

大连依利特 P230 型等度高效液相色谱仪操作规程

1. 目的

规范依利特 P230 型等度高效液相色谱仪的使用。

2. 范围

适用于依利特 P230 型等度高效液相色谱仪的使用。

3. 职责

仪器负责人(或实验员)对本规程的实施负责。

4. 规程

4.1 系统组成

本系统由壹台 P230 型高压恒流输液泵、壹只 Rheodyne 7725i 高压六通进样阀、壹台 UV230⁺型紫外可见检测器、壹套 EC2000 单通道色谱数据处理工作站、壹支色谱柱(如 SinoChrom ODS-BP 5 μ m ID4.6 $\times$ 200mm)等组成,另外还包括计算机、打印机等辅助设备。



大连依利特 P230 型等度高效液相色谱仪参考图片

4.2 准备

4.2.1 准备所需的流动相,用合适的 0.45 μ m 滤膜过滤(注意区分有机系与水系滤膜),超声脱气 20 min。

4.2.2 根据待检样品的需要更换合适的色谱柱(注意方向)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 μ m 滤膜过滤(或合适的一次性过滤器过滤)。

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

接通电源,在线脱气机(选配)、泵、检测器,待泵和检测器自检结束后,打开打印机、电脑显示器、主机,最后打开 EC2000 色谱工作站。

4.4 系统清洗

如果长时间没有使用仪器,应当用不锈钢两通代替色谱柱链接进样阀与检测器,用适当的流动相(根据上次保存的流动相而定)对系统进行彻底清洗。首先超声清洗溶剂过滤器(沉子),然后使其在流动相液面以下,逆时针转动泵的放空阀 180°左右打开放空阀,用注射器从排液口处抽取流动相(约 10~20 mL),使流动相充满流路。在泵自检完毕显示初始屏幕时,按[冲洗]键,冲洗 20 mL 左右,再次按[冲洗]键结束冲洗,将放空阀顺时针旋转到底关闭放空阀,注意用力要适度。

4.4 参数设定

4.4.1 波长设定

在检测器自检完毕显示初始屏幕时,按[Enter]键,即【↵】键,波长显示处光标闪烁,此时用数字键输入所需波长值(如 254 nm),再次按[Enter]键确认。其它详细设置请参见 UV230⁺型紫外可见检测器说明书。

4.4.2 最大/小压力设定

在 A 泵自检完毕显示初始屏幕时,按[操作菜单]键一次,进入“MENU1”选项,按方向键【▼】进入最大压力设置界面,用数字键输入所需值(如 20.0 MPa),按【↵】键,接着最小压力设置界面,用数字键输入所需值(如 0.0 MPa),然后按[操作菜单]键一次,回到初始屏幕。

4.4.3 流速设定

在泵自检完毕显示初始屏幕时,电源指示红灯亮,此时显示流速、当前压力、最大设定压力,流速处光标闪烁,此时用数字键输入所需流速值(如 1.0 mL/min)。如按[运行/停止]键,则启动泵,再次按下,泵停止运行。

4.5 更换流动相并排气泡

4.5.1 确保管路的溶剂过滤器(沉子)放入装有准备好的流动相的储液瓶液面以下;

4.5.2 逆时针转动泵的放空阀 180°左右,打开放空阀;

4.5.3 按泵的[冲洗]键,“冲洗”指示灯亮,为绿色,泵大约以 9.99 mL/min 的流速冲洗,再次按[冲洗]键停止;

4.5.4 将放空阀顺时针旋转到底,关闭放空阀。

4.5.5 如管路中仍有气泡,则重复以上操作直至气泡排尽。

4.5.6 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 5 mL/min,按[运行/停止]键,冲洗 5 min 后再按[运行/停止]键停泵,重新接上柱并将流速重设为规定值。

4.6 平衡系统

4.6.1 按《EC2000 色谱数据工作站用户使用手册》打开“EC2000 色谱数据系统”

软件，输入实验信息并设定各项方法参数后，启动数据采集，局部放大直接观察基线，亦可点击【谱图处理】菜单下的“计算噪声和漂移”选项查看。

4.6.2 设定规定流速值，按按[运行/停止]键将泵启动，”运行“指示灯亮。用检验方法规定的流动相冲洗系统，一般最少需 10 倍柱体积的流动相(根据具体色谱柱和实验需要而定)。

4.6.3 检查各管路连接处是否漏液，如漏液应予以排除。

4.6.4 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。

4.6.5 观察基线变化

如果信号值不在零点附近，可按检测器[自动回零]键。如果平衡至基线漂移 $<0.01 \text{ mV/min}$ ，噪声为 $<0.001 \text{ mV}$ 时(参考)，可认为系统已达到平衡状态，可以进样。

4.7 进样

4.7.1 进样前按检测器[自动回零]键调零，按 EC2000 软件中 [启动数据采集] 按钮等待进样。

4.7.2 用试样溶液清洗进样针，并排除气泡后抽取适量。

4.4.3 将进样阀转到“Load”位置，把样品注入定量环。

4.7.4 将进样阀迅速转到“Inject”位置，同时按”S“键触发，数据开始采集。

4.8 数据采集结束后，保存结果，随时对色谱数据进行处理。亦可按[终止当前数据采集]按钮，随时终止数据采集。

4.9 实验结束后，一定使色谱柱充满规定流动相或溶剂保存。如果流动相为缓冲液或含有酸碱等腐蚀性溶液，一定用 10~20%的甲醇冲洗整个系统。

4.10 依次关闭计算机、EC2000 色谱工作站、泵和检测器、在线脱气机(选配)、取下电源插头。

4.11 填写登记本(如使用时间、实验内容、仪器状态等)，由负责人检查、签字后方可离开实验室。

5 注意事项：

1). 流动相均需色谱纯度，水用去离子水。脱气后的流动相要小心振动尽量不引起气泡。

2). 柱子是非常脆弱的，第一次做的方法，先不要让液体过柱子。

3). 所有过柱子的液体均需严格的过滤。

4). 压力不能太大，一般 C18 反相柱最好不要超过 15 MPa。

5). 因为缓冲试剂遇有机溶剂，会结晶，有损色谱柱，所以，每次由有机相变流动相或流动相变有机相均需用蒸馏水清洗。