

Waters-e2695 高效液相操作规程

Step1: 开机程序

1. 开启电脑，等待电脑完全启动完成。注：win7系统需要等待电脑的网络连接图标上的转动圆圈消失，显示“△！”为止。

2. 按需求配置洗针液（绿色细管的流路）、柱塞杆清洗液（标有Seal Wash In的流路），以及实验所需流动相，并确保所有流路的溶剂滤头均在溶剂液面以下。

2.1 洗针液配置要求：对实验样品有较好溶解性的溶剂。如果是水溶性样品，建议配置成10%的异丙醇（或甲醇、或乙腈）水溶液。

2.2 柱塞杆清洗液配置要求：对流动相中可能的析出物有较好溶解性的溶剂。如果是含盐流动相，建议使用10%的异丙醇（或甲醇、或乙腈）水溶液。

2.3 流动相需洁净无气泡。

(1) 有机相：色谱纯。进口有机溶剂如Merck、Fisher等，超声后可直接使用。国产有机溶剂，需过有机相滤膜，再超声使用。若有机相为混合溶剂，应先混合、再超声，方可使用。

(2) 水相：由正常工作的超纯水机制得的超纯水（电阻>18.2 MΩ）、娃哈哈纯净水、屈臣氏纯净水，无需过膜可直接使用；其他水相需要过水相滤膜后才能使用。若水相中含盐，需将盐充分溶解后过水相滤膜。以上任何水相使用前需超声5min，并使用玻璃溶剂瓶盛装。

3. 开启2695主机电源，各检测器电源。如果配有可降温的柱温箱，需接着开启柱温箱电源。

4. 等待仪器各组件开机自检。

5. 自检完成后，仪器处于Idle状态，此时开始进行系统准备。

5.1 Wet Prime: Direct Function → Wet Prime。5mL/min，每路溶剂2min

目的：排除流动相中的气泡。

特别注意：含盐的流动相进行wet prime时，需先将该流路wet prime为水相，再将其wet prime为所需流动相，以避免流动相中的盐析出，造成堵塞。

5.2 Purge injector: Direct Function → Purge injector。Sample loop volumes: 6。

目的：排除进样器中的气泡。

Purge injector之前，在面板上将流动相的比例修改成实验条件的初始条件；若初始条件使用含盐流路，应将含盐流路用纯水流路替换，比例不变。在仪器自动清洗时，需观察样品注射器内是否有气泡，如果有，需重复此动作多次，直到气泡排出为止。

5.3 Prime needle wash: Diag → Prime NdlWash

目的：清洗针外壁，防止残留。

重复操作1-2次，直至黄色废液管有连续的液体留出。

5.4 Prime seal wash: Diag → Prime seal wash

目的：清洗泵头，保护柱塞杆以及柱塞杆密封圈。

5min后，可手动停止Prime seal wash，具体操作：先按Half，再按Close。

6. 开机完成。登录软件，进行实验操作。

Step2:启动 Empower 软件，开始实验

1. 启动Empower

双击Empower，输入用户名：**system**，密码：**manager**。点击“运行样品”选择数据保存的项目及使用的色谱系统，点击“使用quickstart”进入“运行样品”界面。

2. 编辑方法和方法组（方法同Waters-1525型）

Step3: 关机程序

1. 样品分析结束后，关闭检测器电源。

2. 冲洗色谱柱约 60min（首先用等比例的水相代替含**酸、碱、盐**的水相冲洗色谱柱一段时间，如原来使用的 B 路是 0.5%的磷酸水溶液，请先将 **B 的滤头拔出，放置于纯净水瓶中，灌注 B**，之后再用 95%水冲洗。如果使用**缓冲盐**应先用 95%水冲洗**30min**）。然后按照色谱柱的使用条件要求，使用**纯水**和**当前有机相**冲洗一个大的梯度，使用梯度如下：

时间 (min)	流速	纯水相比比例 (%)	有机相比比例 (%)
0	1.0ml/min	95	5
30	1.0ml/min	0	100
35	0.0ml/min	0	100

3. 将放于水相中的管路放入有机相中，灌注。

4. 按 **e2695 主机面板 Diag** 键，选择 Prime SealWash，清洗泵头约 1 分钟；再选择 Prime NdlWash，清洗进样针 1-2 次；按 Menu/Status 键进入手动控制模式，按 Direct Function 键，选择 Purge Injector，冲洗进样器。

5. 流速降低至 0，待系统压力回零后，退出软件，关闭 e2695 仪器及电脑，关总电源，做好使用登记。

注意事项：

1. **水相必须 1 天一换，洗针液和 Seal wash 溶液必须定期更换，最好不超过 5 天。**

2. 清洗柱塞密封垫(Seal Wash)的溶液配制：含 5%-10% 甲醇的超纯水。

3. 洗针液 (Needle Wash) 的配制：50% 甲醇：50% 水（该比例仅适用于反相实验），洗针液的溶剂瓶应放于试验台面上，与 2695 仪器的底部同一水平面上。

4. 常规的反相色谱条件约需要 20~30 倍柱体积的流动相来平衡色谱柱；对于离子对方法，可能需要多达 500 倍柱体积的流动相来平衡色谱柱。