



药品



第十四章 气相色谱法

目录



第一节 基础知识



第二节 气相色谱法的基本理论



第三节 色谱柱



第四节 检测器



第五节 分离操作条件的选择



第六节 定性定量分析

学习目标

- ☑ **掌握** 气相色谱法定性依据、定量分析的原理及方法、定性分析与定量分析的应用
- ☑ **熟悉** 熟悉气相色谱法的特点及其分类，气相色谱仪的基本组成及流程，气相色谱法的基本理论：塔板理论、速率理论，气相色谱的固定相和流动相，气相色谱法中色谱柱及柱温的选择、载气及流速的选择、其他条件的选择
- ☑ **了解** 能够利用气相色谱分离分析检测信号对待测的各组分进行定性定量分析



第一节

基础知识





1.气相色谱法的特点及其分类

(1) 气相色谱法的特点：有分辨效能高、选择性好、样品用量少、灵敏度高、分析速度快以及应用范围广等优点。

(2) 气相色谱法的分类

按固定相状态可分为气-固色谱、气-液色谱。

按色谱原理可分为吸附色谱、分配色谱。

按色谱柱可分为填充柱色谱法、毛细管柱色谱法。



2.气相色谱仪及工作流程

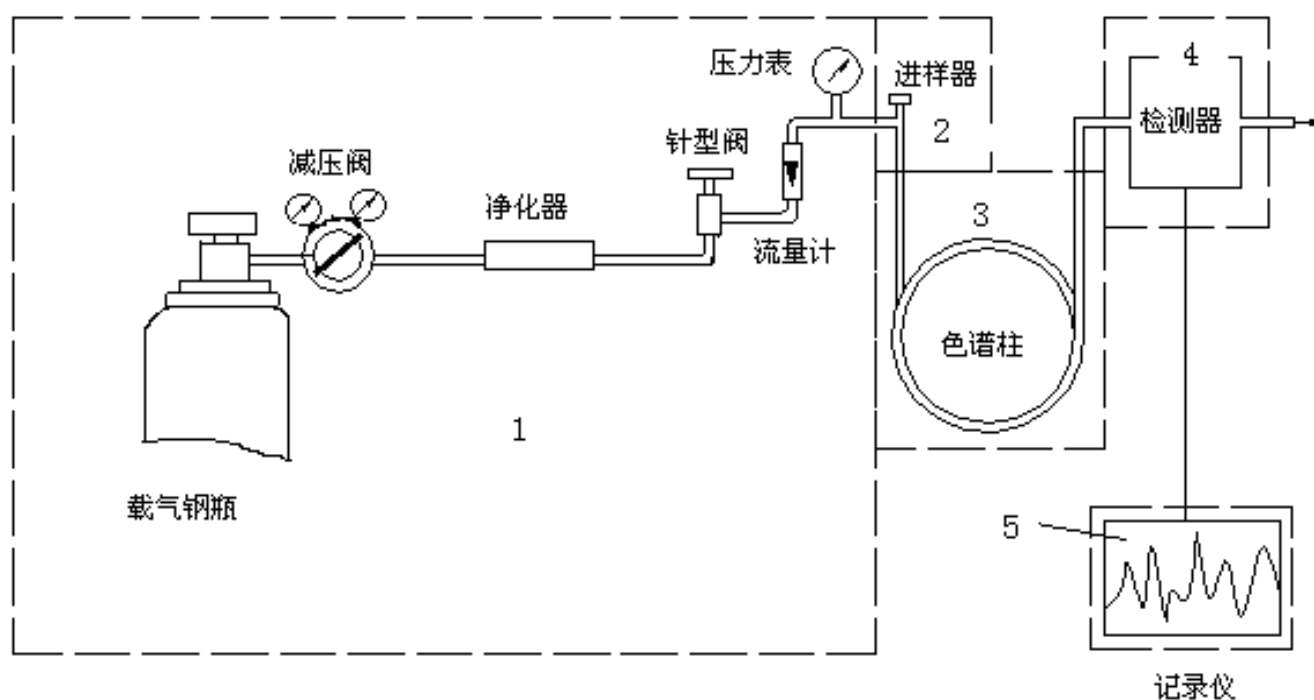
✓ 载气系统：包括气源、气体净化器、气体流速控制和测量装置。

✓ 进样系统：包括进样器、汽化室和控温装置。

✓ 分离系统：包括色谱柱和色谱柱箱。

✓ 检测系统：包括检测器和控温装置。

✓ 记录系统：包括放大器、记录仪或数据处理装置。



-1 气相色谱仪示意图

1. 载气系统 2. 进样系统 3. 分离系统 4. 检测系统 5. 记录系统



课堂活动

- 您能说出气相色谱仪的主要构成吗？
- 其中起分离作用的部件叫什么？起分析作用的部件叫什么？



3. 色谱流出曲线及其常用术语

(1) **色谱流出曲线**：色谱柱流出的各组分通过检测器时所产生的响应信号对流出时间或流动相流出体积所做的曲线称为色谱流出曲线，也称为**色谱图**。

(2) 色谱分析常用术语

①基线。

②色谱峰。

③峰高和峰面积。

④色谱峰区域宽度。

⑤拖尾因子。



3. 色谱流出曲线及其常用术语

从色谱流出曲线中，可得到许多重要信息：

- (1) 根据色谱峰的个数，可以判断试样中所含组分的最少个数。
- (2) 根据色谱峰的保留值，可以进行定性分析。
- (3) 根据色谱峰的面积或峰高，可以进行定量分析。
- (4) 色谱峰的保留值及其区域宽度是评价色谱柱分离效能的依据。
- (5) 色谱峰两峰间的距离是评价固定相（或流动相）选择是否合适的依据。



第二节

气相色谱法的基本理论





1. 塔板理论简介

塔板理论假设：

- ①在塔板内，试样中的某组分可以很快达到分配平衡。
- ②流动相间歇式通过色谱柱，每次的进入量为1个塔板体积。
- ③试样都加在第“0”号塔板上，并且试样的纵向扩散可以忽略。
- ④分配系数在各塔板上是同一常数。

用有效塔板数 (n_{eff}) 和有效塔板高度 (H_{eff}) 作为评价柱效的指标。

$$n_{\text{eff}} = \left(\frac{H_{\text{eff}}}{\sigma} \right)^2 = 5.54 \times \left(\frac{t'_R}{W_{1/2}} \right)^2 = 16 \times \left(\frac{t'_R}{W} \right)^2$$



2.速率理论简介

塔板高度 (H) 与载气线速度 (u) 的关系可用范第姆特方程表示:

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

- ①涡流扩散项。
- ②纵向扩散项。
- ③传质阻力项。



第三节

色谱柱





1. 气相色谱的固定相

(1) 气-液色谱的固定相

载体的要求：①表面积大；②化学惰性，表面吸附或催化性很小；③热稳定性；④粒度及孔径均匀，有一定的机械强度。

常用载体：载体分为硅藻土型和非硅藻土型。

固定液的要求：①选择性能高，对不同的组分有不同的分配系数；②对试样中的各组分有足够的溶解能力；③热稳定性要好；④化学稳定性好，不与组分发生化学反应；⑤蒸气压低，黏度小，能牢固地附着于载体上。

固定液的分类常用化学分类和极性分类两种方式。

固定液的选择：选择固定液一般是利用“相似相溶”原则，即按被分离组分的极性或官能团与固定液相似的原则来选择。组分在固定液中的溶解度大，分配系数大，保留时间长，试样组分分离的可能性较大。



1.气相色谱的固定相

常用固定液的相对极性

固定液	相对极性	极性级别	最高使用温度 (°C)	应用范围
鲨鱼烷 (SQ)	0	+1	140	标准非极性固定液
阿皮松 (APL)	7 ~ 8	+1	300	各类高沸点化合物
甲基硅橡胶(SE-30, OV-1)	13	+1	350	非极性化合物
邻苯二甲酸二壬酯 (DNP)	25	+2	100	中等极性化合物
三氟丙基甲基聚硅氧烷 (QF-1)	28	+2	300	中等极性化合物
氰基硅橡胶(XE-60)	52	+3	275	中等极性化合物
聚乙二醇(PEG-20M)	68	+3	250	氢键型化合物
己二酸二乙二醇聚酯 (DEGA)	72	+4	200	极性化合物
β,β'-氧二丙腈(ODPN)	100	+5	100	标准极性固定液



1.气相色谱的固定相

(2) 气-固色谱的固定相：气-固色谱的固定相有硅胶、氧化铝、石墨化碳黑、分子筛、高分子多孔微球及化学键合相等。在药物分析中应用较多的是高分子多孔微球（GDX）。



2. 气相色谱的流动相

气相色谱法中的流动相是气体，称为载气，一般常用氮气和氢气。

气相色谱法中载气的选择及纯化主要取决于选用的检测器、色谱柱以及分析要求。

1. 氮气在气相色谱中作为载气，纯度要求在99.99%以上。因它的扩散系数小，使柱效比较高，常用于除热导检测器以外的几种检测器中作载气。
2. 氢气的纯度也要求在99.99%以上。因它的分子量较小、热导系数较大、黏度小等特点，在使用热导检测器时常用作载气。

载气使用时要求进行净化，主要是“去水”“去氧”和“去总烃”。



第四节

检测器





1.检测器的性能指标

灵敏度高，稳定性好，线性范围宽，噪声低、漂移小，死体积小，响应时间快是对气相色谱仪的检测器的主要要求。

1. 噪声和漂移 在没有试样通过检测器时，由仪器本身及工作条件等偶然因素引起的基线起伏波动称为噪声。基线随时间朝某一方向的缓慢变化称为漂移。
2. 灵敏度 (S) 是指单位物质的含量（质量或浓度）通过检测器时所产生的信号变化率，浓度型用 S_c 表示，质量型用 S_m 表示。
3. 检测限 (D) 反映检测器的噪声水平，灵敏度虽高，但噪声较大时，微量组分也是无法检测的。检测限综合灵敏度与噪声来评价检测器的性能。检测限定义为某组分的峰高为噪声的2倍（也有用3倍的）时，单位时间内引入检测器中的该组分的质量（或浓度）。



2.检测器的类型

(1) 质量型检测器：质量型检测器测量载气中的组分进入检测器的质量流速变化，即检测器的响应值与单位时间内进入检测器的组分质量成正比。如氢焰离子化检测器（FID）和火焰光度检测器等。

(2) 浓度型检测器：浓度型检测器测量载气中组分浓度的瞬间变化，检测器的响应值与组分浓度成正比，与单位时间内组分进入检测器的质量及载气流速无关。如热导检测器（TCD）和电子捕获检测器等。



第五节

分离操作条件的选择





(1) 试样的处理：对于一些挥发性或热稳定性很差的物质，需要进行试样的预处理，才能用气相色谱法分析。分析试样制备包括将试样中的待测组分与基体和干扰组分分离、富集和制备成气相色谱可分析的形态（气态），主要有固体试样制备方法和液体试样制备方法。

(2) 载气条件

载气种类的选择：使用TCD，选用氢或氦作载气，能提高灵敏度；若使用FID，则应选用氮气作载气，有利于提高柱效能和分析速度。

载气流速的选择：当载气流速较小时，应采用分子量较大的载气，如氮气、氩气；当载气流速较大时，宜采用分子量较小的载气，如氢气或氦气。



(3) 色谱柱及柱温的选择：在达到一定分离度的条件下应尽可能使用短柱，一般填充柱柱长为1 ~ 5m。色谱柱的内径增加会使柱效下降，一般柱内径常用2 ~ 4mm。

柱温的选择原则是在使最难分离的组分有较好分离度的前提下，尽量采取较低的柱温，但应以保留时间适宜、色谱峰不拖尾为度。

(4) 其他条件的选择：汽化室温度一般可等于或稍高于试样的沸点30~50℃。检测室温度应等于或稍高于柱温30~50℃。



第六节

定性定量分析





1.定性分析

(1) 保留值定性:
$$r_{is} = \frac{t'_{R_i}}{t'_{R_s}} = \frac{V'_{R_i}}{V'_{R_s}} = \frac{k_i}{k_s}$$

(2) 保留指数定性:
$$I_x = 100 \left[z + \frac{\lg t'_{R(x)} - \lg t'_{R(z)}}{\lg t'_{R(z+n)} - \lg t'_{R(z)}} \right]$$

(3) 官能团分类定性: 依次分别通入官能团分类试剂, 观察是否反应。

(4) 与其他分析仪器联用: 目前比较成熟的联用仪器有GC-MS、GC-FTIR。



2.定量分析

(1) 峰面积的测量:

$$A = 1.065hW_{1/2} \quad A = 1.065h \frac{(W_{0.15} + W_{0.85})}{2}$$

(2) 定量校正因子:

$$f_{m_i} = \frac{f_{m_i}''}{f_{m_s}''} = \frac{m_i / A_i}{m_s / A_s} = \frac{A_s m_i}{A_i m_s}$$

(3) 定量计算方法

①归一化法: $c_i \% = \frac{f_i A_i}{\sum f_i A_i} \times 100\%$

②外标法: $m_i \% = \frac{A_i}{A_s} \times m$

③内标法: $c_i \% = \frac{f_i A_i}{f_s A_s} \times \frac{m_s}{m} \times 100\%$



3.气相色谱法的应用

例14-1 合成药物分析（维生素E胶丸中维生素E的含量测定）

(1) 色谱条件和系统适用性试验：以硅酮(OV-17)为固定相，涂布浓度为2%，或以HP-1毛细管柱（100%二甲基聚硅氧烷）为分析柱；柱温为265℃。理论塔板数按维生素E峰计算不低于500（填充柱）或5000（毛细管柱），维生素E峰与内标物质峰的分离度应符合要求。

(2) 校正因子的测定：取正三十二烷适量，加正己烷溶解并稀释成每1ml中含1.0mg的溶液，作为内标溶液。另取维生素E对照品约20mg精密称定，置棕色具塞瓶中，精密加内标溶液10ml，密塞，振摇使溶解。取1~3 μ l注入气相色谱仪，计算校正因子。

(3) 测定法：取内容物，混合均匀，取适量（约相当于维生素E 20mg）精密称定，置棕色具塞瓶中，精密加内标溶液10ml，密塞，振摇使溶解。取1~3 μ l注入气相色谱仪，测定，计算，即得。



3. 气相色谱法的应用

例14-2 复方制剂分析（4种中药胶膏剂中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量的气相色谱法测定）

用GC法同时测定伤湿止痛膏、安阳精制膏、风湿跌打膏和风湿止痛膏中的樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯的方法灵敏、准确、重现性好、适用性强。

(1) 色谱条件与系统适用性试验：玻璃柱（3mm×3m），固定相为聚乙二醇（PEG）-20m（10%），FID检测器。载气N₂压力为60kPa，流速为58ml/min；H₂压力为70kPa，空气压力为15kPa。柱温为130℃，进样器/检测器温度为170℃。

(2) 试样测定及结果：以萘为内标物，采用内标物预先加入法，用挥发油测定器蒸馏制备供试液。4种制剂试样中的樟脑、薄荷脑、冰片（异龙脑和龙脑）、水杨酸四酯及内标物萘均得到良好的分离。实验结果表明，樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸四酯的加样回收率都大于95.54%（ $RSD \leq 2.8\%$ ）。



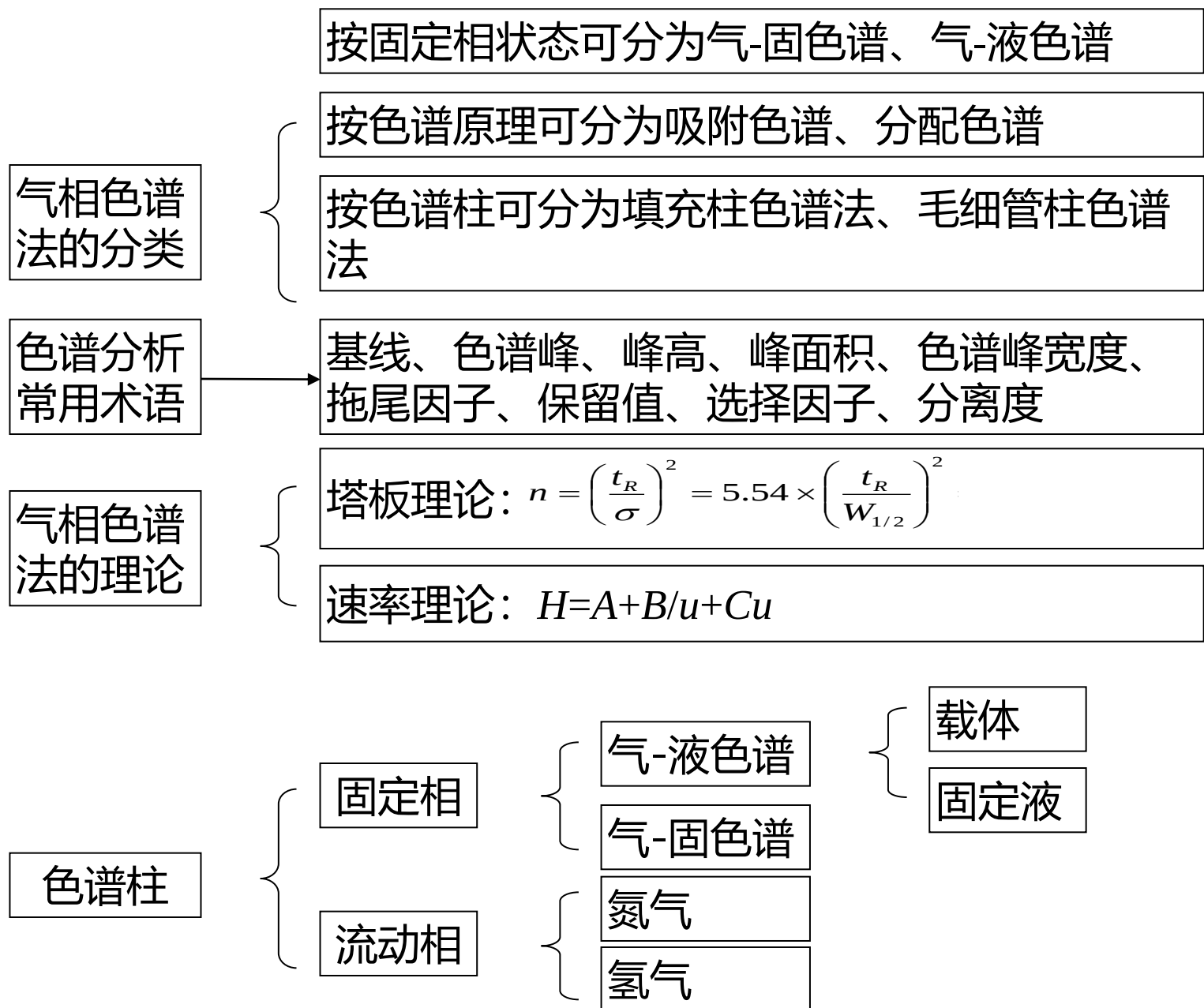
3.气相色谱法的应用

例14-3 体内药物分析（毛细管气相色谱法测定5-单硝酸异山梨酯的血药浓度）

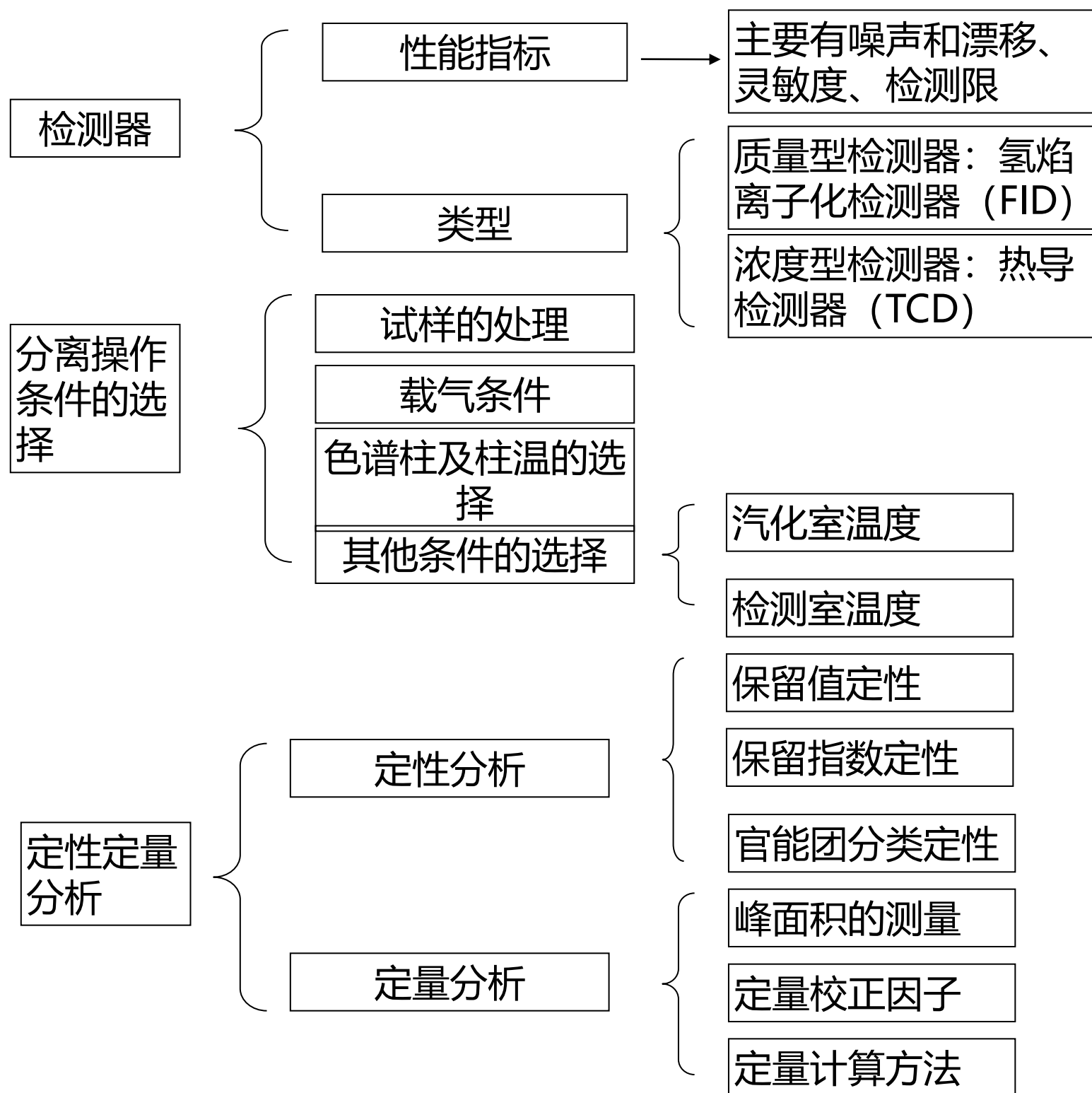
(1) 色谱条件：Alltech SE-30毛细管柱，15m×0.25mm，0.25μm(SGE)；分流/不分流进样衬管（4mm，去活化）；进样温度为180℃，ECD温度为225℃，术前压为90kPa，载气流速为1.2ml/min，阳极吹扫为4ml/min，隔垫吹扫为4ml/min，尾吹为50ml/min；采用分流进样，分流比为50：1；程序升温：初始温度10℃，维持3分钟，然后以5℃/min升至115℃，再以50℃/min升至200℃，维持1.5分钟。

(2) 试样测定及结果：以2-单硝酸异山梨酯为内标，血样经正己烷-乙醚（1：4）提取液2次萃取后，分离有机相，氮气下浓缩，甲苯溶解进样。标准曲线在24～1200ng/ml浓度范围内， $r=0.9993$ ，日内、日间RSD为3.29%～9.50%，平均回收率为101.66%±1.11%。方法的准确度高、专一性强、简便易行，可以满足血药浓度测定及药动学研究的需要。

小结



小结





药品

第十四章 气相色谱法

THANKS

谢谢观看