



U-3000 液相色谱使用手册之二
Chromeleon 7.10 中文版

U-3000 液相色谱基本操作

2012

.TMO戴安产品培训中心.

★服务热线: 800-810-5118, 400-650-5118
★客服邮箱: Support.CMD.China@thermofisher.com
★市场培训: 010-64436740(电话) 010-64434148 (传真)
www.thermoscientific.com/dionex
training.CMD.China@thermofisher.com(邮箱)

目 录

二 基本操作.....	1
2.1 使用前的准备工作.....	1
2.1.1 接入稳压电源.....	1
2.1.2 打开电源开关.....	1
2.1.3 更换泵头清洗瓶中溶液.....	1
2.1.4 清洗定量环.....	1
2.1.5 流动相的更换和过滤.....	1
2.1.6 流动相的超声脱气.....	1
2.2 打开仪器电源开关.....	1
2.3. 打开软件.....	1
2.3.1 打开电脑.....	1
2.3.2 打开变色龙软件.....	3
2.4. 软件的基本使用.....	3
2.4.1 仪器.....	3
2.4.1.1 智能启动.....	5
2.4.1.2 智能关机.....	9
2.4.1.3 智能待机.....	11
2.4.1.4 释放控制.....	12
2.4.1.5 监测基线.....	12
2.4.1.6 调整坐标轴.....	13
2.4.1.7 命令.....	14
2.4.1.8 UltiMate Home.....	14
2.4.1.9 泵.....	15
2.4.1.9.1 基本按键.....	16
2.4.1.9.2 冲洗.....	17
2.4.1.9.3 更多选项.....	17
2.4.1.9.4 维修.....	19
2.4.1.9.5 验证.....	20
2.4.1.9.6 系统维护.....	20
2.4.1.10 进样器.....	20
2.4.1.10.1 模块连接.....	21
2.4.1.10.2 进样.....	21
2.4.1.10.3 启动.....	22
2.4.1.10.4 样品盘控制.....	23
2.4.1.10.5 温度控制.....	23
2.4.1.11 柱温箱.....	23
2.4.1.12 检测器.....	25
2.4.1.12.1 紫外检测器或二极管阵列检测器.....	25
2.4.1.12.2 CAD 电喷雾检测器.....	27
2.4.1.12.3 FLD 荧光检测器.....	28
2.4.2 数据.....	30
2.4.2.1 数据的存放.....	30
2.4.2.2 使用日志.....	31
2.4.3 eWorkflows.....	32
2.5 分析样品前的准备工作.....	32
2.5.1 系统的准备.....	32
2.5.2 分析样品的准备.....	33

2.5.3 排系统气泡.....	33
2.6 监视基线.....	33
2.7 进样与数据处理.....	34
2.8 分析完样品后的维护.....	35
2.8.1 流路的清洗.....	35
2.8.2 样品瓶的清洗.....	35
2.8.3 洗针.....	36
2.8.4 关机.....	36
2.9 日常维护及注意事项.....	36
2.9.1 泵.....	36
2.9.2 手动进样阀或自动进样器.....	36
2.9.3 柱温箱.....	37
2.9.4 检测器.....	37
2.9.5 其它.....	38
2.9.6 软件.....	38

二 基本操作

2.1 使用前的准备工作

2.1.1 接入稳压电源

将稳压电源的输入端插头插在墙上的插孔上。

2.1.2 打开电源开关

按下稳压电源前面板的“ON”键，大约一分钟后，稳压电源将正常供电。

2.1.3 更换泵头清洗瓶中溶液

必须采用非循环模式进行冲洗

将一只 1000ML 容量的清洗瓶置于 U3000 系统上方的托盘中, 清洗液为 5%左右的甲醇或异丙醇的水溶液, 所使用的试剂必须为色谱纯, 用超纯水或二次蒸馏水来配置。

用一根硅橡胶管将清洗液通过蠕动泵直接连接到泵头的清洗液进口处, 通过串联的方式对所有泵头进行清洗, 最后经清洗出口直接排放到废液, 并实时监测清洗液的流速。

其它注意事项, 可参考标准操作规程。

2.1.4 清洗定量环

若使用的是手动进样阀, 需进行此步操作。

首先将手动进样阀的扳手反时针扳到头, 手动进样阀将处于“Load”状态, 用医用注射器吸入约1~2 ml的50%的甲醇或异丙醇后, 接上7725阀专用接头(白色), 从手动进样阀的进样口注入, 进行手动进样阀的清洗; 然后将手动进样阀的扳手顺时针扳到头, 手动进样阀将处于“Inject”状态, 以同样的方法清洗; 使用前再用当天使用的流动相按上述操作清洗。

2.1.5 流动相的更换和过滤

1. 检查流动相是否太少或放置太久。超纯水或缓冲盐溶液建议每天必需更换且过滤, 以防止长细菌。超纯水必须为新制, 这一点尤其重要。(市售小瓶装质量好的纯净饮用水也是好的选择)

注意: 一般情况下, 自动进样器清洗液建议使用与样品互溶好的溶液并且不含盐, 如果与某通道流动相共用, 在在线脱气机的该通道出口用一个三通相连。

2. 若您的仪器配置的是低压四元梯度泵, 在摸索方法时可充分利用四元泵的作用, 有机相用一个通道, 超纯水或缓冲盐用另一个通道, 一旦摸好条件可以配制该比例的混合溶剂, 配好后先摇匀, 后过滤, 再超声脱气使用; 当然也可设定

好该比例由泵自动混合，减小人工混合带来的误差。

梯度洗脱则有机相用一个通道(如 A 通道)，超纯水或缓冲盐用另一个通道(如 B 通道)，使用一段时间建议 A 和 B 通道进行更换。

3. 混合流动相的过滤原则：纯有机相或含一定比例有机相的就要用有机系 0.45 μ m 的滤膜，水相或缓冲盐的就要用水系 0.45 μ m 滤膜。这一点需特别注意，因有机溶剂可以溶解水系滤膜，被溶解的水系滤膜更易损坏密封圈和柱塞杆。

4. 配好的流动相真空过滤时，当抽滤完后可继续抽滤几分钟，起到抽滤脱气的作用。

2.1.6 流动相的超声脱气

1. 过滤后的流动相需要继续抽真空 2 分钟左右或超声脱气约 10~20 分钟。

2. 超声波清洗器的功率和频率不宜太小，且长宽高不宜太小，否则超声效果不佳。建议：功率 ≥ 200 W，频率 ≥ 40 KHZ，长宽高约：30 $\times$ 30 $\times$ 25cm（内径）。

3. 建议超声波中的水位尽量高于流动相瓶中的水位，超声脱气效果会更好。

4. 超声的时间不易过长，超声波工作会发热，超声时间过久时，超声波中的水会发热，随之流动相也发热升温，导致改变流动相的组成比例。

2.2 打开仪器电源开关

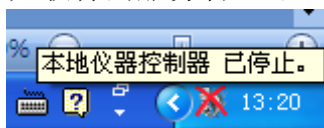
打开仪器各部份后面板电源线下方的电源开关，仪器将开机自动进行自检。各部分自检成功后，方可正常进行以下各步操作。

2.3 打开软件

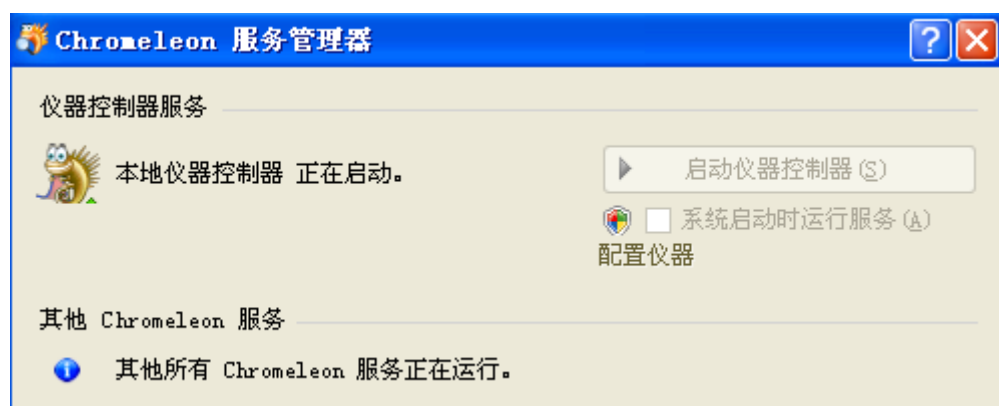
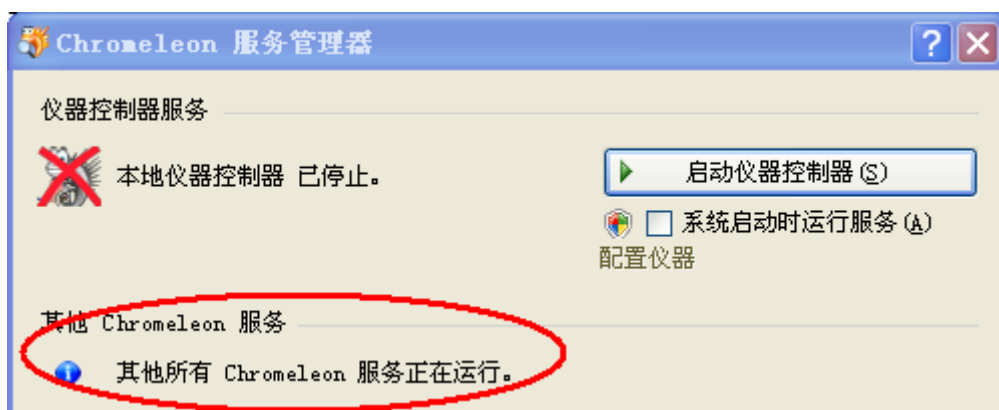
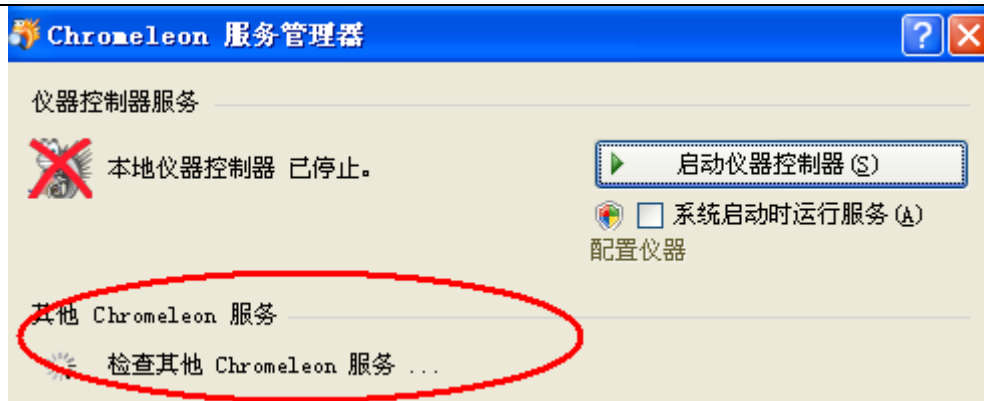
2.3.1 打开电脑

打开电脑，等待约 1~2 分钟，变色龙服务监视器将会自动启动。

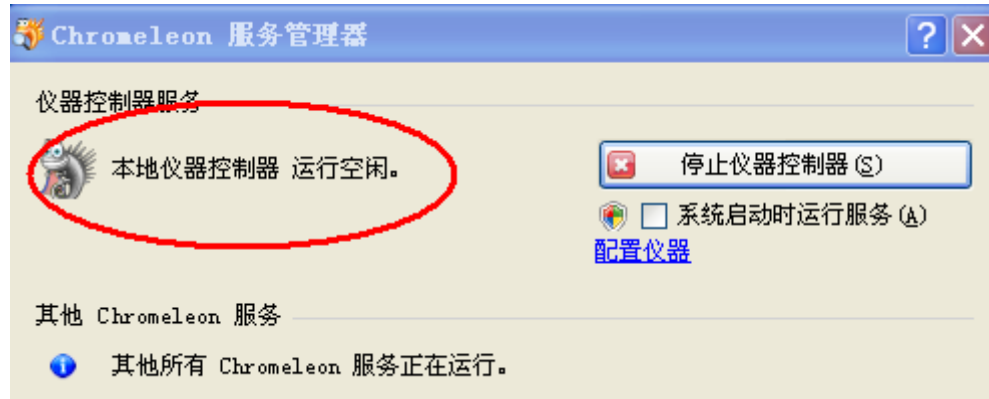
或者双击电脑右下角的变色龙软件的服务管理器，如下图：



将跳出如下图所示界面：单击“启动仪器控制器”，激活服务管理器，方能进行以后的各项操作(包括以后用软件控制仪器也需要先激活服务管理器)。

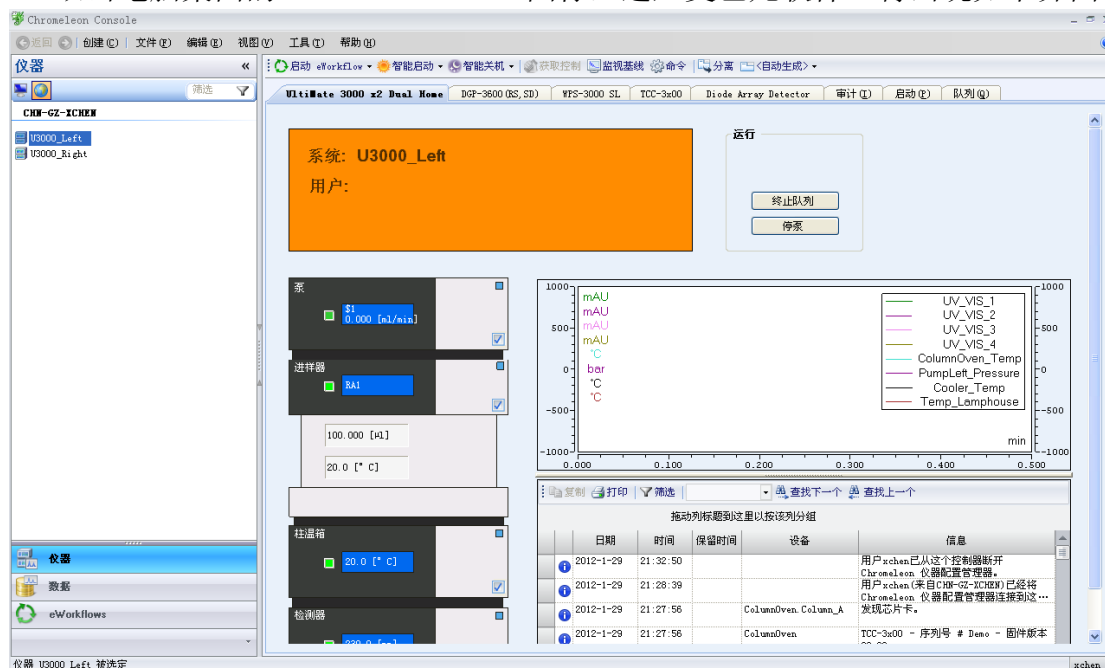


如下图：服务管理器启动后，并显示软件的系列号，表明监视器已经启动。



2.3.2 打开变色龙软件

双击电脑桌面的“Chromleon 7”图标，进入变色龙软件。将出现如下界面：



类似电脑操作系统中的资源管理器，左方为根目录，右方为对应目录下的文件夹或文件。

左下方有三大模块：

仪器：控制仪器和运行的相关操作界面。

数据：查看和处理仪器分析数据。

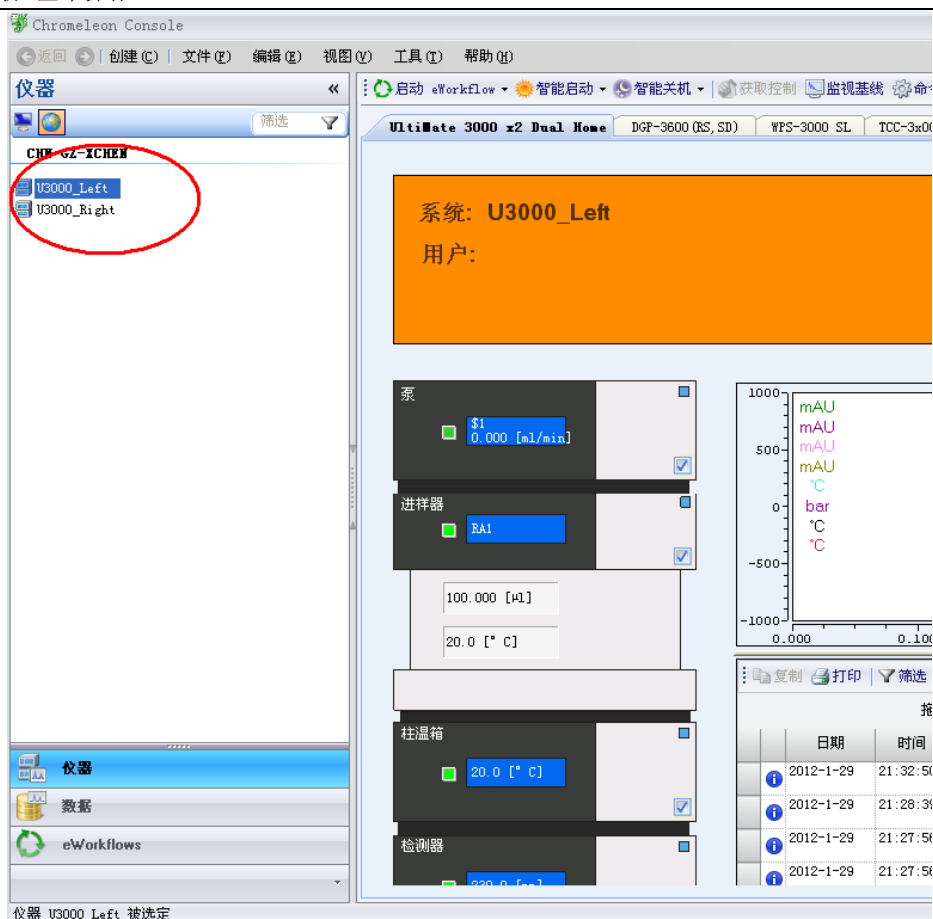
eWorkflows：固定工作流程。

单击某一模块，则进入相应的版块。

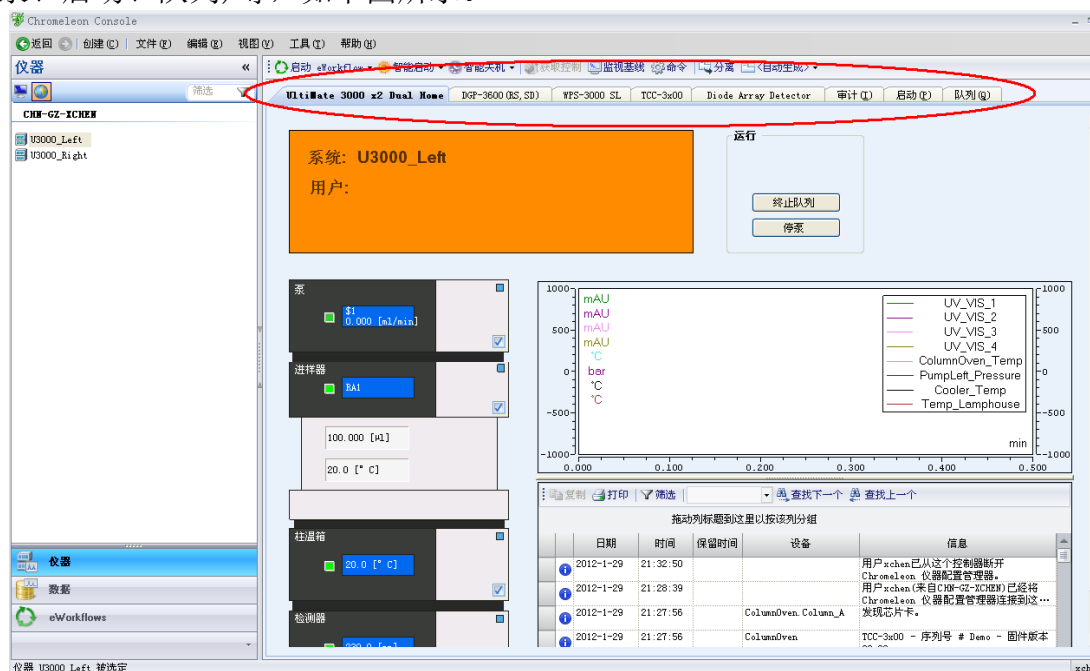
2.4. 软件的基本使用

2.4.1 仪器

单击“仪器”模块后，左上方的浏览窗口中将显示本软件所控制的仪器个数和名称。如下图。



在左上方的浏览窗口中单击仪器(例如“U3000_Left”)后,在右上方将显示该仪器的各个模块(泵、进样器、柱温箱、检测器)和其它控制信息(审计使用记录、启动、队列)等,如下图所示。



下面将介绍仪器模块下常用的一些按钮和设置。

2.4.1.1 智能启动

智能启动系统可以提前使仪器按指定程序开机和平衡系统，但必须是已经设置好的队列或仪器方法。

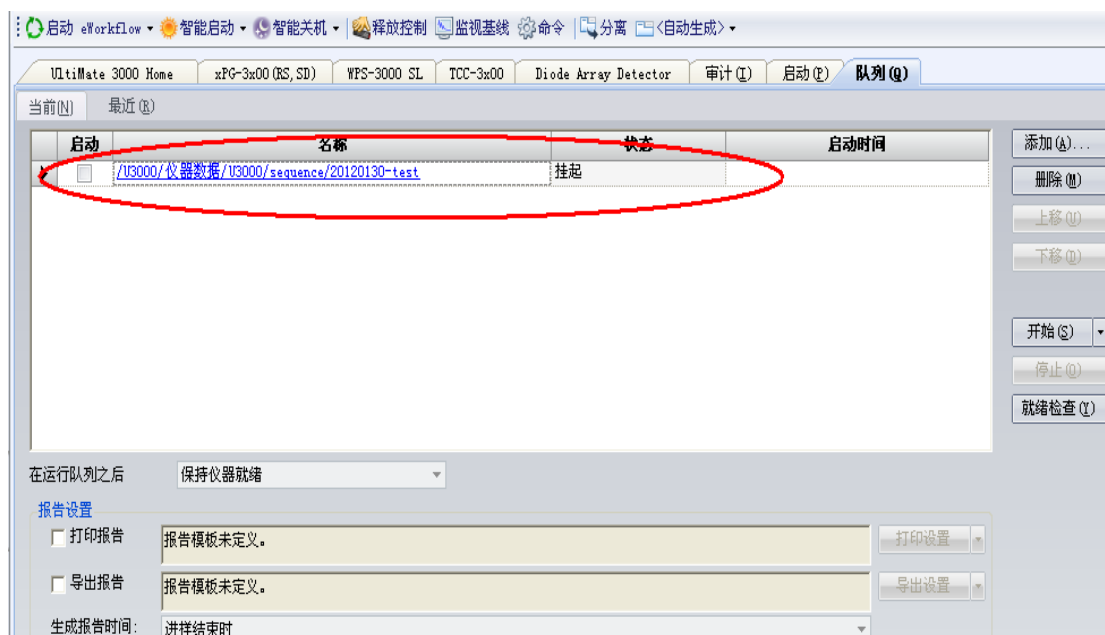
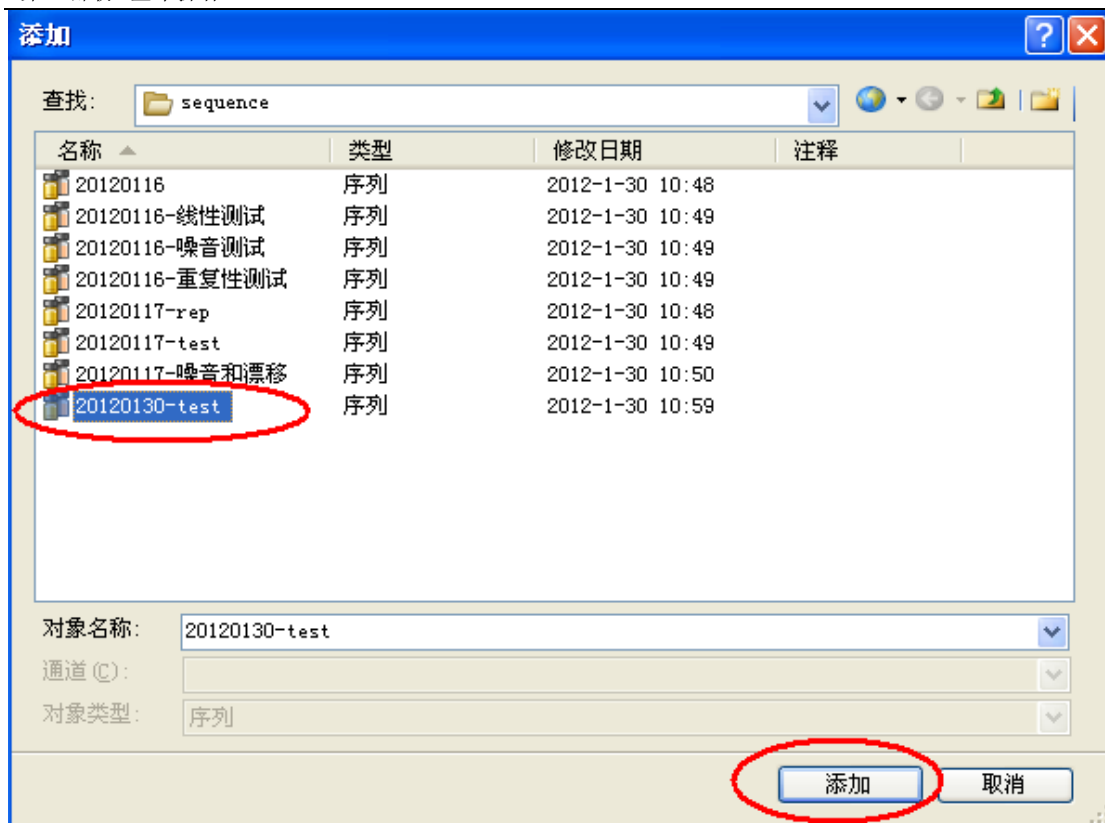


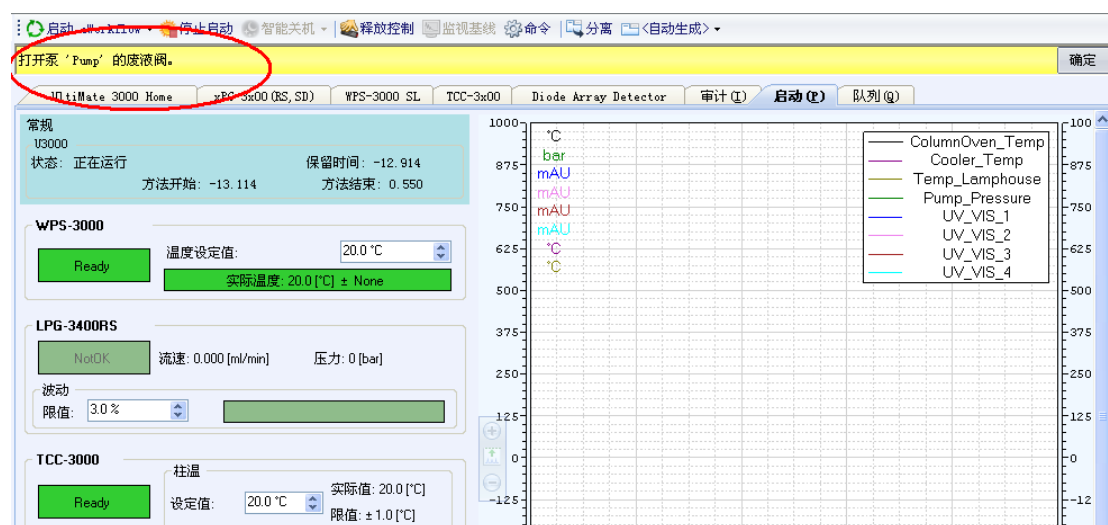
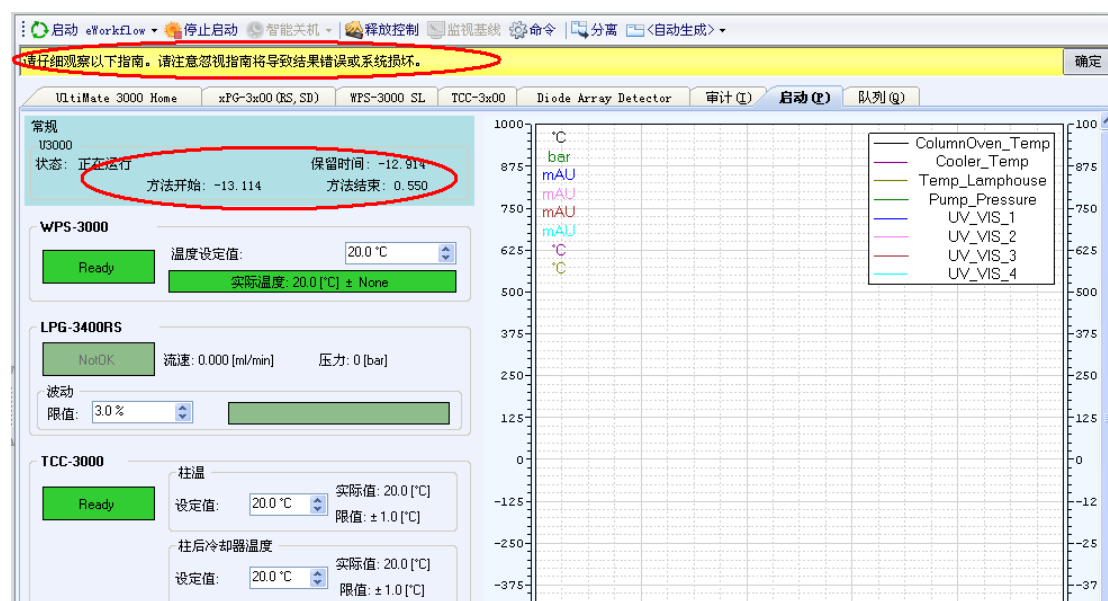
点击“智能启动”键，将有两个选项：“使用队列设置”和“使用仪器方法...”。如果我们即将运行某个队列或仪器方法来分析样品，则可以设置使用这个队列或仪器方法进行智能启动平衡系统。如果队列中已经加入了需要运行的队列文件，则可以使用“使用队列设置”来智能启动，否则无法使用此键。如果已经设置好了仪器方法（也可以调用以前的仪器方法），则可以使用“使用仪器方法...”来智能启动。

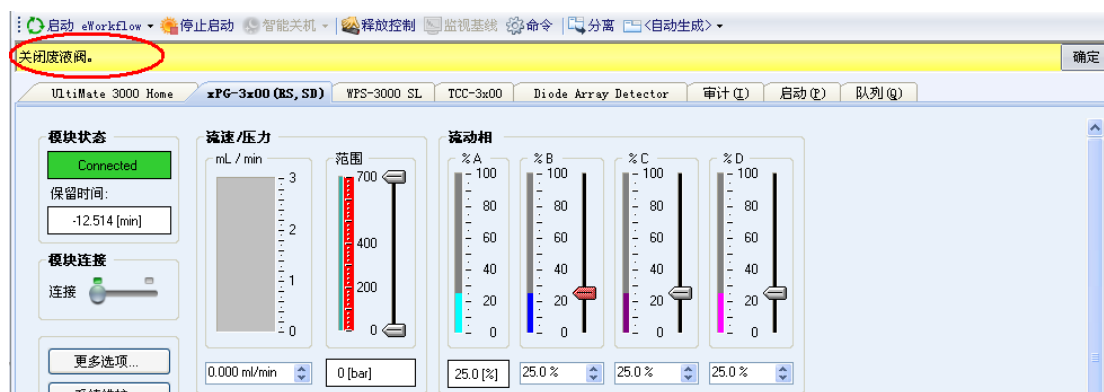
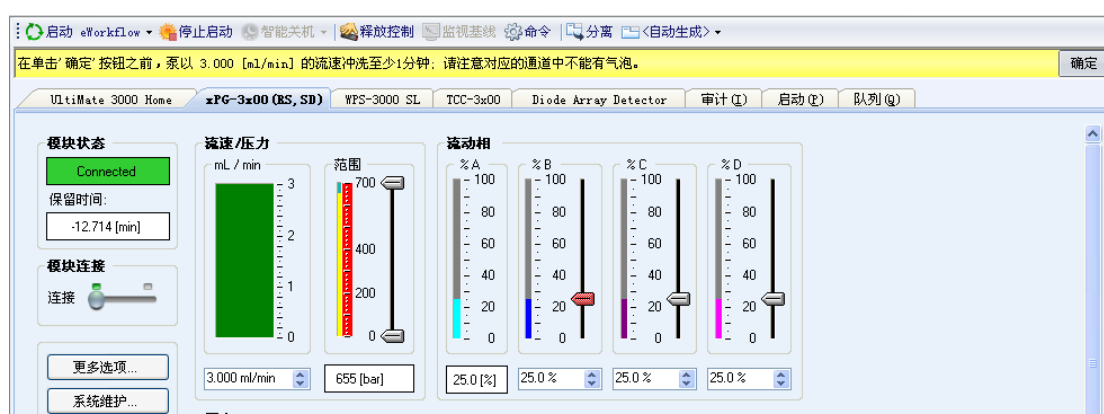
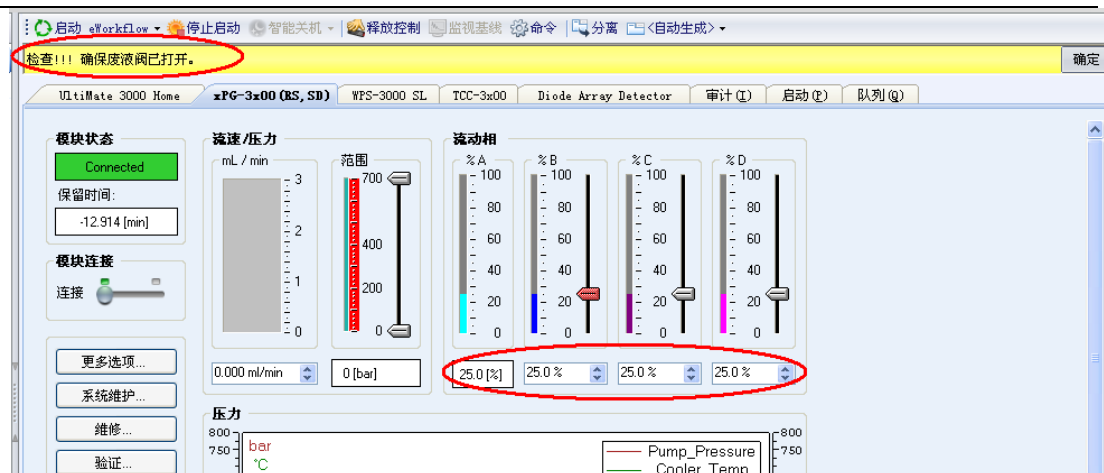
以“使用队列设置”为例：

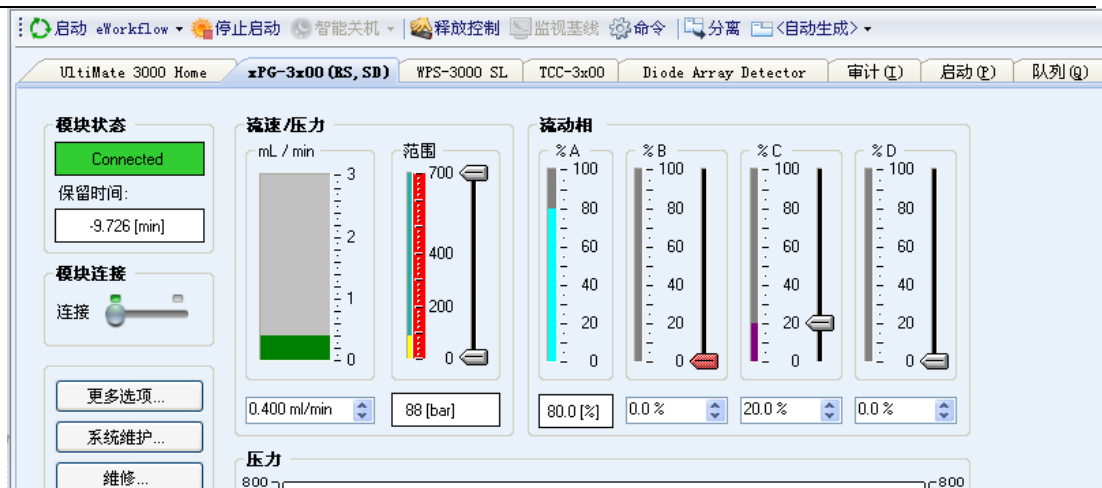
首先，在队列项下添加即将要运行的序列文件，如下图：



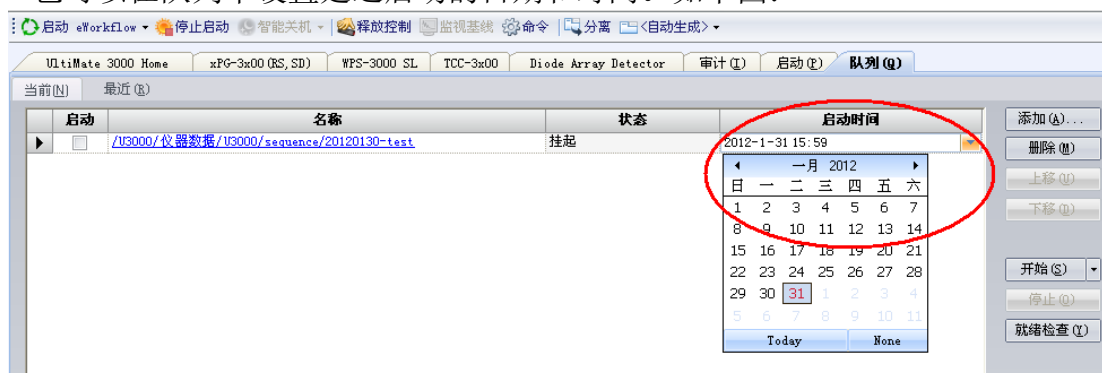








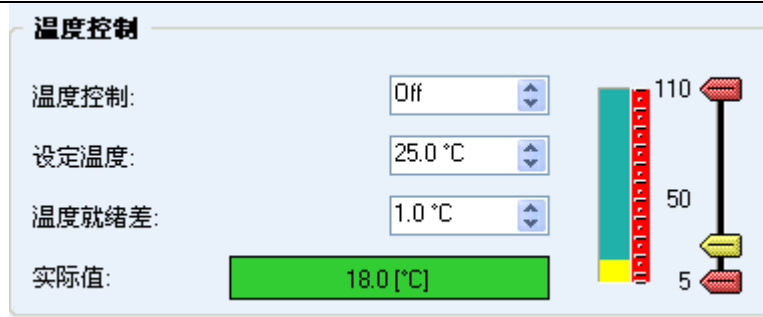
也可以在队列中设置延迟启动的日期和时间。如下图：



2.4.1.2 智能关机

在样品分析分析结束并平衡色谱柱后，可以利用智能关机进行一键关机；也可以设定关机序列加入批处理后面进行自动停机。点击“智能关机”键，仪器将在一分钟后停机（关灯、关柱温、停泵，但无法自动关闭仪器的电源）。如下图：

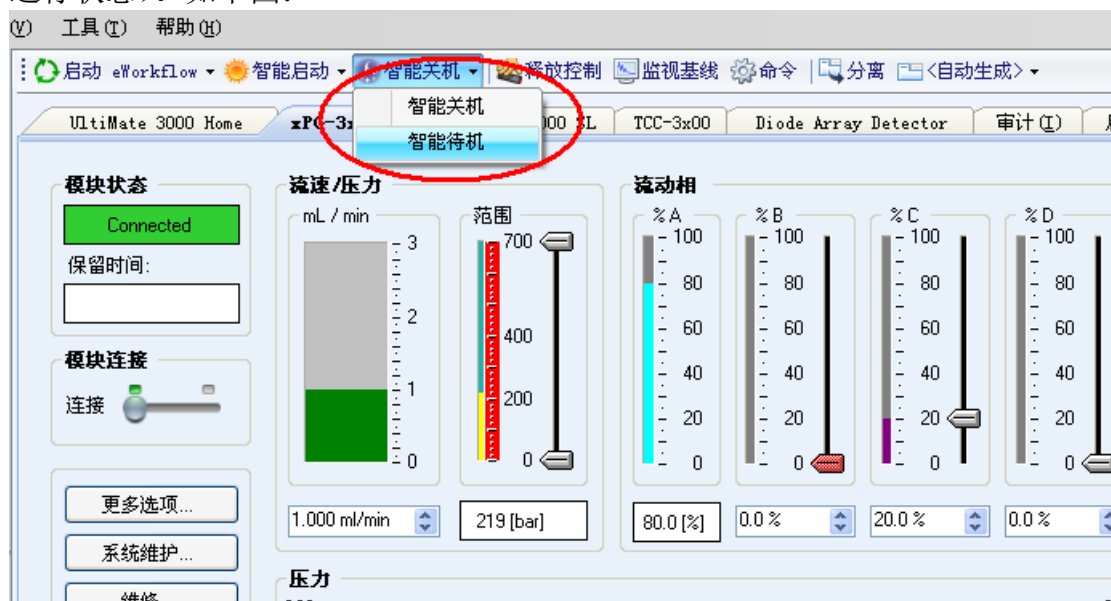


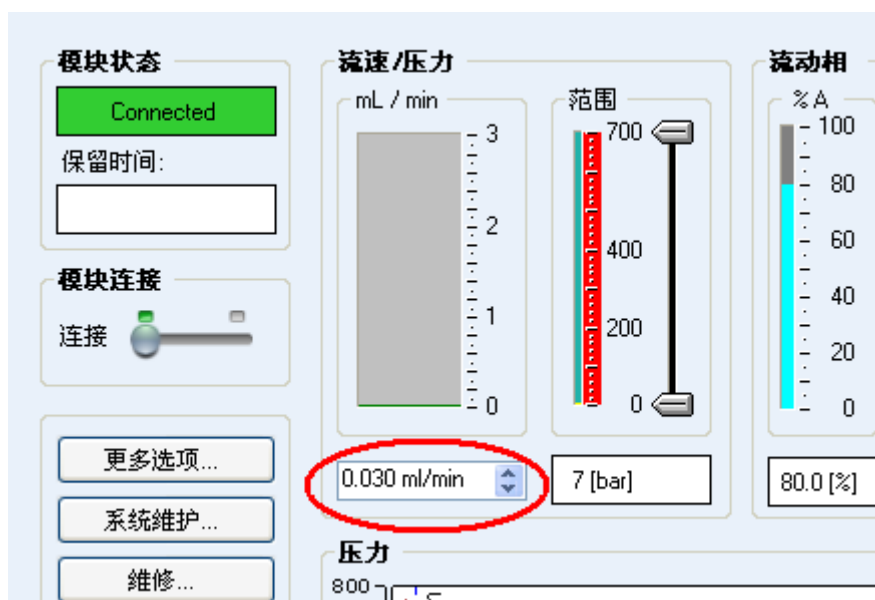
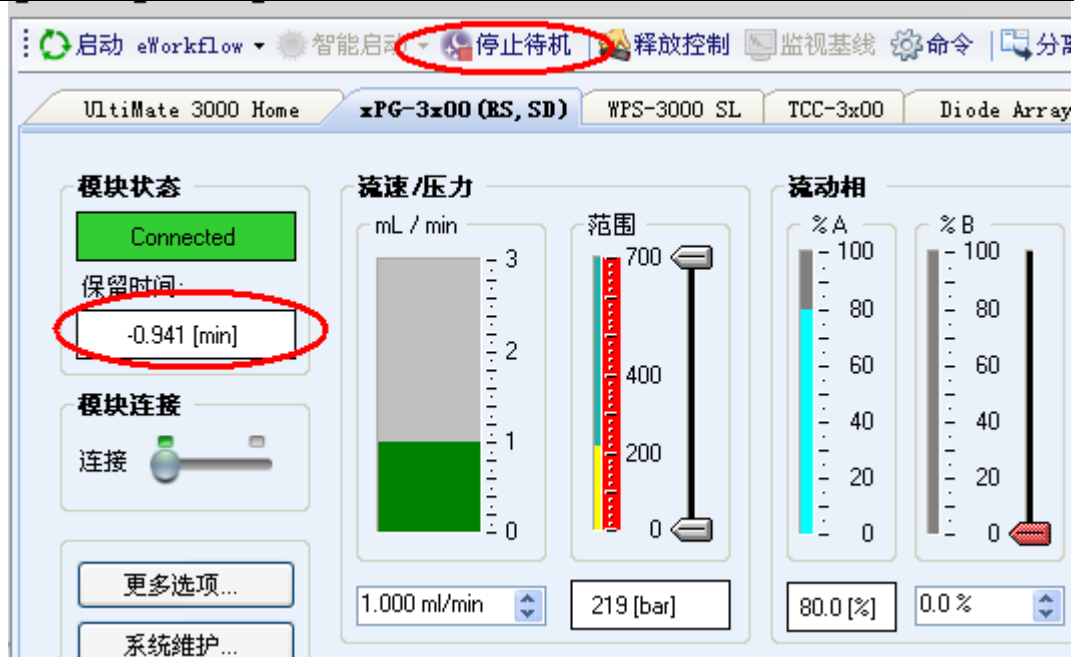
**说明:**

- 1, 智能关机不适用于含有缓冲盐或酸体系在运行完序列后直接执行, 需另外冲洗序列。
- 2, 如果分析用流动相是水/甲醇体系, 清洗就用水和甲醇, 如果分析用水/乙腈体系, 建议仍用水和乙腈清洗, 因为甲醇的粘度系数较高, 洗脱强度又弱于乙腈。

2.4.1.3 智能待机

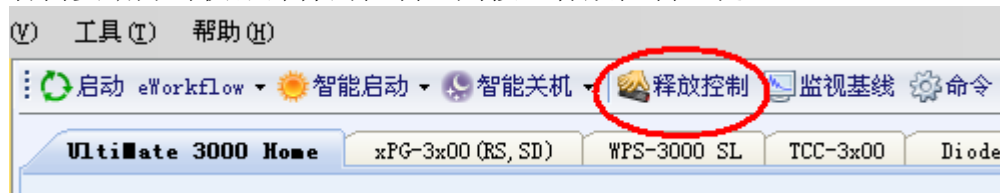
在样品分析分析结束并平衡色谱柱后, 可以利用智能待机进行一键待机; 也可以设定待机序列加入批处理后面等样品分析结束后进行自动待机。点击“智能待机”键, 仪器将在一分钟后待机 (关灯、关柱温、泵进行 0.03ml/min 低流速运行状态)。如下图:





2.4.1.4 释放控制

若需要断开对仪器部件的控制，则按“释放控制”键。



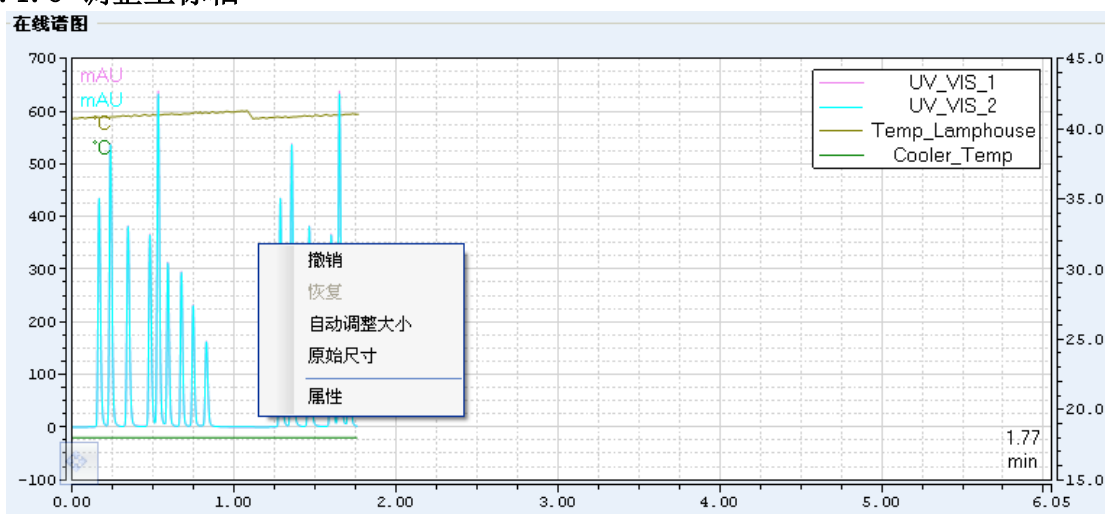
2.4.1.5 监测基线

如果需要采集信号（检测器信号、压力信号、柱温信号等），则单击监测基线按钮。如下图：



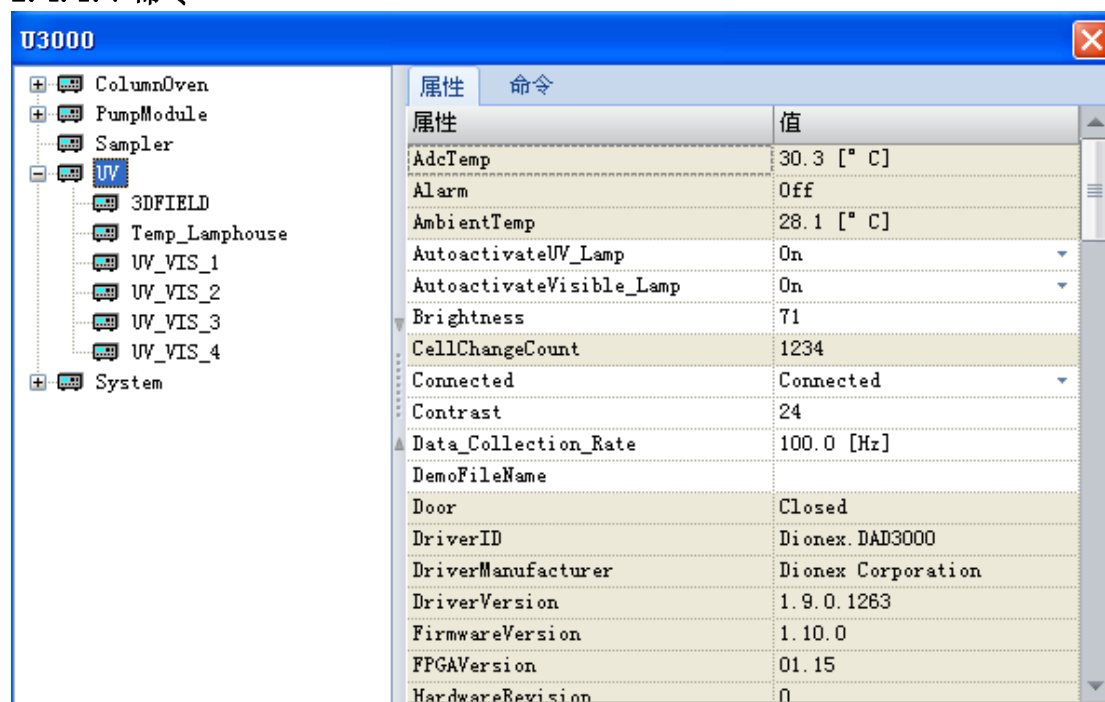
如果再次单击“监测基线”，则停止采集。

2.4.1.6 调整坐标轴



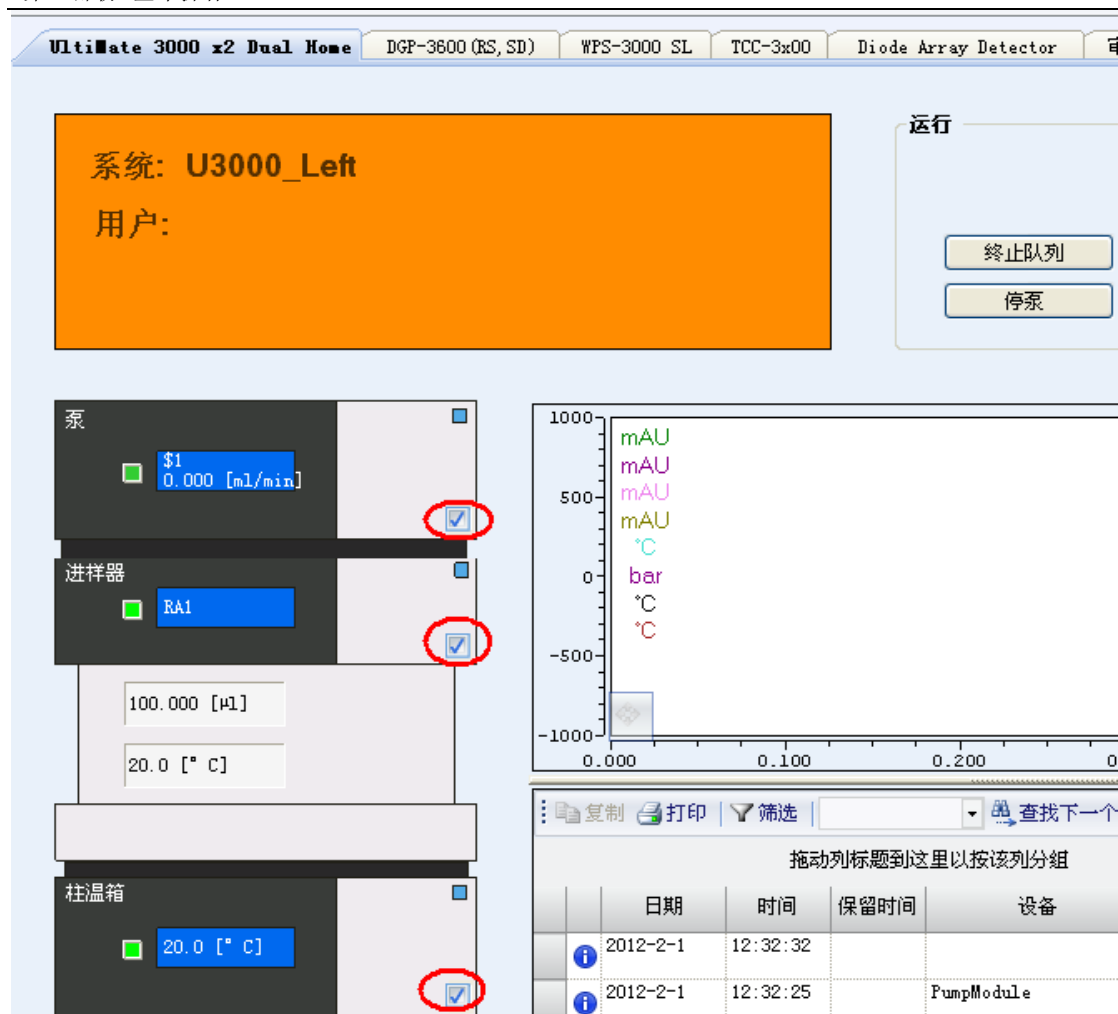


2.4.1.7 命令



2.4.1.8 UltiMate Home

以下仪器硬件部份以 U3000 (X2) 双系统为例。



每个部件的右侧有一个与软件的连接状态按钮。“√”为已连接，可以通过单击来控制连接与断开连接。

终止队列：按此键可以中断队列的运行。

停泵：按此键可以停上泵的工作。

2.4.1.9 泵

在 U3000 仪器控制界面的上方，单击“DGP-3600 (RS/SD)”或“XPG-3x00 (RS/SD)”，进入泵的控制界面，显示如下图所示：



2.4.1.9.1 基本按键

连接/断开：软件与泵的连接或断开。一旦使用软件与泵进行了连接，泵的前面板上的控制键将不起作用。

暂停：仪器暂停时，计时器也暂停但不回到零点，按“继续”键后计时器和泵继续工作。

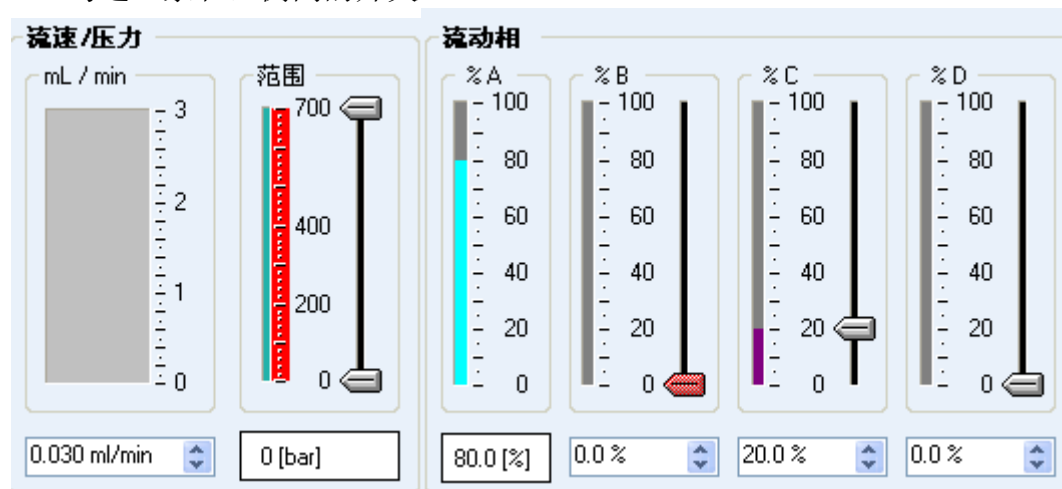
停泵：泵停止工作，计时器也回到零点。

继续：与“暂停”“停泵”配套使用。

流速/压力：设定泵的流速，压力会自动在线监测。

淋洗液：设定 A/B/C/D 各通道的比例，通过比例阀调节。

马达：泵和比例阀的开关。



2.4.1.9.2 冲洗

快速清洗功能键。

每天或每次使用仪器分析样品前，需先清洗泵头或管路中残留的气泡或溶剂。

在使用此键前需先向上掀开泵头前面板，然后拧松快速清洗阀（反时针两圈左右）。然后在软件中按此“冲洗”键，泵将以3.0 ml/min的速度自动快速清洗泵内残留的气泡，5分钟将自动停止。若想手动停止，只要再按“冲洗”键，将停止清洗。

注意：若长时间未使用仪器，或该通道更换了另外的流动相，清洗时间不易太短，一般以5分钟为宜。否则，有残留气泡或溶剂留在真空脱气机内，易造成流速不稳定，所分析成分的保留时间不稳定而影响正常的分析。

要使用的每个通道（A/B/C/D）都需要设100%A, B, C, D单独快速清洗来排气泡。如果通过分别设定每个通道的比例让多通道进行同时快速清洗，泵流速建议控制在3ml/min以下，否则容易损坏比例阀。

清洗有缓冲盐的那个通道前后，一定要用去离子水清洗管路和泵头。以防止缓冲盐直接与纯有机相（甲醇、乙腈等）混合而产生结晶堵塞比例阀。

清洗完毕，先停泵，再拧紧快速清洗阀。切记：不要在泵未停止清洗前拧紧快速清洗阀。

如下图，为按“冲洗”键前的警告信息。



2.4.1.9.3 更多选项



主要设定泵的一些常规参数，如冲洗时流速/时间、流速的加减速度、密封圈的清洗、屏幕的亮度、脱气机的工作模式等。一般情况下，建议不要随意更改这些参数。

在进样器、柱温箱、检测器中也有类似的界面，将不再一一说明。

2.4.1.9.4 维修

LPG - 维修

维修: 泵 LPG-3400RS

仪器: U3000

维修日期

2012-01-21 2012-01-26 2012-02-02

间隔: None 警告期: None

最后一次更换: 2012-01-22

记录新的维修

左泵单向阀维修

0 100 200 300 400

间隔: None 警告期: None

最后一次更换:

记录单向阀维修

混合器过滤芯更换

0 50 100

间隔: Off 警告期: Off

最后一次更换:

记录过滤芯更换

更换左泵柱塞

1. 调用 对接柱塞

2. 更换柱塞

3. 调用 移出柱塞

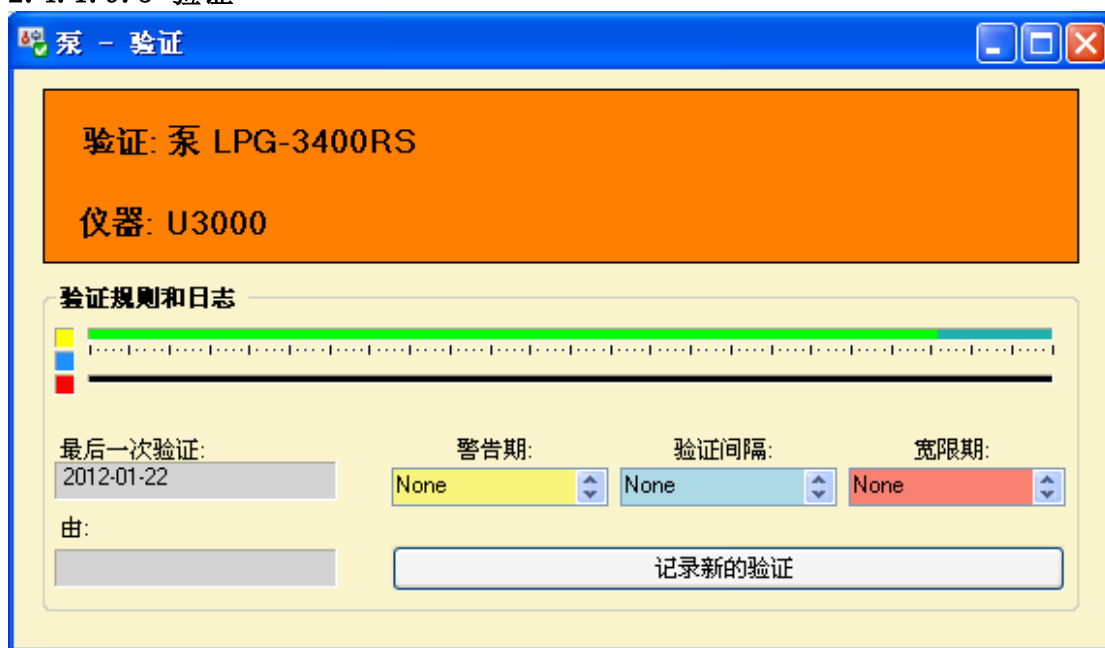
4. 记录 柱塞已更换

柱塞状态: Operational

主要用于刷新维修记录，和设定易损件的定期更换周期警告。注意，泵未进行维修、未更换过单向阀或过滤片时，请不要随意刷新记录日期。

在进样器、柱温箱、检测器中也有类似的界面，将不再一一说明。

2.4.1.9.5 验证

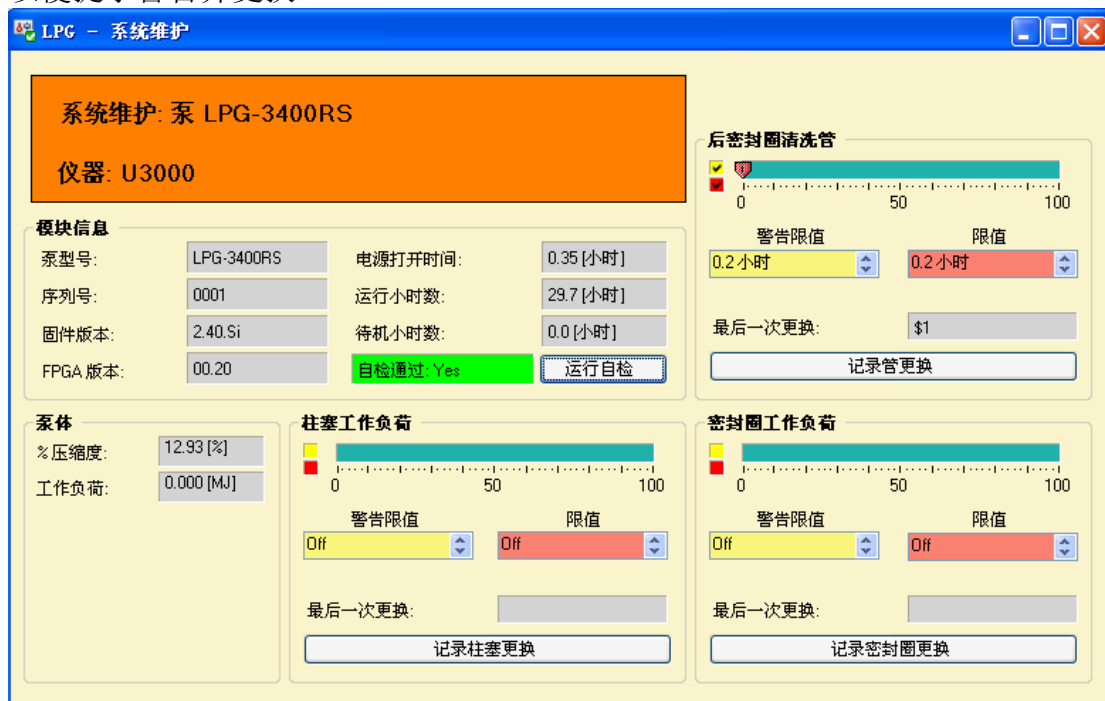


若该仪器需定期进行 PQ 认证，则需在每次认证通过后更新一下验证日期，即点击“记录新的验证”。不需要定期进行 PQ 认证的，不需要设定和按此按钮。

在进样器、柱温箱、检测器中也有类似的界面，将不再一一说明。

2.4.1.9.6 系统维护

自动监测泵、柱塞杆、密封圈的使用时间/磨损值，并可设定最长使用周期，以便提示警告并更换。



在进样器、柱温箱、检测器中也有类似的界面，将不再一一说明。

2.4.1.10 进样器

在 U3000 仪器控制界面上方的“WPS-3000SL”，将显示下图：



2.4.1.10.1 模块连接

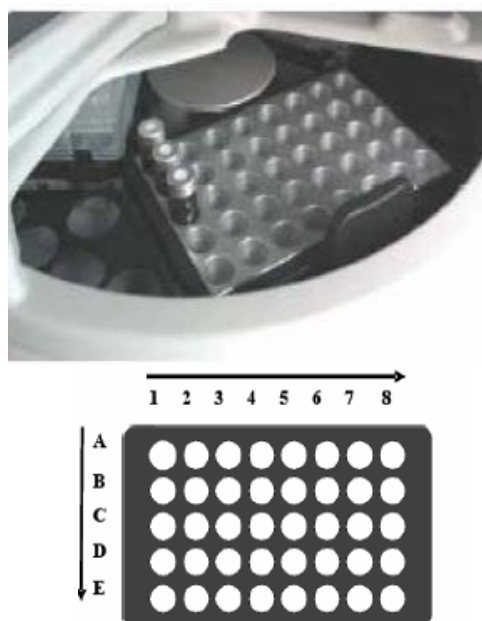
连接/断开：软件与进样器的连接断开命令，当软件与进样器建立连接后，进样器前面板上的控制键将不起作用。

2.4.1.10.2 进样

位置：

三个扇形区分别为：R、G、B。以分析型自动进器为例，每个区可放置一个标准的分析型孔板和一个大号的孔板。

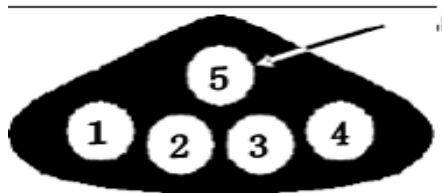
标准的分析型孔板 (2ml) 如下图所示：



以 R 区为例，使用该孔板时，样品瓶的位置可定义为 RA1-RA8、RB1-RB8、

RC1-RC8、RD1-RD8、RE1-RE8，共 40 个样品瓶位置。

大进样量用大号孔板（10ml）如下图所示：



以 R 区为例，使用该孔板时，样品瓶的位置可定义为 R1、R2、R3、R4、R5，共 5 个样品瓶位置。

体积：

RS/SD 型的进样器标准注射器为 100 μ l，最大进样量不能超过 100 μ l。若需要进更大体积，需更换注射器和相应的定量环。

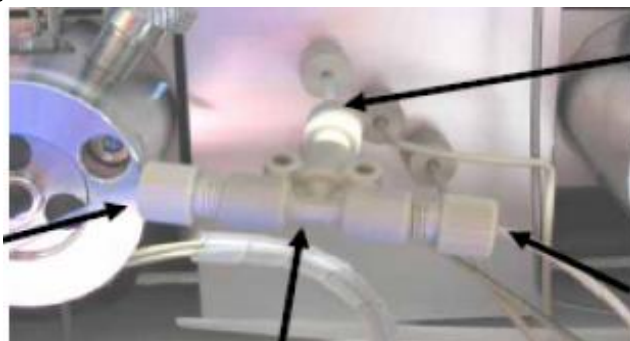
进样：

手动进样，此时软件不会自动触发采集信号，需人工点击工具栏中“采集开始/停止”图表，无法完全同步。故平时很少使用此键。

停止进样：

手动停止进样。

2.4.1.10.3 启动



若泵带有在线脱气机，则自动进样器清洗液使用一个流动相（以水和有机溶剂混合的不含盐的溶液）作为清洗液，在泵的比例阀前使用一个三通相连，如上图所示；若没有在线脱气机，则使用自动进样器自带的 125ml 清洗瓶装清洗液，自动进样器使用前建议对清洗液进行超声脱气。

清洗液可以使用水和有机溶剂互溶的不含盐的溶液，禁止使用缓冲盐或与流动相不兼容的溶剂。但梯度分析时建议清洗完后再以分析样品时所用的起始步流动相（但不含盐）作为清洗液再冲洗一下。使用起始步流动相作为清洗液，这样不会影响梯度分析尤其是第一针样品的分析。。

自动进样器的清洗分三个部分，一般在每天或每次使用自动进样器前需先进行如下三个步骤排除自动进样器的气泡。

(1) 充满注射器

启动此命令，用于排除注射器中残留的气泡。注射器中若有气泡，易造成进样量的不准确，进而影响含量测定。默认清洗体积为注射器的满量程，若一次仍无法完全排除注射器的气泡，可执行多次清洗。

(2)清洗缓冲环

启动此命令，用于排除定量缓冲环中的气泡。缓冲环有气泡，导致进样体积不准确。

(3)洗针外部

启动此命令，用于清洗进样器外表面的残留，避免造成交叉污染或影响含量测定。

进样阀：

主要显示进样阀的位置（Load 或 Inject 状态）。

到进样位/到装样位，主要用于手动切阀进样阀的位置，如果流动相与清洗溶剂差别较大，为了避免进第一个样后不出峰或出鬼峰，可以在清洗完针外部后，将六通阀的状态切换到进样位置。

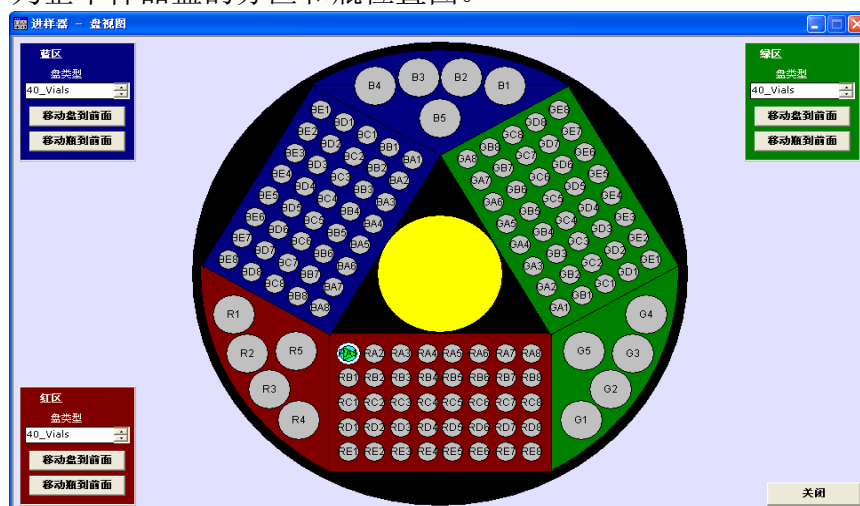
2.4.1.10.4 样品盘控制

在上述“位置”中已对样品盘进行了详细的描述，在此不再另作解释。

移动盘到前面：按此键可将该分区自动转到前外部位。但以该分区为中心朝外。

移动瓶到前面：按此键可将该分区自动转到前外部位。但以该瓶为中心朝外。

如下图，为整个样品盘的分区和瓶位置图。



2.4.1.10.5 温度控制

若配置的是带温控的自动进样器，则有此项显示。

温度就绪变量：给设定温定义一个允许的范围，若实际温度与设定温度之差不在此范围内，软件认为仪器未达到就绪状态。

2.4.1.11 柱温箱

点击 U3000 仪器控制界面上方的“TCC-3X00”时，将显示下图：



模块状态和模块连接： 软件与柱温箱的连接。

状态： 显示柱温箱的状态、温度是否达到、前门是否关闭等。

温度控制： 类似于进样器的温控部份。

泄露传感器设置：

气体泄漏传感器/湿气泄漏露传感器-感应湿度和漏液的传感器，因国内大多数实验室都未严格安装空调和湿度控制设备，建议将这两项设置为气体 LOW/OFF 湿气 Standard.

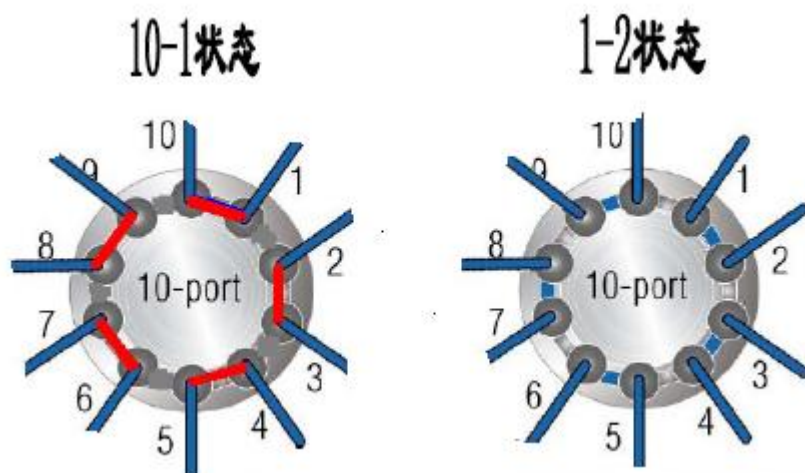
另外，柱温箱门建议不要长时间的敞开。

柱温箱门的开关：开门时，往外拉开右侧的小门即可。关门后，往里推，听到“咔”的一声即为关紧。关好门后，一定要确认门是否关好，即试着往外拉整个箱门，关闭后是无法拉开的。

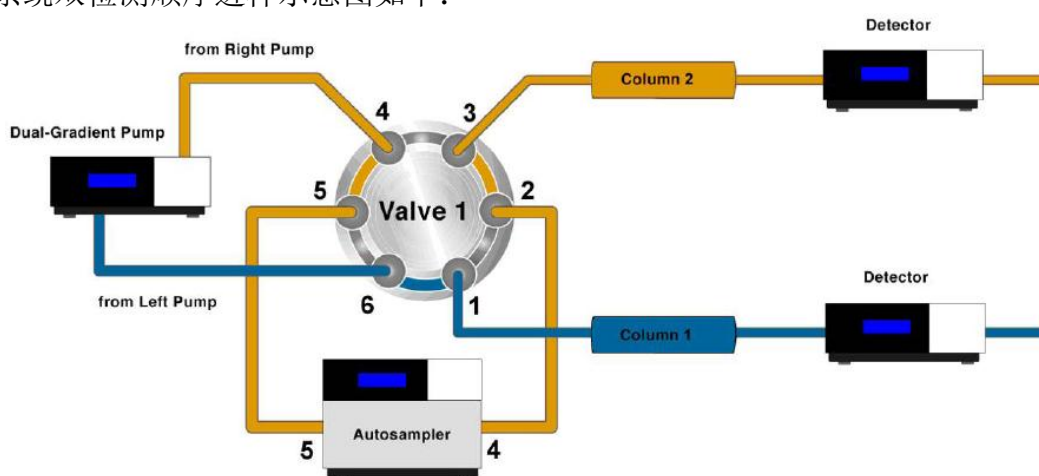
切换阀： 配有左/右切换阀的，则有切换阀的状态。

六通阀的开机默认状态为 6-1，另一状态为 1-2。

十通阀的开机默认状态为 10-1，另一状态为 1-2。如下图，以十通阀为例，显示在 10-1 和 1-2 状态下的连通情况。



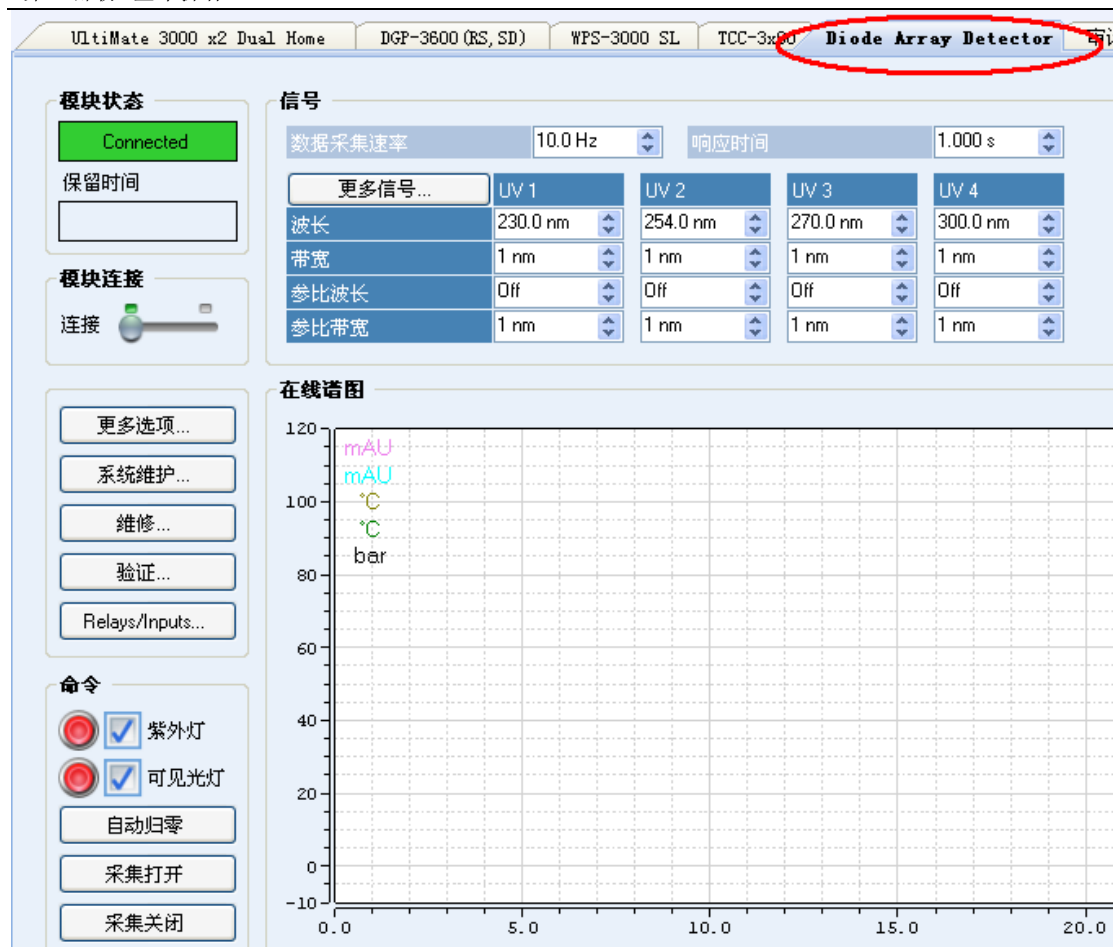
双系统双检测顺序进样示意图如下：



2.4.1.12 检测器

2.4.1.12.1 紫外检测器或二极管阵列检测器

点击 U3000 仪器控制界面上方的“VWD-3X00 (RS)” (VWD 紫外检测器) 或“Diode Array Detector” (DAD 二极管阵列检测器)，显示下图



紫外灯：负责紫外区的波长采集（190–350nm）小于 340nm 紫外灯必须开。

可见灯：负责可见区的波长采集（345–800nm）大于 670nm 可见灯必须开。

若配置的是 VWD-3400 或 PDA-3000，可同时采集四至五个不同的波长。如果测定已知化合物，建议使用一个波长，尽量不要采用多波长采集，可提高仪器的灵敏度和仪器的使用寿命。

另外，建议在开泵稳定 5 分钟以后再开紫外检测器的灯。开灯后，检测器会自动进行波长校正和能量校正。仪器若长期未使用，则检测器中可能有残留的气泡存在，这样，紫外光透过率就会降低，检测到的灯的能量也很不稳定，造成漂移和噪音值较大，自检就无法通过。所以，需开泵稳定几分钟，赶走流通池中的气泡之后再开检测器较好。

数据采集速率：

紫外检测器的采集速度范围为：0.2Hz–200Hz。通常，一个色谱峰至少由 20~40 个数据点组成，有时候会出现共淋洗或低信噪比的情况。推荐采样点为 40 为佳。实际情况下，可以根据需要采集的几个色谱峰中峰形最窄的那个判断最佳的采集频率。

时间常数 (VWD)：指定信号的时间常数。时间常数为检测器信号根据信号的增加，由 0% 升至 63% 所需的时间。该常数用于噪声抑制（值：0.00 至 4.55s；根据

检测器类型,只能使用预定义范围的值)。时间常数直接与上升时间 (Rise_Time) 相关。可采用以下公式: $2.2 \times \text{时间常数} = \text{上升时间}$ 。

由 Chromeleon 计算出的值仅为推荐值。可自由选择适合于应用的不同值。

提示: 如果时间常数为 4.55 s, 此时大多数噪声将被抑制。然而, 在对较窄色谱峰进行数据采集的过程中, 使用较短的时间常数更为合适。

响应时间 (DAD): 指定信号的响应时间。响应时间为检测器信号根据信号的增加, 由 10% 升至 90% 所需的时间。

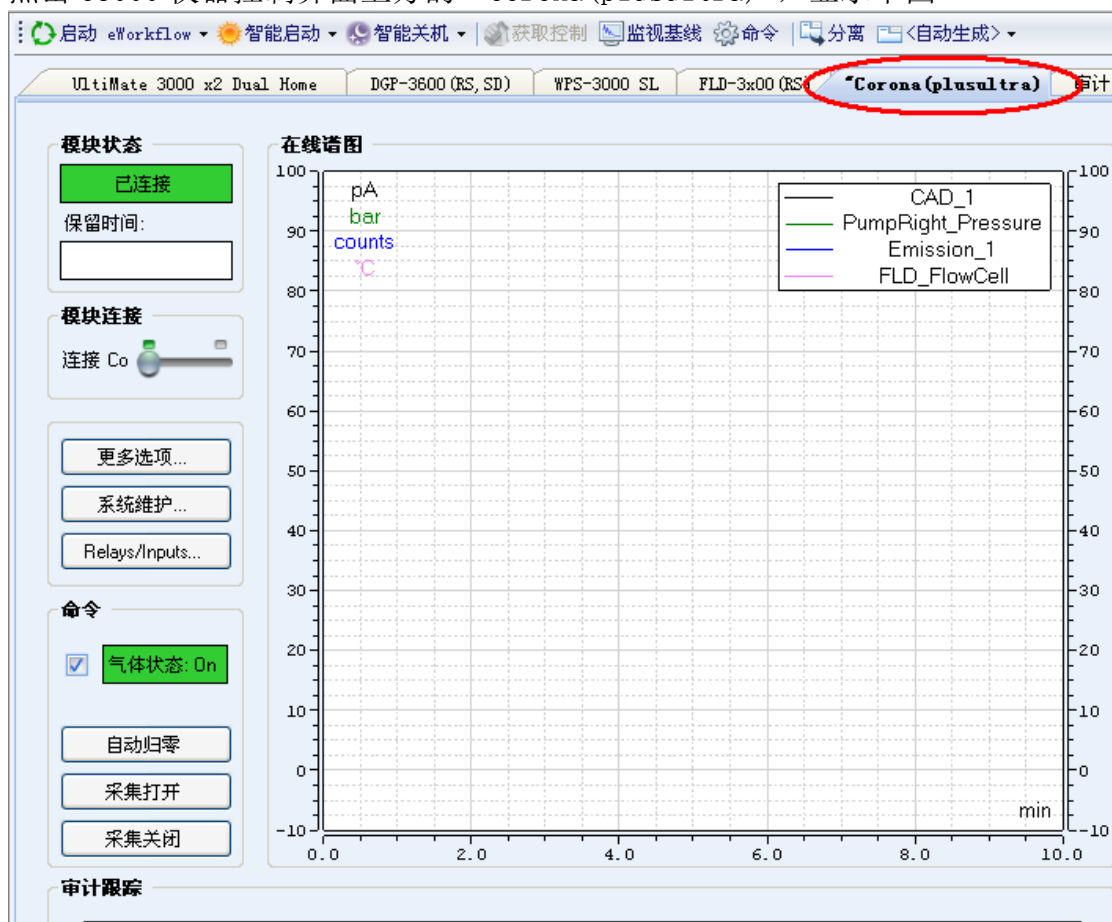
由 Chromeleon 计算出的这个值仅为推荐值。可自由选择适合于应用的不同值。

提示: 响应时间大约应为所关注的最窄峰在半峰高处峰宽的 25%。

紫外检测器的时间常数最大为 4.55 秒, PDA 检测器的上升时间最大为 5 秒。如果时间常数设定得过长, 会降低峰高并造成峰形的不对称。

2.4.1.12.2 CAD 电喷雾检测器

点击 U3000 仪器控制界面上方的“Corona(plusultra)”, 显示下图



说明:

1, 在打开 CAD 电源之前, 请先打开液氮气源的总开关, 并控制分压 0.4MPa 左右。

2, CAD 检测器对试剂的要求与高端质谱相同。所使用的色谱柱中在使用前保

证没有难挥发降解的缓冲盐或酸残留,所使用的流动相也不得含有难挥发降解的缓冲盐或酸,可使用的缓冲盐或酸有:乙酸铵、甲酸、乙酸等。

3, 所使用的色谱柱在连入 CAD 前需充分冲洗和平衡,在未开 CAD 内部气源开关前不得连入 CAD。

4, 分析柱后必须安装在线过滤片,防止不溶颗粒进入检测器。

气体状态 ON:在使用前,需先断开色谱柱与 CAD 的连接(平衡色谱柱时,柱后直接连废液),然后开启气体状态 ON,用氮气吹扫检测器流路 5 分钟以上。然后再连接上色谱柱,平衡基线 30 分钟以上再分析样品。

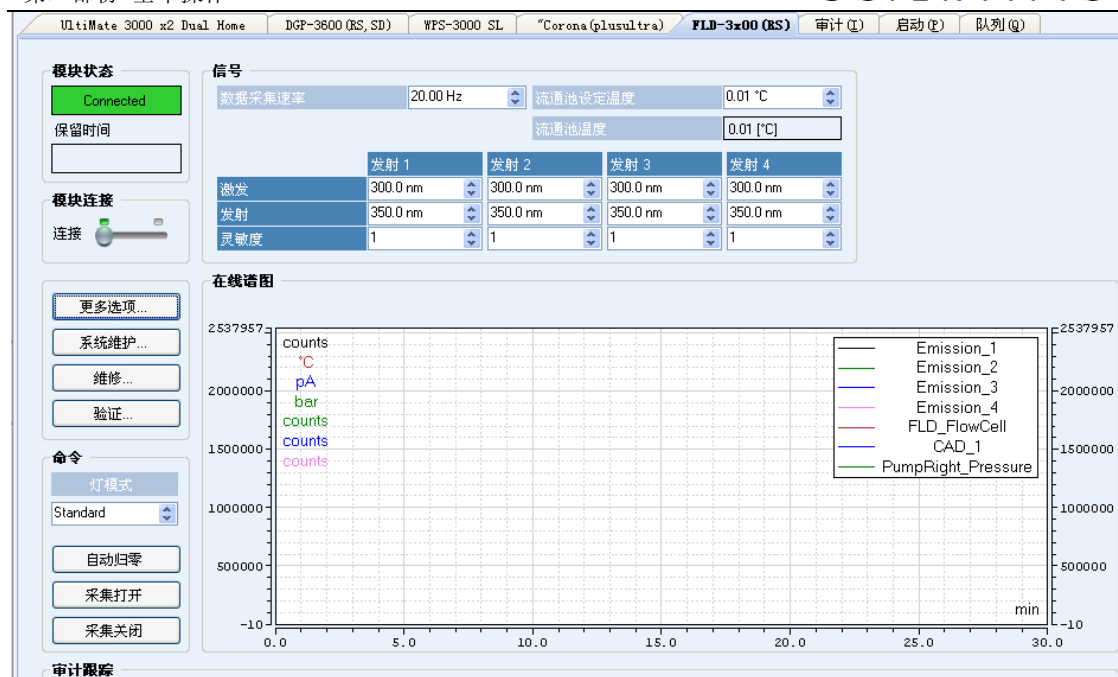
警告: 务必确保启动泵流量之前检测器气流处于打开状态。

更多选项: 设定 CAD 的其它参数,如雾化器温度、采样频率等。如下图:



2.4.1.12.3 FLD 荧光检测器

点击 U3000 仪器控制界面上方的“FLD-3X00 (RS)”,显示下图

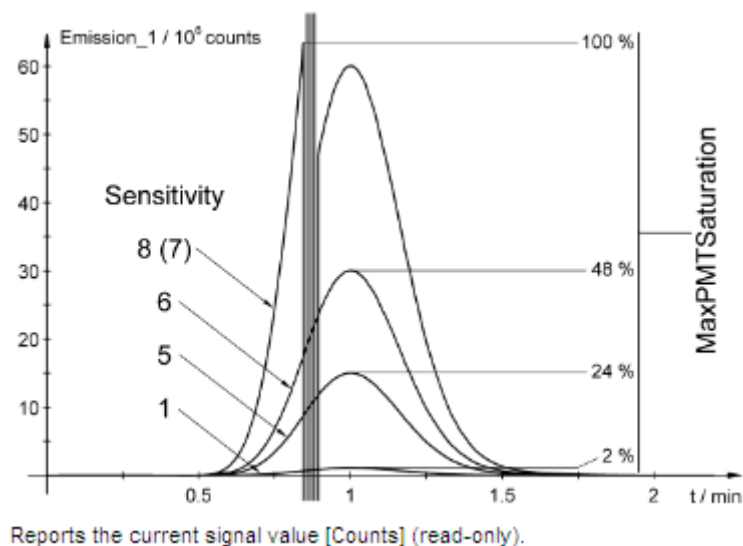


流通池设定温度：温度上限为 50 度，建议设定高于室温 15 度以上，需控制室温在 30 度以下。

激发波长：设置发射波长 [nm]。发射波长必须大于激发波长至少 20 nm。

发射波长：设置激发波长 [nm]。在待分析样品组份的最大吸收处选择激发波长。

灵敏度：数值越大，灵敏度越高，但高浓度样品使用高浓度时，峰形会失真，如下图。



灯模式 (LampMode)

设置氙灯的工作模式。较高的闪烁频率可获得较低的基线噪声，从而提高灵敏度。然而，较高的闪烁频率同时也会缩短灯的使用寿命：

高功率 — 灯以最高的频率闪烁。

标准 — 灯以较高的频率闪烁，可得到较高的灵敏度（不适用于多通道模式）。

长寿命 — 灯以较低的频率闪烁，可得到较低的灵敏度（不适用于多通道模式）。该模式只支持最高 20 Hz 的数据采集速率。



滤光轮 (FilterWheel) (仅 FLD-3400RS)：

设置截止滤光器的滤光轮位置。截除 280 nm、370 nm、435 nm 或 530 nm 以下的波长以抑制漫射光。然而，在滤光器波长周围 ± 30 nm 范围内，一些光还是能够透过滤光器。因此，发射波长必须等于或高于所选滤光轮波长减去 15 nm 的差值。

自动：检测器自动选择最佳的滤光轮位置。为大多数应用提供最佳结果。

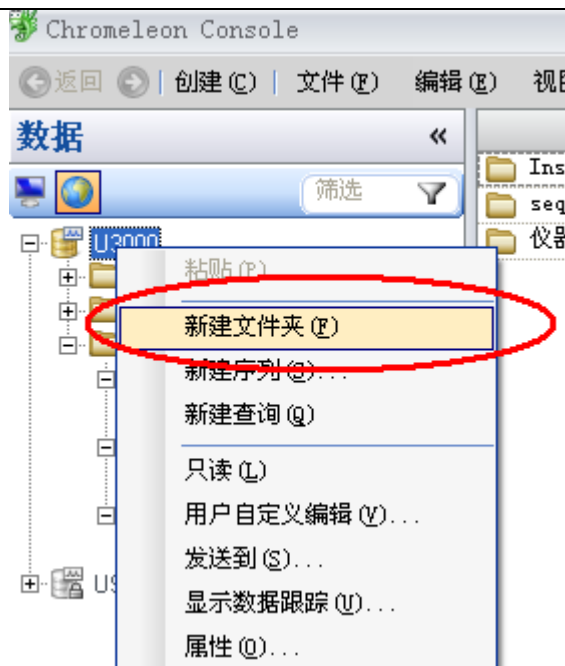
打开：滤光轮保持在打开位置。如果要以 220 nm 和 280 nm 之间的发射波长进行测量，则使用此设置。

2.4.2 数据

2.4.2.1 数据的存放

所有实验数据尽量分门别类存放，以便于查找和整理。可以使用不同的使用人作用存放文件夹，也可使用不同的文件类型来存放不同的文件。

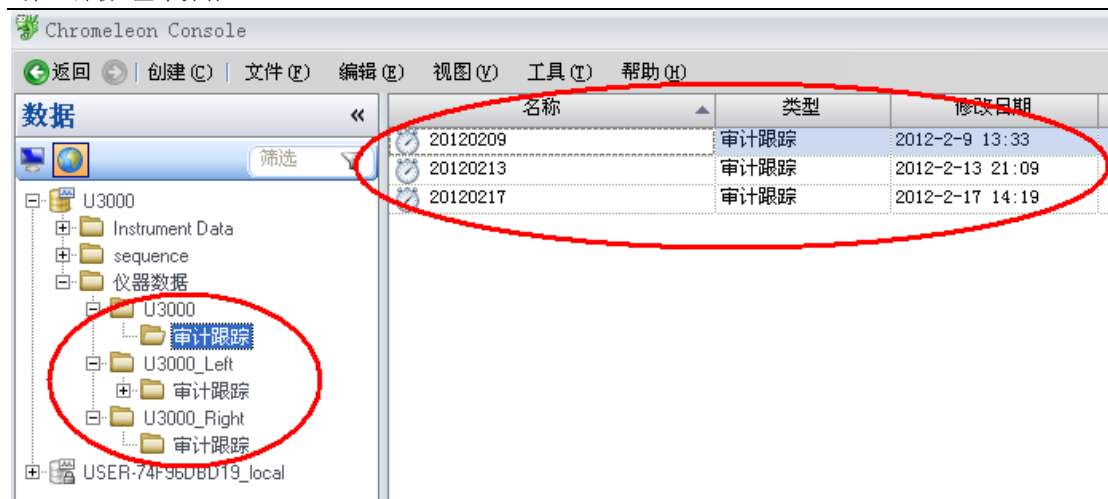
新建时，在需要新建的目录上右键单击“新建文件夹”，并重要命名即可。如下图。



关于数据如何处理，将在第五部份数据处理部份介绍。

2.4.2.2 使用日志

每一台仪器都有一个使用日志的文件夹。文件夹的名称是根据配置仪器时所设置的仪器名称自动生成的。如下图：



双击某一天的日志，可以查看更详细的关于仪器和软件的任何操作、错误或警告。这些记录不能逐条被删除。如下图：



2.4.3 eWorkflows

工作流程，适用仪器分析单一产品而设置固定的流程来工作。

2.5 分析样品前的准备工作

2.5.1 系统的准备

1. 分析样品前先用甲醇或乙腈冲洗流路约20分钟，平衡活化色谱柱，并赶走管路中的杂质和水分。

2. 若流动相为有机相与水相的混合物，则第1步完成后，按照分析样品的需要调节比例阀的比例后冲洗流路约30分钟后，待基线走平后即可进样。

3. 若流相相中含有缓冲盐溶液、有机/无机酸或其它电解质，则第1步完成

后用 95%左右的去离子水冲洗流路约 20 分钟后，再按照分析样品的需要调节比例阀的比例后冲洗流路约 30 分钟后，待基线走平后即可进样。

2.5.2 分析样品的准备

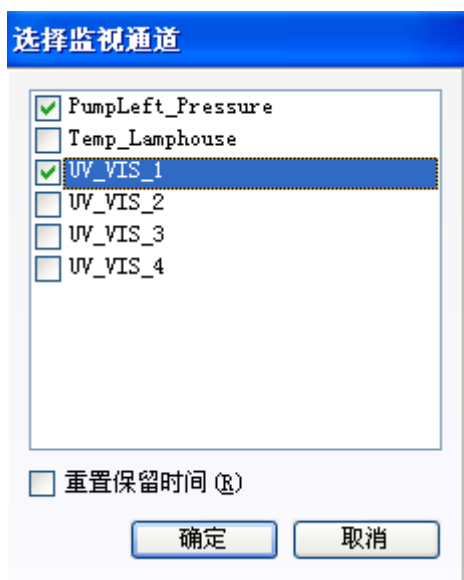
1. 按照样品的前处理要求处理好样品。例如用甲醇/水溶、超声、萃取、索氏提取、过C18小柱等前处理方法。
2. 注意：大约估计一下待测样品所测成分的浓度或含量，将待测样品与标准品配成浓度大致相当的溶液，以满足线性要求，保证所测样品含量或浓度准确。

2.5.3 排系统气泡

1. 首先将所需要使用的流动相通道分别在软件泵的控制面板中进行“冲洗”排气泡，详细说明参考前面讲到过的泵的控制面板。
2. 若为手动进样阀，则需将进样阀处的扳手反时针扳到头后，用一次性医用注射器吸几毫升的50%甲醇或流动相，从进样口注入，清洗定量环和管路。
3. 若为自动进样器，则需按软件中自动进样器面板上三个清洗的“启动”键洗针并排掉注射器和进样针中残留的气泡。若仪器长时间未用，可能按一次“启动”键无法排气泡，可再按“启动”键，直至气泡排完为止。
4. 若仪器较长时间未使用，流通池中可能有气泡，可以不接色谱柱，加大流速冲洗流通池中的气泡。
5. 系统气泡排完后，可以参考 2.5.1 步骤进行系统的平衡。

2.6 监视基线

点工具栏中的“监视基线”或左下角的“采集打开”，开始设置采集基线。将跳出如下窗口，选择 UV：



设定完成后, 按“确定”键, 便可进行基线的采集。

2.7 进样与数据处理

等基线平衡后, 根据设定好仪器方法/序列文件进行样品分析。

仪器方法/处理方法/序列文件/报告模板等的建立, 详细步骤请参照“U3000液体色谱使用手册之三”。

序列进样与运行，详细步骤请参照“U3000液体色谱使用手册之四---序列进样”。

数据处理，详细步骤请参照“U3000 液体色谱使用手册之五---数据处理和报告打印输出”。

2.8 分析完样品后的维护

2.8.1 流路的清洗

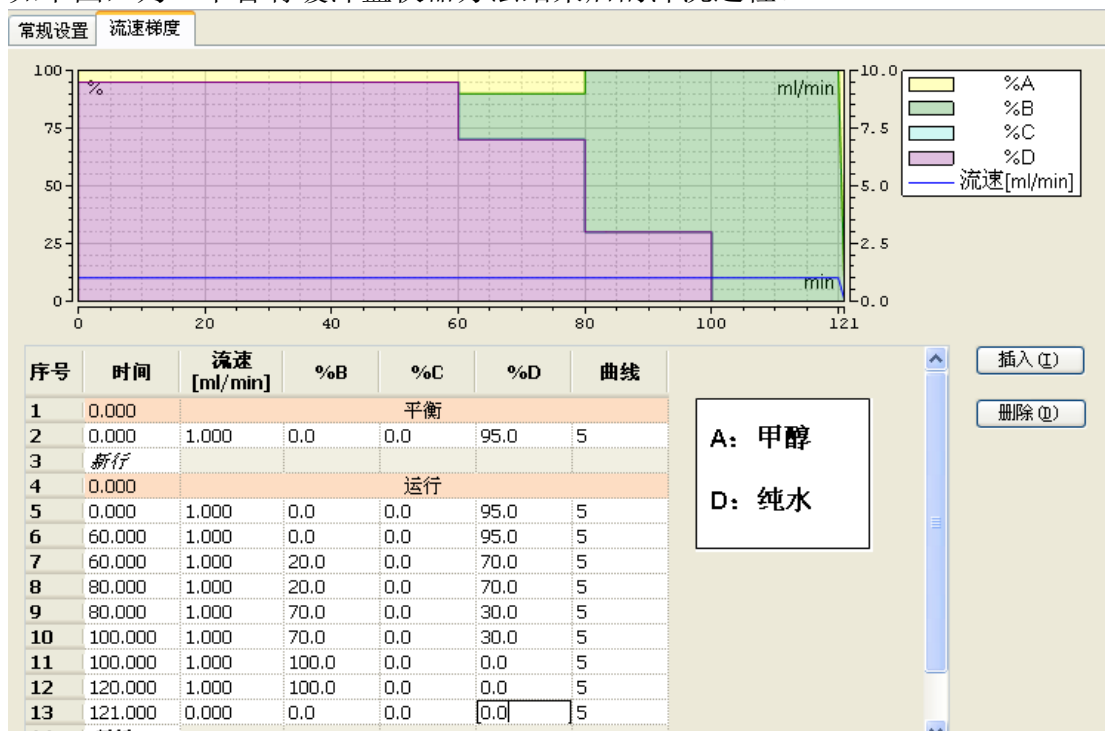
1. 若当天不再使用仪器，可以将检测器的灯设定为 off。若当天还需要继续使用仪器，建议不要关闭检测器的灯。

2. 若流动相为有机相与水相的混合物，则直接用100%甲醇或乙腈冲洗流路约30分钟后，待基线走平且无杂质峰出现后即停泵关机。

3. 若流相相中含有缓冲盐溶液、有机/无机酸或其它电解质，则先用95%的去离子水充分清洗柱子，再用有机相清洗保存，详细步骤参照仪器控制面板2.4.1中清洗程序操作，待基线走平且无杂质峰出现后即停泵关机。

4. 建议不要在停泵后仍长时间的开着检测器的灯，以免造成流通池中液体挥发而污染流通池。若不关机不关灯，建议使用低流速(0.1或0.2ml/min)。

5. 如果流动相中含有缓冲盐或酸，则需先用水相（含 5-10%的有机相）冲洗色谱柱 20 倍柱体积以上（常规流速 40 分钟以上），再用有机相冲洗色谱柱。如下图，为一个含有缓冲盐仪器方法结束后的冲洗过程。



2.8.2 样品瓶的清洗

若使用的是自动进样器，则每次进样后用过的样品瓶需要清洗，以方便重复

使用。一般可将几次使用过的样品瓶累积起来，用去离子水（少许甲醇）加洗洁精超声 30~60 分钟后，用去离子多次清洗干净后，干燥箱中干燥即可。样品盖最好一般不要放在干燥箱中高温干燥，容易变形（可以将样品盖放蒸发皿中，再将蒸发皿放在干燥箱的顶盖上，烘干的余热可将样品盖烘干。）。)

2.8.3 洗针

1. 若为手动进样阀，则需将进样阀处的扳手反时针扳到头后，用一次性医用注射器吸几毫升的50%甲醇，从进样口注入，清洗定量环和管路。

2. 若为自动进样器，则需先在软件进样器面板上分别依次启动三个清洗键。特别是比较粘稠的样品（如中药等），每天做完样后一定要洗针。

2.8.4 关机

系统清洗好后，如果多日不再使用仪器和电脑，可关闭检测器的紫外灯和可见光灯，将泵的流速降为 0。然后关闭电脑，最后关闭仪器各部件的电源；如果第二天还要分析样品，建议不关紫外灯和可见光灯，以 0.2ml/min 低流速平衡仪器。

若分析的样品较多，且配置有自动进样器，可设定一个冲洗柱子和关机程序，等仪器分析完样品后，自动清洗色谱柱，并关灯停泵（说明：在泵的控制面板 2.4.1 部份有详细说明）。

2.9 日常维护及注意事项

2.9.1 泵

1. 放置了一天或以上的水相或含水相的流动相如需再用，需用微孔滤膜重新过滤。
2. 蠕动泵清洗瓶中的 95%的水/甲醇或异丙醇要求每天更换。若液相使用频率不高，建议每天使用前更换，以免水长细菌损坏泵中各组件。
3. 为了保证 U3000 泵的安全运行，必须设定高、低压极限（一般安装以设置好）；
4. 流动相禁止使用氯仿、三氯（代）苯、亚甲基氯、四氢呋喃、甲苯等；慎重使用四氯化碳、乙醚、异丙醚、酮、甲基环己胺等，以免造成对柱塞密封圈的腐蚀。若需要使用正相系统分析样品，需要另行安装耐腐蚀的正相密封圈。
5. 拧松快速清洗阀时，不宜拧得过松。一般拧松 2 圈左右即可。拧得过松流动相容易从清洗阀部位流进泵头中引起报警。
6. 使用快速清洗阀时，只能逐个通道的排气泡，不得将几个通道同时按比例排气泡，比例阀的快速切换易导致损坏。
7. 流动相一定要过滤和超声脱气。
8. 详细操作及注意事项可参考泵的硬件说明书。

2.9.2 手动进样阀或自动进样器

1. 手动进样阀每天做完样后，一定要用甲醇冲洗定量环中的杂质。若样品为水系，则先用去离子冲洗定量环再用甲醇冲洗。
2. 手动进样阀一定要注意不要使用不规范的过长的平头针头或普通的尖锐的

针头，易扎破六通阀中的垫片而导致漏液、进样不准确。

3. 自动进样器建议用水和有机溶剂混合的不含盐的溶液进行洗针，不要使用缓冲盐。
4. 样品必须要使用相应的微孔滤膜过滤，以免堵塞进样器的针头或色谱柱。
5. 样品瓶放置在自动进样器的托盘之后，要检查瓶子是否未放稳或放歪，以免进样时将针头扎弯或变形。
6. 每天洗针前要更换相应的流动相或洗液。
7. 尽量不要手动转动进样器的托盘，需要放置样品或转动样品盘前请使用进样器前面板的磁性笔触控屏幕或在软件中使用移动盘或瓶到前面来转动样品盘。
8. 重复使用样品盖时，请将含硅胶的一面朝下，以免硅胶粒堵塞进样针。如何确认哪一面是硅胶可以参考相应的样品盖描述或说明书。
9. 其它使用和注意事项请参考进样器的硬件说明书。

2.9.3 柱温箱

1. 柱温箱一旦发生报警，一定要及时找到原因。若实验室湿度太高，则需采取相应的除湿措施。若柱温箱中发生漏液现象，则需及时拧紧色谱柱并擦干漏液，长时间的漏液极易损坏柱温箱中的传感器。
2. 若实验中使用了缓冲盐或其它电解质，在做完实验后，系统和色谱柱一定要充分清洗。
3. 柱温箱使用温控过程中，尽量不要打开前门，否则传感器会报警出故障。
4. 柱温箱的废液管尽量不要与其它各部件的废液管共用，避免造成湿度过高而报警。另外，废液管一定不能有向上拐弯的部份，否则废液或冷凝水会倒流。
5. 尽量避免在低流速下设定较高温度，易造成色谱柱的塌陷或老化。
6. 主机的两测尽量不要长时间放置挥发性的液体，以免造成柱温箱传感器报警。
7. 配有阀切换装置的，在切换系统或切换阀之后要注意前一系统的影响。可以设定约 3 分钟的平衡时间来完全消除（反相柱）。

2.9.4 检测器

1. 检测器的紫外或可见灯在长期打开的情况下，一定要保证有溶液流经检测池。若不需要做样，可设置一个较低的流速（如 0.1ml/min），不再使用仪器可关闭灯的电源。
2. 检测器的灯一般是在流通池有溶液连续流动几分钟后才开的。如果流动池中有气泡，则会提示漂移过大无法通过自检和校正。
3. 检测器的氙灯或钨灯不要经常开关，每开关一次灯的寿命会损失几十小时。
4. 连续两次开关灯之间应至少间隔 15 分钟。否则灯过热易导致烧坏。
5. 流动相中有缓冲盐或酸碱时，样品分析完后一定要清洗流通池，以防止流通池污染或堵塞。
6. 流通池的石英玻璃片在未被污染的情况下尽量不要拆下来清洗。若被污染需要清洗，一定要谨慎操作并咨询售后服务工程师。

7. 检测器需尽量避免震动，需搬动时，一定要采取有效的防震措施。
8. 对于 VWD 紫外检测器，尽量避免长时间使用多波长同时检测。
9. 对于 CAD 检测器，在开泵前或停泵时保证流路的气源是打开的。

2.9.5 其它

1. 缓冲溶液与有机溶剂互相转换前一定要用 95% 的去离子水清洗泵，防止盐在有机相中结晶损坏泵中各组件和堵塞色谱柱。
2. 仪器使用前后一定要用甲醇或乙腈冲洗流路，平衡活化色谱柱，赶走管路中的杂质和水分。
3. 缓冲溶液的浓度不能高于 1.0 mol/L，pH 范围 2~12（使用 c18 柱子时，pH 范围 2~7）。
4. 仪器长时间不用，每个泵通道和整个流路一定要用甲醇冲洗后保存，以免结晶或造成污染。
5. 各部分电源关机后再开间隔时间不易过短，应至少 15 秒钟，检测器至少 15 分钟。

2.9.6 软件

1. 不要轻易地在 windows 窗口下删除软件所在根目录或子目录下的文件，以免造成软件无法正常使用。
2. 仪器不使用时，加密狗不要经常插拨，容易导致加密狗损坏。若电脑需要搬动时，需先拆下加密狗，以免不必要碰撞而损坏加密狗。
3. 采集紫外信号时，若分析物质的最大波长已知，则尽量减少采集的通道个数，以免占用电脑的空间（PDA-100 检测器）或影响光栅的寿命（VWD-3400 检测器）。
4. 软件系统的仪器配置在软件安装完成后，不要轻易改动。