

# 高效液相色谱仪操作规程

## 一、仪器名称

Chroma Leaps DAD 高效液相色谱仪，科诺美科技有限公司

## 二、仪器功能

本仪器主要应用于生态纺织品的检测和研究工作，适用于混合物的分离和定量工作。

## 三、操作规程

### 1. 实验前准备工作。

- (1) 必须先找负责 HPLC 的张老师咨询实验相关事宜。
- (2) 准备好流动相所需液体，必要时需进行 0.45 $\mu$ m 膜过滤和超声脱气工作。
- (3) 准备好标准品梯度稀释，必要时先询问老师如何配制标准品梯度溶液。
- (4) 准备好实验所需的特定色谱柱。

### 2. 开机

- (1) 打开液相泵、自动进样器、DAD 检测器和柱温箱的实体按钮。
- (2) 打开电脑，开机密码咨询张老师。打开桌面上的 HPLC 操作 Eyou 软件，密码咨询张老师。
- (3) 管道排空操作。换上新鲜的流动相，打开液相实体泵上的排空阀旋钮。打开 Eyou 操作软件，选择好仪器配置、项目名称后进入仪器操作界面，鼠标放在液相泵 P22 截面上，右击打开新的操作窗口，选择流速 5mL/min，时间 1min，选择对应管路，点击开始冲洗。此时液相泵开始抽取对应的流动相填充管路，不经过色谱柱，直接进入废液瓶。照此重复操作另外一条流动相管路。确保管路内没有空气残余。
- (4) 关闭液相实体泵上的排空阀旋钮。
- (5) 装上色谱柱，注意色谱柱有方向性。使用前必须先冲洗色谱柱。鼠标放在液相泵 P22 截面上，右击打开新的操作窗口，选择最佳流速的一半（不同规格的色谱柱有不同的最佳流速，具体参照色谱柱说明书）。假设为 0.5mL/min，时间 30min，流动相的比例一般选择高比例的有机相，点击开始冲洗。30min 结束后，选择方法的初始比例再冲洗 10min。

### 3. 调试化合物的最佳 HPLC 方法。

- (1) 如先前在本机上已经有成熟方法，则直接调用。注意，不可将其他文献的方法直接采用，犹如刻舟求剑。
- (2) 摸索最佳方法的原则是 Try and Error，即不断试错、不断改进，直至满意。对于反向色谱柱而言，一般流动相比例都是从低比例的有机相逐渐上升到

高比例有机相，在流动相的比例不断调整中，找到合适的冲洗程序。

#### 4.走标准曲线工作点。

(1) 准备好工作标准曲线 5 个浓度点样品。具体浓度数值的选择，根据样品的浓度和机器的检出限而定。

(2) 设定进样序列。先走两针中等浓度点，再走一针空白样，再按浓度从低到高走 5 个标准曲线样品。前期进样时，必须注意观察仪器状态。出了结果后也要第一时间检查保留时间和泵的压力是否正常。

#### 5. 建立待测样品进样序列并自动进样分析。

#### 6.建立定量数据处理方法。

#### 7 定量数据处理及定量结果浏览

#### 8 .结束分析

(1) 进样完成后，及时运行洗柱程序。一般用 100%甲醇冲洗。

(2) 关机操作步骤：关闭电脑，关闭机器上的 4 个实体按钮。