

在 LC-30A 液相系统中乙醇作流动相的适用条件初探

LC-072

摘要： 本文使用乙醇作为流动相，在不同的乙醇 / 水浓度配比、温度、流速的条件下，测定在超高效液相色谱 LC-30 A 系统内产生的压力，从系统压力的角度上得出乙醇作为流动相使用时对柱温、流速等因素的要求。

关键词： 乙醇 流动相 超高效液相色谱

目前反相高效液相色谱常用的乙腈 / 水和甲醇 / 水体系都有毒。乙醇和甲醇的性质相似却无毒，理论上乙醇是可以用作流动相的。而一般情况下不选择乙醇作流动相，是因为乙醇的粘度相对较大，用作流动相时产生的系统压力太大。以水的粘度作 1 计，乙醇 1.2、丙酮 0.32、甲醇 0.60、乙腈 0.37。较高的粘度限制了乙醇作为流动相在液相色谱中的应用。

近年来，随着超高效液相色谱的出现，解决了液相色谱分析过程中柱压引起的限制。如岛津公司的 LC-30A 系统的耐压高达 130 MPa。此外，还可以通过提高柱温的方法来降低流动相的粘度，从而降低系统压力，LC-30A 的柱温箱最高使用温度已经可以达到 150°C。除了液相色谱本身的性能外，色谱柱也要求耐压和耐高温。如今岛津公司的第三代快速液相色谱柱 Shim-pack XR-ODS III 的最高耐压可达 100 MPa，最高使用温度为 80°C，这些性能都为乙醇作为流动相的使用扫清了障碍。

本文通过测试 LC-30A 液相色谱在不同乙醇 / 水体积配比、柱温和流速条件下产生的压力，从而从系统压力的角度得出乙醇作为流动相使用的适用条件。

实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂：

色谱纯乙醇
超纯水

1.1.2 仪器：

LC-30A

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III
(2.0 mm × 150 mm, 2.2 μm);

流动相：A：水；B：乙醇；

洗脱方式：梯度洗脱

Time	Module	Command	Value
0.00	Pumps	B.Conc	5
20.00	Pumps	B.Conc	5
20.01	Pumps	B.Conc	10
40.00	Pumps	B.Conc	10
40.01	Pumps	B.Conc	20
60.00	Pumps	B.Conc	20
60.01	Pumps	B.Conc	30
80.00	Pumps	B.Conc	30
80.01	Pumps	B.Conc	40
100.00	Pumps	B.Conc	40
100.01	Pumps	B.Conc	50
120.00	Pumps	B.Conc	50
120.01	Pumps	B.Conc	60
140.00	Pumps	B.Conc	60
140.01	Pumps	B.Conc	70
160.00	Pumps	B.Conc	70
160.01	Pumps	B.Conc	80
180.00	Pumps	B.Conc	80
180.01	Pumps	B.Conc	90
200.00	Pumps	B.Conc	90
200.01	Pumps	B.Conc	95
220.00	Pumps	B.Conc	95
220.01	Pumps	B.Conc	100
240.00	Controller	Stop	

流速：0.2 mL/min；

紫外检测波长：254 nm。

1.3 不同条件下乙醇/水产生的系统压力测试

在 LC-30 A 标准配置的液相色谱仪中，接入在超高效液相色谱仪中最常用的色谱柱 Shim-pack XR-ODS III (2.0 mm × 150 mm, 2.2 μm)，柱后接紫外检测器。分别在 30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃ 柱温下，按照梯度洗脱程序进行压力测试。由于乙醇/水产生的压力较高，为保护色谱柱，设定流速为 0.2 mL/min。根据流速与压力成正比的关系，推断出该色谱柱在最佳使用流速 0.4 及 0.5 mL/min 下产生的压力。

结果讨论

2.1 不同柱温及乙醇/水比例条件下的压力测试结果

在不同温度条件下得到流速 0.2 mL/min 时的压力曲线，其中在 30℃ 和 80℃ 时的实验结果分别如图 1 和图 2 所示，由此分别得到在不同温度及不同乙醇浓度配比下的压力值。由于压力与流速成正比，将此结果乘以 2，近似可得到流速为 0.4 mL/min 时的压力值，结果见表 1，以此结果绘制的流速为 0.4 mL/min 时不同柱温及乙醇浓度下产生的压力曲线结果见图 3。

根据结果可知，在流动相中，随着乙醇比例的提高，压力先是逐渐提高，乙醇比例到达 60% 时，压力最大。此后，随着乙醇比例的提高，压力又逐渐下降。而且，随着温度的提高，系统内的压力会逐渐降低。如乙醇的比例为 60% 时，各温度下系统的压力变化见图 4。

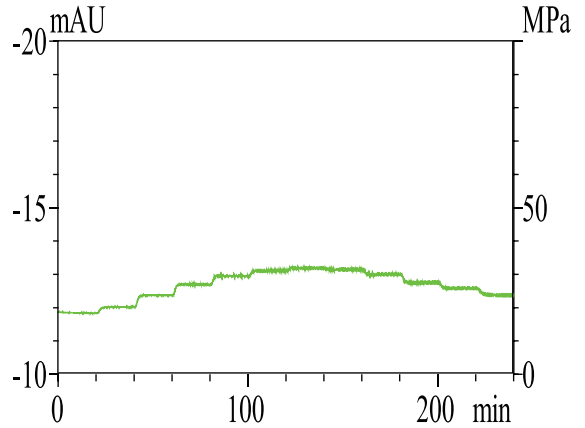


图2 80℃柱温下的系统压力

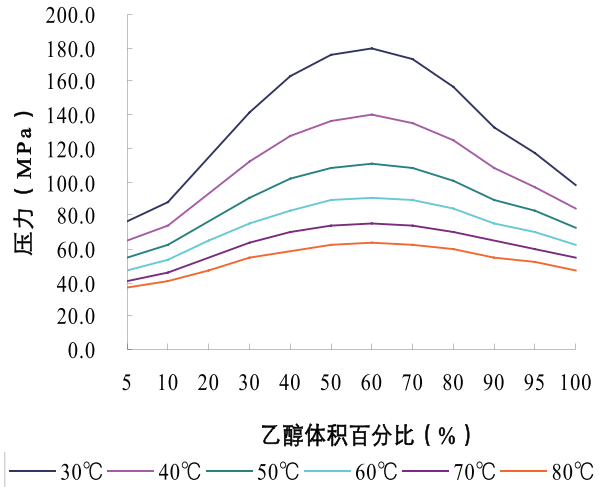


图3 不同实验条件下的压力

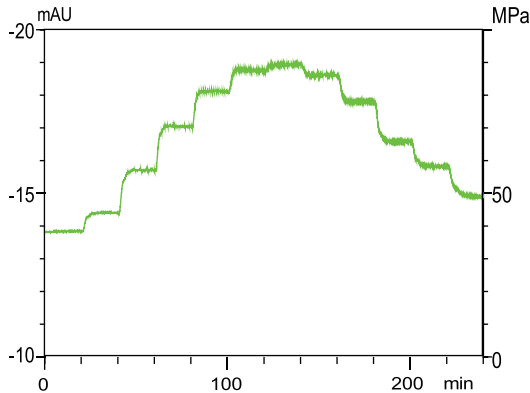


图1 30℃柱温下的系统压力

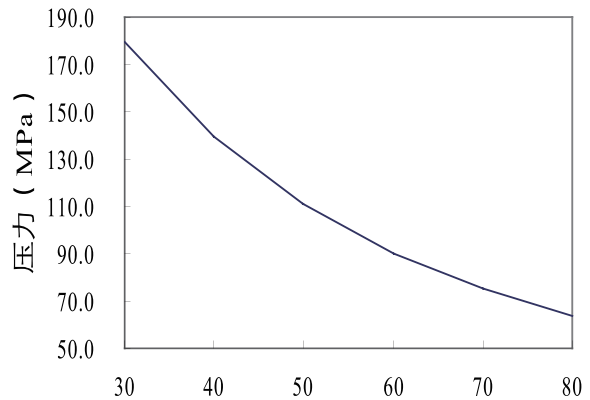


图4 乙醇/水为60/40时不同温度下的压力

表1 流速0.4 mL/min时的压力值 (MPa)

乙醇/ 水	柱温 (°C)					
	30	40	50	60	70	80
5/95	77.0	64.4	54.8	47.4	41.4	36.8
10/90	88.4	73.6	62.4	53.4	46.2	40.6
20/80	114.4	93.0	76.8	64.6	55.2	47.6
30/70	141.0	112.0	91.0	75.4	63.4	54.2
40/60	162.6	127.6	101.6	83.4	69.8	59.2
50/50	175.4	136.8	108.0	88.8	74.0	62.4
60/40	179.2	139.6	110.6	90.0	75.6	63.8
70/30	172.8	135.4	108.2	89.2	74.4	63.0
80/20	156.4	124.4	100.8	84.0	70.6	60.4
90/10	132.0	108.0	89.6	75.6	64.4	55.2
95/5	116.8	97.2	82.2	70.0	60.0	51.8
100/0	98.4	84.0	72.4	62.8	54.4	47.6

表2 流速0.4 mL/min时乙醇的适用范围

乙醇/ 水	柱温 (°C)					
	30	40	50	60	70	80
5/95	○	○	○	○	○	○
10/90	○	○	○	○	○	○
20/80			○	○	○	○
30/70				○	○	○
40/60				○	○	○
50/50				○	○	○
60/40				○	○	○
70/30				○	○	○
80/20				○	○	○
90/10			○	○	○	○
95/5			○	○	○	○
100/0		○	○	○	○	○

○表示此条件下系统不超压

2.2 乙醇作为流动相在不同实验条件下的适用范围

该色谱柱的最高使用压力为 100 MPa, 考虑到缓冲盐的使用、梯度变化、样品净化效果等因素对柱压带来的影响, 在实验结果中以产生 90 MPa 压力时的实验条件作为乙醇使用的适用条件。流速为 0.4 mL/min 和 0.5 mL/min 时所对应的乙醇适用的实验条件分别见表 2 和表 3。

流速 0.4 mL/min, 柱温在 60°C 以上的条件下, 乙醇/水在各种比例下均不会超压。当流速变为 0.5 mL/min 时, 为满足此条件, 需要将温度提高至 80°C。可见, 只要把柱温升高, 就能解决乙醇带来的压力大的问题。而对于某些乙醇/水比例的流动相组成, 即使使用相对较低的柱温, 也可保证不超过 90 MPa 的安全阈值。0.4 mL/min 和 0.5 mL/min 两个流速下, 各乙醇/水流动相组成所需要的最低柱温见表 4。

表3 流速0.5 mL/min时乙醇的适用范围

乙醇/ 水	柱温 (°C)					
	30	40	50	60	70	80
5/95		○	○	○	○	○
10/90			○	○	○	○
20/80				○	○	○
30/70					○	○
40/60					○	○
50/50						○
60/40						○
70/30						○
80/20					○	○
90/10					○	○
95/5				○	○	○
100/0				○	○	○

表4 不同流动相组成所需的最低柱温

乙醇/水	最低柱温 (°C)	
	0.4mL/min	0.5 mL/min
5/95	30	40
10/90	30	50
20/80	50	60
30/70	60	70
40/60	60	70
50/50	60	80
60/40	60	80
70/30	60	80
80/20	60	70
90/10	50	70
95/5	50	60
100/0	40	60

结论

本实验使用 LC-30A 系统，测试了流速为 0.2 mL/min 时，乙醇 / 水组成的流动相体系在不同柱温及不同体积配比的条件下所产生的压力，以此推算出色谱柱在两个最佳柱流量下的系统压力。在流速为 0.4 mL/min 时，将柱温设定为 60°C 以上可以保证乙醇在各种浓度下均不超压。而将流速提高至 0.5 mL/min 时，需要将柱温设定为 80°C。同时，流动相在某些浓度配比下，可以使用更低的柱温即可满足系统不会超压。应采用较低的流速和柱温来满足部分高温敏感样品的分析。以上结论证明，在满足分离度及样品热稳定性的条件下，可以通过升高柱温的方式，用乙醇在超高效液相中替代甲醇、乙腈等高毒性流动相来使用。