

控制 LC/MS 系统中的污染

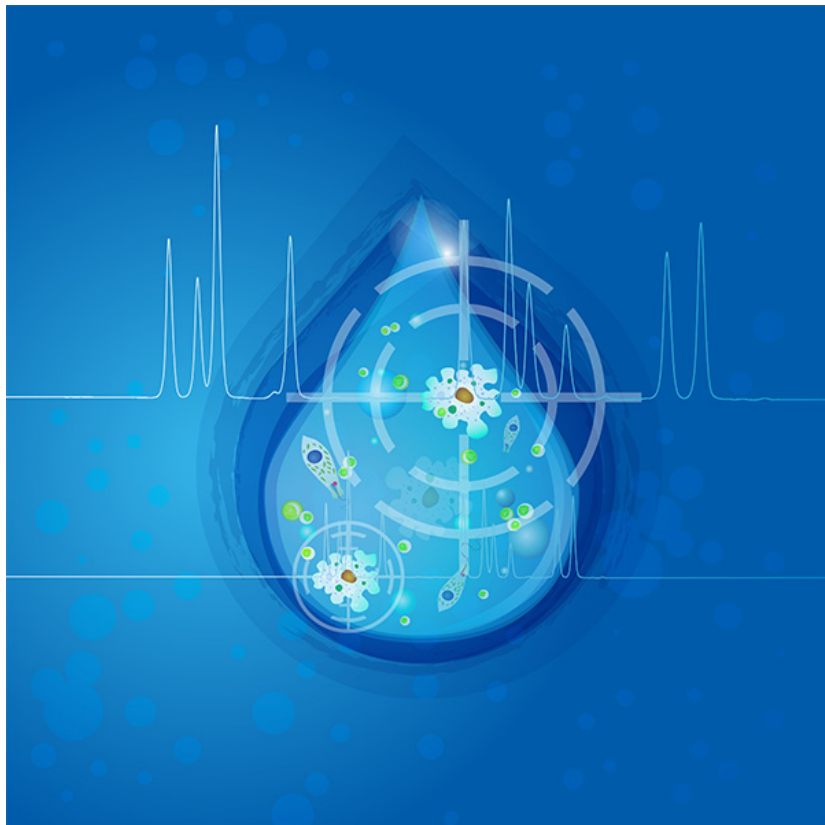
最佳做法

本文档概述了控制 UPLC/MS 和 HPLC/MS 系统中污染的最佳做法（临床和非临床）。良好的污染控制计划包括预防、疑难排解和清除污染的措施。

! **重要说明：** 本文档更新、替代和补充所有其他关于预防、疑难排解和清除污染的 Waters 文档。

注： 要了解污染的原因，请参阅[主要污染物及其污染源](#)，第 31 页。

注： 如果已遵循本文档中的建议但仍需污染帮助，请联系您的 Waters 代表。



目录

防止污染	3
正确选择、制备和处理溶剂	3
正确清洗实验室玻璃器皿	6
正确制备和处理样品	7
使用洁净的接头和管路	7
佩戴手套	8
使用洁净的色谱柱	8
检查实验室空气	10
排除污染问题	11
确定 LC 或 MS 系统的问题	12
排除 LC 系统故障	12
排除 MS 系统故障	14
清洁消除污染	16
一般原则	16
清洁 MS 系统	21
参考信息	23
溶剂注意事项	23
建议的水净化流程	29
手套	30
主要污染物及其污染源	31
污染数据库	34

防止污染

预防是控制污染中最重要的一环。相比解决或消除污染，预防污染要简单得多。要预防污染，遵循本节中的步骤。

正确选择、制备和处理溶剂

密切关注溶剂（或流动相）的选择和使用对防止污染可起到关键性作用（请参阅[低质量溶剂的可能影响](#)，第 23 页）。Waters 建议使用溶剂时按以下步骤进行操作。¹

注：有关溶剂建议和使用注意的详细信息，请参阅系统[用户指南](#)。

使用洁净、无颗粒的溶剂

！ 注意：使用的溶剂等级与您的应用不符会导致背景噪音过大和灵敏度降低。

制备流动相时，请务必使用化学洁净且无颗粒的溶剂（表 3）和试剂。溶剂必须为 UPLC 级或适合于正在运行的应用的质量水平。（请参阅[溶剂注意事项](#)，第 23 页。）

使用新溶剂

使用可用的最新溶剂；储存溶剂时必须采取防止微生物生长的措施（请参阅[将溶剂储存在洁净的玻璃溶剂瓶（带盖）中](#)，第 6 页）。当暴露于环境中时，溶剂极易受到空气传播污染。

！ 注意：如果使用有机溶剂，请注意制造商建议的有效期。打开溶剂瓶可能会发生污染。

1. 这些建议以 Waters 实验室中积累的经验为基础。

使用超纯水

使用超纯水（超纯水是一种已通过系统净化的水，其中的目标污染物可对 UPLC[®]/MS 和 HPLC/MS 系统造成损害）。

注： 请参阅[建议的水净化流程](#)，第 29 页。

超纯水无菌且不含大于 0.2 μm 的颗粒，无可检测的可电离化合物（电阻率 >18-MO Ω .cm），并且监测波长的 UV 吸收度低。在弱清洗平衡期间，使用超纯水可降低水中可聚集在色谱柱里的杂质质量。

防止微生物生长

水溶性流动相和水易受微生物生长的影响，可能会在梯度运行中形成峰，并且在等度运行中增加背景吸收。微生物生长还会堵塞过滤器、滤头及色谱柱，并会导致单向阀出现故障。此类问题会使色谱柱压力或泵反压偏高，最终导致色谱柱过早出现故障，出现系统关机。

为防止流动相中生长微生物，请每天制备、过滤含水流动相，并进行脱气。系统关闭后重新开启时或较长一段时间（如周末）未运行时，请用水彻底冲洗系统。然后，用适当的有机溶剂（如乙腈或甲醇，浓度至少为 10%）再次冲洗。

！ 注意： 为了防止微生物污染，请勿使水或含水量 >90% 的流动相留存在系统中。

尽可能少用添加剂

! **注意:** 为了防止微生物生长, 请勿在储存瓶中添加添加剂。

- 要减少背景噪音, 请使用最低浓度的流动相添加剂 (例如, 兼容良好、稳定色谱的酸、碱或缓冲剂)。使用的添加剂越多, 引入流动相中的污染更多。
- 当开发新方法或将旧方法转用新色谱柱时, 取消不再影响色谱的所有添加剂。例如, 对于许多色谱柱来说, 获取碱性化合物的良好峰形不再必需 TEA。
- 使用可用的最高质量添加剂 (至少为 LC/MS 级添加)
- 使用含低浓度铁离子和其它金属离子的添加剂 (例如, 甲酸)。乙酸可能含有大量的铁离子和其它金属离子。
- 要防止沉淀物, 请避免在高有机物浓度的洗脱液中使用无机盐或添加剂。此类盐或添加剂可能会在梯度运行时的高有机物浓度端出现沉淀。
- 使用具有挥发性并与质谱仪兼容的添加剂。

! **注意:** 如果使用的是质谱仪, 请避免使用非挥发性添加剂, 如钠 (Na⁺)、钾 (K⁺) 或磷酸盐 (PO₄³⁻)。

! **注意:** 某些添加剂可能与质谱仪不兼容。请参阅系统附带的文档, 了解具体的兼容添加剂。

- 推荐使用含铵 (NH₄⁺)、醋酸盐、甲酸盐或碳酸盐的挥发性添加剂。

! **注意:** pH 值大于 10 的溶剂可溶解石英。如果系统包含熔融石英和玻璃组件 (例如, 具有 nanoACQUITY 或 M-Class UPLC 系统), 请避免使用 pH 值大于 10 的溶剂。避免在高 pH 下储存系统。冲洗并储存在甲醇或浓度至少为 10% 的无添加剂或缓冲剂有机溶剂中。

- 要在使用含有添加剂的流动相后冲洗系统, 冲洗至少 5 分钟 (至少 50 mL 的水)。然后, 用适当的有机溶剂 (如乙腈或甲醇, 浓度至少为 10%) 再次冲洗。

使用可混溶的溶剂

确保所有溶剂和样品, 包括添加剂, 均易混合。蛋白质 (来自组织、血液或血清样品) 在高浓度 (>40%) 有机溶剂中可能会发生沉淀。沉淀的蛋白质会阻塞进样器或管路, 或者使分析物或污染物发生聚集。

将溶剂储存在洁净的玻璃溶剂瓶（带盖）中

- 将流动相存储在干净琥珀色或棕色的硼硅玻璃溶剂瓶中（请参阅[正确清洗实验室玻璃器皿](#)，第 6 页）。硼硅玻璃必须为 1 型、A 类或 3.3 型。

! **注意：** 制造商配送溶剂的棕色瓶不是硼硅酸材质，不可用于储存含水溶液。

! **注意：** 切勿将液体储存在塑料瓶中，塑料中可能含有增塑剂（如邻苯二甲酸盐），会加快有机物的污染。

- 盖上溶剂瓶，以防止通过空气传播的污染物进入溶剂。
- 封盖溶剂瓶时，使用铝箔或系统随附的盖子。

! **注意：** 请勿使用 Parafilm® 或其它塑料薄膜覆盖溶剂瓶。

- 使用适用于分析的最小溶剂瓶（取决于流速和运行时间长度）。
- 请勿将溶剂加满。应倒掉旧溶剂，用使用的溶剂冲洗样品瓶和溶剂入口过滤器，然后重新填充新配置的溶剂。最后，灌注系统。

正确清洗实验室玻璃器皿

使用前必须彻底清洗用于制备或储存流动相的所有玻璃容器。

标准清洁流程

! **注意：** 切勿使用去污剂或洗洁精清洗玻璃器皿。

! **注意：** 务必使用用于色谱分析的相同流动相 / 溶剂清洁玻璃器皿。

先用有机溶剂冲洗玻璃器皿，再用水冲洗。

彻底清洁流程

如果需要更彻底的清洗（例如，不清楚容器之前的使用情况），请按照下列步骤操作：

1. 依次使用 10% 的甲酸或硝酸、水、甲醇或乙腈进行超声处理，最后再用水进行超声处理。
2. 再重复此操作两次。
3. 将用于制备或储存流动相的玻璃器皿与其它常用的玻璃器皿分开存放。

4. 如果玻璃器皿或溶剂瓶被生长的微生物污染, 请对其进行高压灭菌:
 - a. 拆下并更换流动相容器和仪器之间的所有过滤器和管路。
 - b. 用乙腈或甲醇清除系统, 并将其放置过夜。

正确制备和处理样品

确保样品无颗粒。同时, 在制备和处理样品的过程中必须注意不要引入污染。

使用高效冷阱

浓缩、冷冻干燥或蒸馏样品时请使用高效冷阱。否则, 真空泵油会出现返流而导致污染。

使用洁净的样品瓶、瓶盖和样品板

1. 使用 [Waters 品牌的样品瓶](#); 它们经过特定的清洁水平认证。(选择适合您的应用的样品瓶。) 其他样品瓶可能包含会干扰应用和污染系统的污染物。
2. 确保样品瓶上带有衬垫, 且瓶盖不含污染物 (请参阅制造商的说明):
 - 请勿使用衬垫中带有纸的样品瓶或瓶盖。衬纸可能成为污染源。
 - 自封口隔片含有会干扰 LC/MS 应用的硅树脂。
 - 如果单层隔片不含有会污染样品管理器的塑料或粘合剂, 则可以使用 (推荐 PTFE)。
3. 使用 Waters 品牌的孔板。其他品牌可能会浸出增塑剂 (例如, 邻苯二酸二异辛酯)。
4. 只要铝不接触溶剂 (有可能发生反应), 就可以使用铝箔内衬的样品板盖。
5. 请勿使用自封口或粘性盖垫; 它们会包含来自粘合剂的污染物。
6. 请勿使用与样品稀释溶剂、流动相和清洗溶剂不相容的盖垫。

使用洁净的接头和管路

使用洁净的惰性材料进行连接

1. 接触溶剂或样品的连接包括瓶塞、O 形圈、单向阀和溶剂入口过滤器 (沉锤)。
2. 入口管路上的标签会包含污染物。它们不得接触溶剂或流动相。
3. 有些类型的管路 (如聚氯乙烯或 PVC) 含有增塑剂或其他污染物。

! **注意:** 请勿触碰或使表面接触任何包含的污染物。

佩戴手套

佩戴无颗粒物、无粉尘的非乳胶手套

请在以下情况下使用 Waters 无菌丁腈手套（请参阅表 4）：

- 处理接触流动相或样品的 UPLC 或 HPLC 系统的部件时
- 使用标记有“绝对洁净”的部件更换旧部件时。

！ 注意： 为避免意外接触皮肤，请勿使用指套代替手套。

如果手套变湿，予以更换

！ 注意： 触碰表面时要小心，即使戴着手套。保持手套干燥，如果其变湿，则予以更换。湿手套会带入污染。经常更换手套。

佩戴手套

有关佩戴手套以防止污染的说明，请参阅[如何佩戴手套](#)，第 30 页。

使用洁净的色谱柱

！ 重要说明： 有关色谱柱的详细保养与使用说明，请参阅色谱柱制造商提供的保养与使用说明。（例如，[《ACQUITY UPLC BEH 色谱柱保养和使用手册》](#)，715001371。）

使用洁净的色谱柱

UPLC 或 HPLC 色谱柱可以捕获色谱柱头上的颗粒物、沉淀的蛋白质以及其它有机污染物。这些污染物会增加操作压力或改变色谱选择性，从而对色谱柱的寿命产生不良影响。此外，污染物可能缓慢排出，使残留和背景噪音增加。

色谱柱还会聚集溶剂中的杂质。这种情况会在以下条件下发生：

- 使用含水量较高的溶剂对反相色谱柱（例如，C18）进行长时间平衡时
- 使用有机物浓度较低的溶剂在反相色谱柱上执行等度运行

吸收的化合物可能会洗脱为显著的峰或成为延伸在整个色谱图上的大宽峰。痕量成分的富集效果会增加溶剂或 UPLC/HPLC 系统中的污染物含量。

注： 有关清洁色谱柱的指导，请参阅[清洗色谱柱](#)，第 17 页。

存储色谱柱

存储色谱柱时，请在柱中使用最初提供的溶剂（例如，100% 乙腈）进行存储。在存储之前，冲洗色谱柱，以清除缓冲剂和添加剂。

注：有关详细说明，请参阅色谱柱制造商提供的溶剂建议。

检查实验室空气

保持实验室空气洁净

实验室空气中的化合物会污染 LC/MS 系统：

- 实验室空气中通常存在有硅氧烷。这些化合物存在于除臭剂和其他化妆品中，在特定条件（如 nanoflow）下会导致污染（图 1）。

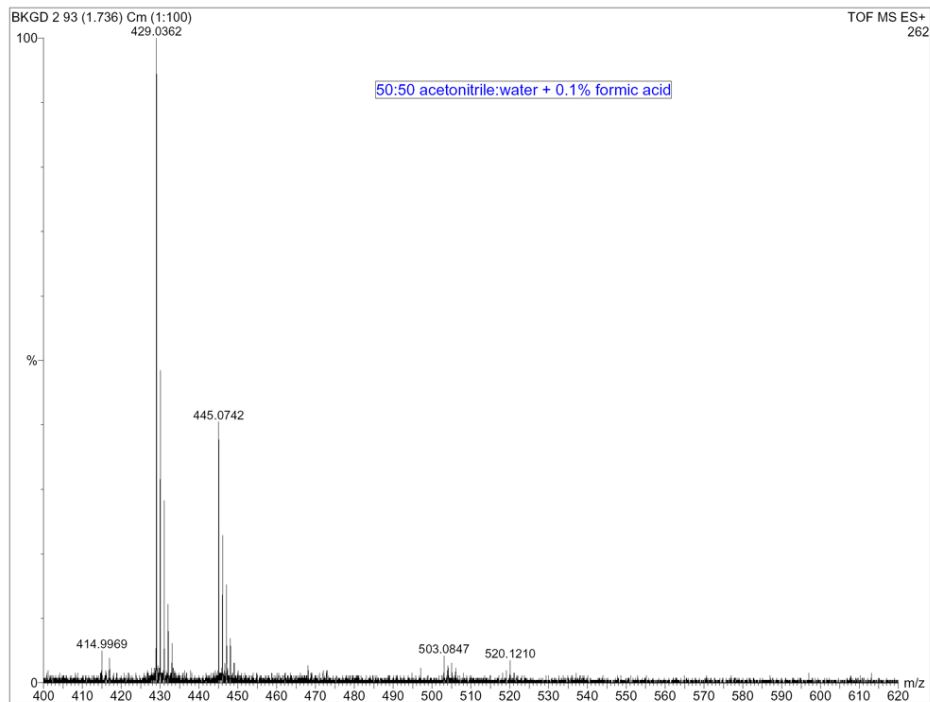
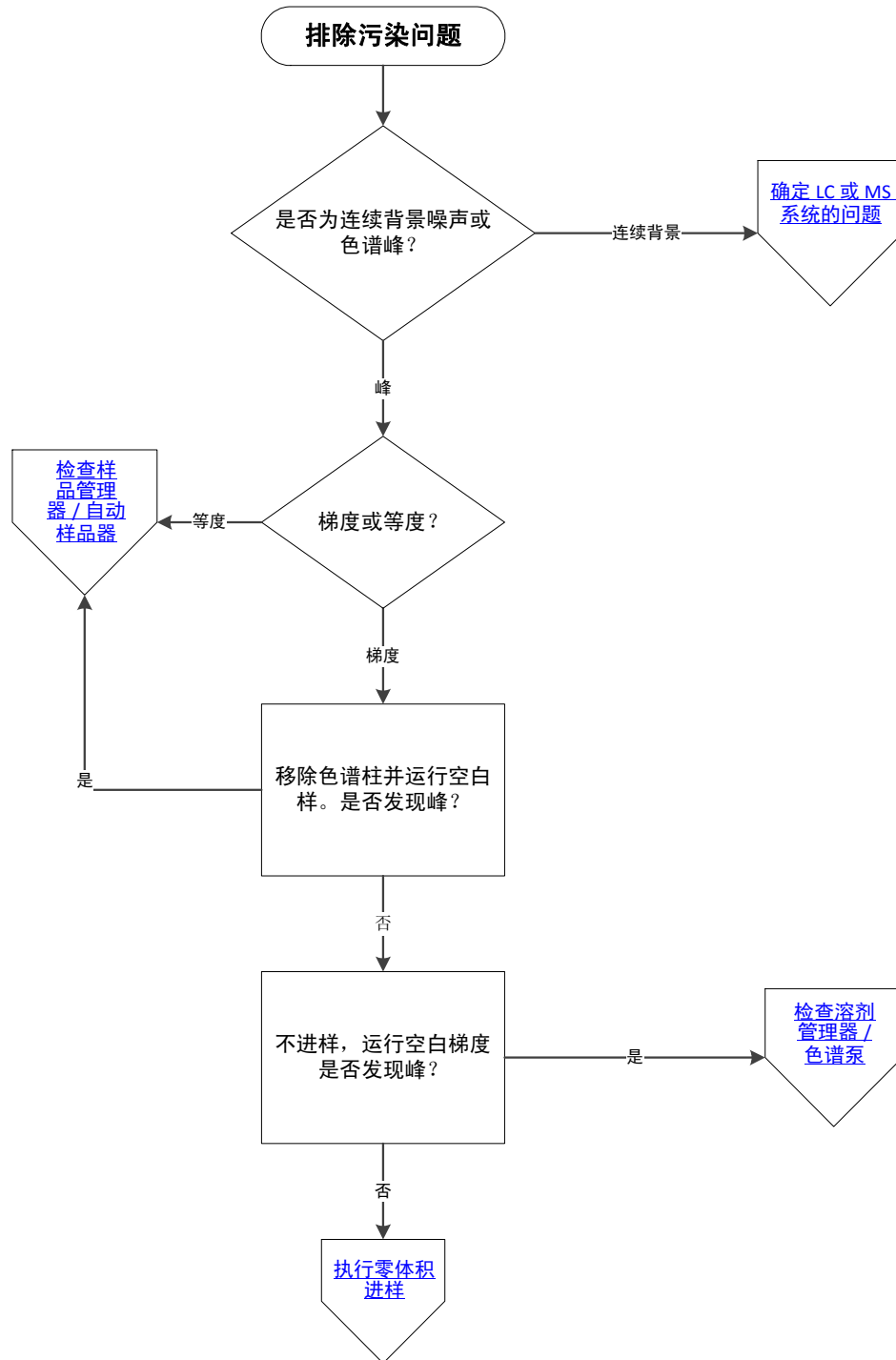


图 1 - ESI+ 质谱图，显示存在硅氧烷污染

- 实验室空气中还存在邻苯二甲酸盐。通过空气传播的邻苯二甲酸盐来源于空调滤清器，会污染与空气接触的任何溶剂或固体。

排除污染问题

本节将概括说明排除 LC/MS 系统中污染的常识性方法。使用流程图继续。



确定 LC 或 MS 系统的问题

注： 在开始本部分前，完成第 11 页上的流程图步骤。

1. 使用除流动相之外的其它洁净溶剂冲洗 ESI 探头和注入机构，并将注射器注入套件直接连接到 ESI 探头。

！ 重要说明： 将系统所用的流动相（例如，50:50 A/B 混合物，流速 0.3 mL/min）注入 MS。确保绕过整个 LC 和溶剂管理系统。

- 如果污染水平降低，则污染物很可能主要位于 LC 系统中。排除 LC 系统故障，第 12 页。
- 如果污染谱图中的峰强度并未降低，则污染源可能位于 MS 系统中（源、入口管路、射流装置等）。排除 MS 系统故障，第 14 页。

排除 LC 系统故障

试用新色谱柱

注： 长时间运行低浓度有机流动相（例如，初始条件）时，污染物可能会在色谱柱上发生积聚和浓缩（痕量成分的富集）。执行梯度运行时，污染物会从色谱柱上洗脱下来。

检查流动相

在洁净的样品瓶中混合 1 mL 流动相 A 和 1 mL 流动相 B，将该混合物注入质谱仪。

- 如果存在污染，则问题可能位于容器瓶或流动相中。有关使用洁净溶剂和容器的指导原则，请参阅防止污染，第 3 页。
- 如果注入物中无污染，请泵送 50:50 A/B 混合物通过洁净的探头，泵入质谱仪。如果观察到污染，则污染位于溶剂管理器 / 色谱泵或样品管理器 / 自动样品器（或两者）中。要确定哪一个组件是污染源，执行零体积进样。

执行零体积进样

- 如果发现污染，检查溶剂管理器 / 色谱泵。
- 如果不存在污染，检查样品管理器 / 自动样品器。

检查溶剂管理器 / 色谱泵

将溶剂管理器 / 色谱泵从样品管理器 / 自动样品器上断开，直接泵送至质谱仪。

- 如果出现污染，则溶剂管理器 / 色谱泵是污染源。重新连接样品管理器 / 自动进样器，并遵循一般原则，第 16 页。
- 如果不存在污染，检查样品管理器 / 自动样品器。

检查样品管理器 / 自动样品器

1. 如果尚未移除色谱柱，将其移除。
2. 泵送清洗溶液通过样品管理器 / 自动样品器，最后泵入废液。
使用与冲洗泵所用相同的溶液冲洗针头清洗流路。再注入大体积（例如，3 倍溢出的充满定量环）的清洗溶液。如果清洗溶液是酸，用大量清水冲洗。然后重新注入流动相并彻底冲洗。如果出现污染，请确定污染是位于样品、稀释剂、注入设备中，还是位于样品容器中。
3. 检查用于稀释的溶剂、水和酸。
将样品稀释剂（例如，等分的水和乙腈（或甲醇）加上 0.1% 甲酸的混合物）注入质谱仪以检查污染。如果此“空白样”中没有污染，则污染来源于原始样品。
如果污染仍存在，[检查样品](#)。
4. 检查样品。
将经过稀释的样品注入质谱仪。

注： PEG 可能来自用于样品制备的去污剂或聚乙二醇药类化合物。

如果污染仍存在，[检查注入设备和样品容器](#)。
5. 检查注入设备和样品容器。
清洗或更换各组件，然后重复注入测试。如果注入设备和容器都是洁净的，[检查针头清洗溶液](#)。
6. 更改进样体积。
如果更换样品稀释剂无法解决问题，请尝试将进样体积乘以 2 或更大的系数，进行调节。如果污染随进样体积的变化成比例地增加或减少，则样品有可能被污染。需要准备新的样品或需要对样品进行进一步的净化。

如果样品体积变化未对残留峰大小产生影响，[更改进样模式](#)。
7. 更改进样模式。
相比不充满定量环或充满定量环模式，“不充满定量环（使用针溢出）” (PLNO) 模式会导致更多的残留。这是因为样品需通过未经强洗针液冲洗的 VDD。

如果污染仍存在，[检查针头清洗溶液](#)。
8. 检查针头清洗溶液。
清洗溶剂是否正确？如果不合适，请使用正确的清洗溶液。再执行一次进样，并检查污染。如果仍存在，[检查进样器上的管路和接头](#)。

9. 检查进样器上的管路和接头。

特别是，检查连接至色谱柱入口的进样器出口。如果存在死体积，污染物可能会积聚在这些空间里，更换管路和接头。再执行一次进样，并检查污染。如果仍存在，[更换针](#)。

10. 更换针。

更换针，然后再执行一次进样。一些疏水性化合物吸附到 PEEK 针上。如果污染仍存在，尝试更换为不锈钢针。如果污染仍存在，[更换其他进样器部件](#)。

11. 更换其他进样器部件。

更换其他进样器部件（例如，针头清洗端口、进样阀座）。有关可更换的特定进样器部件的信息，请参阅操作员手册。使用流动相冲洗系统。再执行一次进样，然后检查污染。

a. 如果污染仍存在，[排除 MS 系统故障，第 14 页](#)。

b. 如果不存在污染，[重新安装色谱柱](#)。

12. 重新安装色谱柱。

重新安装色谱柱，然后检查污染。如果出现污染，请在安装有色谱柱的条件下重复以下步骤（但省略注入步骤）：

- [执行零体积进样，第 12 页](#)
- [检查溶剂管理器 / 色谱泵，第 12 页](#)
- [检查样品管理器 / 自动样品器，第 13 页](#)

排除 MS 系统故障

如果排除液相色谱系统故障无法找出污染位置，则污染源很可能是质谱仪系统。

! **重要说明：** 请不要浪费时间和资源尝试去除典型的背景噪音。MS 系统的灵敏性决定了一定程度上的化学背景是恒定存在的。此外，不同类型的 MS 系统具有不同的灵敏度。例如，在更灵敏的仪器上会出现更高的背景。灵敏性是信噪比，不是绝对数值。

检查前端组件

最可能的 MS 污染位置是前端组件：

- ESI 探头（探头尖、毛细管、连管节）
- 样品锥孔
- LockSpray 挡板
- 离子源
- 源外壳
- 将色谱柱出口连接到 API 源的 PEEK 管路
- 累积流量转移 / 进样阀（如有安装）的组件
- 节流阀（如有安装）
- 固定离子源的 PEEK 法兰盘
- LC 管路
- 氮气管路
- 氮气源（例如，发生器）

拆下、清洗或更换并测试各组件

拆下、清洗或更换并测试以上各组件，每次一个。如果污染仍然存在，清洗之后 MS 组件可能被再次污染。为避免出现此类问题，请同时清洗和更换所有疑似污染部件。

清洗或更换污染的组件

如果进行任何测试后背景噪音偏高，请清洗或更换最后添加的组件（请参阅[清洁消除污染，第 16 页](#)）。

清洁消除污染

！ 警告： 为了防止人身伤害，使用溶剂和清洗溶液时，应始终遵循实验室安全操作规范。了解溶剂和溶液的化学及物理性质。请参阅“材料安全数据表”，了解所用每种溶剂和溶液的信息。
在处理溶剂或清洗混合物时，请始终佩戴护目镜和手套。

！ 注意： 在找到并去除污染源之前，请勿尝试清洁系统。如果在未发现污染源的情况下进行清洁，污染将很快再次出现，系统将需要再次清洁。
清洗之前请将 LC 系统与色谱柱和检测器断开。
用于清洁和使用的溶剂和酸或碱必须为最高纯度。

如果必须清洁 LC/MS 系统，了解污染物及其污染源十分必要。有关信息，请参阅[主要污染物及其污染源](#)，第 31 页。

一般原则

要清洁 Waters 系统中的污染，仅适用流动相 - (最高-) 质量溶剂和酸或碱。¹ 移除色谱柱和检测器（所有检测器，包括质谱仪）。如果知晓污染物的具体信息，请使用最易于溶解的混合物。

使用高浓度的有机溶剂（如 80% 有机溶剂和 20% 水）冲洗系统组件，然后检测污染。重复该步骤，直到背景降至可接受级别。

使用任何清洗液之后，请使用 50% 乙腈或流动相进行冲洗以去除清洗溶液。如果使用磷酸清洗液，请泵送超纯水（请参阅[使用超纯水](#)，第 4 页）通过系统，直到 pH 值接近中性 (pH=7)。

1. 这些清洁指导基于传统技术，该技术使用实验室中现有可用的材料。它们主要适用于反相 LC/MS。

清洗色谱柱

- !** **重要说明:** 如果在含有添加剂（如氢氧化铵）的溶剂中进行清洗，石英包装材料将在 $\text{pH} > 8$ 时发生溶解。如果流动相的 pH 值大于 8，请使用对于高 pH 条件更加稳定的色谱柱，如 Waters ACQUITY UPLC™ BEH 或 XBridge™ 色谱柱。

有关清洗石英包装材料的详细介绍，请参阅色谱柱制造商提供的保养与使用说明。

要清洗被污染的色谱柱，请使用去除污染物但不会损坏色谱柱的溶剂清洗色谱柱。在运行结束时使用高浓度（例如 80%）有机流动相冲洗反相色谱柱是最佳清洁做法。

注: 有关清洗色谱柱的详细说明，请参阅色谱柱制造商提供的保养与使用说明。

推荐的 MS 系统清洁程序

要清洁独立的 MS 系统，使用适用于您的系统的程序（在 Waters 支持文库中提供）：

- [质谱仪用户指南](#)

推荐的 LC 入口组件清洁混合物

- !** **注意:** 为了防止交叉污染，在清洁 LC 入口之前断开与色谱柱和质谱仪的连接。

要清洁 LC 入口，使用表 1 中的推荐清洁混合物。

有关可能适合您的系统的其他清洁程序，请参阅 Waters 支持文库：

- [分离系统的常规清洁程序](#)
- [UPLC/UHPLC 用户指南](#)
- [Alliance HPLC 用户指南](#)

最终清洗

在用任何混合物清洁后，使用以下项之一清洗 LC 入口：

- 超纯水（磷酸清洗液必需）
- 50:50 水 / 有机溶剂混合液
- 50:50 色谱方法流动相混合液

！ 重要说明： 始终让系统处于最类似于流动相 (pH) 状态的清洗溶剂中。

表 1: 推荐的 LC 入口清洁混合物¹

清洁状态	溶剂混合物 (v/v)	储备液浓度	说明	注意	注释
1	<ul style="list-style-type: none"> 80% 2- 丙醇 (IPA) 10% 水 10% 甲酸 	<ul style="list-style-type: none"> ~99% 甲酸 	强力清洁混合物, 适用于清洁更易溶于酸的化合物	<ul style="list-style-type: none"> 为了防止保留时间问题, 使用至少 50 mL 与该清洁溶液相容的溶剂进行冲洗。 高纯度甲酸非常昂贵。 不流动时, 请勿让清洗溶液过夜。 请勿将 100% 有机物与强酸混合。 	<ul style="list-style-type: none"> 标准, 或 “酸清洗” 清洁配合酸性流动相使用的 LC 入口。 甲酸具有挥发性。
<ul style="list-style-type: none"> 最终清洗: 用超纯水灌装用于清洁的管路几分钟。 					
2	<ul style="list-style-type: none"> 80% 2- 丙醇 (IPA) 10% 水 10% 氢氧化铵 (浓缩) 	<ul style="list-style-type: none"> ~29% 铵 ~56.6% 氢氧化铵 	强力清洁混合物, 适用于清洁更易溶于碱的化合物 - 例如, 邻苯二甲酸盐和含 PEG 的化合物, 包括去污剂 (Triton X-100、Triton X-114、Brij 35)。	<ul style="list-style-type: none"> 切勿用于 ACQUITY M-Class、nanoACQUITY 或任何包含在 >pH10 下会溶解的石英毛细管的系统。 为了防止保留时间问题, 使用至少 50 mL 与该清洁溶液相容的溶剂进行冲洗。 不流动时, 请勿让清洗溶液过夜。 请勿将 100% 有机物与强酸混合。 	<ul style="list-style-type: none"> “碱清洗” 清洁配合碱性流动相使用的 LC 入口。 氢氧化铵具有挥发性。
<ul style="list-style-type: none"> 最终清洗: 用超纯水灌装用于清洁的管路几分钟。 					

表 1: 推荐的 LC 入口清洁混合物¹ (续)

清洁状态	溶剂混合物 (v/v)	储备液浓度	说明	注意	注释
3	<ul style="list-style-type: none"> • 30% 磷酸 (浓缩) • 70% 水 	~85% 磷酸	用于清除有机物污染的强力混合物。	<ul style="list-style-type: none"> • 为了防止溅出的溶剂造成灼伤, 边搅拌边将酸缓慢加入水中。 • 与质谱仪不兼容。 • 为了防止保留时间问题, 使用与清洁溶液相容的溶剂 (例如, 100% 水) 冲洗管至中性 pH (pH=7)。 • 不流动时, 请勿让清洗溶液过夜。 • 磷酸盐在高有机物浓度中不溶解。务必使用大量水冲洗磷酸盐。 • 请勿将 100% 有机物与强酸混合。 	<ul style="list-style-type: none"> • “磷酸清洗” • 磷酸作为强酸和氧化剂, 会破坏化合物。 • 不挥发且不兼容质谱仪。 • 降低灵敏度。 • 在 98 下会出现团簇。
	• 最终清洗: 用超纯水灌装用于清洁的管路几分钟。				
4	100% IPA	N/A	中性、疏水化合物	<ul style="list-style-type: none"> • 请勿将 100% 有机物与强酸混合。 • 无机盐, 包含钠、钾、磷酸盐沉淀物。 	N/A

1. 仅使用这些清洁溶液清洁已确定为污染物来源的 LC 入口组件 (请参阅[排除污染问题, 第 11 页](#))。请勿使用任何这些清洁溶液来清洁色谱柱。请参阅色谱柱制造商提供的保养与使用说明。

清洁溶剂管理器 / 色谱泵

泵送清洗溶液通过溶剂管理器 / 色谱泵（或溶剂管理器 / 色谱泵及样品管理器 / 自动样品器），最后泵入废液。然后用流动相进行彻底冲洗。

！ 注意：如果已使用磷酸冲洗，则在用流动相冲洗前必须先用水冲洗。

清洁样品管理器 / 自动样品器

泵送清洗溶液通过样品管理器 / 自动样品器，最后泵入废液。使用相同的溶液冲洗针头清洗流路，再注入大体积（固定定量环样品管理器为充满定量环，或适用于 FTN 样本管理器的最大体积）的清洗溶液。然后重新泵入用于分析的流动相和清洗溶液，并彻底冲洗。

清洗色谱柱

请参阅[清洗色谱柱](#)，第 17 页。

清洁 MS 系统

拆下并清洗或更换疑似污染的 MS 组件

拆下并清洗或更换疑似导致污染的 MS 组件。请使用纯度最高的溶剂，目的是溶解 MS 组件表面的污染物。为了避免再污染洁净的组件或新组件，请执行系统的清洁步骤。有时，同时清洁或更换一个组件，从接触溶剂的第一个组件开始直到最后一个组件。在其他情况下，最好是一同清洁所有疑似污染组件。确保使用超纯溶剂和清洁的玻璃器皿（请参阅[防止污染](#)，第 3 页）。

1. 使用洁净的棉签或不起毛的薄纸小心擦拭组件。



注意：为避免接触有毒污染物，戴上手套和护目镜。

2. 将组件置于溶剂中超声处理 15 分钟至 1 小时。有关推荐的 MS 清洗溶液的信息，请参阅[表 1](#)。

注：要有效去除污染可能需要执行几次超声处理，每一次均需使用新的清洗溶剂。每个超声处理步骤应持续 15 分钟至 1 小时。如果流速较低（例如，M-Class），可能需要更长时间。

3. 如果这些溶液无法降低污染水平，更换部件。

！ 注意：为避免损坏 PEEK 组件和 T-Wave 装置，请勿将氯化溶剂、己烷、丙酮或酸作为超声处理溶剂。

4. 确保彻底冲洗玻璃器皿，并在各步骤间换用新的清洗溶液。
5. 执行完最后的超声处理之后，请从清洗溶液中取出 MS 组件。用洁净、干燥的强氮气流快速干燥组件。

! **注意：** 为避免出现溶剂斑点，必须快速、彻底地干燥组件，否则这些斑点会影响 MS 的性能。

流路

净化剩余的管路后，请按照制造商的说明拆下并清洗流路。请特别注意转子密封，转子密封上的机械磨损（表现为环形凹槽）可能会成为污染位置。必要时请更换该密封。

API 源

在正常操作过程中，API 源可能会接触大量的样品物质，因此大气压电离 (API) 源是最常见的 MS 污染位置。请使用常规的维护步骤拆卸并清洗该源。将 API 源组件置于溶剂中超声处理 15 分钟至 1 小时。

! **重要说明：** 确保溶剂质量和玻璃器皿清洁度（[正确选择、制备和处理溶剂](#)，第 3 页）。

! **注意：** 离子传输区域前方的离子光学组件是 MS 分析检出污染可能性最小的位置。

API 探头

更换或改造受到污染的 API 探头，而不是清洁或冲洗它。

LC 管路

请更换受污染的 LC 管路，而非通过反复冲洗对其进行清洗。

参考信息

溶剂注意事项

低质量溶剂的可能影响

并非所有分析都需要高等级溶剂。选择溶剂时，选择适合您的应用的最高纯度溶剂。注意溶剂污染类型和后果。表 2 显示了低质量溶剂对分析的可能影响。

表 2：低质量溶剂的可能影响

溶剂污染物	可能的问题	分析注意事项	预防措施
小于 (<) 0.2 μm 的颗粒成分	<ul style="list-style-type: none"> • 提高系统反压和高压关闭 • 堵塞管路和色谱柱 • 损坏泵和进样器，进而导致泄漏和不可重现的结果 	更长的停机时间，更低的生产率	<ul style="list-style-type: none"> • 仅使用经供应商过滤的高纯度溶剂清除大于 0.2 μm 的颗粒。 • 佩戴手套以清除来自皮肤和护手霜的油。 • 请勿重新过滤经供应商过滤的溶剂。
微生物 - 细菌、藻类、真菌	<ul style="list-style-type: none"> • 行为特征类似于颗粒 • 产生有机和离子污染化合物 	<ul style="list-style-type: none"> • 更长的停机时间，更低的清除污染生产率 • 降低灵敏度 	<ul style="list-style-type: none"> • 使用新水性流动相。 • 佩戴手套以清除来自皮肤和护手霜的油。 • 使用新鲜的高纯度过滤水 (<0.2 μm 过滤)。 • 切勿打开瓶盖；清空、清洁并重新加满新流动相。 • 请勿将系统储存于高含水流动相中。 • 在流动相瓶上使用合适的盖子。

表 2：低质量溶剂的可能影响（续）

溶剂污染物	可能的问题	分析注意事项	预防措施
UV 吸收有机化合物（可在 TUV、PDA 中检测）	<ul style="list-style-type: none">• 基线噪声或变化（倾斜）• 伪峰• 降低灵敏度• 线性丢失• 保留时间改变• 异常峰形	<ul style="list-style-type: none">• 为了实现高灵敏度和检测低浓度分析物，需要平滑、平整的基线以提供最高信噪比。高信噪比会改善定量的可重现性。• 高 UV 背景在高分析物浓度下会降低该方法的线性度。	<ul style="list-style-type: none">• 请勿使用塑料瓶作为溶剂或流动相容器。• 佩戴手套以清除来自皮肤和护手霜的油。• 使用适合 LC 有机溶剂的试剂瓶、微孔板和盖。• 切勿使用去污剂清洗 LC 玻璃器皿（瓶、漏斗、量筒等）。• 使用专用的 LC 玻璃器皿。• 请勿重新过滤经供应商过滤的溶剂。过滤器或过滤器具会增加污染。

表 2：低质量溶剂的可能影响（续）

溶剂污染物	可能的问题	分析注意事项	预防措施
可在质谱仪中检测的可电离有机化合物	<ul style="list-style-type: none"> • 噪音或高基线 • 降低灵敏度 • 伪峰 • 保留时间改变 • 异常峰形 	<ul style="list-style-type: none"> • 来自低质离子、PEG 化合物和邻苯二甲酸盐（增塑剂）会导致： • 离子抑制造成的灵敏度降低、较低信噪比 • 与分析物相同质量处的质谱峰 	<ul style="list-style-type: none"> • 请勿使用塑料瓶作为溶剂或流动相容器。 • 塑料是邻苯二甲酸盐的来源，可在任何地方找到，包括空气、水和溶剂。 • 佩戴手套以防止皮肤油和护手霜含有的 PEG。 • 使用适合 LC 有机溶剂的试剂瓶、微孔板和盖。 • 切勿使用去污剂或在洗碗机中清洗 LC 玻璃器皿（瓶、漏斗、量筒）。 • 使用专用的 LC 玻璃器皿。 • 请勿重新过滤经供应商过滤的溶剂。过滤器或过滤器具会增加污染。
无机离子	<ul style="list-style-type: none"> • 在质谱仪中检测到与阳离子（Na⁺、K⁺）形成的加合物 • 降低灵敏度 • 高压和堵塞 • 团簇形成（例如 NaCl 团簇，Delta 质量数 = 57.96） • 来自 Fe³⁺ 的红色沉积物外观，“生锈” 	<ul style="list-style-type: none"> • 加合物形成将分析物谱峰拆分为不同质量数的几个峰（例如，Na⁺ 增加 m/z 22 amu），造成灵敏度降低 • 无机化合物在高有机溶剂浓度中不可溶，从而导致高压、堵塞或团簇。 	<ul style="list-style-type: none"> • 使用新鲜的高纯度过滤（<0.2 μm 过滤）水和溶剂。 • 使用高纯度流动相添加剂。 • 使用硼硅（硬化）玻璃储存流动相（例如 Pyrex® 或 Schott®）。 • 请勿使用原溶剂瓶储存含酸、碱或缓冲剂的流动相。它们会导致离子从玻璃中析出。

表 2：低质量溶剂的可能影响（续）

溶剂污染物	可能的问题	分析注意事项	预防措施
气体	来自杂质（例如油）的无用质谱	劣质气体会带来背景污染。	<ul style="list-style-type: none">• 获取符合质谱仪场地要求的气体（95% 或更高纯度的氮气，用于 IMS 或 GC 为 99.5% 纯度；argon 99.997% 纯度的氩气；99.5% 纯度的氦气）。• 使用含有 <0.01 μm 颗粒、无邻苯二甲酸盐、无液体（例如，水）的氮气发生器。• 使用保养良好的氮气发生器。• 气体管路必须为化学清洗铜、医疗级不锈钢材质，且没有焊接或硬焊接头，以最大程度上减少金属离子污染。

溶剂纯度建议

高纯度溶剂符合表 3 中显示的标准。

注：表 3 从已知可用 LC/MS 溶剂中获得值。某些品牌具有表示比这些值纯度更高的分析认证。

表 3：LC/MS 溶剂纯度建议

参数	建议的水平			
	乙腈	甲醇	异丙醇	水
分析	≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%
过滤	≤0.2 μm	≤0.2 μm	≤0.2 μm	≤0.2 μm
铝 (Al)	≤25 ppb	≤50 ppb	≤20 ppb	≤50 ppb
钙 (Ca)	≤50 ppb	≤50 ppb	≤50 ppb	≤50 ppb
离子 (Fe)	≤20 ppb	≤20 ppb	≤20 ppb	≤10 ppb
铅 (Pb)	≤20 ppb	≤20 ppb	≤20 ppb	≤10 ppb
镁 (Pb)	≤20 ppb	≤20 ppb	≤20 ppb	≤10 ppb
钾 (K)	≤50 ppb	≤50 ppb	≤50 ppb	≤50 ppb
钠 (Na)	≤50 ppb	≤50 ppb	≤50 ppb	≤50 ppb
蒸发后残留量	≤25 ppb	≤25 ppb	≤25 ppb	≤25 ppb
水	≤0.01%	≤0.05%	≤0.05%	N/A

建议的水净化流程

超纯水无菌且不含颗粒，无可检测的可电离化合物，并且无 UV 吸收化合物。净化过程必须包括以下所有步骤：

- a. 反渗透（去除大部分污染物）
- b. UV 灭菌（杀死细菌）
- c. 离子交换（去除所有剩余离子）
- d. 碳过滤（去除所有剩余的可电离化合物）
- e. 药用级 0.2 μm 薄膜过滤（去除所有剩余的颗粒物质）

！ **注意：** 家用去离子 (DI)、反渗透 (RO) 蒸馏水不符合标准。

！ **注意：** 如果使用的是净化系统，则必须对其执行日常维护。

其他注意事项

- 如果出口管路无液流超过 24 小时，请冲洗以抑制细菌的生长。
- 对水进行净化后，如果未采取措施防止微生物生长，请勿储存超过 24 小时。
- 如果使用瓶装水，请注意制造商建议的有效期，超过该日期后请把水倒掉。打开多瓶水可能会发生污染。

手套

订购手套

表 4: 丁腈手套

部件号	说明	数量
700002964	无菌丁腈手套, 7 号	3 对
700002965	无菌丁腈手套, 9 号	3 对

如何佩戴手套

拆开包装打开手套, 直到露出其袖部 (图 2)。



图 2 - 从包装取出手套

抓紧一只手套的袖部将套在手上, 保持袖部朝上翻, 用相同的方法带上另一只手套。然后翻下两只手套的袖部。

! **注意:** 戴上手套后, 请勿用未戴手套的手接触手套的手指。戴上手套后, 不要接触除处理或修理中绝对洁净部件之外的任何部件。

主要污染物及其污染源

本节列出了 LC/MS 系统中的一些主要的污染物，以及它们的来源和谱图。

聚乙二醇 (PEG) 或类似 PEG 的物质

PEG (图 3) 是在一系列分子量范围内生成的合成聚合物。常见的 PEG 污染源包括：

- 有机溶剂（甲醇、2-丙醇、乙腈、水）
- 质谱仪校正溶液
- 护手霜和其他个人防护产品
- 去污剂（Triton X-100、玻璃器皿去污剂等）
- 机械加工中使用的切削液
- 色谱柱制造

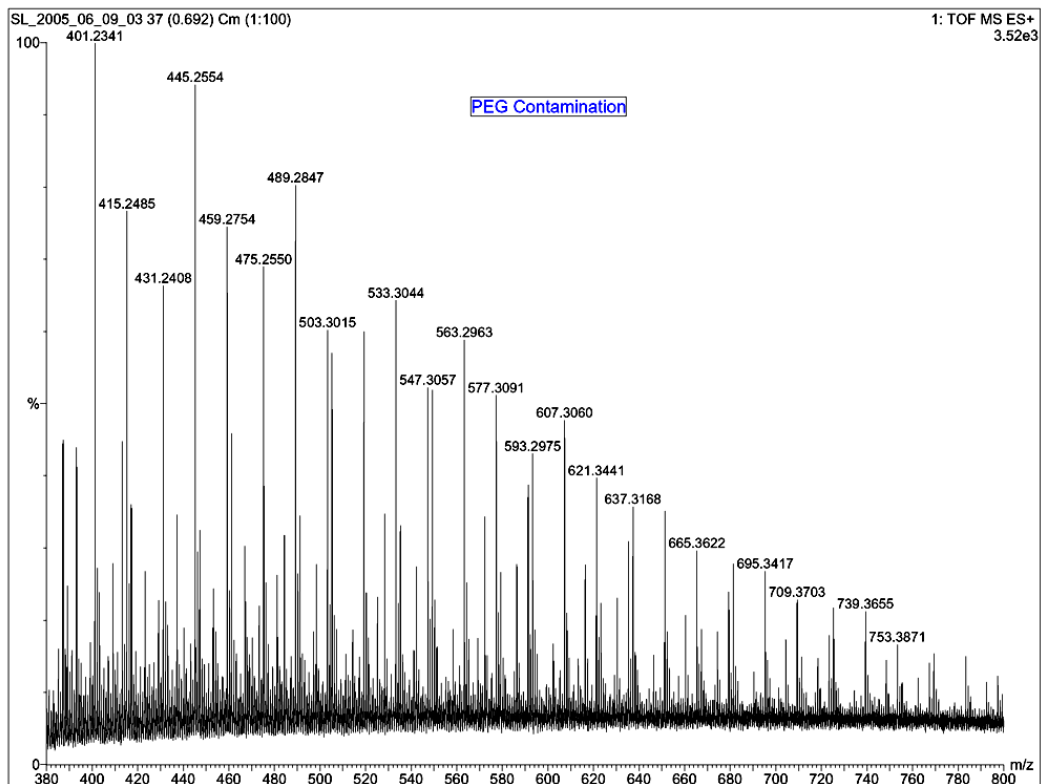


图 3 - PEG 污染物质谱图（44 Da 分离的连续质量峰）

金属离子

金属离子（如锂 (Li)、钠 (Na)、钾 (K)、铜 (Cu)、铂 (Pt) 和铁 (Fe)）可能是污染源。

例如，铁将会与醋酸或醋酸盐流动相中不同数量的醋酸盐形成加合物。铁可能会通过以下来源污染 LC/MS 系统：

- 溶剂，如水和乙腈
- 乙酸（铁离子含量低于甲酸）
- 甲酸
- 非钝化的不锈钢部件
- 与钢质工具焊接的钛或惰性金属部件

图 4 所示为典型的醋酸铁簇质谱图。最强离子（基峰强度或 BPI）质量数可能根据簇中醋酸盐的数量而有所不同。上侧质谱以 MassLynx 同位素模型为基础。

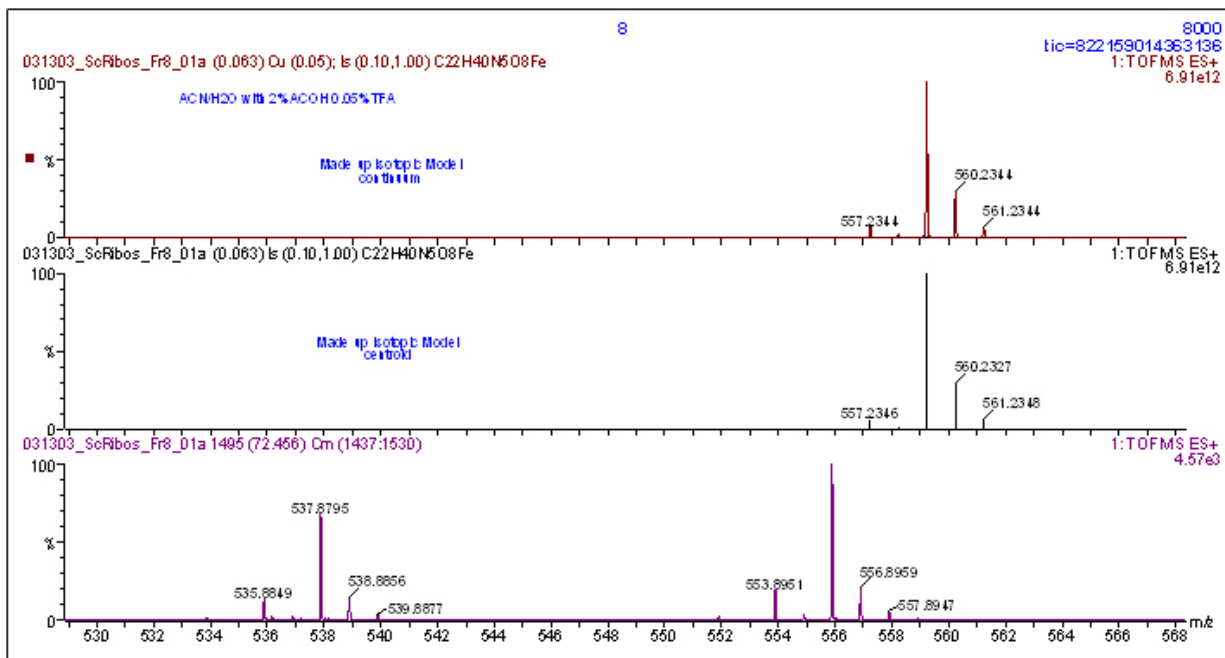


图 4 - Fe 污染物质谱图

邻苯二甲酸盐

邻苯二甲酸盐是一种化合物，主要用作增塑剂，会导致污染。该化合物可以在广泛的实验室材料上检出，包括水和其它溶剂、实验室空气以及塑料材料（如管路和储存水的容器）。常用的邻苯二甲酸盐包括邻苯二甲酸二辛酯 (DEHP)、邻苯二甲酸二异癸酯 (DIDP)、邻苯二甲酸二异壬酯 (DINP) 和邻苯二甲酸二异辛酯 (DIOP)。

邻苯二酸二异辛酯可能形成以下加合物：

- $[M+H]^+ = 391$
- $[M+Na]^+ = 413$
- $[M+K]^+ = 429$
- $[2M+NH_4]^+ = 798$
- $[2M+Na]^+ = 803$

光滑剂（氨基化合物）

避免使用含光滑剂或氨基化合物的塑料袋包装组分（图 5）。最常用的三种氨基化合物为：

- 油酸酰胺 ($[M+H]^+ = 282$)
- 硬脂酰胺 ($[M+H]^+ = 284$)
- 芥酸酰胺 ($[M+H]^+ = 338$)

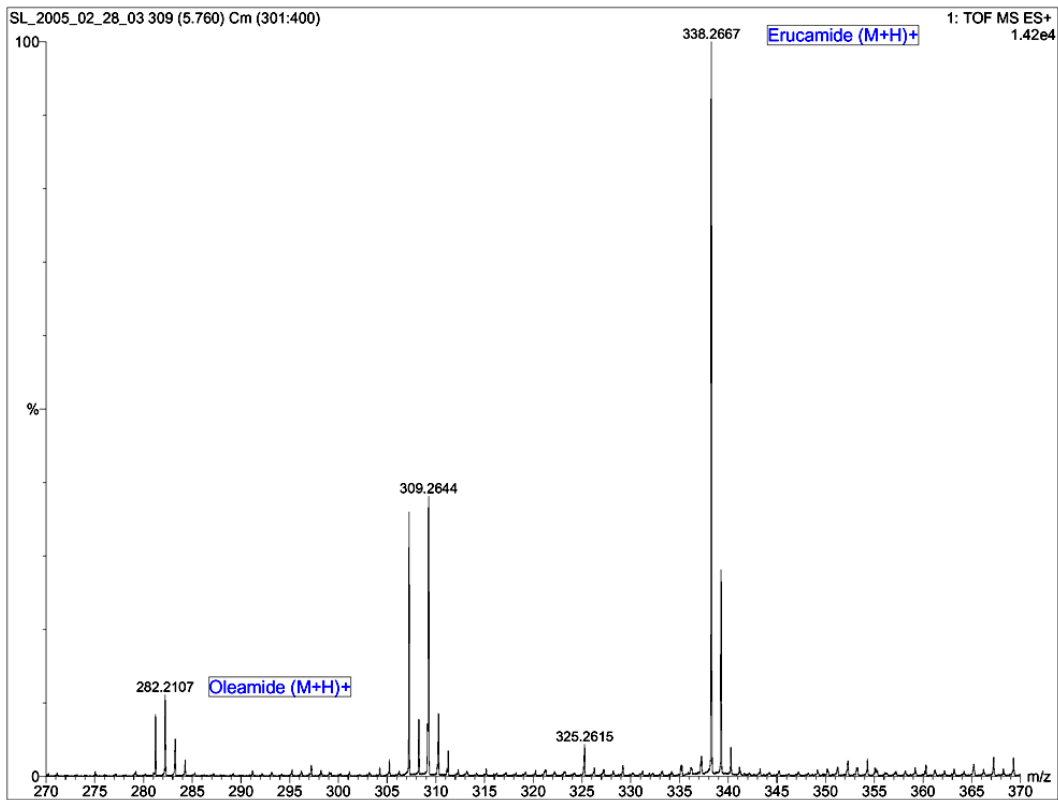


图 5 - 密封袋中油酸酰胺和芥酸酰胺的污染物质谱

污染数据库

有关主要的污染物的详细列表，请参阅 [PEG master list](#)（PEG 总列表）和 [Background Ion Master List](#)（背景离子总列表）。