

液相色谱分析法模块之 任务2 高效液相色谱仪基本操作

教学任务

- 液相色谱法的流动相配制
- 熟悉液相色谱仪的各控制钮和工作站，操作高效液相色谱仪
- 认识高效液相色谱仪的基本组成部件及其作用
- 编写液相色谱仪的操作规程。

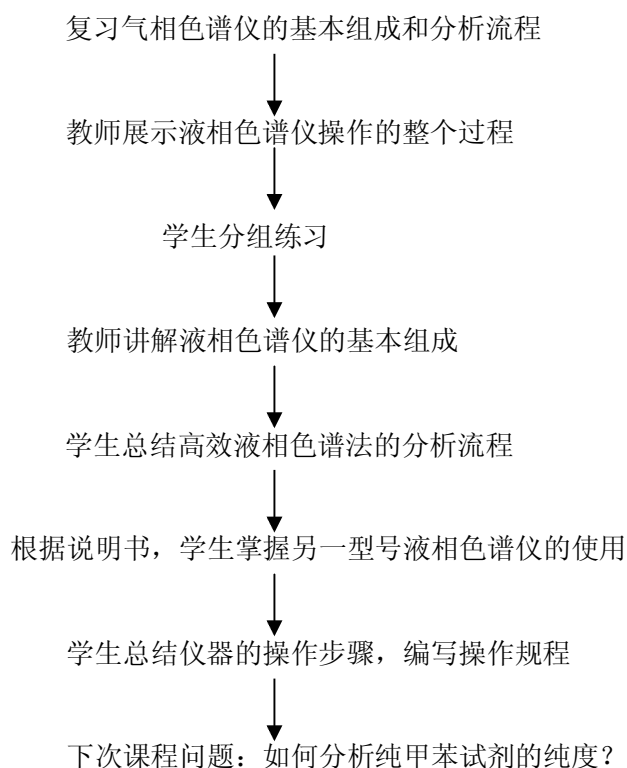
教学方法

- 讲授、练习

教学学时

- 每20人一个学习组，4人一台液相色谱仪，分组循环操作，整个任务需4学时

教学设计



课程引入

- 复习气相色谱仪的基本组成和分析流程
- 教师引入液相色谱仪的基本操作
(教师准备苯的定性实验)

教师展示液相色谱仪操作的整个过程

(本过程以“教师现场演示”的方式进行教学,目的是让学生掌握整个测定过程)

- 配制流动相: 甲醇/水(85/15)的流动相1000mL, 并进行过滤和脱气处理。
- 把流动相贮液器放置在略高于高压泵的位置, 插入带有不锈钢滤芯的输液管
- 更换色谱柱。
- 设置流动相比例、流量等参数。
- 打开高压泵电源开关, 打开排放阀, “purge” 1-2分钟, 关闭“purge”, 使仪器在设定的条件下平衡。
- 打开检测器开关, 设置检测波长。
- 打开工作站, 设置分析方法。
- 等基线平衡后, 用微量注射器量取定量环体积的3-5倍的苯试样(10 μ L分析纯苯试样, 用甲醇稀释至50mL), 在上述分析条件下进样。
- 记录下样品名对应的文件名, 同时打印出经优化的色谱图和分析结果。

学生分组练习

(根据实验室的实际情况, 安排学生分组练习, 一部分学生练习配制流动相, 一部分学生练习操作仪器。)

液相色谱仪的基本组成

(教师结合学生的练习, 讲解天美 LC2200 液相色谱仪的组成)

1、高压输液系统: 贮液器和高压输液泵

① 贮液器

贮液器主要用来提供足够数量的符合要求的流动相以完成分析工作, 对于贮液器的要求是: 第一、必须有足够的容积, 以备重复分析时保证供液; 第二、脱气方便; 第三、能耐一定的压力; 第四、所选用的材质对所使用的溶剂都是惰性的。

② 高压输液泵(Pump)

高压输液泵是高效液相色谱仪的关键部件, 其作用是将流动相以稳定的流速或压力输送到色谱分离系统。

要求: 由于高压输液泵的性能直接影响到分离分析结果的好坏, 因此, 实际分析过程中为了保证良好的分离分析结果, 要求高压输液泵必须满足以下几点要求: 第一、泵体材料能耐化学腐蚀; 第二、能在高压(30~60MPa)下连续工作; 第三、输出流量稳定($\pm 1\%$), 无脉冲, 重复性高($\pm 0.5\%$), 而且输出流量范围宽; 第四、适用于梯度洗脱。

类型: 高压输液泵一般可分为恒压泵和恒流泵两大类。

③过滤器(Filter)

在高压输液泵的进口和它的出口与进样阀之间，应设置过滤器。其作用是防止微小的机械杂质进入流动相，损害高压输液泵和进样阀。常见的溶剂过滤器和管道过滤器的结构，

2、进样系统

液相色谱进样针类似于气相色谱进样针，只是其针头为平头，以免扎破六通阀管路。

常用的进样器有以下二种：

①六通阀进样器

现在的液相色谱仪所采用的手动进样器几乎都是耐高压、重复性好和操作方便的阀进样器。六通阀进样器是最常用的，进样体积由定量管确定，常规高效液相色谱仪中通常使用的是 10 μ L，20 μ L 体积的定量管。

②自动进样器

3、分离系统

分离系统的主要部件是色谱柱，柱效高、选择性好、分析速度快是对色谱柱的一般要求。此外，色谱柱在装填料之前是没有方向性的，但填充完毕的色谱柱是有方向的，即流动相的方向应与柱的填充方向（装柱时填充液的流向）一致。色谱柱的管外都以箭头显著地标示了该柱的使用方向，安装和更换色谱柱时一定要使流动相能按箭头所指方向流动。

一般在色谱柱前要求安装保护柱，起到保护延长分析柱寿命的作用。有些物质的分离条件要求有一定的温度，因此，给色谱柱配一个柱温箱是非常有必要的。

4、检测系统

HPLC 检测器是用于连续监测被色谱系统分离后的柱流出物组成和含量变化的装置。其作用是将柱流出物中样品组成和含量的变化转化为可供检测的信号，完成定性定量分析的任务。

HPLC 检测器一般分为两类，通用型检测器和专用型检测器。

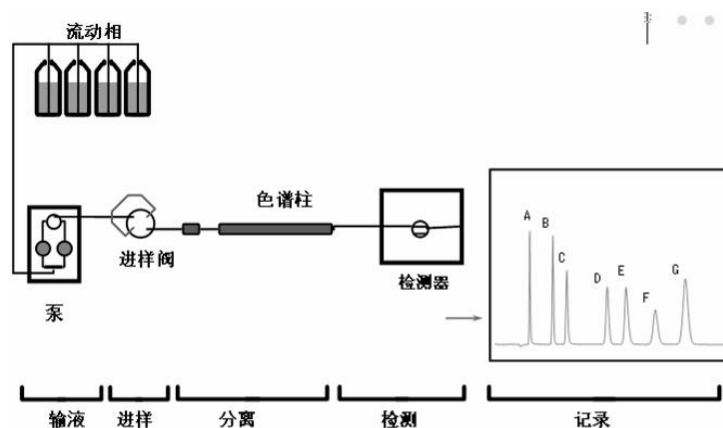
通用型检测器包括折光指数检测器、电导检测器和蒸发光散射检测器等。专用型检测器包括紫外-可见光检测器和荧光检测器。

5、数据处理系统(色谱工作站)

高效液相色谱的分析结果除可用记录仪绘制谱图外，现已广泛使用色谱数据处理机和色谱工作站来记录和处理色谱分析的数据。

液相色谱法的分析流程

（学生通过操作训练，总结液相色谱法的分析流程，教师积极“引导”，学生对该测定过程不理解之处提问）



- 液相色谱操作中的注意事项，如溶剂的使用，色谱柱的安装、进样针的使用等。
- 液相色谱的分析流程与气相色谱的分析流程有何不同？
- 液相色谱仪与气相色谱仪的基本组成有何不同？

福立 LC2000 系列液相色谱仪的使用

按照说明书，学生操作该液相色谱仪，并总结操作步骤，编写操作规程。

下次课程问题：

- 甲苯作为化工中间体的原料试剂，按物料入库要求，均要抽样检查，如何测定甲苯试剂的纯度？