

如何维护液相色谱柱？

色谱柱的平衡

反相色谱柱由工厂测试后是保存在乙腈/水中的。新柱应先使用 **10-20** 倍柱体积的甲醇或乙腈冲洗色谱柱。请一定确保您分析样品所使用的流动相和乙腈/水互溶。每天用足够的时间以流动相来平衡色谱柱，您就会在处理问题方面获得最大的"补偿"，而且您的色谱柱的寿命也会变得更长！操作步骤：

1. 平衡开始时将流速缓慢地提高，用流动相平衡色谱柱直到获得稳定的基线(缓冲盐或离子对试剂流速如果较低，则需要较长的时间来平衡)。
2. 如果使用的流动相中含有缓冲盐，应注意用纯水"过渡"即每天分析开始前必须先用纯水冲洗 **30** 分钟以上再用缓冲盐流动相平衡； 分析结束后必须先用纯水冲洗 **30** 分钟以上除去缓冲盐之后再用甲醇冲洗 **30** 分钟保护柱子。

色谱柱的再生

长期使用的色谱柱，往往柱效会下降(柱子的理论塔板数减低)。可以对色谱柱进行再生，在有条件的实验室应使用一个廉价的泵进行柱子的再生。建议用来冲洗柱子的溶剂体积：
色谱柱尺寸 柱体积 所用溶剂的体积

125-4mm 1.6ml 30ml

250-4 mm 3.2ml 60ml

250-10mm 20ml 400ml

选择再生方法：极性固定相(如 Si , NH_2^* , $DIOL$ 基色谱填料)的再生：正庚烷→氯仿→

乙酸乙酯→丙酮→乙醇→水**

非极性固定相(如反相色谱填料 $RP-18$, $RP-8$, CN 等)的再生：水→乙腈→氯仿(或异丙醇)→乙腈→水

注意

1.在对 NH_2 改性的色谱柱进行再生时，由于 NH_2 可能以铵根离子的形式存在，因此应该在水洗后用 $0.1M$ 的氨水冲洗，然后再用水冲洗至碱溶液完全流出。

2. $0.05M$ 稀硫酸可以用来清洗已污染的色谱柱，如果简单的用有机溶剂/水的处理不能够完全洗去硅胶表面吸附的杂质，在水洗后加用 $0.05M$ 稀硫酸冲洗非常有效。

色谱柱的维护

1.使用预柱保护分析柱(硅胶在极性流动相/离子性流动相中有一定的溶解度)

2.大多数反相色谱柱的 pH 稳定范围是 $2-7.5$ ，尽量不要超过该色谱柱的 pH 范围

3.避免流动相组成及极性的剧烈变化

4.流动相使用前必须经脱气和过滤处理

5.如果使用极性或离子性的缓冲溶液作流动相，应在实验完毕柱子冲洗干净，并保存于甲醇或乙腈中

6.氯化物的溶剂对其有一定的腐蚀性，故使用时要注意，柱及连接管内不能长时间存留此类溶剂，以避免腐蚀。