

1.1 **开机**：打开电脑，从泵到检测器依次打开液相色谱各个模块的电源。双击桌面“**仪器—联机**”，进入联机界面。

1.2.1 **排气**：手动旋开泵处冲洗阀（逆时针旋转约 1 圈）。

1.2.2 右键单击“**泵**”图标区域，选择“**方法**”选项，进入泵编辑画面，设流速：5ml/min（一般为 3—5ml/min），点击“**确定**”。

1.2.3 右键单击“**泵**”图标，点击“**控制**”选项，选中“**ON**”，点击“**确定**”，则系统开始冲洗，直到管线内（由溶剂瓶到泵入口）无气泡为止，（一般为 5 分钟），切换通道继续冲洗，直到所有要用通道无气泡为止。

1.2.4 右键单击“**泵**”图标，右键点击“**方法**”选项，设流速：1ml/min，点击“**确定**”，手动旋紧冲洗阀。

1.2.5 同理右键单击“**检测器**”图标，右键点击“**方法**”选项，按照方法的要求设置波长，点击“**控制**”选项，“**ON**”打开检测器。

2.1 **编辑方法**：点击“**方法**”—“**编辑完整方法**”开始编辑完整方法，选中除“**数据分析**”外的三项，进入下一选项卡。

2.2 **泵参数设定**：在“**流速**”处输入流量，如 1.0ml/min，停止时间：如 10min（该停止时间仅为进一个样品需要的时间），按照要求选择合适比例的流动相配比。进入下一选项卡。

2.5 **自动进样器参数设定**：选择“**洗针进样**”——可以输入进样体积和洗瓶位置，进入下一选项卡。

2.6 **UV 检测器参数设定**：在“**波长**”下方的空白处输入所需的检测波长。点击确定。

2.7 在“**运行时选项表**”中，选中“**数据采集**”，点击“**确定**”。

2.9 从“**方法**”菜单，选中“**方法另存为**”，输入一方法名，点击“**确定**”。

### 3 单次采集

3.1 从“**运行控制**”菜单中，选择“**样品信息**”选项，选择合适的路径，在“**数据文件**”中选择“**前缀/计数器**”，输入样品瓶的位置，点击“**确定**”。

3.2 基线平稳后约 10 分钟，从“**运行控制**”菜单中选择“**运行方法**”。

### 4 多次数据采集

4.1 点击“**序列**”—“**序列表**”，输入“**样品瓶**”“**样品名称**”，“**进样次数**”，选择合适的“**进样方法**”

4.2 点击“**序列**”—“**序列参数**”，选择序列数据的保存路径（序列会自动生成以“序列名称—时间”为名称的文件夹保存数据），数据建议以选择“**前缀/计数器**”保存。

4.3 从“**序列**”菜单，选中“**序列另存为**”，输入一序列名，点击“**确定**”。

4.4 从“**运行控制**”菜单中选择“**运行序列**”。

5.1 **关机**：关机前，先关紫外灯，用相应的溶剂（甲醇或乙腈）充分冲洗系统大约 30 分钟。（色谱柱最终应保存在甲醇或乙腈中）

5.2 关泵，及其它窗口，退出化学工作站。断开连接，关闭计算机。

5.3 关闭 Agilent1260 各模块电源开关。

---

## HPLC 使用注意事项

1. 使用 Agilent1260 之前，请提前 24 小时和仪器负责人预约，并提供以下信息：

★ 样品：名称，分子量，溶剂，PH、进样量

★ 流动相及配比及流速：注意样品在流动相中的溶解度需大于样品在溶剂中的溶解度

★ 所需柱子：C4/C18

注意：不预约不提供信息者禁用！

2. 流动相必须用 HPLC 级的试剂，使用前**过滤**除去其中的颗粒性杂质（使用 0.45 $\mu$ m 或 0.22 $\mu$ m 的滤膜【分清水系和有机系！】）并且用**超声波脱气**（5min），脱气后应该恢复到**室温**后使用。

3. 不能用纯乙腈作为流动相，这样会使单向阀粘住而导致泵不进液。

4. 使用**缓冲溶液**时，做完样品后应立即用**高水相**（80%-90%去离子水）冲洗管路（0.2ml/min）及柱子一小时，然后用**甲醇**（或**甲醇水溶液**）冲洗 40 分钟以上，以充分洗去离子。关机前用相应的溶剂（甲醇或乙腈）充分冲洗系统大约 30 分钟。

5. 长时间不用仪器，应该将柱子取下用堵头封好保存，注意**要用有机相保存**。水一般放置在棕色瓶中，避光，且**至少两天换一次**。

6. 请按自己配制供试品时所用溶剂来确定“WASH”小瓶（91 号）中所用的溶剂类型，并注意更换。

7. 样品的**检测波长**至少大于所用溶剂截止波长 20nm 以上。

8. 打开氙灯后需要**预热**，大概需要 15min, 不要频繁开关氙灯。

9. C18 柱**绝对不能进蛋白样品，血样、生物样品**。要注意柱子的 PH 值范围（C18 柱的范围 pH2-9），**不得注射强酸强碱的样品**，特别是碱性样品。

10. 拆装色谱柱时一定要注意顺序：安装：先装柱进口端，再安柱出口端；拆卸：先拆柱出口端，再拆柱进口端。注意：装柱时应先用手拧紧不锈钢螺丝，再拧松，再拧紧，最后用扳手拧紧（约 1/4 圈）。

11. 堵塞导致压力太大，按预柱→混合器中的过滤器→管路过滤器→单向阀检查并清洗。清洗方法：①以异丙醇作溶剂冲洗：②放在异丙醇中间用超声波清洗；③用 10%稀硝酸清洗。

12. 更换流动相时应该先将**吸滤头**部分放入烧杯中边振动边清洗，然后插入新的流动相中。更换无互溶性的流动相时要用**异丙醇**过渡冲洗。

---