



# 解决 (U)HPLC 环境中不稳定溶剂相关问题的最佳实践

## 前言

本技术简报介绍了如何在 (U)HPLC 环境中安全地使用不稳定溶剂，以及如何避免损坏仪器或分离柱。

如果存在游离卤化物、氢过氧化物、自由基或强氧化性酸，则可能腐蚀不锈钢系统。在非理想条件下，几种溶剂可能发生反应，并且产生有害化合物。使用以下溶剂时应防止形成反应物质：

- 碱金属卤化物及各自的酸（例如碘化锂、氯化钾等）溶液
- 高浓度无机酸（如硫酸和硝酸），特别是在较高温度下
- 可形成自由基和/或酸的卤代有机溶剂或混合物（例如氯仿、二氯甲烷）
- 色谱级醚类，可能含有过氧化物（如 THF、二氧六环、二异丙醚）
- 含强络合剂的溶剂（例如 EDTA）

另外，在氧气存在的条件下，醚和环醚容易降解。形成的氢过氧化物会损害仪器内的某些组件，可能导致仪器故障。

通过控制溶剂瓶中的环境条件可以最大程度地提高溶剂的稳定性。最有效的措施是避免接触水分、光照和空气。如果有现成的惰性气体，如氮气或氩气，请额外连接一条管路到溶剂瓶，使溶剂瓶顶空始终保持干燥的惰性气体。惰性气体流速不需要太大，因为溶剂流出速度很慢。一般来说，每分钟几个立方厘米的气流就已足够。

一些反应是由热或光催化的，因此要避免阳光直射或靠近热源。建议仅使用深色溶剂瓶。

有关稳定剂的详细技术简报，请参阅 Sigma-Aldrich 网站。

<http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/solvents/learning-center/stabilizer-systems.html>

通常，强烈建议在使用前过滤所有溶剂。此建议不适用于反应活性溶剂（缓冲液或改性溶剂除外），因为在用于色谱系统之前，露天倾倒溶剂可能导致溶剂在预处理过程中降解。



注意

当使用经稳定的溶剂，例如含有 BHT 或乙醇的 THF 时，过滤不会导致不必要的反应。参见第 5 页“溶剂建议”。

理想情况下，在原装溶剂瓶中使用溶剂。如有必要，用一个带有 2 个孔且适配的盖子将其密封，这 2 个孔可容纳溶剂管线和惰性气体管线，以防止空气在容器内循环。安捷伦溶剂管线的外径约为 1.6 mm。

使用小容量溶剂瓶 ( $\leq 1$  L) 可以在合理的时间内使用完溶剂，防止溶剂老化，避免不必要的反应。当系统未使用时，使用较小的流速 ( $\sim 0.1$  mL/min) 通过流路。在仪器空闲时间内请勿再循环或回收溶剂。

注意

稳定剂会随着时间的推移而耗尽，很难监测其浓度。经稳定的溶剂回收最多 3 次后需弃掉。

在开放储存期间，一些反应产物的浓度可能增加（例如当收集馏分以及蒸发浓缩时），从而导致重大风险。氢过氧化物可以作为接触爆炸物，并且已有报道残留溶剂材料会发生自爆炸。

## 改变溶剂

即使 HPLC/GPC 仪器的环境条件保持不变，也可能需要改变操作参数来抵消化合物和聚合物的改变。从水变为有机溶剂之前，必须将色谱柱、毛细管和检测器（包括 RI 检测器的参比池）中的缓冲液完全冲洗出。确保新溶剂/流动相可与先前使用的溶剂/流动相混溶。如果这些溶剂不混溶，请使用一组过渡混溶溶剂冲洗整个系统。此步骤可防止缓冲液盐析和/或混溶性问题。

## 对硬件的影响

当潜在的有害化合物与硬件接触时，可能会腐蚀硬件。不仅会腐蚀不锈钢，而且还会影响系统的其他部件。即使在流路中仅使用高质量的惰性材料，当经常暴露于腐蚀性污染物时，多个系统组件也会提早显示出磨损迹象。

## 泵

### 溶剂管线

长期暴露于反应活性溶剂后，标准溶剂管线会呈浑浊状且变脆。为防止这种情况出现，推荐使用部件号为 **G7120-68070** 的溶剂管线。

### 溶剂选择阀

溶剂选择阀的材料耐受多种不同的溶剂，但当其降解时会导致密封问题，此时可以观察到同一通道的端口 1 和端口 2 之间的交叉流。如果应用中不需要溶剂选择阀，则应考虑避开溶剂选择阀。

当使用低沸点溶剂，如 **DCM**、甲醇、己烷或 **THF** 时，溶剂选择阀内有时会产生小气泡。脱气机可以去除这些气泡。

### 脱气机

脱气机内部使用的材料用途广泛，并且可以耐受各种不同的溶剂。当设备长时间暴露于反应活性溶剂时才会影响脱气效率。由于脱气机内的管线对空气的渗透性很高，因此在未施加真空和没有新溶剂通过脱气机腔体的情况下，脱气机腔体内可能直接发生危险反应。渗透进腔体管线的挥发性溶剂会在脱气机的泵中冷凝并损坏泵。

建议在关闭泵之前冲洗出反应活性溶剂，或当系统未使用时，保持较小的流速 (~0.1 mL/min) 通过脱气机通道。

### 入口阀

通常，在运行具有较高活性的溶剂时应使用标准入口阀和出口阀，条件允许的情况下，推荐使用主动入口阀。只有使用未改性的非极性非质子溶剂时，如碳氢化合物（己烷、庚烷、辛烷、苯、甲苯）、乙酸乙酯等，才推荐使用 **N** 型入口阀。当使用质子溶剂、极性溶剂或反应活性溶剂时，会腐蚀这些阀。

## 柱塞杆

酸化的有机溶剂可能会损坏 1290 Infinity、1290 Infinity II 泵以及 1260 Infinity II 全能泵中的陶瓷柱塞杆，尤其是使用磷酸时。在使用这些溶剂组合或陶瓷柱塞杆反复发生故障的情况下，可以使用蓝宝石柱塞杆替代。

蓝宝石柱塞杆组件（经典款 5067-4695；EM 泵头 5067-6174）

## 柱塞杆密封垫

通常可以使用相应泵类型自带的标准泵密封垫。但是，在运行电导率极低的溶剂（如不含添加剂的碳氢化合物）时，建议使用 PE 密封垫（每包 2 个，0905-1420）代替 G131x 和 G711x 泵中的 PTFE（黑色）密封垫。

## 转子密封垫

自动吹扫切换阀中的转子密封垫可以由不同的材料组成，如聚酰亚胺或 PEEK 混合物。长时间暴露于反应活性溶剂后可能会损坏转子密封垫，损害程度因反应活性溶剂而异。这可能会导致泄漏和压力波动。建议在系统不使用时冲洗出反应活性溶剂或保持较小的流速通过泵。

# 进样器

## 针座

在进样循环过程中，针座处的流路被打开，此时流路暴露于空气中。针座中的材料会受到不稳定溶剂反应的影响，长时间暴露后会变脆。磨损迹象可能会进一步扩大，针头会出现残留或泄漏，在这种情况下需要更换针头和针座。

## 转子密封垫

进样阀中的转子密封垫可以由不同的材料组成，如聚酰亚胺或 PEEK 混合物。长时间暴露于反应活性化合物后可能会损坏转子密封垫，损害程度因反应活性化合物而异。这可能会导致泄漏和峰高变化。建议在系统未使用时冲洗出反应活性溶剂或保持较小的流速通过进样器。

## 泄漏传感器

泄漏传感器外部有一层聚合物。该聚合物通常可以耐受除 DMSO 外的有机溶剂，DMSO 会导致聚合物膨胀。因此，在接触 DMSO 后需要更换泄漏传感器。通常，当检测到 HPLC/GPC 系统中有部件发生泄漏时，泄漏传感器将使流路完全停止。泄漏传感器表面的聚合物通常不会被有机溶剂损坏，但 DMSO 会使其发生膨胀。在 DMSO 泄漏的情况下，传感器将激活停止流速功能，但仍需要更换。

## 溶剂建议

### 卤代有机溶剂

卤代溶剂（主要是氯代溶剂）出售时通常加入了稳定剂，以最大限度减少降解和副反应，常用于色谱和其他应用。我们强烈推荐只使用经稳定的溶剂。

氯代溶剂的常用稳定剂包括一些碳氢化合物、戊烯，也可以使用乙醇（尤其对于氯仿）。当挑选合适的稳定剂时，首先要考虑该稳定剂是否会影响溶剂的色谱性质。碳氢化合物和戊烯稳定剂不会显著改变氯代溶剂的极性 or 选择性；但是，通常用于稳定氯仿的乙醇会增加氯仿的极性，并可能影响正相色谱柱的分离。

通常认为氯仿的毒性低于 DCM 或 HFIP。不幸的是，聚酰胺和其他难以溶解的聚合物（如 PET）在室温下只溶于 HFIP，因此不能避免使用该溶剂。此外，这些溶剂的蒸气容易在实验室中积聚，因此必须定期检查通风效果。对于 HFIP，必须添加 TFA 钠盐 (0.2 mol/L) 以实现正确的色谱分析，并避免聚合物在柱中吸附。

### 醚类

醚类出售时通常加入了稳定剂，以最大限度减少降解和副反应，常用于 GPC。为了避免过氧化物的积累，向溶剂中加入 200 – 500 ppm 的 BHT。对于 RI 检测器，此步骤的影响极小（记录一个较大的溶剂峰）。

在传统 HPLC 或其他应用中使用醚类时，BHT 作为添加剂由于其芳香性质可能导致基线噪音或吸光度增加。在这种情况下，可以使用  $\geq 1\%$  的乙醇作为稳定剂，但乙醇会增加溶剂的极性并改变色谱结果。

我们强烈建议只使用稳定的醚类，但在某些情况下这是不可能的。考虑上述推荐措施，并确保不会产生有害的反应产物。使用容量最小的溶剂容器，并且需要每天更换新鲜溶剂。

之前已打开的溶剂瓶，其中的溶剂可能已无法用于 HPLC/GPC 分析。溶剂与氧气接触时形成的氢过氧化物污染物是重要的紫外线吸收剂，在足够长的暴露时间后会使得溶剂失效。

当醚类溶剂引入 HPLC 时，通过检查紫外吸收背景来检查溶剂的适用性。最常见的是，从流路中取出色谱柱，用甲醇冲洗仪器，并在 230 nm 处对紫外检测器执行自动归零。完成这些工作后，打开一个溶剂瓶引入待考察的醚类溶剂，以常规流速彻底冲洗系统。如果未对紫外检测器进行自动归零，请观察系统引入醚类溶剂并平衡后紫外吸收的偏移。如果基线的紫外吸收增加超过 0.3 个吸光度单位，则该溶剂可能存在问题。如果超过一个吸光度单位或更高，请丢弃该溶剂并打开另一瓶新溶剂继续您的工作。在此测试中，老化或储存不当的醚类溶剂通常会显示出超过两个吸光度单位的偏移。

## 缓冲液和改性溶剂

尽管水不会损坏 HPLC 仪器，但在 HPLC 或 GPC 中很少直接使用不含添加剂的水相。缓冲液（盐）或添加酸都会损坏泵和管线，通常建议避免使用 pH < 2.5 的溶液，除非运行 Agilent InfinityLab 生物惰性解决方案。当 pH > 10 时，应考虑到羟基离子会对石英玻璃和某些聚合物造成腐蚀。在这些条件下工作时，应考虑用 PEEK 或 SST 的溶剂入口过滤器更换标准过滤器。条件允许的情况下，整个系统中阀的转子密封垫应更换为 PEEK 密封垫，以避免泄漏和残留。对于水溶性聚合物，有必要添加 NaNO<sub>3</sub> (0.2 mol/L)，因为它们中的大多数在室温下不溶于 100% 纯水。添加盐可以改变水的温度（此温度下这些聚合物能够溶于水），从而使聚合物可以在室温下溶解。

使用缓冲液或添加酸时，应注意避免结晶盐的积聚。如果在溶剂瓶中发现沉淀，则应配制并使用新鲜溶液。泵柱塞杆周围的结晶可能导致泵柱塞杆/密封垫发生故障，为了防止产生结晶，应使用主动密封垫清洗选件。

## 溶剂替代品

在可能的情况下，应该考虑使用危害程度更小的溶剂代替危害程度高的溶剂。以下给出一些建议：

不良溶剂	替代溶剂
戊烷或己烷	庚烷
二异丙醚、乙醚或 THF	2-MeTHF 或 MTBE 或 CPME
二氯乙烷或四氯化碳	DCM、氯仿
二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺	乙腈
二氯甲烷	乙酸乙酯或庚烷或乳酸乙酯
苯	甲苯

我们目前正在审查和修改我们的一些应用简报，以建议在这些应用中使用危害较小的替代溶剂。

此外，溶剂供应商正在使用更可持续和环保的替代溶剂来改进他们的产品组合。请参阅以下信息：

<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/solvents-and-reagents/greener-solvent-alternatives.html>

## 溶剂缩写

### 酸类

TFA	三氟乙酸
NaAc	醋酸钠
EDTA	乙二胺四乙酸

### 醚类

THF	四氢呋喃
MTBE	甲基叔丁基醚
2-MeTHF	2-甲基四氢呋喃
CPME	环戊基甲醚

### 卤代有机溶剂

HFIP	六氟异丙醇
DCM	二氯甲烷
TCM	三氯甲烷或氯仿

### 有机溶剂

DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砷
MeOH	甲醇

### 稳定剂

BHT	丁羟甲苯
-----	------

