

# 关于来自试样溶剂中溶解空气的峰

(选自 LC talk Vol. 39)

在 HPLC 分析中，常常出现来路不明的峰（鬼峰），使人烦恼。特别是在药品的不纯物试验时，是件难办的事。产生鬼峰的原因各式各样，但出乎意外的原因之一是由于试样溶剂中的溶解空气。本文以反相分离 / 检测中的例子来谈。

## 1、来自溶解空气（氧气）峰的出现

试样溶液和流动相之间如果有有机溶剂的种类或组成不同，可预想到会出现什么样的峰。但是，即使流动相将它作为试样溶液注入时，也会出现峰。然而，被保持并洗脱出来的“究竟是什么”？其中原因之一，是溶解空气量（uv 检测时，特别是溶解氧气量）的不同引起的。图 1，是甲醇 / 水混合液流动相在线脱气时，将流动相作为试样注入。变化溶解氧气浓度注入进行比较。

试样（流动相）原样，即空气饱和状态下注入时，出现峰（图 1 a，注入 10 $\mu$ L 时约为 10mAbs）这个峰在试样（流动相）用氦脱气后（溶解氧气浓度几乎为零）注入时，几乎没有（图 1 b）。另外，氧气吹扫时（溶解氧气浓度约为空气饱和时的 5 倍）增大（图 1 C）。

另一方面，流动相不在线脱气时，试样（流动相）在空气饱和下注入，峰也几乎看不到（图 2 a）试样用氦清洗时可看到负峰（图 2 b）。从这些结果看，可以认为是流动相和试样溶剂中溶解氧气量不同而出现峰。

## 2、峰的大小

再来看看这个峰的大小。图 3 是空气饱和（未脱气）的甲醇与脱气后的甲醇的光谱的比较。甲醇脱气后吸收变小。1）吸收差根据波长而异，在 210nm 时是 300m Abs 以上，254nm 时约为 10mAbs 由此值单纯计算脱气的甲醇中注入空气饱和的甲醇时的峰高度。流量 1ml/min 注入 10 $\mu$ L 时，假设峰段定为三角形，底边 0.4 分时峰的高度是 210nm 时 15mAbs 以上，254nm 时为 0.5mAbs。短的波长上，形成结构大的峰。那么其他溶剂又怎样呢？各种溶剂由空气饱和的溶剂光谱减去脱气溶剂光谱的差光谱如图 4 所示。各种溶剂的吸收由于溶解空气而增大，但水、乙腈受容解空气的影响小，而正己烷、甲醇、THF 受影响大。

而且，它们的吸收变化量与溶剂的氧化溶解度的关系不一致。例如，氧气溶解度正己烷要远远大

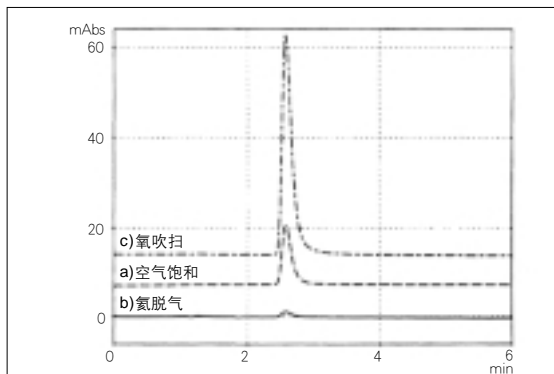


图 1 流动相注入时出现的峰（通液流动相，脱气）

<分析条件>

试样： 流动相 10 $\mu$ L, a) 空气饱和, b) 氦脱气, c) 氧气吹扫  
柱： STR ODS II (4.6  $\times$  150mm)  
流动相： 甲醇 / 水 = 85/15 (脱气)  
流量： 1ml/min 温度： 40 $^{\circ}$ C 检测： 210nm

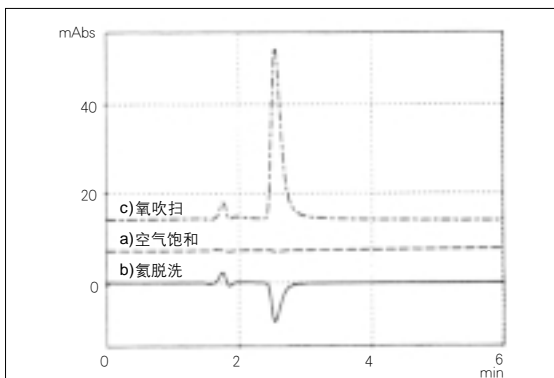


图 2 流动相注入时出现的峰（通液流动相，未脱气）

<分析条件>

流动相未脱气。其他与图 1 同。

于甲醇。2）而吸收变化小。因此，吸收的由来，不单是由于氧的吸收，而是氧与溶剂相互作用的结果。

## 3、峰的洗脱位置

认为是溶解氧引起的峰，也许会想到洗脱快。但是，像试样成分保持动作那样，流动相中的甲醇比率下降时，洗脱慢。图 5 的洗脱例中，流动相和试样溶剂是相同的溶剂组成。另外，使用磷酸缓冲液代替水时，显示同样的倾向。如此，此峰有与目标成分不能分离的可能性。

而且随着甲醇比率的降低，峰也变小。

#### 4、来自溶解空气峰的检验方法

在使用气液分离膜脱气器中，有可能来自溶解空气的可疑峰时，用如下的方法进行检验。如果相符，则其可能性很高。

1) 试样溶剂，注入量相同时，几乎是相同的洗脱位置，按大小出现。这时，为使试样溶液空气饱和，搅拌（摇晃）或半开放放置。用试样溶剂稀释后注入X倍容量，得到约X倍的面积。

2) 注入流动相（空气饱和），出现峰的洗脱时间，与可疑峰的洗脱时间一致。这时，流动相脱气后（氦10秒钟左右脱气）注入时，峰变小。

3) 不通过脱气器输送流动相，注入试样溶剂时，峰变小。注入空气饱和的流动相时，一定比2)时小。但是试样溶剂组成与流动相相差很大时不一定变小。

#### 5、对策

完全消除溶解空气造成的峰是很难的，可考虑使其变小（这里用的基本流动相条件是甲醇/水）。

1) 甲醇类流动相改为乙腈（HPLC用）类。变更时要考虑洗脱力和分离选择性（参照本杂志P 6页）。

→如允许变更条件，此法较好。

2) 降低流动相中的甲醇比率。这时重新选择适于分析的柱（保持弱的柱，长度短的柱）。

→但是，放弃 ODS，缺少通用性，需一定的技术知识。

3) 流动相停止在线脱气。

→停止后，因流路中产生的气泡而发生故障，定量精度恶化，可能得不到检测的稳定性能<sup>1)</sup>最好不用。

4) 在试样溶剂注入前脱气。只需氦脱气10秒左右，脱气效果好。

→但是，作业复杂，连续运转时难于达到预期效果。

另外，改进与对象成分分离的方法是：

1) 目标成分为离子性时，改变流动相的PH，变化目标成分的洗脱位置。

2) 改变有机溶剂的种类。

这些应在开发基本的方法时研究。如上所述，即使可判断鬼峰来自溶解空气，也会遇到不能解决的情况。但是找出原因对分析条件的开发、管理等方面都非常重要。

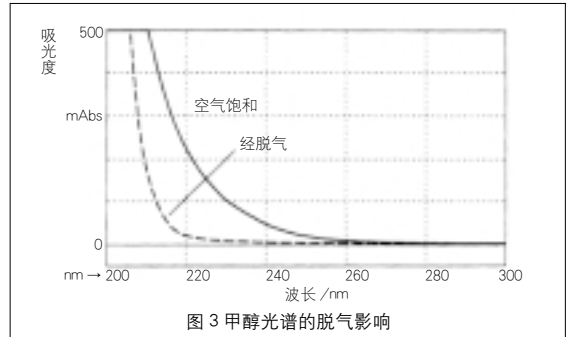


图3 甲醇光谱的脱气影响

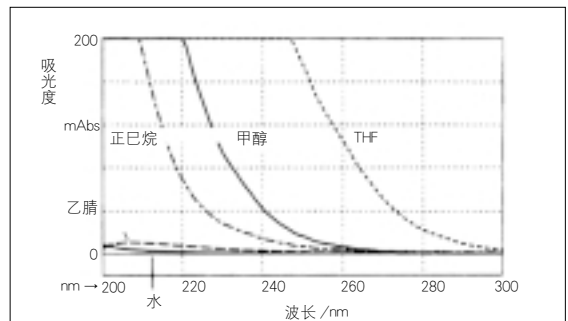


图4 因各种溶剂中的溶解空气而吸收增加部分的光谱\*

\* 从空气饱和的溶剂光谱中减去脱气后溶剂光谱。  
水：纯水，乙腈：HPLC用， 甲醇：HPLC用，  
THF = 四氢呋喃：HPLC用 正己烷：HPLC用

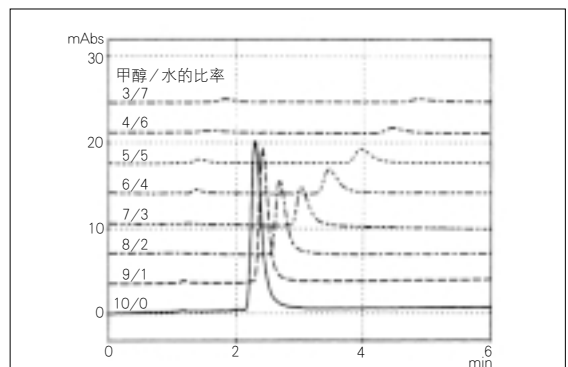


图5 流动相中甲醇比率对洗脱位置和面积的影响

(洗脱位置根据柱的不同经历而异)

<分析条件>

试样：流动相10μL，空气饱和

柱：STR ODS II (4.6 × 150mm)

流动相：甲醇/水（比率图内记载）经脱气

流量：1mL/min 温度：40°C 检测：210nm

1) Lc talk 特辑 v 《流动相的脱气》(1991)

2) S. R. Bakalyar, M. P. T. Bradley and R. Honganen, Jchromatogr 158277-293(1978)