

药物分析辅导：色谱保留时间漂移的故障排除 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

https://www.100test.com/kao_ti2020/18/2021_2022__E8_8D_AF_E7_89_A9_E5_88_86_E6_c23_18696.htm 保留时间不重现有两种不同的情况：既保留时间漂移和保留时间波动。前者是指保留时间仅沿单方向发生变化，而后者指保留时间无固定规律的波动。将此两种情况区分开来对找到问题的原因往往很有帮助。如，保留时间的漂移往往由柱老化引起；而柱老化不可能引起保留时间的无规律波动。事实上，保留时间漂移的多半原因是不同机理的色谱柱老化，如固定相流失（例如通过水解），色谱柱污染（由样品或流动相所致）等。保留时间漂移的几种最常见的原因如下：一 色谱柱平衡 如果我们观察到保留时间漂移，首先应考虑色谱柱是否已用流动相完全平衡。通常平衡需要10-20个柱体积的流动相，但如果在流动相中加入少量添加剂（如离子对试剂）则需要相当长的时间来平衡色谱柱。流动相污染也可能是原因之一。溶于流动相中的少量污染物可能慢慢富集到色谱柱上，从而造成保留时间的漂移。应注意：水是很容易污染的流动相成分。二 固定相稳定性 固定相的稳定性都是有限的，即使在推荐的PH范围内使用，固定相也会慢慢水解。例如，硅胶基质在pH4时水解稳定性最好。水解速度与流动相类型和配体有关。双官能团配体和三官能团配体比单官能团配体的键合相要稳定；长链键合相比短链键合相稳定；烷基键合相比氰基键合相稳定的多。经常清洗色谱柱亦会加速色谱柱固定相的水解。其他硅胶基质键合相在水溶液环境中也可以发生水解，如氨基键合相等。三 色谱柱污染 保留时间漂移的另一个常见原因是色

谱柱污染。HPLC色谱柱是非常有效的吸附性过滤器，它可以过滤并吸附流动相携带的任何物质。污染源可以是：流动相本身，流动相容器，连接管、泵、进样器和仪器密封垫，以及样品等。通常通过实验可判断污染的来源。样品中如果存在色谱柱上保留很强的组分，就可能是使保留时间漂移的潜在根源。这些根源通常是样品基质。如：配药中的赋形剂，生化样品（如血清）中的蛋白及类脂类化合物，食品样品中的淀粉，环境水样中的腐殖酸等。通常样品中的强保留组分具有较高的分子量，在此情况下，保留时间漂移的同时或其后会有反压的增加。可以通过使用固相提取（SPE）等样品前处理方法来去除样品基质的影响。避免色谱柱污染最简单的方法是防患于未然。相比之下，找到问题的所在并设计有效的清洗步骤以去除污染物要困难的多。通常使用在给定色谱条件下的强溶剂，但并非所有污染物都可以在流动相中溶解。如THF可去除反相色谱柱中的许多污染物，但蛋白在THF中就不能溶解。DMSO常常用于去除反相色谱柱中的蛋白。使用保护柱是个非常有效的方法。反冲色谱柱仅是不得已时采用的办法。

四 流动相组成 流动相组成的缓慢变化也是保留时间漂移的常见原因。如流动相中易挥发组分的挥发及循环使用流动相等。

五 疏水坍塌 当小孔径、端基封口良好的反相填料色谱柱使用接近100%的水为流动相时，有时会发生分离突然丧失及被分析物质保留明显降低或完全不保留的现象，这就是疏水坍塌。此现象是由流动相不浸润固定相表面而致。挽救的办法实现用含大量有机组分的流动相浸润固定相，再用高水含量的流动相进行平衡。由是色谱柱长期储存也会发生此现象。使用内嵌极性基团的反相色谱柱（如Waters

SymmetryShield RP色谱柱) 或非端基封口的色谱柱(如Waters Resolve色谱柱) 也可避免发生坍塌。 100Test 下载频道开通, 各类考试题目直接下载。详细请访问 www.100test.com