



液相常见 问题解答



广州菲罗门科学仪器有限公司
Guangzhou FLM Scientific Instrument Co., Ltd

一、液相色谱柱的常见问题

系统性的判断故障起源是解决您HPLC系统问题最好的方法。

液相色谱柱的常见五大问题：

- 漏液问题
- 谱图问题
- 压力异常问题
- 进样阀问题
- 其它故障现象问题

许多液相色谱的故障是可以通过日常维护避免的，例如：定期的更换柱塞杆密封可以避免柱塞密封的磨损以及由此产生的相关的故障。您需要针对您的色谱仪器类型灵活调整这些建议并使之成为实验室日常维护工作的一部份。

菲罗门免费提供全面的液相色谱柱应用及服务，欢迎联系咨询。

漏液问题

通常漏液问题可以靠拧紧或更换管路接头来解决，但值得注意的是过度拧紧会导致金属接头的漏液和塑料接头的磨损。

如果通过稍微拧紧接头不能解决漏液，就必须将接头取下，检查是否损坏(例如：卡套损坏、密封表面有杂质)；损坏的接头应该更换掉。

常出现漏液问题的5个地方：

1. 接头处漏液
2. 泵漏液
3. 进样阀漏液
4. 色谱柱漏液
5. 检测器漏液

1. 接头处漏液的原因与解决措施

原因	解决措施
接头松动	拧紧
接头磨损	更换
接头过紧	1. 拧松，再重新拧紧 2. 更换
接头被污染	1. 拆下清洗 2. 更换
部件不匹配	使用同一品牌的配件

2. 泵漏液的原因与解决措施

原因	解决措施
单向阀松动	1. 拧紧单向阀(不必拧得过紧) 2. 更换单向阀
接头松动	拧紧接头(不必拧得过紧)
混合器密封损坏	1. 更换混合器密封 2. 更换混合器
泵密封损坏	维修或更换泵密封件
压力传感器损坏	维修或更换压力传感器
脉冲阻尼器损坏	更换脉冲阻尼器
比例阀损坏	1. 检查隔膜，如果漏液立即更换 2. 检查手紧接头，如果损坏立即更换
放空阀损坏	1. 拧紧放空阀 2. 更换放空阀

漏液问题

3.进样阀的原因与解决措施

原因	解决措施
转子密封损坏	重新安装或更换进样阀
定量环阻塞	更换定量环
进样口密封松动	调整
进样针头尺寸不合适	使用恰当的进样针
废液管中产生虹吸	保持废液管高于废液液面
废液管阻塞	更换废液管





4.色谱柱漏液的原因与解决措施

原因	解决措施
尾端接头松动	拧紧接头
卡套内有填料	拆下、清洗卡套、重新安装
筛板厚度不合适	使用合适的筛板

5.检测器漏液的原因与解决措施

原因	解决措施
流通池垫片损坏	1. 避免过大的背压 2. 更换垫片
流通池窗破碎	更换窗片
手紧接头漏液	拧紧或更换
废液管阻塞	更换废液管
流通池阻塞	重新安装或更换

筛板选择指南

填料粒径:	筛板孔径
2 - 4 μ m 	 0.5 μ m
5 - 20 μ m 	 2 μ m

谱图问题

液相色谱系统的许多问题都能在谱图上反映出来，其中有一些问题可以通过改变设备参数得到解决，而其它问题必须通过修改方法来解决。

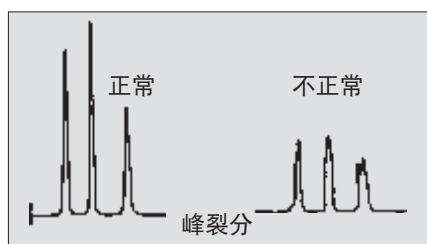
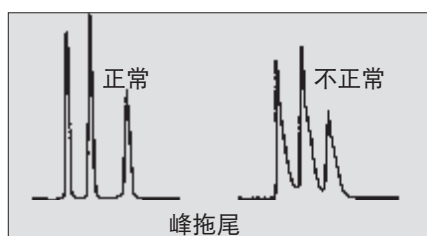
选择正确色谱柱和流动相是得到好的色谱图的关键。

常见的18个谱图问题：

- 1.峰拖尾
- 2.峰前延
- 3.峰裂分
- 4.主峰变形
- 5.较早洗脱峰变形
- 6.较早洗脱出的峰拖尾程度大于较晚洗脱出的峰
- 7.容量因子(k')增加时，拖尾更严重
- 8.酸性或碱性化合物的峰拖尾
- 9.额外的峰
- 10.保留时间改变
- 11.保留时间突然变化
- 12.基线漂移
- 13.规则的基线噪音
- 14.不规则的基线噪音
- 15.分离度低
- 16.宽峰
- 17.所有的峰面积都太小
- 18.所有的峰面积都太大

1.峰拖尾的原因与解决措施

原因	解决措施
筛板阻塞	1.反冲色谱柱 2.更换进样口筛板 3.更换色谱柱
色谱柱塌陷	填充色谱柱
干扰峰	1.使用更长的色谱柱 2.改变流动相和/或更换色谱柱选择性
流动相 pH 选择错误	调整 pH 值。对于碱性化合物的分离，低 pH 值可使峰形更对称。
样品与填料的活性位点发生反应	1.加入离子对试剂或挥发性碱性改性剂 2.更改色谱柱



2.峰前延的原因与解决措施

原因	解决措施
柱温低	升高柱温
样品溶剂选择不恰当	使用流动相作为样品溶剂
样品过载	降低样品含量
色谱柱损坏	更换色谱柱

3.峰裂分的原因与解决措施

原因	解决措施
保护柱或分析柱进样口污染	取下保护柱再分析：若需要，更换保护柱。若是分析柱进样口堵塞，拆下来清洗。如果分析柱阻塞，可以反冲色谱柱。如果问题仍然存在，可能是色谱柱被强保留物质污染，可运行适当的再生措施。如果仍不能解决问题，可能是进样口堵塞，可以更换筛板或色谱柱。
样品溶剂不溶于流动相	改变样品溶剂。如果可能，使用流动相为样品溶剂。

4.大峰变形的原因与解决措施

原因	解决措施
样品过载	减少进样量。

5.较早洗脱峰变形的原因与解决措施

原因	解决措施
样品溶剂选择不恰当	1.减少进样体积 2.用更弱的溶剂

6.较早洗脱出的峰拖尾程度大于较晚洗脱出的峰

原因	解决措施
柱外效应	1.调整系统连接(使用更短、内径更小的管路) 2.使用小体积的流通池

7.容量因子(k')增加时,拖尾更严重

原因	解决措施
二级保留效应,反相模式	1.加入三乙胺(碱性样品) 2.加入乙酸(酸性样品) 3.加入盐或缓冲剂(离子型样品) 4.更换色谱柱
二级保留效应,正相模式	1.加入三乙胺(碱性样品) 2.加入乙酸(酸性样品) 3.加入水(多官能团化合物),仅适用于使用水溶性流动相的正相方法 4.试用另一种液相色谱方法
二级保留效应,离子对	1.使用浓度 50-100mM 的缓冲液 2.使用与流动相 pH 值相等 pKa 的缓冲液

8.酸性或碱性化合物的峰拖尾

原因	解决措施
缓冲液不合适	1.使用浓度 50-100mM 的缓冲液 2.使用与流动相 pH 值相等 pKa 的缓冲液

9.额外的峰的原因与解决措施

原因	解决措施
样品中有其他化合物	正常
前一次进样未洗脱出的峰	1.增加运行时间或梯度斜率 2.提高流速
空缺或鬼峰	1.检查流动相是否纯净 2.使用流动相作为样品溶剂 3.减少进样体积
污染	过滤样品

10.保留时间改变的原因与解决措施

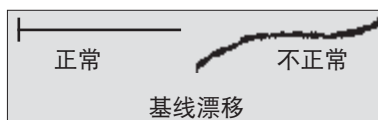
原因	解决措施
温控不当	维持柱温不变
流动相变化	防止变化(蒸发、反应等)
色谱柱平衡不充分	在每一次运行之前给予足够的时间平衡色谱柱

11.保留时间突然变化的原因与解决措施

原因	解决措施
流速变化	重新设定流速
泵中有气泡	从泵中除去气泡
流动相选择不恰当	1.更换合适的流动相 2.检查流动相混合器

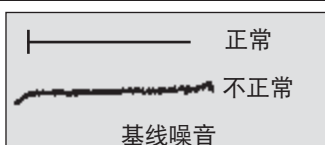
12.基线漂移的原因与解决措施

原因	解决措施
柱温波动(即使是很小的温度变化都会引起基线的波动。通常影响示差折光检测器、电导检测器或较高灵敏度的紫外检测器或其它光电类检测器)	控制好柱子和流动相的温度, 在检测器之前使用热交换器
流动相不均一(基线向上漂移, 流动相条件变化引起的基线漂移大于温度导致的漂移)	使用色谱纯溶剂、高纯度的盐和添加剂。流动相在使用前进行脱气, 使用过程中用氦气
流通池被污染或有气体	用甲醇或其他强溶剂冲洗流通池。如有需要, 可以用 1N 的硝酸清洗 (不要用盐酸)
检测器出口阻塞(高压造成流通池窗破裂, 产生基线噪音)	清理阻塞物或更换管路。参考检测器手册更换流通池窗。
流动相配比不当或变动流速	调整配比或流速。为避免这个问题可定期检查流动相组成及流速。
柱平衡慢, 特别是更换流动相时	用中等强度的溶剂进行冲洗, 在分析前用 10-20 倍柱体积的新流动相对柱子进行冲洗
流动相污染、变质或由劣质溶剂配成	检查流动相的组成。使用优质化学试剂及色谱纯溶剂
样品中有强保留的物质(高 k' 值) 以馒头峰样被洗脱出, 从而表现出一个逐步升高基线 (梯度分析会使其加剧)	使用保护柱, 如有必要, 在进样之间或在分析过程中定期使用强溶剂冲洗柱子
循环使用流动相, 但检测器未调整	重新设定基线。如循环流动相已超出检测器检测范围, 使用新的流动相
检测器(UV)没有设定在最大吸收波长处	将波长调整至最大吸收波长处



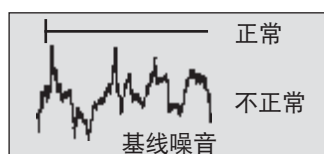
13.规则的基线噪音

原因	解决措施
在流动相、检测器或泵中有空气	流动相脱气, 冲洗系统以除去检测器或泵中的空气
漏液	检查管路接头是否松动, 泵是否漏液, 是否有盐析出和不正常的噪音。如有必要, 更换泵密封
流动相混合不完全	用人工配置流动相或使用低粘度的溶剂
温度影响(柱温过高, 检测器未加热)	减少差异或使用热交换器
在同一条线上有其他电子设备	断开LC、检测器和记录仪, 检查干扰是否来自外部, 加以更正
泵脉冲	在系统中加入脉冲阻尼器



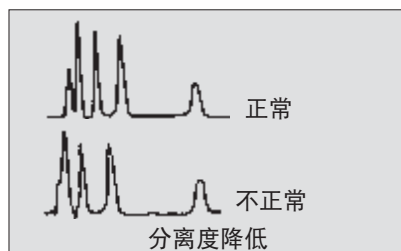
14.不规则的基线噪音

原因	解决措施
漏液	检查管路接头是否松动，泵是否漏液，是否有盐析出和不正常的噪音。如有必要，更换密封。检查检测器流通池是否漏液
流动相污染、变质或由劣质溶剂配成	检查流动相的组成
流动相溶剂不互溶	选择互溶的流动相
检测器/记录仪电子元件问题	断开检测器和记录仪的电源，检查并更正
系统内有气泡	用强溶剂冲洗系统
检测器内有气泡	冲洗检测器，在检测器后面安装背压调节器
流通池污染(即使是极少的污染物也会产生噪音)	用 1N 的硝酸(不能用盐酸)清洗流通池
检测器灯能不足	更换氙灯
色谱柱硅胶或填料流失	更换色谱柱
流动相混合不均匀或混合器工作不正常	维修或更换混合器，在使用等度模式时，建议离线流动相配制



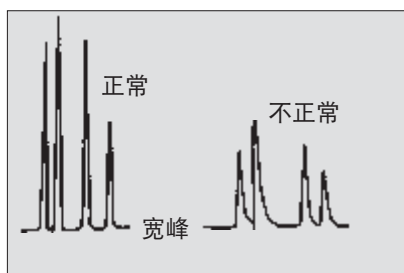
15.分离度低的原因与解决措施

原因	解决措施
流动相污染或变质(引起保留时间变化)	重新配制流动相
保护柱或分析柱阻塞	取下保护柱再分析，如需要可更换保护柱，若是分析柱堵塞，可反冲色谱柱，如果问题仍然存在，可能是柱子被强保留物污染，可运用适当的再生措施，若还不行，可能是入口处堵塞，可以更换筛板或色谱柱



16.宽峰的原因与解决措施

原因	解决措施
变动流动相组成	重新配制流动相
流动相流速太低	调节流速
漏液(特别是在柱子和检测器之间)	检查管路接头是否松动, 泵是否漏液、是否有盐析出和不正常的噪音。如果必要, 更换密封
检测器设定不正确	调整设定
柱外效应 a. 柱子过载 b. 检测器响应时间过长或流通池体积过大 c. 柱子与检测器之间的管路太长或管路内径太大 d. 记录仪响应时间太长	a. 减少上样量(如10 μ L vs. 100 μ L), 或1:10和1:100稀释样品 b. 减少响应时间或使用更小的流通池 c. 使用内径为0.005 - 0.007英寸的较短管路 d. 减少响应时间
缓冲液浓度太低	增加浓度
保护柱污染或失效	更换保护柱
色谱柱污染或失效, 塔板数较低	更换同样类型的色谱柱
柱入口塌陷	打开柱入口, 填补塌陷或更换柱子
洗脱出的峰含有两个或多个未被完全分离的化合物	选择其它类型的色谱柱以改善分离效果
柱温过低	高柱温。除非色谱柱制造商注明, 否则温度不宜超过60 $^{\circ}$ C
检测器时间常数太大	使用较小的时间常数



17.所有的峰面积都太小

原因	解决措施
检测器衰减设定过高	降低衰减设定
检测器时间常数设定太大	设定较小的时间常数
进样量过低	1. 增加样品浓度 2. 如果柱规格允许, 增大进样量
记录仪连接不当	正确连接记录仪

18.所有的峰面积都太大

原因	解决措施
检测器衰减设定过低	提高衰减设定
进样量过高	1. 降低样品浓度 2. 减少进样量, 使用更小的样品定量环或部分定量环进样
记录仪连接不当	正确连接记录仪

压力异常问题

通操作压力的变化往往是故障的征兆，从下列原因中找出最接近的现象，并在右侧的列表中找出相应的解决方法。

压力异常的5个问题：

- 1.没有压力显示，没有流动相流动
- 2.流动相流动正常，但没有压力显示
- 3.压力波动
- 4.压力持续偏高，压力不断上升，压力降为零
- 5.压力持续偏低，压力不断下降，但不回零

1.没有压力显示，没有流动相流动

原因	解决措施
电源问题	接通电源、开机
保险丝被烧坏	更换保险丝
控制器设定不正确或设定失败	1.采取恰当的设定 2.修理或更换控制器
柱塞杆折断	更换柱塞杆
泵头内有空气	溶剂脱气、启动泵抽出空气
流动相不足	1.补充流动相 2.更换入口筛板
单向阀损坏	更换单向阀
漏液	拧紧或更换手紧接头

2.流动相流动正常，但没有压力显示

原因	解决措施
仪表损坏	更换仪表
压力传感器损坏	更换压力传感器

3.压力波动问题

原因	解决措施
泵中有气体	1.溶剂脱气 2.从泵中除去气体
单向阀损坏	更换单向阀
泵密封损坏	更换泵密封
脱气不充分	1.溶剂脱气 2.改脱气方法(使用在线脱气法等)
系统漏液	确定漏液位置并维修
使用梯度洗脱	由于流动相粘度的变化引起的压力波动是正常的

4.压力持续偏高

原因	解决措施
流速设定过高	调整流速设定
柱前筛板堵塞	1.在允许情况下反冲色谱柱 2.更换筛板 3.更换色谱柱
流动相使用不当或缓冲盐的结晶沉淀	1.使用恰当的流动相 2.冲洗色谱柱
色谱柱选择不当	选择恰当的色谱柱
进样阀堵塞	清洗或更换进样阀
柱温过低	提高温度
控制器失常	修理或更换控制器
保护柱阻塞	清洗或更换保护柱
在线过滤器阻塞	清洗或更换在线过滤器

5.压力持续偏低

原因	解决措施
流速设定过低	调整流速
系统漏液	确定漏液位置并维修
色谱柱选择不当	选择恰当的色谱柱
柱温过高	降低温度
控制器失常	维修或更换控制器

进样阀的问题

以下4个问题在使用进样阀过程中有可能产生。

- 1.手动进样阀，转动不灵
- 2.手动进样阀，进样困难
- 3.自动进样阀，不能转动
- 4.自动进样阀，其它问题

1.手动进样阀，转动不灵

原因	解决措施
转子密封损坏	更换或调整转子密封
转子太紧	调整转子的松紧度

3.自动进样阀，不能转动

原因	解决措施
无气压(或电源)	提供恰当的压力(电源)
转子太紧	调整转子的松紧度
进样阀安装不当	重新安装

2.手动进样阀，进样困难

原因	解决措施
进样阀安装不当	重新安装
定量环阻塞	更换定量环
进样针污染	清洗或更换进样针
管路阻塞	清洗或更换管路

4.自动进样阀，其它问题

原因	解决措施
阻塞	清洗或更换阻塞部件
机械故障	参考仪器维修手册
控制器故障	维修或更换控制器

其他故障现象问题

您需要运用你所有的感官去发现液相色谱的问题。

每天花上几分钟运用你的感官（除了味觉）来“感觉”你的液相色谱是否存在问题，这可以帮助你迅速找到问题所在。

例如；在你看到漏液之前，你可能先闻到它的气味。

大部份问题是可以透过眼睛观察到，在接下来的部分会有相应的介绍。

一般从6方面发现问题：

- 1.溶剂的气味
- 2.“热”气味
- 3.读数不正常
- 4.警示灯
- 5.警示音
- 6.刺耳的短音或长音

1.溶剂的气味

原因	解决措施
溅出	1.检查废液瓶是否已满 2.找到溅出的部位并清洗干净

2.手动进样阀，进样困难

原因	解决措施
仪器过热	1.检查并调节通风设施 2.检查并调节温度设定 3.关掉仪器，查看维修手册

其他故障现象问题

3.读数不正常

原因	解决措施
柱温箱问题	1.检查并调节设定 2.参照用户手册
检测器氘灯失效	更换氘灯

4.警示灯

原因	解决措施
压力超出极限值	1.检查是否有阻塞 2.检查并调节极限值的设定
其它警告音	见用户手册

5.警示音

原因	解决措施
溶剂漏液或溅出	找到漏液位置并解决
其它警告音	查看用户手册

6.刺耳的短音或长音

原因	解决措施
轴承失效	查看用户手册
润滑不够	进行适当的润滑
机械故障	查看用户手册

各部件的日常预防维护

日常需要对如下 6个液相重要部件进行维护保养:

- 1.溶剂瓶
- 2.泵
- 3.进样阀
- 4.色谱柱
- 5.检测器
- 6.液相系统

1.溶剂瓶

原因	解决措施
入口过滤器阻塞	1.更换(每3-6个月) 2.过滤流动相, 0.5 μ m滤膜
气泡	流动相脱气

2.泵

原因	解决措施
气泡	流动相脱气
泵密封损坏	更换(每3个月)
单向阀损坏	过滤流动相、使用入口过滤器, 准备备用单向阀

3.进样阀

原因	解决措施
转子密封损坏	1.不要拧的过紧 2.过滤样品

4.色谱柱

原因	解决措施
筛板阻塞	1.过滤流动相 2.过滤样品 3.使用在线过滤器或保护柱
柱头塌陷	1.避免使用pH>8的流动相 (针对大部分硅胶的色谱柱) 2.使用保护柱 3.使用预柱(饱和色谱柱)

5.警示音

原因	解决措施
氘灯失效, 检测器响应降低, 噪音扩大	更换(每6个月)或准备备用灯
流通池有气泡	1.保持流通池清洁) 2.池后使用反压抑制器 3.流动相脱气

6.液相系统

原因	解决措施
腐蚀/摩擦损坏	在仪器不使用时, 确保系统中不含缓冲液, 并清洗干净



液相常见问题解答



020-22826668
www.gzflm.com



广州菲罗门科学仪器有限公司
Guangzhou FLM Scientific Instrument Co., Ltd