

流动相:

1、流动相应选用色谱纯试剂、高纯水或双蒸水,酸碱液及缓冲液需经过滤后使用,过滤时注意区分水系膜和油系膜的使用范围;

2、水相流动相需经常更换(一般不超过2天),防止长菌变质;

3、使用双泵时,A、B、C、D四相中,若所用流动相中有含盐流动相,则A、D(进液口位于混合器下方)放置含盐流动相,B、C(进液口位于混合器上方)放置不含盐流动相;

A、B、C、D四个储液器中其中一个为棕色瓶,用于存放水相流动相。

样品:

1、采用过滤或离心方法处理样品,确保样品中不含固体颗粒;

2、用流动相或比流动相弱(若为反相柱,则极性比流动相大;若为正相柱,则极性比流动相小)的溶剂制备样品溶液,尽量用流动相制备样品液;

手动进样时,进样量尽量小,使用定量管定量时,进样体积应为定量管的3~5倍;

色谱柱:

1、使用前仔细阅读色谱柱附带的说明书,注意适用范围,如pH值范围、流动相类型等;

2、使用符合要求的流动相;

3、使用保护柱;

4、如所用流动相为含盐流动相,反相色谱柱使用后,先用水或低浓度甲醇水(如5%甲醇水溶液),再用甲醇冲洗。

5、色谱柱在不使用时,应用甲醇冲洗,取下后紧密封闭两端保存;

6、不要高压冲洗柱子;

7、不要在高温下长时间使用硅胶键合相色谱柱;

使用过程中注意轻拿轻放。操作过程:

1、开机操作:(1)、打开电源,用Harb相连接时,注意Harb电源,打开计算机,打开Bootp Server(一般启动时已打开);

(2)、自上而下打开个组件电源,Bootp Server里显示有信号时(有六行字符),打开工作站(先打开On line);

(3)、打开冲洗泵头的10%异丙醇溶液的开关(需用针捅抽),控制流量大小,以能流出的最小流量为准;

(4)、注意各流动相所剩溶液的容积设定，若设定的容积低于最低限会自动停泵，注意洗泵溶液的体积，及时加液；

(5)、使用过程中要经常观察仪器工作状态，及时正确处理各种突发事件。

2、先以所用流动相冲洗系统一定时间(如所用流动相为含盐流动相，必须先用水冲洗20分钟以上再换上含盐流动相)，正式进样分析前30min 左右开启 D 灯或 W 灯，以延长灯的使用寿命；

3、建立色谱操作方法，注意保存为自己命名的 Method，勿覆盖或删除他人的方法及实验结果；4、使用手动进样器进样时，在进样前和进样后都需用洗针液洗净进样针筒，洗针液一般选择与样品液一致的溶剂，进样前必须用样品液清洗进样针筒3遍以上，并排除针筒中的气泡；

5、溶剂瓶中的沙芯过滤头容易破碎，在更换流动相时注意保护，当发现过滤头变脏或长菌时，不可用超声洗涤，可用5%稀硝酸溶液浸泡后再洗涤；

6、实验结束后，一般先用水或低浓度甲醇水溶液冲洗整个管路30分钟以上，再用甲醇冲洗。冲洗过程中关闭 D 灯、W 灯；

7、关机时，先关闭泵、检测器等，再关闭工作站，然后关机，最后自下而上关闭色谱仪各组件，关闭洗泵溶液的开关；

8、使用者须认真履行仪器使用登记制度，出现问题及时向老师报告，不要擅自拆卸仪器。

未经操作培训，不得擅自使用仪器。

常见故障排除：

1、操作过程若发现压力很小，则可能管件连接有漏，注意检查。当出现错误警告(各组件指示灯均为红色)，一般为漏液，其中一个感应器中已有溶剂，漏液故障排除后，擦干，点击 On line 操作界面中的 Instrument/System Off，然后再点击操作界面中的 Instrument/System On 即可。

2、连接柱子与管线时，应注意拧紧螺丝的力度，过度用力可导致连接螺丝断裂。柱接头处易发生漏液，可能情况为接头 Fittings 中间的管子未和接口处贴紧。不同厂家的管线及色谱柱头结构有差异，最好不要混用，必要时可使用 PEEK 管及活动接头；

3、操作过程若发现压力非常高，则可能管路已堵，应先卸下色谱柱，然后用分段排除法检查，确定何处堵塞后解决。若是保护柱或色谱柱堵塞，可用小流量流动相或以小流量异丙醇冲洗，还可采用小流量反冲的办法(新柱不提倡)，若还是无法通畅，则需换柱；

4、运行过程中自动停泵，可能为压力超过上限或流动相用完；

5、样品瓶中样品较少，自动进样器进样针无法到达液面，可采用调低进样针进样高度的办法，注意设置时不要使进样针碰到瓶底，微量样品分析应使用微量样品瓶；

6、自动进样器进样针未与样品瓶瓶口对准，需重新定位。

- 7、泵压不稳或流量不准，可能为柱塞杆密封圈问题或 seal wash 垫圈问题，需更换；
- 8、基线产生不规则噪声，可能原因为系统不稳定或没达到化学平衡(使其平衡，若用离子对试剂，在首次使用需要足够的时间和溶剂体积，色谱柱才能达到足够的平衡)，流动相被污染(更换流动相，清洗储液器、过滤器，冲洗并重新平衡系统)，色谱柱被污染(为证明可能的原因更换系统的色谱柱或使用一根同类的被证明性能好的色谱柱)，检测器不稳定；
- 9、短期有规则的噪声，可能原因为泵压不稳或泵脉冲，调节溶剂不适当(如两种溶剂的互溶性问题)，泵入口管路松或堵塞，泵太脏，泵柱塞磨损，检测器不稳定；
- 10、长期有规则噪声，可能原因为室温不稳(未使用柱温箱)或使用柱温箱不当；
- 11、基线漂移，可能原因为系统不稳或没有达到化学平衡，室温不稳(未使用柱温箱)，流动相污染或分解，柱污染，检测池泄漏，系统泄漏，固定相流失(另选流动相，另选色谱柱)，测定的波长选择错误(对溶剂有吸收)，样品组分保留太长(用强度合适的溶剂清洗色谱柱)，检测器不稳定；
- 12、每次进样时的保留时间不重复，可能原因为系统不稳或未达到化学平衡，由于气泡、各部件磨损等原因引起的泵压或泵脉冲输液不稳定，进样体积太大或样品浓度太高平衡被破坏，溶剂配比不合适，柱被污染；
- 13、无峰，可能原因为检测器选择错误，使用错误的流动相，样品降解；
- 14、色谱峰比预计的小，可能原因为进样体积错误，检测器灯故障，进样问题(瓶号错、进样体积不合适、进样错误、针头堵塞)；
- 15、峰变宽，可能原因为进样体积太大或样品浓度太高，过滤器、保护柱入口、柱入口或连接管路有部分堵塞，检测器时间常数设置错误，进样器问题(如阀漏、针头堵塞或损坏)，柱或保护柱被污染，对流动相来说样品溶剂太强，使用错误的色谱柱，温度变化；
- 16、出现双峰/肩峰，可能原因为保护柱或柱入口部分阻塞，柱或保护柱被污染，柱性能下降，保护柱失效，进样体积太大或样品浓度太高(样品过载)，平衡破坏；
- 17、前沿峰，可能原因为进样体积太大或样品浓度太高(样品过载)，平衡破坏，对于流动相来说样品溶剂非极性太强(对于反相柱)，柱或保护柱被污染，柱性能下降，保护柱失效；
- 18、脱尾峰，可能原因为柱或保护柱被污染，柱性能下降，保护柱失效，进样器问题(如阀漏等)，检测器时间常数设置错误；
- 19、出现鬼峰，可能原因为流动相被污染，样品预处理时产生降解或混入杂质，先前进样的流出物，样品定量管清洗不当，注射器脏，柱被污染，进样装置被污染，流动相中含有稳定剂/稳定剂变化。