

ACQUITY H-class-2 操作规程

1. 目的

规范 Waters 高效液相色谱系统的使用和维护。

2. 范围

本规程适用于 Waters H-Class-2 高效液相色谱系统的使用和维护。

3. 职责

实验人员负责 Waters 高效液相色谱系统的日常使用和维护。

4. 系统组成

本系统为美国 Waters Acquity UPLC 系统，由

- QSM 四元溶剂管理系统、
- SM-FTN 样品管理系统自动进样器、
- CH-A型柱温箱、
- UPLC 专用二极管阵列检测器、
- 真空脱气机、
- Empower3 色谱工作站组成。

5. 程序

5.1 准备

使用前应根据待检测样品的检测方法准备所需的流动相（包括强洗液、弱洗液、seal wash 溶液）、样品和标准溶液，更换合适的色谱柱（注意色谱柱上 flow 箭头方向）。纯有机相不需过滤超声，水相和不是纯的有机相都需要过 0.22um 滤膜，然后超声 1~2min。样品和标准溶液则必须过 0.22um 滤膜。水相流动相现用现配，不得超过 48 小时。

5.2 开机

5.2.1 打开计算机电源，进入Windows操作系统。

5.2.2先打开QSM（四元溶剂管理器）、SM-FTN（样品管理器）电源和检测器电源，待通过自检。（若仪器几天没有运行，流通池是干的，则需先打开QSM（四元溶剂管理器）、SM-FTN（样品管理器）电源,通过自检后进行仪器的 Start up(此步骤需操作完5.2.3后才能进行；从SM-FTN右下角绿色箭头处进入到样品管理器控制台，点击System/Control/Start up)）操作，然后将流速设定为0.1ml/min-0.2ml/min，冲洗检测池，当检测池出口有液体流出后，打开检测器电源，待检测器通过自检后，在控制台界面Reset检测器。

5.2.3 待各仪器设备通过自检后（绿灯长亮），登录 Empower 3 软件，输入用户名和密码，按OK注册进入，选择Run Samples，在 Project 档中选择所需要的的项目，进入控制台界面，等待硬件与软件的连接。若要新建project，则在注册进入后选择Configure the System，在工具条中选择new project，按向导建立新项目，命名即可。

5.3 进行仪器的 Start up 操作（以下为手动操作详细说明）

5.3.1 准备QSM四元溶剂管理器

5.3.1.1 在QSM控制界面，点击鼠标右键，选择 Prime Seal wash（目的是灌注柱塞杆、清洗泵头处的密封垫），至出口管有液体滴出即可停止灌注。

5.3.1.2 在QSM控制界面，点击鼠标右键，选择 Prime Solvents（目的是用流动相对各个管路进行灌注并在线脱气），选择需要用的管路 A/B/C/D，将时间设定为3分钟，并设定合适的灌注结束后的流速及流动相比例，

然后点击 start。（Prime时的流速已将泵设定为4ml/min，不能改变流速，时间到会自动停止）

5.3.2 准备SM-FTN样品管理器

在SM-FTN控制界面，点击鼠标右键，选择 Prime ， wash solvent（目的是清洗进样针外壁），默认15 sec， purge solvent（目的是灌注注射器）设定5 cycles。

5.3.3 以上Start up方法为分步操作，上述操作也可在Configure the System/control/start up system 设置好条件参数，一键智能Start up,系统会智能操作，只需保证流动相、seal wash溶液、wash solvent溶液足够即可。

5.4 编制方法

选择 edit 项下的 Instrument Method，输入色谱方法，保存，给方法命名，每个部分编辑完点save、最后点save as Method Set（Empower中的方法都需要保存为方法组才能在运行时候找到对应的方法，名称可相同）。

5.5 测定

设定进样信息：先点击样品盘图标插入样品瓶位置（应保证插入的样品位置和样品实际位置一致），再在序列中设定进样量、样品名称、调用的方法组、运行时间。然后在instrument method中调用方法组，按setup，再按monitor，监测基线，当Delta<10（在样品管理器控制台，点击Quaternary Solvent Manager），表明基线稳定，点击红色按钮停止监测，选中需要进样的序列，按绿色进样按钮，在弹出的界面中选择inject only sel

ected sample set, 此时可修改此序列名, 最后点Run开始进样。(提示: 当选中进样序列时, 则该序列在运行过程中无法更改方法; 建一个序列按一次绿色按钮, 则每次进样序列会在running中排队等候)

5.6 查看结果

在Browse Projects中选中相应的文件夹, 在Sample Set选项卡中选中相应的样品, 单击鼠标右键View as/result 查看相关结果, 进一步做数据处理。

5.7 关机

5.7.1 若用非缓冲盐流动相系统, 每天做完样品后, 依次用含10%有机相的流动相升至含90%有机相的流动相冲洗色谱柱及系统40min。若用缓冲盐流动相系统则需先用含10%有机相的流动相(即大比例的水相)置换缓冲盐流动相(100倍柱体积), 再用常规方法清洗色谱柱及系统。(此步骤可通过设置一个冲洗色谱柱的方法来完成, 此方法设置同进样方法设置)。

5.7.2 色谱柱用纯甲醇或乙腈封柱。

5.7.3 缓慢降低流速至零后, 关闭检测器以及SM-FTN、QSM的电源退出Empower软件, 关闭计算机。

三、注意事项

1. 实验前, 请查阅相关资料, 确认所使用色谱柱相关参数(主要为PH范围、压力范围、是否耐水), 以免不合适的色谱条件导致色谱柱损坏。
2. 清洗液(wash solvent)用含90%乙腈的纯水。
3. 清除液(purge solvent)用含10%乙腈的纯水, 如果更换purge溶剂, 至少进行5次循环灌注。
4. 密封圈清洗液(seal wash)用含10%甲醇的纯水。

以上3种溶液必须及时查看，保证使用时充足，切忌跑干。

5. 洗针液可以根据样品性质进行调整，大比例有机相或小比例有机相，若纯甲醇还是洗不净的话甚至可以用到异丙醇，但注意不能用缓冲盐作为洗针液。
6. 若用缓冲盐做流动相，必须先用含10%甲醇的超纯水过渡10~20min，把系统和柱子中的有机相置换出来，再用缓冲盐流动相，实验结束后，用含10%甲醇的超纯水冲洗2~4小时。
7. 开始实验前，请确保水或缓冲盐溶液已经过滤、超声；柱子连接方向正确。
8. 若仪器需过夜运行，请确保流动相够用，切忌跑干。若设置仪器自动停止，请确保流速调到0。