

液相色谱分析法模块之 任务 5 高效液相色谱法基本原理

教学任务

- 液相色谱法的分离原理的讲解；
- 高效液相色谱的不同类型的讲解与选择

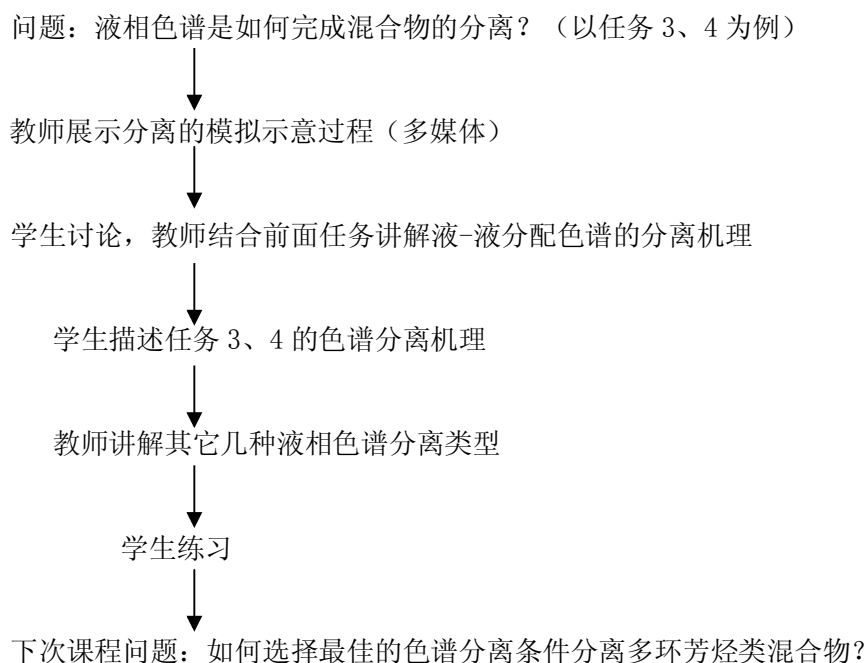
教学方法

- 理论知识讲授、练习等

教学学时

- 每 20 人一个学习组，整个任务需 2 学时。

教学设计



课程引入

- 问题：液相色谱是怎样实现任务 3 和任务 4 中物质的分离？
（色谱相关知识的回顾）
- 教师引出本次课程的重点内容：“液-液分配色谱法的分离原理”

液-液分配色谱法的分离机理

- （本过程教师可通过多媒体进行教学）
- 液-液分配色谱
 - 液-液分配色谱
 - 键合相色谱：正相色谱与反相色谱

◇ 反相液相色谱

反相液相色谱是目前液相色谱分离模式中使用最广泛的一种分离分析模式。在反相液相色谱中，溶质在固定相上的保留是基于分子间的非特异性疏水作用，由于所有的有机化合物分子都存在疏水基团，因此反相色谱更普遍适用于极性、非极性；水溶性、油性；离子性、非离子性；小分子、大分子；具有官能团差别或分子量差别的同系物的分离。

(一) 流动相

1. 常见流动相

流动相洗脱强度顺序：水<甲醇<乙腈<乙醇<四氢呋喃<丙醇<二氯甲烷（与水不混溶）。

2. 流动相的使用原则

一般情况下，甲醇-水体系能够满足多数样品的分离要求，但乙腈往往是首选，一方面因其具有非常低的粘度，另一方面该洗脱液在低紫外（185~210nm）检测无吸收。

有些强疏水性样品即使采用100%乙腈仍无法洗脱，可采用更强的流动相（如四氢呋喃-水或四氢呋喃-乙腈）。

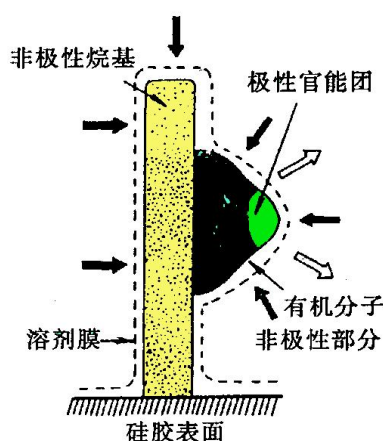
(二) 固定相

反相色谱法最常用的固定相是C18、C8和苯基键合相的填料，在分离极性很大的化合物时，也可以采用氨基、氰基等极性基团键合固定相。

(三) 反相色谱的分离机理

主要基于被分离溶质与固定相疏水作用力的差别。通过调节固定相和流动相的性质。

疏溶剂理论：当溶质分子进入极性流动相后，即占据流动相中相应的空间，而排挤一部分溶剂分子；当溶质分子被流动相推动和固定相接触时，溶质分子的非极性部分或非极性分子）会将非极性固定相上附着的溶剂膜排挤开，直接和非极性固定相上的烷基官能团相结合（吸附）形成缔合物，构成单分子吸附层；当流动相极性减小时，这种疏溶剂斥力下降，会发生解缔，并把溶质分子释放而被洗脱下来。



图示 疏溶剂理论模型

学生解释任务 3、任务 4 中物质的分离原理

- 固定相的选择
- 流动相的选择

其它几种液相色谱分离类型

名称	分离原理	固定相	流动相	应用
液固吸附色谱	基于各组分对固定相吸附能力的差异	极性: 硅胶(酸性)、氧化镁和硫酸镁分子筛等	选择要求: 基本原则: 极性大的试样用极性较强(ϵ)的流动相, 极性小的用低极性流动相	常用于分离极性不同的化合物, 但也能分离那些具有相同极性基团, 但数量不同的样品, 还适用于分离异构体。
		非极性: 高强度多孔微粒活性炭和多孔石墨化炭黑等		
液液分配色谱	基于各组分在两相间的分配定律	正相: 极性固定液	非极性溶剂(主体为己烷、庚烷, 可加入<20%的极性改性剂)	用来分离极性较强的水溶性样品(非极性组分先, 极性组分后)
		反相: 极性较弱或非极性的固定液	极性较强的溶剂(主体为水, 加入一定量的改性剂)	用来分离油溶性样品(极性组分先, 非极性组分后)
凝胶色谱	依据分子尺寸大小的顺序来进行分离	多孔性聚合材料	GFC (凝胶过滤色谱): 水溶剂	用来分析高分子物质的相对分子量分布
			GPC (凝胶渗透色谱): 有机溶剂	
离子色谱	基于离子交换树脂上可离解的离子与流动相中具有相同电荷的溶质离子之间进行的可逆交换,			

学生练习:

- 分离下述化合物, 宜选用何种色谱方法?
 - (A) 聚苯乙烯相对分子量分布 (B) 多环芳烃
 - (C) 氨基酸 (D) Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+}
- 按固定相与流动相相对极性的不同, 液液分配色谱可分为哪两类方法? 现在有 A、B 两物质, 极性 $A > B$, 问在两种液液分配色谱上的出峰顺序如何?

下次课程问题:

- 苯、萘、联苯为芳烃类混合物, 如何选择一个最佳的色谱分离条件, 既能达到良好的分离度, 又能在短时间内完成分析任务?