岛津HPLC操作规程

**1.** **系统组成**：

（1）2个LC-6AD溶剂输送泵（分主/A泵和副/B泵）

（2）SPD-M20A紫外-可见检测器

（3）CTO-20A柱温箱

（4）LC solution色谱数据工作站

（5）电脑等。

**2． 准备**

（1）准备所需的流动相，用合适（有机相或含有有机相的使用有机膜，水相使用水膜）的0.45μm滤膜过滤，超声脱气至少30min（瓶盖拧松，方便气泡排出），流动相需每天更换。

（2） 根据待检样品的需要更换合适的色谱柱（注意链接方向）

（3）选择适当定量环大小。

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

（5） 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。

**3 开机**

（1） 接通电源，依次开启电脑、B泵、控制器、检测器、柱温箱、A泵

（2） 待泵和检测器自检结束后，打开色谱工作站：双击打开LC solution 选择二极管阵列进入工作站。

（3） 当SPD-M20A发出蜂鸣声后，说明已建立与计算机之间的连接，LC窗口打开。

**4．参数设定**

 设置新的分析参数时，请从通过键盘在LC窗口 的“仪器参数显示/隐藏”中输入参数（即A、B泵的流速，波长，柱温，LC结束时间等；分析柱在线时流速一般不超过2ml/min） 在弹出窗口输入方法名称后保存，点击“下载”键，将保存好的方法下载。

**5．更换流动相并排气泡**

（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，逆时针转动A/B泵的排液阀180°

（2） 在LC窗口中点击“泵ON/OFF”打开泵，或按A/B泵的[pump]键开泵，pump指示灯亮。

（3）当管路中无气泡后， 顺时针转动A/B泵的排液阀,关闭排液阀

（4） 如管路中仍有气泡，则重复以上操作直至气泡排尽

**6．平衡系统**

（1）更换流动相并排气泡后，在工作站中输入实验信息并设定各项方法参数

（2） 等度洗脱方式

点击“泵ON/OFF”按钮， A、B泵将同时启动，pump指示灯亮。用检验方法确定的流动相冲洗系统，一般最少需6倍柱体积的流动相。

检查各管路连接处是否漏液，如漏液应予以排除。 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，应重新排气泡。

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

（3） 梯度洗脱方式

以检验方法确定的梯度初始条件，按（2）项下方法平衡系统。

在进样前运行1~2次空白梯度。

**7.  进样**

（1） 进样前点击软件中[基线归零] 按钮校正基线零点

（2）点击“单次分析 ”按钮，设置保存路径并输入试样位置，当弹出[开始数据采集]窗口后，在进样阀为load状态下将准备好样品的进样针注入色谱仪中，快速将进样阀下掰至inject状态，当听见清脆的“嗒”的一声后，液相开始数据采集，拔出进样针。

（3）样品采集完毕后，点击“停止”按钮，接着就会出现一条消息，询问您是否“停止当前分析”, 单击[确定]，当前的数据采集就会终止。

**8 . 清洗系统和关机**

（1） 数据采集完毕后，关闭泵，待压力降为0后，设定流动相比例，冲洗色谱柱。

（2）清洗柱

 C18柱先用95%的水以1ml/min冲洗40min以上，再用90%的甲醇或乙腈冲洗至少20min，如果超过24小时不用的话，C18柱需用纯甲醇冲洗保存。

（3）清洗泵头

 用注射器将10%的甲醇注入泵头清洗管清洗泵头数次。

（3） 清洗完成后，先关闭泵，待压力降至为“ 0”时，关闭各组件电源，关闭计算机。