

安捷伦气相色谱仪

气相色谱基本原理



Agilent Technologies

声明

© 安捷伦科技公司版权所有， 2002

根据美国联邦政府和国际著作权的有关法律，未经安捷伦公司许可和书面授权，不得对本书的任何部分以任何形式或手段进行复制（包括电子版储存和检索或翻译成外文）。

手册部件号

G1176-97000

版本说明

2002 年 5 月第一版

中国印刷

安捷伦科技公司
2850 Centerville Road
Wilmington, Delaware 19808-1610 USA

内容提要:

本书所提供的信息将有助于您有效地使用气相色谱仪 (GC)。

1 什么是气相色谱

本章介绍气相色谱的功能和用途，以及色谱仪的基本结构。

2 进样方式

本章介绍气相色谱最常用的几种进样方式。

3 组分分离

样品经过色谱柱而被分离成单个组分。本章将告诉你如何进行分离和怎样使用色谱柱。

4 组分检测

本章将介绍三种常用的气相色谱检测器。

5 图谱解析

最后一章讨论怎样对色谱峰进行鉴定和如何定量测定每一个组分的含量。

目录

1 什么是气相色谱

基于时间的差别进行分离 10

系统 11

气源 12

进样口 12

色谱柱 14

检测器 14

数据处理 15

仪器控制 15

2 进样方式

进样口 18

填充柱进样口 18

分流 / 不分流进样口 19

注射进样技术 22

自动进样的优点 23

进样阀 24

气体进样阀 24

液体进样阀 24

进样口温度 25

气体样品 25

液体样品 25

3 组分分离

色谱柱如何对化合物进行分离 28

色谱基本原理 29

色谱柱类型	30	
毛细管柱	30	
填充柱	30	
色谱柱管材	31	
色谱柱特性	32	
柱效	32	
载气控制	33	
柱分离度	33	
柱选择性	34	
用毛细管柱还是填充柱?		35
柱温	36	
柱箱恒温	36	
程序控温	37	

4 组分检测

热导检测器 (TCD)	40	
工作原理	40	
火焰离子化检测器 (FID)	42	
工作原理	42	
电子捕获检测器 (ECD)	43	
工作原理	43	

5 谱图解析

色谱峰测量	47	
保留时间	47	
色谱峰大小	47	
积分仪和数据系统		48
组分定性	49	
组分定量	50	
未校准计算	50	

峰面积与峰高百分比法	50
校准计算	52
归一化法	54
外标法	55
内标法	56



1 什么是气相色谱

基于时间的差别进行分离	10
系统	11
气源	12
进样口	12
色谱柱	14
检测器	14
数据处理	15
仪器控制	15

气相色谱 (GC) 是一种把混合物分离成单个组分的实验技术。它被用来对样品组分进行鉴定和定量测定。

基于时间的差别进行分离

和物理分离（比如蒸馏和类似的技术）不同，气相色谱 (GC) 是基于时间差别的分离技术。

将气化的混合物或气体通过含有某种物质的管，基于管中物质对不同化合物的保留性能不同而得到分离。这样，就是基于时间的差别对化合物进行分离。样品经过检测器以后，被记录的就是色谱图（图 1），每一个峰代表最初混合样品中不同的组分。

峰出现的时间称为保留时间，可以用来对每个组分进行定性，而峰的大小（峰高或峰面积）则是组分含量大小的度量。

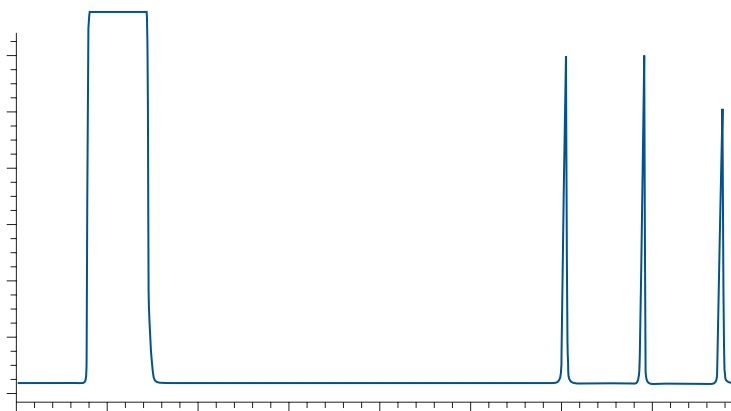


图 1 典型色谱图

系统

一个气相色谱系统包括：

- 可控而纯净的载气源，它能将样品带入 GC 系统
- 进样口，它同时还作为液体样品的气化室
- 色谱柱，实现随时间的分离
- 检测器，当组分通过时，检测器电信号的输出值改变，从而对组分做出响应
- 某种数据处理装置

图 2 是对此作出的一个总结。



图 2 色谱系统

1 什么是气相色谱

气源

载气必须是纯净的。污染物可能与样品或色谱柱反应，产生假峰，进入检测器使基线噪音增大等。推荐使用配备有水分、烃类化合物和氧气捕集阱的高纯载气。见图 3。

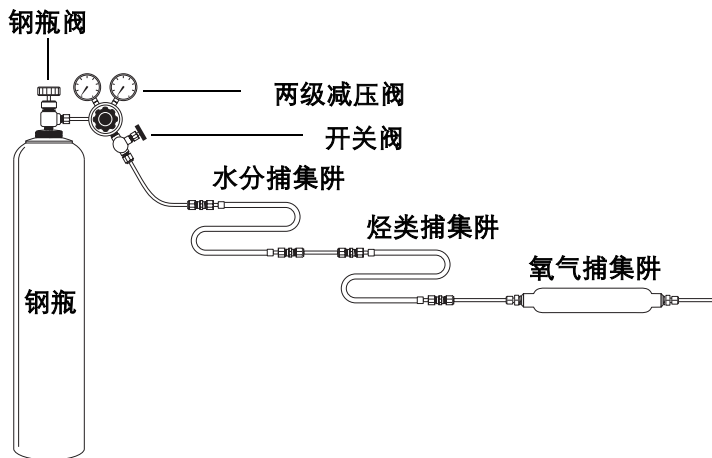


图 3 载气源

若使用气体发生器而不是气体钢瓶时，应对每一台 GC 都装配净化器，并且使气源尽可能靠近仪器的背面。

进样口

进样口就是将挥发后的样品引入载气流。最常用的进样装置是注射进样口和进样阀。

注射进样口

用于气体和液体样品进样。常用来加热使液体样品蒸发。用气体或液体注射器穿透隔垫将样品注入载气流。其原理（非实际设计尺寸）如图 4 所示。

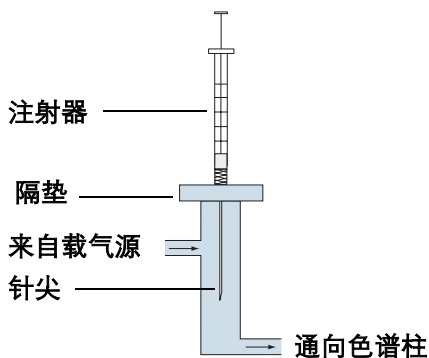


图 4 注射进样口

进样阀

样品从机械控制的定量管被扫入载气流。因为进样量通常差别很大，所以对气体和液体样品采用不同的进样阀。其原理（非实际设计尺寸）如图 5 所示。

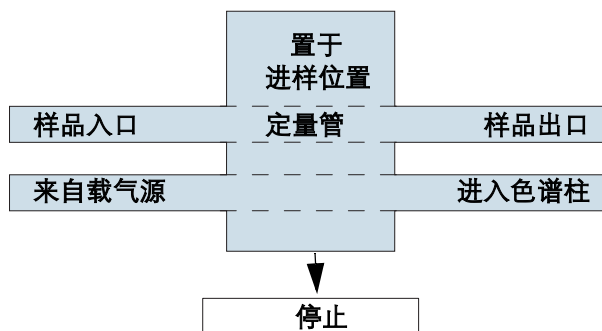


图 5 进样阀

1 什么是气相色谱

进样阀通常与进样口连接，特别在分流进样模式时，进样阀连接到分流 / 不分流进样口。

色谱柱

分离就在色谱柱中进行。因为用户可以选择不同的色谱柱，故使用一台仪器能够进行许多不同的分析。

因为大多数分离都强烈依赖于温度，故色谱柱要安装在能够精密控温的柱箱内，见图 6。

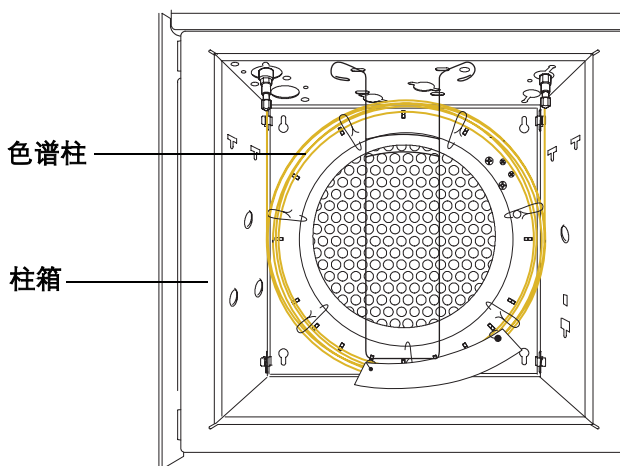


图 6 色谱柱与柱箱

检测器

从色谱柱里出来的含有分离组分的载气通过检测器而产生信号。检测器的输出信号经过转化后成为色谱图，见图 7。



图 7 检测器

有几种类型的检测器可供选择，但是所有的检测器的功能都是相同的：

- 当纯的载气（没有待分离组分）流经检测器时，产生稳定的电信号（基线）。
- 当有待分离组分通过检测器时，产生不同的信号。

数据处理

测量

色谱图记录下了检测器输出的电信号。它可以通过以下几种方式进行处理：

- 在带状图记录仪上记录
- 使用数字积分仪处理
- 用计算机数据系统处理

传统的带状图记录仪必须手工测量峰的保留时间和峰大小。积分仪和数据系统则可直接进行这些测量。强烈推荐使用积分仪和数据系统，因为它们有很好的重现性和灵敏度。

计算

色谱峰的保留时间和峰大小必须转换成待分离组分的名称和含量。这可以通过与已知样品（校准样品）的保留时间和响应值大小进行比较来完成。这种比较可以手工完成，但是鉴于速度和准确性，采用数据处理系统是最好的。

仪器控制

某些数据系统和 GC 组合还可通过数据系统计算机提供对 GC 的直接控制。这样就能创建可存储的方法，需要时调用储存的方法即可，从而可实现高度的自动化分析。

1 什么是气相色谱



2 进样方式

进样口	18
填充柱进样口	18
分流 / 不分流进样口	19
注射进样技术	22
自动进样的优点	23
进样阀	24
气体进样阀	24
液体进样阀	24
进样口温度	25
气体样品	25
液体样品	25

一些样品已经是气体（例如室内或室外的空气，可燃气体等），则可以用气体注射器或气体进样阀直接进样。

大多数样品为液体，为了用气相色谱来分析，必须首先使之气化。这常常由加热的进样口和液体注射器或液体进样阀相结合而完成的。



进样口

进样口的设计和选择取决于色谱柱的直径和类型。下一章将介绍色谱柱类型，填充柱和毛细管柱。

填充柱和大口径毛细管柱使用填充柱进样口；小口径的毛细管柱使用分流 / 不分流进样口。

填充柱进样口

填充柱进样口是为填充柱设计的。可更换的衬管使进样口适用于特定内径的色谱柱，柱内径一般为 1/8 或 1/4 英寸。典型的设计如图 8 所示。

当用大口径毛细管柱时，专用的衬管使得它们可以用于填充柱进样口。这种色谱柱的柱容量与填充柱的类似。

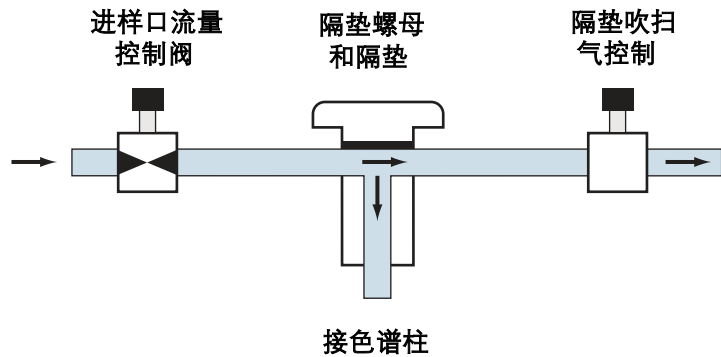


图 8 填充柱进样口

样品用注射器穿过隔垫注入到载气流中。加热的进样口使样品（如果是液体）气化，而后载气将气化的样品带入色谱柱。

分流 / 不分流进样口

分流 / 不分流进样用毛细管柱，有两种操作模式。

分流模式

毛细管柱有较小的样品容量。进样量必须非常少，通常远少于 1 微升，以防止色谱柱超载。

如此小的样品量操作起来是很困难的。分流模式提供了一种方法来解决此问题：采用通常的进样量，气化，然后只把其中一部分引入到色谱柱内进行分析。其余大部分经分流出口放空。

图 9 为典型的分流 / 不分流进样口的分流模式。

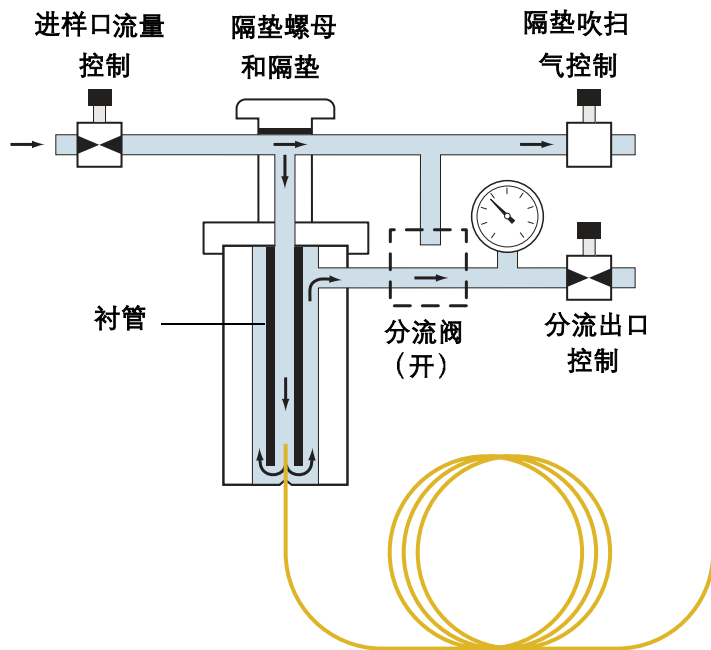


图 9 分流模式

2 进样方式

分流阀开启并一直维持此状态。样品被注射进衬管，同时被气化。气化的样品在色谱柱（气流阻力大）和分流放空口（气流阻力可调）之间分配。

不分流进样模式

此模式特别适用于低浓度的样品。它将样品捕集在柱头，同时将残留在进样口的溶剂气体放空。

此模式包括两个步骤：

1 注射样品

关闭分流阀。载气流在隔垫吹扫气出口和色谱柱之间分配。柱头压力由分流放空调节阀来设定，从而设定流过色谱柱的流速。

注射样品。溶剂（主要的样品成分）在富集样品的柱头产生饱和区带。

图 10 所示为不分流模式进样的流路。

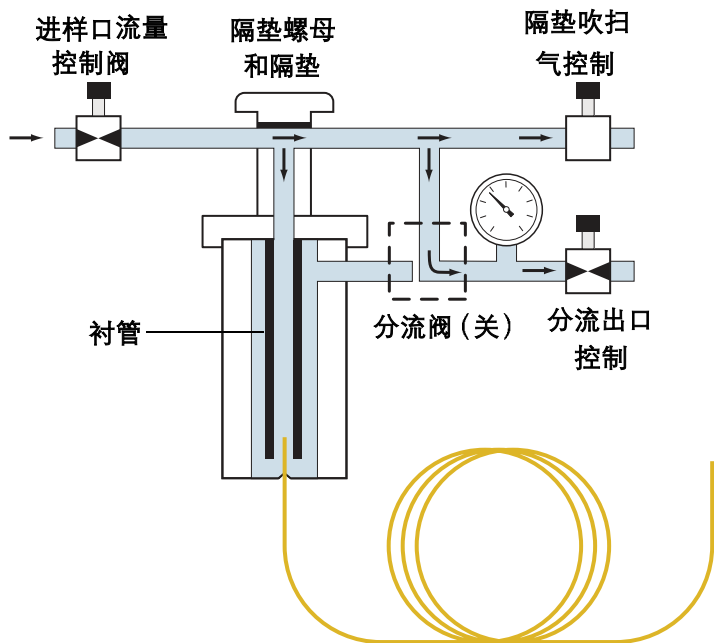


图 10 不分流模式进样

2 进样口吹扫

在样品被捕集到色谱柱头之后，打开分流阀。将残留在进样口中的气体（此时大部分是溶剂）放空。

现在流路和分流模式是相同的（图 9）。

升高柱温，开始将样品组分引入色谱柱并分离。

此方法对于沸点比溶剂高的组分的分离是很有效的。溶剂峰将会很大。要采用程序升温将目标化合物的峰和溶剂峰分离。

不分流模式进样步骤

成功的不分流进样包括以下几个步骤：

- 1 在加热的进样口中使样品和溶剂挥发。
- 2 采用较低的柱温在柱头产生一个溶剂饱和区带。
- 3 利用此区带使样品在柱头进行富集和重组。
- 4 在所有样品，或至少是大部分样品进入色谱柱后，通过打开分流放空阀放空进样口中残留的样品气体。
- 5 升高柱温，先将溶剂，然后将样品从柱头释放。

操作参数初始值设定

您必须通过实验来确定最佳操作参数值。表 1 提供了一些建议的参数设置初始值：

表 1 不分流进样模式的进样口参数初始值设置

仪器参数	建议初始值
柱温	低于溶剂沸点 10 °C
柱箱初始时间	≥ 分流阀开启时间
分流放空阀开启时间	衬管体积 × 2 / 柱流速

注射进样技术

每一个色谱峰的起始点是与载气混合的挥发的样品区域的一部分。在样品组分于柱内被分离的过程中，样品区域由于扩散而展宽。任何色谱峰的宽度都不会比初始区域宽度更窄。

由于分离窄峰比宽峰容易得多，故必须使初始区域宽度最小化。理想的注射进样技术是：

- 1 将样品充入注射器，调节进样量。
- 2 将注射器的针尖以尽可能深地速度穿过进样隔垫（进样口的设计者假定您会这样做）。
- 3 快速压下注射器推杆。
- 4 立即把针从进样口拔出。

重要的就是速度。任何迟疑都将导致样品区域宽度增大。

如果一个熟练的操作者按以上方法进样，他能够达到 3 到 4% 的进样量重复性。能够限制注射器推杆移动距离的机械装置能提高进样重复性。

应避免使用在两个气泡间捕集样品的注射技术。这样您必须做两次估算，因而使进样量的误差增倍。

自动进样的优点

自动进样器是解决进样问题的一个方法。它们能够实现高度重复的进样。因此，它们通常允许采用更简单的峰的含量计算方法（用外标法，而不是内标法）。

如果配备有自动进样器（装备有样品盘，并与数据系统连接），就可以进行全自动分析。

进样阀

气体进样阀

气体样品进样阀包括一个定量管和将定量管接入载气流和脱离载气流的阀体。

图 11 所示为一种常用的进样机理。

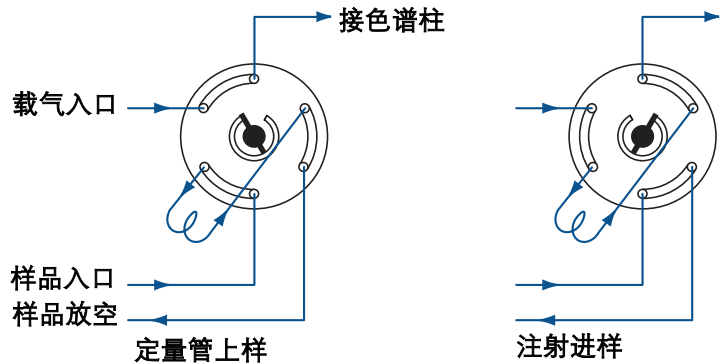


图 11 气体进样阀

样品量通过定量管来确定。定量管是可以更换的，因此一个进样阀能够提供多种高度重复的进样体积。

液体进样阀

这与气体进样阀的原理是一样的。由于液体进样要求更小的进样体积，因此“定量管”是构成阀体的一部分，且是不可更换的。

如果要改变进样量，您必须更换整个进样阀。

进样口温度

气体样品

对于气体样品而言，进样口不需要气化任何物质，因此也就没有必要加热。

然而，大多数色谱工作者更倾向于加热进样口以保证进样口不会使任何物质冷凝。常用的进样口温度为 100 °C。

液体样品

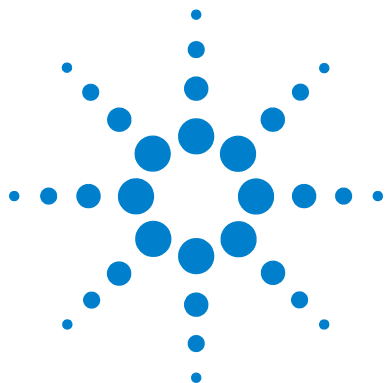
液体样品要求加热进样口。温度要足够高以使样品气化，但又不能过高而导致样品分解。

温度足够高 开始将进样口温度设置为溶剂沸点值并观察色谱峰形。如果所有色谱峰的峰形大致相同（大小不同），说明进样口温度已经足够高了。如果后流出的色谱峰显得过宽，就将进样口温度升高 10 °C 看峰形是否改善。

温度过高 如果出现的峰数比组分数还多，且峰型较差，说明可能有样品分解发生。

在进样口发生分解所产生的峰，其大小主要取决于进样口温度。为了验证是否发生分解，稍稍降低进样口温度后进行第二次分析，然后比较峰的大小。若有明显的变化，就表明在进样口处有样品分解发生。

2 进样方式



3 组分分离

色谱柱如何对化合物进行分离	28
色谱基本原理	29
色谱柱类型	30
毛细管柱	30
填充柱	30
色谱柱管材	31
色谱柱特性	32
柱效	32
载气控制	33
柱分离度	33
柱选择性	34
用毛细管柱还是填充柱?	35
柱温	36
柱箱恒温	36
程序控温	37

混合物在色谱柱内被分离为单个组分。许多色谱柱都可以用来分离混合物。色谱柱的选择取决于混合物的性质和所需获得的信息（分析目的）。然而，所有色谱柱都基于同样的工作原理。



色谱柱如何对化合物进行分离

这是一段含有两个样品组分（彩色的圆点）的色谱柱的横截面。它既没有填料，也没有涂层。这样的色谱柱只是空柱（图 12）。



图 12 未经涂层的色谱柱

如果过几秒钟后再观察，色谱柱内的情况就发生了改变（图 13）。



图 13 几分钟后

由于载气流的带动，样品向柱的右端移动。并且由于样品区域和周围载气中样品浓度的不同而使得样品区带展宽。

样品组分仍然是混合在一起的。

现在我们在柱子的内表面涂一层高沸点物质，然后重复此实验（如图 14）。

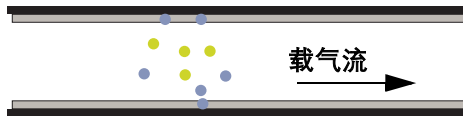


图 14 涂层色谱柱

我们可以用所希望的任何涂层。在这个例子中，我们选用能够溶解蓝色圆点组分而不能溶解黄色圆点组分的固定液。

蓝色组分在固定相和载气两相之间进行分配。黄色组分则停留在气相中。

几秒钟以后我们再观察色谱柱，我们会发现（见图 15）：

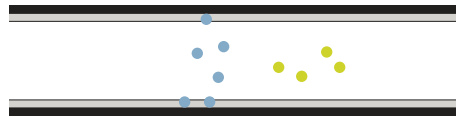


图 15 几秒钟以后

黄色组分与涂层之间没有作用。它随载气一同流过色谱柱并首先从色谱柱中流出。

蓝色组分在固定液和载气之间进行分配。它以较慢的速度流过色谱柱而后流出色谱柱。

样品已经开始分离为两个峰。

色谱基本原理

- 当气化的组分与气相和固定（涂层）相共存时，它就相对吸附性能的不同而在两相间进行分配。
- 此“吸附性能”可以是溶解度，挥发性，极性，特殊的化学相互作用，或其他任何存在于样品组分间的性质差异。
- 如果一相是固定的（涂层）而另一相是流动的（载气），组分将会以比流动相慢的速度迁移。迁移速度慢的程度取决于相互作用的大小。
- 如果不同组分有不同的“吸附性能”，它们将会随时间而被分离。

色谱柱类型

毛细管柱

毛细管柱是将固定相涂在管内壁的开口管，其中没有填充物。毛细管柱的内径从 0.1 到 0.5 毫米。典型的柱长是 30 米，见图 16。

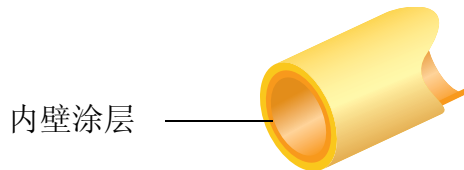


图 16 毛细管柱

毛细管柱产生很窄的色谱峰。这有利于分离非常复杂的混合物。例如，常用的汽车燃油的分析将产生 400 到 500 个色谱峰。

这些用熔融石英毛细管制成的色谱柱呈很好的惰性。在不锈钢和玻璃柱上拖尾现象很严重的样品，如硫醇类化合物，在毛细管柱上能够达到基线分离。

毛细管柱对样品量的要求小于填充柱。特定的进样口，见 19 页“分流 / 不分流进样口”，允许采用常规进样量而在样品进入色谱柱之前进行分流。

填充柱

在填充柱内，固定液被涂在粒度均匀的载体颗粒上以增大表面积，减少涂层厚度。涂好的填料被填充在金属，玻璃，或塑料管内，如图 17。

大多数金属填充柱的外径是 1/8 或 1/4 英寸。玻璃柱通常是 1/4 英寸外径，但是内径不同，使之与两种规格的不锈钢柱有相同的分离效果。

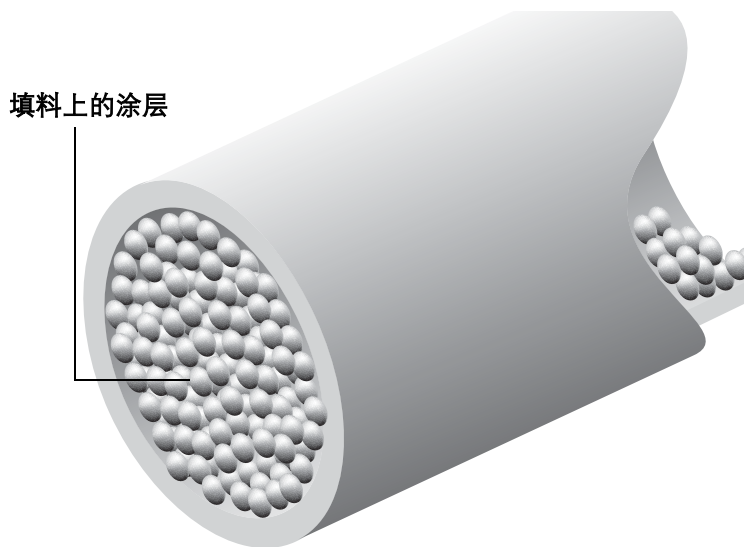


图 17 填充柱

填充柱有较大的样品容量，是老式的灵敏度较低的检测器所必需的。然而，采用现代高灵敏度的检测器，样品容量大的优势已经消失。填充柱仍然适用于气体样品，但是，毛细管柱对于大多液体样品会有更好的分离度。

色谱柱管材

色谱柱管材料包括：

- 不锈钢 — 耐用，但是相对活泼的柱表面可能导致被分离组分的损失和峰拖尾。
- 玻璃 — 质脆，通常要求对内表面进行脱活处理。
- 熔融石英 — 仅用于毛细管柱，惰性好、坚固耐用，是最常用的柱材料。

色谱柱特性

色谱柱的用途是将多组分的样品分成窄的、分离良好的色谱峰。这两个目标并不是完全无关的。

柱效

高柱效的色谱柱产生窄的色谱峰。见图 18。

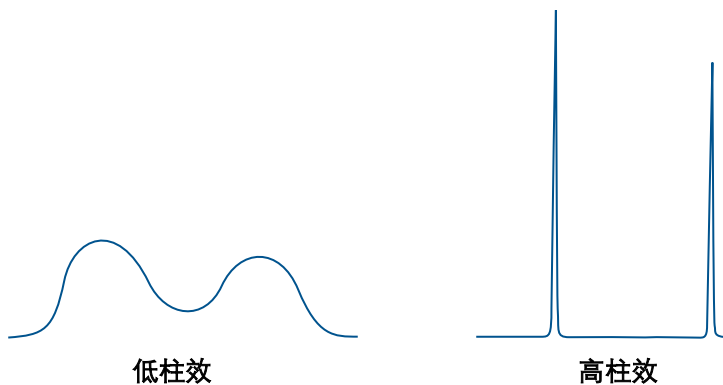


图 18 柱效

柱效是由色谱柱的结构（小的柱内径和薄的固定相涂层有最高的柱效）和载气流速决定的。

表 2 是所推荐的载气流速。

表 2 推荐的载气流速

类型	直径	载气流速, mL/min		
		氢气	氦气	氮气
填充柱	1/8 英寸	30	30	20
填充柱	1/4 英寸	60	60	50
毛细管柱	0.05 mm	0.2-0.5	0.1-0.3	0.02-0.1
毛细管柱	0.1mm	0.3-1	0.2-0.5	0.05-0.2
毛细管柱	0.2 mm	0.7-1.7	0.5-1.2	0.2-0.5
毛细管柱	0.25 mm	1.2-2.5	0.7-1.7	0.3-0.6
毛细管柱	0.32 mm	2-4	1.2-2.5	0.4-1.0
毛细管柱	0.53 mm	5-10	3-7	1.3-2.6

注：较低的流速接近于载气与色谱柱的优化值。通常，色谱柱运行得更快，分析就更迅速，而不会损失多少柱效。如果分离非常好或使用更短的色谱柱，色谱柱甚至还可以运行得更快。大多数情况下，不用低于推荐值的流速，因为它们延长分析时间，还会降低柱效。

载气控制

填充柱内的流速通常是用质量流量控制器来控制的。毛细管柱，由于它的流速很低，常常是用压力来控制流速的。

有些 GC 提供电子气路控制。这样的仪器允许从键盘上设定流速并从显示器上读出。

柱分离度

高分离度的色谱柱能够作到基线分离。如果色谱峰很窄（柱效高），分离将会更容易实现。

载气流速的稍微改变能对分离度产生显著的影响。

结合柱效和分离度的数学定义式，我们可以得到重要的结论：

色谱柱分离度与柱长的平方根成正比。

这意味着增加柱长并不是提高分离度行之有效的办法。柱长加倍，分离时间（和色谱柱成本）也加倍，但是分离度仅仅增加大约 40%。

柱选择性

这是一个定义不很明确的、与固定相有关的性质。事实上，它是固定相对两种化合物表现出不同作用的程度。选择性低——两组分同时流出。选择性高——两色谱峰分离。

用毛细管柱还是填充柱？

两者各有所长。下面是一些需要考虑的因素。

- 气体分析通常用填充柱完成。填充柱有足够的柱容量来适应较大体积的气体进样量。气体样品分析常用填料包括：
 - 分子筛 — 氧气，氮气，氦气，氢气，二氧化碳，一氧化碳，甲烷等。
 - 氧化铝 — 丙烷或更大分子量的化合物
 - 多孔性聚合物微球 (Porapak) — 乙烷，丁烷，二氧化碳等。

其中一些填料（但不是所有填料）可以用于毛细管色谱柱中。

- 毛细管柱有比填充柱更高的分离度。即使选择性低一些，通常也能实现足够的分离。
- 一根毛细管柱能够完成多种分析，而用填充柱则可能需要多根才能完成。
- 对毛细管柱和填充柱都适用的固定液有：
 - 甲基硅烷 — 非极性到中等极性
 - 苯基甲基硅烷（5 到 50% 的苯基）— 烯烃，芳香化合物，中等极性化合物
 - Carbowax（聚乙二醇）— 酸，强极性的物质
- 由于毛细管柱高的分离度，通常可以牺牲一点分离度而减少分析时间。由于分离度与柱长的平方根成正比，因此一根良好的毛细管柱可以被截成两段很好的毛细管柱，而仅损失很少的分离度。分离时间却可以减少一半！

柱温

色谱柱内的固定相（涂层）有一个适用的温度范围。

- 最低温度通常是熔点。低于此，您所做的是气 / 固色谱；高于此，您所做的是气 / 液色谱。结果可能大不相同。
- 最高温度通常是指沸点或降解温度。

色谱柱通常安装在可控温的柱箱里，因为温度对分离的影响是很大的。

柱温可以采用恒温或程序升温。如图 19。

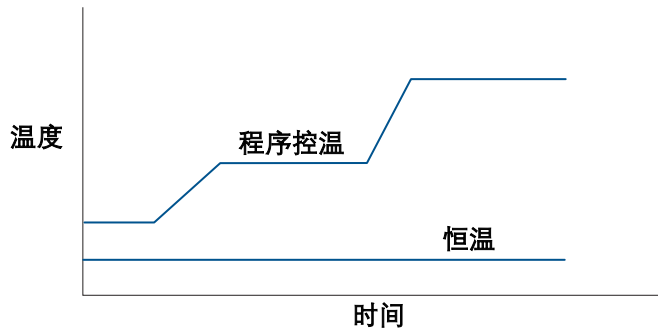


图 19 柱温

柱箱恒温

这是操作柱温箱最简单的方法。在整个分析过程中，柱温将保持不变。它有以下优点：

- 柱温箱总是处于可进行样品分析的状态。
- 两次分析之间不需要间隔时间。

缺点:

- 若样品组分的沸点范围很宽，那么恒温分离将会需要很长时间。
- 由于色谱峰随时间而展宽，后面流出的峰将会难于检测或测定。

程序控温

在分析过程中，柱温随时间而变化，通常是升高柱温。它的优点是:

- 减少分析时间
- 整个分离过程中峰形一致，检测和测定更容易。

缺点:

- 样品组分将经历比恒温分离更高的温度，这可能会导致某些敏感组分降解。
- 在两次进样之间，柱温箱必须冷却到初始温度。这样就抵消了部分所节省的分析时间。

3 组分分离



4 组分检测

热导检测器 (TCD) 40

工作原理 40

火焰离子化检测器 (FID) 42

工作原理 42

电子捕获检测器 (ECD) 43

工作原理 43

本章所介绍的三种检测器能够完成 GC 的大部分工作。还有其他一些检测器起互补作用（见表 3），大多是元素专属性检测器或质量选择性检测器，在这里将不对它们做详细介绍。

表 3 其他检测器

名称	用途
氮磷检测器 (NPD)	含氮和含磷化合物
火焰光度检测器 (FPD)	含硫和含磷化合物
原子发射检测器 (AED)	适用于多种元素
质量选择检测器 (MSD)	利用质谱图对组分进行鉴定；当和气相色谱联用时，成为当今最强有力的鉴定手段



热导检测器 (TCD)

所有气体都能够导热，但是氢气和氦气的热导系数最大（见表 4）。当两者任何一种作为载气时，任何其他成分的存在都将导致热导检测池中气流热导率的下降。

用 TCD 可以测量这种变化，并用来创建色谱图。

表 4 某些气体相对于正己烷的热导率

气体	相对热导系数
四氯化碳	0.44
苯	0.88
正己烷	1.00
氙气	1.04
甲醇	1.10
氮气	1.50
氦气	8.32
氢气	10.68

由于 TCD 是基于热导率的差异而工作的，故氢气或氦气显然是优选的载气。

工作原理

当电压施加于热丝时，它就发热。稳定的温度取决于所施加的电压、热丝的电阻和热丝向周围环境散热的速率。

如果热丝被载气所包围，载气热导率的任何变化都会引起热丝温度的改变。这样就导致热丝电阻的变化。

早期的 TCD 设计是将四根热丝连接成惠斯通电桥。柱流出物流经两根相对的热丝；纯的载气（参比气）流过另外两根热丝。当有被分离样品组分流出色谱柱进入检测器时，电桥的平衡被破坏。

现代的 TCD 设计如图 20 所示。

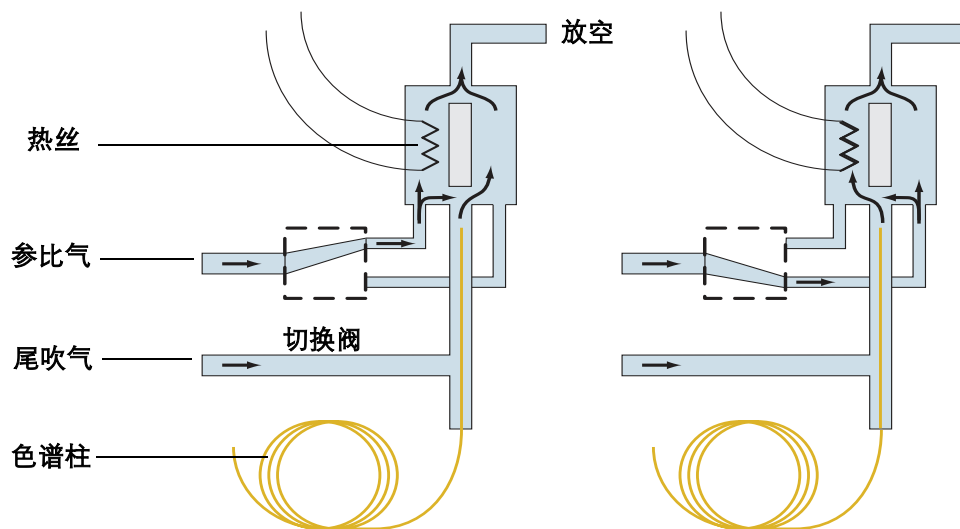


图 20 热导检测器

此检测器只用一根热丝。快速切换阀使得柱流出物（含样品）和参比气交替通过检测池。如果两气流是一样的——没有被分离的组分，气体切换时热丝电阻不变。

然而，在有样品组分进入检测池时，切换到色谱柱流出气时，热丝温度降低；当切换到参比气时，热丝温度又恢复原值。电子传感器能够探测到此变化并调节热丝的电源供给以使温度保持恒定。

电源供给变化曲线的波动幅度取决于柱流出物（有组分存在时）和参比气之间热导率的差异。

火焰离子化检测器 (FID)

氢气和空气燃烧所生成的火焰产生不多的离子。然而有含碳有机物进入火焰中燃烧时，离子产率将增大。

工作原理

从色谱柱流出的载气和氢气混合后在空气中燃烧。FID 有两个电极，其中之一是火焰燃烧的喷嘴，另一个加上极化电压后用来收集火焰中的离子。

当组分进入火焰时，收集极所记录到的电流增大。该电流经过放大后形成色谱图。

FID 对在火焰中产生离子的任何物质都有响应，几乎包括所有有机化合物（有少数例外）。

通用的 FID 设计如图 21 所示。

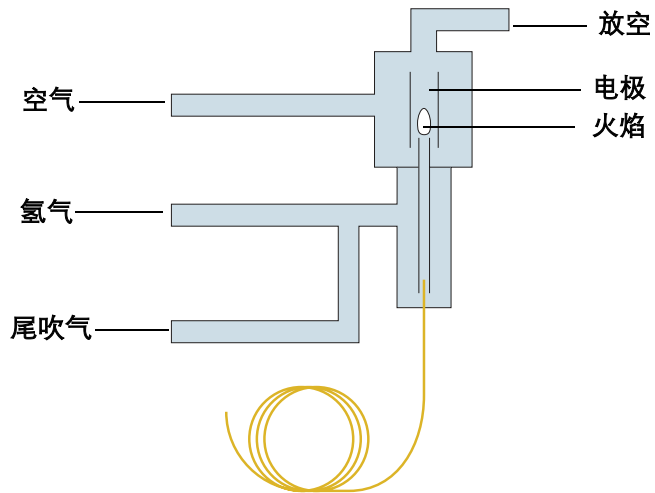


图 21 火焰离子化检测器

电子捕获检测器 (ECD)

电子捕获检测器广泛应用于环境分析领域，这是因为它对含卤素化合物有很高的灵敏度，包括大部分除草剂和农药。

工作原理

检测池中的放射性同位素，通常是 ^{63}Ni ，发射出 β 射线。 β 射线和载气分子碰撞而产生低能量的自由电子。在两电极间施加极化电压以捕集电子流。

某些分子能够捕获低能量的自由电子而形成负离子。当此类化合物分子进入检测池时，部分电子被捕获从而使得收集电流下降。信号经过处理后形成色谱图。

图 22 是一种 ECD 的结构示意图。

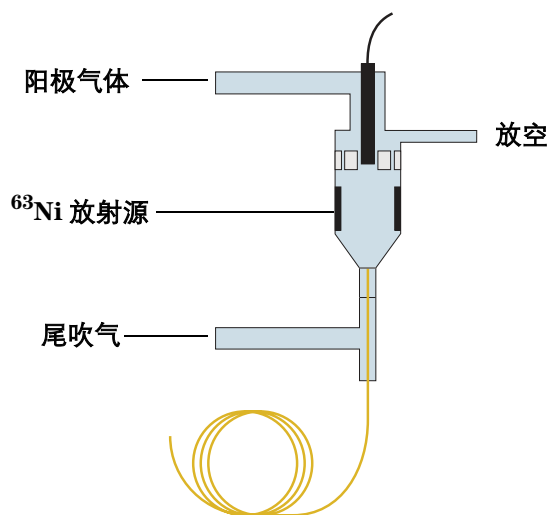
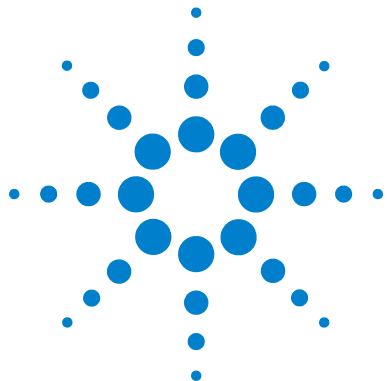


图 22 电子捕获检测器

ECD 是高度选择性的检测器：对能捕获电子的物质有高的灵敏度，而对其他物质则几乎不响应。一些相对响应值见表 5。

表 5 ECD 对某些化合物的灵敏度

化合物	相对于苯 (响应值 =1) 的响应值
苯	1
甲苯	3
丙酮	8
2,3- 丁二酮	800,000
正丁醇	17
氯苯	1,200
溴苯	7,600
1- 氯丁烷	17
1- 溴丁烷	5,000
1- 碘丁烷	1,500,000
氯仿	1,000,000
四氯化碳	6,600,000



5 谱图解析

色谱峰测量	47
保留时间	47
色谱峰大小	47
组分定性	49
组分定量	50
未校准计算	50
峰面积与峰高百分比法	50
校准计算	52
归一化法	54
外标法	55
内标法	56



5 谱图解析

色谱仪产生随时间而变化的信号。当信号被记录下来时，就形成我们熟悉的色谱图（见图 23）。

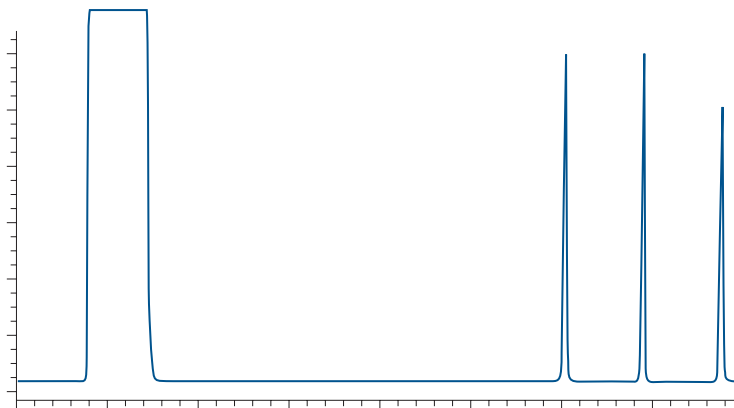


图 23 典型色谱图

色谱图可以通过手动或电子处理方式转化为峰保留时间或峰大小的数据列表。

色谱峰测量

对于一个色谱峰，我们可以获得两个基本的测量数据：

- 进样后到色谱峰被检测到的时间
- 色谱峰的大小

保留时间

峰出现的时间是从开始进样到被检测到的时间，包括两部分：

- *死时间*— 载气流过色谱柱所用的时间。可通过注射空气或其他没有相互作用的物质来测定。
- *保留时间*— 由于被分离组分与色谱柱固定相相互作用所造成的滞留时间。

在大多数情况下，通常忽略死时间而把出峰时间认为是保留时间。

色谱峰大小

色谱峰大小可以通过峰高或峰面积来测定，二者都是相对于基线而言的。

色谱峰下的基线不能直接测量。它必须从色谱峰两侧的基线处测量。

对于分离良好的峰这是很简单的。但是当峰发生重叠，或出现在溶剂峰的拖尾侧，或其他非理想化的情况时，测量就比较困难一些。鉴于此，花在改善峰分离条件上的时间是值得的。

峰高

这是最简单的测量，仅仅需要一把测量尺。它是从峰尖到基线的垂直距离。

峰面积

此面积是指由色谱峰信号曲线和基线所围成的面积。最好通过电子方式来测量。

图 24 为两个测量参数的图示。

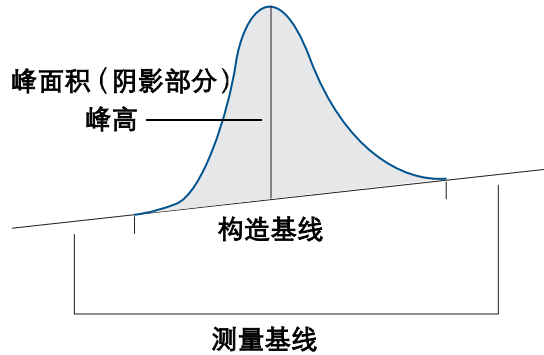


图 24 色谱峰测量

积分仪和数据系统

积分仪用来测量色谱峰的面积和峰高，以及峰保留时间。它们能够方便而重现地将曲线（色谱图）转换为表格（时间和大小）。

数据处理系统不仅有积分仪同样的优点，而且具有更多的功能：

- 软件控制的积分仪比机械的积分仪更灵活。
- 不用重复进样，可以采用不同的积分和计算参数对数据进行再处理。
- 系统能够更加精确地完成本章所介绍的几种基本的计算。
- 系统能够给出用户所需要的报告格式。
- 色谱峰的校准变得非常简单。
- 既可以进行一点，也可以进行多点校准。
- 原始数据和已处理的数据可以被保存以备后用。
- 系统可以同时处理多台气相色谱仪的数据。

组分定性

因为许多化合物可能在同一时间（或几乎同一时间）流出色谱柱，因此仅仅依靠气相色谱本身是不能对一个完全未知的化合物进行定性的。

然而，当问题被加以限时，气相色谱将变成一个强有力的工具。可以通过比较气相色谱图以确定样品是否相同。例如，油轮里的原油样品可以和海上浮油比较以确定油轮是否应对原油的泄漏负责。

GC 对于排除可疑性是很有用的。如果您从先前的实验中知道异辛烷在 1.9 分钟出峰，那么一个在 1.5 分钟出的峰一定不会是异辛烷。那么它是什么呢？

幸运的是，您不必要考虑所有的有机化合物。样品信息限定了可能的化合物。例如，您不会期望在止痛药中找到链霉素。

当一个未知的峰被初步确定后，还必须在别的不同性质的色谱柱上重现以得到确认。如果一个化合物在基于沸点分离的柱（甲基硅氧烷）和极性柱（聚乙二醇）上有正确的保留时间，此定性很可能就是正确的。

GC 在处理已知样品组分并且要求定量时是特别有用的。GC 通常也用来监测杂质组分的存在（作为额外峰）。

最后，GC 可以和质谱或其他选择性检测器联用以提供明确鉴定未知组分所需的辅助数据。

组分定量

未校准计算

当载气通过检测器时将会产生信号。如果没有样品组分存在，所产生的信号是基线。当有组分出现时，信号将会增强。

当组分通过时，信号和其投影的基线所围面积是峰面积。从色谱峰顶到投影的基线的最大垂直距离是峰高。

积分仪或数据处理系统负责处理绘制基线和测量峰面积和峰高这项困难的任务。其结果就是**测量的响应值 (MR)**。

峰面积与峰高百分比法

在一次进样分析过程中每一个色谱峰所占总的峰面积或峰高的百分比。

假设检测器对所有组分都有相同的响应。计算公式见公式 1。

第 n 个峰含量 =

$$\left[\frac{\text{第 n 个峰的 MR}}{\text{一次进样的所有 MR 的和}} \right] \times 100 \quad (1)$$

优点:

- 快速，因为不需要进行校准。
- 进样量在一定范围内变化不影响结果。

缺点:

- 所有组分的色谱峰必须能够检测到。
- 任何没有被检测到或有没流出色谱柱的峰都会减少 MR 的总和。这会造成所有被测物质含量值偏高。

如果组分的响应因子不同，未校准计算的结果是不准确的。这会造成早流出的峰的测得含量偏高。

适用范围

- 为建立校准表而列出响应信号和保留时间。
- 要进行快速分析，与设定的极限值比较，结果重现。
- 用于过程监测，产品检验测试等。
- 不能用于对绝对准确度要求高的分析。

校准计算

如果峰面积和峰高百分比定量不能满足需要，就要用标准样品分析所得数据进行校准计算，以建立单个色谱峰的定量校准曲线。

最简单的校准是响应因子，它是通过已知组分的含量除以相应峰的大小来计算的。

用图表示，响应因子是组分含量对色谱峰大小曲线的斜率，如图 25 所示。

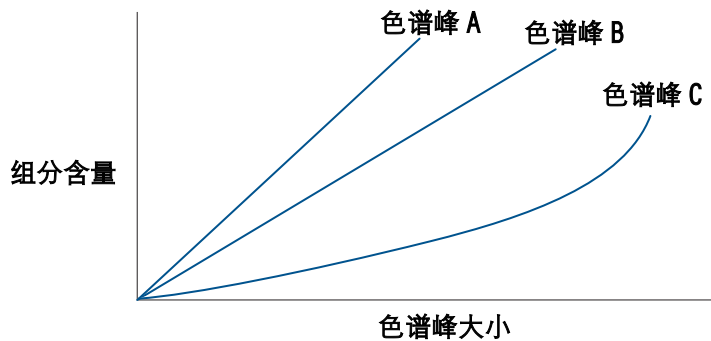


图 25 响应因子

响应因子可通过分析一个含有所有欲校准组分的标准混合溶液来进行测定。

但是，响应因子方法有两个假设的前提条件：

- 含量 / 峰面积（峰高）曲线经过原点。
- 含量 / 峰面积（峰高）曲线是直线。

对于一个可靠的校准，两个前提条件都必须通过实验来加以证明。如果曲线确实是一条直线且确实通过原点，则响应因子是有效的。

在图 25 中，响应因子可用于色谱峰 A 和 B，但不适用于色谱峰 C。两种形式的定量校正用公式 2 和公式 3 来表示。

对于色谱峰 A 和 B:

$$\text{峰的 CR 值} = \text{峰的 MR 值} \times \text{色谱峰响应因子} \quad (2)$$

对于色谱峰 C:

$$\text{峰的 CR 值} = \text{色谱峰 MR 值的} \langle \text{响应曲线量} \rangle \quad (3)$$

色谱峰 C 只有用整个校准曲线进行校正。手动进行这样的处理是很费时的，但是用数据处理系统就很容易做到了。

归一化法

归一化百分比法与面积和峰高百分比法类似，但是要用校正的响应值 (CR) 代替测量的响应值，如公式 4 所示。

$$\text{第 } n \text{ 个色谱峰含量} = \left[\frac{\text{第 } n \text{ 个色谱峰的 CR 值}}{\text{所有峰的 CR 之和}} \right] \times 100 \quad (4)$$

优点:

- 此计算方法可对组分灵敏度差异进行校正，这对流出早的色谱峰的计算结果更加准确。
- 进样量在一定范围内变化不影响结果。

缺点:

- 此方法必须经过校准。
- 所有的峰都必须能被检测。任何没有被检测到或有没流出色谱柱的峰都会减少 CR 的总和。这会造成所有被测物质含量值偏高。
- 所有的峰都必须被鉴定和校准，以求达到最高的准确度。未知的（故未校准）峰将会降低校准的绝对准确度。

适用范围

- 如果没有高沸点化合物存在，就可给出非常准确的结果。

外标法

外标法最大的优点是只对目标化合物的色谱峰进行校准即可。其计算非常简便；见公式 5。

$$\text{第 } n \text{ 个色谱峰含量} = \text{第 } n \text{ 个色谱峰的 CR 值} \quad (5)$$

优点:

- 只需对目标化合物进行校准。
- 只需目标化合物流出色谱柱并被检测即可。
- 每一个校准的峰都是独立进行计算的。

缺点:

- 必须对目标化合物进行校准。
- 外标法假定仪器漂移是可以忽略的。必须定期用已知测试样进行测试以确证这一点。
- 因为外标法是绝对计算而非相对计算，因此恒定的进样量是至关重要的。用手动进样很难保证这一点。实际上，气体或液体进样阀，或自动液体进样器是必须的。

适用范围

使用进样阀进行气体分析。随着仪器稳定性的提高，借助于自动进样装置保证恒定的进样量，外标法已经取代了许多过去要求用内标法来测定的分析工作。

内标法

内标法对每一个色谱峰提供独立的计算。它同时还对进样量的波动、仪器漂移和其他影响因素进行校正。

虽然随着现代仪器的发展外标法有很大的改进，但是内标法仍被认为是最准确的色谱定量方法。

内标法的基本计算公式见公式 6。

$$\begin{aligned} \text{第 } n \text{ 个峰的含量} = \\ \left[\frac{\text{第 } n \text{ 个峰的 CR 值}}{\text{内标峰的 CR 值}} \right] \times \text{内标峰的含量} \end{aligned} \quad (6)$$

内标峰的含量是在分析之前加在待测样品中的已知内标化合物的含量。

这通常被认为是最为准确的定量方法。

优点:

- 只需对目标化合物进行校准。
- 只需目标化合物流出色谱柱并能够检测到。
- 每一个校准峰是独立计算的。
- 进样量微小的变化不影响测定结果。
- 微小的仪器漂移不影响测定结果。

缺点:

- 必须对目标峰进行校准。
- 每个样品中必须加入已知量的内标化合物。

适用范围

要求高准确度的液体样品分析。

注释

内标一词有两个稍有区别的含义：

- 1 外标法原本是为了补偿手动进样所引起的进样量误差而开发的。为了达到此目的，内标化合物在样品前处理（萃取、蒸馏，等等）完成后加到将要进样的样品中去。对内标物的主要要求是样品中不含有该物质，同时内标化合物能够产生与样品组分完全分离的、峰形很好的色谱峰。内标物不必和样品组分的化学性质相似。
- 2 在许多生化分析和相关的应用中，内标化合物是在样品处理之前加入到原始样品中去。在这种情况下，内标化合物的化学性质必须和样品相似，以保证前处理步骤对内标物和样品组分有相同的影响。此时，内标物用来对两种不同的因素进行校正：在预处理过程中样品回收量的误差和进样时样品量的误差。用单一内标物是不可能实现这两个目的的。通过精确控制样品预处理过程和用实验来证明回收率是高度重现的，那么误差可以减少至可接受的程度。

5 谱图解析



Agilent Technologies

© 安捷伦科技公司版权所有

2002 年 5 月中国印刷



G1176-97000