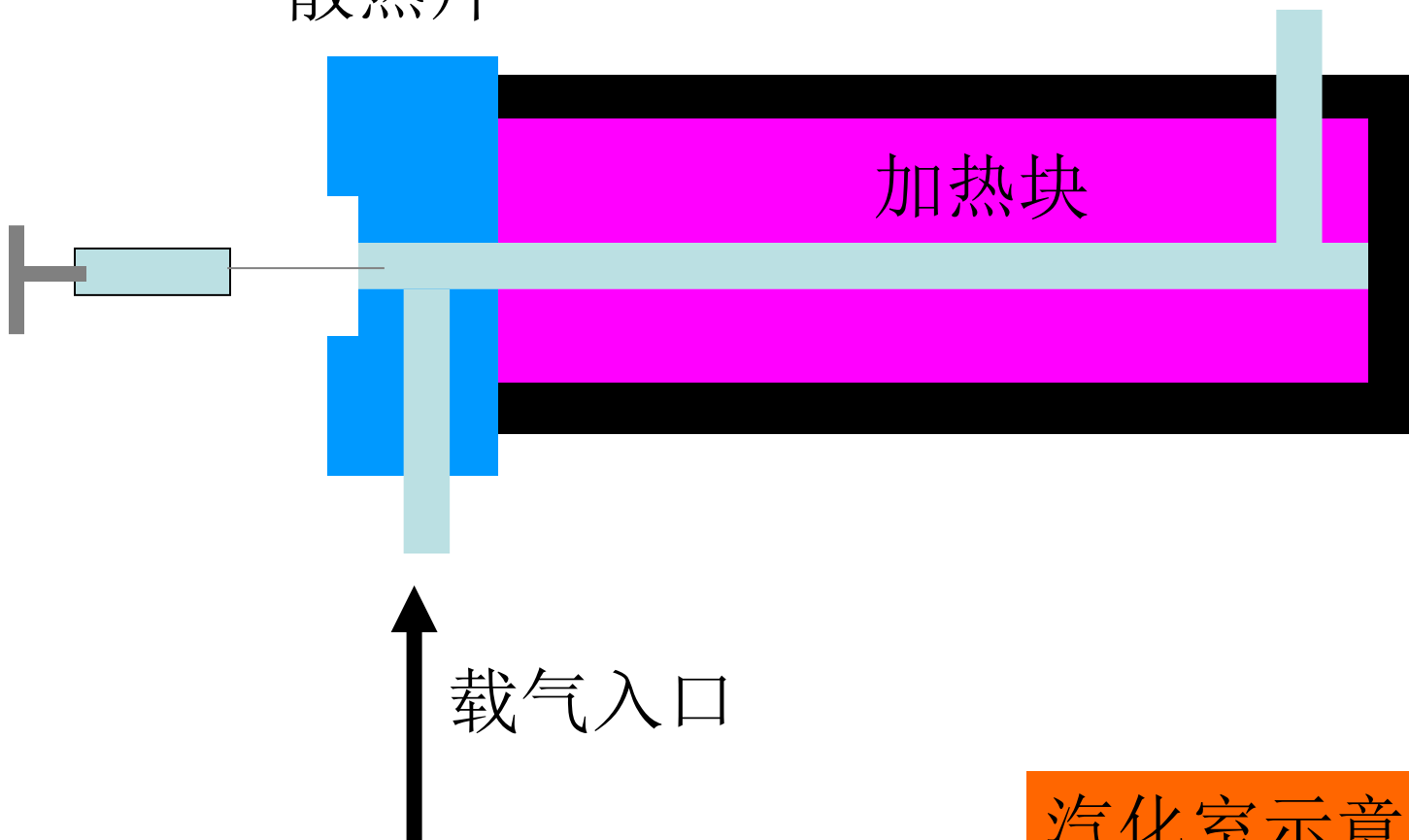
接色谱柱

散热片

加热块

载气入口

汽化室示意图

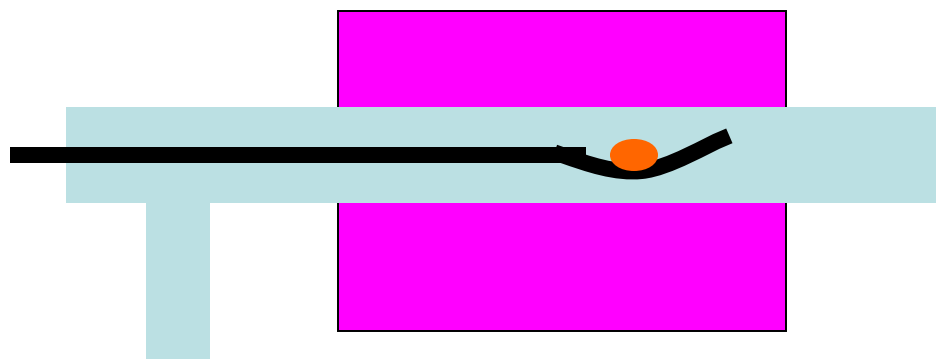


对高分子样品，采用裂解装置：

管式炉裂解器

热丝裂解器

居里点裂解器



载气入口

# 尼龙 6/66 共聚物在 650°C 的裂解色谱图

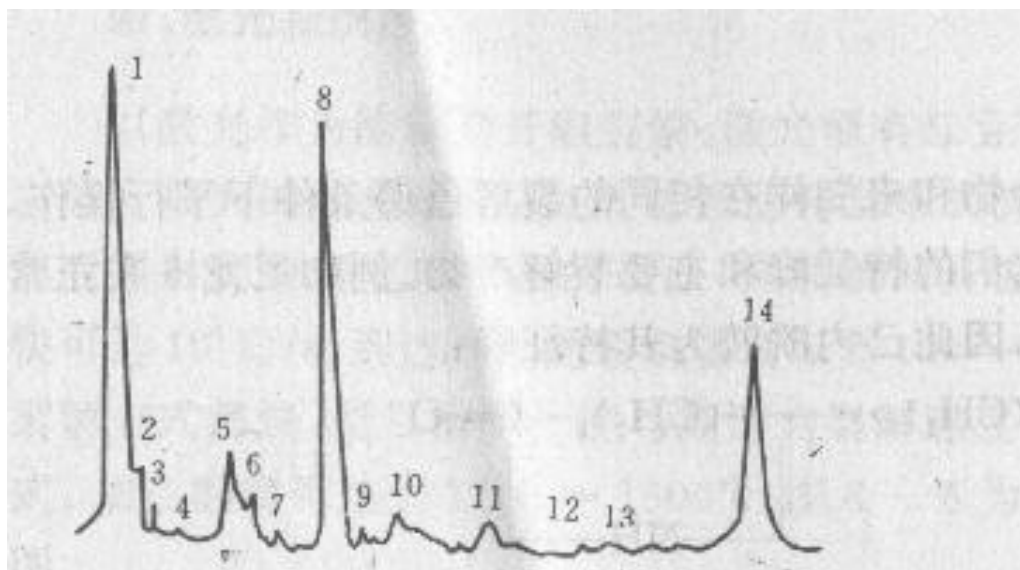


图 8—8 尼龙 6/66 共聚物(4:6)650°C 的  
裂解色谱图

峰:1,2 — 低沸点;3 — 环己烷;4 — 苯;5 — 丙烯腈;  
6 — 乙腈;7 — 甲苯;8 — 环戊酮;9 — 吡啶;10 — 苯乙烯;  
11 — 吡咯;12 — 苯甲腈;13 — 苯胺;14 — 己内酰胺。

### 3、分离系统

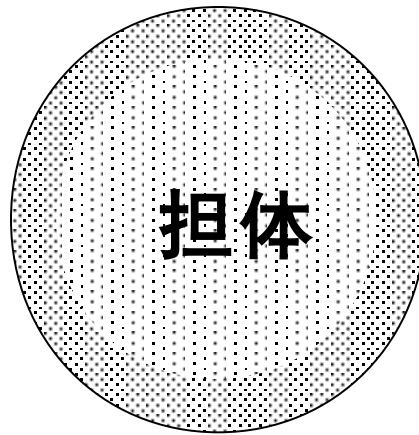
色谱柱 { 填充柱 ( 2-6mm 直径, 1-6m 长 )  
毛细管柱 ( 0.1-0.5mm 直径, 几十米长 )

固定相 { 固体固定相: 固体吸附剂  
液体固定相: 由担体和固定液组成

( 1 ) 固体固定相:

固体吸附剂包括活性炭、硅胶、 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 、分子筛等；用于 $\text{H}_2$ 、 $\text{O}_2$ 、 $\text{N}_2$ 、 $\text{CO}$ 、 $\text{CO}_2$ 、C1-C4 的分离；

( 2 ) 液体固定相



固定液

## 固定液的选择：

### 依据极性原则

（ A ）非极性组分分离——非极性固定液，  
组分出峰的顺序由蒸汽压决定，沸点高保留时间  
长

（ B ）中等极性组分分离——中等极性固定  
相，沸点与分子间力同时起作用

（ C ）强极性组分分离——强极性固定相，  
分子间力起作用，按极性大小出峰

（ D ）极性 + 非极性组分分离——极性固定  
相



例如：苯和环己烷的色谱分离

苯                      沸点 80.1°C

环己烷                沸点 80.7°C

采用非极性固定液，因组分出峰的顺序由蒸汽压决定，所以分不开；

但是苯容易极化

$t_{R(\text{苯})} / t_{R(\text{环己烷})}$

( 1 ) 用弱极性的邻苯二甲酸二辛酯                      1.5

( 2 ) 用极性的聚乙二醇 -400    3.9

( 3 ) 用 $\beta$ ,  $\beta'$  氧二丙氰    6.3

# 问题

怎样判断一个固定液的极性大小？

固定液极性测量：

以丁二烯、正丁烷为分析对象，以 $\beta$ 、 $\beta'$  - 氧二丙氰和角沙烷为固定液制成色谱柱

$$q = \lg \frac{t_R \text{ (丁二烯)}}{t_R \text{ (正丁烷)}}$$

求出  $q$  ( $\beta$ 、 $\beta'$  - 氧二丙氰)、 $q$  (角沙烷)、 $q$  (

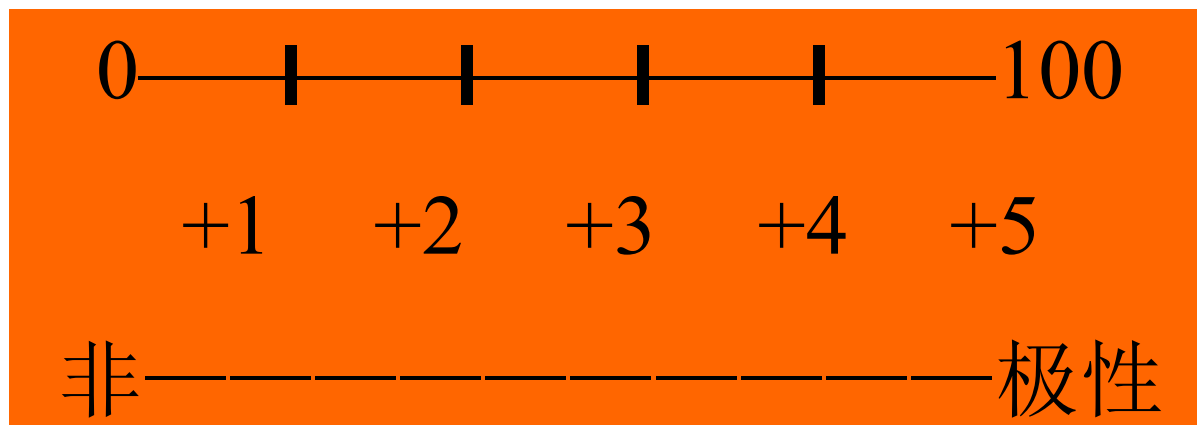
利用下式求出固定液的相对极性数据：

$$P_x = 100 - 100 \frac{q_{\beta,\beta} - q_x}{q_{\beta,\beta} - q_j}$$

当  $q_x = q_j$        $p_x = 0$

当  $q_x = q_{\beta\beta}$        $p_x = 100$

其它固定液的极性介于 0-100 之间



## 几种常见固定液的相对极性

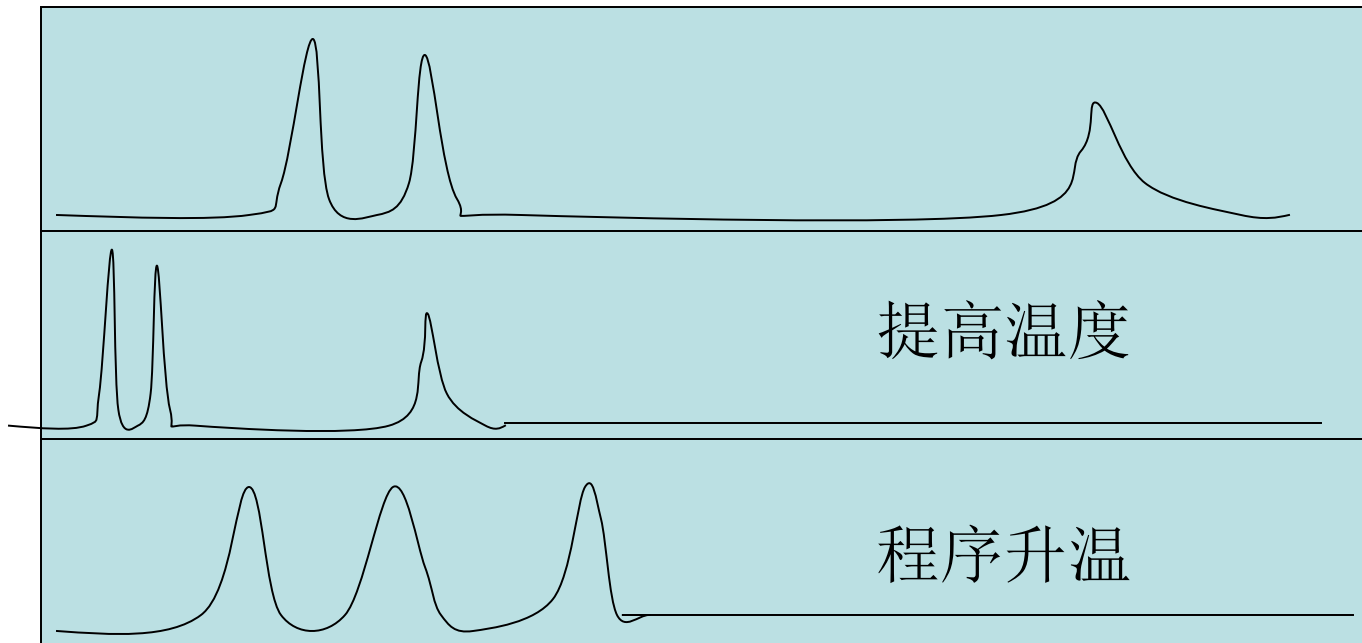
固 定 液	商品名	相对极性	最高使用温度(°C)	参考用途
角鲨烷	SQ	+1	150	低馏分烃 (C <sub>1</sub> —C <sub>8</sub> )
真空润滑脂	Apiezon L	+1	300	各种高沸点有机物
甲基硅橡胶	SE-30 OV-1	+1	300	各种高沸点化合物
含苯基的聚甲基硅氧烷				
低苯基含量	SE-52	+1	350	各种高沸点化合物
中苯基含量	OV-17	+2	350	各种高沸点化合物
聚甲基苯基乙烯基硅氧烷	SE-54		350	选择性同 SE-30
三氟丙基甲基聚硅氧烷	QF-1	+3	250	含卤素化合物、甾类化合物
聚乙二醇 20M	PEG-20M	+4	220	含氧、氮官能团, 杂环化合物、烷烃及环烷烃
$\beta, \beta'$ -氧二丙腈	ODPN	+5	75	低级含氧化合物、胺、环烃和芳烃化合物

## 4、控温系统

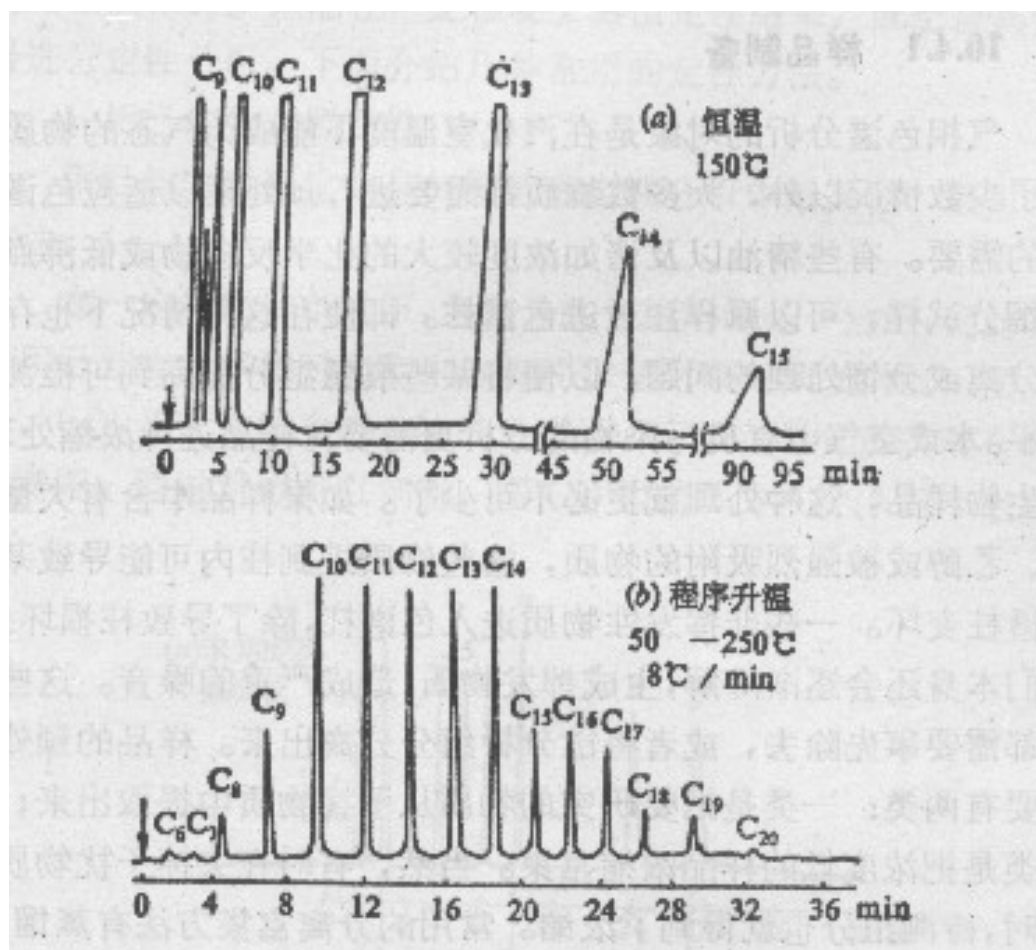
作用

{ 恒温  
程序升温

K 是热力学常数，随温度变化，温度越高，K 值越小，因此保留时间越短，据此，可通过柱温调节分离程度。



## 恒温 and 程序升温分析烃类化合物



## 5、检测器

作用：将色谱分离后的各组分的量转变成可测量的电信号，然后纪录下来。

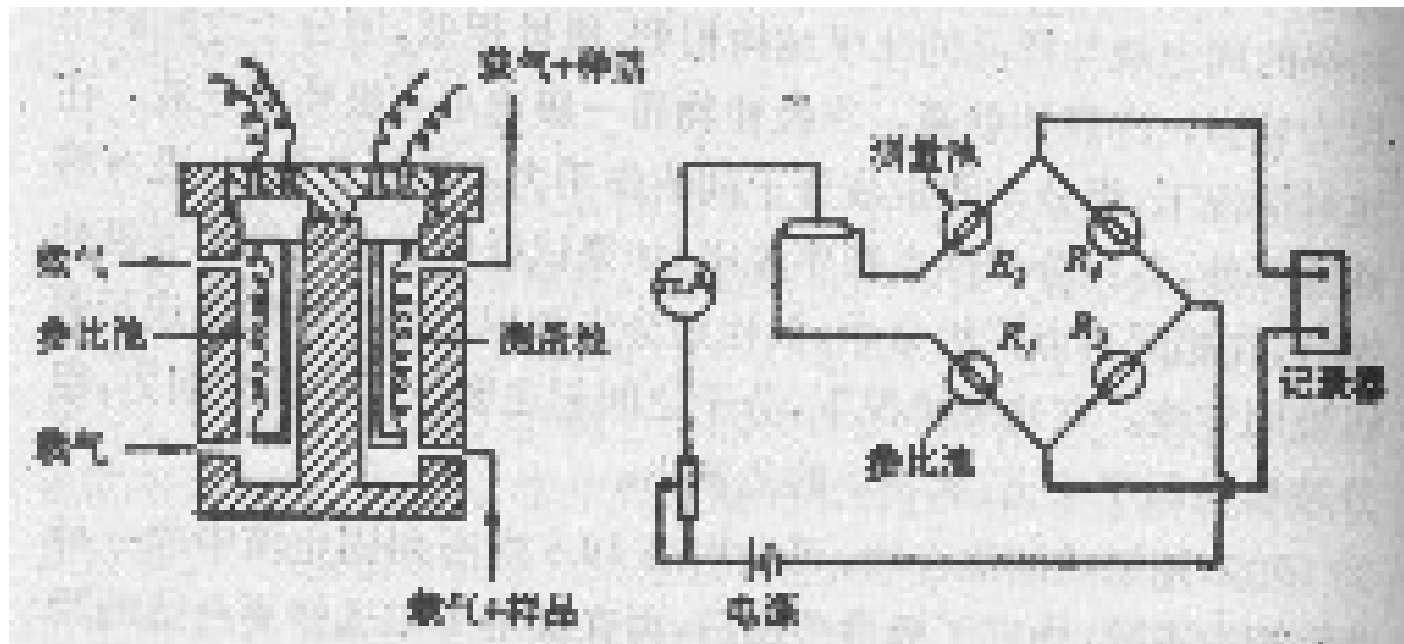
要求:

- 灵敏度高
- 线性范围宽
- 响应速度快
- 结构简单
- 通用性强

常用检测器：  
热导检测器  
氢火焰离子化检测器  
电子捕获检测器



# A、热导检测器 (Thermal Conductivity Detector, TCD)



## 某些气体和蒸汽的热导系数

气体			气体		
0°C			0°C		
100°C			100°C		
H <sub>2</sub>	17.41	22.4	甲烷	3.01	4.56
He	14.57	17.41	乙烷	1.80	3.06
N <sub>2</sub>	2.43	3.14	丙烷	1.51	2.64
空气	2.17	3.14	正丁烷	1.34	2.34
CO <sub>2</sub>	1.47	2.22	甲醇	1.42	2.30

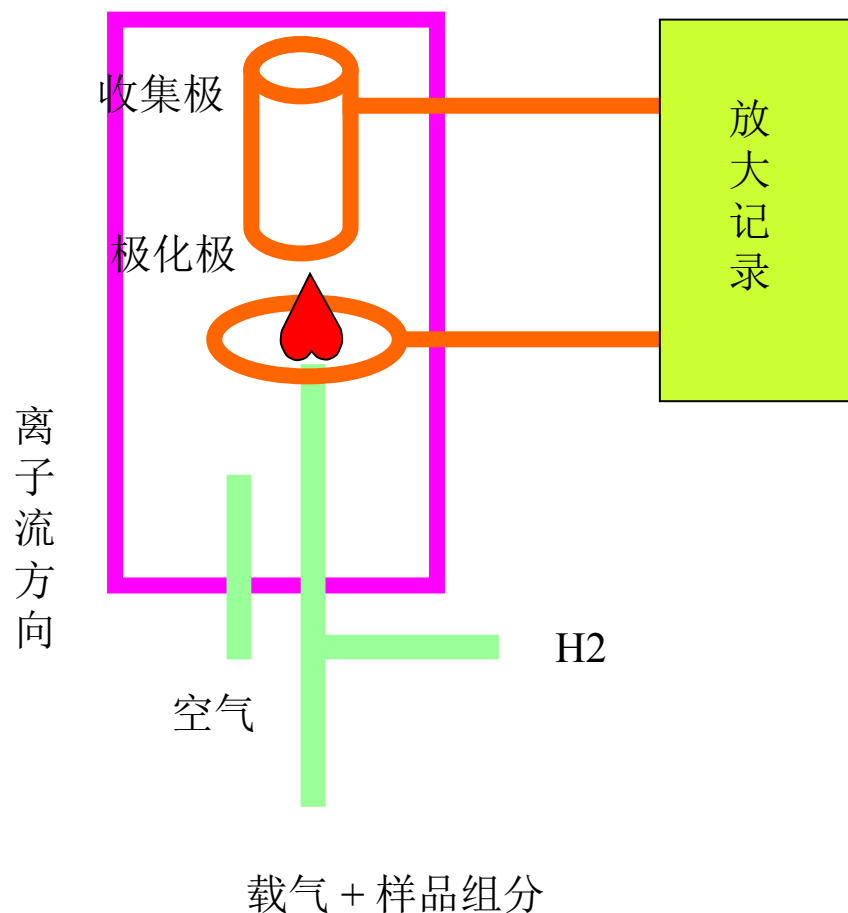
热导检测器的主要特点：

- (1) 结构简单
- (2) 对无机物和有机物都有响应
- (3) 灵敏度不高

## B、氢火焰离子化检测器

### Flame Ionization Detector (FID)

有机物在火焰中电离形成离子流，根据离子流的出现和大小进行分析。

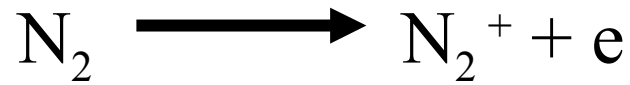


氢火焰离子化检测器的特点：

- （ 1 ）灵敏度高，线性范围宽
- （ 2 ）适于有机物的检测
- （ 3 ）不能检测惰性气体、空气、  
水、CO、CO<sub>2</sub>、NO、SO<sub>2</sub> 等气体

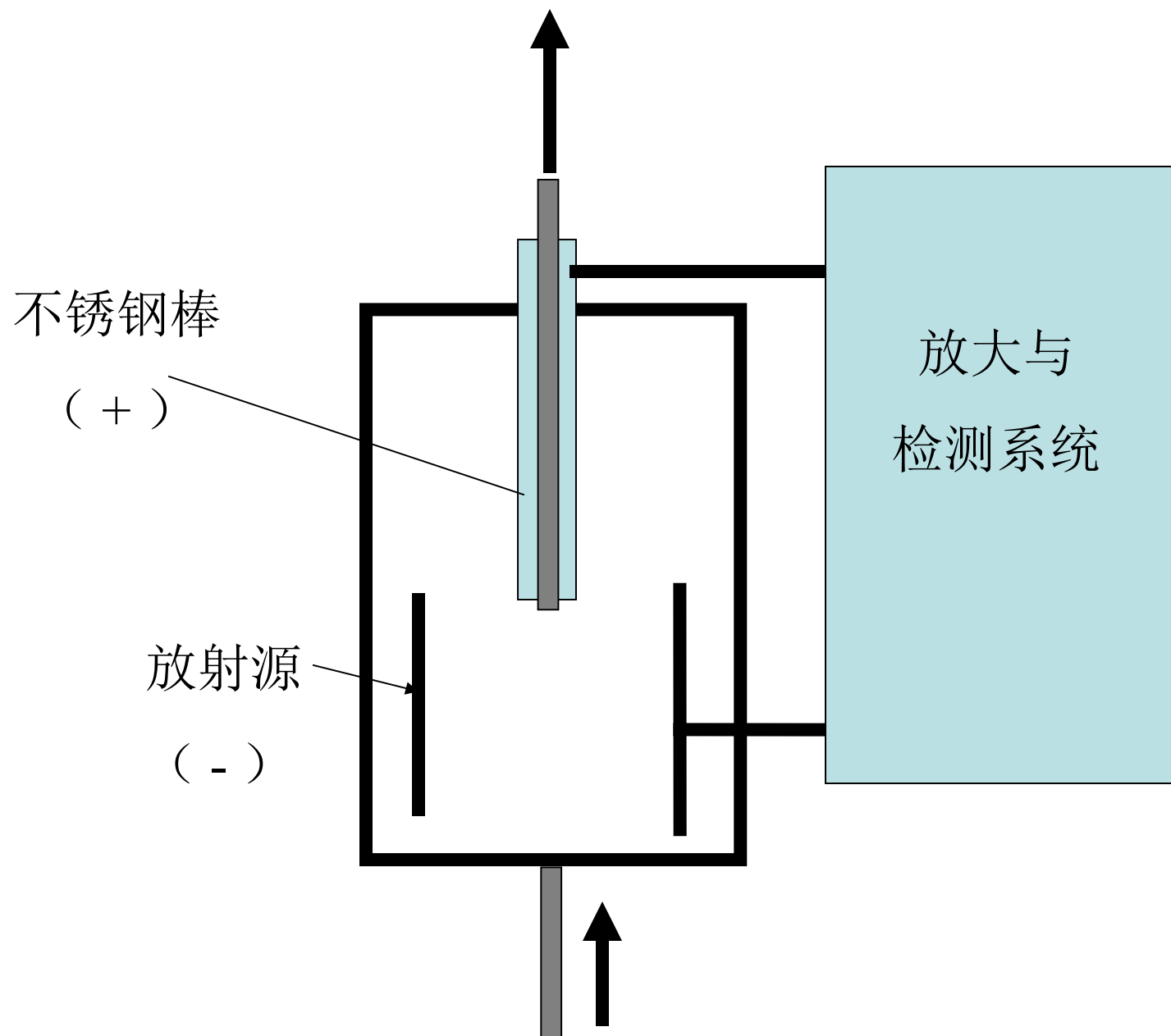
## C、电子俘获检测器

载气在 $\beta$  - 射线源的照射下发生电离：



形成稳定的基流。

卤素等含电负性的原子捕获电子生成稳定的负离子，并与载气正离结合，使基流信号下降，根据信号是否降低和降低程度，可检测组分。



电子俘获检测器的特点：

- （ 1 ）对卤素、硫、磷、氮、氧有很强的响应；
- （ 2 ）灵敏度高，可用于痕量农药残留物的分析；
- （ 3 ）线性范围较窄



## D、火焰光度检测器

( Flame Photometric Detector , FPD )

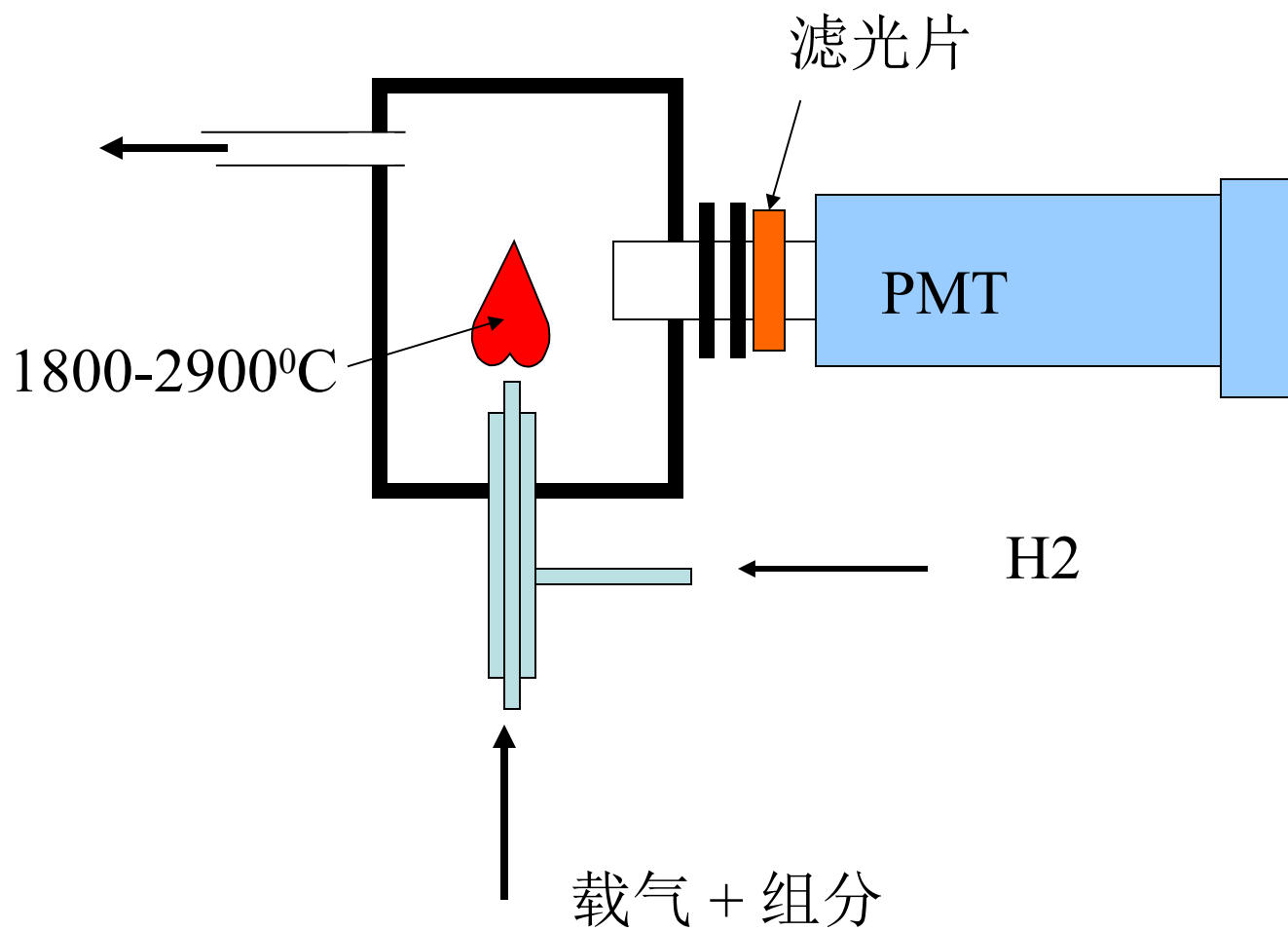
是一种对硫磷选择性的检测器，这两种元素燃烧中被激发，从而发射特征的光信号：



S——394 nm

P——526 nm





## E、其它检测器

( 1 ) GC-MS

( 2 ) GC-FTIR

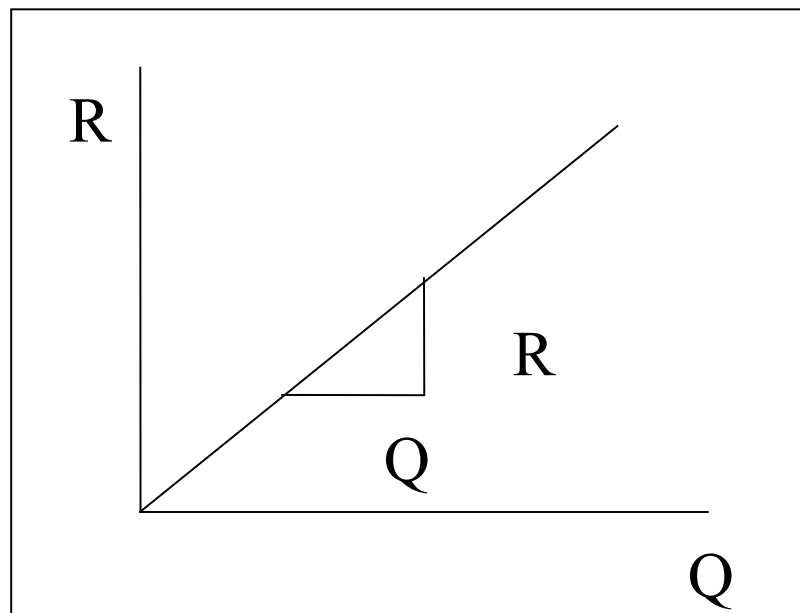
## F、检测器的性能指标

### (1) 灵敏度 (Sensitivity)

指样品量变化引起信号变化的程度，程度越大灵敏度越高。

$$S = \frac{\Delta R}{\Delta Q}$$

单位质量  
(或浓度) 的物质  
通过检测器时所产生的信号的大小。



<b>R</b>	<b>峰高</b>	<b>mV</b>	<b>S</b>	<b>mV ml/mg</b>
	<b>面积</b>	<b>A= ( mV )<sup>2</sup></b>		<b>A ml/mg</b>
<b>Q</b>	<b>质量</b>	<b>g/s</b>		<b>mV s/g</b>
	<b>浓度</b>	<b>mg/ml ,</b>		<b>A s/g</b>
		<b>ml/ml</b>		

## （ 2 ） 检测限 （ Detection Limit ）

3 倍噪音所相当的物质的量称为检测限

$$D = \frac{3N}{S}$$

N 为噪音，单位为 mV

## （ 3 ） 线性范围 （ Linear range ）

指检测器信号与样品浓度（或量）之间成正比关系的范围。

# 气相色谱仪小结

主要包括四部分：

- 1、载气系统
- 2、进样系统
- 3、分离系统
- 4、检测系统

## 二、气相色谱分析方法

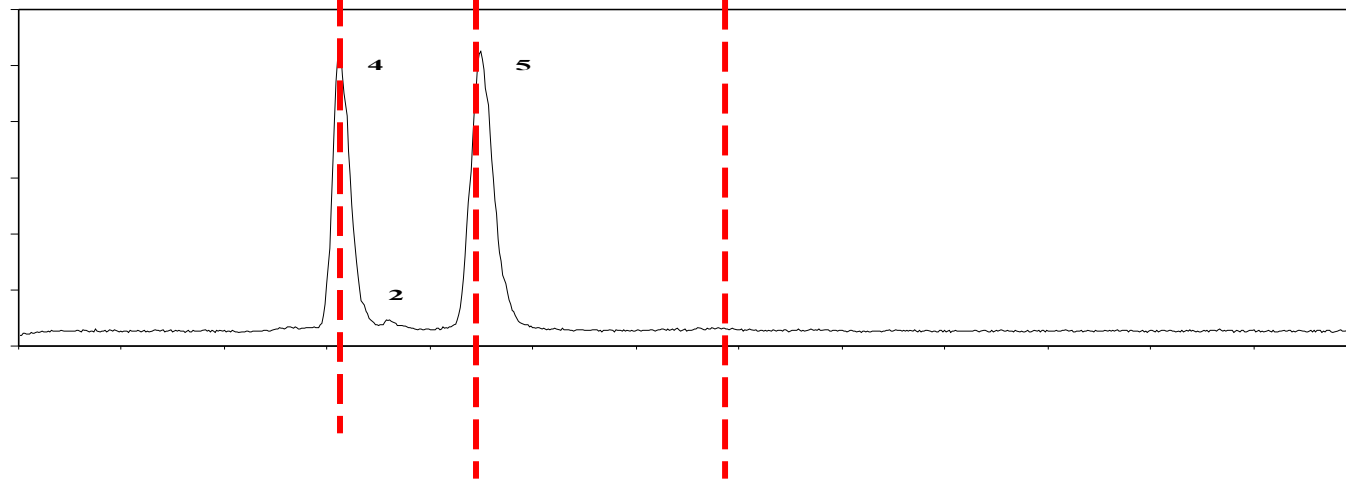
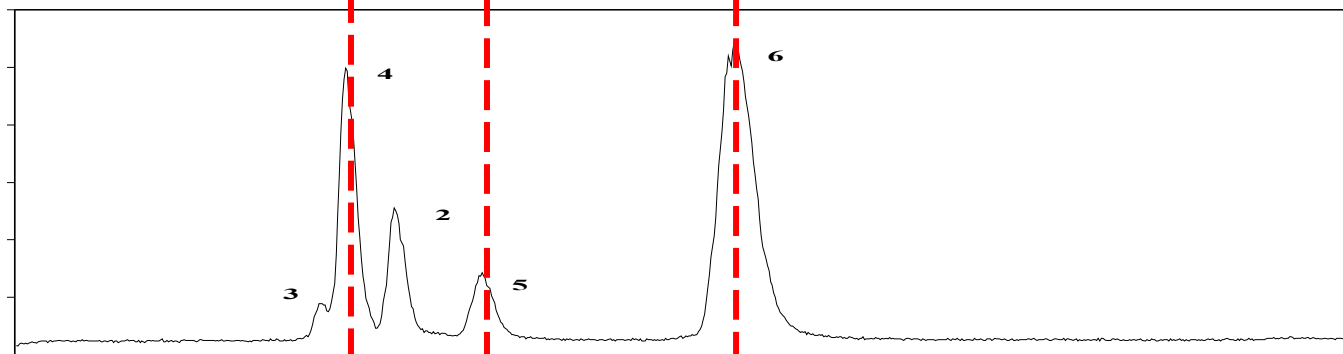
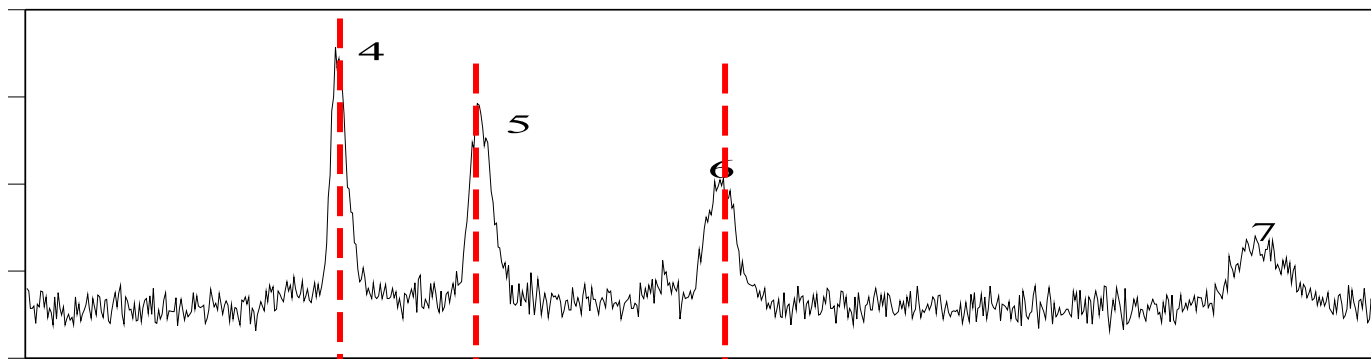
### 1、定性分析

#### （1）保留时间定性法（已知物对照方法）

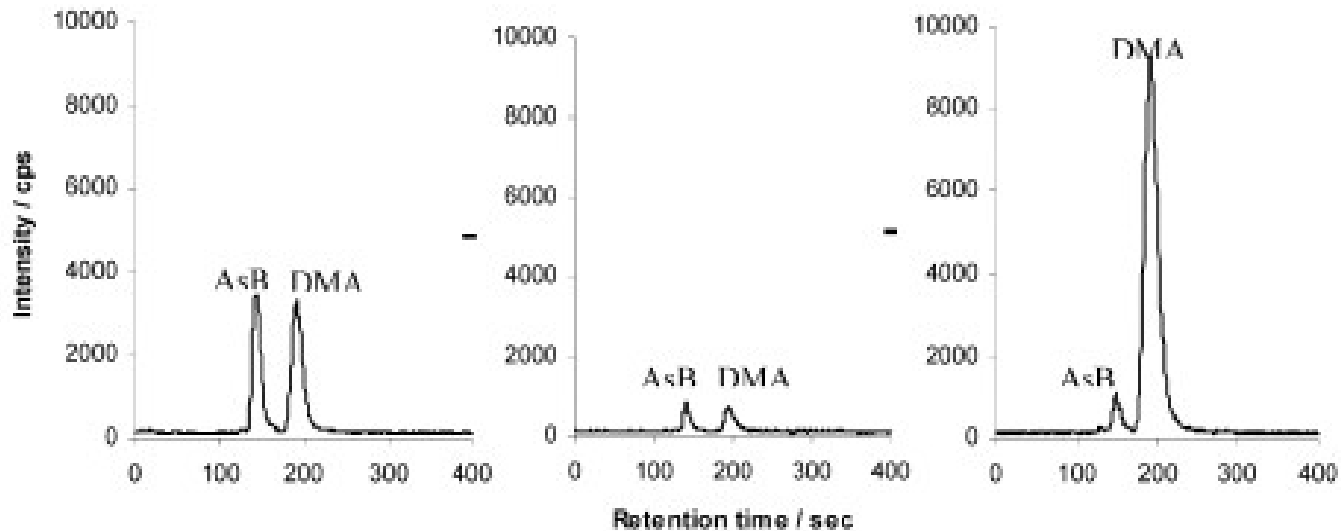
在一定的色谱系统和操作条件下，每种物质都有一定的保留时间，如果在相同色谱条件下，未知物的保留时间与标准物质相同，则可初步认为它们为同一物质。

由于保留时间定性受温度影响，因此应严格控制温度；





为了提高定性分析的可靠性，还可进一步改变色谱条件（分离柱、流动相、柱温等）或在样品中添加标准物质，如果被测物的保留时间仍然与标准物质一致，则可认为它们为同一物质。



## ( 2 ) 保留指数 ( I ) 定性法

以正构烷烃为参考标准，某一未知组分的保留行为用两个紧靠近它的标准物质（正构烷烃）来标定：

$$I = 100 N$$

N 为碳原子数

例如：正己烷  $I = 600$

正辛烷  $I = 800$

其它化合物  $I_x = 100 x$

x 为组分相当于正构烷烃 C 原子的数

例如：苯在某柱子上的  $I_x = 733$

表示苯在该柱上的保留值相当于含 7.33 个碳原子的正构烷烃的保留值。

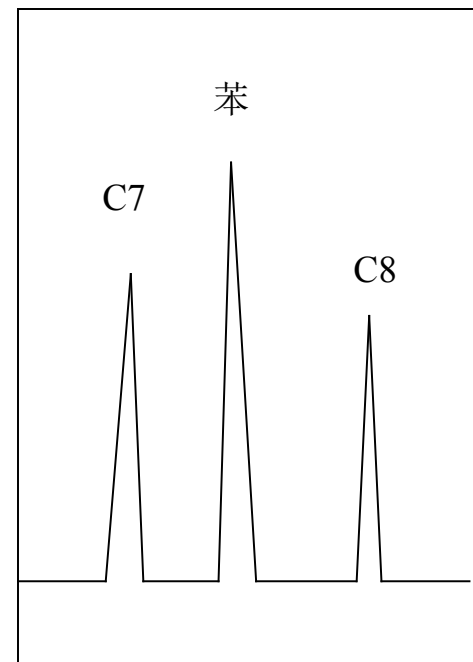
所以保留指数可计算如下：

$$I = 100 \left[ N + \frac{\lg r_{x,N}}{\lg r_{N+n,N}} \right]$$

N , N+n —— 分别为两个正构烷烃的碳原子数 , n 最好等于 1

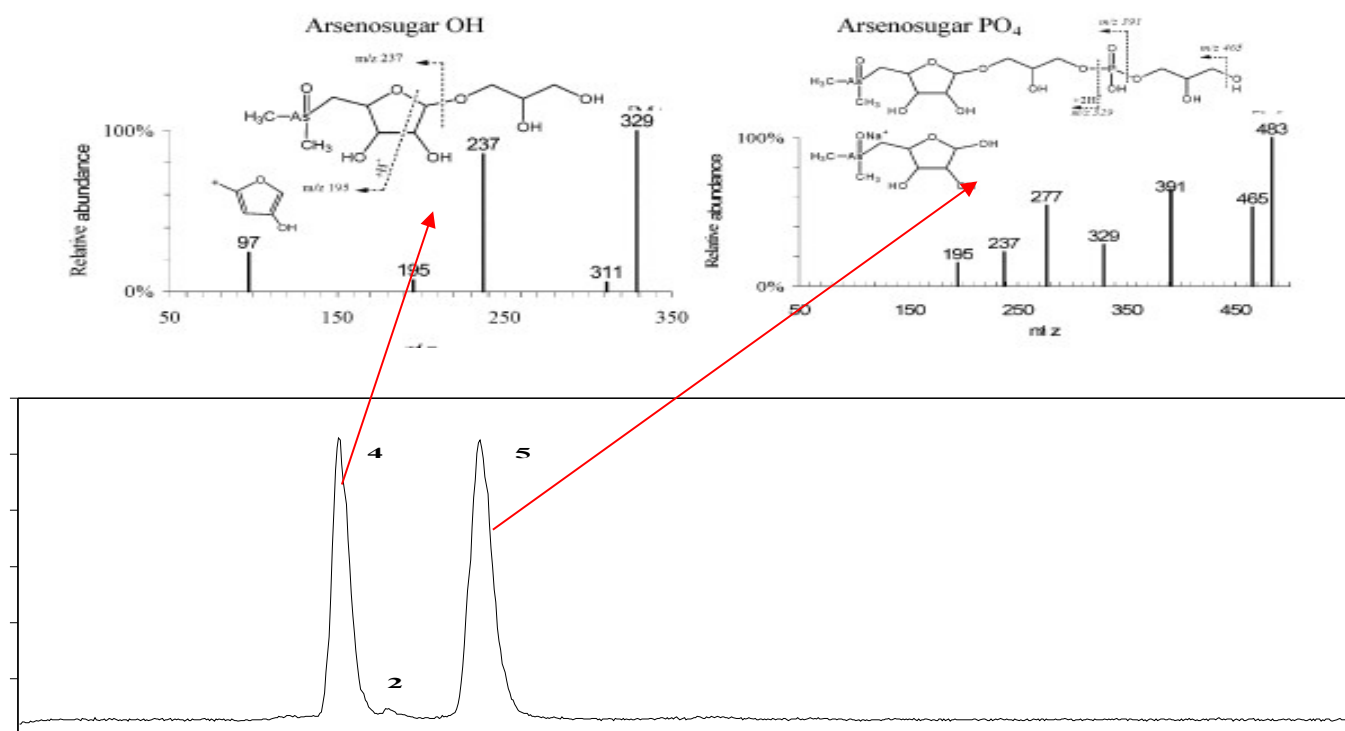
$$r_{x,N} = \frac{t'_{R(x)}}{t'_{R(N)}}$$

$$r_{N+n,N} = \frac{t'_{R(N+n)}}{t'_{R(N)}}$$



### (3) 与其他仪器联用定性

将具有定性能力的分析仪器如红外（IR）、核磁（NMR）、质谱（MS）、原子光谱（AAS、AES）等仪器作为色谱仪的检测器获得比较准确的定性信息。



## 2、定量分析

色谱定量分析的依据是被测物质的量与它在色谱图上的峰面积（或峰高）成正比。

$$W_i = f_i A_i$$

$f_i$  称为定量校正因子。

（1）校正因子  $f_i$

分为绝对和相对校正因子两种。绝对校正因子为

$$f_i = \frac{W_i}{A_i}$$

绝对校正因子受实验条件的影响，定量分析时必须与实际样品在相同条件下测定标准物质的校正因子。

因此常用相对校正因子：

相对校正因子  $f'$  指某物质  $i$  与一选择的标准物质  $S$  的绝对校正因子之比。 即

$$f'_i = \frac{f_i}{f_s} = \frac{W_i / A_i}{W_s / A_s}$$

相对校正因子只与检测器类型有关，而与色谱条件无关。

常用于作为标准物质  $S$  的有苯（热导检测器）和庚烷（氢火焰离子化检测器）等。

## (2) 定量分析的方法

### A、归一化法

若流出色谱柱组分的总量为  
:

$$\sum_{i=1}^n W_i = \sum_{i=1}^n A_i f_i$$

则 X 组分所占的百分含量  
为

$$W_i \% = \frac{A_x f_x}{\sum_{i=1}^n A_i f_i}$$

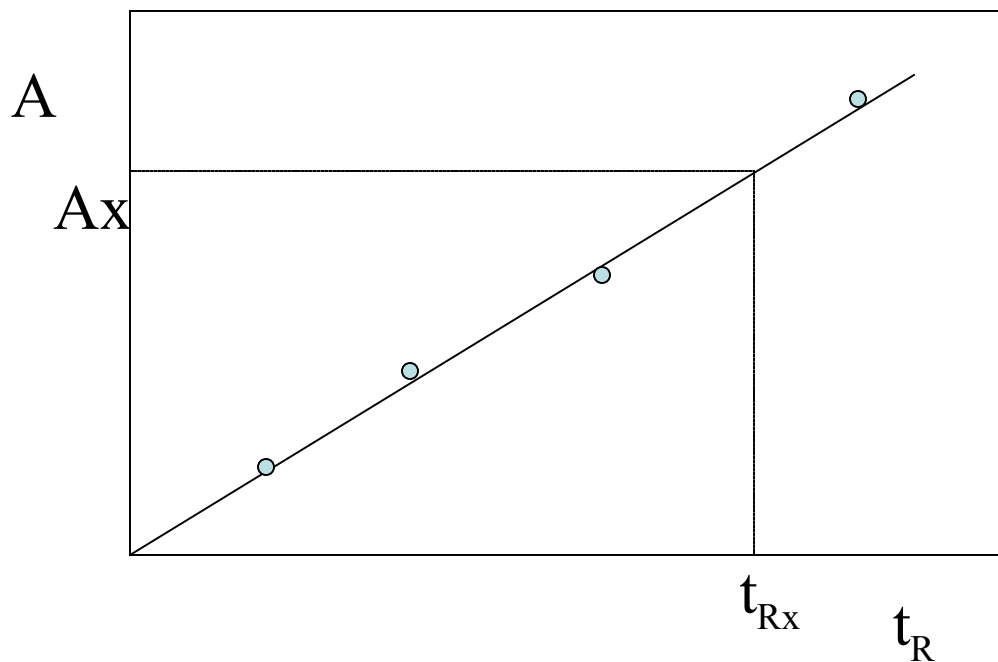
归一化法是将所有组分的峰面积  $A_i$  分别乘以它们的相对校正因子后求和，即所谓“归一”

采用归一化法进行定量分析的前提条件是样品中所有成分都要能从色谱柱上洗脱下来并能被检测器检测



## B、外标法

将某组分的峰面积与该组分标准峰面积直接比较定量。或采用标准曲线法定量：



## C、内标法

比较标准物质和被测组分的峰面积，从而确定被测组分的浓度。

$$\frac{W_i}{W_s} = \frac{f_i A_i}{f_s A_s}$$

$$W_i = \frac{f_i A_i}{f_s A_s} W_s$$

由于标准物质和被测组分处在同一基体中，因此可以消除基体带来的干扰。而且当仪器参数和洗脱条件发生非人为的变化时，标准物质和样品组分都会受到同样影响，这样消除了系统误差。

内标物应满足的要求：

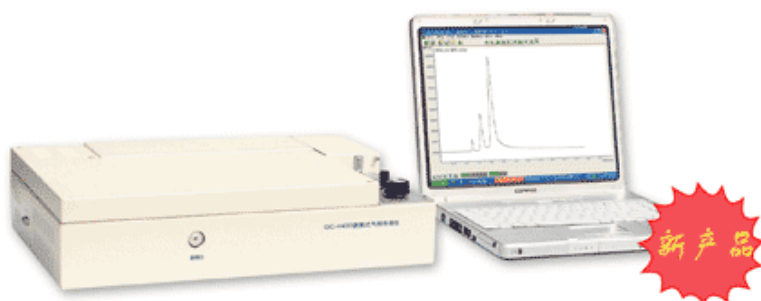
- 在所给定的色谱条件下具有一定的化学稳定性；
- 在接近所测定物质的保留时间内洗脱下来；
- 与两个相邻峰达到基线分离；
- 物质特有的校正因子应为已知的或者可测定；
- 与待测组分有相近的浓度和类似的保留行为；
- 具有较高的纯度。

# 气相色谱的应用举例

应用领域	分析对象举例
环境	水样中芳香烃，杀虫剂，除草剂，水中锑形态
石油	原油成分、汽油中各种烷烃和芳香烃
化工	喷气发动机燃料中烃类，石蜡中高分子烃
食品、水果、蔬菜	植物精炼油中各种烯烃、醇和酯，亚硝胺，香料中香味成分，人造黄油中的不饱和十八酸，牛奶中饱和和不饱和脂肪酸
生物	植物中萜类，微生物中胺类、脂肪酸类、脂肪酸酯类
医药	血液中汞形态、中药中挥发油
法医学	血液中酒精，尿中可卡因、安非他命，奎宁及其代谢物，火药成分，纵火样品中的汽油

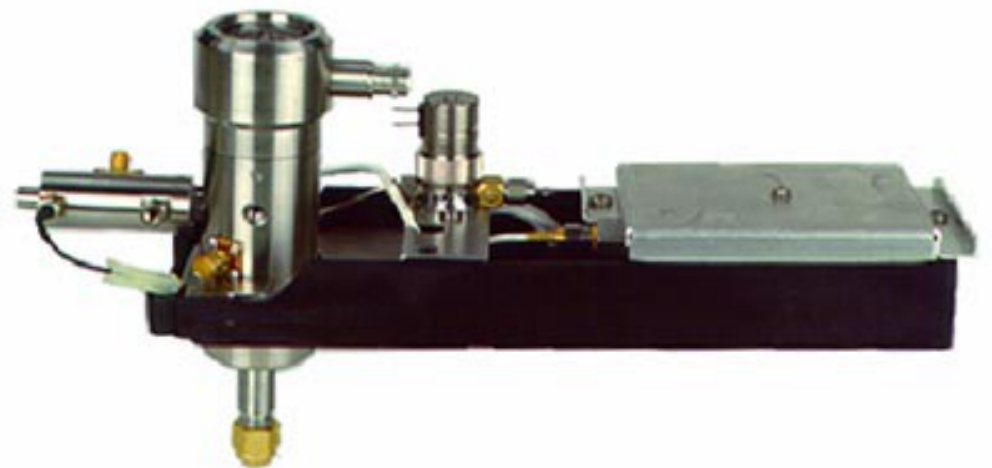
# 便携式气相色谱仪

BCEIA金奖



国内第一家产业化生产便携式光离子化气相色谱仪!





## 第四节

## 高效液相色谱法

### High Performance Liquid Chromatography, HPLC

#### 一、概述

气相色谱只适合分析较易挥发、且化学性质稳定的有机化合物，而 HPLC 则适合于分析那些用气相色谱难以分析的物质，如挥发性差、极性 strong、具有生物活性、热稳定性差的物质。所以，HPLC 的应用范围已经远远超过气相色谱。

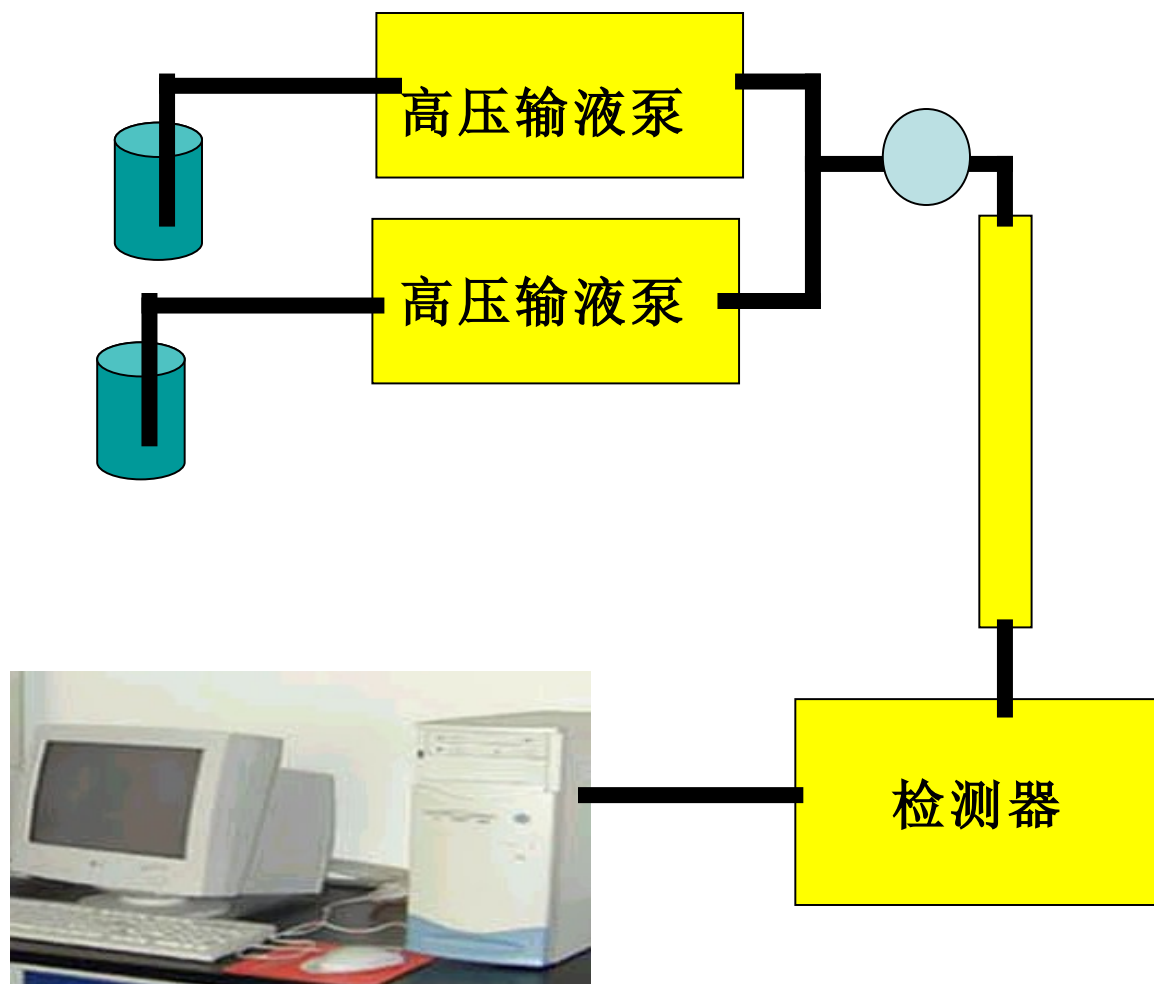
通常将液相色谱法按分离机理分成吸附色谱法、分配色谱法、离子色谱法和凝胶色谱法四大类。其实，有些液相色谱方法并不能简单地归于这四类。

类 型	主要分离机理	主要分析对象或应用领域
吸附色谱	吸附能，氢键	异构体分离、族分离，制备
分配色谱	疏水分配作用	各种有机化合物的分离、分析与制备
凝胶色谱	溶质分子大小	高分子分离，分子量及其分布的测定
离子交换色谱	库仑力	无机离子、有机离子分析
手性色谱	立体效应	手性异构体分离，药物纯化
亲和色谱	生化特异亲和力	蛋白、酶、抗体分离，生物和医药分析



## 二、高效液相色谱仪





输液系统  
进样系统  
分离系统  
检测系统  
数据处理系统

## 1、输液系统

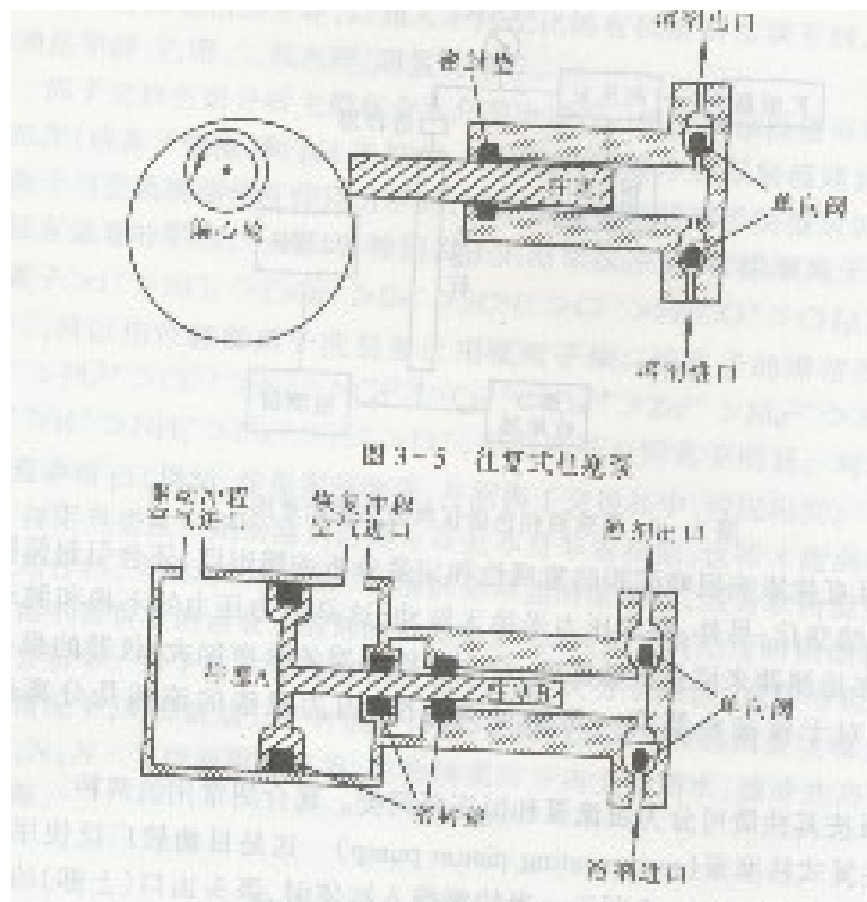
高压输液泵  
在线脱气装置

### (1) 高压输液泵

高压输液泵是液相色谱仪的关键部件，其作用是将流动相以稳定的流速或压力输送到色谱系统。

输液泵的稳定性直接关系到分析结果的重复性和准确性。

。



## (2) 在线脱气装置

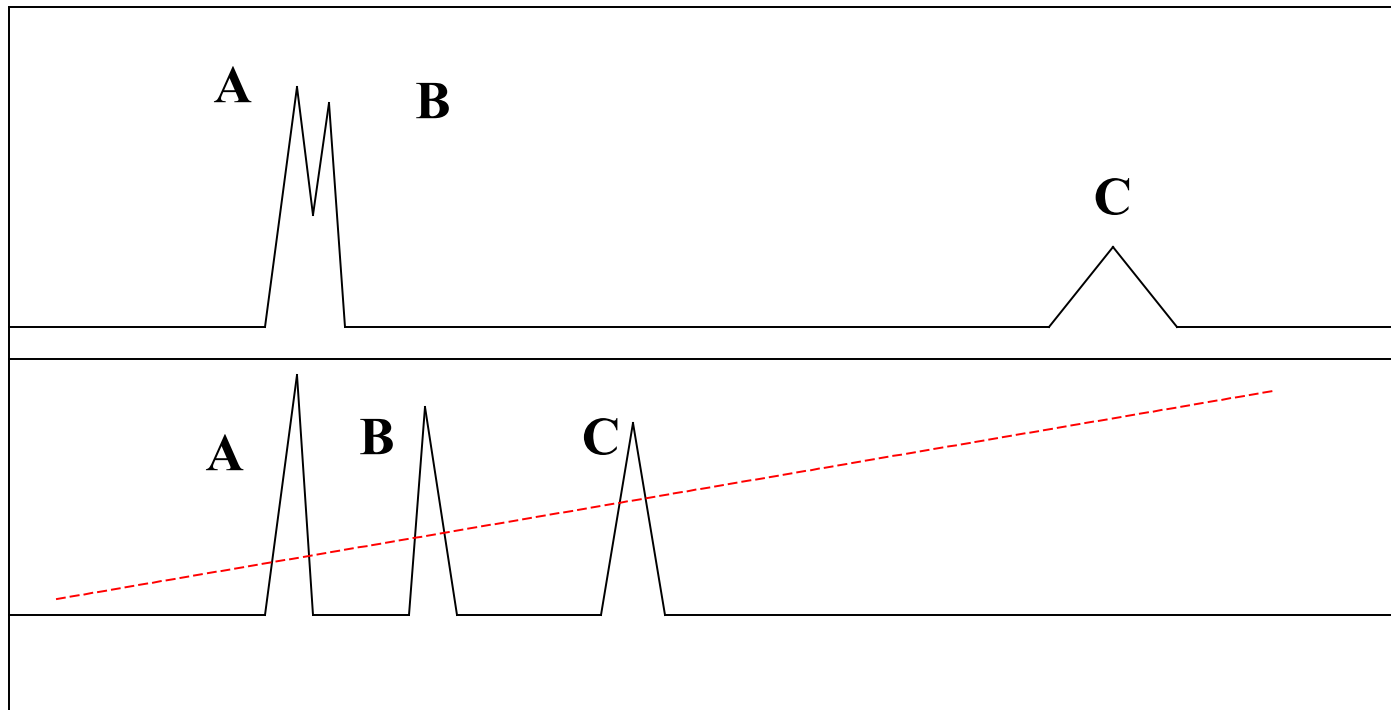
在线脱气装置用于脱去流动相中的溶解气体，流动相先经过脱气装置再输送到色谱柱。

除在线脱气装置外，目前也采用超声脱气、真空脱气等方式。

脱气不好时有气泡，导致流动相流速不稳定，造成基线飘溢，噪音增加。

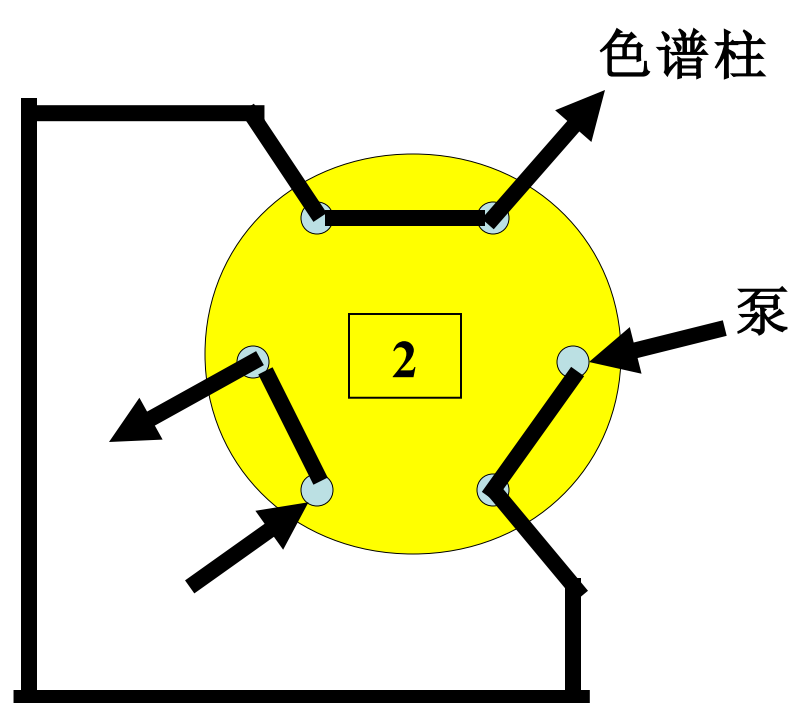
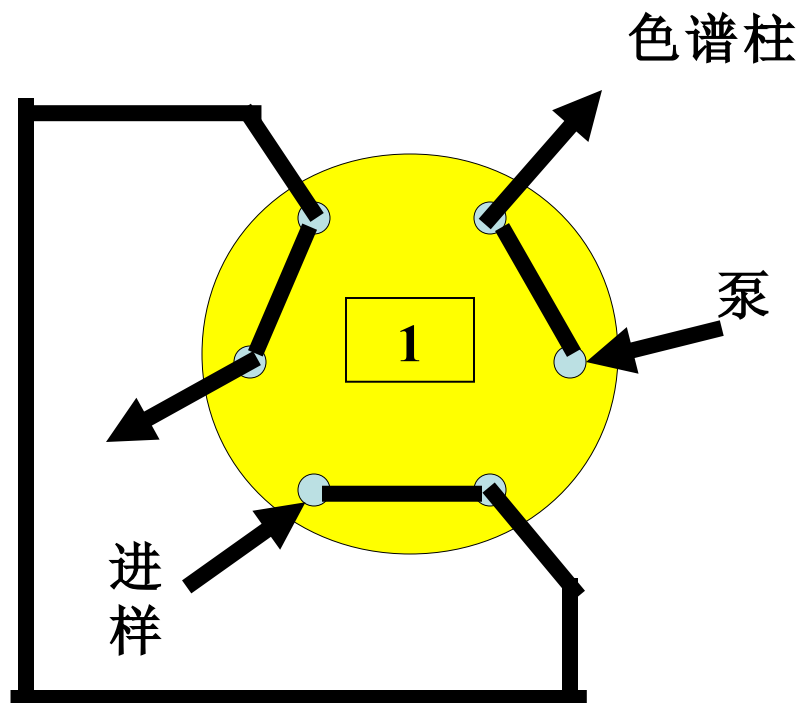
### ( 3 ) 梯度洗脱装置

通过两个输液泵流速的变化，改变流动相的洗脱能力，其作用与气相色谱的程序升温类似。



## 2、进样系统

通常采用六通伐进样：



### 3、色谱柱


{	Normal column	5-um 、 4.6-um
	Narrow bore column	1-3 um
	Micro column	< 1 um

色谱柱是实现分离的核心部件，要求柱效高、柱容量大和性能稳定。柱性能与柱结构、填料特性、填充质量和使用条件有关。

## 4、检测器

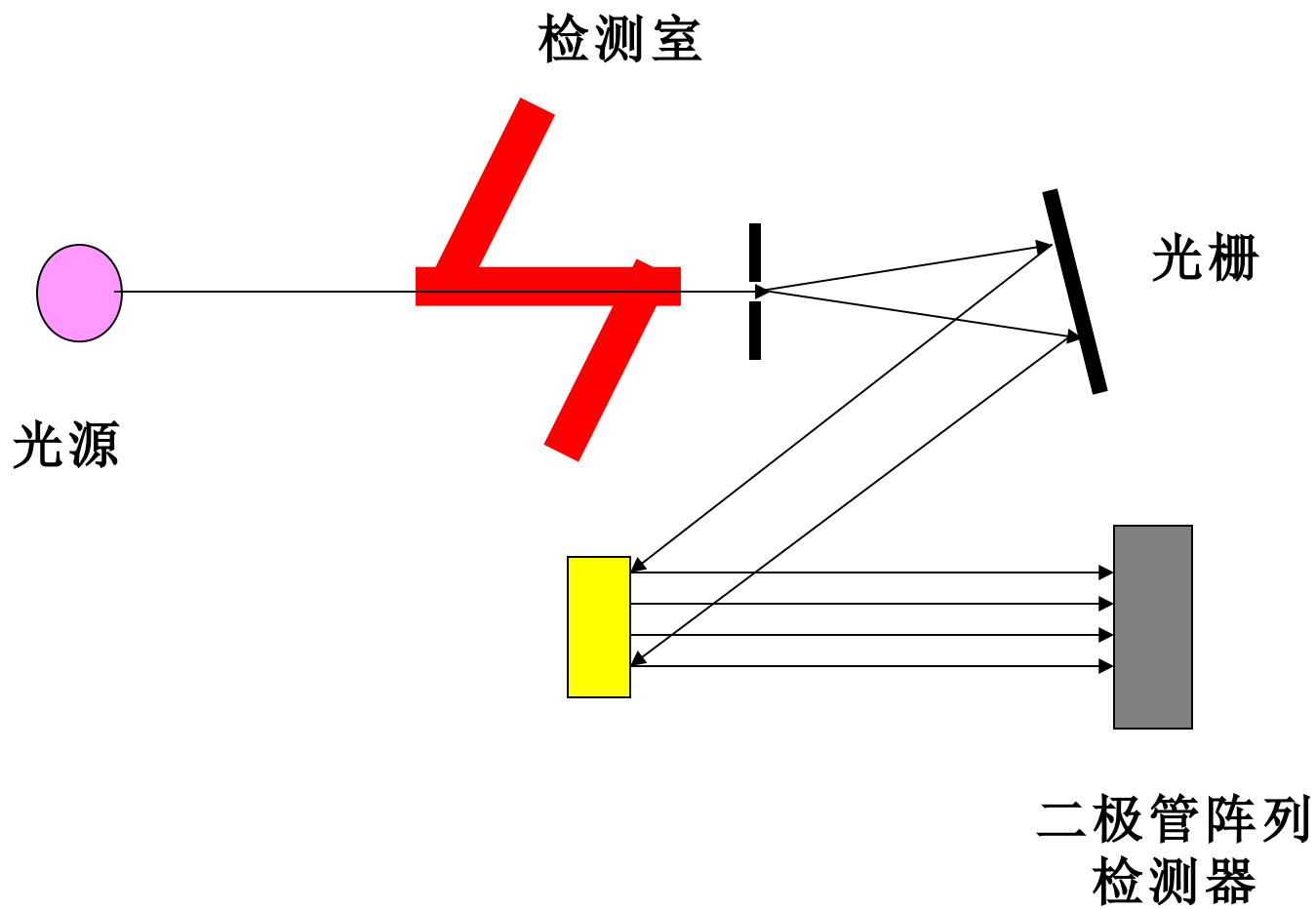
作用—— 用来连续监测经色谱柱分离后的流出物的组成和含量变化的装置。

目前最常用的检测器主要有：

- 
- 紫外 - 可见检测器
  - 荧光检测器
  - 电化学检测器
  - 蒸发光散射检测器
  - 质谱检测器



# (1) 紫外 - 可见检测器

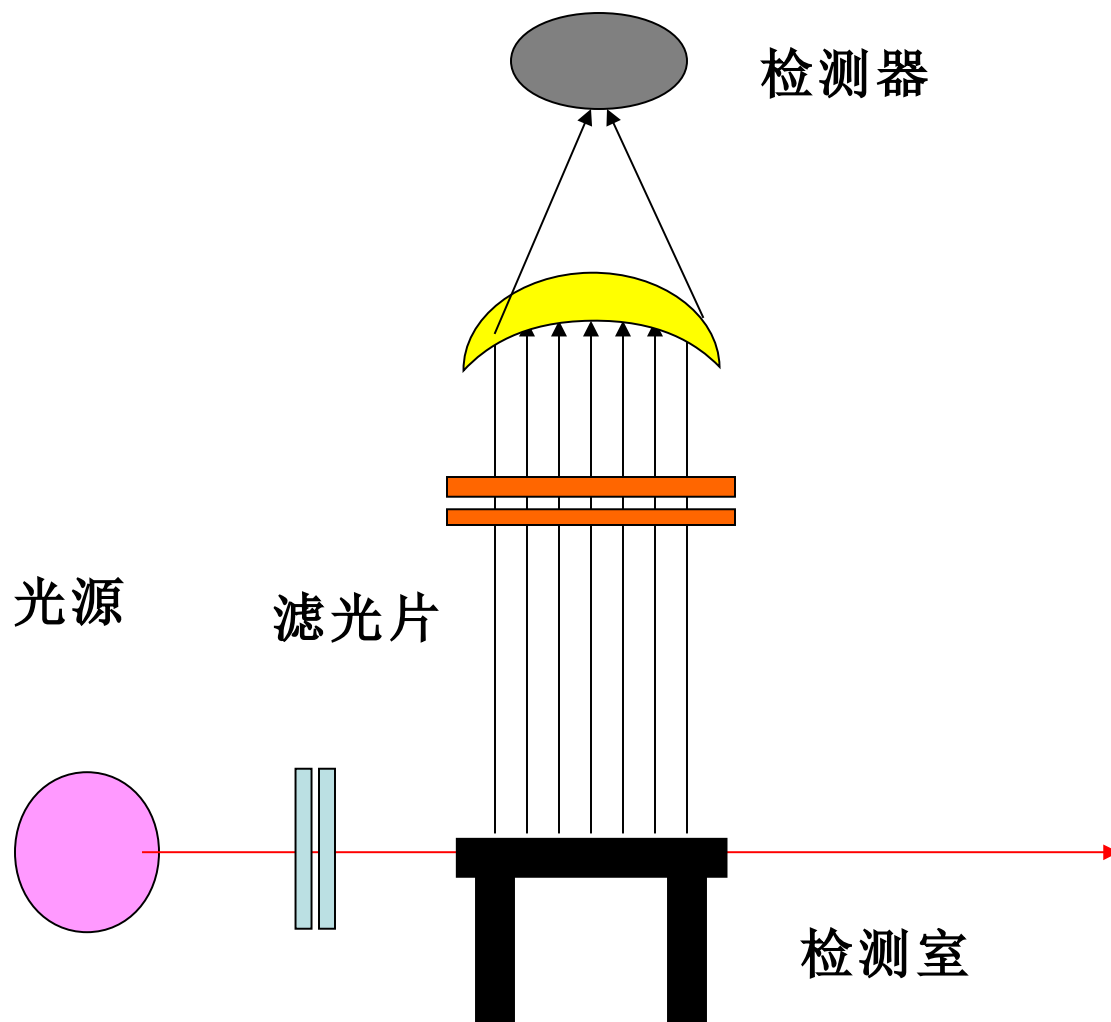


## （ 2 ） 荧光检测器

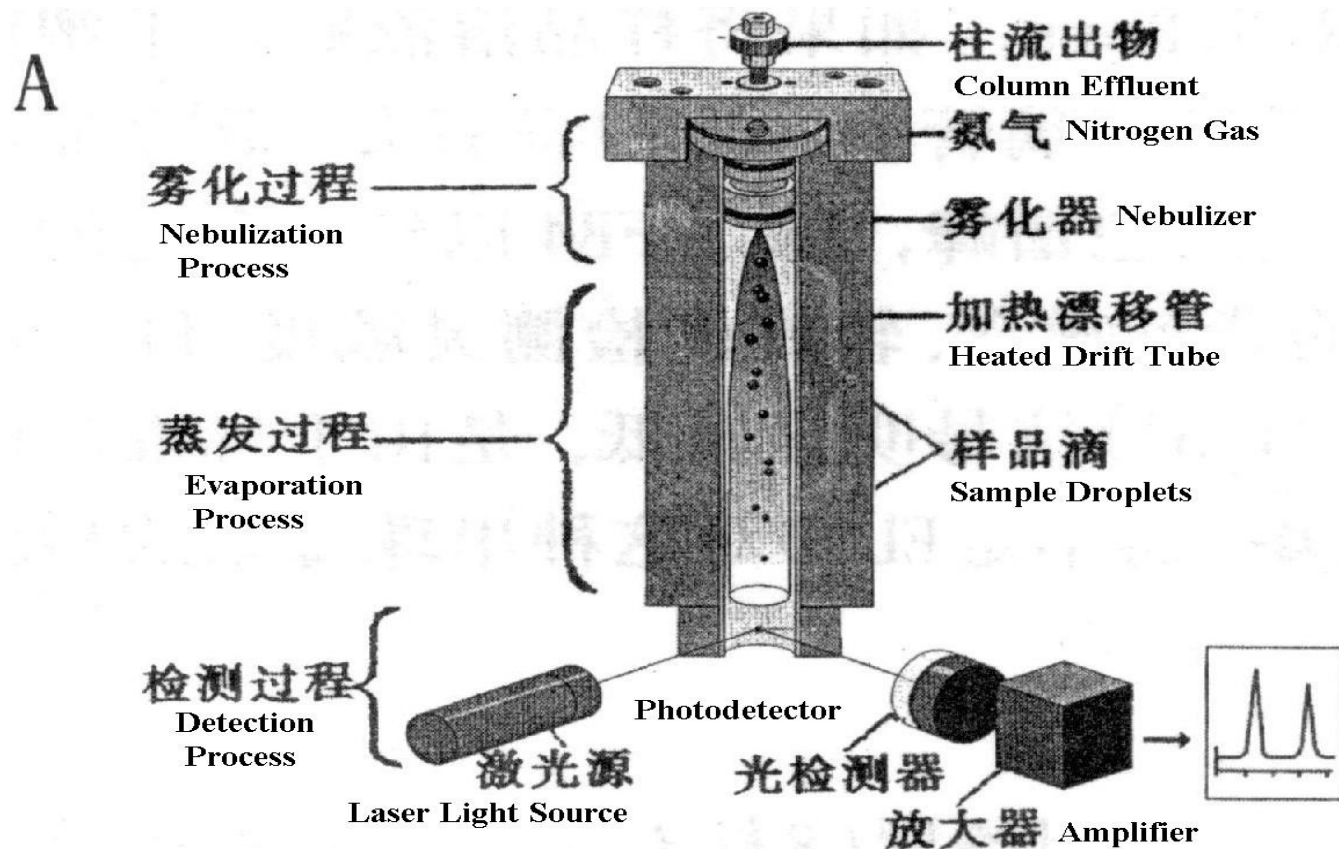
许多有机化合物，特别是芳香族化合物、被一定强度和波长的紫外光照射后，发射出较激发光波长要长的荧光。但可以与发荧光物质反应衍生化后检测。

特点： 有非常高的灵敏度和良好的选择性，灵敏度要比紫外检测法高 2~3 个数量级，特别适合于药物和生物化学样品的分析。

# 荧光检测器结构示意图

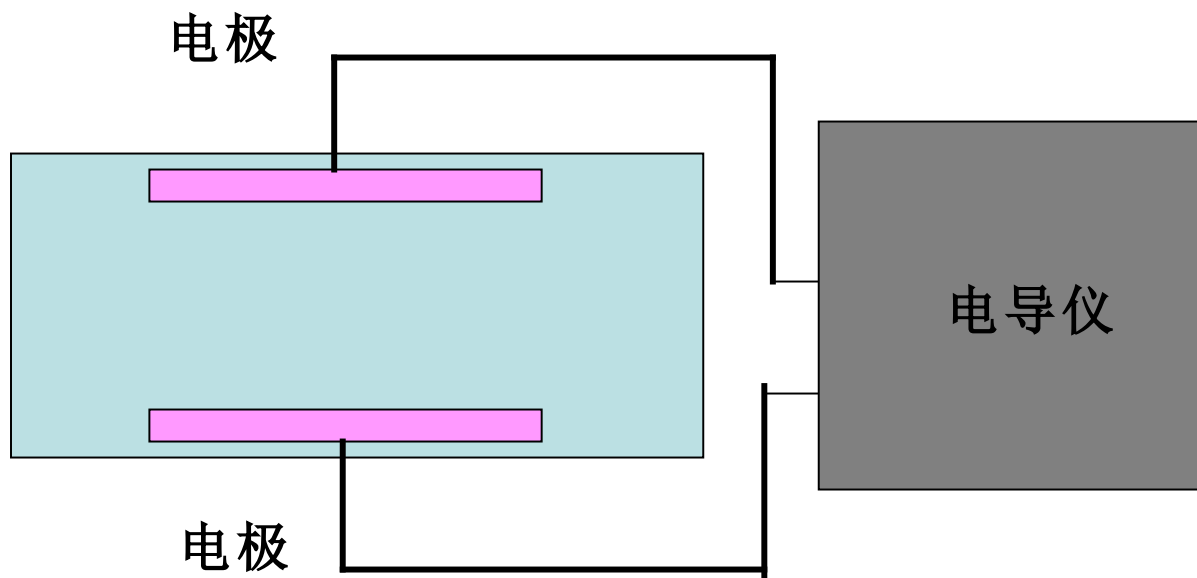


### (3) 蒸发光散射检测器



蒸发光散射检测器适合于无紫外吸收、无电活性和不发荧光的样品的检测。

#### ( 4 ) 电化学检测器 ( 以电导检测器为例 )



# 问题

电导检测器怎样消除流动相  
电导的干扰？

例如，采用阳离子交换色谱分离碱金属离子时，通常用 HCl 作为流动相。

### 三、液相色谱分离模式

#### 一、吸附色谱（ adsorption chromatography ）

原理：基于被测组分在固定相表面具有吸附作用，且各组分的吸附能力不同，使组分在固定相中产生保留和实现分离。

固定相： 固定相通常是活性硅胶、氧化铝、活性炭、聚乙烯、聚酰胺等固体吸附剂，所以吸附色谱也称液固吸附色谱。活性硅胶最常用。

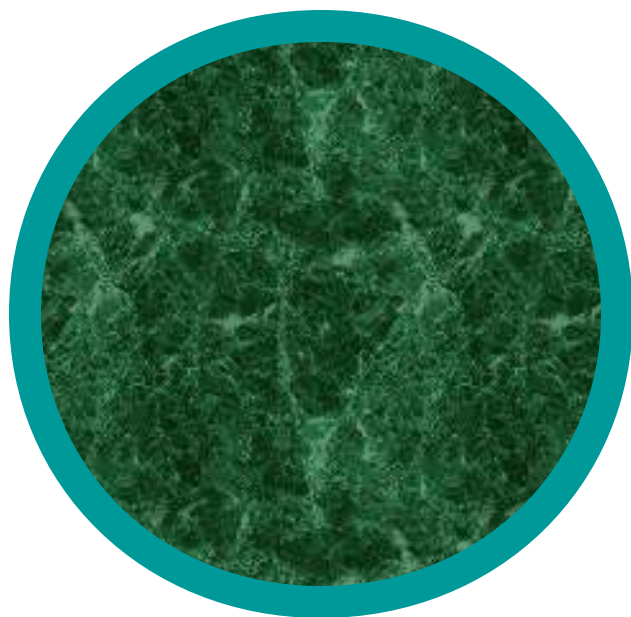
流动相： 弱极性有机溶剂或非极性溶剂与极性溶剂的混合物，如正构烷烃（己烷、戊烷、庚烷等）、二氯甲烷 / 甲醇、乙酸乙酯 / 乙腈等。

应用： 吸附色谱用于结构异构体分离和族分离仍是最有效的方法，如农药异构体分离、石油中烷、烯、芳烃的分离。 缺点是容易产生不对称峰和拖尾现象。

## 二、分配色谱

原理： 主要基于样品分子在流动相和固定相间的溶解度不同（分配作用）而实现分离的液相色谱分离模式。

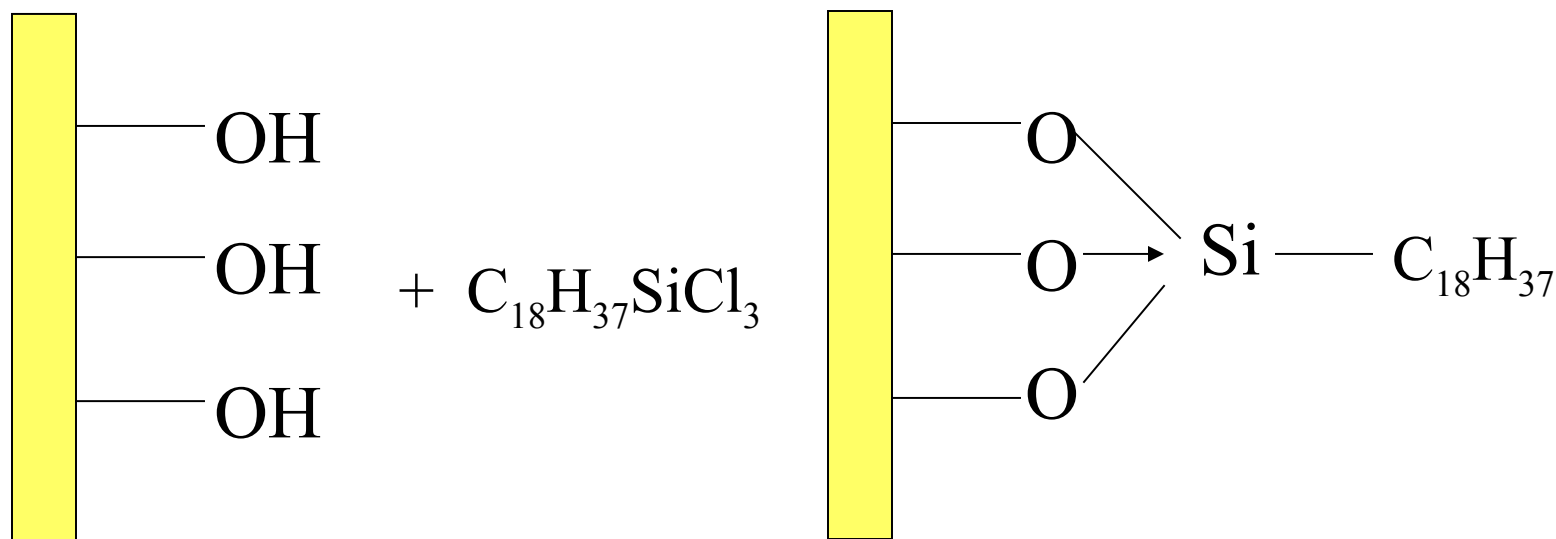




液 - 液分配色谱固定相的液体往往容易溶解到流动相中去，所以重现性很差，不大为人们所采用。

后来发展起来的键合固定相以化学键合的方法将功能分子结合到惰性载体上，固定相就不会溶解到流动相中去了。

# 键合固定相



非极性键合固定相： 键合在载体表面的功能分子是烷基、苯基等非极性有机分子。如最常用的 ODS（Octa Decyltrichloro Silane）柱或  $\text{C}_{18}$  柱就是最典型的代表，其极性很小。

极性键合固定相： 键合在载体表面的功能分子是具有二醇基、醚基、氰基、氨基等极性基团的有机分子。

正相 HPLC （ normal phase HPLC ）：

是由极性固定相和非极性（或弱极性）流动相所组成的 HPLC 体系。其代表性的固定相是改性硅胶、氰基柱等，代表性的流动相是正己烷。吸附色谱也属正相 HPLC 。

反相 HPLC （ reversed phase HPLC ）：

由非极性固定相和极性流动相所组成的液相色谱体系，与正相 HPLC 体系正好相反。其代表性的固定相是十八烷基键合硅胶 (ODS 柱)，代表性的流动相是甲醇和乙腈。是当今液相色谱的最主要分离模式。

ODS （ Octa Decyltrichloro Silane）

使用二元混合溶剂作为流动相，此时流动相的极性参数  $P'$  可按下述实例进行计算

$$P'_{\text{mix}} = \varphi_a \cdot P'_a + \varphi_b \cdot P'_b$$

式中  $P'_a$ 、 $P'_b$ ——分别为溶剂 A 和溶剂 B 的极性参数，

$\varphi_a$ 、 $\varphi_b$ ——分别为溶剂 A 和溶剂 B 在混合溶剂中所占的体积分数。

如 40% 甲醇 - 水溶液的极性参数为：

$$P'_{\text{mix}} = 0.4 \times 5.1 + 0.6 \times 10.2 = 8.160$$

46% 乙腈 - 水溶液的极性参数为：

$$P'_{\text{mix}} = 0.46 \times 5.8 + 0.54 \times 10.2 = 8.176$$

33% 四氢呋喃 - 水溶液的极性参数为：

$$P'_{\text{mix}} = 0.33 \times 4.0 + 0.67 \times 10.2 = 8.154$$

当溶剂或混合溶剂组成的流动相的极性参数  $P'$  发生变化时，溶质的  $k'$  值也随之变化，  
经试验表明，当流动相的  $P'$  值改变 2 时，溶质的  $k'$  值约变化 10 倍。

对正相色谱， $k'$  与  $P'$  的关系如下：

$$\frac{k'_2}{k'_1} = 10^{1/2(P'_1 - P'_2)}$$

式中， $P'_1$  和  $k'_1$  为初始流动相的极性参数和溶质的容量因子， $P'_2$  和  $k'_2$  为更换的另一种流动相的极性参数和同一溶质的容量因子，若  $P'_1 > P'_2$ ，则  $k'_1 < k'_2$ ；若  $P'_1 < P'_2$ ，则  $k'_1 > k'_2$ 。

对反相色谱， $k'$  与  $P'$  的关系为：

$$\frac{k'_2}{k'_1} = 10^{1/2(P'_2 - P'_1)}$$

式中，各参数含义同前，若  $P'_1 > P'_2$ ，则  $k'_1 > k'_2$ ；若  $P'_1 < P'_2$ ，则  $k'_1 < k'_2$ 。

# • 溶剂的选择性分组

当将每种溶剂的三种  $X_e$ 、 $X_d$  和  $X_n$  值组成一个三角形坐标时，就可发现选择性相似的溶剂分布在三角形平面中的一定区域内，从而构成选择性不同的溶剂分组。下图为溶剂选择性分组的三角形坐标图。

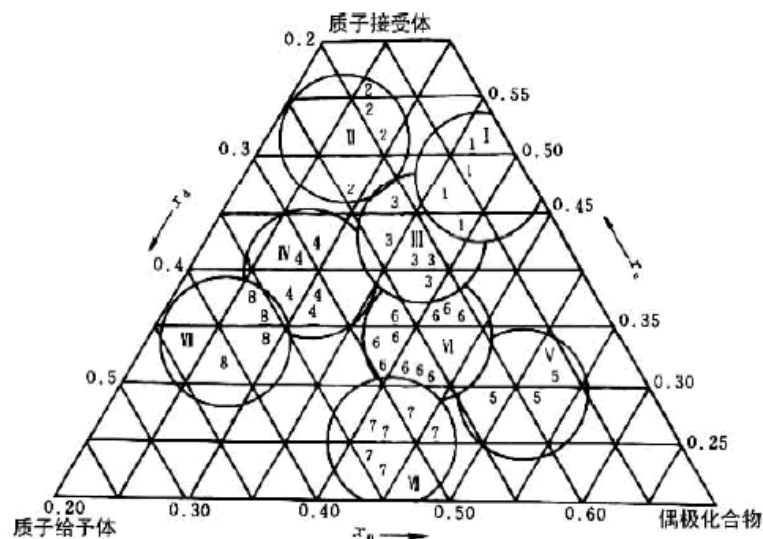


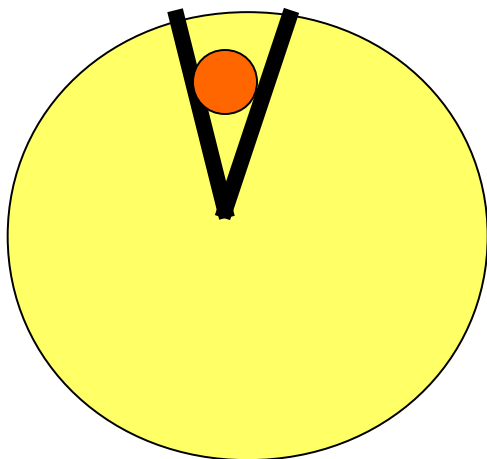
图 6-2-19 溶剂选择性分组的三角形坐标图

由溶剂选择性分组的三角形坐标图可知，常用溶剂可分为 8 个选择性不同的特征组，处于同一组中的溶剂具有相似的特性。因此对某一指定的分离，若某种溶剂不能给出良好的分离选择性，就可用另一种其他组的溶剂来替代，从而可明显地改善分离选择性。

### 三、体积排斥色谱

（又称凝胶色谱和分子筛色谱）

原理：以多孔性物质作固定相，样品分子受固定相孔径大小的影响而达到分离的一种液相色谱分离模式。



大分子全排出  $V_R = V_0$

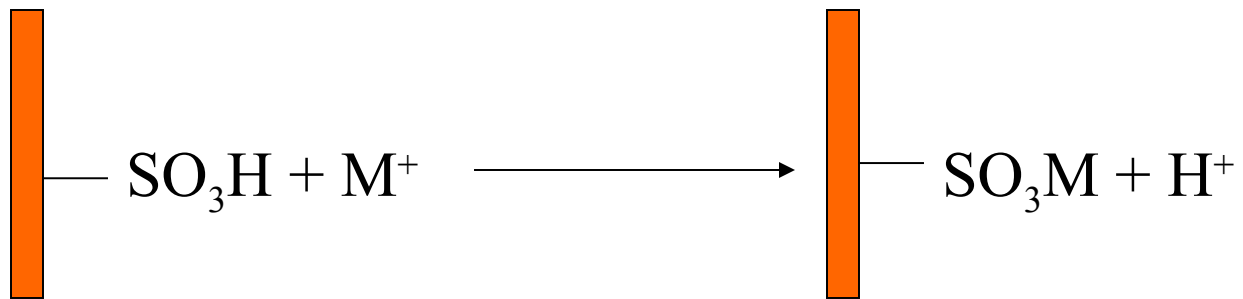
小分子全进入  $V_R = V_0 + V_S$

中分子部分进入  $V_R = V_0 + K V_S$

## 四、离子交换色谱

( ion exchange chromatography, IEC )

IEC 使用表面有离子交换基团的离子交换剂作为固定相。带负电荷的交换基团（如磺酸基和羧酸基）可以用于阳离子的分离，带正电荷的交换基团（如季胺盐）可以用于阴离子的分离。不同离子与交换基的作用力大小不同，在树脂中的保留时间长短不同，从而被相互分离。

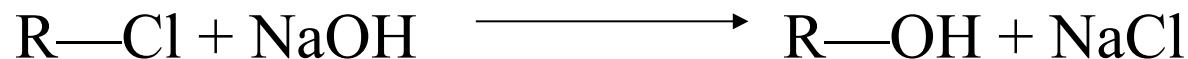
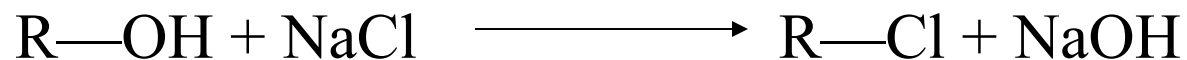




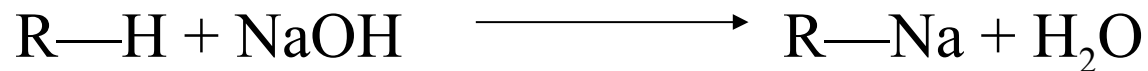
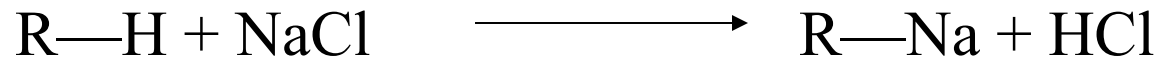
抑制柱离子色谱的原理：

以阴离子  $\text{Cl}^-$  ( $\text{NaCl}$ ) 的分析为例：

分析柱反应：

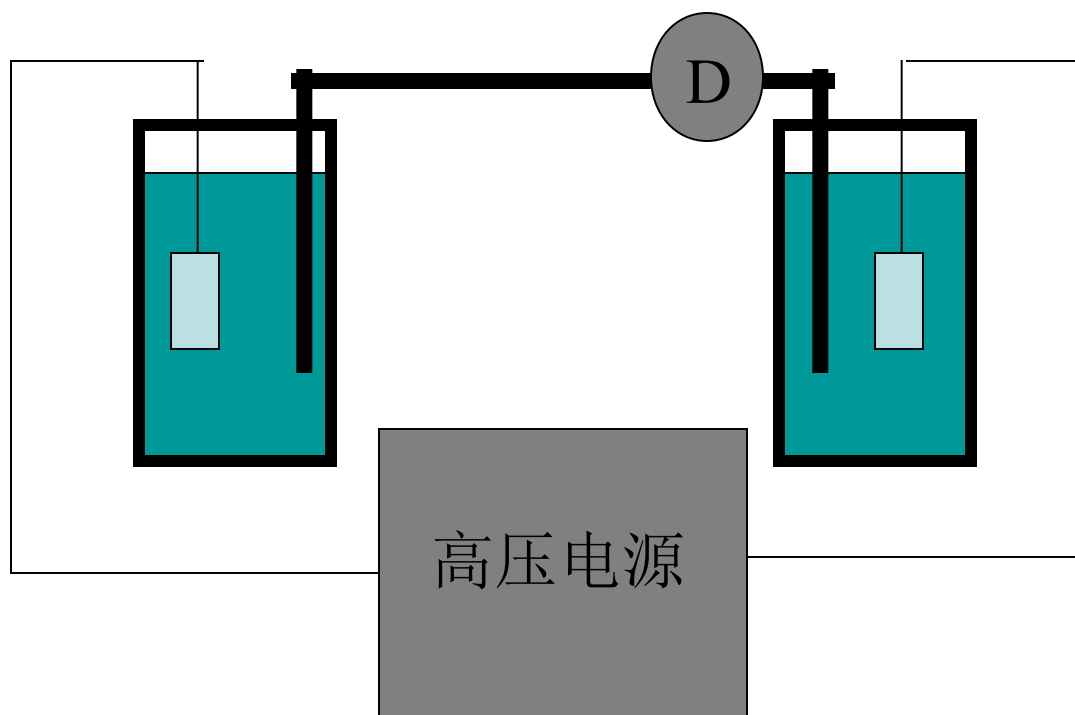


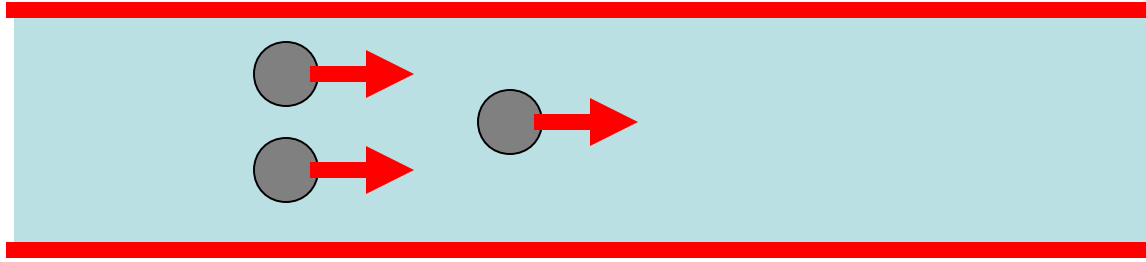
抑制柱反应：



## 第五节 毛细管电动色谱

### 一、电迁移原理





带电粒子在电场中移动的速度  $v$  正比于电位梯度

$$v = \theta \frac{E}{L}$$

$\theta$ ——电迁移率       $E$ ——电场强度       $L$ ——支持体长度

$$\theta = \frac{q}{6\pi r \eta}$$

$q$ ——电量       $r$ ——离子半径       $\eta$ ——溶剂粘度

$$S = vt = \theta \frac{Et}{L}$$

$$\Delta S = S_B - S_A = (\theta_B - \theta_A) \frac{Et}{L}$$

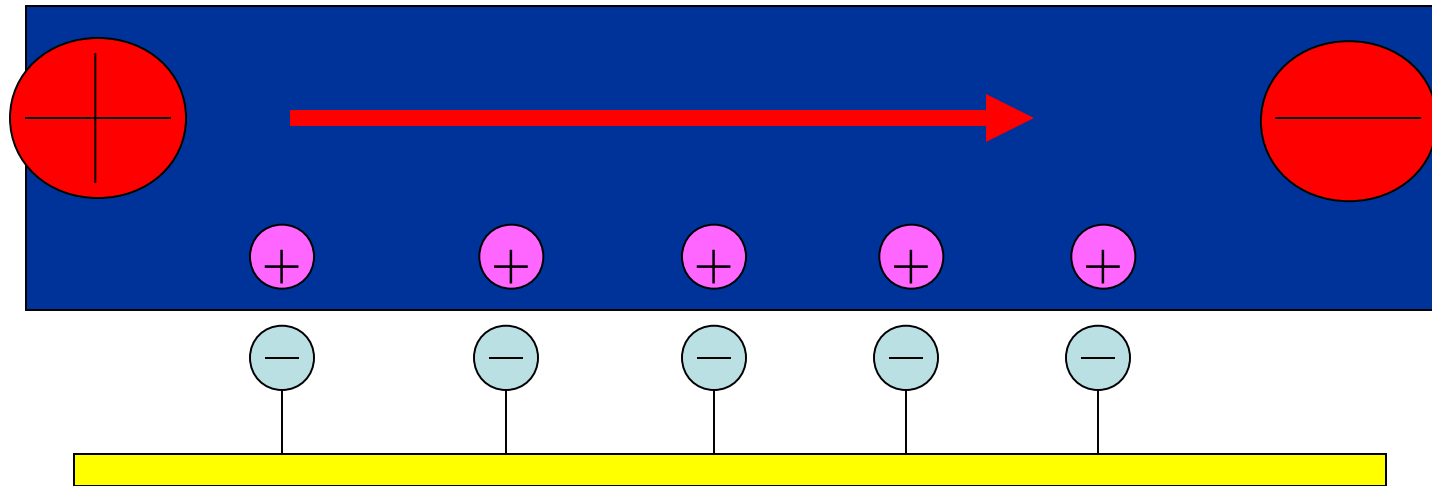
在一定的电迁移的条件下，两个组分的电荷  $q$  及 半径  $r$  不同，迁移的速度就不同，因此可以被电泳分离。

显然，电泳法不适合中性分子的分离。

## 问题

实验发现，中性分子在毛细管中也可移动，为什么？

## 二、电渗流（ EOF, the Electroosmotic flow ）

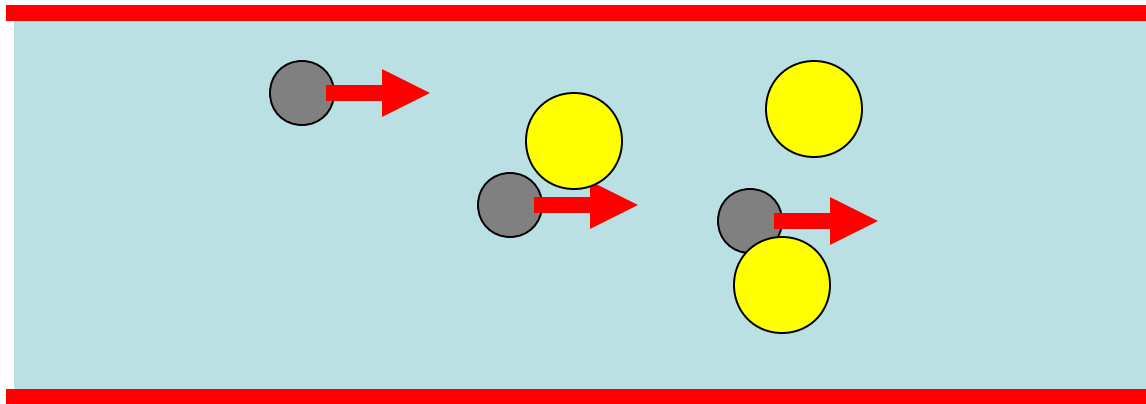


问题

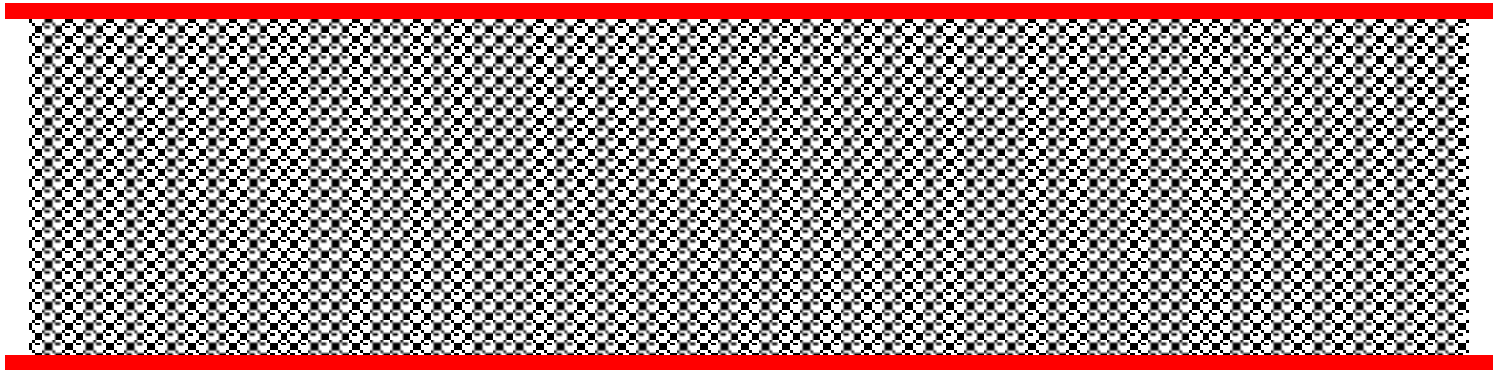
能否实现中性分子的分离

### 三、电色谱

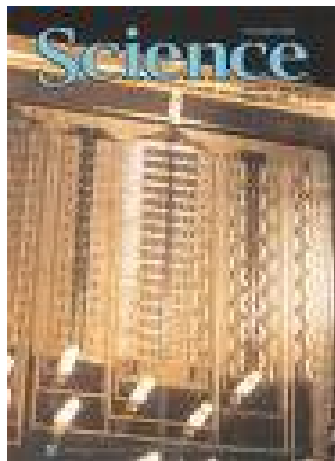
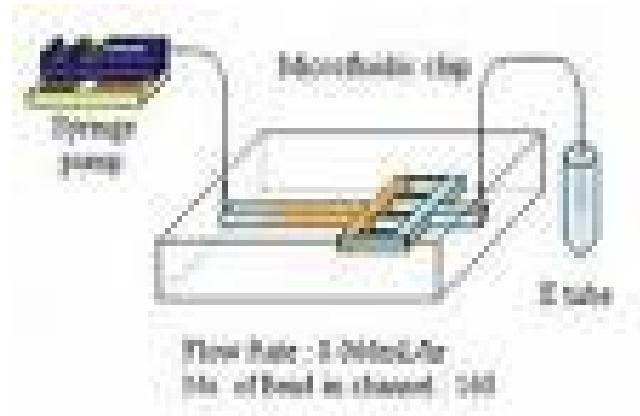
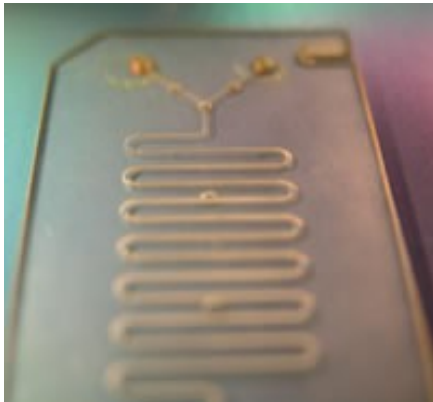
在柱中加入胶束试剂如 SDS ，形成胶束，因为 SDS 是阴离子，向阳极移动，但 EOF 溶液向阴极运动，带动组分向阴极移动，与胶束相互作用，达到分离目的。



目前已制备出填充有固定相的毛细管电  
动色谱柱：



# Microfluidic chips





# 本章小结

气相色谱

液相色谱

毛细管电动色谱

高效分离——高灵敏度检测

# 作业

- 1、2、5、8、11、12、13