

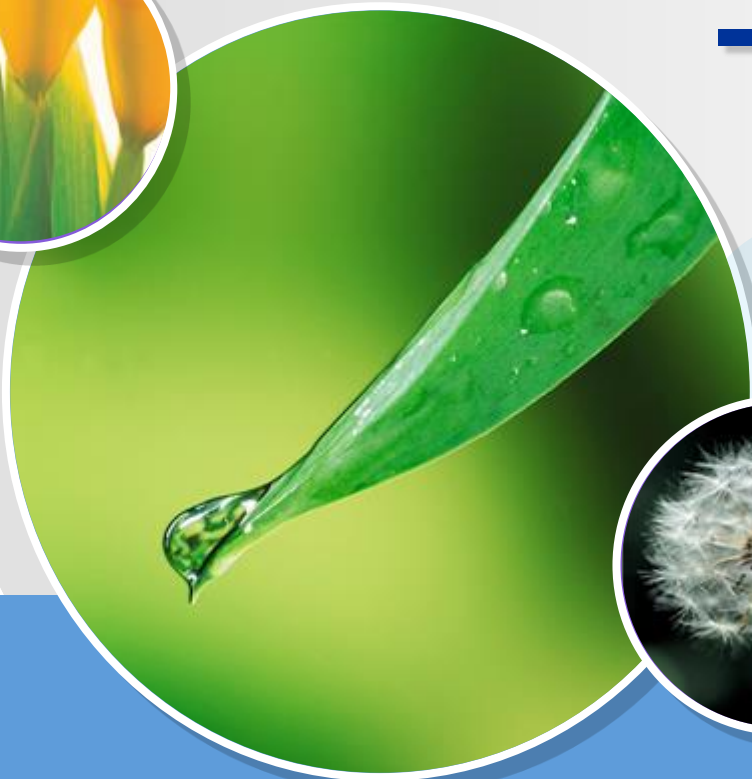
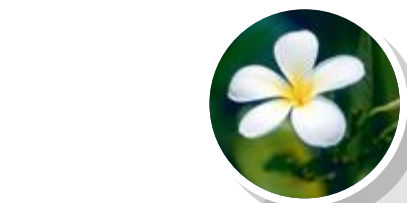
本科生课程

仪器分析 --色谱分析法 II

主讲人:李大伟

13701632425

daweili@ecust.edu.cn





第三章 高效液相色谱法

High Performance Liquid Chromatography HPLC



一、高效液相色谱法概述

1. 高效液相色谱法与气相色谱法的比较

	GC	HPLC
应用范围	热稳定、低沸点的物质	热不稳定、高沸点、离子型的物质
理论	较成熟	正在发展中
分析成本	低	高
分离能力	与柱的类型有关	较高



2

高效液相色谱法与经典液相色谱法的比较

	经典液相色谱法	高效液相色谱法
粒径 (μm)	75-600	3-50 (常用5-10)
柱前压力 (atm)	0.01-1.0	20-300
分析时间 (h)	1-20	0.05-1.0
色谱柱长度 (cm)	50-200	2-30
柱效 (块/m)	2-50	10^4-10^5
样品用量 (g)	1-10	$10^{-6}-10^{-2}$



3. 高效液相色谱法的特点

- ❖ 高压
- ❖ 高速
- ❖ 高效
- ❖ 高灵敏度



二、高效液相色谱理论基础

1. 高效液相色谱中的速率方程

❖ $H=A+B/u+Cu$

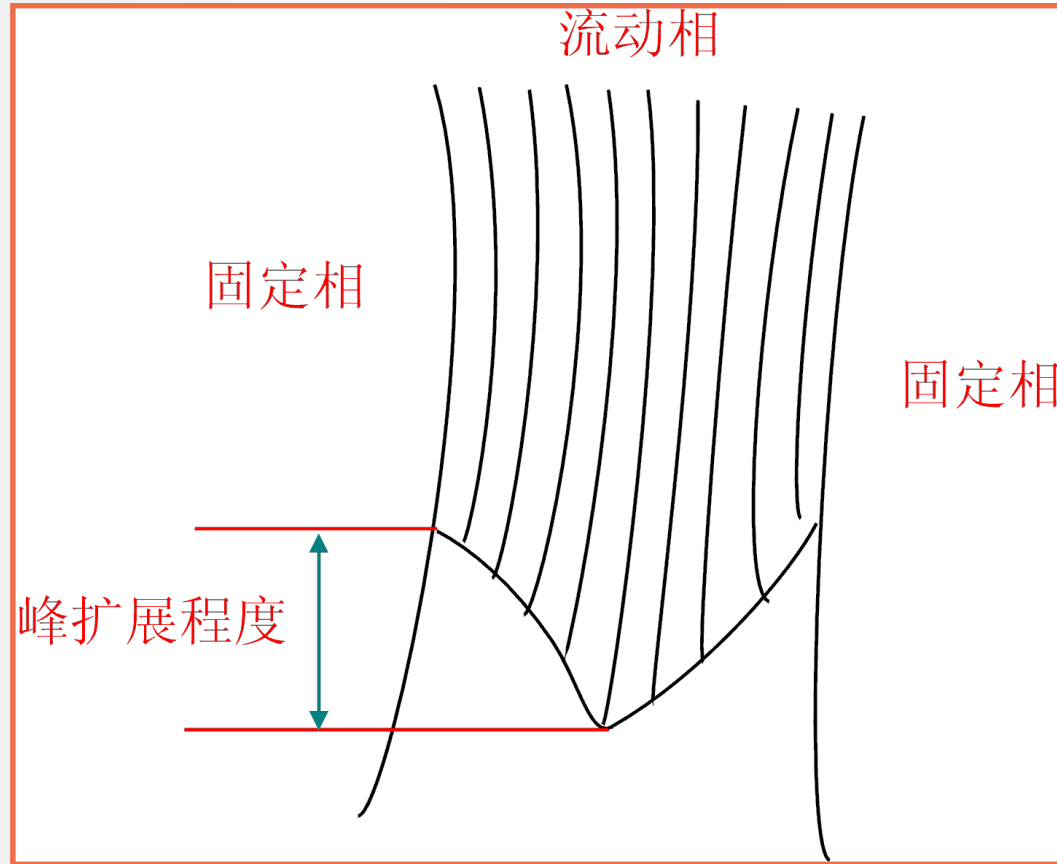
❖ $A=2\lambda dp$

❖ $B \rightarrow 0$

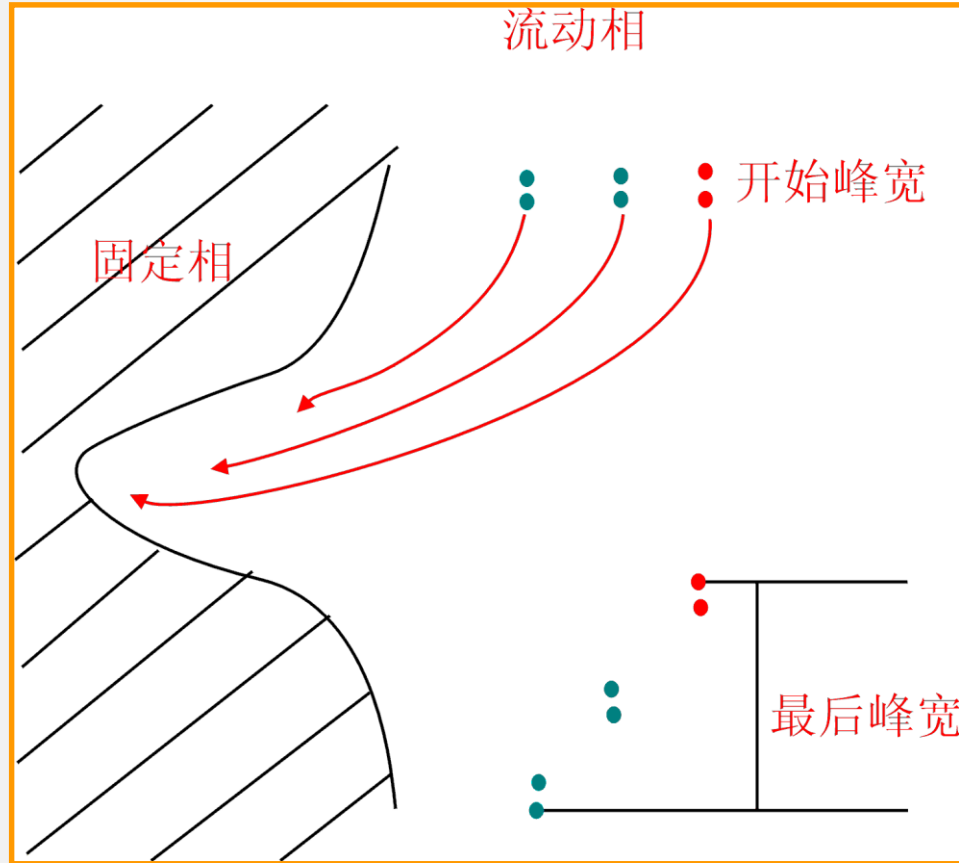
❖ $C=?$



传质项C：流动项（流动的+滞留的）+固定项



迁移的流动相的传质阻力



滞留的流动相的传质阻力



高效液相色谱中的速率方程

$$H = 2\gamma d_p + \frac{C_d D_m}{u} + \left(\frac{C_m d_p^2}{D_m} + \frac{C_s d_p^2}{D_m} + \frac{C_s d_f^2}{D_s} \right) u$$



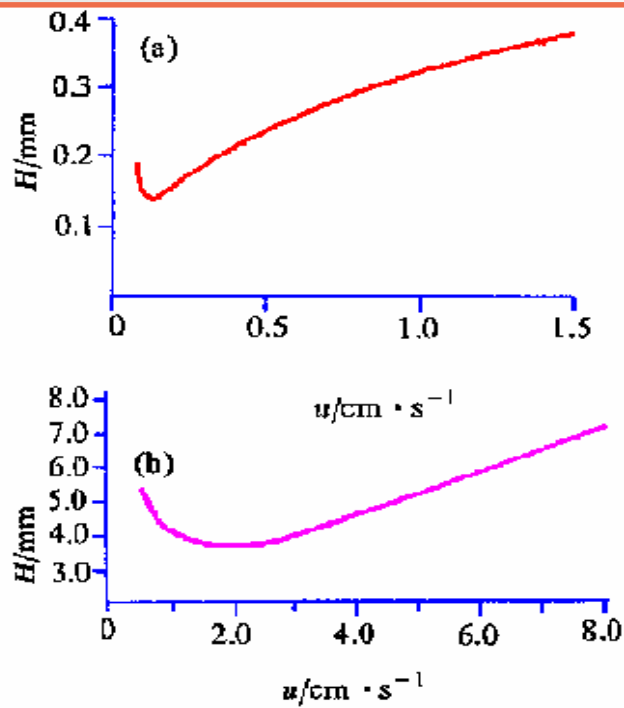
涡流扩散项

纵向扩散

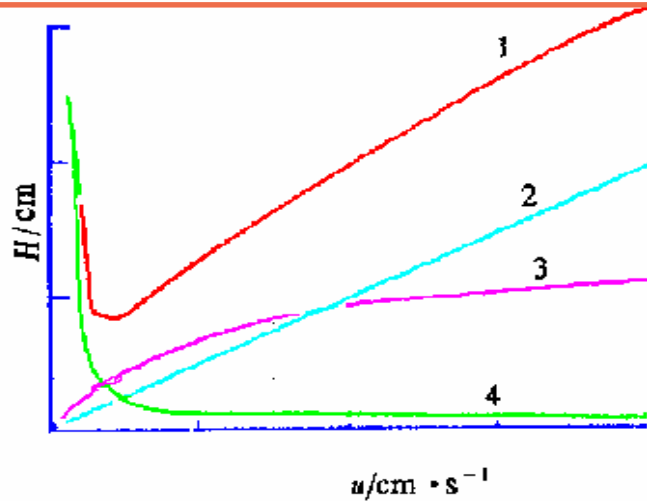
流动相传质

滞留区传质

固定相内传质



LC(a) 和 GC(b) 的 $H-u$ 图



分子扩散和传质阻力项对板高的贡献

1. $H-u$ 关系曲线
2. 固定相传质阻力项 ($C_s u$)
3. 流动相传质阻力项 ($C_m u$)
4. 分子扩散项 (B/u)



2. 对速率方程的讨论

- ❖ 流动相流速：最佳值（对比GC，H更小，u更小）
- ❖ 选用**细颗粒**填料可获高柱效
- ❖ 选用**黏度小的流动相**有利于提高柱效（如甲醇）
- ❖ 温度的影响（T高Dm高有利）
- ❖ **液膜厚度**（键合量）的影响

$$H = 2\gamma d_p + \frac{C_d D_m}{u} + \left(\frac{C_m d_p^2}{D_m} + \frac{C_s d_p^2}{D_m} + \frac{C_s d_f^2}{D_s} \right) u$$

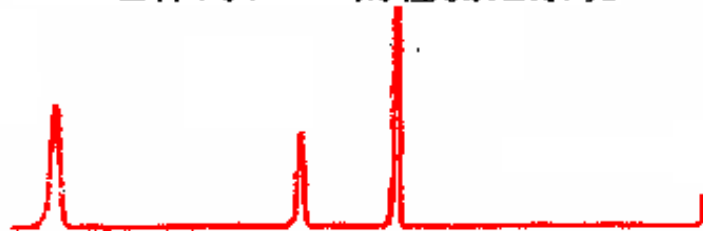
3. 柱外效应

❖ 由于色谱柱之外的因素引起的色谱峰的展宽，例如进样系统（柱前展宽）、连接管路及检测器（柱后展宽）的死体积等。

硝基苯 间-三甲苯 甲苯



10uL进样阀和8uL的检测池系统

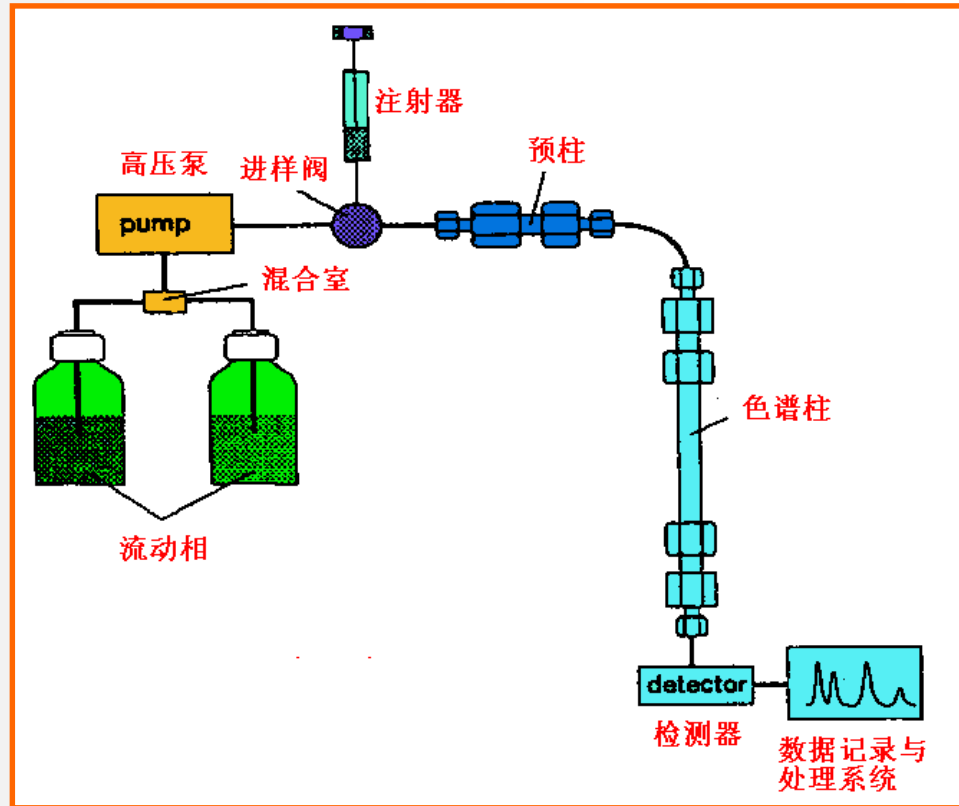


0.5uL进样阀和1uL的检测池系统

柱外谱峰拖尾效应

三、高效液相色谱仪

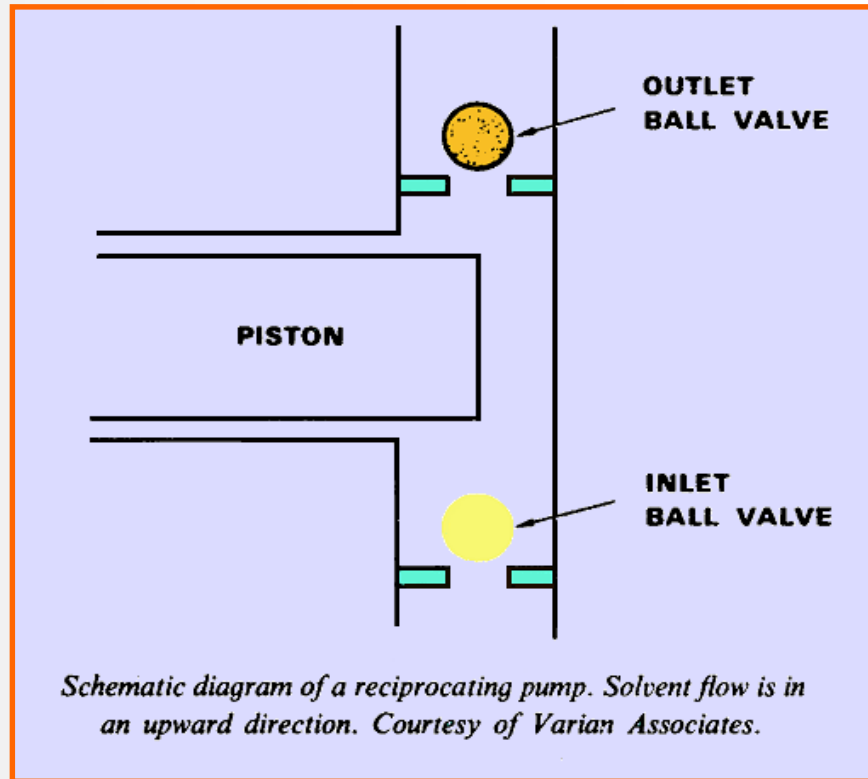
1. 高效液相色谱仪流程





高效液相色谱仪

2. 高压输液系统



往复泵原理示意图



■ 梯度洗提

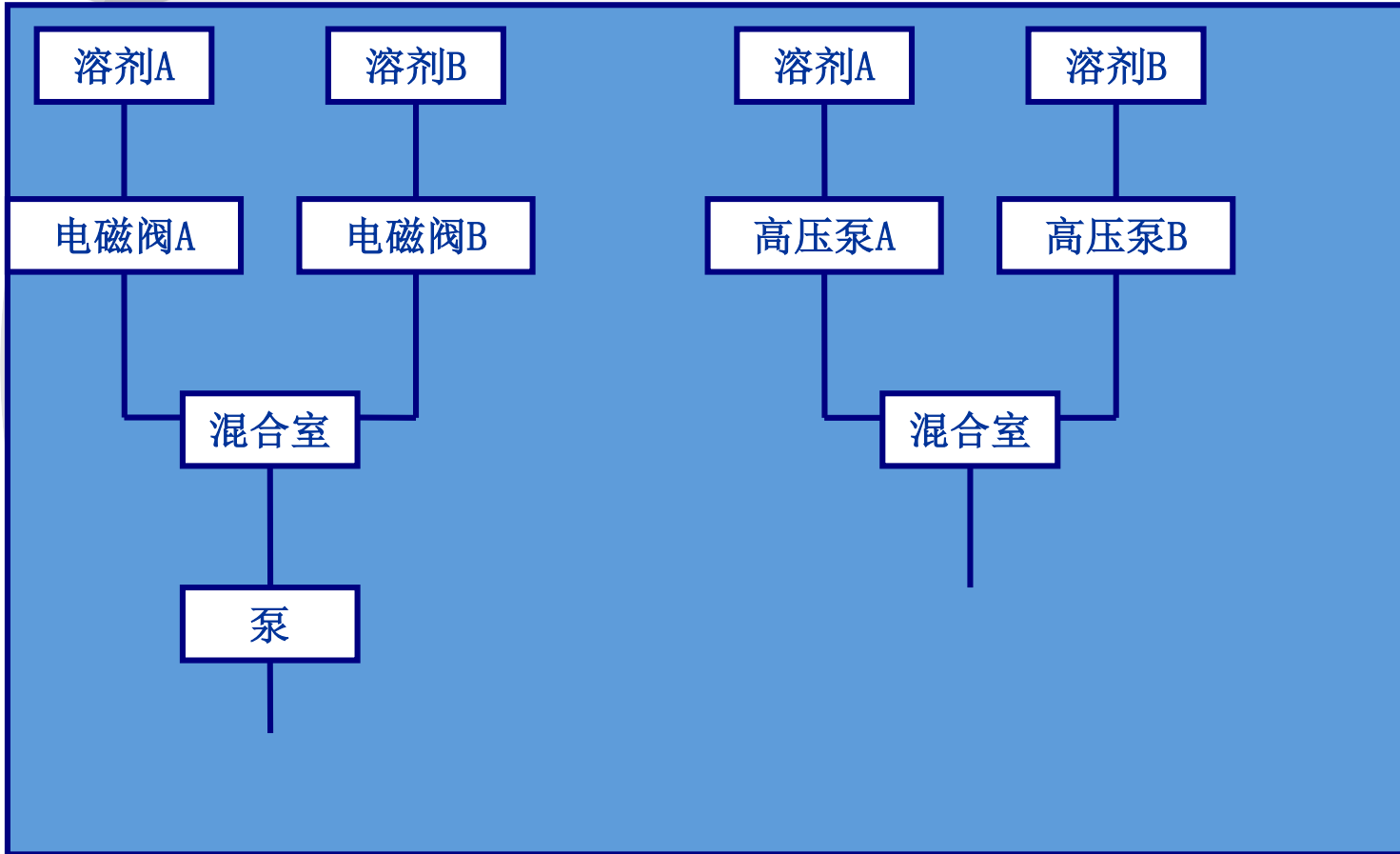
❖ 梯度洗提

即程序控制流动相的组成，使在整个分离过程中，溶剂强度按照特定的变化规律增加。

优点：分离复杂混合物，使所有组分都处在最佳的 k 值范围内。

缺点：检测器的使用受到限制，分析结果的重复性取决于流速的稳定性。柱子需进行再生处理。

梯度洗提流程



低压溶剂梯度方框图

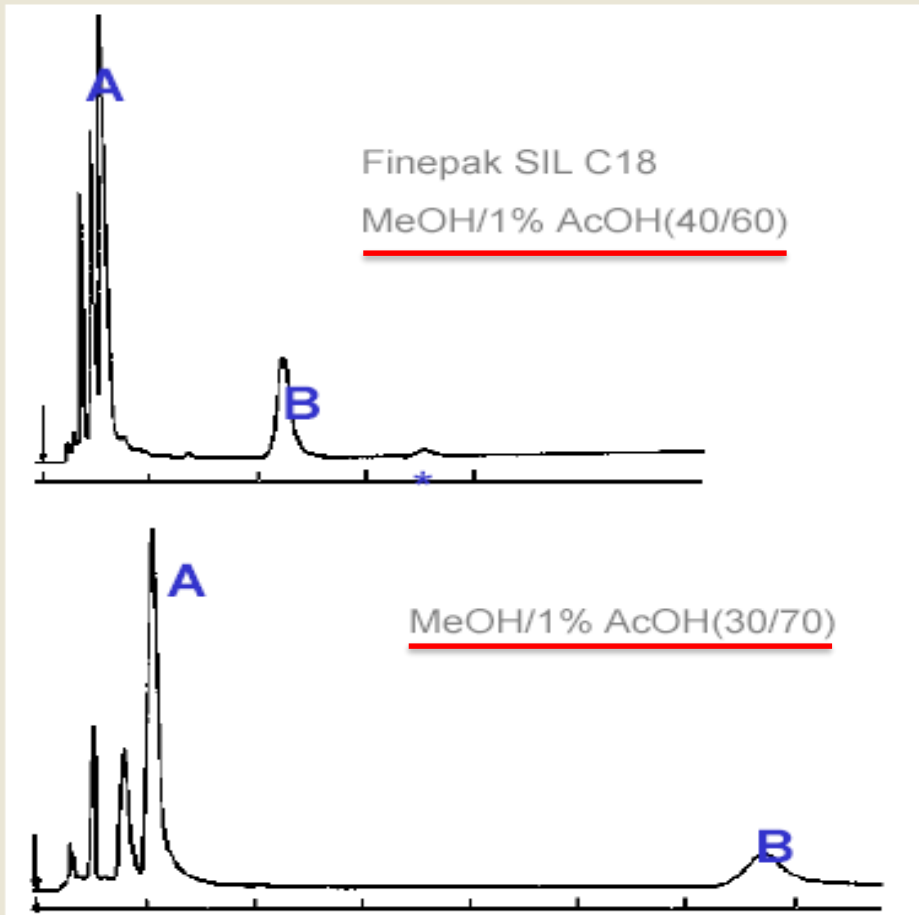
高压溶剂梯度方框图



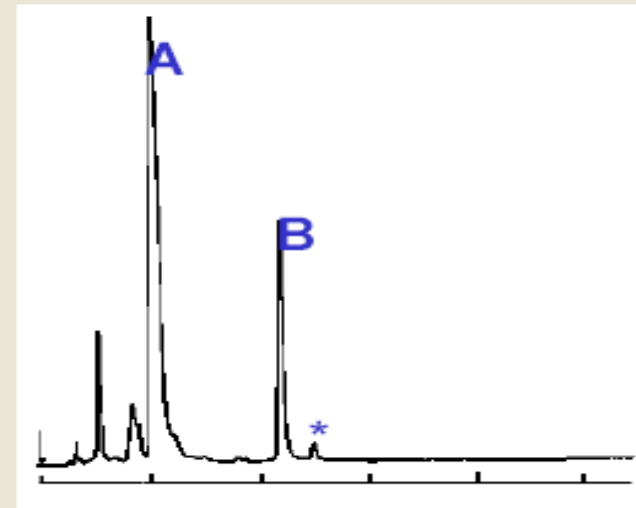
梯度洗脱的应用举例

Advantage of gradient elution method

Isocratic elution method



Gradient elution method



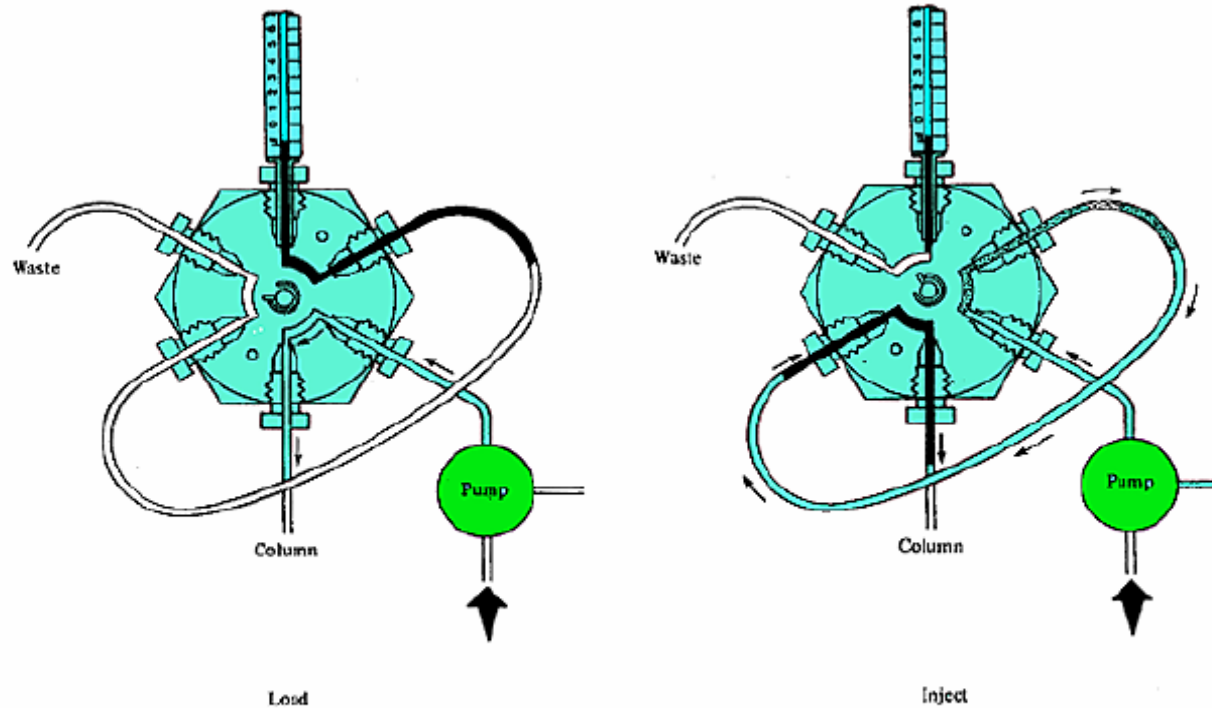
MeOH/1% AcOH
30/70→45/55
 Linear Gradient、16min

A : Chlorogenic acid

B : Rutin

* : Impurity

3. 进样系统



Six-port rotary sample-injection valve for HPLC. The arrows indicate the path of solvent flow. Courtesy of Varian Associates.

六通进样阀结构示意图

4. 分离系统——色谱柱

包括柱管与固定相两部分

- 一般色谱柱长5~30cm，内径为4~5mm
- 凝胶色谱柱内径3~12mm
- 微柱内径1-2mm，长1-5cm
- 制备柱内径较大，可达25mm 以上



毛细管液相色谱柱

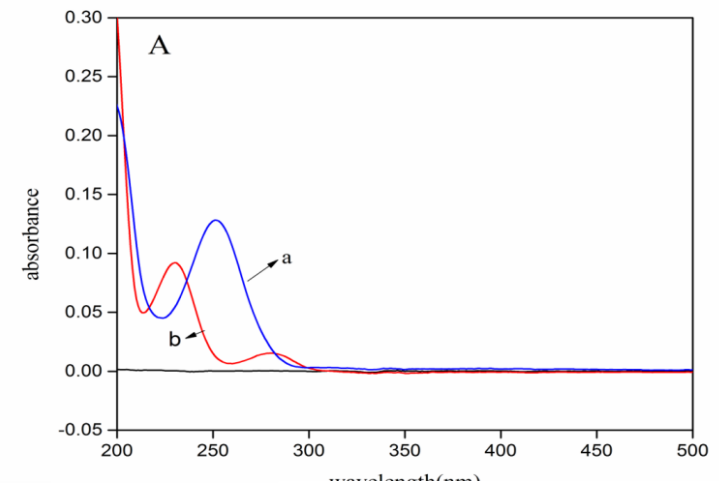


5. 检测系统

- 紫外检测器 (UVD)
- 示差折光检测器 (RID)
- 荧光检测器 (FLD)
- 蒸发光散射检测器 (ELSD)
- 电导检测器

(1) 紫外检测器 (UVD)

- ❖ 固定波长的紫外检测器
- ❖ 可变波长的紫外检测器
- ❖ 二极管阵列检测器



光源

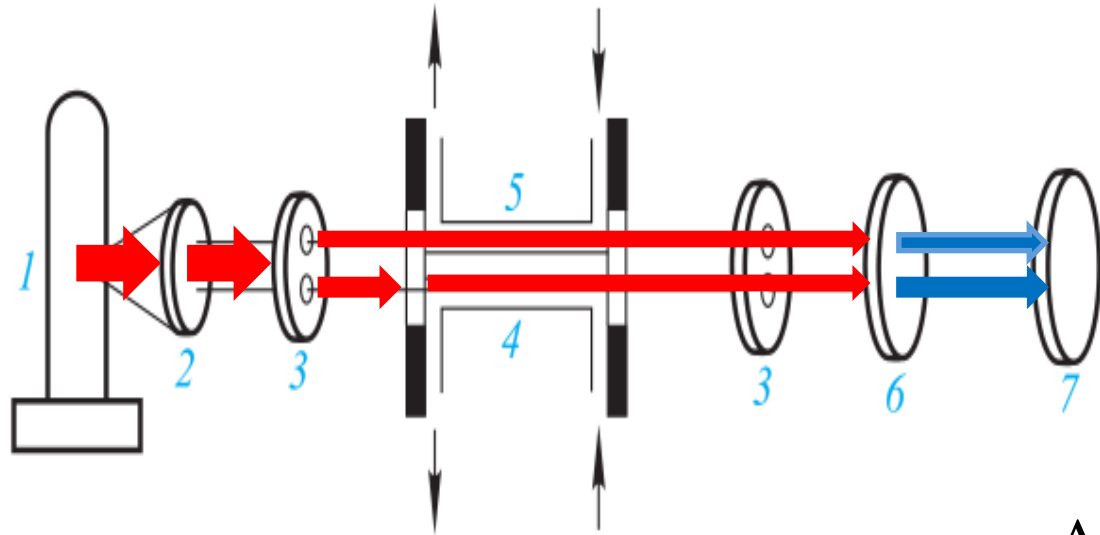
分光系统

样品

检测系统

$$A = \lg(I_0/I)$$

固定波长的紫外检测器

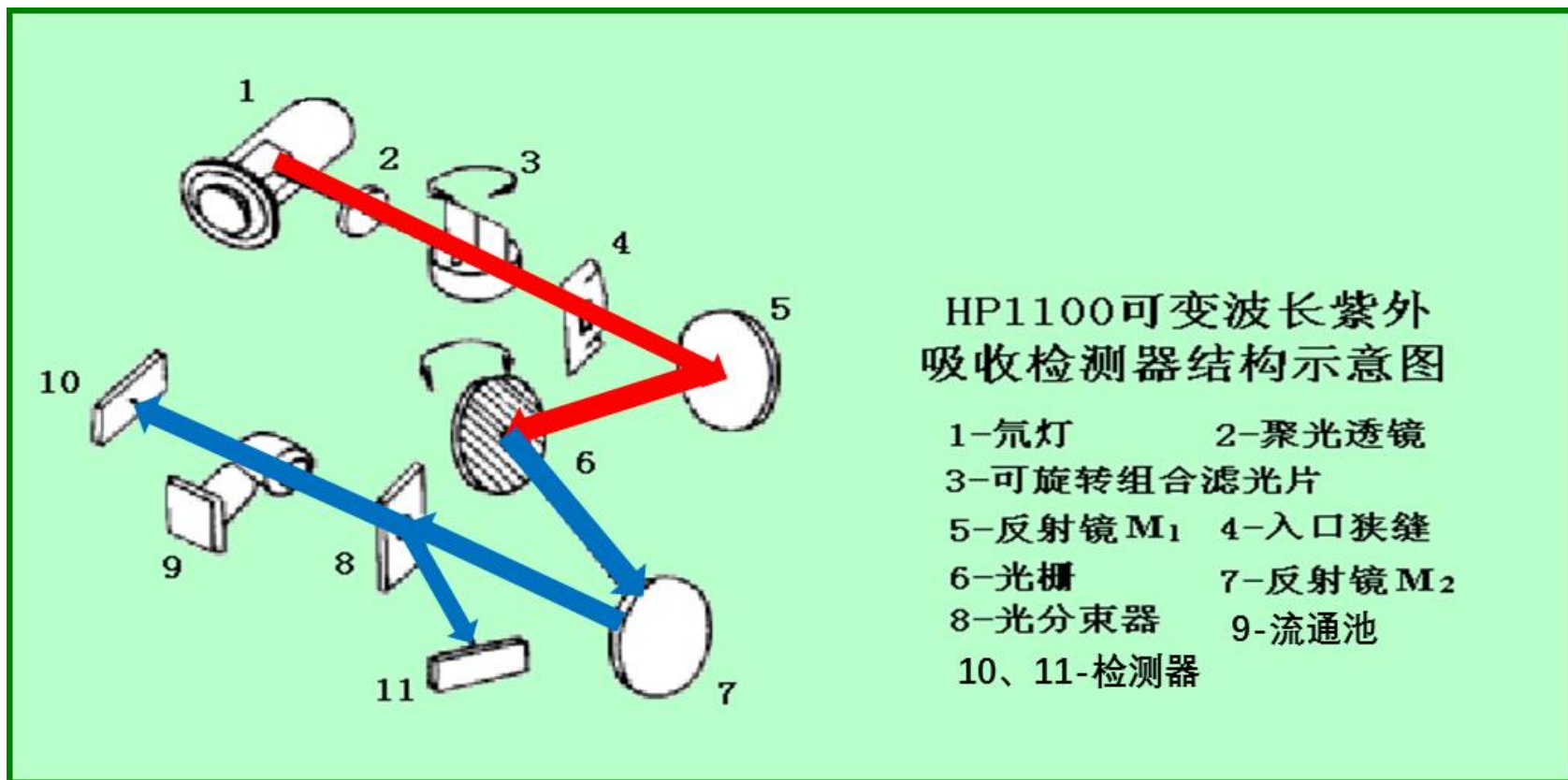


$$A = \lg(I_0/I)$$

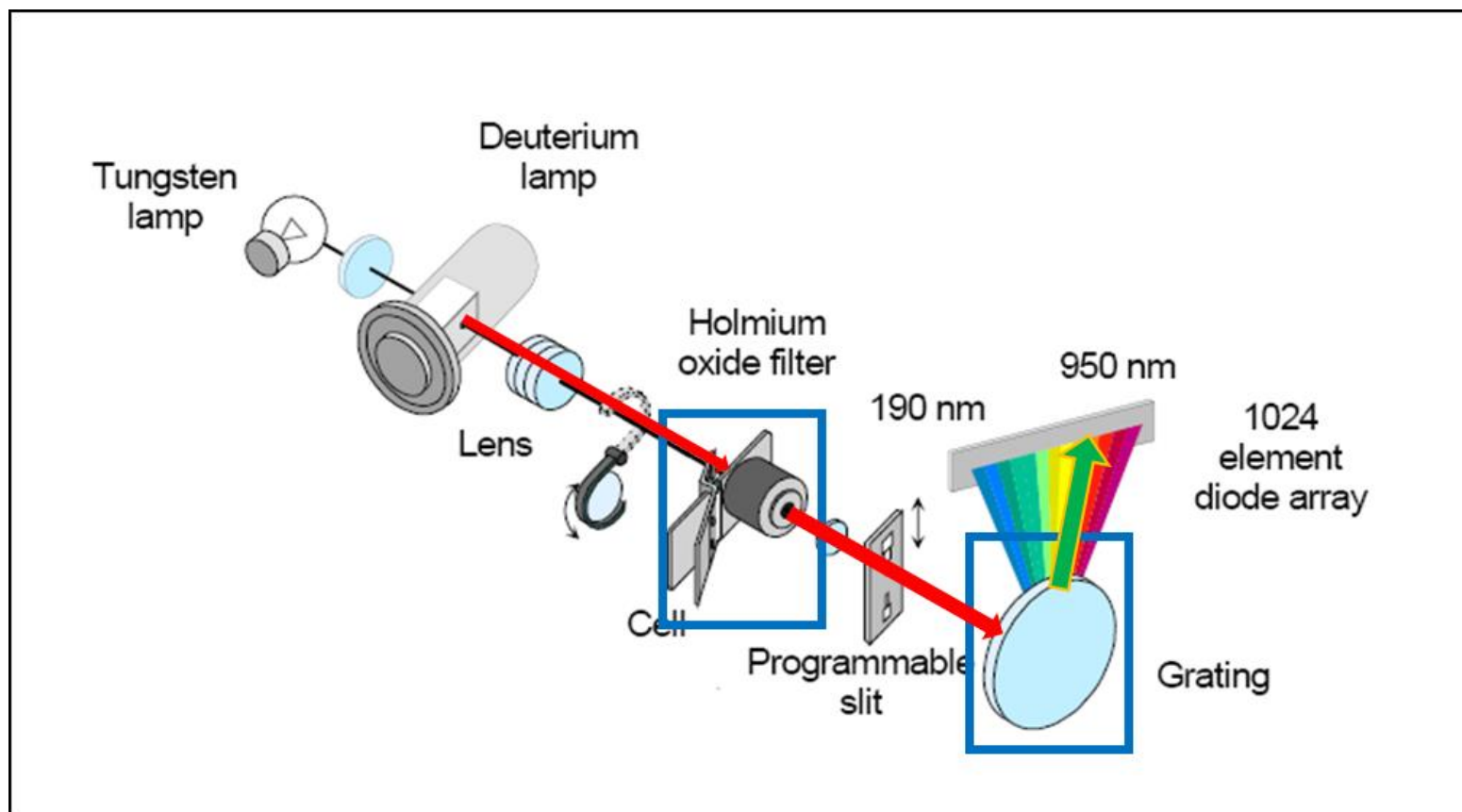
紫外光度检测器光路图

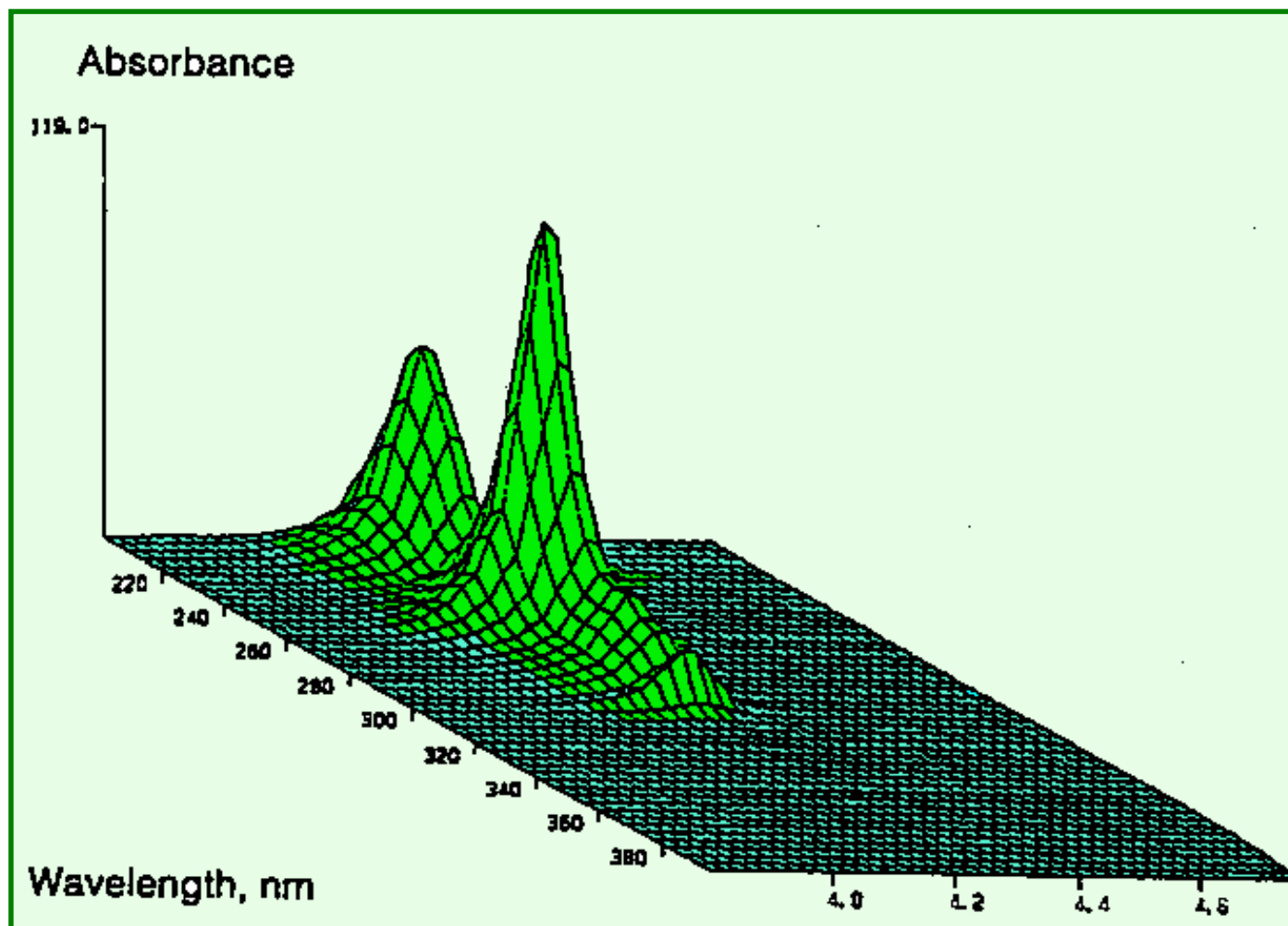
1. 低压汞灯; 2. 透镜; 3. 遮光板; 4. 测量池; 5. 参比池;
6. 紫外滤光片; 7. 双紫外光敏电阻

可变波长的紫外检测器




二极管阵列检测器 (PDA, DAD)





二极管阵列检测器



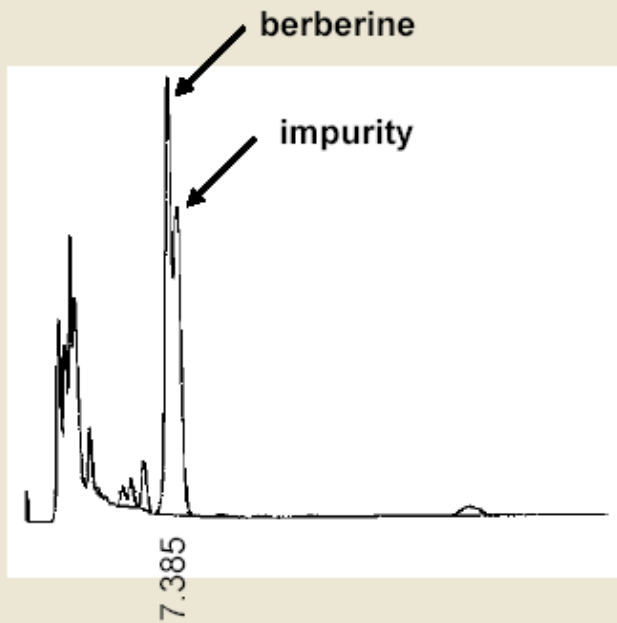
响应特性

- ❖ 选择性检测器，如芳烃类化合物的检测
- ❖ 灵敏度高，可检测 10^{-9} g/mL的物质
- ❖ 线性范围宽， 10^4-10^5
- ❖ 对温度及流动相的改变不敏感
- ❖ 适合梯度洗提
- ❖ HPLC常规检测器

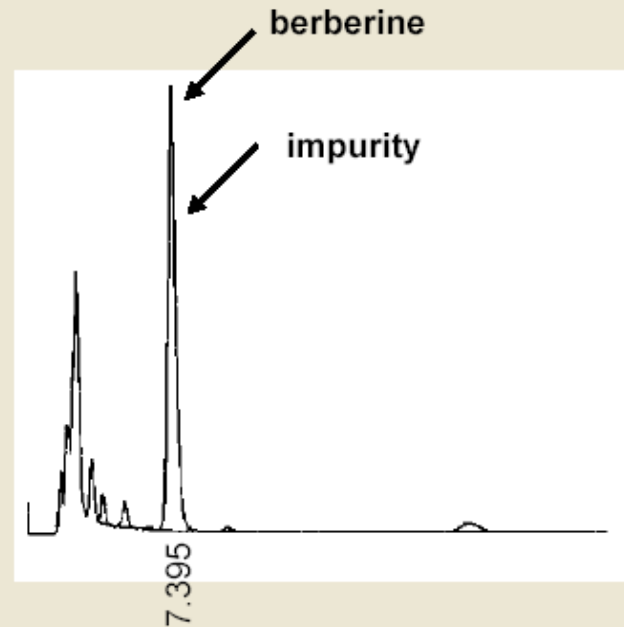
应用举例

Improved selectivity

Traditional medicine



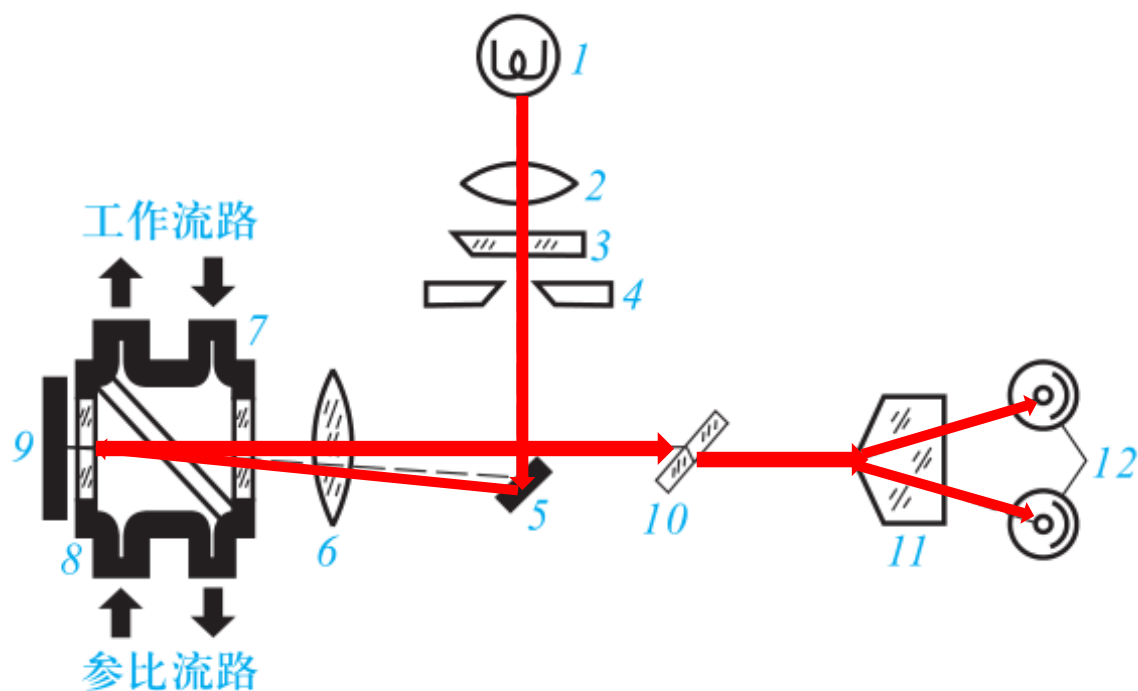
Wavelength=260nm



Wavelength=340nm

波长的选择

(2) 示差折光检测器 (RID)



偏转式示差折光检测器光路图

1. 钨丝灯光源; 2. 透镜; 3. 滤光片; 4. 遮光板; 5. 反射镜; 6. 透镜; 7. 工作池;
8. 参比电极; 9. 平面反射镜; 10. 平面细调透镜; 11. 棱镜; 12. 光电管



响应特性

- ❖ 通用性检测器
- ❖ 低灵敏度
- ❖ 基线易受温度的影响
- ❖ 不适合梯度洗提

(3) 荧光检测器 (FLD)

结构

光源

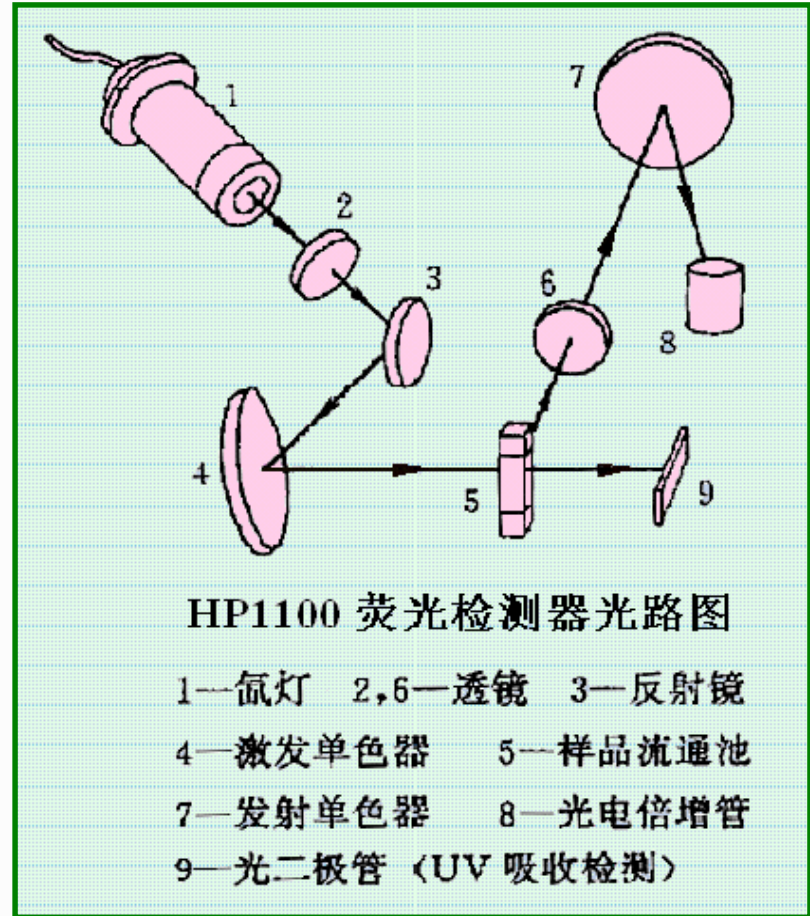
分光系统


样品

分光系统

检测系统

$$I = aC + b$$





响应特性

- ❖ 选择性检测器。如PAHs, 蛋白质
- ❖ 高灵敏度, 可比紫外高约1000倍
- ❖ 适合梯度洗提

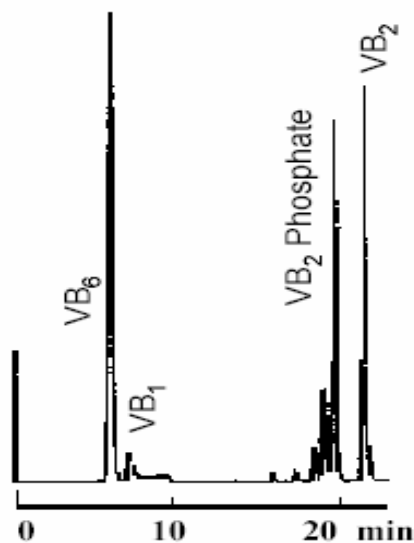


应用举例

Wavelength programming by Fluorescence detector

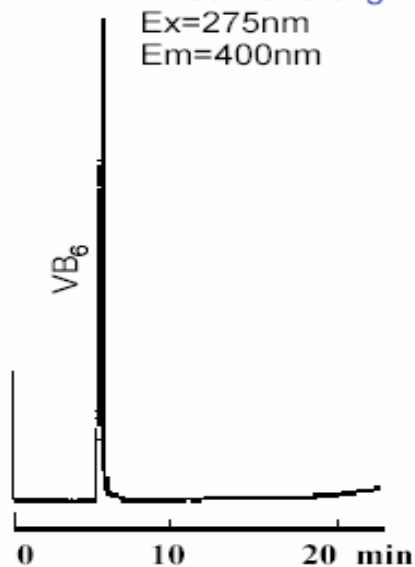
Wavelength programming

	0	6.6	10.0	min
Ex	275	240	450	
Em	400	350	525	nm



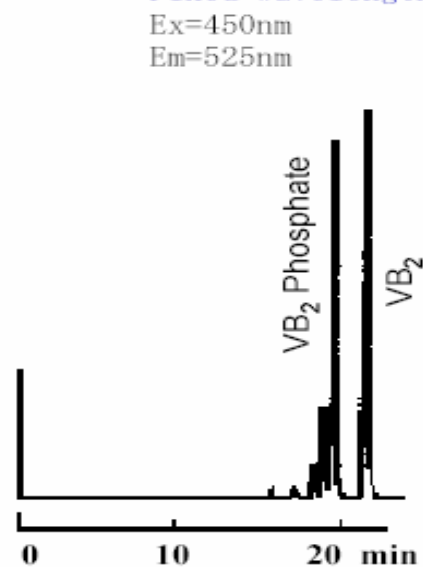
Fixed wavelength

Ex=275nm
Em=400nm



Fixed wavelength

Ex=450nm
Em=525nm



Column : Finepak SIL C18S

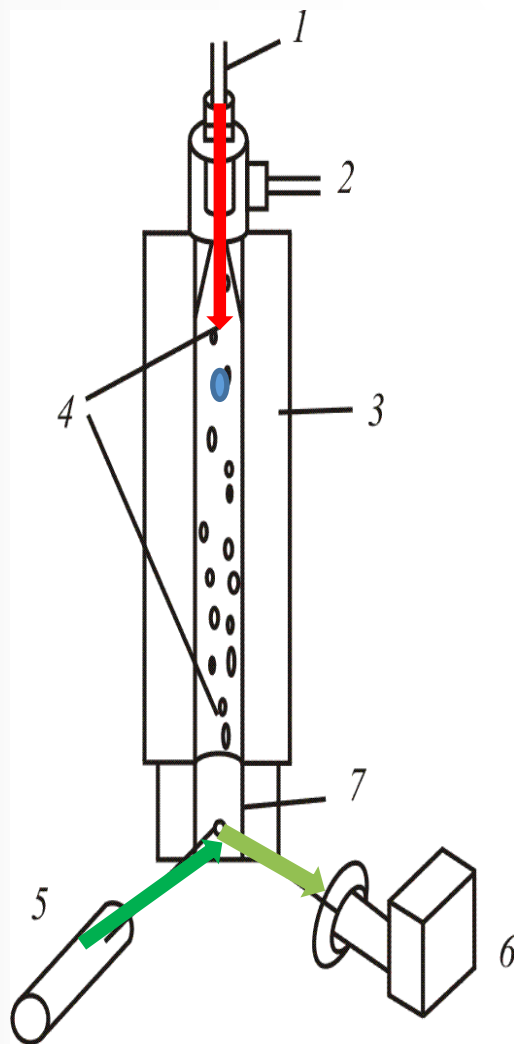
Mobil phase : MeOH/Phosphate Buffer Gradient

(4) 蒸发光散射检测器 (ELSD)

结构与原理

- 激光散射光强与质量 m 具有关系

$$\lg I = b \lg m + \lg a$$



- 1-色谱柱;
- 2-喷雾气体;
- 3-蒸发漂移管;
- 4-样品液滴;
- 5-激光光源;
- 6-光二极管检测器
- 7-散射室

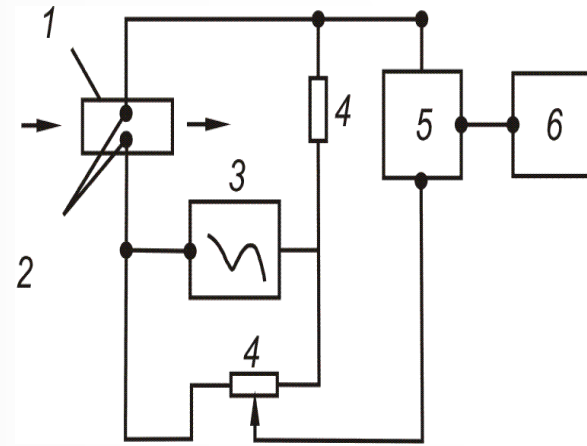
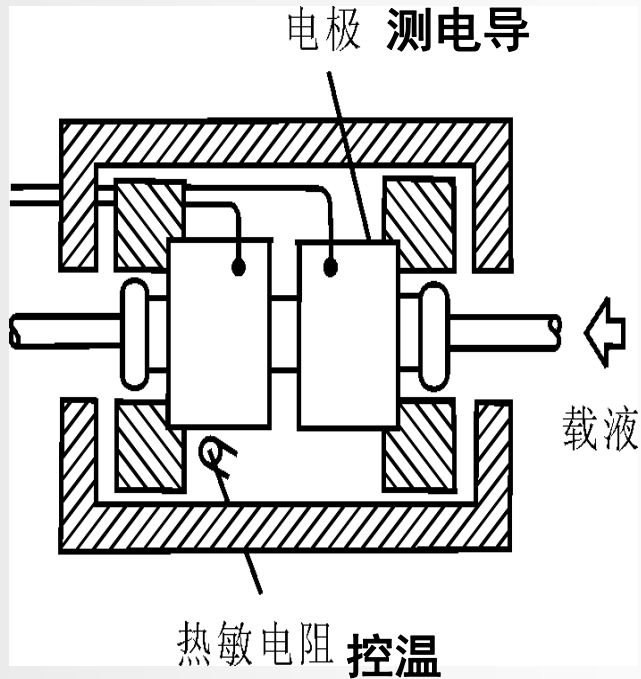


ELSD的特性

- ❖ 通用型
- ❖ 灵敏度较高
- ❖ 可用于梯度洗脱
- ❖ 响应与质量有关

(5) 电导检测器

结构



1. 检测器池体 2. 电极 3. 电源 4. 电阻
 5. 相敏检波器 6. 记录系统

电路



响应特性

- ❖ 选择性检测器，对离子型化合物有响应
- ❖ 灵敏度高
- ❖ 受温度的影响
- ❖ 不能梯度洗提



(5) 几种检测器特性比较

	示差折光	紫外	荧光	电导
应用范围	通用	选择性	高选择性	选择性
可否梯度淋洗	不可	可	可	不可
线性范围	10^4	10^5	10^3	10^4
最小检测量	μg	ng	pg	ng
对温度敏感度	敏感	低	低	敏感
溶剂使用情况	无限制	受限制	受限制	受限制

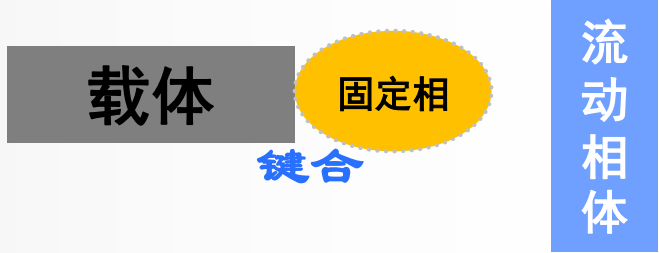


四、HPLC主要类型及其选择

- ❖ 化学键合相色谱法
- ❖ 离子对色谱法
- ❖ 液固色谱法
- ❖ 离子色谱法
- ❖ 体积排阻色谱法



1. 化学键合相色谱法



(1) 分离机理

❖ **正相键合相色谱法**：固定相的极性**大于**流动相的极性，**适用于分离油溶性化合物**。

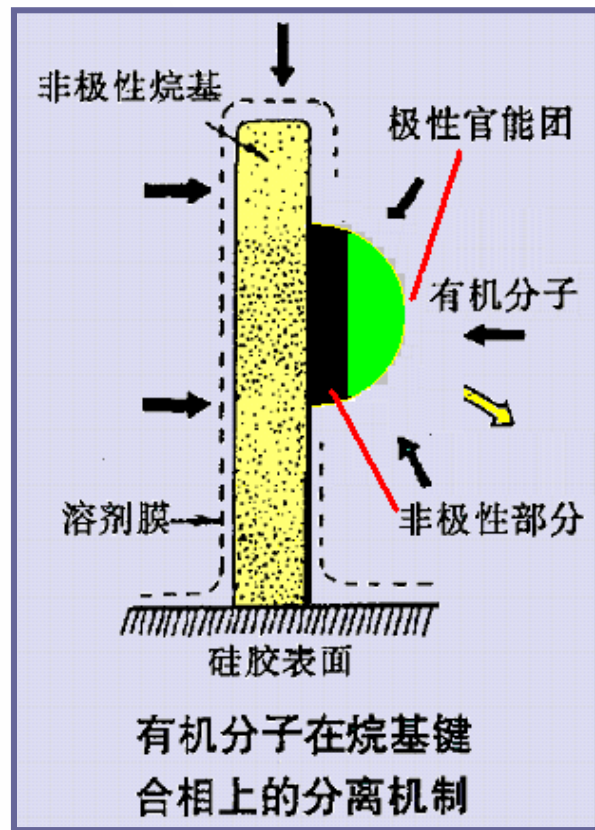
分配机理：分配系数

❖ **反相键合相色谱法**：固定相的极性**小于**流动相的极性，适于分离非极性、极性和离子性化合物。**应用最广泛**

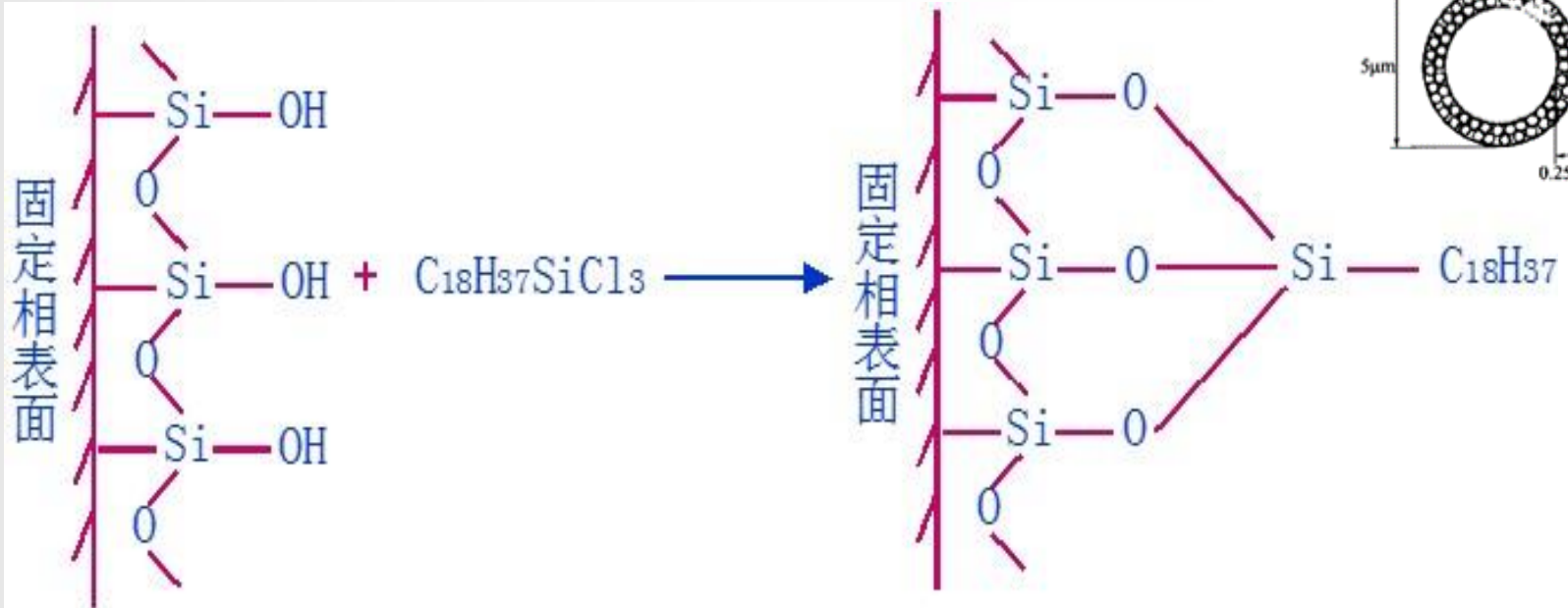
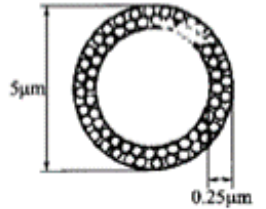
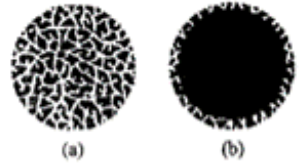
反相键合相色谱法

(1) 疏溶剂机理 (不完全的分配平衡)

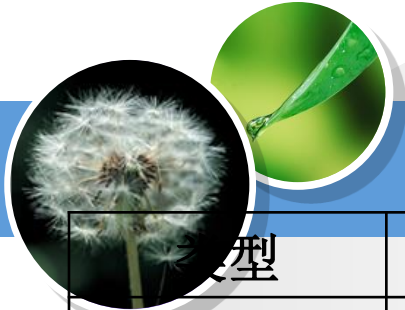
溶质进入极性流动相后，排挤部分溶质分子，其**疏水基团**由于流动相的斥力推动而直接与非极性固定相上的烷基缔合，构成单分子吸附层，这种作用是可逆的。当流动相极性减小时，这种疏溶剂斥力下降。



(2) 固定相



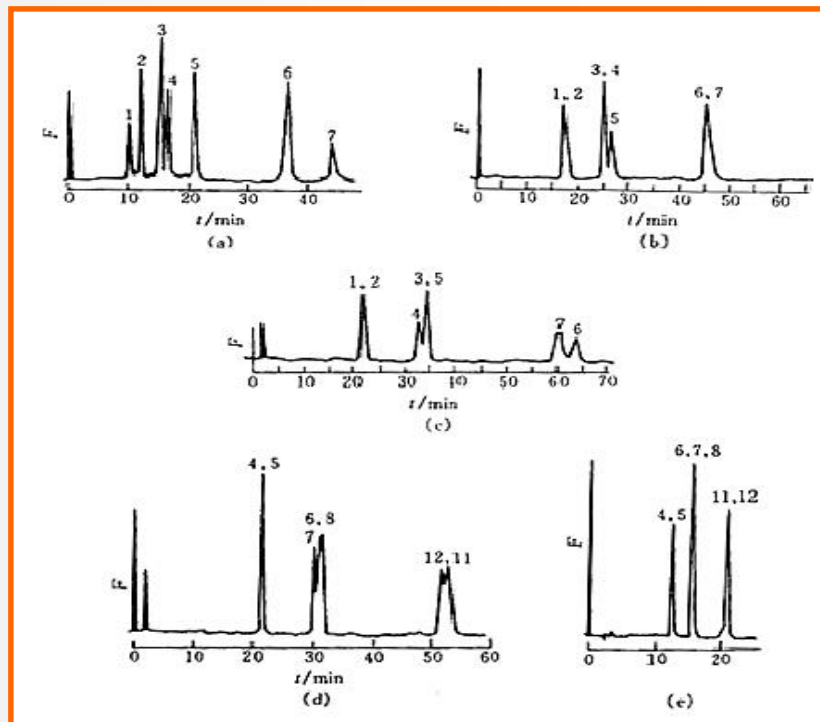
疏水基团 如不同链长的烷烃 (C_8 和 C_{18}) 和苯基
 极性基团 如氨基基, 氰乙基、醚和醇



常用固定相

类型	分离方式	应用特点
C-18	反相、离子对	普适性好，保留值大。溶于水的高极性化合物、中等极性化合物
C-8	反相、离子对	与C-18类似，保留值略小
C-3, C-4	反相	保留值小，适合肽类和蛋白质
苯基	反相	保留适中，选择性不同。非极性、中等极性化合物
-CN	反相、正相	选择性与硅胶类似，保留小，用途广
-NH ₂	反相、正相	分离糖类、核苷酸、固醇等
二醇基	正相	分离有机酸、排阻分蛋白质等
醚基	反相、正相	分离酚类、芳硝基化合物，保留比C-18强
聚苯乙烯基	反相	pH使用范围广，对部分分离峰形好，寿命长

应用举例：不同型号固定相



在五种不同型号 ODS-硅胶化学键合相上，多环芳烃混合物的分
固定相：(a) HC-ODS (8.5%)；(b) Lichrosorb RP-18 (19.8%)；

(c) Partisil-10ODS-2 (16%)；(d) Zorbax ODS (10%)；

(e) μ -Bondapak C₁₈ (10%) (括号内为碳含量)

样品：1—苯萘；2—萘；3—苯并 [a] 芘；4—苯并 [b] 氟代

萘烯；5—苯并 [k] 氟代萘烯；6—苯并 [ghi] 芘；

7—吡啶并 [1, 2, 3-c, d] 芘；F—荧光强度



(3) 流动相

- 作为流动相的溶剂的选择原则
 - 溶剂具有稳定的化学性质
 - 溶剂的选择与使用的检测器要有相容性
 - 溶剂的粘度要小
 - 溶剂的沸点不能太低
 - 溶剂的纯度要高且价格便宜

(3) 流动相

❖ 表征溶剂特性的重要参数

- **溶剂强度 ε°** : 溶剂分子在单位吸附剂表面上的吸附自由能, 溶剂分子与吸附剂的亲和程度, ε° 越大, 亲和力越大。
- **溶解度参数 δ (可用沸点估算)** : 衡量溶剂极性强度的指标, δ 越大, 极性越强。 δ 相差越大, 互溶性相差越大。
- **极性参数 P'** : 溶剂与乙醇、二氧六环、硝基甲烷相互作用的度量, 三种模型化合物在该溶剂中相对溶解能之和。
- **粘度 η** :



溶剂	E	η	ϵ°	δ	P'	x_e	x_d	x_n
正己烷	1.88	0.30	0.01	7.3	0.1			
四氢呋喃	7.6	0.46	0.57	9.1	4.0	0.38	0.20	0.42
乙腈	37.5	0.34	0.65	11.8	5.8	0.31	0.27	0.42
甲醇	32.7	0.54	0.95	12.9	5.1	0.48	0.22	0.31
水	78.5	0.89		21	10.2	0.37	0.37	0.25



❖ 流动性组成：底剂 + 洗脱剂（调节极性）

❖ 正相：正己烷、正庚烷、乙醚、二氯甲烷、氯仿等。

■ 己烷为底剂，洗脱剂如乙醚或甲基叔丁基醚，氯仿，二氯甲烷

❖ 反相：水、甲醇、乙腈、四氢呋喃、乙醇等

■ 水为底剂，洗脱剂如甲醇，乙腈，四氢呋喃。



2. 离子对色谱法

(1) 分离机理

- 对于要分离的**带电离子**（电荷 A^+ ，也可以是阴离子 A^- ）的样品，在色谱流动相中**加入相反电荷的离子** B^- （或阳离子），称为**对离子或反离子**，生成弱极性的**离子对（中性缔合物）**参与分离过程。
该方法多用于反相色谱（反相离子对色谱）。



$$K_{XY} = \frac{[X^+ \cdot Y^-]_o}{[X_w^+][Y_w^-]}, \text{平衡常数}$$

$$D_x = \frac{[X^+ \cdot Y^-]_o}{[X_w^+]} = K_{XY} \cdot [Y_w^-], \text{分配系数}$$

$$k = \frac{K_{XY} \cdot [Y_w^-]}{\beta}$$

调控出峰时间 $t_R = t_0 + t_0 k = t_0 (1 + k)$



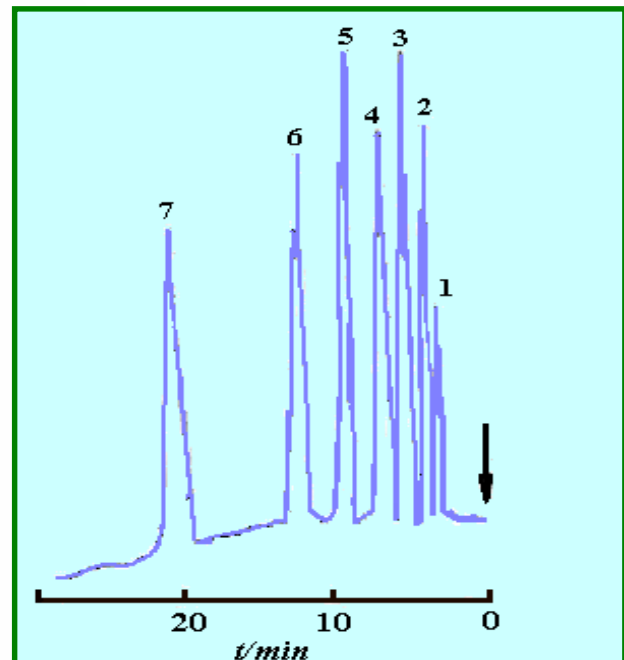
(2) 固定相、流动相和离子对试剂

- ❖ **固定相**：多为C18, C8反相键合相
- ❖ **流动相**：以水为主的缓冲液，或水-甲醇、水-乙腈等混合溶剂
- ❖ **离子对试剂**：四丁基铵正离子、十六烷基三甲基铵正离子， ClO_4^- ，十二烷基磺酸根等



(3) 应用

有机酸、有机碱特别是强酸
 强碱的分析，如羧酸、磺酸、
 胺类、酚类、药物、染料等



反相离子对色谱分析有机酸

固定相: C₈ 烷基键合相硅胶

流动相: 0.03mol/L 四丁基铵+戊醇
PH=7.4

组分: 1—4-氨基苯甲酸
 2—3-氨基苯甲酸
 3—4-羟基苯甲酸
 4—3-羟基苯甲酸
 5—苯磺酸 6—甲酸
 7—甲苯-4-磺酸



3. 液固色谱法

(1) 分离机理

以固体吸附剂为固定相的液相色谱法。由于溶质分子和流动相分子在吸附剂表面的吸附活性中心上**进行竞争吸附**，这种竞争吸附形成不同溶质在吸附剂表面的吸附、解吸平衡。平衡常数的不同导致不同溶质得以分离。



(2) 固定相

极性固定相：硅胶、氧化镁、氧化铝等

非极性固定相：活性炭、高分子多孔微球、
碳多孔微球等



(3) 流动相

- 溶剂强度 ε° 越大，洗脱力越强。合适的洗脱强度可通过混合溶剂来得到
- 硅胶为固定相时：以弱极性的正构烷烃为主体，加入二氯甲烷等中等极性溶剂调节合适的洗脱强度。
- 可用水对硅胶进行减活处理，或加入四氢呋喃、乙腈、甲醇、异丙醇等改性剂



(4) 应用

- ❖ 中等分子量的油溶性样品如油品、脂肪、芳烃等
- ❖ 不同极性取代基的化合物
- ❖ 结构异构体和几何异构体混合物的分离



4. 离子色谱法(IC)

(1) 分离机理(离子交换色谱和离子色谱)

❖ 被测离子与离子交换树脂上的离子发生反应：

阳离子交换： 树脂 $\text{—SO}_3^-\text{H}^+$ + M^+ = 树脂 $\text{—SO}_3^-\text{M}^+$ + H^+

阴离子交换： 树脂 $\text{—NR}^{3+}\text{Cl}^-$ + X^- = 树脂 $\text{—NR}^{3+}\text{X}^-$ + Cl^-

❖ 不同的离子与树脂离子的交换能力 (**亲和能力**)

不同，亲和力越大，离子越难洗脱，从而得以分离。



(2) 固定相

离子交换剂，最常用的是乳胶薄壳型离子交换树脂小球，根据功能基可分为：强酸型（磺酸基团）、强碱型（季铵基）、弱酸型（羧酸）、弱碱型（伯、仲、叔胺）





(3) 流动相

双柱抑制型：分离阳离子，一般采用无机酸如 HCl ， HNO_3 等；分离阴离子，一般采用 NaOH 、 $\text{NaHCO}_3/\text{NaCO}_3$ 、苯甲酸及其盐、酒石酸、柠檬酸等

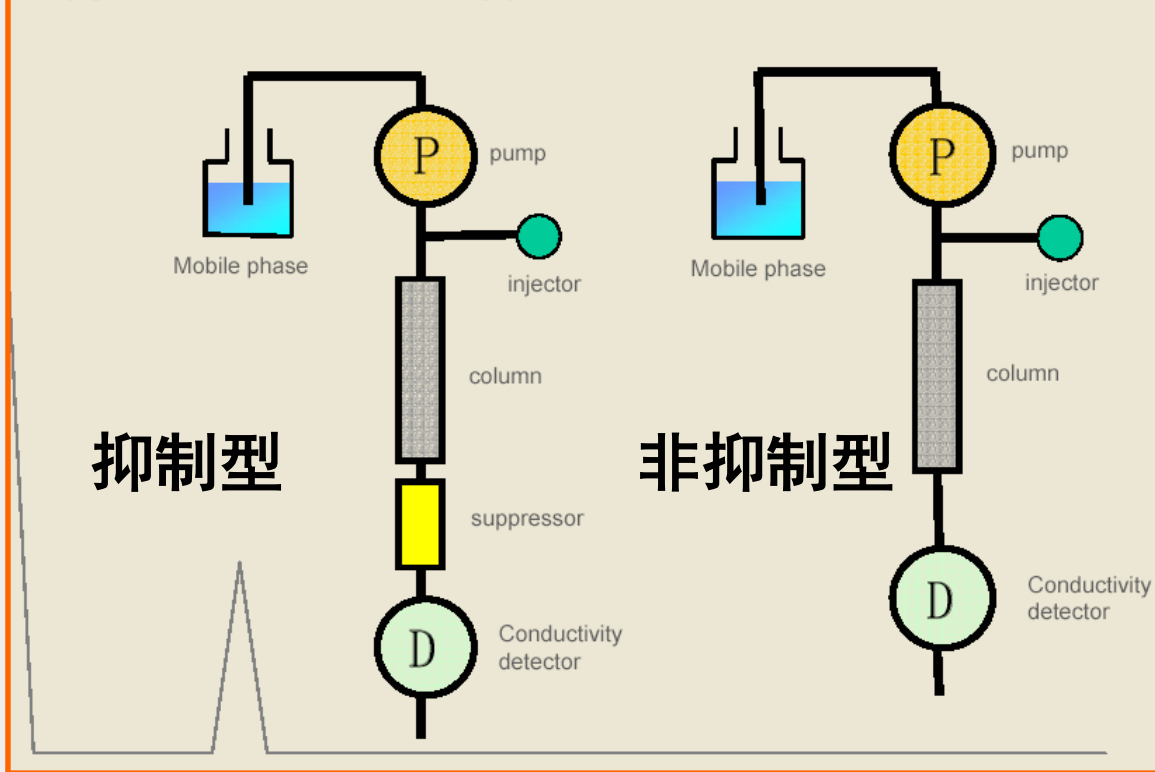


(4) 离子色谱仪的结构

- ❖ 离子交换色谱：离子交换树脂为固定相的LC
- ❖ 离子色谱：进一步发展而来，两者分离原理一样
- ❖ 离子色谱最大的改进是解决了微量组分检测问题
 - **单柱非抑制型**：淋洗液直接进入电导检测器。简单、死体积小而分辨率较好，但灵敏度低。
 - **双柱抑制型**：在分离柱和检测器之间加一个化学抑制器，其作用有二，一是降低淋洗液的背景电导，二是增加被测离子的电导值，改善信噪比。灵敏度高。

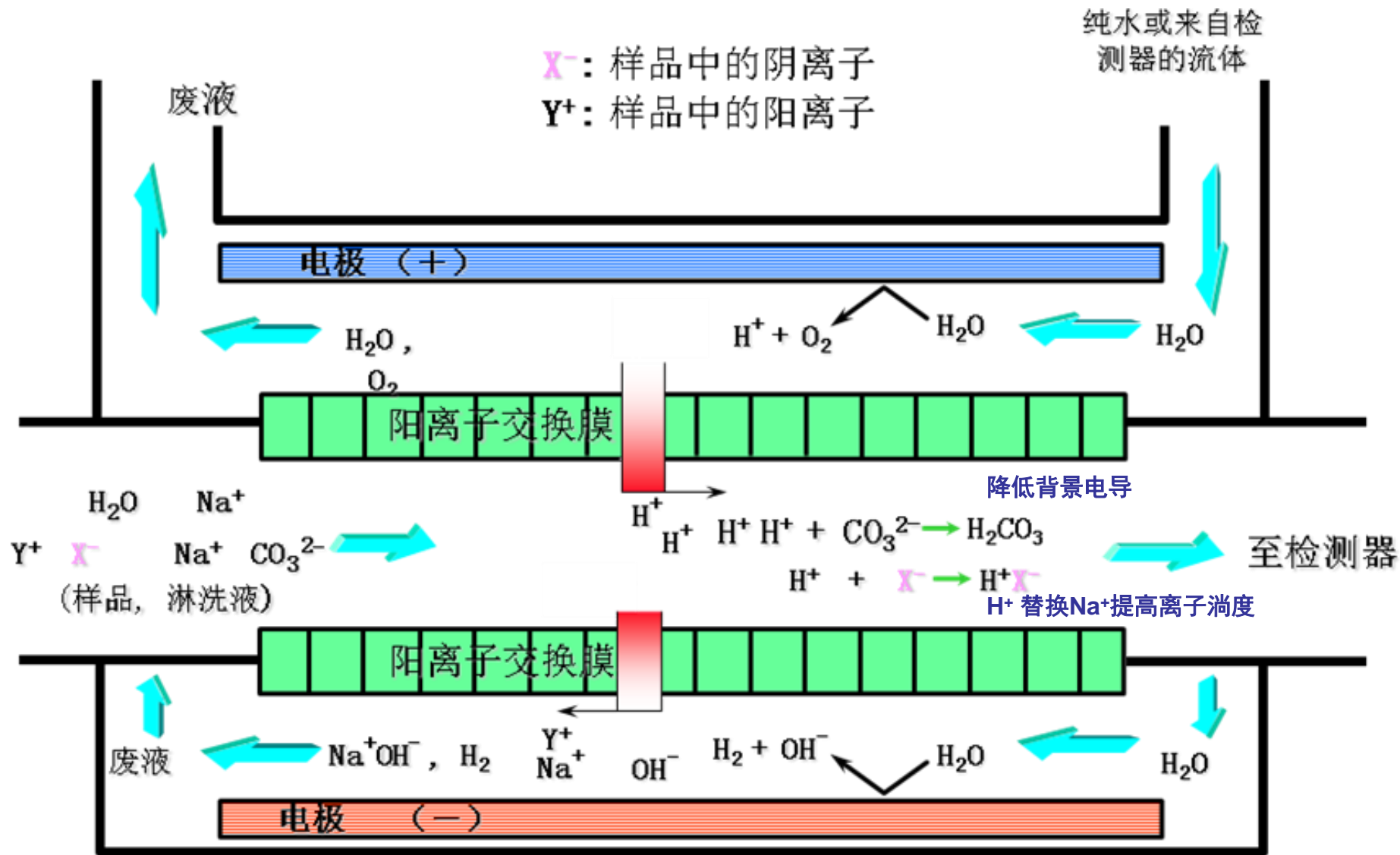


Suppressor and Non-suppressor



●**非抑制型**：淋洗液直接进入电导检测器。简单、死体积小而分辨率较好,但灵敏度低。

●**抑制型**：在分离柱和检测器之间加一个化学抑制器：降低淋洗液的背景电导，增加被测离子的电导值，改善信噪比。灵敏度高。



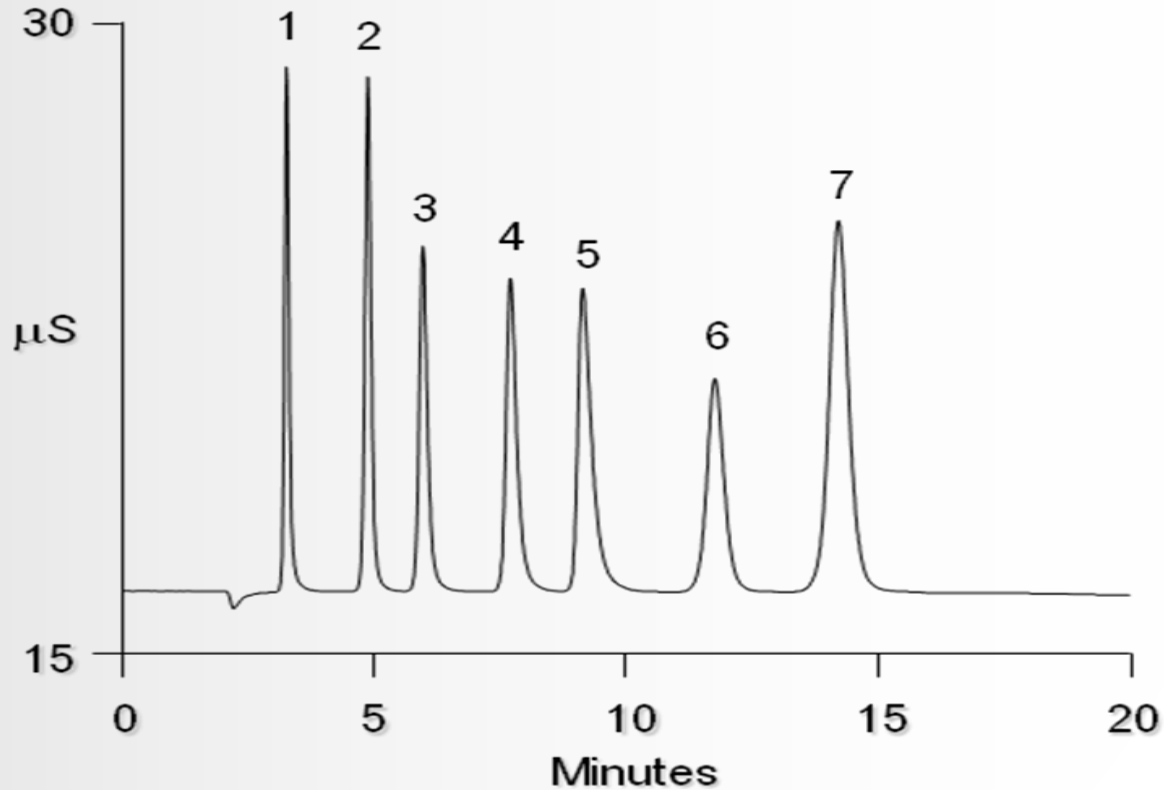
电化学自再生微膜抑制器结构示意图（阴离子）



(5) 应用

- ❖ 分析无机阴离子的首选方法
- ❖ 还可用于分析无机阳离子，有机酸、碱，糖类、蛋白质等。

应用举例



- 1. F^- ,
- 2. Cl^- ,
- 3. NO_2^-
- 4. Br^- ,
- 5. NO_3^-
- 6. PO_4^{3-}
- 7. SO_4^{2-}



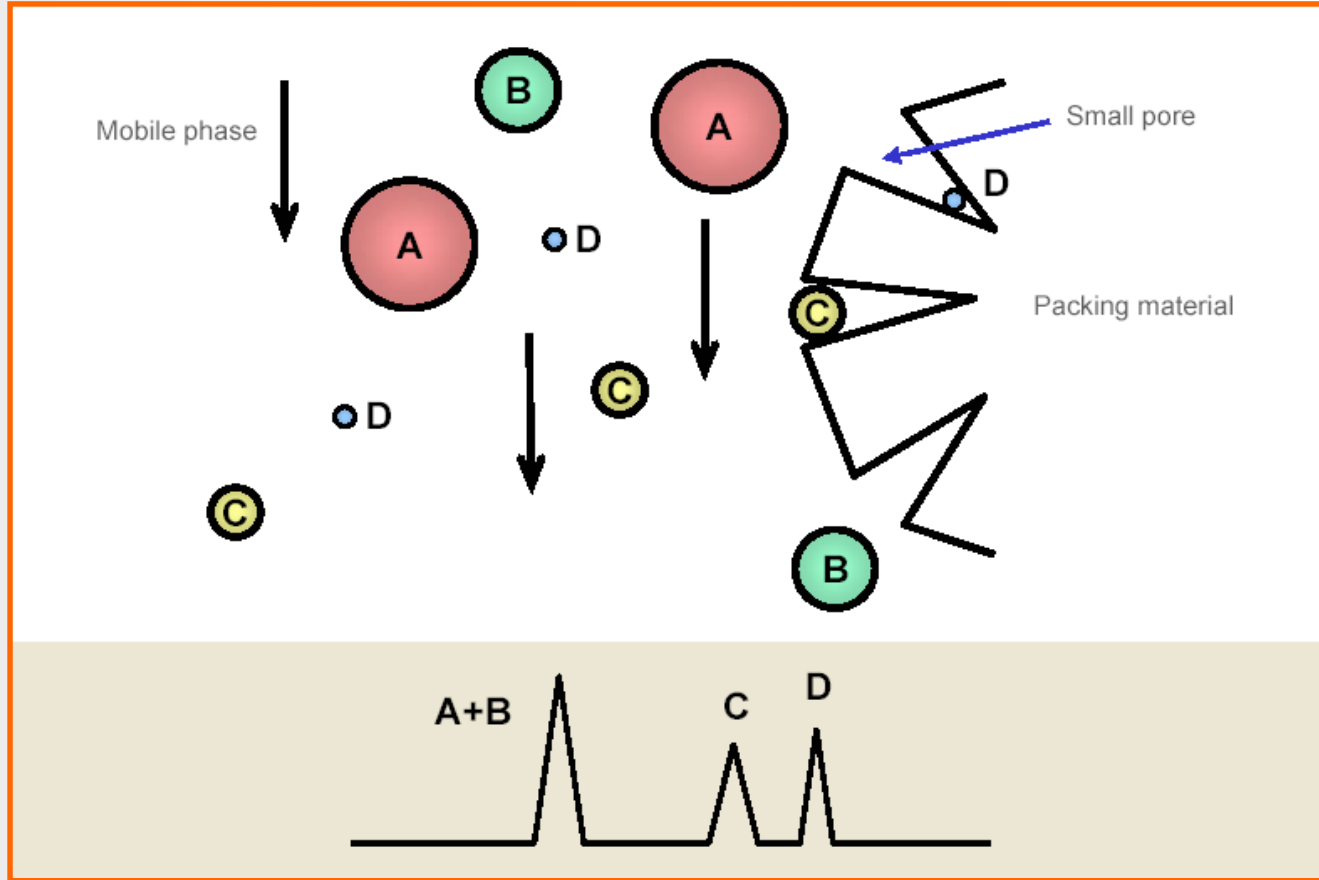
5. 体积排阻色谱法 (SEC)

(1) 分离原理

- 以多孔凝胶为固定相，利用精确控制的凝胶孔径，使样品中不同分子大小的组分得以分离。

$$V_R = V_0 + K_D \cdot V_p \quad 0 < K_D < 1.0$$

- 洗脱体积在 V_0 和 $V_0 + V_p$ 之间，峰容量有限，10-12 个峰
- 用于分离分子大小差大于10%的样品



分离原理示意图



(2) 固定相

- ❖ 软质凝胶：如交联葡聚糖等，水相分离生化体系，适于低、中压操作
- ❖ 半刚性凝胶：较高交联度的苯乙烯、二乙烯苯共聚物，有机相洗脱，可承受10Mpa的压力
- ❖ 硬质凝胶
 - 高交联度苯乙烯、二乙烯苯共聚物
 - 多孔球形硅胶
 - 羟基化聚醚多孔微球



(3) 流动相

- ❖ 改善分离主要通过固定相来实现。流动相的选择原则是：溶解样品、与凝胶浸润、与检测器匹配、粘度小。如四氢呋喃；缓冲溶液



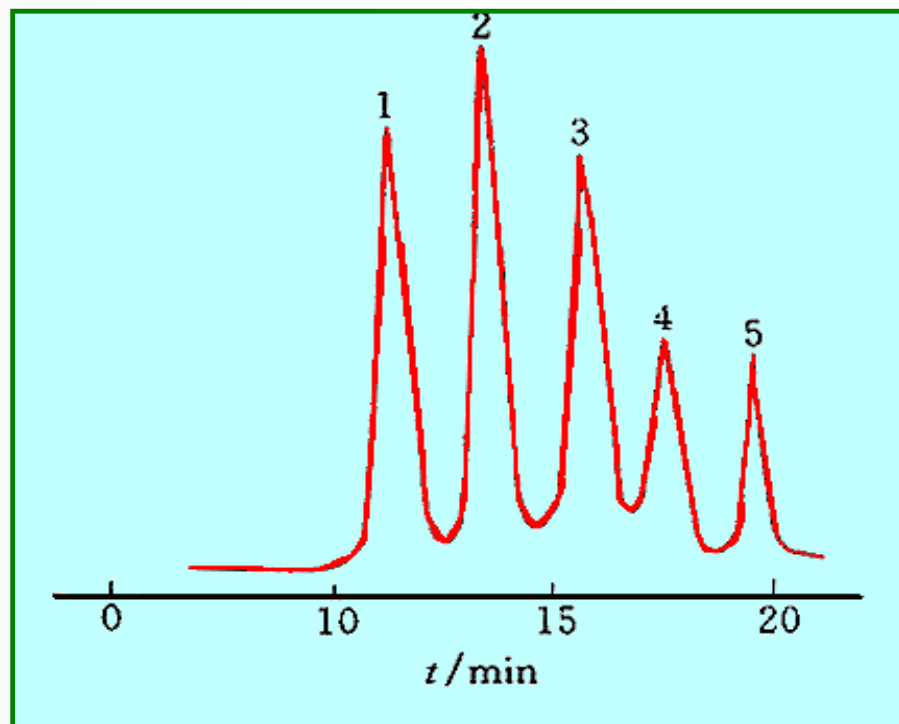
- ❖ 使用水溶液的**凝胶过滤色谱法** (GFC) , 主要用于分析多肽、蛋白质、核酸、多糖等。
- ❖ 使用有机溶剂的**凝胶渗透色谱法** (GPC) , 主要用于高聚物 (如聚乙烯、聚氯乙烯等) 分子量的测定


(4) 应用

❖ 大分子的分离分析

❖ 大分子的分子量分布的测定

1. 聚乙二醇40000
2. 聚乙二醇10000
3. 聚乙二醇3000
4. 聚乙二醇1000
5. 乙二醇



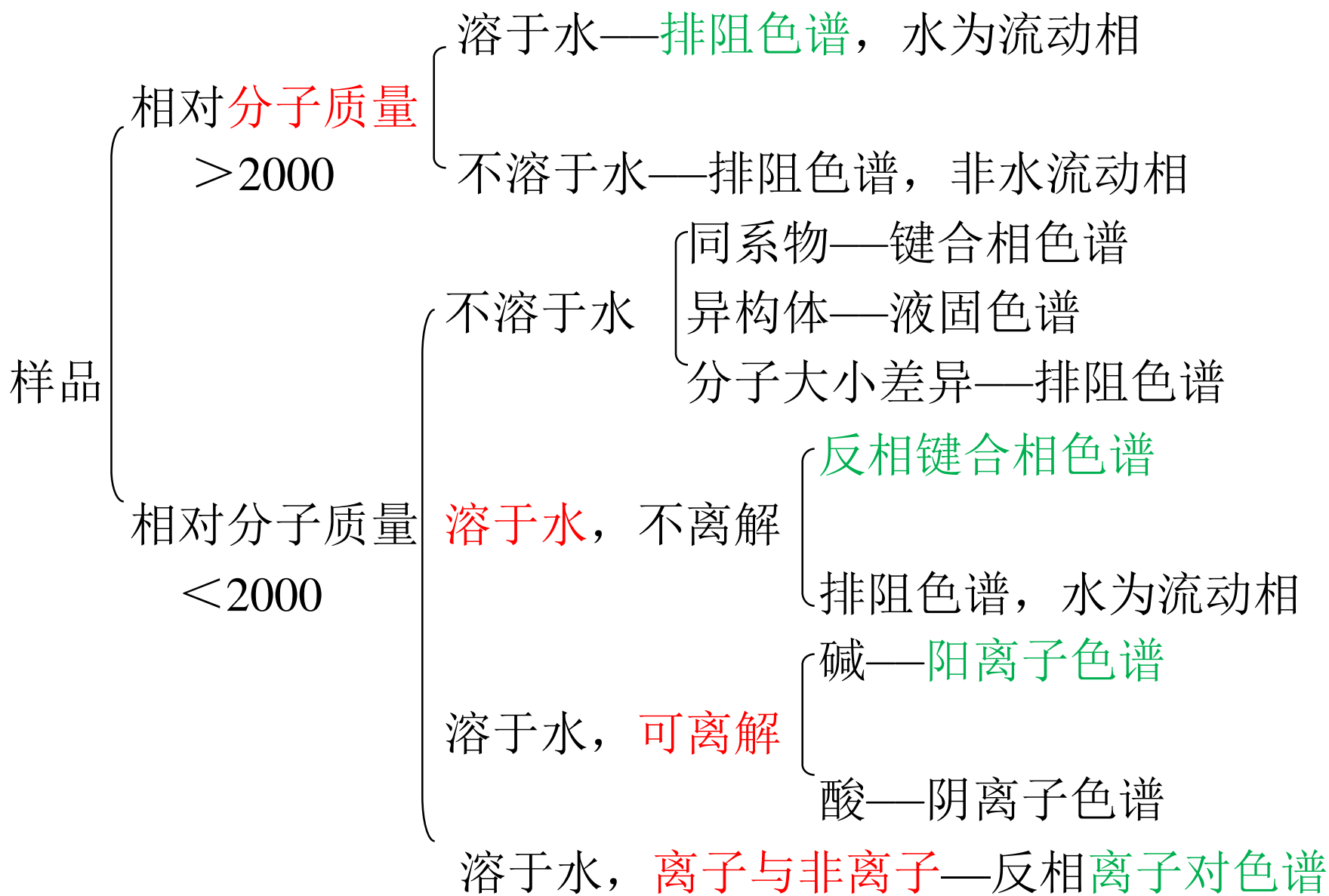


6. 液相色谱分离类型及条件选择

❖ 选择合适的液相色谱分离类型

了解分析对象

- 要分析的组分的大致浓度
- 干扰物质
- 试样的性质
 - 结构
 - 分子量
 - 酸碱性
 - 溶解性





❖ 选择合适的分析条件

- 色谱柱
- 流动相
- 检测器的种类及条件（波长等）
- 样品的预处理方法



色谱分析方法及条件选择

❖ 调研

- 需求分析
- 文献调研
- 形成实验方案

❖ 实验研究

- 条件优化
- 方法学验证
 - 灵敏度、精密度、准确度

❖ 实际样品分析

❖ 了解分析对象

❖ 明确分析要求

❖ 查找相关文献

■ 标准：

■ 手册：

■ 论文：

■ 其他资料：

❖ 确定分析方法

❖ 选择样品前处理方法

❖ 优化分析条件

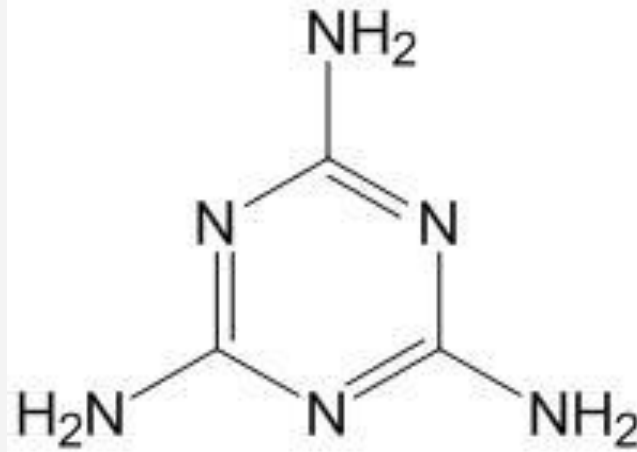
❖ 方法学验证

❖ 样品测试



举例

奶制品中三聚氰胺的检测方法



主要难点：

常压熔点 354°C ，沸点： 557.54°C （分解），

碱性，强极性

奶制品干扰多

1. 高效液相色谱分析方法

——离子对色谱法

样品预处理

- 1) 沉淀离心去蛋白
- 2) 固相萃取：
阳离子交换固相萃取柱

Bond Elut Plexa PCX
(60mg, 3mL, P/N.12108603)

活化

3mL 甲醇, 3mL 水

上样

加入提取液 3mL, 重力自流

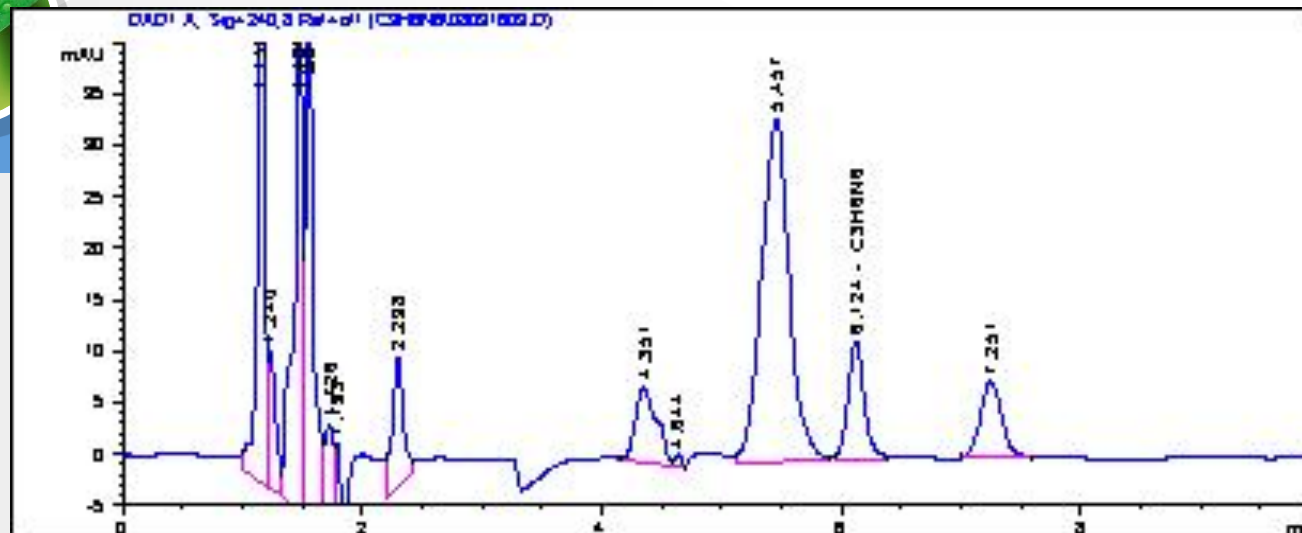
淋洗

3mL 水, 3mL 甲醇, 空气吹扫5min

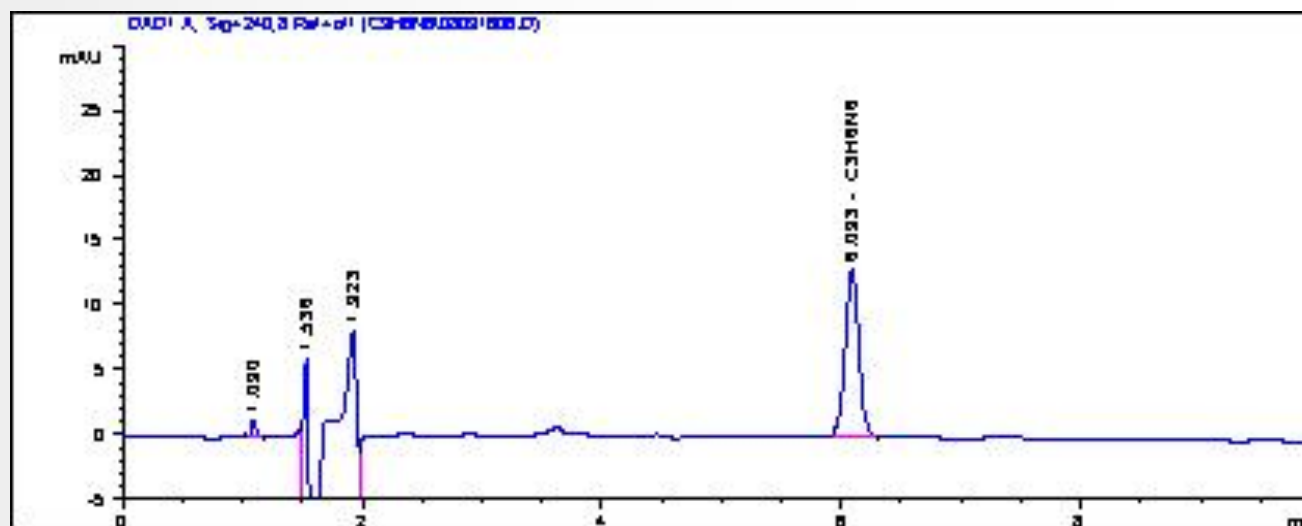
洗脱

5mL 5%氨化甲醇(v/v)洗脱 (5mL 氨水+95mL 甲醇)

50℃氮气吹干, 20%甲醇/水定容至 2mL



未经样品前处理的奶粉样品



经预处理后的奶粉样品



- ❖ 色谱柱: Polaris C18-A (4.6X250mmX5 μ m)
- ❖ 缓冲液: 10mM柠檬酸, 10mM庚烷磺酸钠
- ❖ 流动相: 缓冲溶液:乙腈=85:15
- ❖ 进样量: 10 μ L
- ❖ 流速: 1.0mL/min
- ❖ 柱温: 40 $^{\circ}$ C
- ❖ 检测器: 紫外检测器, 波长 240nm



2. 液相色谱-质谱联用

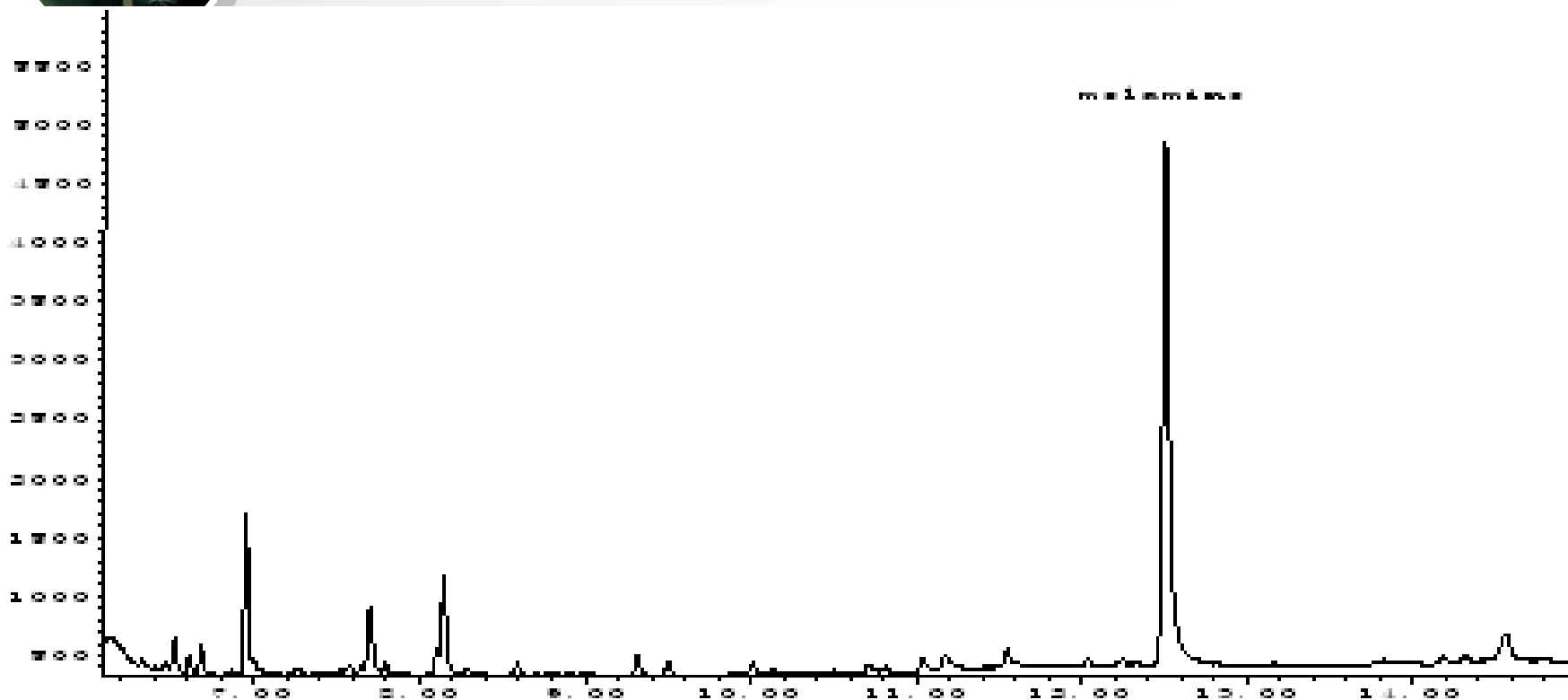
❖ LC 参考条件

- a) 色谱柱：强阳离子交换与反相C18混合填料，混合比例（1：4），150 mm×2.0 mm（i.d.），5 μm，或相当者。
- b) 流动相：等体积的乙酸铵溶液和乙腈充分混合，用乙酸调节至pH=3.0后备用。
- c) 进样量：10 μL。
- d) 柱温：40℃。
- e) 流速：0.2 mL/min。



3. 气相色谱-质谱联用分析

- ❖ 样品的衍生化
- ❖ BSTFA Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide 双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺等
- ❖ 毛细管气相色谱柱
- ❖ 选择离子监测

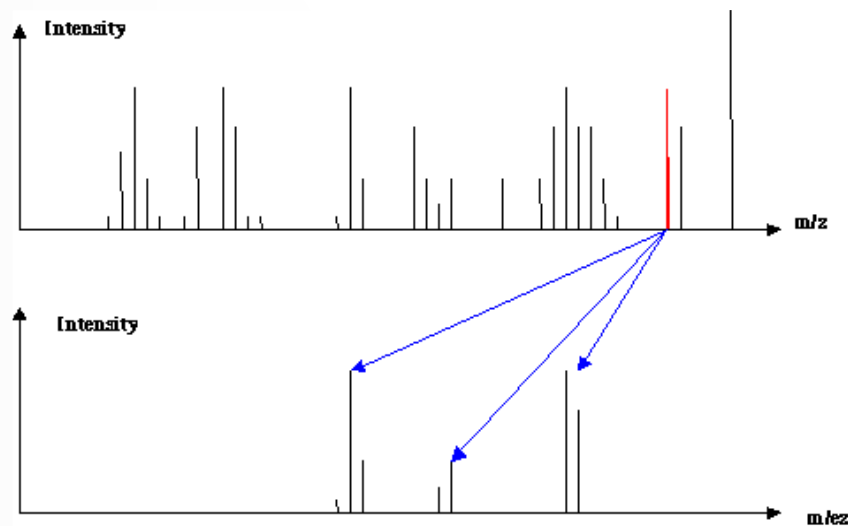


三聚氰胺衍生物GC-MS 选择离子色谱图

补充：色谱-质谱联用分析法

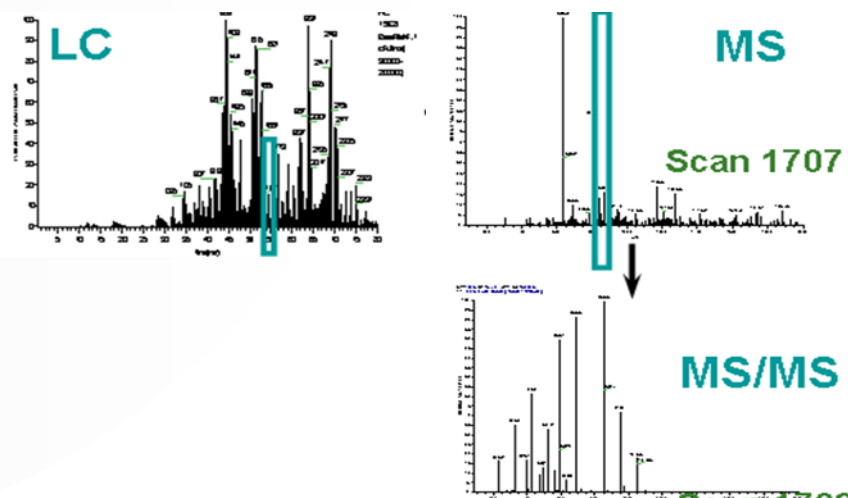
❖ 质谱分析法

- 将化合物形成离子和碎片离子
- 按质荷比(m/z 值) 分离测定
- 结构分析
- 分子量测定的重要手段
- 有机质谱、无机质谱、生物质谱



❖ 色谱质谱联用

- 色谱作为分离手段
- 质谱作为检测器
- GC-MS、LC-MS-MS、CE-MS





复习-色谱部分

❖ 色谱分析法

- 色谱理论基础
- 气相色谱法
- 高效液相色谱法



色谱分析概论

基本概念和公式

- 色谱图：保留值、相对保留值、...
- 色谱原理：分配系数、分配比、柱效、分离度、...
- 很多公式：记住重要公式

基本理论

- 塔板理论
- 速率理论

色谱分析方法

- 定性、定量分析



气相色谱

仪器组成：

检测器：原理、特点、适用范围

固定相选择原则：依据作用力判断出峰规律

毛细管气相色谱仪器、特点



高效液相色谱

基本特点，相关理论

仪器组成：检测器

各种方法：

- 键合相色谱法（反相、正相）、离子对色谱法、液固色谱法、离子色谱法、排阻色谱法等
- 分离原理、固定相和流动相的种类

高效液相色谱分析方法和条件选择



作业 3

PAGE 107

3、6、11





课堂测验 I （色谱部分）

- 1、死时间为 t_0 ，A和B组分保留时间为 t_A 和 t_B ，峰底宽为 Y_A 和 Y_B ，写出如下参数的计算公式：A的调整保留时间，有效塔板数，A相对于B的相对保留值。
- 2、气相色谱中影响分配比的因素有哪些，柱长A，固定相B，流动相C，相比D？液相色谱中影响分配比的因素有哪些，柱长A，固定相B，流动相C，相比D？
- 3、含4种组分a, b, c, d的样品进行GC分析，5个峰面积分别为 A_0 ， A_a ， A_b ， A_c ， A_d 。其中 A_0 为空气峰的峰面积，写出a组分质量分数 w_a 的计算公式（归一化法，忽略f）。
- 4、如下检测器：紫外检测器，热导检测器，氢火焰检测器，火焰光度检测，示差折光检测器中，属于液相色谱的是哪几个？通用性检测器有哪几个？
- 5、何为程序升温方法？何为梯度洗提方法？