

Микроколоночные жидкостные хроматографы МилиХром-6, -5, -4 и UniChrom

Содержание

| | |
|---|----|
| Особенности прибора..... | 3 |
| Установка и настройка..... | 3 |
| Настройка портов..... | 3 |
| Дополнительные параметры порта (используются при неустойчивой работе)..... | 4 |
| Насосы..... | 4 |
| Термостат колонок..... | 4 |
| Параметры поведения пользовательского интерфейса..... | 5 |
| Особенности формирования градиента..... | 6 |
| Задание «полосатого» градиентного элюирования..... | 7 |
| Задание градиента концентраций как функции времени | 8 |
| Методические режимы прибора..... | 9 |
| Ручной режим..... | 9 |
| Управление насосами в ручном режиме..... | 9 |
| Управление дозатором в ручном режиме..... | 10 |
| Нумерация пробирок в карусели дозатора..... | 10 |
| Управление детектором в ручном режиме..... | 11 |
| Регистрация спектра..... | 12 |
| Автоматический режим регистрации..... | 13 |

Особенности прибора

Микроколоночные жидкостные хроматографы Милихром серий 6, 5, 4 представляют собой конструктивно блок управления с подключенным к нему насосами, детекторами, термостатом колонок.

Система максимально может содержать до 2-х насосов (линейно меняющийся градиент возможен только в моделях 5 и 6)

До 3-х детекторов может быть установлено на монтажные стойки над блоком управления.

Термостат колонок изготавливается в трёх различных исполнениях:

1. Блок с фиксированной температурой 35°C
2. Блок задания температуры с ручным управлением. Температура задаётся кнопками на клавиатуре и отображается светодиодным индикатором.
3. Блок с управлением от компьютера.

Установка и настройка

При установке следует обратить на следующие особенности конфигурации прибора:

Настройка портов подключения, количество насосов, наличие управляемого от компьютера термостата.

Настройка портов

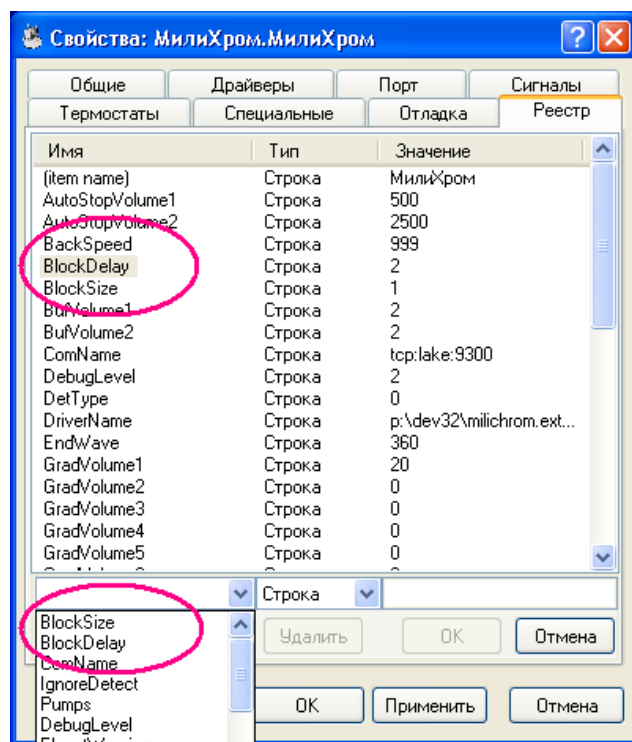
С помощью «Редактора конфигурации» SE добавляется драйвер прибора. Если прибор, подключенный к компьютеру — один, то порт подключения указывать не обязательно, он будет определён автоматически. Если приборов несколько, то следует явно указать порт подключения каждого и назвать каждый прибор уникальными именами (UniChrom различает приборы только по именам и типам - ГХ, ЖХ, АЦП). При подключении к прибору определение типа прибора и его характеристик происходит автоматически. Если подключение к прибору завершается сообщением об ошибке (при этом прибор включён и известно что последовательный порт работоспособен) или подключение произошло, но прибор не реагирует на команды управления, то требуется настройка дополнительных параметров передачи.

Дополнительные параметры порта (используются при неустойчивой работе)

Параметры инструмента задаются в редакторе конфигурации системы UniChrom на странице «Реестр».

| Имя | Описание | Значение по умолчанию |
|------------|--|-----------------------|
| BlockSize | параметр, определяющий максимальный размер единовременно передаваемого блока (куска) данных в байтах при передаче длинного блока данных с методическими параметрами. | 32 |
| BlockDelay | параметр, определяющий задержку между блоками в миллисекундах при передаче длинного блока данных. | 50 |
| Pumps | Количество насосов в системе (1 или 2). 0 — автоопределение. | 0 |

Параметры **BlockSize**, **BlockDelay** введены для обхода ситуации с неустойчивым приёмом длинных блоков данных прибором от компьютера. Параметры по умолчанию обычно достаточны для новых выпускающихся приборов типа Милихром-5, Милихром-6. Для восстановленных приборов Милихром-4 может понадобиться задать значения $BlockSize=1$, $BlockDelay=2$ или больше, обычно до 5.



Насосы

При подключении количество насосов определяется автоматически. Не следует явно указывать в настройках прибора количество насосов, поскольку даже если насос физически установлен один, то управлять прибором следует так, как он сам о себе доложил. То есть, если прибор двухнасосный, но установлен один насос — просто не следует создавать методики, которые используют второй насос.

Принудительная установка количества насосов требуется только в приборах с ошибками во встроенном программном обеспечении.

Термостат колонок

Только если в комплектации прибора присутствует управляемый термостат колонок на странице «Термостат» при конфигурации требуется указать порт подключения. При успешном подключении окно управления ВЭЖХ покажет наличие зоны «Температура колонки» и обеспечит возможность её задания. Также для настройки управляемого термостата могут потребоваться дополнительные параметры

| Имя | Описание | Значение по умолчанию |
|-----------------|--|-----------------------|
| Thermo.ComName | Порт подключения термостата | |
| Thermo.InvRTS | Инверсия уровня RTS для питания термостата | 1 |
| Thermo.DiffCoef | Параметр дифференциального регулирования | 2 |
| Thermo.IntCoef | Параметр интегрального регулирования | 50 |

Дополнительные параметры монохроматора

| Имя | Описание | Значение по умолчанию |
|------------|--|-----------------------|
| DeviceType | Тип установленного монохроматора 0 - Диапазон 190 - 360 нм, шаг 2 нм 1 - Диапазон 220 - 478 нм, шаг 3 нм | 0 |

Параметры поведения пользовательского интерфейса

Для уведомления пользователя о необходимости заполнения ёмкостей с элюентом используется окно «Диагностика», которое появляется автоматически при подключении к устройству и по окончании измерения. Для управления появлением уведомления используется параметр:

| Имя | Описание | Значение по умолчанию |
|---------------|--|-----------------------|
| EluentWarning | Разрешить или запретить всплывающее оповещение о необходимости заполнения ёмкостей элюентом. При отключении - всплывающее окно не появляется, но текстовый статус прибора (на странице «ЖХ инструмент») содержит это уведомление. | 1 |

Следует помнить, что сообщение

«Не заданы образцы» означает что возможна эксплуатация прибора только в ручном режиме (включение и выключение спектрофотометра и насосов). Сканирование спектров работать не будет.

Особенности формирования градиента

Отличительной особенностью хроматографов «Милихром» является то, что дозирующий узел одновременно является узлом ввода. Шприцевые насосы заполняются из псевдо-виал находящихся в карусели с образцами. Сосуды предназначенные для заправки элюентом и для слива имеют больший объём, чем обычные сосуды для пробы.

Ручное управление прибором и задание методических параметров производится на странице «ЖХ инструмент» системы UniChrom

Скриншот интерфейса управления системой ВЭЖХ UniChrom. В верхней части экрана отображаются параметры насосов (Насос А, Насос В), детектора (Дет1) и дозатора (Дозато). В центре — панель управления с кнопками «Пауза», «Набор», «Подача», «Стоп», «Фильтр», «Фон», «Калибровка». В правой части — график, иллюстрирующий формирование градиента. В нижней части — панель «Программа работы насосов» с таблицами параметров регенерации и измерения, а также настройки потока набора и подачи, объёма элюента-буфера пробы и набора элюента.

| Время | Длит... | Объём, мкл | Поток, мкл/мин | А, % | В, % |
|-------|---------|------------|----------------|------|------|
| 1 | 0 | 0,1 | 10 | 100 | 0 |

| Время | Длит... | Объём, мкл | Поток, мкл/мин | А, % | В, % |
|-------|---------|------------|----------------|------|------|
| 1 | 0 | 1 | 100 | 80 | 20 |
| 2 | 1 | 2 | 200 | 10 | 90 |
| 3 | 3 | 0,5 | 50 | 10 | 90 |
| 4 | | | | | |

| | А | В |
|---|-----|---|
| 1 | 0 5 | 0 |
| 2 | 0 6 | 0 |
| 3 | 0 7 | 0 |
| 4 | 0 8 | 0 |

Рисунок 1: Окно управления ВЭЖХ системой

Задание «полосатого» градиентного элюирования

Самый старый способ формирования градиентного элюирования в хроматографах Милихром задаётся следующей таблицей:

Поток набора, мкл/мин:

Поток подачи, мкл/мин:

Объём элюента-буфера пробы, мкл

буфер #1:

буфер #2:

Набор элюента, мкл МилиХром-4,5,6

| | А | В |
|---|-----|-----|
| 1 | 300 | 600 |
| 2 | 300 | 0 |
| 3 | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 |

Заполнение соответствующего насоса (А или В) осуществляется из больших сосудов, нумерованных красными цифрами на карусели прибора. В графах таблицы указывается количество микролитров элюента, которое нужно набрать из указанных пробирок

Рисунок 2: Градиент в стиле МилиХром

Задание градиента концентраций как функции времени

Стандартный для ВЭЖХ систем способ задания градиента — задание процентного соотношения компонентов к моменту времени t . Поддерживается только в приборах Милихром-5 и Милихром-6.

| Программа работы насосов | | | | | | | |
|--------------------------|-------|---------|------------|----------------|--------|------|--|
| Регенерация | | | | 0,10 мин | 10 мкл | | |
| | Время | Длит... | Объём, мкл | Поток, мкл/мин | А, % | В, % | |
| 1 | 0 | 0,1 | 10 | 100 | 100 | 0 | |

| Измерение | | | | 3,50 мин | 350 мкл | | |
|-----------|-------|---------|------------|----------------|---------|------|--|
| | Время | Длит... | Объём, мкл | Поток, мкл/мин | А, % | В, % | |
| 1 | 0 | 1 | 100 | 100 | 80 | 20 | |
| 2 | 1 | 2 | 200 | 100 | 10 | 90 | |
| 3 | 3 | 0,5 | 50 | 100 | 10 | 90 | |
| 4 | | | | | | | |

Рисунок 3: Классический способ задания градиента

Для стандартного способа создания градиента отображается график соотношения концентраций в зависимости от времени анализа.

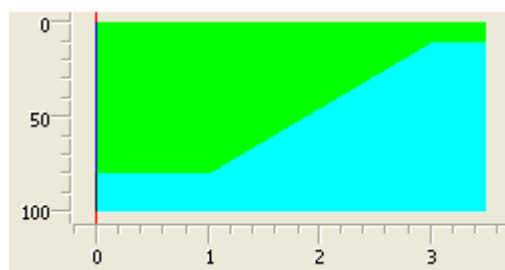


Рисунок 5: Градиент как функция времени

Методические режимы прибора

Существуют следующие способы работы с прибором:

1. Ручной режим
2. Автоматический режим
3. Регистрация спектра

Ручной режим

При подключённом к прибору методе можно осуществлять управление всеми узлами прибора: иглой, положением карусели образцов, набором или подачей насосов. Следует обращать внимание на диагностические сообщения, отображающиеся в окне, расположенном справа от датчиков прибора:

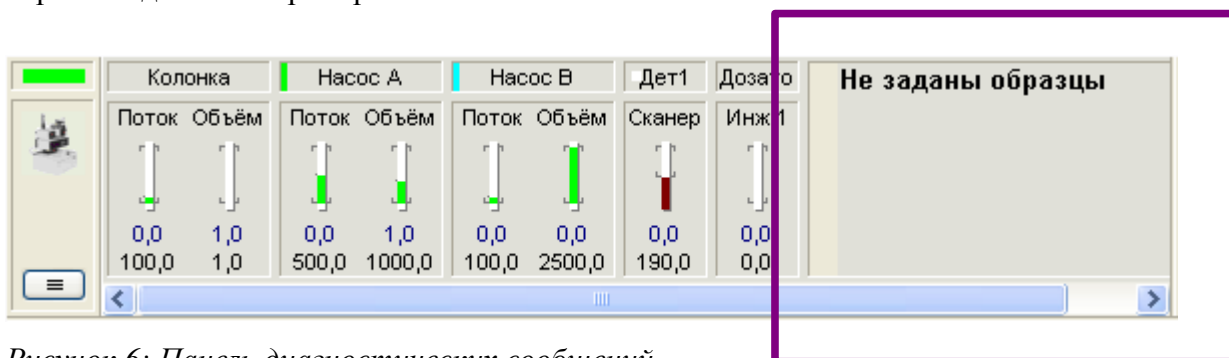


Рисунок 6: Панель диагностических сообщений

Некоторые из действий будут запрещены. Например, нельзя осуществить набор (обратное движение штока насоса при дозаторе, находящемся в колонке).

Управление насосами в ручном режиме

Для управления насосами предназначена панель инструментов «Набор / Подача». С помощью этой панели можно задать скорость набора, скорость подачи, включить набор или подачу.

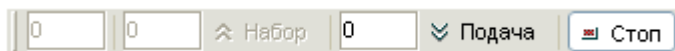


Рисунок 7: Панель ручного управления насосами

Собственно ручное управление необходимо для настройки прибора, при техническом обслуживании, а также при разработке методик.

Следует помнить что насос не может набрать более 2500 (5000) мкл в зависимости от версии.

Управление дозатором в ручном режиме

Для управления дозатором и иглой в ручном режиме используется панель «Карусель». С помощью этой панели можно изменять положение иглы-дозатора (поднять/опустить), а также выбирать положение виалы в карусели.

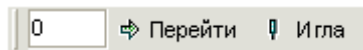


Рисунок 8: Панель управления дозатором

Нажатая кнопка «Игла» означает, что она находится в нижнем положении. Если карусель находится в позиции «0», то это порт ввода в колонку, и, следовательно, опускание иглы приводит к соединению дозирующего узла и колонки. Только в этом положении можно проводить «ручной» анализ.

Нумерация пробирок в карусели дозатора

0 — порт ввода в колонку.

Если вводится число **< 100**, то это относительное перемещение на N позиций вперёд. Всего позиций $40 = 39 + 1$ (29 образцов, 10 пробирок набора/ слива + 1 порт ввода).

Если вводится число **101 .. 139**, то это абсолютное перемещение на указанную позицию со сквозной нумерацией. То есть первая позиция сосуда для элюента 101, а вторая — 105.

Если вводится число **201 .. 229**, то это абсолютное перемещение на пробирку с пробой по номеру (подписаны белыми цифрами).

Например 204 — пробирка, помеченная белой цифрой 4.

Если вводится число **301 .. 310**, то это абсолютное перемещение на большую пробирку для элюента (слива), помеченную красными цифрами **1 .. 9** и **S**

Управление детектором в ручном режиме

Для запуска регистрации хроматограммы в ручном режиме следует:

1. Выбрать детектор
2. Задать список длин волн для детектора.
3. Нажать кнопку «Пуск» в панели управления ручным режимом.

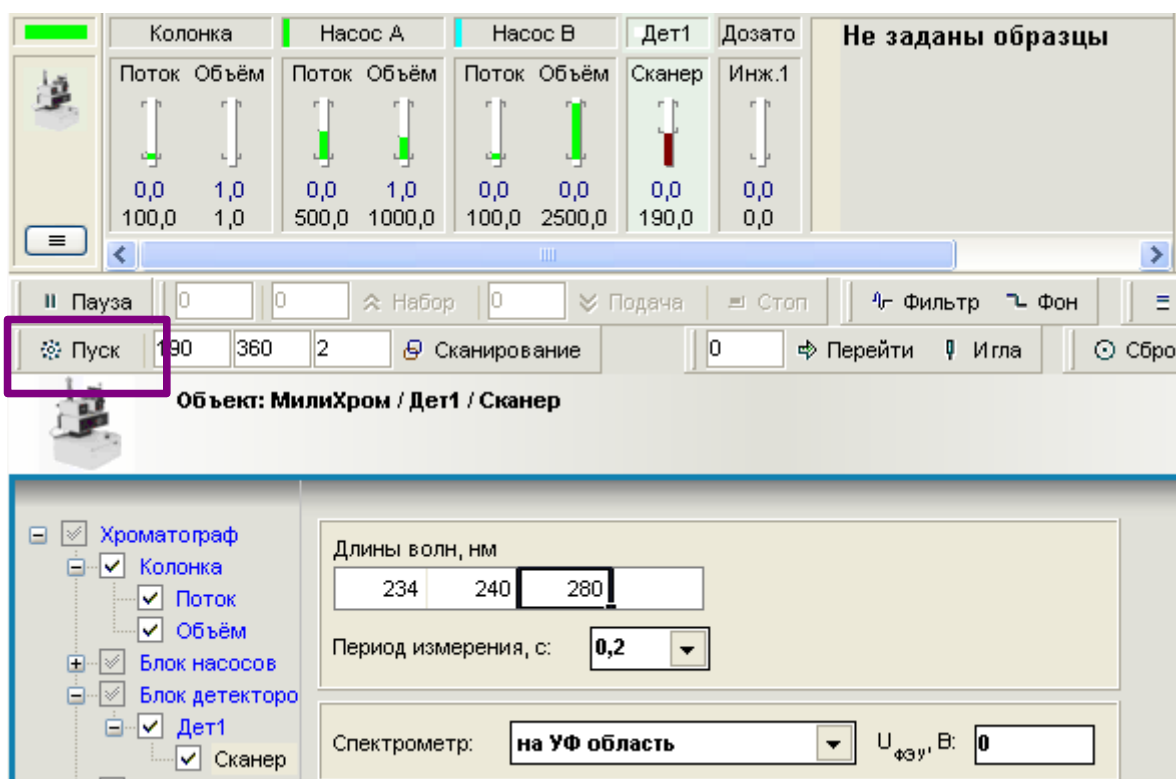


Рисунок 9: Управление детектором (ручное и методическое)

Запуск регистрации в ручном режиме осуществляется нажатием кнопки «Пуск» на панели «Сканирование». Регистрация хроматограммы в ручном или автоматическом режиме производится по аналитическим длинам волн, указанным в таблице.

Регистрация спектра

Регистрация спектра поглощения может быть проведена как в ручном режиме, так и во время методической работы прибора при нажатии кнопки «Пауза». Запуск регистрации спектра поглощения приводит к привязыванию данной выбранной хроматограммы (текущего слоя) к массиву спектральных данных (четвёртая размерность). Такая особенность и дала название UniChrom 4D. Чтобы увидеть спектральные данные, ассоциированные с текущей хроматограммой, следует добавить в рабочую область UniChrom окно «Спектр» (меню Вид/Рабочая область/Добавить/Спектр).

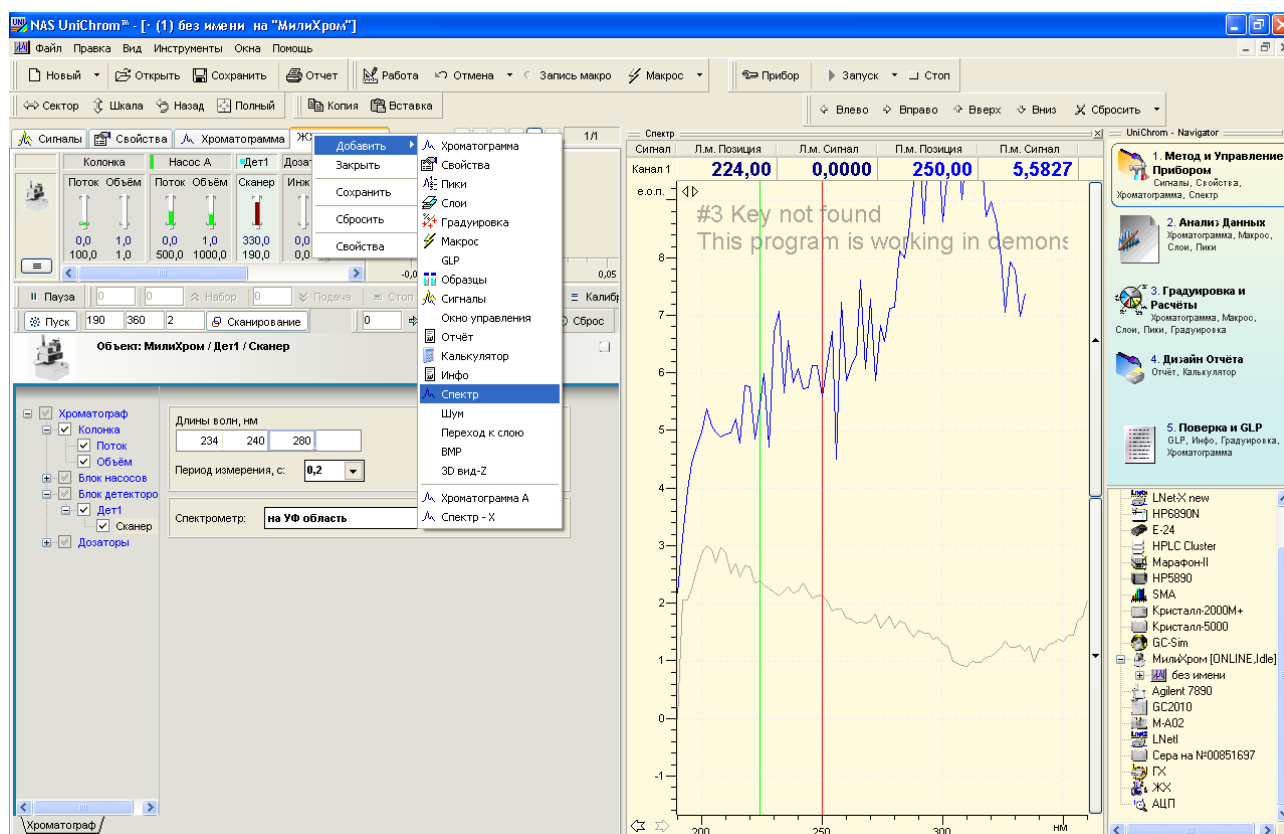


Рисунок 10: Добавление окна просмотра спектра

Автоматический режим регистрации

В автоматическом режиме вся последовательность действий происходит без вмешательства оператора. Для успешной работы автоматического режима необходимы 2 фактора:

1. Заданный режим (метод) прибора
2. Заданный список образцов

Метод прибора предполагает задание градиента, таблицы длин волн детектора. Необходимо помнить что если в рабочей книге UniChrom несколько режимов прибора, то выбранный для работы следует явно «Загрузить» в прибор, что делается в контекстном меню на ярлычках содержащих имена режимов (внизу окна управления). Если режим не загружен явно, то он будет задан либо из списка образцов, либо взят по-умолчанию первый из доступных.

Список образцов задаёт последовательность ввода, количество вводов, наименование образца а также режим в котором образец измеряется (если прибор поддерживает смену режимов во время обработки очереди образцов). Список образцов задаётся на странице «Образцы» системы UniChrom. Списков образцов может быть несколько в одной рабочей книге, поэтому у для перехода к другому списку его следует «Загрузить» кнопкой в левом верхнем углу окна «Образцы».

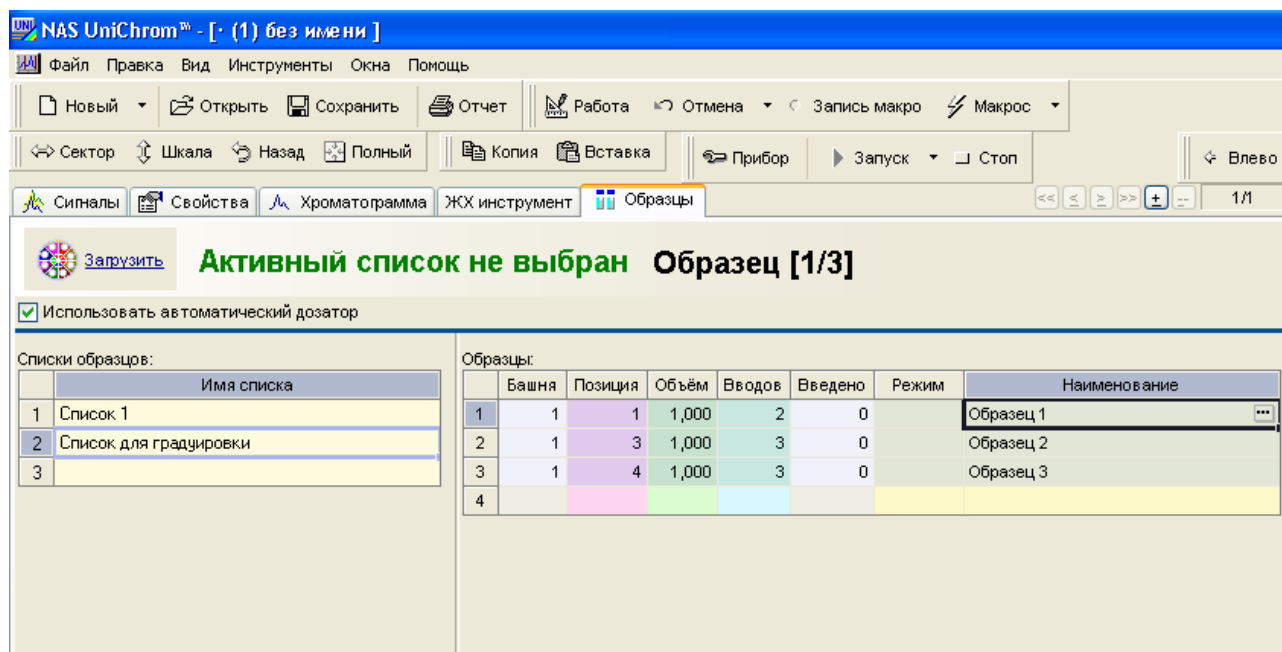


Рисунок 11: Задание списков образцов

Следует **обратить внимание**, что нумерация пробирок (колонка «Позиция») соответствует только пробиркам с образцами, помеченными белыми цифрами на карусели дозатора (1-29). Возможно задание разного количества вводов каждого из образцов.

Запуск автоматического режима на исполнение производится нажатием кнопки «Запуск» в панели инструментов UniChrom.