

常见问题解决方案

常见问题	解决方案
新购色谱柱如何活化	使用新色谱柱之前，必须用 100%甲醇 30-40 倍柱体积进行冲洗活化。
如何过渡到流动相	先用流动相使用的有机溶剂冲洗 20-30 倍柱体积，将流动相中的缓冲盐换成水，冲洗 20-30 倍柱体积，再用流动相冲洗 30-40 倍柱体积。
使用完色谱柱如何冲洗保存	使用完色谱柱，先用乙腈：水=10:90 冲洗 60 倍柱体积，再用 100%乙腈冲洗 40 倍柱体积，保存于乙腈中，将色谱柱两头的堵头拧紧，放于盒中。若进行长期保存，定期将色谱柱拿出，用乙腈冲洗，保证色谱柱中的保存液不干涸。
三聚氰胺的主峰与杂质峰分不开	1 调整流动相比例，加大缓冲液的比例。C18 柱调整流动相至离子对试剂：乙腈=92：8，C8 柱调整流动相至离子对试剂：乙腈=90：10（液相方法）。 2 将柱温设置于 40℃ 以上。
基线不平	1 平衡时间过短：延长平衡时间。 2 色谱柱污染：冲洗色谱柱。 3 色谱柱没有连接好，有漏液现象：检查连接情况。 4 液相仪器检测器污染：进行仪器维护。 5 液相仪器检测器氙灯能量过低：更换检测器氙灯。
主峰出现裂分，峰型较宽	1 溶剂效应：用国标方法溶解，降低溶解溶剂强度。 2 色谱柱污染：冲洗色谱柱，若严重污染，更换色谱柱。 3 色谱柱填料塌陷：维修或更换色谱柱。 4 液相仪器柱外效应过大：更换管路，减小柱外效应。 5 样品体积过大：用流动相配样，总的样品体积小于第一峰的 15%。 6 将色谱柱柱温过低：提高柱温。
色谱柱蛋白污染，如何再生	冲洗色谱柱方法：（前步无法将色谱柱再生，进行下一步） 1%乙酸水溶液 → 1%三氟乙酸水溶液 → 0.1%三氟乙酸：异丙醇=40:60 → NaCl, Na ₃ PO ₄ , Na ₂ SO ₄ 水溶液 0.5-1.0M (Na ₃ PO ₄ pH7.0) → DMSO：水=50:50/DMF：水=50:50。
压力不稳	1 泵内有空气：清除泵内空气，对溶剂进行脱气处理。 2 比例阀失效：更换比例阀。 3 泵密封垫损坏：更换密封垫。 4 溶剂中有气泡：对溶剂脱气，必要时改变脱气方法。 5 系统漏液：找出漏点，密封。 6 梯度洗脱：压力波动是正常的。 7 单向阀堵塞：超声波清洗单向组件。 8 单向阀泄露：更换密封装置。
保留时间不稳定	1 柱温变化：保持恒定柱温。 2 等度与梯度间未能充分平衡：至少用 10 倍柱体积的流动相平衡柱。 3 缓冲液容量不够：用>25mmol/L 的缓冲液。 4 柱污染：每天冲洗柱。

	<p>5 柱内条件变化：稳定进样条件，调节流动相。</p> <p>6 柱快达到寿命：采用保护柱。</p>
保留时间缩短	<p>1 流速增加：检查泵，重新设定流速。</p> <p>2 样品超载：降低样品进样量。</p> <p>3 键合相流失，流动相 pH 值超出适用范围，色谱柱连接方向错误。</p> <p>4 流动相组成变化：防止流动相蒸发或沉淀。</p> <p>5 温度增加。</p>
保留时间延长	<p>1 流速下降：管路泄漏，更换泵密封圈，排除泵内气泡。</p> <p>2 硅胶柱活性变化：可以用流动相改性剂，如加三乙胺，或采用其它碱钝化色谱柱。</p> <p>3 键合相流失：流动相 pH 值超出适用范围，色谱柱连接方向错误。</p> <p>4 流动相组成变化：防止流动相蒸发或沉淀。</p> <p>5 温度降低。</p>
鬼峰	<p>1 进样阀残余峰：用强溶剂清洗阀，改进阀和样品的清洗。</p> <p>2 样品中未知物：处理样品。</p> <p>3 柱未平衡：重新平衡柱，用流动相作样品溶剂（尤其是离子对色谱）。</p> <p>4 三氟乙酸（TFA）氧化（肽谱）：每天新配，用抗氧化剂。</p> <p>5 水污染（反相）：通过变化平衡时间检查水质，用 HPLC 级的水。</p>
基线噪音	<p>1 气泡（尖锐峰）：流动相脱气，加柱后背压。</p> <p>2 污染（随即噪声）：清洗柱，净化样品，用 HPLC 级试剂。</p> <p>3 检测器灯连续噪声：更换氙灯。</p> <p>4 电干扰（偶然噪声）：采用稳定电源，检查干扰的来源（如水浴等）。</p> <p>5 检测器中有气泡：流动相脱气，加柱后背压。</p>
峰拖尾	<p>1 柱超载：降低样品量，增加柱直径或采用较高容量的固定相。</p> <p>2 峰干扰：清洁样品，调整流动相。</p> <p>3 硅羟基作用：加三乙胺，用碱屏蔽硅羟基活性，增加缓冲液或盐的浓度降低流动相 pH 值，钝化样品。</p> <p>4 筛板堵塞：超声清洗或更换筛板，加在线过滤器过滤样品。</p> <p>5 柱塌陷或形成短路通道：更换色谱柱，采用较弱腐蚀性条件。</p> <p>6 死体积或柱外体积过大：尽可能采用细内径的连接管。</p> <p>7 柱效下降：用较低腐蚀条件，更换柱或采用保护柱。</p>
峰展宽	<p>1 进样体积过大：用流动相配样，总的样品体积小于第一峰的 15%。</p> <p>2 在进样阀中造成峰扩展：进样前后排除气泡以降低扩散。</p> <p>3 数据系统采样速率太慢：设定速率应是每峰大于 10 点。</p> <p>4 检测器时间常数过大：设定时间常数为第一峰半宽的 10%。</p>

	<p>5 流动相粘度过高: 增加柱温, 采用低粘度流动相。</p> <p>6 检测池体积过大: 用小体积池, 卸下热交换器。</p> <p>7 保留时间过长: 将连接管径和连接管长度降至最小, 采用细内径管路。</p> <p>8 柱外体积过大: 将连接管径和连接管长度降至最小, 采用细内径管路。</p> <p>9 样品过载: 降低进样浓度, 或减少进样体积。</p>
--	--