

色谱技术丛书

化学工业出版社

色谱仪器维护与故障排除

吴方迪 编著

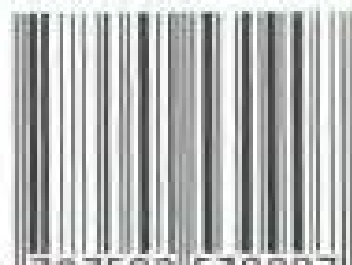


CHROMATOGRAPHY
CONCEPTS

色谱技术丛书

- 《色谱分析概论》
- 《色谱定性与定量》
- 《气相色谱检测方法》
- 《液相色谱检测方法》
- 《气相色谱方法及应用》
- 《高效液相色谱方法及应用》
- 《平面色谱方法及应用》
- 《离子色谱方法及应用》
- 《毛细管电泳技术及应用》
- 《色谱分析样品处理》
- 《色谱联用技术》
- 《色谱柱技术》
- 《色谱仪器维护与故障排除》

ISBN 7-5025-3090-8



9 787502 530907 >

ISBN 7-5025-3090-8/TQ · 1332

定价：24.00元

色 谱 技 术 丛 书

色谱仪器维护与故障排除

吴方迪 编著

化学工业出版社

· 北 京 ·

108881

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

色谱仪器维护与故障排除/吴方迪编著. —北京: 化学工业出版社, 2001.5
(色谱技术丛书/傅若农主编)
ISBN 7-5025-3090-8

I. 色… II. 吴… III. ①色谱仪-维修②色谱仪-故障修复 IV. TH833.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 13629 号

色谱技术丛书

色谱仪器维护与故障排除

吴方迪 编著

责任编辑: 任惠敏

责任校对: 顾淑云

封面设计: 于 兵

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64918013

http: //www. cip. com. cn

*

新华书店北京发行所经销

化学工业出版社印刷厂印刷

三河市宇新装订厂装订

开本 850×1168 毫米 1/32 印张 10 $\frac{3}{4}$ 插页 1 字数 287 千字

2001 年 4 月第 1 版 2001 年 4 月北京第 1 次印刷

印 数: 1—5000

ISBN 7-5025-3090 8/TQ·1332

定 价: 24.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

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。为此化工出版社提议，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》，刘国诠、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

本书系《色谱技术丛书》之一，在简介色谱仪器（主要是高效液相色谱仪和气相色谱仪）的基础上，对于日常工作中可能遇到的色谱仪器的日常维护及常见故障排除作了描述，并从故障排除定义出发，按高效液相色谱仪和气相色谱仪仪器各部件的日常维护和故障排除方法进行介绍。

鉴于目前国内对于高效液相色谱仪和气相色谱仪仪器的实际使用情况，本书在编排上对于高效液相色谱仪的叙述主要以仪器与常用部件日常维护及使用重点为主线，辅之以故障排除；而在气相色谱仪仪器方面则以故障检查及排除的形式为主线，将日常维护融进这些故障检查与排除之中，望读者引起注意。

由于篇幅的限制，色谱仪器日常维护与故障排除方法中涉及到的有关色谱技术理论与许多可能非常有用的色谱仪器结构图及一些参数表，未能在本书中加以详细说明，需要了解这些理论与图表的读者可以参阅本丛书中的相关分册及其它有关专著。

需要说明的是，由于具体的色谱仪器的构造差异非常大，本书只能给出工作中仪器维护的要点和对常见故障发生的原因的整体思考、逻辑推理及大致的解决办法，具体的每一步的实际操作还是要遵循读者手中的仪器操作说明书进行。

此外，由于建立质量管理体系的需要，根据国际标准化文件 ISO/IEC 17025 等的要求，在建立了被认可（认证）的生产厂家和第二、第三方实验室都应该对各种检测设备的运行状态进行制度化管埋。在这些管理文件中，很重要的一条就是要对在用检测设备进行检定与校准，并要对在用设备按照规定的程序进行经常性检查工作，以确定仪器运行状态的可信度。这项质量活动称之为仪器设备的“运行检查”（intermediate checks）。这项工作所使用的检验方法的编

写大部分是参照了有关国家计量检定规程。为了使读者对于仪器各项性能的运行情况有更加深刻的了解，在本书的最后附上“实验室液相色谱仪检定规程”和“气相色谱仪检定规程”，希望能够对日常的色谱仪器的维护起到积极的作用。

鉴于作者的知识水平和编写时间的仓促，对于本书中不妥之处，敬请有关专家和读者谅解并指正，作者在此表示衷心的感谢。

本书编写过程中，得到了国家标准物质研究中心主任于亚东研究员的大力支持，也得到了其他分册作者的诸多帮助；丛书主编傅若农教授、汪正范研究员和刘虎威教授仔细审阅了书稿，并给了作者许多指导；安捷伦科技（原惠普）公司提供了许多资料；化学工业出版社编辑对于工作投入了大量的精力，在此表示诚挚的谢意。

作 者

2000年12月

内 容 提 要

本书是作者在总结多年的实际工作经验的基础上，参考有关专著编撰而成的。书中主要介绍高效液相色谱仪和气相色谱仪器的日常维护与常见故障的排除方法。全书共分为20章，结合色谱仪器的结构与工作原理，分别介绍了仪器维护与故障排除的基本原则；仪器各组成部分与部件较易发生的故障；查找故障原因的基本思路；产生各类故障的可能的原因及处理方法等。书中列出了一些图表，较直观地表示出查找故障的逻辑推理过程，书末附了“实验室液相色谱仪检定规程”和“实验室气相色谱仪检定规程”。

本书适合于从事气、液相色谱分析工作和从事仪器维修工作的技术人员学习参考。

目 录

第一章 绪论	1
第一节 色谱法的出现与发展	1
第二节 色谱仪器故障的定义	3
第二章 仪器维护与故障排除的基本原理	5
第一节 色谱仪器日常维护与故障排除的整体思考	5
第二节 应该遵循的几条基本规则	7
第三节 逻辑推理（故障的确定）	10
第三章 故障的预防	12
第一节 仪器的选购	12
第二节 记录的建立	14
第三节 日常维护	20
第四节 备件和工具箱	21
第四章 液相色谱分离基础	23
第一节 压力与流量的关系	23
第二节 液相色谱的保留	24
第三节 峰宽与分离	27
第四节 柱外峰宽效应	30
第五节 液相色谱方法的建立	32
第五章 液相色谱仪器故障与排除方法综述	36
第一节 故障分类、识别与排除表的编排	36
第二节 故障排除表的使用	61
第六章 贮液器和脱气	66
第一节 贮液器与脱气方法	66
第二节 故障的预防	70
第三节 常见故障与解决办法	71
第七章 高压输液泵	74
第一节 泵的基本类型与构造简介	74

第二节	常用的混合方式	78
第三节	故障的预防	80
第四节	常见故障与解决办法	81
第八章	管路与接头	86
第一节	管路的种类与规格	86
第二节	管路故障的预防	89
第三节	管路故障与解决办法	90
第四节	低压接头与高压接头	91
第九章	进样系统	97
第一节	进样器的设计与操作	97
第二节	进样器的零部件和专用部件	104
第三节	自动进样器的设计与操作	107
第四节	故障的预防	109
第五节	手动进样器的维护与故障排除	112
第六节	自动进样器故障和解决办法	115
第十章	柱	119
第一节	色谱柱的种类与评价	119
第二节	色谱柱预防性保护与柱寿命的延长	126
第三节	故障与解决的办法	130
第四节	延长柱寿命的方法	134
第十一章	检测器	136
第一节	检测器的简介与特性	136
第二节	检测器故障和解决办法	145
第十二章	记录器和数据系统	155
第一节	记录器和数据系统操作原理	155
第二节	故障及排除方法	159
第十三章	分离问题	163
第一节	峰形分析	163
第二节	坏柱	166
第三节	样品过载	168
第四节	溶剂与样品不相配	168
第五节	柱外效应与强保留基质	170
第六节	次级保留效应	172

第七节	不合适的缓冲液	177
第八节	其它效应	178
第九节	保留时间的改变	184
第十节	峰位置的改变	190
第十四章	定量问题	192
第一节	色谱定量简介	192
第二节	不能接受的精确度	195
第三节	不能接受的准确度	199
第四节	误差问题的解决	201
第十五章	梯度洗脱与样品预处理	204
第一节	梯度洗脱	204
第二节	样品预处理	209
第十六章	气相色谱仪器故障排除方法综述	213
第一节	故障排除表	213
第二节	故障寻找举例	230
第三节	仪器的调试	231
第四节	故障确定程序化	232
第十七章	气路系统	234
第一节	气路系统简介	234
第二节	流量的调节	236
第三节	气路泄漏的检查与排除	240
第四节	部件的清洗	242
第十八章	温度控制系统	247
第一节	风扇电机系统	247
第二节	温度控制系统	249
第三节	温度测量示值误差超常	257
第十九章	检测器的故障排除	259
第一节	检测器简述	259
第二节	故障的产生与解决	261
第二十章	保留时间不重复、灵敏度降低与定量重复性差	292
第一节	谱带拖尾、峰畸变及保留时间不重复	292
第二节	不出峰与灵敏度降低	293
第三节	定量重复性差	296

主要参考文献	299
附录	300
一、气相色谱仪检定规程	300
二、液相色谱仪检定规程	313
符号表	327

第一章 绪 论

第一节 色谱法的出现与发展

色谱学是现代分离分析的一个重要领域,也是一门新兴学科,近30年来,色谱学各分支,如气相色谱、液相色谱、薄层色谱等研究方法都得到了深入的研究,各种相关的仪器更是有了飞速的发展。随着色谱仪器的被广泛使用,对于仪器如何进行日常维护和简单的故障预防、分析、排除等问题就显得十分重要了。本书主要对色谱仪器(气相色谱仪和高效液相色谱仪)的这些方面内容加以介绍。

一、色谱法的出现及两种色谱方法的比较

色谱法(Chromatography)亦称色层法或层析法,是一种分离分析技术。在许多科学和应用领域有着非常广泛的应用。

色谱法是由俄国植物学家茨维特(Tswett)于本世纪初创立的。经过近百年的发展,现在已经成为分离分析技术的重要组成部分,其中气相色谱法和高效液相色谱法又是分离分析中使用最为普遍的方法,表1-1将这两种方法的特点作一个比较。

二、现有仪器的发展情况

20世纪50年代创立了气相色谱法,它的出现把色谱法由分离技术提高到分离与“在线”分析的新水平,为色谱法成为现代分离-分析方法奠定了基础,1957年诞生了毛细管色谱法。20世纪60年代推出了色谱-质谱联用技术,有效地弥补了色谱法定性分析特征性差的弱点,成为最重要的分离分析方法之一。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等的弱点,大大扩大了色谱法的应用范围,把色谱法推进到一个新水平。20世纪80年代出现了超临界流体色谱法,这种方法兼有气相色谱法与高效液相色谱法的优点,是个有前

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	样品需加热气化或裂解
流动相	<p>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</p> <p>2. 液体流动相动力黏度为 10^{-3} Pa·s,输送压力可达 45MPa</p>	<p>1. 惰性气体,不与被分离的样品发生相互作用</p> <p>2. 气体流动相动力黏度为 10^{-5} Pa·s,输送压力仅为 0.1~1MPa</p>
固定相	<p>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</p> <p>2. 色谱柱:填充粒度小(5~10μm),柱内径 3~6mm,柱长 10~25cm,柱效 10^4;毛细管柱内径 0.01~0.03mm,柱长 5~10m,柱效 10^4~10^5;柱温为常温</p>	<p>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</p> <p>2. 色谱柱:填充粒度大(0.1~0.5mm),柱内径 1~4mm,柱长 1~4m,柱效 10^2~10^3;毛细管柱内径 0.1~0.5mm,柱长 10~100m,柱效 10^3~10^4;柱温为常温~420C</p>
检测器 ^①	<p>选择性:UVD,PDAD,FD,ECD</p> <p>通用型:ELSD,RID</p>	<p>选择性:ECD*,FPD,NPD</p> <p>通用型:TCD,FID</p>
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} cm ² /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} cm ² /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; PDAD——二极管阵列检测器; FD——荧光检测器; ECD——电化学检测器; RID——折光率检测器; ELSD——蒸发激光散射检测器; 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。

途的分析方法。20世纪80年代飞速发展起来的毛细管电泳法最令人注目,已成为生命科学最重要的分析方法之一。20世纪90年代崛起的电色谱法,兼有毛细管电泳法与微填充柱HPLC色谱法的优点,必将成为最重要的色谱分析方法。由Tswett提出色谱名词之后至气相色谱法的创立,应是现代色谱法的第一个里程碑,色谱-光谱联用技术、高效液相色谱法及毛细管电泳法可分别视为色谱法的第二、第三及第四个里程碑。

关于色谱法的进展有诸多文献可供参考,其现今发展的主要内容有色谱专家系统、色谱-光谱联用法、色谱-色谱联用法(二维色谱法,全二维色谱法)、毛细管电色谱法及其它方面(固定相、检测器、工作站等方面),可参阅本丛书相关分册。

目前国内使用的气相色谱仪主要为北分瑞利分析仪器集团公司、北京东西电子技术研究所、上海科创色谱仪器公司、南京分析仪器厂等十多家国内生产厂家及Agilent公司、Perkin-Elmer公司、Varian公司、岛津公司等国外公司的产品。使用的液相色谱仪主要为大连依利特公司、北京东西电子技术研究所、Agilent公司、Waters公司、Perkin-Elmer公司、Varian公司、岛津公司等的产品。

第二节 色谱仪器故障的定义

一个仪器系统发生了故障就是指该仪器系统的一些性能偏离了仪器的出厂设计指标,或是系统由于各种原因停止工作。因为仪器系统的指标往往不止是单独几项,经常是多项指标间有着密切的联系,要证明仪器系统的好坏,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到底或检验结果达不到设计要求的都可以称之为仪器系统发生了故障。只不过是这些故障有大、有小,对于使用者的影响各异而已。这里要强调的是检验方法是要得到社会的认可的,例如,国家有关的仪器的试验方法、检定规程、环境试验条件、有关国际标准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四章。在相关的试验方法中明确规定了仪器系统的各项指标合格与否的判断依据与结论。在使用中还需注意由于用户与生产厂家的立场不同，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；发现故障原因后，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作出建议。有关的判断思考在以下的章节中会作出详细的解释。

第二章 仪器维护与故障排除的基本原理

第一节 色谱仪器日常维护与故障排除的整体思考

对色谱仪器系统进行维护的目的是要尽早地检查出问题，并能很快加以解决，排除故障使设备正常运转，使仪器设备停止工作时间缩至最短。首先，你可以每天花上很短的时间查看一下仪器，往往能够及时了解设备运转是否正常，如果出现不正常情况，可借助多年的经验，分析判断出现问题的可能性。出现故障后，要善于用逻辑推理的方法，找出问题所在，然后根据故障的类别、大小，采取相应的解决措施，或者借助于各种手册帮助自己动手排除之。如果需要可请制造厂家来进行维修服务。

读者可以按照图 2-1 和表 2-1 提供的程序，结合本书后面的章节来进行思考、判断和解决问题。

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,作新色谱图计算各种色谱理论参数(N, α, k' 等),重复实验,确立现系统的条件
(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

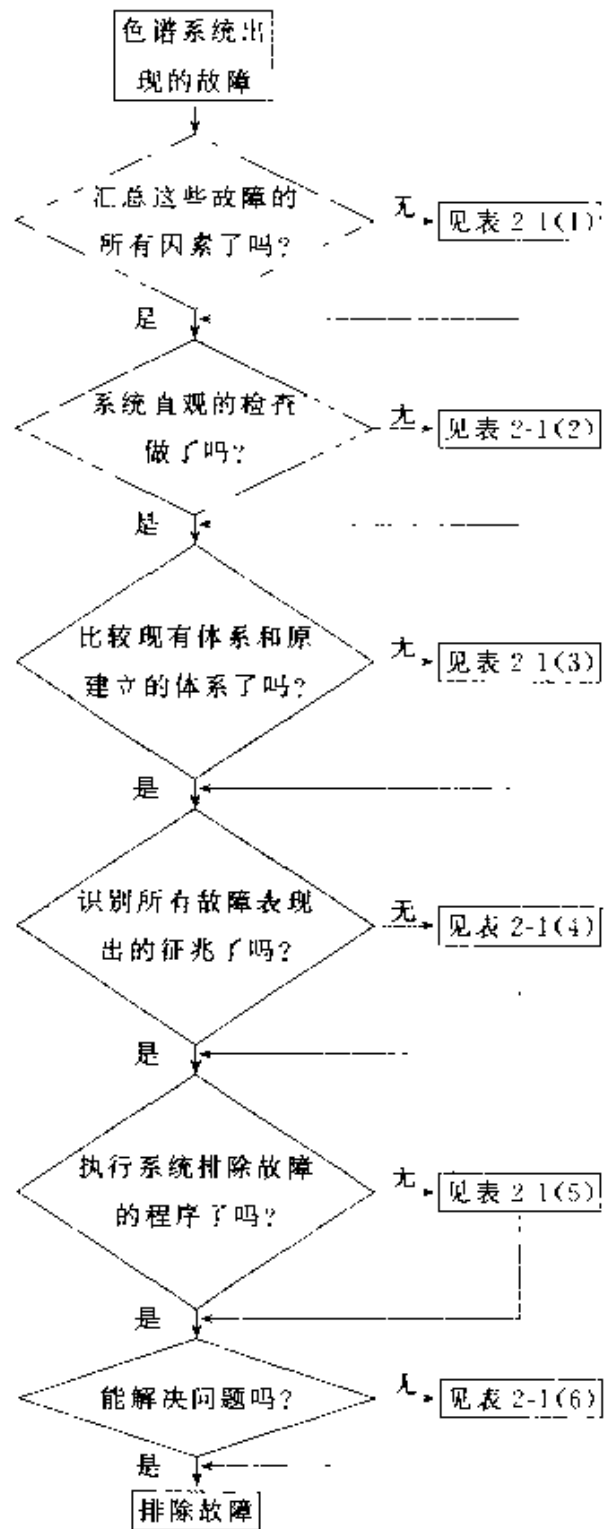


图 2-1 系统故障排除程序

尽管平时的保养工作做得很好，仪器还是会发生故障的。假如没有合适的工具和熟练的技巧，在试图排除故障时势必会损坏部件；

如自己动手修理电路板或调整检测器光路，这似乎超过了多数用户的能力。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复杂的部件；
- (3) 请教有关专家，如检测器问题可请教光谱学专家，电路问题可请教电子工程师；
- (4) 打电话或发电子邮件给厂商，厂商可在电话或各种网络中给予指导，不一定都要厂商登门。

第二节 应该遵循的几条基本规则

本节例举了一些对仪器（以液相色谱系统举例，气相色谱系统也可以进行类似的思考）进行良好维护和故障排除的实践，这些实践是作为“常用准则 (rules of thumb)”提出的，如果你在维护和故障排除的过程中采用了这些准则，并达到了目的，你将发现仪器维护与故障排除工作其实还是相当简单的。

1. 一次规则 (rule of one)

当系统出了故障，你可以试探性地改变某些状态，一次可以改变一个参数。例如，限制色谱峰拖尾的问题，可以依次改变流动相，换保护柱，换分析柱等。做一些简单的改变步骤，也许就能解决问题。

2. 二次比较规则 (rule of two)

在动手检修之前已经明确了故障所在，或者已经确定了解决故障的方案。换句话说，动手之前已经找对了解决办法。例如，在进样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，是否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的。在梯度洗脱中如果出现了多余的峰，可以空载梯度洗脱一次（真的有问题吗？），用

此规则可以避免不必要的改变，尽快确定纠正措施。

3. 取代规则 (substitution rule)

用好的部件换下可疑的部件，是查找故障的最好方法。如果你怀疑检测器引起了噪音，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。这个规则应用的规模有大有小，可以从换整个部件到换印刷线路板上的集成块。

4. 换回规则 (put it back)

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的故障。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。

5. 参考条件规则 (reference conditions)

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。表 2-2 中列举了启用新色谱柱时的标准试验条件，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。当然发生问题不结合实际分析程序考虑，只通过查找标准参考色谱图是不能一目了然的。

表 2-2 色谱柱试验的标准参考条件

反相	流动相 色谱柱 流速 检测器 样品	甲醇/水(体积比=70/30) C ₁₈ 1mL/min UV254nm 尿嘧啶(用于 t ₀) 苯酚, 苯乙酮, 硝基苯, 苯甲醛, 甲苯
极性键合相	流动相 色谱柱 流速 检测器 样品	正己烷/异丙醇(体积比=75/25) 腈基 1mL/min UV254nm 硝基苯, 卞醇, 2,4-二硝基甲苯, 对硝基卞醇
正相	流动相 色谱柱 流速 检测器 样品	正己烷/二氯甲烷/异丙醇胺(体积比=95/4/1) 硅胶 1mL/min UV254nm 2-苯-2-丙醇, 甲卞醇, 肉桂醇

6. 记录规则 (write it down)

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。

7. 预测规则 (crystal ball)

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，造成流动相渗漏，会腐蚀泵和其它部件，善于保养能节约时间和金钱而不是仪器控制了操作人员。例如，每天开始工作或结束工作时发现灯寿命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。

8. 缓冲液规则 (buffer rule)

这条规则提醒你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10%的有机溶剂或0.02%~0.05%的叠氮化钠。在实验室中应按如下程序冲洗；用纯水冲洗30~60min (1mL/min) 再用甲醇冲洗30min后关机。千万不能一开机就用有机溶剂冲洗，否则无机盐就会沉淀在系统中，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，紧一紧螺丝就可以了。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。沿着流动相存贮器经系统到放空，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。

第三章 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。当然，还没有发现不发生故障的色谱系统。问题的关键是你应该在平时做好各种预防性的维护措施，这样就可以将发生故障所产生的危害降至最小。

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，你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，你可以定期更换泵密封垫圈（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）。如果你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。

第一节 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，对于保持仪器能否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，又因为可供选择的生产厂商是如此之多，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应你的实验室的基本规则。使用者在作出购买仪器的决定前，只有结合实际情况多思考，才能达到比较满意的效果。

组装型和整机型 一般而言，色谱系统有两种形式：①组装型——购买一家或几家厂商的组件组装成套；②整机型——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

的整机大都也不是独家产品，也是由几家厂商的组件组装起来。仪器购买者清楚选择的厂家的产品特色是非常重要的。

组装型仪器目前比较受欢迎（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。

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。它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打交道的选择中，经验告诉我们，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。

第二节 记录的建立

系统维护的最终目的还是为了使色谱系统的故障率减至最小，以及避免在运转和移动中使系统发生全局性的故障。虽然我们不可能完全预防故障的出现，但是可以减轻因此而造成的麻烦。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。各实验室对于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

实验室中的每台液相色谱系统和气相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 3-1 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，这是为了要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）。

(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）、是否加保护盖、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、烧结板的置换）、维护人员。

(5) 对色谱柱的重新评价（如果需要）：按厂家规定的标准条件；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、样品的污染，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，以便做到尽可能可能地延长色谱柱的寿命。

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。为了避免记录本的体积过大，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

表 3-1 正常使用记录表

正常使用记录表		
用您觉得合适的方法填写此表。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-可见光检测器	差示折光率检测器
流速: mL/min	波长(Wavelength)(λ):	灵敏度(Sensitivity):
压力	灯能量(样品):	换算系数(Scale Factor):
使用中:	(Lamp sample energy)	时间常数(Time constant):
上压限:	灯能量(参比):	走纸信号(Chart mark):
下压限:	(Lamp reference energy)	自动校零(Auto zero):
有无阻尼器连接:有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/>	ACFS 或 RANGE:	其它:
溶剂: 六组成	时间常数(Time constant):	
A: A:	走纸信号(Chart mark):	
B: B:	自动校零(Auto zero):	
C: C:	其它:	
D: D:		
洗脱方式(等度 <input type="checkbox"/> 梯度 <input type="checkbox"/>)	荧光检测器	
梯度方式	波长(Wavelength)(EX):	
梯度延迟体积:	波长(Wavelength)(EM):	
流速:	衰减(Attenuation):	
平衡时间(s):	增益(Gain):	
梯度类型:	时间常数(Time constant):	
步进 <input type="checkbox"/>	走纸信号(Chart mark):	
连续	自动校零(Auto zero):	
线形 <input type="checkbox"/> 非线性 <input type="checkbox"/> 变化曲线号:	其它:	
系统信息	进样器配置	
系统背压	类别(手动 <input type="checkbox"/> , 自动进样 <input type="checkbox"/>)	有无标样 有 <input type="checkbox"/> , 无 <input type="checkbox"/>
接色谱柱:	定量管体积(μ L):	标样瓶号:
不接色谱柱:	进样体积(μ L):	两次标样进样间样品数:
	自动进样信息	进样号:
	样品瓶号:	标样进样体积:
	进样瓶号:	

续表

正常使用记录表						
用您觉得合适的方法填写此表。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:		
色谱柱信息(分析柱,有无保护柱)			数据处理装置设置			
类型(正相 <input type="checkbox"/> ,反相 <input type="checkbox"/> ,制备 <input type="checkbox"/>)			项目名称			
长度			方法名称			
直径			数据评价			
填料			接口			
死体积			ID 结点			
柱效(N)						
背压			信号输入 10mV <input type="checkbox"/> 1V <input type="checkbox"/> 10V <input type="checkbox"/> 其它			
厂家信息						
系列号:						
首次使用时间:						
上次使用时间:						
标准品信息		供应商:	样品批号:	定价日期:	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			备注			
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	4号峰	备注
容量因子 k'						
峰高						
峰面积						
α						
拖尾因子						

表 3-2 色谱柱使用记录表

正常使用记录表					
当您改变色谱柱、流动相、或方法时填写此表 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/实验条件					
实验样品					
实验流动相					
实验仪器/检测器参数条件					
操作条件					
测试柱效方法(N)					
V ₀ 是死体积, V ₁ 和 V ₂ 分别是实验样品保留体积					
日期					
保留体积 V ₀ :					
V ₁ :					
V ₂ :					
分辨率(V ₁ /V ₂)					
k'	V ₁ :				
	V ₂ :				
a					
N	V ₁ :				
	V ₂ :				
最后一次 使用后的 N 值					

表 3-3 日常维护记录表

日常维护记录表												
当您施行日常维护时填写此表。以便在使用中遇到故障时能够作为解决问题的参考信息												
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												
泵												
进样器(手动或自动)												
检测器												
管路/压力配件/接头等												

人实验记录可以帮你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其它原因造成的色谱柱的失效。

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、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 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 3-1 至表 3-3 给出几种典型的记录格式 (液相色谱系统)。

第三节 日常维护

仪器系统的日常维护十分重要,可避免在出现故障时手足无措。下面对液相色谱系统的各个部件的维护作简单的提示,详细的讨论将在后面章节中进行。

贮液器 清洁是保持流动相贮液器正常使用的关键,要尽可能使用 HPLC 级的溶剂和试剂。含有缓冲盐和非 HPLC 级的流动相一定要通过 $0.5\mu\text{m}$ 的过滤器过滤以除去其中的微粒物质。改变流动相时应防止交叉污染,陈旧的流动相和用久了的试剂瓶应定期废弃,防止生长微生物和组分改变。贮器内壁定期清洗,里面的附件要经常更换。

泵 泵的密封垫圈是最易磨损的部件,密封垫圈的损坏可引起系统的许多故障。有人建议 3 个月换一次垫圈。但也不能一概而论,要看垫圈的材料质量,使用压力大小、保养以及缓冲液的情况而定。采取下列措施可以延长垫圈的使用寿命:①每天要把泵中的缓冲液体洗干净,防止盐沉积,泵要浸在无缓冲液的溶液或有机试剂中;②用 HPLC 级试剂;③用烧结不锈钢沉子。要注意防止因泵阻塞造成压力过高而损坏柱塞杆或烧坏电机。

进样器 停机后要用溶剂冲洗干净进样器内残留的样品和缓冲盐,防止无机盐沉积和样品微粒造成阀转子面磨损或阻塞,严禁用气相色谱那样的尖针头进样。

柱 防止柱性能下降有以下几方面的措施:①溶剂的化学腐蚀

性不能太强；②避免微粒在柱头沉降；③泵上要装压力限制器，防止压力过高冲击过大；④流动相 $\text{pH} > 7$ 时用大粒度同种填料作预柱；⑤柱头加烧结不锈钢滤片，需要时加保护柱。采用正确的制备样品方法和经常清洗柱也能延长柱寿命。

柱在不用时要保存好，一定要洗去缓冲液防止生长微生物。应该加入大于 10% 的有机溶剂，将柱两端用盖拧紧，保持柱填料湿润不造成裂缝。

检测器 要保持检测器清洁，每天用后连同柱一起冲洗。提倡不定期用强溶剂反向冲洗检测池（拆开柱）。用脱过气的流动相，防止空气泡卡在池内。检测器灯有一定的寿命，不用时不要打开灯。

记录器和数据系统 打印头很少修理，用后废弃。用热敏式打印头要注意记录纸质量。开机前检查剩余的记录纸和走纸部件。用软盘贮存数据时要时常检查。

操作极限 每台泵都有压力上限，系统达到预定值时会自动停泵，这样能保护柱和其它的硬件。上限压力设在 20 MPa 以下，泵垫圈和进样阀耐用，但压力上限设定过低会延长分析时间。根据经验设定上限压力在 15~20MPa 为宜。

新柱的压力比较低，随着使用时间加长而压力上升，所以设定的压力上限也应变化。在梯度洗脱中应考虑因流动相的变化引起的压力变化，避免上限压力过低造成中途停泵。

带有微机的系统还需设定下限压力，一般在 0.5~1MPa，在贮器中流动相被抽干或严重渗漏时会自动停泵。有时下限压力设在 0 也会自动停泵。

第四节 备件和工具箱

(1) 备件 根据（液相色谱系统）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 3-4。

(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

表 3-4 推荐的备件

必 备 件	备 用 件	可 备 件
泵垫圈	保护柱	灯
不锈钢筛板	预柱	进样器
散装柱填料	接头	电路板
进样注射器	卡套	
记录纸	管路	
打印头(记录笔)	柱	
保险丝	泵头(单向阀)	

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。

(3) 备用件 备用件比必备件用量少。保存一两根分析柱在手中，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，无保护柱或预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 液相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。除了厂商提供的专用工具外，液相色谱实验室必备的工具还有：①不同规格的扳手（公制或英制）；②平口和十字口螺丝刀；③镊子；④不锈钢匙（修补柱头用）；⑤秒表；⑥计算器。

根据情况还应备有下列工具：万用电表，电烙铁，钳子，什锦锉刀，皮带冲子等。

以上都是些普通工具，但也要求使用人要有 一只工具箱，随时锁起来，以防临时找不着。要注意购买合格的工具，那些不合格的工具可能会把部件损坏。还注意不要用活动扳手去卡住部件的棱角部分，扳手松动也会损坏部件。

第四章 液相色谱分离基础

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问题做简要介绍。

第一节 压力与流量的关系

流经柱的流动相有一定的流速。柱压降是由流速和其它分离条件所决定的。我们平时所讲的压力仅指柱头压力而言。液相色谱系统可在 45MPa 的压力下工作，但在实际工作中只要能满足分离的要求，总是希望在低压下操作。各种色谱条件改变时对压力的影响可由下列公式给出：

$$P = 250L \eta F / d_p^2 d_c^2 = 1200L \eta F / d_p^2 \quad (0.46\text{cm 内径柱})$$

式中 L —— 柱长，cm；

η —— 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， μm 。

在反相色谱中，通常 η 为 0.5~1.5； L 为 15~25cm； F 为 1mL/min； P 为 6~15MPa。除了流速 F 外，下列因素的变化都会引起压力的改变：

- (1) 改变流动相组成和温度；
- (2) 改变柱长、柱内径和填料粒度；
- (3) 柱突然阻塞压力升高。（正常情况下其它条件不变，柱压都是逐渐升高的）

为了便于参考，表 4-1 列出反相色谱常用流动相的黏度值。

表 4-1 反相色谱常用流动相的黏度值 (mPa·s)(25℃)

有机溶剂/水 (体积比)	甲 醇	乙 睛	四氢呋喃
0:100	0.89	0.89	0.89
20:80	1.40	0.98	1.22
40:60	1.62	0.89	1.38
60:40	1.54	0.72	1.21
80:20	1.12	0.52	0.85
100:0	0.56	0.35	0.46

第二节 液相色谱的保留

色谱峰的保留值是被测组分的定性指标。分离条件相对恒定时某组分离开柱时间 (t_R) 应是特定的。假设标准物质葱的保留时间为 10 min, 在相同的色谱条件下进含有葱的样品, 如色谱图中有 $t_R \approx 10$ min 的峰存在, 可暂定该峰与葱相关。也可能有其它组分与此相关, 但在特定的色谱条件下并不多见。在用 t_R 鉴别样品中组分时, 为改善分离或不同条件下做鉴别比较, 可以改变 t_R 。 t_R 可由下式表示:

$$t_R = t_0(1 + k')$$

式中 t_0 ——纯流动相流过柱的保留时间, 也称为死时间;

k' ——峰容量因子。

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:

$$t_0 \approx 0.5Ld_c^2$$

在基线上看不出 t_0 时用此式估算往往是正确的。求得 t_0 后就可计算柱死体积 V_0 :

$$V_0 = t_0F$$

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。对液相色谱系统的维护与故障排除同样也十分重要。

$$k' = (t_R - t_0) / t_0$$

溶剂强度 改变流动相的组成或溶剂强度，就可以改变 k' 值和 t_R 。在一定的条件下，减少保留时间或缩短分析时间的溶剂（小 t_R 和 k' 值）为强溶剂；增加或延长分析时间的溶剂（大 t_R 和 k' 值）为弱溶剂。例如，在反相色谱中，水是弱溶剂。在甲醇/水为流动相的系统中增加甲醇的比例，流动相变强，表 4-2 中列出了反相色谱中流动相的强度与 k' 值之间的关系。

表 4-2 反相色谱不同配比流动相与 k' 值

甲醇/水 ^①	乙腈/水 ^①	四氢呋喃/水 ^①	相应的 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

① 数值为体积比。

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。

由表 4-2 可以看出，30% 甲醇/水、22% 乙腈/水与 17% 四氢呋喃/水的强度相同，出峰的时间也相同。流动相中的有机溶剂增加 10% 左右， t_R 和 k' 值要减少 2~3 倍。在正相色谱中正好相反，非极性溶剂强度弱（如正己烷）；极性溶剂强度大（如水）。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。

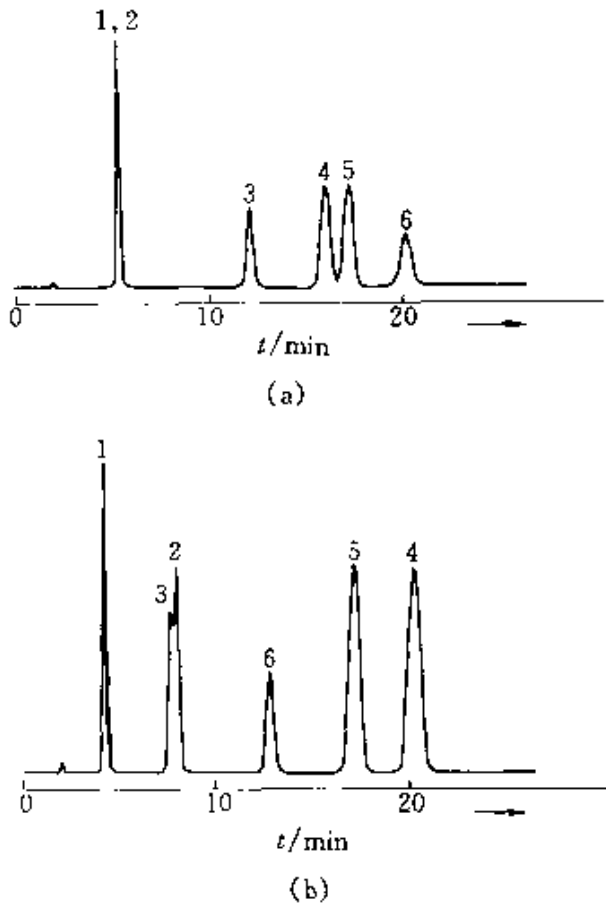


图 4-1 一个六组分混合物在反相色谱中
流动相换了强溶剂后的峰位重排效果图
(a) 流动相: 甲醇/水 (体积比=50:50);
(b) 流动相: 四氢呋喃/水 (体积比=32:68)
色谱峰: 1-苯乙醇; 2-苯酚;
3-3-苯丙醇; 4-2,4-二甲基苯酚;
5-苯; 6-邻苯二甲酸二乙酯

4-3 提供了一些信息以供参考。

从表 4-3 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。

峰位重排 在分析多组分样品时, 仅改变流动相的强度 (组成百分比) 而不改变其组成, 一般仅仅改变所有组分的 t_R , 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 (例如图 4-1);
- (2) pH 值的改变;
- (3) 柱填料的改变;
- (4) 柱温的改变;
- (5) 流动相的组成改变 (如加入离子对试剂三乙基胺等)。

保留值的改变 在液相色谱的维修中也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。表

表 4-3 分析条件的变化对保留值的影响

条件的改变	t_r	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 (φ) ^①	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

① φ 为体积百分数。

第三节 峰宽与分离

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，表示分离效果好。峰变宽则表示分离效果不好。液相色谱法的最终目的是要得到被分析物的相当窄的色谱峰，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)

峰宽是色谱方法好坏的指标。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 4-2。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。 W 随 t_R 的增加而增加。

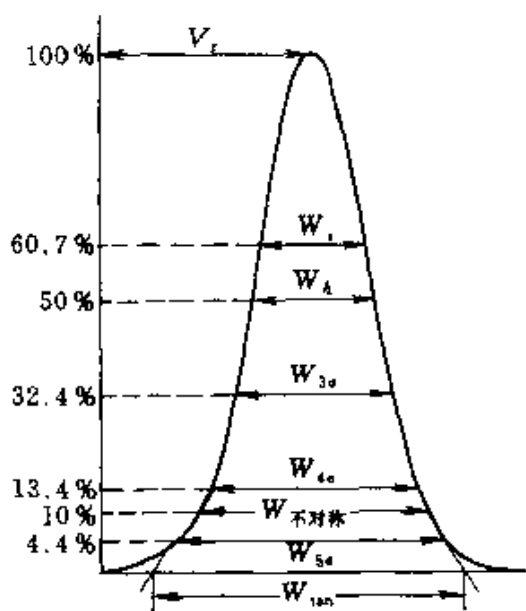


图 4-2 用色谱峰测量色谱柱塔板数

计算 N 值的最佳方法是峰的半宽法 ($W_{0.5}$):

$$N = 5.54(t_R/W_{0.5})^2$$

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， $W_{0.5}$ 是长度单位，可以通过记录纸走纸速度来换算。

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

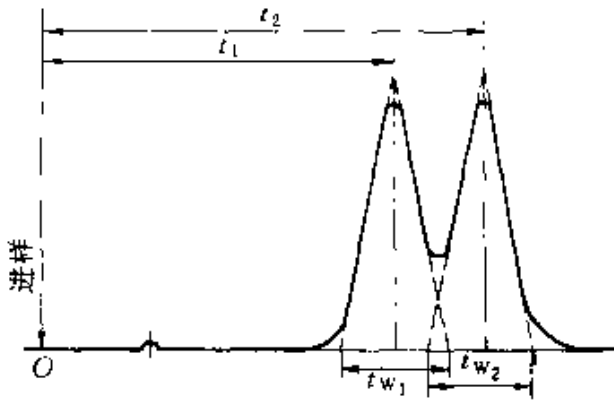


图 4-3 分离度 R_s 计算示意图

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毛病。这就为液相色谱系统的维修提供了很具参考价值的信息。现在市售的色谱柱的 N 值一般在 40000 ~ 60000 片/m 以上。

分离度 (R_s) 相邻

两峰的分度程度用分离度 R_s 来表示，如图 4-3 所示。分离度 R_s 的计算公式：

$$R_s = 2(t_2 - t_1) / (t_{w1} + t_{w2})$$

R_s 随着两峰之间的距离 ($t_2 - t_1$) 增加而增加，随着平均峰宽增加而减少。不同的 R_s 值和两峰相对大小对分离度的影响用图 4-4 来表示。从图 4-4 可以看出，比较大的 R_s 值和两峰大小相当 (相同的 R_s 值)，可以改善分离度。 R_s 受到 t_R 和 N 值的影响，经推导：

$$R_s = (1/4)(\alpha - 1)N^{0.5}[k' / (1 + k')]$$

式中， α 为分离因子，等于两相邻峰 k' 值之比。 R_s 是三种不同因子的综合：①分离因子 α 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 4-5 所示。 k' 增加 R_s 也增加， N 增加峰变窄， R_s 也增加。 α 增加使两峰的中心拉开，从而使 R_s 也增加。

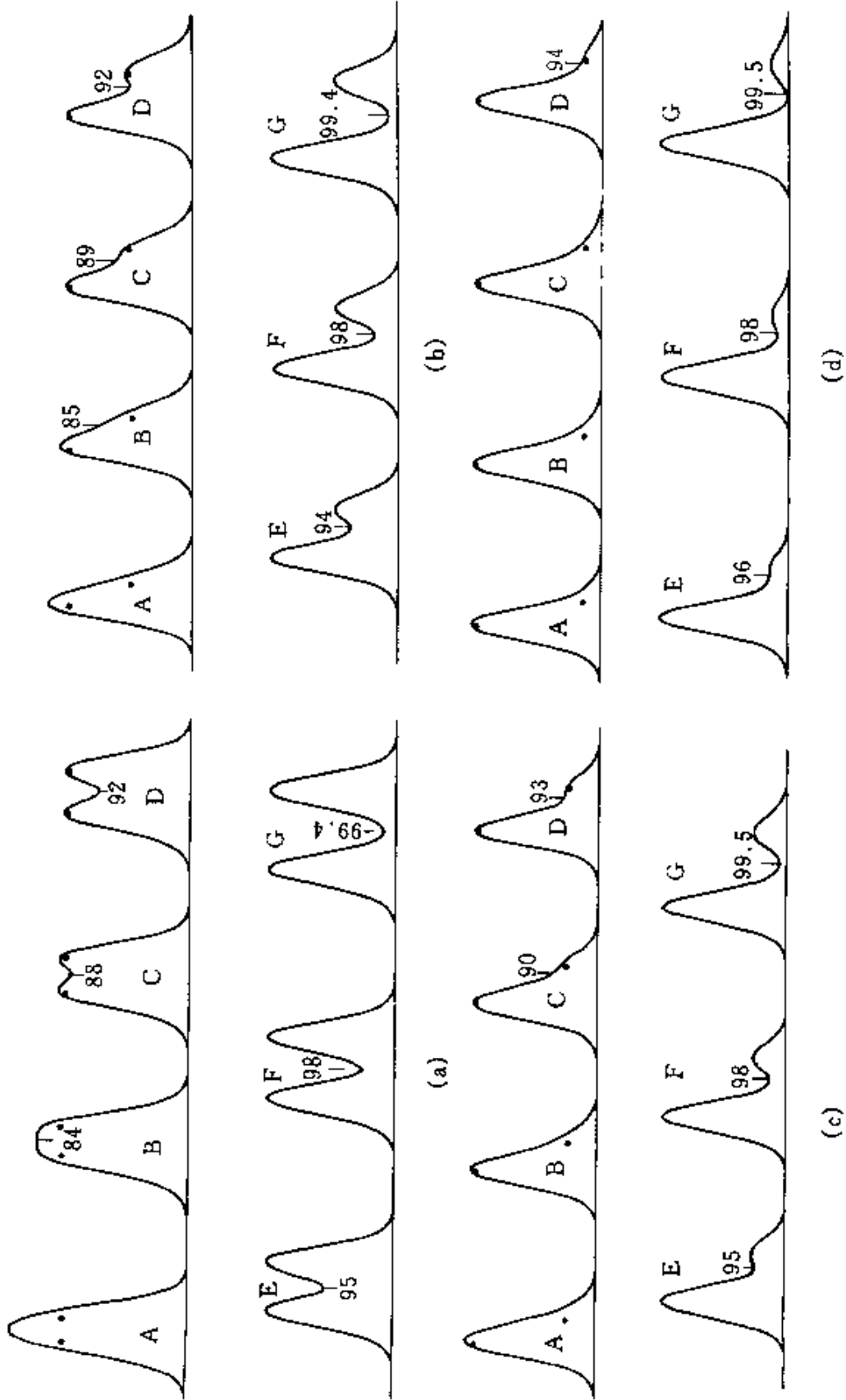


图 4-4 两峰相对高度不同分离状态与 R_s 的关系

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

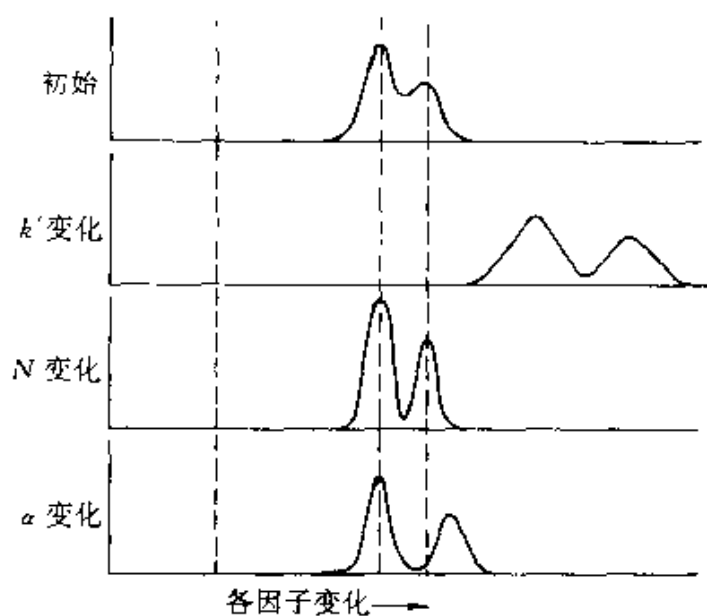


图 4-5 各分离因子对分离度的影响

第四节 柱外峰宽效应

色谱分离好坏通常由实验条件所决定，但仪器系统本身也能左右分离的好坏（通常起反作用）。所以组分分子扩散和峰变宽不完全是柱内的原因，即使设计得很好的仪器，峰宽效应仍然发生在柱外，可以想象在系统的某一部分似乎有一明显的“混合单元”。

系统对峰宽的影响可归纳为以下几个方面：①进样体积；②连接管路；③各个接头；④检测器体积。

总的峰宽效应应包括柱本身峰宽效应和上述四项峰宽效应。对一根专用柱而言，它的柱内峰宽效应大致恒定。柱内峰宽效应大的不易受系统的影响。柱内效应小的， k' 值小的峰及高 N 值的柱易受系统的影响。柱外峰宽效应仅仅发生在样品通过的通道，主要是进样器、检测器和内部的连接管路。系统的其余部分，包括放空管路、溶剂瓶、泵、进样器和泵之间的连接管路均无峰宽效应。

检测器的峰宽效应 设计良好的检测器在正常流速（0.8~2.5mL/min）下其峰宽效应大约是池体积的8倍。多数池体积为8~10 μ L，所以峰宽效应约为64~80 μ L。流速较低时峰宽效应增加，流

速高时峰宽效应减少。流动池体积是柱外峰宽效应的主要贡献者。若流动池体积被设计得很小，往往是以牺牲检测器灵敏度为代价。除了池体积本身以外，检测器本身的结构、连接池的进出口管路、检测池的几何形状，均能够影响峰宽效应。差的检测器的峰宽效应往往大于池体积的 8 倍。

连接管路的峰宽效应 随着连接管路直径的增加，峰宽效应也增加。在色谱系统中，从进样器到检测器之间常用 0.25mm 内径的管路连接。从柱外效应的观点考虑，细径管路好，但是它却增加了系统的阻力。用 0.25mm 内径的管路可使 N 值减少约 5%。毛细管液相色谱则用更细的管路。

样品体积峰宽效应 用流动相或强度相当的溶剂溶解样品，其峰宽效应大约是样品体积的 2 倍。即进样体积一定要小于 $V_0(1+k')/4N^{0.5}$ 的 $1/6$ (k' 常为第一个峰或低保留峰的值)。用弱溶剂溶解样品允许进较大体积的样品，因为峰宽效应小。

检测时间常数的峰宽效应 检测器的时间常数 t_c 是可以调试的。色谱峰流出体积因 t_c 的慢响应而呈现增加趋势。若响应快 (t_c 值小)，峰宽效应小，但噪音增大。比较合适的时间常数应小于第一个峰基线宽的 $1/12$ (约 0.25s)。

在色谱分离中出现差的分辨率时，若怀疑柱外效应有影响，可以采用以下的方法检查：

(1) 拆开色谱柱，将柱进出口连上，进样，出一个峰并很快通过检测器。此时要用较慢的流速和最快的记录纸速，测量峰底宽 (s) 乘流速 (mL/s) 就可算出柱外峰宽效应 (体积单位)。如果数值高出 $V_0(1+k')/4N^{0.5}$ 的 $1/3$ ，该系统就有问题。

(2) 用标准的低死体积系统与普通的怀疑有问题的系统比较 (色谱柱和流动相都相同)，可以估算普通系统的柱外峰宽效应。由图 4-6 的例子可以看出，采用相同的色谱柱和流动相，因系统不同会产生很大的差异。

(3) 有些自动进样系统柱外效应较大，可以改用手动进样予以比较，然后作出某些改进，使柱外峰宽效应降下来。

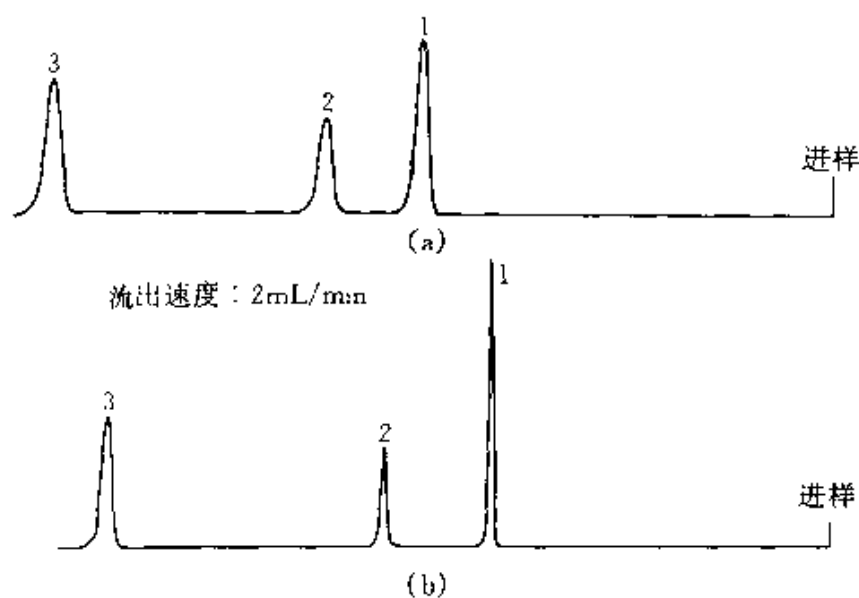


图 4-6 不同色谱系统的柱外峰宽效应

(a) 普通系统的色谱图

1- 甲苯, $N=6970$, $k'=0.4$; 2- 间三联苯, $N=5640$, $k'=0.7$;
3- 硝基苯, $N=11400$, $k'=1.6$

(b) 柱外峰宽效应改进后的系统的色谱图

1- 甲苯, $N=17200$, $k'=0.1$; 2- 间三联苯, $N=19200$, $k'=0.5$;
3- 硝基苯, $N=21200$, $k'=1.4$

第五节 液相色谱方法的建立

这里仅仅是提示一下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:

- ① 选择合适的液相色谱方法;
- ② 选择合适的色谱柱;
- ③ 选择合适的 k' 值的条件;
- ④ 选择良好的峰位 (α 值);
- ⑤ 选择良好的色谱柱条件 (最佳 N 值);
- ⑥ 用实测样品解决出现的特殊问题;
- ⑦ 证实方法的正确性。

选择液相色谱方法应由样品所决定 (可参见表 4-4)。典型的小

分子混合物可用反相、离子对和正相三种方法试验，这三种方法有的可能不理想，不妨都去试试。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 4-4 的规则往往是较为有效的。

表 4-4 选择液相色谱方法

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-18(ODS),C-8,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 18(ODS),C-8,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	当反相或离子对 HPLC 无效时的第二个较好选择;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:凝胶滤过用二醇基,凝胶渗透用聚苯乙烯或硅胶;孔径大小支配分子量范围	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

开始建立某种方法时，可能选柱的范围比较广，包括柱长、粒度和柱填料的性质等。一般开始时采用的方法是比较通用的，选择反相，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具有 C_{18} 键合相柱，硅胶柱，腈基柱和氨基柱，几种类型的色谱柱，以便在建立方法时随意换用。现在流行的径向加压柱，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_s 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 (α 值) 在反相色谱中常用三种“活性”溶剂——甲醇、乙腈和四氢呋喃。不同溶剂配比会影响着分离的效果。再用第四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

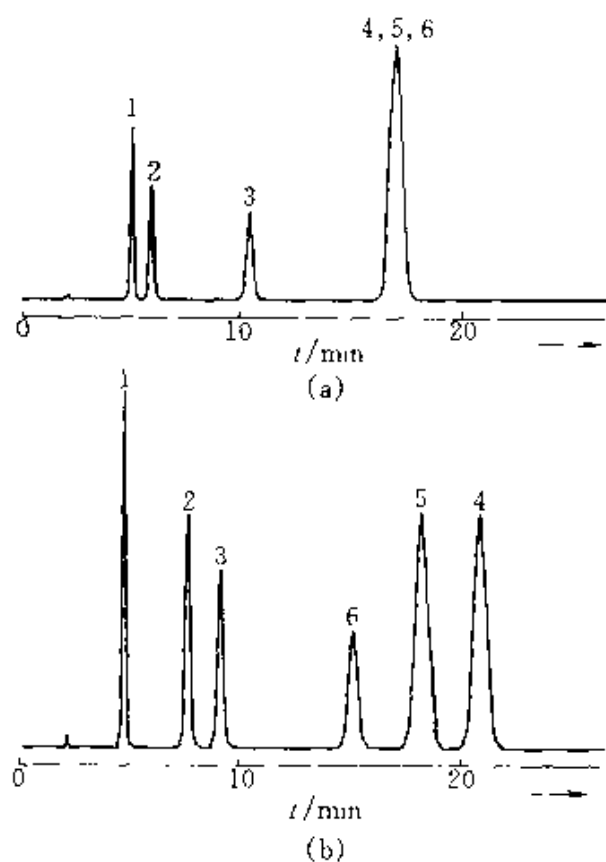


图 4-7 溶剂调节后分离效果的改善情况

(a) 35% 甲醇, 10% 四氢呋喃, 水 (v/v);

(b) 10% 甲醇, 25% 四氢呋喃, 水 (v/v)

多样性和灵活性。图 4-7 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，为想获得满意的色谱分离，可进一步选择柱长、粒度和流速等。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、准确度可靠并可移交转让的严格标准。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。

第五章 液相色谱仪器故障与排除方法综述

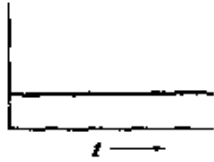
第一节 故障分类、识别与排除表的编排

本书中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的。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，直至操作者应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，作出正确的判断。

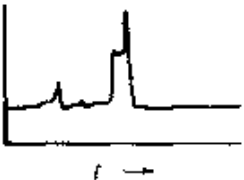
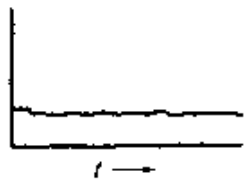

为了更加直观地快速判断问题所在。本章中，尽量使用各种图表形式。

表 5-1 至表 5-9 列出了液相色谱系统各种故障的分类、识别与排除方法。

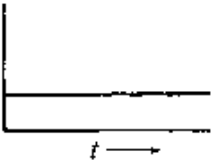
表 5-1 系统流路问题造成的基线故障及排除方法

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
不规则的噪声(产生于系统流路)  正常基线	检测器流通池内有较大气泡	排气泡，清洗检测池或在检测器废液排放口加适当的回压（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，产生少许回压

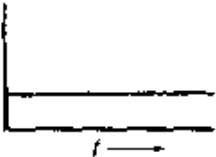
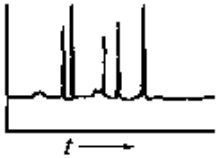
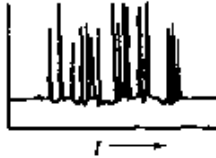
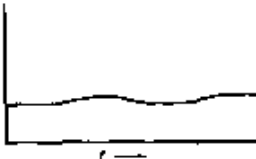
续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
<p>不规则的噪声(产生于系统流路)</p>  <p>流动池中有气泡</p>	<p>流路中有少量气泡</p> <hr/> <p>系统不稳定或没达到化学平衡</p>	<p>排气泡(为预防气泡,流动相要脱气或通氮气)</p> <hr/> <p>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</p> <p>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</p> <p>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</p>
 <p>系统不稳</p>	<p>流动相被污染</p>	<p>不使用这些流动相并且:</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 清洗贮液器,过滤器(6mol/L HNO₃),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
 <p>流通池泄漏</p>	<p>检测器流通池漏</p>	<p>移开检测器盖子检查泄漏,如果看不到,按下面步骤进行:</p> <ol style="list-style-type: none"> (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;

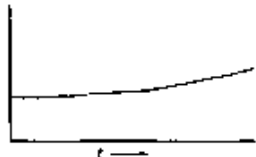
续表

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	(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) 流动相被玷污; (3) 保护柱或管路过滤器被玷污
短期(分或秒)有规则的噪声(产生于流路系统)	泵压不稳; 泵脉冲	见图 5-3 解决, 如果泵压仍不稳, 见泵故障排除法
 <p>正常基线</p>	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 50/50, 95/5 或使用的混合物), 监测基线

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
<p>短期(分或秒)有规则的 噪声(产生于流路系统)</p>  <p>溶剂调节不合适</p>  <p>检测器流通池有气泡</p> 	<p>调节溶剂不适当</p>	<p>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:</p> <p>(1)如是溶剂不互溶问题,可 以选择/改用互溶性好的溶剂;</p> <p>(2)如是泵的比例阀或高压 混合器故障,参见泵故障排除 方法;</p> <p>(3)如是泵后调节溶剂不适 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);</p> <p>(4)使用预先混合的溶剂</p>
<p>溶剂调节不合适</p>	<p>泵入口管路松或堵塞</p>	<p>检查管路如果松,旋紧;如果 弯曲,调直;如果堵塞,更换</p>
	<p>泵太脏或已失灵</p>	<p>见泵故障排除</p>
	<p>泵柱磨磨损</p>	<p>见泵故障排除</p>
<p>长期有规则噪声(分或 小时)(产生于系统流路)</p>  <p>温度不稳</p>	<p>室温不稳</p>	<p>稳定环境温度,如果问题继 续存在采用以下办法:</p> <p>(1)使用柱恒温装置(比环境 温度高 5°C 以上);</p> <p>(2)将系统或柱置于温度稳 定的环境中;</p> <p>(3)系统避免阳光直射</p>
	<p>流动相回收使用</p>	<p>除非特殊需要不使用回收溶 剂</p>

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
基线漂移(产生于系统流路)  柱被污染	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 氮气量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适管路($\phi 0.23\text{cm}$)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	

续表

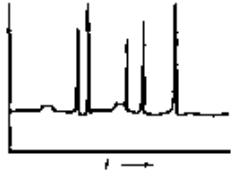
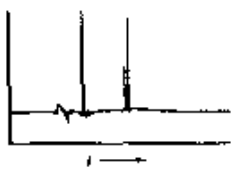
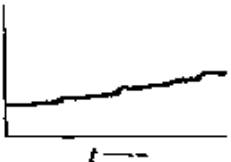

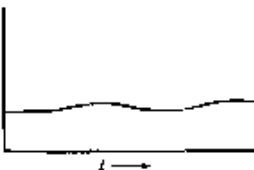
症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
基线漂移(产生于系统流路)	测定的波长选择错误(对溶剂)	使用分光光度计证明背景吸收,如果背景值高,说明流动相中含有紫外吸收化合物导致基线漂移 使用的流动相应应在紫外截止波长以外,或更换溶剂
	样品组分保留太长	用强度合适的溶剂清洗色谱柱
	溶剂体系未达平衡(梯度洗脱中)	用流动相继续冲洗,走梯度空白扣除基线漂移
出现脉冲式噪声  流路中有气泡	系统流路中有小气泡	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	泵头有空穴现象	见泵故障排除
	检测池不干净	清洗/检测池逆流
	泵接地/自动进样器电源线不当	使用专用的、有屏蔽的信号线

表 5-2 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	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

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
无规则噪声(产生于检测器)  操作灵敏度太高	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(分或秒)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“不规则的噪声”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(分或小时)有规则噪声(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“不规则的噪声”解决办法

续表

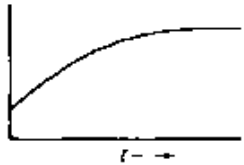
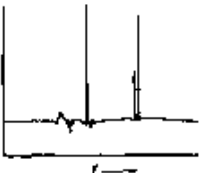
症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
基线漂移(产生于检测器)  稳定不充分	检测器不稳定	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	室温变化	参见上述“长期有规则的噪声”解决办法
	检测池被污染	参见检测器故障排除
出现脉冲式噪声  灯故障	检测器灯	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	周围使用设备的影响	参见上述“不规则的噪声”解决办法
	检测器电路问题	检测器故障,与供应商联系

表 5-3 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	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) 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再现性 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
	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 5-3,如果压力不稳继续存在,见泵故障排除法

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
每次进样时的保留时间不重复	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%
	室温波动大	稳定环境温度,如果问题继续存在,则: (1)用柱恒温箱(室温5℃以上); (2)将系统置于恒温,空气对流小的环境
	溶剂配比不合适	解决步骤如下: (1)流动相预混合,过滤和脱气; (2)用溶剂平衡色谱柱; (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
	柱被污染	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: (1)溶剂不互溶; (2)流动性被污染; (3)保护柱或过滤器被污染
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
	柱被污染	参见“保留时间不重复”的解决方法

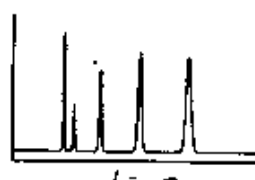

续表

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	流动相脱气不够彻底	溶剂脱气/充氮气保护,重新平衡体系 注意氮气流速不要太大,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阻塞	检查阻塞管路,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);如果泄露仍存在,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)	对样品来说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
	由于泵不稳导致泵输液流速不正确	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作比较

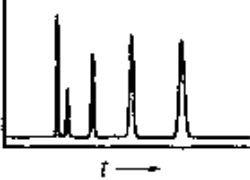
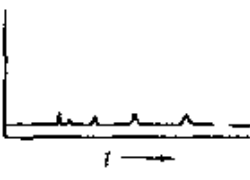
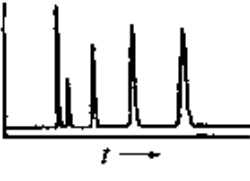
续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
保留时间变化至一新的恒定值(重复但不正确)	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

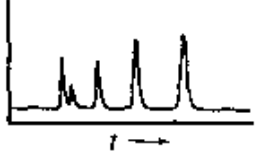
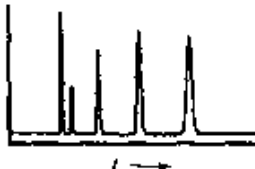
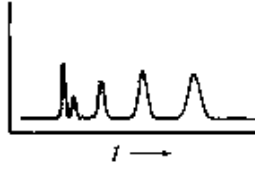

表 5-4 不正常峰形的故障排除

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
 <p>正常峰</p>	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
 <p>无峰</p>	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

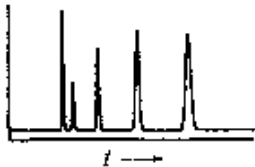
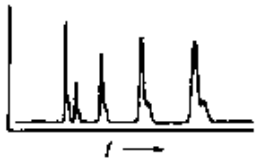
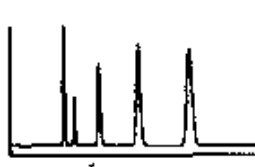
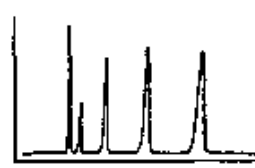
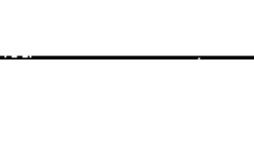
续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
色谱峰比预计的小(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	
峰变宽(保留时间短的峰)  正常峰	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分阻塞	检查这些部件的堵塞情况,更换堵塞管路,清洗相关部件

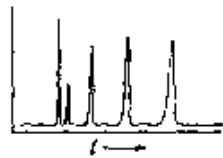
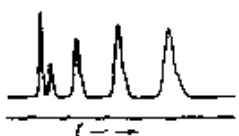
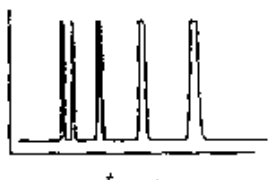
续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
峰变宽(保留时间短的峰) 	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
宽峰(保留时间短的峰)	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) 	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
正常峰 	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
宽峰 	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) 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再现性 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
	记录仪走纸速度不合格	调整到合适的纸速

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
出现双峰/肩峰  t →	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
正常峰  t →	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
双/肩峰  t →	柱性能下降	见上述“峰变宽”故障排除法
前沿峰  t →	保护柱失效	换保护柱芯
正常峰  t →	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”故障排除法
前沿峰 t →	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
正常峰 t →	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
前延峰 t →	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
前延峰 t →	柱性能下降	见上述“峰变宽”的故障排除方法
前延峰 t →	保护柱失效	换柱芯

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
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
扁顶峰 	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

续表

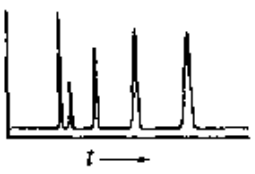
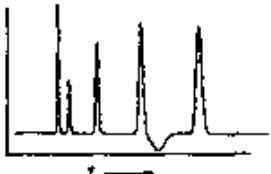
症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
出现一个或几个负峰  正常峰	离子对分离体系对峰的影响	在流动相中溶解样品
 负峰	样品中有比流动相的折光指数低的组分(只限于RI检测器)	检测负峰是否由于样品或溶剂杂质所致; 如果负峰影响分析结果,改进方法; 如果负峰是由于溶剂杂质所致,使用新处理的溶剂
	使用的流动相吸收高	使用流动相稀释样品,如果问题继续存在,调整流动相使负峰不干扰分析结果 使用紫外截止波长外的流动相或改变溶剂
	自动进样器注射进空气	参见上述进样器故障的排除方法

表 5-5 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

续表

症状	可能原因	解决方法
(一) 定性结果		
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
	先前进样的流出物	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，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 5-6 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,改用可溶性好的 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盐 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、弯曲或阻塞——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(重复二次),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 故障
泵马达问题	与供应商联系	
线路板问题	与供应商联系	

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
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)
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
溶剂混合不当(梯度洗脱体系)	泵电路故障	与供应商联系
	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“短期规则噪声”的故障排除方法

续表

症状	可能原因	解决方法
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 5 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匹配(大或小)	使用合适的注射器
	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
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
样品遗留	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,未与控制系统的连接	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

续表

症状	可能原因	解决方法
(二) 自动进样器故障排除		
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
	注射器阻塞/损坏	更换
洗针系统泄漏	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
	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
样品进样问题 (如不进样,出现不正常峰形)	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	清洗自动进样器至针头不堵,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)
	从空的样品瓶中进行进样	检查进样样品瓶的位置,从瓶号正确的样品瓶中进行进样
	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,如问题继续存在,修理/更换
	进样阀阻塞	冲洗,如问题继续存在,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

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
(二) 自动进样器故障排除		
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“样品进样问题(如样品不进样,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
样品遗留	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	稀释样品或慢速抽取样品
	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

续表

症状	可能原因	解决方法
(二) 自动进样器故障排除		
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 5-8 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 5-9 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

续表

症 状	可 能 原 因	解 决 方 法
电源灯不亮 (或参比能量 故障)	保险丝烧断	更换
	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(氮气于检测器入口)将参比池 吹干
电源灯连续 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
	检测池、参比池脏或 被污染	清洗流动池: (1)卸柱,安装一段连接管; (2)对于缓冲溶液用100%水,100%甲醇 (如果与流动池中遗留溶剂互溶)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(如果与流动池中遗留溶剂互溶)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 更换流动池
	参比池清洗不当(仅 RI检测器)	清洗参比池,确认流动池中参比和样品两 路的流动相达到平衡
	检测器光路不平衡 (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	

续表

症状	可能原因	解决方法
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“流动池泄漏”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
	流动池附着大气泡	排除气泡,清洗检测器、流动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“流动池泄漏”的故障排除方法
	滤色器问题	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,更换流动池
	流通池阻塞/损坏	仔细逆流清洗检测器流动池,如果流动池损坏或破碎,修理,更换

第二节 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 5-1~图 5-4), 希望能够对于读者的有关能力的提高起到积极的作用。

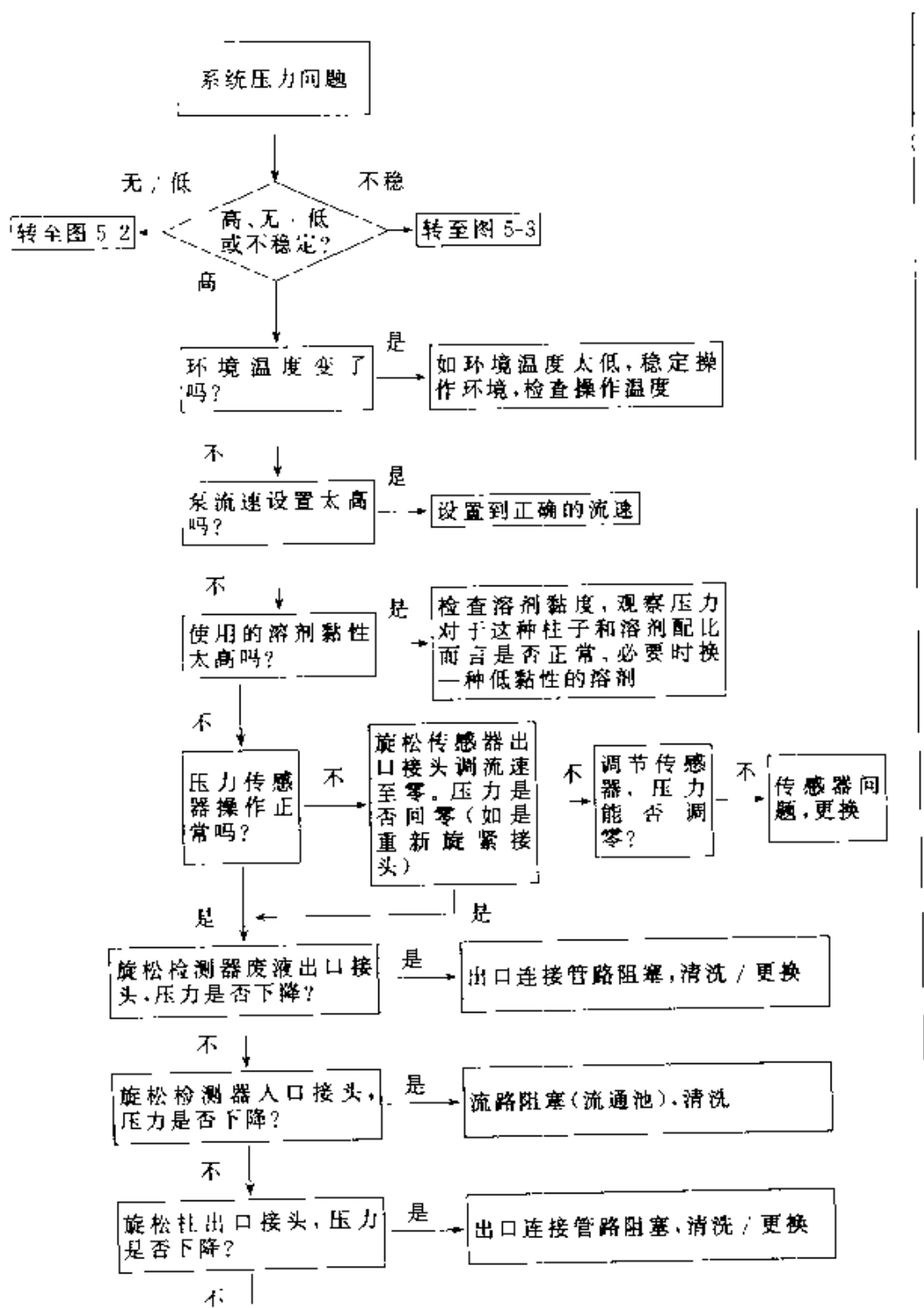
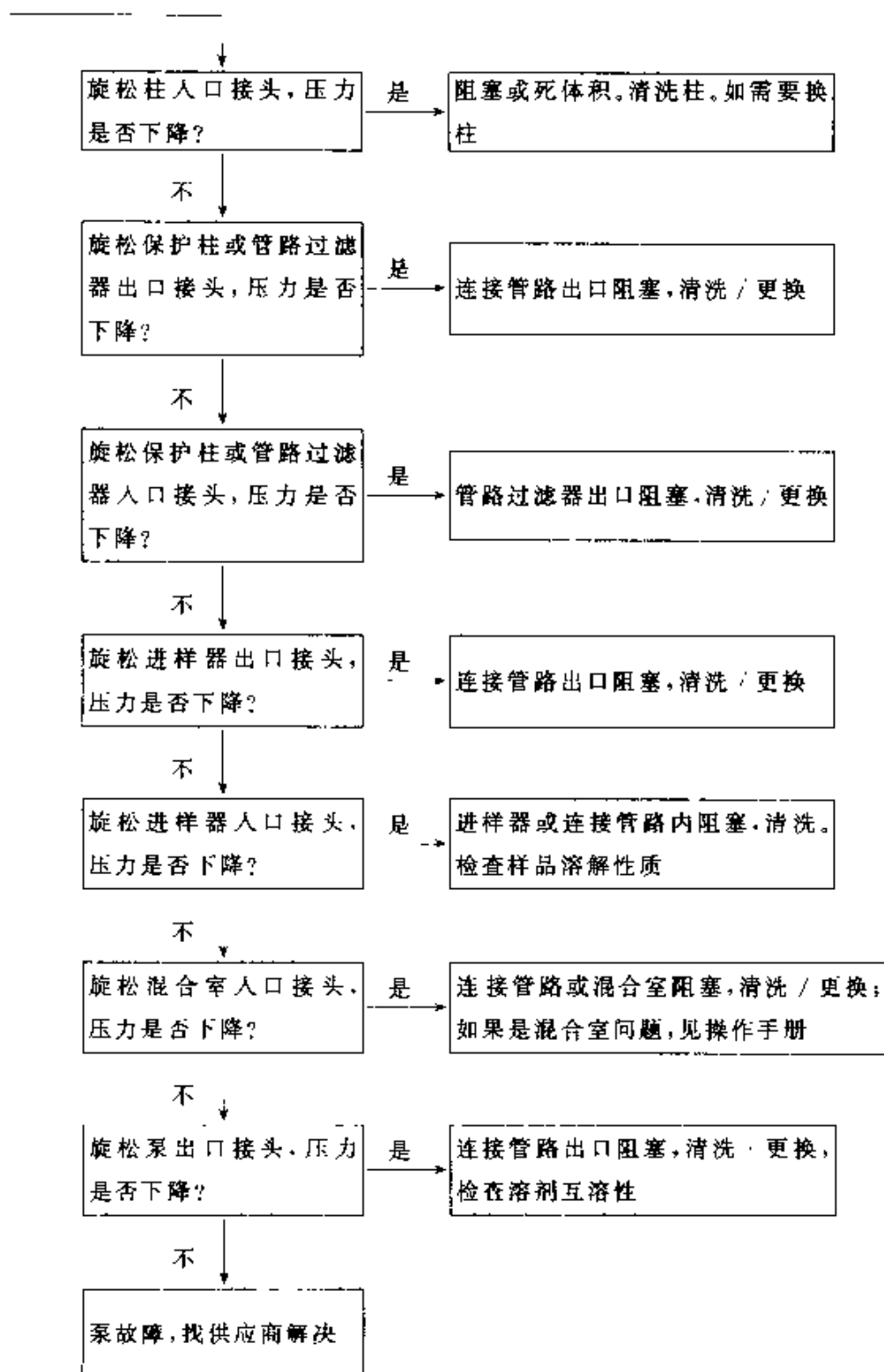


图 5-1 系统压力的



故障排除判断

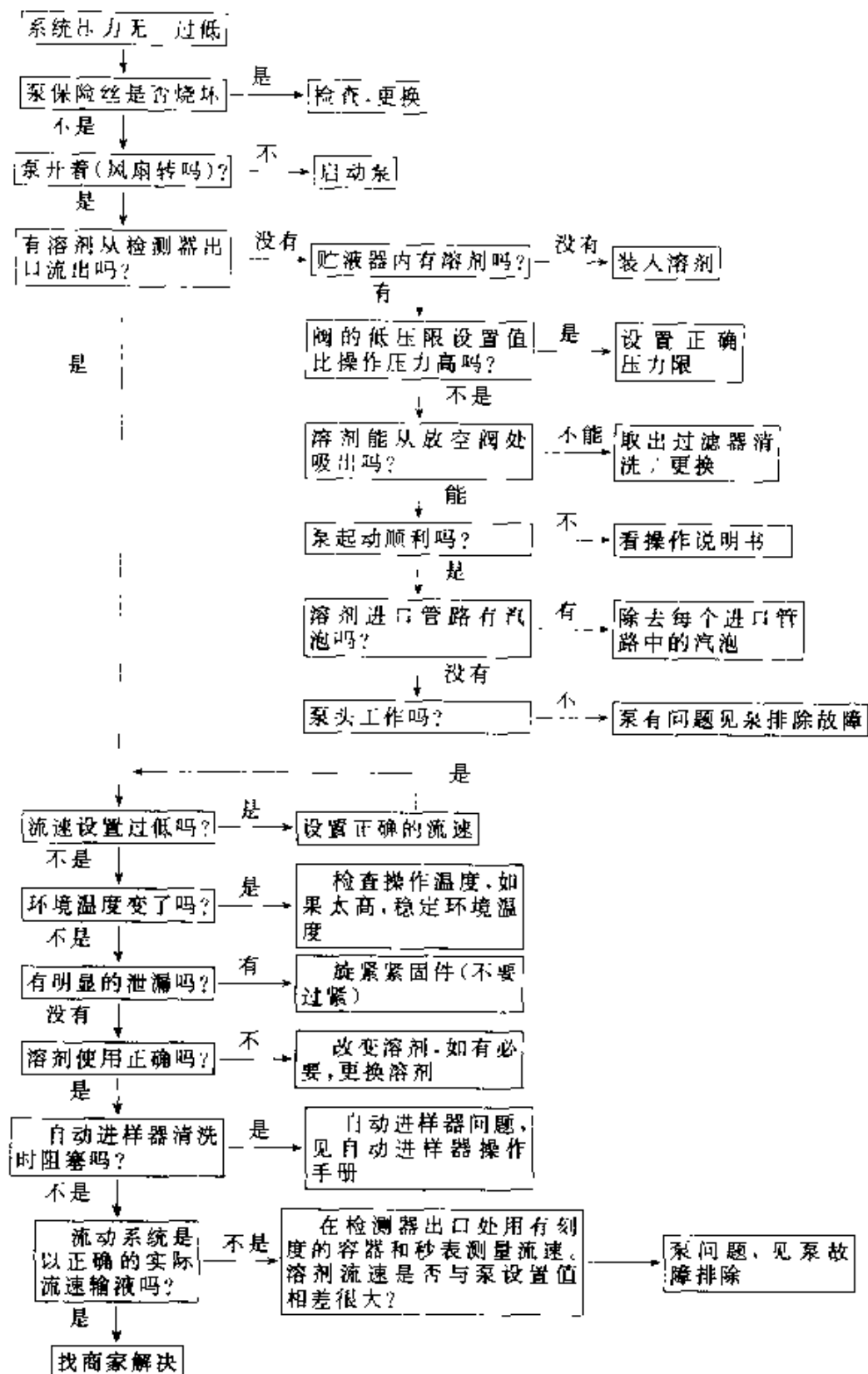


图 5 2 系统低压故障

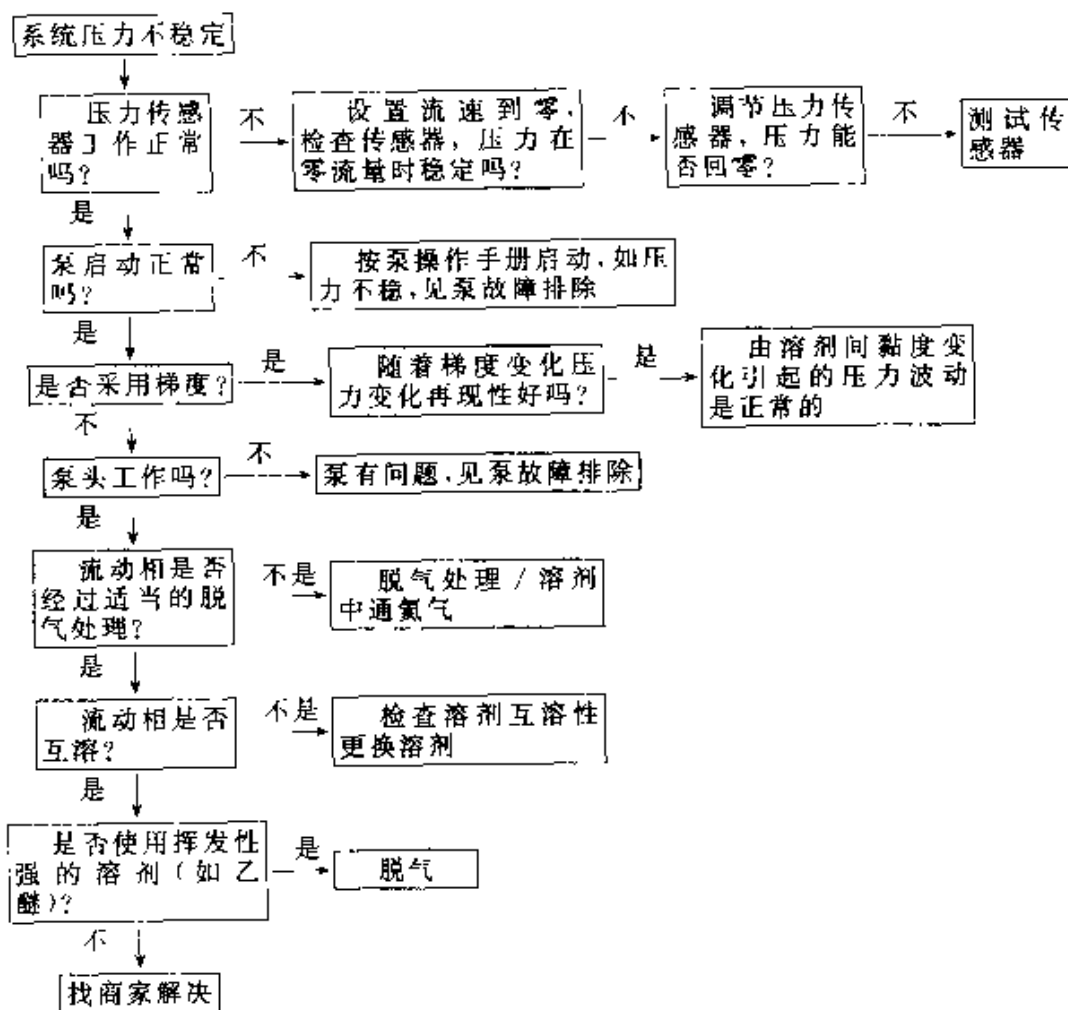


图 5-3 系统压力不稳的故障判断与排除

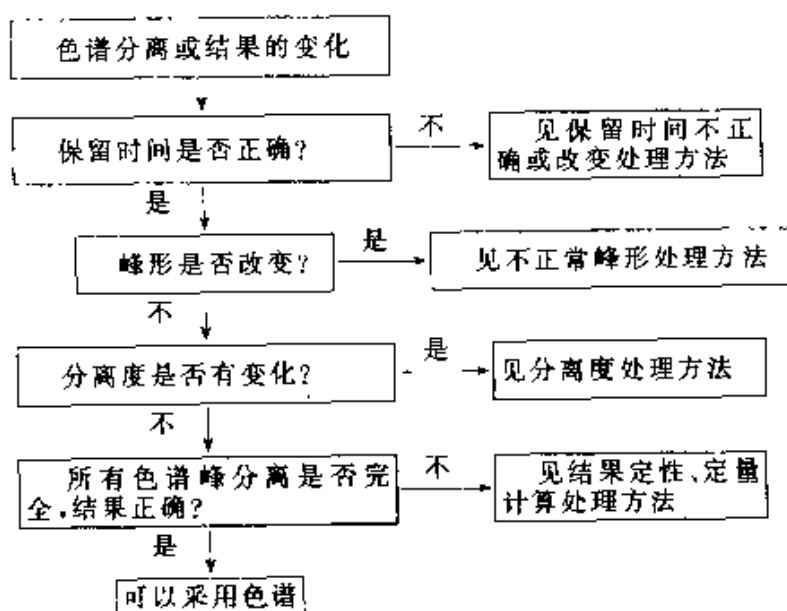


图 5-4 色谱分辨/结果变化故障判断与排除

第六章 贮液器和脱气

从本章开始，我们将以液相色谱系统每个主要部件为对象讨论仪器维护与故障排除的问题，首先从贮液器和脱气开始。

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过滤片，影响泵性能，在色谱图中出现多余的峰或者产生噪音。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和不锈钢烧结过滤器（沉子）。

为避免泵不稳定和检测器噪音。必须使流动相脱气，连同贮液器一起脱气效果更好。

第一节 贮液器与脱气方法

贮液器的容积一般为 1L，有的贮液器仅能用于充氮气，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。

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，一是防止微物质进入泵，二是作为进液管路的重物，所以常叫“沉子”。一般进液管的孔径为 $10\mu\text{m}$ ，不能过小，否则阻力过大会造成管腔空化。

溶解于流动相中的空气能够影响液相色谱系统的操作性能，在泵中产生气泡使流速不稳，增加检测器的噪音，降低响应以至信号消失。流动相中的氧对光电检测器影响最大，使紫外检测器基线增高，低波长检测时信号被抵消掉。在荧光检测器中 O_2 会使样品的荧光淬灭，降低灵敏度。在还原型的电化学检测器中，也不能存在氧。

除去流动相中的空气在技术上还有困难，而且混合的流动相比

纯溶剂更能溶解空气，极易饱和形成气泡，有水的流动相特别明显。正相色谱和非水性体积排阻色谱不存在这个问题，参考图 6-1。

多数实验室为改善操作条件十分重视流动相的脱气，常用的脱气方法有四种：①氦脱气，②真空脱气，③超声脱气，④加热脱气。

1. 氦脱气

图 6-2 所示为常用的氦脱气装置。

氦脱气是有效的脱气方法。氦缓缓地通过流动相赶走溶入的空气(图 6-2) 如果使用得当，在 10min 内可除去溶入气体的 80%~90%，而且效果

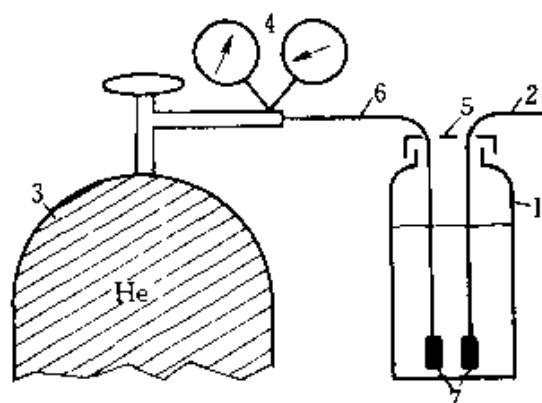


图 6-2 氦脱气装置

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

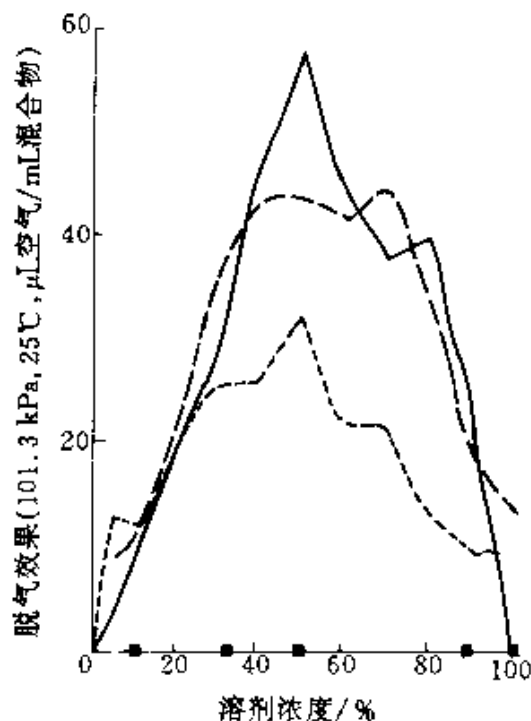


图 6-1 溶剂组成与气体溶入关系

- 水→甲醇；---- 水→乙醚
- · - 二氯甲烷→正庚烷；■ 正己烷→异辛烷

极佳。由于氦气在流动相中溶解度极低，所以用氦气脱气保护的流动相可以认为是一个无气体溶解体系。图 6-3 是一个典型的例子，由图 6-3 既可以看到空气对紫外和荧光检测器的影响，又可看到氦脱气的效果。

氦在溶剂中的溶解度很小，连续不断地通入氦可防止空气的再溶入和反扩散。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，引起基线的飘移。

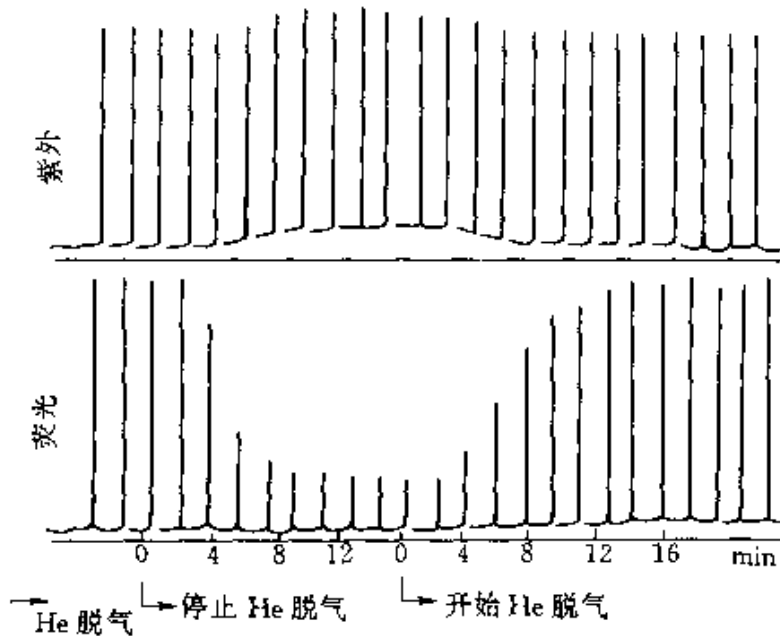


图 6-3 空气中氧气对紫外和荧光检测器的影响

采用 Li chrosorb RP-8 柱，乙腈：水（体积比 = 75 : 25），5mL/min，25°C

UV254nm； $\lambda_{F_x} = 250\text{nm}$ ， $\lambda_{E_m} = 340\text{nm}$

样品：萘

在使用氦脱气时，开始几分钟可用大流速（ $< 30\text{mL/min}$ ），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，可以不予理会，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。

2. 真空脱气

这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，但效果差些。

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。

3. 超声脱气

这种方法只能除去 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 EC）不宜用此法。超声脱气用于过饱和溶液的效果好一些。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。如果超声脱气与真空脱气相结合，可以提高脱气效率。

4. 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掉，改变流动相的组成。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。

四种脱气方法的效果以甲醇和正己烷为代表作比较，见图 6-4。

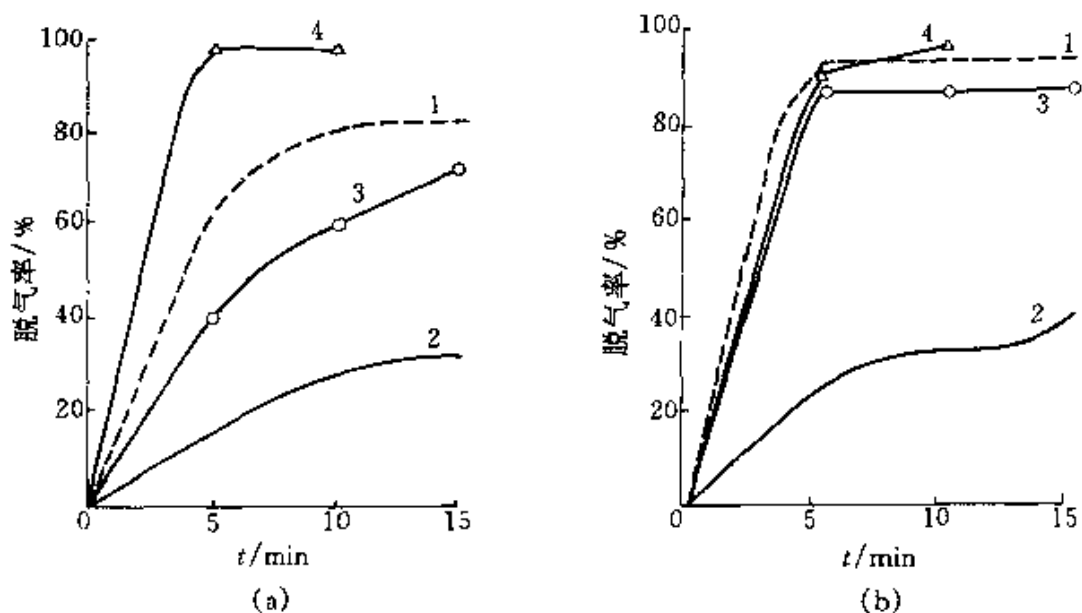


图 6-4 脱气方法的比较

(a) 甲醇中除氧气；(b) 正己烷中除氧气

1 - He 脱气；2 - 超声脱气；3 - 真空脱气；4 - 加热回流脱气

第二节 故障的预防

一、过滤溶剂，保持贮液器的清洁

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 $0.5\mu\text{m}$ 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/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 $1\sim 2\text{mL}$ 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（如一个月一次），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，以确保不在清洗过程中留下残渣。

二、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 $3\sim 6$ 个月后的或出现阻塞现象时要及时更换新的。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，需要引起高度重视的是流动相一定要用 $0.5\mu\text{m}$ 过滤器先过滤！

尽量要使用 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纠正。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发生器（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。在大部分的情况下，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。如果要对这些溶剂进行处理，首先要更换试剂瓶。再有就是溶剂不能蒸发至干。这里提倡用不加稳定剂的溶剂。由于不仅各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 $5\sim 781\mu\text{L}/\text{L}$ 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。

色谱工作者手头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。

第三节 常见故障与解决办法

系统的这一部分可能出现的故障是：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，增加噪音，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；改系统内混合为系统外低压预混合。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

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。

流速过高、阻力大，造成空化现象，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 $10\text{mL}/\text{min}$ ，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产生的有规则的噪音增大；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聚在柱顶，流动相强度增加后污染物可能被洗脱出来一个大的鬼峰。有时基线噪音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 $0.2\mu\text{m}$ 的过滤器过滤缓冲液，也会有效地防止微生物污染系统。

真空脱气时要防止泵油带人流动相。应该用清洁的惰性塞子、搅拌、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。

第七章 高压输液泵

液相色谱系统泵将流动相从贮液器抽至色谱柱,对于分析柱,泵的流速在 $0.1\sim 10.0\text{mL}/\text{min}$ 之间,微型柱和制备型色谱例外。不同型号的泵可以相互代用,但应考虑:

(1) 泵机械是否与系统配套。整机型受中心控制器控制,与单泵相连是否合适。

(2) 可能输出的流动相速度是否合适。如分析型系统最小流速 $0.1\text{mL}/\text{min}$,就不能用于微型柱。这种色谱柱往往要求流速 $0.01\sim 0.05\text{mL}/\text{min}$ 。

泵出了故障常在色谱图上反映出来,即噪音增加,保留时间不重复。泵的运动部件最多,机械磨损是产生故障的重要原因。主要有二大问题:单向阀失灵;密封垫圈渗漏;泵中有空气泡进入。

第一节 泵的基本类型与构造简介

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,目前多用往复式恒流柱塞泵,用

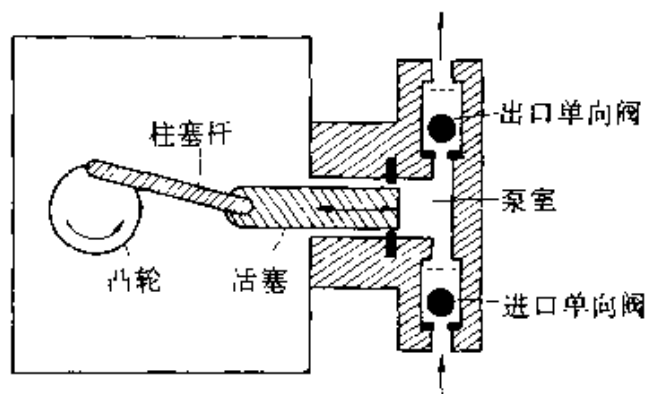


图 7-1 恒流柱塞泵

马达带动,主要由柱塞杆、密封垫圈和两个单向阀等组成,这些部件组装在一起成泵体,密封垫圈和两个单向阀称泵头。凸轮接在马达上驱动柱塞杆来回运动,见图 7-1。

1. 泵的工作原理简单描述

(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，流动相入柱。

2. 单向阀

进口单向阀安在泵底部，出口单向阀安在泵上部，这样有利于气泡的排出。单向阀的结构如图 7-2。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，液流相反流时，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。

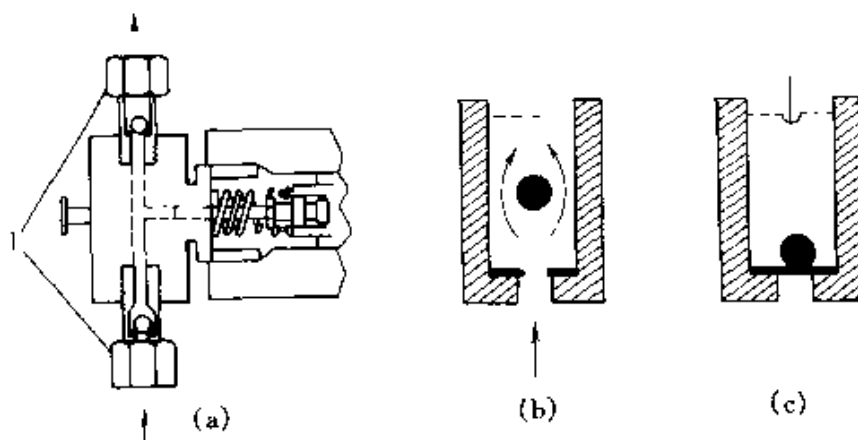


图 7 2 单向阀的结构

(a) 阀的位置；(b) 吸液；(c) 排液

3. 泵密封垫圈

密封垫圈的作用是使柱塞在泵头自由运动而流动相不漏出来。密封垫圈是由惰性材料如石墨掺和聚四氟乙烯粉制成，质软。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。密封垫圈不能百分之百有效地防止渗漏，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，保留值不恒定。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阻塞管道，会引起柱性能下降。

4. 泵输出性能

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，色谱图上基线噪音增大。为使输出平稳，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泄液阀，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。

二、几种常用类型的泵

在液相色谱系统中常有下列几种类型的泵：①单柱塞泵；②二或三个并联的柱塞泵；③串联柱塞泵；④柱塞隔膜泵；⑤螺旋泵。不同的泵、配置不同的压力脉冲阻尼器和不同的混合装置。

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。

双柱塞泵 两个柱塞泵的行程相差180°，两系脉冲互补重叠变得平稳。有两种形式，一种是平行安装，用两个凸轮单独驱动；另一种是相对180°安装，用同一凸轮操作。

三柱塞泵 在双泵的基础上再加一泵，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，但不太实用。因为改善不大，费用高，结构复杂，维修不便。

串联柱塞泵 两个柱塞串在一起，而且直径不同，其作用相当于双柱塞泵，参见图 7-3。在图 7-3 (a) 中，上面柱塞正驱动流动相入柱，下面的柱塞以 2 倍的速度吸液到泵腔。在图 7-3 (b) 中，下面的柱塞驱动流动相到柱，同时也充液到上面泵腔。

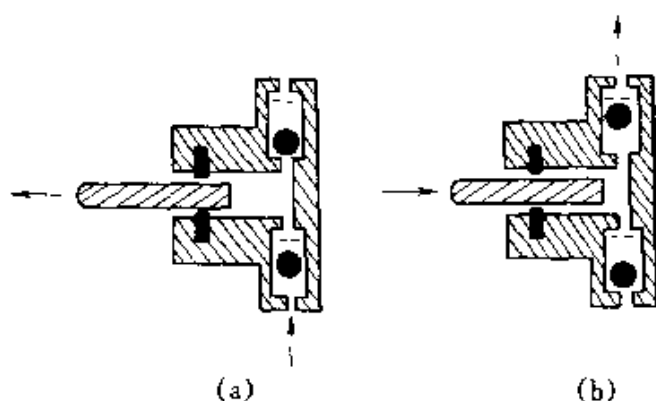


图 7-3 串联泵

柱塞隔膜泵 这种泵也叫隔膜泵，在泵腔的一边是柔软的隔膜。用低压计量泵吸液充满泵腔。高压泵活塞用泵腔背面的油迫使流动相入柱。当活塞回缩时，隔膜背面的压力减少，计量泵又开始充液。进出口单向阀控制液流进出。此种泵的优点是无密封垫圈的磨损与渗漏。如果隔膜破裂（极少），油漏出会污染整个系统。图 7-4 是安捷伦公司的隔膜泵，设计性能良好。

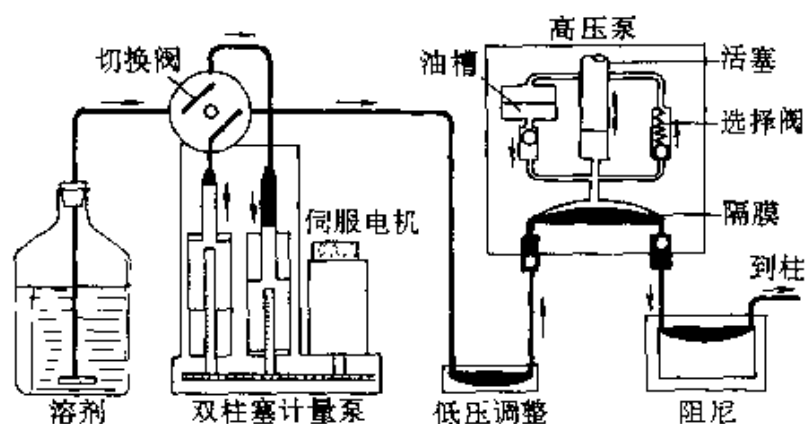


图 7-4 HP1090 等度溶剂驱动系统

螺旋泵（单冲程注射式泵）其工作原理见图 7-5。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。但典型的色谱分析仪仅需 20~40mL 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，但这样价格昂贵。因其费用高，缺乏机动性，故这种类型泵现在已很少生产。

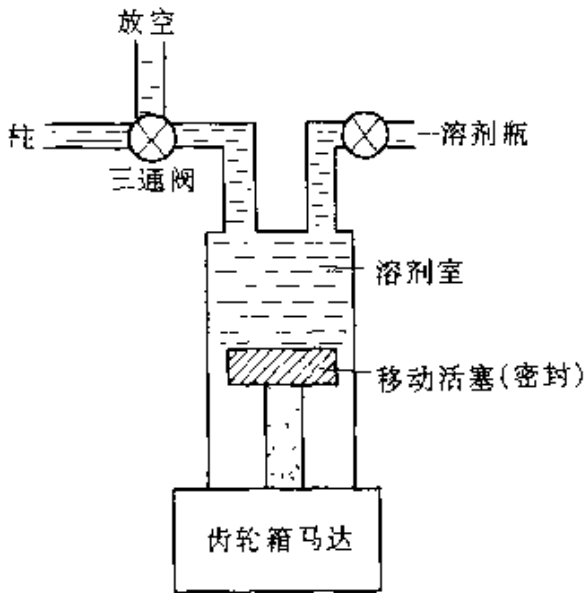


图 7-5 螺旋泵（单冲程注射泵）

Waters 公司有一种自动质量控制的注射泵系统可代替往复式柱塞泵作常规分析，在一个单元内包括自动进样、泵、检测器和数据系统，最后一个峰流出的体积小于 40mL 的样品都能用此系统分析，而且可减少系统中的气泡。

第二节 常用的混合方式

用手工混合流动相，费时，重复性差，而且，混合量过少影响分析，混合量过多用不完造成浪费，这种混合方式现如今已经使用的越来越少。在系统上实行低压或高压混合就消除了上述的这些缺点，而且有助于实现自动化操作，是今后发展的方向。

1. 低压混合

低压混合装置如图 7-6 所示。几种不同的溶剂由控制阀控制各个溶剂进入低压混合室的量，混合后由高压泵打入到柱作等度洗脱。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%）比例上不精确。长混合周期混合比例比较精确些。如果在低压混合器和高压泵之间加上静态混合器（玻璃球柱）或动态混合器（搅拌器），混合得更均匀。

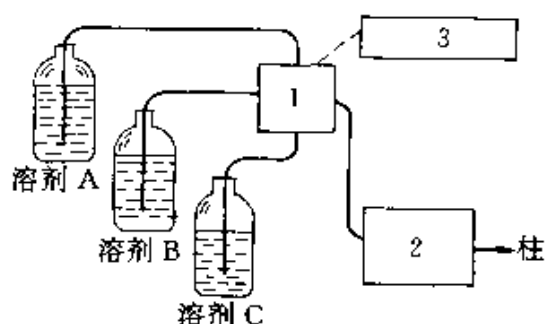


图 7-6 低压混合装置

1—低压混合器；2—高压泵；
3—控制器

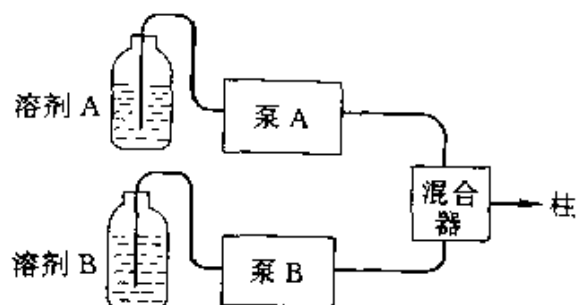


图 7-7 高压混合装置

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。

2. 高压混合

高压混合是从两个以上的高压泵中流出溶剂混合成流动相等度洗脱。见图 7-7。流动相组分混合比例取决于每个泵的相对流速，也要加静态或动态混合器，优点是气泡影响小，可以不脱气，但费用高。

3. 其它混合方式

一种方式如图 7-8 所示，低压比例加高压混合，仅需一个泵，流动相不需脱气。另一种是安捷伦公司的产品（见图 7-9）。三个计量泵将溶剂打到低压混合器混合，而后再送流动相到隔膜泵。

4. 梯度洗脱

梯度洗脱是运转过程中改变流动相组成的装置。泵控制器能提供预期的梯度，采用高压混合或低压混合都可以。在等度洗脱中，混

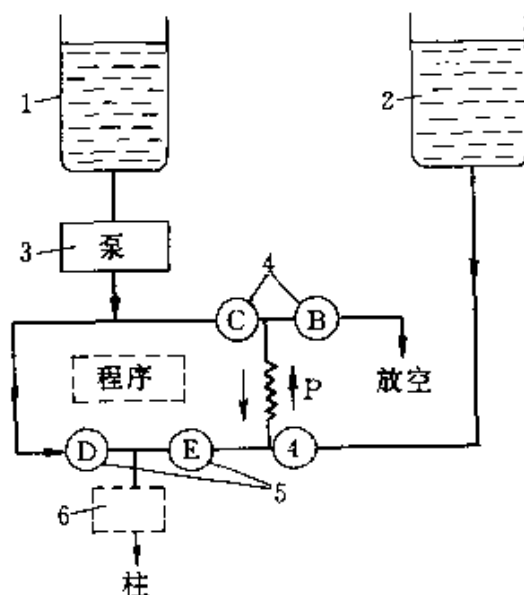


图 7-8 高低压混合装置

1—溶剂 A；2—溶剂 B；3—泵；
4—控制阀；5—比例阀；6—混合室

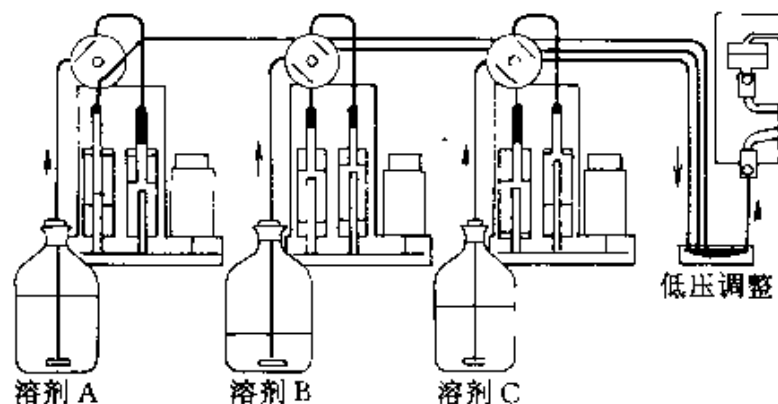


图 7-9 安捷伦公司混合装置

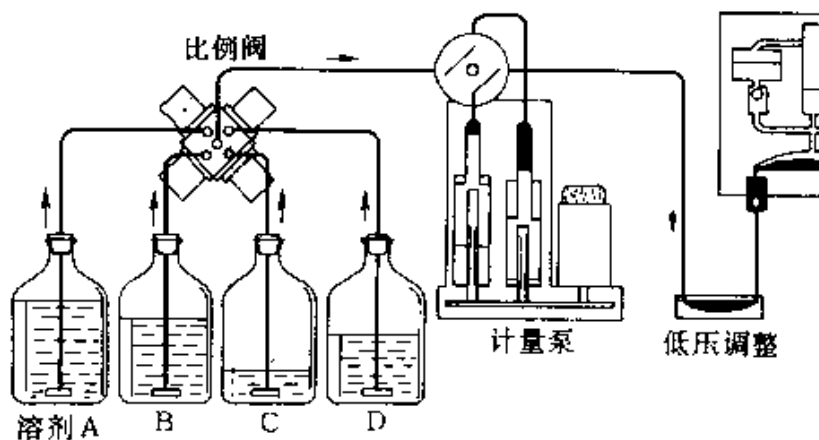


图 7-10 安捷伦公司的四元混合装置

A、B、C、D 贮液瓶

合器、流动相和系统的体积似乎无关紧要，在梯度洗脱中，这些部件的体积要最小，要能使梯度快速回到开始条件重新运转，图 7 10 所示的是安捷伦公司的一种四元梯度装置。

第三节 故障的预防

要保持泵的良好操作性能，必须维护系统的清洁，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：

- (1) 用高质量试剂和 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) 定期更换垫圈；
- (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；保留时间的重复性好。在等度洗脱时压力波动小于 2%。梯度洗脱时压力变化应是缓慢和平稳的。

为使故障发生后尽快排除，平时应常备泵密封垫、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。

第四节 常见故障与解决办法

一、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。

在球与阀座上，即使有微小的尘埃或者未洗去的缓冲液晶体都会引起倒流。如使用高质量的溶剂并且脱过气，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。冲洗时应打开泄液阀，而后再用相应的溶剂冲洗整个系统。再不行就更换新阀。

拆装单向阀要有熟练的技巧，要求在清洁的环境中进行。装好后打进甲醇，赶走新阀中的空气。

气泡进入阀中会紧贴在阀体的一侧，使球难以返回到阀座，引起倒流，压力和流速变化范围大，有时甚至为零。此时不必弄清楚气泡附着在何处，只要打开泄液阀大流量冲洗或用脱过气的甲醇冲洗可以解决问题。在冲洗泵时可用扳手迅速打开泵头上的输出管路。

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。

使用双柱泵时常见到压力下降可能与某泵头有关，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。

在泵头上排气 打开泄液阀后未能达排气目的，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压帽。压力稳定了说明气泡排净。用吸水纸吸干漏出的液体。

采取上述方法后仍不能排除压力不稳的故障。应考虑可能是垫圈坏了、阀座被磨损了、球不光滑等。前者换新垫圈，后者更换单向阀。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。

单向阀的清洗方法 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 2~3 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。

如果技术熟练，可以对调单向阀的宝石球。原套的球和阀座因磨损已不能线密封时，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、过滤器阻塞、脱气马虎等。

二、泵垫圈故障

泵垫圈常见的故障 是渗漏和垫圈碎片污染系统。垫圈使用时间长了随时都可能出现故障。有人提倡3个月换一次垫圈，可以不花费时间和金钱去解决系统污染问题。另外，密封垫圈的材料抗不住溶剂的浸蚀，也会严重污染系统。

垫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更加速垫圈的磨损。垫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。垫圈损坏的表现是：①在高压下压力不稳定；②从泵头渗漏流动相。总的反映在样品保留时间的改变。一只渗漏的垫圈就像一只压力调节阀，到了一定的高压限压力就上不去了，部分液流在垫圈处漏出。一旦发现垫圈渗漏，要拆下旧的，换上新的。

多数垫圈与流动相是协调的。有些厂商为延长垫圈在水性流动相中的使用寿命，而制作垫圈的材料能溶于某些溶剂中，出现了垫圈与流动相的不协调性。例如有的垫圈仅适用于水、甲醇和乙腈，在四氢呋喃中溶解。为了防止发生垫圈溶解可以将垫圈置于相关的溶剂中浸泡一夜，检查其颜色有无改变，有无发粘、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，应停止使用这种垫圈，向厂商询问并更换。

换密封垫圈 这是所有的液相色谱系统操作者都必须学会的方法。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。这里简要介绍如下：

第一，准备好工具和所需部件。工具包括扳子、10[#]木螺钉、超声清洗粉、垫圈安装工具、新垫圈。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，松开泵头的两根收紧螺钉，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。退出泵头后，柱塞杆还留在泵上。

第三，用10[#]木螺钉旋进旧垫圈孔中轻轻拔出旧垫圈，注意不要

划破泵头。要毫不犹豫地随即扔掉旧垫圈。

第四，将泵头（连同单向阀）和新垫圈分别放入甲醇中超声清洗，同时用无纤维纸擦洗柱塞杆。察看柱塞杆上有没有划痕，如有划痕应换新柱塞杆然后再安装垫圈。有人建议拆去单向阀后超声清洗，防止单向阀被污染。

第五，安上新垫圈。这一步要用专门的安装工具，切不可粗心大意，避免损坏垫圈。有些公司专门出售安垫圈工具，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垫圈无弹簧的一侧轻轻插入，

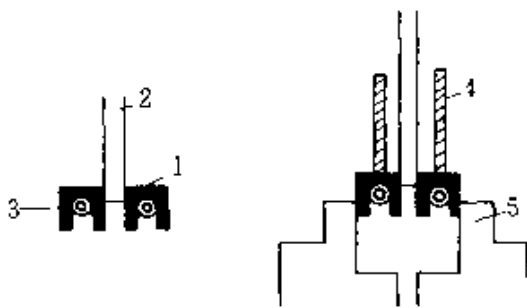


图 7 11 安装密封垫圈

1—密封垫圈；2 不锈钢杆；3—弹簧；4 铜套管；5—泵头

插至垫圈不掉下来即可。将垫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垫圈，同时抽出不锈钢杆，继续用拇指将垫圈完全压入泵头，加上垫片。参见图 7 11。

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，打开泄液阀，继续抽 20mL 甲醇赶走气泡后，换成需要使用的流动相。

三、柱塞杆故障

柱塞杆故障有三种——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垫圈时，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，顶端被夹在垫圈中。装泵头或在操作中柱塞杆折断时，无流动相输出，或者压力波

动。有的泵装有指示器监视泵运动情况。

有磨损物质或缓冲盐夹在柱塞杆与垫圈之间，可能在柱塞杆上划痕，其现象是换上新垫圈也不能止住渗漏，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，卡住的柱塞不能运动，不能抽取流动相。此时开泵会造成烧坏马达、连杆脱落以及损坏其它部件。

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。

四、其它故障

隔膜泵的隔膜破裂（少见），油会流入流动相，最后看不出压力的变化。有些厂商在油中加色，如膜破裂可看到色谱图基线偏离。此时要用强溶剂（如氯仿等）清洗系统，必须请厂商来换隔膜。

泵发生故障可能还有压力检测器失灵、泄液阀漏液、混合器故障以及除垫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。

第八章 管路与接头

第一节 管路的种类与规格

整个液相色谱系统从贮液器经整个系统一直到流动相排放都要使用管路。根据承受压力的大小可用不同材质的管路，管路的主要材料有不锈钢管和聚四氟乙烯管，也有用聚乙烯或聚丙烯管的。不合适的管路引起色谱峰变宽或液流受阻产生高压。排放管路不能太细。有样品通过的管路内径要细，利于色谱峰的分离，保证样品在管路中滞留时间少。管路一般不会“磨损”坏，无需进行特殊的维护，只有当与其配套的接头阻塞或损坏时才更换管路。

国内存在公制和英制两种规格的管，为便于查对，兹将这两种单位制列于表 8-1。

表 8 1 管内径两种单位制的换算

内 径		体 积	内 径		体 积
英寸	mm	$\mu\text{L}/\text{cm}$	英寸	mm	$\mu\text{L}/\text{cm}$
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			

(1) 不锈钢管 凡有高压的部分都要用不锈钢管连接。在液相色谱系统中，从泵出口一直到检测器的入口必须用不锈钢管。这种管子能耐腐蚀，有精密的同轴度。选用时应注意管子的孔要正好与接头的钻孔相匹配。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，可直接拿来用。从工厂买来的管子价格低，但要清洗后才能用。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 在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，如进样器排液口和泄液阀出口。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（不能用作进液管）。聚四氟乙烯管使用前，以甲醇冲洗即可。聚合物管子价格低、柔软，适应于容器的形状。

聚醚酮管可代替不锈钢管，它可耐压 30 MPa，比不锈钢管更具惰性，这是一种新发展的材料。

液相色谱系统不同部件之间可采用不同种类和不同规格的管子，见表 8-2。

表 8-2 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	样品管用不锈钢 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 长管作限制 器

在液相色谱系统中，进样器到柱、柱到检测器的连接管道有明显的柱外效应需予以注意。在其它地方对管子的长度和直径要求不那么严格，只要在换溶剂时达到快速、干净的目的即可。表 8-3 中列出了与常用色谱柱相连接的管子总长度与内径的要求。表中表示的为柱外峰宽效应增加 5% 时不同内径管子最大长度（包括接头）。例

如, 114cm 长、0.25mm 内径管子连接 $250 \times \phi 1.6\text{mm}$ 、 $5\mu\text{m}$ 的柱, 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, 管长应小于 8cm。算上柱头 (按每个接头长 2cm 计, 去掉 4cm), 实际上只能用 4cm 长、0.5mm 内径管子。

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。

采用大内径柱可以用较大内径的管路。在表 8-3 中用 250mm 长的柱, 而柱内径分别为 1.0mm、2.0mm 和 4.6mm, 连接管路可相应变长。

表 8-3 不同内径管长指南

柱 (1mL, mm)				不同内径 (mm) 管柱外峰宽 效应 5% 时最大长度 /cm		
长 /mm	内径 mm	填料粒度 (径) μm	塔板数	0.18	0.25	0.50
33	4.6	3	4400	22	9	<8
50	1.6	3	6677	33	14	<8
100	4.6	3	13333	67	27	<8
150	4.6	5	12000	167	68	<18
250	4.6	10	10000	556	228	14
250	1.6	5	20000	278	114	<18
250	2.0	5	20000	50	20	<8
250	1.0	5	20000	12	<18	<8

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 $R < 1.2$ 。若用细而短的色谱柱，则对管路的要求相当严格。

第二节 管路故障的预防

贴标签 要分辨出不同内径的不锈钢管是十分困难的。为防止差错，对新买来的管子应贴上标签，并注明管径。有的厂商（如安捷伦公司）在管子外套上彩套，表示出不同管径的管子，使用时可准确无误。

正确切割管子 聚合物的管子常成批买来，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。

切割好的管子切口应光滑，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，常用三种方法：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，在使用这三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（这种机器价格贵）。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。但划痕深度多少为好比较难掌握。浅了折不断，报废管子，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 $1/3$ 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。

切割的管子要按前面提到的程序冲洗去掉毛刺和锉屑，否则会引起麻烦。

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。

第三节 管路故障与解决办法

1. 管路阻塞

阻塞是管路的主要故障。管路完全或部分阻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泵或进样器垫圈产生碎片；④预柱、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。系统中管道阻塞的现象很少见，常见的是烧结过滤片（玻璃砂芯）阻塞。用烧结过滤器或烧结过滤片（孔径 $2\sim 10\mu\text{m}$ ）能去掉阻塞管路的微粒（如 0.25mm 管径）。

管路完全阻塞，压力会突然升高，超压。部分阻塞开始不明显，不断滞留在液流中的微粒压力会慢慢升高，最后完全阻塞。管路阻塞同时会看到接头或垫圈渗漏，低压好一些，高压渗漏明显。

用系统分段法检查阻塞的管路，从后向前分别松开接头检查，找到阻塞管路后，应立即拆下来疏导或换新。如果是非刚性物质阻塞，如生物样品中的生化物质（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。如果是刚性物质阻塞，要导通则十分困难，采用反冲的办法有时能成功。就是将管子调头用泵冲洗。操作时要注意保护眼睛和裸露的皮肤，因阻塞物会以很高的速度冲出来。

无法导通的管路要换上同样规格的管子。如果换上新管后又被阻塞，则应该停机检查上面提到的引起阻塞的几种原因。

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。

第四节 低压接头和高压接头

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。

1. 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 8-1 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。

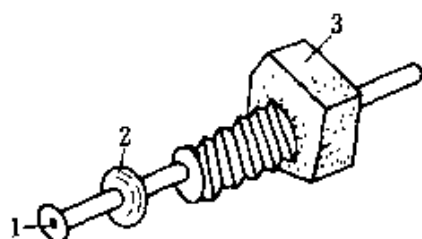


图 8-1 带法兰(凸缘)的低压接头

1—管头法兰；2—不锈钢
垫圈；3—塑料螺母



图 8-2 Upchurch 法兰接头

1—聚四氟乙烯管；2—不锈钢法
兰(卡套)；3—螺母

管端法兰可以自己动手加工制作。用法兰成型机加工比较方便。若没有法兰成型机，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。

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，见图 8-2。使用这种接头在卡套后裁留的管子长短

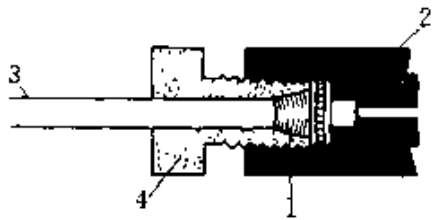


图 8-3 安装 Upchurch 式法兰接头

1—不锈钢卡套；2—过渡接头或阴接头；3—聚四氟乙烯管；4—螺母

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 8-3。

2. 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 8-4 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；管端一定插入阴接头内，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，达到密封性能。(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，不是渗漏就是阻塞。)习惯上安好接头后还应拆下来检查一下，看看卡套有无上紧，螺纹有无咬坏。接头有无装歪。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

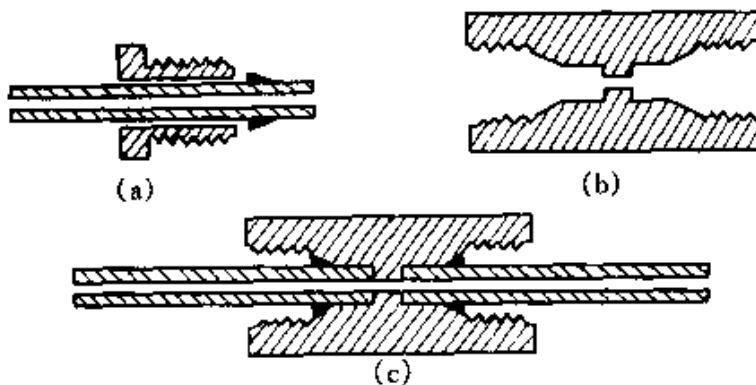


图 8-4 挤压式接头

(a) 不锈钢管端；(b) 卡套；(c) 连接组件

样后果十分严重，有时要报废很重要的部件（如色谱柱）。

3. 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 8-5 和图 8-6。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。

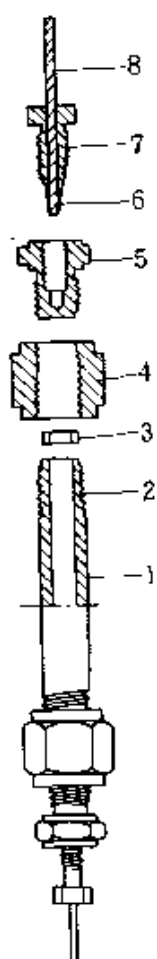


图 8-5 内接式

- 1—柱管；
- 2—螺纹；
- 3—密封过滤片；
- 4—套筒螺母；
- 5—压紧螺丝；
- 6—卡套；
- 7—O形体积螺母；
- 8—1.5~2mm 内径
不锈钢管

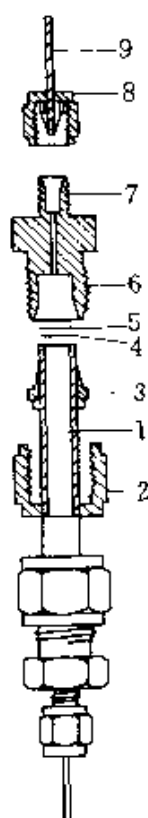


图 8-6 外接式

- 1—柱管；
- 2—螺母；
- 3—卡套；
- 4—烧结过滤片；
- 5—分配器；
- 6,7—外螺纹；
- 8—螺母卡套；
- 9—1.5~2mm 内径
不锈钢管

4. 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。

两种接头的连接可用图 8-7 所示选择合适的接头。

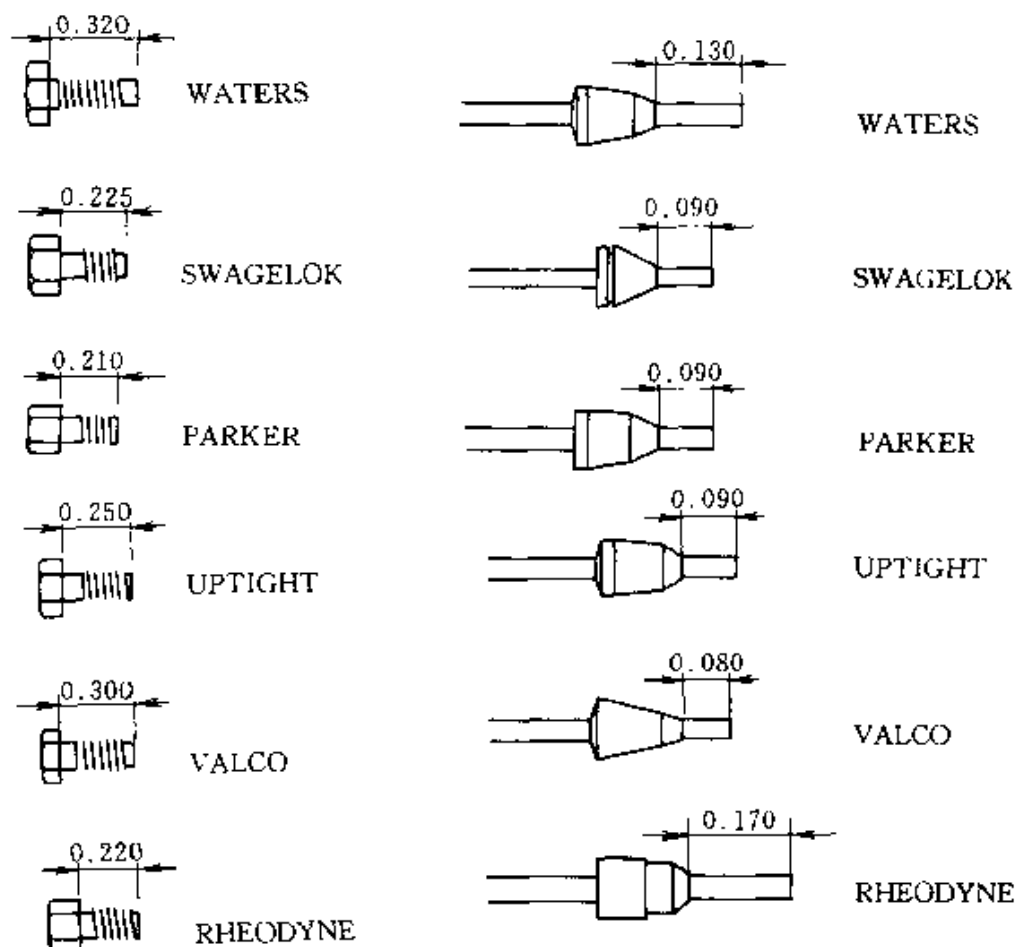


图 8-7 接头的变化

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。

大连化学物理研究所色谱中心生产的一种通用型接头可适用于

不同内径的管道,而且不用扳手,只需用手就可以拧紧(见图8-8)。

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,对于同一个厂商的产品不会出现这些问题。

微型小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。

最后提一下手拧接头的问题。不锈钢接头,聚合物的卡套,或者是聚合物(Kel-F)或不锈钢的接头。这种接头的卡套是柔软的,收紧后夹住管首,但不能永久性固定。这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劲,渗漏或管道脱落。

5. 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(如同一厂商的部件);②使用效果好的接头部件(如零死体积,即样品通过时 $V_0=0$);③按要求组装和拧紧接头,不可拧得过紧;④避免接头混淆使用,及时作好标记;⑤使用合适的工具。

组装/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,更严重的使螺丝咬死。最后,旋紧接头时最好要用死扳手,不用活扳手,保证不咬坏接头。

平时要准备一些可能用到的各种接头备件。

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。

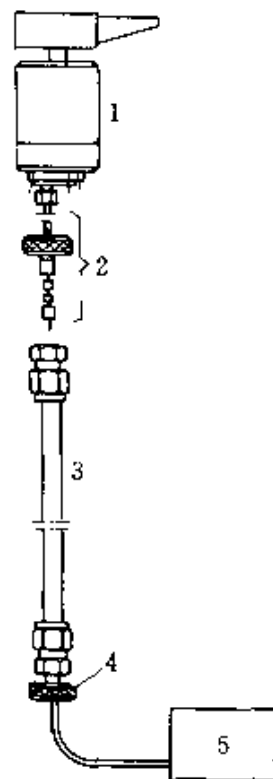


图8-8 通用接头
连接示意图

1—进样阀;2、4—通用接头;3—色谱柱;5—检测器

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。

第九章 进样系统

第一节 进样器的设计与操作

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(如图9-1),样品直接注入高压流动相中,或者停泵进样。这样操作困难,精确度差,常常损坏微量注射器,进样量也受到了限制($<8\mu\text{L}$)。现在手动进样器和自动进样器已完全取代了柱头进样器。

正确地使用进样器,对分析结果的准确性和精密性至关重要。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。

六通进样阀是最理想的进样器,在液相色谱系统中的位置如图9-2所示。它由圆形密封垫(转子)和固定底座(定子)组成。从进样孔中取样(Load)进样品环,多余样品从放空孔排出。在 Load

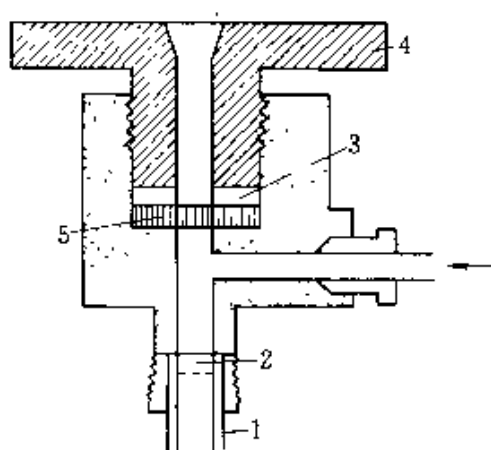


图 9-1 柱头进样装置

1—色谱柱；2—过滤片；3—钢片；

4—压帽；5—隔膜

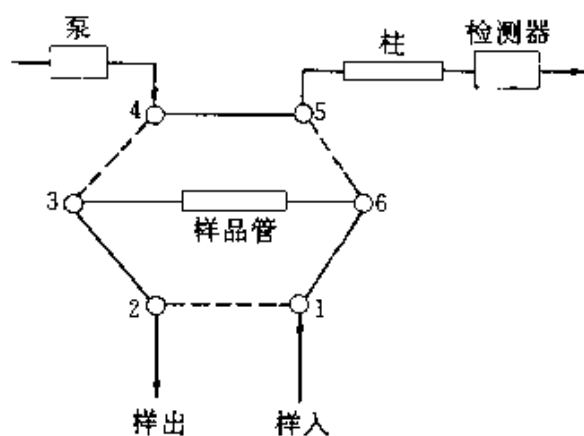


图 9-2 六通进样阀的连接

位置, 样品环与进样孔和放空孔相连, 流动相从泵直接进入色谱柱, 在图 9-2 中用实线表示相通。将六通阀转子转动 60° 处于进样 (Inject) 位置, 此时泵打来的流动相冲洗样品环, 推动样品进入色谱柱, 在图 9-2 中用虚线表示相通。再将样品阀扳回原来位置, 亦即样品阀又在 Load 位置, 为下一次进样作准备。如果扳阀处于 Load 和 Inject 之间, 便阻死了液流, 压力骤增, 再转阀到位, 过高的压力冲击在柱头上会引起柱损坏。所以应尽快转动阀, 不能停留在中途。有的阀设计有旁路, 阀突然阻死会起到分压作用。

进样孔 这是注射器和阀的接口。六通平面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 9-3 为内装式进样阀, 图 9-4 为外装式进样阀。

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样品环管的容量。要用过量的试样, 最好大于样品环管体积的 5 倍, 完全更换样品环管中残留的溶液, 有极高的精密度。要求有足够的样品。部分装液法是注入的样品量就是注射器排出量, 不需要改变样品环管的大小就可改变进样量, 而且针头直接推样品进入样品环管, 很少或不损失样品。内装式进样阀用部分装样法, 样品可从 $1\mu\text{L}$ 到 2.5mL ; 用完全装样法, 样品可从 $5\mu\text{L}$ 到 5mL 。

外装式进样阀的进样孔与阀本身有段可长可短的距离, 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样品环, 故只能采用完全装液法。用这种阀要求有足够量的样品, 不必细读注射器上的刻度, 只要进大量过量样品, 就可获得好的精确度。

六通进样阀靠惰性聚合物转子与铝制陶瓷定子密封。这是关键部件。保护得好, 可进样 3 万次, 才考虑换转子。

表 9-1 列出两种不同形式进样阀的功能及优缺点。

部分装液法的进样体积低于样品环管的体积。如想进 $23\mu\text{L}$ 样

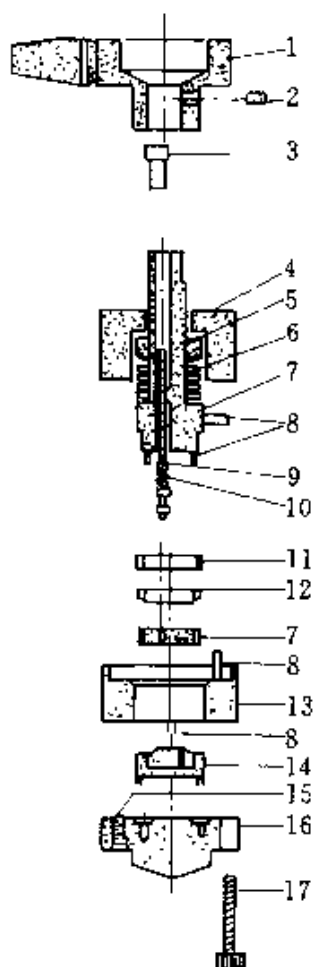


图 9-3 内装式进样阀

- 1—手柄, 2, 15—固定螺钉;
 3—针头导向管; 4—上盖;
 5—转动轴承; 6—弹簧; 7—转子;
 8—卡子; 9—针孔管;
 10—管弹簧; 11—支撑圈;
 12—隔离垫圈; 13—定子圈;
 14—定子面备件; 16—定子;
 17—定子螺钉

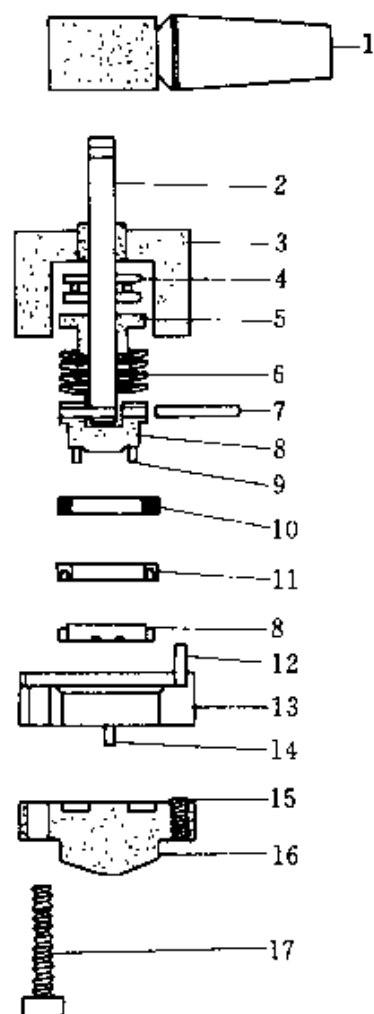


图 9-4 外装式进样阀

- 1—手柄; 2—杆; 3—上盖;
 4—转动轴承; 5—弹簧压圈;
 6—弹簧; 7—卡子; 8—转子;
 9—密封圈卡; 10—支撑圈;
 11—隔离垫圈; 12—制动卡;
 13—定子圈; 14—定子卡;
 15—定子固定螺钉; 16—定子;
 17—定子螺钉

品, 就取 $23\mu\text{L}$ 样品进入 $50\mu\text{L}$ 的样品环管中, 其余的体积被先前留下的溶剂 (一般为流动相) 所充满。因为是采用注射器进样, 所以注射器中所取样品多少极为重要。应注意: ①每次都要准确取样品

量；②样品量不要超出样品环管体积的 50%。

表 9-1 内装式和外装式进样阀比较

进样技术	优点	缺点
部分（完全）装液 内装式	部分装液可变性好 （节约样品）	部分装液精确度差
完全装液 外装式	精确度好	可变性差 （浪费样品）

为了说明问题，可参见图 9-5 中完全装液和部分装液的形式。

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样品环管，试样量可为 0.5 μ L、1.0 μ L、5.0 μ L。

采用部分装液法，样品不是以“塞子”形式进入样品环管，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同地离开样品环管。如样品环管体积为

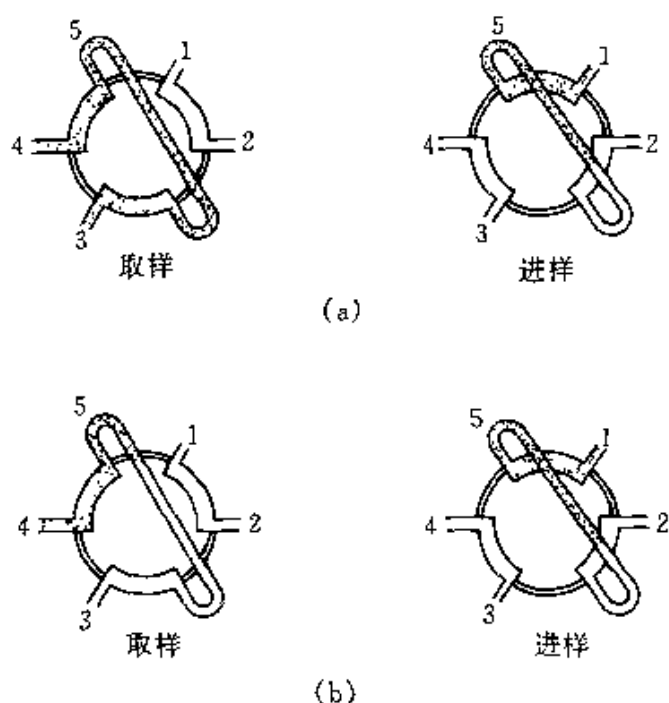


图 9-5 两种装液法图解

(a) 外装式；(b) 内装式

1—色谱柱；2—泵；3—放空；4—样品；5—样品环管

20 μ L, 进样体积应小于 10 μ L 或大于 40 μ L (完全装液), 这样能呈良好的线性关系。

要充分认识到层流对样品塞稀释的危害性。样品充分, 可取 5 倍于样品环管体积以上的样品量冲洗完全装液, 如果样品量受到限制, 而手头只有外装式进样阀怎么办? 技术熟练者可用导入气泡法进样。先用注射器吸满样品, 而后将注射器头向上往回抽注射器芯, 使注射器顶端有一小段空气, 然后连同样品一起推入样品环管中。前面的空气段赶走原环中的流动相, 节省了一部分样品。另一方面, 注射器顶端空一很小体积 (如 0.2 μ L), 在样品环管中好似一层垫圈, 隔开了流动相和样品波之间的接触, 样品是“塞子”的形式, 而不是层流形式。稍有一点气泡夹在流动相中进入系统不会出现问题。电化学检测器怕气泡, 不宜采用这种技术进样。

采用反冲技术。在实际应用中, 进样体积越小越好。部分装液法再加反冲技术可将样品体积降至最小。小体积样品进到大样品环管, 用反冲技术特别重要。如 Millipore-Waters 的 U6K 阀, 其样品环管 2mL, 若进样 20 μ L 完全通过样品环管, 样品被稀释 100 倍。同时, 转动样品阀随时间和样品实际到柱的时间也相差太大。用反冲技术, 在 2mL 样品环管中也能进 20 μ L 的样品, 没有稀释和推迟效应。图 9-2 是反冲形式, 如果 1 孔和 2 孔或 4 孔和 5 孔反接就达不到反冲的目的。

接在进样阀上的样品环管有两种形式: 外装式和内装式 (已不符样品环管的称谓)。

外装式样品环管是由 1.6mm 内径的不锈钢管制成, 两头用标准的压缩接头接在阀体上。可做成不同体积的样品环管。按表 8-3 所示依照所需进样体积剪取不同内径管子的长度, 如用 0.5mm 内径的管子做 25 μ L 体积的样品管, 应剪取管子的长度为 12.3cm (25/2.03)。阀内体积的影响约有 10% 的误差。样品环管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, 最好用厂商配套的产品环管。

内装式样品环管很少用。但在采用微型柱、短柱或小颗粒填料

时可考虑用这种样品环管（图 9-6），一般是利用连接孔到转子的一小段空隙，或者样品管开在转子上。

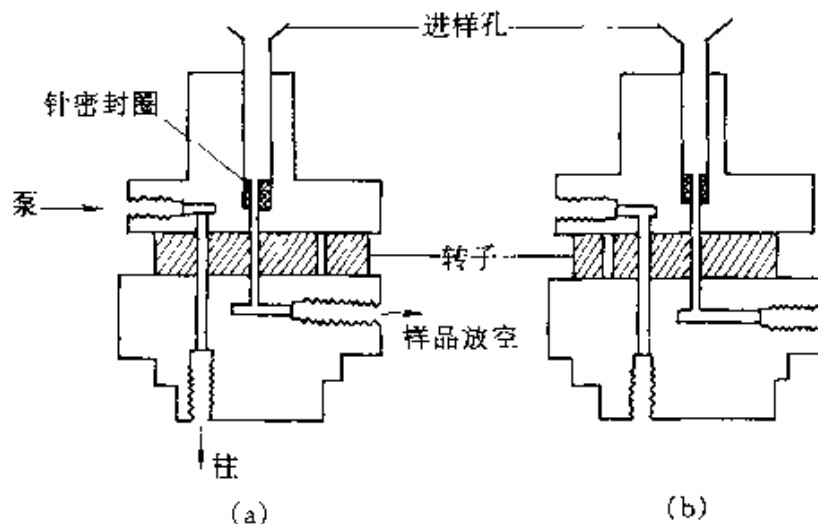


图 9-6 微量进样器示意图

(a) 取样；(b) 进样

一般不要求精确计算样品环管的体积。譬如，一根名义上 $20\mu\text{L}$ 的样品环管，实际上是 $19\mu\text{L}$ 还是 $21\mu\text{L}$ 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的同样体积。在新换样品环管或计算检测器响应值时，要求准确知道精确的样品量。部分装液法就要精确读准取样量，完全装液法要与标准的样品环管比较响应值。如果你需要知道所使用的样品环管的准确体积，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。

$$V_s = V_c / A_c \cdot A_s$$

式中 V_c ——标准环管体积；

A_c ——标准环管所得峰面积；

A_s ——（同种样品组分）新样品环管所得峰面积。

现在市场上流行的几种进样器都可作为常规分析用，下面作简略的介绍。

(1) Beckman 的 Altex 型进样阀 这种阀的进样孔与系统相连的接头都在阀体的正面。样品环管紧贴阀体背面。转子随着扳手转动。外装式样品环管 $1\sim 20\mu\text{L}$ ，内装式进样孔可进行完全装液或部分

装液（见图 9-7）。

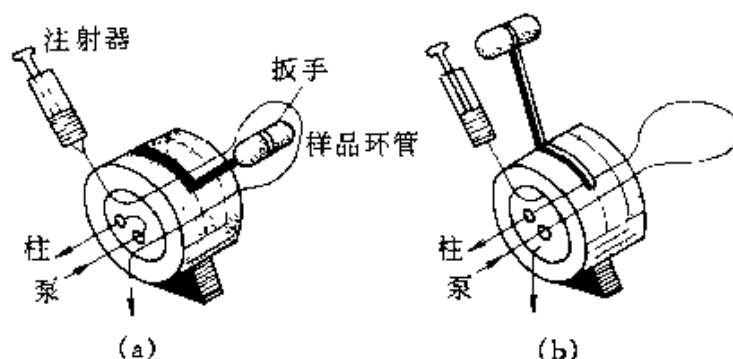


图 9 7 Beckman 的 Altex 进样阀

(a) 取样；(b) 进样

(2) Rheodyne 进样阀 该公司阀的规格齐全，有内装式和外装式样品环管，是目前国内外应用最广泛的进样阀。详细结构可见图 9-3 (7125 型)、图 9 4 (7010 型) 和图 9-6 (7520 型)。我国大连化学物理研究所色谱中心和北京、上海分析仪器厂的进样阀也属于这种类型。

(3) Waters 的 U6K 型进样阀 这种阀的特点是有旁路系统，柱上承受压力脉冲小，仅用部分装液法。这种阀有两个转子（图 9 8），A、B 位一个转子，C 位单独一个转子。

U6K 进样阀操作步骤：

第一步[图 9-8(a)]，泵从样品管旁路（限制器）打液直接到柱。样品环被 C 阀和样品保留塞所阻。此时 A、B 阀开，C 阀关，A、C 之间不通。

第二步取样[图 9-8(b)]，流动相流向仍同于第一步。拨下样品保留塞，C 阀打开。用部分装液法装样，多余流动相从 C 阀放空。塞上塞子，关 C 阀，又回到第一步。

第三步进样[图 9-8(c)]，转动 A、B 阀的转子，A、B 之间不通，流动相经过样品环管反冲样品到柱。然后再转动 A、B 阀转子到第一步位置，准备下一次取样。

U6K 阀可以随意改变样品量，从几微升到 2ml，均可。但它的结

构复杂，价格高，从取样到进样过程复杂。样品环管体积大，对黏稠样品的色谱峰有加宽效应。另外，转子上的垫片易磨损引起渗漏。装样保留塞有时也会渗漏，造成结果不能重复。

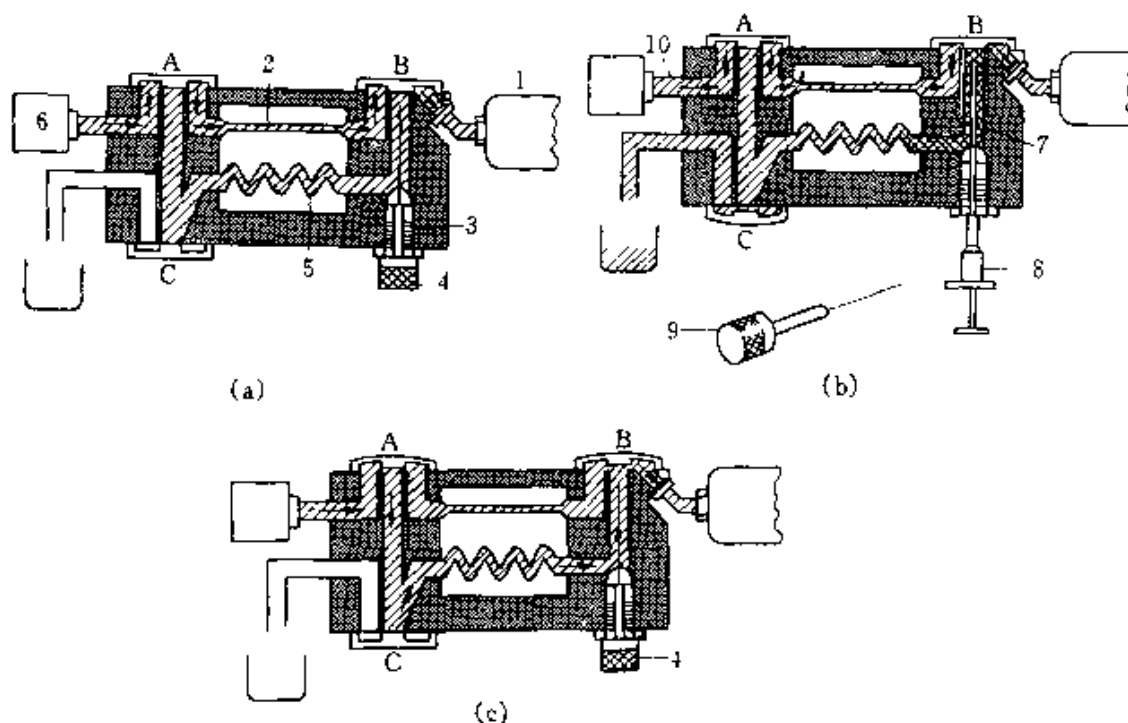


图 9 8 U6K 阀

(a) 进样前；(b) 进样；(c) 进样后

1—色谱柱；2—限制器管路；3—样品装液器；4—装液保留塞；5—样品装液管路；
6—泵出口；7—样品；8—标准 LC 注射器；9—样品装液保留塞移去；10—溶剂

此外商品阀还有 SSI 的 3XL 型进样阀和 Valco 的 C6U 和 C6W 进样阀，这里不再作详细介绍。

第二节 进样器的零部件和专用部件

1. 注射器针头

在液相色谱系统中多采用平头针头或锥形针头注射样品，有别于气相色谱的尖头针。针头外侧紧贴进样器密封管内侧，密封性能好、不漏液，不引入空气。针头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。有的用锥形针头，允许刺到定子。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长钩的针头，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。

2. 气动促动器和结果标示器

在进样阀的周围安装气动促动器可遥控进样，用气动控制或电控制，可作为手动进样器使用，也可作为气动操作进样器或自动进样器的一个部件使用。

结果标示器是在阀转动到进样位置时传出一个脉冲或击发一下触点，指出阀的位置。这个信号可在记录器上标出进样点或另一种液相色谱系统的程序开始。手动和自动进样器都可装显示器。

3. 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。前面介绍 Waters 的 U6K 阀时已提到，限制器就是旁路，在进样位置仍有一小股液流通过。在转动进样阀时不会瞬间停流，也不会瞬间增大压力。另外新型的 Rheodyne 进样阀也已经在设计上达到了这一效果。

也可以自己动手为进样器做压力旁路：用两只 T 型接头和小于 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 型接头和阀之间的管道尽量短 (<3cm)。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 9-9。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 型接头，泵流速 4mL/min，在内 A 管和 C 管流量应分别是 1mL 和 20mL。

应用旁路系统最大的风险是一旦样品环管阻塞（B 或 C 管），旁路代替了样品环管，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。

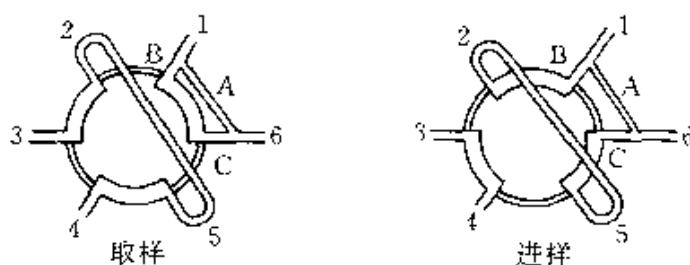


图 9-9 进样器压力旁路循环

4. 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；

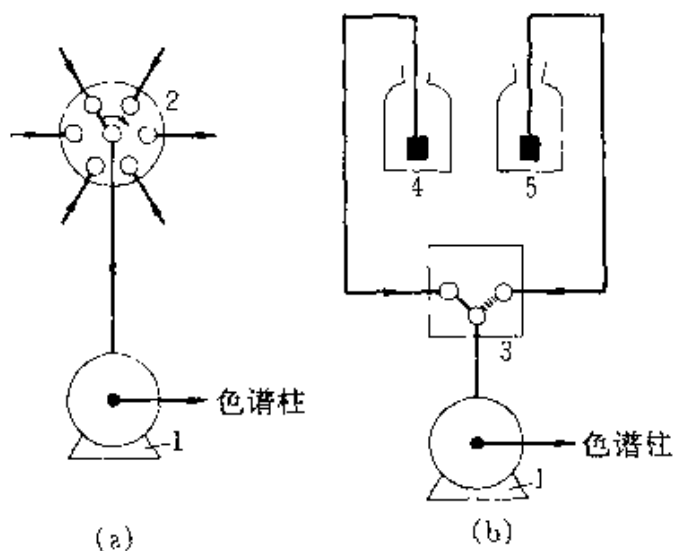


图 9-10 低压阀的应用

(a) 六通选择阀用于从多个贮液器之间选择流动相；(b) 系统清洗

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

(5) 从一组检测器中选出专用检测器。

5. 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见图 9-10。第一，普遍适合用作溶剂贮液器的选择阀。要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。

第三节 自动进样器的设计与操作

所有的自动进样器都是由五部分组成——进样阀、样品环管、进样针头、样品瓶和支架。市售进样器可能还包括其它部件。样品放在支架上的样品瓶内，转动支架让小瓶对准针头，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。图 9-11 是安捷伦公司的自动进样器示意图。进样阀也是六通阀，由马达带动转动（也有气动）。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。无固定体积的样品环管，由注射器

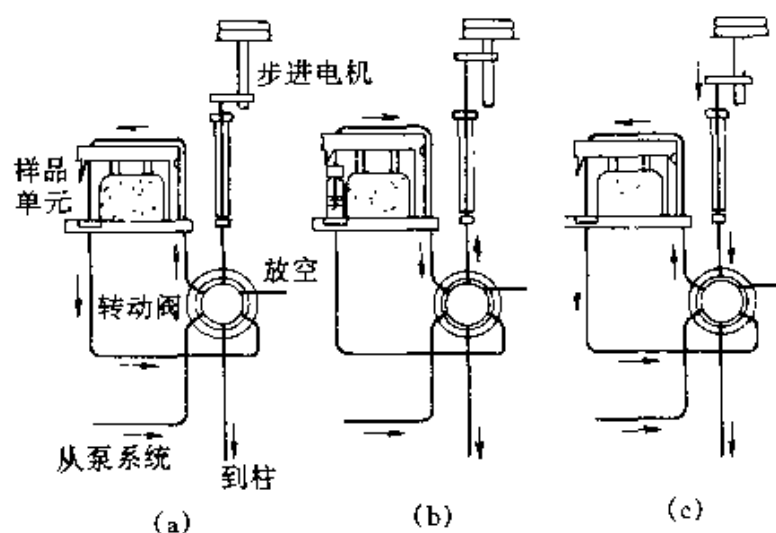


图 9-11 安捷伦公司的自动进样装置

(a) 复位；(b) 装样；(c) 复位/进样

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样品环管，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。

进样器针头用于刺破样品瓶上的隔膜吸取样品进入样品环。

经常使用的样品瓶有两种：标准瓶和微量瓶。标准瓶是平底，可装 1~5mL 样品，注射样品量大于 50 μ L 时可用此瓶。微量瓶是尖底，可装 10 μ L 左右的样品，进样量在 1 μ L 左右。样品瓶多用玻璃瓶，一次用后就废弃，也可用塑料瓶（如聚乙烯），瓶口用隔膜密封，用螺盖或固定膜扎紧。

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。

自动进样器在设计上的差别在于如何从样品瓶中转移样品到样品环管。一般有两种形式——顶替法和注射法。

顶替法是依靠空气压力迫使瓶中样品通过针头和转移管进入到样品环管（图 9-12）。因进样时对小瓶内容物加压，故小瓶要密封。常用两种加压法：一种如图 9-12 及图 9-13 所示，用两根针头（也可同心），一根加压，一根装样。压力的调整也是重要的，要保证恰到好处压力顶替出样品去冲洗和充满样品环管。另一种加压方法是在小瓶的内侧压薄膜的盖，针头向下推动盖子，很像注射器芯子。挤压样品进入样品针头。关键要计算好小瓶和针头移动长度，不要压碎小瓶。

注射法自动进样器如图 9-13 所示。操作时针头下降或小瓶上升，针头刺破小瓶口上的膜，吸取样品进入样品环管中。也要有两根针头（或分开，或同心），一根作吸样用，一根通气，防止吸样时小瓶内真空化。如果样品不因蒸发而损失或不存在污染问题，可以不用隔膜密封。进样完毕后针头从小瓶中抽回，同时挤出多余的样品，再进行下一次冲洗、吸样品。也可以用部分装液法，但仍然要求样品体积不要大于总体积的 50%。

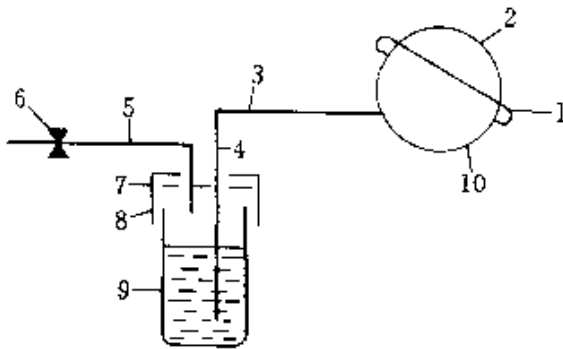


图 9-12 顶替式自动进样装置

- 1—样品管；2—进样阀；
3—转移管；4—样品针头；
5—加压计；6—压力控制阀；
7—膜；8—盖；9—小瓶；10—放空

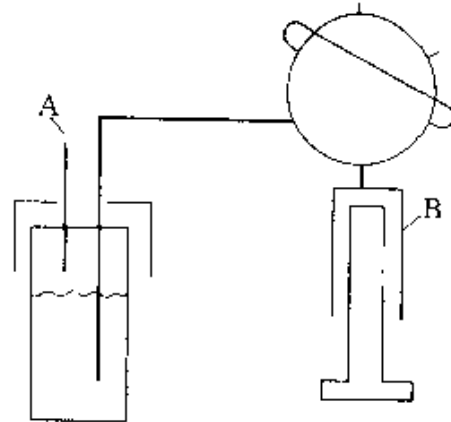


图 9-13 注射法自动进样器

- A—出孔针（与样品针同轴）；
B—样品针，其它部件同 9-12

第四节 故障的预防

1. 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 9-2 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 两孔也通，此时样品很难进入样品环管中。保持进样阀清洁，装配正确，至少可转动 1 万次（5000 次进样）才可能报废。

在手动进样器中造成转子或定子损坏的原因可能是使用了不合格针头或长针头，如果使用了像气相色谱仪进样用的进样针，将会损坏进样阀，同时进样针也会报废。建议尽量购买商品化了的进样针头，现在进样阀的设计上将使这种进样针头绝大多数情况下接触不到定子。对于聚四氟乙烯的针头，密封管也要进行定期检查（如每月一次），以防渗漏。调节、拧紧进样孔的螺母，恰如其分地压缩聚四氟乙烯管，使之能紧紧裹住注射器针头。

2. 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。这些也适合于手动进样，应在光线下检查有样品无颗粒、浑浊或乳化，必要时用 $0.5\mu\text{m}$ 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佳，也会导致试验结果的精确度差。有报道，盐水稀释过的血浆样品在小瓶中冷冻后融化进样，振摇小瓶后手动进样精确度好，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，因盐析作用使样品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。此例提醒我们应该在进样前进行充分的振荡，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的一半（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。

3. 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一夜，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一种实用的方法，单靠支架上的编号往往弄错，对某些结果不清楚或与识别相联系的问题，贴标签后易于监测样品运转情况。

4. 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，而且不需要作预防性维护。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。

5. 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。偶然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。

6. 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，因此有些进样器上用几十厘米长的连接管是不合适的。

7. 空气源

用压缩空气或氮气从样品瓶中转移样品到样品环管中，调节合适的压力十分重要，压力调节器装在自动进样器中或装在气源上，也有的两者都装上。压力过小不能充分地冲洗样品环管，取样不足，甚至抽取不到样品。压力太大，过分冲洗样品环管导致样品被放空排掉，样品环管中部分或全部装满空气。取不同黏度的样品时要反复调节空气压力，一般操作说明书上都有详细说明，动手调节之前应仔细阅读说明书。特殊需要时，也可以用氮气作为气源，但必须要调节适当的流量达到目的。

8. 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。

两次进样之间似无必要冲洗。采用顶替法进样时可用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。

9. 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，查出是进样系统的毛病，还是液相色谱系统的毛病。

如果没有自己的标准可参阅表 9-2。配制两种不同浓度的标准品 A 和 B，要做到标准品本身的精确度在 $\pm 1.5\%$ 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，将每天的结果统计就成为实验工作日的精确度。

表 9-2 用于检查自动进样器的操作程序

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

第五节 手动进样器的维护与故障排除

一、手动进样器的拆卸和转子密封垫圈的更换

只有在清洗阻塞孔或更换磨损部件（内装阀要拆开换样品环管）时才拆开阀，一般情况下（调整不当或微粒污染）不轻易拆开。下面的讨论同样适用于自动进样阀。

(1) 备有新的转子垫圈，有阀分解图（如图 9-3、图 9-4）和厂商对部件的重新安装指南。

(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) 将所有部件泡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下 ($\text{pH} > 10$ 时) 不稳定。接着用水漂洗部件，最后再用甲醇漂洗，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，并且很快又磨损。

平时应准备的备件包括：转子密封垫圈、几种定量环管、品牌相同的各种用得着的接头等、合适的注射器。对于自动进样器：合适的样品瓶以及相应的隔膜垫和样品盖、自动进样器专用的注射器、各种接头等部件、保险丝等。

二、手动进样器的故障和解决办法

进样器的故障主要有：接头故障、阻塞、注样孔故障和样品滞留。

表 9-3 列出了进样阀的故障并在下面作分别的讨论（参照图 9-2）。

进样阀上的接头故障与系统其它部件的接头故障相同。如接头损坏，不配套，组装不对会发生渗漏或峰变宽。

阻塞的现象各有差异，有的反压很高，有的取样困难。利用表 9-3 可找出阻塞的孔或样品环管。应注意到装配不当造成的转子阻塞与孔和样品环管阻塞之间有相同之处。

例如，表 9-3 中在进样和取样位压力都升高，在进样位将样品环管任一端松开（孔 3、孔 6）压力均下降，孔 5（柱位）很可能被阻塞。

用反冲法也可能疏通阻塞孔，若不奏效应拆下超声清洗，或送回工厂返修。不要试图用金属丝通阻塞的阀孔，因划破转子表面或

表 9 3 进样阀的故障¹⁾

现象	阀位		松开指定孔			阻塞孔
	进样	取样	?	5	6	
				压力变化		
压力升高			无	- *	*	孔 6
			无	-	-	孔 3 或样品环
		+	无	无	无	转子不配套
		?	无	*	- *	孔 5
			无	+ *	- *	孔 4
			改善情况			
装样困难	-	.	+ *	无	+ * *	孔或注射器
			+ * *	无	+ *	孔 2
			-	无	无	放空管道
	-	+	无	无	+	孔 6
			无	+	-	样品环

1) 参照图 9-2 阅读此表, 表中符号说明: “-”表示压力升高或装样困难; “.”表示压力下降或装样改善; “无”表示无影响, “*”进样位, “* *”取样位。

金属丝断在孔中, 会造成永久性的破坏。

样品环管阻塞用反冲法排除或换新的环管。

有时注射器针头较脏, 阻塞造成装样困难, 看上去似乎有了故障, 可将注射器取出用三氯甲烷或清洗剂清洗后重试, 或者用另一根注射器试一下, 最后才确定是否拆开阀清洗。

注样孔的故障通常有两种现象: 一是装样时针头周围渗漏, 造成的原因可能是孔道阻塞或者放空管和样品环管太细阻力太大, 注射针头外围的密封管规格不对, 注射器针头太细; 二是在装样时注样孔渗漏, 这可能是放空管有虹吸现象, 转子密封面上孔之间磨损渗漏。为防止虹吸现象, 放空管的末端不要没在放空瓶的液面以下, 放空瓶中液面保持在阀水平线以下。如有必要在放空口上加一根 1m 长、0.25mm 内径的聚四氟乙烯限制管, 或用钳子夹住放空管。转子

横切面渗漏仅发生在一个位置（不是取样，就是进样），要换转子。

样品滞留现象表现为第二次空扳仍出前面样品的峰（小得多），其产生的原因可能有三种：第一，阀在进样位置停留时间不够，流动相未能完全把样品带到柱上，有部分样品还留在样品环管中。因此要求在进样位停留的时间至少应是让流动相通过的体积是环体积10~20倍的时间。第二，残留样品留在样品环管中或注射器中，或者从放空管中虹吸回来，这样均能污染下一个样品。可用5~10倍流动相或新样品溶液冲洗注射孔和注射器。如有虹吸现象，则应加限制管。第三，接头有死体积能滞留样品，要冲洗干净很困难。应先检查装配情况，然后再确定换新的部件。

第六节 自动进样器故障和解决办法

自动进样器的故障是敏感的，也容易被发现。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，除了一些共性的故障外，一般要查阅操作手册或与供应商联系。

相关样品制备引起的故障是样品针头和管路阻塞，或者色谱图上出多余的峰或者对色谱峰产生其他影响。这些问题留在第十五章内讨论。

样品小瓶的故障主要是指小瓶高度过浅能弯曲或折断针头；小瓶过深，针头不能抽取需要体积的样品（无样品或仅有部分样品进入样品环管）。此时要调整针头正好停在瓶底。另外，小瓶不干净，或者该用玻璃瓶时使用了塑料瓶，可能出现多余的峰，甚至空白溶剂也会出峰。改用干净的玻璃小瓶会克服这类故障。

样品瓶的破裂是因支架或针头未调整好，注射式进样调整比较困难，但这类故障比较少。

在使用隔膜垫的时候，应防止样品瓶的污染。不合格的膜能引起污染，硅橡胶或类似的膜有时能被溶剂提出污染物。最好的膜是聚四氟乙烯膜压于硅聚合物膜上，聚四氟乙烯膜面朝向样品溶液，既

能密封又不污染。

与样品支架相关的故障通常表现为，没有调整好样品瓶或进样有差错。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。

针头故障主要是阻塞，根源是来自样品、缓冲盐、膜碎片或针头本身。故障的现象是色谱峰比预期的小或无峰。采用内标方法时，内标物对已知样品的比例仍恒定。可以用金属丝疏通或换新针头，改善处理样品的方法，大部分情况下需要更换针头。过滤样品、换用不同类型的针头和隔膜是经常采用的方法。

针头弯曲通常是针头碰到了瓶盖或是碰到了瓶底，此时要调整升高针头或降低小瓶的机械，让针头到达瓶底之前停下来，弯曲的针头一般都换掉。针头碰到了瓶盖可仔细调整支架，让瓶中心正对着针头。

用钝了的针头有时会弯曲，不能整齐刺破膜，膜碎片易阻塞针头。如发现针头钝了，应及时换上新针头。

进样阀的故障已在前面讨论过，这里不再重复。

管件的故障主要是因微粒、隔膜碎片或管路太细引起的阻塞。如阻塞发生在进样阀低压一侧（针头连接管），很可能是微粒引起的，表现为峰变小或不出峰。如阻塞发生在高压一侧，引起压力升高，可从柱头开始朝进样器逆流清洗，依次松开接头，一直找到系统压力下降为止。在哪一个接头压力下降，阻塞就在这个接头向下的地方。有时可借助泵反冲流通疏管子，但多数情况要换新管路。如果一再

发生阻塞，应考虑在进样器前加过滤器。

在顶替法进样中，空气压力过低或过高的缺点已在前面讨论过，这里仅讨论用气动阀切换进样（本是电动马达）的压力情况。压力不足使阀转动慢，引起系统压力高，可能因超压而停泵。除了升高压力或改用氮气源外，还要考虑转子不能太紧（以致转动慢）。增加压力（例如 4MPa）有利于阀转动，但对阀的冲击大，加快转子垫圈的磨损。为此合适的压力应不超过 6~7MPa。

注射器故障主要表现在自动进样器上的注射器规格不对，可能抽过少或过多（抽过头）样品。如用完全装液法会发生样品环中未装满样品，因冲洗不彻底样品滞留；或空气进入到样品环管中。如采用部分装液法，进样的样品量不正确。此时要换用校正过的合适的注射器。如果驱动注射器的机械未调整好，也会有上述类似现象发生。注射器漏气或破裂，会造成取样不足或根本取不到样品。可拧紧密封针芯的螺丝或换新注射器。

如进空白样品出现了“色谱峰”，而进样品时，发现样品响应大为减小（小于 5%），此时表明进样系统发生了样品滞留现象。自动进样器进样出现样品滞留现象时应加倍清洗，或用大样品量清洗，或调整样品瓶的进样次序（开始是低浓度的，高浓度的放在后面，较低浓度的样品不会影响高浓度样品精确度），也可在样品小瓶之间放装有清洗液的小瓶。

对于测定结果准确度或精确度不高应找出原因。先用手动进样方法（用精确的进样器代替），如果结果精确，表示原进样器有问题，如结果仍然很差，应考虑是样品预处理或是液相色谱系统的其它问题。

如果误差是恒定的或所有的样品都差不多（如 +15%），可能是自动进样器校准不好。可用不同体积的未知浓度的样品检查校正曲线是否经过原点，用部分装液法时要考虑留在针头和连接管中的样品。要很准确地知道进入样品环中的样品体积（部分装液法）是很困难的，用完全装液法误差仍很大，建议需要时采用内标方法以克服进样的相对误差。

如果误差是偶然的或不规则的，可能有漏气。顶替法进样由于样品量小（小于 $5\mu\text{L}$ ）精确度差，应稀释成大体积样品用完全装液法进样。因漏气引起的误差，可以上紧相关的接头，换掉可疑接头。在顶替法进样中，气源压力不当也可引起偶然误差。问题不能解决就用内标定量法补偿这种变化。

许多自动进样器已装上自检诊断系统，可监测所使用的某些参数的变化。如果自动进样器失灵，错误的信息可在控制屏幕上显示出来，或响起警铃，此时应查阅操作手册，予以纠正。

第十章 柱

色谱柱是液相色谱系统获得分离的中心部件，许多分离问题都归结于色谱柱。对柱注意适当的维护，则可缓解许多故障的发生。

柱故障主要是由机械、色谱或者化学方面的原因引起的。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是非常重要的。色谱柱的价格昂贵，应避免人为地损坏，并尽可能延长其寿命。

第一节 色谱柱的种类与评价

一般地说，根据样品的性质决定采用何种液相色谱方法，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。

不同液相色谱法的柱尺寸根据需要可以选取，普通分析柱 3~30cm 长，内径 4~8mm。常用 20cm 长、4.6mm 内径的柱。制备型柱内径一般为 8mm、25cm 长。微型柱内径 1~3mm，长 10~20cm。

在第四章中已讨论了液相色谱系统的用途，选定一根色谱柱可以适应一种色谱法，如反相分离用 C_{18} 柱，分离某些同系列的化合物应考虑用专用柱，用手性柱分离光学异构体，大孔径柱分离蛋白质等。表 10-1 列出不同的液相色谱法用的柱填料。

一、固定相

反相和极性键合相柱填料含有不同的有机覆盖层，如烷基 (C_8 、 C_{18})、氰基、氨基、苯基等。有些键合相填料在实际应用中范围很广，如 C_{18} 。硅胶微粒可作为正相色谱柱填料，也可作为上述键合相填料

的基质。用多孔的硅胶微粒作基质柱填料比表面积大 ($200\sim 300\text{m}^2/\text{g}$)，柱效高。也可用聚合物做基质，如聚苯乙烯、聚乙烯醇胶等。

表 10-1 不同的 LC 法用的柱填料

LC 法	柱填料	详细说明
反相, 离子对	C_{18} C_8 C_{18} 、三甲基硅烷(TMS) 酚、二酚 全氟 C_k 氟基 聚苯乙烯	主要柱填料; 应用范围广; 用量占 50% 以上 稍逊于 C_{18} 低度键合、易受影响、寿命短 专用柱 专用柱; 对氟代样品有选择性 止反相 $1 < \text{pH} < 13$ 稳定; 寿命长于硅胶基
正相	氨基 硅胶 氟基 二羟基 氨基	糖类分析; 稳定性低 + 要柱填料; 价格低 多用于正相 同氟基 不稳定
体积排阻	硅胶 二羟基 聚苯乙烯	稳定; 适应性差 不稳定; 很适于粘胶性水性色谱 不稳定; 很适于有机性排阻色谱
离子交换	聚苯乙烯 键合相离子交换	低效, 稳定, 重复性好 稳定性和重复性低

另一种填料为多孔层球。它是由固体的非孔性内核（一般为硅胶）外加一层多孔性外壳（核直径的 $1/30\sim 1/10$ ）。外壳可能是硅胶、矾土或离子交换树脂。它的优点是能用干法填装；缺点是短孔径、比表面积小 ($1\sim 25\text{m}^2/\text{g}$)，容量因子小。在分析中，溶质的量很小时能令人满意。这类填料易超负荷，不能用于制备色谱柱，目前除用于作保护柱外，其它方面已很少采用。

也可像 GC 涂渍固定液一样，在多孔微粒上或在多孔层球上机械涂渍聚合物。这种填料性能不稳定，易发生质量转移，极易污染色谱系统。多孔层球和机械涂渍填料已为键合相填料所代替。只因出现了键合相填料，液相色谱法才能迅猛发展，所以说键合相填料是液相色谱发展的里程碑。

图 10-1 表示的三种不同类型的固定相,都是以 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 C_{18} 烷基物, (d) 为聚合物基质键合上 C_{18} 。

基质的粒度、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。

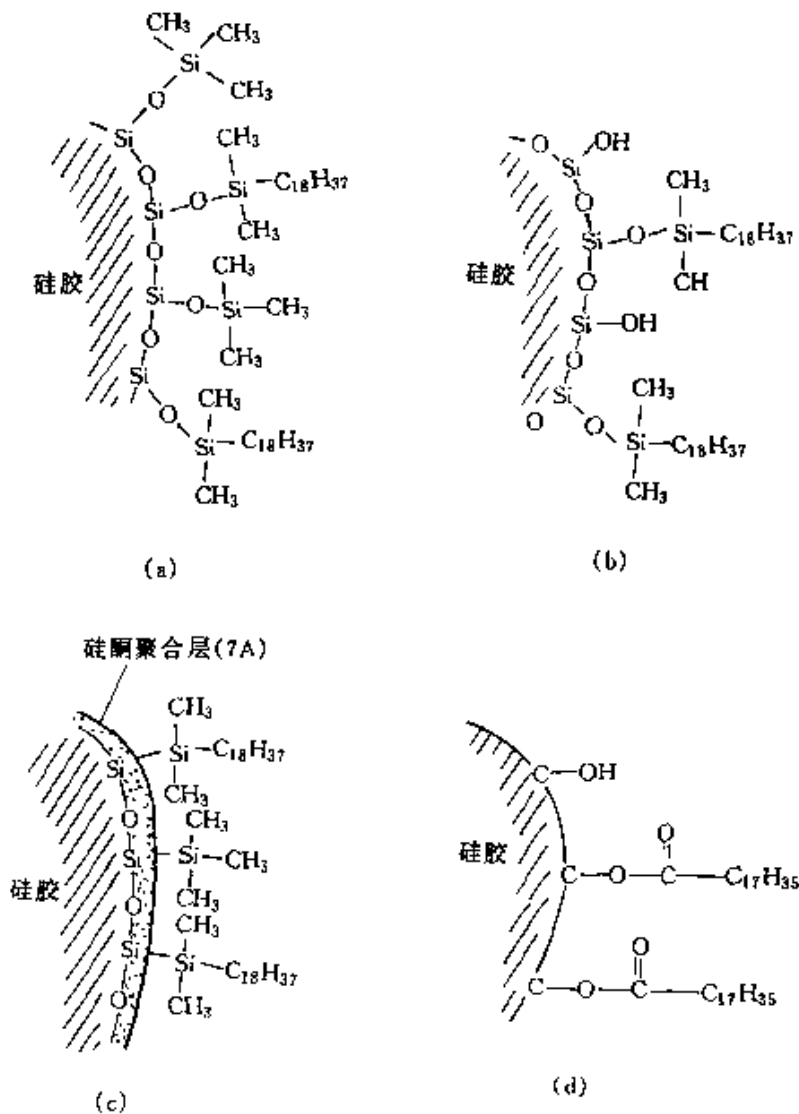


图 10-1 固定相的几种类型

(a) 封尾; (b) 未封尾; (c) 聚合物涂渍; (d) 聚乙烯硅醇胶

二、柱填料与基质

不同的填料分析的效果可能不同,这是因为生产过程不同所致。

同一厂商生产的同种填料因批号不同也会有差异，这种差异可能从基质就开始（表面积、杂质、特殊处理），还有键合的化学物质（一氯或三氯硅烷反应剂），不同厂家生产的填料则还会因专利技术（预处理、键合过程、填装技术）等不同而呈现较大差异。由于种种差异、仅能假设同一批号的柱有基本相同的性质。

多数柱填料基质采用多孔硅胶微粒，通常有球形和无定形两种，具有不同的粒度、孔径和表面积。多孔聚合物微粒也适用于反相色谱。聚合物柱的流动相范围广，流动相 pH 值可在 1 和 13 之间。而硅胶基质 pH 仅能在 2.5 和 7 之间。显然，聚合物柱要好一些，但目前仍是以硅胶基质的柱为主。原则上，聚合物柱可以克服硅胶基质柱的某些不足，但需要大量的实验来证实，要进一步考查聚合物基质填料的全面优越性。

不同厂商的柱之所以大相径庭，是由于生产的过程不同，这里归纳为三点：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填装柱专利技术的差异。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长短的差异。

只有相当的柱填料，而没有相同的柱填料。有关国内外具有代表性的键合相柱填料，读者可以参阅丛书的相关分册或其他参考资料。

填料表现出不同的分离性能，取决于基质的物理性质。如小颗粒硅胶（ $3.5\sim 10\mu\text{m}$ ）趋向于较快的分离，但其具有阻力大，有柱外效应等缺点。较为流行的填料粒重在 $(1.65\times 10^{-22})\sim(3.30\times 10^{-21})$ g，孔径 $6\sim 10\text{nm}$ ，比表面积 $200\sim 400\text{m}^2/\text{g}$ 。而用得最多是 $5\mu\text{m}$ 粒度、孔径 $8\sim 10\text{nm}$ 的填料。

三、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 10-2 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。

现在可采用廉价的径向加压柱，其效果与柱径相同的标准柱一样。填料被压缩在柱管内，外加固定夹套。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。

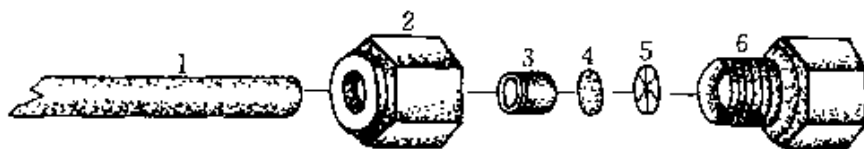


图 10-2 一般柱结构

1—柱管；2—螺母；3—卡套；4—烧结过滤板；5—分配器；6—尾部接头

四、柱的评价

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、填料种类和填料粒度，从图 10-3 中可以看出色谱柱的重要性，图上用的两根柱由同一厂商提供，塔板数都在 20000 片/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_{18} 填料，12min 内分析完毕，图 (b) 用无定形 C_{18} 填料，近 40min 才分析完毕。

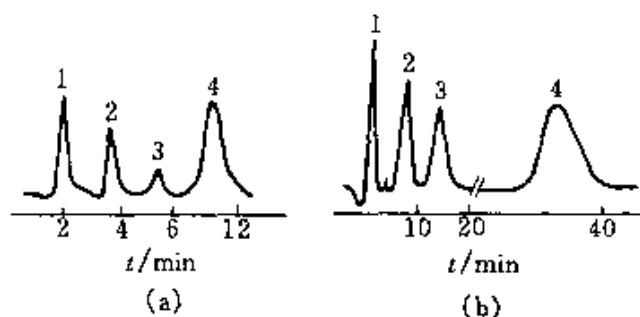


图 10-3 柱填料对峰形的影响

(a) 填料 YQG- $C_{18}H_{15}$ ($5\mu m$)；(b) YWG- $C_{18}H_{15}$ ($7\mu m$)

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。

1. 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

$$N = 5.54(t_R/W_{1.5})^2$$

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、粒度、流速和其它分离条件不同发生明显变化。没有一根柱永远保持同一 N 值。但如果试验条件设计最佳, N 值可达最大。此时

$$N_{\max} = 4000L/d_p$$

式中 L ——柱长, cm;

d_p ——粒度, μm 。

一根 25cm 长、 $5\mu\text{m}$ 填料的柱最大塔板数可达 20000 片/m。表 10-2 列出不同柱长和不同粒度时的 N_{\max} 。

在实际的样品分析中, N 值比 N_{\max} 要小得多, N 由分离条件所决定。 N_{\max} 的理想条件常常不是实际分析的最佳条件。在使用过程中, 柱的 N 值也会减少。进 500~1000 次样品后柱效会下降 50% 或更多。

表 10-2 理想条件下的 N_{\max}

粒径: μm	不同柱长 (cm) 的 N_{\max}					
	3	5	8	15	25	30
3	4000	6700	10700	20000	33300	40000
5	2400	4000	6400	12000	20000	24000
10	1200	2000	3200	6000	10000	12000

表 10-3 峰不对称因子 A_s 与峰斜度的关系

斜度	A_s	斜度	A_s	斜度	A_s
0.10	1.00	0.75	1.25	1.25	1.65
0.50	1.10	1.00	1.45	1.50	2.20

2. 峰不对称性

峰拖尾程度可用不对称因子 A_s 测量。有些厂商标出峰斜度与 A_s 的关系(表 10-3)图 10-4 表示 A_s 的计算方法。新柱的 A_s 值 0.9~1.2 之间。趋向于 1 是最好的。 A_s 大反映柱性能差,小颗粒和短柱因柱外效应, A_s 比较大。

峰拖尾常由下列因素造成: 填充技术差, 使用中柱头塌陷(图 10-5), 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、萘等组分作检验, 如不拖尾, 说明是柱本身的问题。

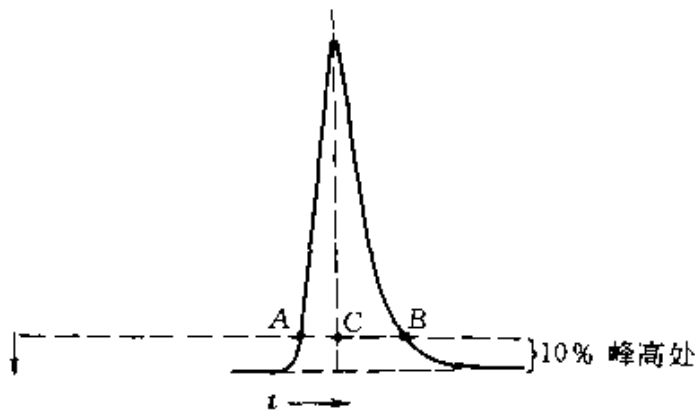


图 10-4 A_s 的计算法

$$\text{峰不对称因子 } A_s = \frac{CB}{AC}$$

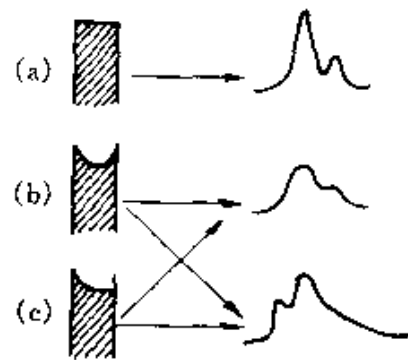


图 10-5 柱头对峰形的影响

(a) 正常; (b)、(c) 柱头塌陷

明显的拖尾峰的 N 值用 Dorsey-Foley 方程计算, 手工测量峰高。

$$N = 41.7(t_R/W_{0.1})^2 / (A_s + 1.25)$$

$W_{0.1}$ 是峰高 10% 处宽度, 峰不对称与 N 值的关系可由上式计算。表 10-4 给出了色谱峰不同分离情况下的 A_s 与 N 值的关系。例如 $A_s = 1.0$ 的塔片数 N 为 20000; 若是 $A_s = 1.1$, N 为 17400; $A_s = 1.7$, N 仅有 8400。

3. 柱压降

柱压降已在第四章讨论过。球形填料有较好的通透性。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，与填料粒度成反比。表 10-5 给出一些流动相配比比例下流动相的黏度值。

表 10-4 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	17100	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

表 10-5 用于反相色谱的有机物/水流动相 25℃ 时的黏度

有机溶剂 (φ :%)	η :cp			有机溶剂 (φ :%)	η :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	1.51	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

4. 键合相浓度

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 $2.8 \sim 3.3 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ 的键合物。浓度低表示未能完全键合，保留不重复，但多数厂商仅报告含有 C%，而不报告键合相的具体浓度。

第二节 色谱柱预防性保护与柱寿命的延长

通常，一根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上故障，达到延长柱寿命的目的。

图 10-6 给出了进样达近 13000 次的色谱柱分离图。

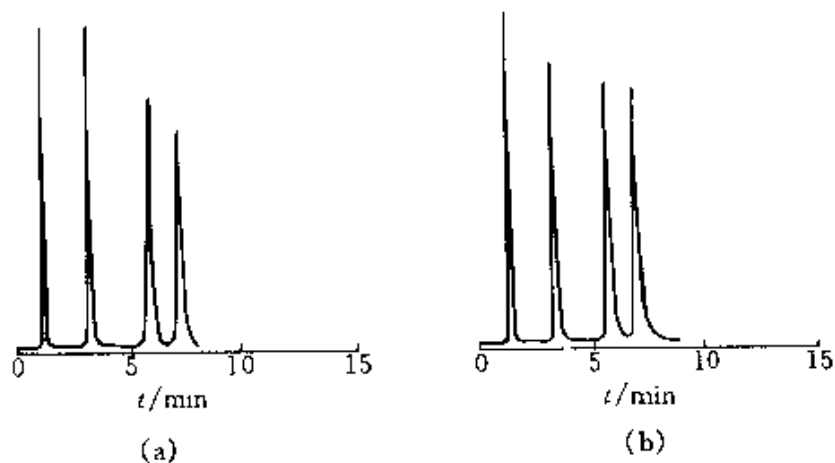


图 10-6 进样达近 12749 次的色谱柱分离图
(a) 第 78 次进样谱图；(b) 第 12749 次进样谱图

1. 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。0.5 μm 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能。保护柱是消耗品，分析 50~100 个比较脏的样品之后就要调换新的。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，好像未装保护柱一样。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 2~3mm，用较大粒度的填料（15~20 μm ）干法填装，会使分析柱的效能有所降低。

2. 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，主要是因样品阀的缓慢转动、泵起动快、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，可用氮气代替空气驱动进样阀。因氮压缩系数小。另外泵起动不应过快，可分步操作。如用 3mL/min 流速，先从 1mL/min 到 2mL/min，然后再 3mL/min，每个间隔应大于 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很大数字之间变化，会很快使柱报废。

3. 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。

硅胶为基质的键合相要求 pH 在 2.5~7 之间，极端 pH 的流动相能“溶解”硅胶，使键合相流失。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 的流动相，可加预柱（饱和柱）。预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。预柱不要求柱效高，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。用预柱也有不利的影响，即新流动相难以平衡，保留时间不稳定或稳定慢。使用了预柱一定要加流路过滤器，以防止硅胶微粒引起的麻烦。

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 μ m 柱，70℃ 以上使用 5 μ 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造成阻塞柱。色谱柱应存放在纯有机溶剂或加了 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 0.01% 叠氮钠以防止微生物的生长。

4. 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，等等，这些都会造成柱效能下降或对柱寿命的影响，有必要采取措施防止柱变坏。

如在光线照射下观察样品是浑浊的或带有乳白色，进样前必须要过滤。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 50~100 μ L 到硅胶基质柱中，硅胶就很快溶解而使柱报废。在这种情况下，应立即中和样品，或除去原溶剂中的有害成分。

5. 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。冲洗的程序在以下章节中介绍。

柱头的烧结不锈钢滤片，要求平整，死体积小，孔径适当（2~5 μ m）。过滤片选择不好会改变色谱峰形，增加阻力或起不到阻挡污染物的作用（填料很快变色）。

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，用同一厂商的组接件；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接头等组接件不要拧得过紧，适当上紧后接上泵试验，分步拧紧，直到不漏为止。还有非常重要的一点是柱硬件的损坏往往会造成不可挽回的损失。

第三节 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。当然谁也不能保证色谱柱“永远”不出故障，任何一根色谱柱最终都会因为柱效下降直至报废。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伴随着同时发生。

1. 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 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格的样品。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。

2. 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的。峰形变坏而保留时间不变，多半是柱受到阻塞（不锈钢烧结片），或者柱头有了空穴。

3. 压力增加

和柱塔板数不断减少一样，在使用过程中柱压慢慢增加，可视

为正常。如果压力一下子增加过高，应考虑两种可能，一是样品沉积在柱内，二是柱内硬件阻塞（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。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 30~50mL 溶剂，不要让冲洗液通过检测器流动池，以防污染。在冲洗过程中不断检查，直到压力恢复正常为止。如冲洗无效，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，压平，柱性能可恢复如前（图 10-7）。如果柱头填料已脏，可挖去 2~3mm，用新填料补平。

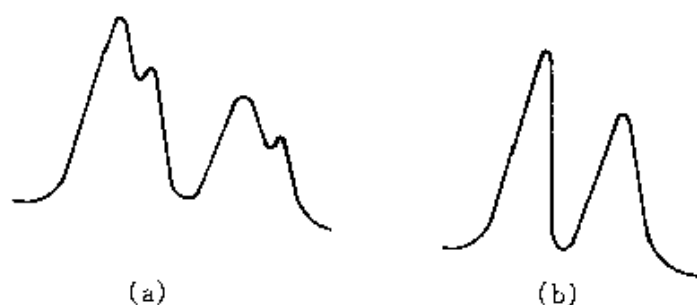


图 10-7 柱头修补前后的峰形对比

(a) 修补前；(b) 修补后

4. 保留时间的改变

保留时间的变化指两种类型的情况，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在小范围内移动，但峰的顺序和分辨率不变，可改变流速或溶剂强度（反相色谱加水调节）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。保留时间发生大的变化，主要由柱填料硅胶相互作用所致，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 10-1(a)〕，不封尾填料的硅胶表面硅醇基更多〔图 10-1(b)〕。酸性或碱性分子可与硅醇发生不同程度的相互作用。硅醇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。实际上不具可操作性，但最起码作某一专门分析方法时要用同一厂商的柱。

(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，前面提到的作某一专门分析尽量用同一批号的柱。也可与厂商接洽，提出特殊的要求。

第二，选择硅醇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的作用。在图 10-8 中，用两种不同的 C_{18} 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。

图 10-8 中，(a)、(c) 用 Supelcosil-LC-18 柱（酸性）；(b)、(d) 用 Supelcosil-LC-18 DB 柱（碱性）。(a)、(b) 流动相为 7% 乙腈/水，10mmol/L 三乙胺，1% 醋酸盐，pH3.5；(c)、(d) 不加三乙胺和醋酸盐。

第三，许多色谱工作者认为，在流动相中加入离子对试剂更能抗硅醇的干扰，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，

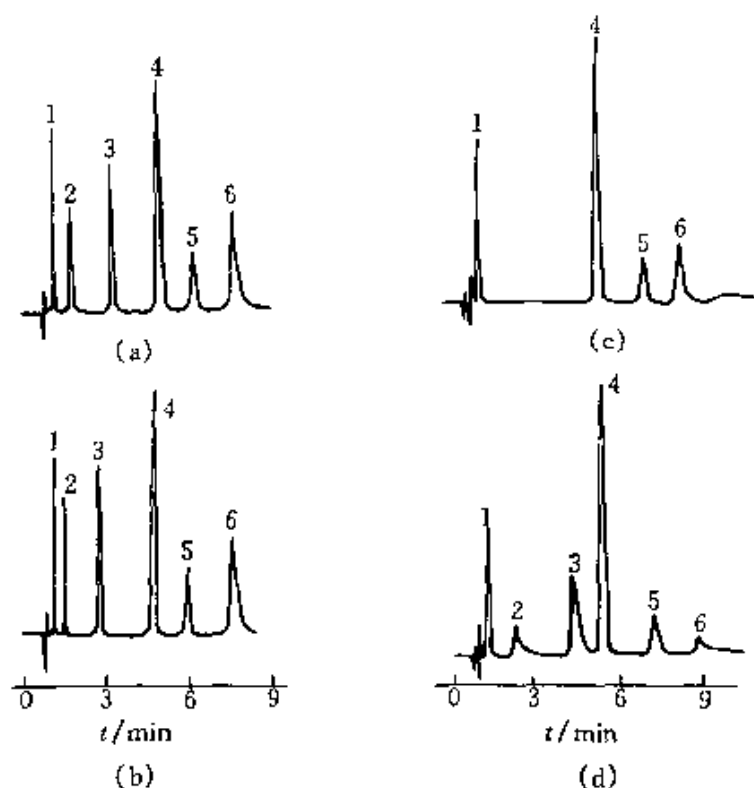


图 10-8 分离条件对组分保留的影响

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

流动相：(a), (b) 均为醋酸/三乙胺；(c), (d) 均为磷酸/磷酸盐

1—香草扁桃酸 (VMA, 酸性)；2—普鲁卡因酰胺 (PA, 碱性)；

3—N-乙氧普鲁卡因酰胺 (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)

改善特别差的峰的分辨率，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灾难性的结果。一些极端组分，如偏向酸性或碱性的组分很易发生保留值的改变，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。色谱峰分辨率变差，可能会系统地改变保留值。

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 10-6 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中详细讨论。

表 10-6 由柱引起的故障

故 障	现 象	解 决 办 法
过滤片阻塞	压力增高, N 下降, 峰形差	倒柱冲洗或换过滤片
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

第四节 延长柱寿命的方法

一根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。另外也可以从分析高要求的样品改作分析低要求的样品, 从分离多组分的样品改作分离单组分的样品, 从分离介质复杂的样品改为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、换不锈钢烧结片、冲洗、倒冲柱。

修补柱头和换不锈钢烧结片常联系在一起, 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杯或聚四氟乙烯棒压紧, 再填平, 再压紧, 反复 3~5 次, 最后用无水乙醇将柱头四周润湿几次, 擦干净柱外壁的填料、加上新过滤片, 拧紧接头, 接上泵冲洗, 而后再接检测器。如果塌陷很深, 或者挖去的脏填料很多, 填平柱头后接上泵冲洗 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, 此时再也无法修补了。

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。

有少数实验室自己装柱，或请厂商装柱。柱硬件都是用过的旧柱，这可节约50%的经费，但有时也碰到一些麻烦。柱内壁未经再抛光处理，柱壁效应比较大，分辨率降低，或也拖尾峰。重装柱后卡套易松动，整个柱头渗漏。可借助于聚四氟乙烯软膜密封，但已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（C₁₈、硅胶），用同类型、同粒度的填料修补柱头效果好。如果手头没有所要求的填料，可以用其它填料代替，这比用柱头塌陷的柱要好得多。

第十一章 检测器

第一节 检测器的简介与特性

检测器是将样品的浓度（从色谱柱中流出）转换成电信号的传感器，并由数据处理系统记录、根据样品在该检测器上的响应值来计算组分的浓度。最普通的检测器是紫外-可见光分光光度检测器，测量柱流出物紫外吸收的变化。

检测器的主要参数有灵敏度、选择性、精确性和准确性。

灵敏度 表示每单位组分浓度的检测器输出信号。灵敏的检测器产生较大的信号。光电检测器用长光路流动池增加灵敏度（产生较大的色谱峰），但同时也增加了噪音，未必有最好的信号/噪声比。在评价检测器灵敏度时，比较信/噪比十分重要。信/噪比大，灵敏度高。测量特殊组分的检测器（如电化学、荧光）比质量检测器（如折光率）更灵敏。

选择性 与检测器性能相关。选择性检测器一般只能检测某一类化合物，而对其它类化合物无响应或响应很低。选择性检测器对相关的化合物有特别高的灵敏度，如荧光检测器对有荧光组分的响应比紫外检测器更灵敏（可高出2个数量级以上）。

精确性 是测量的再现性。精确性好的检测器对一定的样品浓度能得出相同（或非常接近）的应答。反之，则得不到相同的结果。例如氙灯接近报废时，经常有灯丝闪烁不定的现象，这样就增加了基线噪音，如果使用这样的氙灯，检测的色谱峰高（面积）不稳定，不能得到很好的精确度。

准确性 是检测器测定值接近真值的程度，多数检测器结果依赖标准品来定量。检测器通常不给出绝对定量结果，仅测得与已知标准品相关的色谱峰。有些检测器，如二极管阵列检测器或可扫描

型紫外-可见光检测器依靠内部校准，可对波长的准确性进行自动校正。

正确地使用检测器可获得高准确性和高精确性的测量结果。而液相色谱系统的多种变化可引起检测器的故障，影响到这些测量结果。这里仅讨论紫外（UV）吸收、荧光（FL）、示差折光（RI）和电化学（EC）检测器。特殊的检测器，如红外、质谱和质量检测器不在此讨论。

一、UV 吸收检测器

UV 吸收检测器是应用最广泛的检测器，可测量 190~350nm 范围的光吸收的变化。在此范围内，柱流出物通过检测器流动池被测量。其检测范围也可以向可见光范围伸延（350~900nm），但灵敏度不及紫外范围吸收高，而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。这里主要讨论紫外范围检测器，所有的操作和故障的排除同样适用于可见光范围检测器。

UV 检测器的结构如图 11-1 所示，基本部件是灯、流动池和传感器。还有滤光片或光栅单色器用于选择波长。固定波长检测器中是滤光片，滤光片仅能选择单波长（或狭谱带）。使用光栅单色器的波长是可变的，称可变波长或分光光度检测器。灯是检测器的光源，线光谱光源用于固定波长检测器，低压汞灯常被选作 254nm 和

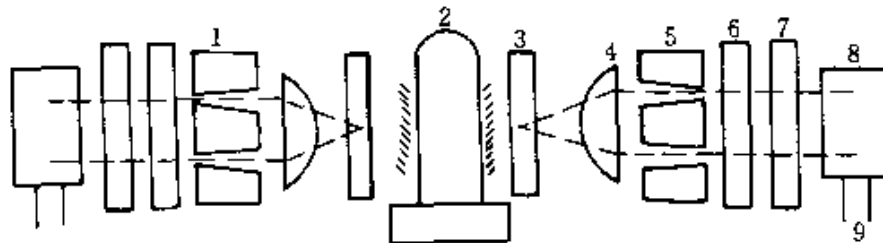


图 11-1 UV 检测器光路

- 1—参比池；2—灯；3—光栅；4—棱镜；5—测量池；
6—窗；7—过滤器；8—检测器；9—放大器

280nm 光源，此外，还有氙灯、锌灯和铜灯等。连续光谱光源用于可变波长检测器，氙灯是最常见的光源，它的使用范围为 190~360nm，有的可达至 600nm。

用于 UV 检测器的滤光片有两种，剪切式滤光片 (Cutoff filter) 和光通带滤光片 (Bandpass filter)。剪切式滤光片是从特定的波长切去长于它的波长让短波长通过 (短通式滤光片 Short-pass)，或切去短于它的波长让长波长通过 (长通式滤光片 Long-pass)。(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。)光通带滤光片是由滤光片所决定通过的一狭窄范围的光，如 546nm 光通带滤光片仅透过 540~555nm 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，放在池前或池后都可以。放在池前光栅发出单一波长 (或狭波长) 通过池，转动刻度盘或用微机控制波长的选择，扫描速度的快慢决定于检测器的设计性能 (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。

光栅放在池后可演变成光电二极管阵列检测器。每个二极管就是一个检测器小单元，排成一组阵列 (如安捷伦公司的 HP1100 型可以达到 1024 个小单元)，可同时检测许多波长。

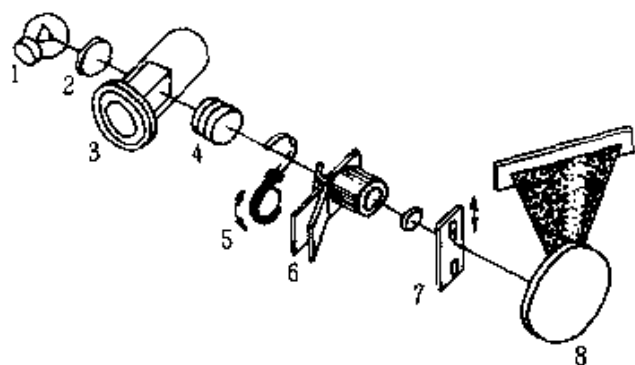


图 11-2 HP1100 型二极管阵列检测器光路
1—钨灯；2—扩展波长范围；3—氙灯；4—透镜组；
5—氧化钛滤光片 (自动波长校准)；6—流动池；
7—可编程狭缝 (最快速达到灵敏度与分辨优化)；
8—光栅 (1024 单元二极管阵列)

图 11 2 是一种典型的二极管阵列检测器，全息光栅安装在流动池和一组光电二极管之间。因光电二极管元件尺寸的限制，灵敏度受到影响，但新型号的光电二极管阵列检测器已有了改善。

检测器流动池是样品通路，装在光路中。一种池是圆柱型的，池体用不锈钢或聚四氟乙烯块制成；钻两个孔，一个孔作测量池，一个孔作参比池。流动通路呈Z型（图 11-3）。在池的一侧安石英窗，用聚四氟乙烯圈密封。样品以Z型模式通过池，呈现了良好的液流特征。通常池的尺寸1mm内径，10mm长，大约8 μ 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 11-4 是锥形池的结构。

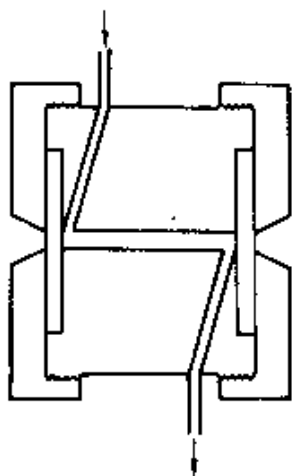


图 11-3 Z型池

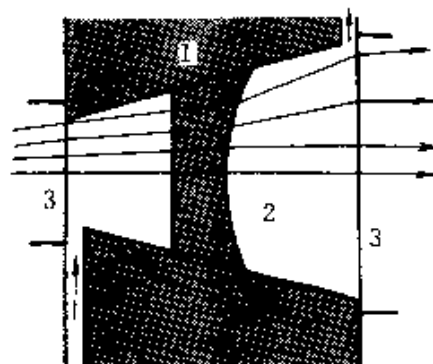


图 11-4 锥形池

1—池壁；2—棱镜；3—石英窗

从柱流出的样品直接通过流动池的一条通路（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。

在流动池前可装热交换器，保持进入检测器的柱流出物温度稳定，以减少噪音。用一根不锈钢毛细管（0.13mm（内径） \times 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，其温度与流动池的温度达到平衡，使池内温度稳定。虽然热交换器能减少温度的波动，但也增加了不需要的死体积，而使色谱峰形变宽。

在固定波长和可变波长 UV 检测器中，测量池和参比池各用一

个光电二极管传感器。在二极管阵列检测器中用几十至上千个光电二极管排成阵列。

二、荧光检测器

荧光检测器可设计成直通光型，但多数是成 90° 的光路（图 11-

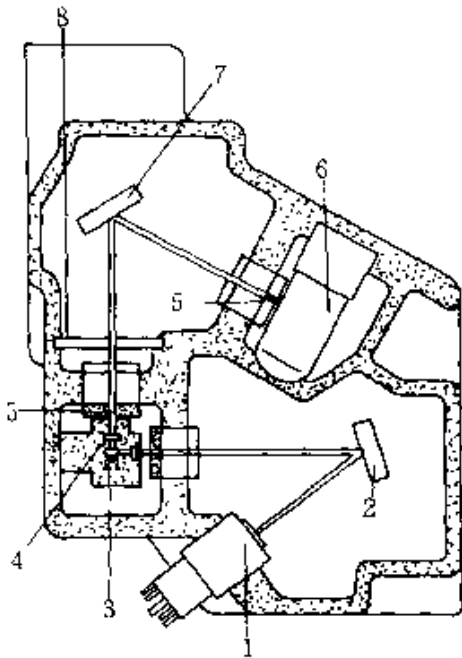


图 11 5 安捷伦公司荧光检测器结构图

- 1—氙灯；2—激发光栅；3—流动池；
4—透镜；5—狭缝；6—光电倍增管；
7—发射光栅；8—阻断过滤器

5)。所用灯与 UV 检测器相同，一般多用氙灯。用光电倍增管作光敏传感器，与 UV 中的光电二极管相对应。用短通路剪切式滤光片（或宽带的光通带滤光片）插在灯和池之间限制最大的激发波长。长通路剪切式滤光片或通带滤光片作为发射光（荧光）滤光片，是在池和光电倍增管之间，通过发射光滤光片的波长下限应大于通过激发光滤光片的波长上限，或从灯射来的散射光直接到达光敏传感器。

用滤光片选择激发波长和发射波长的荧光检测器叫滤光荧光计。分光荧光计是用衍射光栅选择激发波长（ex）和发射波长（em）的荧光检测器，如光栅是扫

描式的称扫描分光荧光计。

用直通光路形式可用标准的 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。

图 11-6 表示的是第三种类型的荧光检测器，反射池与凹面透镜组合在一起。池背面反射光防止激发光通过池到达光电倍增管。凹面镜集聚散射光（荧光）从样品池射出并聚焦在光电倍增管上，增强了效果。

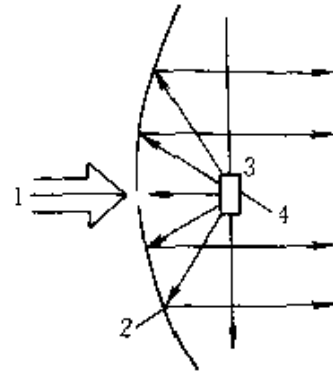


图 11-6 凹镜式荧光检测器

1—灯；2—凹镜；

3—池；4—反射背面

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 检测器是能够对所有组分响应的总体性能检测器，是通用型的检测器。RI 可检测未知的，不能用其它方法检测的组分，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 通常有三种形式：①反射型；②偏转型；③干涉仪型。

Fresnel 折光计是以 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 11-7 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 11-8）。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光率发生变化，引起光束偏转信号输出改变。偏转型 RI 可测全范围的折光率。池体积分约 $10\mu\text{L}$ ，峰宽效应比 Fresnel 型 RI 检测器大。

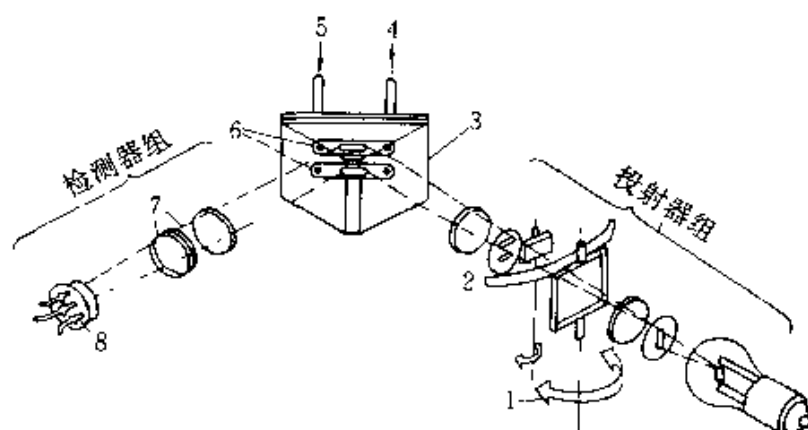


图 11-7 反射型折光仪光路图

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

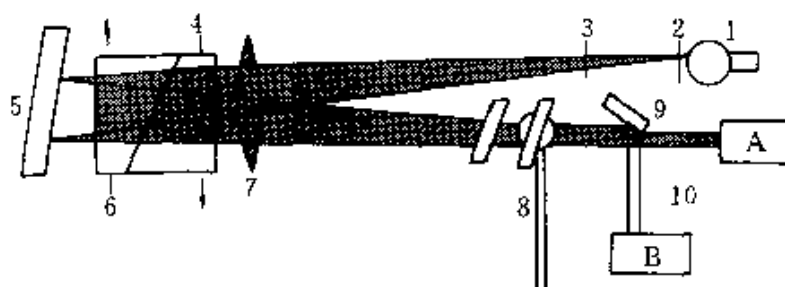


图 11-8 偏转型折光仪光路图

- 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 11-9）。如测量池和参比池的折光率不同，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（ $1\sim 12\mu\text{L}$ ），色谱峰形好，而且其灵敏度比其它 RI 高 $10\sim 100$ 倍。

RI 用充液的参比池，而不能用梯度洗脱方法，只要改变流动相，一定要用新流动相彻底地冲洗参比池。参比池装液阀使测量池和参

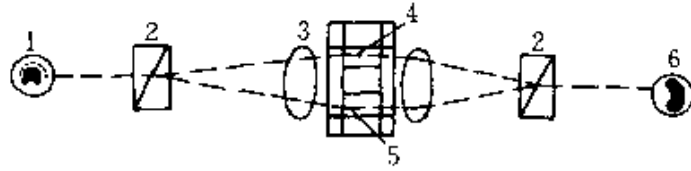


图 11-9 干涉仪示差折光计

1—光源；2—光分离器；3—棱镜；4—样品池；

5—参比池；6—光电倍增管

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。岛津公司设计的一种装置使用很方便（图 11-10）

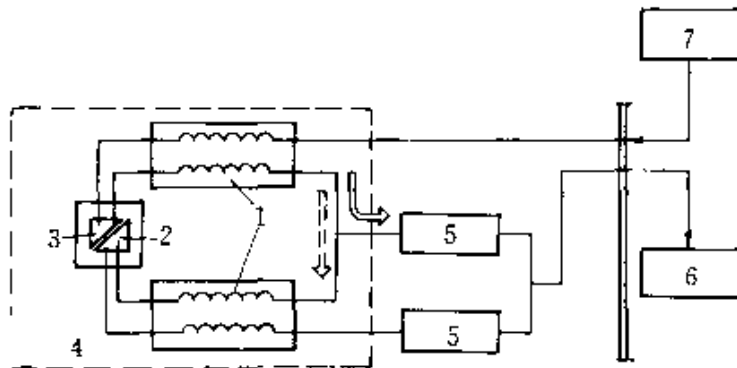


图 11-10 岛津 RID-6A 示差折光计的流路图

1—热交换器；2—参比池；3—测量池；4—温调模块；

5—电磁阀；6—排液；7—色谱柱

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 $\pm 0.01\text{C}$ 。

四、电化学检测器

电化学检测器 (EC) 是在一定电压下测量被分析物氧化或还原的能力。EC 的结构示意图如图 11-11 (这仅是—种典型的 EC)。电化学反应发生在工作电极上，在反应池上加恒电位。加在工作电极和辅助电极上的电压都是恒定的，故 EC 又叫安培计检测器。因参比

电极的电位恒定，工作电极上电位发生变化必引起输出电流发生变化。EC 有薄膜和流动池两种。

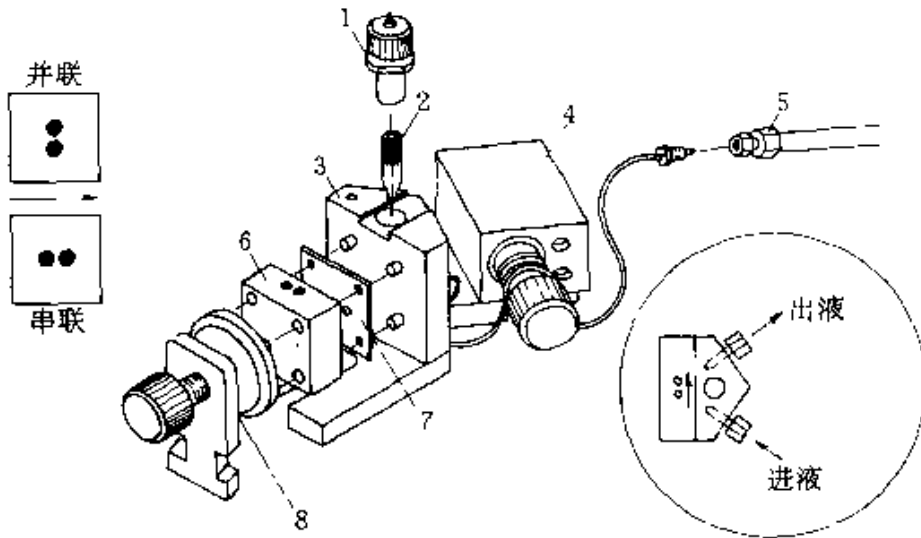


图 11-11 薄膜式电化学检测器

1—固定环；2—袖珍参比电极；3—辅助电极；4—流动相预

加热器；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。在两块聚三氟氯乙烯块之间（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

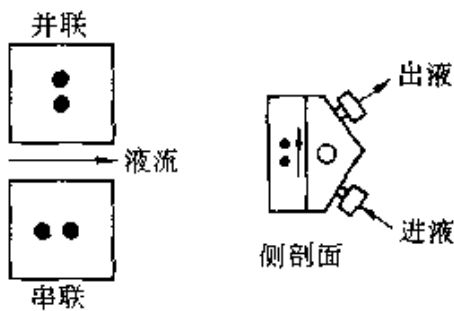


图 11-12 工作电极示意图

也可作工作电极。工作电极的排列有串联和并联两种形式（图 11-12）。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。工作电极要研磨，如果碳糊电极（石

蜡油加石墨粉)要经常挖去旧石墨粉, 填充新碳糊, 研磨平整。液体流动可能降低反应效率(一般减少5%), 但EC仍为一种很敏感的和高选择性的检测器。

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

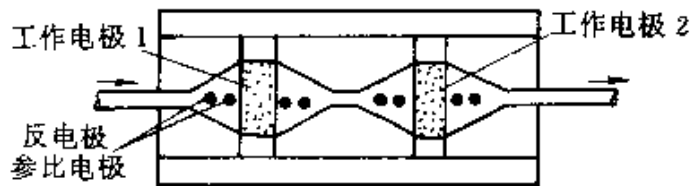


图 11-13 流动式电
化学检测器 (ESA Inc)

11-13)。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。

EC电极对气泡十分敏感。流动相需脱气继用氮气搅动。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。EC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。

第二节 检测器故障和解决方法

本节仅限于讨论UV检测器的有关故障, 但也可应用于其它类型的检测器, 因从故障维修的角度来看很多方面是相似的, 比如检测池的故障差不多都是气泡、污染等原因造成的。在清洗和调整不同类型的检测器之前应仔细查阅操作手册, 特别在光路部分, 切勿冒然动手。表11-1列出了UV检测器不同类型的故障, 其它类型的检测器也有这种现象。表中故障率是调查了相同数量的固定波长和可变波长UV检测器。实际上可变波长检测器的故障大于固定波长检测器的5倍。多数使用者也认为固定波长UV检测器故障少。常规分析用固定波长检测器较好, 而且也不需校正波长的精确度。

表 11-1 常出现的 UV 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	6
噪音	26	灯寿命	24	其它	8
飘移	12	气泡	7	无故障	11

一、灯故障

灯故障包括灯失灵（灯衰老）和由灯引起基线噪音。

灯失灵 本书所讨论的检测器（除 EC 外）中灯是重要部件。灯失灵，明显地引起检测器信号总下降，多数检测器有观察部件或指示器，由此可看见灯工作的情形。但不可以直接观察紫外灯（氙灯、汞灯等），因紫外线会损伤眼睛。

基线噪音 这是比灯失灵更普遍的故障。氙灯打开后有 30min 的最大噪音，所以每次使用前至少预热 30 min。使用时间长了灯也会增加噪音，氙灯最明显。氙灯正常寿命为 400~1000h，而汞灯和钨灯可以有 2000h 以上的寿命。在色谱图中，新出现短噪音信号并伴有偶尔的长噪音尖信号，表明是灯失灵了。可用下列办法确证噪音的来源：①在标准的参考条件下重新走一下色谱基线，限制试验的可变量；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）。如色谱图中老出长噪音尖信号，可停泵或设流速为 0mL/min 分辨出噪音来源，若是气泡引起的尖噪音，停泵后就不再出现；若是灯的问题，则停泵后仍然有噪音信号。值得注意的是，灯本身的噪音在开泵后会增加。

氙灯使用 6 个月以上可能已近寿命的期限，此时若出现反常噪音，换灯则是最为简单的步骤。氙灯有 6~12 个月的货架寿命，一般不贮备灯。当然实验室内有几台同类型的 UV 检测器，手中贮备一个灯也是可以的。

值得注意的是，每一次换灯，都应该有记录。有些厂商在灯上安装了一个计数器，以记录灯使用的总时间；也有的厂商给灯装一

专门的电子回路，以延长氙灯寿命，使其可达 5000h 以上。

换灯 换灯时注意不能在灯上留下指痕。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、流动池故障

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音尖峰。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，并不是清晰的绿色图像（此时应戴上防护目镜）。

流动相脱气不足会产生气泡，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 $1\text{m} \times 0.25\text{mm}$ 内径的聚四氟乙烯管），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破裂。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产生气泡相同的故障现象。如果系统先使用反相系统，不经很好的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溶剂残留,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,即进口管路或热交换器、池本身和出口管路。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的阻力,说明阻塞相当严重。若是厂商标明池能耐高压,可用泵打溶剂反冲,这样常可去掉阻塞。压力不要超过6~7MPa。正常的池不可用此法。

用以上方法试验仍不能成功疏通检测器通道的阻塞时,则要进一步确定阻塞发生在何处。可以拆下来检查,进出口管路阻塞与池无关,若进出口管路是通的,则可能是池本身阻塞了。

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修复柱时逆向反冲的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,可从管路进口处锯掉大约1cm长的管子。当然这不是一种可接受的方法,每次操作后会使得管子变短,还涉及到换卡套,如果管子表面不光滑、密封不严等会造成渗漏。若用以上方法都不能疏通进口管道,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. 池阻塞和清洗

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，而池的污染经常发生，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，造成色谱图的噪音增大，也提高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管径的聚乙烯管，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10mL6 mol/L硝酸(50%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上系统打入流动相；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，或者使石英窗破裂。除了接头松动外，池渗漏也可能是管道阻塞、流速太高、池后的阻力大，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、严格的操作。

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。在电路设计上也无须扣除流动相本底。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，对不良的实验结果有很大的贡献。

1. 次级发射效应 (Second-order radiation effects)

一些可变波长紫外检测器的设计上，在可见光范围内，用氙灯作光源可提高灵敏度，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，正好是设定值的一半。如设定值 405nm，次级发射光正好 202.5nm，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。违反比尔定律，结果是非线性的。如在 405nm 下测定尿卟啉类化合物，用含甲醇的梯度洗脱。次级发射光 (202.5nm) 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 [图 11-14 (a)]。用钨灯在紫外范围内无次级发射，[图 11-14 (b)]。用氙灯在高于 360nm 时测定，应考虑有次级发射的可能。

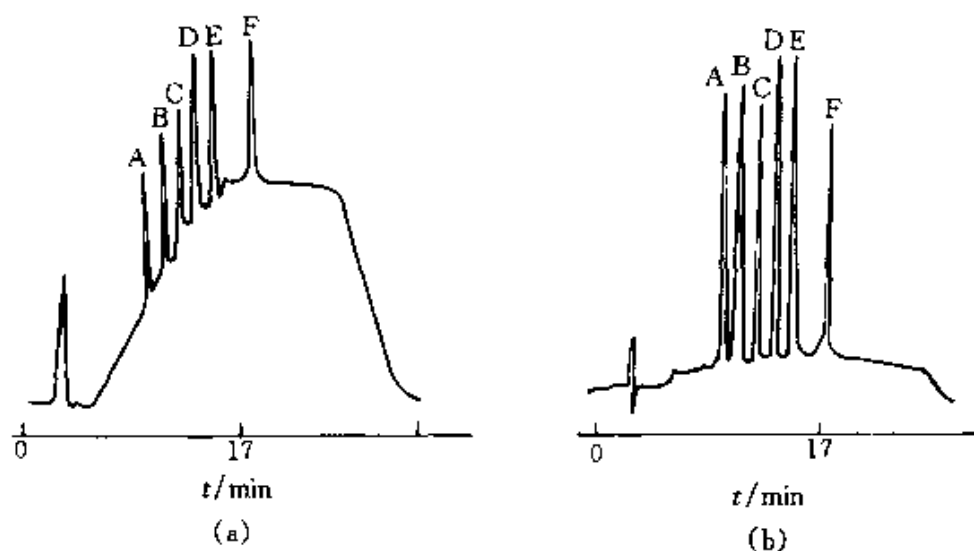


图 11-14 次级发射光的影响

(a) $A=0.02$; (b) $A=0.006$

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精确性，如有可能，应选在干扰组分的吸收光谱平稳的范围或者组分的最高吸收处。以图 11-15 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，即使波长有点变化也不会引起吸收的明显变化。

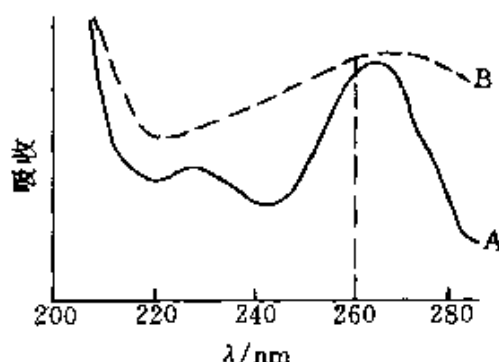


图 11-15 选择检测波长

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。

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飘移。遇到这种情况可用较高波长或更换流动相。

3. 选择波长不准装置落后

可变波长的 UV 检测器采用机械转动光栅选择波长。旋转和光栅间的传动装置由齿轮和杆组成，用久了会有机械磨损，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精确度的问题。

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) 对于氘灯的校正，可先将刻度盘调到 640 nm 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的话，在 656nm 处有一最小吸收，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 (安捷伦公司二极管阵列检测器)。

5. 低波长测量

采用低波长 (<210nm 时) 检测故障更多, 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。所以应选择低截止波长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, 基线飘移很大。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音, 需用 N₂ 或 He 不断清扫单色器。为增加灵敏度常在低波长下检测, 将得到比在高波长下检测更为复杂的色谱图。

6. 单色器的保养

单色器密封于一个小单元内。擅自打开单色器, 工厂的保单就失效了。单色器内无用户要维护的部件, 仅能由厂商专门修理。经多年的使用后, 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。应经常保持单色器进出口窗的清洁, 为此可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, 起着过滤噪音的作用。有些检测器有固定的时间常数, 有些检测器需设定时间常数。时间常数太小 (太快) 可能增加短噪音, 时间常数太大 (太慢) 可能出宽峰、拖尾峰和矮峰。可用自己的经验估算时间常数, 即选最窄的有关峰宽的 10% 作为时间常数。对多数分析而言 (15~25cm 长, 4.6mm 内径柱, 5 μ m), 0.5s 或 0.1s 的时间常数比较适宜。小颗粒短柱要用比较小的时间常数。

2. 泵噪音

UV 检测器折射率的变化与流动相的组成、压力以及温度有关。

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，可以很大程度地避免因泵脉冲引起的变化，使检测器处于良好的运行状态。有些检测器的周期性波动与泵的脉冲周期一样，要加一个阻尼器改善基线波动。例如 RI 检测器对波动十分敏感，必须加阻尼器。

3. 温度的影响

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。

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，如果线上混合（低压和高压）不理想，可改用手动混合。

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的相关性。

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。当然，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，进样体积超过样品环管体积的 50%，进的样品量有差异或稀释程度不同可能是非线性的。

用几乎澄清的溶剂作流动相可扩展线性范围，用强紫外吸收的流动相时检测器线性范围不到零，建议用无吸收的流动相，或在流动相无吸收的波长下操作。在检测器中用宽的光通带或在吸收变化不稳的波长下检测（如图 11-15 中 275nm 处），不遵守比尔定律，会得到非线性结果。波长要选择在最大吸光度附近，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，尽管有足够的样品而信号很弱，有时还会有不需要的噪音。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，接地不良时会出现基线噪音很大，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. 检测器内部自检

许多检测器有内检程序，用于检查检测器的电路和光路部分。

第十二章 记录器和数据系统

记录器和数据系统是将色谱系统的检测器信号变成为下一步使用的永久性记录的装置。几乎在所有的情况下，最原始的记录都是色谱图，数据以图表的形式打印出来，或贮存在磁盘中。由于数据系统是逐步发展的，现代微机工作站除了可以记录、处理数据图表外，还可控制色谱系统。本章主要讨论记录器和数据系统的操作、维修及故障的排除。由于不同产品的多样性和复杂性，实际工作需要时可以参阅各自系统的操作手册。

第一节 记录器和数据系统操作原理

一、分类

为便于讨论，以记录器和数据系统的功能和复杂性为基础，将其分为四类——记录器、积分仪、数据系统和系统控制器。对不同的产品进行严格的区分也是很困难的。典型的条式记录器是一种模拟设计，积分仪和数据系统是数字式设计。积分仪和数据系统之间有一种模糊的界限。本章简要讨论数据系统，也适当地介绍一下记录器和积分仪。如果想要进行更为详细的了解，可以参阅本丛书的有关分册或其它有关资料。

条式记录器 在历史上曾是色谱系统最为主要的数据采集装置，随着廉价而功能齐全的积分仪的被广泛应用，记录器的应用越来越少。记录器的模拟信号为 X-Y 曲线，并连续不断地记在记录纸上。信号衰减主要由检测器控制，所以记录器实际上就是传感器，它将电信号转换成机械图形。一般记录器的量程 $0\sim 10\text{mV}$ ，纸宽约 $250\sim 300\text{mm}$ （约 $10\sim 12$ 英寸），可卷在卷筒上或成折叠式。用圆珠笔或吸墨笔（更老式的用墨水笔）绘图。手工记录保留时间和量峰高。要测量峰面积需用手工积分仪积分或用带有积分功能的系统，旧

时也曾用剪纸称重法计算峰面积的结果，既繁琐也不准确。记录器的灵敏度用电位计调节，检测器的时间常数也受到记录器灵敏度的影响。条式记录器的主要故障在墨水的流畅和走纸两个方面。

积分仪 是目前在色谱系统上应用最广泛的装置。既可画图形，又可列出数据。安捷伦公司首先推出积分仪（如 HP3390），现在已与记录器处于同等价格，所以得到普遍的应用。

积分仪是将通过处理的模拟信号转换成数字式信号（A/D 转换），显现为色谱图，而不是记录器那种原始的模拟信号。因转换和处理需要花费时间，所以色谱图比检测器输出迟画出 15s 或更多一些。记录纸因型号不同从 75mm 到 300mm（3~12 英寸）不等。可用色带打印或使用热敏纸作图。色谱图上所有的峰都能标上进样时间和峰的依次保留时间。一份完整的色谱图应包括保留时间、峰面积（或峰高）、积分的类型等。许多积分仪还能作简单的计算，以浓度单位（如 mg/mL 等）或面积百分比报告出来。输给积分仪的检测信号未被衰减，典型的有 1V/AU（伏/吸光度单位），是由积分仪进行衰减的。现在有些改进型的积分仪也能贮存有限的数数据，可在一系列试验结束后再出报告。积分仪一般单独使用，采集一到两个检测器通道的数据，也可加一程序盘与微机联机使用。

数据系统 是液相色谱系统的高级数据记录装置。它具有积分仪的一切功能，还能贮存和处理数据，能在停机后调出使用计算。报告内容包括峰名称（含保留时间），解释超出正常限度之外的特别结果，统计分析，还有改变格式的功能，使数据能很好地适应所应用的特殊要求。除具有报告能力外，数据系统还能在磁盘上贮存原始的或处理过的数据以备查。数据系统也同时能收集并处理几台色谱系统的色谱数据。

系统控制器 是一种数据系统，可控制一台或多台色谱系统的操作。在液相色谱系统中的流速、流动相组成，在气相色谱系统中的温度设置与程升控制等参数、检测器参数以及色谱系统其它方面都能用控制器控制并指示出来。这些系统可以进行无人操作，并能做从一种类型的样品到另一种类型的样品的方法改变，自动调整系

统的参数，自动化方法建立等。系统控制器配上专用软件与计算机系统联用可实现人机对话、形成最为先进的色谱专家系统。

二、系统参数

任何色谱系统必须选择几种重要的参数才能正常操作。这些参数因系统不同稍有差异，但基本原理都相同，而且每种类型都有详细的操作说明书。本节重点讨论数据系统。因为积分仪和系统控制器与数据系统有类似之处，不作详细介绍。条式记录器与这三种装置无共同之处。

采集数据的速率 数据系统的操作与系统运转时采集数据的速率是紧密联系的。速率太慢，来不及描绘从色谱柱上流出的峰；速率太快，计算机会贮存过量的数据。可以估算一下采集数据的速率：将相关的窄峰的横截面分成10个数据单位，把一个相关的单位设定为数据速率。如在液相色谱系统中一根25cm长的柱，20000片/m塔板数，若 $k' = 1$ 的峰宽约10s，此时可设定数据速率大约为1Hz。

基线噪音 一个好的数据系统的基线噪音很低，信噪比(S/N)要高。在标准参考色谱条件下开机，大约30min后待基线稳定，采集本底信号（不进样），经数据处理后获得标准的基线噪音值。这个值可代表平时实验的噪音值。

峰阈 要在色谱峰检测标准的条件下，数据系统才能检测到色谱峰。这个标准可由操作者设定，也可任其自选。峰阈水平就是一种信号水平，要超出所要检测的最小峰的信号。阈的物理意义就是—定时间内信号改变的临界值，其单位可以毫伏/秒表示，也可看成是基线噪音的倍数，如3倍噪音信号。一旦信号超出阈，积分就开始，信号在阈以下就不能积分。

衰减 条式记录器的色谱图量程是由检测器控制衰减的。数据系统收集的是检测器的原始信号，在画出色谱图之前根据需要先在数据系统中衰减信号。也可以边画色谱峰边作衰减的变化；或使色谱峰不超格，或使小峰放大更明显。衰减仅能左右色谱峰的大小，而数据的积分和处理仍以未经衰减的信号为基础。

峰采集 最小峰面积确定后，低于最小峰面积值的峰、波动和

噪音均不能被记录下来,也不给予保留时间。还有一种常用的方法,取信号的一阶导数,若导数值为零,可记下峰的保留时间并同时积分。

确定基线 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[12-1(a)]。

若两峰部分重叠(如 $R_s=0.8$),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12-1(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12-1(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12-2 峰切线略取法)。

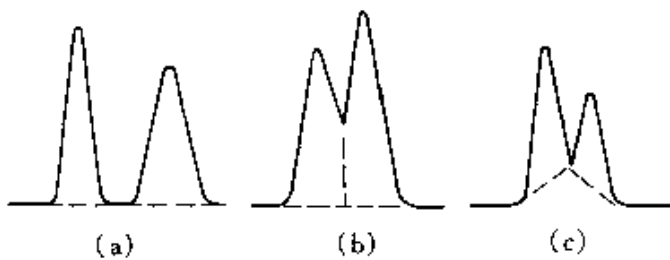


图 12-1 色谱峰的基线画法
(a)、(b) 正确; (c) 错误

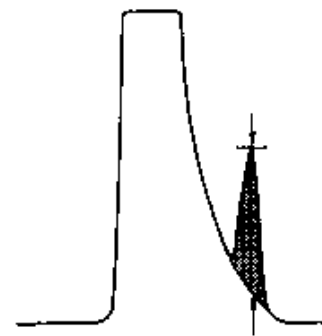


图 12-2 峰切线略取法

峰窗口 在第四章中已讨论过,所有的色谱因子都保持恒定时,峰的保留时间就是所给组分的特性(定性指标)。各种因素的小变化,

在样品与样品之间可能有 0.01~0.05min 保留时间的变化,有些试验可能更大些。数据系统用贮存在计算机内标准物的保留时间与未知物的保留时间相比较给峰定性。操作者要使用保留时间窗(也可自动检测)来鉴别峰,其范围用百分数(如±2%)或绝对值(如±0.1min)表示。这种值是相对于标准品或校正物而言。按数据系统的性质不同,落在窗外的峰值可能下降,也可能作未知峰报告出来。如果在窗内该出的峰没有出,这就提醒了操作者,系统可能有了功能性的故障。

有些数据系统选择标样做窗口。在药物的检测中正常的血药浓度都能进入窗阈,如果分析样品的药物浓度低于或超出所设定的窗阈(不同于前面提及的峰阈,峰阈的概念只要峰超出阈就能对整个峰积分;而窗阈的概念则是只能对窗内峰积分,不对超出峰窗的峰积分),就会发出信号提醒医生,出现了异常的结果。在临床检验中,可能生理活性相同的同系物合在一起出峰,可作为峰组形式报告出来。

其它参数 有些数据系统可能贮存本底(空白运转时的基线),在样品运转时减去本底可得到平滑的基线(如 HP 1100),可提高分辨率和检测限。

第二节 故障及排除方法

一、故障的预防

记录器和数据系统很少需要维修,主要是在电路方面出故障,这将超出多数使用者的修理能力范围。在数据系统方面仅有少数特例需要维修。

记录器的信号线应接在检测器的“记录器(Recorder)”的输出端;数据系统信号线应接在检测器无衰减的“数据系统(Data System)”或“计算机(Computer)”的输出端。最好用原装的专用信号电缆线。注意正负极相对应和接地。信号线两端不要都接地。否则会因“地循环”增加噪音。用长信号线(如长达 3m)会使信号减弱,应按规定使用标准长度的信号线。

每次开始分析前应检查一下有无足够的记录纸。宁可浪费掉几公尺记录纸，而不要中断正在测定的宝贵样品的记录。手头也应存有一定数量的记录纸以备用。

用磁盘贮存数据，对所计划分析的样品要有足够的贮存空间，防止溢出有用的资料和数据，操作手册会指明贮存的量，可以估算每个样品所占的量。

贮存在磁盘上的数据应被复制出来，这样即使原始数据丢失也无妨。用硬盘采集数据时，为使硬盘采集到更多的数据，一定要作定期后援复制。复制的拷贝应妥善存放，防止过热、磁场、化学和物理方面的污染。采集少量数据用软盘作后援。用磁带作后援可贮存更多的数据，比软盘速度快，但价格贵，调出的时间慢，因此，磁带系统仅用于复制而不作常规使用。现在可以通过刻光盘等方法进行数据的保存。

多数条式记录器用圆珠笔或吸墨笔画图，不使用时套上笔帽以防墨水干燥。记录墨水笔要定期用金属丝疏通笔头。如笔头阻塞很顽固（如生锈），可拆下笔头放入酒精中超声清洗。手头要备有几支记录笔头，以防短缺。

数据系统用机械式或热敏式打印头。机械打印用色带，发现字迹变淡表示色带快用完，应注意更换。

二、故障的排除

数据系统的许多故障来源于色谱系统故障。如前面讨论的色谱系统的噪音问题常与数据系统失灵相混淆。如果一时搞不清可先开动数据系统作自检，如问题继续存在，那么毛病就可能出在数据系统上：按操作手册对照检查。如试验通过了，仍怀疑数据系统有毛病，可用一台好的同型号的数据系统代替，如故障还未排除，无疑是色谱系统出了毛病。

下面以液相色谱系统为例作一简介：

泵噪音 表现为周期性的干扰。检测器在最大灵敏度下操作或是使用示差折光检测器时，基线噪音周期与活塞周期相关联。增加流速基线噪音的循环周期缩短，而且与流速的增加成比例。这些都

可以看成泵噪音。

系统中有气泡，单向阀脏了或一个泵头失灵都会引起基线的变化。

流动相 混合不均匀会搅乱检测器的输出，通常也是周期性噪音。这种周期性噪音与泵噪音不同，周期变化与流动相组成相关，与流速无关。设法增加混合效率，或用手工混合流动相。

气泡 通过检测器色谱图上会出现短期尖噪音信号，超刻度几秒钟后再回到基线，可能与泵周期相关，也可能不相关。气泡卡在池中，记录笔会超刻度直至气泡排出来。气泡的噪音与色谱峰的差异在于，前者是突然出现且垂直于基线，后者与基线有一定的斜度。

检测器灯 的故障现象前已叙述过，在此不再重复。

信号线 用错误的信号线或信号线连线不当，在色谱图上会出现信号低或增加基线噪音，建议尽量使用厂商提供的信号线。自己选用的信号线一定要有金属网屏蔽线并且一端接地，用过长的信号线会减少信号，增加干扰（3m以下无问题）。信号线的接法不对可看到毛刺样噪音或噪音尖峰。信号线放在噪音源附近，如水浴、炉子、日光灯和空调机等，极易发生故障。应避免开大功率的马达加热器。信号线如接地不好，会明显增加噪音。不可将屏蔽线两端都接地，那样产生：“地循环”，反而增加噪音。两端都不接地则屏蔽线无效，产生环境噪音。信号线两端未接牢会出现一些意外的信号。所以接线要牢靠，保证检测器信号输出正常，焊锡松动或屏蔽线与信号线短路会不出峰或增加噪音。

参数设定 在数据系统上见不到正常信号时，应首先想到参数设定上可能有问题。检查设定值与所列的方法清单上的值是否相符。阈设定不正确极易产生的问题是：阈太低，过多的峰列出来并打印在报告中；阈太高，许多峰又被漏掉。有些仪器自动设定阈值（如3倍噪音）。噪音在变化，阈值也应相应地变化，以保证前后数据较为一致。

记录纸 记录纸的故障明显且易校正。如不传送记录纸，应检查是否有记录纸，是否由阻力太大引起，或是传纸牵引器卷动不正

常。如走纸不直，是传纸机构用力不均。检查传纸通道，保持整洁，调整牵引器的传动齿轮，使纸的两边在同一直线上，或重新装记录纸。

书写故障 笔头画过记录纸不打印或水画线时，检查笔内有无墨水，有墨水画不出图可能笔头阻塞或机械磨损。如无墨水了加墨水，阻塞用金属丝疏通，否则要换笔头。如果是热敏笔画不出来，可按仪器操作手册调整笔的位置。热敏笔头磨损也会书写不出来。热敏笔头不能与热敏纸压得过紧，这样加速磨损，可调换热敏笔头磨短了的热敏丝(会引起字形的改变)。要注意用热敏笔必须用热敏纸，热敏笔在普通纸上画不出图来。打印头不能打印应换掉。用色带盒或打点式打印机，颜色变淡了要准备换色带，色带卷动机械传动要正常。

第十三章 分离问题

第一节 峰形分析

在前面的章节中讨论了仪器的装置和材料(包括仪器型号、柱、溶剂等),从本章起将讨论系统其它方面的问题。前面讨论的维护与故障排除主要指物理的机械方面的问题,实际上故障的起源往往是从化学方面引起的。化学是重要的实验性科学,产生的故障常常难以解决,但多数色谱工作者都有化学或生物化学方面的学习、工作经历,液相色谱和气相色谱工作者皆是如此。

本章讨论的焦点是色谱图。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,或者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,说不出是样品中哪种组分的峰;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。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。本章将对分离和化学方面的问题进行简要地介绍,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；二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 13-1 是几种非高斯形的峰。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，因为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一起到达柱的终点。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地测量，所得结果的准确度和精确度也都很差。拖尾峰的分离度差，好的分离度是建立在色谱方法的基础上，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。

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

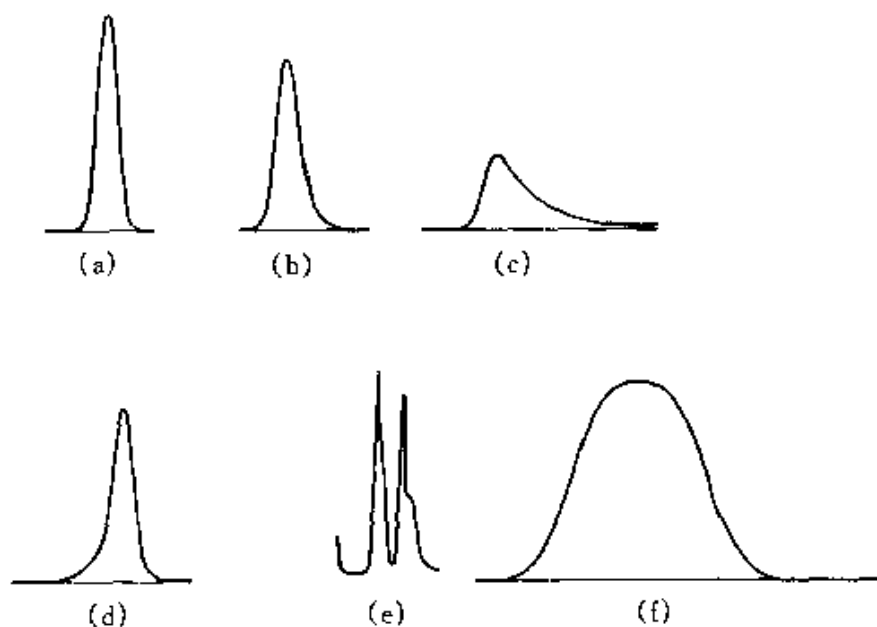


图 13-1 非高斯峰

(a)高斯峰；(b)轻微拖尾峰；(c)严重拖尾峰；(d)前延峰；(e)分叉峰；(f)“胖”峰

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 13-2）。

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 值当在 0.9 和 1.2 之间。在柱接到系统的时候，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，可能要作很艰苦的努力才能减少峰拖尾。

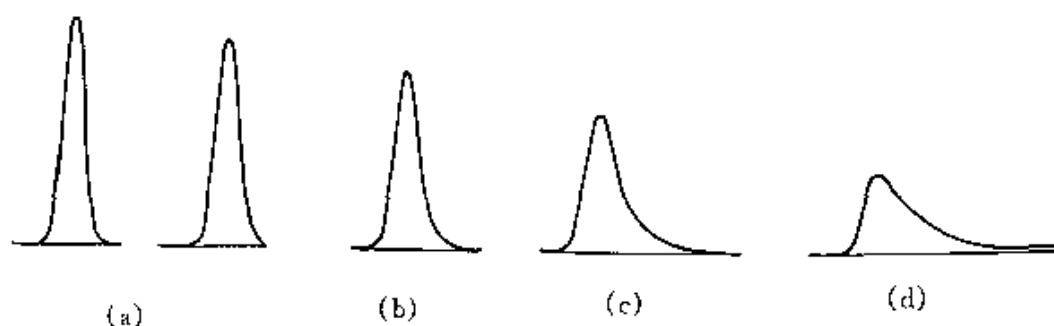


图 13-2 峰不对称因子

- (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), $A_s = 4$

下面以液相色谱系统为例专门的讨论如何解决峰拖尾或畸形峰？

(1) 引起峰拖尾可能的原因列于表 13-1 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 13-1 中考虑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 是多少等, 以及在分离的条件下样品是否呈离子型?

(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与解决的方法是否对头。最后才进行实际的分离。

表 13-1 不同作用造成的峰拖尾

1	坏柱(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	溶剂与样品不相配	8	缓冲液不合格
4	柱外效应	9	其它方面的影响
5	前沿峰	10	假拖尾

为了减少盲目性, 可从表 13-1 中的第 1 项(坏柱)依着次序向下查对。

第二节 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柱上有滞留住酸、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(小体积或微孔柱); 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征象, 易于鉴别, 也最易解决。

柱损坏的第一迹象是峰拖尾或畸形峰, 而且在色谱图中每个峰的形状都一样, 参阅图 13-3。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

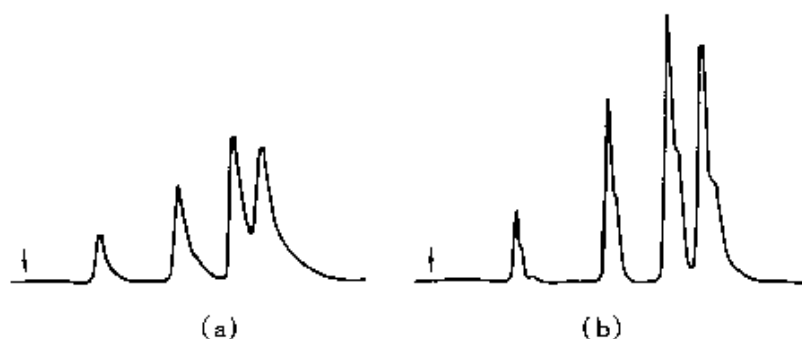


图 13-3 拖尾峰和分叉峰

(a) 拖尾峰; (b) 分叉峰

实与实际的样品峰（拖尾）一样，则建议用下列方法解决。

(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，避免流动池被污染。冲洗 30min 后（1~2mL/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了，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（1~2mL/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，可延长柱寿命并能恢复到差不多原来的柱效水平。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，再经进一步的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。

第三节 样品过载

色谱图中出现一个或多个峰拖尾，而且又大于正常峰，可能是

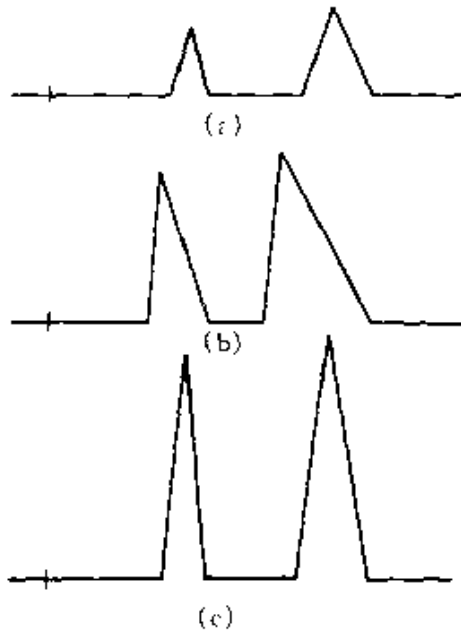


图 13-4 样品过载及验证图
(a) 正常色谱峰；(b) 样品拖尾峰；
(c) 样品稀释 4 倍，灵敏度增加 4 倍
的色谱峰

柱超载。溶质的总质量大，超出柱线性容量的范围，表现为保留时间变小，峰形也有了变化，见图 13-4。最简单的验证方法是将怀疑超载的样品稀释 4 倍后再进样，放大检测器的灵敏度 4 倍作比较。此时峰形比原来的拖尾峰更对称，而且保留时间增至正常值，说明样品超载（见图 13-4）。

样品过载在常规的液相色谱分析中不算什么问题。但在柱过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

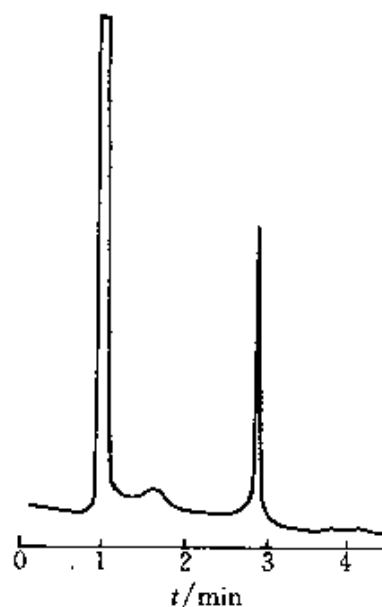
测器超载，应该用标准品测定线性范围。检测器超载会使浓度与峰高呈现明显的非线性关系。

第四节 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。多数情况用大体积的弱溶剂溶解样品，如用 100~500 μ L 水溶解样品作反相分析。用比流动相强度大的大体积样品进样，通常会损害色谱图的质量。在图 13-5 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 μ 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，

最后一个峰最狭。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胺，若用强溶剂（乙腈）溶解样品进 30 μ L，峰变宽且分叉，用流动相溶解就完全正常，见图 13-6 (a)，(b)。用硅胶柱正相分离十甲基季铵盐，流动相为 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 13-6 (c)，(d)。

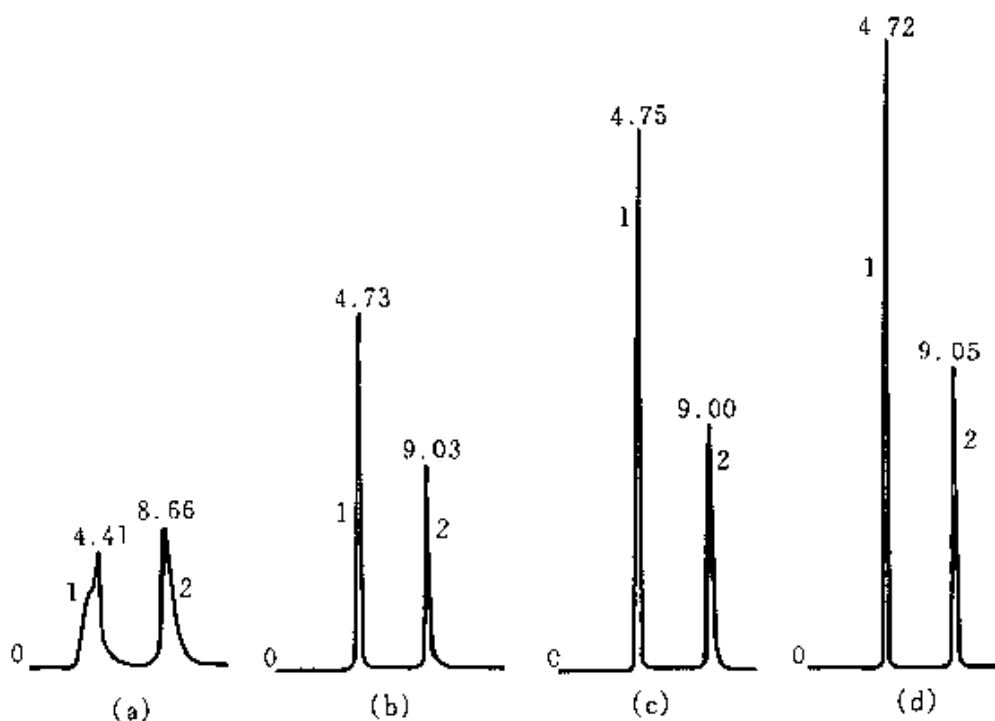


图 13-6 强溶剂溶解样品的影响 (二)

1 咖啡因；2 水杨酸

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，特别在样品溶剂强度明显大于流动相强度时更应如此。例如，准备进 100 μ 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(15~25) \times 0.46cm 进 25 μ 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。但不管如何都应做试验。如认为 25 μ 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 5~10 μ L 样品看色谱图的变化(相应调整检测器衰减以求得到相似于 25 μ L 样品的峰高)，如两张色谱图相同(指 5 μ L 和 25 μ 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 μ L 并进样，代替原来用 25 μ 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 10~15 μ 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 100~500 μ 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 10~25 μ L 强溶剂溶解进样。

第五节 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 13.7。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动池。有一些检测器采用小的流动池 ($< 2\mu\text{L}$)、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。

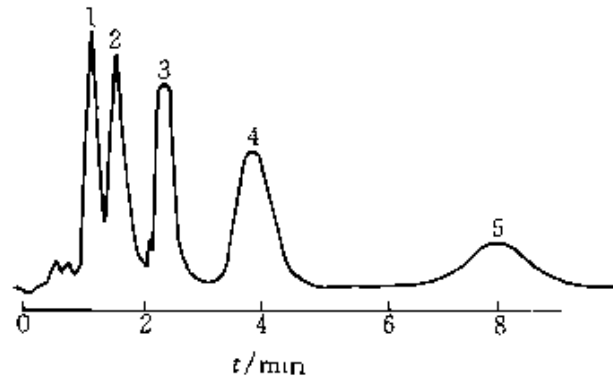
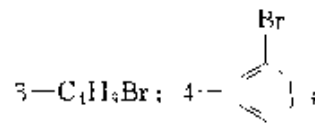


图 13-7 柱外效应引起的峰拖尾

1 $\text{C}_2\text{H}_5\text{Br}$; 2 $\text{C}_5\text{H}-\text{Br}$;



5 $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{Br}$

二、强保留基质

正相(吸附)或离子交换的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($\equiv\text{Si}-\text{OH}$),阳离子交换树脂上的磺酸基($-\text{SO}_3^-$),有些与样品分子处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 13-8 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。

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的强度,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。

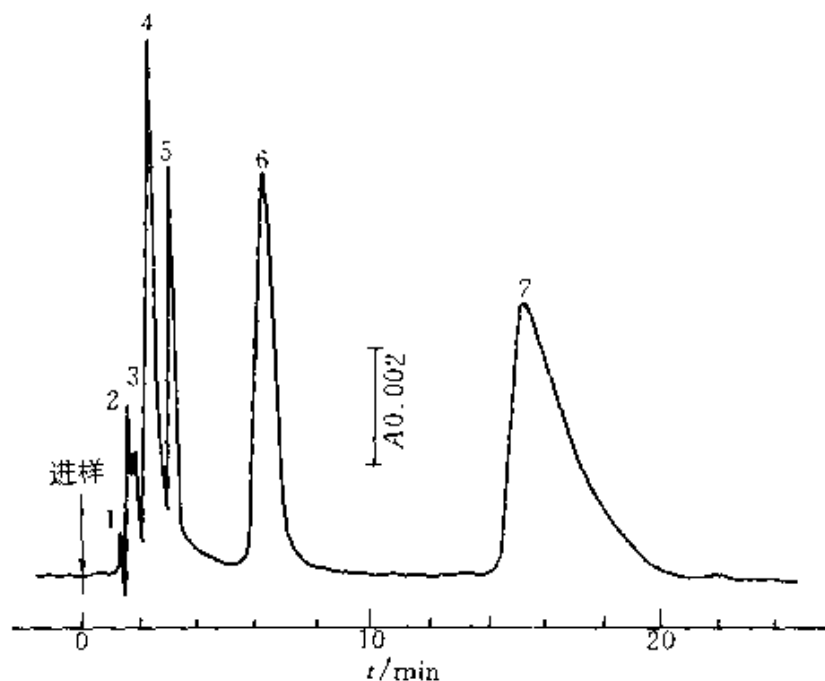


图 13-8 迟流出的峰拖尾

苯胺衍生物分离：流动相 0.2mmol/L 磷酸盐缓冲液，pH2.9；25℃；进样量 10 μ L

第六节 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过程被保留。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，使峰严重拖尾。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。

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，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。

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。如加小浓度 (1~20mmol/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 (30~50mmol/L), 也不会有影响。

酸性组分峰宽改变、不对称、拖尾, 用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% 的醋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。

1. 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结构的改良剂。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。在流动相中加醋酸盐, 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% 醋酸盐和 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, 短链烷基 (甲、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 $R(CH_2)_nN$ 的结构可能好些 (这里 R 是己基或辛基)。

二甲辛胺 (DMOA) 和二甲己胺 (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, 改变流动相时从柱上去掉很困难, 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。这些胺类改良剂一般使用浓度在 10mmol/L 左右。

2. 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酸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, 峰形将到明显的改变, 见图 13-9。

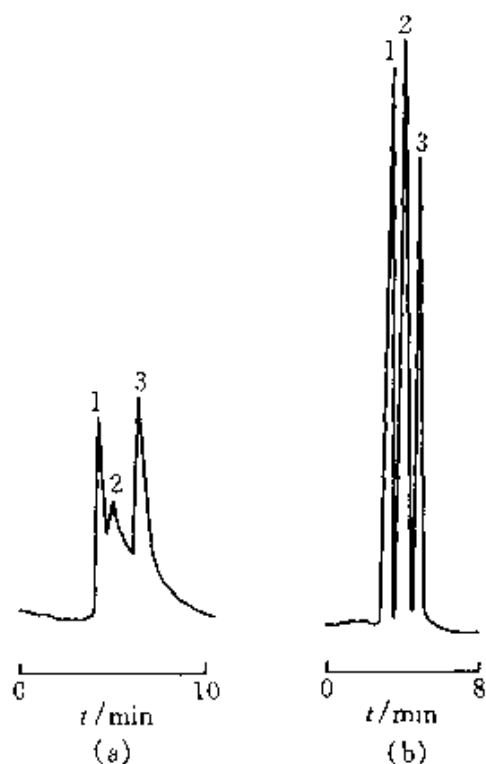


图 13-9 离子强度对次级保留的影响

色谱条件: C_8 柱, 流动相 45%

甲醇/磷酸盐缓冲液, pH3.6

(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、铜等所污染。金属引起的次保留看上去像上面提到的硅酸在作用。这可通过一个例子来说明。用 C_{18} 柱分离二羟萘 (DHN) 的衍生物, 2,3-DHN 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, 后者峰较匀称 (见图 13-10)。如果用金属螯合剂 EDTA 将柱洗一遍, 2,3-DHN 的峰明显改善, 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。

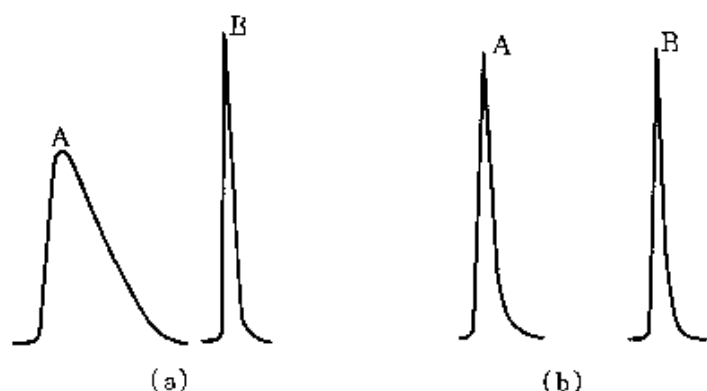


图 13-10 痕量金属对色谱柱填料污染形成螯合物造成的峰形比较
 C_{18} 柱；流动相 乙腈/水 (30/70)， $pH=6.7$ ；图中 A 峰变宽是由于样品
 为 2,3-二羟基萘（可形成螯合物），B 峰为 1,7-二羟基萘（不形成螯合物）

(a) 图为未经处理的色谱柱；(b) 图为经 EDTA 清洗的色谱柱

3. 消除次级保留的方法

(1) 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% 左右的醋酸，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 (SEC) 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。

(3) 离子排斥 在高 pH 值 (>4) 条件下，以硅胶为基质的 SEC 填料带有明显的负电荷，使硅醇电离。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 0.3~0.5 mol/L，在硅胶表面包了一层反电荷，限制了离子排斥；
- ② 减少流动相的 pH ，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。

(4) 离子交换 流动相的 pH 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:

① 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;

② 增加流动相 pH, 以减少样品分子的正电荷。

(5) 疏水结合 在凝胶过滤中, 以硅胶为基质的 SEC 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:

① 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);

② 以多价盐代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。

(6) 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。当用烷基磷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 20~30mmol/L。

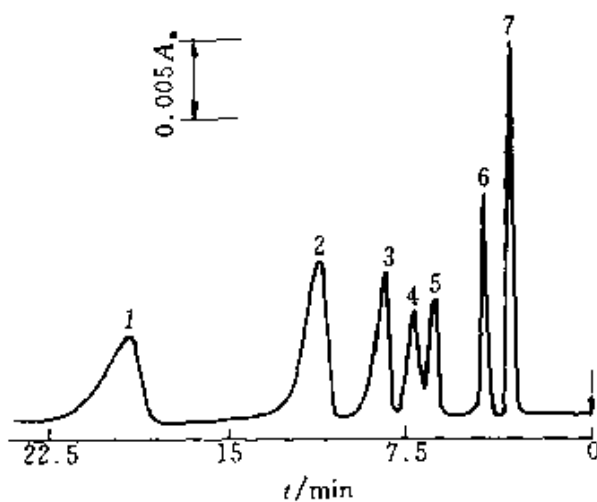
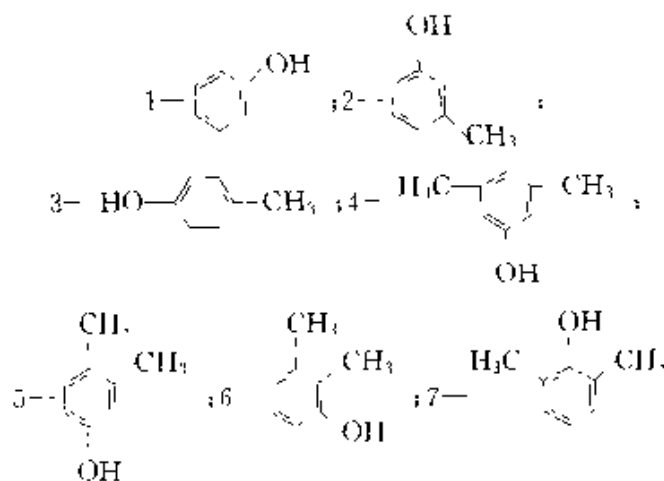


图 13 11 次保留效应随 k' 增加



4. 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到，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' 增加而增加。从色谱图的开始到结束，次级保留效应峰拖尾程度不断增加。图 13-11 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' 的增加而拖尾增加。碱性组分次级保留拖尾严重，很强的酸性组分这种效应小。

第七节 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哪一部分引起流动相 pH 变化。例如分析核酸类样品，不加缓冲液，这些组分离解，在柱内形成谱带的哪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

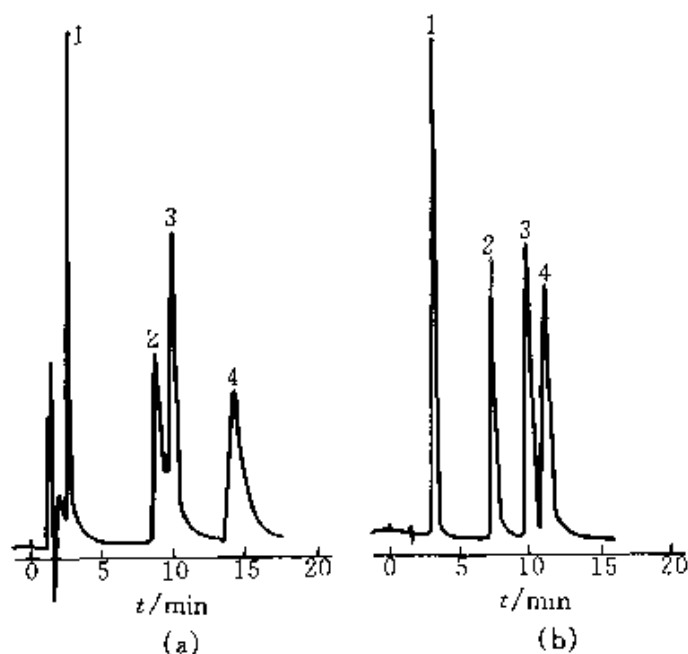


图 13-12 缓冲液浓度对拖尾峰的影响

(a) 10mmol 缓冲液；(b) 100mmol 缓冲液

1— NpS^- ；2— Adr^+ ；3— BzOH ；4— Normet^+

浓度常在 50~100mmol/L 之间,如图 13-12 所示。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 13-12 可看出高浓度的缓冲液使峰保留减小。

多数人倾向于用低缓冲液浓度(如 5~25mmol/L)。高浓度的磷酸盐和其它无机离子会形成很硬的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。

第八节 其它效应

有时,怪峰(鬼峰、负峰)不真正是样品中的峰,但老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 13-13 是用反相色谱(C_{18} 柱)分离马萘雌酮、马烯雌酮和雌酮的同系物,从中可看到因流动相效果不同所引起的分离差异。

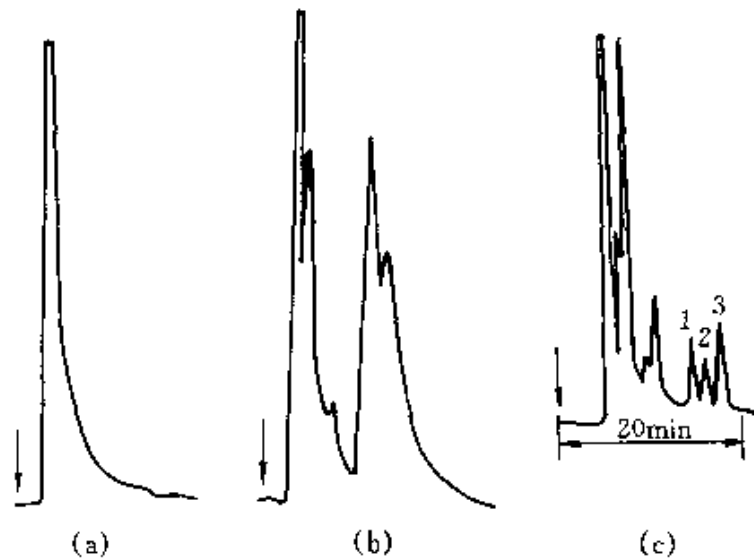


图 13-13 流动相对假拖尾的影响

(a) $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}(35/65)$; (b) $\text{CH}_2\text{OH}/\text{H}_2\text{O}(20/80)$;

(c) $\text{CH}_3\text{OH}/0.001(\text{mol}\cdot\text{L})\text{KH}_2\text{PO}_4(50/50)$

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，升高温度后前延峰的现象消失。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，而且进样量不要大于25~50 μL ，否则会导致前延峰或其它问题。

造成前延峰的第三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。应该仔细地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 13-14 中，图 (a) 为四种烷基磺酸混合物的色谱图。在紫外

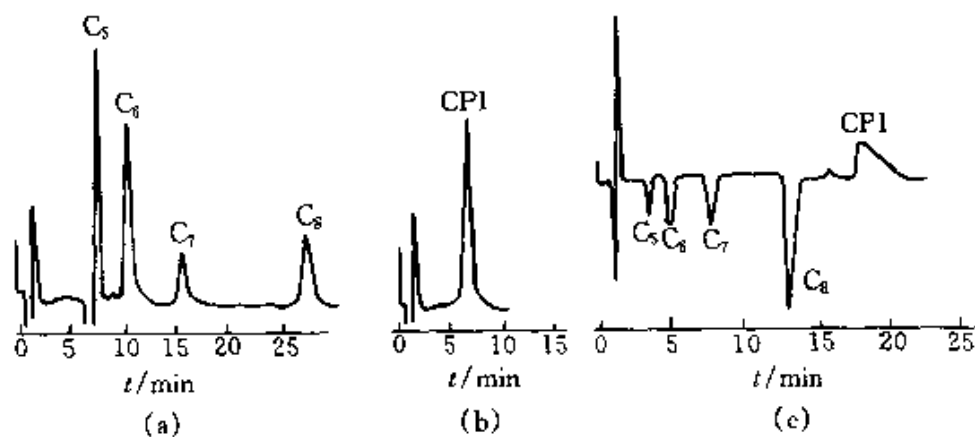


图 13-14 离子对色谱中的伪峰

(a) 四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

254nm 处测定，这四种组分应该无吸收，基线是平坦的。但在 6min 左右出倒峰，在 7~27min 出四个正峰。按理不应该出峰。我们把这种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 13-14 中的例中，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 已详细地讨论了伪峰的内容，可用图式归纳产生伪峰的原因。例如，样品 X 和流动相 M 可能起两种作用——协同的吸着作用和竞争的吸着作用。

假设图 13-15 的样品分子 X 不可检测（无紫外吸收），流动相组分 M 可检测。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，或者是真实的样品组分。在图 13-15 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 $t_m < t_x$ ，流动相组分首先离开柱 [图 13-15 (c)]，这正是图 13-14 (a) 中的情形，可以看到 M 以倒峰先离开柱，接着 X 出正峰。如果 M 和 X 的保留时间相反， $t_m > t_x$ ，[图 13-15 (a)] X 先离开柱出倒峰、

后流出的 M 出正峰，在图 13-14 (c) 中可见到。在不同的条件下用离子对色谱分离这些相同的硫酸盐，可能出现先出样品的倒峰，后出 CPI 的正峰。

在离子对色谱中是以协同吸着为模式。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 13-15 (d) ~ (f) 中先出的伪峰是正峰，后出的伪峰是倒峰。

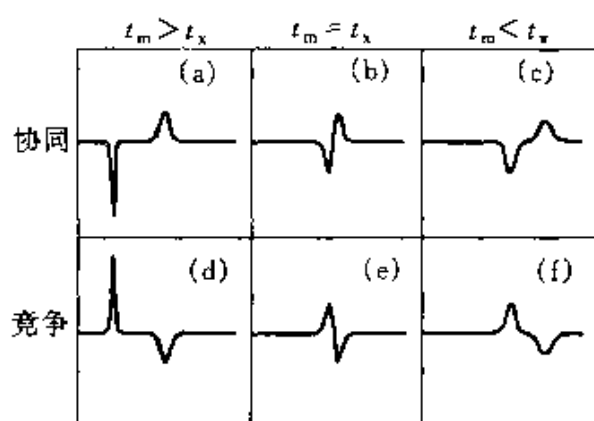


图 13-15 伪峰成因比较

(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予以纠正：

(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几率。

(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

进样前反应是主要的反应，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，或改善处理的条件。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，或者样品溶液贮存之时，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，色谱峰都是斜的歪峰（图 13-16）。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。

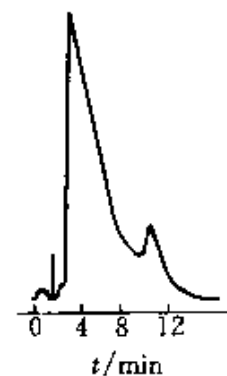


图 13-16 样品反应产生的歪斜峰

3. 梯度洗脱中的反应

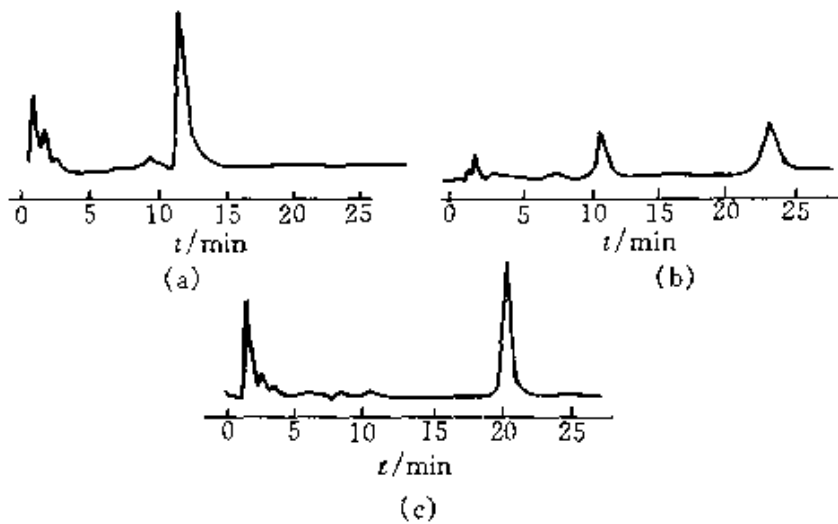


图 13-17 梯度洗脱时的样品反应

(a) 21 C, pH4.8; (b) 21 C, pH3.0; (c) 30 C, pH2.2

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 13-17 是分析木瓜蛋白酶的色谱图。柱温和 pH 变化，改变了木瓜蛋白酶的反应速率（由蛋白转变成变性蛋白）。在低温和高 pH 值（21 C, pH4.8），对天然蛋白有利（低反应速率），出单一峰 [图 13-17 (a)]。pH 值降低（21 C, pH3.0），在 23min 处出现变性蛋白峰 [图 13-17 (b)]。高温低 pH 值（30 C, pH2.2）仅看到变性蛋白峰 [图 13-17 (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。

第九节 保留时间的改变

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。如果保留

时间增加，原设计的程序会使色谱图相互重叠，使分离和数据处理出现问题。无论什么原因引起的样品的保留变化，都能使分离度受到影响。引起保留的变化原因主要有下列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 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：

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，如果有一条件变化，保留也会随之变化。

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。

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。

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

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℃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。

表 13-2 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。

1. 流速变化

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 13-3）。

表 13-2 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%)
流动相组成			
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

表 13-3 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_{R1})	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线上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 CO_2 引起 pH 改变。

流动相组成的变化对 t_R 值大的组分影响最大。从表 13-2 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℃，保留是否会改变 1%~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。

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 20~30min 则可。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 20~50mL 的新流动相冲洗柱。

每隔 10~20min 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，或者在新的流动相中浓度小甚至为零。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，不再作其它的分析。

(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 $1\sim 10\text{mmol/L}$ 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 $0.5\sim 1\text{mol/L}$ 的胺类 $100\mu\text{L}$), 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 $50\sim 100$ 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 $100\sim 200\text{mmol/L}$ 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 (高百分比的有机溶剂)。加缓冲液是为了竞争在酸性硅酸基质上的 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 $\text{C}_{10}\sim\text{C}_{12}$ 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、改变了流动相应地改变了水的含量, 也相应使硅胶柱的含水量不断上升。用水失活, 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。此法也称做等氢离子流动相。在正相色谱中, 因特殊要求有人喜欢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

填料表面积累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。

(1) 对反相柱的冲洗程序

① 10 倍柱体积的甲醇（流动相能与甲醇混溶。无盐沉淀，否则先用水洗去盐）；

② 10 倍柱体积的二氯甲烷；

③ 10 倍柱体积的正己烷；

④ 10 倍柱体积的二氯甲烷；

⑤ 10 倍柱体积的甲醇；

⑥ 20 倍柱体积的流动相。

(2) 对正相柱的冲洗程序

① 20 倍柱体积的 $\varphi=50\%$ 甲醇/氯仿；

② 20 倍柱体积的醋酸乙酯；

③ 20 倍柱体积的流动相。

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。

用硅胶预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），但仍有人喜欢使用。也有人采用线上重新键合有机相方法，但手续比较麻烦，花时间太多，而且也不一定恢复到原来柱的性能。

四、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，保留时间减少。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。可以看到，标准品与实测样品不同。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。

第十节 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盖在一起，无论采用什么方法都不那么妥当。

引起峰位顺序的变化可能以下两种原因：

(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，为了说明问题可参阅图 13-18。

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），一旦确证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

只要作一些条件变化(溶剂、pH、缓冲液),就可能找到最好的位置。

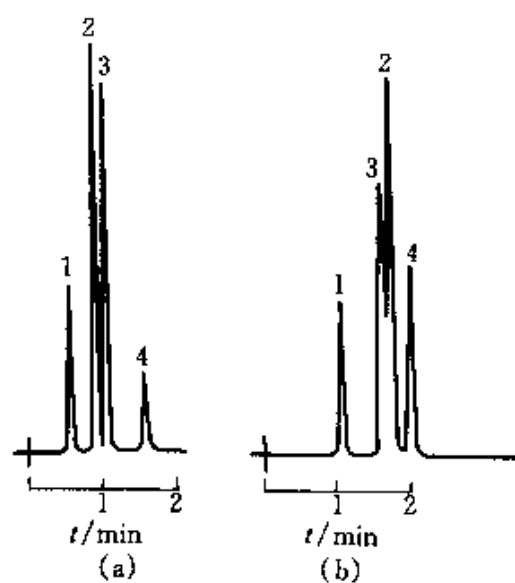


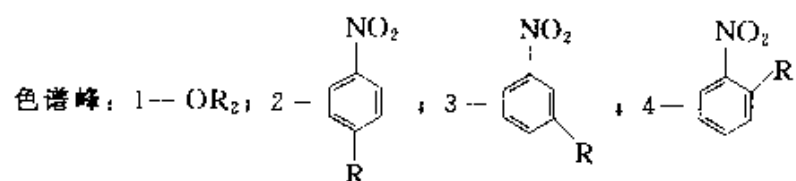
图 13-18 不同柱峰位的改变

色谱柱: 4mm×30cm

流动相: 正己烷, 流速 2mL/min

检测器: UV232nm

固定相: (a) μ Bondapak NH_2 键合相; (b) μ Bondapak CN 键合相



第十四章 定量问题

前面几章讨论了液相色谱系统的各个部分各类故障的现象，如渗漏、压力异常、色谱图变化等等。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。本章简单介绍液相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，请参阅本丛书中《色谱定性定量》分册。

第一节 色谱定量简介

一、定量步骤

液相色谱（气相色谱也类似）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）。

多数液相色谱方法中峰大小和浓度成比例，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：

$$\text{组分 X 的浓度} = (C/A) \cdot B = F \cdot B$$

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。

要经过多次的反复试验，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 γ 。 γ 愈接近 1，精确度愈高。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。

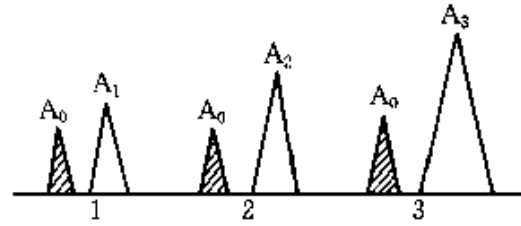


图 14-1 内标法色谱图（示意）

A_0 —内标物；

A_1, A_2, A_3 3种不同浓度的样品峰

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：

$$\text{组分 X 的浓度} = (C_A/A)(B/B_s) = F_s(B/B_s)$$

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 14-1 和图 14-2 说明。

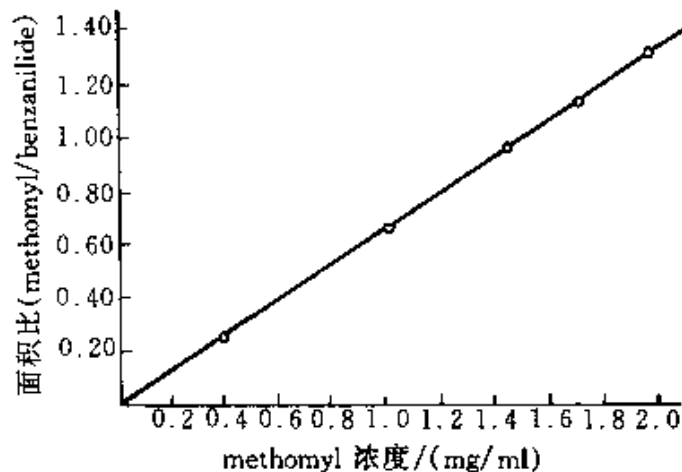


图 14-2 内标法校正线粗品中 methomyl 的测定

试验结果与标准品相比，通常会产生某些偏差。按准确度和精确度可将偏差分类。用单个样品在同样的试验程序下的检验数次就

可算出精确度，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确度：①同一实验室两日内精确度；②同一实验室内日间精确度；③实验室间的精确度(日间)。

通常准确度由好到坏顺序为①>②>③。根据不同情况给精确度下定义是合乎逻辑的，有助于确定精确度方面存在的问题，并能顺利地解决。

二、精确度

1. 系统的适应性

色谱法的准确度和精确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 1~100mmol/L，可以确定配制标准品的浓度为 1、5、20、50、100mmol/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，就得出了方法的精确度（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确度有什么变化，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每天质控数据；④线性检查。

2. 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。这在建立方法学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）可用于全天的精确度试验。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。

3. 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确度的附带检查。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确度波动，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确度。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。

4. 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，常用三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确度，每次质量控制的值应在被测物已知浓度的 3σ 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确度附加数据。

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。

第二节 不能接受的精确度

色谱方法的精确度出问题，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，用要求的试验精确度与方法结果的精确度相比较，如要求的精确度 $\pm 1\%$ ，而试验结果的精确度为 $\pm 2\%$ ，就要改善试验方法，减少误差，达到 $\pm 1\%$ 的指标值。对于后者，且成功地建立了常规检测；试验方法已

能满足精确度的要求 ($\pm 1\%$)。但在有的时候, 因某些不明的原因可能使精确度达 $\pm 3\%$, 此时要检查方法上发生了什么变化, 特别在建立方法时如出现过影响精确度的故障(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。

一、方法误差

方法的误差应取决于样品的浓度, 下面列出测定组分 X 不同浓度所希望的精确度:

X 浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	RSD/%	X 浓度 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}$)	RSD/%
100	2	1	6
20	2	0.2	20
5	2.5		

通常高浓度样品 RSD 不随浓度而改变, 但在低浓度时 RSD 会明显增加。

1. 低浓度的误差

低浓度的检测可能因为信/噪比太小而不精确, 应该:

- ① 加大样品的上柱量;
- ② 增加检测器对被测样品的灵敏度;
- ③ 减少基线噪音;
- ④ 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 ($k' < 1$) 噪音大, 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, 减少柱长、柱径和填料粒度有利于提高检测的信/噪比。

2. 高浓度的误差

在建立方法时经过努力, 使噪音的水平降至最低, 所有浓度的样品可达到相同的精确度。这仅是一种理想的状态, 因有其它各种

因素的影响，有时即使在较高浓度时，精确度也是不能接受的。从表 14-1 可见，各种因素对精确度的影响。

表 14-1 液相色谱试验不同步骤产生的误差

试验步骤	RSD, %	备注
样品处理	+0.5	取决于操作者，稀释体积不重复
样品纯化	±(3~5)	取决于操作者，柱切换法能改善
进样	±1	完全装液法有改善
色谱分离	±(0~2)	$R_s > 1.5$, 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

二、消除误差的方法

样品处理有别于样品纯化，样品处理包括称量、溶解到标记稀释等步骤。如能按章办事，谨慎操作，用 A 级的容量瓶和移液管，这一步的精确度可达 $\pm 1.0\%$ 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 检查每位操作者的技术的精度和误差。

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确度，而且有些组分会损坏柱子。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，其精确度在 $\pm(3\% \sim 5\%)$ 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。

进样是高精确度的操作。如操作者的基础操作水平好，精确度可控制在 $\pm 0.2\%$ 以下，可以采用如下方法：

① 在手动进样中进样体积至少是样品环管体积的 3 倍；

② 用内标。

液相色谱分离对试验的精确度应无影响。分离程序设计得好误差可减至最小。设计分离程序应注意以下 3 点：

① 所有峰间的分离度好于 1.5；

② 控制流动相组成、温度等，使用柱恒温箱，用峰面积比峰高更精确；

③ 液相色谱系统的硬件精密。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，逐步影响到精确度。

检测器的信/噪比合适时，检测方法不应影响试验的精确度。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确度。

数据处理和校正在精确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，预先不能想到何种方法的 *RSD* 低，最好在建立方法时多试验几种方法。

用内标法精确度高，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确度。

假定已建立好了方法，而且日间的精确度是可接受的，常规分析也能获得类似的精确度。如果某一天出现了不可接受的精确度，而分离条件未变，结果相当差，应参照表 14-1 所提的要求，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) 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,流动池脏。

(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 不能接受的准确度

准确度方面的毛病超出了色谱的分离,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。

1. 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(0,0),就像图14-3(a)、(b)那样。这些实验室都受了老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14-3(c)中虚线],但经过最小二乘法线性回归作有限的线性检查,常在y轴上出现负的或正的小截距[图14-3(c)中的实线]。这是人为因素造成的,这种截距是真实的,是在试验误差内非零的常数(截距)。

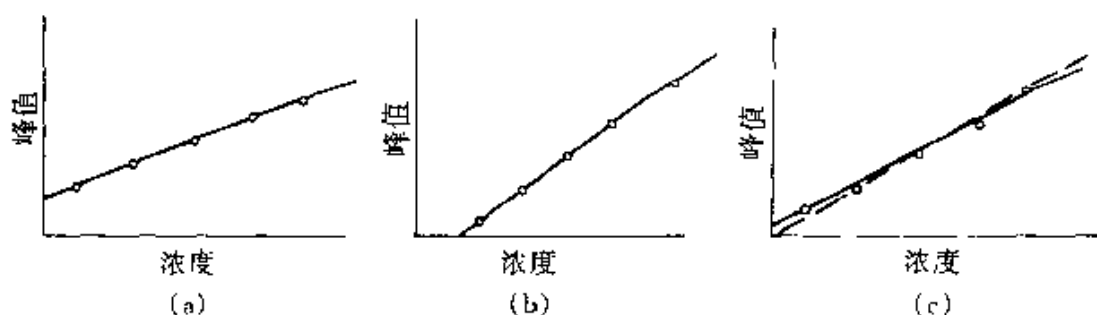


图 14-3 不通过原点的校正曲线

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）。截距预示了方法精确度的程度。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。

2. 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。

3. 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，是完全有可能的。在建立方法时，应检查有关的干扰物与被测物的峰交盖情况（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作

比较，两种波长的比率相同表示没有干扰存在。如有光电二极管矩阵检测器，可同时对色谱峰的不同点作扫描，检查点与点间的光谱相关性（安捷伦公司 HP1100）。在图 14-4 中，分别扫描色谱图 (b) 的 3 点 A、B、C 在一定波长下的紫外吸收峰。(a) 图中显示三条吸收线重合，表示色谱峰是纯峰。

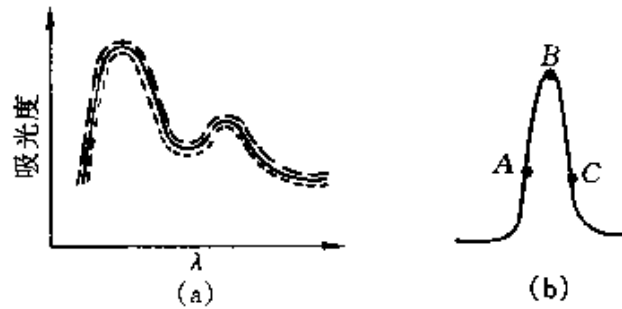


图 14-4 对色谱峰不同点扫描检查纯度

---A 点；——B 点；……C 点

(a) 为 (b) 色谱图中 A, B, C

3 点的紫外吸收峰；(b) 色谱图

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。

第四节 误差问题的解决

确定与解决分析方法的精确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。

如果察觉到精确度有问题，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，标准品或单个样品中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间加入内标；

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。为验证起见，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5~10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 值对时间作校正图，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确度。

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，或者多事者随意按动仪器上的按钮。当然，在试验过程中换了泵或检测器又是另外一种情况。

突然改变精确度 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确度。如果在试验过程中突然改变了精确度，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5~10次样的大体积样品，反复进样，如果能得到良好的 RSD ，精确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 5~10 个单个样品，然后汇集起来，再将样品分 5~10 份进样。如果精确度提高，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 $RSD < 1\%$ 。自动进样精确度差时可用手动进样数次或改为旁路自动进样，如提高了精确度要重新核准自动进样器或加内标。如果手动进样的精确度仍然差，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用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 基线的噪音和漂移；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确度，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。

第十五章 梯度洗脱与样品预处理

第一节 梯度洗脱

梯度洗脱方法自提出后很快在液相色谱系统得到广泛的应用，增加了相对低效柱的分离能力。随着色谱柱的分离效能的逐步改善，等度洗脱又得以推广，因仪器设备问题，梯度洗脱的发展受到了限制。今天，有着高精度微机化的液相色谱系统，又因分析生物样品等的需要，而使梯度洗脱重又发展起来。

本书在前面的章节中已提到过梯度洗脱，又讨论梯度洗脱装置。现在普遍推广低压混合的梯度洗脱装置，它灵活又通用，从而使得梯度循环具有更高的准确性。

梯度洗脱的故障有两类：第一类常与仪器失灵、实验技术、柱退化等故障有关；第二类是对梯度洗脱生疏，弄不清如何进行梯度洗脱，不同的条件变化后有什么结果，可能引起分离方面的问题（差的分离度、宽峰等）。表 15-1 汇总了与梯度有关的故障以及解决的办法。

1. 梯度洗脱的基础和分离

在梯度洗脱中，为了分离，需改变流动相的组成。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。在反相分离中溶剂 A 多半是水，溶剂 B 是甲醇。所有的梯度洗脱中溶剂强度应不断增加，即 B 的浓度不断增加。例如，溶剂 B 在一定的时间内从 20% 到 80% 梯度打入 A 中。梯度控制器决定流动相的组成，操作者可输入不同的条件：

- 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；

- ① 梯度形状；
⑤ 流速。

表 15-1 梯度洗脱的故障和解决办法

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

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。

正常的梯度洗脱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 15-1 (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 15-1 (b)]。在等度洗脱中前面峰的 k' 值很小，后面峰的 k' 很大，而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, 开始出的峰 k' 太小。只要看到先出来的峰挤在一起, 应把开始的 $c_B(\%)$ 降下来。最终的 $c_B(\%)$ 也应调节好, 使得最后的峰能在一个梯度洗脱程序中被洗脱下来。譬如, 一个梯度程序时间 20min, 那么最后一个峰的保留时间也应在 20min 左右。

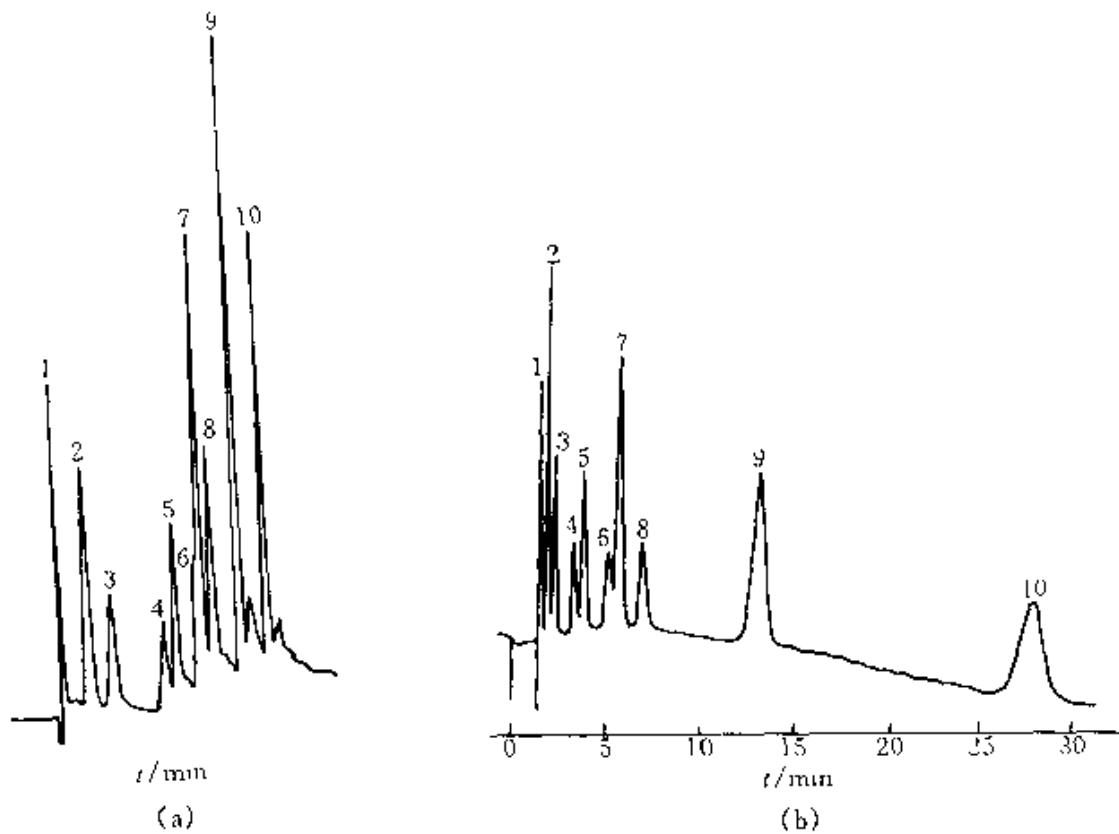


图 15-1 等度和梯度的比较

(a) 梯度洗脱: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$, MeOH 浓度从 10% \rightarrow 100%。

(b) 等度洗脱: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$, 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—六六六

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 α 。不少人讨厌使用梯度洗脱这种模式，实际上只要条件具备，它比等度容易很多。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：

$$k' = \text{常数} \cdot t_G F / (\Delta c_B) V_m \quad (15-1)$$

梯度洗脱中， k' 视为常数，在反相液相色谱中大约等于 20， $\Delta c_B(\%)$ 为最终的 $c_B(\%)$ 减去开始的 $c_B(\%)$ 。柱体积 V_m 等于 $F t_G$ 。(15mm×0.46cm 柱大约 1.5mL)。按式 (15-1) 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的相同结果：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 (15-1) 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。按照式 (15-1)，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，流速减少一半，则必须增加 4 倍梯度时间。

与等度分离一样，要改变 α 或峰位置，则要改变流动相的组成、柱类型或温度。

2. 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再平衡柱。一般打入 15 倍柱体积的初始流动相条件即可。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，每次梯度的保留值都不一样。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）。

3. 梯度洗脱的故障

总体讲，梯度洗脱中所出现的故障也确实是等度洗脱中所看到的故障，包括以下几方面：

(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。有人建议加氧化亚氮在 A (水) 中。在 185~200nm 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 15-2 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。

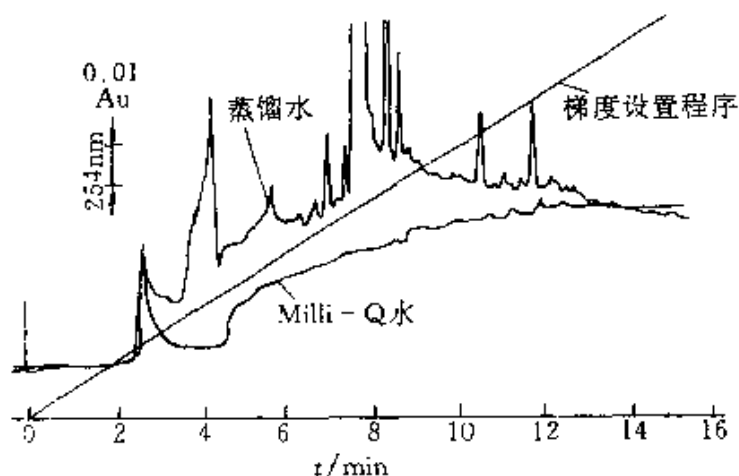


图 15-2 不同溶剂的空白梯度洗脱

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, 建议选用重蒸的亚沸水, 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。

第二节 样品预处理

由于样品预处理问题是一项非常复杂的工作，牵涉到许多方面的内容，又由于篇幅与分工，本节只简单介绍样品预处理的初步设想，以及一些简单的故障排除方法。具体的理论与实践读者可以参阅本丛书《色谱分析样品处理》分册。

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。其中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儿倍的功夫和精力，甚至会出现前面建立的测定标准品的方法完全不适用。

有些样品经预处理后还不能作进样分析，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）。

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确度，或者在整个样品预处理过程中带来误差。

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，就应过滤一下，过滤膜要能截留住 $0.5\mu\text{m}$ 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。

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。

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、醋酸乙酯、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制成水溶性的盐。表 15-2 列出了根据被测组分性质选取的萃取方式。

表 15-2 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 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 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 N ₂ 流下吹干，用适当的溶剂溶解后进样

液-固提萃法也叫固相提取法，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，如反复活化再用，则精确度差。同时，由于这些小柱容量大，对痕量组分的回收率较低。

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 >C=O 、 -NH_2 、 =NH 、 -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一 -NH_2 、 =NH 、 C=O 、 -OH 、 -CHO 、 $\text{-CH}_2\text{X}$ 等取代基的芳香族化合物。

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。低压柱除了填装键合相填料外，还填装硅胶、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。

这种方法往往精确度差，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是：

(1) 被测物是酸性或碱性可用离子交换小柱，用适当的 pH 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。

(2) 用反相小柱处理酸性或碱性组分时，控制一定 pH 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 的水溶液洗脱被测物。一般规则是低 pH 的有利于洗脱碱性物，高 pH 有利于洗脱酸性物。

(3) 用最小体积的有机溶剂（甲醇或己腈）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 μL 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，有时精确度差。

样品预处理过程的主要故障与解决办法见表 15-3。

表 15-3 样品预处理过程的主要故障与解决办法

问题原因	症 状	解决方法
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

第十六章 气相色谱仪器故障排除方法综述

本章首先对有关气相色谱仪器的日常维护与故障排除方法的编写作出一些说明,由于气相色谱仪器使用的普遍性,各类有关教科书(包括本丛书的许多分册)、各类气相色谱手册都已经对分析工作中使用的色谱仪的整机及有关部件的使用要点有了许多的阐述,故本书主要将围绕着气相色谱故障出现的原因及检查、排除故障思考方法作为重点进行描述,至于日常维护的一些要点将穿插在以后各章节中的排除方法内作必要的说明。

第一节 故障排除表

本书第五章中列出的液相色谱仪常见故障分类、识别与排除中有些内容与气相色谱仪的情况,在症状、原因以及解决方法上均相似,如正确连接、分离情况变坏、进样器故障、记录器与数据处理故障、样品前处理等,故本章的叙述中尽量避免重复描述。

本章中以列表的形式将常见气相色谱仪器故障及排除方法比较直观表达出各种故障对分析的最后结果(色谱图)的影响。读者如需要采取进一步的维护措施,请在后面的有关章节中查阅。

使用热导和氢焰离子化检测器时的故障图形分析和排除方法列于表 16-1,使用电子捕获检测器时的故障及排除列于表 16-2 中,表 16-3 列出了毛细管柱及辅助进样装置的故障及排除方法。

表 16-1 用热导和氢焰离子化检测器时的故障图形分析和排除方法

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



续表

故障及图形	可能原因	排除方法
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
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,氮气流速太大 (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)降低氮气流速或提高氢气流速和空气流量 (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	(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



续表

故障及图形	可能原因	排除方法
基线不稳噪声大 	(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 (13) 氢火焰检测器的氢气流量过高或波动 (14) 氢火焰检测器的空气流量太高 (15) 氢火焰检测器的空气、氢气有杂质 (16) 氢火焰检测器内有冷凝水 (17) 离子头潮湿 (18) 火焰烧到电极 (19) 电极处积有灰尘 (20) 氢火焰离子化检测器信号线有故障 (21) 氢火焰离子化检测器及其绝缘材料玷污 (22) 氢火焰离子头四周漏气 (23) 气路接头或电插头松脱 (24) 接地不良, 屏蔽不良 (25) 波段开关有污垢	(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 (13) 调好氢气流量 (14) 调好空气流量 (15) 更换或再生空气、氢气的过滤器 (16) 升高检测器温度至 200℃, 排除冷凝水 (17) 干燥离子头 (18) 调整电极位置 (19) 排除灰尘 (20) 排除故障或更换信号线 (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 (22) 拧紧螺母或更换垫圈 (23) 检查所有插头和螺旋接头是否拧紧, 安装是否正确 (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 (25) 找到有污垢的触点, 清除污垢后反复旋转波段开关数次
基线出现正弦波 	(1) 炉温控制器定位不当 (2) 检测器炉温控制失灵	(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 (2) 更换或检修炉温控制器或测温热敏元件

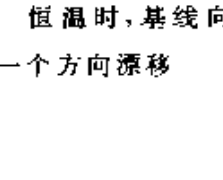
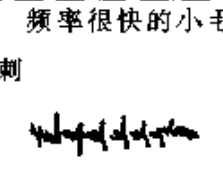
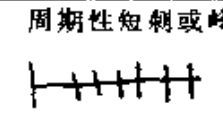
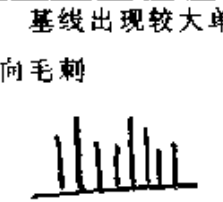
续表

故障及图形	可能原因	排除方法
基线出现正弦波 	(3) 色谱柱炉温控制失灵 (4) 检测器炉子绝缘不好 (5) 载气流调节故障 (6) 气体钢瓶压力过低, 使调节器不能正常控制 (7) 使用氢气发生器时, 氢气波动过大	(3) 同(2) (4) 把绝缘材料装填妥当或更换(用高阻表检查) (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 (6) 更换钢瓶 (7) 调整氢气发生器
恒温操作时基线不规则漂移 	(1) 仪器安放位置不当 (2) 仪器接地不当 (3) 固定液流失 (4) 柱出口到检测器的连接管被玷污 (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) 热导池或钨丝玷污	(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 (2) 把仪器及记录器地线接好 (3) 老化柱子, 有柱子不适合在所设定的温度下使用, 特别是需用高灵敏档操作时总有基线漂移 (4) 清洗连接管 (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


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 	(11) 钨丝引出线接触不好 (12) 桥路稳压电源失效 (13) 离子室严重玷污 (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	(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) 检测器温度不温(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	(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口处的 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

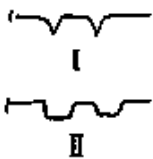
续表

故障及图形	可能原因	排除方法
恒温时,基线向一个方向漂移 	(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	(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)使机壳良好接地,绝不能以电源的中线代替地线,排除附近有干扰的用电设备 (2)改善接地
周期性短刺或峰 	(1)气体管路有冷凝液,使载气鼓气泡通过 (2)接在柱尾的皂膜流量计液面太高 (3)来自氢气发生器的氢气管路有冷凝水,氢气流有异物堵塞 (4)电源上有大功率设备周期性通断电造成	(1)加热除去冷凝液或将其吹出 (2)断开柱尾的皂膜流量计 (3)除水,更换氢气过滤器,清洗氢气管路 (4)不要与大功率设备使用同一电源
基线出现较大单向毛刺 	(1)钨丝中有异物 (2)电源插头接触不良 (3)严重电源干扰或控温继电器火花干扰 (4)氢火焰有时烧到收集极或极化电压环	(1)清洗热导池 (2)检查插头内有无异物,并将插头拧紧 (3)排除干扰电源,检修或更换控温继电器 (4)调整氢气流量比或电极位置
出现无规律毛刺 	(1)由于开关门或风扇引起的快速空气流波动 (2)柱后有细小的颗粒进入检测器 (3)记录器滑线电阻局部接触不良 (4)放大器高阻部分受潮或接触不良 (5)喷口漏气	(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 (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 (3)用绸布蘸酒精或乙醚擦洗或使之接触良好 (4)干燥或更换高阻 (5)拧紧,加热或更换喷口

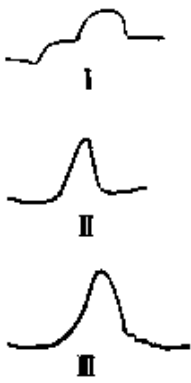


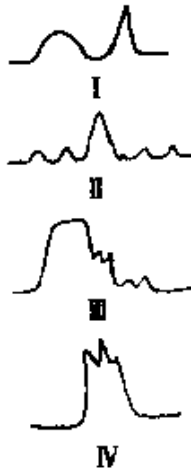
续表

故障及图形	可能原因	排除方法
出现无规律毛刺 	(6)空气流量太大,使火焰位置发生漂移 (7)离子头或绝缘材料沾污 (8)热导检测器稳压电源有故障 (9)氢焰检测器放大器故障 (10)输入电压的波动大	(6)把空气流量调至适当值 (7)用清洁溶剂清洗绝缘材料和离子头 (8)检修电源 (9)参照说明书检修 (10)使用单独电源线或用稳压器
不出峰	(1)检测器、放大器或记录器电源开关未开或引线脱落 (2)记录器连接不正确 (3)记录器银球脱落或其它故障 (4)无载气 (5)注射器漏或堵 (6)进样垫漏 (7)柱子连接处严重漏气 (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	(1)打开电源开关或把脱落引线接好 (2)按说明书正确连接 (3)安装好银球,查找故障所在并排除 (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 (5)更换注射器或将堵塞物取出 (6)换垫 (7)将接头拧紧 (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	(1)改变衰减档 (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


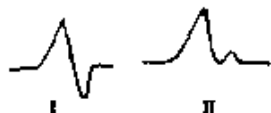
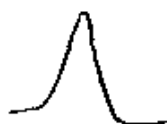


续表

故障及图形	可能原因	排除方法
保留时间正常,峰面积变小	(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—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	(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

续表

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;衰减档不正确;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于推动</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0.25μF, 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档改换到低档</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 I)</p> <p>(4)样品分解(图中曲线 I, II)</p> <p>(5)样品与固定液或载体相互作用(图中曲线 I, 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人污物(图中曲线 I, III, IV)</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>

续表

故障及图形	可能原因	排除方法
双峰 	氢焰在出峰时火焰烧到电极	减少进样量或调整电极位置
分叉峰 	(1)热导检测器用氮气为载气时,流速、柱温选择不当 (2)载气不纯	(1)选择适当的流速及柱温 (2)更换纯载气
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)用溶剂或清管器清洗进样器,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

续表




故障及图形	可能原因	排除方法
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)柱子玷污	(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

表 16-2 用电子捕获检测器时的故障分析和排除

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,氚大部分逸出 (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

续表




故障及图形	可能原因	排除方法
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	(1)更换引线,消除短路 (2)同(1)
“样品瓶帽盖”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

表 16-3 毛细管柱及辅助进样装置故障排除

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

续表

现象	可能原因	解决方法
直接进样		
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)进样少一些用大容量衬垫,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)增加分流量,增加柱流量
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

续表

现象	可能原因	解决方法
分流进样		
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)降温 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

续表

现象	可能原因	解决方法
不分流进样		
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
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,换用另一个进样口
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°C,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°C,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

续表

现象	可能原因	解决方法
辅助进样装置——阀		
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
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

续表

现象	可能原因	解决方法
辅助进样装置——吹扫捕集		
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)增加顶空进样时间 (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,减小 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

第二节 故障寻找举例

这里继续列出配置氢火焰离子化检测器的色谱仪的基线漂移和噪声故障(图 16-1)循序查找图。我们可以通过对该图的观察,掌握逐步逼近的解决问题方法。

第三节 仪器的调试

在购得仪器后，首先要做好调试人员的组织工作。在选择实验室时，为便于气瓶安放在室外和埋设地线，宜选择楼下的房间。注意室温、湿度、排风装置及氢气报警等条件。仪器最好采用单独的稳压电源供电，地线应符合要求。

仪器开封要作好检查与清点，对仪器要进行仔细检查（特别是电器件）。仔细阅读安装说明书，按照说明连接好气路与电路，并仔细检查电源电压和功率是否匹配。然后进行下列安装工作：

(1) 气路的考察 主要是气密性与流量精度的检查。

(2) 电器件的考察 主要为绝缘性检查和炉温的检查，其中炉温检查分为炉温控制（一般为 $\pm 0.1 \sim 0.25 \text{ C}$ ）、仪表温度示值误差（小于 $\pm 1 \text{ K}$ ）、炉温分布情况（ 150 C 时小于 0.5 C ， 400 C 时小于 2.5 C ）、程序升温的线性与重复性、炉温冷却速度。

(3) 检测器的测试 检测的主要项目通常为噪声、漂移、信号衰减倍数、线性范围、灵敏度或检测限等。检测常用的试样与操作条件分别见表 16-4 和表 16-5。

(4) 定性、定量测定 主要是测定在给定的条件下，定性指标的重复性和定量结果准确性。

表 16-4 检测常用的试样

检测器	组 分	溶剂	组分浓度比例	浓度范围/(g/ μL)
TCD	正十五烷-正十六烷	异辛烷	1 : 1.5	$(3 \times 10^{-8}) \sim (3 \times 10^{-4})$ 正十六烷
FID	正十五烷-正十六烷	异辛烷	1 : 1.5	$(3 \times 10^{-9}) \sim (3 \times 10^{-4})$ 正十六烷
ECD	丙体六六六 艾试剂	异辛烷	1 : 2	$(3 \times 10^{-12}) \sim (3 \times 10^{-8})$ 丙体六六六
FPD	甲基对硫磷-十二碳硫醇- 磷酸三丁酯-正十四烷	异辛烷	10 : 1 : 1 : 2000	$(5 \times 10^{-9}) \sim (3 \times 10^{-5})$ 甲基对硫磷

(5) 柱效能与拖尾因子测定 将在其它气相色谱仪上作过柱效能与拖尾因子实验的色谱柱, 装到欲调试的仪器上, 按完全相同的条件进行试验, 比较两台仪器的柱效能与拖尾因子, 以确定仪器的死体积是否过大, 进样室空间是否合适等。

表 16-5 测试常用检测器的操作条件

n	TCD ^①	FID	ECD	FPD
$t_c / ^\circ\text{C}$	150~170	150~170	160~180	160~180
$t_v / ^\circ\text{C}$	250	250	230	220
$t_D / ^\circ\text{C}$	200	220	250	220
载气	H ₂	H ₂	N ₂	N ₂
主要试样	正十六烷	正十六烷	丙体六六六	甲基对硫磷

① 欲在较低温度测试 TCD, 可选择 $t_c = 60^\circ\text{C}$, $t_v = t_D = 110^\circ\text{C}$, 用苯的甲苯溶液作试样。

第四节 故障确定程序化

在本书第二章的第一、第二节中已经对色谱仪器的维护与故障排除的整体思考与应该遵循的几条原则, 作了详细的说明。本着这种逻辑推理的思考方法, 考虑到气相色谱仪有关部分对各个性能参数的影响(见表 16-6), 在下面的章节中的许多故障排除将借助各自的“程序框图”来加以更好的说明。这样对于读者在实际工作中的能力与技巧的提高应该会有帮助。

由于各人的思考方法不同, 对于仪器的某一故障可能编制出的“程序框图”不尽相同, 即使是同一个人, 不同时期也会采用不同的思考、解决问题的程序, 但只要具有以下几个特点, 编制的结果就不失为一个实用的程序: ①安全性; ②可行性; ③执行中不产生矛盾; ④完备性; ⑤易于操作, 所花的时间少。学会使用故障确定程序化的思考方法, 对于提高总结、提高发现与解决问题的能力将十分有帮助。

表 16-6 气相色谱仪有关部分对各性能参数的影响^①

性能 \ 影响因素	载气流速	气路及连接	进样口或汽化室	进样膜	色谱柱	柱恒温箱	检测器	检测恒温箱	放大器极化电压	记录器	连接电缆	地线	电网电压	注射器
噪音	×	○		○	○	×	○	×	○	○	○	○	×	
本底信号	×	○			○	×	○	×						
检测器线性	×		×		×		○		○	×				×
进样过大	×		×		×		○		×					
定量重复性		×	○	×	×		×							○
稳定性	○	×		×		○	×	○	○		×	×	×	
基线漂移	×	○			×		×	○	○					
峰形畸变		×	×	×	○	○								×
峰增宽	○	×	○		○		×		×	×				×
保留时间重复性	○	○		○		○				×				

① ○——表示经常由于这个因素产生故障,或发生这种故障的机会较多;

×——表示偶然由此因素产生故障,或发生这种故障的机会较少。

第十七章 气路系统

第一节 气路系统简介

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。气路系统的具体结构，往往随着检测器的不同而不同。下面分别给出热导检测器、氢火焰检测器、电子捕获检测器和火焰光度检测器配置的气路流程图（见图 17-1、图 17-2 与图 17-3）。

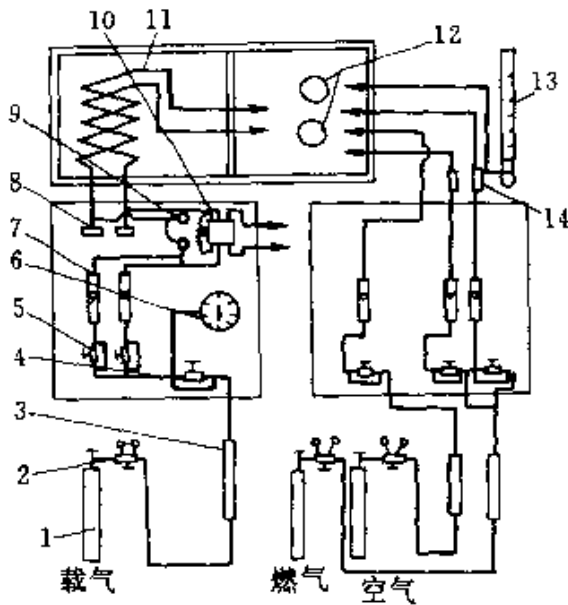


图 17-1 热导、氢火焰检测器气路流程图
1—高压气瓶；2—减压阀；3—过滤器；4—稳压阀；
5—流量调节阀；6—压力表；7—转子流量计；
8—汽化室；9—联接管；10—六通阀；
11—色谱柱；12—检测器；13—皂膜流量计；
14—毛细管气阻

对于气路部分来说，按其容易发生的故障的现象可以分为三大类：①流量调节故障；②气路泄漏故障；③气路堵塞与污染故障。

需要说明的是，在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。

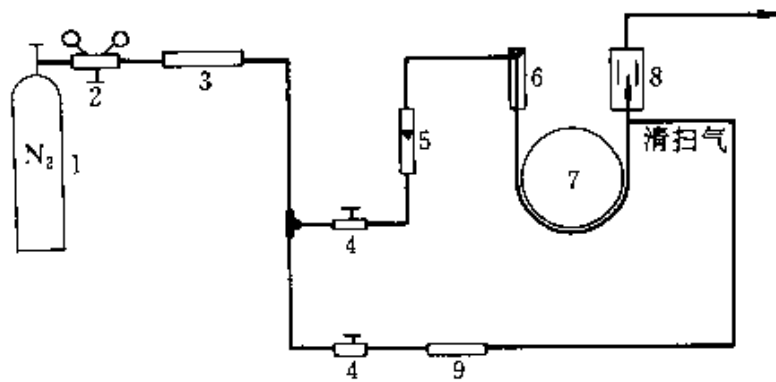


图 17-2 电子捕获检测器气路流程图

- 1 高压钢瓶；2—减压阀；3—过滤器；4 稳流阀；5—流量计；
6—进样器；7—色谱柱；8—检测器；9—气阻器

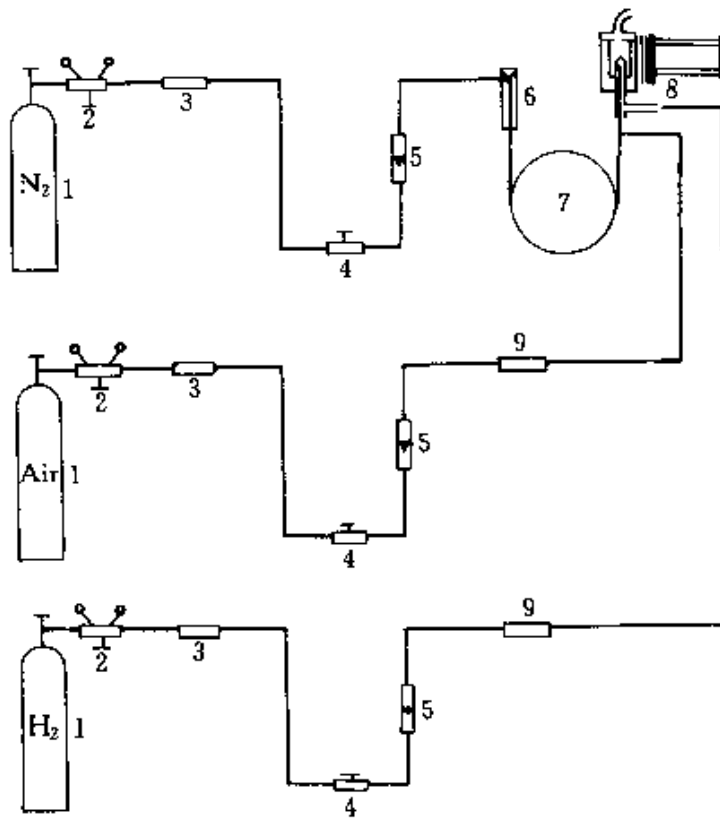


图 17-3 火焰光度检测器气路流程图

- 1—高压钢瓶；2 减压阀；3—过滤器；4—稳流阀；5 流量计；
6 进样器；7—色谱柱；8—检测器；9 气阻器

第二节 流量的调节

调节流量是气相色谱仪中的第一步操作。如果不能稳定地调节流量到预定值，那么也就不能进行其它的操作。流量调节方面的故障按表现的现象可以分为：流量调不上去；流量太大没法调小；流量调节后不稳定三大类。

一、流量调不上去

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，气路流量都不能上升到预定值，即可认为是流量太小或流量调不上去故障，可以按照图 17-4 所给出的方

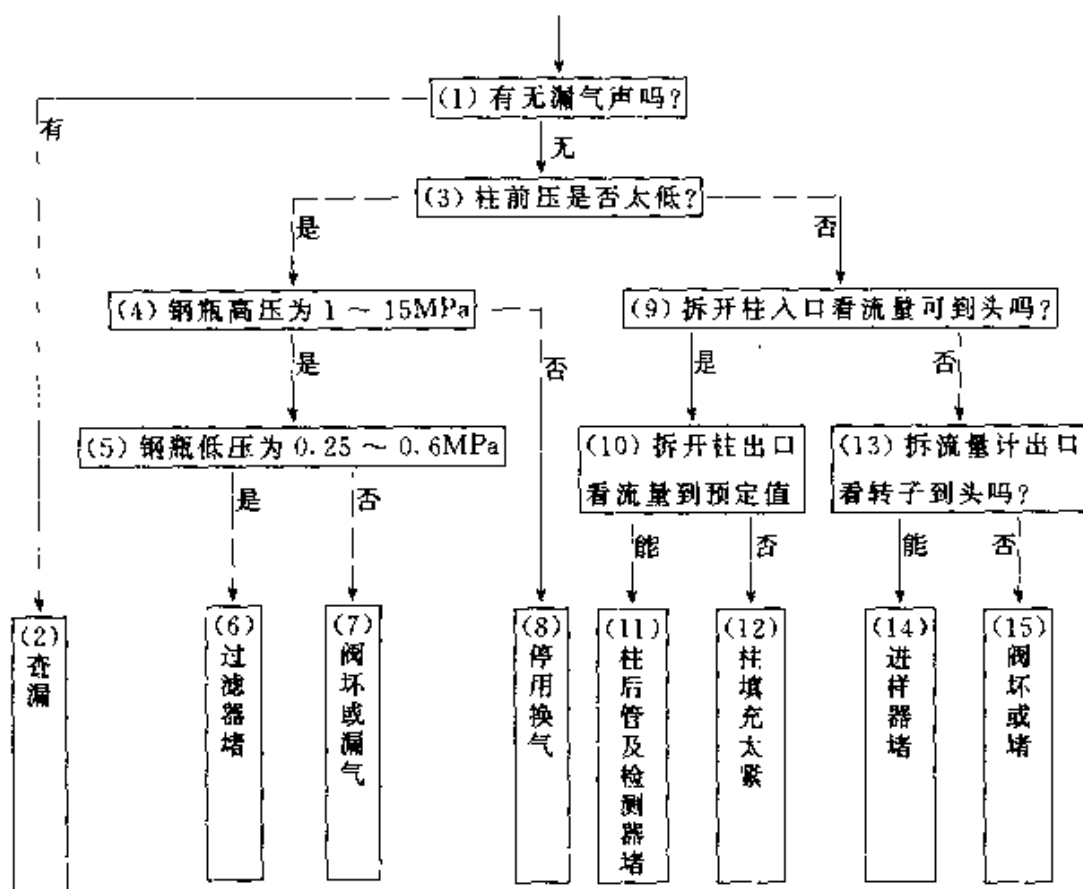


图 17-4 流量调不上去故障的检查与排除

法逐步进行排除（下面将按排序对图 17-4 加以说明）。

(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而逐步定位。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及损伤造成的。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1~15MPa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0.25~0.6MPa之间。如果正常,可怀疑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)来进行;如低压值不正常,则说明减压阀有问题,需进行(7)的修理。

(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,则说明过滤器不堵塞,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,但发生率甚小。

(7) 减压阀修理 在明了减压阀的结构之后,可拆卸修理减压阀。由于该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。有条件的,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 在钢瓶的压力太小时,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,这对高灵敏度的分析是特别不利的。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 将柱子入口处气接头拆下,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)作进一步检查;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一种故障。产生此类故障的原因有三种:第一,是流量计后气路有泄漏;第二,是气路气阻太小;第三,是流量控制阀件损坏。其检查方法如下:

首先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,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控制试验。

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故障。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。

由于造成该类故障的原因很少，因此可采用串级尝试法逐一加以检查。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漂动是很有用的。若柱温漂动，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。

第三节 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，说明系统有大漏！必须依据漏气声追查泄漏处，并加以排除。引起系统大漏的常见原因是：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而加以证实。

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，即可认为此气路 B 级试漏合格。如转子不能降到零，可用肥皂水在各接头处仔细观察。直到找到泄漏处为止。

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，不得在半小时之内有 5kPa（相当于 0.05kgf/cm²）以上的下降。此时系统压力应在 0.25MPa（相当于 2.5kgf/cm²）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连接头，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。后再将钢瓶高压阀打开，减压阀调到 $0.3\sim 0.6\text{MPa}$ ($3\sim 6\text{kgf/cm}^2$)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内应无可观察到的下降。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）对仪器内部气路作进一步检查。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，而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是值得一提的，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。

二、气路接头漏气故障的排除

在发现气路某接头有泄漏时，有的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。

第四节 部件的清洗

一、气路管路、进样器、注射器的清洗

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，这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插针疏通管路。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，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、面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*-二甲基酰

胺、甲醇、蒸馏水、丙酮、乙醚、氟里昂、石油醚、乙醇等。

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，对这些固态杂质可用不锈钢插针疏通，然后再用乙醇或丙酮冲洗。为了使清洗更彻底，可选用 $\varphi=2:1:4$ 的 $H_2SO_4/HNO_3/H_2O$ 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，装上仪器通载气半小时，加热到 $120^\circ C$ 待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，按原先测温点装回。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。

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注射器本身做一二次清洗。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。

二、检测器的清洗

在色谱仪操作过程中，检测器有时会被流失的固定相及样品中的高沸点成分、易分解或有腐蚀性的物质玷污。此时应对检测器进行清洗。清洗时可分三种情况，一种是玷污物质仅限于高沸点成分，通常可将检测器加热到最高使用温度后，再通入载气，即可清除。第二种情况是检测器仅存在程度较轻的玷污，此时可用蒸汽清洗的方法。过程是在进样口注入几十微升蒸馏水或丙酮等溶剂，待 $1\sim 2h$ 后，检查基线是否平稳即可。第三种情况是在上述两种简单方法不能解决问题时所采用的彻底清洗方法，此方法要求拆装检测器，同时还要选择适宜的溶剂，即所选择的溶剂，既要能溶解玷污物，又不对检测器造成新的污染和损坏。此外清洗过后的部件不要直接用手摸。

由于检测器的种类不同，清洗的方法也各有特点。现对常用的四种检测器的清洗过程介绍如下：

1. 热导检测器 (TCD) 的清洗

将丙酮、乙醚、十氢萘等溶剂装满检测器的测量池，浸泡一段时间（约 20min）后倾出，反复进行多次至所倾出的溶液比较干净为止。当选用一种溶剂不能洗净时，可根据玷污物的性质先选用高沸点溶剂进行浸泡清洗，然后再用低沸点溶剂反复清洗。洗净后，加热赶走溶剂，将检测器装回到仪器上，再加热通载气冲洗数小时后，即可使用。

2. 氢火焰离子化检测器 (FID) 的清洗

当 FID 玷污不太严重时，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联接起来，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 20 μ L 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 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。

当玷污比较严重时，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 300~400 号细砂纸打磨，再用适当溶剂（如 1:1 的甲醇与苯）进行浸泡。也可用超声波清洗器清洗，最后用甲醇洗净，放置于烘箱中烘干。注意勿用氟仿、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，否则会再度玷污。装入仪器后，先通载气半小时，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。

3. 电子捕获检测器 (ECD) 的清洗

首先，电子捕获检测器中有放射源，通常为 H^3 或 Ni^{63} ，因此要特别小心。

先拆开检测器，用镊子取下放射源箔片，然后用 $\varphi=2:1:4$ 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 H^3 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 Ni^{63} 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。清洗的方法是先用醋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。

4. 火焰光度检测器 (FPD) 的清洗

该检测器的清洗可分为火焰喷嘴部分与光路部分。光路部分连同散热片可整体从火焰喷嘴上面拆下；火焰喷嘴部分的清洗与 FID 清洗很相近。而光路部分的清洗如下所述：

火焰光度检测器具有高灵敏度响应的一种必要条件，是光路部分各光学部件的良好透光性。因此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。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。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将其包好。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。安装后的另一个注意事项是整个光路不能漏光。

三、流量计及阀件的清洗

转子流量计是气相色谱仪气路部分中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，然后用电热吹风机吹干。转子应注意不得接触有机溶剂，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，并将刚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。

第十八章 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。温度控制系统的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。由于温度控制电路比较复杂，元器件个数较多，而且有些器件的可靠性较差，因此对整个温度控制系统而言，其故障发生率相当高。按温度控制系统出现故障的次数计算，在整个气相色谱仪的故障当中，温控故障约占40%，作为色谱仪的使用者对此必须给予充分的注意。为了能及时排除温控系统出现的故障，首先应当对自己使用仪器的温控系统有相当的了解，并对各种故障排除的具体方法比较熟悉。

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，为最多，最普遍。

第一节 风扇电机系统

在气相色谱仪中，采用风扇电机系统来给色谱柱室鼓风，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。

1. 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供电电源脱掉；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。

排除该种故障的方法如图 18-1 所示：

- (1) 停电后转动电机试验；
- (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。

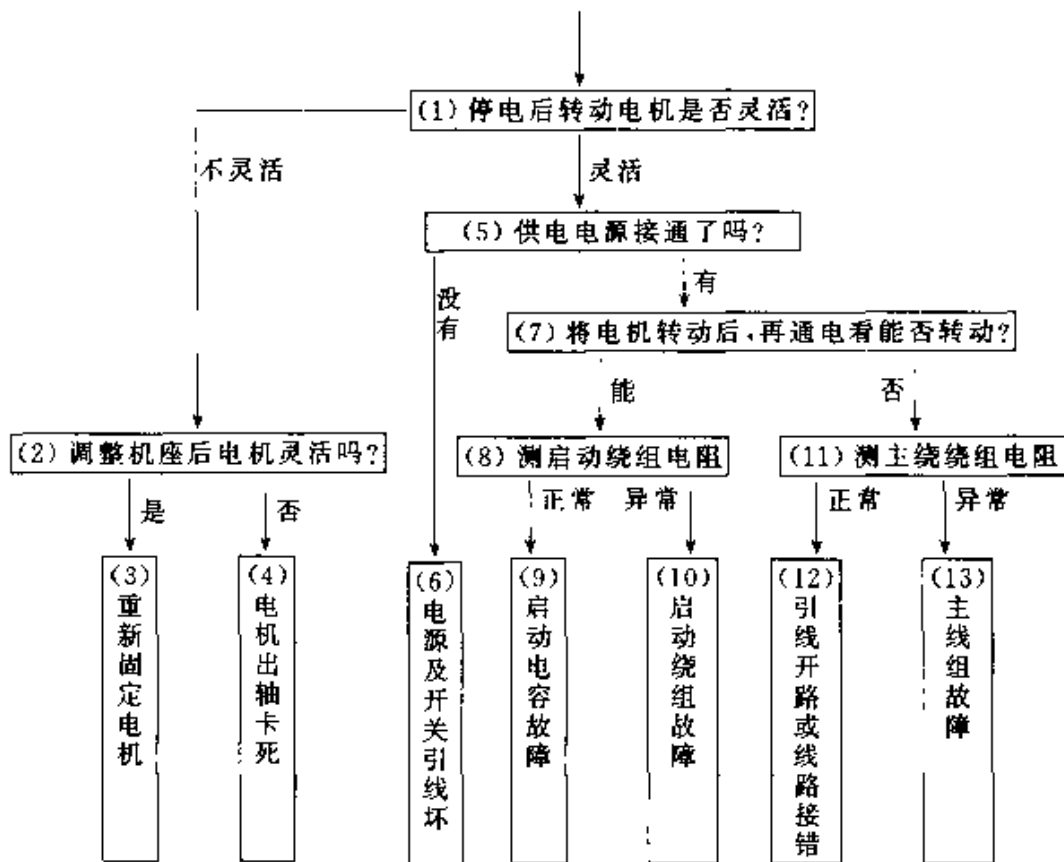


图 18-1 电机风扇不转动的故障检查与排除

2. 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电机引线因机振而接触不良。

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四种。下面将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如下几个：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柱温控板损坏；⑦温控单元内部引线断路。

排除上述故障的方法可按图 18-2 所给出的诊断程序进行。

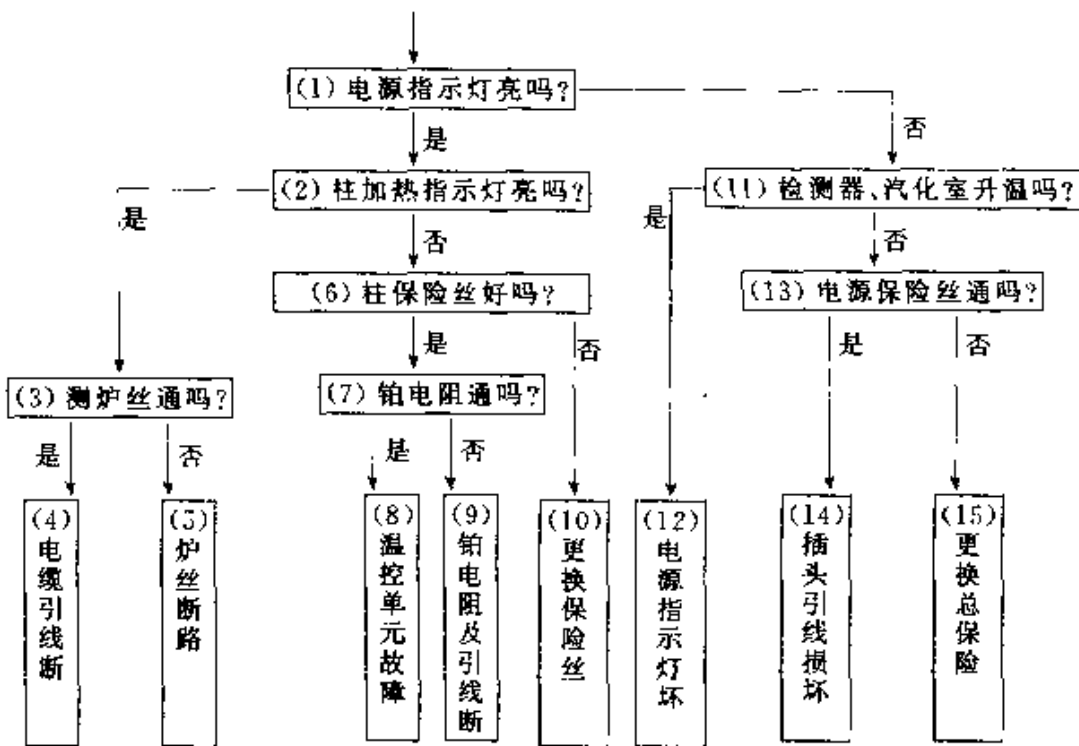


图 18-2 柱室不升温的故障检查与排除

详细步骤如下：

(1) 检查电源指示灯 如点亮，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，须清洁接插处插头、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。若测得阻值正常，须进一步检查温控单元内部电路。如果阻值太大或开路，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 18-3 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。

(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。随之再作柱升温操作，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作(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，须按(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) 铂电阻阻值测定。

(8) 铂电阻短路。

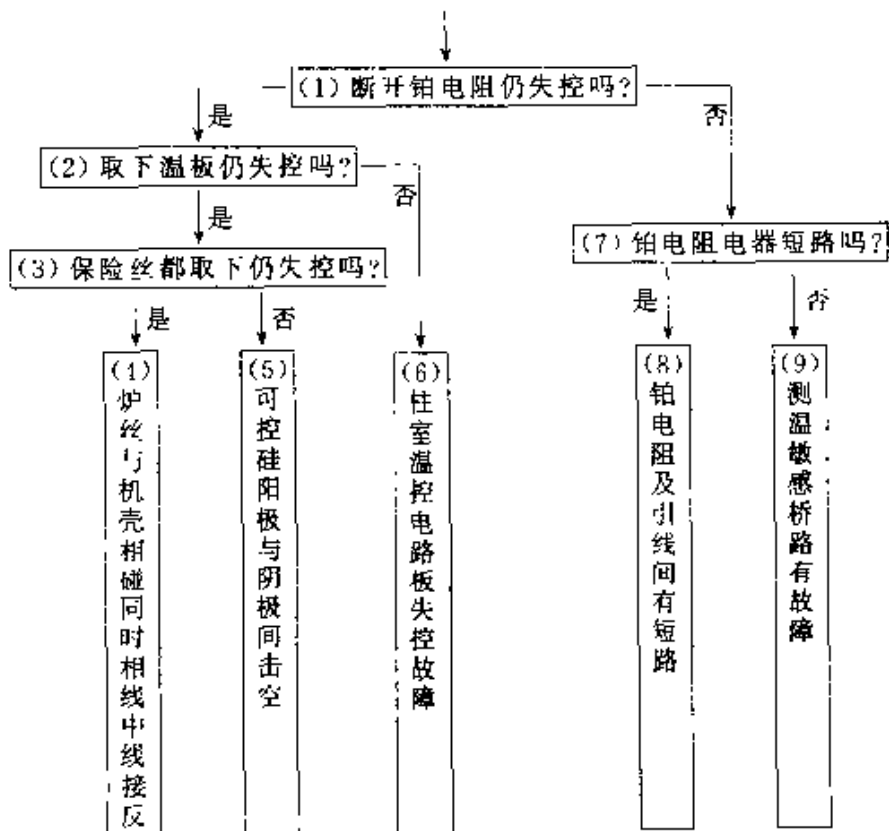


图 18-3 柱室温度失控故障的检查排除

(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，铝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下面几个：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。

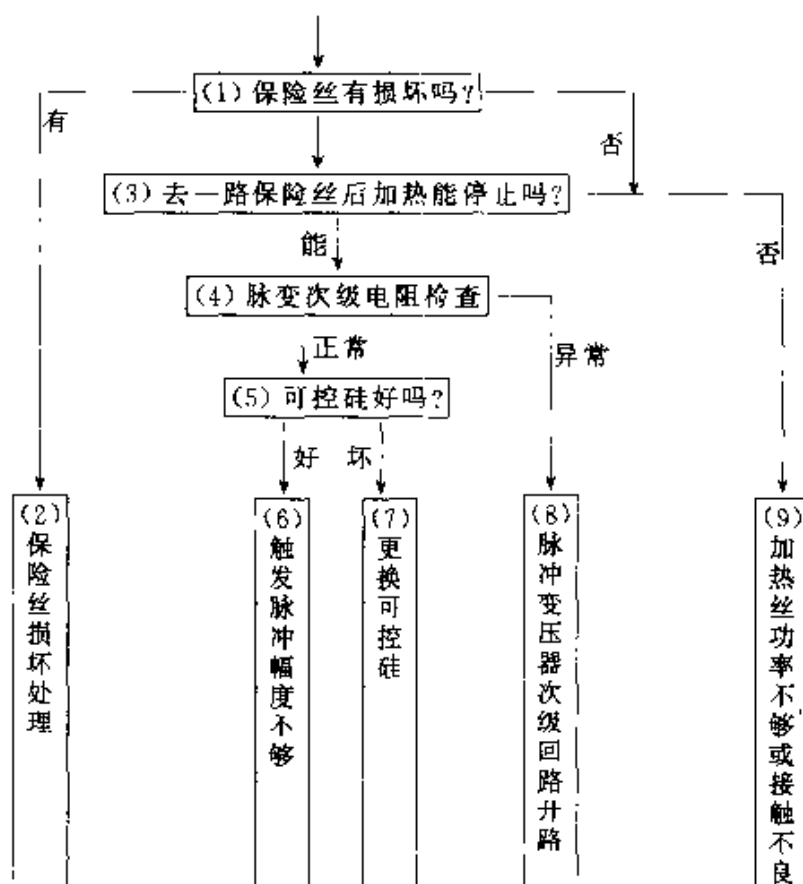


图 18-4 柱温升温慢故障的检查及排除

检查柱室升温慢且升不到高温的故障,可按图 18-4 所给出诊断图进行。

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,柱室温度应于设定值附近作微小的波动。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如下几个: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。

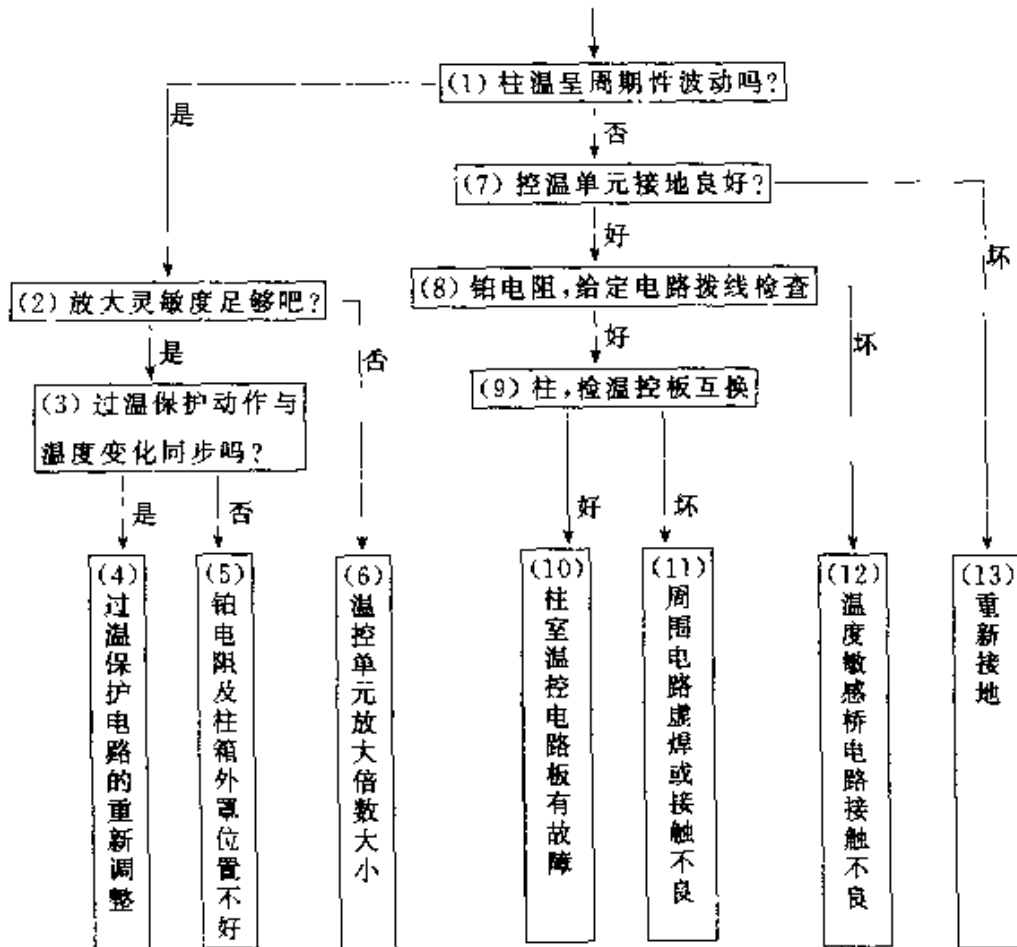


图 18-5 柱温不稳定的故障检查与排除

排除方法可按各个发生原因逐步尝试,也可按图 18-5 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。此时说明整个系统温控环节有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四种：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，可将相应的名字稍作改动，如“柱温”改换为“检测室温度”，其它语句不做改动即可。

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 $60\sim 400\text{C}$ 之间。汽化室温控部分所产生的故障有下面四种：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。下面将简述这四种故障的排除方法。

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，半小时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 18-6 所示。

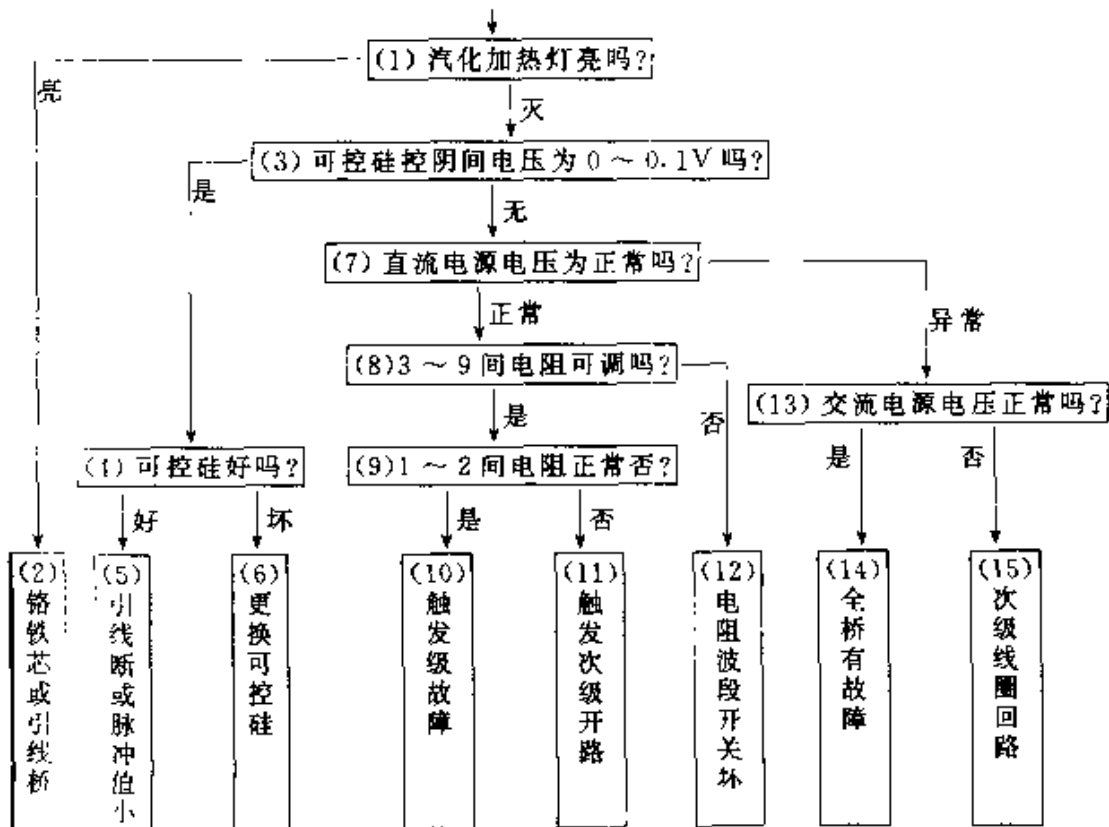


图 18-6 汽化室不升温的故障检查与排除

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比较少，因此可采用逐个尝试法来加以排除。

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℃ 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，就应考虑线路存有接触不良现象。

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 温度测量示值误差超常

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℃，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，因此有必要对查找此故障的方法作一介绍，检查故障的方法见图 18-7。

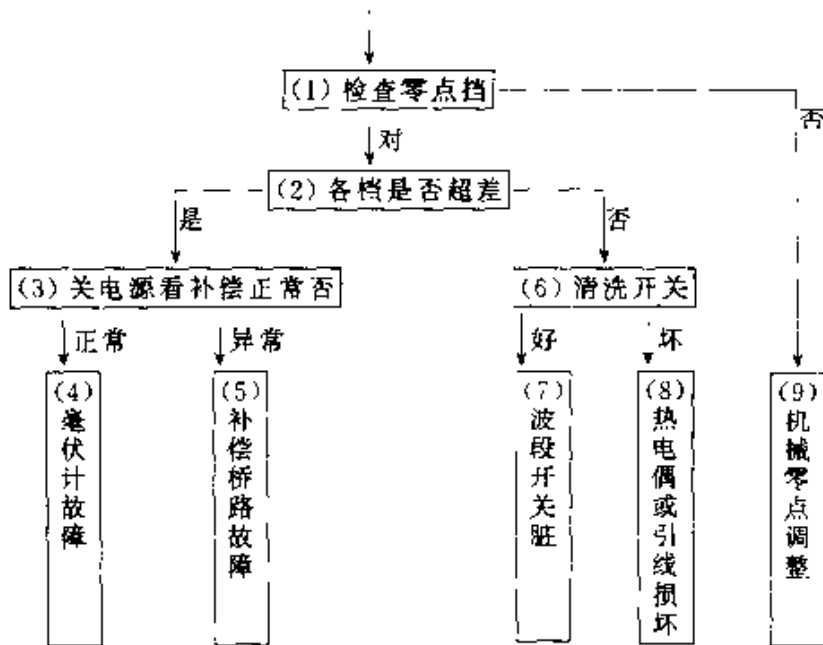


图 18-7 温度指示误差大的故障检查

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计，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后，看温度指示误差是否减小。
- (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。

第十九章 检测器的故障排除

本章将对热导、氢焰、电子捕获、火焰光度四种检测器预操作中所出现的问题加以介绍，指出其原因并提出相应的诊断及故障排除方法。

第一节 检测器简述

图 19-1 至图 19-4 分别为上述四种检测器的简单结构示意图。

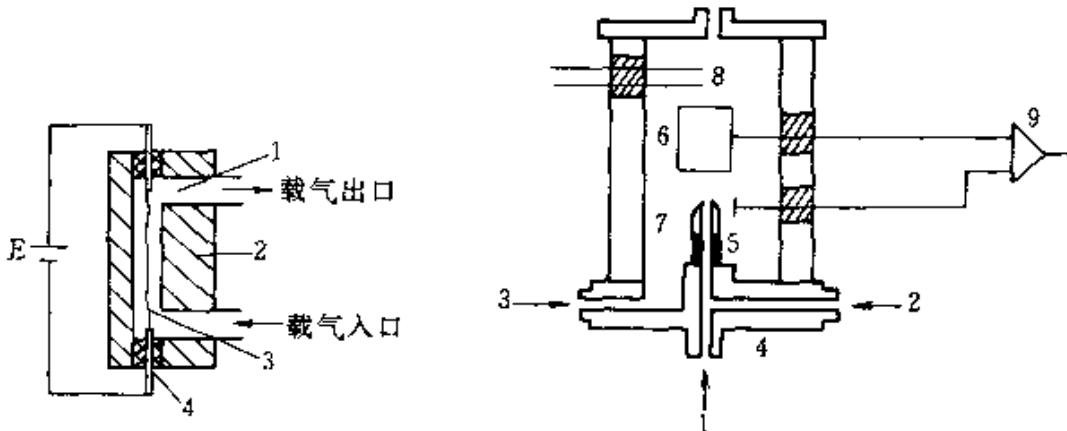


图 19-1 热导池检测器结构

1 池槽；2- 池体；3- 热丝；
4- 绝缘体

图 19-2 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

一、热导池检测器 (TCD)

热导池检测器 (图 19-1) 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上带走不同的热量，而引起其阻值变化。这种阻值变化可用电桥测量，故称之热导池检测器。它具有灵敏度高，线性范围广，稳定性好，响应速度快等优点。为目前最好的通用型色谱

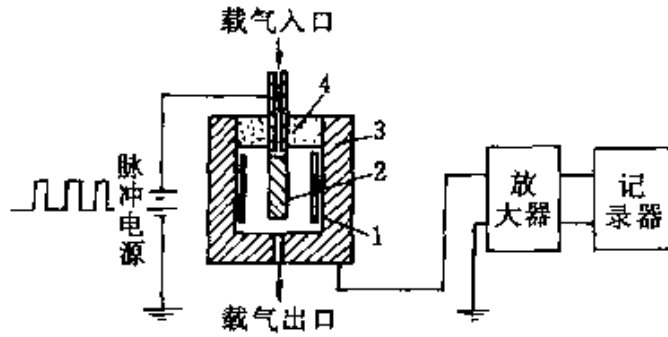


图 19-3 电子捕获检测器结构

1—放射源 (Ni⁶³)；2—阳极；3—阴极；4—绝缘体

检测器之一。

二、氢火焰离子化检测器 (FID)

氢火焰离子化检测器 (图 19-2)，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，线性范围广，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、比较理想的一种色谱检测器。

三、电子捕获检测器

(ECD)

电子捕获检测器 (图 19-3) 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具有电负性的物质，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

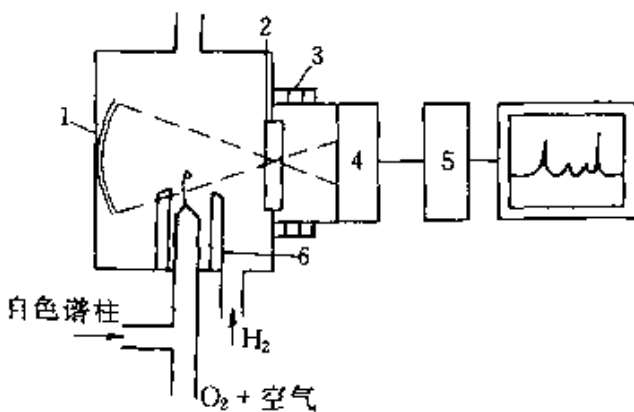


图 19-4 火焰光度检测器结构

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

卤或多硫化物的测定，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。

四、火焰光度检测器 (FPD)

火焰光度检测器 (图 19-4) 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。

第二节 故障的产生与解决

一、热导池检测器

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有下面几个：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桥路稳压电源有故障；④桥路配置电路断开或电流表有故障。

排除桥电流调节故障可按图 19-5 给出的方法进行：

(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有否断路的最充分判据。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测量正常数据。

(3) 稳压源输出测量 测量稳压电源输出电压的大小，可判定

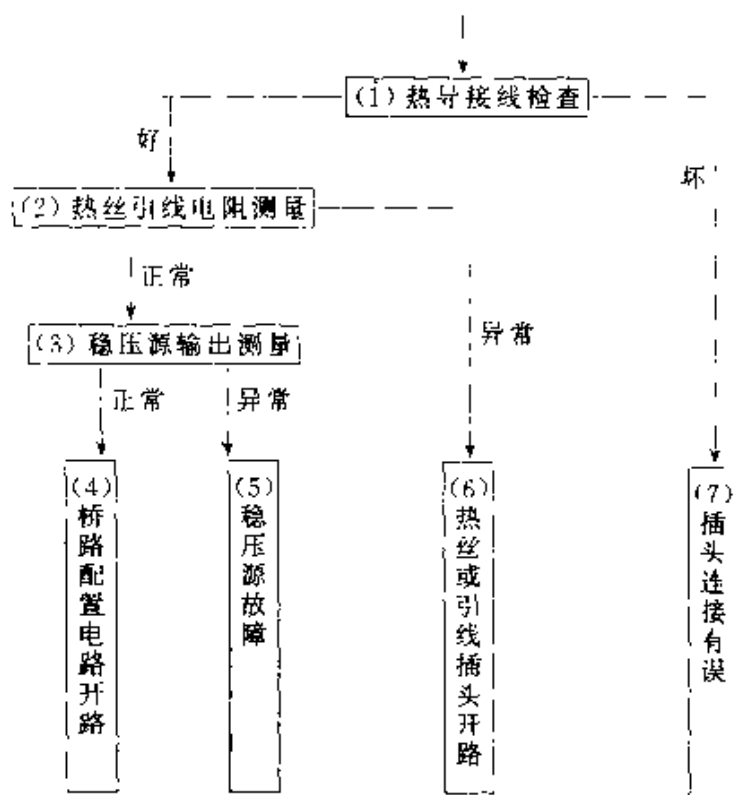


图 19-5 桥电流故障的检查与排除

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接线。要特别注意，不要把热导池引出的接线电缆误接到氢焰的极化电压上，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下述几个：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。

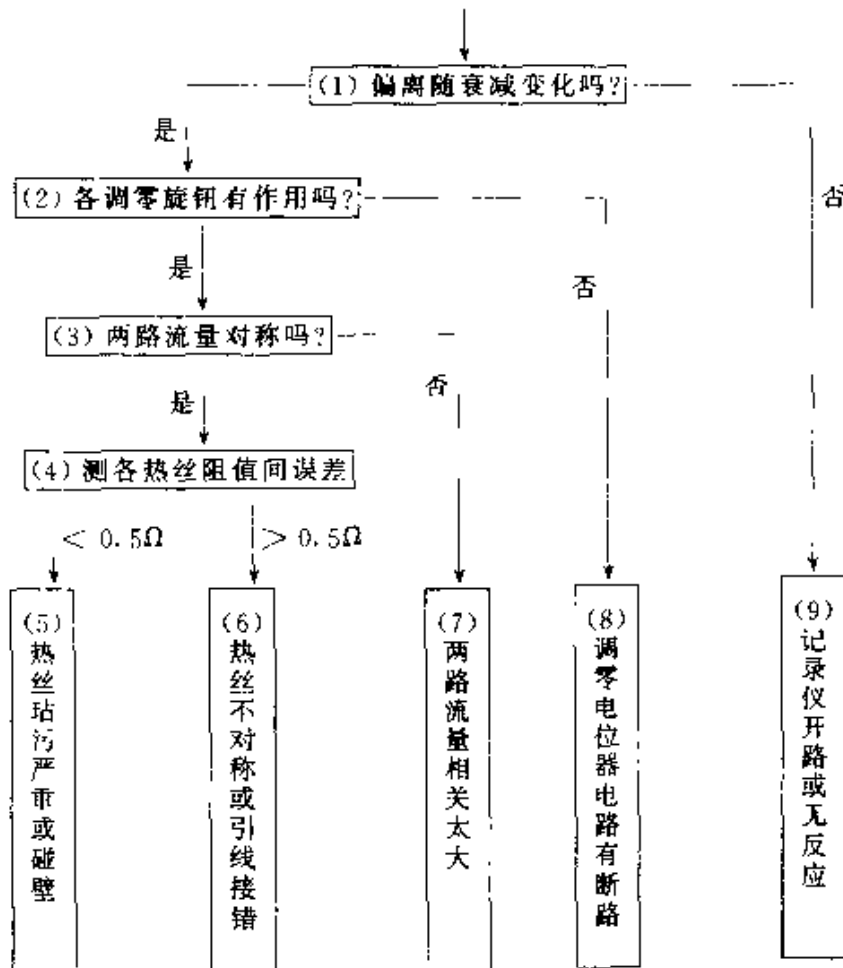


图 19-6 热导检测器调零故障的检查与排除

排除热导不能调零故障，可按图 19-6 给出的方法进行：

(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) 热丝阻值间误差检查 对热导池各级热丝引出端插座进行电阻阻值测量。一般说来，各组热丝之间阻值的差值不应超过 0.2~

0.5Ω, 如超出此值, 应按(6)处理。

(5) 热丝碰壁或玷污 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。热丝的严重玷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0.5~3Ω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阻值最大者与最小者搭配成一组, 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阻值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联接。正确的接法是四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 19-7、图 19-8 及图 19-9 所列的程序检查及排除故障：

(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，那么这些不稳因素将不会影响或很少影响基线的稳定性。

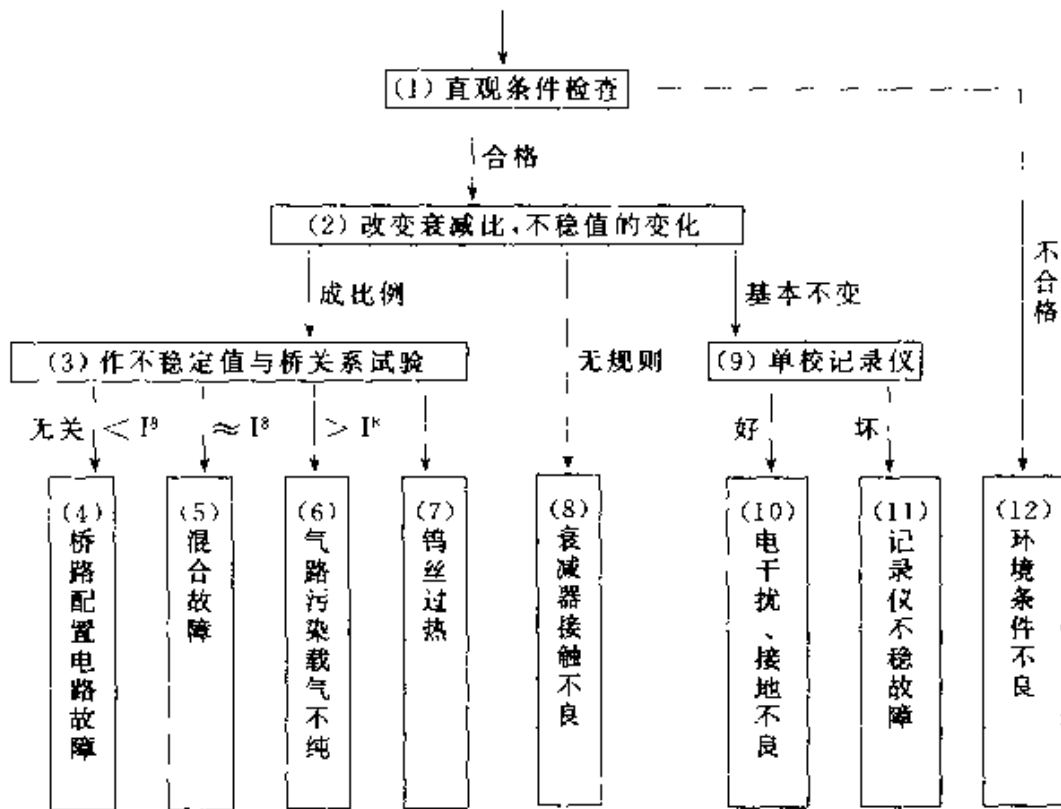


图 19-7 TCD 基线不稳故障的检查与排除

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例。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(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而成比例变化。如果桥流降到原来的 $1/2$ ，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方还要快，此时可判定为钨丝过热故障。如果桥流下降 $1/2$ 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。

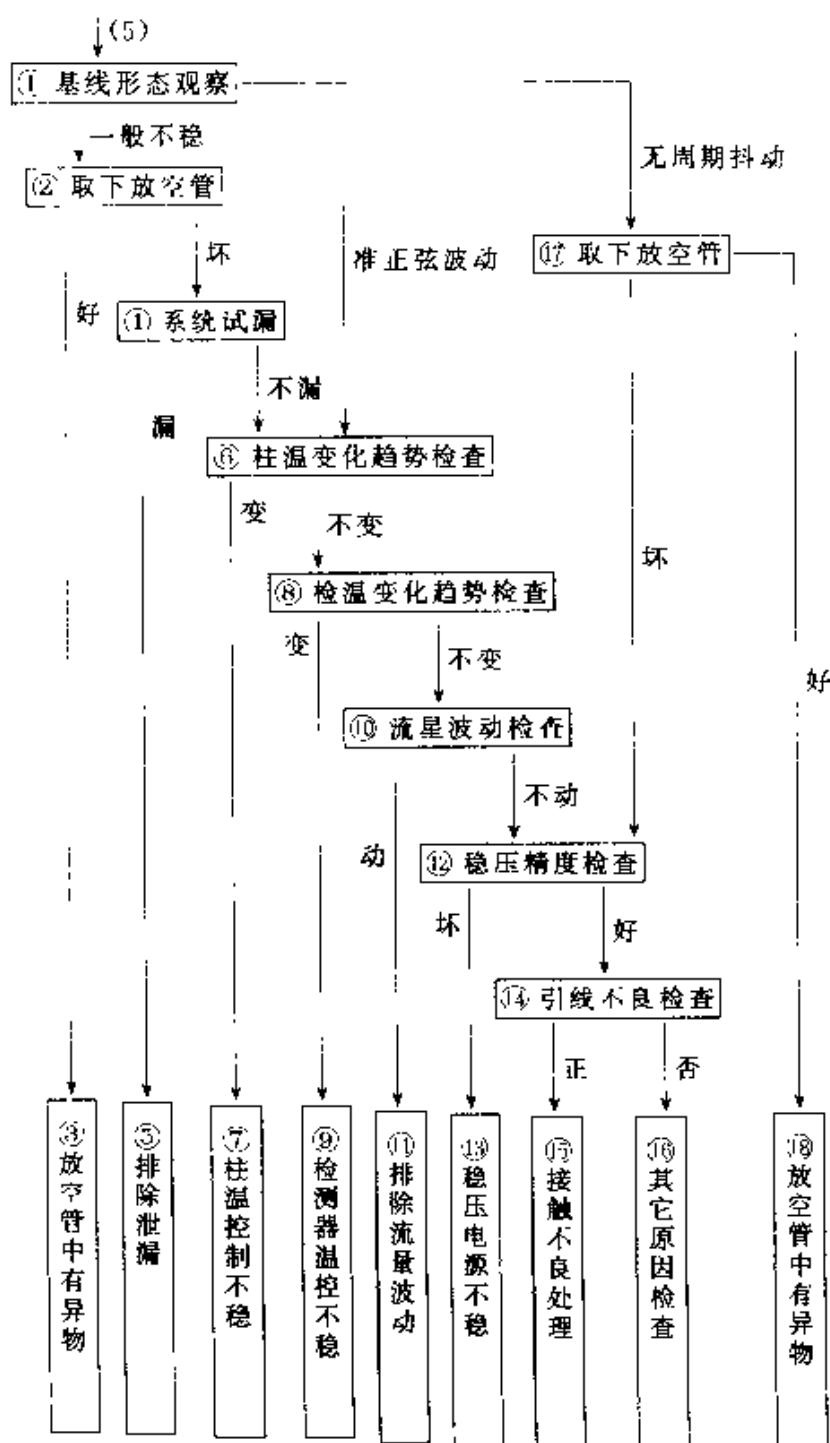


图 19-8 TCD 混合故障 (5) 的检查与排除

作为一种可能, 当桥电流下降一半时, 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 (小于原来的一半), 可判定为桥路配置电路有故障。

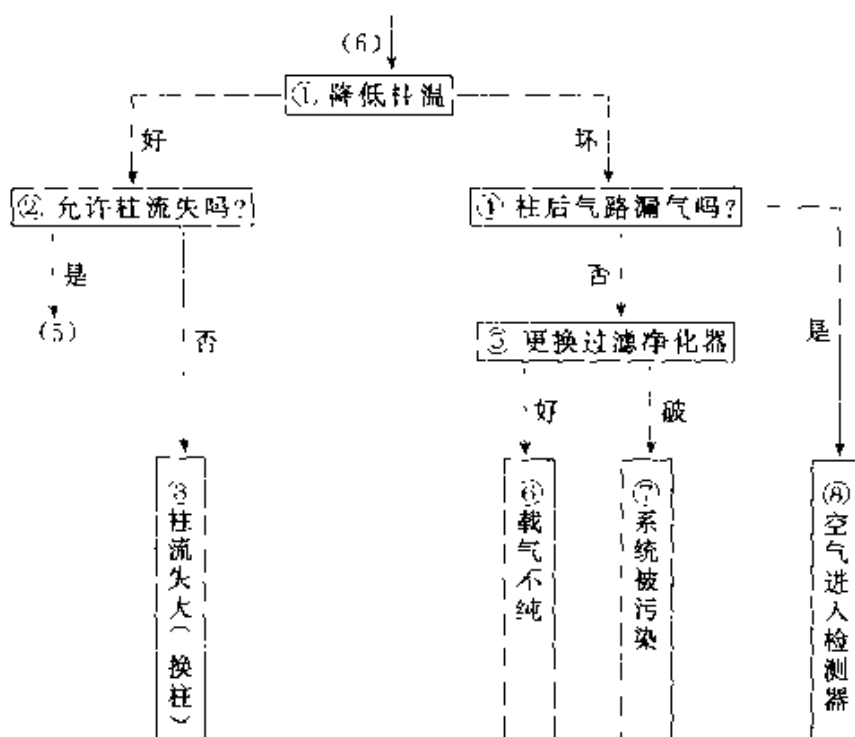


图 19-9 TCD 气流污染故障 (6) 的检查与排除

在增加桥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“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, 而且气流污染愈严重, 上述变化对基线的影响愈显著, 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连, 应首先解决气流污染方面的问题, 然后再着手处理温度、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。图 19-8 是为满足这一要求而设立的程序。

(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,而且更为普遍的是在气路中不干净条件下,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。

本步骤是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三种,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之(详见图 19-9 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℃ 以上条件下,注入几针蒸馏水作清洗试验(每针进水量可在 10~20 μ 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了。

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，说明载气纯度不够，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而使用。但是这样会影响过滤、净化器的使用期限，而且气源所含杂质愈多，过滤、净化器可使用的期限愈短。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射清洗。方法是使整个系统升温到150℃以上，再在进样器多次用注射器注入10~20 μ 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。

二、氢火焰离子化检测器

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有以下几个：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。

该故障的诊断、排除方法分别如图 19-10 及图 19-11 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。

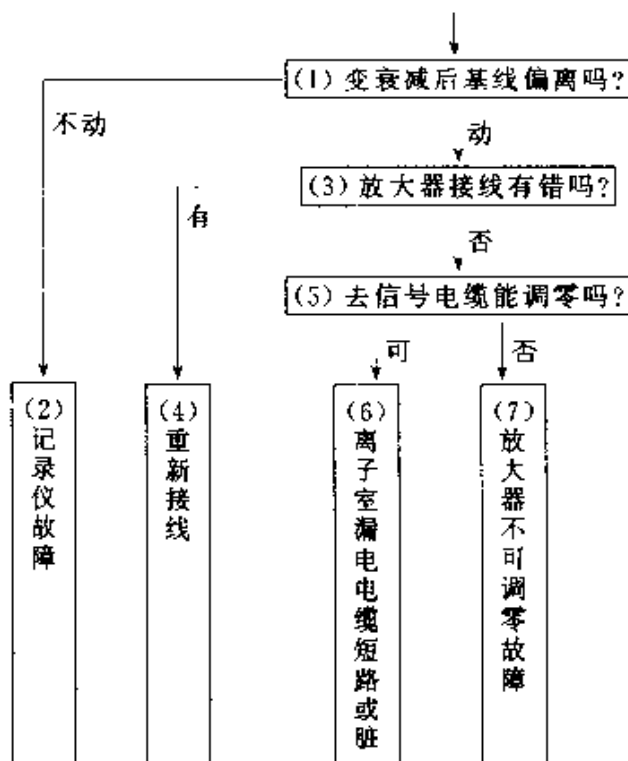


图 19-10 FID 点火前不可调零的故障检查与排除

(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三部分，各步骤的检查情况如图 19-11 所示。

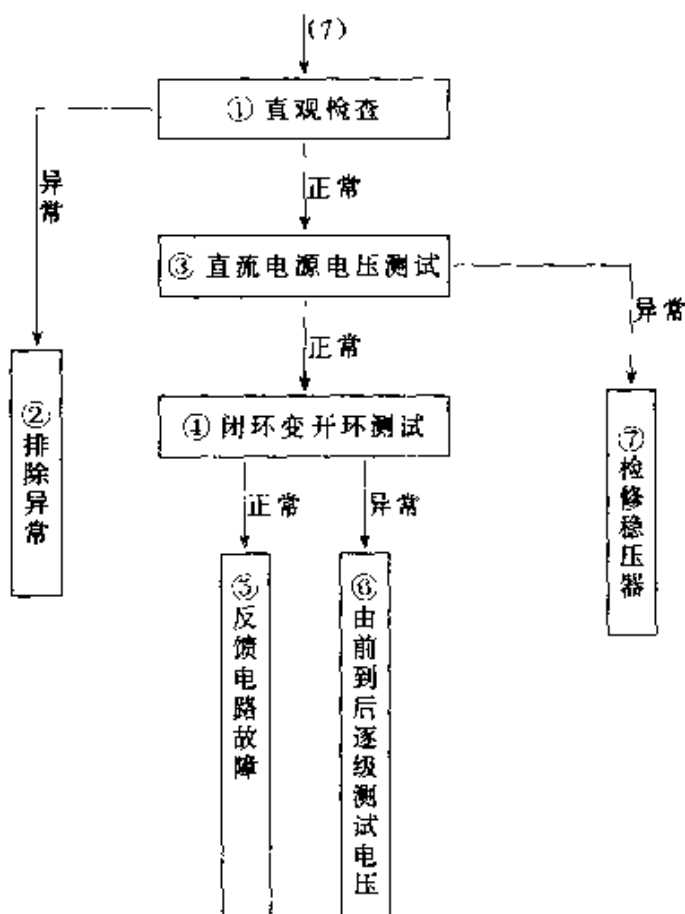


图 19-11 放大器不可调零的故障检查和排除

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。

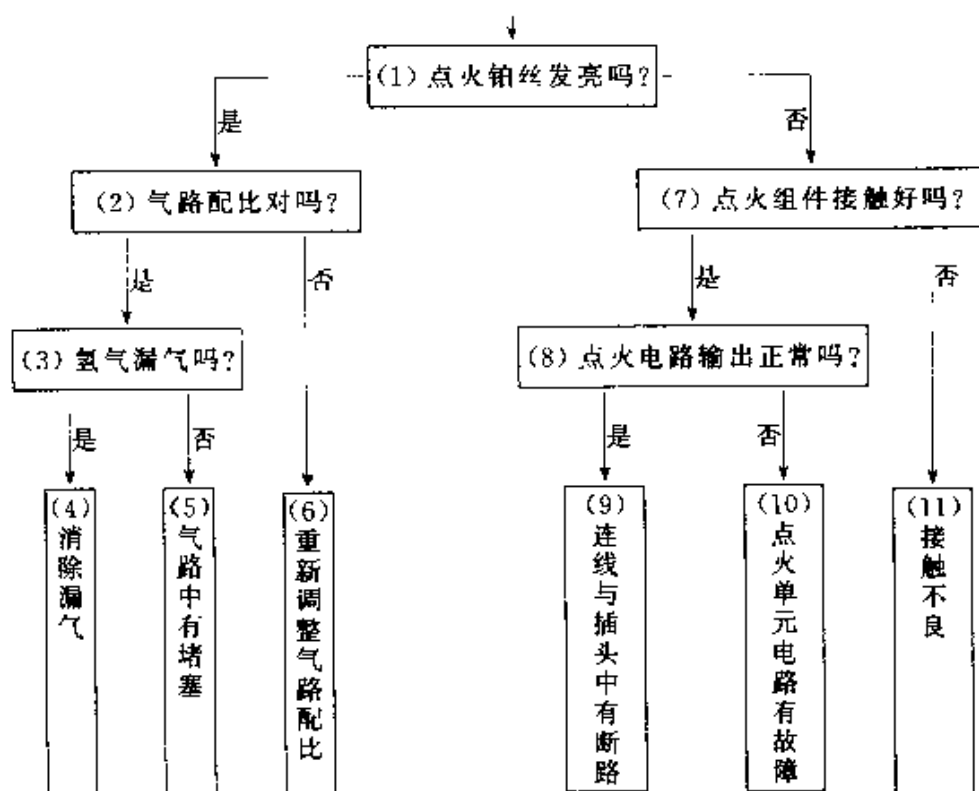


图 19-12 不能点火的故障检查与排除

不能点火故障具体可按图 19-12 给出的方法检查排除：

(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)作进一步检查。

(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给予注意，那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 19-13 所给的检查诊断方法进行，过程

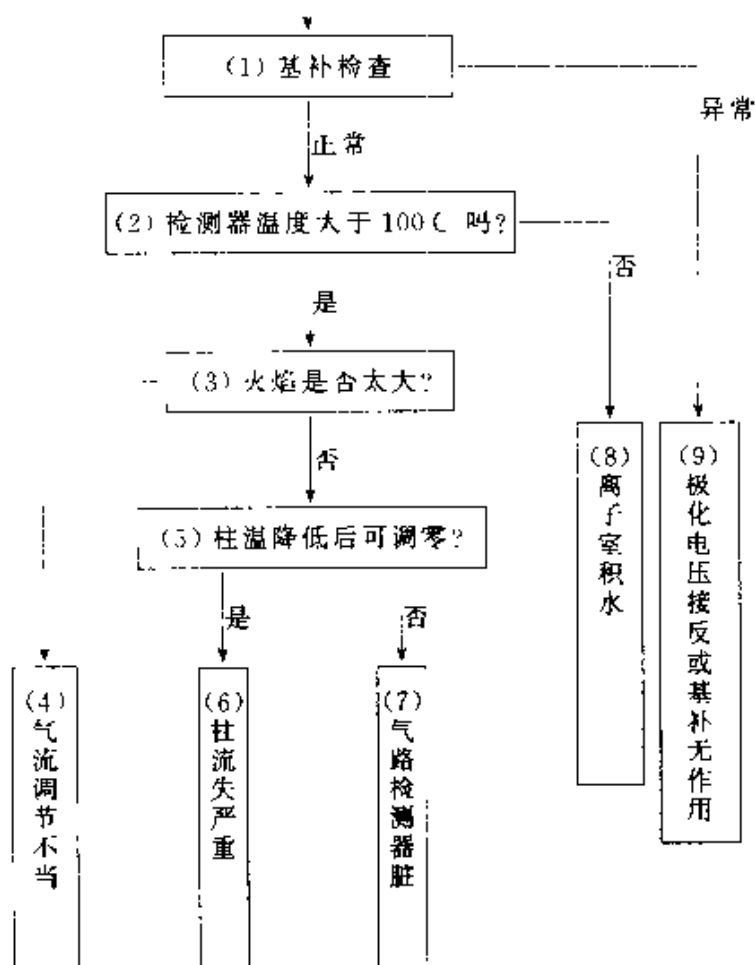


图 19-13 点火后不能调零的故障检查与排除

如下：

(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同向，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℃，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℃ 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℃ 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, 烘干后再行正常点火操作。

(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有否开路 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, 首先要使色谱仪要有一个稳定、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, 往往还要着手分析和解决引起基线不稳定的各种因素和作用原因。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 19-14 和图 19-15。

(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

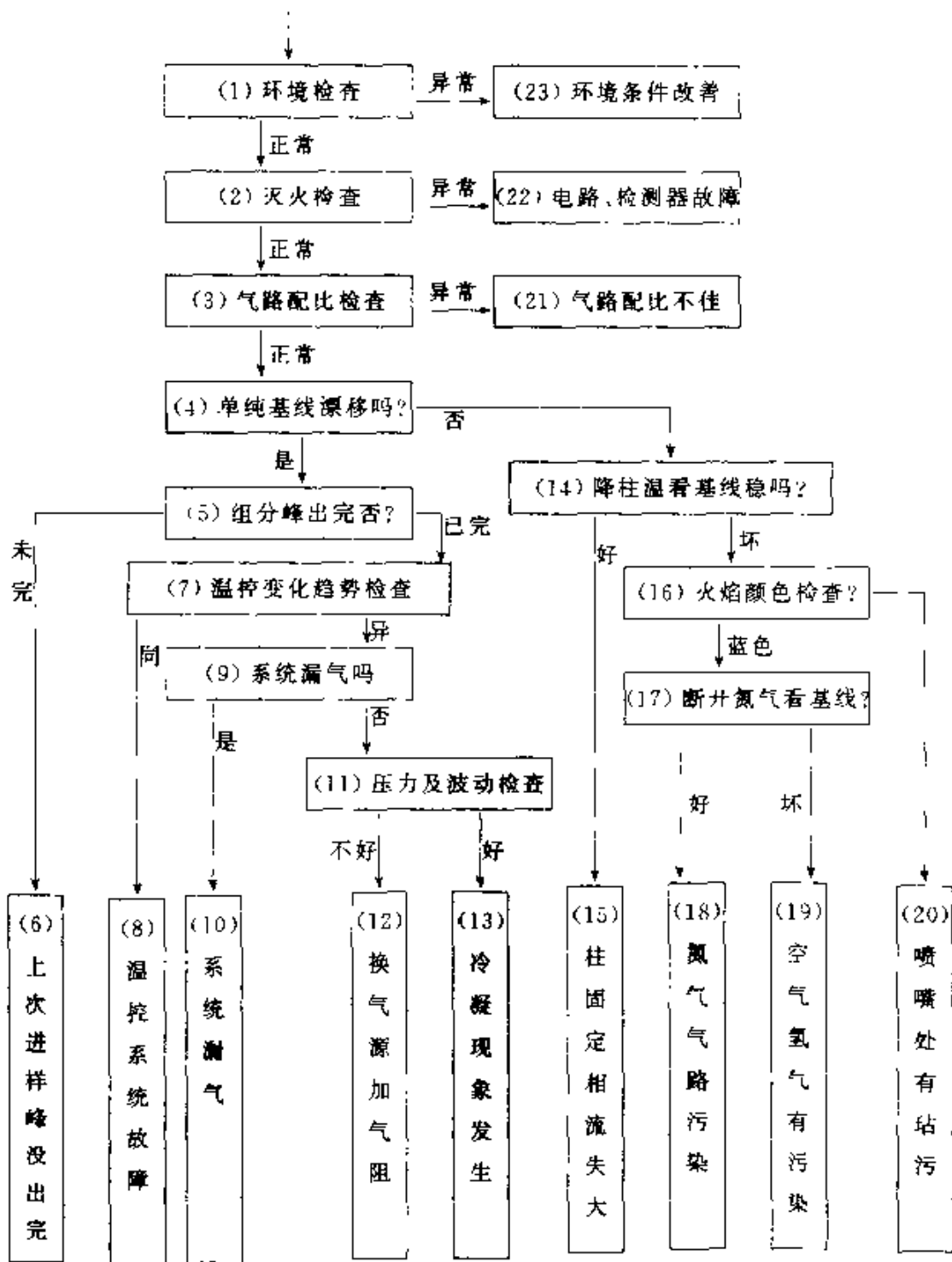


图 19-14 FID 基线不稳的故障检查与排除

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

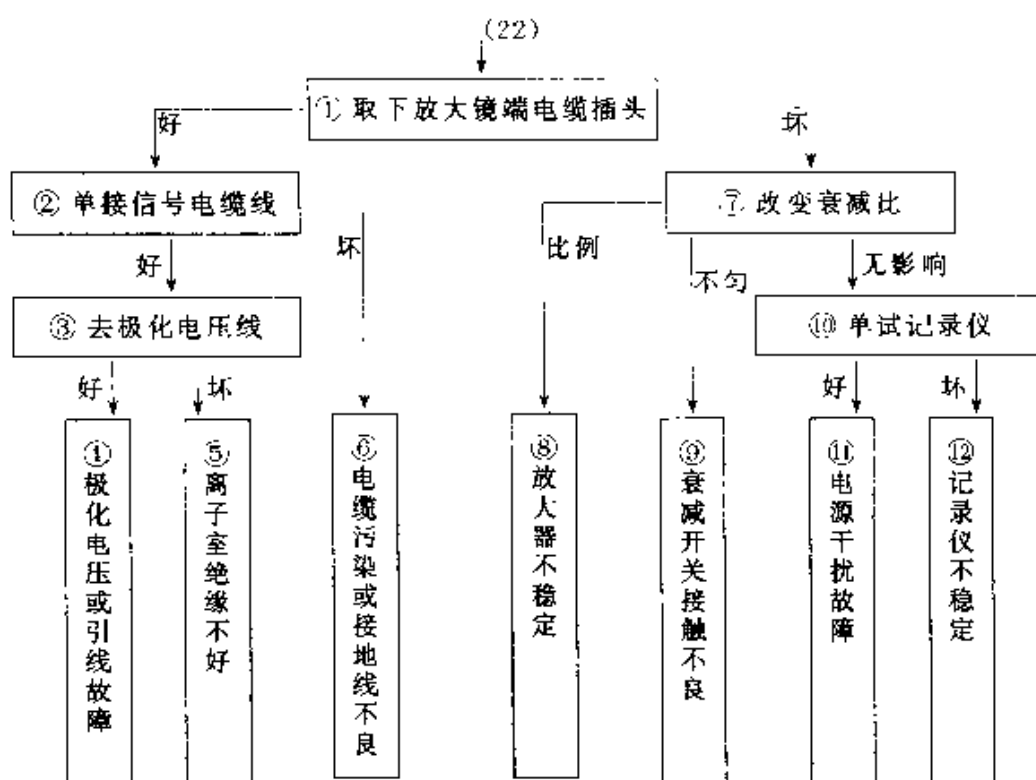


图 19-15 FID 电路不稳定的故障检查与排除

(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。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; 如温度没有可观察到的变化, 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,则认为火焰有玷污。

(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而实现。如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) 喷嘴玷污 一般说来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玷污了。当喷嘴表面有有机物覆盖时,火焰一点燃,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破裂,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)的检查。

(22) 电路、检测器不稳故障检查与故障排除,见图19-15。

(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时,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。

三、电子捕获检测器

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。

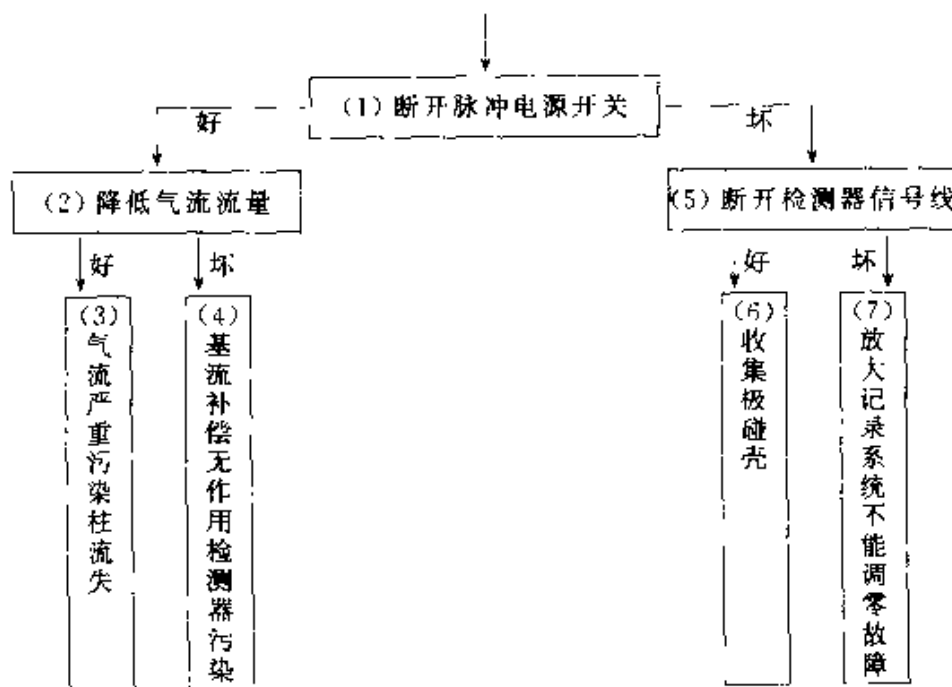


图 19-16 ECD 不能调零故障的检查与排除

电子捕获系统不能调零故障的检查、排除方法如图 19-16 所示，步骤如下：

(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，系统就可以调零的话，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。对于载气或清洗气的不纯，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，其方法已在检测器的清洗一节中说明。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，检查绝缘垫片是否玷污，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；
- ⑩ 放射源被污染；
- ⑪ 脉冲电源不稳定；
- ⑫ 放射室电极间绝缘不好；
- ⑬ 微电流放大器不稳定。

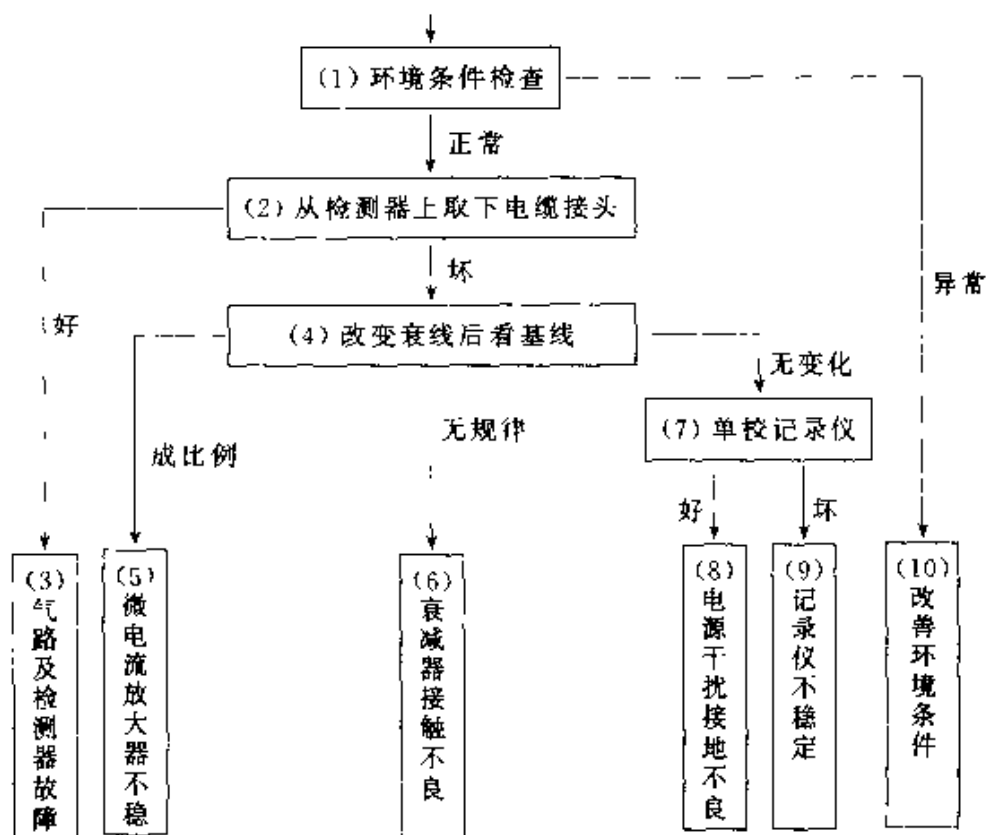


图 19-17 ECD 基线不稳故障的检查与排除

ECD 的基线不稳定故障可依照图 19-17 和图 19-18 所给的顺序检查排除，过程如下：

(1)环境条件检查 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用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)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,说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 19-18 所示。

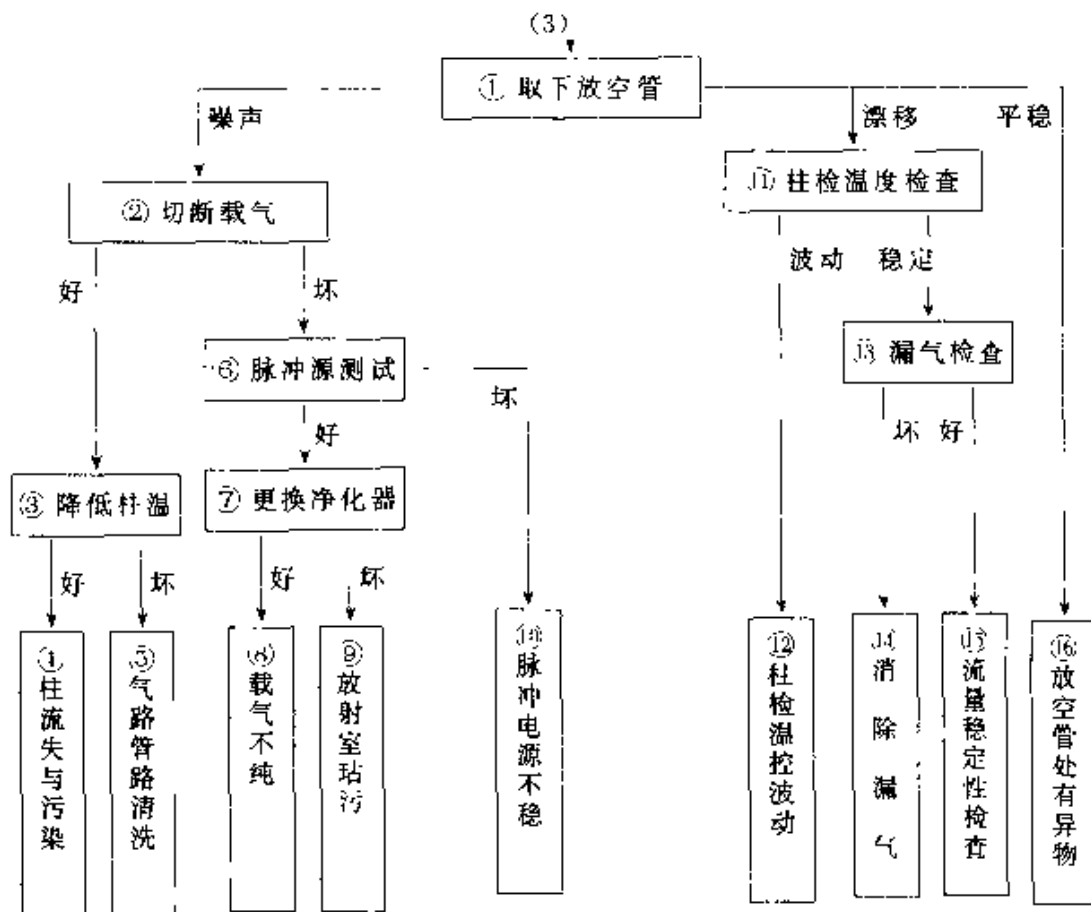


图 19-18 ECD 气路及检测器故障的检查与排除

(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档改变的影响，或者虽有变化但无显著的呈比例改变，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 取下放大器输入端信号电缆观察基线情况，如基线仍不稳定的话，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 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。

四、火焰光度检测器

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，其中主要的不同点是气路的配比差别较大。由于火焰光度检测器上的火焰为富氢焰（对双火焰检测器说来，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氢火焰离子化系统中氢氮比的3~5倍以上。为了确保火焰呈富氢状态，空气的流量也比氢火焰检测器中的小。这些特点在排除不能点火故障时需引起注意。下面给出测硫和测磷时各气路流量的配比情况，测硫时氢气流量为50~70mL/min，氮气流量为100mL/min，空气流量为130~150mL/min；测磷时氢气流量为160~180mL/min，氮气流量为40~80mL/min，空气流量为130~150mL/min。

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；系统严重玷污；基流补偿电路方向不对或失控。

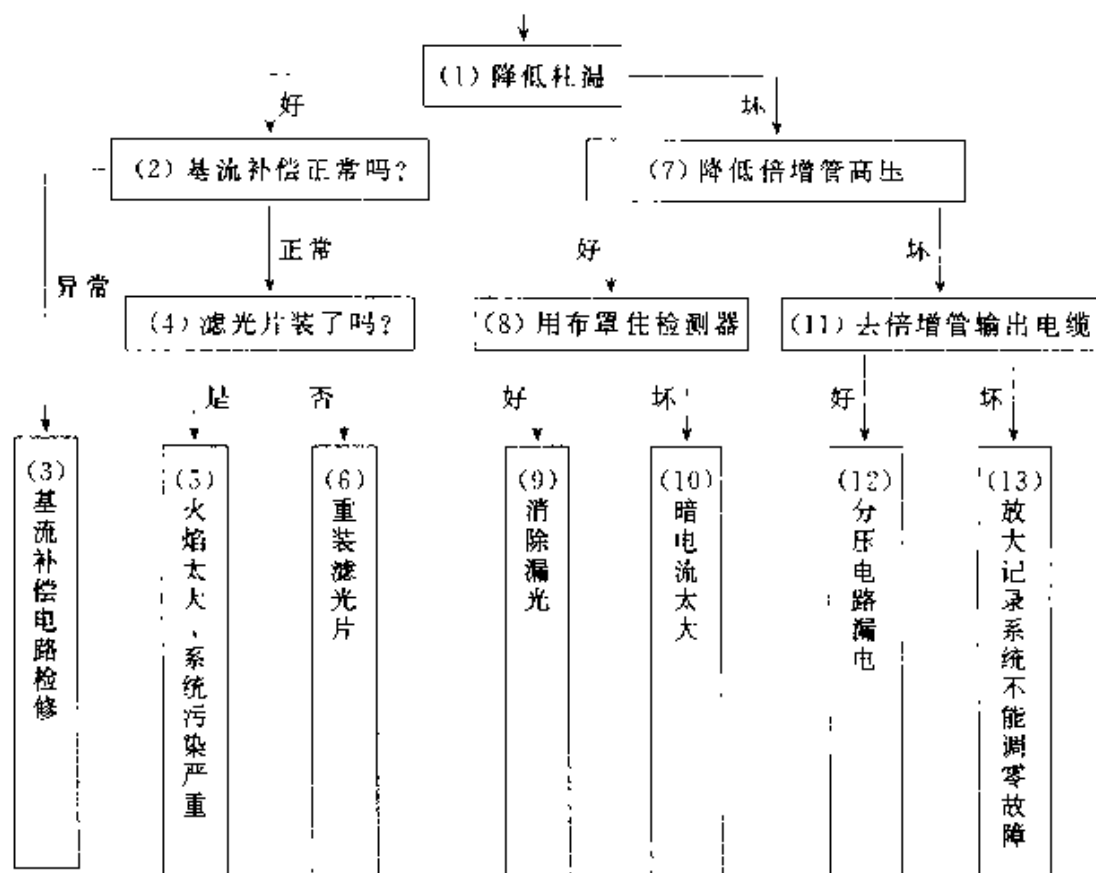


图 19-19 FPD 不能调零故障的检查与排除

该系统不能调零故障的检查排除方法如图 19-19 所示，详述如下：

(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、光电倍增级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

基线不稳故障排除 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谱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：

- ① 气源不纯，含烃类、硫、磷杂质；
- ② 色谱柱没老化好；
- ③ 管路中有污染物；
- ④ 光电倍增管暗电流太大；
- ⑤ 负高压电源波动；

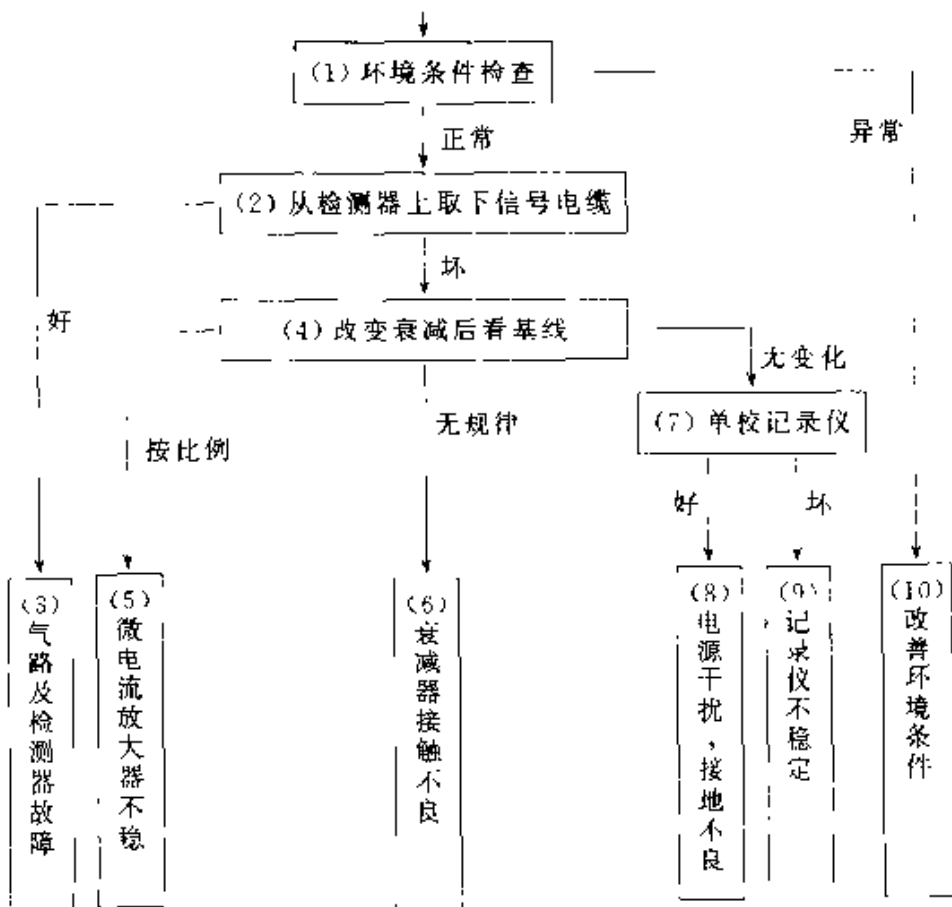


图 19-20 FPD 基线不稳故障的检查与排除

- ⑥ 系统有漏光，遮光罩没装上；
- ⑦ 信号电缆接触不良，仪器接地不良；
- ⑧ 记录仪不稳定；
- ⑨ 微电流放大器不稳定；
- ⑩ 光电倍增管分压电阻受潮或变质；
- ⑪ 空气流量太大；
- ⑫ 水蒸气在滤光片区冷凝；
- ⑬ 气路配比不佳，火焰不稳定。

FPD 基线不稳故障的排除方法可按照图 19-20、图 19-21 所给出的顺序进行：

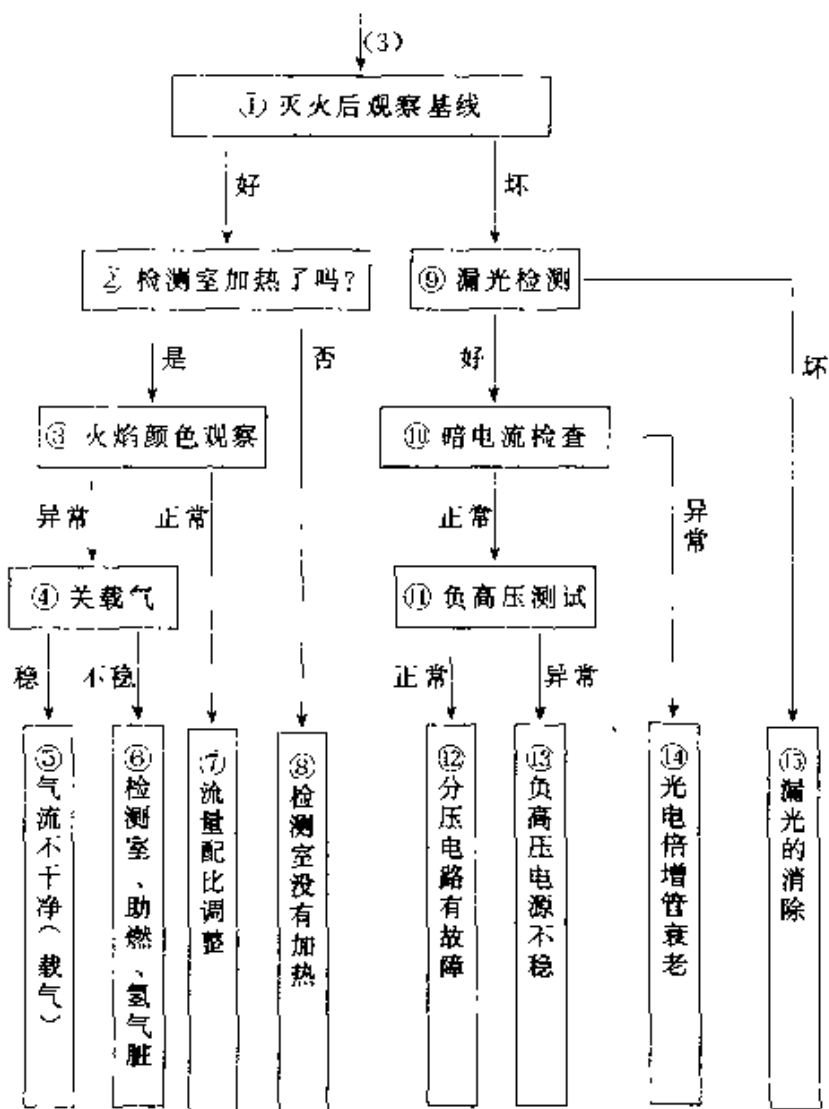


图 19-21 FPD 气路及检测器故障的检查与排除

(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、检测器室以及检测器的配置电路。其检查、排除法方法见图 19-21 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，对火焰光度检测器说来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，可移动鼓风源（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。

第二十章 保留时间不重复、灵敏度降低 与定量重复性差

第一节 谱带拖尾、峰畸变及保留时间不重复

在色谱仪的图形故障当中有两种故障对色谱仪的定性分析有很大影响，一种是峰形畸变，另一种是保留时间不重复。

关于谱带拖尾与峰形畸变，它的确切定义与本书第十三章“分离问题”中解释的一样，并已在第十六章故障排除表中有了说明，除指出其可能原因外，还给出了相应的检查与排除方法。

保留时间的重复性是指三次或五次进同一样品，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。

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。而检测器的故障不会造成保留时间的不重复。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。

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。在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。必要时要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。对于恒温分析来说，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。对于程序升温来说，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 2mL/s （当柱内径为 4mm 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合乎要求。系统漏气不论对程序升温色谱，还是恒温色谱说来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产生的，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。

第二节 不出峰与灵敏度降低

在选定的操作条件下，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作不出峰故障，如果虽然

出峰，但大小却与原先的已知谱图相差甚大，则被视为**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**。根据这一概念，不论是不出峰或灵敏度太低故障都是相对于已知给定操作条件而言，因此应首先检查其预定操作条件后才能加以证实。

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，以较简洁的形式解决两者的故障排除问题。

检修不出峰和灵敏度太低故障的步骤如下：

(1) 操作条件重复性检查 首先应核实操作条件是否与原已知条件相接近；这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，应当努力使操作值与原给定值接近，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塞试验：具体作法是先用手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起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：具体作法是，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没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，则是其他原因所致。

(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。现分述如下。

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预定的范围之内，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。

① 对于火焰光度检测器，不出峰或出峰灵敏度小的原因共有如下几种：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。

第三节 定量重复性差

定量重复性差的定义与描述已在本书第十四章中有了比较详细的介绍，本节主要对于气相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。

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发现；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。属于第一类型故障的原因，主要是：进样技术不佳，注射器有堵漏，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，检测器玷污、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。

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，制定出下述检测方案：

(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，取样到进样期间的空闲时间，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玷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发现时才转入接下的检查步骤。

(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, 出峰保留时间是否重复, 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 对有些检测器而言, 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 FID 来说, 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 150~300V。如极化电压正常, 则应转入放大器的灵敏挡观察氢焰基始电流的变动情况, 在氢气流不稳定时基流应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而加以消除。

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。

主要参考文献

- 1 John W. Dolan, Lloyd R. Snyder, Troubleshooting LC System, Clifton, New Jersey. The Human Press Inc. , 1989
- 2 John. N. Done, John. H. Knox. Applications of High-speed Liquid Chromatography, London. The Gresham Press. 1980
- 3 R. E. Kaiser and E. Oelrich, Optimization in HPLC. New York. Heidelberg Basel Press. 1981
- 4 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1998
- 5 王化正, 李玉生. 分析仪器检修指南. 北京: 中国石化出版社, 1994
- 6 袁倚盛. HPLC系统的故障排除. 天津: 南开大学出版社, 1991
- 7 周申范, 宋敬埔, 王乃岩. 色谱理论及应用. 北京: 北京理工大学出版社, 1994
- 8 [美] L. R 斯奈德, J. J 柯克兰. 现代液相色谱法导论. 第二版. 陈新民, 高虹译. 北京: 化学工业出版社, 1988
- 9 [美] L. R 斯奈德, J. J 柯克兰等. 现代液相色谱法的建立. 王杰, 赵岚峰等译. 北京: 科学出版社, 1998
- 10 [英] C. F. 辛普森. 实用高效液相色谱法. 许征帆译, 周同惠校. 北京: 中国建筑工业出版社, 1981
- 11 [美] P. P. W. Scott. 现代液相色谱. 李玲颖等译. 天津: 南开大学出版社, 1992
- 12 王连生, 支正良, 高松亭. 分子结构与色谱保留. 北京: 化学工业出版社, 1994
- 13 孙毓庆, 王延琼. 现代色谱法及其在医药中的应用. 北京: 人民卫生出版社, 1998
- 14 赵敏, 吴方迪. JJG705—90 实验室液相色谱仪检定规程. 北京: 中国计量出版社, 1990
- 15 金美兰, 徐蓓. JJG700—1998 气相色谱仪检定规程. 北京: 中国计量出版社, 1998
- 16 ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO/IEC 1999
- 17 GB9008 88. 液相色谱法术语. 北京: 中国标准出版社, 1989
- 18 GB4946—85. 气相色谱法术语. 北京: 中国标准出版社, 1985
- 19 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
- 20 傅若农, 顾俊岭. 近代色谱分析. 北京: 国防工业出版社, 1998
- 21 顾蕙祥, 阎宝石. 气相色谱实用手册. 北京: 化学工业出版社, 1990
- 22 J. Q. Walker, M. T. Jr. J. B. Maynard, Chromatographic Systems Maintenance and Troubleshooting, Academic Press Inc. , 1977
- 23 刘仲明. 气相色谱仪维修技术. 北京: 化学工业出版社, 1990
- 24 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
- 25 孙传经. 气相色谱分析原理与技术. 北京: 化学工业出版社, 1993
- 26 孙传经. 毛细管色谱法. 北京: 化学工业出版社, 1991
- 27 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

附 录

一、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、氦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 技术指标

2.1.1 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、衰减器换档误差项目的检定, 应符合本规程表 1 中的技术指标。

2.1.2 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

表 1 气相色谱仪的主要技术指标

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%	—	—	—	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		$\leq 0.1\text{mV}$	$\leq 1 \times 10^{-12}\text{A}$	$\leq 5 \times 10^{-12}\text{A}$	$\leq 1 \times 10^{-12}\text{A}$	$\leq 0.2 \times \text{mV}$
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		—	$5 \times 10^{-10} \text{g/s}$	$\leq 5 \times 10^{-10} \text{g/s(硫)}$ $\leq 1 \times 10^{-10} \text{g/s(磷)}$	$5 \times 10^{-12} \text{g/s(氮)}$ $1 \times 10^{-11} \text{g/s(磷)}$	$\leq 5 \times 10^{-12} \text{g/mL}$
8 定量重复性		3%	3%	3%	3%	3%
9 衰减器误差		1%	1%	1%	1%	1%

3.1.1.1 环境温度：5~35℃。

3.1.1.2 环境相对湿度：20%~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

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 1秒表：分度值 $\leq 0.01s$ 。

3.2.2 注射器：满量程 $10\mu L$ 。需校准，校准方法见附录A。

3.2.3 空盒气压表：测量范围 $800hPa \sim 1060hPa$ ，测量不确定度 $\leq 2.0hPa$ 。

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 $\leq 0.3^{\circ}C$ 。

3.2.6 数字多用表：电压测量不确定度 $5\mu V$ ，电阻测量不确定度 0.04Ω （电流 $1mA$ ），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。

注：应使用经国家计量行政部门批准颁布，并具有相应标准物质《制造计量器具许可证》的单位提供的标准物质。

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2~3次,求出相应点的最大相对偏差,其值应 $\leq 2\%$ 。结果按下式计算。

$$\text{相对偏差} = \frac{t_{\max} - t_{\min}}{\bar{t}} \times 100\% \quad (1)$$

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 衰减器换档误差检定

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档,测量其电压,相邻二档的误差应小于1%。

4.5 TCD性能检定

4.5.1 检定条件见表2

表 2 各检测器性能检定条件一览表

检测器 检定条件	TCD	FID	FPD	ECD	NPD
色谱柱	液体检定:填充柱:5%OV-101,80~100目白色硅烷化载体(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:60~80目分子筛或高分子小球,填充柱或毛细柱。				
载气种类	N ₂ ,H ₂ ,He	N ₂ ,H ₂ ,He	N ₂ ,He	N ₂ ,H ₂ ,He	N ₂ ,He
载气流速/(mL/min)	30~60	50左右	50左右	30~60	50左右
燃气	—	H ₂ ,流速选适当值	H ₂ ,流速选适当值	—	H ₂ ,流速按仪器说明书要求选择
助燃气	—	空气,流速选适当值	空气,流速选适当值	—	空气,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
气化室温度	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)	—

续表

检测器	TCD	FID	FPD	ECD	NPD
检定条件					
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、NPD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。

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，调节输出信号至记录图或显示图的中部，记录基线半小时，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1~2 μ L浓度为5mg/mL或50mg/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1% (mol/mol) 的CH₄/N₂、CH₄/H₂或CH₄/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_{TCD} ——TCD灵敏度，mV·mL/mg；

A ——苯峰或甲烷峰面积算术平均值，mV·min；

W ——苯或甲烷的进样量, mg;

F_c ——校正后的载气流速, mL/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 5mm, 峰高不低于记录器满量程的 60%, (2) 式中的峰面积 A 按 (3) 式计算。

$$A = 1.065 C_1 C_2 A_0 K \quad (3)$$

式中 A ——苯峰或甲烷峰面积, mV·min;

C_1 ——记录器灵敏度, mV/cm;

C_2 ——记录器纸速的倒数, min/cm;

A_0 ——实测峰面积的算术平均值, cm²;

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, 记录半小时, 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 μ L~2 μ L, 浓度为 100ng/ μ L 或 1000ng/ μ 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 μ mol/mol 的 CH₄/N₂ 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

$$D_{FW} = \frac{2NW}{A} \quad (4)$$

式中 D_{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/ μ L 的甲基对硫磷-无水乙醇溶液。进样 1 μ L~2 μ 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

$$\text{硫} \quad D_{\text{FPD}} = \sqrt{\frac{2N(Wn_s)^2}{h(W_{1/4})^2}} \quad (5)$$

$$\text{磷} \quad D_{\text{FPD}} = \frac{2NWn_p}{A} \quad (6)$$

式中 D_{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;

$$n_s = \frac{\text{甲基对硫磷分子中的硫原子个数} \times \text{硫的原子量}}{\text{甲基对硫磷的摩尔质量}}$$

$$= \frac{32}{263.2} = 0.122$$

$$n_p = \frac{\text{甲基对硫磷分子中磷原子的个数} \times \text{磷的原子量}}{\text{甲基对硫磷的摩尔质量}}$$

$$= \frac{31}{263.2} = 0.118$$

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, 选择较灵敏档, 调节输出信号至记录图或显示图的中部, 待基线稳定后, 记录半小时。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 $1\sim 2\mu\text{L}$, 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

$$D_{\text{ECD}} = \frac{2NW}{AF_c} \quad (7)$$

式中 D_{ECD} ——ECD 检测限, g/mL ;

N ——基线噪声, mV ;

W ——丙体六六六的进样量, g ;

A ——丙体六六六峰面积的算术平均值, $\text{mV} \cdot \text{min}$;

F_c ——校正后的载气流速, mL/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, 选择量程灵敏档和适当的衰减, 待基线稳定后, 记录基线半小时。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, 选择量程灵敏档和适当的衰减, 用微量注射器注入 $1\sim 2\mu\text{L}$ 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

$$\text{氮} \quad D_{\text{NPD}} = \frac{2NWn_N}{A} \quad (8)$$

式中 W ——注入的样品中所含偶氮苯的含量, g;

A ——偶氮苯峰面积的算术平均值;

$$n_N = \frac{\text{偶氮苯分子中氮原子的个数}}{\text{偶氮苯的摩尔质量}} \times \text{氮的原子量}$$

$$= \frac{2 \times 14}{182.23} = 0.154$$

$$\text{磷} \quad D_{\text{NPD}} = \frac{2NWn_P}{A} \quad (9)$$

式中 W ——注入的样品中所含马拉硫磷的含量, g;

A ——马拉硫磷峰面积的算术平均值;

$$n_P = \frac{\text{马拉硫磷分子中原子的个数}}{\text{马拉硫磷的摩尔质量}} \times \text{磷的原子量}$$

$$= \frac{31}{330.35} = 0.0938$$

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。

5 检定结果处理和检定周期

5.1 按本规程要求检定并达到表 1 中技术指标的合格仪器发给检定证书, 不合格的仪器发给检定结果通知书。

5.2 气相色谱仪的检定周期为 2 年。

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。

$$F_c = jF_0 \frac{T_c}{T_r} \left(1 - \frac{p_w}{p_c} \right)$$

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_c ——大气压强，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 ——注入口压强，MPa。

附录 C 检定证书和检定结果通知书（背面）格式

检 定 结 果

检测器名称_____

载气流速稳定性_____

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 _____

检 测 限 _____

定 量 重 复 性 _____

衰减器换档误差_____

附录 D 气相色谱仪检定记录

送检单位			
送检单位地址			
联系人		联系电话	
仪器型号		制造厂	
出厂编号		大气压	
检定时室温		湿度	
检定员		核验员	
检定日期		证书编号	

1. 外观;
2. 载气流速稳定性: (mL/min)

			平均值	
			RSD/%	

3. 检测器名称;
4. 检定条件:

色谱柱			
柱箱温度		检测器温度	
汽化室温度		记录器型号	
记录器灵敏度		纸速	
积分仪型号		标准物质名称	

5. 柱箱温度稳定性:

6. 程序升温重复性:
7. 基线噪声:
8. 基线漂移:
9. 峰高或峰面积:

			平均值	
			RSD/%	

10. 衰减器换档误差:
11. 对应色谱图编号:
12. 备注:

二、液相色谱仪检定规程

本规程适用于新生产、使用中和修理后的带有紫外-可见光、荧光、示差折光和二极管阵列检测器的液相色谱仪的检定。

1 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、检测器和数据记录处理装置等部分组成的分析仪器，图1是其组成的方框图。液相色谱仪利用试样中各组分在色谱柱中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，经检测器进行检测，根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。

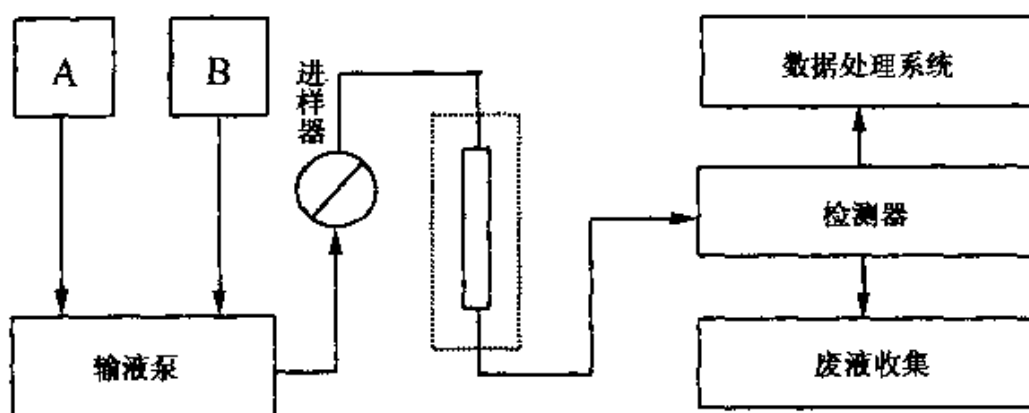


图1 液相色谱仪组成方框图

2 技术要求

2.1 外观

2.1.1 仪器上应有仪器名称、型号、系列号、制造厂、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。

2.1.2 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。

2.2 输液系统

2.2.1 输液管路接口紧密牢固，在规定的压力范围内无泄漏。

2.2.2 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。

表 1 流量设定值误差 S_s 和流量稳定性误差 S_R 的技术要求

流量设定值/(mL/min)	0.5	1.0	2.0 ^①	
测量次数	3	3	3	
流动相收集时间/min	10	7	5	
允许误差	S_s	5%	3%	2%
	* S_R	3%	2%	2%

① 最大流量可根据用户使用情况设定。

2.2.3 梯度准确度误差 G_c : 小于±3%。

2.3 柱温箱(无柱温箱的仪器不检此项)

2.3.1 柱箱温度设定值误差 T_s : 小于或等于±2℃。

2.3.2 温度稳定性 T_c : 小于或等于1℃。

2.4 检测器

液相色谱仪检测器的主要技术指标示于表2。

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	二极管阵列	荧光	示差折光
* 基线噪声	$\leq 3 \times 10^{-4} \text{AU}$	$\leq 5 \times 10^{-4} \text{AU}$	$\leq 5 \times 10^{-4} \text{FU}$	$\leq 5 \times 10^{-3} \text{RIU}$
* 基线漂移	$\leq 5 \times 10^{-3} \text{AU/h}$	$\leq 5 \times 10^{-3} \text{AU/h}$	$\leq 5 \times 10^{-3} \text{FU/h}$	$\leq 5 \times 10^{-3} \text{RIU/h}$
* 最小检测浓度	$\leq 1 \times 10^{-7} \text{g/mL}$ 萘/甲醇溶液	$\leq 1 \times 10^{-7} \text{g/mL}$ 萘/甲醇溶液	$\leq 5 \times 10^{-10} \text{g/mL}$ 硫酸奎宁/ 高氯酸水溶液	$\leq 5 \times 10^{-6} \text{g/mL}$ 丙三醇水溶液
波长准确度	$\leq \pm 2 \text{nm}$	$\leq \pm 2 \text{nm}$	$\leq \pm 5 \text{nm}$	
波长重复性	$\leq 1 \text{nm}$	$\leq 1 \text{nm}$	$\leq 1 \text{nm}$	
线性范围	$\geq 10^3$	$\geq 10^3$	$\geq 10^3$	$\geq 10^3$
换档误差	2%		2%	2%

注: 1. 新仪器做线性范围检定, 使用中的仪器不做。

2. 使用记录仪的仪器做换档误差的检定, 其它不做。

2.5 定性定量重复性

2.5.1 * 定性重复性误差(6次测量) RSD_6 : 小于或等于1.5%。

2.5.2 * 定量重复性误差 (6 次测量) RSD_s : 小于或等于 3.0%。

3 检定条件

3.1 环境条件和仪器安装要求

3.1.1 检定室应清洁无尘, 无易燃、易爆和腐蚀性气体, 排风良好。室温在 $15\sim 30^{\circ}\text{C}$, 8h 内温度变化不超过 3°C (检定示差折光检测器时, 室温变化不超过 2°C), 室内湿度在 20%~85% 范围内。

3.1.2 仪器应平稳的放在工作台上, 周围无强烈机械震动和电磁干扰, 仪器接地良好。

3.1.3 电源电压为 $220\pm 22\text{V}$, 频率为 $50\pm 0.5\text{Hz}$ 。

3.2 检定设备和标准物质

3.2.1 秒表, 分度值小于 0.1s。

3.2.2 分析天平, 最大称量不小于 100g, 最小分度 0.1mg, 经检定合格。

3.2.3 数字温度计 (具软信号线和铠装探头), 测量范围为 $0\sim 150^{\circ}\text{C}$, 最小分度 0.1°C , 经检定合格。

3.2.4 注射器, $10\mu\text{L}$ 和 $50\mu\text{L}$ 各一支, 经检定合格。

3.2.5 容量瓶, 50mL, 10 个。

3.2.6 标准物质:

$1\times 10^{-1}\text{g/mL}$ 和 $1\times 10^{-7}\text{g/mL}$ 的萘/甲醇溶液,

$1\times 10^{-6}\text{g/mL}$ 和 $1\times 10^{-9}\text{g/mL}$ 的硫酸奎宁/高氯酸水溶液,

$1\times 10^{-5}\text{g/mL}$ 和 $1\times 10^{-5}\text{g/mL}$ 的丙三醇水溶液,

紫外波长标准溶液。

3.2.7 试剂: HPLC 用甲醇、纯水, 丙酮水溶液, 苯/甲醇溶液, 异丙醇水溶液。

4 检定项目和检定方法

4.1 一般检查

按第 2.1 条的要求, 目视、手动检查仪器外观。

4.2 输液系统的检定

4.2.1 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 $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$

min, 按说明书启动仪器, 待压力平稳后保持 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。

4.2.2 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, 待流速稳定后, 在流动相排出口用事先清洗称量过的容量瓶收集流动相, 同时用秒表计时, 准确地收集 5~10min, 称重。按式 (1)、式 (2) 计算 S_S 和 S_R 。

$$S_S = (F_m - F_s) / F_s \times 100\% \quad (1)$$

$$S_R = (F_{\max} - F_{\min}) / \bar{F} \times 100\% \quad (2)$$

式中 $F_m = (W_2 - W_1) / \rho_l \cdot t$, 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;

F_s —— 流量设定值, mL/min;

ρ_l —— 实验温度下流动相的密度, g/cm³;

t —— 收集流动相的时间, 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;

\bar{F} —— 同一组测量的算术平均值, mL/min。

4.2.3 梯度准确度的检定

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%, 如图 2 所示。将输液泵和检测器连接 (流动相不经过色谱柱), 开机后先以 A 溶剂冲洗系统, 待基线平稳后开始执行梯度程序, 画出梯度变化曲线。求出各种溶剂配比时的输出信号值或记录仪读数。重复测量两次, 计算平均值。从 B 溶剂的含量及相对应的输出信号值或记录仪读数 \bar{L}_s 和 \bar{L}_m 计算梯度准确度 G_G , 取 G_G 最大者作为仪器梯度准确度误差。

$$G_G = (\bar{L}_s - \bar{L}_m) / \bar{L}_m \times 100\% \quad (3)$$

- 式中 G_i ——第 i 段梯度准确度, %;
- \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。

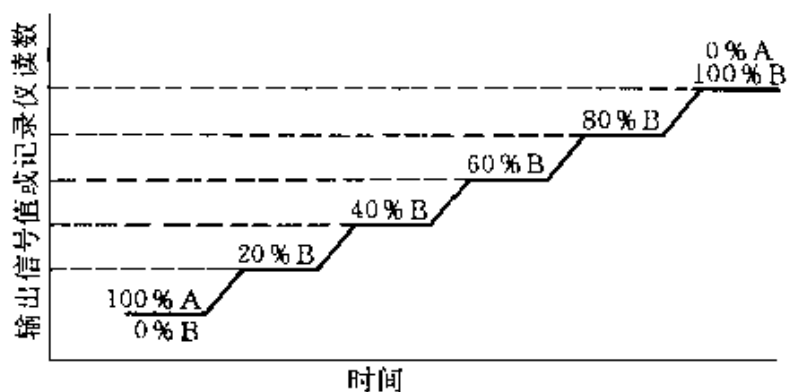


图 2 梯度准确度检定示意图

4.3 柱温箱温度设定值误差 T_s 和控温稳定性误差 T_c 的检定

将温度计探头固定在柱温箱内, 通常选择 35 C 和 45 C 两点进行检定 (也可根据用户使用温度设定)。按仪器说明书操作, 开始升温。待温度指示稳定后, 记下温度值并开始计时, 每隔 10min 记录一次, 共计 7 次, 求出平均值。平均值与设定值之差为 T_s , 7 次中最大值与最小值之差为控温稳定性误差 T_c 。

4.4 紫外-可见光检测器的检定

4.4.1 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, 用注射器从检测器样品池入口将紫外标准溶液 (标准波长为 235nm, 257nm, 315nm 和 350nm) 注射到池中冲洗, 冲洗干净后, 将检测池充满。将检测器波长调到低于标准波长 5nm 处 (例如检定 257nm, 检测器波长先调到 252nm), 记录纸速调到 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。调波长选择器, 每 10s 改变 1nm, 记录仪上会画出如图 3 的折线, 折线的最高点 (或最低点) 对应的波长与标准波长之差为波长示值误差。每个波长重复测量 3 次, 最大与最小值之差为波长重复性误差。有吸光度显示的检测器, 可直接读出不同波长的吸光值, 最大 (或最小) 吸光值对应的波长与标

准波长之差即为波长示值误差。

4.4.2 基线噪声和基线漂移的检定

选用 C₈ 色谱柱，100% 甲醇为流动相，流量为 1.0 mL/min，紫外检测器的波长为 254 nm，衰减器调到最灵敏档，记录纸速为 5~10 mm/min。开机预热，待仪器稳定后记录基线 30 min，计算基线噪声和漂移。

4.4.3 最小检测浓度的检定

在 4.4.2 的色谱条件下，用注射器注入 1×10^{-7} g/mL 的萘/甲醇溶液 20 μ L，记录色谱图，由色谱峰高和基线噪声，按式 (4) 计算最小检测浓度 c_L 。

$$c_L = 2 \cdot H_N \cdot c / H \quad (4)$$

式中 c_L —— 最小检测浓度，g/mL；

H_N —— 噪声高，mm；

c —— 样品浓度，g/mL；

H —— 样品峰高，mm。

4.4.4 线性范围的检定

将检测器和记录仪联接好，检测器波长为 254 nm，通电稳定后，以 2% 异丙醇水溶液为甲溶液、在静态下冲洗检测池几次，待记录仪指示稳定后，将记录笔调到零。以丙酮-2% 异丙醇系列水溶液（丙酮含量为 0.1%，0.2%，…1.0%）为乙溶液，依次将乙溶液注入检测池，同时记下各溶液对应的记录仪读数。每个浓度重复 3 次，取算术平均值，画丙酮含量-记录仪读数关系曲线，找出曲线拐点（读数较理论值低 5% 处），此点为线性范围的上限 c_H ，按式 (4) 求出丙酮的 c_L 值，由 c_H/c_L 算出检测器的线性范围。

4.4.5 灵敏度选择器换档误差的检定

在 4.4.2 的色谱条件下，将记录笔调到记录纸中间，纸速调到 4 cm/min，待基线平稳后依次改变选择器档，记录纸上画出相应的折线，重复测量 3 次，量出每两档间的距离，取算术平均值，按 (5) 式计算相邻两档的误差 H_i ，取 H_i 最大值表示换档误差。

$$H_i = \frac{X_i Y_i - X_{i-1} Y_{i-1}}{X_i Y_i} \times 100\% \quad (5)$$

式中 X_i —第 i 档标称值；

Y_i ——选择器第 i 档时数字表或记录仪的读数。

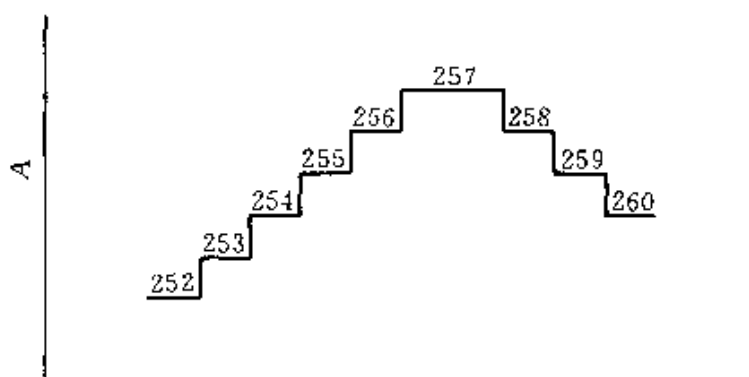


图3 波长示值误差检定记录示意图

4.5 二极管阵列检测器性能的检定

检定项目和方法同紫外-可见光检测器。

4.6 荧光检测器性能的检定

4.6.1 波长示值误差和重复性的检定

荧光检测器有固定波长和可调波长两种，对固定波长荧光检测器，取出其中滤光片在标准分光光度计上检定。可调波长荧光检测器可参照第 4.4.1 款的方法进行（若仪器使用正常，此项可以不检）。

4.6.2 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，灵敏度选在最灵敏档，激发波长为 345 nm，发射波长为 455 nm，开机预热稳定后，记录基线 30 min，计算噪声和漂移。

4.6.3 最小检测浓度的检定

在 4.6.2 的色谱条件下，待基线稳定后注入 20 μ L 1×10^{-3} g/mL 的硫酸奎宁/高氯酸水溶液，记录色谱图，按式 (4) 计算最小检测浓度。

4.6.4 线性范围的检定

将检测器和记录仪联接好,检测器的激发波长为 345nm 发射波长为 455nm,通电稳定后,用注射器向检测池中注入 0.05mol/L 的高氯酸水溶液,将池冲洗干净。然后依次向池中注入 1×10^{-5} , 2×10^{-5} , 3×10^{-5} , ..., 1×10^{-3} g/mL 的硫酸奎宁高氯酸水溶液,同时记下记录仪读数,重复测量 3 次,取平均值。以硫酸奎宁含量对记录仪读数作图,求出曲线拐点(读数较理论值低 5%处)。此点为检测上限 c_H 。4.6.3 得到的是检测下限 c_L , c_H/c_L 值为线性范围。

4.6.5 灵敏度选择器换档误差的检定

实验操作和计算方法与 4.4.5 相同。

4.7 差示折光检测器性能检定

4.7.1 基线漂移和基线噪声的检定

选用 C_8 色谱柱,将仪器各部分联接好,以 HPLC 用水为流动相,流量为 1mL/min,参比池充满流动相,范围选择在最灵敏档,接通电源,待仪器稳定后记录基线 30min,计算基线漂移和基线噪声(实验中应特别注意,室温波动不要超过 $\pm 1^\circ\text{C}$)。

4.7.2 最小检测浓度的检定

在 4.7.1 的测量条件下,用注射器注入 20 μL 1×10^{-5} g/mL 丙三醇水溶液,记录色谱图,按式(4)计算最小检测浓度。

4.7.3 线性范围的检定

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。依次向样品池中注入 1×10^{-3} , 2×10^{-3} , ..., 10×10^{-3} (g/mL) 丙三醇水溶液,同时记下记录仪读数。以丙三醇浓度对记录仪读数作图,求出曲线拐点(读数较理论值低 5%处),此点为线性上限 c_H 。4.7.2 得到的为检测下限 c_L , c_H/c_L 值为线性范围。

4.7.4 灵敏度选择器换档误差的检定

实验操作和计算方法与第 4.4.5 相同。

4.8 定性、定量测量重复性的检定

将仪器各部分联接好,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 mL/min，检测波长为 254 nm，灵敏度选择在 0.08 左右，基线稳定后用注射器（最好用定量管）注入适量（5~10 μL）的 1×10^{-4} g/mL 萘/甲醇标准溶液，连续测量 6 次，记录色谱峰的保留时间和峰面积，按式（6）计算相对标准偏差 RSD 。荧光检测器用 85% 甲醇水溶液做流动相，流量为 1.0 mL/min，激发波长和发射波长分别为 345 nm 和 455 nm；灵敏度选在中间档，基线稳定后注入适量的 1×10^{-6} g/mL 硫酸奎宁/高氯酸水溶液，连续测量 6 次，由色谱峰的保留时间和峰面积按式（6）计算 RSD 。差示折光检测器用 100% 的水为流动相，流量为 1.0 mL/min，灵敏度选在中间档，注入适量的 1×10^{-3} g/mL 的丙三醇标准溶液（或者葡萄糖、稳定的待分析样品），由记录的色谱峰保留时间和面积计算 RSD 。

$$RSD_{\text{定性(定量)}} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 / (n-1) \times \frac{1}{\bar{X}}} \times 100\% \quad (6)$$

式中 $RSD_{\text{定性(定量)}}$ ——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} —— n 次测量结果的算术平均值；

i ——测量序号；

n ——测量次数。

5 检定结果处理和检定周期

5.1 按本规程条款检定，带 * 号的检定项目都达到规定技术指标的仪器，为合格仪器，发给检定合格证书。一个带 * 号的检定项目不合格，如是所配几个检测器中的一个检测器，可发给合格证书，但注明该检测器不合格。如果是其它项目，则该仪器为不合格仪器，发给检定结果通知书。

5.2 液相色谱仪的检定周期为二年，更换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

1 色谱柱性能

1.1 柱效：

反向柱的理论塔板数在 $(3\sim 4)\times 10^4\text{m}^{-1}$ 范围内, 正相柱的理论塔板数在 $(4\sim 5)\times 10^4\text{m}^{-1}$ 范围内。

1.2 色谱峰对称性: 被测峰(萘)的不对称因子 A_s 在 0.8~1.6 范围内。

2 柱性能测试方法

2.1 测试条件和标准溶液

测试条件同液相色谱仪的检定条件。反相柱测试用标准溶液为: $5\times 10^{-5}\text{g/mL}$ 尿嘧啶、 $1\times 10^{-3}\text{g/mL}$ 萘、 $1\times 10^{-5}\text{g/mL}$ 萘、 $2\times 10^{-5}\text{g/mL}$ 联苯的甲醇溶液, 正相柱测试用标准溶液为 $1\times 10^{-5}\text{g/mL}$ 萘和 $1\times 10^{-6}\text{g/mL}$ 硝基苯的正庚烷溶液。

2.2 柱效的测试

将检定合格的液相色谱仪仪器各部分连接好, 反相柱用甲醇/水(85:15)为流动相, 流速为 1 mm/s (内径为 4.6 mm 柱, 流量为 1.0 mL/min), 紫外检测器波长为 254nm, 灵敏度选择在 0.16, 记录纸速为 1~2 (cm/min)。启动仪器稳定后, 注入 10 μL 反相柱检测溶液, 记录色谱图(图4), 由式(7)计算色谱柱效, 重复测量 3 次取平均值。

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{h,0.5}} \right)^2 \times 1000/L \quad (7)$$

式中 t_R —— 色谱峰的保留时间, min (时间测量需精确到 0.02min);

$W_{h,0.5}$ —— 色谱峰半高峰宽, min;

L —— 色谱柱长, mm。

正相柱用正庚烷/乙酸乙酯(90:10)做流动相, 注入正相柱检测溶液, 试

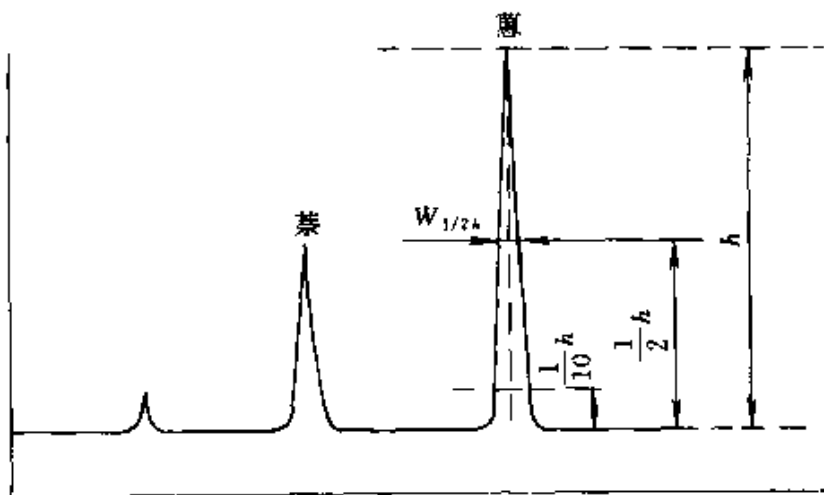


图4 色谱峰示意图

验条件及数据处理与反相柱相同。

2.3 色谱峰对称性的测试

试验条件同 2.3.1, 在测色谱柱效的同时, 按式 (8) 算出色谱峰的不对称因子 A_s (二甲苯计)。

$$A_s = b/a \quad (8)$$

式中, a 、 b 分别为通过 1/10 峰高处并平行于封底的直线被峰两侧及峰高截取的两线段长度。

附录 B 液相色谱检定记录格式

液相色谱仪检定记录

记录编号:

年 月 日

送检单位		室 温	
仪器型号		湿 度	
制造厂		检 定 号	
出厂编号		核 验 员	
检定日期		证书编号	

1. 外观检查:

2. 泵流量设定值误差及流量稳定性误差的检定

耐压 (MPa)	流动相		密度			
F_S	$F_{S1} =$	$t_1 =$	$F_{S2} =$	$t_2 =$	$F_{S3} =$	$t_3 =$
W_1						
W_2						
$W_2 - W_1$						
$(W_2 - W_1)/\rho$						
F_m						
\bar{F}						
S_S						
* S_R						

3. 紫外-可见光检测器/二极管阵列检测器性能检定

型 号		波 长 范 围											
波长示值误差		235nm		257nm		313nm		350nm					
波长重复性													
* 基线漂移								* 基线噪声					
* 最小检测浓度 (萘)								最小检测浓度 (c_1) (丙酮)					
线性范围	丙酮 (%)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	c_H	
	读 数												
换档 误差	标示值												
	读 数												

4. * 定性定量测量重复性的检定

试样名称	浓 度			进 样 量			波 长		
流 动 相	流 量			灵 敏 度 选 择			纸 速		
序 号	1	2	3	4	5	6	平均	S	RSD_6
保留时间									
峰 面 积									

5. 柱温箱温度设定值误差及控温稳定性的检定

T_{S1}	T_{m1}	序号	1	2	3	4	5	6	7	平均	
		读数									
		T				T_{C1}					
T_{S2}	T_{m2}	序号	1	2	3	4	5	6	7	平均	
		读数									
		T				T_{C2}					

6. 梯度准确度的检定

B 溶液变化范围		0%	20%	40%	60%	80%	100%
记录仪读数	1						
	2						
$L_n - L_m$							
G_n							

7. 荧光检测器性能检定

型 号		波长示值误差					
* 基线漂移		* 基线噪声					
* 最小检测浓度							
线性范围	标准溶液浓度						c_h
换挡误差	标示值						
	实测值						

8. 差示折光检测器性能检定

型 号		折光检测范围					
* 基线漂移		* 基线噪声					
* 最小检测浓度							
线性范围	标准溶液浓度						c_h
	读 数						
换挡误差	标示值						
	实测值						

液相色谱柱性能测试记录

型号	柱长	内径	粒径	流动相	衰减	纸速
组分名称	T_R (min)	$W_{0.12}$ (min)	N	A (min)	B (min)	A/B

符 号 表

符 号	意 义
A	峰面积
A_s	峰不对称因子
C	样品浓度
d_i	色谱柱内直径
d_p	填料的颗粒直径
d_M	溶质扩散率
ECD	电化学检测器
ECD ⁺	电子捕获检测器
ELSD	蒸发激光散射检测器
F	校正因子
FD	荧光检测器
FID	氢火焰离子化检测器
FPD	火焰光度检测器
GC	气相色谱法
H	理论塔板高度
HPLC	高效液相色谱法
ISO/IEC	国际标准化组织/国际电工委员会
k'	容量因子
L	色谱柱长度
N	理论塔板数
N_{max}	最大理论塔板数
PTV	程序升温进样器
RID	折光指数检测器
R_s	分离度
RSD	相对标准偏差
SEC	体积排阻色谱法
S/N	信噪比

TCD	热导池检测器
t	时间
t_0	死时间
t_c	柱温
t_D	检测室温度
t_G	梯度时间
t_R	保留时间
t_V	汽化室温度
UVD	紫外吸收检测器
V	体积
V_n	柱体积
V_0	死体积
V_r	保留体积
V/AU	伏/吸光度单位 ^①
W	峰(底)宽
$W_{0.1}$	10%峰高处峰宽
$W_{0.5}$	半峰宽
α	相对保留值, 又叫选择性或选择性因子
γ	相关系数
η	流动相流动黏度
λ	光波波长
σ	高斯峰形的标准偏差
φ	体积分数

① 吸光度这一物理量的单位是“1”, 但很多仪器的说明书上是以“AU”表示, 为方便读者, 在此亦采用了此种表示方法。