**关于液相色谱使用中需要注意的细节
前言**

液相色谱对于多数人来说都是很好上手的仪器了，但是就算是用过几年、经验丰富的分析员都会习惯于一些错误的操作，经常导致一些仪器故障。方便快捷的分析过程固然重要，但是为了多做样品而忽略了一些必不可少的步骤，往往得不偿失。所以液相色谱我们究竟需要注意哪些细节问题呢？

***01***

**流动性不过滤**

因为尘埃或其它任何杂质微粒都会磨损柱塞、密封环、缸体和单向阀，因此应预先除去流动相中的任何固体微粒。流动相最好在玻璃容器内蒸馏，而常用的方法是滤过，可采用Millipore滤膜（0.2μm或0.45μm）等滤器。泵的入口都应连接砂滤棒（或片）。输液泵的滤器应经常清洗或更换。

***02***

**使用后没有及时清洗泵**

流动相不应含有任何腐蚀性物质，含有缓冲液的流动相不应保留在泵内，尤其是在停泵过夜或更长时间的情况下。如果将含缓冲液的流动相留在泵内，由于蒸发或泄漏，甚至只是由于溶液的静置，就可能析出盐的微细晶体，这些晶体将和上述固体微粒一样损坏密封环和柱塞等。因此，必须泵入纯水将泵充分清洗后，再换成适合于色谱柱保存和有利于泵维护的溶剂（对于反相键合硅胶固定相，可以是甲醇或甲醇-水）。

***03***

**流动相走空**

泵工作时要留心防止溶剂瓶内的流动相被用完，否则空泵运转也会磨损柱塞、缸体或密封环，最终产生漏液。

***04***

**压力和流量不稳了**

原因可能是气泡，需要排除；或者是单向阀内有异物，可卸下单向阀，浸入丙酮内超声清洗。有时可能是砂滤棒内有气泡，或被盐的微细晶粒或滋生的微生物部分堵塞，这时，可卸下砂滤棒浸入流动相内超声除气泡，或将砂滤棒浸入稀酸（如4mol/L硝酸）内迅速除去微生物，或将盐溶解，再立即清洗。

***05***

**梯度洗脱的流动相选择不当**

要注意溶剂的互溶性，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，超出范围后就不互溶，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。

***06***

**忽略的空白梯度洗脱**

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。

***07***

**忽略了溶剂混合所带来的粘度变化**

混合溶剂的粘度常随组成而变化，因而在梯度洗脱时常出现压力的变化。例如甲醇和水粘度都较小，当二者以相近比例混合时粘度增大很多，此时的柱压大约是甲醇或水为流动相时的两倍。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。

***08***

**关于六通阀的正确使用和维护**

①样品溶液进样前必须用0.45μm滤膜过滤，以减少微粒对进样阀的磨损。
②转动阀芯时不能太慢，更不能停留在中间位置，否则流动相受阻，使泵内压力剧增，甚至超过泵的最大压力；再转到进样位时，过高的压力将使柱头损坏。
③为防止缓冲盐和样品残留在进样阀中，每次分析结束后应冲洗进样阀。通常可用水冲洗，或先用能溶解样品的溶剂冲洗，再用水冲洗。

***09***

**关于色谱柱的使用和维护**

色谱柱的正确使用和维护十分重要，稍有不慎就会降低柱效、缩短使用寿命甚至损坏。在色谱操作过程中，需要注意下列问题，以维护色谱柱。
①调节流速太快
避免压力和温度的急剧变化及任何机械震动。温度的突然变化或者使色谱柱从高处掉下都会影响柱内的填充状况；柱压的突然升高或降低也会冲动柱内填料，因此在调节流速时应该缓慢进行，在阀进样时阀的转动不能过缓（如前所述）。
②反冲色谱柱
一般说来色谱柱不能反冲，只有生产者指明该柱可以反冲时，才可以反冲除去留在柱头的杂质。否则反冲会迅速降低柱效。
③预柱和保护柱
选择使用适宜的流动相（尤其是pH），以避免固定相被破坏。有时可以在进样器前面连接一预柱，分析柱是键合硅胶时，预柱为硅胶，可使流动相在进入分析柱之前预先被硅胶“饱和”，避免分析柱中的硅胶基质被溶解。
避免将基质复杂的样品尤其是生物样品直接注入柱内，需要对样品进行预处理或者在进样器和色谱柱之间连接一保护柱。保护柱一般是填有相似固定相的短柱。保护柱可以而且应该经常更换。

版权申明

    本文来源于液相色谱之家，如有侵权，请联系！

|  |  |
| --- | --- |
| 图片55.png 技术服务 |中药化学成分研究 试剂 | 高纯度小批量科研用 中药化学对照品 植标化纯生物 |您值得信赖的中药药学研究合作伙伴**服务公众号_344.jpg喜欢就分享**

|  |
| --- |
|   |

长按二维码关注 |