

气相色谱毛细管柱使用知识

简介

气相色谱毛细管柱因其高分离能力、高灵敏度、高分析速度等独特优点而得到迅速发展。随着弹性石英交联毛细管柱技术的日益成熟和性能的不断完善,已成为分离复杂多组分混合物、及多项目分析的主要手段,在各领域应用中大有取代填充柱的趋势。现在新型气相色谱仪、气相色谱-质谱联用仪基本上都是采用毛细管色谱柱进行分离分析。但是,毛细管色谱柱柱内径较小,固定液的膜薄,用于食品中残留物分析时,若使用不当,色谱柱性能很快就会下降。

毛细管柱只能安装在配有专用毛细管柱连接装置的气相色谱仪上。现在购买仪器时最常规的配置是配毛细管分流/不分流进样口。

毛细管色谱柱的类型

毛细管色谱柱的类型有很多种,但目前最常用和商品化的,是开口熔融石英交联毛细管色谱柱。本文仅介绍此类毛细管色谱柱的性能特点。

1 熔融石英毛细管柱

(1) 熔融石英毛细管柱材料

现在市售商品化的气相色谱用毛细管柱几乎都是由熔融石英制作的,简称石英毛细管柱。制作毛细管柱用的石英纯度非常高,几乎无其它杂质。它具有熔点高(近 2000°C)、热膨胀系数低、化学稳定性好和抗张强度高特点,是制备毛细管柱的理想材料。

毛细管柱内壁存在有许多具有吸附活性的基团,这些基团的存在直接影响固定相涂渍效果,所以,在涂渍固定相之前,柱表面必须经过适当预处理,以期得到较高的柱效和对称的色谱图形。

(2) 石英毛细管柱的聚酰亚胺外涂层

石英毛细管柱很脆,只有在毛细管柱外涂一层聚酰亚胺保护材料后才具有很好的弹性,在使用这样的色谱柱时应十分小心,避免将聚酰亚胺涂层损坏,导致毛细管柱易折断。

通常商品毛细管柱出厂时都固定在一个金属丝制作的柱架上,柱架的直径与毛细管柱的直径成正比,即:毛细管柱的直径越大,固定架的直径也就越大。对于 0.53mm 内径的毛细管柱,过度弯曲很容易折断,使用安装时要格外小心。

石英毛细管柱外涂层还有采用镀铝膜的,这类柱子适用于高温分析。但日常分析工作中使用较少,这里不作详细介绍。

2 液体固定相

将固定相均匀涂渍在毛细管柱的内壁，制成壁涂型毛细管柱，这类毛细管柱属非交联型毛细管柱。现在只有少部分的非交联固定相的毛细管柱在使用。非交联毛细管柱的固定相容易流失，不能清洗，因此使用寿命较短，但制作成本较低，涂渍相对较容易，往往在毛细管柱研制前期过程中采用此方法。在使用这类毛细管色谱柱时，应注意使用温度不要超过液体固定相的最高使用温度。建议不要在气相色谱-质谱联用仪上使用。

3 交联固定相

现在市售的商品毛细管色谱柱基本上均采用交联技术，将固定相与石英表面结合起来，在毛细管柱表面形成一层不溶的类似橡胶的非常稳固的涂层。被交联的固定相与涂渍的固定相比，流失低，抗污染，热稳定性好，使用寿命长。

如果交联固定相色谱柱被污染，可以用适合溶剂来清洗（见第 5 节）而基本不会对涂层造成损伤。而且此类毛细柱在色谱分析时可以通过柱上进样和不分流进样模式实现大体积进样，最多可注入 $50\sim 250\mu\text{L}$ 液体溶剂。当然，这需要仪器上配有相应的装置。

4 最高操作温度

可以通过不同的方法来确定一个特定的毛细管柱的最高操作温度。作为商品化的交联固定相毛细管色谱柱，使用时应注意不要超过说明书或标识牌上规定的最高温度。如超过规定的最高温度，特别是恒定持续的超高温操作，会造成毛细管色谱柱不可逆的损伤，轻则使柱效下降、使用寿命减少，重则使毛细管柱损坏。

对于相同型号毛细管色谱柱而言，固定相涂层薄的比涂层厚的允许使用的最高温度可以稍高一些。

5 最低操作温度

色谱柱操作温度的低限是由固定相从液体变为固体的温度所决定的。如果色谱柱在其最低温度以下工作，就可能出现峰展宽并且有些被测物难于分开。

表 1 中列出各种不同固定相和膜厚的色谱柱推荐使用温度。表中给出的温度值可作为参考值。

表 1 不同固定相和膜厚的色谱柱的推荐使用操作温度

注：

- a. 前面为等温操作最高温度，后面为程序升温操作最高温度。
- b. 色谱柱的操作温度应以公司产品说明书规定为准，表中的值仅供参考。

色谱柱的选择

选择毛细管柱时需注意的柱参数包括：固定相、内径、膜厚度和柱长。下面按毛细管柱选择中参数的重要性进行排列和讨论。

1 固定相

对于一个样品的分析，可采用带有固定相的毛细管柱或填充柱。单一样品分析采用填充柱，经济、快速、柱负载高、抗污染，适合企业生产时单机、单一项目检测。而多残留分析或多项目分析更推荐采用毛细管柱，因为毛细管色谱柱适用性和分辨率更好，不像应用填充柱分析时那么专一、严格，例如：多数在 **100%** 二甲基硅氧烷固定相上可以进行分析的物质，在 **5%** 二苯基 + **95%** 二甲基硅氧烷固定相上同样可以进行分析。

非极性固定相具有更好的抗氧化性、更高的效率和更高的极限操作温度（最高可达 **360℃**），所以，在可以完成所需分离的情况下，尽可能选择固定相极性弱的色谱柱，这样可以延长色谱柱的寿命。分析强极性物质，如：酸、醛、醇、胺等，为获得较好分离，需选用极性较强的固定相。有时为了缩短分析时间，也选用与被测物极性相反的固定相。

在一个色谱分离过程中，溶质与固定相之间存在多种相互作用，因此，最佳固定相的选择很大程度上取决于溶质的性质。

在进行样品分析以前，建议先阅读相关的应用文献推荐的色谱柱型号，或者查阅各公司的色谱耗材毛细柱目录，从中获得不同固定相应用分析的化合物种类的相关信息。这对被测物有效分离选择色谱柱很有用。

2 内径

在一系列石英毛细管色谱柱中有 **5** 种内径较为常用。每种都有其特定的应用领域和适合的使用范围。

0.53mm 内径毛细管柱。 **0.53mm** 内径的色谱柱样品容量很大，可与填充柱相比，进样理想方式是直接在高载气流速下注入，从而减少连接体系的死体积，减少色谱峰的拖尾。**0.53mm** 内径柱还可以配合特殊进样口装置，如：柱上进样或冷柱头进样装置，使用 **0.47mm** 外径针头的微量注射器进行柱头或冷柱头进样。

0.53mm 内径柱的毛细管柱相当于由填充柱到毛细管柱的简单升级，可以自己动手对连接接头进行改造。相对简单的样品在分析时可得到比填充柱要好得多的效果，而不像常规 **0.25mm** 和 **0.32mm** 内径毛细管柱需要专用的连接装置。

0.32mm 内径毛细管柱。 **0.32mm** 内径柱被认为是最好的全能色谱柱，具有很好的分离能力、样品容量(取决于膜厚度)。而且弹性较 **0.53mm** 内径的好，更易安装，是色谱分析中选用最多的一种规格。这种色谱柱也可进行柱头进样，但需要特殊的注射器。

0.25mm 内径毛细管柱。0.25mm（早期多为 0.22mm）内径柱具有低流失量、高分辨率的特性，也是很常用的。气相色谱-质谱联用仪多采用此规格柱，通常在规格后标有 ms 字符，如表 1 中的 DB 5 ms。

0.15mm 内径毛细管柱。0.15mm 内径是常规气相色谱仪中 50m 柱的最小内径。就功效而言，它具有最高的分辨率，用于分析复杂化合物和宽沸程样品很理想。

0.10mm 内径毛细管柱。0.10mm 内径柱只在更短柱长及很高分析速度下进行应用，常用于快速色谱分析。由于柱内径较小，所以色谱柱的负载能力也就比较小，只能够容纳较少的样品，使用时要注意进样量，以保证形成尖锐的色谱峰。

以上不同柱内径色谱柱相关参数汇总于表 2。

表 2. 柱内径对比参数

内径	柱有效板数 N_{eff} f/M	柱理论板数 N T/M	典型流速(氢)
0.10mm.	7,000 - 8,200	9,500 - 12,000	0.2 - 0.5ml/min
0.15mm.	4,700 - 5,500	6,400 - 8,000	0.4 - 1.0ml/min
0.25mm.	3,200 - 3,800	4,300 - 5,500	0.8 - 2ml/min
0.32mm.	2,200 - 2,600	3,000 - 3,700	1.7 - 4.0ml/min
0.53mm.	1,300 - 1,600	1,800 - 2,200	3 - 50ml/min

3 膜厚度

膜的厚度对所分析化合物的溶解性有较大影响，因此，正确选择膜的厚度与正确选择柱长同样重要。

相比率是表示色谱柱固定相多少的一种方式，相比率是指毛细管柱的内部体积与固定相的体积比。

相比率(β)用公式可表示为：

$$\beta = D / 4\mu f$$

式中 D = 柱内径(微米)

μf = 固定相厚度

较高的相比率色谱柱内固定相较少，较低的相比率则固定相较多。一般较厚的膜(低相比率)相对流失要大些，使用时注意温度尽可能低些，而且这类色谱柱不适合用于气相色谱-质谱联用仪分析。较厚的膜柱容量也较大。使用较厚的膜，样品就会在柱中停留较长时间，分离度较高，特别适合分析低沸点或气体化合物。若样品中含高沸点组分，将这些组分洗脱将需要很高的温度，因此此时不宜用厚膜。

薄膜(高相比率)适于分析高沸点组分，而且由于膜薄，被测物在柱内停留的时间较短，在较低温度下洗脱特定组分，从而延长柱寿命。达到或接近最大柱温时，流失率也会较厚膜低得多，所以更适合用于气相色谱-质谱联用仪分析。

根据实验多方面的效果，对样品容量、低流失及分离度进行权衡，标准膜厚度： 0.10mm 、 0.25mm 柱内径为 $0.25\mu\text{m}$ ， 0.32mm 内径 $0.5\mu\text{m}$ ， 0.53mm 内径 $1.0\mu\text{m}$ 。常见柱径单位柱长相比率见表 3。

表 3. 不同膜厚度及内径下的相比率

膜厚度(μm)	内径(mm)			
	0.1	0.25	0.32	0.53
0.1	250	550	800	
0.25	100	220	320	
0.5		110	160	265
1		55	80	132
2			40	
3				44
5			16	26

4 柱长

大多数柱长是 15m 、 30m （过去为 12m 、 25m ）和 50m 的。柱长选择是由样品复杂度或组分的属性决定的。分析复杂的样品或者需要分析多个项目，应选用较长及更高效的色

谱柱。需要分离少数几个组分时，为了提高分析效率选择具有适宜特性及/或膜厚度的适当的色谱柱。柱长与分离度的关系见图 1。

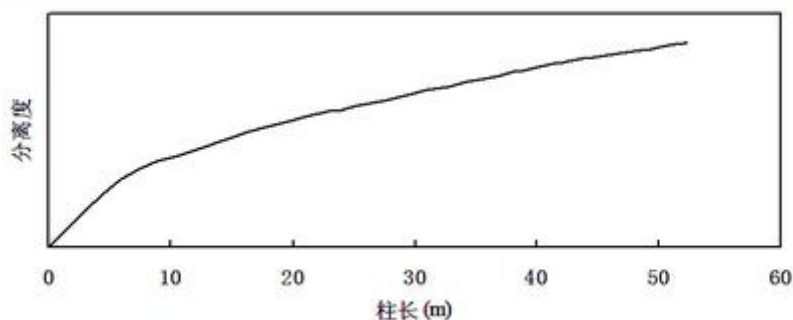


图 1 分离度对应于长度

通过适当选择其它柱参数，绝大多数操作都可以在很短的色谱柱上完成。较短的色谱柱也具有优势，例如分析时间较短，流失较少，降低高活性溶质的干扰，当然，还有降低了成本。

毛细管柱操作条件的选择

1 柱载气流量的选择

通过毛细管柱的载气流量要根据毛细管柱的柱长、柱径、膜厚以及被分析物的组成等综合因素设定。高流速虽然可以提高分析效率，但有时可能会因被测物与固定相之间交换不充分而降低柱效。因此，在实际分析中，流速的设定应在满足分离的前提下适当增加，以提高分析效率。不同柱径的推荐柱载气流速参见表 2。表 2 推荐的流速适用于气相色谱仪。对于气相色谱-质谱仪，还要考虑质谱真空泵的抽气量，气流速大还会影响到灵敏度。

某些检测器，如电子捕获检测器，仅靠通过毛细管色谱柱的载气流量无法满足工作需求，因此，还需要补充加上尾吹气。另外，有些厂家的仪器采用在毛细管柱的末端加上尾吹气的设计，以减少扩散，改善色谱峰形，提高信噪比。

2 柱温的选择

柱温是影响色谱分离和分析效率的最重要参数，所以要根据分析目的和被测物性质，如：被测物的沸点、被测物极性、被测组分的多少，通过实验优化得到合适的柱温。交联型毛细管色谱柱相对而言柱流失比较少，可以在较高温度下工作。分析中通常采用程序升温模式，从而提高分离度和柱效。

(1) 初始温度的选择

初温的确定取决于谱图上最早流出峰的分度，一般应低于样品中最低沸点组分的温度。

(2) 升温速率的选择

升温速率对色谱分离度和峰形的影响最大，对于多组分分析，可以设置多阶、不同升温速率的升温程序，以得到最好的分离效果和峰形。

(3) 终点温度的选择

程序升温最终温度的确定主要取决于固定相和被测样品中最高沸点的物质。另外，对于基质复杂的样品，可以考虑在固定相规定最高温度下适当提高温度（但接质谱最好不要这样做），并且在此温度下适当延长保持时间。

3 进样方式的选择

对于毛细管色谱分析有多种进样方式可以选择。残留分析应选择不分流进样或柱上进样，纯度分析则多选择分流进样，分流比根据被测物含量而定。但分流进样对定量精度会有影响，分流比越大定量精度越差。

色谱柱的使用与保养

1 色谱柱的使用

毛细管色谱柱在安装、操作时应注意几个问题：

第一，如果使用石墨密封垫圈，套石墨垫圈时毛细管柱的口要向下，并且在套好石墨圈后要用专用的毛细管柱切刀切去毛细管柱头 $5\sim 10\text{cm}$ 。

第二， 0.53mm 内径毛细管色谱柱弹性较差，容易折断，所以安装时不要过度弯曲。

第三，现在的商品柱出厂时已经过老化，但是，在色谱柱初次使用时还是应该老化一下。老化时出口端不要接检测器。而且一定要先通入载气。开始 2、3 个程序升温循环的升温速度不要太快，在最高温度保持的时间不要太长，5 分钟左右即可。

2 毛细管色谱柱的保养

毛细管色谱柱经过一段时间的使用后不可避免地会被污染，最严重的地方是进样端柱头。所以毛细管柱的保养是很重要的。

毛细管柱的日常保养，每天在正式做分析实验前，应使用程序升温方式运行几个循环，升温速率可以快些，如： $10\sim 20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，最高温度应比正式分析程序高 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ ，但尽量不要高于色谱柱规定的最高操作温度。

用一段时间后，特别是看到色谱峰明显展宽、分离度下降、峰形撕裂、基线升高、基线漂移、或是无规律的出现“鬼峰”等现象，这都预示色谱柱（也包括汽化室衬管）已被污染。

对于交联固定相的毛细管柱可以用溶剂进行清洗，污染较轻的可用 $5\sim 10\text{mL}$ 正己烷清洗，

污染较严重的可用 $5\sim 10\text{mL}$ 二氯甲烷清洗。清洗时要让溶剂从毛细管柱出口（接检测器一端）进，进口（接汽化室一端）出，溶剂全部流出毛细管柱后要用氮气将残留在柱内的溶剂吹净。最后根据毛细管柱的污染情况，将进口端（接汽化室一端）截去 $20\sim 50\text{cm}$ 。将色谱柱重新装到气相色谱仪上，用程序升温方式运行几个循环，前几个循环升温速率不要快，一般在 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ ，最高温度应比正式分析程序高 $5\sim 10^\circ\text{C}$ ，但一定不要高于色谱柱规定的最高操作温度。保持时间不要长， $3\sim 5\text{min}$ 即可。最好也不要接到检测器上，特别是质谱检测器、电子俘获检测器等。然后通过常规实验检测的标准品或样品进样，检查色谱柱是否恢复正常。如果无法恢复正常了，就该换新的了。