

ACQUITY Arc 液相色谱系统的使用与维护

许紫婷, 陈珠灵, 孙建军

(福州大学 化学学院, 福建 福州 350116)

摘要: 小颗粒填料($< 2\ \mu\text{m}$)和超高压系统($> 105\ \text{kPa}$)使得超高效液相色谱(UPLC)能够提供比高效液相色谱(HPLC)更加高效和快速的色谱分离性能,是液相色谱研究领域的新热点之一. ACQUITY Arc 系统作为 HPLC 和 UPLC 两种系统之间的桥梁,可以重现或改进已有的 HPLC 方法,通过简单切换,就能够轻松获得 UPLC 性能,快速实现二者之间的方法转换,为分析工作者提供方便. 通过对 Waters ACQUITY Arc 液相色谱系统的组成、日常使用及维护的详细介绍,为 Waters ACQUITY Arc 液相色谱系统的使用提供指导. 总结了仪器使用过程中的常见故障和解决办法,为延长仪器使用寿命和测试结果的准确性和稳定性提供技术保障.

关键词: ACQUITY Arc; 液相色谱; 故障; 维护

中图分类号: O657.3

文献标志码: B

文章编号: 1006-3757(2017)03-0195-06

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2017.03.010

Operation and Maintenance of ACQUITY Arc Liquid Chromatography System

XU Zi-ting, CHEN Zhu-ling, SUN Jian-jun

(College of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350116, China)

Abstract: Ultra performance liquid chromatography (UPLC), which is the new hotspots in the field, provides better separation and faster analysis than high performance liquid chromatography (HPLC) with the properties of particle sizes less than $2\ \mu\text{m}$ and ultrahigh pressure systems($> 105\ \text{kPa}$). The ACQUITY Arc System, designed as the bridge between HPLC and UPLC method, is specifically engineered to respond to the needs of analytical scientists and can enable them to efficiently replicate or improve the established HPLC method, or easily transfer to UPLC performance just with the flip of a switch. The components, the usage and daily maintenance of Waters ACQUITY Arc liquid chromatographic system is introduced in detail. The article provides experience and direction for the beginners. The common faults and solutions of using the instrument are summarized, in order to ensure the accuracy and stability of the testing results and to extend the service life of the instrument.

Key words: ACQUITY Arc; liquid chromatography; faults; maintenance

液相色谱分析广泛应用于医药、生化、石油、化工、环境卫生和食品等领域^[1]. 近年来,随着科学技术的不断发展,液相色谱分析方法及设备正从高效液相色谱(HPLC)向超高效液相色谱(UPLC)阶段迈进^[2]. 超高效液相色谱技术及分析方法已成功应用于中药复杂组分分析^[3-4]、药剂的分析检测和质

量控制^[5]、农药兽药残留物检测^[6-7]、水及环境监测^[8-9]、化妆品质量控制^[10]及代谢组学^[11]等领域. 然而大部分现行标准^[12-14]中规定的液相色谱分析方法为 HPLC 法,对 UPLC 法的条件及其方法转换等未作详细规定,一定程度上限制了 UPLC 技术的推广和应用. Waters 公司 2015 年全新推出的

收稿日期:2017-05-25; 修订日期:2017-07-12.

作者简介:许紫婷(1983-),女,硕士,实验师,研究方向为大型仪器设备的管理与应用,E-mail: xuziting@fzu.edu.cn

通信作者:孙建军,E-mail: jjsun@fzu.edu.cn,Tel: 0591-22866136.

ACQUITY Arc 液相色谱系统,为 HPLC 和 UPLC 分离提供了真正意义上的即插即用式方法兼容性,有效地弥补和跨越了二者之间的性能差距^[15].

色谱仪器的良好分离效果,不仅跟仪器本身性能有关,更重要的是要对仪器进行科学的管理和正确使用维护,这也是延长仪器使用寿命的前提和基础.关于高效液相色谱及超高效液相色谱的使用、维护和维修等,已有同行前辈进行了较多报道和阐述^[16-21].ACQUITY Arc 液相色谱系统为分析工作者提供一项新的色谱分离解决方案,其相关日常维护和故障处理等还未见文章报道.本文就 Waters ACQUITY Arc 液相色谱系统的组成、操作规程、日

常维护及常见故障处理等方面进行总结并介绍如下,供同行及初学者参考.

1 ACQUITY Arc 系统的组成

图1为 Waters ACQUITY Arc 液相色谱系统流程图.ACQUITY Arc 系统包括四元溶剂管理器、样品管理器、柱温箱和检测器这4个模块.该系统不仅适用来自 HPLC 平台的方法并模拟原始方法中的驻留体积和混合行为,还可结合 UPLC 色谱柱技术来提升色谱分析效率.同时,ACQUITY Arc 系统还适用已针对较大粒径色谱柱进行过调整的 UPLC 方法^[15].

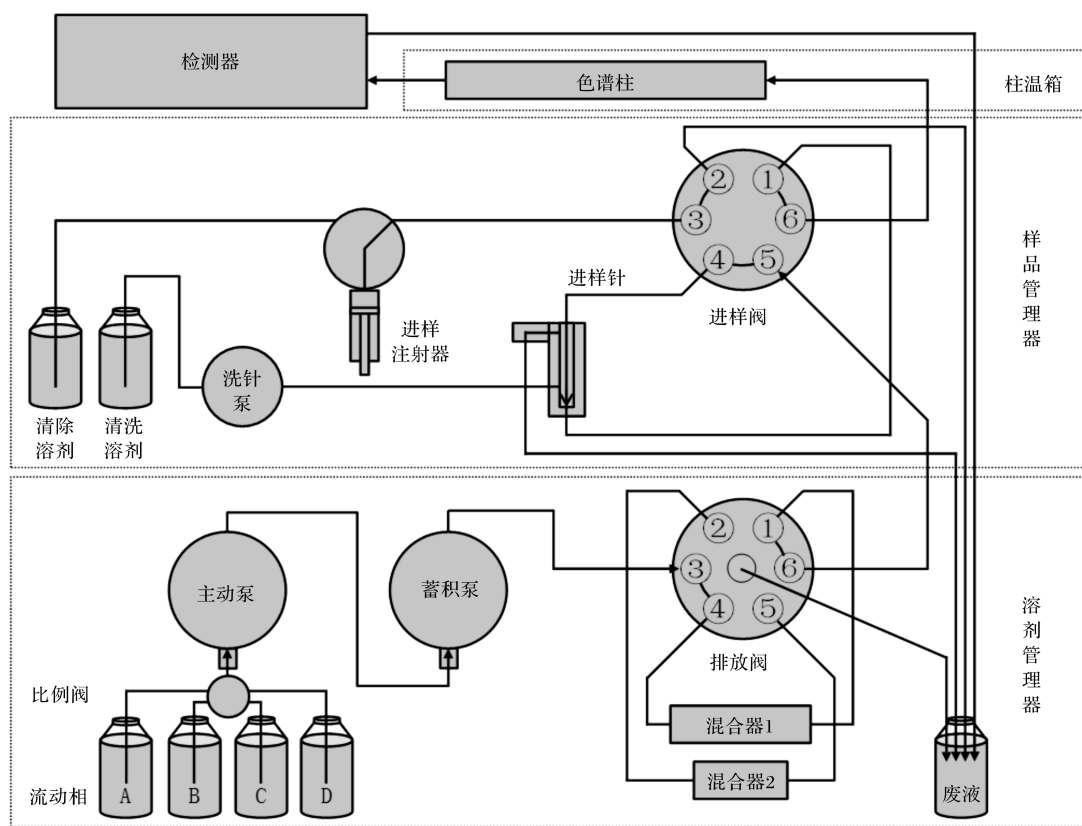


图1 Waters ACQUITY Arc 液相色谱系统流程图

Fig.1 Flow path diagram of Waters ACQUITY Arc liquid chromatography system

1.1 四元溶剂管理器

四元溶剂管理器是一种低压混合的高压泵,它利用梯度比例阀(GPV)可同时泵送4种已脱气的溶剂,从而动态建立特定组分流动相,并将样品随流动相一起带入色谱柱中进行分离.

1.2 样品管理器

样品管理器使用直接进样装置从样品板或样品

瓶中吸取样品,注入色谱柱.在进样量选择上,可以通过安装扩充定量环增大进样体积,也可以使用自动稀释选项稀释样品.

1.3 柱温箱模块

柱温箱模块用于管理和维持 ACQUITY Arc 系统的柱温.ACQUITY Arc 系统柱温箱的长度对于 $2. \mu\text{m}$ UPLC 色谱柱和 $3.0 \sim 5.0 \mu\text{m}$ 粒径的 HPLC

色谱柱都适用,在使用中可以根据方法需要选择相应的 HPLC 或 UPLC 色谱柱。色谱柱室最大可容纳内径为 7.8 mm、长度为 30 cm 的 LC 色谱柱。

1.4 检测器

液相色谱仪中的检测器是关键部件之一,主要用于监测经色谱柱分离后的组分浓度的变化,进行定性、定量分析。与 Arc 系统兼容的光学检测器有:二极管阵列检测器(2998 PDA)、紫外吸收检测器(2489 UV/Vis)、示差折光检测器(2414 RI)、荧光检测器(2475 FLR)、蒸发光散射检测器(2424 ELSD)。

1.5 多流路技术

不同液相系统之间的延迟体积差异会给分析结果带来一定的差异,比如保留时间等。而通常情况下一台液相系统的系统延迟体积是固定的,这样则不利于分析工作中在不同系统下获得一致性的分析结果。ACQUITY Arc 系统采用特有的多流路(Multi-flow path)技术,即在溶剂管理器中配置两套规格不同的在线混合器,使得系统拥有两个系统延迟体积,一个适用于 HPLC 系统的延迟体积,另一个适用 UPLC 系统的延迟体积,二者通过溶剂管理器中的排放六通阀来实现切换。在仪器使用过程,可以根据需要通过软件简单切换,选择与其原有液相系统接近的延迟体积,从而实现方法转移和重现,无需手动调整。

2 日常使用及维护

2.1 溶剂管理器使用与维护

溶剂管理器为四元低压梯度泵,平常使用时应关注压力的情况,并在设备使用记录中记录液相条件和压力。

使用 18.2 MΩ 的超纯水,当天配制使用。使用色谱纯或质谱级的溶剂、缓冲剂和添加剂。配制含缓冲盐流动相需用 0.2 μm 滤膜过滤。

每次开机时应检查密封清洗管内是否有液体,应开启灌注密封清洗功能并用注射器在其废液处抽清洗液,使整根管充满液体。

溶剂管理器长时间未运行或使用缓冲流动相后,应进行密封清洗,并注意:(1)勿使用不挥发性缓冲剂作为密封清洗溶剂,以避免损坏溶剂流路中的密封件和电磁阀座;(2)确保密封清洗溶剂能与流动相条件完全兼容,以避免堵塞系统管路。

避免系统管路长时间置于纯乙腈中,防止乙腈在单向阀表面形成聚合物导致单向阀故障。

接头:首次拧紧接头时应先用手指拧紧后再使用扳手拧 3/4 圈,为防止谱带扩展,紧固压力螺钉前,应确保管路底部位于其安装孔中,再次拧紧接头时应先用手指拧紧后再使用扳手拧不大于 1/6 圈,避免过度拧紧导致接头损坏。在维护过程中,每当拧松接头时,应检查是否有裂缝、螺纹损坏和变形。

2.2 样品管理器使用与维护

在运行样品界面中选择与实际样品盘对应的选项,装机配的样品盘为 ANSI 48Vial 2 mL,避免进样针损坏。

取放样品时使用样品室上方的开关 1 或 2 来选择对应的样品盘,拉出样品盘,将样品板放入托盘时应使孔位置“A,1”位于左上角,将托盘滑入直至其卡入到位。禁止在开机的状态下手动转动样品盘转盘。

根据样品和溶剂的特性选择合适材料的滤膜(0.2 μm)过滤样品,确保样品无不溶杂质。如样品的溶剂不是流动相,进样前务必确保样品能溶于流动相中,以免进样时样品在流动相中析出,堵塞管路和色谱柱样品。

清除溶剂:主要用于充满样品注射器和吸取样品。清除溶剂必须能与使用的流动相和样品组分互溶,且必须含有一定比例的有机相,通常与等度方法的流动相比比例或梯度方法的流动相初始比例相同。常选用 10% 乙腈水作为清除溶剂。

清洗溶剂:用于在进样间隙期间清洗针上一个样品的残留。清洗溶剂的有机相比比例通常高于方法所使用等度流动相比比例,或与梯度方法的最终流动相比比例相同,甚至更强。清洗溶剂必须与方法所使用流动相和样品组分兼容且可混溶。常选用 50% 乙腈水或纯乙腈作为清洗溶剂。

2.3 柱温箱使用与维护

禁止在通电的情况下插拔柱温箱电缆。流动相的 pH 值在色谱柱的 pH 值范围内,超过色谱柱的 pH 值范围使用可能导致固定相脱落或硅胶溶解。

带预加热装置的柱温箱可以提高分析的稳定性,接色谱柱端的接头应使用手指拧紧,若使用扳手拧过紧会导致前端的塑料锥箍损坏。预加热接头安装步骤:拧松银色螺母,将带有装配锥箍的镀金压力螺钉插入色谱柱(或在线过滤器)的入口,用手拧紧镀金压力螺钉,拧紧银色螺母。

若长时间停机,需将色谱柱从系统中取下用堵头封好放入色谱柱盒保存。仪器配有在线过滤器可

过滤样品中的杂质,当在线过滤器压力升高时应更换其滤芯。

2.4 紫外检测器使用与维护

启动检测器前应确保流通池湿润,防止出现初始化错误。

如试验中使用含有缓冲盐的流动相,应在关闭电源前用纯水将其从检测器中冲洗掉后用纯甲醇保存流通池。如长期不使用流通池,用纯甲醇冲洗流通池,将流通池废液出口用堵头堵好。

长时间不使用检测器时应关闭灯,如果下一次使用间隔不超过4 h,则无需关灯。

漏液传感器:可在控制台中配置启用或不启用漏液传感器,若出现漏液报警时,处理漏液故障后用纸巾吸干漏液传感器及其卡槽内残留的溶剂,然后重置模块。

应注意仪器环境的卫生,避免灰尘进入仪器内部,在较长时间不用仪器时应关闭仪器电源,防止电路板或其他部件因积灰导致故障。

3 常见故障处理

3.1 压力异常

压力显著升高或超上限,通常原因是流路堵塞,可以从流路末端往前逐一检查以确认堵点,可能原因及处理:

(1)如灌注系统时压力超上限,则可能是排液阀堵塞,可用流动相反冲排液阀或清洗密封垫;

(2)在不连接进样器的情况下,如果压力偏高,则可能是溶剂混合器堵塞,可用流动相反冲溶剂混合器或更换混合器;

(3)如进样时系统压力明显升高甚至超上限,则可能是进样针或针座堵塞,应该用流动相反冲进样针、清洗针密封或更换针座;

(4)如果是在同样的方法条件下压力比之前明显升高,则可能是缓冲盐沉积色谱柱内或样品污染沉积,应用粘度更低的50%乙腈水溶液清洗色谱柱,同时升高柱温和降低流速。

压力显著下降、没有压力或压力波动大,可能原因及处理:

(1)如流路中有气泡,可用流动相灌注系统,以排除流路中可能存在的气泡;

(2)单向阀堵也可能造成流路压力下降或没压力,可将单向阀取下先后用水、异丙醇、甲醇超声10 min后再装上;

(3)检查流路是否存在漏液情况,如进样针、接头或泵杆密封圈漏液,则应更换相应配件。

3.2 色谱峰型异常

3.2.1 所有的色谱峰都变形

所有的色谱峰都变形,可能原因及处理:

(1)色谱柱污染或填料塌陷等原因造成柱效降低,应更换色谱柱进行测试;

(2)如出现色谱峰前伸或有往前的肩峰,则可能是溶解样品的溶剂不当产生溶剂效应,如图2(a)所示。图2(a)中,溶解样品的溶剂为纯乙腈,进样体积10 μL 时,产生了明显的溶剂效应,导致所有色谱峰前伸。可通过减小进样体积降低溶剂效应,如图2(b)所示,将进样体积减小为1 μL 后,色谱峰形正常;或降低溶解样品溶剂的有机相比比例,如图2(c)所示,将样品溶解在10%乙腈水,在进样体积为10 μL 条件下,同样获得了良好的色谱峰。

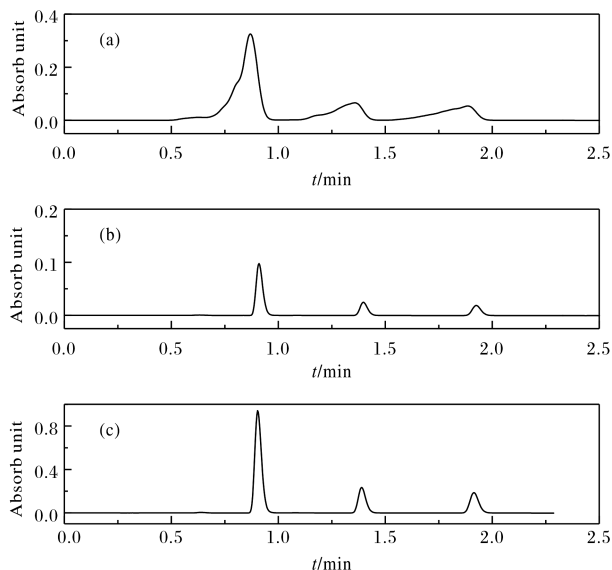


图2 (a)产生溶剂效应的色谱图,(b)样品溶解在纯乙腈,进样体积为1 μL 的色谱图,(c)样品溶解在10%(v)乙腈/水,进样体积为10 μL 的色谱图

Fig.2 Chromatograms of (a) solvent effect, (b) sample in acetonitrile, 1 μL injection and (c) sample in 10% (v) acetonitrile/water, 10 μL injection

(3)如出现所有色谱峰变宽、拖尾,则可能是管路太长或内径太大,或接头死体积造成谱带展宽,应使用尽量短的小内径管路,且接头的管子应顶到接口的底部。在使用相同色谱柱的条件下,采用0.01英寸内径管路测出的色谱图如图3(a)所示;色谱峰有拖尾现象,将管路更换为0.005英寸内径后测出

的色谱图如图 3(b) 所示. 由图 3(b) 可见,峰形正常,无拖尾现象,且柱效更高.

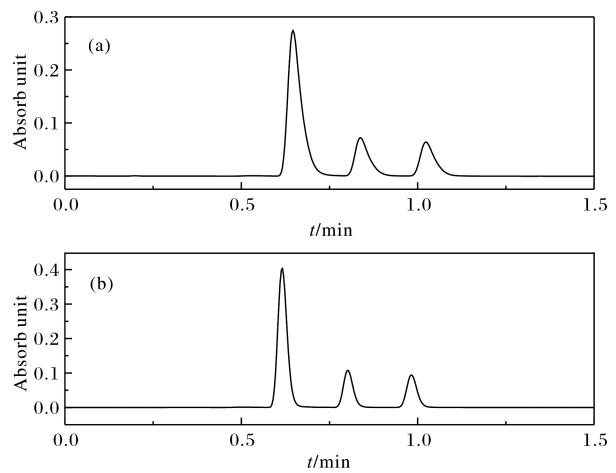


图3 (a) 管路内径为 0.01 英寸的色谱图,
(b) 管路内径为 0.005 英寸的色谱图
Fig.3 Chromatograms on (a) tubing size (I.D.)
0.01 in, and (b) tubing size (I.D.) 0.005 in

(4) 如采样速率设置不当,也会导致色谱峰变形,应调整合适的采样速率.

3.2.2 个别色谱峰变形

某个或某些色谱峰变形,可能原因及处理:
(1) 如样品在色谱柱上过载,出现平头峰,应稀释样品或减小进样体积. 如图 4(a) 所示,图中第一个峰出现平头峰,考虑该组分样品过载,将进样体积减小为 0.5 μL 后进样,获得了良好的色谱峰,结果如图 4(b) 所示.

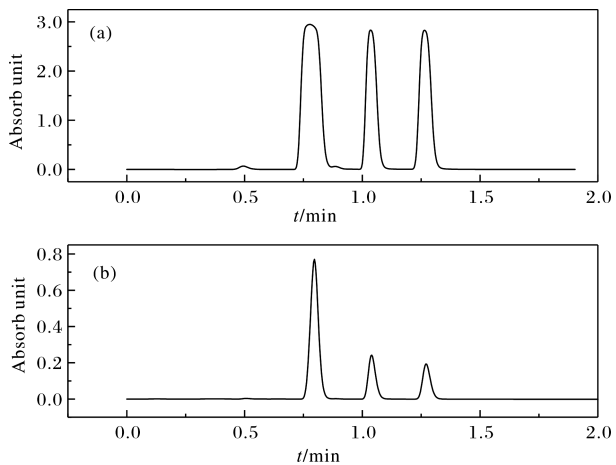


图4 (a) 进样体积为 10 μL 的色谱图,
(b) 进样体积为 0.5 μL 的色谱图
Fig.4 Chromatograms of (a) 10 μL injection of
sample and (b) 0.05 μL injection of sample

(2) 如流动相 pH 不合适,样品中碱性物质会出现峰形拖尾,应调整流动相比比例和 pH 值.

(3) 某个样品组分与色谱柱表面颗粒发生阳离子交换,也可能造成峰变形,应更换合适的色谱柱进行测试.

3.2.3 鬼峰

出现鬼峰,可能的原因及处理:
(1) 前一针进样的化合物洗脱造成的鬼峰,如图 5(a) 所示. 图 5(a) 中,流动相为水/乙腈(体积比为 65 : 35),流速为 0.3 mL/min ,连续两针进样,第二针比第一针多出一个鬼峰(0.65 min). 如不改变流动相条件,可通过延长运行时间将未洗脱化合物洗脱出来,如图 5(b) 所示,未洗脱的化合物在 5.61 min 出峰;或者采用梯度洗脱,洗脱程序如表 1 所列. 未洗脱的化合物在 3.55 min 出峰,且不影响其他峰的分离度,如图 5(c) 所示.

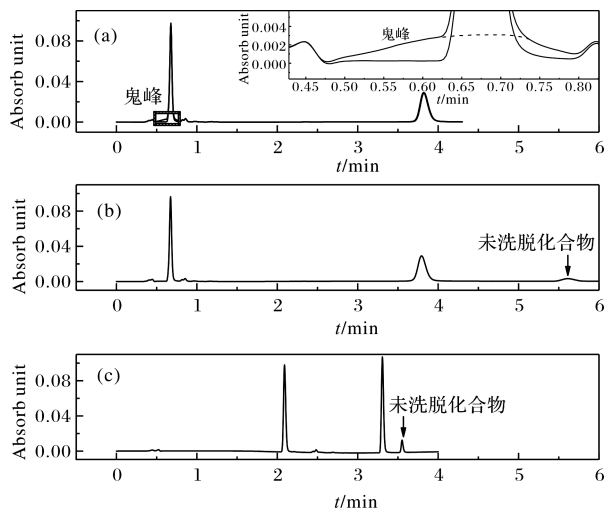


图5 (a) 鬼峰色谱图,(b) 延长运行时间至 6 分钟的
色谱图,(c) 梯度洗脱方法的色谱图
Fig.5 Chromatograms of (a) ghost peak,
(b) prolonging the run time to 6 min and
(c) gradient method

表 1 梯度洗脱程序 Table 1 Gradient parameters			
时间/min	流速/(mL/min)	水/%	乙腈/%
0	0.3	90	10
2.5	0.3	20	80
3	0.3	20	80
4	0.3	10	90

(2)样品溶剂或样品瓶污染造成的鬼峰,可通过更换溶剂和样品瓶来排除故障。

3.3 保留时间及峰面积重现性差

保留时间和重现性差,可能的原因及处理:(1)色谱柱平衡不够,应用流动相充分活化平衡色谱柱;(2)流路漏液也会造成保留时间延迟,可按上述

3.1.2 方法检查漏液点并处置。

峰面积重现性差,可能原因及处理:(1)进样注射器有气泡,应灌注清除溶剂,以排除气泡;(2)进样针密封或自动进样注射器漏液,应更换针密封或注射器。

4 结语

液相色谱仪是一种精密的分析仪器,在日常工作中,必须重视和加强对液相色谱仪的管理和维护,规范操作,遇到问题和故障及时解决,延长仪器的使用寿命,确保数据结果的准确性和稳定性。

参考文献:

[1] 于世林. 高效液相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 9.

[2] 赵明霞, 胡基埂, 吴方千, 等. 超高压液相色谱系统的研究进展[J]. 分析试验室, 2009, (S2): 137-140.

[3] 杨艳, 陈旭冰, 陈光勇, 等. 超高效液相-质谱联用鉴定云南雪胆和云南地不容的研究[J]. 中国医药导报, 2013, 10(5): 112-113.

[4] 赵国欣, 刘萌, 李领川, 等. 超高效液相色谱-质谱联用同时测定丹参中7种成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, (1): 60-63.

[5] 赵唐娟, 陈娟, 师彦平, 等. 超声细胞粉碎萃取结合超高效液相色谱用于六味地黄丸的整体分析[J]. 色谱, 2017, 35(1): 32-46.

[6] 周春风, 郭时金, 梅建国, 等. 超高效液相色谱技术在兽药分析领域应用的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(4): 162-166.

[7] 郭萌萌, 李兆新, 谭志军, 等. 超高效液相色谱法(UPLC)快速测定水产品中17种磺胺类抗生素残留[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(5): 97-104.

[8] 孙静, 徐雄, 李春梅, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测地表水中的35种农药及降解产物[J]. 分析化学, 2015, (8): 1145-1153.

[9] 郭欣妍, 王娜, 郝利君, 等. 超高效液相色谱/串联质谱法同时测定水、土壤及粪便中25种抗生素[J]. 分析化学, 2015, (1): 13-20.

[10] 马强, 王超, 王星, 等. 超高效液相色谱法同时测定化妆品中的15种激素[J]. 色谱, 2007, (4): 541-545.

[11] 安卓玲, 史忱, 赵瑞, 等. 基于超高效液相色谱-质谱的药物性肝损伤患者血清代谢组学研究[J]. 分析化学, 2015, (9): 1408-1414.

[12] 中国药典 2015 年版. 四部[S]. 2015: 59ChP 2015. Vol IV[S]. 2015: 59

[13] 国家标准化管理委员会. GB/T 32946-2016, 蜂蜜中脯氨酸的测定高效液相色谱法[S].

[14] 国家标准化管理委员会. GB 5009. 121-2016, 食品安全国家标准食品中脱氢乙酸的测定[S].

[15] 申海鹏. 全新 ACQUITY Arc 系统搭建 HPLC 和 UPLC 之间的桥梁[J]. 食品安全导刊, 2015, (19): 42.

[16] 朱彭龄. 高效液相色谱仪的使用和维护[J]. 分析测试技术与仪器, 2012(4): 246-249.

[17] 程世红. 高校实验室高效液相色谱仪的使用及维护[J]. 知识经济, 2011(13): 64-65.

[18] 王雪. 超高效液相色谱仪的维护及问题处理[J]. 品牌与标准化, 2016(1): 63-64.

[19] 吴少敏, 张雅芝, 殷博昊. 高效液相色谱的使用与维护[J]. 实验室科学, 2011(3): 183-186.

[20] 宋丽敏, 宋丽, 王瑜瑜. 高效液相色谱仪的使用和维护[J]. 分析仪器, 2013(3): 70-71.

[21] 邹月利, 徐雅琴, 白靖文, 等. 实验室高效液相色谱仪的管理与使用维护[J]. 实验科学与技术, 2014(2): 214-217.