

HPLC (安捷伦) 的使用及 注意事项

汇报人：李连杰

2022年11月11日



主要内容

- 1. 仪器的组成**
- 2. 操作前准备**
- 3. 开机、关机以及数据处理**
- 4. 注意事项**

仪器的组成

1. 主体

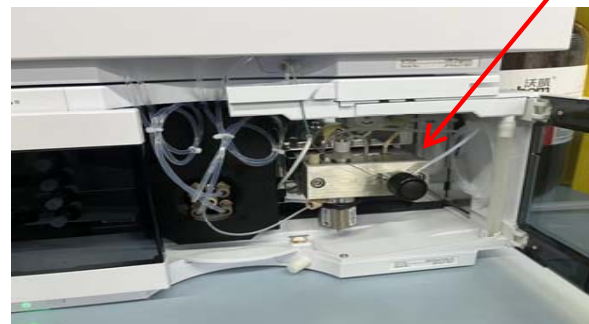
安捷伦1260HPLC:

**流动相瓶、四元泵、自动进样器、
柱温箱、紫外可见吸收检测器**

2. 附件

电脑、显示器

仪器的组成



排气阀

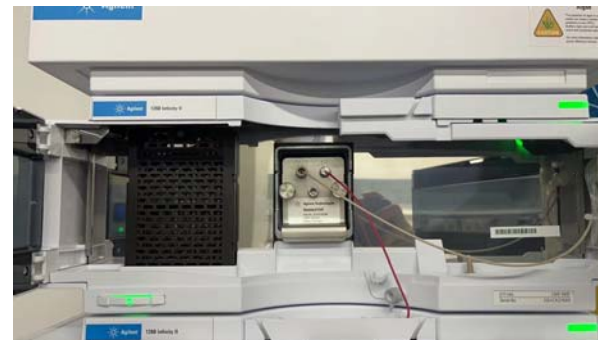
四元泵



自动进样器



柱温箱



检测器

操作前准备

1. 将待测样品溶解在异丙醇：正己烷（1:1）并用0.45 um 滤膜过滤到样品瓶中。确认瓶中无肉眼可见杂质。
2. 检查流动相瓶中的正己烷与异丙醇的体积。
3. 检查流动相瓶到四元泵气管中是否有气泡。

开机及关机

一、仪器开机

1. 打开电脑，并打开主机模块电源（从下到上），双击电脑控制面板，点开仪器，选择LC1260，点击启动（待主机模块灯全部绿色）。
2. 旋开四元泵上的排气阀（逆时针），并在联机软件上的四元泵设置流速5ml/min，A 100%；再设置 B 100%；3分钟后设置流速至合适流速，关闭排空阀，检查泵压力。

运行样品

1. 单个进样：点开软件方法，选择要进行拆分的流动相比例以及手性柱，点击将该方法发送到仪器，待基线跑平稳，选择单个样品，填写样品信息，选择方法，设置进样位置，运行并回到工作站状态界面，提交关闭运行程序。

2. 序列进样：在序列中创建新的序列，填写样品信息，设置相应样品瓶位置以及运行方法，并保存自己的文件夹，点击运行，回到工作站状态界面，提交关闭运行程序。

(使用不同手性柱前都要提交空白测试10min冲洗柱子)

数据处理

1. 点开工作站快照按钮，即可查看在测的样品瓶的数据信息，并进行分析积分。（打开快照后，一定关闭快照，否则序列无法进行下一个样品的测试）
2. 工作站中，右键选择已经完成的序列，从Date Analysis观看此项目，分析整个序列的数据，并分别对相应的峰进行积分，并保存。
3. 数据处理保存完毕，点开报告，将相应序列的数据打印成PDF报告，输入至自己的文件夹。（用格式化的U盘，进行数据的拷贝）

注意事项

1. HPLC 使用之前，一定检查流动相是否充足。
2. 样品制备，一定要经过0.45 um 滤膜过滤到样品瓶中。
3. 长时间待机状态，一定检查是否有气泡，进行四元泵排气程序。
4. 数据分析快照结束时，一定关闭快照界面，否则无法进行后面序列的测试，泵一直在动。
5. 柱子在装卸、更换时，动作要轻，接头拧紧要适度。必须防止较强的机械振动，以免毁坏柱子填料。

注意事项

6. HPLC 进样过程中，一定不要放样品瓶以及将样品托盘拉出。
7. 一般使用正己烷：异丙醇=1：1溶解样品，切记样品不能有乙酸乙酯，二氯甲烷，四氢呋喃，甲苯，DMF等一系列有机溶剂（手性柱为涂覆型，会对填料有损伤）。
8. 粒径3 um手性柱：建议在150 bar下使用。
9. 安装柱时，注意流向，金属旋头为进，塑料旋头为出，且接口处不要留有空隙。
10. 连接异丙醇流动相瓶有两根管子，一根连接到清洗进样针，添加异丙醇流动相时，要将这根管子放进流动相瓶。

Thanks for your attention!