

一、什么是色谱分析？它是怎样分类的？

色谱分析是众多分离技术中的一种分离分析技术。它实际上是一种柱层析分离。它把复杂的样品首先进行分离,然后定性定量。“色谱”一词是1906年俄国植物学家茨维特(Tswett)在研究分离植物色素的过程中而得出的。

茨维特的实验是这样的：他把植物叶子的石油醚抽提液倒入一个装有碳酸钙作为吸附剂的玻璃管中,使其自玻璃柱中流下。此时发现在玻璃管上出现重叠的不同色彩的谱带。然后再用大量石油醚冲洗管柱。因不易被吸附的色素在管中移动得快,故使原来相互重叠的谱带逐渐分离开。结果在管柱上形成了不同颜色的谱带(色层)，“色谱”由此而得名。其实，人们通过实验发现无色物质与有色物质一样，也可以在吸附柱上分离而得到一系列谱带，只不过是人的眼睛看不出来而已。随着科学技术进步，完全可以准确地定性出无色物质在吸附管柱上的位置，如：白酒的色谱分离。所以现在的“色谱”

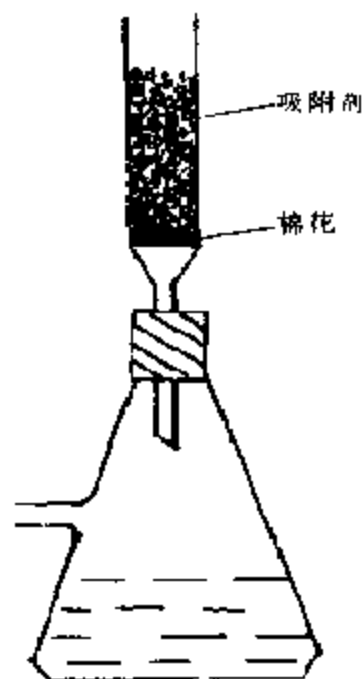


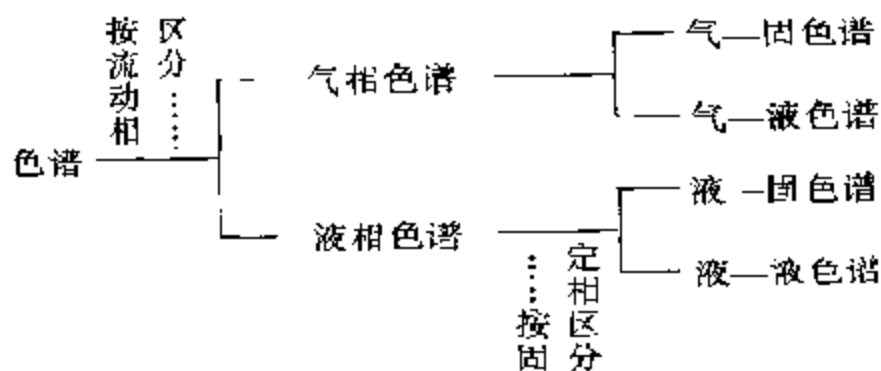
图 1 茨维特实验装置

这个词也就慢慢失去它原来的意义了。茨维特的实验装置如图1。在该实验中,碳酸钙填装在玻璃管柱中固定不动,也就是现代色谱分析中的固定相。而作为冲洗剂使用的自上而下流动的石油醚,就是现代色谱分析中的流动相。液体固定相即为固定液,固定液种类很多,直接用液体固定相很不方便,需要把它涂渍在惰性固体材料或吸附剂上。一般是在惰性固体颗粒表面上涂布上一层很薄的某种高沸点有机化合物的液膜,这种高沸点有机化合物就常称为“固定液”。而承载着固定液的固体颗粒就称为载体或担体。当流动相为某种气体时即为载气。

色谱法实质是利用不同组分在不同的两相中具有不同的分配系数这一性质。因为分配过程反复进行多次,这样就使得那些具有即使是微小差别的分配系数的组分也能够得到完全分离。通过对色谱分离过程的现象及基本机理的研究,从不同角度出發,提出了一些分类方法。一般可归纳为下述4种分类。

1. 根据两相的状态分类

采用液体作为流动相的称为“液相色谱”,采用气体作为流动相的称为“气相色谱”。固定相亦有固体固定相和液体固定相(即:惰性固体颗粒表面上载有的固定液)之分。所以根据这种分类可把色谱分成以下几种:



从上面分类我们可以知道茨维特用石油醚作为冲洗剂(即:流动相),故当时的色谱应该称为液相色谱。而他使用的吸附剂是装在玻璃管中的固定颗粒碳酸钙(即:固定相)。所以,若进一步划分,茨维特的色谱应该称为液—固色谱。本书所介绍的是气相色谱。它又可分为气—固色谱和气—液色谱。

气—固色谱中,“气”字指流动相为气体;“固”字指固定相是固体,例如:活性炭、硅胶等。

气—液色谱中,“气”字亦指流动相为气体;“液”字指固定相是液体(即:固定液)。

2. 根据固定相的性质分类

(1) 柱色谱法 这类色谱有一根分离柱用于分离混合物,它又包括两种类型:一种是固定相装在一根被称为色谱柱的金属管或玻璃管内,叫“填充柱色谱”;另一种是固定相附着在柱管内壁,而中心是空的,叫“空心柱色谱”(即:毛细管色谱)。

(2) 纸色谱法 利用有吸附能力的纸类(如:滤纸)作为固定相,使混合物溶液在纸上展开,以达到分离鉴定的目的。

(3) 薄层色谱法 将吸附剂研成粉末,在玻璃或瓷板上涂成薄薄一层,然后利用与纸色谱类似的方法操作。薄层色谱和纸色谱目前广泛地应用于生物化学、医学等方面的复杂有机物分离鉴定,如:氨基酸、激素、抗生素、染料等有机化合物的分离和鉴定。

3. 根据分离过程的物理化学特点分类

(1) 吸附色谱法 利用吸附剂(固定相)表面的活性中心对不同组分具有不同的吸附能力而达到分离检测目的。前面提到的气—固色谱和液—固色谱均属于此类。

(2) 分配色谱法 利用不同组分在两相中具有不同的分

配系数,从而使混合组分得以分离及检测。前面的气—液色谱即是。

(3) 其他色谱法 利用离子交换原理的离子交换色谱法;利用化学反应的反应色谱法;利用胶体的电动效应建立的电色谱(纸上电泳)法。但这几种方法一般多用于无机物的分离测定。

4. 根据色谱动力学过程分类

按这种分类可把色谱分为冲洗色谱法、前沿色谱法和置换色谱法。其中以冲洗法应用最广,因为这种方法简单,易于定性定量。书中所有问题所涉及的,均是指该法。前沿法就是直接以试样本身作为载气而流过色谱柱,从而得到分离的方法。该法只能适用于组成简单的常量气体混合物的分离。变通使用前沿法可方便地将色谱过程用于监视工业生产流程,由此而发展起来的有缺空色谱法、示差色谱法、核对色谱法等技术。置换法应用得较少,因受置换剂的限制。

上述3种分类区别,只是根据使用载气的方式不同。有的色谱工作者把前沿法称之为不用载气的气相色谱法,还有人在前沿法的基础上发展了真空气相色谱法,不用进样的气相色谱法等。

二、你知道气相色谱分析特点 及其最新发展情况吗?

气相色谱法是用气体作流动相的色谱法。因样品在气相中传递速度快,故样品组分在流动相和固定相之间可以瞬间达到平衡。而可选作固定相的物质很多,所以气相色谱法是一

个分析速度快和分离效率高的分离分析方法。加上采用高灵敏度选择性检测器,使得它又具有分析灵敏度高、应用范围广等优点。

1. 分析速度快

气相色谱法是先分离后测定,所以对于一个多组分的混合物可以同时给出准确、可靠的定性和定量分析结果。一般一个分析周期为几分钟到几十分钟。就目前技术水平,色谱分析可实现秒速分析。色谱分析很容易实现自动化,大大提高了分析速度。

2. 分离效率高

气相色谱高效能突出表现在可分离物理化学性质十分相近的物质或物质对。对同位素、同分异构体、光学活性的对映体有较强的分离能力。如重要化工原料二甲苯有三个同分异构体:邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯。用其他分析方法测定较困难,但用气相色谱法却很容易分离、测定。目前由于手性固定相的发展,可以分离左(-)、右(+)旋的氨基酸等对映体。

一般1~2m长的填充柱,可有几千个理论塔板数,而毛细管柱的理论塔板数可高达 $10^5 \sim 10^6$ 个,从而可以分析极为复杂的混合物。

3. 高灵敏度

气相色谱分析是在气态中进行分离和测定的,所以样品只需很少一点就行了。一般情况下液体样品用量在几微升左右或更少,气体样品用量在1ml左右或更少。

目前,气相色谱法可分析测定 $10^{-11} \sim 10^{-13}$ g的物质。在白酒分析中可测定 10^{-6} 级微量成分(高沸点酯类化合物);在半导体工业上用作超纯气体分析;在环境保护中,可直接分析空气中 10^{-9} 级的微量含硫毒物。

4. 应用范围广

气相色谱应用非常广泛,不仅适用于有机物分析,同样适用于无机物分析。所以它广泛应用于环境化学、生物、医学、药物、食品、石油化工、宇航等领域。裂解色谱可以分析诸如橡胶、塑料等有机高分子聚合物;制备色谱可以制备出99.99%超纯试剂;流程色谱可用于生产中的自动控制等。

气相色谱法与一般的化学分析法相比,它能很容易地分离、测定化学性质十分相近的复杂混合物,而且一次性就完成定性定量,这是一般化学分析法达不到的。但气相色谱法也有一定的局限性,不能像化学分析那样一次性测定各组分的总量,而且定性定量时需要纯标准样品,受样品蒸气压限制等等。

随着科学技术的进步,色谱技术在各个领域中得到广泛应用。作为在色谱法中仍然十分活跃和具有潜在能力的一种有效的分离分析的气相色谱,在各领域中也不断得到完善和发展。从简单的气体分析到复杂的旋光异构体分离分析;从填充柱到毛细管柱;从单一的检测器到高灵敏度和高选择性的复合检测器;从单一的气相色谱到色谱和质谱、光谱的联用系统;从一般色谱系统到微机控制的智能色谱等等,可以说气相色谱发展相当迅速。其突出的发展表现在高分离效率的柱子、高灵敏度和高选择性的检测器、微机控制的气相色谱仪和系统等等。1979年Hewlett—Packard公司提出并使用熔融硅石开口管柱(简称FSOT)以来,消除了人们心理上认为毛细管柱易破损且更换不方便的认识。最近由于高纯度硅石或石英(纯度99.9999%或更高)制得的FSOT柱只含有小于 10^{-6} 的羟基和金属氧化物,可不必经过管壁预处理或纯化处理就涂渍固定相后,直接可分析样品中的游离脂肪酸、类固醇和其他药物等,从而使得FSOT柱得到了十分迅速的发展和广泛

的应用,如与很多大型仪器相联的气相色谱也有很多是采用FSOT柱的。但FSOT柱目前的最高使用温度只能达到300~350℃,而其内径最大为0.3mm。如内径大于此值,柱的机械强度就会下降。一般壁涂开口管柱(简称WCOT柱)的固定相液膜厚度都在0.1~0.3 μm ,当它与其他仪器(如:质谱)联用时,因柱对样品负载能力小而改用其他柱子。最近有人使用1~8 μm 液膜的WCOT柱,克服了上述的不足,是一技术性突破。玻璃毛细管柱能耐较高的柱温,且能很容易地制得1mm内径以内的柱子。玻璃毛细管柱不稳定的因素在于含有金属氧化物和硅羟基,所以柱子的纯化工作得到了很大发展。人们提出的管壁完全硅烷化,在玻璃和金属(不锈钢和铜)表面涂硅膜等是消除表面活性的有效方法之一。而对于多孔薄层毛细管色谱柱(简称SCOT柱)来说,涂渍的载体的纯化相当重要,用苯酰氯或三聚氰酰胺来纯化载体而制得的填充柱可以分析天然苯酐的顺、反异构体,不会发生异构化反应。

毛细管色谱柱材料除了熔融硅石、石英和硬、软质玻璃外,最近有人提出可用经过化学改质的聚四氟乙烯柱子涂渍不同极性的固定相。柱子性能稳定,表面积可达4000 m^2/g ,但耐温范围有限。更有人提出柔性软玻璃毛细管柱,可绕成直径为4cm的螺旋。

由于毛细管色谱柱的高效率,固定相的重要性相对减弱,其品种也为此而减少。但对于旋光异构体等的分析仍需用高选择性的固定相来解决。近年来常用的和正在发展的固定相有以下几类:第一是聚硅氧烷(Silicone),它的最大特点是热稳定性好,其温度对粘度影响不大,且能很好地在柱壁形成液膜,故是最常用的固定相。在分析过程中为了更进一步防止聚硅氧烷形成液膜的不稳定性,人们采取了很多措施,其中对其

进行交链是目前人们关心的问题。交链的方法有原位室温硬化法和原位自由基诱导硬化法;钴-60辐射诱导法以及水热处理法。第二是液晶,主要用于分析多核芳烃。但柱效不高,流失较严重。第三是阳离子交换树脂,主要用于烯烃的分析,是继经典银盐分离烯烃的新发展。第四是环状糊精,利用环状糊精的包结作用,在痕量分析中浓缩样品所含的痕量物质。填充柱的发展虽然没有毛细管柱那样快,但由于使用方便,柱负荷量大,总柱效高,能实现快速分析,所以在实际工业生产和环境化学的控制分析中仍是不可缺少的,占有极其重要的地位,特别是对今后微型快速分析的气相色谱仪发展相当重要。随着色谱柱(特别是毛细管柱)的发展,对定性和定量分析都提出了更高的要求。在定性方面要求滞留值(保留值)准确可靠、检测灵敏度高和选择性好。而在定量方面要求仪器性能稳定、样品处理要准确以及检测器的线性范围要宽。同时又要求及时处理数据并提供所需结果。对于一般不太复杂的样品,常规分析完全可以采用滞留值作为定性依据,但对于不同类型的多种化合物的未知复杂混合物是无效的,这时必须求助于检测器的选择性或采用多种分离技术来简化分析步骤。所以组合检测器的应用是气相色谱分析的又一大发展。目前DANI公司已有ECD—FID和NPD—FPD组合检测器商品出售。我国大连化物所已研制出ECD—FID—NPD—FPD四合一组合检测器。气相色谱和质谱(MS)、光谱的联用,也是现代色谱定性分析中的必然发展结果,为复杂样品的分析扫清了障碍。气相色谱定量结果与仪器质量和进样方法有关。为了尽量减少样品失真,目前人们采用的是先进的冷柱上进样法和程序升温汽化器进样方法。利用检测器的选择性来分析微量杂质,有其独到之处。但用于溶剂或单体(如:氯甲烷、环境检测等)

中微量杂质的分析,往往受到主组分峰的严重掩盖干扰,甚至有些微量杂质根本显示不出来。若采用杂质富集或抽提等方法,会使手续繁琐,校正困难。为了解决这些困难,人们发明了二维气相色谱,而样品汽化后分成两部分分别进入不同极性的色谱柱中,样品在预柱上分离,被分离组分的一部分直接转移或通过中间陷阱转移到第二根色谱柱中分析而完成样品的二维分离。

计算机已是现代气相色谱仪必要的组成部分之一,计算机不仅能准确、快速处理大量的分析数据,而且配合先进的硬件(如:不可抽提的气相毛细管柱、无阀柱切换系统、四组合一组合检测器等)和软件(如:预测保留值、最佳操作条件和全图谱曲线拟合等),可以使之自动进样、自动使操作条件最佳化。自动检测及自动处理数据等分析过程的全自动,即具有色谱工作者的部分智能。这就是所谓的智能色谱,是当今色谱发展的方向。

三、典型白酒气相色谱分析流程是什么?

从气相色谱分析原理便可以知道白酒气相色谱分析的一般流程。与其他气相色谱分析流程相比所不同的是实现这些过程的硬件和软件稍有不同,所谓的硬件,对白酒分析而言是氢火焰离子化检测器(FID);软件即是白酒专用分析固定相(DNP或PEG20 μ)。所以白酒专用气相色谱仪是离不开这两部分的。白酒气相色谱分析流程从气体流向来剖析较易掌握和理解。对于现代色谱仪,通常所采用的是双流路双氢焰结构,如图2所示。由此可知,载气经减压、净化、稳压、稳流后(这

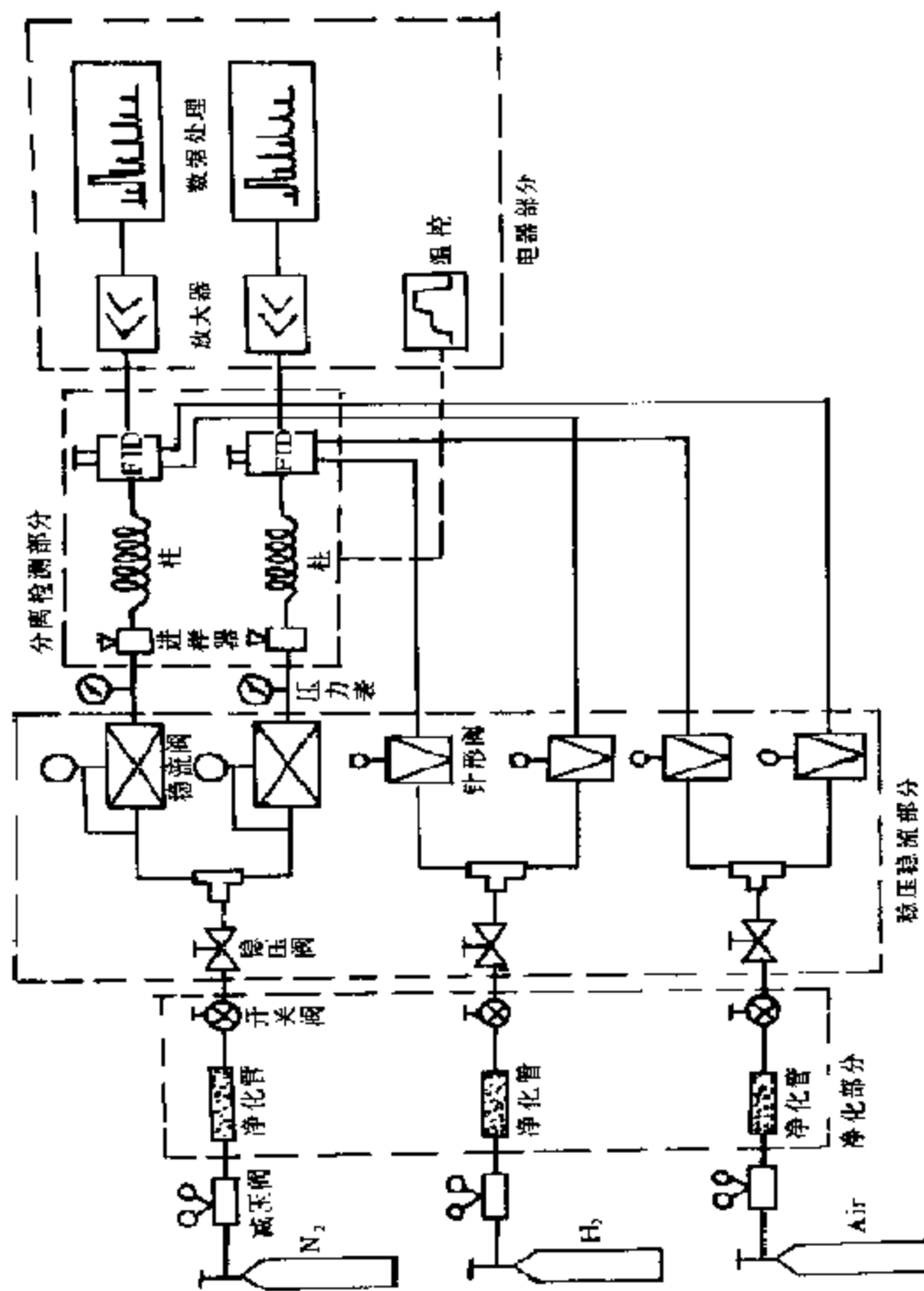


图 2 白酒气相色谱分析流程示意图

里是氮气),带着被气化的酒样在色谱柱中运行,在固定液中进行吸附、分配;随着载气的匀速运动,使得样品在固定液中多次吸附,多次分配。这样不同分配系数的组分,在色谱柱中得以分离。分离后的组分以先后的次序进入检测器,在燃烧着的氢氧焰中(氢气、空气经减压、净化、稳压后进入检测器),把非电量转化成易于测量的电量并分辨出组分的名称和数量,再经放大器放大,将放大的信号用记录仪记录下来,这就是我们看到的色谱图形。酒样在色谱柱中的分离过程可以概括为两个过程:其一,是组分在气—液两相中的分配过程,即色谱热力学过程。其二,是组分在气相中的扩散和在液相中的传质过程,即色谱动力学过程。

四、何谓色谱流出曲线? 它是怎样得到的?

载气带着组分在色谱柱中运动,组分不断在气—液二相中吸附、分配,最终以先后的次序进入检测器,把非电量转化为电量,其电讯号由记录仪记录下来随时间而变化的曲线,称为色谱流出曲线或色谱图。

正常的单个色谱流出曲线(称:色谱峰)为对称形正态分布曲线。也就是曲线有最高点,以此点的横坐标为中心,曲线对称地向两侧快速单调下降。

非正常的色谱峰有两种,即:拖尾峰和前延峰。这3种色谱峰对应着3条吸附等温线。等温线在恒温、组分在气—液两相中达到相对平衡时,其浓度随时间而变化的曲线,反映两相中组分浓度变化规律,如图3所示。

67589 11

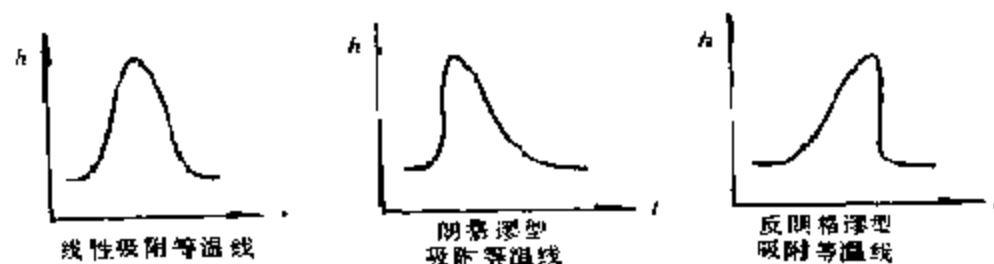


图 3 3种吸附等温曲线所对应的色谱图

样品在色谱柱中分离过程是其在相对运动着的两相间，分配平衡过程。若样品中两个组分的分配系数(或吸附平衡常数)不等，则被流动相携带移动的速度不等——差速迁移，这样两组分就被分离。其具体的分离过程如图4所示。

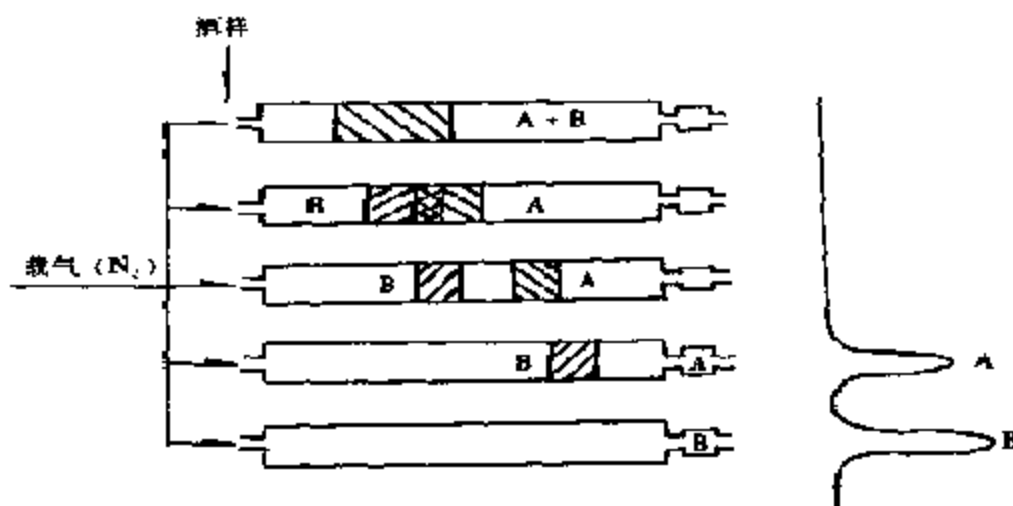


图 4 样品在色谱柱中的分离过程

载气以一定的速度把被气化的样品带入色谱柱，由于各组分的分配系数不同，样品在固定液中，分配系数小的A组分，被载气先带出而进入检测器，流出曲线突起，由记录仪记录形成A峰，A组分完全通过检测后，流出曲线恢复平直，记录仪回到基线位置。继而分配系数大的B组分流，形成B峰；当组分B完全通过检测器时再无信号输出，记录仪又回到原基线位置。这样就得到了样品的色谱图。

五、什么是塔板理论？在实际中有何用途？

色谱分离技术发展的初期,人们将色谱分离过程比作蒸馏过程,因而直接引用处理蒸馏过程的概念、理论和方法来处理色谱过程,即把连续的色谱过程看作是许多小段平衡过程的重复。把色谱比喻成精馏塔,于是便产生了塔板概念和塔板理论,即被分离组分在色谱柱中的分配过程类似于精馏塔中物质被蒸馏的过程。在每一块塔板高度间隔内,被分离物质在气—液两相达成分配平衡。反复多次之后使得挥发度大的组分与挥发度小的组分彼此分离,最后挥发性大(即:分配系数小)的组分先到达塔顶(即:先流出色谱柱)而被分离开。这就是所谓气相色谱塔板理论。尽管这个塔板理论并不完全适合色谱柱内的分离过程,色谱分离和通常的精馏塔分离过程存在较大的区别,但由于这个比喻简单形象,能定性或半定性地解释色谱实际中的许多问题。如:满意地解释了为什么色谱流出曲线总是呈正态分布?论证了保留值与分配系数间的关系,可以评定色谱柱分离效率(即:固定相分离能力)的高低等。

计算理论塔板数的经验公式为(公式推导略):

$$n = \left(\frac{t_r}{\sigma}\right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_r}{2\Delta t_{1/2}}\right)^2 = 16 \left(\frac{t_r}{W_b}\right)^2$$

$$H = \frac{L}{n}$$

式中 n ——理论塔板数(片)

t_r ——保留时间(min)

$2\Delta t_{1/2}$ ——半峰宽度(cm)

H ——理论塔板高度(cm)

L —— 柱长(cm)

σ —— 标准偏差(即拐点处峰宽之半)

W_b —— 基线宽度(cm)

如图5所示。

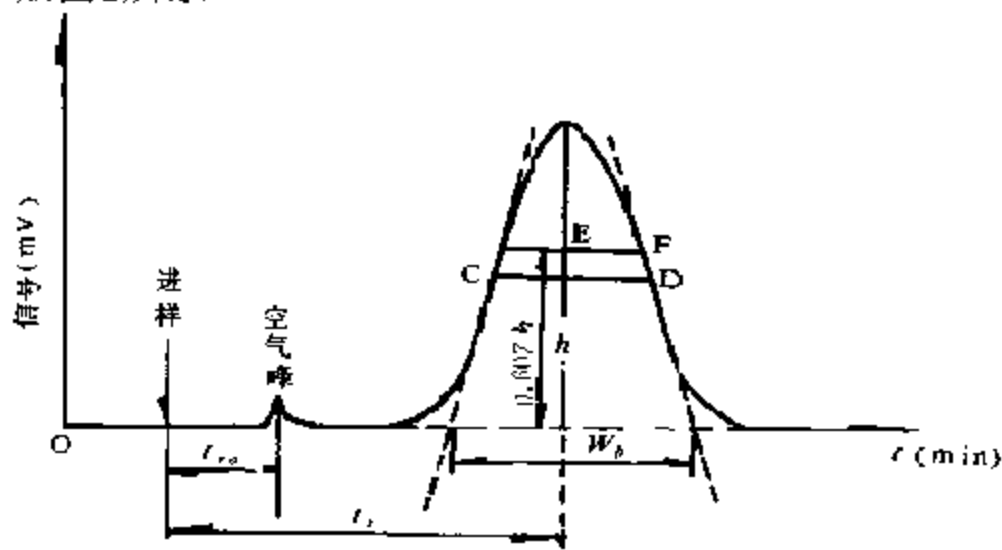


图 5 典型微分色谱图

例: 2m 5% 阿皮松/红色硅烷化担体柱。柱温 100°C , 样品为0.05% 苯的 CS_2 溶液。记录纸速为 $2.0\text{cm}/\text{min}$ 。测得苯的保留时间(t_r)为 1.5min , 半峰宽为 0.20cm 。试问该柱的理论塔板数及塔板高度是多少?

由此可知: $t_r = 1.5(\text{min})$

$$2\Delta t_{1/2} = \frac{0.2\text{cm}}{2\text{cm}/\text{min}} = 0.1(\text{min})$$

$$\text{则: } n = 5.54 \left(\frac{1.5}{0.1} \right)^2 = 1247 = 1.2 \times 10^3 (\text{片})$$

$$H = \frac{2 \times 1000}{1247} = 1.6(\text{mm})$$

根据塔板理论: 在一定条件下, 塔板数多, 则柱的分离效果好; 塔板高度小, 则柱分离效果也好。反之则相反。由计算知该柱分离效果可满足实际需要。

六、何谓有效塔板数及塔板高度？ 如何计算？

有不少色谱工作者对理论塔板的计算公式提出了很多的修正方法。其基本出发点都是将保留时间(t_r)或保留体积(V_R)变成实际保留时间和体积。即扣除死空间的影响来计算。由于死时间(t_m)或死体积(V_{RC})的存在, 计算出来的 n 值尽管很大或 H 值很小, 但色谱柱的实际分离效能并不佳。特别对分配比例(K 值)较小, 而流出色谱柱较早的组分影响更大。因此单纯根据 n 或 H 不能真实反映分离的好坏。这样就需要应用有效塔板数和有效塔板高度来表示。即: 扣除了死时间(或死体积)后所计算出来的理论塔板数和塔板高度称之为有效塔板数和有效塔板高度。

$$n_{\text{有效}} = \left(\frac{t_r - t_m}{b} \right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_r - t_{R0}}{2\Delta t_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_r - t_{R0}}{W_b} \right)^2$$

$$H_{\text{有效}} = \frac{L}{n_{\text{有效}}}$$

$$n \text{ 和 } n_{\text{有效}} \text{ 的关系为: } n_{\text{有效}} = \left(\frac{t_r - t_{R0}}{t_r} \right)^2 n = \left(\frac{K}{1+K} \right)^2 n$$

由此可见, 有效塔板数和有效塔板高度, 进一步考虑了组分的分配比例 K 这一因素对分离的影响。

例: 接问答五中的例(其他条件不变)。测得苯的死时间为0.2min, 试问该柱的有效塔板数及塔板高度分别是多少?

$$n_{\text{有效}} = 5.54 \left(\frac{1.5 - 0.2}{0.2/2} \right)^2 = 936(\text{片})$$

$$H_{\text{有效}} = \frac{2000}{936} = 2.1(\text{mm})$$

七、什么是速率理论？在实际中有何用途？

塔板理论虽然在解释色谱流出曲线的形状、浓度极大点的位置以及评价柱效等方面是非常成功的，但由于它的某些假设与实际层析过程不符，如分配系数与浓度无关，以及纵向扩散可以忽略等，故它不能解释为什么在不同载气流速时，柱效不同，不能说明影响塔板高度有哪些主要因素等等。要回答这些问题，就要靠速率理论了。速率理论从色谱动力学过程出发，说明了被测组分在色谱柱中的运动情况，与被测组分在气相中的扩散和在液相中的传质有关，它通过色谱峰的区域宽度反映出来。即速率理论主要阐明了影响塔板高度的具体主要因素有哪些，它主要用Van Deemter(范第姆特)方程式来代表。这一方程式在实际过程中非常有用，其简单的形式是：

$$H = A + B/u + Cu$$

式中 H ——塔板高度(cm)

A ——涡流扩散项, $A = 2\lambda d_p$

λ ——填充不规则因子

d_p ——填充物颗粒直径(cm)

B ——纵向扩散项, $B = 2rD_g$

r ——填充物特性因素, 填充柱 $r=0.5\sim0.7$, 毛细管柱 $r=1.0$

D_g ——组分在气相中扩散系数(cm^2/s)

C ——传质阻力项

$$C = \frac{2k}{3(1+k)^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_c}$$

k ——分配容量(容量比)

D_c ——组分在液相中扩散系数(cm^2/s)

u ——载气线速(cm/min)

由方程式可知,在 u 一定时,只有 A 、 B 、 C 三项较小时, H 才会小,而柱效才高,色谱峰则锐,反之则柱效低,峰扩张。 A 、 B 、 C 三项为影响柱效的具体因素。在实际分析过程中也正是如此,才能指导我们选择正确的分离操作条件。从速率理论可知:(1)载气的流速有一最佳速度,可用板高—流速曲线来表示,如图6所示。从图可知,载气流速不是越大越好,也不是越小越好,而有一个最佳点。在实际中只需找到在最佳点附近的流速就行了,此时的流速称为载气的实际流速。(2)对于填充柱,填充愈不均匀(即 λ 值愈大),或者载体的粒径愈大(即 d_p 大),柱效就愈降低(即 H 小)。在白酒分析中,一般采用60~80目或80~100目载体,并尽量填充均匀。(3)纵向扩散项(即 B 项)与组分在载气中停留的时间及扩散系数成正比。为减小该项,可采用较大的载气线速,选择分子量大(即重的载气)。在白酒分析中一般采用氮气(N_2)作载气。(4)减少固定液使用量(即降低固定液膜厚度, d_f 小),组分在液相中传质阻力(即 D_c)相应

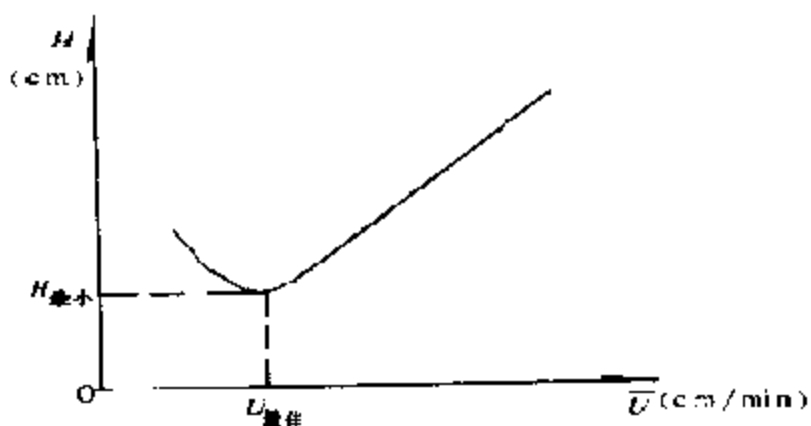


图 6 H 和 U 的关系曲线

降低,柱效增高。白酒分析中在固定液能完全覆盖担体表面前提下,可适当减小固定液的用量,DNP<20%也可。但固定液用量降低,有柱寿命缩短等缺点。

八、柱效与分离度有何关系? 如何利用分离度来确定柱长?

柱效即色谱柱的分离效能,色谱柱对相邻两组分的分离显然取决于它们的保留值的差别和柱效的高低。为便于选择分离操作条件,我们常用分离度(R)来衡量色谱柱的总分离效率。

分离度是相邻两组分的保留值之差(即:两组分高峰点间距)与两峰半宽度的和之比。即:

$$R = \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{2\Delta t_{R(2)/2} + 2\Delta t_{R(1)/2}}$$

式中 $t_{R(1)}, t_{R(2)}$ 组分1和组分2两峰的保留时间(min)

$2\Delta t_{R(2)/2}, 2\Delta t_{R(1)/2}$ 组分1和2的半峰宽(cm)

由此可见分离度 R 是表示两组分分离程度的物理量。如图7所示。

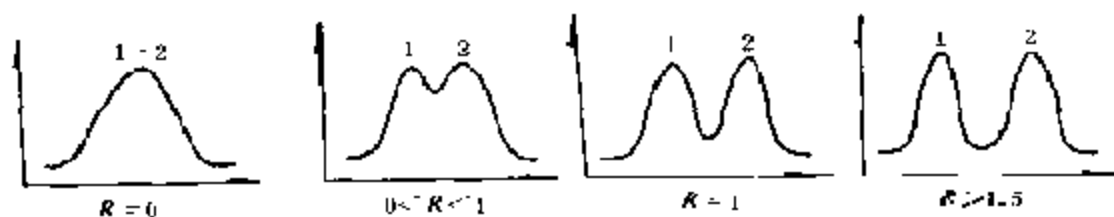


图 7 分离度 R 的意义

分离度 R 和柱效 n 的关系如下:

$$R = \underbrace{\left(\frac{\sqrt{n}}{4}\right)}_a \underbrace{\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)}_b \underbrace{\left(\frac{K'}{K'+1}\right)}_c$$

即: $R = a b c$

式中 n ——塔板数
 α ——分配系数
 K' ——容量因子
 a ——柱效项
 b ——柱选择项
 c ——容量因子项

柱效项 a 和柱选择项 b 及容量因子项 c 对分离结果(即分离度 R)的影响见图8。

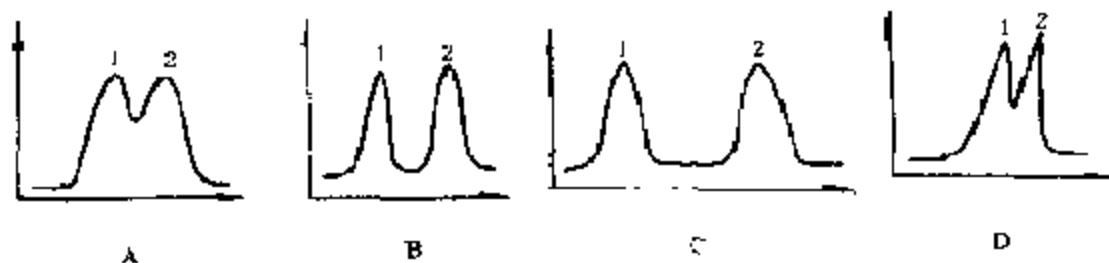


图 8 分离度和柱效的关系

A—分离度很低;柱效低(n 小),即 a 项所致 B—分离度好;柱效高,选择性好,即 a 项大, b 项大 C—分离度好;选择性好, a 项大, b 项大,但柱效不高 D—分离度低;柱容量低, c 小所致

例: 在1根1m长色谱柱上组分1和组分2的半峰宽分别为1.5mm(即: $2\Delta t_{r(1)/2}$), 1.6mm(即: $2\Delta t_{r(2)/2}$), 测得两峰尖间距为2.48mm(即: $\Delta t_{r(2)} - \Delta t_{r(1)}$), 问该柱的分离度是多少? 若要使这两组分能完全分离, 需要该柱多长?

$$\text{分离度}(R) = \frac{2.48}{1.5 + 1.6} = 0.8$$

要使其完全分离 $R=1.5$

$$\therefore n = \frac{L}{H} \quad \text{由上式可知} \left(\frac{R_1}{R_2}\right)^2 = \frac{L_1}{L_2}$$

$$\therefore L_2 = \left(\frac{1.5}{0.8}\right)^2 \times 1 = 3.52(\text{m})$$

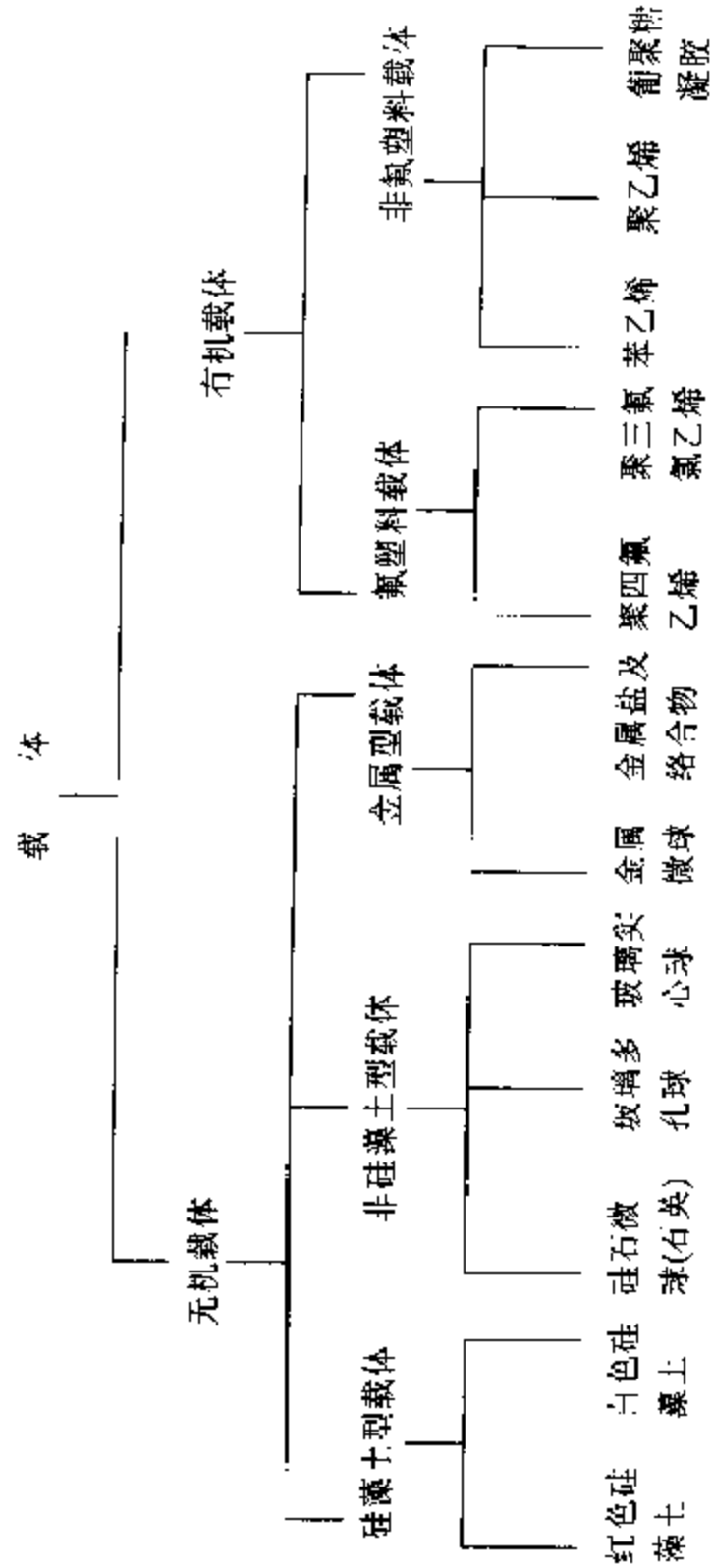
故,在其他条件不变时,该柱需增至3.52m,两组分才能完全分离开。

九、载体如何分类? 白酒分析 常用载体有哪些?

载体是色谱固定相中固定液的支持物,大多为多孔性的固体颗粒。作为色谱分析用的载体种类很多,一般可作如下分类。

白酒分析常用的载体有:白色硅藻土担体;上试101,上试102,上试101(硅烷化),上试102(硅烷化);英国Celite 545,英国Celite 545 sk(酸洗),英国Chromosorb G,英国Chromosorb G(酸洗),英国Chromosorb W(酸洗或硅烷化);美国Anakrom A(酸洗);日本Shimalitew。红色硅藻土担体;上试201,上试201(硅烷化),大连6201,大连6201(硅烷化),英国C—22,德国Sterehamol,美国Chromosorb P。载体粒度的大小用目数来表示,白酒分析常用60~80目和80~100目。

下面是载体分类图:



十、何谓红色硅藻土担体、白色硅藻土担体？各有何优缺点？

色谱分析中的载体(担体)以硅藻土担体应用最广泛，特别是在填充柱中，尤其如此。硅藻土担体是多孔的硅藻土烧结物，含 SiO_2 (60~90%)， Al_2O_3 (3~5%)， Fe_2O_3 (<10%)。其余少量为 CaO 、 MgO 等碱土金属。根据制造的工艺不同，它分为红色硅藻土担体和白色硅藻土担体。红色硅藻土担体是将天然硅藻土粉碎并压成砖形，在高温下(900℃以上)煅烧而成。因最初是由耐火砖制成，所以有的称为“保温砖载体”，“耐火砖载体”。煅烧时硅藻土颗粒熔融，矿物质变成氧化物，氧化铁使它产生特征的粉红色。白色硅藻土担体是在煅烧前在硅藻土原料中，掺进少量助溶剂碳酸钠。煅烧时，在助溶剂作用下原来成氧化状态的铁转化成了无色的硅酸钠铁盐，原来浅灰色的天然硅藻土变成了白色。

红色担体表面积较大(约 $4\text{m}^2/\text{g}$)，孔径较小(约 $1\mu\text{m}$)，机械强度较好；白色担体表面积只有 $1\sim 1.5\text{m}^2/\text{g}$ ，但表面极性中心少，化学惰性比红色担体好。它们的优缺点列于表1。

表 1 两种载体比较

硅藻土载体	制造特点	表面酸度	孔径	分离特征	备注
红色担体	由天然硅藻土与适当粘合剂烧制而成	略呈酸性 $\text{pH} < 7$	较小	通用载体，柱效较高，液相负荷量大，但在分离极性化合物时，往往有拖尾现象	浅红色、粉红色均属此类
白色担体	由天然硅藻土与助溶剂(NaNO_3 等)烧制而成	略呈碱性 $\text{pH} > 7$	较小	通用载体，柱效及液相负荷量均不及红色担体一半稍强，但在分离极性化合物时拖尾较小	灰色也属此类

十一、白酒分析对担体的要求有哪些？

若出现拖尾，怎样处理？

担体是色谱固定相中固定液的支持物，大多为多孔性的固体颗粒。作为色谱分析用的担体应满足以下要求：表面积大，孔径分布均匀；表面无催化或吸附性能，与固定液或被测物质不起反应；热稳定性好；有较好的机械强度等等。

酒分析时，色谱峰出现拖尾峰现象的原因很多。例如：若进样器内不干净或柱温太低等。笔者认为：拖尾峰的产生与担体的选择密切相关，具体说与担体的化学惰性有关。硅藻土担体表面有硅醇基和硅醚基等活性基团，与样品中的被测组分作用，使峰的区域宽度增加而造成拖尾。若要克服拖尾现象，须“纯化”担体表面，即所谓的酸洗、碱洗或釉化。所以在填充色谱柱时，要选择处理过的担体。如何选择请见表2。另外担体颗粒要均匀，涂渍要均匀，填充要均匀，可避免或减小拖尾，请参考问答九十七。

表 2 载体选择参考表

选用硅藻土担体	固定液	样 品	备 注
未经处理过的担体	非极性	非极性	
酸、碱洗或经硅烷化处理的担体	非极性	极 性	当样品为酸性时，最好选用酸洗担体；为碱性时，用碱洗担体
硅烷化担体	固定液含量<5% 极性 & 非极性	极性 & 非极性	
酸洗担体	弱极性	极性 & 非极性	
硅烷化担体	固定液含量<5% 弱极性	极性 & 非极性	
碱洗担体	极 性	极性 & 非极性	
硅烷化担体	极 性	化学稳定性低的	对化学活性和极性特强的样品，可选用聚四氟乙烯等特殊担体

十二、何谓担体的酸洗、碱洗？ 怎样操作？

由上述可知，因担体表面都有不同程度的吸附活性中心，如氢键的存在，当分析样品中含有能和担体表面硅醇、硅醚形成氢键的物质（如：水、醇、胺等）时，常常会造成拖尾。其解决的通常办法须对担体进行酸洗或碱洗。

酸洗是用盐酸或王水处理担体，可除去表面的金属氧化物杂质。酸洗担体主要用于分析酸类、酯类化合物。但在降低吸附性的同时会增加载体的催化活性，如使PEG400断链，酸类样品酯化等。酸洗还可以用 H_3PO_4 、 H_2PO_4 等。其具体做法是用浓盐酸在室温下浸泡24h，或用6mol/L盐酸加热0.5h。然后用水洗除去悬浮细粒，并冲洗至中性，烘干后备用。

碱洗是用氢氧化钾的甲醇溶液处理担体，可除去表面的三氧化二铝等酸性作用点，一般都在酸洗后进行碱洗。碱洗担体主要用于分析胺类等碱性化合物。但某些物质如酯可能被碱性载体所分解，酸性组分被吸附。可用5%氢氧化钠水溶液浸泡或加热，或用5%氢氧化钾的甲醇液浸泡或回流，再洗至中性、烘干。

十三、什么是担体的硅烷化、釉化？ 如何操作？

担体表面的硅醇 ($\text{Si}-\text{OH}$) 和硅醚 ($-\text{Si}-\text{O}-$)

等活性作用点用普通方法不容易完全使其降低活性,即不容易使其表面“纯化”。于是人们采用酸洗、碱洗以外的方法即所谓硅烷化和釉化法来达到目的。

所谓硅烷化是用硅烷化试剂与担体表面的硅醇、硅醚基起反应,以除去其表面氢键作用力,如图9所示。硅烷化有两种方法。其一是真空硅烷化:担体用浓盐酸浸泡20~30min,水洗至无氯离子,烘干,再放入烧瓶中加热抽真空(120~140℃, 20~30min),进一步除去水。抽完后关闭活塞,用注射器注入硅烷化试剂(2~3ml, HMDS : TMCS = 3 : 1),适当摇晃,并保持负压加热(120~140℃)1h左右。在关闭加热炉后,趁热加入乙醚,利用余热使剩余硅烷化试剂与乙醚一同挥发,再烘干载体备用。其二是湿法硅烷化:把担体浸泡于5%的硅烷化试剂的甲苯溶液中,摇动5min后倾出溶液。用甲醇洗至中性,于110℃烘干备用。常用的硅烷化试剂有二甲基二氯硅烷(DMCS)、三甲基氯硅烷(TMCS)和六甲基二硅胺(HMDS)。硅烷化处理前后性能如图9。

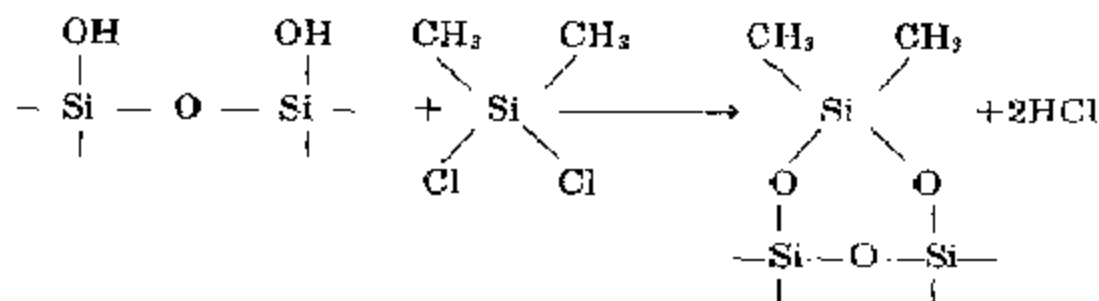


图9 担体处理前后性能比较

釉化是将担体用碳酸钠—碳酸钾溶液浸泡、烘干,高温煅烧。使表面形成一层玻璃化釉质,这种担体强度大,吸附性能小。担体在2% Na_2CO_3 — K_2CO_3 (1 : 6) 水溶液中浸泡1天,干燥后先在870℃煅烧3.5h,然后再在980℃煅烧40min。如上海

产301釉化担体,

硅烷化反应如下:



处理前担体表面

硅烷化试剂

处理后担体表面

十四、怎样选择固定液?

从色谱分析原理可以知道,凡复杂组分的分析,应首先考虑选择什么固定液才能实现样品的分离。选择固定液的问题,是分离成功与否的关键。人们在选择固定液时对其有以下要求:有适当的溶解能力,对易挥发组分有足够的溶解能力;选择性好,对沸点相近的异构体及其他难分离物质有较好的分离能力;蒸气压低、热稳定性好,以免固定液流失和在较高温度下不易分解;化学稳定性好,不与被测物质起化学反应。一般固定液都是高沸点有机化合物。

目前用于色谱分离的固定液有400~500多种。在这几百种固定液之中,我们如何很快就能找到所需要的固定液呢?首先将这些固定液按极性的来分类。规定 β 、 β' -氧二丙腈的极性 $P=100$,角鲨烷的极性 $P=0$ 。其他固定液可与其比较,则得其相对极性。我国采用“五级分度法”,把相对极性 P 0~100分为5级,每20个相对极性单位为1级,用“+”表示。

这样这些众多的固定液按其极性可分为非极性固定液($P=0\sim+1$), 中等极性固定液($P=+2\sim+3$), 强极性固定液($P=+4\sim+5$)。

固定液的选择是一个十分复杂的问题, 同一个样品也可以用不同固定液来进行分离, 然而选择也有规律可循。固定液选择的根据是分离组分和固定液分子之间的相互作用力, 这种作用力的大小是影响组分保留值大小的主要因素。这种作用力包括: 色散力、诱导力、静电力、氢键作用力。具体选择固定液时采用“相似相溶原则”。“相似”指固定液与被分离组分的化学结构、相对极性相似, 即性质相似。性质相似时, 两种分子间作用力就强, 被分离组分在固定液中的溶解度就大, 分配系数也就大, 即在柱内保留时间就长。反之, 溶解度小, 分配系数就小, 很快就流出柱子了, 各组分因此得到分离。具体概括如下:

若样品是非极性组分, 则选择非极性固定液。分子间作用力主要是色散力, 各组分基本按沸点规律流出, 即沸点低的先流出; 同系物按碳数规律流出, 即分子量小的先流出。

若样品是极性组分, 则选择极性固定液。分子间作用力主要是静电力, 各组分按极性大小顺序流出, 即极性小的先流出。

若样品是极性和非极性组分的混合物。通常也选用极性固定液。非极性组分先流出, 极性组分后流出。

若样品组分复杂, 用一种固定液不能达到分离要求时, 往往使用混合固定液, 即把性质不同的两种固定液以适当比例混合, 使其极性调到所需要的范围, 对混合组分分离有较好的选择性而分析时间又不太长。

被分离组分和固定液分子之间相互作用力的大小, 目前还没有适当的理论给予概括和计算。所以固定液的选择主要还是依赖于实践。固定液的选择请参见本书附录表。

十五、什么是固定液选择中的“最相邻技术”？优选固定液有哪些？

最开始优选固定液是按使用次数的统计方法决定。70年代初李氏(Leary)等人引用“最相邻技术”来评价固定液，指明了许多固定液的相似性。

李氏的这一方法是把众多固定液的特征数据用 N 维模型向量来表示。若它们在 N 维空间是相邻的，那么这两个数据就认为是相似的。其相似程度可用它们的模型矢量间的距离 D 值来确定：

$$D = \sqrt{\sum_{i=1}^m (\Delta I_{Ai} - \Delta I_{Bi})^2}$$

式中 D ——两固定液A和B之间的距离

i ——在两固定液上测试的某化合物

ΔI_{Ai} ——组分 i 在A固定液与角鲨烷(S)上的保留指数差
($\Delta I_{Ai} = I_{Ai} - I_{Si}$)

ΔI_{Bi} ——组分 i 在B固定液与角鲨烷(S)上的保留指数差
($\Delta I_{Bi} = I_{Bi} - I_{Si}$)

那么： $\Delta I_{Ai} - \Delta I_{Bi} = I_{Ai} - I_{Si} - I_{Bi} + I_{Si} = I_{Ai} - I_{Bi}$ ，这说明最相邻距离 D 和标准物质(角鲨烷) I_{Si} 值无关，它是用来表明A、B两固定液极性的差异程度。李氏计算了200多种固定液相对于角鲨烷的 D 值，选择出12个优选固定液，如图10所示。

李氏按照他所计算的 D 值大小，选择出12个固定液组成的一组优选固定液：1, 2, 3—三(2-氰乙氧基)丙烷(TCEP)、丁二酸二乙醇酯(DEGS)、己二酸二乙醇酯(DEGA)、聚乙

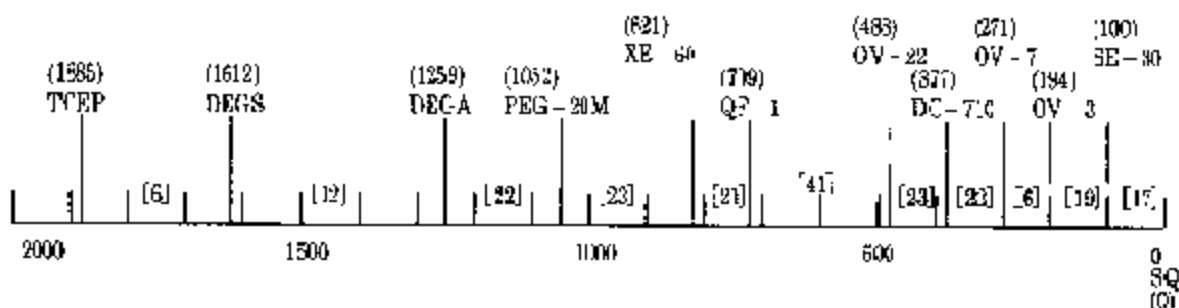


图 10 各种固定液与角鲨烷最相邻距离图解

注: ()内数字为优选固定液与角鲨烷的D值。

[]内数字为优选固定液间其他固定液数目。

乙二醇(PEG-20M)、 β -氰乙基(25%)甲基聚硅氧烷(XE-60)、三氟丙基(50%)甲基聚硅氧烷(QF-1)、苯基(60%)甲基聚硅氧烷(OV-22)、苯基(50%)甲基聚硅氧烷(DC-710)、苯基(20%)甲基聚硅氧烷(OV-7)、苯基(10%)甲基聚硅氧烷(OV-3)、甲基硅油(SE-30)、角鲨烷(SQ)。

被优选次数最多的固定液有5种:

甲基聚硅氧烷(SE-30, D=100)

苯基(50%)甲基聚硅氧烷(OV-17, D=377)

三氟丙基(50%)甲基聚硅氧烷(QF-1, D=709)

聚乙二醇20M(PEG-20M, D=1052)

丁二酸二乙二醇酯(DEGS, D=1612)

实践也证明这5种是气相色谱中应用最广泛的固定液。

十六、分析白酒酸、酯、醇、醛、酮 用固定液有哪些?

白酒微量芳香成分十分复杂,用气相色谱现已定性出100多种微量成分。但它并不是组成白酒的全部物质,白酒的更深

层次的剖析还有待于去研究和发现。用一种固定液来分析白酒的全部微量成分是办不到的,白酒分析用固定液的选择仍是依据上述“相似相溶”原则来确定,而且更重要的是要根据分析对象、分析目的来选择。这里所指的是酒厂满足生产需要的一般分析所常用的固定液。

白酒中有机酸的分析(酯化后)一般采用1,4-丁二醇丁二酸聚酯(BDS, 2AC-6R-860)或二乙二醇己二酸聚酯(DEGA, LAC-1R-296)或乙二醇己二酸聚酯(PEGA, LAC-13R-741)。白酒中酯、醇的分析,高沸点组分分离(直接进样或预处理后进样)则常用的是聚乙二醇20M(PEG-20M)或甲基硅酮(SE-30)或硅油(SP-1000)。低沸点组分分离(直接进样或预处理后进样)则常用的是邻苯二甲酸二环酯(DNP)或DNP与吐温80(Tween 80)混合使用或分子量较低的聚乙二醇(PEG-200, 400, 600, 1500等)。此外,还有使用其他各种聚酯的,如:乙二醇丁二酸聚酯(PEGS)、乙二醇己二酸聚酯(PEGA)、吐温80(Tween 80)与司班80(Span 80)混合固定液等等。

白酒中醛、酮(炭基化合物)的分析(衍生化后)一般采用弱极性的高温固定液,如甲基硅酮(SE-30, SE-52)、苯基甲基硅酮(OV-17)、硅酮橡胶等等。

白酒中气味易挥发芳香成分一般用1,2,3-三(2-氰乙氧基)丙烷(TCEP)固定液。

十七、如何在实际中测定载气 压力和流速?

为了保证定量分析结果的准确性和重复性,应该准确测

量载气压力和流速。载气压力多指载气进入色谱柱前后的压力(主要指柱前压力)。载气流速则指载气经过色谱柱,色谱柱出口流速(称为柱体积流速或柱后流速)。

色谱柱前载气压力是通过安装在色谱仪上的标准压力表来测量的。从表上可直接读出载气进入色谱柱前的压力,单位是 kg/cm^2 或 MPa (兆帕);该压力直接影响着柱子的分离效率。色谱柱后与大气相通,所以柱后压力即为大气压。

载气流速的大小,通常从仪器上的转子流量计或载气刻度指示阀上读出。转子流量计刻度单位是 ml/min ,表示每分钟进入柱子的载气的毫升数。而刻度指示阀上的刻度和阀的输出流量成——对应,可从仪器的附表中查出,单位仍是 ml/min 。但这流速是载气进入柱子前的流速,并非柱体积流速。柱体积流速可从下式中算出:

$$F_c = f_c (1 + P_i)$$

式中 F_c ——柱体积流速(ml/min)

f_c ——柱前流速(从转子流量计上读, ml/min)

P_i ——柱前压力(从柱前压力表上读, mmHg)

以上结果是近似值。为了准确测量柱体积流速,用皂膜流量计最好。皂膜流量计制作十分简单。用一支碱式滴定管,连接一支玻璃三通管,下端接一内装适量肥皂水的小橡皮球(如:洗耳球或乳胶管),另一端用乳胶管连接柱出口。测量流速时用手挤压橡皮球,载气顶着皂膜沿刻度玻璃管自上而下移动,用秒表测量一定时间内皂膜移动的距离,可用下式计算柱体积流速:

$$F_c = \frac{V}{t}$$

式中 F_c ——柱体积流速(ml/min)

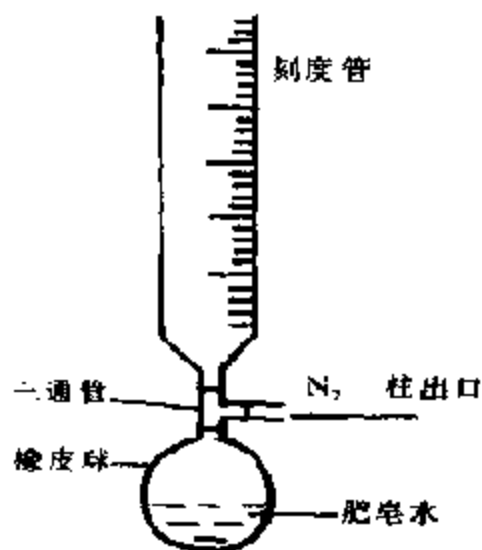


图 11 皂膜流量计

v ——皂膜移动的距离

(ml)

t ——皂膜移动的时间

(min)

皂膜流量计如图11所示。

当用体积流速来计算色谱仪检测器灵敏度的时候，这时的体积流速就还要考虑温度、水的饱和蒸气压及柱压的影响，必须加以校正才更精确，可用下式校正：

$$F'_c = k F_c \cdot \frac{P_o - P_w}{P_o} \cdot \frac{T_c}{T_r}$$

式中 F'_c ——精确柱体积流速(ml/min)

F_c ——近似柱体积流速(ml/min)

P_o ——柱后压力(Pa)

P_w ——测得时水的饱和蒸气压(Pa)

k ——压力梯度校正因子

$$k = \frac{3}{2} \left[\frac{(P_i / P_o)^2 - 1}{(P_i / P_o)^3 - 1} \right]$$

P_i ——柱前压力(Pa)

T_c ——柱温(K, 即 $T_c = 273 + t_c$, t_c 表示温度计读数 $^{\circ}\text{C}$)

T_r ——室温(K)

有时只考虑温度对体积流速的影响，则上式可简化为：

$$F'_c = F_c \cdot \frac{T_c}{T_r}$$

此外，用氮气转子流量计测氢气时，因氢气的气体粘度比

氮气小一倍,故指示值就低一倍。例如:氮气流量指示为20ml/min,若测氢气流量,转子高度一样,则氢气流量应为40ml/min。

十八、白酒分析为何普遍采用氮气(N_2)作载气? 能否使用氢气(H_2)?

关于色谱分析中载气种类的选择,首先要根据检测器的特点来确定。如Ar离子化检测器必须用Ar作载气,热导池检测器要用 H_2 或He作载气而一般不用 N_2 等等。其次要考虑到载气对柱效和分析速度的影响。载气的物理性质(如:分子量、粘度等等)对柱效的影响,主要体现在被测组分在载气中的扩散程度(即:扩散系数 D_g),分析速率方程可得出如图12所示的图形。

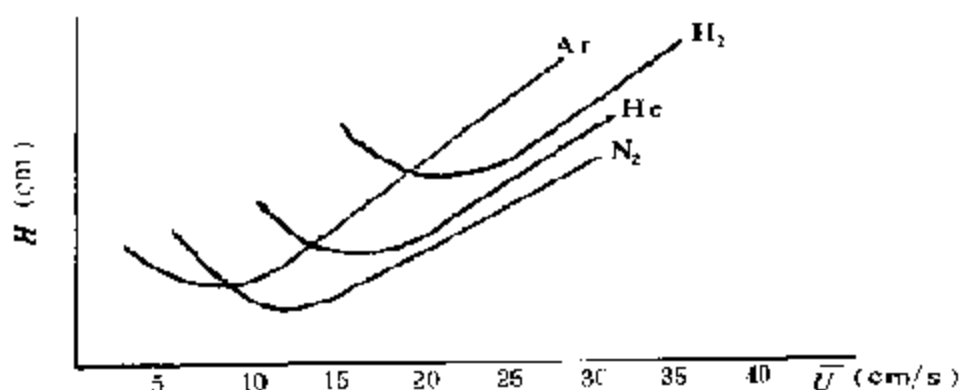


图 12 理论塔板高度与载气流速的关系

由图12可知,分子量小的载气(即:轻载气),其最佳流速和塔板高度(H)都比分子量大的载气(即:重载气)大,这充分说明了氮气能获得较高的柱效而氢气能得到较快的分析速度。

白酒分析一般采用 N_2 作载气,除它有获得较高的柱效因素外,还因为 N_2 易制取和提纯,价格便宜。若用 H_2 作载气,当

然可以,但是 H_2 轻,易扩散易漏,容易使氢火焰产生扩散,至使FID灵敏度降低,影响分析。而且又必须采用 N_2 或其他气源作辅助气,以防止火焰的扩散。所以若用 H_2 作载气,需用 N_2 、Ar、空气等作辅助气(由氢气进口处引入)。这对酒厂来说是比较麻烦的。所以一般酒分析采用氮气作载气。

十九、载气、燃气为什么要进行稳压? 其稳压阀结构原理何在? 使用 时应注意哪些问题?

载气燃气的流速对分离和测定有很大的影响,为了保证色谱分析的准确度,就必须严格控制其压力和流速。载气和燃气由钢瓶输出,经减压阀减压和净化器净化后进入稳压阀。稳压阀是气流系统中十分重要的控制元件,它的作用是稳定输出气压,在一定范围内不受输入气压和流量变化的影响。气和色谱仪中常采用波纹管双腔式稳压阀,其结构原理如图13。旋转调节手柄,调至一定程度,使系统内达到平衡。若此时进气

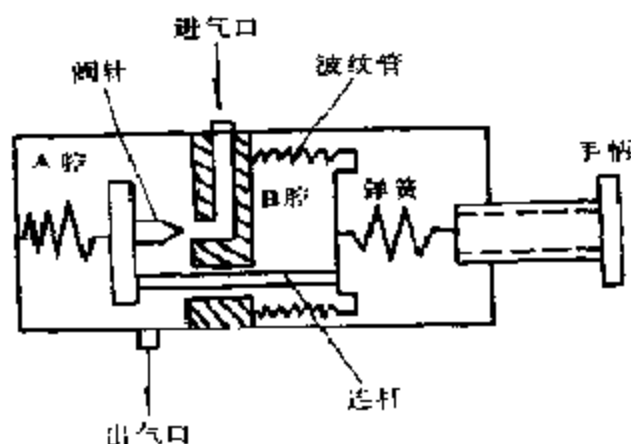


图 13 稳压阀示意图

口压力稍有增加,空腔B内气压随之增大,波纹管向右伸张,连杆带动阀针也向右移动,使阀针和阀门空隙减小,此时气流阻力增大。于是进入A腔的气体流量减小,则出口压力被迫降回至原来平衡状态。反之,若进口压力略有降低,同理波纹管向左压缩,使阀针和阀门间的空隙增大,此时气流阻力减小,而迫使系统自动恢复到原来状态,这样就达到了稳压的目的。

根据阀的结构和工作原理,在使用时应注意以下问题,否则不能达到稳压的效果而使性能变坏。

(1) 弹性元件波纹管所承受的压力有一定的限度,故输入压力应小于600kPa。

(2) 输入压力和输出压力必须保持一定压力差,这压力差应大于50kPa。

(3) 输出气体的流量有一定的限制(输出端必须有一定气阻),要求流量小于100ml/min。

二十、载气为什么要进行稳流?

稳流阀结构原理何在?

载气经过减压阀减压和稳压阀稳压后,只要气路系统密闭不漏气,是可以达到分析时所要求的精度的。当然,气路中再串联一个稳流阀效果就会更好。稳流阀的作用是调节和稳定气体流量,使柱出口流量不受柱温变化而改变。仪器作程序升温操作时,因柱温不断升高而引起柱内的阻力不断增大,不可避免地使载气出口流量也随之而变化,使仪器基线发生漂移。为克服这一现象,保持柱后流量不变,串接稳流阀即可。稳流阀结构原理如图14所示。

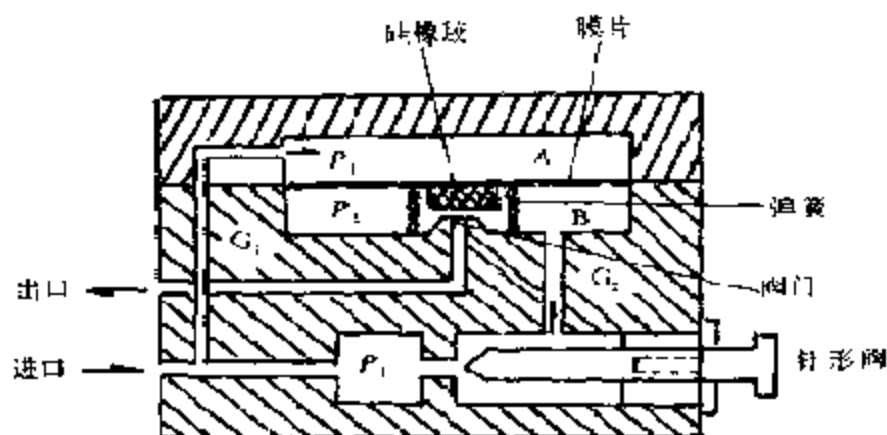


图 14 稳流阀示意图

稳流阀系膜片反馈式，阀体为金属结构，阀的腔体中间用薄膜分隔成两个上下互不连通的气室。当气体进入阀之后分两路，一路经细孔 G_1 进入上气室A，另一路经细孔 G_2 进入下气室。此时上气室压力 P_1 等于输入压力，对膜片产生的压力使膜片向下，下气室B对膜片产生的压力 P_2 使膜片向上。这时膜片上、下的压力差等于针形阀尖前后的压力差($P_1 - P_2$)。膜片下面粘有硅橡胶，与阀门口间有一定间隙，对气体的流通具有一定的阻力，由于载气压力与压缩弹簧的相互作用，靠可变形的膜片来移动阀针，使密封橡胶与阀门保持一定距离，即保持($P_1 - P_2$)恒定，则阀出口输出流量恒定。当出口流量下降(如：柱温升高，柱阻力增加)时， P_2 升高，膜片向上移动，硅橡胶与阀门口间隙增大(气阻减小)，这样就阻止了输出流量的下降。反之亦然，从而使输出流量得到恒定。

二十一、你知道减压阀的减压原理吗？ 如何安全使用？

减压阀又称氧气表或氢气表，装在钢瓶的出气口，用

来把高压气体调节到较小的工作压力范围。一般是将压力从10~150MPa减压到0.2~0.6MPa。其阀体构造原理如图15。拧开钢瓶上的阀后,钢瓶中气体的压力即可由高压表1读出。当顺时针方向旋转手轮5时,压缩弹簧6通过薄膜3,压板4和顶杆7而打开活门9。钢瓶出来的高压气体通过活门的间隙进入低压室8,并经过出口处输出,低压室8中的气体压力可通过低压表10读出。从减压阀的结构可知,在使用时要注意以下问题:第一、减压阀用毕应将旋转手轮5按反时针方向完全松开,以免弹簧6长期处于工作状态,造成疲劳而失去调节、控制压力的作用。第二、减压阀必须严禁接触油脂,以免发生燃烧爆炸事故。第三、氢气减压阀与氧气减压阀的螺纹方向相反,这是为防止错接而采取的一种有效措施。一只减压阀应尽可能用于同一种气体,防止混用发生危险。

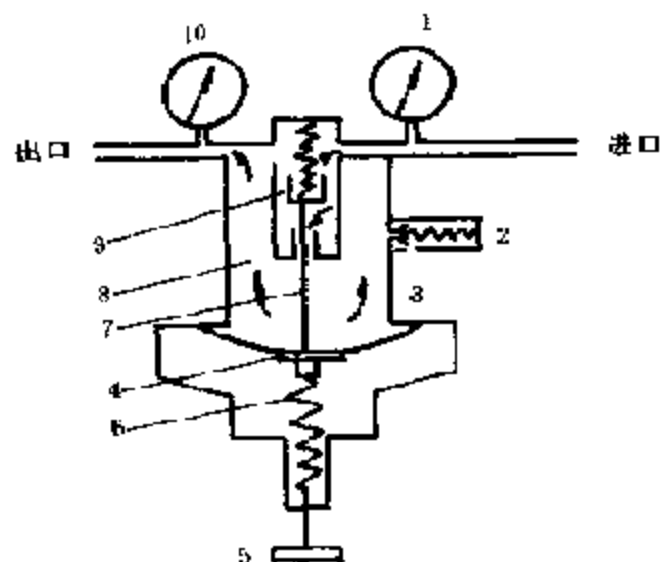


图 15 减压阀示意图

- 1—高压表 2—安全阀 3—薄膜 4—压板 5—手轮
6—弹簧 7—顶杆 8—低压室 9—活门 10—低压表

目前国外使用的一种所谓双级减压阀,即把基本稳定的

低压气经过第二次稳压后才输出,色谱仪的载气、辅助气就可不再需要使用稳压阀了,使仪器结构大为简化。

二十二、你知道高压钢瓶上的各种颜色所代表的含义吗? 如何安全使用?

钢瓶是高压气体源的载体,钢瓶的颜色和色环与气体种类密切相关,国家有统一规定。为防止在使用时错用,现把各种颜色标记列于表3。

高压钢瓶在使用时要注意以下问题:钢瓶应放在阴凉、干燥、通风的专门修建的供钢瓶取放的空间内(一般用水泥墙建成可容纳钢瓶的小屋即可)。远离易燃、易爆之源;不得随意更改钢瓶颜色;钢瓶内的气体不应全部用完,应留有一定余压(1MPa以上);充装一般气体的钢瓶,每3年检修一次。装腐蚀性气体的钢瓶,每2年检验一次。检修项目有内外表面检查、水压检验等,必须由气体生产厂检修。

二十三、载气和辅助气为何要净化? 如何净化?

载气和辅助气不但要稳压、稳流,而且还要先净化。若载气中含有水分,则可影响色谱柱的活性、分离效率和使用寿命;若含有氧气(O_2),则可使PEG固定液断链;若载气和辅助气中含有烃类及其他杂质,则可使氢焰检测器基流、噪声增大并出怪峰和污染检测器等等。所以载气和辅助气在进入稳压阀

表 3

气体种类和高压钢瓶颜色对照

气体种类	分子式	字 样	字 色	色 环	瓶 色
氢	H ₂	氢	大红	P19.6. 淡黄色环一道 P29.4. 淡黄色环二道	淡绿
氧	O ₂	氧	黑	P19.6. 白色环一道 P29.6. 白色环二道	淡蓝
氨	NH ₃	液氨	黑		淡黄
空气		空气	白	P19.6. 白色环一道 P29.4. 白色环二道	黑
氮	N ₂	氮	淡黄	同 上	黑
二氧化碳	CO ₂	液化二氧化碳	黑	P19.6. 黑色环一道	铝白
甲烷	CH ₄	甲烷	白	P19.6. 淡黄色环 道 P29.4. 淡黄色环二道	棕
乙烷	C ₂ H ₆	液化乙烷	白	P14.7. 淡黄色环一道 P19.6. 淡黄色环二道	棕
氩	Ar	氩	深绿	P19.6. 白色环 道 P29.4. 白色环二道	银灰
氦	He	氦	深绿	同 上	银灰
氖	Ne	氖	深绿	同 上	银灰
氪	Kr	氪	深绿	同 上	银灰
氙	Xe	氙	深绿	同 上	银灰
二氧化硫	SO ₂	液化二氧化硫	黑		银灰
液化石油气		液化石油气	大红		银灰
一氧化二氮	N ₂ O	液化氧化亚氮	黑	P14.7. 深绿色环	银灰
四氟甲烷	CF ₄	氟氯烷	黑		铝白
氟化氢	HF	液化氟化氢			银灰

* 高压钢瓶的额定压力(MPa)。

前要净化处理,使其达到一定纯度,否则将影响分析。当然气相色谱中所用载气和辅助气的纯度主要取决于色谱柱、检测器和分析的要求。白酒色谱分析通常采用 N_2 作载气,氢火焰离子化检测器来检测。净化时首先要除去气体中的水分,用变色硅胶和5 Å分子筛可除去之。其次要除去气体中的烃类等有机杂质,可用活性炭来净化。一般现在国产色谱仪中都配有净化器。将硅胶、5 Å分子筛、活性炭(颗粒)按顺序装入,密封即可。一般净化管的结构如图16。

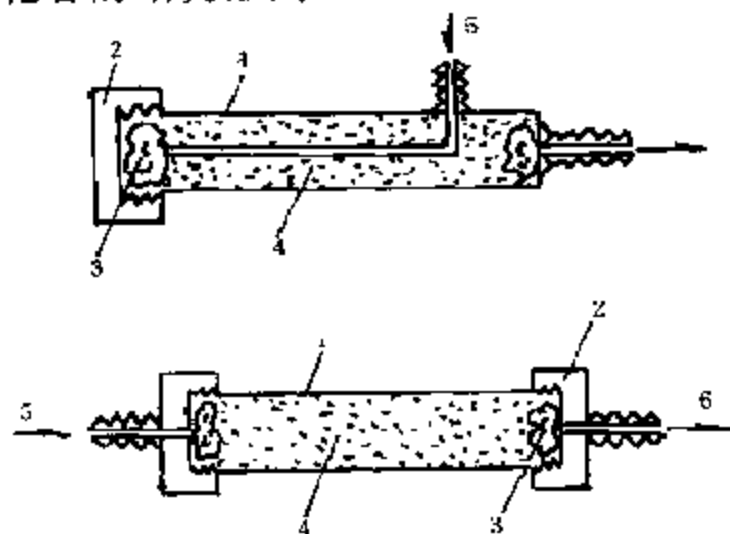


图 16 净化管的结构

1- 净化管 2- 螺帽 3 玻璃棉 4- 净化剂 5 -进气口 6 - 出气口

二十四、白酒气相色谱分析柱温、载气流量如何选择?

随柱温变化的参数较多(如: 分配系数 K 、组分在液相中的扩散系数 D_L , 组分在气相中的扩散系数 D_g 等), 故温度对柱效的影响相当复杂。实验指出, 在较低柱温下, 物质保留质差

大,所以在较低柱温下,组分可以获得较好的分离效果。但以保留时间适宜及不拖尾为度。选择柱温主要根据被测组分的沸点范围,当然也要考虑到分析要求。白酒成分很复杂,当作低沸点醇酯恒温分析时,柱温则应选择被测组分的平均沸点左右或更低一些(如: $80 \sim 100^{\circ}\text{C}$,虽然柱温低于某些组分的沸点,但由于试样量很小,在这温度下也可保持气态)。当作高沸点醇酯分析时,则采用程序升温更好,这样既可以保证低沸点组分分离,又可保证高沸点组分分离(如:从 60°C 到 150°C ,途中用二阶或三阶程升)。柱温选择当然不能高于固定液的最高使用温度。此外,柱温的选择也要根据固定液配比和检测器的灵敏度来定。那是因为固定液含量可以调节柱温的高低,从而改变分离效能;柱温可间接影响检测器灵敏度,如降低柱温固定液流失减弱,基流降低,就可使高灵敏度检测器(如FID)能够在高灵敏档上应用。所以对于高沸点混合物(沸点 $300 \sim 400^{\circ}\text{C}$),希望在较低柱温下分析,可采用低固定液含量(1~3%)的柱子,高灵敏度检测器,在 200°C 左右柱温下分析;对于沸点不太高的混合物(沸点 $200 \sim 300^{\circ}\text{C}$),用5~10%固定液,在 150°C 左右柱温下分析;对于沸点在 $100 \sim 200^{\circ}\text{C}$ 或更低的混合物,用10~20%固定液,柱温可选择在其平均沸点 $2/3$ 或平均沸点左右分析。

载气流速的选择都是围绕着分离效能高、分析速度快这两个要求来进行的。这里说明一下载气在柱中各点流速不同,皂膜流量计测的是柱出口体积流速(F ,单位 ml/min),有时用线速度 U 表示。而出口载气线速度 U (单位 cm/s) 等于柱长和死时间之比。柱中平均流速($\bar{F}$)或平均线速($\bar{U}$)等于出口流速(F 或 U)和压力校正因子相乘之积。前面关于载气流速问题已说明了多次,从速率理论中可知,要获得最佳分离效能,就要选

用最佳线速, 如图17。若以 N_2 作载气, 其最佳线速在7~10 cm/s。若以 H_2 作载气, 最佳线速在10~12 cm/s, 此时柱效最高。在最佳线速下柱效虽然高, 但分析时间长, 速度慢, 往往不能满足实际快速分析需要, 这时可采用比最佳流速大一些的所谓实用流速来分析。实际上在选择流速时不可能达到最佳值, 而都是在最佳值左右(即实用流速), 一般 N_2 实用流速为10~12 cm/s, H_2 为15~20 cm/s。若需分析白酒中高低沸点的芳香成分, 除采用程序升温外, 还可以采用程序升流速之方法(后叙)。

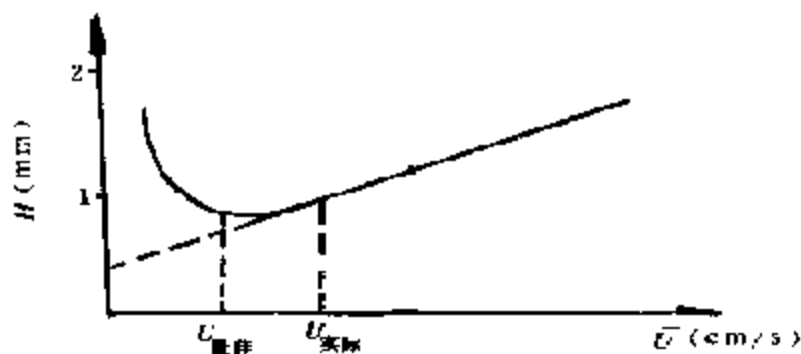


图 17 $H-U$ 关系图

二十五、嫌一个样品分析时间太长, 有何措施可缩短分析时间?

组分分析时间的长短, 即组分在柱中停留时间的长短, 也就是组分的保留时间多少。要改变组分的保留时间有许多方法, 但对酒厂色谱分析来说, 要从实际出发, 根据分析的目的,

准确性等因素采取有效措施来解决。

如果色谱柱已安装好了并在分析样品,则可适当升高柱温,就可以缩短分析时间,即提高柱温可以做快速分析。或者适当增加载气线速,也可以缩短分析时间。

如果在样品分析前就要做快速分析,则有以下措施可办到:第一,使用低配比量固定液的柱子,而低固定液含量的柱子可以缩短分析时间。第二,选用内径小的色谱柱,即细内径柱比粗内径柱更能获得高线速。第三,用氢气(H_2)作载气,即采用轻载气比采用重载气好,分析速度更快。第四,减少柱子长度。第五,使用空心壁涂开口管柱。

二十六、白酒气相色谱分析进样温度、进样量、进样速度如何确定?

进样温度的选择一般选在试样的沸点或稍高于沸点,以保证快速,完全气化。所以对气化室要求死体积小,热容量大,内壁无催化效应等。白酒成分虽然复杂,沸程范围宽,但因进样量极微,高沸点组分可以瞬间汽化,故进样温度一般比柱温高 $10\sim 50^{\circ}C$ 左右即可。

进样量对柱效、峰高、峰面积等都有影响。实际证明,随着进样量的增加,塔板数急剧下降。所以进样量不能过多。最大允许进样量应在一定范围内,即是色谱峰的半宽度(区域宽度),在此进样量范围内不变,而峰高或峰面积与进样量呈线性关系。通常,色谱柱内径越粗,柱子越长,固定液含量越高,同时组分的分配比例 K 越大,则允许进样量就越多。反之,进样量就减少。一般内径 $4\sim 6mm$,柱长 $2m$,固定液含量为

15~30%时,最大进样量,液体约10 μ l,气体约10ml。固定液少于上述配比,则最大进样量必须减小。在灵敏度足够的情况下,尽量采取低进样量。通常液体样品为0.1~2 μ l,最多不超过4 μ l,气体样品0.5~3ml。

进样速度快,尤其是对于分配比例 K 较小,出峰较快的组分更是如此。否则若进样时间过长会增大有效塔板高度,从而降低柱效。一般要求在1s之内完成进样。

二十七、气相色谱检测器是怎样分类的?

酒分析常用检测器有哪些?

检测器是一种用于检测色谱柱后流出物的组成成分和浓度变化的装置。随着气相色谱的不断发展和应用领域的不断扩大,对检测器的要求也就愈来愈高。为了满足分析上的需要和操作上的方便,除了发展新型专用检测器外,检测器的另一个发展趋势是研制多性能检测器,即一个检测器能起数种检测器的作用,这在前面已叙及了。检测器分类有多种,常见有以下分类:

1. 按响应时间分类

(1) 积分型检测器 代表某一物理量随时间的累加,即所显示的信号是指在给定时间内物质通过检测器的总量。目前很少用它作色谱检测器。

(2) 微分型检测器 代表某一物理量随时间的变化,即所显示的信号是指在给定时间内每一瞬间通过检测器的量,如氢焰检测器等。

2. 按响应特性分类

(1) 浓度型检测器 检测量是载气中组分浓度瞬间的变化,即检测器的响应值取决于载气中组分的浓度,如热导池(TCD)检测器等。

(2) 质量型检测器 检测量是载气中所携带的样品组分进入检测器的速度变化,即响应值取决于单位时间组分进入检测器的质量,如氢焰(FID)检测器等。

3. 按样品变化情况分类

(1) 破坏型检测器 检测过程中,被测物质发生不可逆变化。如氢焰检测器。

(2) 非破坏型检测器 检测过程中,被测物质没有发生不可逆变化。如热导、电子捕获检测器。

4. 按选择性能分类

(1) 多用型检测器 对于大多数不同种类的物质都有较大响应信号的检测器。如FID、ECD等。

(2) 专用型检测器 仅对某些物质产生较大响应信号而对其他种类物质的响应信号很小或几乎不响应。如火焰光度检测器等。

由以上分类可知:一种检测器可同时属于几种不同性质的检测器。如:

热导池检测器可称为:微分——浓度——非破坏——多用型检测器。

氢火焰检测器可称为:微分——质量——破坏——多用型检测器。

目前检测器已有60余种,用于气相色谱分析的检测器有数十种之多。在一般分析工作中最常用的是热导、氢火焰、电子捕获、火焰光度检测器。而白酒分析主要采用氢火焰(FID)检测器,有时使用电子捕获检测器(ECD)测定酒六六六或DDT含量。

二十八、体现检测器的性能指标有哪些？怎样表达？

气相色谱定性定量分析对检测器总的要求是，不同类型的样品，在不同的浓度范围内和不同操作条件下，都能准确、快速指示、测量出来。具体说来，就是一要灵敏度高，以便把常量和微量组分都能检测出来；二要检测度低，稳定性好；三要线性范围宽，定量准确；四是要死体积小、响应时间快，以便接毛细管柱和进行快速分析。此外，还要结构简单，成本低，应用范围广等。因此，灵敏度、检测度、线性范围等是体现检测器性能的重要指标。

1. 检测器的灵敏度

检测器的灵敏度(S)，也称响应值、应答值，即一定量的物质(Q)通过检测器时所给出信号(R)的大小。信号以电压(mV)或电流(mA)表示。如果以进样量 Q 对检测器响应讯号作图，就可得到一直线，如图18示。

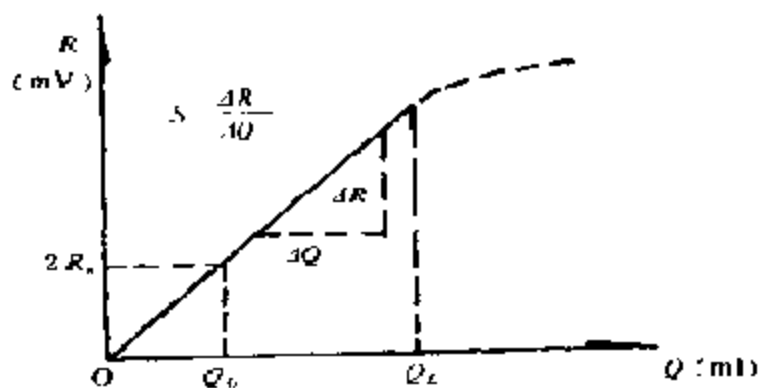


图 18 $R-Q$ 关系曲线

直线的斜率就是检测器的灵敏度， $S = \frac{\Delta R}{\Delta Q}$ (为任何类型

检测器的灵敏度公式)。 Q_L 是最大允许进样量, Q_0 为最小进样量, 即是检测度。

(1) 热导池检测器响应值(S_i)的表达式:

$$S_i = \frac{u_2 F_c A_i}{u_1 M_i} (\text{mV} \cdot \text{ml/mg})$$

式中 u_2 记录仪感量, 即电压灵敏度 (mV/cm , 记录笔移动 1cm 时所代表的 mV 数)

F_c ——载气流速(即用皂膜流量计测得的体积流速, ml/min)

A_i ——进入 m_i (mg) 物质时, 得到的峰面积 (cm^2)

m_i ——进入检测器的纯物质质量 (mg)

u_1 ——记录仪移动速度 (cm/min)

(2) 氢焰离子化检测器响应值计算公式:

$$S_i = \frac{60 u_2 A_i}{m_i u_1} (\text{mV} \cdot \text{s/g}) (\text{各项含义同上})$$

(3) 检测器的相对响应值: 定量测定时, 一般不必知道检测器对某物质的绝对响应值, 而只要知道这一物质的响应值 S_i 与标准物质的响应值 S_s 之比, 即相对响应值 S' 就可以了, 即: $S' = S_i / S_s$ 。将以上响应值计算公式代入之得:

$$S' = \frac{A_i \cdot m_s}{A_s \cdot m_i} \cdot \frac{A_s \cdot \frac{1}{m_s / m}}{A_i \cdot \frac{1}{m_i / m}} = \frac{A_i \cdot P_s \%}{A_s \cdot P_i \%}$$

式中 P_i % 和 P_s % 分别为组分 i 和组分 s 在混合物中的百分含量。由此可知相对响应值 S' 与测定条件无关, 也不需要准确知道进样量。从有关书籍中可以查阅 S' 值。

2. 检测器的检测度

检测度也称敏感度或检测限。检测器的输出讯号, 可由电子放

大器放大到任意数值,这样检测器灵敏度似乎就可以达到任意想象的那样高。其实,检测器的讯号在被放大的同时,其不稳定的因素(如:噪音或基线波动)同时也被放大了,当达到某一点后,噪音就高到足以掩盖检测器的响应讯号。这样噪声水平(大小)就限定了检测组分的浓度。

检测度为二倍基线噪声($2R_n$,单位mV)与响应值(S)之比,即:

$$M = \frac{2R_n}{S} (\text{mg/ml或g/s})$$

其物理意义是使检测器产生恰好二倍于噪声(能鉴别到的信号)的信号时,单位体积或单位时间内进入检测器的物质最小量。对于一个高灵敏度的检测器,不仅要看其响应值的高低,还要看其检测度的大小。所以对于新购置的色谱仪,要按其说明书求出检测度,以判断其质量好坏。一般氢焰检测器检测限在 $M=10^{-12}\text{g/s}$ 左右。

3. 检测器的线性范围

在图14中,曲线中直线部分 Q_c 、 Q_L 称为检测器的线性范围。即检测器呈线性时,最大和最小进样量之比。

检测器线性范围愈宽愈好。其愈宽,表明不管是大量组分或者是微量组分,检测器都能准确、定量地测定出来。特别是酒中痕量成分分析,若使用的是归一化法定量,线性范围对结果准确度有很大影响,要引起重视。

二十九、定量校正因子与检测器 相对响应值有何关系?

校正因子有绝对校正因子和相对校正因子。绝对校正因子主要由仪器的灵敏度所决定,既不易测得也无法在实际中应用。色谱分

析中要准确地进入一定量的物质(特别是重量)所引起的误差的误差较大,故在定量分析中通常都是用相对校正因子(f),即组分 i 与标准物质 s 的绝对校正因子之比值(f)。相对校正因子(f)与相对响应值(S')是互为倒数关系,即: $f = \frac{1}{S'}$ 。将上面 S' 之值代入其中,即得: $f = \frac{A_s \cdot P_i \%}{A_i \cdot P_s \%}$ 。所以相对校正因子(f)可以通过测检测器的相对响应值求得。实际工作中往往可引用文献所列检测器的相对校正因子(一般色谱文献中均有,并往往将相对两字略去)。在引用时要注意其计量单位(如:重量相对校正因子、体积相对校正因子、摩尔相对校正因子)。

三十、热导池检测器结构、原理是什么? 能否用于白酒分析?

热导池是第一个作为气相色谱的检测器。因为色谱分析技术的发展,出现了更灵敏、更专一的其他检测器,在许多方面代替了热导池。然而热导池检测器结构简单、性能稳定、价格便宜并对有机物和无机物都有响应。尤其是定量准确,并可与其他仪器联用,加上人们的不断改进,使这个古老的检测器至今仍受欢迎,得到广泛的应用,成为目前最好的通用型检测器。

热导池检测器是基于不同组分和载气有不同的热导系数,当通过热导池体的气体组成及浓度发生变化时,就引起热敏元件的温度变化,温度变化而产生的阻值变化可用索斯登电桥测量,所得信号与组分的含量成正比而求得组分含量。

热导池以金属(如:铜块或不锈钢)作池体。其形状有方形和圆柱形,大小不一。池体大,热容量大,稳定性好。池体内钻

有孔槽,内装热敏元件或电阻,孔槽按其载气流通方式可分为直通型、扩散型、半扩散型,直通型响应时间快,灵敏度高,但受流速波动的影响大。扩散型则与直通型相反,载气不直接通过热敏元件,靠气体扩散产生热传导,受流速影响小,操作稳定;但响应时间慢,灵敏度低。半扩散型则综合了上述两种特点,是热导池最理想的构型,应用很多,如图19所示。

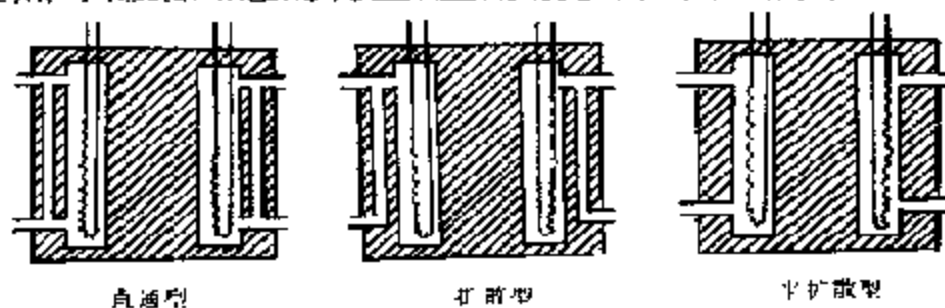


图 19 热导池种类

在池体中钻有4个孔槽(即: 4个臂), 如果电桥中的两个臂为固定电阻, 另两个臂为热敏元件, 则称为二臂热导池;若4个臂都由热敏元件组成, 则称为四臂热导池, 图20为四臂热导池电桥测量线路图。

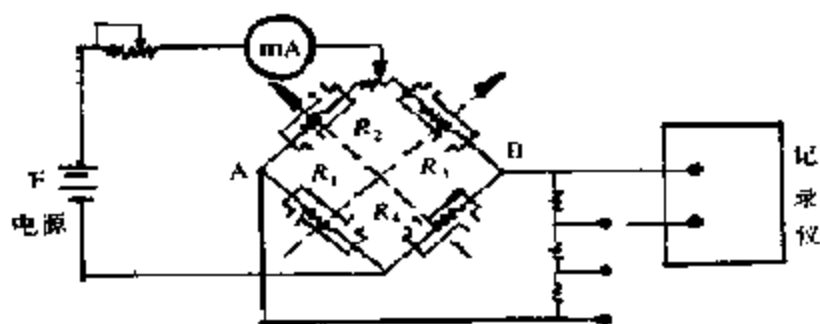


图 20 热导池电桥线路图

位于池体中同一孔道内的 R_1 、 R_3 为测量臂。另一孔道中的 R_2 、 R_4 为参考臂。电桥上接有直流电源加热,使热敏元件与池臂之间有温差。由于流过气体的热传导,使热敏元件产生温度降而阻值发生变化。当没有样品进入检测器时,参比臂和测

量臂都是通过同一种载气。载气热传导所引起热敏元件阻值的改变是相同的,电桥处于平衡状态(即: $R_1R_4=R_3R_2$),无信号输出,记录器走的是一条平稳的基线。当样品进入检测器时,参比臂仍只有载气通过,测量臂通过的则是样品与载气混合的二元体系,因载气与其系统的热导系数不同,从而使热敏元件的温度、阻值发生变化,破坏了电桥平衡,电桥就有信号输出,则记录器就画出一个色谱峰。因为二元体系的热导系数随样品组分含量的多少而异,当其他条件不变时,电桥输出信号与组分在载气中的浓度成正比,从而求得组分含量。因此,热导池检测器同样可用于白酒分析中。

三十一、为什么氢和氦比其他气体更适宜作热导池的载气?

前已叙及热导池(TCD)检测器的检测原理是基于不同组分和载气具有不同的热传导能力〔热传导能力用热导系数 λ 来表示,单位为 $J/(cm \cdot s \cdot ^\circ C)$ 〕。在其他条件一定时,TCD的灵敏度决定于载气和组分之间的热导系数之差,当两者相差愈大时,其热敏阻值改变就愈大,即TCD就愈灵敏,组分就更容易检测出来。若组分和载气的热导系数 λ 相接近,那么热敏元件难以感应出阻值的变化,即没有信号变化,也就不出峰。表4列出了几种物质的热导系数。

若用氮气(N_2)作载气,样品为空气,因为它们的 λ 值相近,则空气就不会出峰。 N_2 与多数有机物的热导系数相差很小,故用其作载气时,灵敏度低、线性范围小,而且有易出w(负峰)等缺点,特别是在高温和大桥流下。而氢(H_2)和氦(He)的热导

表 4 不同载气和蒸气的热导系数

组分名称	$\lambda \times 10^3$ (在 $^{\circ}\text{C}$ 时) [J/(cm·s· $^{\circ}\text{C}$)]	组分名称	$\lambda \times 10^3$ (在 $^{\circ}\text{C}$ 时) [J/(cm·s· $^{\circ}\text{C}$)]
He	145.7	空气	24.4
H ₂	174.2	水	17.6
N ₂	24.3	甲烷	30.1
CO ₂	14.7	戊烷	13.0

系数很大,相应的检测器的灵敏度高,线性范围大,不会出现w峰。所以使用H₂和He比使用N₂更好,但要注意氢易漏易燃,要密闭好。氮气是最理想的TCD载气,但价格太贵了。

三十二、氢火焰离子化检测器(FID)

火焰可分为几部分? 火焰

形状对灵敏度有何影响?

氢火焰离子化检测器(FID)的火焰,叫扩散型火焰。是载气(N₂)、燃气(H₂)混合后进入喷嘴燃烧,助燃气(空气)由四周引入助燃而产生的。稳定状态的扩散火焰可以分为六层或六个区域,如图21示。

A层为载气、燃气混合预热;B层是C层的内心,此层点燃火焰;C层含有未燃烧的气体,形成火焰的内心,此层中有过急的温度梯度和过高的线速,外部可能产生部分裂解,有CH、C₂等存在或小量活泼H原子、游离基,但O₂不存在;D层主要是化学反应层,厚度薄;E层,燃烧气体稀释,燃烧产物生成;F层是富氧层。

FID是高灵敏度检测器,其火焰形状对灵敏度有很大影

响。而火焰形状不仅与离子头结构有关,而且与操作条件,特别是载气、氢气、空气的流速密切相关。如氢气流速大小,直接改变着火焰的形状,从而改变着灵敏度。这在下面FID操作条件选择时再叙。

正常情况下,氢火焰是尖锐的,但有时会发生扩散的低胖火苗,这时应检查喷嘴是否开裂或漏气,或氮、氢、空气流速未选择好,如图22所示。

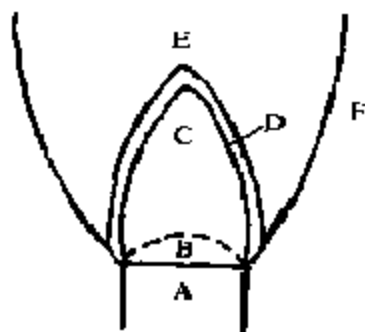


图 21 FID扩散焰各层图

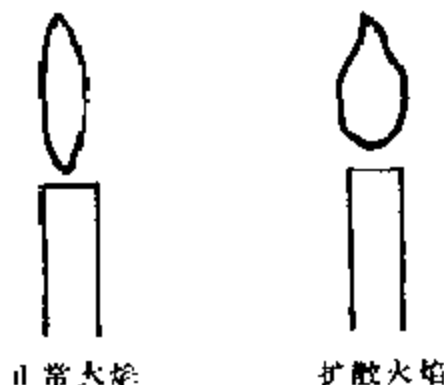
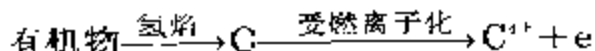


图 22 火焰形状

载气漏对火焰形状的影响大,漏气严重会出现扩散焰,而使FID灵敏度显著下降。若FID用氢气作载气而不用其他气源作辅助气时,即会出现扩散焰。

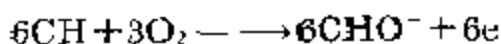
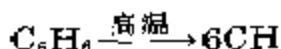
三十三、何谓氢火焰检测器(FID)的热致电离理论和自由基理论?

组分在氢火焰中燃烧产生离子,其离子化机理早期认为是热致电离,即组分在火焰高温作用下,产生元素态碳。然后再离子化生成碳正离子(C^{+})和电子,在电场作用下而产生讯号。

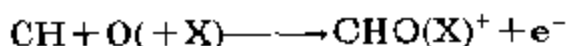


这就是所谓的热致电离理论。后来人们发现电离是在火

焰的一个很薄层(D层)中产生的,而且最大离子浓度是在冷火焰中观察到的,并不是在火焰的最高温度层。有时火焰(如: CS_2 、 H_2S)尽管具有很高的温度,却含有非常低的离子深度。此外,在氢火焰中发现的主要离子是 H_3O^+ 等等都是热致电离理论无法解释的。由于这些现象就形成了自由基理论(化学电离理论),目前自由基理论代替了热致电离理论。自由基理论认为起作用的是火焰中的自由基反应,组分在氢焰高温的作用下参加自由基反应,最后被电离并伴有电荷转移,在外电场的作用下形成微弱的离子流,经放大器放大后,由记录仪记录下来即为色谱峰。以苯为例,其离子化途径如下:



被简化的自由基理论电离反应式为:



式中X代表不同载气分子。

三十四、白酒分析常用氢火焰检测器结构是怎样的? 如何理解其检测过程?

目前酒分析用氢火焰检测器(FID)的结构多采用全封闭型,即可以在出口端接皂膜流量计测出载气、氢气或空气的流速。一般FID由喷嘴、发射极、收集极、离子室外壳、空气挡板、底座等部分组成。以1102GC FID为例来说明。

1102GC FID采用石英喷嘴或玻璃铂金喷嘴,圆筒状收集极,由铂丝绕制而成的发射极兼作点火之用,所加发射极电

压为 $\pm 250\text{V}$,使之构成一外加电场。此发射极不与喷口接触,不锈钢圆筒状收集极对地绝缘良好,且有较好的收集效率。为防止大流量空气引入而影响火焰稳定性,在空气出口与喷口间装一空气挡板,色谱柱出口端可装入位于柱箱顶部的检测器底座内,用螺母及石墨垫圈连接、密封。氢气及空气由不锈钢管从主机右侧的气路部分引入。整个FID装在一加热块中,加热块中装有内热式铬铁和铂电阻,与保温外壳组成单元结构。如图23所示。

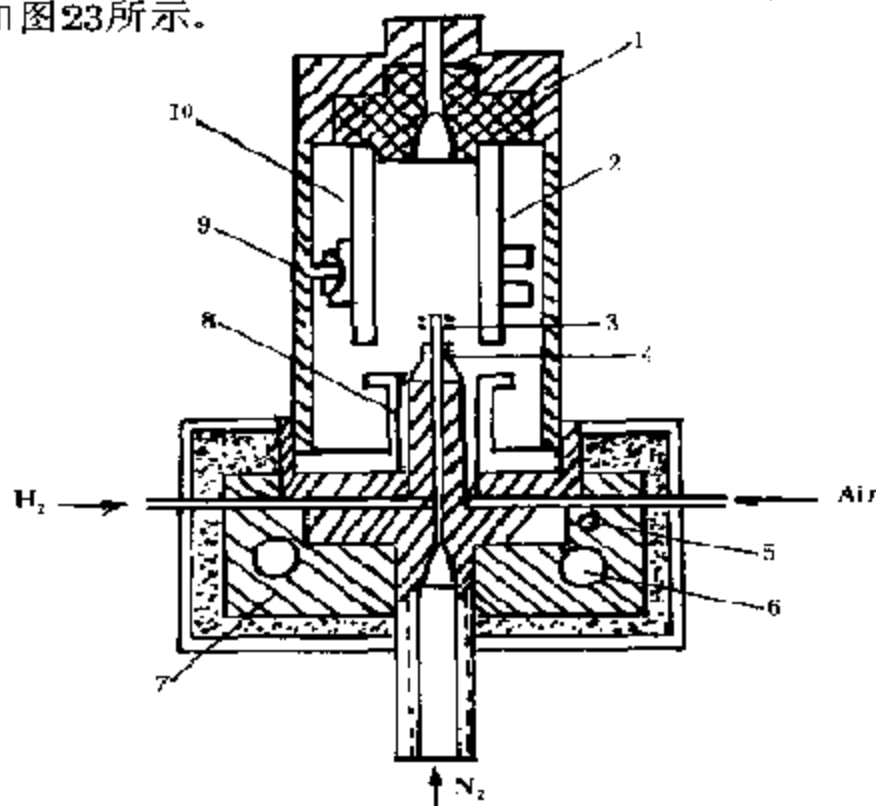


图 23 全封闭FID结构

- 1—外壳 2—收集极 3—发射极(点火) 4—石英喷嘴 5 铂电阻
6—加热器 7—加热保温底座 8—空气挡板 9—绝缘垫 10—离子室

氢气、空气、载气带着分离的组分通过导管引入喷口,在喷口处燃烧形成火焰;在火焰附近有一外加的直流电场,组分在火焰中被电离成正负离子,在电场的作用下作定向移动,形

成离子流, 这微弱的离子流被收集到一个负载电阻 (即: 高阻 R_L) 上而产生电压降, 这电压降经过放大器放大后输入到记录仪上, 由记录仪记录出来, 即为组分的色谱峰。如图24示为FID检测过程的离子流示意图。

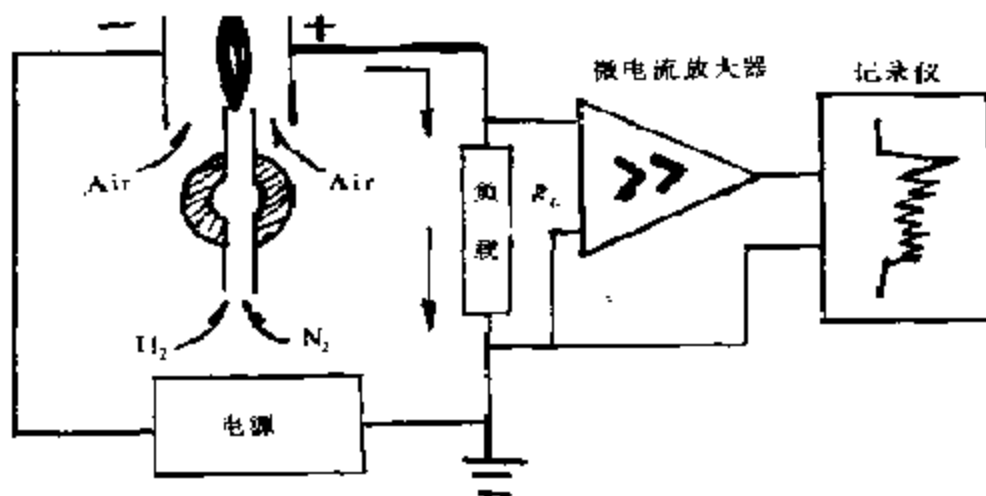


图 24 FID离子流示意图

三十五、FID喷口直径大小与其灵敏度有何关系? 不同材料的喷口各有何优缺点?

FID喷口直径大小对其灵敏度(响应值)和线性范围都有直接影响。在一般情况下喷口直径大, 则检测器灵敏度就低, 对流量的控制影响比较小。如用内径1.0mm的喷口代替0.5mm的喷口, 其响应值下降50%, 这是由于喷口变粗, 在相同流速下, 火焰变得低胖, 不呈尖峰形, D层面积减小, 空气中的氧气不易扩散进来, 降低了离子化效率, 从而使响应值降

低。如图25示。由此可知，喷嘴内径一般以0.5mm左右为宜。然而，喷嘴的粗细对FID的线性范围也有影响。一般随喷嘴变粗，其线性范围变宽。这是由于随进样量的增加，如喷嘴细则火焰太高，有可能超出收集极的收集范围，而使线性范围变窄，反之亦然，如图26所示。所以喷嘴直径大小的选择要兼顾响应值和线性范围两个方面。

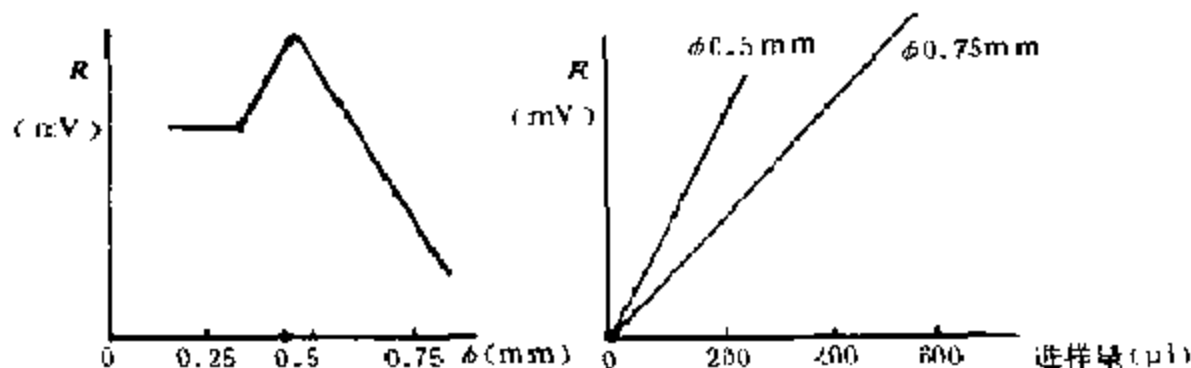


图 25 喷嘴直径 ϕ 对响应值 R 的影响 图 26 喷嘴直径 ϕ 和进样量的关系

目前喷嘴材料多用白金、石英、高频陶瓷等材料制成。白金喷嘴耐用，不易击碎，但因质软易变形，对地绝缘不如后两者好；石英和高频陶瓷喷嘴的化学稳定性好，热噪声小，而且绝缘性能非常好，但易击碎，特别是陶瓷喷嘴。故目前国内外趋向于用石英制作喷嘴。

三十六、FID收集极与发射极形状、位置和灵敏度有何关系？

在氢火焰中产生的离子流，需要一对电极进行收集测量。所用电极形状、大小以及电极间的距离，都对FID灵敏度有明显的影响。所以离子头(即：喷嘴)的设计、电极形状的改进都

是为了提高收集率,扩大线性范围。

电极(收集极和发射极)形状有两种:平行电极和上下电极,如图27所示。

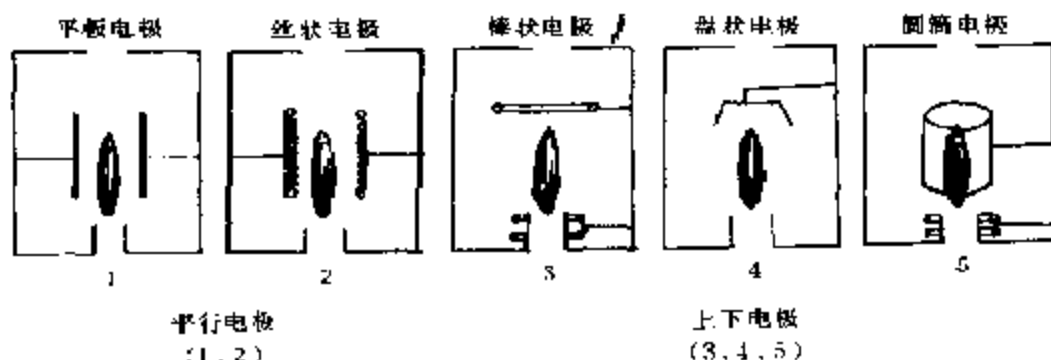


图 27 FID电极形状

以前使用的棒状、环状、盘状等收集极因其收集率低,已逐渐被平行电极所代替。因为丝状电极面积没有平板电极面积大,所以平板电极比丝状电极收集率高。而筒状电极目前又代替了平行电极,其收集率更高。发射极主要有金属喷口兼作和与喷口分开的环状电极。

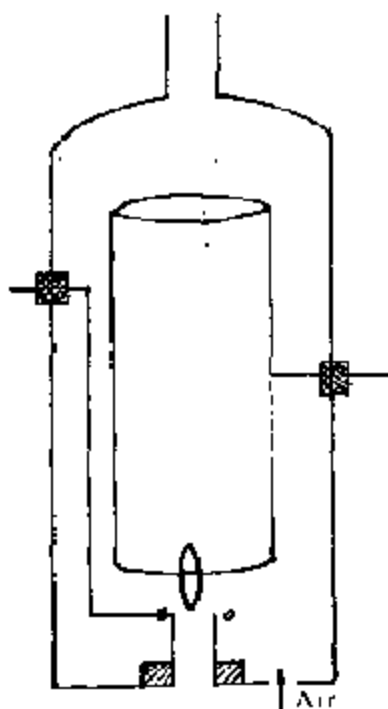


图 28 长圆筒形收集极 与地绝缘的金属喷口作为发射极,

上方筒状,下方为与喷口分开的环状电极,是目前国内外色谱仪上应用较多的一种形式。特别是长圆筒状电极(见图28),要求喷口对地绝缘,最好使用石英、陶瓷喷口。电极间的距离应安排恰当,否则会造成收集率降低,线性范围变窄。

上方为喇叭筒状电极,下方为

收集率高,线性范围宽,饱和电压低。此时喷口要略粗一些,避免过热引起噪音。

实践告诉我们, 喷嘴极化极与收集极间的距离以5mm为最佳, 收集极内径以10mm为佳, 这时收集效率近反应层, 并有一个快速响应时间。如果空气全部通过收集极, 则收集极长度对其灵敏度影响不大。

三十七、极化电压与FID灵敏度有何关系?

提高电极的收集率,除了控制电极形状、大小、位置以外,还要控制在两极间施加的电压(即:极化电压)。在两极间施加电压形成一直流电场,组分被电离成正负离子在电场中作定向运动,形成离子流,由收集极收集下来。当极化电压增加时,离子流信号加强,即检测器灵敏度增加,当电压达到某一数值时,再增加电压,则对离子流信号的影响不显著,再继续增加电压,则就引起热离子辐射,离子倍增使检测器不稳定。所以检测器的灵敏度与极化电压密切相关。如图29所示。

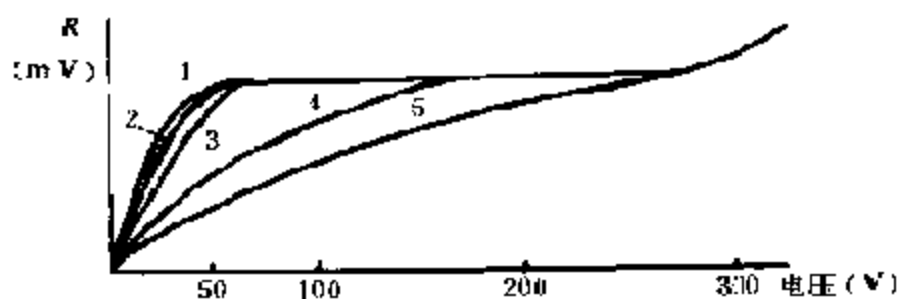


图 29 各形状电极间电压和信号R的关系图

1- 喇叭筒 2-筒状 3-平行板 4-盘状 5 棒状

由图可见, FID的电极电压在低于50V时, R 是电压 V 的增函数, 高于50V后, 则趋于平滑, 高于300V后, 则引起噪声和不稳定。一般色谱仪上使用的极化电压为150~250V之间。施加电压的方式有两种: 一种是直接极化喷口, 这是一种使电荷瞬间分离的很好办法, 主要要求是喷口与地有良好绝缘, 否则会形成漏电电极。另一种是在喷口周围加一极化环, 但喷口也不能接地, 要绝缘良好, 不然也会形成漏电电极而影响定量。

三十八、何谓FID漏电电极? 在白酒分析中怎样判断? 如何克服?

FID的漏电电极实际上前已叙及。即: 喷口(特别是金属喷口)与机壳(即: 大地)绝缘不良, 和机壳导通, 使被离解的组分形成的离子流通过喷口而传到了大地。即是离子流信号不是全部被收集极所收集而被“漏掉”一部分进入了大地。喷口与机壳就成为了一电极, 称为漏电电极或第三个电极。若出现了第三个电极, 可能会出现下列现象: 检测器灵敏度降低; 色谱峰图比正常时要小得多; 基线出现毛刺或不稳定(噪声); 不出峰等现象。要克服这些故障(即: 避免漏电电极)可以采取以下措施: 更换喷口, 最好使用石英或陶瓷喷口, 并保证对地绝缘良好; 检测器不要长期处于超高温状态; 喷口被腐蚀时要及时清洗; 氢气和空气调节适宜(若调节不当, 使离子室长期积水, 或水蒸汽不易排出等均可能形成漏电电极)。

三十九、FID喷口破裂有何现象产生？ 如何防止？

一般金属喷口结构如图30所示。像这种喷口结构若长期在高温下工作(如：分析酒中有机酸或高沸点醇酯)，则喷口上的玻璃球容易发生破裂。或者在点火时氢气和空气比例不对而产生很强的爆鸣声，震动使玻璃球松动，或者在运输过程中，安装时使其破裂等。具有一定压力和流速的载气(样品)和氢气，通过玻璃球在喷口顶端燃烧形成稳定的氢火焰，若喷口破裂，则载气和氢气从玻璃球侧边漏出，使火焰成为不稳定的扩散焰，改变了火焰形状。故此时FID的灵敏度急剧降低，组分不能被完全电离而离子流讯号减弱，表现在色谱图上不出峰或峰形变小很多，严重时记录笔发生强烈抖动，即：噪声很大；或者点火困难，根本不能进行分析工作等等。

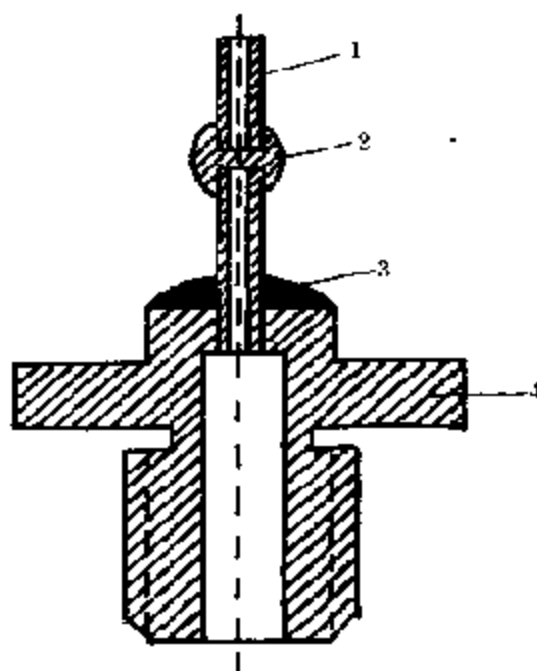


图 30 金属喷口结构
1—铂金管 2—玻璃球
3—烧焊 4—不锈钢底座

四十、白酒分析FID条件如何选择?

FID操作条件的选择包括氢气(H_2)、空气(Air)流速以及极化电压和检测器的工作温度等。其选择的依据是要保证检测器灵敏度高、线性范围要宽,并具有一定的稳定性。

1. 气体流量的选择

氢气流量的选择要与载气流量相配合,而载气流速的选择是根据分离度高、分析速度快等因素来确定(前已叙及)。当载气流量确定后,可以根据基流的变化来选择最佳氢气流速。即氮气流速一定时,基流随氢气流速的增大而增大,达到一个最大值后,再增加氢气流速,基流又下降,此时氢气流速即在最佳氢气流速左右。载气流速对FID的灵敏度有影响,实验告诉我们,在不同的载气流速下,其最佳氢气流速是不同的,载气流速越高,最佳氢气流速也越高,最佳氮氢流速比如图31所示。一般氢和载气流量之比约为1:1至1.5。

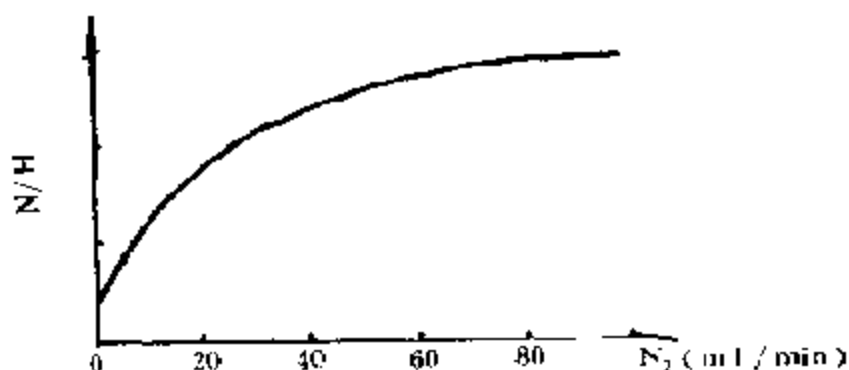


图 31 最佳氮氢流速比(N/H)

空气对FID灵敏度有影响, 如果开始向氢火焰中供给少量空气, 则响应讯号(R)将随空气流速的增大而增大。达到某一点后, 再增加其流速, 讯号(R)不会变化。一般空气流量在250~400ml/min时, R 值将稳定不变化。当氢气、氮气流速一定时, 基流随空气增大而增加, 这样就可以增加流速至基流不变, 再过量50ml/min就足够了, 以赶走离子化所产生的水蒸汽。通常空气和氢气流量之比为10~15:1。

2. 极化电压

前已讲解过了, FID灵敏度随极化电压的增加而增加, 但超过一定数值后, 再增加则对灵敏度影响不明显。

为使在火焰中电离生成的离子全部收集下来。一般现代色谱仪都采用高极化电压, 为180~300V左右。

3. 检测器工作温度

一般FID温度增加, 其灵敏度和噪音都有增加, 但不明显。离子室的温度一般保持高于100°C, 以防止积水于内而影响分析。

四十一、若FID操作条件选择不当, 在图谱上会有何现象产生?

FID操作条件是影响其灵敏度和线性范围的重要因素。若选择不当, 给定性定量带来困难。在色谱图上反映出来的现象是多种多样的。主要有以下几方面的现象发生:

- (1) 保留时间正常而灵敏度下降。
- (2) 基线噪声大或基线突变。
- (3) 没有进样而基线单方向变化。

- (4) 恒温分析时基线有不规则的波动。
- (5) 出峰时记录笔突然回到低于基线位置并且灭火。
- (6) 有没分离的峰。
- (7) 记录笔不能从一端调到另一端：等等。

四十二、怎样判断FID被污染了？ 如何清洗？

如果载气、氢气、空气没有净化好，或者FID长期处于高温下工作，或者分析具有腐蚀性组分等等，都有可能导致FID污染。从色谱图上可以看出FID是否污染。若有下列现象之一，FID则可能被沾污了：

- (1) 基线噪声太大或出现怪峰。
- (2) 恒温分析时基线有不规则的波动。
- (3) 基线不能从记录仪的一端调到另一端。
- (4) 出峰前出现负的尖端(峰)。
- (5) 出峰后记录笔降至正常基线以下或基线不回零。
- (6) 连续进样中灵敏度不重复。
- (7) 出现圆头峰。
- (8) 点火困难，等等。

当沾污不太严重时，可以拆下清洗。此时把色谱柱取下，用一根空心柱安装上去，然后通载气并将FID升至120℃以上。从进样口先注入20μl左右蒸馏水，再用几十微升丙酮等溶剂进行清洗，在此温度下保持一定时间，检查基线是否平衡。若仍不满意，则可重复上述操作或卸下清洗。

当沾污比较严重时，就卸下检测器清洗。卸下FID前先对

FID结构、安装图要有仔细了解，方可拆卸。在拆卸及安装时都不能碰坏喷口，一般先卸收集极、正极等，再卸喷口，安装时相反。若喷口是石英材料的，先将其放在水中浸泡过夜。若喷口是金属材料的，则可与电极一起，先小心用细砂纸打磨，再用适当溶剂(如：丙酮、甲醇、苯等)清洗，也可以用超声波清洗，最后用甲醇洗净，置烘箱中烘干。注意请勿用含有卤素的溶剂(如：氯仿、二氯甲烷等)，以免与四氟乙烯材料作用，导致噪声增加。洗净后的两个部件最好用镊子取，不用手摸。装入仪器后先通载气数分钟，然后升温至工作温度。

四十三、FID检测器离子室火焰时隐时 现，有时呈蓝色，有时呈红色， 这是为什么？

前已叙及氢火焰是氢气和空气以一定比例燃烧而形成的稳定扩散焰。正常的火焰形状是尖锐的，用肉眼很难看出，非常仔细观察才能看到呈银蓝色色的尖火焰。若离子室火焰时隐时现则有可能是气体流量调节不当时，喷口处有堵塞物而使燃气和助燃气时大时小所致，或者气源稳压、稳流不好或者柱温波动大等等原因。若看出离子室火焰呈红色，则可能是气体未净化彻底，内有杂质或者气源被污染了。其次气体流量调节不当，如载气流量小而氢气、空气流量又很大时，火焰就会很旺，若喷口和发射极错位，则旺盛的火焰烧着发射极而发红。第三，固定液流失可导致火焰呈红色；第四，离子室积水，水蒸汽不能及时排出，也可导致火焰发红，等等。故氢火焰时隐时现，呈红色等现象并非正常现象，要设法克服。

四十四、白酒分析作程序升温时,为何采用互补双氢焰检测器?

程序升温是柱温随时间由低温向高温线性或非线性增加。由于柱温的升高,其固定液的流失也随着增大,被载气带入FID中,从而使离子流讯号变化,表现在图谱上即为基线的单方向长期漂移,就不能分析样品了。所以对程序升温仅一个FID是不行的。为了克服基线的漂移,一般采用双柱、双流路、双氢焰(双FID),在分析时同时使用,以保证柱子的稳定性。为什么使用互补的双氢焰就可限制基线漂移呢?这是因为具有程升色谱仪的检测器(双FID),在其双FID上施加的极化电压是大小相等而极性相反的,一个发射极对地为正(如+250V),另一个发射极对地是负(如-250V),其FID连接如图32示。当从柱A流出的固定液在高阻 R_L 上产生一个方向向上的电压降时,那么从柱B流出的固定液在高阻

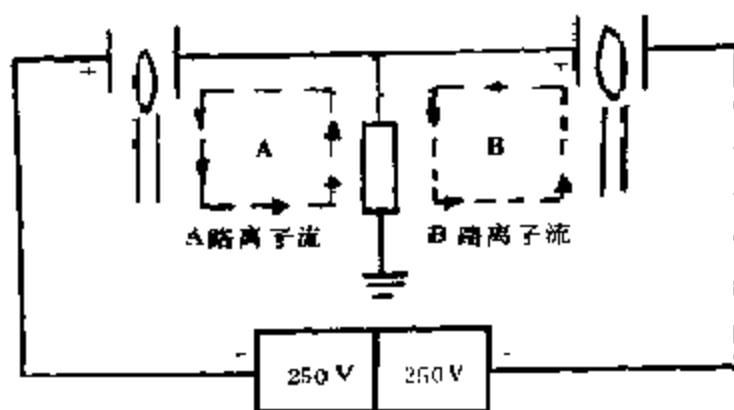


图 32 程升FID连接示意图

R_L 上产生反向量相等的电压降, 所以输出的讯号总是相互抵消的。当柱温上升时, 有更多的固定液流出并带入检测器, 但两根柱(固定液及量一样)在相同温度下其流失量也基本一样(若不一样时, 则可调节载气大小使之相同), 所以补偿可以维持在整个升温过程, 从而使基线稳定。补偿原理如图33所示。

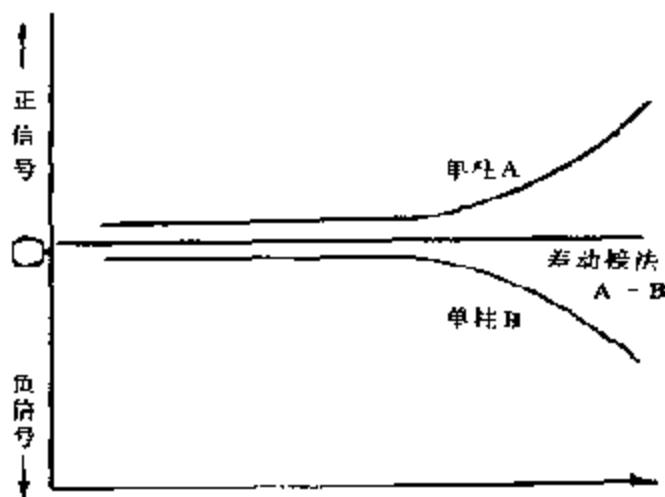


图 33 双柱补偿原理图

当载气带着样品进入FID时, 用于检测的FID(载气 + 样品 + 基流)离子流讯号将大于参比的FID(载气 + 基流)离子流讯号, 当两者叠加输出后, 则输出讯号只代表样品各组分了。

四十五、双氢焰互补补偿方式作程序升温时, 为什么始终仍产生基线漂移? 如何尽力克服?

从双氢焰互补补偿方式作程升时的连接和补偿原理可知,

基线产生漂移的主要原因是在其他条件相同时,双柱的固定液流失量不一致。由于流失量不一致,则讯号叠加后不能互相抵消,未被抵消的讯号则随柱温的升高而变化,即产生基线漂移。

在制备色谱柱时,不可能做到双柱固定液量完全一致,也不可能使其双柱的填充密度完全一致,等等。这样,双柱在同一柱温下,即使在同一载气流速下,其固定液的流失量始终存在差别,即正反讯号始终不能完全得到抵消,所以就始终存在基线漂移。但只要不影响定量,微小的漂移还是允许的。此外,

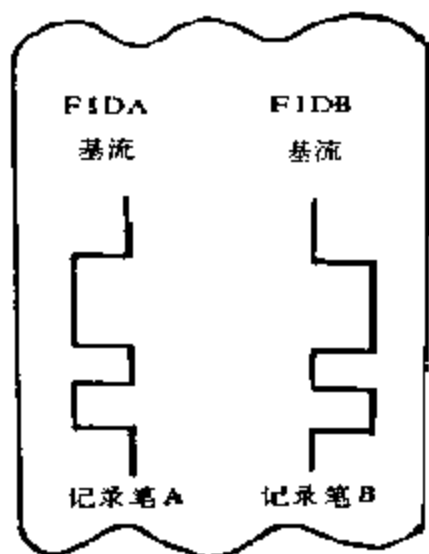


图 34 调节气体流量使双 FID 正负讯号相同

产生漂移还与检测的质量有关。为了尽力克服这种现象,可以在制备色谱柱时,使双柱的固定液、担体一样(即同一种固定液,同一种担体,相同的重量),然后在相同的条件下填充或涂布等等,即尽量做到在一定温度下固定液流失量相同。并且在进样前调节双流路载气、氢气和空气的流量,使其FID产生的基流讯号正负相反,大小一样。然后再联接三通管线,则正负讯号可以相互抵消,使基线保持稳定。如图34所示。

四十六、你知道电子捕获检测器的原理和结构吗?

电子捕获检测器是一种具有高灵敏度的离子化检测器。

它是仅次于热导池、氢火焰而占第三位的应用广泛的检测器。它与氢火焰一样,是一种离子化检测器,可用同一个放大器。但它对操作条件要求更加严格。电子捕获检测器只对具有电负性的物质,如含有卤、硫、磷、氮的物质有讯号,电负性越强,检测器的灵敏度越高。而对电中性(无电负性)的物质,如烷烃等则无讯号。电子捕获检测器已广泛应用于卤族化合物、金属有机物、多卤等的分析。在医学、农药、大气及水质污染领域得到广泛的应用。

电子捕获检测器有放射性和非放射性两种。非放射性的是以高纯度的氮(He)为载气,由放电室产生低能电子,其捕获效率比放射性的高,也无放射源的危害性,但需要纯度很高的氮气,且电子设备复杂。放射性电子捕获检测器的主要优点是选择性高,应用广。

电子捕获检测器结构有两种:同轴型对称式和同轴型非对称式结构,其典型同轴结构如图35所示。

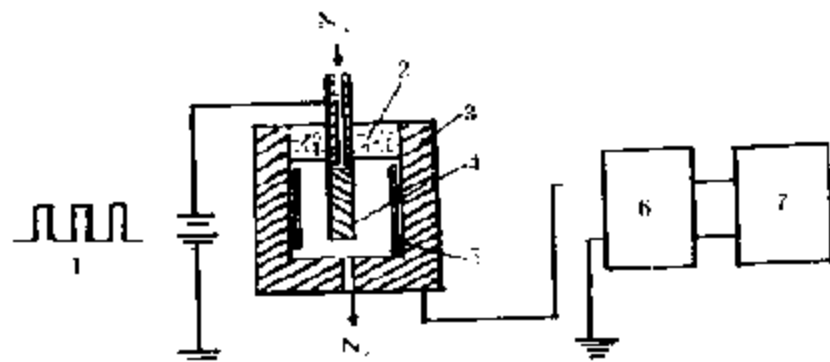


图 35 ECD结构示意图

- 1 脉冲电源 2 绝缘体 3—阴极 4 阳极
5—Ni—63放射源 6 放大器 7 记录仪

由图35看出,在检测器池体内,装有一个圆筒状 β -放射源(Ni—63)作为负极,一个不锈钢棒作为正极,施加直流或脉冲电压。在测检室内,放射源的 β 射线,将载气及其杂质电

离,产生正离子和慢速低能量的电子,它们在恒定电场作用下,向极性相反的电极移动,形成恒定电流即基流。当具有电负性组分进入检测器后,它捕获这些低能量的电子,变成带负电荷的分子离子,与载气产生的正离子结合成中性化合物,被载气带出检测器而使基流降低,产生负讯号——倒峰。组分浓度越高,倒峰越大,组分含量与峰成正比例,测出峰面积,就可得出组分含量。色谱分析对ECD的要求是气密性好,保证安全,绝缘性能好,池体积小,响应时间快。

四十七、为什么ECD对载气和辅气的要求比一般的检测器更严格?

ECD是一种高灵敏度的检测器,可以测量 10^{-14} g/ml电负性物质,从它的检测原理也可以知道ECD用载气比其他检测器有更特殊的要求。

载气的纯度对ECD基流影响很大,载气纯度主要是载气中氧含量。氧含量对基流和噪音都有很大影响,如图36所示。

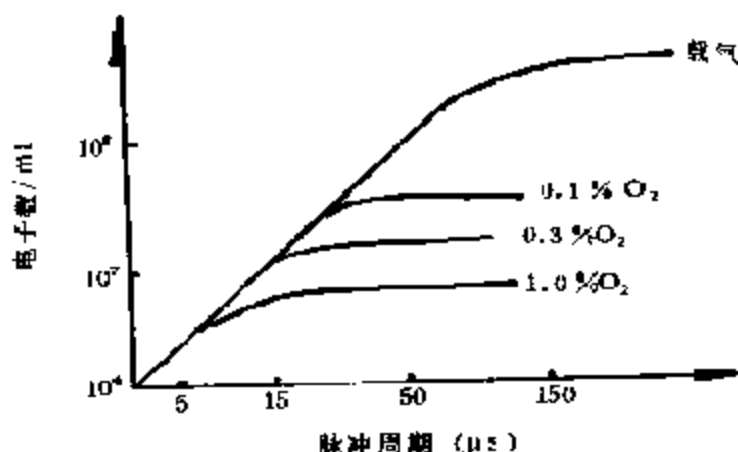


图 36 氧气对ECD的基流和灵敏度的影响示意图

由图可知,载气中氧含量愈少,则基流就愈大,即ECD的灵敏度就愈高,所以载气中的氧给检测带来的是坏影响。为了扩大ECD线性范围,增大基流和防止样品在柱后扩散,ECD经常加一般辅助气(或称清洗气、冲洗气),通常使用载气作辅助气,载气与辅助气的比例通常为2.5:1和3:1左右,辅助气也需要除去氧气。除去载气和辅助气中的氧通常采用活性铜脱氧法、401脱氧剂脱氧法。ECD不但需要纯的气体作载气,有时使用时需要特殊配比的气体,如使用氩、氦等气体时,需加熄火性气体如二氧化碳、甲烷等等。氩加5%甲烷和高纯氮(氧含量少于10ppm)被认为是最理想的ECD载气。氩加5%甲烷得到的基流和线性范围较高,与氮气相比,氩加5%甲烷作载气其灵敏度也高一些。若用高纯氮脱氧比只用高纯氮更好。用氮气作载气和辅助气与基流的关系如图37。

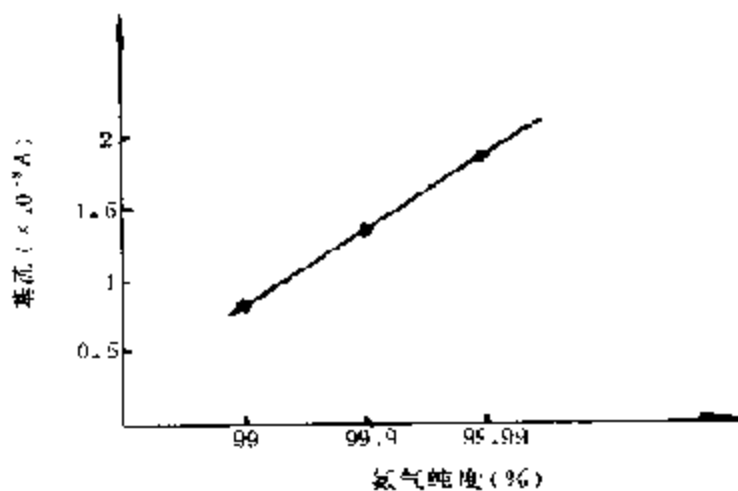


图 37 氮气纯度与基流关系

四十八、什么是气相色谱定性分析？白酒分析常用定性方法有哪些？

气相色谱法的主要用途是对样品进行定性定量分析。对一个试样进行色谱分析，总是要先进行分离，再做定性鉴定，然后进行定量分析。人们把这种分析程序称之为色谱分析的“三部曲”。

气相色谱是目前强有力的分离工具，但定性分析这个环节还存在许多问题。如果没有已知纯物质，单靠色谱法本身就不能对未知物进行定性鉴别，但色谱和质谱、光谱等联用就可解决这一难题。

定性分析就是要确定分析试样中有些什么组分。在气相色谱分析中就是要确定各色谱峰代表什么组分。由于色谱分析主要是按照特征性并不是很强的保留值来定性，故色谱定性就离不开标准纯物质作对照，这是其特点之一。色谱定性方法多种多样，对于白酒分析来说，常用的定性方法有以下几种：

(1) 利用保留值定性 这是色谱分析中最普遍、最方便的一种定性方法。在一定的固定相和一定的操作条件下(柱温、柱长、柱内径、载气流速等)，任何物质都有一定的保留值，一般不受其他组分影响，所以可以测量纯物质的保留值与未知组分进行对照定性。

(2) 利用加入纯物质增加峰高法定性 若样品中各组分保留值相接近，而操作条件不易控制稳定，测定保留值容易产生误差时，可先用保留值初步定性，然后把纯物质加入样品中，若某组分峰高增加，则表示该组分即为所加入的这种物质。

(3) 利用相对保留值定性 当固定相和柱温不变时, 其他条件稍有改变并不影响相对保留值。各种物质在某种固定相上的相对保留值可以从文献中查得。对组成不太复杂而且大概组成成分可以确定的样品, 当色谱图出来后, 可将实验值与文献值相比较进行定性。对组成复杂而又不好推测组分的样品定性, 则先用此法把定性范围缩小, 然后再采用(1)和(2)法来定性。

(4) 利用碳数(或沸点)规律定性。

(5) 利用保留指数定性。

(6) 双柱(或多柱)定性。

(7) 利用检测器选择性定性。

(8) 与其他方法结合定性。

四十九、什么是保留值—沸点变化规律?

保留值—碳数变化规律?

保留值—沸点变化规律和碳数变化规律是色谱定性分析中常用到的保留值的经验规律。如欲分析的未知物既没有纯物质, 又没有保留值数据时, 可以利用这两个经验规律定性。

沸点规律: 许多类型化合物的同系物或同碳数的碳链异构体, 其沸点与保留值的对数呈线性关系。可用下式表示:

$$\log V_R = a_2 T_b + b_2$$

式中 V_R — 组分校正保留值

T_b — 组分的沸点($^{\circ}\text{C}$)

a_2, b_2 — 经验常数

定性时先作出几个已知物质的沸点与保留值对数关系图, 如图38。利用上述规律, 可由保留值推算出某物质的沸点,

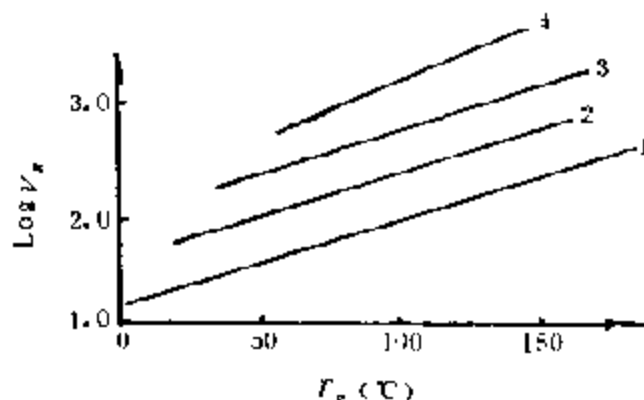


图 38 保留值与沸点关系图

1—*n*-烷 2—醚 3—醛类 4—*n*-伯醇

或由沸点推算出某物质的保留值。然后参考文献的有关沸点、保留值数据,对未知物质进行定性。

碳数规律: 和沸点规律一样,在相同的温度下,同(系)物的碳原子数与保留值的对数呈线性关系,可用下式表示:

$$\log V_R = a_1 n + b_1$$

式中 V_R 组分校正保留值

n ——组分的碳原子数

a_1, b_1 ——与固定液和被分析物质分子结构有关的常数

定性时同样先作出 n 个已知物质的碳数与保留值对数关系图,如图39.利用上述规律,可由保留值推算出未知物的碳

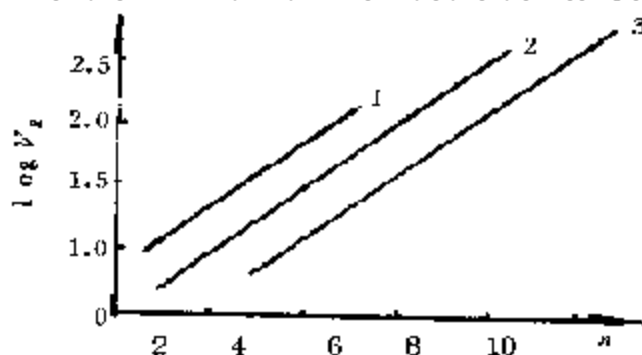


图 39 保留值与碳数关系图

1—*n*-乙酸酯 2 *n*-醇 3 *n*-烷

数或由碳数推算出未知物的保留值,然后利用文献值定性。

五十、在酒厂,为什么同一酒样色谱分析几次时,各组分的保留值很难重复?

保留值是表示样品中各组分在色谱柱中的停留时间的数值,通常用时间或用将组分带出色谱柱所需载气的体积来表示。由于色谱分离过程中各组分的性质上的差别(即分配系数不同),在同一柱上所显示的保留时间的长短就不同,因此根据保留值数据可以对物质组分作出定性判断。但是我们常常会遇到同一样品在相同条件下多分析几次时,其同一组分的保留值(如保留时间)很难重复,这也会给定性带来麻烦。特别是初学者这一现象更突出。影响保留值(这里指酒厂常用的保留时间)的因素有很多,如:柱温、固定液、气体流速、进样速度等等操作条件。对于同一条件下分析保留值不易重复的原因可能是色谱仪还未充分稳定(如:各温度未恒定等)时就进样分析,或者分析途中柱温、载气流速有变化,或者漏气,特别是进样器硅橡胶漏,或者程序升温重复性欠佳,或者进样技术欠佳,或者进样量太大和进样位置每次不一样(即进样针注入的长短每次不一样),等等。既然很难重复,最好就利用相对保留值来定性(前已叙及)。

五十一、什么是色谱—质谱联用? 色谱—红外光谱联用? 在白酒分析中有何用途?

对于一个复杂多组分混合物的分析,对分析仪器的灵敏

度、鉴别能力、分析速度、分析范围等的要求愈来愈高和广。但是目前还没有一种分析仪器能同时满足这些需要，而往往是各有特点，相互补充。所以现代两种或两种以上的仪器联用是分析仪器发展的方向，是剖析复杂混合物的有效手段。目前色谱—质谱、色谱—红外光谱、高压液相色谱—质谱联用已是成熟的技术，在分析领域中应用越来越广泛。其中色谱和质谱的联用更为适宜，用处更多。因为色谱法的特点是分离效能高，灵敏度高，定量准确，设备操作方便，适于做多组分混合物的定量分析。但对复杂混合物的定性分析，如果没有纯样品，就很难对未知峰进行定性鉴别；而即使有纯样品有时也可能会由于组分复杂，两个组分保留时间相近、分不开而得出错误的判断。这是色谱法的根本弱点。质谱法的特点是鉴别能力强，灵敏度高，响应速度快，适于做单一组分的定性分析，但对复杂的多组分混合物的定性鉴定却无能为力，质谱定量也不易得到满意的结果。所以将这两种仪器联用正是取长补短的最好例证，而且可以取得两种仪器单独无法得到的数据。即用气相色谱从复杂的多组分混合物中分离出单组分后，以“在线”或“分批”方式把单一组分逐个地送入质谱计中，用质谱法把这些组分进行定性鉴定。这样既发挥了色谱法的高分离能力，又发挥了质谱法的高鉴别能力，故色—质联用有以下特点：

适合于做多组分混合物中未知组分的定性鉴定；可以判断化合物的分子结构；可以准确地测定未知组分的分子量；可以修正色谱分析的错误判断；利用多离子检测技术，可以鉴定出部分分离甚至未分离开的色谱峰；色谱联用将有大量质谱数据，往往需要用计算机对其进行处理，正是计算机的应用，才相应地促进了色—质联用技术的飞速发展。

色—质联用仪的工作原理大概是，一个多组分混合物样

品先经色谱柱进行分离。分离后各单一组分按其不同的保留时间混合载气一起流出色谱柱,经过中间装置(有不经中间装置而直接和质谱仪联结的)进入质谱仪的离子源,再经质谱快速扫描后,就得到各一组分的相应质谱图。根据各质谱图就可以对这些单一组分进行定性鉴定。早期的色—质联用分析是分别进行的,称为“间歇式”或“不在线”。即先用冷阱或其他浓缩办法,把从色谱柱中流出的各个单一组分收集下来,然后把收集到的样品用质谱仪进行定性鉴定。然而这种方式的手续相当复杂,而样品在转移过程中易受到污染,故此法早已被所谓“在线”的色—质联用法所代替。

色—质联用的“在线”装置就是把色谱仪和质谱仪直接联结起来,使色谱柱流出物直接进入质谱仪。而在色谱仪和质谱仪中间,通常有一个过渡装置,这装置可以是分子分离器,也可以是一般毛细管。在一般操作中,色谱柱出口是处于常压下,而质谱计则是处于高真空下,两者的压力相差很大,所以有一个过渡装置是必要的。目前国内外生产仪器中还是广泛采用不同型式的分子分离器为多。但仍然也有不采用的,例如采用大抽速的真空装置,可以将毛细管色谱柱和质谱仪直接联用等。色—质联用技术比较复杂,发展非常快。图40是使用分子分离器的色—质联用结构流程图。

色—质联用有很多的优点,但也有不足之处,例如质谱对同分异构体的分辨能力较差,而红外光谱对其则有更高的鉴别能力,所以色谱—红外光谱的联用也得到广泛的应用。红外光谱分析是对有机物(官能团)定性的一个很有力的方法,即红外光谱对有机化合物有特征性很强的光谱图。和质谱联用一样,色谱和红外光谱的联用已是鉴定色谱峰的最有效手段之一。现代由于在红外光谱仪中采用了微型样品池,而且扫描

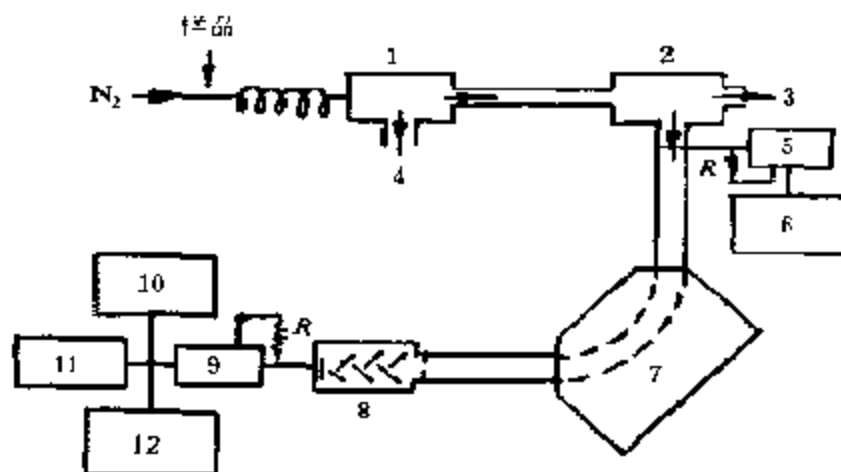


图 40 色谱—质谱联用装置示意图

- 1 分子分流器 2 离子源 3 高真空 4 真空泵
5—放大器 6—离子流记录器 7—磁铁 8—电子倍增管
9—放大器 10—数据处理站 11—计算机 12—紫外示波记录器

速度也较以前快多了,彻底改变了与色谱不能直接联用的现象。但红外光谱灵敏度低是其弱点。此外,如紫外光谱、拉曼光谱以及核磁共振等等也主要用于分析色谱分离收集的组分。

五十二、什么是气相色谱定量分析? 定量依据是什么?

色谱定量分析是色谱分析“三部曲”之一。定性分析解决了未知组分(峰)的鉴定问题,通过定性分析知道了色谱图上的每一个色谱峰代表什么物质组分。然而这仅仅是完成了色谱分析的一部分内容。在色谱分析工作中不仅需要确定样品的组成,而且还要求知道样品中每个成分的含量,即要对样品进行定量分析,求出样品混合物中各组分的百分含量,这才是色谱分析的主要目的。和其他仪器分析,如红外、紫外、质谱、

核磁等比较,气相色谱分析的显著特点是可以同时得到定性、定量分析数据。而且简便、灵敏、定量准确度高。用热导池分析的精密度已能达到0.08%,一般也在 $\pm 2\%$ 以内。

气相色谱定量的依据是:分析组分的质量(m_i)或其在载气中的浓度与检测器的响应讯号(即:色谱图中的峰面积 A_i 或峰高)成正比:

$$m_i = f_i A_i$$

式中比例常数 f_i 通常称为校正因子。其物理意义是单位峰面积的组分含量。所以要求得组分的含量就必须先求出组分的校正因子和峰面积。

五十三、不对称色谱峰是怎样划分的?

峰面积是微分色谱图上的基本定量数据,峰面积测量的准确度直接影响定量结果。但是对于不同峰形的色谱峰必须采用不同的测量方法,才能取得较好的结果。

一般常见的峰形主要有对称峰和不对称峰两类。峰形的对称性一般用不对称因子(f_s)来表示。如图41所示。

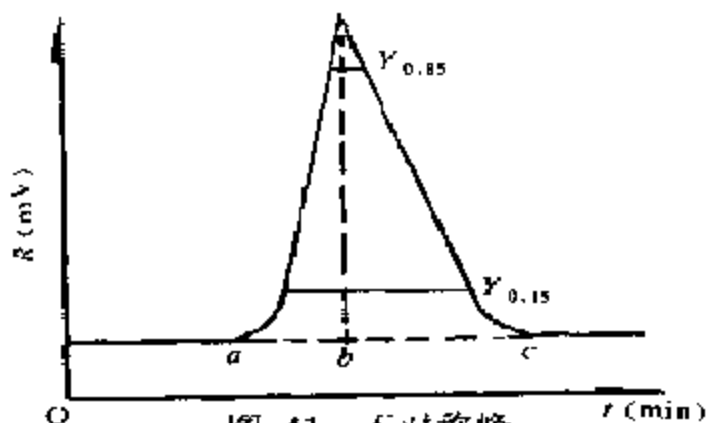


图 41 不对称峰

$Y_{0.85}$ 和 $Y_{0.15}$ 分别是峰高0.85倍和0.15倍处的峰宽

$$f_s = \frac{\bar{ac}}{2ab}$$

当 $f_s = 1$, 即: $\bar{ac} = 2ab$ 时, 为对称峰; 当 $f_s > 1$, 即: $\bar{ac} > 2ab$ 时, 为拖尾峰; 当 $f_s < 1$, 即: $\bar{ac} < 2ab$ 时, 为前伸峰。如图42所示。

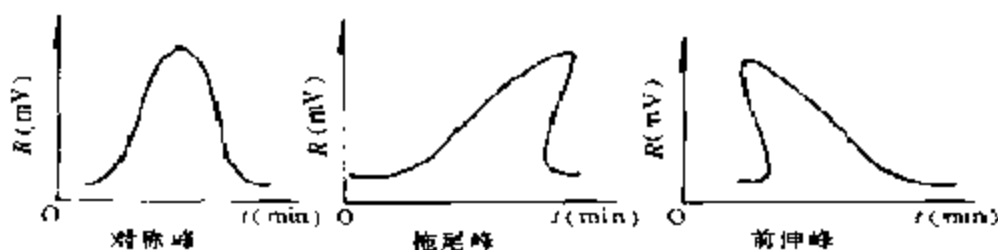


图 42 各种不对称峰示意

五十四、怎样测定峰面积?

组分的峰面积直接代表着组分的含量。所以峰面积的测量是定量分析中最重要的步骤, 测量准确与否直接影响到分析结果的准确度。上面已经提到不同的峰形得用不同的测量计算方法, 一般峰面积的测量分为近似测量法和真实面积测量法。

1. 近似测量法

(1) 峰高乘半宽法 这是简便、最常用的方法。该法近似认为色谱峰是等腰三角形, 以求得其面积。如图43所示。即:

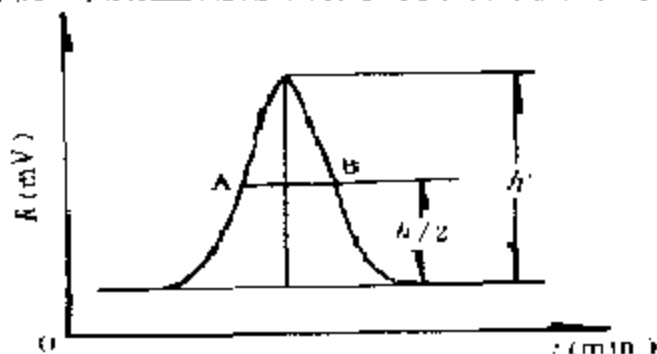


图 43 峰面积测量

$$A = h \cdot 2\Delta t_{1/2}$$

式中 A ——峰面积(cm^2)

h ——峰高(cm)

$2\Delta t_{1/2}$ ——峰高一半处的峰宽(即: 图中AB段, $AB = 2\Delta t_{1/2}$)(cm)

这样求得的峰面积只有实际面积的0.94倍, 故实际峰面积应为:

$$A' = 1.065h \cdot 2\Delta t_{1/2}$$

显然在作绝对测量时(如: 测灵敏度、比表面)应乘以系数1.065, 但在相对计算时(如: 酒的醇、酯分析均采用内标法)可不乘它。此法主要用于对称峰测量。

(2) 峰高乘平均峰宽法 不对称的色谱峰(如: 拖尾峰、前伸峰)测量常用此法, 若仍采用前法则误差大。平均峰宽指在峰高0.15和0.85处分别测峰宽, 然后取其平均值, 再和峰高相乘。即:

$$A = \frac{1}{2}h(2\Delta t_{0.15} + 2\Delta t_{0.85})$$

式中 A ——峰面积(cm^2)

$2\Delta t$ ——峰高0.15和0.85处的峰宽(cm)

h ——峰高(cm)

该法测量上有些麻烦, 但结果还较准确。

(3) 峰高乘保留值法 实验指出, 在稳定、分离良好的操作条件下, 同系物的半宽度与保留值呈线性关系。即:

$$2\Delta t_{1/2} = b \cdot t_r$$

所以峰面积为:

$$A = h \cdot 2\Delta t_{1/2} = h \cdot b \cdot t_r$$

式中 A ——峰面积(cm^2)

b ——比例常数(相对计算时可约去)

t_r ——组分保留值(cm)

h ——峰高(cm)

$2\Delta t_{1/2}$ ——半宽度(cm)

该法测量迅速,结果准确,可以和积分法、峰高乘半宽度法测量结果良好符合,偏差在 $\pm 1\%$ 以内。此法只需用尺子量峰高和保留值(用秒表测保留时间,或用尺子测保留距离)。操作方便,重现性好。特别对于窄峰也可以计算。但对大小相差悬殊的峰,非同系物的峰不能应用。

2. 真实面积测量法

(1) 积分法 积分法是目前应用最广的方法,测量准确、迅速。它用积分仪来完成对峰面积的准确测量。积分仪有多种,通常用的是模拟积分仪和数字积分仪两种。模拟积分仪容易制造,使用方便,但要求基线很平稳,若基线漂移将带来误差,故需经常对基线进行校正。数字积分仪则克服了它的弱点,而且把峰面积以数字形式直接打印出来。

数字积分仪的基本原理是色谱峰通常为电压对时间的变化曲线,而电压对时间积分即得峰面积 A :

$$A = \int_{t_1}^{t_2} V dt$$

数字积分法首先用电压—频率变换器(即: $V \rightarrow f$ 变换器),将输入电压变换为输出脉冲频率,以使面积积分数值化。

而: $V = K \cdot f$

$$\text{代入上式即得: } A = K \int_{t_1}^{t_2} f \cdot dt$$

式中: V 为电压; f 为脉冲频率; K 为比例常数。

此式说明峰面积正比于峰的开始时间(t_1)至终止时间(t_2)



图 44 积分法求峰
面积示意图

内 $V-f$ 变换器的输出脉冲个数。实际上, 数字积分法是把色谱流出曲线下的面积, 切成许多面积一定的小区间, 然后积分这些区间, 以求出峰面积, 如图 44。所以积分法测量的是色谱峰的全部面积, 拖尾峰、前伸峰等等都能准确给出结果而不受峰

形的影响。目前国内外生产的各种色谱数据处理机即为这一类。积分仪的应用为色谱分析的快速、准确、自动控制打下了基础。

(2) 求积仪(或称面积仪)法 这也是一种精密测峰面积的方法之一。求积仪是一种简单的手动测量峰面积的仪器, 测量面积可准确到 0.1cm^2 。该仪器适用于测量不太对称的色谱峰和与其他峰有重叠现象的色谱峰面积。

(3) 剪纸称重量法 把色谱图上的色谱峰用剪刀剪下来在分析天平上称重, 将其重量数值代替峰面积进行计算。该法的准确度取决于剪纸的熟练程度、纸厚度的均匀性和湿度。该法适于不对称峰及前面方法不能计算面积的色谱峰, 该法较准确, 但太费时间。

五十五、未完全分离峰面积、大峰尾部的小峰面积如何测量?

未完全分离峰面积、大峰尾部的小峰面积的测量, 如果采用求积仪或者积分仪等手段, 可以方便、迅速得到准确的结果。但如果没有上述手段则就要用手工计算了。手工计算者先

遇到的一个问题是如何确定相邻峰间的分界线。这是一个很复杂的问题,特别是对峰形不对称的峰,至今尚未有满意的统一解决方法。这里仅介绍几种常用的经验方法。

1. 未分离峰面积的测量

两峰重合,其交点位于小峰半宽度以下,如图45所示。此时用通常的峰高乘半宽度法。

两峰重合,其交点位于小峰的半宽度以上,如图46所示。此时分界线是由交点Y作基线的垂线YX。然后用剪纸重量法或其他方法测量由YX分开的两个峰的面积(积分仪也是采用

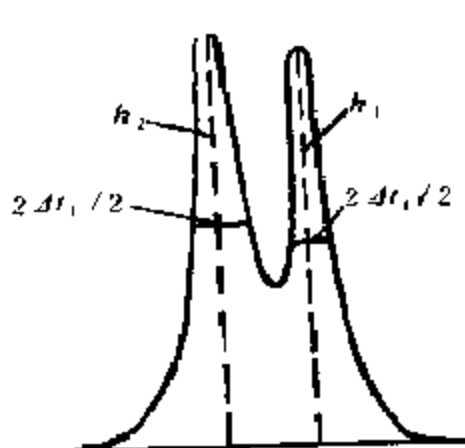


图 45

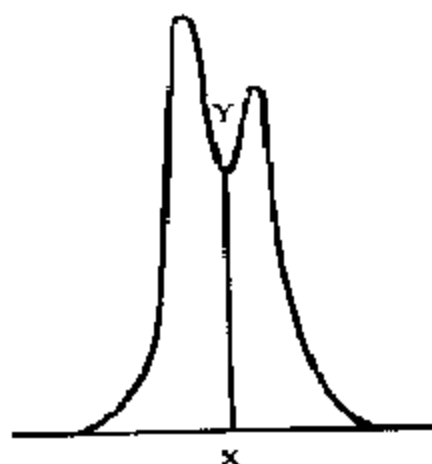


图 46

此分割法进行积分计算的)。此时两个峰面积大致相同时,这种分割测量误差较小。若两峰面积相差大,则小峰面积的相对测量误差会随大峰与小峰的峰高比值增加而显著增大,这时可引用有关重叠峰面积校正因子加以校正。

2. 大峰尾部小峰面积的测量

在进行色谱分析时,主分含量太大,峰太宽或拖尾严重,常遇到主峰还未回到基线,微量成分的峰即开始分离出来。此小峰面积可按下面计算:

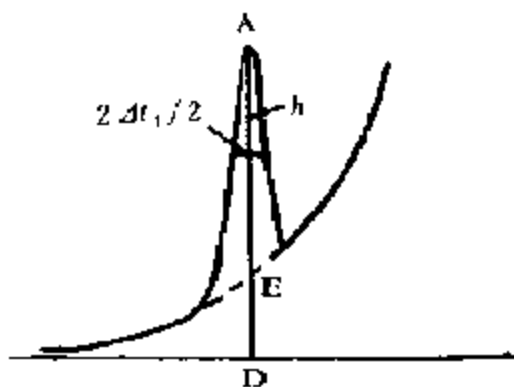


图 47

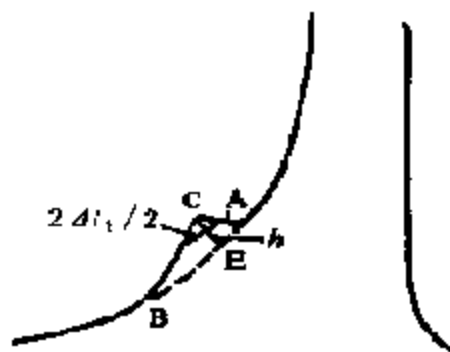


图 48

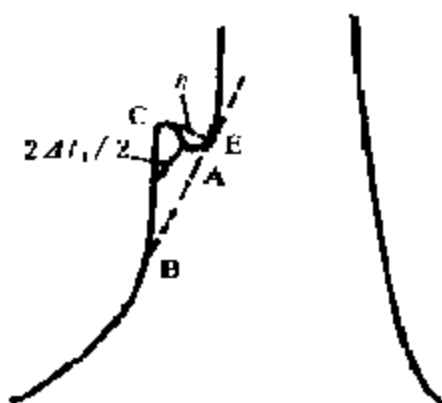


图 49

图47所示的峰形,沿主峰拖尾线画出虚线作为微量成分峰的基线,然后由峰顶A作主峰基线的垂线AD交于微量成分峰基线于E,AE即为小峰高 h 。AE一半处即为小峰半宽度 $2\Delta t_{1/2}$,用峰高乘半宽度法求知小峰面积($h \cdot 2\Delta t_{1/2}$)。图48所示的峰图,小峰更小,此时从小峰起点A和

终点B连线,从小峰顶点C作AB的垂线交AB于E,CE则为小峰高 h ,CE的一半处的峰宽 $2\Delta t_{1/2}$ 即为半宽度,同上求小峰面积($h \cdot 2\Delta t_{1/2}$)。图49所示的峰形,从小峰起点A和终点B作连线,过峰顶C作BA的延长线的垂线CE交BA于E,CE即为峰高 h ,CE之半即为半宽度 $2\Delta t_{1/2}$,则 $h \cdot 2\Delta t_{1/2}$ 为小峰面积。

五十六、基线漂移时色谱峰面积如何测量?

色谱分析工作者经常遇到的问题是基线漂移。产生基线

漂移的原因很多,若忽视基线漂移或对这个问题处理不当,都会给定量结果带来较大的误差。当然现代白酒分析一般都配有积分仪,而且有的附有时间程序或模拟峰显示等装置,这就可以补偿基线漂移的影响,从而得到准确的积分面积。但若没有这种装置时,就应从所得结果中扣除基线漂移的影响,才可能得到准确的结果。

在手工测量中,扣除基线漂移影响的方法不尽一致,但一般都是把峰起点和终点间之联线作为峰底(即:漂移之基线),从峰顶对时间坐标或对峰底作垂线而与峰底的交点之联线为峰高。峰高一半处的峰宽与之相乘即为峰面积。有时对基线漂移问题必须根据具体情况作具体分析,特别是对未完全分离的峰。下面分几种情况介绍。

1. 不改变灵敏档时峰面积的测量

测量如图50的峰面积时,先联接峰起点A和终点B作为漂移基线AB。然后从峰顶C作时间坐标的垂线,交AB于D,CD即为峰高 h 。过CD中点作时间坐标的平行线,截取峰两边的线段 $2\Delta t_{1/2}$ 即为半宽度,那么, $h \cdot 2\Delta t_{1/2}$ 即为峰面积。

该法适合于基线漂移程度不大和比较狭窄的色谱峰,而对于偏宽的漂移峰则用下法测量。第一法:如图51所示。连接峰起

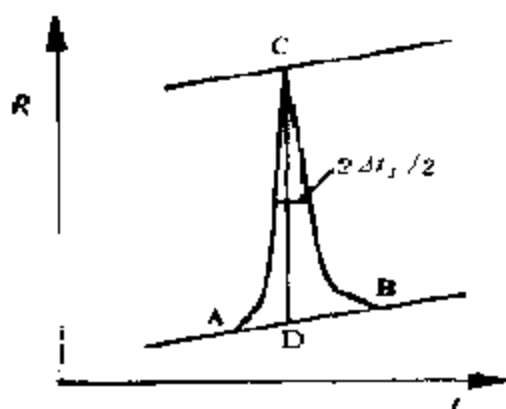


图 50

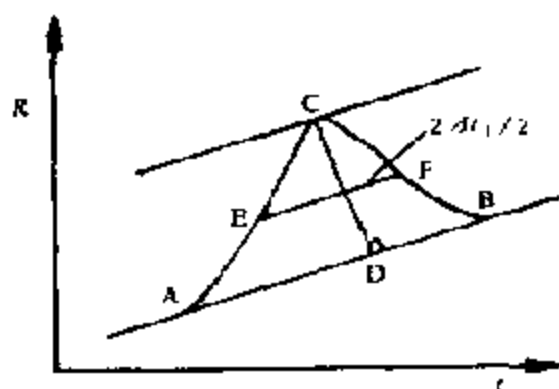


图 51

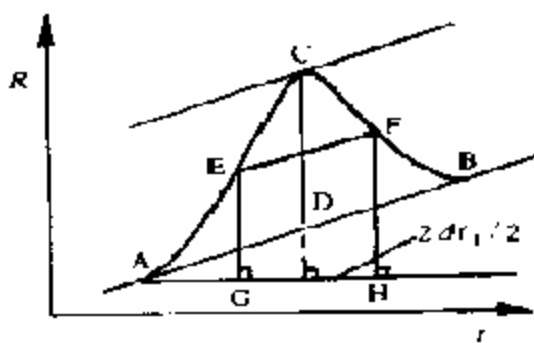


图 52

点A和终点B作为漂移基线AB, 从峰顶C作AB之垂线交AB于D, CD即为峰高 h , 过CD中点作AB平行线EF, 则EF为半宽度 $2\Delta t_{1/2}$ 。那么峰面积 $A = h \cdot 2\Delta t_{1/2}$ 。第二法: 如图52所示, 同样连接AB, 过峰顶C作时间坐标 t 的垂线交AB于D, CD即为峰高 h , 从CD中点作AB平行线交峰两侧于E点、F点, 从E点、F点作时间坐标的垂线EG、FH, 则GH即为半宽度 $2\Delta t_{1/2}$, 于是峰面积 $A = h \cdot 2\Delta t_{1/2}$ 。

2. 在出峰过程中改变灵敏档时峰面积的测量

如图53中(1)、(2)所示情况。峰2[#]用的灵敏档与峰1[#]、3[#]不一样, 倘若换灵敏度档不影响峰2[#]的起点和终点漂移时, 则基线位置很好确定; 当峰2[#]起点和终点因换档位置不能确认时, 则可照下法去测量。先画峰1[#]、3[#]所用灵敏档的漂移基线, 再由峰2[#]顶点M(或N)作时间坐标的垂线, 交漂移基线于A(或D), 交时间坐标于O, 准OA(或OD)的距离乘(或除)以换档的倍数, 就可确定换档后基线与峰2[#]峰高相交的位置B(或C)点, 峰2[#]的高度 h 即为MB(或NC), 则MB(或NC)之半处的峰宽即为半宽度 $2\Delta t_{1/2}$, 那么峰2[#]面积为 $h \cdot 2\Delta t_{1/2}$ 。

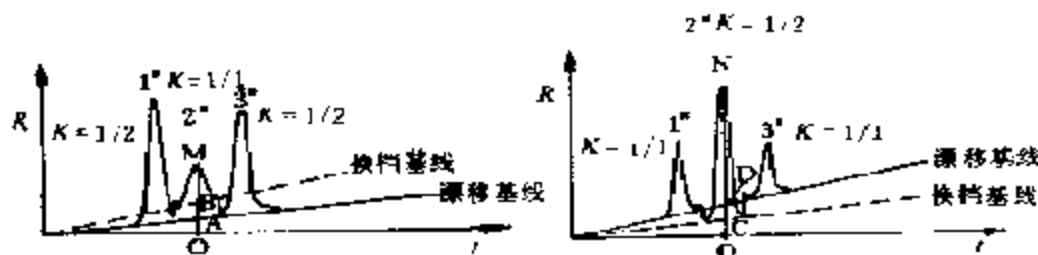


图 53 漂移及换灵敏档时峰面积测量
(K 为灵敏档值)

五十七、手工测量峰面积时要注意哪些问题？

一般酒厂都备有自动积分仪,但若没有这种仪器的厂,还得用手工去测量。通常手工测量峰面积可以分以下几个步骤:

- (1) 确定峰的起点和终点。
- (2) 根据峰的起点和终点画出峰底。

(3) 从基线的漂移程度画出漂移基线(或峰基线),使峰曲线与漂移基线(或峰基线)间形成一封闭曲线(或能代表其含量的、不一定封闭的曲线)。

- (4) 确定峰高或峰宽。
- (5) 测量这曲线的面积。

用手工测量峰面积时,要注意以下问题:

(1) 测量峰高和峰宽时,色谱图应放在平整的桌面上,不宜直接在记录器上测量。

(2) 测量前要对色谱图作全面审查,确信色谱图的记录过程无误(如纸速和灵敏档的选择是否恰当),再行测量。

(3) 测量峰前先要根据不同峰形划出基线,然后确定峰高和半峰宽。

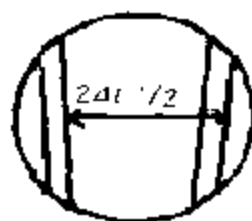


图 54 读数显微镜下看峰宽的读取方法

(4) 对于狭窄的峰,半宽度的测量最好使用读数显微镜。如图54。半宽度是取两根线的同一侧(左侧或右侧)之间的距离 $2\Delta L_{1/2}$ 为半宽度,可量准至0.1mm,估计到0.02mm。峰高的测量一般用钢板尺,读数可准确到1mm,估计到0.2mm。例:峰高为18.5mm,半宽度为0.64mm,则峰面积最多取三

位有效数字,为 11.8mm^2 。

(5) 峰面积测量的准确度,主要取决于半宽度($2\Delta t_{1/2}$)测量的准确度。在上述例子中,若将峰宽读成 0.66mm ,则峰面积为 12.21mm^2 ,产生3%的误差。

五十八、如何评价各种峰面积测量方法?

前已述及的色谱峰面积测量方法很多,但总的概括起来有两种:手工测量和自动仪器测量。

1. 手工测量

通常手工测量法有6种,现将其优缺点分别作如下简介:

(1) 三角形法 实际上很少用,本书未作介绍。

(2) 峰高 $\times$ 半宽度法 应用很广,见问答五十四。适用于对称形峰。

(3) 求积仪(或面积计)法 见问答五十四。操作时需要沿着色谱峰的曲线仔细描画,很费时间,而且要求测量多次取平均值,不适于自动分析,但对不对称峰和重叠峰的测量较好,适用于实验室工作。

(4) 剪纸重量法 见问答五十四。该法太费时间,而不能保存完整色谱图,精确度受纸厚均匀性的影响较大。但对不对称形峰或拖尾峰,此法较为准确。

(5) 峰高 $\times$ 保留时间法 见问答五十四。测量色谱峰的保留值比测量半宽度容易准确。该法只限于保留值与半宽度存在线性关系的样品测量,如一般同系物可用此法。故该法最适宜同系物的分析。

(6) 峰高法 即用峰高校正因子代替峰面积校正因子进

行定量计算。但该法要求严格稳定的操作条件和进样技术,若满足这些条件,则该法较准确。因窄峰测量峰高的误差比测量峰面积要小得多,所以该法适用于狭窄峰面积的测量。

2. 自动仪器测量

自动仪器测量现代已基本普及。它克服了人工测量的弱点,基本适用于各种峰形,而且准确度高,精密度好。自动仪器测量主要指前已述及的积分法。

现将各种测量方法的精密度作了对比,见表5。

表 5 各种峰面积测量方法精密度比较表

被测组分的相对 标准偏差 测量方法		Δr	CH ₄	CO
手 工 测 量	三角形法	2.732	2.140	1.02
	求积仪法	—	—	—
	峰高 $\times$ 半宽度法	1.533	2.026	0.78
	剪纸重量法	—	—	—
	峰高 $\times$ 保留时间法	0.386	0.932	0.334
	峰高法	0.230	1.906	0.270
自 动 测 量	圆盘式积分仪	0.685	2.952	0.806
	数字积分仪	0.125	0.350	0.157
	多重计算机系统	—	—	—

由表5中的数据可以看出(排除操作过程和仪器等的系统误差),在相同条件下,若分离情况好、基线稳定,测量峰面积的最精确的是数字积分仪,其次是峰高法,峰高 $\times$ 保留时间法也很精密。而在几何方法中,峰高乘半宽度方法较好。当然应用现代的积分仪(多功能)和多重计算机系统,则对峰面积的测量精确更有保证和提高。但是,目前还没有一种峰面积的测量方法可以适用于各种类型的气相色谱峰。例如:在噪声大,基线漂移及峰重叠的情况下,原来的电子数字积分仪测量精密度会迅速下降。现代生产的自动积分仪,可以

自动修正基线,识别噪声和信号,并可以按设定的要求计算重叠峰、拖尾峰面积等。但一般重叠峰的面积都是按垂线或切线法测量,实际上仍存在一定的误差。

此外,人们还总结出,不论用哪种方法,峰面积增大,相对误差减少。在峰面积值不变的条件下,有一个最佳的峰高 h 和半宽度($2\Delta t_{1/2}$)之比(即:峰形),此时,测量误差最小。一般最佳峰高(h)和半宽度($2\Delta t_{1/2}$)之比在3~5之间。

为了提高峰面积测量的精确度,除选择合适的测量方法外,还要在分析过程中注意调节灵敏档和纸速,使峰高和半宽度之比接近3~5,且峰高位于记录器满量程的30%~80%间,这样既可发挥仪器的最佳性能,又可减小测量误差。

五十九、白酒定量分析计算方法有哪些?

白酒分析常用的定量方法一般有归一化法、内标法和外标法3种。如果按测量参数来分,又常把每种方法分成峰面积法和峰高法。这3种方法各有各的优缺点和实用范围。在什么情况下使用什么方法,这是一个很重要的问题,倘若定量方法选择不当,将会给分析结果带来误差。

1. 归一化法

当样品中所有组分都能流出色谱柱,而且在所用检测器上都产生讯号,即分别得到对应的色谱峰时,通常使用这种方法。该法是一种简便、准确的定量方法。当进样量、流速等操作条件变化时,对结果影响较少。

设样品中有几个组分,每个组分含量分别为 $m_1, m_2, m_3, \dots, m_n$,相对校正因子为 $f_1, f_2, \dots, f_n$,各组分含量的总和(m)为

100%。其中组分*i*的百分含量为*c_i* %，则：

若测量的是峰面积(*A_i*):

$$c_i \% = \frac{m_i}{m} \times 100 \% \\ = \frac{m_i}{m_1 + m_2 + \cdots m_n} \times 100 \% \\ = \frac{A_i f_i}{a_1 f_1 + A_2 f_2 + \cdots A_n f_n} \times 100 \%$$

若测量的是峰高(*h_i*)

$$c_i \% = \frac{m_i}{m} \times 100 \% \\ = \frac{h_i f_i}{h_1 f_1 + h_2 f_2 + \cdots h_n f_n} \times 100 \%$$

2. 内标法

当样品中所有组分并非都能流出或虽流出而不能在检测器上得到相应的讯号，或样品中有的组分含量过大而得不到完整的色谱峰，或有的组分含量过小而色谱峰太小难以测量，或者分析要求仅是样品中的某几个组分时，就不能用归一化法了，可使用内标法。

内标法是准确称取试样，加入一定量纯物质(称为内标物)，然后根据被测组分和内标物的量及其相应的色谱峰图，求出未知组分含量。

内标法是一种常用的能准确定量的方法，对内标物的选择有一定要求：内标物是样品中不含有的组分且能与组分完全分离；内标峰要与被测组分峰邻近，最好在被测组分峰的中间；加入的内标物量也要接近被测组分含量。该法的弱点是难于找到适宜的内标物。

设试样重量为*m*，被测组分的含量为*m_i*，相对校正因子

为 f_i , 峰面积为 A_i (h_i 为峰高), 加入的为标物重量为 m_s .

因为: $m_i = f_i A_i$ $m_s = f_s A_s$

所以: $\frac{m_i}{m_s} = \frac{f_i A_i}{f_s A_s}$

$$m_i = \frac{f_i}{f_s} \cdot \frac{A_i}{A_s} \cdot m_s$$

$$= f_i \cdot \frac{A_i}{A_s} \cdot m_s$$

(因内标物为基准, $f_s = 1$)

故被测组分含量为:

$$c_i \% = \frac{m_i}{m} \times 100\% = f_i \cdot \frac{A_i m_s}{A_s m} \quad (\text{测量的是峰面积})$$

$$c_i \% = \frac{m_i}{m} \times 100\% = f_i \cdot \frac{h_i m_s}{h_s m} \quad (\text{测量的是峰高})$$

3. 外标法

外标法又称为标准曲线法, 绝对法, 检量法等。这是工厂控制分析常用的一种简便, 快速的绝对定量方法。但该法要求操作条件稳定(如: 进样量的重复性要好等), 否则将影响结果的准确性。

用已知纯样品组分配制成不同浓度的系列标准样品, 在稳定的条件下分别进样分析(要求每次进样量一样, 色谱条件一样), 根据所得组分的峰面积或峰高对组分的含量作出标准曲线。如图55所示。然后在完全相同条件下进样分析, 根据被测组分的峰面积或峰高, 在标准曲线上查得相应的含量。

六十、定量分析误差及常用表示方法有哪些?

气相色谱分析和其他分析一样, 其分析过程的每一步, 均

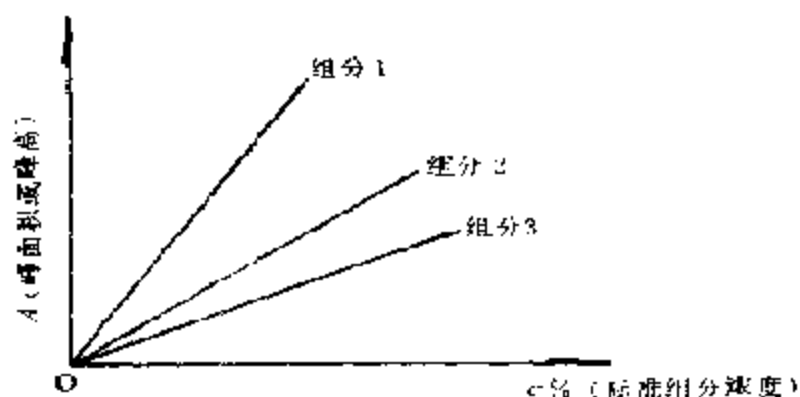


图 55 外标法求含量图

可引入误差。分析结果当然也有误差,而且是各步误差的总和。但概括起来这些误差可分为:系统误差(又称可测误差、必然误差)、非系统误差(又称非测定误差、偶然误差、自由误差)和过失误差(又称操作误差)。

系统误差是指那些原因和大小都可以被测定和估计的误差,所以它们可被预测到,并加上适当校正因子而消除。系统误差是固定重复出现的,例如色谱分析所存在的系统误差有:不同检测器间的响应值的差别;操作条件(如:温度、载气流速、电流突变等)引起检测器响应值的改变;样品在进样前污染或取样误差等。非系统误差是那些原因和大小都无法测定和估量,无规则而且不能消除的误差。在日常分析中即使分析人员非常仔细,操作条件非常稳定,并排除了系统误差,但测得的数据仍然稍有差别,这就是由这种误差所产生的。尽管非

系统误差无法测量和估计,但它的分布服从统计规律,即符合正态分布曲线,如图56所示。由图56可知,正负标准偏差(σ)出现的机率相等,而且小偏差出现的机率大于大偏差。平均值($\bar{X}$)两边

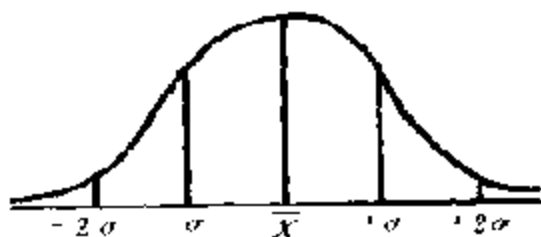


图 56 分析结果的正态分布

的面积,可用于预测在类似条件下非系统误差出现的机率。在相同条件下,分析结果重复出现在 $\bar{X} \pm \sigma$ 区间的机率是68%, $\bar{X} \pm 2\sigma$ 区间的机率是95%; $\bar{X} \pm 3\sigma$ 区间的机率是99.70%。

在报告分析结果时,采用平均值加减一个标准偏差,就表示在进行类似测量中,所得的数据将有68%落在此区间。这个区间又称可信区间,数据出现的机率又称为可信度。

过时的误差是一种明显与事实不符的误差,它主要是由于粗枝大叶,操作不正确等原因引起,例如读数错误、计算错误等等。但只要操作人员细心、严格操作,这是可以避免的。

准确度和精密度是评价结果和分析方法的基础。准确度是测定值与真实值差值大小的量度,通常以误差来表示这种量的大小。误差又分为绝对误差(即:真实值与测定值之差)和相对误差(即绝对误差占真实值的百分数)。一般定量准确度都用相对误差来表示。

然而在实际样品分析中,特别是对未知物进行定量分析时,真实值常常是不知道的,无法计算定量的准确度。此时常采用精密度,即分析数据的重复性来表示分析结果的好坏。精密度是平均值与测定值之间差值大小的量度,常用偏差来表示。分析结果的精密度大小,主要决定于非系统误差。所以必须严格控制操作条件及测量技术,才能减小偏差。

精密度的表示方法一般有以下几种:

(1) 平均偏差 多次测定值与平均值之差的平均数(无正负号),又称绝对偏差。

(2) 相对偏差 平均偏差与平均值之比(用百分数表示)。

(3) 标准偏差 平均偏差和相对偏差计算简便,应用也广。但因为一般测定的次数不会太多,计算平均值时,测定值与平均值之差取绝对值是不够严格的。如把这些差值的平方

总和起来,求平均数值的平方根,则较为严密,由此求得的偏差,称为标准偏差(σ),也叫均方根偏差。实际上标准偏差是表示测定值对平均值的离散度。其计算公式为:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N-1}} = \sqrt{\frac{d_1^2 + d_2^2 + \cdots d_n^2}{N-1}}$$

式中 X ——测定值 $d_1^2 = (X_1 - \bar{X})^2$
 $\bar{X}$ ——平均值 $d_2^2 = (X_2 - \bar{X})^2$
 N ——测量次数

(4) 相对标准偏差 标准偏差与平均值之比,又称为变异系数,用百分数表示。

$$\text{变异系数}(v) = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100\%$$

在准确度要求较高的场合,在报告算术平均值的同时,也要报出数据波动,同时报出标准偏差或变异系数。

现举一实例说明偏差的求知方法。某酒厂对成品酒中己酸乙酯含量的精密度进行分析,同一酒样共测定12次,其数据如表6。

表 6

测定次数	测定值	测定平均值	偏差	偏差的平方
i	X_i	$\bar{X}$	$ X_i - \bar{X} $	$(X_i - \bar{X})^2$
1	243.79	243.63 (mg/100ml)	+0.16	0.0256
2	242.50		-1.13	1.2769
3	241.86		-1.77	3.1329
4	242.20		-1.43	2.0449
5	241.05		-2.58	6.6564
6	237.17		-6.46	41.7316
7	245.12		+1.49	2.2201
8	240.23		-3.40	11.5600
9	244.18		+0.55	0.3025
10	247.18		+3.55	12.6025
11	252.83		+9.20	84.6400
12	245.42		+1.79	3.2041
总 和	2923.53		33.51	169.40

由表6,按上述计算公式则得:

$$\text{平均偏差} = \frac{33.51}{12} = 2.79$$

$$\text{相对偏差} = \frac{2.79}{243.63} \times 100\% = 1.15\%$$

$$\text{标准偏差} = \sqrt{\frac{169.40}{12-1}} = \sqrt{15.4} = \pm 3.92$$

$$\text{相对标准偏差(变异系数)} = \frac{3.92}{243.63} \times 100\% = \pm 1.61\%$$

这个结果告诉我们,在相同操作条件下反复测定酒样中的己酸乙酯,其测定结果在 243.63 ± 3.92 区间的可信度是68%。所以在报告分析结果时应写作:己酸乙酯含量 $243.63 \pm 3.92(\text{mg}/100\text{ml})$ 。对于一个初学者,相对标准偏差为 $\pm 1.61\%$ 是满意的,而对于一个有经验的分析人员,很容易达到 $\leq \pm 1.0\%$ 。

通常分析结果是用测定平均值加減1个标准偏差来表示其精密度是比较精确的,因为标准偏差可使大的偏差比小的偏差表现得更为突出,而绝对偏差是将大的和小的偏差同样看待。但标准偏差计算麻烦,为此有的书上介绍有一种简便的计算近似标准偏差(σ_s)的方法,其结果基本与标准偏差(σ)相符合,这里不作介绍。

一般来说,没有很好的精密度就很难得到准确度。然而精密度高却并不能保证准确度高,这个道理十分简单。若在分析过程中存在系统误差,其结果的精密度即使很高,也不能认为准确度高。例如在用内标法分析酒样时,即使几次进样都能得到十分平行(相近)的结果,但若标样纯度不够或配制标样时所用器具的刻度不准确或操作条件没有选择恰当等等,则分

析所得结果不一定准确。因此,只有在尽力消除系统误差的情况下,严格、仔细地操作,才能得到既准确又高精密的分析结果。为了消除系统误差,人们常采用相对测量或空白校正等措施。在建立新的分析方法时,给出该方法的相对误差则尤为重要。

六十一、怎样取舍分析数据? 你知道气相色谱定量分析偏差范围吗?

在同一样品的多次平行测定中,常常会出现1~2个偏离平均值较远的数据,这可能是由于操作过失而引起,也可能真实地反映了试验本身的误差。如果判定是前者,那么此数据舍去不用;如果不容易判断时,用下面(表7)仲裁值(r)来判定取舍。

表 7 取舍数据的仲裁值表

可信度	测定次数				
	3	5	7	10	15
90%	0.89	0.56	0.43	0.41	0.47
95%	0.94	0.64	0.51	0.48	0.52

仲裁值(r)是可疑值与最近值之差和可疑值与最远值之差的比。若可疑值的仲裁值(r)大于90%可信度在相同测定次数的仲裁值时,则一般将其可疑值舍去。

例如:在某一酒样己酸乙酯的7次测定(平行分析)中,其每次测定结果(mg/100ml)是243.79, 242.50, 241.86, 242.20, 241.05, 235.12, 245.12。请判定数据235.12、

241.05 mg/100ml能否舍去。

数据235.12mg/100ml的仲裁值:

$$r = \frac{241.05 - 235.12}{245.12 - 235.12} = 0.59$$

从表7中查出7次测定90%可信度的仲裁值 $r=0.43$ 。

因为 $0.59 > 0.43$, 故数据235.12mg/100ml可以舍去。

数据241.05mg/100ml的仲裁值:

$$r = \frac{241.86 - 241.05}{245.12 - 241.05} = 0.20$$

同样从表7中查出7次测定90%可信度的仲裁值 $r=0.43$ 。

因为 $0.20 < 0.43$, 故数据241.05mg/100ml不可舍去。

从实际分析样品可以得知, 含量不同的组分, 其测量的偏差也不一样, 对于含量高的组分, 其平均偏差较大, 但相对偏差并不大; 而对于含量低的组分, 其绝对偏差小, 但相对偏差较大。尤其是某些痕量组分, 其相对偏差可能很大。气相色谱定量分析的允许相对偏差究竟是多少? 这一定要看分析对象(样品)的浓度范围而确定, 即允许偏差与试样组分浓度有关, 一般如表8所示。

表 8 气相色谱定量分析允许标准偏差范围

试样浓度(%)	标准偏差 σ (%)
0.01~0.05	>100
0.05~0.5	>50
0.5~3	5~10
3~10	3~5
10~30	2~3
>30	<2

这仅是手工处理数据的一般性原则,要根据自己的实验条件和定量分析的要求灵活掌握。

浓香型酒中己酸乙酯含量通常在1.0~2.5%之间,所以我们在色谱定量分析时,其结果有 $\pm 5\sim 10\%$ 的允许误差(或偏差)。

六十二、影响白酒定量分析的 准确度有哪些因素?

气相色谱分析法是一种快速、准确的定量方法。然而要得到准确的定量结果,还必须知道影响色谱定量分析准确度的各种因素。而影响其准确度的因素特别多,除已叙及过的峰面积测量准确与否、校正因子的正确使用与否和合理运用定量方法与否外,还必须知道和掌握影响定量分析结果的各种操作因素。通常定量结果的准确度取决于每一操作步骤的精密度或准确度,用统计学术语说就是总偏差等于各种独立偏差之和。所以若要在“准”字上下功夫,就要进一步讨论各种独立因素对其结果准确度的影响。

1. 酒样的稳定性和代表性

酒的微量成分十分复杂,沸程很宽,而且是易挥发易燃品,很不好保存。取样后若不及时分析,在很短时间内低沸点易挥发物都有变化,从而给定量造成误差。因此从取样到进样要简易、快速。若分析酒中的有机酸或高沸点等成分,则对酒样要进行各种预处理(如:成盐酯化;除去乙醇浓缩等等)。预处理好与坏直接影响分析结果的好坏,预处理一定要严格按照操作规程、方法去作。处理过程中不得遗漏、损失样品。

空白分析和样品分析要在相同条件下处理、相同条件下分析等等。酒的取样,多数是在大贮存容器中取,所取的分析样要充分代表全部样品,即一定要均匀,所用取样瓶要干净,无任何污染等等。

2. 进样系统的影响

酒样分析都是用微量进样器进样,进样技术对分析结果有影响。分析的重复性取决于所用进样器的质量、进样量的大小、刻度读数的准确度以及插针的快慢、位置、深度和操作人员的熟练程度等等。如:酒中乙酸乙酯含量(测定值)就与进样量和技术密切相关,乙酸乙酯峰和乙醇大峰分离不太好(DNP柱),若进样量大,则二峰合为一峰,无法定量;若进样量太小,乙酸乙酯峰又分离不出来,也无法定量。当用峰面积定量时,进样技术和操作条件稍有变化对其结果影响不大;当用峰高定量时,则进样速度和汽化条件等稍有变化都会给结果带来明显影响。如果使用的是归一化法、内标法,且又是面积定量时,进样量的多少对结果就无影响或影响很小。其他方法最好采取瞬时定量进样技术。

酒样在进样器中是否瞬间汽化或有无分解常被忽略而造成误差。进样器的温度只要保证酒样瞬间汽化而不致分解即可。特别是汽化室橡胶垫打针后很易漏气等等,要常检查。

3. 色谱柱系统的影响

色谱定量分析,要求色谱柱十分稳定,以使在恒温或程序升温时,固定液流失或气路漏时不致产生大的基线波动。这就要求一是气路系统气密性要好,二是固定液要充分老化。而对色谱柱的分离效能要求高特别重要,即被测组分要能完全分离。若分离不好,则会出现重叠峰、拖尾峰等等而给峰面积的测量带来误差。前已叙及不论采用哪一种峰面积测量方法

(如:手工或自动仪器测量),对这些峰面积的测定或多或少都会带来误差;若被测组分能完全分离,则峰面积测量误差将大大减少,从而定量准确。对于酒的分析,因工厂常用的是DNP等填充柱,所以若乙酸乙酯和乙醇峰、仲丁醇和乙缩醛、内标和异戊醇等等分离不好,那么结果的误差将是较大的。

4. 检测系统及操作条件的影响

检测器的线性范围大小对定量结果有直接影响,而检测器的线性受检测器的结构、操作条件等的影响。

热导池(TCD)检测器是一种稳定性好、线性范围广、较成熟的通用型检测器。各种结构形式的检测器定量比较准确,校正因子可以通用,无人怀疑,所以影响定量准确度主要是其操作条件。这里不作进一步讨论。

白酒分析均是应用氢焰(FID)检测器,这是一种稳定性好、灵敏性高、响应时间快、线性范围广的检测器,而且对温度和载气流速不敏感。然而目前有的仪器上离子头由于设计不合理,对离子流收集不完全,即给定量造成大的误差,甚至无法使用文献上的校正因子。这可以通过设计合理的离子头并采用最佳操作条件,提高对离子流的收集率和线性范围等来达到分析结果的准确度。

离子头结构的影响是对离子流的收集效率的影响。收集效率是指在不同载气流速下,对不同百分含量的组分都能全部准确测量出来。目前各厂家生产的离子头结构不一样,所以定量准确度也不一样,但比较起来前面介绍的上方电极为圆筒形和半筒状平行板电极,下方为与地绝缘的金属喷嘴或丝状点火极(兼作)的结构,其收集率高、线性范围宽、质量好。这种离子头愈来愈普及了。有的离子头结构不适当,分析结果误差可达到10~20%。

载气流速的影响对氢焰检测器来说,因是质量型检测器,当进样量一定时,其峰面积为一常数,即峰面积不受流速的影响。然而峰高却与载气流速成正比,故在绝对分析时,若采用外标法,则使用峰面积比用峰高定量更易准确些。但在相对分析时,如使用归一化法、内标法,流速对峰高和峰面积的影响都可以抵消。

氢气和空气流量主要影响其灵敏度,特别是在作绝对测量时,对峰高的影响更明显。同样在作相对分析时,其影响可以抵消。

柱温主要影响保留值和峰高,柱温对被测组分峰高的影响是不能抵消的。即使是相对分析(如:内标法)时,也不可能消除。实验表明,柱温要恒定才有准确的可能。一般柱温精度控制在 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 以内,对结果的误差就很小了。

检测器的本身温度对分析结果影响不大,但要求其温度高于柱温且不积水。

5. 讯号记录及测量的影响

讯号记录包括记录仪和自动积分仪等,它们都能直接记录或显示色谱定量数据——微分色谱峰。不管手动或自动记录计算,这无疑会带来一些误差。

当使用记录仪定量时,则需要手工测量峰面积。测量峰面积的关键主要是如何确定峰基线和未分离峰的切割;半宽度、峰高的测量(前已详细叙述)等。这些因素的确和测量要以尽量减少误差为原则,如半宽度的测量最好使用读数显微镜,这时可准确到 0.1mm ,估计到 0.02mm 。如果用三角片,则准确到 1mm ,估计到 0.2mm 。由此可知峰面积的手工测量误差主要在于半宽度($2\Delta L_{1/2}$)的测量误差。峰高的测量应配合记录仪衰减或进样量来进行,使不同含量的组分峰高在记录器满标的

30~80%之间,峰高与峰宽比最好控制在3~5:1。峰高用三角板测量即可,误差在0.1~0.5之间。

此外,手工测量另一个须注意的问题是衰减器和记录仪的纸速,因为有些色谱仪的衰减旋钮上的指示倍数常常与实际衰减的有偏差,必须校正之后才可测量。校正方法是测定各档电阻值或给记录仪一个讯号,然后通过衰减器测定各档实际衰减值,以此值重新标定旋钮上的衰减倍数。纸速要均匀,否则会引起较大半宽度误差。

当使用自动积分定量时,主要是要求讯号源稳定,电源无杂波的影响;各峰处理参数(如斜率、漂移等值)设值要恰当,其精密度可达到0.1~0.5%。

以上所讨论的影响准确度各因素即为系统误差所造成。系统误差是一种可测误差,并可以采取有效措施加以克服,如相对测量或空白测量可以有效地抵消很大部分,特别是现代色谱仪的结构更合理和先进。计算机的应用等,是导致各种系统误差的因素得以减少。然而还有一种在酒厂中最易忽视的影响准确度的因素。当我们以上所讨论的因素基本得到解决或控制时,即操作条件合适,色谱峰图分离良好等,但其分析结果仍有误差,而且误差很大时,那么这种因素就是试剂纯度和配制标样时所用器具刻度不准带来的误差。有的试剂厂生产的色谱纯试剂,上标含量不少于99.5%,但实际分析却只有85%。这样的话,我们在求相对校正因子时,岂不带来更大的误差。配制标样的吸管、容量瓶等的刻度和实际不一样是经常有的事,故应严格校正。

综上所述,影响色谱定量分析准确度的因素很多,每一步骤的误差都影响着总的分析误差,即总误差等于各独立项的误差之和,所以只有尽量减少独立误差才能减少总误差;也只

有分别求出各操作步骤的误差,才能计算出定量分析的总误差。在不同的情况下,产生定量误差的控制因素也不一样,需要根据具体情况作具体分析。

六十三、酒样色谱分析时,其前处理的方法有哪些?

酒的组成很复杂,复杂不在于其含有大量的水和乙醇,主要是总和加起来不到1%的微量芳香成分,如醇类、酯类、酸类、羰基化合物、酚类等,这些是构成酒的风味的主要物质。过去对酒的分析多采用化学分析法,如:中和法测酸、皂化法测总酯、碱性品红法测甲醇、对-二甲氨基苯甲醛法测杂醇油等。但这些方法只能测出总酸、总酯或总醛等,至于酒中所含的是哪些有机酸?哪些酯类?含量是多少?这用化学法就不行了。随着色谱技术的发展和在酿酒工业中的应用,气相色谱对酒的芳香成分剖析起到了极为重要的作用。因为酒中含有大量乙醇和水,这对其微量或痕量组分的分析会带来影响;而且有些微量成分需进一步地转化才可用于色谱分析;酒样中还含有糖类、蛋白质等不挥发性物质,如直接进入色谱柱还会造成仪器的沾污,等等,故酒样的预处理是气相色谱分析中的首要问题。

酒样的处理应以水和乙醇相对浓度降低及微量成分的浓缩为主要目的,而且要求在处理过程中尽可能保持各种微量成分的性质和比例不变。预处理的方法多种多样,一般通过蒸取、分馏、吸附等将被测组分从酒样中分离、浓缩;有的则加入化学试剂将被测组分转化为适于气相色谱分析的物质。通常

是把酒中芳香成分按醇酯类、有机酸、羰基化合物等分别从酒样中分离出来。分离可以取几份样品分别将各类组分分离,也可以用同一份样品经多次处理将组分分离,然后进行色谱分析。具体操作如下:

(1) 醇酯类的分离 有机溶剂萃取法。通常是用水或饱和氯化钠溶液将酒样稀释,使乙醇浓度降低,再用有机溶剂萃取浓缩酒中微量的醇、酯。萃取溶剂有三氯甲烷、二氯乙烷、乙醚、戊烷、氯乙烷、二硫化碳等,也可采用混合溶剂如乙醚—戊烷。萃取液用无水硫酸钠干燥后,经适当浓缩即可供色谱分析样品。

(2) 有机酸的分离 加碱成盐蒸馏(或萃取)法或阴离子交换树脂吸附法。加碱成盐法是在酒样中加入氢氧化钠或碳酸氢钠,使有机酸成为对应的盐类,有的加入碳酸钙使成为钙盐,有的加入四丁基氢氧化铵使成为铵盐,经过蒸发除去醇酯,经浓缩,再将有机酸盐加入酸酸化,使盐复原为有机酸,然后通过蒸汽蒸馏或有机溶剂(如丙酮或乙醚)萃取,将有机酸分离出来。分离所得的有机酸可以以游离酸的形式直接进行气相色谱分析,一般低级脂肪酸($C_2 \sim C_{10}$)可得到相应的色谱峰。也可以将有机酸酯化后再作气相色谱分析。酯化的方法有多种。如可加入重氮甲烷使成为甲酯,也可以在 α -萘基异氰酯存在下使成为乙酯,或加入2-碘代丙烷将其转变为异丙酯,或脱水后加丁醇回流成为丁酯。也可以在成盐后加入苯基溴,经置换反应生成苯酯。酯化后一般分离较好,而且 $C_8 \sim C_{18}$ 的高级脂肪酸也可以在色谱柱上很好分离。

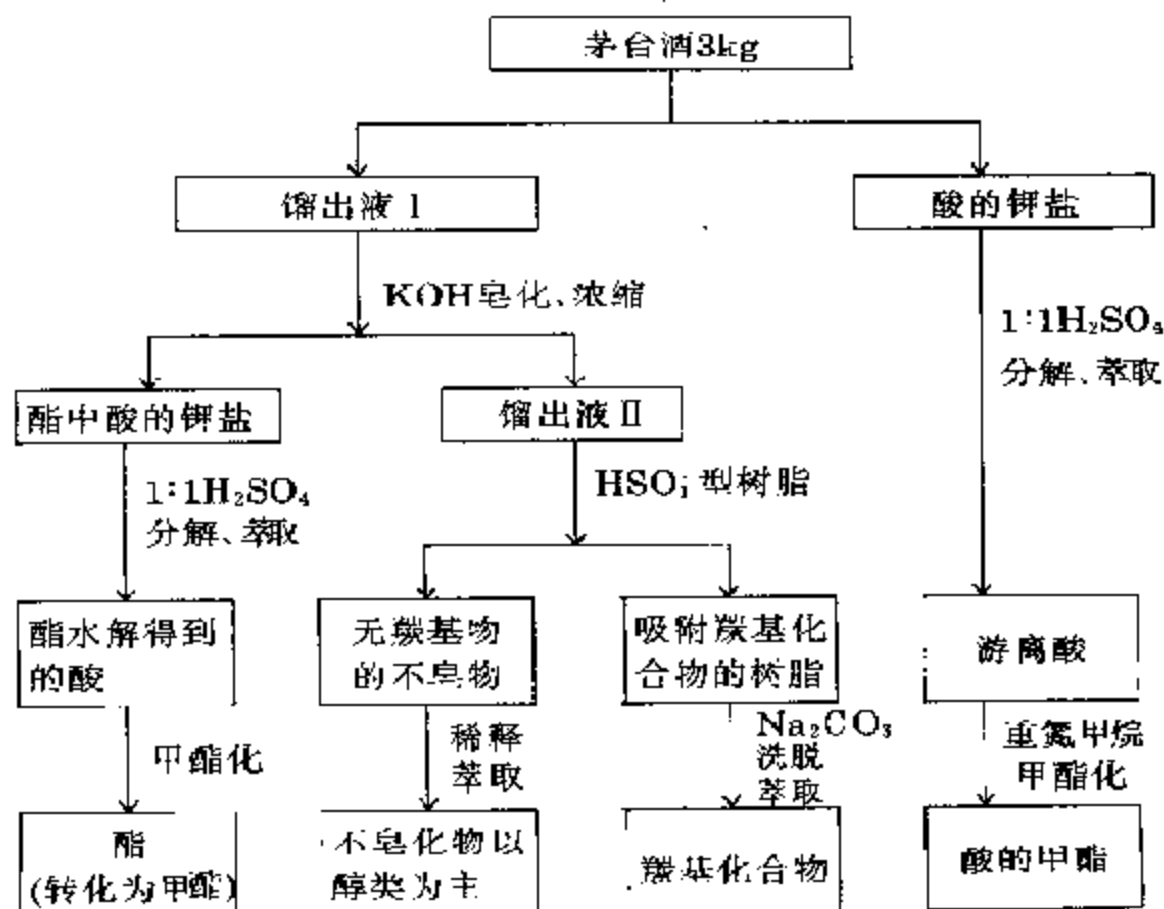
阴离子交换树脂吸附法是将酒样通过阴离子交换树脂(一般为 CO_3^{2-} 型),那么有机酸被树脂吸附,洗脱(可用碳酸铵溶液作洗脱剂)后,再经处理可作为色谱样品。

(3) 羰基化合物和缩醛类的分离 用2,4-二硝基苯肼沉淀法或阴离子交换树脂吸附法。2,4-二硝基苯肼和羰基化合物生成相应的2,4-二硝基苯腙衍生物沉淀,从酒样中分离出来。此反应可分离出微量的羰基化合物。所得到的腙衍生物沉淀,可用三氯甲烷溶解作为气相色谱样品。也可以用 α -酮戊二酸使腙衍生复原为羰基化合物,然后进行气相色谱分析。阴离子交换树脂吸附法一般是用亚硫酸氢型树脂吸附羰基化合物,然后用碳酸铵液洗脱供气相色谱分析。因为树脂对各种醛酮吸附和洗脱效率不同,故对定量测定有一些影响。

(4) 糖类与氨基酸的分离 一些饮料酒(如啤酒、果酒)中的糖类和氨基酸是重要的呈味物质,这些不挥发性物质需预先转化为可汽化的化合物,才可进行气相色谱分析。糖类可转化为对应的三甲基硅烷(TMS)衍生物。氨基酸则可用阴离子交换树脂吸附,用稀氨水洗脱,再转化为对应的正-三氟乙酰甲酯(N-TFA)衍生物,用二氯乙烷溶解后作为气相色谱样品。

(5) 同一份样品经多次处理分离法 上述酒样的处理方法可以减轻色谱定性的困难,在有些情况下是适用的。但各种方法样品用量大,手续麻烦费时,所以有采用同一份样品进行多次处理,分离出各种组分的。例如酒样先加碱使有机酸成盐后,用不同溶剂(二硫化碳、乙醚)先后处理酒样,抽提出醇酯和羰基化合物(萃取液),再酸化沉淀,另用溶剂(如乙醚)萃取出有机酸,然后将各部分萃取液分别进行气相色谱分析。这种处理法需要较高分离效能的毛细管柱,才能得到满意的结果。下面再简单介绍一下用填充柱即可分析的同一样品多次处理法。酒样先用碱中和,使酸成为盐类,然后减压浓缩,得馏出液和残留固体。将残留固体用乙醚抽提,再酸化,蒸去乙醚,加入

四甲基氢氧化铵甲酯化, 然后分析酸。将上馏出液用乙醚、戊烷 (2 : 1) 抽提, 溶剂再以 NaHSO_3 抽提, 羰基化合物能与 NaHSO_3 生成加成物, 然后分去乙醚-戊烷层, 再用酸 (HCl) 酸化, 使醛释出, 供色谱分析羰基化合物。除去羰基化合物的戊烷-乙醚液, 在水浴上除去 (40°C) 戊烷-乙醚, 加入氢氧化钠, 然后回流皂化, 冷却后用乙醚抽提, 即分层。将下层水相进行酸化及甲酯化等, 然后供色谱分析酯类。除去酯后的乙醚提取液用 NaCl 洗涤, 以除去大量的乙醇, 分去水层, 蒸去乙醚, 即为醇类化合物。大连化物所和轻工部食品发酵所在研究茅台酒的组成时就应用预分离法, 其分离步骤如下:



六十四、色谱柱是怎样分类的？ 各有何优缺点？

被测组分是在固定相中的固定液上分离的，而固定相(固定液)都是附着或填充在一定的柱管中，这柱管称之为色谱柱，是气相色谱的“心脏”。色谱柱可分为两类：填充色谱柱和空心色谱柱(简称填充柱和空心柱)，空心柱又被称为毛细管柱。

1. 填充柱

填充固定相的色谱柱称为填充柱，又可分为：

(1) 普通填充柱CP(conventional packed column)。

(2) 微填充柱MPC(micro packed column) 柱内径为1mm左右，内填充3~5 μ m的填料。用这种短柱能获得很高的柱效，但对试样的负荷量小，需要较高灵敏度的检测器。

(3) 填充毛细管柱PC(packed capillary column) 将多孔填料疏松地装入玻璃管中，然后拉制成所需的粗细的毛细管，一般内径为0.25~0.5mm。填料应选用热稳定性好的材料，如分子筛、硅藻土载体等。

2. 毛细管柱

一般情况下毛细管柱指的是空心柱，即开口管柱。柱径小，柱管细而长。可分为：

(1) 壁涂开口管柱WCOT(wall coated open tubular) 将固定液直接涂在管壁上。

(2) 壁处理开口管柱WTOT(wall treatment open tubular) 将管壁先经盐酸或氢氟酸处理后再涂上固定液。

(3) 多孔层开口管柱PLOT(porous layer open tubu-

lar) 用适当方法在开口管内壁沉积上一层多孔性物质,可以为吸附剂(吸附性),也可以是载体(分配型)。多孔层厚度约为0.1 mm,该色谱柱容量较大。用载体涂布的开口管柱,又称为SCOT(support coated tubular column)柱,它是用有机胶粘合的方法将硅藻土型载体沉积在玻璃壁上的。可采用“先涂后拉”或“先拉后涂”法制备柱子,方法易掌握,可以制备出各种极性固定液的柱子。目前有SCOT柱出售。

(4) 大口径开口管柱LBOT(large bore open tubular)

毛细管柱的出现比填充柱晚。因为毛细管柱中没有涡流扩散,其传质阻力和分子扩散均较填充柱为小,故其分离效率比填充柱高,且其渗透率也比填充柱大,可实现快速分析。但毛细管柱操作较复杂,如需要分流和尾吹等装置,不如填充柱简单和方便,而且毛细管柱(如玻璃的)易碎,不容易在工厂中制备。而填充柱则相反,容易在工厂中自制,且分离效率可满足实际需要,故毛细管柱的应用不如填充柱广泛。

普通填充柱除用不锈钢制成外,还有用玻璃、铜、铝、尼龙和聚四氟乙烯塑料等制成的。内径一般为2~4mm,长度1~10m。柱管形状有螺旋形和U形两种。毛细管柱一般由玻璃、不锈钢、塑料等拉制而成,内径为0.2~0.5mm,长度20~40m,柱管形状为螺旋形。酒厂常规色谱分析一般采用普通的不锈钢填充柱。

六十五、什么是PEG分析柱? 其白酒分析操作条件和图谱如何?

PEG为聚乙二醇polyethylene glycol的英文缩写。以聚

乙二醇为固定液的色谱柱称为PEG分析柱(或PEG柱)。前已叙及,聚乙二醇是被优选的固定液之一,应用非常广泛,同样白酒的色谱分析也离不开它。聚乙二醇通常以不同的平均分子量而分类,其结构式为 $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ ($n=4\sim 450$)。PEG 600~20M系聚环氧乙烷,结构式为 $\text{CCH}_2(\text{H}-\text{O}-\text{O}-)_n$,由于分子中同时存在着能生产氢键的氧原子(醚键和聚乙二醇的末端羟基)和氢原子(聚乙二醇的末端羟基),故它能选择性地保留许多含氧(如:醇、醛、醛酮类等)、含氮官能团和氧、氮杂环化合物等等。随着平均分子量的增加,末端羟基在整个分子中所占比例逐渐降低,所以其极性就愈弱。如:PEG 200~PEG 4000极性大于PEG 600~PEG 20M(注:PEG后面之数字表示其平均分子量,例:PEG 20M, $n=450$,平均分子量是20000)。目前白酒的醇、酯分析,国内通常都采用PEG 15M和PEG 20M,也有使用PEG 6000的。PEG 15M、20M的最高使用温度为200℃。下面分别介绍白酒在PEG柱上的色谱图。

1. 聚乙二醇15M柱(PEG 15M)

(1) 仪器和色谱条件

仪器:岛津GC-5A型气相色谱仪,双氢焰检测器。

色谱柱:不锈钢 $\phi 3\text{mm}$,长3m 2根。

固定相:聚乙二醇15M,20%涂于405白色担体上,60~80目。

柱温:65℃恒温14min,按5℃/min的速度升至120℃,再保持恒温20min,汽化温度180℃。

氮(N_2):65ml/min;氢(H_2):60ml/min;空气(Air):1000ml/min。

灵敏度 $10^2\text{M}\Omega$,衰减16,纸速2.5mm/min。

(2) 酒样制备方法 取酒样5ml,准确加入2%(V/V)乙

酸正戊酯(内标)0.1ml,混匀,进样量4 μ l。

(3) 分析图谱见图57和图58。

2. 聚乙二醇20M柱(PEG20M)

(1) 仪器和色谱条件

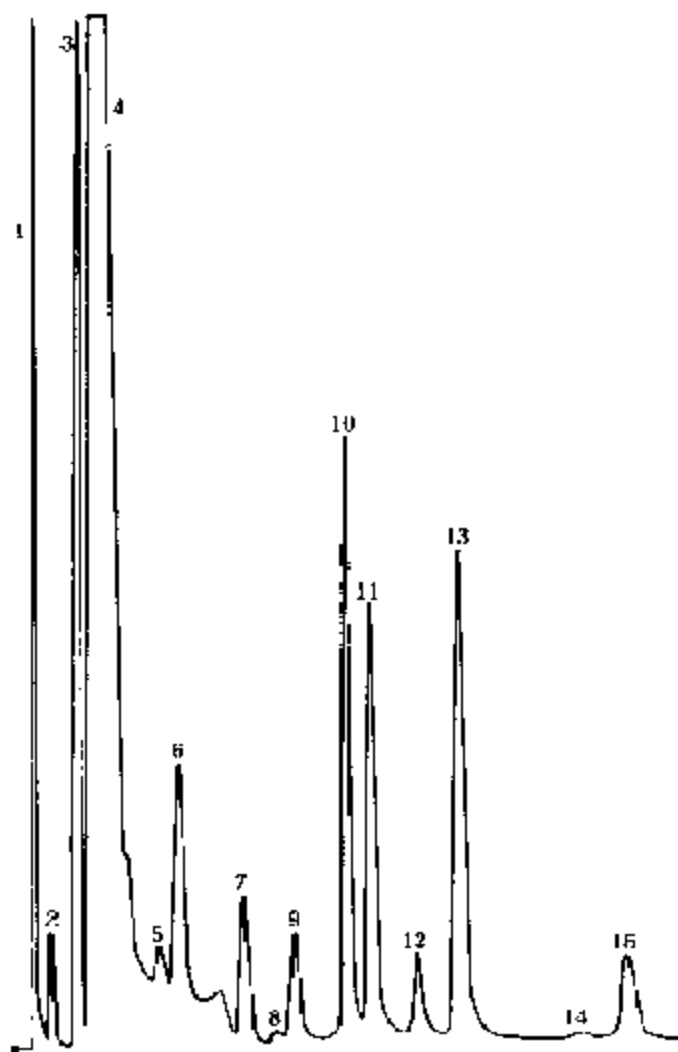


图 57 酒样在DEG15M柱上色谱图(茅台酒)

- 1—乙醛 2—甲酸乙酯+乙酸甲酯 3—乙酸乙酯+乙缩醛
4—乙醇 5—仲丁醇 6—正丙醇+丁酸乙酯 7—异戊醇
8—乙酸异戊酯 9—正丁醇 10—异戊醇 11—己酸乙酯
12—未知 13—乳酸乙酯+正己醇 14—辛酸乙酯 15—糠醛

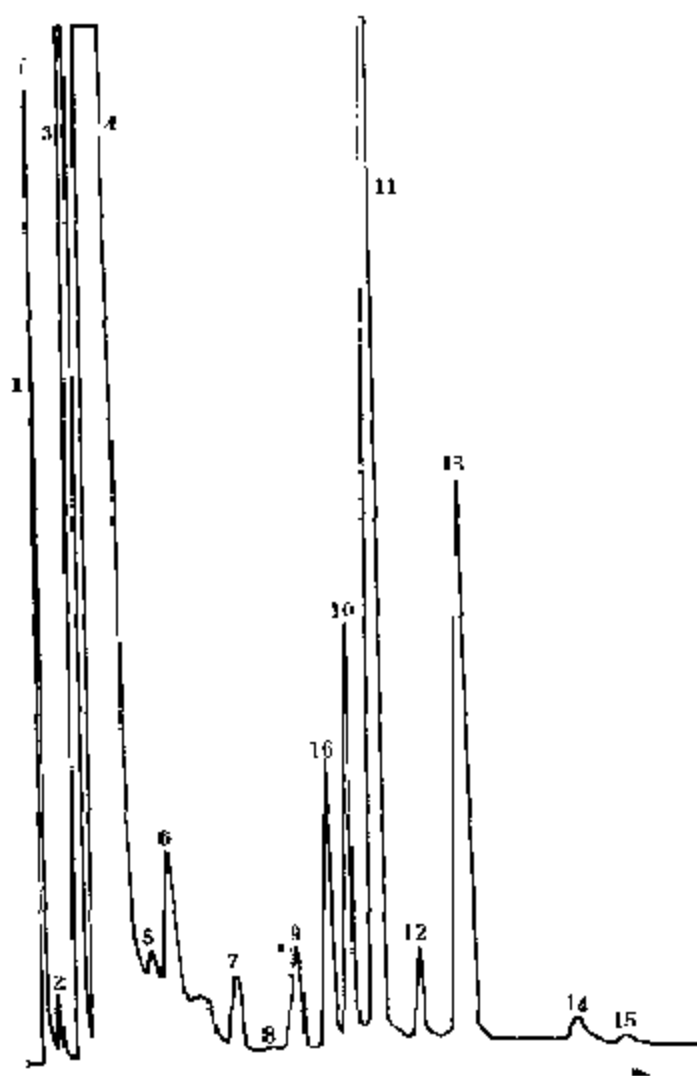


图 58 酒样在PEG15M柱上色谱图(泸州老窖特曲)

1—乙醛 2—甲酸乙酯+乙酸甲酯 3—乙酸乙酯+乙缩醛 4—乙醇
5—仲丁醇 6—正丙醇+丁酸乙酯 7—异戊醇 8—乙酸异戊酯
9—正丁醇 10—异戊醇 11—己酸乙酯 12—未知 13—乳酸乙
酯+正己醇 14—辛酸乙酯 15—糠醇 16—乙酸正戊酯(内标)

仪器: 岛津GC—5A型色谱, 氢焰检测器。

固定液: 10%PEG20M。

担体: shimalite 60~80目。

色谱柱: 不锈钢 ϕ 3mm, 长4m。

柱温: 60°C 恒温3min, 以5°C/min升温至125°C. 汽化室和检测器温度: 150°C。

N₂: 60ml/min; H₂: 60ml/min; Air: 1000ml/min。

灵敏度10²M Ω , 衰减4, 纸速10mm/min。

(2) 酒样测定方法: 取酒样2.5ml, 用蒸馏水稀释一倍, 然后准确加入1%(V/V)乙酸正戊酯溶液0.1ml, 混匀, 进样2 μ l。

(3) 分析结果见图59。

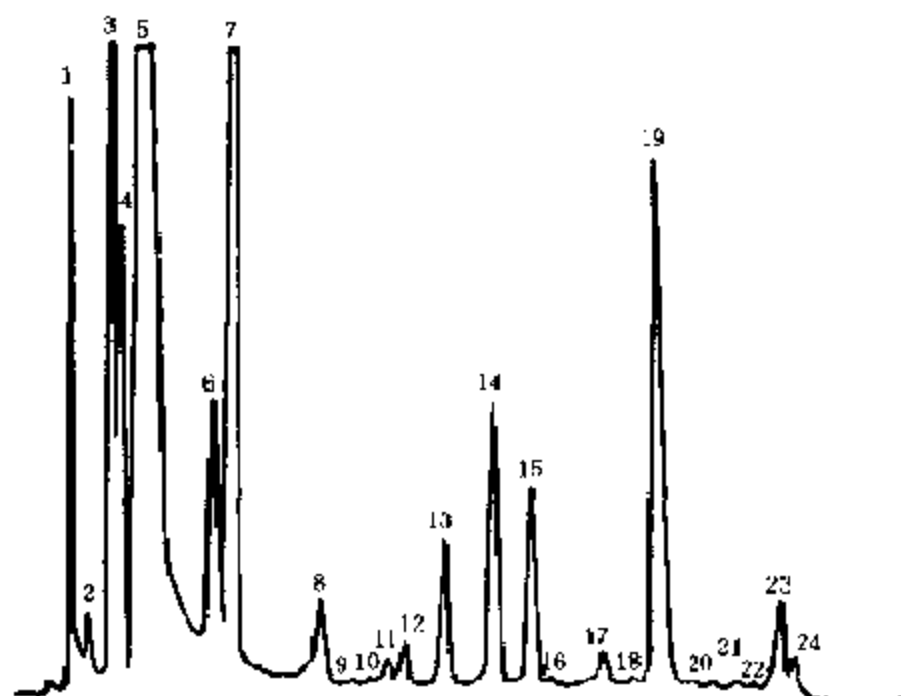


图 59 白酒在PEG20M柱上色谱图

- 1--乙醛 2--甲酸乙酯 3--乙酸乙酯 4--甲醇+乙缩醛
5--乙醇 6--仲丁醇 7--正丙醇+丁酸乙酯 8--异丁醇
9--第二戊醇 10 乙酸异戊酯 11--戊酸乙酯 12--正丁醇
13 乙酐正戊酯(内标) 14--异戊醇 15--己酸乙酯 16--正戊醇
19- 乳酸乙酯 22--辛酸乙酯 23--糠醛 17、18、20、21、24--未知峰

六十六、PEG柱白酒分析有何优缺点?

从以上分析结果可以看到,用程升和选用乙酸正戊酯为内标时,酒中主要醇酯基本上都能分离和定量。与其他色谱柱比较,此柱还能够多测出乙酸异戊酯、正戊醇、第二戊醇、辛酸乙酯等成分。若液态发酵酒不正常时,所生成的为丙烯醇和丙烯醛,在此柱上可以容易地鉴定出来(见图60)。

该柱也有不足之处。因采取程升,当操作稍有不当时,在国产仪器上容易产生基线漂移而影响结果。名优酒中含量较多的乙缩醛与甲醇分不开,与乙酸乙酯分离得也不够好。正丙醇与丁酸乙酯峰不易分开。乳酸乙酯与正己醇分不开。

聚乙二醇在高温下有时要发生分解而产生甲酸、甲醛,使用前必须进行充分的老化热处理。此外,载气或固定液中水分的存在,使聚乙二醇末端基和水分子由于氢键的作用而形成高联网状结构,慢慢被老化而失去正常分离的作用。

六十七、什么是DNP+Tween60(80)混合柱? 其操作条件及白酒分析图谱如何?

DNP是邻苯二甲酸二壬酯(di-n-nonyl phthalate)的英文缩写,是一种应用广泛的固定液,具有中等极性,它可选择性保留和分离芳香族化合物、不饱和化合物,以及各种含氧化合物(醇、醛、酮、酯)等,和它性质相似的固定液有DEP、DBP、

DOP等。这些固定液中醇基的CH₂链愈长,则极性愈小。DNP的极性较弱,在分离醇、醛、酮类等强极性组分时,担体的吸附

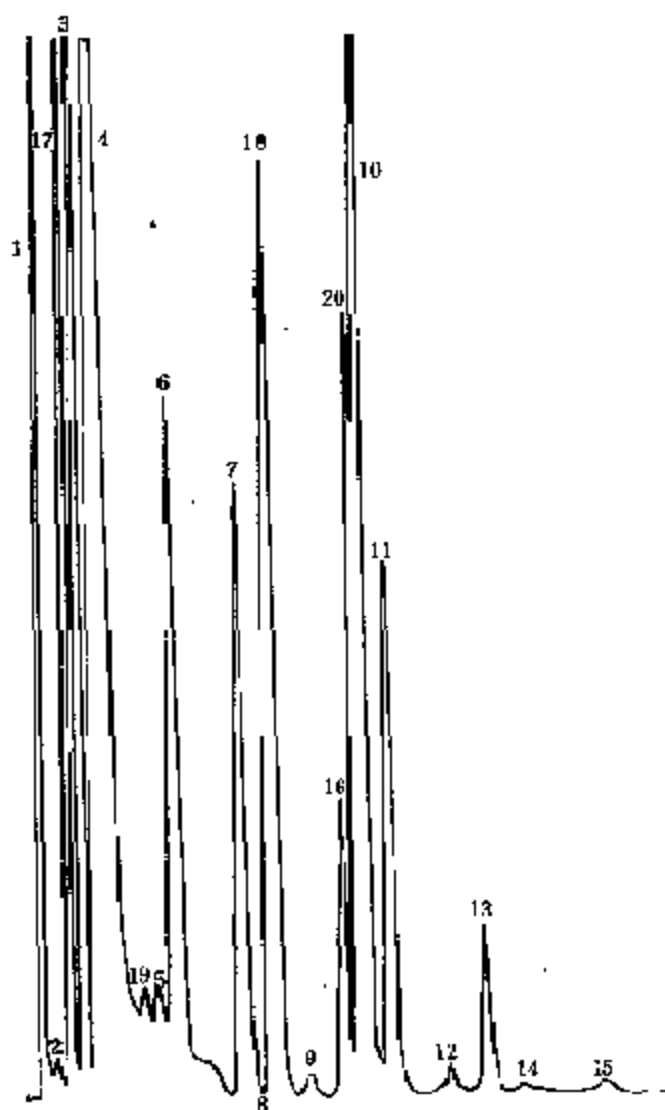


图 60 异常激态发酵酒在PEG15M柱上图谱

- 1 乙醛 2 甲酸乙酯+乙酸甲酯 3 乙酸乙酯+乙缩醛 4—乙醇
5 仲丁醇 6—正丙醇+丁酸乙酯 7—异戊醇 8—乙酸异戊酯 9—正
1 醇 10 异戊醇 11 -己酸乙酯 12—未知 13—乳酸乙酯+正己醇
14—辛酸乙酯 15—糖醇 16—乙酸正戊酯(内标) 17—丙烯醇 18—丙
烯醇 19,20—未知

性使醇峰显著拖尾,特别是乙醇的大拖尾使许多组分难以准确定量。如:在只有DNP固定液的柱子上,甲醇与乙醇、异丁酸乙酯与正丁醇都分不开,丙酸乙酯与异丁醇、乙酸乙酯与正丙醇这两组分离也差。为了改变这种状况,内蒙轻科所在这方面做了大量工作,采用Tween60(80)〔吐温60(80)〕来调节DNP的极性,吐温60或80是聚环氧乙烷山梨糖醇单硬脂酸酯或三油酸酯,其极性较强,它本身也可以作固定液使用。在DNP中加入吐温60(80),不但可以调节DNP的极性,使醇类滞后,分离得到改善,而且可以大大减少乙醇拖尾,使上述四组化合物均能得到较好分离。经试验,在20%DNP中加入7%吐温60(80)配成混合固定液,能分离白酒中主要醇酯、醛酮等微量芳香成分,是最优的配比。由于该柱能准确定量白酒中的主要醇酯成分,加上又是恒温操作,在国产色谱仪上很容易推广应用,该柱〔即:20%DNP+7%Tween 60(80)〕被列入轻工业部、商业部的部颁标准,用作测定名优酒中的己酸乙酯等成分。目前酒厂开展得最多的是醇酯分析,所以绝大多数酒厂都是使用该柱。图60、62、63为其色谱图。

1. DNP+Tween80混合柱

(1) 色谱仪及色谱条件

仪器: 岛津GC-5A型色谱仪,双氢焰。

色谱柱: $\phi 3\text{mm}$, 长3m不锈钢柱。

固定液: 20%DNP+7%Tween80,担体chromosorbw 80~100目。

柱温: 65°C恒热4min,以5°C/min升温至95°C。

检测器汽化室温度: 150°C。

灵敏度 $10^2\text{M}\Omega$,衰减4,纸速10mm/min。

N_2 : 60ml/min; H_2 : 60ml/min;Air: 100ml/min。

(2) 酒样测定方法 同上直接进样法。

(3) 分析图谱见图61。

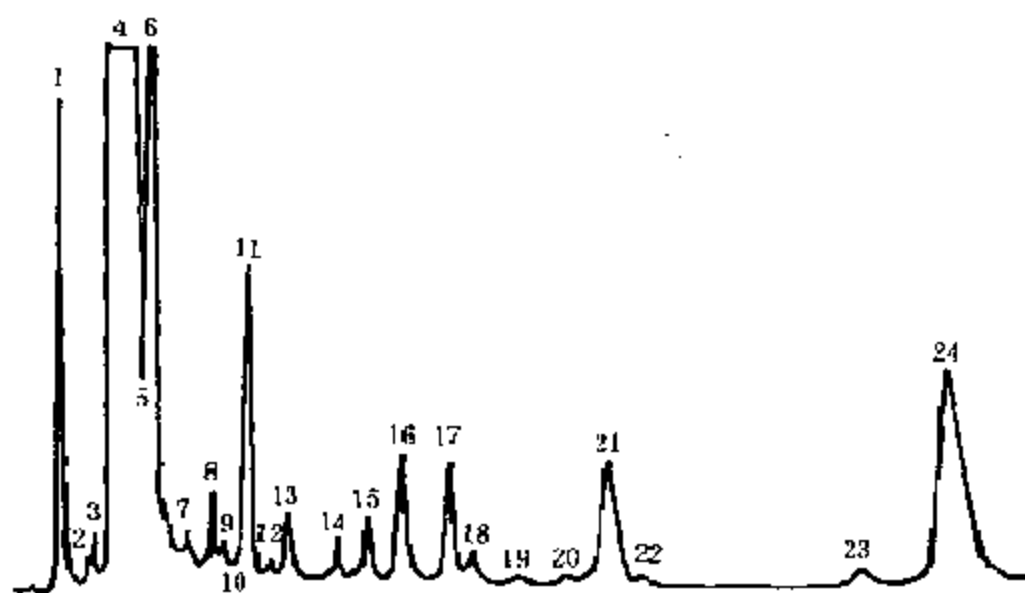


图 61 白酒在DNP+Tween80柱上图谱

1- 乙醇 2- 甲醇 3- 甲酸乙酯 4- 乙醇 6- 乙酸乙酯 7- 丁二酮
8- 正丙醇 9- 异戊醇 10- 仲丁醇 11- 乙缩醛 13- 异丁醇 14- 正
丁醇 15- 丁酸乙酯 16- 乙酸丁酯(内标) 17- 异戊醇 19- 正戊
醇 + 乙酸异戊酯 20- 戊酸乙酯 21- 乳酸乙酯 23- 正己醇 + 糠醛
24- 己酸乙酯 5, 12, 18, 22- 未知

2. DNP+Tween60混合柱

(1) 仪器与条件

仪器: 岛津GC-5A色谱, 双氢焰。

色谱柱: $\phi 3\text{mm}$, 长2m, 不锈钢柱。

固定相: 20%DNP+7%Tween60, 担体405白色担体(大连产), 80~100目。

柱温: 90°C

汽化室、检测器温度130°C。

灵敏度 $10^3\text{M}\Omega$, 衰减64, 纸速2.5mm/min。

N₂: 60ml/min; H₂: 59ml/min; Air: 1000ml/min.

(2) 酒样测定方法 取酒样5ml, 加入2%(V/V)乙酸正丁酯0.1ml, 混匀, 进样1 μ l.

(3) 分析结果见图62、63。

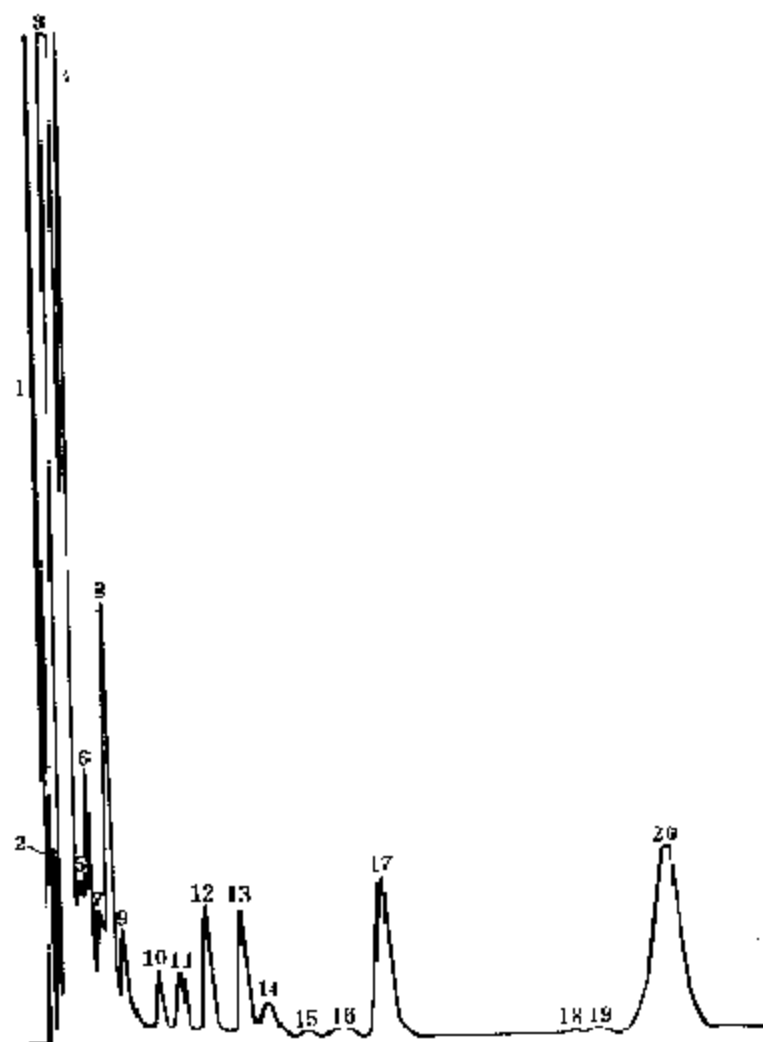


图 62 酒样在DNP+Twecn60柱上图谱(泸州老窖特曲)

1—乙醛 2—甲醇 3—乙醇 4—乙酸乙酯 5—丁二酮 6—正内醇 7—仲丁醇 8—乙缩醛+丙酸乙酯 9—异丁醇 10—正丁醇 11—丁酸乙酯 12—乙酸正丁酯(内标) 13—异戊醇 14—未知 15—乙酸异戊酯+正戊醇 16—戊酸乙酯 17—乳酸乙酯+乙酸正戊酯 18—糠醛 19—正己醇 20—己酸乙酯

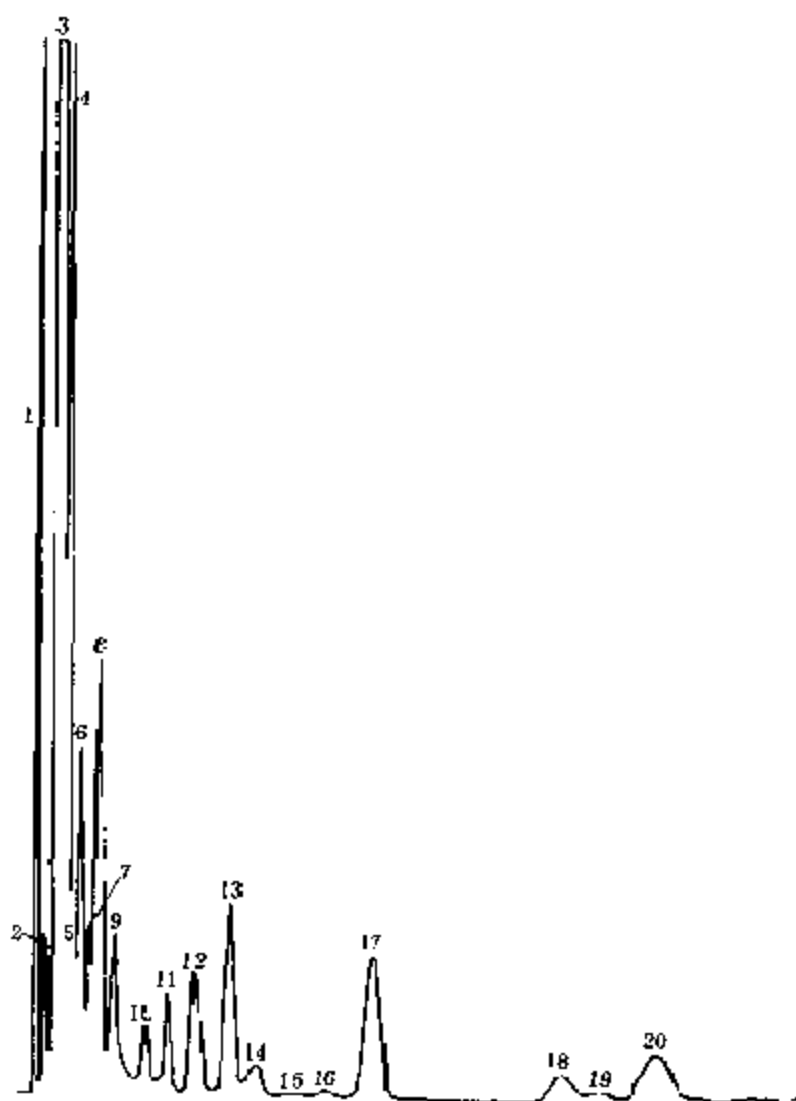


图 63 酒样在DNP+Tween60柱上图谱(茅台酒)

1—乙醛 2—甲醇 3—乙醇 4 乙酸乙酯 5—丁二酮 6 正丙醇 7
仲丁醇 8- 乙缩醛+丙酸乙酯 9—异丁醇 10—正丁醇 11—丁酸乙
酯 12 乙酸正丁酯(内标) 13—异戊醇 14 未知 15—乙酸异戊
酯+正戊醇 16—戊酸乙酯 17—乳酸乙酯+乙酸正戊酯 18 糖醛 19
—正己醇 20 —己酸乙酯

六十八、DNP+Tween60(80)混合柱 分析白酒有何优缺点?

在DNP固定液中加入减尾剂Tween60(80),再配以吸附性小的白色硅藻土担体,使白酒中主要醇、酯等成分均能得到较好的分离,且在恒温操作下均能准确定量,简化了对仪器的要求,便于推广应用,是其一大优点。在分离效果上此柱能部分地克服PEG柱上有些峰相互重叠的缺陷,使甲醇、乙缩醛、正丙醇、丁酸乙酯、乳酸乙酯、正己醇等主要成分都能分别定量。此外,该柱还能一次测出酒样中甲醇、杂醇油、总酯、总醇的结果,在酒的质量检查中可代替常规化学分析,分析速度大为加快。但它也有不足之处,由于配入了吐温60(80),增大了柱的极性,乙酸乙酯峰相应推前,其与乙醇大峰的分离情况变差,乙醇大峰严重干扰乙酸乙酯的准确定量(请见问答九十八)。若乙酸乙酯含量低于20mg/100ml时,则很难见到乙酸乙酯峰。乙酸乙酯峰的分离与进样量密切相关,这是本柱的一大缺陷。对液态发酵异常的酒样,此柱也不适用。因为烯醛和丙烯醇等成分分离不好,前者混入乙醇大峰,后者则与仲丁醇峰重合。需要注意的是对于浓香型大曲酒的分析,因乙缩醛含量较多,在该柱上乙缩醛和丙酸乙酯合为一峰,而丙酸乙酯在酒样中含量很少,故该峰可按乙缩醛计算。

六十九、什么是402分析柱？你知道该柱的色谱条件及图谱吗？

聚合物固定相是一种新型固定相，由于其特殊的色谱分离性能而受到色谱工作者广泛重视。这种固定相主要是以二乙烯基苯为单位交联聚合而成的小球，或是用各种不同单体与二乙烯基苯共聚而得的不同极性的产品。这些不同极性聚合物能适应各种不同被分离体系的要求，使其应用十分广泛。它们的分离性能还与聚合物的物理结构(如：比表面积和孔径分布)有密切关系。

交联二乙烯基苯聚合物作为固定相，其最大特点在于对强极性化合物(醇、酮、酸、酯胺等)的分离可以得到满意的结果。所以该类固定相同样可用于酒的分析。目前我国生产的这类固定相有GDX、TDX及其同类产品(如：上试一厂401，402，403，404等载体)，在国内已得到广泛的应用。内蒙轻工所将有机担体402用于直接进样分析酒中的芳香成分，认为分离效果较好，酒样中主要醇酯基本都能分开，程序升温至200℃，能测到辛醇和辛酸乙酯等。

有机担体402柱的色谱条件及图谱：

(1) 仪器及色谱条件

仪器：岛津—GC—5A色谱仪，双氢焰。

色谱柱：不锈钢 ϕ 3mm，长1m2根，内装上海试剂厂402有机担体80~100目。

柱温：80℃恒温1min，以3℃/min程升至200℃。

汽化室和鉴定器温度：200℃。

N_2 : 50ml/min; H_2 : 50ml/min; Air: 1000ml/min.

灵敏度 $10^5 M\Omega$, 衰减16, 纸速2.5mm/min.

(2) 取酒样5ml, 准确加入2%(V/V)乙酸正戊酯(60%乙醇液)0.1ml混匀, 进样 $8\mu l$, 分析。

(3) 色谱图见图64、65。

七十、402柱在白酒分析中有何优缺点?

前已述及有机担体402用于分离极性化合物的水溶液有其优越性, 它将水峰推在最前面, 使以后各峰不受水峰干扰, 且它不涂固定液, 所以不存在固定液流失, 可使柱温升到 $200^\circ C$ 以上, 宜用作程序升温。

在402柱上, 极性强的化合物出峰显著提前, 水最先馏出, 甲醇甚至出峰在乙醛之前, 乳酸乙酯、糠醛等沸点虽高, 出峰都较早。升温至 $200^\circ C$ 时, 沸点 $194^\circ C$ 的正辛醇也能出来。该柱能测至8个碳的醇类。因为各种醇酯出峰的排列顺序与常用的DNP和聚乙二醇柱大不相同, 故本柱很适合于多柱法定性和推测物质的结构。若用本柱分离酒样, 最多可分离出22个峰, 其中有两个小峰, 未能定性。

402柱是吸附色谱柱, 峰形不对称, 也比较宽, 所以影响到定量的准确性, 是其一大缺点。

该柱与DNP+Tween60混合柱比较, 能多分离出庚醇、辛醇、庚酸乙酯、第三丁醇、乙酸正戊酯等峰。不足之处是酒中主要的酯如乙酸乙酯和仲丁醇分不开, 乳酸乙酯和丁酸乙酯分不开。

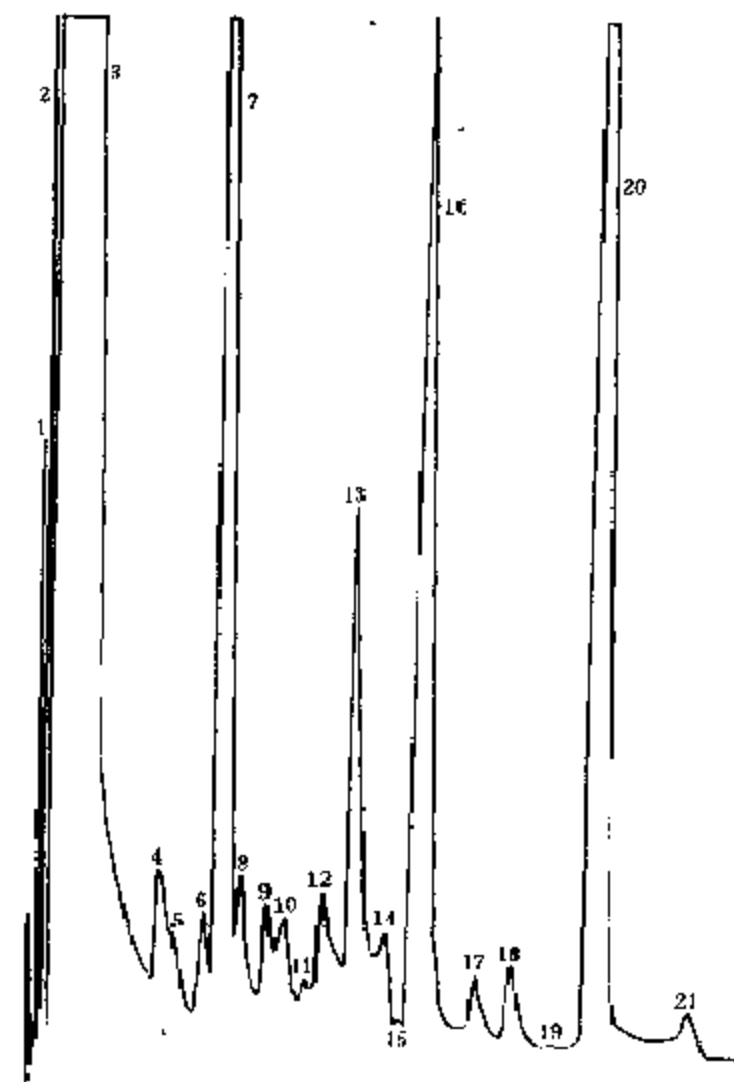


图 64 酒样在402柱上图谱(泸州老窖特曲)

1—乙醇 2—乙醛 3—乙醇 4—正丙醇 5—第二丁醇 6—未知 7—乙酸乙酯
+ 仲丁醇 8—异丁醇 9—正丁醇 10—第三戊醇 11—未知 12—第二戊醇
+ 丙酸乙酯 13—异戊醇 14—正戊醇 15—糠醛 16—乳酸乙酯 + 丁酸乙酯
17—正己醇 18—戊酸乙酯 + 乙酸正戊酯 19—庚醇 20—己酸乙酯 21—辛醇

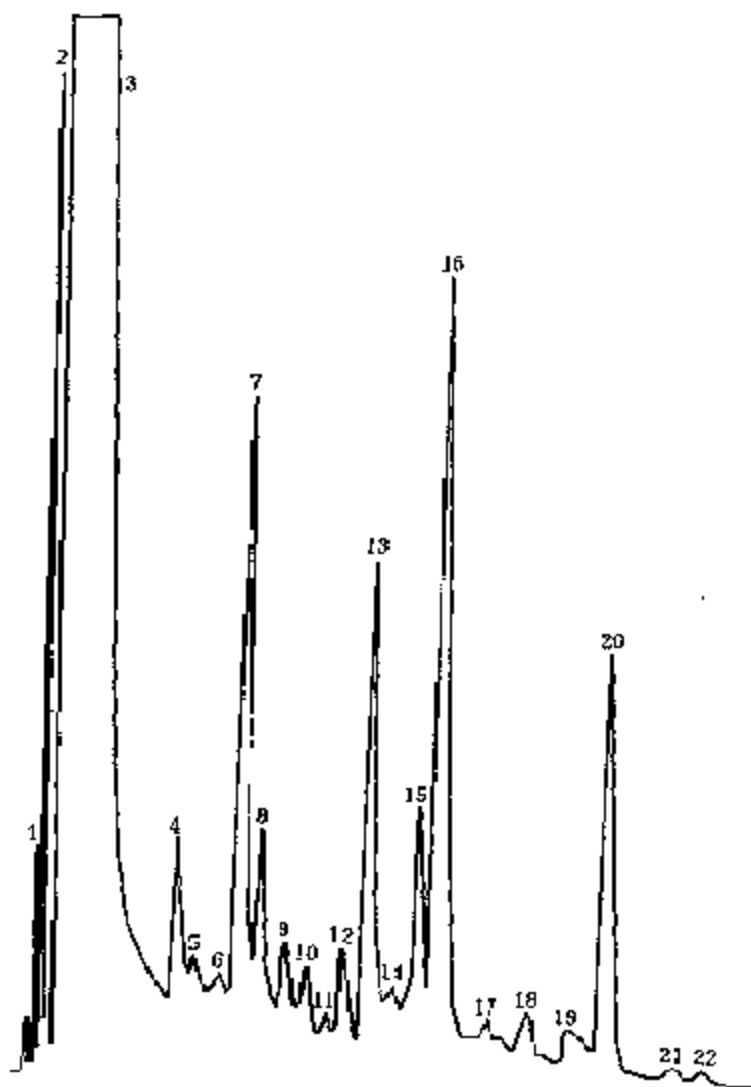


图 65 酒样在402柱上图谱(茅台酒)

1~21峰名同图64 22- 庚酸乙酯

七十一、对PEG20M、DNP+Tween60(80)混合柱和402柱的白酒分析如何评价?

目前,酒厂应用最多的是DNP+Tween60(80)混合柱,

因为该柱在恒温下就能分离出酒中主要醇、酯等组分,和PEG20M柱比较,DNP混合柱克服了PEG20M柱上某些峰重叠的缺陷,使甲醇、乙缩醛、正丙醇、丁酸乙酯、乳酸乙酯、正己醇等主要芳香成分都能分别定量。与402柱比较,DNP混合柱克服了402柱上乙酸乙酯和仲丁醇分不开、乳酸乙酯和丁酸乙酯分不开的缺点,使这四组分能很好分离。此外,DNP混合柱还能一次性测定酒中甲醇、杂醇油、总酯及总醛,完全可以代替常规分析且操作简单,容易掌握。所以DNP+Tween60(80)混合柱主要用于酒样常规低沸点醇酯等成分分析。PEG20M柱对酒样中的醇酯基本能分离,和DNP混合柱相比,可多分离出甲酸乙酯、辛酸乙酯二组分,而且对异常发酵酒中的丙烯醛、丙烯醇均可分离出来。PEG20M一般多用于酒样中高沸点醇酯等芳香成分的分析。402柱的最大优点是能将水峰最先赶出而使其芳香成分不受水峰的干扰,而且最适作程升用。与DNP混合柱比较,402柱能多分离出庚醇、辛醇、庚酸乙酯、第三丁醇等峰。由于402柱与DNP混合柱及PEG20M柱对醇酯的出峰排列顺序大不一样,故该柱用于多柱法定性最好。

由于DNP混合柱、PEG20M和402柱自身物化特性的差异,故对同一样品酒的分析,酒中的微量芳香成分在其上所显示的保留值不同是理所当然的。也就是说三柱对酒样的分析各有各的优缺点。若能将三柱在定性定量上配合使用,则可起到取长补短之效果,在实际中是非常重要的。三柱配合使用可分离出甲醇、乙醇、正丙醇、第三丁醇、仲丁醇、异丁醇、正丁醇、第二戊醇、第三戊醇、异戊醇、正戊醇、正己醇、庚醇、辛醇、丙烯醇等15种醇;乙酸甲酯、乙酸乙酯、丙酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯、庚酸乙酯、辛酸乙酯、乳酸乙酯、乙酸正丁酯、乙酸正戊酯、乙酸异戊酯等12种酯;以及乙醛、糠醛、丙

烯醛、乙缩醛、双乙酰等成分。选用乙酸正丁酯和乙酸正戊酯分别为三柱的内标准物,进行各峰定量,提高了结果的准确性。

402柱和DNP柱均能将甲醇分离,此法可替代常规复杂费时的比色法,具有快速、准确的优点。当然在什么条件使用三柱中的哪一根柱最好,这要看分析的目的来选择,应具体情况具体分析。

七十二、何谓BDS柱? 你知道其色谱分析条件和图谱吗?

BDS是聚1,4-丁二醇丁二酸酯(1,4-butanediol succinate)的英文缩写,其他商品名为III-EFF-4B或LAC-6R-860。结构式为: $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{COO})_n\text{H}$ 。该固定液极性较强,特别适合于脂肪酸的分析,能分析主要的生物脂肪酸($\text{C}_{12}\sim\text{C}_{20}$)和游离脂肪酸($\text{C}_1\sim\text{C}_{10}$)及一元、二元、三元脂肪酸酯。BDS最高使用温度为230℃,使用溶剂为丙酮、氯仿、三氯甲烷,与其相似的固定液有DEGS(聚二乙二醇丁二酸酯)、PEG A(聚乙二醇己二酸酯)、NGA(聚新戊二醇己二酸酯)。BDS被常用作酒样中游离脂肪酸的分析,通常是将其酒中的酸用碱(四丁基氢氧化铵)中和成盐后,再加入苄基溴进行置换反应而转化为苄酯,然后进行色谱分析。现将白酒在BDS柱上的色谱分析条件和图谱介绍于下:

(1) 色谱仪及色谱条件

仪器: 岛津GC-5A色谱仪,氢火焰检测器。

色谱柱: 玻璃柱 $\phi 3\text{mm}$,长1.5m。

固定相: 10% BDS涂于shimalitlw60~80目上。

柱温: 150℃。

检测器进样室温度: 170℃。

灵敏度 $10^2 \text{M}\Omega \times 16$, 纸速 2.5cm/min。

N_2 : 55ml/min; H_2 : 50ml/min; Air: 1000ml/min。

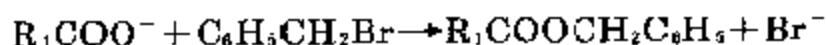
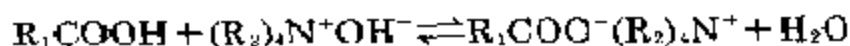
(2) 酒样处理: 采用苄酯化法内标物, 2-乙基正丁酸, 详见问答七十八。

(3) 分析图见图69。

七十三、BDS柱苄酯化法分析 白酒中酸有何特点?

本法灵敏度高, 能检出 0.2mg/100ml 的酸含量, 并且重现性好, 回收率通常在 90% 以上, 而且是恒温操作, 解决了一般甲酸、乳酸不能定量的困难, 故在工厂中常用。

四丁基氢氧化铵溶于很多有机溶剂。其阴离子是亲质子试剂, 与苄基溴进行置换反应:



过量的苄基溴用于保证反应完全, 特别是己酸以后的乳酸, 图谱中一定要有苄基溴的峰才能认为是过量的。所以要过量至计算量的 30~40%, 特别是含酸量高又含乳酸多的样品更要保证过量。苄基溴的峰不干扰酯峰, 反应后的混合物是稳定的, 数天后甲酸苄酯慢慢分解, 苄醇峰增加。

有的酒样出现苄醇峰可能来自样品中存在的少量二氧化碳, 以及碳酸盐所致, 它能转化成稳定的四丁基铵盐, 与苄基溴反应生成不稳定的苄基碳酸氢盐, 分解成苄醇和二氧化碳。

从标准酸的图谱上看出,异丁酸与内酸分不开,异戊酸与丁酸不能完全分离,在定量上有些误差。但一般酒中这两种异构酸的含量很少。该法选用2-乙基正丁酸作内标,该峰位于丁酸和戊酸之间,能完全分离。

内蒙轻工所,采用过3%PEG A涂于大连的405白色硅藻土(40~60目)上,用2m不锈钢柱,在上海100型色谱上分析,也可得到较好的分离,但不如上述条件下的BDS好。采用柱温150℃是为了便于推广应用,也可采用柱温130℃恒温4min后按2℃/min升至180℃,这样可缩短分析时间,使峰形更为规整。

本法测得的总酸量与化学滴定法分析的总酸基本相符合。但常规化学分析结果是以乙酸表示,当酒样其他酸含量多时,色谱法应比常规化学滴定法的结果高。

七十四、你知道白酒在Tween-60和Span-60混合柱上的分析条件和图谱吗?

Tween-60(吐温-60)为聚环氧乙烷山梨糖醇单硬脂酸酯;Span-60(司班-60)为脱水山梨糖醇单棕榈酸酯。这两种固定液均能分析含有不同极性化合物的混合物,如:含氧(醇、酯、酸等)化合物及香精油等。无锡轻院将这两种固定液混合,应用于白酒分析,其分离情况较好,能将乳酸乙酯、己酸乙酯、正己醇等分开,而且是恒温操作,出峰快,分析时间短。缺点是低沸点乙醛、甲醇、乙酸乙酯、乙缩醛等主要成分不能测定。白酒在Tween 60+Span 60混合柱上的分析条件为:

仪器: 上分100型色谱仪,氢火焰检测器。

色谱柱: 15% Tween60涂于上海201白色酸洗担体(40~

60目)上, 15% Span60涂于G201(大连)红色担体(60~80目)上。将这两种涂好的固定相以1:1比例混合均匀, 装入 ϕ 4mm、柱长2m, 另再串联1m长、只装Span60固定相的不锈钢柱上, 总长3m。

柱温: 110℃, 检测器120℃, 汽化室150℃。

N₂: 40ml/min; H₂: 40ml/min; Air: 250ml/min。

灵敏度1000M Ω , 衰减1/8, 纸速6mm/min。

进样量: 2 μ l, 用外标法进行定量。

洋河大曲在Tween 60+Span 60 混合柱上的色谱图如图66所示。

七十五、三乙醇胺+18醇混合柱 可用于白酒分析吗?

三乙醇胺具有较强极性和生成氢键的能力, 结构式为(CH₂CH₂OH)₃N, 可选择性地保留和分离醇、胺、吡啶和水等, 更适合于水溶液的分析。

而18醇主要是用来调节三乙醇胺的极性, 18醇本身可用作固定液, 其结构式为C₁₈H₃₇OH, 它可分离低沸点含氧化合物(如: 酯、醛等)及脂肪胺。上面两种固定液使用溶剂均为甲醇。三乙醇胺+18醇为强极性混合柱, 可用于白酒中低沸点成分的分离。四川省食品发酵工业研究设计院和黑龙江轻工所均介绍过此柱用于白酒分析情况。该柱的特点是极性很强, 可使甲酸甲酯、乙酸甲酯、乙酸乙酯和丙酸乙酯等都在乙醇大峰之前出峰, 很容易定量。该柱的具体操作条件为:

仪器: GC-5A(岛津)型气相色谱仪。

色谱柱: 20% 三乙醇胺; 10% 18醇涂于上试101硅烷化

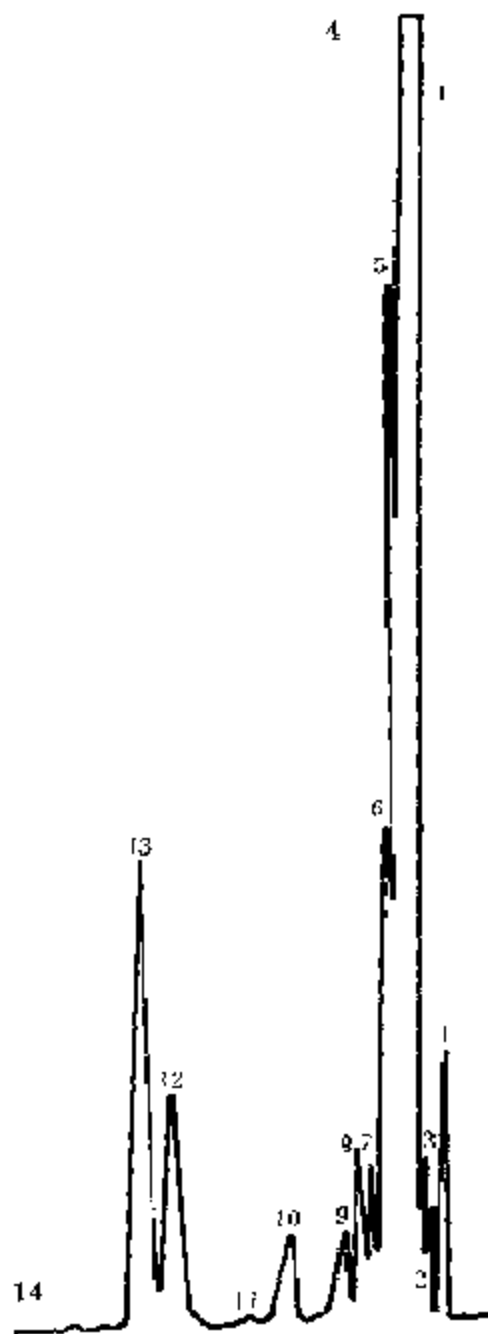


图 66 白酒在Tweeen60+Span60柱上图谱(洋河大曲)

1 未知 2 甲酸乙酯 3 未知 4 乙醇 5 未知
6 正丙醇 7 异丁醇 8 丁酸乙酯 9 正丁醇 10 异丁醇
11 正戊醇 12 乳酸乙酯 13 己酸乙酯 14 正己醇

(80~100目)担体上,柱长1.5m,内径4mm。

柱温: 40~80℃(程升)。

汽化室、检测室温度: 120℃。

七十六、气相色谱如何测定白酒中高沸点醇、酯等成分?

白酒中高沸点成分十分复杂,是构成白酒香、味成分的重要物质。主要包括醇、酸、酯、醛等化合物。世界著名蒸馏酒,如:泸州老窖、威士忌、白兰地、兰姆酒等经国内外的色谱工作者的努力,证明了香气成分主要是高级脂肪酸乙酯,例如:己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、月桂酸乙酯等和某些高级醇类如 β -苯乙醇等。

60年代初,我国内蒙古轻工所使用阴离子树脂除去酒样中的有机酸,然后加碱皂化蒸干,再加乙醇,用硫酸回流酯化,乙醚抽提得色谱分析样。在20% PEGA(聚乙二醇己二酸酯)柱上,从泸州老窖酒中分离出己酸乙酯、庚酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、琥珀酸乙酯等。黑龙江轻工所用PEGA柱确定了冬季白酒储存中发生絮状沉淀的是棕榈酸乙酯、油酸乙酯、亚油酸乙酯等组分。山西日化所采用硅油SE 30和PEGA柱定性出汾酒中 $C_6 \sim C_{14}$ 脂肪酸乙酯。轻工业部食品发酵所在日本柏原等工作基础上提出了用乙醚-戊烷抽提浓缩样品,氯化钠饱和溶液排除大量乙醇的干扰,在PEG20M柱上分离,用乙酸正庚酯作内标,对蒸馏酒中高级脂肪酸乙酯进行了定性定量,取得了突破性的进展,为以后白酒中的高沸点成分的分析打下了基础。白酒中高沸点成分的分析,不仅要采用有效的办法进行族分离或富集微量成分,即作样品的预处理,而且还要借

助高效能的色谱柱及高灵敏度的检测器。对于未定性的组分，还必须依靠质谱、光谱等现代化仪器来解决。

1. 填充柱上高沸点成分分析

(1) 色谱条件

仪器：岛津GC-5A型气相色谱仪，FID检测器。

固定相：10%PEG20M，担体shimalite(60~80目)。

色谱柱： ϕ 3mm，长3m不锈钢柱，柱温100℃，1min后按4℃/min程升至200℃。

检测器及进样器温度：230℃，灵敏度 $10^2 \times 64M\Omega$ 。

流动相：N₂ 55ml/min； H₂ 50ml/min； Air 1l/min。

(2) 分析步骤

① 酒样的预处理：吸取酒样50ml(或100ml)于100ml烧杯中，用0.5mol/L NaOH液在pH计上(配磁力搅拌器最好)中和至pH8.5~9.0，加入9~10g NaCl，搅拌至饱和，移入分液漏斗中，用100ml饱和NaCl液冲洗烧杯，加入分液漏斗中(以降低酒精度)，用25ml乙醚-戊烷(2:1)液振摇提取5min，分出下层残液于另一分液漏斗中，再加25ml乙醚-戊烷提取一次，合并提取液，为除去大部分乙醇，提取液用50ml蒸馏水分两次洗涤，弃去水层，醚层加入少许无水硫酸钠脱水、过滤。在K.D浓缩器中，浓缩至0.5ml。

② 酒样的测定方法：将22.9 μ l 5%(V/V)乙酸正庚酯的丙酮溶液作为内标物加入到上述浓缩液中，在上述色谱条件下进样4 μ l分析，见图67。

(3) 计算

$$c_i = f_i \frac{A_i}{A_s} \times 2.0$$

式中 c_i ——组分的含量(mg/100ml)

A_i ——组分峰面积(cm^2)

A_s ——内标物峰面积(cm^2)

f_i ——组分相对校正因子(见表9)

2.0 —— 100ml酒样中内标物的毫克数

表 9 高沸点成分在PEG20M柱上的相对保留
时间及相对校正因子(以乙酸正庚酯为内标)

名 称	相对保 留时间	相对校 正因子	名 称	相对保 留时间	相对校 正因子
辛酸乙酯	1.20	1.010	癸 醇	2.25	1.030
庚 醇	1.28	1.050	β -庚酸正庚酯	2.47	1.010
庚 醛	1.29	2.000	月桂酸乙酯	2.58	1.010
正 辛 醇	1.41	1.030	β -辛乙醇	2.77	1.100
壬 酸 乙 酯	1.55	1.010	月 桂 醇	2.93	1.800
乳酸异戊酯	1.64	1.900	肉豆蔻酸乙酯	3.29	1.075
2,3-丁二醇	1.82	2.300	肉 豆 蔻 醇	3.57	1.200
癸 酸 乙 酯	1.92	1.010	棕榈酸乙酯	4.04	1.136
庚 醇	1.92	4.600	油 酸 乙 酯	5.84	1.136
十二酸二乙酯	2.02	1.950	亚油酸乙酯	6.42	1.136

(4) 说明 酒样若不加碱中和除去酸, 那么酸的存在要干扰分析, 造成拖尾现象。以同一酒样对比10%PEG20M, 10%BDS, 5%SE30三种固定液, 其结果以PEG20M为最佳。所以分析酒样中的高沸点成分, 通常采用10%PEG20M固定液。

2. 毛细管柱上高沸点成分分析

(1) 色谱条件

仪器: 岛津GC-7AG气相色谱仪, FID检测器。

色谱柱: 长50m, ϕ 0.3mm玻璃毛细管柱, 内涂10%PEG 20M固定液。

柱温: 70℃恒温4min, 以1℃/min升至180℃。

检测器: 进样器温度180℃, 灵敏度 $10^2 \times 64\text{M}\Omega$, 衰减1。

流动相: N_2 50ml/min, 尾吹(N_2) 40ml/min, 分流比: 1:50;

H_2 40ml/min($0.6kg/cm^2$); Air 400ml/min($0.5kg/cm^2$).

(2) 分析步骤 酒样预处理及测定方法: 预处理方法同上, 但在吸取酒样50ml(或100ml)于100ml烧杯中时, 加入1%乙酸正庚酯(以50%乙醇溶解)0.1ml于内, 然后用NaOH液在pH计上中和, 直至浓缩到0.5ml, 用微量进样器在上述条件下进样2 μ l分析(见图67, 68)。

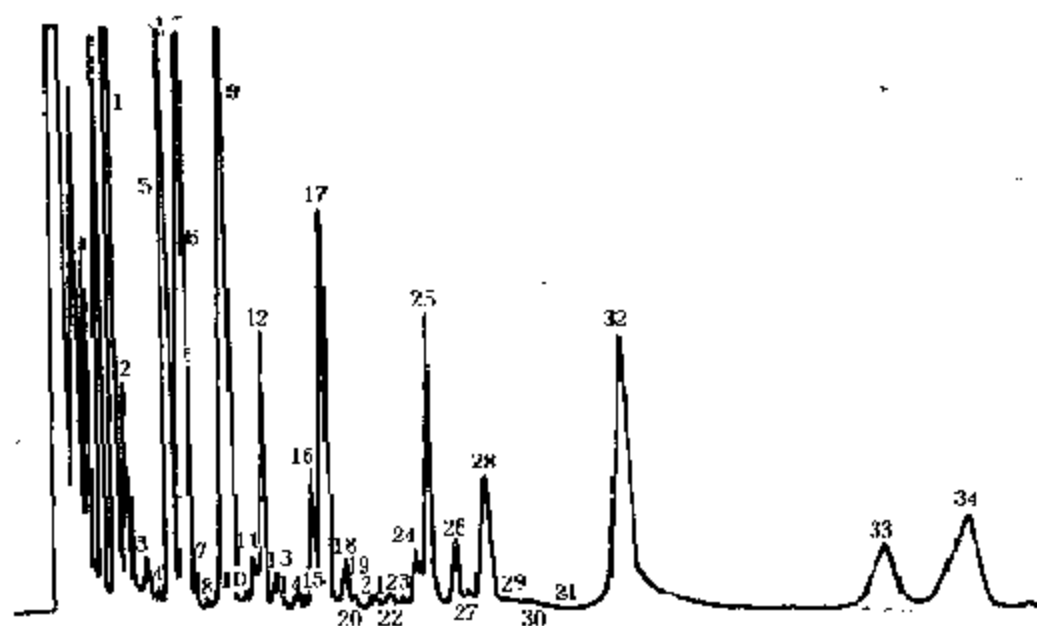


图 67 白酒高沸点成分在PEG20M柱上图谱(乙醚-戊烷抽提)

1- 异戊醇 2- 己酸乙酯 5- 庚酸乙酯+乳酸乙酯+正戊醇 6- 内标

7- 辛酸乙酯 8- 庚醇 9- 糠醛 10- 正辛醇 12- 壬酸乙酯 13- 乳酸异戊酯 14- 2,3-丁二醇 15- 癸酸乙酯 16- 糠醇+己二醇 17- 丁二酸二乙酯 20- 癸醇 22- β -乙酸苯乙酯 23- 十二酸乙酯 25- β -苯乙醇 26- 十二醇 28- 十四酸乙酯 31- 十四醇 32- 十六酸乙酯 33- 油酸乙酯 34- 亚油酸乙酯 3,4,11,18,19,21,24,27,29,30- 未知

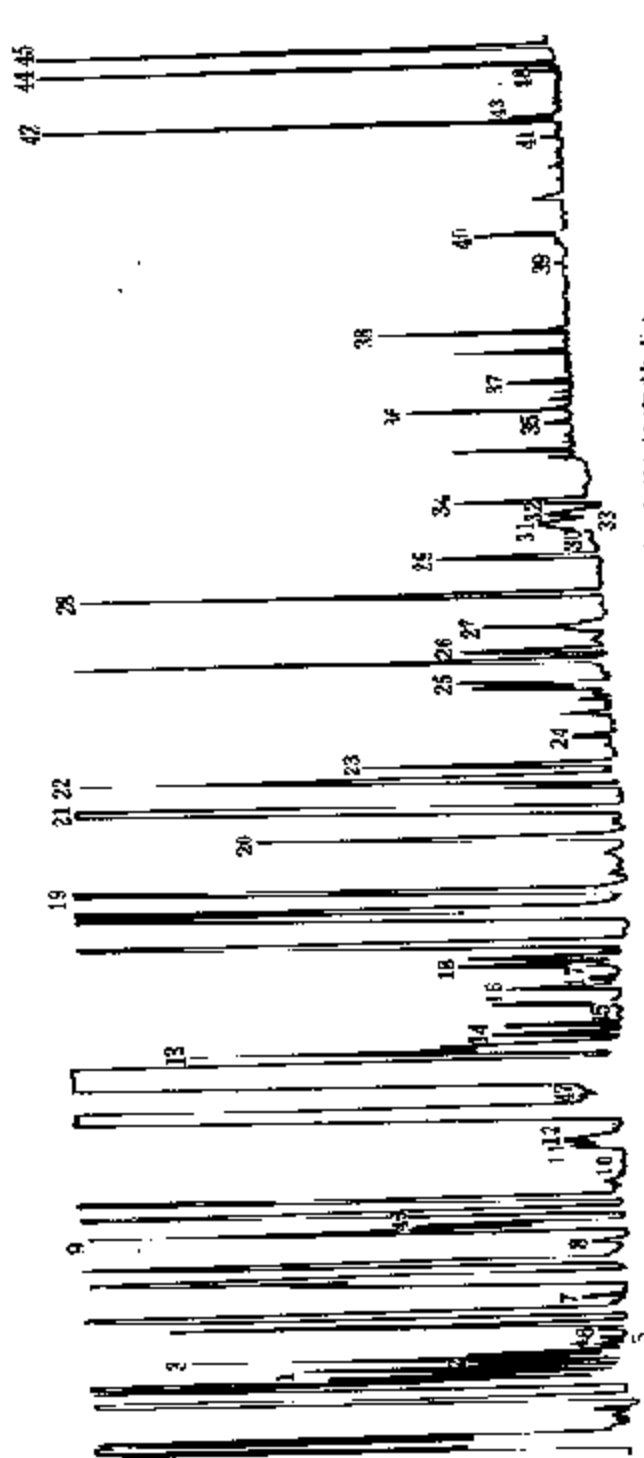


图 68 白酒高沸点成分毛细管色谱图(泸州老窖特曲)

- 1-丙酸乙酯 2-异丁酸乙酯 3-乙酸丙酯 4-乙酸异丁酯 5-异戊酸乙酯 6-叔戊醇 7-叔己醇 8-戊醇 9-乙酸异戊酯 10-乙酸正戊酯 11-丙酸异戊酯 12-第一己醇 13-丁酸戊酯 14-乙酸正己酯 15-环戊酯 16-7-庚醇 17-戊酸丁酯 18-异己醇 19-乙酸正庚酯 20-环己醇 21-辛酸乙酯 22-己酸异戊酯 23-庚醇 24-7-庚酸乙酯 25-壬酸乙酯 26-辛醇 27-乳酸异戊酯 28-2,3-丁二醇 29-丁二酸二甲酯 30-癸酸乙酯 31-苯甲酸乙酯 32-糠醇 33-壬酸 34-丁二酸二乙酯 35-癸醇 36-苯乙酸乙酯 37-月桂酸乙酯 38-β-萘乙醇 39-月桂醇 40-肉豆蔻酸乙酯 41-肉豆蔻醇 42-棕榈酸乙酯 43-肉桂醇 44-油酸乙酯 45-亚油酸乙酯 46-丁酸丙酯 47, 48-未知峰

(3) 计算 同上。

(4) 说明 高沸点定性比较复杂,一般还是采用标准物质对照定性,或峰高增加法定性或双柱和多柱定性。

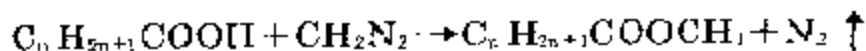
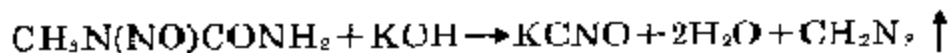
七十七、白酒中有机酸分析常用衍生物 酯化法有哪些? 如何衍生化?

酒中有机酸分析一般是采用加碱中和成盐,再用衍生化试剂使之转变成相应的酯类,然后进行分离;也可以不经处理直接进样分析,但这种方法对色谱柱性能要求较高,特别是要求柱子的内壁是非极性,所以通常采用弹性石英毛细管柱。对于酒厂来说,多数采用的是衍生物酯化法。

1. 重氮甲烷甲酯化法

酒样用氢氧化钾中和,并减压浓缩得钾盐液,加入1:1硫酸,使钾盐转化为游离酸,然后加入无水硫酸钠至饱和,用乙醚提取4次,每次5ml,提取液浓集了有机酸类,在通风柜中将此乙醚溶液冷却至0℃,加入新蒸出的重氮甲烷乙醚溶液,这样甲酯反应十分迅速。反应过程逸出氮气,直至不再发生氮气泡时,甲酯化即告完成,可作为色谱分析用样。

重氮甲烷是用亚硝基甲脒、氢氧化钾和乙醚为原料而制得的。该甲酯衍生化法有转化率高、且不引入杂质的优点。但重氮甲烷有剧毒,并易在玻璃尖锐边缘结晶而引起爆炸,操作时应特别小心,全部操作都应在通风柜中进行。反应如下:



2. 季胺盐甲酯化法

用四甲基氢氧化铵将酸中和生成相应的季胺盐,然后加热生成相应的甲酯和三甲胺,酸的残留液,用盐酸酸化至pH1~2,再用乙醚提取4次(50,40,30,20ml),合并提取液,加入2g硫酸钠,过滤入烧杯,在40℃水浴上除醚,加1滴1%酚酞为指示剂,用10或20%浓度的四甲基氢氧化铵滴至溶液变红,并过量5滴。在封闭电炉上加热,使其沸腾至微稠状,冷却作为色谱用样。

3. 乙酯化法

将干燥的挥发性脂肪酸盐,溶于少量无水乙醇中,加约1ml饱和二氧化硫的浓硫酸在室温下放置12h。用碳酸钙中和硫酸,加少量 α -萘基异氰酸酯,在密闭的试管中加热40℃,放置24h。用戊烷萃取酯,定容至10ml,作为色谱用样。

4. 苯酯化法

请详见问答七十八。

5. 异丙酯化法

酒样用四甲基氢氧化铵中和,使各种有机酸生成相应的季胺盐。然后在二甲基乙酰胺中,室温下用2-碘代丙烷将盐转变为各酸对应的异丙酯,可作为色谱用样。

该法操作简便,各酸(包括甲酸及乳酸)分离良好,定量准确,且能在DNP+Tween(60)80柱上分析,但所使用的试剂中有的价格很贵。

七十八、通常白酒中有机酸分析,试样如何制备? 怎样求各酸相对校正因子?

白酒中有机酸分析通常采用苯酯化法,该法解决了一般

甲酸、乳酸不能定量的困难。BDS(1,4-丁二醇琥珀酸聚酯)为固定液,可分离C₁~C₃的脂肪酸和乳酸、异丁酸、异戊酸等11种成分。选用2-乙基正丁酸为内标,酯化在室温下进行,操作简便,灵敏度高。

1. 试样制备

吸取酒样10ml于小烧杯中,加水稀释至约20ml,准确加入5%(W/V)2-乙基正丁酸乙醇液0.35ml作内标,在pH计上电磁搅拌下,用0.03mol/L四丁基氢氧化铵小心中和至pH9.0。然后定量移入蒸发皿中,于水浴上蒸干。冷至室温,加入5ml丙酮,使其充分溶解,吸清液2ml于10ml带塞试管中。根据计算量,用微量注射器加入苄基溴,室温下放置2h,使酸衍生成苄酯,即为色谱用样。进样2μl,图谱如图69所示。

$$\text{苄基溴加入量}(\mu\text{l}) = \frac{171.64 \times c \times V}{1.438} \times \frac{2}{5} \times 1.3$$

式中 c ——四丁基氢氧化铵的浓度

V ——中和时四丁基氢氧化铵所用ml数

1.3——为保证苄酯化完全,苄基溴用量比计算量增加30%

2. 色谱条件

仪器: 岛津GC-5A气相色谱仪, FID检测器。

固定相: 10%1,4-丁二醇琥珀酸聚酯(BDS),担体shimalitew(60~80目)。

色谱柱: 长1.5m, φ3mm玻璃柱。

柱温: 150℃, 检测器及汽化室温度170℃。

灵敏度 $10^2 \times 16M\Omega$, 纸速2.5cm/min。

3. 结果计算

根据各峰的峰面积及相对校正因子,用内标法定量如下:

$$c_i = f_i \frac{A_i}{A_s} \times m_s$$

式中 c_i ——组分含量(mg/100ml)

A_i ——组分峰面积(cm^2)

A_s ——内标物峰面积(cm^2)

f_i ——组分相对校正因子

m_s ——内标物重量(mg)

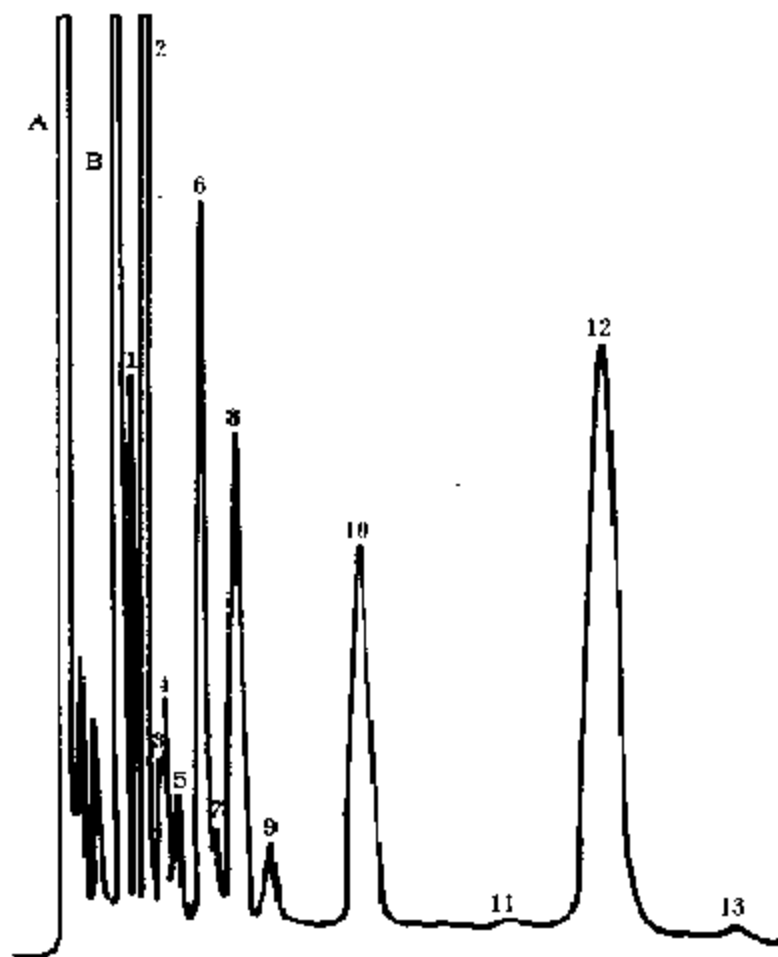


图 69 白酒的有机酸色谱图

A—丙酮及其杂质 B—苯基溴

1—甲酸 2—乙酸 3—异丁酸 4—丙酸 5—苯醇 6—丁酸 7—异戊酸

8—内标 9—戊酸 10—己酸 11—庚酸 12—乳酸 13—辛酸

4. 各酸相对校正因子的测定

(1) 试剂的配制

① 四丁基氢氧化铵用水稀释配成0.03mol/L浓度,用标准盐酸在酸度计上,以pH9为终点,标定标准浓度。

② 2-乙基正丁酸标准溶液:准确称取0.5000g溶于乙醇中定量至100ml。

③ 甲、乙、丙、正丁、异丁、异戊酸标准溶液制备:分别称取0.5000g,用水溶解定容为100ml。

④ 分别称取戊酸、己酸1.000g,用丙酮定容至100ml;称取庚酸0.5000g,用丙酮定容至100ml。

⑤ 称取辛酸0.5000g,用乙醇定容至100ml;称取乳酸1.000g,用蒸馏水定容至100ml。

(2) 标样的制备 准确吸取上述各标准酸及内标液2ml,用0.03mol/L四丁基氢氧化铵中和至pH9.0,水浴上蒸干。用丙酮将盐溶解定容至25ml,吸取2ml,按计算量(上述)加入苯基溴,酯化2h,其方法同前。将其酯化液按上述色谱条件,进样2 μ l。色谱图如图70所示。

(3) 相对校正因子的计算 根据(2)的各酸峰面积及内标物量,采用内标法进行定量计算,如下:

$$f_i = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{m_i}{m_s}$$

式中 f_i ——各酸组分相对校正因子

A_s ——内标物峰面积(cm^2)

A_i ——组分峰面积(cm^2)

m_i ——组分重量(mg)

m_s ——内标物重量(mg)

按此法测得的各酸相对校正因子见表10。

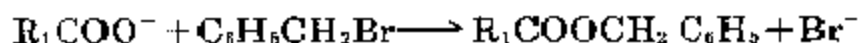
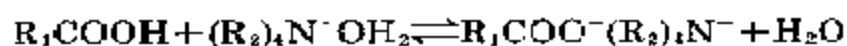
表 10

各酸相对校正因子

组分名称	相对保留值(s_r)	相对校正因子(f_r)
甲 酸	0.41	0.76
乙 酸	0.48	0.76
异丁酸	0.67	0.85
丙 酸	0.61	0.85
正 醇	0.67	
丁 酸	0.81	0.84
异戊酸	0.88	0.96
内 标	1.00	1.00
戊 酸	1.19	1.13
己 酸	1.74	0.92
庚 酸	2.58	1.10
乳 酸	3.11	1.70
辛 酸	3.82	1.14

5. 苯酯化法说明

(1) 四丁基铵盐溶于很多有机溶剂, 其阴离子是很好的亲质了试剂, 能与苄基溴进行置换反应:



加入过量30%的苄基溴是用于保证反应完全。特别是含酸量大, 又含乳酸多的样品, 图中一定要有苄基溴的峰才能认为是过量的, 否则可补加苄基溴, 置2h后再行分析。反应的混合物是稳定的, 数天后甲酸苄酯慢慢分解。

(2) 有的样品出现苄醇峰, 是样品存有少量二氧化碳以及碳酸盐所致, 它能转化成稳定的四丁基铵盐, 与苄基溴反应生成了稳定的苄基碳酸氢盐, 分解成苄醇和二氧化碳。

(3) 苄基溴为强烈催泪毒气, 使用和储存时要小心, 一般

在通风柜中进行。

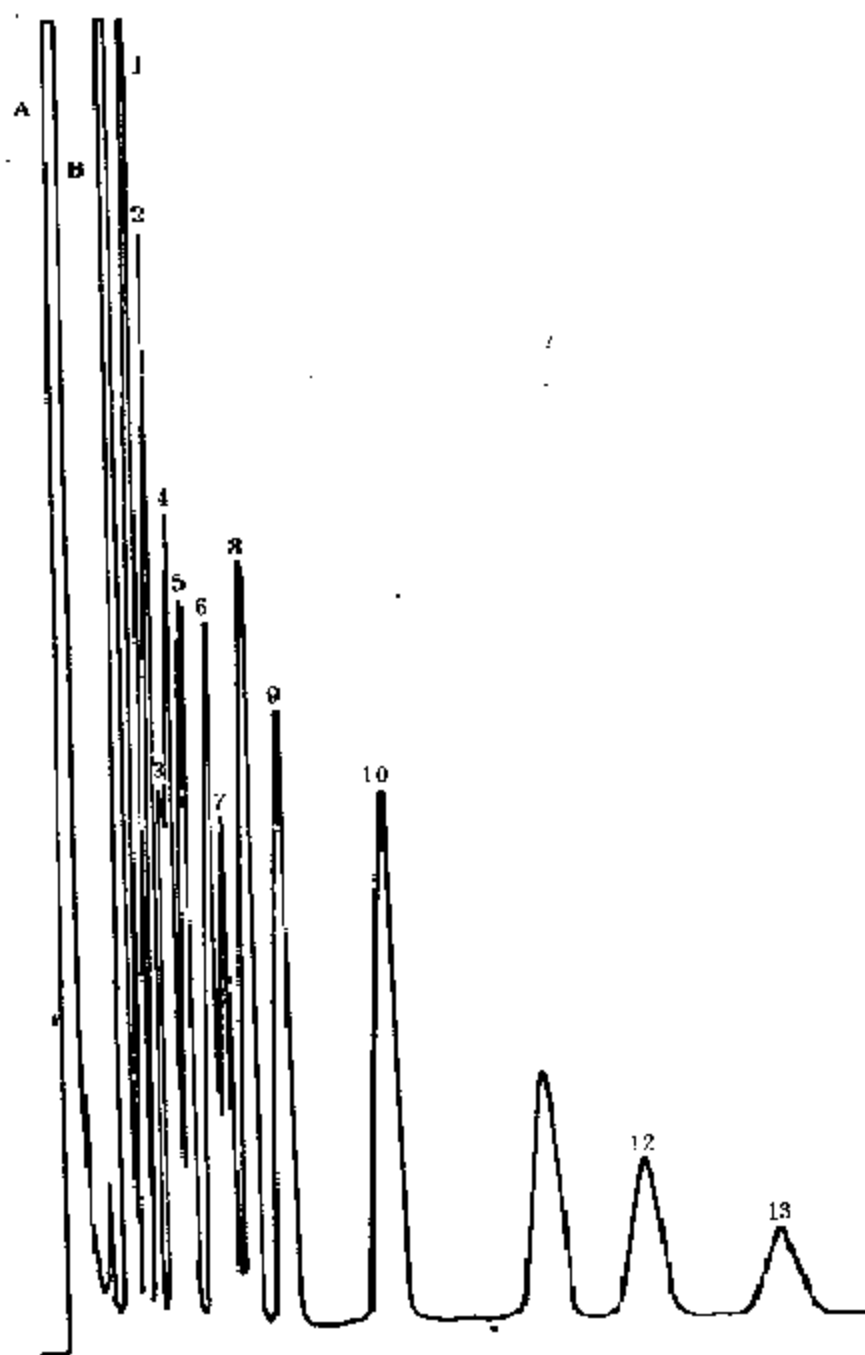


图 70 标准酸的苯酯色谱图

1~13峰名同图69

(4) 如果测定样品是发酵液，则取样1~2ml，照上法进

行。月内酮溶解时沉淀很多,也可用丙酮分次溶解,定容在刻度离心管中,离心后取上层清液2ml进行苯酯化。如发酵时添加有碳酸钙,需预先经H⁺型(732树脂于 ϕ 10mm $\times$ 100mm柱中)阳离子交换柱脱钙成游离酸后,按上法处理样品。

(5) 本法灵敏度较高,能检出0.2mg/100ml的酸,重现性好,其回收率都在90%以上。

七十九、有何新方法在DNP+Tween 80混合柱上分析白酒及发酵液中的有机酸?

目前白酒中有机酸分析主要采用苯酯化法,用BDS作固定液,可得到满意的结果(请见七十八)。但该法所使用的酯化试剂是苯基溴,该试剂是强催泪且有毒物品,使用和储存都不方便,而且酯化时速度缓慢,往往不能满足快速分析的需要。而直接进样法,仍需要对样品进行预分离处理,而且难以测定响应讯号极小的甲酸以及对发酵过程和白酒风味具有突出影响的乳酸含量,同时又往往需要程序升温操作。为了克服两者之缺点,色谱分析工作者试验出新的方法解决了这一矛盾。

1. 色谱条件

仪器: SC-6型气相色谱仪(四川分析仪器厂),FID检测器。

固定相: 15% DNP+10% Tween80混合固定液涂于6201(100~120目)红色担体上。

柱温: 125℃,汽化室及检测器温度150℃。

流动相: N₂ 40ml/min; H₂ 40ml/min; Air 500ml/min。

灵敏度: $10^9\Omega$ 。

衰减: 1/1(1 : 1)。

2. 试剂

标准酸溶液: 1ml 50% 的乙醇溶液中含甲酸、乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸各0.50mg, 含戊酸与2-乙基正丁酸各0.75mg, 含己酸1.50mg, 乳酸2.00mg。

四甲基氢氧化铵溶液: 25% 的分析纯试剂配制成0.10 mol/L。

碘乙烷: 分析纯。

二甲基乙酰胺(DMAA): 化学纯。

1%(W/V)的2-乙基正丁酸溶液: 100ml 50% 乙醇溶液中含1.00g 2-乙基正丁酸。

3. 分析步骤

取己酸菌发酵液(或白酒适量)1.00ml, 用5倍试样体积的酒精稀释后(白酒不用稀释), 加入1% 2-乙基正丁酸液0.2ml, 充分振荡摇匀。离心, 其澄清液转入蒸发皿中, 立即用0.10mol/L 四甲基氢氧化铵溶液中和至pH8.5~9.0, 然后将蒸发皿置于水浴上蒸干, 冷却至室温后, 用1ml DMAA溶解剩余有机酸盐。溶液转入干净的具塞试管中, 加入2倍中和时所消耗四甲基氢氧化铵mol数的碘乙烷。紧塞, 摇匀, 室温下放置30min, 可作为色谱用样分析。如图72所示。

4. 计算

如同前法一样。

5. 各酸相对校正因子测定

取上述标准酸溶液1ml, 置于蒸发皿中, 立即用0.10mol/L 四甲基氢氧化铵溶液中和至pH8.5~9.0, 将蒸发皿置于水浴上蒸干, 冷却至室温后, 用1ml DMAA溶解剩余有机酸盐。其

余同上述3处理方法,进样分析。如图71所示。

相对校正因子(f_i)的计算同问答七十八。

6. 该分析方法说明

(1) 在二甲基乙酰胺等一类非质子偶极溶剂中,室温下用碘乙烷将 $C_1 \sim C_6$ 脂肪酸及乳酸的四甲基铵盐转化为各酸对应的乙酯。本反应迅速,条件温和,乙酯产率高,且操作简便,分析快速,值得推广。

(2) 经试验,固定相选用15% DNP+10% Tween80等,各酸的乙酯能获得定量分离,过量的碘乙烷与溶剂大峰均不干扰测定。Tween80不仅可以调节固定液极性,而且可以抑制溶剂峰的严重拖尾。

(3) 为核实该法的准确性,对主要酸类组分采取样品加标样测定其回收率,按上述条件测定结果如表11所示。

表 11 己酸菌发酵液中主要组分回收率

分析结果(mg/100ml)

组 分	标 准 酸 加 入 量	色谱分析结果				平均回收率 (%)
		1 次	2 次	3 次	平均值	
戊 酸	400	410	402	419	410	103
	600	641	613	627	627	105
丁 酸	150	145	158	155	153	102
	250	264	254	257	258	103
乙 酸	150	149	134	152	145	96.70
	250	251	242	249	247	99.0
乳 酸	50	47.30	44.6	52.8	48.2	96.4
	100	90.4	92.1	97.7	93.4	93.4

由表11可知,该法不仅操作简便,分析快速,且准确可靠。

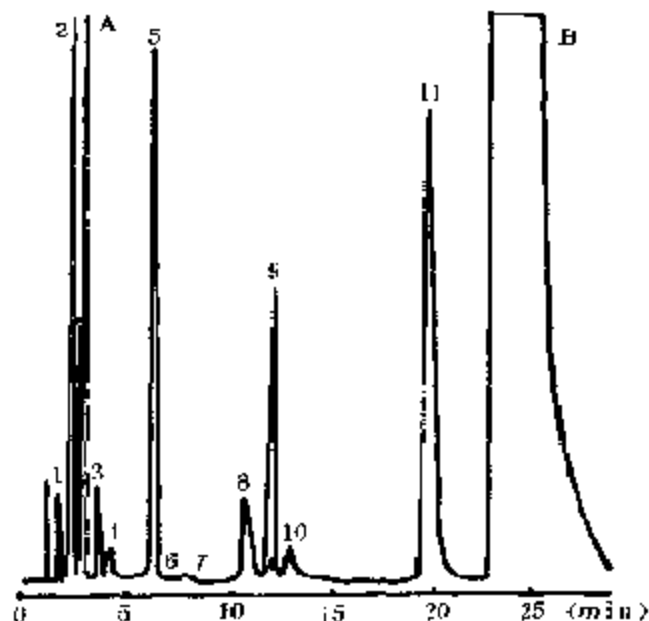


图 71 发酵液中酸的乙酯衍生物图谱

1—甲酸 2—乙酸 3—丙酸 4—异丁酸 5—丁酸 6—2-甲基丁酸 7—异戊酸
8—戊酸 9—2-乙基正丁酸 10—乳酸 11—己酸 A—溴乙烷 B—二甲基乙酰胺

八十、直接进样可同时分析白酒中的醇、酯、醛及有机酸等微量成分吗？

白酒中醇、酯、醛及有机酸的传统色谱分析方法是要分两步进行的，一般是先用DNP+Tween80混合柱直接进样分析酒中的醇、酯、醛等微量成分，然后再用衍生酯化法在BDS柱上分析酒中的有机酸。所以若要同时分析这些成分就得要准备两根色谱柱，即所谓的“酯柱”(DNP柱)和“酸柱”(BDS柱)。如果只有一台色谱仪，那么就要换柱。鉴于此，有的厂准备两台色谱仪，一台用于装DNP柱，另一台用于装BSD柱，以满足全分析需要。而根据问答七十九，仍可在DNP柱上分析有机

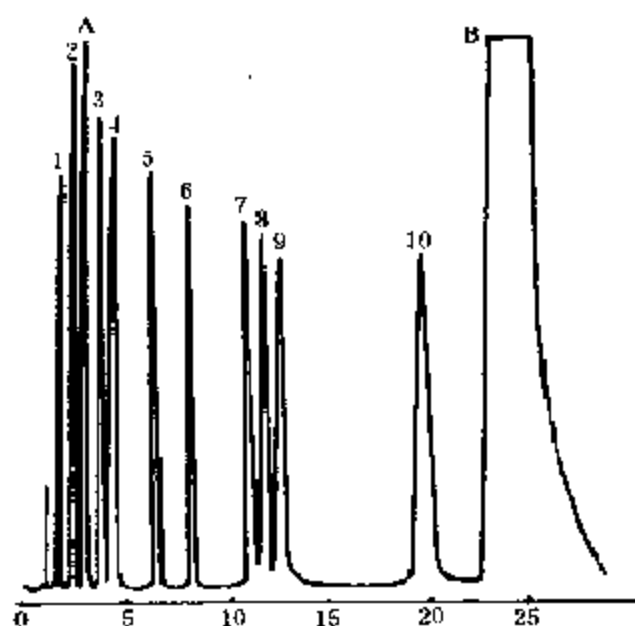


图 72 标准酸乙酯衍生物图谱

1 甲酸 2—乙酸 3—丙酸 4—异丁酸 5 丁酸 6—异戊酸 7—戊酸

8—2-乙基正丁酸 9—乳酸 10 己酸 A—碘乙烷 B—二甲基乙酰胺

酸,但还是要衍生预处理。总之,传统法很麻烦。由于毛细管色谱技术的发展,使传统的方法得到了彻底的改进。胡国栋等人率先利用PEG20M交联石英毛细管柱直接进样分析白酒中的醇、酯、醛、有机酸等成分,可以对14种醇类,13种酯类,7种羰基化合物,8种有机酸,1种缩醛,1种吡嗪,共44种微量成分进行定量。它避免了传统法的麻烦,也避免了由于中和蒸发过程中酯水解生成相应的酸而使酸的分析结果偏高的种种弊病。而且目前国产色谱仪均可安装毛细管柱,所以在一般酒厂中很有推广应用价值。

1. 色谱条件

色谱仪: 岛津GC-9A气相色谱仪, FID检测器, C-R3A积分仪。

色谱柱: PEG20M交联石英毛细管柱, 长37m, 内径

0.25mm, 理论塔板数为2418片/m(用正十四烷测得)。

柱温: 60℃恒温2min, 以3.5℃/min升至130℃。

检测器、进样器温度: 250℃。

灵敏度10' MΩ, 衰减4, 纸速10mm/min。

流动相: N₂线速17.3cm/s, 分流比64:1, 尾吹30ml/min;

Air 0.5kg/cm²; H₂ 0.5kg/cm²。

2. 分析操作步骤

在10ml容量瓶中, 准确加入10ml酒样。然后加入0.10ml 2%三内标混合液, 充分摇匀, 作为色谱分析用样。进样量2μl。如表12和图73所示。

3. 结果计算 同问答七十八。

4. 相对校正因子的测定

(1) 标样的配制 配制一定浓度的各种标样混合液, 用60%(V/V)乙醇溶解。

(2) 2%三内标混合液 准确吸取0.5ml叔戊醇, 0.5ml乙酸正戊酯, 0.5ml 2-乙基正丁酸标样于25ml容量瓶中, 用60%乙醇定容至刻度。

(3) 测定步骤 在10ml容量瓶中, 准确加入10ml标样, 再加入0.10ml 2%三内标混合液, 混匀, 在上述条件下进样2μl。

(4) 计算

$$f_i = \frac{m_i}{m_s} \cdot \frac{A_s}{A_i} = \frac{V_i d_i}{V_s d_s} \cdot \frac{A_s}{A_i}$$

式中 f_i ——各组分相对校正因子

V_i ——所吸取各标样的体积数(ml)

V_s ——内标物体积数(ml)

d_i ——所吸取各标样的相对密度

d_s ——内标物相对密度

按此法测得的各组分相对校正因子见表13。其余同问答七十八。

表 12 PEG20M交联石英柱上白酒中各组分名称

序号	名 称	序号	名 称	序号	名 称
1	乙 醛	23	乙酸正戊酯	45	苯 甲 醛
2			(内标)	46	丙 酸
3	异 丁 醛	24		47	
4	甲酸乙酯	25	2-甲基-1	48	异 丁 酸
5	乙酸乙酯		丁醇	49	
	乙 醇 酸	26	异戊醇	50	2,3-丁二醇
6	甲 醇	27	己酸乙酯	51	
7	异 戊 醛	28		52	
8	乙 醇	29	正 戊 醇	53	丁 酸
9	2-戊酮	30		54	糠 醇
10	叔 戊 醇	31	醋 酸	55	异 戊 酸
11	2-丁醇	32		56	丁二酸二甲酯
12	丁酸乙酯	33	庚酸乙酯	57	
13	正 丙 醇	34	乳酸乙酯+	58	戊 酸
14			正 己 醇	59	2-乙基正丁酸
15	1,1-二乙氧	35			(内标3)
	基异戊烷	36	己酸丁酯	60	
16	乙酸丁酯	37		61	
17		38	辛酸乙酯	62	苯乙酸乙酯
18	异 丁 醇	39		63	己 酸
19	乙酸异戊酯	40	己酸异戊酯	64	
20	戊酸乙酯	41	正 庚 醇	65	
21	2 戊醇	42	乙 醇	66	β -苯乙醇
22	正 丁 醇	43	糠 醛	67	庚 酸
		44			

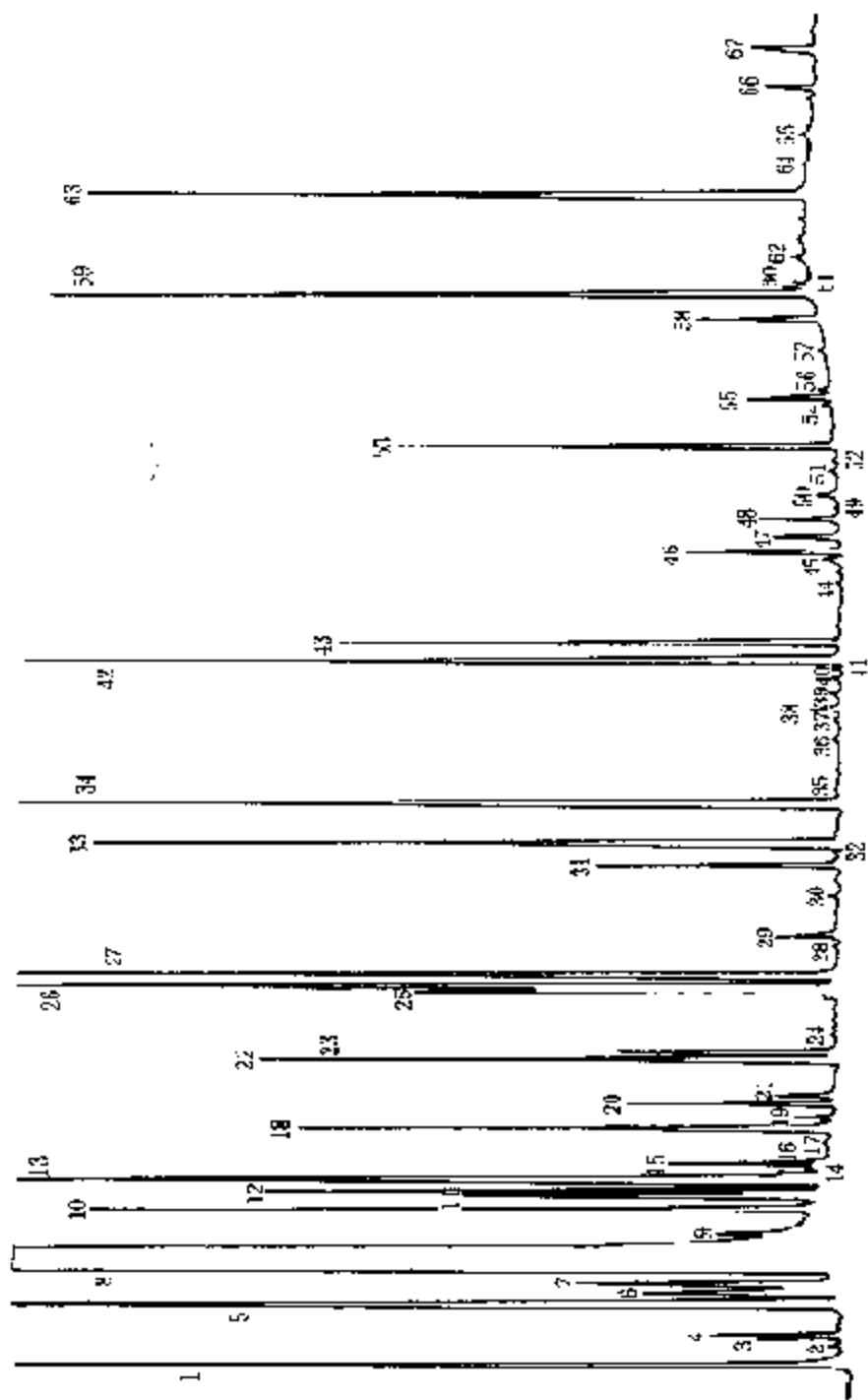


图 73 PEG20M交联石英柱白酒图谱(各峰名见表12)

表 13 各组分的相对校正因子

采用叔戊醇作内标		采用乙酸正戊酯作内标		采用2-乙基正丁酸作内标	
组分名称	相对校正因子	组分名称	相对校正因子	组分名称	相对校正因子
四 醇	2.18	乙 醛	1.80	醋 酸	4.14
2-丁醇	1.29	异 丁 醛	1.64	乳酸乙酯	1.60
正 丙 醇	1.23	甲酸乙酯	1.49	乙 酸	4.50
异 丁 醇	1.08	异 戊 醛	1.46	糠 醛	1.14
2-戊醇	1.12	2-戊酮	0.96	四甲基吡嗪	0.75
正 1 醇	1.14	丁酸乙酯	1.17	苯 甲 醛	0.61
2-甲基-1-丁醇	0.99	1,1-二乙氧基异戊烷	1.25	丙 酸	2.11
异 戊 醇	0.89	乙酸丁酯	1.11	异 丁 酸	1.32
正 戊 醇	1.06	丙酸异戊酯	1.12	2,3-丁二醇	3.22
正 己 醇	1.06	戊酸乙酯	1.18	丁 酸	1.57
正 庚 醇	1.07	己酸乙酯	0.98	糠 醇	1.14
		庚酸乙酯	1.04	异 戊 酸	1.06
		己酸丁酯	0.94	丁二酸二乙酯	1.27
		辛酸乙酯	1.04	戊 酸	1.26
		己酸异戊酯	0.92	苯乙酸乙酯	0.77
				己 酸	1.23
				β -苯乙醇	0.89
				庚 酸	1.21

5. 说明与讨论

(1) 该方法1次直接进样可获得67个组分峰,经GC-MS分析,结合标样核对,使其中40多个组分获得了确切的定性,见表12。

(2) 白酒香味成分十分复杂,组分种类多,从乙醛(21℃)到庚酸(233℃)的沸点范围变化大,汽化情况不同,加上毛细管色谱的分流进样,就不可避免地要产生歧视效应。为了克服

这种效应,除将汽化室温度提高到250℃外,还选择了3种不同的内标物,分别用于不同挥发度和不同沸点范围的组分分析,即叔戊醇作内标用于醇类分析;乙酸正戊酯作内标用于酯及醛、酮类分析;2-乙基正丁酸作内标用于酯类、乳酸乙酯及乙酸后的高沸点组分分析,这样提高了定量分析的准确度和精密度。

(3) 本法采用直接进样定量分析,克服了萃取浓集过程中,由于萃取率不同,回收率差等难以准确定量的缺点,达到了方便、快速、准确的要求。但本法分离醋酸乙酯和乙缩醛,乳酸乙酯和正己醇不理想,乳酸也在该柱上分离不出来,这些均是该法的缺点,还有待于更进一步的研究。

八十一、气相色谱如何测定白酒中的高级脂肪酸?

白酒中高级脂肪酸一般指己酸以后的有机酸,如庚酸、辛酸、壬酸、癸酸、月桂酸等。虽含量很微,但是构成白酒的风味成分之一,曾祖训等人对此作了深入研究。酒样用氢氧化钾中和,使酸转变为钾盐,然后经乙醚-戊烷抽提分离,蒸干除去醇酯,皂化后用氯化铵-硫酸甲醇液酯化,用乙醚抽提分离所得的甲酯即可作为色谱用样。采用BDS柱分离,用十五酸作内标,能分离出C₆~C₁₈的高级脂肪酸共14种。

1. 试剂

0.4mol/L氢氧化钾水溶液,0.5mol/L氢氧化钾的无水甲醇液。

氯化铵-硫酸甲醇液: 2g NH₄Cl加入60ml甲醇,接着加

入3ml浓 H_2SO_4 ,该混合物接水冷凝器,回流15min.

乙醚、戊烷、氯化钠、无水硫酸钠等试剂。

1. 五酸标准液: 100mg 十五酸溶于100ml甲醇中, 作内标. 50ml烧瓶, K.D浓缩器, pH计, 分液漏斗等。

2. 色谱条件

仪器: 岛津GC-5A气相色谱仪, FID检测器。

固定相: 10% 1,4-丁二醇琥珀酸聚酯(BDS), shimalit-ew(60~80目)担体, 长为2m, 内径为3mm的玻璃柱。

柱温: 120℃恒温1min后, 按8℃/min速度升至190℃。

检测器、进样器温度: 240℃。

灵敏度: $10^2 \times 16\text{M}\Omega$ 。

N_2 : 60ml/min; H_2 : 50ml/min; Air: 1L/min。

3. 分析操作步骤

准确吸取酒样50ml于100ml烧杯中, 在pH计上用0.4mol/L KOH液中和至pH9.0~9.5。全部移入250ml分液漏斗中, 加入0.5g氯化钠, 加25ml乙醚-戊烷(2:1), 摇动抽提1min。分层后放出下部分水层于另一分液漏斗中, 再用25ml乙醚-戊烷抽提一次, 放下部水层于玻璃蒸发皿中, 在水浴上蒸干, 将此残留物用5ml 0.5mol/L KOH甲醇液, 分次洗入50ml圆底烧瓶中, 可用少量甲醇洗洁器皿。准确加入十五酸内标液0.2ml。接上冷凝器回流煮沸3min, 加入15ml $\text{NH}_4\text{Cl}-\text{H}_2\text{SO}_4$ 甲醇液, 回流酯化5min, 冷后移入分液漏斗中。用少量水洗入, 使体积约25ml, 用乙醚抽提两次, 每次25ml。将两次醚层合并, 用水抽洗两次, 每次约25ml。分尽水后, 加入约4~5g无水 Na_2SO_4 , 静置脱水后放入K.D瓶中浓缩至0.5ml, 可作色谱用样, 在上述条件下进样5 μl , 如图74所示。

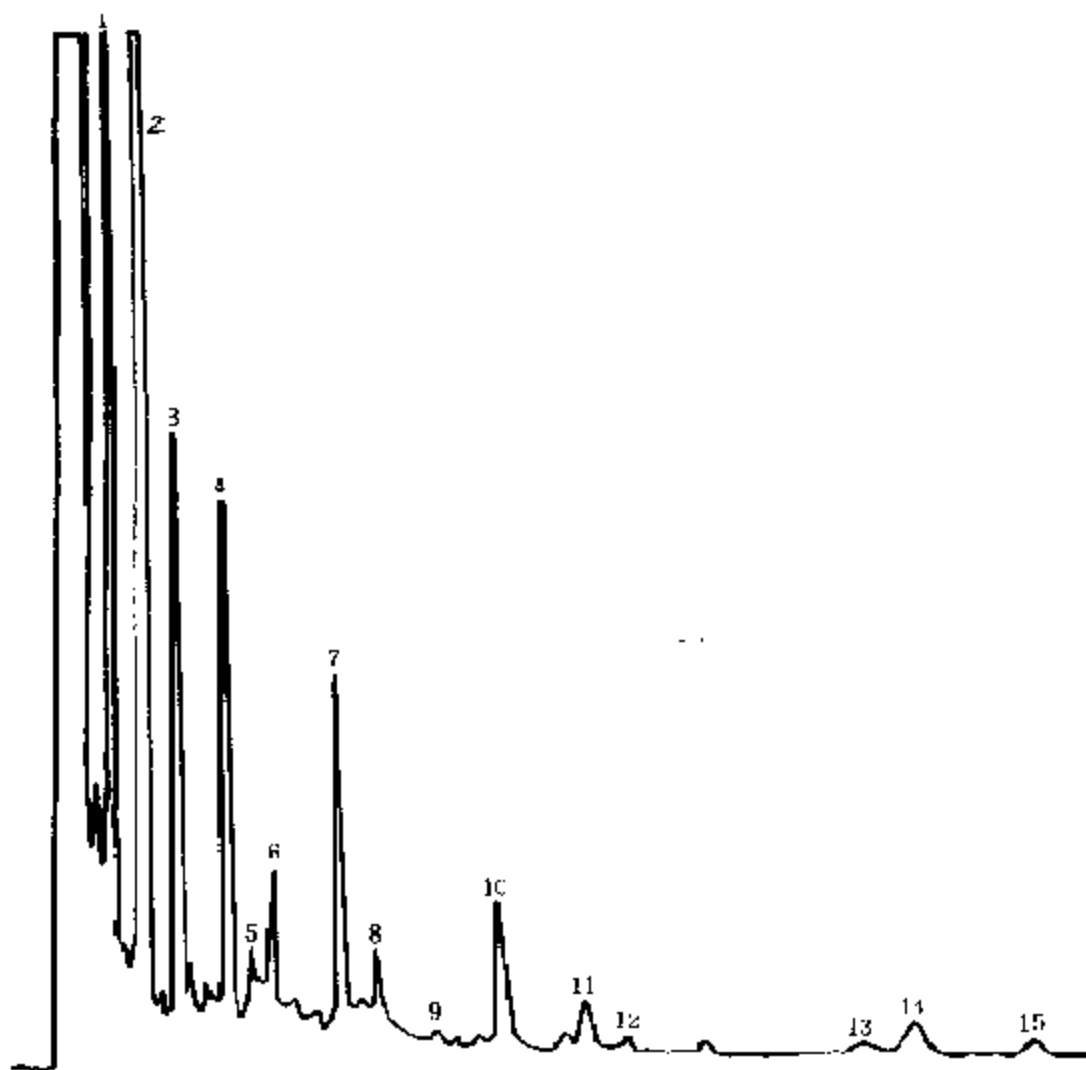


图 74 酒中高级脂肪酸甲酯图(茅台酒)
1~15峰名见表14

4. 计算

$$c_i = f_i \cdot \frac{A_i}{A_s} \times 0.40$$

式中 c_i ——组分含量(mg/100ml)
 A_i, A_s ——组分峰及内标物峰面积(cm^2)
 f_i ——各组分相对校正因子

0.40 相当100ml酒样中加入内标物的mg数

$C_4 \sim C_{18}$ 脂肪酸的相对保留时间和相对校正因子如表14所示。

表 14 $C_4 \sim C_{18}$ 脂肪酸的相对保留时间和相对校正因子

峰号	名 称	相对保留时间	相对校正因子
1	乙酸	0.125	1.18
2	丁酸	0.181	1.05
3	己酸	0.260	1.11
4	庚酸	0.365	1.05
5	癸酸	0.444	1.01
6	十二酸	0.498	1.05
7	月桂酸	0.633	1.02
8	十三烷酸	0.726	1.04
9	肉豆蔻酸	0.85	1.00
10	十五烷酸(内标)	1.00	1.00
11	棕榈酸	1.20	0.95
12	十六烯酸	1.27	1.08
13	硬脂酸	1.83	0.19
14	油 酸	1.94	0.91
15	亚油酸	2.21	1.01

5. 方法说明与讨论

(1) 脂肪酸皂化后用酸催化为一般的甲酯化方法, 但当催化剂浓度高时, 会使不饱和程度大的脂肪酸或羟基酸等产生副反应, 就是用三氟化硼(BF_3)和硫酸时也时常生成甲氧基硬脂酸, 该法利用 NH_4Cl -硫酸甲醇液为酯化剂, 比常用10%硫酸浓度低(3.75%, V/V), 而且在中和皂化后的残碱时又进一步减低, 加上使用了 NH_4Cl 缓冲剂, 在 H_2SO_4 (或硫酸氢钾酯)和氯化氢之间建立平衡, 增加了试剂的效力。该酯化剂反应迅速, 并能避免因酸浓度过高, 反应激烈而产生的副反应。

(2) 该方法简便迅速,试剂都安全无毒,酯化率达到99.5%。但此法只能确认主要峰,未知峰有待进一步研究和分析。

八十二、什么是白酒2,4-二硝基苯肼气相色谱分析法?

白酒中低分子量的醛和酮用色谱分离并不困难,如使用DNP、PEG1500或LAC-446固定液,能使大部分的 $C_2 \sim C_6$ 的羰基化合物分开。但对于其他醛和酮类,由于酒中含量少,醇酯均干扰测定,必须采取其他措施,将其分离。一般是采取亚硫酸氢盐和醛、酮羰基化合物的加成反应进行族分离和利用2,4-二硝基苯肼和醛、酮羰基化合物的特效反应,生成溶解度很小的2,4-二硝基苯腙进行族分离。后者对很多醛酮都是定量的反应,所以作为羰基化合物的标准鉴定反应。内蒙轻工研究所将此法试用于白酒中微量羰基化合物的分析,可以检出15种醛、酮,取得了半定量的结果。

1. 试剂配制

(1) 标准醛、酮溶液的制备 将所用的醛酮各吸取1ml,加入100ml容量瓶中,以乙醇定容,配制成1%的醛、酮乙醇溶液。

(2) 0.2% 2,4-二硝基苯肼溶液的配制 称取2.0g 2,4-二硝基苯肼,溶于1L2mol/L盐酸溶液中,若不溶,可以适当加热助溶。使用前用G-1号坩埚漏斗过滤。

(3) 2,4-二硝基苯腙的制备 吸取1%标准醛、酮乙醇液1ml于具塞三角瓶中,加入60ml乙醇和40ml蒸馏水,再加入过量一倍(约20ml)的0.2% 2,4-二硝基苯肼溶液,在冰浴中电磁搅拌30min,将反应物静止片刻,用G-4号坩埚漏斗过滤,

用2mol/L HCl洗涤沉淀,再用蒸馏水洗至中性,在低于胺的熔点温度下烘干,存于干燥器中待用。

(4) 1% 葱内标准溶液配制 准确称取0.500g分析纯葱,加入50ml容量瓶中,以氯仿定容。

2. 色谱条件

仪器: 岛津GC-5A色谱仪, FID检测器。

色谱柱: ϕ 3mm, 长1.5m玻璃管。

固定相: 5% SE-30于shimalitew(60~80目)上。

柱温: 190~240℃, 以3℃/min速率升温。

灵敏度 10^2 M Ω , 衰减16, 纸速2.5mm/min。

流动相: N₂ 35ml/min; H₂ 50ml/min; Air 1L/min。

3. 酒样分析步骤

准确吸取酒样10ml于具塞三角瓶中, 加入20ml 0.2% 2,4-二硝基苯胂液, 在冰浴中电磁搅拌30min, 静置片刻, 用G-4号坩埚抽滤, 用20ml 2mol/L HCl液洗涤沉淀, 然后用蒸馏水洗至中性, 在真空干燥箱中烘干, 用5ml氯仿将沉淀洗至一试管中, 加1%的葱内标液0.2ml, 搅匀, 可作为色谱分析用样, 进样8 μ L。见图谱75。

4. 结果计算

$$c_i = \frac{A_i}{A_s} \cdot f_i \times 2 \times K_i \times 10$$

式中 c_i —— 酒样中醛、酮的含量(mg/100ml)

A_i, A_s —— 各组分峰面积及内标物峰面积(cm^2)

f_i —— 各组分相对校正因子(见表15)

2 —— 10ml酒样中内标物葱的含量

K_i —— 醛、酮换算为醛、酮的系数(见表15)

10 —— 换算成100ml酒样的系数

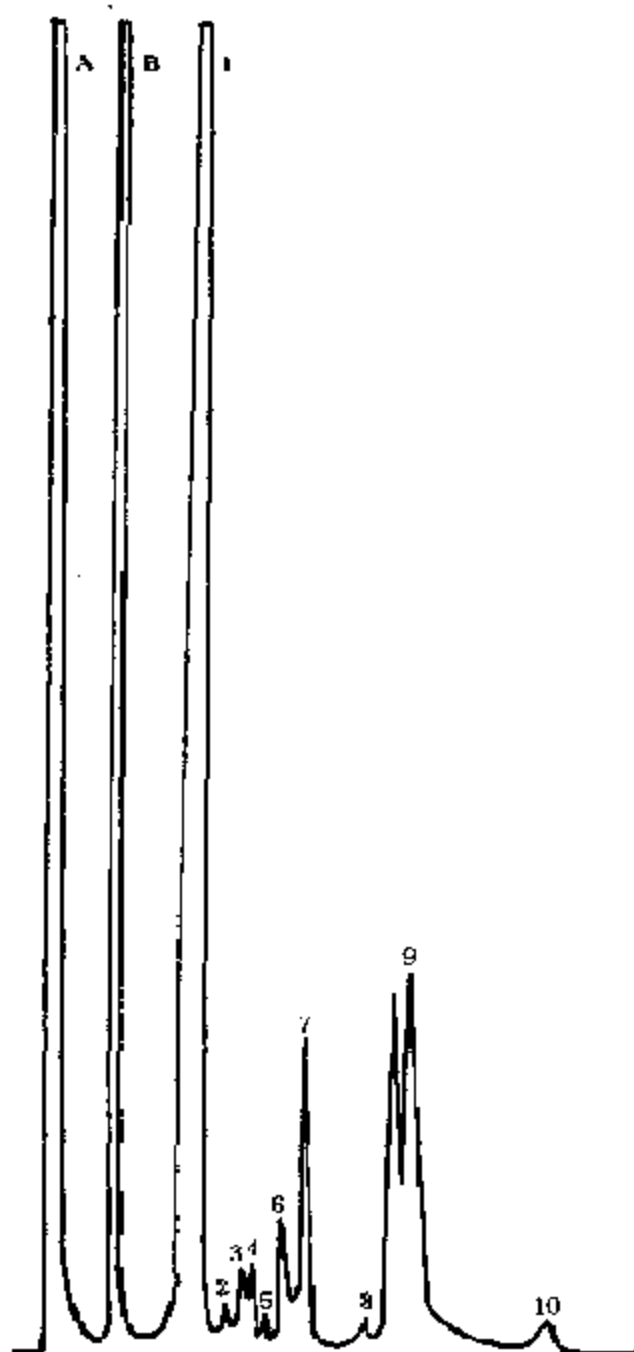


图 75 茅台酒中羰基化合物的2,4-二硝基苯腙色谱图

A—溶剂 B—苄 1—乙醛 2—丙酮 3—甲醛 4—异丁醛

5—丁酮 6—丁二酮 7—异戊醛 8—正己醛 9—糠醛 10—苯甲醛

5. 醛酮相对校正因子(f_i)的测定

准确称取各标准醛、酮脞100mg, 内标准萘3mg, 用10ml 氯仿溶解, 即该液含每种标准醛、酮脞为0.1%(W/V), 在上述色谱条件下进样2 μ l。根据各组分峰面积, 利用内标法求 f_i 值, 如下式:

$$f_i = \frac{A_s}{m_s} \cdot \frac{m_i}{A_i} \quad (\text{式中各符号同问答七十八})$$

结果见表15, 图谱见图76。

表 15 醛、酮脞羰基化合物相对校正因子及换算系数

名称	相对校正因子(f_i)	换算系数(K_i)	名称	相对校正因子(f_i)	换算系数(K_i)
甲 醛	3.51	0.14	戊 酮	3.55	0.32
乙 醛	3.06	0.20	戊 醛	4.41	0.32
丙 酮	2.25	0.24	己 酮-2	4.18	0.36
丙 醛	5.14	0.24	甲基异戊酮	2.93	0.36
丙 脞	4.64	0.24	正己醛	4.03	0.36
异丙醛	3.06	0.29	庚 酮	3.82	0.39
丁 醛	4.07	0.29	庚 醛	6.99	0.39
丁 酮	2.98	0.29	辛 醛	4.86	0.42
丁 脞	4.21	0.29	糠 醛	5.03	0.36
丁二酮	5.48	0.19	苯甲醛	2.66	0.37

6. 分析方法讨论

(1) 以醛、酮脞的三氯甲烷溶液注入分析时, 会有少量脞分解损失, 所以随着脞注入量的降低, 测得的相对校正因子增大, 并且容易发生变化。但进样注入量在2 μ g以上时, 定量校正因子数值基本稳定。为了保证分析结果的准确性, 应做到测校正因子时的条件和测酒样时的条件尽量一致, 特别是进样量一致, 并且采用内标法分析最好。

(2) 酒样中乙缩醛在酸性的2,4-二硝基苯胼液中能水

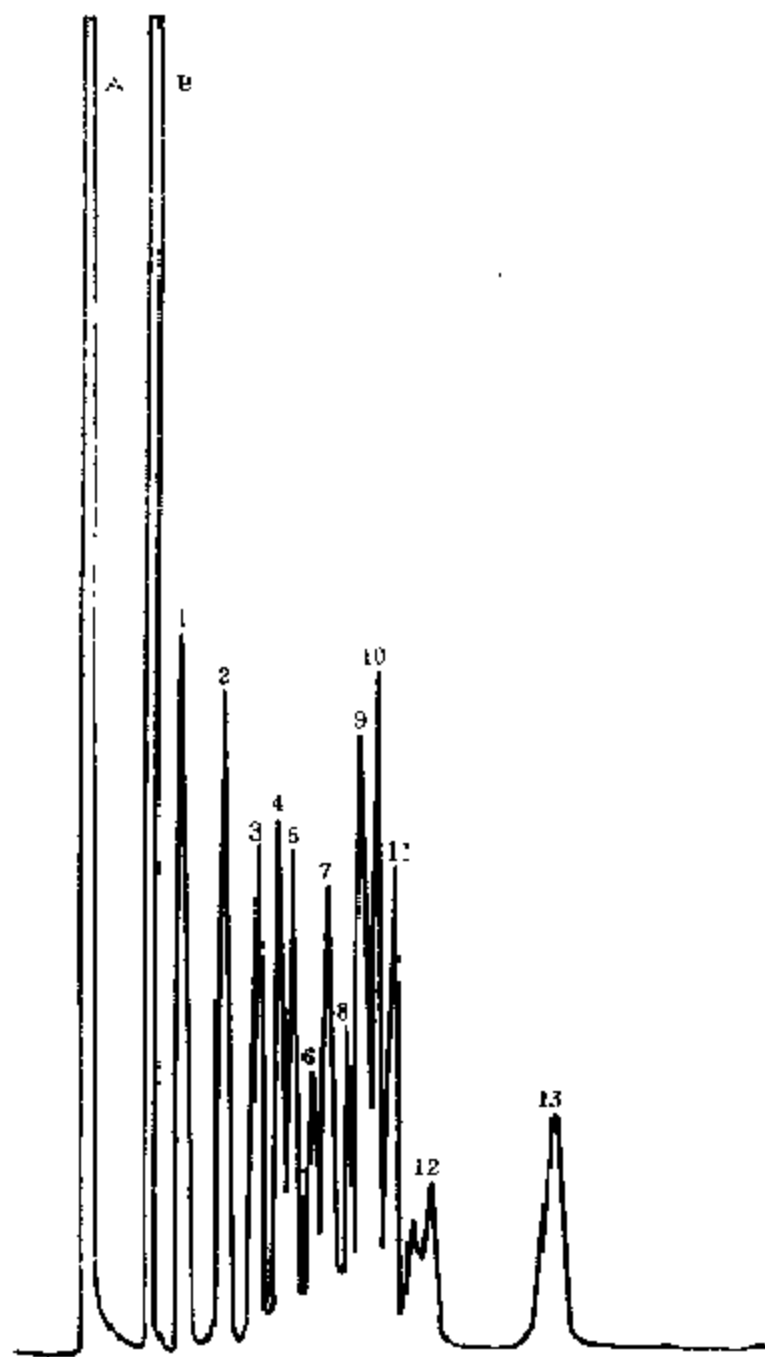


图 76 标准醛、酮的2,4-二硝基苯腙色谱图

A 溶剂 B-萘(内标) 1-甲醛 2-乙醛 3-丙醛 4-异丁醛
 5 丁酮 6 丁二酮 7 异戊醛 8-戊醛 9-2-甲基戊醛
 10-己酮-2 11-正己醛 12 糠醛 13-苯甲醛

解释出乙醛,它与试剂也生成苯肼,故此法分析的结果实际是乙醛和乙缩醛的含量。

(3) 双乙酰的2,4-二硝基苯肼无论用氯仿、乙酸乙酯,还是用苯等有机溶剂都不能完全溶解,甚至加热也不能明显增加其溶解度。若对于双乙酰含量较多的酒样,则分析结果明显偏低。

八十三、如何测定白酒中的酚类化合物?

酚类化合物是饮料酒的重要香味成分,科技人员从白兰地、威士忌和兰姆酒中检测出了各种酚类化合物。60年代轻工业部组织的茅台酒试点工作中,曾采用纸上层析法对茅台酒及其他一些名白酒的酚类化合物进行过初步分析,80年代轻工业部食品发酵研究所对茅台酒为主要研究对象,对挥发性酚类化合物进行了分析。酒样经乙醚-戊烷萃取,然后利用酚羟基的特性进行分族。所提取的酚类化合物经浓缩后,直接注入毛细管色谱,其组分主要依靠色谱-质谱法鉴定,采用该法从茅台酒中检测出了12种挥发性酚类化合物。

1. 色谱条件

仪器: 岛津GC-5A气相色谱仪, FID鉴定器。

色谱柱: PEG 20M 玻璃毛细管柱, 柱长32m, 内径0.28mm。

柱温: 170℃;汽化室和检测器温度:240℃。

灵敏度 10^3 MΩ, 衰减4。

流动相: N₂线速16.6cm/s, 尾吹N₂ 30ml/min;

H₂: 40ml/min; Air: 800ml/min。

2. 分析操作步骤

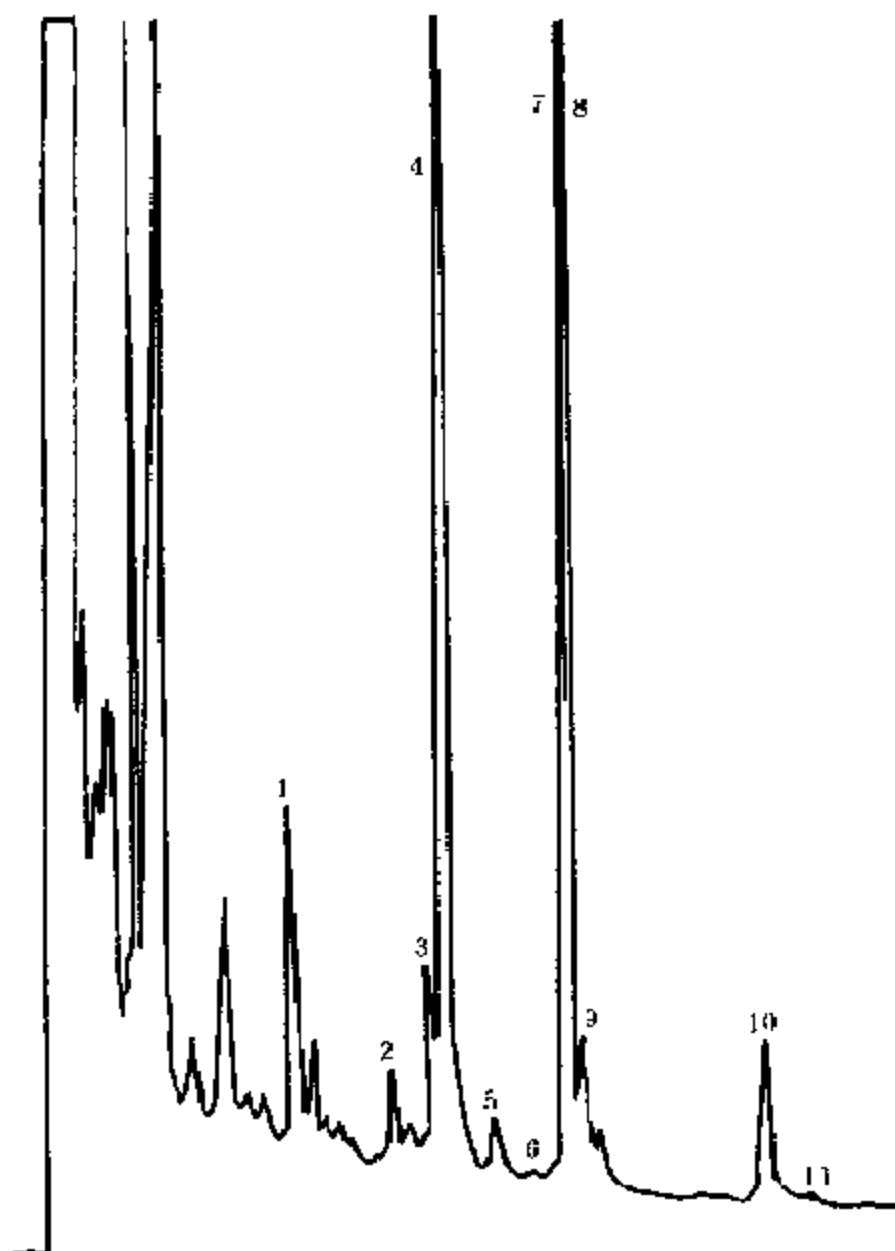


图 77 茅台酒中挥发性酚类化合物色谱图

1~11峰名见表16

酒样250ml,用5%NaOH中和至pH7~7.5,加入NaCl 30g,搅拌全饱和。将上层清液倒入分液漏斗中,继加饱和NaCl水溶液500ml,以降低酒精度。用40、30、20ml乙醚-戊烷(2:1)分3次提取酒样,合并提取液。醚层用30ml蒸馏水反洗两次,

以除去水溶性杂质,然后用20ml 5%NaOH水溶液从醚层中提取酚类化合物。共进行3次,合并NaOH提取液,用乙醚反复萃取3次(每次20ml),以除去中性物质。NaOH层以2mol/L盐酸酸化至pH7~7.5,此时酚类化合物呈游离状态,然后用乙醚提取3次,每次20ml,合并醚层,经无水Na₂SO₄干燥后,在K.D浓缩器上浓缩至0.1ml,放置数小时后约为0.05ml时,可作为色谱分析用样。见色谱图77,表16。结果计算时可参照前面的方法。但该法前处理复杂,萃取时有一定损失,故分析结果应据回收率加以校正,校正因子的测定同前法。

表 16 茅台酒中挥发性酚类化合物

峰号	名 称	相对保留时间	峰号	名 称	相对保留时间
1	愈疮木酚	0.62	7	2,4-二甲酚	1.31
2	4-甲基愈疮木酚	0.87	8	对 甲 酚	1.32
3	邻 甲 酚	0.98	9	间 甲 酚	1.36
4	苯 酚	1.00	10	4-乙基苯酚	1.85
5	4-乙基愈疮木酚	1.14	11	3-乙基苯酚	1.90
6	2-乙基苯酚	1.29			

八十四、如何测定白酒中有机氯农药残留量?

有机氯农药(如六六六,滴滴涕)由于杀虫效率高,成本低,使用方便,曾被世界各国广泛使用。然而由于它的化学性质稳定,残效期长,脂溶性强,长期使用就造成了残毒污染问题。特别是严重威胁人们健康,产生癌症,已被人们所公认,所以有机氯农药早已被各国禁止使用。为了了解我国酒类的污染情况,70年代末期轻工业部食品发酵研究所在全国的一些

酒厂(包括饮料酒)进行了普查,通过气相色谱分析证明,在各种酒中都发现有六六六和滴滴涕(特别是六六六)的残留。其残留量为:白酒>葡萄酒>黄酒>啤酒,个别酒含量高达 2×10^{-7} 。这说明尽管我国以前有机农药施用量不算最多,但各种食品,包括酒类,都已受到不同程度的污染。所以有机氯农药残留量分析有其实际意义。

1. 试剂

(1) 正己烷(化学纯) 加2%NaOH振摇10min,用全玻璃磨口蒸馏器加碱重蒸,取68~70℃馏分。

(2) 丙酮(分析纯) 全玻璃磨口蒸馏器重蒸,取56~57℃馏分。

(3) 蒸馏水 取500ml,于分液漏斗中,加5ml正己烷,振摇提取,静置分离后使用。

(4) 无水 Na_2SO_4 (A.R.)。

(5) 2% Na_2SO_4 液。

(6) 浓 H_2SO_4 (A.R.)。

(7) 标准农药 α -666, β -666, γ -666, δ -666, OP'-DDT, PP'-DDT, PP'-DDE, PP'-DDD。

(8) 七氯环氧 浓度 $1 \times 10^{-5}\text{g/ml}$,作内标。

2. 色谱条件

仪器: GC-5A色谱仪, Ni^{63} 电子捕获检测器。

色谱柱: $\phi 3\text{mm}$, 长2m玻璃柱, 固定液1.5%OV-17, 担体shimalite 80~100目

柱温: 195℃;汽化室检测器温度:225℃。

灵敏度 $10^3\text{M}\Omega$, 衰减32, 纸速5mm/min。

N_2 :120ml/min。

3. 分析操作步骤

(1) 酒样预处理

萃取:将样品酒4瓶倾入大烧杯中摇匀,取匀样50ml(或100ml)于分液漏斗中,加入正己烷20ml,振摇1min,静置分层。下层水相移于另一分液漏斗中,在己烷层中加2.5ml丙酮混匀,再加25ml 2%Na₂SO₄液,振摇后静置分层。将下层洗液与另一分液漏斗中的水相合并,按上法继续用20ml正己烷提取一次,合并提取液,并用2~3ml正己烷,冲洗分液漏斗,并入提取液。

净化:上述提取液中加入5ml浓H₂SO₄,轻摇几下后,将分液漏斗倒置,开活塞放气,然后猛摇1min,静置20min,弃去下层酸液。加50ml2%Na₂SO₄液,振摇一次,弃去水层。再加5ml浓H₂SO₄净化,直至溶液无色为止。同样洗净残酸后,用滤纸吸干漏斗颈内外之水分。

浓缩:在净化后的正己烷提取液中,加入约5g无水Na₂SO₄脱水。再经过一个盛有无水Na₂SO₄的小漏斗,滤入K.D浓缩器,用少量正己烷分数次洗涤漏斗,于50℃的水浴上减压浓缩至0.5(或1.0)ml。

(2) **分析** 在上述浓缩样中添加25μl浓度为1×10⁻⁵g/ml的内标七氯环氧的正己烷液,混匀,在上述色谱条件下进样1μl。根据六六六、滴滴涕各组分峰面积与内标峰面积之比,在标准曲线上查出对应的浓度,即可计算结果。

(3) **标准曲线的制备** 配制不同浓度系列的六六六和滴滴涕混合标准液,见表17。各取0.5ml,加入25μl七氯环氧正己烷液为内标,混匀,在上述条件下进样1μl分析,以峰面积对浓度作图,即可得到标准曲线,参见图55。标准图谱如图78所示。

(4) **结果计算**

$$\text{残留量(ppb)} = \frac{cV_1}{V} \times 1000$$

式中 c ——从标准曲线上查出样品的对应浓度(μg/ml)

V_1 ——萃取浓缩体积(ml)

V ——酒样取用量(ml)

表 17 六六六和滴滴涕混合标准液的浓度($\mu\text{l/ml}$)

组分名	1	2	3	4	5
α -666	0.012	0.024	0.036	0.048	0.06
β -666	0.040	0.080	0.12	0.16	0.20
γ -666	0.012	0.024	0.036	0.048	0.06
δ -666	0.012	0.024	0.036	0.048	0.06
PP'-DDE	0.06	0.12	0.18	0.24	0.30
OP'-DDT	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50
PP'-DDD	0.12	0.24	0.36	0.48	0.60
PP'-DDT	0.16	0.32	0.48	0.64	0.80

4. 说明

(1) 六六六分子为 $\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$, 化学名称叫六氯环己烷, 其工业品原粉为白色粉末, 具有难闻的酸霉气味, 熔点 65°C 以上。六六六是几种立体异构体的混合物, 其中甲体(α -)约占55~70%, 乙体(β -)约占5~14%, 丙体(γ -)约占12~15%, 丁体(δ -)约占6~8%, 其余还有少量戊体(Σ -)、七氯环己烷和八氯环己烷。在这些异构体中, 仅有丙体具有强力杀虫作用, 其他杀虫力极低或无效。这些异构体化学性质基本相同, 在高温、日照和酸性条件下都很稳定, 在碱性介质中易分解失效。

滴滴涕分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{Cl}_5$ 。工业品滴滴涕中主要是含对、对-位滴滴涕(PP'-DDT), 约占70~80%。其次是邻、对-位滴滴涕(OP'-DDT)约占10~19%, 纯滴滴涕为白色结晶, 熔点 109°C , 不溶于水, 可溶于多种溶剂。滴滴涕化学性质稳定, 在 $115\sim 120^\circ\text{C}$ 加热15h不分解, 但遇到碱性物质即分解, 生成各种代谢物。滴滴涕主要代谢产物有PP'-DDE和PP'-DDD。

(2) 通常饮料酒含六六六和滴滴涕较少, 而且含有大量

色素、脂肪、糖分等杂质。为排除干扰，防止色谱柱污染，样品经萃取后，还须“净化”处理。酒样的净化可采用浓硫酸处理(即磺化法)。

(3) 六六六和滴滴涕的色谱分离，一般常用OV-17色谱柱，这种柱对4种六六六异构体分离效果很好，但对OP'-DDT和PP'-DDT这两组分分离不好，若改用1.5%OV-17+2%QF-1的混合固定液，两组分能完全分开。但一般酒样中滴滴涕含量甚微，甚至检测不出，所以多使用OV-17柱。

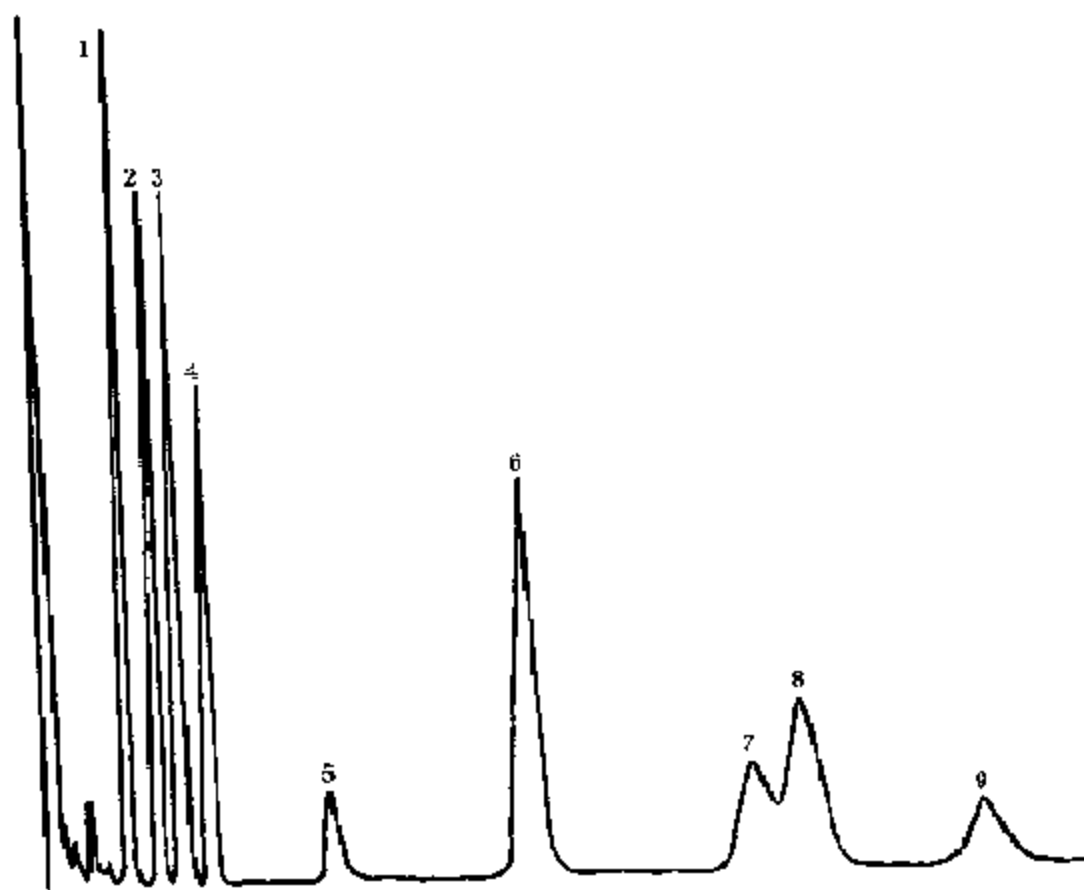


图 78 六六六与滴滴涕标准溶液色谱图

1— α -666 2— γ -666 3— β -666 4— δ -666 5—七氯环氧(内标)
6—PP'-DDE 7—OP'-DDT 8 PP'-DDT 9—PP'-DDT

八十五、怎样拉制毛细管柱。

毛细管柱的拉制，一般都由专用机器完成。不锈钢毛细管由 $\phi 6\text{mm} \times 1\text{mm}$ 钢管，经多次束薄，然后由拉管机拉成。拉制玻璃毛细管则由市售拉伸机完成，而石英弹性毛细管柱则由拉制光纤纤维的设备拉制。

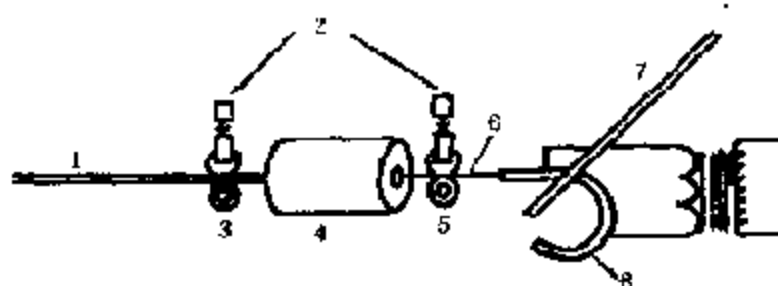


图 79 玻璃毛细管拉制机原理图

1—玻璃管 2—弹簧压紧的从动轮 3—驱动轮
4—软化炉 5—拉轮 6—毛细管 7—毛细管支架 8—弯管

1. 玻璃毛细管的拉制

玻璃毛细管拉制机工作原理见图79。一般用于拉制毛细管柱的玻璃原料管，要求内外径均匀一致。尺寸：外径7~8mm，内径2~3mm，长1.5m左右。国内沈阳、天津、北京、上海、兰州等玻璃厂皆有产品出售。

一般设计抽拉速度为固定，而进给速度、炉温和弯管的温度则是可调的。增加进给速度或降低炉温（在一定限度内），毛细管的内径增大。弯管温度过高，毛细管成波浪形弯曲，过低则引起毛细管断裂。

日本岛津拉制机（GDM-1A、1B型）的拉伸速度固定，进

料速度可变,从而改变拉伸比,拉伸比可为16~100,即1m原料管可拉成16m~100m毛细管。某些国产拉制机(上海医药工业研究院研制)则采用进料速度不变,拉制速度可变。炉温、弯管温度根据原料管的材质而设定并进行自控。一般说来,炉温过高或进料速度慢,毛细管内径变细,反之亦然。而弯管温度过高,则毛细管弯曲;过低,则毛细管断裂。选定好上述参数,可拉成既定内径、长度的毛细管。

毛细管柱的拉伸比(W)由下式计算:

$$W = \frac{u_2}{u_1}$$

式中 u_2 拉伸速度(cm/min)

u_1 ——送料速度(cm/min)

拉伸出的毛细管内径 D_2 (cm)可以通过原料管的内径 D_1 (cm)和 W 进行计算。

$$D_2 = \sqrt{\frac{1}{W}} D_1$$

对于不同的拉伸比, $\sqrt{\frac{1}{W}}$ 这个系数是有用的。当 $W=100$ 时, $D_2=0.1D_1$, $W=80$,则 $D_2=0.112D_1$ 。这在选原料管时很重要。例如要拉内径0.25mm的毛细管,原料管内径2.5mm,则 $W=100$ 。如果原料管内径只有2mm,则用 $W=80$,也能拉0.25mm的毛细管。

拉制好的毛细管,用读数显微镜测其内径、外径、长度(长度可由数圈数计算,如果毛细管大圈直径110mm,则3圈为1m),两端封口(烧死),备用。

2. 弹性玻璃毛细管柱的拉制

玻璃毛细管柱的一个缺点易断,且连接时两端需烧直(有的仪器不需要烧直)。近年出现的薄壁弹性石英毛细管柱,系拉伸后外壁立即涂上一层聚酰亚胺,以防接触空气、水,把所谓“应力腐蚀”尽可能降低,以保持石英柱本身的弹性。最近

Ogan引用这种技术,拉制出弹性玻璃毛细管柱,弹性很好。高毅飞及董运宇介绍了技术细节,主要是将一般毛细管拉制机改装后加涂渍喷嘴及亚胺化电炉。选用外径4~5mm,内径2~3mm,管壁约1mm,长1.5m的软质(或硬质)玻璃原料管,在如图80所示的拉制机上拉制弹性玻璃毛细管。图80所示为商品立式玻璃毛细管拉制机示意图,其拉伸速度为120cm/min,改变进料齿轮组合可以获得几种拉伸比。

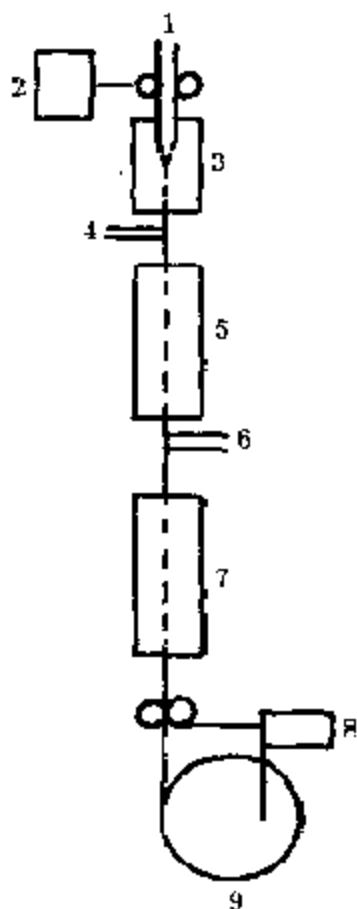


图 80 弹性玻璃
毛细管拉制机示意图

1—原料管 2—送料齿轮组合 3—拉伸
电炉 4、6—涂渍嘴 5、7—亚胺化
电炉 8—拉伸齿轮组合 9—绕圈鼓

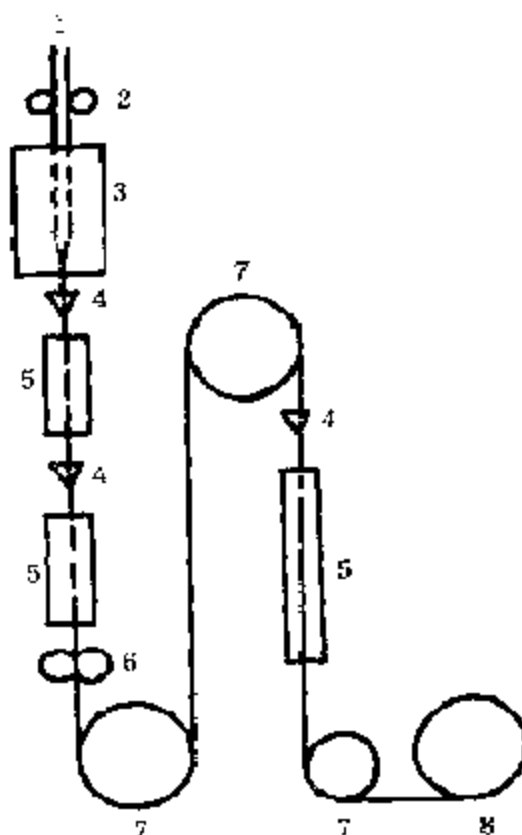


图 81 石英弹性
毛细管柱拉伸机示意图

1—原料石英管 2—送料齿轮组 3—加热炉
4—涂渍嘴 5—开启式亚胺化电炉
6—拉伸齿轮组 7—转换轮 8—绕圈鼓

图中5, 7为开启式电炉, 便于建立初始拉伸状态。在拉伸中保持350℃, 拉出的毛细管由两级喷嘴涂渍聚酰亚胺。聚酰亚胺(上海合成树脂所、哈尔滨油漆总厂)用N-甲基-2-吡咯烷酮稀释至10%左右, 加压下从贮器通过毛细管喷出, 用纤维毛刷均匀涂在毛细管上。第一级喷嘴位于拉伸炉出口1cm处。拉伸和涂渍平稳后(约5~6m), 将弹性玻璃毛细管开始绕在直径15cm的绕圈鼓上。

3. 石英弹性毛细管柱的拉制

70年代末, Dandeneau对熔融石英用作色谱柱的材料进行研究, 发现其惰性和弹性都很好。他们是利用拉制光导纤维的机器在约2000℃下拉出石英弹性毛细管。新拉出的薄壁石英毛细管是极脆的, 稍有振动就会破碎。为使表面不致产生导致断裂或粉碎的刮痕, 待色谱柱一拉出来就立即在其外表面涂上一层保护膜(漆)聚酰亚胺。80年代初, 麦麟政等在制备光导纤维的设备上, 增加一些附件, 拉制出石英弹性毛细管。最近的发展表明, 一般的玻璃毛细管拉伸机也可以改装, 采用电热高温炉拉制出石英弹性毛细管柱(FSOT)。其简易拉伸原理示意图, 如图81所示。

图中加热炉一般采用电阻型石墨炉, 也有采用氢氧焰加热的。后者虽然设备简单, 成本低, 但缺点是 H_2-O_2 焰产生水, 水汽对石英柱的弹性是有害的。关于4, 5的外涂层, 一般用纤维制, 开启式电炉。涂层装置离电炉很近, 为防止受热, 使聚酰亚胺固化, 需通水冷却。6的拉伸速度和8的绕圈速度要同步, 开始先用手工绕圈, 待弹性、强度都较好时, 即采用绕圈鼓自动绕圈, 而同时使拉伸轮脱开, 避免两轮速度不同而带来麻烦。

目前, 拉制石英毛细管的设备还很庞大, 价格昂贵, 因而拉制出的石英柱价格也较高, 且外涂层耐温性、透明度都有待

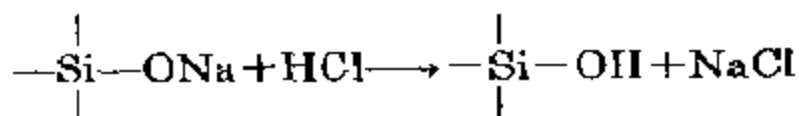
改进。关于FSOT空柱的质量控制指标,应当采用中国天然石英为原料管,FSOT柱的壁厚应在500~700 μm ,不均匀性<10%;外涂层厚 $\geq 20\mu\text{m}$,光滑均匀,具备耐刮性、耐热性;存放寿命>1个月(不断裂)等。

八十六、毛细管柱壁表面处理技术有哪些?

由于玻璃毛细管的内壁具有光滑的表面和很高的表面能,许多固定液很难在这种光滑表面上涂渍均匀。或者说在光滑的玻璃表面上固定液的润湿性很差。加之玻璃表面硅醇基的吸附效应,使得许多极性组分产生严重的拖尾,柱效降低。为此,需将玻璃表面进行处理。至于FSOT,其表面能低、惰性很好,仅有表面积较小、柱容量低的不足,也需进行扩大表面积等处理。综观文献报道,表面处理的方法很多,但行之有效的,一是化学腐蚀法,二是内壁涂多孔层法。

1. 盐酸气腐蚀开管柱(WCOT)

用HCl气腐蚀软质玻璃毛细管,可以在玻璃表面形成一层均匀的NaCl微晶体,从而大大增加内表面,改善固定液的铺展性,即玻璃表面的润湿性。



由反应式可以看出,在形成NaCl微晶体粒的同时,也形成了硅醇基,增加了柱子表面的活性,故需进一步钝化处理。

玻璃毛细管在腐蚀处理前,须在150℃左右通干燥的氮气1h,以赶走吸附在毛细管内壁上的水汽。以后便可以进行腐

蚀操作:用干燥的氯化钠与浓硫酸在50ml的圆底烧瓶内反应,生成的HCl气体经氯化钙干燥之后,引入玻璃毛细管内。当用湿pH试纸检查毛细管另一端有HCl气时,再继续通气0.5h,然后立即用酒精灯封死毛细管的两端。将充满HCl气的毛细管放入马福炉内加热。首先在200℃保持2h,继续升温到约350~500℃,保持2h后切断电源。当炉温冷到约150℃时,取出毛细管,打开一端,通干燥氮气,管内从负压逐渐变为正压,便可打开另一端,继续通氮2h。通氮气的过程中,始终要保持高于100℃的环境温度。干燥后将毛细管两端封死,待涂渍固定相。腐蚀后的玻璃毛细管呈均匀的白色,不透明状。

此外,有人用HF气体腐蚀硼硅玻璃毛细管,生成须状二氧化硅表面(即WWOT柱)。用 NH_3HF_2 腐蚀软质玻璃柱效果也很好,但WWOT柱活性较强,需进行脱活处理。

2. 涂载体开管柱(SCOT)

Halasz等最早提出涂载体开管柱,后经研究改进成为一种柱效较高、样品容量较大的柱型。这种柱型是在玻璃毛细管内壁涂渍或沉积多孔层,以增大表面积,改善润湿性,敷盖表面硅醇基。近来,我国用有机胶或明胶(兰化公司研究院刘克发现的)作粘结剂,把载体,如405, Chromosorb W、高纯石英粉、 TiO_2 等,涂到玻璃原料管上,拉制成SCOT柱。Grob用氢氧化钡溶液充满洗净的毛细管柱,然后用 CO_2 逐出这些溶液,从而在玻璃毛细管内壁沉积一层碳酸钡。这是一种非常稳定的色谱柱,能把玻璃表面硅醇基掩盖掉。但也有人提出在260℃以上,碳酸钡柱会使OV-101分解。下面重点介绍SCOT柱的制备方法。

SCOT柱是在毛细管内壁涂上一层载体,然后再涂固定液构成分配型多孔层开管柱。其制备方法是先将载体粉末粘在事先涂有有机胶(聚甲基丙烯酸二乙氨基乙酯的醋酸盐)或

明胶的玻璃管壁上,然后在 $600\sim 800^{\circ}\text{C}$ 的温度下拉制成SCOT毛细管柱。在拉制温度下,有机胶或明胶受热而分解跑掉,在柱壁上留下薄而较均匀的载体层,就可用于涂渍各种极性、非极性的固定液。此法简称“先涂后拉”法,步骤如下:

(1) 悬浮液的制备 将载体经球磨机或研钵充分研磨后用水浮选,取出4h不沉淀的、粒度 $3\sim 5\text{mm}$ 部分放在另一容器中,调pH为 $3\sim 4$,载体细粉就沉于容器底部,吸去上部多余清水,使下降的载体层高度与清水高度之比为 $1:2$,悬浮液装于小容器内备用。

(2) 载体层的涂渍 将洗净的玻璃原料管垂直固定在支架上,上端接水泵,下端插入装有 0.5% 有机胶的小瓶里,将有机胶吸入管的顶部,静置 $3\sim 5\text{min}$,放回原瓶中,用 50ml 蒸馏水冲洗多余的有机胶,抽干。再用同样操作将载体悬浮液抽至管的顶部,静置 15min 后放回原瓶,然后用 50ml 蒸馏水冲洗多余的悬浮液,抽干。这样反复 $3\sim 5$ 次即成。注意每涂一次,玻璃管需颠倒一次,以得到上下均匀的涂层。然后拉制成毛细管柱。用 0.5% 的明胶代替有机胶,制备SCOT效果同样好,但明胶便宜得多,货源充足。使用时先在室温下加水溶解 1h ,再用热水加热使之全溶。注意,最好现用现配制。

以上为“先涂后拉”,也可先拉后涂。就是把已拉制好的毛细管先用有机胶充满, 5min 后赶出,接着用蒸馏水冲洗,再用载体悬浮液充满,放置 15min 后赶出并用蒸馏水冲洗。干燥后移到加热炉中于 400°C 保持 $1\sim 2\text{h}$,以分解有机胶。用“先拉后涂”法涂敷的载体更为密集和均匀,这个办法有利于极性固定液的涂渍。

3. 毛细管柱的脱活

研究表明,WCOT、WWOT、SCOT等毛细管柱表面仍有活性基因,需要进行清除活性基因的脱活。Grob曾建议以硅烷化作为脱活的一种手段。常用的硅烷化试剂有二甲基二氯

硅烷、三甲基氯硅烷、六甲基二硅氯烷、二苯基四甲基二硅氯烷、四苯基二甲基二硅氯烷和三苯基硅氯烷等,以前大都用硅烷化试剂的溶液进行硅烷化处理,效果不尽理想。后来发现对SCOT柱用全浓度硅烷化,即不加溶剂效果更好。例如:将1:1 HCl充满柱子,30min后以N₂赶出,水洗至中性,150℃用N₂干燥2h。然后充入1/4柱长的100%二甲基二氯硅烷,以N₂顶出,两端封死,于420℃加热36h。冷后,用4倍柱体积的甲苯、甲醇依次冲洗柱子,150℃以N₂干燥2h备用。

还可使用PEG-20M脱活,例如:用1~2%PEG-20M的二氯甲烷溶液,动态涂渍,以高纯N₂赶走溶剂后两端封死,于280℃加热24h,冷后打开柱两端,以二氯甲烷冲洗,干燥后备用。

八十七、怎样涂渍毛细管柱?

毛细管柱经过处理后便可涂渍固定液。常用的涂渍方法主要有动态法和静态法。

1. 动态法

动态法以惰性气体的压力推动固定液通过毛细管柱,则在毛细管柱内壁留下一层溶液。继续通气吹走溶剂。涂渍液线速在通过整个柱时要恒定,避免快到终点时线速突然变快,吹破液膜。为此,可在柱出口接一段缓冲毛细管。线速一般为10cm/s,也有用2~5cm/s的。这就要求严格控制流速,一般由调节进口压力来达到控制流速。其次,必要时涂渍液要过滤,防止固体颗粒堵死毛细管,柱出口插入盛水烧杯中,连续冒泡指示涂渍液移动速度。

液膜厚度(d_f)决定于涂渍液的浓度和线速。一般说来, d_f

随涂渍液的浓度、线速以及溶剂的粘度、极性的增加而增加，随柱直径的增加而降低。

动态法的优点：不需要特殊设备，易于涂渍。所以是目前广泛应用的方法。缺点是液膜厚度不易测得。

(1) 用载气加压涂渍 先用载气将各种溶剂压入毛细管，将柱管很快洗净、吹干。配制10~20% (或10~20g/100ml) 固定液溶液，将毛细管一端串联一段缓冲毛细管，另一端插入涂渍液里，用0.1~0.3MPa氮气压力，使溶液全部通过毛细管。然后打开放空阀，降低入口压力，以控制其线速，涂完后吹干即成。此法也叫全充法，如图82所示。但此法不易测得 d_f ，只能从称涂前、涂后

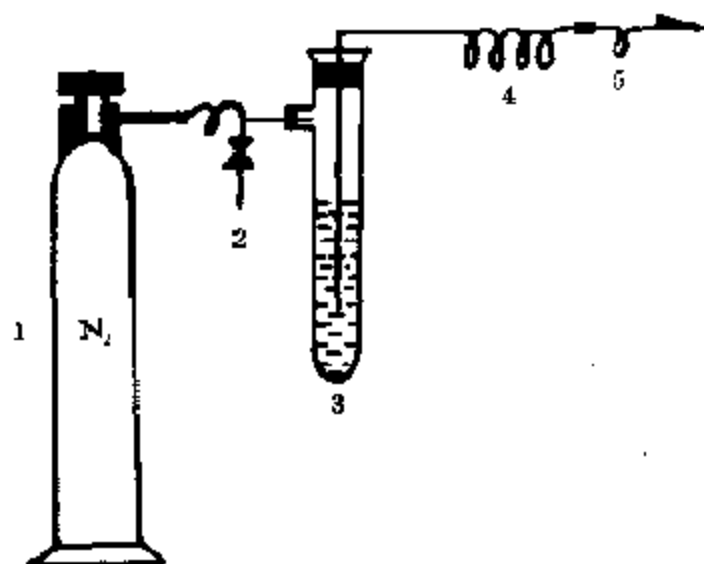


图 82 动态法毛细管涂渍简易装置

1—氮气 2—放空阀 3 固定液

4—毛细管 5—缓冲毛细管

毛细管柱重量之差，求出固定液重量 $W(g)$ ，按下式计算 $d_f(\mu m)$ 。

$$d_f = \frac{W}{2\rho_L r \pi L}$$

式中 ρ_L ——固定液密度(g/cm^3)

r 、 L ——分别为柱半径(μm)和柱长(m)

也可以收集流出固定液与开始固定液量作比较,计算出柱中固定液含量。

(2) 汞塞动态法 对于粘稠的固定液如OV-101、OV-17,用上述之法很难涂渍,要在毛细管柱内壁形成均一的液膜就更难。为了用这样粘稠的溶液涂成薄的液膜,需要在浓溶液后紧接上一段几厘米长的汞塞。由于汞的表面张力很大,会把大部分涂渍液从柱的内表面上赶掉,并把它逐出色谱

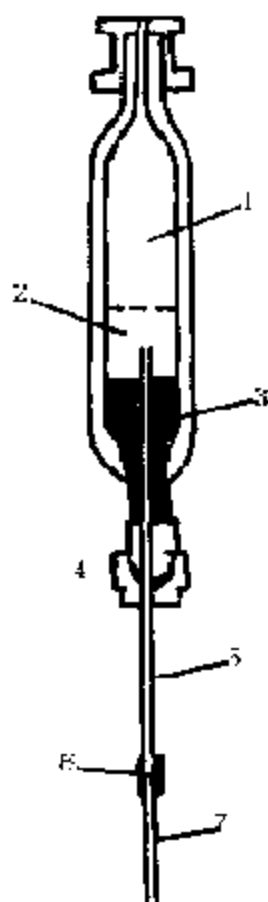


图 83 Schomburg
汞塞技术

1—氮气(0.1~2MPa) 2—固
定液 3—汞 4—滑动点
5—不锈钢毛细管 6—热缩
聚四氟乙烯 7—玻璃毛细管

178

柱。实验装置如图83。把柱子一圈圈平放着,通过一段可弯曲的热缩性聚四氟乙烯管接到不锈钢管上,这段不锈钢管可上下移动,从而可以通进并使其终端位于涂渍液相中,汞中或者氮气中。把氮气压进贮器,将液体进口即不锈钢管置于液相中,直到有大约10%长的柱内充满了液相的浓溶液为止。然后把液体进口管降下,以使1~2cm长的小段汞塞紧接着固定液塞之后进入色谱柱,然后把液体进口管升到加压的氮气中去。为了避免在汞塞之后再进入第二段涂渍液,在贮液器中液体进口管由汞中升到气相中去时,气体加压予以中断。汞塞的长度不是关键。涂渍完毕,让涂渍液和汞塞从柱中流出(收集下),并保持氮气流速,同时升高温度,以除去残留的溶剂。

在实践中发现,Schomburg的汞塞技术存在一些问题,主要是易漏汞,有时汞后跟随一段液柱。为此,孙传经等人设

计了一套汞塞动态涂渍装置,如图84所示。

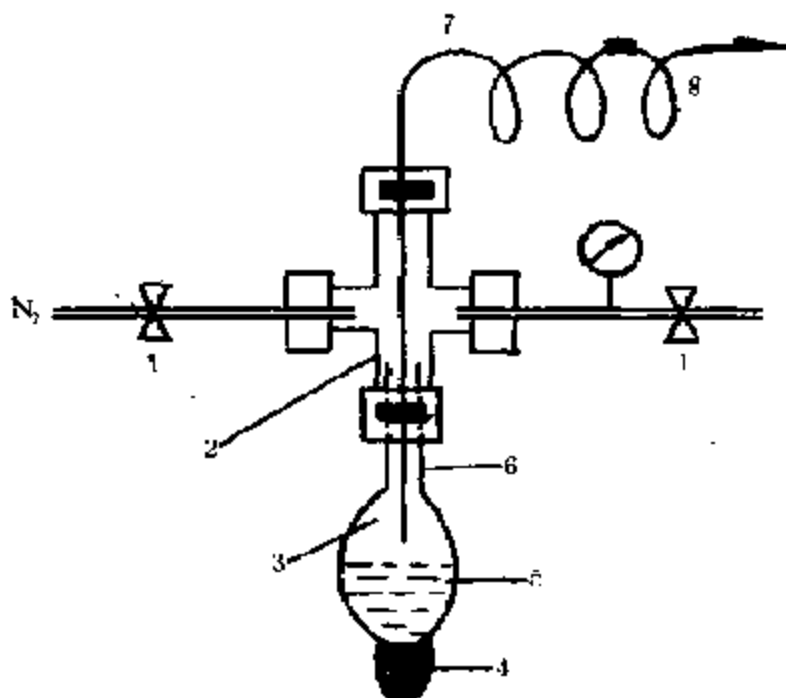


图 84 汞塞动态涂渍仪示意图

1—针阀 2 四通接头 3 氮气 4—汞 5—固定液
6—涂渍瓶 7—毛细管 8—缓冲毛细管柱

该仪器是装在面板上的,并置于大搪瓷盘中,涂渍瓶下底装新鲜汞,上部为涂渍液,伸直的毛细管由上部插入涂渍液下部。以 N_2 加压,调阀1,由压力表指示压力,待大部分涂渍液进入毛细管柱(约占柱长的10~20%)后,再把毛细管插入汞中,调阀1,压进3~10cm汞塞,关阀1,将毛细管提到液面上部(N_2 气中)。调阀2,使汞塞以0.5cm/s左右的速度运行。涂渍快结束前,应降压,保持匀速。柱出口处以小试管收集汞和涂渍液。该套装置操作方便,涂渍瓶容易更换,汞不会漏出,安全可靠。

汞塞动态法的优点:可涂粘稠固定液。浓度可高达100%

(OV-17), 一般在40~60%(如OV-101, OV-210等); 汞是一种流动性很好的液体金属, 表面张力很大, 高浓度的涂渍液经汞塞滚压, 因溶剂很少, 可形成薄而均匀的液膜, 故柱效高; 加压汞塞涂渍速度快, 可涂100m以上的长柱子, 成功率很高。汞易氧化, 应常以滤纸过滤(用针将滤纸穿一小孔), 除去氧化膜。涂完后要回收汞塞于小试管中, 以水封存。

汞塞法是目前较好的动态涂渍法之一, 是值得推广的一种新技术。

2. 静态法

目前越来越多的色谱工作者采用静态涂渍技术。静态法是将配好的低浓度(0.5~2.0%)固定液溶液充满毛细管柱, 一端经除气后封死, 另一端接真空系统, 在恒温减压下挥发去溶剂, 最后在毛细管柱内壁留下一层液膜。其 $d_f(\mu\text{m})$ 由柱直径 $d(\mu\text{m})$ 、溶液浓度(c)算出。

$$d_f = \frac{dc}{400}$$

式中 c ——固定液的体积百分比浓度

静态法涂渍粘度大的高温固定液, 柱效高, 其优点是可由溶液体积浓度直接计算 d_f , 柱效和成功率都很高。例如用1%体积浓

度涂内径为0.25mm($r=0.125\text{mm}$)柱, $d_f = \frac{250 \times 1}{400} = 0.625(\mu\text{m})$ 。

d_f 一般为0.5~1 μm , 溶液浓度一般小于2%。

(1) 抽空蒸发法 抽空蒸发法的装置如图85。将涂渍液充满毛细管柱, 将一端以手温热, 使溶液略有溢出, 立即插入装有封口胶(水玻璃或将封口用赛璐珞溶于乙酸乙酯中, 调成粘稠状即成)的小瓶中。几分钟后除去小瓶, 1~2h后封口胶完全干结。然后将柱置于恒温箱中, 箱温比溶液沸点低

10~15℃, 柱的另一端与抽空系统相联。

柱内溶剂在减压下慢慢汽化被抽走, 固定液则均匀地涂渍在柱壁上。柱内溶剂完全蒸发的时间, 由柱长决定。此法虽慢, 但成功率很高。

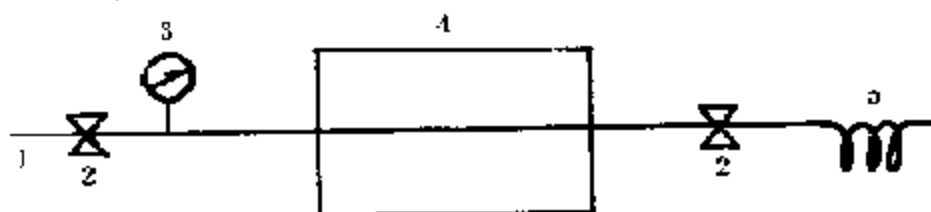


图 85 抽空蒸发法涂渍毛细管柱

1—接真空泵 2—三通活塞 3—真空表 4—10L玻璃瓶 5—毛细管柱

(2) 提高温度自然蒸发法 抽空蒸发法虽然涂渍效率、成功率很高, 但费时较长, 不适于制备30m以上的长柱子。因此, 人们都在寻找一种兼有静态法和动态法两者优点的方法。最近有人提出通过提高温度, 加快静态法的涂渍速度。徐秉玖等在提高温度的条件下, 选择适当的混合溶剂, 在正压力下让其自然蒸发, 大大地加快了涂渍速度。

① 混合溶剂: 要求混合溶剂有较小的汽化热, 并对固定液有较大的溶解度。用1:1的戊烷、二氯甲烷混合溶剂可溶解各种非极性、极性固定液。在75~80℃, 对内径0.25mm的柱, 其蒸发速度达30cm/min, 对于细内径(<0.15mm)柱可采用液化丁烷为溶剂, 以加快涂渍速度。

② 涂渍步骤: 用适当的混合溶剂, 如: $n-C_5-CH_2Cl_2$, $n-C_5$ -丙酮(或单一溶剂如正戊烷、正丁烷等)溶解固定液, 并要求严格脱气。将涂渍液充满毛细管柱, 一端用酒精灯加热拉制成丝后封口。注意封口端可允许少量气泡存在, 不影响涂渍效果。毛细管另一端接一根缓冲柱(5~10m), 然后将整个柱子浸泡在75~80℃恒温水浴中, 封口端要离水面10cm左右。这时可以看到溶剂气泡不断从水中逸出。一般涂渍速度是: 柱长10m, 约为

40min;25m, 需1.5h;30~35m, 需3~4h。柱效与抽空涂渍法相当,而速度快多了。但是,涂渍速度过快,柱效有所下降。总之,提高温度、正压下自然蒸发具有设备简单,不需严密封口,操作方便,涂渍效率高,速度快,重复性好等优点,是一种较好涂渍技术。

3. 毛细管的老化

涂渍固定液的毛细管柱,一定要通着载气(脱 O_2),在一定温度下,老化处理一定时间。一般是先在50℃ 1h赶走溶剂,然后2~3℃/min程序升温至老化温度(因固定液而异),停留一定时间。对于交联柱,固膜、老化时间要足够长,对毛细管SFC柱,固膜时间更要长,才能达到柱子的分离效果和使用寿命。

八十八、什么是毛细管色谱分流系统? 如何测定分流比?

毛细管柱内径很细(ϕ 0.1~0.3mm),样品容量很小,其液膜只有0.2~1.0 μ m,相应的固定液只有几十毫克,所以进样量必须极小。一般液样为 10^{-2} ~ 10^{-3} μ l,气样 10^{-7} ml。要把这样微量样品,瞬间引进毛细管柱,只能采用分流法进样。即在气化室里样品和载气混合均匀后分两路,绝大部分放空,极小部分进入柱子。分流法又分为动态法和静态法两种,通常采用的是动态法,以下指的均是动态法。

分流系统最主要的是要克服分流失真,所谓分流失真是指被汽化的样品中的轻重组分不以相同的比例分流。即样品可能在达到分流点时部分汽化,这时样品由汽化的混合物和许多大小不同的液滴组成,样品组分在液滴和气相之间很可能是分布不均匀的,当液滴通常按照不同比例分流时,这种非

线性分流产生了。为了尽量克服分流失真,人们采取了许多措施。着重从分流进样器及汽化管的设计来解决,使分流以前,强迫样品在瞬间汽化后,轻重组分在汽化管中混匀,然后分流。如图86是几种不同毛细管分流装置,第1种和第2种分流器线性不好,失真严重;第3种和第4种线性好,为目前广泛使用的装置,但对宽沸程样品仍有失真现象。

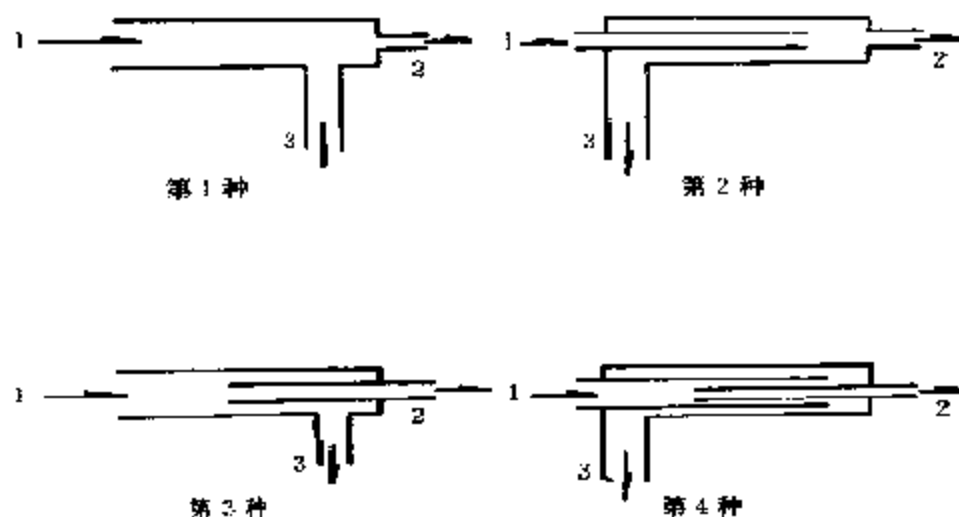


图 86 4种毛细管分流器

1—注射端 2—接毛细管 3—放空端

为使样品瞬间汽化和均匀混合,在汽化管内一般填充玻璃珠(硅烷化处理)或担体(硅烷化处理),如图87所示。

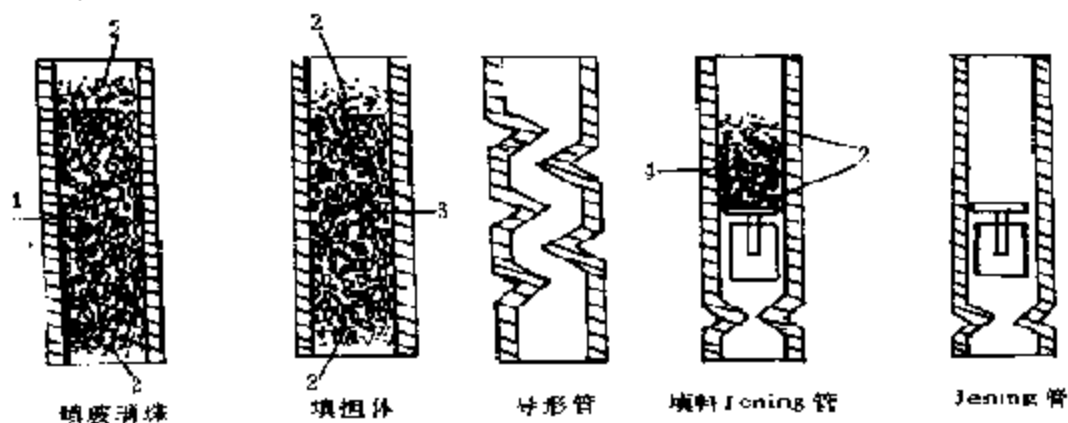


图 87 各种分流汽化管示意图

1—硅烷化玻璃珠 2 硅烷化玻璃棉 3 硅烷化担体 4—填料

毛细管柱系统的分流比是放空流量(大部分)和进入毛细管柱内的流量(小部分)之比。分流比通常是通过不同内径的阻力管或者通过针形阀来调节。如图88, 针形阀调节较方便, 并可连续可调, 但重现性差; 阻力管调节困难, 但重现性好。分流比的测定如图89所示。

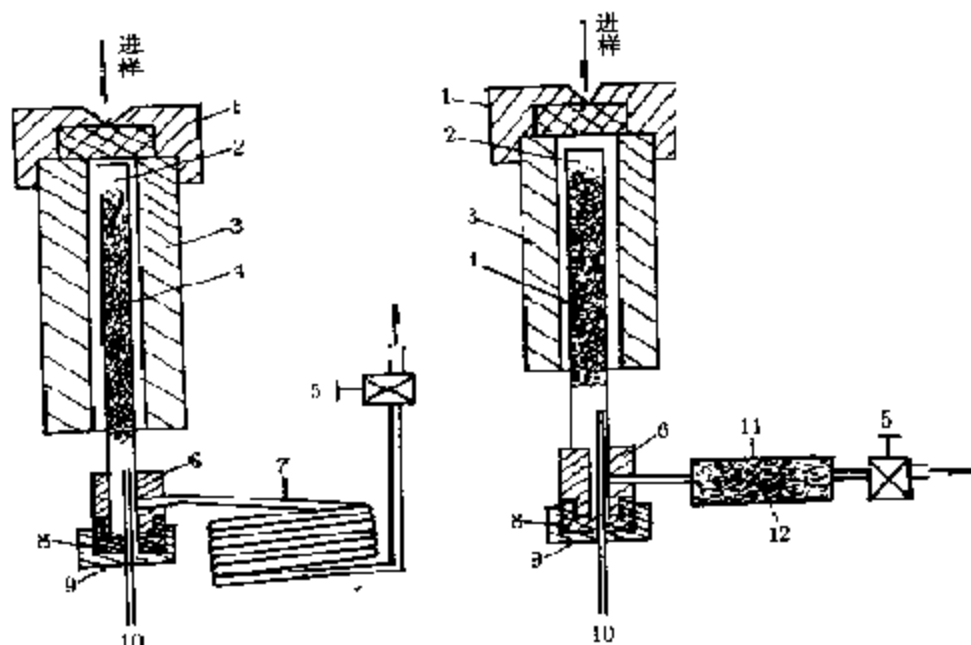


图 88 分流比调节方法

- 1—螺母 2—玻璃内衬管 3—加热管 4—硅烷化玻璃珠
5—针阀 6—分流接头 7—螺旋形缓冲管 8—密封垫
9—螺母 10—毛细管 11—缓冲吸附管 12—吸附剂

$$\text{分流比} = \frac{F_c + F_{cs}}{F_r}$$

F_c 和 F_{cs} 均可由皂膜流量计测试, 但 F_c 测量较麻烦, 可采用下式计算:

$$F_c = \frac{\pi d^2 \cdot u}{4} \times 60 (\text{ml/min})$$

式中 u ——载气平均线速(cm/s)
 d ——毛细管柱内径(cm)

例：一毛细管内径0.31mm, $\bar{u}$ 为13.2cm/s, 放空流速为54ml/min, 则：

$$F_c = \frac{3.14 \times (3.1 \times 10^{-2})^2 \times 13.20}{4} \times$$

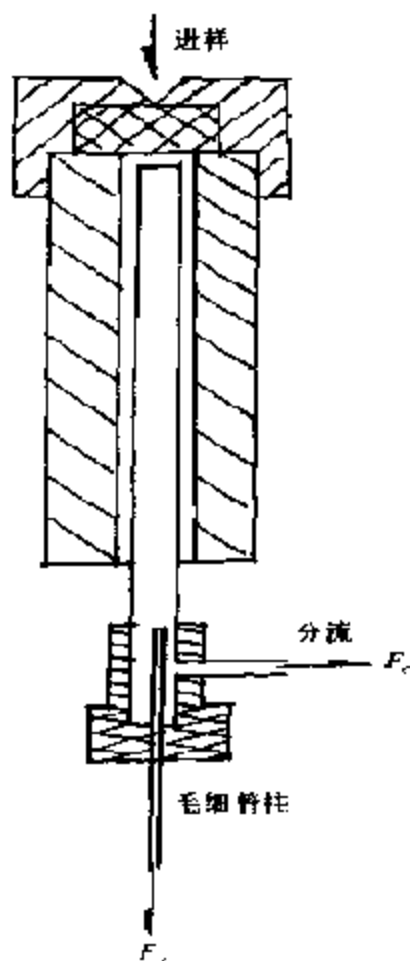
$$60 = 0.6(\text{ml/min})$$

$$F_{\text{总}} = 54(\text{ml/min})$$

$$\text{故：分流比} = \frac{0.6 + 54.0}{0.6} = 91$$

即：分流比为91 : 1

有的分流进样器是有隔垫清扫气的, 清扫气是防止进样的瞬间, 由于溶剂蒸汽扩散到硅橡胶隔垫片附近(或是直接进入载气管路中)而引起的峰形拖尾现象。这种进样器即在隔垫片边接上一个针阀, 放空小于约5ml/min的载气。该图 89 分流比测定示意图



八十九、毛细管色谱分析为什么要加尾吹? 如何控制尾吹气流量? 怎样接口 毛细管柱?

由于毛细管柱流速很低, 通常为0.5~2ml/min, 而毛细管柱出口和检测器间有连接管道, 即存在一定的死体积。若不

加尾吹,则低流速载气通过这个连接管道所需要的时间就长,相应的死体积增大,结果使峰宽增加并严重拖尾,直接影响毛细管系统的分离度和柱效,所以毛细管柱系统对柱后死体积要求非常苛刻。又因为毛细管柱内径很细,柱容量小且样品大部分分流失空,只有极小部分(约 $10^{-6} \sim 10^{-8} \text{g}$)进入检测器,所以对检测器的灵敏度要求也很高。为了满足这两方面的要求,即减小死体积,获得高柱效和理想的色谱峰;增加检测器的灵敏度,在毛细管柱出口到检测器流路中增加了一路称为尾吹气的辅助气路。与填充柱色谱相比,毛细管柱色谱中仅在柱前增加了分流,柱后增加了尾吹,有时填充柱也使用尾吹气,但主要应用于ECD。白酒色谱分析主要采用氮气作尾吹气。

对于FID、FPD、NPD等检测器,施加尾吹可改善氢气作燃气时火焰扩散现象而获得比较尖锐的火焰,从而增加了灵敏度,减小了死体积,也使柱效增高等(见图90、图91)。

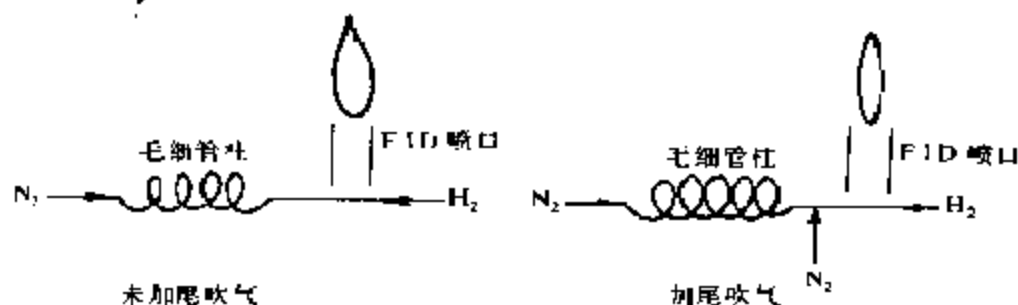


图 90 尾吹气对火焰形状影响示意图

由上可知,尾吹气如此重要,如何控制其流量呢?一般峰高随尾吹气量的增加而增加,如图92。以峰形对称、柱效高、分离好为原则来确定其流量,一般尾吹气流量为 $10 \sim 50 \text{ml/min}$ 。

尾吹系统是用一个小体积的三通管(不锈钢或玻璃制品)引入尾吹气,然后通过稳压阀、稳流阀来控制流量,如图93所示。注意毛细管柱插入尾吹三通管的位置很重要,如图94所示。

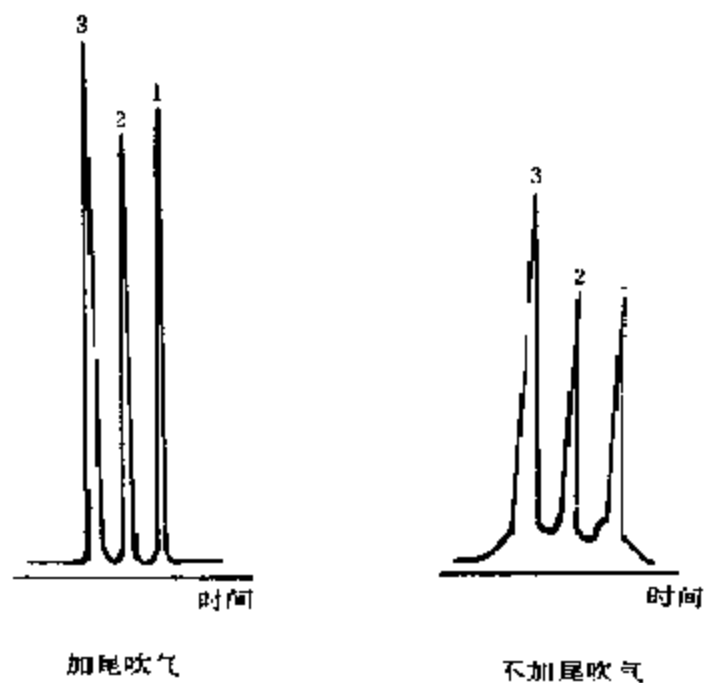


图 91 FID尾吹气对峰形影响示意图

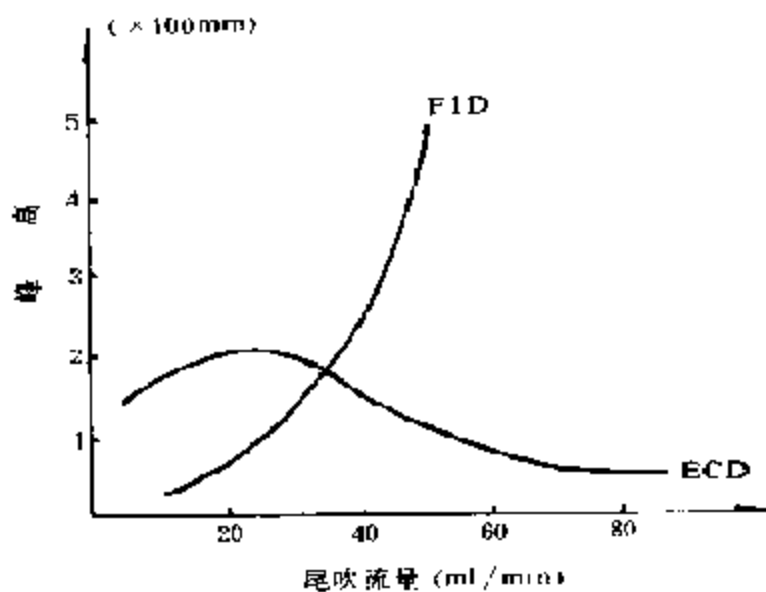


图 92 FID、ECD尾吹气流量和峰高关系

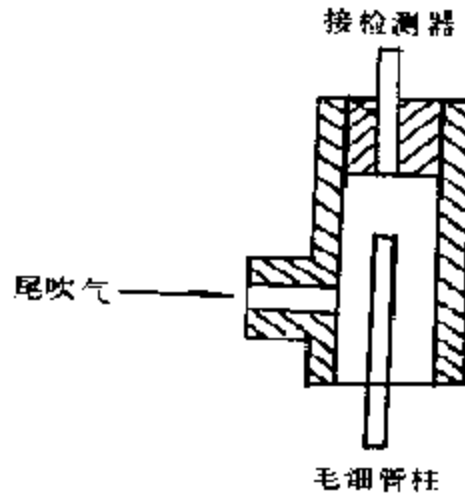


图 93 尾吹三通接口示意图

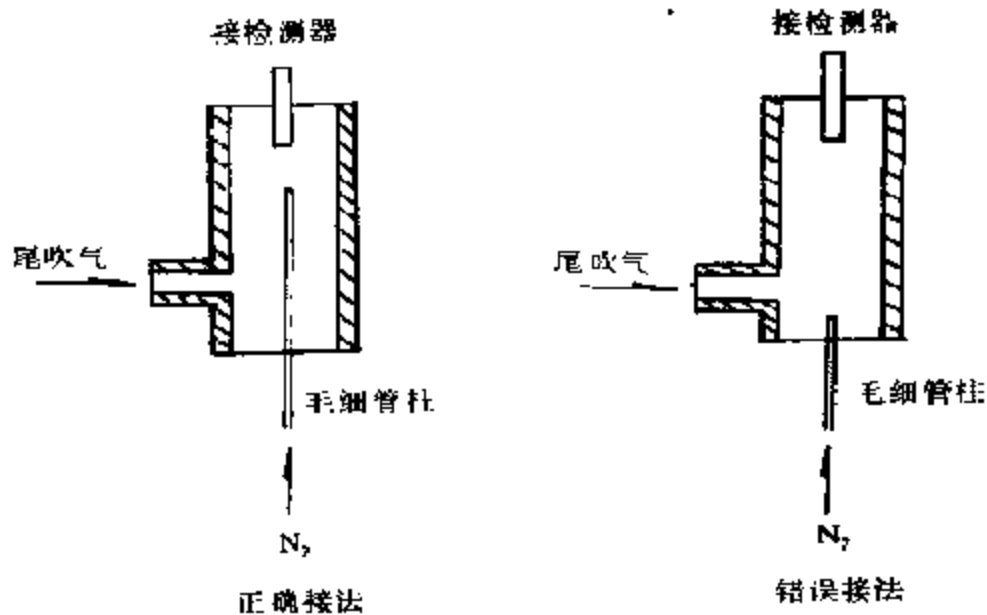


图 94 尾吹三通接口接法示意图

九十、什么是毛细管柱色谱 分析中的不分流进样?

不分流进样主要指Grob型,是指借助于“溶剂效应”的不

分流进样方式。它专门是用于痕量分析、全部样品进入毛细管柱的进样方法。“溶剂效应”是用来克服色谱峰谱带加宽,使峰形锐化的一种方式。当大量的溶剂蒸汽进入柱头时(色谱柱),因为柱温低于溶剂的沸点(约10~25℃),它就冷凝在柱子头上,形成一个较厚的涂层,其作用类似一个临时的“液相”。当其他样品组分通过它时,就在这个“液相”中发生分配过程。在这个过程中,由于样品谱带的前部是在愈来愈厚的液膜上移动,其后部是在较薄的液膜上移动,后部移动比前部快,从而使其整个峰形压缩变窄。影响溶剂效应的因素一是溶剂的挥发度,二是柱温。

不分流进样系统适用于一般毛细管柱,其柱温一般选择在溶剂沸点以下15℃或更低(见表18),其汽化温度比分流法低,进样速度缓慢。不分流时间(即进样时间)可由实验确定,一般在20~60s之间,进样速度 $>1\mu\text{l/s}$,载气流速在2~3ml/min时,进样时间90s,样品蒸汽流速与进样时间、样品转移量有关。溶剂的选择十分重要,若溶剂的挥发度太高,将使峰形变宽,反之挥发度太低,则会掩盖早流出的峰。最常用的是二硫化碳和二氯甲烷,溶剂的选择见表18。进样量将直接影响溶剂效应的大小、峰形和柱效,进样量一般在2~3 μl ,Vogt进样量可高达250 μl 以上。

表 18 不分流进样溶剂的选择

名 称	沸 点	建议初始温度	名 称	沸 点	建议初始温度
二氯甲烷	40℃	10~25℃	戊 烷	36℃	10~25℃
氯 仿	61℃	25~50℃	正己烷	69℃	40~60℃
二硫化碳	46℃	10~35℃	异辛烷	99℃	70~85℃
乙 醚	35℃	10~25℃			

目前国外色谱仪,多数为分流、不分流两用进样系统,在Grob不分流进样器的基础上,Vogt设计了一种用于痕量分析的分流/不分流或混合型进样系统,见图95。Grob型不分流进样系统的典型操作方法是:在暂时关闭系统分流阀和选用较低的汽化温度、柱温的条件下,缓慢地将若干量稀样品溶液注射进进样器。当绝大部分样品被载气吹进色谱柱后,打开分流阀,用载气清洗进样器,然后再恒温或程序升温进行色谱分离。所以“不分流”事实上不是真正的不分流,而是分流放空那一部分(5%)不影响定量结果。Vogt型分流/不分流进样系统的操作方法的特点是既能以分流/不分流单独操作,又能以混合操作方式,进大量液样。混合操作方式并不以溶剂效应为主,而是在汽化室冷捕集样品,分流掉溶剂,显示无溶剂色谱分离之优点。

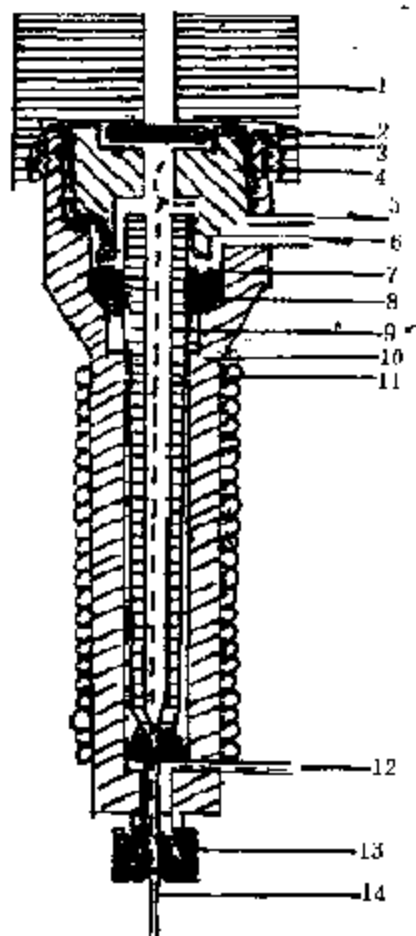


图 95 Vogt型分流/不分流进样系统剖面图

- 1—顶帽 2—胶垫 3—O型圈 4 玻璃衬套管 5—清洗气 6—载气 7 密封环 8 石墨垫 9—玻璃封管 10—进样器 11—热电偶 12—分流出口 13—石墨垫 14—毛细管柱

九十一、什么是毛细管色谱的冷柱头进样和冷柱头程序升温汽化进样？

冷柱头进样是一种直接把样品注射到毛细管柱头上的进样，所以也叫直接进样或柱上进样，即样品不经过汽化阶段，故“冷”是 its 特点。常用Grob型冷柱头进样器(见图96)，

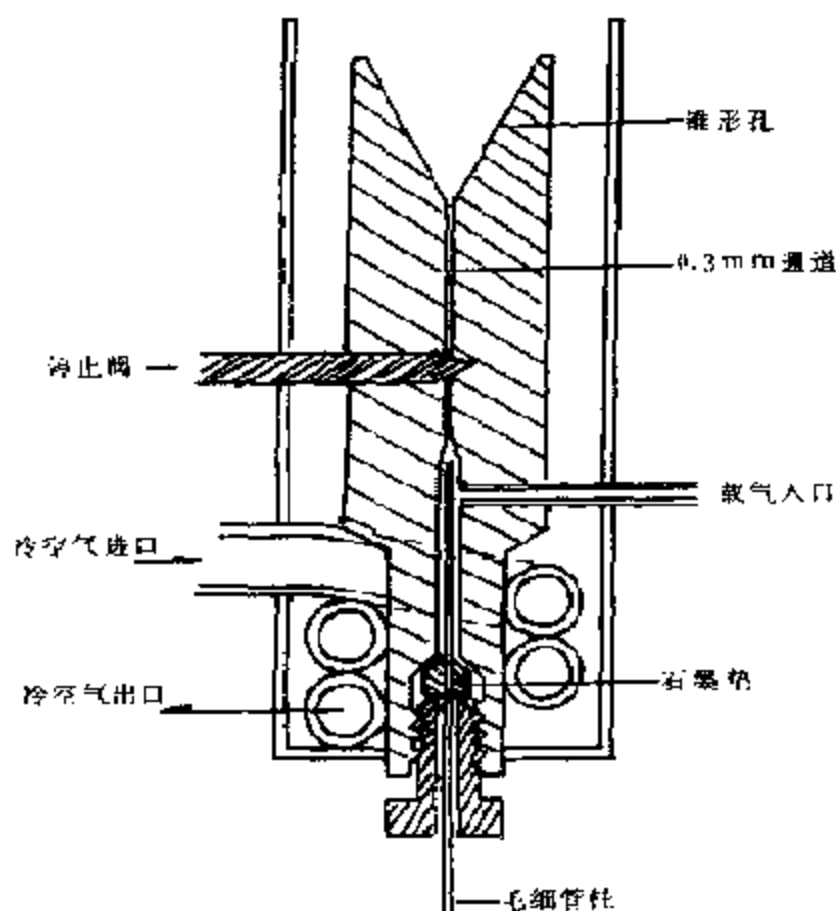


图 96 Grob冷柱头进样器示意图

使用带细长注射针头的专用注射器进样，柱子的起始温度要高于溶剂沸点。先把注射针头插入进样通道，停在停止阀上方，打

开停止阀, 插到毛细管柱头上, 快速连续注射, 然后提回到停止阀上部, 关好阀门, 再拔出针, 开始分析。该系统的密封是靠专用注射器针头(外径0.23mm, 长80mm)和进样通道间(内径0.3mm)的紧密配合实现的。该进样技术消除了宽沸程样品失真和不稳定组分的吸附和分解; 柱效高; 易实现常规操作; 同不分流进样相比, 样品浓度可高至0.1%, 进样量可 $<0.1\mu\text{l}$; 由于无隔垫, 克服了怪峰现象。但该进样也有许多缺点: 浓度 $>0.1\%$ 的样品需要用溶剂稀释; 不易挥发组分沉积压在柱头上, 污染柱子; 需要专门的超细长针头, 操作不方便; 大量溶剂进入柱子, 对液膜有影响, 易引起峰形扩张; 保留值重复不好, 不易实现自动化。

Poy, Schomburg等人在分析了分流、不分流, 柱头进样等的缺点以后, 开发出了冷柱头程序升温汽化进样技术, 即进样器的温度

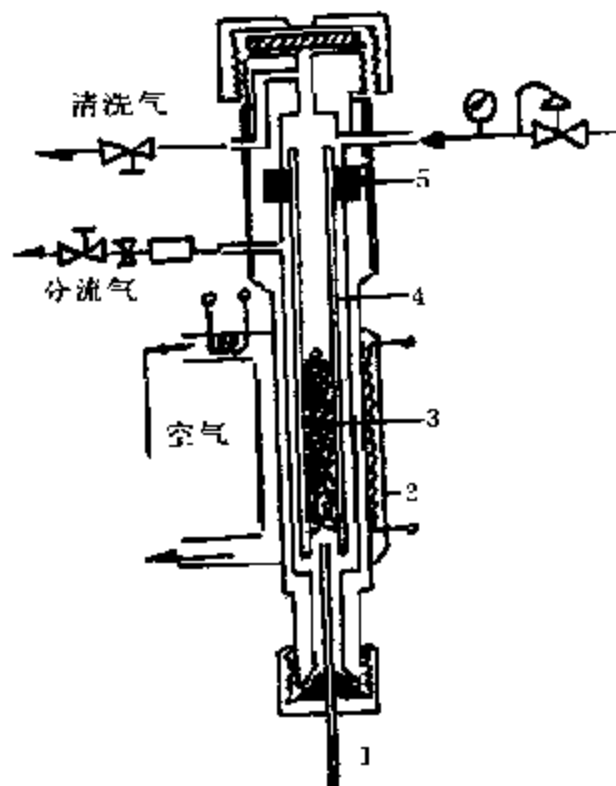


图 97 冷柱头程序升温汽化进样器

1- 毛细管柱 2- 汽化室 3- 玻璃珠 4- 玻璃衬管 5- 石墨垫

可根据设定的程序由低到高地变化,以满足分析的需要。如图97,玻璃衬管长50mm,外径2.0mm,内径1.0mm,内装硅烷化玻璃球(或不同极性固定相)为预柱,其作用是增加热容量和保护分析柱。汽化室温度0~400℃,需准确控制,可在15s内由50℃升到350℃。该法可采取3种方式进样:使用一般注射器,冷不分流进样(全部样品进柱);冷溶剂分离进样(把溶剂分离掉);热或冷汽化分流进样。此法优点是适于精密准确定量分析,可用3种不同方式进样,采用普通注射器进样,毛细管柱不需伸直,内衬管当预柱,消除了非挥发性组分对柱子的污染,清洗方便,操作方便,可与自动进样器配合。缺点是结构复杂,造价高。

九十二、毛细管色谱分流进样有何改进?

人们针对分流进样中的非线性分流和样品失真问题进行了深入的研究,样品失真主要是由以下因素造成的:第一、宽沸程样品中,不同组分挥发性不同,所以从针头上蒸发速度不同,由于蒸发速度和分子大小不同而引起扩散速度上的差异。第二、由于载气连续流动,使样品蒸发不完全或蒸发速度有限。第三、样品在汽化室高温下激烈蒸发,难挥发组分在载气入口冷区吸附。第四、样品蒸气和载气混合不均匀及压力波动,造成分流比变化。第五、样品在内插管或垫片上的吸附及进样速度,载气流速等影响。即综合起来,分流进样的“失真”来自样品汽化时气相组成改变和溶剂与气态样品混合不均匀,而造成分流比的改变。如图98(a),当无载气流动时,样品蒸发的时间不同,溶剂、低沸物蒸发快、高沸物滞后,但因无载气流动,故由于扩散作用,溶剂蒸汽将会均匀地分布在所形成

的样品塞子中,直到入口处,分流比不变。如图98(b),当有载气流动时,这种对称分布就会被吹散,使大部分溶剂和低沸点物冲到样品的前面,由于气相中粘度的变化和溶剂的冷凝,低沸物的分流比将变得很低。载气流速越快,低沸物和高沸物比的差别也越大,失真加重。

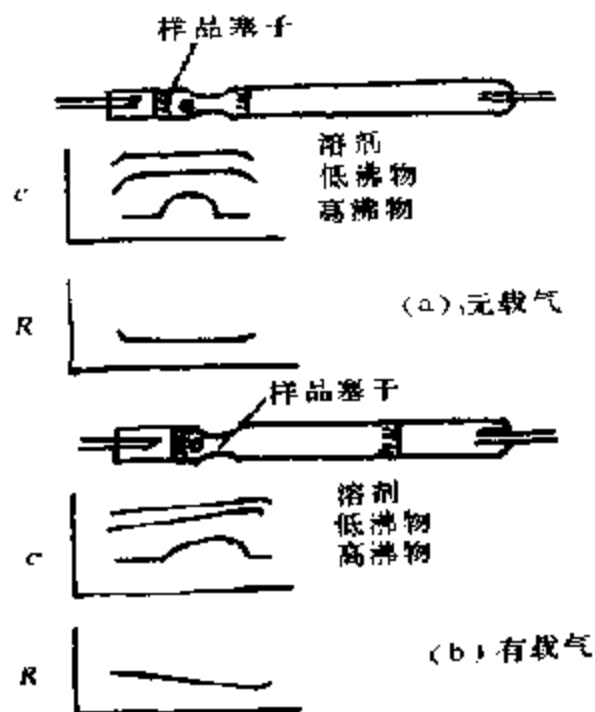


图 98 样品汽化气相组成及分流比示意图

c—浓度 R—分流比

因此,如果降低蒸发区载气流速,就可减小失真,所以 Bayer 提出了“关闭气流—分流进样法”,即进样时先关闭载气 1~2s,待形成均匀样品塞子后,再迅速打开载气,吹扫分流区的样品。或先关闭分流阀下面的开关阀,使载气停止,并让压力平衡 10s,这样停 1~2s 后打开开关阀分流进样。或关闭载气入口开关阀,步骤同上。该法的优点是,当注射温度、溶

剂性质,进样体积及关闭气流时间等操作参数在一定范围内变化时,对宽沸程样品能得到准确、重复的定量结果,而样品失真可以忽略;分流比在15~100范围内对定量无影响,对不同浓度样品(>50ppm)可采用不同分流比来分析,不必稀释。内衬管装有玻璃珠,结构简单,易于更换清洗,各种毛细管分流进样装置几乎不经改装即可使用。该法的缺点:关闭气流时间不易掌握,过短和过长也会引起失真;结构复杂,操作不方便。

我国孙传经等人针对分流进样的缺点,研制出“停流—分流进样器”和“停流—不分流进样器”。前者如图99所示,气路

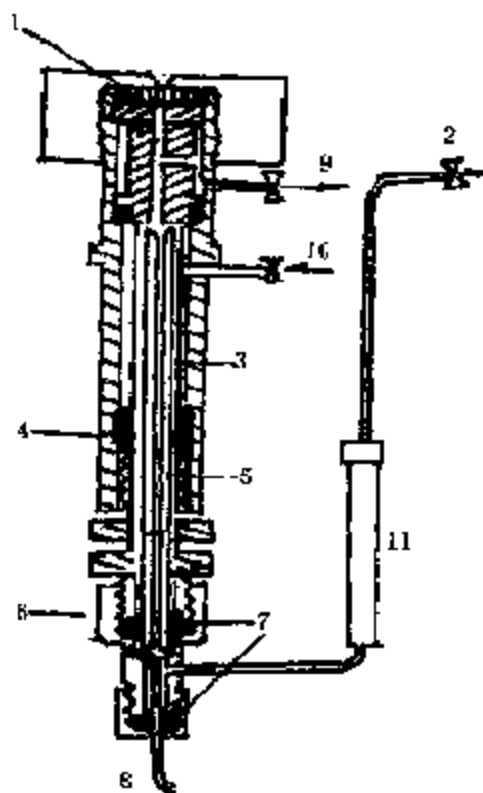


图 99 停留—分流进样器示意图

- 1—垫片 2 分流阀 3—不锈钢管 4—下套 5—玻璃进样器 6—三通接头
7—石墨垫 8—毛细管柱 9—清洗气 10—载气 11—吸收管

和分流法相似,内装特制的玻璃进样器,其内径与注射器针头

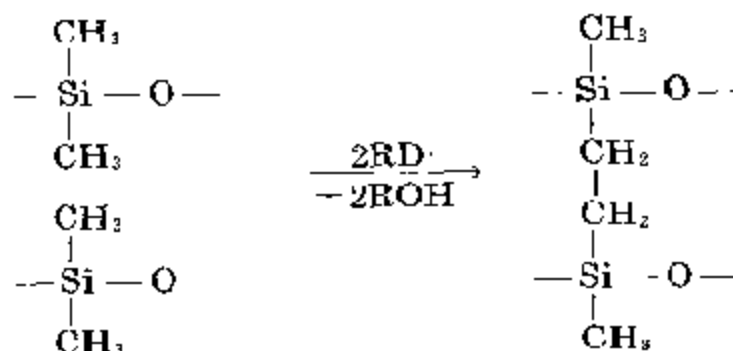
相密合,进样时以普通的注射器、针头由上部插入。此时,载气停流,注射后停1~2s,让样品汽化完全,形成均匀样品塞子。然后拔针,载气迅速吹扫分流区的样品,小部分进毛细管柱,大部分分流放空。该法除具有一般分流法的大部分优点外,还有宽沸程样品不失真,不浪费样品和载气,不污染环境等优点,适用于高纯物、稀溶液的痕量分析。缺点是汽化室属闪蒸法加热型,对不稳定样品易产生吸附、分解等,以及由于胶垫之因产生怪峰等。“停流—不分流进样法”是在特制的玻璃进样器下边,通过一通接头直接毛细管柱,以0.5 μ l注射器进样,进样时瞬间载气停流,样品单向汽化。拔针后样品蒸汽被载气全部扫入毛细管柱中进行分析。该法的最大优点是解决了“失真”问题,节省样品和载气等等。缺点是载气流速不易控制,高浓度样品要稀释后才能分析。

九十三、何谓交联毛细管柱? 在白 酒分析中有何用途?

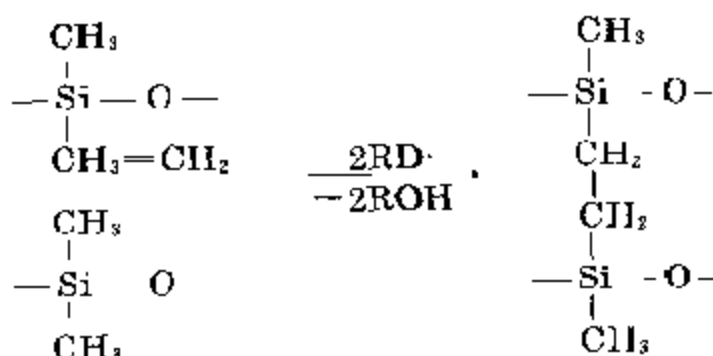
WCOT、SCOT等涂渍型毛细管柱,分离效果好,柱效高,但热稳定性差,特别是使用时间长了,固定液在有机溶剂冲洗下流失严重,柱效随之降低,也就是说毛细管柱耐溶剂性差。近年来,国内外色谱工作者为了寻求高效、耐温、惰性和抗溶剂冲刷的毛细管柱,进行了大量的研究探索工作,取得了可喜的成绩。其中交联性毛细管柱即为最重要的进展之一。80年代初,人们发现采用交联引发剂和固定液同时涂渍以后,在较高温度下热处理可以产生各种交联固定相,即是将固定液固定在毛细管内壁上。最常用的固定方法有加热自交联、过氧化物

引发交联、辐射交联、偶氮化物交联、臭氧交联等等。固定相分子间共价键交联后,其分子量增大,故就提高了使用温度;交联后用溶剂冲洗,就提高了抗溶剂性,改善了涂渍效率,所以成为一类较理想的毛细管柱,这类柱称为交联毛细管柱。白酒中乙醇占的比例大,乙醇是很多固定相的有机溶剂,所以用未交联的毛细管柱来分析白酒,其柱子的使用寿命不长,而且柱效受到限制。相反,交联柱用于白酒分析,则寿命长、效果好,是今后白酒分析的主要毛细管柱。交联毛细管柱制备原理,是将橡胶工业中引发聚合物分子,使之生成交联高分子的技术应用于内壁涂层上,即在固定相分子间进行共价连接。其反应机理如下:

(1) 由过氧化物引发聚硅氧烷,在高温下形成Si—C—C—Si链:



(2) 由过氧化物引发含烯基聚硅氧烷,在高温下形成Si—C—C—Si链:



交联反应多发生在碳碳键之间,形成Si—C—C—Si键的三维结构,稳定性增加。常用的过氧化物引发剂有二异丙苯过氧化物(DCUP)、过氧化苯甲酰、叔丁基过氧化物等。前者上海试剂厂有商品供应。

九十四、怎样制备交联PEG20M玻璃和交联SE-54石英弹性毛细管柱?

交联PEG20M柱的制备:

(1) 石墨化炭黑(GCB)悬浮液的制备 在烧杯中加入25ml(CCl_4)、25ml CH_2Cl_2 、50mg GCB,超声波处理30min。

(2) 量取10ml GCB悬浮液,通过已用 CH_2Cl_2 润洗过的毛细管柱,线速20cm/s、相反方向再涂一遍。毛细管以氮气吹干后,再用动态法涂渍10~20%PEG20M+1~2%DCUP CH_2Cl_2 溶液。

将涂好的毛细管柱两端封死,置于色谱炉中,以5℃/min程序升温至150℃,保持1h,然后在250℃老化60min。再把毛细管柱以20ml CH_2Cl_2 冲洗,在260℃老化8h。

(3) 柱性能的测试 用正辛醇、2,6-二甲基苯酚、2,6-二甲基苯胺、十酸甲酯、十一酸甲酯、十二酸甲酯标准混合物,测定柱性能。再在100℃多次打入水样及含酚、醇、胺水溶液。结果表明,柱效3200~4400/m,峰形对称,抗水性能良好。本法简单、快速,柱效、重现性都很好。

交联SE-54石英弹性柱的制备:

(1) 静态涂渍 涂渍液中含有的过氧化物为固定相重量

的0.1~0.5%。

(2) 引发过程 涂完的色谱柱通过低速氮气流,并在150℃及225℃恒温1h。

(3) 溶剂洗涤 用二氯甲烷及正己烷(体积比1:1)混合剂通过柱内。溶剂体积约为柱内体积的3~5倍。

(4) 老化 从100℃开始,以2℃/min的升温速率升至360℃,并在360℃保持8h。

柱子的性能测试是用辛酮 2, 辛醇 1, 2, 6-二甲基苯酚、2,4-二甲基苯胺、萘、正十二烷及正十三烷七元混合样品测试柱子的内壁惰性及柱效率。以8℃/min的升温速率,使柱温从100℃升到340℃,考察柱子的热稳定性。

九十五、什么是大孔径和微孔径 径交联毛细管柱?

毛细管柱的直径和液膜厚度,最近引起人们的兴趣,毛细管柱的两个极端是大孔径($\geq 0.53\text{mm}$)和微孔径($< 0.1\text{mm}$)柱。HP公司提出最佳柱径为0.5mm, d_f (液膜厚度)为1.5~3 μm 。这种柱能同时起到填充柱和毛细管柱的作用,即样品容量比一般毛细管柱大,而柱效仍保持毛细管柱的高分离度。Chrompack公司则主张用0.1mm直径柱,并用表19的数据说明这种柱对进样系统无特殊要求,而又能以最短柱长获得最高柱效,分析速度也有极大提高。对于柱长,一般用10m,多组分时,柱长 $\geq 50\text{m}$;快速分析,用微孔径,柱长1m左右,就可在几秒之内出峰完毕。

表 19

柱直径与柱效关系

柱 直 径 (mm)	塔板高度H (mm)	每米柱长的最多塔板数 n_{max}/m (片/m)	塔板数 $n=10^4$ 时 柱长(m)
0.5	0.4203	2376	52.6
0.32	0.2693	3713	33.7
0.22	0.1852	5401	23.1
0.1	0.0842	11882	10.5
0.05	0.0421	23764	5.3

但 $\phi 0.05\text{mm}$ 柱, 虽然 5.3m 就能得到相同的柱效, 可是这种微孔径 GC 柱 (主要用于 SFC, 即超临界流体) 对进样系统和讯号接收系统都有较苛刻的要求, 难于实现。

大孔径 (Megabore) 开管柱, 通常指内径 $\geq 0.53\text{mm}$ 的开管柱。0.53mm 意味着, 用普通的微量注射器的针头, 可以直接插入开管柱内, 进行柱头注射进样。而注入大量溶剂则要求柱子必须是交联型的, 抗溶剂冲洗。为了提高柱容量和柱效, 则要求扩大柱子的内表面, 以便多涂固定液而使 d_f 较小, 即要求对柱子进行交联。

大孔径交联柱的特点是, 柱容量较大, 内径较粗, 载气流速大 (5~10ml/min), 因而可不分流进样或柱头直接进样。适合于各种检测器及 GC/MS 分析, 既可代替填充柱 (用短柱子) 作常规分析, 定量结果准; 又可用长柱子做多组分分析。是目前最受欢迎的柱型之一, 国内已有商品供应。

微孔径 (Microbore) 毛细管柱是柱径 $< 0.1\text{mm}$ 的毛细管柱。主要用作毛细管超临界流体色谱柱 (CSFC) 和快速分析的短毛细管气相色谱柱 (CGC)。柱径范围为 $50 \sim 150\mu\text{m}$, 柱长 5~20m。

由于这种柱子内径很细, 一般是涂壁交联柱, 制法与一般静态法交联柱同。