

# 高效液相色谱柱常见故障

## 色谱技术参考

### 一、高效液相色谱柱常见故障

表1 高效液相色谱柱常见故障的判断及排除

现象	判断	排除方法
1. 柱压高于正常值	(1) 柱端过滤器堵塞 (2) 长期使用柱端固定相板结 (3) 分析生化、染料等易污染固定相的样品	(1) 拆下过滤器用硝酸超声清洗 (2) 挖掉板结部分修补柱端 (3) 采用保护柱
2. 柱压低于正常值	某连接处泄漏	高压查找泄漏处, 拆下柱子适当拧紧或衬聚四氟乙烯薄膜
3. 塔板数下降	(1) 超龄服役 (2) 柱被污染	(1) 柱再生或换柱 (2) 清洗

### 二、根据色谱图的变化判断仪器故障

表2 根据色谱图的变化判断仪器故障或方法失误

故障现象	可能的原因	排除方法
进样后不出峰	(1) 检测器选择不当, 样品无吸收 (2) 试样溶液浓度太低, 而检测灵敏度不高 (3) 检测器到记录仪之间的输入信号线连接不好或断开 (4) 记录仪的信号线接错 (5) 进样用注射器堵塞或泄漏, 使样品溶液不能进入进样阀	(1) 正确选择检测器, 如样品无紫外吸收就不应选UV检测器, 而应选其他的检测器 (2) 应适当提高样品浓度和进样量, 并提高检测灵敏度 (3) 修理接好信号并将灵敏度调到适宜的位置 (4) 检查接线, 并正确连接 (5) 修理注射器或更换新注射器
进样不出峰或者峰高不正常	(1) 注射器泄漏 (2) 阀转子上针头密封垫磨损导致泄漏 (3) 选用的注射器针头与阀不匹配 (4) 定子与转子接触密封面损坏引起内通道断路 (5) 定量管堵塞	(1) 更换新注射器 (2) 更换新的零件 (3) 更换合适的针管 (4) 损坏不严重时经重新研磨, 使之恢复性能, 否则更换新的转子 (5) 设法打通, 或者换新的
出现无名峰	(1) 转子针头密封垫及进样针导管污染 (2) 阀样品通路清洗不干净	(1) 清洗阀的样品通路 (2) 方法同(1)
峰形拖尾	(1) 定体积量管与阀连接处出现死区 (2) 进样器内有污染或不干净 (3) 色谱柱选择不当, 试样与固定相间有作用 (4) 进样技术差 (5) 样品在流动相中溶解度小 (6) 进样量太大 (7) 色谱柱与阀的连接管连接处出现死区	(1) 更换新管消除死区 (2) 可先用2:1:4的硫酸—硝酸—水的混合溶液清洗, 接着用蒸馏水清洗, 然后用丙酮或乙醚等溶剂清洗, 烘干 (3) 更换色谱柱 (4) 提高进样技术 (5) 选用对试样溶解能力强的溶剂作为流动相 (6) 减少进样量 (7) 重新装柱或更换

# 高效液相色谱柱常见故障

## 色谱技术参考

故障现象	可能的原因	排除方法
分离度变差	(1) 柱端固定相板结 (2) 柱端床层塌陷 (3) 柱子寿命已到 (4) 进样量过大 (5) 样品浓度过大 (6) 试样溶解不完全 (7) 试样粘度大 (8) 色谱柱污染柱效下降	(1) 挖掉修补, 重填固定相 (2) 修补柱端 (3) 更换新柱 (4) 减少进样量 (5) 减小配样浓度 (6) 换溶剂使其完全溶解 (7) 减少进样量, 降低进样浓度 (8) 更换柱子或以极性溶剂冲洗
保留时间不重复	(1) 更换流动相对旧流动相未完全被顶替掉 (2) 正相柱中流动相脱水不完全 (3) 柱温变化 (4) 缓冲液容量不够 (5) 柱内条件变化 (6) 柱塌陷或形成短路通道	(1) 延长平衡时间 (2) 重新脱水 (3) 柱恒温 (4) 用较浓的缓冲液 (5) 稳定进样条件, 调节流动相 (6) 更换色谱柱
出现无规律色谱峰	长期进样滞留在柱中的组分被洗脱	用强极性溶剂冲洗再用流动相平衡
平顶峰	(1) 色谱柱超载 (2) 记录仪灵敏度过高 (3) 记录仪机械部分有故障 (4) 记录仪接收的信号超过了测量范围  (5) 检测池及其透镜、池窗等光学附件污染	(1) 减少进样量 (2) 适当降低记录仪的灵敏度 (3) 参照有关说明书进行修理 (4) 改变记录仪量程  (5) 清洗检测池以及透镜、池窗等光学附件
出负峰	(1) 记录仪或检测器极性接反 (2) 用示差折光检测器检测时, 样品的折光指数小于流动相溶剂的折光指数 (3) 使用的流动相不纯净 (4) 样品池与参比池接反 (5) 进样故障  (6) 光电池与放大器接错 (7) 用UV检测器时, 溶解样品所用的溶剂与流动相溶剂不能互溶或两溶剂pH值不同。当溶剂流过检测池时, 光在两种互不相溶溶剂的界面上产生折射, 从而使光电池接受到不同强度的光, 光强度减弱, 以至于低于参比, 也可出负峰	(1) 纠正极性连接错误 (2) 若要得到正峰, 可改变检测器或记录仪的极性 (3) 使用纯净的流动相 (4) 掉换 (5) 使用进样阀, 确认在进样期间样品环中没有气泡 (6) 检查后正确连接 (7) 应尽量采用能与流动相溶剂互溶的溶剂来溶解样品, 最好用流动相作为样品溶剂
色谱峰未分开	(1) 色谱柱分离度低, 柱效不高 (2) 色谱柱或色谱条件(溶剂、检测器、温度、流速、柱子等)选择不当 (3) 柱子过载 (4) 流动相流速过大 (5) 柱中填料流失过多, 增加了柱外效应 (6) 进样技术不佳	(1) 选择高效柱或重新装柱 (2) 再行试验选择最佳色谱分离条件 (3) 减少进样量或采用“再循环分离”技术 (4) 适当降低流速 (5) 更换色谱柱 (6) 提高进样技术

# 高效液相色谱柱常见故障

## 色谱技术参考

故障现象	可能的原因	排除方法
基线不能回零	(1) 样品粘度大 (2) 进样量太大, 柱超载 (3) 溶解样品的溶剂与流动相溶剂互溶 (4) 柱效低, 柱内有空隙 (5) 进样装置部分堵塞	(1) 适当减小样品浓度, 并采用低粘度流动相溶剂 (2) 减小进样量 (3) 尽量采用能互溶的溶剂来溶解试样 (4) 改用高效柱或重新装柱 (5) 检修进样器并清洗之
有空峰(假峰)	(1) 不同批号不同处理条件的溶剂分别用来溶样或作为流动相时, 易出空峰 (2) 流动相溶剂中有杂质或气泡, 用该流动相配样会出空峰 (3) 样品中未知物 (4) 柱未平衡(尤其是离子对色谱) (5) 进样阀残余峰 (6) 与流动相组成不同的样品溶剂洗脱 (7) 用不同批号的溶剂溶解样品	(1) 最好使用同一批, 又是在同一条件下处理过的溶剂, 用它分别作为流动相或溶样, 则有可能避免出假峰 (2) 对流动相溶剂, 应坚持先以 0.45um 过滤膜过滤和脱气后再使用 (3) 处理样品 (4) 重新平衡柱; 用流动相作样品溶剂 (5) 每次使用后用强溶剂清洗阀 (6) 用流动相溶解样品; 大大减少进样量 (7) 应尽量采用同一溶剂和相同处理条件的溶剂溶样, 若非用不同溶剂时, 应注意空峰对实验带来的影响
基线有噪声	(1) 记录仪与检测器信号输出接触不良 (2) 电压不稳 (3) 接地线不好 (4) 泵中有气泡, 泵压不稳 (5) 溶剂纯度不高, 背景吸收强, 透光差 (6) 检测池污染 (7) 示差折光检测器液槽漏 (8) 用 RI 检测时, 环境温度变化太大 (9) 样品池或参比池中有气泡  (10) 检测器光源(灯泡)故障 (11) 紧固件或连接件泄漏 (12) 进样装置部分堵塞 (13) 由泵的冲程引起的规则脉冲 (14) 隔膜泄漏	(1) 检查并接好信号线 (2) 采取稳压措施 (3) 应改用良好的接地线 (4) 用前述的方法赶除聚集于泵头内的气泡 (5) 提纯溶剂或选纯度比较高(至少应为分析纯级)、透光性好的溶剂作为流动相 (6) 清洗检测池 (7) 检修或更换液槽 (8) 应采用恒温或温度变化不大的环境作实验 (9) 突然加大流量赶出气泡, 在检测器出口加上限流器以增大池内压(如果检测池耐压的话) (10) 更换光源 (11) 拧紧或更换紧固件 (12) 检修进样器并清洗 (13) 连接脉冲阻尼装置; 使用无脉冲泵 (14) 更换隔膜; 最好使用进样阀
基线漂移	(1) 溶剂贮槽污染 (2) 前次分离样品中的强吸附组分从柱上洗脱 (3) 由微粒造成柱入口、进样阀、柱入口的部分堵塞 (4) 溶剂分层 (5) 泵输出的缓慢改变 (6) 检测器污染 (7) 柱污染或“流失”  (8) 检测器温度变化 (9) 光源故障	(1) 清洗贮槽装入新流动相冲洗柱子 (2) 在分离之前用强流动相从柱中洗脱所有的组分; 使用溶剂梯度清洗柱子 (3) 清洗进样系统和柱入口过滤片  (4) 采用合适溶剂 (5) 检查流量; 如果泵的输出随温度变化, 应控制温度 (6) 清洗检测器 (7) 再生或更换(如再生不成功)柱子; 使用预柱  (8) 使系统恒温 (9) 更换光源灯

# 高效液相色谱柱常见故障

## 色谱技术参考

故障现象	可能的原因	排除方法
基线噪声大，且漂移	(1)环境温度变化大 (2)色谱系统未达平衡 (3)柱子污染 (4)示差折光检测器池裂开	(1)采取恒温措施 (2)延长色谱系统流动相平衡时间 (3)用大流量极性溶剂冲洗柱子，如还不解决问题应更换柱子 (4)检查更换
基线不规则地漂移	(1)色谱柱污染变脏 (2)溶剂纯度差 (3)泵密封不好 (4)用RI检测时，两溶剂互溶性不好 (5)环境温度变化大(指使用RI检测器) (6)管路漏 (7)色谱柱没有完全平衡 (8)溶剂直接吸收了空气中的水分，使RI检测器不稳定	(1)冲洗柱子、重新装柱或更换新柱子 (2)更换纯溶剂 (3)检查维修泵密封或更换密封圈 (4)使两溶剂能很好地互溶混合，必要时可采取搅拌方式 (5)应采取恒温措施 (6)检查管路，并消除泄漏处 (7)延长冲洗时间，使柱子达到平衡 (8)阻止溶剂与潮湿空气接触或用干燥剂干燥溶剂
基线上出现大的尖峰	(1)检测池内有气泡通过 (2)实验室内其他电器(如：烘箱，其他色谱仪等)的影响。	(1)溶剂脱气并彻底冲洗系统；检查紧固件是否有空气漏入系统 (2)消除噪音来源；确保装置接地良好；用绝缘变压器使仪器绝缘
峰重现性差	(1)注射器针头太长，样品液部分漏掉 (2)进样技术欠佳，表现为峰面积忽大忽小 (3)管路有泄漏处 (4)仪器没有充分稳定 (5)实验条件发生变化 (6)注射器有泄漏或堵塞现象 (7)进样速度不一致 (8)进样阀开关不灵，阀门没充分打开 (9)样品溶解度小，进样后有少量在流动相中析出 (10)流动相流速发生了改变	(1)选用合适的针头对U6K进样装置以(3.8—5.0)cm为宜 (2)认真掌握注射器进样技术，使注射器进样重复性误差小于5% (3)检查并修复 (4)对仪器再次预热稳定冲洗平衡 (5)使实验条件(检测器灵敏度、流速、温度等)尽可能一致 (6)修复或更换注射器 (7)掌握一样的进样速度 (8)检查维修进样阀开关 (9)选用的溶解试样的溶剂应对试样有良好的溶解能力且能与流动相互溶的溶剂 (10)用内标物定期检查流动相流速
峰分裂(一个组分有两个峰)	(1)样品中可能有异构体 (2)样品不稳定有部分分解 (3)进样量大，柱超载 (4)柱子中有孔隙	(1)按异构体特征选择分离条件，使两峰达完全分离 (2)采取措施，防止试样组分的部分分解 (3)减小进样量 (4)更换柱子