

气相色谱分析法模块之 内标法定量

教学任务

- 使用气相色谱仪氢火焰离子化检测器（FID），分析甲苯试剂的纯度
- 同系物定性
- 内标法定量

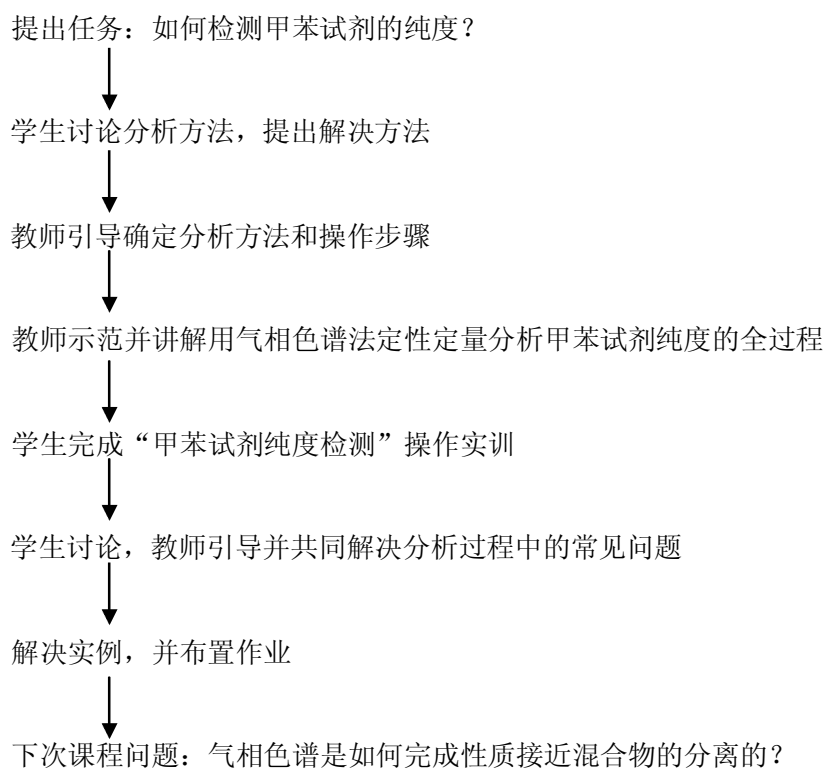
教学方法

- 引探法、讲练结合

学时

- 每 20 人为一个学习组，2 人一台气相色谱仪，整个任务需 6 学时。

教学设计



课程引入

- 问题：已知某甲苯试剂，今欲测其纯度，但其中杂质较多，且部分杂质 FID 检测器无响应。现欲用气相色谱法 FID 检测器对其纯度进行检测，你能设计一可行的分析方案吗？（提示：1、可查阅文献资料；2、先分析问题的难点。）
（上次课结束后即布置并安排学生在课后查阅资料）
甲苯试剂中除含主成份甲苯外，还含有硫化物、噻吩、不饱和化合物、水分等多种杂质？

其中部分杂质在 FID 检测器上无响应。分析测定的难度主要在什么地方？

□ 学生根据所查资料提出解决方案并进行现场讨论以决定各解决方案的优劣。

（教师可在上次课结束前，将每个教学单元分成几个小组，每个小组重点负责一种解决方案，通过小组各成员能力合作，查阅相关资料准备相关检测方案，并制作成电子文档（word 或 powerpoint）。在进行本次课程教学时让各小组推荐一名同学上台讲解。

本项目的检测难度主要是待测试剂中杂质多，部分物质不出峰，因此无法用“归一化法”进行分析。可适当采用“标准加入法”测定，让学生上台讲述相当测定过程。）

□ 最后教师引出本次课程的教学内容：“目前一般常采用内标法对甲苯试剂的纯度进行测定”

教师演示测定全过程

（本过程教师指导学生设计分析测定全过程，并以“现场演示”的方式让学生直接展示测定过程，教师在整个过程中起指导作用）

- 打开载气（N₂）钢瓶总阀，调节输出压力为 0.4MPa。
- 打开载气净化气开关，调节载气合适柱前压，如 0.14MPa，稳流阀控制为 4.4 圈，控制载气流量为约 35mL/min。
- 打开气相色谱仪电源开关。
- 设置柱温为 85℃、气化温度为 160℃和检测温度为 140℃。
- 待柱温、气化温度和检测温度达到设定值并稳定后，打开空气钢瓶，调节输出压力为 0.4MPa；打开氢气钢瓶，调节输出压力为 0.2MPa。
- 打开空气净化气开关，调节空气稳流阀为 5.0 圈，控制其流量为约 200mL/min。
- 打开氢气净化气开关，调节氢气稳流阀为 4.5 圈，控制其流量为约 30mL/min。
- 掀“点火”键点燃氢火焰。
- 让气相色谱仪走基线，待基线稳定。
- 取一个干燥洁净的称量瓶，加入 3mL 正己烷。加入 100 μ L 甲苯（GC 级），称其准确重量，记为 m_{s1}，加入 100 μ L 苯（GC 级，内标物），称其准确重量，记为 m_{s2}。摇匀备用，此为每位同学所配制甲苯测试标样。
- 另取一个干燥洁净的称量瓶，加入 3mL 正己烷。加入 100 μ L 所测甲苯试剂，称其准确重量，记为 m_样，加入 100 μ L 苯（GC 级，内标物），称其准确重量，记为 m_{s3}。摇匀备用，此为每位同学所配制甲苯测试试样。
- 取两支 10 μ L 微量注射器，以溶剂（如无水乙醇）清洗完毕后，备用。
- 打开色谱工作站（FL9500），观察基线是否稳定。
- 基线稳定后，将其中一支微量注射器用甲苯测试标样润洗后，准确吸取 1 μ L 该标样按规范进样，启动色谱工作站，绘制色谱图，完毕后停止数据采集。
- 按相同方法再测 2 次甲苯测试标样与 3 次甲苯测试试样，记录各主要色谱峰的峰面积。
- 在相同色谱操作条件下分别以苯、甲苯（GC 级）标样进样分析，以各标样出峰时间（即保留时间）确定甲苯测试标样与甲苯测试试样中各色谱峰所代表的组分名称。

- 实训完毕后先关闭氢气钢瓶总阀，待压力表回零后，关闭仪器上氢气稳压阀。
- 关闭空气钢瓶总阀，待压力表回零后，关闭仪器上空气稳压阀。
- 设置气化室温度、柱温在室温以上约 10℃、检测室温度 120℃。
- 待柱温达到设定值时关闭气相色谱仪电源开关。
- 关闭载气钢瓶和减压阀，关闭载气净化器开关。
- 对甲苯测试标样所绘制色谱图，按公式 $f_i' = \frac{f_i}{f_S} = \frac{m_{S1}A_{S(苯)}}{A_{i(甲苯)}m_{S2(苯)}}$ （以苯为基准物质）计算

甲苯的相对校正因子 f_i' 。

- 对甲苯试样所绘制色谱图，按公式

$$w_i = f_i' \times \frac{m_{S3(苯)} \times A_{i(甲苯)}}{m_{样} \times A_{S(苯)}} \times 100\%$$

计算甲苯试剂中甲苯的质量分数（%），并计算其平均值与相对平均偏差（%）。

学生完成“甲苯试剂纯度检测”操作训练

（教师应根据实训室的具体情况让学生合理安排时间，完成各项实验操作。如让学生先清洗并烘干称量瓶后开机，练习 FID 检测器的一些操作；在仪器走基线的时候去配制标样和试样；根据仪器实际台套数，可允许部分学生先做试样，部分学生配制标样等）

- 要求每位学生独立完成，独立处理数据，合理安排时间，实训过程中注意安全，节约样品、合理处理废液等。

（本过程教师积极“引导”学生对该测定过程不理解之处提问，可事先设计部分问题如①定性问题②定量问题③常见参数的设置等，最后教师可在学生讨论的基础上作一个总结）

学生讨论、教师引导并共同解决分析过程中的常见问题

- 甲苯的定性问题：一般可采用标准物质进行保留时间的对照来定性。（与“丁醇异构体混合物的测定”类似）
- 参数的设置：

项目	丁醇异构体混合物的测定	甲苯试剂纯度的测定
载气种类	N ₂ 、Ar	N ₂ 、Ar
载气流量	约 30ml/min	约 30ml/min
空气	300ml/min	300ml/min
H ₂	作燃气，约 30ml/min	作燃气，约 30ml/min
检测器	氢火焰离子化检测器（flame ionization detector, FID）	氢火焰离子化检测器（flame ionization detector, FID）
检测灵敏度设置	Range: 1/10/100/1000 (灵敏度 S 依次降 10 倍)	Range: 1/10/100/1000 (灵敏度 S 依次降 10 倍)

- 甲苯的定量问题：本项目的测定采用“内标法”进行定量。（“丁醇异构体混合物的测定”采用“归一化法”进行定量）

项目	丁醇异构体混合物的测定	甲苯试剂纯度的测定
定量方法	归一化法	内标法
要求	1、样品中各组分均出峰，完全分离，且均有响应； 2、进样量无须准确。	1、无须样品中各组分均出峰且完全分离，要求待测组分能出峰，且与相邻组分完全分离。 2、进样量无须准确。
相对校正因子	须用标准物质测量相对校正因子，否则无法准确测量	须用标准物质测量相对校正因子，否则无法准确测量
计算公式	$w_i = \frac{f'_i \cdot A_i}{\sum f'_i \cdot A_i} \times 100\%$	$w_i = \frac{f'_i A_i m_s}{f'_s A_s m_{\text{样}}} \times 100\%$
方法特点	优点：简便、精确，进样量的多少与测定结果无关，操作条件（如流速，柱温）的变化对定量结果的影响较小。 缺点：校正因子的测定较为麻烦。	优点是：进样量的变化、色谱条件的微小变化对内标法定量结果的影响不大。只对感兴趣的色谱峰做校正，其结果的报告可选择不同的单位。 缺点是必须在所有样品中加入内标物，选择合适的内标物比较困难，内标物的称量要准确，操作较复杂。

- 其它注意事项：本项目的测定使用危险的 H_2 作燃气，在操作时一定要注意通风、 H_2 的排出、严格禁止学生在实验室吸烟、高温操作注意烫伤等。（教师可用一些安全上的实例给学生讲述此问题，以引起同学们的注意，同时辅以学生对“安全问题”讨论来提高学生的学习主动性与增强教学效果。）

内标法

- 问题：内标法中的关键技术是什么？
（教师可引导学生对测定过程提出更深层次的问题）
- 色谱操作条件的选择（教师可引导学生对测定过程进行分析，写出相应检测条件）
 - 色谱柱：DNP（2m, 100-120目）；载气： N_2 ，30mL/min；空气：300mL/min；氢气：30mL/min；柱温：95℃；气化室温度：160℃；检测器：FID；检测器温度：140℃；灵敏度档：10。
- 内标物的选择原则
 - 内标物是样品中不存在的纯物质。
 - 内标物很容易获取。
 - 内标物的化学性质与样品相似，但不与样品发生化学反应。
 - 内标物要求在感兴趣的组分附近流出，且能得到分离良好的、干净利落的色谱峰。
 - 内标物的含量与样品的浓度相似。
 - 内标物的色谱性质稳定。

内标法举例：

- 用内标法测定环氧丙烷中水分的含量，以甲醇作为内标物，称取 0.0115g 甲醇，加到 2.2679g 样品中，混合均匀后，用微量注射器吸取 0.2μL 该样品进行气相色谱分析，平行测定两次，

得如下数据:

分析次数	水分峰高	甲醇峰高
1	150.2	174.8
2	148.8	172.3

已知水与内标物甲醇的相对质量校正因子 f'_m 分别为 0.70 和 0.75, 计算样品中水分的质量分数。

解: 由公式 $w_i = \frac{m_S \cdot f'_{i(h)} \cdot h_i}{m_{\text{试样}} \cdot f'_{S(h)} \cdot h_S}$ 有

因此, 第一次分析

$$w(H_2O)_1 = \frac{0.0115 \times 0.70 \times 150.2}{2.2679 \times 0.75 \times 174.8} = 0.41\%$$

第二次分析

$$w(H_2O)_2 = \frac{0.0115 \times 0.70 \times 148.8}{2.2679 \times 0.75 \times 172.3} = 0.41\%$$

两次分析的平均值为

$$w(H_2O) = \frac{0.41\% + 0.41\%}{2} = 0.41\%$$

并行学习与思考题

- 思考题: 你能设计用气相色谱法分析检测某水样(其中含甲醇、乙醇、正丙醇、正丁醇与正戊醇)的实验方案吗? 若你准备采用内标法进行定量, 认为最合适的内标物是什么物质? 你能根据所设计的实验方案完成相关操作吗? (提示: 可类似于甲苯试剂纯度的测定)
- 思考题: 内标法与标准加入法有何异同? 能用内标法分析的样品可否用标准加入法进行分析测定? 能用标准加入法分析的样品可否用内标法进行分析测定? 若可以, 请举例说明。若不可以, 请说明原因。

下次课程课程问题:

- 气相色谱是如何实现性质接近混合物的分离的?