

温度影响水中溶解氧影响高效液相色谱分析

这是发生在几年前的一件事，当时我在一家生产液相色谱仪公司做技术支持，有一家药企，买了我们三台高效液相色谱仪，检测中药材成分含量。那是一个冬天，天气异常寒冷，实验室没有暖气，取暖仅靠一台小功率空调，实验室温度经常在 10℃左右。那段时间客户经常做三七药材中人参皂苷检测，检测过程中经常出现某些组分重复性差，甚至都不出峰，售后服务去了好几拨人都没解决，后来公司派我去紧急支援。我第一次去怀疑是客户用的实验试剂及配制，色谱条件设置等有问题，所以确认了甲醇、纯净水等没问题，亲自配了流动相，重设了色谱条件。运行两小时基线、色谱柱温度、检测池温度、氘灯温度及能量等色谱参数稳定，开始进样，连续进样 6 次，所有组分都出峰，重复性大概 3.6%，客户勉强接受。以为该疑难问题解决，主要问题是客户试剂及配制或色谱条件设置等的操作问题。

没想到刚没过几天，客户说以上问题依然存在，要求在两天时间内解决，否则退货。一涉及到退货，这问题就大了，产品部紧急召开会议讨论分析，布置任务。主要任务首先还是不无例外的落到我的头上，要求一天内找到问题根源，一天内解决问题。这任务是又紧急又重要又难解决的呀。

我先是在我们实验室做试验，实验结果正常没发现问题，后找了一间和客户实验室温度差不多的实验室折腾了大半夜，实验结果和客户现场类似，重复性差。前前后后折腾了差不多一天半夜时间问题找到了，就是实验室温度太低的原因。但问题根源是什么呢，温度低仪器就不能正常工作吗？

后我反复看实验现象和实验数据，感觉实验现象和流动相中溶解的气太多的现象很像（输液泵压力显示不太稳定，波动略大；基线噪声忽大忽小，基线很难稳定，而且经常会出现小鼓包，有时从检测器出口透明的废液管可以看到有气泡流出等），我们实验前流动相超声波脱过气呀，怎么会溶解了很多气呢？后我又想起之前有实验室同事说过，实验用水如果从温度低的地方拿过来直接用或是温度没恢复就用（高效液相色谱用）实验效果会差一些。所以可能是实验用水温度低导致了水中溶解的气多了，影响了实验结果。

先不管那么多了，先给系统加一台在线脱气机看看效果。我的那个天，真是苍天不负有心人，效果真还不错，定性重复性 0.5%以内，定量重复性 1%以内，这个结果客

户也很满意。这就算完成任务了，2 天时间还没用完，另外还又卖给客户三台在线脱气机。

高效液相色谱流动相中最怕溶解多的气体，溶解气体多会对实验造成很大影响。为了弄清这个事后来我们又做了一些水中气体溶解度实验，发现氮气基本不溶于水，水中溶解的基本都是氧气。大气压大概是 102kPa 温度 5°C 时 1L 水溶解的氧气大概是 0.045L，20°C 1L 水溶解的氧气大概是 0.03L，温度越高氧气在水中的溶解度越小。查阅了一些资料，发现记载的都是在 0°C 1 个标准大气压时 1 体积水能溶解 0.049 体积氧气，此时氧气的溶解度为 0.049；20°C 1 标准大气压时，氧气的溶解度是 0.031，温度越高氧气在水中的溶解度越小。这也不难解释烧水过程中（未烧开之前）水面会有气泡冒出，说明水温升高气体溶解度小，气体会自动从水中析出。夏天温度高水中的鱼总爱飘在水面上，那是因为夏天温度高，水中溶解的氧气少，鱼漂在水面上呼吸水面的氧气（鱼飘在水面上原因之一）。

我大概总结了下，高效液相色谱流动相中溶解的气多时（系统不带脱气机等装置），会出现的一些实验现象，输液泵输出液体的流量偏低而且不稳定，直接体现压力显示不稳定，波动偏大，导致出峰时间偏晚，重复性偏差；基线噪声忽大忽小，经常会规律性波动，有时会有漂移，基线上经常会出现小鼓包；废液管出口会看到有气泡流出等。直接影响检测结果。

最后提醒大家气泡小影响大，高效液相色谱用的试剂一定要等温度恢复室温（20-30°C）再用，或是直接来个高配，配上在线脱气机（一般情况下配上在线脱气机效果会很好）。