

History of microwave moisture measurement technology and present situation of microwave moisture meter manufacture. Li Yuzhong (Wuhan Instrument Group Co, Wuhan, 430023)

Microwave moisture measurement is an important method for the measurement of moisture in solid and liquid materials. This paper describes the development history of microwave moisture measurement technology and the present situation of microwave moisture meter manufactures, with the names of main manufacturing companies listed.

液相色谱柱的使用与维护

崔莹

(华东师范大学河口海岸学国家重点实验室, 上海, 200062)

摘要 色谱柱是液相色谱分离的核心部件。为了得到良好的分离效果和延长色谱柱的使用寿命, 本文针对液相色谱柱使用过程中容易发生的问题, 介绍液相色谱柱的正确使用和保养方法。

关键词 液相色谱柱 使用 维护

1 前言

液相色谱的分离原理是, 在色谱柱流动相中样品的不同组分与固定相发生吸附、分配、离子吸引、排阻、亲和等作用, 由于作用力的大小、强弱不同, 各种组分在固定相中滞留的时间也不同, 因而先后从固定相中流出而得到分离。因此液相色谱分离的关键之一是色谱柱中的固定相。柱效的好坏直接影响目标化合物的分析和检测。但在液相色谱运行过程中, 色谱柱极易发生问题, 因此掌握正确使用和维护色谱柱的知识非常必要。

色谱柱使用过程中容易发生柱堵塞引起系统压力过高; 柱效低引起峰拖尾、变宽; 柱污染、损坏导致鬼峰等问题。引起这些问题的内在原因有:

(1) 硅羟基的死吸附。色谱柱的基材硅胶粒子表面存在硅胶羟基。任何物质在色谱柱中都不存在双分配效应, 即在流动相与固定相之间进行分配, 又在流动相与硅羟基之间进行分配。被分析物质被硅羟基吸附称为非特异性吸附, 或称死吸附。当硅羟基对被分析物质的吸附趋近于饱和状态时, 色谱柱柱效下降, 峰形出现拖尾、变宽。

(2) 重金属。色谱柱的基材硅胶粒子无论纯度高, 无论怎样处理, 都会有不少于 5×10^{-6} 的重金属以金属氧化物的形式残存在硅胶粒子的表面, 这

些金属氧化物很容易与其它化合物形成螯合物, 使其被氧化, 产生不对称峰或拖尾峰。例如儿茶素和大多数中药, 因含有多酚结构, 极易被金属氧化物氧化, 影响其分离效果。

(3) 碳流失。固定相经长期使用, 会有部分碳链被流动相洗脱下来, 随流动相一起流出色谱柱外, 造成碳流失。

(4) 缓冲液中盐的析出。在做色谱分析时, 有时流动相中会含有缓冲盐溶液。分析结束后, 如果没有先用含一定配比的水相流动相冲洗, 而直接用纯有机相冲洗, 瞬间柱子中的微环境是高有机相、低水相。这时流动相中的缓冲盐溶液极易析出盐, 将柱子堵塞, 使柱压升高, 柱效下降。

(5) 色谱柱变干。如果对色谱柱保存不当, 使色谱柱中的保存液全部挥发, 柱子内部变干, 造成色谱柱的损伤, 影响分离效果。

2 色谱柱的使用

新柱使用前应先检查产品包装、外观是否完好。认真阅读说明书及性能测试报告, 了解新柱子的最佳性能指标, 如某色谱条件下的柱压、柱效等。有时分析用的流动相与柱子的保存试剂不同, 故在分析样品之前, 应使用合适的试剂将柱子中的保存试剂清洗出来。要注意清洗用的流动相与保存溶剂的相

溶性。反相 C18 柱通过出厂测试后多保存在乙腈中,可用 10~20 倍柱体积的甲醇或乙腈来平衡色谱柱。流速要缓慢提高,如开始 0.3~0.5 mL/min, 10~15 min 后可慢慢加快。硅胶柱和极性色谱柱通过出厂测试后一般保存在正庚烷中。如果分析时需要使用含水的流动相,则使用前须用乙醇或异丙醇冲洗,流速 0.1~0.3 mL/min,将正庚烷冲洗干净后,再用流动相平衡。实验过程中可以记录色谱柱的一些性能指标,如柱效、柱压等,供今后参考。

每次分析样品前,要用流动相对色谱柱进行平衡,待基线平稳后再进样分析。梯度洗脱用初始流动相平衡。一次样品分离完成后,要有足够的时间使系统恢复平衡,再进行下一次分析。一般流动相平衡时间为 30 min,若系统中有盐或水,平衡时间应延长。

3 色谱柱的清洗与保存

色谱柱清洗是日常的重要维护工作。如果样品分子残留在柱子、接头、流通池中,会污染系统,影响对其它样品的分析,降低柱效。因此分析工作结束后,要用适当的溶剂清洗系统中残留的样品。在反相系统中,若流动相中无酸、碱、盐类物质,可用 90% 甲醇冲洗 30~60 min,若含酸、碱、盐类物质,则要先用 10% 甲醇或乙腈,或用与分析用流动相相同的比例把含酸、碱、盐溶液换成水,冲洗 30~60 min,再用 50~70% 甲醇或乙腈冲洗,最后用 100% 甲醇或乙腈冲洗。若有四元泵,可用梯度达到 90% 的甲醇冲洗。直接用纯甲醇或乙腈冲洗,会导致磷酸盐沉淀于柱子或检测池中。最好也不要用水冲洗柱子。纯水极性很强,ODS 填料的硅烷键是非极性的,在纯水中各键合基团会因疏水而改变性能,使柱效很快降低。目前已有公司推出可以使用 100% 纯水的柱子,原理是键合基团互相之间有排斥力,阻止了键合基团性能的改变。能否用纯水冲洗要看柱子说明书的规定。

有机相(如甲醇、乙腈)-水体系流动相能完成大部分分析工作,但是有时分析弱酸或弱碱化合物时(如生物碱),为消除拖尾现象,需用离子对试剂。常用的离子对试剂有庚烷磺酸钠和十二烷基磺酸钠,这时常采用 pH3~5 的缓冲盐体系。离子对色谱分离结束后,柱子应先用有机溶剂-水体系冲洗,再用水冲洗,最后用有机溶剂冲洗。假设流动相是甲醇

-0.5% 庚烷磺酸钠(pH3.3)(V:V=50:50),应先用 50% 的甲醇水冲洗,然后用水冲洗,最后用甲醇冲洗。这是因为十二烷基磺酸钠和庚烷磺酸钠都是表面活性剂,可以洗掉脂肪油(如烷烃及其衍生物)。如果先用水冲洗,十二烷基磺酸钠和庚烷磺酸钠会将 ODS 柱胶表面键合的长链烷烃洗脱下来,造成固定相的损失。如果先用有机相-水体系冲洗柱子,由于表面活性剂在有机相中有一定的溶解度,并且流动相的量比较大,会命名表面活性剂逐渐溶解在流动相中被冲洗出来,从而减少表面活性剂对键合相的洗脱。十二烷基磺酸钠和庚烷磺酸钠冲洗干净后,可以再用水冲洗,然后用有机相冲洗和保存。不同型号色谱柱冲洗所用溶剂体积见表 1。

表 1 色谱柱冲洗溶剂体积

色谱柱尺寸 (mm)	柱体积 (mL)	溶剂体积 (mL)
125×4	1.6	30
250×4	3.2	60
250×10	20	400

色谱柱一般用流动相中所含的有机溶剂来清洗与暂时保存,若长期不用,要用色谱柱说明书中推荐的溶剂保存。如反相色谱柱可用纯甲醇或乙腈保存,正相柱用烃类溶剂保存,离子交换柱用水或甲醇/水保存。

4 色谱柱的再生

若色谱柱柱效严重下降,分离效果变差,可以用 10% 异丙醇甲醇冲洗色谱柱。若柱效仍无改善,可以对色谱柱进行再生。色谱柱再生时,最好使用廉价的泵,而不使用高效液相色谱仪上的泵。

再生的关键是了解污染物的性质,并找到合适的溶剂将其去除。如果污染是因强保留物质的累积引起的,可以用流动相中较强的溶剂(90%~100%)以相当于 20 个柱体积的溶剂量清洗污染物。残留的脂质能用非水溶剂如甲醇、乙腈、四氢呋喃清洗。如果使用的是缓冲液系统,则要先用无缓冲流动相(即把缓冲液换成水)以相当于 5~10 个柱体积的量冲洗,再更换强溶剂继续冲洗。但有时强溶剂也无法将残留在色谱柱上的污染物洗掉,需要使用更强的溶剂或者多种溶剂清洗柱子。对于含蛋白质类的污染物,用 0.05 mol/L 稀硫酸冲洗非常有效,流速

0.5 mL/min。溶剂与溶剂之间的组合有很多,有时生产厂家会推荐溶剂系统。清洗、再生所用的系列溶剂都是强度逐渐增加的,通常最后一个溶剂是疏水的(如醋酸乙酯甚至是烃),可以用来溶解非极性物质,如脂质和油类。清洗过程中必须保证冲洗溶剂之间的互溶性,清洗过程结束时,必须借助中等强度能互溶的中间溶剂回到初始溶剂系统。异丙醇是一种非常好的中间过渡溶剂,既能与正己烷或二氯甲烷互溶,又能与水相溶剂互溶。但异丙醇粘度非常大,必须在较低的流速下使用,以免泵压过高。一般情况下,极性固定相(如 Si, NH_2 , Diol 基色谱填料)的再生可以依次使用 20~30 倍色谱柱体积的正己烷、异丙醇、二氯甲烷、甲醇冲洗色谱柱(因异丙醇的粘度较大,冲洗过程中随时注意调整冲洗流速),然后再以相反的溶剂顺序冲洗色谱柱。非极性固定相(如反相色谱填料 C18, C18, CN 等)的再生可依次用 20~30 倍柱体积的甲醇:水=10:90(V/V)、乙腈、异丙醇冲洗色谱柱,然后再以相反顺序冲洗色谱柱。

键合型的离子交换柱可以用缓冲溶液、水、甲醇冲洗。例如,典型的硅胶键合柱,在没有缓冲溶液的情况下,可以用甲醇、乙腈:异丙醇=75:25(V/V)、异丙醇、二氯甲烷、正己烷依次冲洗。用二氯甲烷或正己烷中洗后,考虑到溶剂相容性,柱子必须再用异丙醇冲洗后才能用原来的水相溶剂。四氢呋喃是另外一种比较受欢迎的去除污染的溶剂。如果柱子被严重污染,可以用二甲基亚砜(DMSO)或者二甲基甲酰胺和水按 50:50 的比例混合,用低于 0.5 mL/min 的流速冲洗色谱柱。对 NH_2 改性的色谱柱进行再生时,由于 NH_2 可能以铵根离子的形式存在,因此应该在用水冲洗后用 0.1 mol/L 的氨水冲洗,然后再用水冲洗,直至碱溶液完全流出。

另外,大多数强保留污染物都会累积在柱头上,对柱子反冲可以缩短冲洗时间。当然还要看所用色谱柱是否允许反冲。无论正冲还是反冲,最好不要接检测器,以免污染物进入检测池。

污染物的过多累积会加大清洗难度,清洗柱子频率越高越容易清洗,所以有规律地清洗柱子,可以预防重大问题的发生。

污染严重的色谱柱冲洗无效时,需将柱内填料取出进行处理,或更换新填料。还可以将柱头入口处被污染的填料取出,重新补装同类型的填料,然后

再改变柱流向进行再生。这种逆流再生方法,可以使大多数柱子性能得到恢复。

5 色谱柱的维护

色谱柱使用过程中不能碰撞、弯曲或强烈震动。当柱子和色谱仪连结时,阀件或管路一定要清洗干净。以下从流动相、样品、保护柱等方面提出色谱柱维护应注意的一些问题。

(1) 流动相:流动相使用前必须经脱气和过滤处理。即使仪器配有自动脱气机,也最好采用超声脱气或其它简便的脱气方法对流动相进行预脱气。尽量避免使用高粘度溶剂(如异丙醇)作为流动相,避免流动相组成及极性的剧烈变化。流动相应尽量使用色谱纯,减少流动相中杂质对色谱柱的污染和对检测器的影响。水用超纯水,流动相最好用 0.45 μm 或 0.22 μm 的膜过滤。大多数反相色谱柱的 pH 稳定范围是 2~7.5,硅胶柱 pH>8 时会发生硅胶溶脱,键合型柱 pH<2 时会发生键合相断裂,流动相尽量不超过色谱柱的 pH 范围。普通 C18 柱尽量避免在 40℃ 以上的温度下分析。柱内不溶物容易引起色谱柱的堵塞,影响样品的分离。不溶物产生的原因是有溶剂的不互溶、样品溶解液和流动相不互溶或者由于温度改变或固定相干涸而产生沉淀。为避免上述问题,要注意溶剂之间的互溶性。若两种溶剂不互溶,需经过中间溶剂慢慢过渡。保存时应将色谱柱两端密封,并尽量保持室温恒定。

(2) 样品:对内径 5 μm 的柱子,样品需经 0.45 μm 的膜过滤,更细的柱子要 0.22 μm 的膜过滤。基体比较复杂的样品需经过一定的样品预处理,例如海洋沉积物、中药提取液、体液等,需要采用萃取等方法除去对柱子有损坏的较大杂质,例如色素、多糖、蛋白质等。尽量减少进样量,避免过载。

(3) 保护柱:最好使用预柱作为保护柱,减少污染物对分析柱的损伤。压力升高通常是需要更换预柱的信号。

参考文献

- 于世林. 高效液相色谱方法及应用. 北京: 化学工业出版社, 2003: 27~28
- 吴方迪. 色谱仪器维护与故障排除. 北京: 化学工业出版社, 2003: 119~134

Use and maintenance of liquid chromatographic column. Cui Ying (State Key Laboratory for Estuarine and Coastal Research, East China Normal University, Shanghai, 200062)

Chromatographic column is the key part responsible for separation in liquid chromatography. In order to obtain good separation results and lengthen the life of column, this paper describes the correct methods in the use and maintenance of liquid chromatographic column.

经验交流

离子选择电极法检测水中氟离子的若干经验

王国庆 张亚鹏 关宏艳 江 丽

(北京理工大学化工与环境学院, 北京, 100081)

摘 要 介绍了使用氟离子选择电极法测定水中氟离子浓度的若干经验, 包括水的纯度、搅拌子的转速以及标准曲线的修正。

关键词 氟离子 离子选择电极法 水质检测

氟是最活泼的非金属元素, 自然界中不存在单质氟^[1]。氟也是人体必不可少的微量元素之一。饮用适量含氟水对人体有益^[2], 摄入量过低会产生龋齿^[3], 但是摄入量长期超过正常需要, 将导致地方性氟病。

高氟水在我国分布很广^[4], 遍布 27 个省、市、自治区。因此快速准确地检测饮用水中氟离子的浓度并采取有效的措施处理高氟水一直受到高度关注。

测定氟离子常用的方法^[5~6]有氟离子选择电极法、氟试剂分光光度法、茜素锆比色法、离子色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、原子吸光谱法、原子发射光谱法、荧光法等。离子选择电极法具有电极结构简单牢固, 灵敏度高, 响应速度快, 能克服色泽干扰, 精度高等优点, 而且便于携带、操作简单, 因而被广泛应用^[7~8]。氟离子选择电极法虽然已有成熟的测试方法, 但是, 在具体操作过程中, 仍然有一些环节值得注意, 否则, 往往会出现较大误差。李菊梅^[9]、周定友^[10]对氟离子电极在测定过程中需要注意的事项进行了全面总结。笔者在测定过程中也

总结了自己的一些经验。

1 实验用水的纯度

在氟离子的测定过程中, 国标 GB5750-85 要求用纯水, 但是笔者用蒸馏水(北京理工大学生产)所做的标准曲线, 线性相关度不高。改用去离子水(中国农业科学研究院生物技术研究生产), 重新配制氟离子溶液、缓冲液等溶液, 标准曲线的线性相关度达到 0.99997。从对蒸馏水和去离子水所做的标准曲线及相应的回归方程和相关系数中, 可以明显看出其中的差别。

以下是从多次用蒸馏水所做的标准曲线回归方程和相关系数中选取的四个:

$$Y = 254.596 + 51.848x \quad R^2 = 0.99755$$

$$Y = 267.981 + 52.487x \quad R = 0.99828$$

$$Y = 264.472 + 51.28x \quad R^2 = 0.99497$$

$$Y = 266.075 + 51.161x \quad R^2 = 0.99683$$

相关系数 R^2 在 0.994~0.998 之间。

换用去离子水, 重新做标准曲线, 得到的回归方

基金项目: 北京市重点实验室基金项目资助。

作者简介: 王国庆, 男, 副教授。

通信联系人: 张亚鹏, 研究生。