

气相色谱分析应用

王永华 编著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书较为系统地介绍了气相色谱分析的基本原理和应用技术。首先介绍了色谱技术的发展历程、分类方法和特点,然后详细介绍了气相色谱仪和气相色谱固定相、色谱基本关系式、气相色谱理论、毛细管柱气相色谱、气相色谱检测器、定性定量分析以及样品处理方法。

本书可作为高等院校气相色谱相关专业本科生和研究生及继续教育培训人员教材,也可供从事气相色谱分析测试的科技人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

气相色谱分析应用/王永华编著.—北京:科学出版社,2006

ISBN 7-03-017015-6

I. 气… II. 王… III. 气相色谱-化学分析-应用 IV. O657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 019989 号

责任编辑:郭 森 丁 里 吴伶俐 王国华 / 责任校对:朱光光

责任印制:张克忠 / 封面设计:陈 敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

★

2006 年 7 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2006 年 7 月第一次印刷 印张:11 3/4

印数:1—3 600 字数:220 000

定价:24.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(路通))

前 言

色谱不仅是一门分析测试技术,而且也是一门科学,即分离科学。气相色谱作为分离技术与方法已有近 50 年历史。它是分析化学的重要组成部分。虽然它所能分离分析的物质只占全部有机物的 20% 左右,但这部分化合物却与我们的日常生活密切相关,特别是环境中的有毒有机物,这些有毒有机物中的绝大部分都是挥发性和半挥发性的。可以毫不夸张地讲,在一切需要对挥发性和半挥发性混合物进行分离分析的领域,如石油化工、有机合成、轻工食品、天然产物、卫生防疫和法医质检等,都需要气相色谱仪。在环境保护、食品安全及应对突发事件等方面,气相色谱更是扮演了重要角色。

玻璃毛细管柱制备技术的突破,使气相色谱发展非常迅速,方兴未艾。据不完全统计,国内外从事色谱分析的人数已占从事分析化学工作总人数的三分之一。国际上已有十余种色谱期刊,论文数量以每年几千篇的速度持续增长,色谱发展之迅速、成果之丰硕、文献之浩繁均给人留下深刻的印象。

由于气相色谱原理与技术相对比较成熟,应用的领域又如此广泛,所以许多高等院校相关专业都已将其列为必修课程。目前国内外已经出版很多高质量的有关气相色谱分析方面的专著,但高等院校的教材多数仅在仪器分析课程教材中的有关章节中介绍气相色谱相关知识,其内容不能满足分析测试实践对本科生素质的要求。

作者以自编《气相色谱分析》(海洋出版社,1990 年)为基础,结合十余年在北京大学环境科学专业讲授气相色谱分析课程和从事色谱分析的实践,参考近年出版的有关专著编写了本书。书中对分析测试工作者感兴趣的问题,如石英毛细管柱和样品前处理都列专章做了讨论。

全书共分 9 章。第 1 章绪论部分主要介绍色谱技术的发展历程、分类方法和气相色谱分析的特点;第 2 章主要介绍气相色谱仪结构和各部分的功能;第 3 章主要介绍气相色谱固定相,包括固定液的分类、色谱柱的制备方法和评价等;第 4 章主要介绍色谱保留值和基本关系式;第 5 章介绍气相色谱理论,包括塔板理论、随机行走模型、速率理论和分离条件的选择;第 6 章介绍毛细管柱气相色谱分离原理和技术;第 7 章主要介绍气相色谱检测器结构、原理及操作方法;第 8 章讨论色谱定性和定量分析方法以及分析数据处理;第 9 章主要讨论色谱工作者普遍感兴趣的样品处理方法。

本书出版得到北京大学国家地理学基础科学研究与教学人才培养基地和上海

天美科学仪器有限公司的支持,作者在此谨致诚挚谢意。

作者力求本书内容简明扼要,深入浅出,并尽可能结合实际阐述色谱分析原理。但由于作者的知识水平和色谱实践经验有限,书中难免存在错误,恳请读者批评指正。

作 者

2006 年于北京大学

目 录

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 分离方法的意义	1
1.2 色谱发展简史	2
1.3 色谱分类方法	3
1.4 色谱法特点	3
第 2 章 气相色谱仪	5
2.1 气路系统	5
2.2 进样系统	6
2.3 分离系统	8
2.4 检测系统	10
2.5 记录系统	10
第 3 章 气相色谱固定相	11
3.1 气-固色谱固定相	11
3.2 气-液色谱载体	15
3.3 分子间作用力	18
3.4 对固定液的要求及温度的影响	19
3.5 固定液的分类	21
第 4 章 色谱基本关系式	27
4.1 气相色谱图	27
4.2 色谱保留值	28
4.3 基本关系式	31
第 5 章 气相色谱理论	37
5.1 色谱塔板理论	37
5.2 随机行走模型	40
5.3 色谱速率理论	41
5.4 分离条件选择	45
第 6 章 毛细管柱气相色谱	54
6.1 理论基础	54
6.2 最佳分离条件选择	56

6.3	毛细管柱的制备	63
6.4	毛细管柱色谱仪器	72
第7章	气相色谱检测器	80
7.1	检测器的分类	80
7.2	检测器性能指标	81
7.3	热导池检测器	85
7.4	氢火焰离子化检测器	88
7.5	电子捕获检测器	92
7.6	火焰光度检测器	99
7.7	氮磷检测器	104
7.8	氦离子化检测器	106
7.9	光离子化检测器	107
7.10	红外光谱检测器	112
7.11	质谱检测器	114
第8章	定性定量分析	128
8.1	定性分析	128
8.2	定量分析	134
8.3	数据处理	138
第9章	样品处理方法	147
9.1	有机物衍生化	147
9.2	无机物衍生化	150
9.3	有机物富集方法	153
参考文献		179

第 1 章 绪 论

1.1 分离方法的意义

从混合物中分离出单一组分是分析化学和合成化学的基本任务之一。自然界中的一些物质主要是以混合物形式存在,而人工合成产物也常常是一些复杂混合物。化学工作者最经常进行的工作之一就是要把复杂混合物分离成单一纯组分。所以,分离方法对于许多领域都是十分重要的,不论是分析还是合成,也不论是科研还是生产。经典的分离方法包括沉降、萃取、吸附、结晶和精馏等,它们对化学的发展起重要作用。然而这些方法对于物理化学性质相似的复杂有机混合物的分离则是无能为力的,例如,苯的沸点为 80.1°C ,环己烷的沸点为 80.7°C ,用普通精馏的方法很难将二者分开。对于许多同分异构体、几何异构体、旋光异构体和构象异构体等,用普通分离方法很难将它们分开。因此,多年来人们一直在探索新的分离方法,期望出现高效、应用范围广泛的分离技术。

气相色谱方法和液相色谱方法的问世冲击了近代科学的许多领域,如果没有色谱法的出现,现代化学的发展将是不可想像的。仅就气相色谱而言,应用的领域和例子就不胜枚举,到 20 世纪 60 年代末,已经证明普通汽油中含有 340 种化合物,其中 180 种得到了鉴别。20 世纪 70 年代,色谱法应用于研究生物化学和医学问题,例如,从尿的提取物中可检出 300 种化合物,已鉴定的就有 40 余种。期望不久的将来,色谱法能为某些疾病的诊断作出应有的贡献。色谱法在环境有机污染物的分析中占有重要地位,研究的范围从空气中纳克每立方米级的多环芳烃分析到残留量为纳克每升级的多氯联苯和二噁英的测定。河流底泥中已经鉴定出百余种多环芳烃化合物。20 世纪 70 年代中期,通过色谱方法发现了饮用水中的挥发性卤代烃。人们对于香精油的兴趣可以追溯到很早,但是直到气相色谱问世以后,这个研究领域才迅速发展起来。近 20 年来,色谱理论特别是计算机在色谱中的应用得到空前发展,分离已不仅是一种技术,而是形成了一门科学——分离科学。

在气相色谱法中,分离和检测是同时进行的,因此,气相色谱法在环境科学研究领域的应用日益广泛,已成为环境污染物分析的两大支柱之一。计算机与气相色谱的结合使得这一方法更为完善,并逐渐向智能气相色谱的方向发展。色谱仪与红外光谱仪、质谱仪联用,优势互补,构成了现代先进的分析工具。现在有关气相色谱方法的论文以每年几千篇的速度增长,国际已发行十余种色谱期刊,色谱学发展迅速,硕果累累。

1.2 色谱发展简史

在色谱法问世以前,人们很早就注意到土壤的某些吸附特性,并将其用于海水净化。英国土壤化学家曾对溶液通过土壤后阳离子保留下来的现象产生过浓厚兴趣,并于1850年发现了离子交换的一些基本规律。活性炭在19世纪中叶就被广泛应用于甜菜汁的净化。这些都是色谱法的初期表现。然而人们公认的色谱法的创始人则是俄国植物学家茨维特(Tswett),他在1906年创立了色谱法。他将碳酸钙粉末放在一个长玻璃柱中,把植物叶子的石油醚提取液从柱顶端倒入,然后用纯净的石油醚冲洗,结果各种成分按吸附作用力不同分成具有不同颜色的谱带,然后按谱带的颜色进行鉴定分析。当时,茨维特把这种分离方法命名为色谱法,将这根长玻璃柱命名为色谱柱,在理论和实践上为色谱法奠定了基础。遗憾的是,茨维特对科学事业作出的重要贡献竟被忽视了25年。直到1931年,库恩(Kuhn)报道了使用气-固色谱法分离胡萝卜素异构体时,才引起人们的广泛注意。1941年,马丁(Martin)和辛格(Syngé)用一根装满硅胶微粒的色谱柱,成功地完成了乙酰化氨基酸混合物质的分离,建立了液-液色谱方法,第一个提出了描述色谱柱效的理论模型。由于在分配色谱方面的杰出工作,他们获得了1952年的诺贝尔化学奖。1944年,康斯登(Consdén)和马丁等采用滤纸作固定相,溶剂通过毛细作用带动混合物样品在两相间分配,成功地分离了一系列氨基酸样品,创立了纸色谱方法。1949年,马丁研究了色谱保留值与热力学平衡常数之间的函数关系,奠定了用色谱方法测定物理化学常数的基础。早在1941年,马丁和辛格就指出“流动相不一定非是液体,也可以是气体,而且在色谱柱中相间接触效率要比普通精馏塔高得多,若使气体流过非挥发性溶剂浸过的凝胶,则挥发性物质的分离是完全可能的,被分离物质在非挥发性溶剂中的分数近似遵从亨利定律”^[1]。经过10年努力,这个预言成为现实,1952年,马丁和詹姆斯发明了气-液色谱方法^[2]。1955年生产了第一台商品色谱仪。1956年,斯塔尔(Stahl)将粉末状硅胶用水调成糊状涂在玻璃板上烘干后,将样品点在板底部并浸在溶剂中,靠毛细作用将混合物样品分开,而建立了薄层色谱方法,该法在药物研究中应用极为广泛。1956年,范第姆特(van Deemter)提出色谱速率理论方程。1957年,戈雷(Goly)发明了开口毛细管柱,使气相色谱的分离能力大大提高,可以说毛细管柱的发明是气相色谱发展史上里程碑式的贡献。1957年,霍姆斯等首次把气相色谱与质谱仪联用获得成功,使得气相色谱鉴定能力弱的缺点部分得到克服。1984年,Low首次将气相色谱与傅里叶变换红外光谱联用成功。色谱检测器的发展也十分迅速,1957年发明氢火焰离子化检测器,1960年发明电子捕获检测器,1966年发明火焰光度检测器,1974年发明氮磷检测器。20世纪计算机在色谱领域的应用,更使气相色谱得到了迅速发展。

1.3 色谱分类方法

色谱法有多种不同分类方法:

(1) 按两相状态分类 在色谱法中有两相,即固定相和流动相。如果流动相是气体就叫做气相色谱。如果流动相是液体就叫做液相色谱。同样,固定相也可有两种状态,即固体吸附剂和载体涂上固定液。这样按两相状态就可将色谱分为两类:气相色谱,包括气-液色谱和气-固色谱;液相色谱,包括液-液色谱和液-固色谱。

(2) 按固定方式分类 柱色谱可分为两类:一类是固定相装在一根玻璃管内或者不锈钢管内,叫做填充柱色谱柱;另一类是将固定液涂在一根毛细管内壁上,管中心是空的,叫做毛细管色谱柱。纸色谱就是用滤纸作固定相,把试样点在滤纸下端,用溶剂将其展开,根据其在纸上斑点的位置和大小进行定性定量分析的一种方法。薄层色谱就是将硅胶调成糊状涂在玻璃板上作固定相,待干后与纸色谱方法的操作类似。

(3) 按分离原理分类 吸附色谱就是利用吸附剂对不同组分的吸附性能的差别进行分离,包括气-固吸附色谱和液-固吸附色谱。分配色谱是利用不同组分在两相间分配系数的差别进行分离,包括气-液分配色谱和液-液分配色谱。凝胶色谱是固定相表面具有大小不同的孔穴,根据分子体积的大小实现分离的。

1.4 色谱法特点

色谱法通常有以下特点:

(1) 灵敏度高 一般样品用量以纳克(ng)计,对 FID 检测器,检测限可达 $1 \times 10^{-12} \text{ g/s}$,如果测定大气中 1 mg/m^3 甲烷,可以直接进样,不用富集浓缩。用 ECD 检测器可以测定纳克每升级的有机氯化物,检测限对 $\gamma\text{-666}$ 可达 $1 \times 10^{-14} \text{ g/mL}$ 。

(2) 选择性好 对于物理、化学性质极为相似的异构体,如同分异构体、几何异构体、旋光异构体和构象异构体等,用普通分离方法很难分开,但在色谱柱上通过选择合适的固定液可以很容易将其分开。

(3) 分离效率高 一般毛细管柱可以达到 10^6 理论塔板数,沸点相近的组分也能得到较好分离。

(4) 分析速度快 多数样品可在数分钟内完成分析,复杂组分分析一般在 1h 内就可完成。

(5) 应用范围广 不仅可以分析挥发性组分,对难挥发性组分,也可以通过化

学转化法,生成易挥发且热稳定性好的物质进行分析;部分无机物也可转化成挥发性金属卤化物、金属螯合物和硅酯等进行分析;对高分子化合物,可以分析其裂解产物。将色谱方法应用于生物化学和医学,如对类脂化合物的分析,对酶及蛋白质、氨基酸结构与功能的了解,是气相色谱方法的重要成果之一。对大气、水质和土壤中有机污染物的测定,对动植物农药残留量的分析等是环境科学研究的首要任务,色谱法在这些方面应用非常广泛。

任何一种仪器都不是完美无缺的,色谱法也有其局限性,其最大缺点是依靠特征性不很强的保留值来鉴别未知物,准确度较差,在缺少已知纯样品对照时,很难判别未知物。扬其分离之长,避其鉴定之短,将色谱仪与质谱仪和红外光谱仪联用,是目前分析混合物中未知组分的有效手段。

第 2 章 气相色谱仪

色谱法是一种物理分离方法。气相色谱法是以气体作为流动相的色谱法,这就要求被分离的样品在柱内运行时必须处于气体状态。当样品在固定相和流动相所构成的体系中做相对运动时,具有不同分配系数的组分在两相间进行多次反复分配,从而达到分离的目的。气相色谱仪为实现这种分离分析提供了必要的物质基础。尽管气相色谱仪的外形、结构多种多样,但它的组成总是包括五个部分,即载气系统、样品气化系统、色谱柱分离系统、检测系统和数据处理系统。一般气相色谱仪的流程如图 2-1 所示。

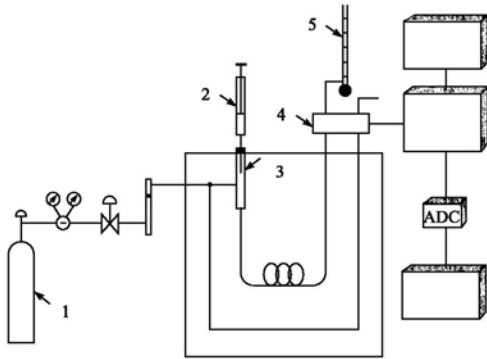


图 2-1 气相色谱仪流程图

1. 载气钢瓶;2. 进样注射器;3. 注射口;4. 检测器;5. 流量计

样品在气化室内迅速气化,并在恒定载气流带动下进入色谱柱,经色谱柱分离后的各组分先后进入检测器,检测器将组分的浓度信号转变成电信号,并经放大器放大后由记录仪记录测量。出峰的相对时间构成定性分析的依据,峰面积或峰高与组分浓度成正比,构成定量分析的依据。

2.1 气路系统

气相色谱仪的气路系统是一个载气连续运行、管路密闭的系统,气路系统的气密性、载气流速的稳定性以及流量测量的准确性都直接影响分析结果。气相色谱

中常用的载气有氢气、氮气、氩气和氦气。这些气体一般都由高压钢瓶或气体发生器供给,通常需要净化、稳压和测量流量。选用何种载气、如何净化,主要取决于所选用的检测器。常用氢气或氦气作为热导池检测器(TCD)的载气。用氮气或氩气作为氢火焰离子化检测器(FID)的载气,氢气作燃气,空气作助燃气。常用氮气作为电子捕获检测器(ECD)的载气。在气化室前串联一个净化管,管内装有分子筛、硅胶或者活性炭,这种净化法可以满足一般分析的要求。ECD检测器要求把电负性较强的组分,如氧气通过装有60~80目紫铜末的净化管,于450℃下反应生成氧化铜除去。一般说来,痕量分析或毛细管色谱的载气纯净程度要求较高。载气纯度将直接影响ECD和TCD的灵敏度和稳定性,一定要严格净化。在恒温色谱中,色谱柱的渗透性并不改变,因此在柱前加一个稳压阀,即可使柱子的进口压恒定,流速稳定。这样在一定温度下,恒定的流速将在特定的时间内把组分冲洗出来,这个时间叫保留时间。流速恒定,则组分就有一个特定的载气体积,称之为保留体积。测量流速最简便的方法就是用皂膜流量计(图2-2)。

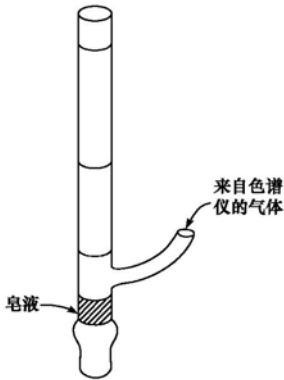


图2-2 皂膜流量计

测量方法是将柱出口与流量计入口用一橡皮管连通,按一下装有肥皂液的橡皮头,其肥皂泡膜在载气推动下流经定量管。由于载气流经肥皂液时被水蒸气饱和,并且所要测定的是柱温度下的流速,所以需要进行温度和水蒸气压的校正,实际校正公式为

$$F = F_m \times \frac{T_c}{T} \times \frac{(p - p_{H_2O})}{p} \quad (2-1)$$

式中: p 为大气压; p_{H_2O} 为饱和水蒸气压; T_c 为柱温; T 为室温; F_m 为实测流速; F 为经柱温和水蒸气校正后的载气流速。

气相色谱仪的气路形式一般都是双气路,一路用于填充柱分析,另一路用于毛细管柱分析。双气路还适用于程序升温分析,以补偿固定相流失或载气流速变化导致的色谱基线漂移。对TCD检测器还兼有平衡电桥的作用。对毛细管柱色谱,除一路气体作载气外,还需要另一路气体作尾吹气使用。

2.2 进样系统

气化室(也称进样口)的作用就是将液体或固体样品快速、准确地加到色谱柱

头上。进样的速度、进样量大小、样品气化速度及样品浓度都会影响分离效果和定量结果的准确性和重复性。对气化室总的要求是热容量较大,死体积较小,无催化效应。气化室常用热容较大的金属块做成,其加热功率一般为 100W 左右,可控温度范围从室温至 400℃。一般采用内面涂有聚四氟乙烯膜的硅橡胶垫密封,用前将其加热到 350℃ 处理。气化室的结构虽然多种多样,但其主要功能就是为瞬间气化样品提供一定的温度条件,典型的气化室如图 2-3 所示。采用注射器将样品打到气化室,或直接注射到柱头上。对不锈钢柱一般是将玻璃内衬管插入气化室内,以防高温下金属表面催化分解样品。玻璃填充柱是将柱直接插到气化室内。最常用的玻璃内衬管结构是直通式,为避免组分的吸附,内衬管内表面进行了硅烷化处理。内衬管的体积大约 1 mL,这是根据多数有机溶剂在进样口气化而膨胀的气体体积设计的,如 1 μ L 水在 250℃ 和 15psi^① 柱头压下将产生 1192 μ L 水蒸气,因此内衬管的体积不宜太小。常用溶剂的膨胀体积倍数列于表 2-1。

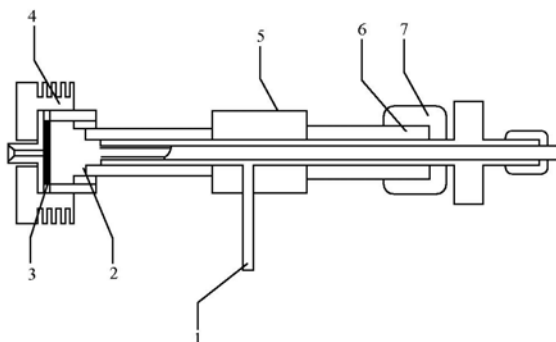


图 2-3 7890 II 型填充柱气化室的结构

1. 载气入口;2. 针头导向口;3. 密封垫;4. 密封螺纹口;5. 不锈钢加热体;6. 石墨密封环;
7. 固定螺母

表 2-1 常用溶剂的膨胀体积倍数(250℃, 13psi)

溶剂	相对分子质量	膨胀倍数	溶剂	相对分子质量	膨胀倍数
己烷	86	174	异辛烷	114	138
戊烷	72	198	乙酸乙酯	88	233
二氯甲烷	85	356	氯仿	118	284
甲醇	32	563	水	18	1261

① 1psi = 6.894 76 × 10³ Pa,下同。

色谱分离要求在最短的时间内让样品以塞状定量进入色谱柱,通常用微量注射器打针法进样,液体样品一般用 $1\mu\text{L}$ 、 $5\mu\text{L}$ 和 $10\mu\text{L}$ 注射器进样。注射器体积越小,注射精度越差。对 $1\mu\text{L}$ 注射器,人工操作的重复性为 5%,自动进样为 3%。操作方法是先过量吸入样品,然后将针头朝上排出气泡后定量到刻度,再快速插入气化室内。对固体样品应先选择合适的溶剂溶解后再进样。气体样品常用 0.25mL、1mL、2mL 和 5mL 医用注射器或气密性注射器及六通阀进样,重复性 $\leq 2.0\%$ 。六通阀的结构如图 2-4 所示,先用玻璃注射器或小真空泵将气体样品引入定量管内[图 2-4(a)],然后切换载气流路使定量管内的样品进到色谱柱内[图 2-4(b)]。

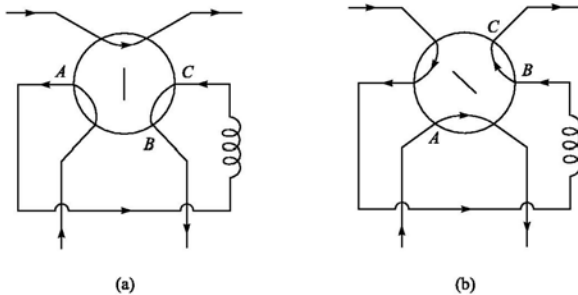


图 2-4 六通阀的结构

(a) 采样过程; (b) 进样过程

气化室温度的选择,一般是要求在该温度下样品能瞬间气化而不分解。检查温度是否合适再提高温度,如果柱效有所改善,说明温度低了;如果峰形和保留时间有变化,说明有分解现象,温度选高了。一般选在样品沸点或高于柱温 50°C 左右即可。

2.3 分离系统

色谱柱是色谱分析的核心,分离成败的关键。色谱填充柱一般内径为 $2\sim 4\text{mm}$,长度为 $0.5\sim 5\text{m}$ 。材料主要有不锈钢和玻璃两种。不锈钢材料由于质地坚硬、化学稳定性好,是目前常用的材料,但因其不透明,填充时不易观察填充效果的好坏,而且其在高温时对某些样品有催化效应。硬质玻璃材料最好,它表面吸附活性小,化学反应活性差,透明便于观察填充情况,是实验室常备的色谱柱。一般填充柱均做成 U 形和螺旋形两种。前者易于填充,后者占用柱箱体积小,且容易在柱填料与柱管之间产生缝隙。制备一根分离效能高的色谱柱,首先在载体表面涂上一层薄而均匀的液膜,然后把涂好的固定相均匀而又紧密地装填到柱子中。要

在载体上涂上一层薄而均匀的液膜,首先要选好溶剂,使固定液完全溶解;其次要避免在涂敷过程中因搅拌而使载体破碎;另外,载体表面及其内孔中存有的空气也会妨碍固定液的渗入,故需减压除去。下面介绍三种涂渍方法:

(1) 常规涂渍法 固定液配比大于5%时,可用常规涂渍法。配比是指固定液与载体的质量比,例如,10%角鲨烷的涂渍,在天平上称取1.0g角鲨烷,放在蒸发皿中,加入20mL乙醚溶解,再加入10.0g 60~80目6201红色载体,轻微搅拌,在红外灯下烘干溶剂即可。对于高配比固定液,因在高温老化时,固定液会重新分布均匀,所以常规法已能满足要求。对低配比固定液,由于固定液仅能以单分子层敷盖住载体表面,所以用常规法不易涂渍均匀,老化时也不能再分布均匀,故需抽真空涂渍。

(2) 抽真空蒸发法 将一定量固定液置于圆底烧瓶中,加入适量低沸点溶剂溶解,再加入一定量载体,边摇动边抽真空,对沸点较高的溶剂还可在水浴上加热,直至溶剂挥发至干。此法可以将载体内孔中的空气抽走,避免了空气膨胀导致的液膜破坏,保证涂渍均匀。

(3) 近似动态法 在一合适的漏斗内放入载体,然后将固定液与溶剂配成的溶液倒入漏斗内,静置一段时间后,滤去过量的溶液,于低温下烘干即可。固定相填充的好坏将直接影响柱效。一般多采用泵抽填充法,将色谱柱的尾端(接检测器的一端)塞上玻璃棉,接真空泵,另一端(接气化室的一端)接一小漏斗,在真空泵抽吸下装入固定相,边装边轻轻敲打,直到装满为止,塞上玻璃棉。要求填充紧密、均匀,防止固定相破碎。放置色谱柱时,将柱两头密封,以防污染。

色谱柱老化是指将色谱柱装好后接通载气,并与检测器断开,载气流速为5~10mL/min,在固定液最高使用温度下老化8h,目的是除去残存的溶剂和其他杂质。在老化温度下,固定液在载体表面还有一个再分布均匀的过程。实际色谱分离对固定液配比的要求不甚严格,一般配比为2%~25%。虽然色谱柱的涂渍与填充很简单,但制备一根柱效较高的柱子却不容易。一般填充柱理论塔板数为1000/m。固定液流失和样品污染是影响柱寿命的主要因素。当保留值变化显著时,说明柱已失效,需要再生、重涂或更换新的固定相。

分配系数受柱温的影响很大,一般要求柱箱温度控制精度 $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$ 。由于有些样品组分很复杂,恒温操作的温度对有的组分过高,色谱峰挤在一起分不开;对有的组分过低,色谱峰扩散严重,因此要求柱箱具有程序升温功能。国产7900型色谱仪能进行多阶程序升温,最大升温速度 $40^{\circ}\text{C}/\text{min}$,控温精度 $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$,并能直接显示小数点后两位的温度,完全能满足色谱分析的要求。

2.4 检测系统

在气相色谱分析中,一个多组分混合物经色谱柱分离后,各组分顺序进入检测器。检测器将各组分浓度转变成易于测量的电信号,如电压、电流等,然后送记录器记录下来。因此,检测器就是对载气中各组分浓度变化的敏感器。这种变化可以是热、微电流等,从而构成各种类型的检测器。一个检测器能否准确而及时反映这些变化,将直接影响定性、定量结果。对检测器总的要求是灵敏度高,噪声低,线性范围宽,对各类物质都有信号,对温度和流速变化不敏感。现在通用型检测器有热导池和氢火焰离子化两种,而电子捕获、火焰光度和氮磷检测器等是选择性检测器。关于检测器的工作原理、结构和性能等将在以后的章节中介绍。大多数检测器都对温度变化较敏感,尤其是热导池检测器,温度变化直接影响检测器的稳定性和灵敏度,因此必须精密控制温度,一般要求温度变化在 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 以内。对于恒温操作,检测器温度一般要高于柱温。对于程序升温操作,检测器温度一般选择比最高柱温略高。一般情况下,检测室温度最低也要高于 100°C ,以防积水。现在有许多气相色谱仪是将检测室与气化室装在一起,检测室温度的选择还要兼顾气化室的要求。

2.5 记录系统

记录仪记录的信号-时间曲线称作色谱图。纵坐标为检测器响应信号即峰高,它与检测器产生的电压或电流的大小成正比,反映流出组分的浓度变化;横坐标表示记录纸移动距离,也可用保留时间或保留体积来表示。色谱图是对组分进行定性定量分析的依据。早期用记录仪记录色谱峰,手工测量峰面积,后来采用积分仪进行自动处理,现在则发展到用计算机进行自动控制和处理。对数据处理系统的要求是:能对色谱峰面积进行积分;对基线漂移进行校正;对重叠峰和鞍形峰进行分解;对所处理的重要参数按要求打印出分析报告。利用计算机进行数据处理的最大好处是能进行色谱数据的存储,可对色谱图进行任意放大或缩小,并可设定时间程序,在任意时间内调整衰减和记录走纸速度等。

第 3 章 气相色谱固定相

3.1 气-固色谱固定相

3.1.1 吸附等温线与色谱峰形

气-液色谱分离气体及某些低相对分子质量的烃类时,由于气体组分在固定液中的溶解度很小,所以很难分离这些组分,如空气在气-液色谱柱上就只有一个峰;而在气-固色谱上,由于气体在固体吸附剂上的吸附热不同,因此很容易将空气中的 O_2 和 N_2 分开。气-固色谱分离原理就是根据组分在固体吸附剂上的吸附能力大小不同,通过反复多次的吸附和脱附过程从而实现分离。吸附剂的性质很大程度上取决于加工制作方法和含水量的多少。由于吸附剂的种类有限,所选择的余地较小,应用范围也较窄,目前多数只应用于无机气体和低相对分子质量有机气体的分离分析。

在气-固色谱中,组分在两相中的分配可用吸附等温线来描述(图 3-1)。

图 3-1 中,1 是线性等温线,吸附常数在柱中任一点处为常数,相应的色谱峰形为正态分布的对称色谱峰;2 是凸形等温线,吸附常数由大到小变化,相应的色谱峰为拖尾峰;3 是凹形等温线,吸附常数由小到大变化,相应的色谱峰为前伸峰。吸附常数小说明组分不易吸附在固体表面,即吸附的趋势小、脱附的趋势大,组分在柱中的行进速度就快。吸附常数的大小决定了组分在柱中的行进速度,而色谱分离正是利用各组分吸附常数的差别而实现的,差别越大越易分开。吸附过程可以用吸附等温方程来描述,最常用的吸附方程是 Freundlich 方程和 Langmuir 方程^[3]。

(1) Freundlich 方程

$$\frac{x}{m} = kp^{\frac{1}{n}} \quad (3-1)$$

式中: m 为吸附剂的质量; x 为被吸附组分的质量; p 为吸附平衡时组分在气相中的分压; k 为常数。如果 $(1/n) = 1$, 吸附等温线是线性的; 如果 $(1/n) < 1$, 吸附等

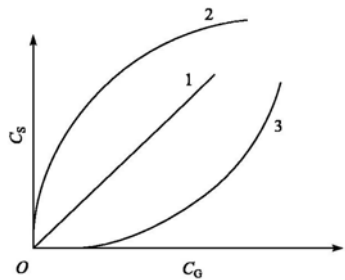


图 3-1 气-固吸附等温线

1. 线性等温线; 2. 凸形等温线; 3. 凹形等温线

温线是凸形的;如果 $(1/n) > 1$,吸附等温线是凹形的。

(2) Langmuir 方程

$$\frac{x}{m} = \frac{k_1 k_2 p}{1 + k_1 p} \quad (3-2)$$

将式(3-2)取倒数,得

$$\frac{m}{x} = \frac{1}{k_1 k_2 p} + \frac{1}{k_2} \quad (3-3)$$

式(3-3)是 Langmuir 方程的线性表达式。

吸附常数在实际色谱过程中往往发生变化,而这种变化又决定了色谱峰形偏离正态分布峰形产生拖尾或者前伸,这可以从两种角度去理解。吸附常数实际上是组分在两相中的活度之比,只有在低浓度下才可以由浓度代替活度,所以组分为高浓度时,吸附等温线呈现弯曲。吸附剂表面活性不均匀,吸附能力有差别,组分先被活性强的地方吸附,而后再被活性弱的地方吸附,这样就造成了开始吸附时,固定相中的浓度较大,以后逐渐减少,使分配常数由大到小变化,峰形出现拖尾,这在气-固色谱中是最常见的一种峰形。前伸峰只在特殊的情况下出现。分析了色谱峰产生拖尾现象的原因之后,就可以采取措施来消除拖尾。

3.1.2 消除拖尾峰的办法

(1) 减少进样量 进样量少可使组分的浓度接近活度,尽量利用等温线开始的线性部分。

(2) 对固定相加以改性 改性处理的目的是使吸附剂表面活性更均匀。例如,将活性炭在高温惰性气体中灼烧,原来不均匀的表面结构就变成了表面均匀的石墨化炭黑。

(3) 加入减尾剂 减尾剂的作用是在吸附剂表面涂上一层物质,以覆盖强活性中心,使表面活性趋于均匀,从而改善拖尾现象。一般减尾剂为高沸点有机物,如聚乙二醇等。

(4) 提高柱温 提高柱温可使吸附量减少,使凸形等温线向线性等温线渐近。

3.1.3 常用固体吸附剂

(1) 碳质吸附剂 将果壳加黏合剂成形后进行炭化,然后在 900℃ 通空气和少量水蒸气活化即得活性炭。活性炭为微孔结构,比表面积 1000m²/g,通常加 1% 角鲨烷作减尾剂,它适合分离永久性气体和低沸点烃类。组分在活性炭上的保留值重现性较差,拖尾较严重。将活性炭在氮气流中加热到 3000℃,活性炭就转变为层状结构,即为石墨化炭黑。它表面积较大,为非极性表面,具有各向异性,所以特别适合分离一些结构异构体。炭多孔小球,也称炭分子筛,商品名称为 TDX,是

聚偏二氯乙烯加热至 850°C 时释放 HCl 后留下的残炭小球。它为多孔结构,孔径 $15\sim 20\mu\text{m}$,比表面积约 $800\text{m}^2/\text{g}$,主要用于分离永久性气体及低相对分子质量烃类,用 TDX-01 在 $2\text{m}\times 2\text{mm}$ 色谱柱上可以将氮气和氢气分开。图 3-2 给出用炭分子筛分离无机气体和低相对分子质量有机气体的色谱图。

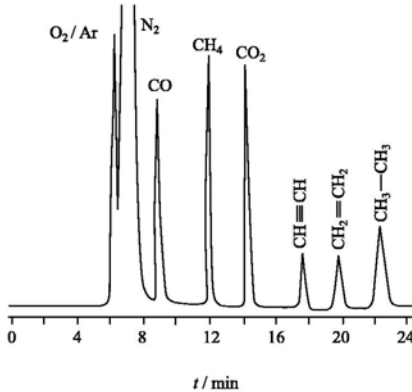


图 3-2 气体组分在炭分子筛柱上的色谱图

色谱条件: TCD 检测器, 柱温度 $35\sim 225^{\circ}\text{C}$, 程序升温 $32^{\circ}\text{C}/\text{min}$

(2) 氧化铝吸附剂 氧化铝是铝矾土在 $350\sim 400^{\circ}\text{C}$ 加热脱水制成, 常见的有 α 、 β 、 γ 三种晶型, 比表面积约为 $200\text{m}^2/\text{g}$, 热稳定性和机械强度较好, 一般用于分析烃类及其异构体。若分析高沸点烃类, 可用 40% NaOH 处理氧化铝, 例如, 用处理后的氧化铝柱在 425°C 柱温下, 可分析 C_{40} 以下的烃类, 且峰形对称。若将载气通过含结晶水的无机盐, 使其缓慢释放结晶水, 以此改进氧化铝柱的活性, 可用于分离低相对分子质量烃类。图 3-3 显示了气态烃类在兰州中科安泰公司生产的氧化铝柱上的分离结果。

(3) 硅胶吸附剂 通常用的色谱硅胶主要成分是 SiO_2 , 孔径 $10\sim 70\mu\text{m}$, 比表面积为 $800\text{m}^2/\text{g}$, 其分离能力取决于孔径大小及含水量。还可将一定量的缩硅酸酯用溶剂稀释, 涂到载体上, 然后水解烘干制得薄层硅胶。将特殊制备的多孔微球硅胶涂上少量 PEG-20M, 可以分离二甲苯异构体。近年来发展的键合相多孔微球硅胶固定相是将硅胶表面的反应活性基团羟基与另一个带有活性基团的物质经化学反应制备而成。键合后硅胶表面的吸附活性显著减弱, 可用于分析一些极性组分, 如水、醇、胺和酸等。利用硅胶柱分离硫化物的色谱图如图 3-4 所示。

(4) 分子筛吸附剂 分子筛是一种合成的硅铝酸盐, 基本的化学组成为 $\text{M}_2\text{Al}_2\text{O}_3\cdot\text{SiO}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, 色谱分析中常用的是 Na 型和 Ca 型分子筛, 改变 Na 和 Ca 的

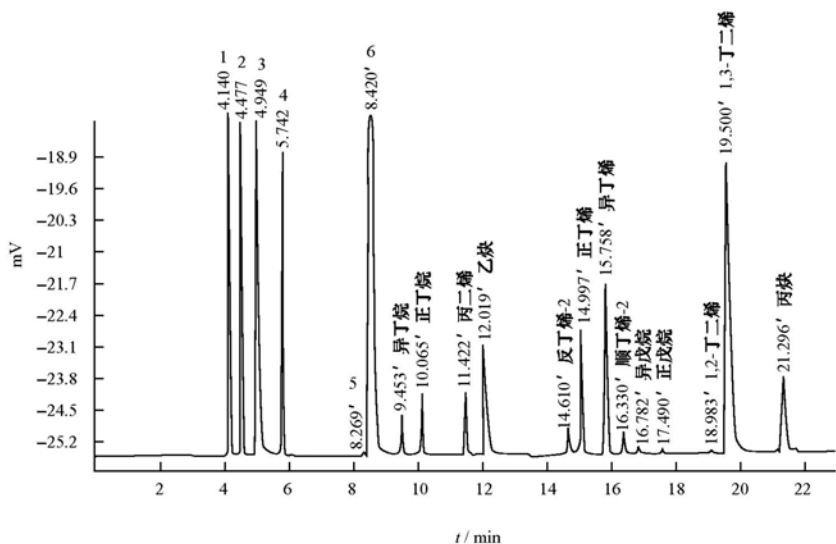


图 3-3 气态烃在 AE-PLOT Al_2O_3 柱上的色谱图(50 \times 0.53mm \times 20 μm)

1. 甲烷;2. 乙烷;3. 乙烯;4. 丙烷;5. 环丙烷;6. 丙烯;7. 异丁烷;8. 正丁烷;9. 丙二烯;10. 乙炔;
11. 2-反丁烯;12. 正丁烯;13. 异丁烯;14. 2-顺丁烯;15. 异戊烷;16. 正戊烷;17. 1,2-丁二烯;
18. 1,3-丁二烯;19. 丙炔

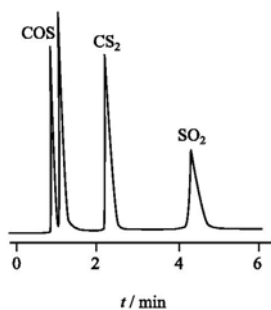


图 3-4 硫化物在硅胶柱上的分离色谱图

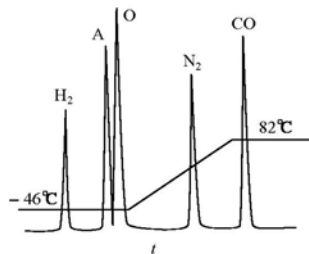


图 3-5 无机气体在分子筛上的分离色谱图

含量,可以改变分子筛的结构和性能,控制其孔穴大小,以适应不同的分析目的。常用 5 \AA 分子筛的化学式为 $\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$, 13X 分子筛为 $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{SiO}_2$ 。由于分子筛是一种规则结晶,加热后结晶水从铝硅构架中逸出,因此,分子筛对水

有很强的吸附作用,用前要加热除去水,这个过程称为活化。经研究表明,分子筛需在 300℃ 时才能脱去结晶水,因此活化需在 300~350℃ 进行,放置过久的分子筛需在 350℃ 通氮气 1h 进行再生。分子筛特别适合分析永久性气体。多数分子筛对 HCOOH、NH₃ 等有不可逆吸附,故不适合分析这几种气体。无机气体在分子筛上的分离如图 3-5 所示。

(5) 高分子多孔小球(GDX) GDX 是一类新型合成有机高分子固定相,它本身既是载体又是固定液。有人认为,在较低温度下 GDX 可能以吸附为主,类似气-固色谱;在较高柱温下,类似气-液色谱。GDX 是由苯乙烯单体加二乙烯苯交联剂,在稀释剂存在下,用悬浮聚合法合成的共聚物。在交联共聚过程中,引进含有特种官能团的单体,可以有效控制载体表面的化学性质。国产 GDX 相当于国外 Chromsorb 系列。如果在共聚物中引入极性官能团如三氯乙烯、乙烯吡咯酮,则相当于国外 Porapak N 系列。目前 GDX 已广泛应用于色谱分析,其主要优点如下:可按样品性质选择合适的孔径及表面性质;具有较大的比表面积,对极性物质无有害的吸附活性,因此分析极性组分也能出对称峰形;由于不存在液膜,无固定液流失现象,在高温下也无热解现象,因此对高灵敏度检测器也能获得稳定基线;机械强度较好,无腐蚀现象,圆球均匀,重现性好,有助于减少涡流扩散;对过负荷恢复极快,适用于制备色谱。由于 GDX 对含羟基的极性化合物亲和力很小,所以特别适用于醇类、酸类和酚类等组分的分析,也常应用于富集水中的有机污染物。在进行醇型饮料分析时,由于它不保留水和醇,排除了水、醇的干扰,效果尤佳。使用 GDX 时,注意首先要活化,即在 130℃ 通 N₂ 加热 10h 或在高于柱温下加热 4~5h。填充 GDX 时会产生静电,可用少量丙酮润湿除去。

3.2 气-液色谱载体

自从 1950 年马丁和詹姆斯的原始论文发表以来,气-液色谱获得空前发展,已成为实验室最重要的分离技术。与气-固色谱比较,气-液色谱的应用范围要广泛得多,可选择的余地更大。在气-液色谱中,将固定液涂到载体上,形成一层很薄的液膜,这层薄液膜参与分配,载体只起固定固定液的作用,不参与分离过程,但是载体选择好坏也影响分离效果。

3.2.1 对载体的要求

原则上讲,任何固体颗粒都可以充当载体使用,但是作为色谱专用的载体应符合下述要求:①比表面积大;②具有化学惰性,不与样品起化学反应;③热稳定性好;④有一定的机械强度;⑤有合适的孔隙结构,表面没有吸附活性等。

完全符合上述要求的载体难以寻找,通常是具有这一优点,就必然会有另一缺

点,例如,要求比表面积大,则其吸附活性就强。这就要根据具体的分析对象来选择合适的载体。虽然用于气相色谱分析的载体种类很多,但是应用最广的还是硅藻土类载体。

3.2.2 硅藻土载体

硅藻土是海洋中的藻类经地质变迁,其中的有机物分解后剩下的无机物部分,主要成分是无定形 SiO_2 和小部分无机盐类。它的热稳定性好,比表面积大,容易涂渍固定液,且有一定的机械强度。它的吸附活性可以采取有效办法加以克服。由于制备方法不同,硅藻土又可以分为白色和红色两类。

(1) 红色载体 红色载体是将天然的硅藻土粉碎,加黏合剂在 900°C 左右煅烧而成。其中矿物质变成氧化物和硅酸盐,铁变成氧化铁,故煅烧后的硅藻土呈红色。国产 6201 载体及国外 Chromsorb P 属于这一类。

(2) 白色载体 白色载体是将天然的硅藻土经盐酸处理干燥后,加入一些 Na_2CO_3 助熔剂成形后在 900°C 下煅烧而成。硅藻土中的氧化铁在高温下与 Na_2CO_3 作用生成白色的铁硅酸钠配合物,故此类硅藻土呈白色。国产 101、405 载体及国外 Chromsorb W 属于这一类。

红色和白色载体表面结构不同,红色载体孔径较小,结构紧密,机械强度较好,具有较大的比表面积,一般可达 $3\sim 4\text{m}^2/\text{g}$,可负荷较高配比固定液,柱效较高,其缺点是表面吸附活性较大,分析极性物质易产生拖尾。白色载体孔径较大,比表面积较小,机械强度较差,但它的吸附活性比红色载体小。无论红色还是白色硅藻土载体,其表面都含有大量的铁铝氧化物,它们表现出较强的催化活性,甚至在较低柱温下就会使固定液分解,色谱分析时常出现峰形畸变,影响定量分析,为此需要对硅藻土类载体进行必要的预处理。

3.2.3 载体的处理

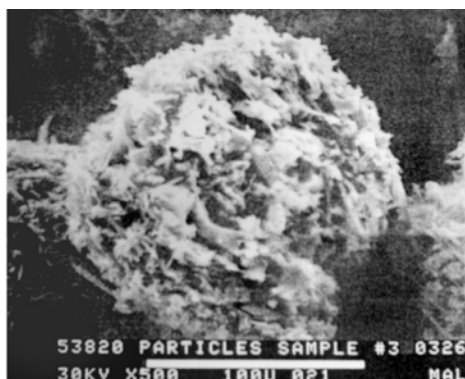
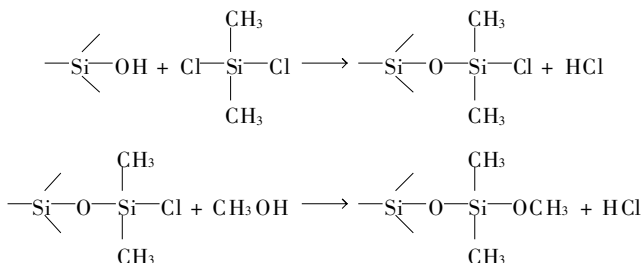
载体表面的去活性处理主要有三种方法:

(1) 酸洗法 用盐酸浸泡载体数小时,滤去盐酸,然后水洗至中性,再用甲醇淋洗后烘干。酸洗去除了载体上大部分铁、铝、钙和镁等杂质,使催化活性显著下降。

(2) 碱洗法 用 5% KOH-甲醇溶液浸泡数小时,再用水洗至中性,烘干备用。碱洗目的是除去载体表面 Al_2O_3 等酸性活性点。

图 3-6 给出 80~100 目 Chromsorb W 载体的电镜图,其多孔性质清晰可见。

(3) 硅烷化法 硅藻土载体表面含有大量的硅醇基团,对极性组分有较强的吸附活性。将硅醇基团与硅烷化试剂反应形成硅醚后就可以消除吸附活性点,从而使极性表面变成非极性表面。常用的硅烷化试剂是二甲基二氯硅烷,反应通式为

图 3-6 80~100 目 Chromosorb W 载体的电镜图^[4]

反应完后,用无水甲醇洗涤,使剩余的氯原子生成甲氧基衍生物。经硅烷化处理,载体的氢键作用力减弱,可用于分析醇、酚、胺、酸等极性化合物。处理后的载体比表面积减小,适用温度降低,只能在低于 250℃ 下使用,难以涂渍极性固定液,一般柱效也要下降,因此减弱吸附性能是以牺牲某些优点为代价的。硅烷化的方法是取 60mL 5% 二甲基二氯硅烷的甲苯溶液置于过滤瓶中,加入 12g 干燥的载体,抽去瓶中空气,振荡 5min 后过滤,载体用甲苯洗涤后,悬浮在甲醇中过滤,然后用甲醇洗至中性,于 110℃ 下干燥 4h 即可。硅藻土类载体的性质列于表 3-1。

表 3-1 硅藻土类载体的性质

载体名称	密度/(g/mL)	比表面积/(m ² /g)	孔体积/(mL/g)	固定液负荷/%
红色硅藻土	0.32~0.38	4~6	1.6	30
白色硅藻土	0.21~0.27	1.0~3.5	3.56	15
硅烷化硅藻土	0.49	0.5	—	—

3.3 分子间作用力

气-液色谱之所以应用广泛,主要是因为它具有如下优点:组分在两相间的分配等温线多呈线性,因而可得到良好的对称峰形;固定液品种繁多,使用温度范围广,选择余地大;固定液配比可以任意变化,容易涂渍,既可制备填充柱,又可制备高效毛细管柱;组分在固定液上的保留值重现性好,寿命较长。它的主要缺点是固定液在高温下容易流失。固定液是一类高沸点有机物,将它涂渍在载体上,形成液膜参与分配过程。气-液色谱分离就是根据混合物中各种组分在固定液中的溶解度不同,或者说它们的分配系数不同,通过气-液两相间的多次平衡分配而实现的。分配系数存在差别的根本原因是组分与固定液分子间的作用力不同。因此,在讨论固定液前,首先要了解分子间的作用力问题^[5],这对如何选择固定液有很大帮助。分子间相互作用力包括静电力、诱导力和色散力。

(1) 静电力或称偶极相互作用力 极性分子有永久偶极矩(偶极矩的定义是分子正负电中心距离和所带电荷的乘积)。由于存在永久偶极矩,分子之间可以产生静电吸引作用,使体系能量降低,其计算公式为

$$E_1 = - \frac{2}{3} \frac{u_1^2 u_2^2}{kTR^6} \quad (3-4)$$

式中: E_1 为平均位能; u_1 、 u_2 为两个相互作用分子的偶极矩; k 为玻耳兹曼常量; T 为热力学温度; R 为分子间的距离; 负号表示作用能降低。偶极矩的大小反映分子的极性大小,从式(3-4)看出,偶极矩越大,分子的极性就越大,两个极性分子相互作用力就越大。因此,用极性固定液分离极性分子,极性强的分子保留时间就长,分离的效果就好,而非极性分子在极性固定液中的保留时间就短。分子的极性主要由极性官能团决定,非极性官能团的影响是次要的。常见官能团的相对极性顺序如下:

—CN > —NO₂ > —COCH₃ > —CHO > —Cl > —Br > —COOCH₃ > —OH > —COOH > —SCH₃ > —OCH₃ > —NH₂

温度越高,平均位能越大,保留时间越短。温度越低,平均位能越小,分离效果越好。

(2) 诱导力 即永久偶极矩和诱导偶极矩相互作用力,极性分子和非极性分子也有吸引作用,因为非极性分子在极性分子偶极矩电场的影响下会发生“极化作用”,即电子云发生变形,产生诱导偶极矩,这种诱导偶极矩和永久偶极矩间产生相互作用,使能量降低,其计算公式为

$$E_2 = - \frac{\alpha_2 u_1^2}{R^6} \quad (3-5)$$

式中: E_2 为平均位能, α_2 为可极化分子的可极化率。可极化率与分子中电子数目和电子云是否容易变形有关, 由重原子组成的分子或者有离域 π 键的分子可极化率大, 如苯的可极化率比环己烷大。虽然它们沸点相近, 但由于苯的可极化率较大, 所以苯和环己烷极易分开。由于偶极矩是向量, 所以二甲苯的三个异构体在极性固定液上就很容易分开, 而普通精馏法则无此选择性。

(3) 色散力 即非极性分子间的相互作用力。室温下 Br_2 是液体, 低温下 Cl_2 、 N_2 、 O_2 都可以液化, 说明分子间存在着第三种力即色散力, 它可以看作是分子的“瞬间偶极矩”相互作用的结果, 即分子虽然无偶极矩, 但分子中电子运动的瞬时状态有偶极矩, 这种瞬间偶极矩会诱导邻近分子也产生和它相吸引的瞬间偶极矩, 这种瞬间偶极作用力称为色散力, 其计算公式为

$$E_3 = - \frac{3}{2} \frac{I_1 I_2}{I_1 + I_2} \frac{\alpha_1 \alpha_2}{R^6} \quad (3-6)$$

式中: E_3 为平均位能, I_1 、 I_2 为分子电离能。一般相对分子质量越大, 色散力越大, 直链饱和烃比支链烃、不饱和烃的色散力大。在非极性固定液上, 对同碳数化合物来说, 不饱和烃在饱和烃前面流出。如非极性固定液上分离苯和环己烷, 苯先流出, 环己烷后流出。分离同系物时, 组分按沸点顺序流出。

(4) 氢键力 与电负性大的原子 X 以共价键相结合的氢原子, 还可以和另一个电负性大的原子 Y 之间生成 $\text{X}-\text{H}\cdots\text{Y}$ 氢键, 其中 X、Y 均表示电负性大、原子半径小的原子, 如 F、O、N、Cl 等, 虚线表示氢键, 它的本质仍是一种静电引力, 常见氢键强弱次序如下:



氢键键能介于化学键和色散力之间。当用聚乙二醇作固定液时, 由于 H_2O 与醇发生氢键作用, 所以水的保留时间特别长。

分子之间的上述作用力统称为范德华 (van der Waals) 力。除此以外, 还有一些特殊作用力, 例如, Ag^+ 与烯键的配位作用, 由烯的成键 π 轨道上的电子给予 Ag^+ 的空 d 轨道, 形成配位键。因此, 在固定液中掺少量 AgNO_3 , 可以有选择地保留烯烃, 但是柱温不宜太高。了解分子间作用力可以帮助我们进行定性分析, 例如, 在极性柱上分离二甲苯异构体, 由于对二甲苯分子对称, 偶极矩为 0, 与极性固定液作用力小, 所以先流出色谱柱; 邻二甲苯偶极矩为 0.58, 与极性固定液作用力大, 后流出色谱柱; 间二甲苯的偶极矩为 0.37, 在中间流出。

3.4 对固定液的要求及温度的影响

3.4.1 对固定液要求

原则上说, 任何一种有机化合物都可作为固定液使用, 但是真正有实用价值的

固定液,据统计约有 1000 余种,这是因为对充当固定液的物质要有一定的要求:

(1) 蒸气压低,热稳定性好 在操作温度下,固定液要具有很低的蒸气压,否则会造成固定液流失和发生热分解,使色谱基线漂移、噪声增大、柱寿命缩短、保留值重现性变差。因此,固定液都规定温度使用上限。根据实践经验,固定液的沸点一般要比操作温度高 200℃ 左右,例如,固定液角鲨烷的沸点 375℃,其最高使用温度定为 150℃。

(2) 化学稳定性好 固定液不能与载体、载气和组分发生不可逆化学反应,例如,有些固定液在高温下可被 H₂ 还原,被 O₂ 氧化或者发生分解、聚合及水解反应等。色谱分离过程是物理可逆过程,因此一定不能有化学反应发生。

(3) 溶解度大,选择性高 各组分在固定液中要有一定的溶解度,如永久性气体在固定液中几乎不溶解,在气-液色谱中,空气只有一个峰,其中的 N₂ 和 O₂ 不能分开。选择性高即难分离的物质对在溶解度上要有尽可能大的差别,这主要靠选择固定液来实现。

(4) 黏度和凝固点低 固定液黏度太大则组分不易溶解其中,已溶解的又不易析出,加剧了传质阻力的影响。一般说来,黏度随温度的降低而增高,所以固定液使用的下限温度由其黏度和凝固点所决定。因此要扩大固定液使用温度范围,就要求固定液的黏度和凝固点低,例如,常用甲基硅橡胶的下限温度为 100~125℃,聚乙二醇-20M 为 68℃。

3.4.2 温度对固定液稳定性的影响

固定液的热稳定性除指在最高使用温度下不能发生分解、聚合等化学作用外,

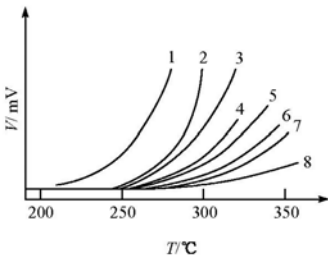


图 3-7 常用固定液基线漂移随温度的变化

1. 聚乙二醇-20M; 2. *p*-苯二甲酸反应物;
3. 50%聚三氟丙甲基硅酮(OV-210); 4. 50%聚苯甲基硅酮(OV-17); 5. 聚酰胺; 6. 聚苯甲基硅酮(OV-10); 7. 聚甲基硅酮(SE-30);
8. 聚碳硼烷甲基硅氧烷(Dexsil)

主要是指固定液受热后其蒸气压的变化幅度。热稳定性好的固定液,即使在较高柱温下,它的蒸气压也较低。在气-液色谱柱中,固定液的蒸气压与温度的关系可用克拉贝龙-克劳修斯方程描述^[6]:

$$\ln p = -\frac{\Delta H}{RT} + C \quad (3-7)$$

式中: p 为固定液蒸气压; ΔH 为气化热; T 为柱温; R 为摩尔气体常量; C 为积分常数。从式(3-7)中看出,固定液蒸气压随温度升高呈指数增加。因此在程序升温色谱中,柱温较高时,基线漂移严重。一般固定液的蒸气压都有在某个温度突然升高的“涌浪”现象,即固定液的失重。热稳定性好的固定液

在较高柱温时才出现失重现象。几种常用固定液基线漂移随温度的变化如图 3-7 所示。在常用固定液中,非极性的聚甲基硅氧烷类最好,而极性固定液聚乙二醇-20M 最差。

3.5 固定液的分类

据统计,已发现可用的色谱固定液近千种之多,在如此众多的固定液中选择一种合适的固定液是一件非常烦琐的事情。近年来,人们已经从发展越来越多的固定液,转向从众多已有固定液中选择较少的几种固定液而尽可能多地完成复杂的分离分析任务。对固定液进行科学分类的目的就是要阐明固定液之间的联系,阐明固定液对试样的分离规律,指出哪种固定液对哪一类物质分离效果好,对哪一类物质分离效果差。为了减少选择固定液的麻烦,以尽可能少的实验完成预定的分离任务,就需要对固定液进行科学的分类。

3.5.1 按固定液相对极性分类

1959年,Rohrschneider 提出^[7],用相对极性来评价固定液的分离特性。其测定方法是先规定氧二丙腈的极性 $P = 100$,角鲨烷的极性 $P = 0$,选一对物质,常用正丁烷-丁二烯,在这两个极性、非极性及被测固定液柱上,分别按式(3-8)测定其相对保留值为

$$q = \lg \frac{t_{R(\text{丁二烯})}}{t_{R(\text{正丁烷})}} \quad (3-8)$$

然后再按式(3-9)计算固定液的相对极性为

$$P_i = 100 \times \frac{q_1 - q_i}{q_1 - q_2} \quad (3-9)$$

式中: q_1 为正丁烷-丁二烯在氧二丙腈柱上测定的相对保留值; q_2 为正丁烷-丁二烯在角鲨烷柱上测定的相对保留值; q_i 为正丁烷-丁二烯在被测固定液柱上测定的相对保留值。各种固定液的相对极性值为 0~100。目前将 P_i 从 0~100 分为 5 级,每 20 为一级,0 表示非极性;+1 表示弱极性,如 SE-30 的 P 为 13,极性为 +1;+2 和 +3 表示中极性,如 PEG-20M 的 P 为 68,极性为 +3;+4 和 +5 为强极性固定液。这样将固定液按极性大小顺序排列,极性相似的分为一组,便于按极性相似原则选择固定液,显然这是一种近似的分类方法。

3.5.2 按固定液特征常数分类

由于相对极性值不能全面反映组分与固定液分子间的作用力,所以

Rohrschneider 在他本人工作基础上,提出用五种不同性质的化合物作为评价物^[8],分别测定它们在标准非极性固定液角鲨烷和被测固定液上的保留指数,利用它们之间的差值来度量固定液的极性。这五种化合物是苯、乙醇、甲乙酮、硝基甲烷和吡啶。由于 Rohrschneider 选用乙醇、甲乙酮和硝基甲烷作为探测物,它们的保留指数均低于 500,这样在测定保留指数时需用常温下为气态的 C₄ 正构烷烃作为参比物,其准确性较差又不方便。1970 年,McReynolds 提出^[9],用苯、丁醇、2-戊酮、硝基甲烷和吡啶代替 Rohrschneider 的评价物。McReynolds 测定了这五种评价物在 226 种固定液上的全部数据,其中九种常用固定液的 McReynolds 常量列于表 3-2,例如,苯在 SE-30 固定液上的 I_p 为 643,而在角鲨烷固定液上的 I_p 为 590,两者之差 ΔI_p 为 53。五种组分的 ΔI_p 值之和称为总极性,其数值越大则固定液的极性就越大。有时也用平均极性表示。

表 3-2 常用固定液的 McReynolds 常量

中文名称	英文名称	苯	丁醇	2-戊酮	硝基丙烷	吡啶	平均极性	总极性	相似组数	最高温度/℃
角鲨烷	squalane	0	0	0	0	0	0	0	1	150
聚甲基硅酮	SE-30	15	53	44	64	41	43	217	2	300
聚苯基甲基硅酮	OV-3	44	86	81	124	88	85	508	2	350
邻苯二甲酸二辛酯	dioctyl phthalate	92	186	150	236	167	166	997	4	150
聚苯基甲基硅酮	OV-25	178	204	208	305	280	235	1410	7	300
聚氟烷基硅酮	QF-1	144	233	355	463	305	300	1800	10	—
聚氧丙基硅酮	OV-225	228	369	338	492	386	363	2176	9	250
聚乙二醇	PEG-20M	322	536	368	572	510	462	2770	8	200
聚乙二醇丁二酸酯	DEGS	470	705	588	788	779	660	3990	15	200

3.5.3 统计技术分类

许多人通过统计的方法在简化固定液的选择方面做了大量的工作,比较有代表性的工作是:

Wold 用统计方法分析了 McReynolds 226 种固定液的 ΔI_p 值,发现许多固定液具有相似性,他将相似的固定液分为一组,共分 16 组,每组中只选一个代表,这就可使 226 种固定液减少到 16 种,使固定液的选择得到简化。

Leary 提出了用 12 种固定液可以代替 McReynolds 的 226 种固定液。

Delley 提出了用 4 种固定液可以完成近 80% 的气相色谱分析任务。这些固定液分别是 OV-101、OV-17、OV-225 和 PEG-20M。

Hawkes 等发现几乎所有的气相色谱分析工作都可以用以下六种固定液完成: ①聚二甲基硅氧烷类(OV-101、SE-30、SP-210); ②50%聚苯基硅氧烷类(OV-17、SP-2250); ③聚乙二醇-20M(Carbowax); ④聚乙二醇丁二酸酯(DEGS); ⑤聚氧丙基硅氧烷类(Silar 10 C、SP-2340); ⑥聚三氟丙基硅氧烷类(OV-210、SP-2401)。它们的性能稳定,极性差别间距均匀,使用概率大,应用面极广。对未知样品,可先使用这六种最常用固定液进行实验测定,观察其色谱图分离情况,然后选择其中最好的一种,这几支色谱柱可留实验室长期使用。建议每个实验室至少要常备两支色谱柱,分别是非极性柱 SE-30(或 SE-52)和极性柱 PEG-20M(或 OV-225)。样品先在非极性柱上分离,然后在极性柱上分离,比较两支柱的分离效果后,再做其他调整。

3.5.4 按固定液化学结构类型分类

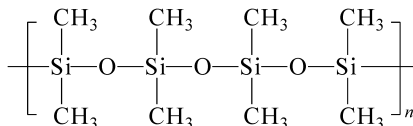
把具有类似化学结构的固定液排在一起,然后按其化学结构类型不同分类,这样便于按照组分与固定液的结构“相似相溶”原则来选择固定液,同时还可从化学结构来了解固定液的分离特征。

(1) 碳氢类 这类固定液的典型代表是角鲨烷,是从鲨鱼油中提炼而来,沸点 375°C,只能以色散力与组分作用,是非极性固定液,通常将其相对极性规定为 0,是分离烷烃类最理想的固定液,其结构式为 2,6,10,15,19,23-六甲基二十四烷。

(2) 阿皮松脂类 是一种混合物,含有芳香物杂质,没有确定的沸点,由于含有芳香物杂质,增加了诱导能力,也是一种非极性固定液。

(3) 硅氧烷类 英文名称 silicone,这类固定液是目前使用最广的固定液,其主要优点是具有很小的温度黏度系数、很宽的温度使用范围和很低的蒸气压,热稳定性较好,固定液流失量少,色谱基线稳定,对大多数有机物具有很好的溶解能力,在硅原子上引进不同类型的官能团可产生具有不同极性的固定液而使应用范围变广等,这些优点使它成为一种通用型固定液。在 Leary 推荐的 12 种固定液中,就有 7 种是硅氧烷类。它的缺点是微量流失的固定液在 FID 上燃烧所产生的 SiO_2 吸附在收集极上,使检测器灵敏度降低,这可用注射氟利昂样品使 SiO_2 与 HF 生成 SiF_4 来消除。按照在硅原子上引进的官能团不同,还可再分成以下几类:

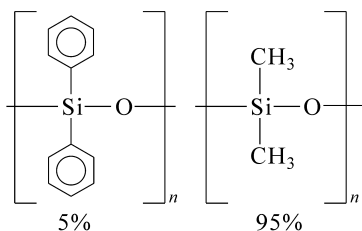
① 聚甲基硅氧烷。商品名称有 SE-30、OV-101 等,其结构式为



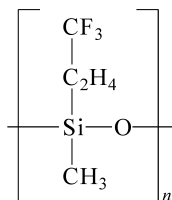
由于氧原子的键角不呈 180°,所以它是一种弱极性固定液,使用温度范围可

从室温至 350℃。

② 聚苯基硅氧烷类。在硅原子上引进苯基,可增加对芳香组分的溶解度。由于含苯基的数量不同,可有不同型号的商品固定液,如含 10% 苯基的有 OV-3、SE-52 等,含 50% 苯基的 OV-17 等,高苯基的 OV-25 等。固定液极性随苯基含量升高而增大。聚苯基硅氧烷的结构式为

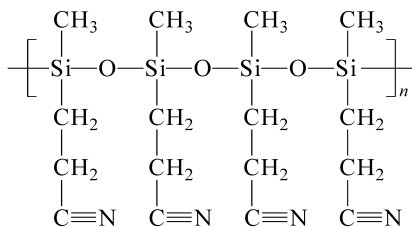


③ 含氟烷基硅氧烷类。商品名称有 QF-1、OV-210 等。聚甲基氟烷基硅氧烷的结构式为



这类固定液最高使用温度为 250℃,强碱作用易解聚,应使用酸洗硅烷载体,是一类中等极性的固定液。

④ 氰烷基硅氧烷类。商品名称有 OV-225、XE-60 等,是一类强极性固定液。这是由于 $\text{N} \equiv \text{C}$ -基吸引电子,使 α -碳上的氢原子呈现一定的氢键活性所致。聚甲基氰丙基的结构式为



聚硅硼烷类是目前热稳定性能最好的一种固定液,其最高使用温度为 450℃,分离性能介于 OV-3 和 OV-7 之间。