

HPLC 使用法 (Waters Alliance)

Ver. 20180207

注意：少なくとも送液ラインの操作をする場合には手袋（パウダーフリー）を着けること。

開始時

- 1) 本体の電源を入れる。(立ち上げに数分必要)
- 2) カラムオープンにカラムがないことを確かめる。
- 3) DDW 瓶と DDW フラスコに DDW が十分入っていることを確認する。
- 4) PC の電源を入れる。
- 5) Empower (ソフトウェア) を立ち上げる。
- 6) 本体が Idle 状態になったら、DDW を flow 1.0 mL/min で流す。
- 7) 蛍光検出器の電源を入れる。(立ち上げ時に水で波長と蛍光強度の校正を自動で行っている。)
- 8) sample 温度と column 温度を設定し、degasser を on にする。
- 9) 蛍光検出器が Idle mode になったら flow を止める。
- 10) 溶媒チューブ取り出し、キムワイプで水をふき取ってから溶媒に移す。この時、手の汚れなどで溶媒チューブを汚染させないように注意する。
- 11) ディフューザーが溶媒瓶の底にあることを確認する。
- 12) 溶媒 A と B を 50%ずつに設定して、Direct Function から Wet Purge に入り、7.5 mL/min で 2 分または 5 mL/min で 3 分間パージする。
- 13) カラムをつなぐ。
- 14) 流速と溶媒の比率を使用するプログラムの初期値に設定する。
- 15) 圧力が安定していることを確認する。(圧力が乱高下する場合、系への空気混入が第一に考えられるので空気抜きを行う。)
- 16) Empower の平衡/モニターを使用するプログラムに設定して起動する。
- 17) ベースラインが安定していることを確認する。(安定するまで続ける。)
- 18) サンプルをトレイにセットする。凍結していたサンプルは完全に溶けていることを確認し、ボルテックスで攪拌してからセットする。パラフィルムの破片がラインに入って詰まることがあるので、パラフィルムは完全に除く。バイアル 1 の位置には DDW をセットする。
- 19) サンプルキューを入力する。最後の行に shut down メソッドを入れ、バイアル 1、サンプル DDW、注入量 0 μ L、分析時間 10 分を入力する。
- 20) 平衡/モニターを停止し、サンプルセットを開始する。
- 21) DDW 注入でグラジエント時のベースラインの安定性を確認する。ベースラインが直線的に大きく上がるまたは下がる場合は、溶媒が汚れている可能性がある。

終了時

- 22) 分析が終了したら、flow が止まっていることを確認してからカラムを外す。(逆相カラムの場合は、カラム内を 0.1% AcOH-50% CH₃CN に置換してから外す。)
- 23) 蛍光検出器の電源を切る。
- 24) 溶媒チューブ取り出し、キムワイプで溶媒をふき取ってから DDW に移す。この時、手の汚

れなどで溶媒チューブを汚染させないように注意する。

- 25) ディフューザーが DDW フラスコの底にあることを確認する。
- 26) 溶媒 A と B を 50%ずつに設定して、Direct Function から Wet Purge に入り、7.5 mL/min で 2 分または 5 mL/min で 3 分間パージする。
- 27) カラムを外してコネクタに換える。
- 28) flow を 0.5 mL/min に設定して 5 分程度流す。
- 29) flow を止め、本体の電源を切る。
- 30) データの解析後、Empower を閉じ、PC をシャットダウンする。