

从 HPLC 色谱柱上去除样品残余物

(Thermo Hypersil-Keystone)

作者: L. J. Switalski

因为样品中经常会含有能够吸附在色谱柱固定相上的杂质化合物,所以应该经常对色谱柱进行清洗或冲洗。当色谱柱在多次进样后显示出柱效降低时,有必要采用适当的流动相对色谱柱进行处理,冲洗除去吸附在固定相上的污染物和样品残余物。

方法如下:

- 将色谱柱从系统上取下,反向连接到输液泵上。色谱柱出口不要连接到检测器上,以免污染检测器流动池。

*大多数的硅胶基质色谱柱反相冲洗没有问题,但是聚合物基质色谱柱并不能如此操作,在反相冲洗色谱柱之前最后与色谱柱生产商确认,反向冲洗流动相流速不要太大。

- 冲洗溶剂的选择要考虑分析的样品和使用的流动相条件,一般清洗流动相强度应该比流动相更强,但是条件应该尽可能的温和。

A. 用适当的溶剂冲洗色谱柱的盐和强添加剂。

B. 用比分析流动相更强的溶剂冲洗,该溶剂与流动相组成相同但不含盐和酸。

C. 如果认为 B 步骤没能完全清洗干净色谱柱,用 100%最强溶剂冲洗。

在清洗色谱柱时,最好用与流动相组成相同的溶剂,但是如果使用其他的溶剂,最重要的是要考虑到溶剂之间的互溶性,另外不要用强酸和强碱。

下图是采用不同洗脱能力的流动相冲洗色谱柱时的色谱图,可见色谱柱上的杂质逐渐被洗脱下来。

Hypersil® ODS, 3µm, 80x4.6mm
Part No.: 30103-084630
Flow: 1.0 mL/min
Detector: UVe 254

