

SEPU JISHU CONGSHU

色谱技术丛书

# 色谱仪器维护与故障排除

第二版

吴方迪 张庆合 编著



化学工业出版社

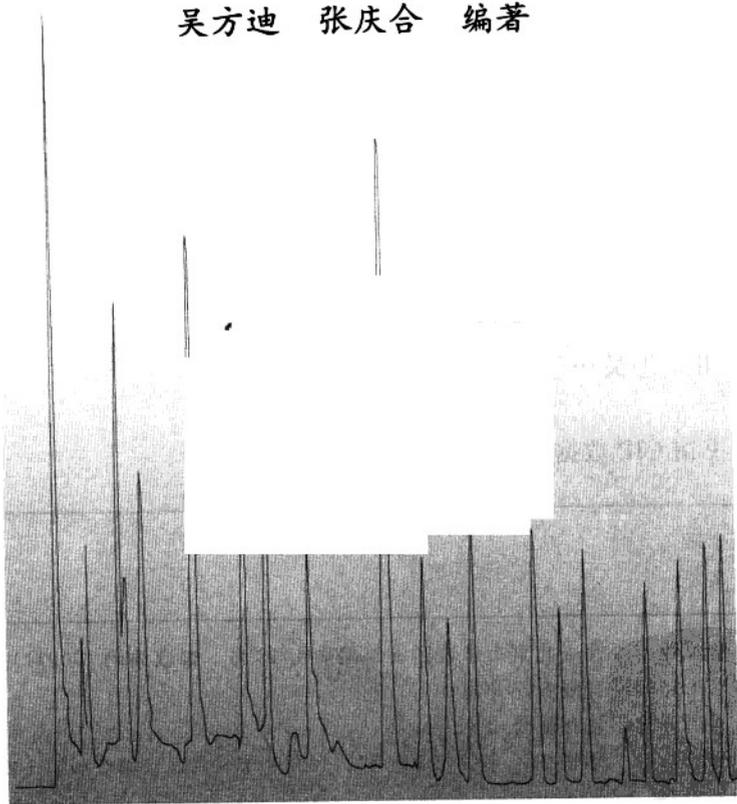
SEP U J I S H U C O N G S H U

色 谱 技 术 丛 书

# 色谱仪器维护与故障排除

第二版

吴方迪 张庆合 编著



化学工业出版社

· 北京 ·

本书在综合介绍色谱仪器维护与故障排除的基本原则与思路的基础上,结合色谱仪器的结构与工作原理,从仪器各组成部分与部件产生各类故障的可能原因以及判断和处理故障的基本思路与方法学出发,系统地介绍了液相和气相色谱的输液系统、气路系统、流动相、温度控制系统、色谱柱、进样系统、检测器等各部分的基本原理、常见故障的判断与排除方法,并分别对液相和气相色谱分析方法建立中的问题进行了剖析,最后介绍了色谱定量分析中常见问题及其解决方法。书末附了《液相色谱仪检定规程》、《气相色谱仪检定规程》和《台式气相色谱-质谱联用仪校准规范》。具有较强的实用性和可操作性。

本书可供从事生命科学、环境科学、医药、食品、农业、化学和化工等行业从事色谱分析的科学研究人员、教师、学生、技术人员、实验员和仪器开发人员参考。

#### 图书在版编目(CIP)数据

色谱仪器维护与故障排除/吴方迪,张庆合编著.  
2版. —北京:化学工业出版社,2008.7  
(色谱技术丛书)  
ISBN 978-7-122-03306-2

I. 色… II. ①吴…②张… III. 色谱仪-维修  
IV. TH833.07

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第097394号

---

责任编辑:任惠敏  
责任校对:王素芹

装帧设计:于兵

---

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)  
印刷:北京永鑫印刷有限责任公司  
装订:三河市万龙印装有限公司  
720mm×1000mm 1/16 印张22 字数425千字 2008年9月北京第2版第1次印刷

---

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

---

定 价:45.00元

版权所有 违者必究

## 序

《色谱技术丛书》第一版是从2000年初开始出版的。由于这是一套较全面地介绍当代色谱技术的丛书，取材新颖，内容丰富，所以从一出版就受到了读者的普遍欢迎和肯定，同时也被众多的技术培训班选作教材，致使每一分册的发行量都突破了万册。但是，随着科学技术的突飞猛进和国家经济建设的快速发展，色谱作为主要的分离分析技术，需求与应用越来越广泛，从事色谱分析工作的人员也越来越多，年轻的和刚刚从事色谱分析的人员急需普及和提高色谱分析的理论和技术。再者，色谱技术本身也在不断的发展，新技术不断出现，有必要向广大读者尽早介绍这些知识。此次，化学工业出版社与丛书主编、作者合作，适时地将这套丛书重新修订，再版面世，是对普及并推动色谱技术发展的又一贡献。

在经历了近五个年头的实践检验后，这套丛书的第二版除了对第一版原有的13个分册分别进行了修改和充实，增加了新的内容，包括新近发展的仪器、技术、方法与应用等的介绍，提高了丛书的质量；同时还进一步完善了整个丛书体系，增加了一些新的书目，特别是有关应用的书目，形成一套更完整的色谱技术丛书，以进一步满足广大读者的需求。增加的10本新的书目为：邓玉林等的《色谱手性分离技术及应用》，江桂斌、牟世芬等的《色谱在环境分析中的应用》，金熹高的《裂解气相色谱方法及应用》，廖杰、钱小红等的《色谱在生命科学中的应用》，田颂九等的《色谱在药物分析中的应用》，王绪卿、吴永宁等的《色谱在食品安全分析中的应用》，杨海鹰的《气相色谱在石油化工中的应用》，袁黎明的《制备色谱技术及应用》，于世林的《亲和色谱方法及应用》及胡净宇的《色谱在无机材料分析中的应用》。同第一版一样，这些分册的作者也都是长期在各自工作中

具有丰富经验的色谱专家。还应提出的是，此书也再次得到安捷伦科技有限公司的热情赞助。相信第二版《色谱技术丛书》会同第一版一样受到读者们的欢迎，特再为此序。

周同惠

2004年10月22日

## 第一版序

色谱作为一种分离技术与方法，自本世纪初发表第一篇论文算起，已有100年的历史，虽然在前30多年间这种方法未受到应有的重视，但自40年代以后，逐渐得到发展，而且其势头越来越猛，从技术到理论，到各种分离模式，以及在各个科学领域内的应用，得到了突飞猛进的发展，现在已经成为分析化学学科中的一个重要分支。同时为许多重要学科的发展作出了极大的贡献。在人类进入21世纪之际，人们面临着在信息科学、生命科学、材料科学、环境科学等领域的快速发展的挑战，在这些领域人才的需求成为国家高度发展的至关重要的因素。而色谱技术是生命科学、材料科学、环境科学必不可少的手段和工具。根据最近的统计在全世界各类分析仪器中气相色谱仪和液相色谱仪的营销总额占25%~30%。2000年对各类分析仪器的需求量也以液相色谱仪最多。可以毫不夸张地说，如果没有色谱技术的应用，自然科学和生命科学能发展到今天的这个样子是很难想象的。

有关色谱的各种专著国内外已经出版了许多种，其中多是针对色谱专业人员而写的专著，而缺少一套系统的比较全面的介绍当代色谱技术的丛书，供广大的工厂企业中从事色谱分析的初中级技术人员和科研院所的科技人员，大专院校的研究生，甚至管理人员及有关领导学习参考的书籍。为此化学工业出版社提议，由北京理化分析测试学会组织编写了这套‘简明扼要，深入浅出，通俗易懂，新颖实用’的色谱技术丛书。这套书以傅若农教授为主编，汪正范教授和刘虎威副教授作副主编。为联系方便，主要请在京的专家来编写，并自1998年初开始运作。从方便读者学习角度出发，将色谱技术的主要内容分为13册。分别为：傅若农之《色谱分析概论》，刘国詮、余兆楼等之《色谱柱技术》，陈义之《毛细管电泳技术及应用》，于世林之《高效液相色谱方法及应用》，刘虎威之《气相色谱

方法及应用》，云自厚、张晓彤之《液相色谱检测方法》，吴烈钧之《气相色谱检测方法》，汪正范之《色谱定性与定量》，汪正范等之《色谱联用技术》，牟世芬、刘克纳之《离子色谱方法及应用》，何丽一之《平面色谱方法及应用》，王立之《色谱分析样品处理》，吴方迪之《色谱仪器维护与故障排除》。这些编著者多是我国目前在教学与科研第一线为色谱科学努力奋进的中青年专家，在书中都反映了色谱领域的基本知识、基本方法和他们自己的宝贵经验以及有关领域的最新成果。这套丛书将给初学色谱的年轻科技工作者提供较完整的学习参考书，也为大中专学生提供一套有用的教学参考书。还应该提出的是，由于得到了安捷伦科技有限（原中国惠普）公司的赞助，这套书的出版才能顺利进行。值此书即将付梓之际，特书此以为序。

周同惠

1999年9月9日

# 前 言

作为高效分离分析技术与方法，色谱法已经成为环境科学、材料科学、生命科学、食品安全、药物研发等领域必不可少的分析检测技术。随着近年来国内色谱仪器的快速普及，色谱工作的从业人数也在迅速增加。鉴于目前国内高效液相色谱和气相色谱仪器的实际使用情况，紧密结合色谱分析理论和实际，傅若农教授主编了《色谱技术丛书》。《色谱仪器维护与故障排除》一书作为丛书的一个分册，目的在于为广大色谱工作者提供实际操作中的启示与参考。

本书此次修订在基本保持第一版编写体系与特色的基础上，结合近几年色谱分析新技术与新方法以及读者建议，较大幅度地补充完善了内容、重新调整了结构。在编排上，首先适当地介绍了仪器部件的基本工作原理与基本结构，然后以仪器部件的日常维护与使用为重点，以故障检查与排除为主线进行系统介绍，以期更加方便读者。与第一版相比，本版中增加（或较大篇幅补充）了液相色谱流动相、手动进样阀、蒸发光散射检测器，气相色谱进样口、色谱柱选择、氮磷与质谱检测器的维护与故障排除等内容。并将第一版中故障预防、液相色谱分离基础、记录器和数据处理系统、梯度洗脱与样品预处理等章节内容重新进行了编排整理。实际工作中涉及的有关色谱技术理论、仪器结构图及常用数据等更详细资料，可参阅相关本丛书相关分册和其他有关专著。

本书共 15 章：第一章简单介绍了色谱分析的发展过程，比较了气相色谱法和液相色谱法的特点，并对色谱分析常用术语进行了介绍；第二章概括了色谱仪器维护与故障排除的基本思路与原则；第三章到第八章是液相色谱系统维护部分，在分别介绍液相色谱输液系统、流动相、进样系统、色谱柱、检测器等各部分原理与故障排除的基础上，对液相色谱分析中常见问题进行了汇总与分析；第九章到第十四章是气相色谱系统维护部分，其中第九章至第十三章分别介绍了气相色谱气路系统、温度控制系统、进样系统、色谱柱、检测器，第十四

章系统介绍了气相色谱分析中常见问题及其解决方法。最后的第十五章对色谱定量分析中常见的问题进行了分析。书末附了《液相色谱仪检定规程》、《气相色谱仪检定规程》和《台式气相色谱-质谱联用仪校准规范》，希望能够帮助读者了解仪器的基本指标及其测试方法和手段，对仪器的日常维护起到积极的作用。

由于不同厂商与型号的色谱仪器的构造差异较大，本书只能给出仪器维护的要点和对常见故障产生原因的整体思考、逻辑推理及解决思路，实际操作中还需参阅相关的仪器操作维护手册进行处理。

本书编写过程中，得到了中国计量科学研究院副院长于亚东研究员的大力支持，李红梅研究员、陈大舟研究员提供了诸多帮助，孟凡敏、陶红、张英等参加了部分内容的编写和文献整理工作。傅若农教授仔细审阅了书稿，并给予热情帮助与指导。Agilent、Waters、Shimadzu 和 Thermo 等公司提供了许多资料。在此表示诚挚的谢意。特别感谢本书责任编辑的宝贵建议与不辞劳苦的编辑工作。感谢国家科技部（2006BAF07B03）和国家自然科学基金委员会（20775075）对书中所涉及项目的经费支持。

鉴于作者知识水平所限，书中不妥和错误之处在所难免，敬请广大专家和读者批评指正，作者表示衷心感谢！

作者  
2008年4月

# 目 录

<b>第一章 绪论</b> .....	1
第一节 色谱法的出现与发展 .....	1
第二节 气相色谱与液相色谱法 .....	1
第三节 色谱分离理论与术语 .....	3
参考文献 .....	6
<b>第二章 色谱仪器维护与故障排除概述</b> .....	7
第一节 日常维护与故障排除的思路 .....	7
第二节 仪器维护的基本规则 .....	9
第三节 逻辑推理（故障的确定） .....	11
第四节 故障的预防 .....	12
第五节 备件和工具箱 .....	17
参考文献 .....	18
<b>第三章 液相色谱输液系统</b> .....	19
第一节 输液泵简介 .....	19
第二节 泵故障的排除 .....	24
第三节 管路的种类与规格 .....	29
第四节 液相色谱接头 .....	35
参考文献 .....	41
<b>第四章 液相色谱流动相</b> .....	42
第一节 液相色谱流动相基础 .....	42
第二节 梯度洗脱 .....	48
第三节 流动相脱气 .....	53
第四节 流动相贮存与过滤 .....	57
第五节 缓冲溶液 .....	62
参考文献 .....	68
<b>第五章 液相色谱进样系统</b> .....	69
第一节 手动进样器简介 .....	69
第二节 手动进样器故障排除 .....	75
第三节 自动进样器原理 .....	89
第四节 自动进样器故障预防 .....	91
第五节 自动进样器故障和解决方法 .....	94
参考文献 .....	97

<b>第六章 液相色谱柱</b> .....	98
第一节 液相色谱柱介绍 .....	98
第二节 柱的评价 .....	102
第三节 色谱柱预防性保护与柱寿命的延长 .....	105
第四节 故障与解决的办法 .....	108
参考文献 .....	113
<b>第七章 液相色谱检测器</b> .....	114
第一节 检测器原理与特性 .....	114
第二节 检测器故障和解决方法 .....	122
参考文献 .....	133
<b>第八章 液相色谱分析故障排除</b> .....	135
第一节 液相色谱故障排除综述 .....	135
第二节 峰形问题 .....	156
第三节 坏柱 .....	158
第四节 样品超载 .....	159
第五节 溶剂与样品不相配 .....	160
第六节 柱外效应与强保留基质 .....	162
第七节 次级保留效应 .....	164
第八节 不合适的缓冲液 .....	169
第九节 其它效应 .....	170
第十节 保留时间改变 .....	175
第十一节 液相色谱方法的建立 .....	181
参考文献 .....	183
<b>第九章 气相色谱气路系统</b> .....	184
第一节 气路系统简介 .....	184
第二节 气体 .....	188
第三节 流量的调节 .....	191
第四节 气路泄漏的检查与排除 .....	195
参考文献 .....	197
<b>第十章 温度控制系统</b> .....	198
第一节 风扇电机系统 .....	198
第二节 温度控制系统 .....	200
第三节 温度测量示值误差大 .....	206
参考文献 .....	207
<b>第十一章 气相色谱进样系统</b> .....	208
第一节 进样口 .....	208
第二节 进样组件 .....	212
第三节 进样装置的故障排除汇总 .....	219

参考文献 .....	223
<b>第十二章 气相色谱柱 .....</b>	<b>224</b>
第一节 色谱柱的种类 .....	224
第二节 色谱柱的选择 .....	228
第三节 色谱柱故障与维护 .....	235
参考文献 .....	238
<b>第十三章 气相色谱检测器 .....</b>	<b>239</b>
第一节 热导检测器 .....	239
第二节 氢火焰离子化检测器 .....	255
第三节 电子捕获检测器 .....	265
第四节 火焰光度检测器 .....	270
第五节 氮磷检测器 .....	276
第六节 质谱检测器 .....	279
第七节 气相色谱检测器的维护 .....	285
参考文献 .....	287
<b>第十四章 气相色谱分析问题 .....</b>	<b>288</b>
第一节 不出峰与灵敏度降低 .....	288
第二节 基线问题 .....	290
第三节 色谱峰问题 .....	293
第四节 分辨率降低 .....	297
第五节 保留时间不重复 .....	298
参考文献 .....	300
<b>第十五章 定量问题 .....</b>	<b>301</b>
第一节 定量分析简介 .....	301
第二节 精密度问题 .....	303
第三节 准确度问题 .....	309
第四节 误差问题的解决 .....	313
第五节 色谱方法建立与验证 .....	314
参考文献 .....	316
<b>附录 .....</b>	<b>317</b>
I 气相色谱仪检定规程 (JJG 700—1999) .....	317
II 液相色谱仪检定规程 (JJG 705—2002) .....	325
III 台式气相色谱-质谱联用仪校准规范 (JJF 1164—2006) .....	333

# 第一章 绪 论

## 第一节 色谱法的出现与发展

色谱法是由俄国植物学家茨维特 (Tswett) 于 1903 年首先提出的<sup>[1~3]</sup>, 经过一百多年的发展与完善, 无论是色谱理论、仪器, 还是技术、方法与应用等方面都取得了巨大进展, 已经成为分析科学领域最重要组成部分, 在生命科学、生物工程、环境科学、制药、食品安全等几乎所有领域发挥了举足轻重的作用, 对现代科学技术的发展起了很大的推进作用。

纵观色谱分析方法的发展过程, 20 世纪 50 年代创立气相色谱法, 把色谱法由经典的分离技术提升到分离与“在线”分析检测的新水平, 为色谱法成为现代分离分析方法奠定了基础<sup>[4]</sup>; 1957 年诞生的毛细管色谱法、20 世纪 60 年代推出的色谱-质谱联用技术<sup>[5]</sup>, 有效地弥补了色谱法定性分析特征性差的弱点; 20 世纪 70 年代高效液相色谱法崛起, 克服了气相色谱法不能直接用于分析难挥发、热不稳定及高分子化合物的不足, 将色谱法的应用范围扩大到生命科学、生物工程、制药等新兴领域, 使得色谱法在现代科学研究中占据一席之地<sup>[6~8]</sup>; 20 世纪 80 年代出现的超临界流体色谱法, 兼有气相色谱法与高效液相色谱法的优点, 在天然产物的分离与纯化等方面显示了极大的潜力; 20 世纪 80 年代飞速发展起来的毛细管电泳法已成为生命科学领域最重要的分析方法之一; 20 世纪 90 年代崛起的毛细管电色谱法兼有毛细管电泳的高效与微填充柱 HPLC 色谱法选择性好的优点, 成为人们研究的热点领域<sup>[9]</sup>。近年来, 针对复杂样品的分离分析, 发展起来的二维气相色谱与二维液相色谱技术与装置在天然产物、蛋白质组、代谢组学等领域显示了强大的优势<sup>[10]</sup>。

关于色谱法的进展有诸多文献可供参考, 关于色谱仪器、色谱专家系统、色谱-光谱联用、色谱-质谱联用、二维色谱、毛细管电色谱法等方面的详细论述, 可参考本丛书相关分册。

## 第二节 气相色谱与液相色谱法

色谱法作为一种分离方法, 是利用物质在两相中吸附或分配系数的微小差异

达到分离的目的。色谱过程中,不同组分在相对运动、不相溶解的两相间交换,其中相对静止的一相称固定相,而相对运动的相称流动相。当两相作相对移动时,被测物质在两相之间进行反复多次的质量交换,这样使原来微小的性质差异(吸附、分配、离子交换、亲和力或分子尺寸等)产生很大的效果,达到分离、分析及测定一些物理化学常数的目的。作为一种分析方法,色谱法最大的特点在于能将复杂混合物分离为各组分后加以检测。

色谱法具有高效、快速、灵敏的特点,液相色谱和气相色谱法是目前应用最广泛的、最有代表性的色谱分离分析方法,表 1-1 将这两种方法的特点进行了综合比较。

表 1-1 高效液相色谱法与气相色谱法的比较

方法	高效液相色谱法	气相色谱法
进样方式	样品需制成溶液	样品需加热汽化或裂解
流动相	1. 离子型、极性、弱极性或非极性溶液,可与被分析样品产生相互作用,并能改善分离的选择性 2. 液体流动相动力黏度为 $10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ , 输送压力可达 45MPa 甚至更高	1. 惰性气体,不与被分离的样品发生相互作用 2. 气体流动相动力黏度为 $10^{-5} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ , 输送压力仅为 0.1MPa~1MPa
固定相	1. 分离机理:可依据吸附、分配、筛析、离子交换、亲和、手性作用等多种原理进行样品分离,可供选择的固定相种类繁多 2. 色谱柱:填充粒径小( $5\mu\text{m} \sim 10\mu\text{m}$ ),柱内径 3mm~6mm,柱长 10cm~25cm,柱效 $10^4$ 塔板数;毛细管柱内径 0.01mm~0.03mm,柱长 5m~10m,柱效( $10^4 \sim 10^5$ )塔板数;柱温为常温	1. 分离机理:依据吸附、分配、络合、手性作用等原理进行样品分离,可供选择的固定相种类较多 2. 色谱柱:填充粒径大(0.1mm~0.5mm),柱内径 1mm~4mm,柱长 1m~4m,柱效( $10^2 \sim 10^3$ )塔板数;毛细管柱内径 0.1mm~0.5mm,柱长 10m~100m,柱效( $10^3 \sim 10^4$ )塔板数;柱温为常温~420℃
检测器 <sup>①</sup>	选择性:UVD,PAD(DAD),FD,ECD 通用型:ELSD,RID,CAD,MS	选择性:ECD*,FPD,NPD 通用型:TCD,FID,MS
应用范围	可分析低分子量、低沸点样品及高沸点、中分子量、高分子量有机化合物(极性、非极性);离子型无机化合物;热不稳定,具有生物活性的生物分子	可分析低分子量、低沸点有机化合物、永久性气体;配合程序升温可分析高沸点有机化合物;配合裂解技术可分析高聚物
仪器组成	溶质在液相的扩散系数小( $10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ ),因此在色谱柱以外的死空间应尽量小,以减少柱外效应对分离效果的影响	溶质在气相的扩散系数大( $10^{-1} \text{ cm}^2/\text{s}$ ),柱外效应的影响较小,对毛细管气相色谱应尽量减小柱外效应对分离效果的影响

① UVD——紫外吸收检测器; PAD (DAD) ——二极管阵列检测器; FD——荧光检测器; ECD——电化学检测器; RID——示差折光检测器; ELSD——蒸发激光散射检测器; CAD——电雾式检测器; TCD——热导池检测器; FID——氢火焰离子化检测器; ECD\* ——电子捕获检测器; FPD——火焰光度检测器; NPD——氮磷检测器; MS——质谱检测器。

### 第三节 色谱分离理论与术语

色谱分离的基本理论已经在本丛书的其它分册中有详细的阐述，本章仅对有关液相色谱系统仪器维护与故障排除有关的一些概念与术语作简要介绍<sup>[11]</sup>。

#### 一、保留值

色谱峰的保留值是被测组分重要的定性指标之一。保留时间 ( $t_R$ ) 为从进样开始到柱后出现组分浓度最大值所需的时间。溶质的流出时间与流动相流速成反比。在色谱柱内不保留组分的流出时间为死时间 ( $t_0$ )，死时间不仅与柱结构有关，而且也与进样系统和检测系统有关。

分离条件相对恒定时某组分的保留时间应是恒定的，假设标准物质葱的保留时间为 10min，在相同的色谱条件下进样，如色谱图中有  $t_R = 10\text{min}$  的峰存在，可初步确定该峰与葱相关。也可能有其它组分与此相关，但在特定色谱条件下并不多见。在用  $t_R$  鉴别样品中组分时，为改善分离或在不同条件下做比较鉴别，可以改变  $t_R$ 。

死时间  $t_0$  可以用从进样到色谱图中第一个畸形尖峰或第一次基线波动的时间表示，也可以用下式估算：

$$t_0 \approx 0.5Ld_c^2 \quad (1-1)$$

在基线上看不出  $t_0$  时用此式估算往往差别不大。求得  $t_0$  后就可计算柱死体积  $V_0$ ：

$$V_0 = t_0 F \quad (1-2)$$

在色谱图上直接测量到  $t_0$  对检修液相色谱系统是很有帮助的。流速  $F$  的变化应不影响到  $k'$  值，在实际操作中  $k'$  值对控制分离十分重要。色谱系统故障维护与排除时也可以作为重要的指标参数。

调整保留时间 ( $t'_R$ ) 为溶质的保留时间中扣除死时间得到的结果，能更确切地反映溶质被保留的特征。

$$t'_R = t_R - t_0 \quad (1-3)$$

容量因子也是色谱法中广泛采用的保留值参数。

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{t'_R}{t_0} \quad \text{或} \quad t_R = t_0(1 + k') \quad (1-4)$$

#### 二、柱效

色谱峰的峰宽是重要的色谱参数之一，色谱图中如果所有的峰都很窄，表示柱效高。峰变宽则表示柱效降低。色谱法的最终目的是要得到被分析物的比较窄

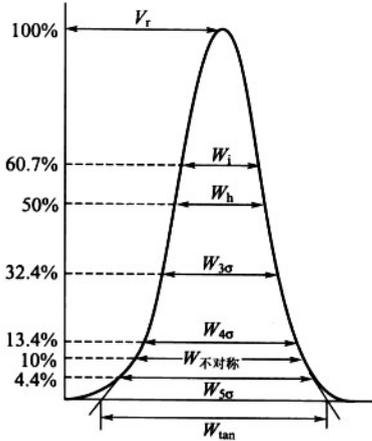


图 1-1 用色谱峰测量色谱柱塔板数

的色谱峰，而进行仪器系统维护和故障排除的意图也包括了恢复原来的色谱峰的宽度。

色谱柱塔板数（ $N$  值）是色谱方法中评价柱效的主要指标。以色谱图中一个或多个色谱峰计算理论塔板数的表示见图 1-1。好的色谱柱对所有的组分都出窄峰；在一组色谱图中，用不同的峰计算  $N$  值的结果基本相同。通过某个峰测得的  $N$  值，就可以推断其它峰的  $N$  值与其大致相等。 $N$  值为一个常数，是因为所有的  $t_R/W$  值大致相等。

计算  $N$  值最常用的是半峰宽或者峰宽法：

$$N = 5.54 \left( \frac{t_R}{W_h} \right)^2 \text{ 或 } N = 16 \left( \frac{t_R}{W_{tan}} \right)^2 \tag{1-5}$$

利用该式计算  $N$  值要注意的是单位的换算。 $t_R$  是时间单位， $W_h$  和  $W_{tan}$  是长度单位，可以通过记录纸走纸速度来换算，或者在色谱数据处理工作站上以时间标尺表示峰宽度。

$N$  值受试验条件的影响，长柱、低流速、小颗粒填料有助于提高  $N$  值；通过计算色谱柱的  $N$  值，可以精确预测分离效果。如果一根性能良好的色谱柱分离不出好的结果来，那可能就是系统出现了问题。实际上为色谱系统的维修提供了很具参考价值的信息。现在市售的液相色谱柱的  $N$  值一般在每米 50000~100000 塔板以上，气相色谱柱的  $N$  值一般在每米 1500~10000 塔板的范围。

### 三、分离度

相邻两峰的分度程度用分离度  $R$  来表示，两组分保留值之差与其平均峰宽之比被定义为分离度：

$$R = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{t_{w_2} + t_{w_1}} \tag{1-6}$$

由于两峰相邻， $t_{w_2} \approx t_{w_1}$ ，因此

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{t_w} \tag{1-7}$$

$R$  随着两峰之间的距离增加而增加，随着平均峰宽增加而减少。不同的  $R$  值和两峰相对大小对分离度的影响用图 1-2 来表示。可以看出，比较大的  $R$  值和两峰大小相当（相同的  $R$  值），可以改善分离度。 $R$  受到  $t_R$  和  $N$  值的

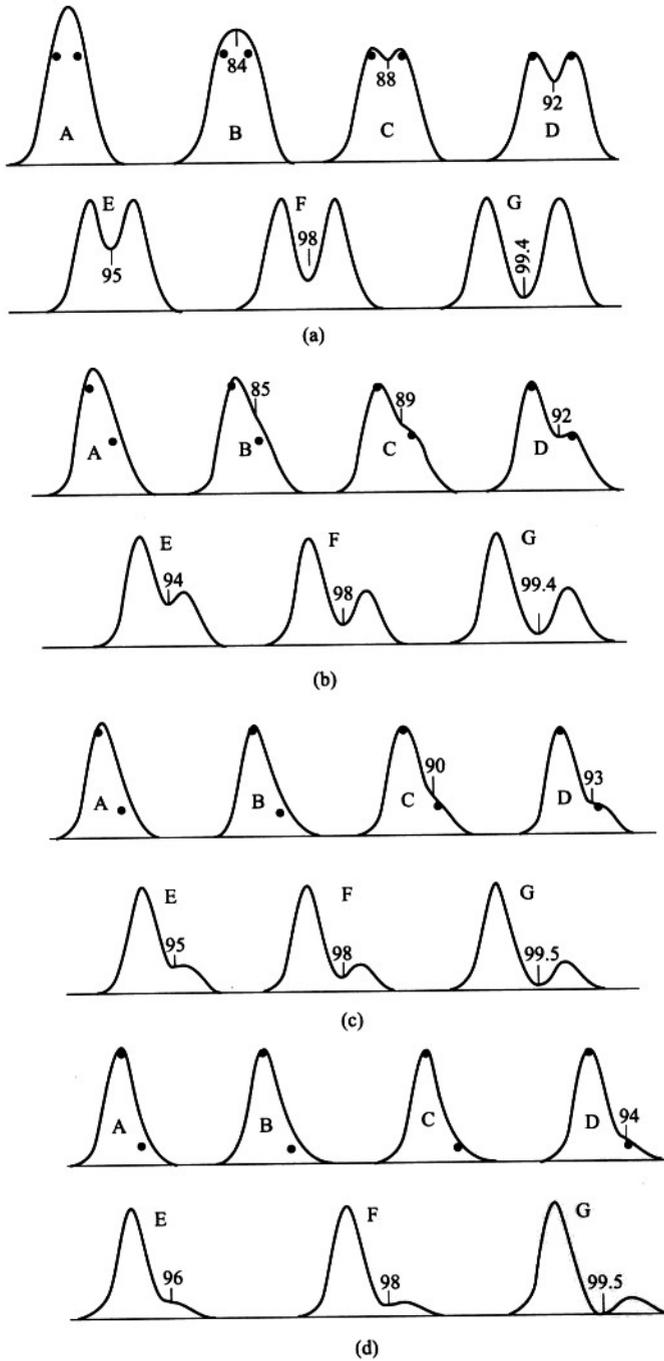


图 1-2 两峰相对高度不同时分离状态与  $R$  的关系  
 峰高比: (a) 1:1; (b) 2:1; (c) 4:1; (d) 8:1;  
 $R_s$ : A—0.4; B—0.5; C—0.6; D—0.7; E—0.8; F—1.0; G—1.25

影响：

$$R = \left( \frac{k'}{1+k'} \right) \left( \frac{\alpha-1}{\alpha} \right) \frac{\sqrt{N}}{4} \quad (1-8)$$

式中， $\alpha$  为分离因子，等于两相邻峰  $k'$  值之比。 $R$  是三种不同因子的综合：  
 ① 分离因子  $\alpha$  或峰位；② 色谱柱塔板数  $N$ ；③ 容量因子  $k'$ ，这三种因子改变会引起色谱峰的变化，如图 1-3 所示。 $k'$  增加  $R$  也增加， $N$  增加峰变窄， $R$  也增加， $\alpha$  增加使两峰的中心拉开，从而使  $R$  也增加。

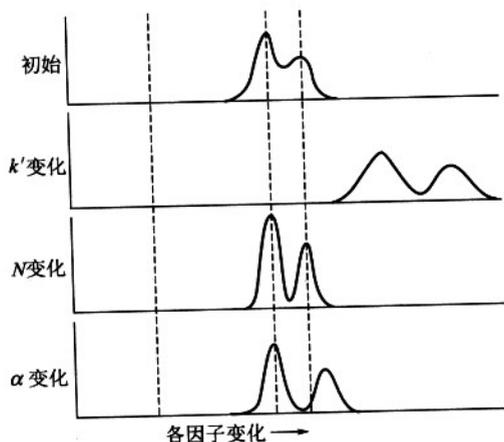


图 1-3 各分离因子对分离度的影响

### 参 考 文 献

- 1 Tswett M S. Ber Dtsch Bot Ges, 1906, 24: 316
- 2 Tswett M S. Ber Dtsch Bot Ges, 1906, 24: 384
- 3 Tswett M S. Ber Dtsch Bot Ges, 1907, 25: 1907
- 4 卢佩章, 李浩春. 气相色谱法. 北京: 科学出版社, 2001
- 5 汪正范. 色谱联用技术. 北京: 化学工业出版社, 2003
- 6 邹汉法, 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1999: 1
- 7 张玉奎. 现代生物样品分离分析方法. 北京: 科学出版社, 2003
- 8 汪尔康. 生命分析化学. 北京: 科学出版社, 2006: 34
- 9 邹汉法, 刘震, 叶明亮, 张玉奎编著. 毛细管电色谱及其应用. 北京: 科学出版社, 2001
- 10 Giddings J C. Anal Chem, 1984, 56: 1258~1270
- 11 张庆合, 张维冰, 杨长龙, 李彤. 高效液相色谱实用手册. 北京: 化学工业出版社, 2007

## 第二章 色谱仪器维护与故障排除概述

仪器系统发生故障是指该仪器系统的一些性能偏离了出厂设计指标，或是由于各种原因系统停止工作。因为仪器系统的指标往往不止是单独几项，经常是密切关联的多项指标，要证明仪器系统是否存在故障，必须依据出厂指标或公认的技术指标与试验方法进行检验。凡不能够按照仪器系统检验程序或试验方法进行或检验结果达不到设计要求的都可称为仪器系统发生了故障。不同的是这些故障有严重与轻微之分，对使用的影响各异。另外需要强调的是检验方法是要得到社会认可的，例如：国际国内通行、公认的有关仪器的试验方法、国家检定规程与校准规范<sup>[1~3]</sup>、环境试验条件<sup>[4]</sup>、有关国家或国际标准<sup>[5,6]</sup>以及各厂商提供的检验方法。

一般而言，色谱仪器的试验方法分为总则、主机性能试验、检测器性能试验和环境性能试验等。在相关的试验方法中，明确规定了仪器系统的各项指标测试方法以及合格与否的判断依据。在使用中还需注意由于用户与生产厂家的角度不同，对于一些可能的问题有时会有理解上的分歧。色谱仪器发生故障时需要进行检修或故障排除，检修人员要依照一定的程序对仪器进行一系列诊断测试。该测试过程一直将延续到故障原因被发现，并采取正确的故障排除措施。在诊断测试整个过程中，所有按次序排列的诊断语言的集合被称为故障诊断对策。本书就是要研究与探讨这一对策，并对如何预防或避免出现这些故障提出建议。

### 第一节 日常维护与故障排除的思路

对色谱仪器系统进行维护的目的是要尽早地确定并排除故障使设备正常运转，尽可能缩短仪器设备停止工作时间<sup>[7~9]</sup>。

首先，应该每天花一定时间查看一下仪器，及时了解其运转是否正常，如果出现不正常情况，可借助经验，分析判断出现问题的可能性并及时解决。出现故障后，要善于用逻辑推理的方法，找出问题所在，然后根据故障类型、程度，采取相应解决措施，或者借助于各种手册帮助自己动手排除，必要时可请厂商工程师进行现场维修服务。

可以按照图 2-1 和表 2-1 提供的程序，结合本书相关章节来进行思考、判断

和解决问题。

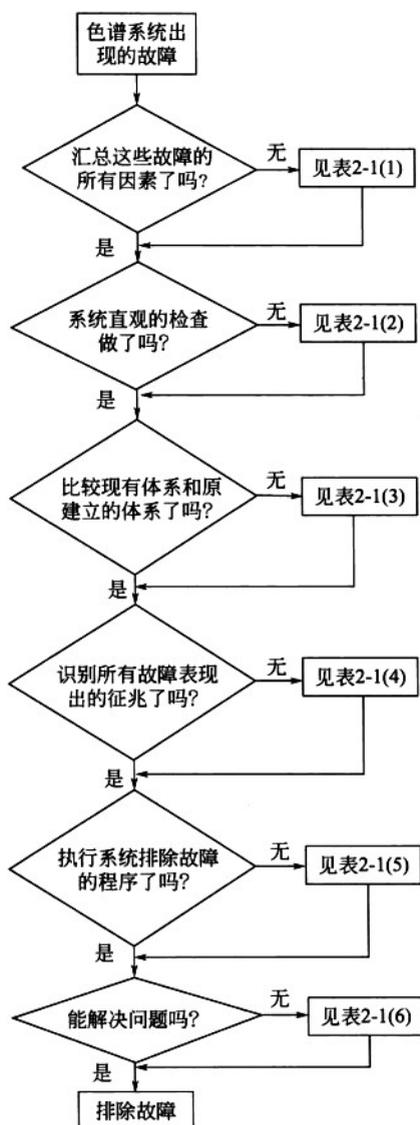


图 2-1 系统故障排除程序

尽管平时很注意仪器的维护与保养，但是同样可能发生故障。假如没有合适的工具和熟练的技巧，在试图排除故障时很可能会损坏部件：如自己动手修理电路板或调整检测器光路，似乎超出了多数用户的能力。色谱工作者此时要冷静地思考，并着手进行以下几方面的工作：

- ① 查找本书中有可能帮助解决问题的方法；
- ② 详细、耐心地阅读仪器操作手册，看插图，在有把握的情况下维修比较

表 2-1 故障排除思路与工作程序

(1)一般迹象综述	故障表现(与以前的系统情况相比较):系统设置有无变化,此类问题以前是否发生过,系统有无受外界设备影响的可能等
(2)简单检查	寻找线索:各种线路选择与连接是否正确,流动相或气路是否正常,色谱柱选择正确否,流路(气路)放空等有无变化
(3)系统比较	建立正确的使用条件:建立记录、操作程序,重新绘制色谱图计算各种色谱理论参数( $N, \alpha, k'$ 等),重复实验,确立现系统条件
(4)找出故障原因	分析症状,查阅症状-原因表,找出可能的原因
(5)使用系统故障排除表	按方法、部件等内容查找解决办法
(6)求助	与厂商或专家联系

复杂的部件;

③ 请教有关专家,如检测器问题可请教光学专家,电路问题可请教电子工程师;

④ 联系厂商,厂商可在电话或各种网络中给予指导,不一定都要现场维修。

## 第二节 仪器维护的基本规则

本节列举了一些对液相色谱系统(气相色谱系统类似)进行良好维护和故障排除的基本规则,作为“常用准则”<sup>[7~9]</sup>,如果在维护和故障排除过程中采用了这些准则,并达到了目的,将发现仪器维护与故障排除工作其实并不是那么困难。

### 一、一次规则

系统出现故障时,可以尝试性地查找原因,记住一次只可以改变一个参数。例如,出现色谱峰拖尾的问题,可依次改变流动相、换保护柱、换分析柱等。通过这些简单尝试,大部分能够确认问题来源。

### 二、二次比较规则

动手检修之前已经明确了故障所在,或者已经确定了解决方案。例如,在进样分析过程中发现内标物的峰值变低了,可以重复进样看看重复性如何,如果是偶然变低,可能是定量管里进了气泡。这个规则可用于考察系统改变后的情况。更换了流动相后在正式进样前可以进两次标准品,以检查保留时间的稳定情况和色谱峰的稳定性。在梯度洗脱中如果出现了多余的峰,可以运行空白梯度洗脱一

次，以确定是否真的存在问题，此规则可以避免不必要的问题，尽快确定纠正措施。

### 三、取代规则

用好的部件换下可疑的部件，是查找故障的最好方法。如果怀疑检测器引起了噪声，就换一个性能好的检测器。如果故障被排除了，那就说明换下的检测器有问题。这个规则应用的范围可大可小，可以从换整个部件到换印刷线路板上的集成块。

### 四、换回规则

这个规则和取代规则一起运用，好部件取代了可疑部件后情况并未得到改善，应重新换上原部件。这样做维修的费用最小，也防止了用过的部件积压下来。这条规则仅适用于单一故障。换回规则不适用于以下的情况：

- ① 在取下时新部件已损坏（如泵密封垫圈）；
- ② 部件价格低（如柱内衬过滤片）；
- ③ 重新装上原部件要冒损坏的风险；
- ④ 定期更换的部件。

### 五、参考条件规则

通常有两种参考条件：①标准参考条件；②试验参考条件。

标准参考条件也叫标准试验条件，是从一个系统到另一个系统，从一个实验室到另一个实验室都易于验证的条件，用该条件所测得的数据有助于识别实际试验和系统间的问题。如果在某试验条件下系统压力升高，而在标准条件下压力正常，这说明系统异常是由实验室环境条件的变化所引起的。用标准条件验收新的液相色谱系统是最方便的，也易于与厂家联系。

### 六、记录规则

这条规则往往被人忽视。应该在每次维护和故障排除后都作记录。例如，对系统的某一特定故障因为没作记录就不可能系统地分析问题，费时又费力。从长远观点看，系统发生的特定故障对今后的操作也有极其重要的意义。每台仪器都应备有维修记录本，内容包括日期、故障部位、现象、产生的原因、解决的办法和结果等。还有一点要注意，试过的或换下的部件都要贴上标志。

做好维修保养记录有如下好处：

- ① 让所有的操作人员都知道发生了什么故障，在操作过程中以引起注意；
- ② 帮助操作人员描述故障现象；
- ③ 当再次发生故障时可根据资料尽快解决问题。

## 七、预测规则

有维修实践和保养习惯的人员应能够预测系统的故障，平时在保养方面多投入些时间，系统会以减少故障作为报答，同时也消除了连锁性的损坏。例如，因平时不注意保养，泵的密封垫圈坏了，会腐蚀泵和其它部件，善于保养能节约时间和金钱，避免出现仪器控制操作人员的现象。例如，每天开始工作或结束工作时，发现灯老化引起基线漂移就把灯换下来。如果等到灯全坏了，就需要停机，造成的损失可能比一个灯的费用还要高。

## 八、缓冲液规则

这条规则提示停机时一定要洗净系统中的缓冲物，系统中缓冲物的残余会造成腐蚀、磨损和阻塞。另外，生理缓冲液极易受到细菌和霉菌的影响。理想的冲洗液是不含缓冲物的相同组成的流动相，不要让纯水贮藏于系统中，以防生长细菌。可在水中加入至少10%的有机溶剂或0.02%~0.05%的叠氮化钠。在实验室，应按如下程序冲洗；用纯水冲洗30min~60min(流速1mL/min)，再用甲醇冲洗30min后关机。千万不能在使用缓冲溶液之后马上就有机溶剂冲洗，否则无机盐就会结晶沉淀在系统中，造成不良后果。

## 第三节 逻辑推理（故障的确定）

对液相色谱系统的故障作逻辑推理是快速纠正系统故障的关键，某些一目了然的故障，如接头漏了，紧紧螺丝就可以了。有些故障一时难以判断，如峰拖尾的问题，可能一时找不准原因。遵循有规则的模式解决问题十分重要，而不是漫无目标地逐一检查每一个部件。

(1) 粗看一遍 首先，故障发生后要对系统作一次快速的检查。沿着流动相存储器经系统到废液出口，整个流路看一遍就能发现问题所在：泵的入口处有无气泡、接头是否渗漏、压力是否正常、还有没有其它反常现象？其次，确认所设定的条件是否合适：检查流动相、流速、压力、色谱柱类型、检测器和记录仪、调整这些方面对方法的适应性。进行这两步检查仅需一两分钟时间，却能够做到事半功倍。

(2) 系统的变化 例如，开机后进行过维修、更换过零部件，加入了新流动相、分析过特殊样品，改变过方法，甚至停过电等。如有其它操作人员在实验室中可询问一下仪器是否有过什么变化。最后认真归纳系统发生的每一个变化，就能解决许多问题。

(3) 对照参比条件 系统如果出了问题在色谱图上都会有反应，再做一次试

验参考色谱图。如果参考色谱图没有问题，可以考虑是否样品出了问题；如果参考色谱图有问题，那么系统就有了问题。也有些问题不能在色谱图中反映出来，如压力变化，这时应弄清流动相及其流速是否有误，不必再做试验参考色谱图。

(4) 逐步分析并解决问题 如果上述尝试都无效，可将系统一次做一种变化，并同时记录。变化无效的一般无问题，有效的应做上记号，然后根据实际情况，调换部分或整个部件。

## 第四节 故障的预防

色谱系统的维护与故障排除的最简便的途径就是不要完全被动地去应付各种可能发生的问题。平时做好各种预防性的维护措施，将发生故障所产生的危害降至最小更为关键。

对于故障可以有三种方式来对待：

- ① 等到系统中某部件完全损坏了再动手处理；
- ② 实施预防性的日常维护；
- ③ 工作时注意将故障在未发生前就解决掉。

实际工作中，这三种方式都是有用的。例如，不可能预测系统中的某些集成电路和某些电子元件的损坏，那只有等到损坏以后再换下来；另一方面，可以定期更换密封垫圈（预防性地保养）；系统常因为保护柱问题而产生压力升高，一旦发现系统压力开始升高，就可以换上新的保护柱（预料故障的发生），如果平时注意了这些问题，就可将故障出现后带来的危害降至最小。

### 一、仪器的选购

色谱仪器的选购与将来使用时各种条件的选择，对于保持仪器正常使用有着重要的意义。由于每个实验室对于色谱仪器的要求不同，且可供选择的厂商很多，所以无法提出一个能保证购买的每台色谱仪器一定能够非常适合自己实验室的基本规则。使用者在购买仪器决定前，一定要结合实际情况多思考，才能达到比较满意的效果。

一般而言，色谱系统有两种形式：①积木组装型——购买一家或几家厂商的组件组装成套设备；②一体机——购买一家厂商的整机，所有的部件都组装在框架内。这里所谓的一家厂商的整机也可能不是独家产品，而是由几家厂商的组件组装起来。仪器购买者对选择的厂商产品特色很了解也是非常重要的。

积木组装型仪器具有自己的优势（尤其是液相色谱系统），仪器的部件是从不同厂家购得，而且是由使用者自己选购的，由于可以任意选择最好的单泵、进样器、色谱柱和检测器，可使系统达到所需要的最佳状态，组装件也可以按照不

同的要求重新组装，如两泵梯度洗脱系统可以改装成为单泵等度系统，多余的泵可以变成第二个色谱系统；检测器也可以从一个系统搬到另一个系统。如果发生了故障，维修起来也十分方便，能很成功地运用取代规则。积木组装型系统的不足之处在于：部件分散，占用空间大，搬动较为频繁，易损坏管路和易引起光路振动。如果不是从一家厂商购买的组装件，还会存在匹配与协调的问题。例如，因接头管路不相配，会存在柱外死体积过大等问题；检测器信号输出与记录仪不匹配，接口接不上或者色谱数据处理工作站不能够很好的控制仪器等。同时，在维修上也存在先天性的困难，因为各个部件的设计和调试方法不同，各个厂家维修部门只负责自己的产品。如果从一家厂商购买组装件情况就不同了，厂家维修会变得较为简单、易行。

另外，选用积木组装型色谱系统除了要注意配套、功能、价格（一般低于整机型）外，还应十分注意系统的性能是否由此降低。

在较为拥挤的实验室中可选用整机型系统。这种系统有一个统一的控制中心，维修方便，而且不会因为组装错误而发生故障。在不同的条件下可以连续运转，如梯度洗脱、温度设置、检测器参数等，可以使建立的方法稳定。整机型系统的缺点就是价格偏高、抗故障能力弱，有时一个部件出现问题就可能导致整个系统不能正常工作。

选择一个或多个厂商。在与一个或多个厂商联络的过程中，经验表明，应与多家厂商打交道比较好。它的优点在于：①得到的资料与信息丰富；②购买仪器的选择余地大；③可以促成较好的售后服务，购买仪器非常重要的一点就是要看供应厂商的售后服务情况。

总之，购买仪器或部件时，应该注意；要配套，以满足使用要求；出现故障时能及时提供相应部件；售后服务好；有数量合适的备件。

当仪器运到实验室后，一定要严格按照各项操作指标进行验收。需要注意的事项也应一并向调试工程师问清，这样就可以减少许多可以避免的故障。

## 二、记录的建立

系统维护的最终目的是为了使色谱系统的故障率减至最低，以及避免在运转和移动中使系统发生严重故障。虽然我们不可能完全预防故障的出现，但是可以降低造成的损失。为了缩短停工的时间，需要建立专门而完全的维护记录。这就意味着随着每次试验，在系统记录本上都有仪器状况与维护记录。各实验室对这些记录会有自己的要求和方式，笔者建议至少要有3种最基本的记录：①系统使用记录；②色谱柱记录；③个人实验记录或测定样品记录。也有人主张采用两种记录：系统（含有柱）使用记录和个人实验记录。

### 1. 系统使用记录

实验室中的每台色谱系统都应备有专门的记录本，可以记录以下内容（以液

相色谱系统举例)。

(1) 系统中各组件的商品牌号、型号、系列号、购进日期、安装日期、每个组件的许可证信息(例如自动进样器、泵、色谱柱、检测器、数据处理装置等)。

(2) 依照表 6-3 的标准参考条件测量标准参数和标准色谱图。要注意流动相、流速、压力、温度、检测器的参数、样品量等。

(3) 使用记录: 日期、工作内容、开机时间、样品数、仪器性能评价、操作人员。

(4) 维修记录: 日期、原因、修理人员、修理结果。

(5) 换色谱柱: 牌号、种类、尺寸、系列号; 与前一根柱的标准参考色谱图比较。

(6) 换部件: 日期、原因, 型号、系列号; 做一次标准参考色谱图比较。

## 2. 色谱柱记录

色谱柱是液相色谱分离中的关键部件, 故要在此单列出色谱柱记录, 这是为了尽量设法延长色谱柱的使用寿命, 而且它也有助于查找每根色谱柱的使用经历。色谱记录可以包含下列内容。

(1) 种类、牌号、系列号、启用日期: 按照商家提供的标准参考条件测试记录, 注意样品、流动相、流速、压力,  $N$  值、 $t_0$ 、 $t_R$ 、 $R_s$ 、 $A_s$ (色谱峰不对称因子) 等。

(2) 使用记录: 仪器、样品种类、数量, 操作人员。

(3) 贮存记录: 保存溶剂(绝对禁止用缓冲液)、是否加保护堵头、报废后是否重新又使用过。

(4) 维修记录: 日期、原因、措施(例如反冲、烧结滤板的更换)、维护人员。

(5) 对色谱柱的重新评价(必要时): 按厂家规定的标准条件评价的结果; 操作人员。

(6) 使用总结: 色谱柱寿命(以月计)、分析样品数目、损坏原因、对于延长寿命的建议。

编写记录是为了查询色谱柱的使用经历, 操作人员可以由此推断出色谱柱损坏的原因—系统造成的损坏、实验程序有误、流动相不合适、样品污染, 以及操作者的经验等。一旦能查到原因所在, 就可以采取措施来降低故障发生率。例如, 调整好系统、完善分析系统、培训操作人员, 以便尽可能延长色谱柱寿命。

## 3. 个人实验记录

个人实验记录要记录工作中所有的详细内容和结果, 并应对照上述两种记录, 以免重复记录。有代表性的色谱图也应该保存下来。为了避免记录本体积过大, 也可以按照时间顺序将记录保存在文件夹内。当需要重复过去的实验结果时, 可以很容易地得到所需的资料, 包括各种样品的 ID 表、合适的溶剂、色谱

表 2-2 正常使用记录表

正常使用记录表				
用适当的方法填写此表,以便在使用中遇到故障时能够作为解决问题的参考信息				
方法名称:		建立人员:		日期:
泵的设置		检测器设置		
型号、系列号: No.		紫外可见检测器	示差折光检测器	荧光检测器
流速: mL/min		波长( $\lambda$ )	灵敏度	波长( $\lambda$ )(ex)
压力		灯能量(样品)	换算系数	波长( $\lambda$ )(em)
使用中:		灯能量(参比)	时间常数	衰减
上压限:		AUFS 或范围	其它	增益
下压限:		时间常数		时间常数
有无阻尼器连接:有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/>		自动校零		自动校零
溶剂: 组成		其它		其它
A A		进样器配置		
B B		类别(手动 <input type="checkbox"/> 自动进样 <input type="checkbox"/> )		
C C		定量管体积( $\mu\text{L}$ )		
D D		进样体积( $\mu\text{L}$ )		
洗脱方式(等度 <input type="checkbox"/> 梯度 <input type="checkbox"/> )		有无标样(有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/> )		
梯度方式		标样瓶号:		
梯度延迟体积:		两次标样进样间样品		
流速:		进样号:		
平衡时间:		标样进样体积:		
梯度类型(台阶 <input type="checkbox"/> 线性 <input type="checkbox"/> )				
系统信息		色谱柱信息(分析柱,有无保护柱)		
系统背压:		类型(正相 <input type="checkbox"/> 反相 <input type="checkbox"/> 制备 <input type="checkbox"/> )		
接色谱柱:		长度		
不接色谱柱:		直径		
		填料		
		死体积		
		柱效( $N$ )		
		背压		
		厂家信息		
		系列号		
		首次使用时间:		
		上次使用时间:		
		项目名称		
		方法名称		
		数据评价		
		接口		
		信号输入 10mV <input type="checkbox"/> 1V <input type="checkbox"/> 10V <input type="checkbox"/> 其它 <input type="checkbox"/>		
		积分条件		
标准品信息				
供应商:		样品批号:	定值日期:	备注
标准品名称:		稀释倍数:	内标 <input type="checkbox"/> 外标 <input type="checkbox"/>	
制备/设置备注:		浓度:	进样体积:	
样品信息				
样品名称:		制备/设置备注:	进样体积:	
样品色谱图中出现的峰,而标准品中不出现				
色谱峰信息		1号峰	2号峰	3号峰
容量因子 $k'$				
峰高				
峰面积				
分离度				
拖尾因子				
备注				

表 2-3 色谱柱使用记录表

正常使用记录表							
当改变色谱柱、流动相、或者方法时填写此表,以便在使用中遇到故障时能够作为解决问题的参考信息							
色谱柱使用经历							
色谱柱类型、尺寸、系列号、有无保护柱							
使用方法、试验条件							
实验样品							
试验流动相							
试验仪器、检测器参数							
操作条件							
测试柱柱效(N)							
$V_0$ 是死体积, $V_1$ 和 $V_2$ 分别是样品保留体积							
日期							
保留体积 $V_0$							
$V_1$							
$V_2$							
分辨率( $V_1/V_2$ )							
$k'$	$V_1$						
	$V_2$						
$\alpha$							
$N$	$V_1$						
	$V_2$						
最后一次使用之后的 $N$ 值							

表 2-4 日常维护记录表

日常维护记录表												
当实施日常维护时填写此表,以便在出现故障时作为解决问题的参考信息												
日常维护过程	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
溶剂、溶剂贮存器												
输液泵												
进样器(自动或手动)												
柱温箱												
检测器												
管路、压力配件、接头												
数据处理系统												

柱等分析条件，这些信息对于追溯色谱图中出现异常情况的原因尤其有效。例如，个人实验记录可以帮助了解使用溶剂的批号对于色谱分析的影响；可以了解纯化水系统工作是否正常，色谱柱是否失效或者其它的问题。结合色谱柱记录，可以清楚地了解色谱柱使用情况以及造成色谱柱失效的原因。

个人实验记录可以记录如下内容：

- ① 操作条件流动相的配制（包括体积、pH 值、过滤、贮存等）、流速、温度、检测器、各种设定的操作程序；
- ② 样品预处理的方法；
- ③ 分析实验程序（包括样品体积、选用标准、执行程序）；
- ④ 数据处理程序；
- ⑤ 分析结果和报告（包括各种数据、资料、色谱图）；
- ⑥ 实验现象的观察结果；
- ⑦ 仪器设备的各种唯一性标识（同上述两种记录）。

表 2-2~表 2-4 给出几种典型的记录格式（液相色谱系统）。

## 第五节 备件和工具箱

(1) 备件 根据备件对停机待修的影响程度备件可分三类：①必备件；②备用件；③可能需要的备件。详见表 2-5。

表 2-5 推荐的备件（液相色谱仪）

必备件	备用件	可备件
泵垫圈	保护柱	灯
烧结不锈钢筛板	接头	进样器
散装柱填料	卡套	电路板
进样注射器	管路	
记录纸	柱	
打印头(记录笔)	泵头(单向阀)	
保险丝		

(2) 必备件 必备件包括每天都需要的消耗品和无法估计而又经常损坏的备件。如，保险丝、进样注射器、泵垫圈等随时都可能损坏，往往会中断十分紧急的样品分析，因此要做到随手可取。比较典型的例子还有各种规格的不锈钢管、聚合物管或铜管、刃环、进样器衬管、样品瓶、隔垫等。

(3) 备用件 备用件比必备件用量少。保存一两根分析柱，可以代替正在使用而又怀疑有问题的柱。备用件的重要性次于必备件，无保护柱也不会马上影响工作。

(4) 可能需要的备件 这类备件损坏率低,用量也少,有些也没有必要积存。如检测器灯有货架寿命,可根据经济能力备置。

(5) 工具 色谱系统故障排除及维修需要合适的工具。有些工具是厂商配的,有些是实验室添置的。除厂商提供的专用工具外,色谱实验室必备的工具还有:活口扳手和不同规格的扳手(英制规格,1/4、5/16、3/8、7/16、1/2、9/16等;公制规格:6、8、10、12等);平口和十字口螺丝刀;镊子,用于取小的部件螺丝等,避免沾染油污等;不锈钢匙(修补柱头);秒表;剪刀;小钳子与用于切管的斜嘴钳子;石英毛细管柱切管器、不锈钢管和铜管切管器;锉刀;锥子(可以从螺母中反向旋转,以取出卡住的刃环);万用表;小镜子用于观察仪器的后部等;电筒;放大镜;弯管器;注射器及注射器清洗工具;磁铁用于捡拾丢失的金属零件;电子检漏仪;皂膜流量计;电子流量计等<sup>[10]</sup>。

以上都是些普通工具,但也要求使用人要有一只工具箱,集中存放,以防临时找不着。要注意购买合格的工具,不合格的工具可能会把部件损坏。还要注意不要用活动扳手去卡住部件的棱角部分,扳手松动很容易损坏部件。

### 参 考 文 献

- 1 赵敏,吴方迪,何雅娟.液相色谱仪检定规程 JJG 705—2002.北京:中国计量科学出版社,2002
- 2 金美兰,徐蓓.气相色谱仪检定规程 JJG 700—1999.北京:中国计量科学出版社,1999
- 3 邵明武,陈大舟,徐蓓,徐锐峰.台式气相色谱-质谱联用仪校准规范.北京:中国计量出版社,2007,1
- 4 JB/T 6851—93 分析仪器质量检验规则,中华人民共和国机械行业标准
- 5 吴军.液相色谱仪实验方法 JB/T 6857—93,中华人民共和国机械行业标准
- 6 刘慈玉、严菊萍、费小瑜. GB 9722—86, GB/T 9722—2006, 化学试剂 气相色谱法通则, 中华人民共和国国家标准, 2006
- 7 John W Dolan, Lloydan R Snyder. Troubleshooting LC System Chfton. New Jersey. The Human Press Inc, 1989
- 8 Dean R. Guide to the Care, Maintenance and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatographic Systems. Third. revised edition Wiley-VCH Weinheim(FRG). 1999
- 9 袁依盛. HPLC 系统的故障排除. 南京:南京大学出版社,1998
- 10 John V Hinshaw. LCGC NORTH AMERICA, 2003, 21(4): 356

## 第三章 液相色谱输液系统

输液系统的作用是将流动相和样品输送至色谱柱进行分离，然后进入检测器检测。对于内径为 2mm~5mm 的分析柱，输液泵流速通常在 0.1mL/min~3mL/min 之间，微径柱和制备柱根据情况而异。不同品牌型号的高压输液泵可以相互代用，但应注意泵单元组件是否系统配套，如是否由某一系统工作站统一控制；泵输液流量是否适合，如细内径柱往往要求流速 0.01mL/min~0.05mL/min，如果使用最小流速 0.1mL/min 的分析型系统，就不能满足要求<sup>[1]</sup>。

### 第一节 输液泵简介

#### 一、泵的基本结构与工作原理

液相色谱仪器用的泵有许多种，最常用的为往复柱塞式恒流泵，主要由凸轮及其驱动系统、柱塞杆、密封圈和单向阀等组成，泵室、密封垫圈和单向阀组成泵头。凸轮接在马达上驱动柱塞杆往复运动吸液与输液，基本结构如图 3-1 所示。

泵的工作过程简单描述：

(1) 吸液 柱塞由泵腔向外运动，从单向阀进口向上形成较低压力，进口单向阀被打开，流动相进入泵腔。因系统压力大于泵腔压力，出口单向阀关闭。

(2) 排液 柱塞向泵腔内运动，进口单向阀关闭，出口单向阀打开，流动相进入系统。

#### 二、单向阀

进口单向阀安在泵头底部，出口单向阀安在泵头上部，这样有利于气泡的排

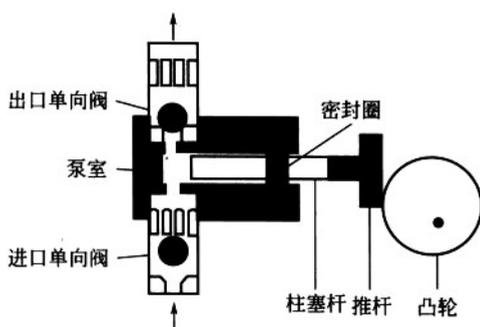


图 3-1 柱塞式恒流泵的基本结构

出。单向阀的结构如图 3-2 所示。阀体是不锈钢的，里面装宝石小球，安在阀体进口端的是宝石座，在出口处接筛网，液流反向流时，球落入底座内，阻止液流反向流动。有的阀有两套球和阀座，可减少渗漏。

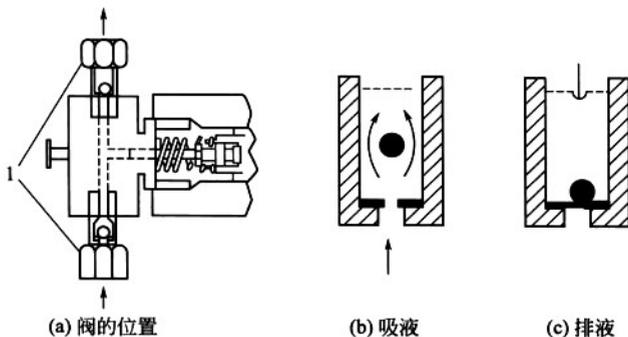


图 3-2 单向阀的结构

### 三、泵密封圈

密封圈的作用是使柱塞杆在泵头自由运动而流动相不漏出来。密封圈是由惰性材料如石墨掺和聚四氟乙烯粉等材料制成，根据输送流动相不同，如水相、反相、正相可以有不同耐受性的材料组合。它的两面不一样，一面有弹簧，有助于使垫圈内边包裹住柱塞杆。安装时应该使弹簧面向泵腔。密封垫圈不能绝对有效防止渗漏，柱塞杆不断运动，其表面和垫圈内壁一直潮湿。缓冲液流动相蒸发后留下的晶体会起研磨作用。即使是宝石的柱塞杆其表面也会被划破，加速密封垫圈的损坏，用完泵后要将缓冲液冲洗干净。垫圈损坏会引起渗漏，造成流动相流速不稳，保留值不重复。流动相渗透到泵机件内会腐蚀轴承和机件。垫圈的碎片堆积在柱头上或堵塞管道，会引起柱性能下降。

### 四、泵脉动

单泵循环一周，一半时间排液，一半时间吸液，流速曲线呈半正弦型，产生流量和压力脉冲。这样会损坏柱甚至检测器，色谱图上基线噪声增大。为使输液平稳，泵上装压力传感器调节流速；为补偿流动相的可压缩性，还装有流速调节器和马达转速测量系统。

有的泵有溶剂混合系统，分为两类：

- ① 低压混合系统，使各组分按比例混合，然后打入高压系统中；
- ② 高压混合系统，各组分分别由单泵打入高压混合室中混合。

在泵与进样器之间有放空阀，排除气泡或换流动相时加大流速，很快将管道和泵腔洗干净。

## 五、常用输液泵类型

在液相色谱系统中常有下列几种类型的泵：

- ① 柱塞往复泵（单柱塞泵、二或三柱塞泵）；
- ② 柱塞隔膜泵；
- ③ 螺旋注射泵等。

不同的泵配置不同的压力脉冲阻尼器和不同的混合装置<sup>[1]</sup>。

按照柱塞和输液的流路结构双柱塞泵又可以分为并联式和串联式两种。并联式往复泵的两个泵头分别从溶剂瓶吸液而串联式泵只有主泵头从溶剂瓶吸液。

### 1. 并联式双柱塞泵

图 3-3 表示了并联式双柱塞泵的工作原理，采用两个相位差为  $180^\circ$  的凸轮并联分别推动两个柱塞，柱塞 A 吸入流动相时，柱塞 B 输出流动相到色谱柱；反之，柱塞 A 输出流动相到色谱柱时，柱塞 B 吸入流动相，这样通过互相补偿减少输出脉动。

### 2. 串联式双柱塞泵

与并联式往复柱塞泵不同，串联式往复柱塞泵的两个泵头每次输液量不同，有主泵头和副泵头之分，一般主泵头排液体积是副泵头的两倍，结构如图 3-4 所示。副泵头的入口接在主泵头的出口，主泵头输出流动相时，副泵头柱塞杆后退，泵腔容纳吸入流动相的一半，另一半则直接通过副泵头输出到进样阀和色谱柱中。主泵头吸取流动相时，副泵头柱塞杆前进，将泵腔中贮存的一半流动相输出到色谱柱，主副泵头配合可以有效降低输液脉动。这种结构的输液泵只用一组单向阀，比并联式泵的结构少一组。这一组单向阀或者在同一个泵头上，或者分开在两个泵头上。由于单向阀被沾污往往是恒流泵输液性能下降的主要原因，因此一台泵所用的单向阀越少，发生故障的机会也越少。

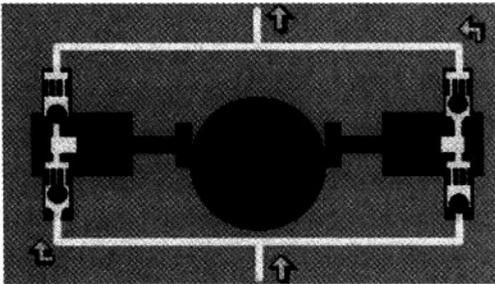


图 3-3 并联式双柱塞泵结构图

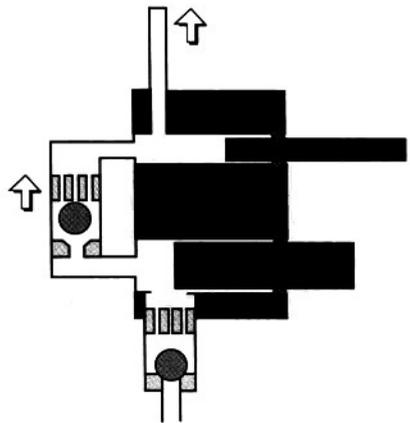


图 3-4 串联式双柱塞泵结构图

### 3. 单柱塞泵

单柱塞泵要经改装后才能输出小脉冲的液流，一是改变凸轮的形状，二是随着泵周期改变马达的速度，以克服液流的波动和减少脉冲。在泵和进样器之间装一个脉冲阻尼器（缓冲器），更有利于减少脉冲。脉冲阻尼器有两种形式，一种实例是用 100cm 长扁平薄壁管绕成 7.5cm 直径的螺环，随着压力的升高而伸展，压力下降而收缩，不断改变体积，达到缓冲目的；另一种是在尼龙胆上刻许多长短不等的平行线的波纹管、总液流被分成无数细流，以分散总的脉冲。

### 4. 三柱塞泵

在双柱塞泵的基础上再加一组柱塞，可以平行安装。也可以相对 120° 安装；用一个凸轮带动。这种泵虽然有利于减少脉冲，但费用较高、结构复杂、维修不便，且性能改善并不十分明显。

### 5. 螺旋注射泵（单冲程注射式泵）

其工作原理见图 3-5。螺旋泵是用步进电机通过齿轮箱驱动注射活塞的，加在电机上的可变电压控制注射传动速率。这种泵的优点是在高压下能够产生无脉冲液流。它的主要缺点是溶剂体积受到限制，不能连续工作。但典型的色谱仪仅需 20mL~40mL 的流动相，因此这一点对于 500mL 泵腔的注射泵来说又不算缺点。一台仪器上装两台注射泵，可供梯度洗脱。因其费用高，缺乏机动性，故这种泵目前在常规液相色谱系统中应用很少，但是由于其小流量稳定的特点，在质谱仪器联用时应用很普遍。

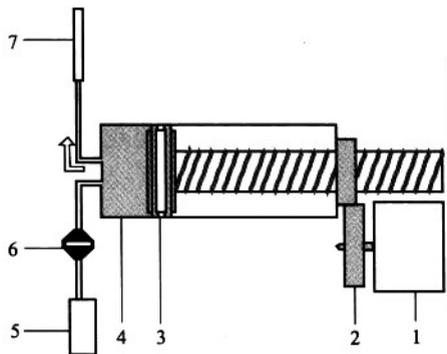


图 3-5 螺旋注射泵结构示意图（单冲程注射泵）  
 1—马达；2—齿轮；3—移动活塞（密封）；4—溶剂腔；  
 5—溶剂贮液器；6—切换阀；7—色谱柱

## 六、梯度洗脱

梯度洗脱是在液相色谱分析过程中改变流动相组成，以优化分离度、降低分离时间的操作模式。根据流动相不同组分在液相色谱系统中混合时的压力差异，

可以分为高压梯度与低压梯度两种模式。传统的手工混合流动相方式具有费时、重复性差等不足，而且混合流动相体积过少影响分析，体积过多造成浪费，如今已经使用的越来越少。在线的低压或高压混合具有自动化程度高、简便快速等优点，应用越来越普遍。

### 1. 低压混合

低压混合装置如图 3-6 所示。几种不同的溶剂由比例阀控制各个溶剂进入低压混合室的量，混合后由高压泵输送到色谱柱进行洗脱。混合周期从几毫秒到几秒。短混合周期流动相混合更均匀，但对含量低的组分（如 $<5\%$ ）混合比例的准确度降低；长周期混合可以提高溶剂组成的准确性。在低压混合器 and 高压泵之间加上静态混合器（如玻璃球柱）或动态混合器（如搅拌器），混合会更均匀。低压混合使流动相脱气受到一定影响，因此用这种装置时脱气是至关重要的。低压混合仅需一个泵，费用低。

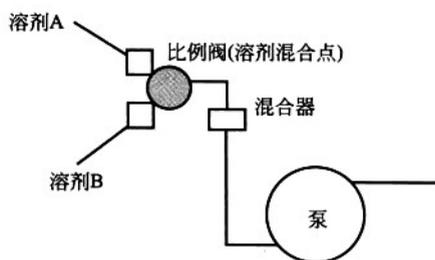


图 3-6 低压混合装置示意图

### 2. 高压混合

高压混合是两个高压泵分别按照一定流速输出不同溶剂，流动相组分比例取决于每个泵的相对流速，混合后作为流动相进行洗脱（图 3-7）。它也需要加静态或动态混合器，相对低压混合而言气泡影响小，但费用高。图 3-8 所示的是安捷伦公司的一种四元梯度装置的流路。

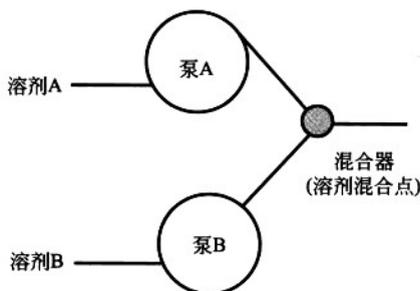


图 3-7 高压混合装置示意图

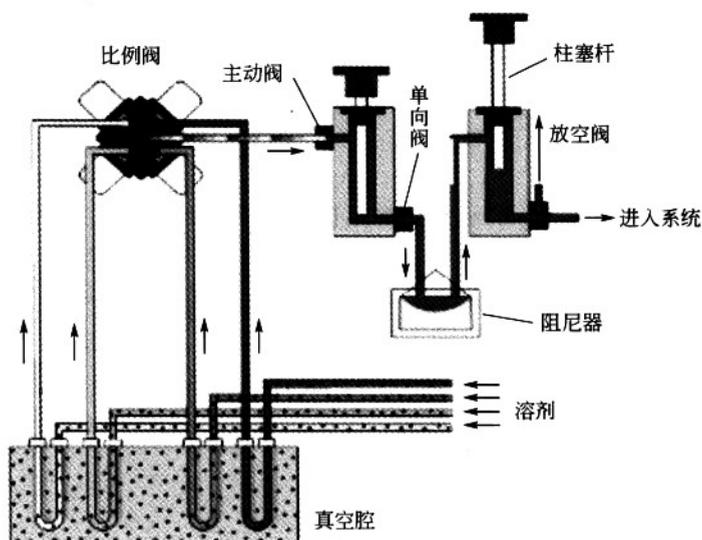


图 3-8 四元低压梯度装置流路示意图

## 第二节 泵故障的排除

### 一、泵故障预防

要保持泵的良好操作性能，必须保持系统的清洁，保证溶剂和试剂的质量，对流动相进行过滤和脱气。下面列出预防泵故障的几项措施<sup>[1~3]</sup>：

- ① 高质量试剂和 HPLC 级溶剂；
- ② 过滤流动相和溶剂；
- ③ 脱气；
- ④ 每天开始使用时放空排气，工作结束后从泵中洗去缓冲液；
- ⑤ 不让水或腐蚀性溶剂滞留泵中；
- ⑥ 定期更换密封圈；
- ⑦ 需要时加润滑油；
- ⑧ 查阅有关泵操作手册中的其它建议。

处于良好操作状态的泵，应该能使色谱图上的基线平稳，保留时间重复性好。等度洗脱时压力波动小于 2%，梯度洗脱时压力变化应缓慢平稳。

为使故障发生后尽快排除，平时应常备泵密封圈、单向阀（入口与出口）、泵头装置、各式接头、保险丝等部件，以及更换工具。

泵出现故障通常在色谱图上能够反映出来，如噪声增加、保留时间不重复

等。主要问题包括单向阀失灵、密封圈渗漏、泵中有气泡进入等。泵的运动部件多，机械磨损也是产生故障的重要原因。

## 二、单向阀故障

单向阀的主要故障是：①球与阀座密封不严、液流倒流、压力不稳；②球与阀座粘在一起阻死。密封不严主要是污染或气泡引起的，球与阀座粘在一起是由于污染或磨损造成的。

### 1. 单向阀的结构

图 3-9 是一种液相色谱单向阀的结构图，由于泵吸液和排液需要单向阀切换控制液体流向，所以对单向阀切换稳定性和密封性能要求很高，如果单向阀密封不严，可能会出现流量不准或不能吸液的现象。

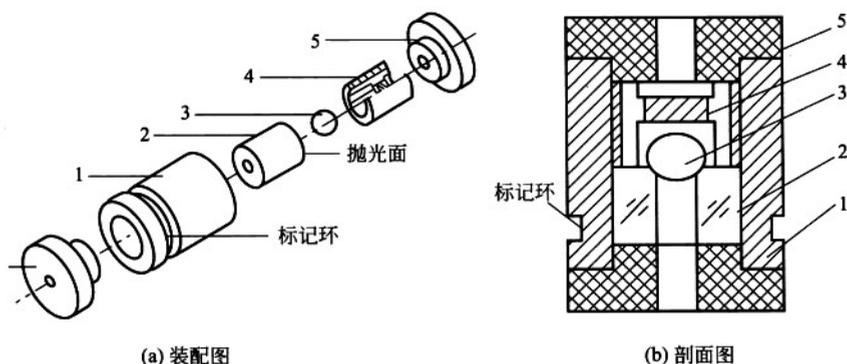


图 3-9 单向阀的结构图

1—带标记环阀外套；2—陶瓷座；3—宝石球；4—带密封垫限位套；5—密封垫

目前也有厂商采用电磁切换阀替代传统的单向阀作为泵进液口单向阀，其结构如图 3-10 所示，耐用稳定的球在电磁的驱动下按照选定的方向切换，接触液体的材料有 316 不锈钢、PEEK 聚合物，氧化铝和氧化锆陶瓷等，与传统单向阀相比，具有切换速度快的优点，该类切换阀出现故障之后只能找厂商维修或

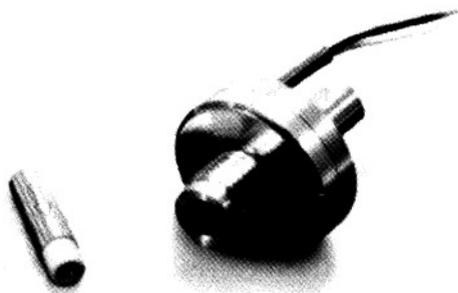


图 3-10 电磁单向阀组件

更换。

## 2. 单向阀的清洗

通常使用过程中单向阀组件不用清洗，然而当阀中有微粒存在就会影响其性能。将单向阀整体用乙醇超声清洗 15min 两次，然后吹净里面的溶剂，一般可以起到较好的清洗效果。而泵仍不能正常工作，应考虑微粒污染问题，此时用不同极性的一系列溶剂冲洗有可能解决问题，如分别用 25mL 水、甲醇、异丙醇、二氯甲烷依次冲洗。冲洗时应打开放空阀，再用相应溶剂冲洗整个系统。在整体清洗单向阀组件无效时，需要拆开单向阀组件，把阀球、阀座拆出来，取出密封垫，仔细地取出阀的组件，根据污染程度在乙醇中超声清洗阀组件；用放大镜观察清洗过的阀球或阀座，如果阀球或阀座有损坏，则需要更换。清洗之后将宝石球装入阀体，注意每组阀座的方向，陶瓷部件粗糙端朝上装入阀体（在宝石球的方向一定是磨光端），在上面压住密封垫圈。阀组件装好后，可用吹气的方法检查安装的是否正确。从进液体的一端吹气，空气可以通过阀体，而在另一端吹气，空气应无法通过阀体。较长时期不用（超过一个月）输液泵，必须用去离子水清洗泵头及单向阀，以防止阀球被阀座“贴住”，泵头吸不进流动相。

可小心地取出单向阀放入稀硝酸内超声清洗 15min，再反复用 HPLC 级水清洗 2 次~3 次，最后用甲醇清洗两次。然后用洗耳球从进液方向反吸气，如不通气，说明故障已排除，可装入泵内运转（先排净气）。这样处理仍然无效，可将进液和排液单向阀相对调，即将原来的进液阀作排液阀，排液阀作进液阀（注意不要弄错方向），装好后也可用洗耳球吸气试验。

拆装单向阀要有熟练的技巧，要求在清洁的环境中进行，装上后用甲醇冲洗排除新阀中的空气。

## 3. 泵头排气

气泡进入阀中会紧贴阀体的一侧，使球难以返回到阀座，引起倒流、压力和流速波动范围增大，有时甚至断流。此时不必弄清楚气泡附着在何处，只要打开放空阀大流量冲洗或用脱过气的甲醇冲洗一般可以解决问题。在冲洗泵时可用扳手迅速打开泵头出液口单向阀上方的螺丝，以促使气泡排出。

用脱气甲醇代替流动相有利于气泡的排出。甲醇可润湿泵内壁，挤出气泡，也可使气泡溶入脱气的甲醇，长期不用的泵或新装的泵头应该用脱气的甲醇赶气泡。另外，可在贮液器上加一定的压力，或者抬高贮液器位置，这样有利于除去附着的气泡。

使用双柱塞泵时常见到压力下降可能与其中一个泵头有关，在排气前要弄清是哪个泵头有问题。此时开动泵作几次循环运行便可以判断出。

打开放空阀也未能达排气目的，可用扳手固定住受怀疑的泵头，拧开输出管道的压帽（1/3 转），可见气泡从压帽处渗漏出来。直到气泡排尽再拧紧螺帽。

压力稳定了说明气泡排净。用吸水纸吸干漏出的液体。

采取上述方法仍不能排除压力不稳的故障。应考虑可能是密封圈损坏、阀座磨损、阀球不光滑等。需要更换新垫圈或单向阀。换单向阀时应注意固定好泵头，然后依次拧开管道和单向阀，防止折断柱塞杆。安装单向阀时不要弄错了方向，进口单向阀和出口单向阀的阀座方向一致，在单向阀下侧，可用洗耳球从进液的方向吹气试验。安装后先排气。

如果技术熟练，可以对调单向阀的宝石球。原配的球和阀座因磨损已不能再密封时，调换宝石球可以改变相对的形状与位置。操作时要防止球滚落、硬质工具碰坏球面或阀座面。拆装要在清洁的环境中进行，有条件在显微放大镜下操作更好，能去掉纤维和灰尘。

有些类似的现象看上去也像单向阀出了问题，如供液不足、过滤器堵塞、脱气不完全等，应区别对待，采取相应的方法排除故障。

### 三、泵密封圈故障

#### 1. 泵密封圈常见的故障

渗漏和密封圈碎片污染系统是密封圈使用时间长了随时都可能出现的故障，有些实验室建议3个月换一次密封圈。另外，密封圈材料如果不能耐溶剂浸蚀，也会严重污染系统。

密封圈与运动着的柱塞杆紧紧相接触，是液相色谱系统中最易磨损的部件，缓冲液或其它含盐的流动相会加速密封圈的磨损。密封圈磨损是不能避免的，但采取保护措施可延长它的使用寿命。密封圈损坏的表现主要是：在高压下压力不稳定或者从泵头渗漏流动相。分析时的具体表现就是样品保留时间改变。一只渗漏的密封圈就像一只压力调节阀，压力升高到一定程度就会在密封圈处漏出，一旦发现密封圈渗漏，马上拆下旧的，换上新的。否则的话泄露的流动相可能会侵蚀仪器电路。

多数密封圈能够耐受常用的流动相，有些厂商配置的可延长在水性流动相中使用寿命的密封圈可能在某些有机溶剂中耐受性较差，出现了密封圈与流动相的不匹配。例如有的密封圈仅适用于水、甲醇和乙腈体系，在四氢呋喃中溶解。为了防止发生密封圈溶解可以将密封圈置于相关的溶剂中浸泡一夜，检查其颜色有无改变，有无发黏、变软。同时用紫外分光光度计扫描浸泡液，有无出现新紫外吸收。如果出现上述现象，应停止使用这种密封圈，向厂商询问并更换。注意很多厂商提供了两种甚至更多种类的耐受不同溶剂的密封圈供用户选择，以满足不同要求，因此色谱工作者应该注意厂商的介绍。

#### 2. 密封圈更换

这是所有液相色谱分析人员都必须学会的方法。各种类型的仪器有不同的操作方法，可以参照各自的使用手册，简要介绍如下。

第一，准备好工具和所需部件。工具包括扳手、超声清洗器、密封圈安装工具、新密封圈。用水-甲醇冲洗泵，拆开进出口管道，在泵头和单向阀上标出液流方向（有的厂商已标出）。

第二，将柱塞杆缩至最小，松开泵头的收紧螺钉，小心托住泵头。操作时要注意处处以平衡的动作慢慢退出泵头，切不可摇动或上下左右摆动泵头，否则柱塞杆极易折断。

第三，从密封圈孔中轻轻拔出旧密封圈，注意不要划泵头内壁，要毫不犹豫地随即扔掉旧密封圈。

第四，将泵头（连同单向阀）和新密封圈分别放入甲醇中超声清洗，同时用无纤维纸擦洗柱塞杆。察看柱塞杆上无划痕，如有划痕应换新柱塞杆然后再安装密封圈。也可拆去单向阀后超声清洗，防止单向阀被污染。

第五，安装新密封圈。这一步要用专门的安装工具，切不可粗心大意，避免损坏密封圈。有些公司专门出售密封圈安装工具，有详细的说明与图解。选一根略粗于柱塞杆的不锈钢杆，截成约 5cm 长，一端精密磨制成与柱塞杆同粗细的 (3.2mm)、有很高光洁度的面。选一根直径大于柱塞杆约 2mm、壁厚 2mm、长约 3cm，一端截面平整光滑的铜管，操作时将不锈钢杆光滑端从密封圈无弹簧的一侧轻轻插入，抽至密封圈不掉下来即可。将密封圈有弹簧的一侧对准泵室（高压侧），再给不锈钢杯套上铜管，用光滑的一面轻轻向泵室压密封圈，同时抽出不锈钢杆，继续用拇指将密封圈完全压入泵头，加上垫圈。参见图 3-11。

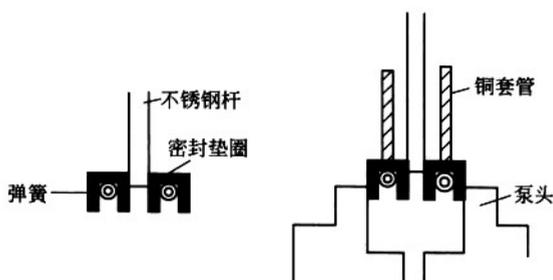


图 3-11 安装密封垫圈

第六，重新装上泵头。先在柱塞杆上滴几滴甲醇以湿润，滑动泵头到位。千万不能

摇动或摆动，以防柱塞杆在这一步操作时折断。平衡地上紧固定螺丝（防止折断柱塞杆），接上进液管道。

最后，打脱气甲醇到泵腔中，不断用纸巾从泵出口处吸去流出的液体，等到无气泡溢出再接上输出管道，打开放空阀，继续抽 20mL 甲醇赶走气泡后，换成需要使用的流动相。

#### 四、柱塞杆故障

柱塞杆故障主要有因操作错误被折断、摩擦划痕、被卡住。

除非发生在检修泵头或换密封圈时，柱塞杆被折断一般不多见，柱塞杆折断在被拆开时仅见参差不齐的根部，顶端被夹在密封圈中。装泵头或在操作中柱塞

杆折断时，会出现无流动相输出或压力波动等现象。有的泵装有指示器监视泵运行情况。

有微粒或缓冲盐夹在柱塞杆与密封圈之间，可能在柱塞杆上留下划痕，其现象是换下新密封圈也不能止住渗漏，使用放大镜可见划破地方。

柱塞杆卡住的主要原因是腐蚀性溶剂留在泵内而又长期不开机，使柱塞不能运动，无法抽取流动相。此时开泵可能会造成烧坏马达、推杆脱落及损坏其它部件。

出现以上三种故障，都要更换新柱塞杆。这种操作比较困难，一般需要请维修工程师来解决，或者参阅专门的操作手册自己动手。

## 五、其它故障

泵发生故障可能还有压力传感器失灵、放空阀漏液、混合器故障以及除密封圈和单向阀以外的渗漏等。泵外管路和接头渗漏可用小片滤纸检查，发现滤纸潮湿表示渗漏，用扳手拧紧即可。此时如用缓冲液洗脱，则可见到盐晶体析出。另外常见的问题是采用色谱工作站控制仪器运行时，可能会发生通讯问题，使得仪器没法正常工作。

## 第三节 管路的种类与规格

连接管路是液相色谱仪中输送液体与样品的基本组成，根据使用部位与承受压力的大小可以选择不同材质与规格，主要是不锈钢管、聚四氟乙烯管、聚醚醚酮（PEEK）管，也有聚乙烯或聚丙烯管。不合适的管路会引起色谱峰变宽或液流受阻产生高压。

液相色谱系统中管路选择的原则是排放废液的管路不能太细，有样品通过的管路内径要细，保证样品在管路中滞留时间少、扩散小。管路一般不会“磨损”坏，无需进行特殊的维护，除非堵塞或配套的接头损坏时才更换。

国内存在公制和英制两种规格的管路，易于混淆，表 3-1 将这两种单位制对应关系进行了比较。

表 3-1 管内径两种单位制的换算

内 径		体积/ ( $\mu\text{L}/\text{cm}$ )	内 径		体积/ ( $\mu\text{L}/\text{cm}$ )
英寸	mm		英寸	mm	
0.005	0.13	0.13	0.030	0.75	4.56
0.007	0.18	0.25	0.040	1.00	8.11
0.010	0.25	0.51	0.046	1.20	10.72
0.020	0.50	2.03			

## 一、连接管材料

表 3-2 推荐了液相色谱系统不同部件之间理想的连接管路材料。

表 3-2 HPLC 系统不同部位的管路

部位	种类	内径/mm	长	说明
贮液器→泵	聚四氟乙烯管	1.6	随意	能透氧,不用于电化学检测器
泵→进样器	不锈钢管	1.0	随意	
进样器	定量环用不锈钢管;放空管用聚乙烯管	视样品体积而定; 0.5		
进样器→柱	不锈钢管	0.2~0.25	尽量短	
柱→检测器	不锈钢管或聚醚酮管	0.2~0.25	尽量短	
检测器放空	聚乙(丙)烯管	0.25	随意	需要时用 0.25mm 内径 1m 长管做限制器

(1) 不锈钢管 耐腐蚀、有精密的同轴度,液相色谱系统中主要使用 SS316 型号 (ASTM) 的不锈钢,对应于中国国家标准的 0Cr17Ni12Mo2 或 00Cr17Ni14Mo2 型号。

在液相色谱系统中,凡有高压的部分最好用不锈钢管连接,从泵出口一直到检测器入口必须用不锈钢管。不锈钢管通常分为液相色谱级和工业级,从仪器公司新买来的管路多数已经过处理,可直接使用。来自工厂的管路虽然价格低很多,但是注意必须清洗后使用。溶剂清洗顺序是:氯仿→甲醇(无水乙醇)→水→1mol/L 硝酸→水→甲醇→氮气流吹干。

(2) 聚合物管 聚合物管具有价格低、柔软性好、适应容器形状等优点。液相色谱系统中可用聚合物管的部分为:①从贮液器到泵;②检测器出口;③其它低压部分,如进样器排液口和放空阀出口。

聚四氟乙烯是最好的可塑性管子,而且对液相色谱的化学试剂呈惰性。聚乙烯和聚丙烯管可用作放空管路(不能用做进液管)。聚四氟乙烯管使用前,以甲醇冲洗即可。聚醚醚酮管路可耐压 30MPa 以上,比不锈钢管更具惰性,是一种新材料,在很多情况下可以替代不锈钢管路。表 3-3 是 20℃ 时不同溶剂与 PEEK、聚乙烯、聚丙烯、PVDF、Teflon 和 Tefzel 等材料管化学适应性的资料。表 3-4 包含了升高温度时 PEEK 材料对各种溶剂适应性的资料。

## 二、连接管柱外效应

在液相色谱系统中,需要注意进样器到柱、柱到检测器的连接管道的柱外效应。其它部位管路的长度和直径要求不是非常严格,只要在更换溶剂时达到快速、干净目的即可。表 3-5 列出了与常用色谱柱相连接的管路总长度与内径的要

表 3-3 常见聚合物材料耐化学试剂的性能

溶 剂	PEEK	聚乙烯	聚丙烯	PVDF	Teflon	Tefzel
乙醛	1	0	0	0	0	0
乙酸(20%)	1	1	1	1	1	1
乙酸(80%)	1	1	1	1	2	1
冰乙酸	1	1	1	1	1	1
丙酮	1	2	1	1	3	1
乙腈	1	0	0	0	1	1
氨水(10%)	1	2	1	1	1	1
液氨	2	0	0	0	0	0
氢氧化铵	1	1	1	1	1	1
芳香烃	1	2	3	0	0	0
苯	1	2	3	1	1	1
丁醇	1	1	1	1	1	1
氯仿	1	2	2	1	1	1
环己烷	1	2	3	1	1	1
环己酮	1	3	3	3	1	1
二乙胺	1	3	1	3	1	1
二乙醚	1	0	0	0	0	0
二氧六环	1	0	0	0	0	1
乙醇	1	2	1	0	1	1
乙酸乙酯	1	2	1	3	1	1
己烷/庚烷	1	2	2	1	1	1
盐酸(100%)	1	0	2	1	1	1
盐酸(20%)	1	1	2	1	1	1
异丙醇	1	1	1	0	1	0
异丙醚	0	1	2	3	1	0
酮(常见)	1	2	2	2	2	0
甲醇	1	1	1	1	1	1
二氯甲烷	0	0	0	3	3	0
硝酸(100%)	3	2	3	3	1	1
硝酸(20%)	1	1	1	2	1	1
高氯酸	1	2	2	1	1	1
磷酸(100%)	1	2	1	2	1	1
磷酸(20%)	1	1	1	2	1	1
氢氧化钠(80%)	1	2	1	3	1	0
氢氧化钠(20%)	1	1	1	1	1	1
硫酸(100%)	3	2	2	1	1	1
硫酸(40%)	1	1	1	1	1	1
四氢呋喃	1	2	2	2	1	1
甲苯	1	2	2	1	1	1
三乙胺	0	0	3	1	1	1

注：1—适合，无不利影响；2—视具体情况决定；3—不适合/不推荐；0—没有相关适应性信息。

表 3-4 PEEK 材料 200℃ 高温下的耐溶剂性能

溶 剂	PEEK 适应性
乙酸	视具体情况而定
液氨	适合,无不利影响
硫化氢(气体)	适合,无不利影响
甲烷(气体)	适合,无不利影响
甲乙酮	不适合/不推荐
磷酸(50%)	适合,无不利影响
氢氧化钠(20%)	适合,无不利影响
硫酸(50%)	视具体情况决定
二氧化硫(气体)	适合,无不利影响

注: 在含有二甲基亚砷、二氯甲烷和四氢呋喃时 PEEK 管会出现膨胀。

表 3-5 流速为 1mL/min 时, 连接管长度选择指南

色 谱 柱				柱外峰宽效应 5% 时 3 种不同内径管最大长度/cm		
长/mm	内径/mm	填料粒径/ $\mu\text{m}$	塔板数	$\phi_{\text{内}} 0.18\text{mm}$	$\phi_{\text{内}} 0.25\text{mm}$	$\phi_{\text{内}} 0.50\text{mm}$
33	4.6	3	4400	22	9	<8
50	4.6	3	6677	33	14	<8
100	4.6	3	13333	67	27	<8
150	4.6	5	12000	167	68	<8
250	4.6	10	10000	556	228	14
250	4.6	5	20000	278	114	<8
250	2.0	5	20000	50	20	<8
250	1.0	5	20000	12	<8	<8

求。表中表示的为柱外峰宽效应增加 5% 时不同内径管路最大长度 (包括接头)。例如, 长 114cm、内径 0.25mm 的连接管可以使 250mm $\times$ 4.6mm, 5 $\mu\text{m}$  粒径的色谱柱柱外峰宽效应增加 5%。若用 0.5mm 内径的管子, 要达到柱外峰宽效应小于 5% 目的, 从表中看出, 总管长应不大于 8cm。考虑柱头 (按每个接头长 2cm 计算, 两个接头 4cm), 实际上连接管路总长度不能大于 4cm。可见内径较大的连接管引入的柱外死体积是非常明显的。

流速对峰宽起反作用, 但从下面公式可以看出流速  $F$  的影响远不及柱内径  $d$  大。

$$L = \frac{40V_R^2 D_M}{\pi F d^2 N}$$

- 式中  $V_R$ ——保留体积;  
 $D_M$ ——溶质扩散率;  
 $N$ ——塔板数;  
 $L$ ——柱长。

在实际操作中, 因情况不同对管路的要求也不同。如待分析组分的峰都达到基线分离, 且  $k' > 1$ , 柱外峰宽效应达到 10% 也无问题。但干扰峰在  $k' = 1$  之前

出来，而  $R_s < 1.2$  时。若用细而短的色谱柱则对管路的要求相当严格。

通常在安装完成之后再检查系统管路内径就非常困难了。因此最好所有维护都应该以相应格式详细记录下来，这样就很容易追溯最近的维护与更改记录。

### 三、连接管的裁切

聚合物连接管常成批买来，使用时用刀片切齐即可。而不锈钢管，有的是厂商已经切割好，有的则需要自己切割。切割好的管切口应光滑、两端整齐，已经倒过毛边和清洗过，甚至已用电抛光处理过。自己切割管子很难保证质量，有时很难与接头相配，但是，自己切割管子可节省开支，灵活选用不同的长度。因此，几乎所有的色谱工作人员都是自己动手切割管子。

要求管子切口平整，能贴切地插入接头中，常用 3 种方法：①砂轮切割机；②旋转切割机；③锉刀锯断。即使是熟练的操作者，在使用这 3 种方法时也不一定会把管子插入接头中心而密封，同时保证切口很整齐。

用砂轮切割机可保证切口整齐，运用机上倒毛刺工具可去掉切口内外的毛刺，但对小管径管子较困难，常常会折断倒毛刺工具的尖端。旋转切割机没有砂轮切割机切得平整，但不会阻死管孔，没有毛刺，价格低。用旋转切割机先在管外划一条痕，然后用钳子夹住转动折断，再用锉刀小心修整一下即可，但划痕深度比较难掌握。浅了不易折断，管子容易报废；太深了切口不平整。实验室最常使用锉刀切割管子，用名牌的双面锉或三角锉在管子上锉  $1/3$  深的槽（在支架上更好），然后用钳子猛扳锉口的两侧，用锉刀锉平毛刺。用这种方法很少能使锉口平整，锉槽时可借助放大显微镜，不至于锉歪。最好不用剪刀或剪钳切割 HPLC 连接管，那样会导致管口变形、形成锐角切口等（图 3-12），是导致液体泄漏、死体积增加的最主要原因。实验室的最好的办法是使用厂商提供的预切割连接管。

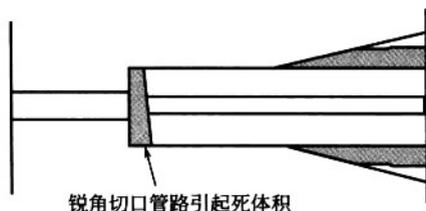


图 3-12 锐角切口管路引起的死体积

#### 1. 不锈钢管切割

不锈钢管切割可以按下述步骤进行。

(1) 预先确定所需长度。如果管路需弯折，在弯曲成角度时，要留有一定长度，弯曲角度太小会使管路内径变形，阻碍溶剂流通。

(2) 使用不锈钢管切管器时，要把管口的毛刺去掉。没有切管器时请使用锉

刀处理管口。无论采用什么方法，要尽可能仔细，不要使连接管变形或损伤。

(3) 用两把钳口光滑的钳子，一把位于切痕上方，另一把位于切痕下方，轻轻地前后弯曲连接管直至卡断。避免弯折过猛损伤连接管，并导致断面不平整。

(4) 可小心锉去切面上的毛刺以获得光滑平整的断面，小心不要让锉下的粉末堵塞管口。

## 2. PEEK 管等聚合物材料连接管切割

使用剃刀或者工艺刀刀片切割聚合物管是最简单的方法。许多厂家供应的聚合物管切管器，其实就是安装在安全腔里的剃刀片。使用切管器的最大优点就是它能使刀片与连接管成 90 度，以确保得到平整切口。

聚合物连接管可以按照以下步骤切割。

(1) 预先确定所需长度。如果管道需弯折，在弯曲成角度时，要留有一定的长度，弯曲角度太小会使管道内径变形，阻碍溶剂流通。

(2) 使用锋利的刀片或特制切管器。不要用“锯”的动作，这样会使切面不光滑。一次动作完成切割。

(3) 检查切面的毛刺。毛刺要小心地锉去以得到光滑、平整的断面，应小心不要让锉下的粉末堵塞管口。

最后，在将连接管切断后，将其连在 HPLC 系统之前，要用溶剂冲洗管路除去管口和管路中的锉刀屑、灰尘或其它微粒，然后就可以连接接头了。

## 四、管路堵塞

### 1. 管路堵塞

管路完全或部分堵塞是由下列原因引起的：①没有很好过滤流动相；②样品中有微粒；③泵或进样器密封圈产生碎片；④保护柱和分析柱中漏出填料；⑤毛刺和锉屑进入；⑥流动相中的结晶盐；⑦微生物；⑧系统中进入了其它颗粒性物质。系统中管道堵塞的现象很少见，常见的是烧结过滤片（玻璃砂芯）堵塞，液相色谱中常用孔径  $2\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$  烧结过滤片去掉堵塞管路的微粒（如 0.25mm 管径）。

管路完全堵塞，压力会突然升高，超压。部分堵塞开始不明显，不断滞留在液流中的微粒压力会慢慢升高，最后完全堵塞。管路堵塞同时会看到接头或密封圈渗漏，压力高时渗漏更加明显。管路堵塞可导致系统压力升高，柱效降低或从接头漏液。更换管路或清除堵塞物可以解决，如果没有可更换管路，可按照以下步骤清除堵塞物。

(1) 用系统分段法检查堵塞的管路，从后向前分别松开接头检查，找到堵塞管路后，应立即拆下来疏导或更换。

(2) 如果是非刚性物质堵塞，如生物样品中的生物物质（蛋白质）、微生物

等,可用极细的金属丝导通,也可以在火头上烧一烧,使有机物炭化,而后再导通。

(3)如果是刚性物质堵塞,要导通则十分困难,采用反冲的办法有时能成功,将管子调换方向直接与泵相连,利用仪器反冲清除堵塞物,注意不要连接色谱柱和检测器。

(4)用适当的溶剂以约0.5mL/min流速冲洗管路以清除堵塞物。对于不明堵塞物,用50%的甲醇水溶液冲洗。

(5)不溶于流动相的密封圈碎片等堵塞物,上述冲洗过程可能不能清除。最后选择是将流速增加到3mL/min至5mL/min将堵塞物强行冲出,如果是溶剂中的杂质使管路堵塞,这样做会比较危险,为安全起见,使用这种方法时应保证废液管出口放置在封闭的烧杯或密封的废液瓶中。

如果管路仍然堵塞,要换上同样规格的管子,如果换上新管后又被堵塞,则应该停机检查上面提到的引起堵塞的几种原因。

## 2. 管头损坏

管子切口不平整或密封卡套不平滑都不能密封。要重新切割去坏管头(包括卡套),调换新卡套,装上接头挤压卡紧。大多数渗漏是由接头引起的,而不是管子问题。

## 五、管路故障的预防

贴标签。没有经验和比较时要准确分辨不同内径的不锈钢管是十分困难的。为防止差错,新买的管路应该贴上标签,注明管径,有的厂商用不同颜色标识,可以有效避免差错。

新换上的管子一般不会引起明显的压力变化,一旦发现压力降低应检查渗漏情况。压力升高可能管路不畅,应即时排除异物,否则会很快阻死。

用半透明的聚合物管可见到管中是否有空气泡。泵进液管中不应有气泡。检测器放空管有气泡是正常的,只有色谱图上出现尖信号时才考虑可能是这些气泡通过了检测池,当然,如果连续不断有气泡放出,应检查放空管的接头处是否漏气。

## 第四节 液相色谱接头

接头是液相色谱系统的连接器,与管路一起把各组件连接起来。接头应呈化学惰性,不泄漏,不增加色谱系统的死体积。在液相色谱系统中使用的接头有两种,低压部分(使用聚四氟乙烯管路)可用塑料接头,高压部分(使用不锈钢管路)用不锈钢压缩接头。接头搭配不当会产生渗漏或增加死体积。有些厂商提供

的接头可以混用，而有的接头却不能混用，这里提倡专门的仪器使用专门的接头。

### 一、低压接头

低压接头是连接聚四氟乙烯管和塑料管用的，多数用在系统的外围部分，如泵的进口和检测器的出口。图 3-13 所示的是最常用的一种低压接头。聚合物的管端有法兰（凸缘），带不锈钢套圈和塑料螺母。



图 3-13 带法兰（凸缘）的低压接头

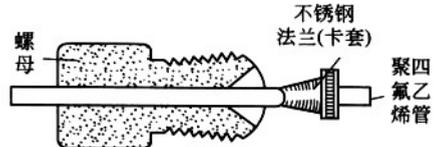


图 3-14 Upchurch 法兰接头

管端法兰可以自己动手加工制作。用法兰成型工具加工比较方便。若没有法兰成型工具，可按下列程序制作：切齐聚合物（不包括聚四氟乙烯管）管端，放入约 80℃ 的热水中，用略大于管径的锥形金属棒挤扩管端，反复数次可将管端扩开。最后用平头镊子小心翻开管端，加上金属圈、螺母挤压即成。

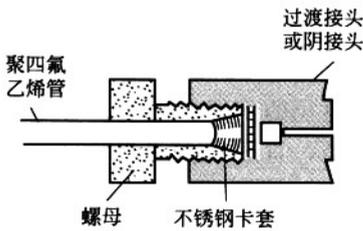


图 3-15 安装 Upchurch 式法兰接头

另一种低压接头是用聚四氟乙烯管，套上不锈钢卡套用塑料螺母挤压即能密封（图 3-14）。使用这种接头在卡套后裁留的管子长短很重要。过短会使卡套脱落或死体积过大，过长会密封不严而渗漏。正确的装配是套上螺母和卡套后，聚四氟乙烯管端顶住另一阴接头孔的底部，再拧紧螺母。参见图 3-15。

### 二、高压接头

液相色谱系统的高压部分要用不锈钢管和不锈钢压缩接头。这种接头如图 3-16 所示（岛津公司）。是由螺母、卡套、阴接头和管头组成；接头的组装是：螺母和卡套穿过管端；管端插入阴接头内，一直顶到底部，上紧螺母；卡套锐边紧贴管外壁，挤压后锐边收缩紧紧咬住管子，保证了卡套外侧紧贴住阴接头内侧，实现密封。（低压接头不能像高压接头这样上紧，否则会拧歪接头或挤扁管道，导致渗漏或堵塞。）习惯上安装好接头后还应拆下来检查一下，看看卡套是否上紧、螺纹有无咬坏、接头是否装歪，不同厂商提供的接头不能

混用，否则会漏液或增加死体积。在安装高压接头中，收紧不锈钢的螺母和阴接头时不要一下用力过猛，那样会产生高温，使螺母和阴接头紧紧咬在一起，再也无法拧开。这样后果十分严重，有时要报废很重要的部件（如色谱柱）、进样阀、泵头等。

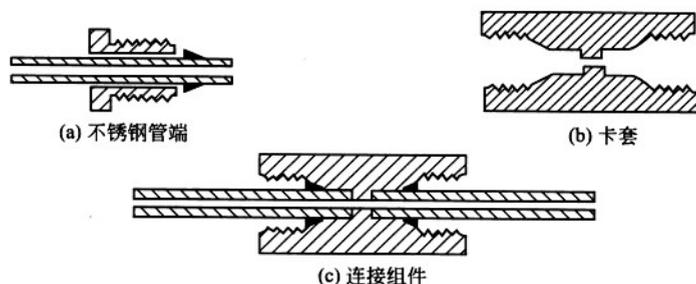


图 3-16 挤压式接头组件

Thermo Hypersil-Keystone 公司的 SLIPFREE 接头可以方便调节接头长度，用手拧紧即可耐压到 68.9MPa(10000psi)，适合任何 HPLC 系统。适用于进样器和色谱柱、保护柱和色谱柱或色谱柱和检测器之间的连接。当管长需要较长时，SLIPFREE 接头的刃环可以先进行调节，然后再固定，使之达到最佳密封。锁紧螺丝可使 SLIPFREE 管深入接头中，并保证接头中零死体积密封。如图 3-17 所示。

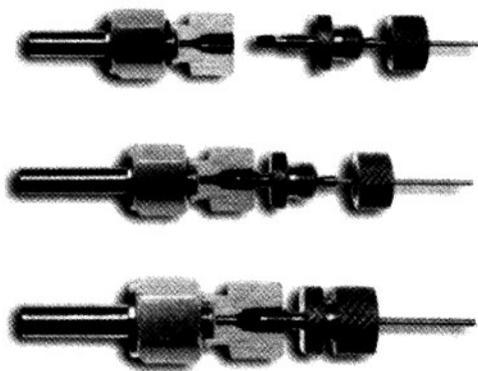


图 3-17 SLIPFREE 接头示意图

### 三、接头的连接方式

接头的连接方式有内接式和外接式，内接式还是外接式决定于螺母，见图 3-18 和图 3-19，内接式螺母旋进接头的内侧，它的好处是易于上紧和拆卸，紧

固，易于看出故障；外接式螺母上在接头的外侧，过去用得比较普遍，较适合与别的仪器配套。死体积可能比内接式大些。

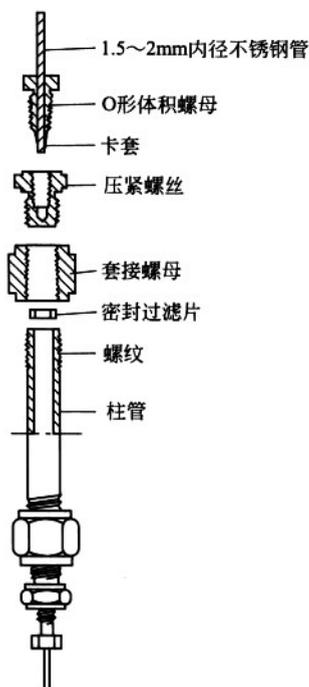


图 3-18 内接式

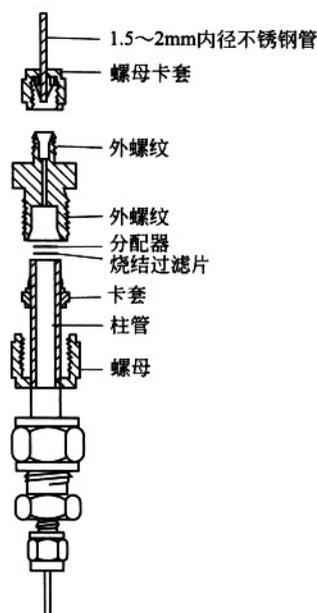


图 3-19 外接式

#### 四、同径接头与异径接头

无论高压接头和低压接头都有同径和异径两种。同径的接头内连接孔道内径相同，进出口管内径也相同。低压连接时进出管两端紧接在一起，高压连接时在接头腔中可接一段通道，两管端不紧接在一起，接头孔内径要与连接管外径相配，这样才能使体积为零。

异径接头主要用于连接两种不同管径的管子，常见用于色谱柱的两头连接。这种接头很可能会增大系统死体积。两种接头的连接可按图 3-20 和表 3-6 所示选择合适的接头。

虽然名义上不同厂商的接头都能互换。实践经验是最好不要互换，万一不得已要互换，应先用手拧一遍，再退回来，不可一开始就使用扳手，那样有可能咬坏螺纹。要记住不同的厂商生产的卡套和螺母规格不一定完全相同，若勉强装配会因密封不紧而渗漏，或由于所留管端的长度与接头不适合（太长或太短），而引起渗漏，或增加死体积，见图 3-21。

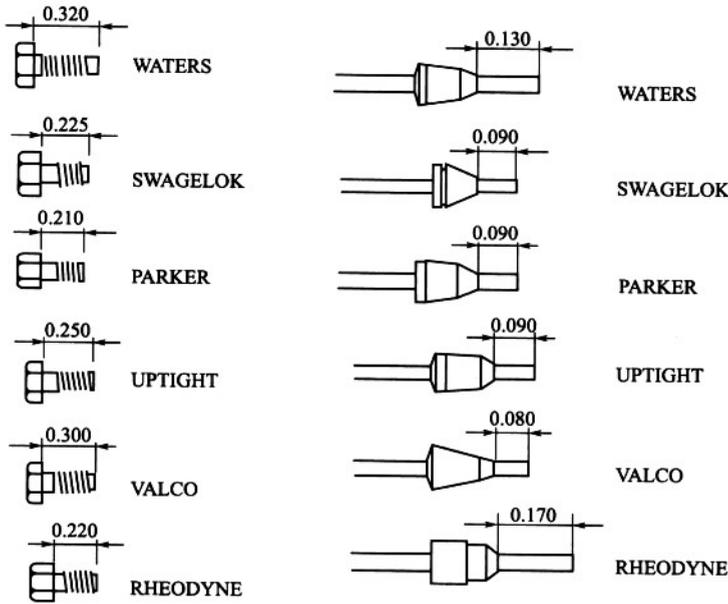


图 3-20 不同品牌仪器接头规格

表 3-6 不同品牌色谱仪接头规格

品 牌	管伸出刃环的长度	接头总长度 <sup>①</sup>
WATERS	3.3mm	8.1mm
依利特	3.3mm	8.1mm
SWAGELOK	2.3mm	5.7mm
PARKER	2.3mm	2.3mm
UPTIGHT	2.3mm	5.3mm
VALCO	2.0mm	6.4mm
RHEODYNE	4.3mm	4.3mm

① 包括刃环及管头的长度。

螺母的长短要合适，太短与接头螺纹咬不紧，容易“滑丝”或经不起过高压  
力：太长（外接式）会压不紧卡套，起不到密封作用。当然，对于同一厂  
商的产品不会出现这些问题。

微型色谱柱必须用专门接头相配，普通接头会增加柱外死体积，严  
重的会使微型柱失去分离效能。

手拧接头，像不锈钢接头、聚合物卡套、或是聚合物与不锈钢的接  
头，这种接头的卡套是柔软的，收紧后夹住管端，但不能永久性固定。这

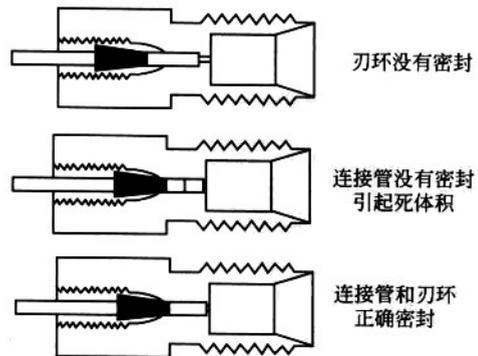


图 3-21 接头连接示意图

种接头适宜于用手拧紧，耐压程度比不锈钢接头差，适于常温下操作，过热或过冷都会使接头松动、渗漏或管道脱落。

## 五、接头故障的预防与解决办法

几乎所有的接头故障都是可以避免的，按下列要求可以有效地预防接头的故障。

1. 使用仪器设计时的部件。不同厂家连接管伸出刃环的长度不完全相同，混用容易导致漏液、螺纹损坏、色谱柱进出口及检测器进液口螺母破坏等，连接管在螺母中没有良好密封也会导致漏液、死体积增加等。建议最好不要互换使用不同厂家生产的接头和刃环，如果实验室使用了不同的液相色谱仪与色谱柱，建议平时要准备一些各种接头备件并避免混用。另外，使用通用柱接头是一个很好的选择，因为通用柱接头适用于所有仪器。

2. 按要求组装和拧紧接头，不可拧得过紧。低压接头的故障主要有接头松动、管头损坏、螺纹“滑丝”、拧过头。低压接头用手上紧，加上锁紧螺丝可减少上述故障的发生，一旦发现低压接头损坏，应重换新的。高压接头的故障与低压接头差不多，污染和装置不当也常有发生。发现渗漏或死体积增大，应拆下接头清洗重新上紧。如果仍然渗漏或死体积大，可能装配不合适，锯掉管头（包括卡套），换新的卡套。避免接头混淆使用，及时做好标记；连接接头主要有不锈钢和各种聚合物材料，一般情况下不锈钢管用不锈钢连接接头，PEEK管用PEEK接头。

3. 使用合适的工具。在拧紧接头的时候一定要仔细，过紧可能会损坏螺纹、刃环等，引起漏液，最糟糕的是会使接头断在螺母内部。使用手拧接头，不需任何工具就可以密封。旋紧接头时最好要用死扳手，不用活扳手，保证不损坏接头。

4. 接头的清洁。组装与拆卸接头时要检查在密封面上有无微粒和无机盐晶体。这些污染物影响密封性能，更严重的会使螺丝咬死。

## 六、接头的更换

高压或手拧接头都有一定的寿命，到期必须更换。旧接头的不锈钢刃环可能卡在连接管上很难取下来，或者可以取下来但会在PEEK连接管卡口周围留下压痕。这样的连接管会引起漏液，不能再次密封，必须切掉。

### 1. 高压接头更换

- (1) 关闭所有泵，系统中不能有溶剂流动。
- (2) 从连接螺丝中取下接头。
- (3) 在螺丝和刃环之间将连接管切断，如果不行，在螺丝之前切断连接管。
- (4) 确保切口端平整，没有毛刺。检查旧的接头螺丝，如果已经坏了，换新

的；如果没坏，换上新的刃环可以重新使用。

注意：接头的漏液经常是由刃环变形引起的，如果仅仅是刃环损坏则不必更换螺丝。

(5) 在连接管上装上新的刃环和接头螺丝并拧紧，以使螺丝牢牢地卡在连接管上，这样做后如果仍然漏液，则需更换连接管。

### 2. 手拧接头

(1) 关闭所有泵——系统中不能有溶剂流动。

(2) 从连接螺丝中取下接头。

(3) 将螺丝和刃环从连接管上卸下（如果是可以分开两体式的）。

(4) 检查连接管，必要时切去管头部分。

(5) 换上新接头，并将螺丝拧紧；如果新换上的接头仍然漏液，则需更换连接管。

### 3. SLIPFREE 接头

(1) 关闭所有泵，系统中不能有溶剂流动。

(2) 从连接螺丝中取下接头。

(3) 检查刃环是否损坏，这是引起泄漏的最常见原因，SLIPFREE 刃环不是嵌在连接管上，所以很容易更换，这点和其它刃环不同。

(4) 换更换新刃环并重新组装，将 SLIPFREE 接头拧紧；如果仍然漏液，需更换整个 SLIPFREE 部分。

注意：有时漏液并不是由于接头和刃环本身引起的，换下来的接头与刃环在其它接口处可能可以重新使用。

## 参 考 文 献

- 1 张庆合，张维冰，杨长龙，李彤. 高效液相色谱实用手册. 北京：化学工业出版社，2007
- 2 袁依盛. HPLC 系统故障排除. 南京：南京大学出版社，1998
- 3 李彤，张庆合，张维冰. 高效液相色谱仪器系统. 北京：化学工业出版社，2005

## 第四章 液相色谱流动相

### 第一节 液相色谱流动相基础

液相色谱流动相不仅可选择范围宽，而且参与实际的色谱分配过程，是影响分离效果的一个非常重要的可调因素。与气相色谱相比，液相色谱分析的最大特点是可以通过对流动相的调整，便捷地改变分离选择性。

液相色谱所采用的流动相通常为各种低沸点有机溶剂与水或缓冲溶液混合。为了保证色谱系统的分离过程可重复性，流动相所采用的溶剂必须有较高的纯度和化学稳定性。从实用角度考虑，溶剂应价格低廉、容易购得且使用安全。对流动相选择的一般要求<sup>[1~4]</sup>如下：

- ① 化学稳定性好，不与固定相和样品组分发生化学反应；

表 4-1 液相色谱常用有机溶剂指标

项 目	甲醇	乙腈	正己烷	乙酸乙酯	丙酮	乙醇
纯度	≥99.9%	≥99.9%	≥97%	≥99.5%	≥99.5%	≥99.5%
沸点/°C	64~65	81~82	68~69	76.5~77.5	55~57	78.5
密度(25°C)/(g/mL)	0.791~0.793	0.783	0.662	0.899~ 0.901	0.791	0.785
折射率	1.328	1.343	1.375		1.359	1.360
蒸发残留	≤0.0005%	≤0.0005%	≤0.0005%	≤0.0005%	≤0.0005%	≤0.0005%
水分	≤0.05%	≤0.05%	≤0.05%	≤0.05%	≤0.2%	≤0.1%
可滴定酸(mmol/g)	≤0.0005	≤0.0005				
吸光度(AU)@ 波长/nm	≤1.00@205	≤0.07@200	≤1.00@195	≤1.00@254	≤1.00@330	≤1.00@205
	≤0.60@210	≤0.05@210	≤0.30@210	≤0.10@265	≤0.10@340	≤0.65@210
	≤0.30@220	≤0.04@220	≤0.20@220	≤0.05@275	≤0.02@350	≤0.35@220
	≤0.15@230	≤0.02@230	≤0.10@230	≤0.01@ 330-400	≤0.01@400	≤0.04@250
	≤0.05@240	≤0.01@254	≤0.04@240			≤0.02@300
	≤0.01@ 260-400		≤0.02@250			

介电常数	紫外截止波长/nm	折射率	黏度 (25°C)/mPa·s	沸点/°C	溶剂名称
1.94	210	1.3914	0.50	98	异辛烷
1.88	195	1.3749	0.31	69	正己烷
1.92	200	1.3876	0.41	98	正庚烷
4.33	218	1.3524	0.24	34	二乙醚
2.02	200	1.4262	1.00	76	环己烷
6.02	256	1.3724	0.45	76	乙酸乙酯
2.38	284	1.4969	0.59	110	甲苯
4.81	245	1.4458	0.57	60	氯仿
7.58	212	1.4072	0.55	65	四氢呋喃
2.27	278	1.5011	0.65	80	苯
20.70	330	1.3587	0.36	56	丙酮
8.93	233	1.4241	0.44	40	二氯甲烷
2.25	215	1.4224	1.37	101	二氧杂环乙烷
20.33	210	1.3856	2.30	98	正丙醇
25.80	210	1.3610	1.20	78	乙醇
36.70	268	1.4305	0.92	153	二甲基酰胺
37.50	190	1.3411	0.38	82	乙腈
6.30	230	1.3720	1.26	118	乙酸
4.70	260	1.4830	2.24	189	二甲亚砜
32.70	205	1.3284	0.55	65	甲醇
81.10	210	1.3330	1.00	100	水
					异辛烷
					正己烷
					正庚烷
					二乙醚
					环己烷
					乙酸乙酯
					甲苯
					氯仿
					四氢呋喃
					苯
					丙酮
					二氯甲烷
					二氧杂环乙烷
					正丙醇
					乙醇
					二甲基酰胺
					乙腈
					乙酸
					二甲亚砜
					甲醇
					水

图 4-1 液相色谱常用有机溶剂的基本性质与互溶性

- ② 与所用检测器相匹配，不影响检测器的正常工作；
- ③ 对待分析样品要有足够的溶解能力，以利于提高检测的灵敏度；
- ④ 流动相的黏度要小，以保证合适的柱压降；
- ⑤ 流动相的沸点要低，以利于制备分离时样品的回收。

表 4-1 给出了液相色谱常用有机溶剂的指标，图 4-1 给出了液相色谱常用有机溶剂的基本性质与互溶性，可以作为溶剂使用时参考。

### 一、压力与流量的关系

液相色谱分离中流动相以一定流速流经色谱柱，柱压降是由流速和其它因素决定，通常所谓压力仅指柱头压力而言。液相色谱系统可在 40MPa 甚至 100MPa 压力下工作，但实际工作中总是选择满足分离要求的最低压力下操作。压力的大小可以由以下公式(4-1)推算：

$$p = 250 \frac{L\eta F}{d_p^2 d_c^2} = 1200 \frac{L\eta F}{d_p^2} \text{ (0.46cm 内径柱)} \quad (4-1)$$

式中  $L$ ——柱长，cm；

$\eta$ ——流动相黏度，mPa·s；

$F$ ——流速，mL/min；

$d_c$ ——柱内径，cm；

$d_p$ ——柱填料直径， $\mu\text{m}$ 。

在反相色谱中，通常  $\eta$  为 0.5~1.5； $L$  为 15cm~25cm； $F$  为 1mL/min； $p$  为 6MPa~15MPa。除流速  $F$  外，下列因素的变化都会引起压力的变化。

- (1) 改变流动相组成和温度；
- (2) 改变柱长、柱内径和填料粒径；
- (3) 柱头或者管路突然阻塞使压力升高。（正常情况下其它条件不变，柱压都是逐渐升高）。

为了便于参考，表 4-2 列出反相色谱常用流动相的黏度值。

表 4-2 反相色谱常用流动相的黏度值 (25℃)

黏度/mPa·s 溶剂体系 体积分数/%	甲醇/水	乙腈/水	四氢呋喃/水
	0	0.89	0.89
10	1.18	1.01	1.06
20	1.40	0.98	1.22
30	1.56	0.98	1.34
40	1.62	0.89	1.38
50	1.62	0.82	1.43
60	1.54	0.72	1.21
70	1.36	0.59	1.04
80	1.12	0.52	0.85
90	0.84	0.46	0.75
100	0.56	0.35	0.46

## 二、溶剂强度

液相色谱流动相的组成改变，能够直接影响溶质的保留。在一定条件下，能够减少保留时间或缩短分析时间（小  $t_R$  和  $k'$  值）的溶剂称为强溶剂；增加或延长分析时间（大  $t_R$  和  $k'$  值）的溶剂称为弱溶剂。例如，在反相色谱中，水是弱溶剂，甲醇和乙腈为强溶剂。在甲醇-水为流动相的体系中增加甲醇的比例，流动相变强。在正相和反相色谱中可用弱极性溶剂和强极性溶剂混合，调成极性适当的流动相。

反相色谱流动相通常以水作为基础溶剂，再加入一定量的能与水互溶的极性调整剂，如甲醇、乙腈、四氢呋喃等。极性溶剂所占比例对溶质的保留值和分离选择性有显著影响。一般情况下，甲醇-水系统已能满足多数样品的分离要求，是反相色谱最常用的流动相。Snyder<sup>[5]</sup> 则推荐采用乙腈-水系统做初始实验，因为与甲醇相比，乙腈的溶剂强度较高、黏度低，且满足在紫外 185nm~205nm 检测的要求。

反相色谱溶剂洗脱强度的强弱顺序为：

水(最弱) < 甲醇 < 乙腈 < 乙醇 < 四氢呋喃 < 丙醇 < 二氯甲烷 (最强)

溶剂的强度随着溶剂的极性增加而降低。除二氯甲烷与水无法混溶外，上述其它溶剂都可与水混用。二氯甲烷常用来清洗被强保留样品污染的反相色谱柱。

对于甲醇-水、乙腈-水及四氢呋喃-水等常用的反相色谱流动相获得相等溶剂强度的校正公式：

$$\varphi_{\text{乙腈}} = 0.32\varphi_{\text{甲醇}}^2 + 0.57\varphi_{\text{甲醇}} \quad (4-2)$$

$$\varphi_{\text{四氢呋喃}} = 0.66\varphi_{\text{甲醇}} \quad (4-3)$$

式中， $\varphi_{\text{乙腈}}$ 、 $\varphi_{\text{甲醇}}$ 、 $\varphi_{\text{四氢呋喃}}$  分别表示乙腈、甲醇、四氢呋喃与水混合溶剂的体积分数。

对于强疏水性样品，当采用 100% ACN 仍无法洗脱时，可考虑采用更强的流动相（如高体积分数的 THF-水体系或 THF-ACN 体系）。流动相中不含水的分离模式称为非水反相色谱，通常情况下不被推荐采用。

反相液相色谱中的流动相强度由有机溶剂的浓度和类型共同决定，这种影响见图 4-2。乙腈（ACN），甲醇（MeOH），四氢呋喃（THF）三条纵轴的上下对应位置具有相同流动相强度，例如：对于同一样品，40% ACN 与 50% MeOH、

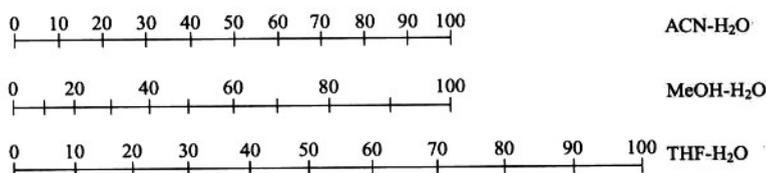


图 4-2 反相色谱溶剂强度图

30% THF 具有相近的  $k'$  值和分析运行时间。

表 4-3 中列出了反相色谱中流动相强度与  $k'$  值之间的关系。比较数据可以发现，在反相色谱体系中，四氢呋喃、乙腈、甲醇、水四种溶剂的洗脱能力依次减弱。30% 甲醇-水、22% 乙腈-水与 17% 四氢呋喃-水的强度相同，出峰的时间也基本相同。流动相中的有机溶剂增加 10% 左右， $k'$  值要减少 2~3 倍。

表 4-3 反相色谱不同配比流动相与  $k'$  值

甲醇：水	乙腈：水	四氢呋喃：水	相对 $k'$ 值
0：100	0：100	0：100	100
10：90	6：94	4：96	40
20：80	12：88	10：90	16
30：70	22：78	17：83	6
40：60	32：68	23：77	2.5
50：50	40：60	30：70	1
60：40	50：50	37：63	0.4
70：30	60：40	45：55	0.2
80：20	73：27	53：47	0.06
90：10	86：14	63：37	0.03
100：0	100：0	72：28	0.01

在正相色谱中，非极性溶剂强度弱（如正己烷）；极性溶剂强度大（如水）。正相色谱的溶剂由弱到强排列的顺序为：

正己烷（含 1,1,2-三氟三氯乙烷）< 氯仿 < 二氯甲烷 < 甲基叔丁醚 < 乙醚 < 四氢呋喃 < 乙酸乙酯 < 乙腈 < 丙醇 < 甲醇 < 水。

图 4-3 列出了硅胶柱上不同极性溶剂的洗脱强度的对应关系。

### 三、峰位重排

在分析多组分样品时，仅改变流动相的强度（体积分数）而不改变其组成，一般仅仅改变所有组分的保留时间，不会发生峰位的重排。在反相色谱中，下列条件改变可能发生峰位重排：

- ① 流动相中换了强溶剂；
- ② pH 值改变；
- ③ 柱填料改变；
- ④ 柱温改变；
- ⑤ 流动相的组成改变（如加入离子对试剂三乙胺等）。

图 4-4 是一个六组分混合物在反相色谱中流动相换了强溶剂后的峰位重排效果图。

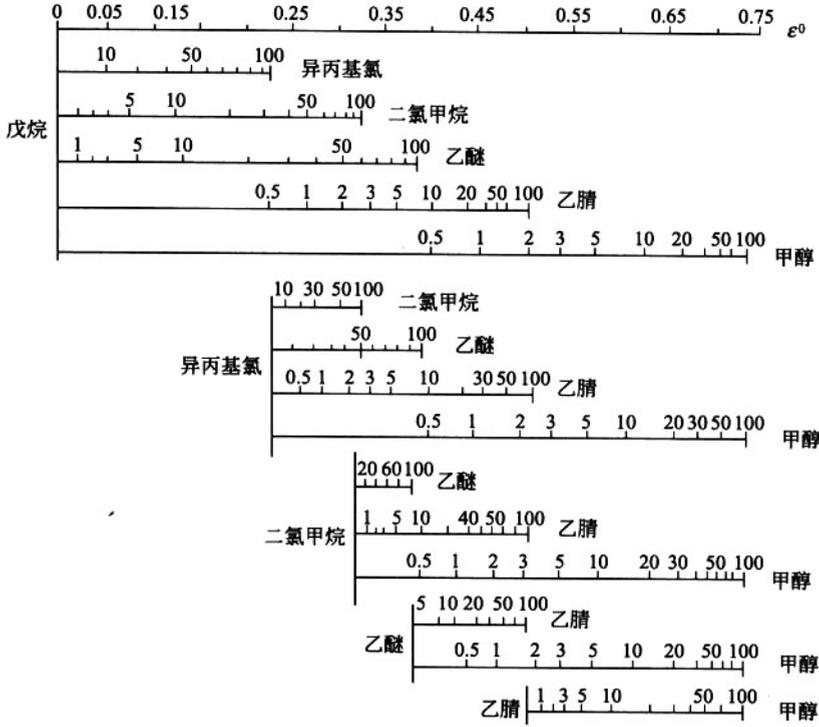


图 4-3 在硅胶柱上某些二元混合溶剂的强度与组成的关系

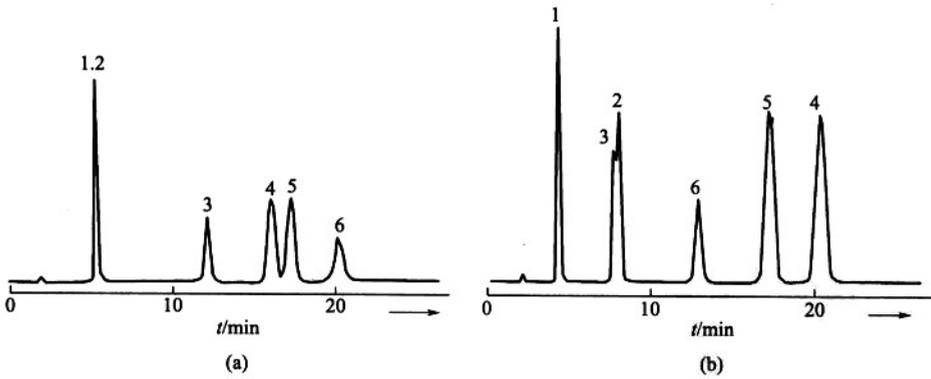


图 4-4 反相色谱中强溶剂对六组分混合物洗脱顺序的影响  
 流动相: (a) 甲醇-水 (体积比=50:50); (b) 四氢呋喃-水 (体积比=32:68)  
 色谱峰: 1—苯乙醇; 2—苯酚; 3—3-苯丙醇; 4—2,4-二甲基苯酚;  
 5—苯; 6—邻苯二甲酸二乙酯

## 第二节 梯度洗脱

### 一、梯度洗脱的基础和分离

典型的梯度洗脱是用两种溶剂做流动相，弱溶剂 A 和强溶剂 B，在反相色谱分离中溶剂 A 大都是水，溶剂 B 是甲醇或者乙腈等强溶剂。所有的梯度洗脱中溶剂强度都应不断增加，即 B 的浓度不断增加。例如，流动相中溶剂 B 的含量在一定时间内从 20% 提高到 80% 梯度。梯度控制器决定流动相的组成，可通过输入不同的条件实现：

- ① 流动相（梯度洗脱开始时）： $c_B(\%)$ ；
- ② 流动相（梯度洗脱结束时）： $c_B(\%)$ ；
- ③ 从分离开始到结束的梯度时间；
- ④ 梯度形状；
- ⑤ 流速。

有的控制器是输进每分钟  $c_B(\%)$  的变化以代替梯度时间，效果一样。

梯度洗脱常用于分离极性范围广的组分，最后一个峰的等度保留必须大于第一个峰。在等度分离中，第一个峰与最后一个峰的  $k'$  比应大于 30，这样用梯度才有好的结果。用等度分离在色谱图中前面的峰挤在一起，后面的峰又拉得很开 [图 4-5(a)]。用梯度洗脱峰间的位置很平均，分离度好，后面的峰很窄，检测方便 [图 4-5(b)]。在等度洗脱中前面峰的  $k'$  值很小，后面峰的  $k'$  很大，梯度洗脱使流动相强度不断变化改变了  $k'$  值。在梯度洗脱中，弱保留组分在弱流动相中首先离开柱，而强保留组分在强流动相中最后离开柱。可以粗略地估计一下，梯度洗脱中所有的峰有相同的  $k'$  值和相同的峰宽。

如果  $c_B$  开始太大，先出来的峰分得不好，是开始出的峰  $k'$  太小。如果先出来的峰挤在一起，应把开始的  $c_B$  降下来。以最终  $c_B$  值控制最后的峰的洗脱时间。

开始试验时很可能有一对或更多的峰未完全分开，就像等度分离那样。也应该像改善等度分离那样改善梯度的分离度，可以优化  $k'$ 、 $N$  和  $\alpha$ 。虽然初接触时不太适应梯度洗脱模式，但实际上它比等度洗脱更为方便容易。用这种模式的主要困难是，选定依赖于开始和最后  $c_B$  的  $k'$  值、梯度时间  $t_G$ 、柱体积  $V_m$  以及流速  $F$ 。它们的关系如下：

$$k' = \text{常数} \cdot \frac{t_G F}{(\Delta c_B)} V_m \quad (4-4)$$

梯度洗脱中， $k'$  视为常数，在反相液相色谱中大约等于 20， $\Delta c_B(\%)$  为最

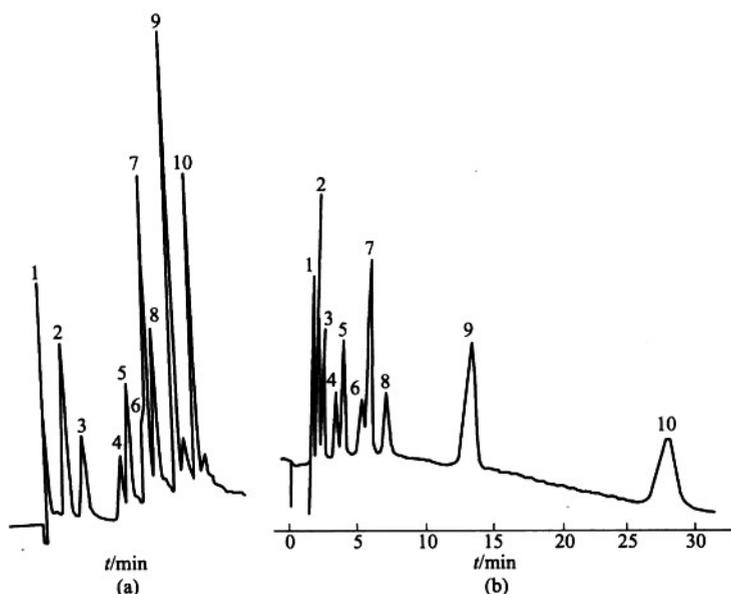


图 4-5 等度和梯度的比较

(a) 梯度洗脱：甲醇-水，甲醇浓度从 10% 到 100%；(b) 等度洗脱：甲醇-水，体积比=50:50  
 1—苯；2—氯苯；3—对-二氯苯；4—1,2,3-三氯苯；5—1,3,5-三氯苯；6—1,2,4-三氯苯；  
 7—1,2,3,4-四氯苯；8—1,2,4,5-四氯苯；9—五氯苯；10—六氯化苯（六六六）

终的  $c_B(\%)$  减去开始的  $c_B(\%)$ 。柱体积  $V_m$  等于  $Ft_G$  (15cm $\times$ 0.46cm 柱大约 1.5mL)。增加梯度时间和流速，减少柱长和梯度变化范围就增加  $k'$ 。在梯度洗脱中，增加  $k'$  就可获得与等度分离相同的结果：宽峰、比较长的分离时间、良好的分离度。

在梯度洗脱中增加  $N$  值也可增加分离度，用较长的柱、高效柱或减少流速可增加  $N$  值。根据式(4-4) 改变柱长和流速会影响到  $k'$ 。增加  $N$  值会导致较小的  $k'$  值，从分离度方面考虑会有相反的作用。在梯度洗脱中增加  $N$  可以保持  $k'$  值恒定。改变  $F$  或柱长，保持  $t_G F/V_m$  恒定，则  $k'$  也会恒定。例如，柱长增加 1 倍，流速减少 1/2，则必须增加 4 倍梯度时间。

与等度分离一样，要改变  $\alpha$  或峰位置，则要改变流动相的组成、柱类型或温度。

## 二、梯度洗脱的故障

总体讲，梯度洗脱中所出现的故障与等度洗脱非常类似，主要包括以下方面：第一是与仪器故障、实验技术、色谱柱故障等有关；第二是由于试验条件不当设置导致分离方面问题（分离度差、宽峰等）。表 4-4 汇总了梯度洗脱常见故障及解决方法。

表 4-4 梯度洗脱常见故障和解决方法

现象	故障原因	解决办法
色谱图前面的峰挤成一团,且分离度较差	起始流动相太强	在开始的梯度中减少溶剂 B 的比例(%)
色谱图中间峰分离度差	条件欠佳	增加 $k'$ 、 $N$ 和 $\alpha$ , 改变梯度时间、流速、柱长
色谱图前面的峰保留不重复	柱平衡差	(1)增加两次梯度之间的再生时间 (2)一定的间隔进样
基线漂移	溶剂 A 和 B 有不同的紫外吸收值	(1)加非保留的紫外吸收剂以抵消溶剂吸收的波动 (2)用不同波长检测 (3)用不同检测器
在空白的梯度中有伪峰	试剂或流动相不纯	(1)用 HPLC 级试剂 (2)纯化流动相的组分
部分色谱峰分离度突然变差	溶剂分层	用键合相柱代替多孔硅胶柱

(1) 基线漂移 如果 B 溶剂 (甲醇) 比 A 溶剂 (水) 吸收大, 梯度洗脱时基线上升, 在低紫外波长检测更加厉害。一个解决的办法是加有紫外吸收的组分到 A 或 B 溶剂中, 以均衡两种溶剂的吸收。加紫外吸收剂的一个要求是在梯度洗脱条件下无保留。也可加氧化亚氮在 A(水) 中。在 185nm~200nm 处检测常加低浓度的硝酸盐; 在高检测波长加周期表中高族的盐 (如溴酸盐、高碘酸盐)。

(2) 伪峰 在流动相中存在有紫外吸收的杂质, 用梯度洗脱能分离出来, 即不进相关的样品也照常出峰。如用普通的蒸馏水或含有杂质的溶剂就会不断出峰或基线漂移, 建议用 HPLC 级的水和溶剂。图 4-6 是用普通蒸馏水和 HPLC 级蒸馏水 (A) 与乙腈 (B) 作空白梯度洗脱的对比情形。

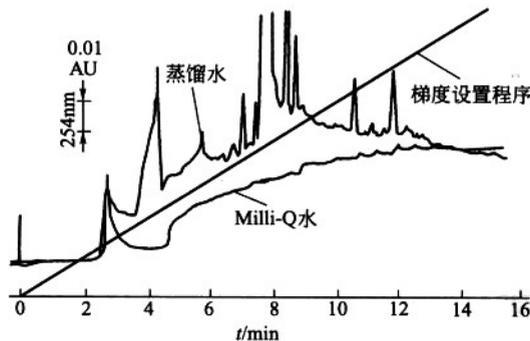


图 4-6 不同溶剂的空白梯度洗脱

不纯的溶剂在梯度洗脱中出伪峰, 甚至用 HPLC 级的溶剂在低于 200nm 波长检测, 在最大的灵敏度时也可能出现问题, 在正式分析样品前应运转一

下空白梯度，如有伪峰要试验不同批号的试剂或加添加剂，确保在正式分析时无问题。用反相梯度又在低波长下检测，可能遇到水和溶剂两方面的麻烦，建议选用重蒸水，有机溶剂仅能用乙腈，而且乙腈要新鲜，或用氧化铝柱纯化。

(3) 溶剂分层 在梯度洗脱中用硅胶柱最易出现这种现象。若 B 溶剂活性很强（如丙醇），A 溶剂极性很弱（如正己烷）。在梯度初始阶段 B 溶剂被柱所吸收，继续梯度 B 溶剂就打破平衡。可能在色谱图上某些点分离度明显降低，个别峰特别窄，而两侧峰又比较宽。在窄峰这一点上，正好 B 溶剂破坏了平衡。然后又分层。分析时要注意选用对 B 溶剂吸收低的柱，用键合相的柱很少发生这种现象。

溶剂的互溶性，不相混溶的溶剂不能用作梯度洗脱的流动相，有些溶剂在一定比例内混溶，超出范围就不互溶，使用时更要引起注意。当有机溶剂和缓冲液混合时，还可能析出盐的晶体，尤其使用磷酸盐时需特别小心。

(4) 柱再生 在一个梯度进行后，再进下一个样品前，必须用开始的流动相重新平衡色谱柱。一般打入 15 倍柱体积的初始流动相即可。如果在两次梯度间冲洗的程度不彻底，梯度间的重复性就有问题。前面的峰不稳定，每次梯度保留值都不一样。如果出现这种现象，则在每次梯度之后要加长冲洗时间。另一方面，每次样品的进样时间要保持恒定，即使柱未达到平衡，也可减少保留的变化。有时为了柱完全再生，可能在梯度之间增加静止抑制时间（停泵）。

(5) 溶剂纯度 梯度洗脱所用的溶剂纯度要求更高，以保证良好的重现性。进行样品分析前必须进行空白梯度洗脱，以辨认溶剂杂质峰。因为弱溶剂中的杂质富集在色谱柱头后会被强溶剂洗脱下来。用于梯度洗脱的溶剂需彻底脱气，以防止混合时产生气泡。

(6) 溶剂黏度 混合溶剂的黏度常随组成而变化，因而在梯度洗脱时常出现压力的变化。例如甲醇和水黏度都较小，当二者以相近比例混合时黏度增大很多，此时的柱压大约是甲醇或水流动相时的两倍。因此要注意防止梯度洗脱过程中压力超过输液泵或色谱柱能承受的最大压力。另外，每次梯度洗脱之后必须对色谱柱进行再生处理，使其恢复到初始流动相冲洗色谱柱，使固定相与初始流动相达到完全平衡。

### 三、梯度滞后体积

梯度滞后体积是指从溶剂配比完成点到色谱柱头的系统体积，也可称为延缓体积，相当于在梯度运行之前运行一段等度条件。图 4-7 是低压梯度与高压梯度系统中滞后体积的示意图。

滞后体积的差异是造成梯度重现性差和方法传递困难的根源之一。系统体积

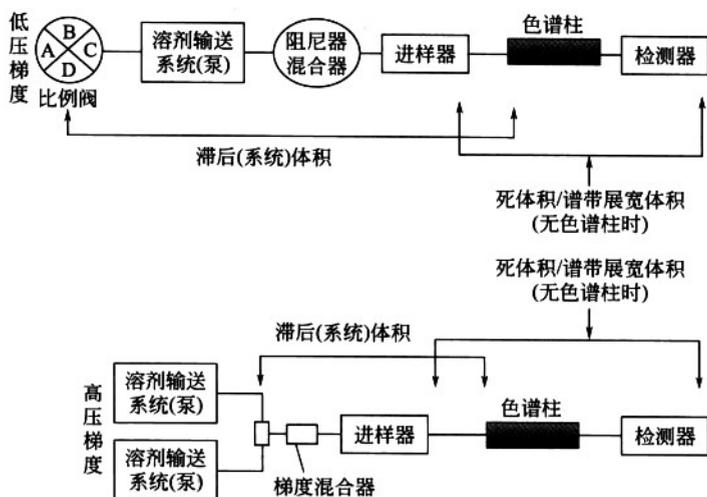


图 4-7 低压梯度与高压梯度系统中滞后体积与死体积

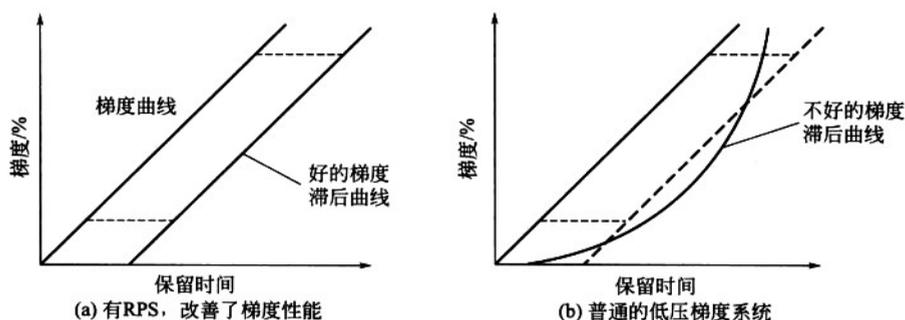


图 4-8 梯度滞后曲线示意图

较大时，由于梯度的谱带展宽作用，会改变预期的梯度形状，使得不同 HPLC 系统之间难以进行方法转换。图 4-8 是理想情况下和不太理想的梯度滞后曲线的示意图。

传统 HPLC 系统滞后体积一般在 0.5mL~5mL 范围，通常采用 4.6mm 内径，150mm 或更长的色谱柱，分析时间 10min~20min 之间或更长时，滞后体积的影响并不显著。但是随着柱长变短、内径变细，较大的滞后体积可能会引起保留时间明显增加，色谱分离情况发生变化，因此，当用细内径色谱柱进行分离时，滞后体积太大会引起梯度变化的延迟。例如：滞后体积为 2.0mL，流动相流速为 1.0mL/min 时，实际梯度会比设置值晚 2min 响应，一般不会有大的问题；对微柱色谱，如果流速为 0.1mL/min，实际梯度会比设置值晚 20min 响应，是不能接受的，因此应选滞后体积小的液相色谱仪，以适应梯度实验。另外，滞

后体积的不同会使方法转换麻烦，滞后体积比文献值大或小，都会使方法不能重现。

图 4-9 比较说明了滞后体积对于分析时间重要性的影响，在线速度基本相同的情况下，细内径色谱柱的运行时间几乎两倍于 4.6mm 内径的色谱柱，该结果主要归结与滞后体积。对于 4.6mm 色谱柱，滞后时间为  $(1.0\text{mL} \div 1.5\text{mL}/\text{min}) = 0.67\text{min}$ ，而对于 2.1mm 内径色谱柱，滞后时间达到  $(1.0\text{mL} \div 0.3\text{mL}/\text{min}) = 3.3\text{min}$ ，因此对于短柱和细内径色谱柱梯度分析时，一定要注意采用较小混合体积和滞后体积的混合器和色谱系统。因此，在配置仪器时一定要了解混合器的体积以及系统总的滞后体积。

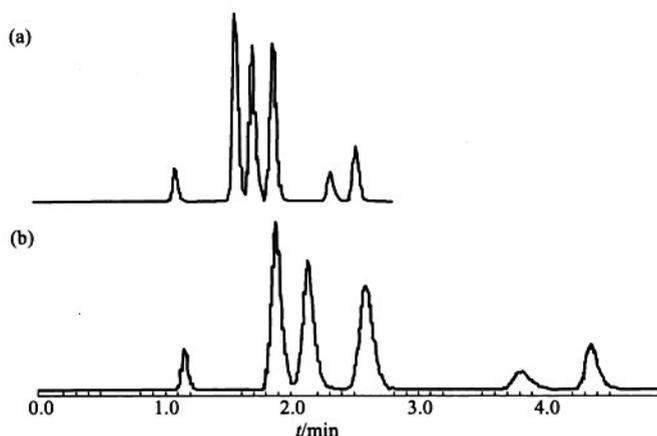


图 4-9 滞后体积对于小柱分离的影响<sup>[6]</sup>

样品：合成药物混合物

(a) 30mm×4.6mm, 3 $\mu$ m 色谱柱, 流速 1.5mL/min, 1mL 滞后体积, 梯度 2.0min 15%→35%B; (b) 30mm×2.1mm, 流速 0.3mL/min

### 第三节 流动相脱气

液相色谱所用流动相必须预先脱气，否则容易在系统内逸出气泡，影响泵的工作。气泡还会影响色谱柱的分离效率及检测器的灵敏度、基线的稳定性，甚至无法检测（噪声增大、基线不稳、突然跳动）。此外，溶解在流动相中的氧还可能与样品、流动相甚至固定相（如烷基胺）反应。溶解气体还会引起溶剂 pH 的变化，给分离及分析结果带来误差。图 4-10 比较了 101.3kPa, 25℃ 时空气在 4 种不同性质，不同比例的二元混合溶剂中的溶解情况。

溶解氧能与某些溶剂（如甲醇、四氢呋喃）形成有紫外吸收的络合物，提高背景吸收（特别是在 260nm 以下），并导致检测灵敏度降低。更为严重的是，会

在梯度淋洗时造成基线漂移或形成鬼峰(假峰)。在荧光检测中,溶解氧在一定条件下会诱发荧光猝灭现象,特别是对芳香烃、脂肪醛、酮等的分析。在某些情况下,荧光响应可降低达95%。在电化学检测中(特别是还原电化学法),氧的影响更大。除去流动相中的溶解氧将大大提高UV检测器的性能,也可以改善荧光检测的灵敏度。

多数实验室为改善操作条件十分重视流动相的脱气,常用的脱气方法包括:

(1) 氮脱气法 使用在液体中比空气溶解度低的氮气进行脱气处理。在0.1MPa压力下,将氮气以约60mL/min流速通入流动相中可除去溶解的气体。

此法可用于所有的溶剂,脱气效果好,但因氮气价格较贵,该方法使用较少。

(2) 加热回流法 此法的脱气效果较好。

(3) 真空脱气法 使用微型真空泵,降压至0.05MPa~0.07MPa即可除去溶解的气体。使用水泵连接微孔玻璃漏斗可同时完成过滤杂质和脱气的双重任务。由于抽真空会引起混合溶剂组成的变化,故对多元溶剂体系应预先脱气后再进行混合,以保证混合后的组成不变。

(4) 超声波脱气法 此法是目前实验室使用最广泛的脱气方法,将配制好的流动相连同容器一起放入超声波水浴中15min~30min即可。该方法操作简便,基本能满足日常分析的要求。

(5) 在线真空脱气法 把真空脱气装置串联到贮液系统中,并结合膜过滤器,使流动相在进入输液泵前脱气。此法的脱气效果明显优于上述几种方法,并适用于多元溶剂体系。

### 一、氮脱气

氮脱气是有效的脱气方法。氮缓缓地通过流动相赶走溶入的空气(图4-11)如果使用得当,在10min内可除去溶入气体的80%~90%,而且效果极佳。由于氮气在流动相中溶解度极低,所以用氮气脱气保护的流动相可以认为是一个无气体溶解体系。图4-12是一个典型的例子,既可以看到空气中氧对紫外和荧光检测器的影响,又可看到氮脱气的效果。

氮在溶剂中的溶解度很小,连续不断地通入氮可防止空气的再溶入和反扩

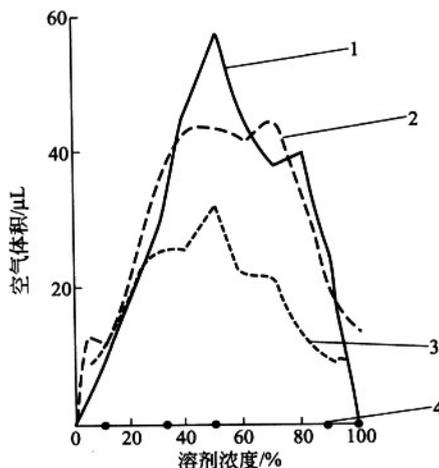


图4-10 每毫升不同组成的溶剂中溶解空气的体积趋势图

1—水-甲醇; 2—水-乙腈; 3—二氯甲烷-正己烷; 4—正己烷-异辛烷

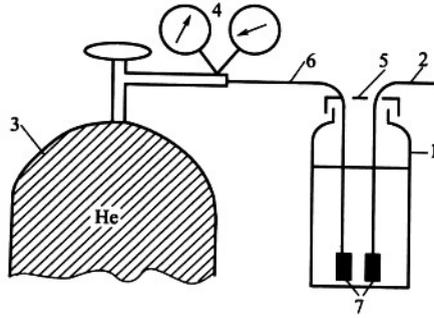


图 4-11 常用的氦脱气装置

1—贮液瓶；2—入口管路；3—He 气；4—减压阀；5—贮液瓶盖（流出 1mm 空隙）；6—He 出气管路；7—过滤沉子

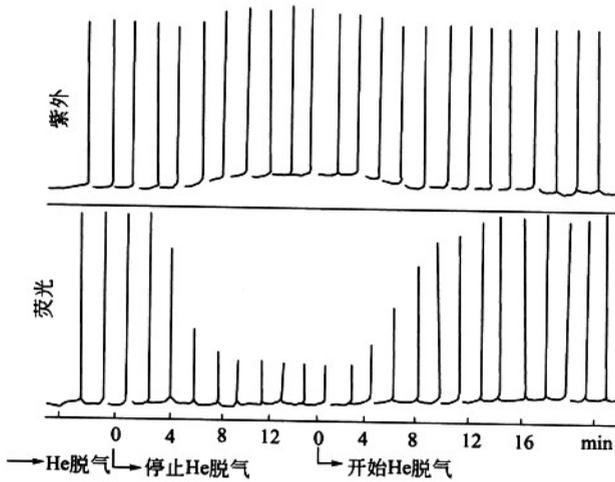


图 4-12 空气中氧对紫外和荧光检测器的影响

Lichrosorb RP-8 柱，乙腈-水（体积比=75:25），5mL/min，25℃

UV=254nm； $\lambda_{ex}$ =250nm； $\lambda_{em}$ =340nm

散。贮液器加盖并留有 1mm 的空隙时，以 4mL/min 的氦气搅动就可有效地防止空气反扩散。不加盖（空隙 20mm）时，需 30mL/min 的氦流速才行。氦的流速过大会使流动相中的挥发性成分蒸发，引起基线漂移以及保留不重复。

在使用氦脱气时，开始几分钟可用大流速（<30mL/min），而后维持 4mL/min。不能让氦气进入液相色谱系统。关机时要关掉氦气瓶（氦的价格比较贵）。另外请注意，不脱气时可能有些气泡附着在贮液器的内壁和进液管路外壁，可以不予考虑，通常会从贮液器盖的缝隙中排出。不要让气泡进入系统。进液管路内有气泡时要排空放掉。

## 二、真空脱气

真空脱气是最常用的脱气方法，贮液器被抽成部分真空、溶入的气体蒸发形成气泡溢出，脱气效果仅次于氦脱气。真空脱气后空气又会渐渐溶入，若能与氦脱气相结合效果最佳。用真空抽滤流动相可以省去真空脱气这一步，但效果稍差。用于真空脱气的贮液器的壁要厚，最好加外套，防止爆裂。抽气泵或水泵都能作为抽气装置。

在线脱气机的应用逐渐普遍，主要包括 1 至 4 个微型脱气腔，微处理控制器和真空泵三部分，另外还有微型真空泵、传感器等。溶剂（流动相）流过真空腔内的脱气管道时，真空腔内的低压使得溶剂中原来溶解的气体逸出，并通过脱气管道的边壁膜排出去。真空腔内的压力由真空泵控制，真空泵的转速由微处理控制器通过内置压力传感器监测信息反馈控制。图 4-13 是一种典型的在线真空脱气装置的示意图。

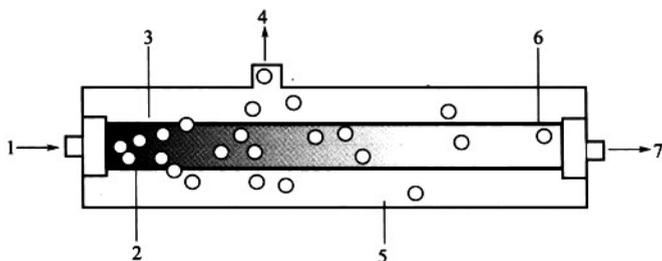


图 4-13 在线真空脱气装置示意图

- 1—流动相入口；2—流动相通路；3—含较多气体的流动相；4—气体出口（到真空泵）；  
5—真空腔；6—含较少气体的流动相；7—脱气的流动相出口

## 三、超声脱气

脱气时，贮液器放入超声槽内，或者超声发生装置安装在贮液器底部。这种方法只能除去约 30% 的溶解气体，有时还会引起气体溶解度的增加。对氧很敏感的检测器（如电化学检测器）不宜用此法。超声脱气用于过饱和溶液的效果好一些。如果超声脱气与真空脱气相结合，可以提高脱气效率。

## 四、加热回流脱气

这是最有效的脱气方法。对于混合流动相不提倡用此法，因为挥发性组分会损失，使流动相的组成改变。需要彻底脱气的流动相（电化学检测器）用加热法，加上回流冷凝器可减少挥发性组分的损失。

以甲醇和正己烷为例对 4 种脱气方法效果比较见图 4-14。

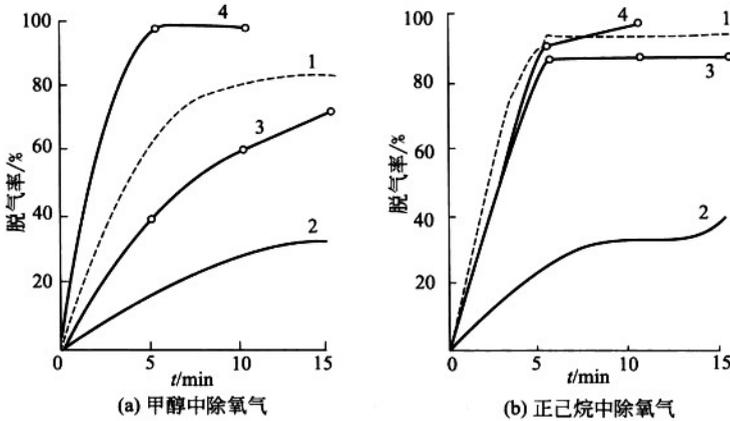


图 4-14 脱气方法效果的比较

1—He 脱气；2—超声脱气；3—真空脱气；4—加热回流脱气

真空脱气时要防止泵油带入流动相。应该用清洁的惰性塞子、搅拌器、过滤器和玻璃器皿配制流动相。已经污染的流动相一定要废弃掉。

## 第四节 流动相贮存与过滤

### 一、流动相的贮存

流动相一般贮存于玻璃、聚四氟乙烯或不锈钢容器内，不能贮存在塑料容器中。因为许多有机溶剂如甲醇、乙酸等可浸出塑料中的增塑剂，导致溶剂被污染。被污染的溶剂如用于 HPLC 系统，可能造成柱效降低。贮存容器一定要盖严，防止溶剂挥发引起组成的变化，同时防止空气中的氧和二氧化碳溶入流动相中。

磷酸盐、乙酸盐缓冲液极易长霉，应尽量新鲜配制使用。如确需贮存，可置于冰箱内冷藏，并且一般不要超过 3 天。

卤代溶剂中可能含有微量的酸性杂质，能与 HPLC 系统中的不锈钢反应。卤代溶剂与水的混合物比较容易分解，不能存放太久。卤代溶剂（如  $\text{CCl}_4$ 、 $\text{CHCl}_3$  等），与各种醚类（如乙醚、二异丙醚、四氢呋喃等）混合后，可能会反应生成一些对不锈钢有较大腐蚀性的化合物。因此，尽量不采用卤代溶剂的混合流动相，或者使用之前新鲜配制。此外，卤代溶剂（如  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ）与一些反应性有机溶剂（如乙腈）混合静置时，还可能产生结晶。

贮液器是装预混合流动相或流动相组分的容器，构造相对简单，但用不合适

的贮液器也可能带来问题。贮液器被污染了可能阻塞烧结不锈钢过滤片，影响泵性能，在色谱图中出现多余的峰或者产生噪声。结构不好的贮液器在更换流动相时要用很多的新流动相冲洗。贮液器内还包括流动相进液管、陶瓷或烧结不锈钢过滤器（沉子）。

贮液器的容积一般为 1L，有的贮液器仅能用于充氦气，而不能用于真空脱气，因为有破裂的危险。用于真空脱气的贮液器要加厚或加外套。自备的贮液器要松松地盖上盖子，以挡灰尘。盖得太紧会形成部分真空，使泵停止运转。

容器应定期清洗，特别是盛水、缓冲液和混合溶液的瓶子，以除去底部的杂质沉淀和可能生长的微生物。因甲醇有防腐作用，所以盛甲醇的瓶子无此现象。

泵进液管路一般用聚四氟乙烯管，也有用薄壁钢管的。烧结不锈钢过滤器套在进液管路上，其功能有两个，防止微粒物质进入泵，并作为进液管路的重物，所以常叫“沉子”。一般进液管的内径不小于 1mm，不能过小，否则阻力过大会造成管腔真空。

## 二、故障的预防

### 1. 过滤溶剂，保持贮液器清洁

完全由 HPLC 级溶剂组成的流动相不必过滤，HPLC 级溶剂已在生产厂内用  $0.2\mu\text{m}$  的过滤装置过滤，实验室再过滤反而会污染流动相！其它溶剂在使用前一定要用  $0.45\mu\text{m}$  的过滤器过滤，如使用固体化学试剂（如缓冲盐）配制流动相，过滤特别重要，不能让固体微粒污染泵的单向阀、阻塞或损坏进样器和柱头过滤片。现已有的过滤装置有水溶性和脂溶性两种过滤膜供选择，过滤水溶性流动相时（如甲醇-水），先用 1mL~2mL 甲醇润湿过滤膜，有助于快速抽滤。

用普通溶剂瓶作流动相贮液器应不定期废弃瓶子（如每月一次），买来的专用贮液器也应定期用酸、水和溶剂清洗。无论选用何种方法清洗，最后一次应用 HPLC 级的水或溶剂清洗，以确保去除清洗过程中可能留下的残渣。

### 2. 定时更换过滤器（沉子），保证溶剂的质量

为了保证仪器正常运行，过滤器使用 3 至 6 个月或出现阻塞现象时要及时更换。过滤器可能对某些离子对试剂有影响，造成保留不重复，如果不用沉子，流动相一定要用  $0.45\mu\text{m}$  过滤膜先过滤！

尽可能使用 HPLC 级的溶剂，液相色谱的许多问题会因选用了高质量的溶剂而得以预防。HPLC 级试剂是用特殊方法生产的，含有最少的微粒和最低的紫外吸收物质。水也应达到 HPLC 级，液相色谱实验室应配有纯水器（经济上也比从溶剂供应商处购买 HPLC 级的纯水节省开支）。同样也要用高纯度缓冲盐来配制所需的流动相。

有些试剂在空气中受光照射会发生变化，如四氢呋喃可形成易爆炸的过氧化物，氯仿也可能生成光气。有些厂商在试剂中加入稳定剂，使用时要防止这些稳

定剂的污染和干扰。在大部分情况下，这些四氢呋喃是不能使用的，因为在使用紫外检测器时，基线的本底非常高。预处理这些溶剂后一定要更换溶剂瓶并注意溶剂不能蒸干，提倡使用不加稳定剂的溶剂。由于不同厂商生产的溶剂质量不同，即使同一厂家生产的不同批号的同种溶剂也会有差异，所以，使用时应记录溶剂的批号等参数。例如：溶剂中含残留的氯为  $5\mu\text{L/L} \sim 781\mu\text{L/L}$  的 HCl 时，会对以硅胶为基质的填料危害很大；甲醇中含有不同量的水，会引起保留值的改变等。

色谱工作者应有一两个能随时换上的空贮液器，以防止使用中的贮液器污染或损坏，同时也要备一些过滤器和入口管路。

### 三、流动相过滤

所有溶剂使用前都必须用  $0.45\mu\text{m}$  (或  $0.22\mu\text{m}$ ) 滤膜滤过，以除去杂质微粒，色谱纯试剂也不例外（除非在标签标明“已滤过”）。

用滤膜过滤时，特别要注意分清有机相（脂溶性）滤膜和水相（水溶性）滤膜。有机相滤膜一般用于过滤有机溶剂，过滤水溶液时流速低或滤不动。水相滤膜只能用于过滤水溶液，严禁用于有机溶剂，否则滤膜会被溶解。溶有滤膜的溶剂不得用于 HPLC。对于混合流动相，可在混合前分别过滤，如需混合后滤过，首选有机相滤膜。目前已有商品化混合型滤膜出售。表 4-5 列出了常用的材料与化学试剂的相容性。

### 四、常见故障与解决办法

液相色谱贮液与脱气部分的主要故障包括：①流动相脱气不充分；②流动相供给不畅；③流动相和贮液器被污染；④色谱问题。除④将在分离问题一章中介绍外，对于其它三个问题将分述如下。

#### 1. 流动相脱气不充分

流动相受热，或者流动相不同组分混合时会有气体产生，气泡进入泵内引起压力波动，增加噪声，色谱图上出现毛刺。可试用下列方法解决问题：流动相再脱气；采用更有效的脱气方法（如通氮气保护）或两种方法配合使用；低压预混合溶剂替换系统内高压混合。如果仍有毛刺，应考虑在检测器后面加阻尼器。

#### 2. 流动相供给不畅

可能的原因是：流动相已接近用完了，管路中吸入气体引起泵压力不稳。应经常观察贮液器中流动相的量，加足流动相保证所有的样品分析完毕。输液管路上安装沉子沉至瓶底，贮液器盖上留一小孔正好夹住进液管，使其不能上下移动。

过滤器阻塞会引起管道和泵腔真空化，使压力不稳。当过滤器被微粒所阻塞或长霉时，去掉过滤器后系统会运转正常，换上新过滤器即可。有时候换上新过滤器仍然不畅，那就需要检查流动相的制备过程，或者换大孔径的过滤器。不管如何，流动相都要重新过滤。

表 4-5 过滤膜化学相容性

中文名	英文名	尼 龙 膜	聚四氟乙烯 (PTFE, polytetra fluoroethylene)	聚偏氟乙烯 (PVDF, polyvinylidene fluoride)	乙 酸 纤 维 膜	硝 基 纤 维 素 膜	再 生 纤 维 素 膜
冰乙酸	acetic, glacial	●	✓	✓	×	×	✓
25%乙酸	acetic, 25%	●	✓	✓	●	✓	✓
浓盐酸	hydrochloric, concentrated	×	×	✓	×	×	✓
25%盐酸	hydrochloric, 25%	●	✓	✓	✓	✓	✓
浓硫酸	sulfuric, concentrated	×	✓	●	×	×	●
25%硫酸	sulfuric, 25%	×	✓	✓	×	×	✓
浓硝酸	nitric, concentrated	×	✓	●	×	×	×
25%硝酸	nitric, 25%	×	✓	●	●	●	✓
25%磷酸	phosphoric, 25%	×	✓	✓	✓	✓	✓
25%甲酸	formic, 25%	×	✓	✓	●	✓	✓
10%三氯乙酸	trichloroacetic, 10%	●	✓	✓	✓	✓	✓
25%氢氧化铵	ammonium hydroxide, 25%	✓	✓	●	✓	✓	○
3mol/L 氢氧化钠	sodium hydroxide, 3mol/L	✓	✓	✓	×	×	○
98%甲醇	methanol, 98%	✓	✓	✓	✓	●	✓
98%乙醇	ethanol, 98%	✓	✓	✓	✓	●	✓
70%乙醇	ethanol, 70%	✓	✓	✓	✓	●	✓
异丙醇	isopropanol	✓	✓	✓	✓	✓	✓
正丙醇	n-propanol	✓	✓	✓	✓	✓	✓
戊醇	amyl alcohol	✓	✓	✓	×	×	✓
丁醇	butyl alcohol	✓	✓	✓	✓	✓	✓
苯甲醇	benzyl alcohol	✓	✓	✓	●	●	✓
乙二醇	ethylene glycol	✓	✓	✓	✓	●	✓
丙二醇	propylene glycol	✓	✓	✓	●	●	✓
甘油	glycerol	✓	✓	✓	✓	✓	✓
己烷	hexane	✓	✓	✓	✓	✓	✓
甲苯	toluene	✓	✓	✓	✓	✓	✓
苯	benzene	✓	✓	✓	✓	✓	✓
汽油	gasoline	✓	✓	✓	✓	✓	✓
二氯甲烷	methylene chloride	●	✓	✓	×	●	✓
氯仿	chloroform	●	✓	✓	×	✓	✓
三氯乙烷	trichloroethane	✓	✓	✓	×	✓	✓

续表

中文名	英文名	尼龙膜	聚四氟乙烯 (PTFE, polytetra fluoroethylene)	聚偏氟乙烯 (PVDF, polyvinylidene fluoride)	乙酸 纤维 膜	硝基 纤维 素膜	再生 纤维 素膜
三氯乙烯	trichloroethylene	✓	✓	✓	✓	✓	✓
氯苯	chlorobenzene(mono)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
四氯化碳	carbon tetrachloride	✓	✓	×	●	✓	✓
丙酮	acetone .	✓	✓	×	×	×	✓
环己酮	cyclohexanone	✓	✓	×	×	×	✓
甲乙酮	methyl ethyl ketone	✓	✓	●	●	×	✓
异丙基丙酮	isopropylacetone	✓	✓	×	✓	●	○
甲基异丁酮	MIBK	✓	✓	×	✓	×	✓
乙酸乙酯	ethyl acetate	✓	✓	✓	×	×	✓
乙酸甲酯	methyl acetate	●	✓	●	×	×	✓
乙酸戊酯	amyl acetate	✓	✓	✓	●	×	✓
乙酸丁酯	butyl acetate	✓	✓	✓	●	×	✓
乙酸丙酯	propyl acetate	●	×	✓	×	×	✓
乙酸乙氧乙酯	2-ethoxyethyl acetate	●	●	●	●	●	✓
苯甲酸苄酯	benzyl benzoate	✓	✓	○	✓	✓	✓
乙醚	ethyl ether	✓	✓	✓	●	●	✓
二氧六环	dioxane	✓	✓	●	×	×	●
四氢呋喃	tetrahydrofuran(THF)	✓	✓	●	×	×	●
二甲亚砜	DMSO	●	✓	✓	×	×	●
二甲基甲酰胺	dimethyl formamide(DMF)	✓	✓	×	×	×	●
乙酰二乙胺	diethyl acetamide	✓	✓	✓	×	×	✓
三乙醇胺	triethanolamine	✓	✓	✓	✓	✓	✓
苯胺	aniline	●	✓	✓	×	●	✓
吡啶	pyridine	✓	×	●	×	×	✓
乙腈	acetonitrile	✓	✓	✓	×	×	✓
10%苯酚	phenol aqueous,10%	×	✓	●	×	●	✓
30%甲醛	formaldehyde solution,30%	✓	✓	✓	●	✓	●
30%过氧化氢	hydrogen peroxide,30%	×	✓	✓	✓	✓	✓
硅油	silicone oil	✓	✓	✓	✓	✓	✓

注：✓——推荐使用；×——不推荐使用；●——有限制性使用；○——无应用说明。

流速过高、阻力大，造成真空化现象，这是由于过滤器孔径、管道内径、流速和溶剂黏度等引起的。如果流速大于 10mL/min，常会出现这种现象，试用下列方法解决。

- ① 试用低流速，若问题解决了则再进行下一步；
- ② 换大孔径的过滤器；
- ③ 增加进液管路内径；
- ④ 抬高或加压贮液器；
- ⑤ 改低流速；
- ⑥ 不用入口过滤器（但流动相一定要先过滤）。

当贮液器盖子太紧，在贮液器内形成真空，打出的流动相不连续。应松开盖子或留有 1mm 的缝隙。

进液管路阻塞或弯曲折叠会使泵抽不到液，注意调整进液路道或更新。

其它问题，包括渗漏或接头松动、低压混合器过滤器阻塞、泵部件损坏（密封垫等），都可能引起供液不正常。

### 3. 贮液器或流动相被污染

由于贮液器或流动相被污染，会出现：①产生的有规则的噪声增大；②检测器基线上升。流动相中污染物可能被泵以稳定的浓度打入系统，而后再以稳定的浓度流出来，所以在色谱图中不出多余的峰。用梯度洗脱时，弱流动相条件可使污染物富集在柱头，流动相强度增加后污染物可能被洗脱出来出现一个大的鬼峰。有时基线噪声突然增大或突然抬高，都是因为反复加进新流动相或系统用得太久（如通宵）造成的。新加进的流动相中有污染物或者流动相长霉，繁殖了细菌。

不干净的贮液器会污染清洁的流动相。每种流动相备有专用的贮液器，或者定期报废贮液器，都是良好的工作习惯。

流动相污染源来自这几个方面：试剂质量不高，玻璃器皿不合格，微生物的影响，配制流动相时操作不当等。因此要求用高纯度化学试剂和 HPLC 级溶剂。一旦发现试剂有问题应坚决报废掉。玻璃器皿应按规定清洗干净。为防止生长微生物，每天要按前述的方法清洗系统。怀疑系统内生长了微生物时，可用稀硝酸冲洗（注意不要损坏柱和管路系统）。

在缓冲液内加生长抑制剂（0.04% 叠氮钠）或冷藏缓冲液。每天用 0.22 $\mu$ m 的过滤器过滤缓冲液，也会有效地防止微生物污染系统。

## 第五节 缓冲溶液

### 一、常用液相色谱缓冲盐

液相色谱分析中，尤其是反相色谱分离离子性化合物时，流动相 pH 值的控

制非常重要。液相色谱常用的缓冲盐的种类、适用范围与性质列于下表 4-6 中。

表 4-6 液相色谱常用缓冲盐种类与性质

缓冲盐种类	$pK_a$	适用 pH 值范围
磷酸盐	$pK_{a1}=2.1$	1.1~3.1
	$pK_{a2}=7.2$	6.2~8.2
	$pK_{a3}=12.3$	11.3~13.3
柠檬酸盐	$pK_{a1}=3.1$	2.1~4.1
	$pK_{a2}=4.7$	3.7~5.7
	$pK_{a3}=5.4$	4.4~6.4
甲酸盐	3.8	2.8~4.8
乙酸盐	4.8	3.8~5.8
Tris	8.3	7.3~9.3
氨盐	9.2	8.2~10.2
硼酸盐	9.2	8.2~10.2
三乙胺	10.5	9.5~11.5

磷酸盐可能是最常用的缓冲盐，图 4-15 给出了它的缓冲强度与 pH 值的相关性图，即不同存在形式随 pH 值的变化趋势。通常流动相 pH 值应控制在缓冲盐  $pK_a$  值  $\pm 1$  范围内，保证有足够的缓冲容量，其它缓冲溶液也类似。

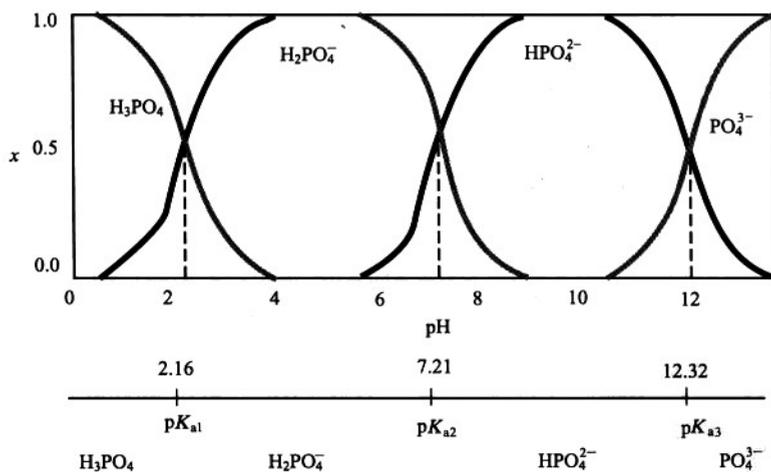


图 4-15 磷酸盐缓冲液的缓冲容量图

基于样品和柱填料而不同，缓冲液的浓度一般在 10mmol/L~100mmol/L 水平，如包含极性基团适合 100% 水流动相的 C<sub>18</sub> 柱比传统的 ODS 柱更适合低浓度缓冲液。如果控制 pH 值低至 2~3，可以用具有挥发性的强有机酸如三氟乙

酸 (TFA)，如果控制 pH 值在 4~5 之间，可以选择乙酸盐或者柠檬酸盐。

使用缓冲溶液的另外一个主要问题就是要注意盐在有机溶剂中的溶解度问题，因为无机盐在有机溶剂中的溶解度通常比较低，尤其是进行梯度洗脱时，如果盐浓度太高，可能就使盐结晶析出，出现堵塞或者磨损柱塞杆与密封圈造成漏液。表 4-7 是磷酸钾在甲醇、乙腈和四氢呋喃 3 种溶剂与水的混合溶液中的溶解度，可以作为判断缓冲溶液溶解度的参照，有助于消除配制缓冲溶液中的不确定性。

对于大多数缓冲盐而言，通常有如下几条规律<sup>[7]</sup>：

- ① 所有的缓冲盐在甲醇中的溶解性最好，在四氢呋喃中最差；
- ② 在所有溶剂中，pH5.0 乙酸铵的溶解性最好，而 pH7.0 的磷酸钾最差；
- ③ 在有机溶剂 B 从 50%~70% 范围内每增加 10%，缓冲盐的溶解度约降低 1 倍。

表 4-7 磷酸钾溶液 (pH 7) 在常用流动相有机溶剂中的溶解度

溶解度/(mmol/L) 溶剂 B/%	甲 醇	乙 腈	四氢呋喃
0	>50	>50	>50
10	>50	>50	>50
20	>50	>50	>50
30	>50	>50	>50
40	>50	>50	50
50	>50	>50	25
60	>50	45	15
70	35	20	10
80	15	5	<5
90	5	0	0

## 二、缓冲溶液与梯度基线漂移

流动相等度分离时，相同流动相的基线漂移的问题将不存在，在开始分析之前检测器自动回零时，由于溶剂或者缓冲溶液引起的基线偏离都可以掩盖，但是如果流动相的背景吸收比较大，会导致仪器检测的线性范围变窄<sup>[7,8]</sup>。

在梯度 HPLC 分离中，经常会遇到基线漂移的问题，基线漂移的程度与流动相有机溶剂、检测波长及存在的添加剂的种类和浓度有关。以下针对几种 HPLC 常用的缓冲溶液的基线特征进行分析，并介绍降低漂移的基本方法。

当开始溶剂和结束溶剂不是非常匹配的时候，可能会出现基线漂移问题，但是如果基线漂移不是非常明显超出标尺范围，不影响色谱峰准确积分，可以忽略。

在 HPLC 试验中，最好是溶剂 A 和 B 都含有相同浓度的缓冲溶液，但是实际中，往往 A 瓶是缓冲溶液，B 瓶是纯有机溶剂，就像图 4-16 所采用的条件。

一般而言，尽管试验中出现了缓冲溶液的梯度，但是对于缓冲溶液浓度大于10mmol/L、有机溶剂小于80%、缓冲盐用在其正常的缓冲pH范围，一般没有明显的影响。但是要注意，为了保证方法的重现性，一定要标识清楚缓冲溶液的制备方法、溶剂A和B的组成等。

### 1. 磷酸盐

磷酸盐缓冲溶液是HPLC分析中最常用的缓冲溶液之一，主要的优点是便宜、制备方便、适用pH范围宽、色谱行为理想等。图4-16是10mmol/L磷酸缓冲溶液和甲醇有机溶剂的空白梯度基线，从图4-16中可以看出，在215nm检测波长时，基线漂移并不明显，而在254nm下，基线很平。

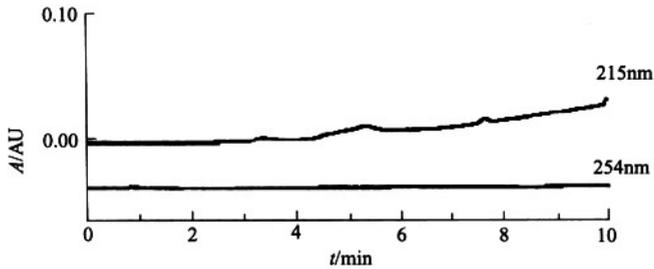


图 4-16 磷酸盐-甲醇梯度基线

溶剂：A. 10mmol/L 磷酸钾 (pH=2.8)；B. 甲醇  
梯度：5%~80%溶剂 B, 10min

另外，要注意缓冲盐在有机溶剂中的溶解性问题，尤其是像磷酸盐这样的无机盐。最好避免使用像10mmol/L浓度的磷酸盐在大于80%有机溶剂条件下使用，避免可能的盐沉淀带来的问题。相对而言，乙腈的问题可能会比甲醇更明显。

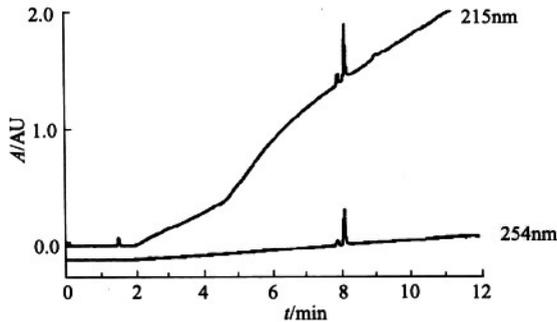


图 4-17 磷酸盐-四氢喹啉梯度时的基线

溶剂：B 为四氢喹啉，其它条件同图 4-16

图4-17是采用具有较高背景吸收的四氢喹啉代替甲醇作为有机溶剂B时的基线图，可以看到，在215nm检测波长时，四氢喹啉导致基线漂移2AU，说明

用低波长检测梯度分析时，不可以采用它作有机溶剂。虽然目前很多现代 LC 检测器的线性上限可以到 2AU，但是实际上此时的 2AU 线性范围是包括了背景在内的。例如 50% 的 THF 形成 1AU 的背景，所以只有 1AU 是可用的最大线性可检测峰高，因此进一步限制了 THF 的使用。

在检测波长较高的情况下，如图 4-17 所示的 254nm 检测时，基线的漂移并不明显，因此当考虑 THF 的选择性的情况下，可以选择使用。

2. 三氟乙酸-低 pH 值

在低 pH 值条件下分析时，TFA 是一个很好的替代试剂。TFA-乙腈是生物样品分离的标准条件，表 4-8 比较了不同浓度的三氟乙酸溶液的 pH 值，同时比较了三氟乙酸和乙酸理论 pH 值和实际配制溶液 pH 值的差异。图 4-18 表明了该梯度下的基线漂移情况。由于其良好的挥发性，可以用于 LC-MS 分析，同时便于分析后挥发流动相实现样品组分的制备回收。一般使用时浓度仅仅 1mL/L (0.1%)，使用中通常在水 (A) 和乙腈 (B) 中均加入，可以将低波长分析时的基线漂移降低到最小程度。

表 4-8 不同浓度三氟乙酸溶液的 pH 值

种类	(V/V)	浓度 /mol·L <sup>-1</sup>	测定 pH 值	计算 pH 值		K <sub>a</sub>	缓冲 pK <sub>a</sub>
				pH≈ $\left[\frac{-\lg(K_a C_a)}{2}\right]$	pH≈-lg $\left[\frac{-K_a \pm \sqrt{K_a^2 + 4K_a C_a}}{2}\right]$		
TFA	0.1%	1.35×10 <sup>-2</sup>	2.04	1.09	1.89	0.50	0.30
TFA	0.05%	6.75×10 <sup>-3</sup>	2.20	1.23	2.18	0.50	0.30
TFA	0.01%	1.35×10 <sup>-3</sup>	2.44	1.58	2.87	0.50	0.30
HAc	1.0%	1.75×10 <sup>-1</sup>	3.01	2.75	2.74	1.85×10 <sup>-5</sup>	4.74

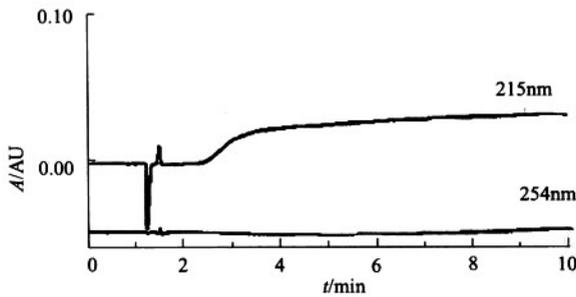


图 4-18 三氟乙酸-乙腈梯度基线

溶剂：A. 0.1%三氟乙酸水溶液 (pH≈1.9)；B. 0.1%三氟乙酸-乙腈溶液  
梯度：10%~90%溶剂 B，10min

从图 4-18 的 215nm 的基线图可以测定系统的滞后体积和柱死体积。该情况下两者组合到达检测器的时间大约是 3min，色谱柱的死体积约为 1min，看起来基线漂移较大，实际上只有 0.03AU。

### 3. 乙酸中等 pH 值

三氟乙酸在 pH 接近于 2 时使用，磷酸盐适用的范围约为  $\text{pH}=2\sim 3.1$  和  $\text{pH}=6.2\sim 8.2$ ，对于中等 pH 值，乙酸使用最为频繁。它也有很好的挥发性，适合 LC-MS 使用，但是需要注意的是在低波长检测时基线漂移问题。图 4-19 是乙酸盐缓冲溶液-甲醇梯度实验的基线，在 215nm 时，乙酸有明显大于甲醇的背景吸收，因此梯度曲线出现负漂移现象。

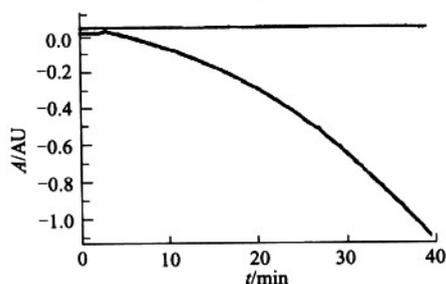


图 4-19 乙酸盐-甲醇梯度基线  
溶剂：A. 25mmol/L 乙酸盐 (pH4)；  
B. 80% 甲醇水溶液  
梯度：5%~100% 溶剂 B, 40min  
波长：254nm (上)，215nm (下)

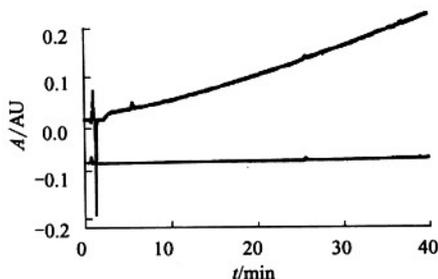


图 4-20 用等摩尔乙酸盐-甲醇梯度基线  
溶剂：A. 25mmol/L 乙酸盐 (pH=4)，5% 甲醇水溶液；  
B. 25mmol/L 乙酸盐，80% 甲醇水溶液  
梯度：0~100% 溶剂 B, 40min  
波长：215nm (上)，254nm (下)

因为大多数色谱数据处理系统不可以处理检测器输出的小于  $-100\text{mV}$  的信号 (相当于  $-0.1\text{AU}$ )，此时观察到基线降低到  $-0.1\text{AU}$  之后出现一个平线，就像记录出现平头一样。为抑制负信号，需要在流动相溶剂 B 中添加有一定吸收的化合物组分与溶剂 A 匹配，本例中可以在甲醇中添加同样浓度的乙酸盐。此时漂移明显减小 (图 4-20)。有少量的正漂移，容易采用数据处理系统进行处理。大约  $0.2\text{AU}$  的漂移对于积分和色谱图没有明显影响。在高检测波长下工作时，没有必要匹配该流动相。

### 4. 高 pH 值缓冲溶液

虽然高达  $\text{pH}=8.2$  时依然可以使用磷酸盐缓冲液，但是在高于  $\text{pH}=8$  条件下最好使用有机缓冲盐而不用磷酸盐，因为磷酸盐会加速硅胶键合固定相的溶解，使色谱柱较快的失效。推荐的替换试剂是 Tris (三羟甲基氨基甲烷)，在生物分离中应用非常广泛，也有使用碳酸氢铵的，图 4-21 和图 4-22 分别是两种缓冲溶液梯度时基线漂移的情况，可见在低波长下均存在负漂移，可能会导致检测和信号处理的问题，而在高波长下没有明显的漂移现象。

通过考察常用的缓冲溶液梯度背景吸收，有助于分析常见问题和考虑实际配制流动相的方法。通常而言，两种溶剂吸收不匹配导致的基线漂移问题在低波长下更为明显，在一种溶剂中添加具有 UV 吸收的化合物使两者吸收相近可以有

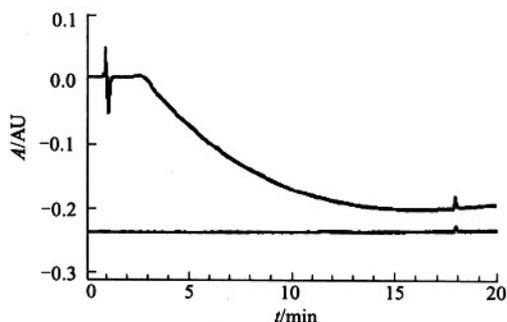


图 4-21 Tris-甲醇流动相梯度基线

溶剂: A. 50mmol/L Tris; B. 甲醇  
 梯度: 5%~80%溶剂 B, 20min  
 波长: 215nm (上), 254nm (下)

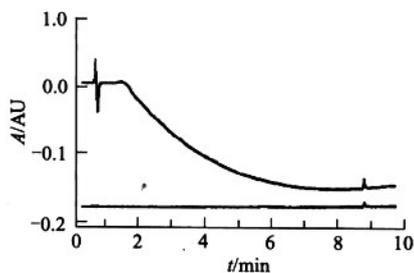


图 4-22 碳酸氢铵-甲醇梯度基线

溶剂: A. 碳酸氢铵 (pH9); B. 甲醇  
 梯度: 5%~60%溶剂 B, 10min  
 波长: 215nm (上), 254nm (下)

效避免基线漂移。理论上而言两种溶剂中含有相同浓度的缓冲溶液, 分析过程中只有有机溶剂浓度发生变化, 可以得到最好的色谱行为和重复的结果, 但是在实际中, 往往仅仅在 A 溶剂中添加缓冲溶液也可以得到满意的结果。还有很重要的, 就是使用的缓冲溶液的有效 pH 范围在  $pK_a \pm 1$  内, 超出该范围, 即使采用很高的缓冲溶液浓度, 也可能不具有好的缓冲能力。另外, 以上结果也说明在进行梯度分离中, 运行空白梯度测定基线漂移情况和背景峰也是非常重要的。

### 参 考 文 献

- 1 张庆合, 张维冰, 杨长龙, 李彤. 高效液相色谱实用手册. 北京: 化学工业出版社, 2007
- 2 Paul C Sadek. HPLC solvent guide. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2002
- 3 John W Dolan, Lloyd R Snyder. Troubleshooting LC System Chifton New Jersey. The Human Press Inc, 1989
- 4 袁依盛. HPLC 系统的故障排除, 南京: 南京大学出版社, 1998 年
- 5 Snyder L R, Kirkland J J, Glajch J L 著. 实用高效液相色谱法的建立. 第二版. 张玉奎, 王杰, 张维冰译. 北京: 华文出版社, 2001
- 6 Adam P Schellinger, Peter W Carr. LCGC NORTH AMERICA, 2004, 22 (6): 544~548
- 7 Nan S Wilson, Ryan Morrison, John W Dolan. LC GC, 2001, 19 (6): 590
- 8 Nelson M D, Dolan J W. LCGC, 1998, 16(11): 992~996

## 第五章 液相色谱进样系统

进样器是引入一定量的样品进入色谱柱的装置。20 世纪 70 年代采用注射器柱头进样，样品直接注入高压流动相中，或者停泵进样。这种模式操作困难、精度差，常常损坏微量注射器，进样量也受限制 ( $<8\mu\text{L}$ )。目前该模式已经完全被手动和自动进样器取代<sup>[1~4]</sup>。

### 第一节 手动进样器简介

#### 一、手动进样器原理

目前常用的手动进样器是六通阀，这种类型的阀由一个固定的定子和一个可移动的转子组成，定子以一定的方式与阀体相连，并与管路，定量环，进样端口和其它外围连接件接触。定子通常由不锈钢、陶瓷等耐磨材料制成。转子与定子紧密结合，但可以在操作过程中自由旋转。转子的材质较定子软，一般采用氟碳高聚物制成。

如图 5-1 和图 5-2 所示，在取样 (load) 位置，定量环 4 与进样孔 6 和放空孔 3 相连，流动相从泵直接进入色谱柱，从进样孔 4 中取样进定量环，多余样品从放空孔 6 排出。将六通阀转子转动  $60^\circ$  处于进样 (inject) 位置，此时泵输送的流动相冲洗定量环，推动样品进入色谱柱。再将进样阀扳回原来位置，亦即样品阀

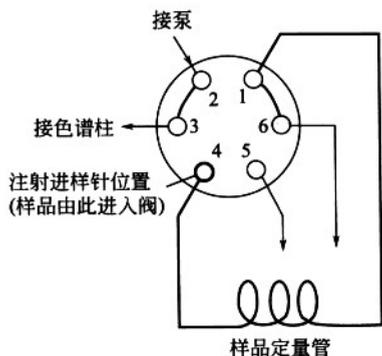


图 5-1 进样阀取样 (load) 位置时流路

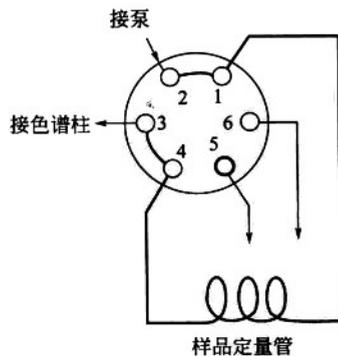


图 5-2 进样阀进样 (inject) 位置时流路

又在取样位置，为下一次进样作准备，如果扳阀处于取样和进样之间，便阻死了液流，压力骤增，再转阀到位时，过高的压力会冲击色谱柱头引起柱损坏。所以操作时应快速转动阀，不能停留在中途，有的阀设计有旁路，阀突然限死会起到分压作用。

六通进样阀靠惰性聚合物转子与铝制陶瓷定子密封。是进样器关键部件。正常情况下可进样 1 万次以上。表 5-1 是 Rheodyne 公司的部分液相色谱进样阀的介绍，供实际应用与选择时参考。目前 7725i 是应用最广的型号。

表 5-1 液相色谱进样阀选择指南

类型与功能	规格	部分充满 体积范围	定量管体积	接触液体材料	MBB <sup>①</sup>	型号
25 系列,两种进样模式: ① 部分充满定量管而不浪费样品 ② 完全充满定量管	分析	1 $\mu$ L~2.5mL	2 $\mu$ L~5mL	SS316 不锈钢,陶瓷,PEEK	是	7725, 7725i <sup>②</sup>
			5 $\mu$ L~5mL		否	7125
		1 $\mu$ L~5mL	2 $\mu$ L~10mL	PEEK, Tefzel, 陶瓷	是	9725, 9725i
	微量	0.1 $\mu$ L~500 $\mu$ L	5 $\mu$ L~1mL	SS316 不锈钢,陶瓷, Vespel, PEEK <sup>③</sup>	是	8125
	制备	100 $\mu$ L~10mL	2mL~20mL	SS316 不锈钢, PEEK	是	3725-038 3725i-038
PEEK				是	3725, 3725i	
10 系列,单进样模式,即完全充满所用的定量管	分析	无	5 $\mu$ L~5mL	PEEK	否	7010
			5 $\mu$ L~10mL	SS316 不锈钢, Vespel	否	9010
	微量		0.5 $\mu$ L~5 $\mu$ L	PEEK, Tefzel, 陶瓷	否	7410
			0.2 $\mu$ L~1 $\mu$ L	SS316 不锈钢, Vespel	否	7520

① “MBB”意思是“不断流”(Make-Before-Break)，其特点是可以防止进样阀“取样”和“进样”之间的断流。

② 带“i”后缀表示该型号具有内置式触发开关。

③ Vespel 和 Tefzel 为杜邦 (E. I. DuPont) 公司注册商标。

进样孔，这是注射器和阀的接口。平面六通阀有两种形式的进样孔——内装式和外装式。以 Rheodyne 公司的进样阀为代表，图 5-3 为内装式进样阀，图 5-4 为外装式进样阀。表 5-2 比较了两种进样方式。

表 5-2 两种不同形式进样阀的功能及优缺点

进样技术	优点	缺点
部分(完全)充满定量环内装式	部分装液可调节性强 (节约样品)	部分装液重复性差
完全充满定量环外装式	重复性好	可调节性差 (浪费样品)

内装式阀的进样孔安装在阀的正面，有一根聚四氟乙烯的针头导向管紧紧裹住进样针头起密封作用，针头顶部插到阀体内的转子部分。内装式阀可用两种方

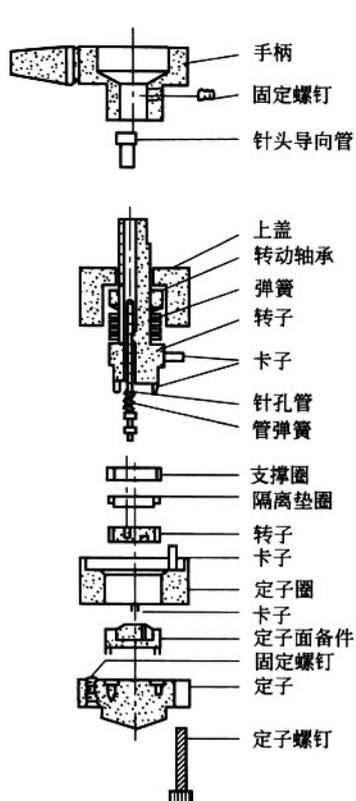


图 5-3 内装式进样阀

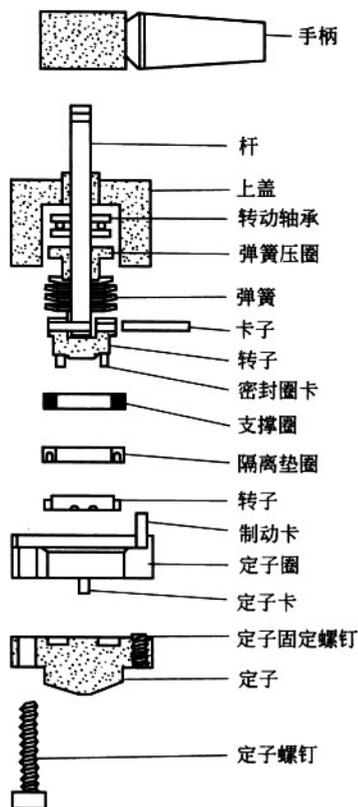


图 5-4 外装式进样阀

法装液，即完全装液法和部分装液法。完全装液法是注入的样品量相当于定量环总的容量。要用过量试样，最好大于定量环总体积的 5 倍样品，完全更换定量环中残留溶液，保证重复性。部分装液法注入的样品量就是注射器排出的量，不需要改变定量环的大小就可改变进样量，而且针头直接推样品进入定量环，部分充满定量环方式基本不损失样品。内装式进样阀用部分装样法，样品可从  $1\mu\text{L}$ ~ $2.5\text{mL}$ ；完全装样法，样品可从  $2\mu\text{L}$ ~ $5\text{mL}$ 。

外装式进样阀的进样孔与阀本身有段可变距离，不用针头插到阀体进样，而是用注射器吸足样品从进样孔挤入。有部分样品留在连接管道中而不被注进定量环，故只能采用完全装液法。这种阀要求有足够量的样品，不必关注注射器上的刻度，只要进大量过量样品，就可保证获得好的重复性。外装式定量环是由不同内径的不锈钢管制成，两头用标准的压缩接头接在阀体上。可做成不同体积的定量环。按表 3-1 所示依照所需进样体积剪取不同内径管子的长度，如用  $0.5\text{mm}$  内径的管子做  $25\mu\text{L}$  体积的定量环，应剪取管子的长度为  $12.3\text{cm}$  ( $25\mu\text{L} \div 2.03\mu\text{L}/\text{cm}$ )。阀内体积的影响约有 10% 的误差。定量环的两端要切割整齐无毛

刺，管径与阀孔不相配或组装不好，会增加死体积，引起峰变宽以及样品残留。为减少故障，最好用厂商配套的定量环。

内装式定量环很少用。但在采用微型柱、短柱或小颗粒填料时可考虑用这种定量环（图 5-5），一般是利用连接孔到转子的一小段空隙，或者定量环开在转子上。用于同微型柱配套的微量进样阀是在扁平的转子里钻一个小孔作定量管，试样量可为 0.5 $\mu$ L、1.0 $\mu$ L、5.0 $\mu$ L 等。

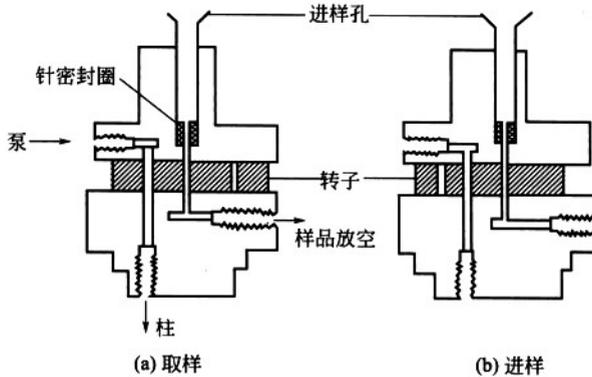


图 5-5 微量进样器示意图

## 二、全部、部分充满定量环进样

传统的六通阀可以在全部或部分充满定量环的情况下进样。当定量环全部充满样品时，样品的体积与定量环的体积相同，如图 5-6(a) 所示。例如，20 $\mu$ L 定量环在通过阀给样时，多余的样品将通过废液口流出，定量环中的全部样品在转子置于进样位置时，将全部进入色谱柱中。由于流体动力学因素，一般至少给样两倍于定量环体积，才能保证定量环真正充满。为了改变进样体积，用户必须采用不同体积的定量环。

部分充满定量环技术相对较为便利、灵活，如图 5-6(b) 所示。精确体积的样品被注入到定量环中。例如，在 100 $\mu$ L 定量环中进样 20 $\mu$ L，在阀置于进样位置时，流动相直接将样品冲入色谱柱中。

由于部分装液法，样品不是以“塞子”形式进入定量环，而是变成抛物线样的层流，中心液流流动比靠近管壁的流动得快，样品的前沿被冲淡，样品体积不要超过取样管体积的 50%，防止注射时前沿被稀释的样品不能等地离开定量环。如定量环体积为 20 $\mu$ L，进样体积应小于 10 $\mu$ L 或大于 40 $\mu$ L（完全装液），这样能呈良好的线性关系。

定量环中的样品采用反冲的方式被注入色谱柱，即，在定量环中给样的方向与样品被冲出定量环的方向相反。反冲并不影响全部充满情况下的结果，但对于部分充满的情况，这种进样方式将非常重要。一些自动进样器中经常装配

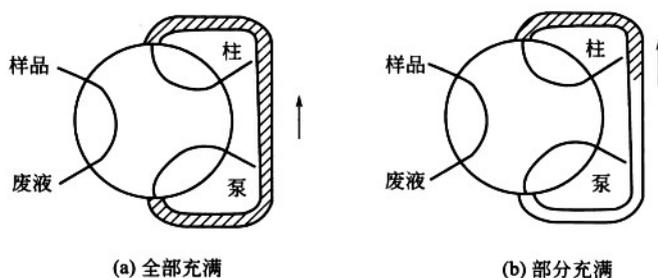


图 5-6 定量环自动进样器进样模式

较大体积（如 1mL）的定量环，当在这种大定量环中的给样量较少（ $10\mu\text{L}$ ）时，由于流动相在定量环中残留、样品的离散分布等原因，将不能够得到预期的色谱分离结果。在图 5-6(b) 中， $10\mu\text{L}$  的样品流过 1mL 的管路，将造成极大的峰展宽，展宽的峰在分离过程中再进一步展宽，最终将不能得到理想的分离结果。因此，定量环被垂直放置对于保证将定量环中的样品全部反冲入色谱柱是非常重要的。

早期市场上主要有 Beckman 的 Altex 型进样阀、Rheodyne 进样阀以及 Waters 的 U6K 型进样阀等。目前主要是 Rheodyne 和 Valco 公司产品。

### 三、压力旁路

进样阀在取样和进样之间转动时可引起压力和液流的脉冲，损坏色谱柱。快速转动阀可减少故障。如能加上压力分路循环可完全避免脉冲。在转动进样阀时不会瞬间停流，也不会瞬间增大压力。Rheodyne 进样阀也有同样的功能。

也可以自己动手为进样器做压力旁路：用两只 T 形接头和小于 0.18mm 内径的不锈钢管相连、为减少样品稀释，通过这部分的流量要小于总流量的 5%。连接 T 形接头和阀之间的管道尽量短（ $<3\text{cm}$ ）。具体规格设计如下：阀入口处管径 0.5mm，出口处管径 0.25mm；旁路管径 0.18mm，6cm 长（每 3cm 长产生总压力 1/3 的反压）。其结构见图 5-7。要校正旁路（A 管）液流量可在正式运转前拆开 A、C 之间的 T 形接头，泵流速  $4\text{mL}/\text{min}$ ，在 A 管和 C 管内流量应分别是 1mL 和 20mL。

应用旁路系统最大的风险是一旦定量环阻塞（B 或 C 管），旁路代替了定量环，样品不能进入系统，或引起样品扩散，降低了分辨率和柱效。旁路阻塞不会引起进样故障，但起不到减少脉冲的作用。

### 四、注射器

在液相色谱系统中多采用平头针注射器，不同于气相色谱的尖头针。针头外

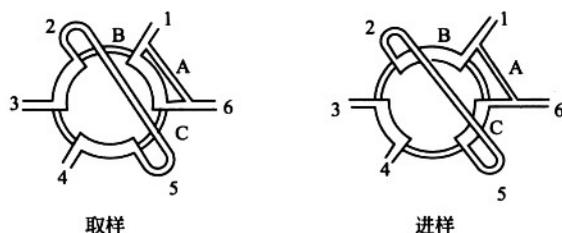


图 5-7 进样器压力旁路循环

侧紧贴进样器密封管内侧，不漏液、不引入空气。针顶部能插到进样孔底部而触不到定子，有些进样阀被设计成针头到达定子前注射器就卡住，防止针头刺坏定子。采用与注射器固定或者活动的针头均可。

自动进样器针头用于从样品瓶中吸取样品，多数用斜面并带有细钩的针头，易于刺破样品瓶上的膜，或用一侧带孔的针头，可防止膜碎片阻塞。

### 五、切换阀

六通平面进样阀可作为流动相的切换阀，主要应用包括下面几个方面。

①将样品从一根柱切换到另一根柱；②在含杂质的峰中切去峰前、峰后部分，取峰中心部分（纯物质制备用）；③从一组柱中选出单根柱；④反冲去掉强保留杂质；⑤从一组检测器中选出专用检测器。

### 六、低压阀

除了高压阀外，低压阀也广泛用于液相色谱系统中。这种阀能进行手动操作和自动控制操作，能耐大约 1MPa 的压力，它的清洁功能比高压阀要差得多，主要用于以下两种情况（图 5-8）。第一，普遍适合作为溶剂贮液器的选择阀，要

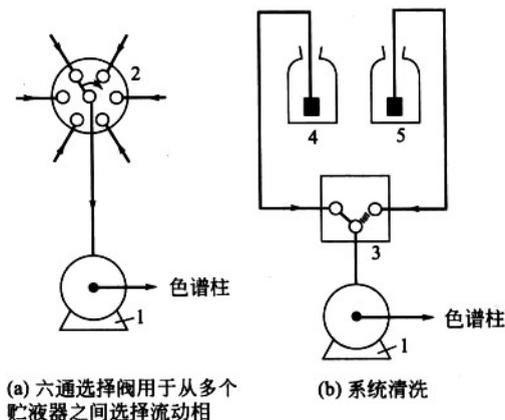


图 5-8 低压阀的应用

1—泵；2—5012 阀；3—5302 阀；4—流动相贮液器；5—清洗剂贮液器

在多个贮液器之间进行切换，可加一个自动控制的低压溶剂选择阀；实验结束后也能切换冲洗（例如，缓冲液）。第二，用于示差折光检测器（RI）参比池的循环冲洗。

## 第二节 手动进样器故障排除

### 一、手动进样器的使用

目前液相色谱仪器中使用最多的就是 Rheodyne 7125 和 7725 型手动进样阀，是前部进样，可以采用部分充满和全部充满两种方式。在一些液相色谱或者液相色谱-质谱联用装置中使用后进样方式的阀。操作基本类似<sup>[5]</sup>，介绍如下。

#### 1. 注射样品的步骤

第一，将手柄扳至进样位置，将注射器插入针管到底，此时注射器针头与定量环的末端直接相连，样品在没有任何连接物的阻碍下直接进入定量环，准备进样；第二，迅速将手柄扳至注射“进样”位置进样；第三，拔出注射器；第四，等到贮备注射下一个样品，将手柄扳回取样位置。

#### 2. 进样体积与定量环体积

如果进样体积等于定量环体积，漏出放空管的样品损失会高达 20%，使进样精度大幅度下降，所以进样体积应小于定量环体积的 50%（部分进样）或者大于 200%（完全进样）。

定量环体积为额定体积，并没有进行校准，由于管路公差等原因，实际尺寸会有所差异。2mL 定量环的误差约为 5%，20 $\mu$ L 定量环的误差约为 10%；5 $\mu$ L 定量环的误差约为 30%，尽管在完全充满定量环时进样的重复性最好，但是准确体积进样最好是采用部分充满定量环方式。

一般不要求准确计算定量环的体积。譬如，一根名义上 20 $\mu$ L 的定量环，实际上是 19 $\mu$ L，还是 21 $\mu$ L 没有多大关系，在计算结果时误差都被消去了，因为被测样品和标准样品是取同样体积。在新换定量环或计算检测器响应值时，要求准确知道样品量。部分装液法就要精确读准取样量，完全装液法要与标准定量环比较响应值。如果需要知道所使用的定量环的准确体积，可以通过用注射器部分装液法测标准溶液的峰面积来取得。

$$V_n = \frac{V_s}{A_s} \times A_n \quad (5-1)$$

式中  $V_s$ ——标准定量环体积；

$A_s$ ——标准定量环所得峰面积；

$A_n$ ——（同种样品组分）新定量环所得峰面积。

### 3. 使用合适的注射器针头

针头规格一般为 22 号，外径 0.7mm，长 5.1cm(2 英寸) 平头。对于 3725 型进样阀，注射器针头规格应为 0.062mm~0.065mm 外径，长为 5.1cm(2 英寸) 的针 (23 号平头针头)。不可使用斜面、尖端或锥形的针。

### 4. 冲洗进样阀

冲洗步骤：手柄切换到进样位置后，要保持在此位置一段时间，使得流体充分冲洗定量环，这样可以保证高精度，而且不用额外冲洗定量环（不要手动冲洗，由仪器控制冲洗更好）。注意冲洗需要的流动相体积至少为样品体积的 10 倍。例如：如果取 20 $\mu$ L 样品至 100 $\mu$ L 定量环中，泵的流速为 1mL/min，保持在进样位置至少 12s，即：

$$20\mu\text{L} \times 10 \times 60(\text{s}/\text{min}) / 1000(\mu\text{L}/\text{min}) = 12\text{s}$$

定量环冲洗充分后可以转回取样位置，也可以继续保持进样位置，到下次取样前切换回取样位置。准备切换回 LOAD 位置时，都要将注射器拔出。

正常情况下不必每次进样后都冲洗进样阀导入口以防交叉污染，直接连接进样孔的设计使注射针前端直接注射样品到定量环末端，没有连接通道滞留样品。这样下一次进样时，就不会有上一次残留样品进入定量环。但是在进样针插入或拔出过程中会有痕量样品沉积在针头密封区域。精密测定显示这种残留仅有 1nL~10nL。这表明进 20 $\mu$ L 样品，会残留 0.0005%~0.05%。每次进样后冲洗注射针导入口，可以将此残留冲洗干净。

如果出现严重的交叉污染，请检查是否由于下列原因造成通道连接不当：

- ① 使用的注射针头过短，注射针末端不能到达定子表面，针头的长度为 5.1cm(2 英寸)。
- ② 注射针没有充分插入注射针导入口。
- ③ 注射针导入口内的污染物或针密封磨损下来的碎屑，使注射针头末端不能接触定子表面。

如果不考虑交叉污染，每进样 10 次至 20 次最好也冲洗一下注射针导入口。这样可以保证注射针导入管内充满流体。在注射针插入或拔出的过程中清洗注射针头或稀释污染这一区域的样品；同时也使注射针导入口和孔 6 后面连接的放空管（见图 5-1）充满流体，防止空气进入定量环。

## 二、泄漏

进样阀有三处可能泄漏，即针口、放空管和定子和固定环之间的缝隙。转子密封垫损坏可能导致泄漏，但有许多泄漏情况是无须更换密封垫的。

大多数转子密封垫失效的原因是被有磨损性的颗粒磨伤表面。这些颗粒可

能是样品的残留物、流动相或缓冲溶液的盐结晶。对金属注射器，来自管道及其配件的颗粒或毛刺也会造成划伤。在进样阀的某些方位，定子和固定环之间的泄漏似乎是定子的某配件发生泄漏。同样，定子的某附件发生泄漏又好像是定子和固定环之间发生泄漏。因此，在采取措施之前，必须确认泄漏的真正来源，采取下列措施可将转子密封的寿命延至最长：①在接入系统之前，检查所有管道是否存在毛刺，若有则将之清除。②将流动相中的颗粒滤去，若样品不够纯净，也对其进行过滤。③在泵和注射器之间安装过滤器，防止来自泵和流动相的颗粒的进入。④若使用了缓冲液，要经常用水冲洗进样阀，尤其是在关闭之前。

在下面的实例中，只需对进样阀进行调整，无需拆开，就可以修好泄漏处。

### 1. 样品仅在进样时漏出针管

样品仅在进样时漏出针管，如在压下注射器活塞时，可以采用以下方法判断。

第一，缓慢地将注射针一直插入针管，并注意其摩擦，如果在插入过程中的最后 3mm 摩擦稍有增加，然后针因受阻力变大而停止前进。这是由于虽然针穿过针密封，但密封压得不够紧，无法防止针周围的泄漏。部分或全部样品流回针管，并流出。解决的方法是可以铅笔的橡皮端挤压塑料导针，压实针密封，使孔径缩小。

第二，如果摩擦并未增加，针并未像前面一样穿过针管，针因受较小阻力而停止前进。原因是针并未穿过针密封的孔，如特氟纶的冷变形使孔径变小，大部分或全部样品流回针管，并流出。解决方法是将转子密封从进样阀中取出，用 22 号规格的注射器针穿过孔内，增大孔径。如果针密封损坏至无法修复，需更换转子密封。

实际上，插入注射器时，针在针管内移动 4.5cm 后到达针密封，此前摩擦小。当针到达针密封后继续前行 3mm，这时的摩擦较大。针与陶瓷转子面接触后停下。当 6 号放空管被缓冲盐结晶堵塞时，针密封更容易失效，如果怀疑是该原因，需检查管道。使用错误的注射器也会导致样品漏出针管，如果针头太短，针就接触不到针密封。如果针的直径太小，密封就无法压紧。当插入针，液体从放空管通过是正常的。它排出了冲洗后残留在端口中的液体。进样时针管的泄漏会引起不可重复的分析结果。

### 2. 液体漏出针管或放空管

液体漏出针管或放空管，但最终停止流出，可能的原因与排除方法：

① 如果样品漏出放空管，可能原因是放空管低于针管，导致虹吸。可以调整放空管，使其出口与针管处于同一水平面。

② 如果样品漏出针管，原因可能是放空管高于针管，导致虹吸。解决方法

是调整放空管，使其出口与针管处于同一水平面。

手柄处于进样位置时，虹吸现象会持续到放空管和针管排空为止。处于取样位置时，虹吸现象则会一直持续到放空管、针管和定量环全都排空为止。若使用低于进样针的长放空管，会产生很大的虹吸力，需特别注意。用长连接管的原因之一是为了防止来自管道末端的会导致缓冲盐结晶并堵塞的蒸发作用。如果以完全进样方式向定量环内大量进样，在注射器插入之前吸入的空气会被排出。但若以部分进样方式进样，空气就不会被完全排出。在这种情况下，为了防止空气进入定量环，可以在仍处于进样位置时，即将切换向取样之前，插入含有下一种样品的注射器。这样可以防止定量环被虹吸。当定量环由于虹吸而被排空，定量环内充满空气，当手柄切换至进样时，空气的存在会引起系统压力降低。见后续内容。

### 3. 液体从针管或放空管或定子和固定环之间不断漏出

① 如果系统压力升高，例如，由于使用了更高的流速、不同的色谱柱或部分色谱柱烧结过滤片堵塞，尤其当压力超过 27.6MPa(276bar, 4000psi) 时。原因是系统压力可能超出进样阀密封的承受能力。进行调节以适应高压操作，可以拧紧压力调节螺丝或拧松定位螺丝后再拧紧定子螺丝。如果调节至更高压力后，泄漏仍未消除，见以下说明。

② 如果系统压力保持稳定，可能是转子密封上的划伤导致高压流动相溢出。解决方法是更换转子密封。检查定子面密封总成的陶瓷面，若有碎裂、破裂或六个孔有任一堵塞，就需要更换总成。

大多数型号进样阀出厂时耐压设定为 34MPa(340bar, 5000psi)，但密封压力会随着密封磨损而降低。有时转子密封上的小划伤可通过高压适当调节而暂时“修复”。在更换密封前若需暂时运行，可使用该方法。若这样处理后，更难以转动手柄，可将进样阀恢复至安装新转子密封的最初的位置。使用尖端的或直径太小的针会严重损坏转子密封和定子面密封总成。针的尖端可能进入定子面的管中，当手柄切换至进样时，针会折断。伸出的尖端就会划伤转子密封。在定子的某些方位，定子和固定环之间的泄漏看上去似乎是定子的某配件泄漏，同样，定子的某配件泄漏又好像是定子和固定环之间泄漏了。因此，在采取措施之前，必须确认其真正来源。

## 三、峰形问题及鬼峰

进样阀引起的峰形问题及产生鬼峰的现象可分为三大类：残留样品峰、鬼峰和畸形峰。残留样品峰是由于前一次注射后残留的样品所造成的（图 5-9），注射空白溶液时，会出现一个与样品峰类似但是稍微小一些的色谱峰。鬼峰与前一次注射样品无关（图 5-10），当注射空白溶液时，这些鬼峰就会出现，其保留时间不同于样品峰的保留时间。峰畸形是空白溶液注射时表现正常，但进行样品溶

液注射时某些峰产生前伸、拖尾或分岔(图 5-11)。

空白溶液注射:按照注射样品溶液的同样方式注射一定体积的流动相,该流动相的组成成分与注射样品时情况完全相同。如果样品溶剂的成分与流动相不同,建议使用相同的溶剂来进行空白溶液进样。空白溶液进样将显示出峰形问题及鬼峰是否因为溶剂差异引起。检测器在高灵敏度下操作时,鬼峰更易产生,且查找原因时较难,因为有时它们并非真实的组分而只是来自检测器的信号。有时它们是真实的物质,但是来自进样阀以外,或是与空白溶液一起无意间被引入,或是由于空白溶液注射而从色谱柱内释放出来。也有极少数情况,它们是对进样阀内的零件造成污染的物质。

### 1. 样品残留峰

进行空白溶液注射会产生前一次样品溶液注射的峰,首先冲洗针管。然后按照样品分析的方式采用部分充填或完全充填方式注射空白溶液。

(1) 如果波峰消失,是由于针管被前一种样品溶液污染。在进样时随着注射器的插入针管被带入定量环。冲洗步骤已对针管进行了清洁。解决方法是如果污染再次出现,确认针的插入方式正确,对针管进行定期冲洗。

(2) 如果波峰仍然存在,是在放空管处有前一次注射残留下的样品溶液,在注射前被虹吸入定量环。放空管调整不当时就会在进样时产生这种现象,且注射器不在针管中。解决方法是将放空管调整至与针管同一水平位置。手柄保持在进样位置,直到要进行下一次注射,并在切换至取样位置前进行冲洗。

(3) 如果对放空管进行调整后峰依然存在,就要排除进样阀以外可能导致残留的因素。冲洗针管:用 0.1mL~1mL 的流动相及针管清洁器,当手柄处于进样位置时才可进行冲洗,液体就可以绕过定量环,直接流出放空管。这样可以对



图 5-9 残留样品峰示意图

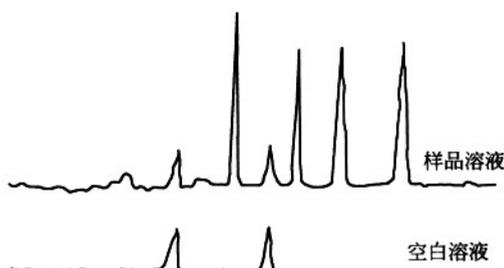


图 5-10 鬼峰产生示意图

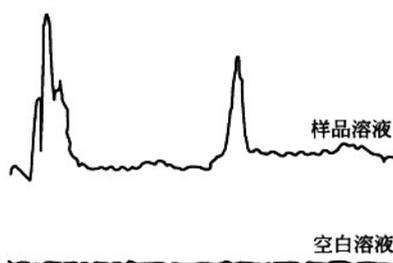


图 5-11 畸形峰产生示意图

针管在全长度内进行完全清洁，包括导针、管道和针密封。清洁器能够做到这样是因为将导针前端密封住了。而完全插入的针无法对上述任一部分进行清洁。如果没有清洁器，可以使用注射器。

在例行操作中，将手柄切换至进样位置后，拔出注射器，手柄位置不变以确保流动相对定量环进行连续冲洗。一般不需要在每次注射后都进行冲洗，必要时可在进行下一次分析前冲洗。通常每注射 10 次或 20 次后进行冲洗就可以了。这样，使针管内充满液体，液体对进样阀进行清洗并稀释样品溶液的污染。

还有一些会导致样品溶液残留的原因，包括进样阀内残留有样品溶液，溶剂的污染以及清洗溶剂的污染。

## 2. 鬼峰

进行空白溶液注射后会产生与前一样品或标准溶液无关的峰。冲洗针管并采用相同方式注射空白溶液。

(1) 如果峰消失，说明针管被污染，冲洗已将其清洁，今后需要注意对针管进行定期例行冲洗。

(2) 如果峰仍然存在，冲洗，切换至取样位置，立即进样并注射相当于定量环体积 1/4 的空白溶液，观察峰。再冲洗，切换至取样位置，立即进样并注射以定量环体积 5 倍的空白溶液。观察以下峰的变化。

① 如果第二次注射峰比第一次的大 3~4 倍，判断是来自注射器和玻璃器皿的外部污染。解决方法是使用干净的器具。不要使用会产生污染物的塑料，进一步确认鬼峰是否为氧气峰。

② 如果第二次注射峰消失，或比第一次的小很多，证明是进样阀内的污染物。例如在针进入密封层时，针密封上的污染物被针带入定量环。注射器分配样品溶液时，若输送大量样品溶液，污染物就会被完全排出定量环，部分充填进样时也会有污染物。解决方法是清洗进样阀。但有时采用其它解决方法更为方便。如果使用的是部分充填的方法，可以改用完全充填，并在必要时使用体积较小的定量环。

③ 第二次注射的峰与第一次的相同，仅仅在进行取样与进样之间的相互切换就可使注射器内的微量污染物被清洗。确认方法：在取样位置进行冲洗，清洁放空管。切换至进样位置等待鬼峰出现之后，进行正常冲洗，在仍然处于进样位置的状态下，插入一根非常干净的空注射器并保持其位置不变，以防止放空管内残留污染物或针密封上的污染物因虹吸或扩散进入定量环。将手柄切换至取样，无须再切换至进样，启动记录器。等待洗脱出的波峰。对峰进行观察。然后，注射器不动，将手柄切换至进样，再次启动记录器，观察峰。这两次操作中，只要有峰产生，就说明有内部污染物，且多数发生在转子密封圈上。这样的情况需要清洁进样阀，具体步骤：

用各种溶剂冲洗针管和放空管，拆下定子、定子总成和转子密封圈（无需拆

卸其它零件),并用各种溶剂对其进行超声波清洗(依次采用50%甲醇,水,甲醇);更换转子密封圈。

### 3. 畸形峰

畸形峰是指色谱峰为前伸、拖尾或变宽,而进行空白溶液注射时无峰。进样阀故障一般不会引起这种现象。可按以下方式检查。

(1)如果样品溶剂非流动相,样品溶剂强于流动相,会引起不对称的峰,尤其会发生在样品溶液体积大的情况下。解决方法是使用流动相作为溶剂,或采用较小的样品溶液体积。如果无法做到,尽可能选用相似的溶剂。

(2)如果故障消失,说明色谱柱或保护柱故障,解决方法是清洁或更换管柱或保护柱。

(3)如果故障仍然存在,可能是定量环或色谱柱管道连接存在死体积,引起拖尾。解决方法是所有管道末端均为平整,并伸到底接触端口。若有必要,对定量环和色谱柱连接管进行更换。

## 四、重复性不理想

正常情况下,进样阀不会出现保留时间不重复的现象,主要是峰高和峰面积重复性不够理想。

在正确操作的情况下,进样阀的重复性:①部分充填技术, $RSD=0.2\%\sim 2\%$ ,取决于进样重复性;②完全充满技术, $0.05\%\sim 1\%$ ,取决于定量环的体积。输送5倍于定量环体积的样品溶液的进样精度为 $0.1\%$ 。另外峰高和面积的重复性也取决于流速的稳定性、流动相的组成和色谱柱的温度等,因此通常 $RSD$ 偏大。

进样准确度与进样体积密切相关。进样阀的准确度:①部分充填方式, $0.2\%\sim 2\%$ ,取决于进样阀和操作者的技术;②完全充满方式, $5\%\sim 30\%$ ,取决于定量环,因为定量环的体积为额定体积,管径有 $0.001$ 的公差,实际体积会有所差异。大体积( $2\text{mL}$ )定量环的准确度大约为 $5\%$ ,中等体积定量环( $20\mu\text{L}$ )约为 $10\%$ ,小体积定量环( $5\mu\text{L}$ )约为 $30\%$ 。要知道确切的体积,需要校准定量环并考虑进样阀内部管路因素。

当进样阀进样体积为定量环体积的 $50\%\sim 200\%$ 时,精度较差。在进行部分充填时,进样体积超过 $50\%$ ,就会有部分样品溶液从放空管中漏出,漏出体积具有不确定性。完全充填时,注射体积小于 $200\%$ ,就会有大量样品溶液残留在定量环内,而且体积是变化的,尤其是当进样体积和进样流速不协调时。随着更多的进样,残留于定量环中的样品溶液趋于恒定。

除了进样阀故障外,有许多其它原因也会导致重复性问题。流速改变会导致保留时间和峰高,峰面积也会受到影响,但非常微小。流动相组成改变会导致保留时间和峰高度不可重现,峰面积相对不受影响。温度改变会导致保留时间、峰

面积和峰高度不可重现。

### 1. 两次连续进样所有峰的峰面积和高度不一致

(1) 如果进样体积为定量环体积的 50%~200%，尽量避开该体积范围，进样体积小于定量环体积的 50%或大于 200%，即可与进样流速和进样体积保持一致。

(2) 如果是 10 倍的定量环体积流体通过之前，即将手柄切换至取样位置，样品溶液并没有完全从定量环中冲洗完全，解决方法在进样状态保持更长时间。

(3) 如果是其它情况：充满定量环。手柄停在取样位置，注射器也在原位，压下柱塞：

① 如果放空管连续泄漏，在取样位置时，转子密封圈的端口交叉划伤会导致流动相漏进定量环，置换出样品溶液。确认方法是将 5 倍于定量环体积的样品溶液充入定量环并立即注射，这样可对整个定量环进行准确注射，观察峰。再次进样，过一段时间后切换至进样位置，使溶液有足够的时间漏入定量环并置换出样品溶液。注射并观察峰，产生较小的峰证明有泄漏，延迟时间越长，峰越小。解决方法是更换转子密封圈。检查定子面密封总成的陶瓷面，若有碎裂、破裂或六个孔有任一堵塞，就需要更换。

② 如果放空管不泄漏，问题可能不是由进样阀引起，检查针密封是否有效工作。如果有松动，分配的样品溶液就不能全部进入定量环。检查密封是否泄漏。

要判断系统中非进样阀部分是否也导致了结果的不重复，可通过一系列的注射，而每一次注射都将定量环充满。进样阀大约以 0.1% 的体积精度将样品溶液输送至色谱柱。为确保绝对充满的注射：以 10 倍定量环的体积进行进样，排出所有空气和流动相。每次采用同样的进样速度。切换至进样位置时保持注射器的端口不变（标准步骤）。进样完毕立即注射，即使转子密封圈泄漏也没有时间将样品溶液从定量环置换出来。在进样过程中，观察样品溶液流回针管的量是否不超过 10%。

如果针密封功能良好，则应没有样品溶液流出。这一测试也可用于密封故障的检查。10% 的限制意味着至少有 9 倍定量环体积的样品溶液流过了定量环，足以保证高的精度。

### 2. 完全充满方式，部分峰的重复性比其它峰低

这些有问题的峰的低精度，是由于它们吸附在样品溶液定量环或转子密封圈的內表面而造成的。这种情况比较罕见，只出现在以下情况：

① 用离子对试剂，并非所有样品成分会离子配对；② 样品溶剂的作用弱于流动相。

可以用以下方法测试：分别以 20 倍和 3 倍定量环体积进样，进样完毕立即注射，测定有问题的峰面积/无问题的波峰面积的比值。如果 3 倍体积进样的比

值较小,说明有吸附作用存在,这是由于较大的进样体积能够最大程度的使吸附饱和,降低对样品组分的吸附。若比值不变,可能未发生吸附作用,否则是因吸附而产生。解决方法是使用与样品溶剂相同的流动相。以同样体积、流速和时间间隔进行进样。

大多数情况下,不锈钢定量环的内表面是不会与任何样品溶液发生反应的。但在很少情况下,样品溶液的吸附性导致了被吸附样品的低精度。下面将说明这种情况是如何发生的。使用完全充填方式时,一些样品成分有所分离,附于定量环表面。进行注射后,作用力大于样品溶剂的流动相吸附了这些成分,引起注射入管柱的体积大于应输送的体积。吸附量取决于充填条件,即样品溶剂的作用力强度、流过定量环的多余体积、进样的流速以及注射前的延迟时间。当进样体积小于定量环体积的 $1/2$ 时不会发生这种情况,因为所有样品溶液都在定量环内,没有集中在某一处的可能。解决峰低精度这一问题的一个方法是改用部分充填方式。

当两个实验室的进样方式不同时,因吸附作用测试的一些峰不同,在精度上会有很大差异。例如尽管以相同体积进样,但一组采用的是部分充满,而另一组采用完全充满方式进样。

### 3. 所有峰非常小,甚至无峰

转动手柄,观察手柄所连接的轴:

(1) 如果轴不转动,旋钮总成在轴上打滑,解决方法是将手柄后部的两个固定螺丝拧紧在轴的平板上。第三个螺丝孔是用于进行轴上再定位的,因此只需在任一位置拧紧两个螺丝即可。

(2) 如果轴转满 $60^\circ$ ,在进样位置,以冲洗方式充满针管,切换至取样并插入注射器(针管会出现少量溶剂)。一边进样,一边观察针管和放空管。

① 如果进样时,溶剂流出针管,而放空管没有或只有很少量的溶剂流出,说明样品溶液没有进入定量环,是针密封出故障或放空管被堵塞;确认所用的针正确无误,如果放空管被堵塞,应对其进行清洁,按前述方法测试调节针密封。

② 如果溶剂未从针管流出,而从放空管流出,说明样品溶液正在进入定量环,在取样位置时,转子密封圈的端口交叉划伤会导致流动相漏进定量环,置换出样品溶液。确认方法:将5倍于定量环体积的样品溶液充入定量环并立即注射,这样,即使有液体漏入定量环,也至少要注射某些样品溶液,观察峰。再次进样,过一段时间后切换至进样位置,使之有足够的时间泄漏并置换出大量样品溶液,注射并观察峰。如果峰小了许多,证明有泄漏。如果泄漏严重,需要在取样位置且注射器插入的状态下,观察放空管的泄漏情况。解决方法是更换转子密封圈。

如果不是因为上述原因引起泄漏,就需要检查记录器、检测器是否正常运行,以及流动相的强度是否足以洗脱样品中的组分。

## 五、系统压力降低

这一部分讨论当进样阀在取样与进样位置切换时系统压力降低的原因。注意有时候系统压力变化并不是由切换进样阀位置产生的。泵单向阀泄漏、贮液池中的过滤头未插严、密封圈不好等，都会导致系统压力降低。

当进样阀由取样位置切换至进样位置时系统压力瞬间降低，然后又缓慢升至正常水平。主要会有 3 种情况产生：①系统压力降幅较小且很快；②系统压力降幅较大且很快；③当进样阀切换至进样或取样位置后，压力降低而且不能返回正常水平。

### 1. 系统压力降幅较小且很快

主要原因是采用注射针密封时，注射针导入口中会有气泡，插入注射针时，针头推动小气泡进入定量环，当切换至进样位置，气泡被迅速压缩，这时泵需要一些时间补偿相应体积再返回至正常压力，导致压力瞬间降低。定量环体积较大时，压力降低亦较明显，返回正常压力所需的时间较长。

解决方法是按照以下的方法冲洗注射针导入口，除去其中的气泡。注意经常冲洗，使其充满液体。

冲洗注射针导入口的步骤：设定流速为 1mL/min，在进样位置时使用注射针导入口冲洗器，这样进入阀中的液体充满注射针导入口，包括注射针引导管，注射针导入管和注射针密封圈。不可使用完全插入的注射针冲洗！常规操作时，转到进样位置后即可移走注射器，但必须使旋柄仍处于进样位置，保证流动相持续冲洗进样管，为使注射针导入口充满液体，每进样 10 次或 20 次就要冲洗一次。采用全充满方法进样时，取样前定量环中的气泡通常由放空管排出，当采用部分进样时，没有用足够多的样品进入定量环中顶替气泡，所以采用这种方法进样时，很容易发生上述问题。

### 2. 系统压力降幅较大且很快

主要原因是放空管与注射针导入口未在同一水平面上，这样取样时空气就会通过虹吸作用进入定量环。切换至进样位置时，系统压力挤压气泡，使压力瞬间降低。需要调节放空管使其与注射针导入口在同一水平面。

### 3. 压力降低且不能返回正常水平

当进样阀切换至进样或取样位置后，压力降低而且不能返回正常水平。原因可能是转子密封圈表面有划痕，使得高压的流体溢出。可以在进样或取样位置时检查注射针导入口和样品溢出口是否有液体流出。（如果注射针导入口或放空管中充满气泡，要等一段时间才会有液体流出）。解决方法是更换转子密封圈。检查定子表面，如果有裂痕或任一孔堵塞，要更换定子。

转子表面通常有 5 种可能的划痕：

(1) 图 5-12，在取样位置图 (a)，孔 3 和孔 4 之间有划痕，使高压流体渗入

注射针导入口；在进样位置图 (b) 划痕移至孔 4 和孔 5 之间，流动相此时由孔 5 后面连接的放空管排出。

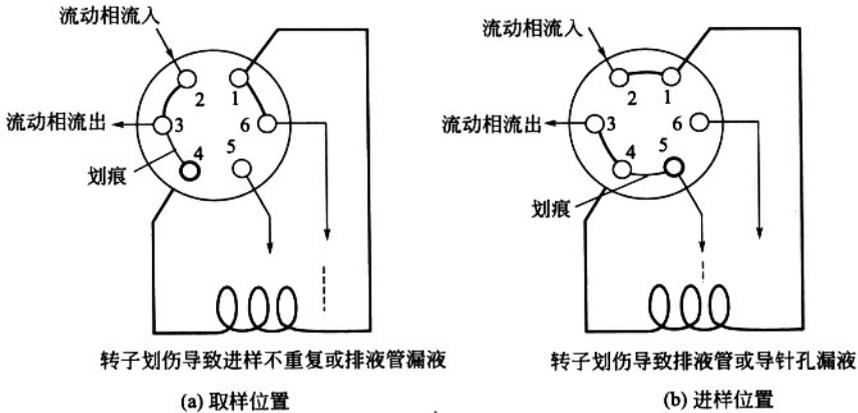


图 5-12 转子划伤漏液示意图

(2) 当处于进样位置时，孔 2 和孔 3 之间有划痕，不会使液体渗漏。（尽管这会使部分流体绕过定量环）。当转子转到取样位置时，此时划痕位于孔 1 和孔 2 之间，这时流体会从孔 6 或从注射针导入口流出。

(3) 在取样位置，定子上孔 5 和孔 6 之间有划痕不会产生高压渗漏，当转子转至进样位置时，此时划痕位于孔 1 和孔 6 之间，流体就会从孔 6 后面连接的放空管排出。

(4) 在取样位置，孔 4 和孔 5 之间有划痕，在取样和进样位置都不会发生渗漏，但是如果定量环阻力很大，且样品扩散很快，取样时部分样品会绕过定量管流出。

(5) 在进样位置，孔 2 和孔 4 之间有划痕，在取样和进样位置均不会发生渗漏。

## 六、堵塞导致压力升高

这一部分讨论阀中完全或部分堵塞的原因。通常两种情况下发生堵塞：

- (1) 定量环阻力很大，取样困难，这种情况下泵的压力可能正常也可能较高；
- (2) 定量环阻力不大，取样不困难，但系统压力很高。当流动相中使用缓冲溶液时常会遇到堵塞。有许多物质能够堵塞进样阀的通道，包括缓冲液结晶的盐、样品或流动相中的悬浮物质、管线或卡套的毛刺、泵密封圈磨损产生的颗粒等。下面的常规操作可以防止堵塞：(1) 过滤流动相和样品，除去其中的固体颗粒；(2) 在泵和进样阀之间安装过滤头，以滤除泵磨损出的颗粒，保护进样阀；(3) 如果流动相或样品溶剂中使用缓冲液，定期用清水冲洗进样阀，在关机前必须用清水冲洗；(4) 使用无毛刺的管线和卡套，以防金属屑进入系统。

出现压力升高的主要现象有以下两种：(1) 在进样时不能对定量环进样或者遇到过大的阻力；(2) 系统压力恒定很高，或是仅在手柄切换时升高。

### 1. 取样时样品很难进入定量环或阻力很大

试着在下列条件下以确定堵塞位置：

(1) 移去放空管，如果阻力消失，证明是颗粒堵塞放空管，需要移去并清洗放空管，以后要定期冲洗，尤其是当流动相或样品中含有缓冲溶液时，溶剂蒸发后盐就会结晶，此时冲洗就更为必要。

(2) 如果移去定量环后阻力仍然存在，可能是颗粒堵塞注射针密封圈或与孔 4 相连的定子通道。解决方法是在取样位置，移去定量环，用注射针导入口清洗器冲洗注射针导入口 2 次~3 次。

(3) 仅在孔 4 位置重新接上定量环，如果阻力复原，是颗粒堵塞定量环，解决方法是清洗或更换定量环。

(4) 将孔 1 和孔 4 位置重新接上定量环，如果阻力复原，原因是颗粒堵塞定子、定子表面密封圈和孔 1 相连的转子密封通道。解决方法是清洗这些通道。移去定量环，使进样阀处于进样位置，用高流速的流动相冲洗这些通道。以后必须定期冲洗这些通道，如果流动相或样口溶液中含有缓冲液时溶剂蒸发后盐容易沉积，定期冲洗更为必要。

清洗定量环或定子通道的方法如下：拆下这些单个部件，将其浸在一定量的溶剂中，在超声波清洗器中超声清洗至少 5min。设定泵在较高流速下反相冲洗注射针导入口，这一方法在清洗特定的通道时有时很有效。可以采用一个 25.4 $\mu$ m(0.010in) 或更小外径的管线除去不溶的颗粒。

### 2. 系统压力异常高

系统压力异常高，或者恒定高压，或者只在手柄切换过程中升高主要有两种情况。

第一种情况：压力只在旋柄位置转换时升高然后又返回正常值。这是由流体短路所致。某些型号的阀在旋柄转动时会产生流体扰动，然后压力瞬间升高，快速转动手柄可以避免问题出现。

不断流设计型号的阀，如 Rheodyne3725 和 7725，转动手柄时，定子表面的通道会形成一个新的通道，这样就不会有瞬间的流体扰动。而 7125 等进样阀，当阀从一个位置切换至另一位置时，会使流体中断。当转子密封圈转回取样的位置时，这一瞬间泵既未与孔 1 连接，也未与孔 3 连接，泵压力迅速升高、超压、停流；柱压力迅速降低，停流。当旋柄转动较慢，流速越高，这种效应就更加明显。通常这种瞬间情况对系统不会产生影响。但是当使用对流体敏感的检测器、易损坏的色谱柱、易受流体或压力变化干扰的泵时，应该先选用连续流动设计的进样阀。

第二种情况：不论在取样位置还是进样位置，压力一直恒定很高。查找故障

位置的方法是：将旋柄置于进样位置，观察下列条件下压力的变化情况，并逐步排除。

① 在孔 3 处断开与色谱柱的连接管线，如果压力返回正常值（近似 0psi，取决于具体流速、连接管线和定量环），说明柱子或柱连接管线堵塞，进样阀没问题。需要更换或清洗色谱柱或连接管线。

② 在孔 3 处断开与柱子的连接管线，如果压力仍然很高，说明泵连接管线堵塞，或泵运转不正常，进样阀没问题。解决办法是排除泵故障、检查泵管线是否堵塞。

③ 重新连接泵，移去定量环，如果压力仍旧很高，可能是颗粒堵塞孔 1、孔 2 或转子密封槽，需要清洗上述部件。

④ 仅在孔 1 连接上定量环。如果压力仍旧很高，可能是颗粒堵塞定量环，解决方法是清洗或更换定量环。如果没有改善，可能是颗粒堵塞孔 3、孔 4 或转子密封槽。解决方法是清洗上述部位。

排除堵塞，参照下述过程，要求每完成一步后测试流体是否恢复正常，进行下一步要：1) 断开色谱柱，将泵连接到孔 3，采用泵允许的最高流速，在取样和进样两个位置反向冲洗进样阀；2) 将定子，定量环和（或）放空管浸入一定量的溶剂中，在超声波清洗器中超声清洗至少 5min；3) 用  $2.54\mu\text{m}$  (0.0010in) 外径或更细的管线疏通定子表面的孔；4) 清洗转子密封通道，小心不要划伤打磨过的表面；5) 更换部件。

如果是由于盐结晶而导致堵塞，为防止以后出现此类问题，使用缓冲液后，在关闭系统前应认真冲洗进样阀。

## 七、噪声和漂移

检测基线的噪声或漂移过大，很少是由进样阀引起的，至少不是直接的。但是如果使用进样阀的方法不正确，可能导致气体在检测池中聚集，使其对周围条件的微小（但是正常的）变化过分敏感。从塑料注射器、瓶以及连接针头与注射针的黏合剂中渗出的物质在电化学检测器上产生噪声和漂移。

1. 手柄切换时检测器基线瞬间波动，与手柄运动同时产生

每次切换手柄时引起的断流都会对检测器检测到的压力产生干扰（图 5-13），对于某些型号 Rheodyne 进样阀，这种断流属于正常的。大多数检测器对此并不响应，但是对压力变化过分敏感的检测器对此会有响应。检测池窗口破碎、检测池污染或检测池内有气泡等会使检测器过分敏感。解决方法：测试检测器是否过分敏感。用脱气的流动相冲洗系统，以除去气泡。若有必要，调节进样阀，确保没有空气进入定量环。

2. 检测器内有气泡，使其对流体和温度的轻微波动过分敏感。

检查检测器是否过分敏感（由检测器池内的气泡或检测窗口而引起的）；



图 5-13 手柄转动 (A) 与检测池气泡 (B) 引起的基线噪声

轻微改变检测池的背压（用手指部分堵住检测池出口）。此时如果检测池信号改变，这种现象可能存在。注意不要使柱背压增加太大而使检测窗口或密封圈破碎。如果流动相没有充分脱气，尤其是由泵控制混合两种或两种以上的流动相时，气泡可能驻留在检测池；预混合的流动相与单溶剂相比溶有的气泡相对较少。如果单个溶剂没有充分脱气，由泵按一定比例混合后在检测器内的气泡会从溶液中溢出。在检测器后使用背压调节器可以防止检测池中产生气泡。使用清洁、无毛刺的管线和卡套也可以防止气泡的形成，检测池脏了会产生噪声。

### 八、手动进样器的拆卸和转子垫圈的更换

只有在清洗阻塞孔或更换磨损部件（内装阀要拆开换定量环）时才拆开阀，一般情况下（调整不当或微粒污染）不轻易拆开。下面讨论的操作步骤同样适用于自动进样阀。

(1) 准备好新的转子垫圈 有阀分解图和厂商的重新安装指南；

(2) 对照分解图拆开阀，如不能熟练地重新组装，可将部件有次序地放在干净纸上；

(3) 将所有部件浸入甲醇或柔和的洗涤剂中超声清洗几分钟，不可用  $\text{pH} > 9$  的清洗剂，这是因为转子中的聚合物在碱性溶液（ $\text{pH} > 10$  时）不稳定。接着用水清洗部件，最后再用甲醇清洗，空气吹干，换下损坏的部件，用放大镜检查转子和定子表面。如有磨损痕迹，需更换新的部件或送工厂重新处理。

(4) 按厂商指南更换所有损坏部件（转子密封垫圈），按照操作手册仔细装配：给转子定位并调整转子的应力；转子位置不正确，孔或槽不能与阀孔成线，则阀不能工作；转子调整不好，极易造成阀渗漏，转动困难，易磨损。

平时应准备的备件包括：转子密封垫圈、几种不同规格的定量环、品牌相同的各种接头、合适的注射器等。对于自动进样器：合适的样品瓶以及相应的隔膜垫和样品瓶盖、自动进样器专用注射器、各种接头等部件、保险丝等。

### 第三节 自动进样器原理

自动进样器是由计算机自动控制定量阀,按预先编制的进样操作程序工作。取样、进样、复位和管路清洗全部按预定程序自动进行,一次可进行几十至上百个样品的分析。自动进样的样品量可连续调节,进样重复性好,适合做大量样品分析,节省人力,可实现自动化操作。一般自动进样器包括:进样阀、定量环、进样针头、样品瓶和支架等。样品放在支架上的样品瓶内,转动支架或移动针让小瓶对准针头,下降针头或升高小瓶使针刺入瓶中吸取样品入转移管,转动进样阀使样品进入色谱柱分析。

进样阀也是六通阀,老式自动进样器中,转子由压缩空气驱动。现在一般采用电机带动转子,而不像手动进样器有手柄与转子相连。转子可以根据需要旋转一定的角度与定子中的各种通路接通。进样周期由计时器控制,促动器给出信号转动阀到进样位置。无固定体积的定量环,由注射器提拉位置决定样品量,或经过位移装置装样。有的自动进样器装有大容量的定量环,用完全装液法和反冲技术保证样品的完整性,即使采用部分装液法,结果也比手动进样精确。

样品托架放样品瓶用,带动小瓶在进样针头底下移动(或支架固定、进样针头移动)。每次进样后针头又对准下一个样品瓶,准备下一次进样,多数自动进样后小瓶仍留在托架上,也有些是样品被抽空后小瓶掉进废物箱内。

大多数自动进样器采用下面三种结构之一,样品被推或拉入固定的定量环,在特殊情况下,进样针作为定量环的部分。尽管也有其它形式的设计或采用混合的模式,但这三种设计是最基本的<sup>[6,7]</sup>。

#### 一、拉式自动进样器

在拉式自动进样器中,样品被注射器拉入定量环中。这种进样器由于结构简单,操作灵活,早期应用较广。近来已逐步被另外两种设计有优点的进样器取代。

图 5-14(a) 为这种拉式设计的原理图。注射器与废液口相连,针与样品口的连接管相连。针插入到样品瓶中,拉动注射器直到定量环中被样品充满。旋转阀使定量环中的样品进入色谱柱中,完成进样。这种自动进样器设计简单,通常针沿一个轴上下移动,而样品盘在其下面转动,直到目标样品瓶置于针的下部。

如果认为设计简单是这种自动进样器的优点,那么样品的浪费是其主要缺陷。如图 5-14(a) 所示,样品在到达定量环之前必须先充满针和连接管。这样,有时多于  $10\mu\text{L}\sim 100\mu\text{L}$  的样品被浪费。这种自动进样器利用固定程序的旋转样品盘,使针可以对准每一个样品瓶。冲洗过程要求在每两个样品瓶之间放一个洗

瓶，或需单独设计一个冲洗的位置。

## 二、推式自动进样器

大多数自动进样器采用推式给样技术。这种技术与手动进样类似，注射器移动到样品瓶中，拉上理想的样品体积，再移动到进样口，将样品注入定量环，如图 5-14(b) 所示。这种方式需要的样品量较拉式进样少许多，注射器吸样及分配由步进电机控制，可以非常准确地进样，比拉式进样的误差一般小 5%。

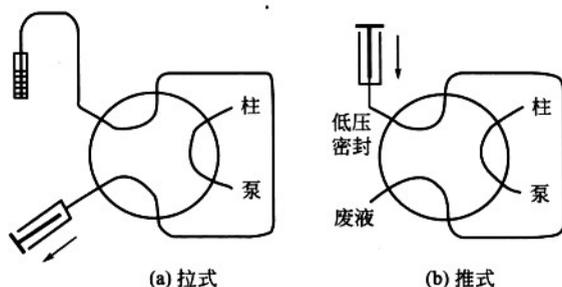


图 5-14 拉式和推式自动进样器设计

通常，在推式自动进样器中加入如随机样品瓶通路、更有效清洗等拉式自动进样器的功能。样品盘可以采用旋转或坐标两种形式，一般  $100\mu\text{L}\sim 500\mu\text{L}$  的进样体积最常用，阀还可以提供各种体积的定量环。

## 三、集成定量环自动进样器

近年来，集成定量环自动进样器得到较大发展。这种设计的特点是不浪费样品，在样品体积有限的情况下，这一特点更为突出。集成定量环自动进样器的结构相对较复杂，如图 5-15 所示。图 5-15(a) 显示阀置于冲洗的位置，洗液被拉或推，或者根据设计将推、拉结合使洗液通过定量环，此时针被固定在高压密封状态。针被移动到样品瓶中，并将样品推入定量环 [图 5-15(b)]，最后针被再次置于高压密封状态。转子旋转进样的位置 [图 5-15(c)]，由于样品只占据定量环中的前一部分，因此 100% 的样品进入色谱柱。最大进样体积由定量环的体

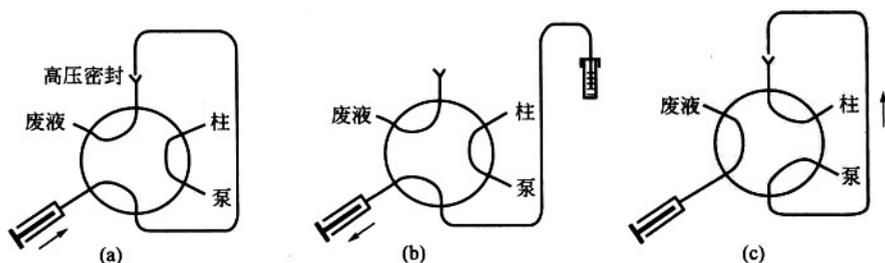


图 5-15 集成定量环自动进样器示意图

积决定, 这种进样器典型的最大进样体积为  $100\mu\text{L}$ 。

集成定量环自动进样器的主要缺陷是需要高压密封, 为了避免高压密封带来的问题, 一些制造商加入另一个阀以完成类似的功能, 这样也使成本增加, 结构更为复杂。这种设计在进样体积的机动性、样品瓶通道等方面与拉式自动进样器相当。表 5-3 中对这 3 种基本的自动进样器结构设计的特点给出了系统的总结。这里提到的 3 种设计是最基本的, 商品化仪器一般采用其组合形式。每一种设计各有特点, 可以根据需要进行选择。

表 5-3 不同结构设计自动进样器的特点和缺陷

特 点	拉式自动进样器	推式自动进样器	集成定量环自动进样器
机械简单	++	0	-
清洗容易	-	+	+
随机通道	-	+	+
保存样品	-	0	++
改变进样体积	-	++	+
针密封问题	+	0	-
注射器精度要求	+	-	-
滞后体积的影响	+	0, -	0

注: ++表示特性; +表示优点; -表示缺陷; 0表示一般。

## 第四节 自动进样器故障预防

正确地使用进样器, 对分析结果的准确性和重复性至关重要。进样器损坏或零件不配套可引起峰变宽, 样品体积改变, 渗漏或压力升高。

### 一、进样阀

自动进样阀与手动进样阀保养方式相同, 保持清洁和良好的装配是延长阀寿命的关键。转子压得过紧会加速磨损, 压得过松会渗漏。每次工作结束后必须冲洗干净缓冲盐。如怀疑阀的上游有颗粒, 可在阀前装过滤器, 挡住微粒。微粒磨损转子会引起横向孔间渗漏; 在图 5-2 中, 在取样位 3、4 孔不通。如果转子已磨损, 即使在取样位 3、4 两孔联通, 此时样品很难进入定量环中。

### 二、样品制备

自动进样器可在无人照看的情况下操作, 对于进样样品的基本要求是无微粒和其它能阻塞针头、连接管路和进样阀的物质, 这些要求也适合于手动进样。应

在光线下检查有无样品颗粒、浑浊或乳化，必要时用  $0.45\mu\text{m}$  的过滤器过滤。对于小体积的样品过滤很困难，在样品制备时应特别注意每一步的操作。

样品介质效应和贮存条件不当，也会导致试验结果差。有报道，盐水稀释过的血浆样品在小瓶中冷冻后融化进样，振摇小瓶后进样精确度好，不经振摇自动进样，峰高逐渐降低。这是因为小瓶冷冻时从顶向下冷冻，因盐析作用使瓶中的被分析物沉于瓶底，融化后第一次进样浓度最高，以后瓶中的分析物慢慢扩散，瓶底浓度越来越稀，峰高也越来越低。此例说明应该在进样前充分振荡，使所有小瓶中融化的样品混合均匀。

为了减少色谱峰加宽效应，样品到达柱之前最后稀释液的强度应小于流动相强度（如流动相是 50% 的乙腈-水，样品稀释液应小于 25% 乙腈-水）。水溶性混合样品可直接进样，如果样品是从有机溶剂中萃取出来的，则需要进行稀释。用弱溶剂可使样品在柱头浓缩，不会因柱前连接管路使色谱峰变差。

### 三、样品瓶

样品瓶应很干净，无可溶解的污染物，多数用玻璃瓶，也有的用塑料小瓶，一次用后应废弃。小瓶用聚四氟乙烯膜密封，也可用硅聚合物膜；或者一面是聚四氟乙烯膜，另一面贴上硅聚合物膜，这种膜密封性能更好，针头穿刺数次也不渗漏。要防止隔膜中物质溶于样品液中，可将膜在有关溶剂中浸泡约 10h，再用灵敏度高的分光光度计检验。

样品瓶要有适应于自动进样器支架的尺寸，最好由厂商配套供应，这样可以避免许多问题。

给每个小瓶贴上标签是良好习惯，单靠支架上的编号往往弄错，贴标签后易于监测样品运行情况。

### 四、样品支架

样品支架带动小瓶到进样位置，用机械或光传感器定位。机械定位很少受外界干扰，而且不需要做预防性维护。光学定位会因受到空气中的干扰物或样品溅液影响而移动位置，要定期清洗光传感器和支架反射条纹，以确保光扫描系统能正确无误地工作。定期核准支架，使小瓶中心正好对准针头时支架停止转动。

### 五、样品针头

自动进样器的针头有钝化斜面，侧面开孔，可防止隔膜碎片阻塞针管。偶尔也有针头未与小瓶对准而使针头弯曲。一旦弯曲就应该换上新针头，不要弄直了继续使用，因为那样针头很容易在同样位置再弯曲。吸液时针头应没入样品溶液中，但要注意不能碰到样品瓶底。

## 六、连接管

自动进样器的针头不直接进入进样阀，用一根连接管连接针头和进样阀，这种管子都是专用的，内径小于 0.25mm，在样品达到柱头前扩散最少，但也要考虑存在管径小、阻力大或引起阻塞的问题，因此在有些进样器上用几十厘米长的连接管是不合适的。

## 七、冲洗

为防止缓冲盐和其它残留物留在进样系统中，每次工作结束后应冲洗整个系统。通常用不含盐的稀释液、水、不含盐的流动相就可冲净系统。用放在小瓶中的冲洗液进行数次进样循环操作，并反复在取样和进样位冲洗，用无纤维纸擦净样品针头的外侧，有些仪器有自动冲洗程序或能自动冲洗样品针头的外侧。

两次进样之间一般不必要冲洗，采用顶替法进样时可由下次样品的前面部分作冲洗液，以洗去上次残留样品。采用注射法进样时用这种办法效果不好，还要另外用冲洗液冲洗。因此，两次进样之间都夹有冲洗程序。不管用什么方法进样，都可在样品瓶之间装一个或数个冲洗液的小瓶供冲洗用。

## 八、校正

开始进一批样品前要校正好自动进样器，这是防止在工作过程中发生故障的最有效的方法。多数实验室都为自己的色谱系统建有一套校正程序，可在出现故障时，查出是进样系统的问题，还是液相色谱系统的问题。

如果没有自己的标准可参阅表 5-4。配制两种不同浓度的标准品 A 和 B，要做到标准品本身的准确度在  $\pm 1.5\%$  之内。第一次进 A 所得数据可不予采用，因为系统尚未稳定；而后进标准品 B，假定 B 为未知含量的样品，用 A 校正 B，算出 B 的含量应等于 B 的真实含量。在试验中应该用空白样品介质配制标准品，以防止介质的影响，还可将其它组分加进标准品试验分辨率。每天开始实验前都做一下标准品，统计每天的结果，就成为实验工作日的精密密度。

表 5-4 用于检查自动进样器的操作程序

(1)标准 A	(8)标准 B
(2)标准 A	(9)分离度试验
(3)标准 B	(10)一组样品
(4)分离度实验	(11)标准 A
(5)一组样品	(12)一组样品
(6)标准 A	(13)标准 B
(7)一组样品	

## 第五节 自动进样器故障和解决方法

自动进样器的故障容易被发现，有时液相色谱系统出了故障而不能确定是否是进样器故障，可以用手动进样几次，或用一台好的自动进样器代替，如排除了故障，说明自动进样器有了问题。不同厂商的自动进样器差异很大，除一些共性故障外，最好查阅操作手册或与供应商联系。

自动进样器除机械、控制系统可能出现故障外，在操作及方法学方面也可能出现相应的问题，这里主要根据自动进样器的设计特点，对试验过程中可能出现的问题进行说明。

### 一、滞后体积

高效液相色谱中滞后体积是指流动相混合器到柱头的体积，包括溶剂混合器和混合器到柱头之间连接管的体积，对于低压混合系统，也包括泵体积。滞后体积较大可能导致实验的重复性差、方法移植困难。通常的 HPLC 系统中，滞后体积一般在 0.2mL~5mL 之间，主要取决于装置的设计。

滞后体积中最重要的部分为自动进样器的定量环体积。只有定量环体积小于 100 $\mu$ L 时，其对滞后体积的影响才可以近似不计。当定量环体积较大时，这种影响将表现出来。例如，采用 50 $\mu$ L 的定量环时滞后体积为 300 $\mu$ L，如果改用 1mL 定量环，滞后体积将变成 1250 $\mu$ L，这种变化直接影响到色谱分离结果。在实际分离过程中，采用的色谱柱较细时，必须考虑滞后体积的影响，解决的办法为更换较小的定量环，减小滞后体积。

### 二、样品瓶过满

如果样品瓶过满，在瓶盖较紧、进样量较大的情况下，可能会导致进样重复性变差。其原因为样品瓶中的样品被抽出时，盖紧的瓶盖不能使空气及时进入，造成部分真空。由于这种真空作用，注射器不能够吸取足够量的样品体积。在极端的情况下，对于挥发性稀溶液样品，针内甚至会出现气泡，影响分析工作的正常进行。

有些自动进样器采用加排空针的方法克服这一问题，但这种方法并不常用。最简单的解决办法为不要使样品瓶过满。一般装样量在样品瓶的 1/2 到 3/4 之间较为适宜。

### 三、进针深度的调节

样品量足够多时，不必考虑这一问题。但对于痕量分析而言，进针深度的调

节问题将较为突出。理想的情况下可以使进针深入到接近样品瓶底部，这样可以最大限度地利用样品。当可用的样品体积有限时，可以采用微量样品瓶以增加给定体积样品的相对深度。如果进针过深，可能插入样品瓶的底部，甚至导致针尖阻塞。如果进针深度不足，样品只及针尖部分，针将不能抽取足够量的样品，部分空气取而代之。

对于进针深度的调节，一般采用机械或电动的方法，目前大部分厂商可以在色谱工作站上设置。无论采用哪种方法，实验之前都必须认真调节，更换样品瓶类型时还需要重新调整。

#### 四、针位置的调整

进针深度的调整在垂直方向上进行，水平位置的调整也非常重要。必须调整针的位置，使其能够轻松地插入样品瓶的隔膜。位置不准，将导致针插入样品瓶盖，甚至根本碰不到样品瓶，导致针被撞弯、折断、吸不到样品。因此必须在实验前认真调整，工作中也要经常检查。

没有调整好样品支架会使针头弯曲或破坏样品瓶。支架弄脏或是传感器位置错误会引起进样偏差。找不到合适的支架位置，会造成支架不断运转或给出其它错误的动作，遇到这些故障时，一般要重新调整好传动机械或擦洗干净传感器。

如果进错样品，首先检查支架运转是否正常。如在小瓶上贴了标签，很容易判断；如没有贴标签或按照非标准顺序进样，最好用贴了标签的标准品小瓶进样检查。如果错误结果与样品小瓶的编号相符，那应检查是否贴错了标签或放错了瓶位。例如，实际操作中出现把1号样品报成3号样品的结果，如果这些情况的发生是偶然性的，重新放对瓶位即可，否则就要查手册或请厂商修理。

#### 五、堵针

自动进样器的针容易被样品瓶盖的隔膜碎屑等阻塞，通过换针或采用其它类型的隔膜可能解决这一问题。PTFE膜不易造成针阻塞，但对样品瓶的密封性较差，大多数研究者认为采用PTFE附膜高聚物隔膜是一种较好的折中办法。采用旁边开口的针可以避免相关问题。

#### 六、样品滞留

样品滞留是指高浓度的样品进样完成后，不能够及时冲洗干净，导致在下次进行空白使用时出峰的现象。（所谓空白实验是只进将要进行分析实际样品时，流动相组成完全一致的溶剂；如果样品不是溶解于流动相中，则必须用所溶解样品的溶剂作空白实验，否则出现的怪峰就极难解释。）

解决这一问题的关键为选择合适的清洗溶剂以及进行多次清洗，清洗效果也与定量环的结构等有关。

## 七、样品浓度改变

重复进样时，有时峰响应改变，说明样品浓度已发生变化。产生这种现象的原因主要有样品或溶剂的蒸发和样品的沉淀。

样品瓶盖不是很紧，样品的挥发性较强或采用易挥发的溶剂时，样品浓度非常容易在实验过程中发生改变，可以采用密封性较好的样品瓶或替换样品溶剂的方法解决。一般，如果在 12h 内重复进样，峰响应相同，可以认为样品浓度没有变化。

样品的沉淀问题不容易解决，需根据样品的性质，通过更换溶剂、稀释样品等方法解决。

## 八、清洗溶剂

清洗溶剂的首要功能为将系统中的残留样品清洗干净。一般根据溶解特征选择清洗溶剂，清洗溶剂应与流动相混溶。其洗脱能力通常要求大于流动相，例如采用水-乙腈（体积比 = 50 : 50）的流动相，可以选择 100% 的乙腈作为清洗溶剂。如果溶剂的洗脱强度不足，残余样品不易清洗干净，将造成样品滞留现象。

有些系统利用清洗注射器，但这种装置容易在连接管中形成气泡，导致进样体积不准。解决这一问题的简单办法是首先将清洗溶剂脱气后，再用于系统清洗。最好每天更换清洗溶剂，并尽可能对清洗溶剂脱气。因缓冲溶液可能将结晶留在系统中，清洗溶剂尽可能避免使用缓冲溶液。

## 九、旁路问题

当进样阀在给样和进样位置之间转换时，在泵到色谱柱之间产生瞬时断流，如图 5-16 所示。此时泵压上升，柱压下降。转换完成后产生压力的急剧上升，影响色谱柱寿命。

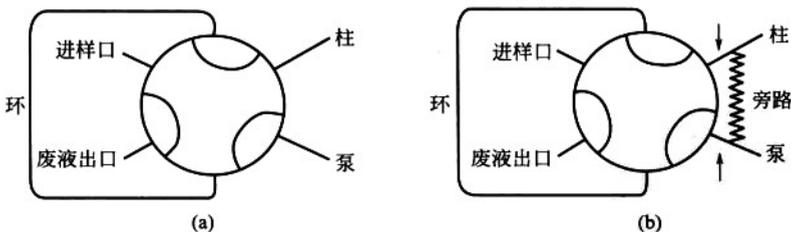


图 5-16 旁路系统

避免压力急剧上升的一种办法是采用压力旁路，即在泵与色谱柱之间连接一长的毛细管进行分流，如图 5-16(b)。例如正常情况下分流比为 20 : 1，5% 的流体流过旁路，95% 的流体通过阀。转换期间 100% 的流体通过旁路，保证压力不

会有太大的变化。

尽管旁路系统可以避免压力的急剧变化，但也会带来相关的其它问题。如果在旁路和阀之间出现部分阻塞现象，分流比将发生改变（如变成 1:1），流体通过阀和旁路的比例将发生改变，其影响等同于由流动相对样品的稀释。在 1:1 分流的情况， $100\mu\text{L}$  的进样量变成  $200\mu\text{L}$ ，直接影响到色谱峰展宽和峰形。解决这一问题的有效办法为清洗系统，或替换成 Rheodyne 的不断流阀。

### 参 考 文 献

- 1 张庆合, 张维冰, 杨长龙, 李彤. 高效液相色谱实用手册. 北京: 化学工业出版社, 2007
- 2 袁依盛. HPLC 系统故障排除. 南京: 南京大学出版社, 1998
- 3 李彤, 张庆合, 张维冰. 高效液相色谱仪器系统. 北京: 化学工业出版社, 2005
- 4 邹汉法, 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1999, 1
- 5 手动进样阀故障排除指南. Rheodyne 公司技术资料. 1997
- 6 Dolan J W. LCGC, 2001, 19 (4): 386
- 7 Dolan J W. LCGC, 2001, 19 (5): 478

## 第六章 液相色谱柱

色谱柱是液相色谱系统分离的核心,是实现不同样品分离的基础,也是主要消耗品。液相色谱分析的很多问题都归结于色谱柱的选择和使用<sup>[1~3]</sup>。色谱柱故障主要是机械、色谱或化学方面。维护色谱柱和排除故障,需要懂得液相色谱的分离过程以及色谱柱本身的构造。

### 第一节 液相色谱柱介绍

#### 一、色谱柱分类

一般而言,色谱分析是根据样品性质决定采用何种色谱方法,然后再选择不同类型的柱,即不同类型的柱则代表了不同的色谱方法。不同种类色谱柱的差异在于柱结构、柱填料和柱尺寸的不同。色谱柱有不同的尺寸(长度和内径),分制备型、常规分析型和微型。不同类型柱的硬件也不同,(包括接头、柱管等方面),还有径向加压柱和夹套加热柱等。

基于不同原理,高效液相色谱柱和固定相可以有不同的分类方式。液固色谱固定相按基质材料可分为无机氧化物、聚合物等主要类型;按结构和形状分为薄壳型和全多孔型、无定型和球型、整体柱等;按填料表面改性与否分吸附型和化学键合型;按照分离模式可以分为正相、反相、离子交换、疏水作用、体积排阻、亲和、手性等类型;按照分离规模及色谱柱的几何尺寸,可以分为制备柱、

表 6-1 液相色谱的不同柱型

柱型	柱内径	流动相流速	样品容量
制备柱	100mm(4in)	960mL/min	2.5g
制备柱	50mm(2in)	240mL/min	600mg
制备柱	25mm(1in)	61mL/min	150mg
半制备柱	9mm	11mL/min	25mg
常规柱	4.6mm	0.5mL/min~2.0mL/min	0.2mg~7mg
细内径柱	2.1mm	0.2mL/min~0.4mL/min	0.05mg~0.2mg
微柱	0.8mm~1.0mm	25 $\mu$ L/min~60 $\mu$ L/min	50 $\mu$ g~500 $\mu$ g
毛细管柱	0.1mm~0.5mm	1 $\mu$ L/min~15 $\mu$ L/min	1 $\mu$ g~50 $\mu$ g
纳米柱(nano)	$\leq$ 0.1mm	$\leq$ 1 $\mu$ L/min	$\leq$ 1 $\mu$ g

分析柱、微型柱等类型。表 6-1 中列出了柱型与样品容量的关系。

## 二、柱硬件

多数液相色谱柱用不锈钢管，内径 4.6mm，外径 6.4mm。一般柱结构如图 6-1 所示，带有紧固的密封卡套，两端各有不锈钢烧结板承受填料，分配器起分流、降压用。

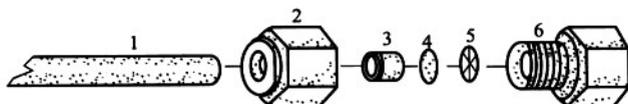


图 6-1 一般柱结构

1—柱管；2—螺母；3—卡套；4—烧结过滤板；5—分配器；6—尾部接头

径向加压柱效果与柱径相同的标准柱相同。填料被压缩在柱管内，外加固定夹具。紧固件可通用，不需买几套柱硬件。另还有特殊用途的玻璃衬里的不锈钢柱。

## 三、填料

液相色谱填料一般是在不同的基质材料表面改性得到，基质材料主要是硅胶、氧化铝、氧化锆等无机基质与聚苯乙烯-二乙烯基苯、聚羟基甲基丙烯酸酯等聚合物基质两大类。

基质的物理结构主要为全多孔球形或者不规则形，用多孔硅胶微粒作基质柱填料比表面积大 ( $200\text{m}^2/\text{g} \sim 300\text{m}^2/\text{g}$ )、柱效高、样品容量高，应用最为广泛。另外还有一种填料为多孔层球，也叫薄壳形，它是由球形的实心内核（一般为硅胶）外加一层多孔性外壳（核直径的  $1/30$  到  $1/40$ ）。外壳可以是硅胶、矾土或离子交换树脂。它的优点是传质速度快，能够满足快速分离的要求，缺点是比表面积小 ( $1\text{m}^2/\text{g} \sim 25\text{m}^2/\text{g}$ )、容量因子小、样品容量低、不能用于制备色谱柱。近几年出现的整体色谱柱具有传质速率快、背压低等优势，在快速分离中显示了良好的应用前景。基质的粒径、孔径、表面积、球形或无定形都影响到柱塔板数、选择性、样品容量、柱压等操作参数。

目前液相色谱应用的主要色谱填料是上述材料或者在上述基质材料表面改性引入新的官能团得到，可以分为反相、正相、离子交换、亲和等不同类型的色谱填料。表 6-2 比较了不同类型色谱柱填料的主要特点。

图 6-2 表示的 3 种不同类型的固定相，都是以  $\text{C}_{18}$  为代表。

(a)、(b) 为硅胶键合相；(c) 为多孔层球涂渍聚合物，再涂上  $\text{C}_{18}$  烷基物；(d) 为聚合物基质键合上  $\text{C}_{18}$ 。

好的键合相色谱柱应在微粒表面附着高浓度的甲基硅烷基团，一般为  $2.8\mu\text{mol}/\text{m}^2 \sim 3.3\mu\text{mol}/\text{m}^2$  的键合物。浓度低表示未能完全键合，保留不重复，

表 6-2 不同的 LC 用色谱柱填料

种 类	固定相(填料)	特 点
反相(与离子对)固定相	C <sub>18</sub> (十八烷基或 ODS)	稳定性好,保留能力强,用途广
	C <sub>8</sub> (辛基)	与 C <sub>18</sub> 相似,但保留能力降低
	C <sub>4</sub>	保留能力弱,多用于肽类与蛋白质分离
	C <sub>1</sub> ,三甲基硅烷,(TMS)	保留最弱,不稳定
	苯基,苯乙基	保留适中,选择性有所不同
	CN(氰基)	保留值适中,正相与反相均可使用
	NH <sub>2</sub> (氨基)	保留弱,用于烃类,稳定性不够理想
正相色谱固定相	聚苯乙烯基	1<pH<13 流动相中稳定;对某些分离峰形好,柱寿命长
	CN(氰基)	稳定性好,极性适中,用途广
	OH(二醇基)	极性大于 CN
	NH <sub>2</sub> (氨基)	极性很强,稳定性不够理想
尺寸排阻色谱固定相	硅胶	耐用性好,价廉,操作不够方便,用于制备色谱较多
	硅胶	耐用性好,作吸附剂用
	硅烷化硅胶	吸附性弱,溶剂兼容性好,适用于有机溶剂
	OH(二醇基)	不够稳定,凝胶过滤色谱使用
离子交换色谱固定相	聚苯乙烯基	广泛用于凝胶渗透色谱,水和强极性有机溶剂不相溶
	键合相	稳定性与重现性均不理想
离子交换色谱固定相	聚苯乙烯基	柱效不高,稳定,重现性好

但多数厂商仅报告含有 C 的量(%)，而不报告键合相的具体浓度。

不同的填料分析的效果可能不同，这是因为生产工艺不同所致。主要包括①基质微粒制备过程的差异；②基质与键合物质反应的差异；③填装柱技术的差异。生产过程中的这些差异造成了分离特性、批号间重复性以及柱寿命的差异。因此，在实际分析中如果更换了色谱柱，即使是同一品牌的不同批次，也需要进行一下测试试验，以确认是否需要变更试验条件，不同厂商的色谱柱有时可能发生极为明显的差异，一定要特别注意。根据实际情况选择适合的色谱柱。

图 6-3 比较了同一厂商不同类型的 C<sub>18</sub> 色谱柱分离混合物的谱图，可以看出出峰顺序发生了改变。

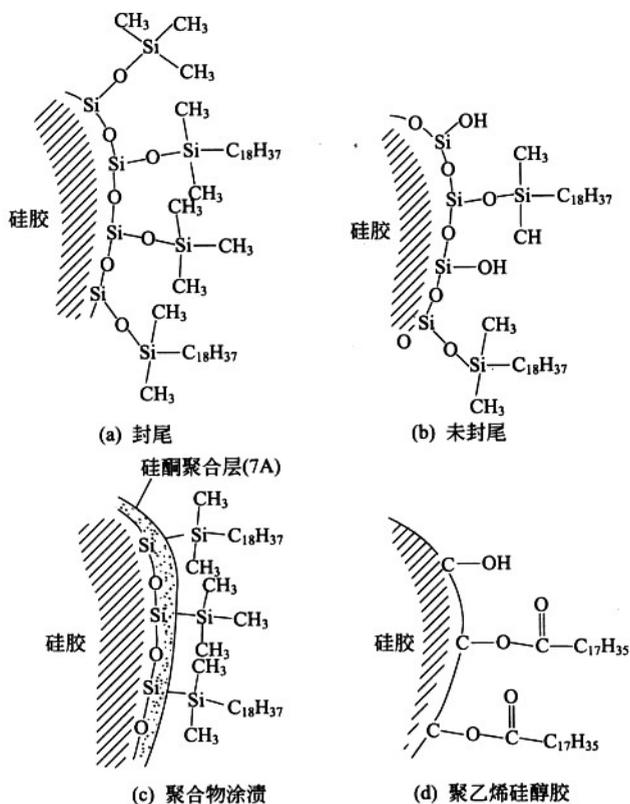


图 6-2 固定相的几种类型

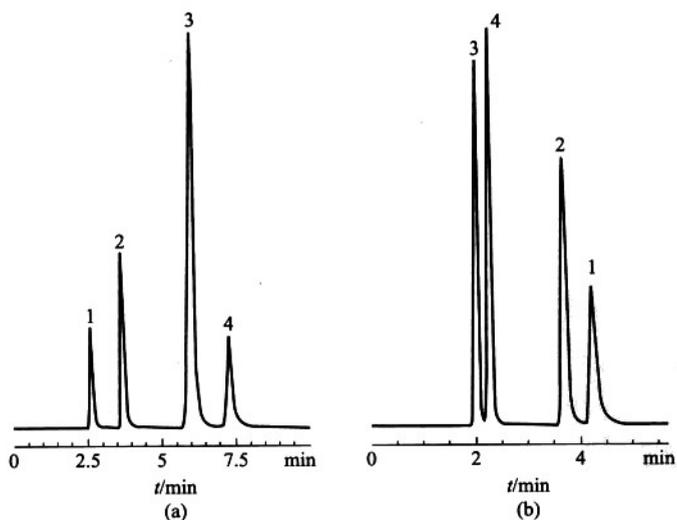


图 6-3 Hypurity C<sub>18</sub> 和 Hypurity advance 分离混合物比较  
 流速: 1.0mL/min 波长: 260nm 温度: 25℃  
 化合物: 1—异烟酸; 2—烟酸; 3—异烟酰胺; 4—烟酰胺

## 第二节 柱的评价

表 6-3 中列举了启用新色谱柱时的标准参考条件，在使用过程中也可用此标准试验条件检查系统的情况。试验参考条件适用于检查正常系统每天的工作情况，要选最方便的方法验证这种条件。每天可以打印两张校正用色谱图作对照，检查保留时间、峰宽、系统压力等方面的变化。发现峰的斜率、色谱柱塔板数和其它参数与原来色谱图相比有了变化，说明系统在运行中可能发生了问题。然后结合实际现象分析解决出现的问题。

表 6-3 液相色谱柱试验的标准参考条件

项目	反相	极性键合相	正相
流动相	甲醇-水(体积比=70:30)	正己烷-异丙醇(体积比=75:25)	正己烷-二氯甲烷/异丙醇胺(体积比=95:4/1)
色谱柱	C <sub>18</sub>	腈基	硅胶
流速	1mL/min	1mL/min	1mL/min
检测器	UV 254nm	UV 254nm	UV 254nm
样品	尿嘧啶(测定 t <sub>0</sub> )、苯酚、苯乙酮、硝基苯、苯甲醛、甲苯	硝基苯、卞醇、2,4-二硝基甲苯、对硝基卞醇	2-苯基-2-丙醇、甲卞醇、肉桂醇

在实际工作中，选择性能良好的柱可得到好的结果，首先要注意柱径、长度、填料种类和填料粒径，从图 6-4 看出用两根同一厂商提供的色谱柱，塔板数都在 20000/m 左右，用磷酸盐缓冲液-甲醇流动相 (pH3.5)，分析青霉素系列的样品，图 (a) 用球形 C<sub>18</sub> 填料，12min 内分析完毕；图 (b) 用无定形 C<sub>18</sub> 填料，近 40min 才分析完毕。

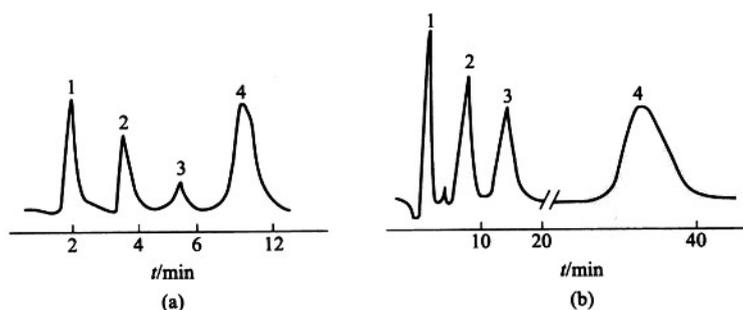


图 6-4 柱填料对峰形的影响

填料：(a) YQG-C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>(5 $\mu$ m)；(b) YWG-C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>(7 $\mu$ m)

从上例看出，评价柱的好坏不仅只是 N 数，还应考虑组分在柱上的保留、

键合相表面的特性、柱压降以及峰不对称因子  $A_s$  等。每一根新柱都应标出详细参数，主要内容包括公司名称、柱名称（商标）、柱填料、尺寸。附一张标准参考色谱图，并标出色谱条件：样品名称、流动相组成、流速、柱温、进样体积、检测器、峰的保留时间及峰名称等。

评价一根色谱柱的主要指标是：①塔板数  $N$  值；②峰不对称因子  $A_s$ ；③柱压降；④键合相浓度。

### 一、塔板数 ( $N$ )

塔板数  $N$  值是色谱柱最重要的指标，直接关系到如何能更好地分离样品，计算公式为：

$$N = 5.54(t_R/W_{0.5})^2 \quad (6-1)$$

仅适用于不拖尾的对称峰。拖尾峰用该式计算出的  $N$  值不代表真正的柱效。 $N$  值随柱长、粒径、流速和其它分离条件不同发生明显变化。没有一支柱永远保持同一  $N$  值。但如果试验条件设计最佳， $N$  值可达最大。此时计算公式为：

$$N_{\max} = \frac{4000L}{d_p} \quad (6-2)$$

式中  $L$ ——柱长，cm；

$d_p$ ——粒径， $\mu\text{m}$ 。

一根 25cm 长、 $5\mu\text{m}$  填料的柱最大塔板数可达每米 20000。表 6-4 比较了最佳测试条件下，不同柱长和不同粒径色谱柱的  $N$  值。

表 6-4 在最佳测试条件下，填充良好的 HPLC 色谱柱的塔板数

微粒直径/ $\mu\text{m}$	柱长/cm	塔板数 $N$	微粒直径/ $\mu\text{m}$	柱长/cm	塔板数 $N$
10	15	6000~7000	3	5	6000~7000
10	25	8000~10000	3	7.5	9000~11000
5	10	7000~9000	3	10	12000~14000
5	15	10000~12000	3	15	17000~20000
5	25	17000~20000	1.7	5	10000

在实际的样品分析中， $N$  的理想条件常常不是实际分析的最佳条件。 $N$  值比  $N_{\max}$  要小得多， $N$  由分离条件所决定。在使用过程中，柱的  $N$  值也会减少。根据流动相和样品性质不同，一般进 1000 次至 2000 次样品后柱效会下降 50% 甚至更多。

### 二、峰不对称性

不对称的色谱峰可能导致：塔板数与分离度测定不准确；定量不准确；分离度降低与检不出峰尾中的小峰；保留值的重现性不好等问题。实际工作中，通常

用峰不对称因子  $A_s$  表示峰形的不对称或拖尾程度 [图 6-5(a)], 理想色谱峰的  $A_s$  值为 0.95~1.1 (绝对的对称峰为  $A_s=1.0$ ), 实际分析中被测样品的  $A_s$  值一般应小于 1.5。美国药典、中国药典等规定用色谱柱拖尾因子 ( $T$ ) 表示色谱峰的对称性 [图 6-5(b)]。表 6-5 中列出了两者的对应关系。

表 6-5 峰不对称因子与峰拖尾因子的关系

峰不对称因子(10%峰高)	峰拖尾因子(5%峰高)	峰不对称因子(10%峰高)	峰拖尾因子(5%峰高)
1.0	1.0	1.9	1.6
1.3	1.2	2.2	1.8
1.6	1.4	2.5	2.0

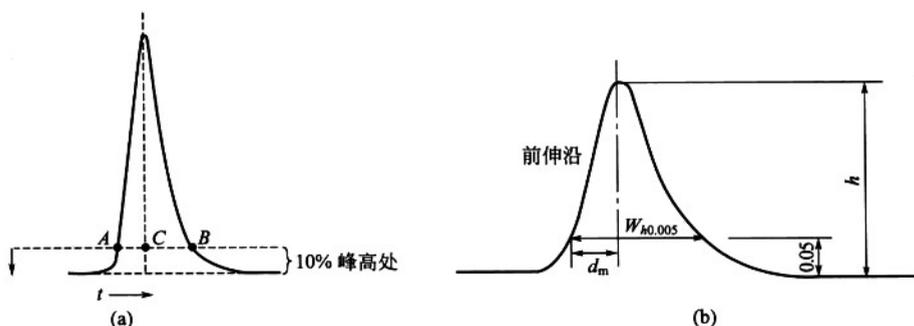


图 6-5 不对称度 ( $A_s$ ) 和拖尾因子 ( $T$ ) 的计算方法

(a) 峰不对称因子  $A_s=CB/AC$ ; (b) 峰拖尾因子  $T=W_{h/0.05}/2d_L$

峰拖尾常由下列因素造成：填装技术差，使用中柱头塌陷 (图 6-6)，样品分子和固定相之间存在化学干扰。化学因素通常可以被校正，改善分离条件可使峰拖尾减至最小。因柱引起的峰不对称可能是硅醇基团起作用，用甲苯、萘等组分检验，如不拖尾，说明不是柱本身的问题。

明显的拖尾峰的  $N$  值用 Dorsey-Foley 方程 (式 6-3) 计算，手工测量峰高。

$$N=41.7(t_R/W_{0.1})^2/(A_s+1.25) \tag{6-3}$$

$W_{0.1}$  是峰高 10% 处宽度，峰不对称与  $N$  值的关系可由式 (6-3) 计算。表 6-6 给出了色谱峰不同分离情况下的  $A_s$  与  $N$  值的关系。例如  $A_s=1.0$  的塔板数  $N$  为 20000；若是  $A_s=1.1$ ， $N$  为 17400； $A_s=1.7$ ， $N$  仅有 8400。

表 6-6 不同分离情况下的  $A_s$  与  $N$  值的关系

$A_s$	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.7	2.0
$N$ 值	20000	17400	15200	13300	11800	10500	8400	6200
	15000	13000	11400	10000	8800	7900	6300	4600
	10000	8700	7600	6700	5900	5200	4200	3100
	5000	4300	3800	3300	2900	2600	2100	1500

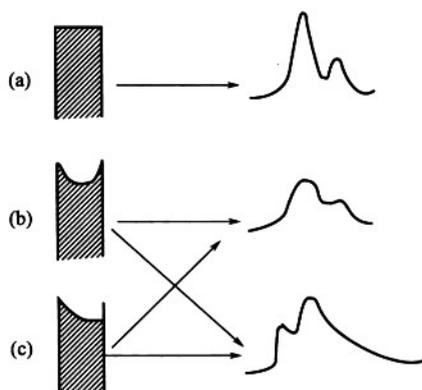


图 6-6 柱头对峰形的影响  
(a) 正常；(b)、(c) 柱头塌陷

### 三、柱压降

球形填料有较好的通透性，柱压降相对较低。随着使用时间的延长，柱压降不断升高。柱压降与柱长和流动相黏度成正比，与填料粒径成反比。表 6-7 给出一些流动相配比比例下流动相的黏度值。

表 6-7 用于反相色谱的有机物-水流动相 25℃ 时的黏度

有机溶剂 $\varphi/\%$	$\eta/\text{cp}$			有机溶剂 $\varphi/\%$	$\eta/\text{cp}$		
	甲醇	乙腈	四氢呋喃		甲醇	乙腈	四氢呋喃
0	0.89	0.89	0.89	60	1.54	0.72	1.21
20	1.40	0.98	1.22	80	1.12	0.52	0.85
40	1.62	0.89	1.38	100	0.56	0.35	0.46

### 第三节 色谱柱预防性保护与柱寿命的延长

通常，一支色谱柱在分析数千个样品之后，性能仍然保持良好，但也有的柱仅分析不多的样品后几乎就报废了。影响柱寿命和其它问题的因素很多，而有些因素是操作者很难控制的，如果被分析的样品（如分析生物样品），怎么净化的样品也是“脏”的，对于色谱柱的影响是非常大的。然而采取下列措施后，在多数情况下总能够人为地减少柱故障，达到延长柱寿命的目的<sup>[4,5]</sup>。图 6-7 给出了开始及进样近 12749 次的色谱柱分离图。

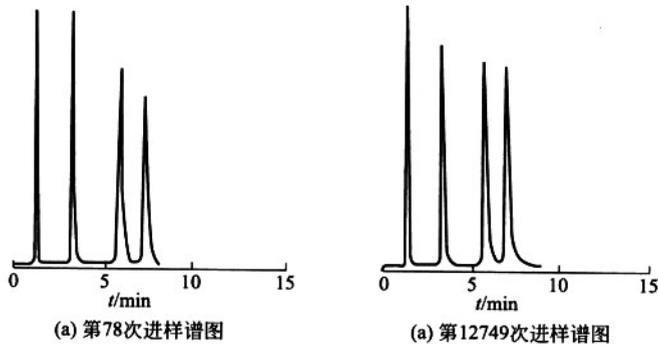


图 6-7 进样达近 12749 次的色谱柱分离图

### 一、加流路过滤器和保护柱

流路过滤器紧靠进样阀后面，位于分析柱前。0.45 $\mu\text{m}$  烧结不锈钢片夹在死体积很小的套子中，挡住来源于样品和进样阀垫圈的微粒入柱。因为每个样品都过滤，既费事，又带来误差，样品量少过滤更困难。因此流路上装过滤器是比较省事的办法。也可以在流路加上保护柱，放在流路过滤器和分析柱之间，或者代替流路过滤器。保护柱的使命是收集阻塞柱进口的来自样品的化学“垃圾”。这种垃圾最终降低柱效。保护柱是消耗品，分析（50~100）个比较脏的样品之后就要更换新的。保护柱应该是小体积，用分析柱的同种填料填装。保护柱使用得当，对分离无影响，与未装保护柱一样。有些厂商的商品将保护柱和流路过滤器连在一个单元内，使用起来非常方便。自己填装保护柱都是用短柱，不超过 3cm 长，内径 2mm~3mm，用较大粒径的填料（15 $\mu\text{m}$ ~20 $\mu\text{m}$ ）干法填装，会使分析柱的效能有所降低。

### 二、避免高压冲击

一般色谱柱都能经得起高压，但经不起突然变化的高压冲击。引起高压突然冲击，主要是因进样阀缓慢转动、泵启动快、柱切换操作等。前面已讨论过，转动六通进样阀时从泵到柱的液流会瞬时切断。在阀的泵侧压力升高，在阀的柱侧压力降低（变化超过 20%）。阀转到底后压力突然冲击一下恢复正常。手动进样阀的变化不大，自动进样阀比较慢，可能造成压力冲击。另外泵启动不应过快，可分步操作。如用 3mL/min 流速，先从 1mL/min 到 2mL/min，再到 3mL/min，每次间隔应大于 20s。柱切换技术的应用也很广泛，切换过程中在色谱柱的入口处压力在零到高压之间变化，会很快使柱报废，

### 三、分离条件

多数色谱柱有很宽的试验条件范围，但具体应用又受到限制，主要是 pH

值、柱温和流动相的选择。<sup>[6]</sup>

传统硅胶为基质的键合相要求 pH 值在 2~8 之间, 极端 pH 值的流动相能“溶解”硅胶, 使键相流失。结果非碱性组分的保留不断减少, 碱性组分的保留增加, 引起碱性组分峰变宽。如果一定要用高或低 pH 值的流动相, 可加保护柱。保护柱装在泵和进样阀之间, 用分析柱相同的填料填装, 或者用普通硅胶。硅胶饱和了流动相, 减少了分析柱填料的损失。保护柱不要求柱效高, 用价格低的一般硅胶疏松地填装, 按期检查硅胶的溶解情况。用保护柱也有不利的影晌, 即新流动相难以平衡, 保留时间不稳定或稳定慢。使用了保护柱一定要加流路过滤器, 以防止硅胶微粒引起的麻烦。目前很多厂商开发了满足较低或者较高 pH 值缓冲液的色谱柱填料, 具有很好的稳定性。

以硅胶为基质的柱和阴离子交换柱超过 60℃ 后, 会增加对流动相中化学物质的吸附。在高温下用小颗粒柱引起柱床塌陷, 降低柱效, 改变峰形。在 40℃ 以上使用 3 $\mu\text{m}$  柱, 70℃ 以上使用 5 $\mu\text{m}$  柱, 会使  $N$  值降低 50%。

有些流动相中的溶剂不能用于某些柱, 如小颗粒的聚苯乙烯填料不能用于非水的排阻色谱。另一方面, 有些柱与某些溶剂(如四氢呋喃)一旦达到平衡, 不要随意改用其它溶剂。有关这些特殊填料, 可以参见有关资料。

水溶性流动相会引起微生物生长而阻塞色谱柱。色谱柱应存放在纯有机溶剂或加 50% 有机溶剂的水中, 凝胶柱可存放在水溶性缓冲液中, 同时加叠氮钠以防止微生物生长。

#### 四、净化样品

用溶剂溶解的样品, 多数组分在一定的时间内能完全从柱中流出来, 不会造成危害。有些样品可能含有微粒物质, 样品中的某种组分(如蛋白质)在柱头上沉积下来, 组分在固定相上保留很强, 溶剂带走柱填料等, 都会造成柱效下降或降低柱寿命, 有必要采取措施防止色谱柱性能下降。如在光线照射下观察样品是浑浊的或带有乳白色, 进样前必须过滤。虽然流路上装有过滤器和保护柱, 但不能代替样品的前处理, 样品中过多的微粒会使过滤器和保护柱超载, 很快阻塞, 或者微粒进入分析柱, 所以在进样前必须过滤样品。

若怀疑样品与流动相混合有沉淀而对色谱柱有阻塞, 应先试验一下, 看样品溶液加入流动相中是否有变浑或乳白色出现。如果进样后压力突然增加而后又慢慢减小, 表明样品中有微粒或发生沉淀。如有沉淀要设法改变分离条件, 包括换样品溶剂和流动相; 或处理样品去掉不溶物质。应尽量用小体积的样品。

有些样品能很强烈地吸附在柱填料上, 这样会降低塔板数, 改变样品的保留时间、峰形, 并且使得基线变差。除了用预处理的方法除去强保留物质外, 还要加保护柱, 定期清洗色谱柱。有时因为疏忽, 用对柱有害的溶剂溶解样品, 比如用 6mol/L 的氢氧化钠溶解样品, 这样的样品只要进 50 $\mu\text{L}$ ~100 $\mu\text{L}$  到硅胶基质柱

中，硅胶就很快溶解而使色谱柱报废。出现这种情况，应立即中和样品或除去原溶剂中的有害成分。

### 五、用强溶剂定期冲洗柱

每次工作结束，用强溶剂冲洗柱是良好的习惯。可用甲醇、乙腈冲反相柱，冲去留在柱上的强吸附组分。用甲醇-水为流动相时也应冲洗。可按照表 6-8 的冲洗程序进行再生。再生过程：色谱柱反向用泵冲洗，每种溶剂依次清洗 20 个柱体积以上。

表 6-8 色谱柱再生流程

反相	正相	离子交换	蛋白质清洗
C <sub>18</sub> , C <sub>8</sub> , 苯基, C <sub>4</sub> , C <sub>1</sub> , CN <sup>①</sup>	(硅胶, NH <sub>2</sub> , CN, Diol)	(SAX, SCX, DEAE, NH <sub>2</sub> , CM)	(C <sub>18</sub> , C <sub>8</sub> , 苯基, C <sub>4</sub> )
50% 甲醇-水	正己烷或氯仿	50% 甲醇-水	蒸馏水
甲醇	二氯甲烷	甲醇	0.1% TFA
乙腈	异丙醇	乙腈	异丙醇
THF	二氯甲烷	二氯甲烷	乙腈
甲醇	流动相	甲醇	蒸馏水
流动相 <sup>②</sup>		流动相 <sup>②</sup>	流动相

① 反相 CN 柱不用水清洗；

② 如果流动相含有缓冲盐，首先清洗缓冲盐，避免盐在甲醇中沉淀

此外，对柱硬件的保养也不可忽视。实际操作中应注意以下几点：①接头要配套，用同一厂商的组件；②接头之间、柱压帽、螺母与密封卡套之间无微粒（填料），否则收紧时容易咬死；③密封卡套与柱管一次性卡紧后再也不能松动，所以拆开柱头再上紧时要小心，不能使卡套移动，原来柱端的不锈钢烧结过滤片和垫片的厚度和强度也不能改变（改变这些附件的性能就促使卡套移动）；④接头等组件不要拧得过紧，适当上紧后接上泵试验，分步拧紧，直到不漏为止。

## 第四节 故障与解决的办法

选择了一根好的柱子，再加上有效的维护与预防，可以避免不少意外故障的发生。当然任何一根色谱柱最终都会因为柱效下降直到报废。柱损坏的标志是：①塔板数下降；②峰形变坏；③压力增加；④保留时间变化。有时往往是几种情况相伴发生。

### 一、塔板数下降

在色谱柱使用过程中，塔板数会不断下降。一般情况下，进 1000 个至 2000

个样品后柱效  $N$  值要降低 50% (但也不能一概而论), 而用  $C_{18}$  柱梯度分析氨基酸, 进 100 个血清样品之后, 柱效就下降 50%。这两种情况的差别之所以这么大, 关键在于处理样品的方法不同。

如果柱效很快下降, 应考虑上节所提到的人为不利因素。 $N$  值突然下降 (如一个工作日内), 应考虑柱头塌陷或进了不合适的样品, 如果使用了不同系统的色谱柱造成柱效下降, 是某系统中存在柱外效应。新建立的方法中柱效下降, 可能是样品和其它内在因素引起, 此时要采取相应措施, 防止继续给柱造成危害。

## 二、峰形变坏

出现拖尾峰、分叉峰或非高斯峰的原因很多, 但总是与塔板数骤然下降联系在一起, 峰形变坏而保留时间不变, 多半是柱阻塞或者柱头有了空穴。

## 三、压力增加

和柱塔板数逐渐减少一样, 在使用过程中柱压慢慢增加, 可视为正常。如果压力突然增加过高, 应考虑两种可能, 一是样品沉积在柱内, 二是柱内微粒阻塞 (未考虑系统其它部分的阻塞)。

对于第一种情况, 要用能溶解所用样品的溶剂冲洗色谱柱。冲洗时拆开柱与检测器之间接头, 正向冲洗或将柱出口接在泵上反向冲洗 (如果柱条件许可), 使用大约 30mL~50mL 溶剂, 不要让冲洗液通过检测器流通池, 以防污染。在冲洗过程中不断检查, 直到压力恢复正常为止。如冲洗没有效果, 应该考虑是第二种情况, 先换烧结不锈钢过滤片, 拆下柱, 拧开柱头上的压帽, 持垂直方向小心取出不锈钢过滤片, 换上新的 (不是洗过的旧滤片)。换滤片时尽量不要搅动柱头填料, 如有塌陷, 可用同种填料加乙醇调成糊状补平柱头, 压紧, 磨平, 柱性能可恢复如前 (图 6-8)。如果柱头填料已脏, 可挖去 2mm~3mm, 用新填料补平。

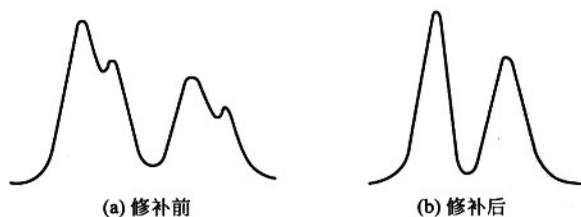


图 6-8 柱头修补前后的峰形对比

## 四、保留时间改变

保留时间变化有两种情况: 第一种是同一根柱样品间的保留变化; 第二种是

不同柱之间的保留变化。第一种类型留在后面讨论，第二种类型主要是填料的差异造成的，许多实验室都会碰到，现讨论如下。

不同牌号的色谱柱分离的色谱峰保留时间可能在一定范围内移动，但通常峰的顺序和分辨率不变，可通过调整流速或溶剂强度进行校正，如果谱图中色谱峰顺序发生了变化，或者两峰重叠在一起，问题就比较严重，最好更换原来品牌的色谱柱。保留时间发生大的变化，主要由柱填料硅醇基相互作用或者比表面积、碳含量差异较大所致，另外有次级保留因素的影响。硅胶为基质的填料表面含有硅醇，有的封尾填料可部分去掉硅醇 [图 6-2(a)]，不封尾填料的硅胶表面硅醇基更多 [图 6-2(b)]。酸性或碱性分子可与硅醇基发生不同程度的相互作用。硅醇基与样品分子作用的强弱，因不同批号的硅胶和不键合相填料而异。即使同批号的硅胶而不同批号的键合相也有差异。硅醇基对阳离子或碱性样品影响最大。参照下列要求做可以减少色谱柱之间保留时间的变化。

(1) 仅用同一厂商的柱。如无法做到，最好进行专门分析时用同一品牌。

(2) 设计分离条件，使保留值变化最小（建立标准的方法）。

(3) 选用的液相色谱系统或色谱柱对次级保留因素（外界）灵敏度最低。

(4) 换新柱时调整分析条件以保持旧柱的保留值（改变条件）。这一步工作是必不可少的，在长期的常规分析中，不会从头至尾用一根柱，中间总要换新柱，每换一次，都应仔细地调整各组分的保留。

在实际工作中，应考虑到可能会发生什么问题，怎样预防这些问题的发生。

第一，前面提到的对某一专门分析，尽量用同一批号的柱。也可与厂商接洽，提出特殊要求。

第二，选择硅醇基影响最小的分离条件，减少柱间的差异。如在流动相中添加三乙胺抑制硅醇基的作用。在图 6-9 中，用两种不同的 C<sub>18</sub> 柱选择合适的流动相，可达到相同的分离效果。如不加添加剂分离就可能完全不同。(a)、(c) 用 Supelcosil-LC-18 柱（酸性）；(b)、(d) 用 Supelcosil-LC-18DB 柱（碱性）。(a)、(b) 流动相为 7% 乙腈-水，10mmol/L 三乙胺，1% 乙酸盐，pH3.5；(c)、(d) 不加三乙胺和乙酸盐。

第三，许多色谱工作者认为，在流动相中加入离子对试剂能很好地消除硅醇基的干扰，使保留具有更好的重复性。

不管什么情况下引起保留值的明显变化，都应该改善分离条件。

改善特别差的峰的分率，并使保留值稳定下来。例如用梯度洗脱分析体液中的氨基酸，这种复杂的样品有 20 多个组分，保留稍有变化可能对分离就产生严重后果。一些极端组分，如偏向酸性或碱性的组分很容易发生保留值改变，应用不同流动相的组成、pH 值和缓冲液的浓度，可以改善关键色谱峰间的分离。

塔板数降低、压力增高、峰形变差、保留值变化可能同时发生，可能都是由柱引起的。表 6-9 的内容可帮助找到一些故障的原因，有些内容将在后面的章节

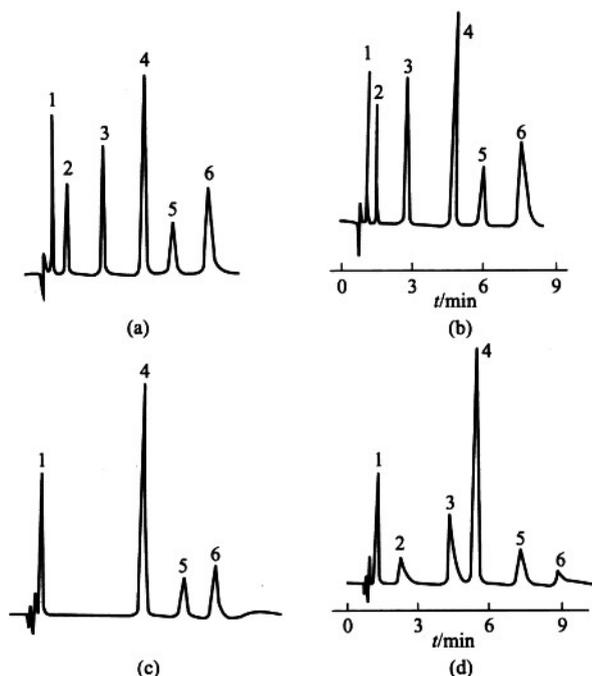


图 6-9 分离条件对组分保留的影响

色谱柱: (a), (c) SUPELCOSIL-LC-18; (b), (d) SUPELCOSIL-LC-18-DB

流动相: (a), (b) 均为乙酸-三乙胺; (c), (d) 均为磷酸-磷酸盐

色谱峰: 1—香草扁桃酸 (VMA, 酸性); 2—普鲁卡因酰胺 (PA, 碱性);

3—N-乙基普鲁卡因酰胺 (NAPA, 碱性); 4—咖啡因 (CAF, 中性);

5—高香草扁桃酸 (HVA, 酸性); 6—水杨酸 (SAL, 酸性)

中详细讨论。

## 五、色谱柱维修

色谱柱到了不可使用的时候应更换,“不可挽救”这个概念在许多色谱工作者的认识上不完全相同。有人认为只有当柱的压力增高到系统不可承受的地步才

表 6-9 由色谱柱引起的故障及其解决方法

故障	现象	解决方法
过滤片堵塞	压力增高、 $N$ 下降,峰形差	反向冲洗或换过滤片
柱头塌陷	峰分叉、 $N$ 下降	修补柱头、可恢复 80%以上
键合相流失	保留改变、峰形差、 $N$ 下降	换柱
样品阻塞	高压	用能溶解样品的溶剂冲洗柱
强吸附的样品	$N$ 下降、保留减小	强溶剂反冲

考虑报废,只要压力在可接受的范围内总要设法修补,以延长柱的寿命。另外可

以从分析高要求的样品改做分析低要求的样品，从分离多组分的样品改做分离单组分的样品，从分离介质复杂的样品改做分离介质相对简单的样品。实验室最常用的延长柱寿命的方法是修补柱头、换烧结不锈钢筛板、冲洗、倒冲柱等。

修补柱头和换烧结不锈钢筛板常联系在一起，前面已简单作了叙述。去掉过滤片后发现柱头塌陷或填料被污染，可用无水乙醇调成糊状的同种填料（挖去脏填料）填补柱头，用与柱内径相同的、顶端平而光滑的不锈钢棒或聚四氟乙烯棒压紧，再填平，再压紧，反复3次~5次，然后用无水乙醇将柱头四周润湿几次，擦净柱外壁的填料，加上新过滤片，拧紧接头，接上泵冲洗，1小时后再接检测器。如果塌陷很深，或者挖去的脏填料很多，填平柱头后接泵冲洗15min，再拆下柱填平，再接上泵冲洗，反复数次可恢复大部分柱效。有时还应该用比较高的流速才能有效。

修补过的柱一般不能恢复到原先的柱效，刚开始修补数次效果不错，随着修补次数的增多，维持一个短时间又要修补，到了后期，键合相随硅胶的溶蚀而流失，加上化学物质的腐蚀，此时再也无法修补。

对价格高的柱，一定坚持自己动手修补。如排阻色谱柱不随时间而改变保留，仅需比较低的分离条件，稍为修补就可解决问题。

倒冲柱也是经常采用的维护措施，不提倡新柱倒冲柱。色谱柱用到中后期，而且修补过多次后才考虑逆向反冲。可在倒冲柱前填平原柱头的塌陷再冲洗，也可倒向冲洗后再填平柱头（原柱出口）。后者效果好一些。柱逆向使用后柱效损失较大（约40%~60%），常常可以倒过来再倒过去，只要不破坏柱床，效果还不错，倒冲柱前要检查柱两端的烧结过滤片情况，防止烧结过滤片（原柱头）承受过度压力，填料被泵打出。

在采取以上措施时，冲洗过程应伴随始终。

如果使用旧柱管装柱，柱内壁未经再抛光处理，柱壁效应比较大，分辨率降低，峰拖尾。重装柱后卡套易松动，柱头易渗漏。可借助于聚四氟乙烯软膜密封，但不能承受较高的压力。

对有些柱重新处理是值得的，但有些则无价值。除考虑价格外，还要考虑实际工作要求。任何柱都可以修补数次，样品处理好、流动相温和、压力中下可以减少修补柱的次数。柱压升高超过系统所承受的限度就要报废柱。实验室内要备有不同类型的散装填料（C<sub>18</sub>、硅胶），用同类型、同粒径的填料修补柱头效果好。如果手头没有所要求的填料，也可以用其它填料代替，这比用柱头塌陷的柱要好得多。

### 参 考 文 献

- 1 刘国詮. 色谱柱技术. 北京: 化学工业出版社, 2001
- 2 邹汉法, 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1998

- 3 Henk A. Claessens, Characterization of stationary phases for reversed-phase liquid chromatography: column testing, classification and chemical stability. Technische Universiteit Eindhoven, 1999
- 4 袁依盛. HPLC 系统故障排除. 南京: 南京大学出版社, 1998
- 5 李彤, 张庆合, 张维冰. 高效液相色谱仪器系统. 北京: 化学工业出版社, 2005
- 6 Snyder L R, Kirkland J J, Glajch J L 著. 实用高效液相色谱法的建立. 第二版. 张玉奎, 王杰, 张维冰译. 北京: 华文出版社, 2001

## 第七章 液相色谱检测器

检测器是将色谱柱中洗脱的样品动态浓度变化转换成电信号、并由数据处理系统记录的装置，最后根据样品在检测器上的响应值（峰高、峰面积、保留时间等）进行定性定量分析。检测器是分离分析结果的最直观的表现，也是测量结果准确可靠的最根本保证。液相色谱中应用最为广泛的检测器有紫外-可见光（UV）与二极管阵列检测器、示差折光检测器（RID）、荧光检测器（FLD）、蒸发光散射检测器（ELSD）、电化学检测器（EC）、质谱检测器（MS）等<sup>[1~4]</sup>。其它还有电雾式检测器（CAD）等。

在液相色谱分析中，色谱柱、输液系统、进样系统等系统各部件的问题大部分都会归结于检测器所检测的色谱峰或者基线的变化，相关部分在前面章节中已经描述，本章重点介绍检测器本身故障的现象及其判断与排除的思路。

### 第一节 检测器原理与特性

#### 一、紫外吸收检测器

UV 吸收检测器是应用最广泛的检测器，可测量 190nm~350nm 范围的光吸收的变化。其检测范围也可以向可见光范围伸延（350nm~900nm），但灵敏度不及紫外范围高，并且多数样品在可见光范围内无吸收或只有弱吸收，这样的检测器称为紫外-可见光检测器。

UV 检测器的光路结构如图 7-1 所示，基本部件是灯、流通池和光电转换组

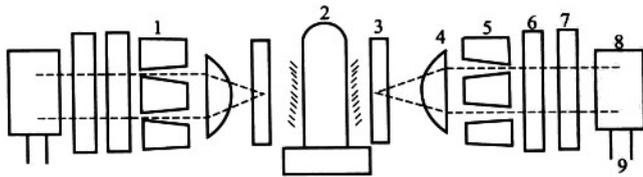


图 7-1 UV 检测器光路

1—参比池；2—灯；3—光栅；4—棱镜；5—流通池；6—石英窗；  
7—过滤器；8—光电转换组件；9—放大器

件,此外滤光片、棱镜或光栅等组成的单色器用于选择波长。固定波长检测器用滤光片选择单波长(或狭谱带),光栅单色器的波长是可调的,称为可变波长检测器。检测器的光源是不同种类的灯,汞灯、氘灯、钨灯和铜灯等发射线光谱的元素灯用于固定波长检测器,如低压汞灯常被选作 254nm 和 280nm 光源;连续光谱光源用于可变波长检测器,氘灯是最常见的光源,使用范围为 190nm~360nm,根据光路设计,也可以达到 600nm,可见区用钨灯较多。

用于 UV 检测器的滤光片有两种,截止滤光片和带通滤光片,截止滤光片是从特定的波长截止长于它的波长让短波长通过(短通式滤光片),或截止短于它的波长让长波长通过(长通式滤光片)。短通式滤光片常用作荧光检测器的激发光滤光片,长通式滤光片常用作荧光检测器的发射光滤光片。带通滤光片是滤光片允许通过一定波长范围的光,如 546nm 光通带滤光片仅透过 540nm~555nm 范围的光,常用作固定波长检测器的滤光片。

光栅用于可变波长检测器中,放在流通池前或后都可以。放在池前光栅发出单一波长的光通过池,转动刻度盘或用微机控制选择波长,扫描速度取决于检测器的设计(例如 20nm/s)。光栅放在池后可用两个光电二极管同时检测两种波长,根据波长的比例可以检查峰纯度而不必使用二极管阵列检测器。光栅放在池后,用光电二极管阵列作为光电元件就成为二极管阵列检测器,每个二极管就是一个小检测器单元,排成一组阵列,目前主要为 512 和 1024 阵列,可同时检测全波长范围的吸收信号。图 7-2 是一种典型的二极管阵列检测器。

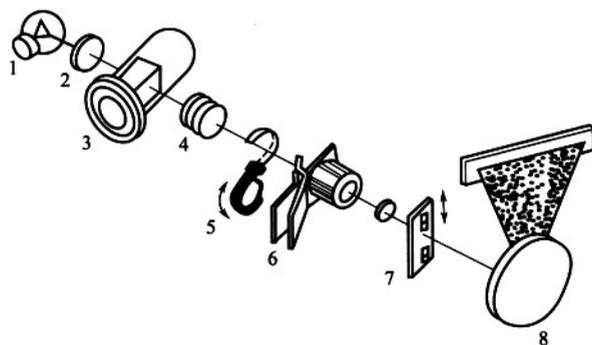


图 7-2 HP1100 型二极管阵列检测器光路图

1—钨灯；2—扩展波长范围；3—氘灯；4—透镜组；5—氧化钛滤光片；  
6—光栅；7—可编程狭缝；8—二极管阵列

检测器流通池是样品的通路,装在光路中。一种池是圆柱形的,池体用不锈钢或聚四氟乙烯块制成;有两个孔,一个孔作测量池,一个孔作参比池,液体通路呈 Z 形(图 7-3),在池的一侧为石英窗,用聚四氟乙烯圈密封。样品以 Z 形通过池,呈现了良好的液流特征。通常池的尺寸为 1mm 内径,10mm 长,大约 8 $\mu$ L 体积。用小体积池峰宽效应小,但信噪比也较低。

另一种池是锥形池或阶梯形池，这种池因减少了内部干扰以及具有最小的折射效应，而改善了信噪比，图 7-4 是锥形池的结构。

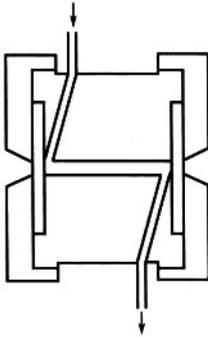


图 7-3 Z 形池结构

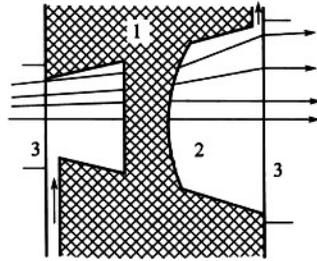


图 7-4 锥形池结构

1—池壁；2—棱镜；3—石英窗

从柱流出的样品直接通过流通池的一条通路（样品池）。另一条通路作为参比池。如遇测量条件下有强吸收的流动相，应在参比池内注满同样的流动相，但通常采用的是用空气作参比，故有的检测器没有设计参比池。

在流通池前装热交换器，保持进入检测器的柱流出物温度稳定，可以降低噪声。早期的设计用一根不锈钢毛细管（0.13mm 内径×50cm 长）缠绕在检测池的周围作热交换器，样品液流过热交换器，其温度与流通池的温度达到平衡，使池内温度稳定，虽然能减少温度的波动引起的噪声，但也增加了死体积，使色谱峰形变宽。

## 二、荧光检测器

荧光检测器的光路多数是呈  $90^\circ$ （图 7-5）。光源多用氙灯，用光电倍增管作光敏传感器，用滤光片或者衍射光栅选择激发波长（ $\lambda_{ex}$ ）和发射波长（ $\lambda_{em}$ ）。使用直通光路时可用标准的 UV 池，但必须仔细选择滤光片的规格，以防散射光到达光电倍增管。无合适的遮拦滤光片，紫外光通过池到达光电倍增管，会得到很高的荧光本底读数。对滤光片的要求，是能防止任何的激发光到达光电倍增管，而让所有的发射光通过，否则将会得到较差的信噪比。

直角光路荧光检测器常用石英管制成圆柱形池，比直通光路效率差，因光分散和传送等问题影响了光到达光电倍增管。但这种设计因光电倍增管与灯不在同一直线上而对从灯而来的直射光的干扰不敏感。

## 三、示差折光检测器

示差折光检测器（RI）是测量流出物折光率变化的装置。RI 检测器是能对所有组分响应的检测器，是通用型的检测器：RI 可检测未知的，不能用其它方

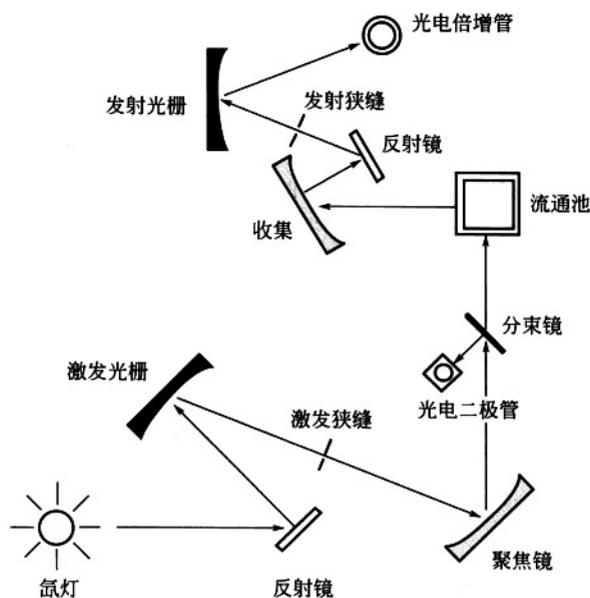


图 7-5 Waters 公司 474 型荧光检测器光路图

法检测的组分，灵敏度较低。有些在很灵敏的检测器没有响应的组分（如多羟基组分）可用 RI 检测器检测。因此，在不苛求灵敏度的情况下，用 RI 检测还是很有效的。

RI 通常有 3 种形式：①反射型；②偏转型；③干涉仪型。

反射型折光检测器是以 Fresnel 折光率为基础的，即在液体-玻璃界面的光折射量由溶液的折射率和光的入射率而定。这种检测器如图 7-6 所示。在灯和池之间插入红外遮光罩以防发热。测量池（约  $3\mu\text{L}$ ）和参比池由棱镜和抛光的后板用聚四氟乙烯垫密封。折射光在一对测量用的光电二极管上聚焦。这种检测器的缺

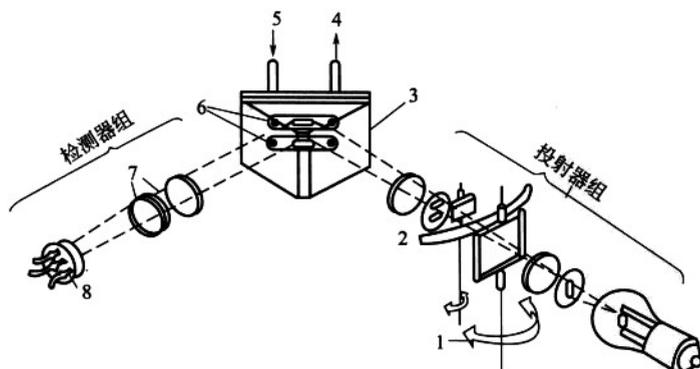


图 7-6 反射型折光检测器

1—微调节；2—粗调节；3—池棱镜；4—参考溶液；5—样品；6—检测池；7—透镜；8—检测器

点是需要两块棱镜调整折射率范围，基本上一块棱镜适用于反相流动相的折光率范围，一块棱镜适用于正相流动相的折光率范围。这种装置对流通池污染比其它类型的检测器要敏感。

偏转型 RI 检测器用一个池，以玻璃分隔成测量和参比两个隔间（图 7-7），光通过样品-参比池后再经反射池，而后直接射到光电检测器上。样品流过检测池使流动相折射率发生变化，引起光束偏转信号输出改变。偏转型 RI 可测全范围的折射率。池体积约  $10\mu\text{L}$ ，峰宽效应比 Fresnel 型 RI 检测器大。

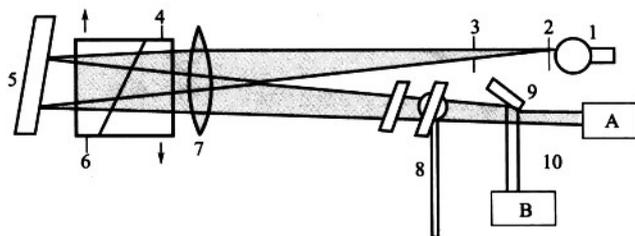


图 7-7 偏转型折光仪光路图

1—光源；2—狭缝；3—遮光罩；4—样品（进）；5—反光镜；6—参比（进）；7—透镜；8—调零；9—光束分离器镜片；10—光电池

干涉仪式 RI 检测器的光经偏振后通过光分离器入测量池和参比池（图 7-8），如测量池和参比池的折射率不同，两光束之间发生了相的偏移，光到达光电检测器的强度有差异，引起检测器输出发生变化。这种检测器池体积小（ $1\mu\text{L} \sim 12\mu\text{L}$ ），色谱峰形好，而且，其灵敏度比其它 RI 高 10 倍至 100 倍。

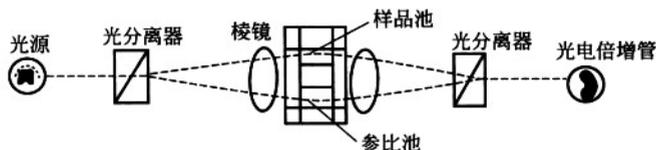


图 7-8 干涉仪式差折光器

RI 的参比池装液阀使测量池和参比池接通流动相，同时冲洗并充满参比池，参比池冲洗完后切换阀到操作位置，这时样品池的出口放空，参比池的出口被阻，但池里仍留有流动相。只要改变流动相，一定要用新流动相彻底地冲洗参比池，因此梯度洗脱不适用于 RI。

RI 对温度很敏感，流动相、柱和检测器都必须恒温才能获得最大的灵敏度。最灵敏的检测器是将进样阀、柱和检测器全装在一个恒温装置内，温度变化在  $\pm 0.01^\circ\text{C}$ 。

#### 四、电化学检测器

电化学检测器是在一定电压下测量被分析物氧化或还原能力的检测器，有薄

膜式和流动式两种。以薄膜式的结构为例，如图 7-9 所示。电化学反应发生在工作电极上，在反应池上加恒定电位，加在工作电极和辅助电极上的电压都是恒定的，因参比电极的电位恒定，工作电极上电位发生变化引起输出电流发生变化而被检测。

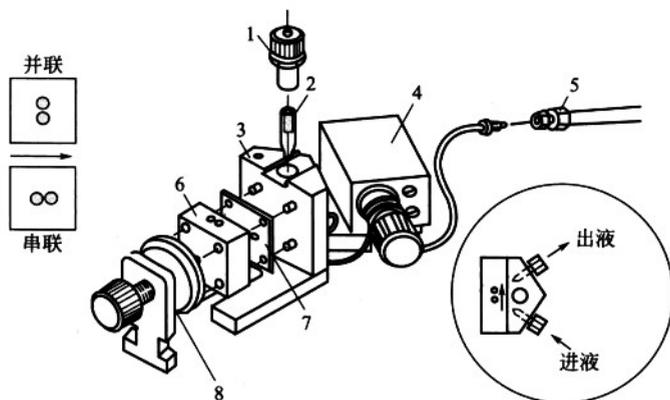


图 7-9 薄膜式电化学检测器

1—固定环；2—袖珍参比电极；3—辅助电极；4—流动相预加热；  
5—色谱柱；6—工作电极架；7—垫片；8—快速排放装置

薄膜池的工作电极是玻璃碳，辅助电极是不锈钢，参比电极为 Ag-AgCl 电极或甘汞电极。在两块聚四氟乙烯块之间（也有用有机玻璃，但不耐有机溶剂）夹一层尼龙垫片形成池槽。池体积的大小由垫片厚度决定。这部分是工作电极和不锈钢辅助电极的支撑体。工作电极也可用碳糊制成，灵敏度比玻璃碳电极高，但不稳定，经常要手工修补。金、铂也可作工作电极。工作电极的排列有串联和序联两种形式（图 7-10）。薄膜池工作面很小。因此，若不能保持池清洁，污染是主要的故障，一般可用化学法清洗工作电极。炭糊电极（石蜡油加石墨粉）要经常挖去旧石墨粉，填装新炭糊，研磨平整。流动式电化学检测器是由两个串联在一起的全孔石墨工作电极组成。参比电极和反电极成对地对称排列，靠近工作

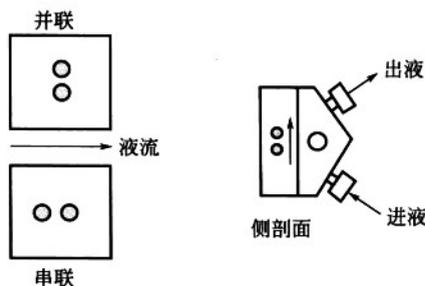


图 7-10 工作电极示意图

电极，这样设计保证电流和电位分布均匀，不用补偿，池阻力也很小。池体积小  
于  $5\mu\text{L}$ ，在池内的扩散很小（图 7-11）。全孔电极能让柱洗脱液流经每个电极，  
洗脱液中的电活性组分能达到 100% 的反应，而薄膜池与此相比仅达 1%~5%。  
但这种电极烧结料易阻塞，建议加在线过滤器。

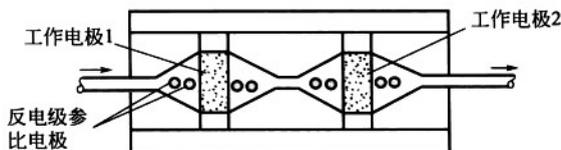


图 7-11 流动式电化学检测器 (ESA 公司)

检测器电极对气泡十分敏感。流动相需脱气继而用氦气搅动。还原型检测池  
中不能有氧存在，聚四氟乙烯管对氧有很强的渗透性，因此应换成不锈钢管。检  
测器平衡慢，有时要几个小时，为使其尽快达到平衡，不锈钢通道的表面需  
钝化。

虽然液体的流动可能降低电化学反应的效率（一般减少 5%），但电化学检  
测器仍可称为是高灵敏和高选择性的检测器。

### 五、蒸发光散射检测器

蒸发光散射检测器 (ELSD) 是一种新型通用型的 HPLC 检测器，是利用流  
动相与被检测物质之间蒸气压的差异，将洗脱液雾化成气溶胶，溶剂在加热的漂  
移管被挥发掉后，不挥发组分粒子经过光散射流通池，使从光源发出的光受到散  
射，并得到检测。ELSD 对各种物质具有几乎相同的响应因子，使浓度测定更加  
简单易行。目前，ELSD 主要用于碳水化合物、类脂、表面活性剂、聚合物、药  
物、氨基酸和天然产物的检测，而且其应用领域仍在进一步拓展。

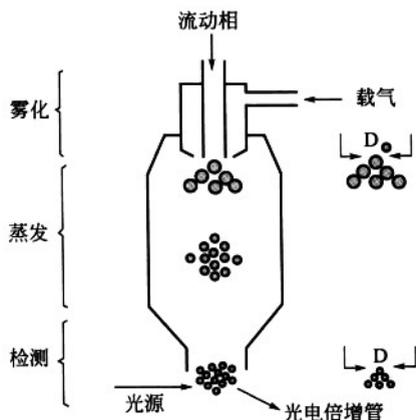


图 7-12 蒸发光散射检测器工作原理示意图

ELSD 的工作原理如图 7-12 所示。蒸发光散射检测器主要由雾化器、加热漂移管和光散射池三部分组成。雾化器与分析柱出口直接相连，洗脱液进入雾化器针管，并在针的末端和充入的气体（通常为氮气）混合形成均匀的微小液滴。通过调节气体和流动相的流速来调节雾化器产生的液滴大小。漂移管的作用在于使气溶胶中的易挥发组分挥发，而不挥发组分经过漂移管进入光散射池。受到散射后的光信号被光电二极管记录并输出。

目前商品化的 ELSD 主要有两种模式，一类是让全部柱流出物都进入直的漂移管中，流动相在其中被蒸发掉；另外一种类型是让柱流出物通过一个弯管，大的颗粒在管中沉积下来，并流入废气管，剩余的小颗粒进入螺旋状的蒸发管中。类型 A、B 两种模式的结构见图 7-13。

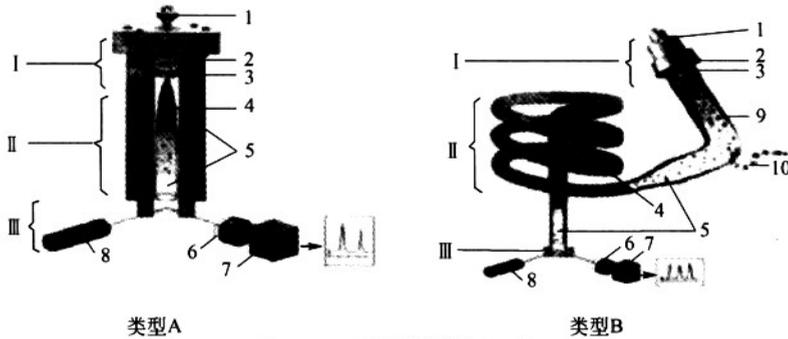


图 7-13 两种类型的 ELSD

I—雾化过程；II—蒸发过程；III—检测过程；

1—柱流出物；2—氮气；3—雾化器；4—加热漂移管；5—样品滴；  
6—光检测器；7—放大器；8—激光源；9—雾化管；10—废气排出

ELSD 采用的光源除 Alltech 500 使用 670nm 激光二极管外，其余的商品化仪器皆使用卤素灯。采用光电倍增管或硅晶体光电二极管进行光电转换。

## 六、电雾式检测器

电雾式检测器 (CAD) 和蒸发光散射检测器在原理上有相似之处。洗脱液在雾化器中氮气的作用下雾化，其中较大的液滴在碰撞器中经废液管流出，较小的溶质（分析物）液滴在室温下干燥，形成溶质颗粒。同时，用于载气的氮气分流形成的第二股氮气经过电晕式装置（含高压铂金丝电极）形成带正电荷的氮气颗粒，与溶质颗粒相向流动，经碰撞使溶质颗粒带上正电。为了消除由带有过多正电荷的氮气所引起的背景电流，在含溶质颗粒的气流流入静电检测计之前，通过一种称之为离子阱的装置（带有低负电压）使迁移率较大的颗粒（即粒度较小的氮气颗粒）的电荷中和，而迁移率小的带电颗粒把它们的电荷转移给颗粒收集器，最后用高灵敏度的静电检测计测出带电溶质的信号电流。由此产生的信号电流与溶质（分析物质）的含量成正比。图 7-14 是 ESA 公司 Corona 电雾式检测

器的内部结构示意图。

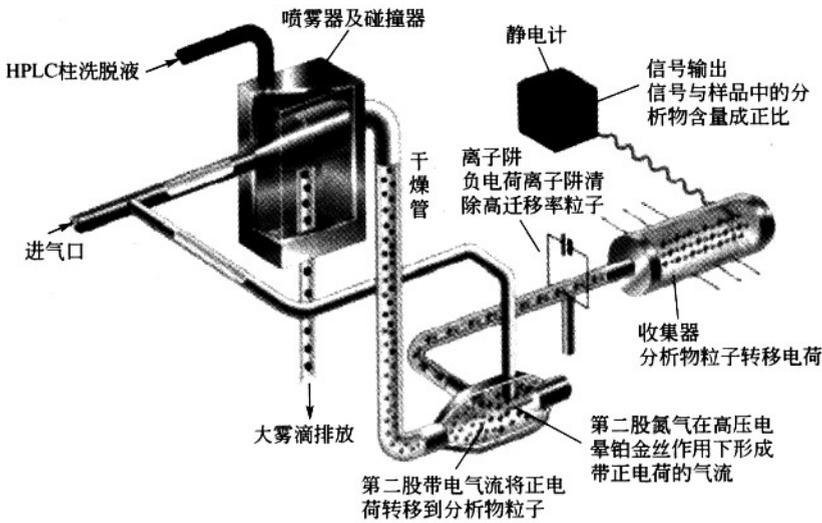


图 7-14 电雾式检测器的内部结构示意图

## 第二节 检测器故障和解决方法

在液相色谱分析中，如果色谱图出现问题，首先按照前面的描述在输液系统、色谱柱或者是进样器等方面找问题，因为相对而言，检测器出现故障的概率比其它部分要少。在确认是检测器出现问题之后，开始进行检测器问题的排除。表 7-1 列出了检测器出现故障的主要表现形式，同时还统计了常见故障出现的大约比例（UV 检测器）。

表 7-1 常出现的检测器故障

故障类型	故障率/%	故障类型	故障率/%	故障类型	故障率/%
噪声、漂移、灵敏度	47	灵敏度	9	池污染	5
噪声	26	灯寿命	21	其它	8
漂移	12	气泡	7	无故障	11

以下内容以应用最为广泛的紫外检测器为主，兼顾其它类型的检测器进行分析，因为光学类的检测器基本结构与思路非常类似，出现的问题与排除的方法也基本相同。比如检测池的故障基本都是气泡、污染、池窗碎裂等原因造成的。光学系统的基本组件很类似。在清洗和调整不同类到的检测器之前应仔细阅读操作手册，特别在光路部分，切勿贸然动手。

## 一、灯故障

光学检测器中，灯是重要的部件，也是需要定期更换的消耗品，因此，准确判断灯故障是液相色谱分析中的基本常识。检测器灯故障主要是灯老化和由灯引起的基线噪声。

### 1. 灯失灵

一般光学检测器电源打开，通过检测器面板或工作站软件界面开启灯之后有一个预热与开灯时间，一般不超过 5min，如果开机之后较长时间，记录在色谱图中的基线如图 7-15 所示，新出现短期噪声信号并伴有偶尔的长期噪声信号，表明是灯失灵了。有尖锐的峰或者是方波峰出现，很可能是检测器灯没能开启，或者是由于灯老化等原因，灯开启之后自动关闭，然后又自动开启，如此反复，才会出现如图所示的峰。出现该类问题首先检测灯的使用期限，如果超过灯的额定寿命较长时间，就需要换灯。如果灯没有问题，可能是检测器电路故障，最好请厂商的专业人员处理。

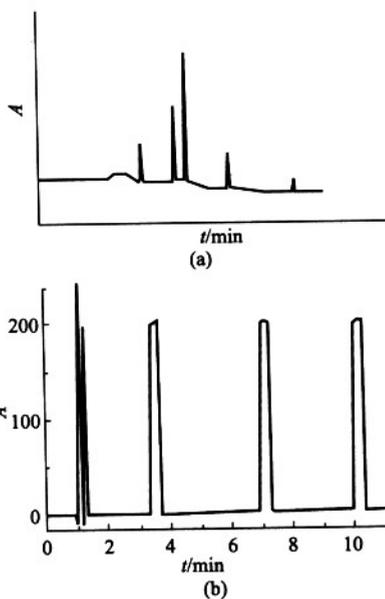


图 7-15 灯失灵时典型的基线

如果需要检查灯是否正常，多数检测器有观察部件或指示器，由此观察灯的工作情形。但是一定要注意，多数检测器使用紫外灯，紫外线会损伤眼睛。

目前商品检测器用氙灯的正常寿命几百小时到两千小时，主要是 1000h 和 2000h 两种类型，汞灯和钨灯可达 2000h 甚至 5000h。正常使用时通常能够超过指标时间，但是随使用时间延长，噪声会增加，灵敏度下降。

### 2. 基线噪声

这是比灯失灵更普遍的故障。氙灯点亮后 30min 内基线噪声比较大，所以每次使用前至少预热 30min 后观察基线情况。另外长时间使用之后的灯由于能量降低，噪声也会增加。可用下列办法确证噪声的来源：①在标准参考条件下重新测试基线；②用确信没有问题的检测器代替可疑的检测器（取代规则），以确定是否是检测器的问题；③换灯。（虽然灯的价格较贵，但换灯比用其它方法寻找故障更容易些）。如色谱图中总出现长噪声尖信号，可停泵或设流速为 0mL/min 比较噪声来源，若是气泡引起的尖噪声，停泵后就不再出现；若是灯的问题，则停泵后仍然存在。值得注意的是，灯本身的噪声在开泵后会增加。

### 3. 换灯

大部分品牌仪器更换氘灯步骤非常简单，仅仅拧几个螺丝就可以了。也有一些仪器尤其是老型号的仪器更换氘灯或者钨灯时需要打开仪器外壳，并调整对准光路。一般而言，氘灯有（6~12）个月的货架寿命，因此不要在实验室贮备更多的氘灯。需要注意的是，每一次换灯，都应该有记录。原先很多厂商在灯上安装了一个计数器，以记录灯使用的总时间；由于欧盟 ROHS 指令实施，目前已经不用汞指示器，但是在检测器或者仪器控制工作站软件上能够记录灯工作时间。

换灯时注意不能用手直接接触灯罩，尤其是通光面，因为未擦去的指痕在开灯后会引引起灯表面永久性的损坏，应该用软布或专用纸巾握住灯，在开灯之前用棉签蘸甲醇擦去指痕。按操作手册的要求检查灯是否匹配，新装的灯至少要“点燃”1h 以上，才能开始定量分析。

## 二、流通池故障

### 1. 气泡

这是最常见的故障。瞬间而过的气泡会在色谱图上出现长噪声尖峰。滞留在检测池内的气泡会使记录笔一直向一边偏离且带有小毛刺，不光是 UV 检测器，其它类型的检测器也有这种现象。若感觉到有气泡滞留在池内，应当将灯点亮并调波长至 670nm 左右，便可看到池内有一个圆环，不是清晰的绿色图像（此时应戴上防护目镜）。图 7-16 是流通池内有气泡时记录的基线。

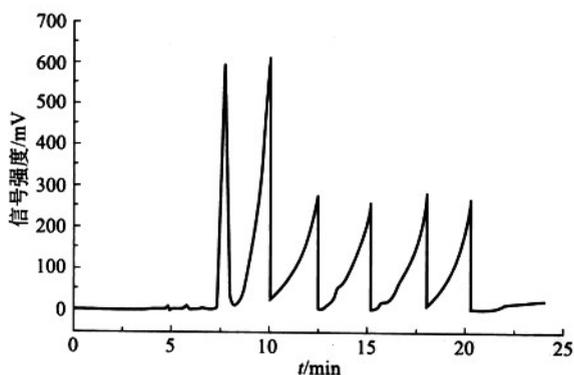


图 7-16 流通池中有气泡时记录的基线

流动相脱气不充分会产生气泡，池污染会使故障加重。用充分脱气的流动相通过池可以带走气泡，流过池后的流动相中空气浓度大于在池前的流动相浓度。需要时，可以在检测器出口加一限制器，使之保持一定的反压（采用 1m 长 0.25mm 内径的聚四氟乙烯管或者不锈钢管），防止流动相在检测池中产生气泡。另外可以采用的方法是在检测器后面接一根旧（短）柱，但压力不能太高，否则

会引起色谱参数的变化。任何情况下，检测池系统使用的压力不能超过厂商规定的压力限，超过压力可能引起池石英片破裂而漏液。在检测器放空管道中，偶有气泡是正常的，并不表明出现了什么故障。

在池中存在不相溶的溶剂也会出现与存在气泡时相同的故障现象。如果系统先使用反相系统，不经很好地冲洗又接着用正相系统（或反过来）都会发生“气泡”故障，一旦不相溶的溶剂“气泡”滞留在池内，冲洗出来的过程非常缓慢，要选用两者（正相和反相）都能相溶的溶剂冲洗。如异丙醇是一种很理想的溶剂。

如果缓冲液反相流动相被正相流动相所污染，产生缓冲盐沉淀，可用5倍柱体积的非缓冲液反相流动相冲洗系统，再用10倍柱体积的强溶剂（如乙腈）通过系统，最后用50倍柱体积的异丙醇冲洗系统，以除去所有滞留的流动相和残留溶剂，换上反相流动相冲洗，使系统重新平衡，如果正相流动相被水溶性溶剂所污染，先用50倍柱体积的异丙醇冲洗，而后用正相流动相冲洗。在分析样品前，最少要用10倍柱体积的最终流动相冲洗系统。

## 2. 检测器阻塞

检测器阻塞的现象有：系统压力增高，松开检测器进口的接头压力降至正常水平。检测器部分有三处易发生阻塞，即进口管路、流通池和出口管路。因阻塞造成压力显著增高，虽然用一般的净化方法去掉阻塞可能不奏效，但值得一试。如用注射器回抽池中的溶剂受到很大阻力，说明阻塞相当严重。若是厂商标明池能耐高压，可用泵反冲，这样常可去掉阻塞压力，注意压力不要超过6MPa~7MPa。标准池一般耐压在3MPa~5MPa左右，不可用此法。

用以上方法试验不能成功疏通检测器通道阻塞时，可以将流通池从检测器中拆下来，将进口管路卸下，用泵方向冲洗。然后再冲洗出口管路。如果进出口管路都是通畅的，那么就是流通池本身阻塞。

进口管路是最易发生阻塞的地方，用小径的管路（0.25mm内径或更小）可以挡住进入检测器的微粒。但有下列情形者在进口处可发生阻塞：①自己填装的柱在出口处留下填料微粒；②修复柱时逆向反冲时间不够就接到检测器上；③逆向反冲时原柱头密封性能不好，填料漏出。如果阻塞循环发生，应在柱和检测器之间装一个没有死体积的在线过滤器。拆下进口管路反接到泵上反冲，可以疏通阻塞（出口不要对准眼睛或裸露的皮肤、高速粒子冲出速度很快）。对一些顽固性阻塞而又不能从池上拆开的管路，可从管路进口处切掉大约1cm~2cm长的管子。当然这是一种无可奈何的选择，因为每次操作后会使得管子变短，还涉及到换刃环接头等，还可能会因为切口不平整、密封不严等造成渗漏。若用以上方法都不能疏通进口管路，应考虑更换新管子或请厂商修理。出口管路阻塞，也可参照上述方法进行处理。

## 3. 池清洗

若已确定是池阻塞，可用注射器回抽溶剂或用泵反冲（耐高压池）一般都能疏通。通常，池阻塞的故障比较少见，而池污染经常发生，不清洁的样品或样品中的组分在池窗上积聚，都会造成池窗污染，造成色谱图噪声增大，也增加了气泡故障出现的频率。遇到池被污染就要着手清洗池（硝酸法），清洗前先拆去柱和排空管路，准备好防护用品：如眼镜、围裙、橡胶手套等，池进出口处都接上细内径的聚乙烯管，进口管上接 10mL 的注射器，出口管没入异丙醇中。清洗程序如下：①回抽 10mL 异丙醇通过池去掉残留流动相；②回抽 10mL 蒸馏水；③回抽 10mL、6mol/L 的硝酸（50%浓硝酸-水），通过池去掉沉积物（此步应十分小心，备有防止酸溢出的应急措施）；④回抽 20mL 蒸馏水；⑤用至少 100mL HPLC 级的水正向通过池。

用以上方法清洗好池后，如果使用反相系统分析就可以直接接入系统打入流动相。若使用正相系统分析，在接上系统前，应先用 10mL 异丙醇洗去池中的水。

通过池反向回抽清洗液的优点在于：①保持了负压，减少了硝酸喷出的可能性；②有利于在正向卡住的微粒被逆向冲出；③减少池由于压力过大而损坏或渗漏的可能性。

检测器池渗漏可能发生在接头上、池窗的密封垫上，也可能发生在样品池或参比池的一侧，或者石英窗破裂。除接头松动外，池渗漏也可能是由于管道阻塞、流速太高、其后的阻力大，使池的横截面承受过高的压力，严重时引起池破裂；还可能是组装不当、垫圈不密封造成渗漏。垫圈渗漏要更换或重新组装检测器；池破裂要更换检测池。一定要参阅操作手册进行仔细、

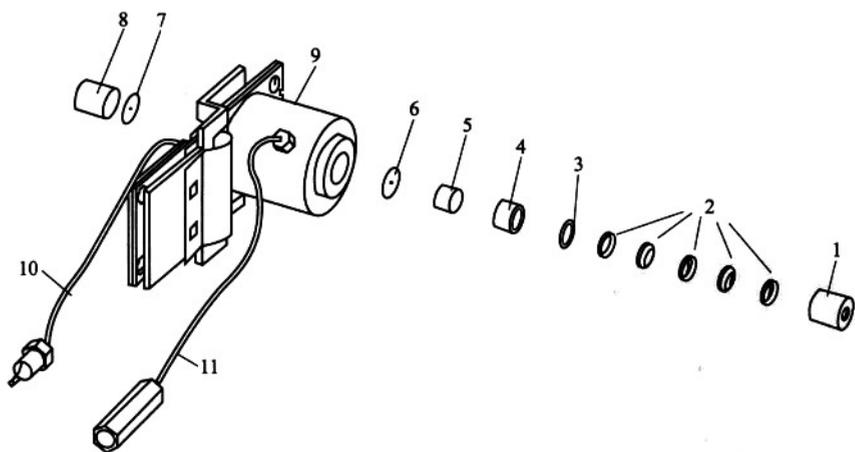


图 7-17 Agilent 1200 检测器流通池组装图

- 1—窗口螺母；2—弹簧垫圈；3—压簧垫圈；4—窗口支架；5—石英窗；6—垫圈；7—垫圈（与 6 不同孔径）；8—窗口螺母（包含 2~5）；9—流通池；10—进口管；11—出口管

严格的操作。图7-17是 Agilent 公司液相色谱检测器流通池的结构图，可供参考。

#### 4. 测量和参比失配

一般情况下 UV 检测器用空气来作参比，即参比池中只有空气，在电路设计上也无需扣除流动相本底。在一些场合下，用有紫外吸收的流动相通过 UV 检测器，或者用示差折光检测器就都要在参比池内注满流动相。若参比池中流动相不与测量池中的流动相匹配，本底输出信号不为零，进样时有可能出伪峰或倒峰。从湿参比池换成空气参比池时，要先清洗干净然后用干燥氮气气流吹干，不能留下溶剂残迹，因为残留的溶剂将会出现类似于“气泡”的故障。

### 三、波长方面的问题

多数色谱工作者不太注意波长方面的问题，特别在使用过程中发生了故障，很少想到波长方面有什么问题。其实波长本身以及波长选择等方面的问题，对产生不良的试验结果有很大的作用。

#### 1. 次级发射效应

一些可变波长紫外检测器的设计上，在可见光范围内，用氙灯作光源，但会带来次级发射效应。单色器能发射比设定值高一级的发射光，正好是设定值的  $1/2$ 。如设定值  $405\text{nm}$ ，次级发射光正好  $202.5\text{nm}$ ，三级发射光低于干扰波长，由大气中的氧所吸收，所以构不成问题。次级发射光正好在紫外光范围内，即检测器是在两种波长下监测，非单色光检测不符合比尔定律，结果是非线性的。如在  $405\text{nm}$  下测定尿卟啉类化合物，用甲醇流动相梯度洗脱。次级发射光 ( $202.5\text{nm}$ ) 正好落在甲醇的紫外吸收范围内，基线随甲醇的比例增加而升高，见图 7-18(a)，用钨灯在紫外范围内无次级发射，见图 7-18(b)。用氙灯在高于  $360\text{nm}$  时测定，应考虑有次级发射的可能。

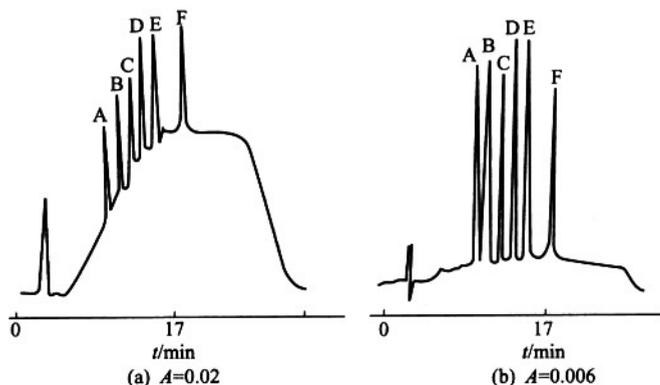


图 7-18 次级发射光的影响

在荧光检测器中，也有次级发射的问题。用单色器选择激发波长时会同时产生两种激发波长（一级和二级），而不是单波长。用无衍射光栅滤光片荧光检测器，就不出现次级波长。

## 2. 检测波长选择不正确

检测器波长的选择可影响试验结果的准确度与重复性，如有可能，应选在干扰组分吸收光谱平稳的范围或者组分的最高吸收处。以图 7-19 为例，选在 260nm，A、B 两组分的吸收在平稳区，每次测定值趋于一致，即使波长稍有变化也不会引起吸收值的明显变化。如选在 254nm，A 的影响很大，波长稍有微小的变化，吸收变化就会比在 260nm 大得多。

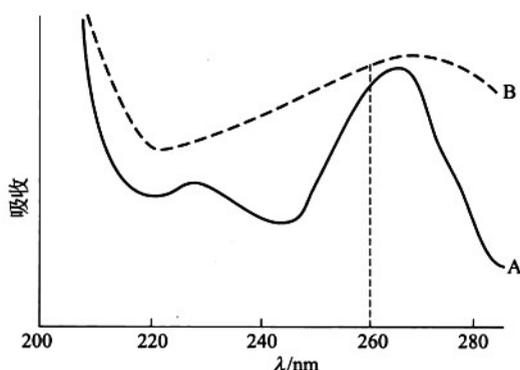


图 7-19 选择检测波长

初建方法时应先查阅测定组分和干扰组分的波长，既要照顾到灵敏度（最大吸收波长），又要考虑到稳定性问题（选在平稳处）。如果所选波长太靠近流动相的截止波长，梯度洗脱时会增加基线的漂移。遇到这种情况可用较高波长或更换流动相。

## 3. 波长校准装置问题

可变波长的 UV 检测器采用机械转动光栅选择波长。旋钮与光栅间的传动装置由齿轮和传动杆等组成，长时间之后会出现机械磨损，所选的波长并不真正等于刻度盘上的波长。避免选择波长不重复的最好方法是每次用相同的技术，如每次选一个新波长，总是先转到少于新波长的 10nm 处，这样波长重复性会好一点，可以不考虑选择波长准确度的问题。

## 4. 波长校正

检测器的波长要经常校正，否则会得到意外的结果。兹介绍三种方法：

(1) 对于氙灯的校正，可先将刻度盘调到 640nm 波长，慢慢衰减检测器到 0，记录笔停在记录纸满量程的 80% 处。再慢慢转动刻度盘到 675nm。如果检测器校正正确，在 656nm 处有最小吸收，在 486nm 和 582nm 也有类似的反峰，但较弱，经常难以发现。

(2) 按操作手册要求用重铬酸钾在 275nm 和 350nm 校正吸收波长。

(3) 用氧化钛滤光片自动校正波长。

#### 5. 低波长测量

采用低波长 (<210nm 时) 检测时经常会出现很多问题, 这是因为样品和流动相组成的变化比在高波长下检测更灵敏。所以应选择截止波长低即在低紫外区吸收比较小的溶剂作为流动相 (如乙腈好于甲醇)。如选用的流动相吸收波长接近于截止波长时, 基线漂移很大, 尤其是梯度分析时。在低于 200nm 的波长检测, 会在检测器光路中积聚臭氧而增加噪声, 需用  $N_2$  或 He 不断清扫单色器。实际分析中需要结合灵敏度和基线, 选择比较合适的信噪比的波长进行检测。

#### 6. 单色器的保养

光学检测器的单色器一般密封于一个小单元内。单色器内无用户要维护的部件, 均需由厂商修理。擅自打开单色器, 仪器的保单就失效了。经过多年的使用后, 单色器中的光栅和镜子可能蒙上一层污染物, 怀疑这方面的问题时应请维修工程师修理。保持单色器进出口窗的清洁, 可经常用棉签蘸甲醇擦去窗上的指纹、污渍和雾气, 然后吹干 (清洁检测池石英窗也用此法)。

### 四、其它故障

#### 1. 时间常数

时间常数实际上是响应时间的设定, 是检测器电路部分对光电元件检测器的光信号滤波的一种指示, 起着过滤噪声的作用, 有些检测器有固定的时间常数, 有些检测器可以根据具体情况设定时间常数。时间常数太小 (太快) 可能增加短期噪声, 时间常数太大 (太慢) 可能出宽峰、拖尾峰和矮峰, 实际上就是检测灵敏度降低。图 7-20 比较了不同时间常数时色谱峰的基线噪声与峰型的差异。在大多数情况下, 检测器时间常数的差异可能在试验中不会有明显变现, 但是对于没有完全分离的色谱峰可能会有一定影响, 图 7-21 比较了不同时间常数时色谱峰分离的情况, 同时可以看出基线噪声的变化。

在具体试验中, 可用自己的经验估算时间常数, 一般选择时间常数不大于最窄的色谱峰峰宽的 10%。对多数分析而言 (15cm~25cm 长, 4.6mm 内径, 5 $\mu$ m), 0.5s 或 1.0s 的时间常数比较适宜。小颗粒、短柱、快速分析时要用比较小的时间常数。

#### 2. 泵的压力脉动引起的噪声

UV 检测器折射率的变化与流动相的组成、压力及温度有关。泵有脉冲引起压力变化, 也引起流动相折射率的变化, 通过流动相的紫外光传导也有变化。多数 UV 检测器因脉冲阻尼器、热交换器和检测池的特殊设计, 可以很大程度地

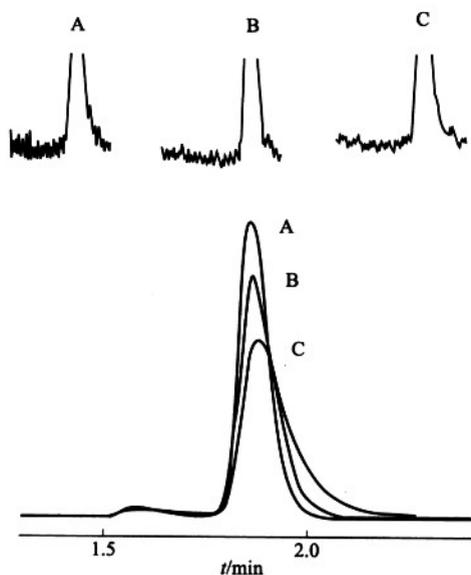


图 7-20 检测器响应时间对基线噪声和峰形的影响

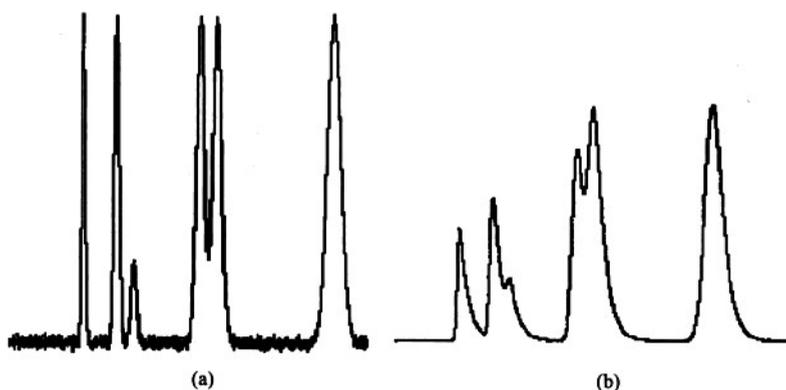


图 7-21 响应时间分别为 0.1s(a) 和 10s(b) 时色谱峰对比

避免因泵脉冲引起的变化，使检测器处于良好的运行状态。但示差折光检测器对泵脉动就非常敏感，因此，用示差折光检测器比较泵的脉动是非常有效的办法。图 7-22 是两种不同的液相色谱输液泵输送 1mL/min 水时检测器基线的比较。实际上利用脉动的频率与设定流量还可以估算泵头柱塞每循环一周输液的体积。如果碰到这种情况，最好在检测器后面增加一个阻尼器，以改善基线波动。

### 3. 温度的影响

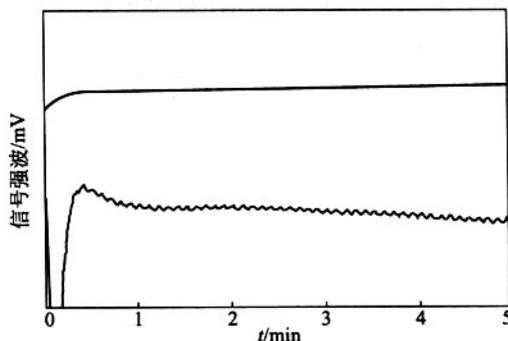


图 7-22 两种泵输液脉动对 RI 检测器基线的影响

流动相：水；流速：1.0mL/min

环境温度变化常引起基线漂移。流动相温度变化会引起折射率改变，紫外光的传导也会改变，柱温的变化也会引起基线的漂移。液相色谱系统应放在空气流通的环境中，既不要隔绝空气，也不要空气流动过大，还要远离加热管道。多数检测器加了热交换器防止基线漂移，小体积的池 ( $<8\mu\text{L}$ ) 为克服死体积问题一般不加热交换器。可用下面的方法检查温度对检测器的影响；调检测器为最大灵敏度，打开记录器，用拇指和食指夹住进口管加热，或包上冰块冷却，如果基线漂移，说明进口管道需隔热处理。用隔热材料包扎或套一根聚乙烯管在进口管上，能取得满意的效果。

示差折光检测器温度更加敏感，因此，一般的示差检测器都有温度控制系统，对于进入检测器的流动相和检测池进行温度控制，理想情况下控制变化范围在  $0.1^\circ\text{C}$  之内。

#### 4. 混合问题

流动相不完全混合可出现周期性的基线变化，在示差折光检测器中更为严重，可通过改变流动相的组成得到证实，新的周期性的变化对应新的混合物。在第五章中已详细讨论了这方面的故障及解决办法。比较容易出现问题的是在高压或者低压液相色谱系统中，流动相比通过双泵或者比例阀配制。当两种或者两种以上流动相组分中有的组分比例很低时，例如两种流动相的体积比为  $99:1$ ，在流速为  $1\text{mL}/\text{min}$  情况下，两路流动相的实际流速分别为  $0.99\text{mL}/\text{min}$  和  $0.01\text{mL}/\text{min}$ 。很多泵在  $0.01\text{mL}/\text{min}$  的流速时输液的重复性和准确度是不能保证的，因此脉动和混合共同引起基线噪声增大与结果不重复等问题。在这类情况下，比较理想的方法是手动混合流动相。

#### 5. 线性问题

因检测器或方法上的问题，非线性响应是可能的。如仔细稀释样品、选择波长、良好的方法可以延长线性范围。检查线性要在一定的浓度范围内，用不同浓度的标准品证实线性相关性。

经常会出现超出检测器线性范围的问题。例如进大样品量就可能超出检测器响应的线性范围。但有时样品量明明在“安全”范围也可能非线性，那是因为检测器衰减过了它的线性动力学范围。如某检测器的线性到 1.5AU，实际设定在 2.0AU，虽然样品峰还成比例，但实际上已超出线性动力学范围。解决这个问题只有减小进样量，如稀释或进小体积的样品，尽量在线性动力学范围内检测。

样品丢失或柱子的干扰也会引起线性问题，这与检测器无关。采用部分装样法，进样体积超过定量环体积的 50%，所进的样品量有差异或稀释程度不同可能是非线性的。

用没有紫外吸收的溶剂作流动相可扩展线性范围，建议用无吸收的流动相，或在流动相无吸收的波长下操作。如果流动相本身紫外吸收比较强，尽管在进样之前进行了回零操作，实际上检测器已经记忆了一段本底吸收，此时，可用的检测范围已经缩小，检测器线性范围下限不到零。图 7-23 比较了线性响应范围为 2AU 的检测器在两种情况下的检测线性范围，可以看出，在流动相本底吸收为 1AU 的情况下，实际检测的线性只有 1AU。

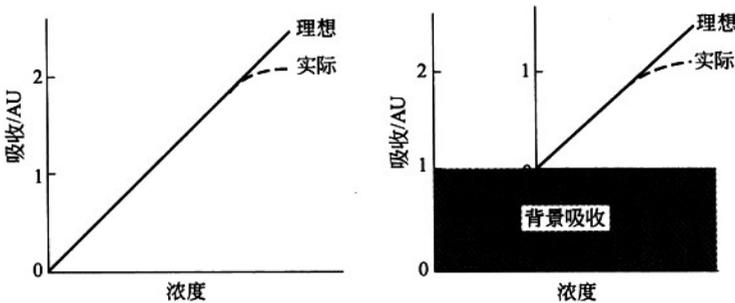


图 7-23 流动相背景吸收对检测线性的影响

图 7-24 比较了甲醇和乙腈、磷酸和乙酸在紫外区的背景吸收情况，供在低紫外区检测时参考。

在检测器中用宽的光通带或在吸收值随波长微小变化而明显差异的波长下检测（如图 7-19 中 275nm 处），不遵守比尔定律，会得到非线性结果。波长要选择最大吸光度附近，且光通带小（如二极管阵列检测器）。

### 6. 信号线故障

信号线故障主要产生在记录器和数据系统，是连接检测器的信号线引起的。信号线接插不紧，接触不良，尽管有足够的样品但信号很弱，有时还会有偶然噪声。此时可以按照专门的资料（如仪器有关安装手册）进行正确的连接。

在地线问题上不可掉以轻心，仪器的外壳和信号线的接地很严格，接地不良

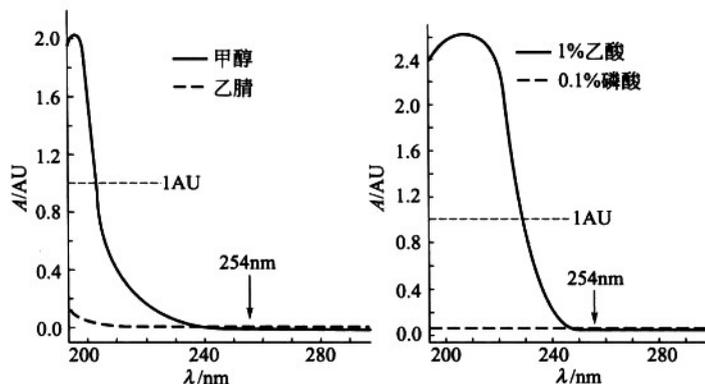


图 7-24 不同流动相溶剂和缓冲溶液本底吸收比较<sup>[5,6]</sup>

时会出现基线噪声很大, 接错线时会造成短路, 会烧坏仪器, 应遵循有关操作手册进行操作。

### 7. 影响 ELSD 检测性能的基本因素

影响蒸发光散射检测器检测效果的主要因素有漂移管温度、流动相组成及流速、载气性质及流速等。漂移管温度对基线水平和噪声的影响没有明显规律。温度升高, 流动相蒸发趋向完全, 信噪比提高, 但温度太高会使流动相沸腾, 增加背景噪声, 同时可能导致溶质部分汽化, 使信号变小, 降低信噪比。如果温度太低, 流动相蒸发不完全, 基线水平提高。故最优温度应在流动相(包括其中所含的盐)基本挥发的基础上, 产生可接受噪声的最低温度。

流动相的挥发性越好, 方法的灵敏度越高。流动相缓冲盐的挥发性、纯度及浓度将直接影响 ELSD 检测的基线水平、基线漂移程度及噪声大小。用作缓冲盐的盐, 既要容易挥发(一般是热分解挥发), 又要具有较高的纯度。通常使用的缓冲盐由乙酸、甲酸、三氟乙酸、硝酸铵、磷酸氢二铵等组成。

在一定范围内, 流动相的流速越低, 流动相完全挥发所需的载气流速越低, 形成的溶质颗粒越大, 对激光散射能力越强, 相应的信号越强。当载气流速太小时, 流动相挥发不完全, 增加背景噪声, 降低信噪比。最优载气流速应是在可接受噪声的基础上, 产生最大检测响应值时的最低流速。

### 参 考 文 献

- 1 李彤, 张庆合, 张维冰. 高效液相色谱仪器系统. 北京: 化学工业出版社, 2005
- 2 邹汉法, 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1998
- 3 Dolan John W, Snyder Lloydan R. Troubleshooting LC System. Chifton. New Jersey. The Human Press Inc, 1989

色谱仪器维护与故障排除

- 4 袁倚盛. HPLC 系统故障排除. 南京: 南京大学出版社, 1998
- 5 Li J B, LC GC, 1992, 10(11): 856~864
- 6 Seaver C, Sadel P. LC GC: 1994, 12(10): 742~746

# 第八章 液相色谱分析故障排除

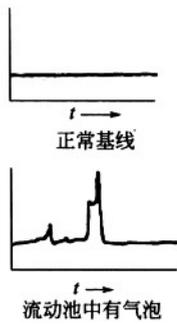
## 第一节 液相色谱故障排除综述

上面章节分别介绍了液相色谱相关部件的原理与常见故障的排除，实际上液相色谱分析过程中出现的问题是综合性的，问题的表现形式也有很大差异。为了结合实际应用，本章对液相色谱分析过程中可能出现的故障及其排除方法进行描述<sup>[1~4]</sup>。

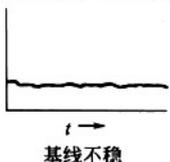
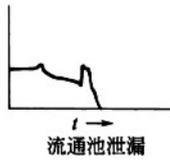
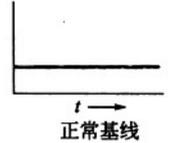
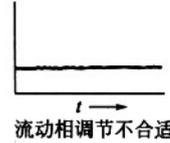
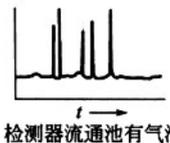
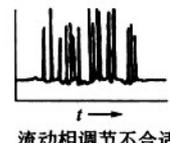
### 一、故障排除汇总表

表 8-1~表 8-9 列出了液相色谱系统各种故障的分类、识别与排除方法。这

表 8-1 系统流路问题造成的基线故障及排除方法

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
不规则的噪声(产生于系统流路) 	检测器流通内有较大 气泡	排气泡,清洗检测池或在检测器废液 排放口加适当的背压(为预防气泡,流动 相要脱气或通氮气) 在检测器废液排放口加一适当的管 路,产生少许背压
	流路中有少量气泡	排气泡(为预防气泡,流动相要脱气或 通氮气)
	系统不稳定或没达到化 学平衡	使系统所有部件(如柱和检测器)有适 当的时间获得稳定和化学平衡 如果使用自动梯度洗脱,要有足够的 平衡时间获得好的再现性 如使用离子对试剂,在首次使用时需 要足够的时间和溶剂体积,色谱柱才能 达到足够的平衡
	流动相被污染	不使用这些流动相并且: (1)清洗贮液器,过滤器(6mol/L HNO <sub>3</sub> ),水(重复三次),甲醇/换溶剂入 口过滤器; (2)建议用 HPLC 级试剂; (3)冲洗并重新平衡系统

续表

症状	可能原因	解决方法
不规则的噪声(产生于系统流路) 	检测器流通池漏	移开检测器盖子检查泄漏,如果看不到,按下面步骤进行: (1)用可溶性好的非缓冲液溶剂清洗检测器,然后用甲醇清洗; (2)通氮气或氦气,慢慢将检测池吹干; (3)监测基线噪声,如果噪声消失,表明检测池内部漏,需修理/更换检测池
	色谱柱被污染	为证明可能的原因更换系统的色谱柱或使用一根同类的被证明性能好的色谱柱换流动相监测基线 如果问题仍然存在可能由于: (1)溶剂的性质(如不互溶); (2)流动相被沾污; (3)保护柱或管路过滤器被沾污
短期(min或s)有规则的噪声(产生于流路系统) 	泵压不稳/泵脉冲	见图 8-3 解决,如果泵压仍不稳,见泵故障排除法
	调节溶剂不适当	一个综合性问题: (1)属于柱内部属性,泵入(5~10)倍柱体积的 100% A 溶剂,监测基线。使得有足够量的恒定组成的溶剂平衡色谱柱并通过检测池; (2)打进去一些预混合溶剂(如体积比为 50:50 或 95:5 或使用的混合物),监测基线
		如果基线在 100% A 溶剂时基线变好,而当运行混合溶剂时噪声依旧大,那就是混合问题。解决方法如下: (1)如果溶剂不互溶问题,可以选择/改用互溶性好的溶剂; (2)如果泵的比例阀或高压混合器故障,参见泵故障排除方法; (3)如果泵后调节溶剂不适当,可采用增加混合管路或混合室的方法,这种混合取决于故障的严重程度(注意采用时尽量减小体积,以避免带来死体积的增加与梯度洗脱的不准确); (4)使用预先混合的溶剂
	泵入口管路松或堵塞	检查管路如果松,旋紧;如果弯曲,调直;如果堵塞,更换
	泵太脏或已失灵	见泵故障排除
	泵柱塞磨损	见泵故障排除

续表

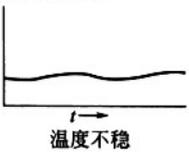
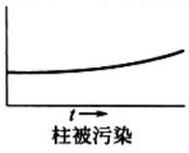
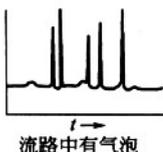
症状	可能原因	解决方法
长期有规则的噪声 (min 或 h) (产生于系统流路) 	室温不稳	稳定环境温度, 如果问题继续存在采用以下办法: (1) 使用柱恒温装置 (比环境温度高 5℃ 以上); (2) 将系统或柱置于温度稳定的环境中; (3) 系统避免阳光直射
	流动相回收使用	除非特殊需要不使用回收溶剂
基线漂移 (产生于系统流路) 	系统不稳或没有达到化学平衡	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	室温不稳	参见上述“长期有规则的噪声”解决办法
	流动相污染或分解	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	流动相脱气不够或没通保护气体	脱气/通氮气, 重新平衡系统 氮气流要有限制以免带出流动相
	检测池泄漏	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	柱污染	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	系统泄漏	检查所有接头, 如果发现泄漏处, 旋紧 (不要过紧), 如果仍有泄漏, 更换接头与垫圈
	固定相流失	为证实问题存在, 用一段连接管路代替色谱柱, 通流动相监测基线 试验中如需要增加系统背压使用合格管路 ( $\phi 0.23\text{cm}$ ) 代替连接管 确信操作条件适合色谱柱 (如溶剂相容性, pH 范围等); 如果操作条件对柱子有影响, 则: (1) 另选流动相; (2) 另选色谱柱
	测定的波长选择错误 (对溶剂)	使用分光光度计证明背景吸收, 如果背景值高, 说明流动相中含有紫外吸收化合物导致基线漂移 使用的流动相应选择在紫外截止波长以外, 或更换溶剂
	样品组分保留太长	用强度合适的溶剂清洗色谱柱
溶剂体系未达平衡 (梯度洗脱中)	用流动相继续冲洗, 走梯度空白扣除基线漂移	
出现脉冲式噪声 	系统流路中有小气泡	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	泵头有空穴现象	见泵故障排除
	检测池不干净	清洗/检测池逆流
	泵接地/自动进样器电源线不当	使用专用的、有屏蔽的信号线

表 8-2 检测器电路引起的基线噪声故障及排除

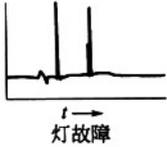
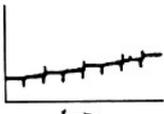
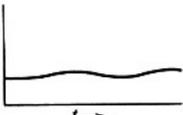
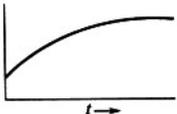
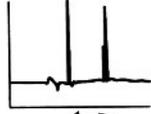
症状	可能原因	解决方法
无规则噪声(产生于检测器)  灯故障  操作灵敏度太高	检测器没有稳定	检测器灯应有适当时间稳定(直到基线稳定) 检测器平衡时间的变化取决于使用的检测器种类和参数(如波长、灵敏度、电压/电流等)
	检测器灯	按检测器说明书检查灯的能量,如果能量低于指标,换灯 有些检测器可以调整灯能量以补偿能量损失
	检测池被污染	参见检测器故障排除
	检测器电路问题	检测器故障,与供应商联系
	检测器与数据处理系统信号线连接不好	将连接线接好
	检测器接地不好	使用专用的、有屏蔽的信号线
	周围使用设备的影响	使用单独电源,远离有强电磁波、强磁场的设备
数据处理装置灵敏度设置太灵敏	调到灵敏度合适的位置	
有规则短期(min或s)噪声,产生于检测器  周围设备的影响	周围使用设备的影响	参见上述“不规则噪声”解决办法
	检测器内部控温器不合适(开/关过于频繁)	正确设置检测器内部控温参数
长期(min或h)有规则的噪声(产生于检测器)  温度故障	室温波动	稳定室温至系统完全平衡,如果问题继续存在,则: (1)将检测器置于无空气对流的恒温环境中; (2)检测器避免阳光直射
	周围使用设备的影响	参见上述“不规则噪声”解决办法
基线漂移(产生于检测器)  稳定不充分	检测器不稳定	参见上述“不规则噪声”解决办法
	室温变化	参见上述“长期有规则的噪声”解决办法
	检测池被污染	参见检测器故障排除
出现脉冲式噪声  灯故障	检测器灯	参见上述“不规则噪声”解决办法
	周围使用设备的影响	参见上述“不规则噪声”解决办法
	检测器电路问题	检测器故障,与供应商联系

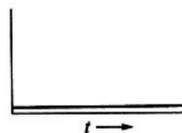
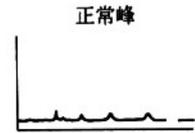
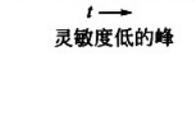
表 8-3 保留时间改变/错误的故障排除

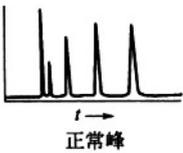
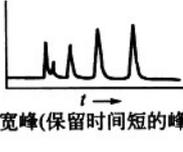
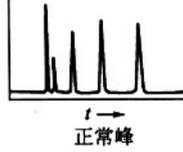
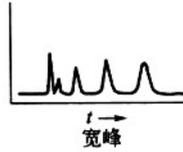
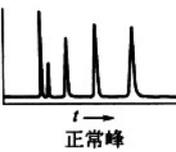
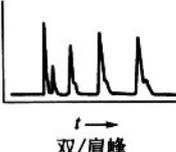
症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
每次进样时的 保留时间不重复	系统不稳或未达到化学平衡	<p>应有足够时间使所有的部件(如检测器、柱等)达到平衡,注意使用的操作条件(如流动相、检测器参数设置、检测器类型等)</p> <p>如果进行的是梯度洗脱,在两次进样期间应有足够的时间,以保证重现性</p> <p>如使用离子对试剂,应保证第一次使用时要有足够的时间和足够的溶剂体积,使色谱柱达到平衡</p>
	由于气泡、各部件磨损等原因引起泵压或泵脉冲输液不稳定	见图 8-3,如果压力不稳继续存在,见泵故障排除法
	进样体积太大或样品浓度太高(过载)平衡被破坏	减小进样体积或流动相稀释样品;如果使用弱溶剂进样体积可达柱死体积的 10%,如果使用强溶剂进样体积可达柱死体积的 1%
	室温波动大	<p>稳定环境温度,如果问题继续存在,则:</p> <p>(1)用柱恒温箱(室温 5℃以上);</p> <p>(2)将系统置于恒温、空气对流小的环境</p>
	溶剂配比不合适	<p>解决步骤如下:</p> <p>(1)流动相预混合、过滤和脱气;</p> <p>(2)用溶剂平衡色谱柱;</p> <p>(3)至少进标准样三次,比较保留时间的重现性,如果保留时间重现性好,表明是溶剂配比的问题</p>
柱被污染	<p>更换一根同样类型已知性能良好的色谱柱进行分析和观察,如果保留时间重复性好,证明是柱被污染,如果保留时间仍不重复,可能因为:</p> <p>(1)溶剂不互溶;</p> <p>(2)流动性被污染;</p> <p>(3)保护柱或过滤器被污染</p>	
保留时间连续向一个 方向增大或减小	泵流速变化	设置适当的流速值
	室温变化	参见“保留时间不重复”的解决方法
	系统没有达到平衡	参见“保留时间不重复”的解决方法

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
保留时间连续向一个方向增大或减小	柱被污染	参见“保留时间不重复”的解决方法
	流动相脱气不够彻底	溶剂脱气/充氮气保护,重新平衡体系 注意氮气流量不要太大,以免带出流动相
	流动相被污染	放弃使用被污染的流动相并: (1)清洗溶剂贮液瓶,清洗/更换溶剂入口过滤器。用 6mol/L 硝酸,水(重复三次),甲醇超声清洗过滤器; (2)使用 HPLC 级试剂; (3)重新平衡系统
	溶剂进口处过滤器或进口管路有堵塞	检查堵塞管路,需要时更换,清洗溶剂入口过滤器的砂芯,需要时更换
	系统泄漏	检查所有的接头,旋紧漏液接头(不要过紧);如果泄漏仍存在,更换接头和垫圈
保留时间变化至一新的恒定值(重复但不正确)	样品的流动相不正确或组成不对	配制新的流动相
	泵流速改变	设置合适的流速
	由于泵不稳导致输液流速不正确	用称重法测量流速的准确性,如果测得值与设置值不同,证明是泵的问题,参见泵故障排除
	室温变化	参见“保留时间不重复”的解决方法
	柱恒温箱温度设置有误	设置正确的温度
	使用的色谱柱类型或尺寸不正确	用一新的相同的色谱柱做比较
	流动相中有稳定剂或稳定剂改变	使用无防腐剂的溶剂
	柱被污染	参见“保留时间连续向一个方向增大或减小”的解决方法
系统的梯度延迟时间设置不正确	流路系统有无变化(如梯度混合气的加入),如果有变化重新计算新的延迟时间	

表 8-4 不正常峰形的故障排除

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
无峰  正常峰 	检测器选择错误(如波长、灵敏度、自动回零等)	设置正确的检测器参数
	检测器输出没回零	检测器基线回零
	由于电源、电路检测池造成的检测器问题	参见检测器故障排除
	检测器与数据处理装置线路连接错误	检查检测器输出信号,正确连接
	使用错误的流动相	配制新的流动相 如果问题发生时系统压力很高,则表明样品中有沉淀
 无峰	样品降解	验证样品的完整性,检查样品处理过程,更换新的样品
色谱峰比预期的小(灵敏度降低)  正常峰  灵敏度低的峰 	进样体积错误	改变到合适的进样体积
	进样器样品定量环大小不合适	检查进样器样品定量环,如需要更换合适尺寸的样品定量环
	检测器设置不当(如波长、灵敏度等)	设置正确的检测器参数
	检测器输出没回零	检测器基线调零
	检测器信号与数据处理系统不匹配	参见上述“无峰”故障排除法
	检测器灯故障	用检测器诊断步骤检查灯能量,如果灯能量低于指标要求(与新灯比较)更换灯 有些检测器可以调整灯能量以补偿能量损失
	进样问题(瓶号错、进样体积不合适、进样错误、针头阻塞)	参见进样器故障排除法
	样品黏度太大	稀释样品,慢速抽取样品

症状	可能原因	解决方法
峰变宽(保留时间短的峰)  正常峰  宽峰(保留时间短的峰)	进样体积太大或样品浓度太高(样品过载),平衡破坏	减小进样体积或用流动相稀释样品,如果使用弱溶剂,进样体积可达柱死体积的10%;如果使用强溶剂,进样体积可达柱死体积的1%
	管路内径错误,管路切割时操作不当,接头与套圈不合适	见管路的故障排除内容
	过滤器、保护柱入口、柱入口或连接管路有部堵塞	检查这些部件的堵塞情况,更换堵塞管路,清洗相关部件
	进样器问题(如阀漏、针头阻塞或损坏,进样孔被堵住)	参见进样器故障排除法
	使用了错误的进样器样品定量环	检查进样器样品定量环,如需要,更换合适尺寸的样品定量环
	检测器时间常数设置错误	设置正确的参数
峰变宽(所有的峰)  正常峰  宽峰	柱或保护柱被污染	清洗柱或保护柱,如果问题继续存在,更换
	柱性能下降或失效	检查柱效(N),如果柱效降低(与新柱比),更换
	保护柱性能下降	换保护柱芯
	对于流动相来说样品溶剂太强	解决方法如下: (1)用流动相溶解样品; (2)用弱溶剂稀释; (3)减小进样量
	使用错误的柱(类型或尺寸)	用一新的相同规格的色谱柱作比较
	室温变化	使用柱恒温箱 温度变化可导致保留时间变化(再现性好,但值不正确)
	系统没稳定或未达到化学平衡	应有足够时间所有的部件(如检测器、柱等)达到平衡,注意使用的操作条件(如流动相、检测器参数设置、检测器类型等)
	记录仪走纸速度不合格	调整到合适的纸速
出现双峰/肩峰  正常峰  双/肩峰	保护柱或柱入口处部分阻塞	见上述“峰变宽”的故障排除方法
	柱或保护柱被污染	清洗柱或保护柱,如果问题继续存在,更换
	柱性能下降	见上述“峰变宽”的故障排除方法
	保护柱失效	换保护柱芯
	进样体积太大或样品浓度太高(样品过载),平衡破坏	见上述“峰变宽”的故障排除方法

续表

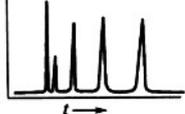
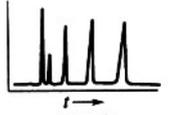
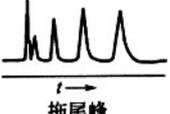
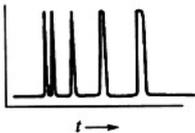
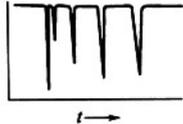
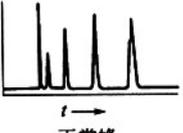
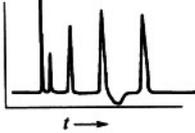
症状	可能原因	解决方法
前延峰  正常峰  前延峰	进样体积太大或样品浓度太高(样品过载),平衡破坏	见上述“峰变宽”的故障排除方法
	对于流动相来说样品溶剂太强	见上述“峰变宽”的故障排除方法
	柱或保护柱被污染	清洗柱或保护柱,如果问题继续存在,更换
	柱性能下降	见上述“峰变宽”的故障排除方法
	保护柱失效	换柱芯
拖尾峰  正常峰  拖尾峰	柱或保护柱被污染	清洗柱或保护柱,如果问题继续存在,更换
	柱性能下降	见上述“峰变宽”的故障排除方法
	保护柱失效	换柱芯
	进样器问题(如阀漏等)	见进样器故障的排除方法
	检测器时间常数设置错误	设置正确的时间常数
平头峰 	检测器参数错误(如波长、灵敏度、自动回零)	设置正确的参数
	记录仪输入电压错误	调整记录仪输入电压
	进样体积太大或样品浓度过高	见上述“峰变宽”的故障排除方法
出现负峰(所有峰) 	连接数据处理系统信号线接反	正确连接
	记录仪或检测器信号极性相反	改变极性设置
	光学系统没平衡(RI检测器)	参见仪器使用手册
出现一个或几个负峰  正常峰  负峰	离子对分离体系对峰的影响	在流动相中溶解样品
	样品中有比流动相的折光指数低的组分(只限于RI检测器)	检测负峰是否由于样品或溶剂杂质所致;如果负峰影响分析结果,改进方法;如果负峰是由于溶剂杂质所致,使用新处理的溶剂
	使用的流动相吸收高	使用流动相稀释样品,如果问题继续存在,调整流动相使负峰不干扰分析结果 使用紫外截止波长外的流动相或改变溶剂
	自动进样器注射进空气	参见上述进样器故障的排除方法

表 8-5 定性、定量结果不正确的故障排除方法

症状	可能原因	解决方法
(一)定性结果		
峰不能分辨	数据处理装置输入了不正确的参数	输入下列参数： (1)样品表； (2)校正表； (3)参考峰； (4)峰窗口； (5)峰临界值； (6)峰积分； (7)保留时间 经适当改变后重新进标准样，提高准确度
	改变保留时间	参见上述“保留时间不正确/改变”的故障排除方法
无峰	数据处理装置输入了不正确的参数	参见上述“色谱峰不能分辨”的故障排除方法
	改变保留时间	参见上述“保留时间不正确/改变”的故障排除方法
色谱图中出现多个鬼峰	流动相被污染	放弃使用被污染的流动相并： (1)清洗溶剂贮液瓶，清洗/更换溶剂入口过滤器，用6mol/L 硝酸，水(重复三次)，甲醇超声清洗过滤器； (2)使用 HPLC 级试剂； (3)重新平衡系统
	样品预处理时产生降解或混入杂质	用标准样比较 验证样品的完整性，检查样品处理过程，换新样品
	先进进的流出物	增加分析时间，如果问题继续存在，两次进样间用强溶剂冲洗色谱柱
	样品定量管清洗不当	两次进样间冲洗样品定量管
	注射器脏	使用干净的注射器，冲洗进样口
	柱被污染	清洗柱或更换柱
	进样装置被污染	冲洗进样器和样品定量环，如需要，换密封垫和过滤器
	流动相中含有稳定剂/稳定剂变化	使用无防腐剂溶剂
色谱图中出现个别鬼峰	样品降解	参见上述“色谱图中出现多个鬼峰”的故障排除方法
	分辨下降	进行色谱仪性能试验
	使用了错误的流动相	确认流动相对样品的合适情况，换新批号流动相 如果问题发生在高压系统，将会有样品沉淀

续表

症状	可能原因	解决方法
(二)定量结果		
准确度 降低	峰高/峰面积积分值不正确	设下列参数： (1)样品量； (2)换算比例； (3)内标物量； (4)保留时间 经适当变化后，重新进标样提高试验精度
	样品预处理时样品降解或样品不纯	参见上述“色谱图中出现多个鬼峰”的故障排除方法
	样品蒸发	样品密封保存在适当的温度下
	样品前处理不当	检查样品制备过程(浓度、溶剂过滤等)
	内标物配制不当	验证内标物配制/混合过程(称量和适当稀释)；配制新内标物
	进样问题(只对外标法而言)	随手动进样器的类型不同而异，取决于以下各种情况： (1)如果使用全部定量环的手动进样器，在进样前需在“取样”(load)状态下清洗三次； (2)如果使用部分定量环的手动进样器，进样量需少于定量环体积的50%； (3)如果使用注射器的手动进样器，必须确保进样操作重复； (4)如果使用自动进样器可以确保正确的进样体积，须注射器不含空气，样品瓶有足够的样品，系统不泄漏； (5)如果手动进样器、自动进样器都使用，应确保流路的平衡
精密度 下降	峰积分不正确	参见上述“准确度下降”的故障排除方法
	进样问题	参见上述“准确度下降”的故障排除方法
	样品预处理时样品降解或混入杂质	参见上述“色谱图中出现多个鬼峰”的故障排除方法
	保留时间改变，峰形不正常	参见上述“峰形不正常”的故障排除方法
	检测器响应故障	参见上述“检测器”的故障排除方法

表 8-6 泵故障的排除方法

症状	可能原因	解决方法
泵不工作 (风扇不转,面 板灯不亮)	泵电源等连接不正常	检查各种连线、电源是否正常
	保险丝烧断	换保险丝
泵不能输送 溶剂	保险丝烧断	换保险丝
	泵与泵控制系统连接不当	正确连接
	泵低压限设置值高于操作压力	设置正确的压力限
	压力传感器故障	流速设置为零,调至压力传感器为零,修理/更换
	排空阀打开或泄漏	关闭排放阀,如果溶剂继续泄漏,更换密封垫
	泵头溶剂不互溶	用合适的溶剂冲洗泵,改用互溶性好的溶剂
	阀的进出口有脏物/失效	清洗
	密封垫圈损坏	检查,如果溶剂是由泵头后部泄漏或有益结晶析出表明柱塞密封垫损坏,换密封垫
	泵头有气穴现象(高压泵才有此现象)	(1)溶剂贮液器位置等于/低于泵的位置——抬高溶剂贮液器位置(高于泵); (2)泵入口管路松、弯曲或堵塞——检查管路,旋紧调直,更换; (3)溶剂脱气不适当——脱气/充氮气; (4)溶剂贮液器入口过滤器脏——清洗溶剂贮液瓶,清洗/更换溶剂入口过滤器,用 6mol/L 硝酸,水(重复三次),甲醇超声清洗过滤器; (5)管路内径太细——使用正确的管路
	脉冲阻尼器/高压噪声过滤器问题	检查泄漏处,更换脉冲阻尼器/高压噪声过滤器
	溶剂比例阀或混合器故障	清洗比例阀或混合器,若问题仍存在,更换
泵马达问题	与供应商联系	
线路板问题	与供应商联系	
泵头泄漏	泵柱塞密封垫磨损	更换
	泵柱塞磨损	修理或更换
	泵头太松	旋紧泵头两个螺丝,注意力量均衡,不要过紧
	阀进出口太松	旋紧(不要太紧)

续表

症状	可能原因	解决方法
排放阀泄漏	排放阀打开或损坏	关闭排放阀,如溶剂继续泄漏,更换密封垫
	溶剂管路损坏	更换
流速不稳/ 泵脉冲	溶剂脱气/通气保护不当	溶剂脱气/通氮气,重新平衡体系;注意氮气流量,避免带出流动相
	贮液器位置低/无溶剂	抬高贮液器位置,加溶剂
	泵头有气泡	排气泡,溶剂需脱气/通氮气,确保溶剂入口管路无气泡
	阀脏/失灵	清洗阀,确认溶剂通过过滤器,无沉淀析出当使用水和有机溶剂混合流动相浓度达到50%或更高时,缓冲液在阀上析出沉淀,沉淀量取决于溶剂和缓冲液的比例
	溶剂入口过滤器/入口管路阻塞	检查管路,如需要更换 清洗溶剂入口过滤器砂芯,用6mol/L硝酸,水(重复三次),甲醇超声清洗过滤器
	溶剂比例阀或混合器故障	清洗溶剂比例阀或混合器,如需要,更换
	泵柱塞密封垫漏(在泵头)	更换
	泵柱塞磨损	更换
	泵头溶剂不互溶	参见上述“泵不能输送溶剂”的故障排除方法
	泵头有气穴	参见上述“泵不能输送溶剂”的故障排除方法
泵电路故障	与供应商联系	
溶剂混合不当(梯度洗脱体系)	泵头溶剂不互溶	参见上述“泵不能输送溶剂”的故障排除方法
	溶剂比例阀或混合器故障	清洗溶剂比例阀或混合器,如需要,更换
	泵后溶剂混合问题	参见上述“短期规划噪声”的故障排除方法
泵系统压力高	泵流量设置太高	设置正确流量
	泵传感器故障	流速设置为零,调至压力传感器为零,修理/更换
出现不正常机械噪声	泵密封垫干化	如果适用,重新洗柱塞,清洗系统;用适当的溶剂通过泵头的路径湿润柱塞
	泵柱塞密封垫硬化	更换
	密封垫不合适	更换

表 8-7 进样器故障的排除方法

症状	可能原因	解决方法
(一)手动进样器故障排除		
进样口泄漏	进样口问题	调整/更换密封垫
	进样针规格与进样口不一(大或小)	使用合格的注射器
	注射器问题(如弯曲或类端起毛刺)	检查注射器,如果损坏更换,另外更换进样口密封垫
进样器转子泄漏	旋转转子螺丝需重新拧紧	用专用工具旋紧转子螺丝(不要过紧);如果继续泄漏,更换
	旋转转子表面磨损	更换
受压螺丝处泄漏	零部件太松/紧	检查接头与垫圈,如需要,更换
样品进样问题(如进样困难,出现不正常峰形)	进样口阻塞或管路弯曲	检查阻塞情况,清洗进样器,如问题仍存在,修理
	注射器问题(如弯曲或尖端起毛刺)	检查注射器,如果损坏更换,另外更换进样口密封垫
	旋转密封垫问题	更换
	注射器堵塞	清洗
样品残留	样品定量环冲洗不当	两次进样间用流动相冲洗样品定量环
	注射器脏或进样口脏	使用清洁注射器,清洗进样口
(二)自动进样器故障排除		
自动进样器不能工作(风扇和前面板灯不亮)	电源连接不正确,未与控制系 统连接	正确连接
	气压问题(气体驱动自动进样 器)	确认空气压力管路的正确连接,检查空气压力调节器,设置在适当的工作范围
	样品架问题	与供应商联系
	电路问题	与供应商联系
流路系统泄漏(针、进样器、密封部件、流路部件)	受压配件太松/紧	检查接头与垫圈,如需要,更换
	密封垫问题	更换
	流路部件问题	更换
	进样针损坏	冲洗自动进样器针头,如问题继续存在,更换进样针部件和密封垫
洗针系统泄漏	注射器阻塞/损坏	更换
	受压配件太松/紧	检查接头与垫圈,如需要,更换
	流路阀问题	更换
	洗针泵问题	更换
样品进样问题(如不进样,出现不正常峰形)	自动进样器从针头清洗溶剂瓶 吸溶剂	降低针头清洗溶剂瓶位置
	进样阀问题	清洗自动进样器,如问题继续存在修理/更换阀
	样品中有颗粒导致针头堵塞	清洗自动进样至针头不堵,如果问题继续存在,更换部件
	注射器或样品定量环装置中有 气泡	清洗自动进样器,如果气泡不易排除,说明当注射器针头刺穿样品垫时产生了真空(说明密封垫太紧)

续表

症状	可能原因	解决方法
样品进样问题(如不进样,出现不正常峰形)	从空的样品瓶中进样	检查进样样品瓶的位置,从瓶号正确的样品瓶中进样
	样品瓶中样品不够	查明允许进样的最小体积,进样量要大于该体积
	进样口顶端螺母太紧(产生真空)	旋松
	样品黏度太大	稀释样品或慢速抽取样品
	进样器密封垫问题	更换
进样器无溶剂流过	进样器未与泵连接	正确连接
	进样阀位置错误	按原来阀位重新操作,如果问题继续存在,修理/更换
	进样阀阻塞	冲洗,如果问题继续存在,修理/更换
	自动进样器前段或内部泄漏	检查泄漏处旋紧接头,如果仍有泄漏,要查明接头或垫圈的磨损情况,需要时,更换
	自动进样器清洗时阻塞	参见操作手册
由于自动进样器产生的系统压力高	样品中有颗粒导致针头堵塞	参见上述“样品不进样,出现不正常峰形”的故障排除方法
	进样阀阻塞	冲洗进样器,如果问题继续存在,修理/更换
	自动进样器与柱之间管路堵塞	检查连接管路,更换阻塞管路
	样品定量环节流阀阻塞	用以下方法: 将自动进样器进出口连接部件逆流冲洗,这样溶剂将由进样器出口管路进,进口管路排放; 确认基本流路是闭合的; 逆流冲洗节流阀清除阻塞物; 用以上方法后,如果问题继续存在,更换节流阀
	样品与流动相不互溶	为验证其溶解性,取样品和流动相于试管中观察溶解情况,如果需要,对样品进一步稀释或改变流动相
	自动进样器过滤器阻塞	清洗/更换
样品残留	进样体积太大	减少进样体积或安装一个体积更大的样品定量环
	样品进样问题	样品进样分析后,再进溶剂空白样进行对比,如果样品遗留问题继续存在,则可能是由于进样针清洗系统的问题(见下条)
	针头清洗系统问题	更换清洗针头的溶剂; 重新接好针头清洗系统; 更换被污染的砂芯
进样体积错误	瓶中样品量不够	查明允许进样的最小体积,进样量要大于该体积
	注射器泄漏	修理/更换
	样品黏度太大	稀释样品或慢速提取样品
	样品瓶中产生真空	从样品瓶中移去少许样品,或旋松样品瓶盖
针头弯曲	针头从样品瓶盖中不能拔出	去掉样品瓶盖,更换新的隔膜垫盖更换弯曲针头
	隔膜垫阻力太大	在同样位置从无盖样品瓶中进样,以证明隔膜垫阻力太大,换稍薄一些的垫 注意隔膜垫是一次性使用 更换弯曲针头

表 8-8 色谱柱故障排除方法

症状	可能原因	解决方法
柱产生的系统压力大	柱入口/出口阻塞	清洗入口/出口砂芯和色谱柱;如果问题继续存在,更换砂芯和色谱柱
	柱性能下降	进行柱性能试验(测 $N$ 值),如果柱效下降(与新柱比),换柱
	连接管路阻塞	更换
峰形问题	柱未能平衡	使柱有足够的时间平衡,如对离子对试剂需要 100 倍柱体积以上的溶剂进行平衡
	柱被污染	清洗柱,需要时更换
	柱性能下降	进行柱性能试验(测 $N$ 值和 $k'$ 值),如果容量因子 $k'$ 值超出范围或 $N$ 值太低(与新柱比)更换柱
	管路内径不正确,管路切割不当,各种接头和垫圈等使用不当	进行系统峰宽试验,如果结果不理想,检查管路内径、管路切割和各种接头/垫圈的一致性,如需要,更换必要的部件
	室温变化	使用柱温箱控制温度

表 8-9 检测器故障排除

症状	可能原因	解决方法
检测器不工作(风扇不转和面板灯不亮)	电源连接、保险丝等问题	检查各种连接线、保险丝
外控制器不能控制检测器	检测器与外控制器没连接正确	确认正确连接
	电路板问题	与供应商联系
	保险丝烧断	更换
电源灯不亮(或参比能量故障)	灯问题	更换
	灯选择错误(检测器中有多个灯)	检查开关设置,打开正确的灯
	参比池被污染	清洗参比池: (1)用互溶性好的溶剂清洗参比池,最后用甲醇清洗 (2)通氮气/氦气于检测器入口将参比池吹干
电源灯连接烧坏	灯电源部分问题	与供应商联系
	安装氙灯时在灯上留下了污点或指纹	仔细按照检测器操作手册上给出的安装程序进行操作
检测器无响应(基线笔直、无峰)	灯烧坏	更换
	检测器参数设置错误(如波长、灵敏度等)	设置正确的参数
	检测器与数据处理系统信号线连接错误	检查各连接线,正确连接
	检测器输出没回零	检测器基线调零
	灯选择错误(检测器中有多个灯)	检查开关设置,打开正确的灯
光电二极管问题	更换	

续表

症状	可能原因	解决方法
检测器无响应(基线笔直、无峰)	检测池/参比池脏或被污染	清洗流通池: (1)卸柱,安装一段连接管; (2)对于缓冲溶液用 100% 水,100% 甲醇(如果与流通池中遗留溶剂互溶)冲洗,再用 100% 水冲洗; (3)对于非极性溶剂用 50/50 四氢呋喃和水(如果与流通池中遗留溶剂互溶)冲洗,再用 100% 四氢呋喃冲洗 如果问题继续存在,用强溶剂冲洗
	溶剂漏进参比池	修理/更换流通池
	参比池清洗不当(仅 RI 检测器)	清洗参比池,确认流通池中参比和样品两路的流动相达到平衡
	检测器光路未平衡(仅 RI 检测器)	参见检测器操作手册
	激发或发射波长设置错误或波长滤色器问题(仅荧光检测器)	使用合适的滤色器,确认波长准确性,满足检测要求
检测器无响应(基线笔直、无峰)	激发或发射滤色器使用老化(仅荧光检测器)	更换滤色器
	溶解氧使样品响应淬灭(仅荧光检测器)	对某些特殊化合物溶解氧( $10^{-3}$ mol/L)能使荧光强度降低 20% 流动相脱气/通氮气使溶解氧排除
	电路问题	与供应商联系
样品或标样灵敏度变化(仅 UV 检测器)	检测/参比池脏或被污染	参见上述“检测器无响应(基线笔直、无峰)”的故障排除方法
	流通池泄漏	参见上述“流通池泄漏”的故障排除方法
	光电二极管问题	更换
	流动相被污染	放弃使用被污染的流动相并且: (1)清洗溶剂贮液瓶,清洗/更换溶剂入口过滤器,用 6mol/L 硝酸,水(重复三次),甲醇超声清洗过滤器; (2)使用 HPLC 级试剂; (3)重新平衡系统
	流通池附着大气泡	排除气泡,清洗检测器、流通池或逆流清洗为预防气泡产生流动相应充分脱气
	流动相有强吸收杂质	参见上述“检测器无响应(基线笔直、无峰)”的故障排除方法
样品和标样灵敏度都改变	光电二极管问题	更换
	灯问题	用检测器诊断程序检查灯能量,如果能量低于指标要求(与新灯比),更换灯 有些检测器能够调节灯能量以补偿能量损失
	流通池泄漏	参见上述“流通池泄漏”的故障排除方法
	单色器问题	与供应商联系
检测器过热	脏物进入过滤器	清洗过滤器
	清洁和散热不够	检测器周围清洁、散热良好
接头处泄漏	流通池密封垫问题	更换密封垫,如果泄漏继续存在,更换流通池
	流通池阻塞/损坏	仔细逆流清洗检测器流通池,如果流通池损坏或破碎,修理/更换

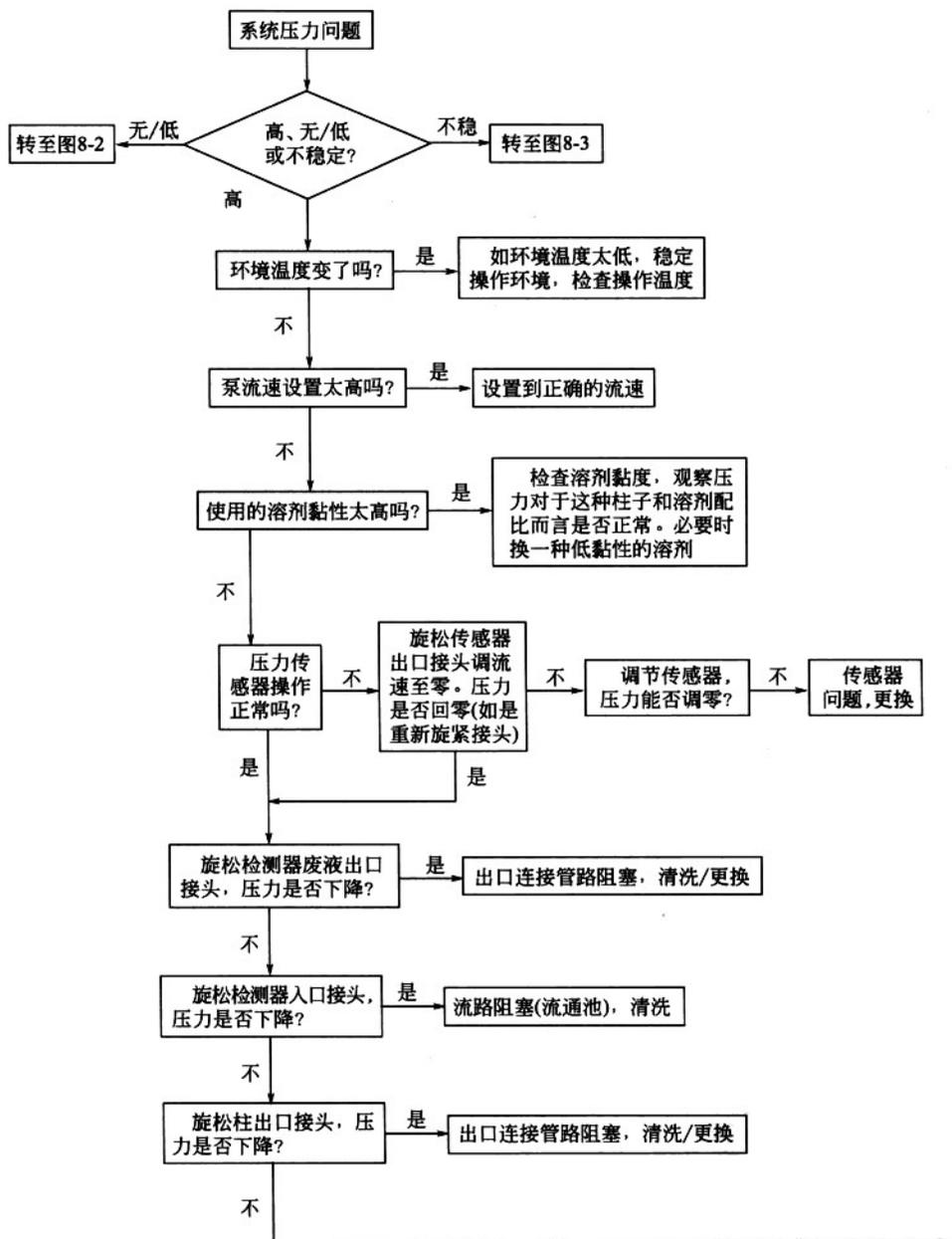
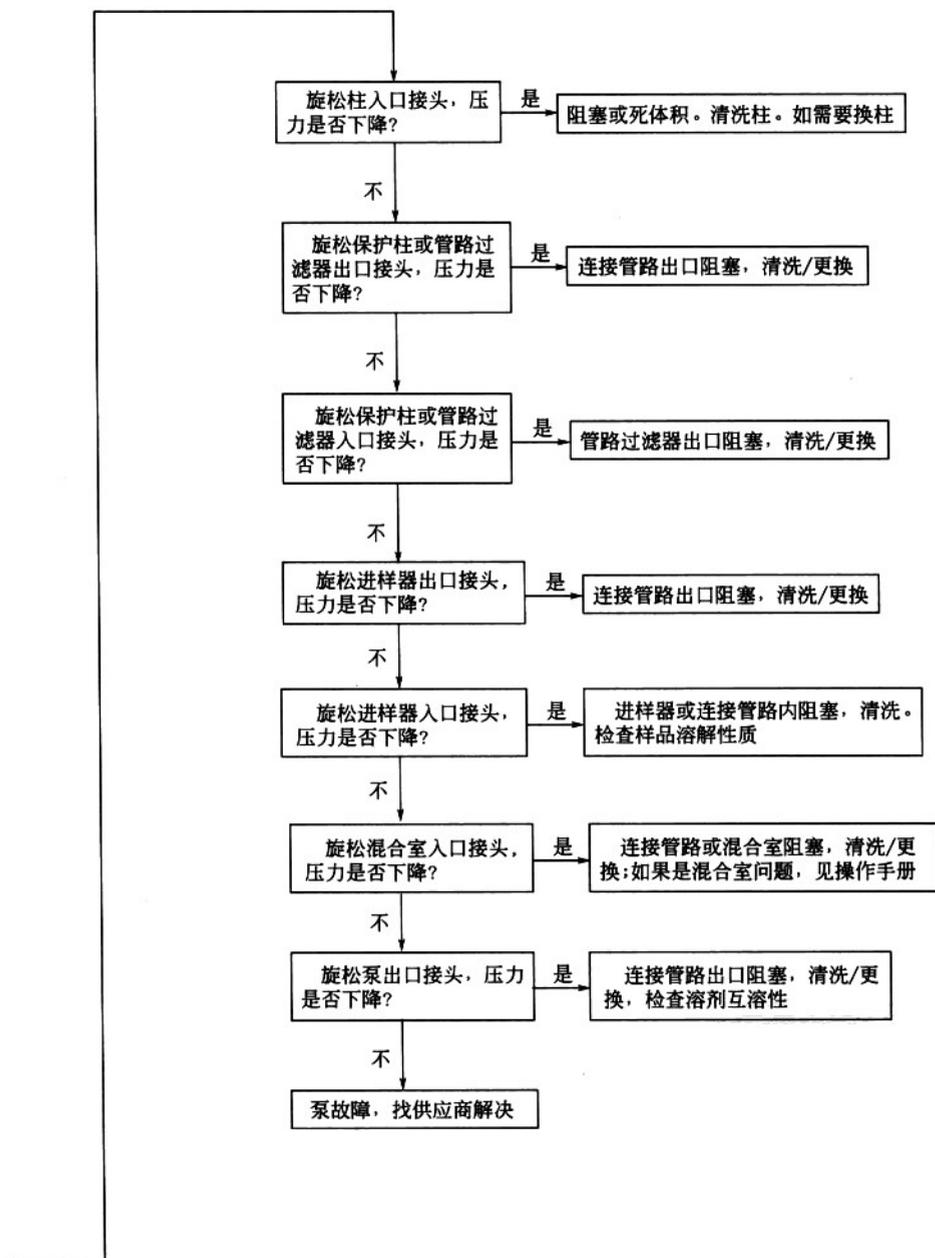


图 8-1 系统压力的故障



排除判断

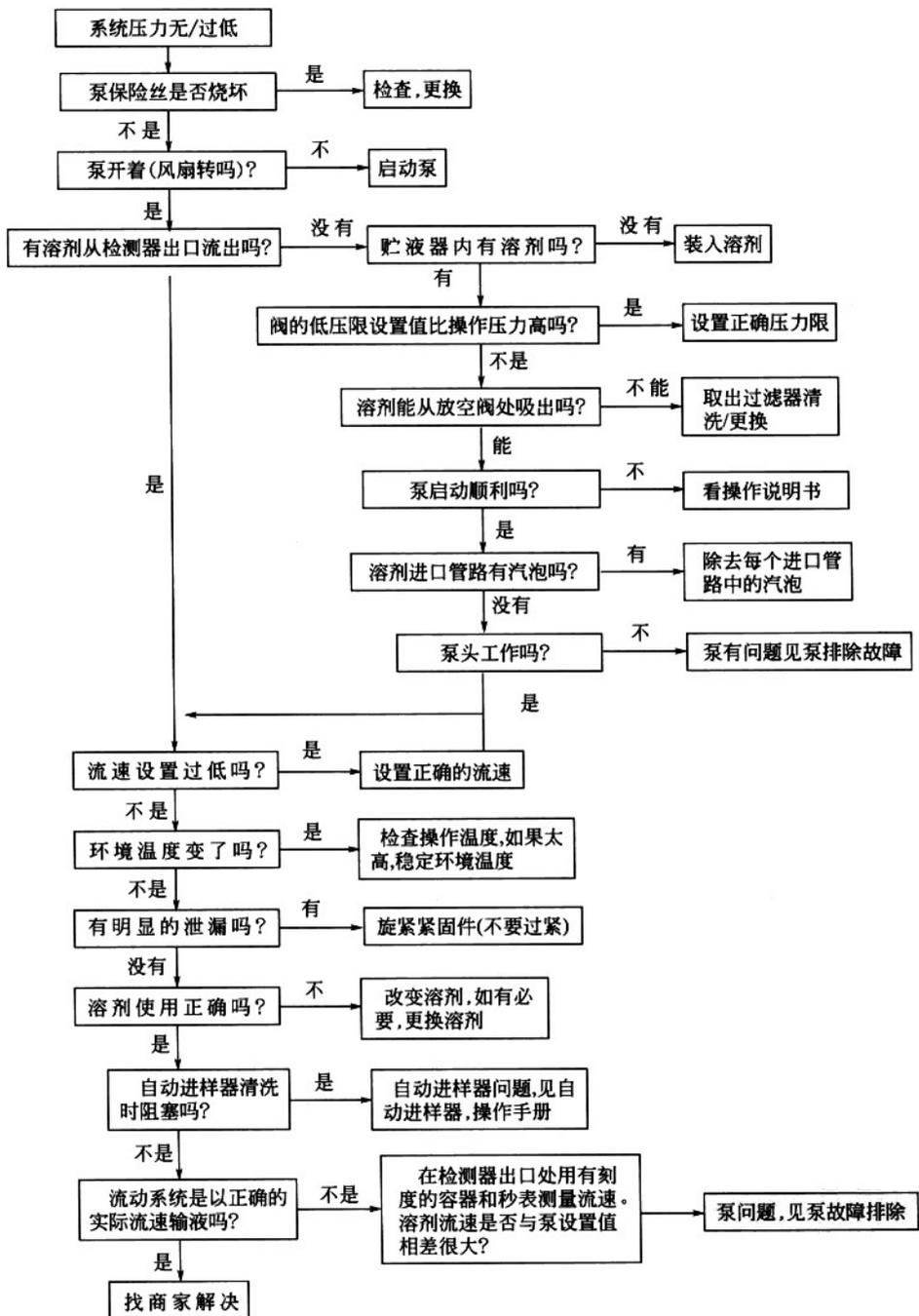


图 8-2 系统低压故障

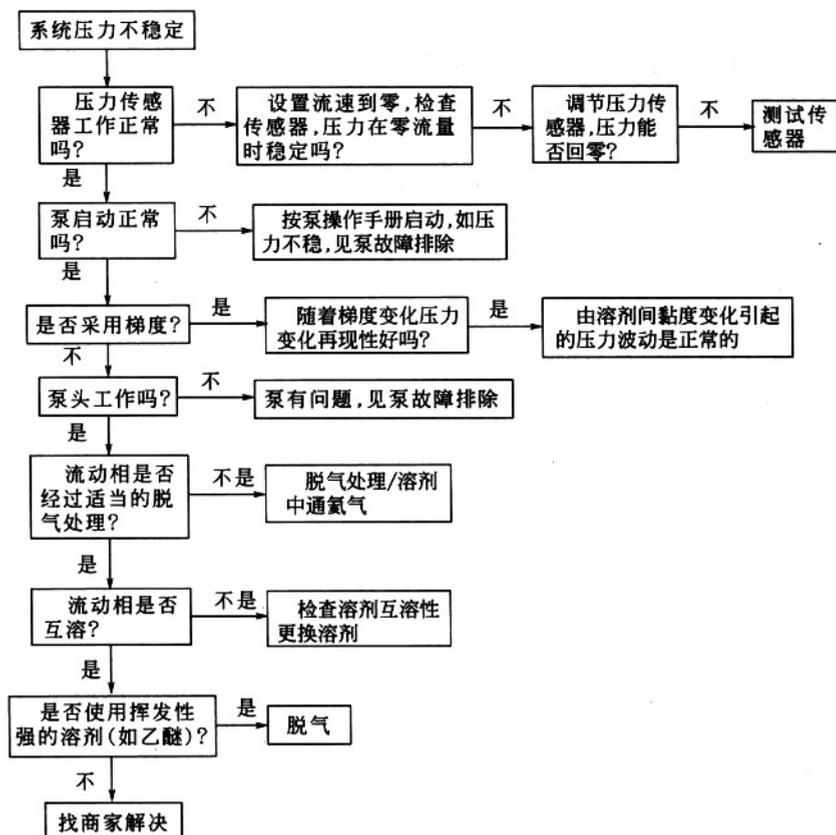


图 8-3 系统压力不稳的故障判断与排除

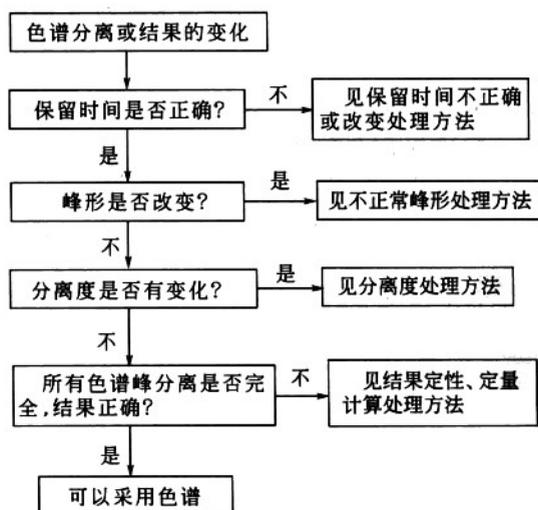


图 8-4 色谱分辨/结果变化故障判断与排除

些故障排除表的编排按照故障现象的分类（包括整机、部件、色谱图、引起原因等）加以整理，在许多情况下可能有重复描述。这是因为一种故障症状的出现，往往是由许多种原因所造成，可以从色谱图中得到信息，也可以从各部件的运转情况推测，直至操作者运用自己的全部知识与经验进行综合分析、推断，并通过各种可能的尝试，做出正确的判断。

为了更加直观地快速判断问题所在，尽量使用各种图表形式。

## 二、故障排除表的使用

为了使得故障的判断与排除变得更容易，在本节中，列出了系统压力高、系统压力低、系统压力不稳、色谱分辨/结果变化等分析判断图（图 8-1~图 8-4）。

## 第二节 峰形问题

色谱分析的焦点是色谱图。不管分析什么类型的样品，常常碰到色谱峰形不对称或峰形变异、宽峰、与邻近的峰分不开，有时还会有意想不到的色谱峰出现在色谱图中；偶尔也可见到倒峰；样品间的保留时间也会变化。样品在分离过程中可能会发生化学反应，引起峰畸形或流出物回收率低等。而上述这些故障并不是因为仪器和运行程序的错误所引起。

在色谱系统中进了大量的样品后，大多数色谱工作者都碰到过如色谱峰拖尾和峰畸形的问题，也都曾用过不同的方法解决这些问题，但尚未发现有人找出这些问题的原因以及解决这些不正常现象的最佳方案。本节将对分离和化学方面的问题进行简要介绍，对一些问题给予初步说明，有关色谱分离理论知识可以参见本丛书的其它有关分册。

所谓畸形峰就是严重的非高斯峰。仔细研究一下色谱图，还可揭示出其它异常的类型。例如按常规峰宽应该在色谱图上从头到尾以正常顺序增加，也就是说，同一张色谱图上不同峰的塔板数大致相等。但是常常看到有一个峰或几个峰比某一侧的峰明显宽些，也有个别峰表现出明显拖尾，而又不是所有的峰都拖尾。

综上所述，所谓不正常峰有两层意思，一是色谱图上所有的峰都不正常，而且不正常现象一样，如都拖尾或都是前延峰；一是谱图上有个别峰不正常。

畸形峰是色谱实验工作中最棘手的问题。图 8-5 所示是几种典型的非高斯形的峰。这些峰将严重影响色谱分析的结果。色谱图中不可能有纯正的高斯对称峰，轻微的拖尾是正常的，这是由分离系统所决定的。组分分子在填料微粒周围的孔隙间运动情况，决定了所有的组分分子不会同时到达柱的终点。在色谱图中发生了严重拖尾应校正过来，但要查清原因可能是困难的，可以运用逻辑分析和

实践经验，再结合参考文献，得出好的结果。拖尾峰或畸形峰的定量是困难的，数据系统对这些峰不能精确测量，所得结果的准确度和精密度也都不理想。拖尾峰的分离度差，好的分离度是建立色谱方法的基础，受干扰的分离度使结果不准确。在色谱图上有大峰特别危险，其尾巴会盖住后面出来的小峰。一旦出现了拖尾峰，不要再串联柱以求增加塔板数，那样拖尾将更严重。

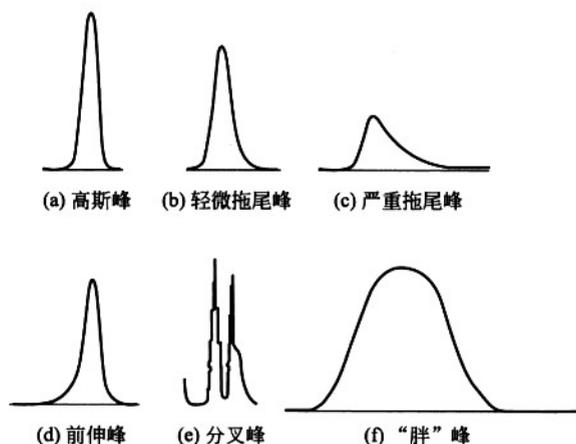


图 8-5 典型的非高斯峰

实验中常见到不同柱间的相对保留值各不相同。如果能限制色谱峰拖尾，通常能明显地减少柱间的差异性。在实际实验中能容忍峰拖尾到什么程度？前面已提及，没有绝对对称的色谱峰，在分析生物样品中峰不对称的情形更严重。用峰不对称因子  $A_s$  来衡量峰拖尾的程度有重要意义， $A_s > 2.0$ ，则分离不符合要求（图 8-6）。

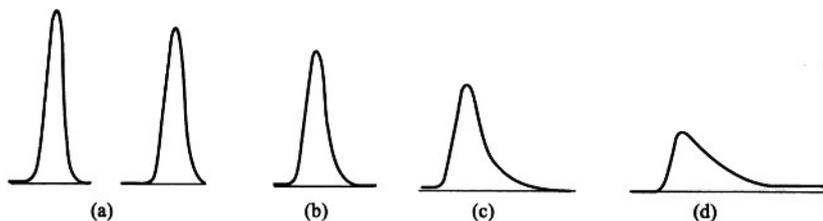


图 8-6 峰不对称因子

- (a) 高斯对称（很好）， $A_s = 1.0 \sim 1.05$ ；(b) 轻微拖尾（可以接受）， $A_s = 1.2$ ；  
 (c) 严重拖尾（不可接受） $A_s = 2.0$ ；(d) 可怕的拖尾（绝不能接受）， $A_s = 4$

峰不对称是由多种因素造成的，诸如色谱系统、柱、进样程序、流路系统和样品组成等。液相色谱系统中可选用两种极端的方法检查峰不对称的情况。第一，用厂商所规定的试验系统检查新柱：流动相为甲醇-水（体积比=50：50），流速 1mL/min，样品为乙基苯，这是一种理想的条件，如仪器系统无问题， $A_s$

值应当在 0.9~1.2 之间。在柱接到系统中的时候，注意不要造成意外的故障，诸如压力突然升高，系统污染等。第二，进实际的样品，如生物样品，此时对色谱峰的不对称性要求低一些， $A_s$  达到 1.3 或再大些也是可接受的。如果  $A_s > 1.5$  时，则要检查有什么不对的地方，可能付出很艰苦的努力，才能减少峰拖尾。

① 引起峰拖尾可能的原因列于表 8-10 中，找到了大概的原因再考虑下一步。

② 拖尾模式。全部拖尾或部分拖尾。在色谱图中从开始到结束色谱峰的拖尾是否有规则的变化。

③ 化学的影响。从表 8-4 中查找峰拖尾的特殊原因，要与化学分离相联系——用的什么液相色谱方法、样品的结构如何、流动相的组成及 pH 值是多少等，以及在分离的条件下样品是否呈离子型？

表 8-10 不同原因造成的峰拖尾

1	坏住(烧结片阻塞、柱头塌陷)	6	强保留基质(正相或离子交换)
2	样品过载	7	次保留效应
3	溶剂与样品不匹配	8	缓冲液不合格
4	柱外效应	9	其它方面的影响
5	前延峰	10	假拖尾

④ 试着解决问题。针对每种类型的拖尾峰试着用专门的方法确定并解决拖尾。

⑤ 反复验证。如果克服了拖尾现象，应验证一下有关的故障，解决的方法是否正确。最后才进行实际的分离。

为了减少盲目性，可从表 8-10 中的第 1 项（坏柱）依次向下查对。

### 第三节 坏 柱

“坏柱”是指柱有某些缺陷，原因是多方面的，可能填料被溶蚀或柱头压得过紧引起柱头塌陷，或者柱头过滤片被微粒所阻塞。在色谱柱一章中还讨论了其它的原因：①柱上有滞留酸、碱或离子化分子的活性部位；②前面样品中的强滞留组分污染柱；③柱与色谱系统不配套（小体积或微径柱）；④柱效低；⑤保留性质的改变。以上这些原因都与峰拖尾有关。柱头过滤片阻塞或塌陷是最常见的故障。所幸的是这类故障有明显的迹象，易于鉴别，也最易解决。

柱损坏的第一迹象是峰拖尾或畸形，而且在色谱图中每个峰的形状都一样，参阅图 8-7。有时会突然出现峰拖尾，也可能经过一段时期慢慢形成，但都是趋

向于越来越坏。为了谨慎起见，在动手解决故障之前可用厂商规定的条件（如乙基苯）试验一下，如确实与实际的样品峰（拖尾）一样，则建议用下列方法解决。

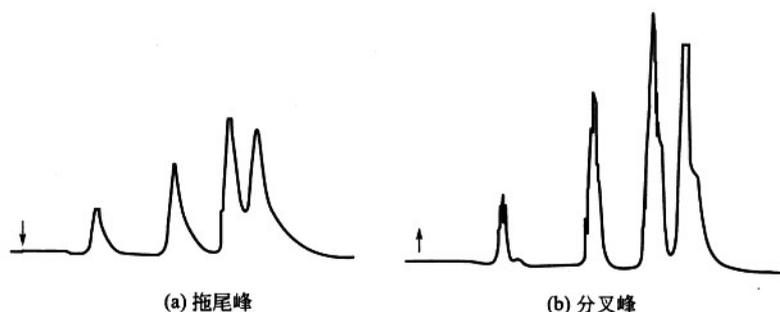


图 8-7 拖尾峰和分叉峰

(1) 倒柱并清洗 拆下柱，原柱头作尾反接于泵上直接冲洗，不要接到检测器上，避免流通池被污染。冲洗 30min 后（1mL/min~2mL/min）接上检测器（不必再正过来），进原来拖尾的样品。有些柱倒过来不稳定，可能搅动柱床，故要详细地看说明书或从厂商处获得更多的资料。如反复进样三次后拖尾消失，压力也跟着下降，在未影响分离效能的情况下继续操作下去。

(2) 换烧结过滤片 柱倒过来逆向冲洗未能解决问题，或者发现峰拖尾后，不要光倒柱反冲。而是从系统上拆下柱，仔细拧开原柱头，取出过滤片，检查填料是否凝结（约 1mm 多一些）或塌陷（柱头表面有孔）。如果柱头是平整的，换新过滤片重新拧上接头，将柱仍按原来的流向接到系统上用流动相冲洗 30min（1mL/min~2mL/min）后进样。进样几次后压力可能降下来，峰也不拖尾了。应注意的问题是，换下的阻塞过滤片应扔掉，千万不宜清洗后再用。

(3) 补柱头孔穴并倒柱 这一操作已叙述过。柱填料凝结或塌陷明显，可挖去凝结块或污染的填料，用新填料补平，可延长柱寿命并基本上能恢复到原来的柱效水平。为使柱头的填料更平整稳定，可将柱倒向操作，但这是以损失柱效为代价的。

(4) 报废 如果上述三种方法都试验过，压力仍然不降，峰还拖尾，再经进一步处理，仍然无望恢复到可接受的柱性能，只好弃去旧柱换新柱。

#### 第四节 样品超载

色谱图中出现一个或多个拖尾峰，而且又大于正常峰，可能是柱超载。样品超载一般有两种情况，一种是溶质的总质量大，超出柱线性容量范围，表现为保

留时间变小，峰形也有了变化，见图 8-8。另外一种情况是大体积进样，导致的样品体积超载，其典型的谱图如图 8-9 所示，具体表现为保留时间延长，色谱峰拖尾。如果怀疑样品量过载，最简单的验证方法是将怀疑超载的样品稀释一定倍数或者是减少进样体积后再进样，同时放大检测器的灵敏度（或者在工作站软件上放大）相同的倍数。此时峰形比原来的峰更对称，而且保留时间增至正常值，说明样品超载。

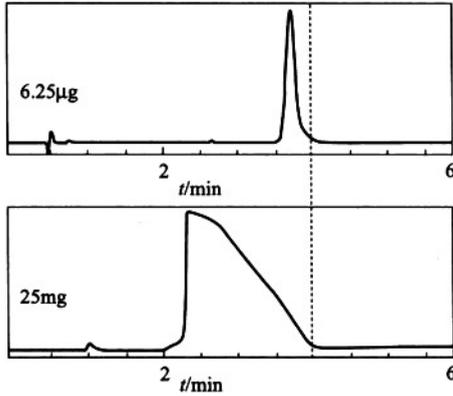


图 8-8 样品质量超载

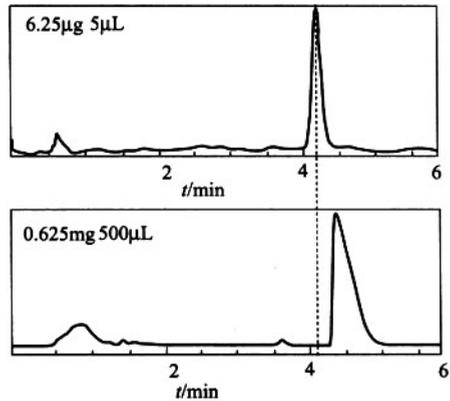


图 8-9 样品体积超载

样品超载在常规的液相色谱分析中不算什么问题。但在柱超载的同时检测器也会超载，特别在低波长或吸收峰的陡峭处的波长测量非线性更严重，会导致“胖”峰，怀疑检测器超载，应该用标准品测定线性范围。检测器超载会使浓度与峰高呈现明显的非线性关系。

## 第五节 溶剂与样品不相配

溶解样品的溶剂的种类和体积适当，才能获得好的分析结果。用溶于流动相的小体积样品进样最理想。多数情况用大体积弱溶剂溶解样品，如用  $100\mu\text{L} \sim 500\mu\text{L}$  水溶解样品做反相分析。用比流动相洗脱能力强的大体积样品进样，通常会降低色谱图的质量。在图 8-10 中，用硅胶正相分离，流动相是 0.5% 二氧六环-异辛烷。如用二氧六环溶解样品，溶解样品的溶剂比流动相强，进样  $100\mu\text{L}$ ，结果看到 3 个峰，而不是两个峰，多了一个多余的零头峰。峰形变怪，第二个峰最宽，最后一个峰最窄。若用流动相溶解样品进样就会出两个正常的峰。

还有一个样品溶剂致峰畸形的例子：用 18% 乙腈-水作流动相反相分析咖啡因和水杨酸，若用强溶剂（乙腈）溶解样品进  $30\mu\text{L}$ ，峰变宽且分叉，用流动相溶解就完全正常，见图 8-11(a)、(b)。用硅胶柱正相分离十甲基季铵盐，流动

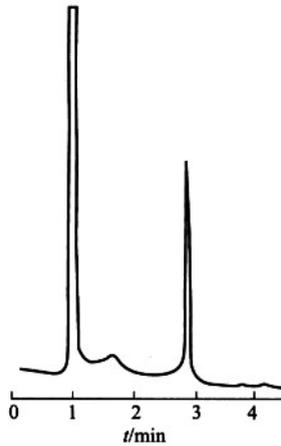


图 8-10 强溶剂溶解样品的影响 (一)

相为 8% 二氯甲烷-正己烷, 若用二氯甲烷 (强溶剂) 溶解样品出分叉峰, 用流动相溶解, 峰形正常, 见图 8-11(c), (d)。

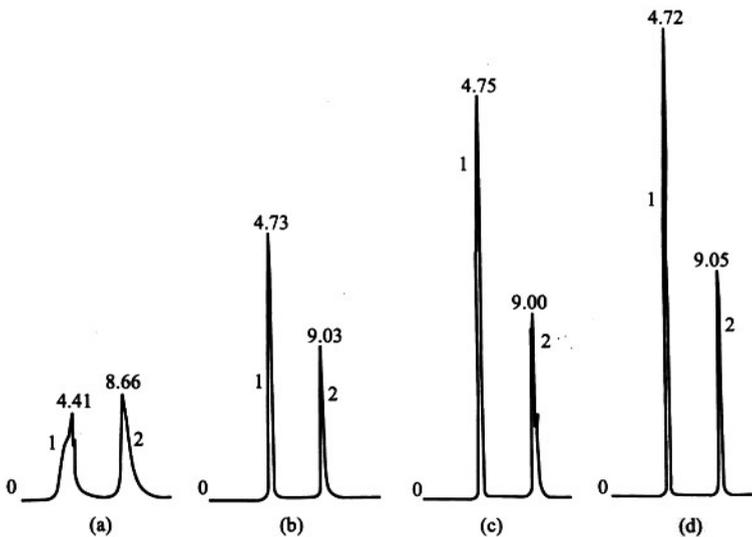


图 8-11 强溶剂溶解样品的影响 (二)

(a)、(b): 1—咖啡因; 2—水杨酸; (c)、(d): 1,2—十甲基铵盐同系物

图中峰保留时间, 单位为 min

除了考虑溶剂强度外, 还应考虑样品的进样体积, 特别在样品溶于强度明显大于流动相强度时更应注意。例如, 准备进  $100\mu\text{L}$  甲醇溶解的样品, 用 30% 甲醇-水作反相分离时, 应考虑到有问题。一般认为, 柱规格  $(15\sim 25)\text{cm} \times 0.46\text{cm}$  进  $25\mu\text{L}$  以下的强溶剂样品无问题, 小体积柱需按比例减少样品体积。

但无论如何都应做试验。如认为 25 $\mu$ L 甲醇溶解样品会有问题, 可做如下试验。

(1) 重新进小体积样品。如进 5 $\mu$ L~10 $\mu$ L 样品看色谱图的变化(相应调整检测器衰减, 以求得相似于 25 $\mu$ L 样品的峰高), 如两张色谱图相同(指 5 $\mu$ L 和 25 $\mu$ L), 说明样品溶剂可能无影响。

(2) 用弱溶剂稀释样品, 用弱溶剂稀释溶于强溶剂中的样品。可按 4:1 的比例, 进原样品的 5 倍体积、看溶剂引起的问题。如上例, 30% 甲醇-水作流动相, 现用 20% 甲醇-水稀释样品至 125 $\mu$ L 并进样, 代替原来用 25 $\mu$ L 甲醇溶解样品。

用上面的试验结果, 一般能发现并可避免溶剂方面的问题。关于进大体积样品可能出现“胖”或平头峰, 将在下面讨论。

应遵循下列规则选用溶剂溶解样品。

(1) 理想化 最好用流动相溶解样品进样 10 $\mu$ L~15 $\mu$ L。

(2) 实际操作 用大体积弱溶剂溶解样品, 如反相色谱中用水溶解样品进样 100 $\mu$ L~500 $\mu$ L, 主要缺点是每次进样后在色谱图的开头出现大的负峰, 有时还波及到样品峰。

(3) 需要时 用 10 $\mu$ L~25 $\mu$ L 强溶剂溶解进样。

## 第六节 柱外效应与强保留基质

### 一、柱外效应

现在多数液相色谱系统趋向于使用小内径和小颗粒填料柱, 柱外峰宽效应对色谱图上靠前面的峰有不良的影响(塔板数和峰形)。可见, 小  $k'$  值峰拖尾。 $k'$  值增加, 不对称因子减少, 参见图 8-12。这在一般情况下无问题, 因为可以调整有关峰的  $k'$  值在 1 到 10 之间的变化。但对多组分的样品, 要调整  $k'$  值就不那么容易。

如果柱外峰宽效应十分严重, 并影响到有关峰的形状, 则要采用柱外体积低的液相色谱系统, 或重新调整原系统, 以减少柱外体积。一台设计优良的液相色谱系统, 柱外体积部位主要在检测器的流通池。有一些检测器采用小的流通池 (<2 $\mu$ L), 减少了柱外效应, 但同时也降低了检测器的灵敏度。最后需要指出的是, 自动进样器同样能引起柱外效应。

### 二、强保留基质

正相(吸附)或离子交换色谱分离涉及到样品分子与柱填料表面的特殊基质的结合。例如硅胶上的硅醇基, 阳离子交换树脂上的磺酸基, 有些与样品分子处

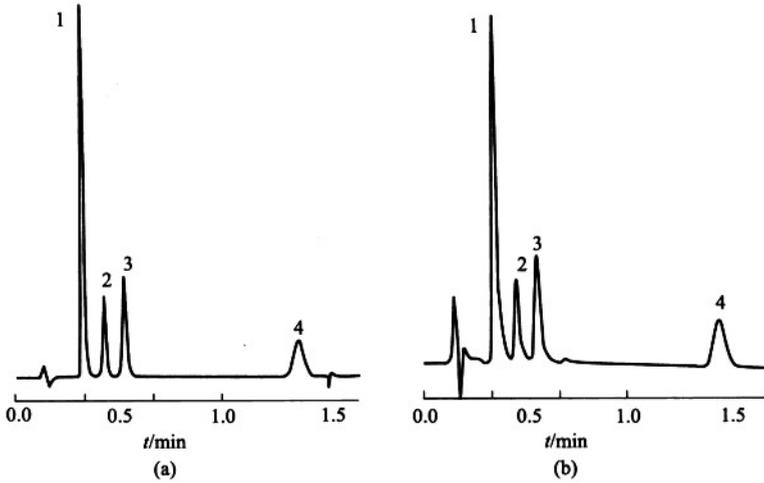


图 8-12 柱外效应逐渐增加时峰形的变化趋势  
(a) 柱外体积较小；(b) 柱外体积较大

于特殊的强交换作用的有利位置。强基质常以低浓度的形式存在，仅是全部基质的一小部分，而且会首先被样品分子所占据。只剩下弱基质保留样品分子。所以正相或离子交换色谱比其它类型的色谱更易过载。

强保留基质的另一特点是吸附  $k'$  值大的样品分子，强基质与强保留分子相互作用特别强。那些在色谱图上出峰较迟的样品会发生过早的柱过载， $k' > 10$  的峰较明显。色谱图中最后的峰首先过载，表现出拖尾。图 8-13 是阳离子交换色谱分离某些苯胺的衍生物，最后的峰形拖尾，较早出的峰的峰形尚可。

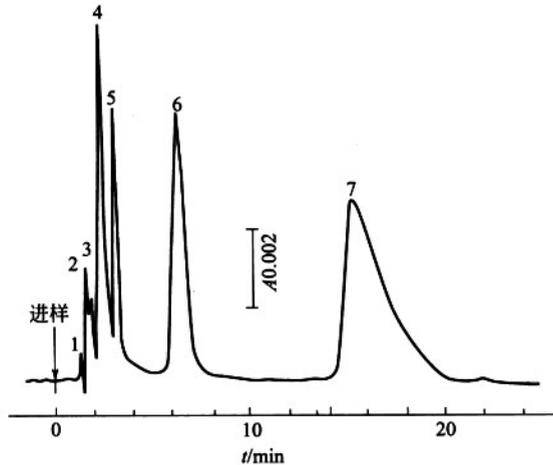


图 8-13 迟流出的峰拖尾

苯胺衍生物分离：流动相 0.2mmol/L 磷酸盐缓冲液，pH 2.9，25℃，进样量 10 $\mu$ L

在正相和离子交换色谱中，进小体积的样品有时可以克服峰拖尾，但以损失灵敏度为代价。最有效的办法是增加流动相强度，即减少色谱图中最后峰的  $k'$  值 ( $k' < 10$ )，若是在减少  $k'$  值时色谱峰分不开，建议改用梯度洗脱。

用硅胶作正相分离，能在流动相中加水以压缩强保留基质。用水失活的办法，可以改善迟出峰的对称性。

## 第七节 次级保留效应

在良好的色谱分离中，样品分子仅是以单一的保留作用被保留。如在反相色谱中，溶质与柱填料的非极性烷基链发生疏水性相互作用。但在以硅胶为基质的键合填料中，有些样品组分能与硅醇基团相互作用，这是次保留过程，使峰拖尾。有限的强基质被消耗掉，柱对有些组分过载、这些过载的组分继续与次级基质发生相互作用，发生作用后，脱附的过程很慢，引起了峰拖尾。在反相色谱中，次保留效应归结于不同类型的硅胶基团和柱填料中有痕量的金属杂质存在。

次级保留引起峰拖尾是最常见的，并且也是怪峰的典型例子。这种峰拖尾现象说明了柱与柱之间的差异，又涉及到填料的封尾等问题。

在反相色谱中，某些碱性组分可与两类硅醇基相互作用，保留强并拖尾。克服次保留最有效的办法是加入一些流动相改良剂，使之与次保留基质相互作用。如加低浓度 1mmol/L~20mmol/L 胺类（三乙胺）通常都是有效的。三乙胺能有效地限制硅醇基团对样品分子的作用，用较高浓度的三乙胺 30mmol/L~50mmol/L，也不会有影响。

酸性组分峰宽改变、不对称、拖尾，加三乙胺不能解决问题，此时的硅醇基团以碱的形式结合，而另一些可能以酸的形式结合。硅胶表面存在不同类型硅醇基团，在流动相中加 1% 的乙酸作为改良剂可减少酸性组分的次保留效应，一些酸性组分的峰形将获得改善。

### 一、加改良剂的规则

(1) 发现次保留引起峰拖尾，可在流动相中加相应的改良剂。改良剂的结构与样品组分的分子应相近，使其减少拖尾的效果呈一致性增加，用一般改良剂不能改善峰拖尾时，则需加特殊的改良剂，特别注意选用与样品结构相近的改良剂。

(2) 含有酸和碱两种组分的样品是一个特殊问题。在流动相中加乙酸盐，酸性组分的峰形得到改善，而碱性组分峰形变差。酸性改良剂加重了碱性组分的次保留效应。要解决此问题可试着在流动相中同时加碱性和酸性改良剂，如加 1%

乙酸盐和 10mmol/L 的三乙胺，可使有的组分成为对称峰形，而且柱与柱之间的保留也一致。即压缩了次保留效应，也就限制了保留的可变性，

因碱性组分常出现拖尾的问题，所以选择胺作改良剂可获得最小的次保留。系统的研究表明，烷基链短（甲基、乙基）的三乙胺是最有效的，三乙胺是很好的改良剂。但对某些柱，三乙胺无效，用  $R(\text{CH}_3)_2\text{N}$  的结构可能好些（这里 R 是己基或辛基）。

二甲基辛胺（DMOA）和二甲基己胺（DMHA）改良剂对抑制胺类样品的次保留更有效。但三乙胺是首选的。因为，第一，DMOA 和 DMHA 保留强，改变流动相时从柱中洗掉很困难，可能引起同一种样品重复进样时保留值的改变；第二，用 DMOA 和 DMHA 比用弱胺改良剂平衡的时间要长得多；第三，有人发现，用 DMOA 和 DMHA 作改良剂，在同一张色谱图上，有的峰形得以改善，有的峰形反而变坏。就好像某些带有毒副作用的特效药一样。所以选用 DMOA 和 DMHA 时要慎重，只有在三乙胺无效的情况下才试用。这些胺类改良一般使用浓度在 10mmol/L 左右。

图 8-14 比较了在流动相中添加 10mmol/L 的三乙胺之后化合物拖尾因子与峰形，可以看出拖尾基本消除。

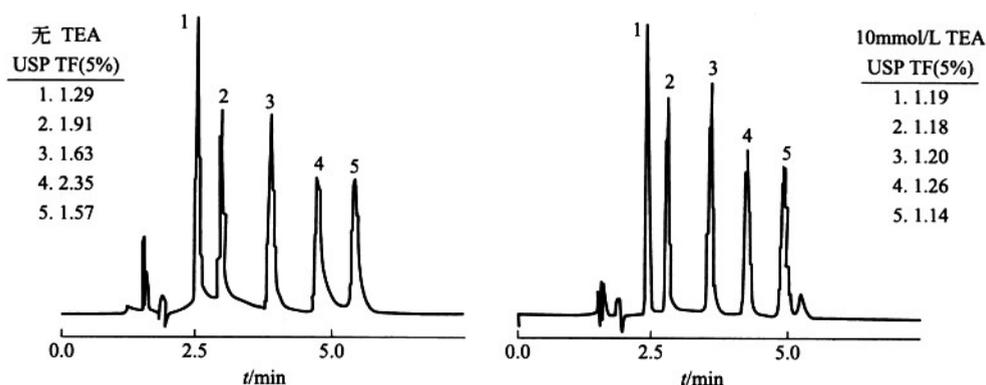


图 8-14 三乙胺添加剂对色谱峰拖尾的影响 pH 7.0

色谱柱： $\text{C}_8$ ，4.6mm×150mm， $5\mu\text{m}$

流动相：85% 25mmol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pH 7.0；15% CAN

流速：1.0mL/min

柱温：35℃

样品：1—Phenylpropanolamine；2—麻黄碱；3—安非他明；4—脱氧麻黄碱；5—5-羟色胺

## 二、产生次级保留的因素

### 1. 离子交换效应

质子化了的样品分子与离子化了的硅羟基发生离子交换产生次级保留效应，甚至在低 pH 流动相（pH=2.0）也会有离子交换效应，虽然其中多数硅醇已完

全酸化，但在低浓度的离子强度下峰仍然拖尾。例如用反相色谱分析某些苯胺类时，用 0.4mmol/L 的磷酸盐缓冲液，所有的峰都拖尾；如将缓冲液的浓度增至 2.7mmol/L 而不改变 pH 值，峰形明显的改变，见图 8-15。

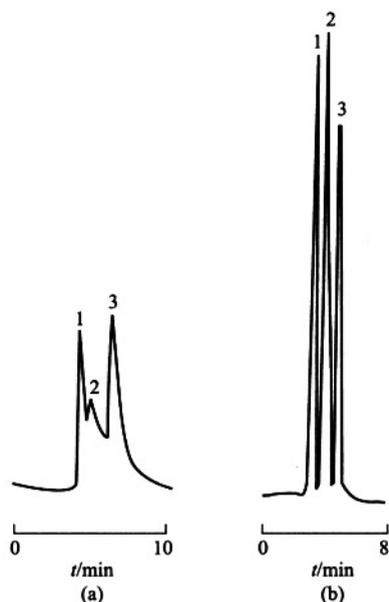


图 8-15 离子强度对次级保留的影响

色谱柱： $C_8$  柱，

流动相：45%的甲醇磷酸盐缓冲溶液，pH 3.6；(a) 含 0.4mmol/L 磷酸盐；(b) 含 2.7mmol/L 磷酸盐

## 2. 痕量金属

有些反相填料被金属如铁、铜、铝等所污染。金属引起的次保留看上去像上面提到的硅羟基在作用。这可通过以下例子来说明。用  $C_{18}$  柱分离二羟萘 (DHN) 的衍生物，2,3-DH 的异构体能与金属离子螯合，而 1,7-DHN 异构体不发生螯合。前者峰很宽且拖尾，后者峰较对称 (见图 8-16)。如果用金属螯合剂 EDTA (乙二胺四乙酸二钠) 将柱洗一遍，2,3-DHN 的峰型明显改善，因为 EDTA 去掉或隐蔽掉金属离子。某些样品与金属离子作用表现出明显拖尾，加三乙胺无效，可用 EDTA 洗柱或将 EDTA 加到流动相中 (电化学检测时常在流动相加 EDTA 去金属离子的干扰)，痕量金属在填料上呈现活性质点才会有影响，而且还要取决于样品分子的性质。

## 三、消除次级保留的方法

### 1. 正相色谱

正相色谱的次级保留可能由下列原因引起：①样品分子与硅胶上的离子化硅

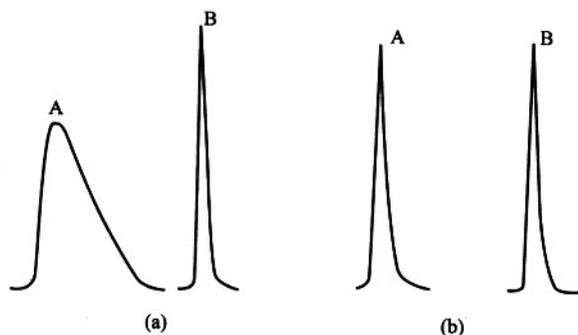


图 8-16 痕量金属对色谱柱填料污染形成螯合物造成的峰形比较  
 色谱柱： $C_{18}$ 柱；(a) 未经处理的色谱柱；(b) 经过 EDTA 清洗的色谱柱  
 流动相：乙腈-水（30：70）， $pH=6.7$

图中 A 峰变宽是由于样品为 2,3-二羟基萘（可形成螯合物）；  
 B 峰为 1,7-二羟基萘（不形成螯合物）

酸发生离子交换；②在极性键合相填料中样品分子与硅醇相互作用。分析碱性组分加 0.1% 左右的胺改良剂，分析酸性组分加 0.1% 左右的乙酸，可将次级保留降至最小。中性组分，如甾体和前列腺素，在腈基硅胶柱上趋向于拖尾，可加三乙胺或 0.2% 的水克服峰拖尾。

## 2. 体积排阻色谱

在凝胶过滤中，以水溶性流动相和硅胶为基质的填料最易发生次级保留效应，有离子排斥、离子交换和疏水（反相）结合三种作用。有可能拖尾，也可能不拖尾。

离子排斥：在高  $pH$  值（ $pH > 4$ ）条件下，以硅胶为基质的体积排阻色谱填料带有明显的负电荷，使硅醇基电离。如样品分子带负电荷会被排斥出来，样品保留减少。可采取如下措施：

①增加缓冲液的浓度或加盐，使盐浓度增至  $0.3\text{mol/L} \sim 0.5\text{mol/L}$ ，在硅胶表面包了一层反电荷，限制了离子排斥；②降低流动相的  $pH$  值，相应减少样品分子的负电荷，因而减少离子与硅胶表面的相互作用。图 8-17 比较了流动相  $pH$  值对色谱峰拖尾的影响。

离子交换：流动相的  $pH$  值超过 4，填料表面带负电荷，带有正电荷的样品分子因离子交换集中在微粒的表面，推迟了出峰的时间。可用类似于解决离子排斥的方法来处理：增加缓冲液和盐的浓度，减少样品因离子交换所造成的保留；增加流动相  $pH$  值，以减少样品分子的正电荷。

疏水结合：以硅胶为基质的填料带有疏水特性。这种弱疏水表面特别能与疏水的样品分子结合，引起样品分子保留过大。有两种解决的办法：加 5%~10% 的乙醇或异丙醇到流动相中，以增加其强度（针对疏水结合而言）；以多价盐代

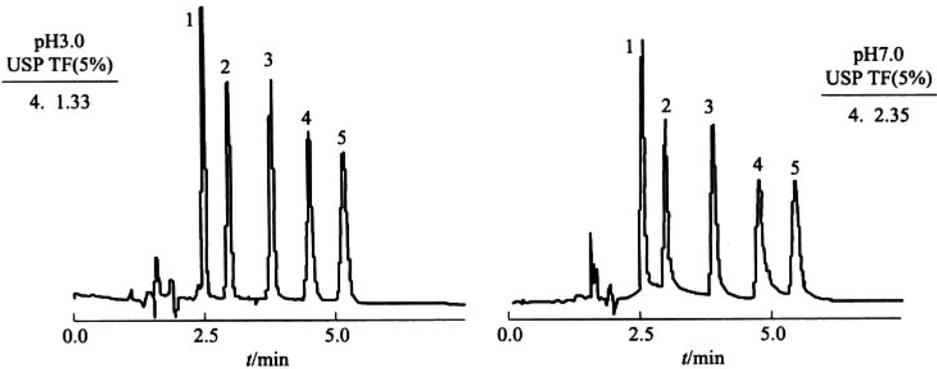


图 8-17 流动相 pH 对峰拖尾的影响

色谱柱: C<sub>8</sub>, 4.6mm×150mm, 5μm

流动相: 85%、25mmol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 15%、ACN

流速: 1.0mL/min 柱温: 35℃

样品: 1—苯丙醇胺; 2—麻黄碱; 3—安非他明; 4—脱氧麻黄碱; 5.5—羟色胺

替原流动相中的单价盐, 或更换缓冲液, 选低盐析作用的盐或降低总盐浓度, 以减少样品的盐析作用。

离子对色谱: 离子对色谱常有两种保留类型, 离子交换和反相液相色谱。两种保留都起主导作用, 多数情况不会因保留而引起拖尾, 但在分析碱性样品时加三乙胺作改良剂仍然是有益的。当用烷基磺酸盐作离子对试剂时, 三乙胺的浓度是离子对试剂浓度的 10%~20%, 或者是 20mmol/L~30mmol/L。

#### 四、次级保留故障的诊断

次级保留故障能从液相色谱系统的化学性质上预测, 上面已作了一些讨论。另外, 从色谱图上也能得到验证。相似结构的组分, 次级保留效应随样品  $k'$  增

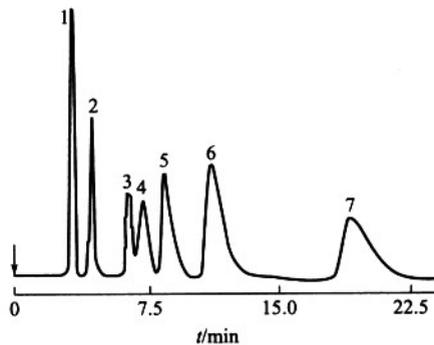


图 8-18 次保留效应随  $k'$  增加

1—苯酚; 2—间甲基苯酚; 3—对甲基苯酚; 4—3,5-二甲基苯酚; 5—3,4-二甲基苯酚;

6—2,3-二甲基苯酚; 7—2,6-二甲基苯酚

加而增加。从色谱图的开始到结束，次保留效应峰拖尾程度不断增加。图 8-18 用键合醚相柱作正相分离，可看出这种趋势。对完全不同的功能基团，看不出随  $k'$  增加而拖尾增加。碱性组分次保留拖尾严重，很强的酸性组分这种效应小。

## 第八节 不合适的缓冲液

分析碱性或酸性组分，一般都必须采用缓冲液流动相。流动相中无缓冲液，样品组分在柱内形成谱带的那一部分引起流动相 pH 值变化。例如分析核酸类样品，不加缓冲液，这些组分离解，在柱内形成谱带的那一部分降低了流动相的 pH 值。这种 pH 的变化随样品的浓度而变化，样品组分改变了电离程度，产生峰拖尾，缓冲液的浓度常在 50mmol/L~100mmol/L 之间。用离子对色谱分析萘磺酸、肾上腺素、苯甲醇和去甲变肾上腺素，将缓冲液浓度从 10mmol/L 增加到 100mmol/L，拖尾峰得到改善。缓冲液除了能改变峰形外，还能改变峰的保留。从图 8-19 可看出高浓度的缓冲液使峰保留减小。

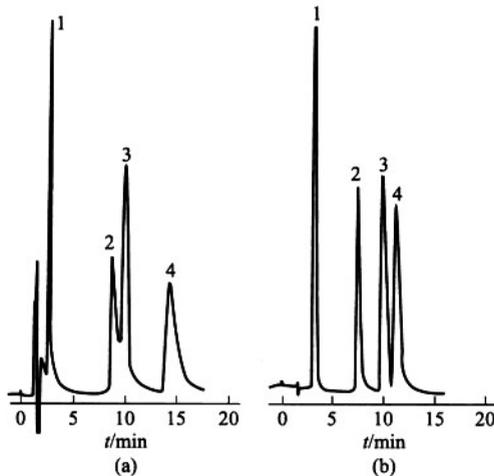


图 8-19 缓冲液浓度对拖尾峰的影响

(a) 10mmol/L 缓冲液；(b) 100mmol/L 缓冲液

1—萘磺酸；2—肾上腺素；3—苯甲醇；4—去甲变肾上腺素

多数人倾向于用低缓冲液浓度（如 5mmol/L~25mmol/L）。高浓度的磷酸盐和其它无机离子会形成晶体，磨损泵的密封垫圈。反相梯度洗脱也应避免用高浓度的缓冲液，因梯度改变的过程中缓冲盐可能析出。一般用中等偏高的浓度有利于减少峰拖尾。

## 第九节 其它效应

有时，怪峰（鬼峰、负峰）不真正是样品中的峰，但总是与需要检测的样品峰重叠，此时应考虑样品峰变形的问题。

如样品组分通过柱时发生反应，会产生很差的变形峰。有些组分与铁等痕量金属形成不同的络合物，在流动中变来变去，可能引起峰拖尾。如用反相色谱分离蛋白质核糖核酸，在 25℃ 时存在天然和变性两种形式，流出的峰很不正常，温度升至 37℃，都成了变性形式，峰形很正常。

分离的样品易乳化或趋向松散的集聚形式，能导致峰拖尾。如在用有机流动相的排阻色谱分离表面活性剂时，可能形成大分子胶束，因分子量增大，会提前出峰。

### 一、假拖尾

有时峰拖尾不是真正的拖尾，而是两组分的峰未分开所致。比如一种未知的干扰物峰与已知的样品组分峰部分地叠加。假拖尾一般易识别，当前后左右的峰都正常，唯有个别峰“胖”而拖尾，或者是标准品的峰正常，被测样品的峰变宽，经反复验证都如此，可断定有杂质干扰。用二极管阵列检测器也能进行峰纯度识别。只要改变一下流动相的组成，便可观察到有分叉峰。图 8-20 是用反相色谱（C<sub>18</sub>柱）分离马茶雌酮、马烯雌酮和雌酮的同系物，从中可看到因流动相不同所引起的分离差异。

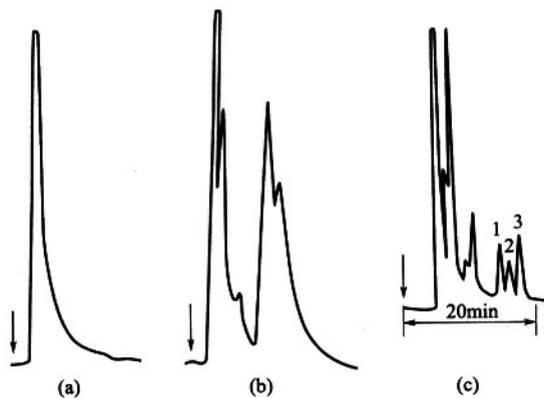


图 8-20 流动相对假拖尾峰的影响

(a) 甲醇-水 (35 : 65); (b) 甲醇-水 (20 : 80); (c) 甲醇-0.001mol/L 磷酸二氢钾 (50 : 50)

### 二、前延峰

这种峰在液相色谱中不常见。因柱温问题很易引起前延峰，有些样品在常温

下分离可见前延峰，升高温度后前延峰现象消失。例如分析生物胺在常温下(22℃)可见前延峰，而将温度升至45℃峰形正常。建议对离子对色谱加热恒温45℃~50℃，因为在离子对色谱中相对保留与温度的改变是相关的，较高温度下会得到窄峰和良好的分离结果。

在离子对色谱中，前延峰的另一个原出是用非流动相作样品溶剂。因此在离子对色谱中要求仅用流动相溶解样品，而且进样量最好小于25 $\mu$ L，否则会导致前延峰或其它问题。

造成前延峰的第二个原因是流动相分离阴离子样品时，以硅胶为基质的填料表面增加负电荷，使阴离子样品很快从填料的孔隙中被排斥出来。使用高浓度缓冲液，即增加流动相的离子强度，可以克服前延峰的效应。

柱头塌陷或过滤片阻塞也会出前延峰。

前延峰是拖尾峰的对立面，对拖尾峰可增加样品量或样品浓度，使峰的保留减少。而前延峰正相反，大样品量会增加峰的保留。不管哪一种，减小样品量对峰形都是有利的。但实际情况常常做不到，因为受到检测器灵敏度的限制。

### 三、宽峰 ( $N$ 值减小)

在此主要讨论因宽峰 ( $N$  值减小) 引起的分离问题；按常规，色谱图中的峰宽是随峰的  $k'$  值增加而增加，有时前面的峰比后面的峰宽，说明前面峰的  $N$  值变小，宽峰一般都是拖尾的，但也有拖尾不明显而出现过宽的峰。不管什么情况，宽峰对分辨率都产生不利的影响。应该仔细测定柱的塔板数并检查相应的参数值。如果塔板数下降50%或更大，说明分离已经无效。

下面列出几种使峰变宽的原因。

① 在使用过程中柱本身退化，逐渐降低柱效。

② 柱外峰宽效应：一根专用柱用于另一液相色谱系统可能引起塔板数降低，说明新系统有很大的柱外峰宽效应。

③ 化学效应：色谱因素和化学因素同时影响塔板数。色谱因素前已述及，化学因素多数是流动相和固定相相互作用所致。改变流动相可使宽峰有所改善。

### 四、伪峰

图8-21(a)为4种烷基磺酸混合物的色谱图。在紫外254nm处测定，这4种组分应该无吸收，基线是平坦的。但在6min左右出倒峰，在7min~27min出4个正峰。理论上不应该出的峰称之为伪峰。伪峰中的倒峰也叫虚峰，伪峰中的正峰叫鬼峰。

#### 1. 倒峰或鬼峰的简单图形

有时需要选择有利的色谱条件产生完好的伪峰，使峰形象化而不被检测到。以这种色谱图为基础计算和解释结果会引起差错。因此必须弄清楚产生伪峰的原

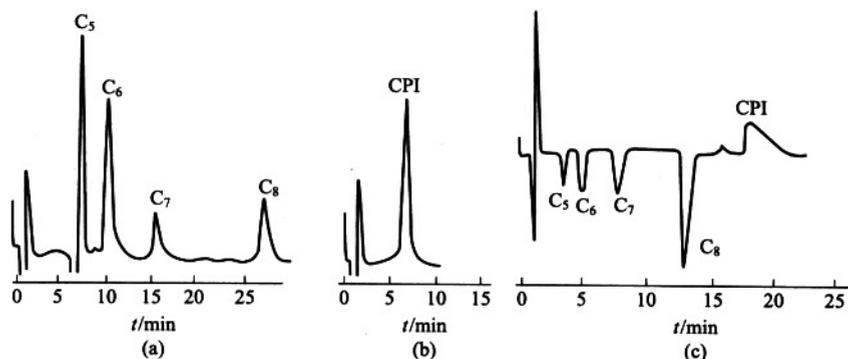


图 8-21 离子对色谱中的伪峰

(a) 4种烷基磺酸混合物色谱图；(b) CPI 色谱图；(c) 受 CPI 影响，烷基磺酸出倒峰

因，并设法避免。

最简单的情形是所用的流动相在检测波长下有吸收，而进在此波长下没有吸收的溶剂，在流动相中会出现“洞穴”，通过柱后出倒峰。

### 2. 鬼峰和倒峰的示例

在图 8-21 例中，离子对试剂是具有紫外吸收的四氨基化合物-十六烷基氯化吡啶鎓 (CPI)。烷基磺酸进入柱出倒峰。

在通常的液相色谱分析中，也会出现上述情况，使色谱图混乱复杂化。因此，在流动相中应避免加入有紫外吸收的组分。在选用溶剂、缓冲液、离子对试剂和去尾剂等时，要注意到紫外吸收和溶剂纯度等问题。进大体积的样品常出现不规则的伪峰，用小体积高浓度样品有利于阻止或促进流动相中有紫外吸收的杂质的保留。

### 3. Stranahan 和 Deming 模式

Stranahan 和 Deming 详细讨论了产生伪峰的原因。例如，样品 X 和流动相 M 可能起两种作用——协同的吸附作用和竞争的吸附作用。假设图 8-22 的样品分子 X 无紫外吸收，流动相组分 M 有吸收。M 常是流动相中的杂质，而 X 可能是溶解样品溶剂中的杂质或组分，或者是样品组分。在图 8-22 中，(a)~(c) 均有协同吸着作用。X( $t_X$ ) 和 M( $t_M$ ) 保留时间有三种可能性：如  $t_M > t_X$ ，X 先离开柱出倒峰，后流出的 M 出正峰 [图 8-22(a)]；如果 M 和 X 的保留时间相反， $t_M < t_X$ ，流动相组分首先离开柱 [图 8-22(c)]，可以看到 M 以倒峰先离开柱，接着 X 出正峰。在不同条件下用离子对色谱分离这些相同的磺酸盐，可能出现先出样品的倒峰，后出十六烷基氯化吡啶鎓的正峰。

在离子对色谱中是以协同吸附为模式。在反相或正相色谱中是竞争而不是协同，结果引起不同形式的伪峰。图 8-22(d)~(f) 中先出的伪峰是正峰，后出的伪峰是倒峰。

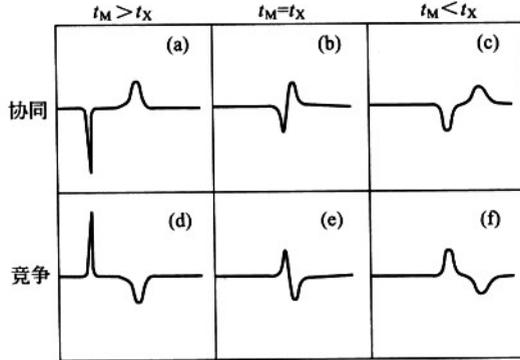


图 8-22 伪峰成因分析  
(a)~(c) 协同; (d)~(f) 竞争

#### 4. 伪峰的纠正

一旦出现了伪峰，可考虑用下面几种思路纠正。

① 用纯试剂作流动相。以高质量的离子对试剂和缓冲物质配制流动相，各类试剂加和起来应产生最小的伪峰效应。

② 用流动相溶解样品。以其它溶剂溶解样品可能产生伪峰或导致伪峰的产生，用流动相溶解样品可减少产生伪峰的概率。

③ 进最小体积的样品溶液。伪峰常与样品体积成比例，离子对色谱的进样体积要低于  $50\mu\text{L}$ 。

④ 预处理好样品。样品中的杂质会促成伪峰的出现。

若用上述方法还不能去掉伪峰，则可视作为特殊的干扰峰来处理，即作为特殊的组分。改变色谱条件，使伪峰位置发生变化，避开被干扰的峰。

### 五、样品反应

样品反应虽不常见，但也有发生的可能，在色谱分离之前或在分离之中都有可能发生。样品发生反应使样品组分损失、峰减小、测量精度变差。有时还会产生额外的峰（反应产物），或出现变形严重的峰（歪斜峰）。样品反应分别有三种情况，每种都有独特的形式和处理的方法。

#### 1. 进样前的反应

进样前反应出现最多，在预处理样品或制备后贮存的样品液（如放在自动进样器支架上）过程中发生反应，使要测的组分浓度减少，结果偏低。反应产物的峰也可能在色谱图上出现，使对有关峰的识别发生混乱。只要显示出组分不稳定，都可假定样品发生反应。在着手处理样品时，就可能发生反应，如样品暴露于常温或高温下，不适宜的 pH 条件或与空气接触（氧化）等。如果校正物或标准品没有像样品那样被处理过，而在样品中出了多余的峰，应考虑快速处理，或

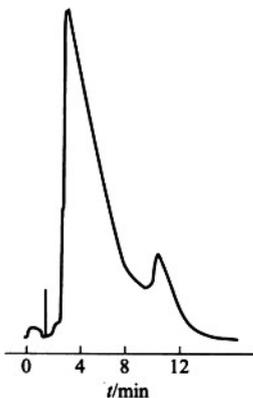


图 8-23 样品反应产生的歪斜峰

改善处理条件。比如用低温或在氮气流中处理样品等。反过来，为确定样品是否发生了反应，可用更长的时间，以极端的温度、pH 值或暴露于氧气中，看样品峰是否降低了，多余的峰是否增高了，如果确是这样，要调整样品处理过程中的化学性质，以求减少样品本身的反应。

有时样品的反应也发生在样品与溶剂之间，或者样品溶液贮存过程中，如自动进样器支架上的一批样品。鉴于此，应采用低温进样器，并经常用标准品校正。标准品的制备应与样品制备的条件相同。

### 2. 分离时的反应

如果组分在柱上移动不断伴随着反应，不断发生变化，色谱峰都是歪斜的峰（图 8-23）。假定样品组分 A 在分离过程中反应生成 B。若反应很快，而液相色谱分离很慢，当样品在移动之前也许就发生了转变。此时所谓的正常峰就是 B。另一种情况，反应慢而分离快，最后出的峰应是 A。多数属这种情况。也有反应速度和移动速度相当，在色谱图上出 A、B 两峰，为确证是否样品发生反应，可用增加流速或减少流速（4 倍）的方法检查。除了保留改变之外，峰形发生显著变化，则可确定分离过程中发生了反应。要克服这方面的故障，必须具备熟练的化学基础知识。

### 3. 梯度洗脱中的反应

梯度洗脱中的反应介于前两者之间。样品在柱头上开始反应，随着梯度洗脱中溶剂的变化带着样品通过柱，可以观察到多个分离峰，或者仅有一个歪斜的峰。在梯度洗脱中样品反应，一个组分可出两个峰。在开始洗脱时，组分 A 可能很短地停在柱头上，而其它组分很快地流过柱。在特定条件下，可能有部分 A 反应生成 B，随着以 A 和 B 从柱流出。图 8-24 是分析木瓜蛋白酶色谱图。柱温和 pH 值变化，改变了木瓜蛋白酶的反应速率（由蛋白转变成变性蛋

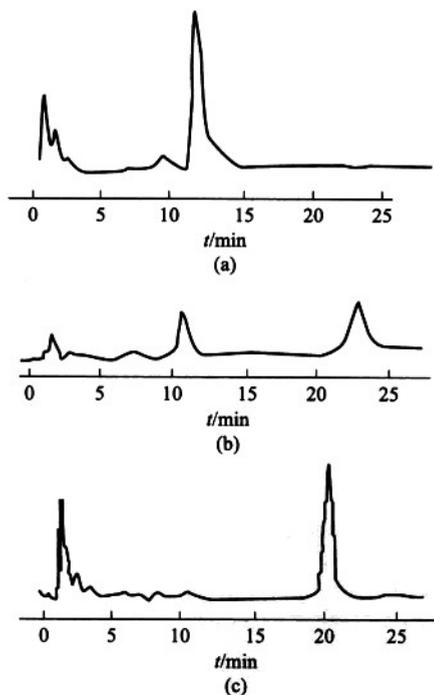


图 8-24 梯度洗脱时的样品反应  
(a) 21℃, pH 4.8; (b) 21℃, pH 3.0;  
(c) 30℃, pH 2.2

白)。在低温和高 pH 值 (21°C, pH 4.8), 对天然蛋白有利 (低反应速率), 出一单峰 [图 8-24(a)]。pH 值降低 (21°C, pH 3.0), 在 23min 处出现变性蛋白峰 [图 8-24(b)]。高温低 pH 值 (30°C, pH 2.2) 仅看到变性蛋白峰 [图 8-24(c)]。在梯度洗脱中新出现的这些问题, 应和上面分离中出现的问题一样处理。

## 第十节 保留时间改变

色谱分析是以假定给定组分的保留值在分离条件不变时保留值恒定为基础的。对标准的液相色谱程序而言, 每个峰都对应于一个组分, 以标准品与样品中组分的保留时间相对应进行鉴别。恒定的保留时间对分析设计排列的样品 (如自动进样) 很重要。

在液相色谱分析中常涉及到组分的保留值。保留值发生改变可使已建立的方法不能继续进行下去, 或者引起分析周期太长, 或者峰分不开。应该找出引起保留值变化的原因。

除上述条件之外, 引起保留变化的原因主要包括下列 3 种:

- ① 柱-柱间: 它的影响已在色谱柱章节中述及。
- ② 日-日间或日内: 保留时间可能随时间而变化, 如温度、柱温、pH 值等对柱性能有影响, 通常是所有的峰提前或推迟。
- ③ 样品-样品间: 偶尔也有样品与标准品的保留时间不同, 可能是样品介质的影响。

以下重点讨论造成日-日间和日内保留时间的变化的影响因素, 它们主要是:

- ① 分离条件控制差 除了色谱柱外, 保留是温度、流动相组成和流速的综合体现, 如果有一个条件变化, 保留也会随之变化。
- ② 柱平衡慢 流动相组成或温度变化时, 柱在新条件下再平衡需要一定的时间, 在柱达到完全平衡前不应进样。
- ③ 柱钝化 长时间进样, 柱会退化, 强保留组分 (样品或流动相中脏物) 被柱不可逆地保留, 导致所有组分保留减少。键合相层从填料微粒上剥落下来, 会导致某些组分的保留增加, 而另一些组分的保留减少。
- ④ 柱过载和样品介质相互作用 过大的样品量超出柱的线性范围, 使保留减少。也可能是样品本身过载, 从其它方面影响保留。

### 一、分离条件的变化

表 8-11 提供了分析条件变化对保留值的影响。从表 8-11 中可以看出,  $F$  变大可引起  $t_0$  和分析时间成比例地减少, 对峰位 (相对保留) 无影响。柱死体积  $V_0$  增加,  $t_0$  和分析时间成比例地增加, 而对相对保留值无多大影响。强溶剂体

积增加不影响  $t_0$ ，但会减少分析时间，而对相对保留值仅有中等程度的影响。其余的变量对  $t_0$  影响很小，但对分析时间和相对保留值影响大。

表 8-11 分析条件的变化对保留值的影响

条件的改变	$t_0$	分析时间	峰位重排
流速 $F$	$1/F$	$1/F$	无
柱死体积 $V_0$	$V_0$	$V_0$	无
增加强溶剂体积分数	无	减少	小有变化
换新强溶剂	无	改变	改变
pH	无	改变	改变
柱填料	小	改变	改变
升高温度	小	减少	小有变化
新流动相加入物	小	改变	改变

8-12 列出有关的分离条件变化对保留的影响，有助于找出引起保留改变的特殊变量。

表 8-12 分离条件变化对保留的影响

变量		方法	变量的变化	$t_R$ 的平均变化
流速		所有方法	+1%	-1%
温度		除 SEC 所有方法	+1°C	-(1%~2%)
流 动 相	有机溶剂	反相	+1%V	-(5%~10%)
	pH	反相	+0.01 单位	±(0~1%)
	强溶剂	正相	+1%	-(1%~2%)
	有机溶剂	SEC	+1%	0

### 1. 流速变化

现代液相色谱仪设计成能精确地控制多种分离条件。流速是十分重要的因素，包括线上混合流动相的均匀度，总的变化误差不得高于 ±1%，温度也应控制在 ±0.5°C 之内。没有恒温装置的柱温控差一些。压力变化对保留的影响微不足道（流速恒定）。另外，仪器不正常也是引起保留变化的原因。流速变化有两种情况：第一，流速突然变化，引起色谱图中所有峰的保留时间非连续性变化。这可能由操作误差所致，涉及到泵参数的设定和控制器；第二，偶然波动可能是由于泵的问题偶然引起的流速变化，如气泡故障，但样品间的保留时间比是恒定的（表 8-13）。

表 8-13 假设流速变化引起保留时间的变化

组 分	保 留 时 间		保留比 $\left(\frac{n+1}{n}\right)$
	第 $n$ 次进样	第 $n+1$ 次进样	
1( $t_0$ )	2.50	3.00	1.20
2	5.00	6.00	1.20
3	6.00	7.20	1.20
4	8.00	9.20	1.20

流速改变可从  $t_R$  的改变看出。两次样品  $t_R$  的比等于两次样品其它组分间的保留比，就有可能是流速引起了保留值的变化。

## 2. 流动相组成的变化

流动相组成的变化可由下列原因引起：①配制时引起的误差；②在线混合泵失灵引起的比例误差；③放置后组成的变化。例如使用了挥发性溶剂，真空脱气引起挥发性成分的损失；流动相吸收了空气中的  $\text{CO}_2$  引起 pH 值改变。

流动相组成的变化对  $t_R$  值大的组分影响最大。从表 8-12 可以看出，反相溶剂微小的变化，会引起保留时间相当大的变化。这种改变对峰位顺序无多大影响，所以一旦保留值发生变化，为调整分离时间可适当改变反相流动相中有机溶剂的浓度。

假如流动相配制发生错误，应立即重新配制流动相；线上混合流动相不均匀，可改用手工混合，或者在线上混合前找出合适的泵工作系统，以确保保留值恒定。

## 3. 温度的变化

柱上如没有恒温装置，通常是因温度引起保留时间变化。当观察到所有峰的保留时间连续变化时，可首先考虑实验室的温度变化是否引起了保留时间的变化，实验室降温时所有色谱峰的保留时间可能都增加。每改变  $1^\circ\text{C}$ ，保留是否会改变  $1\% \sim 2\%$ ？若确实是这样，应该使用色谱柱恒温箱，另外应保持实验室内最小的温度变化。

## 4. 流动相的 pH 值控制<sup>[5]</sup>

强离子性化合物控制 pH 值：图 8-25 是流动相 pH 值对苯甲酸和山梨酸分离的影响，传统的分离方式是在  $\text{pH} = 2 \sim 3$  [图 8-25(a)] 条件下抑制离解；在

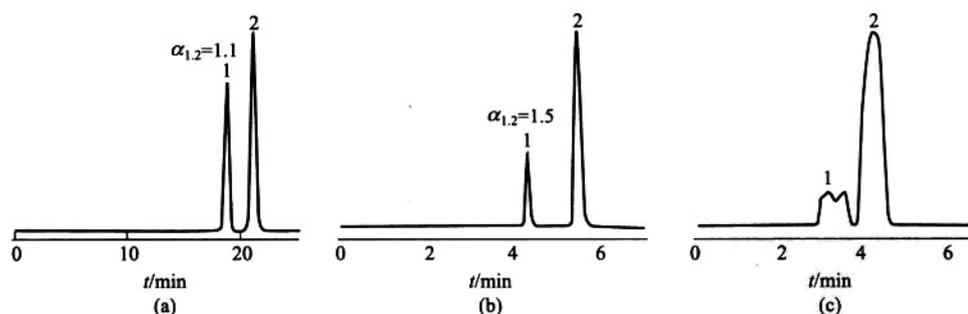


图 8-25 流动相 pH 值对离子性化合物苯甲酸与山梨酸分离的影响

流动相：(a) 20% 甲醇-80% 0.05mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ， $\text{pH} = 3.5$ ；(b) 10% 甲醇-90%

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ ， $\text{pH} = 7$ ；(c) 10% 甲醇-90% 水

色谱柱：BioBasic 18， $5\mu\text{m}$ ， $150\text{mm} \times 4.6\text{mm}$ ；

流速：1.0mL/min； 检测器：UV @ 235

样品：1—苯甲酸；2—山梨酸

pH=7[图 8-25(b)] 条件下, 分离可以避免样品基质中的有机酸在低 pH 和高含量有机溶剂条件下的沉淀。低 pH 值降低有机酸在水中的溶解度, 因此用高有机溶剂含量的流动相条件。对酸性化合物而言, 保留时间随流动相 pH 增加而降低。这是由于 pH 值大于  $pK_a$  时, 酸性化合物带负电, 极性很强, 为了具有适合的保留, 流动相有机溶剂需要含量降低; pH 值低于  $pK_a$  时, 酸性化合物中性, 疏水性增强, 保留更强。如果不使用缓冲液流动相, 会出现如图 8-25(c) 所示的宽峰, 这是由于样品在流动相中出现了 pH 梯度, 将溶质的阴离子模式与其分子分离的缘故。

因此, 对于离子性化合物, 虽然并不严格要求一定在缓冲体系下进行试验, 但是出现峰形不好、保留时间不重复等问题时, 可能是由于离子性化合物 pH 值与无缓冲液的流动相 pH 值存在明显差异所导致。

非离子性样品: 非离子性样品一般不需要添加缓冲溶液控制流动相 pH 值, 但是当中性分析物样品中存在离子性干扰或者杂质时, 需要控制流动相 pH 值。存在离子性化合物的主要表现是在没有添加缓冲溶液时, 样品之间或者批次之间的分析结果不稳定。

图 8-26 是在不同 pH 值情况下分离 7 种化合物的色谱图, 可以看出 4 号和 5 号化合物的出峰顺序发生了变化, 可见对于中等离子性化合物, 控制适当的 pH 值能够最大限度地确保重复性。

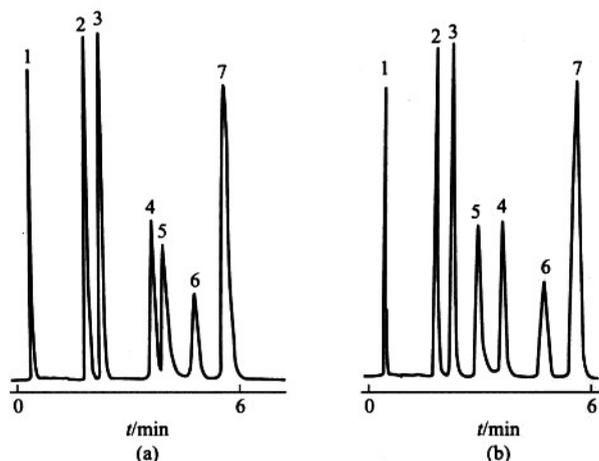


图 8-26 pH 值的微小变化对中等离子化合物分离的影响

色谱柱: BETASIL  $C_{18}$ ,  $5\mu m$ ,  $50mm \times 4.6mm$

流动相: (a) 50% ACN-50% 25mmol/L  $KH_2PO_4$ , pH=2.5; (b) 50%

ACN-50% 25mmol/L  $H_3PO_4$ , pH=2.1

流速: 0.8mL/min;

检测: UV @ 220nm

样品: 1—尿嘧啶; 2—托尔米汀; 3—Naproxin; 4—非诺洛芬; 5—二氟尼柳; 6—吲哚美辛; 7—布洛芬

## 二、柱平衡慢

改变色谱分离条件后柱要在新的条件达到平衡，用（10~20）倍柱体积的流动相冲洗或运行 20min~30min 即可。不同柱的空体积可以计算，如 4.6mm 内径的柱空体积为 0.1mL/cm，25cm 长的柱空体积为 2.5mL。因此，可用 20mL~50mL 的新流动相冲洗柱。

每隔 10min~20min 重复地进相同的样品，如保留时间不变，表明柱已平衡。应该注意，柱可能对某一种组分平衡，而对其它组分尚未平衡。因此只有对所有的组分都平衡、才能正式分析样品。

有一些重要的例外情况，使柱不能很快平衡，甚至要几个小时或更长。

- ① 流动相含有胺改良剂；
- ② 流动相含有离子对试剂；
- ③ 硅胶柱；
- ④ 流动相中有四氢呋喃。

柱平衡慢的常见原因是组分在旧的或新的流动相中对柱吸附强度差异较大。要进行一种特殊的分析，或者从一种方法改为另一种方法，需要很长时间平衡。可考虑采用专用柱用于特殊的方法（上面提到的四种情况的一种），不用时将柱拆下来，注满适当的溶剂或流动相，密封保管，不再做其它的分析。

（1）胺改良剂 胺改良剂如三乙胺，通常加在反相或离子对流动相中，以减少样品中破性组分的拖尾。常用 1mmol/L~10mmol/L 的浓度，平衡时间较长。如果一开始就用高浓度的胺（如在流动相中加入 0.5mol/L~1mol/L 的胺类 100 $\mu$ L），可使柱很快达到平衡。

（2）离子对试剂 季铵类离子对试剂，如四丁基铵离子（TBA）从反相柱上冲掉比较慢。用（50~100）倍柱体积的流动相通过柱后，酸性组分的保留仍然变化。最好的办法用中间冲洗液：含 100mmol/L~200mmol/L 缓冲液或盐的甲醇-水（1:1）。显然，要最后去掉痕量的 TBA，需用强流动相（高比例的有机溶剂），加缓冲液是为了竞争在酸性硅胶基质上的 TBA，产生离子交换作用。

从反相柱上洗去长链阴离子对试剂，如 C<sub>10</sub>~C<sub>12</sub> 的磷酸盐或硫酸盐也是非常慢，要想完全除去是不可能的，甚至用 100% 的甲醇也不行。分析阳离子溶质其保留一直不断飘移，一定要用长链离子对时，最好选专用柱。

（3）硅胶柱 用硅胶柱作正相分离，常发生保留突然改变，或增加或减少。其原因是流动相改变时相应地改变了水的含量，使硅胶柱的含水量变化。用水脱活，硅胶柱保留时间会减少很多。如用无水流动相，几乎不可避免地从空气中吸收水分，引起柱上水含量上升。最好的办法是加一定量的水于流动相中，使柱上水含量维持恒定。此方法也称等氢离子流动相。在正相色谱中，因特殊要求有人首选用极性键合相柱代替硅胶柱。

(4) 四氢呋喃作流动相 在反相流动相中, 加四氢呋喃 (THF) 不会影响到柱平衡。THF 的性质类似于甲醇或乙腈, 但对某些种类的样品也有偶然例外, 如分离水溶性的维生素, 从含 THF 变成无 THF 的流动相, 约需半天时间才能使柱平衡, 这也证实该效应对其它类别的样品有影响。在没有什么办法加速柱的平衡时, 建议采用专用柱。

### 三、柱钝化

长时间连续地使用柱, 填料的组分会发生变化。强滞留组分可能被永久性地“键合”于填料上, 或者填料表面发生化学附着, 键合相可能被部分地去掉, 引起保留的变化。

#### 1. 污染物的吸附

填料表面积性地吸附样品中强保留组分, 使填料表面阻塞, 所有组分保留减少, 塔板数下降, 可以看到柱头填料变色或稍有损失。可用两种处置方法: ①用保护柱; ②用强流动相冲洗去掉脏物。用反冲的方法更有效, 让柱放空而不通过检测池。参照表 6-7 的方法进行处理。

#### 2. 键合相损失

在使用过程中, 键合相的有机层会慢慢损失。应避免使用极端的 pH 值 ( $\text{pH} < 2.5$  或  $\text{pH} > 7.0$ )。水和甲醇似乎加速了这种进程, 因而反相柱键合相的损失是一个特殊问题。有机层损失的现象为: ①非碱性组分表现保留减少; ②碱性组分的保留或减少, 或增加, 或不变。

用硅胶保护柱可减慢键合相的损失, 尽管有些不方便 (如变换流动相平衡慢, 压力增高等), 但仍有人首选使用。也有人采用在线重新键合有机相方法, 但程序比较麻烦, 花时间太多, 而且也不一定能恢复到原来柱的性能。

#### 3. 柱过载和介质效应

柱过载, 在本章已讨论过, 一般情况是峰拖尾, 保留时间减小, 高浓度样品更严重。减少进样量常可克服。样品的组成有下列情况也可使柱过载, 这就是介质效应。主要是: ①有无关的样品存在; ②出峰的时间接近于  $t_0$ ; ③有不被检测器所检测的样品。标准样品与实测样品不同。用标准条件检查, 可看到何种组分的保留改变, 加一定量的该组分于样品中, 如果保留时间未再改变, 说明实测样品的样品介质效应存在, 要很好地预处理样品, 除去干扰的介质。

### 四、峰位置的改变

峰位置的改变是保留时间改变的特殊情况。但是峰位置的变化比色谱图中每个峰的保留时间增加或减少更为严重。因为保留时间的改变, 可用改变流动相的强度或改变流速保持原来的水平。如果色谱图中峰位顺序发生变化, 或是原先分开的峰又交叉在一起, 无论采用什么方法处理都不那么简单。引起峰位顺序的变

化可能有以下两种原因。

(1) 柱退化 同一根柱因键合相的组成发生了变化(化学垃圾或键合相损失),导致峰位置的改变。

(2) 柱-柱间的变化 在色谱柱一章中已讨论过。

发生了峰位置的改变,首先检查分离条件有无差错(流动相、温度、柱等),一旦确认了分离条件是正确的,可能面临更困难的问题,直至需要重新建立色谱方法。

最好在初建色谱方法时就能预测到峰的位置。通常要系统地改变条件,使所有的组分的峰在色谱图内处于最佳位置。如反相分离电离组分时,可改变溶剂(甲醇、乙腈、THF及其混合物),也可改变pH值或缓冲液浓度,或加改良剂。改变这些条件时可以注意到峰位置的变化。

在试验的过程中要谨慎行事,只要恢复到可接受的峰位就可。特别在多组分的分离中;如氨基酸的分析,要有合适的分离条件使所有的峰都有确定的位置,稍有不慎,某些组分就会分不开。所幸的是只要做一些条件的变化(溶剂、pH、缓冲液),就可能找到最好的位置。

## 第十一节 液相色谱方法的建立

这里仅提示液相色谱方法建立的过程。这对于指导色谱系统的维护和故障排除是十分有益的。建立液相色谱方法有以下几步<sup>[4~10]</sup>:

- 选择合适的液相色谱方法;
- 选择合适的色谱柱;
- 选择合适的  $k'$  值的条件;
- 选择良好的峰位 ( $a$  值);
- 选择良好的色谱柱条件 (最佳  $N$  值);
- 用实测样品解决出现的特殊问题;
- 证实方法的正确性。

选择液相色谱方法应由样品所决定。典型的小分子混合物可用反相 HPLC、离子对 HPLC 和正相 HPLC 方法试验。这三种方法有的可能不理想,不妨都试试。如是酸性组分,首先是选用反相色谱,再用离子对色谱,最后才试正相色谱。按照表 8-14 的规则往往比较有效。

开始建立某种方法时,可能选柱的范围比较广,包括柱长、粒径和柱填料的性质等。一般开始时采用的方法是比较通用的,选择反相 HPLC,15cm 长的十八烷基键合相柱 ( $5\mu\text{m}$ )。每个液相色谱工作者手头应配有  $\text{C}_{18}$  键合相柱、硅胶柱、腈基柱和氨基柱等几种类型的色谱柱,以便在建立方法时随意换用。现在流

表 8-14 选择液相色谱的方法

(一)主要液相色谱方法特性		
方法	样品特点/色谱柱	何时应用该方法
反相 HPLC	流动相:水/有机溶剂 色谱柱:C <sub>18</sub> (ODS), C <sub>8</sub> , 苯基, 三甲基硅烷(TMS), 氰基	首选为能溶于水/有机混合物的中性或非离子化合物
离子对 HPLC	流动相:水-有机溶剂(一种缓冲物控制 pH 和离子对试剂) 色谱柱:C <sub>18</sub> (ODS), C <sub>8</sub> , 氰基	离子或可电离化合物,尤其是碱性或阳离子化合物的良好选择
正相 HPLC	流动相:有机溶剂混合液 色谱柱:氰基, 二醇基, 氨基, 硅胶	当反相 HPLC 或离子对 HPLC 无效时,第二个较好选择;首选为不溶于水-有机混合液的亲脂样品、异构体混合物和制备 HPLC(硅胶最好)
(二)次要液相色谱方法特性		
方法	描述/色谱柱	何时应用该方法
离子交换色谱法	流动相:水相,另以缓冲物控制 pH 色谱柱:阳离子或阴离子交换	分离无机离子混合物的首选(离子色谱法);分离蛋白质、核酸样品及有关化合物的良好选择
体积排阻色谱法	流动相:水相(凝胶过滤),或有机相(凝胶渗透) 色谱柱:凝胶过滤用二醇基改性硅胶,凝胶渗透用聚苯乙烯或硅胶;孔径大小决定分子量范围	分离大分子样品,如蛋白质和人造聚合物的良好首选,也可用作测量分子量分布
疏水作用色谱法	流动相:盐溶液 色谱柱:类似于反相填料,但疏水性小得多	用于分离蛋白质

行的径向加压柱,在初建方法时很适用,因为它能以不同的长度串接在一起。

选择溶剂强度配制成合适的流动相可以提供理想的  $k'$  值。一个有经验的液相色谱工作者会控制在  $1 < k' < 10$  的范围(特殊情况下也允许  $0.5 < k' < 20$ )。如果有良好的  $R$  值,短的分析时间,高的  $N$  值,往往能够检测出窄的色谱峰。可以作为液相色谱流动相使用的溶剂有 100 多种,但实用的只有少数几种。在实验室中有了甲醇、乙腈、水、四氢呋喃、正己烷、二氯甲烷,就能够解决 90% 以上的色谱分离问题。改变峰位 ( $\alpha$  值) 在反相色谱中常用两种“活性”溶剂——甲醇、乙腈和四氢呋喃。不同溶剂配比会影响分离效果,再用第三种溶剂调节流动相强度(反相液相色谱用水),充分显示出流动相的多样性和灵活性。图 8-27 表示出经溶剂调节后分离效果的改善情况。

色谱柱和流动相确定后,为了获得满意的色谱分离,可进一步选择柱长、粒径和流速等。需要指出的是某些样品在进样前要进行很完全的预处理,另外,许

多样品则需要进行梯度洗脱, 当色谱条件有所改变时, 需要寻找更合适的分离条件。

最后, 需要强调的是所有这些讨论的前提是所建立的 HPLC 方法必须满足精密度、准确度要求, 并建立实验室之间方法实施的严格标准。对于选择方法的准确度和精密度有特定要求时, 严格控制常规操作条件尤其重要。

### 参 考 文 献

- 1 李彤, 张庆合, 张维冰. 高效液相色谱仪器系统. 北京: 化学工业出版社, 2005
- 2 Dolan John W, Lloydan R Snyder. Troubleshooting LC System. Chifton. New Jersey. The Human Press Inc, 1989
- 3 袁依盛. HPLC 系统故障排除. 南京: 南京大学出版社, 1998
- 4 [美] Snyder L R, Kirkland J J, Glajch J L 著. 实用高效液相色谱法的建立. 第二版. 张玉奎, 王杰, 张维冰译. 北京: 华文出版社, 2001
- 5 Neue U D. American Laboratory, 1999, (3): 60
- 6 Chung Chow Chan, Herman Lam, Y C Lee, Xue-Ming Zhang. Analytical Method Validation And Instrument Performance Verification. A John Wiley & Sons, Inc, Publication, 2004
- 7 中国样品生物制品检定所编. 中国药品检验标准操作规范. 北京: 中国医药科技出版社, 2005
- 8 Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods, Center for Drug Evaluation and Research(CDER), 1994-615-023, 1302/02757, U. S. Government Printing Office, Washington, DC, Nov. 1994
- 9 Guideline for Submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation. U S Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Rockville, MD, Feb. 1987
- 10 Ludwig Huber. A primer Good laboratory practice and current good manufacturing practice. Agilent Technologies, 2000

## 第九章 气相色谱气路系统

气相色谱的流动相是气体，因此，实现气相色谱分离分析的首要条件是具有特定的气路系统及相应的气体，本章针对气相色谱仪器的气路系统相关故障及其维护知识进行简单介绍<sup>[1~3]</sup>。

气相色谱仪出现的各种故障中，有相当大的一部分都与气路有关。因此，了解和熟悉气路故障是十分必要的。气路系统的气密性、载气流速的稳定性以及流量测量的准确性都会对气相色谱试验结果产生影响。对于气路部分，按其容易发生的故障现象可分为：①气体纯度；②流量调节故障；③气路泄漏故障；④气路堵塞与污染故障。

### 第一节 气路系统简介

#### 一、气相色谱气路系统

气相色谱仪的气路系统，是一个载气连续运行、管路密闭的系统。气路系统的具体结构，往往随着检测器的不同而不同，不同厂商仪器的设计也略有差异，

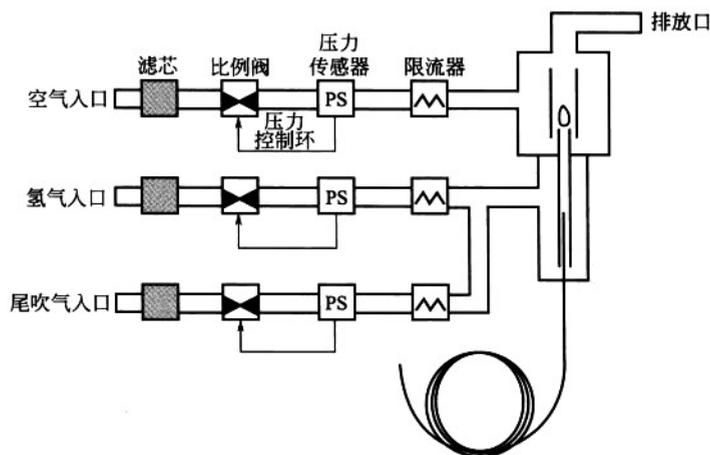


图 9-1 氢火焰离子化检测器气路示意图

图 9-1~图 9-5 以安捷伦公司的 6890 气相色谱仪为例, 介绍带电子流路控制系统 (EPC) 的氢火焰离子化检测器 (FID)、热导检测器 (TCD)、氮磷检测器 (NPD)、电子捕获检测器 (ECD) 和火焰光度检测器 (FPD) 气体流路示意图。

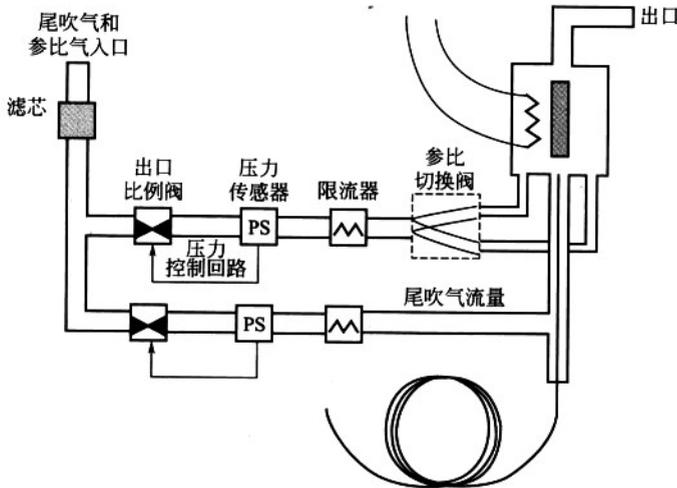


图 9-2 热导检测器气路示意图

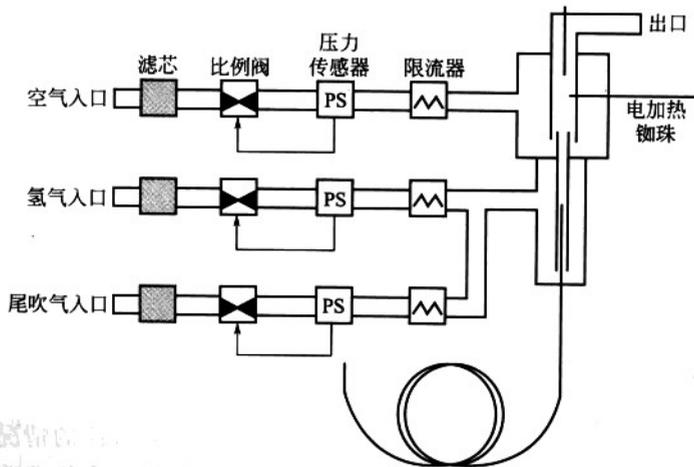


图 9-3 氮磷检测器气路示意图

## 二、气体连接管路

气相色谱仪的连接管路必须是无污染的, 并且承受压力要高, 避免出现压力调节失效之后的爆裂。一般至少应该是两倍的安全溢流阀下的压力。非金属管如聚乙烯和聚四氟乙烯具有气体渗透性和不易清洁性, 在气相色谱仪中应用较少。适合于气相色谱仪的主要是铜管和不锈钢管, 因为铜管容易弯曲和连接, 价格低

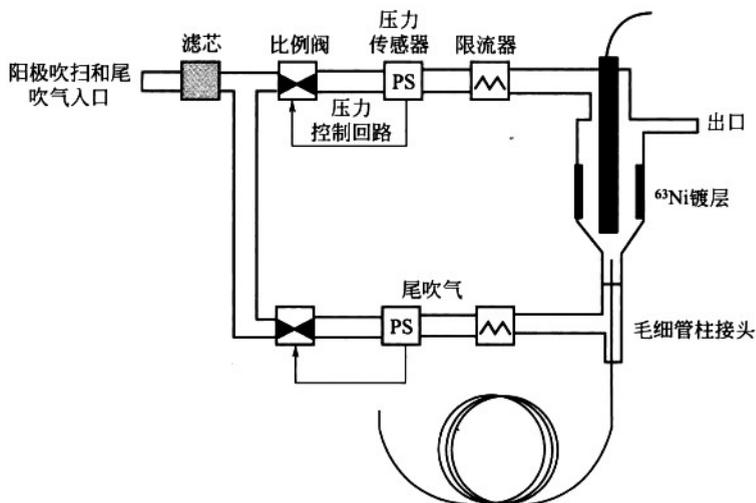


图 9-4 电子捕获检测器气路示意图

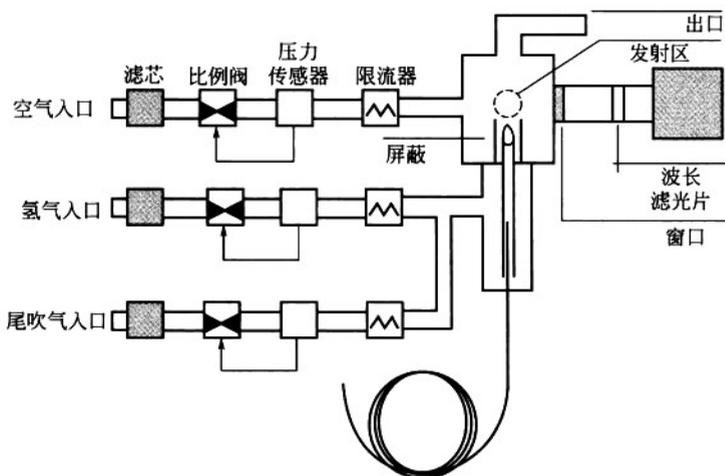


图 9-5 火焰光度检测器气路示意图

于不锈钢管，应用更广泛。不锈钢管用于对气体纯度要求很高的情况。

**聚合物：**基于上述原因，气相色谱仪器中一般不使用聚合物管路及接头，尽管这些材料在液相色谱中应用非常普遍，它们不适合气相色谱仪使用的原因有三。第一，聚合物材料可能会污染气体，大气中的水和氧气会扩散到气体中，使管路中痕量增塑剂等析出；第二，聚合物管路和接头的耐压性差；第三，气相色谱分析时急速升温和降温可能会使管路和接头损坏或者降低其寿命。

**铜管：**是目前最常用的气相色谱连接管材料，铜管具有比较好的柔韧性、易于弯曲储存，可以重复连接使用很多次，但是要避免过分用力拧紧损坏螺丝和刃环。铜管的切割应该采用旋转叶片切割器，避免使用锯子、钳子等工具。清洗的

专用铜管很多公司都有销售。

不锈钢管：与铜相比，不锈钢硬度高、不易弯折，因此接头表面微小的缺陷都可能导致漏气。切割不锈钢管与铜管相同，但是要注意用专门工具去除毛刺并修整管路两端，然后用清洁溶剂清洗，以消除微粒残渣，然后彻底干燥。

铝：与铜或不锈钢相比，铝材料成本较低，但是它的柔软性较差，易于裂纹，另外铝材不适合作接头。

### 三、管路的清洗

任何管路在接入仪器之前或者在使用过程中被污染，就必须进行适当的清洗，未经清洗或者清洗不当的管路会导致系统污染。

清洗气路连接管时，应首先将该管的两端接头拆下，再将该段管线从色谱仪中取出。这时应先把管外壁灰尘擦洗干净，以免清洗完管内壁时再产生污染。清洗管路内壁时应先用无水乙醇进行疏通处理，可除去管路内大部分颗粒状堵塞物及易被乙醇溶解的有机物和水分。在此疏通步骤中，如发现管路不通，可用洗耳球加压吹洗，加压后仍无效可考虑用细钢丝捅针疏通管路。如此法还不能使管线畅通，可使用酒精灯加热管路使堵塞物在高温下炭化而达到疏通的目的。

用无水乙醇清洗完气路管路后，应考虑管路内壁是否有不易被乙醇溶解的污染物。如没有，可加热该管线并用干燥气体对其吹扫，然后将管线装回原气路待用。如果由分析样品过程判定气路内壁可能还有其它不易被乙醇溶解的污染物，可针对具体物质溶解特性选择其它清洗液。选择清洗液的顺序应先使用高沸点溶剂、而后再使用低沸点溶剂浸泡和清洗。可供选择的清洗液有萘烷、*N,N*-二甲基甲酰胺、甲醇、蒸馏水、丙酮、乙醚、石油醚、乙醇等。

清洗之后可以采用氮气吹干或者同时加热干燥。

### 四、流量计及阀件的清洗

转子流量计是气相色谱仪经常采用的流路监控部件之一。因载气中或多或少会带有水分（如干燥净化不够），会在玻璃管壁吸附一层水雾造成转子跳动。清洗时，要先拆下流量计，旋开螺帽，取下锥形管倒出两端的限位弹簧及转子。此时应注意锥形管的上下方向，大口径的在上侧，而小口径的在下面。用乙醇或乙醚冲洗锥形玻璃管，然后用电吹风机吹干。应注意转子不得接触有机溶剂，否则转子变形之后，整个流量计将报废。擦干净转子后依次将锥管装好，并注意锥形管的上下头位置，锥形管与流量计进出口间的橡胶密封垫圈必须装好，以防流量计漏气。

气路中的控制阀件主要有稳压阀、稳流阀和针形阀。清洗这些阀件之前须预先熟悉各种阀件的结构，对于一种新型结构的流路控制阀件在拆卸时应按照操作指南，记下拆装顺序图，并将拆下的零件立即放到预先准备好的放置盒中，以免丢失与遗忘。阀件中各零件拆下后，可在无水乙醇中用小毛刷清洗，洗完后用无

水乙醇对各部件冲洗，再晾干或用吹风机吹干，之后再按拆装顺序图使各零部件复原。装配时应注意橡胶膜片上通气孔的方向，阀杆与阀座间的配合以及密封垫片的安装。

## 第二节 气 体

### 一、载气的纯度

气相色谱分析中气体分为载气与辅助气体两类，最常用的载气是氮气、氢气，其次是氦气和氩气。由于载气要携带样品进入色谱柱进行分离，然后进入检测器对各组分进行分析，载气中的污染物对色谱柱寿命、分析物检测等方面都有很大影响。因此，这些气体的纯度对于保证分析质量、防止色谱硬件性能下降至关重要。辅助气体包括燃料气、氧化气体、冷却气、检测器气体和气压动力用气体等。辅助气体的纯度取决于其使用目的和是否与样品接触，冷却气（二氧化碳）和气压动力用气体（空气或氮气）一般不与样品或者检测器接触，所以不一定要用非常高的纯度。

表 9-1 是气相色谱分析中载气与辅助气体的具体要求，注意气体纯度的要求取决于所用检测器的类型，对于特殊检测器所需专用气体类型，请查阅相关手册资料<sup>[4]</sup>。

表 9-1 气相色谱常用气体纯度要求

气体类型	功 能	是否与样品接触	纯 度 要 求			
空气	气压动力	否	≤99.998%			
氮气	气压动力	否	≤99.998%			
			检测限的要求			
			痕量 0~ 10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup> ~10 <sup>-3</sup>	0.1%~1%	1%~100%
氢气	载气或检测器 燃料气	是	99.9999%	99.9995%	99.9995%	99.999%
氢气/氦气	检测器燃料气	是	99.9999%	99.9995%	99.9995%	99.999%
甲烷/氩气或氮气	ECD 用载气 或尾吹气	是	99.9999%	99.9999%	99.9999%	—
空气	检测器用氧 化气	否	99.9995%	99.9995%	99.9995%	99.999%
氮气、氦气或氩气	载气或尾吹气	是	99.9999%	99.9995%	99.9995%	99.999%

注：≤99.998%，低纯度，专用或工业气体；99.999%，高纯级（UHP/Zero Grade）；99.9995%，超纯级（Ultra-Pure Grade）；99.9999%，研究级（Research Grade）。

气体中的污染物是引起色谱柱性能下降和检测器噪声增加的主要因素。一般, 烃类化合物和卤代烃会导致检测器背景噪声而降低检测器灵敏度, 还可能引起基线漂移或波动、鬼峰等。水分是色谱柱固定相流失或者降解的常见原因。氧气是气相色谱分析中最常见的污染物, 是色谱柱固定相降解和进样口衬管性能下降的常见原因, 还会引起不稳定分析物的分解。

尽管对于分析来说, 采用高纯度的气体是避免产生问题的最简单的途径, 但是同时也增加了不必要的成本, 因此, 选择不干扰分析与损害仪器的最低纯度级别的气体是最理想的选择。另外, 采用合适的气体净化系统也是保证分析质量的重要因素, 常见的有除去水分、氧气、有机化合物(如碳氢化合物和卤代烃)等的捕集阱供选择。

## 二、气体的标识

表 9-2 是目前国家标准对于气体钢瓶颜色等标记的规定<sup>[5]</sup>, 在分析实验室中, 应该有这样一个表格, 时刻避免出现错用气体的情况。

表 9-2 气体钢瓶的标识<sup>[5]</sup>

充装气体名称	瓶色	字 样	字色	色 环
氢	淡绿	氢	大红	$p=20$ , 淡黄色单环 $p=30$ , 淡黄色双环
氧	淡(酞)蓝	氧	黑	$p=20$ , 白色单环 $p=30$ , 白色双环
氮	黑	氮	淡黄	
空气	黑	空气	白	
二氧化碳	铝白	液化二氧化碳	黑	$p=20$ , 黑色单环
氩	银灰	氩	深绿	$p=20$ , 白色单环 $p=30$ , 白色双环

## 三、载气种类与条件

载气影响气相色谱分离主要体现在两个方面<sup>[6]</sup>: 第一, 载气线速度决定了溶质分子在色谱柱中气体的移动速度, 载气线速度取决于柱内径、柱压降、温度和载气性质; 第二, 载气中溶质扩散导致峰展宽, 气体中扩散的差异使得存在一个最佳载气线速度使峰展宽最小, 需要在扩散速率与载气线速度之间权衡。

图 9-6 比较了 3 种气体为流动相时的塔板高度与平均线速度的关系, 实验中线速度要求在理论塔板高度最佳值的  $\pm 20\%$  范围内, 可见氮气为  $9\text{cm/s} \sim 30\text{cm/s}$ , 氦气为  $17\text{cm/s} \sim 65\text{cm/s}$ , 氢气为  $40\text{cm/s} \sim 120\text{cm/s}$ 。

## 四、气体安全知识

### 1. 气体的毒性

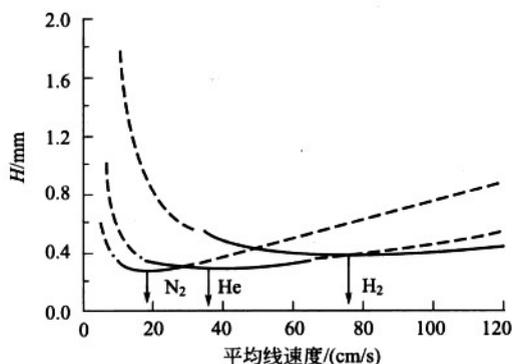


图 9-6 载气的性能曲线比较

箭头处最佳平均气体线速度

柱内径=0.25mm, 保留因子=10; 扩散因子: 氮气=0.1cm<sup>2</sup>/s,

氦气=0.2cm<sup>2</sup>/s, 氢气=0.35cm<sup>2</sup>/s

除了错用气体有可能造成危险之外, 在气相色谱分析检测实验室, 还需要对常用的实验室气体的毒性有一个基本了解, 在此基础上保护操作人员的安全。气相色谱实验室气体一般没有毒性。样品或者反应气体可能有毒, 危害健康, 还有废物处置问题。表 9-3 是实验室可能存在气体的毒性分类。

表 9-3 气相色谱和实验室常用气体毒性分类

	压缩	可燃性	窒息	毒性	冷冻危险性
乙炔	✓	✓	✓	×	×
空气	✓	×	×	×	×
氩气	✓	×	✓	×	✓(液化气)
二氧化碳	✓	×	✓	✓	✓(液化气)
化学试剂(反应压缩气)	✓	✓	✓	✓	×
氦气	✓	×	✓	✓	✓(液化气)
氢气	✓	✓	✓	×	✓(液化气)
氮气	✓	×	✓	×	✓(液化气)
氧气	✓	✓(助燃)	×	×	✓(液化气)
丙烷	✓	✓	✓	×	×

注: ✓表示具有相应特性; ×表示不具有相应特性。

## 2. 钢瓶安全

常规实验室 1-A 规格的气瓶, 是将室温下 8.3m<sup>3</sup> 的氮气压缩为 18.1MPa (2640psi) 下小于 0.5m<sup>3</sup> 的钢瓶中。这些空钢瓶的重量约为 91kg, 其中可以装的氮气约为 1.4kg, 如果这些气体从开口快速释放, 气瓶将以高达 30m/s

(108km/h) 的速度飞出, 其危害不言而喻。因此注意始终用铁链或托架固定钢瓶, 用钢瓶车运输, 不用的钢瓶一定要关闭。发现钢瓶或者减压阀有任何损坏应立即通知供应商更换。

### 3. 气体置换

如果突然释放  $8\text{m}^3$  以上的非呼吸气体在实验室, 将会减低空气中氧气的含量水平, 从而引起危害。因为液化气体释放之后体积会放大约 1000 倍。持续大量的氮气释放会使得环境不能维持生命, 而大量二氧化碳会马上引起昏迷与死亡, 因为二氧化碳比空气重, 存在于不通风区域, 不容易扩散。如果发生类似的问题, 应立即离开实验室, 并采用人工呼吸等措施进行抢救。在确保安全之前, 禁止任何没有采取呼吸保护措施的人进入该区域。

### 4. 爆炸和火灾的危险

如果一个氢气钢瓶出口不能控制泄露气体, 应该立即离开现场, 关闭门窗, 发出火警警报, 寻求救援并进行人员疏散。切记不要试图熄灭氢火焰检测器或关闭实验室内任何仪器。由于氢气在空气中的闪点为 4%, 很容易快速达到爆炸浓度。对于其它可燃气体 (如丙烷、乙炔或活性气体) 和氧化剂 (如氧气和一氧化二氮), 通常人们呼吸的空气中大约有 20% 氧气, 当氧化剂浓度过高时将会加速燃烧, 并能造成严重烧伤。而且在有高浓度的氧化剂时, 服装、纸、油漆和塑料都可以迅速燃烧。

如果气体已经开始燃烧, 并且气体泄露不能安全正确停止, 则不要试图熄灭火焰, 未燃烧的气体的积累可能发生爆炸。氢气尤其特别危险, 因为它与空气燃烧的火焰无色, 不要研究可能的着火区域, 而应该迅速离开等待专业人员处理。另外, 虽然燃烧产物无毒, 但是一些易着火的塑料等会产生有毒副产物。

## 第三节 流量的调节

设置和维持气体流量是气相色谱分析中的第一步操作, 也是保证仪器准确度和灵敏度的前提。流量调节方面的故障按现象可分为: 流量无法调大、流量无法调小、流量不稳定三类。

### 一、流量无法调大

按仪器气路操作步骤, 顺次调节各流路控制阀, 如果无论怎样调节稳流阀或流量控制针阀, 气体流量都不能上升到预定值, 即可认为是流量太小或流量无法调大故障, 可以按照图 9-7 所给出的方法逐步进行排除 (下面将按排序对图 9-7 加以说明)。

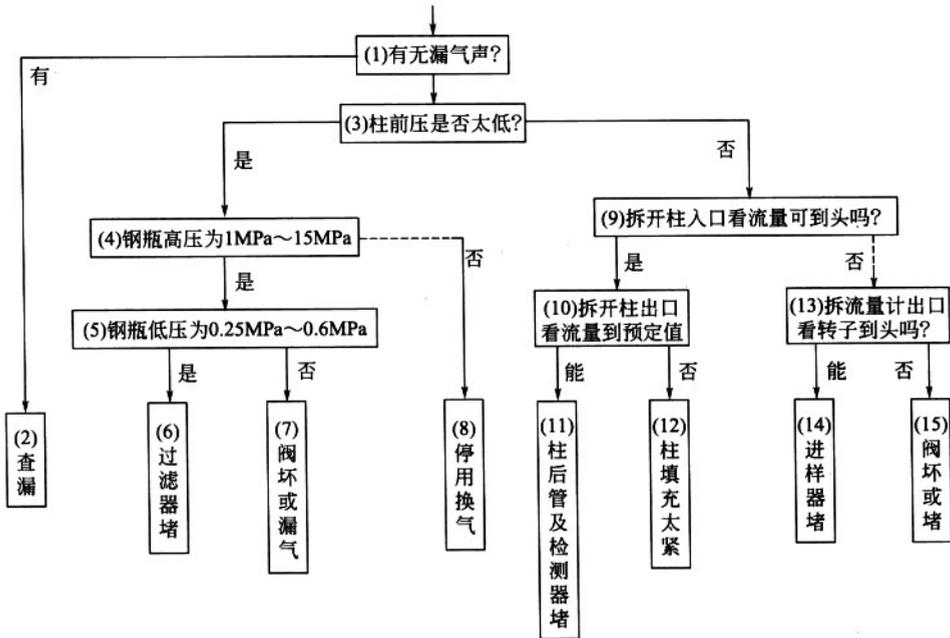


图 9-7 流量调不上去故障的检查与排除

(1) 直观检查 首先检查仪器系统是否有明显的漏气声。在仪器系统气路有较大的泄漏发生时，很可能导致流量调不上去。如果听不到漏气声则转入 (3) 进行。

(2) 查漏 听到有漏气声之后，可依照声音发出的方向逐步定位。此时可利用皂液的涂抹进一步确定漏气的发生处。找到原因后及时堵漏。

(3) 柱前压观察 观察柱前压指示表的数值大小，可迅速判断是气源引起的故障，还是仪器内部气路堵塞造成的。如果是柱前压太低（精确地说是比正常流量操作时的预定压力值低），则说明气源需要检查；如果柱前压正常则需要检查仪器内部气路。

(4) 钢瓶高压检查 打开钢瓶高压阀后，观察高压表指示，压力应在 1MPa~15MPa 之间。如果压力在 1MPa 以下，停用该钢瓶，换气；如压力值在合适的范围内，说明钢瓶压力正常。

(5) 减压阀上低压输出检查 调节减压阀看钢瓶上低压表指示能否调到 0.25MPa~0.6MPa 之间。如果正常，可能气路过滤器接头有堵塞或者是仪器上的稳压阀有问题，此时应按照 (6) 进行；如低压值不正常，则说明减压阀有问题，需进行 (7) 修理。

(6) 过滤器堵塞及稳压阀检查 将过滤器出口到仪器气源入口处的接头缓缓旋开，观察是否有较强的气流从接头处跑出。如有，则说明过滤器未堵塞，稳压

阀可能有问题。在确定稳压阀不出气后，可进行拆卸与清洗，这可能是稳压阀内阀针与阀座间堵塞所致。如清洗后阀仍不能正常工作，最好换一个新阀；在上面试验中若无较强气流从旋开的接头中流出，需要检查过滤器出入口前后可能堵塞之处；当然中间管线的堵塞也是可能的，但发生概率甚小。

(7) 减压阀修理 在证明减压阀故障之后，可拆卸修理减压阀。由于减压阀入口一侧有高压，因此如无修理经验，最好不要盲目拆卸，建议换用新阀。换阀时必须注意到，氢气表或氧气表应与其它气源表所用减压阀分开使用，减压阀上应标明其专用的气源名称。

(8) 停用，换气 钢瓶的压力太小时，应立即停用，换新瓶或充气。在过小的压力下，不但气源输出不稳，而且气源中杂质浓度将明显增大，这对高灵敏度分析是特别不利的。另一个必须要注意的问题，是钢瓶中的余气，特别是氢气钢瓶的余气不能随便排放。

(9) 拆下柱入口气路 将柱入口处气路接头拆下，观察流量计中的转子是否能升到最上端。如果能升到最上端，说明柱前气路正常，转入(10)进一步检查；如果转子达不到最上端，说明柱前气路有堵塞，需进行(13)检查。

(10) 拆下柱出口端 将柱子入口接回原气路中后，再将柱出口侧接头拆下，此时观察流量计中的转子能否调到预定值。如果可以，将判定柱后管路及检测器有堵塞，需按(11)进行处理；如果转子仍调不上来，则可以认为柱填充过紧，需按(12)进行。

(11) 堵塞检查与排除 在判定为柱后管路或检测器堵塞时应进行排除和清洗。

(12) 柱填充太紧 柱填充过紧的主要原因是载体粒径太小(目数太大)，造成过大的气阻所引起。在适当采用目数小一些的载体或减短色谱柱的长度后可以使流量上调到预定值。

(13) 拆下流量计出口气接头 将转子流量计出口端气路旋开后，观察转子能否升到最高端。如果可以，则判定进样、汽化器气路堵塞，按(14)处理；如果转子仍不能升到最高端，可认为流量阀损坏或流量计入口管路有堵塞，此时按(15)进行。

(14) 进样口堵塞 进样器的堵塞可按注射器的清洗步骤进行。

(15) 流量阀与管路堵塞 用分段试堵，将很快判定是否流量管路产生了堵塞。如有，按气路管路的清洗进行；如流量计前管路正常，可拆卸流量控制阀进行清洗。

## 二、流量太大调不小

如果气体流量一直很大而不能调小，可以认为是气路控制系统的故障。产生

此类故障的原因有三种：第一，流量计后气路有泄漏；第二，气路气阻太小；第三，流量控制阀件损坏。其检查方法如下：

堵住检测器的气路出口，观察流量计中的转子是否可下降到零位。如不能降为零位，需要考虑对漏气处进行检查，具体方法见气路泄漏的检查与排除；如转子可降到零位，说明系统不漏气。此时应观察一下流量调节阀转动时，流量是否有较大的变动。若有变动，可适当增加气路气阻；若无变动，则应怀疑阀件本身有问题，按照阀件的清洗部分处理。处理后的阀件应再装回原气路中进行试验。

### 三、流量调节后不稳定

气路接通后，虽然流量可调到预定值，但却很不稳定，这种现象被称作流量漂移。引起流量漂移的原因可能有以下几种：①气源压力值太低或波动；②柱温漂移；③气路上游（阀前）有漏气；④阀件内部漏气、松动或玷污。

可采用逐级尝试法加以检查。按下述的检查方法可以以较少的时间处理此类故障。

(1) 气源压力检查 首先检查气源的压力值是否正常，如果是钢瓶供气，可观察减压阀输出压力值是否太低或有漂移，如果太低经仪器内部各阀件的压降可能小于 0.05MPa。这样将不能满足稳压、稳流阀的工作条件，导致输出流量不稳。对于空气气路来说，所用气源为空压机，正常工作时压力值就在一定范围内来回波动，再加上有些仪器空气流量控制为针形阀，因此流量随压力的波动就不可避免。如果气源压力值正常则转入下一步检查。

(2) 柱室温度观察 仔细观察柱室实际温度是否缓缓上升或下降，由于柱温的变化能明显改变色谱柱中固定相对气流的阻力，因此观察一下柱温是否有波动是很有用的。若柱温波动，需检查其原因。除了温控操作有问题外，温控系统部件的损伤与调整也是其中一个原因。在确定了温控系统有问题后，可以参见柱室温控精度差部分进行；如果柱温正常稳定，按 (3) 继续。

(3) 阀前试漏 对气路阀上游（阀前），可在关断阀路及高压阀之后观察减压阀上低压表的指示值在 5min 内是否有下降来证实。如发现有漏气，需对气路中净化器接头及气源入口进行检查，然后消除漏气处。如果气路气密性良好，则需检查各路阀件的性能，按照 (4) 进行。

(4) 阀件漏气检查及清洗 从阀件入口供气，堵死出口，并将阀件浸于乙醇内仔细观察阀件各处是否有气泡出现。如有，说明阀件内部有泄漏；通常阀件泄漏点发生于“O”形密封圈、波纹管或弹性膜片处，这可在拆开阀件后清洗时加以注意；对于阀件中污染、堵塞和松动现象，也可在阀件的清洗过程中加以处理。阀件的清洗过程见后所述。

## 第四节 气路泄漏的检查与排除

### 一、气路泄漏检查

按照其对气路密闭性的严格程度,检查气路是否泄漏的方法分为 A、B、C 三级。

**A 级试漏**——对气路严重泄漏的最粗略观察。通常在气源打开并稳定之后,不应听到气路流经的各管路及阀件接头处有丝丝的跑气声,如听到明显的漏气声,说明系统严重漏气!必须依据漏气声追查处,并加以排除。引起系统严重漏气的常见原因是:气路接头没上紧,气路中管路开裂及没加合适的垫片等。查找气路的严重泄漏,也可在流路的流量开到最大时,用肥皂水在各接头逐步测试有无气泡出现加以证实。

**B 级试漏**——对气路中轻微漏气的检查。方法是堵住气路出口,观察气路中流量计内的转子。如果能缓缓下降为零位,即可认为此气路 B 级试漏合格。如转子不能降到零位,可用肥皂水在各接头处试漏,仔细观察。直至找到泄漏处为止。

**C 级试漏**——对气路中极小漏气的检查。方法是堵住气路出口,观察系统压力表,在半小时之内不得有  $5\text{kPa}$  (相当于  $0.05\text{kgf/cm}^2$ ) 以上的下降。此时系统压力应在  $0.25\text{MPa}$  (相当于  $2.5\text{kgf/cm}^2$ ) 以上。必要时可在系统出口处外接一个 0.5 级标准压力表来读取压力变化数。

在证实气路系统有泄漏时,可用分段堵住或关闭气路的方法来缩小漏气发生的范围。比如堵住热导池一路的出口时,若转子下降到零位,可认为柱出口管、检测器及检测器出口管有泄漏。若堵住柱出口后,流量计中转子降不到零位,可进而拆下相应色谱柱出口接头,用硅橡胶堵住柱出口的办法来进一步断定泄漏处,若转子仍不能下降为零,说明流量计、流量计引出管、进样汽化器、色谱柱及接头处有泄漏。上述方法还可继续进一步应用,以取得更确切的故障部位。

在采用 C 级方法中压力表读数试漏时,也可将仪器总进气阀(一般为稳压阀)暂时关闭,再将钢瓶高压阀打开,减压阀调到  $0.3\text{MPa} \sim 0.6\text{MPa}$  ( $3\text{kgf/cm}^2 \sim 6\text{kgf/cm}^2$ ),待减压阀稳定时,关死钢瓶上高压阀。注意减压阀上的高低压表(特别是高压表),在 5min 内不应有可观察到的下降。如有较明显下降,则说明气路系统的上游(指钢瓶气源到仪器气路入口及总阀门间)有泄漏,否则应对后面的气路做进一步的检查。

在气路系统的上游无泄漏时,可打开气路总输入阀(一般为稳压阀)对仪器内部气路进一步检查。为方便起见,可将此段气路分成下游和中游两段,其中从转子流量计出口到气路总出口为气路下游段,总输入阀到转子流量计之间一段气

路称之为中游段。对于仪器的下游段可采用 B 级测试加以证实；如 B 级测试中转子下降到零位，即可继续对中游一段检查。此时堵住转子流量计入口管路，观察钢瓶上高低压表的示值，即可断定中游段气路的连接情况。上述把整个气路分为上、中、下游三部分的方法应当说是分段检查的一种例子，操作人员也可依据气路的特殊之处而加以灵活性应用。

大量的气路泄漏检修结果表明，绝大部分的漏气点都发生于气路接头处，而气路阀件内部的泄漏也时有发生，至于管路中间的泄漏，除了急转弯处以外是很少见的。

在各种试漏法当中有一种乙醇浸泡法值得一提。其适用范围主要是气路阀件、检测器等小体积部件。具体方法是把这些待试部件出口堵住后（或不堵出口而通以大流量气流），放入装有无水乙醇的容器中，使乙醇液面完全超过部件上端；之后向该部件加压供气，并观察部件各处有否气泡从中溢出，如有溢出，则说明该处有泄漏，然后针对泄漏根源采取相应措施而加以排除。

虽然检漏液是一种简便的判断漏气的方法，但是并不推荐使用，特别是在要求非常清洁的地方，如果使用了，应立即擦干液体以除去皂沫。需要特别注意的是，当使用检漏液时存在电击危险，需要关闭气相色谱仪的电源并拔下主电源插头，小心不要把检漏液洒在电器线路上，特别是检测器的加热线。使用电子检漏仪是非常理想的方法，不过价格相对较高。

## 二、气路接头漏气故障的排除

在发现气路某接头有泄漏时，有人认为只要继续紧固接头螺丝即可达到消除泄漏的目的。于是凡有泄漏处使用力拧紧接头螺丝与螺母，须知此种简单处理方法是片面的，有时可能会取得一定的效果，但多数情况下可能造成接头的永久性损伤，如滑扣、密封面有伤痕、甚至接头断裂，这样就会造成更多的麻烦。正确的处理方法应当是在发现接头有泄漏时，首先对所用接头做如下检查：

- ① 接头配合垫片是否合适、退火及无伤痕；
- ② 接头密合处是否干净平滑无污物；
- ③ 接头配合装配时，是否相互对准对正；
- ④ 能否先用手将接头大体上紧。

如上所述检查无异常，再用扳手（一般为两把）将接头上紧。上紧时应注意压力要适当，对于有塑料、橡胶、聚四氟垫片的接头压力不宜过大、一般能密封后再上紧一点即可；对于有金属垫片的接头，压力可适当加大，但也应以不漏气为界限。

## 三、气路系统维护时间表

气相色谱气路系统中的一些部件需要定期维护与检修，表 9-4 列出了气体净

化器、分流出口捕集管和流量计校准的周期,可供参考,实践中根据具体情况调整。

表 9-4 气体纯化管理系统维护

项 目	周 期	措 施
气体净化器(载气和检测器气体)	每(6~12)个月	更换时间取决于净化器的容量和气体纯度,一般每(6~12)个月更换一次无指示剂的捕集阱。或者当指示捕集阱改变颜色时进行更换。当指示剂失效时,更换指示剂捕集阱
分流出口捕集管	每 6 个月	更换
流量计校准	每(1~2)年	按照校准证书推荐时间表重新校准电子流量计

## 参 考 文 献

- 1 Dean R. Guide to the Care, Maintenance, and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatographic Systems, Third, revised edition Wiley-VCH Weinheim (FRG), 1999
- 2 李浩春. 分析化学手册, 第二版, 第五分册, 气相色谱分析, 北京: 化学工业出版社, 1999
- 3 孙传经. 气相色谱分析原理与技术, 北京: 化学工业出版社, 1993
- 4 Hinshaw John V. *LC GC North America*, 2002, 20 (6): 532~536; 2002, 20 (7): 600~604
- 5 陈保仪, 陈伟明. GB 7144—1999, 气瓶颜色标记, 中华人民共和国国家标准
- 6 Hinshaw John V. *LC GC*, 2001, 19 (10): 1056~1064

## 第十章 温度控制系统

温度控制系统是气相色谱仪中最重要的控制部分之一，主要功能是对色谱仪中柱室、检测室及汽化室的操作温度进行调节和测量。通常，对于恒温分析，平均炉温必须控制在 $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$ 内，才能够保证溶质的保留时间控制在 $\pm 10\%$ 以内，一般厚膜、长柱、大口径柱和填充柱，对温度波动的耐受性较好；内径小于 $0.2\text{mm}$ 的微径柱、长度小于 $10\text{m}$ 或载气流速大于 $100\text{cm/s}$ 情况时，对控温精度的要求更高<sup>[1,2]</sup>。

由于温度控制电路比较复杂，元器件多，而且有些器件的可靠性较差，因此对整个温度控制系统，其故障发生率相当高，约占 $40\%$ ，作为色谱仪的使用者对此必须给予充分注意。为了能及时排除温控系统出现的故障，首先应当对仪器的温控系统有相当了解，并对各种故障排除的具体方法比较熟悉<sup>[3]</sup>。

在气相色谱仪温控电路的各种方式当中，以采用可控硅为执行元件，连续比例式调节电路的控制形式最普遍。

### 第一节 风扇电机系统

在气相色谱仪中，采用风扇电机系统为色谱柱室鼓风，以加强柱室内部加热空气的循环。其鼓风效果对柱室升温快慢、温控精度及柱室温度梯度都有明显的影响，鼓风系统还可用于色谱柱室的迅速降温。风扇电机系统常出现的故障有：风扇不能转动，风扇转动噪声太大以及转动方向相反。

#### 一、风扇不启动

气相色谱仪柱室温控开动之后，风扇应立即启动，启动后柱室内开始进行强制式空气循环。如温控开关打开后，风扇一直不转动，即属风扇不能启动故障。此时，应马上关掉电源进行检修，以免鼓风电机被烧坏。风扇不能启动故障的产生原因有下面几种：①风扇位置调节不当；②供电电源故障；③电机启动电容故障；④电机出轴卡死；⑤电机绕组烧坏；⑥电机引线连接有误。

排除故障的方法如图 10-1 所示：

(1) 停电后转动电机试验；

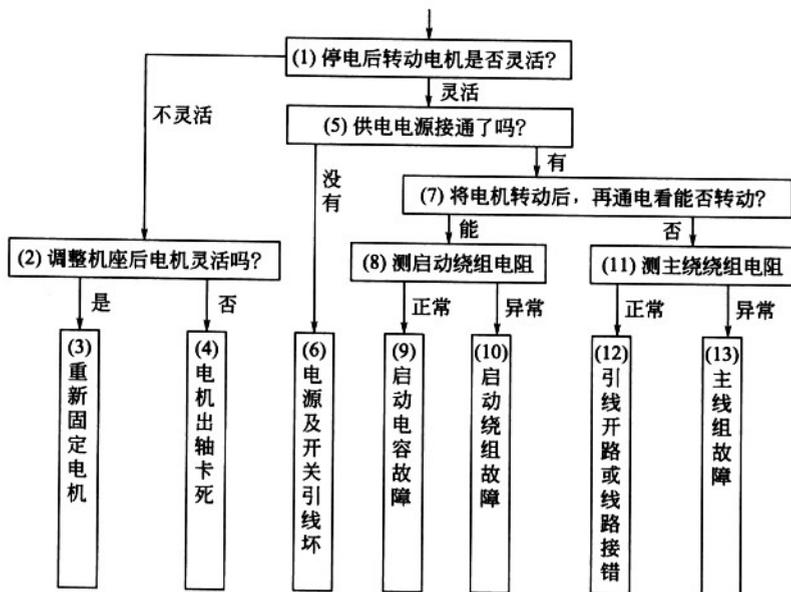


图 10-1 电机风扇不转动的故障检查与排除

- (2) 调整电机机座试验;
- (3) 重新固定电机;
- (4) 电机出轴卡死故障;
- (5) 电机供电电源检查;
- (6) 电源引线故障处理;
- (7) 手工启动电机试验;
- (8) 电机绕组的检查。

## 二、风扇噪声太大及反转故障

风扇电机在正常运行时声音应当是小而且均匀, 如果通电运行后有明显的金属碰擦声、机壳嗡嗡的共振声、尖锐的滋滋声, 应认为是风扇噪声过大故障。此时可根据噪声的不同表现形态对风扇电机系统进行妥善维修。

产生风扇电机运行噪声过大的原因有如下几种: ①风扇鼓风机罩与机壳相碰; ②仪器机壳螺丝没安好, 引起共振; ③电机轴承缺油或有损伤; ④电机减震装置位置不妥或固定螺丝有松动; ⑤电机引线因振动导致接触不良。

针对噪声产生的不同形态可以比较容易找到解决的办法; 对于风扇反转故障的出现通常无明显的外部异常, 但对程序升温的效果将会产生比较明显的影响, 通常表现为程控曲线的拖尾滞后现象。许多情况下, 只要将电机中任何一组线圈两端接线对换一下即可。

## 第二节 温度控制系统

### 一、色谱柱柱室温度控制故障

在气相色谱仪当中，柱室温控的自动控制，其最终目的在于使待分析的色谱柱处于一个均匀稳定的温度环境之中。柱室温控常出现的故障有：柱室不升温、柱室温度失控、柱室升温慢且升不到高温以及柱室温控精度差等。下面针对各种故障的情况分别加以叙述。

#### 1. 柱室不升温故障

按色谱仪的正常操作步骤，打开柱室升温开关时，风扇随之转动，尔后调节柱室温度到设定值，柱加热指示灯点亮，柱室温度也逐渐上升，直到柱温达到给定值为止。如果按上述操作进行，柱室温度一直不上升，则认为是柱室不升温故障。

柱室不升温故障的原因有：①柱加热丝断；②铂电阻或引线开路；③电源保险丝损坏；④插头、电缆断线；⑤可控硅故障；⑥温控板损坏；⑦温控单元内部引线断路。

排除上述故障的方法可按图 10-2 所给出的诊断程序进行。

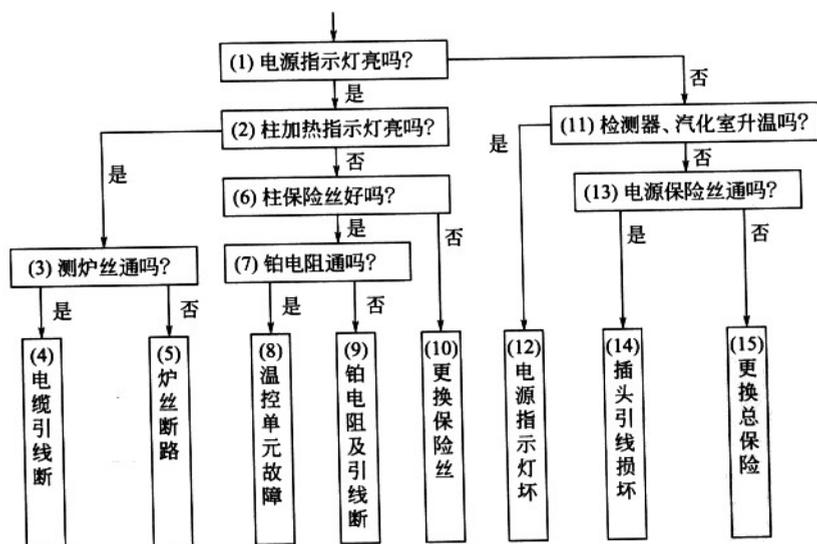


图 10-2 柱室不升温的故障检查与排除

详细步骤如下：

(1) 检查电源指示灯 如灯亮，说明仪器有电，须按 (2) 进行检查；若灯

不亮，应进一步观察检测室、汽化室是否可升温或相应指示灯亮。

(2) 检查柱加热指示灯 如点亮但不能加热，说明炉丝电路有断路；倘若柱加热指示灯没点亮，须注意柱保险丝是否损伤。

(3) 检查测柱加热丝 整机停电后，直接测量炉丝电阻是否有一定阻值，若有一定阻值则说明加热丝正常，须检查加热引线电缆；若炉丝开路，需打开柱加热炉，修复炉丝断路处。

(4) 电缆引线断 炉加热引线，查出断线处。查出后若属接触不良，需清洁接插处插头、插座表面；若属引线虚焊，应重新焊接。

(5) 炉丝断 柱加热炉炉丝断开后，需打开柱加热炉，直至能看到炉丝，仔细观察炉丝在何处断开，修完或更换炉丝后，需注意测试炉丝对外壳不得有相碰或漏电。

(6) 检查柱加热保险丝。

(7) 检查铂电阻 测量从柱室引向温控单元的铂电阻引线插头两端电阻，看其是否为正常相通。若测得电阻值正常，须进一步检查温控单元内部电路；如果电阻值太大或开路，需按(9)进行处理。

(8) 温控单元不升温故障检查 在测量柱加热丝、铂电阻管正常的情况下，如柱室仍不升温，需进入温控单元内部进行检修。

(9) 铂电阻及引线断路。

(10) 更换保险丝。

(11) 检查检测室、汽化室升温情况观察检测室、汽化室是否可升温？

(12) 检查电源指示灯 虽然仅仅出现指示灯损坏，还不会导致柱室不升温故障，但是仪器电源指示灯能正常指示有无电源，却是很有意义的。检查指示灯引线或更换新的指示灯，是排除此种故障的根本方法。

(13) 检查总保险丝。

(14) 电源插头、引线故障。

(15) 更换保险丝。

## 2. 柱室温度失控

在打开柱室加热电源之后，如果柱室实际温度一直上升而不受柱室温度设定值的控制，则为柱室温度失控故障。柱室温度失控故障的原因有：①可控硅击穿；②加热丝与机壳相碰；③铂电阻一路短路，④温度敏感桥路给定电阻一路开路；⑤柱室温度控制板有故障。

排除柱室温度失控故障，可按图 10-3 给出的诊断步骤进行，各步骤详细内容如下。

(1) 断开铂电阻后检查柱室温度是否仍失控，将插在温控单元上的铂电阻插头去掉之后，观察柱室温度是否继续处于失控状态；倘若铂电阻去掉之后，柱温不再失控，整个系统处于不加热状态，转入(7)做进一步检查。

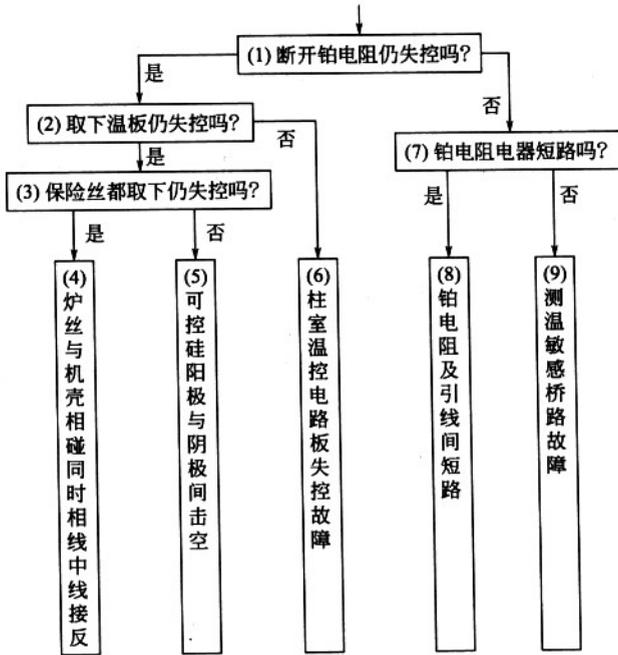


图 10-3 柱室温度失控故障的检查排除

(2) 去柱室温控板实验 打开温控单元的外壳之后，找到柱室加热温控板并将其从插座上拔下。再做柱升温操作，观察柱室是否仍处于失控状态，如果柱室温度仍失控应继续做(3)检查；倘若柱室温度脱离失控而处于停止加热状态，则判定柱室加热温控板有问题，转入(6)处理。

(3) 去保险丝试验 将柱室加热回路中两只可控硅保护用保险丝都取下来，观察柱室是否仍失控。若仍处于失控状态，则判定为柱加热丝与机壳相碰，需按(4)进行；如柱室温度不再失控，已转而进入停止加热状态，则判定为可控硅有击穿，应转入(5)处理。

(4) 炉丝碰壳的处理 拆开柱室加热炉直接观察，可很快找到加热丝碰壳处，采用拉紧加热丝或加装绝缘瓷套管即可解决此问题。

(5) 可控硅击穿的处理。

(6) 柱室温度控制板有故障温度失控的原因与色谱仪中所采用的温控板的电路有关系。

(7) 铂电阻电阻值测定。

(8) 铂电阻短路。

(9) 测温敏感桥路故障 在目前的国产气相色谱仪控温电路中，大都采用测温敏感电桥，而且测温热电阻与温度给定电阻在桥电路中正好处于邻臂位置。这样温度给定电阻一臂及其对臂电阻的开路或阻值太大，铂电阻对臂的短路或阻值

过小，都会造成温控加热的超温现象。

### 3. 柱室升温慢且升不到高温

当色谱仪的柱室加热启动后，在低温区温度控制正常，但在高温区却升温迟缓；在要求更高的温度时，无论怎样调节温度给定值，柱室温度都不能上升到设置值。此时称柱室温度升不高或升温缓慢故障。

产生该故障的原因有：①控制保险丝一路熔断；②炉丝加热功率不够或接触不良；③可控硅有一个断路；④脉变次级开路；⑤触发脉冲幅度不够。

检查柱室升温慢且升不到高温的故障，可按图 10-4 所给出诊断图进行。

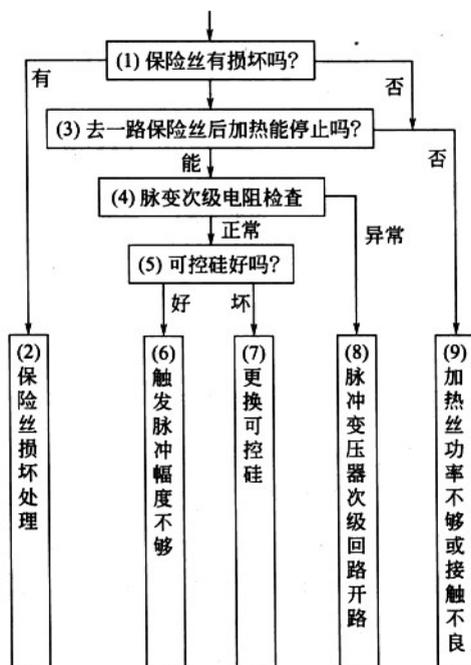


图 10-4 柱温升温慢故障的检查及排除

### 4. 柱室温控精度差

当柱温加热到给定值并稳定一段时间后，柱室温度应在设定值附近波动微小。如果柱室温度变化超过仪器规定的温度值，即认为是柱室温控精度差故障。

柱室温控精度差的发生原因有：①温控电路放大倍数低；②铂电阻位置不对；③过温保护电路调节不当；④温控单元地线未接；⑤温控加热板上元器件不稳；⑥铂电阻给定电路引线接触不良。

排除方法可按发生原因逐步尝试，也可按图 10-5 方法分类检查，其步骤如下。

(1) 柱温变化形态观察 仔细观察柱温的变动，至少可区分为两种不同形态，一种是柱温来回波动并且具有明显的周期性。此时表明整个系统温控环节有

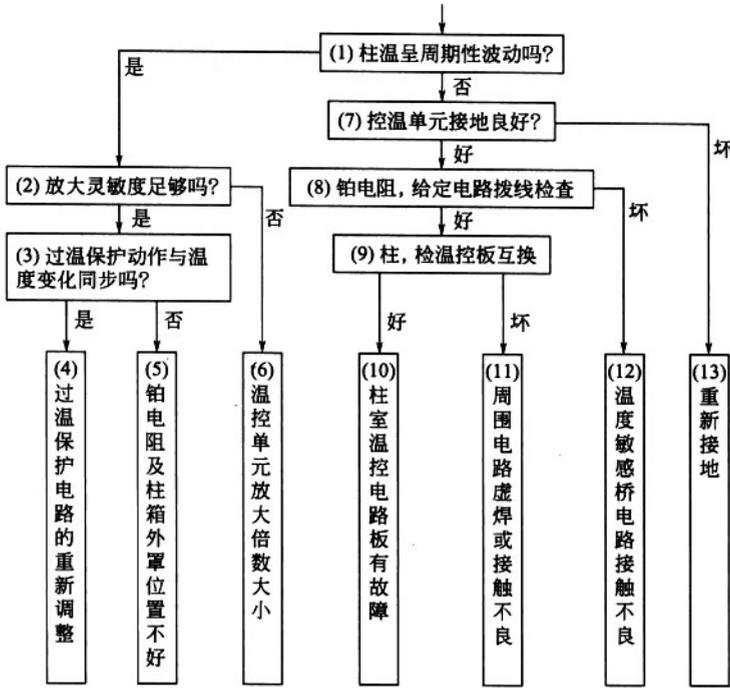


图 10-5 柱温不稳定的故障检查与排除

效放大倍数不够或过温保护机构调整不当，应按（2）处理。另一种情况是柱温的偶然变化，而且这种变化无明显周期性。此种情况大部分原因是电源干扰、内部接线虚焊及元器件不稳定，应转入（7）做进一步检查。

（2）控温电路灵敏度测试 精确测量控温电路灵敏度的方法，是用一个标准可调电阻箱去取代柱室测温铂电阻。如果变化正常，说明控温电路灵敏度正常；若无任何变化或变化太小，则说明控温电路灵敏度低。

（3）观察过温保护动作与温度变化的同步性。

（4）参照色谱仪仪器使用说明书严格调整过温保护电路的方法。

（5）铂电阻位置及柱箱外罩检查。

（6）温控电路灵敏度太低检查。

（7）控温单元接地检查。

（8）铂电阻、给定电路的接触不良检查。

（9）温控板互换试验。

（10）柱温控电路板检查。

（11）周围电路虚焊及接触不良问题检查。

（12）铂电阻引线、温度给定电位器电路接触不良检查。

（13）重新接地线。

## 二、检测室温度控制故障

检测室温度控制故障按其产生的现象也可分为：①检测室不能升温；②检测室温度失控；③检测室温度升不高；④检测室温度波动大。

导致上述故障的原因及相应的排除方法与柱室温度控制故障十分相近。因此上面所述的方法原则上也可用于检测室温度故障的相应情况。在借用上述各个诊断程序时，可将相应的名称稍做改动，如“柱温”更换为“检测室温度”，其它词句不做改动即可。

## 三、汽化室温度控制故障

汽化室温度控制电路几乎都采用开环给定方式进行控制。其温控范围大都在 $60^{\circ}\text{C}\sim 400^{\circ}\text{C}$ 之间。汽化室温控部分所产生的故障有：①汽化室不升温；②汽化室温度失控；③汽化室温度升不高；④汽化室温度波动太大。下面简述这4种故障的排除方法。

### 1. 汽化室不升温

在电源供给色谱仪的温控单元后，打开汽化室加热开关，按要求设定汽化温度，30min左右汽化室温度应能达到所要求的温度值。如果在这段时间内汽化室一直不能升温，或受柱室影响略有温升，则可判定为汽化室不升温故障。

汽化室不升温的原因有以下几个：①电源保险丝断路；②加热铬铁铁芯烧断；③可控硅损坏；④开关接触不良；⑤全桥损坏；⑥触发电路故障；⑦电源变压器次级开路；⑧脉冲变压器次级开路。故障的排除方法如图10-6所示。

### 2. 汽化室温度失控

仪器正常时，汽化室温度应按设定值调节而有升有降。如果汽化室温度一直向最高温度升温而且不受汽化室设定值的控制，则认为是汽化室温度失控故障。

汽化室温度失控的原因有如下几种：①可控硅阴阳两极间击穿；②加热丝或加热引线与机壳相碰；③脉冲变压器初次级线圈间漏电；④单接管电路自触发。

由于该故障产生原因不是非常复杂，因此可采用逐个尝试的方法加以排除。

### 3. 汽化室温度升不高且变动大

在正常情况下，汽化室温度最高可达 $300^{\circ}\text{C}$ 以上。如果汽化温度都不能达到这一标准，则认为存在汽化温度升不高的故障。

造成汽化温度升不高的主要原因是加热铬铁芯断开。

汽化温控电路由于是开环控制，因此温度的稳定性与电源电压的变动有直接的关系。导致汽化温度变动过大的原因，除了电源电压波动超差外，就应考虑线路有接触不良现象。

消除电压波动所造成的温度变化，最好在汽化加热器电源输入端增设一台交流稳压电源。另外由于柱室与检测室温控电路都采用闭环控制且功率较大，因此

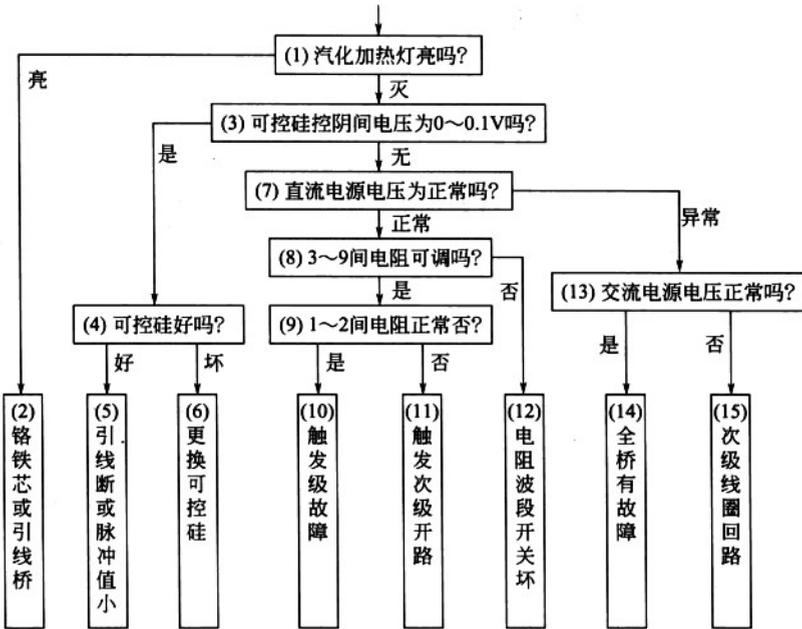


图 10-6 汽化室不升温的故障检查与排除

交流稳压电源最好只给汽化加热电路供电。

### 第三节 温度测量示值误差大

在气相色谱仪电路中，温度测量指示部分大多都采用热电偶配用动圈毫伏表系统。该系统由热电偶测温组、连接电缆、换挡开关、毫伏计、温度补偿桥路及电源等部分组成。其主要故障是温度指示值误差太大。

如果测温毫伏计的读数与测温对象的实际值之差超过  $15^{\circ}\text{C}$ ，则可认为是温度指示误差太大故障。由于该故障与温度测量指示的各个部分都有关系，因此有必要介绍查找此故障的方法（见图 10-7）。

其步骤如下：

- (1) 零点挡零点校对；
- (2) 检查各挡超差情况；
- (3) 关电源检查补偿作用；
- (4) 毫伏计指示误差过大，用直流信号发生器配用直流电位差校验毫伏计指示温度精度；
- (5) 补偿桥路及桥路电源故障处理；
- (6) 清洗波段开关用无水乙醇/细砂布清洗与打磨腐蚀触点，检查温度指示

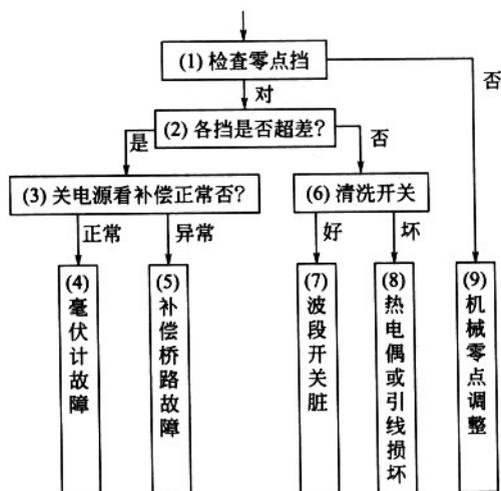


图 10-7 温度指示误差大的故障检查

误差是否减小；

(7) 波段开关触点脏用无水乙醇清洗，需要时，再用细砂纸对触点稍加打磨，消除锈蚀；

(8) 热电偶与连线检查；

(9) 毫伏计机械零点调节。

### 参 考 文 献

- 1 Dean R. Guide to the Care, Maintenance and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatographic Systems. Third. revised edition Wiley-VCH Weinheim(FRG), 1999
- 2 李浩春. 分析化学手册. 第二版. 第五分册, 气相色谱分析. 北京: 化学工业出版社, 1999
- 3 孙传经. 气相色谱分析原理与技术. 北京: 化学工业出版社, 1993

# 第十一章 气相色谱进样系统

与液相色谱不同，气相色谱进样过程首先需要将样品汽化后引入色谱柱，因此要求专用的进样口设计，保证样品组分完全汽化并不能分解、进样重复性好、不能存在样品组歧视效应等，进样系统维护与故障排除是气相色谱分析中面临的主要问题之一<sup>[1,2]</sup>。

## 第一节 进样口

### 一、填充柱进样口

在不需要高效分离，或者当用气-固色谱分离气体时要进行填充柱分析，填充柱进样口的设计和使用相对比较简单，常见的故障包括样品分解、反冲和泄漏<sup>[3,4]</sup>。

**分解：**填充柱进样口的容积较小，尤其使用相对较高的载气流量时，与某些毛细管进样口（如不分流进样口）相比，填充柱进样口的分解并不十分严重。由于填充柱进样口的活性，尤其不使用玻璃衬管时，极性样品组分常常会拖尾或者在进样口分解。当出现进样口样品分解问题时，可以采用柱内直接进样、采用脱活的玻璃衬管、降低进样口温度等措施。

**反冲：**由于进样口体积较小，比较大的进样体积会超过衬管的容量，使得反冲进入气路甚至隔垫，导致出现鬼峰、样品损失、峰面积不重复、分解等问题。需要减少进样体积。

**泄漏：**隔垫漏气主要表现是保留时间延长或漂移、响应值降低或柱前压降低、检测器噪声增大等。隔垫的使用寿命取决于进样频率、针头质量等，针头的毛刺、尖锐的边缘、粗糙的表面和钝的针头都会降低隔垫寿命。定期更换隔垫是非常必要的，注意更换隔垫时一定要把色谱柱箱的温度降低，避免没有载气时高温下色谱柱流失。另外，O形环可能老化而成为进样口中的漏气源，也需要定期更换。O形环材料中用于提高柔软性的微量增塑剂，在高温下会固化使O形环变硬失去密封性。

## 二、分流/不分流进样口

分流/不分流进样口组合是目前应用最广泛的毛细管柱进样口，两种模式的组合应用可以满足大部分分析的要求。

### 1. 分流模式

分流模式是将少量样品引入色谱柱而不造成柱超载的有效方法，适用于以下样品的分析：不能稀释后进行分析（如溶剂）；不能聚焦或进样时间长（阀进样）的样品；在溶剂峰之前有很重要的小峰直接流出（如在溶剂分析中）。

分流进样所出现的任何峰展宽或拖尾，一般都是由于色谱柱安装不正确、分流流量低或者进样口温度低（表 11-1）。如果怀疑进样口温度太低，可以 50℃ 的间隔升高温度，然后与在较低温度下分析的结果比较，如果结果有所改善，就继续升高温度，直到结果稳定为止。另外，分流进样口遇到的大部分问题都与歧视和分解有关，分析准确度和重现性都随歧视和分解的增加而降低，分流进样口的性能受针头歧视和进样口歧视的影响。

表 11-1 分流模式操作和条件设定

参 数	选 择 与 设 置	原 理
进样口温度	最后流出化合物的沸点	保证瞬间蒸发 减少进样口歧视
进样口衬管	大体积,脱活	减少反冲与分解
进样口填充物	硅烷化玻璃毛 玻璃珠或粒料 无	保留不挥发物,截留液滴 比玻璃毛的活性低 活性最低
进样量	0.5 $\mu$ L~3 $\mu$ L 液体 0.10mL~10mL 气体	容易调节分流比 相应地调节分流比
进样技术	快速自动进样 热针快速手工进样	较少的针头歧视 重现的歧视
分流比	50:1 到 500:1	取决于样品和进样体积
初始温度	影响不大	使初流出的峰变窄
隔垫吹扫	2mL/min~3mL/min	减少鬼峰

### 2. 不分流模式

不分流进样是采用普通的分流进样口，通过在进样过程中关闭分流阀而实现不分流模式。样品在衬管中瞬间挥发，样品气体被载气带入色谱柱，并在低于溶剂沸点的温度下在柱头实现再浓缩。当大部分都进入色谱柱之后，打开分流出口，残留在衬管中的样品蒸气被吹出，在分析运行过程中，分流出口一直开着。不分流进样的优点是大部分注入的样品都进入色谱柱，因此灵敏度比分流进样高得多。进样的要求之一，是初始柱温要比样品溶剂的沸点至少低 10℃ 以上，使样品溶剂在柱头冷凝，从而使溶质分子形成紧密的窄的谱带。不分流进样通常用

于环境分析、食品中的农药检测、药物筛选等。在这些应用领域，样品制备与净化是非常关键的因素，也是保护色谱柱和仪器系统的关键之一。

不分流进样的主要问题大多与吹扫时间设置不当、降解、不适当的聚焦和反冲有关（表 11-2）。如果进样量太大或者衬管体积太小，样品蒸气会通过隔垫吹扫管路而损失，导致重现性差或者非线性。进样温度、衬管体积和进样量的匹配是避免反冲的最关键因素。改变衬管类型、或者用硅烷化试剂对衬管和进样口进行脱活处理，可以明显减少峰面积的损失或者鬼峰的产生，除去或者减少衬管填充物，也可以降低进样口的活性。

表 11-2 不分流模式操作和条件设定

参 数	选 择 与 设 定	原 理
进样口温度	刚好高于溶质的最高沸点 (高 20℃)	保证瞬间蒸发,减少样品可能的降解,对于脏的样品或较高沸点的溶质,采用较高的进样口温度
进样口衬管	大体积>0.8mL 小体积<0.2mL	采用自动进样器 只用于手工慢进样
进样口填充物	无 硅烷化玻璃毛	只用于慢、进样减少降解 用于快速自动进样和“脏”样品
进样量	0.5μL~2μL 液体	取决于溶剂、衬管和进样条件
进样技术	快速自动进样  热针慢速手动进样  热针快速手动进样	最重现 较少的针头歧视 进样>1μL 且使用窄的衬管 进样速率为 1μL/s~2μL/s 用于<1μL 的进样
吹扫流量	20mL/min~50mL/min	影响不大
吹扫延迟时间	20s~80s	根据柱流速、衬管类型和样品条件调节
柱箱温度	低于溶剂沸点 10℃~25℃	对于溶剂聚焦必要
柱流速	>2mL/min	样品快速离开进样口,减少反冲和分解
隔垫吹扫	2mL/min~3mL/min	减少鬼峰
定量	内标法 标准加入法	重现性最好 只用于进样量恒定的情况
保留间隙	1m~3m,脱活处理(每 μL 进样需要 1m~2m)	减少峰变形,促进溶剂和固定相聚焦

### 三、冷柱头进样

与其它进样技术比较，冷柱头进样能够消除样品歧视与进样时可能产生的样品热分解和重排反应，是进样准确度和精密度最高的进样技术，但是与其它进样技术比较，具有一些不足：最大进样量比较小；传统进样技术进样体积一般为 0.5μL~2μL，在溶剂峰前面出峰的溶质峰不能够聚焦而难以测定；毛细管柱，尤其是特别大的相比和小内径柱容易样品超载；常常需要对初始温度、溶剂性质

和进样速率等参数进行优化。

冷柱头进样技术一般需要对样品进行预处理，主要避免柱超载和污染的可能性、溶剂与固定相不相容和初始柱温对溶剂沸点的依赖性。通过在分析柱前使用保留间隙就可以解决这些问题。表 11-3 是冷柱头进样口的操作和条件设定。

表 11-3 冷柱头进样口的操作和条件设定

参 数	选 择/设置	原 理
初始进样口温度	等于或高于色谱柱箱温度 3℃	保证溶剂前沿的样品聚集
初始进样口温度 升温速率	与柱箱升温速率相同(柱温跟踪) 比柱箱升温速率快	简单而有效 初始峰宽变窄
进样量	0.1μL~2.0μL 液体	对于小内径的柱采用较小的进样量 取决于柱容量
进样技术	快速自动进样 熔融石英注射针	从针尖注射出液滴 用于小内径柱的手动进样
柱箱温度	等于或稍低于进样口温度	防止反冲
柱流速	50cm/s~80cm/s 30cm/s~50cm/s	用于 H <sub>2</sub> 载气 用于 He 载气
隔垫吹扫	12mL/min~15mL/min	安装后可用于防止鬼峰
定量	所有方法	固有的重视性技术,无歧视
保留间隙要求	1m~3m,脱活	校正峰变形 防止不挥发性组分进入色谱柱,对于细 内径柱可使用自动注射

冷柱头进样遇到的主要问题是与柱超载、溶剂/固定相不相容以及柱污染相关。

如果进样后样品在柱头的区域太长(进样量大、湿润性不好),色谱峰将变宽或分裂。保留间隙一般能解决这一问题。采用冷柱头进样时,柱效的降低常常是柱头固定相被污染或降解所引起的。冷柱头进样应当只采用固定相固定化的色谱柱,以防止溶剂顶替固定相。可用溶剂冲洗固定化的固定相,以除去污染物,恢复色谱柱性能。如果冲洗后柱性能仍然不能改善,就从色谱柱的入口端载去 0.5m。如果仍然不能恢复色谱柱性能,就必须更换色谱柱,并且对于所有“脏”样品进一步分析应当采用保留间隙。

#### 四、程序升温汽化进样口

程序升温汽化(PTV)进样口结合了分流、不分流和柱上进样口的优点,样品注入冷的衬管中,然后升高进样口温度汽化样品,可以对放空时间和进样口温度编程控制,从而使样品气体以相当于分流或不分流的传送模式进入色谱柱。PTV模式的主要优点是注射器和进样口的歧视效应比较小,不需要专门的注射器,可采用大体积进样,除去溶剂和低沸点组分、不挥发性组分被捕集在衬管中,可以实现分流和不分流进样操作,保留时间和峰面积重复性接近冷柱头进样模式。

PTV 进样口在进样之前和进样过程中通过专用装置或强制冷气（空气、液态 N<sub>2</sub> 或液态 CO<sub>2</sub>），实现主动冷却。进样口的低温冷却可以将进样口温度降到足够低，以在衬管中实现来自其它取样装置气体进样的热聚集。将辅助取样装置连接到毛细管柱，是 PTV 进样口优于普通进样口的显著优势。进样之后，PTV 进样口由电加热器或预热的压缩空气来加热。根据不同的设计，进样口的升温速率可以不控制的最大速率升温至最高温度或者是程序控制（表 11-4）。

表 11-4 PTV 进样口操作和条件设定（冷分流/不分流模式）

参数	选择/设置	原理
进样模式	冷分流 冷不分流	一般应用和样品筛选 痕量分析
进样口升温速率	可调(即 2℃/s~12℃/s)  弹道式的	对热不稳定的、复杂的或大体积样品,采用较慢的升温速率 对于大部分样品采用较快升温速率 使用较快的升温速率以缩短不分流吹扫延迟时间 简单,价廉的仪器
进样口衬管	带硅烷化玻璃毛的直衬管 阻滞的(类似于蒸馏塔片)填充 吸附剂的	通用 用于热不稳定样品 用于来自辅助取样装置的气体进样聚集
进样量	0.1μL~1.5μL	对于挥发性溶剂和快速升温速率使用较小的进样体积 只有在溶剂消除模式才使用大于 1.5μL 的进样量
进样技术	自动进样器和手动进样,快速 或慢速	对于冷分流和冷不分流模式影响不大
柱箱温度	比溶剂沸点低 10℃~25℃ 取决于样品	为在不分流模式实现适当的溶剂效应 用于分流模式
柱流速	30cm/s~50cm/s	快速冲洗进样口反冲少
隔垫吹扫	1mL/min~5mL/min	最大限度地减少鬼峰
定量	任何方法	固有的高重复性 冷注射模式的歧视低
保留间隙	1m~3m,脱活处理	补偿较长的样品分布区域和溶剂-色谱柱的不相容

## 第二节 进样组件

### 一、进样口衬管

衬管是进样口系统的中心部件，样品在其中汽化并进入色谱系统，衬管的选

择主要取决于具体应用，另外衬管体积、活性和填充物也是需要重点考虑的因素。很多仪器厂商提供了分流进样、不分流进样、通用分流/不分流进样、直接进样、聚焦衬管等多种满足不同应用要求的衬管类型供选择，注意使用时严格区分与标识，避免使用不分流衬管进行不同分流比实验等问题。衬管的体积和样品蒸发时的体积需要很好的匹配，如果衬管太小，将会发生反冲与样品损失，很可能影响准确度、重现性和灵敏度。厂商提供脱活的衬管是经过处理的，防止样品吸附并尽可能减少对热不稳定化合物的降解；未脱活的衬管不推荐用于极性和对热不稳定性的样品，或者用户自己在使用之前进行脱活处理。填充物的主要作用是增加衬管的表面积，这样将有助于汽化和不挥发性样品的保留，获得最佳性能，其中的填充物的质量要高并且经过脱活处理。

衬管应当定期更换，避免峰形变差、溶质歧视、重现性降低、样品分解和鬼峰现象，衬管更换的频率取决于样品的干净程度，如果色谱性能异常时（如峰形改变、峰歧视、重复性差、样品裂解等问题）需要更换。

### 1. 衬管的维护与检修

警告：试样汽化室温度降低至  $50^{\circ}\text{C}$  以下后才可以进行汽化室的维护与维修；为了防止烧焦螺丝部分，在试样汽化室处于高温时，不要拧动螺钉、螺母。

进行玻璃衬管的检修与维护的时期主要是：在一系列分析之前；保留时间、面积的重现性变差时；检测出鬼峰时。

主要的检修点包括：玻璃衬管的形状（形状异常时，无法进行正确的分析）；玻璃衬管的破损（产生重现性差的主要原因）；玻璃衬管内的石英棉（石英棉装填不当是产生重现性差的原因）；玻璃衬管的内壁污染，或者进样垫碎渣（重现性差和产生鬼峰的原因）。

### 2. 衬管的清洗

由于石墨环上附着的有机溶剂是产生鬼峰的原因，因此玻璃衬管用溶剂清洗之前一定要将石墨压环卸下。清洗的基本步骤如下。图 11-1~图 11-3。



图 11-1 石英棉的取出方法



图 11-2 清洗玻璃衬管内壁

(1) 去除石英棉上附着的进样垫残渣：将石英棉用细棒捅出，装入新的石英棉。

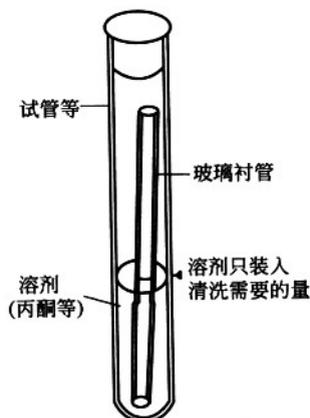


图 11-3 污染严重衬管的浸泡处理

(2) 清除附着在玻璃衬管内壁上的污垢：除去石英棉之后，用蘸溶剂（丙酮等）的纱布等擦洗内壁。

(3) 玻璃衬管内壁污染严重时，可以将衬管污染严重部分浸于溶剂（丙酮等）中放置数小时，然后用蘸溶剂的纱布擦洗内壁。

### 3. 衬管的二甲基氯硅烷化脱活处理

如果分析时只有特定的样品组分的峰出现重现性差、有偏差、吸附、分解、峰变小等情况，可能是由于进样口玻璃衬管或者石英棉的活性过高，产生吸附分解所致。

需要考虑采用二甲基氯硅烷（DMCS）进行处理，基本过程：①玻璃衬管、石英棉用丙酮等有机溶剂清洗，晾干之后在 5% 的 DMCS 的正己烷溶液中浸泡一夜；②取出浸泡一夜的玻璃衬管、石英棉，立即用甲醇清洗 2 次~3 次，然后在甲醇中浸泡 1h 左右；③从甲醇中取出，晾干后与硅烷等一起在干燥条件下保存。

图 11-4 比较了硅烷化处理前后部分农药的分析变化。

气相色谱仪：GC17AAF+FPD17

色谱柱：CBP5-M25-025

进样口温度：280℃

检测器温度 280℃

色谱柱温度：10℃(1min)  $\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$  180℃  $\xrightarrow{3^\circ\text{C}/\text{min}}$  195℃  $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{min}}$  260℃

载气：He, 2.2mL/min

样品：DDVP1.0mg/L；二嗪农 0.5mg/L；IBP0.8mg/L；MEP0.3mg/L；  
异恶唑磷 0.8mg/L；EPN0.6mg/L

## 二、进样垫与石墨压环

### 1. 进样垫的维护

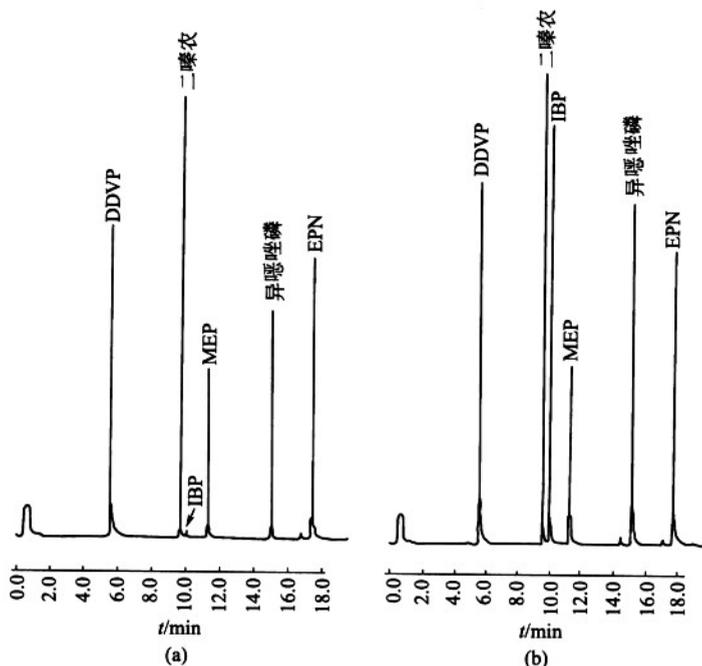


图 11-4 硅烷化处理对分析的影响

(a) 未处理衬管；(b) DMCS 处理衬管

在进行高灵敏度分析时，会因来自硅橡胶进样垫的杂质引入的鬼峰检测出来，产生这样的情况时，需要进行进样垫的维护。日常试验时建议在以下情况时进行维护：注入次数大致在 100 次时，进行定期更换；保留时间和面积的重现性变差时；检测出鬼峰时。

进样垫维护时首先要检查是否漏气（漏气是产生重现性差的原因）、进样垫是否污染（产生鬼峰的原因）。

进样垫的清洗，尽量在即将试验之前进行，因为放置太久可能会重新附着杂质。基本步骤如下：

- (1) 将进样垫浸于己烷中，放置 10h~15h。注意进样垫在己烷中会膨胀近 2 倍，需要准备大的带盖的容器；
- (2) 进样垫取出放置于干净的容器内，为了避免操作时吸收己烷膨胀的进样垫损坏，操作时要非常小心；
- (3) 在干净大气中自然干燥后，在 130℃~150℃ 的柱温箱中热烘 2h；
- (4) 装入仪器。

## 2. 石墨压环的维护

在气相色谱中，石墨压环主要是在进样口和检测器喷嘴部分，石墨压环的主要故障是漏气和杂质。由于石墨减少导致的漏气是重现性差的原因。石墨中的杂

质可能有两方面的影响：第一，于玻璃衬管或者柱入口侧的连接部原因，一般会出现鬼峰，在分流分析时，柱入口侧的石墨压环的影响较小；第二，由于柱出口侧的连接部或者 FID 的喷嘴原因，一般出现基线漂移。

日常分析中，安装新的石墨压环升温分析中检测出鬼峰时、基线漂移增大时，需要进行石墨压环的维护。与石墨压环的维修同样道理，最好在使用之前维护，长时间放置之后可能会重新吸附杂质。石墨压环的维护一般用以下两种方法：

(1) 使用气体喷灯的方法 将石墨压环放入喷灯的蓝色火焰中，烧成赤热 1s~2s。

(2) 使用柱温箱的方法 放入柱温箱中，用 400℃ 温度处理 2h~3h。

### 三、样品瓶与隔垫

#### 1. 样品瓶

当采用自动进样时，样品瓶的选择和正确使用，对于保证分析结果准确可靠也是至关重要的，很多厂商提供的自动进样器的样品瓶可以通用，但是也有特殊的情况需要注意。图 11-5 是安捷伦公司提供的样品瓶的示例及应用范围。



图 11-5 安捷伦公司可以提供的样品瓶的种类

向样品瓶中加样时要注意如果需要通过重复进样测试大量的样品，将样品分装在几个瓶中获得的结果会更加可靠。当样品瓶中样品体积很小时，由前面进样或者溶剂清洗造成的干扰对样品的影响更大一些，样品瓶中液面上方一定要留有适当的空间，避免抽取样品时形成真空影响进样重复性。图 11-6 是推荐的装样体积。

#### 2. 隔垫

样品瓶隔垫也是在具体分析中需要考虑的因素，一般有橡胶、硅橡胶、特氟隆、viton 材料等。针对不同的样品溶剂与样品性质，在试验之前一定要选择合适的样品瓶隔垫，表 11-5 比较了常用样品瓶隔垫材料的基本物理化学参数，供参考。

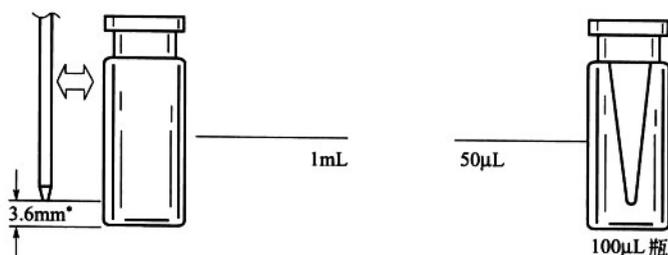


图 11-6 两种样品瓶推荐装样体积

\* 标准取样深度的注射器针尖位置

表 11-5 气相色谱常用样品瓶隔垫材料的基本物理化学参数

隔垫材料	与下列溶剂兼容	与下列溶剂不兼容	重复密封性	最高工作温度
橡胶(天然橡胶或丁基橡胶)	乙腈、丙酮、DMF、乙醇、二乙胺、DMSO、苯酚	氯代溶剂、芳烃、烃类、二硫化碳	优异	<100℃
PTFE/天然橡胶或丁基橡胶	PTFE 刺穿前始终密封, 且隔垫或衬管与橡胶兼容		良好	<100℃
硅橡胶-硅橡胶	乙醇、丙酮、乙醚、DMF、DMSO	乙腈、四氢呋喃、苯、氯仿、吡啶、甲苯、己烷、庚烷	优异	<200℃
PTFE-硅橡胶、PTFE-硅橡胶/PTFE	PTFE 刺穿前始终密封, 且隔垫与硅橡胶兼容		一般	<200℃
VITON	氯代溶剂、苯、甲苯、乙醇、己烷、庚烷	二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、腈、四氢呋喃、吡啶、二氧六环、甲醇、丙酮	良好	<260℃

注: PTFE—聚四氟乙烯; VITON—氟橡胶(偏氟乙烯)和六(四)氟丙烯共聚物

#### 四、注射器

注射器的类型和设计对于色谱分析中确保重复进样而得到一致的结果是十分重要的。理想的注射器应该能够保证可重复性的进样体积、最大限度延长隔垫寿命等。注射器的选择主要考虑使用的进样口以及要注射的样品体积<sup>[5,6]</sup>。表 11-6 比较了常用的注射器的优缺点及推荐用途, 可供使用时参考。

在实际分析中, 需要注意: 设定数据处理装置参数的进样部分时, 确保输入正确的注射器尺寸; 使用前润洗进样器并清洁其推杆, 以便使注射器寿命最长; 在每两次注射样品之间润洗注射器 5 次~8 次, 以便使样品残留量最小; 抽入和排出样品至少 5 次, 以便去除任何气泡并保证最高的重视性和准确度; 在安装色谱柱和注射器之前, 要检查柱上进样注射器针头能够插入毛细柱内, 如 26 号注射器可用于 0.53mm 内径色谱柱的柱上进样。另外, 对于柱上进样, 要采用适合于正在使用的色谱柱尺寸的适当的隔垫螺母和不锈钢插入件。对于 0.32mm 和 0.25mm 色谱柱的柱上进样, 使用带模制穿孔的隔垫。

注射器使用前可先用丙酮清洗, 以免玷污样品, 但最好还是用待注射样品对

表 11-6 注射器特点及推荐用途

注射器	优点	缺点	推荐用途
5 $\mu$ L 尺寸吻合推杆	对于 1 $\mu$ L 的进样量最准确的注射器； 对于 0.5 $\mu$ L 的进样量无需对硬件进行修改	壁最薄的推杆更易于弯曲； 对于高黏度样品并不理想	进样量为 1 $\mu$ L； 干净样品； 常规分析
10 $\mu$ L 尺寸吻合推杆	最便宜的注射器； 最可靠的尺寸吻合推杆注射器； 很少弯曲； 更适合于高黏度样品	只对 2 $\mu$ L 以上的进样量是最准确的； 推杆不可更换	通用注射器； 干净样品； 常规分析
10 $\mu$ L 气密	可更换推杆可降低维修成本； 比尺寸吻合推杆更少的黏合可能性； 推杆与针筒之间紧紧密封	价格比尺寸吻合推杆高； 没有 5 $\mu$ L 尺寸的规格	“脏”的样品； 气体和可挥发样品； 反应性样品

注射器本身做 1~2 次清洗。清洗时只能吸入样品，排出样品时要在样品瓶之外。注射器在使用结束后要立即清洗，以免被样品中的高沸点物质玷污。一般常用下述溶液依次清洗：5% 氢氧化钠水溶液、蒸馏水、丙酮、氯仿，最后用真空泵抽干。

长期贮存时，要从注射器中取下气密推杆，以保持特氟隆针尖不泄漏。如果气密针芯匹配不合适，将它置于热水中 10min，然后再清洁，在坚硬的表面上均匀地压其尖端，使之冷却至室温。推杆应该重新正确密封，这样可以比未密封的情况下提供的进样次数多 10%~25%。为了使标准推杆的寿命最长，要按照每一个注射器附带的注射器清洗步骤，用溶剂（异丙醇或丙酮）润洗并用无棉布擦净针芯。

### 五、进样器的清洗

对进样器（包括汽化室）的清洗应以疏通为先导。通常在进样器中的堵塞物是进样隔垫的碎片、样品中被炭化了的高沸点物质。对这些固态杂质可用不锈钢捅针疏通，然后再用乙醇或丙酮冲洗。为了使清洗更彻底，可选用体积比为 2:1:4 的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O 混合溶液先对进样器清洗，然后用蒸馏水，最后再用丙酮或乙醇清洗。清洗完后烘干，装上仪器通载气 30min，加热到 120℃ 保持几小时后即可正常工作。

在拆装进样器时需注意不要碰断加热器引线或使引线碰到外壳，测温元件也应在装回进样器之后，按原来测温点装好。通常测温元件和进样器加热体是紧密接触的，如距离过大将会造成过高的汽化温度。

### 第三节 进样装置的故障排除汇总

表 11-7 汇总了气相色谱仪进样系统的常见故障及解决办法, 可以作为发现故障之后快速筛查原因并排除时参考。表 11-8 列出了气相色谱进样系统组件的推荐日常维护周期, 实际分析中基于具体情况可适当调整<sup>[7]</sup>。

表 11-7 毛细管柱及辅助进样装置故障排除

进样方式	现象	可能原因	解决方法
直接进样	峰面积小, 丢失峰, 产生新峰	(1) 温度太高 (2) 进样口脏 (3) 与金属接触 (4) 停留时间太长 (5) 化合物易变	(1) 降低进样口温度 50℃ 重新评价 (2) 清洗/更换衬管 (3) 同(2) (4) 使用玻璃柱增加流速 (5) 衍生化样品, 使用冷柱头进样
	峰拖尾	(1) 进样口有活性 (2) 载气流不正确 (3) 温度太低 (4) 温度太高 (5) 系统无效	(1) 使用玻璃/减活衬管或使用玻璃柱 (2) 检查和校正 (3) 增加温度 50℃ 再试一次 (4) 降低温度 50℃ 再试一次 (5) 检查柱的安装
	面积不重现	(1) 进样技巧差 (2) 隔垫泄漏 (3) 样品回返	(1) 用自动进样器用热针慢速进样 (2) 更换隔垫 (3) 减少进样量, 用大容量衬管, 降低进样口温度, 增加流速
	保留时间不重现	隔垫泄漏	更换隔垫
	宽峰	(1) 柱流速不正确 (2) 聚焦不足	(1) 校正柱流速 (2) 降低起始炉温
	鬼峰, 基线波动	(1) 样品回闪 (2) 隔垫泄漏	(1) 进样少一些用大容积衬垫, 降低进样口温度 (2) 更换隔垫类型, 更换隔垫, 降低进样口温度
分流进样	峰面积低, 峰丢失, 产生新峰	(1) 进样口太热 (2) 进样口太脏 (3) 与金属接触 (4) 化合物易变 (5) 填充物(玻璃毛等)有活性点 (6) 衬管有活性点 (7) 停留时间太长	(1) 降低进样口温度 50℃ 重新评价 (2) 清洗/更换衬管 (3) 用玻璃柱衬管 (4) 衍生化样品, 用冷柱头进样 (5) 去除填充物 (6) 更换衬管类型, 减活衬管 (7) 增加分流流量, 增加柱流量

续表

进样方式	现象	可能原因	解决方法
分流进样	迟洗脱物的面积低	溶剂沸点太低	使用高沸点溶剂
	针污染	(1)进样口温度太低 (2)针停留时间太长	(1)增加进样口温度 50℃ 重新评价 (2)使用快速自动进样器
	进样口歧视	(1)进样口温度太高 (2)进样口停留时间太短 (3)无玻璃纤维或位置不对 (4)分流太高 (5)进样量太大	(1)降温 50℃ (2)降低分流流量 (3)衬管中部放置玻璃纤维 (4)降低分流流量 (5)降低进样量
	宽峰	(1)分流速太低 (2)进样口吸附 (3)色谱柱过载	(1)增加分流流量 (2)更换衬管,移去填充物,增加进样的温度 (3)增加分流流量
	峰面积不重复	(1)分流比波动 (2)样品回返 (3)进样量不稳定 (4)降解	(1)检查流速控制器,检漏(隔垫、衬管、柱) (2)降低样品量,降低进样口温度,使用大的衬管 (3)检查进样技术,使用自动进样器 (4)去除衬管填料,降低进样口温度
	保留时间不重复	(1)进样隔垫漏气 (2)过载 (3)柱降解	(1)换隔垫 (2)增大分流比,减少进样量 (3)切去柱端 0.5m,更换柱子
不分流进样	失峰,变形峰,假峰	(1)进样口太热 (2)填料(玻璃毛等)有活性点 (3)衬管有活性点 (4)衬管太小 (5)保留时间长	(1)降低 50℃ 再试一次 (2)脱活 (3)更换衬管,减活衬管 (4)用大容量衬管 (5)增加柱流速
	宽峰	(1)无溶剂效应 (2)无固定相聚集	(1)降低炉温,用高沸点溶剂 (2)降低初始柱温
	分裂峰	溶剂/柱子不匹配	换一种溶剂,用一个保留间隙
	面积不重复	(1)样品回返 (2)吹扫时间或柱流变化	(1)降低进样量,使用高沸点溶剂,用更大衬管 (2)检查吹扫开/关时间
	保留时间不重复	(1)不准确的清洗延迟 (2)不匹配的溶剂	(1)检查并校正 (2)用保留间隙管
毛细管柱分析——柱头	丢失峰,假峰	活性的保留间隙或柱	更换或减活保留间隙(降解),清洗或更换柱
	宽峰	(1)聚焦不足 (2)无溶剂效应 (3)柱过载	(1)降低柱温 (2)降低炉温,用高沸点溶剂 (3)冲洗样品,减少进样量,采用一根膜更厚的色谱柱

续表

进样方式	现象	可能原因	解决方法
毛细管柱分析——柱头	分裂峰	(1)溶剂和柱不匹配 (2)溶剂和主要成分相互作用	(1)换用另一种溶剂,用保留间隙管 (2)冲洗样品,换用另一进样口
	面积不重复	样品量太大	降低进样量
毛细管柱分析——PTV	丢失峰,假峰	(1)填充物(玻璃毛等)有活性点 (2)衬管有活性点 (3)衬管太小 (4)保留时间长	(1)移去填充物 (2)更换衬管型号或去活 (3)用更大衬管,进样口温度降低 (4)增加柱流速
	宽峰	(1)无溶剂效应 (2)无固定相聚焦 (3)从进样口传输样品太慢	(1)降低柱箱温度,用高沸点溶剂 (2)降低初始柱温 (3)不增加进样口温度梯度
	分裂峰	溶剂/柱不匹配	用另一种溶剂,用保留间隙管,如果早期峰不重要尝试溶剂排除模式
	峰面积不重复	样品太多 吹扫时间或流量变化	减小进样量 检查仪器并校正
辅助进样装置——阀	丢失峰(降解)	(1)阀或传输线太热 (2)传输线活性	(1)降低 50℃,重新评价 (2)用镍或 Hastelloy 合金管
	丢失峰或峰拖尾,基线波动	(1)阀或阀芯输线太冷 (2)阀旋转慢 (3)阀芯损坏 (4)样品/柱压力相差太大	(1)升温 50℃,重新评价 (2)增加调节气压 (3)更换阀芯 (4)对样品排放系统加反压调节器
	峰拖尾宽峰	(1)柱过载 (2)流速太慢 (3)系统无效	(1)减少样品量,增加分流流量 (2)增加柱流量,增加分流流量 (3)检查连接,减小连接管容量
辅助进样装置——热脱附	样品降解	脱附太热	降低脱附温度
	基线不稳	系统污染	清洗传输线,烘烤系统
	峰拖尾和宽峰	(1)系统流速太慢 (2)系统无效 (3)脱附速度太慢 (4)柱过载	(1)增加系统流量 (2)检查连接,减小衬管体积,减小连接管容积 (3)增加温度梯度,减小样品量,增加流速 (4)减小样品量,增加分流流速
	峰面积太小	(1)连接处有泄漏 (2)脱附温度过低	(1)检查并重新连接 (2)增加温度/时间
	样品污染	封装前样品暴露时间过长	立即封装,减少传输时间
辅助进样装置——吹扫捕集	基线波动	(1)系统污染 (2)水背景太高	(1)清洗传输线 (2)用另一种脱附器,用去水装置,吹扫样品时间短一点

续表

进样方式	现象	可能原因	解决方法
辅助进样装置——吹扫捕集	峰拖尾,宽峰	(1)脱附气流太慢 (2)脱附慢 (3)系统无效 (4)水的干扰 (5)传输线温度低	(1)增加吹扫流量,降低 GC 进样口温度 (2)减小吸附剂的量或改变其类型,用另一种吸附剂,增加升温速率 (3)检查连接线,减小进样口衬管容量,减小连接管容量 (4)用另一种脱附器,用去水装置,用更短时间吹扫样品 (5)提高传输线的温度
	峰面积太小	(1)进样时间太短 (2)吸附剂不工作 (3)连接处有泄漏	(1)增加吹扫时间 (2)更换吸附剂管 (3)检查并重新封装连接
	样品污染	(1)封装前样品暴露时间过长 (2)样品流出	(1)立即密封样品瓶减少传输时间 (2)清洗进样线,更换吸附器
辅助进样装置——顶空	样品降解	(1)传输线太热 (2)样品瓶温度太高	(1)降温 (2)降温
	基线波动	(1)运行时阀重新设置 (2)系统污染	(1)增加预进样时间 (2)烘烤阀和传输线,清洗/更换进样针
	峰拖尾,宽峰	(1)系统流速太慢 (2)系统无效 (3)聚焦不足	(1)增加顶空流量,减少 GC 流量,增加分流流量 (2)检查连接管,减小衬管体积(内径),减少连接管体积 (3)用更低的初始柱温
	峰面积太小	(1)平衡时间太短 (2)样品瓶温度太低 (3)放空时间太长或太短 (4)样品瓶盖泄漏 (5)进样垫泄漏 (6)连接管泄漏 (7)分流流量太高	(1)延长平衡时间 (2)增加 20℃,重新评价 (3)调整 (4)用新样品,重新密封样品瓶 (5)更换/拧紧进样垫 (6)检查/重新密封连接管 (7)减少分流/GC 流量
	样品污染	(1)封装前样品暴露时间过长 (2)环境空气污染 (3)样品交叉污染 (4)GC 进样垫有泄漏	(1)立即密封,减少传输时间 (2)密封前用氦气吹扫样品瓶 (3)清洗进样针,样品瓶不要装太满 (4)选另一种类型的隔垫

表 11-8 样品引入和进样口维护周期

项 目	一般维护时间	措施/说明
注射器和/或注射器 针头	每 3 个月	出现下列情况时进行更换:当注射器中有明显的污染物;当这些污染物清洗不掉;当推杆难以抽动;或当推杆黏结住了。当隔垫穿刺出现异常;或当针头被堵塞,就更换针头
进样口衬管	每周	经常检查,当衬管内有可见的污物或色谱性能下降,就更换
衬管 O 形圈	每月	与衬管一起更换,或视磨损情况更换
进样口隔垫	每天	经常检查。发生以下异常现象时更换(裂口、进样口衬管内有碎屑、色谱性能下降、柱压降低,等等)
进样口硬件	每 6 个月 每年	检查是否有漏气和是否干净 检查部件,当部件有裂纹、划痕或破裂时更换
进样口全密封垫或不锈 钢密封垫	每月	检查是否有划痕,腐蚀,或有非挥发性样品组分造成的堵塞,如果脏了,就更更换

## 参 考 文 献

- 1 顾蕙祥, 阎宝石. 气相色谱实用手册. 北京: 化学工业出版社, 1990
- 2 刘仲明. 气相色谱仪维修技术. 北京: 化学工业出版社, 1990
- 3 李浩春. 分析化学手册, 第二版. 第五分册. 北京: 化学工业出版社, 1999
- 4 孙传经. 气相色谱分析原理与技术. 北京: 化学工业出版社, 1993
- 5 孙传经. 毛细管色谱法. 北京: 化学工业出版社, 1991
- 6 庞增义, 李洪盛. 气相色谱仪及其应用. 昆明: 云南科技出版社, 1989
- 7 Dean R, Guide to the Care, Maintenance and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatographic Systems. Third. revised edition Wiley-VCH Weinheim (FRG), 1999

## 第十二章 气相色谱柱

由于气相色谱柱种类很多,针对样品类型、分离条件进行色谱柱的选择是成功进行实验的最关键因素之一。由于不同种类的色谱柱的性能、使用条件等存在很大的差异,因此,色谱柱的维护是色谱分析中最为频繁的工作。实际上除了色谱柱本身的维护之外,还有很多是综合了分析方法、仪器参数等的问题。色谱柱维护的主要目的,在于获得仪器的最优性能和最长寿命,而不是简单地按照维护时间表进行操作。色谱柱维护主要包括色谱柱的选择、安装与系统设置,避免柱性能下降等<sup>[1~3]</sup>。

### 第一节 色谱柱的种类

#### 一、气相色谱柱种类

毛细管气相色谱柱由两个主要部分组成:柱管和固定相。把高分子量、热稳定聚合物涂覆到内径为 0.05mm~0.53mm 的管内,形成 0.1 $\mu$ m~10.0 $\mu$ m 的薄膜。此聚合物涂层称为固定相。基于涂覆聚合物的差异与毛细管本身的内径、长度、膜厚等,毛细管柱有很多种,为了特定目的,选择正确的毛细管色谱柱是非常关键也是比较困难的任务。色谱柱的选择应该从咨询制造商、文献方法等为依据开始实验。一般,选择一个固定相,根据选择性、极性和固定相分子中苯基含量进行仔细判定,还要了解色谱柱直径会如何影响柱效、溶质的保留值、柱头压和载气流速等因素,确定多长的柱长会影响溶质的保留值、柱头压、柱流失及成本,最后从柱容量、惰性、流失和温度上限出发,正确评估薄、厚液膜色谱柱的不同。

表 12-1 列出了目前主要品牌的气相色谱柱的相关参数与应用领域,可以作为实际应用中色谱柱选择的指南。

#### 二、常用的 GC 柱性能检测参数

气相色谱柱的性能检测评价指标主要包括柱固定相种类、柱流失、柱效、保留能力、膜厚、惰性、内径与柱长等,这些指标对应的性能见表 12-2。

表 12-1 主要气相色谱柱品牌与应用领域

类型	固定相牌号	应用	组成	极性	大致温度范围/℃
一般应用 固定相	HP-1ms, DB-1ms, HP-1, DB-1, BP-1, SPB-1, CP-Sil 5, Rtx-1, OV-1, SE-30, 007-1, ZB-1	胺类、烃类、农药、多氯联苯、酚类、硫化物、调味品及香精香料	100% 二甲基聚硅氧烷	非极性	-60~325/350
	HP-5ms, DB-5, HP-5, SPB-5, XTI-5, Mtx-5 CP-Sil 8CB, SE-54 Rtx-5, BPX-5, MDN-5 Rtx-5ms, BP-5, ZB-5	半挥发性化合物、生物碱、药物、脂肪酸甲酯 卤代化合物、农药、除草剂	5% 苯基-95% 二甲基聚硅氧烷	非极性	-60~325/350
	DB-5ms, Rtx-5ms, E-5, CP-Sil 8CB Low Bleed/MS, BPX-5, AT-5ms, ZB-5ms	半挥发性化合物、生物碱、药物、脂肪酸甲酯、卤代化合物、农药、除草剂	5% 苯基-95% 二甲基硅亚芳基硅氧烷	非极性	-60~325/350
	DB-1301, Rtx-1301, PE-1301	Aroclors 醇类、农药、VOC	6% 氟丙基-苯基, 94% 二甲基聚硅氧烷	中等极性	-20~280/300
	DB-35, HP-35, Rtx-35, SPB-35, AT-35 Sup-Herb, MDN-35 BPX-35	CLP-农药、aroclors、药物	35% 苯基-65% 二甲基聚硅氧烷	中等极性	40~300/320
	DB-35ms, Rtx-35, SPB-35, AT-35, Sup-Herb, MDN-35, BPX-35	CLP-农药、aroclors、药物	35% 苯基-65% 二甲基硅亚芳基硅氧烷	中等极性	50~40/360
	DB-1701, DB-1701P, SPB-1701, CP-Sil 19 CB, Rtx-1701, CB-1701, OV-1701, 007-1701, BPX-10	农药、除草剂、TMS 糖、aroclors	14% 氟丙基-苯基, 86% 二甲基聚硅氧烷	中等极性	-20~280/300
	HP-50+, DB-17, Rtx-50, CP-Sil 19 CB BPX-50, SP-2250	药物、乙二醇、农药、类固醇	50% 苯基-50% 二甲基聚硅氧烷	中等极性	40~280/300
	DB-17ms, HP-50+, Rtx-50, 007-17, SP-2250, SPB-50, BPX-50, SPB-17, AT-50	药物、乙二醇、农药、类固醇	50% 苯基-50% 二甲基硅亚芳基硅氧烷	中等极性	40~320/340
	DB-200, Rtx-200	溶剂残留、农药、除草剂	35% 三氟丙基-65% 二甲基聚硅氧烷	极性	30~300/320
	DB-210, SP-2401	50% 三氟丙基	50% 二甲基聚硅氧烷	极性	45~240/260
	DB-225ms, DB-225, SP-2330, CP-Sil 43 CB, OV-225, Rtx-225, BP-225, 007-225	脂肪酸甲酯、乙酸酯、中性类固醇	50% 氟丙基-苯基, 50% 二甲基聚硅氧烷	极性	40~220/240
	HP-INNOWax, HP-20M, SUPELCOWAX10, CP-WAX 52 CB, SUPEROX II, CB-WAX, Stabilwax, BP-20, 007-CW, Carbowax, DB-WAXetr, ZB-WAX	醇类、游离有机酸、溶剂、香油精、调味品和香精香料	聚乙二醇	极性	40~260/270
	DB-WAX, HP-20M, SUPELCOWAX10, CP-WAX 52 CB, SUPEROX II, CB-WAX Stabilwax, BP-20, 007-CW, Carbowax, HP-INNOWax, Rtx-WAX, ZB-WAX	溶剂、乙二醇、醇类	聚乙二醇	极性	20~250/260
	CAM, Stabilwax-DB, Carbowax Amine	胺类、碱性化合物 改性	聚乙二醇	极性	60~220/240

续表

类型	固定相牌号	应用	组成	极性	大致温度范围/℃
一般应用 固定相	HP-FFAP, DB-FFAP, OV-351, SP-1000, Stabilwax-DA, 007-FFAP, Nukol	有机酸、醇类、醛类、酮类、丙烯酸酯等改性	聚乙二醇	极性	40~250
	DB-23, SP-2330, Rtx-2330, 007-23, AT-Silar, BPX-70, SP-2340	FAME(需要顺式/反式分离)	50%氰丙基 50%二甲基聚硅氧烷	极性	40~250/260
	CycloSil-β, LIPODEX C, Rt-bDEXm, b-DEX 110, b-DEX 120	手性化合物(通用)	DB-1701 中的 30% 七-(2, 3-二-O-甲基-6-O-叔丁基二甲基硅基)-β-环糊精	中等极性	35~260/280
	HP-Chiral-β, LIPODEX C, Rt-bDEXm, b-DEX 110, b-DEX 120	手性化合物(用氮选择性检测器 NPD)	苯基固定相中的环糊精	中等极性	30~240/250
PLOT 固定相	HP-PLOT 分子筛柱	永久和惰性气体	在 35℃ 下分离氮和氧	5A 分子筛沸石	-60~300
	HP-PLOT Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> KCl, CP-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /KCl PLOT, Rt-Alumina PLOT, Alumina PLOT, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /KCl	天然气、炼厂气、燃气、合成气、二烯类中的 C <sub>1</sub> ~C <sub>6</sub> 烃	脱活的氧化铝 KCl	极性最弱	-60~200
	HP-PLOT Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S, CP-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PLOT Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	天然气、炼厂气、燃气、合成气、二烯类中的 C <sub>1</sub> ~C <sub>6</sub> 烃	“硫酸钠”脱活氧化铝	中等极性	-60~200
	GS-Alumina, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /KCl, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Rt-Alumina PLOT, Alumina PLOT	天然气、炼厂气、燃气、合成气、二烯类中的 C <sub>1</sub> ~C <sub>6</sub> 烃	脱活的氧化铝	极性最强	-60~200
	HP-PLOT Q, CP PoraPLOT Q, CP PoraPLOT Q-HT, Rt-QPLOT, SupelQ PLOT, GS-Q	含异构体的烃类、CO <sub>2</sub> 、甲烷、空气/CO、水、极性溶剂、硫化物	聚苯乙烯-二乙烯基苯		-60~270/290
	HP-PLOT U, PoraPlot U, RTU PLOT	C <sub>1</sub> ~C <sub>7</sub> 烃类、CO <sub>2</sub> 、甲烷、空气/CO、水、氧化物、胺类、溶剂、醇类、酮类、醛类	二乙烯基苯/乙二醇二甲基丙烯酸酯		-60~190
	GS-GasPro, CP-Silica PLOT	在 -80℃ 下分离 C <sub>1</sub> ~C <sub>12</sub> 烃、CO <sub>2</sub> 、痕量硫化物、氢化物气体、无机气体、卤烃、六氟化硫 (SF <sub>6</sub> )、氧/氮	键合硅胶基		-80~260/300
	GS-OxyPLOT, CP-LowOX	氧化物	—	高选择性	350
	GS-CarbonPLOT, CarboPack, CLOT, Carboxen-1006 PLOT, CP-CarboPLOT P7	C <sub>1</sub> ~C <sub>5</sub> 烃、CO <sub>2</sub> 、空气/CO、乙烯中的痕量炔烃、甲烷	键合整体碳层		0~360

续表

类型	固定相牌号	应用	组成	极性	大致温度范围/℃
环境 分析 专用 固定 相	DB-624, AT-624, Rtx-624, PE-624, 007-624, 007-502, CP-624, ZB-624, VF-624ms		6% 氰丙基-苯基, 94% 二甲基聚硅氧烷	中等 极性	-20~ 260
	DB-VRX, VOCOL, NON-PAKD, Rtx-Volatiles, PE-Volatiles, 007-624, HP-624, CP-624, Rtx-VRX, Rtx-VGC	使用 MSD, ELCD/PID 分析挥发性有机化合物	—	非极 性	-10~260
	DB-35ms, Rtx-35, SPB-35, AT-35, Sup-Herb, MDN-35, BPX-35	CLP 农药、含氯除草 剂、多氯联苯、508.1 农药	35% 苯基, 65% 二甲 硅亚芳基硅氧烷	中等 极性	50~ 340/360
	HP-5ms, DB-5, HP-5, SPB-5, XTI-5, Mtx-5, CP-Sil 8CB, SE-54, Rtx-5, BPX-5, MDN-5, Rtx-5ms	EPA 方法 8270 分析半 挥发性化合物	5% 苯基, 95% 二甲 基聚硅氧烷	非极 性	-60~ 325/350
	DB-XLB(确认用色谱柱), Rtx-XLB, MDN-12	多氯联苯同族物分析 (209 种同族物) CLP 农 药, 氯代除草剂, 多氯联 苯, 508.1 农药	—	非极 性	30~ 340/360
	DB-TPH	地下燃料罐(LUFT)泄 漏测试	—	非极 性	-10~ 290
	DB-MTBE	土壤和水中的 MTBE	—	非极 性	35~ 260/280
其 它 类 专 用 固 定 相	HP-Fast GC 残留溶剂, DB-624, PE-624, 007-624, 007-502, CP-624, ZB-624	残留溶剂	6% 氰丙基-苯基, 94% 二甲基聚硅氧烷	中等 极性	-20~ 260
	DB-ALC1, Rtx-BAC1, Rtx-BAC2	血中酒精的测试	—	中等 极性	20~ 260/280
	Rtx-BAC1, Rtx-BAC2	血中酒精的测试	—	中等 极性	20~ 260/280
	DB-ALC2, Rtx-BAC1, Rtx-BAC2	血中酒精的测试	—	中等 极性	20~ 260/280
	HP-Blood Alcohol	血中酒精的测试	—	中等 极性	-60~ 270/290

表 12-2 常用的 GC 柱性能检测指标<sup>[4]</sup>

检测指标	性能
柱流失	高灵敏的温度程序分析不会导致基线漂移
理论塔板数	高柱效能够分离难于分离的样品
保留指示	确信不同色谱柱时化合物在期望的保留时间洗脱; 分离选择性测试
膜厚	提供保留测量; 调整以保证恒定的相比; 决定了样品容量
惰性	好的回收率和拖尾因子保证了痕量化合物准确定量
内径	影响相比、线速度、柱背压和灵敏度
柱长	保证恒定的理论塔板数和保留时间(体积)

尽管厂商制备的色谱柱性能有了明显改善，但是一定要注意每次购买的色谱柱都要详细分析其柱评价报告并按照自己的实际情况进行质量评价。表 12-3 提供了一些通常用于检测毛细管柱性能的化合物种类。由于色谱柱种类繁多，具体应用存在很大的差异，因此，表 12-3 中的化合物不可能覆盖所有范围。对于特定情况，应根据需要，探索和建立色谱柱评价的化合物与方法。

表 12-3 GC 柱表征常用检测化合物

化合物分类	代表性检测化合物	目的
碳氢化合物	正十一烷,正十三烷,正十四烷,正十五烷	柱效和保留
醇类	十二醇	酸性、保留指示、峰高比
FAMEs	癸酸甲酯	保留指示
PAHs	苊	保留指示
酸类	4-氯苯酚	酸性特征,峰高比
碱类	1-癸胺	碱性特征,峰高比

## 第二节 色谱柱的选择

色谱柱的选择主要是需要确认固定相、直径、长度和液膜厚度 4 个参数。在实际使用中尽可能使用低流失色谱柱，选择能够对大多数难以分离的样品提供最佳分离度的最低极性色谱柱。进行异构体的分离时，需要使用极性较大的固定相，但是要尽量使用能够满足分离要求的极性最小的色谱柱，采用既能够完成所要求的分离，又能优化温度范围的最合适的尺寸。以下分几个方面详细讨论。

### 一、选择固定相

选择毛细管柱时，最重要的是选择最佳固定相。这也是最难以确定的。最可靠的方法是参考色谱柱制造商和供应商、GC 制造商以及出版的文献中所提供应用实例汇编。尽管可能无法参考完全相同的应用实例，但是通常可以得到足够信息来简化决策或减少尝试的色谱柱数量。最困难的情况是没有可供使用的先例。即使仅有一张色谱图包括了样品的所有和大部分化合物，那么固定相选择要容易得多。

固定相选择性和极性的概念在选择固定相时非常有用。选择性决定于溶质和固定相分子的物理化学相互作用力，极性决定于固定相的结构。极性确实对分离有影响，但这仅是影响峰分离的众多固定相性质之一。选择性可以认为是固定相在区分两种溶质分子化学或物理性质方面差异的能力。如果固定相和溶质间的相互作用力不同，则可分离。对于液体或胶态固定相（聚硅氧烷和聚乙二醇），有 3 种主要相互作用：色散、偶极和氢键作用力。以下简单说明聚硅氧烷和聚乙二

醇固定相的相互作用。

### 1. 色散力

色散力是所有聚硅氧烷和聚乙二醇固定相最主要的相互作用力。色散力可以简化为挥发性的概念。简单来说，溶质的挥发性越好，从色谱柱中流出的速度就越快（即保留时间更短）。但是，这个出峰顺序也可能因溶质和固定相极性的相互作用力的影响而改变。有时将溶质沸点作为测量化合物挥发性的方法。也就是说，化合物按照沸点增高的顺序流出。然而，沸点不能普遍应用于色散力相互作用。处理具有简单结构、官能团或同系物的化合物时，沸点相当有效。但处理具有混合官能团的化合物时，沸点简化方法经常会失败。如果化合物沸点相差大于 30℃，则通常能被大部分固定相分离。如果化合物沸点相差小于 10℃，则沸点简化方法变得不确定并且更加容易出错（同系物中的化合物除外）。

### 2. 偶极力相互作用

如果固定相可以靠偶极力相互作用，则偶极矩不同的溶质具有更好的分离能力。只有某些固定相能够充分利用这种相互作用。聚乙二醇类和氰丙基与三氟丙基取代聚硅氧烷具有偶极相互作用；甲基或苯基取代基团无偶极相互作用（表 12-4）。如果使用相互作用不同的固定相，则偶极不同的溶质的峰分离程度也常常改变。如果化合物之间的偶极作用相差较小，则需要更大量适当的基团（例如，50%的氰丙基-甲基聚硅氧烷，而非 14%的氰丙基-甲基聚硅氧烷）。很难预测所有组分分离程度的变化。经验结果显示偶极相互作用固定相非常适合，化合物的基本结构或中心结构的不同位置连接有不同的基团，例如取代芳香化合物、卤烃、杀虫剂和药物。

表 12-4 固定相相互作用

官能团	色散力	偶极力	氢键力
甲基	强	无	无
苯基	强	无或弱	弱
腈丙基	强	极强	中等
三氟丙基	强	中等	弱
聚乙二醇	强	强	中等

### 3. 氢键作用力

如果溶质分子和固定相之间有氢键，则会有氢键作用力。可以形成氢键的化合物类型以及氢键的相对强度的趋势是醇类、羧酸和胺类较强；醛类、酯类和酮类中等；烃类、卤类和醚类弱或无。这就是氢键强度的差别，非常重要。进行偶极相互作用的相同固定相也进行着氢键相互作用。如果使用氢键作用力不同的固定相，则氢键势能不同的溶质的峰分离程度也常常改变。如果化合物之间的氢键相差比较小，则需要更大量的适当基团（例如，聚乙二醇类，而非 14%的氰丙基-甲基聚硅氧烷），很难预测所有组分分离程度的变化。有时虽然已获得所需的

分离程度，但使用新的固定相另一组峰将共流出。

可预测影响保留作用的另一个固定相特征是苯基含量。通常固定相的苯基含量越高，（与脂肪溶质相比）芳香族化合物溶质的保留就越强。这并不意味着高苯基含量的固定相更容易保留芳香族溶质，而是相对于脂肪溶质，芳香族溶质更容易被保留。

#### 4. 极性

固定相极性由取代基团的极性及其相对量确定，表 12-5 按照极性增加的顺序列出了各种固定相，每行色谱柱极性相当。

表 12-5 色谱柱按照极性强弱排列与比较

极性	色 谱 柱 种 类
非极性	DB-1, HP-1, DB-1ms, HP-1ms, DB-2887, DB-Petro, DB-PONA, DB-HT Sim Dis, DB-1ht, Ultra 1
	DB-5, HP-5, DB-5ms, HP-5ms, HP-5ms Semivol, DB-5. 625, DB-5ht Ultra 2, HP-PASS, DB-EVDX
	DB-XLB
	DB-35 DB-35ms, HP-35
	HP-Chiral 10 $\alpha$ , HP-Chiral 20 $\beta$
	DB-17, DB-17ms, DB-608, HP-50+, DB-17ht
	DB-TPH
	DB-502. 2, HP-VOC
	DB-VRX
	DB-1301, DB-624, HP-Fast Residual Solvent
中等极性	DB-1701, DB-1701P, CycloSil- $\beta$ , Cyclodex- $\beta$
	DB-ALC2
	DB-225, DB-225 ms, HP Blood Alcohol
	DB-ALC1
	DB-Dioxin
	DB-200
	DB-210
DB-23	
HP-88	
强极性	DB-WAX, DB-WAXetr, HP-INNOWax, DB-FFAP, HP-FFAP, DB-WaxFF

虽然极性并不直接与选择性相关，但是会影响化合物保留与分离。对于挥发性相似的化合物，与固定相极性相似的溶质会具有更大的保留值。换句话说，极性固定相要比弱极性固定相保留极性化合物的能力更强，反之亦然。苯取代基、偶极和氢键作用力程度的改变也促使这些变化，但是很难定量评估每个因素的影响程度。除了保留值，固定相极性还影响色谱柱其它特性。在固定相极性和柱寿命、温度上限、流失和柱效之间存在一个基本趋势，即固定相的非极性越强，柱寿命、温度上限和柱效趋向越高，这个基本趋势并非绝对如此，低流失固定相有时会违反这个趋势。

## 5. 气-固或多孔层开管柱

气-固或多孔层开管柱 (PLOT) 固定相与聚硅氧烷和聚乙二醇类物理特性完全不同。气-固固定相是很小而且多孔的微粒。使用黏合剂或相似的方法将该微粒黏附在毛细管内壁。根据其吸附性质的不同来分离溶质。由于微粒多孔, 因此还会产生大小和形状的区别。PLOT 柱用于易挥发性溶质 (主要是气体) 的分离, 无需低温技术或柱温箱的低温冷却。原本要求色谱柱温度低于 35°C、同时需要厚膜的固定的分离, 使用 PLOT 柱, 在高于 35°C 的温度下就可获得。

6. 固定相选择概述<sup>[5]</sup>

(1) 如果不确定要使用的固定相也无任何资料可查, 可从 DB-1 或 DB-5 或者表 12-1 中类似的色谱柱开始进行实验。

(2) 低流失的 (MS) 色谱柱通常惰性较强并且温度上限较高。使用极性最小的固定相能提供满意的分离度和分析时间。非极性固定相比极性固定相具有更长的寿命。

(3) 使用极性与溶质极性类似的固定相。

(4) 如果具有不同偶极作用力或氢键力的混合物分离较差, 可改为使用具有不同偶极或氢键作用力的固定相。

(5) 尽可能避免使用含有能与选择性检测器产生高响应功能团的固定相。例如, 用 NPD 检测时, 由于色谱柱流失, 含氰丙基的固定相出现异常高的基线上升。

(6) 按照 DB-1 或 DB-5、DB-1701、DB-17 和 DB-WAX 以最少数量的色谱柱能覆盖最大范围的选择性。

(7) PLOT 柱用于在高于室温的柱温下分析气体样品。

## 二、色谱柱直径

色谱柱直径将影响效率、保留值、压力、载气流速和容量 5 个参数。

柱效 ( $N/m$ ) 与色谱柱直径成反比。表 12-6 中列出的柱效显示色谱柱直径越小, 每米理论塔板数就越高。分离度是理论塔板数的平方根函数, 因此, 把柱效加倍理论上将能把分离度增加 1.41 倍 ( $\sqrt{2}$ ), 但实际上增加的倍数接近 1.2~1.3 倍。在需要得到窄峰和高柱效时, 使用直径较小的色谱柱。

表 12-6 柱效与直径的相关性 (溶质的最大柱效,  $k=5$  时)

色谱柱内径/mm	0.10	0.18	0.20	0.25
理论值(塔板数/m)	12500	6600	5940	4750

恒温条件下, 溶质的保留与色谱柱内径成反比。在程序升温的条件下, 溶质的保留是恒温条件下的 1/3~1/2。很少根据保留值选择色谱柱直径。

色谱柱柱头压大约是色谱柱内径的负二次方函数。例如, 内径为 0.25mm

的色谱柱需要的柱头压是相同长度（载气和温度也相同）内径为 0.32mm 柱头压的 1.7 倍 ( $0.32^2 \div 0.25^2$ )。色谱柱柱头压随着色谱柱直径的变化而急剧增加或减小。由于更小直径的色谱柱需要的压力较高，因此标准 GC 分析使用 0.18mm 或更大的色谱柱。直径较大且较短的色谱柱（例如，15m ×  $\phi_{内}$  0.32mm）在 GC/MS 系统中不常用，因为色谱柱出口端的真空大大减少了所需的柱头压力，但是要保持或控制低柱头压力却非常困难。

常压下，载气流速随着色谱柱直径的增大而加快。对于需要高载气流速的应用，通常使用较大直径的色谱柱。为了正常运行，顶空进样系统和吹扫捕集系统需要更高的载气流速。内径为 0.45mm 或 0.53mm 的色谱柱与这些系统一起使用。如果在这些类型的系统中使用较小直径的色谱柱，则必须进行特殊的考虑：包括使用低温接口或柱温箱，或通过分流进样器连接。增加了复杂性和/或成本、及样品损失。对于需要低载气流速的应用，通常使用较小直径的色谱柱，GC/MS 是需要低载气流速的典型系统，因此，内径为 0.25mm 以及更小的色谱柱将在这些应用中使用。

色谱柱容量随着色谱柱直径的增大而增加。实际色谱柱容量也取决于固定相、溶质和膜厚。表 12-7 比较了不同内径和膜厚的气相色谱柱的柱容量。

表 12-7 色谱柱容量

柱容量/ng 膜厚/ $\mu$ m	柱内径/mm	0.18~0.20	0.25	0.32	0.53
		0.1	20~35	25~50	35~75
0.25		35~75	50~100	75~125	100~250
0.50		75~150	100~200	125~250	250~500
1.00		150~250	200~300	250~500	500~1000
3.00		—	400~600	500~800	1000~2000
5.00		—	1000~1500	1200~2000	2000~3000

图 12-1 综合比较了气相色谱分析中柱内径、检测器种类与进样模式不同时进样量的情况。

基于上述分析，色谱柱直径的选择有以下基本原则：

① 如果需要较高的柱效，请使用 0.18mm ~ 0.25mm 内径的色谱柱，0.18mm 内径的色谱柱十分适用于 GC/MS 系统。直径较小的色谱柱容量最小，并需要最高的柱头压。

② 如果需要较大的样品容量，请使用 0.32mm 内径的色谱柱。与 0.25mm 内径的色谱柱相比，这种色谱柱通常对不分流进样或大体积 (>2 $\mu$ L) 进样时较早流出的溶质有更好的分离度。

③ 只有在仪器配备大口径直接进样器，且要求柱效较高时，才使用 0.45mm 内径的色谱柱。特别适用于高载气流速的情况，例如吹扫捕集、顶空进样器和阀进样应用。

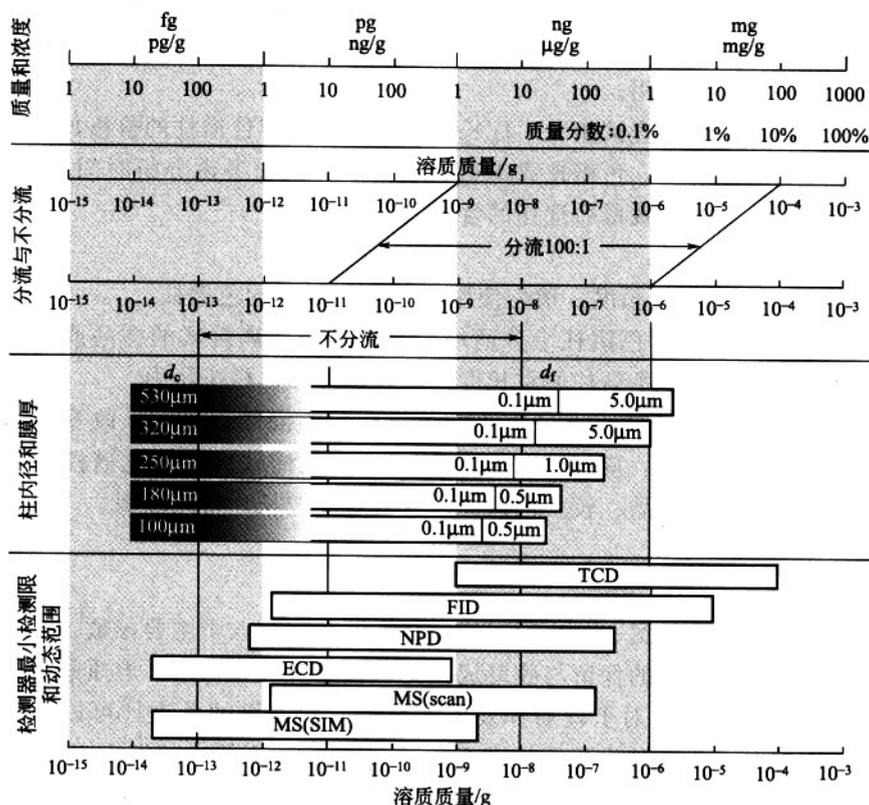


图 12-1 气相色谱综合性能图

④ 只有配备大口径直接进样器时，才使用 0.53mm 内径的色谱柱。特别适用于高载气流速的条件，例如吹扫捕集、顶空进样器。0.53mm 内径的色谱柱在恒定的膜厚情况下具有最高的样品容量。

### 三、色谱柱长度

柱长影响效率、保留（分析时间）和载气压力 3 个重要参数。

柱效 ( $N$ ) 与柱长成正比。分离度是理论塔板数的平方根函数。例如，将柱长加倍（效率也会加倍）理论上将提高分离度近 1.41 倍（实际上增加的倍数接近 1.2 倍至 1.3 倍）。如果希望得到窄峰且柱效较高时，使用较长的色谱柱。

在恒温的条件下，溶质保留值与柱长成反比。在温度程序的条件下，溶质的保留是恒温条件下的  $1/3 \sim 1/2$ 。通过增加柱长来增加柱效时，分析时间也显著增加。

柱头压力几乎与柱长成正比。除非色谱柱直径非常大或非常小，否则压力通常不是问题。直径较小、柱长较长的色谱柱需要极高的柱头压力，而直径较大、柱长较短的色谱柱需要的柱头压力较低。载气的选择也会影响色谱柱压力。

色谱柱流失将随着柱长的增加而增加。较长的色谱柱的固定相较多，因此会产生较多的降解产物。随着柱长的增加，流失的增加并不是非常大，需要时不应该妨碍较长色谱柱的使用。

色谱柱成本与柱长直接相关。柱长加倍也几乎会使色谱柱的价格加倍。通过增加柱长来增加柱效时，色谱柱成本也显著增加。同时考虑分析时间的延长时，增加柱长应该是增加柱效最后选择的合理方法。

色谱柱柱长的选择：

① 如果不知道最佳长度，请先使用 25m~30m 长的色谱柱。

② 10m~15m 长的色谱柱十分适用于分离含易分离溶质的样品或含溶质较少的样品。直径较小的色谱柱通常长度较短，以便降低柱头压力。

③ 如果通过其它方法（直径较小的色谱柱、不同的固定相、改变柱温）不能达到满意的分离度时，应使用 50m~60m 长的色谱柱。这种色谱柱适用于分离含多种溶质的复杂样品。较长色谱柱的分析时间较长，费用较高。

#### 四、色谱柱膜厚

色谱柱膜厚影响保留、分离度、流失、惰性和容量 5 个主要参数。

恒温条件下，溶质的保留与膜厚成正比。程序升温条件下，溶质的保留是恒温条件下的 1/3~1/2。对于较易挥发的溶质，液膜较厚的色谱柱可以得到更高的保留。挥发性组分通常需要用标准膜厚色谱柱低温冷却才可以在 30℃ 以上的温度下充分保留。在更高柱温下液膜更厚的色谱柱能提供相等或更大的保留。液膜较厚的色谱柱通常用于挥发性化合物，如溶剂和一些气体的分析。液膜较薄的色谱柱用来减少保留能力强的溶质的保留。保留强的溶质可以更快或在更低的温度下流出。在更低柱温下，改用液膜更薄的色谱柱可有效提供相等或更小的保留。液膜较薄的色谱柱通常用于高沸点高分子量的化合物的分析。

如果色谱柱的保留不足，使  $k'$  值小于 2 的溶质难以分离，改用液膜较厚的色谱柱会使其分离度更高。分离度的提高幅度取决于在原来色谱柱上溶质  $k'$  值。对于  $k'$  值大约为 5 或更小的溶质，增加其保留可以提高其分离度。对于  $k'$  值为 5~10 的溶质峰，增加其保留可以稍微或适中地改善其分离度。对于  $k'$  值大于 10 的峰，增加其保留通常不会改善其分离度，有时还会损失分离度。增加膜厚来改进较早流出峰的分度，但可能导致较晚流出峰分离度的损失。

对于给定的固定相，色谱柱的流失将随着膜厚的增加而增加。由于液膜较厚的色谱柱更容易保留，因此增加膜厚时，较晚流出的峰可能转移到色谱柱流失较高的区域。由于流失严重，因此厚液膜色谱柱的温度上限可能会更低。

液膜较厚的色谱柱更具惰性。有更多固定相来保护溶质不受管线表面的干扰。使用液膜较厚的色谱柱可以经常减少或消除活性化合物的峰拖尾。

液膜较厚的色谱柱的溶质容量较高。当一种溶质含量过高时，所导致的峰展

宽可能干扰邻近的峰或与其共流出。改用液膜较厚的色谱柱可能减少峰展宽，从而减少共流出现象。

色谱柱膜厚的选择概述：

① 对于 0.18mm~0.32mm 内径的色谱柱，其平均或标准膜厚为 0.18 $\mu$ m~0.25 $\mu$ m，可用于大多数分析。

② 对于 0.45mm~0.53mm 内径的色谱柱，其平均或标准膜厚为 0.8 $\mu$ m~1.5 $\mu$ m，可用于大多数分析。

③ 厚膜色谱柱用于保留和分离挥发性溶质（如轻溶质、气体）。厚液膜色谱柱惰性更强，容量更大。厚液膜色谱柱具有较高流失性，使用温度上限也有所降低。

④ 薄膜色谱柱用于将高沸点、高分子量溶质（如类固醇、甘油三酸酯）的保留时间降至最小。薄液膜色谱柱惰性更弱、容量更小、色谱柱流失更少。

### 第三节 色谱柱故障与维护

气相色谱柱使用中出现问题频率依次为污染、泄漏、分辨率低、成本高、固定相流失、出现鬼峰、样品降解与噪声增加、色谱柱重现性差、惰性不够、色谱柱断裂等。表 12-8 列出了色谱柱常见故障及其排除方法。

#### 一、色谱柱安装

得到最优化的柱性能和寿命是进行色谱分析的第一步，正确的色谱柱安装要注意以下几点：选择适合于进样口和检测器类型的色谱柱尺寸和密封垫材料；避免重复使用密封垫；采用合适的柱切割工具如陶瓷片或者金刚石切割器进行柱切割；将色谱柱安装在进样口和检测器之前确保色谱柱头清洁平整；按照仪器厂商的要求，色谱柱安装插入进样口和检测器适当的距离；色谱柱必须置于柱架上，毛细管柱的任何部分都不能够接触柱箱壁；柱箱加热之前确定所有的接头不泄漏，载气中不含有氧气；通过注射不保留化合物或者用仪器软件程序检查色谱柱安装是否正确，并设置载气线性流速；按照色谱柱所附资料进行色谱柱老化。

#### 二、色谱柱断裂

只要存在极小的划痕或者聚酰亚胺涂层被破坏，熔融石英色谱柱就可能断裂；柱箱的连续加热及冷却、柱箱风扇导致的振动以及缠绕在圆柱形架上都会对柱管施加应力，在持续作用下，将会出现裂缝，直到发生断裂。大口径色谱柱（0.45mm~0.53mm）更容易断裂，需要更加注意。

表 12-8 色谱柱常见故障及排除方法

故障	预防措施	排除措施
色谱柱断裂	避免色谱柱接触尖锐的边角,如柱架和标签、柱箱的金属边缘、柱切割器等避免太紧缠绕或者弯曲色谱柱	已经断裂并已加热的色谱柱,未通载气的一段色谱柱的固定相可能已经流失,丢弃,从柱端切割掉 20cm 左右,再安装使用 如果断裂的色谱柱未被加热,可以采用无死体积接头连接使用。一根色谱柱一般不超过(2~3)个接头
热损坏	不要超过使用温度上限(等温上限是色谱柱能够长期使用的温度,程序升温上限是色谱柱在该温度下工作 5min~10min)	将色谱柱从检测器端卸下,在等温上限温度加热色谱柱 8h~16h,从色谱柱端截去 10cm~15cm,将色谱柱安装在检测器上按照正常条件老化。
氧化损坏	定期检漏、更换隔垫、高质量的载气、安装氧气捕集阱、在气瓶气体用完之前更换	同“热损坏”
化学损坏	通过样品制备除去样品中的无机酸碱,安装保护柱并定期截去柱头一段,如果必须使用酸碱,最好选择有机物、盐酸或者氨水	从柱前端截去 0.5m~1m,情况严重时可能要截 5m 以上
非挥发性污染物	进行样品净化除去样品中的非挥发性物质 在进样口采用填充玻璃毛的衬管(分析活性化合物例外) 安装保护柱并定期检查	不要烘烤色谱柱 前端维护:清洗或更换进样口衬管、清洗进样口、从柱前端截去 0.5m~1m 将色谱柱进出口调换 溶剂清洗色谱柱 将色谱柱前半部分截去,只使用后半部分
半挥发性污染物	进行样品净化除去污染物 提高 GC 运行的最高温度(不超过色谱柱温度上限) 定期更换隔垫	烘烤色谱柱 1h~2h(长时间烘烤可能会使某些污染物聚合) 用溶剂冲洗色谱柱

### 三、热损坏

色谱柱使用温度超过最高使用极限将会加速固定相流失和管表面的降解,引起色谱峰拖尾和柱性能下降。注意热损坏是不可逆的,虽然色谱柱可以继续使用,但是通常不能恢复到初始性能。

### 四、氧化损坏

氧化是所有毛细管色谱柱共同面临的问题。室温或者接近室温时,色谱柱长期暴露于空气中不会损坏色谱柱,但是在高温下色谱柱的氧化损坏将比较明显。载气流路中管路、接头、进样口、隔垫等的泄漏是最常见的色谱柱暴露于氧气中的原因。当色谱柱加热时,会引起固定相的快速降解、柱流失、活性化合物的峰拖尾以及柱效与分离度下降等。氧化损坏速度非常快,在较严重情况下色谱柱彻底失效。

## 五、色谱柱化学损坏

无机或矿物酸和碱是引起固定相化学损坏的主要原因。大多数这类酸碱都是低挥发性的，可以在柱前端积聚，从而损坏色谱柱。全氟酸类有机物（1%以上）能够导致色谱柱流失、活性化合物峰拖尾、柱效和分离度下降。盐酸和氨水对色谱柱的损害相对较小。

## 六、色谱柱污染

色谱柱污染是 GC 色谱分析中最常见的问题之一。按照污染物的性质，主要是非挥发性和半挥发性污染两种。非挥发性污染或者残留物不能流出色谱柱，而是积聚在色谱柱的前几米，残留物涂覆覆盖影响固定相的正常分配，并且可能与含有羟基、氨基、某些巯基和醛类活性溶质相互作用产生峰吸附，导致色谱峰拖尾或峰变小。半挥发性污染物或者残留物积聚在色谱柱内，但是最终会流出，不过需要的时间很长，一般几个小时到几天，这些残留物会导致色谱峰形变差、峰变小、基线漂移、鬼峰等现象。

## 七、色谱柱贮存

毛细管从色谱柱中拆下后，应该贮存在原来的盒子里，将 GC 隔垫插在柱两端以防止碎片进入柱内，重新安装色谱柱时需要从柱头截去 2cm~4cm 以确保隔垫碎屑不会堵塞在色谱柱内。

如果色谱柱安装在加热的仪器内，必须保证柱内通有载气，不然会破坏色谱柱的加热部分。只有当柱箱、进样口、检测器及传输管路都降温之后才能够关闭载气。

## 八、色谱柱维护周期

表 12-9 列出了色谱柱维护的项目与推荐周期，供色谱分析工作者参考，在实际应用中，结合具体情况调整。

表 12-9 色谱柱维护项目与推荐周期

项目	一般维护时间	措施及说明
前端维护	1 周至 1 个月	当出现色谱性能问题(峰拖尾、灵敏度改变、保留时间改变等)时,从柱前端截去 0.5m~1m。必要时,更换进样口衬管、隔垫,并清洗进样口。安装保护柱有助于延长色谱柱寿命
溶剂冲洗	按实际需要	由于柱污染而色谱性能下降时,进行冲洗;只用于键合和交联固定相
更换	按实际需要	当切除和/或溶剂冲洗不能恢复色谱柱性能时
密封垫	按实际需要	当更换色谱柱和进样口/检测器部件时,更换色谱柱密封垫

### 参 考 文 献

- 1 李浩春. 分析化学手册, 第二版. 第五分册, 气相色谱分析. 北京: 化学工业出版社, 1999
- 2 孙传经. 气相色谱分析原理与技术. 北京: 化学工业出版社, 1993
- 3 Dean R. Guide to the Care, Maintenance, and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatographic Systems. Third. revised edition Wiley-VCH Weinheim (FRG), 1999
- 4 Allen K Vickers, Daron Decker, Ronald E. Majors. *LC GC*, 2007, (7): 1
- 5 Ronald E Majors. *LC GC*. 2003, 21 (10): 960~966

# 第十三章 气相色谱检测器

本章介绍气相色谱常用的热导检测器 (TCD)、氢火焰离子化检测器 (FID)、电子捕获检测器 (ECD)、火焰光度检测器 (FPD)、氮磷检测器 (NPD) 和质谱检测器 (MS) 的基本原理及操作中所出现的问题及其原因, 并提出相应的诊断及故障排除方法<sup>[1~8]</sup>。

## 第一节 热导检测器

### 一、热导池检测器基本原理

热导池检测器 (图 13-1) 是根据不同物质有和载气不同的导热系数, 当通过热导池孔道的气体组成及其浓度发生变化时, 就会从其中的热敏元件 (灯丝) 上带走不同的热量, 而引起其电阻值变化。这种电阻值变化可用电桥测量。实际上热导检测器就是比较纯载气 (参比气) 和载气加样品组分 (柱流出气) 的热导率。它具有灵敏度高、线性范围宽、稳定性好、响应速度快等优点。为目前最好的通用型色谱检测器之一, 广泛用于气体、水分等的测定<sup>[1~3]</sup>。

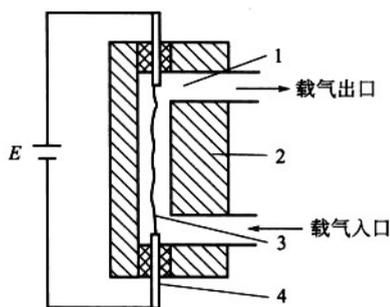


图 13-1 热导池检测器结构  
1—池槽; 2—池体; 3—热丝; 4—绝缘体

### 二、热导检测器的故障预防

试验中要注意正确使用操作检测器, 避免出现可能导致检测器损坏的因素。热导池中的关键热导元件是用钨铼丝做的, 钨铼丝直径一般只有  $15\mu\text{m}\sim 30\mu\text{m}$ , 材料又比较容易氧化。氧化或受污染后, 电阻值发生变化或断损, 造成热导池测量电桥的对称性被破坏, 致使仪器无法正常工作。将引起热导元件损坏的因素及注意事项归纳如下。

(1) 热导池接并联双气路应用时, 必须同时并联装上两根色谱柱, 两路都要同时通载气, 如果只装一根柱, 而另一路不装柱不通载气, 那么, 一通电源就会

将钨丝元件烧坏。

(2) 仪器停机后，外界空气往往会返进热导池和柱系统，因此必须在开机时要先通载气 10min 以上再通电；停机时间越长，那么重新开机时先通载气的时间也越长，否则系统中残留的空气中氧气会将钨钼丝元件氧化或烧断。

(3) 热导检测器使用的载气纯度必须 4 个 9 以上 (99.99%)，最忌载气中含氧量高，载气不纯将会影响热导元件的使用寿命，也会降低检测灵敏度，所以载气必须脱氧净化。化学活性样品组分如酸和卤代化合物可能损坏热丝，尽可能避免这些化合物，将延长热丝寿命。

(4) 在更换装色谱柱时，必须检漏，保证气密性，色谱柱连接处漏气将会造成热导元件损坏，色谱柱出口端必须填装好玻璃棉和不锈钢丝网，避免柱载体吹入 TCD。

(5) 在多次进样分析后，应及时更换进样器上的硅橡胶垫，如果待到硅橡胶垫被多次注射针扎破漏气时再更换就迟了，因为硅橡胶垫一漏，载气漏出，空气漏进，热导元件就会烧坏。分析过程中更换硅橡胶垫时，必须将热导电源关断后，再迅速换垫，换好后必须通载气几分钟后才能再通热导池电源。

(6) 气体进样时用平面六通阀，六通阀的位置必须停在两个极端位置，不能将阀旋停在中间位置。因为中间位置是六通阀将载气切断不通，这是很危险的，容易导致热导池中因不通载气而损坏。

(7) 色谱柱高温老化时，必须将热导池电源关断，热导池温控关断，并且将柱出口连接热导池进口的接头处断开，让高温老化的载气 ( $N_2$ ) 流入柱箱内，这样可避免因柱子老化而污染热导池及钨钼丝元件。

(8) 热导池桥电流的设定，必须比被分析试样组分的最高沸点高  $20^{\circ}C \sim 30^{\circ}C$ ，避免试样中高沸点组分冷凝在热导池中和污染钨钼丝元件。

(9) 热导池桥电流的设定，必须考虑所用载气的种类、工作温度和钨钼丝元件的冷阻。原则：①轻载气 ( $H_2$ 、He) 桥电流可大，重载气 ( $N_2$ 、Air) 桥电

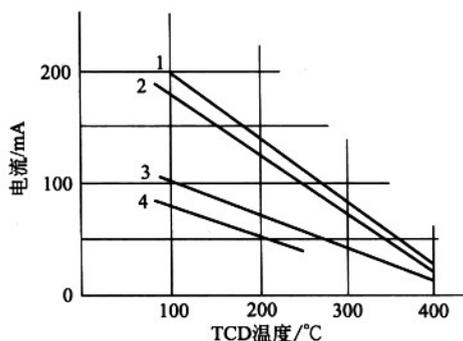


图 13-2 TCD 检测器的载气与电流值相关图

1—载气 He；2—载气  $H_2$ ；3—载气  $N_2$ ；4—载气 Ar

流必须小；②热导池工作温度高，桥电流应减小，工作温度低，桥电流可增加；③各生产厂家热导池钨钼丝元件电阻值是不同的，因此，使用桥电流大小也不同。元件电阻值大的，桥电流就应设定小些，具体桥电流设定可看说明书。

虽然 TCD 的灵敏度随电流的增加而增大，但是大的电流状态下持续分析会缩短灯丝寿命。图 13-2 是 TCD 上的电流值随温度的变化趋势

图。根据 TCD 温度和载气确定的合理上限，使用时不要升高到需要以上的电流值。

### 三、热导池检测器故障

#### 1. 桥电流故障

在热导池通载气的前提下，打开桥电流开关，调节桥电流控制旋钮。桥电流应能稳定地调到预定值。如果调整过程中发现桥电流调不上去，特别是热导池处于高温时，桥电流调不到最大额定值，即可认为是桥电流调不到预定值故障。

此种故障的产生原因：①热导单元连线没接对；②热导池中热丝断开或引线开路；③桥路稳压电源故障；④桥路配置电路断开或电流表故障。

排除桥电流调节故障可按图 13-3 所示方法进行。

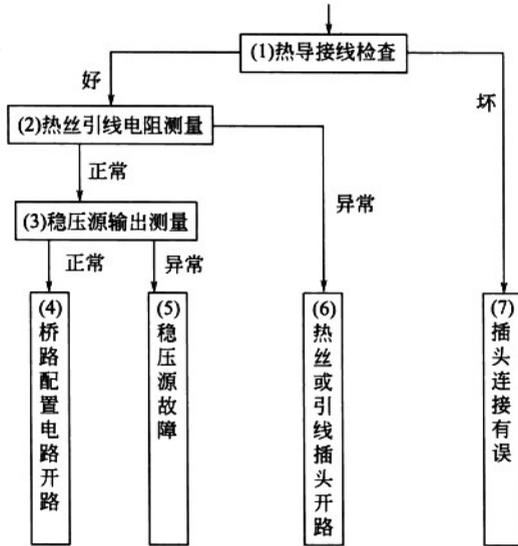


图 13-3 桥电流故障的检查与排除

(1) 热导单元接线检查。此项检查的重点是观察热导检测器后引线电缆是否与主机上热导池引线插座相连接。

(2) 热丝引出线间电阻检查。热丝各引出端电阻值的大小是说明热丝各级中是否有断路的最充分判据。如测得热丝各引出端电阻值正常，继续 (3) 的检查。对于具体的气相色谱仪中的热丝电路，可依据各自电阻值及具体连线状况给出相应的正常测量数据。

(3) 稳压源输出测量。测量稳压电源输出电压的大小，可判定桥电流调不上去是否因桥电源输出电压太低所致，如稳压源输出过低或无输出应转入 (5)，如稳压源输出正常则进行 (4) 的检查。

(4) 桥路配置电路检查与修理。在这一部分电路中导致桥电流调不上去的原因是电路引线接头脱焊，桥流调节电位器或池平衡调节电位器有开路，以及电流表指示失灵或开路。

(5) 稳压源故障。

(6) 热丝电路开路。

(7) 热导引线连接。在检查出热导引线插头连接有误时，应关掉电源按要求重新连线。要特别注意，不要把热导池引出的连接电缆误接到氢焰的激化电压上，这样很可能烧断热丝或损伤极化电源。

## 2. 基线调零故障

桥电流调好并稳定后，分别调整热导调零的各旋钮，使记录器上的基线指示回到零点。如果无论怎样调整各旋钮，基线都无变化或调不到零位，则认为热导调零有故障。

热导不能调零故障产生的原因有：①热丝阻值不对称或引线接错；②热丝碰壁或污染严重；③调零电位器引线开路；④记录仪开路或无反应；⑤双气路流量相差太大。排除热导不能调零故障，可按图 13-4 给出的方法进行。

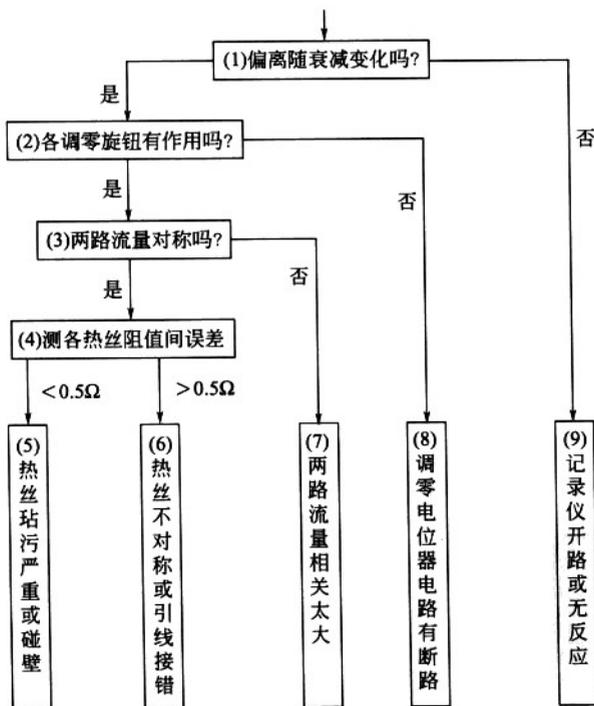


图 13-4 热导检测器调零故障的检查与排除

(1) 衰减挡试验 在发现基线相对于零点有一偏移时，将衰减挡由小到最大调整，观察基线偏离是否逐步减少。

(2) 调零旋钮作用检查 分别旋动粗、中、细调旋钮, 观察基线有否反应。

(3) 双路流量检查 在气路试漏的基础上, 用皂膜流量计分别测试两气路的流量值, 观察是否相差太大。

(4) 热丝电阻值间误差检查 对热导池各级热丝引出端插座进行电阻值测量。一般, 各组热丝之间电阻值的差值不应超过  $0.2\Omega\sim 0.5\Omega$ , 如超出此值, 应按(6)处理。

(5) 热丝碰壁或沾污 热丝碰壁可通过测量热丝与池体之间的绝缘电阻加以证实。热丝的严重沾污, 可通过对热导池池体的清洗而消除或部分消除, 具体步骤见检测器的清洗一节。

(6) 热丝不对称或引线接错 如测得热丝组间电阻误差在  $0.5\Omega\sim 3\Omega$  之间, 可用在热导调零电路的电阻两端并联电阻的方法加以解决; 热丝不对称的另一种解决方法是将电阻值最大者与最小者搭配成一组, 电阻值中等的两个热丝配成一组, 这样搭配后往往能更好地解决热导调零问题。实践表明, 大部分热丝不对称都是由于气路中两臂进样腐蚀程度不同所造成的。这样就有一路的两个热丝电阻明显大于另一路的情况出现。按上述方法进行搭配后可获得较理想的效果。如热丝继续腐蚀, 以致热导不能调零, 可按新情况进行重新搭配。热丝引线接错也能造成热导不能调零。这通常发生于修理热导池电路之后, 遇到此种情况需仔细检查热丝引出线间的连接。正确的接法是4个热丝构成一个桥路, 而且桥路中两个对臂的热丝正好位于同一气路。

(7) 双路流量相差太大或气路泄漏的处理, 两路流量相差过大, 可通过调节气路控制阀加以解决, 但此时两气路不应有泄漏。

(8) 调零电路有开路。

(9) 记录器开路或无反应。

### 3. 基线噪声与漂移

造成热导检测器基线不稳定的原因很多, 大约有几十种, 常见的有:

① 市电电源电压太低或波动太大、同一相上的电源负载变动太大; ② 气路出口管道中有冷凝物或异物; ③ 仪器接地不良; ④ 柱室温控不稳, 检测室温控有波动或漂移; ⑤ 载气不干净, 气路被污染, 载气气路中漏气, 载气压力过低或快用完; ⑥ 稳压阀、稳流阀控制精度差; ⑦ 双柱气路相差太大, 补偿不良; ⑧ 载气出口有风或出口处皂膜流量计中有皂液; ⑨ 柱填充物松动; ⑩ 机械振动过大; ⑪ 桥路直流稳压电源不稳; ⑫ 柱中固定相流失; ⑬ 载气流速过高; ⑭ 桥路配置电位器接触不良; ⑮ 热导池污染; ⑯ 热敏元件局部过热; ⑰ 电源插头、引线接触不良, 换挡波段开关接触不良; ⑱ 钨丝没老化、热敏元件钨丝碰壁; ⑲ 桥电流过大。

上面给出了导致热导检测器基线不稳定性的多种原因。为了提高检查效率, 可参照图 13-5、图 13-6 及图 13-7 所列的故障程序检查与排除。

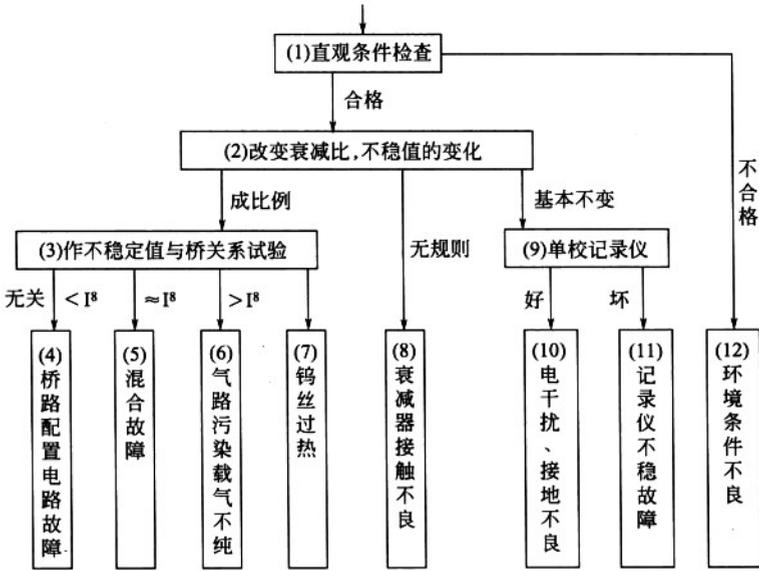


图 13-5 TCD 基线不稳故障的检查与排除

(1) 环境条件检查 充分直观、快速观察仪器环境条件方面的异常是一种优先考虑的方法。以热导检测器为例，这种观察可包括下面三个方面，正常情况下：①气路出口空气流平稳，无强风通过；②仪器所处工作台无较大的机械振动；③仪器主机，特别是加热电源不要由同一个稳压电源供给。

(2) 作衰减试验 利用衰减值的变化可以判定信号中的噪声和漂移是位于衰减之前，还是衰减之后。

(3) 不稳定值与桥电流关系试验 检查并尽早判定气路中的气流是否洁净十分必要，这不仅是因为气流不洁净本身是造成基线不稳的一个直接原因，而且由于气流不洁净还会成倍或几十倍地加大某些不稳定因素对基线的影响。在同样条件之下，如果气流本身是十分洁净的，那么这些不稳定因素将不会影响或很少影响基线的稳定性。因此，需要：①区分气路中气流是否洁净。一个重要依据是“观察不稳定值与桥电流之间是否呈三次方关系”。这也就是要通过简单地测定来确定不稳定值、噪声包络峰峰值或包络中心漂移值与桥电流的三次方之间是否成正比。如果试验证实了这一点，那么即可认为气路中的气流不干净，存在污染。应进一步地检查将按下述(6)进行。②确定不稳值与桥电流的关系。可在其它操作条件保持不变的情况下，单独改变桥电流的大小，比如降到原桥电流的1/2，然后测量桥流改变后的不稳定值与桥流改变之前不稳定值之比，即可确定不稳定值与桥电流的关系。比如，当上述桥电流下降1/2时，若噪声峰峰值下降到原来的1/8左右，即可断定不稳定值按桥电流的三次方成比例变化。如果桥电流降到原来的1/2，而噪声远远小于预计的1/8，即噪声衰减比桥流衰减的三次

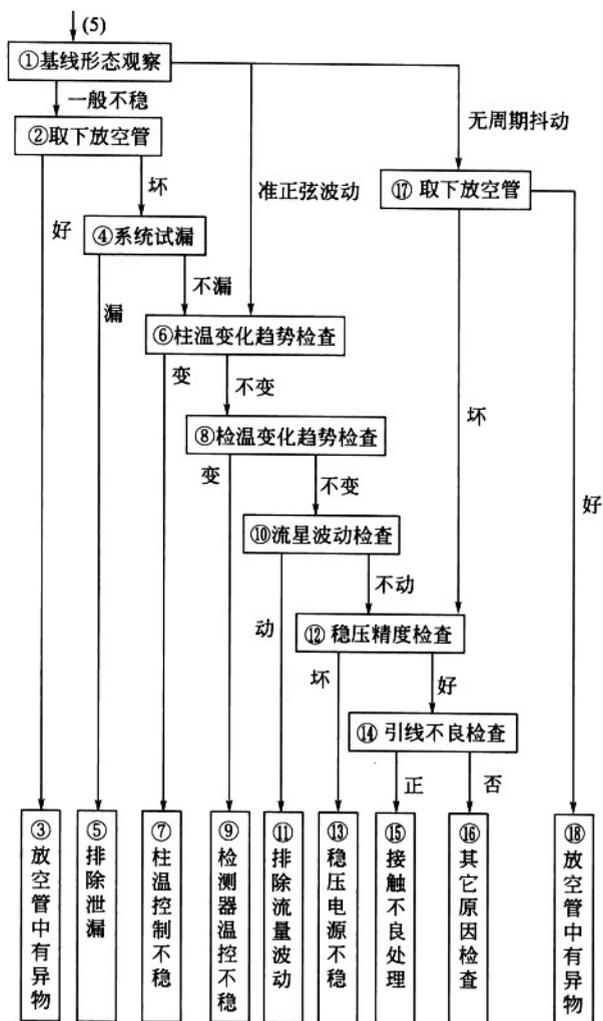


图 13-6 TCD 混合故障 (5) 的检查与排除

方还要快，此时可判定为钨丝过热故障。如果桥电流下降 1/2 后，基线不稳定值的下降不到原稳定值的 1/8，而仅仅是原来的 1/4 或 1/2 时，应判定为属于混合故障的范围。作为一种可能，当桥电流下降 1/2 时，如果观察到基线不稳定值毫无改变，或者虽然有变化，但变化很小时（小于原来的 1/2），可判定为桥路配置电路有故障。

在增加桥电流时必须注意不要超过桥电流的上限值！

(4) 桥路配置电路故障 形成原因主要是接触不良，轻者用乙醇渗入电位器法清洗电位器内部，重者需更换新的电位器。

(5) 混合故障 “混合” 一词在这儿具有两种含义，一是指引起故障的原因是多种多样的，它既包括电路方面的原因，也包括气路方面的原因；另一方面

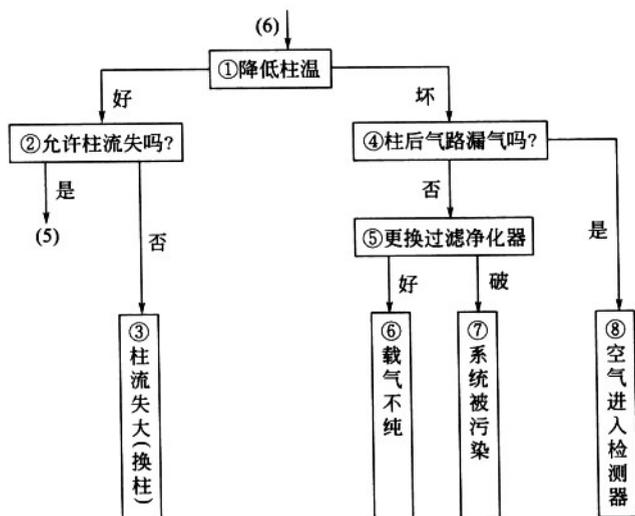


图 13-7 TCD 气路污染故障 (6) 的检查与排除

“混合”一词还意味着电路原因、气路原因间的交互作用。当系统气路中气流被污染时，很多本来对基线稳定性影响不大的因素，如柱温变化、流量变化都被明显地突出出来，而且气流污染越严重、上述变化对基线的影响越显著，这是在检修仪器时所遇到的气、电因素的交互作用。为了解决故障原因间的互相关联，应首先解决气流污染方面的问题。然后再处理温度、流量方面的问题，这是解决此类问题的基本思路。但是在某些情况下要求气流完全纯洁，无任何污染是不太现实的（比如说，某些色谱柱在正常工作时，固定液就有一定程度的流失），因此对有关温度或流量方面的控制精度必须提出一定的限制，以便按此要求对温度与流量的控制进行检查，以保证基线本身的稳定性。

(6) 污染与不纯 在色谱仪出现基线不稳故障时，首先要搞清楚色谱仪气路是否存在污染现象。这不但是因为气路中气流不干净能直接影响基线的稳定性，而且更普遍的是在气路不干净的条件下，许多本来在气路干净时对基线稳定性影响很小的因素（如气流流量变化、控温波动等）对基线的稳定性影响却会突然增大。这就是气路污染与其它不稳定性的交互作用。

在确定气路存在污染的前提下，对气路采取的一系列措施。引起污染的原因大体有 3 种，即固定相流失，气路管路被杂质玷污及载气不纯。为了更进一步区分故障根源，可按下述检查步骤进行（详见图 13-7 所示）。

① 降低柱温。由于色谱柱中固定液的流失量与柱温是指数式关系。因此降低柱温将能大幅度减少固定液的流失量。如在柱温下降时基线变稳，则说明柱流失原来太大，需根据具体分析条件进一步处理。

② 是否允许柱子有较大的流失。在某些分析方法的限定之下。不得不允许

柱子有一定的流失，这时可考虑适当提高仪器其它部分的稳定性，使整个分析方法能得以实现。

③ 对柱流失大进行处理。首先应怀疑柱子是否充分老化。这可在升高柱温条件下进一步老化色谱柱后，在操作温度下观察基线能否变好而加以证实。如老化处理无明显效果，可在柱温处于  $150^{\circ}\text{C}$  以上条件下，注入几针蒸馏水做清洗试验（每针进水量可在  $10\mu\text{L}\sim 20\mu\text{L}$  左右）。在用水蒸气清洗之后，如有效果，可认为色谱柱有杂质污染；如水蒸气清洗无效果，须考虑更换新的色谱柱。

④ 柱后气路试漏。色谱柱到热导检测器之间的管路，包括热导检测器本身的气路不应有泄漏。如该处有泄漏，空气中的氧气将会从泄漏处渗到气路中去，影响基线稳定性，严重的会腐蚀钨丝，使之受到永久性损伤。柱后试漏的方法十分简单，只要堵住热导池出口，观察相应气路的流量计转子是否降到零即可。

⑤ 更换过滤、净化器。色谱仪载气气路上的过滤、净化器在使用一段时期之后要活化或更换。在载气气源不干净时更应及时换新。在过滤、净化器换新之后再观察基线稳定性的变化情况。如基线明显变好，表明载气纯度不够，或者是过滤、净化器失效。

⑥ 载气不纯。尽管纯度不高的气源经过一个良好的过滤、净化器之后，可以作为一个杂质含量少的高一级气源使用，但是这样会影响过滤、净化器的使用期限，而且气源所含杂质越多，过滤、净化器可使用的期限越短。因此，彻底的办法还是选用纯度高的载气气源并附加上有效的过滤、净化器。这样可保证基线尽可能的稳定，而其正常应用期限可达一年之久。

⑦ 清洗气路管路玷污。清洗气路管路的玷污时可先进行蒸馏水或乙醇的注样清洗。方法是使整个系统升温到  $150^{\circ}\text{C}$  以上，再在进样器多次用注射器注入  $10\mu\text{L}\sim 20\mu\text{L}$  的蒸馏水或乙醇，待相应的峰出完后，观察基线的稳定性。如基线明显变好，可认为管路仅有轻微的玷污，仍可继续使用；如基线稳定性无变化或变化不大，则应考虑对管路的彻底清洗。在气路中进样口、柱子到热导池间的连接管以及热导池池腔是很容易被污染的，因此在清洗时要重点处理。清洗管路的具体方法见前述的气路部件的清洗。

⑧ 空气渗入检测器。柱后气路的微小泄漏是造成空气中氧气渗入到热导检测器中去的根本原因。这大部分发生在连接管接头和钨丝元件的安装处，对于该部分漏气的修复方法参见前述气路泄漏的检查与排除。

(7) 钨丝过热 当发现不稳定值，随桥电流变化特别敏感时，应怀疑钨丝是否因污染和受损而产生局部过热现象。

(8) 衰减器接触不良 见检测器的清洗。

(9) 单校记录仪 用导线将记录仪信号输入端+与-短接，观察零点基线稳定情况。如基线仍不稳定，则认为记录仪故障。

(10) 电干扰与接地不良 检查仪器供电与接地情况。

(11) 记录仪不稳定故障 见 FID 基线不稳排除方法。

(12) 环境条件不良 见 FID 基线不稳排除方法。

#### 4. 热导检测器的清洗

当采用较低检测器温度以改善灵敏度，或者灯丝保持在低电流条件下，热丝的温度也较低，如果热导池污染，需要用溶剂冲洗检测器。溶剂冲洗的步骤如下。

将热导检测器冷却至室温并取下色谱柱，将隔垫置于检测器入口的螺母或者接头组件上，将螺母或接头组件置于检测器接头上并拧紧，确认有尾吹气流，通过隔垫向检测器注射  $10\mu\text{L}\sim 100\mu\text{L}$  甲苯、苯、丙酮、乙醚、十氢萘等溶剂，注射总量至少  $1\text{mL}$ ，完成注射之后允许尾吹气继续流动  $10\text{min}$  以上，缓慢增加热导池的温度，使其比正常操作温度高  $20^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$ ， $30\text{min}$  之后将温度降低至正常值，并按照正常情况安装色谱柱。注意不要向检测器中注射卤代溶剂，如二氯甲烷和氯仿等。

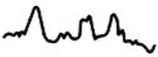
对于柱流失、样品污染产生沉积物污染 TCD 检测器。引起基线漂移、噪声增加或测试色谱图响应改变时，可以采用热清洗，即通过加热检测器池体以蒸发掉污染物。不过一定要注意，首先要确保载气及气路系统没有泄漏且未被污染。

表 13-1 总结了热导和氢焰离子化检测器常见故障及其排除方法。

表 13-1 用热导和氢焰离子化检测器时的故障分析和排除方法

故障及图形	可能原因	排除方法
电路不通	(1) 插头接触不好 (2) 电源保险丝烧断 (3) 仪器有短路, 仪器的保险丝烧断	(1) 检查各插头是否插紧, 重复开闭开关 (2) 更换保险丝 (3) 检查仪器线路并维修好
色谱柱恒温箱不升温	(1) 电热丝烧断 (2) 温度控制器或一次元件可能有损坏	(1) 检修电热丝 (2) 先检查接头是否接触良好, 若无问题, 则检查温度控制器或一次元件
汽化室或检测器恒温箱不升温	(1) 电热丝烧断 (2) 电源不通或接头松脱 (3) 控制电路发生故障	(1) 检修电热丝 (2) 检修电源, 拧紧接头 (3) 检修控制线路
放大器零点不能调节或调不到预定位置	(1) 调零电位器失灵 (2) 机内粗调电位器位置不当 (3) 放大器工作不正常, 如输入级元件(静电计管、场效应管等)不配对	(1) 更换 (2) 重调粗调电位器至适当位置 (3) 检修或更换元件
放大器零点不稳	(1) 探头元件受潮污染 (2) 放大器中元件损坏 (3) 放大器机内稳压电源不稳 (4) 输入高阻受潮、污染或有指纹油脂印	(1) 清洗、烘干 (2) 检修更换元件 (3) 检查电源工作状态 (4) 清洗、烘干

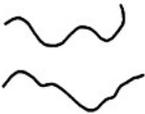
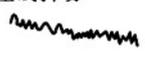
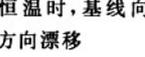
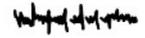
续表

故障及图形	可能原因	排除方法
点不着火	(1)高压点火电极太远或绝缘电阻不够造成漏电 (2)放大器变压器点火低压绕组断 (3)低压点火线圈断 (4)氢气空气配比不当,氮气流量太大 (5)氢气管路漏气 (6)喷嘴堵塞	(1)调好电极距离,消除漏电 (2)更换变压器 (3)更换点火线圈 (4)降低氮气流量或提高氢气流量和空气流量 (5)排除漏气现象 (6)排除堵塞现象
基线不能调零	(1)记录器零位调节器位置定得不对 (2)记录器连接不正确 (3)记录器故障 (4)基流补偿电位器失调或损坏 (5)补偿电压不够 (6)氢焰放大器故障 (7)氮气流量过大 (8)火焰烧到电极 (9)固定液流失过大 (10)氢焰用的三种气体之一不纯 (11)氢焰检测器内积有冷凝水或被玷污 (12)热导检测器热丝失去平衡,可能是由于热丝烧断,测量与参比池热丝电阻值相差太大或测量池钨丝玷污;柱前或柱后漏气,热丝不全在氢气流中 (13)钨丝与池壁相碰	(1)把记录器信号输入端短路,然后调零,可参见记录器说明书 (2)按记录器或仪器说明连接 (3)看记录器说明书 (4)不要把基流补偿的粗细调电位器中的任一个调到头,以免调节失灵;更换损坏的电位器 (5)增加补偿电压 (6)见仪器说明书查出故障并排除 (7)调节氢气流量 (8)调整电极位置 (9)更换其它固定液柱或降低柱温 (10)更换不纯气体或加气体净化装置 (11)升高检测器温度,把水赶出或清洗检测器 (12)用万用表检查热丝阻值,判断热丝是否烧断,根据情况调节阻值或更换热丝;查出漏气处并排除 (13)调整钨丝弓架位置
基线不稳噪声大 	(1)记录器滑线有污垢 (2)记录器银滚珠磨损 (3)记录器故障 (4)柱子玷污或过量流失 (5)载气玷污 (6)载气流速过高或漏气 (7)热导检测器放空管有冷凝液 (8)进样器有污垢 (9)色谱柱与检测器连接管有污垢 (10)钨丝松动或接触不良 (11)电源不稳或桥流过大 (12)电桥有虚焊处或多圈电位器接触不良	(1)用绸布或尼龙布蘸酒精擦洗滑线电阻 (2)用砂纸磨光或换新的滚珠 (3)把记录器的信号输入导线短路,若噪声仍出现,则需检查记录器 (4)重新老化柱子 (5)更换或将过滤载气的吸附剂再生 (6)降低载气流速,排除漏气 (7)排除冷凝液,并设法排除产生冷凝液的可能性 (8)清洗进样气管,并更换胶垫 (9)清洗连接管 (10)更换钨丝 (11)排除电源故障并调小桥电流 (12)排除虚焊,清洗电位器触点

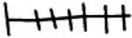
续表

故障及图形	可能原因	排除方法
<p>基线不稳噪声大</p> 	<p>(13) 氢火焰检测器的氢气流量过高或波动</p> <p>(14) 氢焰检测器的空气流量太高</p> <p>(15) 氢焰检测器的空气、氢气有杂质</p> <p>(16) 氢焰检测器内有冷凝水</p> <p>(17) 离子头潮湿</p> <p>(18) 火焰烧到电极</p> <p>(19) 电极处积有灰尘</p> <p>(20) 氢焰离子化检测器信号线有故障</p> <p>(21) 氢焰离子化检测器及其绝缘材料污垢</p> <p>(22) 氢焰离子头四周漏气</p> <p>(23) 气路接头或电插头松脱</p> <p>(24) 接地不良, 屏蔽不良</p> <p>(25) 波段开关有污垢</p>	<p>(13) 调好氢气流量</p> <p>(14) 调好空气流量</p> <p>(15) 更换或再生空气、氢气的过滤器</p> <p>(16) 升高检测器温度至 200℃, 排除冷凝水</p> <p>(17) 干燥离子头</p> <p>(18) 调整电极位置</p> <p>(19) 排除灰尘</p> <p>(20) 排除故障或更换信号线</p> <p>(21) 用无残渣溶剂清洗绝缘材料和检测器, 清洗后不要用手指直接拿取</p> <p>(22) 拧紧螺母或更换垫圈</p> <p>(23) 检查所有插头和螺旋接头是否拧紧, 安装是否正确</p> <p>(24) 检查地线是否接好, 地线质量是否良好, 有无外来电场干扰</p> <p>(25) 找到有污垢的触点, 清除污垢后反复旋转波段开关数次</p>
<p>基线出现正弦波</p> 	<p>(1) 炉温控制器定位不当</p> <p>(2) 检测器炉温控制失灵</p> <p>(3) 色谱柱炉温控制失灵</p> <p>(4) 检测器炉子绝缘不好</p> <p>(5) 载气流调节故障</p> <p>(6) 气体钢瓶压力过低, 使调节器不能正常控制</p> <p>(7) 使用氢气发生器时, 氢气波动过大</p>	<p>(1) 把炉温控制旋钮调至适当位置使炉温恒定在所需温度时, 炉子加热电流波动不大</p> <p>(2) 更换或检修炉温控制器或测温热敏元件</p> <p>(3) 同(2)</p> <p>(4) 把绝缘材料装填妥当或更换(用高阻表检查)</p> <p>(5) 载气流调节器(稳压或稳流阀)上的操作压力降一般需在 0.05MPa 以上才能正常工作, 压力过低时需适当调高, 如故障仍未排除则需更换或检修阀</p> <p>(6) 更换钢瓶</p> <p>(7) 调整氢气发生器</p>
<p>恒温操作时基线不规则漂移</p> 	<p>(1) 仪器安放位置不当</p> <p>(2) 仪器接地不当</p> <p>(3) 固定液流失</p> <p>(4) 柱出口到检测器的连接管被污垢</p>	<p>(1) 更换仪器位置, 仪器不要放在加热器或空气调节器下, 不要放在过量通风或环境温度变化处</p> <p>(2) 把仪器及记录器地线接好</p> <p>(3) 老化柱子, 有柱子不适合在所设定的温度下使用, 特别是需用高灵敏挡操作时总有基线漂移</p> <p>(4) 清洗连接管</p>

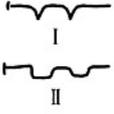
续表

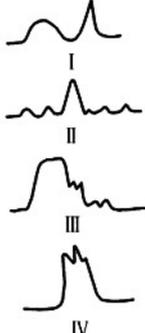
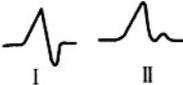
故障及图形	可能原因	排除方法
恒温操作时基线不规则漂移 	(5)载气漏 (6)载气调节器失灵  (7)热导检测器炉温无规则波动  (8)钨丝中间有异物  (9)桥电流过大 (10)热导池或钨丝沾污 (11)钨丝引出线接触不好 (12)桥路稳压电源失效 (13)离子室严重沾污 (14)氢焰检测器的氢气和空气调节失灵  (15)离子室输出信号线接触不好 (16)氢焰点燃后引燃开关未关闭 (17)氢焰放大器故障	(5)找出漏气处并排除 (6)检查载气调节器及流速控制器,以保证所需的操作条件,检查钢瓶是否压力过低 (7)注意检查检测器炉膛不能有空洞,炉子保温层无间隙,以免冷空气进入炉内 (8)除去异物 (9)调小电流 (10)清洗热导池或钨丝 (11)接点重新焊接牢固 (12)更换电源 (13)清洗离子室 (14)检查氢气和空气的调节器并找出故障并修理 (15)使其接触好 (16)关闭引燃开关 (17)见放大器说明书中故障消除方法
基线抖动 	(1)记录器灵敏度过高 (2)热导池电源交流纹波电压过高 (3)放大器工作不稳 (4)转子流量计脏,造成气流脉冲 (5)FID 燃烧气量过大	(1)调节记录器灵敏度调节器,使记录器笔灵活画出峰而不抖动 (2)采取相应措施,使纹波电压降低 (3)检修放大器 (4)清洗 (5)调整适当流量
恒温时,基线向一个方向漂移 	(1)检测器温度不稳(仍在升温或降温)  (2)载气流速不稳,或气路系统漏气  (3)钨丝故障 (4)热导检测器稳压电源有故障 (5)氢焰离子化检测器的放大器有故障 (6)氢焰离子化检测器中,氢气流速变化  (7)固定液等受热流失	(1)检测器温度改变后需要有足够的稳定时间,特别是热导检测器,金属块体积大,温度平衡滞后于指示温度 (2)检查气路系统是否漏气,特别是进样口橡皮垫及注入处的接头;柱出口与热导检测器的接头是否有微漏;钢瓶压力是否太低,采取相应措施消除 (3)更换钨丝 (4)更换电源或检修电源 (5)见说明书进行检修 (6)检查氢气钢瓶压力和流速控制部件是否失灵,必要时换钢瓶或拆修部件 (7)老化柱子,调整温度
频率很快的小毛刺 	(1)电源干扰 (2)接地不良	(1)使机壳良好接触,绝不能以电源的中线代替地线,排除附近可能有干扰的用电设备 (2)改善接地

续表

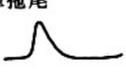
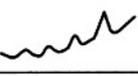
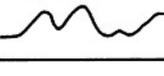
故障及图形	可能原因	排除方法
<p>周期性短刺或峰</p> 	<p>(1) 气体管路有冷凝液, 使载气鼓气泡通过</p> <p>(2) 接在柱尾的皂膜流量计液面太高</p> <p>(3) 来自氢气发生器的氢气管路有冷凝水, 氢气路有异物堵塞</p> <p>(4) 电源上有大功率设备周期性通断电造成</p>	<p>(1) 加热除去冷凝液或将其吹出</p> <p>(2) 断开柱尾的皂膜流量计</p> <p>(3) 除水, 更换氢气过滤器, 清洗氢气管路</p> <p>(4) 不要与大功率设备使用同一电源</p>
<p>基线出现较大单向毛刺</p> 	<p>(1) 钨丝中有异物</p> <p>(2) 电源插头接触不良</p> <p>(3) 严重电源干扰或控温继电器火花干扰</p> <p>(4) 氢火焰有时烧到收集极或极化电压环</p>	<p>(1) 清洗热导池</p> <p>(2) 检查插头内有无异物, 并将插头拧紧</p> <p>(3) 排除干扰电源, 检修或更换控温继电器</p> <p>(4) 调整氢气流量比或电极位置</p>
<p>出现无规律毛刺</p> 	<p>(1) 由于开关门或风扇引起的快速空气流动</p> <p>(2) 柱后有细小的颗粒进入检测器</p> <p>(3) 记录器滑线电阻局部接触不良</p> <p>(4) 放大器高阻部分受潮或接触不良</p> <p>(5) 喷口漏气</p> <p>(6) 空气流量太大, 使火焰位置发生漂移</p> <p>(7) 离子头或绝缘材料玷污</p> <p>(8) 热导检测器稳压电源有故障</p> <p>(9) 氢焰检测器放大器故障</p> <p>(10) 输入电压的波动大</p>	<p>(1) 仪器放在妥善的地方, 不要放在加热器或空调器的风扇下</p> <p>(2) 要防止玻璃棉、载体颗粒或净化剂颗粒进入检测器, 若有颗粒需清除</p> <p>(3) 用绸布蘸酒精或乙醚擦洗或使之接触良好</p> <p>(4) 干燥或更换高阻</p> <p>(5) 拧紧, 加热或更换喷口</p> <p>(6) 把空气流量调至适当值</p> <p>(7) 用清洁溶剂清洗绝缘材料和离子头</p> <p>(8) 检修电源</p> <p>(9) 参照说明书检修</p> <p>(10) 使用单独电源线或用稳压器</p>
<p>不出峰</p>	<p>(1) 检测器、放大器或记录器电源开关未开或引线脱落</p> <p>(2) 记录器连接不正确</p> <p>(3) 记录器银球脱落或其它故障</p> <p>(4) 无载气</p> <p>(5) 注射器漏或堵</p> <p>(6) 进样垫漏</p> <p>(7) 柱子连接处严重漏气</p>	<p>(1) 打开电源开关或把脱落引线接好</p> <p>(2) 按说明书正确连接</p> <p>(3) 安装好银球, 查找故障所在并排除</p> <p>(4) 打开载气阀, 并调载气至所需流速; 若载气管路堵塞, 需疏通管路; 若载气钢瓶用尽则更换钢瓶</p> <p>(5) 更换注射器或将堵塞物取出</p> <p>(6) 换垫</p> <p>(7) 将接头拧紧</p>

续表

故障及图形	可能原因	排除方法
不出峰	(8) 氢焰灭火 (9) 屏蔽线的金属丝与导线相碰 (10) 信号线断路  (11) 没有极化电压 (12) 钨丝引出线接错 (13) 柱温太低, 样品在柱上冷凝 (14) 柱子对样品有严重吸附 (15) 汽化温度太低, 样品不能汽化	(8) 重新点着火 (9) 将屏蔽线金属丝与导线分开 (10) 检查断路位置, 连接好或更换信号线 (11) 加上极化电压 (12) 将引出线正确接好 (13) 升高柱温 (14) 升高柱温或多次进样进行预饱和 (15) 升高汽化温度
保留时间正常, 峰面积变小	(1) 衰减量太大 (2) 样品量不足 (3) 进样针头太短, 样品没进入汽化室, 或进样技术不好 (4) 注射器或橡胶垫在注样时漏气 (5) 载气在柱尾处漏 (6) 进样注射器针头堵塞或漏气 (7) 热导池钨丝电流太低  (8) 载气热导性能变化, 如氢气改变为氮气 (9) 氢焰检测器系统各气路气体流速失调 (10) 氢焰检测器的两个电极距离发生变化 (11) 氢焰检测器捕集极上有一层氧化膜, 或由有机硅固定液流失而沉积在电极上的白色二氧化硅, 影响电极的导电性能 (12) 载气用错(把二氧化碳钢瓶误认为氮气)或氮气中含氧量太高	(1) 改变衰减挡 (2) 增加进样量 (3) 改进进样技巧, 用长针头进样 (4) 更换注射器或胶垫 (5) 检查消除漏气 (6) 更换注射器针头 (7) 先调节电流, 如调不上去则检查直流稳压电源、电桥各臂的电阻和接触是否良好 (8) 换用合适的载气 (9) 检查各路气体流速并调节好, 检查漏气并排除 (10) 调节好电极距离, 一般不要随便调节 (11) 把氧化膜用酸洗去, 二氧化硅粉可以擦去 (12) 换载气
峰面积减小, 保留值增大	(1) 载气流速变慢 (2) 从进样器到检测器的气路中有漏气处 (3) 进样垫连续漏气	(1) 提高载气量, 若载气管路有堵塞, 找到堵塞处并排除 (2) 查找漏气处并排除 (3) 更换进样垫
负峰 	(1) 记录器信号输入导线接反, 或不正确 (2) 双柱系统中进样器用错 (3) 离子检测器的方式选择开关位置放错 (4) 热导检测器的极性开关位置放错	(1) 按记录器或仪器说明连接 (2) 改用相应的进样器 (3) 检查方式选择开关是否放在所用分析柱的位置 (4) 切换极性开关位置

故障及图形	可能原因	排除方法
<p>基线出现阶梯;基线不回零;衰减挡不正确;出现扁平峰顶;记录笔易被手指推向左或右</p> 	<p>(1)记录器增益或阻尼控制调节得不好</p> <p>(2)仪器或记录器接地不当</p> <p>(3)有交流信号输入记录器</p> <p>(4)样品中含有高浓度的卤素、氧或硫使钨丝表面腐蚀</p>	<p>(1)调节记录器增益或阻尼控制(见记录器说明书),把记录笔调到不易用手推动</p> <p>(2)仪器及记录器正确接好地线</p> <p>(3)安装滤波电容(约0.25<math>\mu</math>F,150vdc)电容可接在记录器“+”或“-”,输入线对地之间,究竟接哪根输入线为好,由试验来确定,不可将电容接在记录器信号输入线之间(即接在“+”、“-”线之间)</p> <p>(4)更换热导池或钨丝</p>
<p>圆顶峰</p> 	<p>(1)超出检测器的线性动态范围</p> <p>(2)记录器增益太低</p>	<p>(1)减少进样量</p> <p>(2)按记录器说明书,把记录器增益调至合适的位置</p>
<p>平头峰或怪峰</p> 	<p>(1)氢焰离子化检测器放大器输入管饱和</p> <p>(2)记录器滑线故障或机械运行系统有故障</p>	<p>(1)减少进样量或把放大器输入高阻衰减挡改换到低挡</p> <p>(2)用毫伏表发生器或电位差计检查记录器</p>
<p>额外的峰</p> 	<p>(1)上一次进样的高沸点组分峰馏出(图中曲线I)</p> <p>(2)载气中湿气或其它杂质冷凝于柱头,程序升温时馏出</p> <p>(3)“鬼峰”,注入溶剂后从柱上解吸下来的峰(图中曲线II)</p> <p>(4)样品分解(图中曲线II,III)</p> <p>(5)样品与固定液或载体相互作用(图中曲线II,III,IV)</p> <p>(6)样品被污染(图中曲线III)</p> <p>(7)由玻璃棉或进样器带入污物(图中曲线I,II,III)</p>	<p>(1)间隔一定时间,再进下一次样</p> <p>(2)重装、更换或再生载气过滤器</p> <p>(3)注入几次溶剂,并再老化柱</p> <p>(4)降低汽化温度</p> <p>(5)更换其它固定液柱,若是由于载体催化作用而引起,则可更换其它载体柱</p> <p>(6)进样前适当净化</p> <p>(7)使用清洁的玻璃棉或老化进样胶垫</p>
<p>双峰</p> 	<p>氢焰在出峰时火焰烧到电极</p>	<p>减少进样量或调整电极位置</p>
<p>分叉峰</p> 	<p>(1)热导检测器用氮气为载气时,流速、柱温选择不当</p> <p>(2)载气不纯</p>	<p>(1)选择适当的流速及柱温</p> <p>(2)更换纯载气</p>

续表

故障及图形	可能原因	排除方法
氢焰出大峰时记录笔突然回到基线以下 	(1)火焰熄灭 (2)进样量太大 (3)样品中含氧量比燃烧空气中含氧量大,使火焰熄灭,引起记录笔突然返回基线 (4)氢气或空气量下降 (5)喷口堵塞 (6)氢气发生器由于反压波动而跳闸,使氢气中断	(1)重新点火 (2)减少进样量 (3)用惰性气体稀释样品,或用氧气代替空气助燃 (4)重调空气或氢气至适当流速 (5)清洗或更换喷口 (6)重开氢气发生器,若仍出现跳闸现象,检查氢气流路有无障碍物;清洗氢气流路后,重新启动发生器
峰拖尾 	(1)进样气管有污垢(样品或胶垫碎屑) (2)柱温太低 (3)柱子使用不当,或柱性能下降,样品与载体或固定液发生相互作用	(1)用溶剂或消管器清洗进样器,必要时可更换进样气管 (2)提高柱温,但不要超过使用极限 (3)提高固定液配比,采用惰性载体或改用极性固定液
前延峰 	(1)柱子过负荷 (2)样品在系统中冷凝 (3)进样技巧不好 (4)汽化温度低	(1)减少进样量 (2)检查柱温和检测器温度是否正确 (3)掌握进样技巧 (4)提高汽化温度
峰分不开 	(1)柱温太高 (2)柱子太短 (3)固定液全部流失,仅留下载体 (4)固定液或载体选择不当 (5)载气流速太高	(1)降低柱温 (2)加长柱子 (3)换柱 (4)换用其它柱 (5)降低载气流速
程序升温时基线上升 	(1)载气流速不平衡 (2)柱子沾污	(1)按说明书操作使流速平衡 (2)重新老化柱子
程序升温时基线不规则漂移 	(1)柱子老化后仍有过量“流失” (2)载气流速未在最佳条件下平衡	(1)降低固定液用量或降低柱温,有些固定液挥发性太大,不宜程序升温用,即使再老化亦无法解决,故最好换柱子 (2)按说明书平衡载气流速

## 第二节 氢火焰离子化检测器

### 一、氢火焰离子化检测器基本原理

氢火焰离子化检测器(图 13-8),是以氢气与空气燃烧生成的火焰为能源,当有机物进入火焰时,由于离子化反应而生成许多离子对,如果在火焰上下部放

一对电极，并施加一定电压，则产生的离子流就可以被检测出来，从而对进入火焰中的有机物进行定量。由于它灵敏度高、死体积小、响应时间快、线性范围宽，故常用它接毛细管柱，做痕量分析和快速分析。另因其结构简单，稳定性好，很少受操作条件的影响，故多用它做常规分析。FID是目前应用最广泛的、比较理想的一种气相色谱检测器<sup>[4,5,9]</sup>。

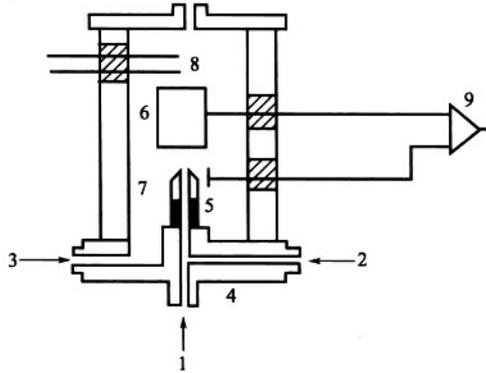


图 13-8 氢火焰离子化检测器的结构

1—色谱柱出口；2—氢气；3—空气；4—底座；5—陶瓷管；6—收集极；  
7—极化极；8—点火器；9—放大器

由于 FID 检测器燃烧形成水，因此检测器温度必须高于 100℃，以免冷凝，尤其与含氯溶剂或者样品结合时，会引起腐蚀并降低灵敏度。

## 二、氢火焰离子化检测器故障

### 1. 点火前不能调零

放大器预热之后，氢焰尚未点燃，基线应能被调节到记录仪的零点，此时改变放大器上的衰减比，基线应无偏离。如果在上述操作中发现无论怎样调节微电流放大器旋钮，都不能使记录仪上的基线回到零位，则认为不能调零故障。

点火前不能调零故障的发生原因如下：接线错误；离子室绝缘不良；引线电缆有短路；微电流放大器损坏；记录仪故障。

故障的诊断、排除方法分别如图 13-9 及图 13-10 所示。检查步骤如下：

(1) 增加衰减挡试验。将衰减挡由小到最大逐渐增加，观察记录仪上的基线偏离是否逐挡减少。

(2) 记录仪无反应故障。直接短路记录仪后部的信号输入线，看记录仪指针能否回到零点。如可回零，说明放大器到记录仪之间信号电缆有断路或短路现象。

(3) 放大器接线检查。

(4) 正确接线。

(5) 去信号电缆试验。将离子室到放大器之间的信号电缆从放大器信号端处

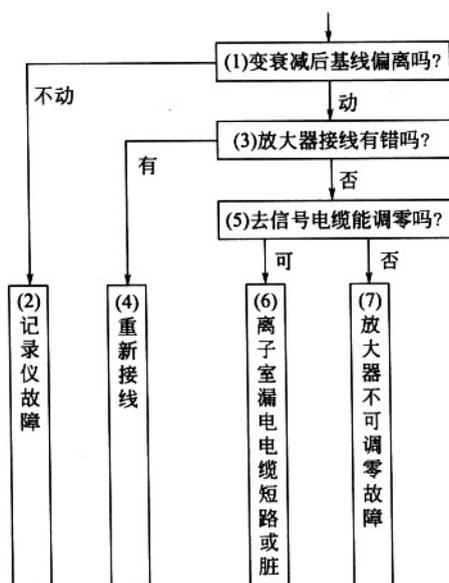


图 13-9 FID 点火前不可调零的故障检查与排除

拆下，观察记录仪能否放大调零。

(6) 离子室、电缆故障的检修。

(7) 放大器本身不可调零。放大器不可调零故障的检查方法分别为直观检查、电源测试及开环检查，各步骤的检查如图 13-10 所示。

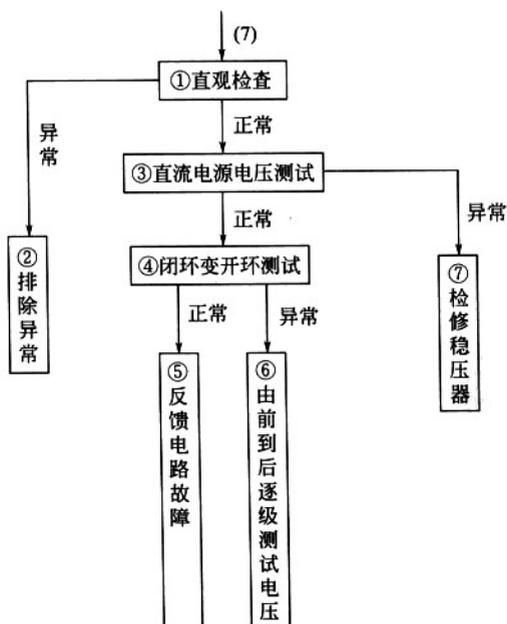


图 13-10 放大器不可调零的故障检查与排除

## 2. 点火故障

在色谱仪正常操作的条件下，按动点火器按钮，片刻后应能听到氢氧混合气点燃时的爆鸣声，此时将会观察到基线的偏移。点火后，用凉爽的玻璃片或表面光亮的金属片等物品放于火焰正上方气路出口处，片刻可观察到玻璃片或金属片表面上水蒸气冷凝的痕迹。如果出现上述现象，说明仪器点火正常。如果在点火过程中无上述点燃迹象，应再次尝试点火，若多次点火仍无反应，可认为发生了不能点火故障。

发生不能点火故障的原因有以下几个：点火组件故障；点火电源无输出；点火前后气路配比不当；漏氢气；气路中有堵塞；点火电路连线、接头断路。

不能点火故障具体可按图 13-11 给出的方法检查与排除。

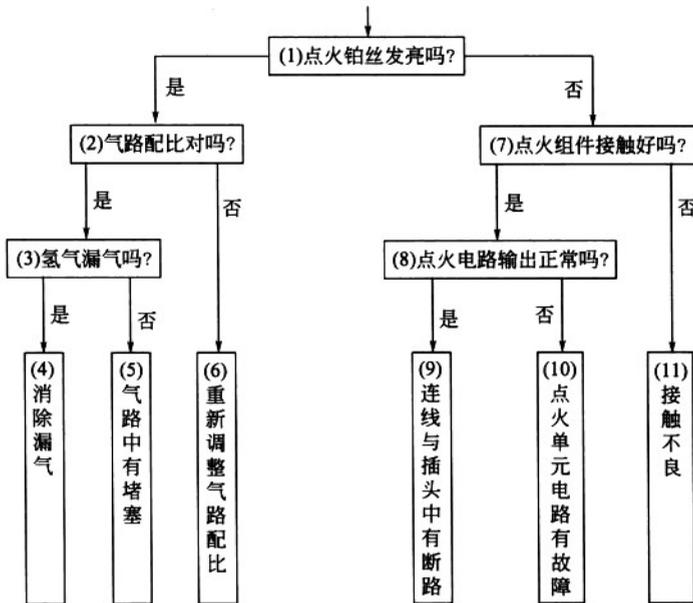


图 13-11 不能点火的故障检查与排除

(1) 点火丝发亮状态的检查 点火丝应呈现较明亮的黄红色，如看到点火丝能点亮，说明点火电路基本正常；如果点火丝毫无反应，则说明点火电路有问题，此时应转入 (7) 进一步检查。

(2) 气路中气流配比检查 正常点火时应增大氢气流量，适当减少空气流量，载气或尾吹气应调到很小或关死，如各流量操作不对，应进行调整。

(3) 氢气漏气检查 停电后，关闭除氧气以外的各路流量控制阀，用硅橡胶垫或干净的软橡皮头堵住氢火焰离子室喷嘴，并稍向下用力，以阻断从喷嘴流出的氢气，此时氢气一路转子流量计中的转子应慢慢降到零。如转子不下降或虽然下降，但降不到零，则说明氢气一路有漏气，按 (4) 处理；如果转子可降为零，转入 (5) 进行处理。

(4) 消除漏气 试漏,找出漏气点,必要时也可对气路管线分段处理试漏。找到泄漏处之后应根据具体情况适当处理,详细方法见气路泄漏的检查与排除所述。在消除氢气漏气故障时有一点需予以注意,就是载气气路下游的泄漏也会导致氢气气路转子降不到零位,这是由于载气和氢气两路在喷嘴前相互连通的缘故。

(5) 气路中有堵塞 气路堵塞,特别是喷嘴处的气路堵塞,是造成不能点火或点火后又灭火的一个常见原因。排除堵塞方法可见气路部件的清洗部分所述。

(6) 气路配比的调整 不能点火或不易点火往往和点火状态时气路中各流量配比有关。在点火状态时氢气流量应加大几倍,而空气可略微降低,用作载气的氮气应减少甚至关断,在点火后再缓缓增大。此项调整可反复做几次,直到能点着火为止。

(7) 点火组件接触良好性检查。

(8) 点火电路输出电压检查 直接测量点火电源的输出电压是否为额定值,便可知点火电源有否故障。

(9) 连线与插头有断路。

(10) 点火电源有故障。

(11) 检测器接触不良。

### 3. 点火后不能调零

氢火焰离子化检测器在点火前可以将基线调到零点,但点火后却不能将基线调到点火前的位置,这种现象即为点火后不能调零故障。

点火后不能调零故障的原因有:离子室积水;极化电压接反;气路、检测器污染;柱流失严重;气流调节不当;基线补偿无作用。

此种故障的排除可按图 13-12 所给的检查诊断方法进行,过程如下。

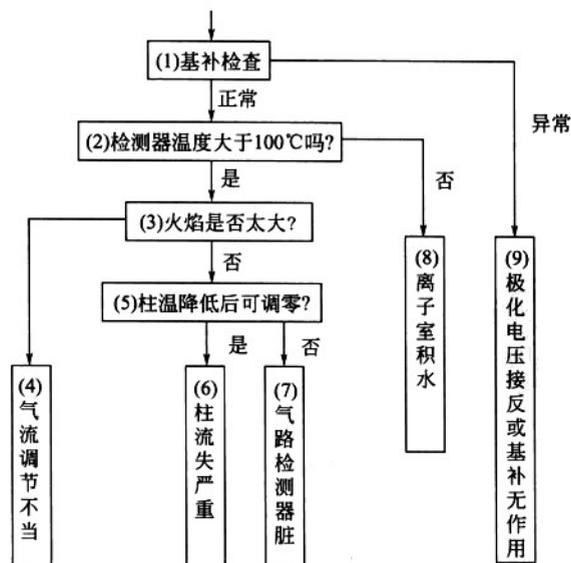


图 13-12 点火后不能调零的故障检查与排除

(1) 基线补偿旋钮作用检查 记下点火后基线偏离的方向,从离子室一侧取下氢焰信号电缆。此时旋动基线补偿旋钮后可观察基线补偿偏转方向及大小,正常时基线补偿方向应与信号偏离方向相反。若基线补偿方向与信号偏离方向相同,可考虑改变极化电压极性。若调基线补偿旋钮后基线无反应或虽有反应但偏离数值太小,亦应转入(9)处理。

(2) 检测器温度检查 氢焰点火时,离子室的温度必须超过 $100^{\circ}\text{C}$ ,否则离子室内将会累积水分,破坏收集极的绝缘,导致放大器不能调零。还有一点须注意,即在刚启动色谱仪后,虽然检测器指示已达 $100^{\circ}\text{C}$ 以上,但离子室距离中心加热体有一段长度,因此尚须多等一段时间待离子室真实温度达到 $100^{\circ}\text{C}$ 以上时,再行点火。

(3) 火焰是否太大 直接观察点火后的氢火焰是否太大、太红,火焰是否已烧到收集板上。若是这样按(4)处理。

(4) 气流调节 调节各气路流量,使火焰变小,必要时设定最佳气流比。如果用氧气代替空气,需注意适当加大氮气尾吹的流量,以不灭火为上限。调好气路流量比例后观察氢火焰,应以一个微发蓝光或无光的小火焰为宜。

(5) 降低柱温后基线可否调零试验 将色谱柱温度降到室温,观察基线能否调零,如果能够调零,说明柱流失严重。

(6) 柱流失严重的处理 在柱流失严重的情况下,应首先注意此柱是否进行过老化处理,如柱子已经老化,但基线仍不能调零,需考虑改变操作条件或更换新柱。

(7) 气路、检测器玷污严重 严重的气路及检测器玷污,从氢火焰的颜色发红、发黄即可看出,彻底的处理办法是清洗气路和检测器。气路的污染还有一个重要原因,就是气源纯度不够。从更换新的过滤、净化器后,基线能重新调零这一点可得到证实。

(8) 离子室积水处理 熄灭氢火焰,并升高离子室温度,待1h后应能使离子室积水烘干,烘干后再正常点火操作。

(9) 极化电压接反或基线补偿电路故障处理 在证实极化电压极性接反后,可通过转动极化电压极性开关或重接极化电压引线插头的方法将极性颠倒过来;在基线补偿电路无作用或作用太小时,需检查基线补偿电位器是否脱焊、滑动头等是否失灵、基线补偿电压值是否正确以及基线补偿电路中是否有开路 and 短路现象。

#### 4. 基线噪声与漂移

基线不稳故障排除。在使用氢火焰检测器分析样品时,首先要求色谱仪有一个稳定、平直的基线。为了达到这一点,除了正确选择各种操作条件外,往往还要分析和解决引起基线不稳定的各种因素。引起氢火焰检测器基线不稳定的原因是复杂的,至少常见的有以下这些:

- ① 气路中氢气、空气和载气的流量配比不适当；
- ② 氢火焰离子室受潮，收集极绝缘不良；
- ③ 色谱柱固定液严重流失；
- ④ 气源压力太低，气源压力波动；
- ⑤ 氢气与空气管路及载气污染或气源不纯；
- ⑥ 柱室与检测室温度波动与漂移；
- ⑦ 氢火焰离子室喷嘴玷污；
- ⑧ 气路系统有漏气；
- ⑨ 极化电压不稳定，引线接触不良；
- ⑩ 信号电缆接触不良或振动过大；
- ⑪ 微电流放大器供电电压太低、高电阻受潮、内部焊点松动；
- ⑫ 记录仪不稳定故障、仪器接地不良、电源干扰、仪器周围静电场干扰太大；
- ⑬ 衰减器触点或焊点接触不良；
- ⑭ 氢火焰离子室出口有强风吹过；
- ⑮ 仪器环境空气中尘埃太多。

上面列出了造成氢火焰检测器基线不稳定故障的各种可能原因。由于原因太多，为了提高检查效率，下面给出了相应的检查程序供参考，检查过程参见图 13-13 和图 13-14。

(1) 环境检查 首先用直观的方法检查仪器所处环境中尘埃是否太多、离子室出口是否有强风吹过、离子室附近是否有强静电场存在，以及仪器工作台是否有强烈振动。

(2) 灭火检查 关闭氢气后，氢火焰熄灭。此时观察仪器基线记录情况，如果基线记录变好，能走出一较理想的合格基线，则判定为气路故障；若基线记录仍不合格，说明电路部分（包括检测器电路在内）有故障。

(3) 气路配比检查 气路中氢气流量、空气流量和氮气流量，二者的相对大小对于稳定的火焰来说关系很大。当火焰不稳定时基流和噪声也就增大；在各流路流量配比恰当时，可获得最大的灵敏度和理想的基线。如果调节气路流速比之后基线无明显好转，或各气路根本调不到最佳，则应转入下步检查，作进一步的了解。

(4) 基线漂移与波动检查 检查基线不稳定性的表现，是单纯性的基线漂移与波动，还是其它噪声表现形式，若属于前者转入 (5)，属于后者转入 (14)，按基线噪声故障处理。

(5) 证实进样后组分峰是否出完。

(6) 高沸点组分的消除 当有些组分在柱中保留时间太长，影响后面正常进样时，可采取气路反吹的方法消除。气路反吹时间至少不少于原进样出峰时间。

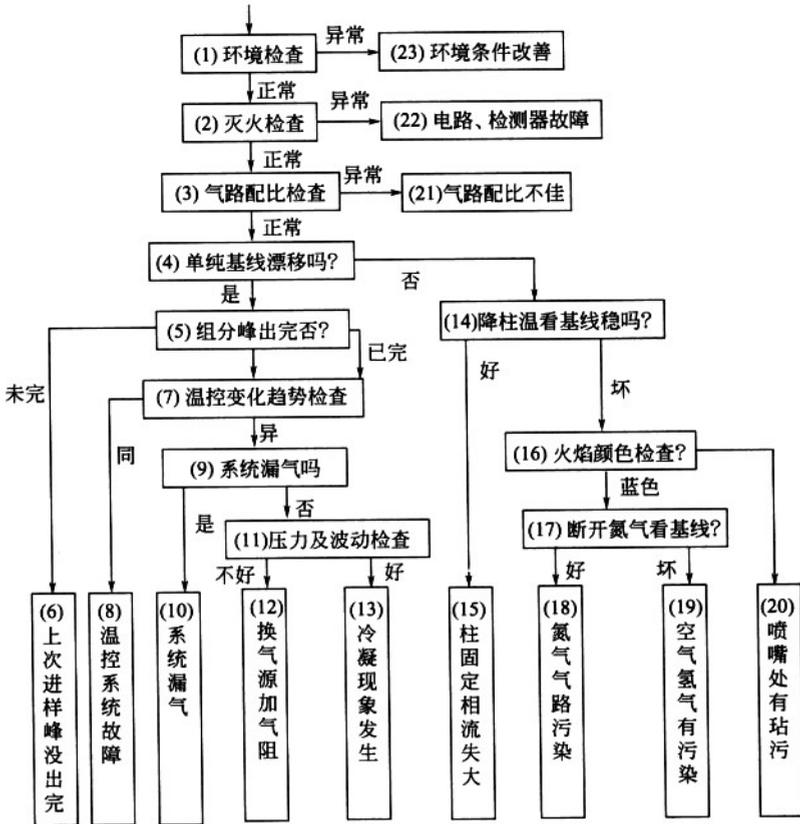


图 13-13 FID 基线不稳的故障检查与排除

另一种方法是适当加快流速和提高柱温，让高沸点组分尽快逸出，以缩短进样周期。

(7) 温控变化趋势检查 分别观察检测柱室温度与检测器温度的变化。检测中应特别注意柱室与检测器的温度变化趋势是否和基线漂移趋势相同，核对两者周期是否一致。如两者有同步现象，则是温控系统故障；如没有可观察到温度的变化，或者虽然有变化，但是与基线漂移不同步，则应进行 (9) 的检查。

(8) 温控系统故障 温控精度下降现象属于温控系统中的一个典型故障，详见温控精度差部分。

(9) 系统漏气检查。

(10) 系统漏气修理。

(11) 气源压力太小及波动检查。

(12) 换气源及增加气阻 调节空气和氢气流量在最佳状态。

(13) 离子室、喷嘴冷凝 在离子室温度低于柱温或冷凝物的沸点时，有可能造成样品中的高沸点物或水蒸气在离子室，特别是喷嘴中冷凝。这时应考虑升

高离子室温度以消除这种冷凝现象。

(14) 降低柱温观察基线稳定性 由于色谱柱中固定相的流失与柱温下降是指数关系,因此如果固定相流失大,则应降低柱温,其值将大幅度下降。用这种方法可以较快地判定是否柱流失过大。

(15) 固定相流失大的处理 首先需考虑固定液允许使用的最高温度,如果此值很接近所用柱温,那么使用时势必会有流失过大的现象;如果此时仍必须使用,则应在低灵敏挡进行;如分析方法允许,可采取其它种类色谱柱。柱流失的另一常见原因是柱子没有充分老化,如果升温老化柱子一段时间后,基线趋于稳定,则证实是此种原因。当柱子使用中不慎发生损坏时,需更换新的色谱柱。

(16) 火焰颜色检查 挡住周围的强光仔细观察喷嘴处氢火焰的颜色。正常时火焰应呈浅蓝色或看不到,如果火焰处有明显的色彩,如黄色、红色或跳动的亮点,则认为检测器有玷污。

(17) 关断氮气,观察噪声 在用氮气作载气时,切断氮气流量调节阀,暂时使载气流量降到零,如果是用氮气作辅助气(也称尾吹气),则关死辅助气控制阀。此后观察基线稳定性能否变好,如变好,则证明氮气气路有污染。

(18) 氮气气路污染 氮气气路污染包括氮气不纯和整个管路被污染。如果氮气气源不纯,可从更换新的过滤净化器(如分子筛)之后,基线短时期内稳定这一点而加以证实。如更换过滤净化器之后,基线噪声消失,需考虑更换无污染的氮气气源;如果更换过滤净化器之后基线噪声无变化,需考虑管路被污染。通常在用氮气作载气时,需首先考虑柱子到离子室之间的管路。当然柱前气路也可能被污染,区别两者的一个方法是仔细观察基线噪声的形态,如果在基线上夹有出峰状的不规则干扰应考虑为柱前污染,如果无出峰状干扰则考虑为柱后污染。对污染的气路要及时进行清洗,详细方法见气路部件的清洗。

(19) 空气、氢气污染处理 如果空气和氢气气路污染,也会影响氢火焰的基线稳定性。证实并区别氢气和空气哪一路污染的方法,是固定氮气,逐渐增加和减少氢气并观察是否有一最大基流出现。如果氢气增大后一直没有最大基流存在,即随着氢气增大,基流一直单方向上升,则可认为是氢气气路污染;否则就认为是空气气路有污染发生。判别气路污染是由于气源不纯还是由于气路管道不洁所造成的,可用更换过滤净化器后基线的噪声变化情况来实现。如果在更换过滤净化器之后,基线有短期处于稳定,则说明过滤器之后的管路没有污染,污染发生于气源或过滤器之前的管路。此时需考虑更换气源及清洗前面管路。如更换过滤器之后不起作用,则需要对氢气或空气管路进行清洗了。

(20) 喷嘴沾污 一般,除了柱大量流出物会明显改变火焰颜色外,能够改变火焰颜色的就是喷嘴处沾污了。当喷嘴表面有有机物覆盖时,火焰点燃,就会受到其影响。这时可拆下离子室外罩,单独用乙醇清洗喷嘴,必要时可拆下喷嘴组件在乙醇中浸泡几分钟,再用毛刷或绸布轻擦,用热风吹干后装回原处。此时

应注意三点：一是不要再用手触摸喷嘴表面，使其再度污染；二是装回时要更换一个适当的密封垫片，而且装完后用干净橡皮堵住出口进行试漏；三是安装喷嘴时，扳手一定不要碰到喷嘴，否则喷嘴易碰碎或根部碰裂，造成漏气！

(21) 气路配比不佳 经证实气路配比与理想值之间有很大偏差时就应当认为气路流量没调好。另一种异常现象需引起注意，即当进行气路配比调节时，总是不能使调节值达到要求的情况，比如调氮气找不到基流峰值，调空气找不到饱和点等异常现象，此时需考虑气路有污染，应转入 (14) 检查。

(22) 电路不稳故障检查与故障排除，见图 13-14。

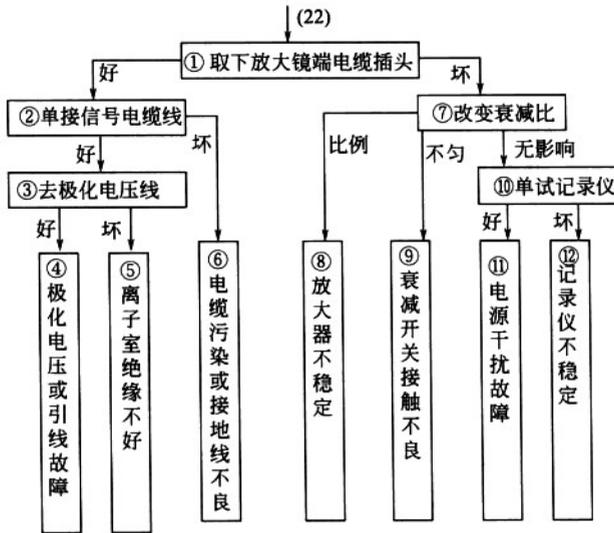


图 13-14 FID 电路不稳定的故障检查与排除

(23) 环境条件的改善 当发现色谱仪周围环境有异常时，应采取相应措施逐个排除之。如发现室内尘埃太多，应寻找产生尘埃的设备并设法隔离之。当离子室出口有强风吹过，应关闭门窗、鼓风机或移动色谱仪的位置。为了防止静电干扰，尤其是工作人员衣着带电的干扰，应换用不易产生静电的工作服或注意不靠近离子室出口。工作台的强烈振动一般都是由于使用木制桌子所造成的。有条件的地方最好把色谱仪安放到水泥工作台上进行操作。

### 5. 氢火焰离子化检测器的清洗

即使是正常使用，FID 喷嘴和检测器中也会形成沉积物（柱流失产生的白色二氧化硅和黑色炭灰）这些沉积物降低灵敏度，增大色谱噪声和毛刺。相对而言，更换新的喷嘴是比清洗更好的选择，注意清洗喷嘴一定不能划伤喷嘴内部。

当 FID 沾污不太严重时，可不必卸下清洗，此时只需要将色谱柱取下，用一根管子将进样口与检测器连接起来，然后通载气将检测器恒温箱升至 120℃ 以上。再从进样口中注入 20μL 左右的蒸馏水，接着再用几十微升乙醇或氟里昂

113 溶剂进行清洗（用丙酮也可，但应注意，有的色谱仪氢焰室中喷嘴不适宜用丙酮清洗）。在此温度下保持 1~2h 后检查基线是否平稳，若仍不理想，可重复上述操作或按下面方法处理。

当沾污比较严重时，须拆下检测器清洗。方法是先拆下收集极、极化极、喷嘴等，若喷嘴是石英材料制成的，先将其放在水中进行浸泡过夜；若喷嘴是不锈钢等材料做成，则可与电极等一起，先小心用 300 号~400 号细砂纸打磨，用专用的清洗细金属丝从喷嘴顶部穿入，插入拉出数次，直到金属丝可以光滑移动。然后用适当溶剂（如 1:1 的甲醇与苯）进行浸泡。也可用超声波清洗器清洗，最后用色谱级甲醇洗净，放置于烘箱中烘干。注意勿用氯仿、二氯甲烷一类的含卤素的溶剂。以免与聚四氟乙烯材料作用，导致噪声增加。

清洗后的各部件，要用镊子取，勿用手摸。烘干后装配时也要小心，否则会再度沾污。装入仪器后，先通载气 30min，再点火升高检测室温度，最好先在 120℃ 保持几小时之后，再升至工作温度。

### 第三节 电子捕获检测器

#### 一、电子捕获检测器的基本原理

电子捕获检测器（图 13-15）是一种具有高灵敏度的离子化检测器。它的选择性是指它仅对其有电负性的物质，如含有卤素、硫、磷、氮的物质有信号，电负性越强，检测器灵敏度越高。ECD 广泛应用于甾族化合物、金属有机化合物、多环芳烃、多卤或多硫化化合物的测定，在医学、环保等领域得到广泛的应用。电子捕获检测器有放射性和非放射性两种类型。放射性电子捕获检测器的主要优点是选择性高，对某些含卤化合物有很高的灵敏度<sup>[6,7]</sup>。

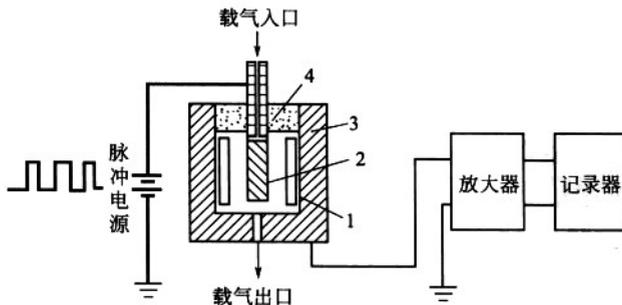


图 13-15 电子捕获检测器结构图

1—放射源 ( $\text{Ni}^{63}$ )；2—阳极；3—阴极；4—绝缘体

电子捕获检测器的主要故障及排除方法简述见表 13-2。

表 13-2 电子捕获检测器故障分析和排除

故障及图形	可能原因	排除方法
噪声大	(1)电极绝缘不良 (2)检测器污染 (3)电极引线或电缆接头接触不良 (4)接地线不良 (5)载气中含有氧气	(1)清洗更换 (2)清洗 (3)拧紧接头 (4)更换 (5)使用高纯载气
灵敏度低	(1)放射源污染 (2)放射源被腐蚀 (3)电极绝缘不良 (4)极化电压引线和电极接触不良或对地短路 (5)放射源因过热,氘大部分逸出 (6)放大器输入电缆绝缘性差 (7)载气杂质过多	(1)清洗 (2)更换 (3)清洗或更换 (4)使其接触良好,消除短路  (5)更换 (6)清洗或更换 (7)更换
出现反峰 	(1)放射源或电极被玷污 (2)脉冲发生器不正常 (3)收集极接触不良或短路 (4)载气不纯	(1)清洗 (2)波形检查 (3)使其接触良好,消除短路 (4)净化、更换
基线显著漂移	(1)检测器温度不稳 (2)放射源玷污 (3)进入检测器的杂质太多	(1)检查温度传感器和控制器 (2)清洗 (3)老化吹洗
线性范围窄 	(1)载气不纯,如含氧量太高 (2)色谱柱中放出干扰物质过多 (3)负电性化合物注入过量 (4)由于放射源被污染基流太小 (5)放射源过热损伤	(1)更换 (2)老化不能改善时更换 (3)提高柱温老化 (4)清洗 (5)更换
零点失调	(1)阴极引线绝缘性差或对地短路 (2)阳极引线绝缘不良或对地短路	更换引线,消除短路
“样品瓶瓶盖”干扰峰 	样品瓶帽、密封垫的杂质,部分溶于样品中	密封垫用金属箔衬里或用聚乙烯瓶塞磨口玻璃瓶

## 二、电子捕获检测器故障

### 1. 基线不能调零

基线不能调零故障发生的原因有如下几个：放大器失灵；记录仪无反应；检测室中收集极与外壳相碰；基流补偿调节失去作用；检测器污染；气路严重污染；柱流失严重；基流补偿方向不对。

电子捕获系统不能调零故障的检查、排除方法如图 13-16 所示，步骤如下。

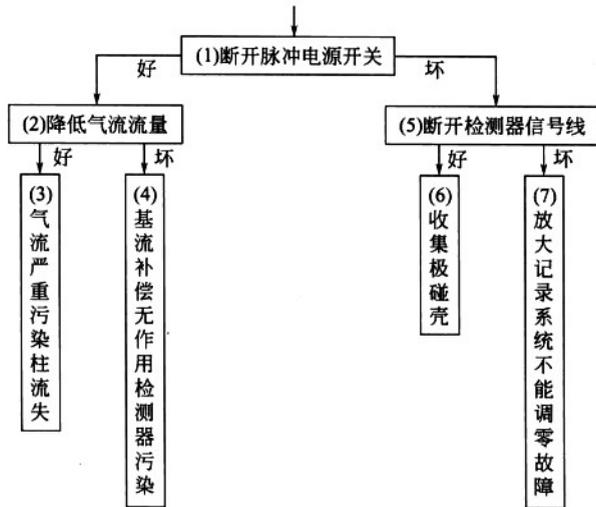


图 13-16 ECD 不能调零故障的检查与排除

(1) 断开脉冲电源开关 绝大多数色谱仪都采用脉冲电源来收集由放射源放出的低速电子，因此将脉冲电源切断之后，收集电子能力降到很低水平。此时如果系统可以调零，则断定放大器、记录仪正常；若系统仍不能调零，即可能是放大记录系统及检测器电路本身问题，应转入 (5) 进行。

(2) 降低气流流量试验 减少或暂停流过电子捕获检测器的气流，观察系统能否调零。如果系统调零正常，则认为气路存有严重污染；倘若系统仍不能调零，则排除对气流污染的怀疑，应转入 (4) 进行。

(3) 柱流失与气路污染处理 如果停止载气，但不停止流过检测器的清洗气，系统就可以调零，即判定柱流路有严重污染。此时最大可能是柱流失，因此必须降低柱温或换用新柱。对于载气或清洗气不纯，可用加强过滤干燥器的方法予以消除，必要时应增加新的净化器，或者换用纯度在 99.99% 以上的新气源。

(4) 基流补偿调节失灵或检测器污染 首先应检查基流补偿调节是否有作用，作用方向是否正确，详细步骤与 FID 有关步骤相同。在确定基流补偿调节正常时，应考虑对检测器进行清洗（后述）。清洗中应注意防止放射源的污染，无把握时，不要进行。

(5) 取下检测器收集极引出的信号线 取下信号线后，观察系统可否调零，若可以调零，则说明问题出在检测器电路及接头处；若取下信号线后，系统仍不能调零，需对放大器、记录仪进行检查。

(6) 收集极对外壳短路 查出故障后应拆下收集极，检查绝缘垫片是否沾污，引线是否与外壳相碰，以及接头是否有导电毛刺引起电路短路。处理后重新装回收集极，验证其绝缘后，再重新试验基线调零。

(7) 放大器、记录仪系统不可调零故障的处理 参见 FID 点火前不可调零

的排除方法。

## 2. 基线噪声与漂移

**基线不稳故障排除：**由于 ECD 是一种高灵敏度、高选择性的检测器。其气路结构虽然比较简单，但操作参数却相当繁多，几乎所有的操作参数对该种检测器的基线稳定性都有程度不同的影响。因此，按照一定的秩序逐步排除电子捕获检测器的基线不稳故障仍然是一个应当遵循的方法。

造成电子捕获检测器基线噪声与漂移的主要原因有：

- ① 载气泄漏，载气稳压阀、稳流阀失效；
- ② 色谱柱固定相流失；
- ③ 柱室温度波动；
- ④ 电子捕获检测器温度波动；
- ⑤ 载气不干净，载气过滤器被过度污染；
- ⑥ 空气渗入到检测器中，管路中氧气没冲完；
- ⑦ 仪器接地不良；
- ⑧ 记录仪不稳定；
- ⑨ 衰减器接触不良，放射源被污染，回脉冲电源不稳定，放射室电极间绝缘不好；
- ⑩ 微电流放大器不稳定。

ECD 基线不稳定故障可依照图 13-17 和图 13-18 所给的顺序检查排除，过程如下。

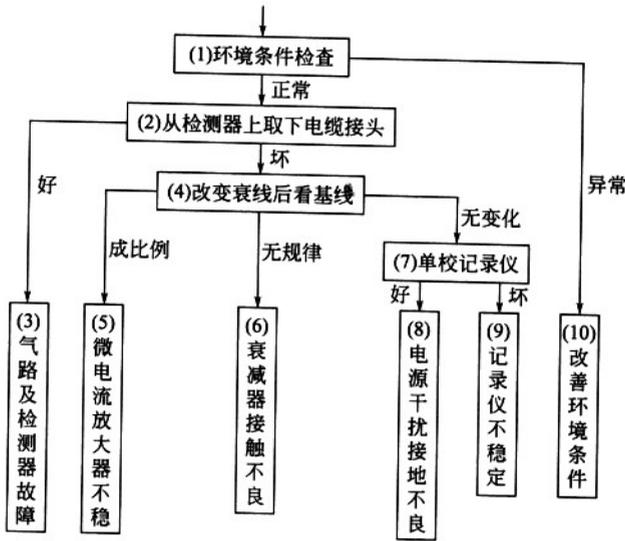


图 13-17 ECD 基线不稳定故障的检查与排除

(1) 检查环境条件。用直观方法快速观察仪器所处的工作环境，应作为一种优先考虑的诊断方法。检查仪器工作台是否有强烈振动，放空管出口是否有强风吹过，仪器周围是否有大功率电器或频繁启动的设备在工作。

(2) 从检测器上取下电缆接头，观察记录基线的稳定性。如果基线变好，说明微电流放大器（包括信号输入电缆线）和记录仪系统工作正常，故障来自于气路及检测器部分。

(3) 检查气路与检测器故障。如果把检测器上信号电缆接头取下之后基

线就变好，表明微电流放大器及记录仪系统是正常的。此时应从气路方面及检测器本身（包括脉冲电源）来检查基线不稳定的根源，方法如图 13-18 所示。

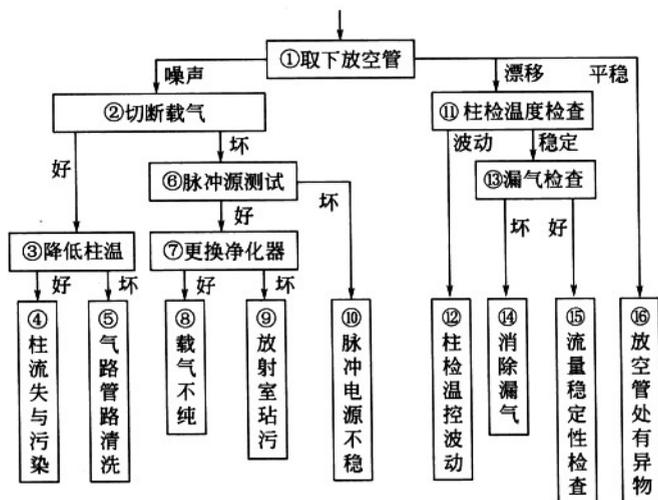


图 13-18 ECD 气路及检测器故障的检查与排除

(4) 改变衰减后观察基线。如果观察到基线不稳情况与衰减呈比例关系，则可判定为微电流放大器不稳定；如果观察到基线不稳定值（比如噪声峰峰值）变化无规律性，其大小变化并不与衰减比相对应，可判定衰减器接触不良；如果观察到基线不稳定参数值，并不受衰减挡改变的影响，或者虽有变化但无显著的比例关系，可判定其与干扰或记录仪有关。

(5) 微电流放大器不稳定故障检查。取下放大器输入端信号电缆观察基线情况，如基线仍不稳定，可判定微电流放大器发生不稳定故障。查找放大器输出不稳定的原因，排除方法可见放大器不稳定故障排除法。

(6) 衰减器接触不良检查。乙醇清洗衰减器开关各触点，重复进行几次后观察基线稳定情况。

(7) 单校记录仪。

(8) 信号线与电源干扰。

(9) 记录仪不稳定。

(10) 改善环境条件。

### 3. 电子捕获检测器的清洗

当基线噪声增大或者输出值异常高，并且已经确定 GC 系统没有泄漏，检测器可能被柱流失物污染，可以采用热清洗（烘烤）。

注意：电子捕获检测器中有放射源，通常为<sup>3</sup>H 或<sup>63</sup>Ni，因此要特别小心。除热清洗之外，检测器的拆洗、清洗只能由经过训练并取得处理放射性物质证书的专业人员进行操作。

在清洗操作过程中，可能泄漏痕量的放射性<sup>63</sup>Ni，导致接触可能有有害的β和X射线。虽然β粒子在这个能级上几乎没有穿透力——皮肤的表层或几张纸可阻止其大部分。但是，如果同位素被吞服或吸入，是有害的，因此必须小心处理检测池。在规定时间内必须进行放射性泄漏测试，当检测器不用时，入口及出口必须盖上，腐蚀性化合物不得引入检测器，而且检测器的流出物必须放空至实验室环境之外。

电子捕获检测器清洗的基本过程：

先拆开检测器，用镊子取下放射源箔片，然后用体积比2：1：4的硫酸-硝酸-水混合溶液清洗检测器的金属及聚四氟乙烯部分，当洗至清洗液已干净时，改用蒸馏水清洗，然后再用丙酮清洗，最后将清洗过的部分置于100℃左右的烘箱中烘干。

对<sup>3</sup>H源箔片，应先用己烷或戊烷淋洗（注意，绝不能用水洗！）。清洗的废液要用大量水稀释后弃去或收集后置放适当的地方。

对<sup>63</sup>Ni源箔片的清洗更应小心。首先，这种箔片绝不能与皮肤接触，只能用长镊子来操作。清洗的方法是先用乙酸乙酯加碳酸钠或用苯淋洗，再放在沸水中浸泡5min，取出烘干后装入检测器中。检测器装入仪器后要先通载气30min，再升温至操作温度，预热几小时后备用。清洗后的废液要用大量水稀释后才能弃去或收集后置放在适当的地方。

## 第四节 火焰光度检测器

### 一、火焰光度检测器基本原理

火焰光度检测器（图13-19）是重要的高灵敏度、高选择性的检测器之一。所谓高选择性指的是它只对硫、磷化合物有信号，因此也叫硫磷检测器。FPD是根据硫、磷化合物在富氢-空气焰中燃烧时，能发射出不同波长的特征光，这些特征光能很好地分离开。对于硫采用394nm或384nm滤光片，对磷用526nm滤光片。然后经光电倍增管把光强度变成电讯号进行测量<sup>[5,7,8]</sup>。

### 二、火焰光度检测器故障

#### 1. 不能点火故障

火焰光度检测器不能点火故障的发生原因及排除方法与氢火焰离子化检测器不能点火故障相类似。若FPD火焰点不着或者一直闪烁，最好进一步通过以下办法确认点火状态。移去橡胶引管，通过在靠近铝排气管处置反光镜，若火焰闪烁，会观察到冷凝。在某些情况下，移除橡胶管也有助于点火，点火之后重新安

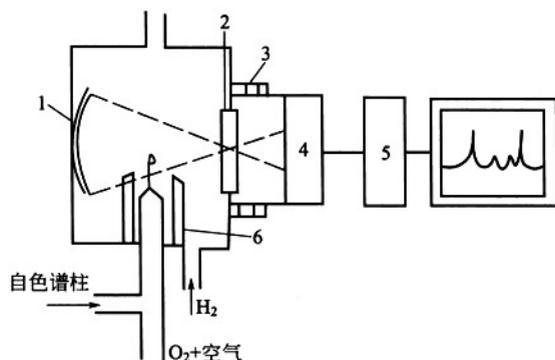


图 13-19 火焰光度检测器结构

1—反射镜；2—滤光片；3—散热片；4—光电倍增管；5—放大器；6—遮光罩

装引管。检查点火补偿值，如果为零，则自动点火器关闭；如果补偿值太大，GC 将不识别火焰是闪烁而关闭检测器。增加气动模块的空气供给压力，这样火焰易于点着并不影响空气流速设定值。检测器温度较高时比较容易点火，如果完全不能够点火，请检测点火电路，观察显示值。当火焰点着的瞬间显示值的示值会有很大的变化。如果显示值不改变，检测电路板上针的连接、点火塞的指示灯连接以及 GC 主电路板上相应的保险丝是否存在故障。另外，系统中较大的泄漏会导致流速的设定值与实际值不同，导致点火失败，需要对这个系统进行彻底检漏。

与 FID 检测器相比，FPD 检测器火焰条件对于成功操作更为重要。由于火焰光度检测器上的火焰为富氢焰（对双火焰检测器，上火焰为富氢焰，下火焰为富氧焰），因此氢气与氮气的配比就比氢火焰检测器中的氢氮比要大得多。通常火焰光度系统中的氢氮比是 FID 系统中氢氮比的 3~5 倍以上。为了确保火焰呈富氢状态，空气的流量也比 FID 检测器中的小。这些特点在排除不能点火故障时需引起注意。气流和喷嘴直径必须优化，从而使在火焰中燃烧（活化）的样品组分将在检测区发射。优化的气体流速对于选择性和灵敏性的改善也至关重要。最关键的参数是氢气/空气或者氢气/氧气比和影响火焰温度的气体总流量，表 13-3 比较了测定含硫和含磷化合物时各气路流量配比范围<sup>[10]</sup>。

表 13-3 通常测硫和测磷时各气路流量的配比情况

测量元素	H <sub>2</sub> 流量/(mL/min)	N <sub>2</sub> 流量/(mL/min)	空气流量/(mL/min)
S	50~70	100	130~150
P	160~180	40~80	130~150

## 2. 系统不能调零

火焰光度系统不能调零故障发生的原因有如下几个：系统严重漏光；放大器不能调零；记录仪无反应；光电倍增管暗电流太大；分压电路有漏电；滤光片没

装；火焰配比不当；系统严重沾污；基流补偿电路方向不对或失控。

该系统不能调零故障的检查与排除方法如图 13-20 所示，详述如下。

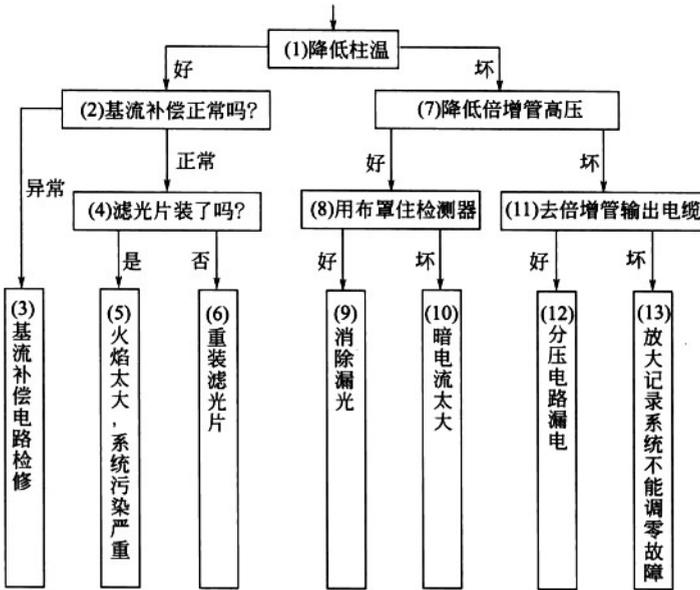


图 13-20 FPD 不能调零故障的检查与排除

(1) 灭火后观察。将火焰光度检测器中的氢气流关断后，系统将处于灭火状态，此时观察基线是否可以调零。若可以调零，说明放大器、记录仪、光电倍增管及信号电缆系统工作正常；如果在灭火后基线仍不能调零，转入 (7)。

(2) 基流补偿作用检查。

(3) 基流补偿异常的处理。如基流补偿调节方向不对，应考虑所选用的放大器通路是否正确。需注意与火焰光度检测器所配用的放大器和电子捕获检测器所配用的放大器是不同的，两者差别在于基流补偿方向不一样。

(4) 滤光片安装检查。观察滤光片是否安装以及是否有倾斜。

(5) 火焰太大及系统污染严重。观察检测器中的火焰是否太大，若火焰太大应适当降低各气路的流量。如火焰颜色异常，需考虑系统污染的可能。此处所说的污染主要指磷、硫杂质混在检测器或气流中造成的污染，必要时应进行清洗以去除污染。

(6) 滤光片的安装。在确定滤光片之后，再行安装。安装时要求滤光片与光路垂直，边缘与光路外罩间密封不漏光；滤光片表面应清洁无污物（勿用手触摸其表面），如有污染可用无水乙醇清洗后重装。

(7) 降低光电倍增管上的高压。减少乃至去掉加在光电倍增管上的高电压后，观察基线能否调零。如能调零说明光电转换级有问题，按 (8) 进行；若基线仍不能调零，按 (11) 进行检查。

(8) 检测器遮光试验。用不透光的黑布罩住整个检测器，观察基线能否调零。如基线可调零，说明系统严重漏光；如果基线仍不能调零，则判定光电倍增管暗电流太大。

(9) 漏光的消除。上述试验中将黑布逐步掀开，同时观察记录仪上的基线指示。若发现检测器某一处露出时，基线突然发生偏转，则说明此处有漏光，记下位置后，关断电源对此进行处理，大部分漏光问题都是安装光电倍增管时留有缝隙而造成的。

(10) 暗电流太大的处理。如果仅仅因为管脚间电路漏电所引起，可以清洗解决；如果是由于光电管老化内部漏电，需要更换。

(11) 断开光电倍增管输出电线试验。断开光电倍增管输出电线后观察基线能否调零。若能调零，则说明放大器、记录仪系统工作正常。故障产生于分压电路部分；如果基线仍不能调零，则说明放大器、记录仪系统有故障。

(12) 分压电路及电缆漏电检查。对光电倍增管的信号电缆及分压电阻电路进行测试，必要时分段进行检查以找到漏电或碰壳处。通常的原因是元器件表面潮湿、污染等。

(13) 放大记录系统不能调零故障的处理。

### 3. 基线噪声与漂移

FPD是一种对磷、硫具有高选择性，高灵敏度的检测器。由于它利用的是样品组分中发射光潜的特征谱线进行检测，因此它本质上是一个发射光度计，FPD的构造比较紧凑，特别是采取了高灵敏度的光电倍增管，使得检测器工作可靠，故障率较低。但当仪器操作不当以及生产制造上有问题出现时，该检测器还会产生一些影响仪器正常工作的故障。造成 FPD 使用中基线噪声和漂移故障的主要原因如下。

气源不纯：含烃类、硫、磷杂质；色谱柱没老化好；管路中有污染物；光电倍增管暗电流太大；负高压电源波动；系统有漏光，遮光罩没装上；信号电缆接触不良，仪器接地不良；记录仪不稳定；微电流放大器不稳定；光电倍增管分压电阻受潮或变质；空气流量太大；水蒸气在滤光片区冷凝；气路配比不佳，火焰不稳定。

FPD 基线不稳故障的检查与排除可按照图 13-21、图 13-22 所给出的顺序进行。

(1) 环境条件检查。直观检查：一是有否强光直接照射到检测器上；二是仪器放空管出口是否有强风吹过；三是仪器工作台有否强烈振动。

(2) 将信号电缆接头从检测器一端取下，观察基线情况。如果基线变好，说明微电流放大器（包括信号输入电缆线）和记录仪系统工作正常，故障源于气路及检测器部分。

(3) 气路及检测器故障。此部分包括火焰光度检测器的气路系统、检测器室

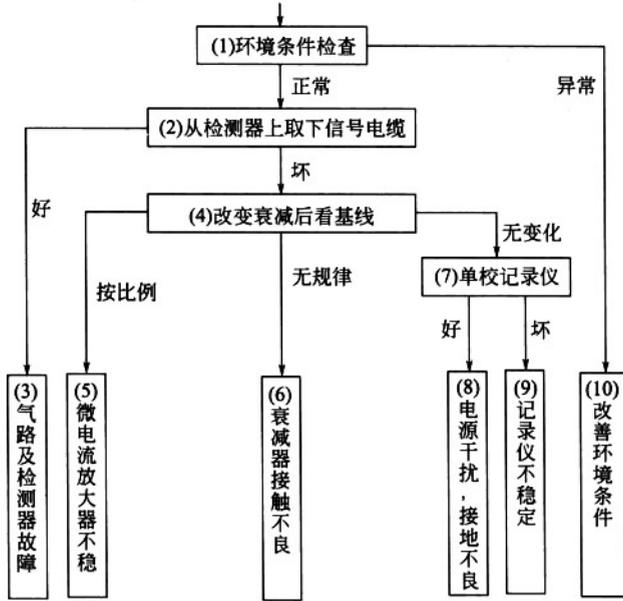


图 13-21 FPD 基线不稳故障的检查与排除

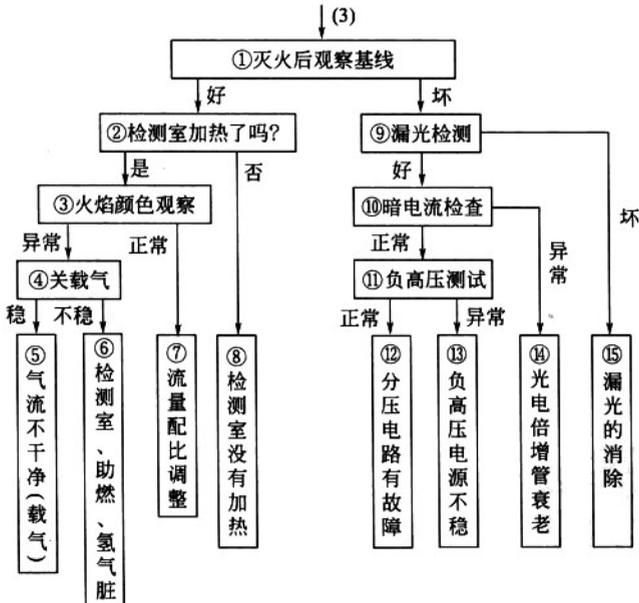


图 13-22 FPD 气路及检测器故障的检查与排除

以及检测器的配置电路。其检查、排除法方法见图 13-22 所示。

(4) ~ (9) 部分与 ECD 的检查方法完全相同。

(10) 改善环境条件。首先应注意，对火焰光度检测器，不应有强光直接照

在该检测器上，否则很可能影响基线的稳定性。如室内有强风吹过检测器出口，可移动鼓风机（如风扇、鼓风机）或将仪器出口引到避风的地方去。其它注意事项与另外三种检测器相同。

#### 4. 火焰光度检测器的清洗

与 FID 检测器一样，FPD 也是燃烧试样型检测器，FPD 长时间分析含高沸点成分或难于挥发成分的试样时，这些成分会附着在检测器部分，或附着污垢，这是产生鬼峰与噪声增大的主要原因，因此清洗维护检测时是一项非常重要的工作。

通常在 FPD 检测器中必须要保持清洁的部分包括：石英管、石英筒、石英窗、过滤器、光电倍增管、喷嘴等。检测器的清洗可分为火焰喷嘴部分与光路部分。其中喷嘴的清洗是应该比较频繁，而滤光片的清洗频度要稍微低一些。

出现灵敏度、噪声、选择性等相应问题，都应该检查 FPD 喷嘴是否有沉积物，并进行清洗或者更换，为了正确维护喷嘴，应该从仪器上拆下检测器模块，然后进行适当的维护。火焰喷嘴部分的清洗与 FID 清洗很相近。一些仪器公司有专门用于喷嘴部分清洗的刷子和金属丝。刷子用于清扫积聚在金属表面上的微粒，细丝用于清洗喷嘴口的颗粒物。注意不要强制使用太粗的金属丝或者探针进入喷嘴口，否则喷嘴口将被破坏、变形，导致灵敏度下降、峰形变差、点火困难等问题。

火焰光度检测器具有高灵敏度响应的必要条件之一，是光路部分各光学部件的良好透光性。柱流失以及流出物能够污染最靠近检测器的模块的第一个石英窗口（热屏蔽），灰尘、指纹印和大气污染物能使两个石英窗口、滤光片和光电倍增管变脏，在火焰和光电倍增管之间光路上的任何污染都将会降低检测器的灵敏度。当发现检测器灵敏度下降时，可怀疑是光路部件因表面污染而影响透光率。注意拆卸光路部分之前，必须先切断负高压电源并注意仪器所在处最好无强光照射。光路部分连同散热片可整体从火焰喷嘴上面拆下；注意滤光片或任何窗口部件必须轻柔处理，划痕或者任何表面变形将减少通过滤光片的光，因而降低响应值，滤光片及相关部件必须清洁且没有指纹。光路部分清洗具体过程如下所述：首先将固定光电倍增管的螺丝旋下，轻轻拉出光电倍增管，待该管拉出后，立即用不透光的黑布把其包好；然后依次从散热片中取下石英窗及滤光片，用无水乙醇对其进行冲洗，如发现表面太脏，也可用细纱布蘸上乙醇、乙醚轻轻擦洗，烘干后按回原位。安装时须注意各连接件与光路外壳的气密性，以防止火焰点燃后所产生的水蒸气由高温区渗入低温区而冷凝。同时注意整个光路不能漏光。

光电倍增管（PMT）必须定期更换，如果发生下列情况说明 PMT 已经失效，需要重新设置或者更换。高压接通而火焰闪烁；观察到信号低或者没有信号，噪声增大并且已经排除了电缆连接等其它干扰源的影响；出现光泄漏；使用高温；出现失效的信号板。

检测器温度高会缩短 PMT 的寿命，当不使用时，关闭 PMT 以使其寿命最

大化，部分 PMT 使用之前不要贮存很长时间。

有时候需要检查色谱柱和 FPD 检测器模块之间的传送管线熔融石英内衬，进行清洗或者更换。

## 第五节 氮磷检测器

### 一、氮磷检测器的原理

氮磷检测器是对含氮和磷化合物高敏感的检测器。其结构如图 13-23 所示，其中使用寿命短并需要更换的是铷珠和 FID 喷嘴。

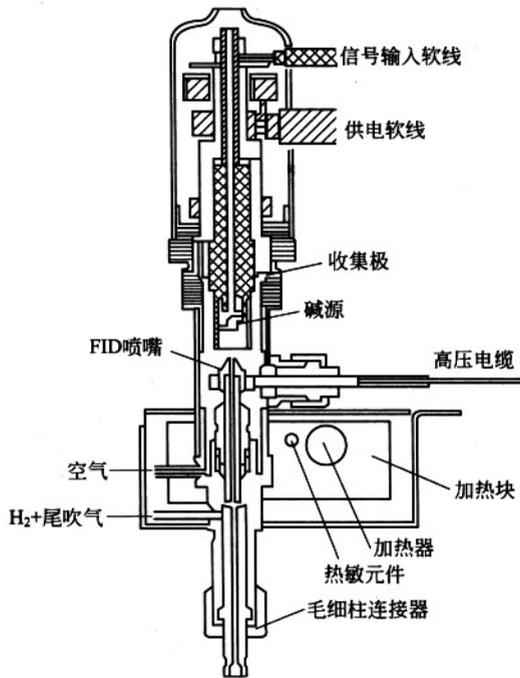


图 13-23 氮磷检测器的结构图

### 二、氮磷检测器常见故障排除

NPD 检测器不是非常稳定，许多参数中任何一项都可能影响检测器的性能特征。如果 NPD 在高湿度环境中长期不用，检测器中可能积聚水分。为了蒸发这些水分，需要将检测器温度设定在 100℃ 保持 30min，然后在 150℃ 保持 30min。由于氮磷检测器对气体的改变十分敏感，保持氢气、空气以及补充气体流速准确重复，是保证试验结果的重要条件。高纯度（99.999%以上）以及采用

水分和烃类捕集阱是非常必要的<sup>[11]</sup>。氮磷检测器常见试验故障与排除方法如下。

### 1. 检测器对注射的样品无响应

(1) 高浓度的溶剂会熄灭氢气/空气等离子气体，增加铷珠电压，在较高补偿下运行检测器，或者使用流量为 5mL/min 的尾吹气。

(2) 检查氢气是否流入检测器，确定氢气来自外部气源，检查流量和压力设定是否正常，氢气流量应当在 1.0mL/min 和 5.5mL/min 之间。

(3) 铷珠没有激活。通过检测器盖上的通风孔观察铷珠是否发出橘黄色的光。如果铷珠不发光，检查是否有足够的电流到达铷珠。检查检测器本底信号，将铷珠电压降至 0 作为参比，然后在升高铷珠电压时可看到输出骤然增加，这表明已点火。如果在铷珠上电压加到 4V 还没有点火，可以先检查铷珠的电源线是否连接。也可能是铷珠烧断了，需要更换铷珠。

(4) 如果上面的陶瓷绝缘体被污染，在铷珠关闭时就需要高的补偿 (2pA~15pA 或更高)，这会直接影响灵敏度要，更换此绝缘体。

### 2. 无基线、输出信号过大

(1) 静电计电缆与主板没有连接好，关掉色谱仪之后，重新连接电缆。如果信号降不到正常值 (<3pA)，则需要更换静电计。

(2) 收集极对检测器机体短路，检查绝缘体。

### 3. 基线恢复慢

(1) 溶剂中含有一定浓度的氯代烃。建立一个时间表，在进样时关闭氢气。当溶剂通过检测器后，恢复氢气流量至以前的操作水平。NPD 通常可以迅速恢复至稳定的基线。

(2) 尾吹气流速增加到 5mL/min。

(3) 高浓度的溶剂会熄灭氢气/空气等离子气体。增加铷珠电压，在较高补偿下运行检测器。

### 4. 程序升温期间基线明显向上漂移

(1) 在运行过程中，如果柱箱温度明显升高 (例如，从 50°C~350°C)，基线在 10pA~15pA 之间变化是正常的。可是如果基线漂移过大，可以在 300°C 以上的温度下加热进样口和柱箱 60min，以消除柱箱程序升温期间过大的基线漂移。

(2) 确认检测器绝缘体没有破裂或损坏。

### 5. 室温下基线过高

当检测器在较低温度 (如室温) 下时，检测器中的湿气可导致基线为数十甚至数百 pA。在检测器通入气体时设定检测器温度为 150°C。基线将在约十分钟内降至 1pA 以下。

### 6. 峰拖尾

(1) 确认使用的是好的衬管和色谱柱。

(2) 一些极性化合物与金属收集极接触，产生拖尾。建议选择扩大的喷嘴。

(3) 一些化合物会引起峰拖尾，特别是含磷的化合物。可能是选用的铷珠问题，可与厂商联系更换不同种类的铷珠。

#### 7. 溶剂信号大而 NPD 信号太小

(1) 检查氢气流速。如果太高，在喷嘴顶部有火焰燃烧。完全关闭氢气流量，并降低流速。氢气流量决不能高于 4.0 mL/min。

(2) 收集极可能被污染，更换收集极和绝缘体。

### 三、铷珠的更换

铷珠，也可称作“源”，是 NPD 的放射性部件。其中铷珠是最需要经常维护的组件，因此一个备用的铷珠是非常必要的。铷珠必须干燥保存，其贮存寿命限制为 6 个月。安装新的铷珠时需要缓慢升高检测器的温度，快速加热有可能会致铷珠破碎或裂开，尤其是在潮湿环境中贮存的铷珠。较高的氢气流速和铷珠电流都会缩短铷珠寿命，因此当 NPD 检测器不使用时，应该降低或关闭氢气流速和铷珠电流；在加热的检测器内或者当铷珠有电流时，确保有某种气流存在以延长铷珠寿命；采用较低的调节补偿或铷珠电压，保持高的检测器温度(320℃~335℃)；运行干净样品并保持进样口/衬管干净以使污染最小等措施能够有效延长铷珠寿命。

注意陶瓷珠很脆弱。注意不要将珠打碎或碰裂，对 NPD 进行维护时，应避免用手指碰珠，防止珠与其它表面接触。注意柱箱或检测器接头很热，会导致烫伤。

铷珠更换的步骤可以参考厂商的使用手册。在此不再详述。

### 四、氮磷检测器的清洗

经过一定时间使用之后，由于铷珠和样品中的残留物积聚在收集极上，导致基线问题，因此在更换铷珠(2~3)次后应该清洗检测器。氮磷检测器的清洗主要是收集极和喷嘴，可以采用仪器公司的专用刷子和金属丝，或者采用超声波清洗，注意不能导致喷嘴变形影响检测器性能。每次拆装均会造成金属 C 形环的磨损，一般 5 次左右之后环的密封可能无效，导致基线不稳，需要更换。

由于 NPD 检测器是高灵敏检测器，整个试验过程都需要特别小心，避免污染。玻璃器皿必须非常干净，避免使用含磷去污剂，推荐使用酸洗涤，然后用蒸馏水和溶剂冲洗。含氯溶剂和硅烷化试剂能够降低铷珠的使用寿命。

即使正常操作，在喷嘴内也会产生沉积物(通常是由柱流失产生的白色二氧化硅或黑色的含炭黑物质)。这些沉积物会降低灵敏度并引起色谱噪声和尖峰信号。虽然可以清洗喷嘴，但简单地更换一个新喷嘴通常更实际一些。如果确实要清洗喷嘴，小心不要损坏喷嘴的内部。也可以用超声波清洗喷嘴。清洗喷嘴步骤为：取下喷嘴，检查损坏或磨损程度，清洗喷嘴，重新安装喷嘴及组装检测器。

通常，更换一个新的喷嘴比清洗要方便得多，特别是在喷嘴已经被严重污染的时候。注意如果要清洗喷嘴，使用清洗丝时要小心，不要把喷嘴划痕，否则喷

嘴将无法使用。也可以不用清洗丝而只用水浴清洗。所需材料包括：超声波清洗器，液体洗涤剂，Teflon 洗瓶中的 GC 级甲醇，干燥的、经过过滤的压缩空气或氮气。具体步骤如下。

(1) 将清洗丝穿过喷嘴，前后拉动几次，直到可以平滑地拉动。注意不要划伤喷嘴。

(2) 溶液清洗步骤：①在超声波清洗池内加入液体洗涤剂，将喷嘴放入池中。超声波处理 5min。②用喷嘴铰刀清洗喷嘴内部。③再用超声波处理 5min。此后，只能用镊子接触部件！④将喷嘴从池中取出，先用热的自来水冲洗，然后用少量甲醇冲洗。⑤用压缩空气或氮气将喷嘴吹干，把它放在纸巾上晾干。

(3) 按照拆卸的方法重新安装到 GC 色谱仪上。

## 第六节 质谱检测器

### 一、质量检测器的故障综述

GC/MS 检测器具有很高的灵敏度，要保持最佳仪器状态，关键在于仪器的正确维护与使用，目的在于减少维修待机时间，延长 MSD 系统使用寿命，降低整个操作成本。

质谱检测器的主要故障表现为灵敏度降低和重现性变差，表 13-4 和表 13-5 分别列出了灵敏度降低和重现性变差的主要原因与调整排除的方法。

表 13-4 质谱检测器灵敏度的故障与排除方法

故障	故障排除方法
错误的保留时间	检查 GC、方法、应用及载气流速
信号低	检查 GC、调谐真空系统
进样口泄漏	清洁进样口 更换进样口衬管和隔垫
空气泄漏	检查并拧紧接口接头螺母，GC 进样口检漏
峰宽	做自动调谐，检查流量和温度稳定性
干扰峰	检查时间参数、共流出峰、色谱柱类型
本底过高	做自动调谐，比较本底特征，检查时间参数
错误的质量测定	重新调谐
异常谱图——过量本底污染	检查污染
调谐不正确	检查调谐文件、重新调谐、检查样品
排斥极电压过低	增加电压，测试响应
不洁净的离子源	清洁离子源

表 13-5 质谱检测器重现性变差的原因与故障排除方法

原因	故障排除方法
注射器针头不洁净	清洗或更换注射器
错用注射器针头	更换注射器和隔垫
进样口泄漏	执行进样口维护操作,更换进样口衬管
进样量过大	检查方法和进样体积,分流和/或不分流时间
柱接头松	拧紧柱与进样口或接口管道的接头螺母 更换柱接头和密封垫
更换柱接头和密封垫	确保 MSD 处于温度适当的环境
压力、柱流量和温度变化	MSD 远离通风处,避免阳光直射 检查载气是否稳定 维护前级泵和扩散泵
离子源不洁净	清洁离子源
分析器内部连接不紧	检查分析器内部和外部连线,确保全部牢固
地线	检查主电路

## 二、质谱检测器污染

污染会导致质谱检测的本底过高,主要来源于气相色谱,也有可能来自质谱检测器。来源于气相色谱系统的主要污染包括:色谱柱或者隔垫流失、进样口不清洁、进样口衬管或者注射器污染、载气中的杂质或者是载气管路污染、手印或者指纹、空气泄漏、用于清洁的溶剂和材料被污染等;来源于质谱检测器的主要污染包括:空气泄漏、用于清洗的溶剂和材料被污染、扩散泵油和前级泵油以及各部分中的指纹等。

由于污染的类型和程度不同,采取的措施也有一定的差异,对于溶剂或者是水造成的轻度污染,通过让泵抽过夜、用干净载气等方法可以有效消除。而由于前级泵油、扩散泵油或者指纹等引起的比较严重的污染,需要彻底清洗。表13-6列出了比较常见的污染物的离子特征以及可能的污染来源。

### 1. 空气泄漏

空气泄漏是任何需要真空操作的仪器都会遇到的问题。泄漏通常是由于真空密封垫破损或没有正确密封造成的。GC 或 MSD 中都可能发生泄漏。GC 大部分泄漏发生于进样口隔垫、进样口柱接头或者是毛细管柱折断或破损。MSD 大多数泄漏发生于:GC/MSD 接口处接头;侧板/顶端金属板 O 形圈(全部);排气孔阀门 O 形圈;校准阀;高真空规管配件;破损的离子规管;前面及背面金属板 O 形圈;GCMS 接口 O 形圈(接口与真空管连接部分);扩散泵封口或盖板阀 O 形圈;涡轮分子泵 O 形圈;加热时收缩的石墨垫圈等。正确的操作就是检查接口接头松紧,必要时更换。

表 13-6 GC/MS 系统常见污染物的离子特征以及可能的污染物来源

离子( $m/z$ )	化合物	可能的来源
18, 28, 32, 44 或 14, 16	H <sub>2</sub> O, N <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> 或 N、O	残留空气和水, 空气泄漏 Vespel 管口密封套漏气
31, 51, 69, 100, 119, 131, 169, 181, 214, 219, 264, 376, 414, 426, 464, 502, 576, 614	PFTBA 以及相关离子	PFTBA(调谐化合物)
31	甲醇	清洁溶剂
43, 58	丙酮	清洁溶剂
78	苯	清洁溶剂
91, 92	甲苯或二甲苯	清洁溶剂
105, 106	二甲苯	清洁溶剂
151, 153	三氯乙烷	清洁溶剂
69	前级泵油或 PFTBA	前级泵油蒸发或校准瓶泄漏
73, 147, 207, 221, 281, 295, 355, 429	二甲基聚硅氧烷	隔垫流失或甲基硅酮柱涂层
77, 94, 115, 141, 168, 170, 262, 354, 446	扩散泵油	扩散泵油和相关离子
149	增塑剂(邻苯二甲酸酯类)	高温使真空垫圈(O形)损坏, 使用乙烯或塑料手套
相隔 14u 的峰	碳氢化合物	指纹、前级泵油

空气泄漏的现象包括: 真空管压力或前级管道压力高于正常值; 本底高于正常值; 出现空气特征峰 ( $m/z$  18、28、32 和 44 或  $m/z$  14 和 16); 灵敏度低;  $m/z$  502 的相对度偏低 (此项随调谐程序和 MSD 的使用而变化)。

## 2. 清洗溶剂

在清洁离子源后, 质谱中很容易产生清洁溶剂的峰。避免出现清洗溶剂峰的主要方法是: 擦干 GC 中所有的金属部件, 并在重新安装之前在 GC 柱温箱内烘干。参见 MSD 硬件手册中的清洗步骤; 温度应高于溶剂的沸点, 但低于柱的极限温度。

## 3. 指纹

指纹中含有碳氢化合物, 因此在质谱中会表现出来。碳氢化合物污染的特点是一系列相差 14u 的质量峰。丰度随着质量增加而降低。在离子源清洁、GC 进样口维护或色谱柱安装过程中, 使用破损的尼龙手套, 经常会导致指纹污染。清洁完部件之后, 要特别留心避免污染。这种情况通常发生在维护或更换部件之后。在实际操作中一定要使用清洁的尼龙手套和正确的清洁技术, 出现该问题后

需要重新清洗。

#### 4. 扩散泵油

如果扩散泵在没有柱（载气）流进入真空系统下操作，扩散泵中的蒸气可能会飘移到真空管中。更严重的问题是，由于突然或不正常地向真空系统中放气，扩散泵油会返流到真空管中。如果扩散泵返流，在  $m/z$  446 通常会出现一个明显的峰，并且谱图基线将显示本底噪声增大。因此如果出现了  $m/z$  446 的峰，很可能发生了扩散泵油的泄漏，需要与仪器厂商联系。

#### 5. 前级泵油

前级泵油污染的特征是峰之间有 14u 的间隔（碳氢化合物）。前级泵引起污染的可能性要少于扩散泵。

### 三、真空系统故障排除

真空系统产生质谱检测器操作所需的高真空（低压）。如果没有真空，分子的平均自由程就会太短，离子就不能从离子源通过滤质器到倍增器（检测器），而不与其它分子碰撞。真空系统的主要部件有真空管、前置真空规管和校准阀。正确维护真空系统可起到以下作用：避免灯丝过早损坏；达到更高的灵敏度；减少离子源清洗频率；延长四极杆使用寿命；防止电子倍增器角管过早损坏等。

#### 1. 校准与调谐

校准阀是带有调谐化合物的电动阀。全氟三丁胺（PFTBA）是最常用的调谐化合物。质谱检测器的 EI 模式的自动调谐时使用。调谐化合物一般是液体，但也可以是挥发或半挥发的固体。如果调谐化合物不足，可以按照以下方式再注满。

在没有向系统放气时，校准瓶也可以重新注满。装到距瓶口 0.5cm 处，不要完全注满。再注满时，空气被夹在样品瓶中，应确保在重新向样品瓶注液后把空气吹扫干净。

#### 2. 压力故障

本节将描述不正常压力读数及其可能的原因，这些错误是相对于正常压力来说的。对于典型的柱流量（0.5mL/min ~ 2.0mL/min），前置压力大约应为 20mTorr ~ 100mTorr<sup>①</sup>，真空管压力大约应为  $1 \times 10^{-6}$  Torr 到  $1 \times 10^{-4}$  Torr 之间。对于不同仪器，这些数据的变化也是很大的。因此，最重要的就是记住所使用的仪器在一定载气流量和炉温时的正常压力。前级管线压力只能在扩散泵装置系统上测量。根据速率控制涡轮分子泵，没有前级压力计。只有当系统连接了可选的真空规控制管线时，才能测量真空歧管压力。表 13-7 列出了质谱检测器常见的压力故障。

① 1Torr = 133.322Pa

表 13-7 质谱检测器压力故障及其可能的原因

故障种类	现象	可能的原因
前级管线压力过高	压力高于 100mTorr 在给定柱流量下压力不断上升	柱载气流量过高 载气种类不对 空气泄漏 前级泵油太少或被污染 前级管道堵塞 前级管道规管没有正常工作 前级泵没有正常工作
前级管线压力太低	压力低于 20mTorr	柱载气流量过低 载气种类不对 柱堵塞或者连接过紧 没有载气或者载气量不足 载气管被弯曲或挤压 真空规管没有正常工作
真空歧管压力过高	压力超过 $1.4 \times 10^{-4}$ Torr	柱载气流量过高 载气种类不对 空气泄漏 前级泵没有正常工作 前级泵油太少或被污染 前级管道堵塞 前级管道规管没有正常工作 真空规管控制器故障 电离规管故障
真空歧管压力过低	压力超过 $1.4 \times 10^{-4}$ Torr	柱载气流量过低 载气种类不对 柱堵塞或者连接过紧 没有载气或者载气量不足 载气管被弯曲或挤压 真空规管控制器故障 电离规管故障

### 3. 扩散泵

扩散泵油量影响蒸发的多少和基板的温度。扩散泵油太少会使泵在较高温度下工作，因为没有足够的泵油来降低热量，结果导致泵油裂化或降解，从而失去了高真空。同时，它也能降低泵的工作速度，没有足够的泵油蒸发排走气体，会因流量过高而影响 CI 模式的操作。

按照如下的方法来检查泵油量：（1）如果还未放气，请根据 MSD 手册关机，并放气；（2）拔掉 MSD 电源线；（3）移走泵，用铝箔罩好顶部；（4）用 GC 炉  $60^{\circ}\text{C}$  加热 15min 后，让泵油流入低部的油箱中，移开泵芯；（5）检查泵油，如果泵油变色或含有颗粒物质，必须进行更换；（6）使用金属尺测量泵油的深度或者用观察孔来测定泵油的深度。检查之后按照厂商的推荐值确定是否需要

增加泵油。

#### 4. 前级泵

前级泵油通常每 6 个月更换一次，但根据应用情况而不同。泵油更换后，如果有前级捕集器，则应更换分子筛。注意不要接触到泵油，因为一些残余物可能有毒，应正确处理使用过的泵油。注意：不同型号的 MSD 可能存在细微差别，请参照硬件手册以获得专门的指南。

更换泵油的基本步骤：(1) 关闭 MSD 并放气；(2) 在前级泵排液塞下放一容器；(3) 从泵顶端取下注液塞，露出注液口；(4) 打开排液塞；(5) 重新接上 MSD 的电源，开机 2s~3s，然后关闭。这样做可以将内部泵腔中的旧油排出，并再次拔掉电源线；(6) 重新插上排液塞，并从注液口倒入泵油；(7) 盖好注液塞；(8) 重新接通 MSD 电源；(9) 根据仪器使用手册所示的过程，启动 MSD，并抽真空。

#### 5. 电子倍增器

电子倍增器的使用寿命与流经的电流和所受到的污染或者凝聚直接相关，以下几方面可以最大限度延长寿命：尽可能保持最好的真空，特别是分析器歧管；小心进行放气、抽气等真空系统操作，使泵油本底保持最小值；放气结束后，在扫描前要进行 4h 抽真空和热平衡；密切注意本底污染和泄漏并及时处理；不要过度调谐，PFTBA 可能会在较长时间内导致较高本底。

如果出现电压很高或者真空度差的情况，可以考虑更换电子倍增器。

### 四、离子源

离子源分为电子轰击 (EI) 和化学电离 (CI) 两类，样品从 GC/MS 接口进入离子源，由灯丝发射的电子在电场作用下进入电离室，高能电子与样品分子相互作用，使其电离并裂解，推斥极上的正电压将正电子推到透镜组，离子被静电透镜汇集成密集的离子束，注入质量过滤器进行分析。

离子源的维护主要是清洁。离子源的清洁目的在于清除表面上的污染物，恢复离子源透镜系统的静电性能，离子源的清洁没有固定周期，当发现灵敏度降低等问题时需要清洗。清洁频率主要取决于分析样品的数量（测试量）、样品类型与实验室制定的特殊规定。一般出现以下情况时需要清洁离子源：按照用户事先定好的计划进行；根据仪器性能而定（例如随使用时间增长而产生的性能下降）。

确定与测试普通仪器性能主要包括：①确定离子丰度 [例如：自动调谐报告中 502 离子的丰度 (%)]; ②透镜梯升的形状以及电压的选择，特别是推斥极梯升；③对一个给定分析所能达到的灵敏度；④对一个给定参考化合物的调谐能力（例如 DFTPP）。

清洁维护具体过程，随仪器厂商产品设计存在差异，主要包括研磨、超声以及电解抛光等。研磨方式的优点在于能够提供足够的能量取出表面的污染物、对

用户的危险性最小并且不需要什么设备。氧化铝是研磨清洁不锈钢离子源的最常用材料,有粉末状和研磨片,主要表面被研磨干净之后必须清除残留的颗粒。清除粒子的方法是用棉签或者经丙酮浸过的干净布擦拭。清洁用的棉签必须经过超声之后才能用于处理各部件。

注意清洁之前必须给质谱仪放气,同时取出离子源,在放气之前必须确保加热区温度低于 $100^{\circ}\text{C}$ ,扩散泵关闭并冷却,涡轮分子泵关闭并不再旋转,前级泵关闭。

在离子源的两侧各装有一个灯丝,灯丝将传输一个可调节的交流发射电流。这股发射电流加热灯丝,使其发射电子,这些电子使样品分子电离。就像白炽灯中的灯丝一样,离子源中的灯丝也会有烧毁的情况发生。以下操作可以减少早期损坏的机会:当设置采集参数时,设置溶剂延迟,以便在溶剂峰流出时不打开分析器;较高的灯丝电流会降低灯丝寿命。

四极滤质器污染严重时,由厂商的专业维修工程师清洁。注意决不能把四极滤质器放入超声波清洗器;决不要改变四极滤质器的物理方位;由于熔融石英的四极杆非常容易损坏,摔落或重拿都会使其受损;四极交点的材料具有很强的吸湿性,如果接触水,需将四极杆缓慢晾干,这样可防止受损;滤质器不需要周期性的维护,不要把它从射频器上取下来。

## 第七节 气相色谱检测器的维护

前面已经分别介绍了不同类型的气相色谱检测器维护的原则与过程,与前面多次强调的原则一致,保持良好实验室运行的最基本的原则在于加强维护,将故障出现的概率降低,而不在于出现问题的快速响应与维护。表 13-8 分别推荐了不同检测器的维护周期与主要内容,结合实验室具体情况调整。

表 13-8 气相色谱常用检测器维护周期

项 目	一般维护时间	措施/说明
FID/NPD 喷嘴和收集极	按实际需要	当有沉积物时,进行清洗。当喷嘴出现划痕、收集极弯曲和损坏时,或当 FID 点火困难或点不着火时,进行更换
NPD 铷珠	按实际需要	当信号漂移或灵敏度突变时,进行更换
FID	每 6 个月	测量氢气、空气和尾吹气流量
TCD	按实际需要	当出现基线波动、噪声增大或响应改变时,通过“烘烤”进行热清除。当热清除不能解决问题时,进行更换
ECD	每 6 个月 按实际需要	放射性测试 当出现基线噪声增大或输出值异常高时,通过“烘烤”进行热清除。当热清除不能解决问题时,进行更换
FPD	每 6 个月 按实际需要	测量氢气、空气和尾吹气流量 当检测器灵敏度下降时,清洗/更换 FPD 窗口和密封圈

表 13-9 是气相色谱-质谱检测器中需要维护的部件及推荐的维护周期，在实际应用中可根据使用频率与样品等情况进行调整。

表 13-9 GC/MS 系统维护周期

任 务	每周	每 3 个月	每 6 个月	必要时	措施/说明
自动或手动调谐				✓	保持备有足够的 PFTBA(全氟三丁胺)
机壳维护					
清洁机壳	✓				
检查导管和连线		✓			
真空风扇过滤器			✓		
真空系统维护					
检查机械泵油	✓				
更换机械泵油			✓		
更换机械泵捕集器			✓		
更换前级泵油			✓		每周检查一次泵油,当泵油褪色或使用 6 个月时,更换泵油
检查扩散泵油			✓		每周检查一次泵油。泵油过少,会导致泵在运行时温度升高泵油降解,真空度降低。当泵油褪色或有颗粒时,更换泵油
离子规管脱气				✓	
更换离子规管				✓	
更换密封圈和 O 形圈				✓	
分析器维护					
清洁离子源				✓	如果性能降低,清洗离子源,清除污染物,恢复离子源透镜系统的静电性能。更换有划痕的部件,以保持离子源处于最佳状态
更换灯丝				✓	
更换离子源加热器				✓	
更换滤质器加热器				✓	
更换电子倍增器角管				✓	
更换老化部件				✓	
GC/MS 接口维护					
重新注满 EI 校准瓶				✓	不需放空系统,可重新注满样品瓶
重新注满 CI 校准瓶				✓	
更换接口加热器				✓	
GC 部分维护					
更换进样口衬管	✓				
更换载气捕集阱和净化器				✓	
更换色谱柱				✓	

注：“✓”表示需要维护

## 参 考 文 献

- 1 卢佩章, 戴朝政, 张祥民. 色谱理论基础. 第二版. 北京: 科学出版社, 1997
- 2 傅若农. 顾俊岭. 近代色谱分析. 北京: 国防工业出版社, 1998
- 3 顾蕙祥, 阎宝石. 气相色谱实用手册. 北京: 化学工业出版社, 1990
- 4 刘仲明. 气相色谱仪维修技术. 北京: 化学工业出版社, 1990
- 5 李浩春. 分析化学手册. 第二版. 第五分册. 北京: 化学工业出版社, 1999
- 6 孙传经. 气相色谱分析原理与技术. 北京: 化学工业出版社, 1993
- 7 孙传经. 毛细管色谱法. 北京: 化学工业出版社, 1991
- 8 庞增义, 李洪盛. 气相色谱仪及其应用. 昆明: 云南科技出版社, 1989
- 9 Agilent 公司 6890 气相色谱仪使用手册. Agilent 公司, 美国
- 10 John V Hinshaw. LC GC Europe, 2001, (3): 1~5
- 11 Hyver K J. High-Resolution Gas Chromatography. Hewlett-Packard Co., Avondale, Pennsylvania, USA, 3rd ed., 1989: 1~21

## 第十四章 气相色谱分析问题

### 第一节 不出峰与灵敏度降低

在选定操作条件下，给色谱仪注入规定的样品，在记录的谱图上一直没有相应色谱峰出现的现象被称为不出峰故障；虽然出峰，但大小却与原先的已知谱图相差甚大，则为灵敏度异常故障。通常情况下灵敏度都是变小，也称为灵敏度太低故障。因为不论是不出峰，还是灵敏度太低故障都是相对于已知给定操作条件而言，因此应首先检查预定操作条件无误后才能加以证实。

不出峰与灵敏度太低虽然属于两种不同的故障，但其发生的原因却有许多是相同的。因此可以给出一个适用于两者的故障检修步骤，不出峰和灵敏度太低故障的排除步骤如下<sup>[1,2]</sup>。

(1) 操作条件重复性检查 首先应核实际操作条件是否与原已知条件相接近；包括各气路的流量值、各温度区的温度值（如气化温度、柱温及检测器温度）、桥电流的大小、火焰是否点燃、电源是否接通等。如果发现操作条件有异常，应当努力使之与原给定值接近，并及时找出影响操作值复原的因素。

(2) 检查检测器有无反应 此项检查主要是针对不出峰故障而安排的。检测器的响应检查方法应因检测器的类型而异。

① 热导检测器可采用最简单的气路堵放试验：具体做法是先设法堵住热导检测器的一路出口，待片刻后再突然放开，从而产生一个气流波动。在正常条件下，此波动也应引起谱图的基线波动。一路检测器试完后可再试另一路。如果上述试验后基线上有波动，则说明热导检测器有响应。

② 对于氢火焰检测器，可采取下述简单方法观察其有否反应：一种是用手持镊子靠近检测器收集极并在其上方晃动，由于电场的变化记录基线应有相应波动；另一种是用火柴点火后放于收集极附近，再用手向收集极侧轻轻扇动，观察基线有否相应的变化。

③ 对于电子捕获检测器，也可采取与热导检测器相同的气路堵塞方法而进行之。另一种更为简单的方法就是在启动仪器时观察该检测器有否起始

基流。

④ 对于火焰光度检测器，检查其有否响应的简单方法，是采用漏光或点火的方法来观察基线变动。具体做法是，旋松光电倍增管与检测室的固定螺丝，稍向外拉一点使一点光能漏到光电倍增管之内，观察此动作后基线有否反应。但用此方法时应格外小心！一方面注意漏光不能太大，以免损伤光电倍增管；另一方面需注意试完后必须复原，以防止继续漏光造成干扰。在此，建议用点火法试验光电倍增管的反应，方法是在启动仪器点火时就开动记录仪记录基线，仔细观察点火或灭火时基线有否反应。

(3) 注射器及进、取样技术检查 注射器如有泄漏及堵塞，取样时抽过空气以及取样后未及时进样而造成样品挥发，是造成不出峰或灵敏度太低的一个最常见原因。可换用好的注射器重新取样后注入进样口再试其灵敏度，如果出峰情况仍然如故，则是其它原因所致。

(4) 载气堵、漏检查 对载气系统进行堵漏检查，特别注意的是进样口隔垫及色谱柱后到检测器的入口有否漏气和堵塞，大量的经验表明此两处发生故障的可能性很大。

(5) 进样器安装检查 有时系统虽不漏气，但进样口安装不当，死体积太大，载气样品流入不合理，也会造成出峰灵敏度低，甚至不出峰现象。造成此情况的大部分原因，是采用毛细管柱时，忘记安装进样管或毛细管柱头位置安装不对而造成的。

(6) 预调检查 仪器的预调检查即是指在启动仪器后所进行的零点基线调整检查。

(7) 检测器接线及工作条件检查 由于检测器的类型不同，引线及工作条件各异。分述如下：

① 对热导检测器，此时应怀疑的因素只有两个，一个是热丝位置连线有误，另一个就是热丝表面严重污染。

② 对于氢火焰检测器，应首先检查信号电缆是否接好、接对。另外，火焰的大小和位置，极化环与收集极间的相对位置都会影响出峰灵敏度，必要时应仔细加以调整。正确的位置是极化环一般与喷嘴平或略低一点，而收集极处于喷嘴之上，使点火后的火焰部分处于喷嘴与收集极之间。

③ 对于电子捕获检测器，应首先检查信号电缆，方法与氢火焰检测器相同。另外要测量一下基流的大小是否在顶定的范围之内。如基流正常，则说明电子捕获检测器基本正常；如基流很小则势必影响出峰灵敏度。

④ 对于火焰光度检测器，不出峰或出峰灵敏度小的原因共有：信号电缆断路或接触不好；检测室中的石英窗污染有脏物或水分，影响透光率；火焰位置不对；光电倍增管电压电源引线断路或高压电源电路输出电压不足；光电倍增管偏压电路或光电管本身失效；火焰不是富氢焰。

## 第二节 基线问题

色谱系统流出色谱峰后要把峰前后的基线确定下来才好对色谱峰进行积分。数据系统是在所有色谱峰出完后确定基线再积分。如果一个峰与另一个峰分离得很好，基线的选择十分简单，用一条直线连接色谱峰的前后基线。这种方法称基线-基线法 [图 14-1(a)]。

若两峰部分重叠（如  $R=0.8$ ），可有两种方法确定基线。第一种方法是连接两峰共同的前后基线，然后在两峰峰谷之间的最低点向基线作垂线，大略地将一对色谱峰分开，可简称此法为基线-正交法 [图 14-1(b)]。这是一种比较适宜的方法，除非有其它原因才选用别的方法。第二种方法是从前峰基线到峰谷再到后峰基线画折线，此法称基线-峰谷法 [图 14-1(c)]，这种方法在大部分的情况下不太准确。各种不同的数据系统可能有不同的基线画法。当一个小峰在一个大峰的尾后出峰，可画正切线而得到小峰的基线（图 14-2 峰切线略取法）。

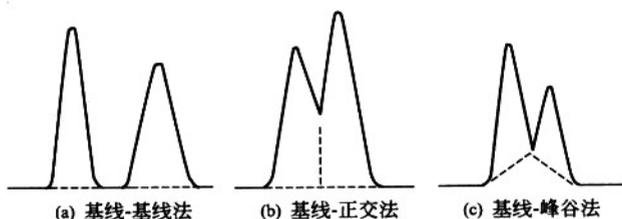


图 14-1 色谱峰的基线画法

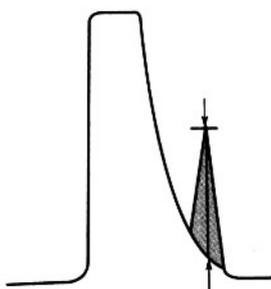


图 14-2 峰切线略取法

气相色谱分析基线问题主要包括基线漂移、基线波动和基线噪声增加等问题，图 14-3 是 3 种基线情况的典型图例，以下分别介绍故障的原因与排除的方法<sup>[1,3]</sup>。



图 14-3 气相色谱基线常见问题

## 一、基线漂移

基线漂移一般是指基线向单方向持续升高或者降低，最常见的原因是色谱柱固定相流失（表 14-1）。色谱柱流失是当色谱柱在其使用温度上限时基线的升高。在较低的柱温下如果有色谱峰，噪声过高，基线漂移或基线升高等现象，就不是色谱柱的流失造成的。此类现象主要是由于柱效降低，例如柱污染等引起的。

表 14-1 色谱柱流失引起基线漂移的故障排除

可能的原因	解决方法	注 释
色谱柱热损伤	把色谱柱和检测器断开，烘烤色谱柱过夜，重新和检测器连接好，按常规方法进行色谱柱的老化	使用 GC 的高温保护功能
色谱柱氧损伤	虽然可以尝试把色谱柱烘烤过夜，但是受到氧损伤的色谱柱常常需要更换	定期进行检漏，按期更换隔垫，使用高纯载气，安装并维护氧捕集阱
色谱柱化学固定相损伤	把色谱柱前端切掉 1/2m 到 5m	把样品进行预处理，除去其中的无机酸和碱。安装保护柱并经常清洗柱端。如果一定要使用酸和碱，选择 HCl 或 NH <sub>4</sub> OH，或使用有机酸和碱

## 二、基线波动

与基线漂移不同，基线波动的原因比较多，进样口、色谱柱、检测器、载气问题等都有可能导致基线的波动，主要的原因及故障排除方法见表 14-2 所示。

表 14-2 基线波动的主要原因及其排除方法

可能的原因	排除方法	注 释
进样口被污染	清洗进样口，更换衬管、密封垫	尝试使用浓缩测试；气路管线也可能要清洗。采取措施避免样品反冲（减小进样体积，降低进样口温度，使用较大体积的衬管）
色谱柱被污染	烘烤色谱柱； 用溶剂冲洗色谱柱	限时烘烤 1h~2h； 只适用于键合和交联固定相； 检查进样口被污染的情况

续表

可能的原因	排除方法	注 释
色谱柱未老化完全	充分老化色谱柱	对痕量分析要求严格
检测器未达到平衡	让检测器达到稳定	有些检测器要 24h 才能完全稳定
在程序升温过程中载气流速发生改变	这在多数情况下是正确的	MSD、TCD 和 ECD 对气体流速的变化敏感
气体被污染	使用适当的净化器除去气体里的污染物	检测器气体常发生此问题
色谱柱和进样口衬管没有对准	检查色谱柱末端和进样口衬管的安装情况,必要时进行调整	在大的色谱峰后会造成基线的改变
在进样和进样之后不久隔垫漏气	更换隔垫; 使用直径较小的进样针	在大的色谱峰后会造成基线的改变。使用大直径的针常会有此现象
样品分解	取下进样口衬管检查它的清洁度。使用新的去活的衬管或更换玻璃毛和填料	在大的色谱峰前后会造成基线上升

### 三、基线噪声

基线噪声增加最主要的原因是进样口、色谱柱和检测器污染,还有就是检测器相关部件老化、设置不正确等。具体原因与排除方法如表 14-3 所示。

表 14-3 基线噪声增加的原因及其排除方法

可能的原因	排除方法	注 释
进样口被污染	清洗进样器,更换衬管、密封垫	尝试使用浓缩测试;气路管线也可能要清洗
色谱柱被污染	烘烤色谱柱 用溶剂冲洗色谱柱	限时烘烤 1h~2h 只适用于键合和交联固定相 检查进样口被污染的情况
检测器被污染	清洗检测器	通常噪声是缓慢增加而非突发现象
气体被污染或气体纯度低	更换失效的净化器 使用多种净化器除去污染物 使用高纯气体	对检测器气体更会出现这种问题
色谱柱插到检测器中过长	重新安装色谱柱	参考 GC 操作手册,选用适当的插入距离
检测器气体流速不正确	按建议的数值调整检测器流速	参考 GC 操作手册,选用适当的检测器流速
使用 MS、TCD 和 ECD 时漏气	查找和排除漏气	常在柱接头和进样器处会漏气
检测器灯丝、灯或电子倍增器, NPD 伽珠老化	更换相应的部件	
隔垫降解	更换隔垫	在高温下分析要使用相应的高温隔垫

### 第三节 色谱峰问题

#### 一、前伸峰

图 14-4 中给出前伸峰的示意图, 表 14-4 是引起色谱峰前伸的故障原因及解决办法。

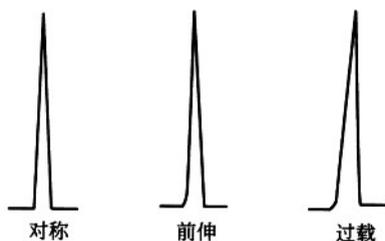


图 14-4 峰形示意图

表 14-4 色谱峰前伸故障及解决办法

可能的原因	解决方法	注 释
色谱柱过载	减少进入色谱柱的样品量。减少进样量, 稀释样品, 增加分流比	通常过载会造成前伸峰
色谱柱安装不合适	重新连接进样口与色谱柱	参考 GC 操作手册, 选用适当的插入距离
进样技术	改进进样技术	常常和注射器活塞抽吸不当有关, 或者在注射器针里还留有样品; 使用自动进样器
化合物在进样溶剂中溶解能力过强	改变溶剂, 使用保留间隙柱会有所改善	
使用混合溶剂溶解样品	改变样品溶剂	使用极性和沸点差别大的溶剂会更严重

#### 二、拖尾峰

色谱峰拖尾 (图 14-5) 是色谱分析中最常见的问题。出现拖尾峰之后, 首



图 14-5 拖尾峰示意图

先要确定哪些峰是拖尾峰：是部分活性化合物，还是所有化合物？是先洗脱化合物，还是后洗脱化合物？这样对于判断与排除故障具有非常重要的作用。具体原因与排除方法见表 14-5。

表 14-5 色谱峰拖尾故障与排除方法

可能的原因	排除方法	注 释
色谱柱严重污染	切除色谱柱； 用溶剂冲洗色谱柱	把色谱柱前端切掉 1/2m 到 1m； 只适用于键合和交联固定相； 检查进样口是否被污染。有时拖尾随化合物的保留值而增加
色谱柱有活性	把色谱柱前端切掉 1m 更换色谱柱	只影响活性化合物。常常在化合物保留值增加时会出现拖尾
色谱柱安装不合适，漏气，或柱端切割不平整	重新切割色谱柱，并安装到进样口中更换密封圈，确认安装后不漏气	使用合适的切割工具把柱端干净地切割成直角，参考 GC 操作手册，确认适当的插入距离，早流出峰更容易有拖尾
衬管和密封垫被污染或衬管未去活	使用新的，去活的衬管清洗或更换密封圈	只对活性化合物有作用
在衬管中有固体颗粒	清洗或更换衬管	
进样针刺坏和损伤了进样口衬管中的填料	从衬管中去掉一部分填料或在衬管中不装填料	
溶剂/色谱柱不相溶	使用其它溶剂 使用保留间隙柱	早流出峰或靠近溶剂前沿更容易发生峰拖尾 3m~5m 保留间隙柱就够用
分流比太低	增加分流比	分流放空出口的流速应 $\geq 20\text{mL}/\text{min}$
对不分流和柱上进样时，溶剂效应严重	降低色谱柱初始温度到低于溶剂沸点 $10^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$	随保留值的增加拖尾减弱
进样技术欠佳	改变进样技术	通常和注射器活塞抽吸不当有关，或者在注射器针里还留有样品； 使用自动进样器
进样口温度太高	把进样口温度降到 $50^{\circ}\text{C}$	早流出峰一般更容易有拖尾
进样口温度太低	把进样口温度提高 $50^{\circ}\text{C}$	随保留值的增加常常有严重拖尾
系统里有死体积	减小死体积，传输管接头，熔融石英接头等	随保留值的增加拖尾减弱
有冷却点(冷凝)	消除冷却点，一般在传输管处	随保留值的增加拖尾严重
PLOT 柱过载	减少进入色谱柱的样品量	

### 三、鬼峰

气相色谱分析中出现鬼峰，也就是色谱图中的“额外峰”，一般不是由于柱流失所引起，通常是由于污染引起的。另外在评价鬼峰时考查其峰宽是很重要的（图 14-6）。宽的峰，有时候是原先样品中的组分在色谱柱中慢慢洗脱导致的；窄的峰，

可能是由于进样口污染等引起的。表 14-6 详细列出了出现鬼峰的原因与排除方法。

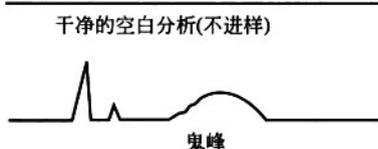


图 14-6 鬼峰示意图

表 14-6 鬼峰出现的原因与排除方法

可能的原因	排除方法	注 释
在样品中带入污染物	净化样品或溶剂	在样品处理过程中引入污染物或溶剂中带入污染物
进样口污染	清洁进样器,更换衬管,密封垫和隔垫	尝试使用浓缩测试,气路管线也可能要清洗,采取措施避免样品反冲(减少进样量,降低进样口温度,使用较大体积的衬管)
隔垫损失	更换隔垫	使用适合于进样口温度的高质量隔垫
样品中污染物比样品先进入 GC	检查处理样品的步骤,寻找潜在的污染源; 样品净化,处理,转移和贮存	
半挥发性污染物 (和样品保留时间接近,但峰宽增加)	烘烤色谱柱,用溶剂冲洗色谱柱,检查进样口、载气和载气管线中是否有污染物	限时烘烤 1h~2h; 只适用于键合和交联固定相

#### 四、分裂峰

色谱峰分裂(图 14-7)最常见的原因是色谱柱安装不当以及进样或者样品溶剂、样品分解等问题。在实际分析中需要注意并逐项查找原因,表 14-7 列出了常见的原因与故障排除方法。

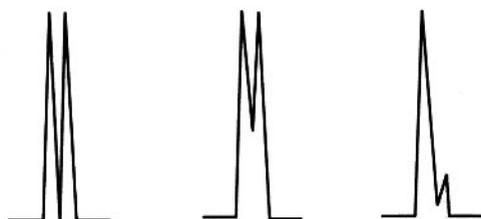


图 14-7 分峰裂示意图

#### 五、色谱峰大小改变

色谱分析中出现色谱峰大小变化的问题,可能是所有的色谱峰或者是其中部分色谱峰(图 14-8)。主要需要检查进样口与检测器响应等问题,表 14-8 列出了常见故障及排除方法。

表 14-7 色谱峰分裂的原因与故障排除方法

可能的原因	排除方法	注 释
色谱柱的安装	重新在进样口中安装色谱柱	参考 GC 操作手册, 确定适当的插入距离
进样技术	改进进样技术	常常和注射器活塞抽吸不当有关, 或者在注射器针里还留有样品, 使用自动进样器
样品使用混合溶剂	改变样品溶剂	使用极性和沸点差别大的溶剂会更严重
溶剂色谱柱不相溶	使用其它溶剂; 使用保留间隙柱	
样品聚焦不好	使用保留间隙柱	用于不分流, 柱上和 PTV 进样口
样品在进样器中分解 (只有部分峰出现分裂)	降低进样口温度; 把样品衍生化, 提高其热稳定性; 改为柱上进样	如果温度过低会造成色谱峰的加宽和拖尾; 需要一个柱上进样器
检测器超载严重	减少进入色谱柱的样品量	只对某些峰有作用

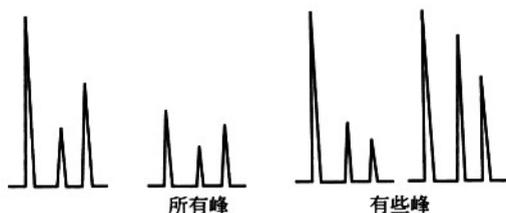


图 14-8 色谱峰大小改变

表 14-8 色谱峰大小改变的原因与故障排除方法

可能的原因	排除方法	注 释
检测器的响应改变	检查气体流速、温度和设定值	对所有的峰影响不一样; 可能是系统被污染而不是检测器引起
分流比改变	检查分流比	对所有的峰影响不一样
开始吹扫时间改变	检查开始吹扫时间	只对不分流进样适用
进样量改变	检查进样技术	进样量不是线性的
进样歧视情况改变	保持一致的进样参数: 流速、温度、衬管等	分流进样尤为严重; 对所有的峰影响不一样
样品浓度改变	检查和验证样品浓度	可能是由于降解、蒸发、样品的温度或 pH 值改变所引起
进样器漏样	换进样器	样品泄漏到活塞或针的周围; 这样的泄漏不易发现
色谱柱污染	切去一段色谱柱 加溶剂冲洗色谱柱	把色谱柱前端切掉 1/2m~1m; 只有键合与交联固定相可以用溶剂冲洗
色谱柱有活性	切去一段色谱柱或者更换色谱柱	只影响活性化合物

续表

可能的原因	排除方法	注 释
共流出	改变柱温或固定相	降低柱温并检查是否有肩峰或拖尾峰
样品返冲	减少进样,使用大的衬管,降低进样口温度	减少溶剂和提高流速可改善
进样口污染物降解	清洗进样口,更换衬管,更换密封垫	只能在进样口中使用去活的衬管和玻璃毛
在 GC 进样前样品有损失	检查样品处理过程、样品制备、转移和贮存	

#### 第四节 分辨率降低

分辨率与分离度（两峰之间的分离时间差）及峰宽有关。图 14-9 是分辨率降低的示意图，表 14-9 和表 14-10 分别列出了分离不好和峰变宽的具体原因及解决的方法。

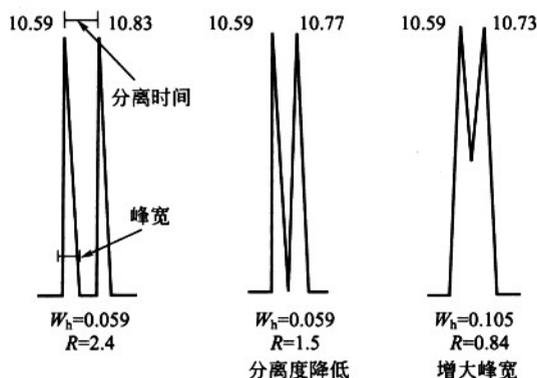


图 14-9 分辨率降低的示意图

表 14-9 分离不好解决方法

可能的原因	解决方法	注 释
柱温的改变	检查色谱柱温度	其它色谱峰也发生明显变化
柱尺寸或固定相变化	确认色谱柱的规格相同	其它色谱峰也发生明显变化
和其它峰共流出	改变柱温	降低柱温并检查是否有肩峰或拖尾峰产生
色谱柱被污染——色谱柱的选择性发生变化	修整色谱柱 用溶剂冲洗色谱柱	把色谱柱前端切掉 1/2m~1m; 只适用于键合相和交联固定相

表 14-10 峰变宽解决方法

可能的原因	解决方法	注 释
载气流速变化	检查载气流速	保留时间变化也会影响峰宽
色谱柱污染	切除色谱柱 用溶剂冲洗色谱柱	把色谱柱前端切掉 1/2m~1m, 只适用于键合相和交联固定相
进样口衬管污染	清洗或更换衬管	
进样器改变	检查进样器的设定值	通常变化的设定值为:分流比、衬管、温 度、进样量
样品浓度或溶剂 改变	改变样品浓度	浓度高时峰宽变宽
溶剂效应不佳,聚 焦不够	降低柱温,选择不同的溶剂,以便使溶 剂/样品/固定相极性得到较好的匹配; 使用保留间隙柱	只适用于不分流进样

## 第五节 保留时间不重复

保留时间的重复性是指 3 次或 5 次进同一样品,其保留时间与它们的平均值的相对偏差值。如果这一相对偏差值超过了可接受的范围,就认为保留时间不重复(图 14-10)。

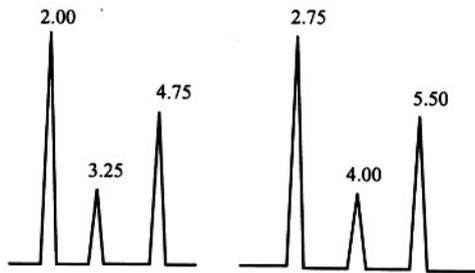


图 14-10 保留时间不重复与偏移示意图

引起保留时间不重复的最可能原因只有两个,一个是柱温不稳定;另一个是流速有变化。造成保留时间不重复的其它原因有进样技术不佳,进样量过大及柱损伤等。检测器的故障不会造成保留时间的不重复<sup>[2,3]</sup>。

排除保留时间不重复故障的步骤如下所述。

(1) 重复进样检查 为了进一步证实保留时间不重复故障,应首先检查进样的重复性。重复进样时最好由一人独立操作,这样能较好地解决进样时间的重复性问题;如果重复进样后保留时间仍然不能重复,则应转入下一步。

(2) 温控精度及程序升温重复性检查 恒温分析时应首先检查柱室温度是否稳定在原分析操作所要求的设定值上。必要时检查柱室温度的稳定性,如设定值及实际柱温与原分析条件有偏差,应以原分析条件为准;如果柱室温度在运行中有突然跳动,应进行温度控制故障检查与排除,在应用程序升温的场合下要检查程序升温过程中起始、终止柱温及升温速率与原分析条件是否一致。在检查时应注意,每次重新升温时,是否有足够的时间使起始温度保持一致,特别是起始温度很接近室温时,更应如此。程序升温的升温速率,可以通过先测定升温中始、终两点间所需时间值,然后用终温与始温之差除以该时间值而加以验证。程序升温中还有一种情况不易为操作者所发现,那就是在升温过程中温度的变化很不均匀,忽快忽慢。但总的升温速率却看不出变化。对此现象可采取记录程序升温曲线而加以比较。如无自动记录方式可用手工法逐段加以记录,程序升温结束时再逐段加以对照,即可。

(3) 载气流速检查 载气流速的改变是引起保留时间不重复的另一个重要原因。可用皂膜流量计测定柱后或检测器之后的实际流速加以证实。对于恒温分析,主要检测实测值与预定值之间的偏差,必要时重新调整设定值使流速达到预定值要求。对于程序升温,必须检查温度处于始、终两点时载气流速是否有较大的变化。如果在始、终两点间流速之差超过  $2\text{mL/s}$ (当柱内径为  $0.32\text{mm}$  时),即认为稳流特性不好,这时需进一步检查系统是否漏气,稳流阀、稳压阀工作压力是否符合要求。系统漏气不论对程序升温色谱,还是恒温色谱都是产生保留值不重复的一个不应忽略的原因。在系统漏气中进样口隔垫的漏气是经常发生的,

表 14-11 保留时间偏移的主要原因与解决方法

可能的原因	解决方法	注 释
载气流速发生变化	检查载气流速	所有峰的保留时间都以相同的方向发生相同程度的偏移
柱温发生变化	检查色谱柱温度	各个峰的保留时间偏移量各不相同
柱尺寸发生变化	确认色谱柱规格相同	
化合物浓度发生较大的改变	改变样品浓度	也可能影响相邻的峰。增加分流比,稀释样品或降低进样量,可纠正样品的超载情况
进样口或柱接头漏气	在进样口和色谱柱的连接安装处进行检漏	通常伴随有峰尺寸的改变
气路管线堵塞	清洗或更换被堵塞的管路	分流管路常会堵塞,也要检查流量控制器和电磁阀
隔垫漏气	更换隔垫	检查进样针是否有倒刺
样品溶剂不互溶	改变溶剂,使用保留间隙柱	适用于不分流进样
污染	切除色谱柱 用溶剂冲洗色谱柱	把色谱柱前端切掉 $1/2\text{m}\sim 1\text{m}$ ; 只适用于键合和交联固定相

在高温操作下频繁进样时要注意及时更换。

(4) 色谱柱检查 如果在气密性及载气流速方面均无异常, 就应怀疑是色谱柱本身出了问题, 对色谱柱进行检查。首先注意色谱峰形有否拖尾, 如拖尾则应减少进样量或稀释样品浓度, 以免色谱柱过载。如减少进样量后保留值重复性提高, 则说明原柱固定相有少量流失或充填欠佳, 此时原色谱柱还仍能使用。如果上述方法也无效, 则说明色谱柱已发生损坏, 必须更换新柱子。表 14-11 总结了保留时间不重复与偏移的主要原因与排除方法。

### 参 考 文 献

- 1 李浩春. 分析化学手册. 第二版. 第五分册. 北京: 化学工业出版社, 1999
- 2 孙传经. 气相色谱分析原理与技术. 北京: 化学工业出版社, 1993
- 3 Dean R. Guide to the Care, Maintenance and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatographic Systems. Third. revised edition Wiley-VCH Weinheim(FRG), 1999

## 第十五章 定量问题

前面几章讨论了液相色谱和气相色谱系统各部分的各种故障的现象及处理方法。这些现象可提示各种潜在的故障，而且多数情况会影响定量分析，同时在计算各个样品组分的浓度时会有误差，并能引起系统失灵<sup>[1,2]</sup>。本章简单介绍色谱系统的各种故障与定量分析之间的关系以及某些潜在的故障对定量结果所造成的误差。如果要详细了解色谱定量的知识，请参阅本丛中《色谱定性与定量》分册。

### 第一节 定量分析简介

色谱定量应包含下列步骤：

- ① 进已知浓度的标准品 ( $c_1$ 、 $c_2$  等)，标准品中包含一种/多种内标物 ( $c_{s1}$ 、 $c_{s2}$  等)；
- ② 测量标准品的峰高/峰面积 ( $A_1$ 、 $A_2$  等) 和内标物的峰高/峰面积 ( $A_{s1}$ 、 $A_{s2}$  等)；
- ③ 被测样品进样；
- ④ 测得被测样品的峰高/峰面积 ( $B_1$ 、 $B_2$  等) 和内标物的峰高/峰面积 ( $B_{s1}$ 、 $B_{s2}$  等)。

多数色谱方法中峰高或者峰面积大小和浓度成比例，校正曲线呈良好的相关并通过原点 ( $x=0$ ,  $y=0$ )，有些人为了方便，认为只要线性相关性良好并通过原点，就不必作多点的校正曲线。只要作一个标准品的点与原点相连就行（所谓单点定量法）。事实上这样会降低准确度。如果用外标法：

$$\text{组分 } x \text{ 的浓度} = \left(\frac{c}{A}\right)B = FB \quad (15-1)$$

式中  $c$ ——标准品浓度；

$A$ ——标准品峰面积（或峰高）；

$B$ ——被测样品的峰面积或峰高；

$F$ ——校正因子。

要经过多次反复试验，用不同浓度作校正曲线。相应的标准品浓度  $c_1$ ， $c_2$ ，

$c_3, \dots$  得出峰面积或峰高  $A_1, A_2, A_3, \dots$ 。然后用最小二乘法或一定的计算程序算出  $c$  与  $A$  的相关系数  $\gamma$ 。 $\gamma$  越接近 1, 精密度越高。被测量样品的峰面积或峰高  $B$ , 只要落在这个线性范围内, 就可精确地算出被测样品的浓度。

用内标法, 相同体积的同种内标物加到样品和标准品中, 某样品的浓度计算如下:

$$\text{组分 } x \text{ 的浓度} = \left(\frac{cA_s}{A}\right) \left(\frac{B}{B_s}\right) = F_s \left(\frac{B}{B_s}\right) \quad (15-2)$$

式中  $A_s/A$  和  $B/B_s$  代替了外标中的  $A$  和  $B$ 。内标法的计算可用图 15-1 和图 15-2 说明。

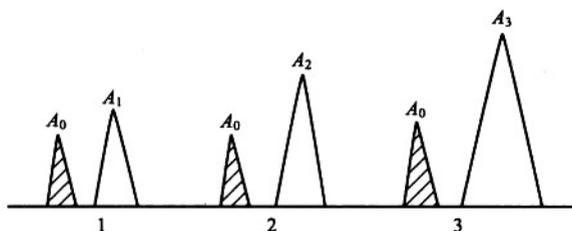


图 15-1 内标法色谱图 (示意)

$A_0$ —内标物;  $A_1, A_2, A_3$ —3 种不同浓度的样品峰

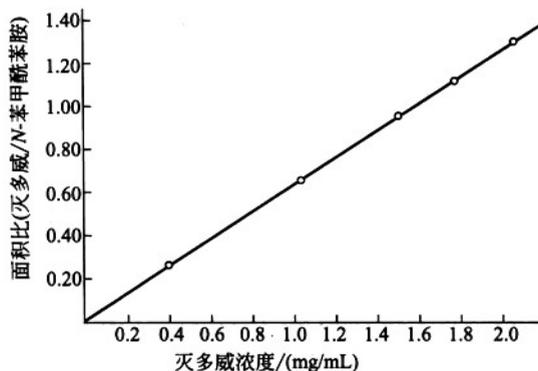


图 15-2 内标法校正线粗品中灭多威的测定

试验结果与标准品相比, 通常会产生某些偏差。按准确度和精密度可将偏差分类。用单个样品在同样的试验程序下的检验数次就可算出精密度, 以标准偏差和相对标准偏差 (RSD) 表示。

应在不同的情况下定义精密度: ①同一实验室两日内精密度; ②同一实验室日间精密度; ③实验室间的精密度 (日间)。通常由好到坏的顺序为①>②>③。需要根据不同情况确定精密度指标, 也有助于确定精密度方面存在的问题, 并顺利解决。

实际上,方法的允许误差与方法要求和样品的浓度有非常大的关联,表15-1列出测定不同浓度通常所希望的精密度。通常高浓度样品, *RSD* 不随浓度而改变,但在样品低浓度时 *RSD* 会明显增加。

表 15-1 样品浓度与方法允许的 *RSD*

样品浓度/( $\mu\text{mol/L}$ )	100	20	5	1	0.2
<i>RSD</i> /%	2	2	2.5	6	20

## 第二节 精密度问题

本节主要对于色谱分析中定量重复性差的原因与可能采取的相应措施做一些说明,具体更详细的了解可参阅本丛书的《色谱定性与定量》分册。表 15-2 列出了色谱分析过程中各种因素对精密度的影响。

表 15-2 液相色谱试验不同步骤产生的误差

试验步骤	<i>RSD</i> /%	说 明
样品处理	$\pm 0.5$	取决于操作者,稀释体积不重复
样品纯化	$\pm (3\sim 5)$	取决于操作者,柱切换法能改善
进样	$\pm 1$	完全装液法有改善
色谱分离	$\pm (0\sim 2)$	$R_s > 1.5$ ,用峰面积有改善
检测	$\pm 1$	清洗检测池,改善信噪比
数据处理和校准	0~5	用峰面积,内标法,常校正

基于上述过程分析,实验中需要考虑到各种故障产生可能性的大小,以及故障鉴别的方便性,制定故障排除方案如下。

(1) 进样技术检查 进样技术不佳是造成色谱峰不重复的最可能原因。它通常表现为峰高/峰面积忽大忽小、峰高/峰面积大小变化无规则。提高进样重复性的关键,在于始终保持进样操作各个步骤的重复性。这包括取样操作、取样到进样期间的放置时间、进针快慢及拔出注射器的早晚。通常操作人员在经过较多地进样重复性训练之后,可以达到所需的要求。

(2) 注射器检查 操作人员进样技术提高后,色谱峰灵敏度仍然无显著改观,需认真检查注射器本身是否有堵塞或泄漏现象。必要时更换一个好的注射器重新进样试验。

(3) 样品均匀性检查 制备的样品在样品瓶中混合不均匀或每次取样时注射器对样品产生沾污以及样品挥发等都会影响出峰灵敏度的重复性(不能漏过此项检查)。

定量不重复由上述三种原因引起的可能性很大,而且都和进样操作密切相

关，因此可一起进行检查，只有在上述检查后无异常时才转入以下的检查步骤。

(4) 伴随现象观察 在检查灵敏度情况的同时注意是否有下述异常现象发生，包括基线是否稳定、保留时间是否重复、峰形是否有畸变三种情况。如果出现其中一种，应先按所出现的故障进行排除，再重新进行定量重复性测试，未发现伴随异常现象时，应转入下面的检查步骤。

(5) 进样口污染及系统漏气检查 关断桥电流（对 TCD 而言）后，取下进样口隔垫，观察进样口内是否有污染或堆积物，如果有，需进行清除和清洗。清洗完毕装上隔垫后需对气路系统进行试漏：堵住检测器出口，观察转子流量计中的转子应能下降为零，否则说明气路有泄漏。在确信进样口无严重污染及气路无漏气的情况下进行（6）的检查。

(6) 特种原因检查 对有些检测器，某些原因所伴随的故障异常不太明显，易被忽略掉，因此应按照此项进行检查，以便不漏过可能发生故障的因素。

① 对于 FID，极化电压较低及氢气流量不稳，有可能导致灵敏度变化而无其它明显异常。对此可首先测试极化电压大小，以确定极化电压是否太低，过低的极化电压以及无极化电压都属于故障，正常时极化电压为 150V~300V。如极化电压正常，则应转入放大器的灵敏挡，观察氢焰基电流的变动情况，在氢气流量不稳定时基流能呈现出摆动和漂移现象。

② 对于 FPD，检测室积水影响石英窗或滤光片的透光率，也可能造成灵敏度变化，此时可用升高检测器温度的方法加以消除。

③ 对于任何检测器，样品中的某些组分在检测器中逐渐冷凝并累积，将会影响下一次进样后的灵敏度，情况严重时还会造成气路堵塞。通常的解决方法也是适当提高检测器的温度，以减少或消除样品室的冷凝现象。

色谱方法的重复性出问题，可能是在建立方法的时候，也可能是在后来的常规应用中，这两类问题稍有不同。对于前者，用要求的试验精密度与方法结果的精密度相比较，如要求的重复性 $\pm 1\%$ ，而试验结果的精密度为 $\pm 2\%$ ，就要改善试验方法，减少误差，达到 $\pm 1\%$ 的指标值。对于已经成功地建立了常规检测，试验方法已能满足精密度的要求（ $\pm 1\%$ ）。但在有的时候，因某些不明的原因可能使精密度达 $\pm 3\%$ ，此时要检查方法发生了什么变化，特别在建立方法时如出现过影响精密度的故障（查原始记录），应得到重视。解决了误差的问题，才能继续进行试验<sup>[3,4]</sup>。

## 一、样品预处理

样品预处理应包括进样前的一切操作。除了称重、溶解、稀释等步骤外，样品需要：①过滤；②萃取；③衍生化（柱前衍生）；④液相色谱（低压柱层析）。这些操作步骤可以是手工进行或实行自动化操作。样品预处理的目的是除去干扰物，增加检测灵敏度（富集），保护色谱柱等。样品预处理同时也是为了避免色

谱分离故障。样品预处理的同时也会带来一些问题，如样品损失、样品被污染、衍生化反应不完全或多种反应物生成等。衍生反应常会影响试验的精密度，或者在整个样品预处理过程中带来误差。

如能按照程序谨慎操作，用 A 级容量瓶和移液管，样品的处理过程精密度可达  $\pm 1.0\%$  以下。高浓度组分在无特殊问题的情况下一般总能达到  $\pm 1\%$ ；这一步误差大多可能是总体误差引起的，可考虑下面的建议：①用校正过的玻璃器皿，或用重量法校正过的容器；②称量样品时用足够量的样品，减少称量误差；③检查每位操作者技术的精度和误差。

样品纯化这一步十分重要。样品中有干扰组分会直接影响分析的精密度，而且有些组分会损坏色谱柱。典型的手工操作是溶剂萃取或固相柱提取。试验结果完全取决于操作者和纯化方法，其精密度在  $\pm(3\% \sim 5\%)$  之间。样品纯化方法及注意事项如下：①纯化样品的过程尽量少用蒸发致干的步骤（在色谱分析中这一步又是不可少的）；②尽量避免样品衍生化；③注意提高每一步骤的回收率，应大于  $95\%$ ；④使用内标。

萃取的目的是从共溶的样品介质中分离出被分析的组分，或者减少损坏柱的物质，如蛋白质等和干扰物。最常用的萃取方法有液-液萃取、固-液萃取法、固相萃取法。固相萃取法可能是三者中最快、最容易的萃取方法。什么时候选择萃取要由样品决定：①基质——即分析物中所含的物质，容易污染 HPLC 系统时，或其微粒易于堵塞系统时，需要进行萃取；②被分析物含量低需要浓缩时。样品萃取是关键的一步，要从大量的干扰物中萃取出微量组分难度极大，在建立方法时，用功能齐全的液相色谱系统测定某标准品通常并无多大困难，一旦转到测定含有某标准品的生物样品可能要花费几倍的功夫和精力，甚至会出现前面建立的测定标准品的方法完全不适用。一般采用有机溶剂萃取，要求萃取用的溶剂毒性低、挥发性好、杂质少、对待测样品有良好的溶解度且又与水不相混溶。常用的有乙醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿、苯或者两种以上的混合溶剂。萃取后一般可直接进样，有时需要浓缩或吹干浓缩，再用定体积的液体或流动相溶解进样。这样增加了样品浓度，提高了灵敏度，同时避免了溶剂峰对样品峰的干扰。

在萃取时要考虑样品分子的溶解能力。除了脂溶性和水溶性组分外，还有用脂溶性的组分校制成水溶性的盐。表 15-3 列出了根据被测组分性质选取的萃取方式。

有些样品经预处理后还不能做进样分析，需进一步衍生化处理，使一些无紫外吸收或无荧光的组分，经过衍生化后能用紫外和荧光检测器检测，这样既提高了灵敏度，又改善了分离度（质量变化）。运用衍生技术，可提高组分检测的灵敏度、检测的特异性及分离度。利用被分析物的功能基团与衍生试剂反应，生成具有紫外吸收或有荧光的衍生物。仅有极少量天然物质具有荧光，但生物活性物质多含有  $\begin{matrix} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{matrix}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{NH}$ 、 $-\text{OH}$  等基团，可用相应的荧光试剂进行

衍生化处理，这些荧光试剂包括带有  $\text{C}=\text{O}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{NH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{CH}_2\text{X}$  等取代基的芳香族化合物。

表 15-3 被测组分的萃取方法

样品性质		萃取方法
水溶性样品	酸性组分及其生成的盐	有机溶剂萃取杂质后调成酸性，再加有机溶剂萃取或进样，或在 $\text{N}_2$ 流下吹干，用适当的溶剂溶解后进样
	碱性组分及其生成的盐	有机溶剂萃取杂质后调成碱性，再加有机溶剂萃取或进样，或在 $\text{N}_2$ 流下吹干，用适当的溶剂溶解后进样
	中性组分	有机溶剂萃取杂质后，直接用反相色谱法分析
脂溶性组分		有机溶剂萃取或进样，或在 $\text{N}_2$ 流下吹干，用适当的溶剂溶解后进样

用于液相色谱分析的样品溶液必须均匀而无颗粒，有颗粒会损坏进样器并阻塞柱头。处理好的样品在准备上柱前应对准光线摇动，检查样品溶液中是否有颗粒。只要看到颗粒、混浊或乳化，就应过滤，过滤膜要能截留住  $0.45\mu\text{m}$  以上的颗粒。样品过滤的过程中可能引起：样品被污染，因过滤吸附降低样品组分的含量，样品溶剂挥发引起误差。

液-固提法也叫固相提取法，是预处理生物样品的一种理想的方法。若材料选择适当，可以使被测样品很“干净”而回收率又很高，还能浓缩洗脱液，以弥补仪器灵敏度的不足。常用的有各种键合相和硅胶，其它有氧化铝、高分子微粒以及活性炭等。这些小柱仅能一次性使用，如反活化再用，则精密度差。同时，由于这些小柱容量大，对痕量组分的回收率较低。

用低压柱可将被测样品分成几个馏分以及一些无关紧要的样品组分。低压柱除了填充键合相填料外，还填充硅胶、氧化铝、离子交换树脂和亲和色谱填料等。用吸了样品溶液的注射器接到小柱，按下列顺序操作：①用水或有机溶剂活化小柱（水溶性组分用有机溶剂活化小柱，脂溶性组分用水活化小柱）；②通过样品；③洗去干扰物；④从柱上洗脱被测物。而后将洗脱液蒸发至干，用流动相溶解进样，或者直接进样。这种方法往往精密度差，回收率低。这是因为最后洗脱溶剂体积不准，蒸发损失等原因所致。实际操作中应注意：减少纯化步骤（如蒸发-干燥这一步）。用内标；控制冲洗溶剂的体积。

选用小柱和洗脱溶剂的方法如下：

(1) 被测物是酸性或碱性可用离子交换小柱，用适当的 pH 值和盐浓度的水溶液从小柱上洗下被测物，洗脱液可直接进样作反相分析。有时在进样前调节一下洗脱液的 pH 值。

(2) 用反相小柱处理酸性或碱性组分时，控制一定 pH 值的水溶液，从小柱上洗去干扰物，被测物留在小柱上，然后换一种 pH 值的水溶液洗脱被测物。一

般规则是低 pH 值的有利于洗脱碱性物，高 pH 值有利于洗脱酸性物。

(3) 用最小体积的有机溶剂（甲醇或乙腈）洗脱反相柱上的被测组分，用水以 10:1 的比例稀释洗脱液，尽可能进大体积样品，甚至可达 500 $\mu$ L 以上，这样就可减少蒸发至干这一步。

用自动化方法处理样品有利有弊。自动化处理样品可以提高效率，但结构复杂，有时精密度差。样品预处理过程的主要故障与解决办法见表 15-4。

表 15-4 样品预处理过程的主要故障与解决办法

问题原因	症 状	解 决 办 法
样品过滤器带来污染	色谱图中出现无关的峰	(1) 过滤器浸泡在样品溶剂并进样试验 (2) 改变过滤器类型 (3) 采用交替清洗技术
样品过滤器表面吸附下降	一些或全部化合物的峰比预期的小,尤其是低浓度的样品	(1) 改变过滤器类型 (2) 严格按相同条件处理所有样品 (3) 采用交替清洗技术
萃取不完全	回收率太低或差	(1) 增加萃取时间,使用热溶剂 (2) 修改清洗方法
样品带来的干扰与污染	色谱峰变宽,柱寿命缩短	改进清洗方法
回收不完全	精度差	(1) 改进或替换衍生化、分离、萃取或其它条件 (2) 用自动化预处理装置,提高精度

## 二、进样

进样是高精密度的操作。如操作者的基础操作水平高，精密度可控制在  $\pm 0.2\%$  以下，可以采用如下方法：其一，在手动进样中进样体积至少是定量环体积的 3 倍；其二，用内标法，液相色谱分离对试验的精密度应无影响，分离程序设计得好，误差可减至最小。设计分离程序应注意 3 点：①所有峰间的分离度好于 1.5；②液相控制流动相组成、温度等，气相色谱注意进样口污染与手动进样重复性技术，用峰面积比峰高更精确；③空气泡、污染的单向阀、磨损的密封垫圈等，都能造成流量不重复，气相色谱隔垫与衬管等污染会影响到精密度。

## 三、检测器与数据处理

检测器的信噪比合适时，检测方法不应影响试验的精密度。但是检测池污染、参数未设定好、校正因子不当等，均能降低试验精密度。

数据处理和校正，在精密度方面也有不同的效应。最普通的故障是选择了不合适的数据处理参数、斜率、漂移、阈、窗等。如果所有的峰都能分开而基线又

不漂移，一般不会有什问题。校正方法主要在实验室间存在差异，实验室内的误差可能是不稳定的标准品造成的，如贮藏标准品的条件变化或不合适，都会给计算结果带来误差。

选择峰面积还是峰高，用内标还是外标无明确界限，预先难以想到何种方法的RSD低，最好在建立方法时多试验几种方法。用内标法精密度高，但选用的内标物不合适反而会带来危害。对内标物的要求是：①内标物的结构或理化性质应与被分析组分相似或相近；②内标物的保留值应稍大于或小于被分析物的保留，不能相差过大；③内标物的峰要与所有被分析物的峰有良好的分离度( $R_s > 1.5$ )，不能让内标物成了干扰物；④无结构相似的内标物，可用保留相近的内标物。常规检测时注意改善试验的精密度。

#### 四、浓度的误差

在建立方法时经过努力，使噪声的水平降至最低，所有浓度的样品可达到相同的精密度。这仅是一种理想的状态，因有其它各种因素的影响，在较低或者高浓度时，精密度也是不能接受的<sup>[5~7]</sup>。

低浓度的检测可能因为信噪比太小而不精确，可以采取的措施：加大样品的上柱量；增加检测器对被测样品的灵敏度；减少基线噪声；减少柱体积或 $d_p$ 。进大体积样品或高浓度样品使组分出大峰；降低试验的RSD值。检测器的灵敏度常用不同检测波长以求得改善，或用不同类型的检测器代替。如用荧光检测器代替紫外检测器。早洗脱的峰( $k' < 1$ )噪声大，可改变色谱条件推迟出峰时间。更有效的是清除样品中的杂质，防止很后出的峰与下一次样品交盖，这常常被忽视，但这往往是主要的原因。在检测器灵敏度足够的条件下，缩短柱长、柱径和填料粒径有利于提高检测的信噪比。

高浓度引起定量不重复的原因是多方面的，一般可以归结为两大类：一类为单纯性灵敏度变化型，即除了定量重复性不合格外，其它指标未发现异常；另一类为伴随性灵敏度变化型，即除灵敏度变化之外，还伴随有其它异常现象出现，包括基线不稳定性、峰保留时间变化及产生峰形畸变等异常现象。属于单纯性灵敏度变化型故障的原因主要是：进样技术不佳、注射器有堵塞、样品制备不均匀、进样口污染物堆积以及气路存在漏气现象等。属于第二类型故障的原因主要是：载气流量变化、检测器沾污、过载、柱温变化以及检测器操作条件（如氢气、极化电压、脉冲电压等）发生变化。

假定已建立好了方法，而且日间的精密度是可接受的，常规分析也能获得类似的精密度，如果某一天出现了不可接受的精密度，而分离条件未变，结果相当差，应参照表15-2，以常规分析为出发点反溯到方法的建立。

(1) 样品处理 是否没有校正/错误校正各种容量瓶、移液管和天平。溶剂配方是否正确。

(2) 样品纯化 用固相柱萃取、纯化小柱的步骤是否有误, 或用了不同的批号小柱使萃取率改变, 或萃取的缓冲液配比不当。

(3) 进样 有无每次进样的体积控制不好。应该每次用大致相同的体积( $\pm 5\%$ )或过量的体积。

(4) 基线与信噪比 分离流动相污染后抬高了基线或减少了信噪比, 两峰的分辨率可能下降。试验条件的变化, 如柱退化, 不合格的流动相, 室温改变等均能引起保留变化, 引起一个峰或更多的峰不能被鉴别。

(5) 检测 设定的检测器参数差, 如峰宽、时间常数、波长等是否适当, 流通池脏。

(6) 数据处理和校正 是否选用了不正确的数据系统参数或标准样品已降解。

### 第三节 准确度问题

准确度方面的问题超出了色谱的分离, 常与样品介质相联系, 或与标准样品的纯度相关, 有时涉及到对样品预处理的化学知识不甚了解。液相色谱系统在这方面的偏差经常与下列现象之一有关: ①校正曲线不通过原点; ②介质效应; ③杂质干扰。

#### 一、校正曲线不通过原点

许多实验室认为, 校正曲线不一定要通过原点, 就像图 15-3(a)、(b) 那样。这些实验室都受了旧的气相色谱分析方法的影响, 认为校正曲线可不通过原点, 但在液相色谱中校正线应该通过原点。这个基本点确定了, 才有绝对的把握证实有无问题。

如果色谱条件稳定, 所有的校正曲线初看起来都通过原点 [图 15-3(c) 中虚线], 但经过最小二乘法线性回归做线性检查, 常在  $y$  轴上出现负的小截距 [图 15-3(c) 中的实线]。这是人为因素造成的, 这种截距是真实的, 是在试

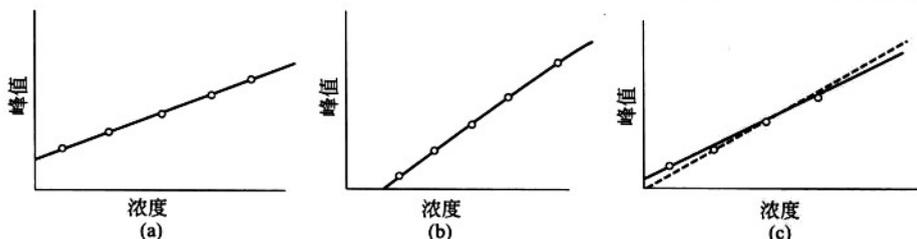


图 15-3 不通过原点的校正曲线

验误差内非零的常数（截距）。

这种非零的截距有时与介质效应相关。截距绝对值的大小取决于所进标准品（样品）的条件（纯化的程度、溶剂种类等），截距预示了方法精密度的程度。最基本的要求是做好质量控制，无论是制作校正线的标准品，还是真正的样品，都要用相同的介质配制。

## 二、介质效应

样品介质效应，是样品溶液减去所有的被分析物后剩下的那一部分的影响。最好剩下的溶液与流动相完全相同，而实际情况不是如此。有时样品中含有固体，这些固体有选择性地吸附样品的组分，或者生物样品中的生化物质与样品介质中的组分发生作用。尽管用了流动相溶解样品，但最后都不能等同，普遍降低回收率，而且随浓度的变化而改变。回收率不稳定，对于低浓度的样品更不精确。要力争在纯化样品的过程中每一步都达到高回收率，因为即使是被认可的低回收率，迟早也总会出现麻烦。

为验证介质效应可用标准加入法。加已知量的被测物到已处理好的样品中，其浓度的增加是可以预测的，如有出入应考虑到介质效应。

图 15-4 比较了气相色谱-质谱检测 6 种混合物时溶剂的不同，导致的色谱峰基线与信噪比的差异<sup>[8]</sup>。

## 三、干扰

不管出了多少分离得很好的峰，单从被分析物的保留时间还不能判断是否是纯组分。一种或数种组分的保留时间与被分析物的保留时间相同，是完全可能的，在建立方法时，应检查有关的干扰物与被测物的峰重叠情况（用变换色谱条件的方法）。例如测定数种相关的同系物组分和体内药物时，应考虑同系物以及合并用药时其它药物的干扰等，在测定目标物的同时，又测定了其它可能合用的药物。

可用双波长检查干扰峰的影响。一种波长对一定的样品组分吸收比，代表了该组分的特性。有时在一种波长下往往分辨不出，可用两种波长对样品和标准品比较，两种波长的比率相同表示没有干扰存在。如有二极管阵列检测器，可同时对色谱峰的不同点扫描，检查点与点间的光谱相关性。在色谱图上，有时也能根据峰宽度、峰形状以及保留时间等看出有干扰的问题。如果峰明显地加宽，或出分叉峰，或保留时间轻微漂移，可能有干扰峰存在<sup>[9]</sup>。

## 四、采集数据的频率

色谱数据采集频率也是非常主要的参数。频率太低，可能导致色谱峰变形与失真；频率太高，计算机会贮存过量的没有必要的数据。采集速率主要影响峰宽、柱效、分离度与峰容量。图 15-5 比较了不同采样频率对快速分析峰的影响。

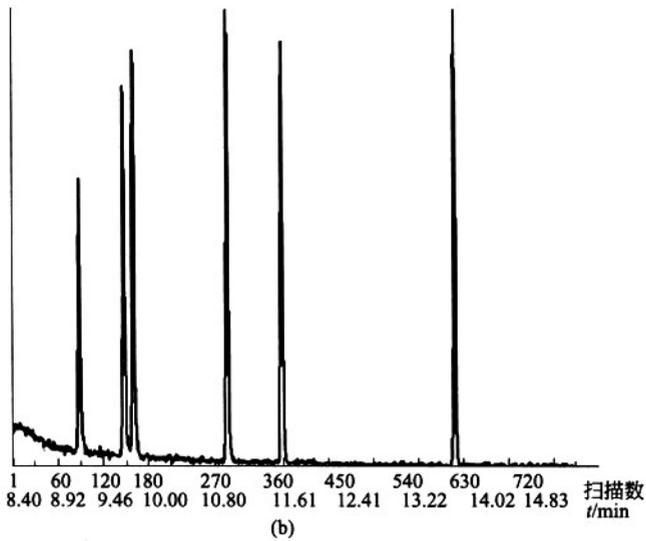
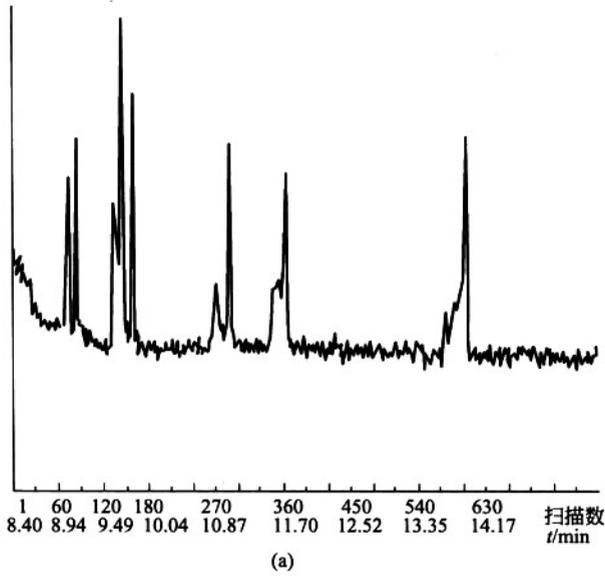


图 15-4 溶剂-色谱柱兼容性谱图

(a) 甲醇; (b) 二氯甲烷

色谱柱: 30m×250μm×0.25μm, DB 5ms

载气: 1mL/min He 气, 恒流

程序升温: 40℃, 2min, 1.5℃/min 到 175℃, 保持 20min

进样: 不分流, 250℃

检测器: QMass 9000,  $m/z$  40~300 总离子流谱图

样品: 1μL; 各 2mg/L 的 1-辛醇、*n*-十一烷、2,6-二甲基苯酚、2,6-二甲基苯胺、*n*-十二烷和 *n*-十三烷的混合物

表 15-5 比较了采用 80Hz 采样频率时与 10Hz 和 20Hz 时 4 个参数的变化情况。

表 15-5 数据采集频率 80Hz 相对 20Hz 和 10Hz 色谱基本参数

指标	20Hz	10Hz
峰宽	-30%	-55%
分离度	+30%	+90%
峰容量	+40%	+120%
柱效	+70%	+260%

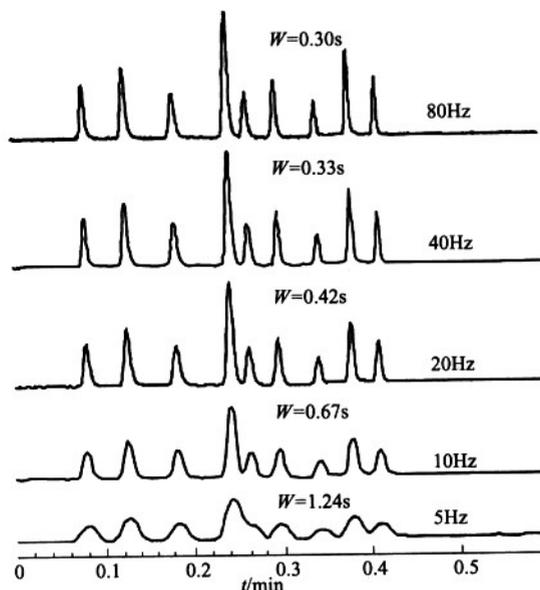


图 15-5 采样频率对色谱峰宽与分离情况的影响

W—峰宽

色谱柱: Zorbax SB-C18, 4.6mm×30mm, 1.8μm

梯度: 50%~100% ACN 0.3min

温度: 50℃

流速: 5mL/min

流通池体积: 5μL; 245nm

实际分析中,并不是采样频率越高越好,因为采样频率高,对于计算机的配置要求相应提高。理论上,一个色谱峰能够有 15 个以上的数据点,可满足色谱分析的要求,作为最优采样率。也可使用公式(15-3) 确定最优采样率:

$$SR = 15/W \quad (15-3)$$

式中 SR——采样率, Hz (或点/s);

15——从峰开始到峰结束的数据点数;

W——要检测的最窄峰的测量宽度, s

例如,测量峰宽为 3s 时,采样率为 5,可确保数据收集能获得 15 个原始数

据点 ( $15/3=5$ )。

对于多组分的分离分析, 因为前面的色谱峰比较窄而后面的比较宽, 如果整个感兴趣的最窄峰的数据点数少于 15, 需指定更高的采样率。更高的采样率会产生更多的数据点, 并需要更大的磁盘空间来存储数据。

#### 第四节 误差问题的解决

确定与解决分析方法的精密度与准确度可以通过以下指标来监测: ①校正因子  $F$ ; ②内标峰高或面积; ③质量控制; ④重复进样试验。

如果察觉到精密度有问题, 可以找出问题的所在。

试验结果的漂移可由下列原因引起: ①配好的样品等待进样时, 标准品或单个样品与被分析物发生了反应或减少了; ②等待进样时样品蒸发; ③分离条件的变化, 诸如温度变化、流动相的改变、柱慢慢变坏; ④使用的内标不稳定, 特别在标准品和样品中同时加入内标; ⑤改变了液相色谱系统的操作参数, 如流速和检测器灵敏等。

样品反应或蒸发引起的漂移不常见。为验证, 可配制一份大体积的样品, 然后分成几小份, 任取一份盖上盖并存放于冰箱内, 留下的 5 份~10 份样品按正常操作连续进样。计算好最后一个样品进样前后时间, 取出冰箱中的样品, 正好冰箱中样品回升到室温立即进样。如果未放冰箱的样品试验结果漂移, 而被冰冻的样品值接近于前面的第一个样品的值, 说明样品发生反应或蒸发了。对此应经常进标准样品校正, 或者用  $F$  值对时间做校正图, 用校正过的  $F$  计算试验结果, 或用密封的样品瓶冷藏。

当改变分离条件时, 保留时间和塔板数都随之改变, 而  $t_R$  和  $N$  又与  $F$  相关。严格控制分离条件和用峰面积定量, 可提高试验结果的精密度。

也可用检查样品是否反应的方法检查内标是否稳定, 即在比较样品中被测组分时, 检查内标的峰是否逐渐减小。

改变系统的操作参数的情况是很少的, 除非是当天设定错误的参数, 或者有人随意按动仪器上的旋钮。当然, 在试验过程中换了泵或检测器又是另外一种情况。

突然改变精密度 改变方法, 一个新方法的开始, 一个新的操作者都有可能改变精密度。如果在试验过程中突然改变了精密度, 建议按下列程序检查产生误差的原因。

① 将处理和纯化样品合并成一步, 制备足够进 5 次~10 次样的大体积样品, 反复进样, 如果能得到良好的  $RSD$ , 精密度突然改变的原因可能就是样品纯化这一步引起的 (样品处理与纯化);

- ② 将自动进样改为手动进样，或改为旁路自动进样；
- ③ 与标准色谱图相对照；
- ④ 用同类检测器代替；
- ⑤ 手工测量峰值并计算；
- ⑥ 以个别峰（初始）校准为基础，校准所有的峰。

在样品处理和纯化这一步也可制备 5 个~10 个单个样品，然后汇集起来，再将样品分 5 份~10 份进样。如果精密度提高，说明样品的处理和纯化可能有问题。接着可进一步试验纯化操作，以确定问题的所在。

进样的不重复性主要存在于外标法中，正常情况  $RSD < 1\%$ 。自动进样精密度差时可用手动进样数次或改为旁路自动进样。如提高了精密度要重新核准自动进样器或加内标。如果手动进样的精密度仍然差，应怀疑进样器渗漏，改用大体积进样可以改善。

液相色谱分离引起的误差可与标准色谱图对照鉴别。有时可能是样品本身发生了变化，有杂质的干扰。处理时应注意下面的差异：①基线的噪声和漂移；②峰间的分辨率；③峰形（拖尾、加宽等）。

检测器很少干扰试验的精密度，但也有例外，检测器之间的差异肯定存在。同一个检测器有时也可能在不良的状态下工作。长期工作的检测器因灵敏度下降引起的误差可由标准品和样品之间抵消。但是如果信噪比下降到一定的程度，会引起方法的严重误差。如果  $F$  值日间变化高于 20%，表明检测器有问题，不能继续使用。

数据处理和校正问题前已述及，不再重复。要注意选好数据系统的正确参数，可用手工测量对照。进标准品校正能够比较好地找到问题的来源。

## 第五节 色谱方法建立与验证

如果没有明确分析目标，很好地研究分析过程。色谱方法是不能轻易用于复杂的、或者是大批量样品分析的。对方法的研究、评价、后续适应性验证，应充分证明满足目标，包括样品制备、分离与数据处理过程。实验设计是一个非常复杂的过程，因此，一定要充分重视方法建立的过程<sup>[4,10,11]</sup>。

### 一、系统适应性

色谱法的准确度和精密度应在建立方法时测定，模拟样品（与被测样品有相同的样品介质）必须按配方配制，其含有的浓度应在方法所规定的范围内。如要求被测组分  $x$  的浓度  $1\text{mmol/L} \sim 100\text{mmol/L}$ ，可以确定配制标准品的浓度为  $1\text{mmol/L}$ 、 $5\text{mmol/L}$ 、 $20\text{mmol/L}$ 、 $50\text{mmol/L}$ 、 $100\text{mmol/L}$ 。在连续几天内重

复进每一个样品（如有条件用两套或更多色谱系统和更多的操作人员，可以计算批内误差和批间误差），平均每个样品的结果计算标准偏差，就得出了方法的精密度（日内和日间）。试验值和已知浓度间的差异应在建立方法时解决。当方法建成后以常规方式运行时，也应了解原先测定的准确度和精密度有什么变化，可通过检查：①校正因子  $F(F_s)$  的重现性；②样品以及内标值；③每天质量控制数据；④线性检查。

## 二、校正因子的重现性

在一天内分析一批样品时，通常要多次测定  $F$  值。测定的次数是由  $F$  漂移趋向所决定的。这在建立方法的时候就应确定下来。要获得稳定的  $F$  平均值，需经过一定次数的校正。最理想的是  $F$  值不漂移，开始所定的准确度（标准偏差）可用于全天的精密度试验。要与被测样品一样配制标准品，每次校正都必须用贮备液重新精确配制。

## 三、样品数据

因为不知道所测样品的“真实”浓度，故样品分析的浓度通常不能提供更多的准确性和精密性的信息，但可以从峰高或峰面积值方面了解被测物的浓度在某种范围内，可将所测的样品重复进样，最后取得平均结果。这种重复进样实际上就是色谱法的精密度的附带检查，每次分析的样品都是单独配制的，即用全程序配制样品，而不是简单地将一个样品溶液重复进样。测定结果不精确与样品制备过程相关，而与色谱分析本身无多大联系。如要试验色谱本身有什么问题或精密度波动，可以用一个样品重复进样几次，计算平均值。

用内标法测定，应在分析前将内标物加入样品中（如预处理前、稀释前等），专门计算内标的平均值和标准偏差，利用这个结果可以反推整个试验的精密度。内标也旁证了单个样品结果的可靠性。如在色谱图中某个样品中的内标峰比其它样品中的内标峰过大或过小，这个样品应重新分析。

## 四、每日质量控制

质量控制样品是人为配制的含有已知量被测物的样品，是在大批量配制样品时一批配制的。在被分析物的浓度有效范围内，常用 3 种水平浓度进行质量控制，低的、中等的和高的质量控制样品与每批样品一起进样，并用与标准样品相同的介质配制，用相同的色谱法条件分析。

用质量控制样品的测定结果计算准确度和精密度，每次质量控制的值应在被测物已知浓度的  $3\delta$  范围内。如超出此范围，必须在解决了试验方法的某些问题后再做质量控制。为保证后来的样品都能得到可信的值，在方法经初始校正之后，应立即做质量控制。质量控制的平均值也可作为方法的日间或批间的精密度

附加数据。

通过线性检查可确定校正曲线的非线性部位，使结果更接近实际水平。

### 参 考 文 献

- 1 邹汉法, 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1998
- 2 袁倚盛. HPLC 系统故障排除. 南京: 南京大学出版社, 1998
- 3 李彤, 张庆合, 张维冰. 高效液相色谱仪器系统. 北京: 化学工业出版社, 2005
- 4 Snyder L R., Kirkland J J, Glajch J L. 实用高效液相色谱的建立. 第二版. 张玉奎, 王杰, 张维冰译. 北京: 华文出版社, 2001
- 5 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典. 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005
- 6 中国样品生物制品检定所编. 中国药品检验标准操作规范. 北京: 中国医药科技出版社, 2005
- 7 Center for Drug Evaluation and Research(CDER), Reviewer Guidance Validation of Chromatographic Methods. 1994-615-023, 1302/02757, U. S. Government Printing Office, Washington, DC, Nov. 1994
- 8 Hinshaw John V. LC GC, 2005, (3): 1
- 9 Dolan John W Lloydan R Snyder. Troubleshooting LC System. Chifton, New Jersey. The Human Press Inc, 1989
- 10 Chan Chung Chow, Herman Lam Y C Lee, Zhang Xue ming. Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification. A John Wiley & Sons, Inc. Publication, 2004
- 11 Guideline for Submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation. U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Rockville, MD, Feb. 1987

# 附 录

## I 气相色谱仪检定规程 (JJG 700—1999)

本规程适用于新制造、使用中和修理后的以热导 (TCD)、火焰离子化 (FID)、火焰光度 (FPD)、电子俘获 (ECD)、氮磷 (NPD) 为检测器的实验室通用气相色谱仪的检定。氦离子化、氩离子化检测器可参照火焰离子化检测器的检定条件进行测试。

### 1 概述

气相色谱仪 (以下简称仪器) 是利用试样中各组分, 在色谱柱中的气相和固定相间的分配及吸附系数不同, 由载气把气体试样或汽化后的试样带入色谱柱中进行分离, 并通过检测器进行检测的仪器。根据各组分的保留时间和响应值进行定性、定量分析。

仪器由气路系统、进样系统、色谱柱、电气系统、检测系统、记录器或数据处理系统组成。

### 2 技术要求

2.1 新制造仪器的柱箱温度稳定性、程序升温重复性、基线噪声、基线漂移、灵敏度或检测限的检定应符合其说明书的要求。

载气流速的稳定性、定量重复性、衰减器换挡误差项目的检定, 应符合本规程表 1 中的技术指标。

2.2 使用中和修理后仪器的技术指标, 应符合本规程表 1 中的技术指标。

### 3 检定条件

3.1 检定环境和仪器安装要求

3.1.1 检定环境

3.1.1.1 环境温度:  $5^{\circ}\text{C} \sim 35^{\circ}\text{C}$ 。

3.1.1.2 环境相对湿度:  $20\% \sim 85\%$ 。

3.1.1.3 室内不得存放与实验无关的易燃、易爆和强腐蚀性的物质, 无强烈的机械振动和电磁干扰。

3.1.2 仪器安装要求

表 1 气相色谱仪的主要技术指标

序号	技术指标 检测器名称 检定项目	TCD	FID	FPD	NPD	ECD
		1	载气流速稳定性(10min)	1%	—	—
2	柱箱温度稳定性(10min)	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
3	程序升温重复性	2%	2%	2%	2%	2%
4	基线噪声	$\leq 0.1\text{mV}$	$\leq 1 \times 10^{-12}\text{A}$	$\leq 5 \times 10^{-12}\text{A}$	$\leq 1 \times 10^{-12}\text{A}$	$\leq 0.2\text{mV}$
5	基线漂移(30min)	$\leq 0.2\text{mV}$	$\leq 1 \times 10^{-11}\text{A}$	$\leq 1 \times 10^{-10}\text{A}$	$\leq 5 \times 10^{-12}\text{A}$	$\leq 0.5\text{mV}$
6	灵敏度	$\geq 800\text{mV} \cdot \text{mL}/\text{mg}$	—	—	—	—
7	检测限	—	$\leq 5 \times 10^{-10}\text{g/s}$	$\leq 5 \times 10^{-10}\text{g/s(硫)}$ $\leq 1 \times 10^{-10}\text{g/s(磷)}$	$\leq 5 \times 10^{-12}\text{g/s(氮)}$ $\leq 1 \times 10^{-11}\text{g/s(磷)}$	$\leq 5 \times 10^{-12}\text{g/mL}$
8	定量重复性	3%	3%	3%	3%	3%
9	衰减器误差	1%	1%	1%	1%	1%

3.1.2.1 仪器应平稳而牢固地安置在工作台上，电缆线的接插件应紧密配合，接地良好。

3.1.2.2 气体管路应使用不锈钢管、铜管、聚四氟乙烯管、尼龙管，禁止使用一般的橡皮管。

### 3.2 检定设备

3.2.1 秒表：分度值 $\leq 0.01\text{s}$ 。

3.2.2 注射器：满量程  $10\mu\text{L}$ 。需校准，校准方法见附录 A。

3.2.3 空盒气压表：测量范围  $800\text{hPa} \sim 1060\text{hPa}$ ，测量不确定度 $\leq 2.0\text{hPa}$ 。

3.2.4 流量计：测量不确定度 $\leq 1\%$ 。

3.2.5 铂电阻温度计：(Pt100) 准确度 $\leq 0.3^\circ\text{C}$ 。

3.2.6 数字多用表：电压测量不确定度  $5\mu\text{V}$ ，电阻测量不确定度  $0.04\Omega$ (电流  $1\text{mA}$ )，或色谱仪检定专用测量仪。

### 3.3 标准物质

3.3.1 苯-甲苯溶液；

3.3.2 正十六烷-异辛烷溶液；

3.3.3 甲基对硫磷-无水乙醇溶液；

3.3.4 丙体六六六-异辛烷溶液；

3.3.5 偶氮苯-马拉硫磷-异辛烷溶液；

3.3.6 氮(氮、氢)中甲烷标准气体。

## 4 检定项目和检定方法

### 4.1 一般检查

4.1.1 仪器应有下列标志：仪器名称、型号、制造厂名、出厂日期和出厂编号，国内制造的仪器应标注制造计量器具许可证标志。

4.1.2 在正常操作条件下，用试漏液检查气源至仪器所有气体通过的接头，应无泄漏。

4.1.3 仪器的各调节旋钮、按键、开关、指示灯工作正常。

### 4.2 载气流速稳定性检定

选择适当的载气流速，待稳定后，用流量计测量，连续测量 6 次，其平均值的相对标准偏差不大于 1%。

### 4.3 温度检定

#### 4.3.1 柱箱温度稳定性检定

把铂电阻温度计的连线连接到数字多用表（或色谱仪检定专用测量仪）上，然后把温度计的探头固定在柱箱中部，设定柱箱温度为 70℃。加热升温，待温度稳定后，观察 10min，每变化一个数记录一次，求出数字多用表最大值与最小值所对应的温度差值。其差值与 10min 内温度测量的算术平均值的比值，即为柱箱温度稳定性。

#### 4.3.2 程序升温重复性检定

按 4.3.1 的检定条件和检定方法进行程序升温重复性检定。选定初温 50℃，终温 200℃。升温速率 10℃/min 左右。待初温稳定后，开始程序升温，每分钟记录数据一次，直至终温稳定。此实验重复 2 次~3 次，求出相应点的最大相对偏差，其值应 ≤ 2%。结果按式(1) 计算。

$$\text{相对偏差} = \frac{t_{\max} - t_{\min}}{\bar{t}} \times 100\% \quad (1)$$

式中  $t_{\max}$ ——相应点的最大温度，℃；

$t_{\min}$ ——相应点的最小温度，℃；

$\bar{t}$ ——相应点的平均温度，℃。

### 4.4 衰减器换挡误差检定

在各检测器性能检定的条件下，检查与检测器相应的衰减器的误差。待仪器稳定后，把仪器的信号输出端连接到数字多用表（或色谱仪检定专用测量仪）上，在衰减为 1 时，测得一个电压值，再把衰减置于 2, 4, 8……直至实际使用的最大挡，测量其电压，相邻两挡的误差应小于 1%。

### 4.5 TCD 性能检定

#### 4.5.1 检定条件见表 2。

#### 4.5.2 基线噪声和基线漂移检定

按表 2 的检定条件，选择灵敏挡，设定桥流或热丝温度，待基线稳定后，调

表 2 各检测器性能检定条件一览表

检测器	TCD	FID	FPD	ECD	NPD
检定条件					
色谱柱	液体检定 填充柱:5%OV-101,80目~100目白色硅胶化载体(或其它能分离的固定液和载体),长1m 毛细柱:0.53mm或0.32mm口径 气体检定 60目~80目分子筛或高分子小球,填充柱或毛细柱				
载气种类	N <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , He	N <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , He	N <sub>2</sub> , He	N <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , He	N <sub>2</sub> , He
载气流速/mL·min <sup>-1</sup>	30~60	50左右	50左右	30~60	50左右
燃气	—	H <sub>2</sub> , 流速选适当值	H <sub>2</sub> , 流速选适当值	—	H <sub>2</sub> , 流速按仪器说明书要求选择
助燃气	—	Air, 流速选适当值	Air, 流速选适当值	—	Air, 流速按仪器说明书要求选择
柱箱温度	70℃左右(液体检定) 30℃左右(气体检定)	160℃左右(液体检定) 50℃左右(气体检定)	210℃左右	210℃左右	180℃左右
汽化室温度	120℃左右(液体检定) 120℃左右(气体检定)	230℃左右(液体检定) 120℃左右(气体检定)	230℃左右	230℃左右	230℃左右
检测室温度	100℃左右	230℃左右(液体检定) 120℃左右(气体检定)	250℃左右	230℃左右	230℃左右
桥(电)流或热丝温度	选灵敏值	—	—	≥1nA(或自动调节)	—
量程	—	选最佳挡	选最佳挡	选最佳挡	选最佳挡
背景	—	—	—	—	适当选择

注: 1 用毛细柱检定应采用不分流进样。载气流速: 0.53mm 口径柱为 6mL/min~15mL/min; 0.32mm 口径柱为 4mL/min~10mL/min, 补充气流速适当选择。

2 在 NPD 检定前先老化铂珠。老化方法参考仪器说明书。

3 载气纯度: 对 TCD、FID 为不低于 99.995%; 对 FPD、ECD、NDP 为不低于 99.999%。燃气纯度不低于 99.99%。助燃气不得含有影响仪器正常工作的灰尘、烃类、水分及腐蚀性物质。

节输出信号至记录图或显示图的中部，记录基线 30min，测量并计算基线噪声和基线漂移。

#### 4.5.3 灵敏度检定

根据仪器的具体用途，可按 4.5.3.1 或 4.5.3.2 方法进行检定。

##### 4.5.3.1 用液体标准物质检定

按表 2 的检定条件，待基线稳定后，用校准的微量注射器，注入  $1\mu\text{L}\sim 2\mu\text{L}$  浓度为  $5\text{mg/mL}$  或  $50\text{mg/mL}$  的苯-甲苯溶液，连续进样 6 次，记录苯峰面积。

##### 4.5.3.2 用气体标准物质检定

按表 2 的检定条件，进入  $0.01\text{mol/mol}$  的  $\text{CH}_4/\text{N}_2$ 、 $\text{CH}_4/\text{H}_2$  或  $\text{CH}_4/\text{He}$  标准气体，连续进样 6 次，记录甲烷峰面积。

##### 4.5.3.3 灵敏度的计算

$$S_{\text{TCD}} = \frac{AF_C}{W} \quad (2)$$

式中  $S_{\text{TCD}}$ ——TCD 灵敏度， $\text{mV} \cdot \text{mL}/\text{mg}$ ；

$A$ ——苯峰或甲烷峰面积算术平均值， $\text{mV} \cdot \text{min}$ ；

$W$ ——苯或甲烷的进样量， $\text{mg}$ ；

$F_C$ ——校正后的载气流速， $\text{mL}/\text{min}$ 。

载气流速的校正见附录 B。

用记录器记录峰面积时，苯峰或甲烷峰的半峰宽应不小于  $5\text{mm}$ ，峰高不低于记录器满量程的  $60\%$ ，式(2)中的峰面积  $A$  按式(3)计算。

$$A = 1.065C_1C_2A_0K \quad (3)$$

式中  $A$ ——苯峰或甲烷峰面积， $\text{mV} \cdot \text{min}$ ；

$C_1$ ——记录器灵敏度， $\text{mV}/\text{cm}$ ；

$C_2$ ——记录器纸速的倒数， $\text{min}/\text{cm}$ ；

$A_0$ ——实测峰面积的算术平均值， $\text{cm}^2$ ；

$K$ ——衰减倍数。

#### 4.6 FID 性能检定

##### 4.6.1 检定条件见表 2。

##### 4.6.2 基线噪声和基线漂移检定

按表 2 的检定条件，选择较灵敏挡，点火并待基线稳定后，调节输出信号至记录图或显示图中部，记录 30min，测量并计算基线噪声和基线漂移。

##### 4.6.3 检测限检定

根据仪器的具体用途，可按 4.6.3.1 或 4.6.3.2 方法进行检定。

##### 4.6.3.1 用液体标准物质检定

按表 2 的检定条件，使仪器处于最佳运行状态，待基线稳定后，用微量注射器注入  $1\mu\text{L}\sim 2\mu\text{L}$ ，浓度为  $100\text{ng}/\mu\text{L}$  或  $1000\text{ng}/\mu\text{L}$  的正十六烷-异辛烷溶液，连

续进样 6 次，记录正十六烷峰面积。

#### 4.6.3.2 用气体标准物质检定

按表 2 的检定条件，进入 100 $\mu$ mol/mol 的 CH<sub>4</sub>/N<sub>2</sub> 标准气体，连续进样 6 次，记录甲烷峰面积。

#### 4.6.3.3 检测限的计算

$$D_{\text{FID}} = \frac{2NW}{A} \quad (4)$$

式中  $D_{\text{FID}}$ ——FID 检测限，g/s；

$N$ ——基线噪声，A；

$W$ ——正十六烷或甲烷的进样量，g；

$A$ ——正十六烷或甲烷峰面积的算术平均值，A·s。

#### 4.7 FPD 性能检定

##### 4.7.1 检定条件见表 2。

##### 4.7.2 基线噪声和基线漂移检定

按表 2 的检定条件，测量方法与 4.6.2 相同。

##### 4.7.3 检测限检定

按表 2 的检定条件，使仪器处于最佳运行状态，待基线稳定后，用微量注射器注入浓度为 10ng/ $\mu$ L 的甲基对硫磷-无水乙醇溶液。进样 1 $\mu$ L~2 $\mu$ L，连续进样 6 次。记录硫或磷的峰面积。

##### 4.7.4 检测限的计算

$$\text{硫:} \quad D_{\text{FPD}} = \sqrt{\frac{2N(W_{n_s})^2}{h(W_{1/4})^2}} \quad (5)$$

$$\text{磷:} \quad D_{\text{FPD}} = \frac{2NW_{n_p}}{A} \quad (6)$$

式中  $D_{\text{FPD}}$ ——FPD 对硫或磷的检测限，g/s；

$N$ ——基线噪声，mV；

$A$ ——磷峰面积的算术平均值，mV·s；

$W$ ——甲基对硫磷的进样量，g；

$h$ ——硫的峰高，mV；

$W_{1/4}$ ——硫的峰高 1/4 处的峰宽，s。

$$n_s = \frac{\text{甲基对硫磷分子中的硫原子个数} \times \text{硫的原子量}}{\text{甲基对硫磷的摩尔质量}} = \frac{32}{263.2} = 0.122$$

$$n_p = \frac{\text{甲基磷基磷分子中的磷个数} \times \text{磷的原子量}}{\text{甲基对硫磷的摩尔质量}} = \frac{31}{263.2} = 0.118$$

#### 4.8 ECD 性能检定

##### 4.8.1 检定条件见表 2

##### 4.8.2 基线噪声和基线漂移检定

按表 2 的检定条件, 选择较灵敏挡, 调节输出信号至记录图或显示图的中部, 待基线稳定后, 记录 30min。测量并计算基线噪声和基线漂移。

#### 4.8.3 检测限检定

按表 2 的检定条件, 使仪器处于最佳工作状态, 待基线稳定后, 用微量注射器注入浓度为  $0.1\text{ng}/\mu\text{L}$  的丙体六六六-异辛烷溶液。进样  $1\mu\text{L}\sim 2\mu\text{L}$ , 连续进样 6 次, 记录丙体六六六峰面积。

#### 4.8.4 检测限的计算

$$D_{\text{ECD}} = \frac{2NW}{AF_{\text{C}}} \quad (7)$$

式中  $D_{\text{ECD}}$ ——ECD 检测限,  $\text{g}/\text{mL}$ ;

$N$ ——基线噪声,  $\text{mV}$ ;

$W$ ——丙体六六六的进样量,  $\text{g}$ ;

$A$ ——丙体六六六峰面积的算术平均值,  $\text{mV} \cdot \text{min}$ ;

$F_{\text{C}}$ ——校正后的载气流速,  $\text{mL}/\text{min}$ 。

### 4.9 NPD 性能检定

#### 4.9.1 检定条件见表 2

#### 4.9.2 基线噪声和基线漂移

按表 2 的条件, 选择量程灵敏挡和适当的衰减, 待基线稳定后, 记录基线 30min。测量并计算基线噪声和基线漂移。

#### 4.9.3 检测限检定

按表 2 的检定条件, 选择量程灵敏挡和适当的衰减, 用微量注射器注入  $1\mu\text{L}\sim 2\mu\text{L}$  浓度为  $10\text{ng}/\mu\text{L}$  的偶氮苯- $10\text{ng}/\mu\text{L}$  马拉硫磷-异辛烷混合溶液。连续进样 6 次, 计算偶氮苯 (或马拉硫磷) 峰面积的算术平均值。

#### 4.9.4 检测限的计算

$$\text{氮: } D_{\text{NPD}} = \frac{2NW_{n_{\text{N}}}}{A} \quad (8)$$

式中  $W$ ——注入的样品中所含偶氮苯的含量,  $\text{g}$ ;

$A$ ——偶氮苯峰面积的算术平均值。

$$n_{\text{N}} = \frac{\text{偶氮苯分子中氮原子的个数}}{\text{偶氮苯的摩尔质量}} \times \text{氮的原子量} = \frac{2 \times 14}{182.23} = 0.154$$

$$\text{磷: } D_{\text{NPD}} = \frac{2NW_{n_{\text{P}}}}{A} \quad (9)$$

式中  $W$ ——注入的样品中所含马拉硫磷的含量,  $\text{g}$ ;

$A$ ——马拉硫磷峰面积的算术平均值。

$$n_{\text{P}} = \frac{\text{马拉硫磷分子中磷原子的个数}}{\text{马拉硫磷的摩尔质量}} \times \text{磷的原子量} = \frac{31}{330.25} = 0.0938$$

### 4.10 定量重复性检定

定量重复性以溶质峰面积测量的相对标准偏差 RSD 表示, 依下式计算:

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \times \frac{1}{\bar{x}} \times 100\% \quad (10)$$

式中 RSD——相对标准偏差, %;

$n$ ——测量次数;

$x_i$ ——第  $i$  次测量的峰面积;

$\bar{x}$ —— $n$  次进样的峰面积算术平均值;

$i$ ——进样序号。

#### 附录 A 微量注射器的校准

微量注射器应有良好的气密性, 校准前应清洗、干燥。校准用的水银应洁净。

校准方法: 室温下, 抽取一定容量的水银, 用硅橡胶垫堵住针头。在万分之一克 (0.0001g) 的分析天平上称量。然后打出水银, 再称量一次, 用差减法可得水银的质量, 然后按下式计算体积。

$$V = \frac{M_1 - M_2}{\rho_{\text{水银}}}$$

式中  $V$ ——实际体积, mL;

$M_1$ ——第一次称量的质量, g;

$M_2$ ——第二次称量的质量, g;

$\rho_{\text{水银}}$ ——该室温下水银的密度, g/mL。

每个体积点校正 6 次, 取算术平均值。其相对标准偏差应在 1% 以内。

#### 附录 B 载气流速的校正

检测器出口测得的载气流速需按下式校正。

$$F_c = j F_0 \frac{T_c}{T_r} \left( 1 - \frac{p_w}{p_0} \right)$$

式中  $F_c$ ——校正后的载气流速, mL/min;

$F_0$ ——室温下用皂膜流量计测得的检测器出口的载气流速, mL/min;

$T_c$ ——柱温, K;

$T_r$ ——室温, K;

$p_w$ ——室温下水的饱和蒸汽压, MPa;

$p_0$ ——大气压, MPa;

$j$ ——压力梯度校正因子。

$$j = \frac{3}{2} \times \frac{(p_i \div p_0)^2 - 1}{(p_i \div p_0)^3 - 1}$$

式中  $p_i$ ——注入口压力, MPa。

## II 液相色谱仪检定规程 (JJG 705—2002)

### 1 范围

本规程适用于配有紫外-可见光检测器、二极管阵列检测器、荧光检测器和示差折光率检测器的液相色谱仪的首次检定、后续检定和使用中检验。液相色谱仪样机试验和定型鉴定中有关计量性能试验,可参照本规程进行。

### 2 概述

液相色谱仪(以下简称仪器)是由输液系统、进样器、色谱柱(柱温箱)、检测器和数据记录处理装置等部分组成的分析仪器,利用试样中各组分在色谱柱内固定相和流动相间分配或吸附特性的差异,由流动相将试样带入色谱柱中进行分离,经检测器检测,依据组分的保留时间和响应值(峰面积或峰高)进行定性和定量分析。

### 3 计量性能要求

#### 3.1 输液系统

3.1.1 输液管路接口紧密牢固,在规定的压力范围内无泄漏。

3.1.2 流量设定值误差  $S_S$  和流量稳定性误差  $S_R$  应符合表 1 的要求。

3.1.3 梯度误差  $G_c$ : 不超过  $\pm 3\%$ 。

#### 3.2 柱温箱

3.2.1 柱箱温度设定值误差  $\Delta T_s$ : 不超过  $\pm 2^\circ\text{C}$ 。

3.2.2 温度稳定性  $T_c$ : 不超过  $1^\circ\text{C}$ 。

#### 3.3 检测器

液相色谱仪检测器的主要技术指标见表 2。

表 1 流量设定值误差  $S_S$  和流量稳定性误差  $S_R$  的要求

流量设定值/(mL/min)	0.5	1.0	2.0 <sup>①</sup>	
测量次数	3	3	3	
流动相收集时间 <sup>②</sup> /min	10	5	5	
允许误差	$S_S$	5%	3%	2%
	* $S_R$	3%	2%	2%

① 最大流量的设定值可根据用户使用情况而定。

② 对特殊的、流量小的仪器,流量的设定可根据用户使用情况选大、中、小三个流量。流动相的收集时间则根据情况适当缩短或延长。

#### 3.4 整机性能

仪器的整机性能用定性定量测量重复性表示。

3.4.1 \* 定性测量重复性(6次测量)  $RSD_6$ : 不超过 1.5%。

表 2 液相色谱仪检测器的主要技术指标

检测器 项目	紫外-可见光检测器 二极管阵列检测器	荧光检测器	示差折光率检测器
* 基线噪声	不超过 $5 \times 10^{-4}$ AU	不超过 $5 \times 10^{-4}$ FU	不超过 $5 \times 10^{-7}$ RIU
* 基线漂移	不超过 $5 \times 10^{-3}$ AU/h	不超过 $5 \times 10^{-3}$ FU/h	不超过 $5 \times 10^{-6}$ RIU/h
* 最小检测浓度	不超过 $1 \times 10^{-7}$ g/mL 苯- 甲醇溶液	不超过 $1 \times 10^{-9}$ g/mL 硫酸 奎宁-高氯酸水溶液	不超过 $5 \times 10^{-6}$ g/ mL 丙三醇-水溶液
波长示值误差	不超过 $\pm 2$ nm	不超过 $\pm 5$ nm	—
波长重复性	优于 2 nm	优于 2 nm	—
线性范围	优于 $10^3$	优于 $10^3$	优于 $10^3$
换挡误差	优于 2%	优于 2%	优于 2%

3.4.2 \* 定量测量重复性 (6 次测量)  $RSD_6$ : 不超过 3.0%。

注: \* 与检定结果的处理有关, 详见 5.3 条。

#### 4 通用技术要求

##### 4.1 仪器外观

仪器上应有仪器的名称、型号、制造厂名、产品系列号、出厂日期等内容的标牌, 国产仪器应有制造计量器具许可证标志。

##### 4.2 仪器电路系统

仪器电源线、信号线等插接紧密, 各开关、旋钮、按键等功能正常, 指示灯灵敏, 显示器清晰。

#### 5 计量器具控制

计量器具控制包括: 首次检定、后续检定和使用中检验。

##### 5.1 检定条件

###### 5.1.1 环境条件

5.1.1.1 检定室应清洁无尘, 无易燃、易爆和腐蚀性气体, 排风良好。

5.1.1.2 室温在  $15^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ , 检定过程中温度变化不超过  $3^{\circ}\text{C}$  (对示差折光率检测器, 室温变化不超过  $2^{\circ}\text{C}$ ), 室内湿度在 20%~85%RH 范围内。

5.1.1.3 仪器应平稳地放在工作台上, 周围无强烈机械震动和电磁干扰源, 仪器接地良好。

5.1.1.4 电源电压为  $(220 \pm 22)$  V, 频率为  $(50 \pm 0.5)$  Hz。

###### 5.1.2 检定设备

5.1.2.1 秒表: 分度值不大于 0.1s。

5.1.2.2 分析天平: 最大称量不小于 100g, 最小分度不大于 1mg。

5.1.2.3 数字温度计: 测量范围为  $0^{\circ}\text{C} \sim 100^{\circ}\text{C}$ , 最小分度不大于  $0.1^{\circ}\text{C}$ 。

5.1.2.4 注射器:  $10\mu\text{L}$  和  $50\mu\text{L}$  各一支。

以上计量器具需经计量检定合格。

5.1.2.5 10mL 注射器一支。

5.1.2.6 游标卡尺：15cm/0.02mm。

5.1.2.7 容量瓶：50mL，10 个。

### 5.1.3 标准物质

$1 \times 10^{-4}$  g/mL,  $1 \times 10^{-7}$  g/mL 的萘/甲醇溶液；

$1 \times 10^{-6}$  g/mL,  $1 \times 10^{-9}$  g/mL 的硫酸奎宁/高氯酸水溶液；

$1 \times 10^{-3}$  g/mL,  $1 \times 10^{-5}$  g/mL 的丙三醇/水溶液；

紫外波长标准溶液。

### 5.1.4 其它要求

5.1.4.1 检定用试剂：HPLC 用甲醇、纯水，分析纯的丙酮和异丙醇等。

5.1.4.2 其它玻璃器皿等。

## 5.2 检定项目和检定方法

### 5.2.1 检定项目

检定项目见表 3。

表 3 检定项目一览表

序号	检定项目	首次检定	后续检定	使用中检验
1	泵耐压检定	+ <sup>①</sup>	- <sup>①</sup>	-
	泵流量设定值误差 $S_S$	+	+	+
	泵流量稳定性误差 $S_R$	+	+	+
	梯度误差 $G_c$ <sup>②</sup>	+	+	-
2	柱箱温度设定值误差 $\Delta T_S$ <sup>②</sup>	+	+	-
	柱箱温度稳定性 $T_C$ <sup>②</sup>	+	+	-
3	检测器:基线噪声	+	+	+
	基线漂移	+	-	+
	最小检测浓度	+	+	+
	波长示值误差和重复性 <sup>③</sup>	+	+	-
	线性范围	+	-	-
	换挡误差	+	-	-
4	整机:定性定量重复性	+	+	+

① “+”表示应检定项目，“-”表示可不检定项目。

② 无梯度洗脱装置和无柱温箱的仪器，此项目不检定。

③ 紫外-可见光、二极管阵列和荧光检测器检定此项目，示差折光率检测器不检定此项目。

### 5.2.2 检定方法

#### 5.2.2.1 通用技术要求的检查

按第 4.1、4.2 条的要求，目视、手动检查。

#### 5.2.2.2 输液系统的检定

##### a) 泵耐压检定

将仪器各部分连接好，以 100% 甲醇为流动相，流量为 1mL/min，按说明书

启动仪器，压力平稳后保持 10min，用滤纸检查各管路接口处应无湿迹。卸下色谱柱，堵住泵出口端（压力传感器以下），使压力达到最大允许值的 90%，保持 5min 无泄漏。

b) 泵流量设定值误差  $S_S$ 、流量稳定性误差  $S_R$  的检定

按表 1 的要求设定流量，启动仪器，压力稳定后，在流动相出口处用事先清洗称重过的容量瓶收集流动相，同时用秒表计时，收集表 1 规定时间流出的流动相，在分析天平上称重，按式(1)、式(2) 计算  $S_S$  和  $S_R$ 。

$$S_S = (\bar{F}_m - F_s) / F_s \times 100\% \quad (1)$$

$$S_R = (F_{\max} - F_{\min}) / \bar{F}_m \times 100\% \quad (2)$$

式中  $F_m$ —— $F_m = (W_2 - W_1) / (\rho_1 \cdot t)$ ，流量实测值，mL/min；

$W_2$ ——容量瓶+流动相的质量，g；

$W_1$ ——容量瓶的质量，g；

$\rho_1$ ——实验温度下流动相的密度，g/cm<sup>3</sup>；

$t$ ——收集流动相的时间，min；

$\bar{F}_m$ ——同一组测量的算术平均值，mL/min；

$F_s$ ——流量设定值，mL/min；

$F_{\max}$ ——同一组测量中流量最大值，mL/min；

$F_{\min}$ ——同一组测量中流量最小值，mL/min。

c) 梯度误差的检定

由梯度控制装置设置阶梯式的梯度洗脱程序，A 溶剂为纯水，B 溶剂为含 0.1%丙酮的水溶液，B 经由 5 个阶梯从 0 变到 100%。将输液泵和检测器连接（不接色谱柱），开机后以 A 溶剂冲洗系统，基线平稳后开始执行梯度程序，画出梯度变化曲线。求出 A，B 溶剂不同比例时的输出信号值（或记录仪读数），重复测量 2 次，计算平均值。从 B 溶剂的含量及对应的输出信号值（或记录仪读数），按式(3) 计算梯度误差  $G_{ci}$ ，取  $G_{ci}$  最大者作为仪器梯度误差。

$$G_{ci} = (\bar{L}_i - \bar{L}_m) / \bar{L}_m \times 100\% \quad (3)$$

式中  $G_{ci}$ ——第  $i$  段梯度误差，%；

$\bar{L}_i$ ——第  $i$  段输出信号值（或记录仪读数）平均值；

$\bar{L}_m$ ——各段输出信号（或记录仪读数）平均值的平均值。

5.2.2.3 柱温箱温度设定值误差  $\Delta T_s$  和控温稳定性  $T_c$  的检定

将数字温度计探头固定在柱温箱内，选择 35℃ 和 45℃（也可根据用户使用温度设定）进行检定。按仪器说明书操作，通电升温，待温度稳定后，记下温度计读数并开始计时，以后每隔 10min 记录一次读数，共计 7 次，求出平均值。平均值与设定值之差为  $\Delta T_s$ ，7 次读数中最大值与最小值之差为控温稳定性  $T_c$ 。

5.2.2.4 紫外-可见光检测器和二极管阵列检测器的检定

a) 波长示值误差和重复性的检定

将检测器和记录仪连接好，通电预热稳定后，用注射器将紫外波长标准溶液（标准波长为 235nm, 257nm, 313nm 和 350nm）从检测器入口注入样品池中冲洗，并将池充满。将检测器波长调到低于标准波长 5nm 处（例如检定 257nm 时，检测器波长先调到 252nm），记录纸速调到 2cm/min~4cm/min，记录笔调到记录纸的中间，启动记录仪，记录笔画出一条直线。调检测器波长，每 5s~10s 改变 1nm，记录仪上将画出折线，折线的最高点（或最低点）对应的波长与标准溶液波长之差为波长示值误差。每个波长重复测量 3 次，其中最大值与最小值之差为波长重复性误差。有吸光值显示的检测器，改变波长时可直接读出吸光值，其最大（或最小）吸光值对应的波长与标准溶液波长之差为波长示值误差。有波长扫描功能的仪器可画出标准溶液的光谱曲线，其波峰（或波谷）对应的波长与标准溶液波长之差为波长示值误差。对改变波长有自动回零功能的紫外-可见光检测器，可采用连续进样的方法检定波长示值误差，具体做法是：用一节空管代替色谱柱将液路连通，以水做流动相，流量为 0.5mL/min~1.0mL/min，采用步进进样方法，例如检定 257nm 时，从 252nm 开始到 262nm，每 2min 改变 1nm，用注射器注入紫外吸收标准溶液 5 $\mu$ L~10 $\mu$ L，这样将得到一组不同波长的色谱峰，最高（或最低）色谱峰对应的波长与标准溶液波长之差，即为波长示值误差。

#### b) 基线噪声和基线漂移的检定

选用 C<sub>18</sub> 色谱柱，以 100% 甲醇为流动相，流量为 1.0mL/min，紫外检测器的波长选在 254nm，检测灵敏度调到最灵敏挡，记录纸速调至 5mm/min~10mm/min。开机预热，待仪器稳定后记录基线 30min，由检测器的衰减倍数和测得的基线峰-峰高对应的记录仪标度，计算基线噪声，用检测器自身的物理量 (AU) 作单位表示。

$$N_d = KB \quad (4)$$

式中  $N_d$ ——基线噪声；

$K$ ——衰减倍数；

$B$ ——测得的基线峰-峰高对应的记录仪标度，AU。

基线漂移用 1h 内基线偏离原点的值 (AU/h) 表示。

#### c) 最小检测浓度的检定

在 5.2.2.4 中 b) 的色谱条件下，用微量注射器从进样口注入 10 $\mu$ L~20 $\mu$ L  $1 \times 10^{-7}$ g/mL 的萘-甲醇溶液，记录色谱图，由色谱峰高和基线噪声峰-峰高，按式(5) 计算最小检测浓度  $c_L$  (按 20 $\mu$ L 进样量计算)。

$$c_L = \frac{2N_d c V}{H \times 20} \quad (5)$$

式中  $c_L$ ——最小检测浓度，g/mL；

$N_d$ ——基线噪声（峰-峰高，mm）；

- $c$ ——标准溶液浓度, g/mL;
- $H$ ——标准溶液的色谱峰高, mm;
- $V$ ——进样体积,  $\mu\text{L}$ 。

d) 线性范围的检定

将检测器和记录仪连接好, 检测器波长选在 254nm, 通电稳定后, 用注射器直接向检测池中注射 2% 异丙醇-水溶液冲洗检测池至记录仪读数不变, 记下此值。之后, 分别注入丙酮-2% 异丙醇系列水溶液 (丙酮含量为 0.1%, 0.2%, ..., 1.0%) 冲洗检测池, 并记下各溶液对应的稳定记录仪读数。每个溶液重复测量 3 次, 取算术平均值。以 5 个丙酮含量 (0.1%~0.5% 5 个点) 和对应的记录仪读数做标准曲线。在曲线上找出丙酮含量大于 0.5% 各点的读数, 与对应含量的测量值比较, 测量值低于读数 5% 时, 认为曲线弯曲, 此点的浓度作为检测上限  $c_H$ 。按 5.2.2.4 中 c) 的方法和式 (5) 测出丙酮的  $c_L$  值, 由  $c_H/c_L$  算出检测器的线性范围。

e) 灵敏度换挡误差的检定

在 5.2.2.4 中 (b) 的色谱条件下, 将记录笔调到记录纸中间, 纸速调到 2cm/min~4cm/min, 待基线平稳后依次改变灵敏度挡位, 记录纸上画出相应的折线, 重复测量 3 次, 量出每两挡对应的记录曲线间的距离, 取算术平均值, 按式 (6) 计算相邻两挡的误差  $H_i$ , 取  $H_i$  最大值表示换挡误差。

$$H_i = \frac{X_i Y_i - X_{i+1} Y_{i+1}}{X_i Y_i} \times 100\% \quad (6)$$

式中  $X_i, X_{i+1}$ ——选择器第  $i$  挡、第  $i+1$  挡的标称值;

$Y_i, Y_{i+1}$ ——选择器在第  $i$  挡、第  $i+1$  挡时记录的曲线间距离。

5.2.2.5 荧光检测器性能的检定

a) 波长示值误差和重复性的检定

固定波长荧光检测器波长示值误差和重复性的检定, 需取出检测器中的滤光片, 参照 JJG 538—1988 荧光光度计检定规程, 在经检定合格的紫外-可见分光光度计上测出其最大透射比对应的波长, 此波长与滤光片上标记的波长之差, 为波长示值误差。

可调波长荧光检测器波长示值误差和重复性的检定, 利用萘在 290nm (激发波长) 和 330nm (发射波长) 有最大荧光强度的特性, 采用静态法进行。检定方法与紫外检测器波长检定基本相同, 将检测器与记录系统连接好, 用注射器从检测池入口注入  $1 \times 10^{-5}$  g/mL 的萘/甲醇溶液, 冲洗检测池并将其充满。调激发波长为 290nm, 改变发射波长, 从 325nm 到 335nm, 每 5s~10s 改变 1nm, 记录系统上将画出图形, 曲线最高点对应的波长与标准波长之差, 为发射波长示值误差, 重复测量 3 次, 其最大值与最小值之差为波长重复性误差。然后将发射波长调到测得的曲线最高点对应的波长, 改变激发波长 (从 285nm 到 295nm), 用

与前面相同的方法测出激发波长的示值误差和重复性误差。

#### b) 基线漂移和基线噪声的检定

将仪器各部分连接好。选用  $C_{18}$  色谱柱，以 85% 甲醇/水溶液为流动相，流量为 1.0 mL/min，灵敏度选在最灵敏挡，激发波长选在 345 nm，发射波长选在 455 nm，仪器预热稳定后，记录基线 30 min，根据检测器的衰减倍数和测得的基线峰-峰高对应的记录仪标度。按式(4) 计算基线噪声和漂移，用检测器自身的物理量 (FU) 做单位表示。

#### c) 最小检测浓度的检定

在 5.2.2.5 中 (b) 的色谱条件下，待基线稳定后由进样器注入  $10\mu\text{L} \sim 20\mu\text{L}$   $1 \times 10^{-9}$  g/mL 的硫酸奎宁/高氯酸水溶液，记录色谱图，按式(5) 计算最小检测浓度。

#### d) 线性范围的检定

检定方法同 5.2.2.4 中 (d)，将检测器和记录仪连接好。检测器的激发波长为 345 nm，发射波长为 455 nm，仪器稳定后，用注射器直接向检测池中注入 0.05 mol/L 的高氯酸水溶液，冲洗检测池，至记录仪读数不变，记下记录仪读数。然后按此法依次向池中注入  $1 \times 10^{-5}$  g/mL， $2 \times 10^{-5}$  g/mL， $3 \times 10^{-5}$  g/mL， $\dots$ ， $1 \times 10^{-4}$  g/mL 的硫酸奎宁-高氯酸水溶液，记下每种溶液对应的记录仪读数，重复测量 3 次，取平均值。以 5 个硫酸奎宁含量 ( $1 \times 10^{-5}$  g/mL  $\sim$   $5 \times 10^{-5}$  g/mL) 和对应的记录仪读数作标准曲线，在曲线上找出硫酸奎宁含量大于  $5 \times 10^{-5}$  g/mL 各点读数，与测量值比较，测量值与曲线读数差 5% 时的硫酸奎宁含量为检测上限  $c_H$ 。5.2.2.5 中 (c) 得到的最小检测浓度  $c_L$  是检测下限， $c_H/c_L$  比值为线性范围。

#### e) 灵敏度换挡误差的检定

色谱条件同 5.2.2.5 中 d)，实验操作和计算方法同 5.2.2.4 中 e)。

### 5.2.2.6 示差折光率检测器性能检定

#### a) 基线漂移和基线噪声的检定

选用  $C_{18}$  色谱柱，将仪器各部分连接好，以 HPLC 用水为流动相，流量为 1 mL/min，参比池充满流动相，灵敏度选择在最灵敏挡，接通电源，待仪器稳定后记录基线 30 min，根据检测器的衰减倍数和测得的基线峰-峰高对应的记录仪标度，按式(4) 计算基线噪声和基线漂移，用检测器自身的物理量 (RIU) 表示。(实验中应特别注意，室温的波动不要超过  $2^\circ\text{C}$ )。

#### b) 最小检测浓度的检定

在 5.2.2.6 中 a) 的色谱条件下，待基线稳定后由进样器注入  $10\mu\text{L} \sim 20\mu\text{L}$   $1 \times 10^{-5}$  g/mL 丙三醇水溶液，记录色谱图，按式(5) 计算最小检测浓度  $c_L$ 。

#### c) 线性范围的检定

线性范围的检定方法同 5.2.2.4 中 d)。将检测器与记录仪连接好，用

HPLC 用水反复冲洗样品池与参比池，并充满参比池，仪器稳定后记下记录仪读数。依次向样品池中注入  $1 \times 10^{-3} \text{g/mL}$ ， $2 \times 10^{-3} \text{g/mL}$ ，…， $10 \times 10^{-3} \text{g/mL}$  丙三醇水溶液，记下各溶液对应的记录仪读数，重复测量 3 次，取平均值。以 5 个丙三醇含量 ( $1 \times 10^{-3} \text{g/mL} \sim 5 \times 10^{-3} \text{g/mL}$ ) 和对应的记录仪读数作标准曲线，在曲线上找出丙三醇含量大于  $5 \times 10^{-3} \text{g/mL}$  各点对应的读数，与相应含量的测量值做比较，两值相差 5% 时的丙三醇含量为检测上限  $c_H$ 。5.2.2.6 中 b) 得到最小检测浓度即检测下限  $c_L$ ， $c_H/c_L$  之比为线性范围。

d) 灵敏度选择器换挡误差的检定

色谱条件同 5.2.2.6 中 b)，实验操作和计算方法同 5.2.2.4 中 e)。

### 5.2.2.7 整机性能（定性、定量重复性）的检定

将仪器各部分连接好，选用  $C_{18}$  色谱柱，根据仪器配置的检测器，选择流动相和测量参数：紫外检测器和二极管阵列检测器用 100% 甲醇为流动相，流量为  $1.0 \text{mL/min}$ ，检测波长为  $254 \text{nm}$ ，灵敏度选择在 0.04 左右，基线稳定后由进样器注入  $5 \mu\text{L} \sim 10 \mu\text{L}$  的  $1 \times 10^{-4} \text{g/mL}$  萘/甲醇标准溶液；荧光检测器用 85% 甲醇/水溶液做流动相，流量为  $1.0 \text{mL/min}$ ，激发波长和发射波长分别为  $345 \text{nm}$  和  $455 \text{nm}$ ，灵敏度选在中间挡，基线稳定后注入  $5 \mu\text{L} \sim 10 \mu\text{L}$   $1 \times 10^{-6} \text{g/mL}$  硫酸奎宁/高氯酸水溶液；示差折光率检测器用 100% 的水为流动相，流量为  $1.0 \text{mL/min}$ ，灵敏度选在中间挡，注入  $5 \mu\text{L} \sim 10 \mu\text{L}$  的  $1 \times 10^{-3} \text{g/mL}$  的丙三醇水溶液。连续测量 6 次，记录色谱峰的保留时间和峰面积，按式 (7) 计算相对标准偏差  $RSD_6$ 。

$$RSD_{6\text{定性(定量)}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (X_i - \bar{X})^2}{6-1}} \times \frac{1}{\bar{X}} \times 100\% \quad (7)$$

式中  $RSD_{6\text{定性(定量)}}$ ——定性（定量）测量重复性相对标准偏差；

$X_i$ ——第  $i$  次测得的保留时间或峰面积；

$\bar{X}$ ——6 次测量结果的算术平均值；

$i$ ——测量序号。

## 5.3 检定结果的处理

5.3.1 按本规程条款检定，凡带 \* 号的检定项目（详见 3 计量性能要求）全部达到规定技术要求的仪器为合格仪器，发给检定证书。

5.3.2 只配一个检测器的仪器，任何一个带 \* 号的项目不合格，该仪器为不合格仪器，发给检定结果通知书，注明不合格项目。

5.3.3 配一个以上检测器的仪器，只要其中一个检测器带 \* 号的检定项目和除检测器外其它带 \* 号的检定项目合格，可发给配该检测器的检定证书，同时注明其它不合格的检测器，限制使用。

## 5.4 检定周期

液相色谱仪的检定周期一般不超过 2 年, 更换重要部件或对仪器性能有怀疑时, 应随时检定。

## 附录 A 色谱柱性能测试

### A.1 液相色谱柱性能

#### A.1.1 柱效

反相色谱柱的理论塔板数一般在  $3 \times 10^4 \text{ m}^{-1} \sim 4 \times 10^4 \text{ m}^{-1}$  范围内, 正相色谱柱的理论塔板数在  $4 \times 10^4 \text{ m}^{-1} \sim 5 \times 10^4 \text{ m}^{-1}$  范围内。

A.1.2 色谱峰对称性: 被测峰(意)的不对称因子  $A_s$  一般在 0.8~1.6 范围内。

#### A.2 柱性能测试方法

##### A.2.1 测试条件和标准溶液

色谱柱性能测试条件和液相色谱仪的检定条件基本相同。

反相色谱柱测试用的标准溶液为  $10^{-4} \text{ g/mL}$  尿嘧啶、 $10^{-5} \text{ g/mL}$  联苯和蒽(萘)的甲醇溶液, 正相色谱柱测试用的标准溶液为  $10^{-2} \text{ mL/mL}$  甲苯和  $10^{-4} \text{ mL/mL}$  硝基苯的正己烷溶液。

##### A.2.2 柱效的测试方法

将被测试的色谱柱接到检定合格的液相色谱仪器上, 反相柱用甲醇+水(85%+15%)为流动相, 流速为  $1 \text{ mm/s}$ (内径为  $4.6 \text{ mm}$  色谱柱, 流量为  $1.0 \text{ mL/min}$ ), 紫外检测器波长为  $254 \text{ nm}$ , 灵敏度选择在 0.04 左右, 记录纸速为  $10 \text{ mm/min} \sim 20 \text{ mm/min}$ 。按说明书操作, 开启仪器稳定后, 从进样口注入  $10 \mu\text{L}$  反相柱测试标准溶液, 记录色谱图(如图 A1), 由式(A1)计算色谱柱效, 重复测量 3 次, 取平均值。

$$n = 5.54 \times \left( \frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2 \times 1000/L \quad (\text{A1})$$

式中  $n$ ——理论塔板数;

$t_R$ ——色谱峰的保留时间, min(时间测量需精确到 0.02min);

$W_{h/2}$ ——色谱峰半高峰宽, min;

$L$ ——色谱柱长, mm。

正相色谱柱的柱效测试条件和方法与反相柱基本相同, 只是流动相为正己烷+异丙醇(99.5%+0.5%), 注入正相色谱柱测试标准溶液。

##### A.2.3 色谱峰对称性的计算

在 A.2.2 测得的色谱图中, 按式(A2)计算色谱峰的不对称因子  $A_s$ 。

$$A_s = b/a \quad (\text{A2})$$

式中,  $a$ ,  $b$  分别为通过  $\frac{1}{10}h$  峰高处、平行于峰底的直线被峰两侧及峰高截取的两线段的长度。

## III 台式气相色谱-质谱联用仪校准规范 (JJF 1164—2006)

### 1 范围

本规范适用于离子阱和四极杆型台式气相色谱-质谱联用仪(以下简称台式

GC-MS) 的校准, 其它类型台式 GC-MS 的校准可参照此规范进行。

## 2 概述

气相色谱-质谱联用仪是将气相色谱仪与质谱仪通过一定接口耦合到一起的分析仪器。样品通过气相色谱分离后的各个组分依次进入质谱检测器, 组分在离子源被电离, 产生带有一定电荷、质量数不同的离子。不同离子在电场和/或磁场中的运动行为不同, 采用不同质量分析器把带电离子按质荷比 ( $m/z$ ) 分开, 得到依质量顺序排列的质谱图。通过对质谱图的分析处理, 可以得到样品的定性、定量结果。气相色谱-质谱联用仪主要包括气相色谱系统 (一般不带检测器)、离子源、质量分析器、检测器、真空系统和计算机系统等几部分。

## 3 计量特性

台式 GC-MS 主要技术指标见表 1。

表 1 台式 GC-MS 主要技术指标

技术指标		要求
质量范围		不低于 600u
质量准确性**		$\pm 0.3u$
分辨力(R)**		$W_{1/2} < 1u$
信噪比**	EI	100 pg 八氟萘, $m/z272$ 处 $S/N \geq 10:1$ (峰对峰)
	正 CI	10.0 ng 苯甲酮, $m/z183$ 处 $S/N \geq 10:1$ (峰对峰)
	负 CI	100 pg 八氟萘, $m/z272$ 处 $S/N \geq 100:1$ (峰对峰)
测量重复性*		$RSD \leq 10\%$
谱库检索		10ng 硬脂酸甲酯, 相似度 $\geq 75\%$
气相色谱柱箱温度控制		柱箱温度稳定性(10min) 优于 0.5%, 程序升温重复性优于 2%

注: 1. 标 \*\* 的为必须校准的项目。

2. 用于定性测试时, 标 \* 的可不做; 用于定量测试时, 标 \* 的必须做, 但可使用用户自己的工作标准溶液, 指标也可根据用户使用要求而定。

3. 本技术指标仅供参考, 不作为合格性判断依据。

## 4 校准条件

### 4.1 实验室环境

4.1.1 仪器室内不得有强烈的机械震动和电磁干扰, 不得存放与实验无关的易燃、易爆和强腐蚀性气体或试剂。

4.1.2 实验室温度:  $15^{\circ}\text{C} \sim 27^{\circ}\text{C}$ 。

4.1.3 相对湿度:  $\leq 75\%$ 。

### 4.2 标准物质和试剂

4.2.1 八氟萘-异辛烷溶液标准物质:  $100\text{pg}/\mu\text{L}$ 。

4.2.2 苯甲酮-异辛烷溶液标准物质:  $10.0\text{ng}/\mu\text{L}$ 。

4.2.3 六氯苯-异辛烷溶液标准物质:  $10.0\text{ng}/\mu\text{L}$ 。

- 4.2.4 硬脂酸甲酯-异辛烷测试溶液：10.0ng/ $\mu$ L。  
 4.2.5 异辛烷或正己烷：液相色谱级或同等级别。

### 4.3 校准设备

- 4.3.1 微量注射器：10 $\mu$ L；  
 4.3.2 气相色谱仪检定专用测量仪。

## 5 校准项目和校准方法

### 5.1 外观检查

仪器不能有影响校准的外观缺陷，按键开关、调节旋钮等各部件工作正常。

### 5.2 分辨力

仪器稳定后，执行 Autotune 命令进行自动调谐，直到调谐通过，打印调谐报告，得到半峰宽  $W_{1/2}$ 。

### 5.3 质量范围

以全氟三丁胺为调谐样品进行调谐，质量数设定达到 600 以上，观察是否出现质量数 600 以上（含 600）的质谱峰。

### 5.4 信噪比

#### 5.4.1 EI 源

仪器调谐通过后，参照附录 C 条件，注入 100pg/ $\mu$ L 的八氟萘-异辛烷溶液 1.0 $\mu$ L，提取  $m/z=272$  离子，再现质量色谱图，根据公式(1) 计算  $S/N$ 。

$$S/N = H_{272} / H_{\text{噪声}} \quad (1)$$

式中  $H_{272}$ ——提取离子 ( $m/z$ ) 的峰高；

$H_{\text{噪声}}$ ——基线噪声。

#### 5.4.2 正 CI 源

参照 5.4.1 条件，注入 10.0ng/ $\mu$ L 的苯甲酮-异辛烷溶液 1.0 $\mu$ L，提取  $m/z=183$  离子，再现质量色谱图，根据公式(1) 计算  $S/N$ 。

#### 5.4.3 负 CI 源

参照 5.4.1 条件，注入 100pg/ $\mu$ L 的八氟萘-异辛烷溶液 1.0 $\mu$ L，提取  $m/z=272$  离子，再现质量色谱图，根据公式(1) 计算  $S/N$ 。

### 5.5 质量准确性

参照 5.4.1 条件，注入 10.0ng/ $\mu$ L 的硬脂酸甲酯-异辛烷溶液 1.0 $\mu$ L，记录  $m/z$  74、143、199、255 和 298 等硬脂酸甲酯主要离子的实测质量数，有效数值保留到小数点后两位，理论值见附录 E，根据公式(2) 计算实测值与理论值之差，以此评价质量准确性：

$$\Delta M = \bar{M}_{i\text{测}} - M_{i\text{理}} \quad (2)$$

式中  $\bar{M}_{i\text{测}}$ ——第  $i$  个离子三次测量平均值， $u$ ；

$M_{i\text{理}}$ ——第  $i$  个离子理论值， $u$ 。

注：1. 以最高点及其左右两点的三次扫描所得到的质量数平均值作为实测结果；

2. 以实测值与理论值之差绝对值最大的一个作为评价质量准确性数据。

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (M_{i\text{测}} - M_{i\text{理}})^2}{n}} \quad (3)$$

式中  $M_{i\text{测}}$ ——测量值；  
 $M_{i\text{理}}$ ——理论值；  
 $n$ ——选取的记录质量数目。

### 5.6 测量重复性

参照 5.4.1 条件，前面例如 7.2 注入 1.0 $\mu$ L 质量浓度为 10.0ng/ $\mu$ L 的六氯苯-异辛烷溶液，连续六次，提取六氯苯特征离子  $m/z=284$ ，再现质量色谱图，按质量色谱峰进行面积积分，根据公式(3) 计算 RSD：

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (x_i - \bar{x})^2}{6-1}} \times \frac{1}{\bar{x}} \times 100\% \quad (4)$$

式中 RSD——相对标准偏差，%；  
 $x_i$ ——六氯苯第  $i$  次测量峰面积；  
 $\bar{x}$ ——六氯苯 6 次测量峰面积算术平均值；  
 $i$ ——测量序号。

注：对于 CI 源，可采用相应的测试灵敏度的标准物质进行重复性测量。

### 5.7 气相色谱柱箱温度控制

#### 5.7.1 柱箱温度稳定性

把铂电阻温度计的连线连接到数字多用表（或色谱仪检定专用测量仪）上，然后把温度计的探头固定在柱箱中部，设定柱箱温度为 70 $^{\circ}$ C。加热升温，待温度稳定后，观察 10min，每变化一个数记录一次，求出数字多用表最大值与最小值所对应的温度差值，其差值与 10min 内温度测量的算术平均值的比值，即为柱箱温度稳定性。

#### 5.7.2 程序升温重复性

按附录 A C.2 的校准条件和方法进行程序升温重复性校准。选定初温 50 $^{\circ}$ C，终温 200 $^{\circ}$ C。升温速率 10 $^{\circ}$ C/min 左右。待初温稳定后，开始程序升温，每分钟记录数据一次，直至终温稳定。此实验重复 2~3 次，求出相应点的最大相对偏差 ( $R_d$ )，其值应 $\leq 2\%$ 。结果按下式计算。

$$R_d = \frac{t_{\max} - t_{\min}}{\bar{t}} \times 100\%$$

式中  $t_{\max}$ ——相应点的最大温度， $^{\circ}$ C；  
 $t_{\min}$ ——相应点的最小温度， $^{\circ}$ C；  
 $\bar{t}$ ——相应点的平均温度， $^{\circ}$ C。

## 5.8 谱库检索

根据 5.5 质量准确性测试总离子流色谱图, 得到硬脂酸甲酯质谱图, 扣除本底后, 在系统提供的谱库内对硬脂酸甲酯进行检索。

## 6 校准结果处理

根据校准结果, 发校准证书或校准通知书。在校准结论中明确说明被校准仪器是否合格、存在问题及建议。

## 7 校准周期

台式气相色谱-质谱联用仪的复校时间间隔由用户自定, 建议不超过 2 年, 更换重要部件、维修或对仪器性能有怀疑时, 应随时校准。

### 附录 A 气相色谱和质谱参数

#### C.1 质谱参数

EI 源:

离子化能量: 70eV;

扫描范围: 信噪比测试,  $m/z=200\sim300$ ; 质量准确性测试,  $m/z=20\sim350$ ; 重复性测试,  $m/z=200\sim300$ ;

溶剂延迟: 3min(或视具体情况而定);

离子源和四极杆温度根据厂家推荐值设定;

其它参数, 如电子倍增管或光电倍增管工作电压, 均以自动或手动调谐时确定的值作为校准参数。

CI 源:

反应气: 根据厂家推荐方法选择载气种类和流量;

扫描范围: 负化学源信噪比测试,  $m/z=200\sim300$ ; 正化学源信噪比测试,  $m/z=100\sim230$ ; 重复性测试, 根据测试对象确定;

溶剂延迟: 3min(或视具体情况而定);

离子源和四极杆温度根据厂家推荐值设定;

其它参数, 如电子倍增管或光电倍增管工作电压, 均以自动或手动调谐时确定的值作为校准参数。

#### C.2 色谱参数 (参考条件)

色谱柱: DB-5MS 30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.25 $\mu$ m, 或其它类似色谱柱;

进样口温度: 250 $^{\circ}$ C;

传输线温度: 250 $^{\circ}$ C;

程序升温: 八氟萘和苯甲酮, 70 $^{\circ}$ C(2min)  $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  220 $^{\circ}$ C(5min);

六氯苯和硬脂酸甲酯, 150 $^{\circ}$ C  $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  250 $^{\circ}$ C(5min);

进样方式: 不分流进样;

进样量: 1.0 $\mu$ L;

载气: 高纯氮;

流速: 1.0mL/min, 恒流或恒压(无恒流控制部件)。

注：当色谱柱不同时，柱箱温度可作相应改变。

### 附录 B 不确定度评定

台式 GC-MS 校准，在考察的各项指标中，主要对信噪比进行不确定度评价，不确定度主要来自：

1.  $n$  次测量相对标准偏差，A 类，记为： $u_1$ ；
2. 所采用标准物质的不确定度，B 类；记为： $u_2$ 。

因此，得到合成标准不确定度  $u_c$ ：

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2}$$

将合成标准不确定度乘以包含因子  $k(k=2)$  得到扩展不确定度  $U_{\text{扩展}}$ ：

$$U_{\text{扩展}} = ku_c$$

### 附录 C 硬脂酸甲酯主要离子峰理论值

离子( $m/z$ )	理论值	离子( $m/z$ )	理论值
74	74.04	199	199.17
87	87.04	255	255.23
129	129.09	267	267.27
143	143.11	298	298.29

### 附录 D 全氟三丁胺主要离子峰值

质量数( $m/z$ )	质量数( $m/z$ )	质量数( $m/z$ )	质量数( $m/z$ )
50	113	181	376
69	114	214	414
70	119	219	415
76	131	220	426
81	132	226	464
93	145	264	502
95	150	265	503
100	164	314	614
101	169	326	615
112	176	352	

获第七届石油和化学工业优秀科技图书奖一等奖

## 色谱技术丛书

- |               |                 |
|---------------|-----------------|
| 《色谱分析概论》      | 《色谱仪器维护与故障排除》   |
| 《色谱定性与定量》     | 《制备色谱技术及应用》     |
| 《气相色谱检测方法》    | 《亲和色谱方法及应用》     |
| 《液相色谱检测方法》    | 《裂解气相色谱方法及应用》   |
| 《气相色谱方法及应用》   | 《色谱手性分离技术及应用》   |
| 《高效液相色谱方法及应用》 | 《气相色谱在石油化工中的应用》 |
| 《平面色谱方法及应用》   | 《色谱在环境分析中的应用》   |
| 《离子色谱方法及应用》   | 《色谱在食品安全分析中的应用》 |
| 《毛细管电泳技术及应用》  | 《色谱在生命科学中的应用》   |
| 《色谱分析样品处理》    | 《色谱在药物分析中的应用》   |
| 《色谱联用技术》      | 《色谱在无机材料分析中的应用》 |
| 《色谱柱技术》       |                 |

ISBN 978-7-122-03306-2



9 787122 033062 >

定价: 45.00元



www.cip.com.cn

石油工业出版社 化工出版社

销售分类建议: 化学/分析化学

[General Information]

书名=色谱仪器维护与故障排除

作者=吴方迪, 张庆合编著

丛书名=色谱技术丛书

页数=338

SS号=12089775

出版日期=2008.9

出版社=化学工业出版社

尺寸=16开

原书定价=45.00

参考文献格式=吴方迪, 张庆合编著. 色谱仪器维护与故障排除 2版. 2008. 09.

内容提要=本书在综合介绍色谱仪器维护与故障排除的基本原则与思路的基础上, 结合色谱仪器的结构与工作原理, 从仪器各组成部分与部件产生各类故障的可能原因以及判断和处理故障的基本思路与方法学出发, 系统地介绍了液相和气相色谱的输液系统、气路系统、流动相、温度控制系统、色谱柱、进样系统、检测器等各部分的基本原理、常见故障的判断与排除方法, 并分别对液相和气相色谱分析方法建立中的问题进行了剖析, 最后介绍了色谱定量分析中常见问题及其解决方法。书末附了《液相色谱仪检定规程》、《气相色谱仪检定规程》和《台式气相色谱质谱联用仪校准规范》。具有较强的实用性和可操作性。 本书可供从事生命科学、环境科学、医药、食品、农业、化学和化工等行业从事色谱分析的科学研究人员、教师、学生、技术人员、实验员和仪器开发人员参考。

封面

书名

版权

前言

目录

## 第一章 绪论

第一节 色谱法的出现与发展

第二节 气相色谱与液相色谱法

第三节 色谱分离理论与术语

参考文献

## 第二章 色谱仪器维护与故障排除概述

第一节 日常维护与故障排除的思路

第二节 仪器维护的基本规则

第三节 逻辑推理（故障的确定）

第四节 故障的预防

第五节 备件和工具箱

参考文献

## 第三章 液相色谱输液系统

第一节 输液泵简介

第二节 泵故障的排除

第三节 管路的种类与规格

第四节 液相色谱接头

参考文献

## 第四章 液相色谱流动相

第一节 液相色谱流动相基础

第二节 梯度洗脱

第三节 流动相脱气

第四节 流动相贮存与过滤

第五节 缓冲溶液

参考文献

## 第五章 液相色谱进样系统

第一节 手动进样器简介

第二节 手动进样器故障排除

第三节 自动进样器原理

第四节 自动进样器故障预防

第五节 自动进样器故障和解决方法

参考文献

## 第六章 液相色谱柱

第一节 液相色谱柱介绍

第二节 柱的评价

第三节 色谱柱预防性保护与柱寿命的延长

第四节 故障与解决的办法

参考文献

## 第七章 液相色谱检测器

第一节 检测器原理与特性

第二节 检测器故障和解决方法

参考文献

## 第八章 液相色谱分析故障排除

第一节 液相色谱故障排除综述

第二节 峰形问题

第三节 坏柱

第四节 样品超载

第五节 溶剂与样品不相配

第六节 柱外效应与强保留基质

第七节 次级保留效应

第八节 不合适的缓冲液

第九节 其它效应

第十节 保留时间改变

第十一节 液相色谱方法的建立

参考文献

## 第九章 气相色谱气路系统

第一节 气路系统简介

第二节 气体

第三节 流量的调节

第四节 气路泄漏的检查与排除

参考文献

第十章 温度控制系统

第一节 风扇电机系统

第二节 温度控制系统

第三节 温度测量示值误差大

参考文献

第十一章 气相色谱进样系统

第一节 进样口

第二节 进样组件

第三节 进样装置的故障排除汇总

参考文献

第十二章 气相色谱柱

第一节 色谱柱的种类

第二节 色谱柱的选择

第三节 色谱柱故障与维护

参考文献

第十三章 气相色谱检测器

第一节 热导检测器

第二节 氢火焰离子化检测器

第三节 电子捕获检测器

第四节 火焰光度检测器

第五节 氮磷检测器

第六节 质谱检测器

第七节 气相色谱检测器的维护

参考文献

第十四章 气相色谱分析问题

第一节 不出峰与灵敏度降低

第二节 基线问题

第三节 色谱峰问题

第四节 分辨率降低

第五节 保留时间不重复

参考文献

第十五章 定量问题

第一节 定量分析简介

第二节 精密度问题

第三节 准确度问题

第四节 误差问题的解决

第五节 色谱方法建立与验证

参考文献

附录

气相色谱仪检定规程 (JJG 700—1999)

液相色谱仪检定规程 (JJG 705—2002)

台式气相色谱-质谱联用仪校准规范 (JJF 1164—2006)