

## van Deemter方程在仪器分析教学中的应用：新型核壳固定相

边思名, 罗斯杰, 欧俊杰\*

西北大学化学与材料科学学院, 西安 710127

**摘要:** 高效液相色谱(HPLC)是重要的仪器分析方法之一, 然而大学仪器分析课程对于其固定相仅是粗略讲解, 不能使学生将van Deemter方程理论知识与色谱柱固定相实际结构切实联系起来。本文介绍了一类新型核壳固定相, 并从核壳型固定相的发展沿革、分离原理、结构优势几个方面分析了其教学应用。便于学生理解van Deemter方程应用并激发学生的学习兴趣。

**关键词:** 核壳固定相; 仪器分析; 高效液相色谱; van Deemter方程; 教学应用

**中图分类号:** G64; O6

## Application of van Deemter Equation in Instrumental Analysis Teaching: A New Type of Core-Shell Stationary Phase

Siming Bian, Sijie Luo, Junjie Ou \*

College of Chemistry and Materials Science, Northwest University, Xi'an 710127, China.

**Abstract:** High performance liquid chromatography (HPLC) is one of the important instrument analysis methods. However, in university-level instrumental analysis course, the stationary phase is often explained only briefly, which prevents students from effectively linking the theoretical concepts of the van Deemter equation with the practical structure of chromatographic stationary phases. This article introduces a new type of stationary phase—core-shell stationary phase—and analyzes its application from the development history, separation principle, and structural advantages. Not only does it facilitate students to understand the application of the van Deemter equation, but it can also stimulate their learning interest and exploratory spirit.

**Key Words:** Core-shell stationary phase; Instrumental analysis; High performance liquid chromatography; van Deemter equation; Pedagogical applications

色谱(chromatography)是当下应用最多的分离方法之一, 在多个科学领域中均得到了广泛的应用。其中, 高效液相色谱(HPLC)作为色谱科学领域中的一个重要的分支, 相比于气相色谱与经典液相色谱, 具有高分离效率、短分析周期等优点, 得到了更广泛的应用与关注。

大学仪器分析教材<sup>[1]</sup>对HPLC的分离原理进行了详尽的介绍, 而对于固定相的介绍仅限于其分类、简单分离原理与应用范围, 对于每种分类下的固定相也只进行了简单介绍, 并未将其结构与色谱柱效等性质以直观的方式联系起来, 使学生“知其然, 而不知其所以然”, 不能将van Deemter方程中的各项影响因素与固定相的孔道结构联系起来。

核壳型固定相作为近年来开发出的新型固定相, 具有粒径均匀、柱效高、孔体积低等特点, 在

色谱分析中具有较高的应用价值和研究前景。本文从核壳型固定相的发展沿革、结构优势等方面进行论述，从van Deemter方程的角度，以直观的方式将固定相的结构与分离性能联系起来，最后对其在本科教学中的应用做出设想。

## 1 核壳型固定相的介绍

### 1.1 核壳型固定相的发展沿革

核壳型固定相这一概念由Horvath<sup>[2]</sup>等在1969年提出，其结构与传统的全多孔微球固定相不同，由一个实心核及包裹在核外的多孔壳组成，其结构如图1所示：

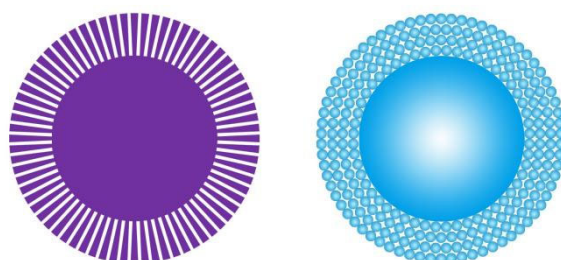


图1 不同孔道结构的核壳型硅胶填料<sup>[3]</sup>

最初的核壳型固定相的粒径大约为40  $\mu\text{m}$ ，壳层厚度约为1  $\mu\text{m}$ 。随着后人逐步开发，第二代核壳型固定相于二十世纪九十年代问世，其实心直径为5–7  $\mu\text{m}$ ，壳层厚度为0.5–1  $\mu\text{m}$ 。至2006年，Advanced Material Technologies公司研发出了实心直径为2  $\mu\text{m}$ 左右，厚度为0.5–1  $\mu\text{m}$ 的第三代核壳型固定相，且粒度较前几代更加均匀(如图2所示)。除粒径的改变外，人们还根据不同需求，通过在制备过程中加入致孔剂、制备后扩孔等方式对壳层的厚度和孔径大小进行设计和调控。除此以外，人们还在核壳型固定相的壳层上修饰各类基团，以满足对不同物质的分离需求，譬如采用4-氯-3-甲基苯基氨基甲酸酯涂覆核壳二氧化硅分离手性异构体<sup>[4]</sup>，或用沸石咪唑酸盐骨架(ZIF-8)沉积在核壳二氧化硅表面提高其分离性能<sup>[5]</sup>；此外还有学者在核壳固定相的孔道内壁进行修饰，以改善固定相的性能，譬如将TiO<sub>2</sub>纳米团簇填入核壳二氧化硅的孔隙以提高碱性化合物的分离柱效<sup>[6]</sup>。

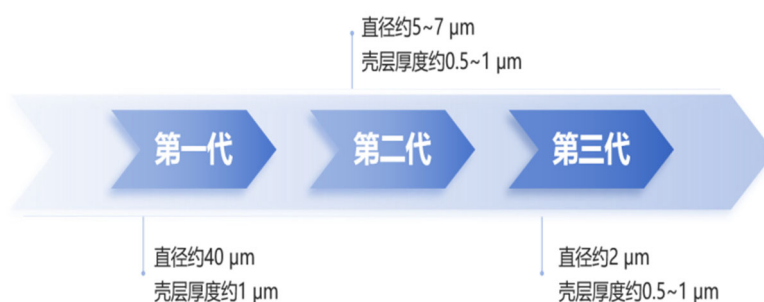
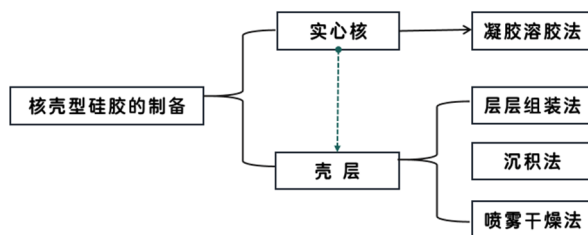


图2 核壳型硅胶的发展历程

如图3所示，核壳型固定相的制备主要分为两个过程。以核壳型硅胶为例，第一步是制备无孔的实心核，常用溶胶凝胶法制备，即在碱性条件下，通过烷氧基硅烷水解后产生的原硅酸，在搅拌的条件下交联生成一定粒径的实心球。第二步是在实心核表面组装一定厚度的壳层，目前常用的组装方法有层层组装法、喷雾干燥法和沉积法，其中以层层组装法最为成熟。其原理为：在带负电的硅胶实心球表面吸附一层带正电的聚电解质，再通过吸附一层带负电的硅溶胶，以此方式循环。最后对微球进行焙烧，生成具有一定壳层厚度的核壳型固定相<sup>[3]</sup>。

图3 核壳型硅胶的制备方法<sup>[7]</sup>

## 1.2 核壳型固定相结构优势

van Deemter 方程<sup>[8]</sup>表明了塔板高度( $H$ )与流动相线速( $u$ )以及影响  $H$  的三项因素( $A$ 、 $B$ 、 $C$ )之间的关系, 其简化式为:

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

式中  $A$ 、 $B$ 、 $C$  均为常数,  $u$  表示流动相的线速度。

与传统的硅胶微球固定相相比, 核壳型固定相具有粒径均匀、比表面积高等优势。本文试从 van Deemter 方程中  $A$ 、 $B$ 、 $C$  项和  $H-u$  曲线的角度分析核壳型固定相的结构优势, 并分析该优势对柱效的具体贡献, 以便学生更好地理解 and 掌握。以表 1 为例, 结合  $A$ 、 $B$ 、 $C$  项的具体数值分析核壳结构的优势(表 1 中的固定相均填充于  $50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm I.D.}$  色谱柱)。表中 Kinetex Core-Shell 和 Acentis Express Fused-Core C18 是两种核壳固定相; 而 Hypersil Gold C18 与 Waters Acquity BEH (亚乙基桥连杂化颗粒) C18 则是全多孔固定相。相比于核壳固定相, 全多孔固定相不具有实心核, 因而其孔道遍布整个颗粒内部。

表1 不同色谱填料的 van Deemter 方程中  $A$ 、 $B$ 、 $C$  的拟合数值<sup>[9]</sup>

色谱柱	$A$	$B$	$C$
2.6 $\mu\text{m}$ Kinetex Core-Shell	4.736	0.038	0.648
2.7 $\mu\text{m}$ Acentis Express Fused-Core	3.063	0.065	6.660
1.7 $\mu\text{m}$ Waters Acquity BEH	3.724	0.057	3.081
1.9 $\mu\text{m}$ Hypersil Gold	4.462	0.060	3.607

下面对这几种固定相的  $A$ 、 $B$ 、 $C$  项进行对比分析, 并从结构角度分析新型核壳固定相的分离优势。

(1)  $A$  项涡流扩散项。这是由于分离组分在色谱柱内运动路径不同, 试样分子之间存在路径差导致的。涡流扩散项数值与固定相的平均粒径大小和填充物的均匀性等因素有关, 可以通过降低固定相粒径  $d_p$  或降低不规则因子  $\lambda$  使  $A$  变小, 从而提高柱效。

由表 1 可得, Acentis Express Fused-Core 核壳固定相的  $A$  项最小, 其  $A$  值为 3.063, 小于两种全多孔颗粒(Hypersil Gold 的  $A$  值为 4.462; Waters Acquity BEH 的  $A$  值为 3.724), 但另一种核壳固定相却没有这种优势。这是因为影响  $A$  项的主要因素是填充物的粒径大小, 若填料颗粒的粒径小而且装填均一, 则色谱柱内填料颗粒之间孔隙相近而连贯, 试样分子通过填料的路径相似, 差值也较小, 具有较小的  $A$  项; 相反地, 若填料颗粒粒径较大或装填不均匀, 则试样分子“走”过的路径不再相似而差异较大, 导致涡流扩散项较大, 同种试样分子流出色谱柱的时间分散, 在宏观角度造成谱带展宽。对于上述几种填料颗粒, 其粒径相差不大, 故其  $A$  项无显著差异。

(2)  $B$  项分子扩散项。由于组分在色谱柱中的分布存在浓度梯度, 受热力学影响, 中间高浓度的

溶质分子有向两侧低浓度区域扩散的倾向。分子的纵向扩散无法避免，但可以通过减小试样在色谱柱中的停留时间——即增大流速 $u$ ，来减小分子扩散对柱效的影响。

由表1可知，在以雌二醇为分析物的情况下，与全多孔固定相Hypersil Gold ( $B$ 值为0.060)、Waters Acquity BEH ( $B$ 值为0.057)相比，Kinetex Core-Shell核壳固定相具有最小的 $B$ 值( $B$ 值为0.038)，这是因为核壳型固定相实心核的存在使填料孔体积减小，能有效减小柱压降，提高流动相流速。

(3)  $C$ 项传质阻力项。 $C$ 项可分为固定相传质阻力( $C_s$ )和流动相传质阻力( $C_m$ )，而流动相传质阻力( $C_m$ )又包括流动的流动相中的传质阻力( $C_{mm}$ )和滞留的流动相中的传质阻力( $C_{sm}$ )。

首先介绍流动的流动相中的传质阻力。当流动相流经色谱柱内填充物时，靠近填充物的流动相流速比在流路中间的流动相流速略慢，这就导致了流动相内流速不均匀。这种传质阻力与固定相的粒度 $d_p$ 的平方成正比，与试样分子在流动相中的扩散系数 $D_m$ 成反比。

而滞留的流动相中的传质阻力则与填料颗粒表面孔道深度密切相关。由于固定相的多孔性会导致某部分流动相滞留在局部，而滞留在固定相微孔内的流动相一般是停滞不动的。流动相中的试样分子要与固定相进行质量交换，必须首先扩散到滞留区。如果固定相的微孔既小又深，传质速度就慢，对峰的扩展影响就大。滞留的流动相中的传质阻力数值与颗粒微孔中被流动相所占据部分的分数及容量因子有关。固定相颗粒愈小，微孔孔径愈大，传质速率就越快，柱效就越高。

由表1数据可得，在以雌二醇( $M_w = 272 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )为分析物的情况下，Kinetex Core-Shell核壳固定相 $C$ 项数值为0.648，比全多孔固定相Hypersil Gold和Waters Acquity BEH的 $C$ 项3.607与3.081低近80%，这表明在传质阻力项方面，核壳固定相相比于其他固定相具有明显的优势。

相比于全多孔固定相，核壳固定相的优势主要体现在滞留的流动相传质阻力这一项中。当流动相流经固定相时，液体会首先填入固定相表面的孔道而形成一层液膜，这层液膜的厚度取决于固定相颗粒表面的孔道深度。易于想象，当孔道深度越深时，液体填充也就越深，固定相表面液膜厚度则越厚；反之，孔道越浅则液膜越薄。当流动相流经固定相时，必须首先扩散到液膜处(即滞留区)，此时固定相中溶质分子脱附至流动相，而流动相中溶质分子则被固定相吸附，以维持两相中溶质分子分配平衡。在全多孔固定相中，由于微孔贯穿于整个固定相颗粒，故流动相在其表面形成的液膜较厚，流动相需扩散至孔道深处，扩散路径长，故其传质阻力大；而新型核壳固定相由于具有实心的核阻挡了流动相进入固定相颗粒内部，流动相液膜的厚度仅为壳层厚度，减小了溶质的扩散距离，从而减小了流动相在固定相中的滞留时间，进而有效降低了流动相的传质阻力。大分子试样流动相具有较小的扩散系数，传质阻力是影响柱效的主要因素，因此新型核壳固定相对分离大分子试样有着较高的柱效。

如图4所示，通过动力学曲线来直观对比两种色谱柱的性能。将实验数据按最小二乘优化方法拟

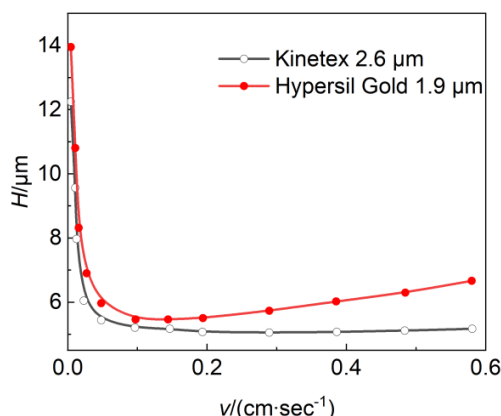


图4 两种固定相的 $H-u$ 曲线<sup>[9]</sup>

电子版为彩图

合到van Deemter方程中,以线速度为横坐标,理论塔板高度为纵坐标作图,即可得 $H-u$ 曲线。相比于气相色谱,高效液相色谱流动相为液体,组分的纵向扩散系数 $B$ 很小,流速 $u$ 较高,故纵向扩散相 $B/u$ 可以忽略。在 $H-u$ 曲线中,可近似认为 $H$ 与 $u$ 成线性关系,则 $A$ 项为截距,曲线截距越小,说明该色谱柱涡流扩散项越小; $C$ 项为斜率,曲线斜率越低,则说明该色谱柱传质阻力项越小。图4显示了理论塔板高度HETP ( $\mu\text{m}$ )与线速度( $\text{cm}/\text{sec}$ )的关系,从中我们能观察到, Kinetex Core-Shell的曲线更加平坦,这意味着核壳固定相具有更小的传质阻力项,直观地展现了核壳固定相的优异性能。

5  $\mu\text{m}$  Halo核壳颗粒填料和5  $\mu\text{m}$ 全多孔颗粒分离酚类物质色谱图如图5所示(50 mm长色谱柱)。结果表明,在3 min内10种化合物实现了基线分离,与全多孔颗粒相比,核壳颗粒表面积较小,因此其保留值略低,但核壳填料色谱柱峰更尖锐,代表其具有更高的分离效率。

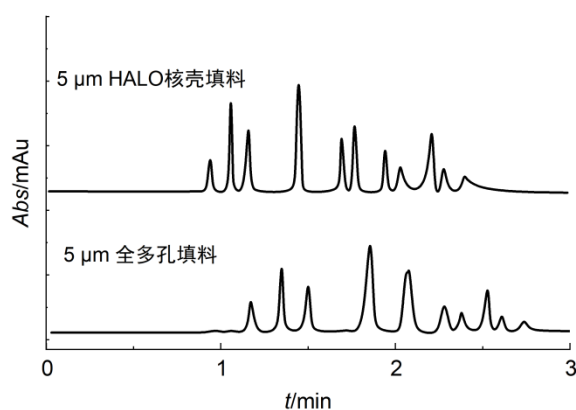


图5 两种固定相的分离色谱图<sup>[10]</sup>

## 2 核壳型固定相的教学应用

目前,绝大多数仪器分析教材对色谱固定相的描述仅停留在固定相的性质决定分离模式和固定相的尺寸(粒度、孔径、比表面积等)影响分离效率的阶段。对于学生而言没有直观的体会与理解,只能对这些内容死记硬背,导致在学习色谱理论过程中产生许多疑惑。

例如北京大学出版社第三版《仪器分析教程》中对于全多孔球形硅胶固定相的介绍<sup>[1]</sup>。教材指明其粒度均一、样品容量大,是当今液固色谱固定相的主体。但对于其具体结构却既无语言说明,又无图像示意;而至于这种固定相为何具有这些性质、这种性质从何处体现、性质与结构的联系均没有详细的说明。在学习这一部分内容时,学生常常将固定相的结构与van Deemter方程中的影响因素独立理解而无法达到融会贯通的效果。

本文在论述色谱固定相对柱效的影响时,从固定相的结构入手,引导学生进行直观的结构分析,更好地理解为何固定相的各项因素能够影响柱效。并且在课堂教学中通过引入以核壳型固定相为代表的新型固定相,让学生从图表中直观感受不同固定相的分离效率,领悟van Deemter方程中的各项影响因素。在本科教学中引入对核壳型固定相的探讨,既能在课堂讲解中以此为例,加强本科学生对知识的掌握程度,也能让学生在学的过程中了解到目前学科前沿领域的发展,在培养本科生综合素质方面有较为突出的成效。引入式学习不仅帮助学生拓宽了知识面,而且为学生提升了一定的科研知识储备,对于学生而言具有较好的引导意义,对于课程来说同样具有较高的借鉴价值。

## 3 结语

HPLC是色谱科学领域中的一个重要的分支,也是仪器分析教学中不可或缺的一部分,本文从速率理论的角度分析介绍了一种高效液相色谱中的固定相——新型核壳固定相,并以van Deemter方程的 $A$ 、 $B$ 、 $C$ 项为评价标准将其与传统的固定相比较,重点论述了其在减小传质阻力方面的优良特性。

除此之外，它还具有结构简单、造价低廉等特点，故可以作为一种合适的高效液相色谱固定相引入本科仪器分析课程教学。

#### 参 考 文 献

- [1] 张新祥, 李美仙, 李娜. 仪器分析教程. 第3版. 北京: 北京大学出版社, 2022: 405–407.
- [2] Horvath, C. G.; Preiss, B. A.; Preiss, S. R. *Anal. Chem.* **1967**, *39*, 1422.
- [3] 夏红军, 刘家玮, 白泉. 色谱, **2020**, *38* (4), 372.
- [4] Lomsadze, K.; Jibuti, G.; Farkas, T.; Chankvetadze, B. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1234*, 50.
- [5] Qu, Q.; Xuan, H.; Zhang, K.; Chen, X.; Ding, Y.; Feng, S.; Xu, Q. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1505*, 63.
- [6] Li, W.; Hui, Q.; Liu, R.; Zhao, X.; Tang, Z.; Huang, X.; Li, W.; Chen, X.; Xie, F.; Zou, W.; *et al.* *Microchim. Acta* **2020**, *187*, 328.
- [7] 欧俊杰, 邹汉法. 液相色谱分离材料——制备与应用. 北京: 化学工业出版社, 2016: 22–24.
- [8] van Deemter, J. J.; Zuiderweg, F. J.; Klinkenberg, A. *Chem. Eng. Sc.* **1956**, *5*, 271.
- [9] Oláh, E.; Fekete, S.; Fekete, J.; Ganzler, K. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217* (23), 3642.
- [10] Joseph, J. D.; Stephanie A. S.; Jason, M. L.; Joseph, J. K. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1258*, 76.