

凝胶渗透色谱异常问题系列讲座(5)液相色谱仪压力异常

谷春秀^{1,2}, 柳春梅², 于志勇³

(1. 北京联合大学生物化学工程学院, 北京 100023; 2. 北京农学院, 北京 102206;

3. 北京龙智达公司, 北京 100029)

在凝胶渗透色谱分析中, 通过进样器 A 注入的样品在流动相中经色谱柱 B 进行分离, 后经检测器 C 进行信号处理得到我们需要的结果。但在分析过程中经常会发生操作压力过高的现象, 而这种变化往往是故障的征兆。我们列举了一些常见的问题, 并对观察到的一些导致系统压力升高的原因加以分析, 提出了相应的解决方法(如图 1 所示)。

1 流动相的使用引起的压力异常

我们通常使用的流动相在使用前均应以 0.22 μm 的滤膜过滤, 在分析中, 如果溶剂中的各种痕量杂质造成较高的基线和鬼峰, 流动相溶剂的纯度和质量发现问题, 则需更换批次。水相作为流动相, 尤其在使用缓冲液流动相时, 如果使用或操作不当常常会引起系统压力异常现象。

使用缓冲液流动相或含较高浓度中性无机盐的缓冲液时, 如果冲洗不彻底, 冲洗后压力仍然会很高, 可能是缓冲液中的无机盐成分残留在体系之中。它们会因在新的流动相体系中的溶解度降低而析出, 造成流动相阻力加大, 压力升高。当改换流动相体系时, 一定要置换彻底, 在同一体系中使用不同性质、互不相溶的流动相, 都会造成压力升高。可使用混溶的溶剂(异丙醇)彻底冲洗。

2 仪器硬件故障引起的压力异常

仪器本身的硬件故障问题, 其中包括进样器、连接管路或检测器等仪器本身引发的压力异常问题。

2.1 进样器堵塞

排除进样器损坏的原因, 大多是由于进样环故障所致, 主要原因是由于更换流动相引起的, 或实验后未作清洗, 或清洗操作不当, 也有可能是进样时样品的沉淀引发的问题。遇此问题应清洗进样器或更换进样管。

2.2 连接管路问题

检查连接管路出现问题, 应将各连接断开, 进行分段测试, 发现压力高的连接管路后进行更换。

2.3 检测器问题

检测器问题有可能是由于样品在检测池的吸附或沉淀引起的, 大多是由于使用带缓冲盐的水相流动相, 使用后冲洗时间不够或者盐的析出造成沉淀。

3 色谱柱压高的原因

3.1 样品污染沉积

当样品所用的溶剂与流动相不一致时, 样品注入时有可能因溶解度降低而沉淀出来, 造成压力升高。建议此时使用对样品有较高溶解度的溶剂冲洗。

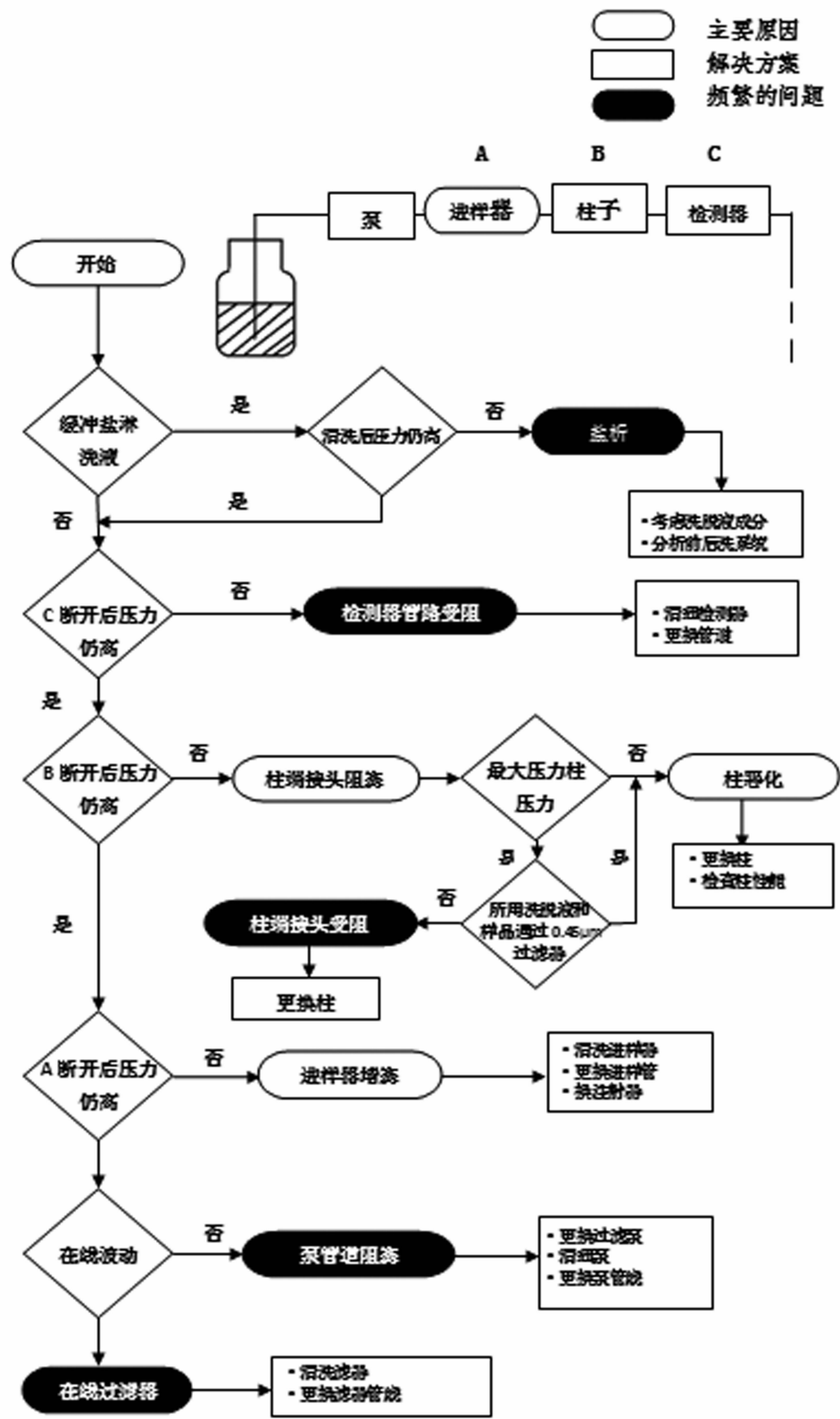


图 1 色谱压力异常问题

3.2 非特异性吸附

当所用的流动相难以将样品洗脱时且当部分组分在柱子上有较强的非特异性吸附,那么强保留组分的累积会造成阻力增大和压力升高。可选用适当的溶剂冲洗以除去吸附物质。

3.3 色谱柱筛板

洗脱液或样品如果处理不当会使固体杂质滞留在筛板上造成筛板的堵塞,使用前应采用 $0.22\mu\text{m}$ 的滤膜对所用流动相进行过滤,样品应采用 $0.45\mu\text{m}$ 的滤膜进行过滤,除去样品中存在的机械杂质或微溶胶。

3.4 色谱柱断开后系统仍有较高压力

由于连接色谱柱的柱端接头发生堵塞,导致流动相阻力加大,可采用反冲的方法去除堵塞物。这种情况下还应考虑保护柱是否堵塞,如果保护柱压力过高则需检测柱性能,建议更换保护柱内的柱芯。发现系统压力升高时,可首先使用两通短接色谱柱观察相同条件下系统本身压力是否正常,排除由系统其它部分造成的压力升高。

系统压力问题是使用液相色谱过程中需要密切关注的,尤其是柱压的稳定与色谱图峰形的好坏、柱效、分离效果及保留时间等密切相关。系统压力稳定并不是指压力值稳定于一个恒定值,而是指压力波动在一定范围之内,压力过高、过低及波动较大都属于压力不稳,其中柱压的高低与色谱柱的种类、品牌、液相系统本身及使用的流动相种类有关。值得注意的是在使用梯度洗脱时,压力平稳缓慢的变化是允许的。另外,流动相配比是否正确,不同配比的流动相由于其粘度系数不相同,使用较高粘度的流动相,其相应的系统压力也大,如果可能,可更换成粘度较小的溶剂或重新设定配比。在实际应用中,系统压力过高需从不同方面进行综合考虑。