

高效液相色谱仪维护与常见故障排除

王素卿

(华北制药集团新药研究开发有限责任公司 河北 石家庄 050015)

[摘要]介绍了高效液相色谱仪日常维护及常见故障的排除方法。

[关键词]高效液相色谱仪;保养;故障排除方法

[中图分类号] O 657.7*2

[文献标识码] B

[文章编号] 1003-5095(2008)09-0060-02

高效液相色谱仪(HPLC)是分析实验室的常用分析仪器之一,由于HPLC具有高分辨率、高灵敏度、速度快、色谱柱可反复利用,流出组分易收集等优点,因而被广泛应用到生物化学、食品分析、医药研究、环境分析、无机分析等各种领域。液相色谱仪具有紫外、荧光、二极管阵列、示差折光等多种检测器,而尤以紫外检测器使用最为广泛。现将在使用过程中维护及常见故障排除方法介绍如下。

1 维护

1.1 环境条件

仪器应放置于平稳固定台面上,无振动、无辐射、无磁场、无灰尘,温度范围15~30℃,相对湿度30%~85%,因为流动相多为有机溶剂,室内应有排风扇等通风设施。

1.2 开机维护

检查所用流动相、色谱柱是否正确,先开稳压电源,再开输液泵、柱箱,设置好色谱柱最大保护柱压,排气,确保流路无气泡出现。流速应从小到大缓慢增加,有利于色谱柱的保护,同时观察柱压与流速是否相对应的平稳正常上升,待流速到达实验所需流速后,柱压稳定后,再打开检测器,有利于延长检测器寿命。

1.3 柱前维护

由于临床样本多为复杂的混合物,极易堵塞和污染色谱柱,因此在进入液相色谱仪操作前需对样本进行预处理,通过超速离心、萃取、吸附、过滤等方法,除去样本中的杂质和干扰物质,将所要分析的成分配成易于进行定性或定量分析的试液,还可在

色谱柱前采用加保护柱,避免色谱柱的污染,延长柱子寿命。

1.4 关机维护

实验完毕冲洗色谱柱时,首先要关掉检测器,目的是为了节约光源,保证灯的有效使用,此外,尽量断开色谱柱与检测器的连接,防止污染检测池,用流动相继续冲洗整个流路30 min,再用25%甲醇水溶液冲洗15 min,最后用纯甲醇冲洗30 min,并用纯化水同时冲洗泵头外流路。输液泵流速应由大到小缓慢减小,至柱压为零,方可关闭输液泵、稳压器。

2 常见故障的排除

2.1 系统压力波动很大,无法正常工作

检测过程中压力波动大,流量不稳定是由于系统中有空气或单向阀的宝石球和阀座之间有异物,使两者不能密封造成的。

排除方法 注意观察流动相的量,保证不锈钢过滤器沉入储液器瓶底,避免吸入空气,流动相要充分脱气,单向阀污染后,需要拆卸清洗,先将单向阀轻轻拆下来,整体浸渍异丙醇或水中,用超声波清洗,清洗后再轻轻地平衡用力重新装入泵头,拧紧不漏液即可,注意切不可用力去拧,否则会造成单向阀磨损。

2.2 柱压高原因

缓冲液盐分沉积于柱内或样品污染沉积。

排除方法 简单的处理是选择能溶解污染物的流动相,将色谱柱反接后进行冲洗,冲洗时柱出口端与检测器断开以防污染检测器,冲洗液体积约为20~30倍色谱柱容积。对于一些保留强的污染物,如脂类可用四氢呋喃、乙腈或甲醇冲洗;蛋白质类可用乙腈、丙醇和1%三氯乙酸进行梯度洗脱;高疏水性化合物可用乙腈或甲醇洗脱。

[收稿日期]2008-04-14

[作者简介]王素卿(1975-),女,工程师,从事质量检验工作。

2.3 既无压力指示,又无液体流过

泵密封垫圈磨损或有大量气泡进入泵体。

排除方法 对于第一种情况,更换密封垫圈;对于第二种情况,在泵作用的同时,用一个 50 mL 的玻璃针筒在泵的出口处帮助抽出空气。

2.4 出峰不佳或峰分叉

长期使用后的色谱柱,由于有杂质进入,会使色谱柱入口处的固定相“板结”并在流动相所产生的高压作用下,形成柱头的塌陷,色谱柱被污染。

排除方法:先用纯水反向冲洗柱子,然后换成甲醇冲洗,接着用甲醇-异丙醇(体积比为 4:6)冲洗柱子(冲洗时间的长短由样品污染的情况而定),再用甲醇冲洗,然后用纯水冲洗,最后甲醇冲洗正向柱子 30 min 以上,如果冲洗后依然出峰不佳,就要拧开柱头,检查柱填料是否硬结和塌陷,去除硬结部分(污染的填料),装入新填料,滴一滴甲醇,填料下陷,再填,用与柱内径相同的顶端平滑的不锈钢杆压紧,再填平,滴入甲醇反复填充,直到填平。柱头用甲醇冲洗干净,拧紧柱头,用纯甲醇冲洗 30 min 以上。

2.5 峰面积重复性差

由于进样阀漏液或加样针不到位会影响到峰面积的重复性。

排除方法 进样阀漏液应更换进样阀垫圈;并且保证加样针插到底,注射样品溶液后需快速、平稳地从 LOAD 状态转换到 INJECT 状态,以保证进样量的准确。

2.6 流动相中有气泡

如果操作不慎空气进入输液系统,在使用前流动相需脱气,以尽可能除去溶解在流动相中的气体,否

则,这些气体会使柱填料的性能降低,还能对检测器的信号产生很大的干扰。

排除方法:将过滤器浸泡于 5%硝酸溶液中,超声清洗几分钟即可;亦可将过滤器于 5%硝酸溶液中浸泡 12~36 h,轻轻振荡几次,再将过滤器用纯水清洗几次,打开泄压阀,清洗脱气;如仍有气泡从过滤器冒出,继续将过滤器浸泡于 5%硝酸溶液中,直到没有气泡产生,打开泄压阀和泵,流速调至 1.0~3.0 mL/min,纯水冲洗过滤器 1 h,即可将过滤器清洗干净。关闭泄压阀,用纯甲醇冲洗 0.5 h 即可。

2.7 进样阀溢流管的堵塞

向进样阀内注射样品时,注射针推不动,这是由于溢流管的堵塞所致。

排除方法:用小烧杯盛少量蒸馏水使溢流管口稍加浸泡,端口处盐的结晶即被溶解掉,如能在再次进样完成之后,用蒸馏水反复冲洗直至溢流管中的盐分全部冲出,则可避免此干扰的发生。

实际工作中采用上述办法,减少了不稳定因素,延长了仪器稳定运行的时限,收效良好。做到有问题及时解决,则会大大延长仪器的正常使用期限,并使仪器的性能得到最大限度的发挥,保证检测的准确性,降低检测成本。

[参 考 文 献]

- [1]张宝秀,王建刚.高效液相色谱仪使用中应注意的几个问题[J].中国药事 2006 20(9) 576.
- [2]伍音茵.高效液相色谱仪的故障分析及处理对策[J].精细化工中间体 2003 33(2) 56-57.
- [3]陆森林,张虎军.高效液相色谱仪色谱柱的维护与保养[J].成都军区医院学报 2002 4(3) 24-25.

~~~~~  
(上接第 50 页)

从图 2 可以看出 20%  $Al_2O_3$ /PTFE 压缩强度随压制压力的升高而增加,从 55 MPa 增至 60 MPa,压缩强度增加的较快,在压力大于 60 MPa 后,压缩强度只是缓慢的增长。

### 3 结 论

通过对  $Al_2O_3$ /PTFE 复合材料进行的压制试验,得到在冷压成型压制试验中压制压力为 65 MPa。

### [参 考 文 献]

- [1]黄 锐,曾邦禄主编.塑料成型工艺学(第二版)[M].中国轻工业出版社,1996.
- [2]中国科学院兰州化学物理研究所编.填充聚四氟乙烯塑料的模压成型工艺[M].北京:石油化学工业出版社,1976.
- [3]王进华.关于模压用聚四氟乙烯树脂烧结工艺条件的探讨[J].有机氟化工 2000 (3) 21-23.