

液相色谱法

liquid chromatography

用液体作为流动相的色谱法。1903年俄国化学家 M.C.茨维特首先将液相色谱法用于分离叶绿素。

原理和分类 液相色谱法的分离机理是基于混合物中各组分对两相亲和力的差别。根据固定相的不同，液相色谱分为液固色谱、液液色谱和键合相色谱。应用最广的是以硅胶为填料的液固色谱和以微硅胶为基质的键合相色谱。根据固定相的形式，液相色谱法可以分为柱色谱法、纸色谱法及薄层色谱法。按吸附力可分为吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱和凝胶渗透色谱。近年来，在液相柱色谱系统中加上高压液流系统，使流动相在高压下快速流动，以提高分离效果，因此出现了高效（又称高压）液相色谱法。

①液固吸附色谱。高效液相色谱中的一种，是基于物质吸附作用的不同而实现分离。其固定相是一些具有吸附活性的物质如硅胶、氧化铝、分子筛、聚酰胺等。

②液液分配色谱法。基于被测物质在固定相和流动相之间的相对溶解度的差异，通过溶质在两相之间进行分配以实现分离。根据固定相与流动相的极性不同，分为正相色谱和反相色谱。前者是用硅胶或极性键合相为固定相，非极性溶剂为流动相；后者是硅胶为基质的烷基键合相为固定相，极性溶剂为流动相，适用于非极性化合物的分离。

③离子交换色谱法。基于离子交换树脂上可电离的离子与流动相中具有相同电荷的溶质离子进行可逆交换，依据这些离子对离子交换基具有不同的亲和力而实现分离。薄壳型离子交换树脂柱效高，主要用来分离简单的混合物；多孔性树脂进样容量大，主要用来分离复杂混合物。

④凝胶渗透色谱法。又称为尺寸排阻色谱法。1959年首先用于生物化学领域。以溶剂为流动相，多孔填料（如多孔硅胶、多孔玻璃）或多孔交联高分子凝胶为分离介质的液相色谱法。当混合物溶液入凝胶色谱柱后，流经多孔凝胶时，体积比多孔凝胶孔隙大的分子不能渗透到凝胶孔隙里去而从凝胶颗粒间隙中流过，较早地被冲洗出柱外，而小分子可渗透到凝胶孔隙里面去，较晚地被冲洗出来，混合物经过凝胶色谱柱后就按其分子大小顺序先后由柱中流出达到分离的目的。用凝胶渗透色谱的优点是：分离不需要梯度冲洗装置；同样大小的柱能接受比通常液相色谱大得多的试样量；试样在柱中稀释少，因而容易检测；组分的保留时间可提供分子尺寸信息；色谱柱寿命长。它的缺点是：不能分离分子尺寸相同的混合物，色谱柱的分离度低；峰容量小；可能有其他保留机理起作用时引起干扰。凝胶渗透色谱法为测定高聚物分子量和分子量分布提供了一个有效的方法，此外还可用来分离齐聚物、单体和聚合物添加剂等。

⑤离子色谱法。采用柱色谱技术的一种高效液相色谱法，样品展开方式采用洗脱法。根据不同的分离方式，离子色谱可以分为高效离子色谱、离子排斥色谱和流动相离子色谱3类。高效离子色谱法使用低容量的离子交换树脂，分离机理主要是离子交换。离子排斥色谱法用高容量的树脂，分离机理主要是利用离子排斥原理。流动相离子色谱用不含离子交换基团的多孔树脂，分离机理主要是基于吸附和离子对的形成。

离子色谱仪由淋洗液贮存器、泵、进样阀、分离柱、抑制柱、电导检导器和数据处理单元等组成。离子色谱仪最重要的部件是分离柱，装有离子交换树脂。抑制柱是抑制型离子色谱仪的关键部件，其作用是将淋洗液转变成低电导部

分，以降低来自淋洗液背景电导，同时将样品离子转变成其相应的酸或碱，以增加其电导。分离阴离子，抑制柱填充强酸性阳离子交换树脂；分离阳离子，抑制柱填充强碱性阴离子交换树脂。检测器分通用型检测器与专用型检测器。前者如电导检测器，对检测池中所有离子都有响应；后者如紫外-可见分光光度计，对离子具有选择性响应。

离子色谱法具有快速、灵敏、选择性好和同时测定多组分的优点。尤其对于阴离子的测定，离子色谱的出现是分析化学中的一项突破性的新进展。离子色谱法主要用于测定各种离子含量，广泛应用于水、纸浆和漂液、食品分析、生物体液、钢铁和环境分析等各个领域。

设备 高效液相色谱仪由输出泵、进样装置、色谱柱、梯度冲洗装置、检测器及数据处理和微机控制单元组成。输出泵的功能是将冲洗剂在高压下连续不断地送入柱系统，使混合物试样在色谱中完成分离过程。常用的进样方式有3种：注射器隔膜进样、阀进样和自动进样器进样。色谱柱的功能是将混合物中各组分分离。梯度冲洗又称溶剂程序，通过连续改变冲洗剂的组成，改善复杂样品的分离度，缩短分析周期和改善峰形，其功能类似于气相色谱中的程序升温。检测器的功能是从色谱柱中流出的已经分离的组分显示出来或转换为相应的电信号，主要有紫外吸收检测器、荧光检测器、电化学检测器和折光示差检测器，其中以紫外吸收检测器使用最广。现代化的仪器都配有计算机，以实现自动处理数据、绘图和打印分析报告。