

# 高效液相色谱仪色谱柱的维护与保养

陆森林<sup>①</sup> 张虎军<sup>②</sup>

**摘要** 高效液相色谱仪是药品检测的主要设备。其中色谱柱是其关键部件。因此,高效液相色谱柱的日常保养与维护显得特别重要。本文就高效液相色谱柱的维护和保养提出了必要的程序和方法。

**关键词** 高效液相色谱仪 色谱柱 柱外效应 色谱柱再生

**中国图书资料分类法分类号** TH776

高效液相色谱仪是各医院药剂科和药品检验所必备的分析仪器。其核心部件液相色谱柱既是一种消耗材料又相当于传感器件。对它的维护和保养关系到测量的准确性,因此对高效液相色谱柱的维护保养至关重要。

## 1 高效液相色谱柱的保养与使用注意事项

高效液相色谱柱是消耗品,因此尽可能地仔细使用会延长色谱柱的寿命。

1.1 色谱柱使用前注意事项 色谱柱的储存液无特殊说明均为评价报告所示的流动相。在使用前一定要注意色谱柱的储存液与要分析样品的流动相是否互溶。如氨基(NH<sub>2</sub>)氟基(CN)柱均为正相条件下评价,所以如果使用条件为反相条件时,请用一中介流动相(如异丙醇)。

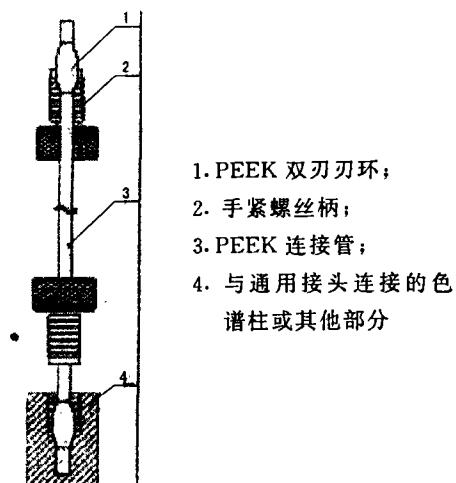


图1 通用接头连接示意图

先置换掉柱内的储存液,然后再应用反相条件;对于C18固定相采用的是甲醇-水为评价流动相,若

要使用含盐浓度较高的流动相,使用前请用超纯水或甲醇含量相对较低的甲醇-水顶替掉原来的评价流动相,否则会对色谱柱造成极大的伤害,将会明显地减少色谱柱使用寿命。

1.2 色谱柱的使用方向 高效液相色谱柱标签上的箭头所示方向是评价时流动相流动的方向,使用过程相流动的方向也最好按此方向。

1.3 流动相 流动相中所用的各种有机溶剂要尽可能地使用色谱纯,或至少是分析纯试剂;配流动相的水最好是超纯水或全玻璃器皿的双蒸水。如果将所配得流动相再经过0.45或0.22μm的滤膜过滤一次则更好,这一点对含盐的流动相尤为重要。另外装流动相的容器和色谱系统中的在线过滤器等装置应该定期清洗或更换。总之,必须保证所使用的流动相和色谱系统是足够的清洁。

1.4 样品 样品也要尽可能的清洁,同样可选用样品过滤器或样品预处理柱(SPE柱)对样品进行预处理;若样品不便处理,要使用保护柱。在用正相色谱法分析样品时,如无特殊要求,所有的溶剂和样品应严格脱水。

1.5 pH值 以常规硅胶为基质的键合相填料高效液相色谱柱通常的pH值适用范围是2.0~10.0。当必须要在pH值适用范围的边界(特别是在8.0≤pH≤10.0时)条件下使用高效液相色谱柱时,每次使用结束后立即用适合于色谱柱储存并与所使用的流动相互溶的溶剂清洗,并完全置换掉原来所使用的流动相。

## 2 色谱柱的保存

2.1 在别无选择的情况下,流动相的使用条件又非常剧烈时(如pH>10.0或pH<2.0),凡是以硅胶为基质的色谱柱,关机前最好用适当的溶剂(如超纯水)将流动相顶替出柱,然后方可短时间或过夜保

作者单位:①湖南省岳阳市制药三厂(湖南·岳阳 414000)

②成都军区总医院器材科(成都 610083)

存。

2.2 如色谱柱要长时间保存,色谱柱必须存于合适的溶剂状态下。对于反相柱可以储存于纯甲醇或乙腈中,正相柱可以存于严格脱水后的纯正己烷中,离子交换柱可以储存于水(含防腐剂叠氮化钠或柳硫汞)中,并将购买新色谱柱时附送的防尘防干裂塑料堵头堵上。对使用过含盐浓度较高的流动相的色谱柱,在储存之前,必须用超纯水顶替掉原来的流动相后,再储存于合适的溶剂状态下。储存的温度最好是室温。

### 3 色谱柱的再生

因为高效液相色谱柱是消耗品,随着使用时间或进样次数的增加,当出现色谱峰高降低,峰宽加大或出现肩峰时,一般来说可能是柱效下降。

3.1 反相柱的再生 采用以甲醇:水=95:5(V/V),纯甲醇,二氯甲烷等溶剂作流动相,顺次冲洗,每种流动相流经色谱柱的量为20-30倍色谱柱体积然后再以相反顺序冲洗色谱柱。

3.2 正相柱再生 顺次以正己烷异丙醇二氯甲烷甲醇作流动相冲洗色谱柱每步注意平衡溶剂的顺序不要颠倒每种流动相流经色谱柱的量为20-30倍柱体积(因异丙醇的粘度较大,冲洗过程中请随时注意调整冲洗的流速),用甲醇冲洗完后,再以相反的顺序冲洗色谱柱。要注意上述溶剂必需严格脱水。

3.3 离子交换柱的再生 长时间在高pH值和高离子强度缓冲溶液中使用,将导致色谱柱离子交换能力降低。用稀酸缓冲溶液冲洗,可使阳离子柱再生;反之,用稀碱缓冲溶液冲洗,可使阴离子柱再生。以上色谱柱的再生方法并不是绝对的标准方法,使用者可根据自己的实际经验和目的,选择合适的并能溶解柱内污染物的溶剂作流动相,按正方向或反方向的冲洗。但是需要指出是,无论采用什么方法再生色谱柱,均不可能完全恢复柱效或其他参数至新柱水平。

### 4 色谱柱在使用过程中易出现的问题和解决方法

高效液相色谱柱在使用过程中最容易碰到的问

题就是柱压升高。如果柱压是在长时间使用过程中缓慢地增加,通常这属于正常现象。但柱压在使用过程中突然升高(系统管路堵塞除外),可能的原因有如下几点:

- 4.1 色谱柱头中过滤筛板(图1)中的2#部件污染;
- 4.2 色谱柱头内的填料被污染;
- 4.3 色谱柱内缓冲液中的盐遇到高浓度的甲醇或其他有机溶剂,形成结晶析出;
- 4.4 流动相pH值过大或过小使固定相结构破坏或溶解;解决方法如下:

4.4.1 当断定是色谱柱头中过滤筛板污染时,可将柱头螺丝卸下,取出过滤筛板,并将其放置在30%左右的稀硝酸内,用超声波超声清洗约10分钟后,再用超纯水超声约10分钟,重新装入色谱柱内;

4.4.2 当断定是色谱柱头内的填料被污染时,可将柱头螺丝卸下用专用小匙挖出柱内前段被污染的填料,用相同的柱填料重新填入,仔细修复后重新安装上柱头螺丝,或以能溶解污染物的流动相,按色谱柱使用的相反方向,冲洗色谱柱(流动相的冲洗量为20至30倍色谱柱体积或视具体情况而定。另外,此时最好不要连接检测器),将污染物冲出色谱柱,再按色谱柱标明的箭头方向使用(色谱柱上箭头方向说明色谱评价是按此方向价。因此使用时最好按此方向);

4.4.3 当断定是盐结晶时,用水冲洗色谱柱,使柱内盐全部溶解并被冲洗出色谱柱,再换用含高浓度甲醇或其他有机溶剂的流动相;

4.4.4 如果是因使用的流动相pH值控制不当,通常很难将色谱柱恢复。有一点必须注意一旦色谱柱头被打开,即便是经过很仔细地修复都很难恢复到原有新柱水平。

综上所述,高效液相色谱柱的使用涉及到了大量机械化学知识和应用经验。因此,使用者可以根据自己实际情况加以总结,不断提高色谱仪的使用寿命。

(收稿日期:2002-07-01)