

第十七章 色谱分析法概论

An Introduction to Chromatography

分离

化学工作者最基本的任务

经典分离方法

沉淀、结晶、离心、电解
蒸馏、萃取、精馏等

色谱分离

气相色谱、液相色谱、电泳
柱色谱、薄层色谱、纸色谱

- 物化性相似的复杂有机物的分离？
- 同分（几何、构像）异构体的分离？



bp. 80.1°C



bp. 80.7°C

色谱法

- 一种高效的、应用范围广的分离分析技术，可用于从小分子到大分子各种不同性质物质的分离，包括少量样品的分析及大量样品成分分离制备等。
- 由于仪器进步及各个学科分离分析复杂物质需要，近几十年来发展很快，是最有效的分离手段，涉及各个学科领域，是现代化学发展的基础之一。约有60%以上的分析工作是基于色谱法完成的。

本章内容

- 概述
- 色谱流出曲线及相关术语
- 色谱法基本原理
- 分离度
- 基本色谱分离方程式

17-1 概述 (1)

● 色谱法起源

将绿色植物的石油醚萃取液加载到装有吸附剂 CaCO_3 的柱子上端，然后用石油醚淋洗。

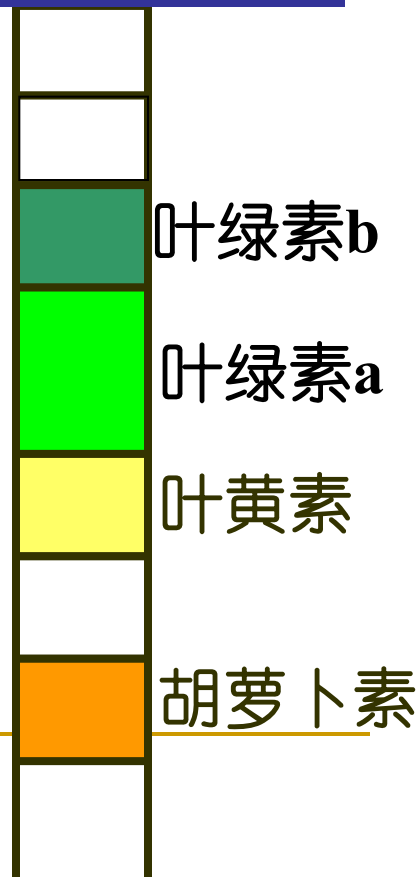
- 固定相： CaCO_3
- 流动相：石油醚

色谱法的两相

🐼 本质： CaCO_3 对萃取液中各成分的吸附能力不同，从而将其分离成不同色带。

↓
色谱法名称来源

茨维特色谱图
(1906, 俄)



17-1 概述 (2)

● 色谱法发展的历史

1906	茨维特	创立 (色谱名称来源)
1941	马丁/辛格	液液分配色谱
1944	康斯登/马丁	纸色谱
1952	马丁/辛格	GC (气相色谱)、塔板理论
1956	斯塔尔	薄层色谱
1957	戈雷	毛细管柱 (里程碑)
1957	霍梅斯	GC-MS (提高鉴定能力)
1966	LOW	GC-FTIR
70年代		HPLC (高效液相色谱)
80年代		SPC (超临界色谱)、CE (毛细管电泳)
90年代		CEC (毛细管电色谱)

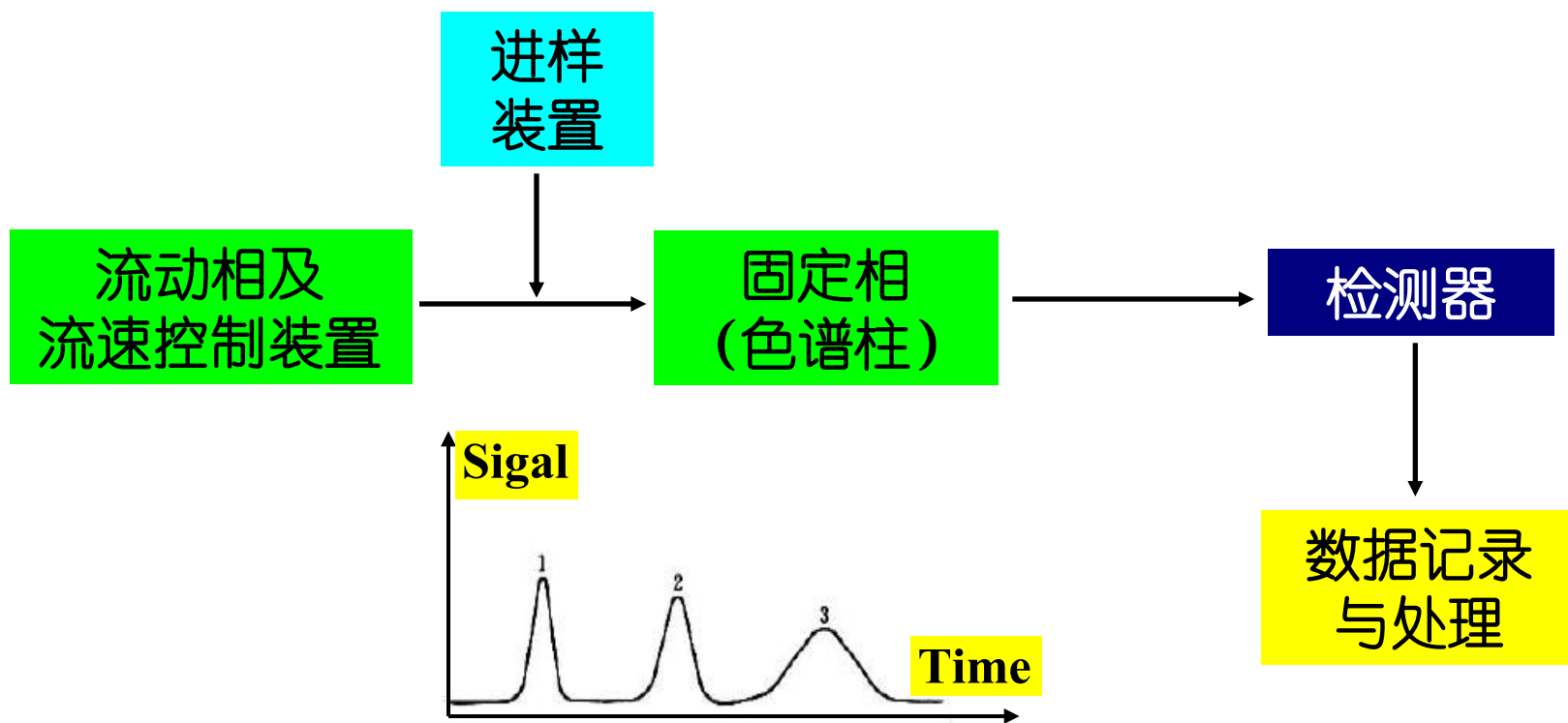
17-1 概述 (3)

● 色谱法基本原理 (以柱色谱为例)

- 在外力作用下, 流动相以一定流速连续流经与其互不相溶的固定相表面 (色谱柱)。待分离试样被一次性注入色谱柱头, 各组分在同一时刻进入色谱柱。
- 各组分与两相的不同作用 (溶解、吸附、渗透或离子交换等) 导致其在两相间的“分配系数”不同。
- 在随流动相移动通过一定长度的色谱柱时, 各组分在两相之间进行了反复多次 ($10^3 \sim 10^6$) 的分配过程, 使得分配系数不同的各组分在色谱柱中移动速率产生差异, 从而彼此分开形成“单组份”的带或区, 依次流出色谱柱。
- 根据色谱柱末端检测器的响应信号可实现对各组分的定性/定量分析

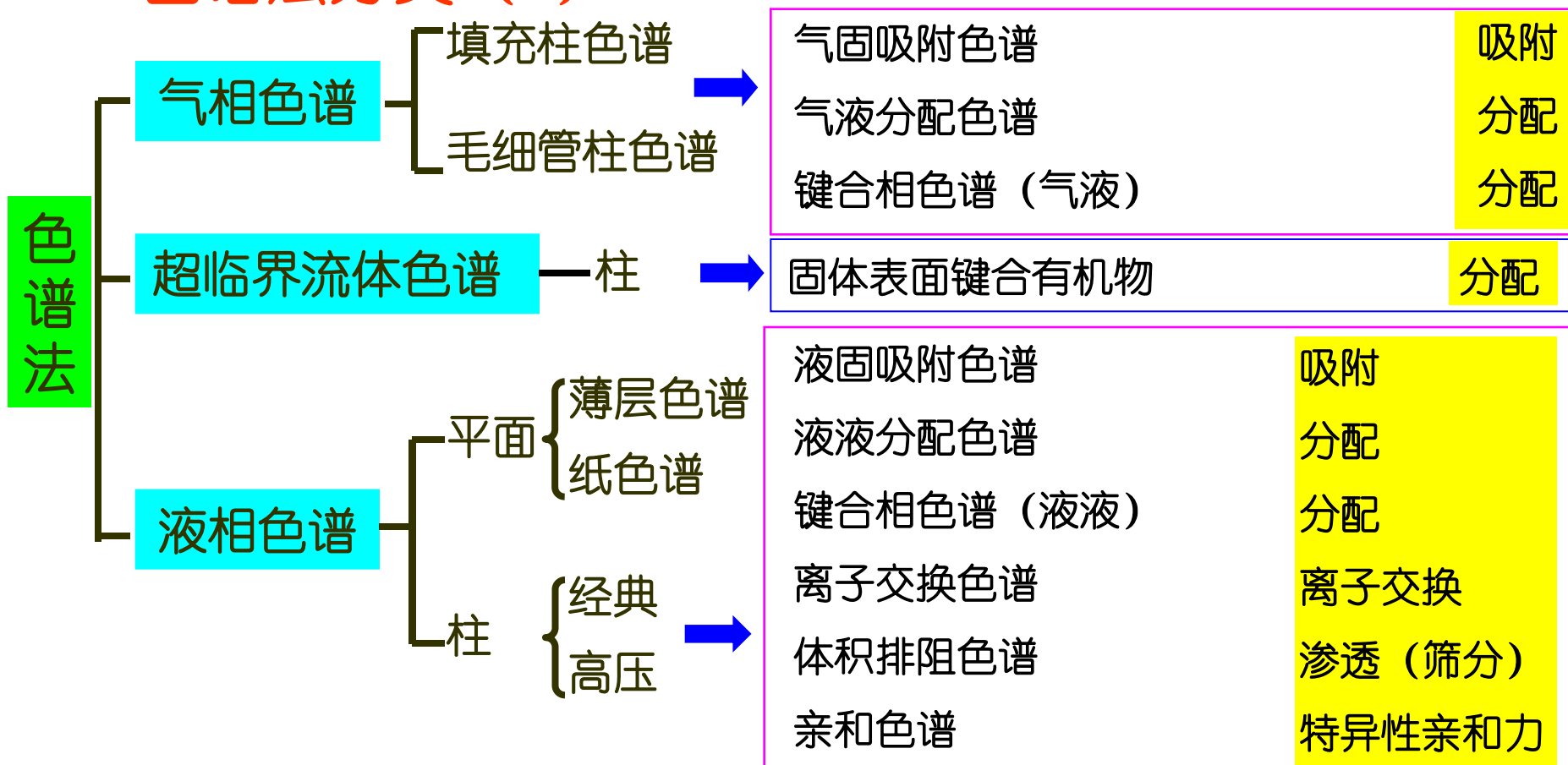
17-1 概述 (4)

● 色谱仪的基本结构框图



17-1 概述 (5)

● 色谱法分类 (2)



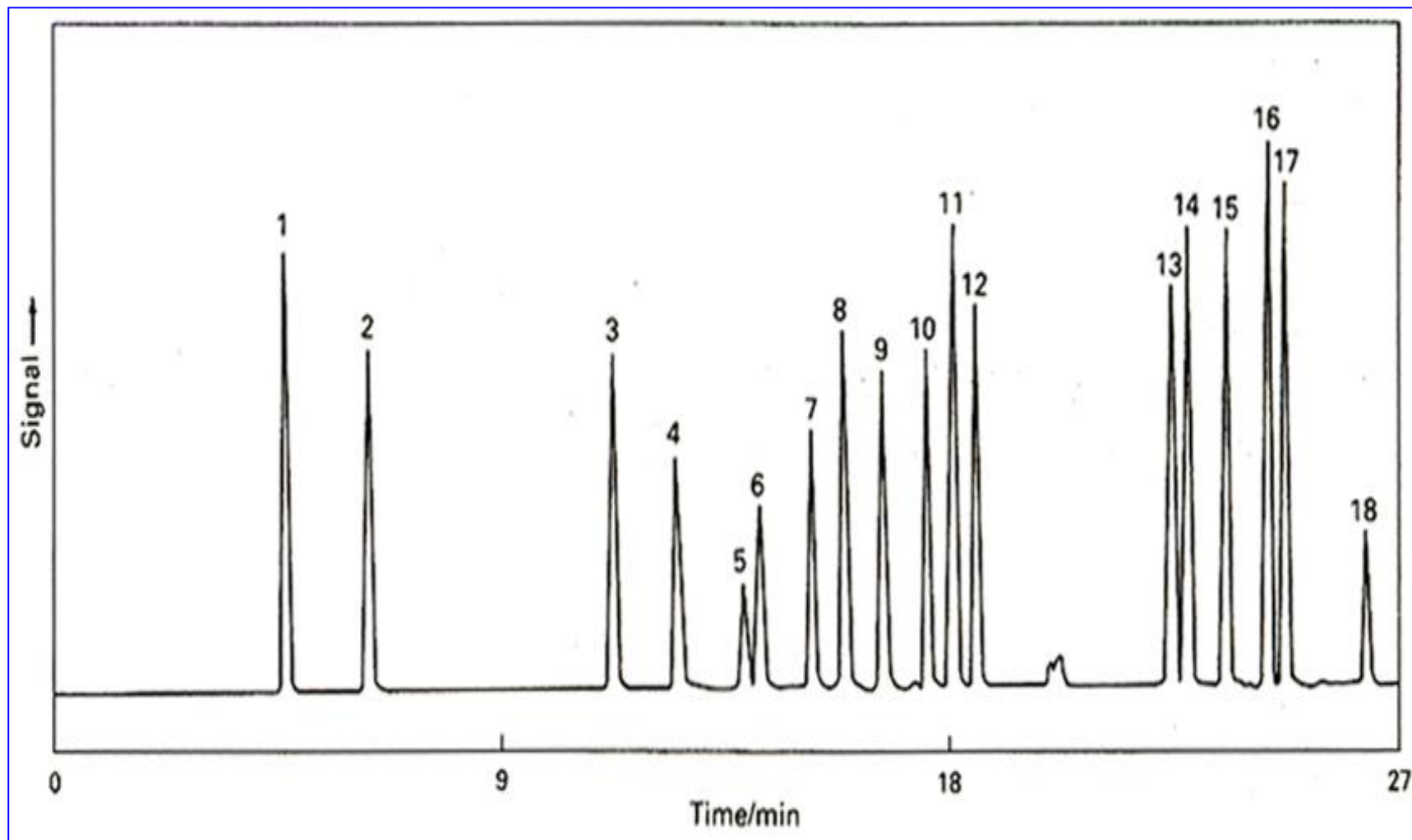
● 虽然电泳法原理与色谱法不同，但因其应用领域，数据形式，定性/定量方式与色谱法相似，通常也将其归在色谱法中。电色谱是兼具两者特点的分离方式。

17-1 概述 (6)

● 色谱法的特点

- 分离效能高：能在较短时间内对组成极为复杂，各组分性质极为相近的混合物同时进行分离测定；
 - 灵敏度高：高灵敏的色谱检测器可检测 $10^{-11} \sim 10^{-13}$ g的物质，适于痕量分析；样品用量极少，一般以 μg 计，有时仅以 ng 计；
 - 分析速度快：一般只需几或几十分钟便可完成一个复杂试样的分析；
 - 应用范围广：选择适当的色谱模式几乎能分析所有的化学物质。
- 🐷 虽然传统色谱检测器的定性能力较差，但与定性能力强的光谱方法如 MS、FTIR、NMR等联用，可大大提高其定性分析能力。

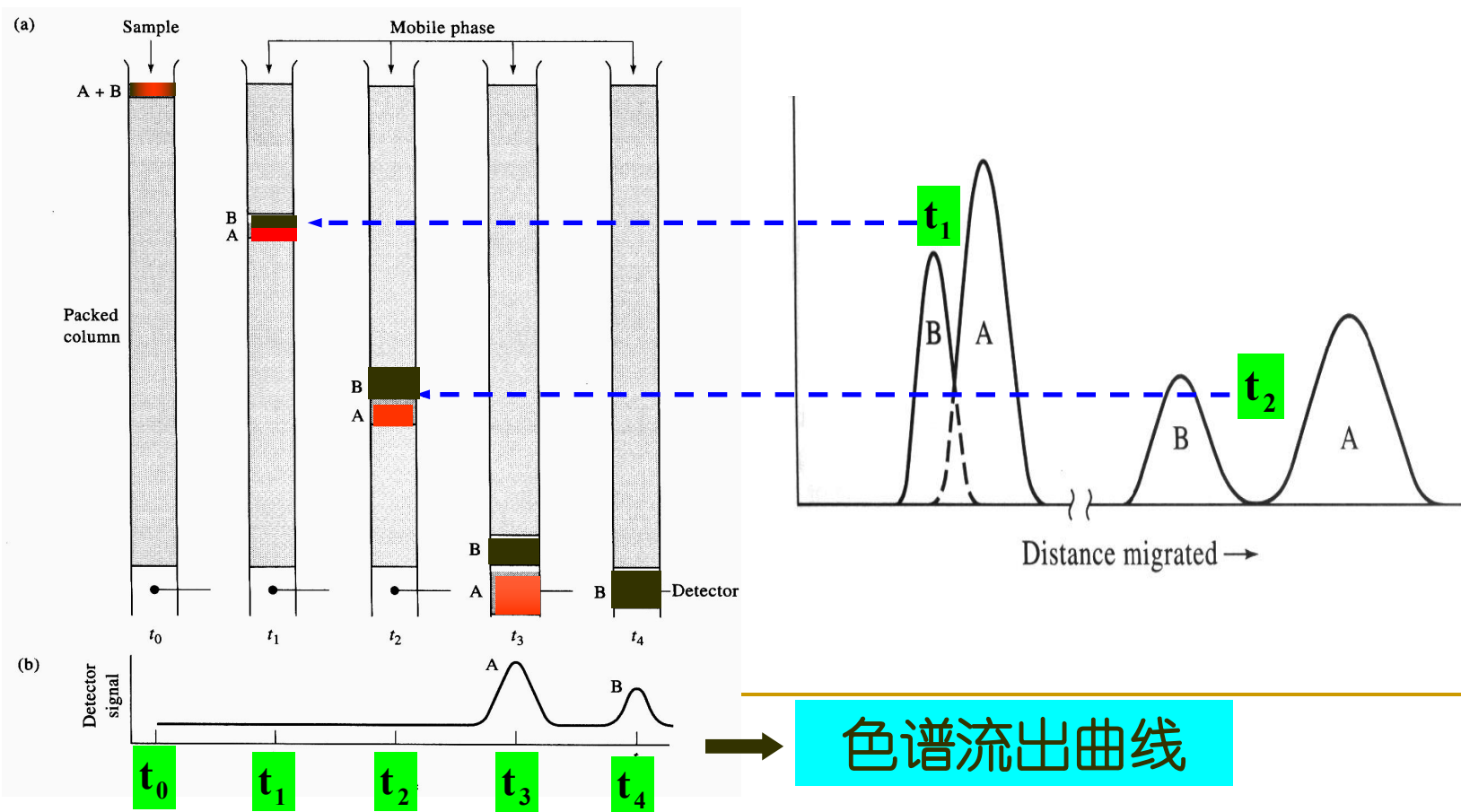
Less than 30 minutes separation for 18 of amino acids



17-2 色谱流出曲线及相关术语 (1)

● 色谱流出曲线 (色谱图) :

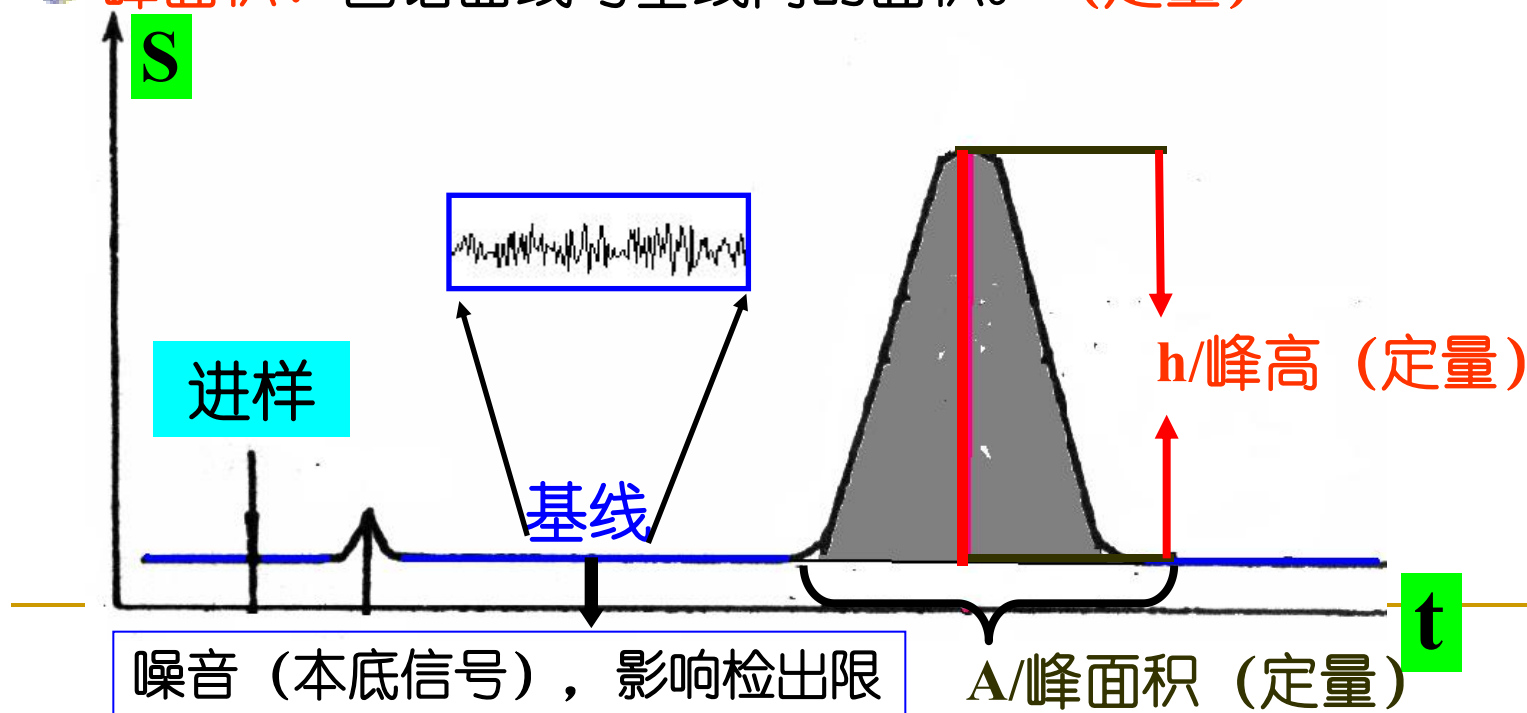
以进样为起点, 检测器响应信号随时间/流动相体积变化的曲线



色谱流出曲线

17-2 色谱流出曲线及相关术语 (2)

- **基线**：仅有流动相通过时检测器时响应。稳定的基线不应随时间发生单向变化，而是在很小的范围内呈现高频的波动。
- **峰高**：色谱峰顶点与基线之间的垂直距离。（定量）
- **峰面积**：色谱曲线与基线间的面积。（定量）




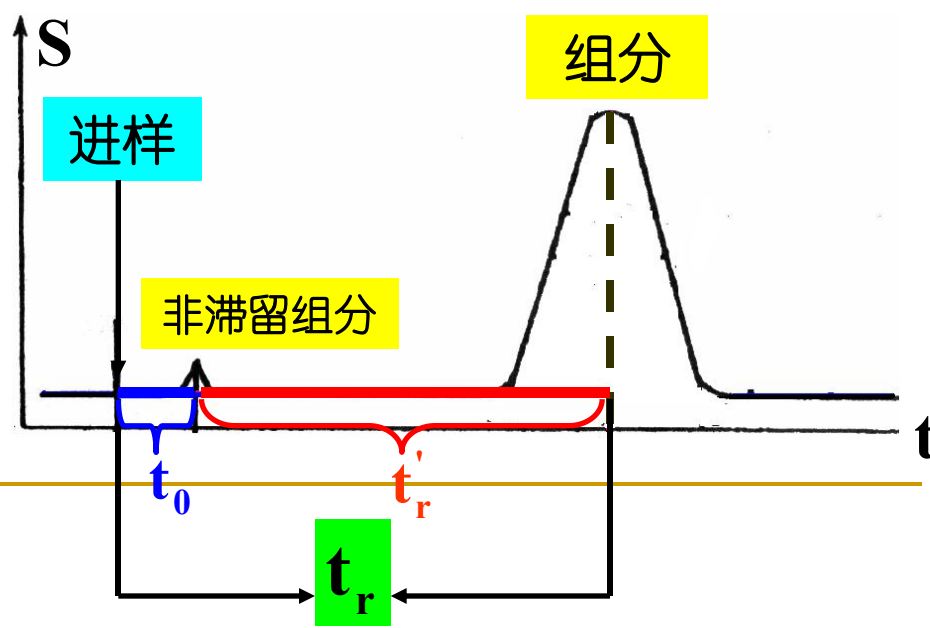
17-3 色谱参数 (3)

● 保留值 (1)

- 死时间 t_0 : 流动相通过色谱柱所用的时间。通常采用不与固定相发生作用（非滞留组分）但能被检测器响应的物质来测定。
- 保留时间 t_r : 组分从进样到出现色谱峰值所需要的时间。
- 调整保留时间 t_r' : $t_r' = t_r - t_0$ 指组分在固定相中停留的时间。

可由色谱柱长 L 及死时间 t_0 计算
流动相的平均线速 $\bar{u} = L / t_0$

t_r 是色谱定性的基本依据：相同色谱条件下，同一物质的 t_r 相同，但反过来不成立！




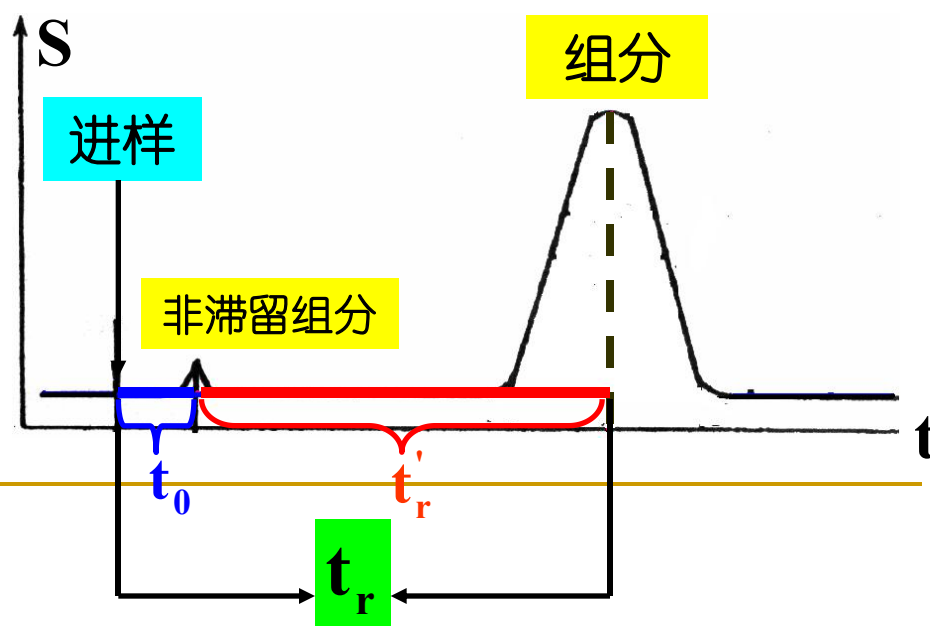
17-2 色谱流出曲线及相关术语 (3)

● 保留值 (1)

- 死时间 t_0 : 流动相通过色谱柱所用的时间。通常采用不与固定相发生作用（非滞留组分）但能被检测器响应的物质来测定。
- 保留时间 t_r : 组分从进样到出现色谱峰值所需要的时间。
- 调整保留时间 t_r' : $t_r' = t_r - t_0$ 指组分在固定相中停留的时间。

可由色谱柱长 L 及死时间 t_0 计算
流动相的平均线速 $\bar{u} = L / t_0$

t_r 是色谱定性的基本依据：相同色谱条件下，同一物质的 t_r 相同，但反过来不成立！



17-2 色谱流出曲线及相关术语 (4)

● 保留值 (2)

- 死体积 V_0 : $V_0 = t_0 \cdot F_{co}$ 指死时间内流经色谱柱的流动相体积。包括色谱柱中不被占据的空间及进样系统管道和检测器系统的总体积。
- 保留体积 V_r : $V_r = t_r \cdot F_{co}$ 指保留时间内流经色谱柱的流动相体积。
- 调整保留体积 V_r' : $V_r' = V_r - V_0$
- F_{co} 为色谱柱出口流动相的体积流速 ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)
- 用保留体积定性可以消除流动相流速波动的影响。

17-2 色谱流出曲线及相关术语 (5)

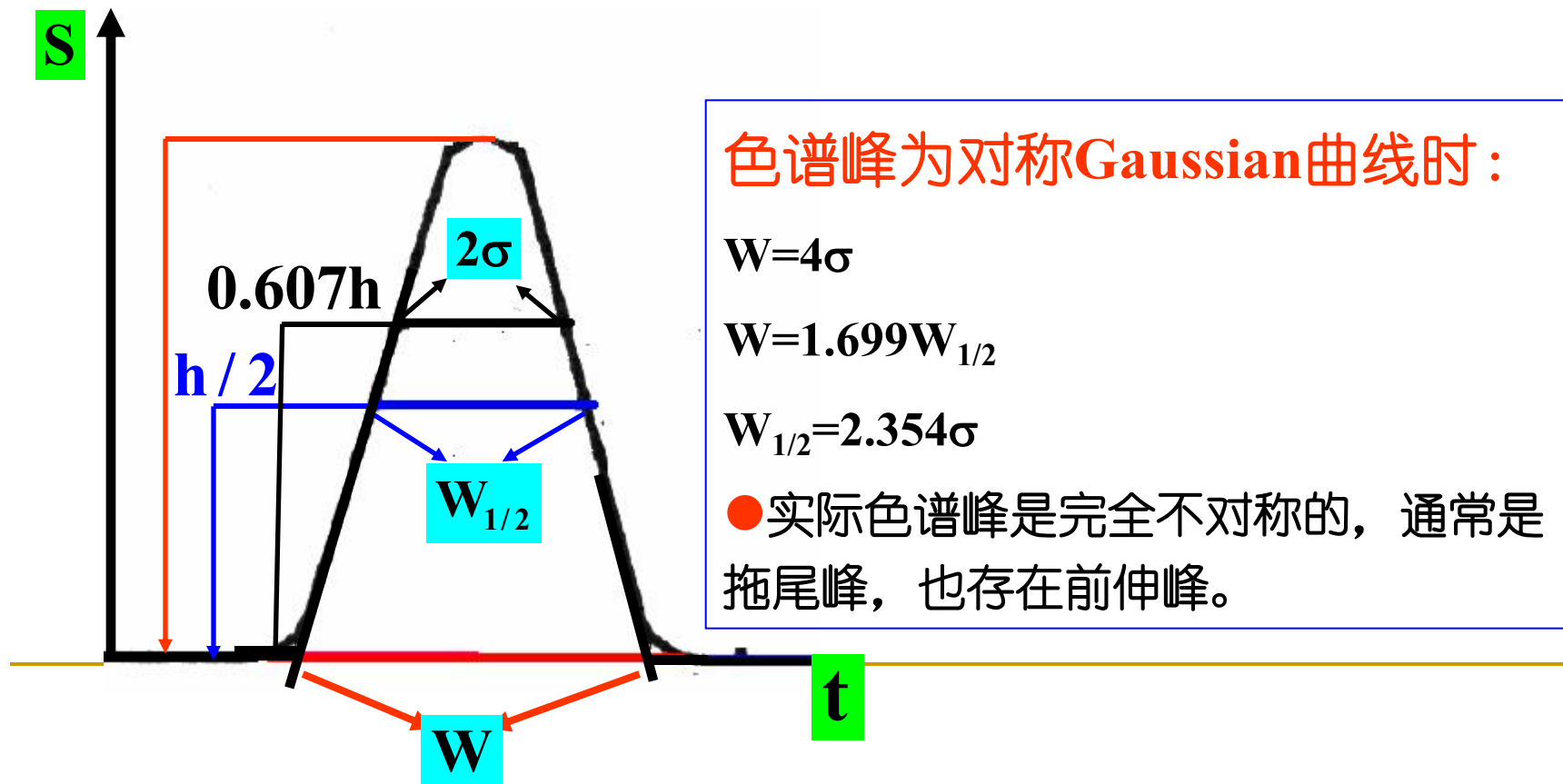
● 保留值 (3)

● 相对保留值:
$$\gamma_{2,1} = \frac{t'_{r2}}{t'_{r1}} = \frac{V'_{r2}}{V'_{r1}} \neq \frac{t_{r2}}{t_{r1}} \neq \frac{V_{r2}}{V_{r1}}$$

- 气相色谱法中该值仅与柱温和固定相性质有关（液相色谱法中还与流动相性质有关），而与色谱柱径、柱长、填充情况及流动相流速无关，作为定性指标较 t_r 、 V_r 可靠。
- 用 α ($\alpha \geq 1$) 表示时称为选择性因子，是衡量固定相选择性的一个重要指标。

17-2 色谱流出曲线及相关术语 (6)

- **区域宽度**：用于衡量柱效及反映色谱操作条件下的动力学因素的重要参数。



从色谱流出曲线上可以得到什么信息？

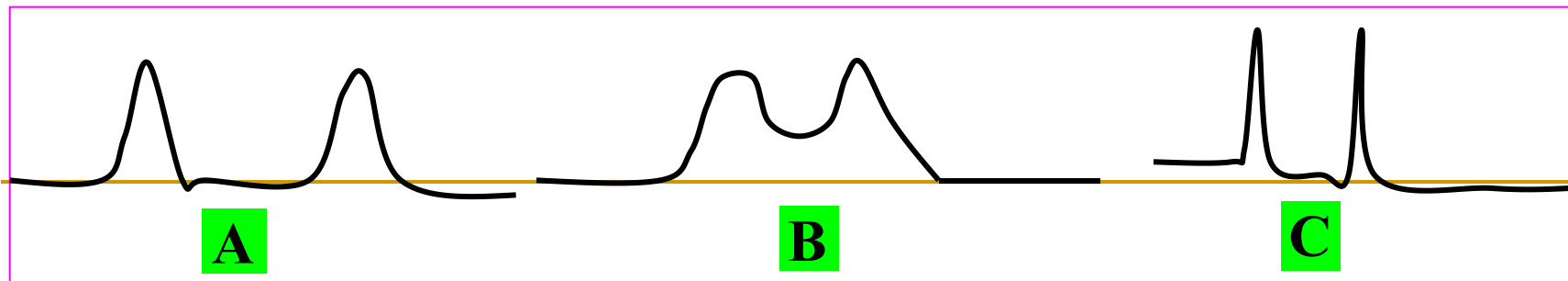
- ① 根据色谱峰个数可以判断样品中所含组分的最小个数
- ② 根据色谱峰的保留值可以进行定性分析
- ③ 根据色谱峰高或者峰面积可以进行定量分析
- ④ 根据色谱峰的保留值和区域宽度可评价色谱柱分离效能
- ⑤ 可通过两个色谱峰的峰距离 (α)评价固定相 (流动相)的选择是否合适

17-3 色谱法基本原理 (1)

● 色谱法定性/定量的前提：样品中各组分彼此完全分离。实现该目标必须满足以下两个条件：

- ① **相邻组份峰间距足够大**：由各组份在两相间的分配系数决定，即色谱过程的热力学性质决定。（仅取决于物质性质与温度）
- ② **每个组份峰宽足够小**：由组份在色谱柱中的传质和扩散决定，即色谱过程动力学性质决定。（受分离条件影响）

😊 研究、解释色谱分离行为应从热力学和动力学两方面进行。



15-3 色谱法基本原理 (2)

● 色谱分离的热力学本质

样品中各组份与两相发生了不同程度的作用。

● 作用的具体表现形式：

范德华力、静电引力、氢键等

● 作用的实际体现形式

分配系数、分配比

分配系数 (Distribution constant, K)

——描述组分与两相作用的参数

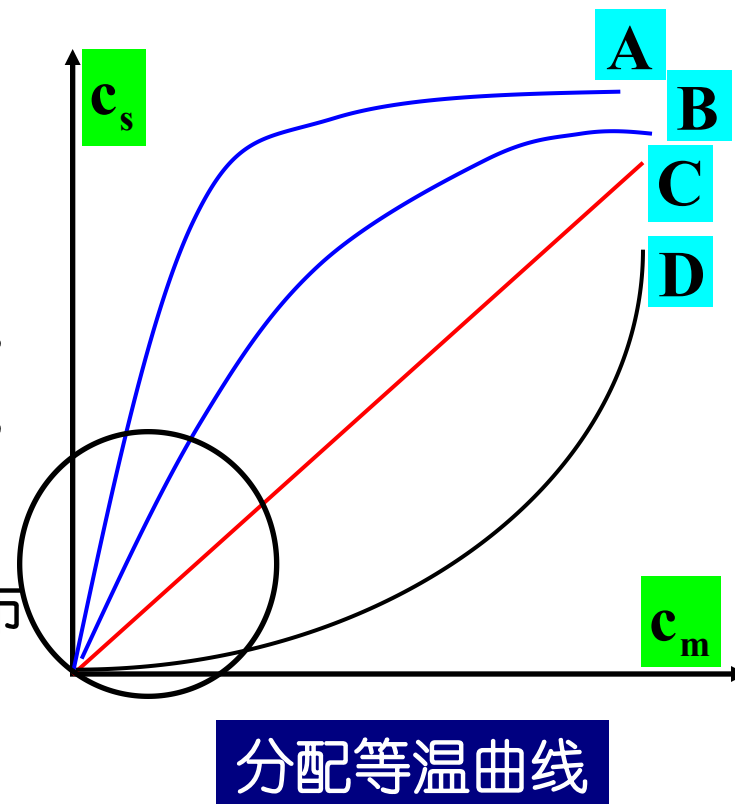
- **分配系数 K** ：描述组份在两相间分配或吸附-脱附过程的参数。指一定温度和压力下，组分在固定相与流动相之间分配达到平衡时的浓度之比。

$$K = \frac{\text{溶质在固定相中的浓度}}{\text{溶质在流动相中的浓度}} = \frac{c_s}{c_m}$$

- 组分一定时， K 仅与两相性质和柱温有关。
- 升高温度会使 K 减小，组分 t_r 减小。
- K 反映了不同组分与两相作用力的差别，不同组分在两相间具有不同 K 值是物质得以分离的前提！（热力学上可能）

线性色谱

线性色谱指分配系数在色谱柱内任何一点都是常数，不随组分浓度的变化而改变。在待测组分浓度很低时，色谱分离可视为线性分离过程，此时色谱峰呈对称的Gaussian曲线。浓度较高时，凸形分布等温线（A、B）会得到不对称拖尾峰；凹形分布等温线（D）会得到前伸峰



分配比k (1)

——描述组分与两相作用的参数

- **分配比k**：指一定温度和压力下，组分在固定相与流动相之间分配达到平衡时的质量之比。

$$k = \frac{\text{溶质在固定相中的质量}}{\text{溶质在流动相中的质量}} = \frac{m_s}{m_m} = \frac{c_s V_s}{c_m V_m} = \frac{K}{\beta}$$

- V_m ：柱中流动相的体积，近似于 V_0 ； V_s ：柱中固定相的体积，与色谱类型有关，分配色谱中指固定液体积。 β ：相比率（ V_m/V_s ），与色谱柱柱型相关。
- k 越大说明组分在固定相中的量越多，相当于柱的容量大，因此称为**容量因子**（决定进样量的大小）

分配比k (2)

- 分配比k可直接从色谱图上求出：

当溶质分子处在流动相中时，其迁移速率为： \bar{u}

当溶质分子被固定相保留时，其迁移速率为： 0

某溶质分子处在流动相中的概率： $m_m/(m_m + m_s) = 1/(1 + k)$

该溶质分子的平均迁移速率为： $\bar{u}_s = \bar{u}/(1 + k)$

$$\frac{\bar{u}}{\bar{u}_s} = 1 + k$$

$$\bar{u} = L/t_0$$

$$\bar{u}_s = L/t_r$$



$$k = \frac{t_r - t_0}{t_0} = \frac{t'_r}{t_0}$$

- 可见，对于给定色谱体系，组分的分离最终取决于k而不是K，因此k又称为保留因子，是衡量色谱柱对组分保留能力的重要参数。实际色谱分离时应将其控制在一个适当的范围。

分配系数K、分配比k与选择性因子 α 的关系

$$\alpha = \frac{t'_r(B)}{t'_r(A)} = \frac{t'_r(B)}{t_0} \cdot \frac{t_0}{t'_r(A)} = \frac{k_B}{k_A} = \frac{K_B}{K_A}$$

- 两组分的K或k相等， $\alpha=1$ ，无法实现分离
- 两组分的K或k不等， $\alpha>1$ ，满足热力学对分离的基本要求
- 两组分的K或k相差越大， α 越大，越容易实现分离

15-3 色谱法基本原理 (2)

🐷 在满足热力学基本分离条件 $(\alpha > 1)$ 的前提下，如何从色谱动力学的角度来优化分离条件，实现组分的分离？

● 色谱过程动力学

色谱动力学理论是根据流体分子运动规律来研究色谱过程中分子的迁移，用严格的数学处理方程求解相当复杂，只得采用较为简化的假设和适当的近似处理。

● 塔板理论（基于热力学的平衡理论）

● 速率理论

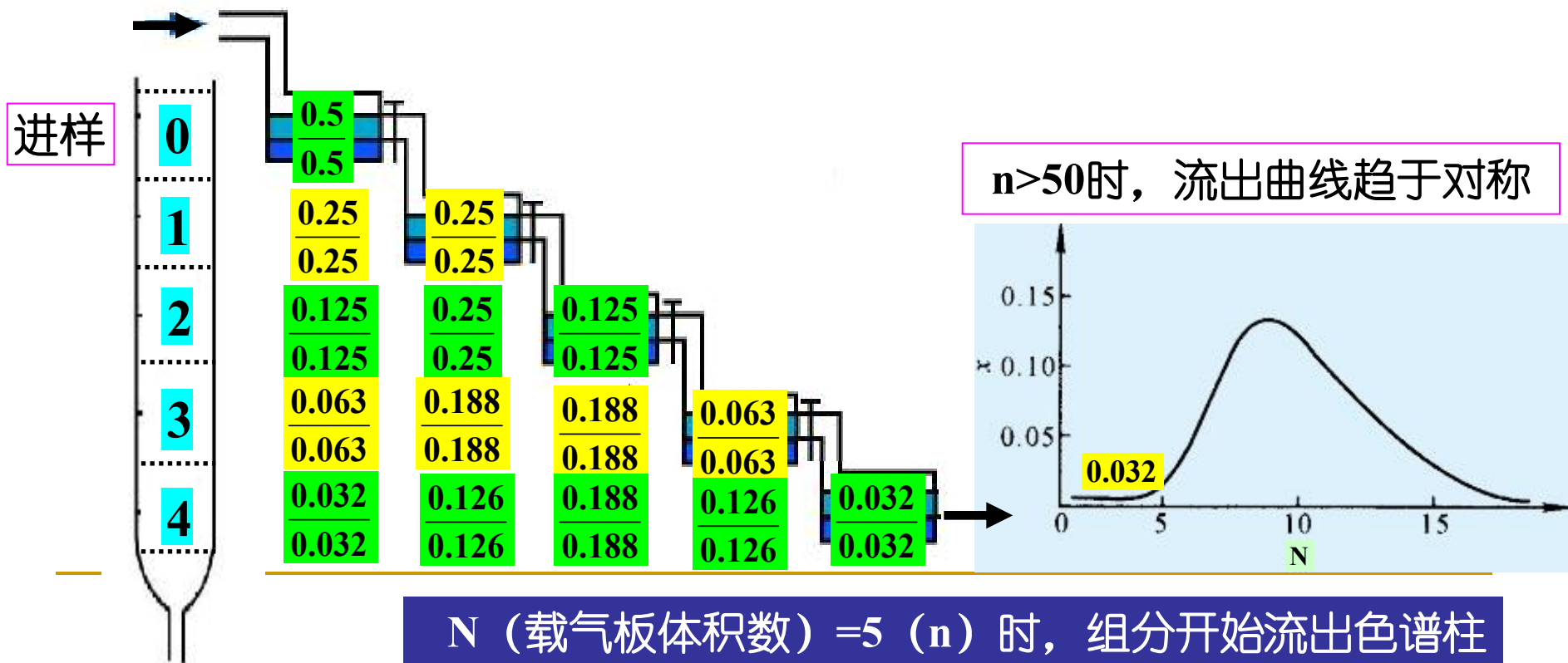
塔板理论 (1)

—詹姆斯/马丁 (1941)

- ① 色谱柱可视为由高度 (H) 相同、内径一致且填充均匀, 被称作塔板的若干 (n) 小段组成 ($L=nH$), 组分可在每个塔板内瞬间实现分配平衡;
- ② 流动相是以脉动式进入色谱柱, 每次进入体积为一个塔板体积 ΔV (每个塔板中流动相所占的体积) ;
- ③ 塔板之间不存在物质交换, 即组分的纵向扩散忽略不计;
- ④ 分配系数 K 在所有塔板上均为常数。

塔板理论 (2)

将 $m=1$ (mg或 μg , 单位略) 的某组分 ($k=1$) 加在第一块 (0号) 塔板上, 随着流动相的脉动式进入, 该组分在各塔板中的分布情况如何 (假定 $n=5$) ?



塔板理论 (3)

● 可证明：载体板体积数为N时，组分在各级塔板上的量等于二项式分布。

$$(p + q)^N$$

$$p = k / (1 + k)$$

$$q = 1 / (1 + k)$$

譬如：N=5时，组分在5个塔板及出口（第n+1项）的分布如下：

$$(p + q)^4 = p^5 + 5qp^4 + 10q^2p^3 + 10q^3p^2 + 5q^4p + q^5$$

$$0.031 : 0.156 : 0.313 : 0.313 : 0.156 : 0.031$$

以 $(p+q)^N$ 的第n+1项对N作图即可得色谱流出曲线，经转化可得以下公式

$$c = \frac{\sqrt{n} \cdot m}{\sqrt{2\pi} \cdot V_r} \cdot \exp \left[-\frac{n}{2} \left(1 - \frac{V}{V_r} \right)^2 \right]$$

m：为组分质量

V_r：为保留体积

n：为理论塔板数

c：溶质浓度

V：流动相体积

塔板理论 (4)

● 色谱流出曲线方程:
$$c = \frac{\sqrt{n \cdot m}}{\sqrt{2\pi \cdot V_r}} \cdot \exp\left[-\frac{n}{2}\left(1 - \frac{V}{V_r}\right)^2\right]$$

当 $V = V_r$ 时:
$$c = c_{\max} = \frac{\sqrt{n \cdot m}}{\sqrt{2\pi \cdot V_r}}$$

当 $V_r - V = \frac{W_{1/2}}{2}$ 时:
$$c = c_{\max} \cdot \exp\left[-\frac{n}{2}\left(\frac{W_{1/2}}{V_r}\right)^2\right]$$

$$\frac{c_{\max}}{c} = \exp\left[\frac{n}{2}\left(\frac{W_{1/2}}{V_r}\right)^2\right] = 2 \quad \Rightarrow \quad n = 5.54 \left(\frac{V_r}{W_{1/2}}\right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_r}{W_{1/2}}\right)^2$$



塔板理论 (5)

● 理论塔板数:
$$n = 5.54 \left(\frac{t_r}{W_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_r}{W} \right)^2$$

● 理论板高:
$$H = L / n$$

● 有效塔板数:
$$n_{\text{eff}} = 5.54 \left(\frac{t'_r}{W_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t'_r}{W} \right)^2$$

● 有效板高:
$$H_{\text{eff}} = L / n$$

● 塔板数 n 又称为柱效，是描述色谱效能的指标。气相填充柱

$n \sim 1500/\text{m}$ ，毛细管柱 $n \sim 3000/\text{m}$ ；液相填充柱 $n = 2 \sim 8 \times 10^4/\text{m}$

有关塔板数的说明

- ① 说明柱效时，必须注明该柱效是针对何种物质、固定液种类及其含量、流动相种类及流速、操作条件等；
- ② 应定期对柱效进行评价，以防柱效下降、延长柱寿命

塔板理论 (6)

贡献

- ① 用热力学的观点阐明了溶质在色谱柱中的分配平衡和分离过程
- ② 解释了流出曲线的形状及浓度极大值的位置
- ③ 提出了计算和评价柱效的参数

不足

- ① 不能解释造成谱带扩张的原因和影响板高的各种因素
- ② 不能说明同一溶质为什么在不同的流速下，可以测得不同的理论塔板数

速率理论

—Van Deemter/ 1956

- 吸收了塔板理论中的板高H概念（但含义完全不同），考虑了组分在两相间的扩散和传质过程从动力学角度很好地解释了影响板高（柱效）的各种因素！

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

H：单位柱长色谱峰形展宽的程度

A：涡流扩散项

B：分子扩散项系数

C：传质阻力项系数

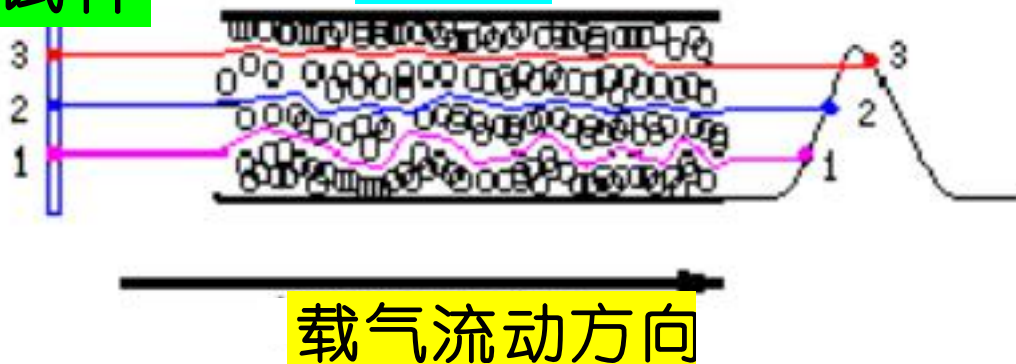
\bar{u} ：流动相平均线速

- 实际分离中还应考虑色谱峰在柱外的变宽因素，应尽可能减小柱外体积

涡流扩散项A（多途路径项）

试样

分离柱



$$A = 2\lambda d_p$$

λ : 填充不规则因子

d_p : 填充物平均粒径

● 减小A的途径:

● 使用粒度小、粒径范围窄的球形填料均匀填充

🧐 开管柱（毛细管柱）的A是多大？

分子扩散项 B/u （纵向扩散项）



$$B = 2\gamma D_g$$

γ : 弯曲因子(≤ 1)

D_g : 组分在流动相扩散系数

γ : 指因填充物阻碍而使扩散路径弯曲，扩散降低的程度，球形填料均匀填充，可适当减小 γ 。（不如对 λ 影响明显）

减小分子扩散项的途径：

● 采用均匀柱料 $\gamma \downarrow$

● 柱温 $\downarrow D_g \downarrow$ ；柱压 $\uparrow D_g \downarrow$

● 流动相分子量 \uparrow ， $D_g \downarrow$

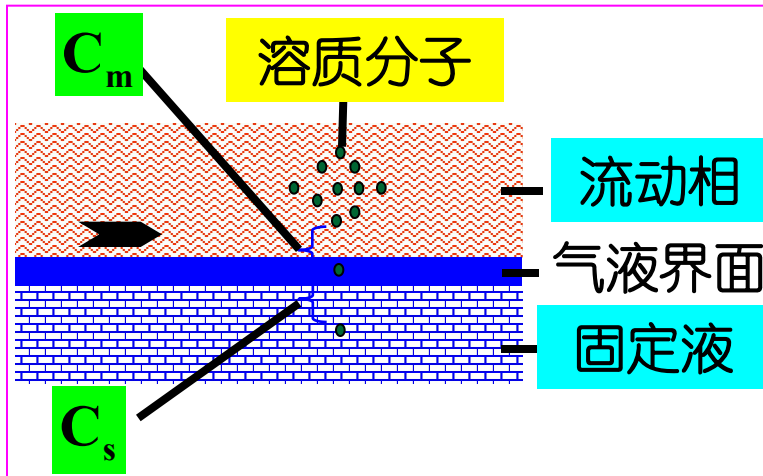
● $u \uparrow$ ， $(B/u) \downarrow$

● LC中 D_m 较小，B项可勿略

➔ { 低温
短柱
大分子量流动相
适当增加流速

传质阻力项 C_u (1)

- 色谱分离过程中溶质在两相之间进行的质量传递称为传质。由于色谱过程处于连续流动状态，溶质分子与两相分子间存在相互作用而使得传质过程不能瞬间完成，从而导致色谱峰展宽。（与分子扩散项的区别？）



$$C = C_m + C_s$$

- u 越大，提供给溶质在两相中平衡的时间就越少，传质阻力项增大

传质阻力项CU (2)

● 气液分配色谱的传质阻力项

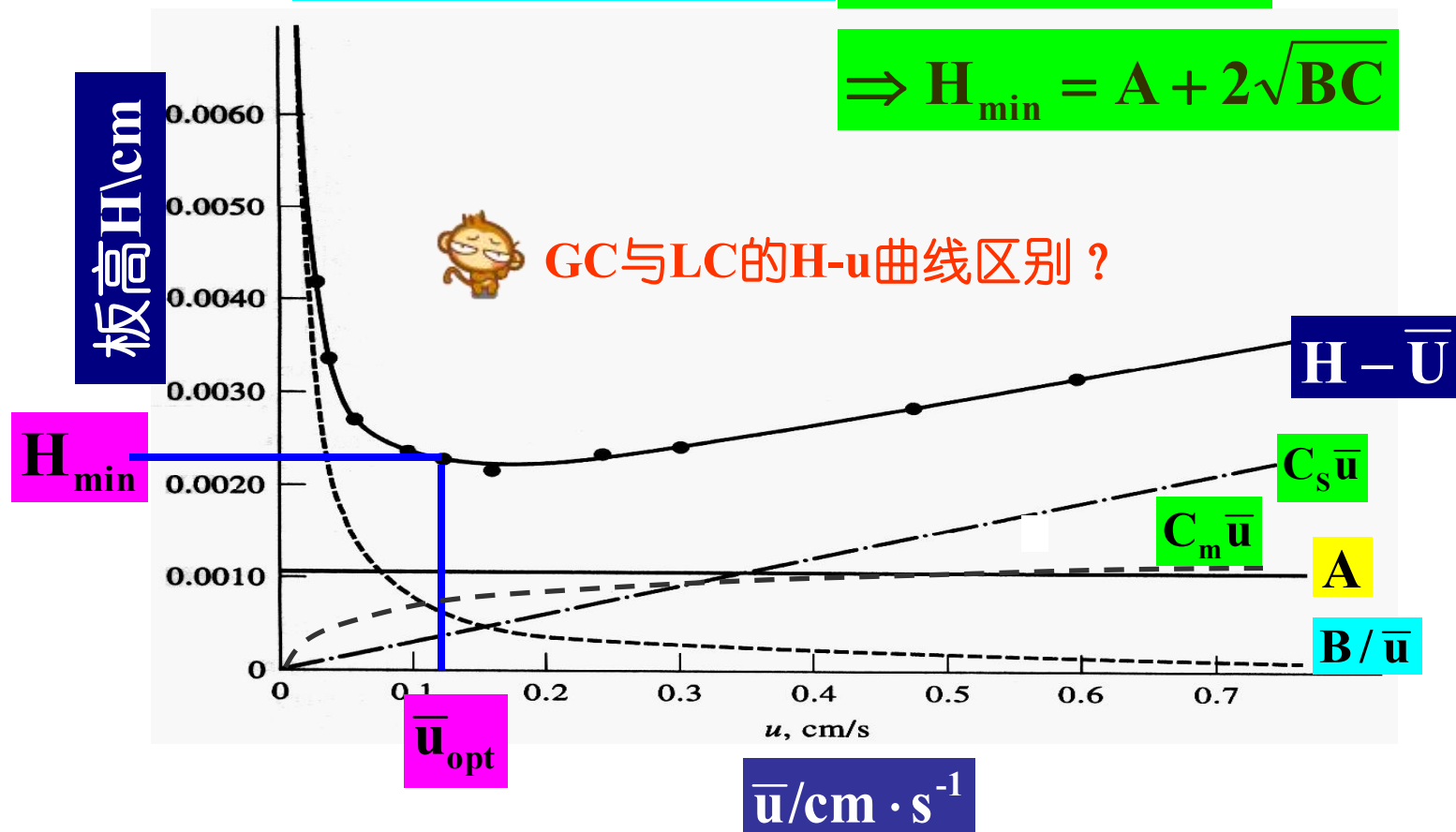
$$C_{\text{气液色谱}} = C_g + C_l = \frac{0.01k^2}{(1+k)^2} \cdot \frac{d_p^2}{D_g} + \frac{2}{3} \cdot \frac{k}{(1+k)^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_l}$$

- $C_g \downarrow$: 小粒度填充物 ($d_p \downarrow$) + 小分子量载气和提高柱温 ($D_g \uparrow$)
- $C_l \downarrow$: 降低固定液含量 ($d_f \downarrow$, 但是 k 也减小); 采用比表面积大的载体 ($d_f \downarrow$, 但吸附增加可能导致峰脱尾); 提高柱温 ($D_l \uparrow$)
- 液液分配色谱中 C 具体表达式与气液分配色谱不同, 但气液分配色谱中降低 C 的措施也适用于液液分配色谱。

流动相线速对板高的影响

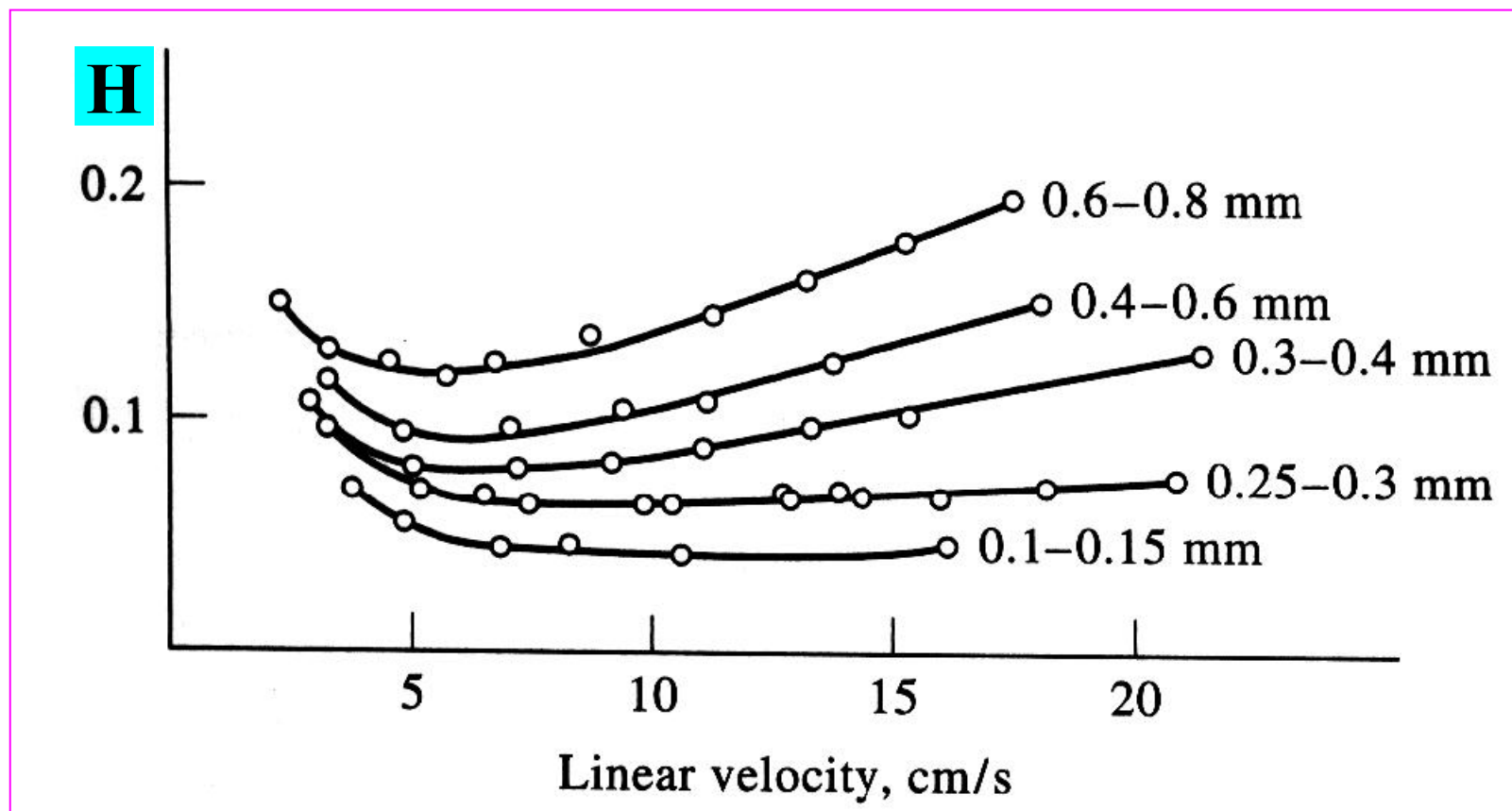
$$H_{\min} \text{ 时: } B / \bar{u} = C\bar{u} \Rightarrow \bar{u}_{\text{opt}} = \sqrt{B / C}$$

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



- 实际测定流速通常高于最佳流速（缩短分析时间）

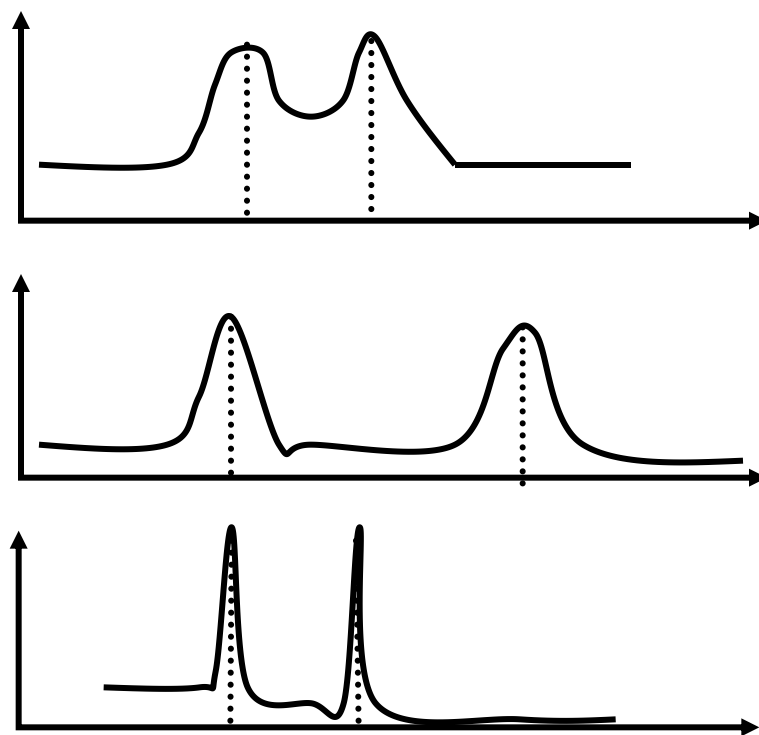
固定相粒度大小对板高的影响



● 粒度直接影响A和C项，间接影响B项。粒度越细，板高越小，受线速度影响亦小。（HPLC采用小粒径填料的依据）

15-4 分离度 (1)

- 热力学提出 $\alpha > 1$ 就可能分离；
动力学提出 n 足够大就能实现分离。可见 α 与 n 相互影响，
都不能真实反映组分的实际分离情况，因此需要引入一个
兼顾两者的综合性指标：
分离度 R

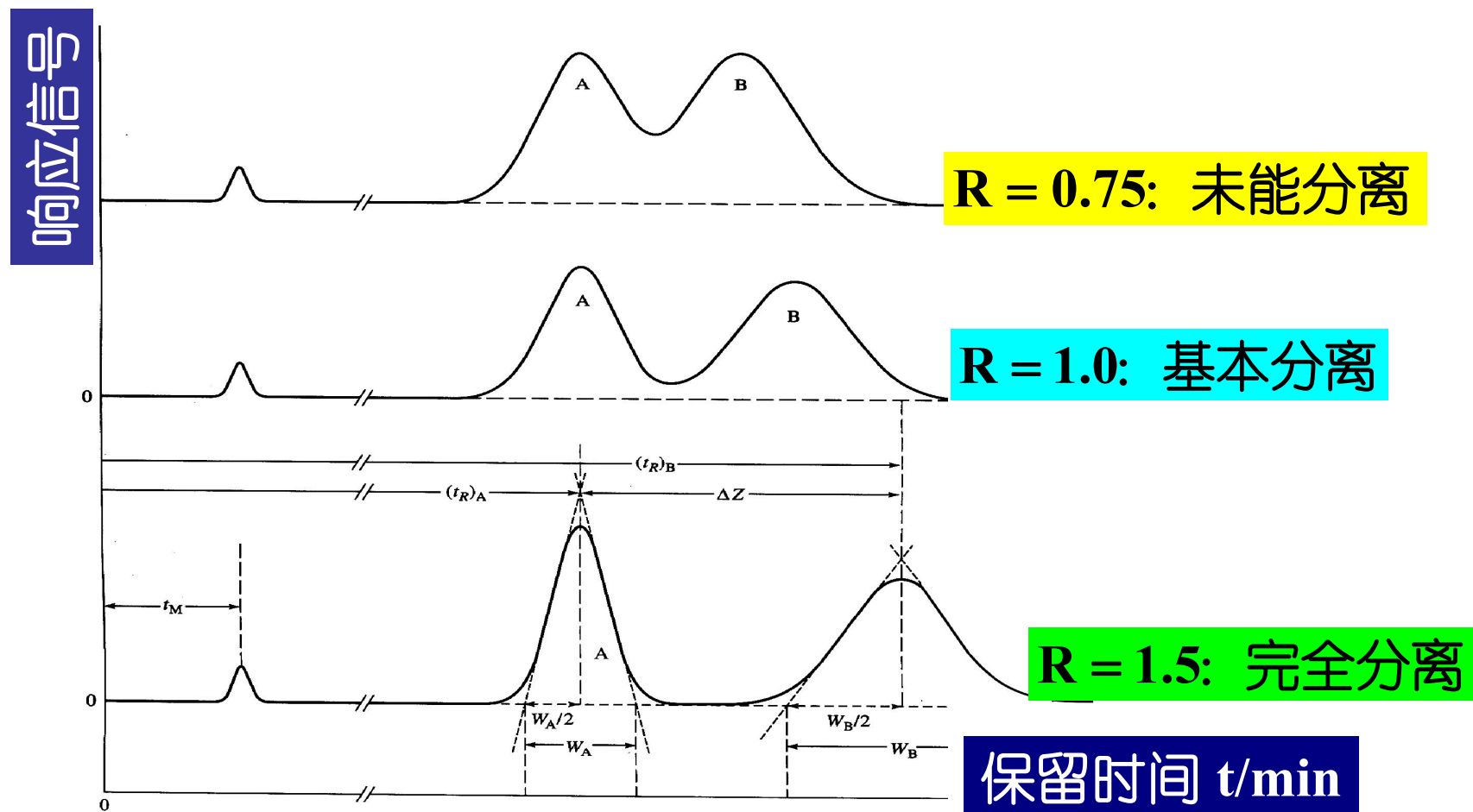


15-4 分离度 (2)

- **分离度**：亦称分辨率，指相邻两组份色谱峰**保留时间差值**（反映色谱过程热力学因素 α ）与**峰底宽均值**（反映色谱过程热力学因素 n ）的**比值**。

$$R = \frac{2(t_{r(2)} - t_{r(1)})}{W_2 + W_1} = \frac{2(t_{r(2)} - t_{r(1)})}{1.699(W_{1/2(2)} + W_{1/2(1)})}$$

15-4 分离度 (3)



15-5 基本色谱分离方程 (1)

🐼 **R**的定义式并未反映影响分离度的各种因素，既未与影响其大小的因素：**柱效n**、**选择因子α**和**保留因子k**联系起来，因此不能提供改善分离效果的手段。

🐼 基本色谱分离方程实现**R**与上述因素的联系。

$$R = \frac{\sqrt{n}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{k}{1 + k} \right)$$

$$R = \frac{\sqrt{n_{\text{eff}}}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right)$$

15-5 基本色谱分离方程 (2)

对于难分离物质可合理认为 $W_1=W_2=W$ 、 $k_2=k_1=k$

$$R = \frac{2(t_{r(2)} - t_{r(1)})}{W_2 + W_1} = \frac{t'_{r(2)} - t'_{r(1)}}{W} = \frac{(t'_{r(2)}/t'_{r(1)} - 1) \cdot t'_{r(1)}}{W} \times \frac{t'_{r(2)}}{t'_{r(2)}}$$

$$= \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \cdot \frac{t'_{r(2)}}{W} = \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \sqrt{\frac{n_{\text{eff}}}{16}} \Rightarrow R = \frac{\sqrt{n_{\text{eff}}}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right)$$

$$n = 16 \times \left(\frac{t'_r + t_0}{W} \right)^2$$

$$\Rightarrow \sqrt{n_{\text{eff}}} = \sqrt{n} \cdot \frac{k}{1 + k}$$

$$n_{\text{eff}} = 16 \times \left(\frac{t'_r}{W} \right)^2$$

$$R = \frac{\sqrt{n}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{k}{1 + k} \right)$$

分离度与柱效的关系

$$R = \frac{\sqrt{n}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{k}{1 + k} \right) \Rightarrow \left(\frac{R_1}{R_2} \right)^2 = \frac{n_1}{n_2} = \frac{L_1}{L_2}$$

- 增加柱长，可提高分离度，但延长了分析时间及对仪器耐压的要求，所以变化有限（开管柱柱长变化范围较大）；因此降低板高，提高柱效，才是提高分离度的好方法。

 如何降低板高？

分离度与选择因子的关系

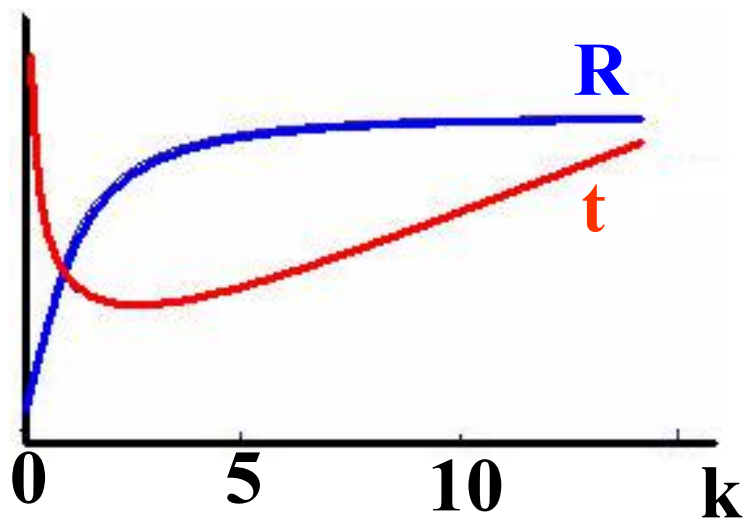
$$R = \frac{\sqrt{n}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{k}{1 + k} \right)$$

- 当 $\alpha=1$ 时， $R=0$ ，无法分离两组分；增大 α ，是改善分离度的有效手段。对一个复杂混合物的分离条件的选择，主要是提高最难分离物质对的 α 值。
- GC通过选择合适的固定相和降低柱温来增大 α
- LC通过改变固定/流动相的性质和组成，可有效增大 α

分离度与容量因子k的关系

$$R = \frac{\sqrt{n}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{k}{1+k} \right)$$

如左图所示：在兼顾分离度和分析时间的考虑下，容量因子k控制在2~10为宜。



- ① 对于GC，改变柱温或增加固定液的用量来选择合适的k值。
- ② 对于LC，改变流动相的组成可有效的控制k值

分离度与分析时间的关系

$$t_r = t_0(1 + k) = \frac{L}{u}(1 + k) \dots \dots \dots (1)$$

$$n = \frac{L}{H} \dots \dots \dots (2)$$

$$R = \frac{\sqrt{n}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{1 + k} \right) \dots \dots \dots (3)$$

$$t_r = \frac{16R^2H}{u} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1 + k)^3}{k^2}$$

- 分析时间与R, α , k、H/u等参数有关, R增加1倍, 分析时间则是原来的4倍。实际工作中, 即要能获得有效的分离, 又要在较短时间内完成分析。

例1：在一定条件下，两个组分的调整保留时间分别为85 s和100 s，计算达到完全分离时所需的有效塔板数；若填充柱的有效塔板高度为0.1 cm，柱长是多少？

解：

$$n_{\text{eff}} = 16R^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 = 16 \times 1.5^2 \left(\frac{100 / 85}{100 / 85 - 1} \right)^2 = 1547$$

$$L = n_{\text{eff}} \times H_{\text{eff}} = 1547 \times 0.1 = 155\text{cm}$$

例2：用一根柱长为1 m的色谱柱分离A、B两种物质，其保留时间分别为14.4和15.4 min，对应的峰底宽分别为1.07 min和1.16 min（死时间为4.2 min），试计算：

①物质A的理论塔板数 ②分离度R ③选择性因子 α ④完全分离所需的柱长 ⑤完全分离所需的时间

解：

$$n_A = 16 \times \left(\frac{14.4}{1.07} \right)^2 = 2898$$

$$R = \frac{2 \times (15.4 - 14.4)}{(1.07 + 1.16)} = 0.897$$

$$\alpha = \frac{15.4 - 4.2}{14.4 - 4.2} = 1.10$$

$$L_{1.5} = \frac{1.5^2}{0.897^2} \times L_{0.897} = 2.80\text{m}$$

$$t_{2.8} = \frac{2.8}{1.0} \times 15.4 = 43.1\text{min}$$