

文件编号：Q/WU FLHA19010010R027

版本号：V1.0

受控状态：

分发号：

# 理化公共实验平台

## 质量管理文件

---

### 超高效聚合物色谱仪

### Waters APC 标准操作规程

2020 年 03 月 10 日发布

年 月 日实施

---

理化公共实验平台 发布

理化公共实验平台

修订页

修订日期	版本号	修订说明	修订	审核	批准
2020.03.10	V1.0	发布试行	陈银娟	卢星宇 盛沛	

理化公共实验室

理化公共实验平台

## 目录

1.	目的.....	1
2.	范围.....	1
3.	职责.....	1
4.	重要说明.....	1
5.	实验室安全管理规范.....	1
6.	质谱实验室仪器设备管理规范.....	2
6.1.	超高效聚合物色谱仪预约与使用.....	2
6.2.	预约制度.....	2
6.3.	培训考核制度.....	3
7.	实验内容.....	4
7.1	实验前准备.....	4
7.2	制样要求.....	4
7.3	登录系统.....	4
7.4	运行样品.....	4
7.5	查看/处理数据.....	16
7.6	数据导出.....	30
7.7	拷贝图谱.....	30
7.8	实验结束处理.....	30
8.	相关/支撑性文件.....	31
9.	记录.....	31

理化公共实验平台

## 1. 目的

建立超高效聚合物色谱仪使用操作规程, 使其被正确、规范地使用。

## 2. 范围

本规程适用于所有使用超高效聚合物色谱仪的用户。

## 3. 职责

3.1. 用户: 严格按本程序操作, 发现异常情况应及时汇报实验室技术员。

3.2. 实验室技术员: 确保操作人员经过相关培训, 并按本规程进行操作。

## 4. 重要说明

4.1. 进入色谱实验室, 请仔细阅读本实验室的安全管理规定;

4.2. 严禁将自己授权的门卡转借他人, 一旦发现将进行禁用处理;

4.3. 禁止将实验无关人员带入实验室;

4.4. 严禁在实验室饮食、吸烟或随意走动;

4.5. 禁止随意使用本实验室制样间相关耗材;

4.6. 夜间实验, 需两人在场;

4.7. 请严格按送样要求进行制样。由于样品问题造成色谱柱损坏或仪器配件更换, 费用将由用户所在课题组承担, 自主上机, 因色谱洗脱梯度错误造成色谱柱损坏的, 该用户课题组也需承担相关费用;

4.8. NAS 网盘是本实验室获取数据的唯一有效途径, 禁止用 U 盘、移动硬盘等进行数据拷贝;

4.9. 请严格按仪器操作规程进行操作。实验过程中有任何不确定或报错提醒必须联系技术员, 否则造成损伤或实验室损失的, 用户将承担相关责任并进行通报批评。

## 5. 实验室安全管理规范

5.1. 严格遵守色谱实验室的各项安全注意警示标识。

5.2. 实验室通道及消防紧急通道必须保持畅通, 所有实验人员应了解消防器具与紧急逃生通道位置。

5.3. 严禁戴手套接触门把手。禁止随意丢弃实验废弃物。禁止将锐器、玻璃丢弃在常规垃圾箱中。

5.4. 实验室应保持整洁, 严禁摆放与实验无关的个人物品。严禁在实验室饮食与抽烟。

5.5. 非常规实验测试须技术员同意并指导方可进行。个人 U 盘、移动硬盘等易带入病毒的存储设备不得与各色质谱仪器工作站电脑连接。

5.6. 空压机及 UPS 所处房间应使用空调, 要保持室内空气干燥, 在潮湿的季节应该除湿。至少每周检查一次有无积水。

## 6. 质谱实验室仪器设备管理规范

### 6.1. 超高效聚合物色谱仪预约与使用

该仪器遵从学校“科研设施与公共仪器中心”对大型仪器设备实行的管理办法和“集中投入、统一管理、开放公用、资源共享”的建设原则, 面向校内所有教学、科研单位开放使用; 根据使用机时适当收取费用; 并在保障校内使用的同时, 面向社会开放。

该仪器的使用实行预约制度, 请使用者根据样品的测试要求在学校“大型仪器共享管理系统”(以下简称大仪网) 进行预约, 并按照要求登记预约信息。校内用户使用的基本流程包括:

- (1) 大仪网进行预约培训并提交培训申请材料;
- (2) 技术员进行现场培训;
- (3) 两周内, 用户在技术员指导下可用实际样品进行上机测试, 本测试将按送样进行计费, 两周内该用户需进行上机考核, 考核通过的用户即获得自主上机权限, 两周内独立上机两小时方可开通门禁资格; 未考核或考核不通过的用户, 需重新接受培训;
- (4) 用户按规定制样并在大仪网上进行送样或机时预约;
- (5) 进入实验室进行登记;
- (6) 上机实验。

### 6.2. 预约制度

为充分利用仪器效能、服务全校科研工作, 根据测试内容与时间的不同, 实验室仪器需进行网上预约制度。根据预约制度可登陆大仪共享网站最少提前 5 分钟预约机时, 包括周末; 寒暑假及国庆假期最少提前一天预约机时。

请严格遵守预约时间使用仪器, 以免浪费机时。如需调换时间段, 在技术员同意下可与其他使用者协商。因故不能在预约时间内测试者, 请提前 1 小时取消预约并通知技术员。如无故不遵预约时间, 将被取消一个月的预约资格。



预约时段		预约时间/每人	测试内容
周一至周日	09:00 至 22:00	每人可预约最短机时为 30 分钟	聚合物分析

- (1) 校内使用者须经过技术员的实验操作培训, 考核合格后方可上机使用;
- (2) 实验开始时务必在实验记录本上登记, 结束后如实记录仪器状态;
- (3) 严禁擅自处理、拆卸、调整仪器主要部件。使用期间如仪器出现故障, 使用者须及时通知技术员, 以便尽快维修或报修, 隐瞒不报者将被追究责任, 加重处理;
- (4) 因人为原因造成仪器故障的(如硬件损坏), 用户课题组须承担维修费用;
- (5) 本实验室所有原始数据不允许在仪器工作站上删改, 尤其不允许用 U 盘与移动硬盘直接拷贝。用户应根据要求通过科研仪器网/数据服务器传送下载原始数据至本地电脑, 以保存并做数据处理; 实验数据在本实验室电脑中保留 2 年。
- (6) 用户应保持实验区域的卫生清洁, 测试完毕请及时带走样品, 技术员不负责保管。使用者若违犯以上条例, 将酌情给予警告、通报批评、罚款及取消使用资格等惩罚措施。

### 6.3. 培训考核制度

校内教师、研究生均可提出预约申请, 由技术员安排时间进行培训, 培训内容包括仪器使用规章制度、送样须知及安全规范、基本硬件知识、标准操作规程(自主测试)及相应数据处理。

培训结束后, 两周内培训者需管理人员监督下进行 5 次左右操作, 培训者根据自己的掌握程度, 联系技术员进行上机考核。初级考核合格后, 可在管理人员监督下上机操作, 一周后复考;

实验室技术员认为培训者达到独立操作水平后, 给予培训者授权在所允许的 *可操作实验*<sup>a</sup> 范围内独立使用仪器。如果因为人为操作错误导致仪器故障者, 除按要求承担维修费用之外, 给予重考惩罚、培训费翻倍。

对接受培训人员的核心要求:

- (1) 了解聚合物色谱的基本原理及其应用的多学科背景知识;
- (2) 熟练掌握 Empower 软件系统, 严格按照标准操作规程操作, 防止因人为操作不当造成仪器故障, 认真做好仪器的使用及故障记录。

## 7. 实验内容

### 7.1 实验前准备

检查流动相的成分和体积, 确保可以完成测试 (如四氢呋喃、HPLC级别试剂等);  
按要求制备样品。

### 7.2 制样要求

溶剂: 样品能溶解于四氢呋喃(THF), 无水, 无其他溶剂;

溶液需澄清, 灯光下无颗粒物或悬浊物, 无气泡;

送样量2 ml, 装于标准色谱仪预开口进样瓶中。

浓度说明:

分子量范围	浓度	称重
MW<1,000	0.20%-0.30%	2.0-3.0 mg/ml
MW 1,000-10,000	0.15%-0.20%	1.5-2.0 mg/ml
MW 10,000-100,000	0.10%-0.15%	1.0-1.5 mg/ml
MW 100,000-500,000	0.05%-0.10%	0.5-1.0 mg/ml
MW 500,000-1M	0.01%-0.05%	0.1-0.5 mg/ml
MW >1M	0.005%-0.01%	0.05-0.1 mg/ml

**其他说明:** (1) 送样人员必须对测试样品的合法性负责, 未注明合法性和物理化学性质的样品不予测试。如测试过程中发现样品含毒品类非法样品, 送样人将负法律责任。

(2) 因送样溶液不符合要求而导致管道堵塞或对仪器造成损坏的, 根据情节严重情况进行通报批评、禁用或赔偿等处罚。

### 7.3 登录系统

7.3.1 登录Windows Ctrl+Alt+Delete输入用户名及密码, 回车 (当前阶段, 技术员会进行相关操作);

7.3.2 登录到大仪网;

7.3.3 登录服务器: 账号:课题组负责人姓名全拼; 密码: 课题组负责人姓名全拼123

任意课题组的项目文件, 均由技术员创建。

### 7.4 运行样品

7.4.1 Empower 服务器界面, 选择Run Sample。

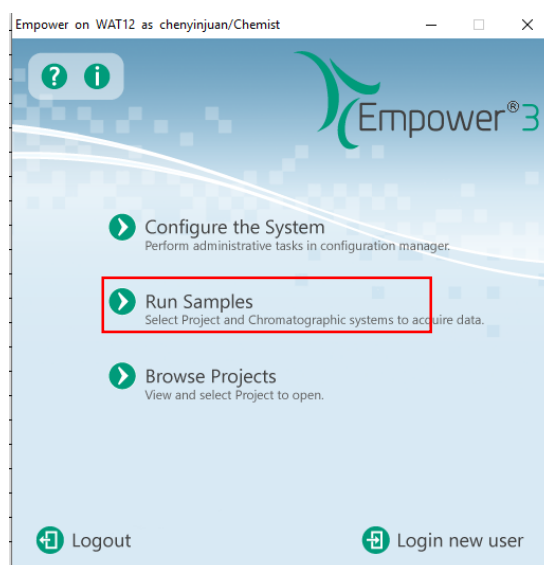


图 7-1

#### 7.4.2 选择正确的项目文件及仪器配置系统

在Projects下，每个课题组会有以PI姓名命名的二级项目文件，二级项目下包含本实验室仪器命名的三级项目文件(UPLC、APC、GPC、Res\_Prep、Nom\_Prep、UPCC)。用户首先应在图7.2中（Project in which to acquire data）找到自己课题组二级项目，然后在二级项目文件下，找到要使用的仪器的三级项目；然后在系统配置框（Chromatographic Systems），选择相应的仪器配置。点击OK，进入样品运行窗口。

注：

- 1) Project in which to acquire data: 旨在选择方法、数据等存储位置；
- 2) Chromatographic Systems: 旨在选择仪器配置；
- 3) 例子: 张三组李四同学使用超高效聚合物色谱仪，项目路径为: Projects-Zhangsan-APC; 仪器配置为APC\_RI。

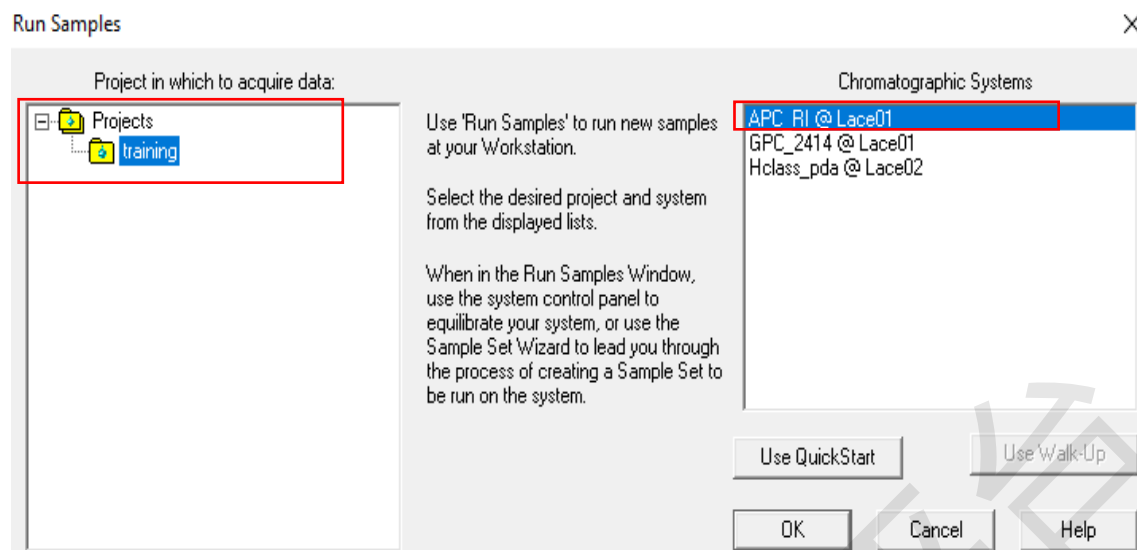


图7-2

7.4.3 上述操作结束，进入运行样品窗口。该窗口下方包含示差检测器（RI Detector），样品管理器（Sample Manager FIN），等度溶剂管理器（Isocratic Solvent Manager），色谱柱管理器（Column Manager），仪器方法界面（Instrument method）以及样品运行列表。

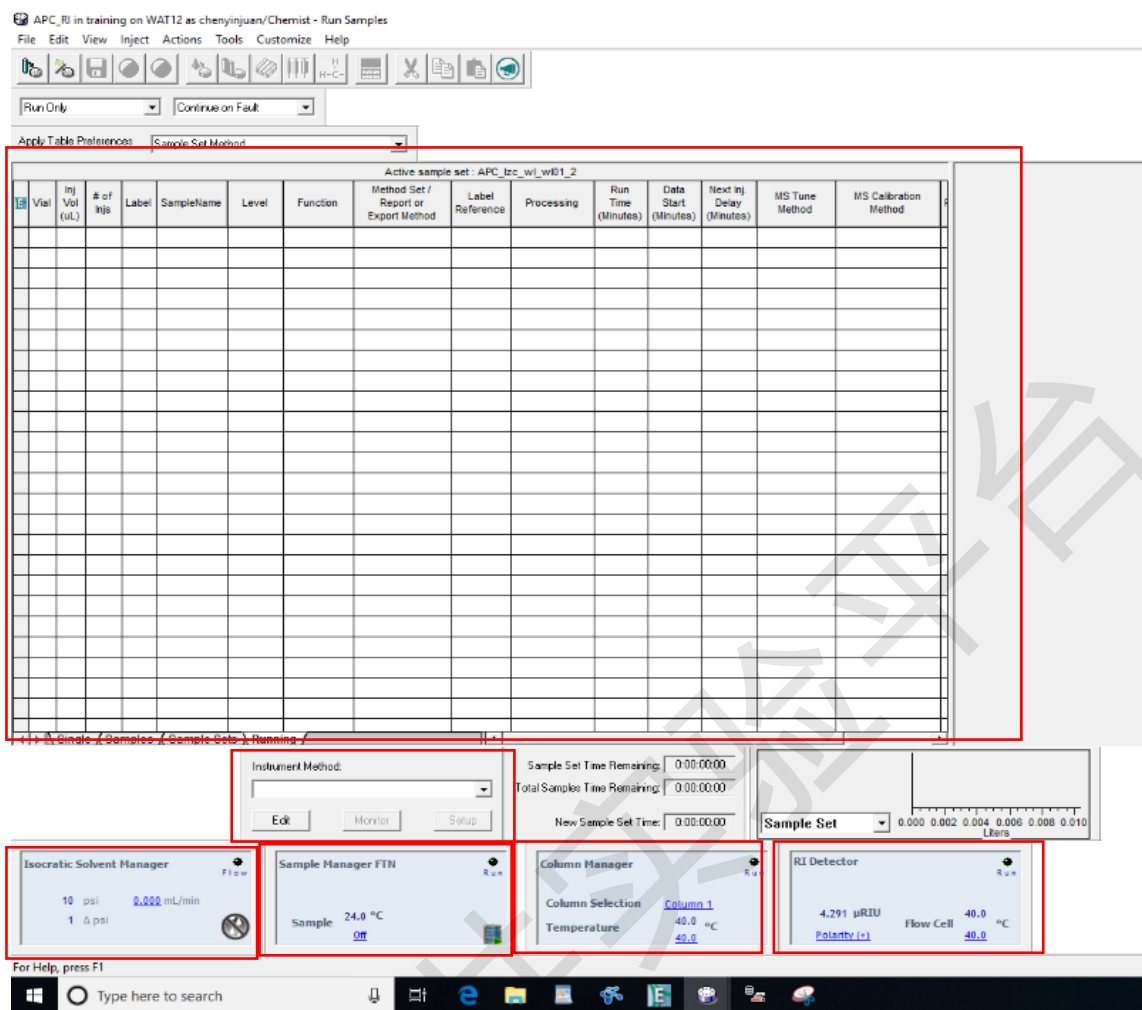


图 7-3

#### 7.4.4 样品针清洗

操作：点击Sample Manager，右键-Prime；在Prime对话框，勾选Wash Solvent和Purge Solvent；分别设为20 sec和2-5 cycles。

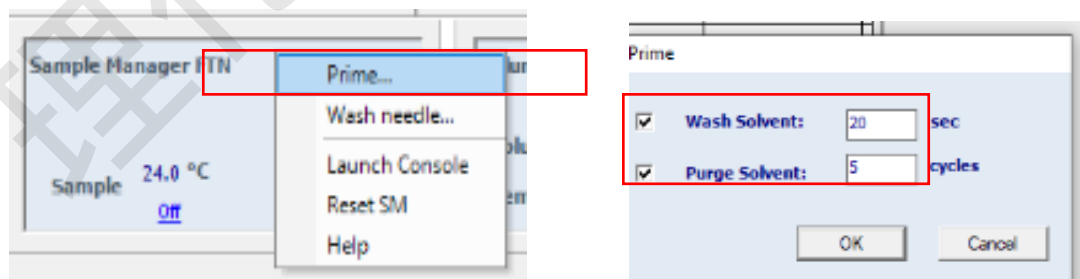


图7-4

#### 7.4.5 流动相灌注操作

操作：点击Isocratic Solvent Manager，右键-Prime Solvent；在Prime Solvent对话框，设

置 Prime duration 时间为 4.0 min，点击 Start。

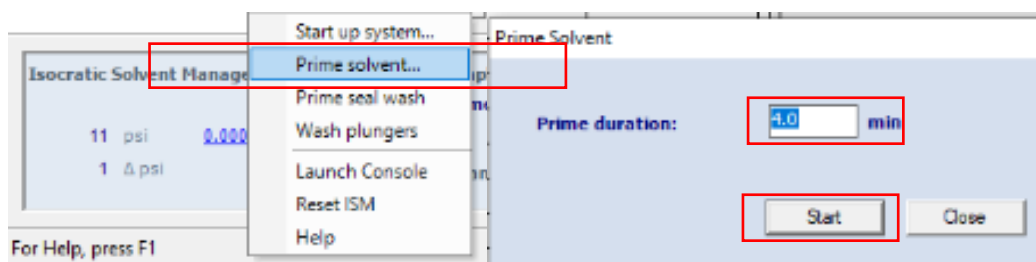


图7-5

#### 7.4.6 编辑仪器方法

7.4.6.1 在 Run sample 界面，找到 Instrument Method 小窗，点击 Edit，电脑桌面下方出现闪烁的新图标，点击该图标进入 Instrument method editor 方法编辑窗口；

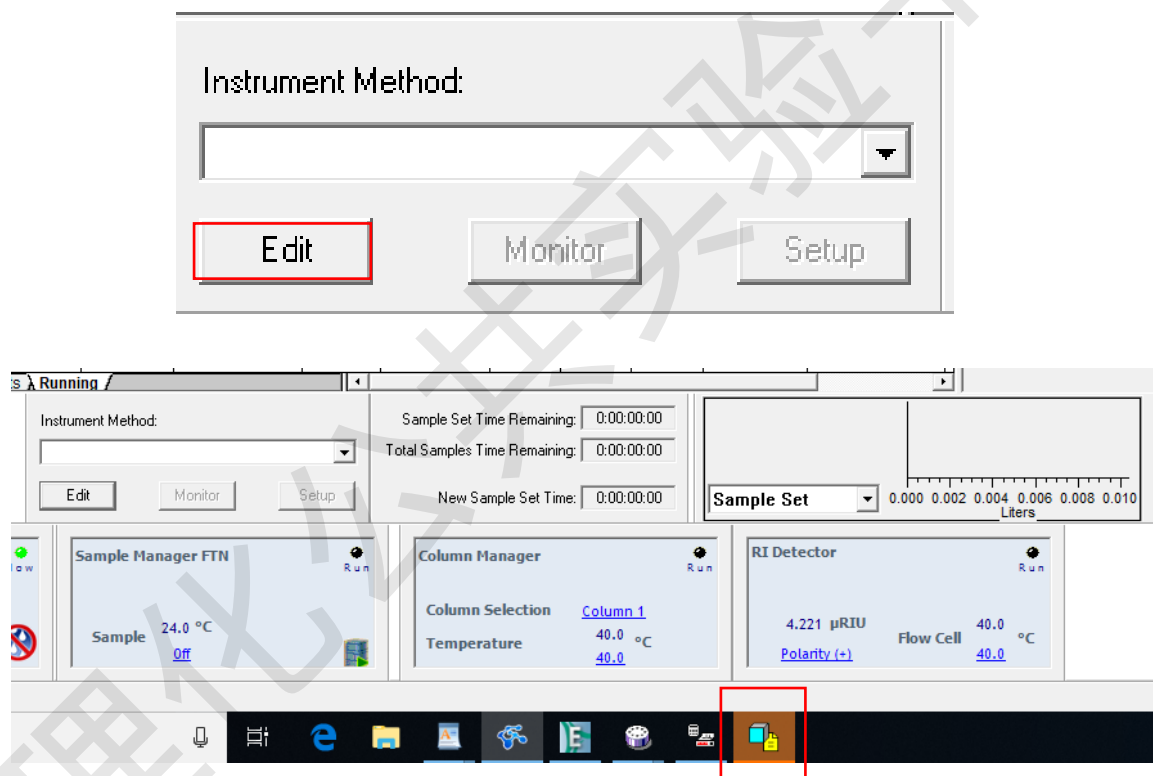


图7-6

7.4.6.2 Instrument Method Editor 方法编辑窗口，显示等度溶剂管理器（Isocratic Solvent Manager），样品管理器（Sample Manager FIN），色谱柱管理器（Column Manager），示差检测器（RI Detector）；

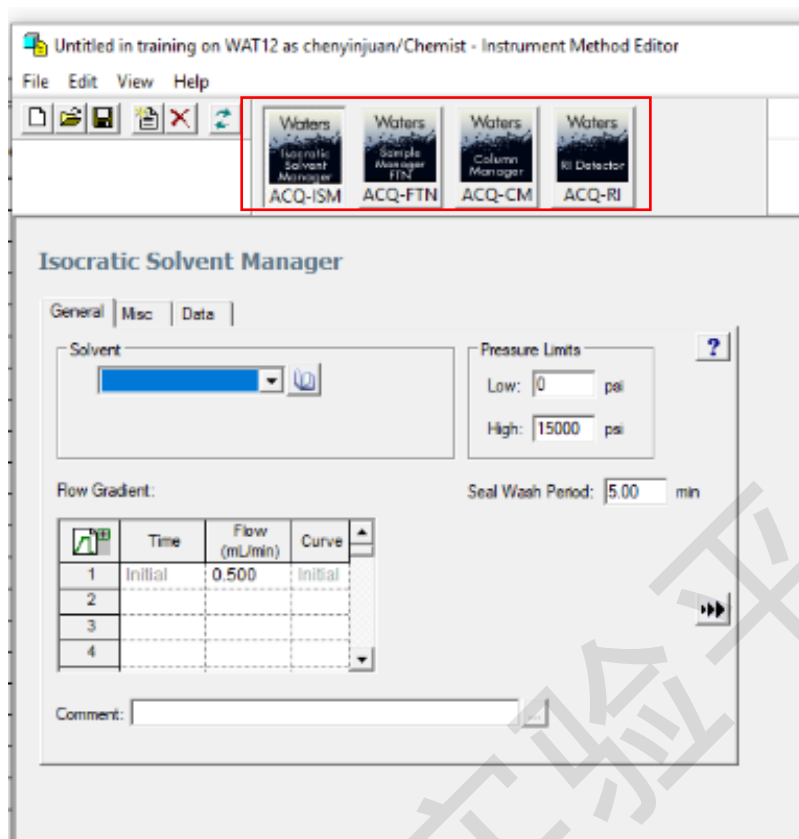


图7-7

7.4.6.3 等度溶剂管理器 (Isocratic Solvent Manager)。在General选项下, 选择Solvent为Tetrahydrofuran (四氢呋喃), 设定流速, 一般为0.5 ml/min; 其他无需设置;

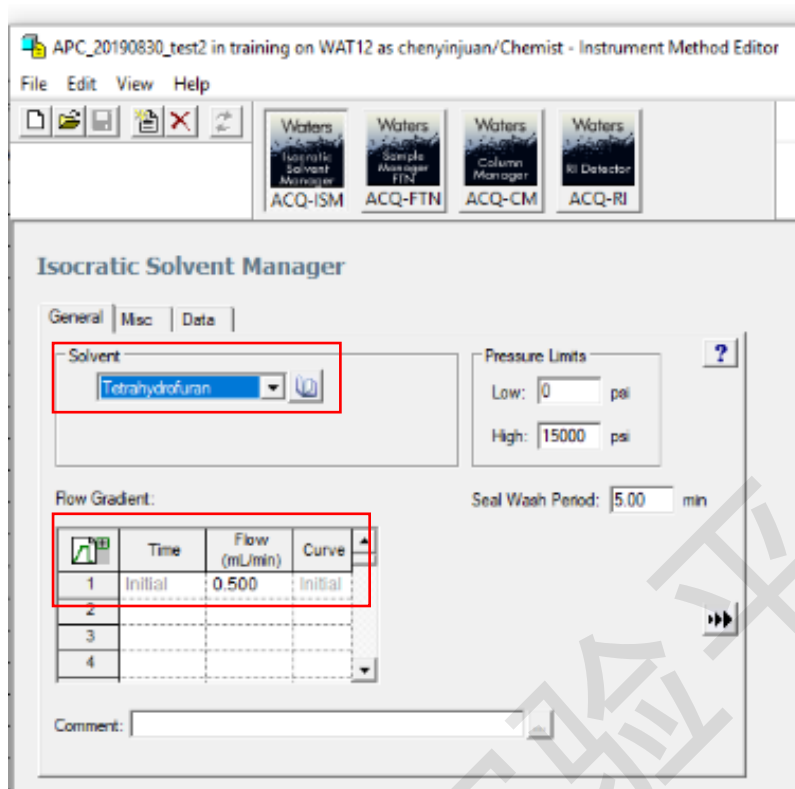


图7-8

7.4.6.4 样品管理器 (Sample Manager FTN)。在 General 选项下, 选择 Solvents 为 Tetrahydrofuran (四氢呋喃), 根据样品测试需求, 设置 Sample 温度;

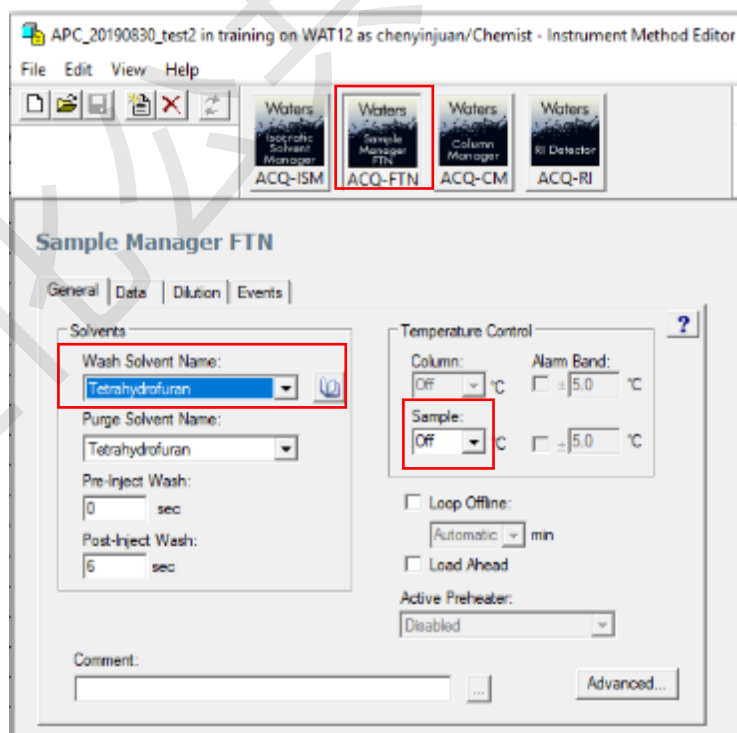


图7-9

7.4.6.5 色谱柱管理器 (Column Manager S)。在 General 选项下, 设置色谱柱柱温 40.0 °C,



Valve Position: Column 1;

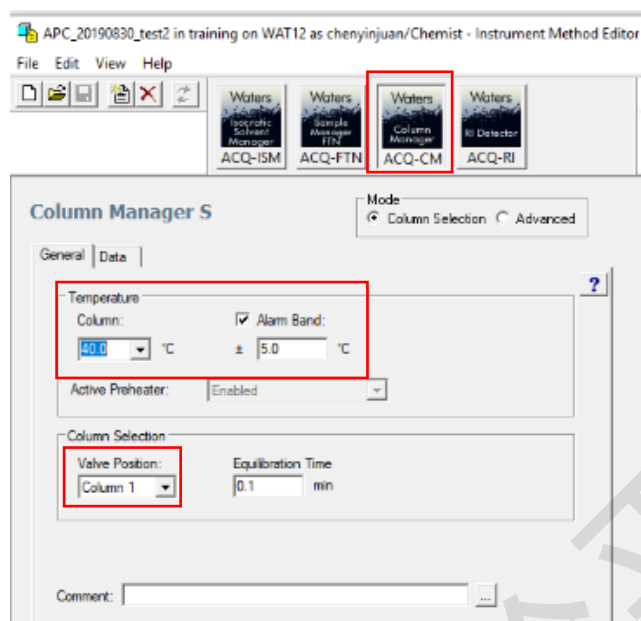


图7-10

7.4.6.6 示差检测器 (RI detector)。在General选项下, 设置正负极性 (polarity), 设定检测器温度与色谱柱温度一致为40°C;

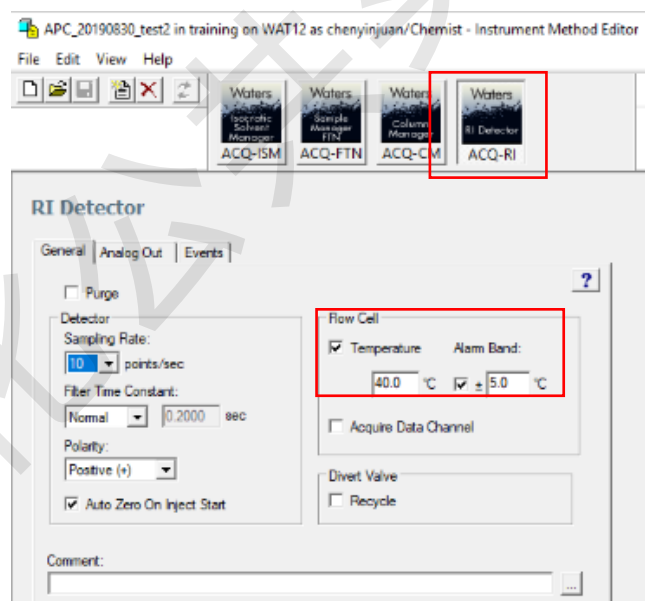


图7-11

7.4.6.7 保存。File-save 保存方法文件, 同时File-save method set, 保存方法组文件。  
方法文件命名规则: 用户姓名\_日期\_样品, 如李四在2019年10月1日用APC测试某聚合物THE, 则方法名为: LS\_20191001\_THE。方法组文件同名。

### 7.4.7 仪器预热

示差检测器升温较慢, 建立APC方法前后, 可根据测试需求, 提前预约检测器。操作: 在Run Sample主页面(图7-3), 选择RI detector, 点击蓝色字幕显示(通常为off), 设置自己所需测试温度, Enter, RI开始预热;

在RI预热结束后, 选择Column Manager, 点击蓝色字幕显示(通常为off), 设置自己所需测试温度, Enter, 柱温箱开始预热。

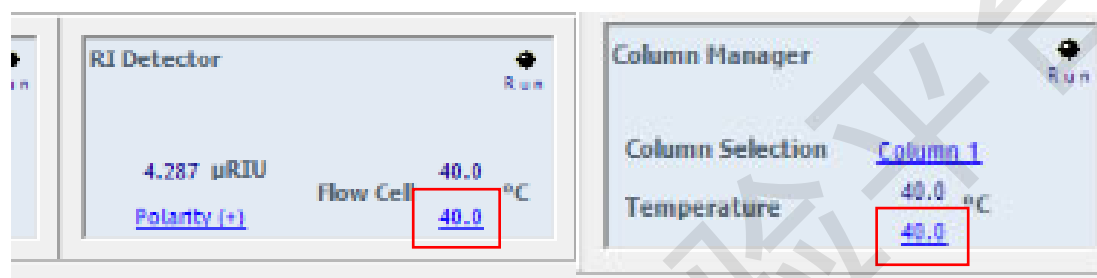


图7-12

### 7.4.8 设置流动相流速

为保证仪器使用, 在7.4.7操作完成后, 在Run Sample主页面, 选择等度溶剂管理器(Isocratic Solvent Manager), 逐步增加流动相流速。具体操作: 点击流速界面, 设置流速为0.100 ml/min, 两分钟后设置为0.200 ml/min, 以此类推最终为方法设定流速。



图7-13

### 7.4.9 放入待测样(时间可灵活处理)

将待测样品放入样品盘。图7-14是自动进样器样品盘实物图。样品盘规格为6\*8, 以缺角置于左上角为正向, 放置在样品管理器中, 每个样品管理器共有两个。

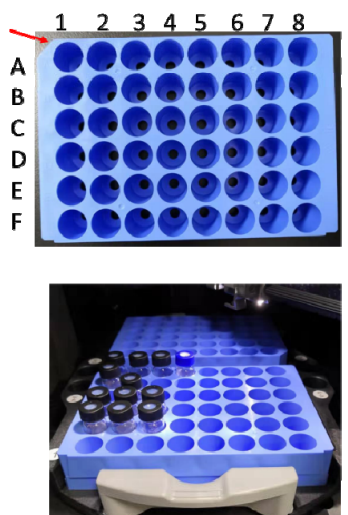


图 7-14

#### 7.4.10 建立样品组文件

在Run Sample 页面, Samples 栏, 显示Sample Set Method表格, 包括样品瓶位置 (Plate/Well), 进样体积 (Inj Vol), 进样次数 (#of Injs), 样品名称 (SampleName), 方法组/报告/导出方法文件 (Method Set/Report or Export Method), 运行时间 (Run Time) 等项。

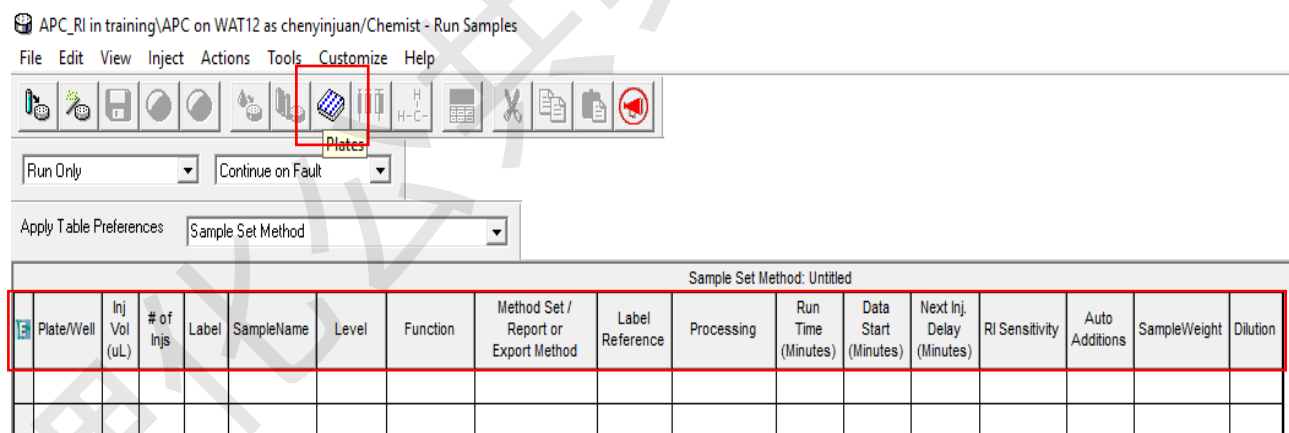


图7-15

##### 7.4.10.1 样品瓶位置 (Plate/Well)

点击图7-15上Plates图标, 显示样品瓶选择对话框, 如图7-16所示。聚合物色谱使用的样品盘类型为ANSI-48Vial2mlHolder, (6\*8孔), 仪器共两个样品盘, 根据7.4.9操作, 选择正确的样品盘和样品瓶位置, 斜角处样品为A1位置。样品盘加样模式为从左到右。例如: 某样品放在1号盘, A1位置, 则选择ANSI-48Vial2mlHolder (1), 并点击A1, Insert, 最后点击OK, 关闭对话框。

选择样品位置后, 样品列表如图7-17所示。

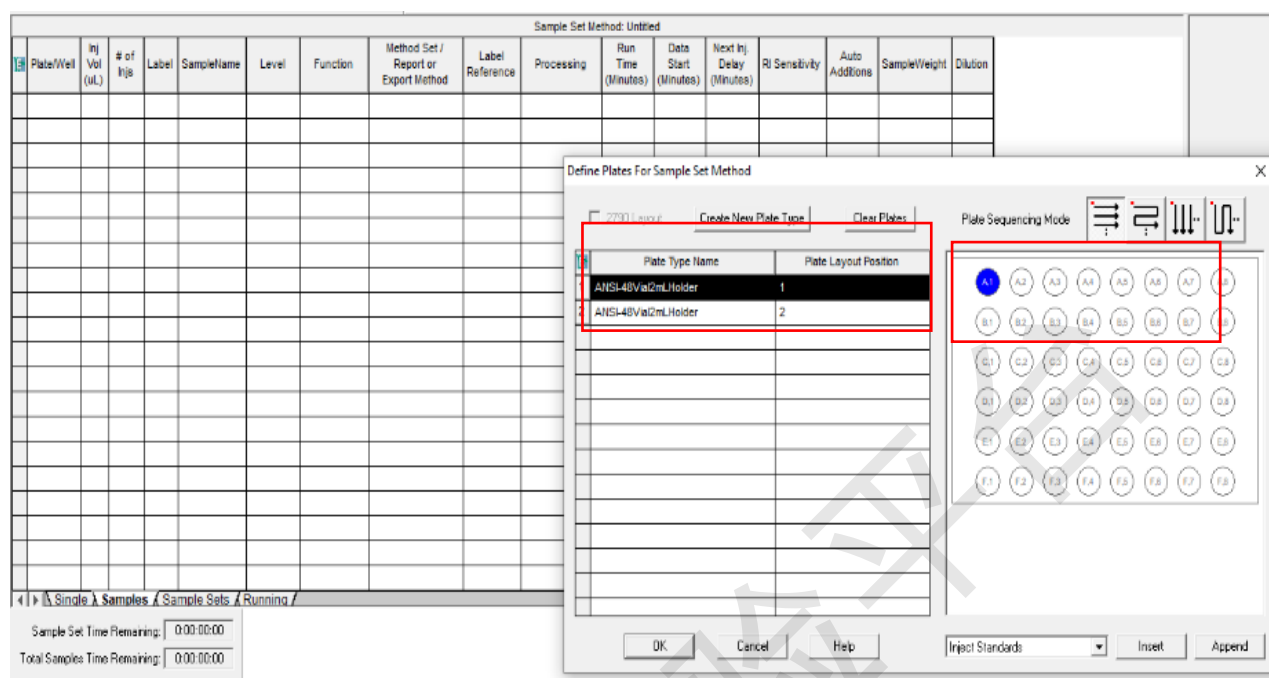


图7-16

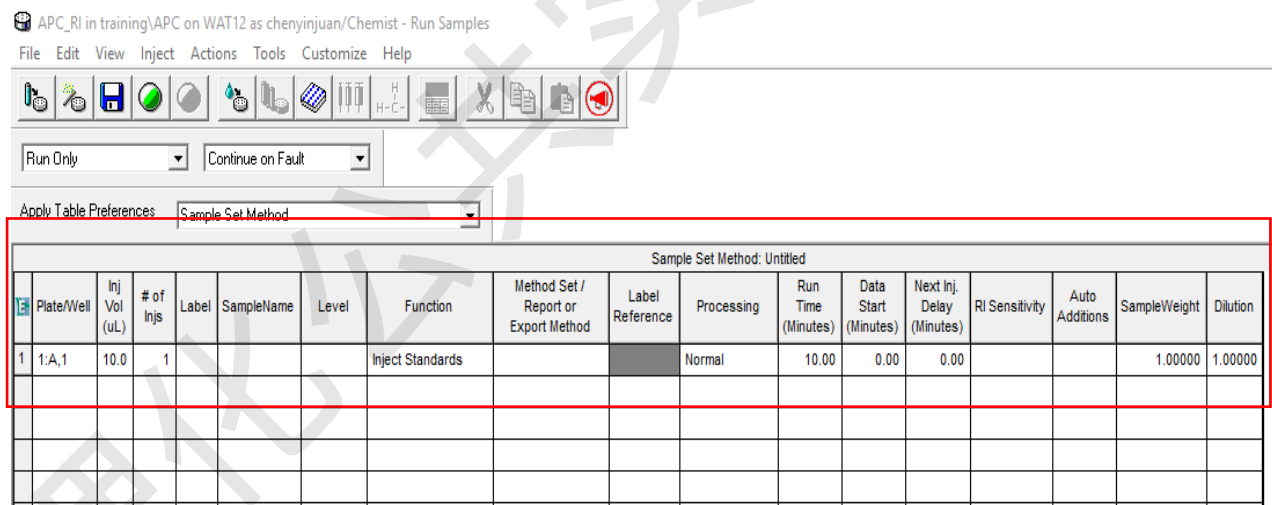


图7-17

#### 7.4.10.2 方法继续编辑

进样体积 (Inj vol) : 默认10 ul;

进样次数 (#of injs) : 默认为1;

样品名称 (SampleName) : 可以备注自己的样品名;

功能 (Function) : 根据样品下拉选择。标样通常选择Inject Narrow Standards,样品选择

Inject Samples;

方法组/报告/导出方法文件 (Method Set/Reportor Export Method) : 下拉选择7.4.6.7保存的方法组文件;

运行时间 (Run Time) : 设置为7.4.6.7方法中色谱洗脱时间;

处理方法 (Processing) : 下拉选择Don't Report。

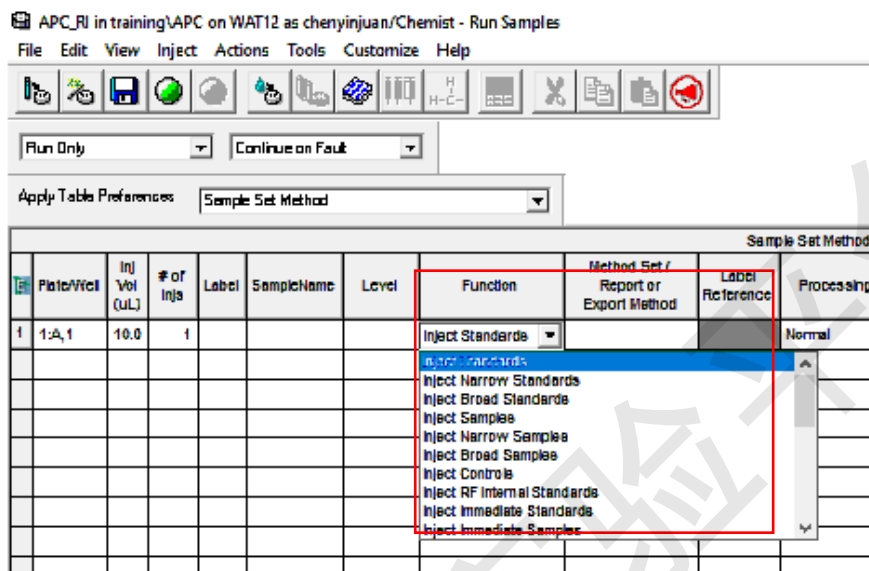


图7-18

#### 7.4.11 加载方法

在Run Sample界面, 选择Instrument Method子窗口, 下拉选择色谱方法 (本SOP演示方法及方法组文件为APC\_20190830\_test2) 点击Setup, 加载色谱方法。当Run Sample页面, 等度溶剂管理器 (Isocratic Solvent Manager) 的压力差 < 50psi (图7-20), 表示系统达到压力平衡, 可开始运行样品序列。

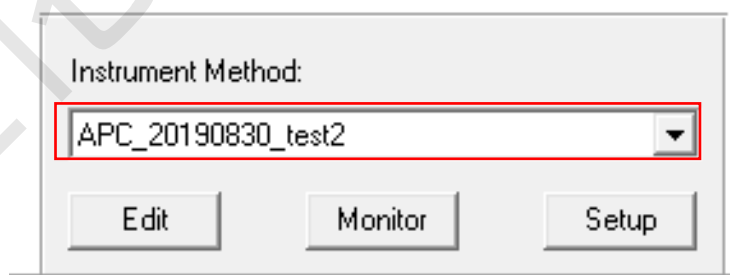


图7-19



图7-20

### 7.4.12 运行方法

系统压力<50 psi, 在Run Sample界面, 点击Run图标, 弹出样品组保存对话框, 输入样品组名称,命名规则: 用户姓名缩写\_日期\_样品名\_运行次数。回车后, 开始运行样品。需要运行的样品序列, 会转跳到Running 栏; 当前运行的样品序列, 会以样品序列信息会以红色标记; 样品序列运行时, 在Run Sample界面, 会出现当前正在运行的样品APC结果。运行结束后, 所有已结束的物品序列会转跳到Samples栏。

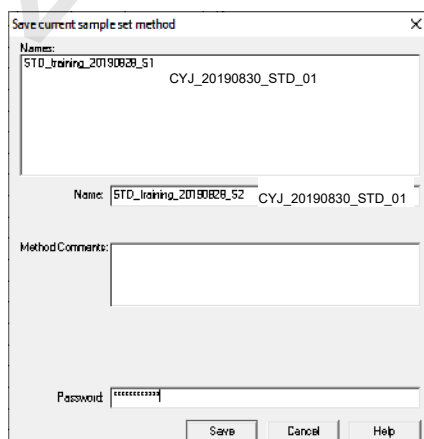
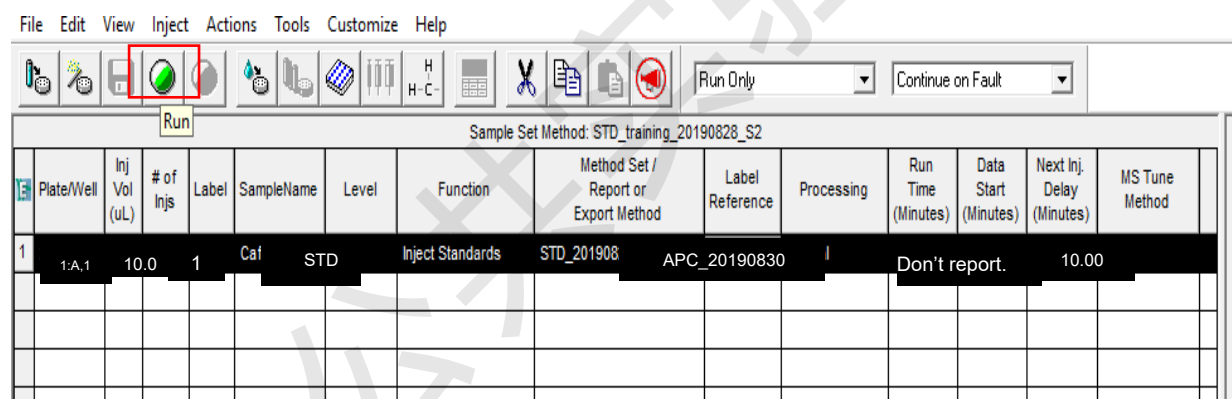


图7-22

## 7.5 查看/处理数据

### 7.5.1 选择文件。

在Empower主页，点击Browse Projects项，弹出Project选择对话框，请按7.4.2步骤选择的文件路径，选择样品运行存储的项目（在Projects下，每个课题组会有以PI姓名命名的二级项目文件，二级项目下包含本实验室仪器命名的三级项目文件(UPLC、APC、GPC、Res\_Prep、Nor\_Prep、UPCC)。用户首先应在图7.2中（Project in which to acquire data）找到自己课题组二级项目，然后在该二级项目文件下，找到要使用的仪器的三级项目），点击OK，进入结果查看页。

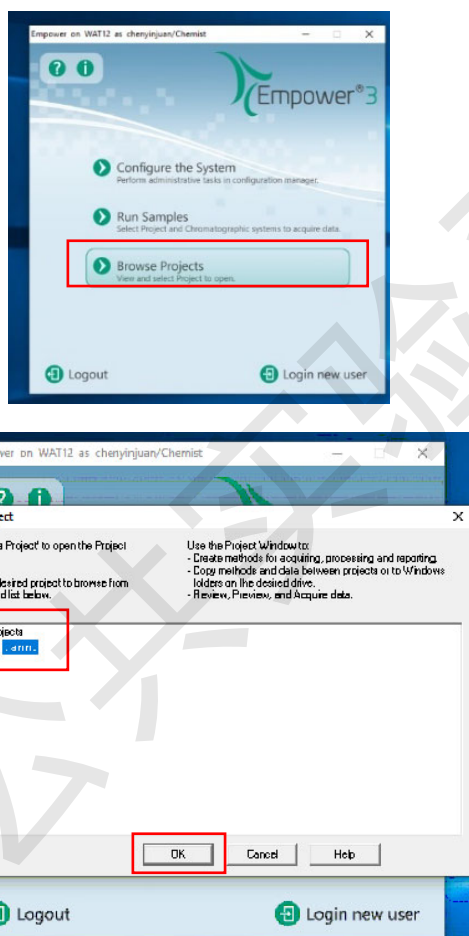


图7-24

### 7.5.2 页面介绍。

图7-25是数据查看页面主页。可采用Sample Sets、Injections、Channels、Methods、Result Sets等方式进行数据查看。通常选择Sample Sets，查看运行的样品组文件，进一步通过View As选择当前样品组Channel和Injections进行查看。

training\APC on WAT12 as chenjinjuan/Chemist - Project

File Edit View Tools Database Help

Filter By: Default

SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Date Acquired	Sample Set Name	Injection Status
12	sm2_2mg/ml	1:A,5	1 Broad Unknown	12/10/2019 6:13:06 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete
13	sm1_2mg/ml	1:A,4	1 Broad Unknown	12/10/2019 6:02:34 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete
14	STD3_red	1:A,3	1 Narrow Standard	12/10/2019 5:52:02 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete

图7-25

training on WAT12 as chenjinjuan/Chemist - Project

File Edit View Tools Database Help

Filter By: Default Edit View Update Max Rows: 1000

SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Date Acquired	Channel	Channel Description	Injection Status	Channel Status
1	STD4	1:C,4	1 Broad Unknown	8/30/2019 12:59:26 PM CST	RI	RI	Complete	Acquisition Finished
2	STD3	1:C,3	1 Narrow Standard	8/30/2019 12:53:57 PM CST	RI	RI	Complete	Acquisition Finished
3	STD2	1:C,2	1 Narrow Standard	8/30/2019 12:48:25 PM CST	RI	RI	Complete	Acquisition Finished
4	STD1	1:C,1	1 Narrow Standard	8/30/2019 12:42:56 PM CST	RI	RI	Complete	Acquisition Finished

Context Menu:

- New Method
- Review
- Compare
- Preview/Publisher
- Process...
- Print...
- Export
- Alter Sample**
- Run Samples
- Copy To Project...
- View As
- Copy
- Paste
- Hide Column
- Show All Columns
- Print Table
- Table Properties...
- Column Properties...

图7-26

### 7.5.3 建立标准样品处理方法

APC/GPC测试是用相同条件、相同分析方法测量标准样品和待测样品。由于标准样品已知分子量，通过标样测试结果绘制标样保留时间和分子量的相关性标线，来反推实际样品分子量。

#### 7.5.3.1 定义标样分子量

Step 1: Injections/Channels子项目栏，选择标样运行序列（如图7-27,34-36），右键-Alter Sample，弹出Alter Sample对话框。



SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Date Acquired	Sample Set Name	Injection Status
12 sm2_2mg/ml	1:A,5	1	Broad Unknown	12/10/2019 6:13:06 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete
13 sm1_2mg/ml	1:A,4	1	Broad Unknown	12/10/2019 6:02:34 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete
14 STD3_red	1:A,3	1	Narrow Standard	12/10/2019 5:52:02 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete
15 STD2_black	1:A,2	1	Narrow Standard	12/10/2019 5:41:32 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete
16 STD1_white	1:A,1	1	Narrow Standard	12/10/2019 5:31:01 PM CST	LJA_HWH_20191210_SM_01	Complete
17 sample2-std	1:B,1	1	Unknown	12/9/2019 6:37:09 PM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
18 sample1-std	1:A,8	1	Unknown	12/9/2019 6:26:39 PM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
19 sample4-std	1:A,7	1	Unknown	12/9/2019 11:39:25 AM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
20 sample3-std	1:A,6	1	Unknown	12/9/2019 11:28:55 AM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
21 sample2	1:A,5	1	Unknown	12/9/2019 11:18:26 AM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
22 sample1	1:A,4	1	Unknown	12/9/2019 11:07:57 AM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
23 std3	1:A,3	1	Narrow Standard	12/9/2019 10:57:26 AM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
24 std2	1:A,2	1	Narrow Standard	12/9/2019 10:46:55 AM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
25 std1	1:A,1	1	Narrow Standard	12/9/2019 10:36:24 AM CST	LJA_HWH_20191209_SM_01	Complete
26 hv_prep2	1:B,3	1	Broad Unknown	11/22/2019 7:02:04 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
27 hv_prep1	1:B,2	1	Broad Unknown	11/22/2019 6:51:33 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
28 hv_B	1:B,1	1	Broad Unknown	11/22/2019 6:41:05 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
29 hv_A	1:A,8	1	Broad Unknown	11/22/2019 6:30:33 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
30 STD7	1:A,7	1	Broad Standard	11/22/2019 6:20:04 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
31 STD6	1:A,6	1	Broad Standard	11/22/2019 6:09:34 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
32 STD5	1:A,5	1	Broad Standard	11/22/2019 5:59:02 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
33 STD4	1:A,4	1	Broad Standard	11/22/2019 5:48:31 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
34 STD3	1:A,3	1	Narrow Standard	11/22/2019 5:38:04 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
35 STD2	1:A,2	1	Narrow Standard	11/22/2019 5:27:34 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
36 STD1	1:A,1	1	Narrow Standard	11/22/2019 5:17:05 PM CST	LJA_HZM_20191122_01	Complete
37 BK	1:A,7	1	Unknown	11/14/2019 5:55:18 PM CST	ZKC_WJL_20191114_sm01	Complete

图7-27

Step 2: 在Alter Sample界面, 设置Sample Type为Standard,选中某一行, 点击Amount图标, 弹出Component Editor 对话框。

Vial	Inj Vol (uL)	# of Injs	Label	SampleName	Sample Type	Level	Method Set / Report or Export Method	RI Sensitivity	SampleWeight	Dilution	Altered
1	1:A,2	1.0	1	std	Standard		ZKC_WJL_20191114_AA_01		1.00000	1.00000	<input type="checkbox"/>
2	1:A,1	1.0	1	std	Standard		ZKC_WJL_20191114_AA_01		1.00000	1.00000	<input type="checkbox"/>

图7-28

Step 3: 在Component Editor界面, 在Molecular Weight列根据标样分子量信息, 从上往下分子量从大到小顺序添加, 输入完之后点击Next, 输入下一个标样分子量信息, 点击Next。标样分子量输入后, 点击OK, 或者File-Save reference。

然后在Alter Sample界面, File-Save, 保存定义的标样分子量, 保存后在Altered显示√, 关闭Alter Sample页面。

注: 输入标样分子量时, 请核对Component Editor和Alter Sample是同一个样品。

Sample(s) in training/APC on WAT12 as chenyanjuan/Chemist - Alter Sample  
File Edit View Help

Apply Table Preferences: Alter Sample

Vial	Inj Vol (uL)	# of Inj	Label	SampleName	Sample Type	Level	Method Set / Report or Export Method	RI Sensitivity	SampleWeight	Dilution	Altered
1	1.0	1		STD3	Narrow Standard		APC_20190830_test2		1.00000	1.00000	<input checked="" type="checkbox"/>
2	1.0	1		STD2	Narrow Standard		APC_20190830_test2		1.00000	1.00000	<input checked="" type="checkbox"/>
3	1.0	1		STD1	Narrow Standard		APC_20190830_test2		1.00000	1.00000	<input checked="" type="checkbox"/>

Component Editor

File Edit View Help

SampleSet Type: STANDARDS ONLY

Current Vial  
Row: 1 Vial: 1,A,3 Level:  
Sample Name: STD3  
Type: Narrow Standard VialID: 1438

Mol Weights	K.Alpha	Moments	Distribution	Cumulative	Components	dn/dc (mg)	A2 (10e-4*ml/moig^2)	Scatter
Molecular Weight (Daltons)	Concentration (mg/mL)	Type	Relative Weighting	Polydispersity				
1	130000							Linear
2	21500							Linear
3	6540							Linear
4	1250							Linear

1 |> Current / All Samples /  
Brev Next OK Cancel  
For Help, press F1 NUM

Component Editor

File Edit View Help

SampleSet Type: STANDARDS ONLY

Current Vial  
Row: 1 Vial: 1,A,3 Level:  
Sample Name: STD3  
Type: Narrow Standard VialID: 1438

Mol Weights	K.Alpha	Moments	Distribution	Cumulative	Components	dn/dc (mg)	A2 (10e-4*ml/moig^2)	Scatter
Molecular Weight (Daltons)	Concentration (mg/mL)	Type	Relative Weighting	Polydispersity				
1	130000							Linear
2	21500							Linear
3	6540							Linear
4	1250							Linear

1 |> Current / All Samples /  
Brev Next OK Cancel  
For Help, press F1 NUM

图7-29

Sample(s) in training\APC on WAT12 as chenyingjuan/Chemist - Alter Sample

File Edit View Help

Apply Table Preferences: Alter Sample

	Vial	Inj Vol (uL)	# of Injs	Label	SampleName	Sample Type	Level	Method Set / Report or Export Method	RI Sensitivity	SampleWeight	Dilution	Altered
1	1.A,3	10.0	1		STD3	Narrow Standard		APC_20190830_test2		1.00000	1.00000	<input checked="" type="checkbox"/>
2	1.A,2	10.0	1		STD2	Narrow Standard		APC_20190830_test2		1.00000	1.00000	<input checked="" type="checkbox"/>
3	1.A,1	10.0	1		STD1	Narrow Standard		APC_20190830_test2		1.00000	1.00000	<input checked="" type="checkbox"/>

### 7.5.3.2 建立处理方法

Step 1: 在数据查看主页面-Channels 列，选中标准样品行，右键-Review，弹出Review界面（图7-30）。

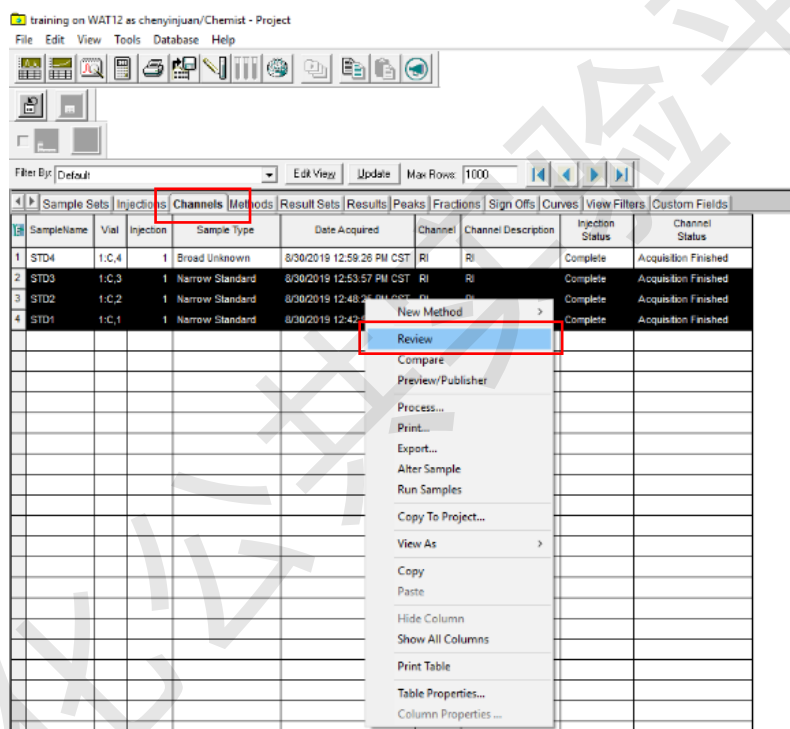


图7-30

Step 2: 点击左上角Overlay图标，叠加所有标样的测试图谱。



图7-31

Step 3: 点击Processing Method Wizard图标，弹出Processing Method Wizard对话框。

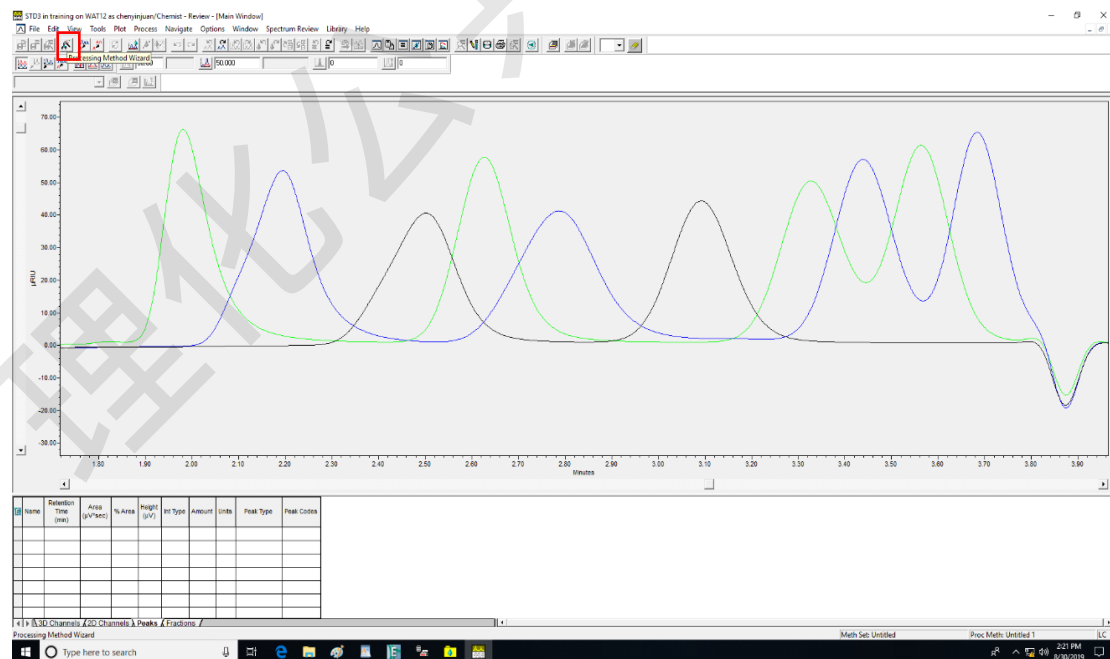


图7-32

Step 4: 在Processing method wizard对话框中选中Create a New Processing Method，点击OK。

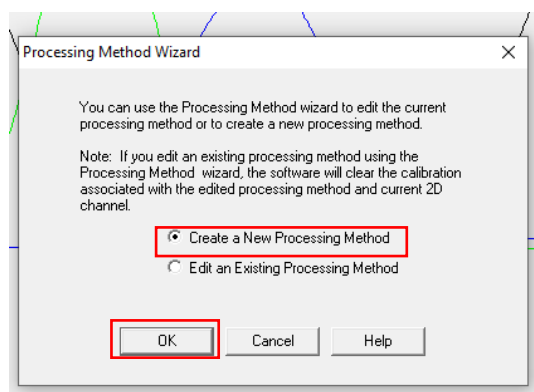


图7-33

Step 5: New processing method界面。选择Processing Type: GPC; Integration Algorithm: Traditional。点击OK。

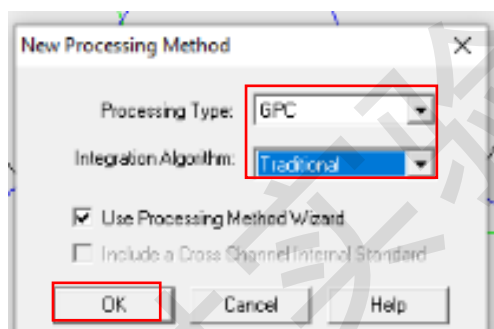


图7-34

Step 6: Integration 界面。点击Back, 设置基线; Next, 设置归一化时间范围, 点击Next。

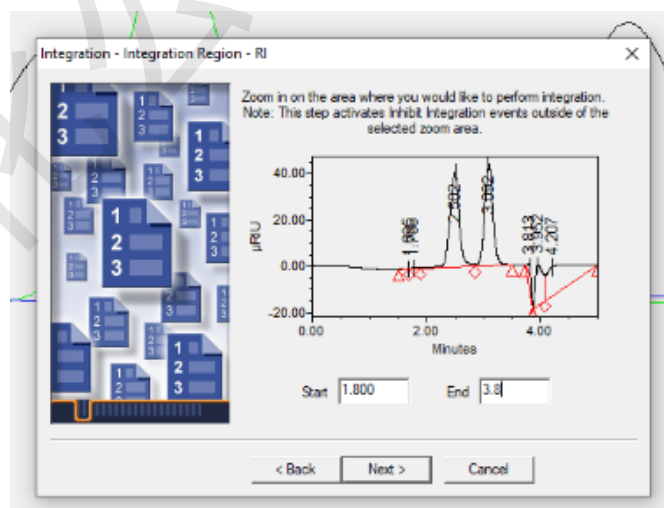


图7-36

Step 7: Integration 界面。设置Minimum Height, 点击最小峰面积, 峰高将自动转跳,

除去个位数（如转跳值为38495，最终设为3849），点击Next。

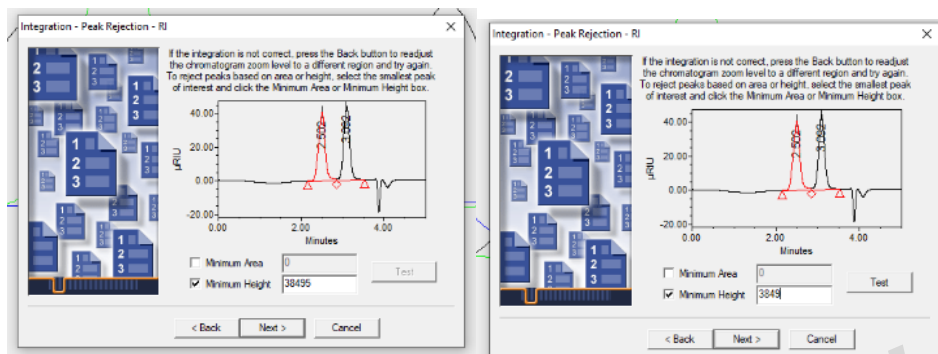


图7-37

Step 8: GPC-Calibration-RI界面:

What type of calibration will you be doing? 选择Relative;

What calibration fit type do you use? 选择5<sup>th</sup> Order;

Do you calibrate against time or volume? 选择Time。

点击Next。

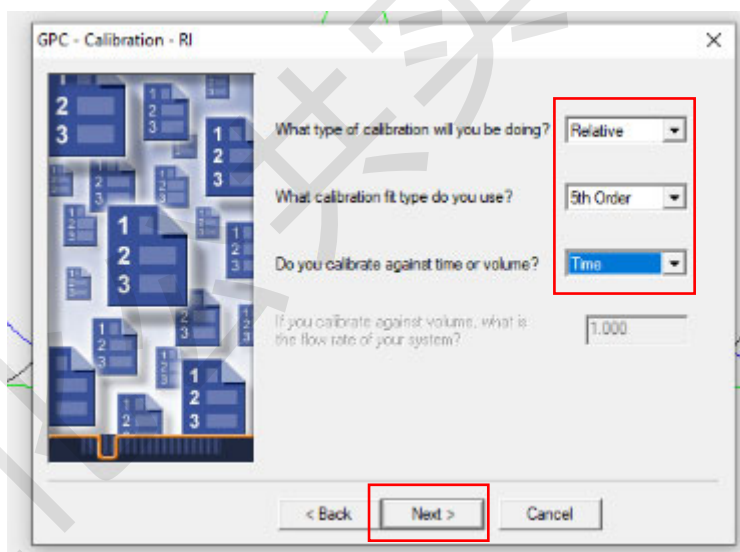


图7-38

Step 9: Processing Method Name-RI界面。输入方法名称，点击Finish。命名原则：姓名\_日期\_样品。（注:本SOP处理方法为APC\_STD\_training\_test1）。

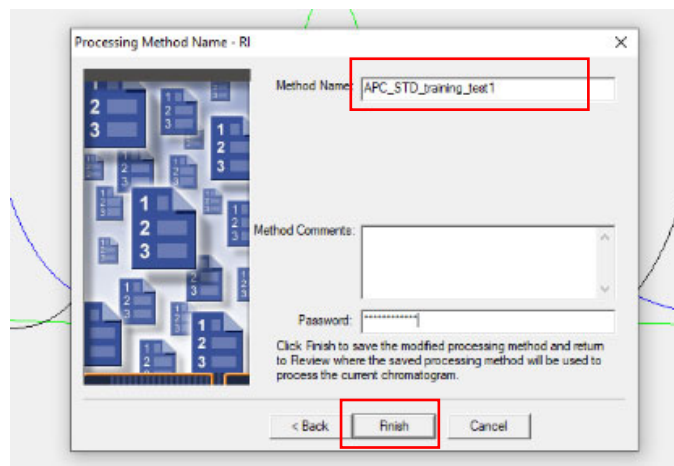


图7-39

## 7.5.4 处理标样数据（标准曲线）

Step 1: 在数据查看主页面，选中标样，右键-Process。

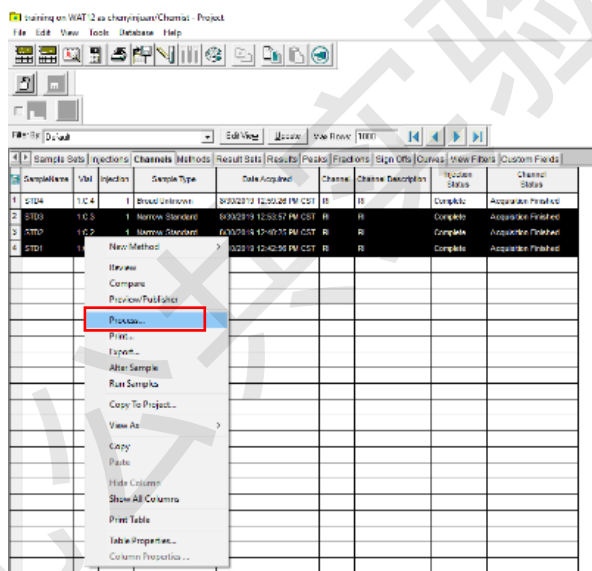


图7-40

Step 2: Background Processing and Reporting 页面。勾选Process，选中Use special processing method，下拉选择7.5.3中设置保存的标样处理方法文件，勾选Clear Calibration，点击OK。

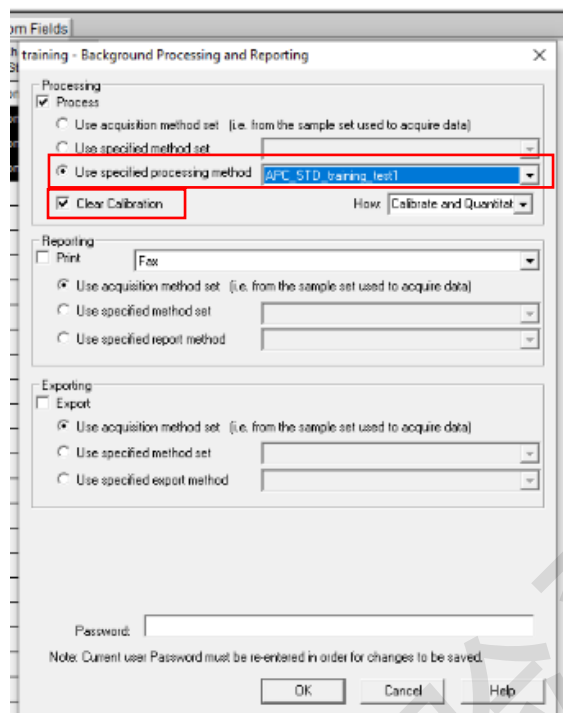


图7-41

Step 3: 数据查看页面，Channel列。选择标样行，右键-View As-Results。

SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Date Acquired	Channel	Channel Description	Injection Status	Channel Status
1 STD4	1:C,4	1	Broad Unknown	8/30/2019 12:59:26 PM CST	Ri	Ri	Complete	Acquisition Finished
2 STD3	1:C,3	1	Narrow Standard	8/30/2019 12:53:57 PM CST	Ri	Ri	Complete	Acquisition Finished
3 STD2	1:C,2	1	Narrow Standard	8/30/2019 12:48:25 PM CST	Ri	Ri	Complete	Acquisition Finished
4 STD1	1:C,1	1	Narrow Standard	8/30/2019 12:42:56 PM CST	Ri	Ri	Complete	Acquisition Finished

图7-42

Step 4: 数据查看页面，Results列。选择标样行，右键-Review，显示结果如图7-43，下方显示标样色谱图相关信息。点击Calibration Curve，显示标曲方程及结果相关信息（图7-44）。



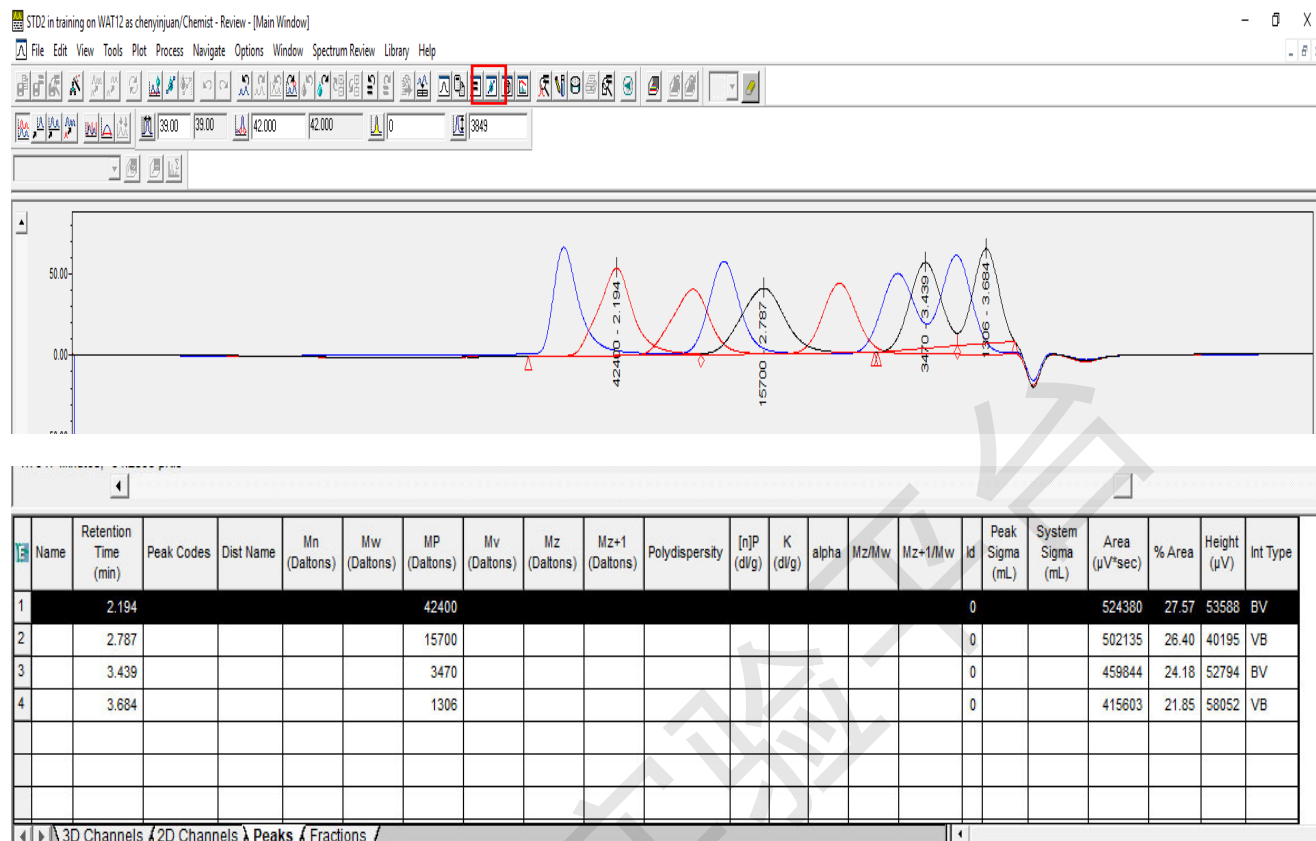


图7-43

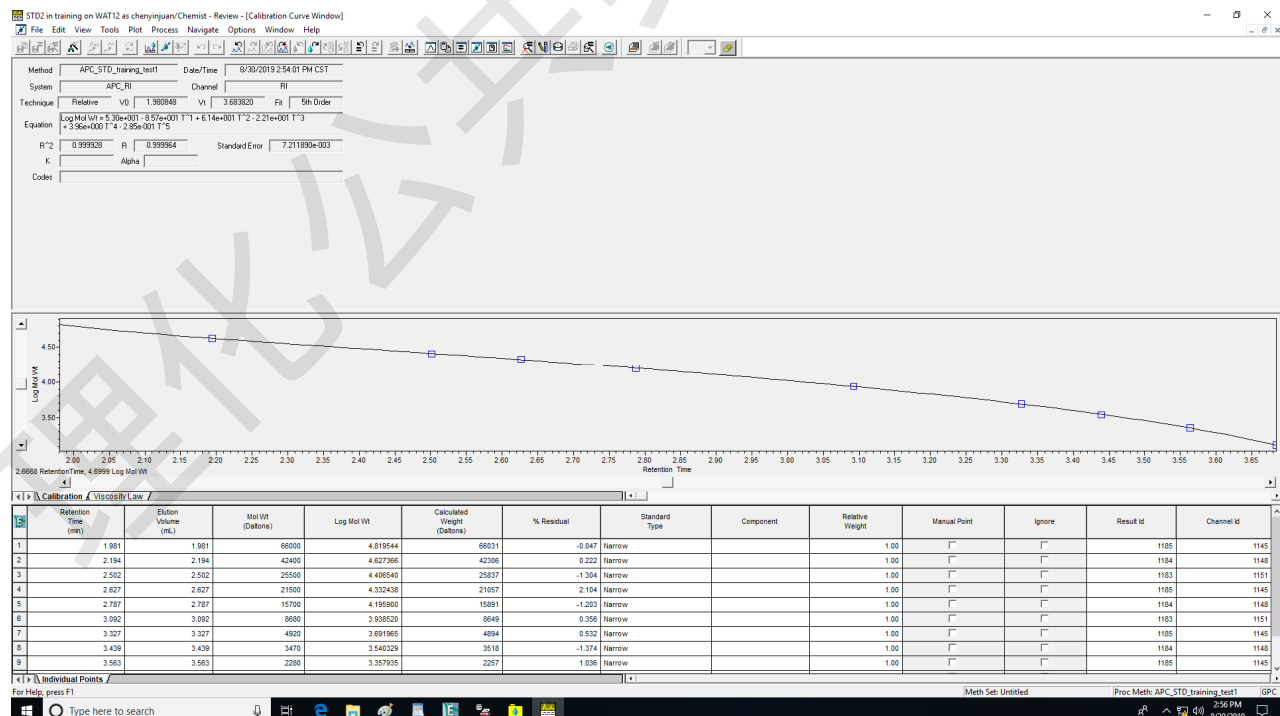


图7-44

### 7.5.5 建立样品处理方法

Step 1: Injections/Channels子项目栏, 选择样品运行序列, 右键-Review.

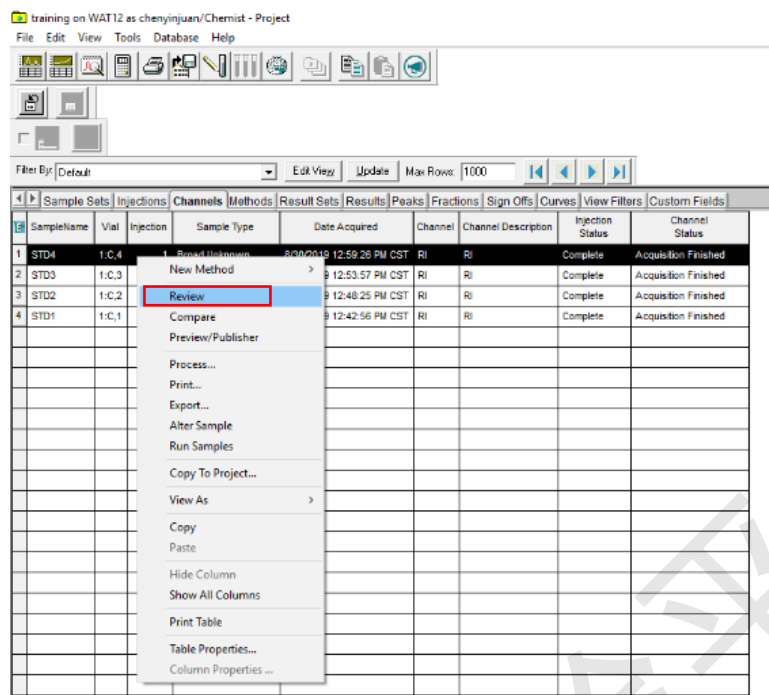


图7-45

Step 2: Review界面。File-Open-Processing Method, 选择7.5.3中建立的标样的处理方法 (APC\_STD\_training\_test1)。

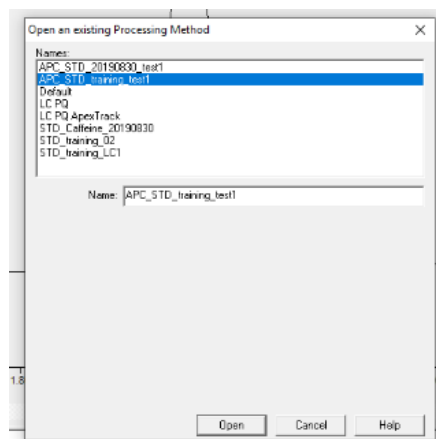
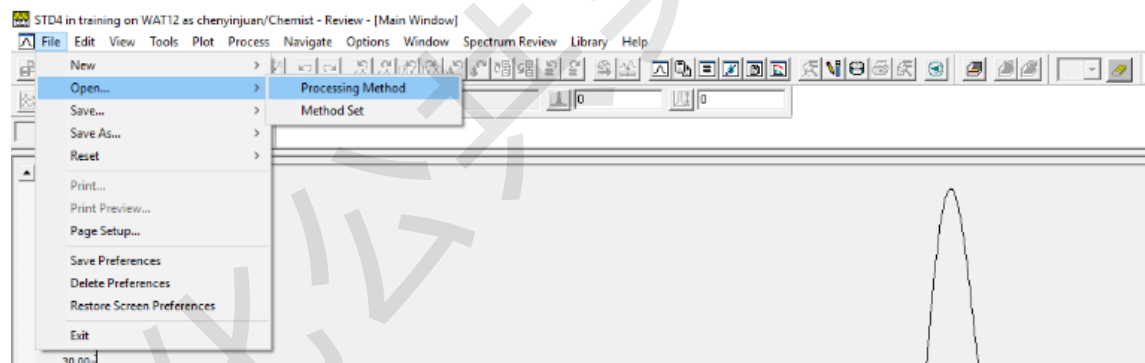


图7-46

Step 3: Review界面。点击Processing Method Wizard, 弹出Processing Method Wizard界面, 选择 Edit existing GPC Processing Method and Keep the Calibration, 点击OK。按7.5.3修改样品的处理方法, 并保存(可以覆盖7.5.3的标样方法)。

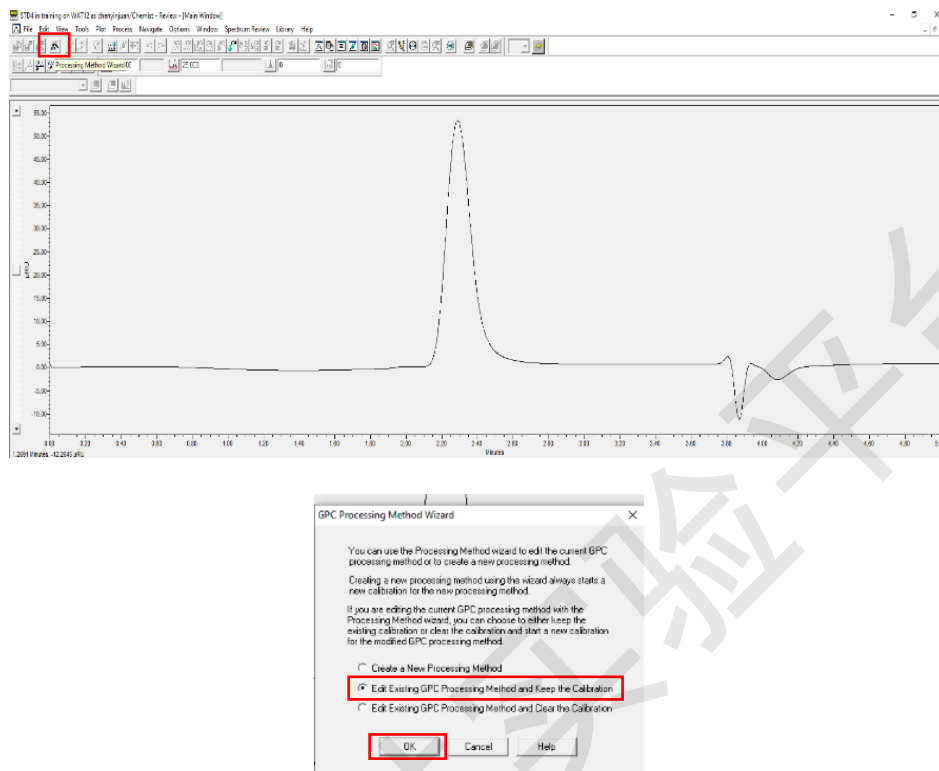


图7-47

Step 4: Saving Processing Method and Calibration Curves界面。点击Copy Curve。

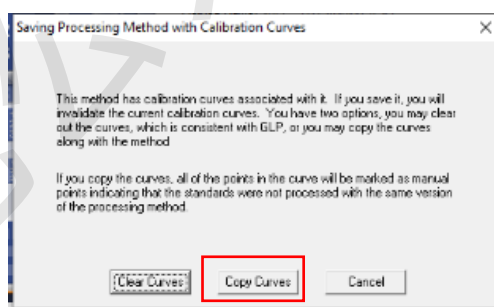
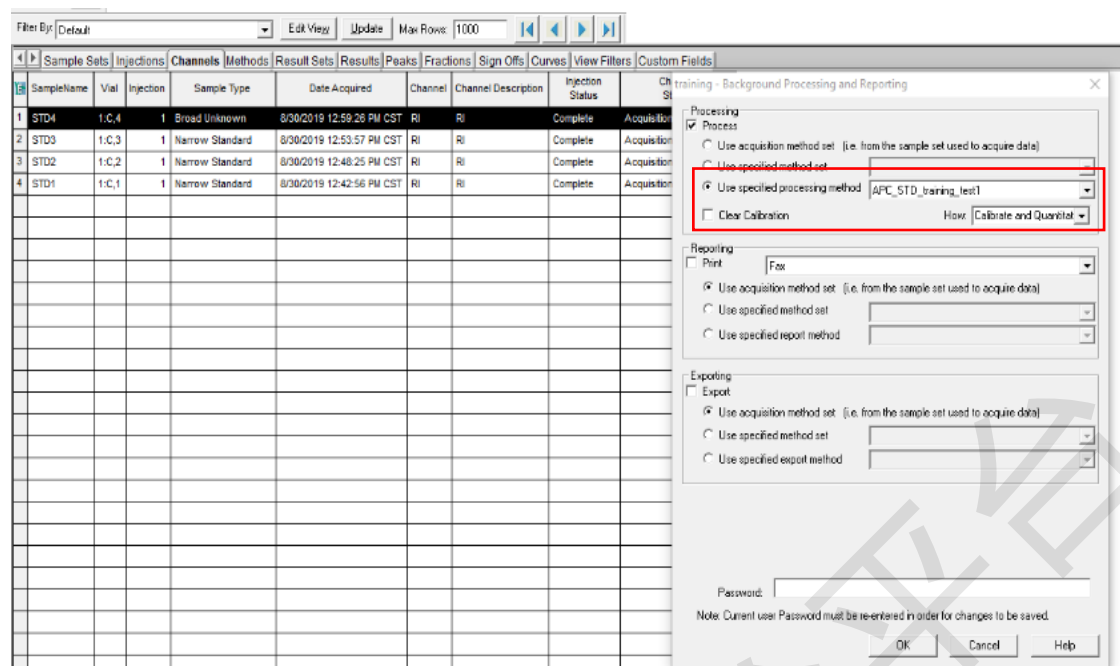


图7-48

### 7.5.6 处理样品数据

Step 1: Injections/Channels子项目栏, 选择样品运行序列, 右键-Process。

Step 2: Background Processing and Reporting页面。勾选Process, 选择Use special processing method, 下拉选择7.5.5覆盖保存的样品处理方法, 不勾选Clear Calibration, 点击OK。



Step 3: Channel/Injection列, 选中样品行, 右键-View As-Results; 在Results列, 选中要查看的样品行, 右键-Review。

## 7.6 数据导出

Step 1: 新建export 文件。

Step 2: Channels/Injects列, 选中样品行, 右键-Export。

## 7.7 拷贝图谱

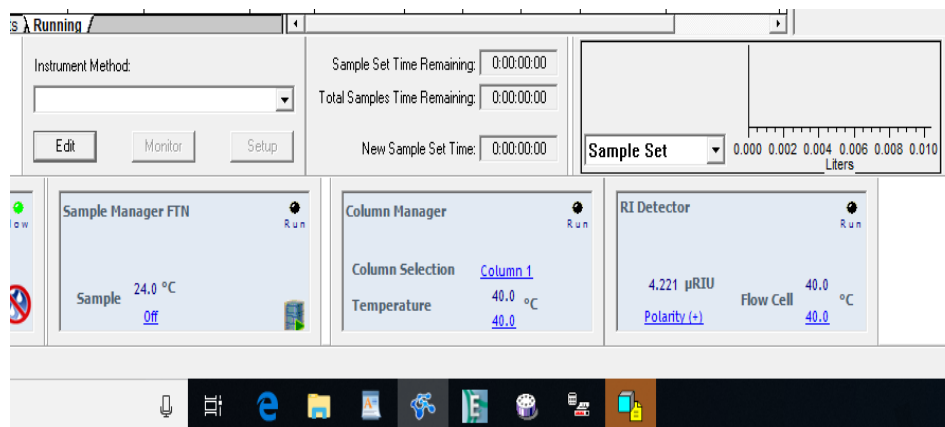
在桌面新建文档, 在Review界面, 选择图谱或图表, Copy, 粘贴Paste至文档保存。

## 7.8 实验结束处理

Step 1: 将仪器流速设为0.1  $\mu\text{l}/\text{min}$ 。

Step 2: Column Manager/RI Detector温度设为off; 点击蓝色实际值, 设为0, 回车即可。

Step 3: 待温度降至室温, 将流动相流速设为0。



Step 4: 退出基理系统。

Step 5: 取出样品，整理实验桌，将样品带出实验室。

请注意：使用前先检查仪器状况流动相体积，尤其确保水相为新鲜，一切正常方可操作；一旦开始实验，默认为使用前仪器状况良好；使用过程中出现故障须立即联系技术员；测试后请及时取回样品。

## 8. 相关/支撑性文件

Q/WU FLHR001 文件编写规范

## 9. 记录

Q/WU FLHS053 超高效聚合物色谱仪 Waters APC 使用记录 V1.0。

### 超高效聚合物色谱仪使用记录

日期 (yy,mm,dd)	使用人	导师	样品名称 或代号	预估分 子量	检测方 式 (√)		样 品 数	数据文件名	仪器 状态	备注
					送 样	自 主		导师名首字母_使用人名首字母_日期_样 品名_数字	正常 √	(仪器报错; 培训/上机; 流动相说明等)
2019.12.18	张三	王五	M1	10,000	√		2	WW_ZS_20191218_M1_01	√	上机考核

\*\*请注意：使用前先检查谱仪状况，一切正常方可操作；一旦开始实验，默认为使用前谱仪状况良好；使用过程中出现故障须立即联系技术员；测试后请及时取回样品。