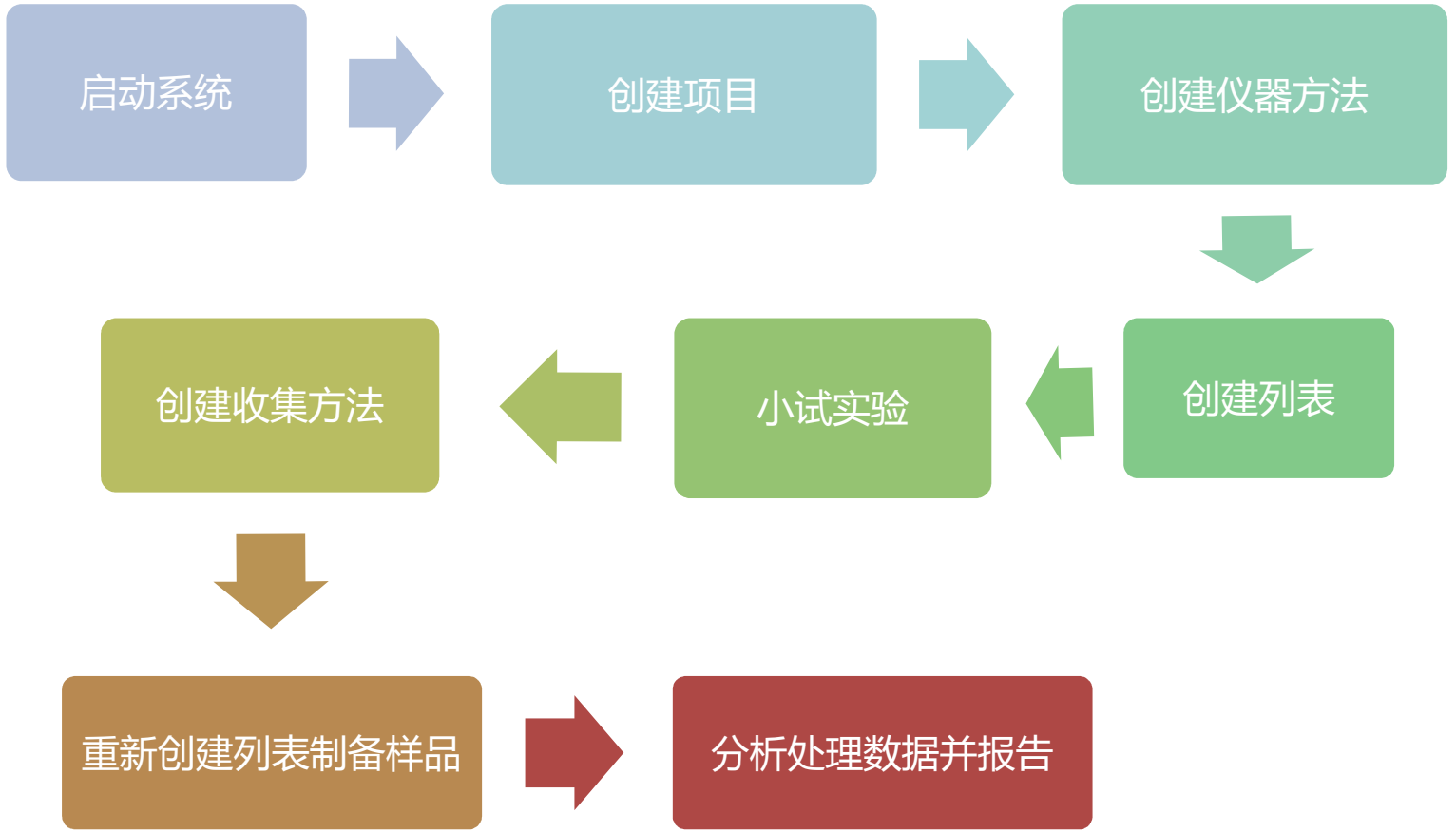
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Prep 150 LC 操作指南

内容



系统启动

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 开机顺序

1. 打开交换机电源
2. 启动计算机进入Windows系统
3. 开启仪器系统各个组件的开关
4. 待自检结束，启动软件

系统启动

- 实验前准备
  - 流动相
    - 数量充足
    - 水相新鲜配制
    - 符合液相色谱的级别要求
  - 硬件
    - 2545 在面板上启动Prime按钮（或使用 Launch Console）
    - 手动进样器：清洗进样口
    - 自动进样器：检查洗针液
    - WFCIII：确认已正确放置合适的样品盘以及接收管
    - 检查废液系统通畅并已清空

软件操作

登录操作界面

2.输入用户名和密码

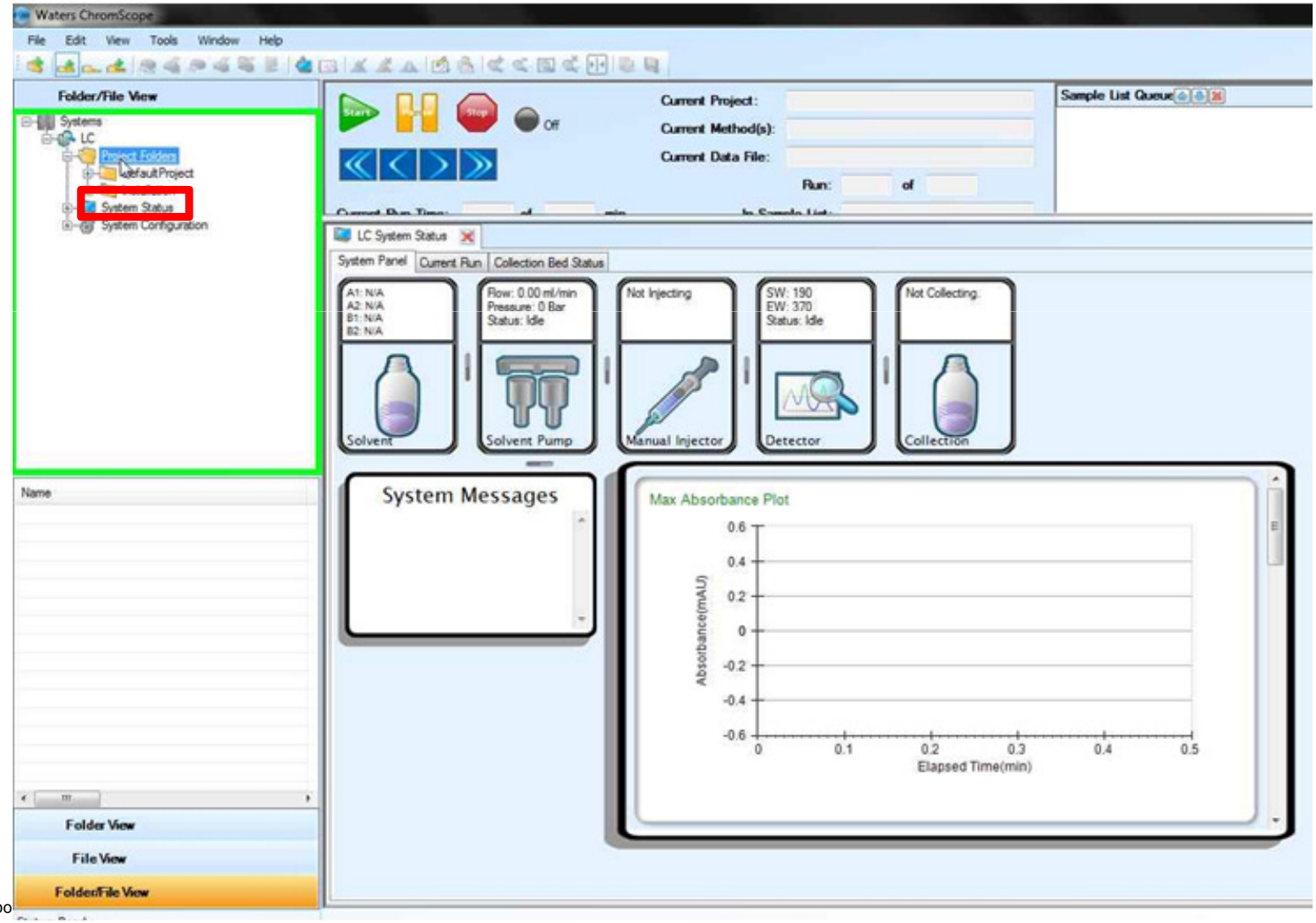
用户名：Administrator

密　码：waters

软件操作

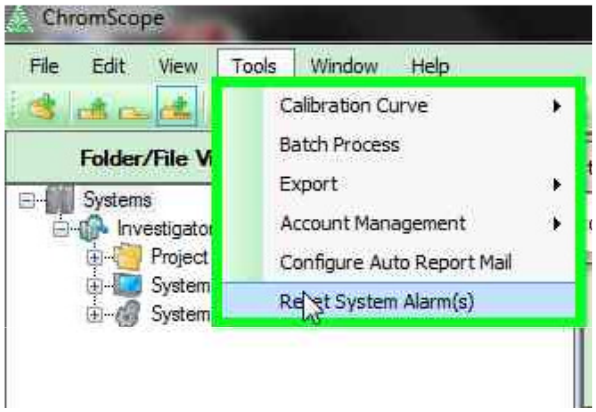
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

仪器状态界面



界面提示

- 所有组件应如图所示：**黑色外框**



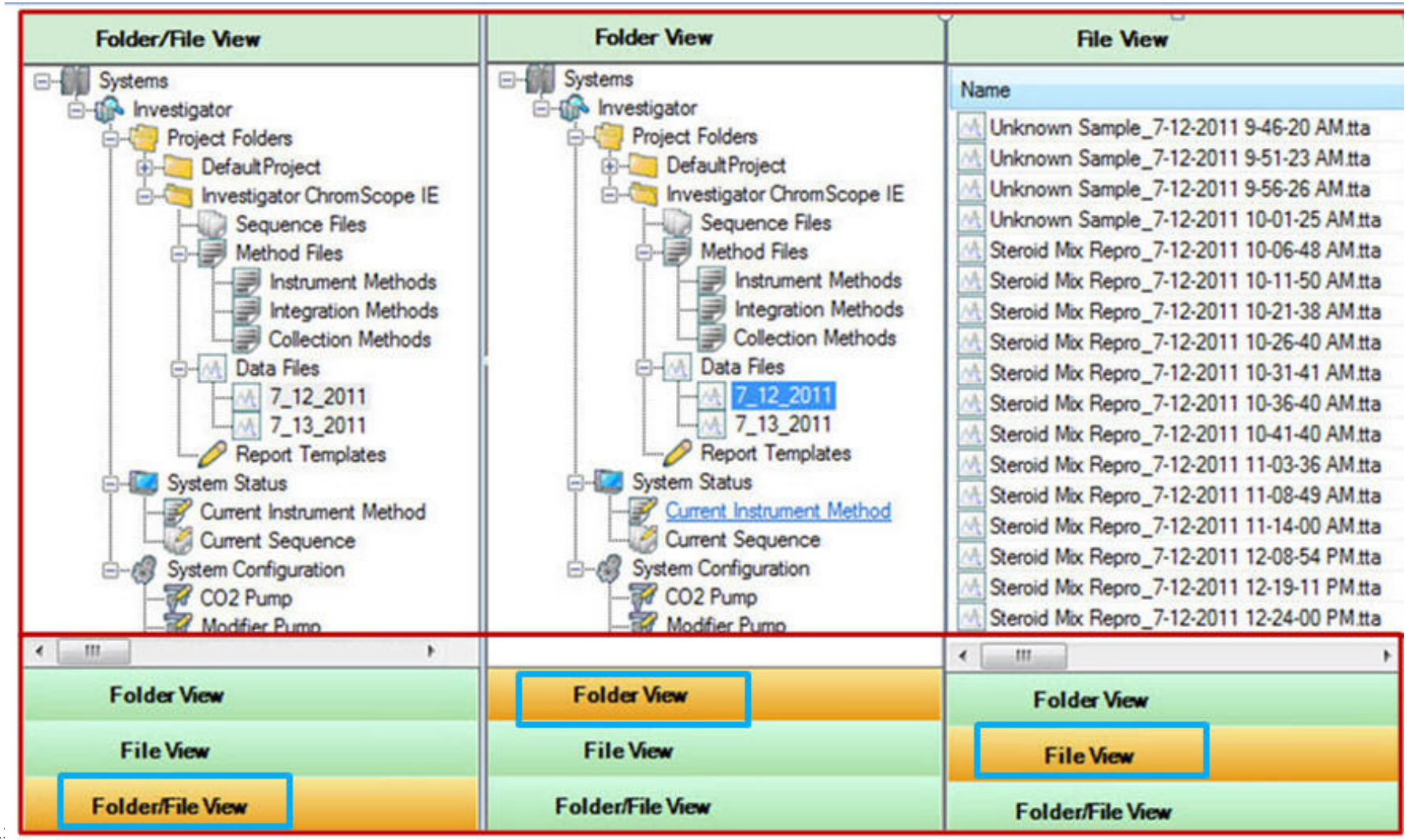
  - 红色框
    - 并伴有“Alarm”的警告提示，说明仪器未连接
    - 解决办法：重启组件，重新打开软件，并Reset System Alarm

✓ 黄色框
  - 该组件工作中
  - 例如：2998正在自检

Chromscope 三种界面

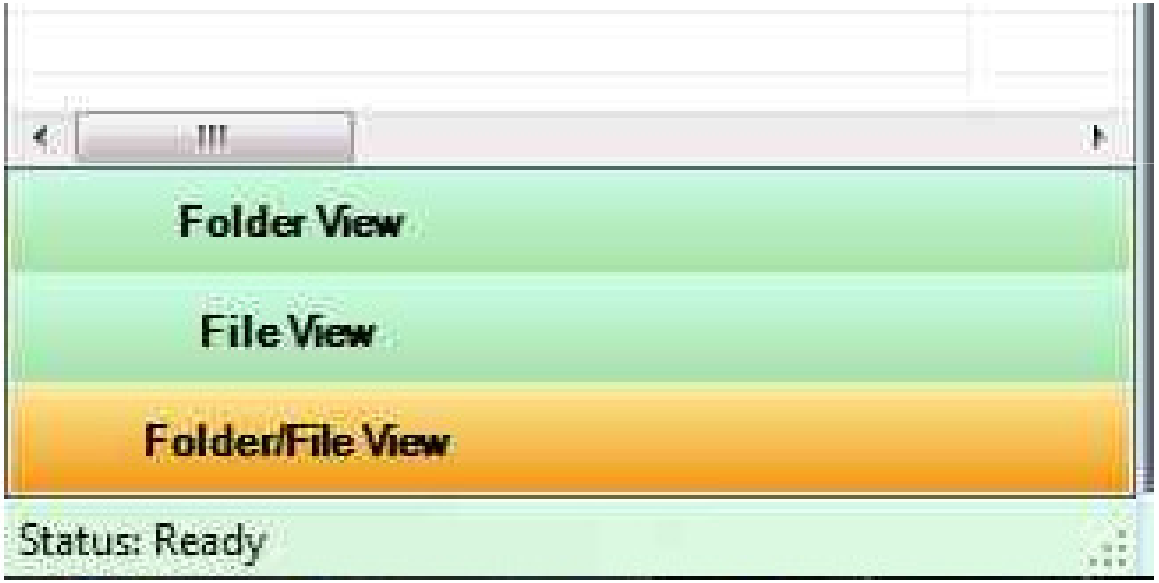
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 1.Folder only 2. File only 3. Fold/File View



推荐界面

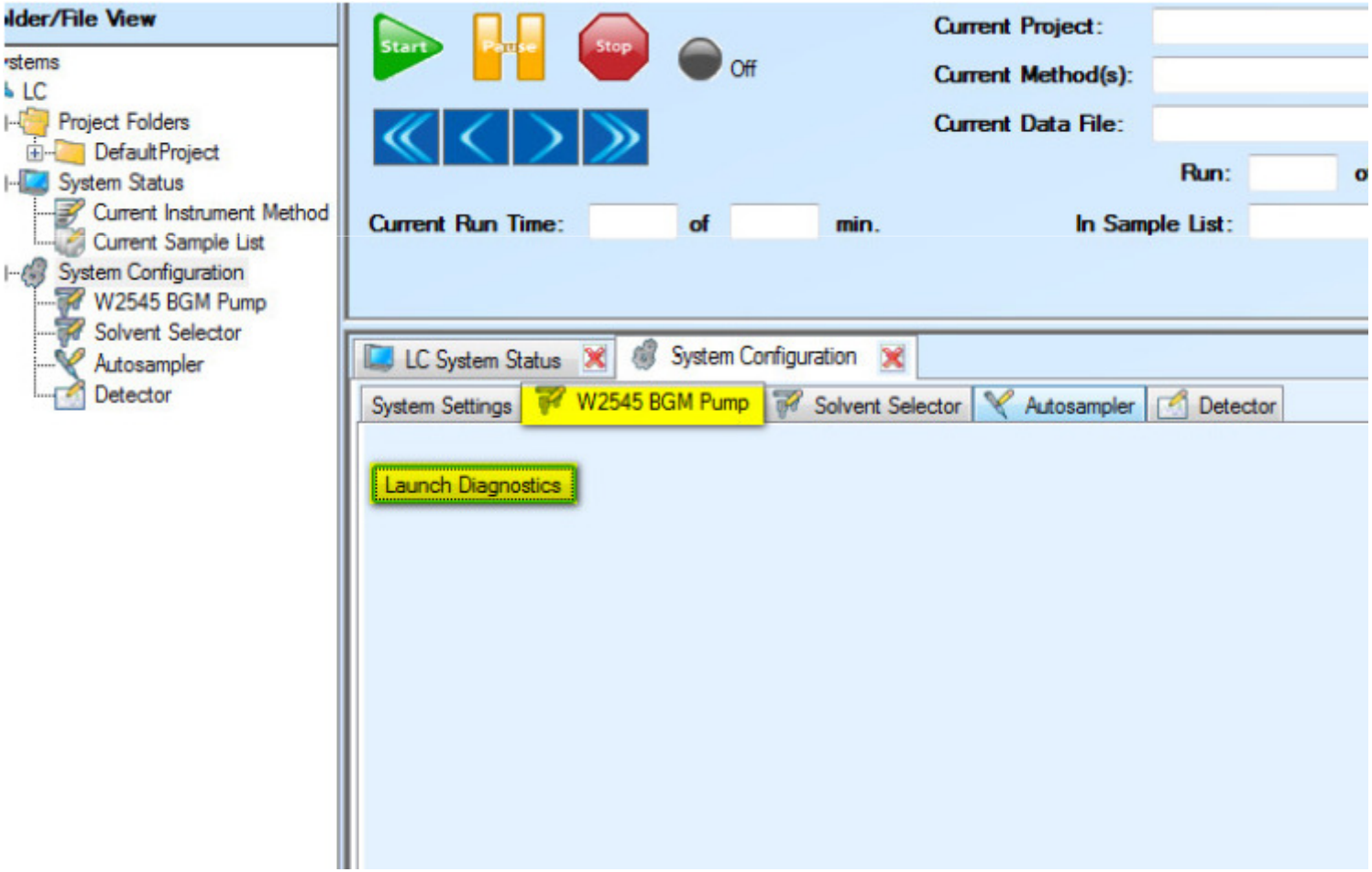
- 单击“Fold/File View”



系统配置

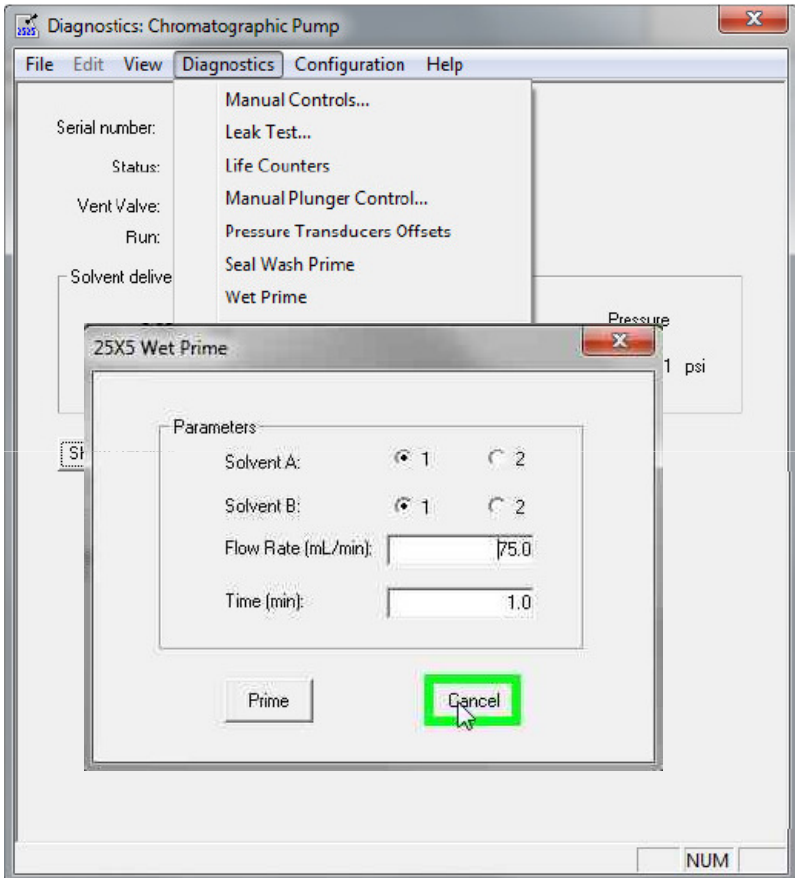
I. System Configuration 项下会显示Investigator 系统中每个组 件的参数 (模块组成在软件安装时已预设)

I. 仪器的手动操作可以在configuration项下完成



系统配置具体内容

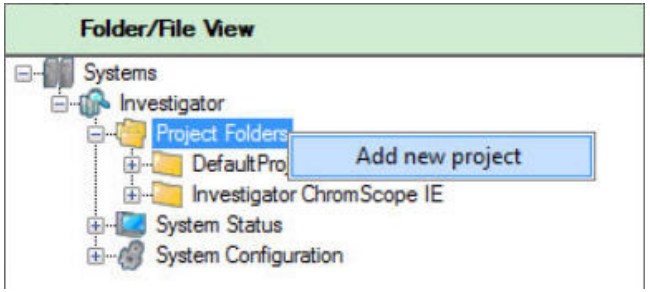
1. System setting
2. 2545 BGM 或QGM Pump
   - 25X5 诊断功能
     - 手动设置流速
     - Wet Prime 切换AB流路
3. Detector
   - 开关灯 控制



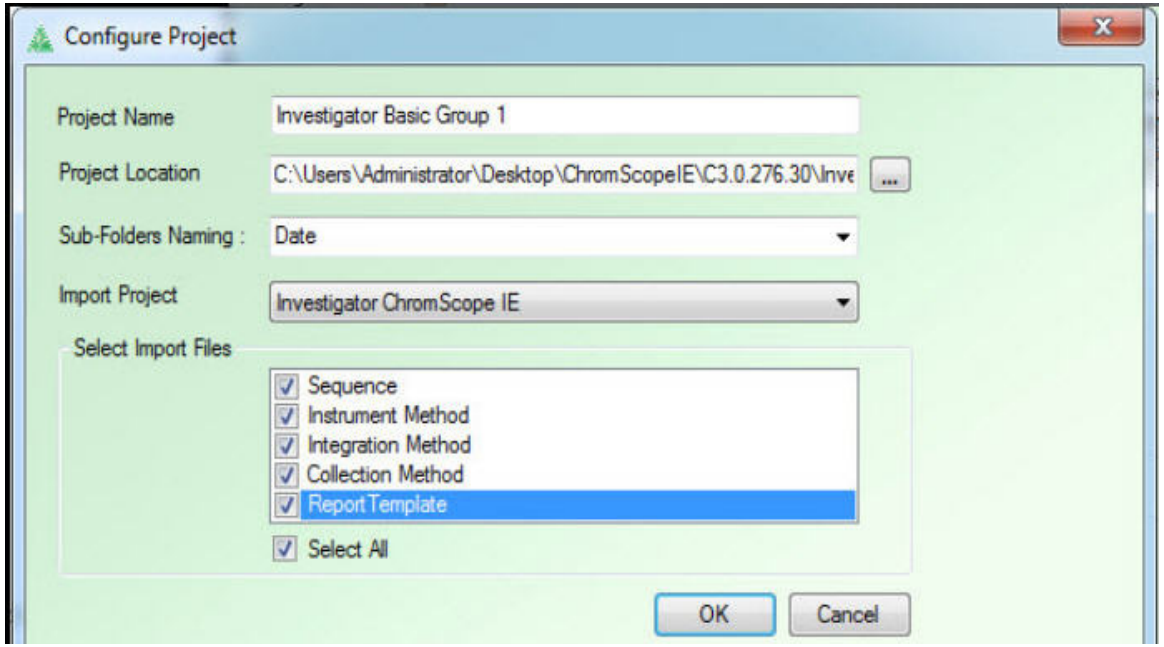
创建一个项目

新建一个项目文件夹

在Project Folders上右键
选择“Add new project”



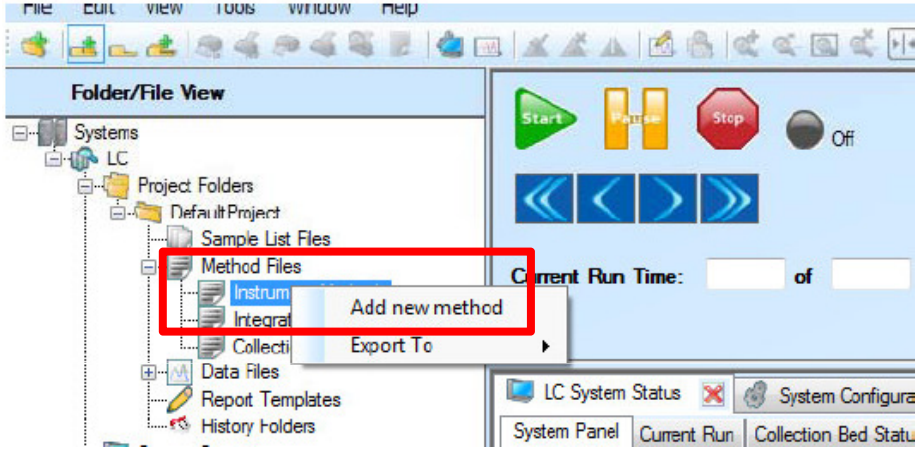
- 为项目文件夹设置名字.
- 选择 “Import Files” ，此功能可从其他项目文件夹复制已建好的方法
- 例如，从“Investigator ChromScope IE”项目中导入方法project, 选择 OK ，建立一个新的项目文件夹



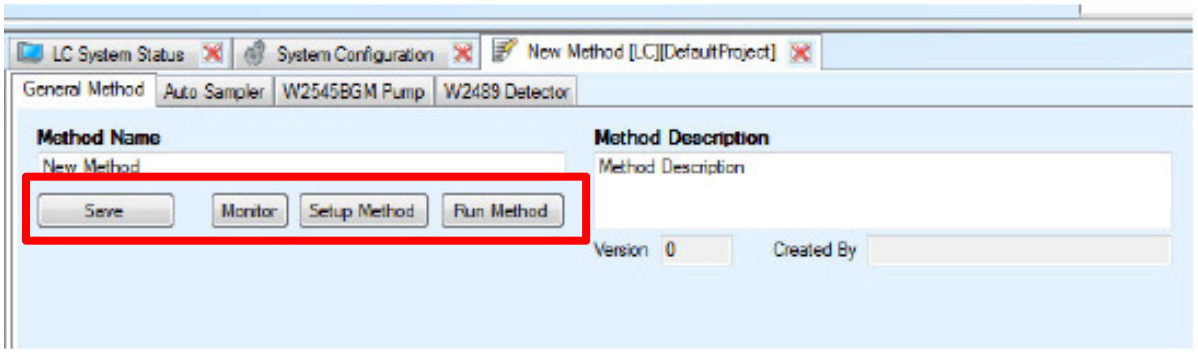
创建一个采集方法

新建一个仪器方法

在Instrument Method上右键
选择“Add new method”



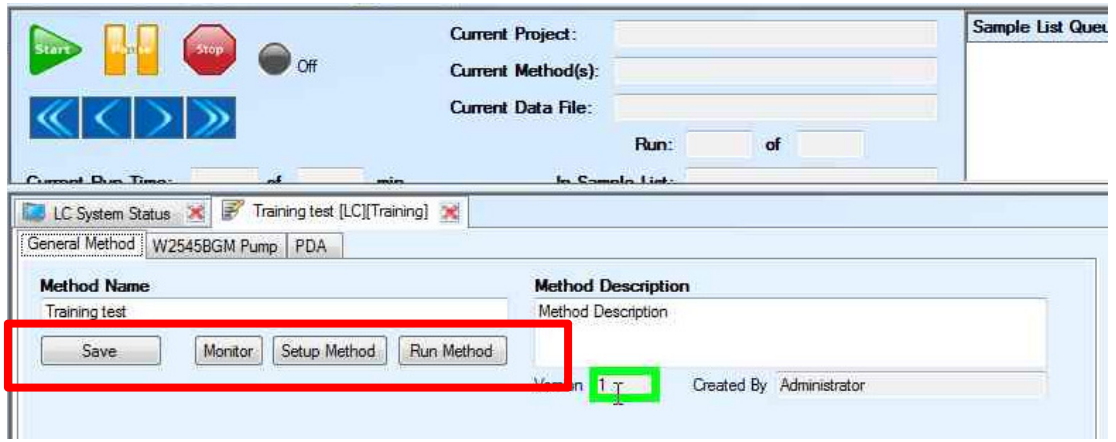
- General Method界面
  - 命名新的仪器方法
  - Setup Method
  - Monitor
  - Run Method



新建一个仪器方法之 General Method

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- General Method界面
  - 命名新的仪器方法
  - Setup Method
  - Monitor
  - Run Method



- Save
  保存新建的方法 并生成相应的版本号。（仪器名相同会覆盖，但版本号不同）

- Monitor
  - 采集监视数据并运行初始条件
  - 在 “Current Run” 中显示图谱

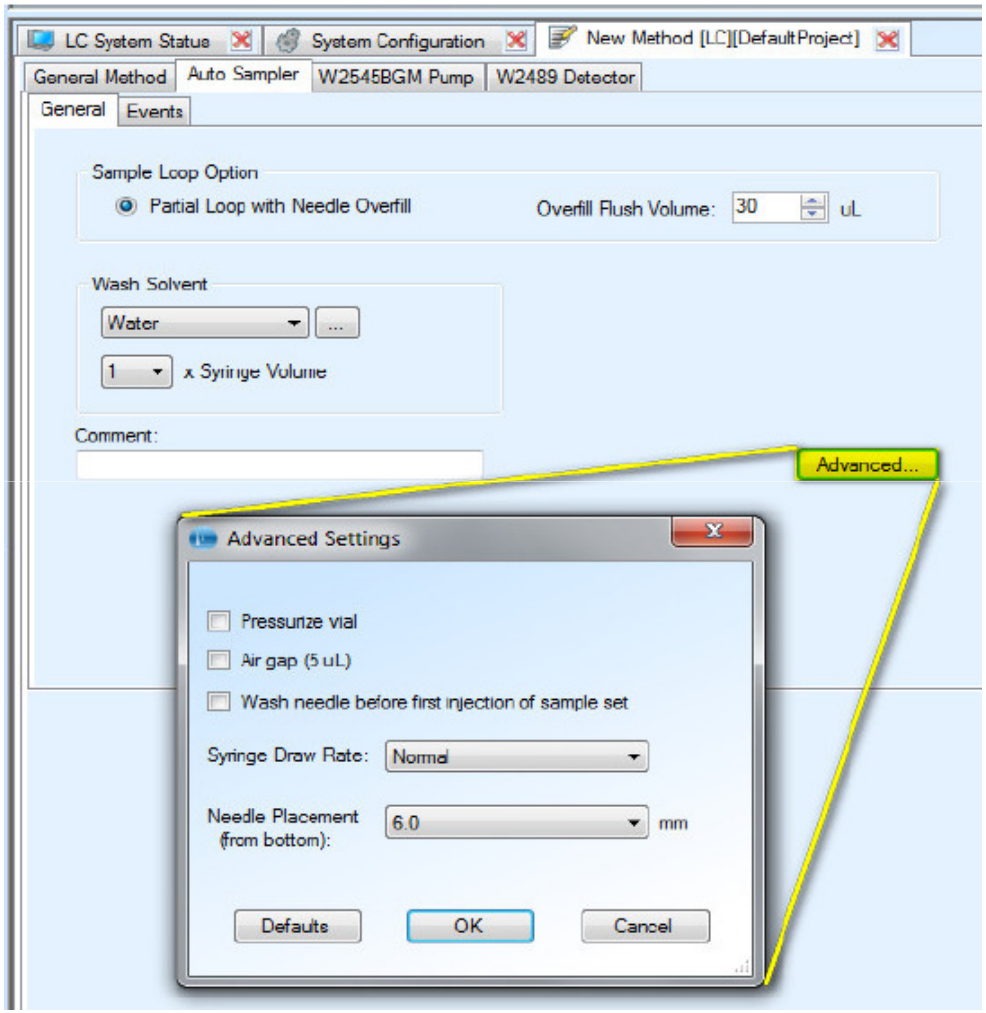
- Setup Method - 只运行初始条件 不采集数据

- Run Method – 运行梯度并采集数据

新建一个仪器方法之 自动进样器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

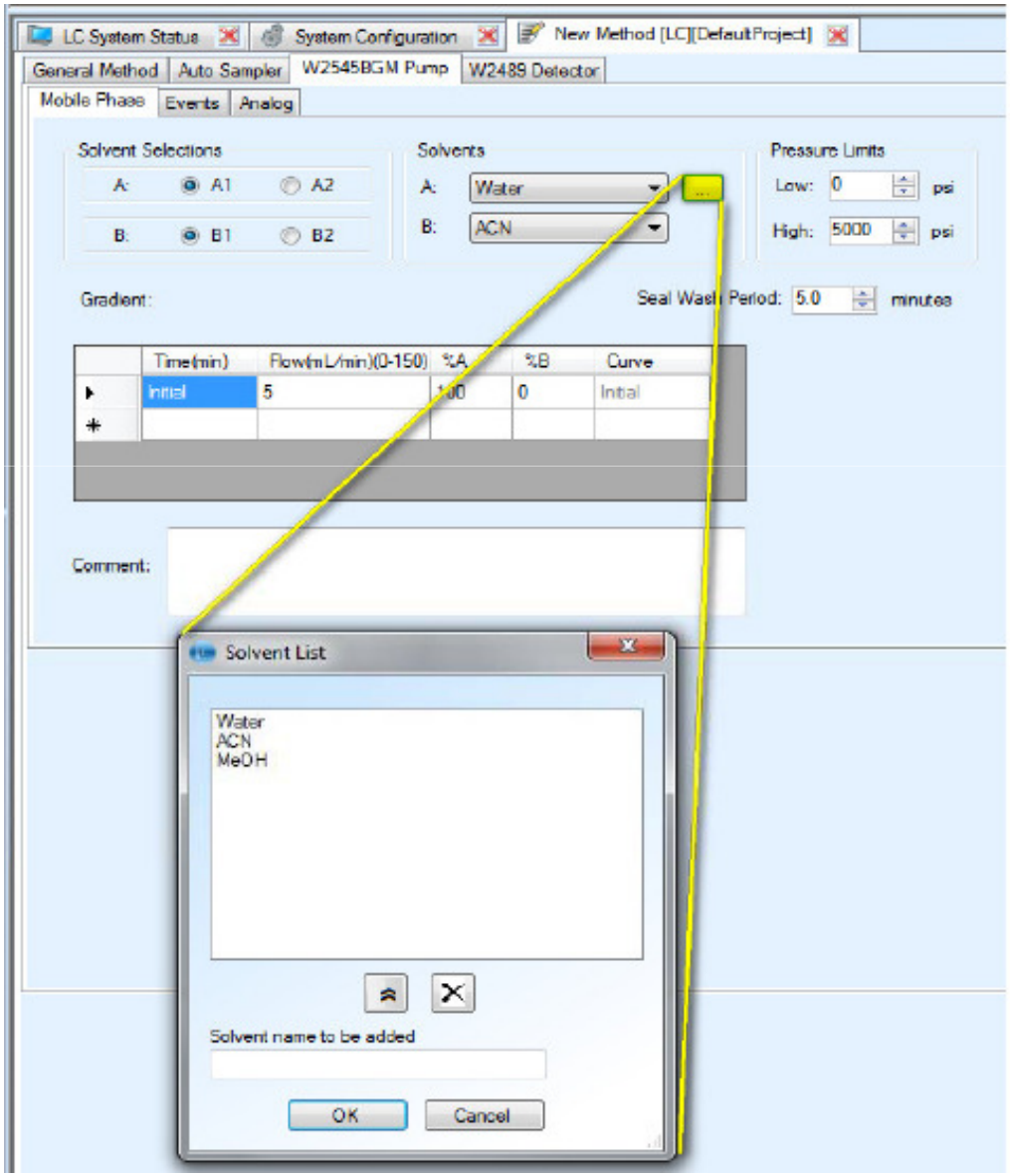
- Auto Sampler界面
  - 采集方式 Needle Overfill
  - Advanced 选项



新建一个仪器方法之BGM

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 2545 BGM界面
  - 选择溶剂
  - 设置等度或梯度方法



新建一个仪器方法之BGM

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 梯度方法设置
  - 注意流速要与色谱柱相匹配
  - 注意平衡时间
  - 注意最高压力

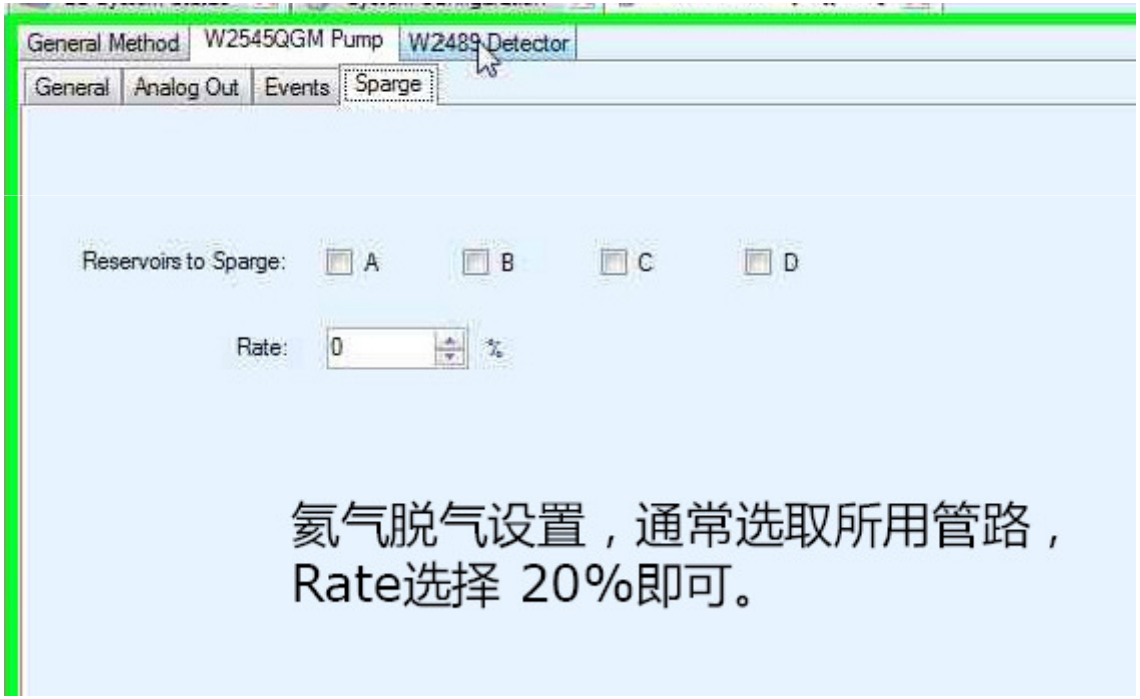
	Time(min)	Flow(mL/min)(0-150)	%A	%B	Curve
▶	Initial	10.00	95.00	5.00	Initial
	10.00	10.00	0.00	100.00	6
	13.00	10.00	0.00	100.00	6
	14.00	10.00	95.00	5.00	6

（此梯度不完成，还有最后一行 14-18分钟 95：5 初始条件平衡）

Length (mm)	Diameter (mm)				
	4.6	10	19	30	50
30	-	8	27	-	-
50	3	15	45	110	310
75	-	-	-	165	-
100	5	25	90	225	620
150	8	40	135	335	930
250	13	60	225	560	1550
Reasonable Flow Rate (mL/min)	1.4	6.6	24	60	164
Reasonable Injection Volume (µL)	20	100	350	880	2450

不同规格色谱柱 参考流速以及进样体积

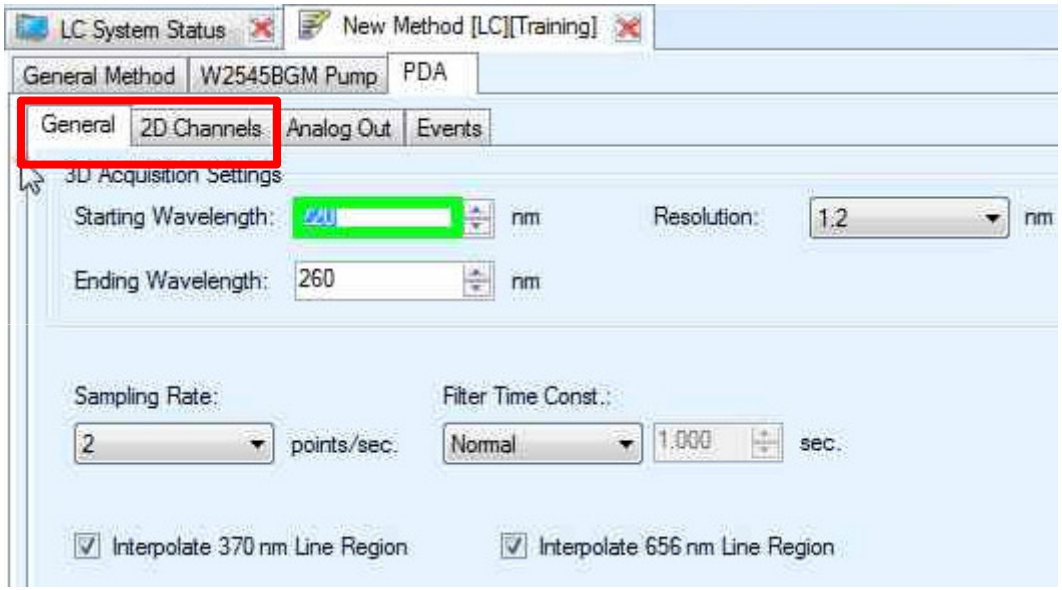
若配置为2545QGM 且无在线脱气机 须设置氦气脱气参数



新建一个仪器方法之检测器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

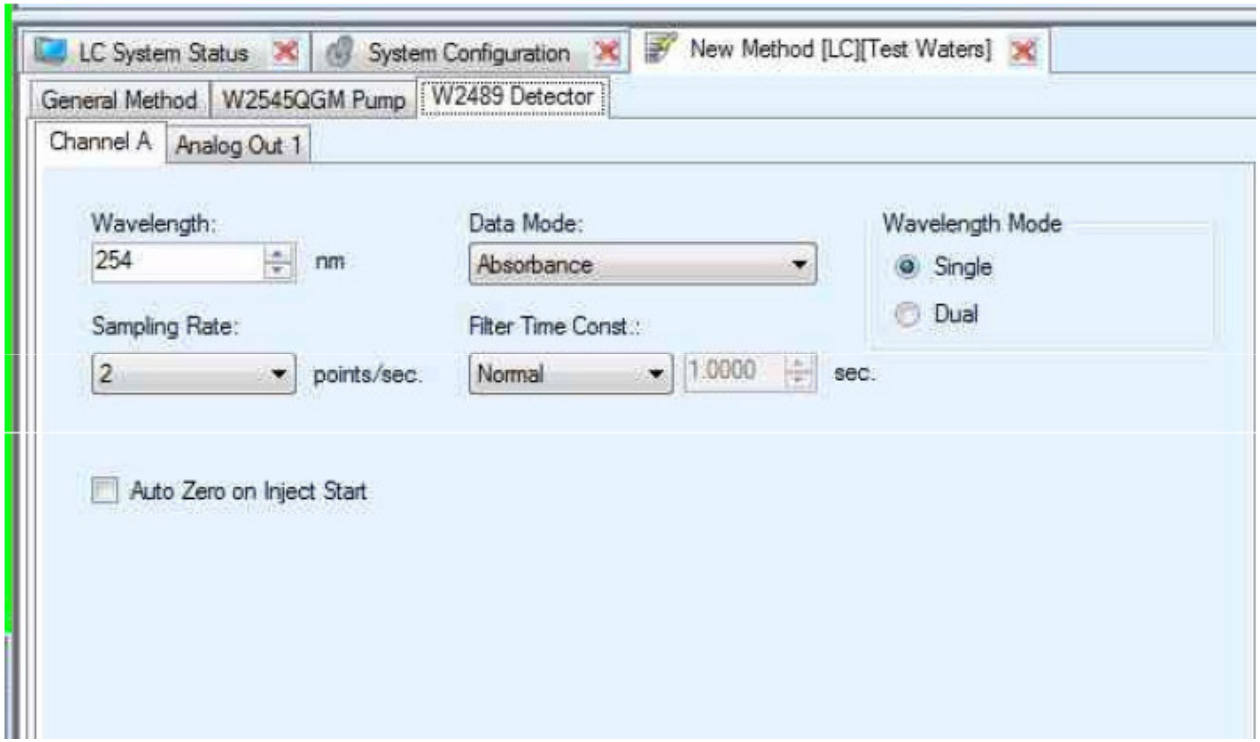
- 2998 PDA界面
  - 设置3D 波长范围
    - 3D数据可查看光谱
  - 设置2D 指定波长
    - 8通道可选
    - 波长范围190-800nm



新建一个仪器方法之检测器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 2489 紫外检测器界面
  - 设置 指定波长
    - 双通道可选
    - 波长范围190-800nm
  - 自动归零功能
  - 单进样勾选
  - 连续进样不选 ，防止漏收馏分

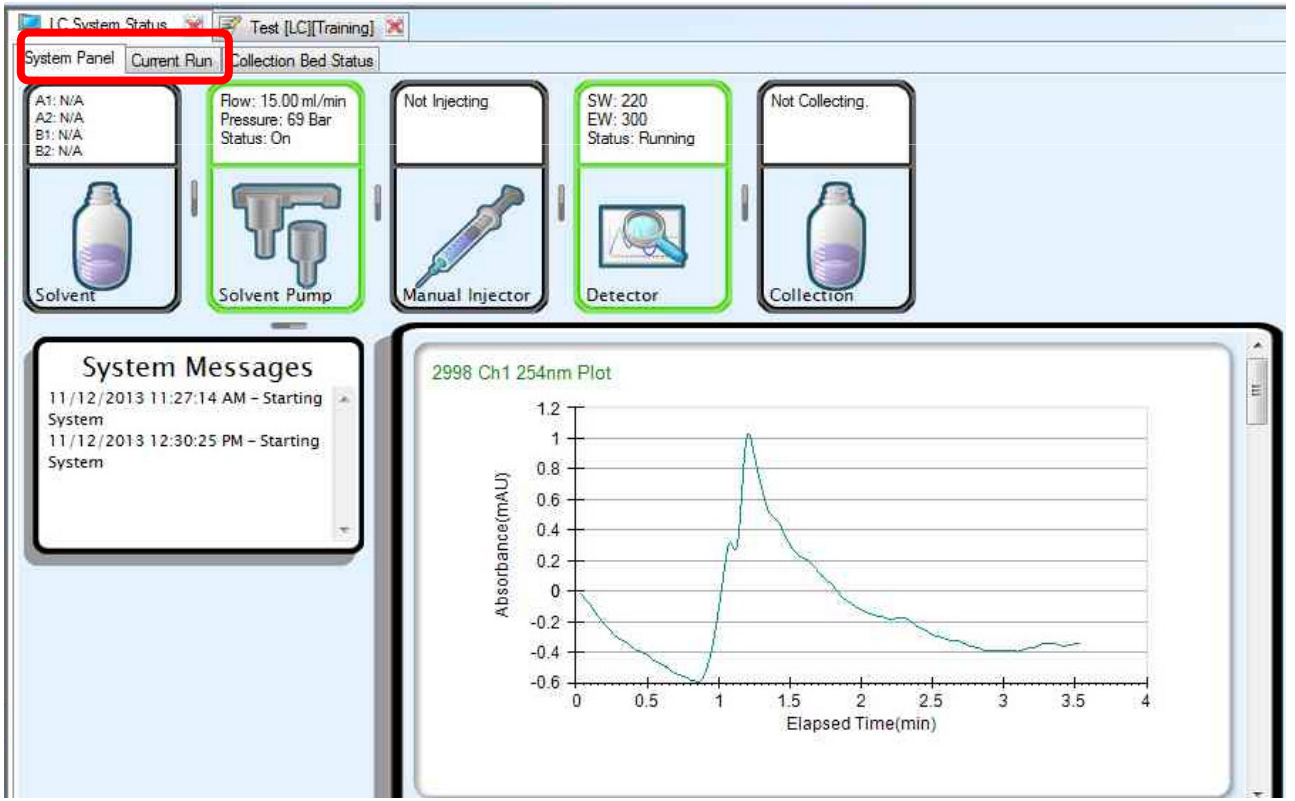


新建一个仪器方法之检测器

- 设置完所有参数 返回 General Method 界面， 并 点击 “Save”

- 点击 “Monitor” 返回至 “Current Run” 查看基线

  系统将在0.17min后采集基线数据，数据将在 “XXX project” - “Data” – “Monitor” 项下显示



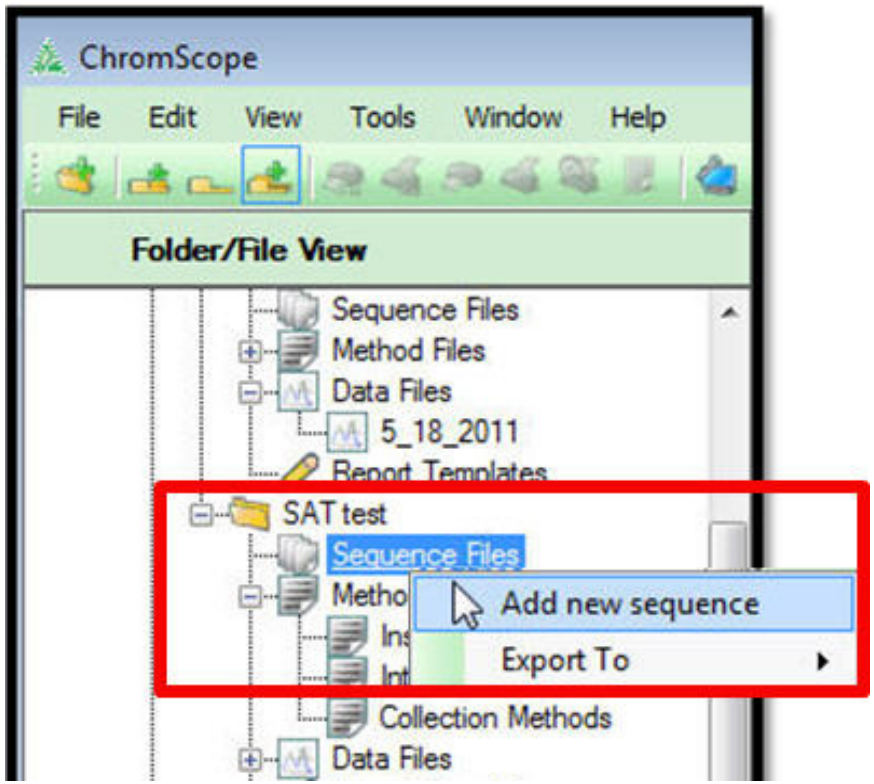
采集数据

试验性进样

- 对于新制备的样品，需要进行一次试验性进样，已测试分离效果，并得到相关的制备参数
- 根据试验性进样的结果，调整最佳的色谱条件，并确定收集方法

新建一个样品列表

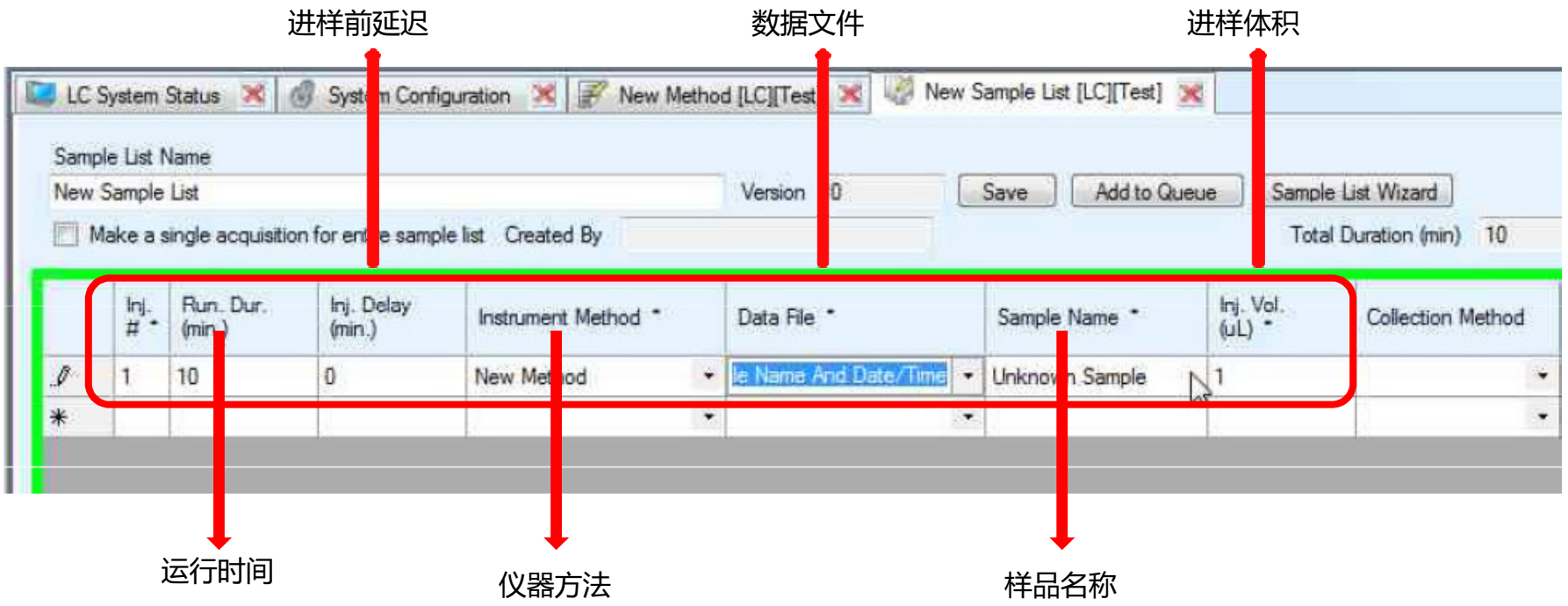
在Sample List Files上右键　　选择“Add new sample List”



新建一个样品列表

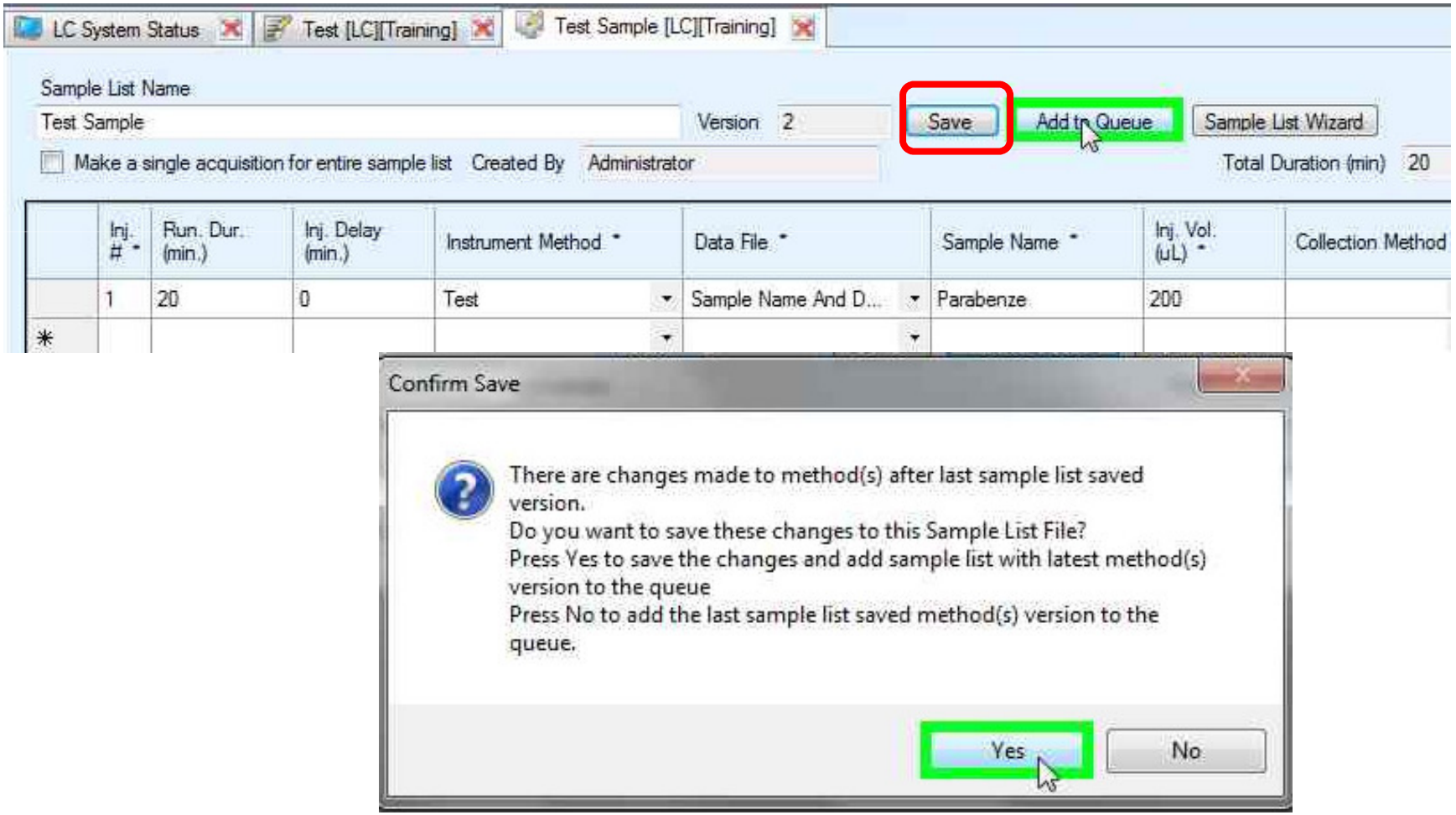
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

依次填好 红色方框内的各项信息



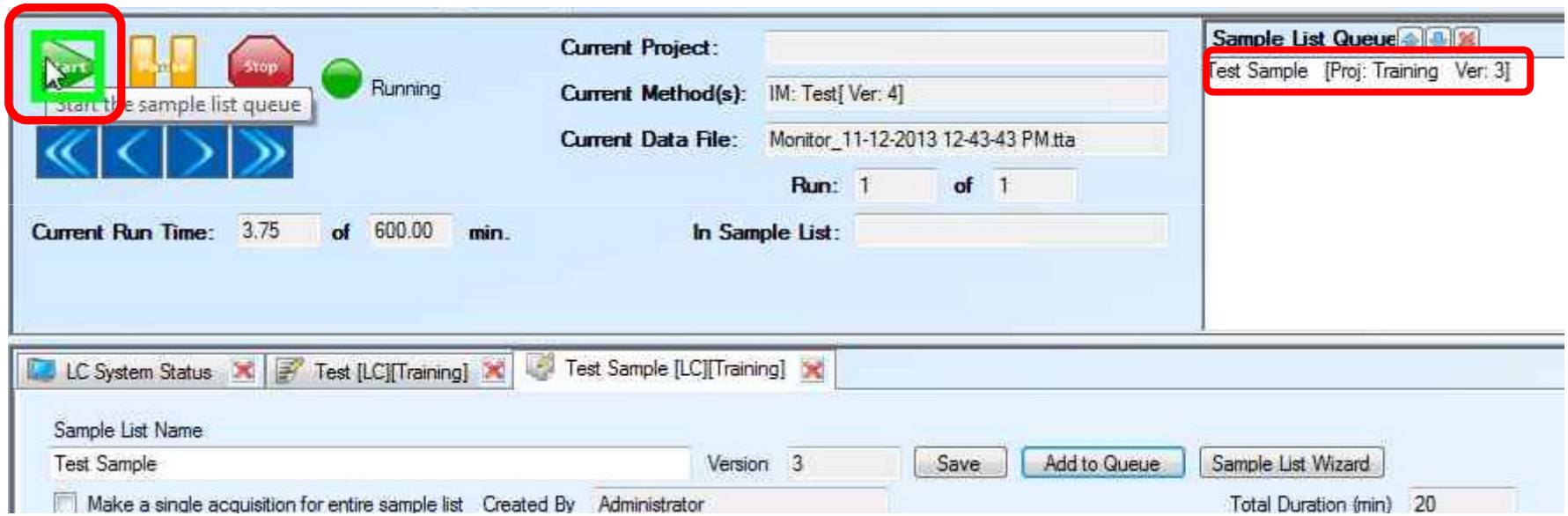
新建一个样品列表

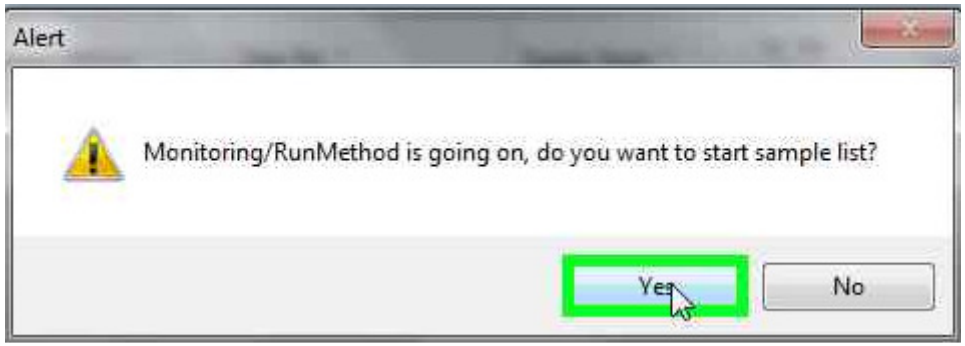
- 设置完所有参数 点击“Save” 并 点击“Add to Queue”
- 若出现图示的提示，请点击”Yes “



运行样品

- 样品序列将在Sample List Queue中出现
- 点击“Start”，系统将在短暂平衡后进行进样
- 若出现图示的提示，请点击”Yes “，先退出监视界面再采集数据



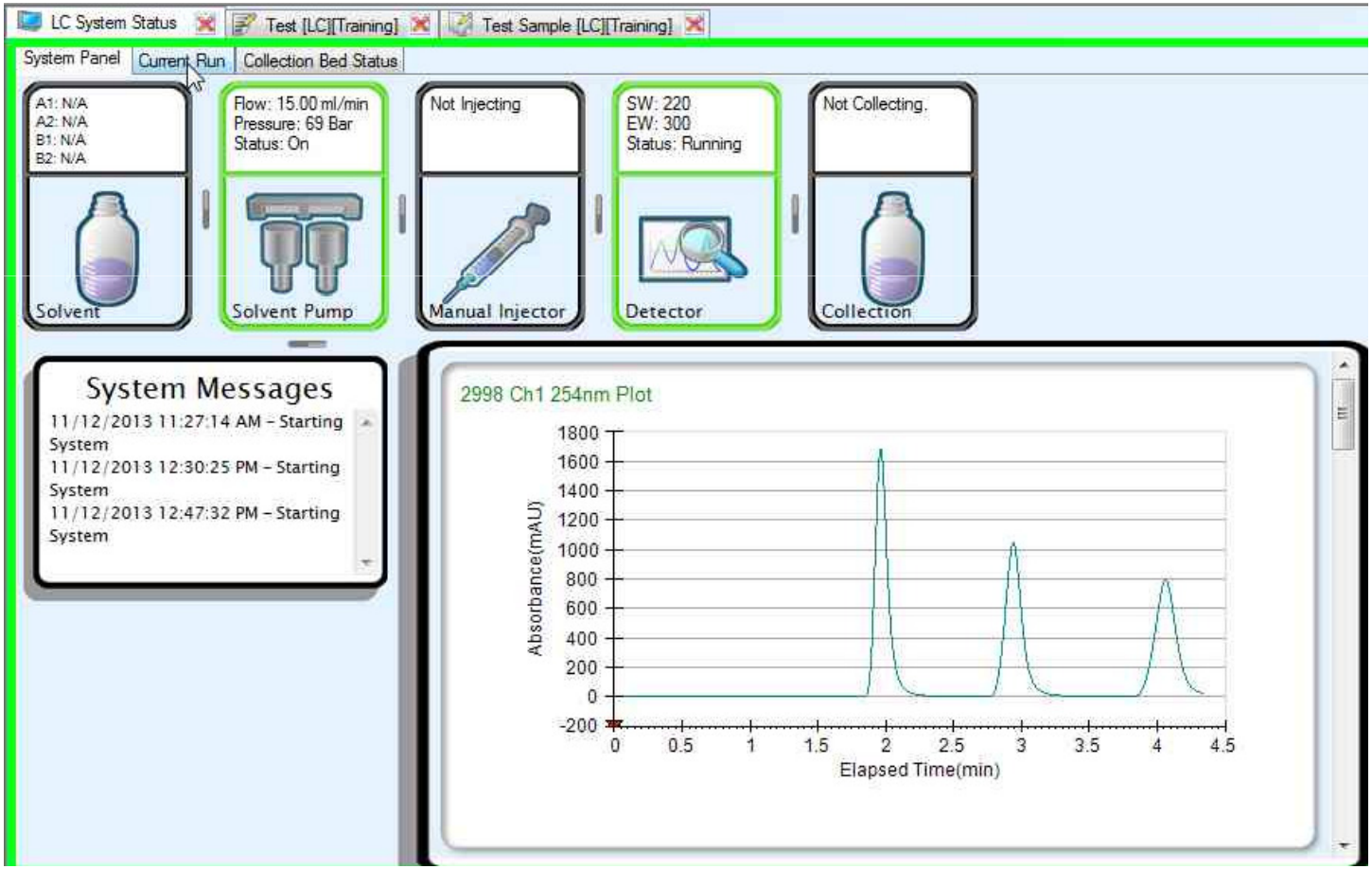


运行样品

- 若仪器配置为自动进样器，在退出监视界面后，自动进样器会自动进行采样。
- 若仪器配置为手动进样器，在退出监视界面后，会弹出一个准备进样的窗口，请将手动进样阀搬至Load位，推进样品，并迅速再搬至Inject位。之前的弹出窗口会自动消失，数据采集开始。

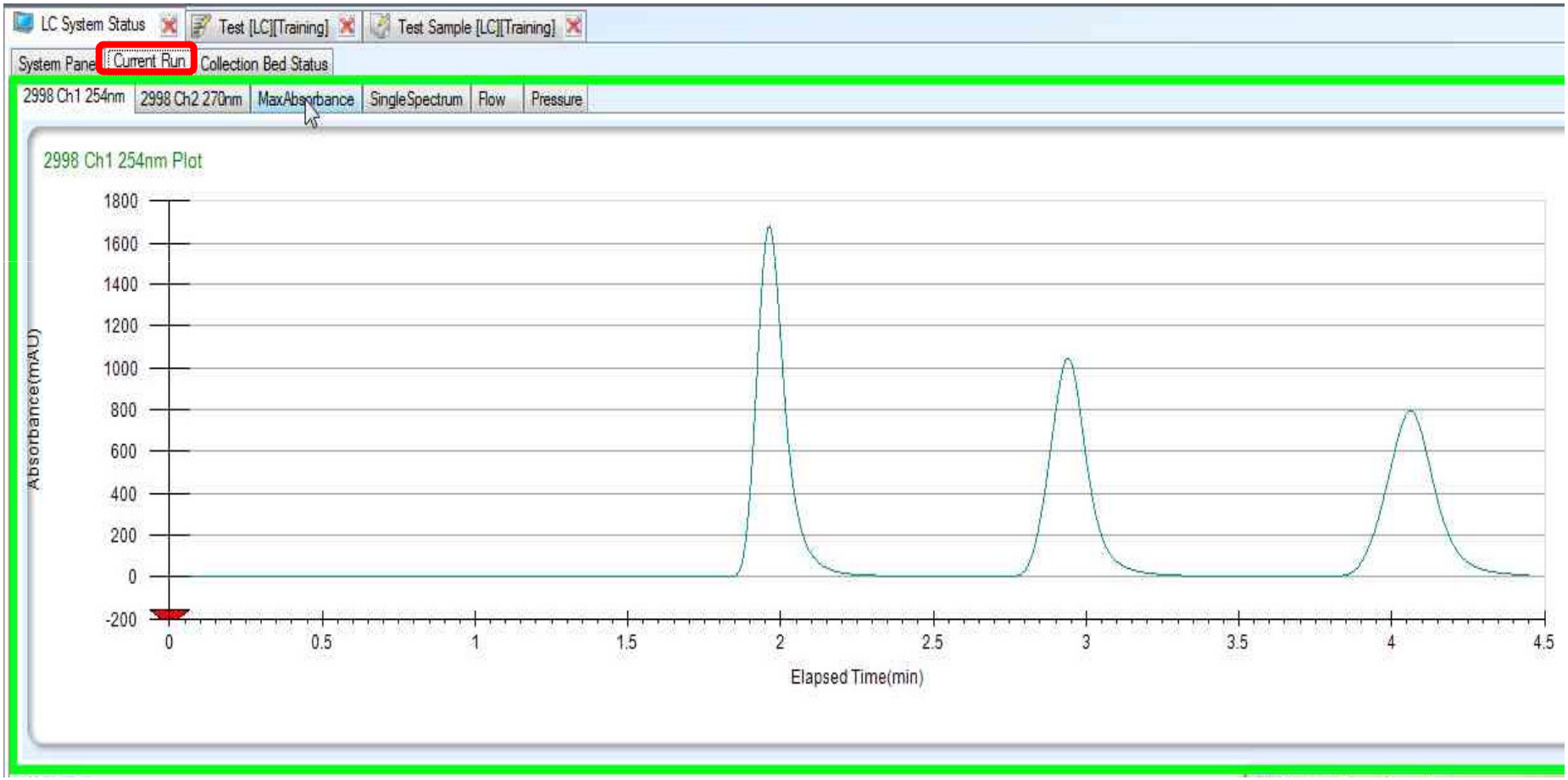
运行样品

- 样品运行后，在 System Panel界面查看仪器的运行状态



运行样品

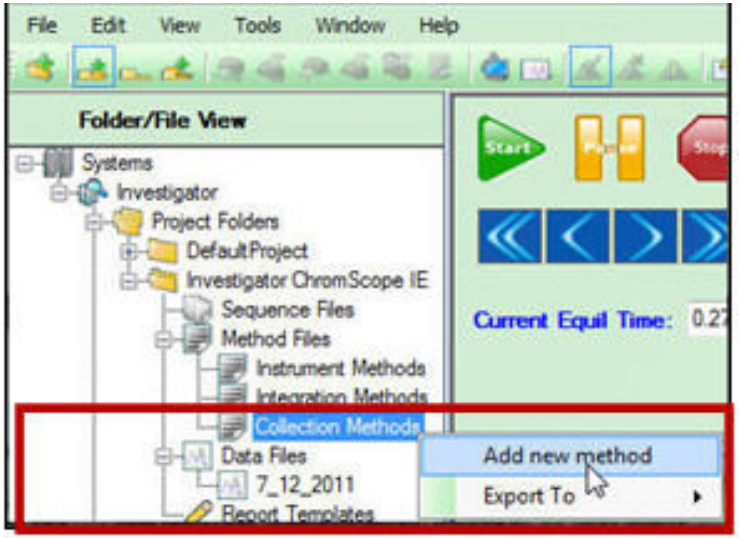
- 样品运行后，在 Current Run界面查看样品的数据状态



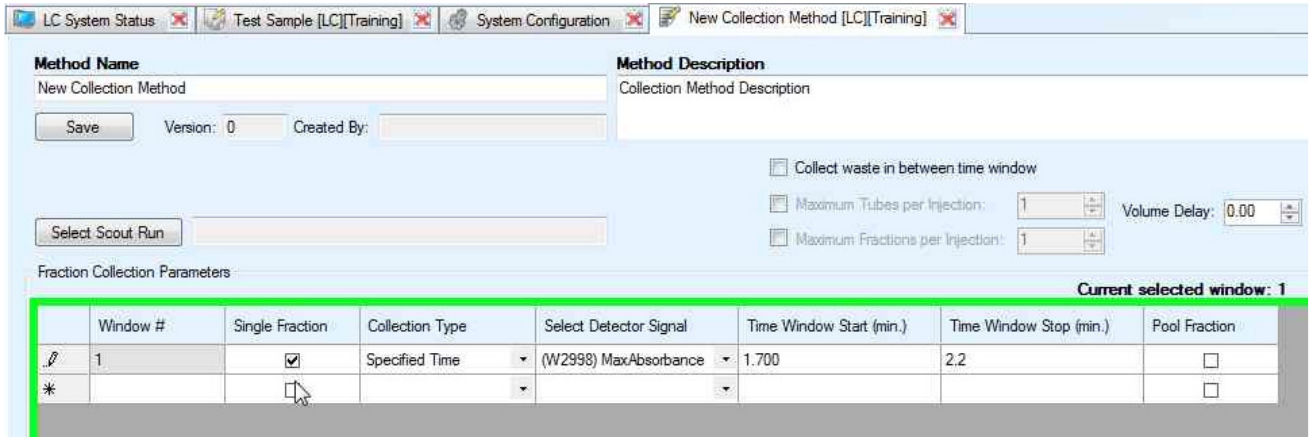
创建一个收集方法

新建一个收集方法

在Collect Method上右键
选择“Add new method”



Collection Method界面

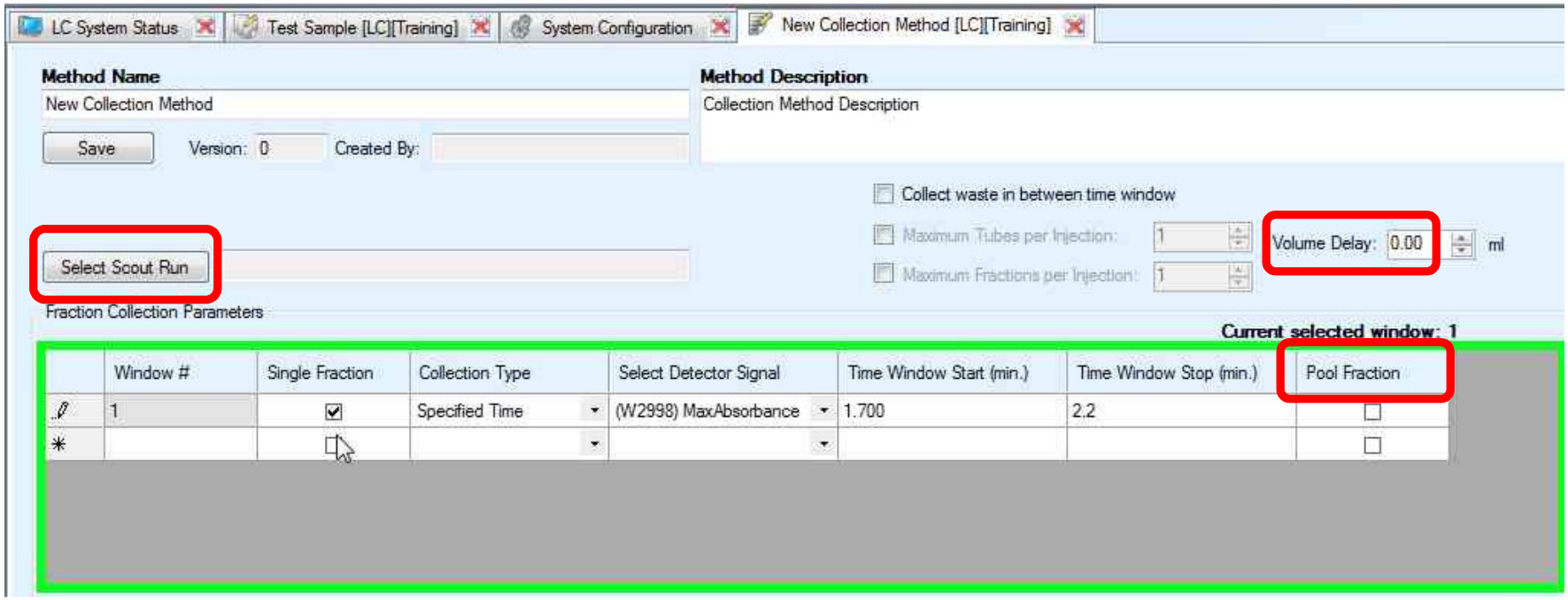


新建一个收集方法

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

➢ Select Scout Run --选择已分离好的样品图谱，进行模拟收集

- 设置新的收集方法参数
  - Collection Type ：根据需要选择 Threshold、Slope以及Time收集等方式
  - Select Detector Signal：选择收集波长或是通道
  - Threshold Start and Stop：若Collection type 选择了“Signal Threshold”，则须设置收集起始和截至阈值参数
  - Time window start and stop：若Collection type选择了“Specified Time”则须设置收集的起始时间和截至时间
  - Pool Fraction—选择此功能，用户会在同一管内重复收集同一组分。



新建一个收集方法

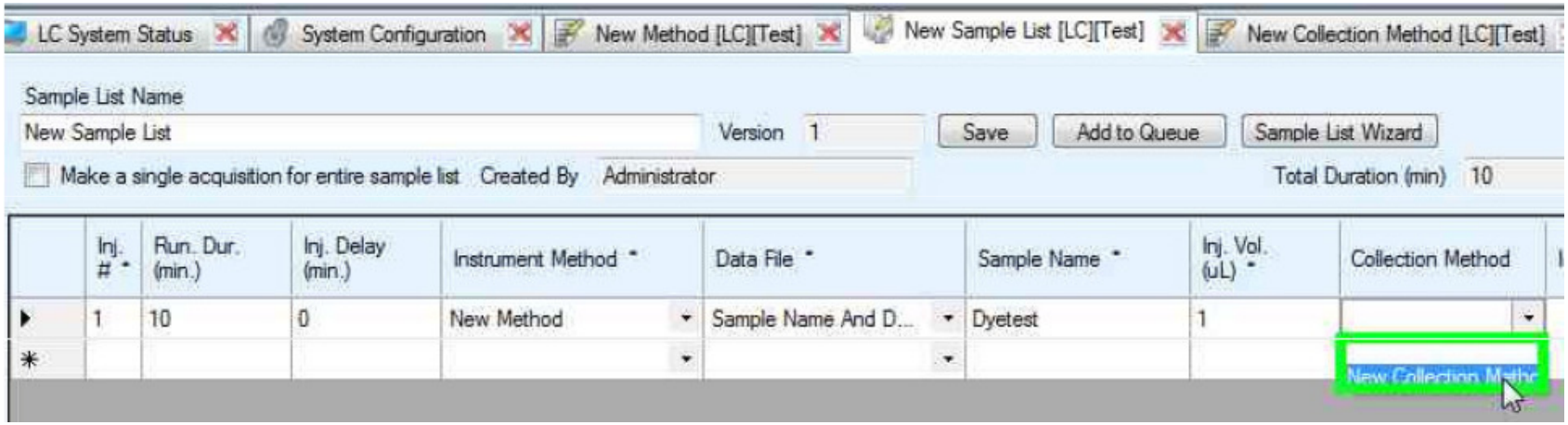
- 参数的具体意义请参考Help以及工程师的现场讲解。
- 注意“Volume Delay”参数设置（参照工程师现场测试结果）
- 设置好收集参数以后，为此方法命名，并点击“Save”

  至此，收集方法建立完毕。

样品收集

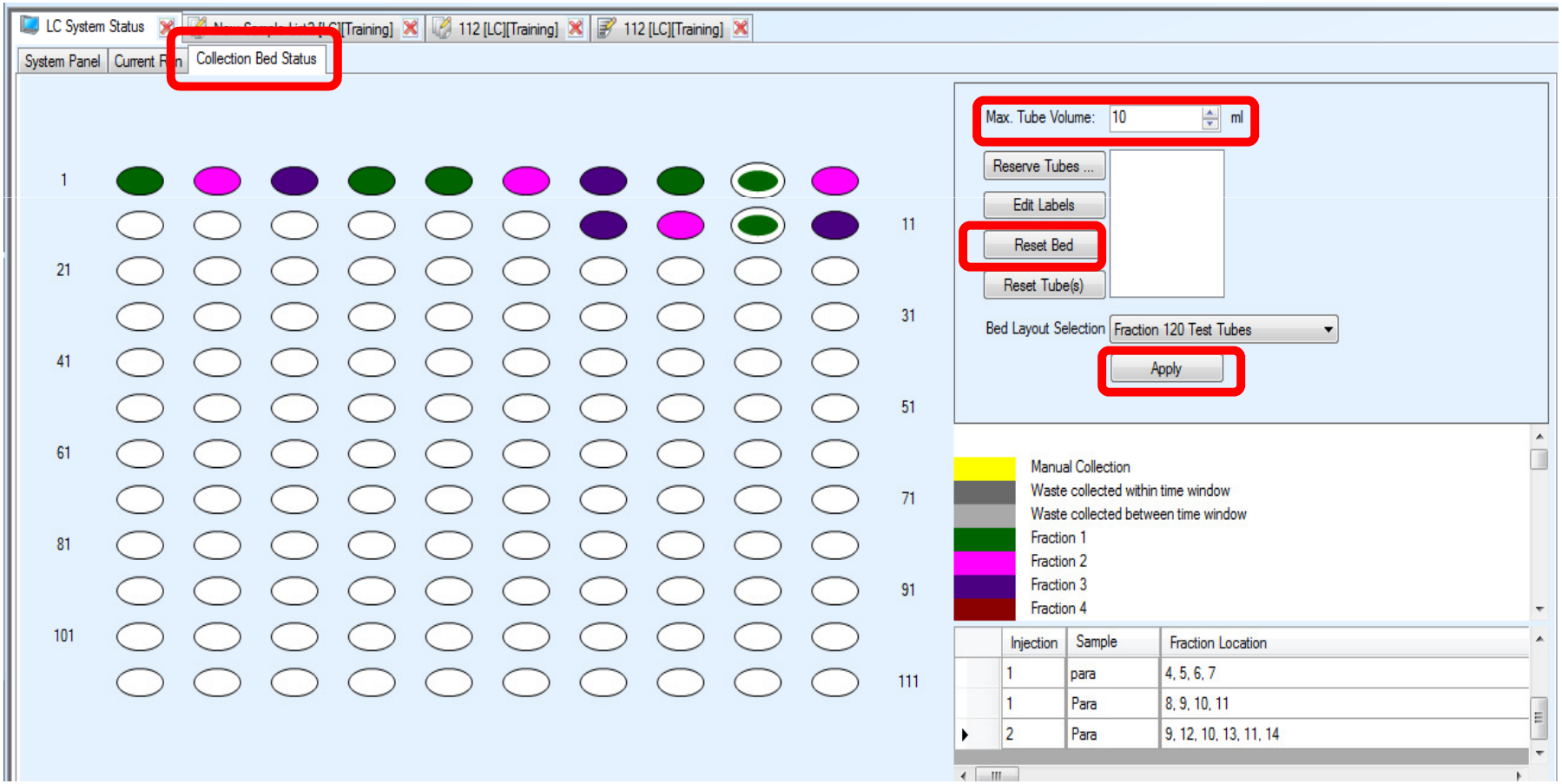
收集样品

- 在样品列表中加入收集方法“ Collection Method”
- “Save”序列表并 “Add to Queue”



收集样品

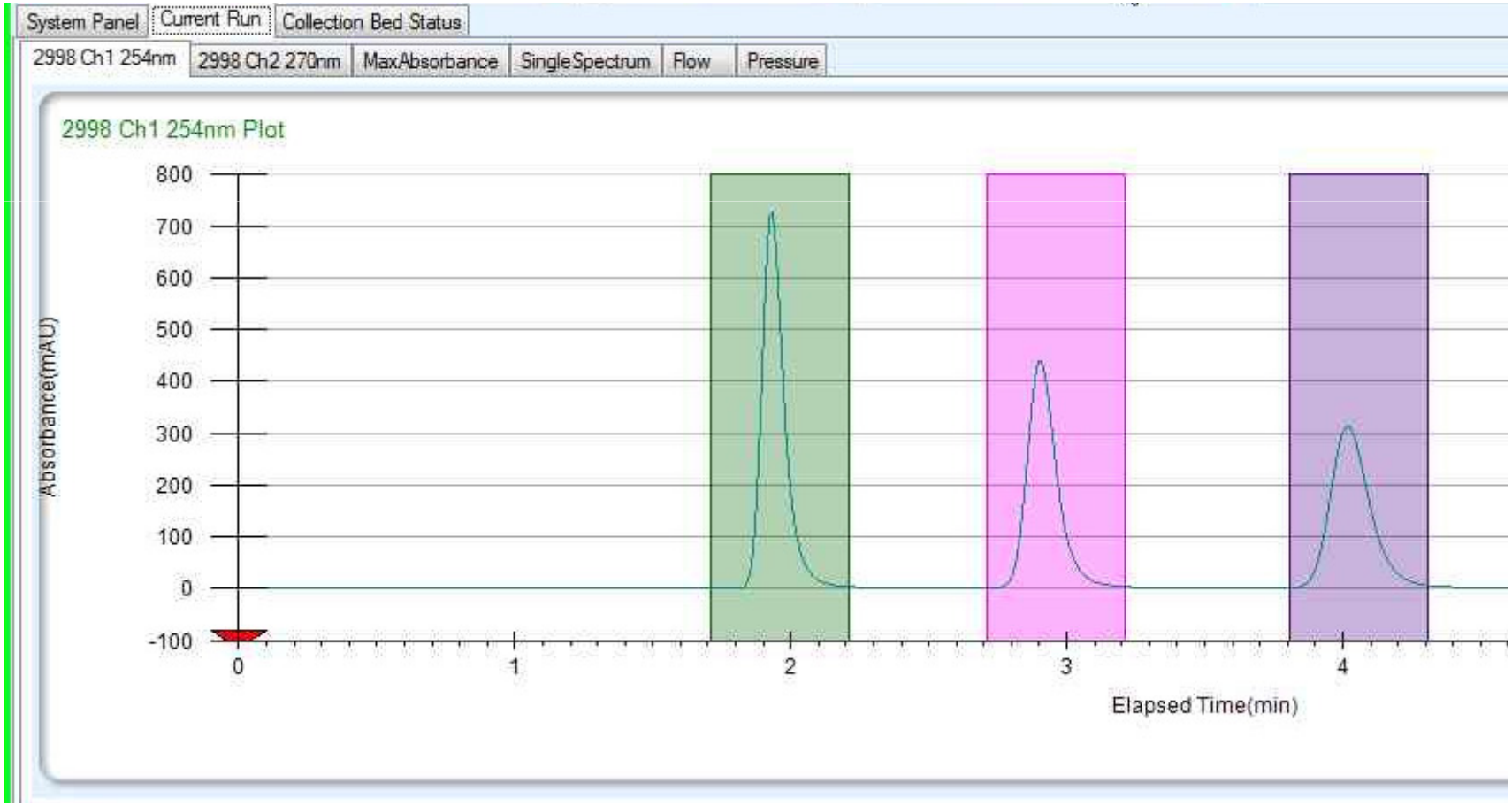
- 在点击“Start”之前， 请先确认收集管的位置。
- 点击“Reset Bed” ，并点击“Apply” ，收集位置会从1号开始。否则默认为上一次收集后的位置。



收集样品

- 确认完收集管的位置以及状态，点击“Start” 

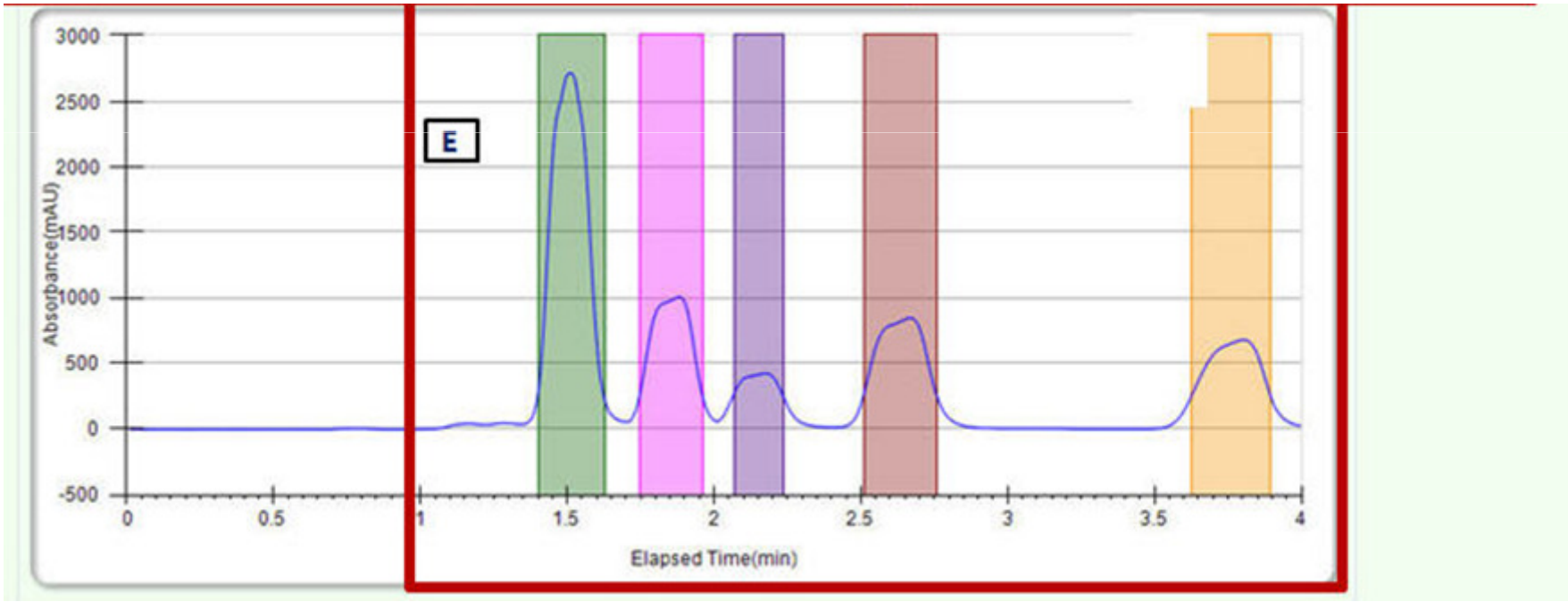
- 在“Current Run”界面会显示收集状态。



收集样品

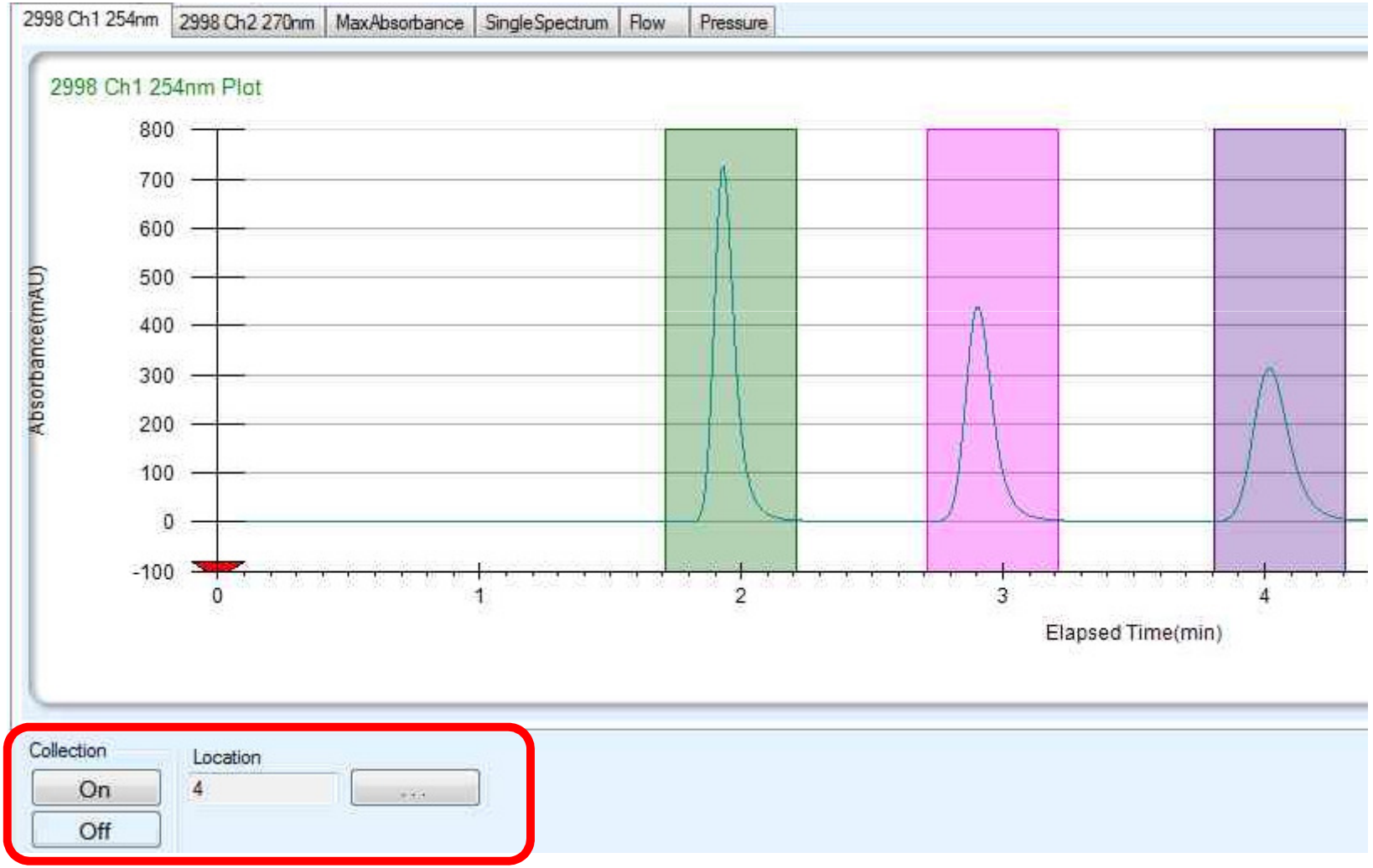
制备的色谱峰往往不会像分析型LC峰型出色，更注重收集的效率

典型的制备型色谱峰：

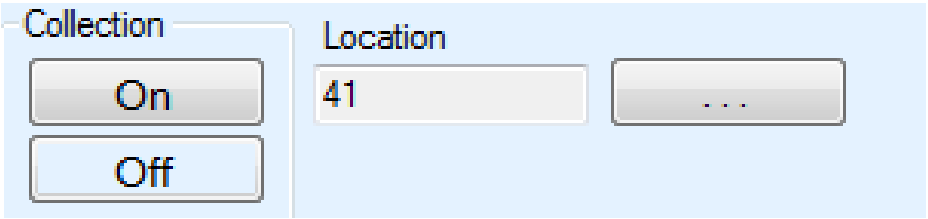


紧急收集

- 若遇到出峰异常或收集异常，需挽救样品的情况，可使用紧急收集



紧急收集

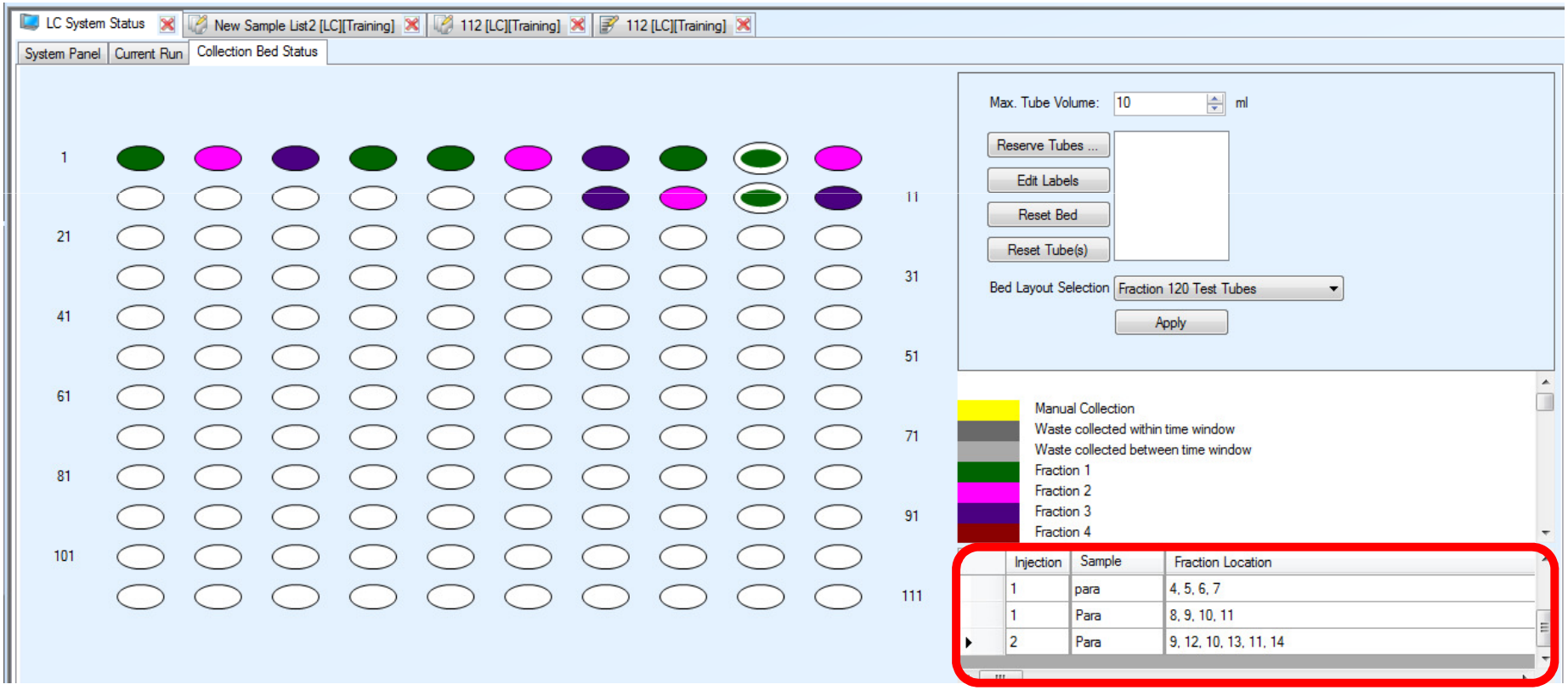


- 收集设置
  - Location 设置收集位置
  - On 开始， Off 结束
  - 强制收集后仍会回到自动收集的最后一管

收集样品

➢完成收集后，在“LC System Status”-“Collection Bed Status”查看收集状态

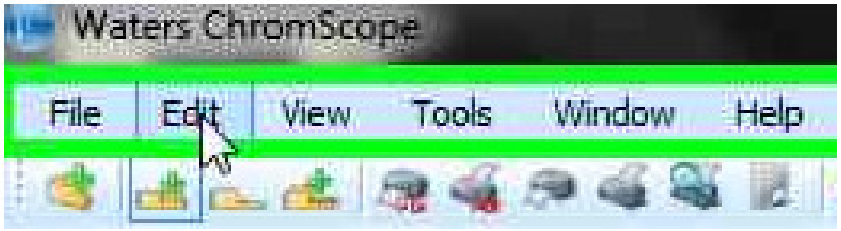
➢对应不同颜色和管号 收起全部样品



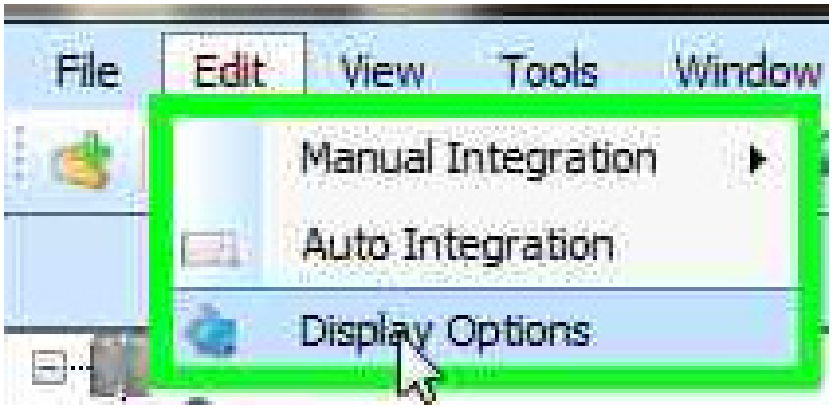
界面显示 数据分析 结果报告

界面显示

- 色谱界面显示设置 在菜单栏点击“Edit”

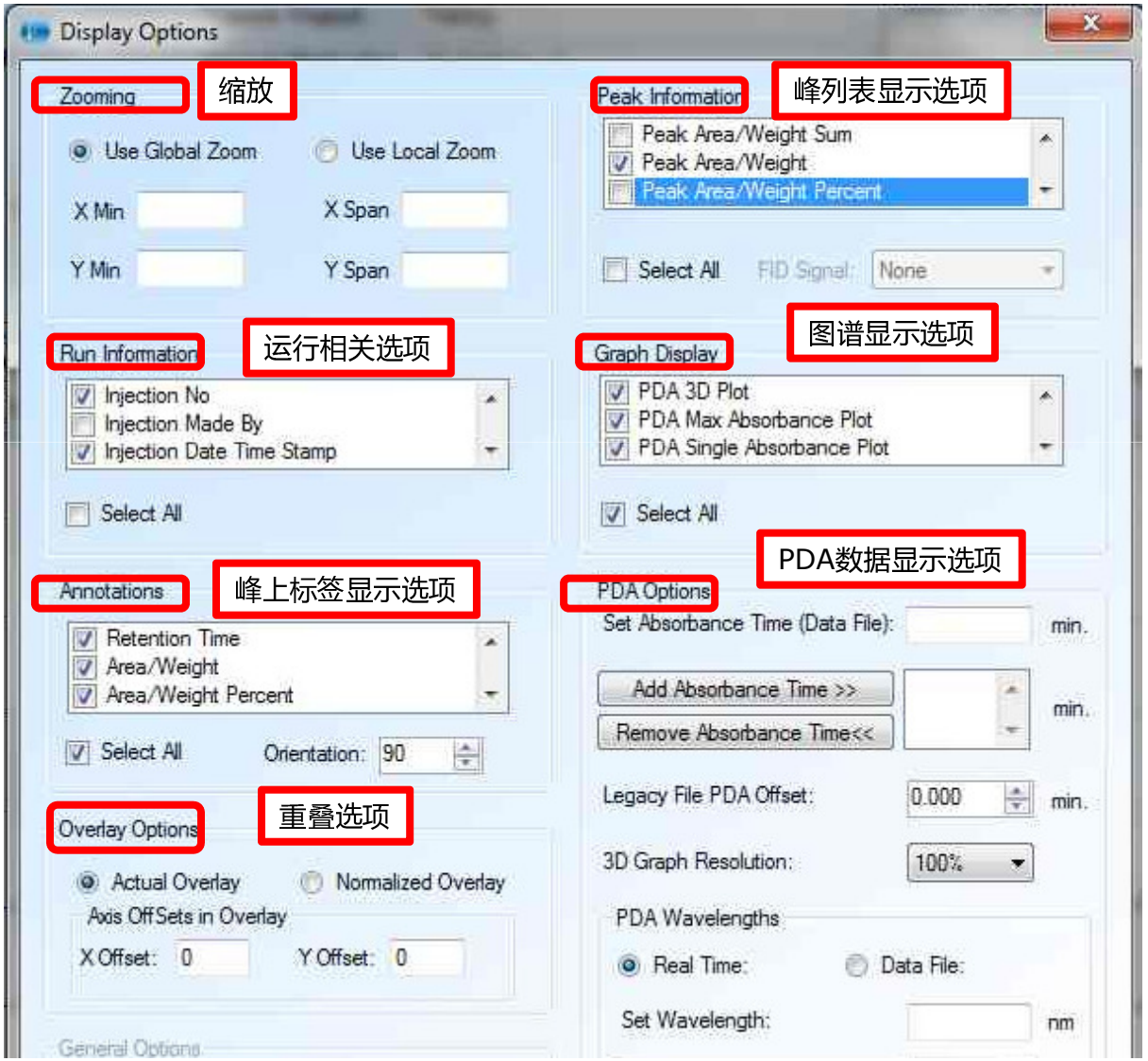


- 选择“Display Options”



界面显示

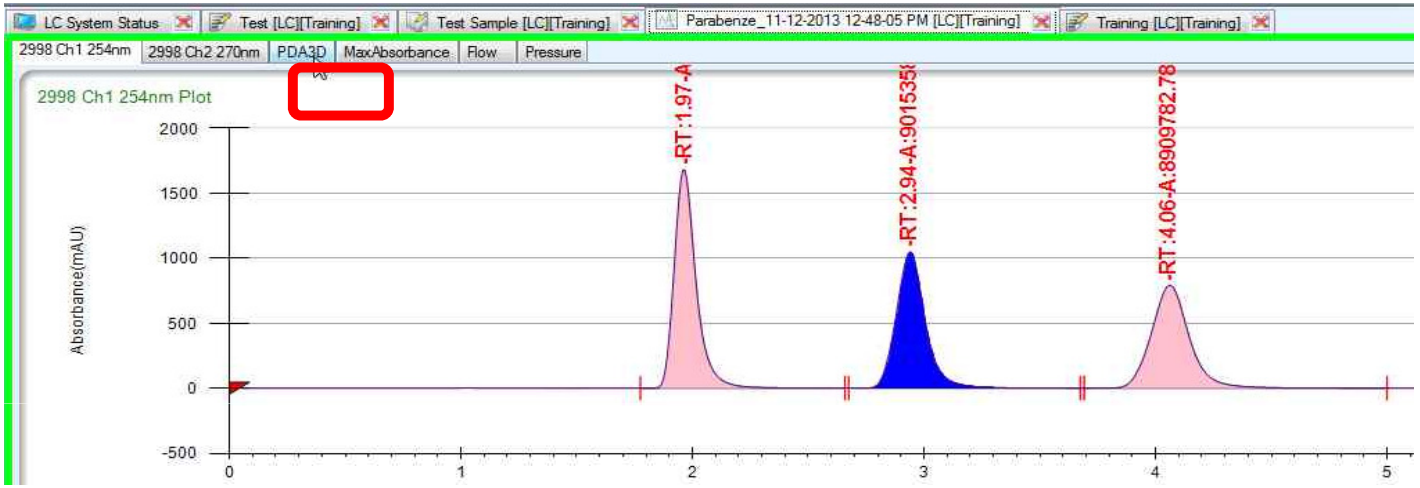
- 可根据具体需求，选择不同的显示信息
- 注意色谱图界面的显示调整，不关联报告格式。（即：报告模板须重新建立，与当前显示状态无关）

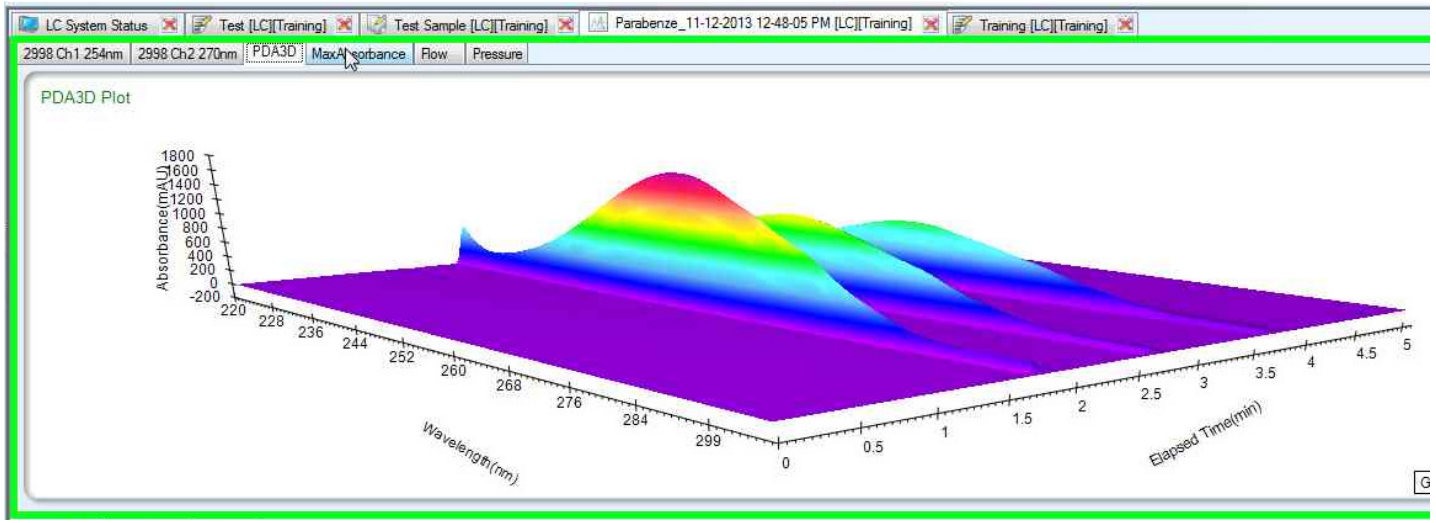


3D数据提取

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

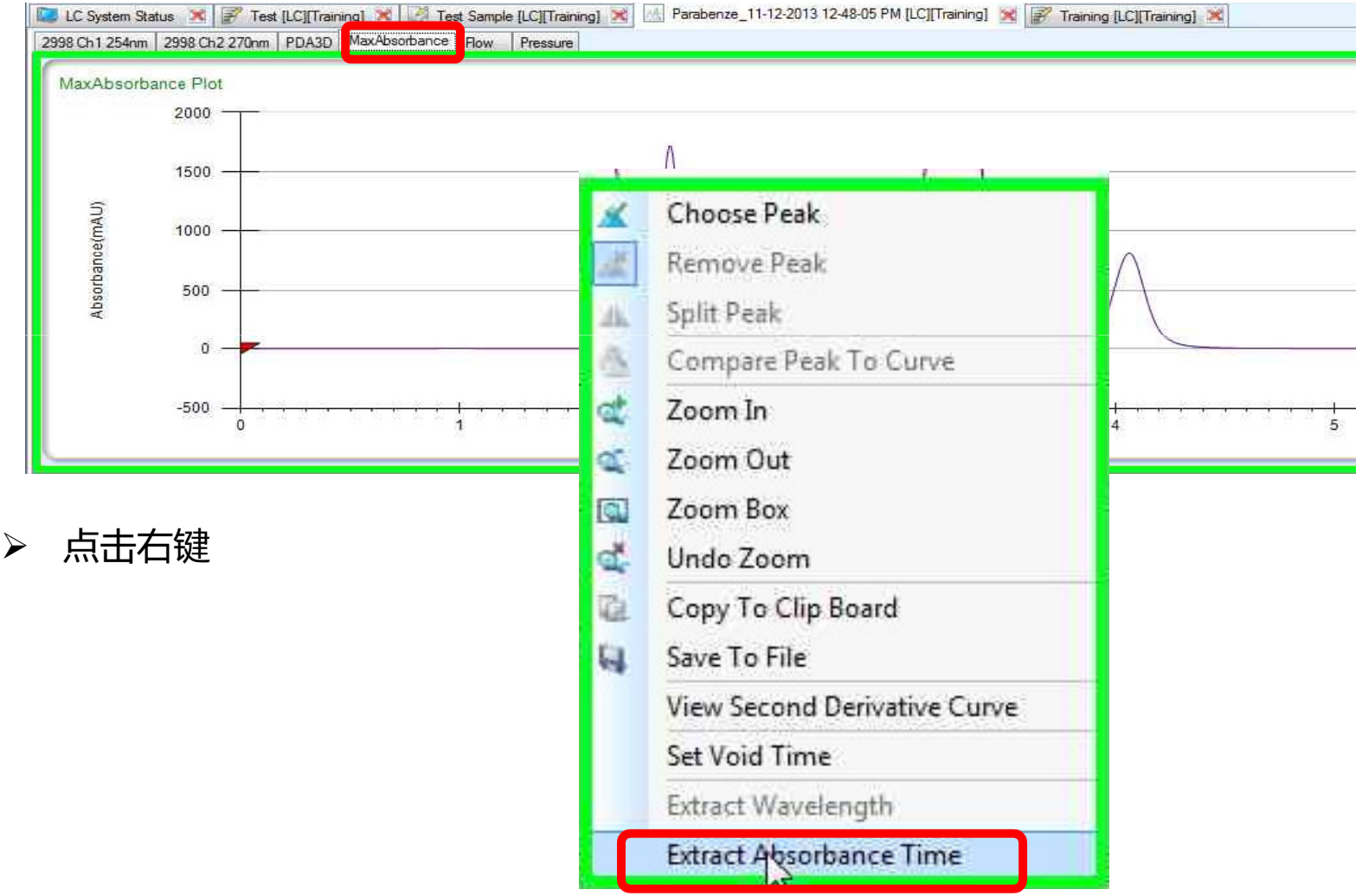
- 在色谱图界面选择“PDA 3D”





3D数据提取

- 在色谱图界面选择“Max Absorbance”

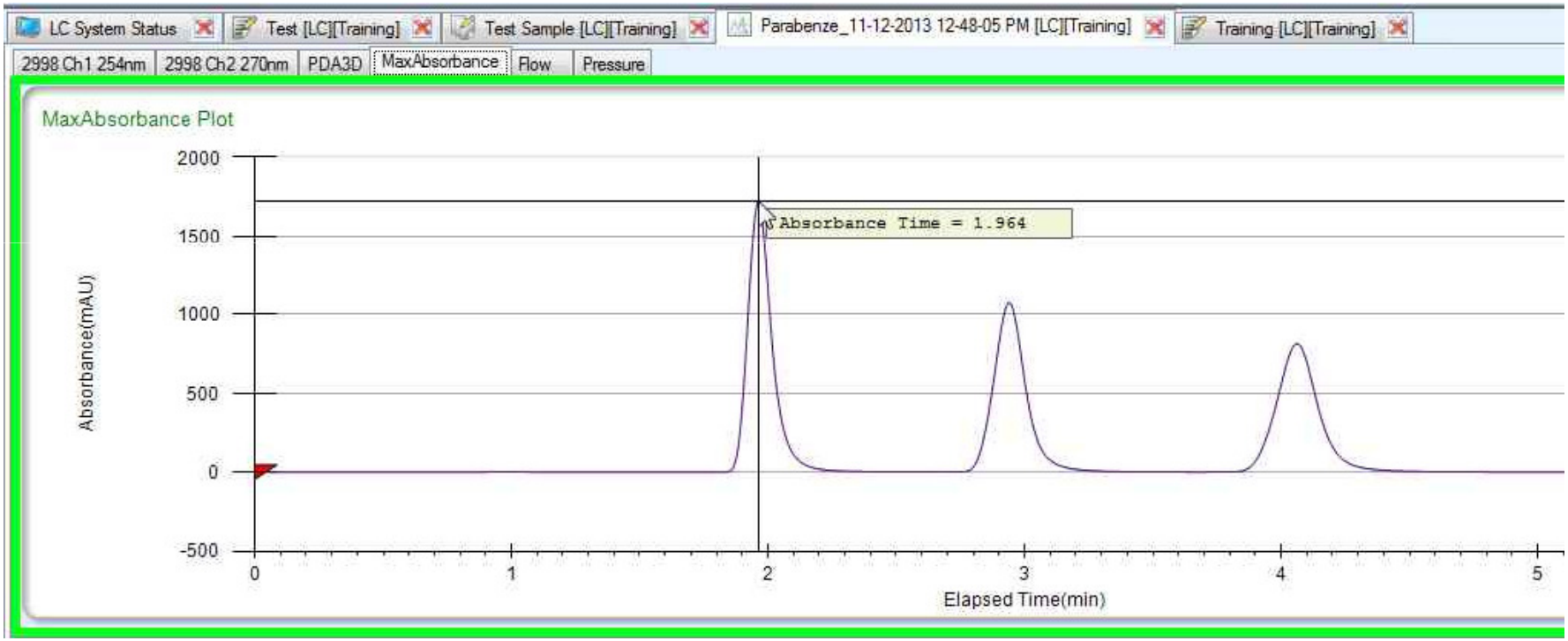


- 点击右键

3D数据提取

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

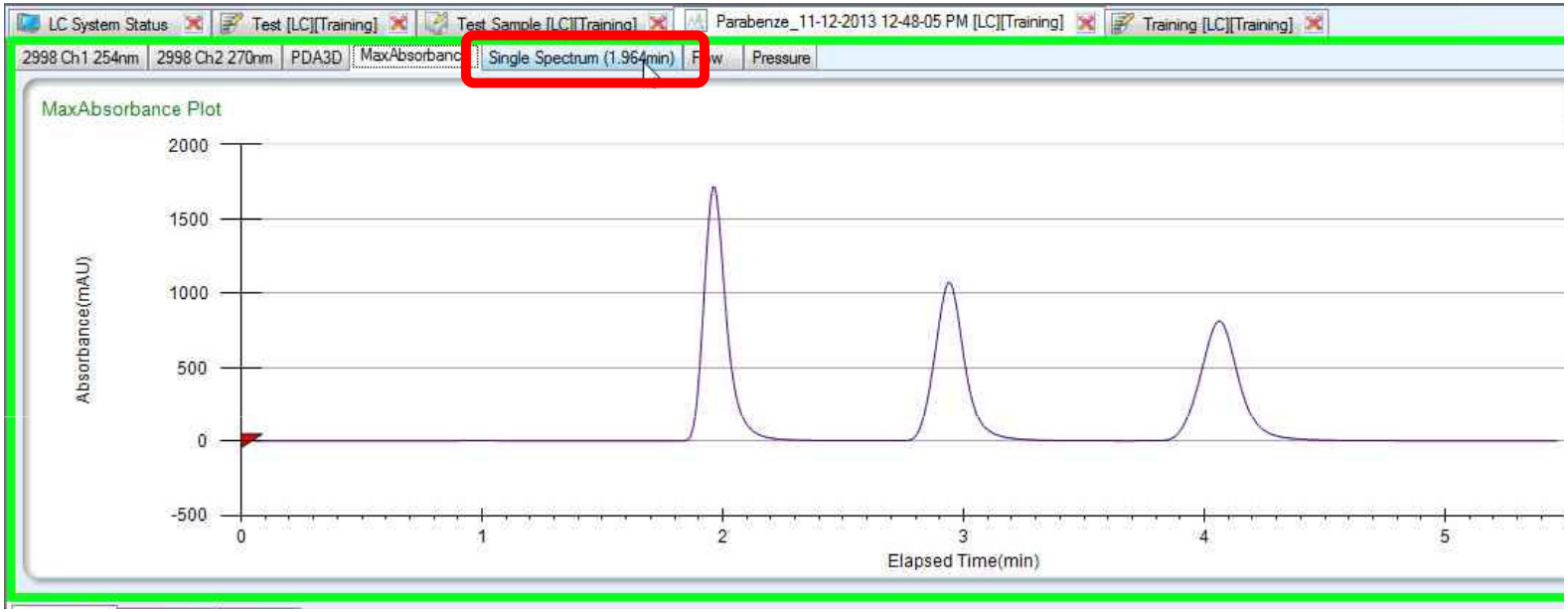
- 选择色谱峰顶点保留时间

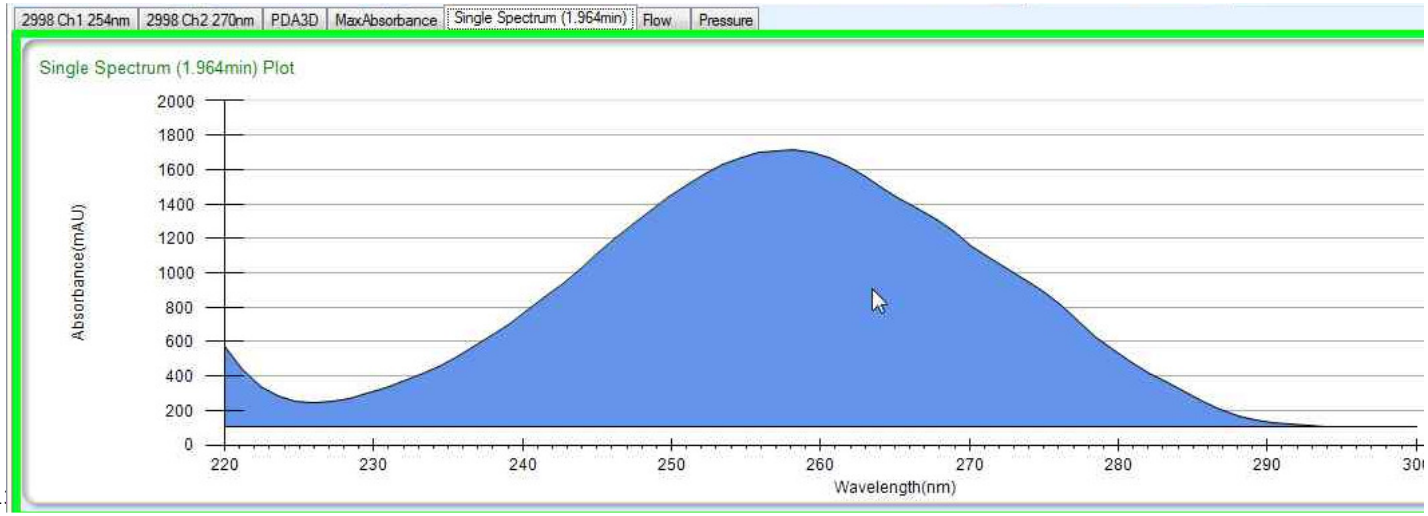


3D数据提取

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 生成该时间点的光谱图

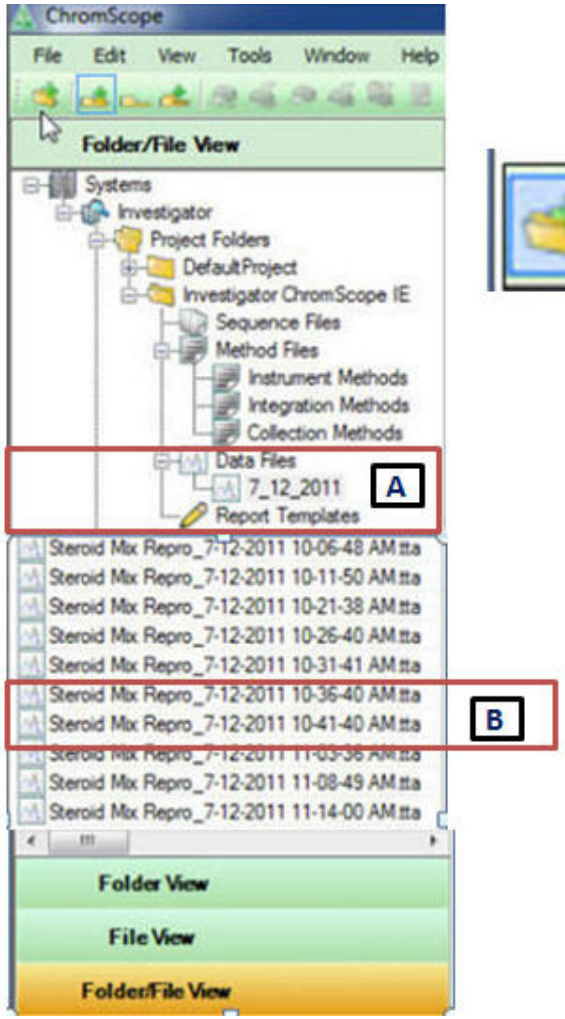


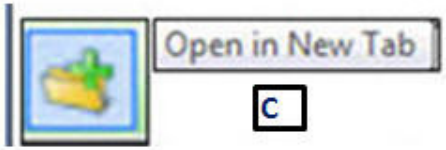


积分方法

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

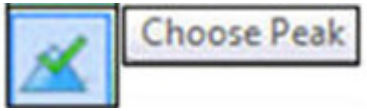
- 首先，选择待处理的数据，并选择合适的显示方式 （请按照A-B-C 三步走）



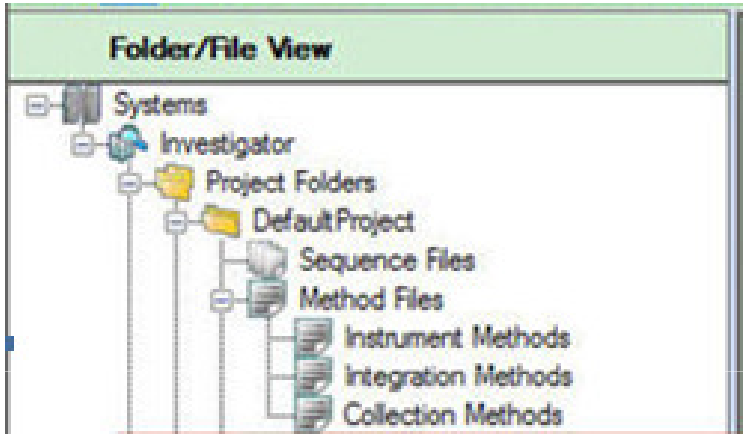


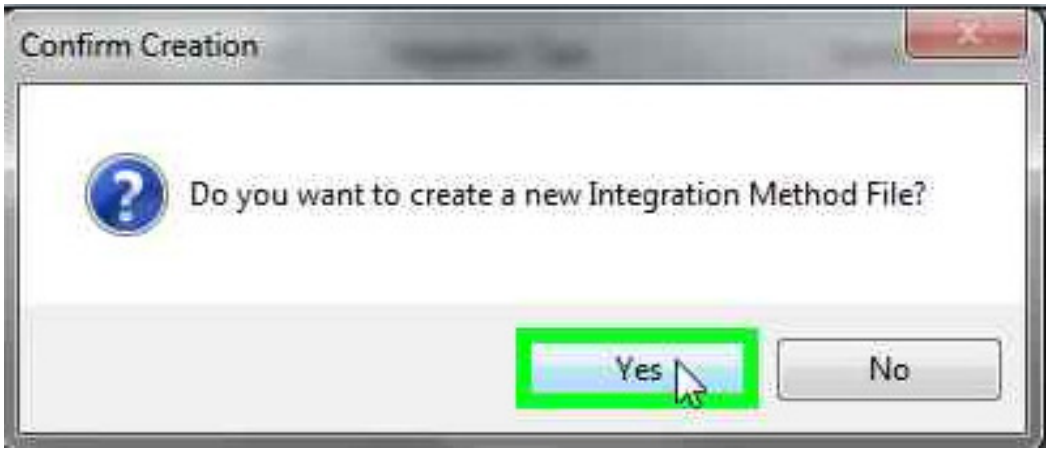
积分方法

- 手动积分：选中手动积分图标，在峰的起点和终点分别点击左键。即可得到峰积分结果



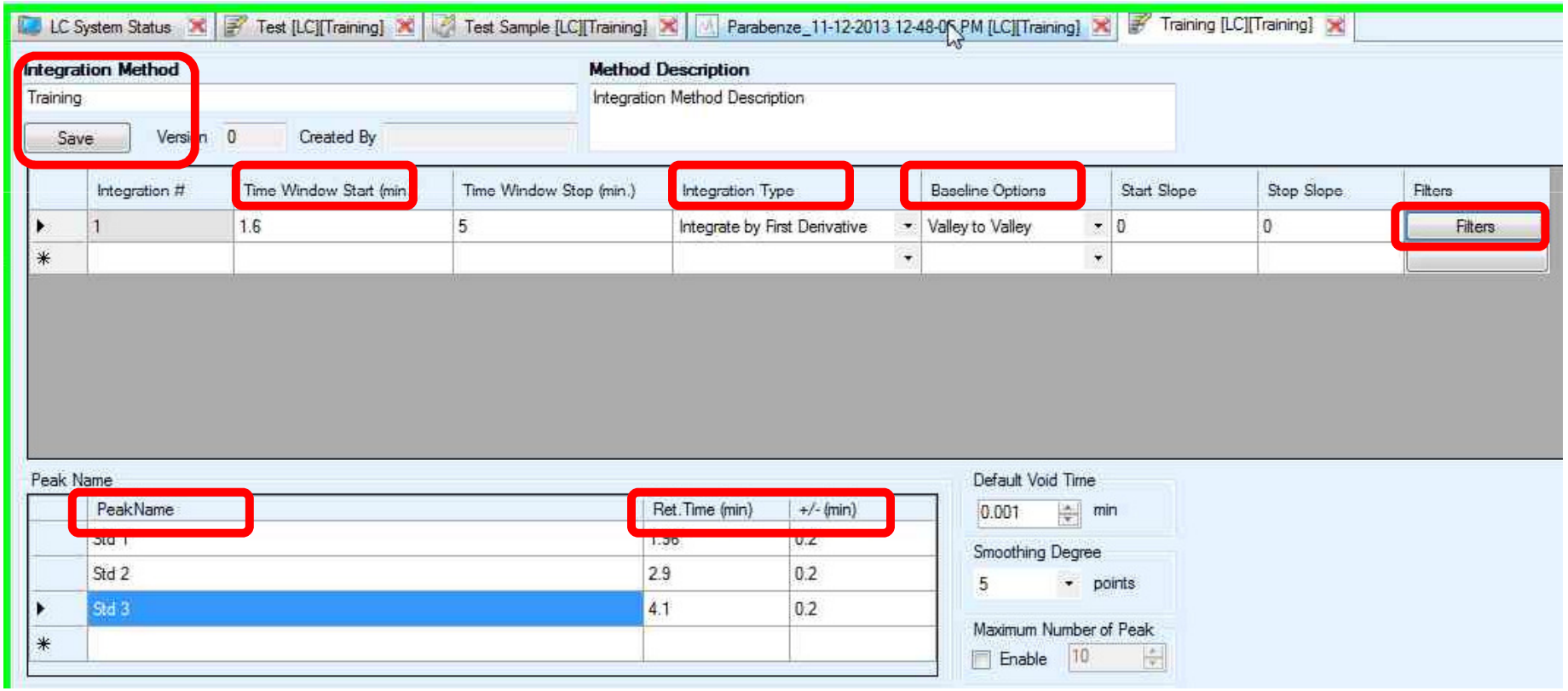
- 自动积分：
  - 先在“Integrate Method”上点击右键“Add New Method”，并点击“Yes”





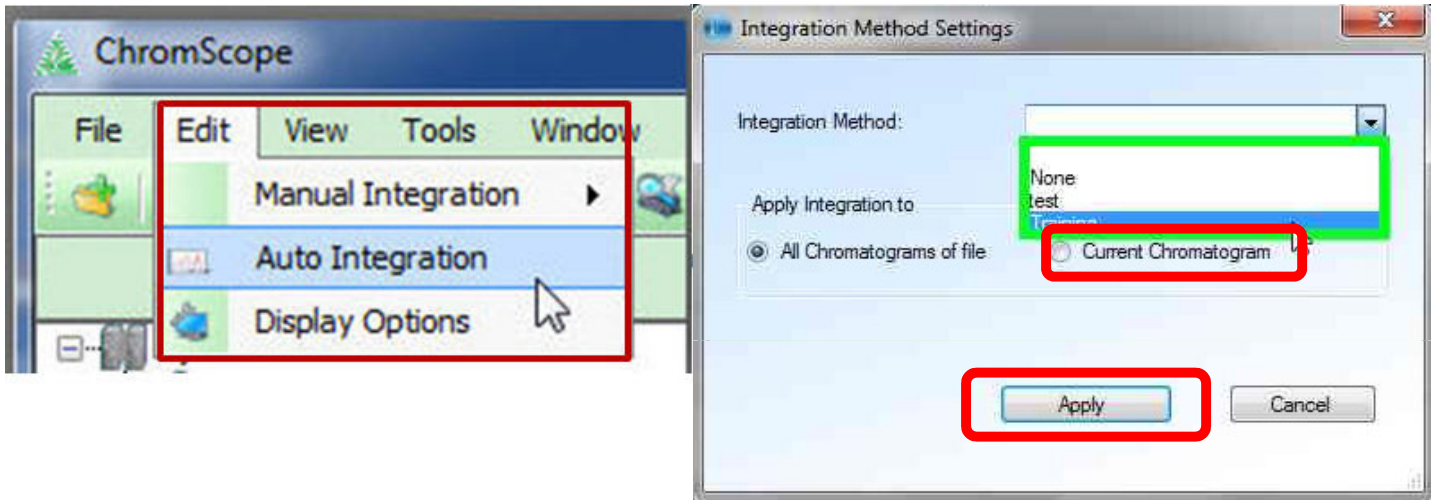
积分方法

- 设置合适的积分参数 （与其他LC软件类似，具体可参照工程师现场讲解以及Help）
- 命名并保存该方法



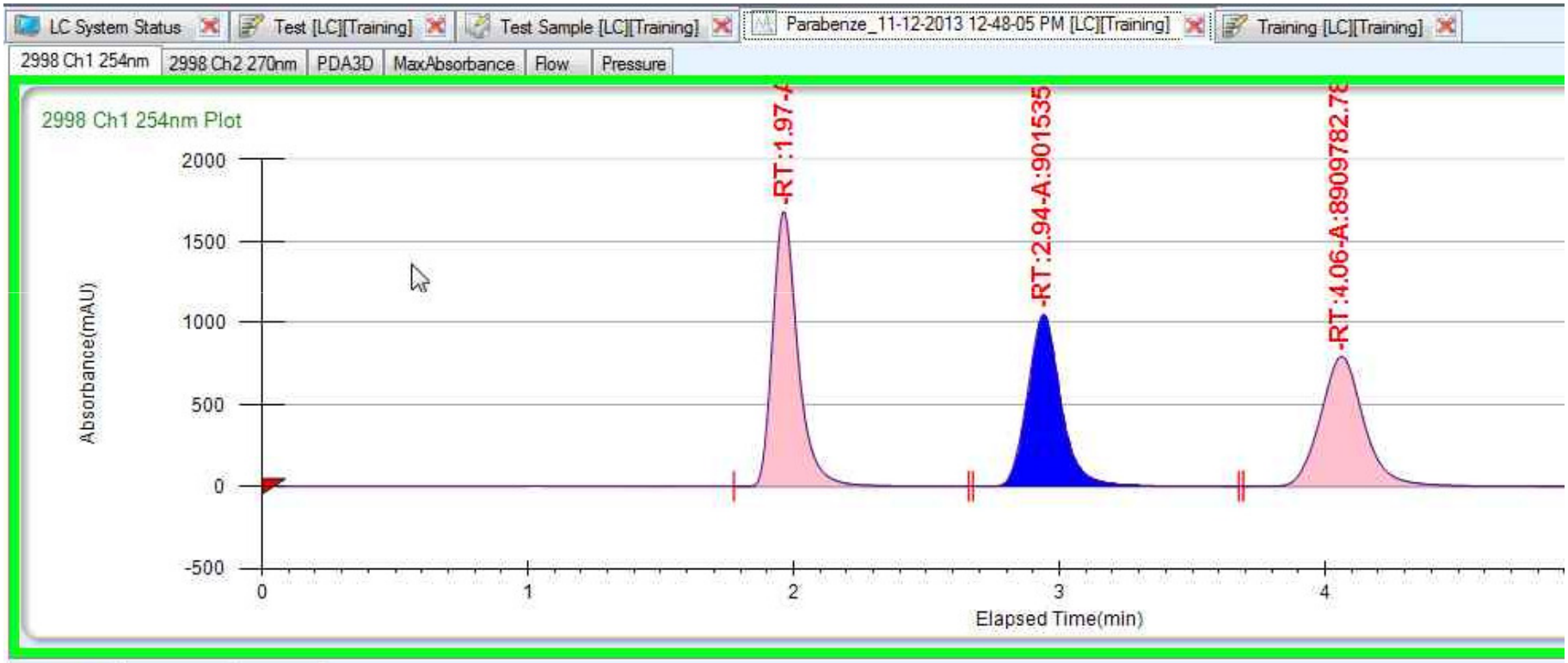
积分方法

- 选择“Auto Integration”

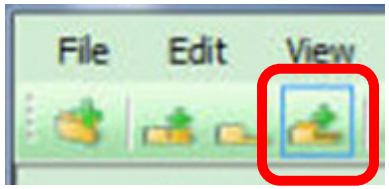


积分方法

- 积分结果会在色谱图以及图下方的表格内显示，具体显示内容由“Display Option”决定



提示：请勿在选择“Overlay”

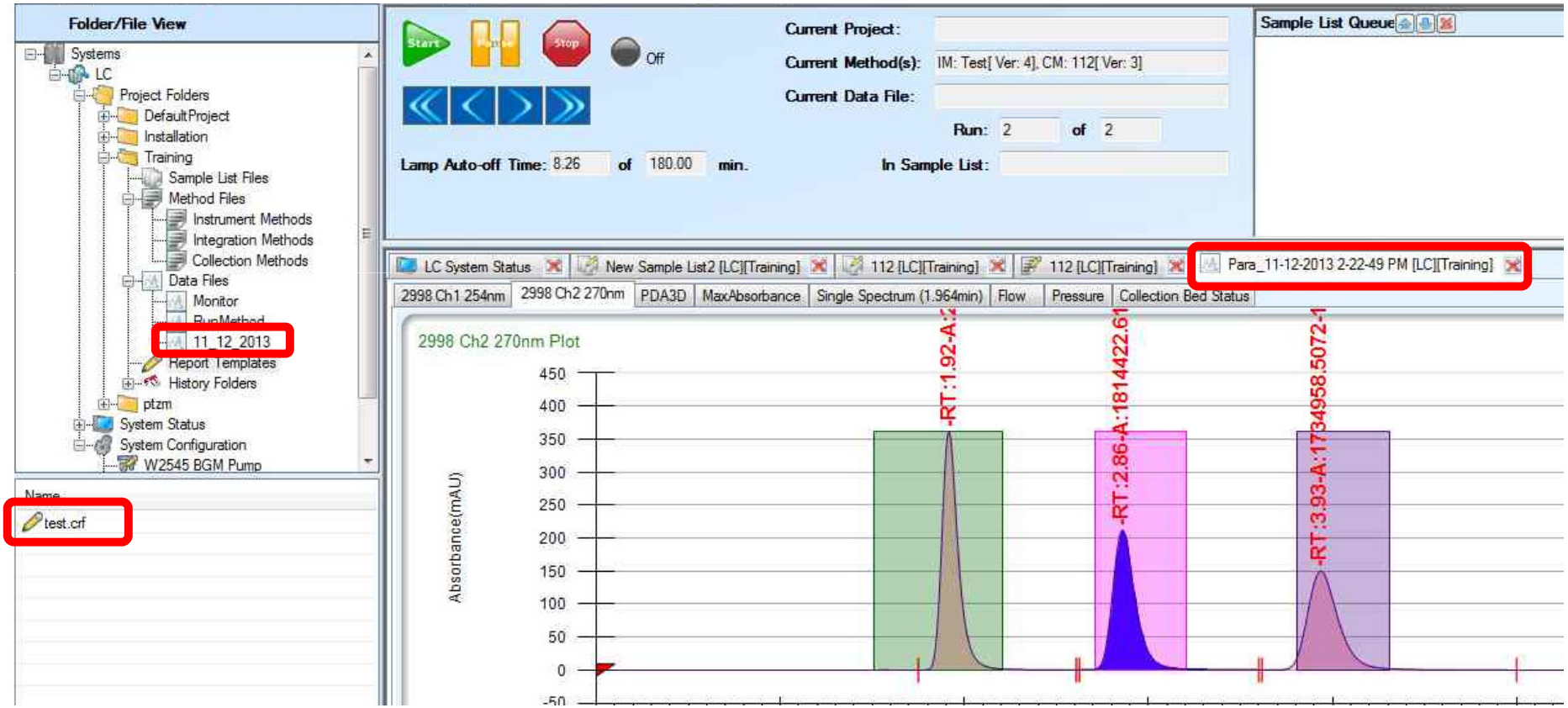


标签的同时积分，无法得到积分结果

报告模板

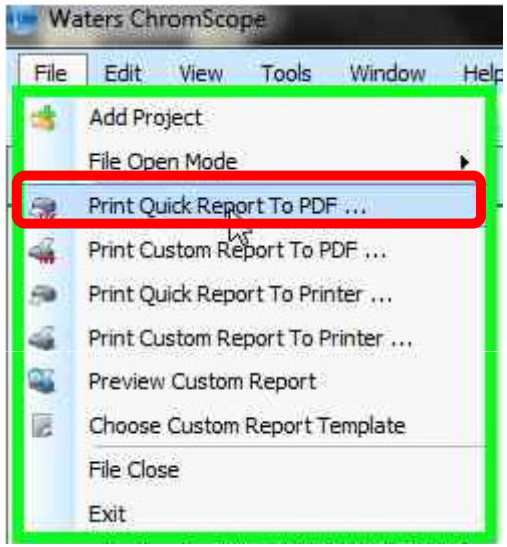
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

A. 选择所要打印的数据



报告模板

A. 选择 “Print Quick Report to PDF”

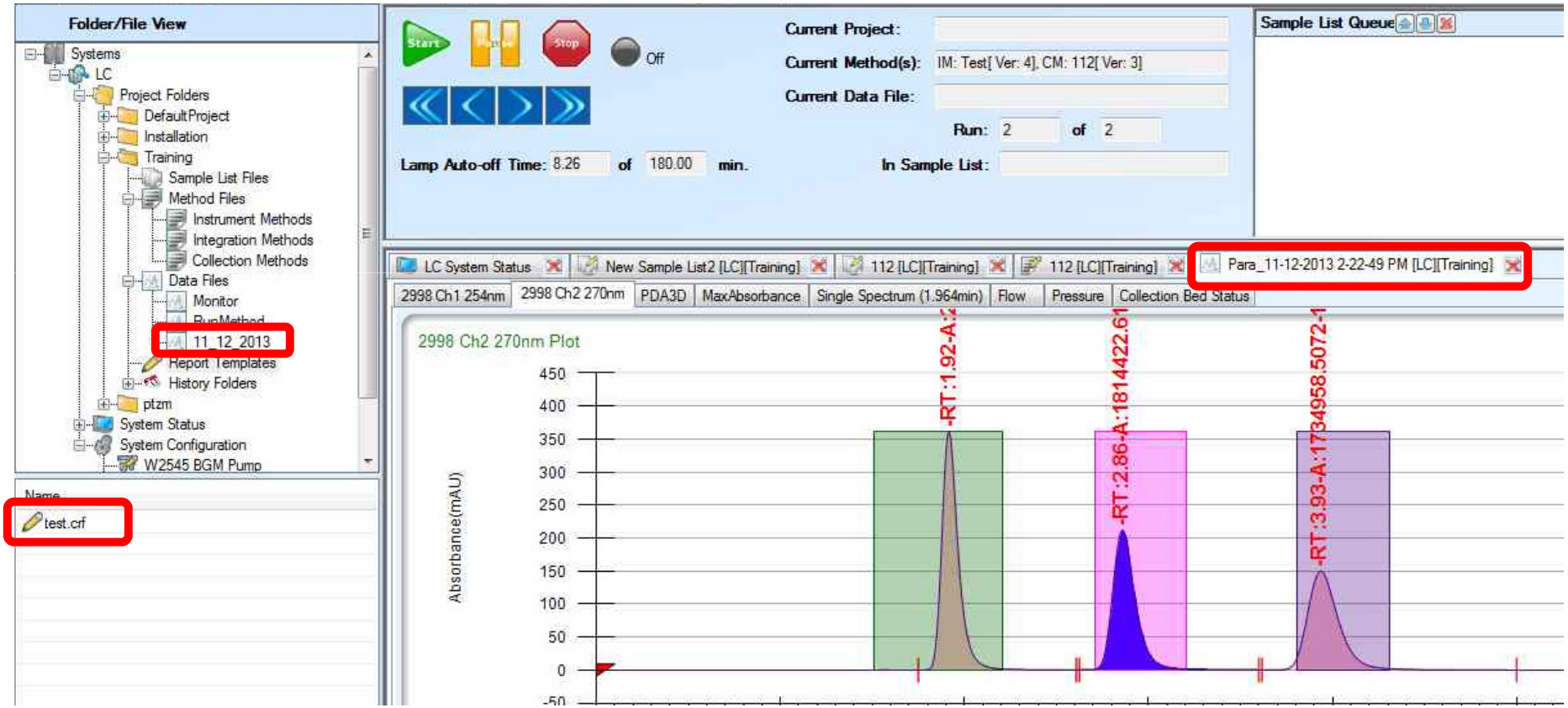


B. 选择存储默认路径或者”Save PDF at …”

C. 所选数据将选择系统默认模板生成一个PDF文件

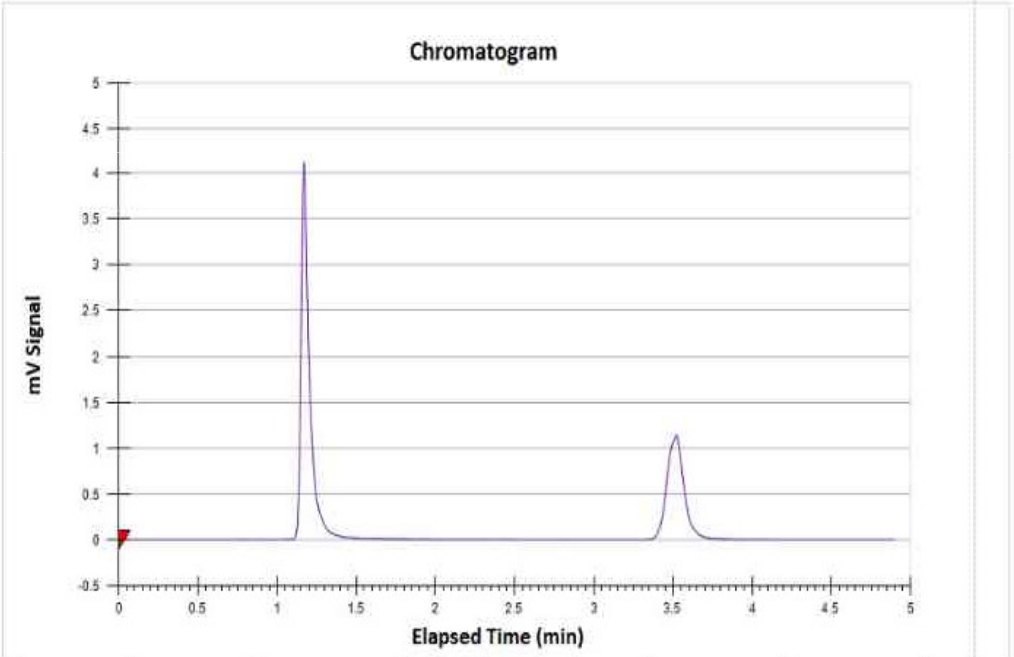
报告模板

- 如需要自定义模板，请选择 “Report Templates” - “Add New report”



新建报告模板

如图所示：

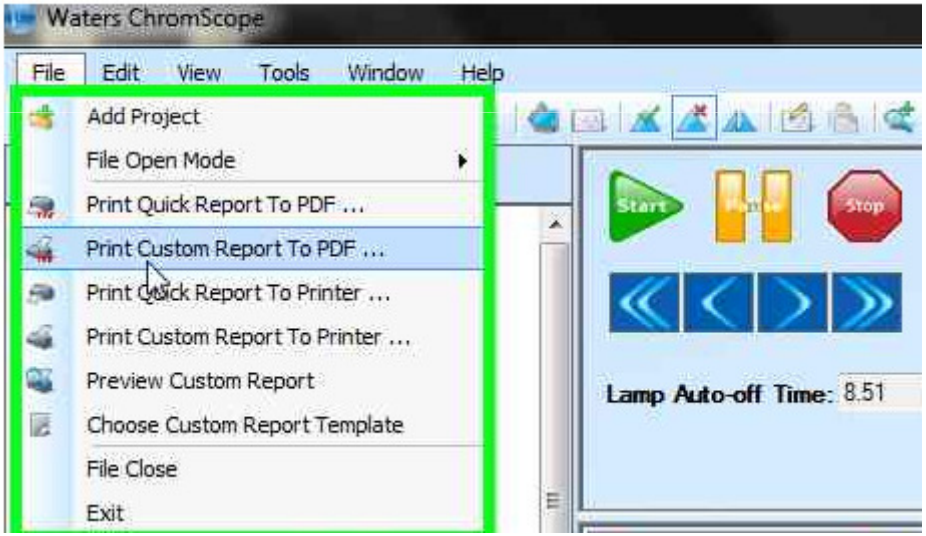


Peak #	Peak Name	Area/Weight	Area/Weight %	Height	Theoretical Plates	Capacity Factor	Tailing Factor	SN Ratio
[Peak #]	[Peak Name]	[Area/Weight]	[Area/Weight %]	[Height]	[Theoretical Plates]	[Capacity Factor]	[Tailing Factor]	[SN Ratio]

新建报告模板

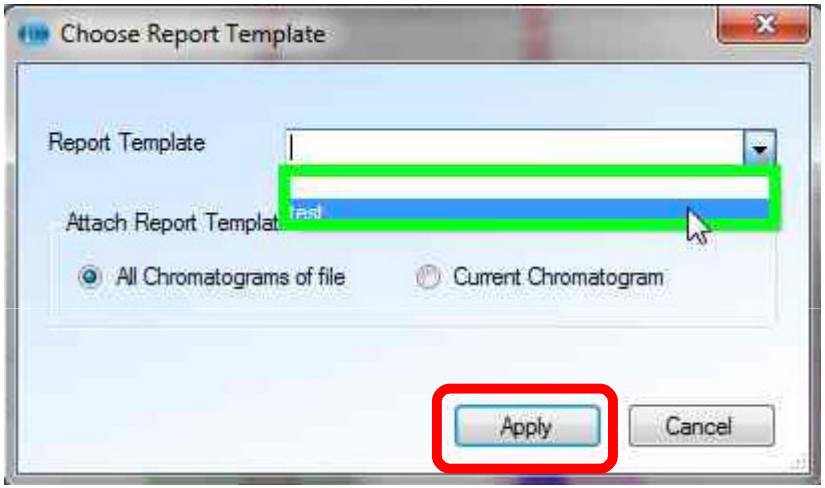
- 表格组成可通过 鼠标右键 “Remove” 进行调整。内容不可改变
- 将建好的模板进行保存

- 如图选择：



新建报告模板

- 在下拉菜单中选择新建立的模板，
  并点击“Apply”

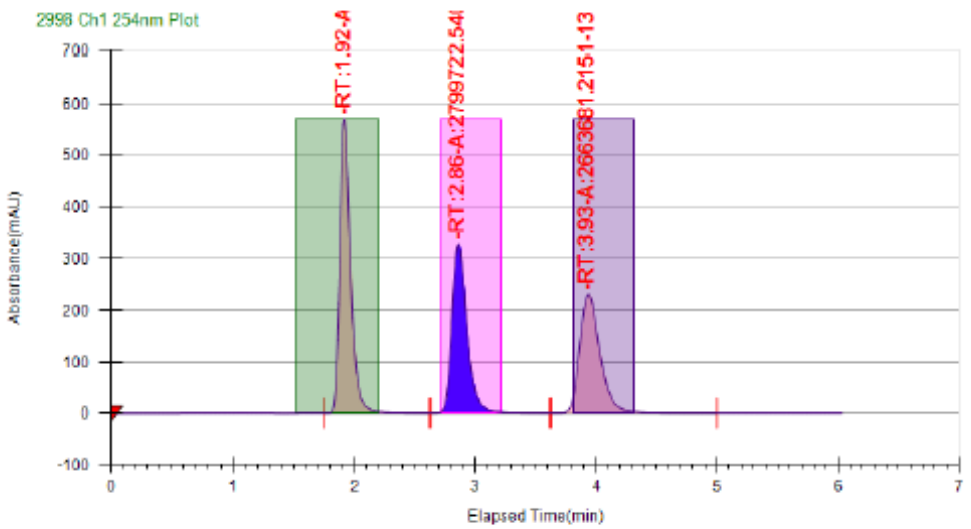


- 指定存储位置，并为PDF报告命名

报告实例

Waters

C:\Program Files (86)\Chrom Scope IEL\CProjects\Training\Data Files\11_12_2013\Para_11-12-2013 2-22-49 P M.tta



General Information

Log Author	Log Date	Report By	Report Date	Notes
Administrator	11/12/2013 2:22:49 PM	Administrator	11/12/2013	

Run Information

Instrument Method	Inj. Vol.	Sample	Well Location	Flow	Pressure
Test	100	Para		15	916

Peak Information

Peak No	% Area	Area	Ret Time	Height	Cap. Factor
1	36.1288	3512221.8596	1.92 min	569.3483	1915.6997
2	31.191	2799722.5403	2.86 min	327.7889	2357.3333
3	29.6754	2663681.2151	3.93 min	229.816	3682.3333

Waters Corporation

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

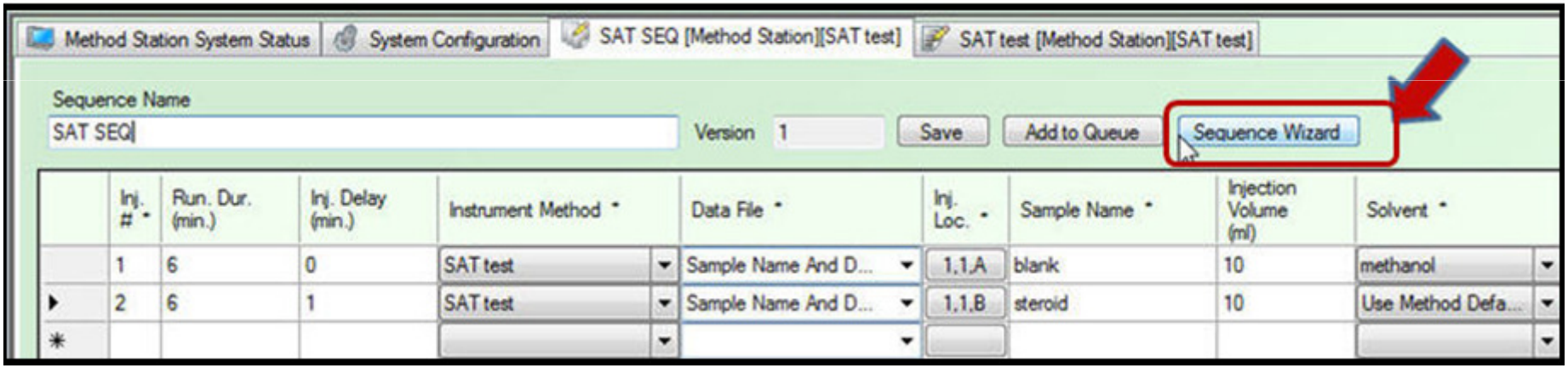
Method Screening
Stacked Injection

注：以上两功能更适合于配置内含有自动进样器的用户

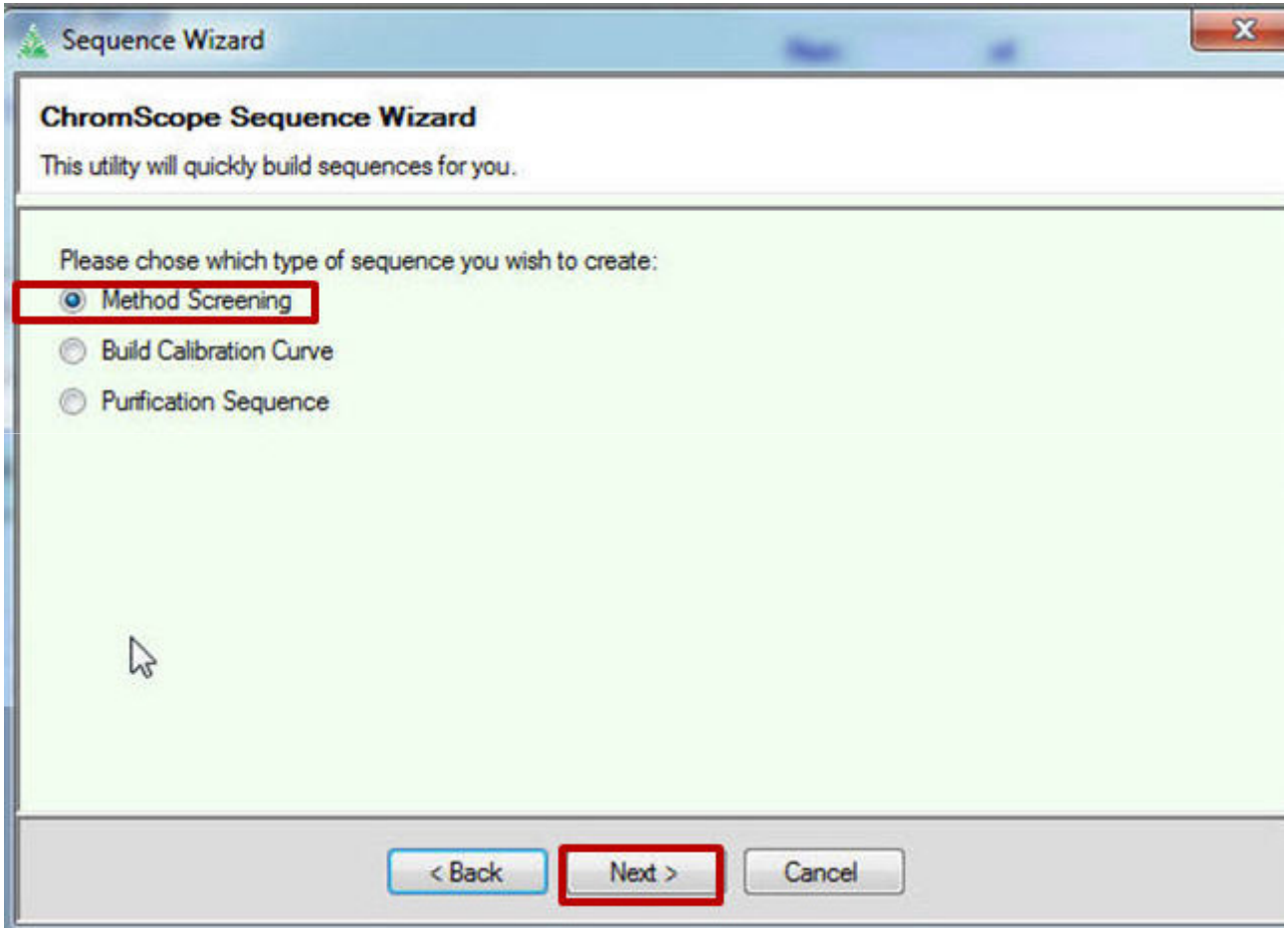
Method Screening

功能介绍 – 适用于方法开发，类似于正交实验。同一样品使用不同的柱子以及流动相进行分析分离

具体操作 - 使用 Sequence Wizard



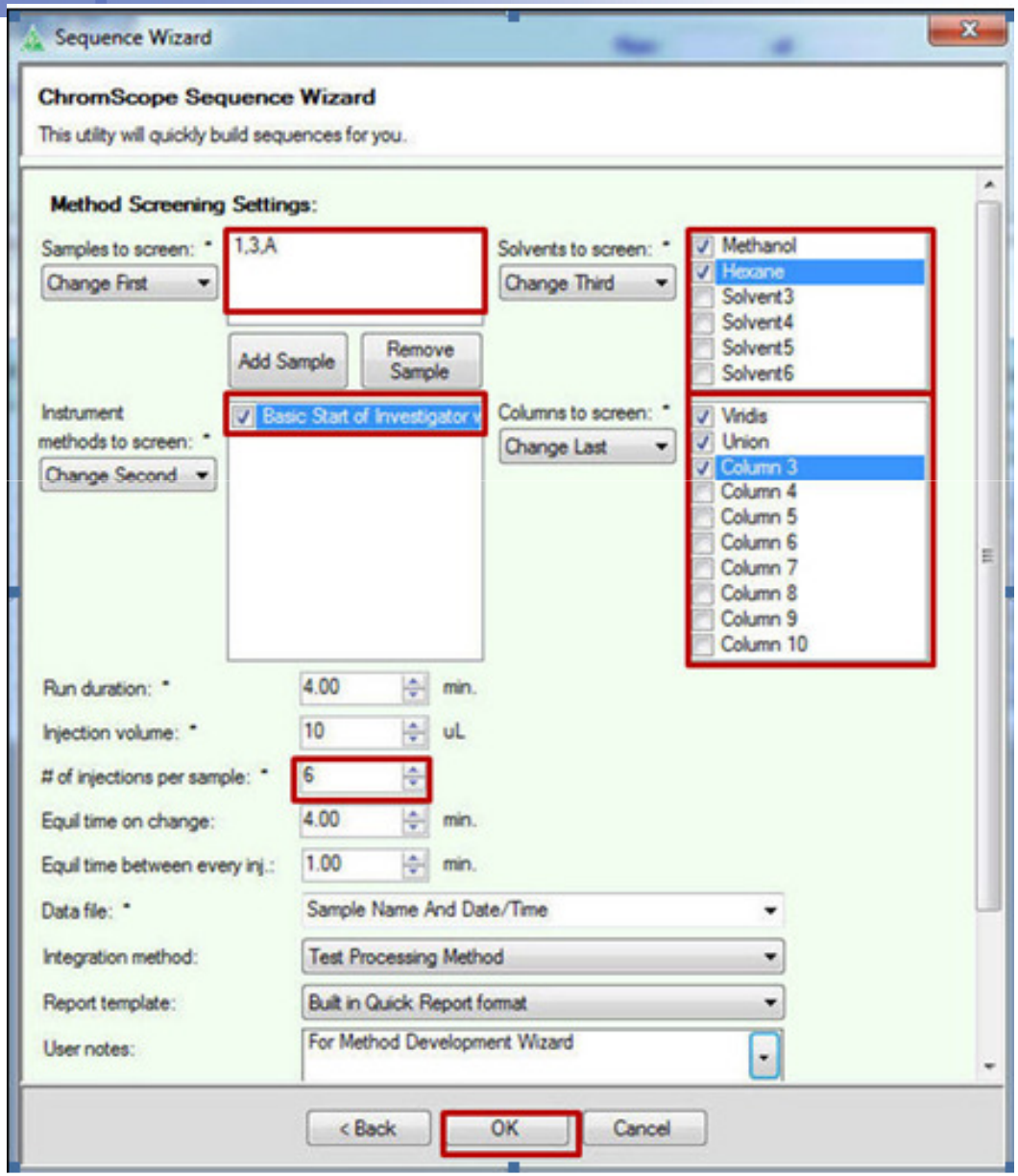
Method Screening



Method Screening

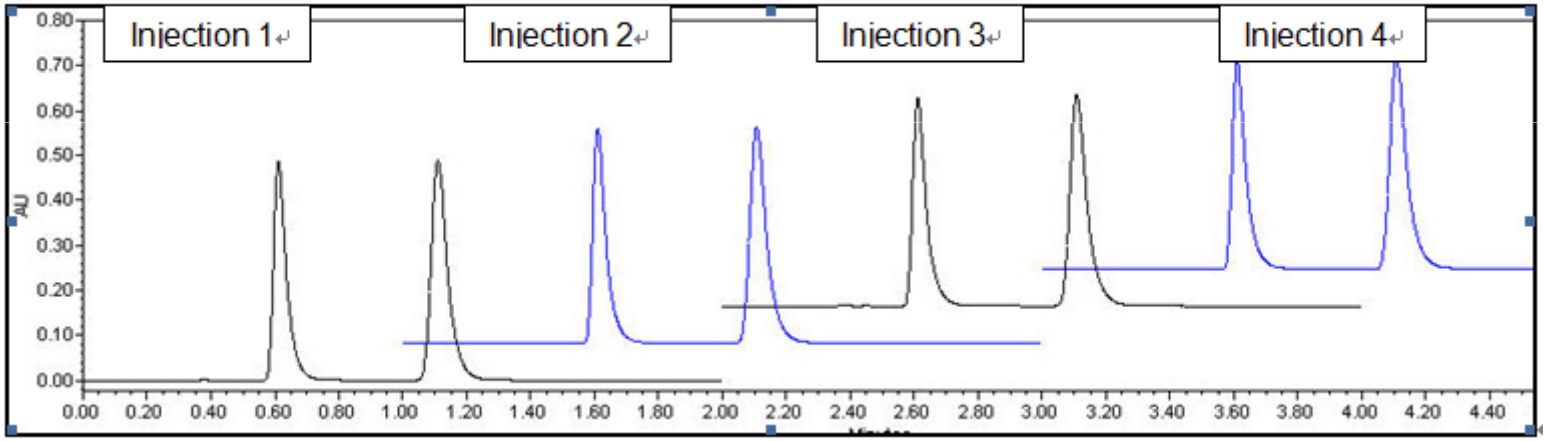
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 设置界面
  - 依次选择样品、方法、溶剂以及色谱柱
  - 设置其他共性参数



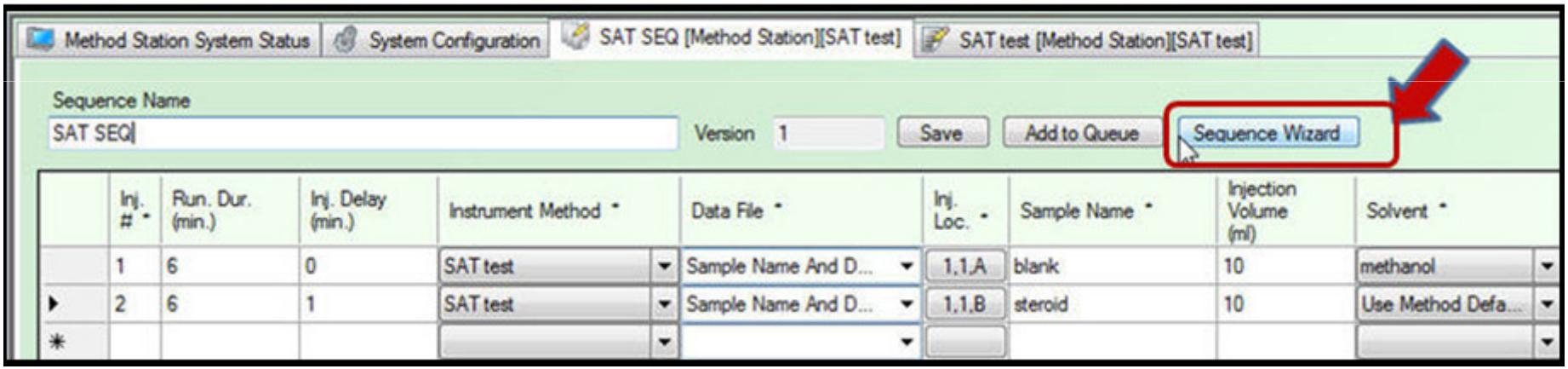
Stacked Injection

- 功能介绍 – 采用序列进样的方式，在第一次进样结束之前进行第二次进样，在第二次进样结束之前进行第三次进样，以此类推。从而大大缩短大制备量样品的采集时间，并有效地节约了溶剂。

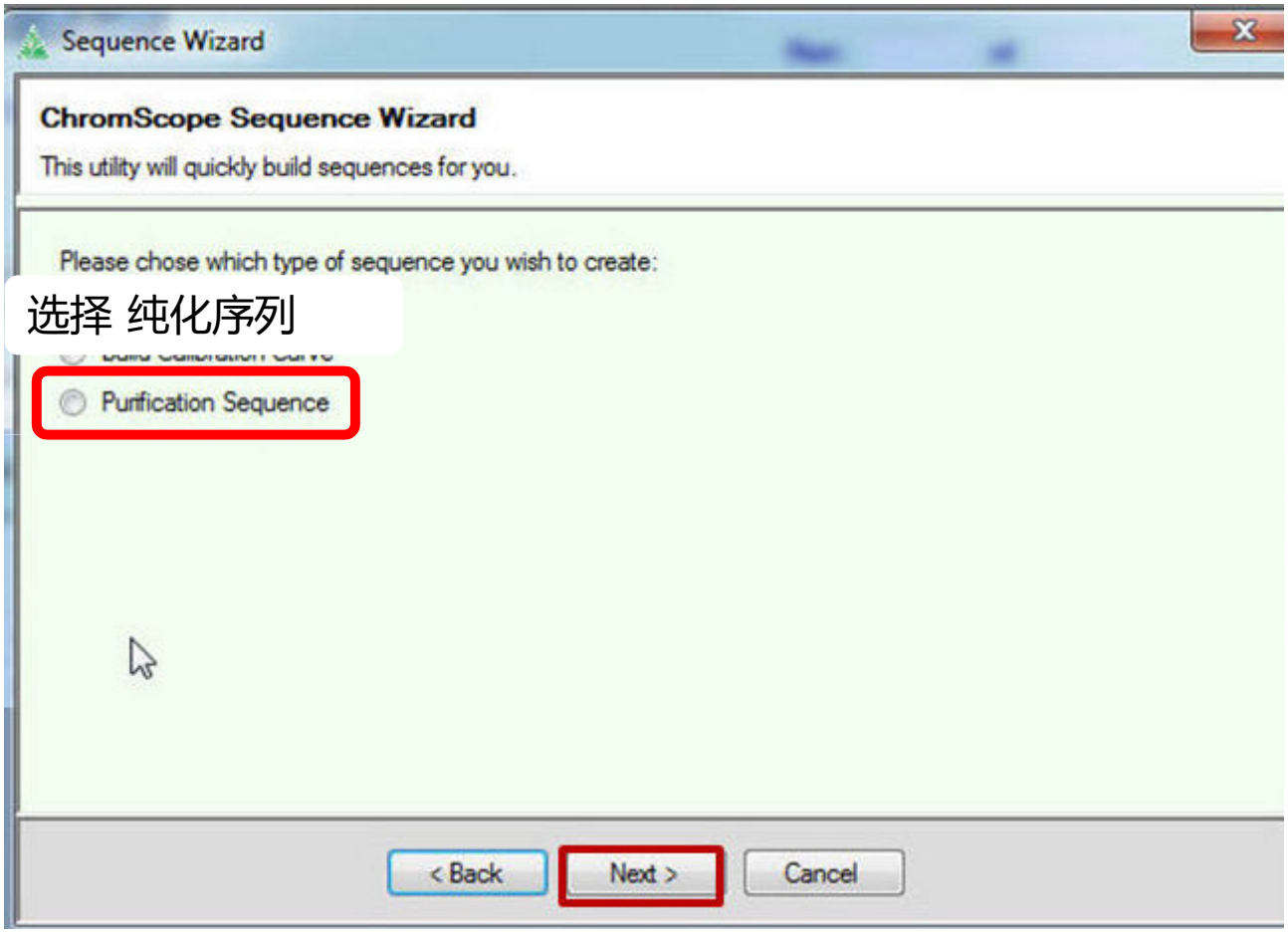


Stacked Injection

具体操作 - 使用 Sequence Wizard



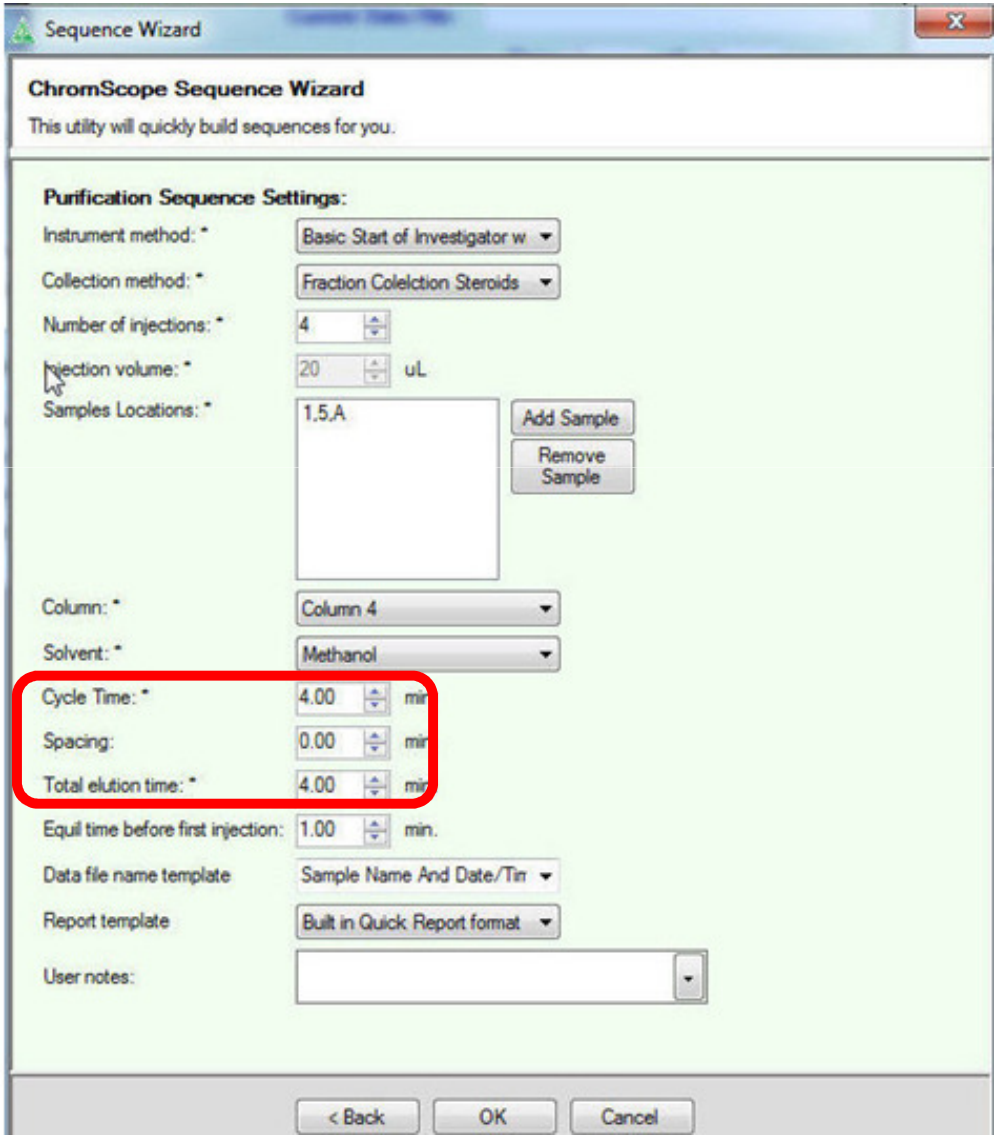
Stacked Injection



Stacked Injection

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 设置通用参数
- 设置特殊参数
  - Cycle Time
  - Spacing
  - Total elution time

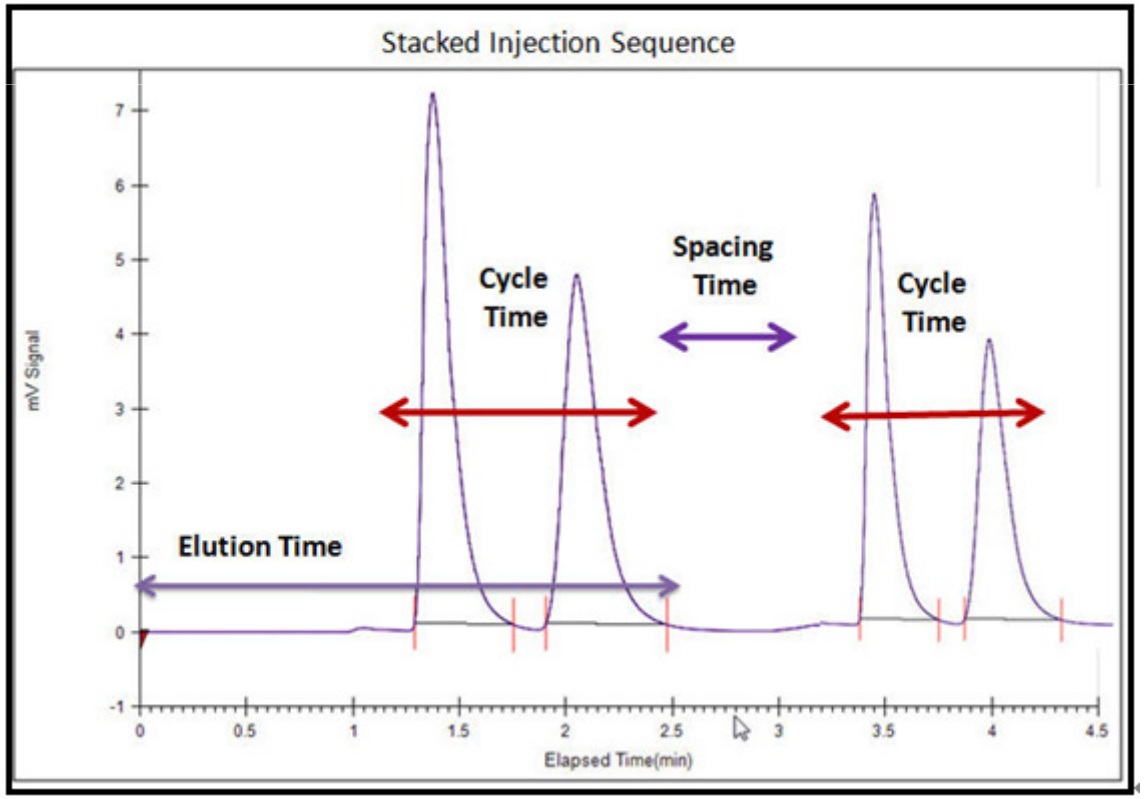


Stacked Injection

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

➢特殊参数

- •Cycle Time　　被收集组分的起峰时间点至最后一个收集组分的落峰时间点之间的时间间隔
- •Spacing　　Stacked 进样峰之间的时间间隔
- •Total elution time　单次进样的运行时间



Thanks

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™