

萘、联苯的高效液相色谱分析

一. 实验目的

1. 理解反相色谱的优点及应用。
2. 掌握归一化定量方法。
3. 了解高效液相色谱仪的结构，掌握它的基本操作。

二. 实验原理

在液相色谱中，若采用非极性固定相（如十八烷基键合相）和极性流动相，称为反相色谱法。这种方法特点适合于同系物、苯并系物的分离分析。萘、联苯在 ODS 柱上的作用力大小不等，则 k' 值（ k' 为不同组分的分配比）不等，在柱内的移动速率不同，因而先后流出柱子。根据组分峰面积大小及测得的定量校正因子，就可由归一化定量方法求出各组分的含量。采用归一化方法的条件是样品中所有组分都要流出色谱柱，并能给出信号。此法简便、准确，对进样量的要求不十分严格。

三. 仪器及试剂

仪器：高效液相色谱仪；紫外吸收检测器（254nm）；色谱柱；微量注射器

试剂：甲醇（A.R.），重蒸馏一次；二次蒸馏水；萘、联苯均为分析纯；流动相：甲醇/水=88/12；萘标准溶液；联苯标准溶液；萘、联苯混合试样。

四. 实验内容

1. 打开仪器，并将实验条件调节如下：柱温为室温；流动相流量为 1.0mL/min；检测器工作波长为 254nm。

2. 用甲醇把微量注射器洗 3 遍，再用萘和联苯的混合待测液润洗 3 遍，然后吸取 10 μ L 混合液，顺时针打开六通阀，进样，2min 后关闭六通阀，拔出微量注射器。记下各组分的保留时间和峰面积。重复两次。

3. 按上述操作分别注入萘、联苯的标准溶液，记下保留时间和峰面积。重复两次。

4. 实验结束后，将流动相流量逐渐降低，最后使得流动相为甲醇，关闭仪器。

五. 结果处理

1. 根据标准品及未知试样色谱峰保留时间，确定被测组分在色谱图中的位置。
2. 选择萘为内标物和标准物计算各组分的相对校正因子，并用归一化定量分析法计算各组分含量。

六. 注意事项

1. 淋洗液必须先进行超声脱气处理。
2. 用注射器吸取样品时不要抽入气泡。

七. 思考题

1. 观察分离所得的色谱图，解释不同组分之间分离差别的原因。
2. 高效液相色谱一般可在室温下进行分离，而气相色谱柱则必须恒温，为什么？高效液相色谱柱有时也实行恒温，这又为什么？
3. 说明紫外吸收检测器的工作原理。