

HPLC 常见问题和解决方法总汇

压力异常

操作压力的变化往往是故障的征兆。从下表中找出所观察到的现象，并在右侧的列表中参考相应的解决方法。

A、 没有压力显示，没有流动相流动

原因	解决方法
1、电源问题	1、接通电源，开机
2、保险丝被烧坏	2、更换保险丝
3、控制器设定不正确或设定失败	3、a、采取恰当的设定 b、修理或更换控制器
4、柱塞杆折断	4、更换柱塞杆
5、泵头内有空气	5、溶剂脱气、启动泵抽出空气
6、流动相不足	6、a、补充流动相 b、更换入口滤头
7、单向阀损坏	7、更换单向阀
8、漏液	8、拧紧或更换手紧接头

B、 流动相流动正常，但没有压力显示

原因	解决方法
1、仪表损坏	1、更换仪表
2、压力传感器损坏	2、更换压力传感器

C、 压力持续偏高

原因	解决方法
1、流速设定过高	1、调整流速设定
2、柱前筛板堵塞	2、a、在允许情况下反冲色谱柱 b、更换筛板 c、更换色谱柱
3、流动相使用不当或缓冲盐的结晶沉淀	3、a、使用恰当的流动相 b、冲洗色谱柱
4、色谱柱选择不当	4、选择恰当的色谱柱
5、进样阀损坏	5、清洗或更换进样阀
6、柱温过低	6、提高温度
7、控制器失常	7、修理或更换控制器
8、保护柱阻塞	8、清洗或更换保护柱
9、在线过滤器阻塞	9、清洗或更换在线过滤器

D、 压力持续偏低

原因	解决方法
1、流速设定过低	1、调整流速
2、系统漏液	2、确定漏液位置并维修
3、色谱柱选择不当	3、选择恰当的色谱柱
4、柱温过高	4、降低温度
5、控制器失常	5、维修或更换控制器

E、 压力不断上升

原因	解决方法
1、见列表 C	1、见列表 C

F、 压力降为零

原因	解决方法
1、见列表 A、B	1、见列表 A、B

G、 压力不断下降，但不回零

原因	解决方法
1、见列表 D	1、见列表 D

H、 压力波动

原因	解决方法
1、泵中有气体	1、a、溶剂脱气 b、从泵中除去气体
2、单向阀损坏	2、更换单向阀
3、泵密封损坏	3、更换泵密封
4、脱气不充分	4、a、溶剂脱气 b、脱气方法（使用在线脱气法等）
5、系统漏液	5、确定漏液位置并维修
6、使用梯度洗脱	由于流动相粘度的变化引起的压力波动

漏 液

通常可以通过拧紧或更换管路接头来解决漏液的问题。但值得注意的是过份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的问题，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。

A、 接头处漏液

原因	解决方法
1、接头松动	1、拧紧
2、接头磨损	2、更换

3、接头过紧	3、a、拧松，再重新拧紧 b、更换
4、接头被污染	4、a、拆下清洗 b、更换
5、部件不匹配	5、使用同一品牌的配件

B、 泵漏液

原因	解决方法
1、单向阀松动	1、a、拧紧单向阀（不必拧的过紧） b、更换单向阀
2、接头松动	2、拧紧接头（不必拧的过紧）
3、混合器密封损坏	3、a、更换混合器密封 b、更换混合器
4、泵密封损坏	4、维修或更换泵密封件
5、压力传感器损坏	5、维修或更换压力传感器
6、脉冲阻尼器损坏	6、更换脉冲阻尼器
7、比例阀损坏	7、a、检查隔膜，如果漏液立即更换 b、检查手紧接头，损坏的立即更换
8、放空阀的损坏	8、a、拧紧放空阀 b、更换放空阀

C、 进样阀漏液

原因	解决方法
1、转子密封损坏	1、重新安装或更换进样阀
2、定量环阻塞	2、更换定量环
3、进样口密封松动	3、调整
4、进样针头尺寸不合适	4、使用恰当的进样针
5、废液管中产生虹吸	5、保持废液管高于废液液面
6、废液管阻塞	6、更换或疏通废液管

D、 色谱柱漏液

原因	解决方法
1、尾端接头松动	1、拧紧接头
2、卡套内有填料	2、拆下、清洗卡套、重新安装
3、筛板厚度不合适	3、使用合适的筛板（参考下表）

筛板选择指导

物质粒径	筛板孔径
3-4u	0.5u
5-20u	2u

E、 检测器漏液

原因	解决方法

1、流通池垫片损坏	1、a、避免过大的背景压力（压力降） b、更换垫片
2、流通池窗破碎	2、更换窗口
3、手紧接头漏液	3、拧紧或更换
4、废液管阻塞	4、更换废液管
5、流通池阻塞	5、重新安装或更换

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；而其他的问题必须通过修改操作程序来解决。对于色谱柱和流动相的正确选择是得到好的色谱图的关键。

A、峰拖尾

原因	解决方法
1、筛板阻塞	1、a、反冲色谱柱 b、更换进口筛板 c、更换色谱柱
2、色谱柱塌陷	2、填充色谱柱
3、干扰峰	3、a、使用更长的色谱柱 b、改变流动相或更换色谱柱
4、流动相 PH 选择错误	4、调整 PH 值。对于碱性化合物，低 PH 值更有利于得到对称峰
5、样品与填料表面的溶化点发生反应图	5、a、加入离子对试剂或碱性挥发性修饰剂 b、更改色谱柱

B、峰前延

原因	解决方法
1、柱温低	1、升高柱温
2、样品溶剂选择不恰当	2、使用流动相作为样品溶剂
3、样品过载	3、降低样品含量
4、色谱柱损坏	4、见 A1、A2

C、峰分叉

原因	解决方法
保护柱或分析柱污染图	1、取下保护柱再进行分析。如果必要更换保护柱。如果分析柱阻塞，拆下来清洗。如果问题仍然存在，可能是柱子被强保留物质污染，运用适当的再生措施。如果问题仍然存在，入口可能被阻塞，更换筛板或更换色谱柱。
2、样品溶剂不溶于流动相	2、改变样品溶剂。如果可能采取流动相作为样品溶剂。

D、峰变形

原因	解决方法
1、样品过载	1、减少样品载量

E、早出的峰变形

原因	解决方法
1、样品溶剂选择不恰当	1、a、减少进样体积 b、运用低极性样品溶剂

F、早出的峰拖尾程度大于晚出的峰

原因	解决方法
1、柱外效应	1、a、调整系统连接（使用更短、内径更小的管路） b、使用小体积的流通池

G、K'增加时，脱尾更严重

原因	解决方法
1、二级保留效应，反相模式	1、a、加入三乙胺（或碱性样品） b、加入乙酸（或酸性样品） c、加入盐或缓冲剂（或离子化样品） d、更换一支柱子
2、二级保留效应，正相模式	2、a、加入三乙胺（或碱性样品） b、加入乙酸（或酸性样品） c、加入水（或多官能团化合物） d、试用另一种方法
3、二级保留效应，离子对	3、加入三乙胺（或碱性样品）

H、酸性或碱性化合物的峰拖尾

原因	解决方法
1、缓冲不合适	1、a、使用浓度 50-100mM 的缓冲液 b、使用 Pka 等于流动相 PH 值的缓冲液

I、额外的峰

原因	解决方法
1、样品中有其他组份	1、正常
2、前一次进样的洗脱峰	2、a、增加运行时间或梯度斜率 b、提高流速
3、空位或鬼峰	3、a、检查流动相是否纯净 b、使用流动相作为样品溶剂 c、减少进样体积

J、保留时间波动

原因	解决方法
1、温控不当	1、调好柱温

2、流动相组分变化	2、防止变化（蒸发、反应等）
3、色谱柱没有平衡	3、在每一次运行之前给予足够的时间平衡色谱柱

K、 保留时间不断变化

原因	解决方法
1、流速变化	1、重新设定流速
2、泵中有气泡	2、从泵中除去气泡
3、流动相选择不恰当	3、a、更换合适的流动相 b、选择合适的混合流动相

L、 基线漂移

原因	解决方法
1、柱温波动。（即使是很小的温度变化都会引起基线的波动。通常影响示差检测器、电导检测器、较低灵敏度的紫外检测器或其它光电类检测器。）	1、控制好柱子和流动相的温度，在检测器之前使用热交换器
2、流动相不均匀。（流动相条件变化引起的基线漂移大于温度导致的漂移。）	2、使用 HPLC 级的溶剂，高纯度的盐和添加剂。流动相在使用前进行脱气，使用中用氮气。
3、流通池被污染或有气体	3、用甲醇或其他强极性溶剂冲洗流通池。如有需要，可以用 1N 的硝酸。（不要用盐酸）
4、检测器出口阻塞。（高压造成流通池窗口破裂，产生噪音基线）	4、取出阻塞物或更换管子。参考检测器手册更换流通池窗。
5、流动相配比不当或流速变化	5、更改配比或流速。为避免这个问题可定期检查流动相组成及流速。
6、柱平衡慢，特别是流动相发生变化时	6、用中等强度的溶剂进行冲洗，更改流动相时，在分析前用 10-20 倍体积的新流动相对柱子进行冲洗。
7、流动相污染、变质或由低品质溶剂配成	7、检查流动相的组成。使用高品质的化学试剂及 HPLC 级的溶剂
8、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的基线。	8、使用保护柱，如有必要，在进样之间或在分析过程中，定期用强溶剂冲洗柱子。
9、使用循环溶剂，但检测器未调整。	9、重新设定基线。当检测器动力学范围发生变化时，使用新的流动相。
10、检测器没有设定在最大吸收波长处。	10、将波长调整至最大吸收波长处

M、 基线噪音（规则的）

原因	解决方法
1、在流动相、检测器或泵中有空气	1、流动相脱气。冲洗系统以除去检测器或泵中的空气。

2、漏液 图	2、见第三部分。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。
3、流动相混合不完全	3、用手摇动使混合均匀或使用低粘度的溶剂
4、温度影响（柱温过高，检测器未加热）	4、减少差异或加上热交换器
5、在同一条线上有其他电子设备	5、断开 LC、检测器和记录仪，检查干扰是否来自于外部，加以更正。
6、泵振动	6、在系统中加入脉冲阻尼器

N、 基线噪音（不规则的）

原因	解决方法
漏液 图	1、见第三部分。检查接头是否松动，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。检查流通池是否漏液。
2、流动相污染、变质或由低质溶剂配成	2、检查流动相的组成。
3、流动相各溶剂不相溶	3、选择互溶的流动相
4、检测器/记录仪电子元件的问题	4、断开检测器和记录仪的电源，检查并更正。
5、系统内有气泡	5、用强极性溶液清洗系统
6、检测器内有气泡	6、清洗检测器，在检测器后面安装背景压力调节器
7、流通池污染（即使是极少的污染物也会产生噪音。）	7、用 1N 的硝酸（不能用磷酸）清洗流通池
8、检测器灯能量不足	8、更换灯
9、色谱柱填料流失或阻塞	9、更换色谱柱
10、流动相混合不均匀或混合器工作不正常	10、维修或更换混合器，在流动相不走梯度时，建议不使用泵的混合装置

O、 宽峰

原因	解决方法
1、流动相组成变化	1、重新制备新的流动相
2、流动相流速太低	2、调节流速
3、漏液（特别是在柱子和检测器之间）	3、见 section 3。检查接头是否松动、泵是否漏液、是否有盐析出以及不正常的噪音。如果必要更换密封。
4、检测器设定不正确	4、调整设定
5、柱外效应影响 柱子过载 b、检测器对反应时间或池体积响应过	小体积进样（例如：10ul 而不是 100ul） 以 1：10 或 1：100 的比例稀释样品

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 图	减少响应时间或使用更小的流通池 使用内径为 0.007-0.01 的短管路 减少响应时间
6、缓冲液浓度太低	6、增加浓度
7、保护柱污染或失效	7、更换保护柱
8、色谱柱污染或失效，塔板数较低	8、更换同样类型的色谱柱。如果新柱子可以提供对称的色谱峰，则用强溶剂冲洗旧柱子。
9、柱入口塌陷	9、打开柱入口，填补塌陷或更换柱子
10、呈现两个或多个未被完全分离的物质的峰	10、选择其它类型的色谱柱以改善分离效果
11、柱温过低	11、提高柱温。除非特殊情况，温度不宜超过 75℃
12、检测器时间常数太大	12、使用较小的时间常数

P、 分离度降低

原因	解决方法
1、流动相污染或变质（引起保留时间变化）	1、重新配置流动相
2、保护柱或分析柱阻塞 图	2、去掉保护柱进行分析。如果必要则更换保护柱。如果分析柱阻塞，可进行反冲。如果问题仍然存在色谱柱可能被强保留的污染物损坏，建议使用恰当的再生程序。如果问题仍然存在，进口可能阻塞了，更换入口处的筛板或更换色谱柱。

Q、 所有的峰面积都太小

原因	解决方法
1、检测器衰减设定过高	1、减少衰减的设定
2、检测器时间常数设定太大	2、设定较小的时间常数
3、进样量太少	3、增大进样量
4、记录仪连接不当	4、使用正确的连接

R、 所有的峰面积都太大

原因	解决方法
1、检测器衰减设定过低	1、采取较大的衰减
2、进样过多	2、减少进样量
3、记录仪连接不正确	3、正确连接记录仪

以下问题在使用进样阀过程中有可能发生。

A、 手动进样阀，转动不灵

原因	解决方法
1、转子密封损坏	1、更换或调整转子密封
2、转子太紧	2、调整转子的松紧度

B、 手动进样阀，载样困难

原因	解决方法
1、进样阀安装不当	1、重新安装
2、定量环阻塞	2、清洗或更换定量环
3、进样器污染	3、清洗或更换进样器
4、管路阻塞	4、清洗或更换管路

C、 自动进样阀，不能转动

原因	解决方法
1、无压力（或电源）	1、提供恰当的压力（电源）
2、转子太紧	2、调整转子的松紧度
3、进样阀安装不当	3、重新安装

D、 自动进样阀，其它问题

原因	解决方法
1、阻塞	1、清洗或更换阻塞部件
2、机械故障	2、见随机维修手册
3、控制器故障	3、维修或更换控制器

由气味、景象和声音可以发现的问题

你需要运用你所有的感官去发现液相色谱的问题。你最好养成习惯，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，这样可以帮助你迅速找到问题所在。例如：在你看到漏液之前，你可能首先闻到它的气味。大部分的问题是可以透过眼睛看到。

A、 溶剂的气味

原因	解决方法
1、漏液	1、见 section 3
2、溅出	2、a、检查废液瓶是否已满 b、找到溅出的部位并清洗干净

B、 热气味

原因	解决方法
----	------

1、仪器过热	1、 a、检查并调节通风设施 b、检查并调节温度设定 c、关掉仪器，查找维修手册
--------	--

C、 读数不正常

原因	解决方法
1、压力不正常	1、见 section 2
2、柱温箱问题	2、 a、检查并调节设定 b、参照用户手册
3、检测器灯失效	3、更换灯

D、 灯警告

原因	解决方法
1、压力超出极限值	1、 检查是否阻塞 b、检查并调节极限值的设定
2、其它警示灯	2、见用户手册

E、 警告音

原因	解决方法
1、溶剂泄漏/溅出	1、找到并解决
2、其它警告音	2、见用户手册

F、 刺耳的短音或长音

原因	解决方法
1、轴承失效	1、见用户手册
2、润滑不够	2、进行恰当的润滑
3、机械故障	3、见用户手册

常见故障及日常维护

下表中列出了液相色谱常见的一些问题，右侧中则列出的日常维护的方法可以减少问题出现的频率。括号中的数字是建议进行维护的时间间隔。用户手册则提供您更多的维护方法。

溶剂瓶

问题	维护
1、进口筛板阻塞	1、 更换（3-6 个月） b、过滤流动相，0.5u 滤膜
2、气泡	2、流动相脱气

泵

问题	维护
1、气泡	1、流动相脱气
2、泵密封损坏	2、更换（3 个月）
3、单向阀损坏	3、过滤流动相，运用在线过滤，准备备用单向阀

进样阀

问题	维护
1、转子密封损坏	1、 不要拧的过紧 b、过滤样品

色谱柱

问题	维护
1、筛板阻塞	1、a、过滤流动相 b、过滤样品 c、运用在线过滤或保护柱
2、柱头塌陷	2、a、避免使用 PH>8 的流动相（针对大部分硅胶的柱子） b、使用保护柱 c、使用预柱（饱和色谱柱）

检测器

问题	维护
1、灯失效，检测器响应降低，噪音增大	1、更换（6 个月）或准备备用灯
2、流通池有气泡	2、a、保持流通池清洁 b、池后使用反压抑制器 c、流动相脱气

一般

问 题	维 护
1、腐蚀/摩擦损坏	1、在不使用时保持系统缓冲液的清洁