

文献综述

在线 LC-GC 联用接口技术*

佟 晖 穆乃强

(天津进出口商品检验局 天津 300201)

提 要 综述了在线 LC-GC 技术的接口形式和工作原理。

关键词 LC-GC, 溶剂蒸发, 保留间隙柱, 分流/不分流, 接口, 在线

分类号 O658

1 前言

常规的 GC 前处理要经过多次液-液分配提取, 最后浓缩或将溶剂吹气浓缩后进样, 不仅费时费力, 还会引起样品污染和待测组分的损失, 影响分析结果。为解决复杂样品和痕量组分的分析测定问题, 70 年代初出现了多维色谱, 即在使用多柱或多检测器的基础上, 使用多通阀或通过改变串联双柱前后压力的办法来改变载气在柱内的流向, 实现分流/不分流/反吹等操作方式, 以得到比单柱系统更多的分析信息^[1]。发展多维色谱的目的就是要提高色谱分离能力, 基础仍是单柱色谱, 即将各单柱色谱分离的优势结合到一起, 以达到更强的分离、分析能力。LC-GC 作为多维色谱的一个分支, 在近二十几年里从理论到实践都得到了长足的发展, 与其它多维色谱相比, LC-GC 是以解决 GC 样品前处理问题为目标的, 即用 LC 技术分离提纯复杂介质中的有效成分, 再利用毛细管 GC 高效分离能力和高灵敏度检测能力, 实现复杂样品中痕量物质的分析。应用 LC-GC 进行在线分析, 将 LC 流出物全部或部分直接转入 GC 分析, 大大缩短了分析时间, 节省试剂, 操作简便省力, 减少了样品损失和污染, 提高了灵敏度。另外, 在线 LC-GC 还具有 LC 与 GC 双重定性的功能, 这一点有时可替代 GC-MS 定性, 同时也为 LC-GC-MS 多重联用提供了技术保证。在线 LC-GC 作为一种操作简便、快速高效的分析手段, 尤其适用于分析复杂样品中的痕量物质, 正受到越来越广泛的关注, 目前已有商品化仪器。

2 样品溶剂蒸发方式

在 LC-GC 中, LC 的作用主要有三个: 一是对待测样品按族进行预分离, 然后逐族转入 GC 分析; 二是对样品有净化作用, 使之与介质分离后再转入 GC; 三是对样品中痕量待测组分进行富集, 使样品组

分形成一个窄的谱带, 以便有目的地转入 GC。

由于 LC 与 GC 所用的流动相不同, 因此如何除去溶剂, 如何将待测组分引入 GC, 即进行流动相的转换, 实现由液相分离到气相分析, 是在线 LC-GC 技术的要点, 也是它的难点。

除去 LC 溶剂主要是靠蒸发和分流。按照蒸发方式不同^[2], 分为全部溶剂同时蒸发 (fully concurrent solvent evaporation, FCSE)、部分溶剂同时蒸发 (partially concurrent solvent evaporation, PCSE) 和溢流蒸发 (overflow)^[2,3] 三种, 见图 1。

FCSE 方式意味着 LC 流出物的引入速度与蒸发速度相等 (见图 1-a)。因为没有溶剂进入 GC 分析柱, 所以相对于 PCSE 方式, 允许引入的 LC 流出物量较大, 可达 1 mL 左右。但这种方式使样品中挥发性组分损失也较大。为了保证溶剂引入速度与蒸发速度相等, 需调节蒸发温度、分流量和溶剂引入速度等参数。其中溶剂引入速度主要取决于 LC 系统, 为了缩短蒸发时间, 降低引入 GC 的 LC 流出物的量, 可选用细径 LC 柱。蒸发速度则取决于蒸发时的温度和分流量, 蒸发温度越高或分流量越大, 则溶剂蒸发速度越快; 但蒸发温度的升高受到溶剂沸点和样品中轻组分沸点的限制, 应比第一个流出的待测组分沸点低 80~120°C, 以免引起轻组分的丢失、峰形展宽及变形。由于需要将全部溶剂蒸发, 所以 FCSE 方式比较适于正相 LC-GC 过程。

PCSE 方式见图 1-b。在略低于溶剂沸点的温度下, LC 流出物的引入速度大于蒸发速度, 在毛细管内壁形成一层液膜, 有助于减少挥发性组分的损失。与 FCSE 方式一样, 需调节温度、分流量等参数, 以控制蒸发速度。

溢流蒸发方式是使溶剂蒸气自发扩散以除去溶剂 (见图 1-c), 一般用于 PTV 型接口。这种方式需要控制的参数少, 因而操作较为简便。

* 本文收稿日期: 1997-01-16, 修回日期: 1997-04-18

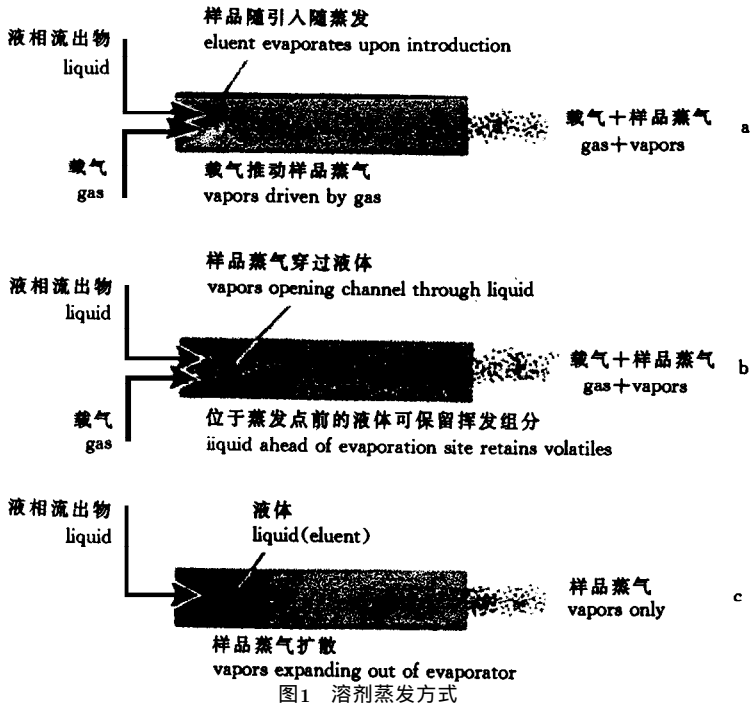


Fig. 1 Three solvent evaporation techniques

a. 全部溶剂同时蒸发方式 (concurrent evaporation in gas stream), b. 部分溶剂同时蒸发方式 (partially concurrent evaporation), c. 溢流蒸发方式 (vapor overflow).

3 LC-GC 的接口形式

将 LC 流出物引入 GC 大体上有两种方式, 一是经保留间隙柱 (retention gap)^[4-14], 二是通过程序温度蒸发进样器 (programmed temperature vaporizing injector, PTV)^[3,18-21], 除去溶剂后, 将待测物引入 GC 分析。最早的在线 LC-GC 是 Majors^[15] 在 1980 年提出的, 即用自动进样器将 LC 流出物引入 GC, 进样量小于 10 μ L, 无法进行痕量分析。为了能进行痕量分析, 增大引入样品量, 有多篇文章根据溶剂的蒸发理论提出对在线 LC-GC 接口装置设计和操作的改进。瑞士的 Konrad Grob 在 LC-GC 理论和实践两方面都做了大量工作。他曾详细地描述了保留间隙柱的机理及其与 GC 分析柱的各种连接方式^[16]。所谓保留间隙柱是一根约数米长的未涂渍的石英毛细管柱, 事先已进行脱活处理。溶剂在保留间隙柱上无保留, 样品中的组分会分布于其内壁, 并在气/液流推动下不停地向前移动, 凝结于 GC 分析柱的柱头, 在随后的温度骤升时以窄带形式进入分析柱进行色谱分离。作为保留间隙柱的石英毛细管柱的作用是: 在样品引入 GC 分析柱之前为溶剂的蒸发提供一定的空间; 对谱带展宽的组分进行再富集后引入 GC 分析柱。关于保留间隙柱实现对样品组

分再富集的机理较为复杂, 主要可用两步色谱、相比聚焦及柱内冷阱等三种方法解释。采用未涂渍并事先脱活的毛细管柱, 目的是尽量避免溶剂在内壁上的吸附。在正式分析之前保留间隙柱应用样品溶剂充分浸润, 使之形成一层液膜, 防止进样时形成液滴, 影响分析结果。根据相比聚集理论, 保留间隙柱的保留能力越弱, 则对样品组分再富集的能力越强。同时, 保留间隙柱的长度及脱活方法与保留能力都有很大关系^[16]。

保留间隙柱与 GC 分析柱的连接方式对分析结果影响也很大。插接法 (butt-connection) 在使用一段时间后会松动。也有将保留间隙柱与 GC 分析柱焊在一起的, 这样做的最大好处是对色谱分离和峰形影响都较小, 但不利于分流方式进样。Rohwer 等设计的一种类似气相色谱毛细管柱接头的连接方式, 方便可靠, 得到了广泛的应用, 见图 2。

为了除去溶剂, 提高进样量, 避免大量溶剂进入分析柱引起分离上的困难及保护检测器, 常在保留间隙柱与 GC 分析柱之间设分流阀, 并用一检测器监视溶剂峰流出情况。当溶剂峰接近流完时, 关闭分流阀, 使样品组分进入分析柱进行分析。但使用分流阀也有可能造成挥发性样品组分的流失。有时, 为了

使样品组分得到进一步富集, 在保留间隙柱与分析柱之间再连接一段未涂渍的毛细管柱(retaining column)。图3为典型的带分流阀的保留间隙柱与毛细管分析柱的连接方式。

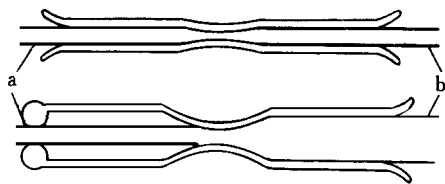


图2 保留间隙柱(a)与毛细管分析柱(b)的连接

Fig. 2 Press-fit connection between capillaries of retention gap (a) and the analytical column (b)

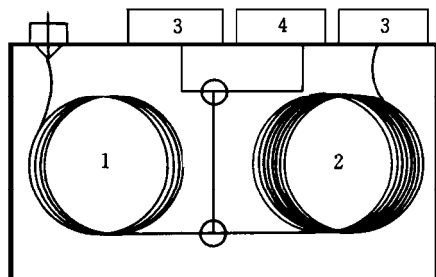


图3 带分流阀的保留间隙柱工作方式

Fig. 3 Scheme of the GC system with split valve

1. 保留间隙柱(retention gap), 2. 分析柱(analytical column), 3. 检测器(detector), 4. 分流阀(splitter)。

使用保留间隙柱时, 通过调节分流阀的压力、放空时间以及蒸发时的温度来控制蒸发速度^[4-11], 根据待测样品和溶剂的性质, 采用 FCSE 或 PCSE 方式除去溶剂, 选用 PCSE 方式时, 保留间隙柱的长度应当足够长, 以保留未蒸发的溶剂。引入保留间隙柱的液体样品量为几十微升到几毫升, 视具体操作条件和方式而定。

采用 PTV 进样器作为在线 LC-GC 的接口装置时, 在 PTV 进样器内一般填充吸附剂, 以吸附样品组分。常用的吸附剂有 Tenax, TA, Thermotrap TA, Sintered glass 等。不同吸附剂适用于不同的样品, 填料的性质会影响最终分析的回收率和允许引入的样品量^[17]。在 PTV 进样器与分析柱之间同样设有分流阀。以分流方式除去溶剂时, 样品引入时 PTV 进样器的温度低于溶剂沸点, 依靠载气将溶剂从分流口吹扫, 随后 PTV 进样器快速升温, 同时关闭分流阀, 将样品引入分析柱。由于不必预先用溶剂浸润 PTV 进样器, 而采用适当的吸附剂, 如 Tenax,

可以有效地除去溶剂中的水, 因而这种进样器特别适用于反相 LC-GC 的大体积含水样品。PTV 进样分流方式要求样品引入速度与分流速度相等或相近, 从而较难控制操作。PTV 进样也可以不分流方式除去溶剂, 这种方式操作简便, 不必准确控制蒸发速度和关闭分流阀的时间, 其工作原理见图4^[3]。

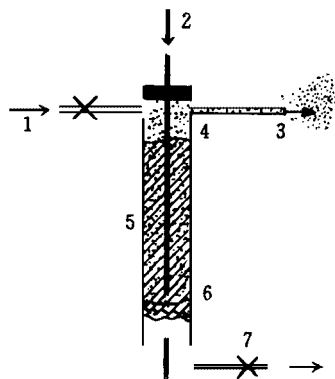


图4 以溢流蒸发方式除去样品溶剂的 PTV 进样器结构和工作原理

Fig. 4 Evaporation of the solvent in PTV injector by vapour overflow technique

1. 载气(carrier gas supply), 2. LC 流出物(LC eluent), 3. 蒸气出口(discharged vapors), 4. 扩散蒸气(expanding vapors), 5. 填充物(packing material), 6. 液体扩展(spreading liquid), 7. 分流口(split outlet)。

样品引入前, 将载气停止或关到最小流量, 同时关闭分流阀; PTV 进样器的温度高于溶剂沸点, 使溶剂因溢流蒸发排出蒸气出口。LC 流出物的引入速度是依 PTV 进样器的保留能力和引入样品量决定的, 即引入速度不应超过溶剂最大蒸发速度太多。样品引入完成后, 聚集在 PTV 进样器内填充吸附剂上的溶剂因不断蒸发而由蒸气出口排出。当蒸气出口不再有溶剂蒸气排出时, 导通载气, 同时将 PTV 进样器升温, 使样品组分转入分析柱。随后, 打开分流阀, 对 PTV 进样器进行吹扫, 并停止加热。为减少沸点较低的易挥发样品组分的损失, 溶剂的溢流蒸发过程亦可在较低温度下减压进行。

对于含水的反相 LC 流动相, 通常将待测组分转移到有机相或除去水后再引入 GC。曾用憎水性膜将水相与有机相分离, 但这种膜寿命较短。后又出现了夹层型分离器, 用 PTFE 膜根据不同溶剂的重量和粘度不同而将水除去^[12]。常用的方法是使用多通阀, 通过切换, 将样品定量转入定量管(loop), 浓缩或以 N₂吹干, 再用适当溶剂洗脱后直接或经保留间隙柱除去洗脱剂后引入 GC^[7,14,22], 见图5。

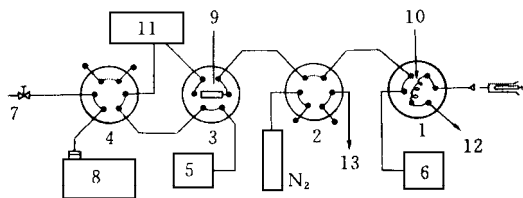


图5 LC-GC 联用中 HPLC 流程

Fig. 5 HPLC process in on-line LC-GC

1 ~ 4. 阀 (valve); 5. 泵 (pump); 7. GC 载气 (gas);
8. GC 系统 (system); 9. LC 色谱柱 (column); 10. 样品管
(loop); 11 ~ 13. 排放 (waste)。

4 结语

在线 LC-GC 作为一种多维联用技术,近年来在理论和实践两方面都得到了完善和发展。由于充分结合和发挥了 LC 与 GC 各自的优势,即利用 LC 进行初步分离、净化和富集,以在线实现部分样品前处理,再以 GC 分析分离,使 LC-GC 具有操作简便、省时省力及灵敏度高、突出优点,尤其适合石油、环保、食品、农残等领域中越来越多的复杂样品中痕量组分的分析分离工作^[23],如:污水或其他生物体中的多环芳烃^[25]、农药残留等。作为一项成型和较为成熟的技术,带保留间隙柱的在线 LC-GC 已用于分析猪肉中的激素^[24]、不同品种柑橘精油中的特征组分^[26, 27]及脂肪样品中有机磷农药残留^[10]等等。

尽管在线 LC-GC 在分析复杂样品时有其独特的吸引力,但在多数情况下,由于样品本身的限制,只是在一定程度上简化而不能完全取代 GC 前处理过程;同时,实现在线 LC-GC 接口的标准化,以便能够根据不同情况决定单机使用或在线联用,是在线 LC-GC 商品化亟待解决的一个问题;另外,在使用过程中,各操作条件参数的选择和控制也需要有一定的经验,这也是在线 LC-GC 尚未得到广泛应用的一个重要原因。但作为一项极具发展潜力的技术,相信在未来几年,在线 LC-GC 在技术上会日趋成熟和完善,从而得到更广泛的重视和应用。

参 考 文 献

1 周良模,黄威东,楼献文等.气相色谱新技术.北京:科

学出版社,1994.474

2 Grob K, Tonz B. JHRC, 1992, 15: 594-600
3 Gorb K. JHRC, 1990, 13: 540-546
4 Trisciani A, Munari F. JHRC, 1994, 17: 452-456
5 Bulterman A J, Vreuls J J, Rudy T G et al. JHRC, 1993, 16: 397-403
6 Biedermann M, Grob K, Meier W. JHRC, 1989, 12: 591-598
7 Dolecka E, Vreuls J J, Gerhardus J de Jong et al. JHRC, 1990, 13: 405-409
8 Munari F, Trisciani A, Testianu S et al. HRC & CC, 1985, 8: 601-606
9 Vreuls J J, Cuppen W J G M, Gerhardus J de Jong et al. JHRC, 1990, 13: 157-161
10 Barcarolo R. JHRC, 1990, 13: 465-469
11 Grob K, Schmar H G, Mosandl A. JHRC, 1989, 12: 375-382
12 Piet van Zoonen, G Rene van der Hoff, Hogendoorn E A. JHRC, 1990, 13: 483-488
13 Grob K, Laubli T. HRC & CC, 1987, 10: 435-440
14 Grob K, Stoll J M. HRC & CC, 1987, 10: 518-523
15 Majors R E. J Chrom Sci, 1980, 18: 571-576
16 Grob K, Schilling B. J Chrom atogr, 1987, 391: 3-18
17 Staniewski J, Rijks J A. JHRC, 1993, 16: 182
18 Mol H G J, Janssen H G M, Cramers C A et al. JHRC, 1993, 16: 459-461
19 Grob K, Brem S. JHRC, 1992, 15: 715-722
20 Grob K, Frohlich D. JHRC, 1993, 16: 224-228
21 Gwi Suk Heo, Jung Kee Suh. JHRC, 1990, 13: 748-753
22 Grob K, Artho A, Donne P L. JHRC, 1992, 15: 71-74
23 Davies I L, Markides K E, Lee M L et al. JHRC, 1989, 12: 193-207
24 Chappell C G, Creaser C, Shepherd M J. JHRC, 1993, 16: 479-482
25 Ostman C, Bemgard A, Colmsjo A. JHRC, 1992, 15: 437-443
26 Munari F, Dugo G, Cotroneo A. JHRC, 1990, 13: 56-61
27 Mondello L, Bartle K, Dugo G et al. JHRC, 1994, 17: 312-314

Interface Technique and Application of On-Line LC-GC

Tong Hui and Mu Naiqiang

(Tianjin Import & Export Commodity Inspection Bureau, Tianjin, 300201)

Abstract Several on-line LC-GC techniques are summarized in this paper with 29 references, including fully concurrent solvent evaporation, partially concurrent solvent evaporation and overflow evaporation. Some details about the interface techniques are also described.

Key words LC-GC, solvent evaporation, retention gap, split/splitless, interface, on line