

Hplc(knauer)

روش کار:

دستگاه hplc را روشن کرده و نرم افزار EZchrom را باز میکنیم.

توجه : از قبل باید فاز متحرک آماده گردیده، داخل بطری های دستگاه ریخته شود. حلال آب پروپانول ۵۰/۵۰ جهت شستشوی سرنگ داخل ظرف مربوطه به شستشو ریخته شود.

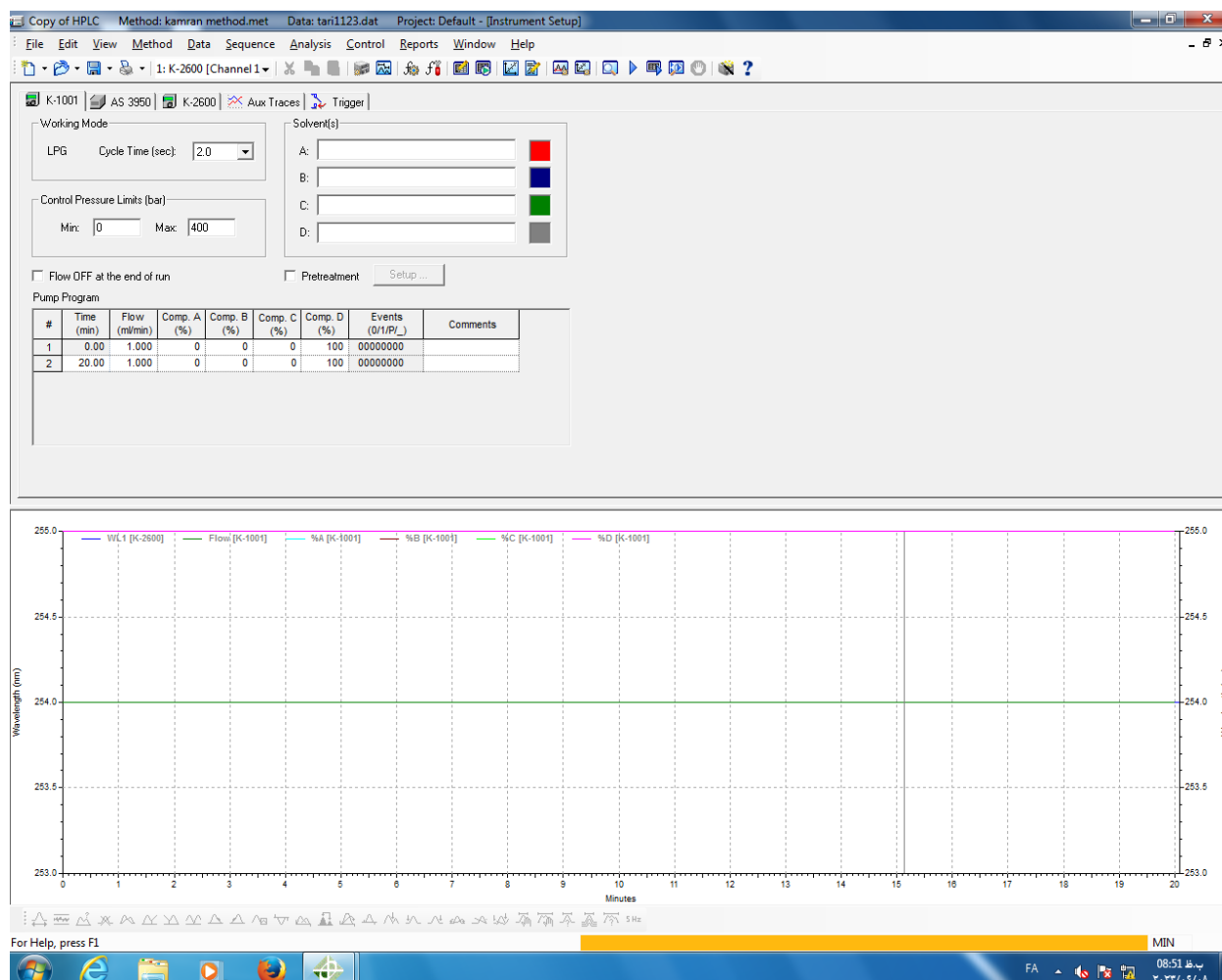
این دستگاه مجهز به اتو سمپلر و auto injector می باشد ولوپ ۱۰۰ میکرولیتری آن تزریق حد اکثر ۱۰۰ میکرولیتر از آنالیت را مجاز می سازد. پمپ k-1001 از نوع گرادینت

توانایی مکش از چهار مسیر A, B, C, D را میسر میسازد و تحمل فشار تا حد اکثر ۴۰۰ بار

را دارا می باشد.

دکتور دستگاه K-2600 از نوع UV همراه با قابلیت اسکن می باشد، که این قسمتها یک به یک توضیح داده می شود.

۱-k1001 پمپ دستگاه hplc می باشد که فاز متحرک مورد نظر را به درون ستون و آشکارساز مکش می کند وقتی این آیکون باز می شود صفحه ای مشابه صفحه زیر بینیم .



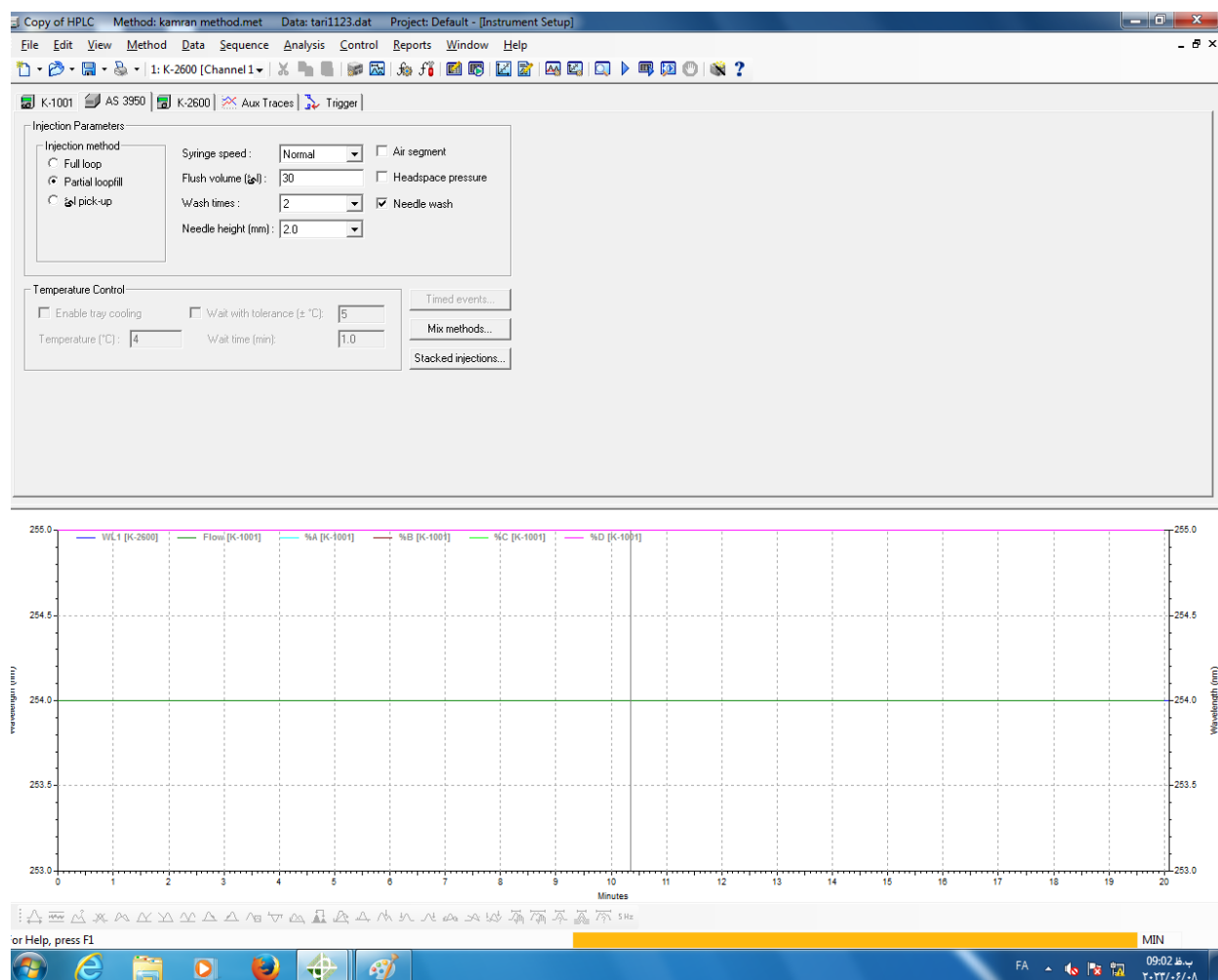
در ۴ جای A, B, C, D می توانیم ۴ حلال مختلف را وارد کنیم و درصد مکش آنها را در جدول زیرین در قسمتی که درصد حلال ها ذکر شده وارد نماییم .

در ضمن زمان مکش و سرعت جریان این فازها را نیز می توانیم در همان جدول در قسمت flow و time وارد کنیم.

مثلاً در برنامه بالا ۱۰۰٪ از حلال d برای مدت زمان ۲۰ دقیقه با سرعت جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه از ستون عبور میکند.

در قسمت **control pressure limits** بالاترین و پایین‌ترین فشار مجاز برای دستگاه تعریف شده است، یعنی اگر فشار به بالای ۴۰۰ بار برسد دستگاه از کار می‌افتد و در فشار صفر نیز مکشی توسط پمپ اتفاق نمی‌افتد، این آیکن‌ها معمولاً بدون تغییر باقی می‌مانند. نام حلال‌ها را نیز می‌توان در پنجره‌های رنگی قرمز آبی سبز و خاکستری وارد کرد.

۲- در پنجره **AS-3950** که مربوط به اتوسمپلر و **auto injector** دستگاه می‌باشد در قسمت **injection method** با توجه به حجم لوپ دستگاه و همچنین حجم تزریقی مورد نظر دو انتخاب داریم، مثلاً اگر لوپ دستگاه ۱۰۰ میکرو لیتری باشد و ما بخواهیم ۵۰ میکرو لیتر تزریق بنماییم، گزینه **partition loop** را انتخاب می‌کنیم. در قسمت **syringe speed** گزینه نرمال را انتخاب می‌کنیم.

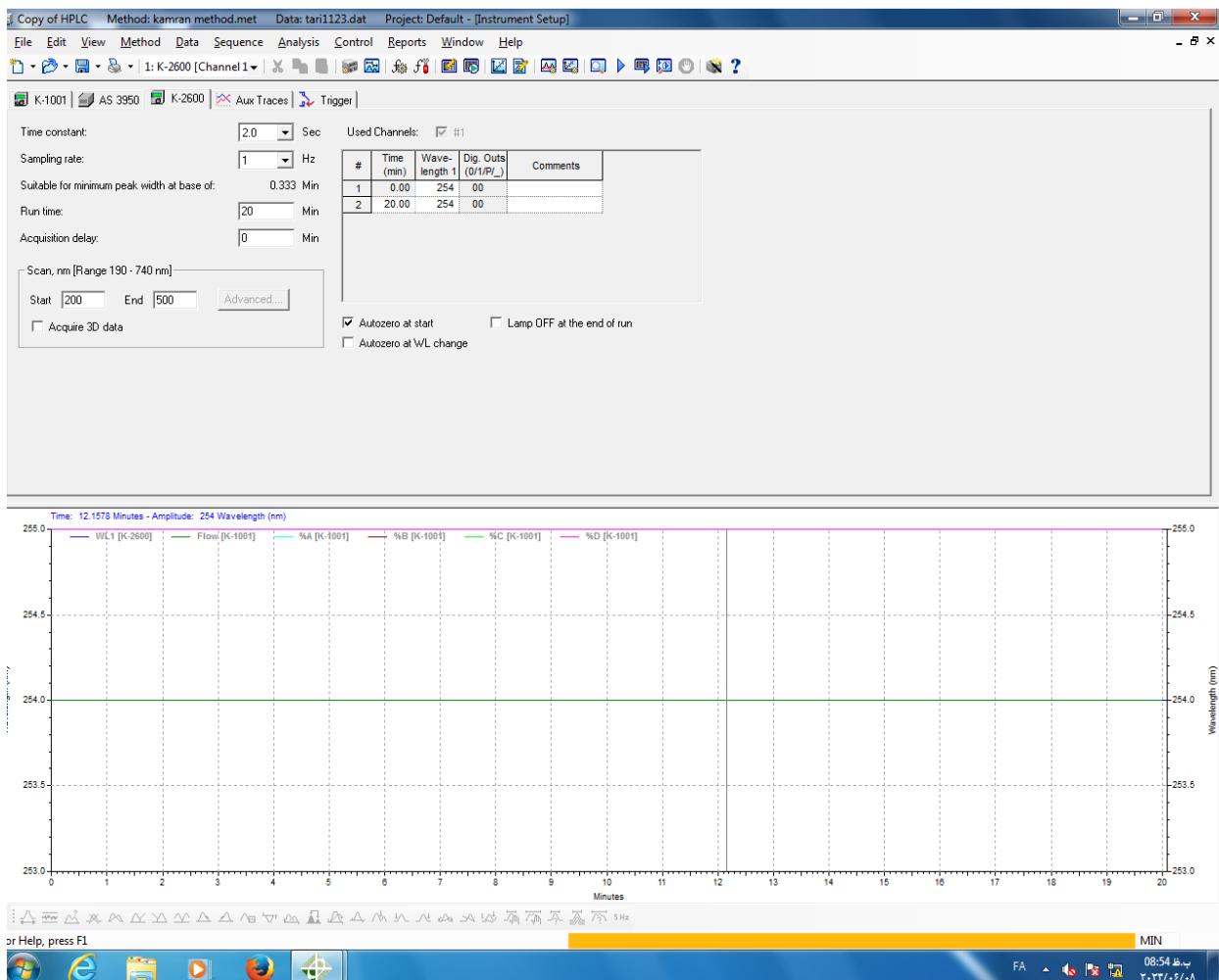


در قسمت flush volume حجم شستشوی سرنگ توسط حلال وارد می‌گردد. در پنجره wash time تعداد دفعات شستشو برای سرنگ وارد می‌شود. قسمت needle height را بدون تغییر باقی می‌گذاریم پنجره air segment, head space خالی باقی می‌ماند و گزینه needle wash را برای شستشوی سوزن سمپلر تیک می‌زنیم.

۳- پنجره k-۲۶۰۰ مربوط به دتکتور uv می‌باشد در این پنجره گزینه‌های

Sampling rate , time constant را بدون تغییر باقی می‌گذاریم .

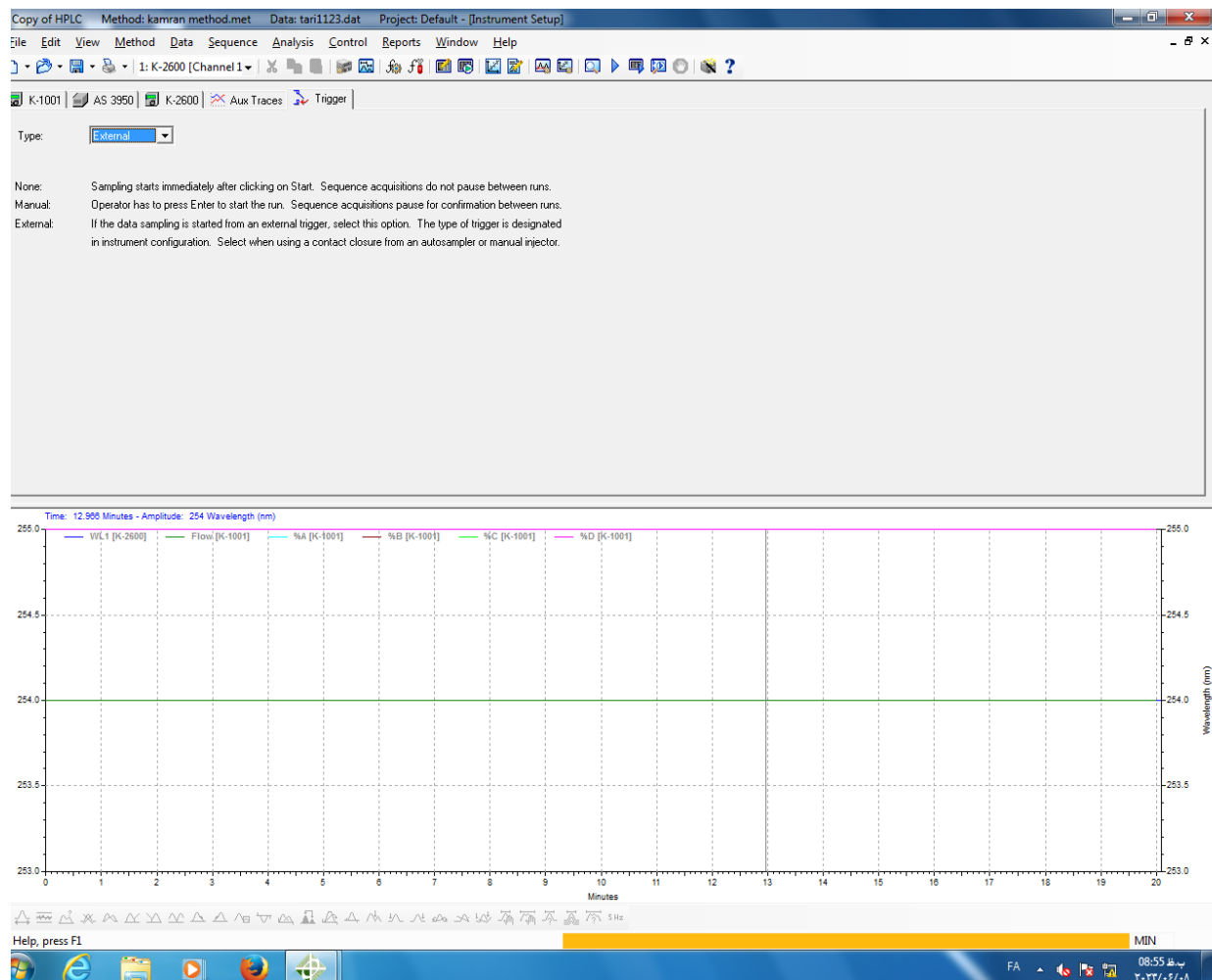
در قسمت run time زمان آنالیز مورد نظر خودمان را طبق مدت وارد می‌کنیم .



پارامتر اصلی که طول موج جذبی آنالیت میباشد را در جدول مقابل در قسمت wavelength وارد میکنیم .
ویازه زمانی مورد نظر را در قسمت time وارد میکنیم.

مثلا در برنامه بالا دتکتوربر روی طول موج ۲۵۴ نانومتر از زمان صفر تا زمان ۲۰ دقیقه تنظیم گردیده است.
همچنین در قسمت اسکن قابلیت وارد کردن یک یازه طول موجی وجود دارد که جهت مشاهده پیک های مزاحم مفیداست.

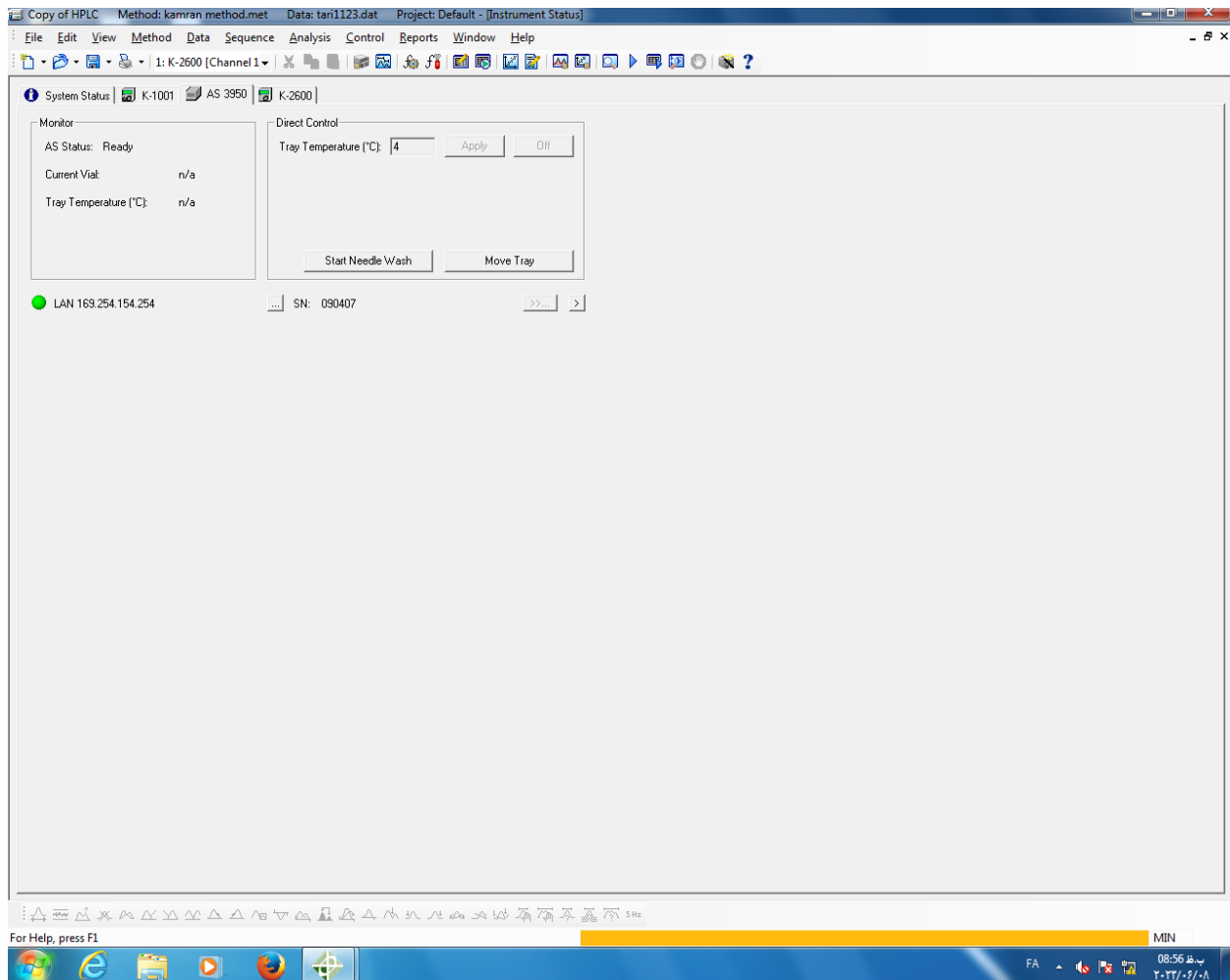
۴-در پنجره trigger در قسمت type برای تزریق با autosampler گزینه External و برای تزریق دستی گزینه manual را انتخاب می کنیم .



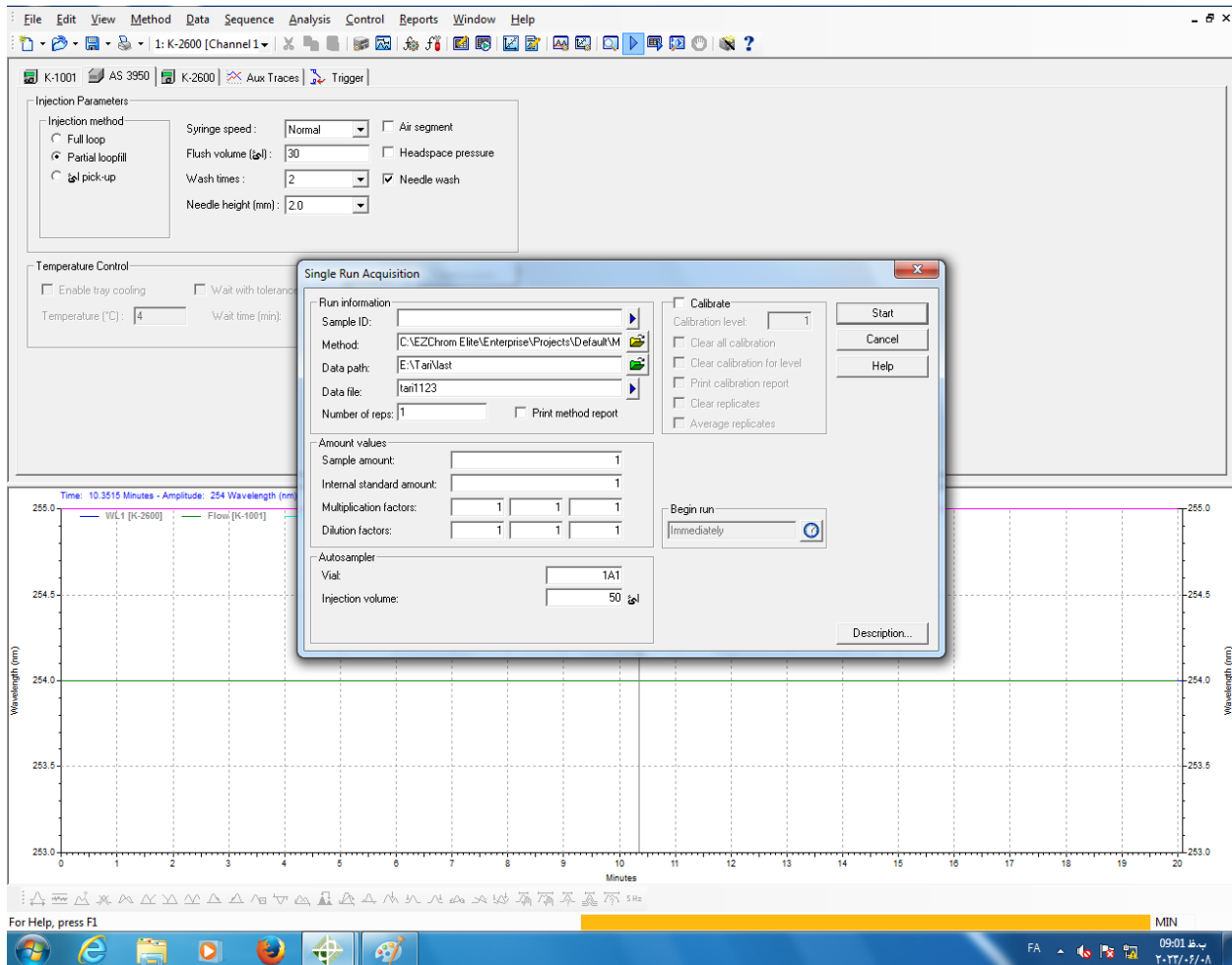
و در پایان از نوار ابزار بالا save می‌کنیم و گزینه preview را از نوار ابزار بالای نرم‌افزار جهت اجرا شدن متد کلیک کنیم. منتظر ظاهر شدن کروماتوگرام میمانیم تا جایی که خط صاف و بدون پرش به دست آید پس از پایدار شدن شرایط دستگاه گزینه ready ظاهر می‌گردد.

۵- جهت تزریق از نوار ابزار بالا گزینه stop را کلیک می‌کنیم.

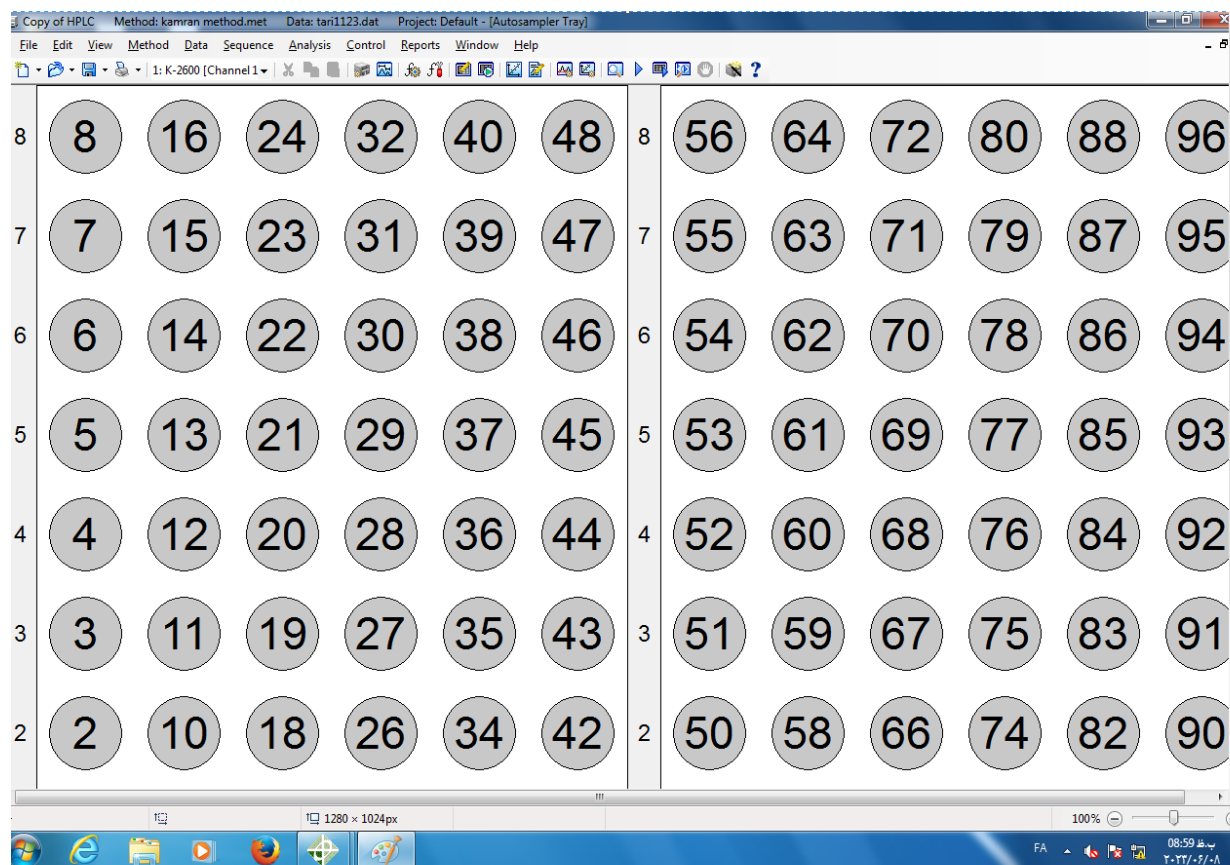
از نوار ابزار بالا منوی control گزینه instrument status را کلیک می‌کنیم سپس گزینه move tray را کلیک می‌کنیم تا اتوسمپلر در حالت آماده باش قرار گیرد و نمونه‌ها را داخل سمپلر قرار داده و دوباره move tray را میزنیم.



سپس از نوار ابزار بالای دستگاه روی آیکون **single run** کلیک می‌کنیم که صفحه مشابه صفحه زیر مشاهده می‌شود در اینجا حجم تزریق را در پنجره آخر و مکان ویال را در پنجره **vial** وارد می‌کنیم و از همین صفحه گزینه **start** را می‌زنیم.



۶- جهت تشخیص شماره ویال در سمپلر از نوار ابزار بالا، منوی control گزینه autosampler tray را میزنیم که صفحه ای مانند شکل زیر دیده میشود .



در این حالت هم با راست کلیک روی ویال پنجره single run ظاهر میشود و روند قبلی تزریق قابل اجراست.