|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **1260 lnfinity II型安捷伦高效液相**  **色谱仪使用及维护保养操作规程** | **编 号** | **SOP** |
| **颁布部门** | **中心实验室** |
|  |  |

1 目的

规范安捷伦高效液相色谱仪及安捷伦Openlab 2.X工作站的使用和维护。

2 适用范围

本规程适用于1260 lnfinity II型安捷伦高效液相色谱仪及安捷伦Openlab 2.X工作站的使用和维护。

3 编写依据

1260 lnfinity II安捷伦高效液相色谱仪及安捷伦Openlab 2.X工作站（安捷伦科技(中国)有限公司）使用说明书。

4 职责

4.1 仪器设备负责人负责对本标准操作规程的监督执行。

4.2 实验操作人员负责对本标准操作规程的具体执行。

5 内容

5.1 使用OpenLAB控制面板设置和配置：

5.1.1首次使用，以管理员权限账户登录控制面板： 点击桌面图标，输入管理员账号与密码登录。

5.1.2在控制面板导航窗格，选中管理，可根据实际需要：创建/编辑“角色”，创建不同权限“用户”，编辑“安全策略”等。

5.1.3 OpenLAB 2.X是基于项目为主导的使用，须先创建“项目”：

（1）导航窗格选中项目，创建 “项目”；

（2）在“CDS设置”，可根据需要做必要设置（如开启审计跟踪等）：提示：“结果”的审计跟踪是默认开启的；

（3）创建在桌面创建项目分析（数据处理）的快捷方式：点击菜单栏，

5.1.4创建仪器并配置：

(1) 导航窗格选中仪器，创建 “仪器”

(2) 配置仪器：通过仪器IP地址或主机名配置仪器：

(3)添加或移除使用这个仪器的用户：

点击编辑权限 点击添加或移除用户、组。

（4）设置LC自动关闭检测器：

可通过管理/仪器选项，设置关闭检测器的时间：（可先编好一冲柱方法和停泵方法（流速设为0ml/min），加在序列表最后，即可实现自动冲柱、停泵和关闭氘灯）

5.2联机操作、运行样品：

5.2.1 LC开机：开启LC各模块；

5.2.2开电脑，点击后桌面快捷图标，进入仪器控制界面（或从控制面板启动），在功能区/状态，仪器状态版面，点击总启动按钮启动仪器。“重置”可回复默认状态

5.2.3编辑方法：选中功能区/方法，可新建，调用（已有方法），保存，另存，上传、下载仪器运行方法：注：方法参数设置完成后须保存或另存方法，并下载到仪器。

（1）平衡仪器：在该方法下平衡仪器（柱子及灯），直至10分钟内基线漂移不超过0.5mAu（VWD），且仪器各模块（功能）均为绿色就绪状态；

（2）运行单个样品（单针进样）：选中功能区/单个样品，在“运行信息”、“自动进样器”、“处理部分”等填入样品相关信息，并运行（采集数据）；

（3）运行序列样品（多针连续自动进样）：

选中功能区/序列，在序列表中填入各样品对应信息，并运行。若需运行后关机，可通过控制面板/管理/仪器选项，设置关闭检测器的时间,再提前编好冲柱方法和停泵方法（流速设为0ml/min），加在序列表最后，即可实现自动冲柱、停泵和关闭氘灯。

（4）在运行中若需编辑序列（添加、删除序列行），点编辑后须“更新”或“取消”，否则序列将不会运行当前进样之下的序列行。

5.2.4冲柱和关机：

(1) 不使用缓冲盐时：可直接用100%甲醇冲洗系统30 分钟以上。

（2）使用缓冲盐时：

（a）10%甲醇+90%水冲洗系统60分钟以上；

（b）逐步过渡到100%有机相再冲洗系统30 分钟以上。

（c）冲柱时可关闭灯:

运行预先编好的冲柱方法和停泵方法实现（在序列最后设置）。

5.2.5 退出工作站，关闭LC各模块电源，关闭电脑。

5.3数据分析：

5.3.1 面积百分比：

点击Da图标 “项目”进入数据分析，点击左下角导航栏的“数据选择”，并双击选择要处理的数据文件。

（1）点击文件，选择并创建一个关联的新方法：

点击“新建” “新建方法” “GC/LC面积百分比” “创建方法”。

(2) 命名、保存方法：

点击“保存方法” “另存为” “GC/LC面积百分比报告” “保存”。

（3）关联需要处理的数据：点中要处理的数据和方法，右键“关联已选进样到已选方法”（对多个数据按ctrl或shift）。

5.3.2调整积分：

（1）在处理方法框（在右上方点中使其为蓝色），点“属性”/“通用”，选择Chemstataion积分器。

（2）点“Chemstataion积分器”/“标准”， 在积分事件表中调整修改积分。

（3）任何调整后须点“重新处理”。

5.3.3百分比报告：点“进样报告”/“常规”， 选择报告模板，勾选打印机，并重新处理即可打印报告。

备注：首次使用项目数据分析须先导入默认报告模板，否则无报告模板可用（也可通过新编模板来使用），方法： 点击“数据选择” “导入导出” “导入默认模板” “确定”。

5.3.4对多信号的DAD数据，如果只想在报告中显示一个信号的色谱图和结果，如下操作：

（1）点击“报告”，双击选择对应的模；

（2）在谱图区域内右键选“属性”；

（3）在色谱图属性对话框，选筛选，表达式，选信号/名称；值，选表达式（双击），并输入：=”DAD1A”（注意：字符必须是英文字符）,确定并应用；

（4）在表区域，同样操作；

（5）存或另存模板：

方法： 点击“保存模板” “命名” “保存” “确定”。

（6）返回数据处理，选择更改后的报告模板，并重新处理。

5.3.5外标法

（1）点击“项目”进入数据分析；

（2）点击左下角导航栏的“数据选择”，并双击选择要处理的数据文件；

（3）点击文件，选择并创建一个关联的新方法；

（5）命名、保存方法；

（6）关联需要处理的数据：点中要处理的数据和方法，右键“关联已选进样到已选方法”

（7）调整积分：

（a）在处理方法框（在右上方点中使其为蓝色），点“属性”/“通用”，选择Chemstataion积分器；

(b)点“Chemstataion积分器”/“标准”， 在积分事件表中调整修改积分；

(8)任何调整后须点“重新处理”。

5.3.6 定义标准峰：

(1) 在处理方法框（在右上方点中使其为蓝色），点“识别”，选择并将标准物质峰添加到方法；

(2) 点“校正”，在“常规”中，选择标准曲线类型等；

（3）点“校正”，在化合物表中更改名称，输入浓度等。

5.3.7建立标准曲线：

（1）在进样列表框（在右上方点中使其为蓝色），选择样品类型、运行类型，输入对应级别（最低浓度为1，逐级增加）；

（2）选中对应的所有标准数据（多选），处理，并点“校正曲线”查看：

5.3.8选择报告模板：

（1）在处理方法框（在右上方点中使其为蓝色）点“进样报告”/“常规”， 选择报告模板，勾选打印机。

（2）外标报告：选择样品数据（注意检查是否关联到曲线方法），重新处理即可打印报告：

5.4 Datastore网页的使用：

5.4.1点击IE，可以登录网页<http://localhost>，

5.4.2管理员权限用户登录后可以：（非管理员权限用户只能进行部分操作）查看、导出系统日志：

5.4.3可以管理、归档文件（文件夹）

5.4.4可以导入、导出文件。

5.4.5可以查看审计跟踪等信息。

5.5维护保养及注意事项：

5.5.1溶剂和样品注意事项：溶剂和样品过滤非常重要，它会对色谱柱、仪器起到保护作用，消除由于污染对分析结果的影响。色谱柱：由于填料颗粒很细，色谱柱内腔很小，溶剂和样品中的细小颗粒会使色谱柱和毛细管容易堵塞。仪器：溶剂和样品中的细小颗粒会增加进样阀的堵塞和磨损，同时也会增加泵头内 的蓝宝石活塞杆和活塞的磨损。

5.5.2 在线Seal-wash注意事项：HPLC用缓冲盐时,由于泵头内的缓冲盐溶液存在高压析盐现象,析出的细小盐粒非常坚硬,它附着在蓝宝石活塞杆上,随着蓝宝石活塞杆的往复运动,容易产生划痕,并磨损密封垫,造成漏液等故障现象。在线Seal-wash选项能有效的带走可能存在的缓冲 盐结晶。缓冲盐的浓度在0.1mol或大于0.1mol时,必须使用该在线冲洗选项. 清洗液配制:90%水+10%异丙醇.该混合液可抑制菌类生长和减小水的表面张力，不能干涸。注意：Seal-wash不能长期运行，应设置运行周期（如2min,运行0.2min），防止电机损坏。

5.5.3 溶剂过滤器注意事项： 溶剂的质量或污染以及藻类的生长会堵塞溶剂过滤器，从而影响泵的运行，尤其水溶液 或磷酸盐缓冲液（PH=4-7）。以下几种方法可以有效防止溶剂瓶内溶剂过滤器的堵塞。

请严格A:执行溶剂过滤。B：请勿使用多日存放的蒸馏水及磷酸盐缓冲液 C：如果应用许可，可在溶剂中加入0.0001---0.001M的叠氮化钠. D:在溶剂瓶内溶剂的上方小流量连续吹氩气,以隔绝空气。 E：避免使溶剂瓶暴露在直射阳光下，尽量使用琥珀色的溶剂瓶盛放水溶液或磷酸盐 缓冲液。

5.5.4 泵维护：日常使用中至少应作到以下几点：A:流动相使用前请必须脱气、过滤。B：使用缓冲盐时，要加在线Seal-wash选项。C：关机前，用相应的溶剂充分冲洗系统。D：及时更换Purge Valve内的过滤芯。（当打开Purge Valve时，压力高于10bar，表明过滤芯有堵塞）。

5.5.4使用梯度比例阀时注意事项：当盐溶液与有机溶剂溶液混合时，盐溶液能与有机溶剂溶液完全混溶，而不会出现沉淀。但是在比例阀的混合点，重力作用使盐颗粒沉淀下来，通常，阀A接水相/盐溶液，D接有机溶剂，此法连接可有效使盐回落到盐溶液中，并被溶解。若颠倒过来，盐可能落在有机溶剂中，出现问题。强烈建议：当使用缓冲盐溶液和有机溶剂时，推荐将缓冲盐通道接在A通道上，有机溶剂通道直接接在A通道的上方D通道上；定期用水冲洗所有的通道，以除去阀口上可能出现的盐沉淀。

5.5.5 更换色谱柱注意事项：在使用HPLC时，应特别注意柱外效应对分析结果的影响，由于样品分子在液体流 动相中的扩散系数比在气体中小4～5个数量级，液体流动相的流速也比气相慢1-2个数量级。因此，样品进入色谱柱后，在柱子以外的任何死体积（进样器、柱接头、连接管、检测器）中，样品分子的扩散和滞留，都会引起色谱峰的展宽，而使柱效降低。为使柱外效应减之最小，获得理想的分析结果，仪器的流动相管路连接非常重要，当接不同的柱子时，要注意柱子接头处的形状和长度，否则会产生一个非常大的死体积。