

色谱峰前移或后移原因及解决办法简介

侯建军

(北京雪迪龙科技股份有限公司, 北京 102200)

摘要: 保留时间是色谱分析的重要指标之一, 分析要想准确, 色谱峰保留时间就得稳定、准确。而分析过程中由于某些变化因数影响, 色谱峰保留时间往往不是特别稳定, 有时会前移有时也会后移, 有时直接导致定性分析错误, 分析结果错误。

关键词: 色谱峰; 保留时间; 移动

色谱分析通常首先得定性分析, 最终是定量分析, 所以定性分析是非常重要且不可忽视的。定性分析一般是用色谱峰保留时间来判定的, 这就对色谱峰保留时间有了要求, 保留时间得稳定, 不能有大的变化, 否则定性分析可能就会出错或影响定量分析(色谱峰宽、峰高、峰面积与保留时间有一定关系, 一般保留时间短色谱峰宽小, 峰高高, 峰面积偏小; 保留时间长色谱峰宽大, 峰高低, 峰面积偏大)。

实验员在实验过程中经常会碰到色谱峰前移或后移的现象(色谱峰保留时间逐渐变短说明色谱峰前移, 色谱峰保留时间逐渐变长说明色谱峰后移), 有时会对实验结果产生不小的影响。下面我们就以高效液相色谱为例简单介绍一下这一类问题发生的原因及应对办法。

色谱讲究的是分离, 保留时间长短主要也是由色谱分离决定的。影响色谱分离的因素主要有色谱柱、流动相、流速、色谱柱温度等。

温度影响色谱柱分离时间, 一般色谱柱温度越高色谱分离越快, 保留时间越短, 反之相反。如果早上上班实验室温度较低, 开启加热设备开始工作, 实验室温度逐渐升高, 如果在这期间实验, 色谱峰保留时间会由长变短。如果上班实验室温度较高, 开启制冷设备开始工作, 实验室温度逐渐降低, 如果在这期间实验, 色谱峰保留时间会由短变长。所以实验时实验室温度一定得稳定, 不能有大的变化或波动, 避免空调等控温设备正对着液相色谱仪或近距离吹风。另外系统中加一个可靠的柱温箱也是很好的选择。

流速影响。在允许范围内流速越大色谱分离越快。仪器开启后液相泵要大流速冲洗(废液从放空阀排走), 以便泵流速快速达到正常。一般由于实验室温度、流动相中气泡、液相泵内之前的流动相等影响, 液相泵开启后流速偏低而后缓慢升高, 如果流速没平衡好就开始实验, 色谱峰保留时间一般会由长逐渐变短。大家都知道流动相中气泡多会影响液相泵流速。

有的液相色谱仪没配置在线脱气机，脱气靠超声波振动仪振动实现，这样的话刚振动脱完气的流动相中气泡较少，液相泵流速不受影响，但时间一长，空气中的气体会溶解到流动相中，流动相中气泡又会多，泵流速又会降低，色谱峰保留时间又会变长。流速是色谱条件的重要组成部分，所以液相泵流速一定要控制好，最好配上在线脱气机。

流动相成分影响。大家都知道对于反相色谱，流动相中有机相成分含量越高色谱峰保留时间越短，反之越长。这个配好的流动相正常情况下对色谱峰保留时间是没有影响的，但有一种情况有影响。流动相中有机相成分很多时候是会挥发的，尤其是流动相不多的时候相对挥发的会更快，这个时候流动相中有机相成分比例下降，实验时色谱峰保留时间会越来越长。所以实验时流动相不多时有时也会影响色谱峰保留时间，如果对实验要求较高，建议这时添加、更换流动相或停止实验。有人这时可能会问多少算多，多少算不多，个人建议以100ml 或 3cm 高为界，100ml 或 3cm 高以内算不多。

色谱柱影响。色谱柱柱效下降，分离效率也就下降了，色谱峰保留时间也就越来越长了。那什么会影响色谱柱柱效呢？第一色谱柱长时间连续使用柱效会下降；第二单次实验后对色谱柱洗脱时间不够或洗脱的不充分，色谱柱柱效会慢慢下降；第三色谱柱受污染柱效会下降；第四色谱柱也有寿命，使用的时间长了色谱柱离报废的时间就会越来越短，柱效也会越来越低，色谱峰保留时间就会越来越长。这个使用时就得注意了，色谱柱维护的好了使用的效果也好寿命也长，维护不好用不几次可能就报废了。

另外流动相 PH 值，系统压力，不同色谱柱（不同规格型号或不同长短），连接件或连接管路粗细长短（比如柱后连接有衍生仪，衍生仪及连接管路也可能会有影响）等因素都可能影响到色谱保留时间。

色谱峰前移或后移影响实验效果，以上主要总结了四方面影响色谱峰前移或后移的原因及解决办法，供广大实验室同胞们参考讨论。