

高效液相色谱仪操作规程

1 开机

先打开电脑，再依次接通 2695 分离单元、检测器和打印机的电源（注：在打开 2424 蒸发光散射检测器电源之前，先开启气体供应）。接通 2695 分离单元后，约 20 秒仪器自检，约 1 分钟后，显示主屏幕，此时继续各部件的初始化，待主屏幕上主标题区出现“Idle”仪器自检通过，进入待命状态。

2 溶剂管理系统的准备

2.1 流动相的脱气

确认所有溶剂管路都充满溶剂，按[Menu/Status]，进入“Status (1)”屏幕，光标选“Degasser”按[Enter]显示选项屏幕，Mode 为“on”。

2.2 启动溶剂管理系统

2.2.1 干启动

当溶剂的管路是干的或是需要更换溶剂时，在“Status (1)”屏幕下，按[Direct Function]，光标选中“Dry Prime”，按[Enter]，显示“Dry Prime”屏幕，按欲启动的溶剂管路的屏幕键，如[Open A]，光标选“Duration”，按数字键输入时间（一般为 5 分钟），按[Continue]，待限定时间结束后，重复操作，使实验所需的各溶剂管路均启动、排气并充满流动相。

2.2.2 湿启动

在“Status (1)”屏幕下，光标选“Composition”中欲使用的流动相，输入 100%，按[Direct Function]，光标选“Wet prime”，按“Enter”，显示“Wet prime”屏幕，输入流速和时间（5ml/min 和 5min）按[OK]。待限定时间结束后，对每种流动相重复操作。

3 样品管理系统的准备

A 管带黄色标记、B 管带蓝色标记号、C 管带红色标记、D 管带绿色标记，绿色管为冲洗泵头用，白色管为冲洗进样器用，所用溶剂均为甲醇：水=50% (v/v)。将样品瓶插到样品盘合适的位置，打开样品仓门，显示“Door is Open”屏幕，装入样品盘，按[Next]，直至所有样品盘装毕，关仓门。

4 编辑分析方法及执行样品分析表

4.1 创建项目

双击电脑桌面图标“Empower”，用户名输入“system”密码输入“manager”选中操作项目和色谱系统→确定。在菜单栏“管理”→创建新项目→选择父项目→下一步→输入表空间值→按“下一步”逐步设置→完成→管理→改变/项目，在该窗口切换项。

4.2 编辑方法组

调用方法组编辑向导→新建→设置检测器参数→2695 主机参数（流量、柱温、流动相比例、系统压力上下限等）→保存仪器方法→选择同使用该方法组的数据有关的仪器方法→选择处理方法、报告方法→下一步→完成。

4.3 监视基线和单次进样

点击“平衡系统/监视基线”图标→载入仪器方法→平衡监视器，开始按设置方法平衡基线。待基线平衡、压力平稳后→单次进样，当要对分析方法做修改时，通过中断运行样→方法组仪器随时改变方法→另存或覆盖→平衡监视→执行新方法，可重复至最佳分析方法确定。

4.4 运行样品组

使用样品组向导逐步建立样品表，可在编辑好的样品表最后一行添加关机方法（功能为：平衡色谱柱）设置自动关机→保存样品组方法→运行当前样品组方法。

5 处理数据并打印报告

浏览项目→通道→双击打开图谱→文件→新建处理方法→逐步点击“下一步”选中所需参数→输入方法名→完成→处理参数→保存处理方法→浏览项目→选中需处理的图谱→右击鼠标→选中使用指定的处理方法→确定→浏览项目→结果→更新。选中图谱→预览→采用所需报告模板打印。

6 关机

使用完毕，按规定用适当的溶剂冲洗色谱柱、系统管路，填写使用记录。具体步骤如下：

6.1 实验结束后，首先关闭检测器电源；

6.2 缓冲盐管路用超纯水取代，做 wet prime；

6.3 选择合适的流动相清洗色谱柱约 60 分钟；

6.4 Prime seal wash: Diag → Prime seal wash 清洗泵头约 1 分钟；

6.5 Prime needle wash: Diag → Prime needle wash, 清洗进样针 1-2 次；

6.6 Purge injection: Direct Function → Purge injection;

6.7 降低流速至 0，待系统压力回零后，关闭 2695 电源；

6.8 关闭计算机及显示器电源。

附

一、清洗流路系统：

1、如果流动相有无机盐或缓冲液，在开机后、排空前，预先设置好低流速的纯水为流动相的分析方法，待排空气完成后，即可执行冲柱 20 分钟后，再换上并更改为应用的流动相平衡柱。

2、如果使用缓冲液，先用水更换缓冲液，清洗 1 小时，然后更换甲醇清洗 40 分钟。

3、如果使用有机溶剂，直接更换甲醇清洗 50 分钟即可。

二、2424 检测器注意事项：

1、关闭 2424 检测器：

从色谱柱和检测器中排除所有缓冲剂→让未经缓冲剂处理的流动相通过系统→关闭泵→让雾化气体通过检测器 10 分钟，以排干蒸发管和检测室→停止气体流动→关闭检测器的电源。

2、要执行定期维护：

提示：为防止损坏色谱柱，在从液体通路中排除流动相之前，应移开色谱柱。

(1) 将漂移管温度设置为适当的退溶温度。

提示：对于大多数溶剂来说，50 °C 是适当的退溶温度。

(2) 用 100% 超纯水替换缓冲流动相，以 3mL/min 的流量将系统冲洗 10 分钟。

3、清洗漂移管

开启气体供应，设置漂移管温度 100° C，用 100% HPLC 级水整夜冲洗。

三、根据实际工作的情况，可固定个管路使用溶剂如下：A 为甲醇、B 为乙腈，C 为超纯水、D 为分析用流动相、R 为 50%甲醇。当分析样品时可把 D 瓶换上流动相，C 换上新过滤并脱过气的超纯水，适当的流动相比比例可随时调整，当分析结束后，C 瓶和 D 换上甲醇并排气。

四、两个冲洗色谱柱的时间程序供参考

(1) 甲醇洗机方法 LC 时间程序 (流动相不含缓冲盐时选用)

时间	流速	A	B	C	D
	1.0	100%	0	0	0
	50 分钟	100%	0	0	0

(2) 水-甲醇洗机 LC 时间程序 (流动相含有缓冲盐时选用, D 管为纯水)

时间	流速	A	B	C	D
	1.0	0	0	0	100%
60 分钟	1.0	0	0	0	100%
65 分钟	1.0	100%	0	0	0
105 分钟	0.0	100%	0	0	0