

第十五章 色谱分析法导论

§ 15-1 概 述

§ 15-2 色谱分离原理

§ 15-3 色谱法基本理论

§ 15-4 分离度

§ 15-5 气相色谱定性分析

§ 15-6 气相色谱定量分析

§ 15-1 概 述

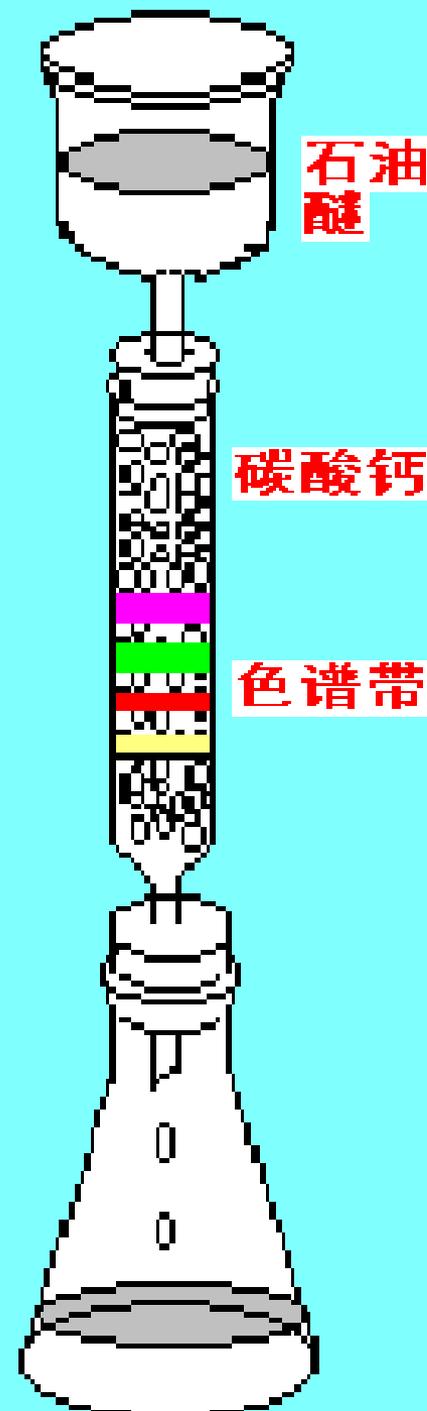
一、 色谱法

利用样品在两相间的分配来分离、分析多组分混合物的技术。

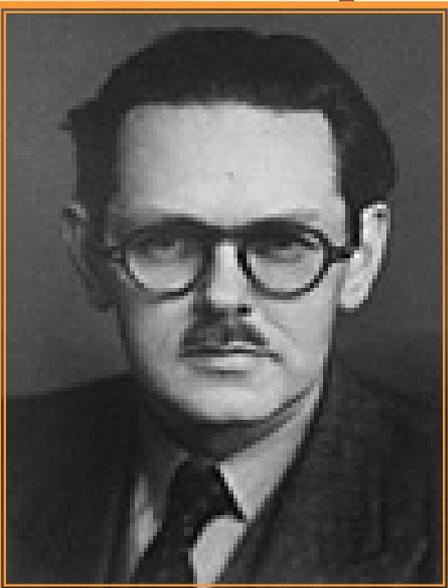
1906年俄国植物学家茨维特

固定相

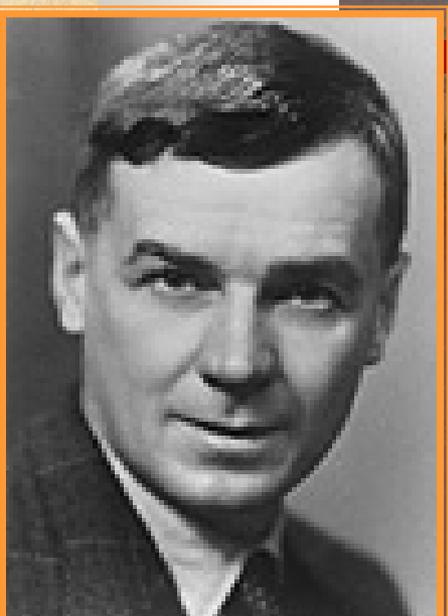
流动相



- 
- 在色谱发展史上占有重要地位的英国人A. J. P. Martin(马丁)和R. L. M. Synge(辛格), 他们提出色谱塔板理论; 发明液-液分配色谱; 预言了气体可作为流动相(即气相色谱)。1952年, 因为他们对分配色谱理论的贡献获诺贝尔化学奖



A.J. P. MARTIN. (1910-2002) of the British National Institute for Medical Research shared with fellow countryman R. L. M Syngde the **Nobel Prize in Chemistry (1952)** for the invention of **partition chromatography.**



R.L.M. Syngde born **Oct. 28, 1914,** **Liverpool, Eng.** died **Aug. 18, 1994,** **Norwich, Norfolk.**

Syngde studied at Winchester College, Cambridge, and received his Ph.D. at Trinity College there in 1941.

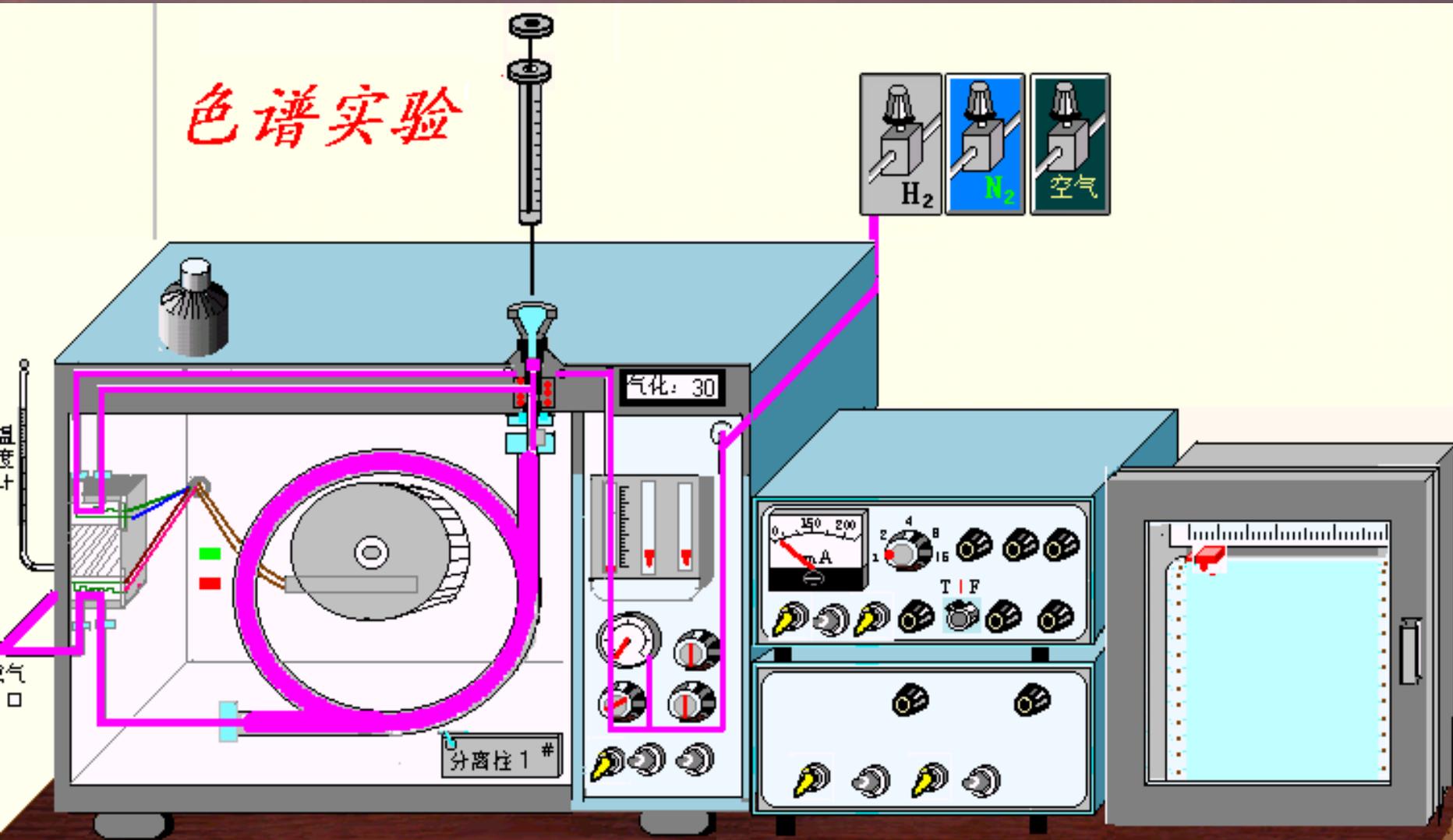
色谱法的发展历史

年代	发明者	发明的色谱方法或重要应用
1906	Tswett	用碳酸钙作吸附剂分离植物色素。最先提出色谱概念。
1931	Kuhn, Lederer	用氧化铝和碳酸钙分离a-、b-和g-胡萝卜素。使色谱法开始为人们所重视。
1938	Izmailov, Shraiber	最先使用薄层色谱法。
1938	Taylor, Uray	用离子交换色谱法分离了锂和钾的同位素。
1941	Martin, Synge	提出色谱塔板理论；发明液-液分配色谱；预言了气体可作为流动相（即气相色谱）。
1944	Consden等	发明了纸色谱。
1949	Maclean	在氧化铝中加入淀粉黏合剂制作薄层板使薄层色谱进入实用阶段。
1952	Martin, James	从理论和实践方面完善了气-液分配色谱法。
1956	Van Deemter等	提出色谱速率理论，并应用于气相色谱。
1957		基于离子交换色谱的氨基酸分析专用仪器问世。
1958	Golay	发明毛细管柱气相色谱。
1959	Porath, Flodin	发表凝胶过滤色谱的报告。
1964	Moore	发明凝胶渗透色谱。

色谱法起过关键作用的诺贝尔奖研究工作

年代	获奖学科	获奖研究工作
1937	化学	类胡萝卜素化学，维生素A和B
1938	化学	类胡萝卜素化学
1939	化学	聚甲烯和高萜烯化学
1950	生理学、医学	性激素化学及其分离、肾皮素化学及其分离
1951	化学	超铀元素的发现
1955	化学	脑下腺激素的研究和第一次合成聚肽激素
1958	化学	胰岛素的结构
1961	化学	光合作用时发生的化学反应的确认
1970	生理学、医学	关于神经元触处迁移物质的研究
1970	化学	糖核苷酸的发现及其在生物合成碳水化合物中的作用
1972	化学	核糖核酸化学酶结构的研究
1972	生理学、医学	抗体结构的研究

色谱实验



气相色谱仪

二、色谱法的分类

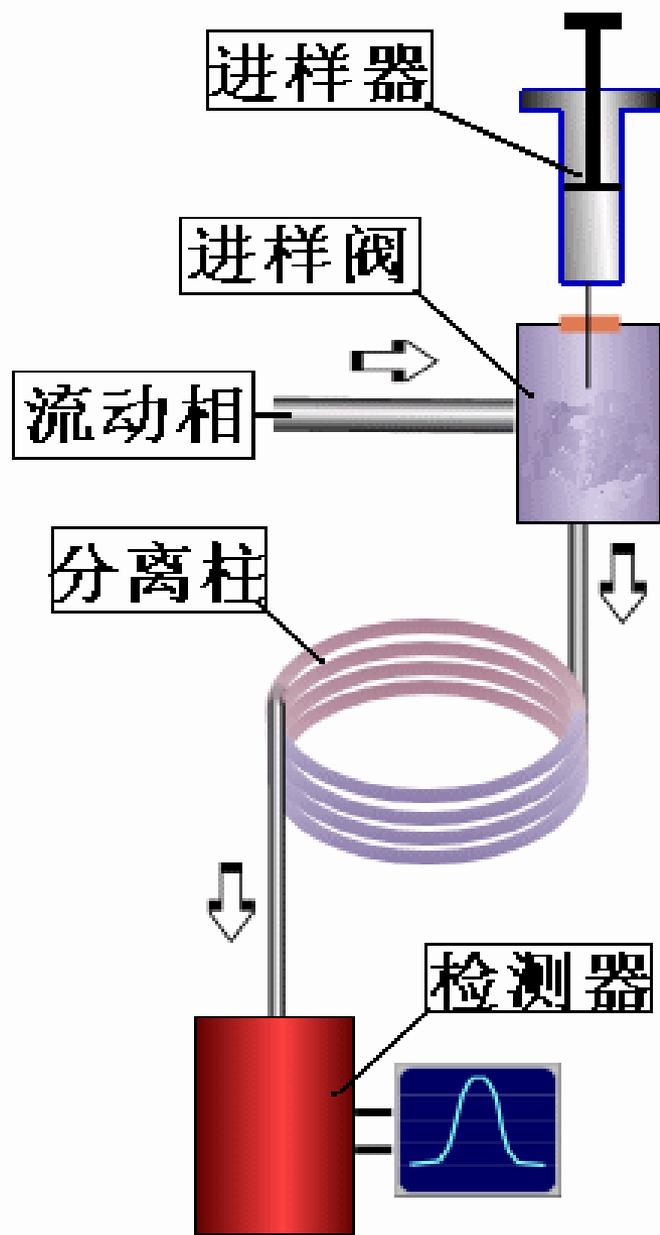
1. 按两相所处的状态分类

按流动相的状态分类

气相色谱

液相色谱

气相色谱适用于气体和低沸点有机化合物的分析，仪器简单，操作方便，应用广泛。可在不同操作温度条件下使用。



色谱分离过程

按固定相不同又分为

气固色谱
气液色谱

液相色谱

液固色谱

液液色谱

液相色谱适用于高沸点、不易气化的、热不稳定及生物活性物质的分析，通常在室温条件下工作。

2. 按固定相所处的外形分类

柱色谱

填充柱色谱

毛细管柱色谱；

平板色谱

薄层色谱和纸色谱

3. 按组分在两相间的分离机理分类

吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱、空间排阻色谱、离子色谱

薄层色谱和纸色谱

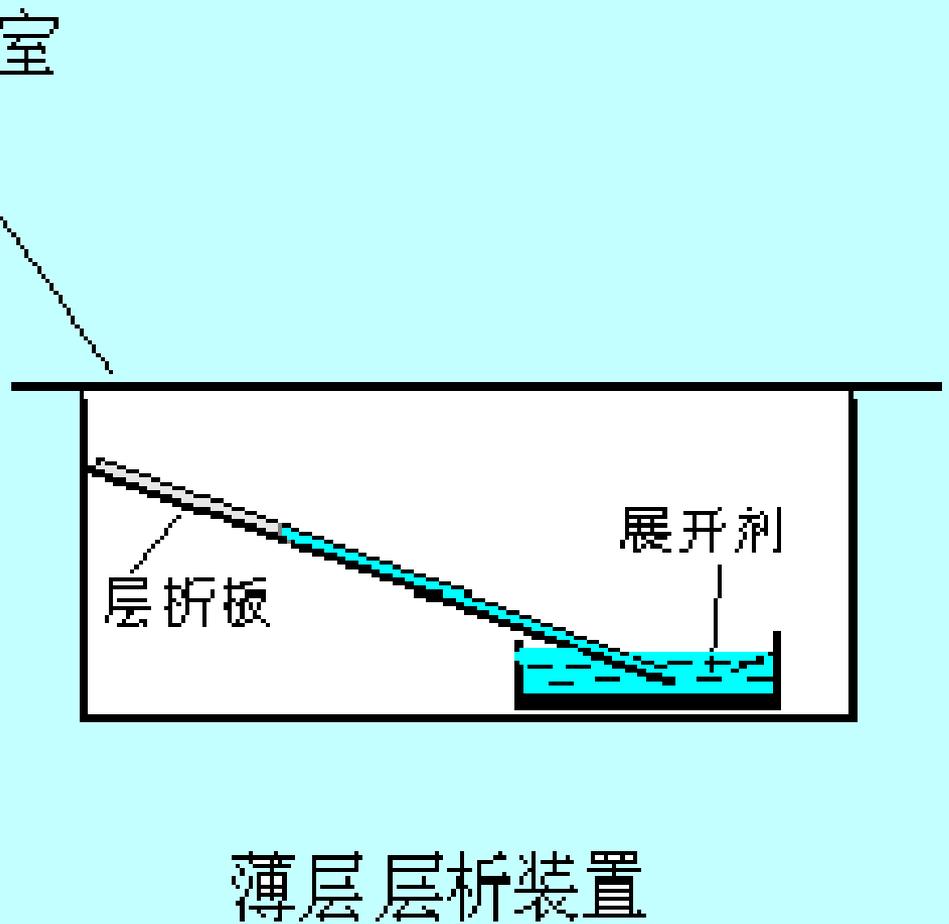
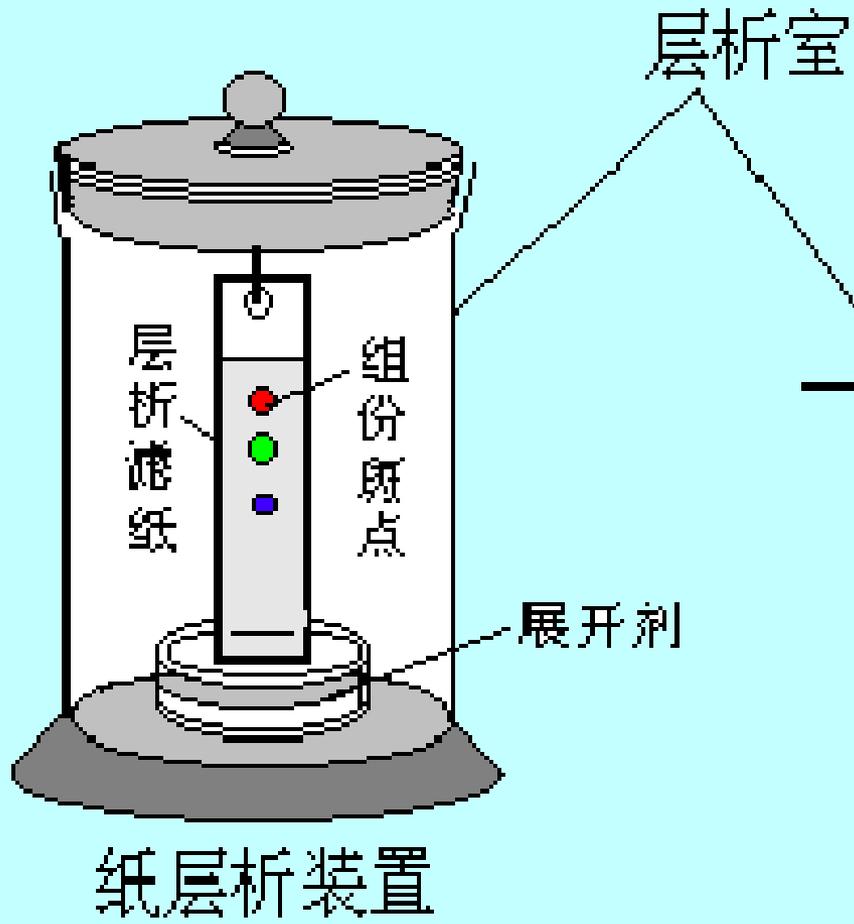


表 15-1 色谱法分类

色谱法	气相色谱 GC	气相吸附色谱 (或称气-固色谱) GSC	
		气相分配色谱 (或称气-液色谱) GLC	
	液相色谱 LC	液相吸附色谱 LSC (或称液-固色谱)	柱色谱 LCC
			薄层色谱 TLC
		液相分配色谱 LLC (或称液-液色谱)	纸色谱 PC
			柱色谱 LCC
			薄层色谱 TLC
		离子交换色谱 IEC	
		空间排阻色谱 (或称凝胶渗透色谱) GPC	
	离子色谱 IC		

三、色谱法的特点

1. 分离效率高

复杂混合物、性质相近的有机同系物
及旋光异构体等

2. 灵敏度高

可以检测出ppt(10^{-9})级甚至ppb(10^{-12})

3.分析速度快

4.应用范围广

可分析有机或无机的气、液、固体试样

缺点：

组分的定性较为困难

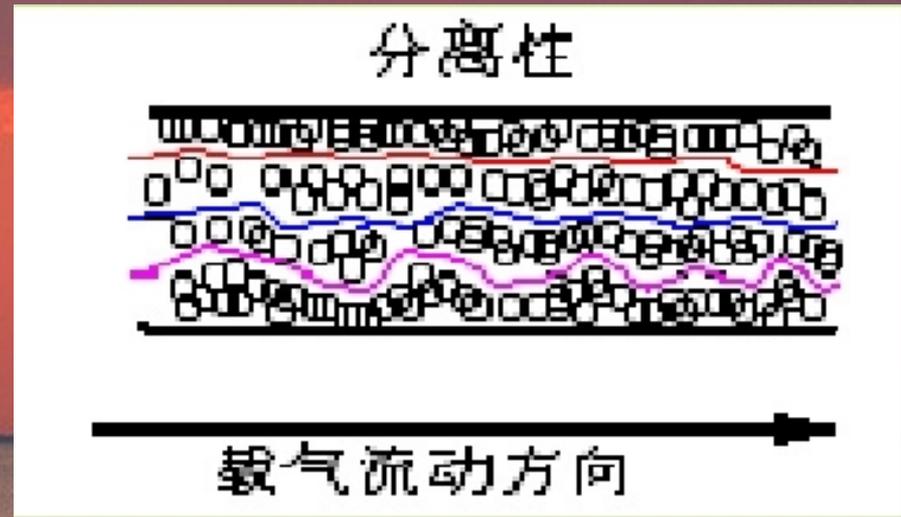
解决方法：发展联用技术

§ 15-2 色谱分离原理

一、分离原理

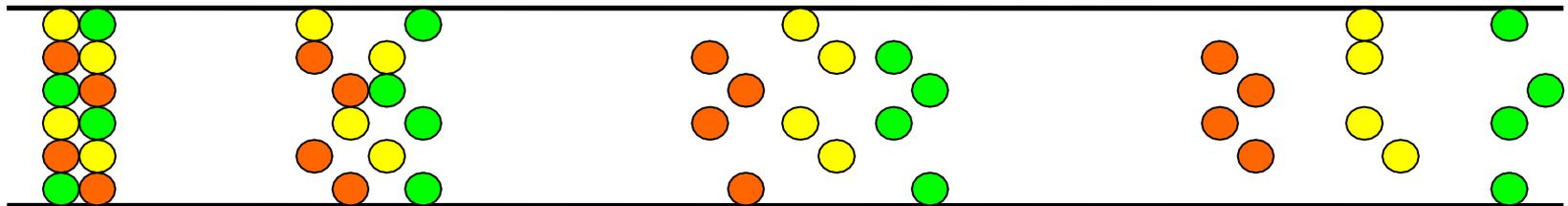
1. 气固色谱:

固定相是多孔性的固体吸附剂颗粒，其分离是基于固体吸附剂对试样中各组分的吸附能力的不同；



2. 气液色谱:

固定相由担体和固定液所组成，
固定液涂敷在担体表面，其分离混合物是基于固定液对试样中各组分的溶解能力的不同。



二、分配系数和分配比

1. 分配系数 K

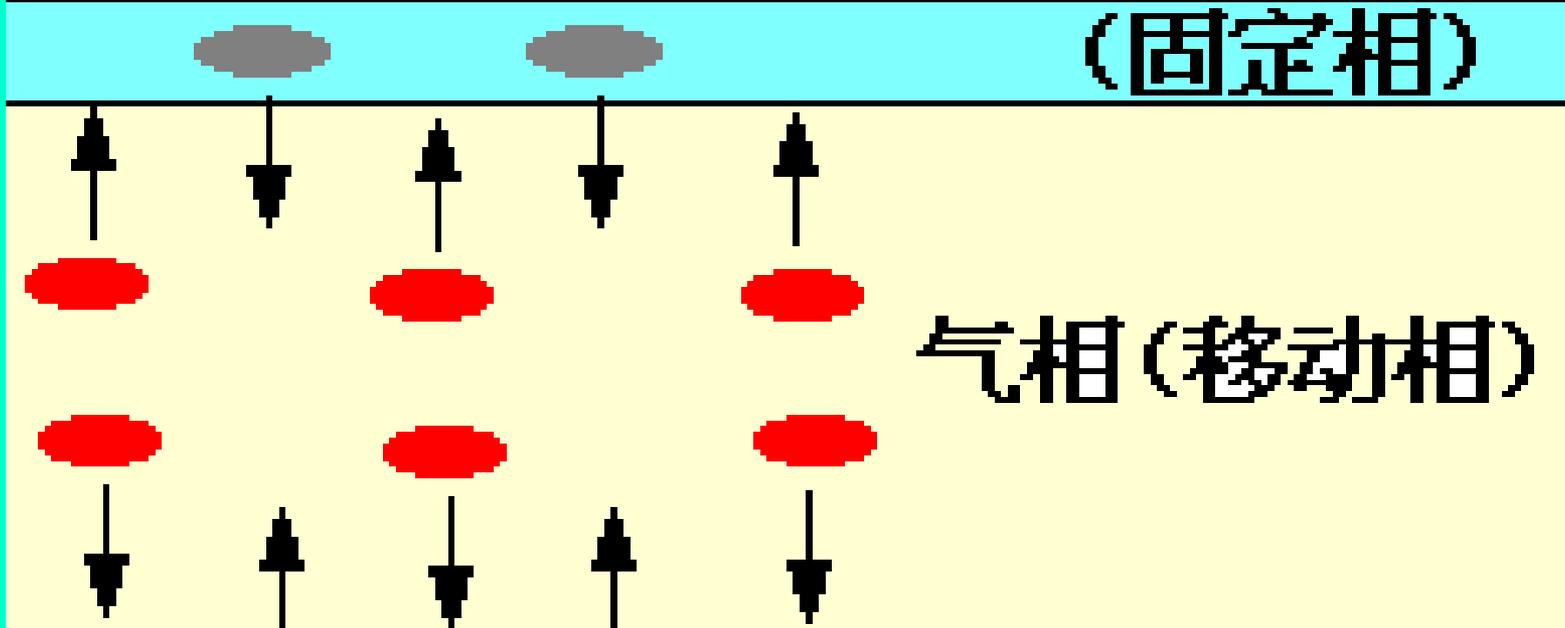
在一定温度和压力下，组分在两相间分配达到平衡时的浓度比，称为分配系数。

$$K = \frac{c_S}{c_M}$$

一定温度和压力下， K 越大，出峰越慢
试样中的各组分 K 值不同是分离的基础

色谱柱

(固定相)



气相 (移动相)

(固定相)

色谱柱

2. 分配比 k (容量因子)

在一定温度和压力下，组分在两相间分配达到平衡时，分配在固定相和流动相中的总量之比。

$$k = \frac{m_S}{m_M} = \frac{c_S V_S}{c_M V_M} = K / \beta$$

式中 V_M 为色谱柱中流动相体积；

V_S 为色谱柱中固定相体积； β 称为相比

三、气相色谱流出曲线

1. 基线

色谱柱中仅有流动相通过检测器时，所检测到的信号。

2. 峰高

从色谱峰顶点到基线之间的垂直距离。

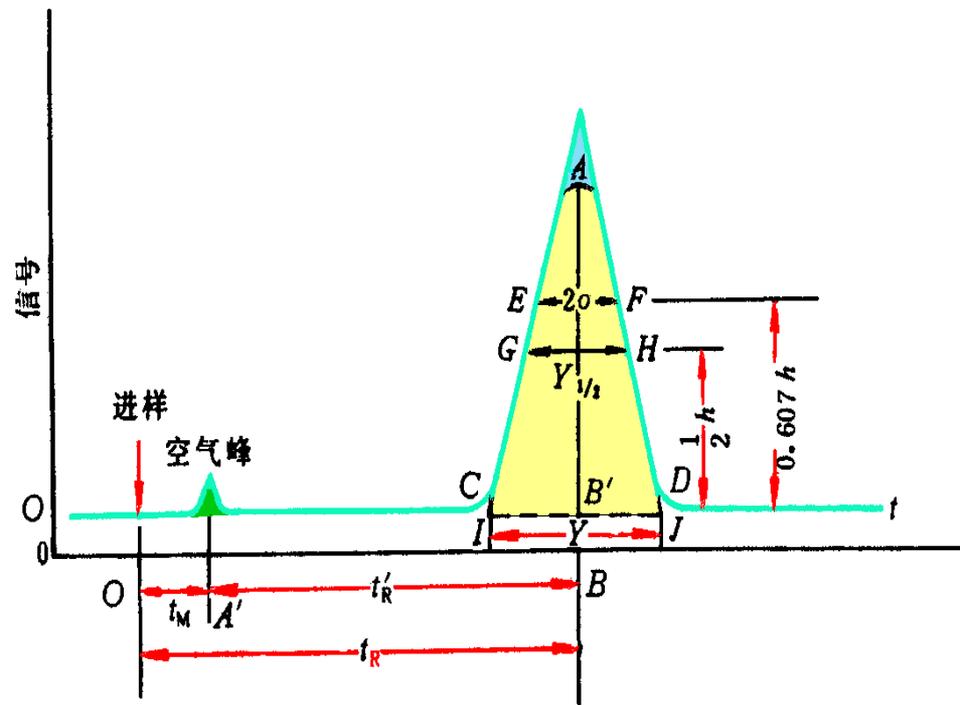


图 18-3 色谱流出曲线

3. 区域宽度

1) 标准偏差 δ ，0.607峰高处峰宽的一半， $EF/2$

2) 半峰宽 ($Y_{1/2}$)

色谱峰高一半处的宽度(GH). 2.354δ

3) 峰底宽 (Y)

色谱峰两侧拐点上的切线在基线上截距之间的距离(IJ)。 4δ

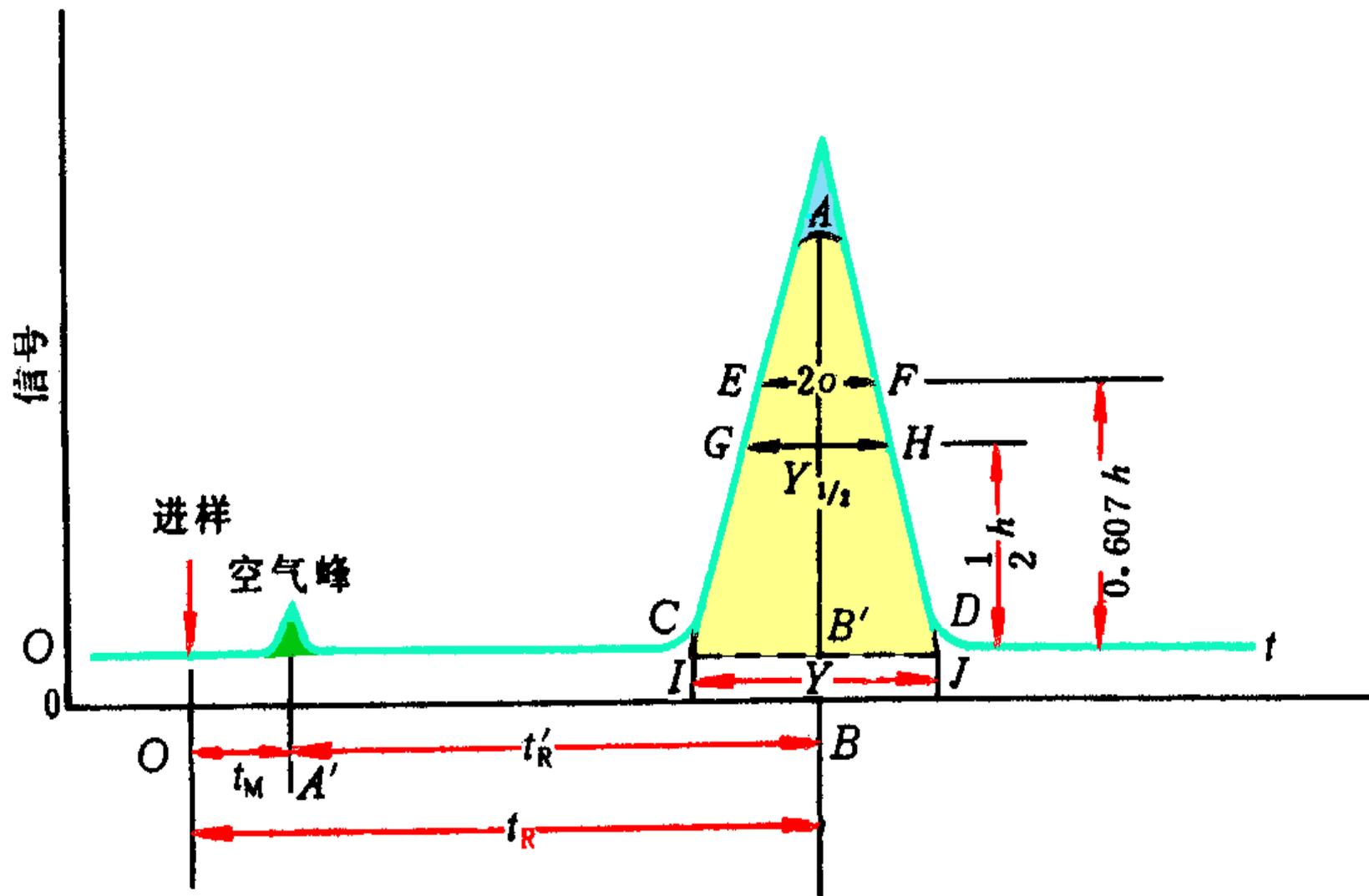


图 18-3 色谱流出曲线

4.保留值

1) 用时间表示的保留值

保留时间(t_R): 组分从进样到柱后出现浓度极大值时所需的时间。

死时间(t_M): $t_M = L/u$

不与固定相作用的组分(气体)的保留时间。

调整保留时间(t_R'): $t_R' = t_R - t_M$

2) 用体积表示的保留值

保留体积(V_R): $V_R = t_R \times F_0$

组分从进样到柱后出现浓度极大值时所通过的流动相体积 F_0 : 流动相体积流速

死体积(V_M): $V_M = t_M \times F_0$

色谱柱内未被固定相占据的空隙体积

调整保留体积(V_R'): $V_R' = V_R - V_M$

3) 相对保留值 r_{21}

$$r_{21} = \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{V'_{R_2}}{V'_{R_1}}$$

又称选择性因子，只与柱温和固定相性质有关，表示了固定相对这两种组分的选择性

5. 保留值与分配系数 K 的关系

$$V'_R = KV_s$$

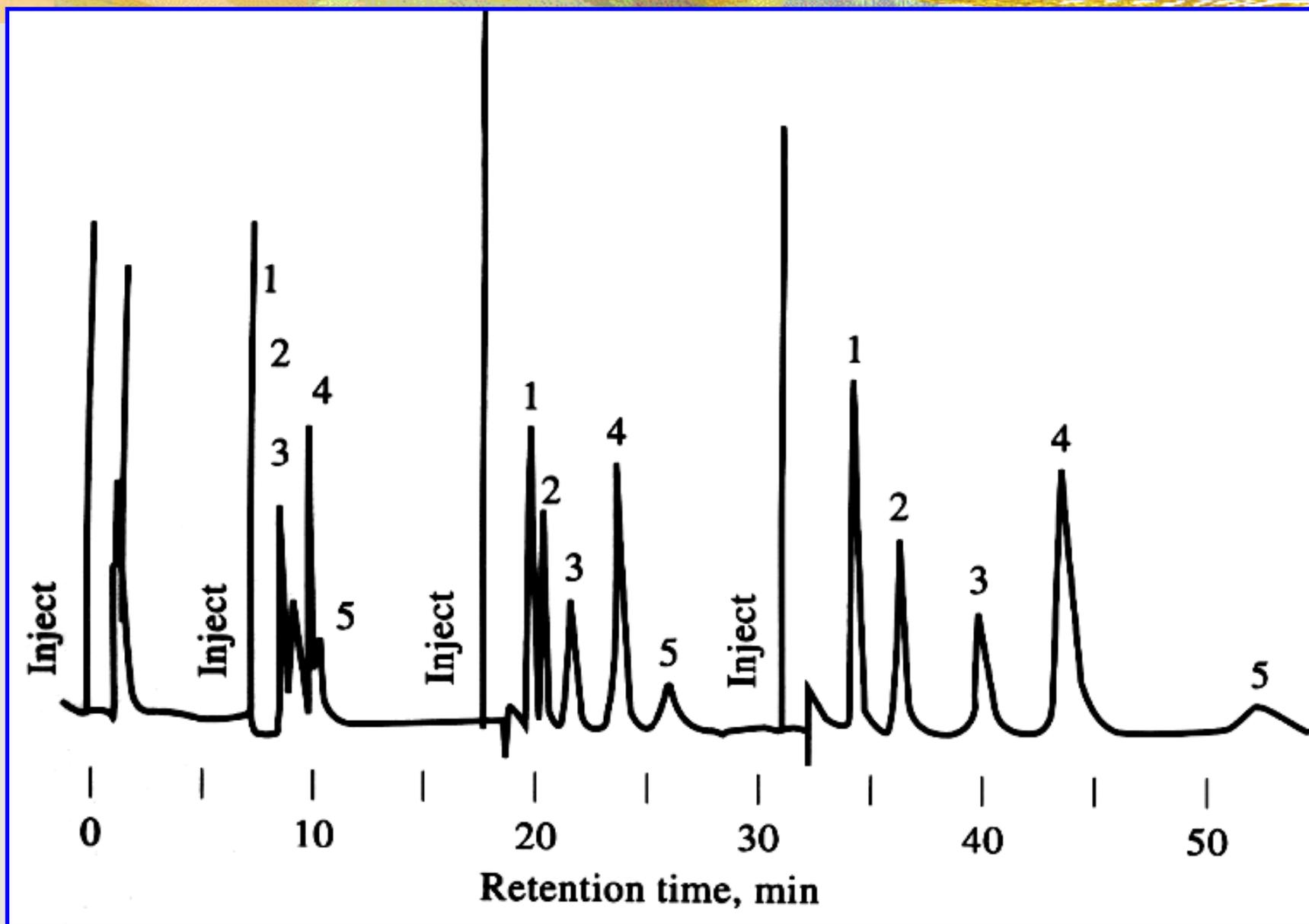
6. 保留值与分配比 k 的关系

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

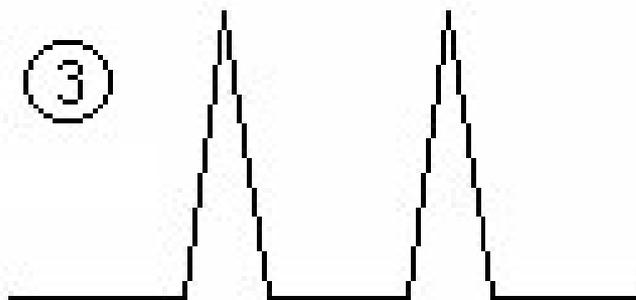
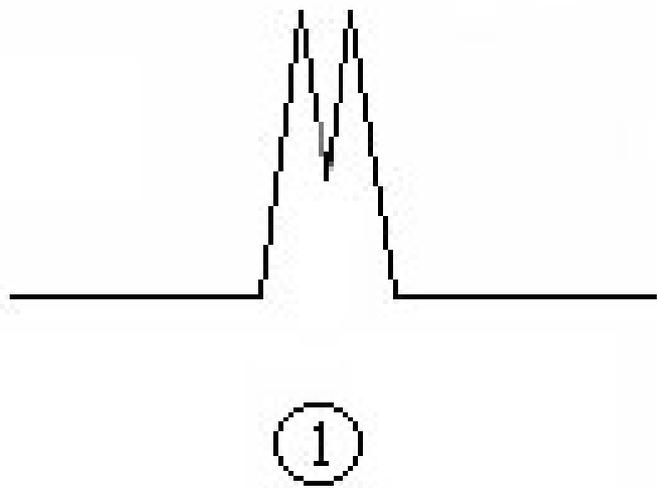
$$V = V_s(1+k)$$

色谱峰反映的信息：

- 1) 根据峰的个数，判断样品中所含最少的组分数
- 2) 根据保留值对色谱峰进行定性分析
- 3) 根据峰高或面积进行定量分析
- 4) 色谱峰的保留值及其区域宽度是评价色谱柱分离效能的依据。
- 5) 色谱峰两峰间的距离，是评价固定相(和流动相)选择是否合适的依据。



§ 15-3 色谱法基本理论

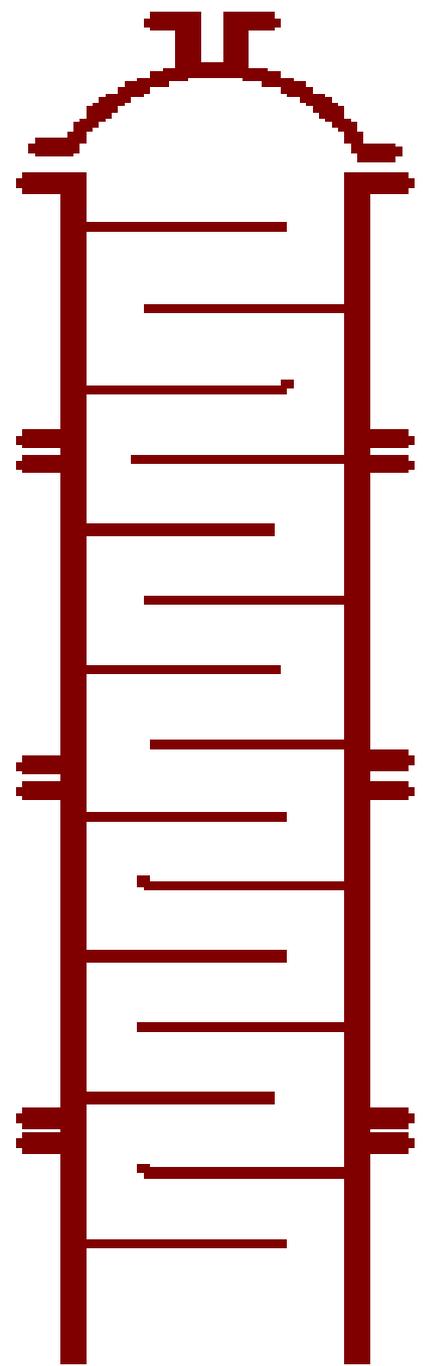


一、塔板理论

理论假设：1941 James Martin

1) 色谱柱由一块一块的虚拟塔板组成，在一个塔板内组分在气液两相间可以很快达到平衡；

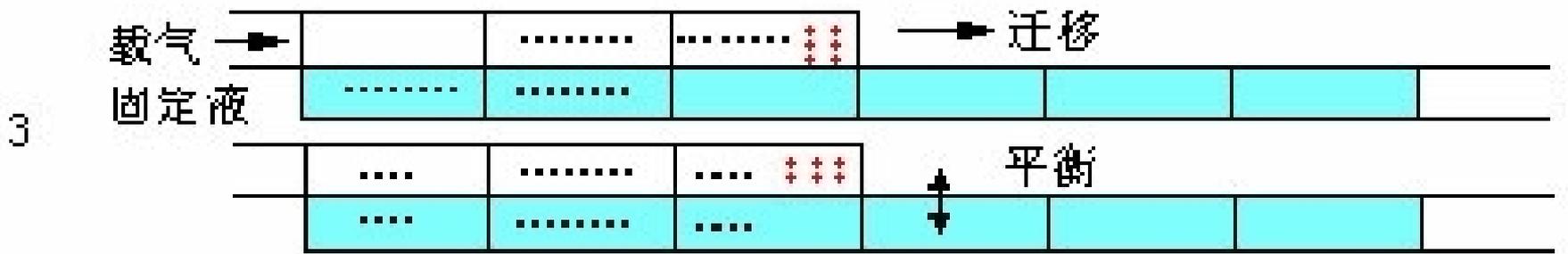
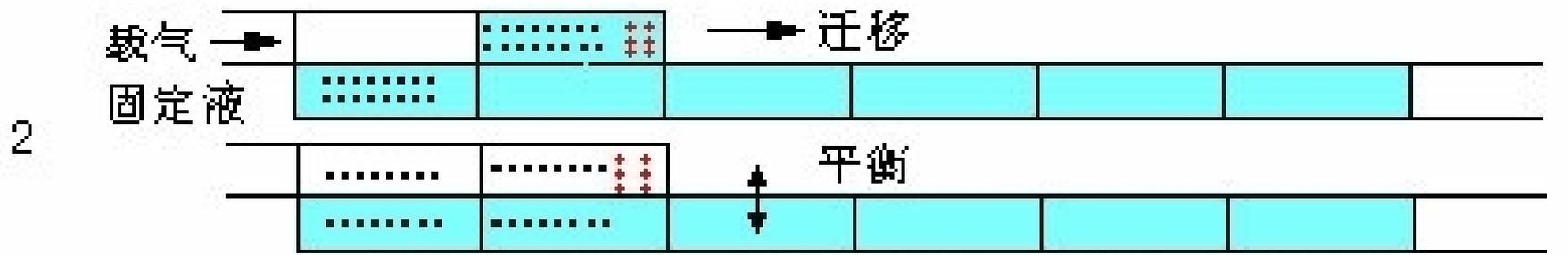
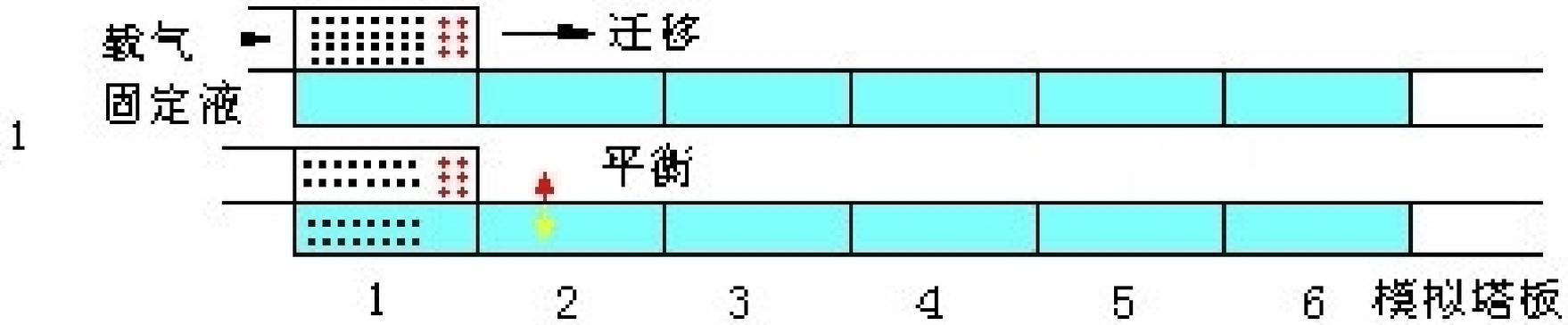
2) 塔板内一部分空间由固定相占据，另一部分由流动相占据，称为板体积；

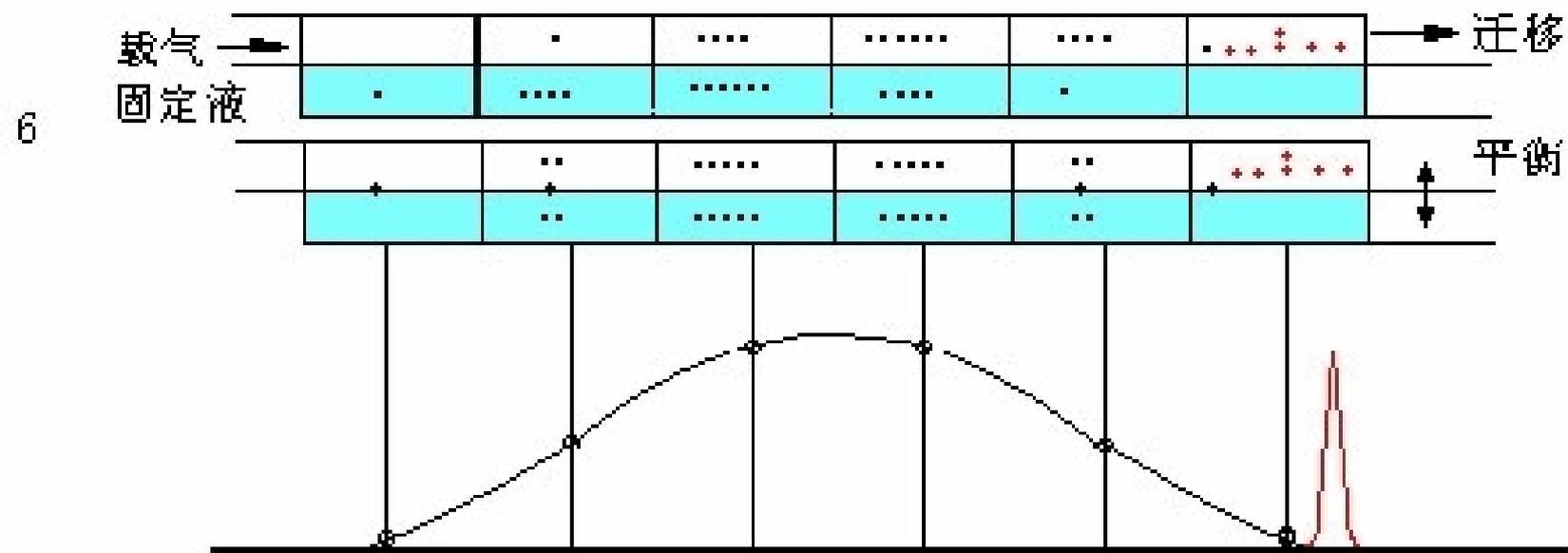
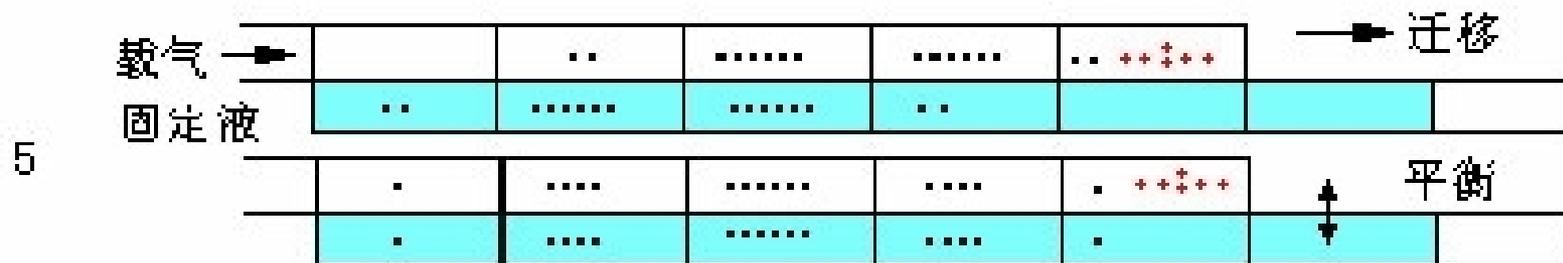
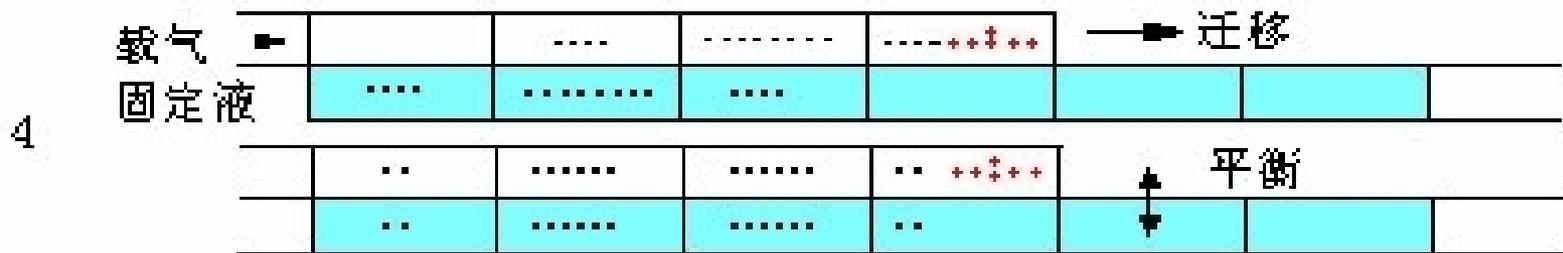


3) 载气进入色谱柱不是连续而是脉动的，每次进气为一个板体积；

4) 试样沿色谱柱方向的扩散可以忽略不计；

5) 分配系数在各塔板上是常数。





塔板号

1

2

3

4

$$\text{进样} \begin{cases} m_m & 0.5 \\ m_s & 0.5 \end{cases}$$

$$\text{进气 } 1\Delta V \begin{cases} m_m & 0.25 & 0.25 \\ m_s & 0.25 & 0.25 \end{cases}$$

$$\text{进气 } 2\Delta V \begin{cases} m_m & \frac{0.125}{0.125} & \frac{0.125+0.125}{0.125+0.125} & \frac{0.125}{0.125} \end{cases}$$

$$\text{进气 } 3\Delta V \begin{cases} m_m & \frac{0.063}{0.063} & \frac{0.063+0.125}{0.125+0.063} & \frac{0.125+0.063}{0.063+0.125} & \frac{0.063}{0.063} & \frac{0.032}{0.032} \end{cases}$$

$\frac{0.032}{0.032}$

表 18.2 组分在 $n=5, k=1, m=1$ 柱内任一板上分配表

分配塔板号 r 载气板体积数 N	0	1	2	3	4	柱出口
$N=0$	1	0	0	0	0	0
1	0.5	0.5	0	0	0	0
2	0.25	0.5	0.25	0	0	0
3	0.125	0.375	0.375	0.125	0	0
4	0.063	0.25	0.375	0.25	0.063	0
5	0.032	0.157	0.313	0.313	0.157	0.032
6	0.016	0.095	0.235	0.313	0.235	0.079
7	0.008	0.056	0.165	0.274	0.274	0.118
8	0.004	0.032	0.111	0.22	0.274	0.138
9	0.002	0.018	0.072	0.166	0.247	0.138
10	0.001	0.010	0.045	0.094	0.207	0.124
11	0	0.005	0.028	0.070	0.151	0.104
12	0	0.002	0.016	0.049	0.110	0.076
13	0	0.001	0.010	0.033	0.08	0.056
14	0	0	0.005	0.022	0.057	0.040
15	0	0	0.002	0.014	0.040	0.028
16	0	0	0.001	0.008	0.027	0.020

色谱柱长 L ，虚拟的塔板高度 H ，色谱柱的理论塔板数为 n ，则三者的关系为：

$$n = L / H$$

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

单位柱长的塔板数越多，表明柱效越高

有效塔板数

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

有效塔板高度

$$H_{\text{有效}} = \frac{L}{n_{\text{有效}}}$$

注意：同一色谱柱用不同物质计算可得到不同的塔板数和塔板高度。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/036243020052010105>