

# 第三章 色谱分析法实验

## 第一节 气相色谱

### 实验 3-1 气相色谱法分离乙酸乙酯、乙酸和乙醇

#### 一、实验目的

- (1) 熟悉气相色谱仪的基本结构和使用方法。
- (2) 熟悉色谱图的测量方法和理论塔板数及分离度的计算方法。
- (3) 掌握化学工作站的开机、关机、参数设定，学会数据采集、数据分析的基本操作。

#### 二、实验原理

由于试样中各组分性质的差异，它们在色谱柱的流动相和固定相之间的分配系数不同，随着流动相的推移，各组分在两相间经过反复多次的分配，发生差速迁移，最后达到分离。分离后的组分依顺序先后进入检测器，产生的电信号经放大后，由记录仪描绘出各组分的色谱峰。

有机合成实验合成的乙酸乙酯，经过简单分离操作，产物中还含有少量乙酸和乙醇。

用一般分离方法很难分离它们，而气相色谱法则可使这些难分离的物质达到分离。混合物

通过在流动相（氮气）和固定相中反复多次的分配后可达到分离，它们按沸点不同由低到高先后流出，其顺序是：乙酸乙酯、乙醇和乙酸。

### 三、仪器和试剂

#### 1. 仪器

气相色谱仪。

#### 2. 试剂

粗乙酸乙酯（来自有机合成实验）、乙酸乙酯（色谱纯）、乙酸（色谱纯）和乙醇（色谱纯）、无水硫酸镁（AR）。

### 四、实验步骤

#### 1. 选择分析条件

按仪器使用说明书进行操作，选择适宜的分析条件。

气相色谱仪的分析条件如下：

氢焰离子化检测温度；150℃；

汽化室温度；165℃；

柱温；45℃；

氮气流量；187 mL/min；

空气流量：550 mL/min；

氢气流量：50 mL/min；

分流比：30：1。

## 2. 进 样

用微量进样器取适量待分离的混合物注入色谱柱（约 1  $\mu\text{L}$ ），同时按下启动键。另外取适量乙酸乙酯（色谱纯）、乙酸（色谱纯）、乙醇（色谱纯），注入色谱柱，同时按启动键。

## 3. 数据处理

（1）利用乙酸乙酯（色谱纯）、乙酸（色谱纯）、乙醇（色谱纯）的保留时间确定粗乙酸乙酯中的乙酸乙酯、乙酸、乙醇的位置，并记录。

（2）计算乙酸、乙醇的分离度  $R$ ：

$$R = \frac{t_{\text{R}}(\text{乙酸}) - t_{\text{R}}(\text{乙醇})}{W_{1/2}(\text{乙酸}) + W_{1/2}(\text{乙醇})}$$

（3）以乙醇计算理论塔板数  $n$ ：

$$n(\text{乙醇}) = 5.54 \left[ \frac{t_{\text{R}}(\text{乙醇})}{W_{1/2}(\text{乙醇})} \right]^2$$

## 实验 3-2 气相色谱法测定食品中的苯甲酸钠含量

### 一、实验目的

- (1) 练习样品处理方法。
- (2) 掌握气相色谱法的定量方法。

### 二、实验原理

苯甲酸钠是无色无味的粉状固体，溶于水和乙醇，主要用作食品防腐剂。食品经酸化后其中的苯甲酸钠转化为苯甲酸。苯甲酸微溶于水，易溶于乙醚、氯仿、苯、松节油等有机溶剂中。所以，酸化后的食品样品用乙醚提取苯甲酸。乙醚提取液经浓缩后，用气相色谱法进行分离测定。

### 三、仪器和试剂

#### 1. 仪 器

- (1) 气相色谱仪；
- (2) 恒温水浴锅、25 mL 带塞量筒、25 mL 容量瓶、5 mL 带塞刻度试管、漏斗、滴管。

#### 2. 试 剂

(1) 乙醚 (不含过氧化物) ;

(2) 石油醚 (沸程 30~60 °C) ;

(3) 6 mol/L 盐酸 ;

(4) 40 g/L 氯化钠 ;

(5) 无水硫酸钠 ;

(6) 苯甲酸标准溶液 : 准确称取 0.200 0 g 苯甲酸置于 100 mL 容量瓶中 , 用石油醚-乙醚 (3 : 1) 混合溶剂溶解后并稀释至刻度 ;

(7) 苯甲酸标准使用液 : 吸取适量的 2.000 g/L 苯甲酸标准溶液 , 以石油醚-乙醚 (3 : 1) 混合溶剂稀释为浓度分别为 50 , 100 , 150 , 200 , 250 mg/L 苯甲酸溶液。

## 四、实验步骤

### 1. 样品处理

称取 2.5 g 预先混合均匀的样品 , 置于 25 mL 带塞量筒中 , 加 0.5 mL 6 mol/L 盐酸 , 用 15 mL、10 mL 乙醚提取两次 , 每次振摇 1 min , 将上层醚提取液吸入另一个 25 mL 带塞量筒中 , 合并乙醚提取液。用 3 mL 40 g/L NaCl 酸性溶液洗涤 2 次 , 静置 15 min , 用分液漏斗分出乙醚层 , 使乙醚通过无水硫酸钠滤入 25 mL 容量瓶中 , 加乙醚至刻度 , 摇匀。准确吸取 5 mL 乙醚提取液于 5 mL 带塞刻度试管中 , 置于 40 °C 水浴上挥干 , 加入 2 mL 石油醚-乙醚 (3 : 1) 混合溶剂溶解残渣 , 备用。

### 2. 色谱条件

色谱柱：毛细管柱；

气相色谱仪的分析条件如下：

氢焰离子化检测温度；230 ℃；

汽化室温度：230 ℃；

柱温：170 ℃；

氮气流量：187 mL/min；

空气流量：550 mL/min；

氢气流量：50 mL/min；

分流比：30：1。

### 3. 测 定

在选定的实验条件下，分别取 2 μL 苯甲酸标准系列溶液进样，可测得不同浓度苯甲酸的峰高。以苯甲酸的浓度为横坐标、相应的峰高为纵坐标，绘制标准曲线。同时进样 2 μL 样品溶液，测得峰高后根据标准曲线定量。平行测定 3 次，取平均值。

### 4. 计 算

$$X_1 = \frac{m_2 \times 1000}{m_1 \times \frac{5}{25} \times \frac{V_2}{V_1} \times 1000}$$

式中  $X_1$ ——样品中苯甲酸的含量，g/kg；

$m_1$ ——样品的质量，g；

$m_2$ ——测定用样品液中苯甲酸的含量，由标准曲线求得， $\mu\text{g}$ ；

$V_1$ ——加入石油醚-乙醚（3：1）混合溶剂的体积，mL，本实验为 2 mL；

$V_2$ ——测定时进样的体积， $\mu\text{L}$ ，本实验为  $2\mu\text{L}$ ；

5——测定时吸取乙醚提取液的体积，mL；

25——样品乙醚提取液的总体积，mL。

$$X_2 = X_1 \times 1.18$$

式中  $X_2$ ——样品中苯甲酸钠的含量，g/kg；

$X_1$ ——样品中苯甲酸的含量，g/kg；

1.18——换算系数。

## 五、注意事项

(1) 水浴除去乙醚时，一定不要接触明火，且须在通风橱中进行。

(2) 使用气相色谱仪时，开机前要先通载气，关机后待各处温度降下来后（低于  $50^\circ\text{C}$ ），再退出 windows 所有的应用程序，用 shutdown 关闭计算机，关闭打印机电源，关 GC 电源，最后关载气。

## 六、思考题

(1) 食品样品为什么要先酸化，再用乙醚萃取？

(2) 推导  $X_1$  的计算公式。

( 3 ) 把苯甲酸换算成苯甲酸钠含量时为什么要乘 1.18?

## 第二节 气相色谱-质谱联用

### 实验 3-3 气相色谱-质谱联用检测绿茶中的咖啡因

#### 一、实验目的

- (1) 掌握气相色谱-质谱联用的基本原理。
- (2) 了解气相色谱-质谱联用分析的一般过程和基本操作。
- (3) 了解气相色谱-质谱联用仪进行定性和定量分析的方法。

#### 二、实验原理

气相色谱法 ( Gas Chromatography , GC ) 是一种应用较为广泛的分离技术。具有分离速度快、效率高、时间短、自动化程度高等优点。以气体为流动相、毛细管填充柱为固定相, 根据不同分配系数的组分在两相间进行多次反复分配, 从而达到分离的目的。

质谱分析是用高速电子撞击气态分子或原子, 将电离后的正离子加速导入质量分析器, 然后在磁场中按质荷比 (  $m/z$  ) 大小进行收集和记录, 得到质谱图。根据质谱峰的位置进行物质的定性和结构分析, 根据峰的强度进行定量分析。

气相色谱-质谱联用分析法是先用气相色谱将混合物分离成各个单一组分, 按照时间先后顺序依次进入质谱的离子源进行离子化, 获得各个组分的质谱图, 以确定化合物的结构,