

气相色谱

在中草药及中成药研究中的应用

主编/李文兰 王伟明 杨征武



黑龙江人民出版社

内 容 提 要

气相色谱法是目前中药成分分析及研究中(特别是挥发性成分)的快速、准确、灵敏度高的分析技术,本书分上、下两篇。上篇介绍气相色谱的基本原理、色谱分离条件选择及定性定量分析。下篇为各论,具体介绍 40 味单味药,56 种复方药及常规检查的气相色谱分析,涉及 100 余种中药有效活性成分的定量检测。全书内容详实,理论充分,集众多同仁专家之精华,适用于各种检验人员、仪器分析人员、教学研究人员、企业生产人员及有关科研人员使用。

气相色谱在中草药及中成药研究中的应用

主 编:李文兰 王伟明 杨征武

副主编:徐佳媛 薛俊玲 许英杰

丁振铎 洪 明

黑龙江人民出版社出版、发行

(哈尔滨市南岗区宣庆小区1号楼)

地矿部黑龙江社会印制中心印刷厂印刷

各地新华书店经销

开本 787×1092 毫米 1/16 印张 10

字数: 24 万字

1999 年 3 月第 1 版 1999 年 3 月第 1 次印刷

印数 1—500

ISBN 7-207-03978-6/R·789

定价: 14.80 元

前 言

气相色谱法(GC)是50年代初发展起来的一项快速精确的分析技术,已有多年的应用历史,具有分离效能高、选择性强、样品用量少、速度快、准确度高等优点。目前,在中药及其制剂分析领域中作为常规的分析方法,应用已相当普遍,成为中草药化学成分的纯度鉴定、含量测定、复方质量标准及代谢产物研究等中药分析中不可缺少的检测技术。

全书共分8章,前5章系统介绍了气相色谱的发展史、基本原理以及色谱分离条件的选择、柱效评价、定性定量法。第6、7章介绍了94种常见中草药及复方制剂的具体实验操作方法,涉及100余种有效活性成分的定量分析。第8章介绍了气相色谱的常规检查方法,如乙醇、水分、防腐剂、农药等。书后附各位同仁研究成果的参考文献,内容翔实、深入,适用于各种检验人员、仪器分析人员、教学研究人员、企业生产人员及有关科研人员使用。

对常用中药及复方制剂在气相色谱中的研究成果进行总结归纳,查阅了近年的有关文献资料,是一项工作量大而且极其艰苦的工作,全体编者付出大量的心血和劳动,终于完成了此书并与读者见面。

本书编著的目的,旨在为广大中药研究同仁们奉献一本具有实用参考价值的气相色谱分析新书,由于编者水平有限,时间仓促,书中错误在所难免,有不妥之处敬请广大同仁们批评指正,以便今后更进一步完善。

编 者

一九九九年一月

目 录

上 篇

第一章 气相色谱分析概述

第一节 气相色谱的发展史.....	(1)
-------------------	-----

第二节 气相色谱技术现况及发展过程.....	(2)
------------------------	-----

第二章 气相色谱原理

第一节 气相色谱基础.....	(6)
-----------------	-----

第二节 气相色谱理论.....	(8)
-----------------	-----

第三章 气相色谱仪及发展

第一节 气相色谱仪一般介绍	(14)
---------------------	------

第二节 各种气相色谱仪概况	(16)
---------------------	------

第三节 检测器的性能指标	(18)
--------------------	------

第四章 色谱条件选择

第一节 柱选择	(19)
---------------	------

第二节 担体的选择	(19)
-----------------	------

第三节 固定液的选择	(20)
------------------	------

第四节 分离条件的选择	(23)
-------------------	------

第五章 定性、定量分析

第一节 定性分析	(25)
----------------	------

第二节 定量分析	(27)
----------------	------

下 篇

第六章 气相色谱在单味中药研究中的应用

1. 人参	(32)
-------------	------

2. 丁香	(33)
-------------	------

3. 土木香	(34)
--------------	------

4. (新疆)大麻	(35)
-----------------	------

5. 马钱子	(37)
--------------	------

6. 牛黄	(38)
7. 乌蛇	(40)
8. 月见草	(41)
9. 石菖蒲	(43)
10. 老鹤草	(44)
11. 当归	(45)
12. 肉桂	(46)
13. 芫荽子	(47)
14. 苍术(白术)	(48)
15. 芦笋	(50)
16. 牡丹皮	(50)
17. 沙棘	(51)
18. 补骨脂	(52)
19. 陈皮	(55)
20. 苦参	(56)
21. 荆芥	(57)
22. 砂仁	(58)
23. 厚朴	(59)
24. 香附	(61)
25. 独活	(62)
26. 洋金花	(63)
27. 徐长卿	(65)
28. 黄芪	(66)
29. 黄柏果	(67)
30. 蛇床子	(68)
31. 麻黄	(71)
32. 淫羊藿	(73)
33. 斑蝥	(74)
34. 紫苏叶	(76)
35. 雷公藤	(77)
36. 薄荷	(78)
37. 蟾蜍	(79)
38. 麝香	(80)

第七章 气相色谱在复方研究中的应用

1. 十滴水	(82)
2. 人參蜂王漿	(83)
3. 万花油	(86)
4. 女金丸	(87)
5. 小儿益肺胶囊	(88)
6. 小青龙冲剂	(88)
7. 止嗽定喘丸	(89)
8. 片仔癀	(90)
9. 乌蛇止痒丸	(91)
10. 月见草软胶囊	(92)
11. 风油精	(93)
12. 心痛平	(95)
13. 六应丸	(96)
14. 六神丸	(98)
15. 六味地黄丸	(101)
16. 玉清安液	(102)
17. 正骨水	(103)
18. 白花油	(104)
19. 华佗再造丸	(105)
20. 抗类风湿胶囊	(106)
21. 含硫灸剂	(107)
22. 辛香止痛散	(108)
23. 金匱腎氣丸	(109)
24. 松节油	(110)
25. 参芪抑癌注射液	(111)
26. 佳田膏	(112)
27. 复方丁香止泻胶囊	(113)
28. 复方丁香吸入剂	(114)
29. 复方甘草片	(115)
30. 复方杜鹃片	(116)
31. 复方柠檬烯胶囊	(117)
32. 复方柴胡注射液	(117)

33. 复方斑钠片	(118)
34. 洁尔阴洗液	(119)
35. 鸦胆子口服乳	(120)
36. 养血当归精	(121)
37. 宫颈糜烂栓	(122)
38. 冠心苏合丸	(123)
39. 桂林西瓜霜	(124)
40. 桂枝茯苓胶囊	(125)
41. 柴胡注射液	(126)
42. 桉油	(127)
43. 桑菊感冒丸	(128)
44. 排气涂膜剂	(129)
45. 银翘解毒片	(130)
46. 紫黄止血散	(131)
47. 跌打万花油	(131)
48. 葛根汤	(133)
49. 舒肝丸	(134)
50. 解毒消炎丸	(135)
51. 痰咳净	(135)
52. 鼻渊清胶囊	(138)
53. 藿香正气丸	(139)
54. 麝香保心丸	(140)
55. 麝香风湿油	(141)
第八章 气相色谱在中药常规检查中的应用	
1. 乙醇量的测定	(142)
2. 有机磷农药残留量的测定	(144)
3. 有机氯农药残留量的测定	(146)
4. 水分含量的测定	(150)
5. 糖浆剂中苯甲酸与苯甲酸钠的测定	(151)
6. 注射剂中苯甲醇的测定	(151)

上 篇

第一章 气相色谱分析概述

第一节 气相色谱的发展史

气相色谱法是色谱法的一种。色谱法(Chromatography)亦称层析法、色层法,是一种分离技术,应用于分析化学领域,与适当的检测手段结合,就构成了色谱分析法。色谱法产生于本世纪初(1906年)。当时俄国植物学家茨维特(Tswett, M)在研究植物叶子色素成分时,用一根玻璃管,内填充碳酸钙颗粒,然后将植物叶石油醚提取物倒入柱上端,再用石油醚加以冲洗,结果玻璃柱内的植物叶的色素被分成了几个具有不同颜色的谱带,并按谱带的颜色对混合物进行鉴定分析。茨维特将这个方法称为色谱法,把这根玻璃管称作色谱柱。到1931年澳大利亚化学家R.库恩用这种方法在纤维状氧化铝和碳酸钙的吸附柱上将结晶状胡萝卜素分离成 α 和 β 两种异形体。同年他与芬德史坦(Winter - Steiu)用吸附法制取了叶黄素结晶。用简单的色谱柱竟能轻而易举地完成在当时认为难以实现的分离工作,这引起了广泛的注意,许多人采用这种分离技术,促进了色谱技术的大发展。色谱柱也不限于管状柱了,发展出平面的纸色谱和薄层色谱,分离对象早已不限于有色物质了,但色谱这个名词却一直沿用下来。

20世纪50年代初期,新兴石油化工的出现,以及医药、生物化学的进展,促进了气相色谱的应用和发展。气相色谱法,主要指气——液色谱法,是1952年英国生物化学家诺贝尔奖获得者马丁(Martin A. J. D)等人创立的。自其问世以来很快就成为分析化学领域极为重要的分析方法。1941年马丁和辛格(Martin, A. J. M & Syhge)首先提出柱级能模型,认为分配层析法性质与回流的分馏相似,并对其进行了理想板数的计算。1944年克莱生(Claesson, S)用迎头法顶替法研究了气固色谱。1947年迈厄尔(Mayer)等计算出在溶解与被吸附的溶质之间达到平衡过程的所需柱长。1949年马丁又提出了保留性质与热力平衡常数的关系,1951年詹姆斯(James A. T)和马丁发明了气——液分配色谱法。而后由Perkin—Elmer公司制造出带有热导池检测器的商品化气相色谱仪,型号为Model 154。1956年荷兰学者范第姆特(Van Deemter J. J)等人,总结了前人的研究成果,提出了气相色谱的速率理论,为气相色谱法奠定了理论基础。同年美国工程师戈雷(Colay M.)发明了毛细管柱,提高了分离速度的和效率。在五十年代末期检测器的研究有很大进展,氢火焰离子化、电子捕获检测器相继问世。

在此期间微量注射器和柱箱的程序升温都应用到气相色谱仪中,种种进展迅速地提高了色谱分离性能,在那个年代气相色谱已成为最重要的分析仪器。六十年代到七十年代,研制出了氢火焰离子化检测器(FID),脉冲电子捕获检测器以及碱火焰离子化检测器(氮—磷检测器)并应用到日常分析中。近三十年来,气相色谱在多方面都有飞跃的发展,在石油、化工、医药、卫生、食品、环境保护、生化等部门及科研机构,都有气相色谱的广泛应用。

目前国内外都有色谱学会、并有有关刊物出版,世界上每年都有许多气相色谱的论著出

版并有上万篇的气相色谱的文献报导发表。气相色谱仪器的研制生产逐年进步,仪器型号不断更新换代。全世界生产各种类型的气相色谱仪有数十万台。我国在气相色谱生产和研究方面也有许多进步,我国共有仪器有上万台,仪器生产逐年改进。

第二节 气相色谱技术现状及发展过程

过去的几十年间气相色谱在仪器设计、自动化及应用领域都有稳步的发展。在分离效率方面:复杂的混合物在高选择的固定相上很容易得到良好的分离,目前达到理论塔数为 10^5 高的分离效率是很容易做到的;分析速度方面:对于简单的样品气相色谱做为高速的分析手段,许多分析只需要几分钟,甚至几秒钟完成;在灵敏方面:检测器的检测限,在微升级进样量下,可以达到 10^{-3} gml^{-1} ;在数据处理方面:普遍采用微处理机的控制,使结果准确度提高精密密度在 10^{-6} g 级的测定中可达到相对标准偏差优于1%的水平。

一、色谱柱及相应进样系统

(一)色谱柱

色谱柱是色谱分离的中心,是实现分离的关键,多年来在气相色谱技术上色谱柱的发展是巨大的。主要有填充柱和毛细管柱两类,就目前看填充柱的应用多于毛细管柱,就发展看毛细管柱的应用发展迅速,填充柱因制备简单,可供的担体及固定液种类较多,可满足许多样品的分离,分析的重现性好,在化工、轻工、食品、环境、环保、医药及卫生方面的分析中应用广泛。一般药物分析填充柱占主要地位,许多标准方法都采用填充柱。与毛细管柱相比,一般填充柱的柱效率不高,多组分样品分辨差。填充柱柱质上通常为玻璃或金属两种,金属柱曾采用过不锈钢、铜、铝等到材料,铜与铝易催化分解不稳定的分析组分,在药物分析工作中应尽可能不用金属柱。尽管不锈钢柱装柱前经彻底清洗和硅烷化失活,适合一些物质的分离,但玻璃柱具有更少的吸附及催化作用,为普遍采用。Crossley 采用过 Teflon(聚四氟乙烯)柱,发现 Teflon 比玻璃柱更适合分析对热不稳定的组分。

一般填充柱装填具有活性固体支持物的固定相或是在惰性的固体支持物(担体)上涂以固定液所形成的固定相,柱的内径一般为 $2 \sim 6 \text{ mm}$,多数为 $1 \sim 3 \text{ mm}$ 长。担体的粒度常用英制标准“目”的大小表示,大都采用 $60 \sim 80$ 、 $80 \sim 100$ 和 $100 \sim 200$ 目。涂敷固定液的含量一般在 $3 \sim 20\%$ 之间。对挥发性差物质的测定或快速测定时固定液含量可更少些。尽管一些学者提出任何柱子都有最佳的进样量,一般认为样品量越少柱效最好。 2 mm 内径的最佳的进样量为 $0.2 \mu\text{l}$ 。柱子能够分离样品最大量(样品容量)相当于固定相的量,接近柱直径的平方。范德华和 Kuron 研究了柱效、直径和样品量的关系,证明 4 mm 内径的最有效的样品量为 $30 \mu\text{l}$,超负荷可导致柱效差,分离度不好,峰拖尾及保留时间改变等问题。痕量分析时,大量的组分如溶剂也会产生这些影响。

毛细管柱或称开管柱,是从填充柱发展出来的。在1957年 M.J.E Golay 博士用一根长而细的毛细管代替装有涂着液体固定相的不规则多孔粒子的填充柱,这个柱子可以为载气提供“畅通的,不受限制的跑道”。Golay 的工作开创了毛细管柱(亦称开管柱)的历史,毛细管柱分离能力比填充柱优越得多,并缩短了分析时间,称得上是一个气相色谱的革新。他研制的柱子叫壁涂开管柱或称 WCOT。(液相以薄膜的形式涂在柱子内壁上)虽毛细管柱柱径是细小的,但是实质重要的是它的空心性而不是细小性。(目前也有具有“毛细”直径的填充柱。)从毛细管柱的柱质上看,最早 Golay 等制作的毛细管柱是玻璃的,然而在制备中使固定

液牢固地涂在柱内壁是一个花了十年才解决的问题,后来采用的金属柱(不锈钢)的使用也较广泛。自 1979 年 Daudenan 和 Eerenner 在玻璃毛细管色谱第三次国际年研讨会上发表了有关熔融石英毛细管柱的研究,一周后 Freeman 在美国宣布研制成熔融石英毛细管柱(FSOT)。毛细管柱的发展对气相色谱仪设计产生了冲击,促进了毛细管柱的普及和应用。在 70 年代中期美国销售的气相色谱仪具有毛细管柱者不足 10%,而目前国内外几乎所有的气相色谱仪都具备毛细管柱联接装置。

与填充柱相比毛细管柱具有分离效率高,分析速度快,样品用量少等特点,可在 1h 内分离 100 多种化合物的汽油馏分,而样品的用量仅几微克,由于它具有这些优点,在分析许多复杂化合物,如宽沸程多组分样品,分子量较大沸点较高及难分离的样品时,显示出其独特的分离性能。

从应用的角度上讲,毛细管柱与填充柱相比较,毛细管的柱容量小,其固定液含量只有几十毫克,比填充柱要少几十至几百倍,因此,进样量必须极其微少。要把这样微量的样品重复地、定量地引入毛细管柱中进行定量分析。毛细管柱的操作技术比填充柱要困难得多,一般需要分流装置,对仪器结构及性能的要求更高,因此,一般分析的稳定性和重现性比填充柱差。从柱效角度看,毛细管柱的效能要比填充柱高很多,其理论塔板数一般比填充柱高 10~100 倍。一般填充柱难以实现的分离,可用毛细管柱解决,对复杂的多组分混合物可采用毛细管柱进行分析。另外填充柱的固定相,如担体,固定液等多种类繁多,一般可以购买到,可根据工作需要自行制备色谱柱,比较方便,而毛细管柱一般需要购买商品化的柱子,比较昂贵。为克服毛细管柱需要分流及重现性不好等不足,人们又有应用宽口径毛细管柱的趋势。宽口径毛细管柱效能比不上细小口径毛细管,但其有较大的柱容量。可不分流进样,又具有填充性的某些优点,近年在一些领域应用有增多趋势。

(二)进样系统

进样系统是将被测样品注入仪器的装置,在气化室内将被测物质汽化,随载气进入色谱柱进行分离。随着毛细管色谱的发展,进样系统发生了相应改进,由于毛细管柱容量小,一般需要分流装置,因此,毛细管色谱的进样系统就有分流和不分流两种形式,另外,柱头进样和程序升温毛细管柱进样也是进样系统的不同形式。柱头进样是 1963 年由 Zlatkis 和 Walker 首次提出在并大口径开管柱上进行的,是高沸点和热不稳定物质分析时普遍采用的方式,一些厂家已有不同的柱头进样器。程序升温毛细管进样器可分为柱头和分流/不分流两种,这种进样系统可在温度较低的溶剂或任意一种组分不能蒸发时将样品注入到进样器,然后进样器以很高速率程序升温,再将挥发性组分送入冷色谱柱内,可降低分流/不分流进样器产生色谱峰的畸变,减少热降解以及吸附效应。利用冷柱头进样,可改善多样品组分的峰形,增加分离效果,减少样品“失真”。Dani 公司的程序升温汽化器的进样系统也被认为是减少“失真”较好的进样系统。

(三)检测器

气相色谱仪所使用的检测器,种类繁多,但能普遍采用者为数不多,最常使用的检测器一般为五种,即火焰离子化检测器(FID)、热导检测器(TCD)、电子捕获检测器(ECD)、火焰光度检测器(FPD)及氮磷检测器(NPD)等。此外还有 Hall 电导检测器(HFCD)、光离子化检测器(PID)、热能量分析检测器(TEA)和质量选择检测器等。

六十年代到七十年代检测器的研制有了很大的进展,火焰离子化检测真空管向晶体管转

变,电子捕获检测器改变脉冲供电等,这些进步都使检测器性能有很大的提高。新材料的出现使得碱火焰离子化检测(氮磷检测器)可在高温下操作并保持稳定,并应用在日常的分析中。FID、ECD 和 NPD 应用于挥发性有机物的痕量分析,如水中杀虫剂等。现在的检测器灵敏度和可靠性有非常大的改观,其原理与过去仍相同。其它引起广泛重视的检测器,也有其独特之处,亦在发展中愈趋完善。

现代热离子化检测器是在 Kolb Bischoff 首次提出的装置基础上应用电子加热碱金属铷玻璃珠构成,其稳定性超过以前的装置,对 N 和 P 化合物或 N.P 化合物检出限达 10^{-14} g,在与其它组分分离不好的情况下,使用 TID 有独到处。热能量分析检测器(TEA)是分析胺类亚硝胺的专用检测器,最低检测出限 100pg,另外可分析芳香族硝基化合物。光离子化检测器(PID)对大部分有机物有响应,检测限为 ppb 级,线性范围可达 10^7 。PID 只使用一种载气(既空气),不需要辅助气体,灵敏度接近 FID,对 S 的灵敏度很高,对 CH_4 无响应,在药物分析中引起人们极大兴趣,由于它对脂肪族与芳香族的响应与 FID 有别,因此与 FID 联用时用信号比值照的方法可区别不同化合物。它与 NPD 联用时可区别伯、仲、叔胺化合物。有人认为可能会取代 FID, PID 目前的应用不断增多,并在手提式 GC 中普遍使用。

霍尔微电导检测器(HECD 或 Hall)是对 N.P 和卤素化合物的专用的检测器,其线性范围和选择性可与 NPD、FPD、ECD 媲美。1978 年 Hall 解决了一系列问题,提供了 1700A 型程序脉冲微电解电导检测器,仪器性能稳定。他采用 N 方法测定农药和除莠剂残留量,如对三氯除莠剂的最小检测浓度为 50ppb;测定硝胺最小检出限为 20pg。采用 S 方式其线性优于 FPD,并消除了单焰 FPD 的熄火问题,按卤素方式时将含卤的有机物转化成卤代酸,再以还原方式操作,线性范围达 10^6 ,可取代 ECD 分析有机氮农药,其结果接近或好于 ECD。由于 HallD 检测器是属于湿式化学检测器,远不如 FPD、NPD 和 ECD 等使用方便,因此未能得到广泛应用。

目前,国际上一些厂家研制等离子体检测器(如射频等离子体检测器、微波等离子体检测器等)对含某些元素的化合物具有选择性,目前尚未大量生产和普及使用。另外一些公司研制质量选择检测器、离子阱检测器等可以获取更多的定性信息。也有人认为原子吸收光谱,微波等离子体发射光谱及以光声光谱检测器将是 GC 检测器的一个新的发展方向。

另外为提高检测的定性能力,许多色谱工作者采用两种或两种以上检测器的联合使用方式。如 Vogt 采用 FID/PID 检测器组合鉴别脂肪族和芳香族化合物,可按烃的饱和度对其分类。Kapila 研制一种可以按 PID、ECD 两种方式工作检测器,按 ECD 测定六六六,用 NPD/PID 的响应比鉴定胺类。用 NPD/Hall D 确定复杂样品中的氯苯胺和氯硝胺。有人联合使用 PID/ECD/FID 三个检测器组合测定城市空气中痕量组分。也有人有 S - FPD/PFPD/FID/ECD/Hall D 四种检测器组合测定分离不佳的组分。各种检测器联合使用可相互取长补短发挥效率。有些公司试图将几种不同检测器放在同一检测体中以缩小死体积,为多维色谱技术寻求最佳分离条件,为快速分析提供方便,这个方向也颇受重视。

(四)联机技术

另外对气相色谱发展有着重大影响的是 GC 与其它检测技术的联机结合。一般分析常使用一根色谱柱来测定样品组分,以标准样与被测组分的保留值作为定性依据。有时也采用 2 根或 3 根不同极性固定相的柱子,也常采用改变色谱条件的方法确定未知复杂混合组分,但这些方法的作用于是有限的,更有效的方法是借助 GC 与其它仪器的联机来解决,目前应

用较多的方法有如下几种:

1. 气相色谱与质谱联机(GC/MS)可有效的获得定性资料,可用获得的质谱图进行元素分子量的测定、分子式及分子结构的确定和推断分析等。与现代计算机技术的结合使之定性定量更为有效。对缺乏标准样的药物分析,它是一种有效的手段。不足之处是质谱仪价格昂贵,难以普及。

2. 气相色谱法与红外光谱联机(GC/IR),GC可与三种红外光谱仪联机使用,既:GC与一般分光型IR联机(GC/TR);GC与付显叶变换红外光谱仪联机(G/FTIR)及GC与 β 短阵——分离式GC/FTIR联机等。后两者分别可检测10ng和200-400pg级的未知组分。

GC/MS和GC/FTIR联机是现代发展起来的色谱技术。质谱和红外光谱技术本身不适合于分析组分复杂的样品,但对纯组分的定性比较准确可靠。而气相色谱是一种分离技术,虽然其定性性能差,但能将复杂的组分分开,两者有机结合,具有理想的定性功能。

此外气相色谱与核磁共振联机,与紫外分光光度计联机,GC与原子吸收联机,等都各有其特点。

(五)计算机控制及数据处理系统

气相色谱的数字处理系统主要有积分仪,微处理机或微型计算机等。由于计算机技术的发展,色谱装备微机及色谱工作站已普遍。计算机技术已为现代色谱分析的重要组成部分,不仅具备强大的数据计算、分析处理、色谱峰解析功能,而且具备对分析及仪器控制功能,可通过计算机的软件和硬件实现从开机、进样到数据处理、打印报告等完全自动化。对分离不佳色谱峰可用计算机进行良好的处理。在色质联机技术中,有些公司已将许多物质的质谱图贮存于计算机内,为未知化合物的定性提供极大的方便。我国大连物化所等多家单位在色谱工作站方面做了大量工作,建立上面提到的多种色谱图库,精选了最佳操作条件,对色谱工作者提供了便利。

(六)辅助设备

1. 自动进样器:采用计算机技术控制的自动进样器,在国外应用普遍。它不仅能减少进样误差,提高分析精度,而且节省时间,提高效率。精密度RSD可小于1%电脑的控制,可以在无人操作情况下按照人们的希望的设制条件的顺序进行取样进样洗针及改变进样体积等工作。

2. 顶空分析仪:气相色谱顶空分析(GC-HS)是经多年发展起来的技术,对复杂基质中的挥发性组分的分离是简单有效方法。GC-HS主要有动态和静态两种方式。静态顶空分析是利用在一个密闭体积,一定温度条件下被测组分在气相及液相或固相中达到热力学平衡,然后用注射器吸取顶空气体进行色谱分析的方法。

动态顶空分析则不存在平衡状态,所以叫吹洗-捕集分析或气体鼓泡(清洗技术),它要求的设备要比静态顶空法复杂。它用一种惰性气体在规定时间内恒速成鼓泡状态经过液相或固相样品,蒸汽收集在吸附阱中,待加热时脱吸附进入气相色谱仪中,所以顶空分析仪器有解热吸附器、热解器、顶空采样器、自动热解采样器等。这种分析方法可以避免样品冗长的预处理步骤,大大节省人力和时间,同时可避免水、高沸点物质或非挥发性物质带入色谱柱而引起的柱超载或对色谱系统的污染。对分析聚合物中可挥发性组分有特殊的作用,目前已广泛应用。

3. 裂解器

裂解色谱是将被测样品经过适当处理,使大分子样品裂解转变成成为小分子物质,然后将裂解物送至柱中进行色谱分析。如何进行处理使大分子转变为小分子,这是裂解色谱中的一个关键。一般采用高频加热、激光、电弧等方式。裂解色谱已广泛用于有机硅化合物、挥发性和不挥发性的有机物,高分子聚合物以及微生物学如细菌分类、鉴别、鉴定一些复杂组分的分析。它还可用来分析无机物,一般沸点在 500°C 以上,热稳定性良好,分子量在 400 以下,都可以采用裂解色谱。

第二章 气相色谱原理

第一节 气相色谱基础

一、基本概念

(一) 色谱流出曲线的概念

1. 基线:通过检测器的仅为载气时记录的响应讯号。稳定的基线应是一条平行于横轴的直线,其可反映出仪器的噪声随时间的变化情况。

2. 色谱峰(流出峰):由电信号强度对时间作图所描绘的曲线,称为流出曲线,曲线上突起部分称为色谱峰。由于电信号强度与物质浓度(或质量)成正比,所以流出曲线实际上是物质质量-时间曲线。正常色谱峰为对称形正态分布曲线。也就是有最高点,以此点的横坐标为中心,由线对称地向两侧迅速单向下下降。不正常色谱峰有两种:拖尾峰和前延峰。拖尾峰:前沿陡后沿拖尾的不对称色谱峰。前延峰:前沿平缓后沿陡峭的不对称色谱峰。不对称性反应被测组分对柱子吸附超载,应避免之。一个组分的色谱峰可用三项参数说明:峰高(峰面积)用于定量,保留值用于定性,峰宽用于衡量柱效率。峰底:色谱峰下面基线的延伸部分(如图 2-1 中 A、E 间的虚线)。

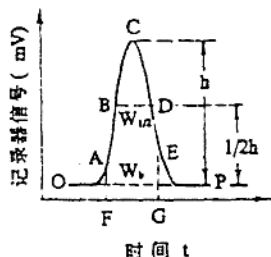


图 2-1 流出曲线图

3. 峰宽(W):从峰两边拐点作切线与基线点之间的距离(FG)。

4. 半峰宽 $W_{(1/2)}$:取峰高 h 的中点,再从中点作与基线的平行线,此平行线与峰交于 B、D 两点,B、D 的距离即峰宽。

5. 峰面积:色谱峰与峰度所包围的面积,如图 2-1 中曲线 ABCDEA 所包围的面积。

(二) 有关保留值的概念

保留值是表示试样中各组分在色谱柱中的停留时间的数值。通常用时间或将组分带出色谱柱所需载气的体积来表示,保留值是有关色谱的定性指标,有时又称为滞留值。

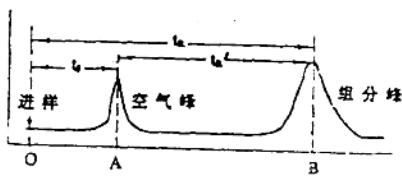


图 2-2 色谱保留值示意图

1. 死时间(t_0) 从进样到空气峰顶点的距离,即惰性物质通过色谱柱所需时间(见图 2

-2)。

2. 死体积(V_0) 使惰性物质通过色谱柱所消耗的载气体积。 $V_0 = t_0 F_c$ 。 F_c 为载气校正体积流速。 V_0 包括色谱柱气相空间(V_G)和进样器及鉴定器的死体积。

3. 保留时间(t_R) 即样品通过色谱柱所需时间(见图 2-2)。即试样中被测组分从进样开始到记录峰高点的时间。如图 2-2 OB 段所表示的。

4. 保留体积(V_R) 使样品通过色谱柱所消耗的载气体积。

5. 调整保留时间 t'_R 从保留时间中扣去死时间,即表示样品通过色谱柱为固定相所滞留时间,即: $t'_R = t_R - t_0$ (见图 2-2)。

6. 调整保留体积(V'_R) 样品通过色谱柱由于固定相作用所消耗的载气体积。

$$V_R = (t_R - t_0) F_c = V_R - V_0$$

7. 校正保留时间(t_R^0) 即保留时间与压力校正因子的乘积。即 $t_R^0 = t_{Rj}$ (j 为色谱柱进口和出口的压力梯度的校正因子)

8. 校正保留体积(V_R^0) 即保留体积与压力校正因子的乘积。即 $V_R^0 = V_{Rj}$

9. 净保留时间 t_N 调整保留时间与压力校正的因子的乘积。 $t_N = t_{Rj}$

10. 净保留体积 V_N 调整保留体积与压力校正的因子的乘积。 $V_N = V'_{Rj}$

11. 分配比(k') 保留值所反映的固定相作用的强弱,可通过所消耗的载气体积(或时间)表示出来,这样就导出了分配比,其定义为:

$$k' = \frac{\text{固定相所溶解或吸附的试样量}}{\text{柱气相空间所含试样量}} = \frac{V_R - V_0}{V_0} = \frac{V'_R}{V_0} = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

$$\begin{aligned} \text{由此可得 } t_R &= (1 + k') t_0 \\ V_R &= (1 + k') V_0 \end{aligned}$$

12. 分配系数 气液色谱中分配系数 k 的定义:

$$k = \frac{\text{每毫升固定液中所溶解的试样量}}{\text{柱温及柱平均压力下每毫升载气中所含试样量}} = \frac{c_1}{c_g} = \frac{\frac{m_1}{V_1}}{\frac{m_g}{V_0}} = \frac{m_1}{m_g} \cdot \frac{V_0}{V_1} = k' \cdot \frac{V_0}{V_1}$$

式中 C_1, C_g 分别为在固定液及载气中试样的浓度, m_1, m_g 分别为固定相中和气相空间中所含试样量, 保留时间调整保留时间与压力校正的因子的乘积。 V_1 为固定液体积。

13. 相对调整保留值 当用保留时间 t_R 或保留体积 V_R 作为定性指标时,必须对由实验测得的保留值进行色谱柱进样系统和检测器系统的死体积的校正,还必须进行色谱柱进口和出口压力降的校正。为了省略这些校正工作,一般都采用相对保留值,即采用一个标准物质作为对比。相对保留值 α 就是组分的调整保留时间与标准物的调整保留时间的比值,即: $\alpha = \frac{t_{Ri}}{t_{Rs}}$

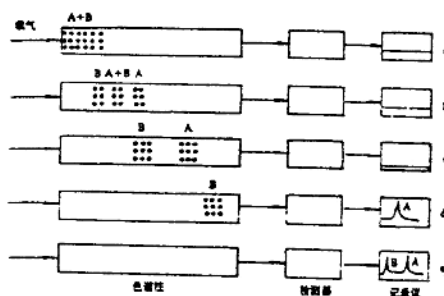


图 2-3 色谱分离过程示意图

由前述第(11)及(12)项可知: $\alpha = \frac{t'_{R_i}/t_0}{t'_{R_s}/t_0} = \frac{k'_i}{k'_s} = \frac{k_i}{k_s}$

脚注 i 表示测定物, s 表示标准物。

可见 α 值即两个组分的分配系数之比, 也等于两个组分的分配比例之比。

二 气相色谱分离谱基本过程

色谱法是一种分离分析的方法。无论进行定性或定量, 首先必须使两个物质(物质对)分离是分析的前提。

色谱的分离过程的示意图如下(图 2-3)

由 A、B 二组分组成的被分离混合物在进样口汽化为气体后随载气(流动相)进入色谱柱中。刚进柱时, 组分 A 和 B 混合在一起(a)。各组分在固定相和载气之间反复进溶解与解析, 随时着载气持续在柱中流过, 由于分配系数不同, AB 混合物逐渐分离成 A, A+B 和 B(b)。

当分配平衡反复多次, 即 AB 经过一定的柱长后, 就彼此分离成 A 和 B 了(c)。此时, 组分 A 尚未被载气带到检测器, 故与检测器相连的记录仪上没有信号出现(即仍为一条平直的基线)。

当组分 A 随载气流出色谱柱进入检测器时, 记录仪上出现它的信号(d, 色谱峰 A)。至组分 B 也流出色谱柱时, 记录仪会绘出二个色谱峰。

为了讨论影响两个物质分离的因素, 我们将几种典型的色谱图(图 2-4)解析如下。

a 物质对分离不完全, 其峰形十分宽, 而且有极为严重的拖尾现象。此峰形无论是定性或定量都很难, 有待改进;

b 在(a)的基础上增加柱长, 而度样与固定相不变, 其结果是两个物质出峰时间相应增长, 峰的间距加宽;

c 是用一根分离较为有效的柱, 与(a)相比, 峰形较窄, 峰的拖尾有相应的改进;

d 为固定相行到改进或柱温降低, 结果两个峰的间距增大;

e 为使用优质担体, 与(a)相比, 两峰的间距不变, 其峰形的拖尾程度大大地得到改善。

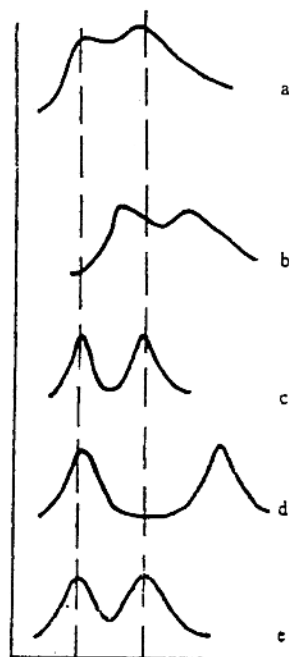


图 2-4 几种典型色谱图

从图可以看出, 要使两个物质分开, 一方面要使峰形变窄, 决定于溶质在柱内运行的规律(即与溶质在柱内的扩散与传质有关), 即所谓受动力学因素的影响。而峰形的间距决定于溶质在两相中的分配性质, 即与二者分配系数大小有关, 也就是受色谱分离过程加的热力学因素的影响。

第二节 气相色谱理论

一、色谱理论的分类

气相色谱理论经历了多年的发展, 逐步完善。这些理论为色谱的实践提供了根据, 根据所涉及问题的方面, 人们将色谱基本理论归纳为三类: (1) 研究影响色谱分离的动力学因素

的理论(又称色谱动力学理论),它的主要应用是指导人们选择高效的色谱柱;(2)研究影响色谱分离的热力学因素的理论(也称色谱热力学理论),它的主要目标是使用高选择性的色谱柱;(3)分离条件的最优化理论。

为了系统地了解色谱理论,我们把色谱分离过程分成以下四种典型情况:线性、理想色谱分离;线性、非理想色谱分离;非线性、理想色谱分离;非线性、非理想色谱分离。

所谓“线性”是指分离过程中,溶质在二相中的分配关系是线性关系,其分配系数不随浓度变化而变化;“非线性”则指分配系数随浓度的变化而变化。“理想”则是指溶质在柱内运行是理想的过程,即假设它没有扩散现象产生。否则,就属于“非理想”的过程。

色谱理论是根据这四种典型的色谱分离过程提出模型,进行数学坐标处理,得出相对应的数学结果。这些理论中常用的是“塔板”理论(接近线性、非理想色谱分离过程)、“速率”理论(接近线性、非理想色谱分离过程)。

四种色谱分离过程理论的示意图如 2-5 所示:

二.塔板理论

1.理论的假设及模型

1941 年,James 和 Martin 提出了塔板理论,把整个色谱柱比作一个精馏塔,假设柱的某一段距离为“H”,在该段距离中所产生的分离效果相当于精馏塔板的完成的分离效果(即完成一次气液平衡),则色谱柱某一段距离 H 相当于一块理论塔板高度。假设整个柱是均匀的,柱长为 L,柱的分离效率用理论塔片数 n 表示,则 $n = L/H$ 。

为了说明塔板理论的模型,我们把连续的分配过程解析为几个典型的间歇过程。如图

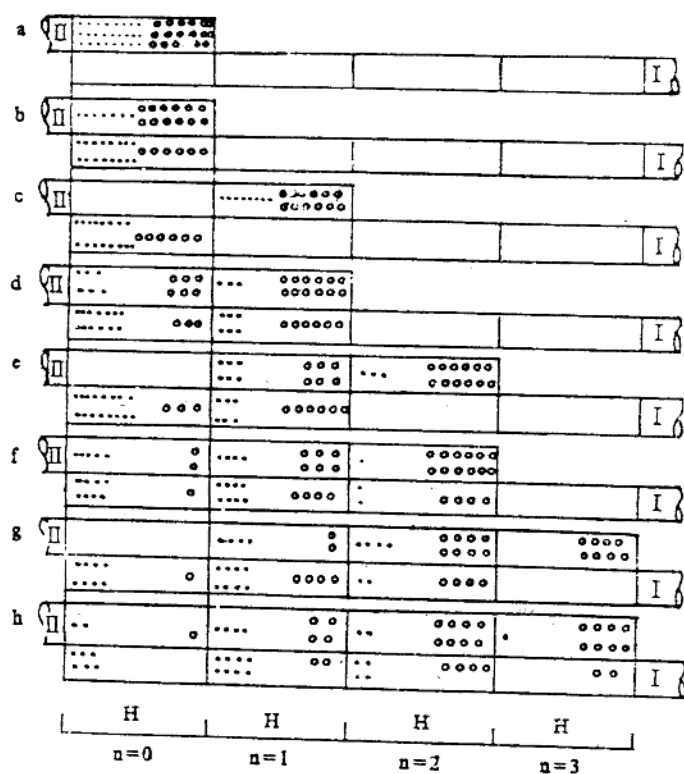
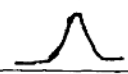


图 2-5 塔板理论的分离过程模型示意图

I 为固定相 II 为流动相 黑点和圈代表两种不同的物质(物质对)

2-5 所示

理论分类名称	实际色谱类型	起始峰形	运行后峰形	备 注
线性理想色谱理论				运行前后峰形几乎不变
线性非理想色谱理论	气液色谱			运行后的峰形符合高斯分布
非线性理想色谱理论	液固色谱			运行后的峰形不对称，前缘部分较陡
非线性非理想色谱理论	气固色谱			运行后的峰形不对称，前缘部分“发散”拖尾

a. 进样阶段: 物质对随相当于一个理论塔板体积的流动相进入色谱柱, 但还没有达到分配平衡。所以流动相 II 中包含有 27 个点和 27 个空心圈, 而固定相中还没有物质对;

b. 平衡阶段: 物质对在两相达到分配平衡, 按各自的分配在二个相上。黑点在流动相 II 上为 9 个, 在固定相 I 上为 18 个; 而空心圈在流动相 II 上为 18 个, 在固定相 I 上为 9 个。这样就完成了一次分配平衡。这一段区域就叫作一块“理论塔板”;

c. 载气进入阶段: 相当于一块理论塔板体积的流动相载气继续进入色谱柱, 但两相中的物质还没有达到第二次分配平衡。在这一阶段, 第一块塔板流动相上的黑点与空心圈仍保持不变;

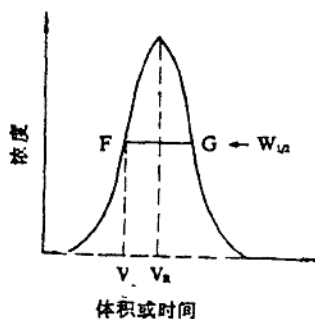


图 2-6 典型色谱峰形

d. 平衡阶段: 此阶段与 b 阶段的分配方式相同, 即 c-I 第一块塔板固定相上的黑点、空心圈按各自的分配, 此分配到第一块塔板 d-II 上, 则在该塔板上有黑点 6 个, 空心圈 6 个, 在相对应的固定相 I 上黑点为 12 个, 空心圈 3 个。同样在第二块塔板上的黑点、空心圈也按照各自的分配比进行分配。

e、f、g、h 阶段, 按 c、d 的过程重复交替进行。在 h 阶段, 在 II、I 上已经是第四次达到分配平衡。

从图示可以看出以黑点和空心圈所表示的物质对在色谱柱内分布的规律。经第四次平衡后, 黑点和空心圈的分布情况如表 1 所示。

表 1 经四次平衡后色谱柱内黑点与空心圈的分布

名 称	第 0 块板	第 1 块板	第 2 块板	第 3 块板
黑 点 数	8	12	6	1
空 心 圈 数	1	6	12	8

从表 1 可以看出, 物质对仅仅经过四次平衡就解在柱内开始分离了。若这种分配经过