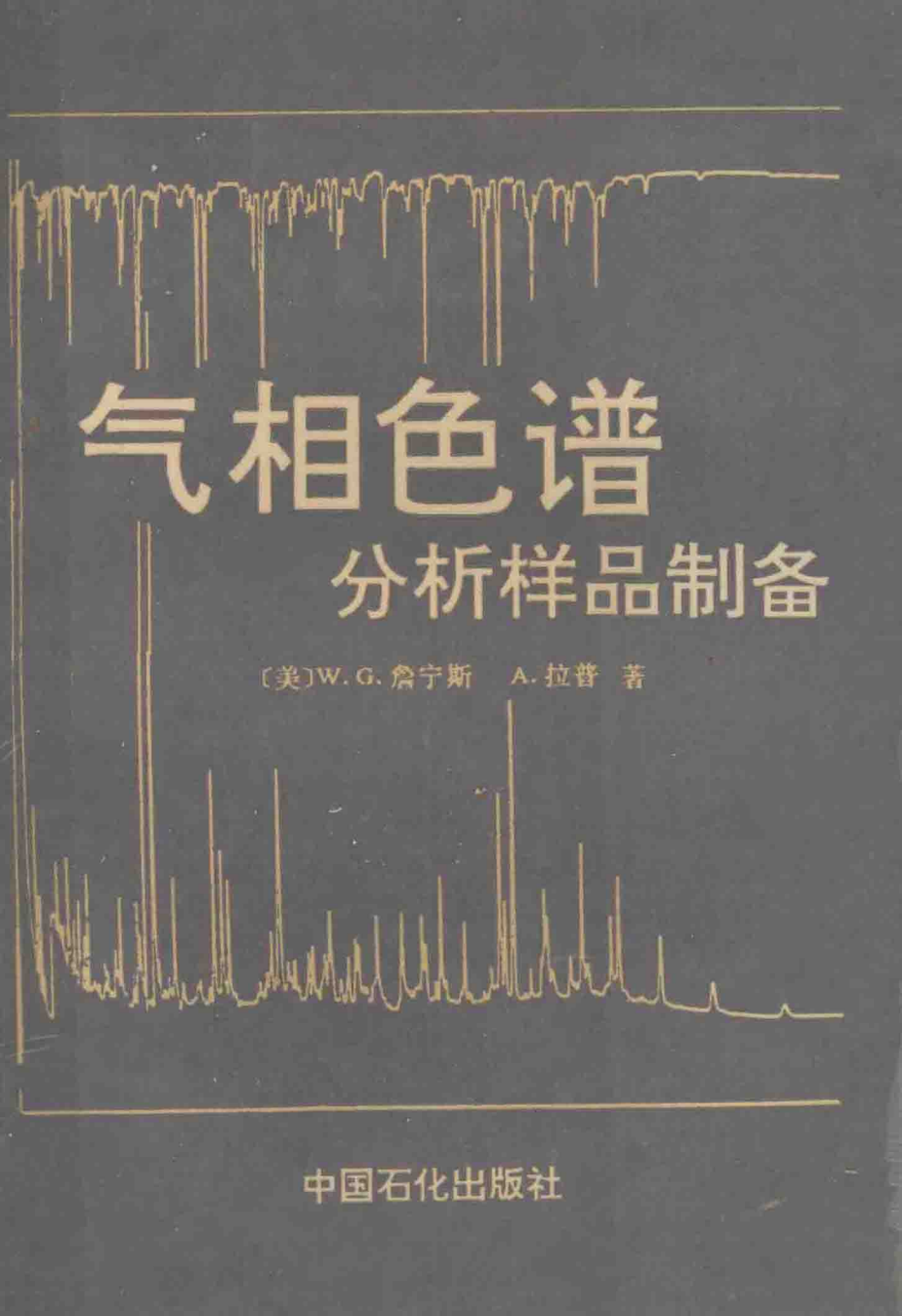


The background of the cover is a dark, textured surface. Overlaid on this background are two gas chromatograms. The top chromatogram is a horizontal line with numerous sharp, downward-pointing peaks of varying heights. The bottom chromatogram is a horizontal line with numerous sharp, upward-pointing peaks of varying heights. The title and author information are centered between these two chromatograms.

气相色谱

分析样品制备

[美] W. G. 詹宁斯 A. 拉普 著

中国石化出版社

气相色谱分析样品制备

〔美〕 W. G. 詹宁斯 著
A. 拉 普

任玉珩 译

史源鹤 校

江苏工业学院图书馆
藏书章

中国石化出版社

内 容 提 要

本书介绍了适用于气相色谱分析的样品制备方法,从各种进样方式的讨论入手,详细叙述了直接顶空注射技术,包括有和无柱头冷捕集两种情况,并考察了以吸附、抽提、蒸馏、共凝聚冷冻浓缩和区域精制作为分离浓缩技术。还列举了在空气、生物基体、食品和食品香料、香精油、法医样品、沉积物和水分析方面的应用。

本书可供化工、石油、环境保护、生物医学、法医检定、食品卫生和日用化学各部门的色谱工作者参考。

Sample Preparation For Gas Chromatographic Analysis

W.G.Jennings and A.Rapp

Dr. Alfred Huthig Verlag GmbH Heidelberg

1983

气相色谱分析样品制备

[美] W.G.詹宁斯

A. 拉普 著

任玉珩 译

由源鹤 校

中国石化出版社出版

(北京朝阳区太阳宫路甲1号 邮政编码:100029)

海丰印刷厂排版

海丰印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米 32开本 3⁵/₈ 印张 65千字 印1—3450

1991年3月北京第1版 1991年3月北京第1次印刷

ISBN 7-80043-130-4/TH·015 定价:2.25元

译 者 前 言

高效毛细管柱气相色谱法是解决各种复杂混合物分离和定量的一项非常有效的分析技术。但在许多情况下人们并不能径直用原始样品去直接进行色谱分析。随着多种进样方法,多种新型固定相的不断出现,随着仪器、柱子惰性水平及其操作性能的不断提高,人们对样品制备方法也提出了更新更高的要求。因此,样品制备对充分发挥色谱技术的固有潜力,保证分析结果的可靠性和扩大样品适用范围来说都是十分重要的。

本书篇幅不算太长,但所涉及的应用领域较广,内容也较新颖;在有关理论和实际应用的叙述上更具有简明深刻,详略得当的优点;书中还附有大量参考文献。因此,本书对化工、石油、环境保护、生物医学、法医检定、食品卫生和日用化学各部门的色谱工作者熟悉各种色谱样品制备技术的基本概念和实际应用,都会有一定的参考价值。

书中原个别错误之处,已作改正。由于译者水平所限,错误不当之处在所难免,请读者批评指正。

作者前言

本书内容涉及适于气相色谱分析应用的样品制备方法。它从各种进样方式的讨论入手，接着相当详细地研究了直接顶空注射技术，包括有和无柱头冷捕集两种情况。而吸附、吸收、抽提、蒸馏、共凝聚冷冻浓缩和区域精制则是作为分离和浓缩技术来研究的。对于与应用这些制备方法进行空气、生物基体(包括从流体和组织中分离脂肪酸、胆汁酸、和氨基酸)、食品 and 食品香料、香精油、法医样品、沉积物和水分析有关的一些特殊问题也进行了适当讨论。

目 录

一、样品制备的一般原理.....	(1)
二、直接进样.....	(5)
2.1 引言.....	(5)
2.2 分流进样.....	(5)
2.3 无分流进样.....	(8)
2.4 柱头进样.....	(10)
2.5 冷捕集.....	(23)
三、分离和浓缩技术.....	(31)
3.1 引言.....	(31)
3.2 吸附和吸收.....	(32)
3.3 抽提.....	(44)
3.4 蒸馏.....	(59)
3.5 滴液逆流色谱法.....	(62)
3.6 空气悬浮颗粒的吸留.....	(65)
四、特殊应用.....	(67)
4.1 空气取样.....	(68)
4.2 生物组织和流体.....	(87)
4.3 生物学应用.....	(87)
4.3.1 甾类激素.....	(88)
4.3.2 胆汁酸.....	(89)
4.3.3 氨基酸.....	(89)
4.3.4 脂肪酸.....	(91)

4.3.5 生物医学研究综述	(92)
4.4 食品和香料分析	(93)
4.5 香精油分析	(95)
4.6 法医检定法	(96)
4.7 水分析	(97)
五、参考文献	(100)

一、样品制备的一般原理

某种类型的样品制备处理的必要性以及为达到制备目的所决定采取的路线，是由样品和样品基体的性质、所要获的信息类型、允许的分析时间以及定性定量方面的一些考虑所决定的。

同建立某些香精油或轻质石油馏分之间组成的比较工作有关的分析工作者，一方面，处于极为有利的地位，因为常常可以直接注射一部分母体物质进行气相色谱分析，而不需要预先制备样品。另一方面，这种简便、直接的进样方法也可能行不通，有时是由于样品本身的性质，有时则与所要求的结果有关。在个别人感兴趣的农药残留物测定中，由于这些物质是存在于沉降池的沉积物中或存在于用做色拉的莴苣叶子上，为了分析这些物质，通常必须首先把它们从这些样品基体中分离出来；定性定量结果的可靠性将明显地取决于这一操作完成的效果如何，即达到的回收效率如何。香料化学家可能对贮藏在富乙烯-二氧化碳气氛中的水果香味成分，同贮藏在空气中的对照物的水果香味成分的定性定量地比较感兴趣。满意的定量结果需要严格而周密的分离方法，而如果样品处理过分粗糙，则可能导致样品产生质的变化。当然，这也可能影响到定量。

发酵饮料，象果酒、啤酒以及一些蒸馏液体则存在其他分析问题：主要挥发物是水，而其余大部分是乙醇。在一般的灵敏度下，乙醇倾向于形成一个极大的拖尾峰，该峰占

据大部分色谱图，并严重地掩盖大量可能是极为重要的化合物。可以预见，对于这些产品的分析，不仅需要预先除去任何非挥发性物质，而且还需要在不影响其它挥发性化合物相对浓度的条件下除去大部分乙醇。在其它领域出现的问题可能更具挑战性，而解决它们可能就更加困难。据Jellum等人（1981）报道，有100种以上的新陈代谢疾病，从其适当的体液或其他组织得到的GC/MS（气相色谱/质谱）谱图能够制出典型谱图，这些谱图能够很容易地同由非患病的对照组体液得到的谱图区别开来。这就给临床治疗提供了一个极为有力的诊断手段，不过，它可能需要高超的微量样品制备技术。到处可见的脂肪酸回收率都较高，不过有时与易变质的生物体液成分相结合，因而可能造成特殊问题。此外，供给分析人员的体液数量可能极为有限，例如象早产几个月的婴儿的那种情况。从这样的病人身上不管取多少血浆，对病人都是有害的，甚至会导致死亡。尽管死后的分析结果对看病的医生可能有用，但它们对死去的病人已毫无价值。

设备和方法学方面的进步已经发展到这样的地步，即必须对取样方法学提出新的要求；过去某些经受不住色谱过程的活性化合物，今天即使在低浓度下也能够检测出来。这就激起了人们研究样品制备方法的兴趣，以便保证这些活性溶质的回收。

环境分析工作者可能对土壤样品、水或大气中的痕量污染物的检出和测定感兴趣。在某些样品中，这些污染物质以极大的稀释度存在，这样就需要体积相当大的样品，甚至还可能需要若干个分离和浓缩步骤。在某些情况下，污染物可能以蒸气状态存在，而在另外情况下它们则作为气溶胶存在；它们也可能被吸附在空中的悬浮颗粒上，或被包裹在粘液

和沉积物中。此外，定性和定量两者也都是重要的；代表性样品的选择；代表性样品中感兴趣组分的分离以及这些组分的回收（甚至包括从浓缩设备中的回收），所有这些都会影响到用最后的被分析物表示原始物质组成的可靠程度。

过去几年在毛细管柱的研制方面已经取得了显著进展，毛细管柱惰性的提高展现的前景，是使得敏感性溶质被全部或部分吸附的情况少多了（例如Jennings, 1980a）。经过改进并更为适宜的一些进样方法主要是基于Grob(1978)和Grob(1978、1979)的工作，这些方法对定性定量进样方面有着十分重要的影响。后来的发展是使用一支带有柔性石英针头的标准微升注射器把未曾加热的样品直接加到石英毛细管柱上（涂有化学键合物或非抽提性液相液膜），从而成功地取代了分析装置中的不锈钢注射针头（Jenkins和Wohleb, 1980）。金属的注射器针头对某些样品能够产生催化作用，这种催化作用可能因采用加热针头的进样方式而被加剧。其他一些金属管道对分析结果的可靠性也是有害的。Freeman(1980)曾经指出，即使在长度极其有限的柱-检测器界面（火焰喷嘴）上也存在着溶质吸附的危险，他建议把细直径石英毛细管柱头穿过火焰喷嘴，并恰好终止于火焰的底部。

这些成果的融合能够提供更多的保证：嵌入取样注射器的新颖材料能够经受住取样、注射和柱子转移，而且最终能毫无变化地被最后送至检测器的检测点上。在以前，要达到这种情况是没有多大把握的。

没有一种单一样品制备方法能适合于所有情况下的所有样品。

人们在真诚欢迎地这些保持溶质存在的可能性日益增加的同时，他们也把完善样品制备技术的必要性强调到了更高

的程度,以便利用这些技术来提高分析能力。许多样品分离操作涉及蒸馏,抽取和/或吸附,其后还可能要继之以衍生技术;分析人员在许多机会中会遇上被委托破获各种犯罪案件。不幸的是没有一个单一的样品制备技术是最适合于所有情况下的所有样品的。当代的色谱工作者必须很好地熟悉各种各样的样品制备技术,以便能够合理地判断出最适宜具体情况的细节安排。我们的希望是本书将有助于实现这一目的。

二、直接进样

2.1 引言

在色谱过程的一开始，样品谱带就必须尽可能地窄。

色谱过程的基本要求是，当样品导入色谱柱时必须让它占据尽可能短的一段柱长。随着样品谱带通过柱子，扩展过程发生了，而且任何两种物质最后被分离的程度是这些扩展过程受限制的程度（柱效率）和起始谱带宽度（注射效率）的函数。显然，这时的谱带宽度并不影响谱带中的物质含量，而是同谱带中溶质浓度成反比关系。然而，由于注射效率和柱效率两者都影响导入检测器中的溶质浓度，因此两者也都影响检测器的灵敏度。

有各种进样方式适合于毛细管色谱。采用最广泛的是分流、“无分流” (Splitless) 和柱头进样。此外，密封胶囊进样，落针进样器及热聚焦进样口方式也已提出来用在毛细管柱上。下面简要地讨论前几种进样方式，而所有这些在别处都已经详细地讨论过了 (Jennings, 1980b)。

2.2 分流进样

分流进样是最流行的。因为该装置不论是由市场供应的还是经过改装的，价格都相当便宜，而且比较容易得到良好的色谱结果。对适当的样品，如果进样是严格进行的，分流器就能给出优异的结果。

在这种方式中，样品总是使用注射器注射进被一个体积流量相当大的气体吹扫着的加热的汽化室里（通常30~200

ml/min)。该气体大部分通过一定类型的节流方式被排入大气，而小部分则直接作为载气进入柱子。因为汽化作用在理想情况下必须是瞬间完成的，所以进样分流器应当具有高热容的汽化表面，不过结果可能使样品受到明显的热作用。因此，这种进样方式对热不稳定的物质可能是不适宜的。分流进样器还要求有良好的进样技巧，而且要很快地完成注射。

线性——对于分流器而言，该词表示保真度，即直接注射到柱子中的那部分对原样品真实组成的代表性——是受许多因素影响的。当溶剂和低沸点溶质闪蒸成汽态时，它们将从汽化表面吸收热量。这时某些高沸点的溶质在这种冷却了的表面上就可能难以汽化，而且能作为微小液滴被气流带走，结果形成气溶胶。气溶胶的形成能够造成严重的失真，亦即缺乏线性。为了将生成气溶胶的可能性减至最小程度，有时候可用少量的Chromosorb（红色硅藻土色谱载体）W一类的填料涂以少量SE30那样的非极性固定相，来代替玻璃珠作为蒸发面。此时该进样口的作用就象一段极短的填充色谱柱，并能确保到达分流点的被分析物质呈汽态。注射保留较弱的溶质所造成的谱带扩展通常情况下不明显，不足以造成什么问题。这个可以联系到高沸点溶质的情况。越是高沸点的溶质保留程度也越大，同时它们多半冷捕集在柱子的前端，仅仅在程序升温开始之后才开始色谱过程。其组成的挥发性范围很宽的样品是难以用分流进样定量的，因为较高沸点组分通常汽化更慢（在极端情况下，甚至会妨碍完全汽化），这很可能导致失真。

分流比（柱流量/放空流量）可在低至1:5到高达1:1000之间变化，不过更常见的分流比变化范围是1:50到1:200。因此，每注射1 μ l样品只有0.5~2%进入柱子。假定所有样

品组分密度均为1.0, 则它近似相当于在进样量为 $1.0\mu\text{l}$, 分流比为1:100, 样品浓度为10%时, 在柱子上加上约 $1.0\mu\text{g}$ 的溶质; 当样品浓度为0.01%时, 加在柱子上的溶液约为 1.0ng ^①。前者处在液膜厚度 $0.1\sim 0.25\mu\text{m}$ 的柱子(即常规柱)的超负荷范围, 而后者则接近常规FID(火焰电离检测器)的检测限度。因此, 在正常使用条件下, 分流器最好工作在样品溶质浓度为0.01~10%的范围内。

一个好的分流器应当满足的某些设计标准。

一个设计良好的分流器在样品离开分流点之前, 能使样品蒸气仅仅接触其惰性表面, 汽化样品迅速而完全, 能够达到样品同载气的充分混合(而且应包括进行实际分流的样品膨胀区在内)。分流器下游的缓冲体积有助于减缓伴随溶剂蒸发而来的压力波动, 但不能消除它, 压力波动能够影响气流速度, 分流比和线性。

分流进样的主要优点是非挥发性样品组分不会沉积在柱头上, 而是被阻留在分流器中, 由此通过定期清洗能够把它们除去。分流进样的主要缺点是样品要经受相当激烈的热作用, 而且可能出现失真, 特别是对高沸点溶质。

分流器对大多数色谱工作者能提供三个主要优点: 它们价格相当便宜, 使用简便, 而且能够把样品中的非挥发性组分阻留在分流器中而不让其进入柱子。分流器的主要缺点是分流可能是非线性的(特别当样品含有高沸点组分时); 样品容易受到相当激烈的热作用(同其它进样方式相比, 它们要求更快速地蒸发样品), 而且需要良好的进样技术(特别对短柱子)。图1~3表示不需要专门制备样品的典型分流进样。

^①原文误印为 $1.0\mu\text{l}$ ——译者注。

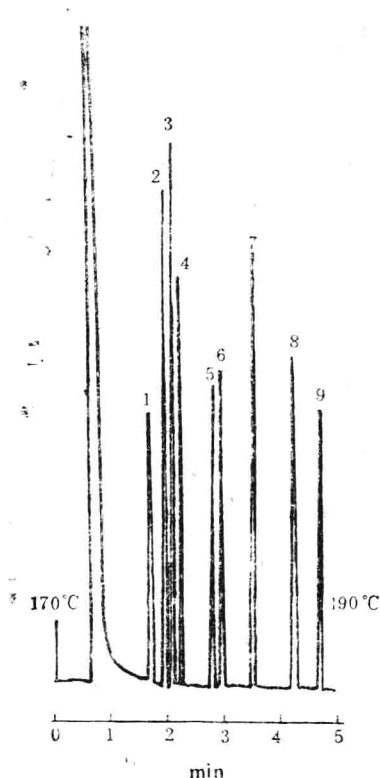


图 1 某些N-氨基甲酸甲酯
杀虫剂的分流进样

在涂有SE52的18m×0.31mm
ID的熔融石英毛细管柱上的
FID色谱图;170~190℃;4℃/
min; 然后恒温

- 1) 灭多虫; 2) 残杀威;
- 3) 偶氮苯; 4) 混杀威;
- 5) 虫螨威; 6) 天害威;
- 7) 3-酮碳呋喃; 8) 西维因;
- 9) 灭虫威

引自Wehner和Selber (1981)

2.3 无分流进样

无分流进样最适用于高沸点溶质的稀溶液。溶剂和溶质间的沸点关系对于进样口和柱子的温度来说是至关重要的。

在这一操作中, 被溶剂稀释了的样品, 是在汽化室通过较低流量的载气吹扫下注射进加热的汽化室 (典型的载气流量是1~3ml/min), 因此所有样品全部进入柱子。所用溶剂

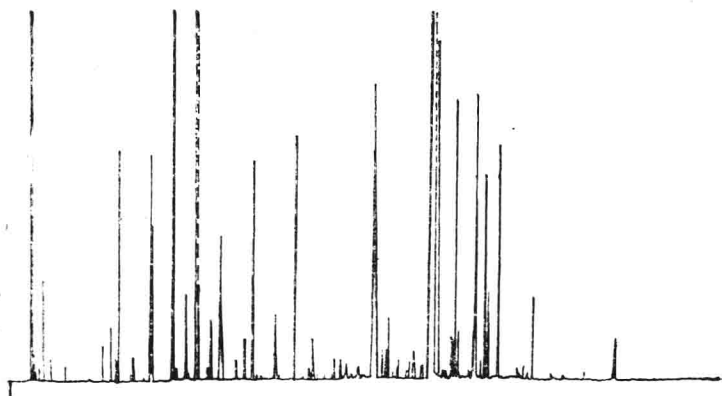


图 2 1 μ l中西部天然薄荷油的分流进样(分流比1:100)

30m $\times$ 0.25mm ID熔融石英毛细管柱涂以50/50的SE30和聚乙二醇;
50 $^{\circ}$ C恒温5分钟;4 $^{\circ}$ C/min至200 $^{\circ}$ C。承蒙J&W科学公司Rand Jenkins的许可

的沸点必须高于柱温但又要低于被分析组分的沸点。在这样的条件下,汽化了的溶剂被载带到较冷的柱子上,在那里冷凝并起到一个临时“液相”的作用,因而减小了这一段柱子的相比,以致此时进入柱子的溶质的分配比被迫大大增加(Grob和Grob,1972,1974,1978;Jennings等人,1978)。在大约1.5倍汽化室体积的载气通过汽化室进入柱子后,启动吹扫功能把载气方向改变为从汽化室底部进入启动吹扫功能,于是气流在汽化室底部被分开,一部分继续向前穿过柱子作为载气,另一部分则通过限流器把残留的挥发物从汽化室吹扫到大气中去。因此,“分流”的确能在“无分流”进样过程中完成,而且这种分流是在不用采取分流线性保证措施的条件下实现的。

由于样品汽化及其往柱子上的转移允许经过较长时间,所以无分流进样口能在比分流进样口稍微低一些的温度下操

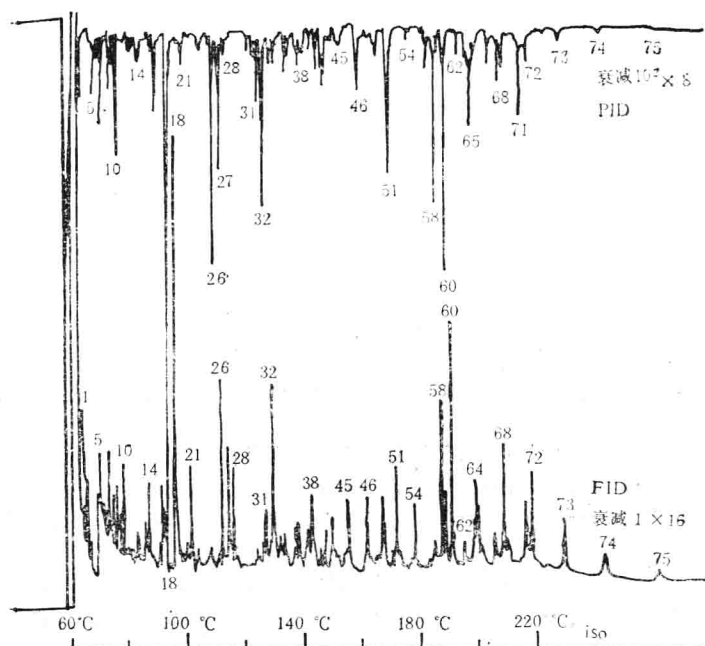


图 3 煤焦油中性馏分的分流进样

10m熔融石英毛细管柱涂以SE54; 柱出口分两路流到微型光离子化检测器 (PID) 和FID上

引自Kapila和Vogt (1981)

作。当然，这意味着样品能够少受热冲击作用。“无分流”进样主要用在随低沸点溶剂进行注射的各种高沸点溶质的痕量分析中。图4~6是其典型应用例子。

2.4 柱头进样

柱头进样对于高沸点溶质的进样提供了最好的方法，而且在定量上应该是最优异的。

上述两个进样方式都是以这一事实为特征的：样品被注