

Waters HPLC 仪器培训讲座

2008.10.22 蒙牛

培训时间安排

- **Waters HPLC 仪器的使用和保养相关知识。**

- 2008-10-22 下午 14:00-14:40

- 提问**10**分钟

=====

- **Waters HPLC 仪器常见故障以及处理方法。**


- 2007-6-29 下午 14:50-15:30


- 提问**10**分钟

自我介绍

■ Waters 北京办事处 维修部

■ 孔钊 维修工程师

■  800-820-2676 (座机免费)
400-820-2676 (手机免费)

■  北京 朝阳区八里庄西里98号 住邦2000 3号楼 22层

Waters HPLC 仪器的使用和保养 相关知识



2695+柱温箱

2489

Empower2

流动相及溶剂瓶

使用HPLC试剂/溶剂，含缓冲盐的流动相过0.45 μm膜除去微粒物质；更换流动相时，应彻底清洗，防止交叉污染。

定期清洁溶剂瓶及配件，防止长微生物。

输液泵

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



2695

密封垫易损坏引起故障，每天实验结束一定要认真冲洗泵，减少密封垫损耗，并注意防止堵塞，使用缓冲盐流动相时，更要小心。

使用HPLC级试剂，注意泵压力不要太高，要适当调整压力，一般压力上限在3500-4000PSI，下限为50PSI，注意防止因泵堵塞造成压力过高损坏柱塞杆或烧坏电机。

正确使用您的色谱泵：

- 使用高品质的溶剂
- 溶剂过滤（注意滤膜的选择）
- 脱气溶剂
- 柱塞杆清洗
- 注意调节流量时的变化速度

进样器



2695

停机前一定冲洗干净进样器内残留的样品或缓冲盐，防止样品和无机盐沉积造成样品交叉污染，硬件磨损或管路堵塞。

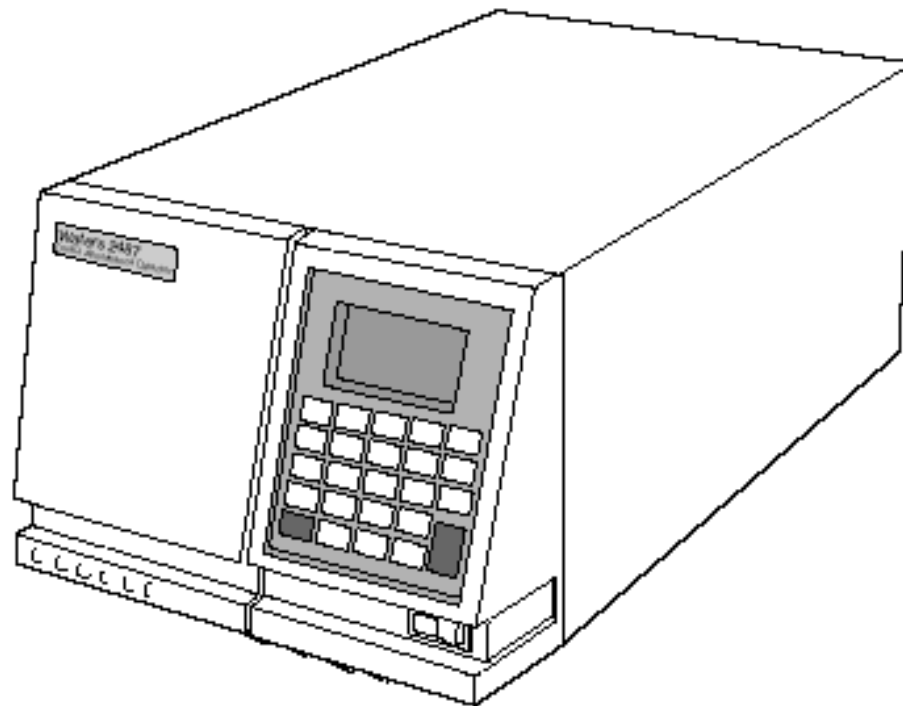
注射器，样品瓶最好使用仪器自配的，不要用其它仪器的。

柱——防止柱性能下降

- 1 溶剂的化学腐蚀性不能太强；
- 2 避免颗粒物在柱头沉降；
- 3 柱压不能太高，防止冲击太大；
- 4 流动相pH值小于7时，最好用大粒度同种填料的预柱；
- 5 柱头加滤片（烧结不锈钢），需要时加保护柱；
- 6 经常清洗柱；
- 7 长时间不用时要保存好，一定要洗去缓冲盐，加入大于10%有机溶剂，将柱两端拧紧，保持柱填料湿润。

检测器

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



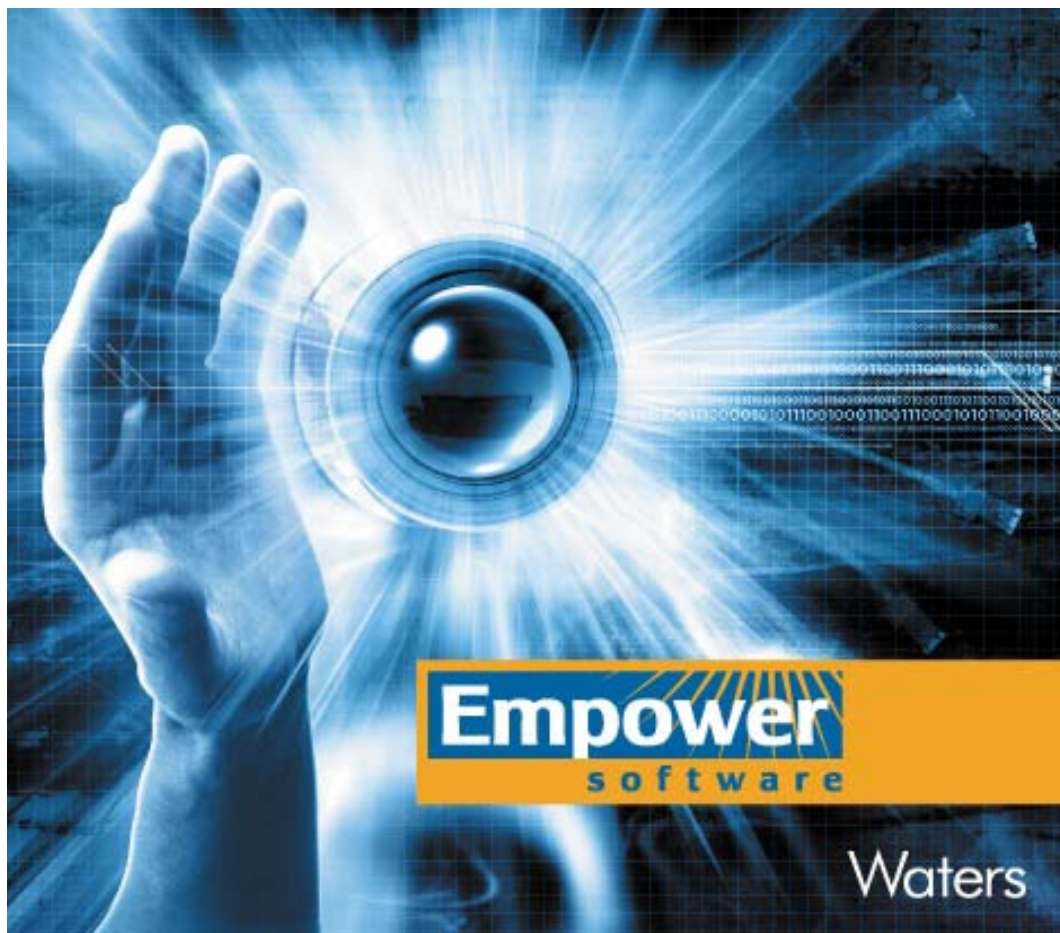
2489双波长紫外检测器

保持清洁，每天用后与色谱柱一起清洗；

使用脱过气的流动相，防止气泡滞留池内；

检测器灯有一定寿命，超过4小时不用时可以不开灯。

Waters Empower2



Empower 色谱工作站：

- 尽量使用正版软件；
- 防止网上病毒损坏软件；
- 不装杀毒软件；
- 不做与实验无关的操作。

提问时间

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Waters HPLC 仪器常见故障 以及处理方法

1、流动相及溶剂瓶

■ 脱气不充分（噪声大，出毛刺）

用He脱气（600，2695）

真空脱气（Degasser，2695，1525）

超声脱气（超声波清洗器）

1、流动相及溶剂瓶

- 流动相供给不畅，泵压力不稳
流动相接近用完
溶剂滤头堵塞
(有颗粒，长霉)



溶剂过滤头

1、流动相及溶剂瓶

■ 溶剂瓶或流动相被污染

产生有规则的噪声；

基线上升，梯度洗脱出鬼峰；

原因：

溶剂质量差（含杂质多）；

配流动相的玻璃器皿不合格，微生物影响；

配制流动相的操作不当（过滤、脱气、搅拌）。

2、输液泵

■ 单向阀

a. 球和阀座粘在一起，堵死，打不出溶剂，（缓冲盐流动相）

用高质量的溶剂冲洗，不同极性溶剂冲洗，如水、甲醇、异丙醇、二氯甲烷...，更换新单向阀。

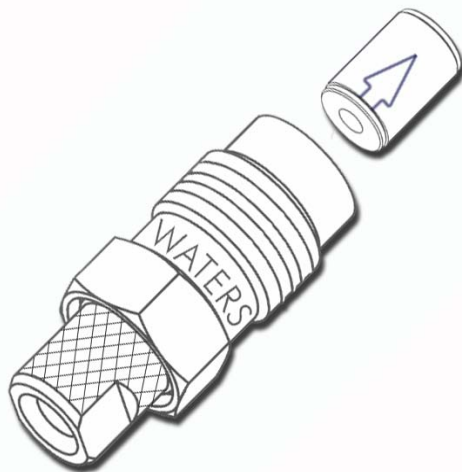
2、输液泵

- b. 球和阀座密封不严，压力不稳，气泡进入阀中，紧贴在阀体内，使球难以返回阀座，引起倒流，压力和流速变化大，可能有小晶体颗粒。

清除气泡的办法：打开排液阀，大流量冲洗，用脱过气的甲醇冲洗，一般可解决问题。Wet Prime

输液泵 (2695/510/515/15xx/600) (Waters)

PerformancePLUS Check Valves



PN: 700000254

- 易于使用
- 提高效率
- 长寿命
- 溶剂耐受性更好
- 兼容 2690/5泵进口阀
- 兼容 600, 515, 501 泵进、出口阀
- 兼容 510、M6000A 泵进口阀

2、输液泵

- **泵垫圈磨损或破碎：** 高压下压力不稳，从泵头往外渗漏流动相，色谱峰的保留时间会改变。

解决办法： 更换新垫圈。更换方法按维修说明书上的方法一步步操作。

2、输液泵

■ 注意：

输液泵的垫圈要和流动相匹配协调。多数垫圈和流动相是协调的，但有的垫圈适用于甲醇、水、乙腈，在四氢呋喃中溶解、变粘、变软。

需换垫圈时，应向Waters咨询垫圈的规格型号。

色谱工作者一般应学会换密封垫圈。

2、输液泵

■ 柱塞杆故障

磨损、漏液(正常损耗)

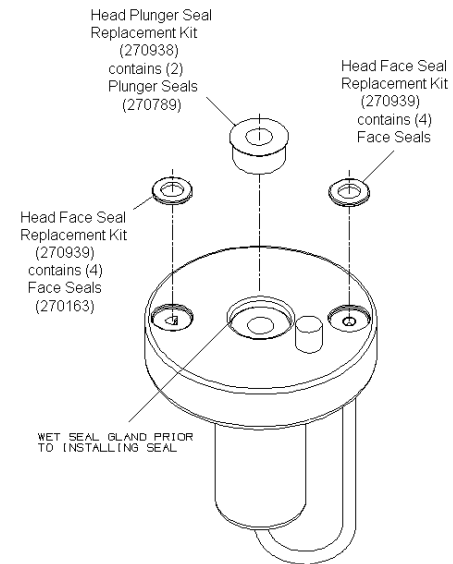
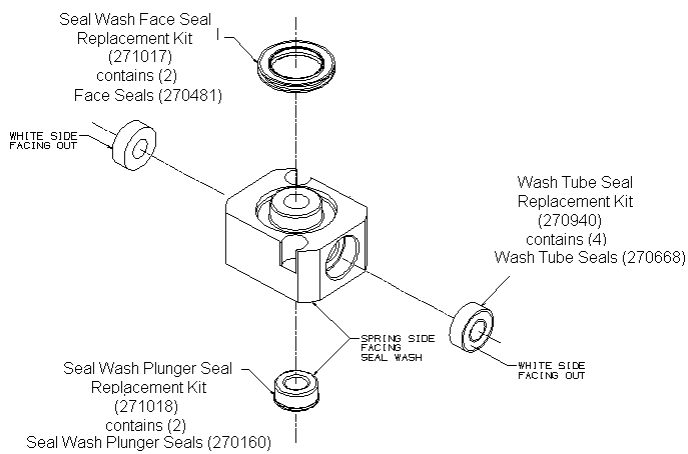
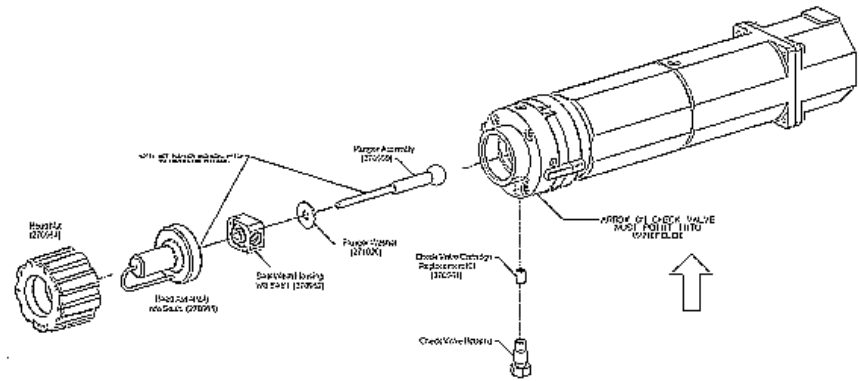
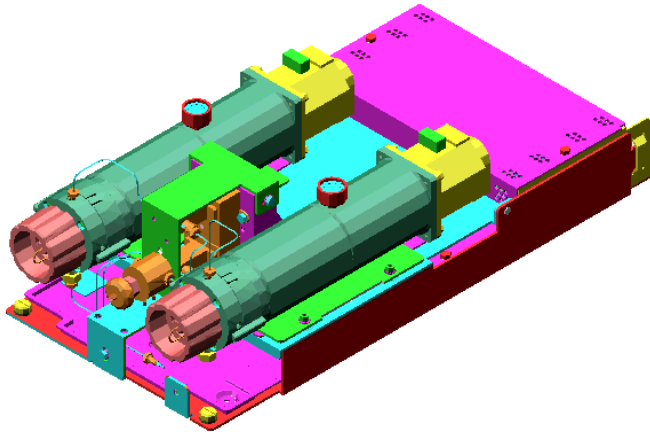
使用不当被折断(多为安装不合适导致)

柱塞杆被卡住，不能运动。

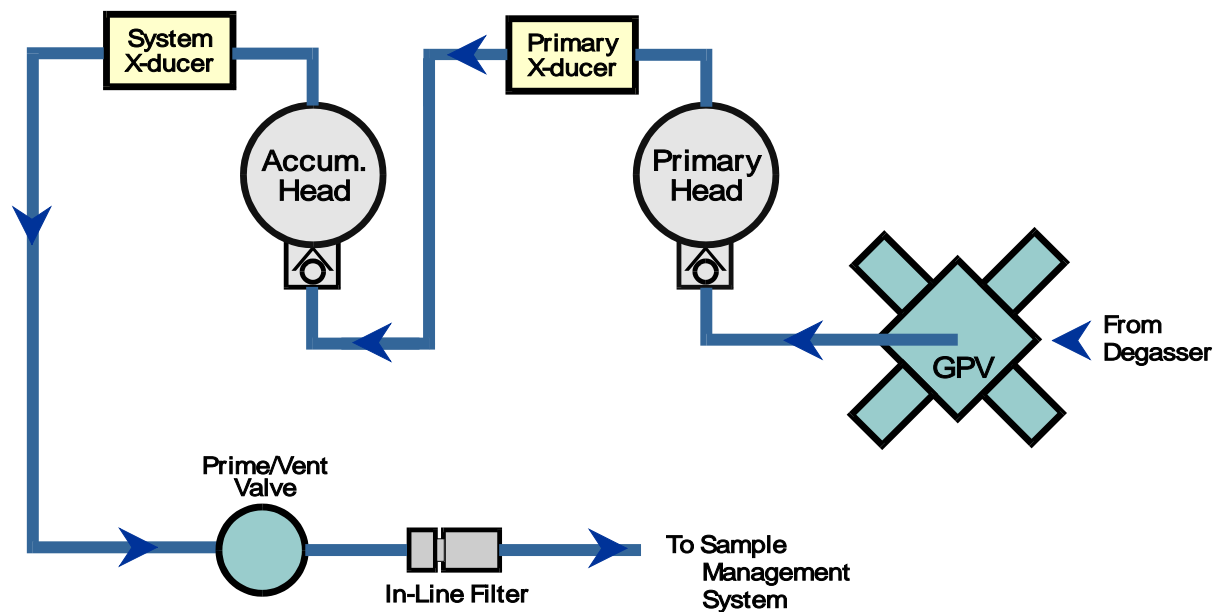
■ 更换新柱塞杆

初次请维修工程师帮助解决。

输液泵 (2695)



输液泵 (2690/2695)

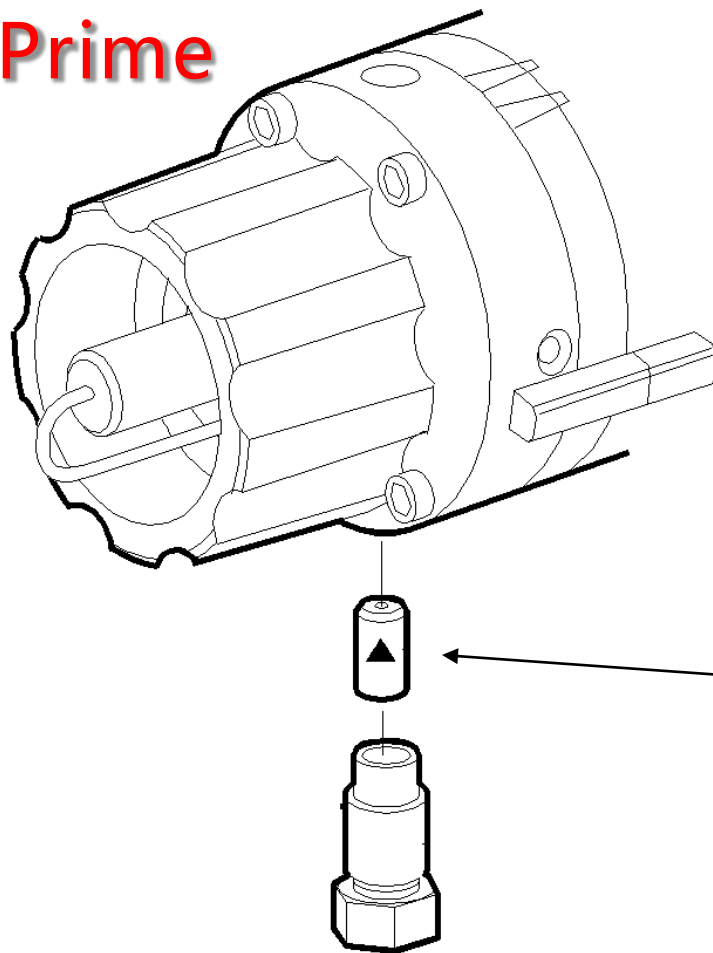


- 注意流动相组分的互溶性!
- 使用正确的 Seal Wash 溶剂!

输液泵 (2690/2695)

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

常见故障：**Lost Prime**



阀芯

注意箭头方向！

输液泵 (2690/2695)

单向阀的清洗

如果使用过**缓冲盐**溶液

请使用40 °C ~ 50°C的温水超声20min

如果使用过纯**乙腈**

请使用异丙醇超声20min

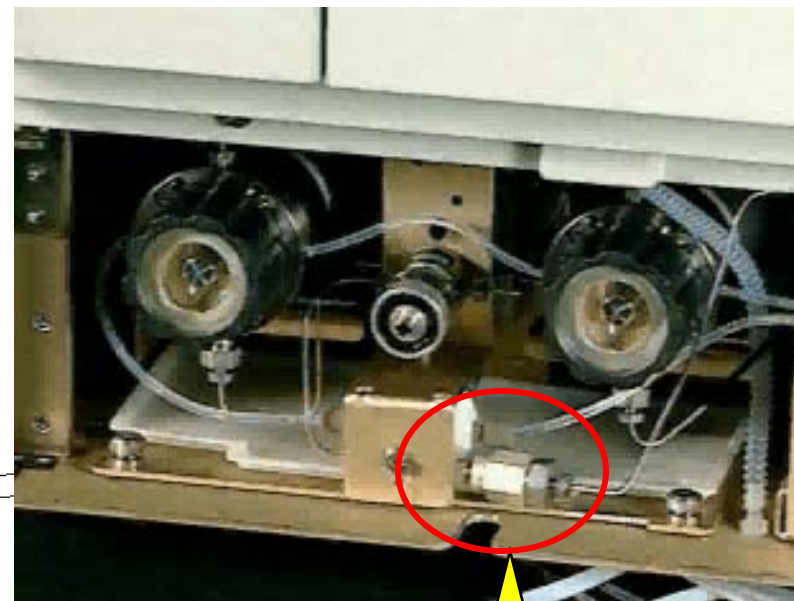
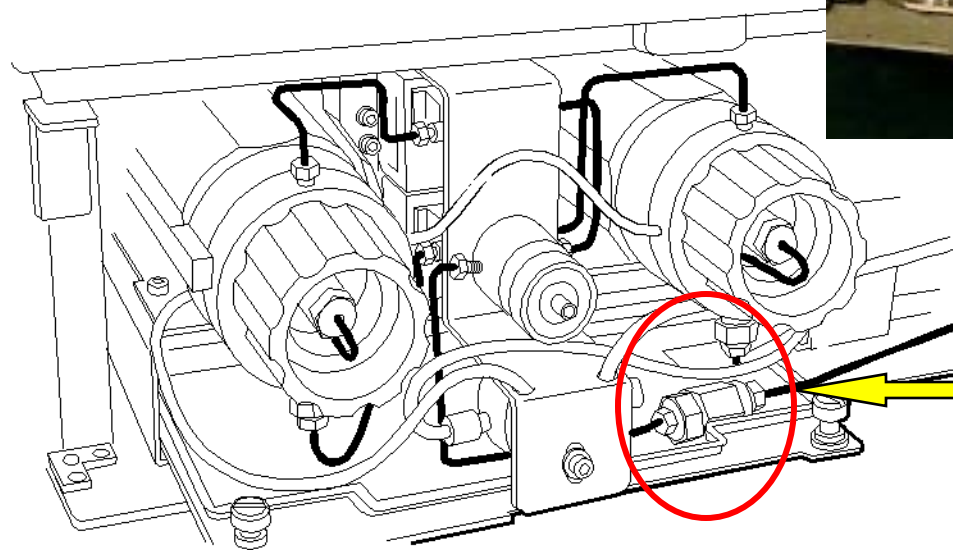
如果使用过**其他流动相**或**上述两种溶液**超声后

请使用纯甲醇超声20min

输液泵 (2690/2695)

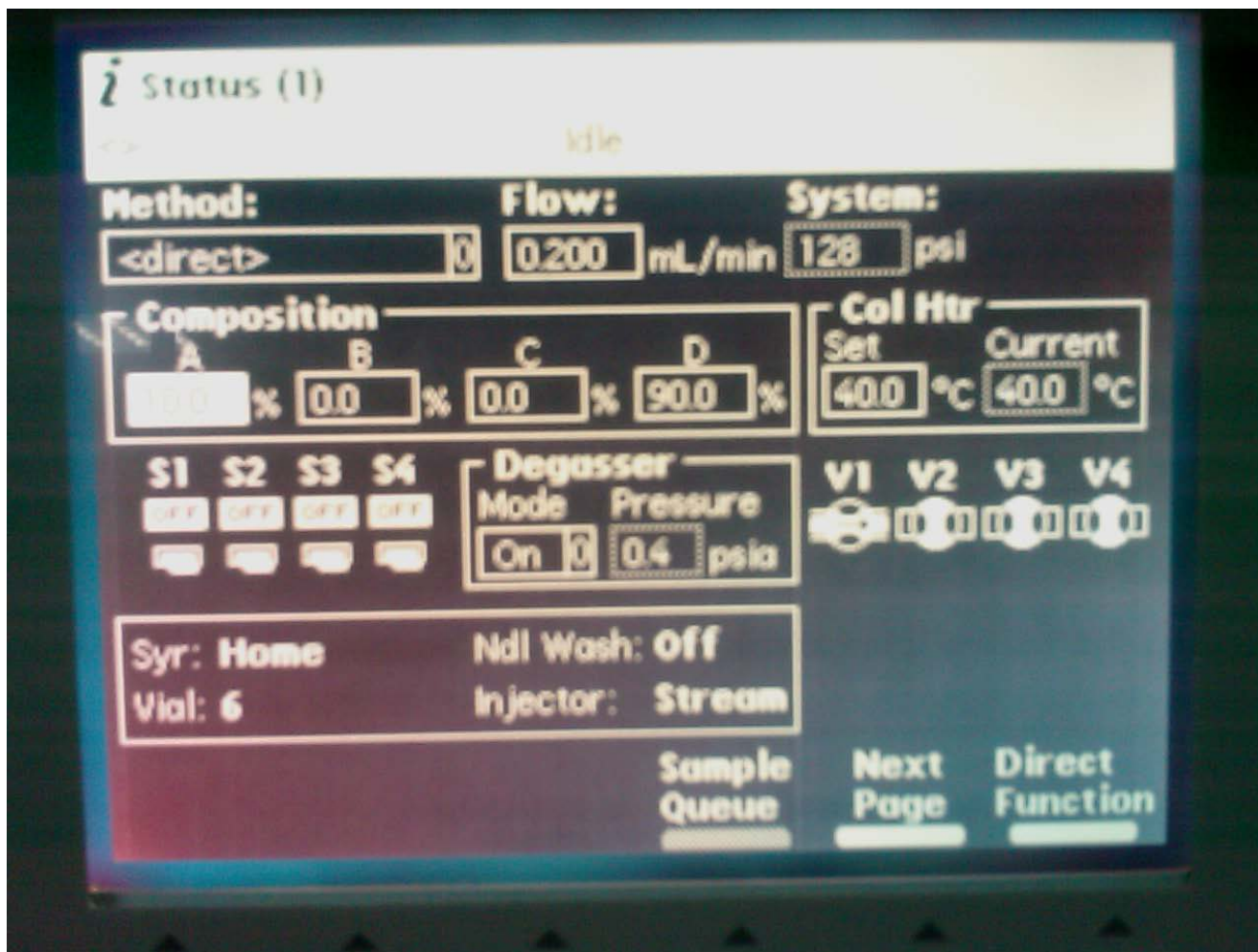
2695初始化错误:

Plunger homing over pressure



在线过滤器

输液泵 (2690/2695)



3、进样系统

自动进样系统

a. 样品瓶不配套

瓶小——针弯、折断

瓶大——样品少，抽不上样

瓶破碎

更换合适的样品瓶。

3、进样系统

自动进样系统

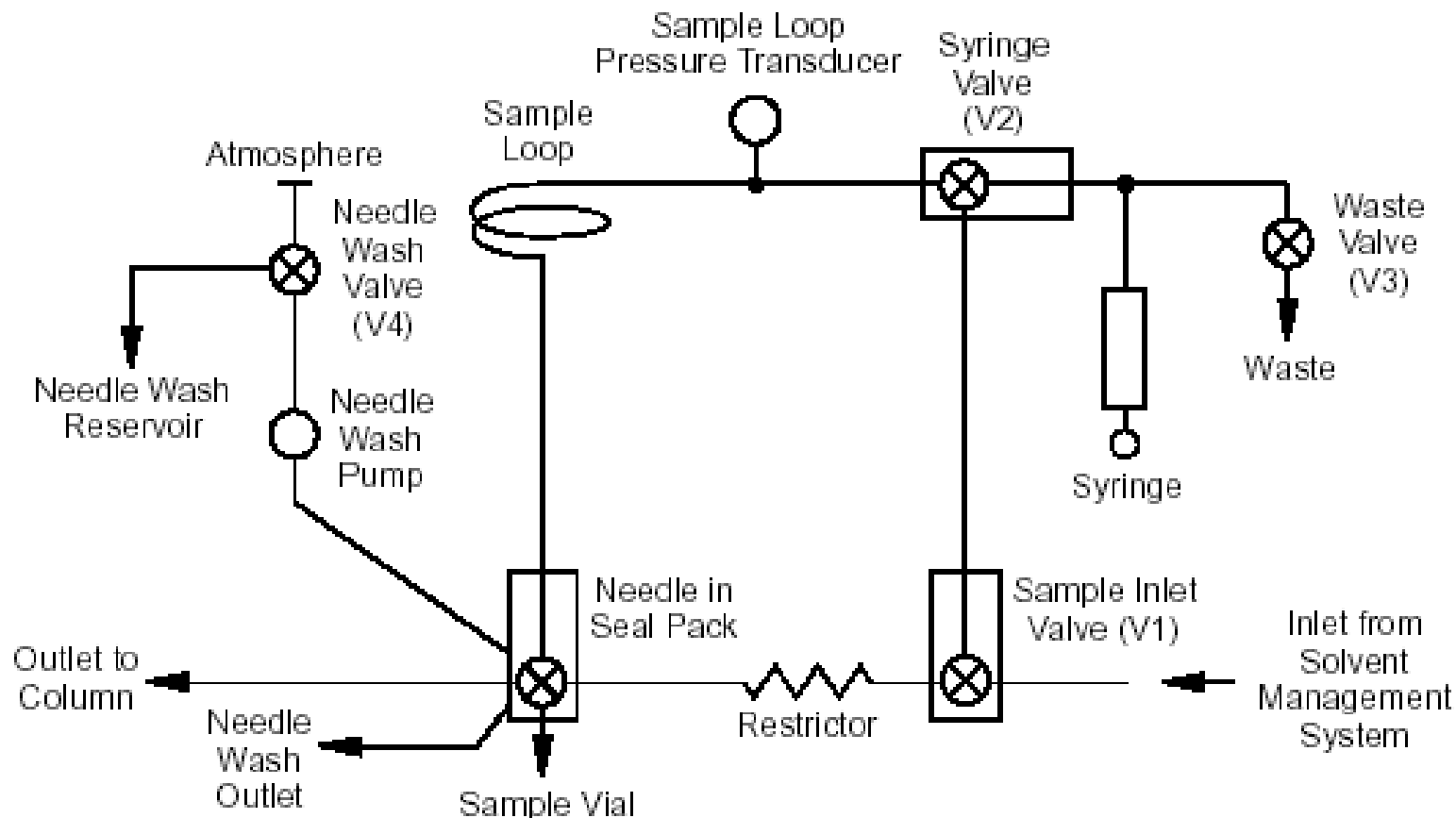
- b. 注意样品瓶隔垫，防止污染。
- c. 进样器针头堵塞（样品、缓冲盐、隔垫碎片、针头本身），可用溶剂清洗，或换新针头。

3、进样系统

自动进样系统

- d. 样品滞留：空白溶剂出色谱峰。
加倍清洗，或调整样品瓶顺序，
(从低浓度开始，高浓度放后面) 或在样品瓶前放清洗液瓶。

自动进样器 (717/2690/2695)



正确使用步骤:

- 选择适当的洗针溶剂 (绿管溶剂) 和Seal Wash溶剂
- 清洗进样针 (Needle Wash)
- 清洗柱塞杆密封 (Seal Wash)
- 平衡系统
- Purge 进样器
- 实验操作
- 清洗系统
- Purge 进样器
- 清洗进样针 (Needle Wash)
- 清洗柱塞杆密封 (Seal Wash)

自动进样器 (717/2690/2695)

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

注意：

每次进样前仪器会洗针 (Needles wash)
进样之后不洗针

推荐：

每次批量进完样后手动清洗，
或最后进一针50ul流动相，
如果流动相中有盐的话则用纯净水替代缓冲盐
那部分比例。

自动进样器 (717/2690/2695)

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

其它注意事项：

- 打开样品仓盖后，等待样品盘停止转动后再取出
- 关机前取出所有样品瓶，或将样品盘全部取出
- 注意保持样品仓内和样品盘清洁
- 请使用 Waters 公司认可的样品瓶
- 使用微量进样瓶请设定正确的针尖高度值 (Depth of Needle)
- 进样瓶垫损坏后，请勿使用其它替代品

自动进样器 (717/2690/2695)

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

其它注意事项：

- 仪器右侧的Syringe要注意不能有气泡，一旦出现，请使用面板上的 **Purge Injector** 功能



正确的冲洗系统，对于保证设备的正常使用是很关键的，在使用前后都要注意。

冲洗包括：

Dry Prime

Wet Prime

Purge Injector

Prime Seal Wash

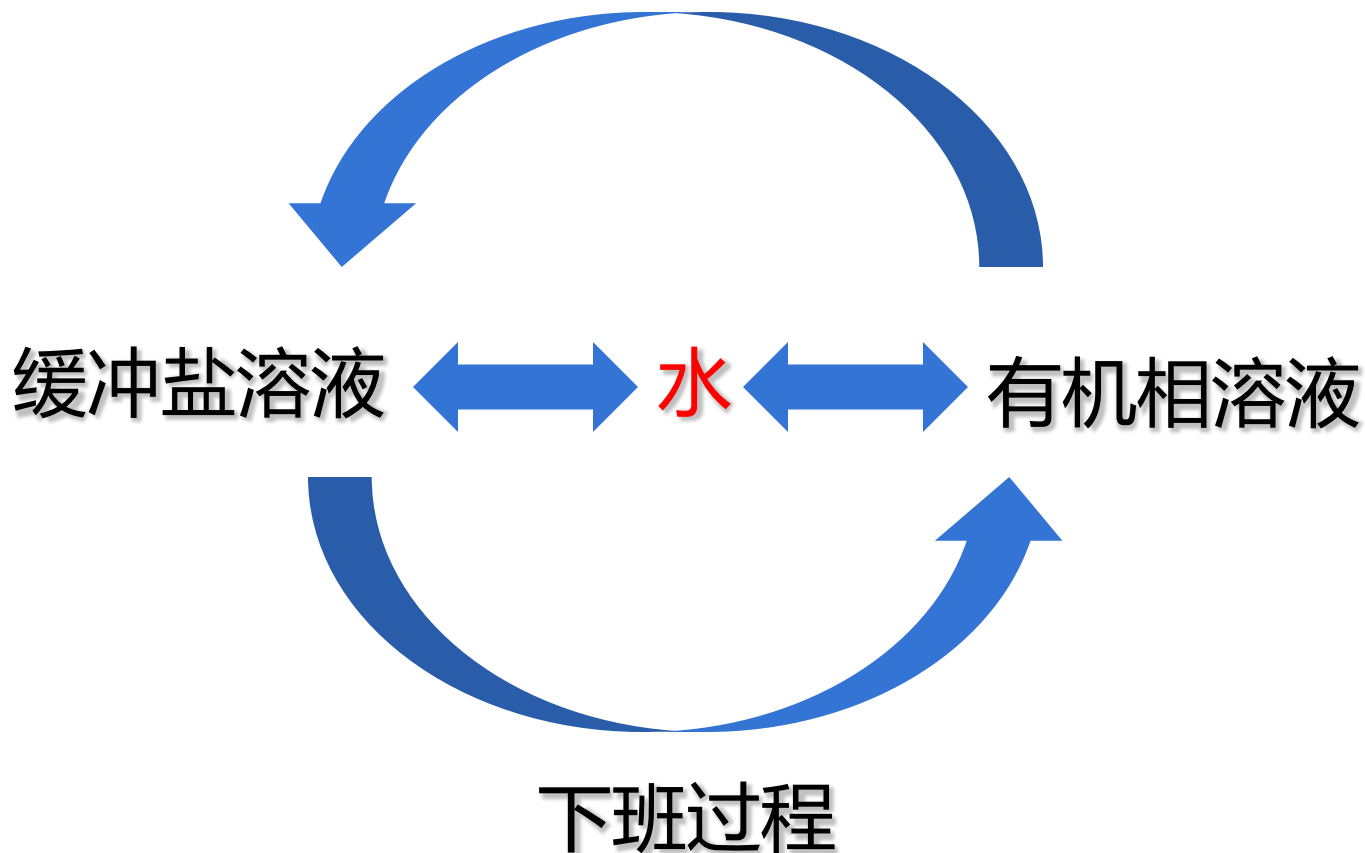
Needle Wash

这些操作的具体步骤
参见本次讲座的参考
资料

2695常用操作

溶剂置换

上班过程



4、色谱柱

1) 塔板数下降

- a. 样品处理不合适，选择适当的样净化方法，选择合适流动相。
- b. 柱头塌陷，考虑重新购买。

2) 峰形变坏

- a. 出现拖尾峰，分叉峰，非高斯峰。
- b. 与塔板数下降有关，峰形坏保留时间不变，可能是柱堵塞（不锈钢烧结片），或柱头有死体积（**常见于使用Peek接头**）。

4、色谱柱

3) 柱压突然增大

- a. 样品沉积在柱内, 用能溶解样品的溶剂冲洗 (断开柱和检测器) 可正向冲, 反向冲 (慎用)。
- b. 柱内硬件有问题:
滤片堵塞, 换新片;
塌陷: 考虑买新柱。

4、色谱柱

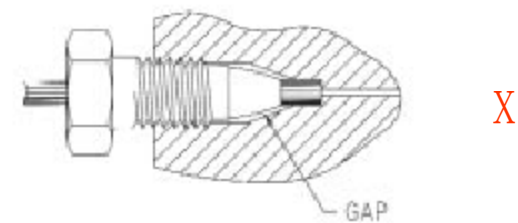
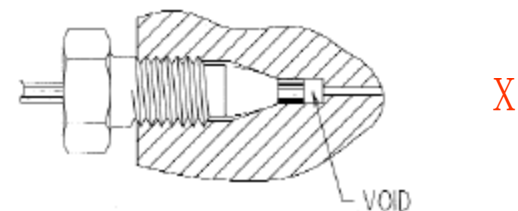
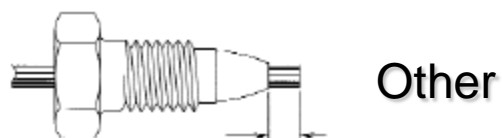
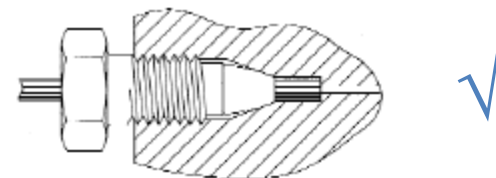
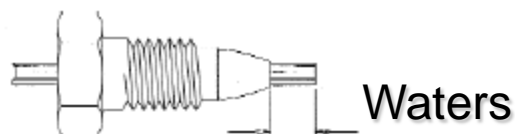
4) 保留时间改变

不同柱保留时间的变化, 主要是填料差异造成的, 不同牌号柱出峰顺序不变, 保留时间有小的变化。

由色谱柱引起的故障

故障	现象	解决办法
过滤片堵塞	压力增高、柱效下降、峰形差	倒柱冲洗或换过滤片
柱头塌陷	峰分叉、柱效下降	考虑购买新柱
键合相流失	保留值改变、峰形差、柱效下降	考虑购买新柱
样品堵塞	压力高	用能溶解样品的溶剂冲洗
强吸收样品	柱效下降、保留值小	强溶剂反冲

注意色谱柱连接



5、检测器

紫外—可见光检测器

- a. 灯故障：基线噪声大，灵敏度低，
灯承诺寿命：2000h or 1Year
代表机型： 2996， 996， 2487，
2998， 2489

5、检测器

紫外—可见光检测器

b. 流动池

- 流动池内有气泡：用脱气甲醇，不同流量冲洗。
- 池堵塞（入口、出口、池内）：
用可溶堵塞物的溶剂冲洗（缓冲盐用水冲洗）
- 池污染：异丙醇、二氯甲烷、
6mol/L HNO₃冲洗。

5、检测器

紫外—可见光检测器

b. 流动池

■ 检测池和参比池

UV以空气为参比，一般不扣流动相本底，若用有紫外吸收的流动相，参比信号不为零，会出现倒峰和伪峰。此时，选择合适的流动相。

c. 温度影响

环境温度变化引起基线漂移。

流动相温度变化引起折射率改变，紫外光传导变化。

柱温变化引起基线漂移。

常见错误信息

Lamp lighting failure 氙灯启动失败

解决：检查电源，检查氙灯使用时间

Peak not found: 656 nm Deuterium

Peak not found: Erbium n nm

波长校验失败

解决：清洗检测池

双通道UV检测器 2487

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

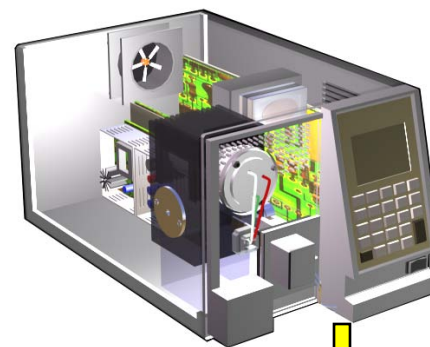
常见错误信息

Lamp data not found
System not calibrated.
Method not found

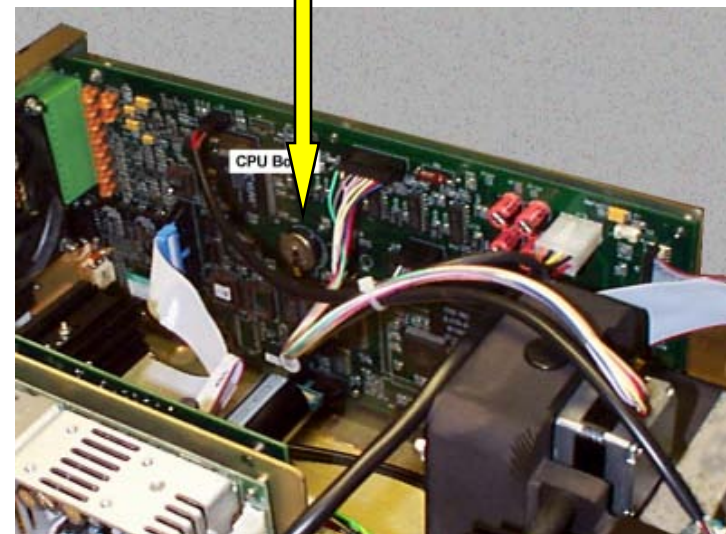
原因：机内电池耗尽

**解决：更换机内电池(CR2032)
重新校正仪器**

**注意：关闭并断开电源
防止静电损伤**

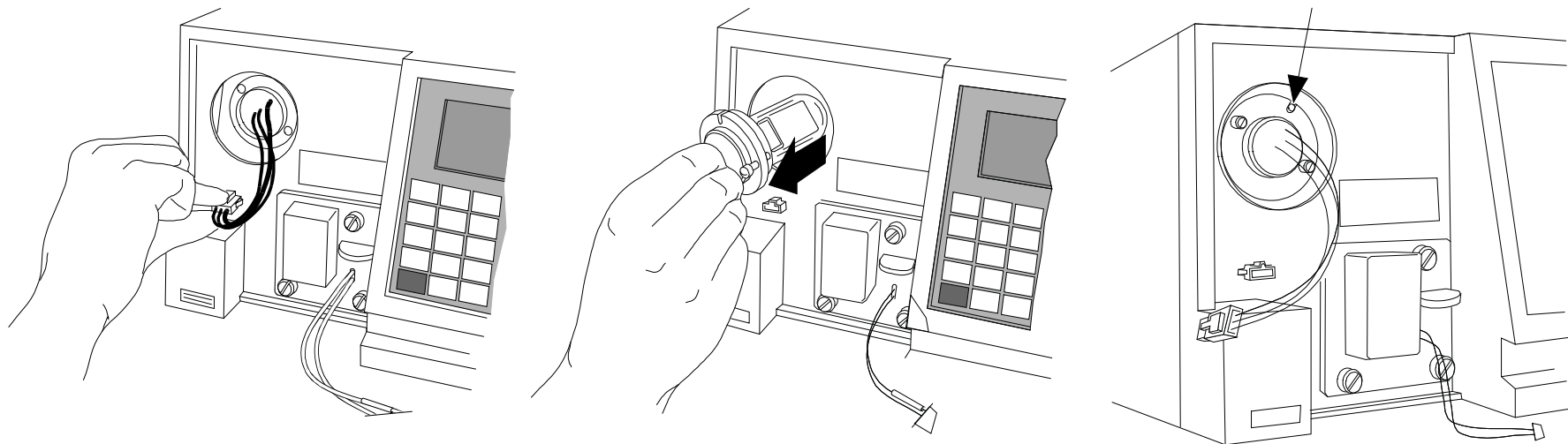


机内电池的位置



双通道UV检测器 2489

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



2489检测器更换氙灯

注意：关闭并断开电源防止静电损伤

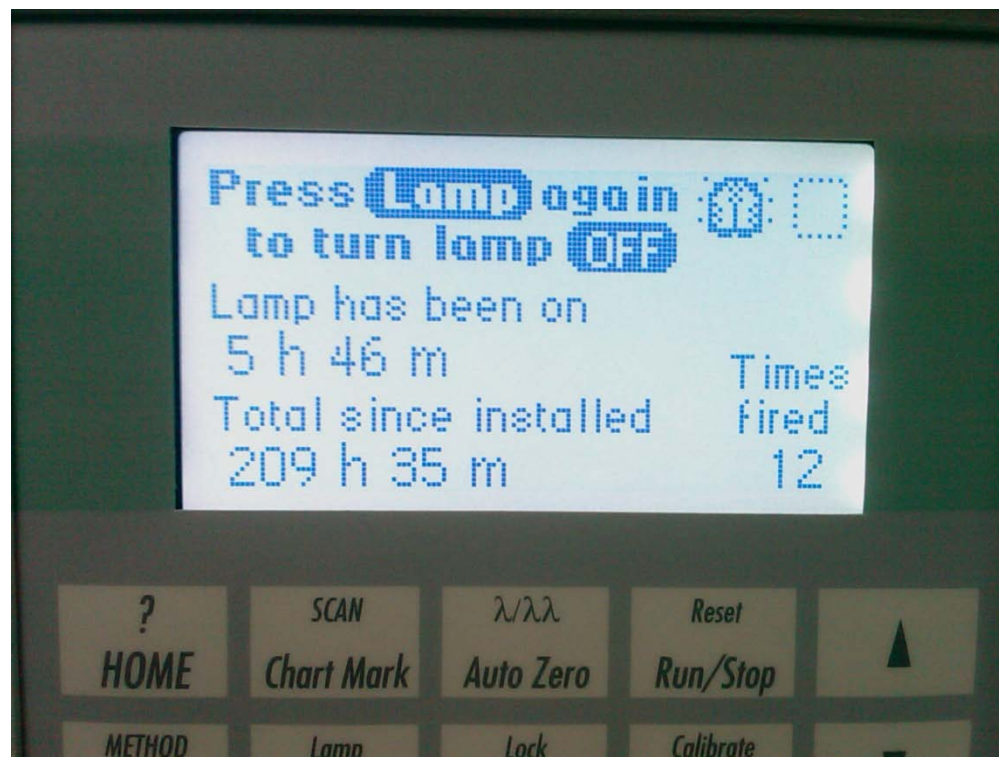
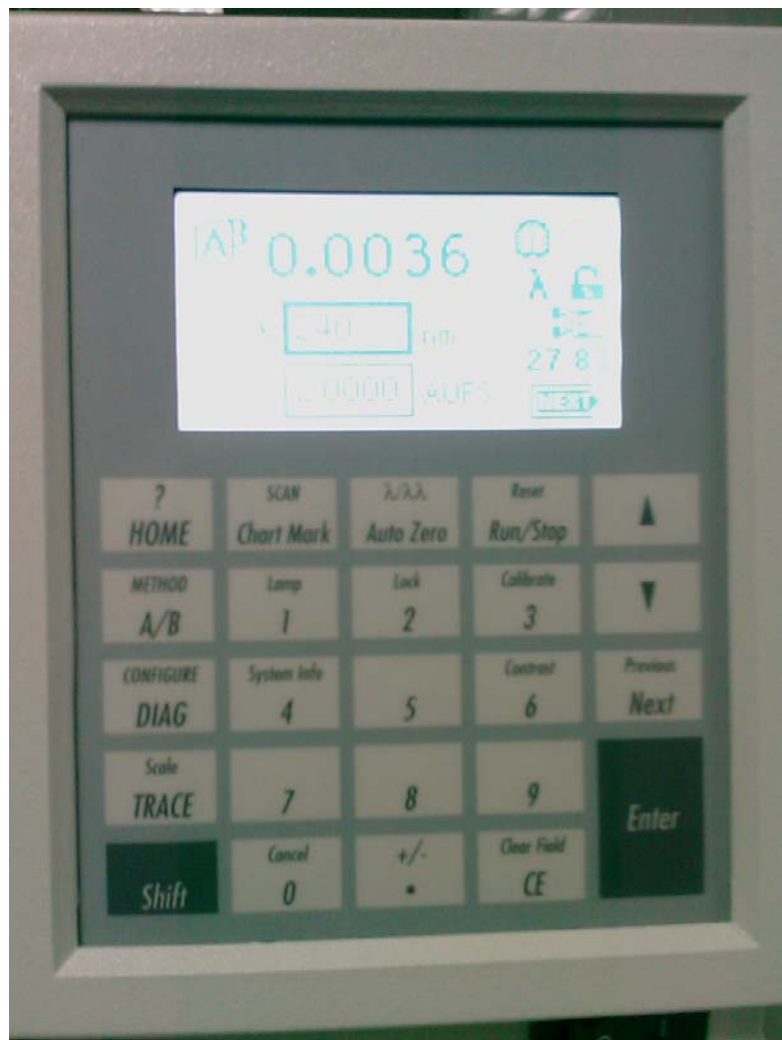
双通道UV检测器 2489

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



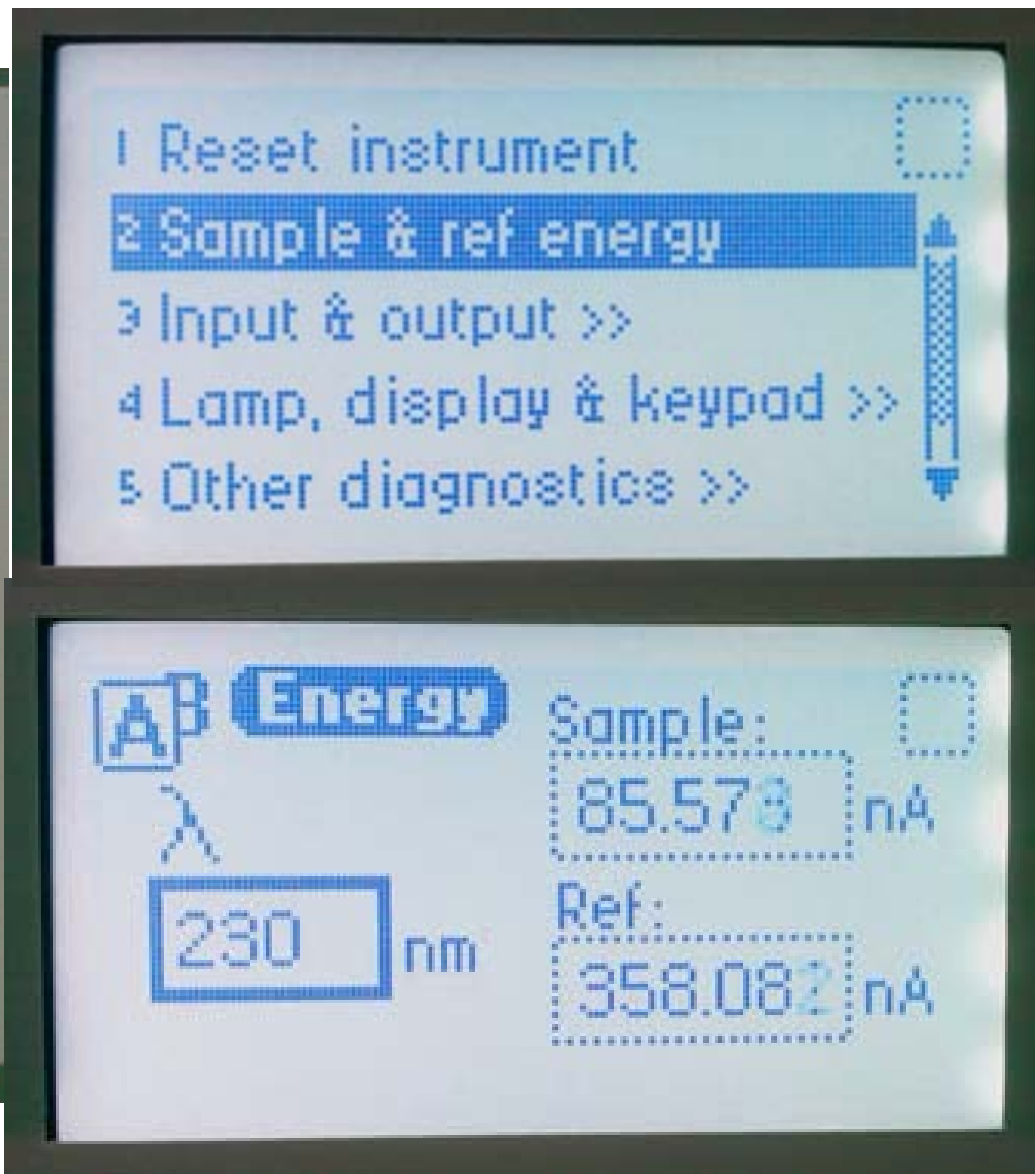
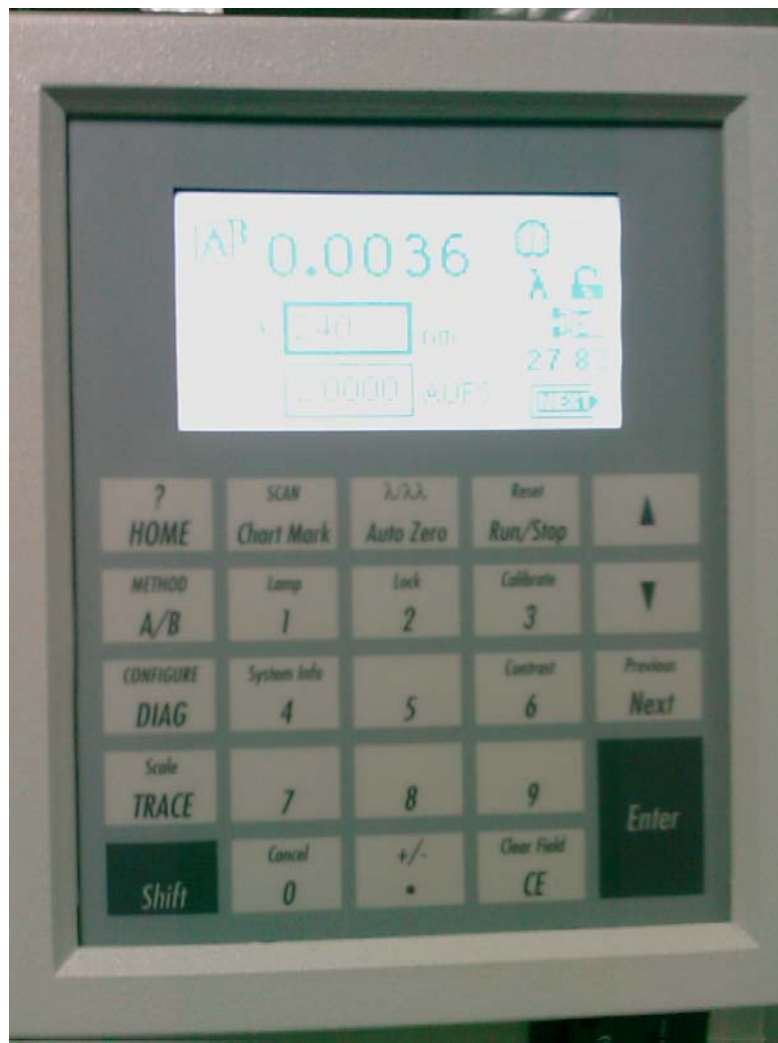
双通道UV检测器 2489

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



双通道UV检测器 2489

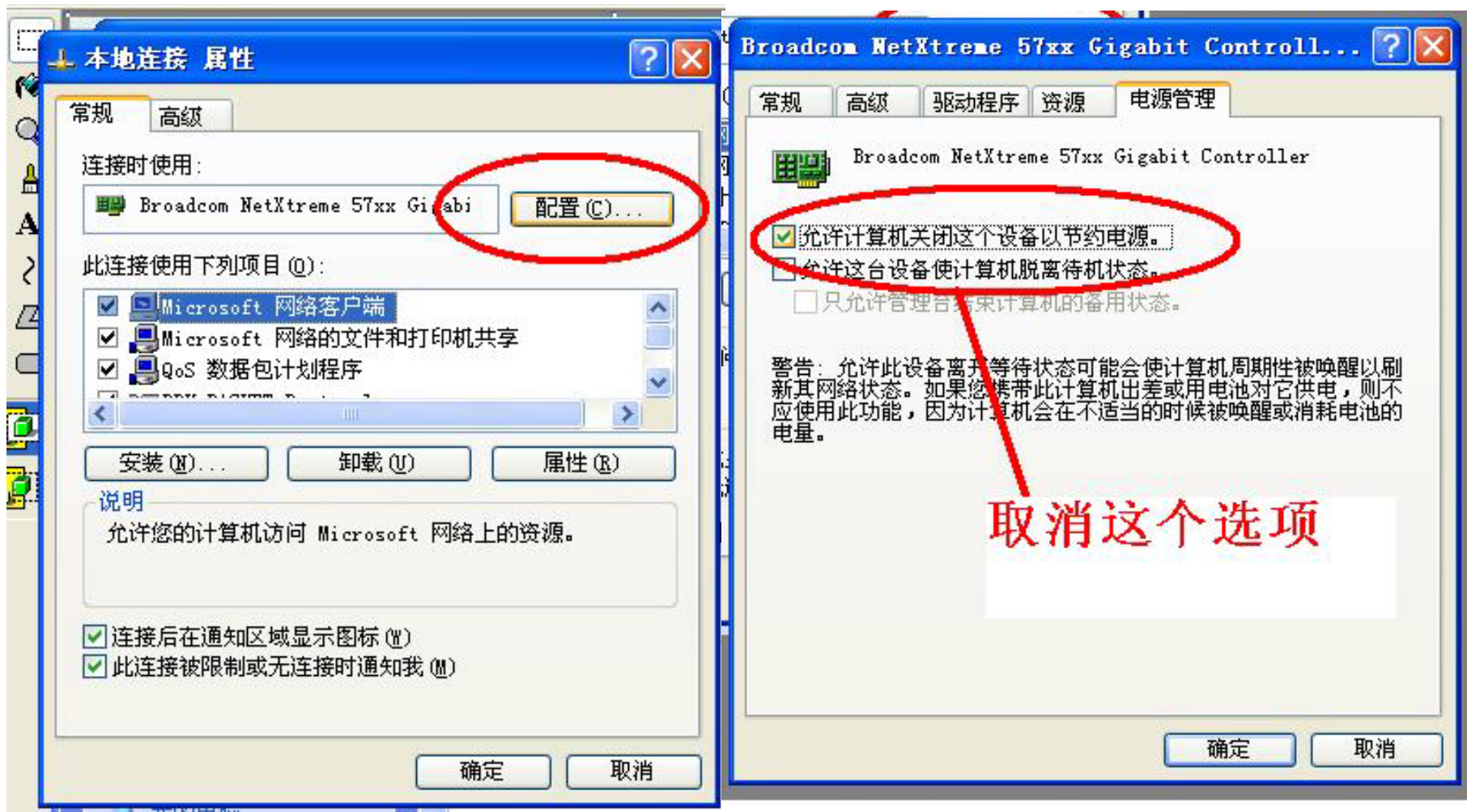
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



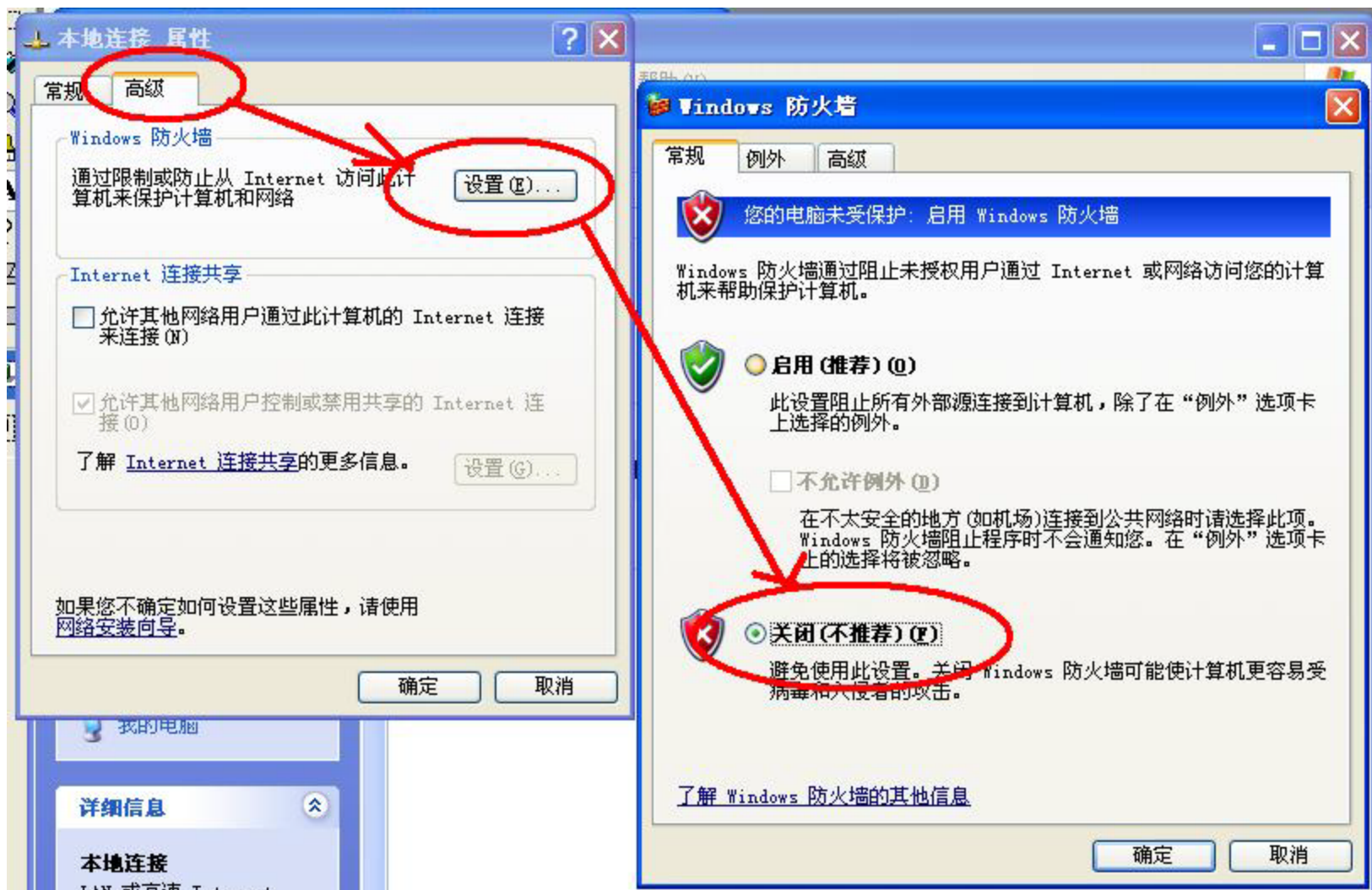
双通道UV检测器 2489



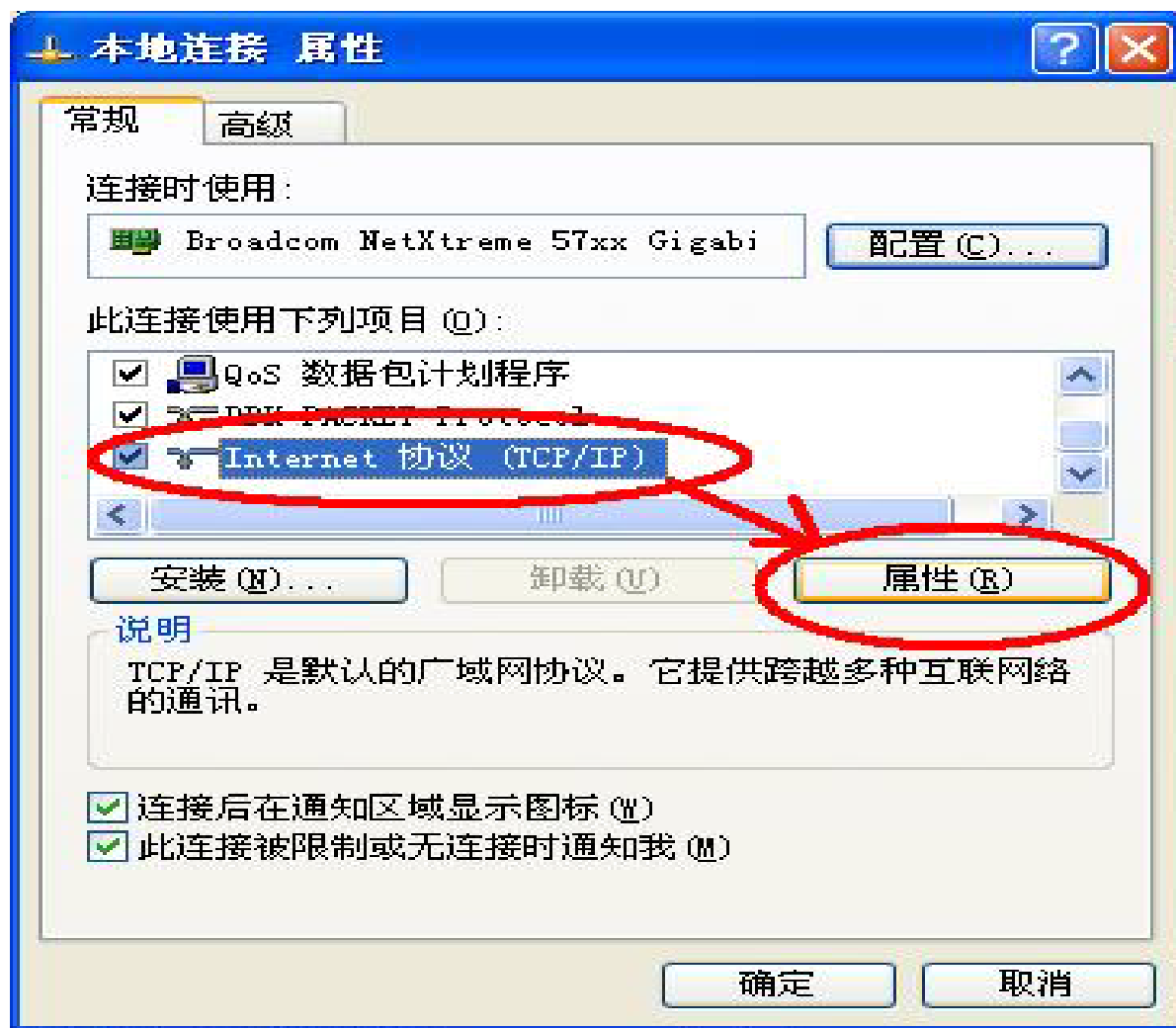
双通道UV检测器 2489



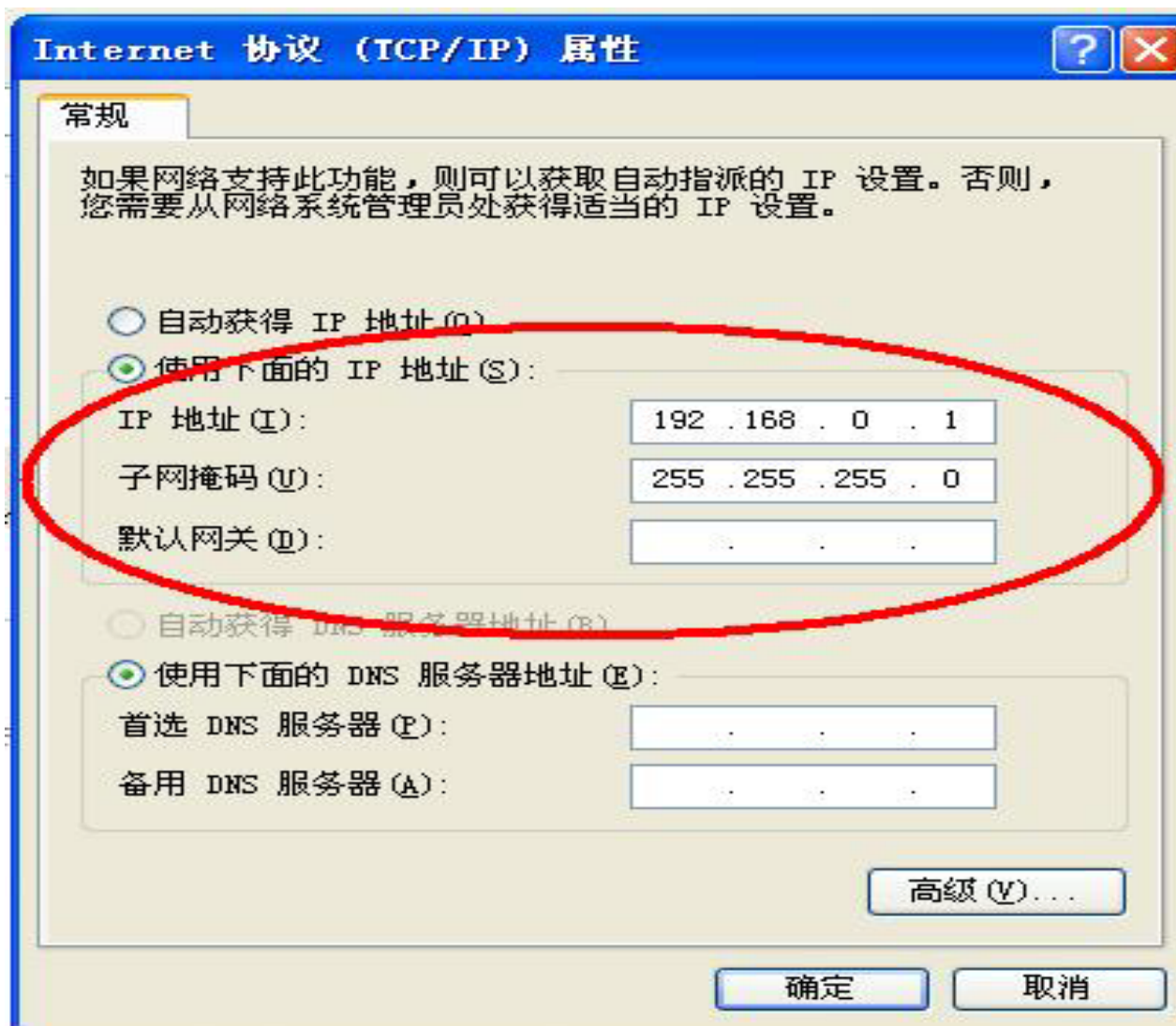
双通道UV检测器 2489



双通道UV检测器 2489



双通道UV检测器 2489



- 不要挡住检测器散热风扇和通风孔
- 不要随意更改检测器进、出口管路
- 示差折光检测器使用前、后均应充分清洗参比池 (Purge)
- 长时间停用检测器时，应在检测池中充满醇或乙腈，必要时密封检测器进、出口管路

Waters PM Kit 介绍

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Performance Maintenance Kit

性能维护套件



515 泵 PM Kit



600 泵 PM Kit

Waters PM Kit 介绍

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Performance Maintenance Kit

性能维护套件



717 自动进样器 PM Kit



2690 系统 PM Kit

Waters PM Kit 介绍

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Performance Maintenance Kit

性能维护套件



486 UV-Vis 检测器
PM Kit



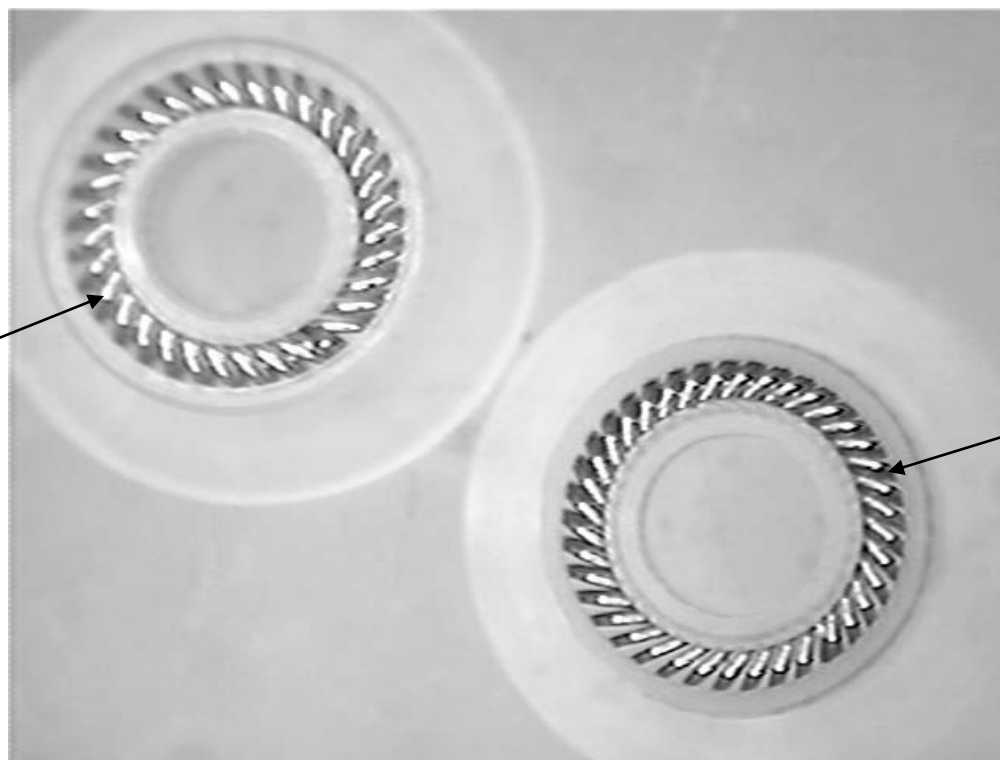
二极管阵列检测器
PM Kit

Waters PM Kit 介绍

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters Quality Parts

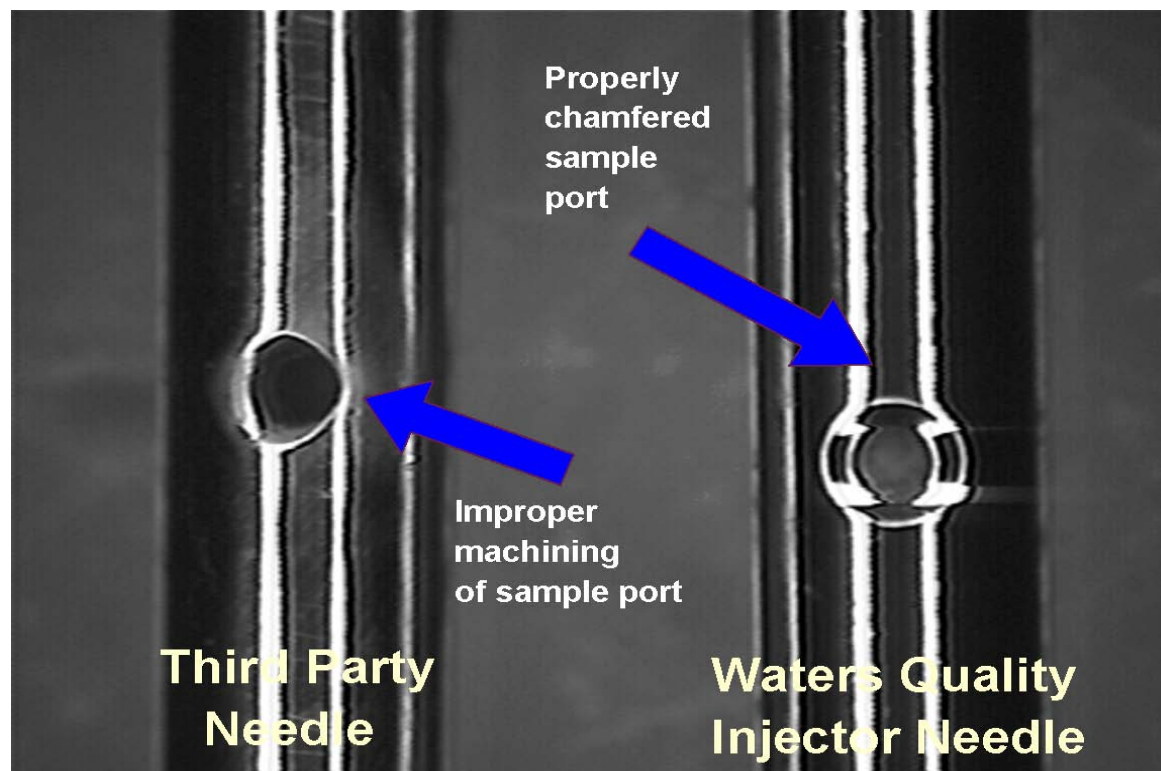
非Waters
密封圈



Waters
正品密封圈

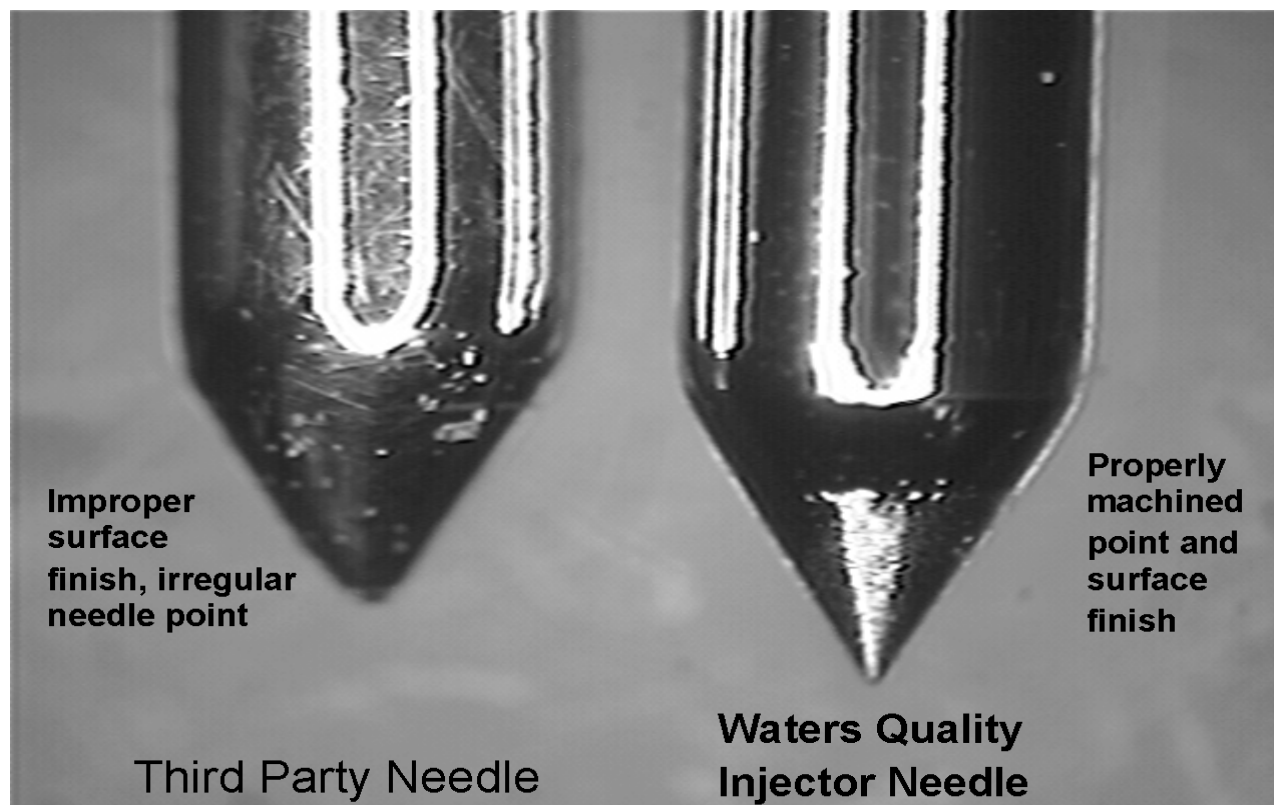
Waters PM Kit 介绍

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Waters PM Kit 介绍

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Total Assurance Plan(TAP)

内容:★共同制定仪器维修/维护计划, 每年定期更换仪器易损部件, 如各密封件, 光源灯等;

★除定期更换的部件外, 其他部件若出现故障, 包括价格高的部件, 维修或更换无需再付费。

优点:★每年定期保养, 保证仪器长期处于良好状况;

★大大减少故障停机时间, 提高您的工作效率, 节省您的时间和化学品的消耗;

★延长您的仪器寿命;

★便于您预先作出每年的仪器维修保养和零部件采购经费计划;

★TAP用户可获得优先响应的临时性维修申请。

TAP特别适用于工作量较大的质检/质控实验室

请计算您的经费支出和您所获得的利益比值!

- Waters 2695 操作员指南.PDF
- 2695确保最佳性能的指南.PDF
- Waters Alliance HPLC 系统操作规程.doc
- LC_School文件夹
- Empower2现场培训.PDF

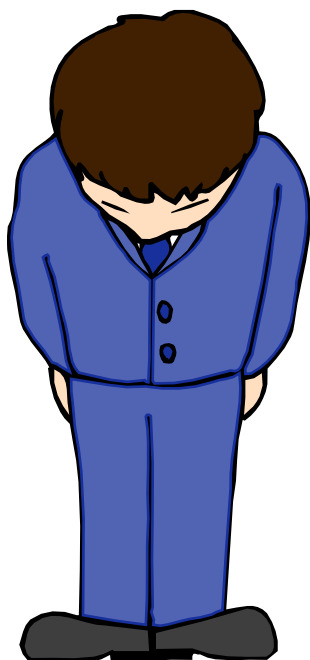
提问时间

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



谢谢