

影响气相色谱系统的因素

气相色谱法是近 20 余年迅速发展起来的一种新型的分离分析方法,已逐渐成为一门专门的科学气相色谱法。其最早应用于分离分析石油产品,目前已被广泛应用于石油、化工、有机合成、医药及食品等工业的科学研究和生产等方面,不仅如此气相色谱法还可应用于生物化学、临床诊断和药理等方面的研究,特别在环境保护方面,对于水、空气等的监视工作,气相色谱法已成为一种重要的手段。要获得稳定、可靠的分析数据,就需要保证气相色谱系统的最佳运行状态,而其各部分装置的性能如:载气、进样口、色谱柱、检测器等性能极大地影响着色谱系统的运行状况。选择一个好的分析方法固然非常重要,但其首要条件是要在一个稳定、良好运行的色谱系统上实现的,因此保证各部分装置的性能是获得可靠的分析数据的前提。

1 载气

在气相色谱中,各种气体,如载气、燃气、助燃气等的纯度会直接影响色谱仪的灵敏度、稳定性,甚至色谱柱的寿命(柱效为原来的 1/10 时,应更换新的色谱柱)。因此要严格控制气体的质量和杂质的去除。气路管线不能使用塑料管或橡胶管。

1.1 质量要求

纯度要大于 99.999%,对于 FID、TCD 大于 99.999%即可。另外,若使用钢瓶时要注意瓶内的压力,在低于 3~5 个压力时,应更换钢瓶,因为瓶底的杂质较多,使得色谱仪的背景值高。

1.2 水分

对于毛细管柱,则必需干燥,不建议进水样,即使采用厚液膜也不建议采用。因为水能使某些固定相发生水解,破坏色谱柱,产生噪声、拖尾峰或鬼峰。

1.3 氧气

氧气是所有毛细管色谱柱的天敌。在室温或近室温下,长期暴露于氧气并不损坏色谱柱。但是,当柱温升高时,将会出现严重的损坏。

鉴于以上因素,在气相色谱系统中,气体均必须经过严格的净化。但安装时仍应注意一些技巧,否则会达不到预期的效果。无论是串联式、并联式还是混合式,净化器均应靠近仪器,先安装干燥管,再安装脱氧管。首次安装或更换气源时要先冲洗过滤器(不连接色谱仪)。对于脱氧管,应先通载气,再把另一口打开。不同的载气有不同的影响,应从三方面影响因素考虑:峰形扩张(与载气的分子量及流速有关,分子量大,柱效高)、柱压降(与载气的粘度有关)、检测器的灵敏度(热导系数对热导池的影响)。一般选择如下:载气采用低线速时,宜用氮气为载气;

高线速宜用氢气为载气;较大压力降时采用氢气为宜。另外载气流速对色谱柱的柱效也有一定的影响,按公式 $u=L/t_0$,通过实验确定最佳流速。

2 进样口

进样口的作用是准确、重现地把样品导入色谱系统,气化的样品应该是真实的代表液体样品,如无特殊需要,气化过程样品组分不会发生化学变化。因此凡能影响样品气化、稳定性的部件均应考虑每个元件的最佳性能。该部位主要有隔垫、密封垫、衬管。

2.1 隔垫

隔垫的作用是保证样品流路与外部隔开,保持系统内压,防止泄露,避免外部空气渗入,污染系统。一般由耐高温、气密性好的硅橡胶制成。不同品种的隔垫,其质量也有很大的差异,表现为鬼峰的多少、耐穿刺性等。

为避免问题的出现,需要:(1)气化室温度要控制在最高温度范围内;(2)定期更换。目的是为了防止漏气、分解、样品损失、柱流量或分流流量下降、出鬼峰、柱效下降;(3)安装后“手紧”; (4)如果可行,使用隔垫吹扫;(5)用自动进样器;(6)选用针尖锋利的注射器。

2.2 密封垫

密封垫是用来密封色谱柱或衬管与色谱系统的连接。其应该提供无泄露的密封效果、适宜的内径、耐高温的变化。该元件若使用不当或使用旧的密封垫,会导致色谱峰不一致,结果不可靠,使用不合适的密封垫,会使空气和其他污染物渗入色谱系统,严重影响柱效和检测器性能。

为保持仪器最佳性能,每更换一次色谱柱或对色谱柱维护处理时,都要更换密封垫。另外,用前要先将密封垫烘干,保持洁净,避免各种污染,如手、油;重新使用密封垫,要注意密封垫有无破损。更换密封垫仍有可能出现一些问题。

2.3 衬管

衬管是进样体系的中心元件,样品在此挥发成气体。对于不同的应用选择合适的衬管是一件困难和复杂的工作,也是一件很关键的步骤,选择不当,则可能会出现以下现象:峰形变坏、溶质歧视、分析重现性差、样品分解、出鬼峰。因此对于每种应用须考虑衬管的三个特性:

(1)衬管容积:衬管的体积和样品的蒸发时的体积是正确选择衬管的极其重要的因素。如果衬管太小会有样品反闪和损失,影响检测的准确性、重复性和灵敏性。在实际工作中可按溶剂膨胀公式计算:微升= $22.400 \times A \times B \times C$ 。式中:A:密度/分子量;B: $15/(15+\text{柱前压 psi})$;C:(进样口温度+273)/273;(例如:1 μL 的水,250 $^{\circ}\text{C}$,15psi 柱前压 $22.400 \times 1/18$

$\times 15/30 \times 523/273 = 1.192 \mu\text{L}$)

(2)衬管的处理或去活问题:衬管内壁存在着活性基团,对样品组分产生吸附作用,并在谱图上出现拖尾峰,检测灵敏度和重现性下降。经去活的衬管可以防止吸附样品并可最大程度降低不稳定化合物的降解。未经去活的衬管不适用于极性或易降解的样品。在实际应用过程中去活的衬管也可能再现活性,虽然可以用冲洗的方法进行清洁处理出去微粒或用溶剂冲洗挥发性组分,但找一个洁净的处理方法也是很难、很复杂的一项工作,而且有些溶剂还可除掉活化层,所用工具也可能在衬管表面上划痕,有会导致产生不必要的活化点。

(3)衬管的类型:根据不同的应用,安捷伦公司设计不同类型的衬管。锥形衬管可把样品聚集在柱头,减少样品返冲。填充玻璃棉(去活),在衬管的中间位置:可以提供更多的表面积,使样品完全挥发,减少热量不均匀现象、捕集隔垫碎片和不挥发组分,以防这些物质进入色谱柱、擦去注射针头的样品,防止样品残留在隔垫,增加分析重现性;在衬管底部位置:主要目的是用于捕集非挥发性组分。玻璃套杯,主要是帮助样品蒸发和混合,若再加玻璃棉和惰性填料,可改善分析重现性,减少样品歧视。但玻璃棉的衬管不适合用于分析酚类、有机酸、农药、胺类、活性极性化合物、热不稳定化合物。用于分流/不分流的衬管对于组分复杂的样品有很好的益处。

以上三个特点均能影响载气流通过进样口或样品的气化,在实际应用中应考虑这些因素的影响。

3 色谱柱

色谱柱是气相色谱仪的关键部件,是分离样品的重要部位。要得到一个很好的分析分离谱图,主要是取决于固定相和柱温的选择。在气-液色谱中固定相的选择决定于固定液,担体起支持体的作用,因此在气-液色谱中,选择合适的固定液很关键。一般可按照“相似相溶的原则”进行选择。即按分离组分的极性或官能团与固定液相似的原则选择,具体原则如下:

(1)按极性选择:这是一个较为容易的选择,不多说明;

(2)按官能团选择;用类似要分析化合物官能团的固定液,如:酯类,则选择酯或聚酯固定液;醇类则可选择聚乙二醇等醇类固定液;

(3)按重要差别:各组分的沸点是主要矛盾,则选择非极性固定液;若极性为主要矛盾,要选择极性固定液。由于分离的好坏还要决定于柱温、载气流速等许多因素,因此该原则仅作为固定液选择的原则之一,也是对色谱柱选择的最基本的要求。

在实际的操作中,应注意色谱柱的填装、老化、最高使用温度、安装等关键问题。填装时要紧密而且中间不能有停顿,最好是固定相

连续流下来填装。老化时应保持连续的老化,填充柱最好过夜,毛细管柱一般几个小时就可以,而且最好在实际使用温度上 20~30℃再连续老化一段时间,运用程序升温进行老化时要重复几次,会得到更好的老化效果。在实际或老化时不宜长时间在最高使用温度下工作。老化时要注意:不要连接检测器;确保有载气通过;氢气不能作为老化气。

一般情况下,新柱子、长期不用的柱子、改变分离条件,均要进行老化。安装时不宜使填料与喷嘴下端距离太大,以略微有一定的空隙为宜。另外在安装或拆卸时应在室温下操作,填充柱有卡套密封和垫片密封,卡套分三种:金属卡套,塑料卡套,石墨卡套。安装时不易拧的太紧,垫片式密封每次安装色谱柱都要换新的垫片(岛津色谱是垫片密封),并检查色谱柱两头是否用玻璃棉塞好,防止玻璃棉和填料被载气吹到检测器中。

一般毛细管色谱柱色谱柱入口端插入衬管锥口的一半距离,即色谱柱穿过密封垫露出大约 6mm 的头,毛细管色谱柱安装插入的长度要根据仪器的说明书而定,不同的色谱气化室结构不同,所以插进的长度也不同。需要说明的如果操作人员没有采用毛细管色谱柱分流,气化室采用填充柱接口这时与气化室连接毛细管柱不能探进太多,略超出卡套即可。在进行样品的检测时对柱子的柱效都有一定的要求,因此必须柱效保持和提高柱效,可采用如下的方法:

- (1)采用内径小的色谱柱;
- (2)减少液膜厚度;
- (3)使用更长的色谱柱;
- (4)减少进样量;
- (5)采用程序升温,以改善峰形;
- (6)采用适宜的载气流速和适当的载气类型。

4 检测器

大多数检测器是通用型,如:FID、TCD 等,还有用于特殊物质的检测器,如:ECD、NPD 等。对于不同的检测器有不同要求。现对一些主要的检测器进行探讨。

4.1 FID

FID(氢火焰检测器)的灵敏度高、死体积小、响应快、线性范围广,能有效地与毛细柱联用,成为目前对有机物微量分析应用最广的检测器。FID 检测系统主要由检测器、检测电路(放大器)和气路三大部分组成,当发生故障或分析谱图不正常时,应首先判断区分问题是出在哪一部分。FID 系统常见不正常情况有:

- (1)不能点火:问题主要出在气路或检测器;
- (2)基流很大:问题主要出在气路或检测器;

- (3)噪音很大:气路、检测器和电路出问题都有可能;
- (4)灵敏度明显降低:气路、检测器和电路不正常都有可能;
- (5)不出峰:气路、检测器、电路不正常都有可能;
- (6)色谱峰形不正常:进样器、气路、检测器为主要检查对象;
- (7)基线漂移严重:气路、检测器都有可能;
- (8)出现毛刺:收集极、喷嘴不洁净。

常见的检测步骤:

(1)检查气路:检查 H_2 (氢气)、 N_2 (氮气)、AIR(空气)流量是否正常,空气流量太小和喷嘴严重漏气就会引起较大的爆鸣声而不能点火;氢气太小,氮气太大会使点火困难和容易熄火;喷嘴漏气,色谱柱漏气不仅会使点火困难,也会导致灵敏度降低,甚至不出峰;氢气与氮气流量比将明显影响灵敏度;氢气流量太大也会造成噪音变大;气路系统不干净,包括进样器污染,检测器污染或色谱柱没有充分老化都会引起基流、噪音较大和基线漂移。在点火时请注意基流大小:在点火前,检测器基线位置一般来说,应为零或很小,仅有 0.1~0.3 左右,点火后 H_2 气调回正常工作值时,基线为 100 以内,说明系统十分干净,一般还能使用,若基线值很大,就说明系统污染比较严重,这时噪音、漂移都很大,仪器稳定时间也较长。检查是哪部分受到污染的简单方法,就是分别单独将某一部分的工作温度升高,若基线明显变大,该部分就污染严重。气路(包括进样器)中的堵塞和漏气,往往会引出峰不正常;进样器中衬管没有压平也会破坏正常峰形。

(2)检查检测器:检查喷嘴是否漏气,堵塞。另外还应注意积水、灯丝老化、生锈也是点不着火的一个原因。另外对于检测器的使用,其温度设定应不低于 $150^{\circ}C$,建议在 $200^{\circ}C$ 以上,并应在此温度下保持一定时间再点火,这样可以除去检测器存留的水分,关闭时可先关闭氢气,继续开着空气,可避免一些杂质的附着。

(3)对于检测器的喷嘴、收集极进行清洗应按如下步骤进行:溶剂超声—热水冲洗—甲醇冲洗—吹干。切记不可用尖锐的硬物划伤喷嘴、收集极,这样会造成新的活化点出现。安装时切记不可用手直接接触该部件。

4.2 TCD

对于该检测器必须保证载气、参比气、尾吹气来自同一个气源;确保参比气吹净参比极和温度超过 $150^{\circ}C$,才能开启灯丝。在清洗检测器时应进行热清洗,并要持续几个小时后,再冷却至正常操作温度。清洗时要与柱子断开,并堵上与柱子的连接口。

4.3 ECD

由于该检测器有放射源,因此应将尾气排放到室外。清洗时,不可拆下检测器,只能进行热清洗,加热至 $375^{\circ}C$,尾吹气为 $50\sim60\text{mL/min}$ 。

4.4 NPD

该检测器主要用来检测氮、磷,与 FID 基本相同,不同的是在喷嘴上方有铷珠,因此应特别注意,在长期不用时因其怕潮,要常加热、烘干。清洗也应采用热清洗的方法。除此之外,进样的技术也是一个很大的影响因素。进样时手不要拿注射器的针头和有样品部位,不要有气泡,吸样时要慢、快速排出再慢吸,反复几次,10 μ L 注射器金属针头部分体积 0.6 μ L,不易观察到气泡,多吸 1~2 μ L 将注射器针尖向上,等气泡游走到顶部再推动注射器排除气泡。进样速度要快(但不易过快),每次进样保持相同速度。

但在实际工作常会出现为保证进样速度,而常常会把注射器的针头和注射器杆弄弯,原因是:

(1)进样口拧的太紧,室温下拧的太紧当气化室温度升高时硅胶密封垫膨胀后会更紧;

(2)位置错误针头扎在进样口金属部位;

(3) 进样时用力太猛。

(4)注射器内壁有污染,注射时将针杆推弯,注射器用一段时间就会发现针管内靠近顶部有一小段黑的东西,这时吸样注射感到吃力。清洗方法:将针杆拔出,注入一点肥皂水,将针杆反复推拉,这样会有一定的帮助,不过要清洗好注射器。分析的样品为溶剂溶解的固体样时,进样后要及时用溶剂清洗注射器。

(5)进样时一定要稳重,否则会把注射器弄弯。

一般来说,任何事物的影响因素都是多种多样的,对于气相色谱也是如此,因此在实际的工作中还应针对不同的原因采取与之相对应的解决办法。