

浅谈USP气相色谱柱的分类和使用

原创：曾文亮 药事纵横 10月24日



气相色谱柱选择时要掌握色谱柱的主要关键参数，色谱柱的保护，色谱分析理论以及色谱柱的分类等知识，分析工作者才能做到在工作开展时一针见血的选择色谱柱，有的放矢的开发方法，最后心中有数地完成分析工作。

气相色谱法以高效的分离能力、化学热稳定性高、分析速度快等特点广泛用于石油化工、环境保护、药品和食品等领域复杂有机混合样品的分析。在各国药典的各论中，气相色谱法也广泛被收载用于药物的含量、有机杂质、鉴别等分析检查。气相毛细管柱是气相色谱分析方法的核心，是气相分析色谱系统的核心。合适的气相色谱柱的选择关系着整个分析工作的成败，因此掌握气相色谱柱理论和应用知识，对于分析工作者是非常重要的。

色谱柱关键参数

气相色谱柱的关键参数有固定相、内径，长度和液膜的厚度。

1) 固定相

固定相由固体吸附剂或涂有固定液的担体构成。担体是一种多孔性化学惰性固体，用来支撑固定液。担体的特性是表面积大、有化学惰性、热稳定性，孔隙结构和浸润性。担体分为一般分硅藻土和非硅藻土两大类。

固定相一般是具有活性的多孔性固体的物质，主要有三类：吸附、高分子聚合物、化学键合固定相，由固定液涂敷在载体表面上。

常用的气相色谱柱是化学键合固定相，主要是聚氧硅氧烷和聚乙二醇。选择这类色谱柱理论上遵循相似性原则，即非极性固定相分析非相性物质，极性固定相分析极性物质，含芳香基团的固定相分析芳香物质。这类固定相与分析物之间存在三种作用力：色散力、偶极力和氢键作用力。

固定相的选择性由这三种作用力决定。色散力主要和溶剂沸点有关；偶极矩和溶剂极性有关；氢键和溶剂结构有关。表1列出了键合相主要官能团的选择性：

表1 不同官能团的选择性

官能团	色散力	偶极矩	氢键
甲基	强	无	无
苯基	较强	弱	无
氰苯基	强	很强	中等
三氟环丙基	强	中等	弱
PEG	强	强	中等

药事纵横

简单来说，分离两个沸点相近、极性较小的溶剂，推荐采用甲基（DB-1）或者苯基（DB-5）

色谱柱；分离两个极性很强且氢键不同的化合物，推荐采用氰苯基（DB-624）或者PEG色谱柱。

固定相的极性由取代基团的极性及其相对量确定。极性影响被分析物的保留，对于挥发生相似的被分析物，与固定相极性相似的溶质具有更强的保留，反之亦然。表2列出了不同溶剂的极性和沸点。

表2 不同溶剂的极性和沸点

化合物	极性	沸点
异戊烷	0	30
正戊烷	0.23	36
石油醚	0.01	30-60
己烷	0.06	69
环己烷	0.1	81
异辛烷	0.1	99
三氟乙酸	0.1	72
三甲基戊烷	0.1	99
甲基叔丁基醚	0.1	55
环戊烷	0.2	49
庚烷	0.2	98
丁基氯	1	78
三氯乙烯	1	87
四氯化碳	1.6	77
三氯三氟代乙烷	1.9	48
丙醚	2.4	68
甲苯	2.4	111
二甲苯	2.5	138
氯苯	2.7	132
邻二氯苯	2.7	180
乙醚	2.9	35
苯	3	80
异丁醇	3	108
二氯甲烷	3.4	40
二氯化乙烯	3.5	84
正丁醇	3.7	117
乙酸丁酯	4	126
丙醇	4	98

甲基异丁酮	4.2	119
四氢呋喃	4.2	66
乙醇	4.2	78
乙酸乙酯	4.3	77
异丙醇	4.3	82
氯仿	4.4	61
甲基乙基酮	4.5	80
二氧六环	4.8	102
吡啶	5.3	115
丙酮	5.4	57
硝基甲烷	6	101
乙酸	6.2	118
乙腈	6.2	82
苯胺	6.3	184
二甲基甲酰胺	-	153
甲醇	6.6	65
二甲基亚砷	7.2	189
水	10.2	100

固定相的选择一般可按表3进行不同尝试，直到有满意的分析结果即可。

表3 常见分析物和固定相的选择

固定相	应用范围
100%二甲基聚硅氧烷	碳氢化合物、芳香化合物、农药、酚类、除草剂、
5%苯基，95%甲基聚硅氧烷	碳氢化合物、芳香化合物、农药
7%氰甲基，7%苯基，86%甲基聚硅氧烷	农药、除草剂、药物、环境样品
50%苯基，50%甲基聚硅氧烷	农药、除草剂、药物、环境样品
25%氰乙基，25%苯基，50%甲基聚硅氧烷	脂肪酸甲酯、碳水分析物、中性固醇
6%氰丙基，94%甲基聚硅氧烷	环境挥发物、溶剂残留
聚乙二醇 20M	醇类、游离酸、脂肪酸、溶剂、香精油
聚乙二醇与对苯二甲酸反应物	醇类、挥发性游离酸、脂肪酸甲酯、 <small>药事纵横</small>

2) 内径

毛细管柱的内径直接影响到理论塔板数、分离度、保留时间和柱头压力等参数。

由理论公式可以得到，柱子内径大小与柱效成反比，分离度与理论塔板数的平方根成正比，分析物的保留时间与柱子内径成反比，柱头压力是柱内径的负二次方函数，载气的流量设置也会根据柱内径进行优化。

柱子内径常规有0.18 mm、0.25 mm、0.32 mm、0.53 mm，小内径有较高的理论塔板数，但也会有较高的柱头压力。高载气流速时使用大内径的柱子，同时也会有较高的样品容量。

3) 液膜厚度

柱子液膜厚度影响分析物的保留特性、分离度、流失、惰性和容量。

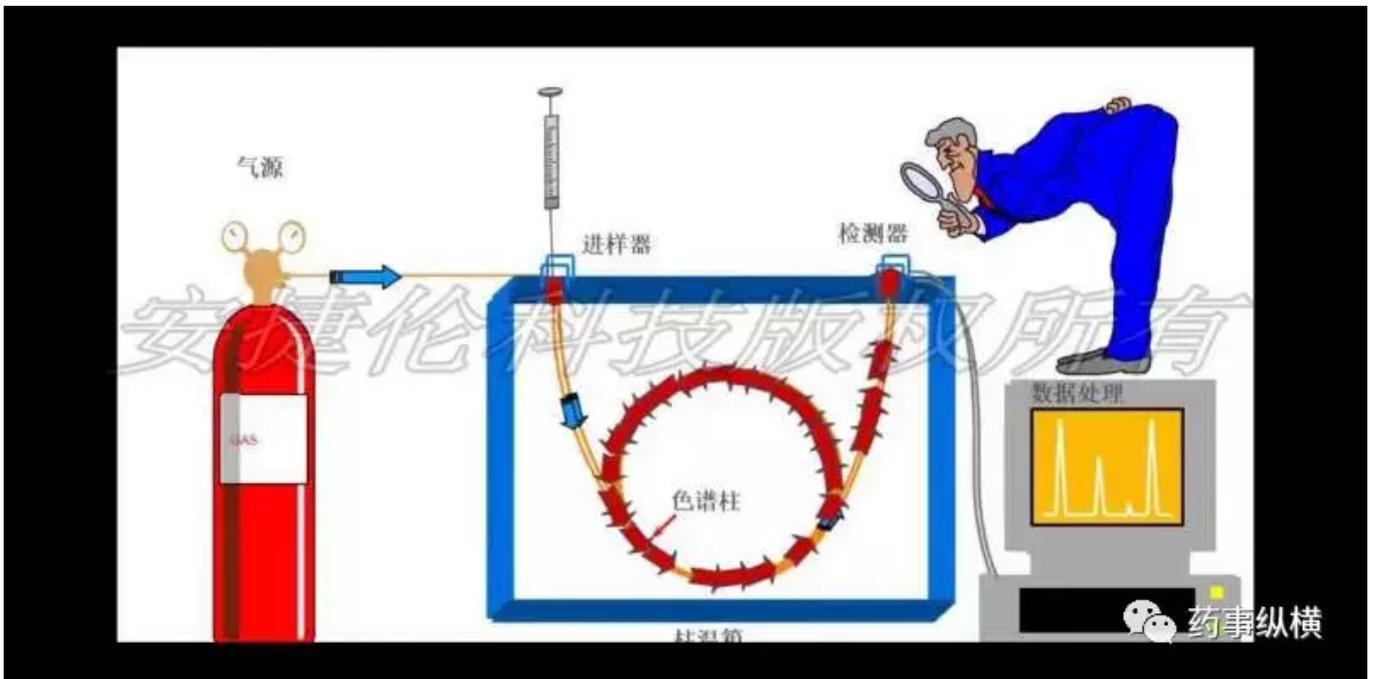
一般情况，液膜厚度与保留时间成正比，对于低沸点的分析物，厚度越大保留越强。液膜厚度大的毛细管柱流失水平也高，同时惰性也强，使用较厚度液膜的柱子可以减少峰拖尾。

常规的液膜厚度有0.12 μm 、0.4 μm 、1.2 μm 、5.0 μm ，对于0.18~0.32mm内径的毛细管柱，一般膜厚为0.18~0.25 μm ，适用于大多数样品分析。对于0.45~0.53mm内径的毛细管柱，一般膜厚为0.8~1.5 μm ，适用于大多数样品分析。

4) 长度

毛细管长度会影响柱效、分离度、保留时间和载气压力。柱子长度与理论塔板数成正比，理论上增加柱子长度可以增加分离度，也会增加保留时间。柱子的压力与长度成正比。

15m长的毛细管柱用于简单分析物的分析，30m长的毛细管柱可以用于30-50个组成的分析，更复杂的分析物可用大于50m毛细管柱。



色谱柱保护与使用

气相色谱柱的保护影响到样品分析结果的重现性和准确性，主要包括色谱柱正确安装、老化、使用和保存。

1) 色谱柱安装和老化

毛细管柱安装时要避免进口处有污染物，因此使用前要有毛细管切割，切割时要平整圆滑，切去进口和出口处1-2cm。装柱时进口端要离石墨垫4-6mm，检测端到顶后往回拉1mm左右。然后拧紧1/4-1/2圈，手拉色谱柱不动为好。

新色谱柱使用前需要有老化的过程。涂壁开管柱和多孔层开管柱的老化稍有不同，涂壁开管柱老化过程中可以接FID和TCD检测器，其它MS、ECD、PCD检测器不可接色谱柱。多孔层开管柱老化时载气宜低流速慢慢升高至高流速，同时不接检测器，防止该类型色谱柱颗粒物污染检测器。

色谱柱老化时先用载气吹扫15分钟，然后炉温从50度升至老化温度，升温速率5度或10度每分钟，老化温度保持30min，运行多个循环，直到基线稳定，也可老化温度保持2个小时。最终老化后，获取2-3张流失曲线，基线平稳后，色谱柱老化结束。

2) 色谱柱损伤和使用

正确的色谱柱使用对于色谱柱的寿命至关重要。色谱柱的损伤包括热损伤、氧损伤、污染、化学损伤和物理损伤。色谱柱损伤后会影响到色谱柱的柱效和分离度。

热损伤是指过高的温度会导致固定相裂解，骨架断裂。措施是严格按照色谱柱的说明书，使用时不超过其最高温度。

氧损伤是指在氧存在的条件下，破坏固定相的化学键，是不可逆的损伤。主要表现为基线高、基线噪声大、峰形变差、不出峰和保留时间漂移等。措施是保证载气的纯度(>999.995%)、安装捕集阱和保证进样口密封。氧损伤有可能导致色谱柱彻底破坏，这时只能更换新色谱柱。

污染损伤主要来源于被分析样品。措施是进行样品的前处理，将污染物提前处理掉；再者是更换耗材、隔垫、衬管和分流平板；还有就是进行多次的色谱柱老化或使用保护柱；使用保护柱也可以将样品污染物尽量隔离在色谱柱进口处。

化学损伤是指色谱柱固定相受到化学物的损伤。被分析物中如含HCl, NH₃, KOH, NaOH, H₂SO₄, HF, H₃PO₄, HNO₃等酸碱试剂，会造成色谱柱的损伤。在进行分析时，要尽量避免使用含CF₃COOH, CF₃CF₂COOH, CH₃CF₂CF₂COOH等试剂的样品。

被分析样品尽量选用有机溶剂作为稀释剂，不选用水。PLOT柱Q/U模式可以进行水样分析，检测器MSD、NPD和ECD要避免分析水样。水样分析时进样量要控制在0.5μL以下，进样口温度要高于250度；水样中不能含有酸、碱、盐等不挥发性物质。

物理损伤指保存时毛细管过于紧绕导致折断，或者放置不当导致其它情况折断。毛细管的外部涂有聚酰胺层，可保护毛细管弹性，不易折断。

3) 色谱柱保存

色谱柱保存时要降温到50度以下，拆下色谱柱后要两端封住，室温保存，再次安装时两端要截去1-2cm。

与色谱柱相关的理论公式

气相色谱与液相色谱的相关理论都是基于色谱分配与吸附原理，与气相色谱相关的三个理论公式在另一篇拙文《浅谈USP关于液相色谱柱的分类》中有提到，详情可参见此文部分内容。

USP最新气相色谱柱信息

- G1:** Dimethylpolysiloxane oil 二甲基聚硅氧烷油
- G2:** Dimethylpolysiloxane gum 二甲基聚硅氧烷胶, 如DB-1ms, DB-1
- G3 :** 50% Phenyl-50% methylpolysiloxane , 50%苯基-50%甲基聚硅氧烷, 如DB-17
- G4 :** Diethylene glycol succinate polyester , 丁二酸二甘醇酯, 如DEGS , Rt-DEGS
- G5 :** 3-Cyanopropylpolysiloxane , 3-氰基丙基聚硅氧烷, 如DB-23 , HP-88
- G6 :** Trifluoropropylmethylpolysiloxane , 三氟丙基甲基聚硅氧烷, 如DB-200 , DB-210 , Rt-2401
- G7 :** 50% 3-Cyanopropyl-50% phenylmethylsilicone , 50% 3-氰基丙基-50%苯甲基硅酮, 如DB-225 , Rt-2300
- G8 :** 90% 3-Cyanopropyl- 10% phenylmethylsilicone , 90%3-氰基丙基-10%苯甲基硅酮, 如CP-Sil 88 , Rtx-2330
- G9 :** Methylvinylpolysiloxane , 甲基乙烯基聚硅氧烷, 如DB-1 , Rtx-1
- G10 :** Polyamide , 聚酰胺, 如Poly-A 103 , Polyamide
- G11 :** Bis(2-ethylhexyl) sebacate polyester , 双-(2-乙基己基)癸二酸聚酯, 如 Bis(2-ethylhexyl)sebacate polyester
- G12 :** Phenyl-diethanolamine succinate polyester , 丁二酸苯二乙醇胺聚酯, 如 Hi-EFF-10BP
- G13 :** Sorbitol , 山梨醇, 如Sorbitol
- G14 :** Polyethylene glycol (av. mol. wt. of 950 to 1050) , 聚乙二醇(av. mol. wt. of 950 to 1050) , 如Carbowax 1000 , DB-Wax
- G15 :** Polyethylene glyco(av. mol. wt. of 3000 to 3700) , 聚乙二醇(av. mol. wt. of 3000 to 3700) , 如Carbowax 3350 , Carbowax 4000
- G16 :** Polyethylene glycol compoun(av. mol. wt. about 15,000) , A high molecular weight compound of polyethylene glycol and a diepoxide linker , 聚乙二醇(av. mol. wt. about 15,000) , 聚乙二醇和二环氧化物连接物的高分子量化合物, 如Carbowax 20M , DB Wax
- G17 :** 75% Phenyl-25% methylpolysiloxane , 75%苯基-25%甲基聚硅氧烷, 如DB-17
- G18 :** Polyalkylene glycol , 聚烷基乙二醇, 如Ucon LB-1800-X
- G19 :** 25% Phenyl- 25% cyanopropylmethylsilicone , 25%苯基-25%氰基丙基甲基硅酮 DB-225 , Rtx-225

G20 : Polyethylene glycol 聚乙二醇(av. mol. wt. of 380 to 420) , 聚乙二醇(av. mol. wt. of 380 to 420) , 如Carbowax 400

G21 : Neopenyl glycol succinate , 丁二酸新戊二醇酯 , 如Hi-EFF-3BP

G22 : Bis(2-ethylhexyl)phthalate , 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 , 如Bis(2-ethylhexyl)phthalate

G23 : Polyethylene glycol adipate , 己二酸聚乙二醇酯 , 如Hi-EFF-2AP

G24 : Diisodecyl phthalate , 邻苯二甲酸二异癸酯 , 如Diisodecylphthalate

G25 : Polyethylene glycol compound TPA , A high molecular weight compound of a polyethylene glycol and a diepoxide that is esterified with terephthalic acid , 聚乙二醇化合物TPA , 用对苯二甲酸酯化的聚乙二醇和二环氧化物的高分子量化合物 , 如 Carbowax 20M-Terephthalic Acid

G26 : 25% Cyanoethyl-75% methylpolysiloxane , 25%氰乙基-75%甲基聚硅氧烷 , 如Rt-XE-60

G27 : 5% Phenyl-95% methylpolysiloxane , 5%苯基-95%甲基聚硅氧烷 , 如Chrompack CP-Sil 8 CB

G28 : 25% Phenyl-75% methylpolysiloxane , 25%苯基-75%甲基聚硅氧烷 , 如DB-35

G29 : 3-3'-Thiodipropionitrile , 3-3'-硫代二丙腈 , 如TDPN

G30 : Tetraethylene glycol dimethyl ether , 四甘醇二甲醚 , 如Tetraethylene glycol dimethyl ether

G31 : Nonylphenoxypoly(ethyleneoxy)ethanol , 壬基酚聚氧乙烯醚 , 如Igepal CO-880

G32 : 20% Phenylmethyl- 80% dimethylpolysiloxane , 20%苯基甲基-80%二甲基聚硅氧烷 , 如DB-35

G33 : 20% Carborane-80% dimethylpolysiloxane , 20%碳烷-80%二甲基聚硅氧烷 , 如Dexsil 300

G34 : Diethylene glycol succinate polyester stabilized with phosphoric acid , 磷酸稳定的丁二酸二甘醇酯聚酯 , 如 Rt-DEGS PS

G35 : A high molecular weight compound of a polyethylene glycol and a diepoxide that is esterified with nitroterephthalic acid , 用硝基对苯二甲酸酯化的聚乙二醇和双环氧化物的高分子量化合物 , 如DB-FFAP

G36 : 1% vinyl-5% phenylmethylpolysiloxane , 1%乙烯基-5%苯甲基聚硅氧烷 , 如DB-5

G37 : Polyimide , 聚酰亚胺 , 如Polyimide

- G38** : Phase G1 containing a small percentage of a tailing inhibitor , 含有少量尾矿抑制剂的G1相, 如DB-1
- G39** : Polyethylene glycol(av. mol. wt. about 1500) , 聚乙二醇(av. mol. wt. about 1500)如DB-WAX
- G40** : Ethylene glycol adipate , 己二酸乙二醇酯, 如Hi-EFF-2AP
- G41** : Phenylmethyldimethylsilicone (10% phenyl-substituted) , 苯基甲基二甲基硅酮 (10%苯基取代) , 如Ultra-2
- G42** : 35% phenyl-65% dimethylpolysiloxane , 35% 苯基 -65% 二甲基聚硅氧烷 (percentages refer to molar substitution) , 如DB-35
- G43** : 6% cyanopropylphenyl-94% dimethylpolysiloxane 6% 氰基丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷(percentages refer to molar substitution) , 如DB-624
- G44** : 2% low molecular weight petrolatum hydrocarbon grease and 1% solution of potassium hydroxide , 2%低分子量凡士林烃润滑脂和1%氢氧化钾溶液, 如Apiezon L
- G45** : Divinylbenzene-ethylene glycol-dimethylacrylate , 二乙烯基苯乙二醇丙烯酸二甲酯, 如CP-PoraPLOT U
- G46** : 4% cyanopropylphenyl-86% methylpolysiloxane , 4% 氰基丙基苯基-86%甲基聚硅氧烷, 如DB-1701
- G47** : Polyethylene glycol 聚乙二醇(av. Mol. Wt. Of about 8000) , 如DB-WAX
- G48** : Highly polar, partially cross-linked cyanopolysiloxane , 高极性部分交联氰基聚赖氨酸, 如HP-88
- G49** : Dimethylpolysiloxane with chiral building block containing D- or L-valine as chiral agent (for aminoacids) , 含有d-或l-缬氨酸的手性结构块的二甲基聚硅氧烷作为手性剂 (用于氨基酸) , 如CP-Chirasil-D-Val
- G50** : Base-deactivated Carbowax , 碱性失活石蜡, 如Carbowax Amine
- G51** : 50% Phenyl - 50% Dimethylpolysiloxane phase which is modified with an aromatic selector for optimized separation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) , 50%苯基-50%二甲基聚硅氧烷相经芳烃选择剂改性后用于多环芳烃的优化分离, 如DB-EUPAH

相关文章链接 :

浅谈USP关于液相色谱柱的分类

