


# ACQUITY UPLC™ HClass操作规程

## 一.开机程序

1. 首先制备新鲜流动相和清洗液(详见细则)
2. 打开计算机电源,进入Windows7操作系统
3. 依次打开SM-FTN样品管理器,QSM四元溶剂管理器电源,待各部件通过自检完成 (Power状态灯右边Run状态灯由红色变为熄灭)
4. 双击桌面Empower图标,输入用户名和密码,进入Empower3 QuickStart界面 (默认用户名: system 密码:manager)
5. 打开UPLC控制台(图标  在运行样品界面,样品管理器Sample Manager-FTN控制面板右下角)
6. QSM泵和SM-FTN样品管理器启动准备操作 (详见细则)
7. 设定0.2ml/min左右流速100%纯乙腈或甲醇,冲洗检测池5min (若为ELSD检测器,流动相进入检测器前,确保检测器氮气已开,且漂移管温度已升至目标温度)
8. 打开TUV(PDA)、FLR、ELSD检测器电源 (若为ELSD检测器,打开电源前确保氮气钢瓶出口压力已调节至100psi左右)
9. 待检测器通过自检以后,在控制台界面菜单**控制Control** > **重设RESET** 重设检测器通讯

10. 设置柱温箱温度，以仪器方法初始流动相比例0.2ml/min流速平衡系统
11. Empower3软件中创建方法组，调用仪器方法监测基线，待系统压力稳定（一般压力波动小于50psi），基线稳定后，开始进样进行 UPLC 分析实验
12. Empower3软件数据处理
13. Empower3软件出结果报告

## 二.开机细则

### 1. 制备新鲜流动相和清洗液

#### 1) UPLC对流动相的要求

- 有机溶剂要求用色谱纯(最好进口可靠名牌)
- 水或缓冲盐溶液要用质量可靠超纯水(18.2M $\Omega$ )当天制备

#### 2) UPLC对清洗溶液的要求

- Wash洗针液（白色标签管路使用）：反相色谱通常使用较高比例的甲醇/水或乙腈/水(如:80/20)，也可根据具体的应用分析选择易将样品冲洗掉的溶液为洗针液
- Purger冲洗溶液（橙色标签管路使用）：通常使用含低比例有机相的水溶液(如:10%甲醇或乙腈/水溶液)

- 清洗柱塞密封垫Seal Wash（棕色标签管路使用）溶液：

通常使用为含5%-10%甲醇的超纯水溶液

**\*特别提示：以上溶液使用前需注意**

- 用0.22  $\mu$  m的可靠滤膜过滤（最好进口滤膜）并脱气2min
- 用洁净的玻璃容器盛放，避免污染
- 溶剂间的互溶性，若为缓冲盐流动相，使用前需用高比例水相溶液如90%水/甲醇或乙腈溶液过渡冲洗整个系统30倍柱体积

## 2. UPLC HClass系统启动准备操作

### 1) 四元溶剂管理器QSM启动准备操作

*注意：先选中UPLC控制台左边竖列中四元溶剂管理器*

*Quaternary Solvent Manager*

#### A. 灌注柱塞杆清洗液(Prime Seal wash)

- 点击菜单*控制 Control > 灌注柱塞杆清洗 Prime Seal wash*  
时间可设为 3 分钟

**\*注意：为避免污染，请勿循环使用 Seal wash 清洗液**

#### B. 溶剂管路灌注 (Prime Solvents)

- 点击菜单*控制 Control > 灌注溶剂 Prime Solvents* ，勾选需要灌注的溶剂管路 A、B、C 或 D，通常灌注时间可设定

为 3 分钟；如果长时间停机，如超过 7 天，可适当延长灌注时间，如 5 分钟，点击开始 **Start**

*注：灌注时流速已设定为 4ml/min，各溶剂管路依次灌注，如勾选 A、B、C、D 4 个溶剂管路，灌注 3 分钟，则总灌注时间为 12 分钟*

## 2) 样品管理器 Sample Manager-FTN 启动准备操作

*注：选中 UPLC 控制台左边竖列中样品管理器*

**Sample Manager-FTN**

### A) 灌注清洗溶剂

- 点击菜单 **控制 Control > 灌注 Prime**，勾选清洗溶剂 **Wash Solvent** 灌注洗针溶液，时间默认为 15 秒；勾选冲洗溶剂 **Purge Solvent** 灌注样品注射器，默认为 5 个循环，确定

*建议：如果更换 Purge 溶剂，至少进行 5 次循环灌注；如果样品注射器中有气泡，可适当增加灌注次数如 10 次，若反复灌注仍不能将气泡排出，可更换为纯甲醇进行灌注至气泡排出，然后将 Purge 管路放回低比例有机相的 Purge 溶液中，再做灌注 5 次*

*注意：不要使用缓冲盐或酸溶液作为洗针 wash 或冲洗 purge 液*

## 3. 样品制备注意事项

- 尽量用流动相溶样
- 用0.22um针头式过滤器过滤
- 使用UPLC适用的Waters标准样品瓶

**注意: 不要使用非Waters指定的样品瓶, 以免损坏进样针**

## 三. 关机操作

- 如果实验中使用缓冲盐或酸溶液, 需用高比例超纯水如90%水溶液清洗色谱柱及系统, 冲洗体积至少为100倍色谱柱体积
- 待系统中缓冲盐冲洗干净, 用适当比例乙腈或甲醇/水溶液如60/40冲洗系统50倍色谱柱体积 (可视情况调节)
- 用纯有机溶剂(乙腈或甲醇)冲洗系统50倍柱体积 (可视情况调节), 若长时间停机如大于7天, 用纯甲醇冲洗整个系统10分钟
- 缓慢降低流速至零, 关闭UPLC控制台和Empower各应用界面, 退出Empower工作站。(若长时间停机如大于7天, 需将色谱柱从系统中取下用死堵头封好放入色谱柱盒保存)
- 依次关闭TUV/PDA检测器, QSM溶剂管理器和SM-FTN样品管理器电源
- 关闭计算机。关闭插座电源。