

知识介绍

# 液相色谱的故障排除——自动进样器的维护\*

孙生才 张 冰

(中国科学院大连化学物理研究所 国家色谱研究分析中心 大连 116012)

提 要 介绍了自动进样器的工作原理,讨论了使用中经常遇到的问题及其解决的办法。

关键词 液相色谱法,故障排除,自动进样器

分类号 O658

## 1 前言

今天的液相色谱系统大多使用自动进样器引入样品,正确使用自动进样器是保证液相色谱系统分离精确度的基本条件。用自动进样器注入适当体积的标准样品可为峰高和峰面积的测量提供小于1%的标准偏差。本文介绍了自动进样器的工作原理并讨论了在使用中经常遇到的问题及其解决的办法。

## 2 进样类型

多数自动进样器依靠六通阀将样品注入高压的流动相中,六通阀通常按以下两种模式之一工作——全充满进样或半充满进样(这两种模式与手动进样模式相同)。

图1为全充满进样工作原理图。图1中的阀有一个固定的样品环和旋转中心,将LC泵和柱分别与相邻两个出口连接,样品环横跨阀的中心与另外两个出口相连,样品入口和废液管分别与剩余两个出口连接。在这种模式中,样品环的体积容量决定了进样量,即 $20\mu\text{L}$ 样品环提供 $20\mu\text{L}$ 样品。

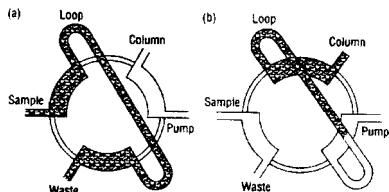


图1 全充满模式的六通阀进样器  
a. 负载位置, b. 进样位置。

在操作中,将样品注满样品环直到样品从废液出口流出为止。实际上可以注入 $40\mu\text{L}$ 样品,但只有 $20\mu\text{L}$ 样品就会充满样品环,其余都流到了废液池中。

当阀处在负载位置时,样品充满样品环,避免了流动相从泵直接流到柱中。当阀接到进样信号时,阀旋转 $60^\circ$ 使泵和柱分别与样品环的两端连接,然后环中样品被泵入柱子进行色谱分离,同时样品出口得到了清洗。阀处在负载和进样的中间位置时,流路完全堵塞,流动相不能流入柱子。结果使泵中压力上升,柱中压力下降。最终当泵与柱重新相连时,强大的压力突然释放,冲击柱子。今天的柱子比过去的柱子更耐用,对这种冲击不很敏感。即使是这样,使用者也必需快速旋转阀以减小压力累积。

在一些自动进样器中加上一个分流器,可在阀附近分流一些流动相,因此使流动相在柱中的流速保持恒定(见图2)。无论在负载位置还是进样位置,只有不到5%的流动相流过分流器。但在中间状态,100%的流动相都流过分流器。这种设计防止了断流,但也引入了其它问题。若分流器附近的管路堵

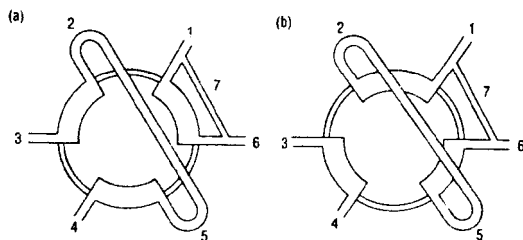


图2 负载(a)和进样(b)位置进样阀的压力分流器示意图  
1. 连到柱子, 2, 5. 样品环, 3. 进样口,  
4. 废液口, 6. 泵接口, 7. 分流器。

\* 编译自 John W. Dolan. LC• GC, 1997, 15(6): 516-521  
本文收稿日期: 1996-12-19, 修回日期: 1997-01-02

塞,分流比将会改变,引起更多流动相流过分流器,稀释了样品,相当于大体积流动相进样。

当分流比过大会使峰展宽(尤其是先洗脱的峰)。解决方法之一是设计一种新型阀:阀旋转时,分流器连通;在负载和进样位置时,连接管断开以消除出现不同分流比的可能。

使用进样阀的另一种方法是半充满模式(图3),使用同样的阀,但样品环比进样体积大。例如,100 $\mu$ L 环用于进样 20 $\mu$ L 样品。在此条件下,精确量取的样品进入样品环,样品环的其余部分充满流动相,当样品环旋转到进样位置时,样品被泵入柱子。

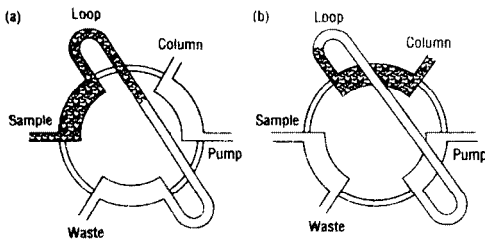


图3 半充满模式的六通阀进样器  
a. 负载位置, b. 进样位置。

在此模式下,泵把环中样品反冲到柱子中尤其重要。在半充满模式中,若泵和柱子连接反了,样品在进入柱前要经过整个样品环,这在大进样量时可能不是什么问题。然而自动进样器常与 1 mL 或更大的样品环匹配。可以想象,若 10 $\mu$ L 样品流过 1 mL 管后进入柱子就会引起峰展宽。当拆开阀清洗或维护时,使用者应注意管子和阀口的对应性,可在各个出口上贴上小标签以防因疏忽而接错。在全充满模式下,流动方向影响较小,但每次以同一方向泵入流动相对操作有利。

### 3 自动进样器设计

自动进样器有多种设计,但主要是基于图4所示的原理。

由电机控制的注射器针头插入自动进样品盘的样品瓶中,抽出所需样品量,自动进样器将针头移到阀的进样口,把样品压入样品环,然后转动阀使样品进入柱子。实际应用中,注射器由步进电机驱动,可使其很精确地吸取样品。用一条长管连接注射器和进样针头。注射器、连接管和针头都是可以发生问题的部位。

的部位。

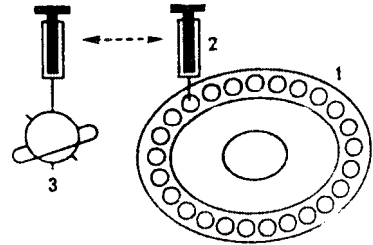


图4 自动进样器原理图

1. 装有小瓶的样品盘, 2. 注射器, 3. 进样阀。

### 4 注射器问题

多数自动进样器可与不同尺寸及进样体积的注射器匹配。例如,100 $\mu$ L 注射器用于 1~ 100 $\mu$ L 进样或 1 mL 注射器用于 100 $\mu$ L~ 1 mL 进样。

关于注射器的选择问题之一如图5所示。我们实验室有同一品牌的 1 mL 和 100 $\mu$ L 两个自动进样器。当进样 50 $\mu$ L 样品时,两个系统得到的峰面积的相对标准偏差均为 1.5% 左右( $n=6$ ),属于系统误差。而改用进样 10 $\mu$ L 样品时,一个系统的相对标准偏差升为 12% 左右,另一个系统的相对标准偏差为 4% 左右。用这么小的进样量时,我们估计相对标准偏差是 4%~ 5%,而不是 12%。

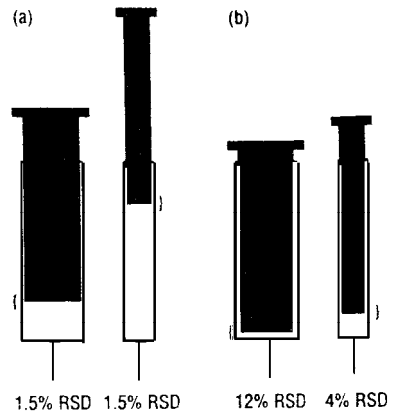


图5 注射器尺寸对 50 $\mu$ L 和 10 $\mu$ L 进样量精确度的影响  
两个注射器的尺寸分别为 1 mL 和 100 $\mu$ L。

原因很简单,无论何时,注射器在步进电机驱动下,由注射器位置而产生的误差是固有误差(见图5中{,}),这种位置误差会演化成体积误差,因而重复

进样时就会观察到相对标准偏差。当进样量较大时,如  $50\mu\text{L}$ ,位置误差与注射器活塞的整个运动相比很小,所以相对标准偏差相同。而选择小体积进样时,与位置误差相比,注射器活塞的移动很小,由此产生了大的体积误差。解决办法:两个系统均使用  $100\mu\text{L}$ 注射器,结果两个系统的误差相同。由此可见,注射器应与进样体积匹配。

## 5 连接管问题

由以上讨论可知,注射器和针头之间通常用长的连接管连接。这根连接管不但在两部分之间形成灵活的液体连接,而且将注射器与样品隔离。因为连接注射器涉及到匹配性问题,若不匹配则可能导致样品残留,因此,自动进样器通常是这样设计的:样品不进入注射器,而是充满在连接管中,此管容易被清洗。这意味着连接管必须足够大以容下所进的样品——通常为  $1\text{mL}$ 。

连接管与注射器之间充满不可压缩的液体会使注射器的运动精确地转化为样品流出量。反过来,若其中有空气,则空气的可压缩性将导致误差。因此,建议每天用脱气的溶剂清洗自动进样器和注射器,这将大大提高自动进样器的可靠性。

## 6 进样针问题

常见问题是样品瓶的隔膜被穿孔,形成的碎片阻塞针头。应通过实验找到适合自动进样器的隔膜。将聚四氟乙烯薄膜贴在隔膜的两个表面上,可减少发生穿孔的可能性。

另一个导致穿孔的因素是使用针的类型。多数液相色谱系统使用的平头针会撕破隔膜。若针头变得粗糙,它就会像岩石钻一样切过薄膜,薄膜碎片进入针头的几率增加。一些自动进样器使用圆头针,侧面有一小孔(称侧孔针),会消除穿孔现象。在更换新针时应注意要与自动进样器原来的针相匹配。

应调节针相对于样品瓶底的高度以得到最佳分离。若针太高,自动进样器就不能从较低液面的样品瓶中取样,空气进入针中,表现为精密度下降。若针插入太深,可能碰到瓶底,有时会引起误差甚至导致系统停止运转,有时针会变弯。每次从标准样品瓶转移到小瓶时,自动进样器针的位置都需重新调节。这个操作非常简单,但对于得到好的分离来说又是必需的。

## 7 清洗溶剂

用溶剂冲洗注射器、连接管和针头,以防样品残留。溶剂的主要功能是在下次进样前清洗残余的样品,它的组成不必与流动相相同。通常,在易挥发溶剂中不加缓冲液,否则硬的结晶物将导致密封圈损坏或出现其它问题。为防止滋生细菌和溶剂降解,最好同更换流动相一样经常更换清洗自动进样器的溶剂,而且最好每天脱除溶剂中的气体,这些做法都有利于得到好的分离。让清洗溶剂从进样阀的废水管流到废液瓶中,以保持阀到废液瓶间的连接管清洁。若此管被缓冲液结晶或样品残渣阻塞,由此产生高柱压,针就不能顺利地将样品注入环中,从而难以重复测定结果。

# LC Troubleshooting— Maintaining Autosampler Performance

Sun Shengcai and Zhang Bing

(National Chromatographic R. & A. Center, Dalian Institute of Chemical Physics, the Chinese Academy of Science, Dalian, 116023)

Translated and edited from John W. Dolan. LC• GC, 1997, 15(6): 516-521.