

内流动相的流动状态决定(图 2-3)。为简便起见,以线性液-液色谱为例。溶质浓度变化的流出曲线,一般根据流出组分的性质不同,用不同的检测器测出,得到其响应值和时间变化的曲线,此曲线可以用各种模型描述,其中传统的模型为平衡级模型。平衡级或理论板模型起源于精馏过程单元。

假设恒温色谱柱可以分为若干平衡级,平衡级内的相处于均匀状态,在理想情况下,两相内的溶质完全达到平衡,其平衡关系为线性。

$$q = Kc \quad (2-25)$$

微分,得

$$dq = Kdc \quad (2-26)$$

设柱有 n 个串联的平衡级(或理论板),流动相容积 dV 从级 $p-1$ 进入级 p ,再以相同的体积从 p 级流入级 $p+1$ (图 2-6),则在级 p 中溶质变化量为

级 $p-1$	级 p	级 $p+1$
V_m C_{p-1}	V_m C_p	V_m C_{p+1}
V_s q_{p-1}	V_s q_p	V_s q_{p+1}

$$dQ = (c_{p-1} - c_p)dV$$

图 2-6 色谱柱的平衡级模型

(2-27)

此溶质量 dQ 分配于流动相 m 和固定相 s 中,总量

$$dQ = V_s dq_p + V_m dc_p \quad (2-28)$$

将式(2-26)的 dq_p 代入上式,得

$$dQ = (V_m + KV_s)dc_p \quad (2-29)$$

式(2-27)和式(2-29)相等,重排

$$\frac{dc_p}{dV} = \frac{c_{p-1} - c_p}{V_m + KV_s} \quad (2-30)$$

取新变量 v , 则 $dv = dV / (V_m + KV_s)$, 代入式(2-30), 得

$$\frac{dc_p}{dv} = c_{p-1} - c_p \quad (2-31) ;$$

设有 n 块理论板, p 改用 n 表示, 加入初始条件, 对上式积分, 得

$$c_n = c_0 \frac{e^{-v} \cdot v^n}{n!} \tag{2-32}$$

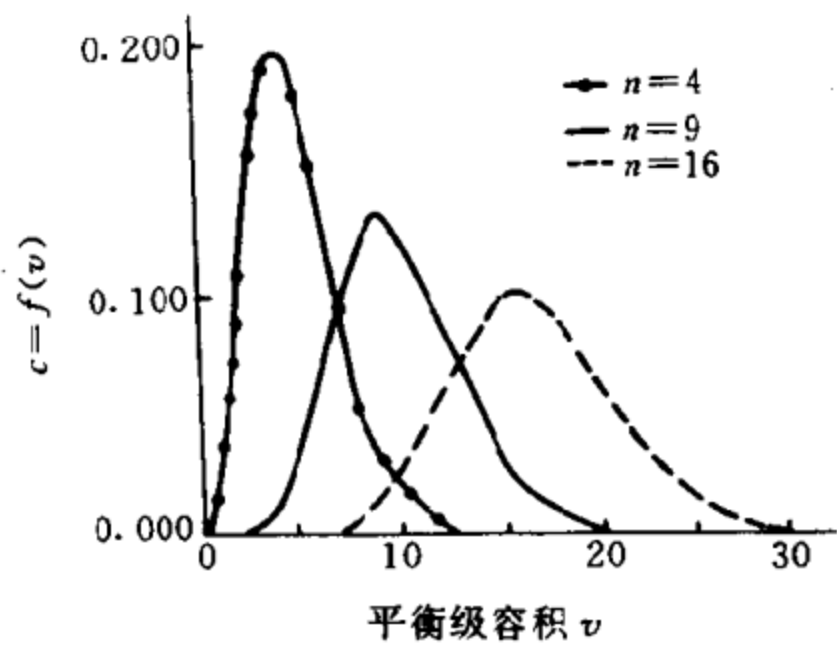


图 2-7 式(2-31)的描述

式中, c_0 为第一块理论板上, 溶液的初始浓度。

此为有 n 块理论板的色谱柱, 溶液在各平衡级或理论板上的浓度分布, 即成泊松(Poisson)分布。从图 2-7 可见, 随着色

谱柱的加长, 理论板数 n 的增加, 流出曲线不断伸延, 成为对称的波形。流出曲线的峰高和进料的浓度 c_0 有关, 进料浓度加大, 峰高相应增高(图 2-8); 浓度降低, 峰高下降。对复杂组分体系, 随着峰的保留时间增加, 组分的分离度相应加大。

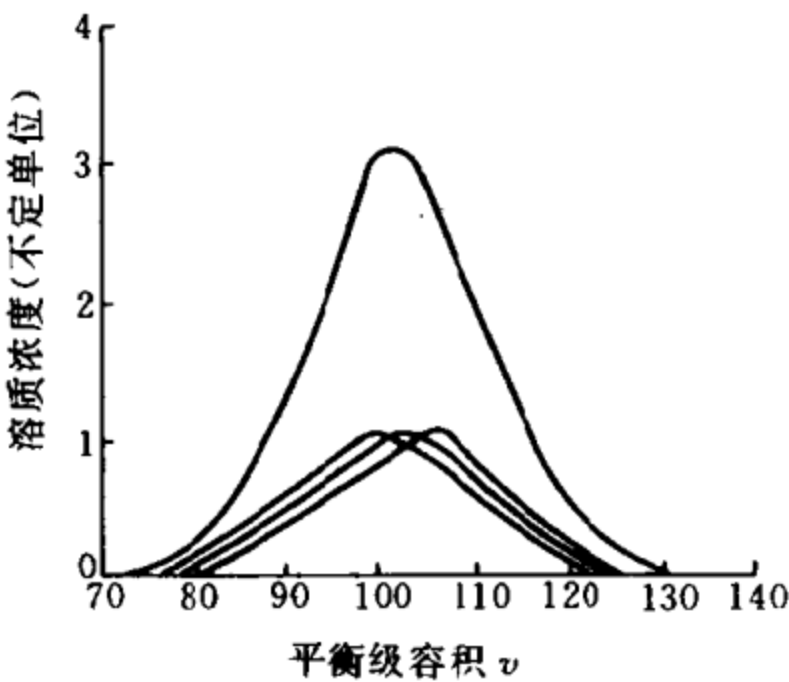


图 2-8 进料溶液浓度与峰高的关系

泊松分布的波形与高斯分布(或称正态分布)的波形类似。在很高的 n 值下, 正态分布函数很好地近似二项式分布和泊松分布函数。正态分布函数为

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left[-\frac{(x_{\max} - x)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (2-33)$$

设 $y_{\max} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma}$, 则

$$y = y_{\max} \exp\left[-\frac{(x_{\max} - x)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (2-34)$$

取纵坐标上 $x_{\max} = 0$

$$\frac{y}{y_{\max}} = r = \exp\left[-\frac{x^2}{2\sigma^2}\right] \quad (2-35)$$

分布曲线最高点, $x=0$, $\frac{dr}{dx} = 0$

$$\frac{dr}{dx} = -\frac{x}{\sigma^2} e^{-x^2/2\sigma^2}$$

分布曲线两侧的二拐点, $\frac{d^2r}{dx^2} = 0$

$$\frac{d^2r}{dx^2} = \frac{1}{\sigma^2} e^{-x^2/2\sigma^2} \left[\frac{x^2}{\sigma^2} - 1 \right]$$

即 $x = \pm\sigma$, 宽 $W_i = 2\sigma$ (σ^2 为方差), 代入式(2-35), $r = e^{-1/2} = 0.607$, 拐点在峰高 0.607 处。基线峰宽 $W_b = 2(b + \sigma)$, 斜率 $b = y_i / \left(\frac{dy}{dx}\right)_{x=-\sigma} = y_i / \left(\frac{y_{\max}}{\sigma} \cdot e^{-1/2}\right)$ (图 2-9), 因为 $y_i / y_{\max} = r_i = e^{-1/2}$, 所以 $b = \sigma$, 即

$$W_b = 4\sigma \quad (2-36)$$

高斯色谱峰的特征宽度可见图 2-10, 在峰高 $\frac{1}{2}$ 处的半峰宽 $W_h = 2.354\sigma$ 。

式(2-37)中的 x 可以是时间(保留时间)也可以是容积(保留体积), 标准偏差 σ 和 x 是同一因次。即

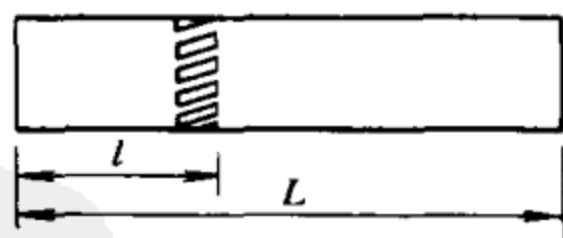


图 2-9 色谱峰宽的计算

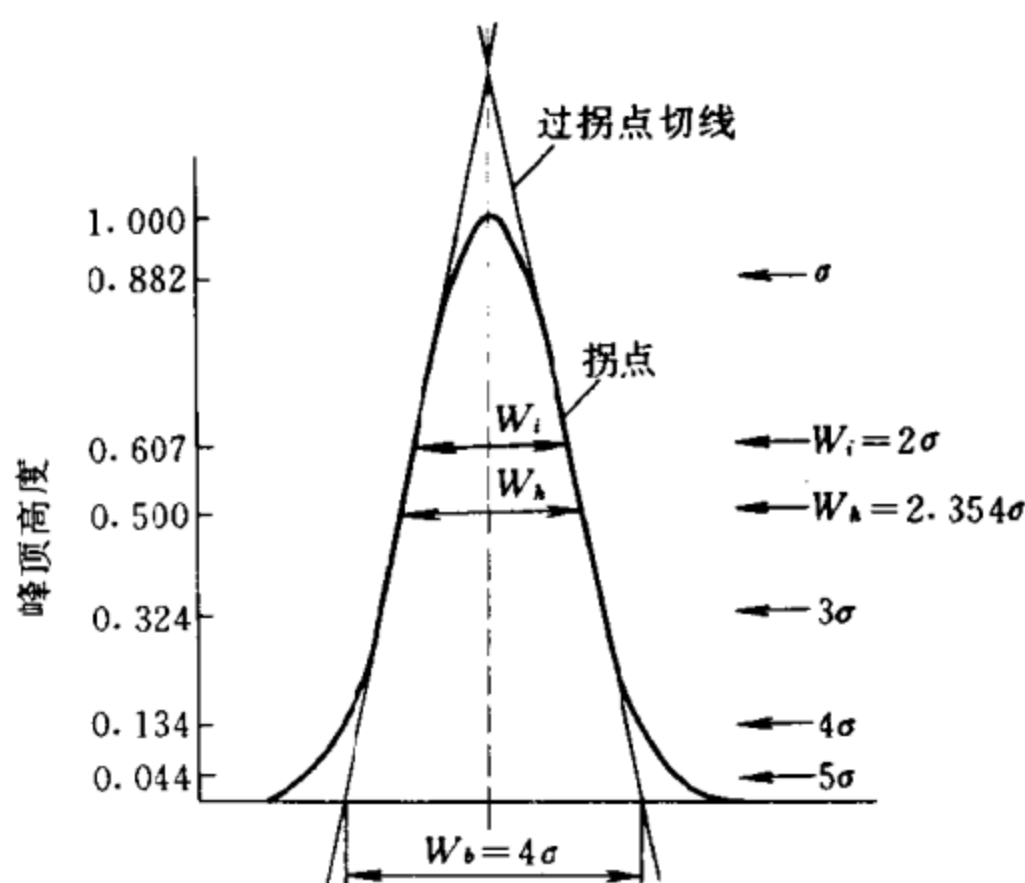


图 2-10 高斯色谱峰的特征宽度

W_i —拐点处色谱峰宽； W_k —半峰宽； W_b —基线宽度

$$y = y_{\max} \exp \left[-\frac{(t_R - t_0)^2}{2\sigma^2} \right] = y_{\max} \exp \left[-\frac{(V_R - V_0)^2}{2\sigma^2} \right] \quad (2-37)$$

上述的表示平衡级(或理论板)模型的泊松分布或高斯分布, 都是指溶质浓度在该级段内是均匀的, 溶质在两相无限接触中处于平衡状态下的线性理想色谱。实际上, 因流动相的流动, 溶质在柱内的停留时间有限, 在每一级段或塔板上的两相内溶质不能达到热力学平衡, 除非在低浓度下, 吸附(分配)等温线一般为非线性。传质阻力、轴向弥散和填充物以及柱的大小引起流动相产生的涡流等, 都可使色谱峰扩展拖尾变形, 使色谱柱的分离度减小, 效率下降。如以朗格谬尔(Langmuir)型吸附(分配)等温线为例, 流体相浓度较高的一段成弯曲形态, 意指流体相的浓度增加, 固定相的吸附(分配)量不成比例增加, 反而略有减少。色谱柱中前沿波浓度高的一端因吸附量减少相应地比浓度低的一端移动得要快, 随

着时间的延长，吸附色谱峰变得陡峭。Langmuir 型吸附等温线在解吸的情况下却是反 Langmuir 型的，溶质分子和固定相分子之间的亲和力随平衡浓度的升高而增大，使前沿波浓度高的一端，因吸附量成比例的减少，相应地比浓度低的一端移动得要慢，前沿波不断地伸延，使脱附色谱峰不对称呈拖尾的形态。如果吸附(分配)等温线是反 Langmuir 型，得到的色谱峰和上述情况相反，脱附色谱峰变得陡峭，吸附色谱峰呈拖尾的状态。工业色谱为了提高原料处理量或生产能力，要尽量提高进料量和浓度，吸附分离操作往往在吸附等温线的非线性一端。色谱峰拖尾的原因是多种多样的(图 2-11)，除正常色谱峰 a、非线性色谱峰 b 和混合型峰 c 外，还有进料中组分在载液内的溶解度较小 d、进料设备和进料方法造成缺陷 e、进料中有性质接近的第二种组分存在 f、流动相的流速过大两相浓度远离平衡 g 等原因。当进料组分与固定相和流

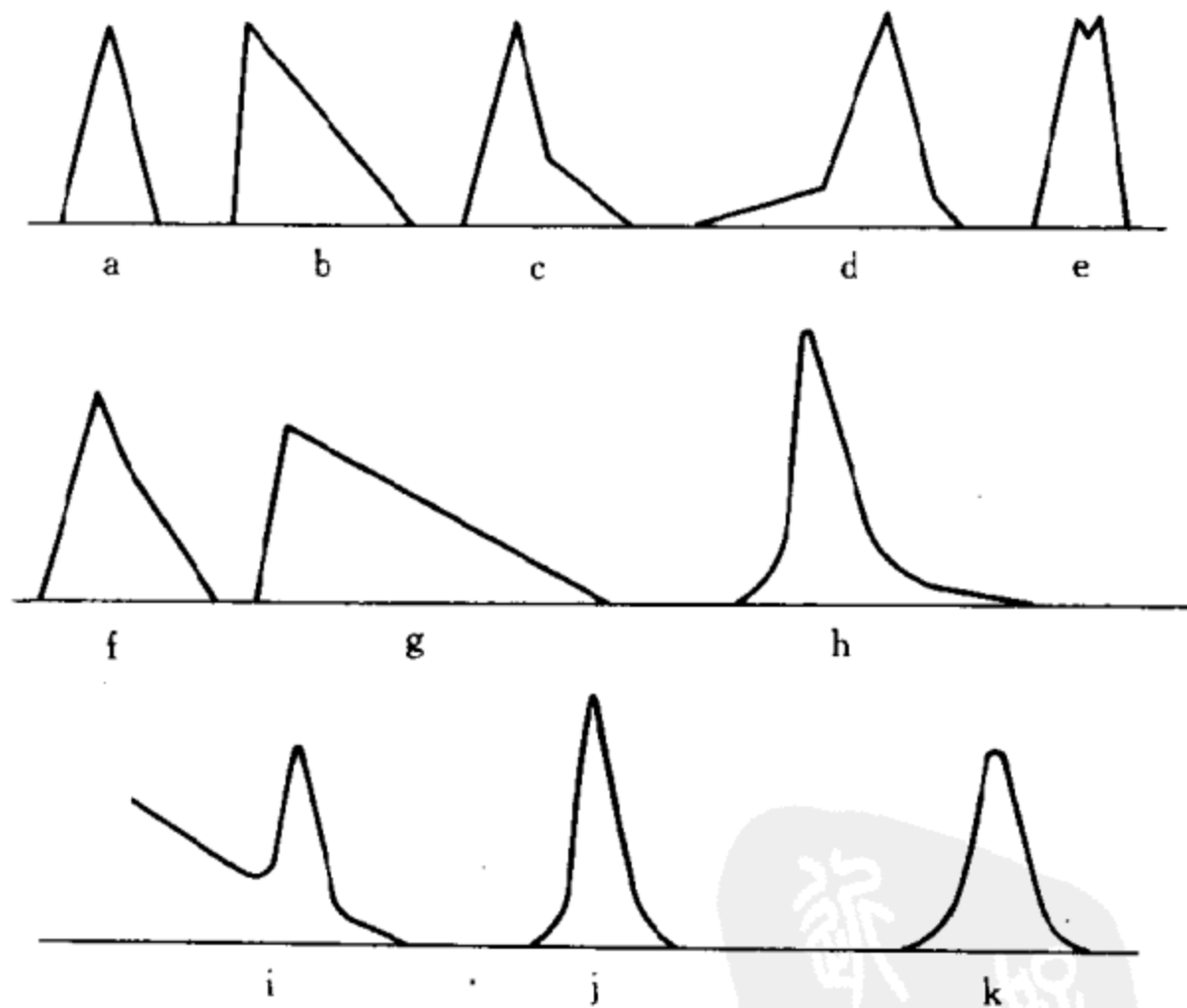


图 2-11 色谱峰的变形和拖尾

动相不匹配时,如选用的固定相或载液不合适 h,可改用新的合适的固定相解决之。在复杂组分溶液进料中,其中某一组分浓度很低,分离度又接近相差不大,常因此微量组分的细小谱带引起拖尾 i,可增大组分之间的分离度来解决;也可以是色谱柱的分离效率不高 j 和正常的拖尾 k 等。工业大型色谱除上述原因外,柱内液流分布、柱进出口引起液流的扰动、柱壁效应、吸附热等都可以引起色谱峰的拖尾。

第二节 保留值、分离度和理论板数

色谱柱分离所需要的理论板数与体系的性质,吸附剂的结构,色谱柱的操作参数,流体相在柱内的流动状态等各种因素有关^[11,12]。色谱峰流出曲线的保留值和分离度,与透过曲线中的透过点和饱和度同样是表征吸附剂(吸附或分配)和组分平衡关系的。吸附剂表面结构,固定液性质的重要热力学参数,峰形的变化则取决于组分的动力学(扩散和传质)和动量传递的性质。在分析色谱中,保留值也常是辨别组分成分的定性依据。

一、保留值

保留值是衡量溶质分子在固定相和流动相之间亲和力的大小,或是形成络合物表明在固定相中吸附之难易,滞留时间(保留时间)长短的参数。它与吸附剂表面的均匀性、比表面积、晶体结构有关,对液体色谱还受所用固定液的性质、极性等物化性质的影响。理论上任何一种组分在一定的固定相和一定的操作条件下,如载气(液)的流速、柱温、柱长和一定的内径等,都有一确定的保留值。保留时间 t_R 或保留体积 $V_R = t_R \cdot F_c$ (F_c 为载气的线速)是指自样品脉冲注入色谱系统(载气中)起,至某一组分色谱峰最高点出现所经历的时间。保

留值因系统的不同而异，例如离子交换色谱，进料离子与离子交换树脂中反离子的交换、排斥或形成络合物后的冲洗结果；离子对色谱则为样品离子首先与反离子在流动相中缔合成离子对，此缔合物再在键合相与流动相之间进行分配；反相键合色谱，固定相的极性比流动相的极性小，极性溶剂分子与非极性溶质分子之间的作用力和排斥力，引起在固定相的分配，这些都可以使有关的保留值改变。

1. 气-固色谱的保留时间

气相色谱载气是可以压缩的流体，其组分的保留时间为柱进、出口压力的函数。设载气的线速受填充物阻力的影响，沿柱长逐点变化，组分在 dt 时间内迁移的距离为 dl (图 2-12)，则

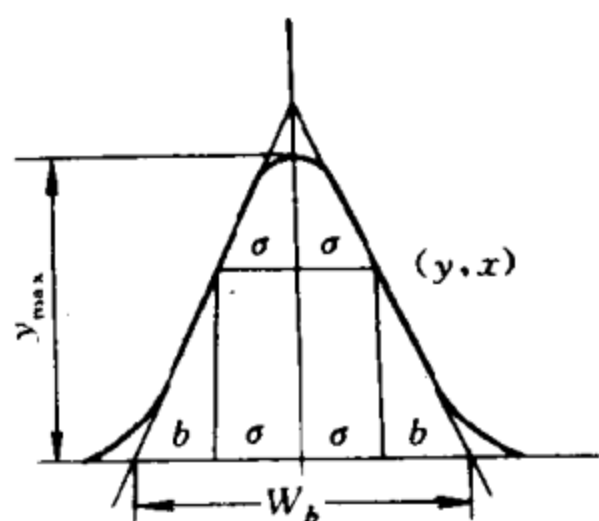


图 2-12 保留时间方程式的推导

$$dt = \frac{dl}{u_c} = \frac{dl(1+k')}{u} \quad (2-38)$$

式中 u_c ——流出曲线浓度波的移动速度；

u ——载气的线速；

k' ——溶质组分在固定相和流动相中的摩尔比，称容量因子。是衡量组分保留值大小的参量， k' 大的组分的保留时间长，后流出色谱柱外，反之 k' 小，先行流出。取

$$\text{积分} \quad \int_0^{t_R} dt = t_R = (1+k') \int_0^{l} \frac{dl}{u} \quad (2-39)$$

根据填充床的 Darcy 定律

$$u = -\frac{B dp}{\eta dl} \quad (2-40)$$

式中 η ——流动相流体粘度；

B ——常数。

在同一温度下，由理想气体定律转换床层出口(o)为准的流速

$$u = u_o p_o / p \quad (2-41)$$

式(2-39)和式(2-41)合并，得

$$dl = -\frac{k'}{\eta u_o p_o} p dp \quad (2-42)$$

将(2-41)式的 p_o 代入式(2-42)，得

$$\frac{dl}{u} = -\frac{k'}{\eta u_o^2 p_o^2} p^2 dp \quad (2-43)$$

式(2-42)积分，则

$$L = \frac{k'}{2\eta u_o p_o} (p_i^2 - p_o^2) \quad (2-44)$$

将式(2-43)代入式(2-39)，得

$$t_R = \frac{k'}{3\eta u_o^2 p_o^2} (p_i^3 - p_o^3) \quad (2-45)$$

令 $\beta = p_i / p_o$ ，使式(2-44)、(2-45)和(2-41)合并，得气体为载气的保留时间为

$$t_R = \frac{L(1+k')}{u_o} \left[\frac{2}{3} \cdot \frac{\beta^3 - 1}{\beta^2 - 1} \right] \quad (2-46)$$

说明气-固或气-液色谱的保留值为液(固)相保留值乘以气体的校正因子项。

2. 气-液色谱的保留值

溶质组分在两相间的滞留时间(保留值)与组分在两相间的分配系数 K_D 有关，分配系数是指在一定温度下组分在两液相内达到平衡时，已知体积的一定浓度(mmol/ml)的溶液与已知质量的固定液，或离子交换剂(mmol/g)含量的比值，同时也是衡量组分亲和力的参数，而受溶液的极性、浓度、相

对分子质量和离子电荷等各种性质的影响而变化。在色谱分离中，经常用表示保留值大小的容量因子(capacity factor) k' 代替分配系数，因其使用较为方便。容量因子表示平衡状态下，组分在固定相内的总量和组分在流动相内的总量之比， $k' = m_s/m_m = V_s c_s / V_m \cdot c_m = K_D \cdot V_s / V_m$ (下标 s 和 m 分别代表固定相和流动相)。组分的亲和力愈大，保留值越大， k' 值愈大。

在液-液色谱柱内，取微元 dz 区间，流动相容积为 V_m ，固定相容积为 V_s ，总容积为 $V_t = V_s + V_m$ ，物料衡算为

$$V_m \cdot u \cdot A \cdot c_m dt = A [V_s c_s + V_m c_m] dz \quad (2-47)$$

移项，得定形前沿色谱峰的移动速度 u_c 为

$$u_c = \frac{dz}{dt} = \frac{u}{1 + (V_s/V_m) \cdot (c_s/c_m)} = \frac{u}{1 + k'} \quad (2-48)$$

设床层长度为 L ，上式同除以 L ，得

$$t_R = t_M (1 + k') \quad (2-49)$$

式中， t_M 称死时间，指载液(气)中微量不能“溶解”于固定相的组分(如空气)，流经床层所需要的时间。

由于保留体积 $V_R = t_R \cdot F_c$ ，相应地式(2-49)可改为

$$V_R = V_M + K_p V_s \quad (2-50)$$

载液中微量的不“溶解”于固定相的组分的容量因子 $k' = 0$ ，即 $t_R = t_M$ 、 $V_R = V_M$ ，此不“溶解”(如空气)惰性组分峰的移动速度和载液的流速相等。对溶质组分，因 $k' > 1$ 、 $u > u_c$ ，故 $t_R > t_M$ 。为了减少空气峰的干扰，可取溶质的调整保留时间 $t'_R = t_R - t_M$ 或调整保留体积 $V'_R = V_R - V_M$ 。但除床层体积外，还有一些接管、头盖等额外体积 V_e 都需要一并考虑，故式(2-50)可改为

$$V_R = V_M + K_p V_s + V_e \quad (2-51)$$

容量因子 k' 可以从实验方法得到色谱图, 由组分的保留值和惰性组分保留值之差, 直接求出。

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{V_R - V_M}{V_M} = \frac{t'_R}{t_M} = \frac{V_N}{V_M} \quad (2-52)$$

式中, 净保留时间 $V_N = V_R - V_M$ 。

二、分离度

双组分体系色谱分离效果与此二组分对固定相亲和力的差异有关, 类似萃取或蒸馏过程的选择性系数 α , 可用于表示此二组分分离难易的程度。 $\alpha = \frac{(c_2)_s / (c_2)_m}{(c_1)_s / (c_1)_m}$, $\alpha = 1$ 表示二组分在固定相中富集程度相同, 不能分离。色谱分离改用相对保留值或分离因子表示。将式(2-50)和 $V'_R = V_R - V_M$ 合并, 代入 α 值中, 得

$$\alpha = \frac{(c_2)_s (c_1)_m}{(c_2)_m (c_1)_s} = \frac{(K_p)_2}{(K_p)_1} = \frac{(K_p)_2 V_s}{(K_p)_1 V_s} = \frac{V'_{R2}}{V'_{R1}} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad (2-53)$$

一般 $(K_p)_2 > (K_p)_1$, 故 $V'_{R2} > V'_{R1}$ 、调整保留时间 $t'_{R2} > t'_{R1}$ ($t'_R = t_R - t_M$) (图 2-13), 故分离因子 $\alpha > 1$ 。

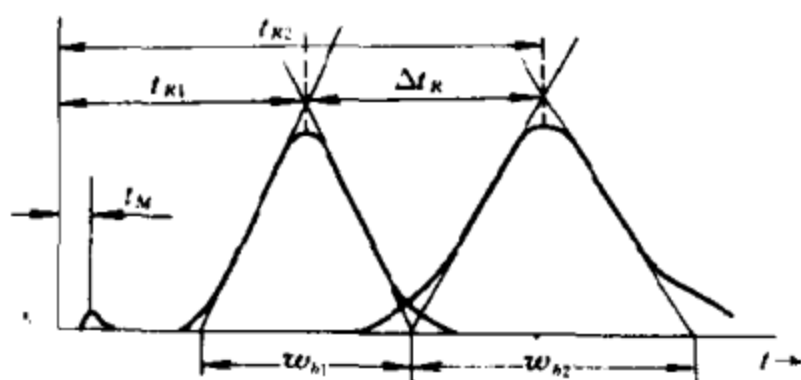


图 2-13 分离因子的表示式

相邻的色谱峰常有拖尾现象, 用分离因子的概念, 单是调整保留时间比值不能解决拖尾现象。分离度 R_s 定义为相邻色谱峰峰顶之间的距离除此二色谱峰的平均宽度。正规的是使用基线宽度, 以峰切线基底的宽度表示(图 2-13)。

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(w_{b1} + w_{b2})} = \frac{2\Delta t_R}{(w_{b1} + w_{b2})} \quad (2-54)$$