



小学期仪器课程

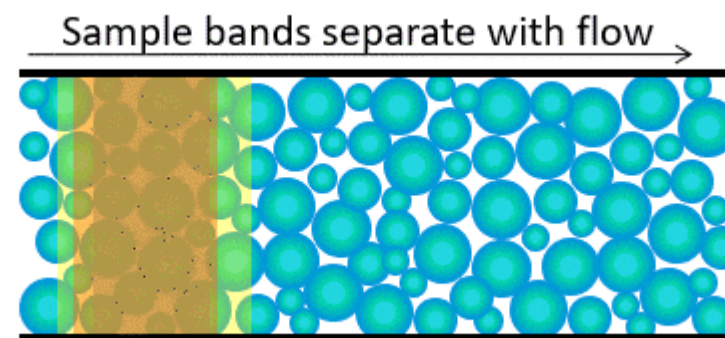
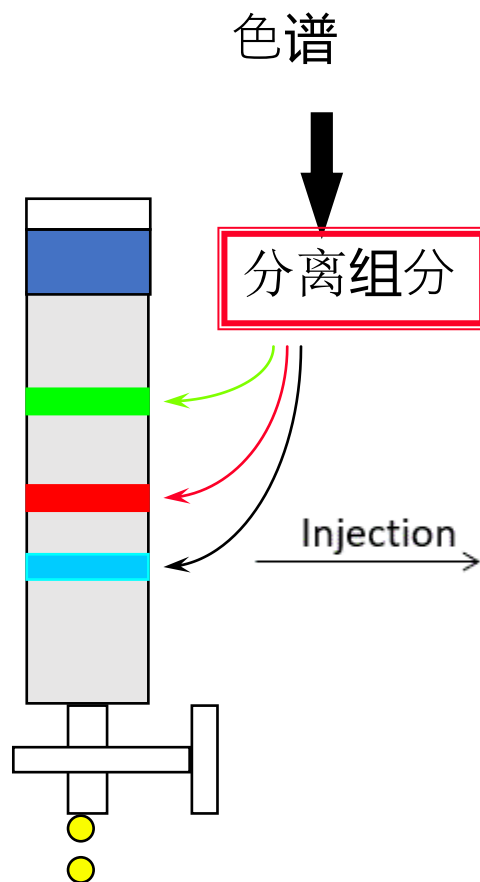
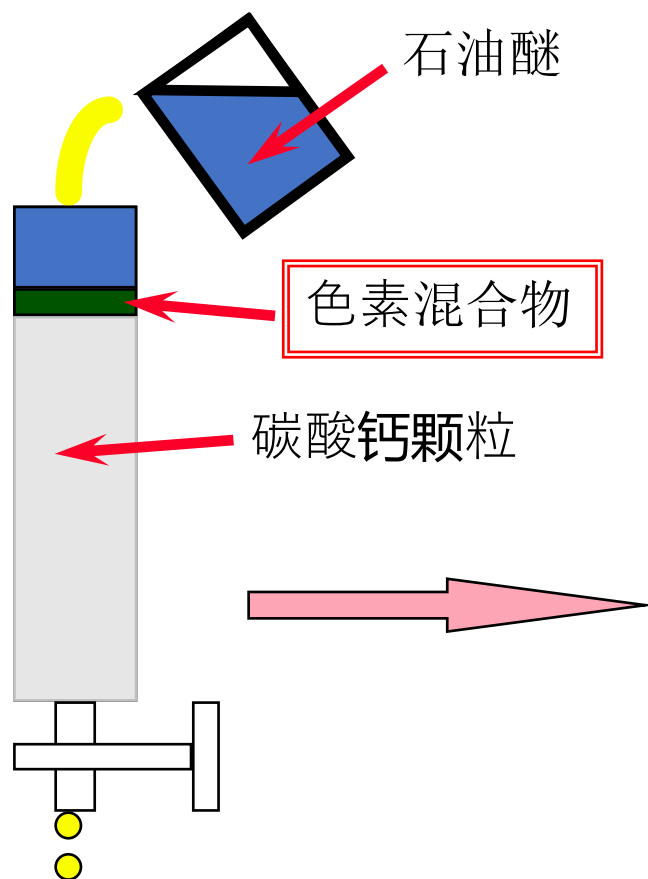
气相色谱基础知识讲座

郑州大学药学院

2021.07.19

第一部分：气相色谱基础知识

色谱起源



Detection →

色谱发展史

- ❖ 20世纪初，俄国植物学家M.S. Tswett提出经典液相色谱法；
- ❖ 20-30年代，柱分配色谱和纸色谱；
- ❖ 50年代，**气相色谱**，薄层色谱；
- ❖ 60年代，凝胶渗透色谱及**高效液相色谱**；
- ❖ 70年代，高效毛细管气相色谱法；
- ❖ 80年代，电色谱；
- ❖ 90年代，光色谱。

色谱的定义

- ❖ 色谱法：利用组分在两相间分配系数不同而进行分离的技术
- ❖ 流动相：携带样品流过整个系统的流体
- ❖ 固定相：静止不动的一相
- ❖ 色谱是一种分离技术
- ❖ 色谱的主要目的是对混合物中的目标物分离和定量

保留因子 (k')

$$k' = \left(\frac{t_r - t_M}{t_M} \right) = \frac{t'_R}{t_M}$$

t_r 保留时间
 t_M 未保留色谱峰的保留时间

保留因子（也称为分配系数或容量因子）是指溶质停留在固定相和流动相的时间比

它是由保留时间除以不保留峰的出峰时间 (t_M) 计算得来

不保留化合物的 $k=0$

由于所有溶质在流动相中停留的时间相同，因此可利用保留因子来衡量固定相的保留特性。

影响保留因子的参数：

- 固定相

选择性或分离因子 (α)

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1}$$

α	选择性
k_1	第一个峰的保留因子
k_2	第二个峰的保留因子

选择性是两个峰之间时间或距离的量度

$\alpha = 1$ ，则两个峰具有相同的保留时间，并且会被共洗脱

选择性被定义为容量因子之比

影响保留因子的参数：

- 固定相
- 流动相
- 温度

柱效或理论塔板数 (N)

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_r}{W_b} \right)^2 \quad N = 5.54 \cdot \left(\frac{t_r}{W_{1/2}} \right)^2$$

柱效用于比较不同色谱柱的性能。由理论塔板数 N 表示

具有高塔板数的色谱柱柱效更高。与具有较低塔板数的色谱柱相比，具有高塔板数的色谱柱在给定保留时间处可以获得更窄的色谱峰

影响柱效的参数：

- 柱长（增加柱长可以提高柱效）
- 填料粒径（减小填料粒径可以提高柱效）

理论塔板高度 (H)

$$H = \frac{L}{N}$$

L 柱长 (mm)
N 理论塔板数

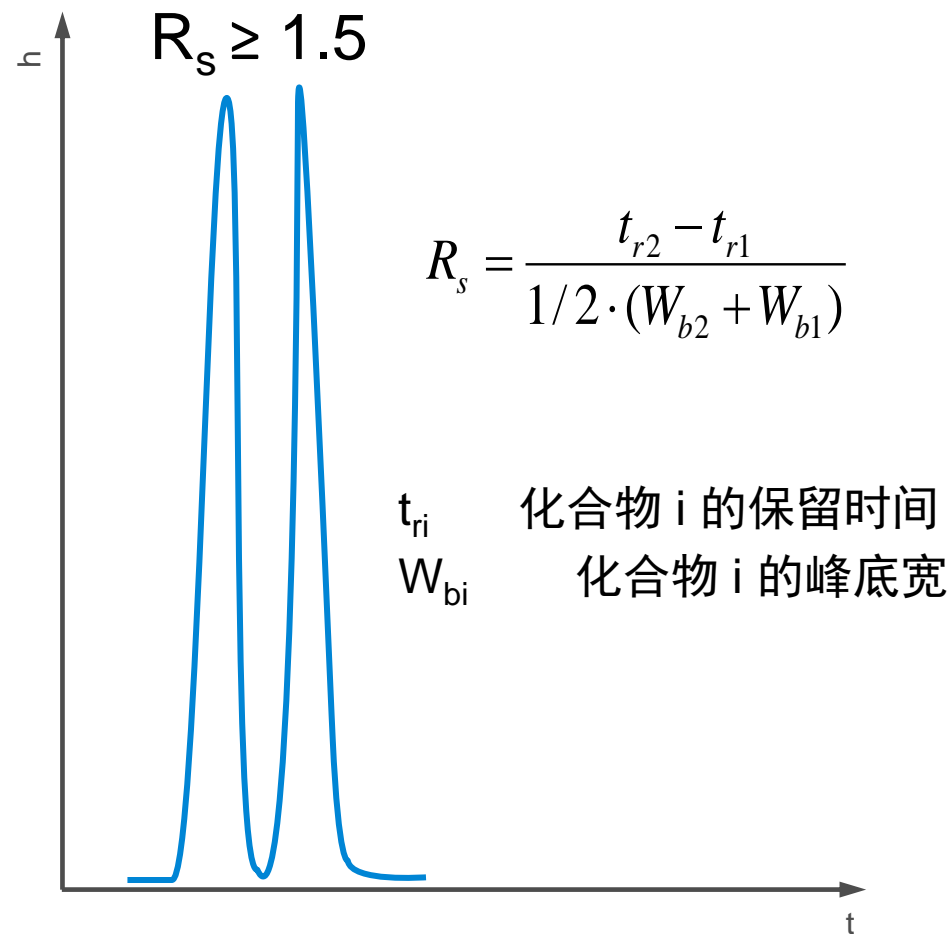
- ✓ 另一个衡量柱效的方法是理论塔板高度 H，通常以 mm 表示
- ✓ 理论塔板越短，给定柱长的色谱柱的塔板数更多，也就是每米塔板数更多，色谱柱柱效更高。

分离度 — 基线分离

※ 分离度是对色谱柱分离目标峰能力的描述

※ 分离度将受到柱效 (N)、选择性 (α) 和保留 (k) 的影响

- 实现可测量的分离和定量的最小分离度为 1
- 可辨别出两个等高峰之间峰谷的最低分离度为 0.6
- 稳定的分析方法通常需要分离度达到 1.7 或更高
- 1.6 被认为是达到基线分离，并且可确保获得最准确的定量分析结果的标准分离度



分离度 — 基本方程

$$R_s = \underbrace{1/4 \sqrt{N}}_{\text{柱效因子}} \cdot \underbrace{\left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right)}_{\text{选择性因子}} \cdot \underbrace{\left(\frac{k}{1 + k} \right)}_{\text{保留程度因子}}$$

我们可以通过优化下述任何一个参数来改善分离度：

- 选择性因子对分离度影响最大。选择性因子的微小改变也会导致分离度发生重大变化
- 保留程度因子在 k 值较小时才有显著影响
- 柱效因子描述了色谱柱的分离能力

色谱仪器的重要指标

色谱仪器的哪些指标重要？

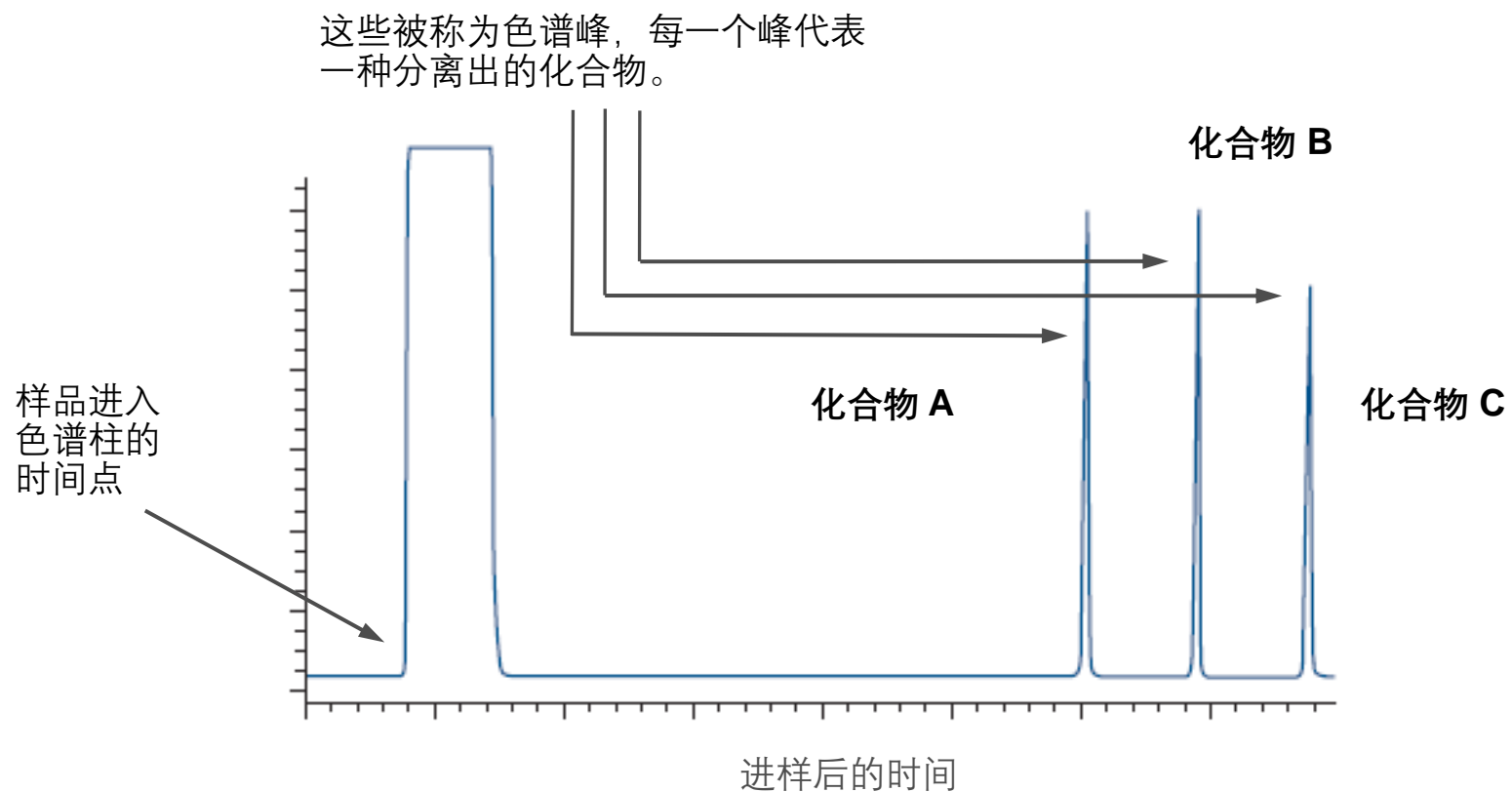
1. 保留时间的重复性（重现性）
2. 色谱峰面积或峰高的重复性（重现性）
3. 在以上基础之上的灵敏度（敏感度）等等

气相色谱 (Gas Chromatography, GC)

气相色谱法是以**惰性气体** (N_2 、 He 、 Ar 、 H_2 等) 为流动相的柱色谱分离技术, 其应用于化学分析领域, 并与适当的检测手段相结合, 就构成了气相色谱分析法

- 适合 GC 分析的化合物**必须有足够的挥发性和热稳定性**。如果样品中的全部或某些组分能在 400°C 左右或更低温度下挥发且不分解, 那么这些化合物则可以采用气相色谱进行分析。
- 仪器将化合物样品气化, 并通过载气将其传输到色谱柱中。样品组分因物理性质的差异以不同速率穿过色谱柱。
- 洗脱出的组分进入一个加热的检测器, 检测器将根据自身与组分间的相互作用产生电子信号。数据系统将记录的信号值大小对运行时间作图, 即得出了色谱图。

气相色谱图是什么样的？

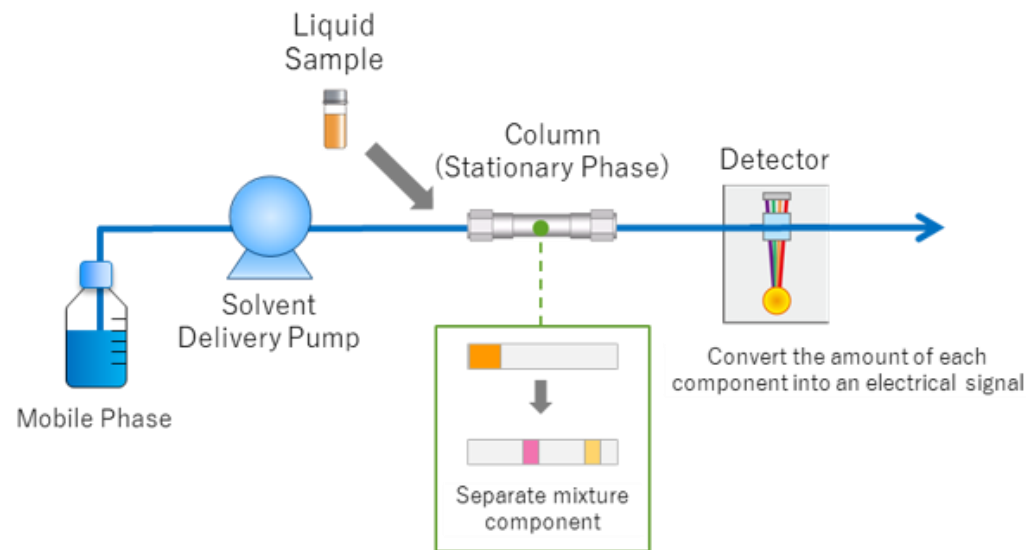
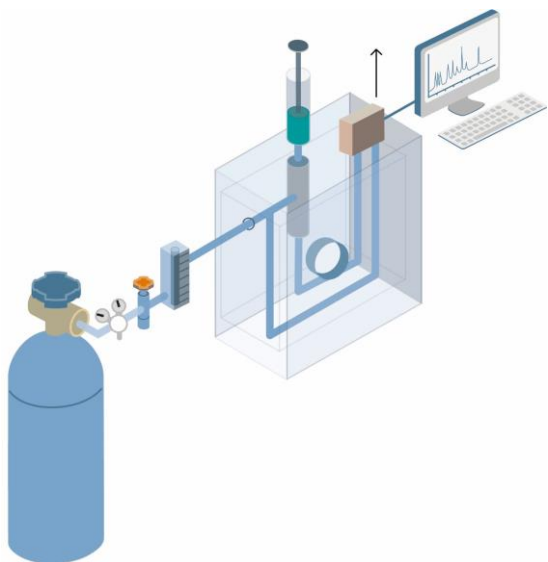


HPLC vs GC

❖ 液相色谱：

以**液体**作为流动相的色谱分离方法

- ❖ 适用于高沸点、大分子、强极性和热稳定性差的化合物的分析
- ❖ 流动相具有运载样品分子和选择性分离的双重作用



❖ 气相色谱：

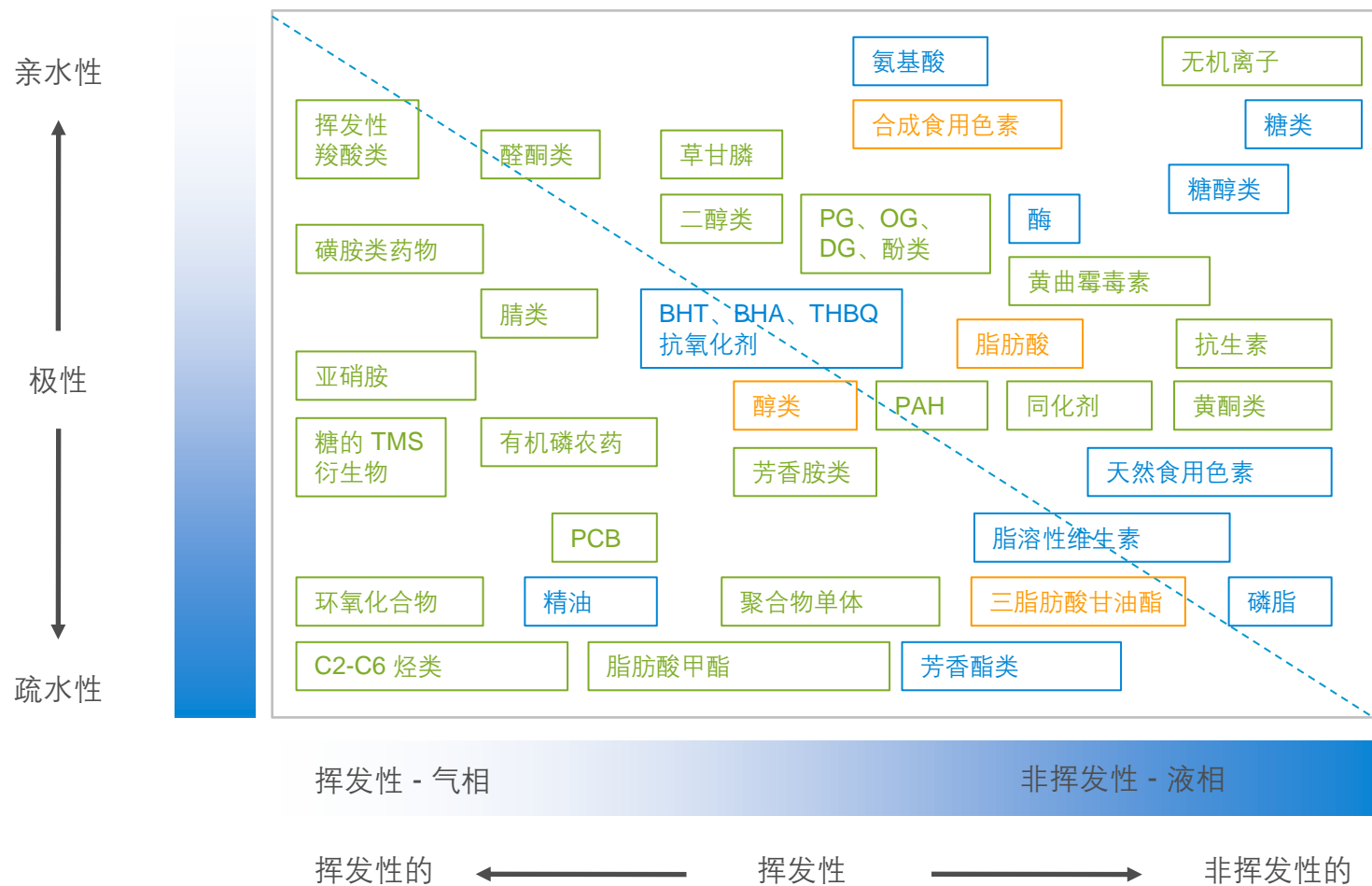
以**气体**作为流动相的色谱分离方法

- ❖ 适用于沸点较低、热稳定性好的中小分子化合物的分析
- ❖ 流动相只起运载样品分子的能力

HPLC vs GC

气相色谱	高效液相色谱
只能分析挥发性物质， 约20%的化合物	几乎可以分析各种物质
不能分析热不稳定性物质	可以分析热不稳定性物质
毛细管柱可以长达几十米， 能获得很高的柱效	色谱柱不能很长，多在 30cm以内，柱效不会很高
有较灵敏的通用型检测器 FID和TCD	没有较灵敏的通用检测器
流动相为气体，无毒	流动相多为有机溶剂，有毒
检测成本相对较低	检测成本相对较高

各种分离技术分别适用于哪些化合物？

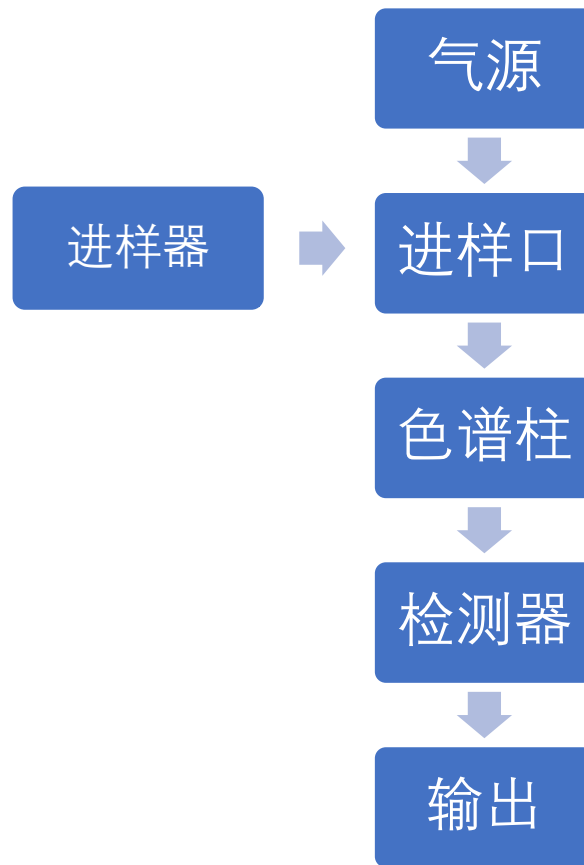


第二部分：气相色谱仪器

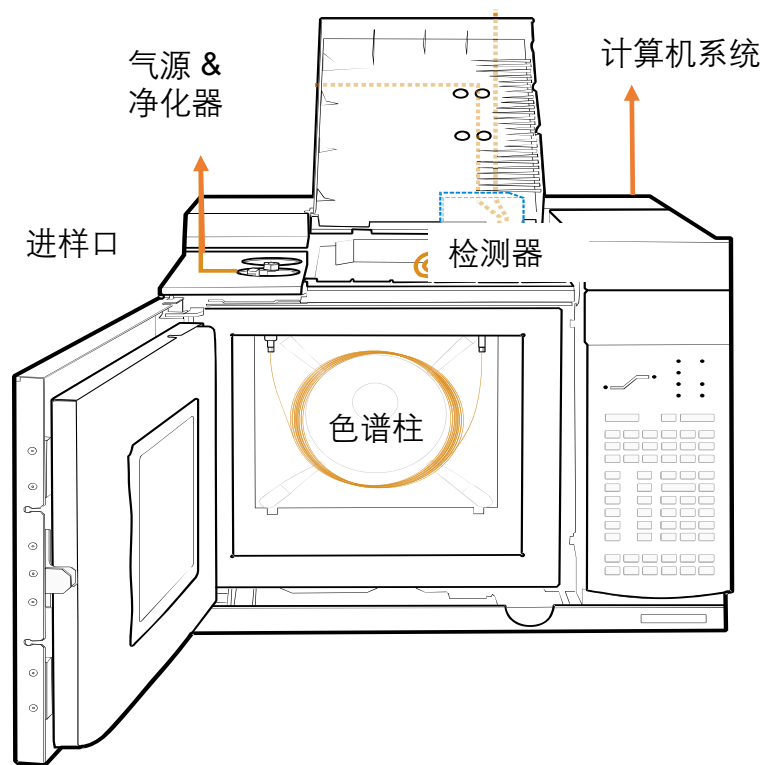
气相色谱仪结构

一台气相色谱仪由以下几个部分组成：

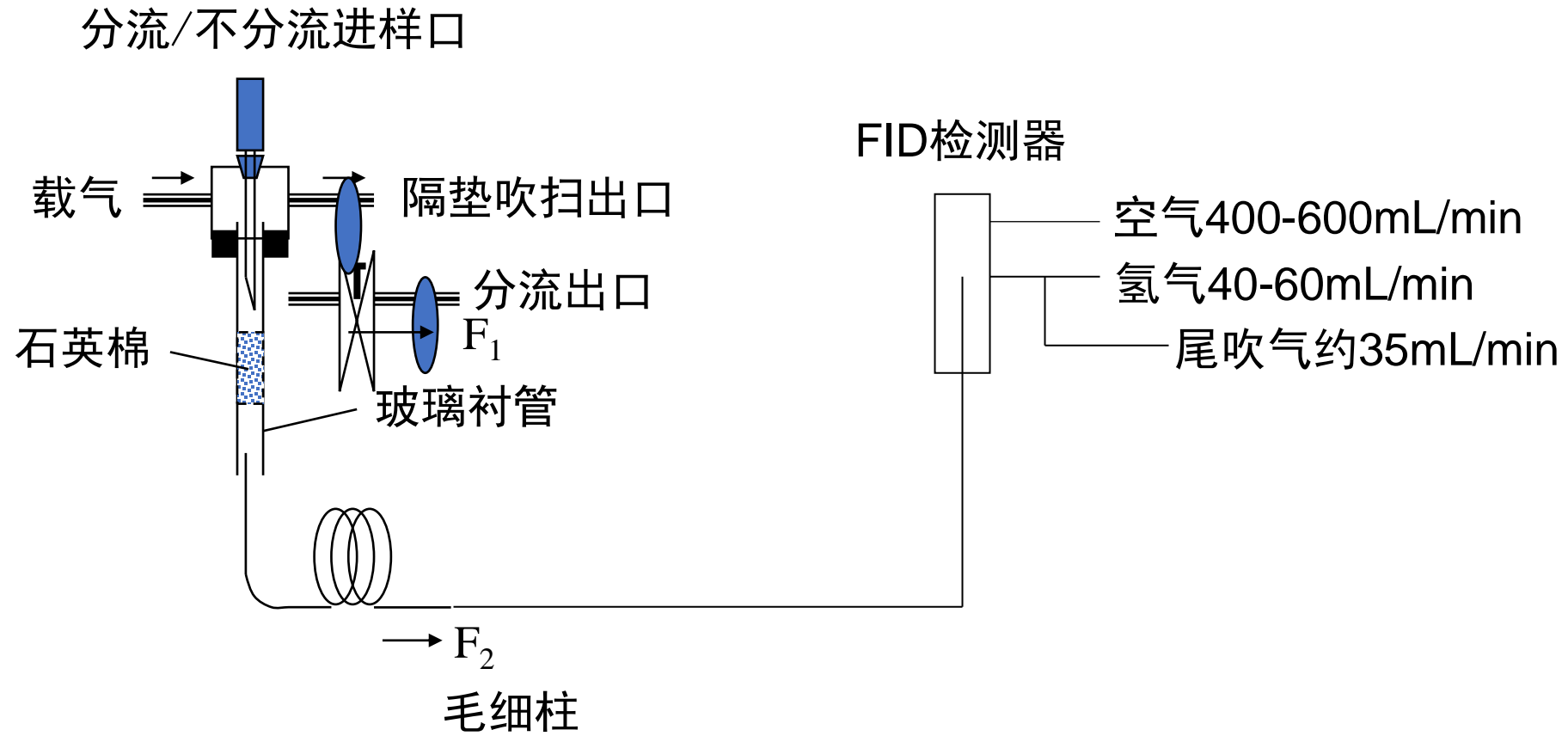
- 合规的纯净载气源，使样品通过仪器
- 进样口，同时作为液体样品的气化器
- 色谱柱，发生分离的场所
- 检测器，在色谱柱洗脱组分时通过改变自身电输出产生响应
- 输出：某种数据解析手段



GC系统



气相色谱基本流路图



气相色谱的流动相

- ◆ 气相色谱法中的流动相是气体，称为**载气**，常用的载气有氢气、氮气、氦气、氩气和二氧化碳。

1. 氮气

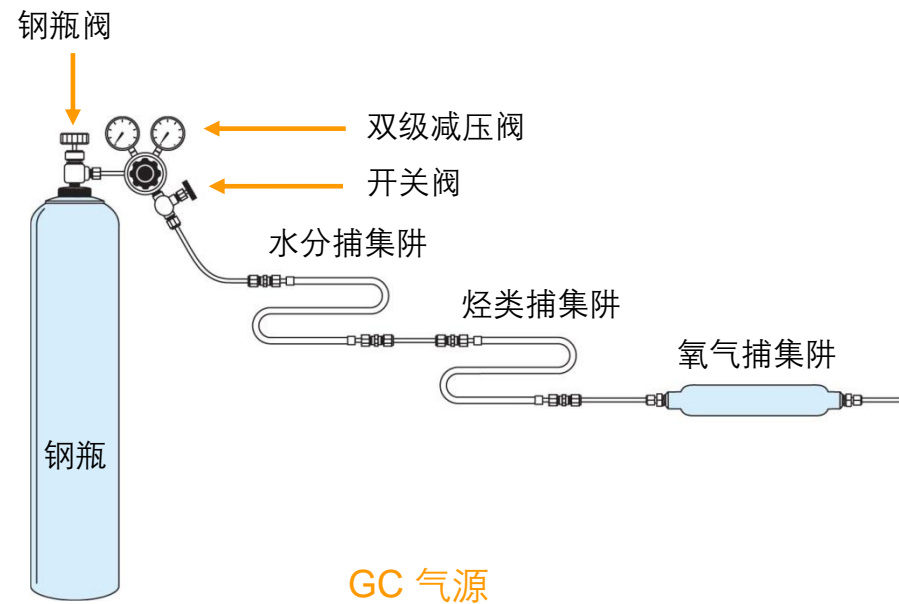
它的扩散系数小，使柱效比较高，常用于除热导检测器以外的几种检测器中作载气。

2. 氢气

它具有分子量较小，热导系数较大，粘度小等特点，在使用热导检测器时常用作载气。

气源

- ◆ 载气气体（如：氦气、氮气、氢气或氩气-甲烷混合气等）必须纯净（>99.999%）
- ◆ 载气的功能是传输样品使其通过系统
- ◆ 推荐采用带有水分、烃类和氧气捕集阱的高纯气体
- ◆ 特定的检测器气体可支持相应的检测器（例如 FID）
- ◆ 由压缩气瓶或气体发生器实现气体供应



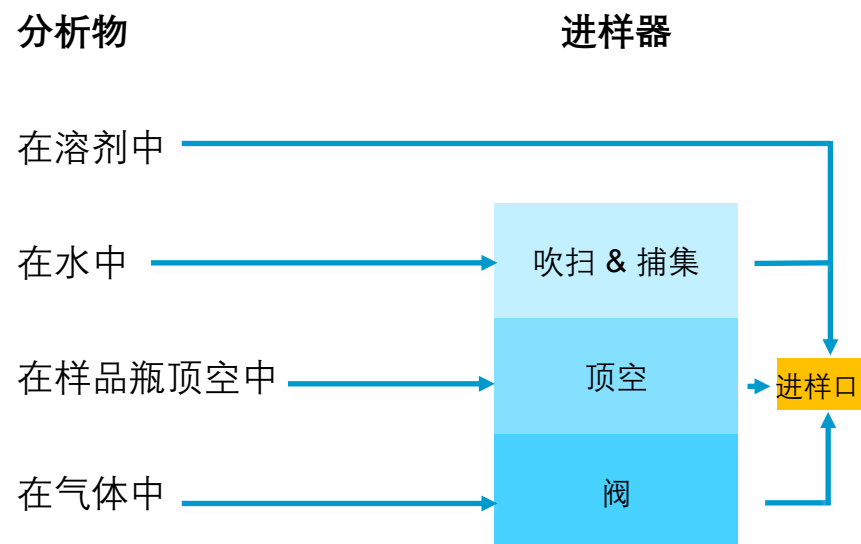
载气纯度的重要性

载气不纯带来的问题：

- ❖ 载气中氧的存在导致固定相氧化，损坏色谱柱，改变样品的保留值
- ❖ 载气中水的存在导致部分固定相或硅烷化担体发生水解，甚至损坏柱子
- ❖ 气体中有机化合物或其它杂质的存在产生基线噪音和拖尾现象
- ❖ 气体中夹带的粒状杂质可能使气路控制系统失灵

进样器

进样器的选择取决于分析物基质



GC 自动进样器



GC 顶空进样器

进样口

进样口将蒸发后的样品引入载气气流中，最常见的形式是进样口和采样阀

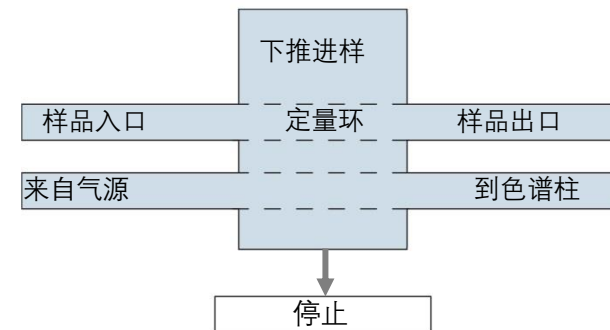
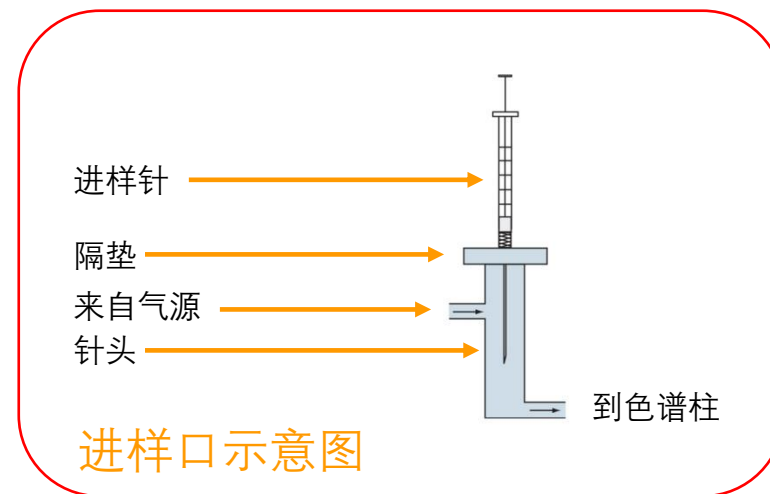
- 进样口

- 处理气体或液体样品
- 通常为加热状态，以蒸发液体样品

液体或气体进样针用于穿过隔垫将样品注射进载气气流。

- 采样阀

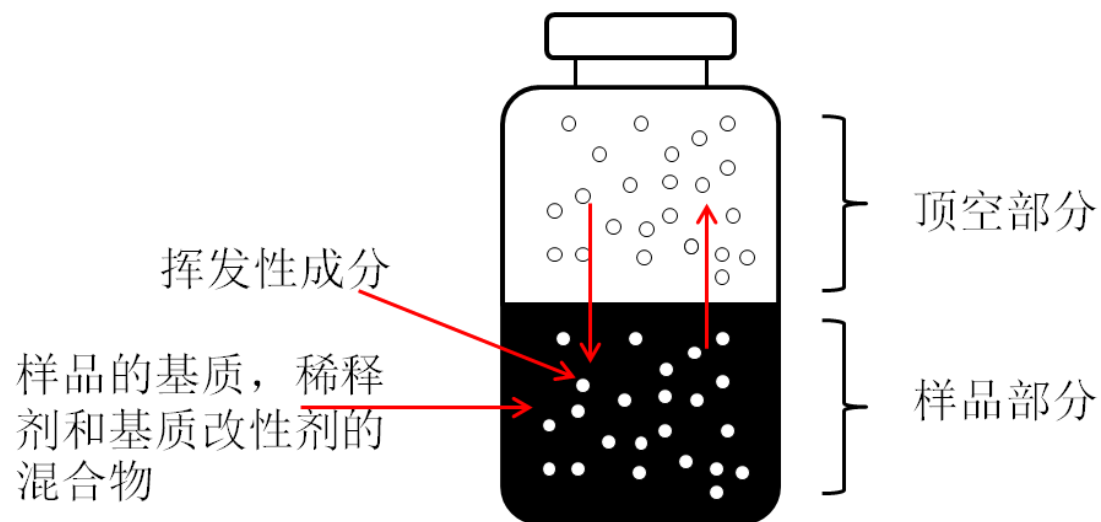
从定量环吹出的样品以物理方式进入载气气流中。根据液体和气体的不同样品体积而采用不同的定量阀。



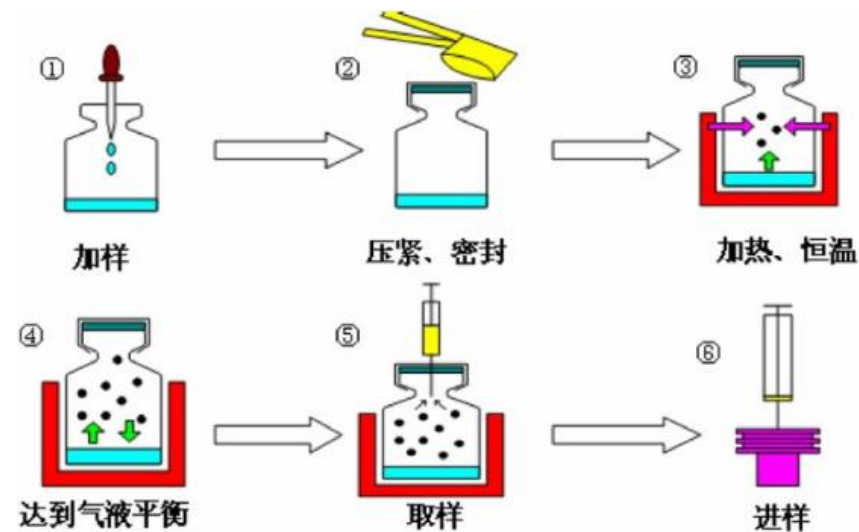
采样阀示意图

顶空进样法 (Headspace Sampling, HS)

- 所谓顶空，是指"物质上部的空间"，在液体或固体的上部存在着液体或固体中所含的挥发性成分，特别是低沸点的成分
- 将样品放置于密封恒温系统中进行一定时间恒温，当气液或气固两相达到热力学平衡后采样并导入气相色谱仪 (GC) 进行分析



顶空进样过程示意图



顶空进样法的特点

顶空分析可以看成是一种气相萃取方法，即用气体作“溶剂”来萃取样品中的挥发性成分，因而顶空分析就是一种理想的样品**净化**方法

与直接进样法、溶剂萃取法和吸附解附法进样比较，顶空进样法有以下优点：

- ✓ 准确、简单、快速、方便、自动和环保
- ✓ 高灵敏度分析样品中的挥发性成分
- ✓ 由于高沸点成分不被导入GC，可缩短分析时间并加倍的提高工作效率
- ✓ 由于高沸点成分不被导入GC，**避免了高沸点成分污染分析系统**，因而减少了仪器日常维护保养工作，并可延长了某些关键部件（如：进样器、色谱柱、检测器等）寿命

顶空进样法——动画演示

Let's learn how it works.



GC进样方式

分流/不分流进样口

- 最常见的进样口
- 在不分流模式中，所有样品均进入色谱柱
- 加热进样口以蒸发样品

冷柱头进样口

- 将全部样品直接引入色谱柱
- 高精度
- 消除样品歧视
- 防止样品降解

程序升温进样口

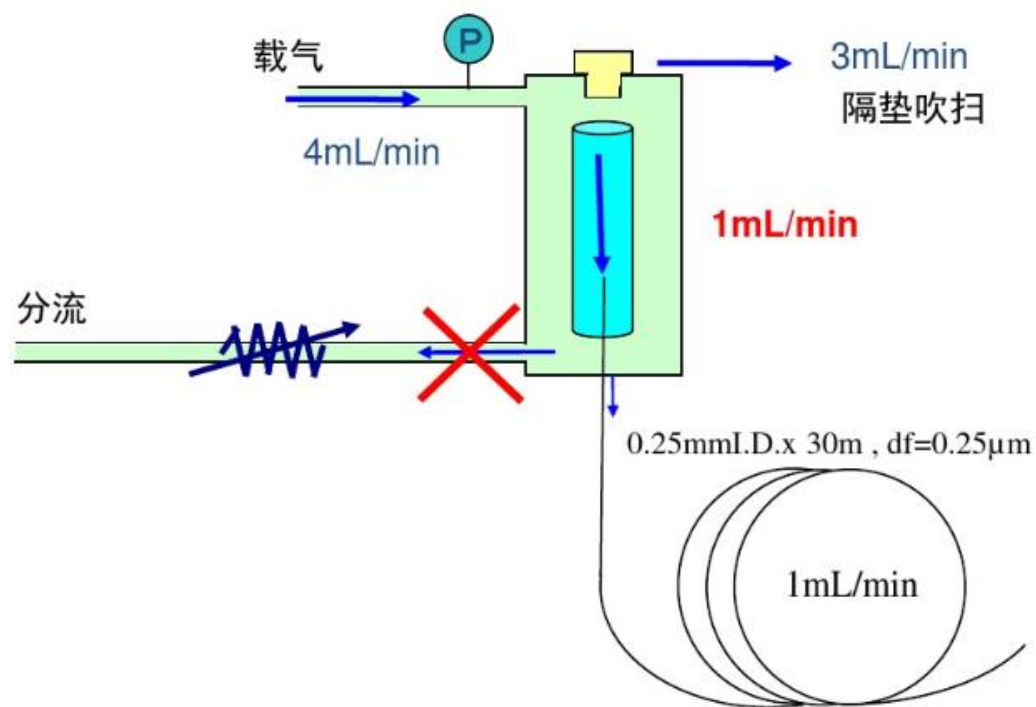
- 样品注射到冷的衬管中
- 加热进样口以蒸发样品

分流/不分流进样是GC最为常用的进样方式

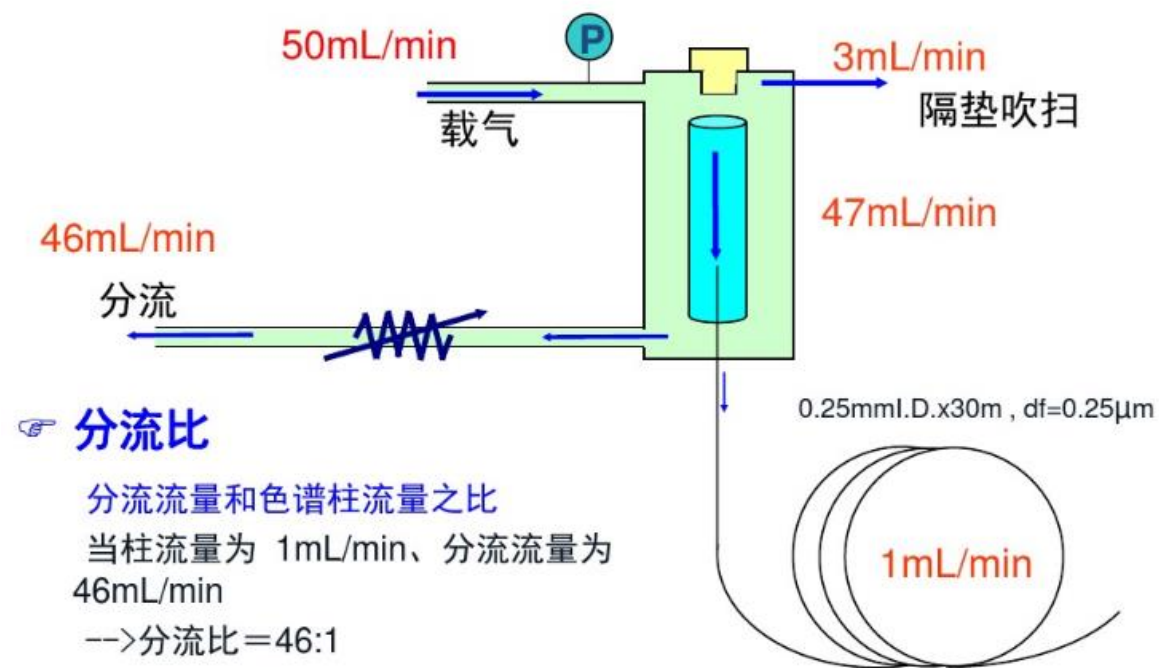
GC进样方式

分流/不分流进样（Split & Splitless injection）是GC最为常用的进样方式

不分流进样（Splitless）

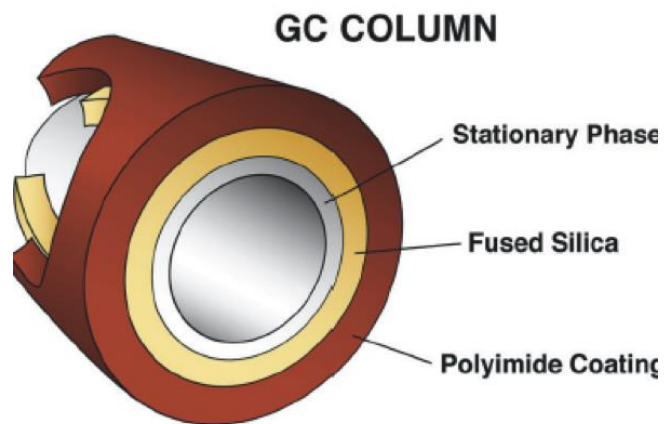


分流进样（Split）



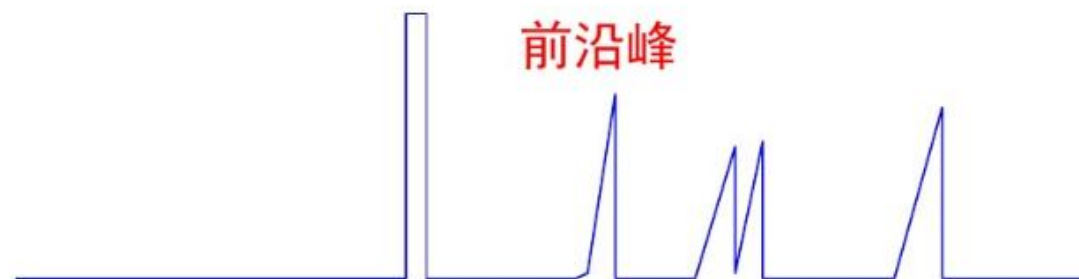
为什么要分流进样？

一、防止色谱柱过载



柱内径.(mm)	膜厚(μm)	承受样品量 (ng)
0.10	0.05-0.25	5-25
0.25	0.10-0.50	20-100
0.32	0.25-5.0	80-1500
0.53	1.0-8.0	530-4200

Dr. P. SANDRA Sample Introduction in CGC



将少量样品引入色谱柱而不造成柱超载的有效方法

为什么要分流进样？

二、减少色谱峰展宽

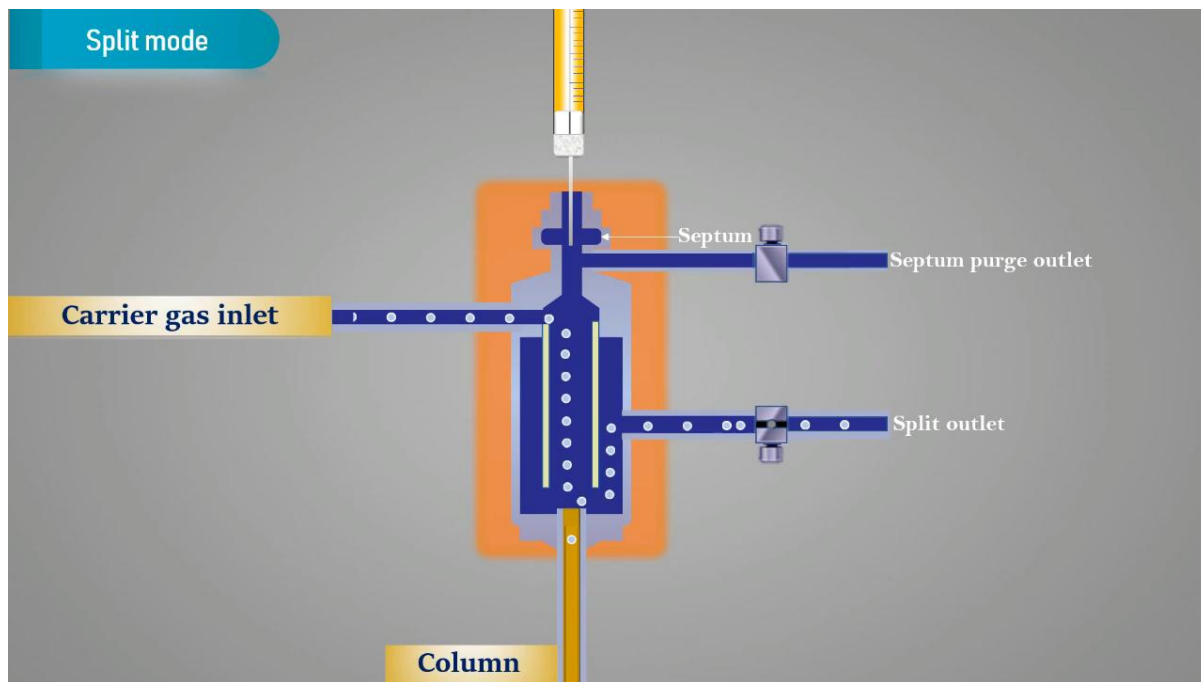
毛细管气相色谱仪的毛细管柱载气体积流量比填充柱小得多，将样品从气化室冲洗到色谱柱需要较长的时间，导致进样器内色谱区带严重扩张

三、“脏”样品应采用分流进样

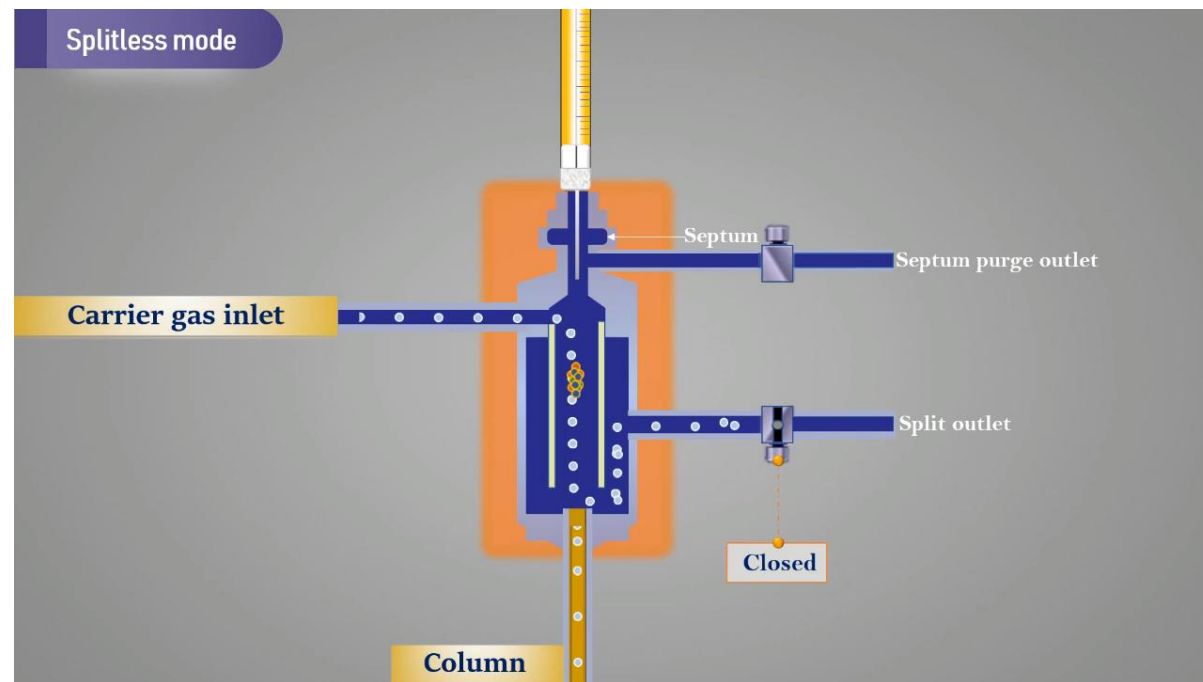
分流进样时大部分样品被放空，只有小部分样品进入色谱柱，在很大程度上防止了色谱柱污染

分流与不分流进样——动画演示

分流进样



不分流进样



色谱柱

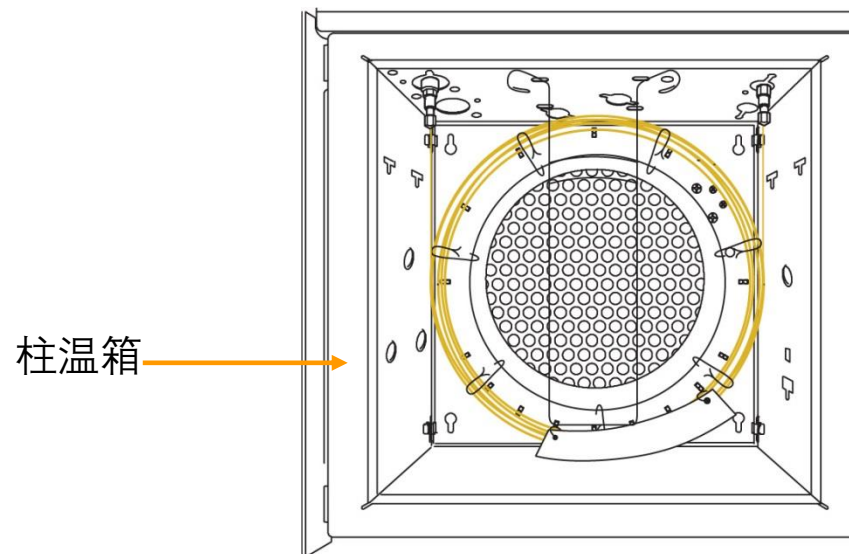
发生分离的场所

多数分离对**温度具有高度依赖性**，因此将色谱柱置于一个严格控制的柱温箱中

样品蒸气由载气引入色谱柱中。化合物在固定相（涂层）和流动相（载气）之间进行选择分配。

柱温箱升高温度，使所有化合物被洗脱。

- 恒温：运行过程中温度保持恒定
- 升温：运行过程中温度升高

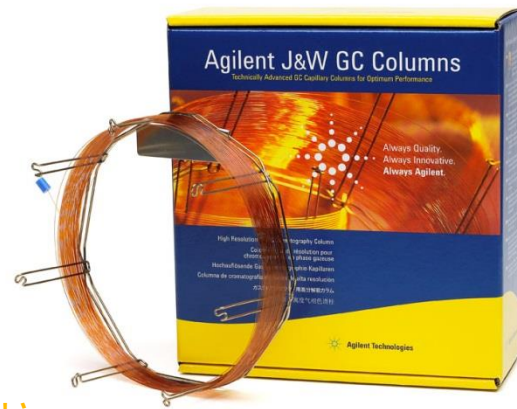


色谱柱与柱温箱

色谱柱内部的作用原理

气相色谱利用气体流动相使样品通过色谱柱，色谱柱内部含有填充物或者其内表面有涂层。在多数情况下，相比液相色谱柱，**气相色谱柱的内径更小，柱长更长。**

当气相色谱柱受热后，化合物将根据沸点开始进行分离。当色谱柱的固定相换成极性固定相后，色谱柱的分离能力也随之改变。沸点和化合物极性共同影响化合物的分离。



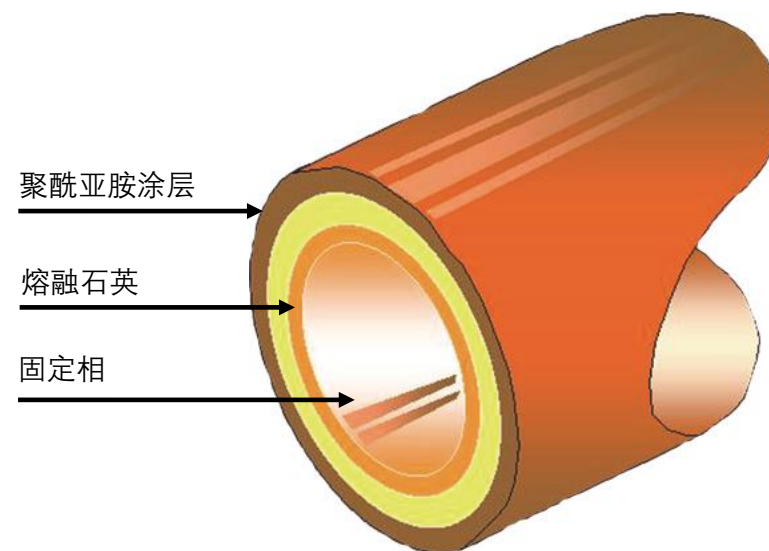
气相色谱柱



液相色谱柱

毛细管色谱柱内部

- 毛细管 GC 色谱柱由一根内壁涂有薄聚合物涂层 ($0.1 - 10.0\ \mu\text{m}$) 的小内径管 (内径 0.05 至 $0.53\ \text{mm}$) 组成
- 选择正确的色谱柱很关键, 需要考虑选择性、极性和苯含量等因素
- 色谱柱内径将影响柱效、溶质保留值、柱头压力和载气流速
- 色谱柱长度将影响溶质保留值、柱头压力、柱流失以及成本



色谱柱的老化

❖ 柱温箱温度逐渐上升到色谱柱的最高使用温度以下20℃左右或高于正常使用温度，高沸点成分被汽化后释放。

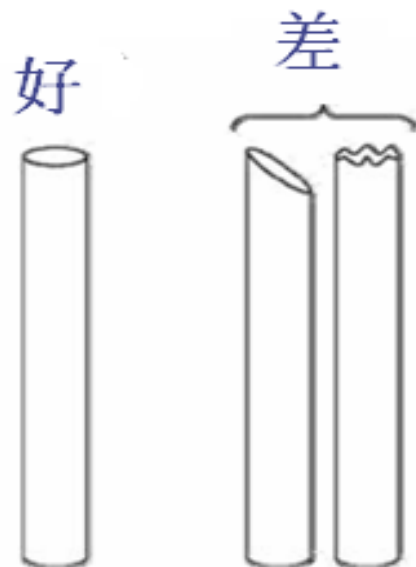
（这个过程大约需要1-2小时，色谱柱可接在检测器上观察基线变化）

❖ 注意：

1. 新柱老化时，不要连接检测器
2. 监测时最好使用FID检测器
3. 检测器的温度必须高于柱的使用温度
4. 色谱柱污染很严重时，切掉进样口侧色谱柱30～50cm左右，老化时检测器一侧色谱柱放空，并将检测器堵上

色谱柱的切割

使用专用毛细柱割刀



色谱柱的使用注意事项

① 色谱柱的使用温度要比柱的最高使用温度低

（可延长柱的使用寿命，降低检测器的基线噪音）

② 除去载气中的氧（特别是使用极性柱时）

—使用高纯度的气体（99.999%以上）

—气瓶更换时特别注意不要混入空气

—在GC进气口前加装氧气捕集管

③ 不让难挥发的成分进入色谱柱内

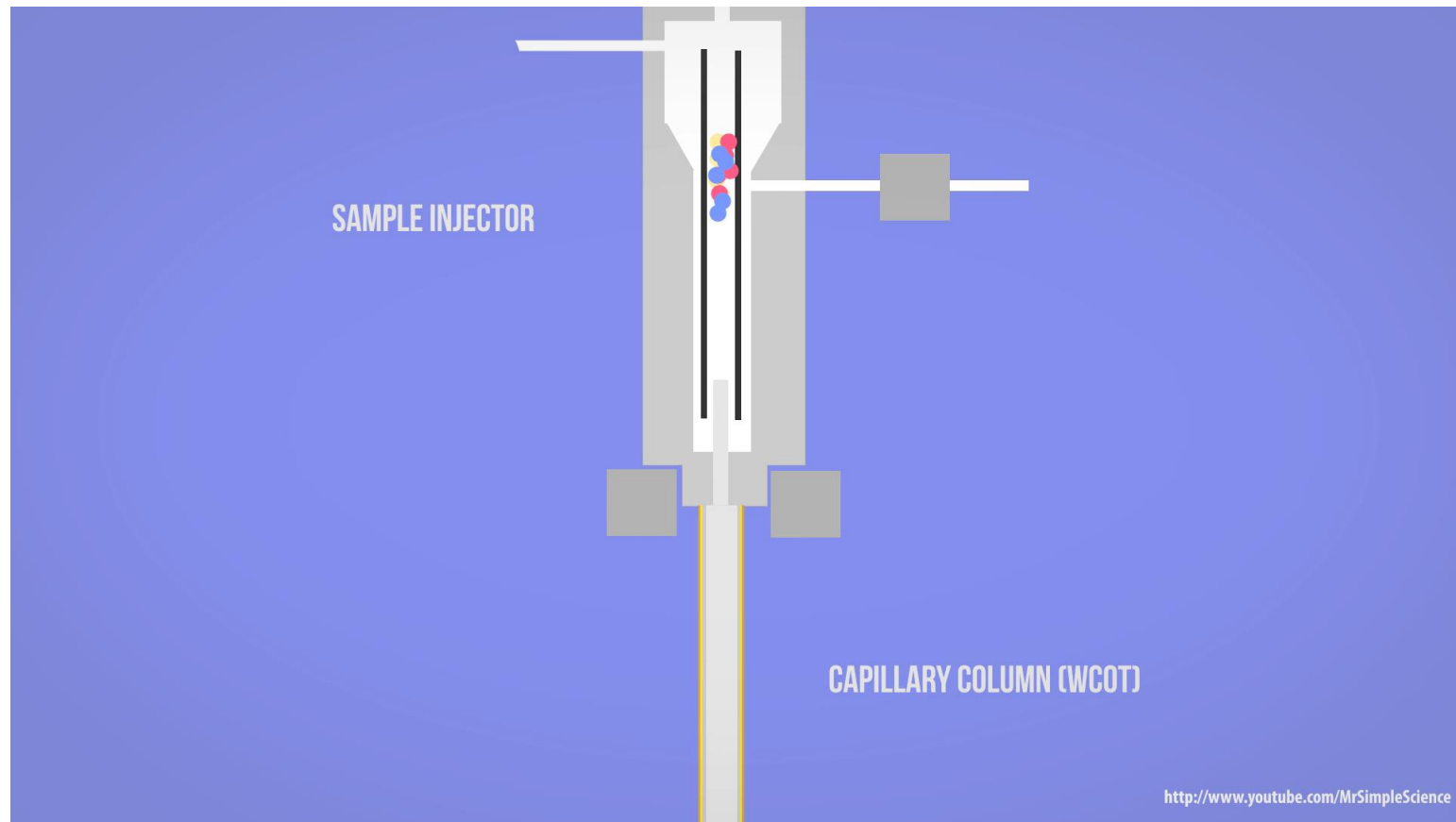
—充分做好样品的前处理

—使用衬管和石英棉

—在色谱柱前安装短的预柱来保护色谱柱 (仅在使用毛细柱时)

GC分离——动画示意

- 当组分在两相中反复多次进行分配并随移动相向前移动时，各组分沿管柱运动的速度就不同
- 分配系数小的组分被固定相滞留的时间短，能较快地从色谱柱末端流出



检测器

检测器 (detector) :

是将色谱柱分离后的各组分的浓度 (或质量) 的变化转换为电信号 (电压或电流) 的装置

1. 浓度型检测器 (concentration sensitive detector)

测量载气中组分浓度的瞬间变化, 检测器的响应值与组分浓度成正比, 与单位时间内组分进入检测器的质量及载气流速无关。如热导检测器和电子捕获检测器等

2. 质量型检测器 (mass flow rate sensitive detector)

测量载气中组分进入检测器的质量流速变化, 即检测器的响应值与单位时间内进入检测器的组分质量成正比。如氢焰离子化检测器和火焰光度检测器等。

检测器

含有已分离化合物的气流从色谱柱流出并通过检测器，检测器输出生成色谱图

有多种检测器类型可选，但每种检测器执行的任务均相同：

- 当检测器中为纯载气（不存在任何组分）时，将产生稳定的电子信号（基线）
- 当组分通过检测器时，将产生不同的信号



GC 检测器

常用检测器

热导检测器

- 利用样品气与载气热导值的差别来检测化合物

火焰离子化检测器

- 检测在火焰中燃烧或离子化的化合物

电子捕获检测器

- 检测可以俘获电子的化合物（例如卤代化合物）

氮磷检测器

- 检测含有氮和磷的化合物

火焰光度检测器

- 检测含有硫和磷的化合物

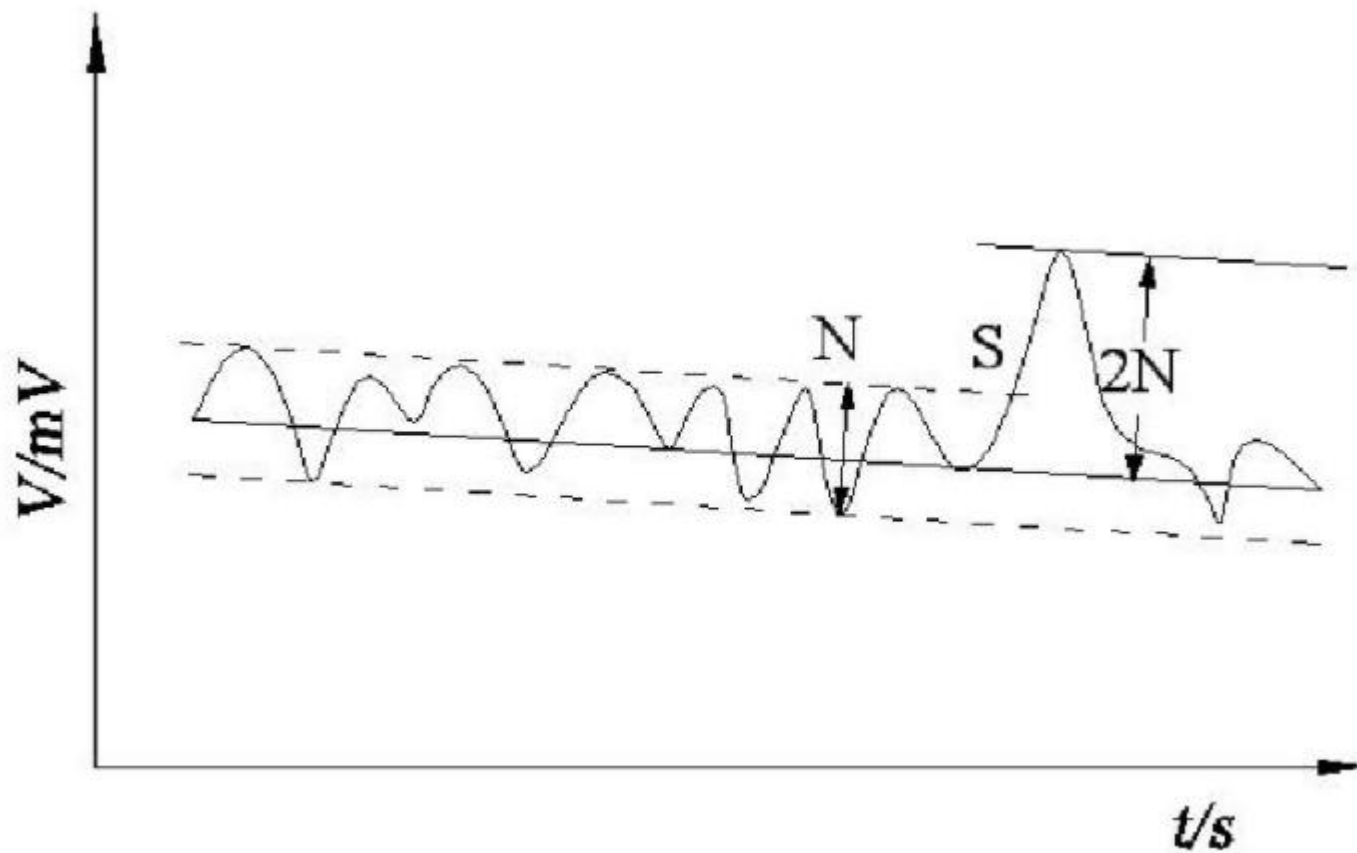
原子发射检测器

- 可调节，适用于多种元素

质量选择检测器

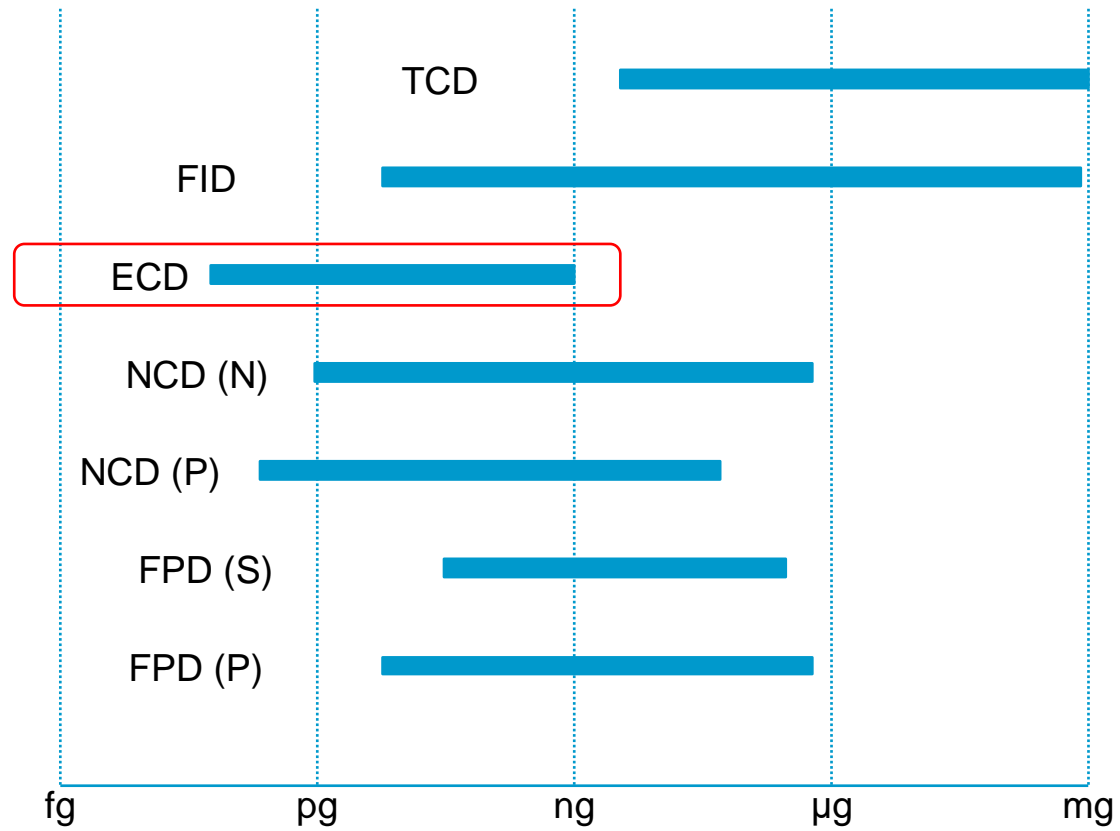
- 通过质谱鉴定组分（与 GC 联用时是功能最强大的鉴定工具）

检测器噪音和检出限



检测线越小，检测器的灵敏度越好

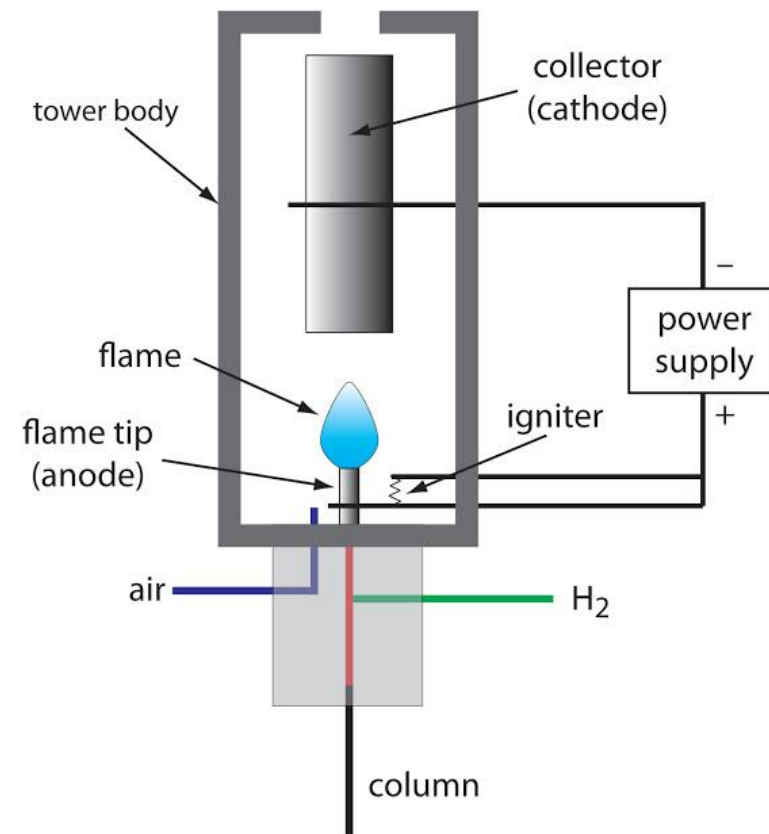
检测器灵敏度



氢火焰离子化检测器 (Flame Ionization Detector, FID)

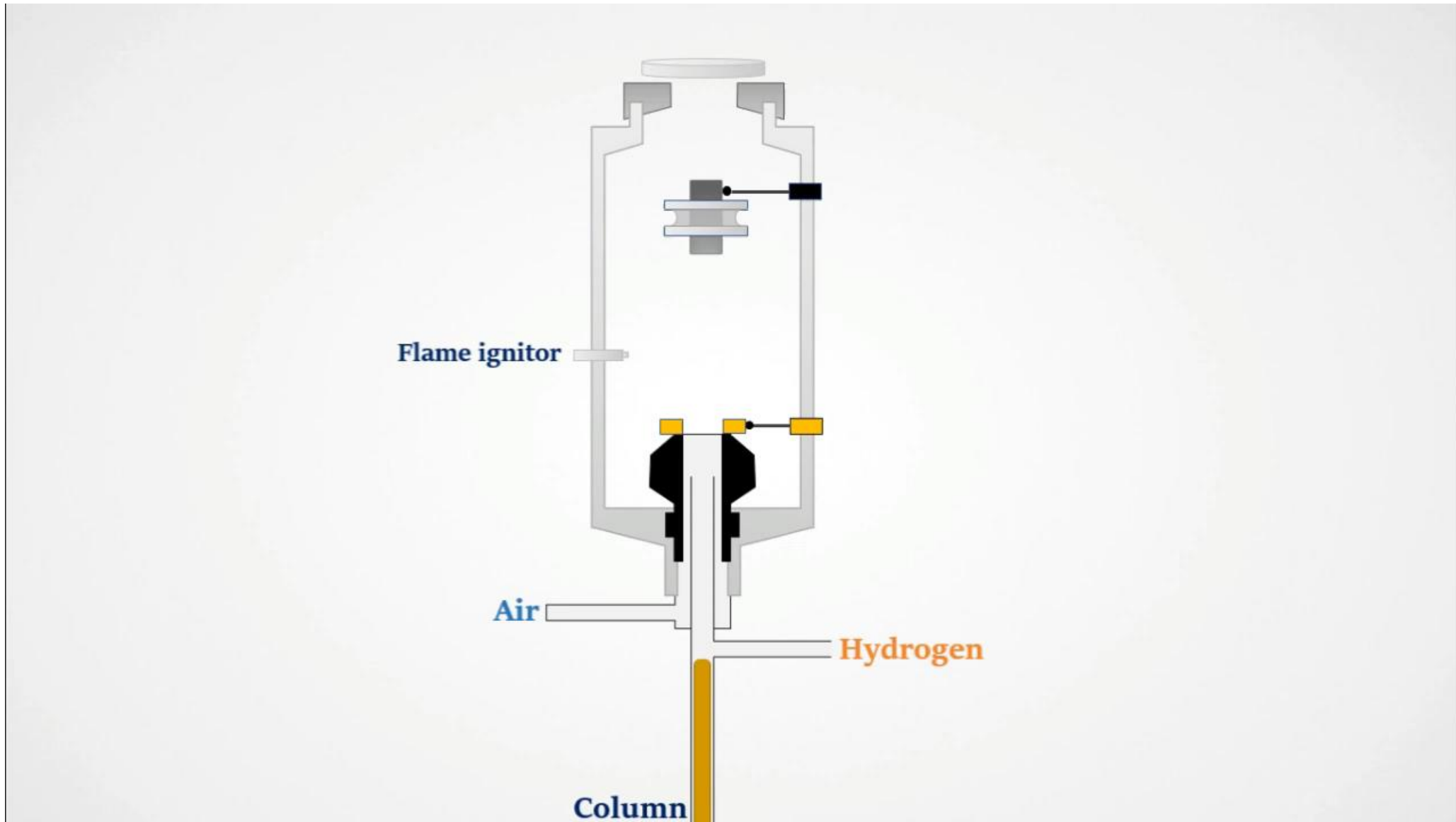
氢火焰离子化检测器是根据气相色谱流出物中可燃性有机物在氢-氧火焰中发生电离的原理而制成

1. 氢和氧燃烧所生成的火焰为有机物分子提供燃烧和发生电离作用的条件
2. 有机物分子在氢氧火焰中燃烧时其离子化程度比在一般条件下要大得多
3. 有机物分子在燃烧过程中生成的离子在电场中作定向移动而形成离子流



✓ 典型的**质量型**检测器（峰面积只与待测组分含量正相关）

FID检测——动画示意



电子捕获检测器 (ECD)

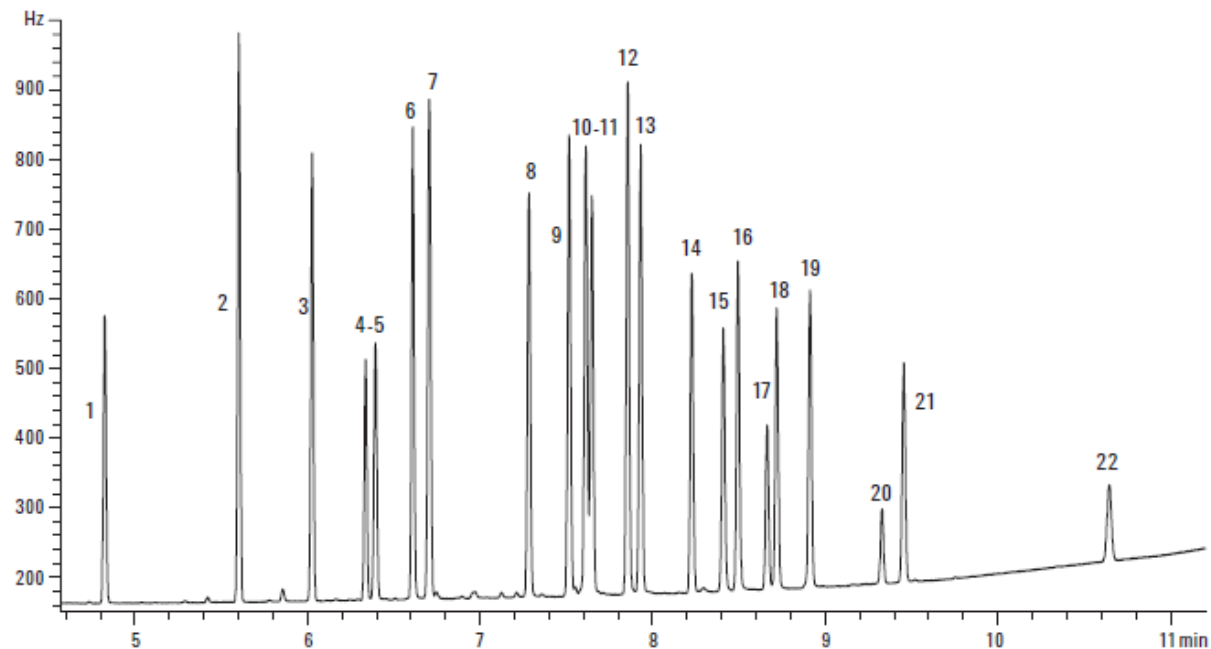
- ◆ 它是一种高灵敏度、高选择性检测器，对**电负性物质**特别敏感
- ◆ 它主要用于分析测定卤化物、含磷（硫）化合物以及过氧化物、硝基化合物、金属有机物、金属螯合物、甾族化合物、多环芳烃和共轭羟基化合物等电负性物质
- ◆ ECD已成为目前在食品检验、动（植物）体中的**农药残毒量**和环境检测（水、土壤、大气污染等）领域中应用最多的一个检测器之一

ECD动画



GC 输出结果

- 将丰度对时间作图可得出色谱图
- 峰的大小与样品中化合物的含量相对应。随着化合物浓度的增加，获得的峰也将更大
- 保留时间 (t_R) 是化合物通过色谱柱所用的时间
- 如果色谱柱与所有运行条件均保持不变，则一个给定的化合物将总是具有相同的保留时间



- | | |
|--|---|
| 1. Tetrachloro-m-xylene (surrogate standard) | 12. Dieldrin |
| 2. α -BHC | 13. p,p-DDE |
| 3. γ -BHC | 14. Endrin |
| 4. β -BHC | 15. p,p-DDD |
| 5. Heptachlor | 16. Endosulfan II |
| 6. δ -BHC | 17. p,p-DDT |
| 7. Aldrin | 18. Endrin aldehyde |
| 8. Heptachlor epoxide | 19. Endosulfan sulfate |
| 9. γ -chlordane | 20. Methoxychlor |
| 10. α -chlordane | 21. Endrin ketone |
| 11. Endosulfan I | 22. Decachlorobiphenyl (surrogate standard) |

气相色谱的性能

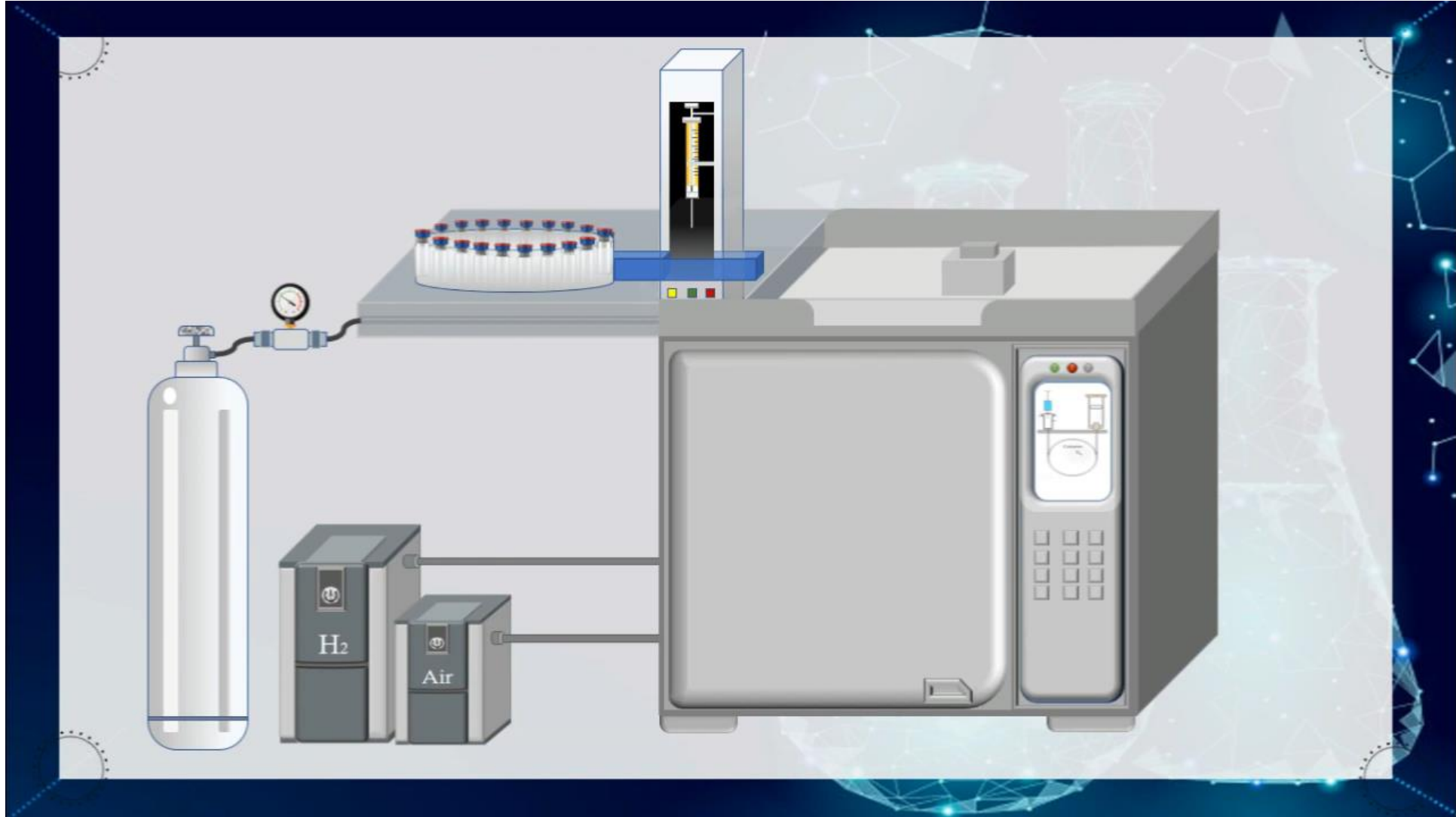
优势

- 简单易用
- 稳定
- 多种检测器可选
- 低成本

局限性

- 除质谱检测外，缺乏除保留时间之外的其他定性数据
- 化合物必须热稳定

气相色谱分析流程——动画演示



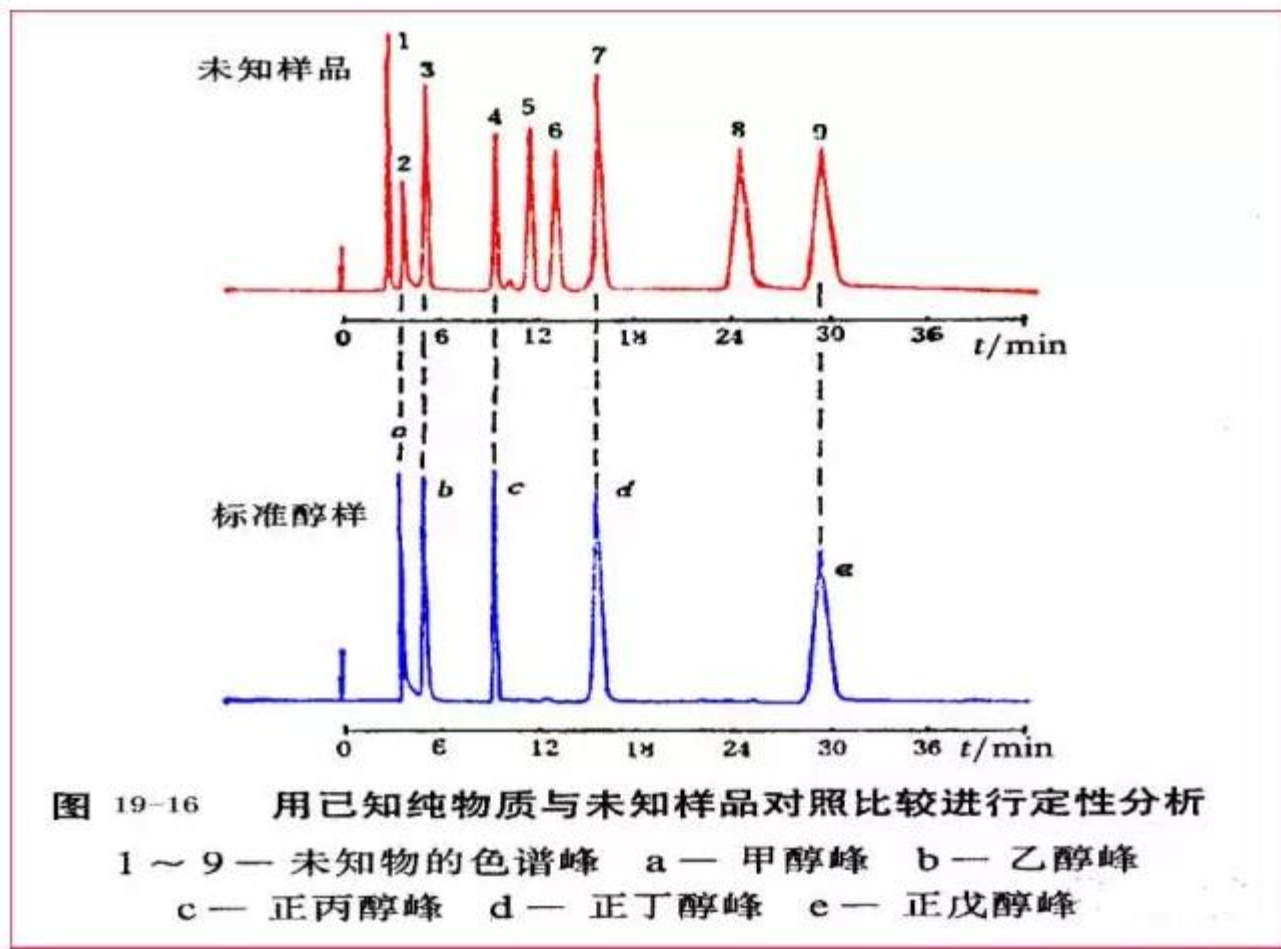
第三部分：定性定量基础知识

色谱定性分析

当固定相和操作条件（如柱温、柱长、柱内径、载气流速）
不变时，任何一种物质都有一定的保留时间，可作定性依据

定性方法一：用已知纯物质对照定性

气相色谱定性分析中最方便，最可靠的方法



定性方法二：根据相对保留值定性

相对保留值对照定性

$$r_{1,2} = t_{R1}'/t_{R2}' = k_1/k_2$$

相对保留值仅与柱温和固定液性质有关

r 值可以是文献的或测定的

- ◆ 在用保留值定性时，必须使两次分析条件完全一致，有时不易做到，利用相对保留值定性比用保留值定性更为方便、可靠
- ◆ 而用相对保留值定性时，只要保持柱温不变即可。这种方法要求找一个基准物质，一般选用苯、正丁烷、环己烷等作为基准物。所选用的基准物的保留值尽量接近待测样品组分的保留值

定性方法三：用经验规律和文献值进行定性分析

当没有待测组分的纯标准样时，可用文献值定性，或用气相色谱中的经验规律定性

1. 碳数规律

大量实验证明，在一定温度下，同系物的调整保留时间的对数与分子中碳，原子数成线性关系，即

$$\lg t_r' = A_1 n + C_1$$

式中 A_1 和 C_1 是常数， n 为分子中的碳原子数（ $n \geq 3$ ）。该式说明，如果知道某一同系物中两个或更多组分的调整保留值，则可根据上式推知同系物中其它组分的调整保留值

2. 沸点规律

同族具有相同碳数碳链的异构体化合物，其调整保留时间的对数和它们的沸点呈线性关系，即

$$\lg t_r' = A_2 T_b + C_2$$

式中 A_2 和 C_2 均为常数， T_b 为组分的沸点（K）。由此可见，根据同族同数碳链异构体中几个已知组分的调整保留时间的对数值，可求得同族中具有相同碳数的其他异构体的调整保留时间。

定性方法四：根据保留指数定性

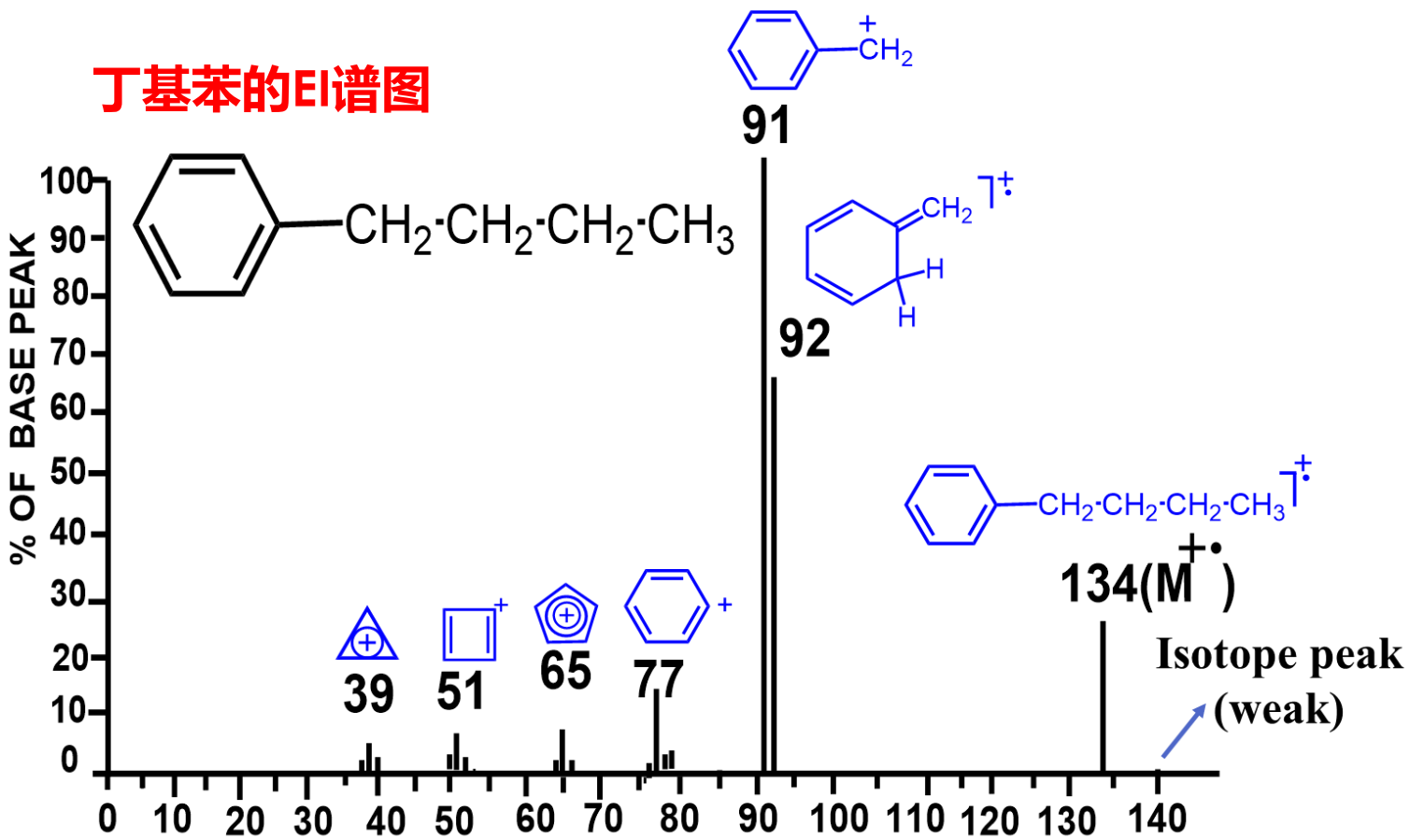
保留指数是以正构烷烃系列作为标准，用两个保留值紧邻待测组分的正构烷烃的相对保留值来标定该组分，这个相对值称为保留指数，又称其为Kovats指数，其定义为：

$$I_x = 100 \left[z + n \frac{\lg t'_{R(x)} - \lg t'_{R(z)}}{\lg t'_{R(z+n)} - \lg t'_{R(z)}} \right]$$

在给定条件下进行色谱实验，测定其相对保留值，按上式计算待测组分保留指数，再与手册或文献发表的保留指数进行对照，即可定性。

定性方法五：仪器联用

□ 气相色谱-质谱 (GC-MS)



定性确证

仅仅通过保留时间并不能完全确证该物质

- ❖ 通过加入标准物确认
- ❖ 通过改变色谱条件确认
- ❖ 光谱和质谱信息也可以作为进一步确证手段
- ❖ 其他仪器方法确证

定量分析的基本要求

- ❖ 需要有纯物质作标准
- ❖ 被定量组分峰要与其它峰达到基线分离
- ❖ 符合定性参数要求
- ❖ 选择合适的定量方法

常用定量方法

- ❖ 面积归一化
- ❖ 外标法
- ❖ 内标法
- ❖ 标准加入法

面积归一化法

不能作为准确定量的方法，仅在特定情况下使用

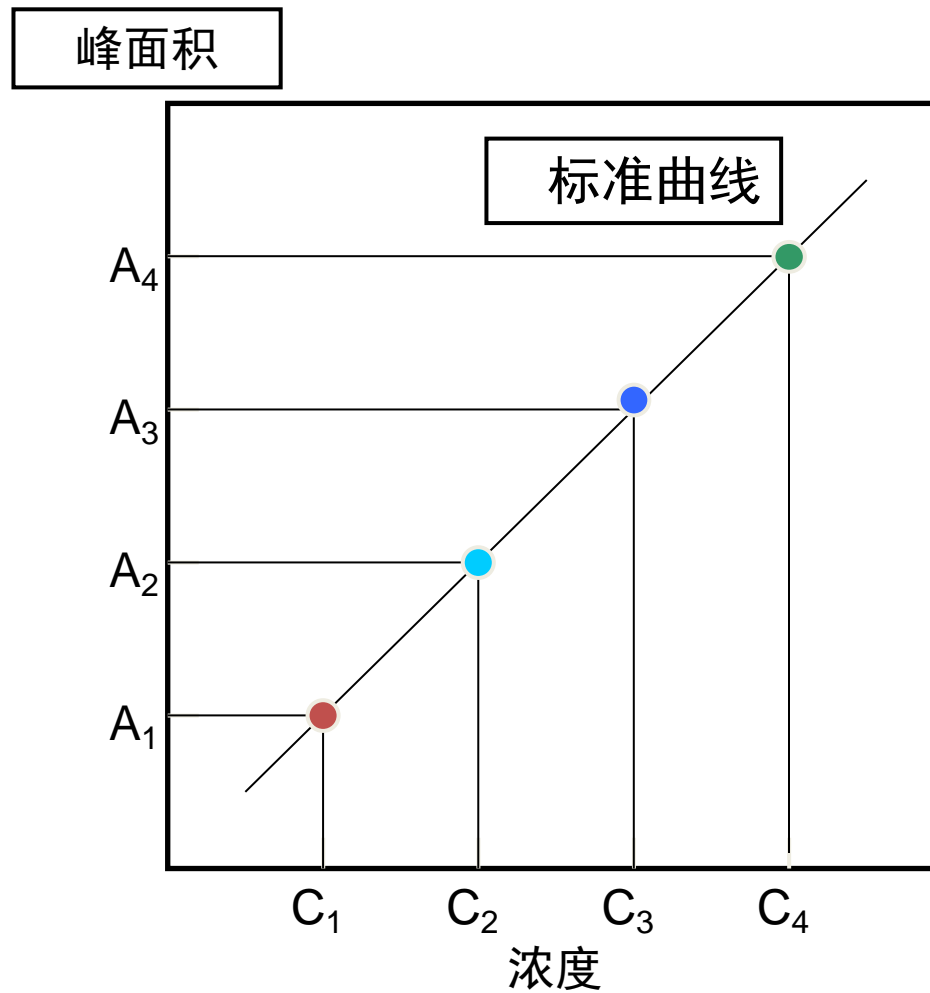
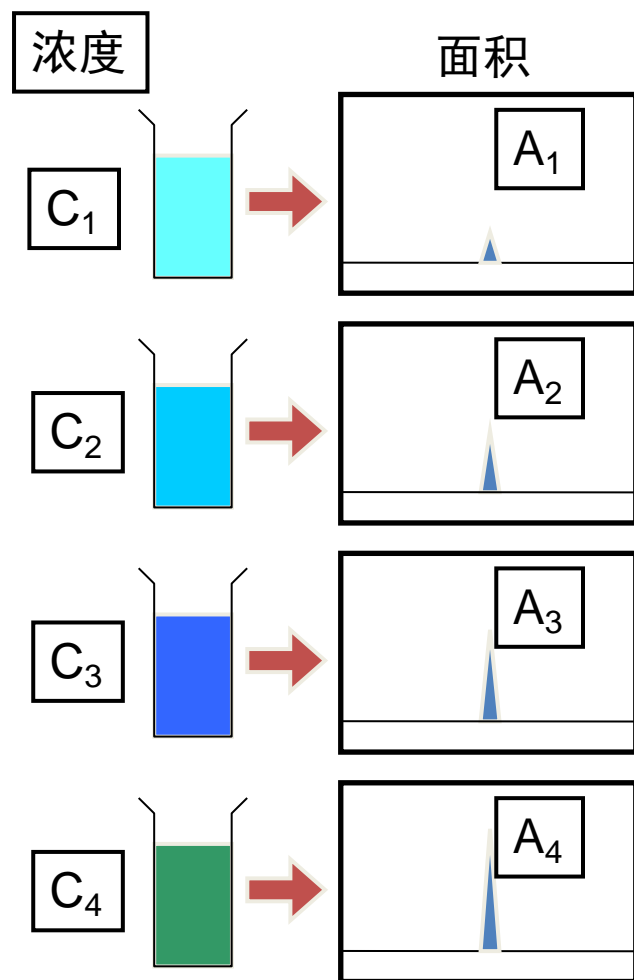
公式

$$C_i\% = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100\%$$

特点：

- 1、无需做校正，简便，快速
- 2、进样量不严格要求
- 3、要求所有组分都流出并且被检测到
- 4、要求所有组分的响应因子相当

外标法



外标法

$$C_i = f_i A_i$$

f_i —— i 组分工作曲线的斜率

实验室最常用的定量方法，定量结果准确

特点：

- 1、不需所有峰都流出或被检测到，只对目标组分作校正
- 2、需要标准样品
- 3、进样量必须准确
- 4、仪器必须有良好的稳定性

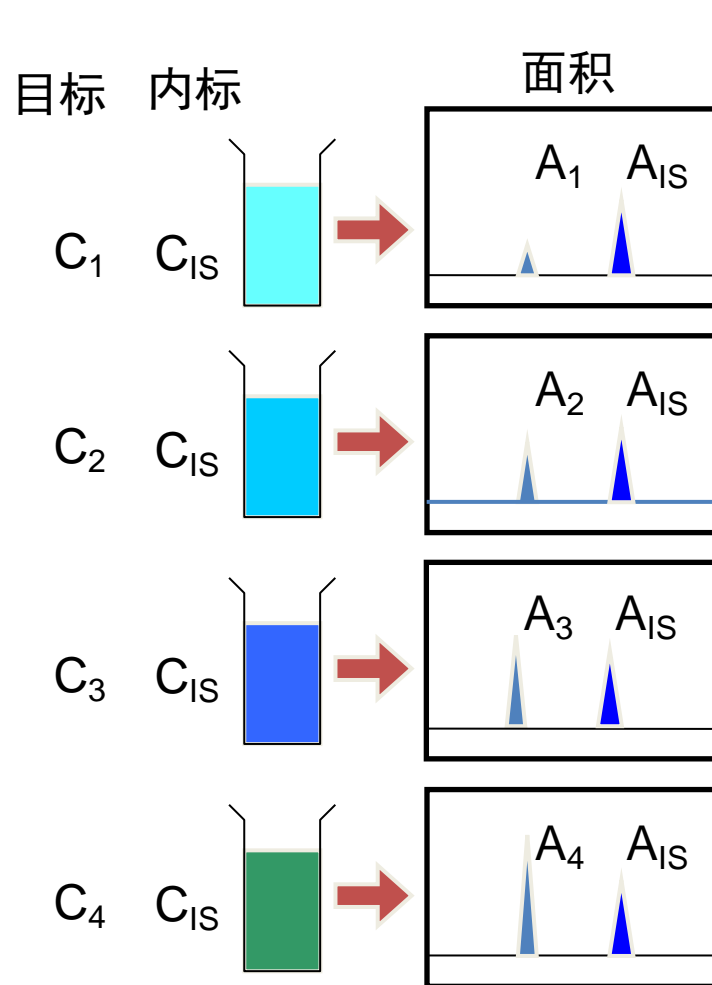
单点校正法

当被测试样中各组分浓度变化范围不大时，可不必绘制多点的标准曲线，而用单点校正法（比较法）。**配制一个和被测组分含量接近的标准溶液**，定量进样，根据被测组分和外标组分峰面积比或峰高比计算被测组分的含量。

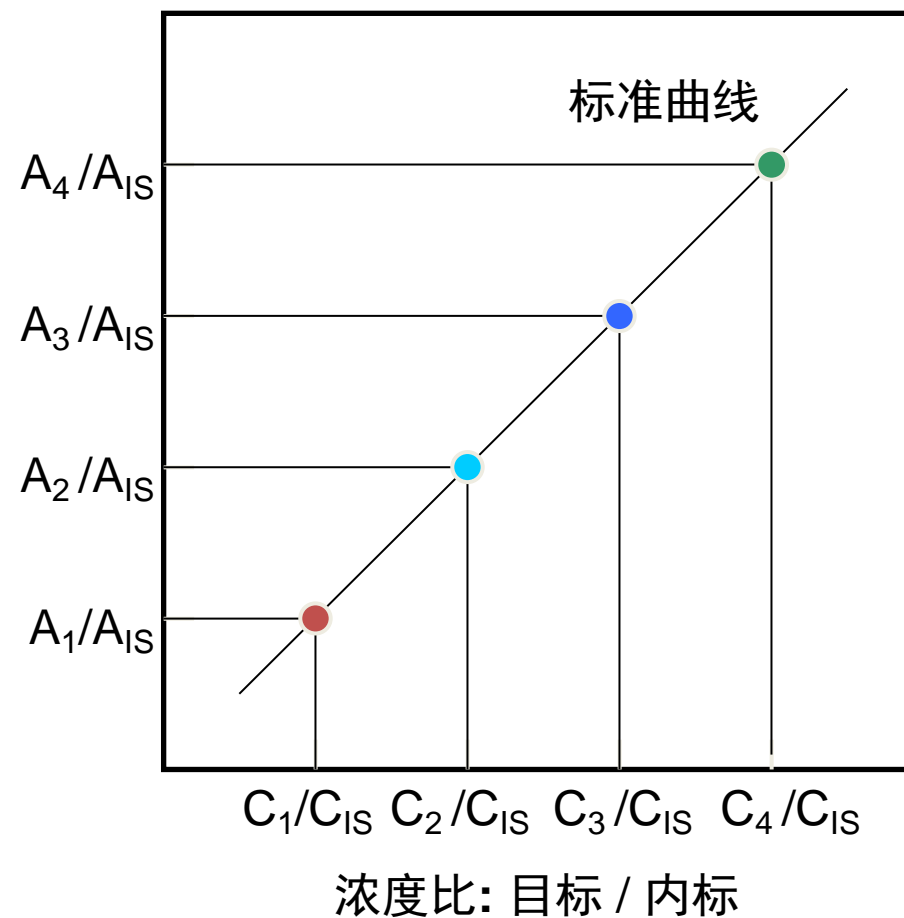
$$\frac{w_i}{w_s} = \frac{A_i}{A_s}$$

当方法存在较大的系统误差，单点校正法的误差较大。

内标法



面积比: 目标/ 内标



内标法

试样配制：准确称取一定量的试样 w_i ，加入一定量内标物 w_s

计算公式：

$$w_i = f_i A_i$$

$$w_s = f_s A_s$$

$$w_i = \frac{f_i A_i}{f_s A_s} w_s = f_i' \frac{A_i}{A_s} w_s$$

f_i' 为待测组分 (i) 对内标物 (s) 的质量相对校正因子

内标法特点

多用在国际标准和规定比较严格的方法中

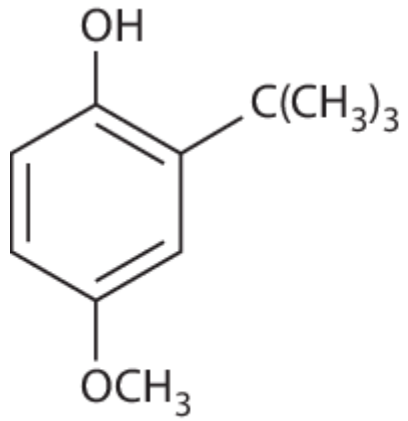
特点：

- 1、进样量不严格要求
- 2、只对所测组分作校正
- 3、必须在样品中加一内标组分
- 4、操作较为繁琐
- 5、选择内标物比较困难

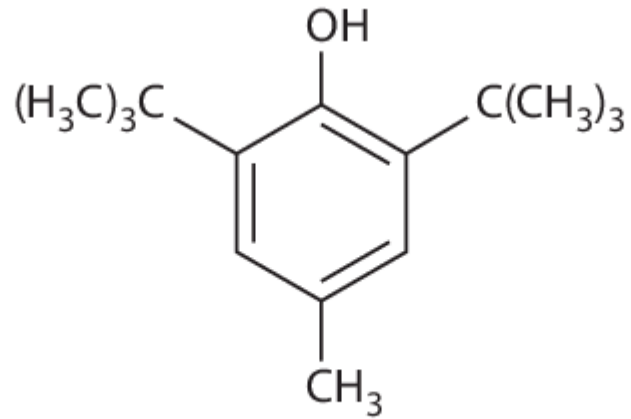
第四部分：气相色谱仪使用

目标分析物

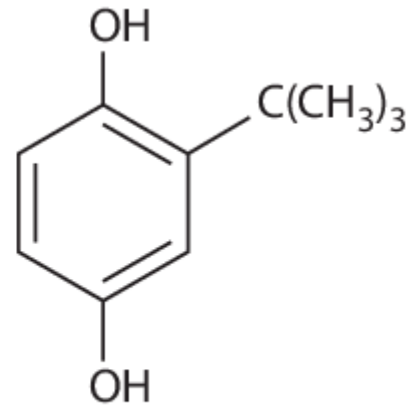
合成酚类抗氧化剂



BHA



BHT



TBHQ

样品处理



食用油：XXX

饼干的处理：XXX

色谱条件

- ◆ 色谱柱: XXX
- ◆ 柱温: XXX
- ◆ 进样品口温度: XXX
- ◆ 载气: 高纯氮 (2.5 mL/min)
- ◆ 检测器: XXX
- ◆ 进样: XXX

仪器操作

1. 开载气（氮气的分压应为接近但不超过0.4 MPa，氮气瓶的两个阀门开关方法不一，特别注意分压阀的开关是拧越紧分压越大），氢气，空气（开启后五分钟打开风扇）
2. 打开色谱仪，自动自检，如仪器正常最后窗口会显示中文开机正常界面
3. 自检完成后，打开工作站（联机），创建一个属于自己的文件夹，如果开启一个新的测试方法，请先选择新建方法，点击设备图标设置实验参数（进样口温度，柱温，检测器温度，气体流速，分流比，进样口，检测器，测量时间，进样前洗液清洗次数，样品清洗次数，样品抽吸次数0，进样后洗液清洗次数等等）并保存方法。注意如果是新的文件夹，请在视图-首选项当中添加该文件夹路径，否则可能找不到你的方法文件

（如已有测试方法，直接调用即可）

仪器操作

4. 调用方法后，仪器会首先调整至设定的条件（主要是柱温，检测器温度），直至准备就绪（此时工作站状态显示绿色“就绪”）

在此期间，我们可以选择“序列-创建新的测定序列模板”（每次开始新的实验序列都必须创建），点击“序列-序列表”调出序列表，填写序列参数，（包含放置位置101-116，样品命名，应用方法，进样量，平行测定次数等），保存序列模板。并且根据测定序列放置样品在指定位置上（另外不要忘了根据需要在AB瓶中放置空白溶剂作为洗液，并检查W瓶不要太满）

5. 待工作站显示就绪（绿色“ready”）后，再次调出序列表，点击“运行”开始测定。仪器会首先进入调用方法状态，然后仪器会自动依次进行空白溶剂洗-测试样品液洗-样品抽吸-取样-迅速打入进样口-开始测试（同时进样器进行空白溶剂洗）。每个样品测定完毕会弹出保存报告的提示，可选择另存为PDF文件，也可以选择忽略（建议保存）

仪器操作

6. 打开工作站（脱机），点击调用信号，调出测定序列文件，记录图谱特征峰积分数据（保留时间，峰面积）
7. 关机，由于关机前需将仪器温度降低才能关闭载气，实质上可以理解为应用一种新的测试方法，因此可创建专门的关机方法，待关机前调用，仪器会通过风冷等技术平稳降至关机适宜温度（一般均设为50℃）
8. 待仪器显示绿色就绪，此时再依次关闭工作站软件（联机），电脑，色谱仪，空气（关闭仪器开关后五分钟关闭风扇），氢气，载气（先关总阀，调节分压阀至最大正常值，加速余气排除）。待载气瓶的总压表和分压表的气压均降至零后，拧松分压阀
9. 做好实验记录，离开实验室，不要忘了带走样品，清洁色谱瓶（最好不要用水）

注意事项

- ◆ 对照品溶液必须与供试品溶液相同溶剂
- ◆ 实验开始前，除了待测样品外，还需准备一瓶空白溶剂，作为清洗进样器用
- ◆ 每次进样前一定要等仪器工作站上出现绿色ready，并且基线平稳
- ◆ 进对照品溶液时要从低浓度到高浓度的进样顺序
- ◆ 开启色谱仪前，必须先打开载气系统
- ◆ 关闭色谱仪前，先将进样口温度、柱温箱温度、检测器温度降至40-50 ° C后，再关闭载气

常见错误操作

- ◆ 样品溶液中有不溶性颗粒物
- ◆ 超出固定相使用温度上限加热或没有充分的载气流下升温
- ◆ 错用溶剂、样品
- ◆ 升温过程中，固定相意外与氧接触会导致固定相降解。需要在升温前，要充分用载气将柱内氧赶尽