

## 解决气相柱 QC 测试中所关注的问题

### 应用报告

#### 作者

Walt Jennings  
名誉教授  
加利福尼亚大学  
One Shields Ave.  
Davis, CA 95616

Ken Lynam  
安捷伦科技有限公司

#### 摘要

目前，QC 测试的严格性还未完全跟上我们在色谱柱去活技术上的进展。当通过率上升而淘汰率下降时，可能就需要设计更严格的 QC 测试。本文描述了一种严格的色谱柱 QC 测试方法，使用活性测试混标对新型毛细管气相柱的惰性能进行验证。



**Agilent Technologies**

## 前言

批次检验是通过测试单根色谱柱的性能，并假定检测结果代表了整批产品的质量。它之所以吸引某些厂家，是因为其成本很低，只需全部更严格的单独测试每根色谱柱的人工、设备和资源的一小部分。

单独测试得到的结果更能真实说明每个生产批次产品的质量，每根色谱柱的质量测试，包括柱流失、惰性和柱效，其结果遵循高斯分布。而经批次检验出厂的产品，总有一些客户会不可避免地收到本应在单独测试中废弃的色谱柱。

首先，测试应当在吸附力较强的较低恒温条件下进行。其次，测试混标分子应当较小，与色谱柱内表面的接触不受空间阻碍的影响。第三，应避免测试混标通过时，可能浸润（进而屏蔽）活性位点的低沸点溶剂的大量使用，或者尽可能少地使用。

我们提出了一种新的测试方法，使用更严格的测试混合物来暴露那些采用典型的“标准”QC测试无法检测出的色谱柱缺陷。

## 建议的QC测试参数

测试温度为 65 °C，恒温，远低于传统测试中常用的温度，测试混标包括丙酸、辛烷、硝基丁烷、4-甲基吡啶、磷酸三甲酯、1,2-戊二醇、丙基苯、正庚醇、3-辛酮和癸烷。即使在较差的色谱柱上，烃类（辛烷和癸烷）也会形成良好的色谱峰，可将其作为比较的标准。如果烃类化合物峰也出现拖尾，这一般很少是色谱柱的问题。烃类峰拖尾表明是载气流路的多种问题——如错误的色谱柱安装、不合适的分流比、或者尾吹气流量低或流向不正确等问题。这些问题应当在进一步工作之前解决。这一测试中使用的溶剂是二异丙苯，它最后流出，且需要在最后升温吹扫。

当该测试在 2004 年的国际毛细管色谱和电泳分离讨论会大会报告上被提出时，听众席上来自制造商的反应很冷淡。而几位在更苛刻的分析中遇到过色谱柱活性问题的资深用户则表现出相当大的

兴趣。尤其引人瞩目的是，他们中就有来自加拿大陶氏化学公司的 Jim Luong [1]，他开始使用该测试，但很快就指出了使用二异丙苯的缺点，因为它常常含有杂质，甚至有些杂质的流出时间比溶剂还要长，以至于使用二异丙苯会将测试时间延长到 1 个小时甚至更长。

陶氏公司还对纳克 (ng) 级的柱活性检测感兴趣。Luong 的新测试不需要使用溶剂，而是采用针头中含有推杆的微量进样针，以及使用安捷伦 GC 的省气功能作为动态分流器。通过在进样过程中采用高分流比 (1:900)，然后激活省气功能，就可以实现动态分流。这就实现了高重现性的纳升级纯混标进样。

## 更严格的测试带来涂层和去活技术的突破

安捷伦探索这些新测试方法的初衷是用于鉴别“良好的”和“优秀的”色谱柱，而使用传统 QC 测试方法，这些色谱柱无一表现出任何破绽，如色谱峰都是对称的，无拖尾，而且峰高是满量程的。但是，如果使用新的更严格的测试，这些在传统测试中全部合格的色谱柱通过率下降到 70% 左右。

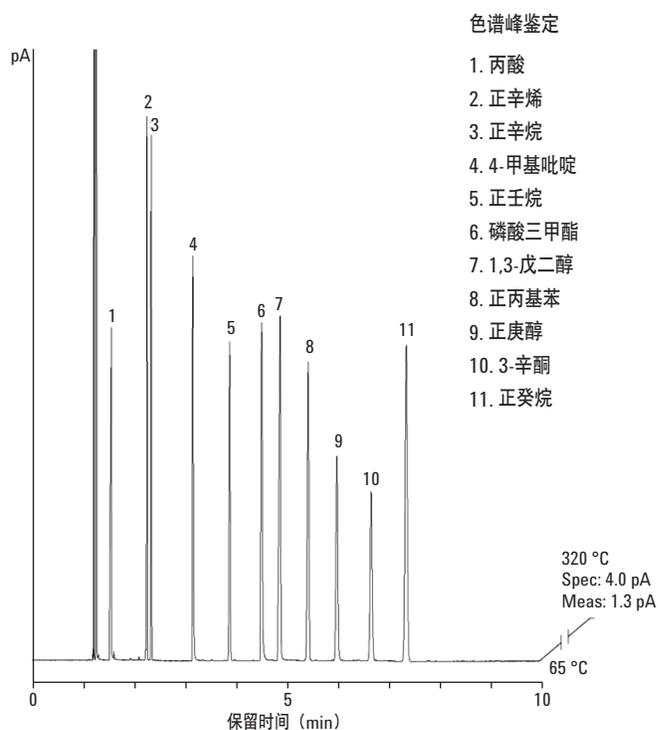
这个问题引发了激烈的讨论。在竞争厂家依然使用宽松的传统测试发表他们结果的时候，安捷伦能承受住压力，开始使用这个新的更严格的测试方法吗？公司是否应该制定一套培训计划，让那些缺乏经验的用户能够意识到，即使是新测试方法检测到有缺陷的色谱柱，实际上质量也好于那些通过传统测试表现的完美无瑕的所谓合格色谱柱？在这样的讨论依然继续的同时，安捷伦公司也重新检验了他们的表面预处理和去活工艺效果。这些检验工作的突破性进展带来了色谱柱惰性和总体性能的提高，也将色谱柱的合格率（采用新的测试方法）提高到大家认可的水平，从而平息了这两个问题的争论。

## 安捷伦调整参数进行大规模测试

在 Luong 等人采用修改的测试规程大大改善了原方法测试效果的同时，其动态稀释步骤尤其被认为在大批量产品检验上是有风险的，因为载气使用的是氢气。安捷伦认为使用如此高的分流比（约 1:900）来同时进行 25 份以上的色谱测试是不合适的，故决定使用很少量的溶剂来稀释进样，接着在正常条件下自动进样。为了防止溶质之间的干扰，还更改了测试混合物。对于安捷伦 J&W DB-5ms 超高惰性柱，测试混合物（DB-5ms 超高惰性混合物）是丙酸、正辛烯、正辛烷、4-甲基吡啶、正壬烷、磷酸三甲酯、1,2-戊二醇、正丙基苯、正庚醇、3-辛酮和正癸烷。图 1 和表 1 所示为使用专为这一色谱柱新设计的测试报告得到的典型结果。

表 1. 使用专为安捷伦 J&W DB-5ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱最新设计的测试报告得到的典型结果

性能参数	结果
理论塔板数/米	
正癸烷	4366
保留指数	
正丙基苯	952.320
正庚醇	967.910
分离度	
正辛烯, 正辛烷	3.60



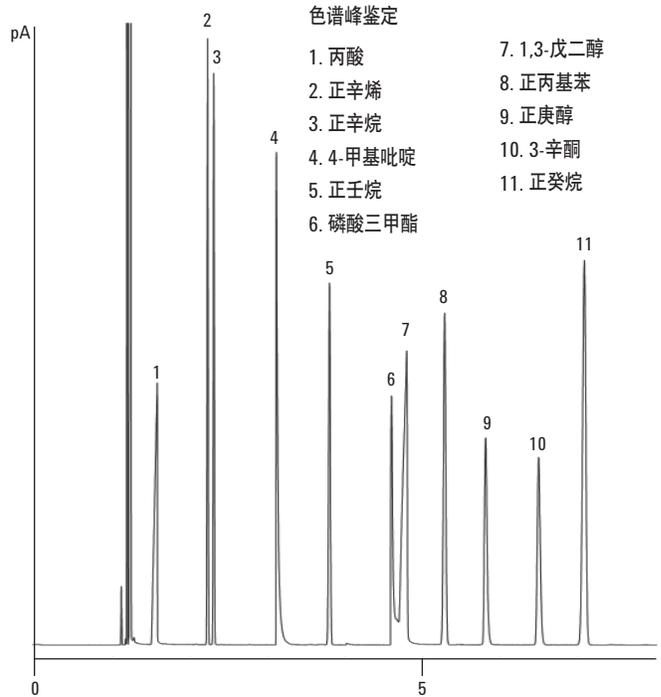
色谱柱	Agilent J&W DB-5ms 超高惰性柱 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 122-5532UI)
进样口	分流, 250 °C
载气	氢气
滞留化合物	戊烷, 1.207 min
检测器	FID, 325 °C
流速	41.4 cm/s (1.2 mL/min)
温度程序	65 °C 恒温

图 1. 使用最新设计的 DB-5ms 超高惰性测试混标对安捷伦 J&W DB-5ms 超高惰性色谱柱进行 QC 测试，即使在大规模测试中也能提供更多信息

图 2 和表 2 所示为我们早些时候使用相同的测试混合物测试 HP-5ms 超高惰性柱的结果。HP-5ms 和 DB-5ms 始终在选择性上有一些细微区别，因为它们的制造工艺稍有不同。随着 2000 年 J&W Scientific 公司与安捷伦科技的合并，安捷伦的相关色谱柱生产转移且合并到 J&W 序列。人们曾议论其中一种品牌的产品会停止生产，因为这两种品牌的产品性能非常相近，毕竟，它们是使用相同的固定相。但是，制造工艺稍有不同确实引起了选择性的轻微差异，不同的用户已经在这种或那种色谱柱上建立了方法。安捷伦认为有责任继续提供两种色谱柱。

表 2. 使用专为安捷伦 J&W HP-5ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱最新设计的测试报告得到的典型结果

性能参数	结果
理论塔板数/米	
正癸烷	4183.6
保留指数	
正丙基苯	954.806
正庚醇	969.765
分离度	
正辛烯, 正辛烷	3.229



色谱柱	Agilent J&W HP-5ms 超高惰性柱 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 19091S-433UI)
进样口	分流, 250 °C
载气	氢气
滞留化合物	戊烷, 1.204 min
检测器	FID, 325 °C
流速	54 cm/s (2 mL/min)
温度程序	65 °C 恒温

图 2. 在 Agilent J&W HP-5ms 超高惰性柱上分析 Agilent J&W DB-5ms 超高惰性 QC 测试混合物的结果。可以看到这两种固定相的微小差异

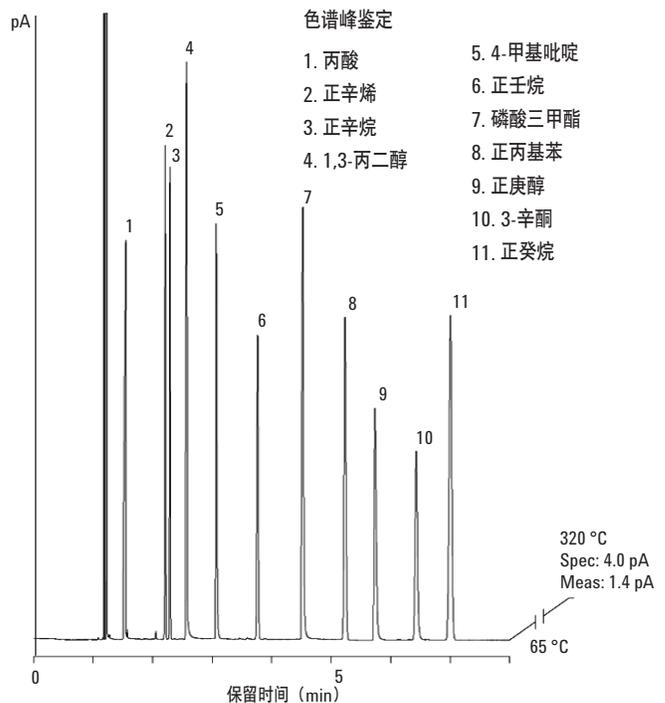
如图 2 所示，磷酸三甲酯和 1,2-戊二醇的分离度是很小的。这两种都是重要的测试混标：仅仅是磷酸酯拖尾，还是二醇也拖尾？因为这两种溶质出峰很近，而且我们希望揭示磷酸三甲酯峰形的缺陷（磷酸三甲酯是非常严格的测试混标之一），所以我们决定对 HP-5ms 超高惰性柱的 QC 测试采用 1,3-丙二醇代替 1,2-戊二醇。图 3 所示为分析这一改进混合物的典型色谱图。表 3 列出了各项性能参数。

色谱柱附带的测试单上列出了测试条件、测试混标，还列出了每根特定色谱柱得到的新的测试结果。比如，每米理论塔板数、正丙基苯和正庚醇（用于检测色谱柱的选择性）的保留指数。

用于 DB-1ms UI 和 HP-1ms UI 色谱柱的测试混标为丙酸、正辛烯、正辛烷、1,2-丁二醇、4-甲基吡啶、磷酸三甲酯、正丙基苯、正庚醇、3-辛酮、叔丁基苯和正癸烷。使用该测试混标，1,2-丁二醇和磷酸三甲酯得到了很好的分离，每个化合物在 DB-1ms UI 或 HP-1ms UI 色谱柱上的峰形都可单独评价。图 4 和图 5 分别为在 DB-1ms UI 色谱柱和 HP-1ms UI 色谱柱上得到的典型测试结果。

表 3. 使用专为安捷伦 J&W HP-5ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱最新设计的测试报告得到的典型结果

性能参数	结果
<b>理论塔板数/米</b>	
正癸烷	2972
UTE	0.0%
<b>保留指数</b>	
正丙基苯	953.080
正庚醇	968.050
<b>分离度</b>	
正辛烯, 正辛烷	2.91

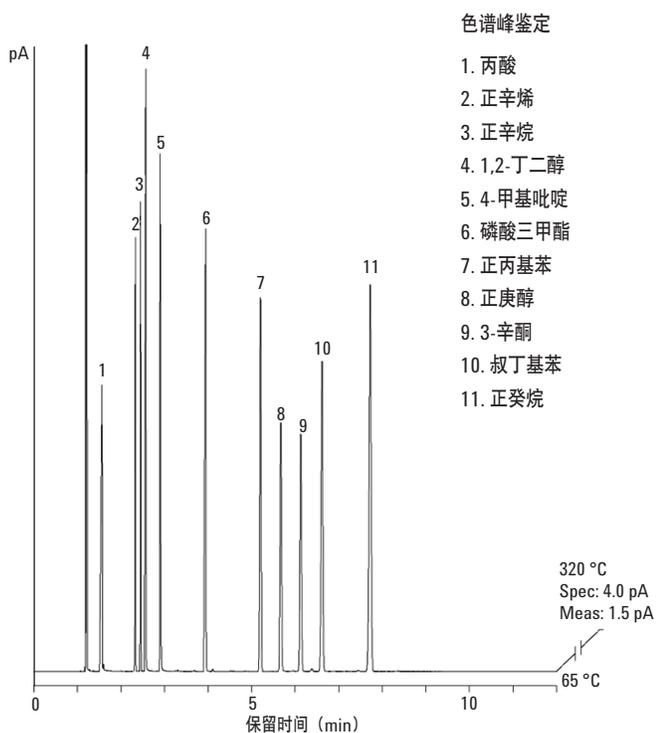


色谱柱	Agilent J&W HP-5ms 超高惰性柱 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 19091S-433UI)
进样口	分流, 250 °C
载气	氢气
滞留化合物	戊烷, 1.143 min
检测器	FID, 325 °C
流速	43.8 cm/s (1.3 mL/min)
柱箱升温程序	65 °C 恒温

图 3. 在 DB-5ms 超高惰性 QC 测试混合物中换用 1,3-丙二醇揭示峰形的缺陷

表 4. 使用专为安捷伦 J&W DB-1ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱最新设计的测试报告得到的典型结果

性能参数	结果
理论塔板数/米	
正癸烷	4130
保留指数	
正丙基苯	931.180
正庚醇	946.270
叔丁基苯	973.120
分离度	
正辛烯, 正辛烷	5.08

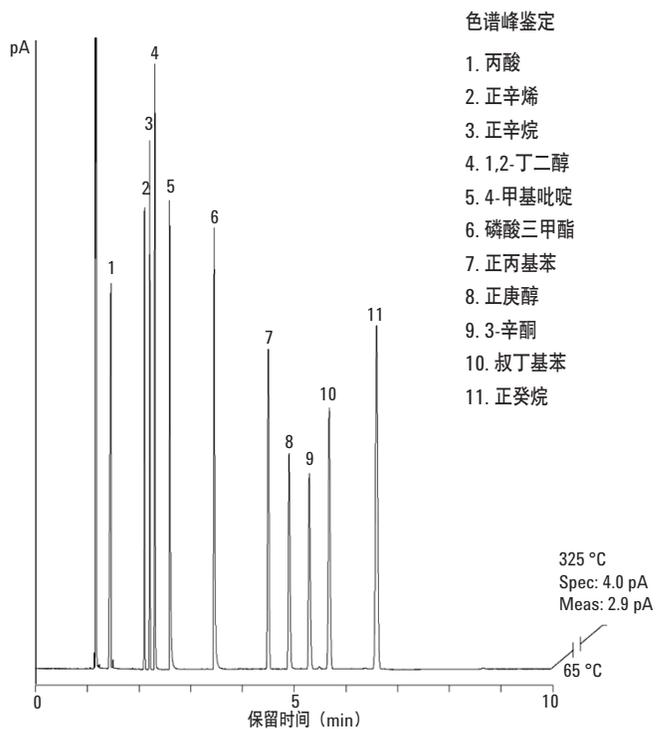


色谱柱	Agilent J&W DB-1ms 超高惰性柱 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 122-0132UI)
进样口	分流, 250 °C
载气	氢气
滞留化合物	戊烷, 1.189 min
检测器	FID, 325 °C
流速	42 cm/s (1.2 mL/min)
柱箱升温程序	恒温 65 °C

图 4. 在安捷伦 J&W DB-1ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱上, 1,2-丁二醇和磷酸三甲酯得到了良好的分离, 每个化合物的峰形均可单独评价

表 5. 使用专为安捷伦 J&W HP-1ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱最新设计的测试报告得到的典型结果

性能参数	结果
理论塔板数/米	
正癸烷	3839
保留指数	
正丙基苯	930.220
正庚醇	944.750
叔丁基苯	972.690
分离度	
正辛烯, 正辛烷	4.56



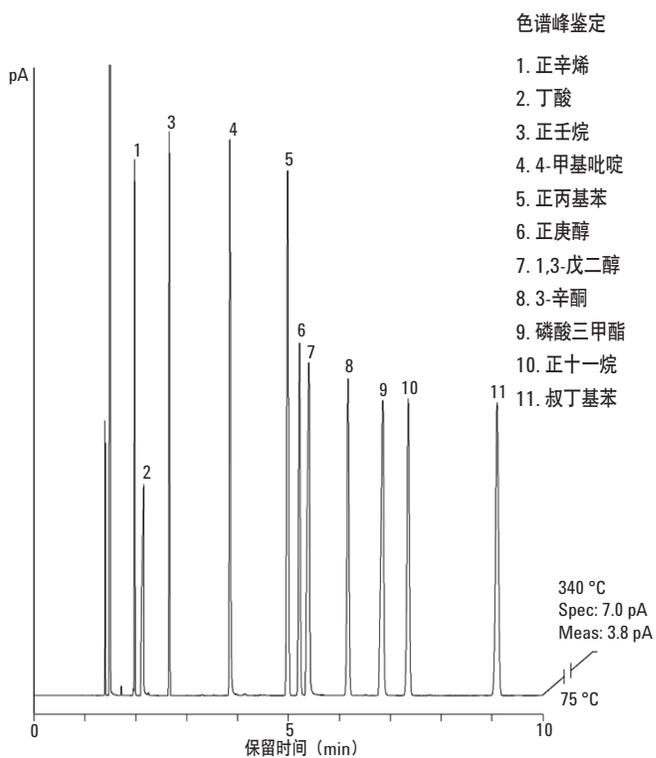
色谱柱	Agilent J&W HP-1ms 超高惰性柱 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 19091S-933UI)
进样口	分流, 250 °C
载气	氢气
滞留化合物	戊烷, 1.154 min
检测器	FID, 325 °C
流速	43.8 cm/s (1.3 mL/min)
柱箱升温程序	恒温 65 °C

图 5. 在安捷伦 J&W HP-1ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱上, 1,2-丁二醇和磷酸三甲酯再次得到了良好分离

中等极性固定相 DB-35ms 的惰性测试要求使用能被固定相保留的测试混标。该测试混标包括一种可充分证明的酸，丁酸，一种可充分证明的碱，4-甲基吡啶，还有磷酸三甲酯和 1,2-戊二醇。叔丁基苯用于测试柱效。为节约时间，提高大批量产品检验通量，这里有必要将温度提高到 75 °C。图 6 为 DB-35ms UI 色谱柱的典型测试结果。

表 6. 使用专为安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱最新设计的测试报告得到的典型结果

性能参数	结果
理论塔板数/米	
叔丁基苯	3853
保留指数	
正丙基苯	1023.580
正庚醇	1032.510



色谱柱	Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 122-3832UI)
进样口	分流, 250 °C
载气	氢气
滞留化合物	戊烷, 1.398 min
检测器	FID, 340 °C
流速	35.8 cm/s (1.1 mL/min)
柱箱升温程序	恒温 75 °C

图 6. 用含固定相可保留的测试混标评估安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱

## 结论

回顾过去，在 2004 年那次会议上首先提出这项检验时，曾一度以为该检验只能使色谱柱制造商和用户区分“良好”和“优异”的色谱柱。色谱柱开发的历史带来一个合理的假设：我们应在表面处理和去活方面不断努力，并将其视为一个漫长的过程。然而，表面处理技术的突破和表面去活工艺的改进比预料的要快得多。安捷伦超高惰性系列色谱柱的质量之高远远超过预期。我们感到欣慰的是，从事最苛刻的活性化合物分析的用户已对 DB-5ms 超高惰性 (UI)、HP-5ms UI、DB-1ms UI、HP-1ms UI 和 DB-35ms UI 色谱柱代表的最高水平性能充满信心。

在此，谨向我的安捷伦团队表示感谢，他们认可我在不断改善 GC 色谱柱质量方面所作的努力，并支持我发表这篇报告。Walt Jennings。

## 参考文献

1. J. Luong, R. Gras, and W. Jennings, "An Advanced Solventless Column Test for Capillary GC Columns," *J. Separation Sci.*, Vol 30, No 15, Oct 2007, pp 2480–2492.

## 更多信息

这些数据代表了典型的结果，有关我们产品和服务的更多信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)。

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦公司对本资料中所包含的错误，或由于提供、展示和使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012  
2012 年 3 月 5 日，中国印刷  
5990-9961CHCN



**Agilent Technologies**