

· 师生笔谈 ·

doi: 10.3866/PKU.DXHX201703004

www.dxhx.pku.edu.cn

色谱法中的谱带和色谱峰

张 新*

(青岛啤酒二厂, 山东 青岛 266100)

摘要: 对色谱法中的谱带作了具体的定义。详细论述了谱带与色谱峰之间的关系, 指出分析谱带是研究色谱现象的基础。色谱法中的色谱峰并不局限于色谱图中的色谱峰, 只要是组分的分析谱带, 都可以形成一个色谱峰与之相对应。

关键词: 组分; 直观谱带; 分析谱带; 谱带长度; 色谱图; 试样带

中图分类号: G64; O6

Chromatographic Band and Chromatographic Peak in Chromatography

ZHANG Xin*

(Tsingtao Brewery No. 2, Qingdao 266100, Shandong Province, P. R. China)

Abstract: This article defined the chromatographic band in the chromatography. The relationship between the chromatographic band and the chromatographic peak was discussed in detail, and the analytical band was considered as the basic for the study of chromatographic phenomena. The chromatographic peaks in the chromatography were not limited to the chromatographic peaks in the chromatogram, and a chromatographic peak can be formed corresponding with an analysis bands of the components.

Key Words: Component; Intuitive band; Analytical band; Band length; Chromatogram; Sample band

色谱现象是流体中的物质发生在流体中的一种变化, 其基本特征是流体中不同物质出现相互分离的现象^[1]。

在色谱法中, 谱带是与分离系统有关的含有一种特定物质的流动相的总称, 谱带的特点是“集中性”; 进入流动相中的一个组分就代表一种物质, 而这种物质是由一群能在流动相中独立运动的该物质的分子(离子)组成的; 谱带是组分的一种存在形式, 组分的分离就是指谱带的分离; 如果试样中的不同组分要在色谱系统中分离, 那么组分就必须以谱带的形式存在。

尽管谱带是指含有一种特定组分的这部分流动相, 但是谱带在色谱柱中的运动只是由该组分分子的运动所组成, 这其中并不包括谱带中其他分子的运动。虽然载气或载液是构成流动相的主体物质, 而且谱带中组分分子的运动还更多受谱带中载气分子或载液分子运动的影响, 不过, 包括载气分子或载液分子在内的其他流动相分子在谱带中只是在进行着一种动态的更替变化, 它们的运动并不体现在谱带的运动之中。谱带是一个宏观概念, 其在色谱柱中的移动是对谱带中组分分子运动的整体效果的

*通讯作者, Email: zhangxin@tsingtao.com.cn

一种体现, 谱带的移动速度 v 代表组分在沿色谱柱方向上移动的平均速度。

谱带的变化是一切色谱现象发生的基础, 对色谱变化规律的研究必须以对谱带的分析为出发点。

色谱法以柱色谱最具代表性。柱色谱是使用最多、最广泛的一种色谱法, 色谱研究通常也是以柱色谱为主。

1 谱带的定义

既然谱带是指含组分的这部分流动相, 那么在柱色谱中, 一定体积的流动相在色谱柱中必然会占据一定柱长的形式存在。尽管如此, 还是可以分别在两种形式下来定义谱带。

定义1: 指在某一时刻, 含有一个组分的流动相在色谱柱中形成的物质带。这是最具直观意义的谱带, 可以称其为“直观谱带”。该谱带的长度 l 就是含有组分的流动相直接在色谱柱中占据的一段柱长。如果可能, 甚至可以用尺子对其谱带长度 l 进行测量。该谱带的特点是“同时不同处”, 即在色谱柱中同一时刻出现, 但谱带的不同位置在色谱柱中所处的位置却不相同。

色谱法的创始人俄国植物学家茨维特在分离植物色素时, 在装有碳酸钙固定相的玻璃管中看到的不同颜色的色带, 就是植物色素形成的直观谱带。

定义2: 指在色谱柱中某一位置处(指色谱柱的横截面处), 含有一个组分的流动相在按照先后顺序经过该位置的过程中所形成的物质带。如果要作图, 该谱带就是含有组分的这部分流动相经过色谱柱一定位置处的积分。在一根色谱柱中, 只要操作条件不发生变化, 则色谱柱一定位置的条件就是一定的, 因此该谱带可以在相同的条件下形成。该谱带的特点是“同处不同时”, 即谱带形成于色谱柱同一位置处, 但谱带不同位置形成的时间却不相同。该谱带是通过一定的分析后才确定的, 可以称其为“分析谱带”。

如果一条分析谱带经过色谱柱某一位置的时间为 W , 该谱带移动的速度为 v , 则其谱带长度 l 为:

$$l = Wv \quad (1)$$

如果分析谱带的谱带长度为 l , 色谱柱一定位置处横截面流动相所占的面积为 A_c , 那么分析谱带中流动相的体积 V 为:

$$V = lA_c \quad (2)$$

图1是在色谱柱一定位置处形成的一条分析谱带的流动相的积分图。

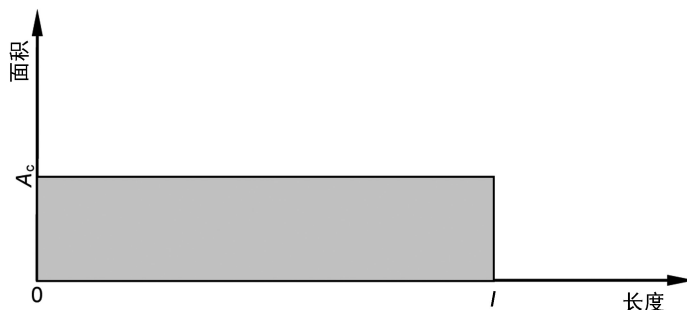


图1 分析谱带流动相的积分图

阴影部分的面积就是分析谱带中流动相的体积

2 色谱图

从进样开始, 试样中的各组分经色谱柱分离随流动相依次流出色谱柱, 经检测器转换为电信号, 然后用记录仪将各组分在流动相中的浓度变化记录下来, 即得色谱图, 也称色谱流出曲线, 见图2。色谱图是以组分的浓度变化作为纵坐标, 流出时间作为横坐标。

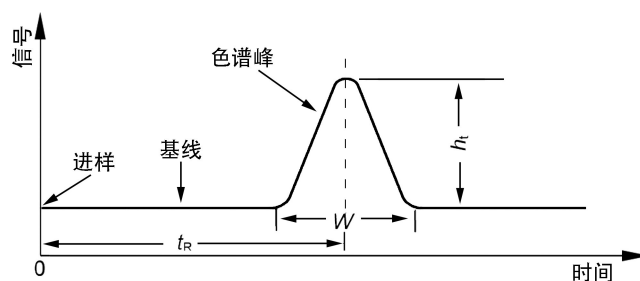


图2 色谱图

在色谱图中, 色谱峰的峰底宽 W 代表含有组分的流动相经过检测器检测位置的时间; 色谱峰峰高 h 的变化过程, 则代表含有组分的流动相在经过检测器检测位置的过程中, 组分在流动相中浓度或量的变化过程。图2中的 h 指色谱峰的最大峰高。

很明显, 色谱图中的色谱峰是含有组分的流动相在经过检测器的检测位置处形成的。

3 谱带与色谱图中的色谱峰之间的关系

根据分析谱带的定义, 如果在一根长度为 L 的色谱柱出口处(即 L 位置)的一条分析谱带按照时间来进行积分, 可得图3。

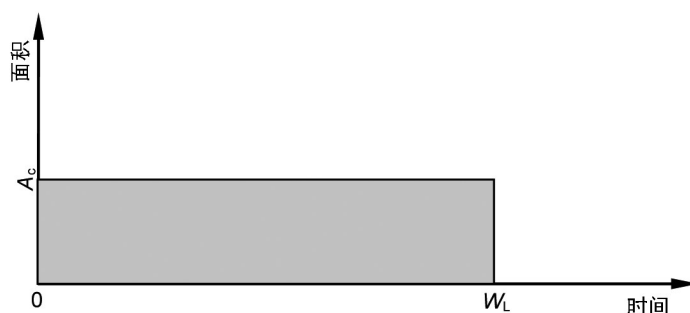


图3 色谱柱出口处分析谱带中流动相的时间积分图

图3中 W_L 指分析谱带经过色谱柱出口位置处的时间, 其中阴影部分就是分析谱带中流动相随时间变化的积分。

将图3与图2进行对照, 发现组分在色谱柱出口处的分析谱带与色谱峰之间存在着相互对应的关系。如果在理想条件下, 检测器能直接对色谱柱出口处的流动相进行检测, 那么图3中的 W_L 与图2中的 W 是指同一个时间, 而图3中组分在分析谱带中浓度或量随时间变化的过程则形成了图2中组分色谱峰峰高 h 随时间变化的过程。

由此可以确定: 色谱图中的色谱峰在一定程度上是对组分在色谱柱出口处形成的分析谱带的体现。

在长度为 L 的色谱柱的出口处, 如果组分分析谱带移动的速度为 v_L , 该组分在色谱图中色谱峰的峰宽为 W , 通过式(1), 则其分析谱带的长度 I_L 为:

$$I_L = v_L W \quad (3)$$

色谱图中色谱峰的分离情况, 反映的也是组分在色谱柱出口的分析谱带之间分离的情况。相互分离的色谱峰, 表示组分的分析谱带已完全分离; 未分离的色谱峰, 表示组分的分析谱带还处于一定的重叠状态。

虽然直观谱带具有直观性, 不过用其来研究色谱现象是很困难的。首先, 在色谱柱的不同位置, 一些色谱条件是不相同的(例如压强、流体的流速等), 而不相同的色谱条件对组分运动产生的影响程度必然不相同, 显然, 组分在直观谱带中的运动状态很复杂。其次, 直观谱带的特点决定了谱带是按照先后顺序离开色谱柱出口的, 这样在某一时刻, 可能谱带中的一部分已离开了色谱柱, 而谱带中的另一部分仍在色谱柱中运动。另外, 利用色谱图无法反映直观谱带的情况, 甚至也没有其他方便分析的方法能把直观谱带体现出来。这些因素决定了很难把直观谱带用于色谱分析, 这种情况至少当前是如此。

因为研究色谱现象只有通过色谱图来进行, 而组分在色谱图中的色谱峰在一定程度上又是对组分在色谱柱出口形成的分析谱带的反映, 而且一般理解的组分在色谱柱中的分离也都是指分析谱带的分离, 所以对色谱规律的研究必须以分析谱带为基础。

在色谱法中, 如果不作特殊说明, 则谱带都是指分析谱带。

如果检测器能直接对色谱柱出口位置的分析谱带进行检测, 则色谱图中的色谱峰就是对分析谱带的反映。不过, 实际情况很难如此。

首先, 色谱仪的结构决定了色谱柱出口的位置与检测器的检测位置一般都存在一定的距离, 而且色谱柱内部空间的结构与检测器内部空间的结构也存在着差异。色谱柱内部的空间一般相对比较狭小, 而检测器内部的空间则比较开阔。其次, 色谱柱设置的条件与检测器设置的条件也往往不相同。这样, 在流动相从色谱柱出口位置进入检测器的过程中, 组分在流动相中发生的一些变化是无法避免的。这些变化会使组分在色谱柱出口的分析谱带中的情况与其在检测器流动相中的情况存在一定的差异。由于色谱图中的色谱峰反映的是流动相经过检测器时组分在流动相中的情况, 因此, 色谱图中的色谱峰并不能直接反映出分析谱带的实际情况。

尽管色谱峰不能反映色谱柱出口的分析谱带的实际情况, 但是含有组分的流动相经过检测器的情况毕竟是由该谱带在离开色谱柱出口后又经过一定的变化而来的, 它们两者之间发生的变化不仅存在着一定的联系, 而且还是有一定规律可循的。可以确定, 检测器离色谱柱出口越近、检测器内部结构与色谱柱出口处的结构越接近且两者的操作条件也越一致, 则组分色谱峰所反映出的情况与组分在色谱柱出口的分析谱带中的情况就越接近。

如果流动相离开色谱柱出口后的流速很慢, 那么就会延长谱带中的流动相从色谱柱出口到达检测器的时间, 这无疑会增加柱后组分在流动相中异常扩散的程度。组分柱后异常扩散的太明显, 不仅会使色谱峰加宽, 也会使色谱峰的形状发生异变, 这都会增加色谱分析的难度。只要适当提高色谱柱出口至检测器之间流动相的流速, 缩短最终谱带中流动相从色谱柱出口到达检测器的时间, 就可以起到减小组分柱后异常扩散程度的作用。

提高载气流速可以相应提高柱后流动相的流速。不过, 载气流速的选择更多是从分离效果的方面来考虑, 采取提高载气流速来达到提高柱后流动相流速的方法在实际运用中会受到很大的限制。除此以外, 还可以采用在色谱柱出口处沿流动相运动方向增加辅气(或者其他辅配气体, 如FID检测器中的空气和 H_2)的方法, 也可以起到提高柱后流动相流速的作用。只要选择合适的辅气流速, 谱带相应位置处的流动相从色谱柱出口运动到检测器的时间很短, 则组分在流动相中发生柱后异常扩散的程度就会很小, 对色谱峰产生的影响也就不明显。在一般的分析中, 很短的时间间隔甚至可以忽略。这样, 基本可以认为组分在色谱图中色谱峰的峰底宽 W 与谱带离开色谱柱出口处的时间相等。

当然, 辅气对谱带具有一定的稀释作用, 这会降低流动相通过检测器时组分在流动相中的浓度。从这一点考虑, 对于浓度型检测器, 虽然辅气不会明显改变色谱峰的峰底宽 W , 但是其会对组分色谱峰的峰高 h 产生一定的影响; 对于质量型检测器, 因为辅气不会改变组分在流动相中质量变化的速度, 所以辅气的运用既不会改变色谱峰的峰底宽 W , 也不会对色谱峰的峰高 h 产生影响。

由于辅气的使用不会影响组分的分离状态,对色谱峰峰宽 W 的影响也不明显,而且色谱定量分析使用的都是相对法,辅气对组分浓度的影响又是相对的,其对定量分析产生的影响也不大,因此,可以直接利用色谱图来对色谱现象作一般性的分析和研究。

4 色谱柱中的谱带和色谱峰

既然组分在色谱图中的色谱峰是对其在色谱柱出口处的分析谱带的一种反映,如果设想在一条色谱柱的任意位置处都存在一个检测器,那么组分在色谱柱任意位置处形成的分析谱带都会有一个色谱峰与之相对应。该色谱峰的峰宽 W 就是谱带形成的时间,峰高 h 变化的过程则代表组分在谱带中浓度或量的变化过程。

不止色谱图中的色谱峰,只要根据分析谱带分析出来的色谱峰,都可以称其为色谱峰。

4.1 试样带

在一般的情况下,组分是以试样的形式进入色谱柱中的,由此提出“试样带”这一概念。在色谱法中,“试样带”是指含有试样的这部分流动相。以气相色谱法为例,由于载气是流动相运动的主体,在色谱分离系统还没有对试样中的组分分子在流动相中的运动发生作用的情况下,在进样时间 t 内,载气会按照自己的运动状态不断携带着试样从色谱柱入口处进入色谱柱,如果载气在色谱柱入口处的流速为 u_0 (线速度),则含有试样的流动相在色谱柱入口处形成的试样带的长度 l_i 为:

$$l_i = u_0 t \quad (4)$$

从式(4)可知,试样带实际上是把试样当作一个整体来看待,它的形成过程与组分分析谱带的形成过程完全相同。其实,试样带是不同组分谱带的完全重叠体,它代表试样中组分分离的起始状态。试样带中所有组分的谱带长度均为 l_i 。 l_i 越短,表示试样中组分混合的距离就越短,对分离就越有利。

进样时间 t 是指含有试样的流动相进入色谱柱的时间,即试样带形成的时间;载气在色谱柱入口处的流速 u_0 就是进样速度;试样带中流动相的体积 V_i 就是进样量。

根据式(2)、式(4),试样的进样量 V_i 为:

$$V_i = l_i A_c = u_0 t A_c \quad (5)$$

4.2 初始谱带和基础色谱峰

4.2.1 初始谱带

在一般情况下,当长度为 l_i 的试样带正式进入色谱柱后,主要是固定相表面对在流动相中运动的组分分子的阻碍,使组分分子在流动相中的运动速度变慢,这样,试样中的各组分在色谱柱入口处随之会分别形成其受分离系统作用后的第一条分析谱带,即“初始谱带”。

严格地说,进入色谱柱后,组分分子由进入色谱柱前的运动状态完全达到分离系统作用之后的运动状态需要一个过程,这个过程并不能在色谱柱入口位置处立即完成。不过可以肯定,该过程在色谱柱中会在很短的时间内快速完成,其与组分在整个色谱柱中的运动过程相比,甚至可以被忽略。从方便分析的角度考虑,可以认为组分在色谱柱入口处的运动状态已完全达到了分离系统作用之后的运动状态。

试样的进样时间 t 实际上也是试样中的各组分进入色谱柱中的时间。当试样进入色谱柱后,只要分离系统对不同组分分子在流动相中的运动产生了不同的影响,它们的谱带在色谱柱中移动的速度 v 就不相同。当在色谱柱入口处,如果一条初始谱带的移动速度为 v_0 ,根据式(1),则该初始谱带的长度 l_0 为:

$$l_0 = v_0 t \quad (6)$$

尽管各组分在试样带中的谱带长度相同,但是根据式(6),试样进入色谱柱后,不同组分的初始谱带的长度 l_0 并不一定相同。在色谱柱中移动越快的组分,其初始谱带就越长;在色谱柱中移动越慢

的组分, 其初始谱带就越短。

一个试样中只有初始谱带长度 l_0 不相同的组分才有可能被色谱柱分离。初始谱带的长度 l_0 相差越大, 谱带之间移动速度 v_0 的差距也越大, 组分就越容易分离。

这一现象可以用一个形象的实例来说明。在同一条起跑线前, 人数相等、纵向列队长度也相同的两支队伍(试样带的长度 l_0) 准备赛跑。两个队伍(组分)的实力不同, 其中一个队伍的人跑得快, 一个队伍的人跑得慢, 但同队的人实力相当。当发令枪声一响, 排在两队最前面的两个人并排跨过起跑线, 比赛开始(开始进样)。之后按照一定的频速(进样速度 u_0), 两队的人依据在队伍中的顺序也以两俩一对的方式离开起跑线。当进行到最后一排的两个人同时跨过起跑线的时刻时(进样结束), 可以发现跑道上两列队伍的长度(初始谱带长度 l_0) 是不一样的, 跑得快的那列队伍比跑得慢的那列队伍要长。两列队伍的实力(谱带的移动速度 v_0) 相差得越悬殊, 两列队伍的长度差距就越大, 而且在之后的比赛中, 队伍长的还越容易超过队伍短的而取得比赛的胜利(组分分离)。

4.2.2 基础色谱峰

按照色谱峰的形成过程可以知道, 初始谱带也会有一个色谱峰与之相对应, 该色谱峰是组分在色谱柱中形成的第一个色谱峰, 也是色谱峰变化的开始, 可以称之为“基础色谱峰”, 简称“基峰”。基峰宽度 W_0 就是组分进入色谱柱的时间, 即试样的进样时间 t ,

$$W_0 = \frac{l_0}{v_0} = t = \frac{l_i}{u_0} \quad (7)$$

4.3 试样带与初始谱带的关系

虽然试样带和试样中组分的初始谱带都被认为是在色谱柱入口处形成的, 但两者在形成的先后次序和条件上是有区别的。

长度为 l_i 的试样带被认为是试样在正式进入色谱柱之前形成的, 其形成于分离系统发生作用之前; 而长度为 l_0 的初始谱带被认为是试样中的组分在进入色谱柱中后形成的, 其形成于分离系统发生作用之后。

对于这一点区别, 可以这样理解: 试样在色谱柱入口处先形成了长度为 l_i 的试样带, 这同时也是试样中各组分谱带的长度, 然后试样带按照先后顺序依次从色谱柱的入口进入色谱柱并与分离系统发生作用, 随之试样中不同组分在流动相中的运动状态发生了相应的改变, 各组分又分别在色谱柱入口处内形成了长度为 l_0 的初始谱带。

如果在色谱柱入口处画一道界线, 那么可以认为长度为 l_i 的试样带形成于界线之前, 而长度为 l_0 的初始谱带则形成于界线之后。虽然这两者的形成有前外后内之分别, 但是又可以认为它们都形成于色谱柱的入口位置处。尽管可以认为试样带形成于色谱柱之外, 但其形成肯定与色谱柱有关。

根据式(7)可以得到下面一个关于试样带与初始谱带的关系式:

$$\frac{l_i}{l_0} = \frac{u_0}{v_0} \quad (8)$$

4.4 最终谱带和终极谱带

当组分运动到色谱柱出口处, 组分会形成最后一条受分离系统作用的谱带, 可以称其为“最终谱带”。在一般情况下, 可以认为该谱带对应的色谱峰的峰宽 W_L 与色谱图中所对应的色谱峰峰宽 W 相等, 即 $W_L = W$, 其谱带长度 l_L 通过式(3)来计算。

在色谱柱出口处, 当最终谱带摆脱了分离系统的作用后, 由于载气的流速要快于谱带移动的速度, 因此在 W 时间中, 载气又会按照自己的运动状态不断携带着组分离开色谱柱出口处。如果载气在色谱柱出口位置处的流速为 u_L , 则组分在这一过程中形成的谱带长度 l_L 为:

$$l_L = u_L W \quad (9)$$

该谱带是组分与色谱柱有关的最后一条谱带,可以称其为“终极谱带”。组分在色谱图中的色谱峰是由终极谱带经过了柱后变化形成的。

如果在色谱柱出口位置处画一道界线,可以认为长度为 l_L 的最终谱带形成于界线之前,而长度为 l_L 的终极谱带形成于界线之后。虽然这两条谱带的形成有前内后外之分别,但是又可以认为它们都形成于色谱柱的出口位置处。最终谱带和终极谱带有如下关系:

$$\frac{I_L}{l_L} = \frac{v_L}{u_L} \quad (10)$$

可以认为终极谱带是最终谱带按照一定的比例经过载气稀释后得到的。

在通常情况下,一个组分在一条色谱柱中的最终谱带与终极谱带相比,最终谱带的谱带长度 l_L 比终极谱带的谱带长度 l_L 要短;它们经过色谱柱出口位置处的时间均为 W ;在谱带对应的位置处,组分在最终谱带中的浓度要高于其在终极谱带中的浓度,但组分在谱带中的量是不变的。

对于最终谱带和终极谱带形成的色谱峰,在浓度型检测器中,两峰的峰底宽 W 相等,但相对应位置处的峰高 h 不相等;在质量型检测器中,这两个色谱峰应该完全相同。

4.5 过程谱带和组分的载气谱带

当组分运动到色谱柱某一位置 x 处,会形成一条发生了相应变化的谱带,该谱带就是组分在色谱柱运动过程中的“过程谱带”。如果在色谱柱 x 位置处,过程谱带的长度为 l_x ,其移动的速度为 v_x ,则谱带在 x 处色谱峰的峰底宽 W_x 为:

$$W_x = \frac{l_x}{v_x} \quad (11)$$

如果设想组分在移动到色谱柱的 x 处之后,色谱系统立即停止了对流动相中组分分子运动的影响,而载气依旧保持着原先的运动状态,那么,组分在形成了过程谱带之后,载气会按照自己的运动状态不断携带着组分在该处又形成一条“组分的载气谱带”。如果载气在该位置处的流速为 u_x ,则组分的载气谱带的谱带长度 l_x 为:

$$l_x = u_x W_x \quad (12)$$

如果在色谱柱的 x 位置处画一道界线,则可以认为长度为 l_x 的谱带形成于界线之前,而长度为 l_x 的组分的载气谱带形成于界线之后。

其实,试样带和终极谱带都是组分的载气谱带,但与一般的组分的载气谱带不同,试样带和终极谱带都实际发生过,而一般组分的载气谱带并没有实际发生。虽然组分的载气谱带在色谱柱中没有实际出现,但是要了解不同谱带在色谱柱一定位置处的分离情况,就必须利用组分的载气谱带来分析。

5 结 语

在色谱界有一种观点:在理想的色谱条件下(指塔板数足够大),色谱峰没有峰底宽^[2]。

通过本文的分析可以知道:由于谱带是指含有组分的这部分流动相,而一定量的流动相必定会存在一定的体积,同时一定体积的流动相在经过色谱柱一定位置时又必然需要一定的时间,因此色谱峰肯定存在一定的峰底宽 W 。由此可以确定无论在何种情况下,即便是在理想的色谱条件下,没有峰底宽的色谱峰也根本是不存在的。

参 考 文 献

- [1] 张 新. 新解色谱现象. 大学化学, 2017, 32 (4), 68.
- [2] 袁倚盛. 浅谈色谱. 第1版. 北京: 化学工业出版社, 2010: 81.