

## 第十五届国际色谱报告会概况

林炳承 卢佩章

(中国科学院大连化学物理研究所)

第十五届国际色谱报告会于1984年10月1日至5日在联邦德国 Nürnberg (纽伦堡) 举行。

我们应大会主席、联邦德国色谱协会主席 E. Bayer 教授的邀请参加了这次会议。

这次报告会是在欧洲举行的历届色谱报告会中规模最大的一次, 共有30多个国家的1050人参加。会议共接收 254 篇报告, 先后组织了 7 次不同专题的讨论。大会还另设有一个展览厅, 来自欧洲、美洲、亚洲和大洋洲的71家公司参加展出, 其中除大家熟悉的 Perkin Elmer, Varian, H.P., Siemens, 岛津等外, 还有一大批中小公司。

我们在会上介绍了我们的工作, 并且和各国代表进行了广泛友好的接触。卢佩章教授还参加了“Chromatographia”杂志编委会议。我们散发了拟在1985年11月在北京召开“分析测试学术报告会”会议的通知和《色谱》杂志创刊号的预印本。中国代表的工作, 中国在色谱研究和技术上已经显示和将要显示的力量, 引起了各国代表的高度重视。

下面, 我们从色谱理论、技术和应用三个方面对大会的学术内容作一概括叙述, 关于色谱仪器的情况将另行介绍。

在理论方面的报告中, 对保留的研究仍然占据很大比例。其中除了保留机理和保留数据的测定外, 还有一些文章谈到生物活性或药物药性和保留数据的关系。

E. Kovats 在会上所作的大报告中, 提出了液相色谱保留数据的测定问题。他认为, 在以往的工作中, 液-固色谱的理论大多数按液-液分配色谱处理, 固定相的体积无法确定, 保留数据以死体积为单位进行测量。这样一种处理方式难以找出保留和溶质克分子性质的关系。但根据 Gibb's 吸附方程, 保留和表面自由能的减少有关, 而表面自由能是表面的性质。早期的气相色谱研究中, 把比保留体积作为讨论的基础, 现在在液相色谱中, 他建议用比

表面保留体积( $V_{\sigma}$ ,  $V_{\sigma} = V_N/S$ ,  $V_N$ —净保留体积,  $S$ —表面积)来讨论保留。一般说来, 保留体积比死体积大很多, 所以, 在这种情况下, 即使死体积的测量误差较大, 也可以得到 3% 的精度。但是对这样一种处理方式是有争议的, 比如, 是不是要考虑流动相的影响等。

比利时的 L. Buydens 等人的报告是后一类文章的代表。生物活性(或药物药性)和色谱保留参数之间关系的研究是多年来研究结构与保留参数之间关系的继续和发展, 也是近年来色谱技术大量应用于生物化学领域的必然结果。Buydens 等人选择一种有重要药物作用的神经松弛剂, 从文献上得到 25 种分子对它的平衡抑制常数, 以此来反映它的药性; 然后测定这些分子在不同极性固定相上的气相色谱保留指数, 再用拓扑和量子化学方法分别计算这些分子的联接值和电子参数等各种结构参数; 然后用多元统计方法处理所有这些数据, 找出药物药性, 气相色谱行为和分子结构之间的关系。

计算机技术的发展为各种理论问题的数学处理提供了极其有用的工具, 因而也大大推动了与此有关的理论研究工作的开展。法国 G. Guiochon 学派对于不对称峰和重叠峰的处理, 以色列 E. Grushka 等人关于液相色谱最佳化的研究以及我们用指数修正高斯模型(EMG)所作的全谱图曲线拟合和不对称峰操作条件最佳化的研究都属于这一方面的工作。

Guiochon 等人从质量平衡方程出发, 采用一个脉冲注射流型模型处理不对称峰。他们用峰面积、径向扩散系数、保留体积和原始等温线的曲率等四个参数拟合一个峰, 而由曲线拟合法得到的斜率及曲率和用其它方法得到的值相符, 并在涂鲨鱼烷和 OV73 的毛细管柱上验证了这个模型的正确性。

关于重叠峰的问题, 前几年 Giddings 等人曾提出过一种保留时间随机分布理论, 这种理论认为,

可以通过色谱图上峰的数目来估计存在于混合物中的组分的数目。这次会上, Guiochon等人提出了另一种理论。根据这种理论, 被分离的峰数目的分布几率是峰容量的函数。他们列出了表示这种函数关系的式, 因此就可以估计要使混合物中所有组分都被分离需要多大的峰容量。

除此之外, 在理论方面, 用色谱作为手段进行物理化学测量的工作也仍然比较活跃。

关于**色谱技术**的各个方面的内容在大会的报告中占了很大的一个比例。

有两篇大报告分别谈到液相色谱和气相色谱的微型化, 着重强调我们曾在70年代就已经提出的采用细粒度、细管径、短柱子的观点。从整个大会的安排看出, 液相色谱、气相色谱的毛细管柱和微型柱仍然是大家所关心的一个重点。

英国的J.Knox在大报告中重申了我们曾于1979年提出的液相色谱中影响细内径柱高效的主要因素是柱外效应而不是管壁效应的观点, 他们设计了1微升体积的紫外检测器与1毫米内径的柱子相匹配, 并且提出: 有没有可能把柱径再降下去, 降到0.1, 甚至0.01毫米?

西德Tübingen大学的Bauer在会上报告了他和我们合搞的内径0.01毫米的液相色谱毛细管柱, 流速范围到微微升/分, 样品体积、检测池体积和所有接头的体积都在同一个数量级上。根据计算, 0.01毫米内径的毛细管柱在0.15厘米/秒线速下每米的理论板数可达300,000, 如果内径是0.005毫米线速是0.3厘米/秒, 则每米理论板数可达700,000。他们的实验结果和这种预测基本相符, 即总理论板数可达1,000,000, 而对于快速分析, 在大约2分钟内可达100,000塔片。

美国的M.Novotny谈到一种湿装的液相色谱微型毛细管填充柱, 有微型的紫外、荧光或电化学检测器与之匹配, 可采用多阶或连续梯度, 适合于分离生物、环保中非挥发性的复杂物质。

关于微型气相色谱的大报告是G.Guiochon作的, 他指出, 50厘米长, 50微米内径的毛细管柱的基本数据已经取到并且和理论值作了比较, 要搞这样小的系统, 当然要注意和进样阀、检测器、辅助系统的匹配问题。已经专门设计了小型的热导池、电子捕获和Loveloek电离检测器, 它们的最小检出量是非常低的。但是, 进样阀的相对死体积太大, 损害了柱效。美国的M.L.Lee作的关于毛细管色谱柱技术的报告中, 对这一问题作了比较全面

的介绍。

大家知道, 判断毛细管柱性能的指标仍然是柱效、选择性、惰性和温度操作范围等。所有这些指标主要取决于两点: 一是毛细管柱的内表面, 二是涂在这些表面上的固定相层。表面对被分析对象必须是惰性的, 且能被所涂的固定相湿润。固定相必须有确定的组成, 在比较宽的温度范围内热稳定性好, 当然还必须能在柱壁上涂一层均匀的薄层。

有许多方法用于对玻璃和石英毛细管柱脱活, 其中最成功的几种方法是用二硅氧烷、环硅氧烷或聚硅氧烷在高温(400℃以上)和表面反应。但是, 高温会促进氧化, 使涂在石英毛细管壁上的聚酰亚胺变质。Lee采用一种含有硅氢基团的聚硅氧烷, 只要在250℃以下即能产生很好的脱活效果。在脱活过程中, 硅氢基团和硅醇基团在硅胶表面反应, 产生稳定的Si-O-Si键和非极性反应产物—氢气。

至于涂渍, 由于高粘度的甲基聚硅氧烷可使毛细管有高的效率, 所以, 迄今为止, 它一直是毛细管色谱中使用最广的一类固定相。但是交联技术的采用使我们有可能使用极性更大的固定相, 同样可以达到高的效率和热稳定性。所以, 现在已考虑采用其他一些选择性固定相, 如二苯基聚硅氧烷和苯基聚硅氧烷来分离极性的异构体和复杂的碳氢化合物。随着小口径毛细管(小于0.1毫米内径)的进一步使用, 特别是在超临界色谱中的进一步使用, 对脱活和涂渍技术的改进就显得更为重要。实践证明, 这种改进对于小口径柱所产生的脱活效果和效率与大口径柱是一样的。围绕着柱直径、脱活和涂渍等问题, 很多色谱工作者都做了大量的工作。

荷兰的C.Cramers等人报告了0.05毫米内径的小口径毛细管柱研究情况。指出, 因为分析时间是 $k'$ ,  $R^2$ 和 $H/u$ 的函数, 故对于确定的分析问题, 可通过减少 $H/u$ , 也就是说减少柱直径来缩短分析时间。所以, 他们采用了0.05毫米内径的柱子。对于同样的分离问题, 这样的柱子要比普通的0.25毫米的柱子快5倍, 而在同样的时间里, 灵敏度也因为峰增高且变窄而至少增加5倍。为了和这样的柱子相匹配, 采用了高速扫描质谱, 每秒可得到20个质谱图。用此法得到了高质量的质谱图, 并配以自动检索。

Cramers实验室的G.Rutten等人用核磁的 $Si^{29}$ 谱和 $C^{13}$ 谱对一些玻璃毛细管的脱活方法, 包括六甲基二硅烷和二苯四甲基二硅烷的硅烷化, 八甲基四硅氧烷、聚硅氧烷的反应, 以及用PEG处理

等作了专门的研究。对于在什么条件下形成什么基团有了比较清楚的了解。他们还提出Si-O-Si联接中的氧原子是由水提供的。由此可推论，对石英毛细管进行硅烷化的成功率低于玻璃毛细管硅烷化的主要原因，可能在于石英毛细管的水含量低于玻璃毛细管。

很多人对新的硅酮的合成十分重视。芬兰的A. Lulo 等人用新合成的硅酮涂渍毛细管分离异构体，并将结果和含甲基、丙酮基和苯基的硅酮固定相作了比较。

苏联的A. Malik 等搞了一个石英毛细管填充柱，前面是过滤器，中间是微型填充柱，后面是毛细管。他们做了不同内径、不同粒子大小和流速对这样一个系统的影响。指出：柱内径从0.5毫米降到0.15毫米，粒子大小从100微米降到5微米，理论塔片高度将大大减小；流速对理论塔片高度的影响也显著减少。这种柱的分离效率可达到30,000/米，传质系数很小，可达 $10^{-4}$ 秒。这样的系统在气体分析、痕量分析等方面都有很多用处。

还有不少人对毛细管与微柱本身外，对其它有关技术也作了较多的研究。英国的J.L.Marshall专门研究分流注射的最佳条件。他以 $C_6-C_{24}$ 为样品，其中以 $C_{16}$ 为主组分，预测不同条件下的相对偏差和相对误差，最后得到一组最佳值。所用的不同条件是：4种不同类型的玻璃内衬，注射温度，进样量，注射针插入的长度，内衬塑料的类型和不同的分流比等。

还有一些文章谈到了切换技术。Vienna大学的J.F.K.Huter 教授作了一篇关于连续多阶的分析报告，实际上是把柱切换技术运用到不同的色谱系统，即包括GC-GC, GC-LC, LC-LC。利用切换技术把样品送到不同的色谱系统，增加分离能力，促进分离过程最佳化。

G.Schomburg则专门就进样技术作了一个大会报告。

在技术部分里，很引人注目的另一个内容是在大会上作的关于机器人的报告。报告人是美国Zymark公司的J. N. Little, Zymark是一个新的小公司。报告的主要意思是：实验室自动化的下一个目标是机器人。对于色谱系统来说，虽然已在数据处理方面大量采用微机系统，但是，作为误差重要来源的样品处理部分却迟迟没有自动化。由机器人实现的自动化是非常灵活的，在其他领域里已经采用，但在色谱领域还只刚刚开始。

Zymark公司把色谱分析的样品制备过程分解成若干个单元操作，包括称重、稀释、溶解、震荡、过滤、注射等，对于更复杂的样品，还可以采用萃取、浓缩、蒸发等步骤。机器人根据预先编好的程序一步一步地做，重复性非常好，所以精度也非常高。这个系统一方面和自动进样相连，另一方面又接受从色谱数据系统来的信号，根据数据分析的结果作出是否进行某一单元操作（如稀释、过滤）的决定，然后重新自动进样。如果色谱系统的某一部分功能失常，机器人可拒绝处理样品。

同样性质的另一篇报告是E.Bayer 他们采用氨基酸标记法的全自动气相色谱氨基酸分析仪。这是一台专用机，其中在衍生自动化问题上采用了类似机器人的办法。衍生费时，要用有毒试剂，定量精度也不好，他们搞了这么一台自动衍生（酯化，酰化）装置，把它和色谱自动进样相连，有很大的实用价值。

在技术方面，除了上述内容之外，还有一些文章谈到检测器，另外有几篇关于超临界色谱的研究报告。

#### 下面谈一下色谱的应用。

一个总的印象是，会议的组织者对应用予以极大的重视，安排在前面的4篇大会报告都是谈应用问题的。而应用的主要领域集中在生化、病理和环保。

大会的第一篇报告谈分析化学在毒性安全研究上的作用，是由德国的H.Henschler作的。他的主要意思是：随着生产的发展，化合物大量增加，污染物、致癌物增加，一些疾病的发病率也随之增加，而相比之下，对这些物质的认识，尤其是对这些物质毒性的测定还比较落后。突出反映在准确率低，价格高，周期长，使用不够方便；另外测定直接毒性较多，测定间接毒性较少；而现在有些比较常见的化合物在经过代谢以后毒性大大增加。要充分发挥分析化学这一方面的作用。

德国H.Frank的工作可以被看作是H. Henschler报告一个侧面的具体化。他指出：某些化合物对生物系统的毒性会受到代谢过程的影响，这些代谢产物会干扰正常细胞的机能。例如关于 $CCl_4$ ，在肝细胞里的毒性， $CCl_4$ 在肝里不到1小时即代谢为三氯甲基，但细胞的坏死要在 $CCl_3^+$ 基团生成数小时后才发生，这种滞后的原因一直没弄清楚。现在可以用不同的色谱方法鉴定在肝细胞里的类脂化