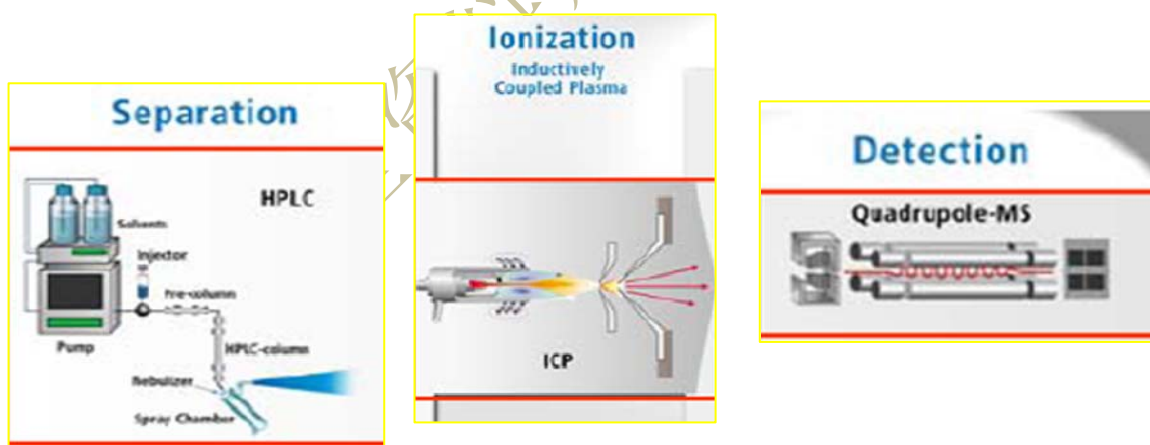


操 作 规 程

高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪

HPLC-ICPMS

- 仪器型号：HPLCAgilent 1200, ICPMSAgilent7700
- 仪器厂商：Agilent
- 启用日期：2010.6
- 应用范围：元素形态分析。选择合适的色谱柱，可用于液体样品中 As、Cr、Hg、Se 等元素不同形态的定量分析，检测限一般为 ppb 级
- 知识准备：明确实验目的、阅读相关文献，掌握 HPLC 工作原理及基本操作、掌握 ICPMS 基本原理及基本操作。



HPLC-ICPMS 元素形态分析基本流程

元素分析的基本概念

- 元素形态是指某一元素以特定的分子、电子和原子核结构存在的形式，包括同位素，不同价态，无机化合物，有机络合物，有机金属化合物，大分

子络合物等。

- 在分析化学领域主要考虑的是具有不同化学或者生物学特性的形态，一般不包括同位素分析。

元素分析的意义

- 元素形态分析在总量分析的基础上得到了附加信息：bioavailability 生物利用度，mobility 迁移率，metabolic processes 代谢过程，biotransformations 生物转化过程 and toxicity implications 相关毒性
- 通过元素形态分析可以更清晰的理解元素总量的重要性

国内标准参考物质

国家计量标准研究院或国家标物中心形态分析标准物质：

- 砷酸，亚砷酸，MMA，DMA，AsB，AsC 六种形态标准物质
- 氯化甲基汞，无机汞标准物质
- 硒酸，亚硒酸，硒代蛋氨酸
- 三价铬，六价铬标准溶液
- 无机铅，氯化三甲基铅，氯化三乙基铅，氯化三苯基铅标准
- 无机锡，二甲基，三甲基锡，一乙基，二乙基锡，TBT 等等

联机分析注意事项

1. 样品：

基体主要为无机体系，不含颗粒物，并注意对不同形态样品进行保护。

2. 流动相：

使用色谱纯试剂配制流动相，要求每日新配以免长藻，控制流动相含盐量 TDS<1%，控制总有机相<5%。

3. 内标：

联机不存在基体不匹配问题，一般不加内标。

4. 色谱柱:

应根据所分析的不同元素选择适合分离的色谱柱。

5. 调谐文件:

流动相不含有有机物选择 HPLC. tune 作为联机分析的调谐文件;

6. 分析人员:

在进行联机分析之前要求掌握 HPLC 及 ICPMS 的基本原理、应用范围及单机的基本操作, 并进行了相应的文献检索及阅读工作。

7. 基本操作及试剂准备:

HPLC 的基本操作步骤、流动相准备及注意事项参考 Agilent1200HPLC 的操作规程。

ICPMS 的基本操作步骤、流动相准备及注意事项参考 Agilent7700ICPMS 的操作规程。

联机时 configuration 软件设置

1. 在 ICPMS Top 软件关闭情况下进行 configuration 设置, 打开 configuration 软件, Sample introduction 中 Type 下 LC/GC/Laser Ablation Link 选项打钩, Instrument#为 1
2. Autosampler 选 none
3. Miscellaneous 中 Plasma Ignition Mode 下 Sample Type 根据实际情况选一般设为 Aqueous Solution

操作步骤

(HPLC 和 ICPMS 需要分别单独开机)

1. 分析前的准备:

准备好流动相、样品及标准溶液, 开机前请检查排风是否正常, 并注意关闭自动进样器及 ISIS 电源。

2. HPLC 开机

- ① 准备好流动相、安装色谱柱、将色谱柱出口端的 peak 管连接废液瓶

② 打开液相色谱泵、自动进样器及柱温箱电源，打开液相色谱软件 instrument1#online，拧松 Purge 阀，设置合适的流动相流速，purge 液相流动相。

③ 设置合适的流动相流速，关闭 purge 阀，稳定色谱柱 0.5-1h。

3. HPLC 方法设置

① 点击液相色谱软件：从“Method”菜单中选择“Edit entire method”项，如上图所示选中除“Dataanalysis”外的三项，点击“Ok”，进入下一画面。在“Method Comments”中写入方法的信息。点击“Ok”进入下一画面。

② 自动进样器参数设定：选择合适的进样方式，“Standard Injection”——只能输入进样体积，此方式无洗针功能。“Injection with Needle Wash”——可以输入进样体积和洗瓶位置，此方式针从样品瓶抽完样品后，会在洗瓶中洗针。点击“Ok”进入下一画面。

③ 泵参数设定：为与 ICPMS 匹配，建议两相总流速设为 1mL/min，并根据样品情况设置泵的运行时间（stop time）。

④ 保存 LC 方法。

4. ICPMS 开机

① 将 ICPMS 蠕动泵上方四通阀连接 ISIS 六通阀的白色螺母拧下，蠕动泵进样管上的 ISIS 六通阀连接线进样管一头也取下，换上另一根连接管路直接将雾化器进样管连接到四通阀上。

检查内标管，此时内标管也应取下，且四通该处应用堵头堵住。

② 安装好 ICPMS 的管路，打开氩气、冷却水机，打开 ICPMS 工作软件。

③ ICPMS 软件配置：

双击桌面 config 软件，对仪器配置进行设置。（注意分析完毕后请将设置改回原来的参数，以免影响 ICPMS 的单独使用）

Sample introduction 中 type 选择 LC/GC/Laser Ablation

Link 选项打钩，Instrument#选 1。

Autosampler 选择 none。

Miscellaneous 中的 plasma ignition mode 下 sample type 一般设为 aqueous solution。

④ 点火。进入调谐界面选择合适的 tune 文件作为联机分析的调谐文件。注意检查此时蠕动泵的转速 (Peri-Pump), (该参数应与 HPLC 流速匹配, 1mL/min 对应 0.3rpm, 1.2 mL/min 对应 0.4rpm)。

⑤ 将色谱柱出口端的 peak 管连接 ICPMS 蠕动泵进样管进样口一端, 并将 ISIS 控制器上 remote 接口端的连线拆下连接到 LC 中 AS 模块的 remote 接口上(此步骤必须在点火之后操作)。

5. ICPMS method 编辑

① 在从 Methods 菜单中选择 Edit Entire Method 启动一系列对话框编辑方法参数。

② 方法编辑中, 干扰方程一项可不选。

③ Acquisition mode 采集模式为: time resolved analysis。

④ 在 TRA(time resolved analysis)设置中 acquisition parameters 参数。

⑤ 选择待测元素;

Peak pattern 选 TRA 模式采集一个点;

integration time 关心的离子可设置长一些, 如 0.1s~0.3s;

acquisition time 中的 acquisition 时间建议与 LC 中的泵的运行一致;

real time plot 中可设置显示谱图的个数、时间长短以及谱线数量。其中 extract 表示选择离子图, 可输入监测的离子以便观测实时窗口。Time window 也可设置成与泵的运行时间一致。

⑥ 保存 ICPMS 方法。

6. ICPMS sequence 编辑

① 点击“ICP MS Top”软件中的 sequence 编辑按钮进入 edit sample log table。

② 点击 cofig column 在弹出窗口中击活“LC/GC method”和“LC/GC Vial”选项(设为 ON)。

③ 改编表格中必填项目为: method, type, vial, data file, Dil/lvl, LC/GC Method, LC/GC vial。其中 ICPMS 的 vial 在序列运行中无效, ICPMS 的 AS 也不会动作。HPLC 只抓取 LC/GC vial 中指定的样品瓶。

④ 一个序列可使用多个不同的 HPLC 方法。

-
- ⑤ 保存序列。

7. sequence 运行

从 Sequence 菜单中选择 Load and Run, 选择要运行的序列点击 OK, 在 startsequence 窗口 “Data Batch Directory” 后选择数据 Batch 文件夹的保存位置并输入名称, 注意末尾加 “\”。点击 run sequence 按钮开始运行。此时窗口出现 “ICPMS-Acquisition” 窗口显示实时序列运行状态。

8. 样品运行结束

- ① 样品分析完后, 将色谱柱出口 peak 管和蠕动泵进样管连接断开, 色谱柱出口 peak 管接废液桶, ICPMS 蠕动泵进样管接 ICPMS 背景溶液, 在调谐文件窗口将调谐文件换回 HeMode.tune, 关闭调谐文件窗口。
- ② 用 ICPMS 背景溶液清洗 ICPMS 系统 5-10 分钟后, 熄火, 2-3min 后关闭氩气、循环冷却水及通风设备。
- ③ 请将 ICPMS 与 ISIS 六通阀连接部分恢复成原状, 并将 ISIS 控制器上 remote 接口端的连线拆下连接到 LC 中 AS 模块的 remote 接口上。
- ④ 将 HPLC 流动相置换成不含缓冲盐的流动相或可用于保存色谱柱的流动相清洗色谱柱约 0.5h。关闭 HPLC 的相关部件, 关闭软件、电脑。
- ⑤ 每日分析完毕必须及时将稳定色谱柱冲洗色谱柱产生的废液以及联机分析后产生的废液 (ISIS 旁的废液桶) 都倒到二楼阳台外指定废液桶中。
- ⑥ 做好实验日志登记及实验室卫生清理工作。

联机结果的数据分析

- ① 点击 ICPMS TOP Data Analysis 菜单或电脑桌面的 Offline Data Analysis 图标进入数据处理窗口。
- ② 选择 File 菜单点击 Open Analysis File 命令打开数据 Batch 调出数据。
- ③ 选择 DA Method 点击 Edit 命令进入数据分析方法编辑器。
- ④ Data Analysis Method 中选择全定量分析。Analysis mode 中选 chromatogram。
- ⑤ open standard data file, 打开一个数据文件, 通常调用第一浓度点标样

数据。对每个 mass 的元素设 Int Paras (积分参数), Data point sampling 默认值为 1, 即使用所有的点, 选 2 表示隔一个点, 选 3 表示隔两个点, 以此类推。修改 General 中 start-stop threshold 参数观察积分情况, 识别目标峰。Peak filter 中可设最小峰面积。

⑥ 在 Analyte list 设置中, 点 update analyte list with the current integration parameters 更新分析物列表。global parameters 选默认值, analyte 选项中 target/qualifier, qualifier 是定性峰在 LCICPMS 中不用该参数。设置完成后

⑦ 在 Full Quant Outlier 中设置曲线类型、浓度单位、level 浓度等信息。

⑧ 方法无误后点击“Return to Batch-at-a-Glance”返回数据 Batch 界面。点击菜单中“Process Batch”快捷图标定量分析数据, 记录结果后保存退出。

其它注意事项

① 使用仪器采用先预约者先使用, 要求在早上 9 点之前开机。HPLC-ICPMS 的对外开放时间为工作日工作时。

② 非液体样品必须转移到水相才能进行分析, 控制流动相含盐量 $TDS < 1\%$, 控制总有机相 $< 5\%$, 不含其它会对色谱柱及系统造成严重损害的物质。

③ 注意观察氩气压力, 及时切换氩气钢瓶, 否则会造成不必要的熄炬。务必在氩气空瓶中挂好相应标牌。

④ 关机后一定要关闭氩气总阀以免漏气造成浪费。

⑤ 分析结束后记录仪器使用情况。

⑥ 注意不要在仪器间稀释样品、测试完的样品不能倒在水斗中, 离开实验室请及时带走样品及其它个人物品, 保持实验室整洁。