

色谱柱

一、建立色谱分析方法中色谱柱选择的重要性

合理选择的色谱柱是建立较佳的色谱分析方法的中心环节，当然除此之外还应考虑，选用何种检测器、仪器的简易程度和灵敏度高低、数据处理机的档次、进样方法以及选用载气的种类和纯度等。

0. 固定相

柱效和柱的选择性能否满足分析目的，在很大程度上又取决于所选用的固定相，或者说为达到同一分析目的，有多种固定相可供选择，但是不同的固定相在使用之前活化、制作后的老化或使用中不断再生的方法简易程度相差甚远。因此，为了提高分析工作效率，在建立色谱分析方法时，应尽量选用具有以下特性的固定相：

0 固定相处理方法简单方便；

0 不宜被污染和污染后再生容易；

(1) 使用寿命长，如：在气-固色谱分析 H_2 、CO和 CH_4 ，选用TDX-01 要比选用 5A (13A)，在大多数情况下优点多于缺点；在气-液色谱分析中，非极性比极性固定相老化简单、时间短和抗污染能力强，一旦污染再生也容易，另外，寿命也长降低了使用成本。

0. 柱的类型

色谱柱的选择关键，除固定相之外还有柱的类型，我们知道不同类型的色谱柱，制作工艺成本和处理方法不同、固定相的稳定性（流失）不同，即最高使用温度也不同、色谱柱的寿命或者说操作成本不同、对仪器结构和性能要求也不同；为了达到同一分析目的，填充柱或弹性石英毛细管柱比较，选用填充柱利大于弊。

(1) 制作工艺方法简单，设备要求低，利于普及；

(2) 可选择的固定相类型多；

(3) 对仪器灵敏度，使用条件，相对毛细管柱要求低和简单；

(4) 允许进样量大，适宜痕量分析；

(5) 分析轻组分或永久气体多选用填充柱；

(6) 定量分析时，在某些情况下，比毛细管柱分析精度高；

3. 色谱柱的选择是否理想的几个标准

(1) 满足分离的前提下，能实现快速定性和定量分析；

(2) 首选填充柱，其次毛细管柱。若选用毛细管柱，要首选大口径后选小口径；

(3) 柱长越短越好，柱容量（允许进样量）越大越好；

(4) 气-液色谱中，固定液用量越少越好；

(5) 固定相使用的温度越高越好；

(6) 色谱柱老化（活化）时间短、抗污染强、再生频率低和使用寿命长；

(7) 色谱柱本身稳定性好，定性定量精度高；

(8) 色谱柱的成本低，对仪器性能要求相对也低等。

二、固体吸附剂(气固色谱固定相)的选择

固体吸附剂从状态上分主要有颗粒状吸附剂、纤维状吸附剂和筛孔状滤料。目前常用的是颗粒状吸附剂，理想的颗粒状吸附剂应具有良好的机械强度、稳定的理化性质、有较强的吸附能力和容易解吸等性质。从色谱分析角度讲，它应具有对被分析的组分有多大吸附性，并可在随后的简单的物理条件释放的能力，或者说对某一特定组分能获得高回收率、尖锐峰形和好的分辨率，以及获得分

析高定量精度。吸附剂的吸附作用，一种是物理吸附，是靠分子间的作用力，这种吸附比较弱，在物理因素作用下，容易解吸。另一种是化学吸附，是靠化学亲和力的作用，吸附较强，不易在物理因素下解吸。各种吸附剂由于表面积（物理特性）和极性不同，吸附的物质种类和吸附能力也不同。目前常用的颗粒吸附剂主要有硅胶、活性炭、高分子多孔微球。

1. 硅胶：由于制造条件不同，孔径和表面积也不同。常用的是粗孔及中孔硅胶，硅胶除了有物理及化学吸附作用外，还有毛细凝集现象能够比较牢固地吸附气体和蒸汽。硅胶是脱水的硅酸凝胶，它是一种极性吸附剂，对极性物质有着强烈的吸附作用。与活性炭相比，硅胶的吸附力较弱，吸附容量较小，从硅胶上将吸附的物质解吸下来比较容易。在 350℃通清洁空气可以有效地解析，也可以用极性溶剂，如水和乙醇等萃取；

1. 活性炭：不同原料烧制成的活性炭在性能上有一些差异。活性炭属于非极性吸附剂，基本上以物理吸附为主，用来吸附非极性和弱极性的有机气体和蒸汽，它吸附容量大，吸附力强，但对水的吸附较少，因此，活性炭适合于采集有机气体和蒸汽混合物，特别适宜在浓度低，湿度高的地点长时间的采样。活性炭对于沸点高于 0℃的各种物质蒸汽，在常温下能够有效地吸附，对于沸点低于-150℃的物质，如永久性气体氢、氮、氧和一氧化碳等，活性炭几乎无吸附能力。为了定量采集沸点在-100℃~0℃之间的物质，如：氨、乙烯、甲醛、氯化氢和硫化氢最好在冷冻下吸附，也可以用浸渍化学试剂的活性炭，通过化学吸附增强其吸附能力。

由于活性炭的吸附能力强，解吸比较困难，一般常用热解吸法和有机溶剂解吸法。热解吸法是将活性炭加热到一定温度，然后通入氮气等惰性气体，将被吸附的物质吹脱，直接进入仪器或收集在特制的容器中，由于被吸附物质的沸点不同，因而解析温度也不同。实践证明：活性炭在一定温度一次解吸直接进入 GC 分析，不能获得好的峰形或高分辨，必须采用二次解吸法。有机溶剂解吸法是用有机溶剂浸泡活性炭，大量的有机溶剂分子将吸附在活性炭上的物质洗脱出来，这种方法具有理想的解吸效果；

2. 高分子多孔微球：它是一种多孔性芳香族聚合物，大多数由二乙烯基苯与其他不同烯烃等共聚而成。它具有大的表面积，一定的机械强度、疏水性、耐腐蚀、耐辐射或耐高温（250℃~290℃）等性能。高分子多孔微球是一种较好的吸附剂，并已作为气相色谱仪的固定相或载体广泛使用。常用共聚物如 Tenax GC（聚 2, 6-二苯基对苯醚）、苯乙烯的共聚物如 Amberlite XAD-2、Chromosorb 102 和 Porapak 等。国产的高分子微球，如 GDX 类和 501 有机载体类，也可用于空气采样。高分子多孔微球主要用于采集有机蒸汽，特别适用于采集分子较大，沸点较高，又有一定挥发性的蒸汽或蒸汽态与气溶胶共存于空气中的有机化合物，如多氯联苯、有机磷、有机氯、多环芳烃等。通常多使用 20~50 目的多孔微球，因为颗粒较大，阻力较小，有利于用较大的采样速度采集低浓度的有机蒸汽。不同的高分子多孔微球，有着不同的极性，例如：GDX-1 是非极性，GDX-3 和 Porapak P 是弱极性，GDX-4 和 Porapak S 是中等极性。实际操作中，可根据被测物质的性质，选择合适的高分子多孔微球。

3. Tenax GC 的优点

Tenax GC 主要特点为：化学稳定性好和不易受水影响特别是最高使用温度可达 450℃，适合做气体样品中的痕量有机化合物，液体样品中的挥发性有机化合物吸附浓缩剂。

5. 吸附剂（固定相）的目数

吸附剂或固定相的颗粒大小，对分离效率（峰的宽度）都有影响，常用 80~100 目（用于柱内经 3mm 或 4mm）。目数是筛子的大小，80 目是把 1 平方英寸等分成 80 个网眼，100 目是把 1 平方英寸（约 2.54cm²）等分成 100 网眼，所以在把填料过筛时，上为 80 目，下为 100 目，留在两筛网间的颗粒就称为 80~100 目，其尺寸约为 0.175mm 到 0.150mm 左右。不同的国家的标准筛网，目数具体孔径尺寸略有区别，表 9-2 为常用标准筛目数和孔径。

三、色谱柱的密封

1. 柱密封漏气，可能引起的问题

- (1) 氧气渗入减小了信/噪比；
- (2) 色谱柱氧化流失，柱效下降；
- (3) 样品流失或引起的分解；
- (4) 保留时间重复性变差；

2. 色谱柱密封材料

色谱柱密封材料不同，允许使用的最高温度和柱类型也不同，目前常代用的几种材质是：

- (1) 金属（铝、铜、不锈钢等）仅适用填充柱，最高温度可达 450℃，但有的密封结构不可重复使用；
- (2) Vespel (100%)，适用填充柱和毛细管柱，安装方便、耐温可达 280℃，但程序升温后，易失去密封性；若用于 NPD，环聚物流失会干扰分析；
- (3) 石墨（100%），通常用于各种毛细管柱，也可用于填充柱，耐温可达 450℃、装取方便、可重复使用；不太适合 MS 和对氧敏感的检测器；
- (4) Vespel（85%）/石墨（15%）的复合材料，适合于各种类型的色谱柱和检测器。耐高温（可达 350℃），装取方便，一般可重复使用，但要注意定时检漏；
- (5) 橡胶密封垫（含硅、氟、氯等），耐温不会超过 250℃，可用于各种柱型，通常用于玻璃填充柱密封。

3. 色谱柱重新安装时密封

- (1) 安装位置（尺寸）要重现，否则引起峰灵敏度变化；
- (2) 安装时小心，防止碎渣进入色谱柱引起峰形拖尾；
- (3) 不需要拧得太紧；
- (4) 使用清洁的密封垫，避免用手接触密封垫，以防手上的油脂污染；
- (5) 密封垫安装前，要仔细检查有无损伤，以防安装后引起问题后不宜分析排除；
- (6) 对那些不宜重复使用，如石墨密封垫，要注意重新安装柱时及时更换。

四、填充色谱柱

填充柱在分离效能和分析速度不如毛细管柱，但填充柱制备方法比较简单，它完全可以自己动手制做，定量准确度也较高。在永久气体和高挥发性烃类分析中虽然使用了 PLOT 毛细管柱，但是无论在分析方法、操作条件和运行成本上都不如填充柱来的简单和实惠，何况象痕量水分析必选常规填充柱等。就目前国内实际情况来看，若用填充柱能满足分析要求时，最好优先选用。

1. 管柱材料：目前常用的仍然是不锈钢和硬质玻璃。

- (1) 不锈钢材料不破碎、散热快和柱寿命长，但国产性能（特别是内壁光洁度）不易保证和清洗困难，选用时应小心。不锈钢柱管，特别在高温时那些化学性质不稳定的组分，流动中与管内壁接触会被吸附或因内壁的活性点催化作用而被分解，所以不锈钢柱只适合于分析化学成分稳定的组分，如 O₂、CO₂ 等无机气体类、LPG 和汽油等烃类。不锈钢还有一个优点是柱之间连接简单，如在气体分析中为加长色谱柱，可以把两根 2 米和 3 米连接成 5 米柱；
- (2) 玻璃材料表面和不锈钢表面比较显示惰性，催化作用极低，几乎不会引起吸附和分解，柱内情况易观察，但易碎安装使用中应特别小心。目前，几乎一大半色谱分析使用玻璃柱。为了进一步增加惰性，玻璃柱最好进行硅烷化处理。只有遇到酸性强的组分（氯化氢和氯气等）或弱酸性组分的微量分析（硫化氢）等，才考虑选用聚四氟乙烯，其实作为一般分析要求玻璃柱足矣。

2. 填充柱管材料的选择

0 玻璃柱

一般推荐用来在分析医药、卤族化合物、农药 和氢键化合物，如：胺、酚、脂肪酸等。为防止破损，常用用外径 6mm 而不用 3mm。为使玻璃柱内壁更加惰性，用浸于甲苯中的 5%二甲基二氯硅烷进行处理，在使用之前用无水甲苯和甲醇漂洗；

(2) 镍柱

镍柱比不锈钢柱的惰性大一些，最终可能作为柱的取代材料，用在生物样品和胺类的微量分析上，它更适合用在高腐蚀性的卤化物分析上；

0 不锈钢管

惰性一般，使用范围宽，但对于极性化合物和医药生物样品等不适合。极性化合物与高温金属表面接住常常被分解，特别是在注射口。在使用之前用有机溶剂和稀硝酸漂洗，活性特性可以得到改善；

(3) 聚四氟乙烯柱

用于分析 SO_2 、硫化氢和硫醇等，也可用来分析高纯活性的无机卤、 COS 、 HF 、 HS 、 HS 、 F 等。若用其作管路，空气可以通过管壁扩散到内管壁，对ECD的灵敏度有不利影响，对TCD可能缩短元件寿命；

(5) 铝

铝柱管内壁有一层氧化铝层，对分析某些组分有极积作用，如发现分析某些含氯农药是成功的。然而铝柱管不能用黄铜作密封材料，因反复程序升温后会漏气，连续上紧柱后有可能产生裂纹；

(6) 铜

铜柱内部有一层氧化铜，它是活性的，所以必须除去，不用它分析不饱和的组分，但分析痕量水比较合适。

3. 填充柱类型

从技术上讲，由于担体、固定液种类与品种繁多，因此不同种的担体和不同目数、各种不同的固定液和不同的涂渍比例，可构成成千上万种填充柱可供选择使用，但实际操作中应尽量选用涂渍比例小的色谱柱，否则柱流失大基线不稳定。目前已有市售交联键合填充柱，它如同弹性石英键合交联毛细管一样和老式填充柱相比优点主要是：

- (1) 老化时间短；
- (2) 柱流失低，在高灵敏度程序升温分析中，可以不做基线补偿；
- (3) 对活性组分具有特别的惰性；
- (4) 抗氧化能力强，成倍延长了柱寿命；

4. 用玻璃柱或镍柱分析不稳定化合物时，进样口和样品传送管道是不是也要用玻璃（或者镍）制作？许多化合物在不锈钢上易分解，有些甚至能全部失去。极性样品和痕量分析最好用玻璃柱，实验已经证明：许多生物样品在不锈钢柱上无法分析，但是换上玻璃柱或镍柱后，则几乎没有样品发生分解。既然有些样品和不锈钢接触时会分解，在相应的系统里就应当避免采用不锈钢。还有一种替代办法是采用柱头注射进样，并把柱出口直接接到火焰电离检测器的喷嘴处。
5. 选用固定液的基本要求：在使用温度下，性能稳定、低黏度并对分离组分具有适当的溶解度；
6. 为防止酸性或碱性物质分离时拖尾，常在担体中添加磷酸或氢氧化钾；
7. 在极性样品分析时，用硅烷化玻璃棉堵塞色谱柱的末端，可以获得尖峰或减少拖尾；在分析挥发性游离脂肪酸时（VFA），使用磷酸洗过酸硅烷化的玻璃棉可以防止“鬼峰”；
8. 填充柱的规格尺寸：
 - (1) 内径：一般 2~4 mm
 - (2) 柱壁：0.5 ~1.5mm
 - (3) 长度：1~5m 最长 10m

- (4) 为防止短路或盲路，圆形填充柱的直径不易小，一般不小于柱内径的 15 倍。小内径的柱应与大目数的固定相相匹配，否则提高柱效有限。通常内径 3 mm 柱用 60~80 目或 80~100 目；内径 2 mm 柱要用 80~100 目或 100~120 目；
9. 柱填充技术：色谱柱作为分离的场所和工具，其性能优劣从根本上决定了分离效果的好坏，除从柱材料、柱规格、担体、固定液等多方面合理选择外，填充技术也是不可忽略的因素，这点只能在实践中不断总结和积累；
10. 新柱老化时，出口除不能接检测器，不通载气千万不能加热；
11. 不同的色谱柱类型，特别是极性柱，都有所谓吸附作用，即老化后的新柱在做微量分析时，常常遇到前几针进样时会无峰到峰逐渐增大直到饱和，遇此情况只能待饱和后方能做实样定量分析；
12. 使用长柱，采用高固定液涂渍比例柱后，用加大流量来缩短分析时间，不是一个好办法。载气流量太大会出现：
- (1) 检测器调零困难；
 - (2) 载气中高沸点杂质，会大量残留在柱中；
 - (3) 加大柱流失，基线稳定性变差。
13. 只要允许，进样量越小越好，长时间大进样量柱流失加重减少其寿命；而对浓度类型检测器（TCD，ECD 等）除造成污染外，还会视操作条件不同减少其寿命；
14. 实践证明：在作空气中总烃分析时，采用 2 米空柱比填充玻璃珠的柱峰形更佳，对于某些特殊分析可以借鉴；
15. 为防止填充柱两端固定相喷出，较粗柱最好用金属细网堵塞（允许的话）；
16. 一般填充柱流量和线速度

载气：氮

内 径 mm	柱流量 ml/分	线 速 度 cm/s
Φ5	50~60	2.6~3.2
Φ3	30~40	3.7~5.2
Φ2	20~30	4.2~6.3

17. 建立柱的保管档案

一个实验室常常使用多种不同类型填充柱，随着时间的变化，柱的性能变化很大甚至失效，若不及时建档记录情况，使用中很容易造成混乱。建档时应注意记录如下内容：柱材料、管的内外径、长度、固定液种类、担体种类、目数(粒度)、涂渍比例、允许温度范围、制作日期、购得日期、使用情况（老化、再生情况和分析样品情况），最好保存实时分析的谱图，并记录是否出现过特殊情况等；

18. 订购填充柱要求注明的内容

- (1) 配用气相色谱仪的厂家和型号，以便决定柱的形状和安装尺寸；
- (2) 购新柱还是购替换柱，若是后者，最好告之曾用过的柱的详细信息，这样非常有利于制作柱或选择性能相近的类似柱；
- (3) 柱材料；
- (4) 柱规格：柱内径、外径和柱长；
- (5) 担体的种类（处理要求）；担体颗粒（目数）；
- (6) 固定液涂渍的百分含量；
- (7) 是否要求提供标准分析的实验条件和典型谱图；
- (8) 其他特殊要求。

五、弹性石英毛细管柱

1. 弹性石英毛细管柱的选择

目前常用的毛细管柱,基本由柱管和固定相组成。柱管材料常用弹性石英(熔融石英管外涂聚酰亚胺或金属铝)和不锈钢。从柱管性能和操作优点看,目前弹性石英毛细管柱用量在90%以上。不同厂家依据本公司制柱的特点和特色,介绍了本公司选择不同柱型的意见,虽然大同小异,但在某些细节上还是有一定差别的,因此更换不同厂商的相似柱型时,还应仔细参照对比,甚至于通过实验后方能知道是否会获得满意的分析结果。选择弹性石英毛细管柱,主要从以下四方面考虑:

(1) 固定相

- 0 不知道使用何种固定相,可以从非极性柱或弱极性柱开始试用,如果效果不好,再按极性渐强的顺序选用中等极性直到高极性柱逐一尝试,直到基本满足为止;
- 0 永远选用即能提供满意分离度、最短分析时间和极性最小的固定相。非极性的固定相比极性耐高温,同等条件下流失小、寿命长、并有利于微量分析;
- 0 人们一般习惯使用与被分析样品极性相近的固定相,在大多数情况下是有效的,但有时并不能找到最好的固定相;
- 0 当操作选择性检测器,应尽量避免有可能使检测器,产生高响应值功能团固定相;

(2) 柱直径

- ① 需要高柱效的色谱柱选用0.18~0.25mm的柱内经,0.18mm柱特别适合于GC/MS系统用小内经的柱。因小内经的柱容量小而且要求柱前压力高,进样需采用分流方法;
- ② 增加柱内经意味着需要更多的固定相,即使膜厚不增加样品容量也会增加,但应注意大口径的柱也同样降低了分离度和增加柱流失。实践证明,使用0.32mm柱内经和0.25mm相比只要使用得当,不分流进样或>2μl大体积进样量,流出的色谱峰也有较高的分离度;
- ③ 如果分离度允许,选用0.53mm柱,可以获得接近填充柱的柱容量,且可采用直接进样方法。另外,为配合吹扫捕集或顶空进样,唯有0.53mm柱可以胜任大的载气流量;
- ④ 若在高于室温下,分析气体或强挥发性样品,选择PLOT柱可能更合适。

(3) 柱膜厚

- ① 0.18~0.32mm柱内经,标准膜厚在0.18~0.25μm之间,可用于大多数分析;
- ② 0.45~0.53mm内经的柱,标准膜厚0.18~1.5μm之间,用于绝大多数分析;
- ③ 薄液膜色谱柱除用于降低高沸点样品和高分子量物质的保留时间外,还能降低分析温度,分析温度低,流失小有利于仪器的稳定性,但薄液膜柱的惰性较差,柱容量也较低;
- ④ 对于分析温度100~200℃之间的物质,用1~1.5μm较厚的液膜效果较好,超厚膜(3~5μm)柱用于气体、轻溶剂和可吹扫出来的物质,以增加样品组分和固定相的相互作用,增加分离度,这也是大口径柱选择厚液膜的原因。厚液膜的优点是: a. 惰性更好,类似填充柱的柱容量; b. 可以分析浓度较高的样品。当然厚液膜柱具有较高流失,最高使用温度也有所下降,使用中应引起注意。

(4) 柱长

- ① 10~15米柱常用于快速筛选,它适合于分离含有很容易分离的样品混合物、分离小于10个组分的样品或者分子量极高的样品。另外很小直径的色谱柱,为了降低柱前压有时也采用短柱;
- ② 当不知道最佳柱长时,也可以试用25~30米长的色谱柱。应当指出柱效越高,允许的进样体积越小。此外,操作的保留体积越小,则可允许的最大进样体积也越少,

否则由于柱超载会出现不对称峰，这意味着溶质在柱床中移动速度的不均匀性；

- ③ 对于分离含有高沸点组分的复杂多峰，当通过选择小内径、不同固定液或改变柱温等作不同条件后，未得到满意分离度时，只能选用 50 米、60 米或更长的柱。使用长柱不但需要的分离时间长，且运行成本也高，另外有人使用长柱，分析简单样品，采用加大载气流速或提高柱温方法来减少分析时间，这样会加大柱流失，不利于痕量分析。另外应特别指出：一味靠选择柱长来提高分离度，也是不可取的，因为柱长加倍，恒温分析力保留时间也加倍，但峰的分辩率仅增加了大约 40%。如分离度不要求特别好，考虑采用较薄的膜、优化载气流量、采用程序升温技术或有效使用 EPC 技术，比增加柱长可能更有实际意义；
- ④ 分析活性极强的组分是一种特殊情况，如果组分与柱料表面接触，峰会严重托尾。选用较短柱，较厚的膜比较有利，由于厚膜可以掩盖柱内活性表面，从而减少了组分和其相互作用，有利改善峰形和分辨率。

从以上关于毛细管柱固定液、柱的内径、膜厚、柱长的选择，可以看出，在大多数情况下，是相互制约的，要找到一根理想的柱，不是一件容易的事，在实际工作中，只能通过实验来决定。应该强调是柱的好坏是相对而言，总之，能满足自己分析任务的柱就是好柱，特别是不要仅考虑分离度。另外，在选择色谱柱时，不仅要考虑被分析样品性质，也要注意所用仪器功能、实验条件最佳化以及检测器与之间的匹配性等。

2. 毛细管柱容量

某组分进样量大于柱容量，出现峰的伸舌头和峰展宽，进样量大除影响分辨率外，还有可能出现两组分共流出、保留时间的变化或积分面积误差增大等。柱容量定义为，在色谱峰不发生畸变的条件下，允许注入色谱柱的单个组分的最大量。柱容量大小与柱内径的平方、柱长的平方根成正比，且和固定液的含量有关，含量越高允许的进样量越大。实操中允许进样量，要看峰的分离情况和大小而定，例如：普通填充柱柱，内经 3mm，柱长 1 米，适合 TCD 的固定液的涂渍量，最大进样量约为 1mg（液体约 1 μ l 或气体约 0.5ml）；适合 FID 的固定液涂渍量：最大进样量约 0.05mg（5%液体 1 μ l 或气体约 25 μ l）。表 9-3 给出了某些通用毛细管柱，30 米长的柱容量，操作时可再根据具体样品情况，选择不同进样技术和方法。

表 9-3 不同规格毛细管柱柱容量近似值

膜厚 \ 柱内经	0.1 μ m	0.25 μ m	0.50 μ m	1.00 μ m
0.10mm	10 ng	30 ~ 40 ng	50 ~ 70 ng	100 ~ 200 ng
0.18 mm	20 ~ 30 ng	60 ~ 80 ng	100 ~150 ng	250 ~ 350 ng
0.25 mm	30 ~ 40 ng	125 ~ 175 ng	175 ~ 250 ng	400 ~ 500 ng
0.32 mm	50 ~ 70 ng	200 ~ 250 ng	250 ~ 350 ng	600 ~ 800 ng
0.45 mm	80 ~ 100 ng	300 ~ 400 ng	400 ~ 500 ng	800 ~ 1000 ng
0.53mm	100~ 120ng	400 ~500ng	500~700ng	1000 ~1500ng

3. 毛细管柱的线速和流量

通过实验得出在维持柱效降低不大于 20%的情况时，氢气、氮气、氦气的线速度可分别采用 35 ~120cm/s、20 ~60 cm/s、10 ~30 cm/s，从而可以看出采用不同的载气，可适用的线速度范围有很大的

不同，表 9-4 给出不同管径毛细管柱的线速和流量的推荐值，可供参考。

表 9-4 不同规格毛细管柱线速度和流量 (He)

内经 mm	0.10	0.25	0.32	0.53
线速 (cm/s)	40 ~50	25 ~ 35	20 ~ 35	18 ~ 27
流量 (ml/min)	0.2 ~0.3	0.7 ~1	1 ~ 1.7	2.4 ~ 3.5

4. 不同规格毛细管柱柱前压

表 9-5 不同规格毛细管柱工作时，大致的柱前压 (MPa)

柱长 (m)	柱内径 (mm)					
	0.18	0.2	0.25	0.32	0.45	0.53
10	0.035~0.07					
12	0.07~0.10					
15	0.056~0.084		0.035~0.070		0.007~0.014	
20	0.07~0.14					
25	0.14~0.21					
30	0.10~0.175			0.07~0.14		0.021~0.035
	0.014~0.028					
40	0.14~0.28					
50	0.28~0.42		0.117~0.175		0.023~0.047	

5. 毛细管柱安装注意事项

正确安装毛细管柱不但减少可能的反工，提高工作效率，且可大大延长柱寿命。

(1) 对安装新柱的气相色谱仪首先应进行维护检修，确认仪器功能和性能可以满足要求。并核对所用注样系统、衬管规格和形式是否合乎要求；

0 毛细管柱分析对气源气体的纯度要求一般比填充柱高，原有净化装置要重新活化或更换，原来无净化装置要配齐。若使用氮气发生器，更应注意载气纯度，净化目的主要除去氮气中的水分和氧气，纯度应达 99.995%或更高；

0 检查进样隔垫和汽化衬管有无被污染，并着重检查衬管是否达到密封要求；

0 检查检测器（如 FID）是否需要清洗，喷嘴密封是否良好，以保证痕量分析的仪器灵敏度；

0 仔细检查毛细管柱是否有断裂或损伤；

(6) 安装时从柱架将色谱柱两端，各饶开大约 0.5m 以利于安装方便，避免柱的锐断损伤。通常用切割器在两端各切去 1~2cm 以保证安装质量，注意刀口平滑无毛刺。切割时仅对聚酰亚胺涂层上轻划出一画痕，不要试图割断石英管本身；

(7) 为避免碎屑进入柱内，柱两端向下各套上安装螺母和石墨垫圈。两端插入长度视不同和型号 GC 的安装要求为准，安装时可用涂改液标记；

(8) 再一次用放大镜检查两端切口，是否因套螺母和石墨垫过程中堵塞或损坏了切口，否则重新处理；

(9) 将柱进样端插入进样器口并确保位置适当，用手拧紧螺母，直拧到柱上下不滑动后，再用合适的扳手拧紧 1/4 ~1/2 圈；

(10) 接通载气和设定柱前压，确定合适的柱流速后，柱接检测器一端浸入无毒溶剂（如水）中观察有无气泡（防止柱中无载气加热损坏柱），若正常擦干毛细管柱端残留溶液，参考柱

入口安装,把此端安装在检测器入口。然后对柱两端一进样口和检测器进行检漏。

- (11) 检查隔垫清洗气路和分流阀能否“开”与“关”。依据分析方法要求,设定调整隔垫清洗流量、分流流量或不分流的分流时间。若使用 EPC,按方法要求编制控制程序;
- (12) 柱加热前务必用载气先吹洗 10 分钟左右,以赶出残留在柱中的氧气。若毛细管柱两端暴露空气中的时间很长(几天),吹洗时间最好延长到 1 小时以上;
- (13) 再次确认毛细管柱没有任何部分贴在柱箱壁,否则升温后会损伤柱的保护层;
- (14) 设定进样器和检测器的温度,并加热控温,同时核查载气柱前压、隔垫流速和分流比等,调整尾吹气、空气和氢气后点燃 FID 火焰(操作 FID);
- (15) 设定色谱柱老化的初始温度,加热并恒温观察仪器的基线,待仪器的基线基本稳定后,注射非保留物质——甲烷(FID),以检查毛细管柱安装是否基本正确。如果峰形有拖尾,再次检查进样器(衬管)安装是否有问题;若峰太宽检查检测器的设置和流速;若峰形对称可以进行柱老化程序;
- (16) 老化色谱柱

是否进行老化程序可按产品说明书进行。一般讲,柱温应从室温升到一定温度,终点温度为待测样品要求操作温度以上 20℃,升温速度一般不要太快(8℃/分钟~10℃/分钟),达到终点温度后,恒温 1~2 小时或更长。若允许接检测器,在老化过程中会观察到基线逐渐趋于稳定。另外,带有自动老化程序的仪器,也可以反复几次自动老化效果更佳。但应特别注意,在观察基线稳定过程中,始终不见好转或空白程序升温时,始终出现杂峰即“鬼峰”,应立即停止老化,除再次检漏并更换注射垫和衬管外,要着重检查进样口或检测器是否被污染,必要时进行清洗。老化中若不观察基线,长时间过度老化,色谱柱将改变柱的原来的性能或减少寿命。另外,若用“Vespel”柱密封垫,高温老化后要再次拧紧防漏;

- (17) 安装一根新色谱柱,都应带有性能测试图,在相同实验条件下,若能得到与标准测试相同或相似的图谱,就算基本完成了新柱的安装、老化与测试;
- (18) 试进待检样品的标准样品,按分析方法调整优化实验条件,一旦对仪器和柱效比较满意便可进行被测实际样品分析;
- (19) 特别注意:仪器的灵敏度、基线的稳定性和新毛细管柱的老化程度等均是相对而言,只要满足了分析任务的要求就可以实样分析,千万不要过分提高仪器稳定性要求,以免得不偿失。

6. 毛细管柱的维护保养

在毛细管柱的使用过程中,主要是如何防止过分固定相的流失,因为固定相流失会使柱效能降低和柱报废。色谱柱固定液流失是自然现象,是热力学平衡过程,是难以避免的。为了加强色谱柱维护和保养,引起固定相过分流失可能性有几种情况:

- (1) 普及涂渍式色谱柱,柱固定液是聚硅氧烷通过聚合物本身的取代基形成环状分子,聚合物碎片之间由于取代基作用也可能形成一些短键结合物碎片,当这些碎片从色谱柱流出进入检测器中会形成信号,基线随着温度升高而上漂,因此所有色谱柱在不同情况都有不同程度流失;
- (2) 新型键合交链型色谱柱,虽然克服了大量固定液流失,但是化学结合率通常不到 90%,在温度不断变化中,也会有不同程度的流失;
- (3) 在使用过程中,难免气路系统中有氧或非挥发性污染物,氧气会导致固定液氧化分解,而污染物起着催化作用,且温度越高影响越大,所以柱流失决定柱的终温,终温越高流失越大
- (4) 减少或避免色谱柱固定液流失主要措施:
 - ① 尽量使用高纯氮(N₂)作载气(纯度 99.999%以上);
 - ② 注意载气的净化,以除去载气中的氧和碳氢化合物;
 - ③ 所有气路中的材料和密封件最好为金属件(不含衬管和色谱柱),以防长期使用中漏气;

- ④ 经常检查确保毛细管柱系统的密封性，以防氧和其他物质对柱的污染；
- ⑤ 柱的使用温度尽可能低；
- ⑥ 为预防难挥发物进入色谱柱：a.充分进行样品预处理；b.使用填有石英棉的衬管；c.安装预柱等。

7. 影响色谱柱寿命的几个因素

(1) 色谱柱破损

石英毛细柱的聚酰亚胺涂层，如有少许破损就很难在保护脆弱的石英毛细管。当柱箱连续地加热和冷却、柱箱风扇的震动和柱架等都会对毛细管造成应力，最终在色谱柱有弱点处破裂。大内径柱更容易破裂，也就是说，在操作 0.45~0.53mm 内径柱时，要比 0.18~0.32mm 内径柱更要小心。

如果已经断裂的色谱柱，仍在高温下连续运行或是作多阶温度程序运行，很可能损坏色谱柱，因断裂的后半段暴露在高温的氧气中，这样一来会很快地破坏固定相；而断裂的前半段，由于有载气流过，氧的影响会很小。如果断裂的色谱柱没有再加热或只暴露在高温或空气中很短时间，断裂的后半部分不会受到明显损坏，可虑作为它用；

(2) 热损伤

超过色谱柱温度上限，会造成色谱柱固定相和管表面加速损坏，色谱柱的过量流失会使活性组分拖尾，降低柱效。一般热损坏是一个很慢的过程，但有氧存在时，会大大加速热损坏。另外在有漏气情况下，色谱柱过热也会加速损坏或永久性损坏色谱柱；

(3) 氧损伤

氧是毛细管柱的大敌，在接近室温下，不会对色谱柱有太大损害，柱温升高时会严重损坏色谱柱。对于极性固定相，即使温度和氧浓度很低时，也会发生严重损坏。虽然，短时间地暴露在空气中，如注射空气或更换隔垫不会有太大问题，但也应避免。

在载气气路上有漏的地方（如气路、接头和进样器），往往是进入氧气的源头，当色谱柱加热时，就会很快地损坏固定相，会过早地引起色谱柱的过度流失，至使活性化合物有拖尾，以及/或降低柱效，在不太严重的的情况下，色谱柱还会有一定的分离功能，但是性能已经下降了。在严重的情况下，色谱柱就会完全失效。让系统避免和氧接触是不受到氧损坏最有效的方法。对 GC 系统的良好维护是不可缺的，包括定期对管路和压力调节器进行检漏、定期更换隔垫、用高纯度载气、安装氧净化器以及不要等载气钢瓶用空了再进行更换等；

(4) 化学损伤

有少数化合物会使固定相遭到破坏，不挥发性化合物（高分子量或高沸点），进入色谱柱常常会降低色谱柱的性能，但是不会破坏固定相，有条件时这些沉积的残留物可以用溶剂冲洗而除去，能恢复色谱柱的性能。要避免进入色谱柱的主要化合物是无机和矿物碱和酸，这些矿物碱和酸不会挥发，通常积累在色谱柱的前端，如果使其停留在那里就会破坏固定相，使色谱柱过早的大量流失，使活性化合物拖尾，以及/或使柱效下降，其征兆和热损坏及氧损坏类似。由于化学损坏多发生在色谱柱的前端，所以可把色谱柱的前端切掉 0.5~1m，在比较严重的情况下，可以截去 5m 或更长的一段。如果使用保护柱就会减小色谱柱被损害的长度，但是需要经常处理或更换保护柱。酸或碱还常常会破坏石英管内的去活表面，因而会引起活性化合物的峰型变坏；

(5) 污染

气相色谱中，毛细管色谱柱被污染是很普遍的问题，不幸的是，它和各种各样常见的故障相似，常常被错误的判断为其它的故障，虽然被污染了的色谱柱并没有损坏，但已失去效能。通常有两种基本类型的污染物，不挥发性污染物和半挥发性污染物。不挥发性污染残留物不能从色谱柱里洗脱出来，而是累计在色谱柱里，这样它就成为涂渍了残留物的色谱柱，因而影响溶质的分配。而且残留物还会和活性化合物相互作用，甚至造成峰的拖尾会减少峰面积。

活性溶质是指那些含有羟基或氨基（一些硫醇基）及醛的物质；半挥发性污染物最后会洗脱出去，但需要几个小时或几天时间，半挥发性污染物和不挥发性残留物一样，他们也会引起峰型变坏和峰面积减小诸问题。此外，还常常引起基线不稳定（漂移、噪音增加）或出鬼峰等；

污染物的来源有许多，其中进样是最主要的来源。生物液体和组织、土壤、废水、地下水和类似的含有大量半挥发的和不挥发物质的基体，甚至使用彻底的萃取方法，样品也会含有少许这些物质并带到注射样品中，几次到几百次进样就会造成残留物的积累故障。柱上进样、不分流进样和大口径柱直接进样等进样方法常常会造成上述色谱柱的严重污染。偶尔污染物来源于气体管路、净化器、密封垫、隔垫的碎屑或其他与样品可能接触的物质（样品瓶、溶剂、注射器、移液管等），这些类型的污染物可能会突然性的引起故障。最大限度的减少半挥发性和不挥发性在样品中的残留物是减少柱污染好方法，然而有时污染物的存在常常是不知道的，因此严格和彻底的净化处理样品是防止污染的最有效方法。另外，使用保护柱可以减轻或推迟色谱柱受到污染的损害。

如果色谱柱被污染了，最好的办法是用溶剂进行清洗除去污染物（视柱类型）。建议不要使用长时间烘烤的方法，来处理受到污染的色谱柱，因为烘烤时，温度会把污染的残留物变成不能溶解的物质，再用溶剂清洗也无济于事。被污染较严重的色谱柱切断前段，后半段还可以有效使用。另外色谱柱在恒定极限温度下烘烤时间，不宜要超过1到2小时。

六、气-固色谱填充色谱柱

气-固色谱填充柱，用固体物质做固定相，有吸附性的常用固定相有无机吸附剂、高分子多孔微球和表面被化学键合的固体物质等。大部分固体吸附剂（固定相）价格低廉、制备简单、不必涂渍液体固定相和可直接使用，分离效能降低后，经再生后可多次使用。通常固体吸附剂能承受的最高温度比仪器欲测样品所能承受的温度上限还要高，因此没有柱流失，可以获得高灵敏度操纵下的基线稳定，特别有利于痕量分析，使用中应注意：

1. 吸附性与自身制备和活化条件有关，同一厂家不同批次产品，不同厂家的同种产品其性能也可能存在较大差异；
2. 注意某些吸附剂的催化作用，当有活性组分被分析时，使用温度尽量低。为了减少催化作用，提高柱的选择性，在其表面涂少量固定液或做其他改性处理也是一个可行的办法；
3. 根据气-固色谱分离机理，吸附等温线通常是非线形的，特别是进样量大时，色谱峰是不对称的；
4. 任何吸附剂也有寿命，一根气固填充柱不能永久通过活化后再生，具体寿命视使用条件而定，如5A柱、TDX-01和GDX-502柱都曾遇到使用半年后彻底失效情况；
5. 大部分固体吸附剂吸附特性特别强，在储存或分析过程中对某些组分容易发生永久性吸附而影响柱效，并且可能出现非线性等温线引起的不对称峰，例如：
 - ① 如前所述，硅胶是一种氢键合型的强极性固体吸附剂，硅胶的分离能力主要取决于孔径大小和含水量；
 - ② 氧化铝的分离能力也随含水量有较大变化；
 - ③ 分子筛类固体吸附剂，极易因吸水而失去活性，因此固体吸附剂在使用前必须活化，使其恢复活性和吹除在低温下不宜除去的污染物。另外在使用过程中，只有不断活化再生方能保证柱的分离效能。
6. 有些分子筛固定相由于活化过程控制不当，使其本身性能变化引起分离特性的不稳定，在使用中应引起重视，例如：13X分子筛，当吸附较大量水（ H_2O ）和二氧化碳（ CO_2 ）后，除使柱效能分离恶化外，还可能使出峰顺序倒转，实验表明：当含水约9%时，CO在甲烷前出峰，含水量约4%时，CO和CH₄一起出峰，含水量小2%时，CO在甲烷后面出峰，因此当样品中含水量较多时，一定先除水后在进样分析；

7. 使用高分子多孔微球,活化目的和分子筛类有所不同,它主要为了除去短链分子、溶剂和某些被吸附物质。在活化过程中,一定要通载气,防止氧化作用。另外,当此类固定相在分析极性样品时,可能有某些组分被永久吸附,此时若做微量杂质分析时,可能出现非线性响应,除及时对柱再生处理外,应注意定量校正。

七、予柱

一个较佳的色谱分析方法,除合理选择柱类型和固定相的种类外,为延长色谱柱的寿命,减少柱的活化或再生频率,提高日常工作效率,有时使用予柱是不可缺少的。

1. 予柱的作用

在气-固相色谱分析中,为满足浓度较大的 O_2 或 N_2 分离,优选 5A 或 13A。但 H_2O 、 CO_2 、 H_2S 、 SO_2 、 Cl_2 等 将很快使分子筛失活,分离变坏;在气-液相色谱分析中,有时很难避免不挥发的残余物质,它们可能是分子量非常高的有机物、无机物或颗粒材料,如果这些污染物进入色谱柱有可能产生活性物质吸附,不但分辨率会下降,还可能使峰不对称性更坏。若使用予柱其好处:

- ① 增加进样分析次数,减少样品残留物质对柱的影响;
- ② 大大延长柱寿命;
- ③ 再使用不锈钢柱进样方法时避免产生峰的分裂;
- ④ 改善样品的湿润性;

2. 毛细管用予柱-空保护柱的作用

空保护柱是保护柱的一种,它是连接在毛细管柱前的 1~10 米的去活石英毛细管。去活石英管没有涂渍任何固定相,只是对管壁表面进行了去活处理,以便减小和溶质的作用,大多数的情况下,空保护柱内外径和色谱柱相同,如果管径不同,最好使用内外径大一些的保护柱,要比使用直径小的效果更好。当样品中含有不挥发组分时,使用保护柱可免污染色谱柱,这样可以大大减少残留物和样品之间的作用。因为空保护柱不会保留溶质(因为它没有涂渍固定相),而且残留物不会覆盖在固定相的上面,而导致不好的峰型。空保护柱常为 3~5m 长,当有峰型出现问题时,保护柱应当进行再处理或更换了。

空保护柱也常用于某些样品,以改善峰型。在大体积进样($>2\mu l$)的不分流进样、大内径柱直接进样和柱头进样情况下,对溶剂和固定相极性不匹配时很有用,它对靠近溶剂前沿流出的峰或溶质的极性和溶剂很相似时色谱峰,会有很大改善。

八、气-液色谱柱的老化

1. 老化原因

- (1) 任何制作好的新柱,在柱涂渍过程中难免在柱中残留有机溶剂或任何固定液都有沸点低的不纯物,不经老化就用于分析,上述低沸点物质大量从柱中流出不但造成基线不稳,有时还会污染检测器;
- (2) 促进固定液均匀与牢固地分布在担体上(填充柱)和柱内壁(毛细管),提高柱的分离效能和消除不良影响;
- (3) 促使柱内固定相(填充柱 PLOT 柱)排布、更加紧凑和均匀,有利于提高柱性能并使其稳定。

2. 老化注意事项

- (1) 制作新柱老化时一定不能接检测器。新购色谱柱一般讲出厂前都已经予老化处理,除非在高灵敏度下操作(量程 $< 1 \times 10^{-11} A/mV$),通常不用再老化处理;
- (2) 由于载气中微量氧或管路漏气渗入空气,在高温老化时,会使固定液氧化而导致流失,破坏了色谱柱。为了说明这一问题,我们用一根非极性毛细管色谱柱(5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷),在恒温 360℃ 情况下,通过多次向柱头中注入 0.5 μl -4.0 μl 空气,从基线图中可以看出,每次进样后基线出现向上一个台阶,如果在用纯净载气继续老化,基线又恢复到原来水平。因此老化色谱柱时,一定要使用足够纯净的载气(或加净化器)和对气路进行严格的检漏,

且在升温老化前保证先通载气 10~15 分钟;

- (3) 老化时载气流量不宜太大 (一般 30ml/min 左右), 否则在填充柱中会把固定相压到一头, 易造成柱效下降和峰拖尾;

- (4) 老化的最高温度

有关色谱柱老化时最高温度如何确定, 一般讲老化温度应高于分析使用温度 25℃ 以上, 但不能越过固定液允许的使用最高温度。但在许多实际应用中, 所谓“最高温度”要视诸多情况而定。

① “最高允许温度”中有许多数据是若干年前, 用 TCD 测定柱流失而确定的, 而目前 FID 要比常规 TCD 灵敏度高出 $10^3 \sim 10^5$ 倍, 另外, TCD 灵敏度本身也提高了 1~2 数量级, 因此, 在较高灵敏度观察同样大小流失信号, 最高使用温度可能就有所降低, 有时允许使用温度可能比最高低 100℃;

② 新型检测器不断出现, 由于高灵敏度和高选择性, “最高温度”允许值可能比资料中低的多。如 ECD 为获得基线的稳定性, 允许最高使用温度比一般的检测器要低 50~100℃;

③ 不同厂家生产的同一种固定相所含杂质是不同的, 允许使用温度也不同;

④ 同一种固定相在不同情况下: a. 用于填充柱与毛细管柱; b. 微量分析还是痕量分析; c. 恒温分析还是程序升温分析; d. 制作色谱柱工艺 (常规制作还是交联键合制作), 允许的最高使用温度都有差异;

- (5) 老化的温度越低越好, 原则上讲比要使用的温度高出 25℃ 即可。例如一般非极性或低极性的固定相柱在 270℃ 老化不会破坏固定相。实践证明, 在低温长时间老化会因固定液被存在的微氧, 氧化破坏色谱柱, 但可能对程序升温操作降低基线漂移比较有效;

- (6) 老化方法最好采用程序升温并分段老化, 每到一定温度保持一定时间。对于填充柱可以在终温一直保持到需要时间为止; 对毛细管柱在相同温度程序下, 反复老化数次效果更佳。但程序升温速率低对老化效果更好, 一般升温速率, 填充柱在 10℃/分钟, 毛细管柱在 4℃/分~8℃/分为佳;

- (7) 老化时间根据不同的固定液和使用要求相差很大, 如: 聚乙二醇、聚脂类固定液, 由于分子量分布较宽, 低分子量成分较多, 需要较长时间老化。对于 OV 系列、SP 系列杂质小分子量分布窄, 老化时间可短, 常规使用老化几小时即可。若仪器在高灵敏度下操作, 有时老化时间要延长几倍。另外, 用于 ECD 柱的老化需要数天也是有可能的。为尽快了解老化效果决定是否达到要求, 有时老化一段时间后, 把柱接入检测器通过基线和噪声, 来判断是否应该结束老化还是必要的;

- (8) 老化何等程度是根据需要决定的, 其标准就是能满足分析时对基线稳定性的要求, 过分要求是不可取的。有人曾无限制的对柱进行老化, 其结果基线是稳定了, 可柱已无分离作用了 (固定液流失已尽)。换句话说常量分析、微量分析、痕量分析, 后一个比一个要求柱的老化程度高;

- (9) 分析目的是定性还是定量, 显然后者比前者要求高;

- (10) 操作何种检测器, 浓度型比质量型要求高, 特别是操作浓度型 ECD, 老化时间不但长而且和其他检测器 (FID) 相比, 最高使用温度要低 50℃ 以上;

- (11) 键合与交联固定相的优点和老化:

① 老化时间短;

② 流失低, 有利于高灵敏度下操作;

③ 有利于在较高温度下操作, 柱寿命长;

④ 对活性组分具有特别高的惰性; 固定相在制造上用溶剂漂洗除去低分子量的聚合物碎片; 液相的交联键合力与分子之间的作用力大, 因此抗氧化能力强, 如用键合甲基硅烷制作的柱, 在 350℃ 下老化 30 分钟, 便能获得极低的柱流失。实验表明, 在 170 次

柱升温循环老化后和非键合柱比较仍有很好的分辨能力。

⑤ 可用溶剂漂洗方法再生色谱柱。

九、气-液色谱柱的再生

当色谱柱使用一段时间以后，柱内由于各种原因，滞留了一些高沸点组分或氧化物等，除柱效性有所下降外，由于温度波动，可能出现基线波动或“鬼峰”。为了去除污染物使柱效和基线恢复到原来的状态，对于气-液气相色谱柱来说，统称色谱柱再生。色谱柱的再生和柱老化有一定区别和不同，它是柱在使用一段时间柱性能下降，经处理后尽量恢复到原来性能的过程。

0. 色谱柱在以下几种情况必须再生处理：

- (1) 使一段时间，柱效明显下降；
- (2) 柱被污染，特别是在程序升温时，基线漂移和噪声超过容忍程度或出现“鬼峰”；
- (3) 柱头塌陷，柱床短路或断位（在玻璃柱中容易发现），而出现尖峰或双重峰；
- (4) 峰形展宽，保留时间明显变化；
- (5) 待分离组分和固定相表面非特异性相互作用，引起较早峰的拖尾或出现双峰；

2. 毛细管柱再生的几种方法

- (1) 用载气将色谱柱污染物冲洗出来；
- (2) 将柱头截去 100mm 或更长一些；
- (3) 若使用交联的色谱柱，柱在仪器上可以反复注射溶剂进行冲洗。常用的溶剂依次为丙酮、甲苯、乙醇、氯仿和二氯甲烷，每次可进样 5~10 μ l，一般能解决问题；
- (4) 交联柱在仪器上冲洗无效时，可把柱拆下来用二氯甲烷或氯仿冲洗，溶剂用量视柱的污染程度而定，一般 20ml 左右。

3. 色谱柱再生前应注意的问题

当分析出现问题不能只考虑是柱问题，而马上进行再生。除上述情况外，还应考虑样品处理、进样技术、操作有无失误、数据处理参数有无变更等可能带来的问题后，再考虑柱的再生问题。

- (1) 衬管、予柱和检测器被污染也会引起基线不稳定、出现“鬼峰”或裂解峰；
- (2) 新的注射垫也会引起基线漂移和出现“鬼峰”；
- (3) 衬管密封欠佳、柱安装死体积或检测器固有特性也会引起较早出现峰的拖尾；
- (4) 分析系统发生变化（如漏气严重）也可能使保留时间突变；
- (5) 峰变宽，除柱效下降外也可能由柱外效应引起；
- (6) 进样量太大也会引起峰变宽、拖尾或保留时间变短；
- (7) 色谱柱长时间样品过载，保留时间也会变小等。

4. 色谱柱再生时应注意的几个问题

- (1) 如前所述和色谱柱老化一样，不是温度越高越好，时间越长越好；
- (2) 仪器在高灵敏度操作时，如：量程在 1×10^{-11} A/mV 以下，痕量分析程序升温过程中，温度升到大于 180℃ 后，基线明显漂移是不可避免的；
- (3) 填充柱和毛细管柱等不同类型柱，再生方法不同；
- (4) 样品种类、组分、进样量不同或操作时间长短不同，再生方法也不同；
- (5) 仪器本身条件如：气源种类、纯度、净化条件、进样口结构和操作检测器不同，再生柱方法也有区别；
- (6) 高分子量组分对色谱柱污染后，高温再生时间长会导致固定相的老化；使用交联或键合柱最好用溶剂漂洗再生，漂洗溶剂流动方向一定要从柱出口注入。应该注意，毛细管柱交联键合率通常不到 90%，因此会漂洗掉未化学结合的液相部分，所以保留时间和分离状态会有所变化；
- (7) 对于难挥发物，碳化物是不能通过再生除去，对于填充柱最好使用带衬管汽化室进样器，对于毛细管可通过把柱入口切去 30~50cm 的方法除去污物段。有条件的可以使用予柱，把不

挥发的有机物、无机物 和颗粒材料阻留在予柱中，需要时更换予柱；

- (8) 在某些情况下，色谱柱要在温度极限附近使用，这时基线漂移和大噪声已不可避免，柱的再生要求只能视情况而定；
- (9) 不是所有色谱柱通过再生均能恢复原来性能。对于柱效下降的柱，可以用做要求低的分析。衡量用于某一分析任务，色谱柱失效的标准主要有两条：a.分离能力与选择性已不能满足要求；b.基线波动和出现“鬼峰”超出了允许范围。