

岛津 LC-10AT 型高效液相色谱系统标准操作规程(手动进样+全反控+双泵)

摘要

本文详细介绍了岛津 LC-10AT 型液相色谱仪(双泵+手动进样+全反控)系统的使用和操作要领,适用于初学者学习使用。

内容

1. 目的

规范岛津 LC-10AT 型高效液相色谱系统的使用和维护。

2. 范围

本规程适用于岛津 LC-10AT 型高效液相色谱系统的使用和维护。

3. 职责

质检室仪器分析员负责岛津 LC-10AT 型高效液相色谱系统的日常使用和维护。

4. 规程

4.1 系统组成: 本系统由2个 LC-10ATvp 溶剂输送泵(分主/A 泵和副/B 泵)、Rheodyne 7725i 手动进样阀、SPD-10Avp 紫外-可见检测器、SCL-10AVP 系统控制器、CLASS-VP (Ver. 6.1) 工作站和 IBM 台式电脑等组成。

4.2 准备

4.2.1 使用前应根据待检样品的检验方法准备所需的流动相, 用合适的0.45 μm 滤膜过滤, 超声脱气 20min。

4.2.2 根据待检样品的需要更换合适的色谱柱(柱进出口位置应与流动相流向一致)和定量环。

4.2.3 配制样品和标准溶液(也可在平衡系统时配制), 用合适的0.45 μm 滤膜过滤。

4.2.4 检查仪器各部件的电源线、数据线和输液管道是否连接正常。

4.3 开机

4.3.1 接通电源, 依次开启不间断电源、B 泵、A 泵、检测器、系统控制器, 待泵和检测器自检结束后, 打开电脑显示器、主机。

4.3.2 启动 CLASS-VP 工作站

4.3.2.1 确认仪器、系统控制器启动后，打开计算机电源，并从 Windows 的任务栏中选择 Start > Programs > Chromatography > CLASS-VP 以打开 CLASS-VP 菜单窗口。（可以通过桌面上的快捷方式，迅速打开 CLASS-VP 主菜单）

4.3.2.2 在 Main Menu 窗口中双击 Instrument 图标。

4.3.2.3 输入用户名和口令，以登录 CLASS-VP。缺省情况下，已经用户名和口令分别为“system”和“2001”。

4.3.2.4 当 SCL-10Avp 发出蜂鸣声后，说明已建立与计算机之间的连接，Instrument 窗口打开。

4.3.2.5 启动色谱图监视器

4.3.2.5.1 从 Windows 任务栏中选择 Program> Chromatography > Chromatogram Monitor 以打开 Chromatogram Monitor 窗口。

4.3.2.5.2 根据需要设置受监视项的类型和格式。

4.3.2.6 启动脱机处理

4.3.2.6.1 在 Main Menu 窗口中双击 Offline Processing 图标。

4.3.2.6.2 双击为数据采集而设置的仪器名称，以打开仪器进行脱机处理。

4.4 CLASS-VP 初始系统设置(设置方法缺省参数)

4.4.1 单击“New”按钮，并接着单击 New Method 即可初始化方法参数。

4.4.2 从 Option 选项卡的 Method 菜单中选择命令，并在对话框中更改每条命令的参数，以选择常用的选项。

4.4.3 选择 File > Method > Save as Default 即可将在此处设置的选项保存成缺省参数。

4.5 设置分析参数

4.5.1 设置 LC 参数

4.5.1.1 设置新的分析参数时，请从通过单击“New”按钮打开的列表中选择 New Method，则将加载缺省方法参数，且方法文件名“Untitled.met”将显示在 LC Setup Assistant 窗口中，通过单击 Open 按钮即可打开现有的方法文件。

4.5.1.2 通过在 LC Setup Assistant 窗口中单击泵和检测器的图标来配置 LC 参数。使用时钟图标输入时间程序命令。

4.5.1.3 选择 File > Method > Save as 并输入方法名称。

4.5.2 将方法下载到 SCL-10Avp: 完成创建方法之后, 单击下面的图标即可将该方法下载到 SCL-10Avp 上。下载完成时, 出现一个消息窗口, 请单击 OK。

4.5.3 启动仪器控制: 激活 SCL-10Avp, 将液体流量调整到已下载的方法参数。当所有组分稳定时, 出现 “Ready” 指示灯, 且状态栏变为绿色。

4.5.4 设置方法(斜率):

4.5.4.1 请在检测器的基线稳定之后选择 Control > Preview Run 或单击工具栏上的 “Preview” 按钮。

4.5.4.2 单击数据图形之后, 再在 Integration 工具栏上单击 “SLOPE” 按钮, 即可从基线测量斜率的参考值。

4.5.4.3 单击 SLOPE 对话框中的 Add to table 按钮, 即可在 Method > Integration Events 表中记录此设置。

4.5.5 设置方法(自定义报告): 单击工具栏上的 “Report” 按钮, 打开 Method Custom Report 窗口; 单击 “Open” 按钮, 然后选择 Open Report Template 打开一个模板文件。

4.5.6 保存已更改的方法: 要当前名称保存方法文件, 亦即覆盖原来的名称, 请从菜单中选择 File > Method > Save 命令, 或单击 “Save” 按钮, 然后单击下拉菜单上的 Save Method。

4.6 平衡系统

4.6.1 系统的操作

4.6.1.1 基线检查

4.6.1.2 单击 LC Setup Assistant 窗口中 “Baseline Check” 按钮。

4.6.1.3 指定测量噪音和漂移的起始时间和结束时间, 对于 Noise 的 Threshold 值, 请输入期望的满刻度值的大约1/100; 对于 Drift 的 Threshold 值, 请输入1/10。单击 Start 开始测量。测量结束后, 测得的噪音值和漂移值将出现在 Status 区域里。

4.6.1.4 采集数据之前要检查基线, 如果基线检查合格, 即可立即开始采集。如果 Export on Fail 对话框已经选中, 并且在指定的 Maximum 时间内重复进行基线检查仍然失败, 则不会进行数据采集。

4.6.1.5 启动和关闭单击 LC Setup Assistant 窗口中的 Startup/Shut Down 按钮。

4.6.1.5.1 设置启动条件

4.6.1.5.1.1 在 Startup 窗口中指定启动的 Date and Time, 当达到指定的日期和时间时即可下载指定的方法文件参数。

4.6.1.5.1.2 如果此处未指明方法文件, 则使用最近使用的方法文件。如果需要, 请在 Offline Processing 窗口中创建一个用于启动的方法文件, 并在此处指定它。

4.6.1.5.2 设置关闭条件

4.6.1.5.2.1 在 Offline Processing 模式下创建一个用于关闭的方法。通常情况下需要将泵的流速设置到低(或为零), 并且需要关闭检测器的灯管, 等等。用一个新的文件名将此方法保存到磁盘上。

4.6.1.5.2.2 单击 Shut Down 窗口中“Open”按钮以选择关闭方法文件。另外, 如果需要, 也可选中或取消选中“Sample Cooler OFF”或“Degasser OFF After Cool Down”选项。

4.6.2 等度洗脱方式

4.6.2.1 按 A 泵的[pump]键, A、B 泵将同时启动, pump 指示灯亮。用检验方法规定的流动相冲洗系统, 一般最少需6倍柱体积的流动相。

4.6.2.2 检查各管路连接处是否漏液, 如漏液应予以排除。

4.6.2.3 观察泵控制屏幕上的压力值, 压力波动应不超过1MPa。如超过则可初步判断为柱前管路仍有气泡, 按4.5.6操作。

4.6.2.4 观察基线变化。如果冲洗至基线漂移 $<0.01\text{mV/min}$, 噪声为 $<0.001\text{mV}$ 时, 可认为系统已达到平衡状态, 可以进样。

4.6.3 梯度洗脱方式

4.6.3.1 以检验方法规定的梯度初始条件, 按4.6.2项下方法平衡系统。

4.6.3.2 在进样前运行1~2次空白梯度。方法: 按 A 泵的[run]键, prog.run 指示灯亮, 梯度程序运行; 程序停止时, prog.run 指示灯灭。

4.7 进样、采集运行

4.7.1 进样

4.7.1.1 进样前按检测器[zero]键调零, 按软件中 [零点校正] 按钮校正基线零点, 再按一下 [查看基线] 按钮使其弹起。

4.7.1.2 用试样溶液清洗注射器, 并排除气泡后抽取适量。

4.7.2 采集运行

4.7.2.1 从菜单栏中选择 Control > Show Tray。或者, 单击 LC Setup Assistant 窗口中的“Single Run”按钮或工具栏上的 Single Run 按钮。指定所需的项并单击 Start 按钮。

4.7.2.2 记录自动启动和关闭: 单击 LC Setup Assistant 窗口中的 Start/Shut Down 按钮。在 Start/Shut Down 对话框中单击需要记录的 Startup、Shut Down 和 Startup/Shut Down 中的任一按钮并确认或更改设置。单击 Submit 按钮进入待机对话框, 该对话框停留在屏幕上等候执行设置。

4.7.2.3 终止采集

4.7.2.3.1 延长运行时间：选择 Control > Extend Run 并输入添加到运行结束的时间值。要缩短采集时间，请指定一个负值。(对当前采集有效)

4.7.2.3.2 紧急停机

4.7.2.3.2.1 采集过程中，单击工具栏上的“Stop Run”按钮。接着就会出现一条消息，询问您是否“Abort the current run”，如果单击 Yes，当前的数据采集就会终止。

4.7.2.3.2.2 如果在随后出现的消息上单击 Yes，剩余的采集就不会再运行，序列就会终止。如果单击 No，剩余的采集就会开始运行。

4.8 更换流动相并排气泡

4.8.1 将 A/B 管路的吸滤器放入装有准备好的流动相的储液瓶中；

4.8.2 逆时针转动 A/B 泵的排液阀180°，打开排液阀；

4.8.3 按 A/B 泵的[purge]键，pump 指示灯亮，泵大约以9.9ml/min 的流速冲洗，3min(可设定)后自动停止；

4.8.4 将排液阀顺时针旋转到底，关闭排液阀。

4.8.5 如管路中仍有气泡，则重复以上操作直至气泡排尽。

4.8.6 如按以上方法不能排尽气泡，从柱入口处拆下连接管，放入废液瓶中，设流速为5ml/min，按[pump]键，冲洗3min 后再按[pump]键停泵，重新接上柱并将流速重设为规定值。

4.9 清洗系统和关机

4.9.1 数据采集完毕后，关闭检测器，继续以工作流动相冲洗10min 后，换水冲洗。

4.9.2 清洗进样阀

4.9.2.1 用启动注射器吸10ml 超纯水；

4.9.2.2 将注射针导入口冲洗头(Rheodyne 部件号7125-054)连接到注射器出口上(不要针)，并将它们一起接到进样口上；

4.9.2.3 使进样阀保持在 Inject 位置，慢慢将水推入，水将通过注射针导入口、引导管、注射针导入管和注射针密封圈，由样品溢出管排出。

4.9.3 清洗柱

4.9.3.1 C18柱先用超纯水以1ml/min 冲洗40min 以上，再用甲醇或乙腈冲洗20min。

4.9.3.2 Protein PAK60柱先用超纯水冲洗90min 以上，再用甲醇或乙腈冲洗40min。

4.9.4 用水冲洗柱后，分别用20ml 超纯水冲洗柱塞杆外部和法兰盘上小孔。

4.9.5 清洗完成后，先将流速降到0，再依次关闭泵、脱气机、UPLC，断开电源。

4.9.6 填写使用记录。