

液相色谱仪的日常维护和故障排除

1、日常维护

1.1 泵

泵是液相色谱仪的心脏，须精心维护和保养。处于良好工作状态的泵，其基线平稳，保留时间重现性好，梯度洗脱时压力变化缓慢而平稳。要使泵具备良好的操作性能，应该保持泵系统的清洁。具体做法如下：

- (1) 要选择优质的溶剂和试剂，在进入仪器前用 0.45 μ m 膜过滤，并进行脱气处理。
- (2) 泵开始使用时，一定要用合适的流动相彻底清洗干净。
- (3) 定期检查并更换在线过滤片及有关的垫圈，并经常清洗进液处的微孔滤头。
- (4) 改变流动相时，应避免沉淀产生，以防止泵堵塞。

1.2 色谱柱

色谱柱是化合物分离的关键。保养良好的色谱柱应具有很高的塔板数，且仪器基线平稳。色谱柱比较娇气，在平时的工作中须注意以下事项：

- (1) 色谱柱不能够碰撞、弯曲或强烈震荡；安装时，一定要保证阀件或管路的清洁。
- (2) 流动相在使用前必须进行脱气处理，尽量不使用或少使用高粘度的流动相。
- (3) 在满足灵敏度的情况下，尽可能使用小进样量。如果样品比较“脏”，要进行净化或提纯处理。
- (4) 分析结束语后，要清洗掉进样阀中残留的样品，并用流动相或适当的溶剂清洗色谱柱。
- (5) 如色谱柱长期不用，应该用适当的有机溶剂保存并封闭或定期给柱子补充合适的流动相。

1.3 检测器

对于紫外检测器，在分析柱平衡的差不多时，开启检测器；在分析完成后，马上关闭检测器。

1.4

2、进样器

分析结束后，应反复冲洗进样口，防止样品的交叉污染或堵塞。常见故障的分析与排除

即使日常精心维护的液相色谱仪，随着使用时间的增加或使用者经验不足也会出现一

些问题或故障。现将液相色谱仪容易出现的故障及解决办法介绍如下：

2.1

保留时间变化

保留时间的变化有三中情况：波动、缩短、延长。

保留时间出现波动时，应检查柱温是否处于恒温状态，如果设置为室温，气温的变化

会引起保留时间的波动，应该设置为恒定温度；等度和梯度间还没有充分达到平衡状态时，应该用十倍以上柱体积的流动相去平衡色谱柱；缓冲液浓度太低时，应换用 $>25\text{mmol/L}$ 的缓冲液；色谱柱被污染或已经接近柱寿命时，应更换保护柱或换新色谱柱。

保留时间缩短时，流速增加，应检查流速的设定；柱温高时，应检查柱的设置；进样量太大时，减少样品用量或降低样品浓度；流动相的组成发生了改变，比如流动相中易挥发有机相蒸发，两相之间互溶不好，会导致流动相不均匀或某一相出现部分沉淀；流动相的 PH 值应保持 3~7.5 范围内，否则会引起柱键合相的流失。

保留时间延长时，流速减小，应检查流速的设定和管路是否有泄露；柱温低时，检查

柱温的设置；流动相的组成发生了改变，比如流动相中易挥发有机相蒸发，两相之间互溶不好，会导致流动相不均匀或某一相出现部分沉淀；检查流动相的 pH 值是否 3~7.5 范围内，否则会引起柱键合相的流失。

2.2 峰拖尾

色谱柱超载时，要减少进样量或稀释样品或使用高容量的色谱柱；色谱柱性能不佳时，更换色谱柱；死体积或柱外体积过大时，将连接降至最低，并对所有连接点作合理的调整，尽可能采用细内径的连接；加入硅羟基，其作用是纯化色谱柱，增加缓冲液的浓度，降低流动相的 pH 值，纯化样品；出现峰干扰时，应清洁样品，调整流动相。

2.3 峰展宽

进样体积过大时，用流动相配样；样品过载时，进小浓度、小体积样品；在进样阀中

造成峰扩展时，进样前后排出气泡，以降低扩散；流动相粘度过高时，提高柱温，并采用低粘度流动相；等度洗脱，保留时间过长时，要增加流速或改用梯度洗脱；柱外体积过大时，[1] 将连接管径和连结管降至最小。

2.4 基线噪声

流动相或检测器中有气泡时,要对流动相进行脱气处理;检测器灯有连续噪声时,更换氘灯;出现由污染引起的随机噪声时,应清洗色谱柱、净化样品、使用 HPLC 级试剂;偶然有噪声时,可能是来自电源的干扰,如果电压不稳时,应采用稳压电源。

2.5 肩峰或分叉

进样量太大或样品浓度过高时,要减少进样量或稀释样品;样品溶剂太强时,应使用软弱的样品溶剂;色谱柱性能欠佳时,应更换色谱柱。

2.6 鬼峰

色谱柱未达到平衡时,要继续平衡色谱柱;样品中溶剂出峰时,使用流动相作样品的溶剂;出现进样阀残余峰时,使用强溶剂清洗进样阀,并改进阀和样品的清洗程序;流动相用水不合格率,应使用 HPLC 级的水。

3、使用注意事项

在使用混合溶剂作流动相时,一定要先混合,再过 0.45um 滤膜;等流动相恢复至室温,用超声波或 He 气进行脱气处理后,方可使用。

更换流动相时,必须按一定的程序进行,否则会产生问题。更换流动相有三种情况:互溶性流动相的更换、无互溶性流动相的更换和缓冲溶液的更换。对于第一种情况,先用准备更换的流动相把吸滤器完全清洗干净,再打开仪器的排液阀,按清洗键,清洗泵中的流动相。

将吸滤器放入新流动相中,减慢流速清洗数分钟后关闭排液阀。接下来清洗色谱柱和检测器检测池直到基线平稳。对于第二种情况,先用与新旧流动相都互溶的中间清洗液(如:异丙醇)清洗,再用新流动相清洗,具体过程与第一种情况相同。对于第三种情况,应先用蒸馏水作为中间清洗液进行清洗,再用新流动相清洗即可。