

色谱常见十四种使用问题的详细解答

问：用 HPLC 进行分析时保留时间有时发生漂移，有时发生快速变化，原因何在？如何解决？

答：关于漂移问题：

- 1、温度控制不好，解决方法是采用恒温装置，保持柱温恒定
- 2、流动相发生变化，解决办法是防止流动相发生蒸发、反应等
- 3、柱子未平衡好，需对柱子进行更长时间的平衡

关于快速变化问题

- 1、流速发生变化，解决办法是重新设定流速，使之保持稳定
- 2、泵中有气泡，可通过排气等操作将气泡赶出。
- 3、流动相不合适，解决办法为改换流动相或使流动相在控制室内进行适当混合

问：色质联用中毛细柱的选择应注意什么问题？

答：1、柱效要高
2、热稳定性好
3、化学惰性强

具体选择应注意

- 1、柱极性。根据分析样品选择不同极性的柱子进行分析
- 2、柱子内径。内径大小决定柱容量
- 3、液膜厚度。分析样品温度不一样，对膜厚有不同要求，温度高液膜要厚，温度低液膜要薄
- 4、柱长度。柱越长，柱效越高，分离效果越好，但也存在吸附问题，柱子过长，分析时间长，因此要根据样品考虑柱子长度

度

- 5、外涂层(柱体)的选择
- 6、另外还有仪器型号、分析对象等因素

问：液相色谱中峰出现拖尾或出现双峰的原因是什么？

答：1、筛板堵塞或柱失效，解决办法是反向冲洗柱子，替换筛板或更换柱子。
2、存在干扰峰，解决办法为使用较长的柱子，改换流动相或更换选择性好的柱子

问：从哪些方面可以简单判别毛细管柱子的热稳定性好坏？

答：1、分配容量(或容量因子) K ，好的柱子在高温运行后，分配容量 K 不应有明显的下降，否则，说明柱子的热稳定性不好。

2、理论塔板数 n ，热稳定性好的柱子经受高温后，理论塔板数应基本保持恒定

3、柱子的极性。热稳定性好的柱子，高温前后极性变化不大，具体表现为保留指数 I 值没有大的变化。

4、噪声。热稳定性好的柱子在高温下使用后，噪声不能增加。

5、柱子的去活层，毛细管柱子涂固定液前内部一般要用去活性试剂去活以增加惰性。质量好的毛细管柱子高温后，去活层

不应该变化，表现在对强极性样品或酸碱性样品的吸附性不能增加。

问：为什么进样器内的玻璃衬套会对色谱行为造成影响？

答：进样器内的玻璃衬套主要有下列作用：

1、提供一个温度均匀的汽化室，防止局部过热。

2、玻璃的惰性不如不锈钢好，减少了在汽化期间样品分解的可能性。

3、易于拆换清洗，以保持清洁的汽化室表面，一些痕量非挥发性组分会逐渐积累残存于汽化室，高温下会慢慢分解，使基

流增加，噪声增大，通过清洗玻璃衬套可以消除这种影响。

4、可根据需要选择管壁厚度及内径适宜的玻璃衬套，以改变汽化室的体积，而不用更换整个进样加热块。从以上几个方面

可以知道玻璃衬套对色谱行为造成影响的原因。

问：毛细管色谱分流进样时，非线性分流的主要原因是什么？

答：1、进样器温度太低，样品汽化不完全，发生分级分流。

2、进样器温度太高，某些组分可能发生热分解，也有的样品可能发生催化分解，或样品部分地被吸附在进样器内表面上。

3、在分流点以前样品没有混合均匀或混合不充分。

4、系统的进样垫，柱接头等地方漏气。

问：HPLC 灵敏度不够的主要原因及解决办法

答：1、样品量不足：解决办法为增加样品量

2、样品未从柱子中流出：可根据样品的化学性质改变流动相或柱子

3、样品与检测器不匹配：根据样品化学性质调整波长或改换检测器

4、检测器衰减太多：调整衰减即可。

5、检测器时间常数太大：解决办法为降低时间参数

6、检测器池窗污染：解决办法为清洗池窗。

7、检测池中有气泡：解决办法为排气。

8、记录仪测压范围不当：调整电压范围即可。

9、流动相流量不合适：调整流速即可。

10、检测器与记录仪超出校正曲线：解决办法为检查记录仪与检测器，重作校正曲线。

问：做 HPLC 分析时，柱压不稳定，原因何在？如何解决？

答：原因可能有：

- 1、泵内有空气，解决的办法是清除泵内空气，对溶剂进行脱气处理；
- 2、比例阀失效，更换比例阀即可。
- 3、泵密封垫损坏，更换密封垫即可。
- 4、溶剂中的气泡，解决的办法是对溶剂脱气，必要时改变脱气方法；
- 5、系统检漏，找出漏点，密封即可。
- 6、梯度洗脱，这时压力波动是正常的。

问：做 PGS / MS 分析时，如何防止焦油状污染物进入毛细柱？

答：聚合物，尤其是一些含氮、硫及卤素的高分子裂解时，常有焦油状物质产生。为防止这种焦油状物质进入毛细柱造成污染

而使柱性能下降，可采用保护预柱，即在裂解器与毛细柱之间接一填充预柱，通过控制预柱温度而使焦油状物质滞留在预柱内

，预注可置于 GC 气化室内，这样既容易控制温度，又减少系统的死体积，当然，预柱填料需经常更换。

问：我最近更换了另一种牌号的 ODS 柱，虽然分离情况仍可以，但保留时间不能重现，为什么？

答：这是因为被分析物可能具有形成氢键的能力。尽管过去几年来，填料的制造技术有了极大的提高，但不同的厂商的 ODS 填料

表面硅醇基的浓度不同。正是这些硅醇基可能与样品发生相互作用。因此，同一被分析物中的各组分在不同牌号的 ODS 柱上的相

对保留时间就可能不同。在流动相中加入少量竞争物，如三乙基胺 (TEA)，将会使硅醇基的成键能力饱和，从而保证不同牌号柱

子上的相对保留时间具有较好的重现性。

问：我购买的 HPLC 柱验收测试时柱压过高，请问为什么？

答：柱压过高是 HPLC 柱用户最常碰到的问题。其原因有多方面，而且常常并不是柱子本身的问题，您可按下面步骤检查问题的

起因。

1、拆去保护柱，看柱压是否还高，否则是保护柱的问题，若柱压仍高，再检查；

2、把色谱柱从仪器上取下，看压力是否下降，否则是管路堵塞，需清洗，若压力下降，再检查。

3、将柱子的进出口反过来接在仪器上，用 10 倍柱体积的流动相冲洗柱子，(此时不要连接检测器，以防固体颗粒进入流动性

)。这时，如果柱压仍不下降，再检查；

4、更换柱子入口筛板，若柱压下降，说明你的溶剂或样品含有颗粒杂质，正是这些杂质将筛板堵塞引起压力上升。若柱压

还高，请与厂商联系。一般情况下，在进样器与保护柱之间接一个在线过滤器便可避免柱压过高的问题，SGE 提供的 Rheodyne

7315 型过滤器就是解决这一问题的最佳选择。

问：高温毛细柱的使用寿命一般为多长？

答：毛细柱寿命除决定于柱子本身的性能外，在很大程度上取决于使用情况，比如使用温度、样品状态，进样量等，如果在其

使用温度范围内，样品干净，色谱柱不被污染的情况下，柱子寿命一般在 2—3 年之间。

问：如毛细管柱被污染，柱效和分辨率降低，有何方法使它恢复？是否可通过老化来解决？

答：根据柱污染程度可采取不同的方法来解决，如果污染不严重，污染物沸点不是太高，可通过老化来解决，但老化温度不可

超过柱子的最高使用温度，且一般要较长时间(8—30 小时)，如果污染较严重，或通过老化仍不能使柱性能恢复，那就必须采用

溶剂清洗，通常是用 5 倍柱容积的溶剂(如正戊烷，二氯甲烷等)通过色谱柱。当然，清洗溶剂用的越多，对柱性能的损坏越大，

清洗完后，在通载气老化一定时间，如果柱性能恢复，便可继续使用。必须指出：只有交联柱才能清洗，对于非交联柱，清洗

柱会彻底失效，因为固定液被洗掉了，至于清洗用溶剂的选择，可参考说明书。

问：BPX70 毛细管柱是否可用于 GC / MS 分析？

答：完全可以，BPX70 为极性柱，使用温度范围宽(25—260℃)，程序升温可达 290℃，流失低，适合于分析脂肪酸甲酯的各种位

置和几何异构体，药物异构体，碳水化合物等。因 BPX70 为交联柱，故用于 GC / MS 很稳定，污染后可清洗再生。