

Acquity
Ultra Performance LC™

培训教程 (UPLC仪器原理)



ACQUITY UPLC™ 系统

通过设计实现超能

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Acquity™
Ultra Performance LC

检测器:

光学或ELSD及质谱
可调UV 或二极管矩阵

FLR

为UPLC™优化的检测池
高速检测

样品管理:

低扩散 'XYZZ' 形式
快循环时间
低交叉污染
可使用板或样品瓶
可选样品组织器



色谱柱管理器:

加热/冷却柱温控制
革新枢轴转动设计
多个色谱柱出口至检测器位置

二元溶剂管理器:

高压混合
二元梯度
四种溶剂选择
在线脱气
低扩散设计
UPLC 压力能力

ACQUITY UPLC™系统

技术创新诸要素

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 小颗粒杂化填料 ($1.7 \mu m$)
- 更高耐压 (达 **15000Psi**)、低系统体积的输液单元
- 降低自动进样器的进样周期时间、减少交叉污染
- 高速检测器，光学及质谱
- 新的色谱单元之间的通讯协议
- 功能齐全的诊断能力
- 为系统完整性而设计的软件



创新

整体技术设计的系统

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ACQUITY UPLC



- 检测器
- 样品管理器
- 色谱柱管理器
- 二元溶剂管理器
- 样品组织器

Acquity
Ultra Performance LC™

二元溶剂管理器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

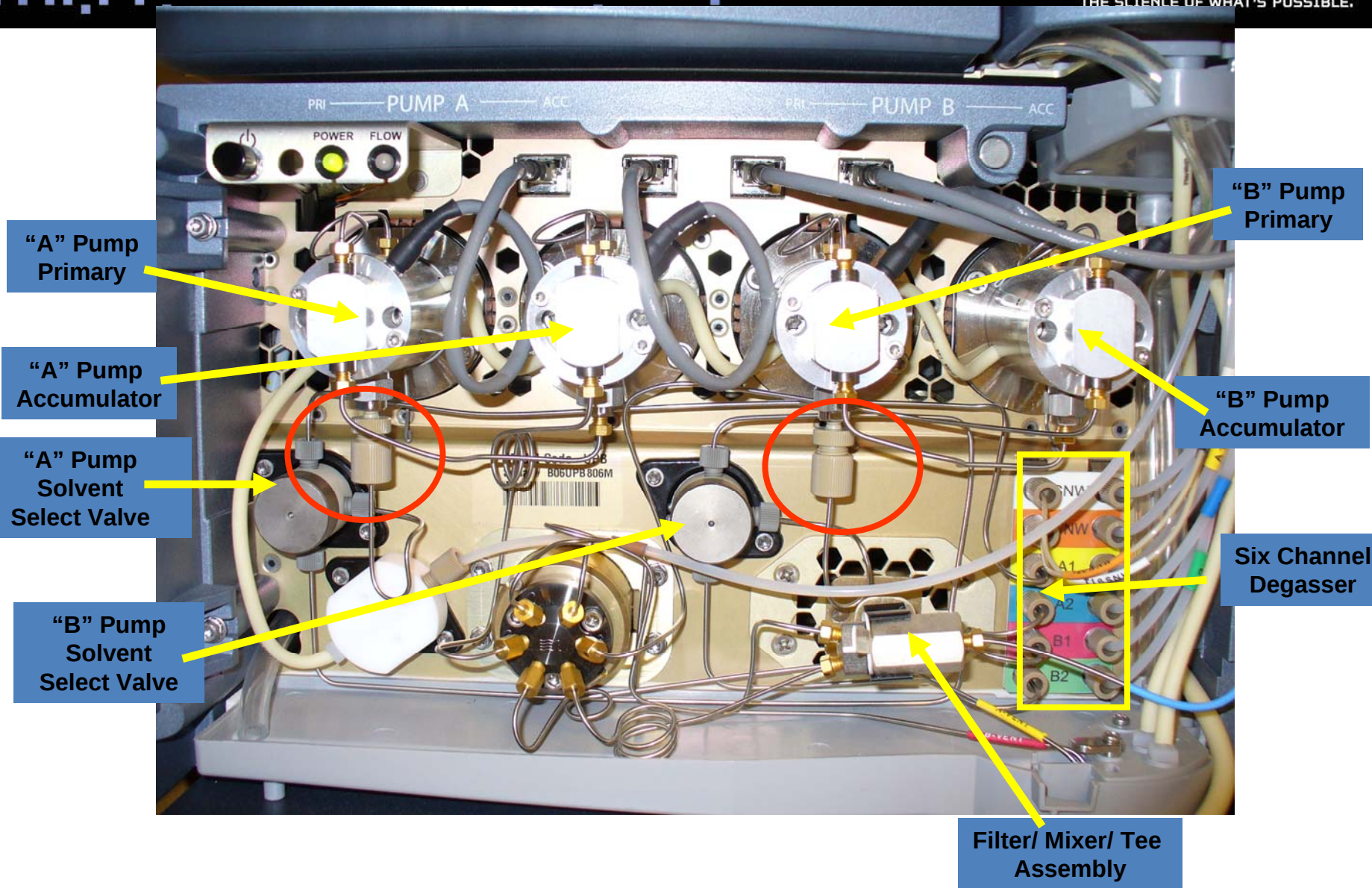
- 低体积流路
- 连续 / 平行流路
- 两台连续流路泵并联输出二元梯度
- 四种溶剂可选 **A1, A2, B1, B2**
 - 二元并非四元
- **UPLC** 耐压能力
 - 高达 **15,000 psi**
- 用户诊断



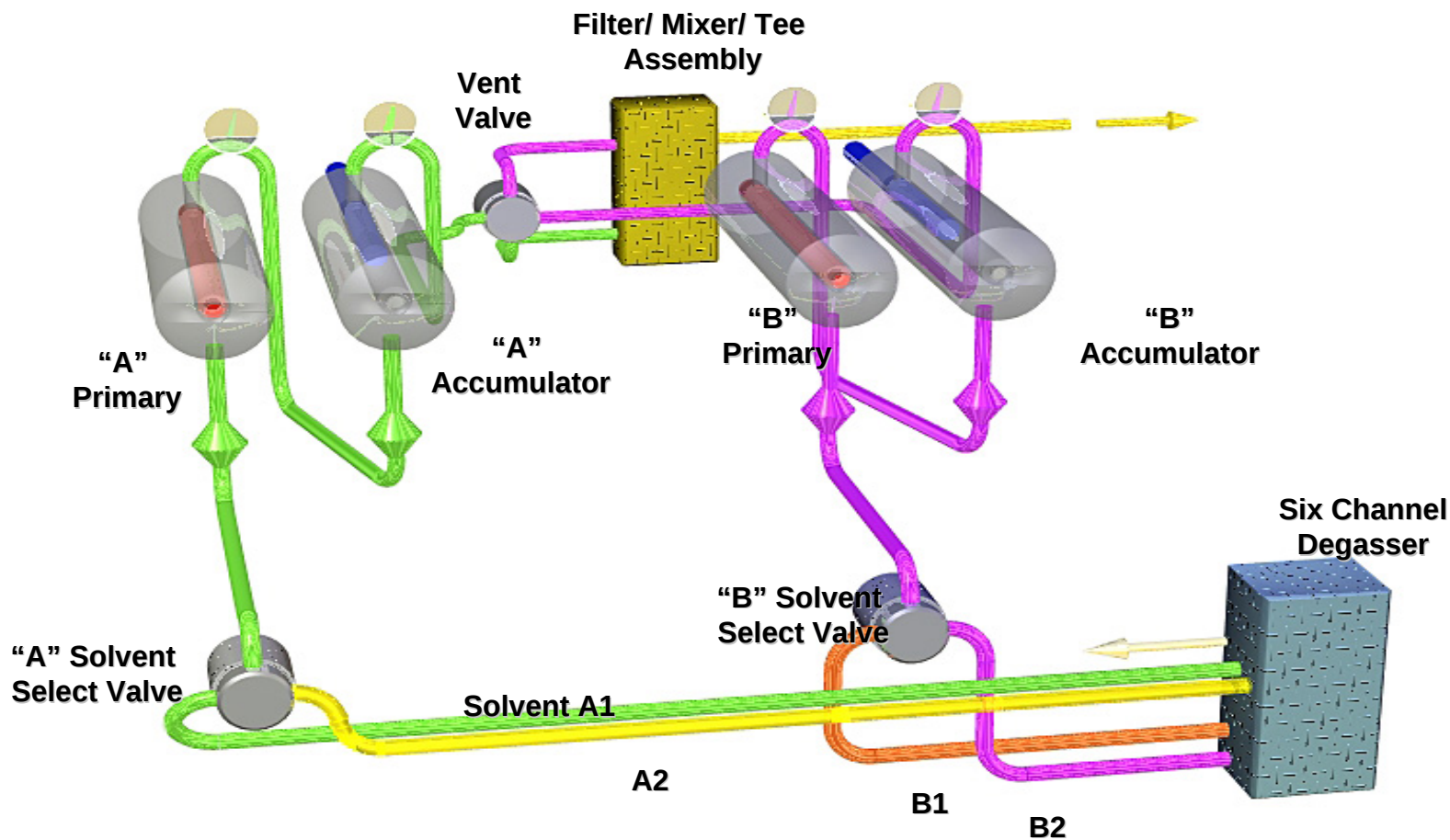
二元溶剂管理系统的流路

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

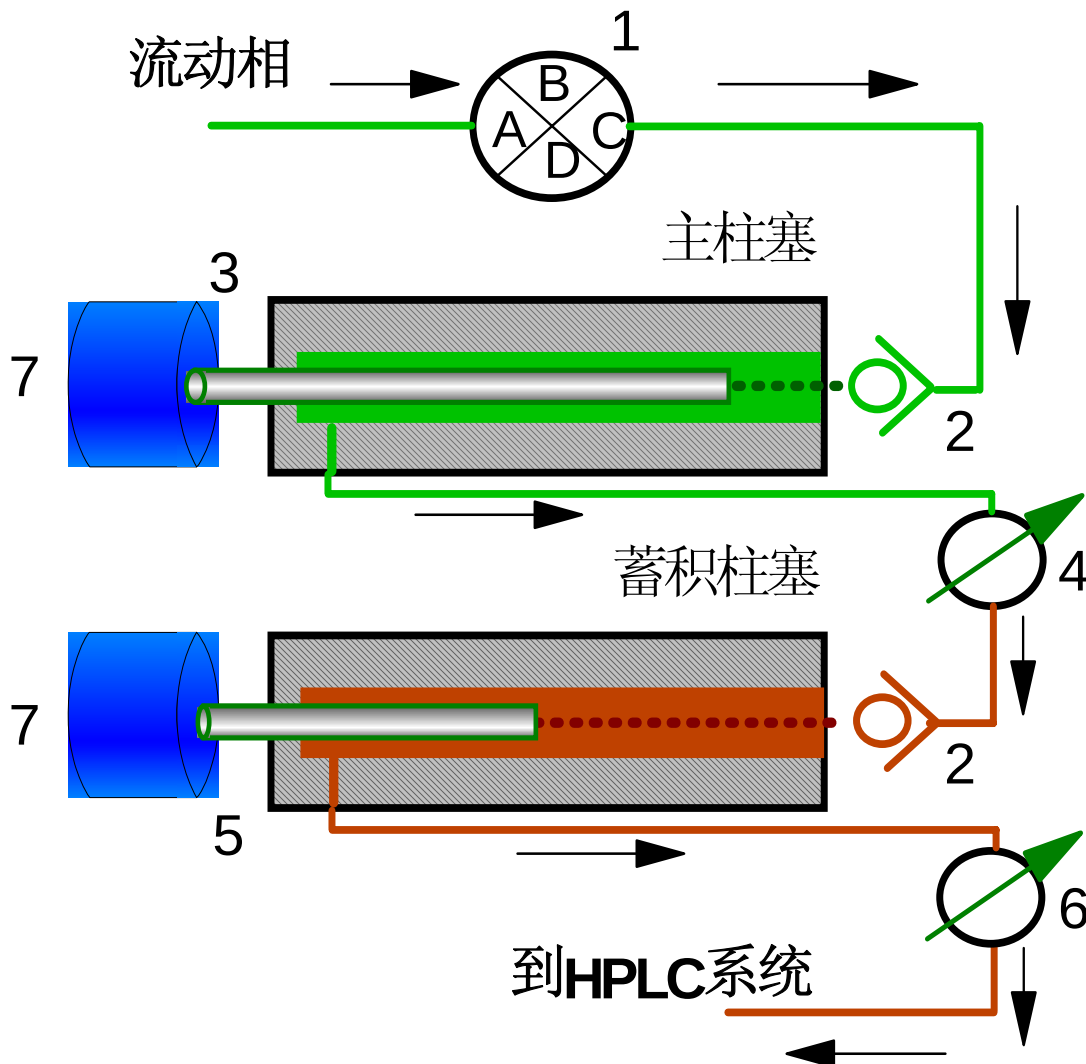


低系统体积流路设计



系统体积低于 $120 \mu\text{l}$

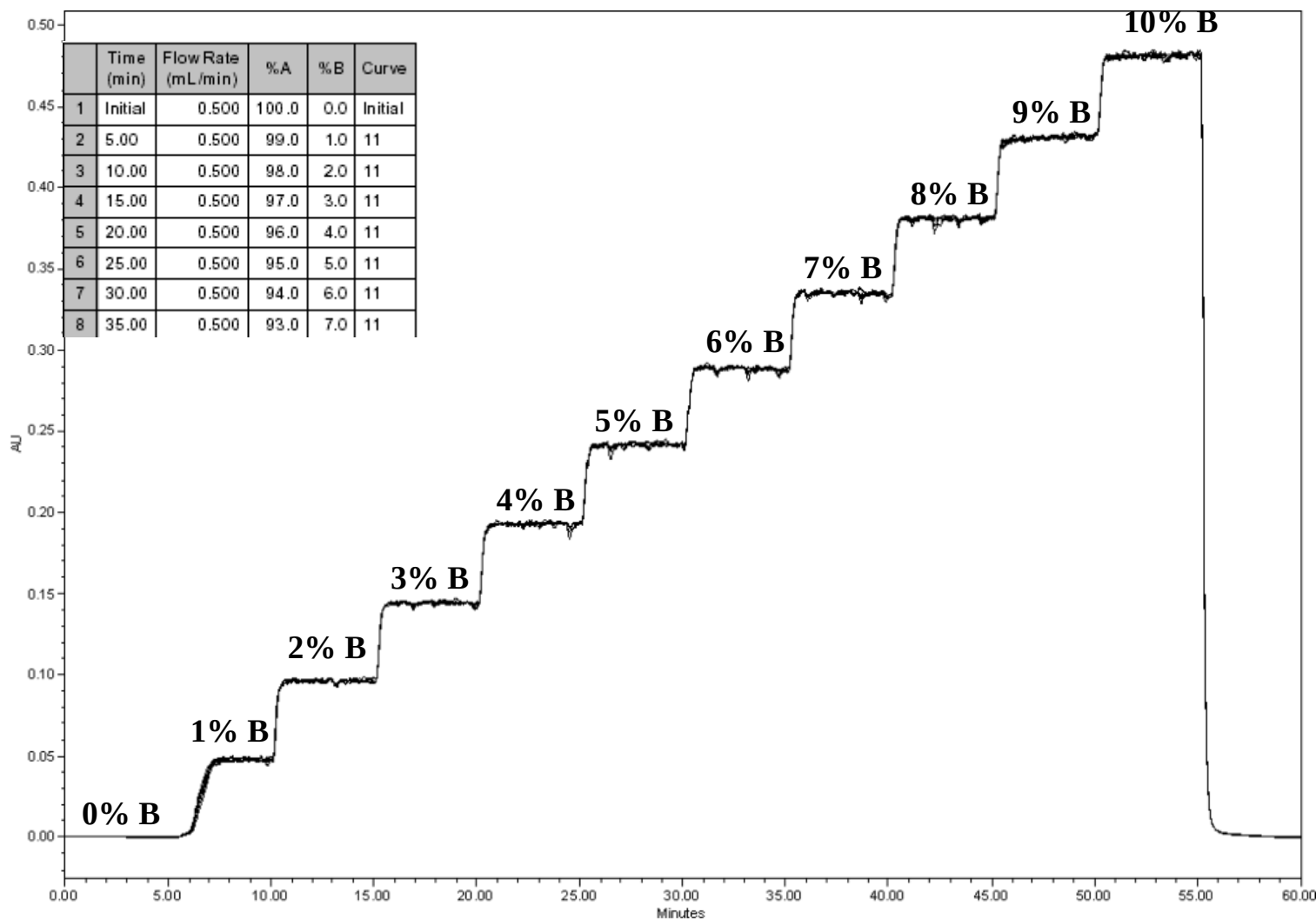
回顾2695溶剂管理系统的创新设计



关键的功能部件：

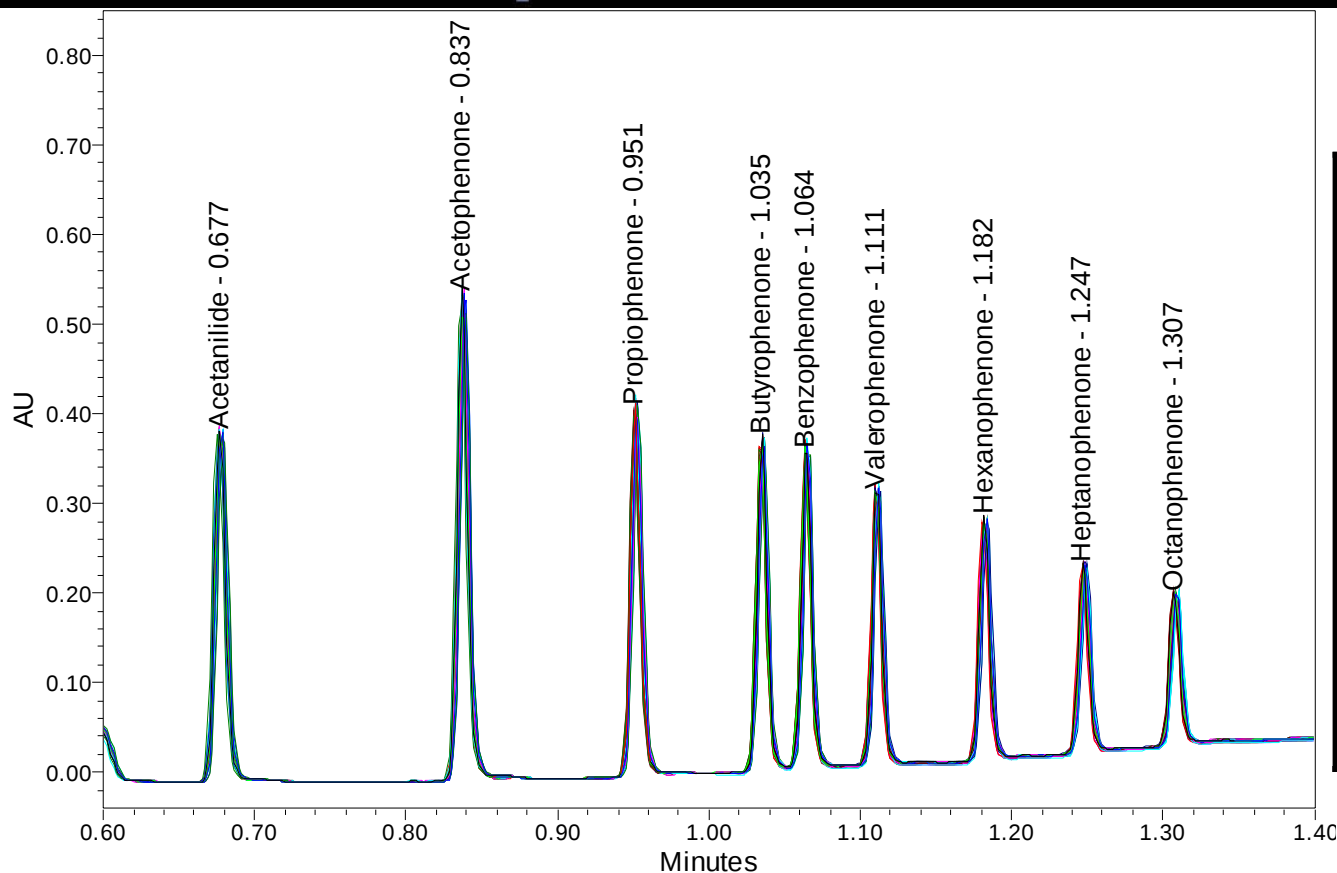
- 1 梯度比例阀 (GPV)
- 2 进口阀
- 3 主柱塞杆
- 4 主压力传感器
- 5 蓄积柱塞杆
- 6 系统压力传感器
- 7 独立的线性柱塞驱动马达

梯度组成的准度 - 1 % 梯度步长



梯度流速的重现性

N = 34



Peak	Standard Deviation (minutes)	Rt % RSD
乙酰苯胺	0.00083	0.122
苯乙酮	0.00085	0.101
苯丙酮	0.00082	0.086
苯丁酮	0.00080	0.077
二苯甲酮	0.00080	0.075
苯戊酮	0.00081	0.073
苯己酮	0.00079	0.067
苯庚酮	0.00082	0.066
苯辛酮	0.00090	0.069

色谱柱: **2.1×30 mm, 1.7µm Bridged Hybrid**

流动相A: **0.1 % FA 水溶液**

流动相B: **0.1 % FA乙腈溶液**

流速: **0.6 mL/min**

梯度: **在1分钟内从5 ~ 95 % 的 B**

温度: **30°C**

样品: **Phenone测试混合物**

进样体积: **5µL**

检测波长: **214nm**

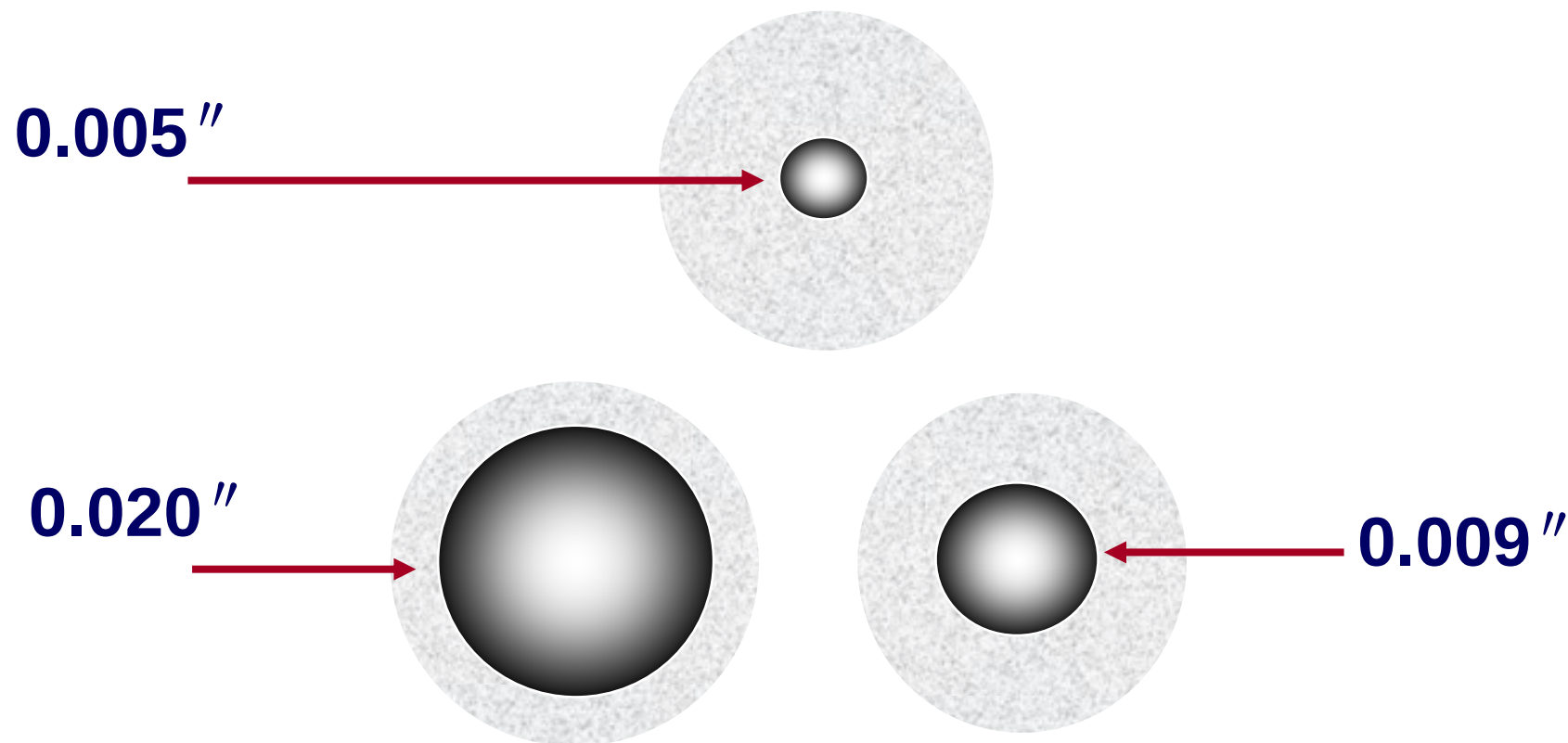
压力: **5,900psi**

流路

- 流路入口线
 - 溶剂 (4 条线)
 - Strong Wash Solvent (强洗针溶剂)
 - Weak Wash Solvent (弱洗针溶剂)
 - Seal Wash (密封垫清洗)

- 流路出口线
 - Purge / waste (冲洗 / 废液)
 - Needle Wash / Syringe (洗针 / 注射器)
 - Plunger (seal) wash (柱塞密封垫清洗)
 - Degasser vent (脱气机放空)

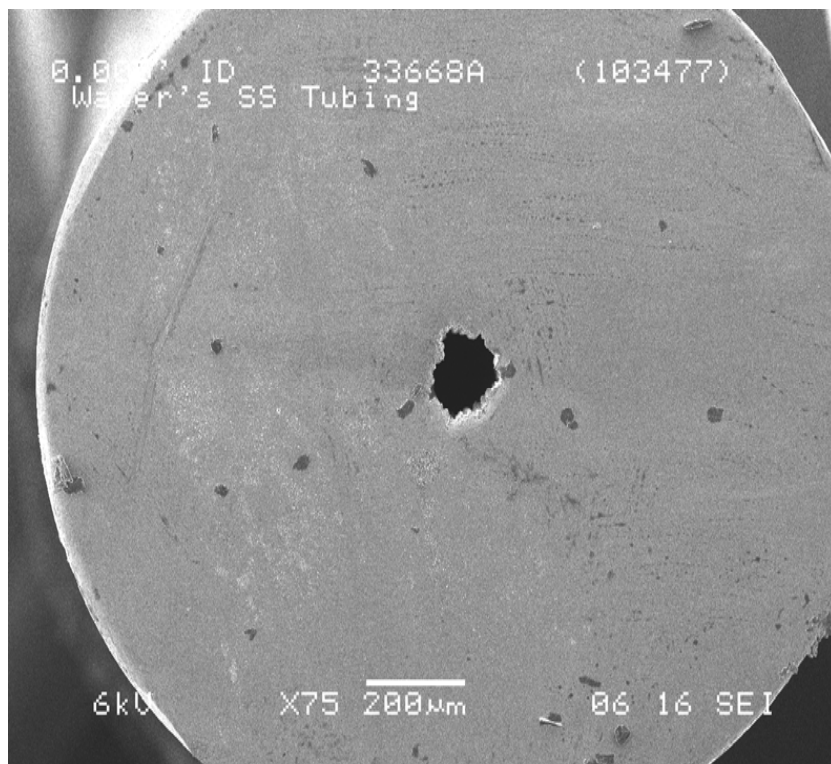
管路



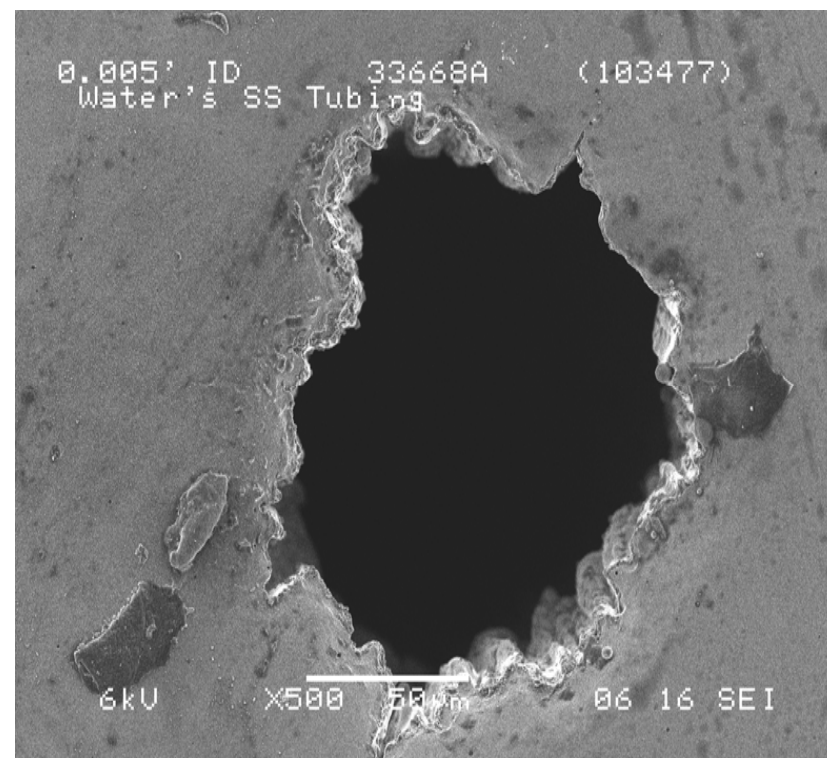
标准 0.005" 316 SS 管路

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

放大75 倍



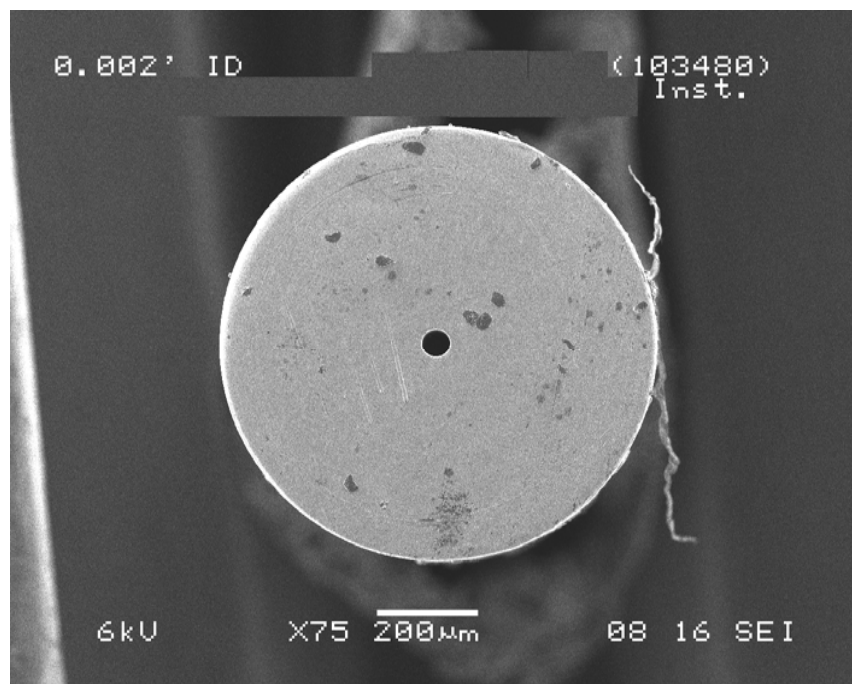
放大500倍



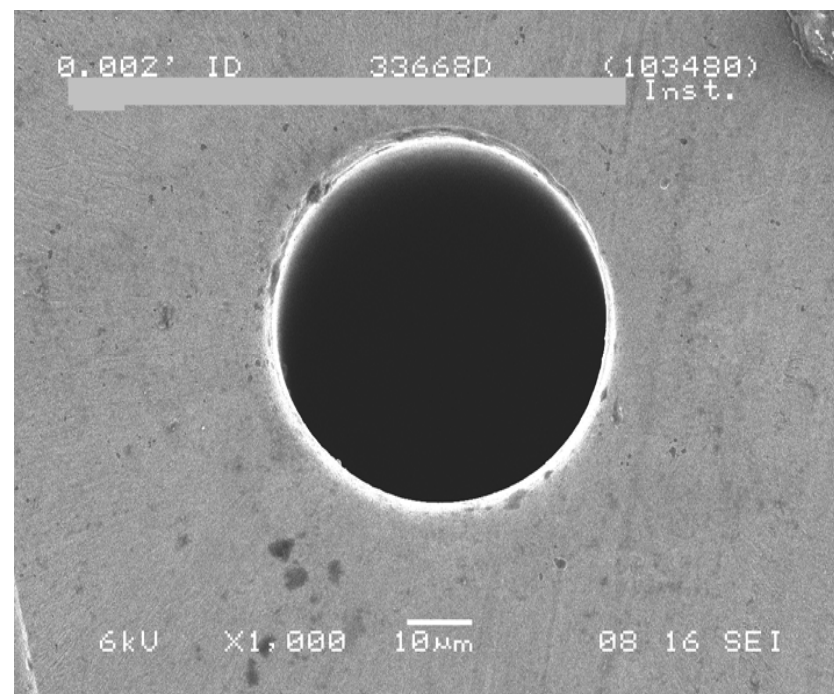
ACQUITY 0.002" 316 SS 管路

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

放大75 倍



放大1000倍



样品管理器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

新技术 - 全新的进样程序

- 0.1 – 50 μ L 进样范围
- 快速循环周期
 - 单洗针约 30 秒,
 - 双洗针少于 60 秒
- 压力辅助样品注入
- 针内针取样
- 针校正传感器
- 低样品交叉污染
- 正反馈传感器
- 4 到 40°C 温控, 两块样品板
- 选件: 样品组织器



样品瓶和样品板

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Max Recovery

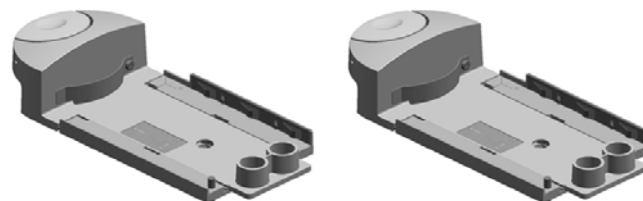
样品组织器 (样品管理器的选件)

- **Sample Organizer**(样品组织器)
- 扩展样品容量
 - **338 x 2 mL 瓶**
 - **8,448 个样品**
 - 使用 **384 孔板**时
- 软件控制
- 袖珍设计



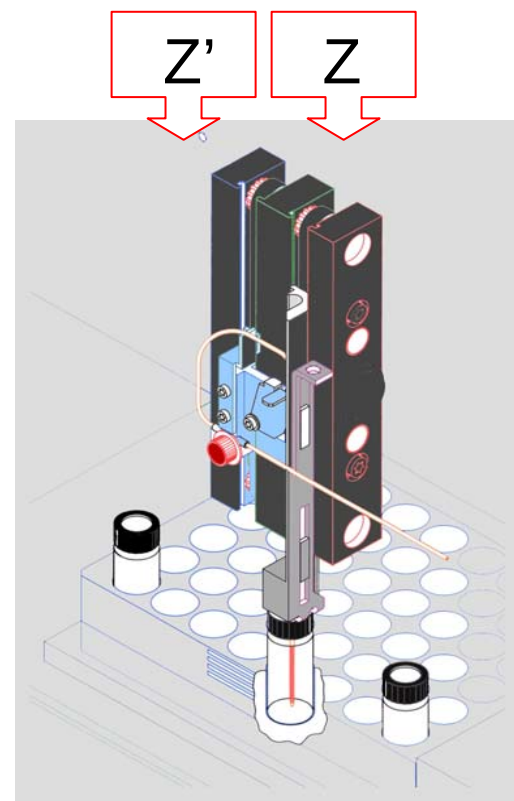
样品管理器概貌

- 样品室
 - 宽视场照明灯照亮样品间
 - 灯的开关可以控制
 - **LED**灯在样品取样头上使你能看清它的位置
- 两个样品盘固定器，包含
 - 一个符合**SBS**的托盘
 - **24 / 48**样品瓶位
 - 两个**4 ml**瓶
 - 放置“**stat**”样品或标样



针内针设计

- 针内针设计的益处：
 - 事实上消除了取样针在穿透样品瓶盖时，瓶盖碎屑及硬物使进样针弯曲造成的麻烦
 - 进样针内的低扩散



3. 上样探头和吸样

极低的交叉污染

- 置换和清洗程序
 - 计量注射器的置换
 - 强溶剂清洗
 - 用弱溶剂置换
 - 弱溶剂清洗
 - 清洗后的注射器再充满

- 首次空白 $< 0.002\%$; 后续空白 $< 0.0002\%$
 - 远好于: 0.005% (指标)

ACQUITY UPLC®

可选用的loop环

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



1µL

2µL

5µL

10µL

20µL

50µL

色谱柱箱 / 柱加热器

- 与样品管理器一体化
 - 65(90)℃ 上限
- 枢轴定位
 - 堆叠方式
 - 光学检测器
 - 向外打开方式
 - MS 检测器
 - 优化的流路距离
 - 最低扩散
 - 两侧均有色谱柱通道

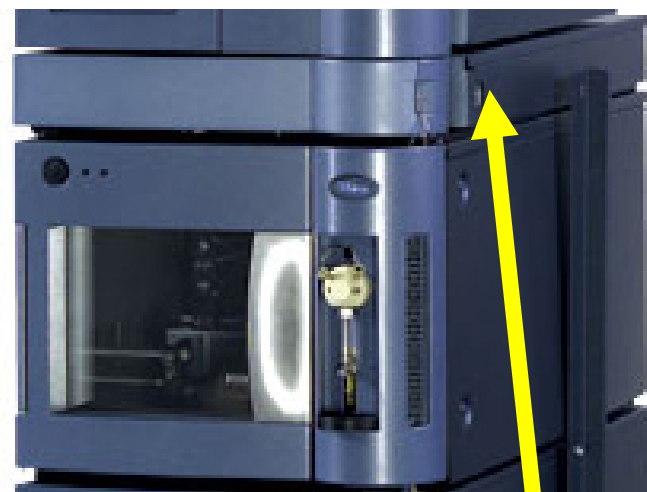


转出到MS入口

色谱柱箱 / eCord 技术

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 色谱柱历史的无纸追溯
- 固化的色谱柱出厂数据
 - 唯一的色谱柱 ID
 - 分析合格证书
 - QC 测试数据
- 可变的色谱柱使用数据
 - 色谱柱使用数据
 - 在柱寿命期间全程收集
- 固定器, 绳索和芯片永久地系在柱子上
- 微芯片用 16 mm 硬币形不锈钢罐包裹
- 永久性读 / 写存储器



色谱柱在线过滤器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



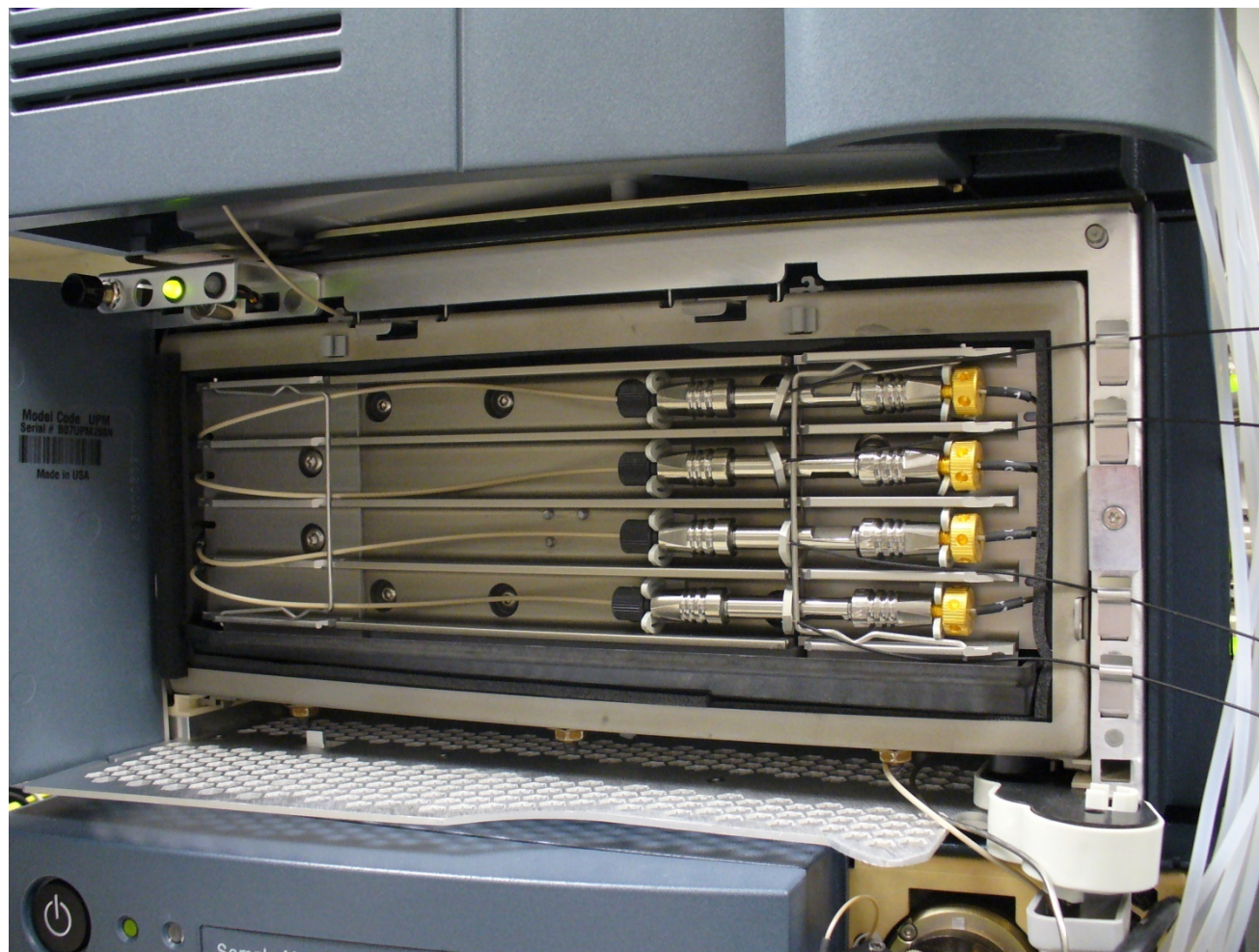
50 mm
Column



100 mm
Column

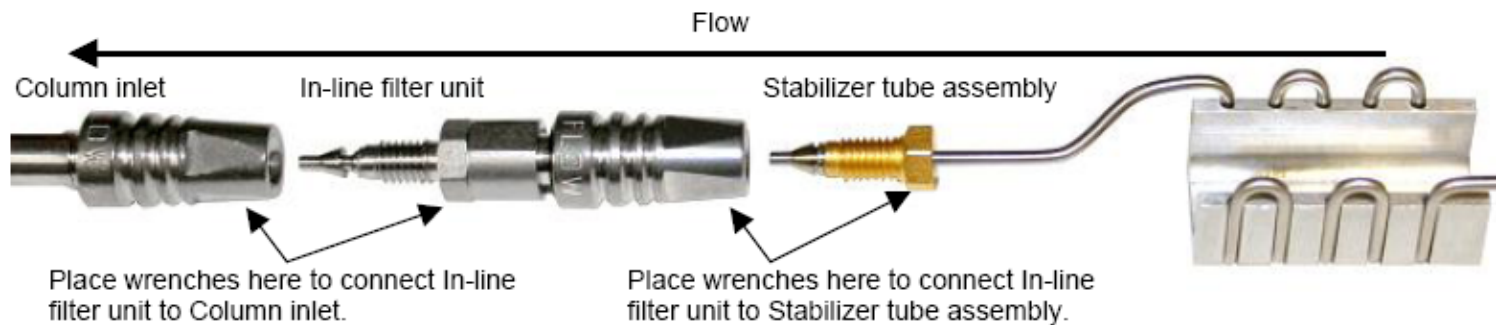
色谱柱管理器 内置柱预热器及柱温稳定器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

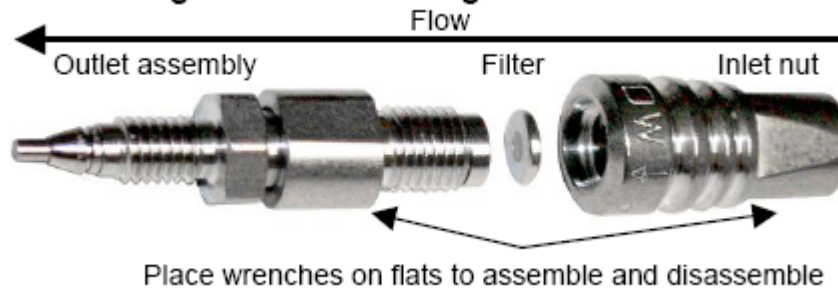


ACQUITY 在线过滤器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

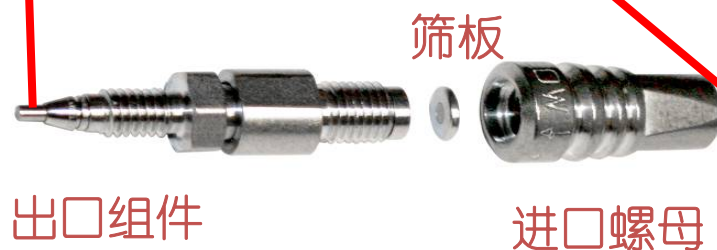
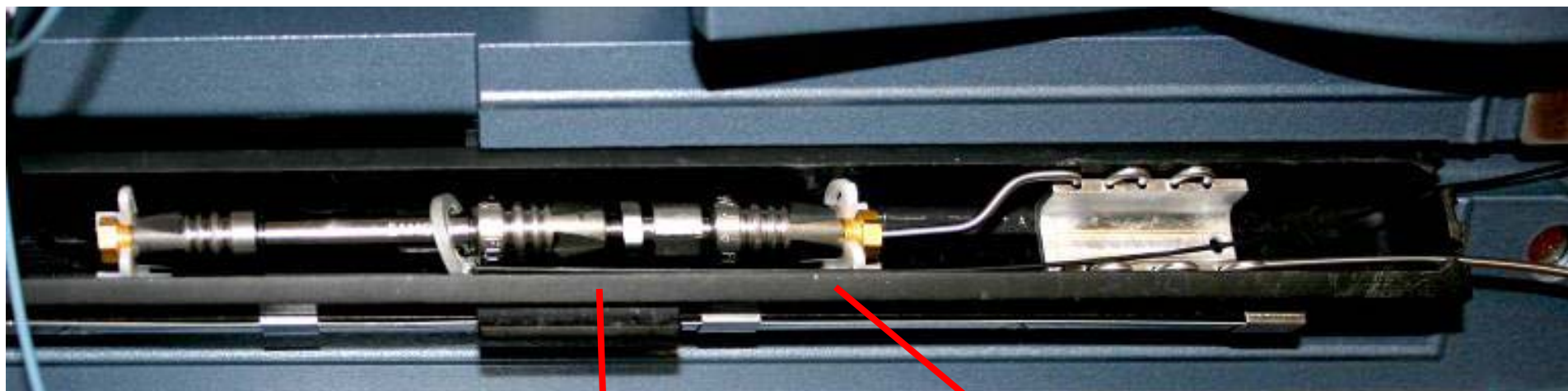


Assembling and disassembling the in-line filter unit:



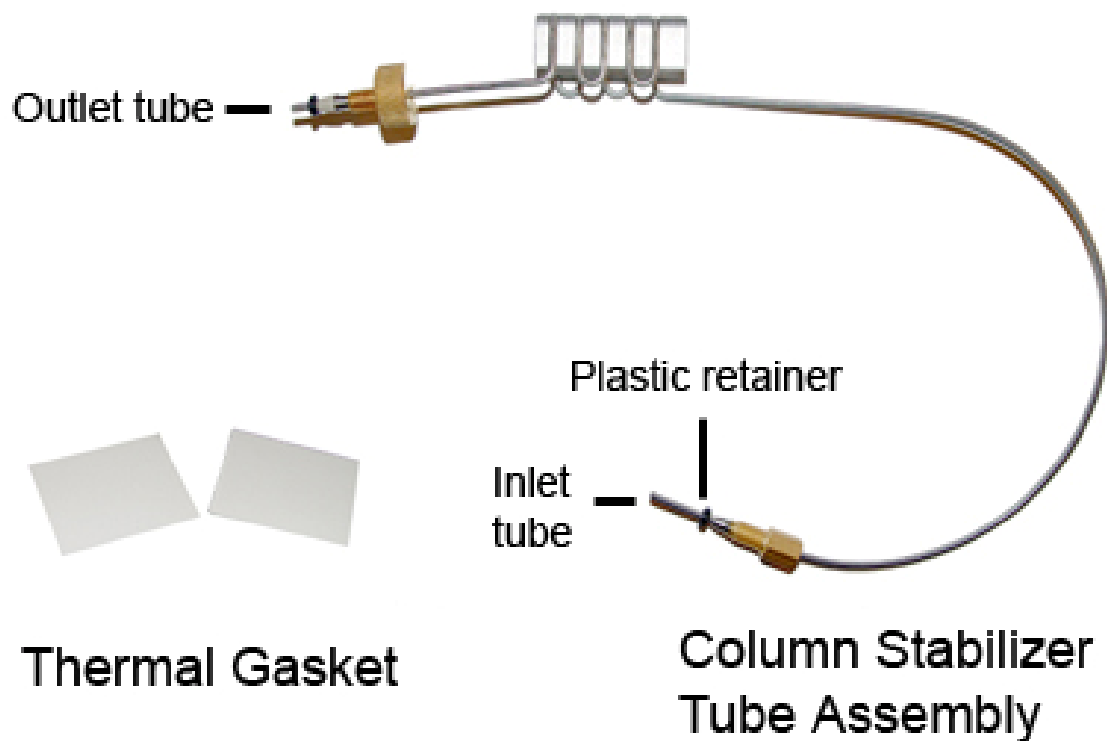
色谱柱在线过滤器

- PN 205000343
- 0.2 μm 可更换滤芯, 5个/包, PN 700002775



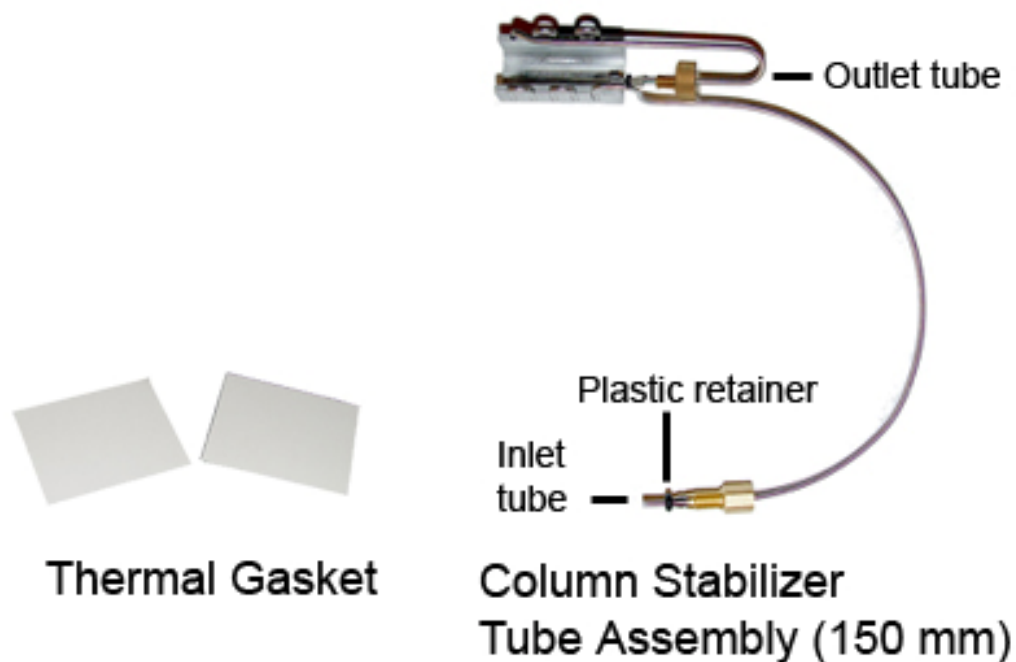
50 / 100 mm 色谱柱用稳定器

柱温稳定器组件, 50 / 100 mm (# 205000291)



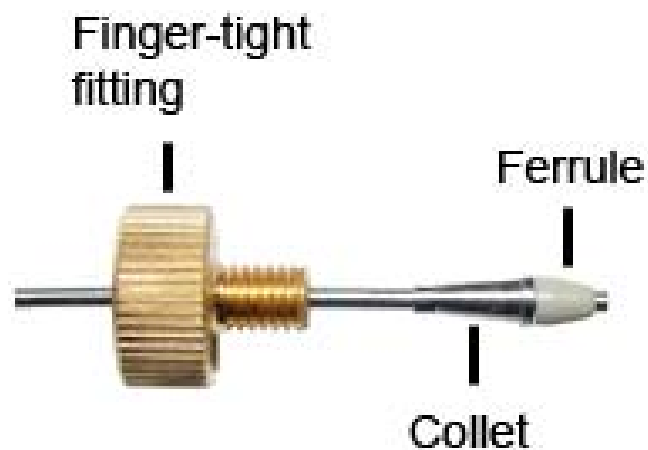
150 mm 色谱柱用稳定器

柱温稳定器组件, 150 mm (# 205000365)



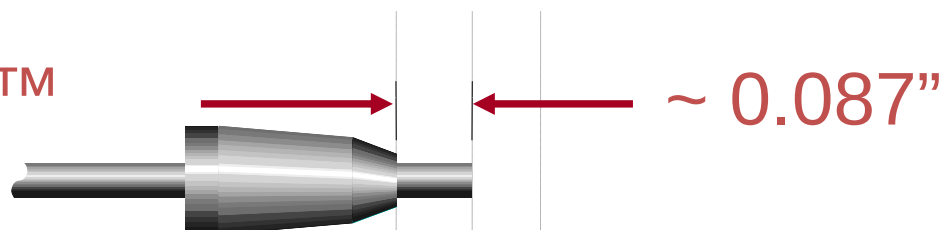
高压手紧接头

手拧紧可重复使用的 10-32 接头组件 (# 700003139)

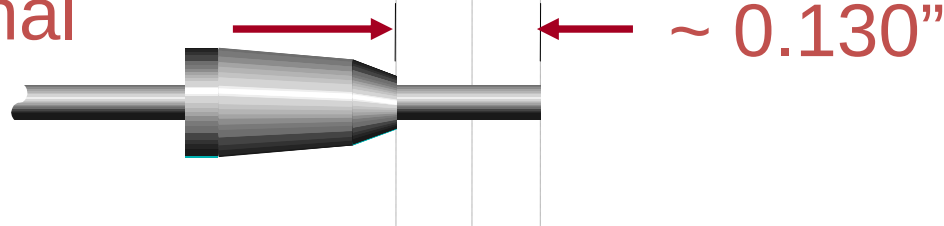


ACQUITY UPLC™ 的接头

ACQUITY UPLC™



Waters® Traditional



UPLC 检测技术的挑战

- 更快流出的峰需要：
 - 更高的数据采集速度
 - 更低的池体积
- 较小的峰需要最大的 **S / N**
 - 高的光通量 / 传输
 - 更快的数字滤波时间常数
- **UPLC** 分离需要低扩散流通池
 - 保持峰形
 - 不产生高反压



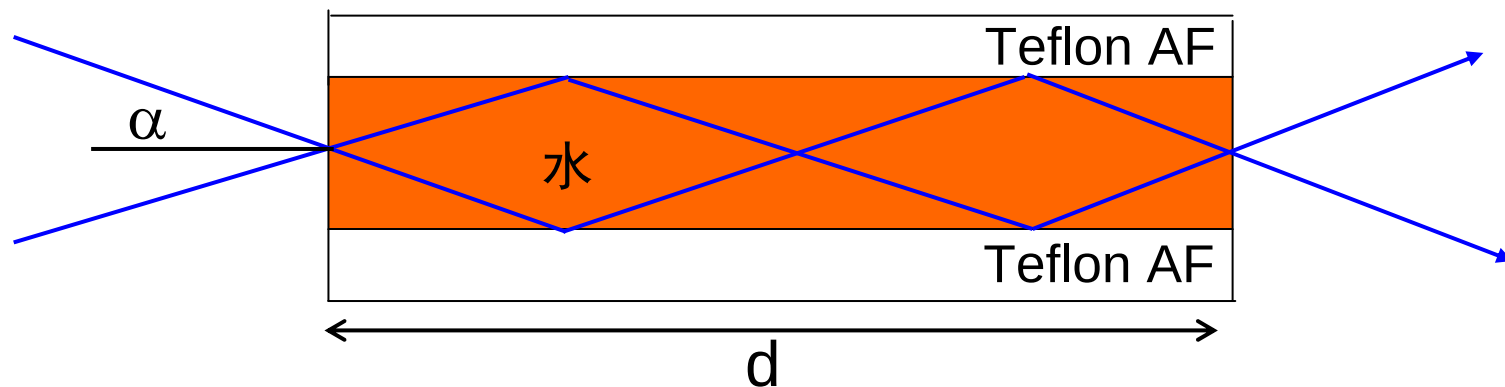
UPLC™ 流动池设计

- 光引导的UPLC™ 流动池

- 10 mm 光程长

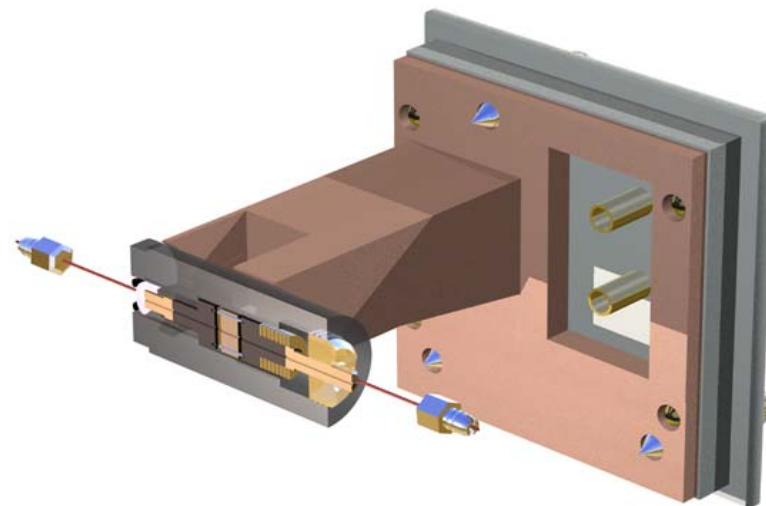
- 流动池通道即低吸收系数的 **Teflon AF** 管的内部

- 壁上全内反射，犹如光纤涂层



UPLC™ 流动池设计

- 分析型流通池 (10 mm, 500 nL)
 - 更佳的色谱分离度
 - 推荐用于与质谱串联时, 因为其体积小
- 高灵敏度流通池 (25 mm, 2400 nL)
 - 追求最高的灵敏度
 - 更高的峰高 (Beer's law)
 - 通常有更好的信噪比



$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

反压调整器

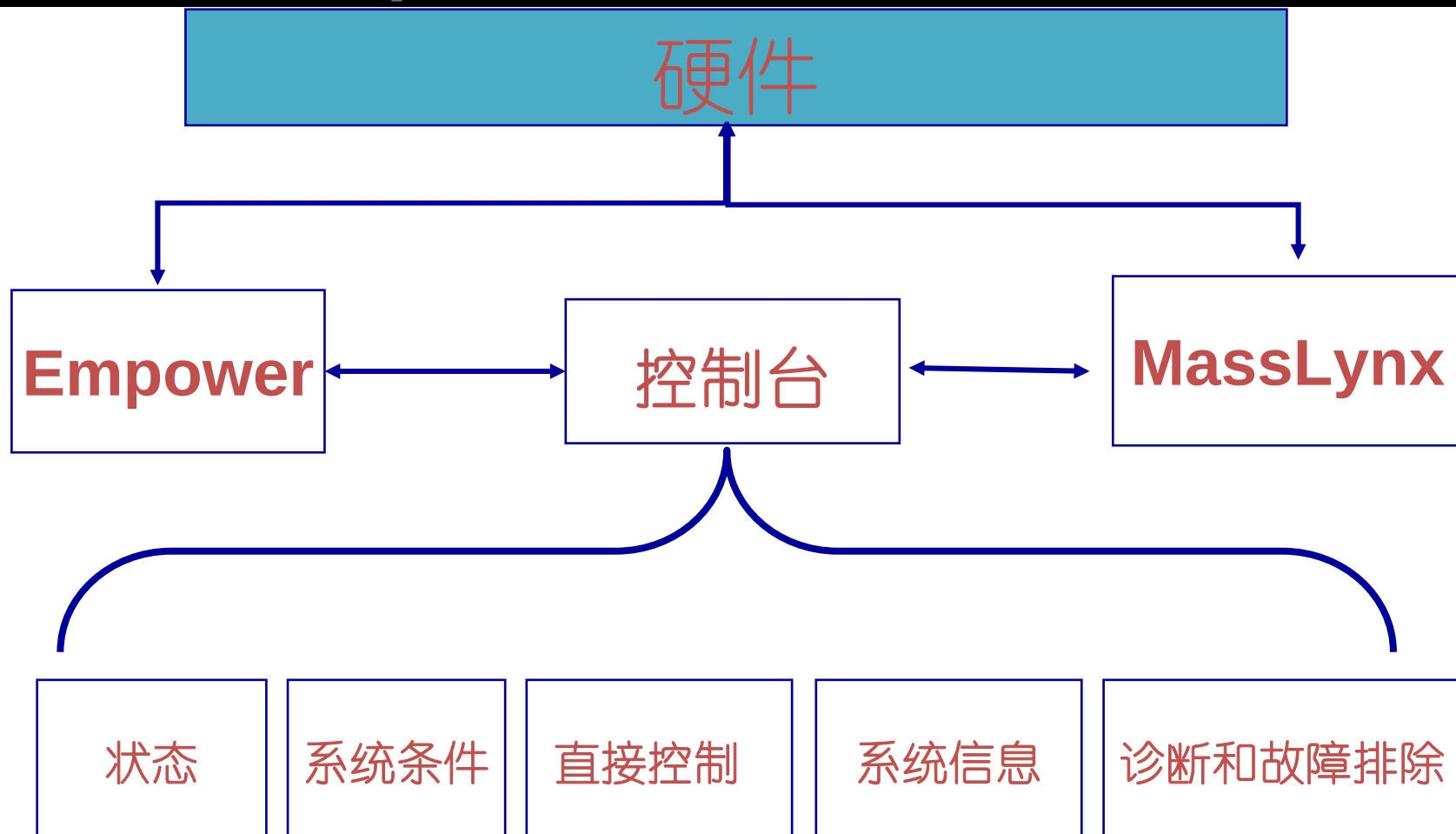
- 反压调整器(**250Psi**)能确保溶解在流动相中的气体不会产生气泡,从而保证基线平稳不受气泡噪音的干扰
- 如果**UV**检测器是系统中的最后一个检测器,一定要装配反压调整器
- 如果在**PDA / TUV**后面还连接有质谱或其它检测器,则无需装配反压调整器

ACQUITY 对软件的要求

- **Empower build 1154 / 2154**
 - **Service pack ACQUITY**
 - **Instrument Control Operating Procedure (ICOP)**
 - **V1.1 (老版本)**
 - **V1.30 (新版本)**
 - **Firmware**
- **MassLynx 4.0 / 4.1**
 - **Service Pack 4**
 - **Instrument Control Operating Procedure (ICOP)**
 - **Firmware**

ACQUITY 的软件控制

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



控制台



状态

系统条件

直接控制

系统信息

诊断和故障排除

每个模块

溶剂灌注

每个模块

每个模块

每个模块

快速浏览

HPLC

模块控制

色谱柱

快速浏览

流程图

清洗

系统设置

日志

显示图

交互式显示

冲洗

快速切换

维护计数器

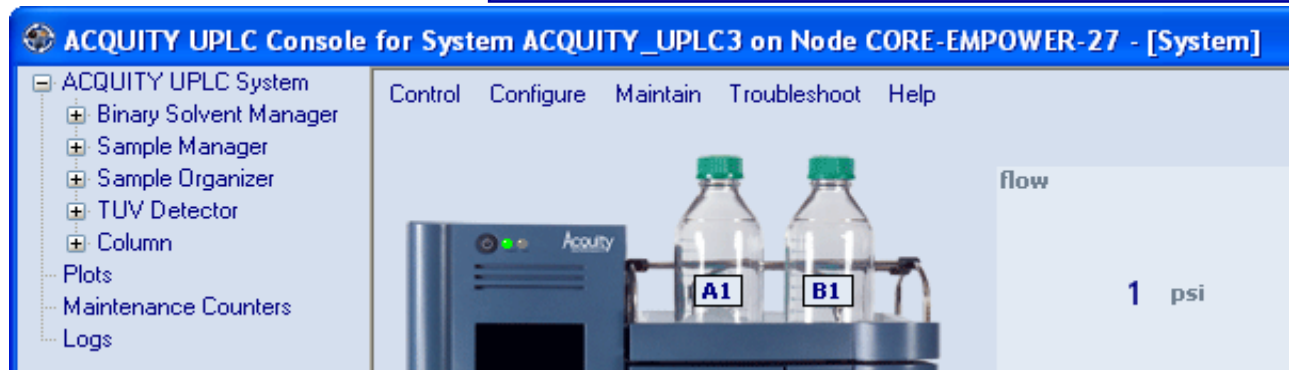
性能

AIS 配置

流速/波长

模块

任务菜单

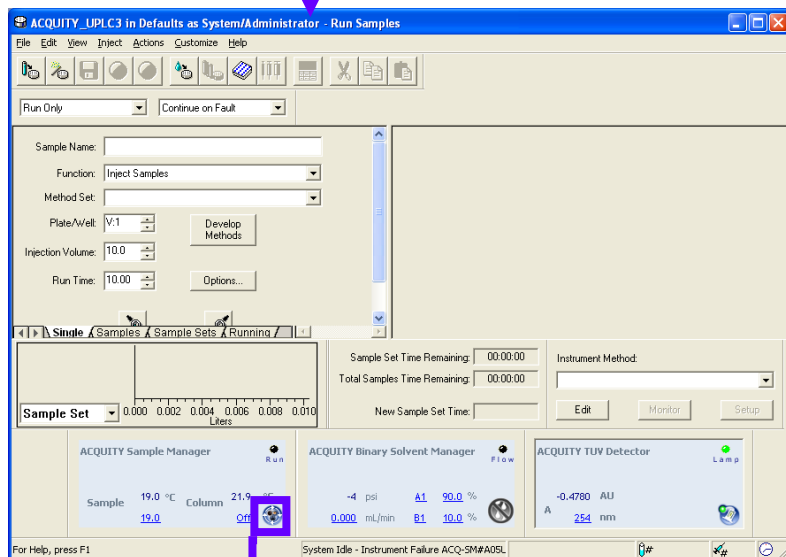


访问控制台界面

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

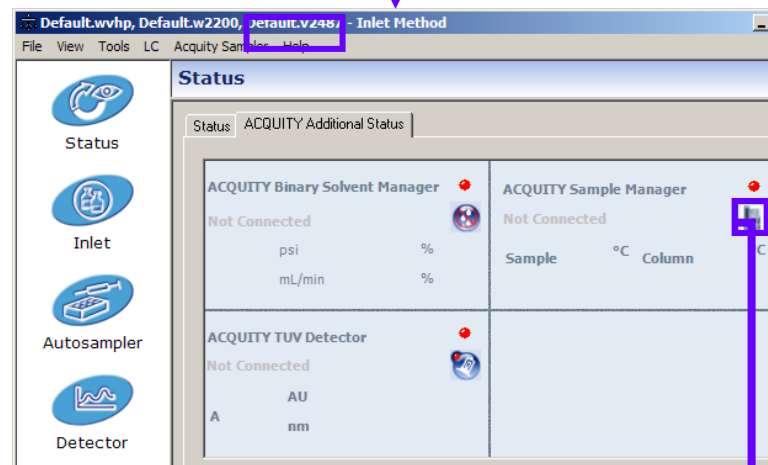
Empower

运行样品界面



MassLynx

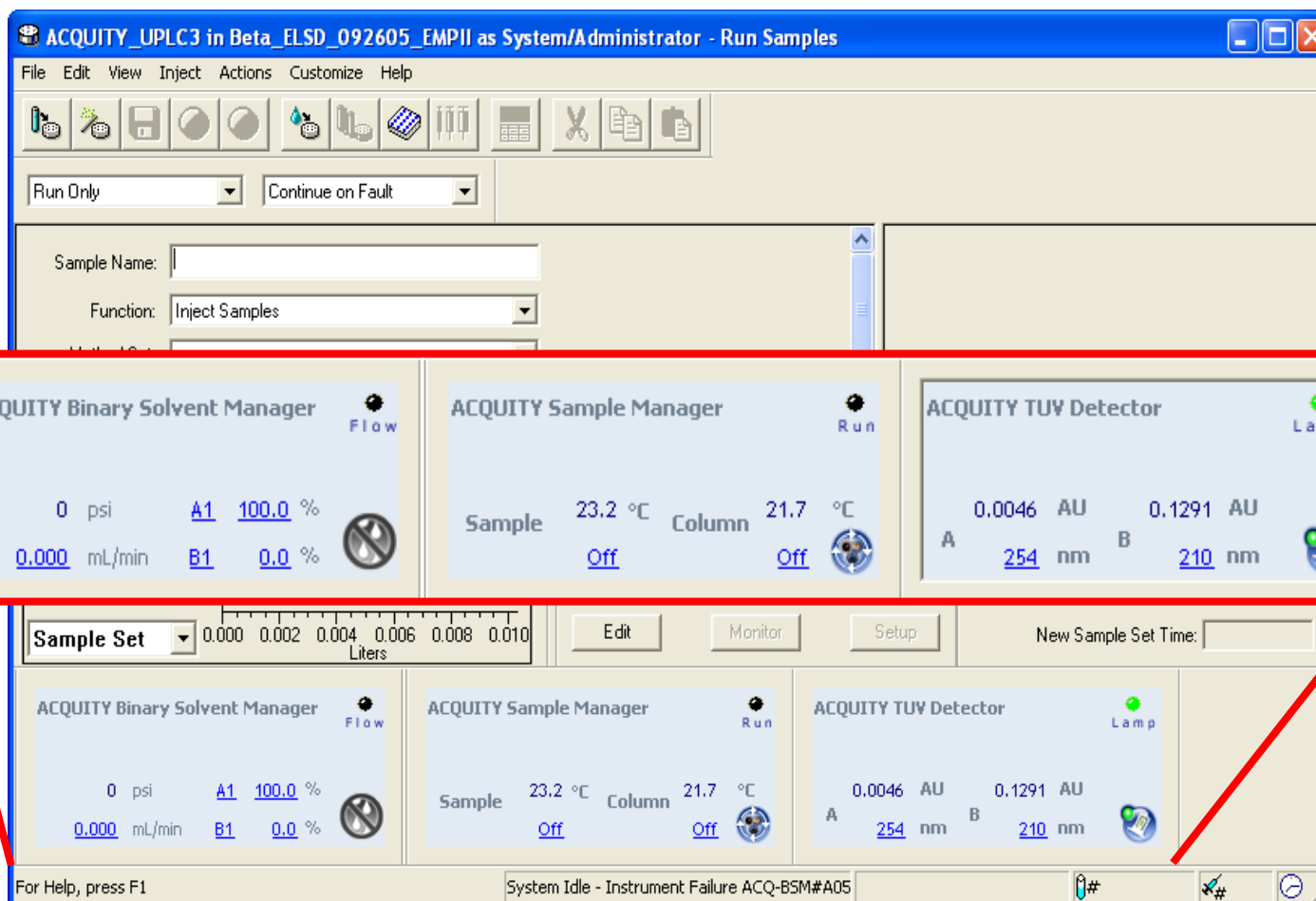
液相方法界面



控制台图标

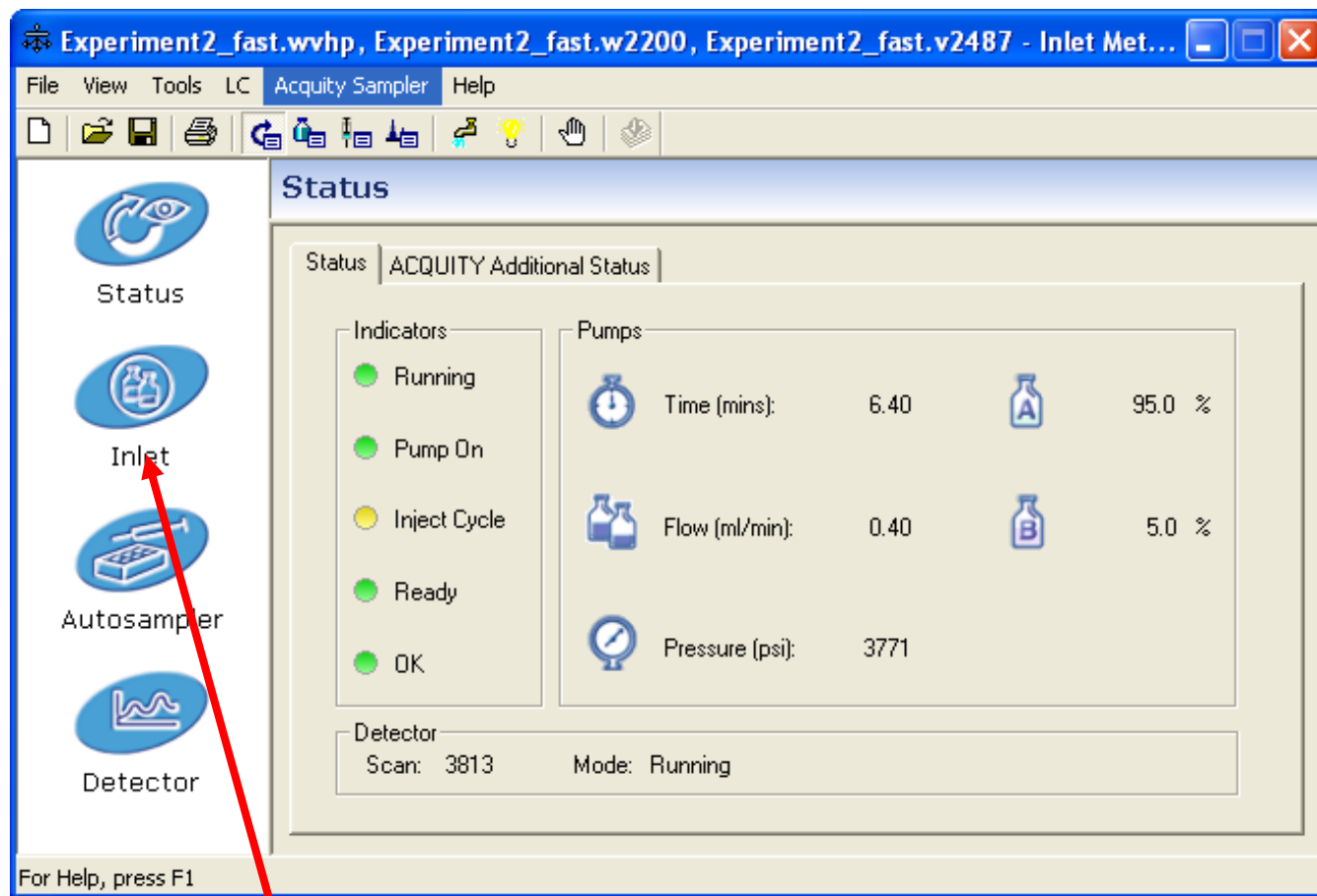
EMPOWER 2

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Masslynx 4.1

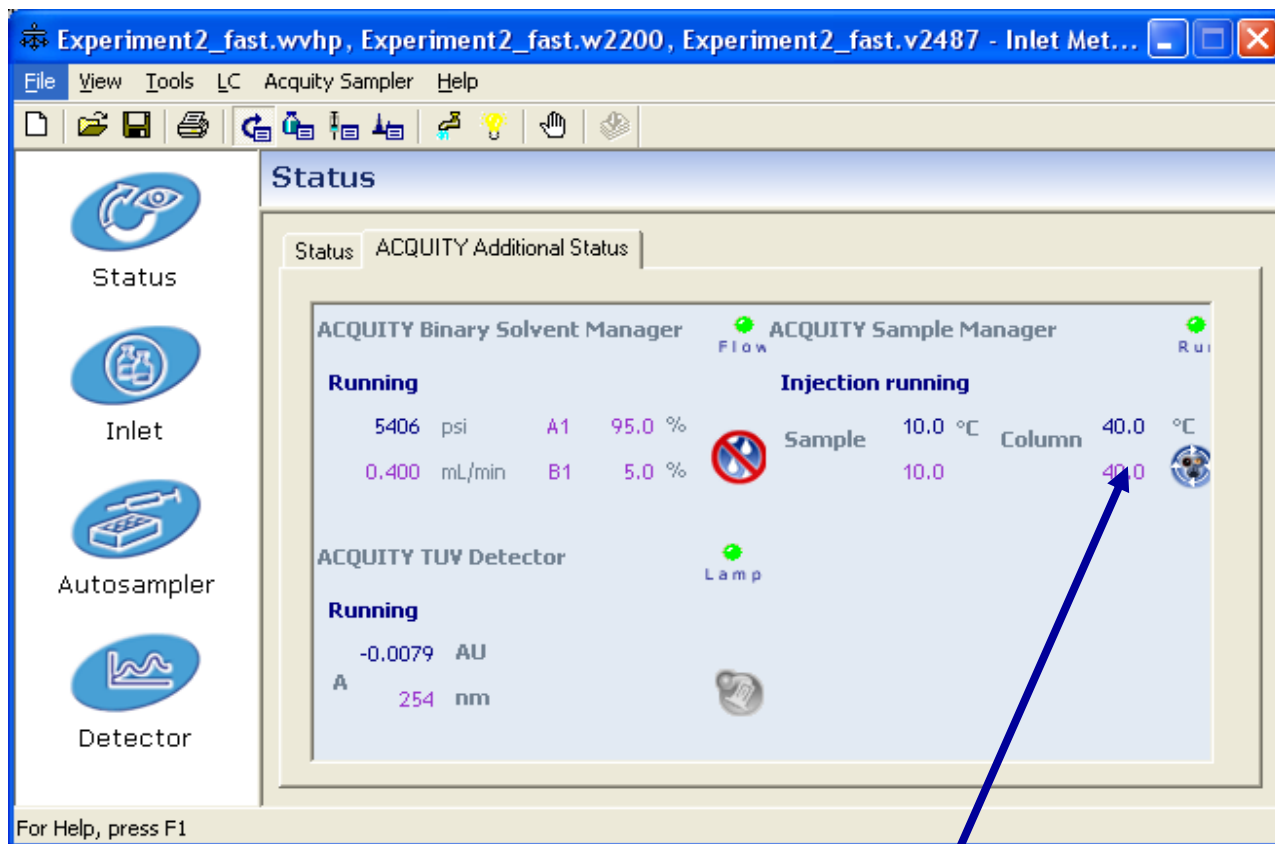
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



选 Inlet

MassLynx 4.1

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



ACQUITY 控制台快捷键

控制台的使用

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ACQUITY UPLC Console for System ACQUITY_UPLC3 on Node CORE-EMPOWER-27 - [System]

Control Configure Maintain Troubleshoot Help

ACQUITY UPLC System

- Binary Solvent Manager
- Sample Manager
- Sample Organizer
- TUV Detector
- Column
- Plots
- Maintenance Counters
- Logs

System Status

Acquity

A1 B1

1 psi

0.000 mL/min

A1 100.0 %

0.0 B1

Temperature

Column	21.7 °C
	Off
Sample	23.9 °C
	Off
Room	21.7 °C

TUV Detector

A	0.7550 AU
	230 nm

Flow

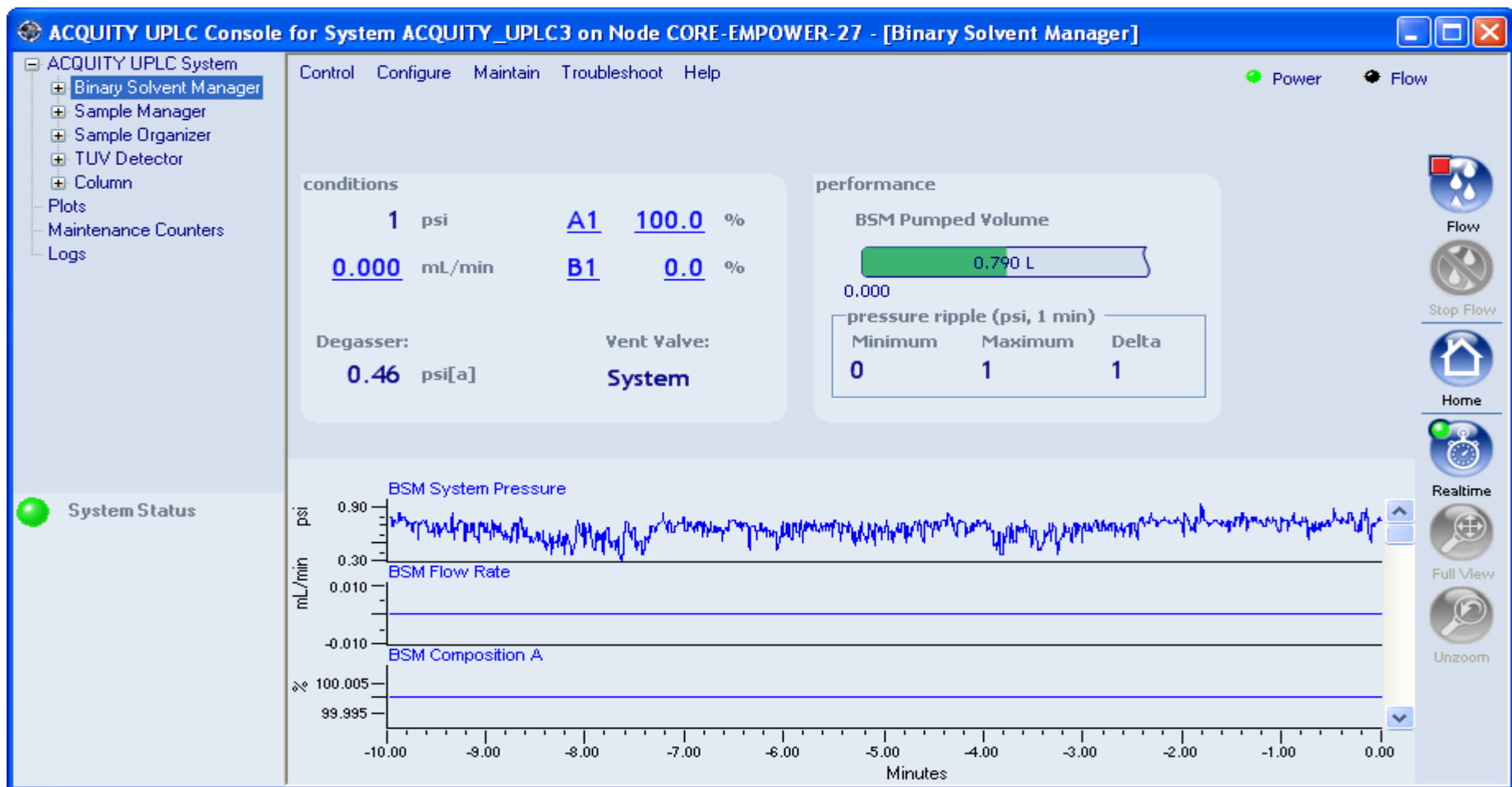
Stop Flow

Lamp

Auto Zero

1x λ Mode

BSM状态:泵的主控制界面



BSM系统准备: 灌注泵

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ACQUITY UPLC Console for System ACQUITY_UPLC3 on Node CORE-EMPOWER-27 - [Binary Solvent Manager]

Control Configure Maintain Troubleshoot Help

Set flow...
Stop flow
Prime A/B solvents...
Prime sea wash
Reset BSM

0.000 mL/min

Degasser: 0.46 psi[a]

Vent Valve: System

A1 100.0 %
B1 0.0 %

performance

BSM Pumped Volume

0.790 L

0.000

pressure ripple (psi, 1 min)

Minimum	Maximum	Delta
0	C	0

Prime A/B Solvents

Solvent Line(s) to Prime

☒ A A1

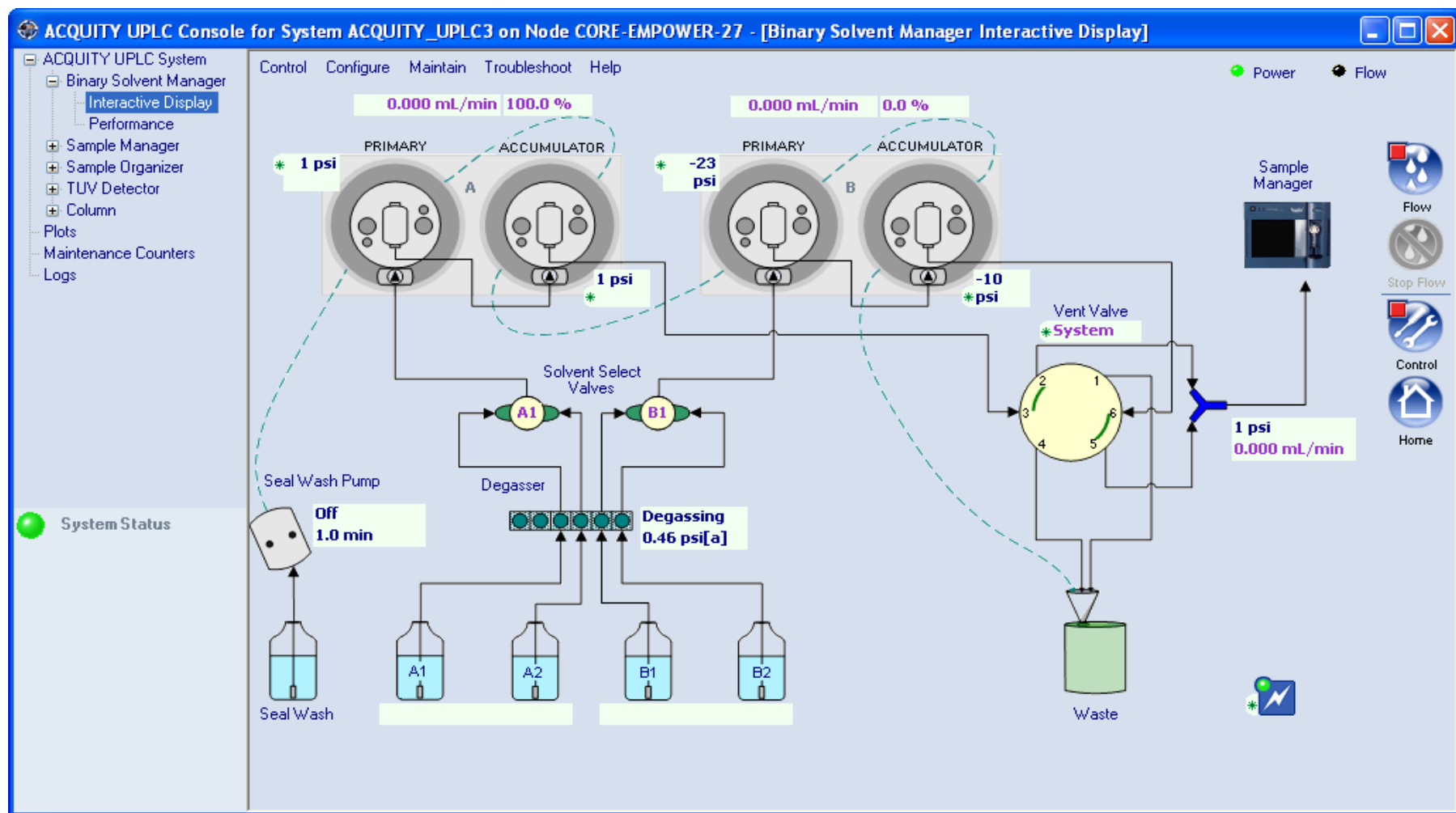
☒ B B1

B1
B2

Time: 1.0 min

Start Close

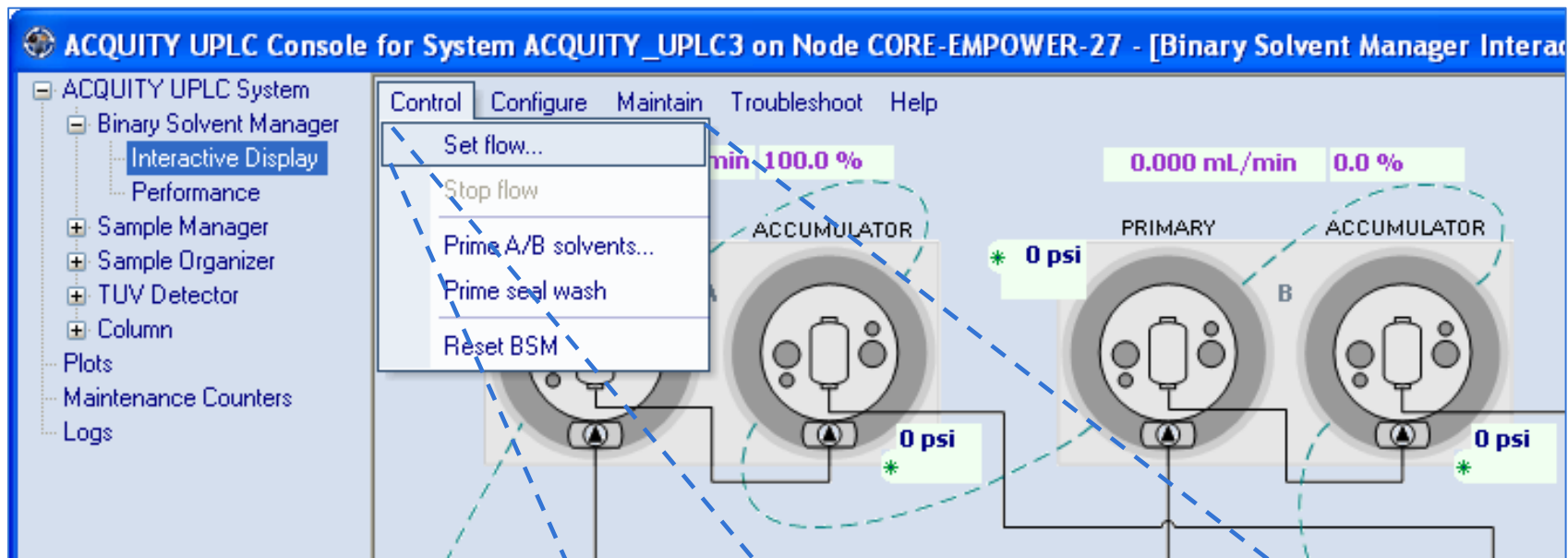
BSM状态:泵的交互式显示



BSM: 设定流速

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Set Flow

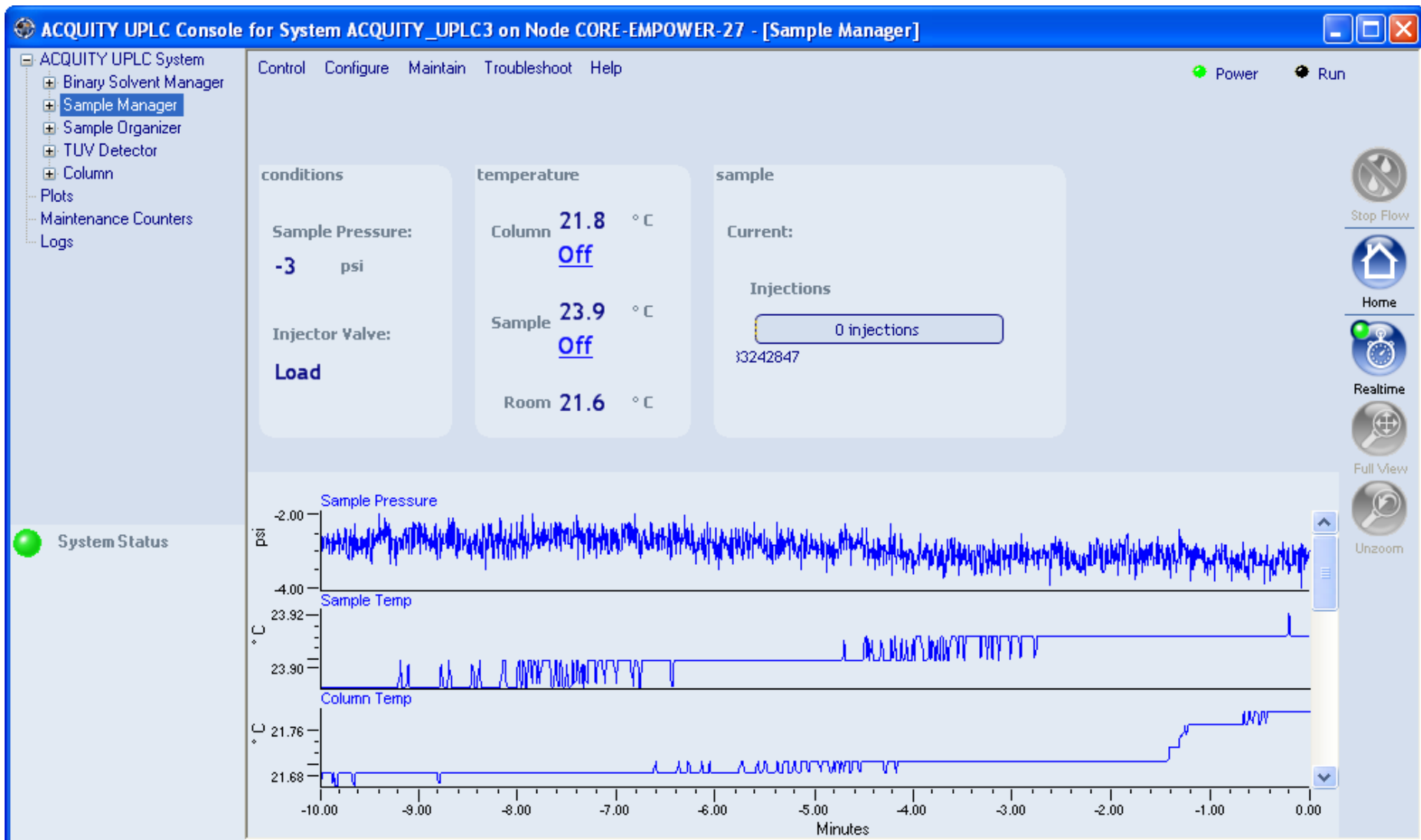
Flow:
0.100 mL/min

Solvent A:
0.0 %
A1

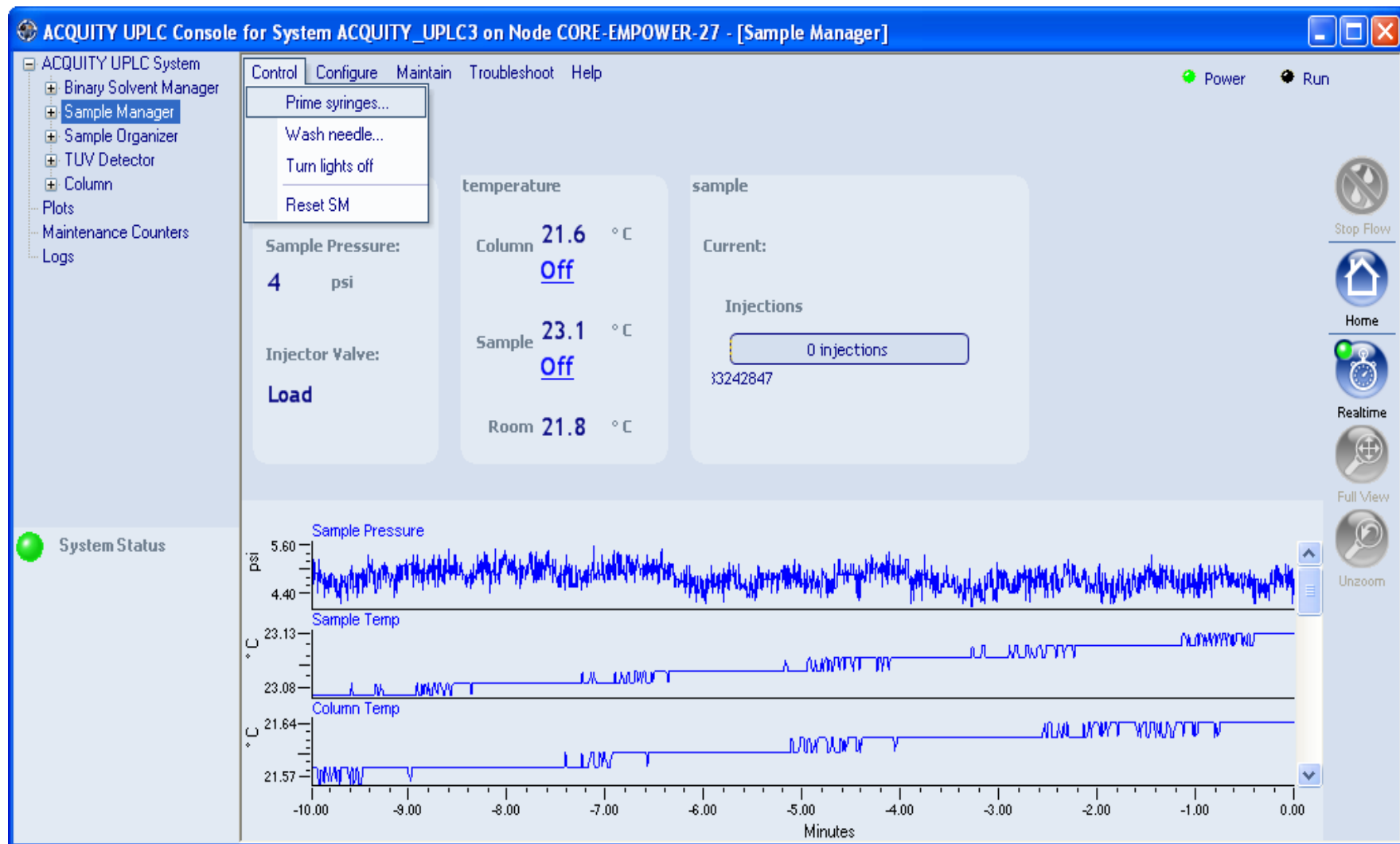
Solvent B:
100.0 %
B1

✓ ✗ ?

SM状态:样品管理器控制界面

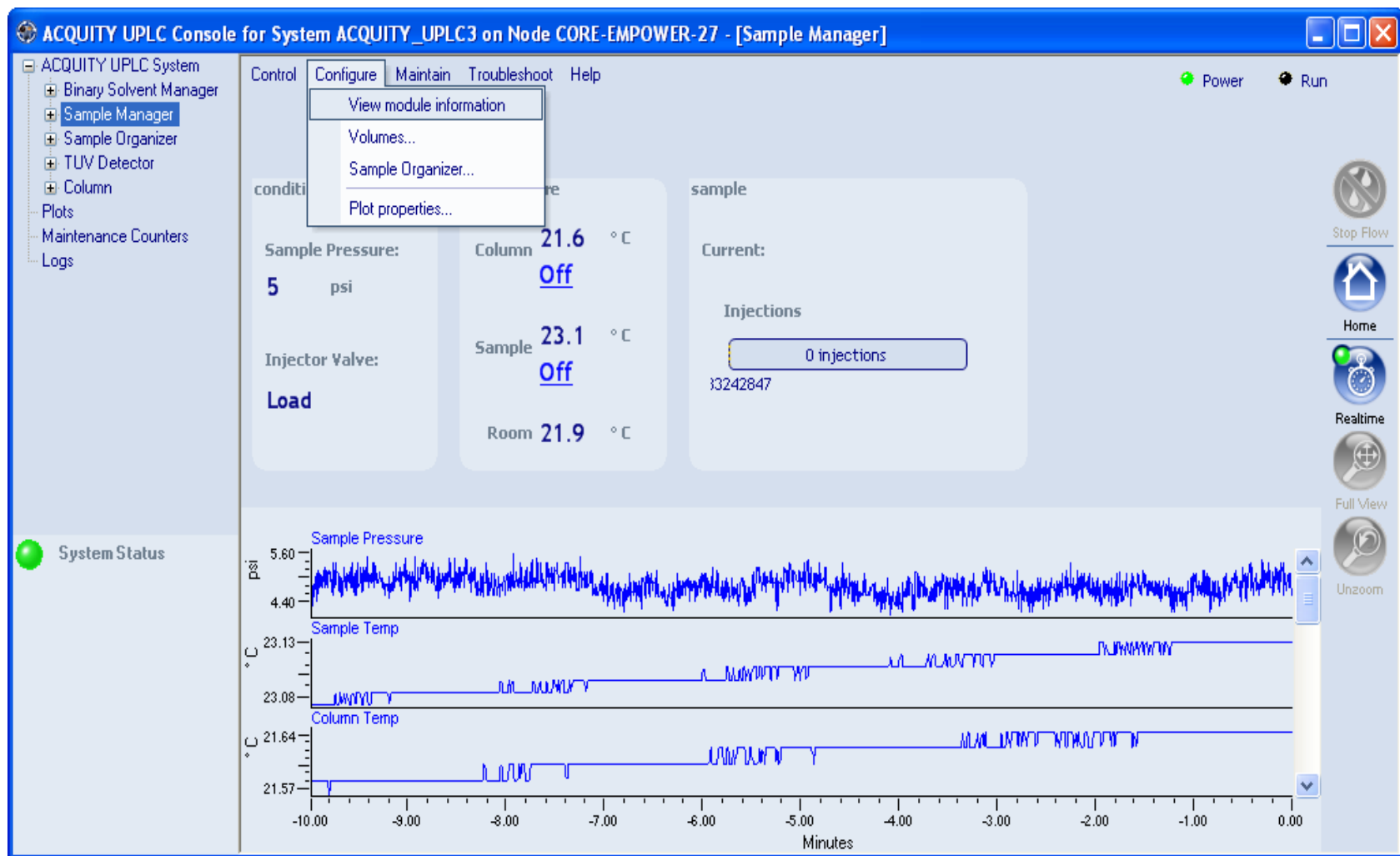


SM系统准备:清洗注射器

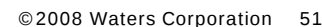


SM系统准备:配置

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

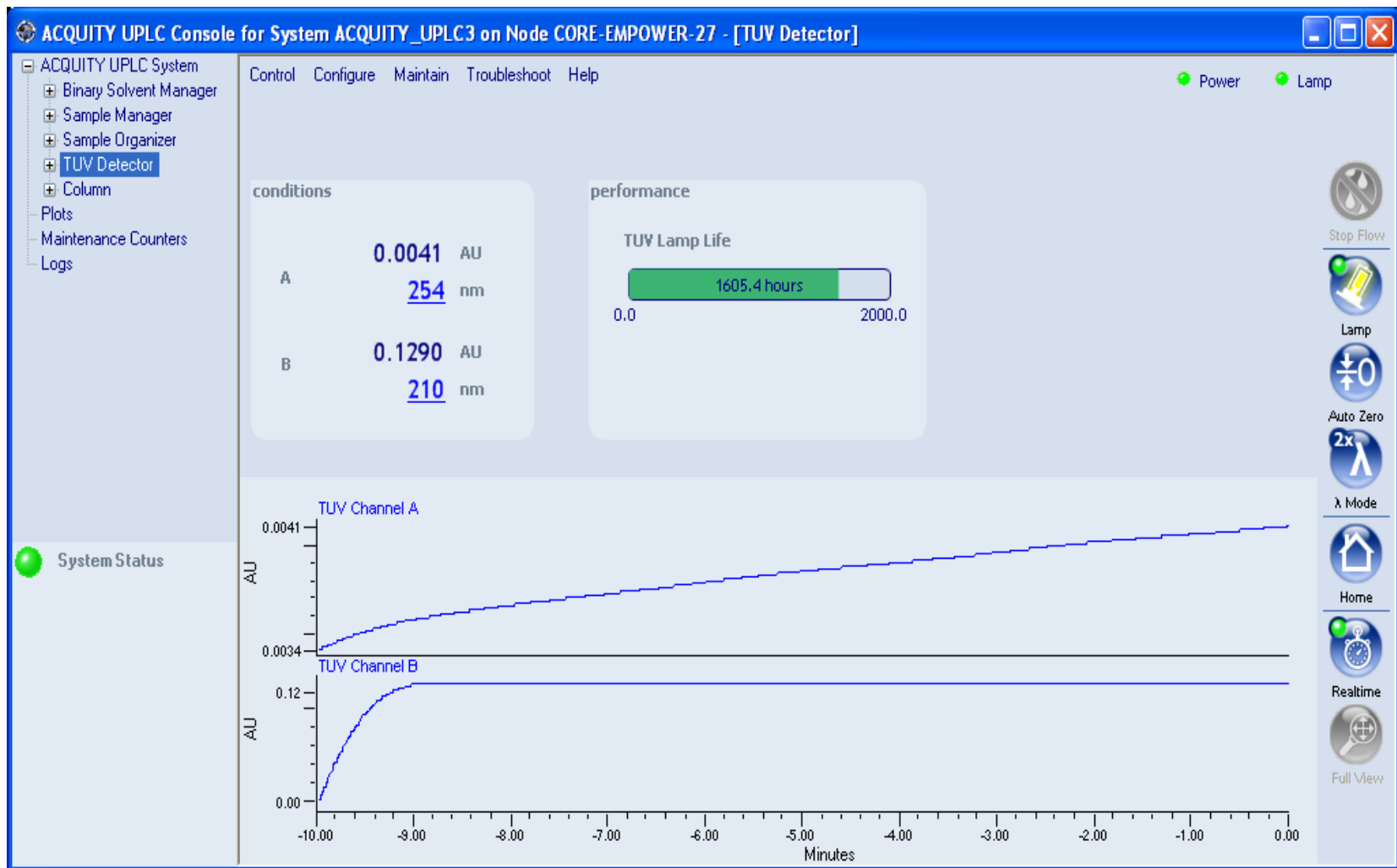


Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

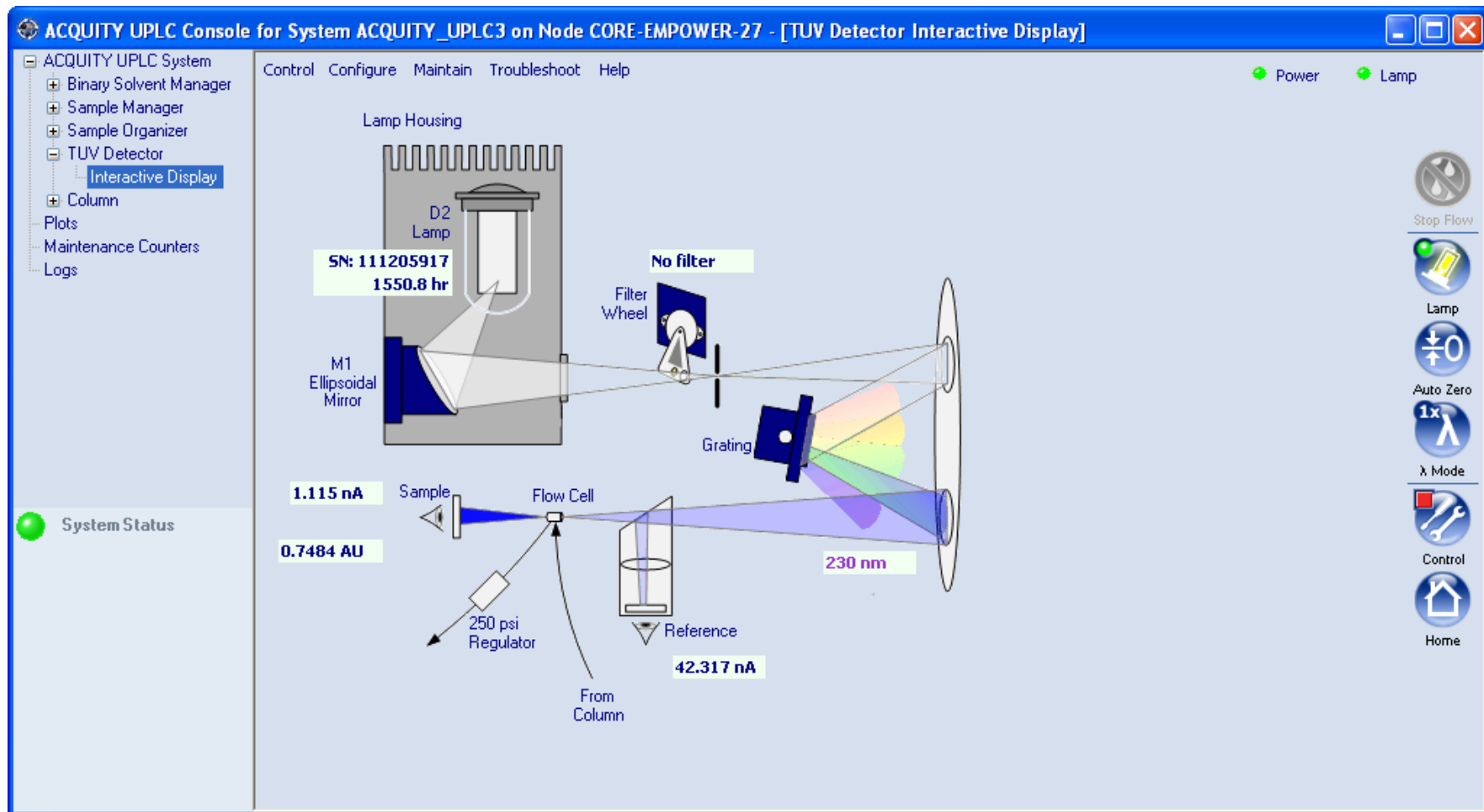


状态:TUV 控制界面

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



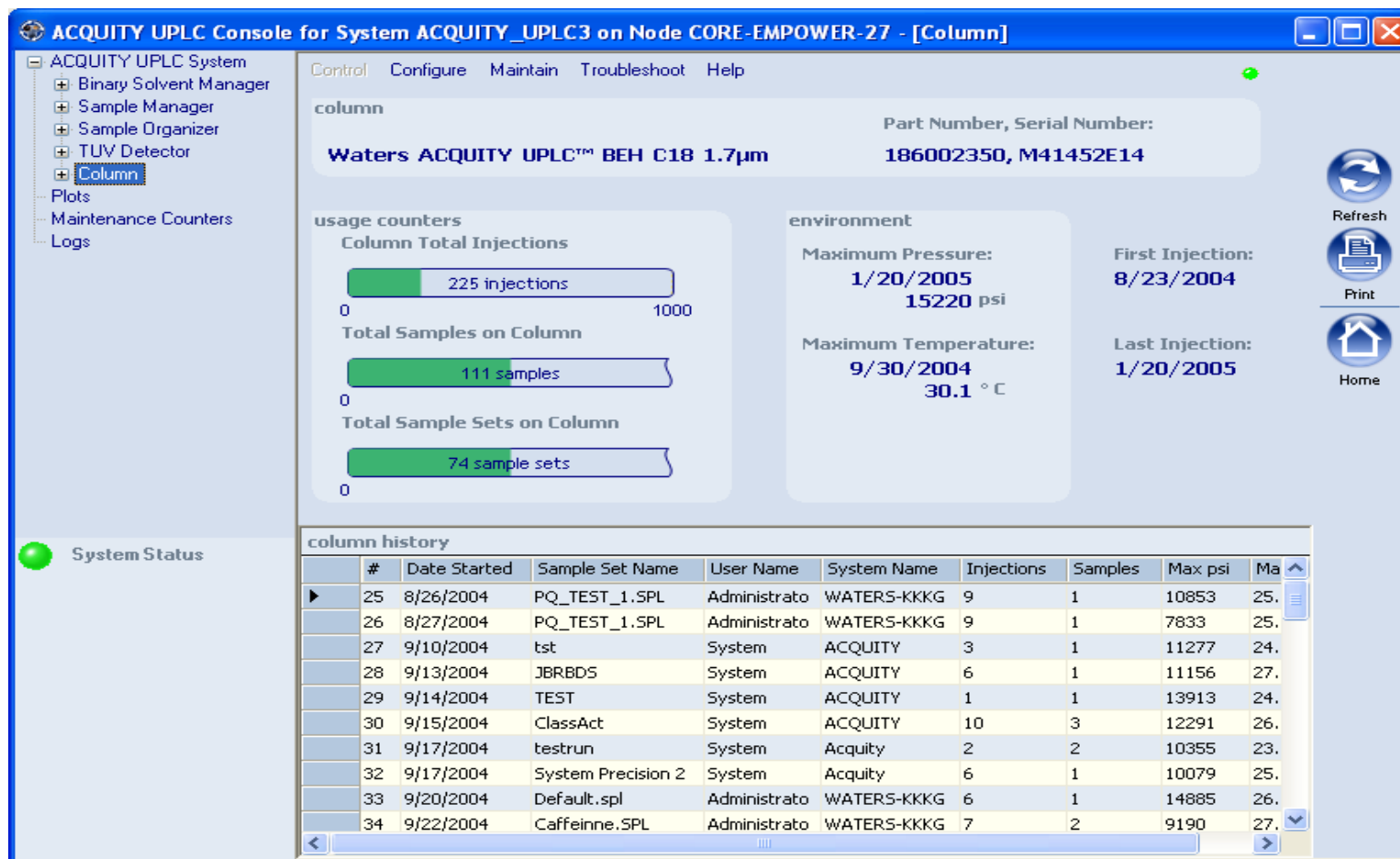
状态:TUV 控制界面



色谱柱信息界面

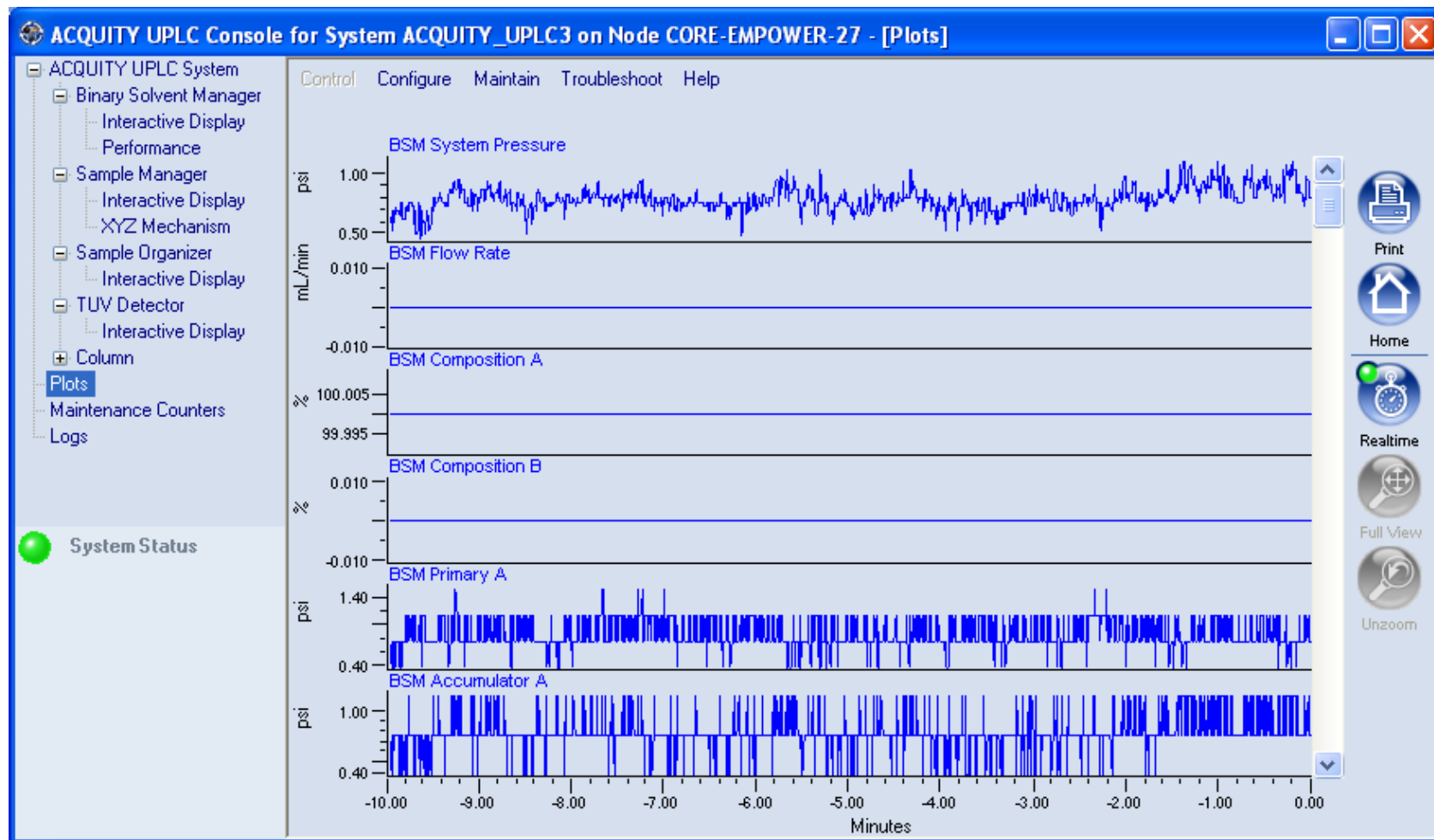
Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

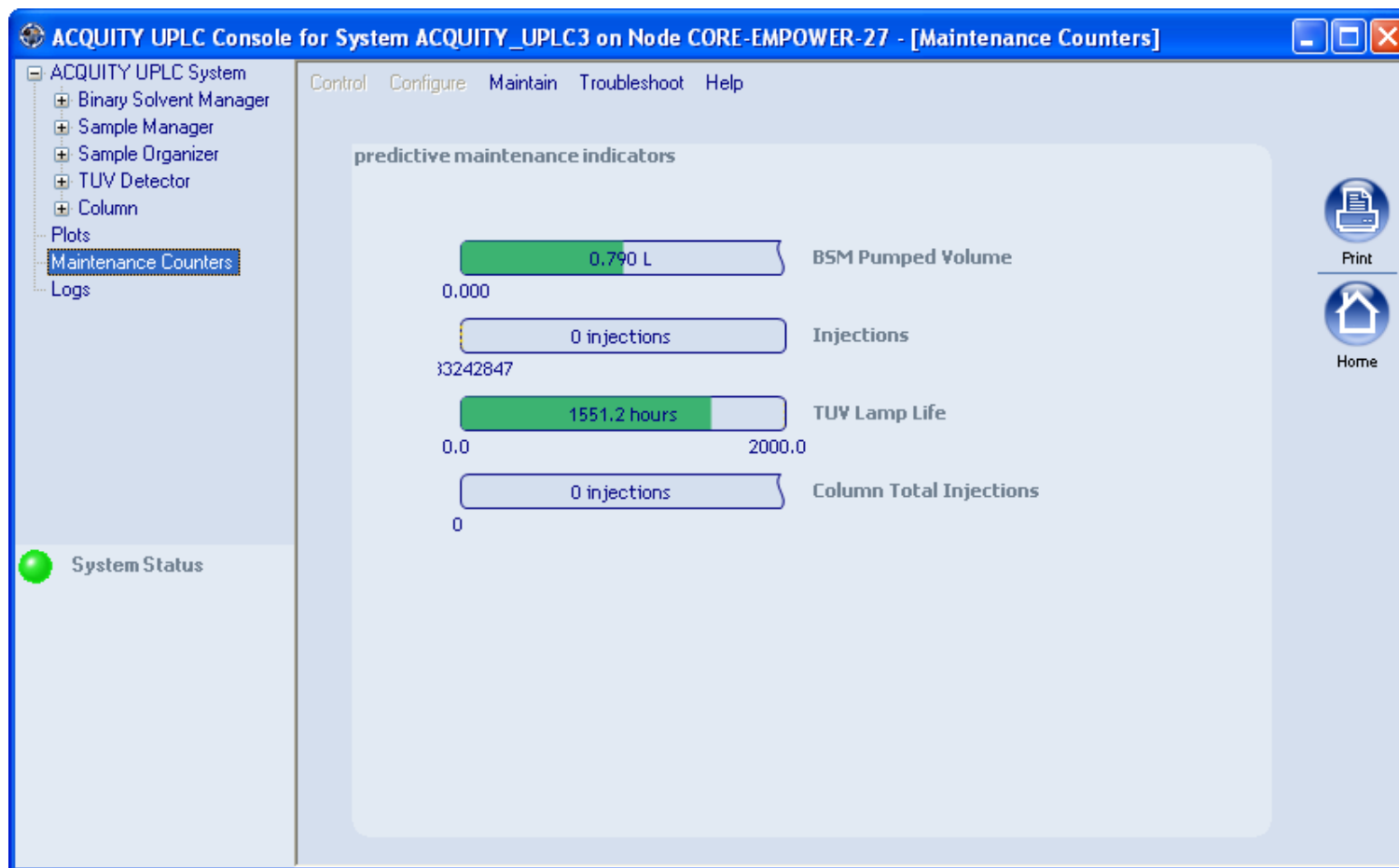


诊断:交互式显示图

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



系统信息:维护计数



系统信息:顶层日志

ACQUITY UPLC Console for System ACQUITY_UPLC3 on Node CORE-EMPOWER-27 - [Logs]

Control Configure Maintain Troubleshoot Help

Dates: All Content: Errors System or Module: Current System

records

	Date and Time	Severity	Instrument	Message
▶	10/27/2005 10:41 AM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord connected: SN(M41452E14) Inj. Ct.(225)
	10/27/2005 10:39 AM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord disconnected: SN(M41452E06) Inj. Ct.(224)
	10/27/2005 10:37 AM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord connected: SN(M41452E06) Inj. Ct.(224)
	10/27/2005 10:36 AM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord disconnected: SN(M41452E14) Inj. Ct.(225)
	10/27/2005 10:16 AM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord connected: SN(M41452E14) Inj. Ct.(225)
	10/26/2005 2:29 PM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord disconnected: SN(01211517210L92) Inj. Ct.(0)
	10/26/2005 2:01 PM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord connected: SN(01211517210L92) Inj. Ct.(0)
	10/26/2005 2:00 PM	Warning	ACQ-SM#A05UP55	eCord data invalid
	10/26/2005 9:32 AM	Error	ACQ-SM#A05UP55	Needle volume not calibrated
	10/25/2005 4:36 PM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord disconnected: SN(01211517210L92) Inj. Ct.(0)
	10/25/2005 9:15 AM	Information	ACQ-SM#A05UP55	eCord connected: SN(01211517210L92) Inj. Ct.(0)

details of current record

eCord connected: SN(M41452E14) Inj. Ct.(225)

ACQUITY UPLC System

- Binary Solvent Manage
 - Interactive Display
 - Performance
- Sample Manager
 - Interactive Display
 - XYZ Mechanism
- Sample Organizer
 - Interactive Display
- TUV Detector
 - Interactive Display
- Column
 - Column QC
 - Batch QC
 - Care and Use
- Plots
- Maintenance Counters
- Logs

System Status

Refresh

Print

Home

故障诊断与排除

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ACQUITY UPLC Console for System ACQUITY_UPLC3 on Node CORE-EMPOWER-27 - [System]

Control Configure Maintain Troubleshoot Help

Service mode...
Save service profile...
Submit Connections Insight™ request...

ACQUITY UPLC System

- Binary Solvent Manager
 - Interactive Display
 - Performance
- Sample Manager
 - Interactive Display
 - XYZ Mechanism
- Sample Organizer
 - Interactive Display
- TUV Detector
 - Interactive Display
- Column
- Plots
- Maintenance Counters
- Logs

System Status

Acquity

1 psi

0.000 mL/min

A1 100.0 %

B1 0.0

temperature

Column 21.8 °C
Off

Sample 24.0 °C
Off

Room 21.6 °C

TUV Detector

0.7413 AU

230 nm

Flow

Stop Flow

Lamp

Auto Zero

λ Mode