



АНАЛИТИЧЕСКОЕ И ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

ДЕТЕКТОР ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МОДЕЛЬ 121М1

РУКОВОДСТВО ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

4215-003.1.3-81696414 РЭ

2013

Оглавление

1. ВВЕДЕНИЕ	3
2. УСТРОЙСТВО И ПРИНЦИП РАБОТЫ.....	3
2.1. Внешний вид кюветы детектора.....	4
2.2. Вид передней панели детектора.....	4
2.2. Вид передней панели детектора.....	5
2.3. Вид задней панели детектора	6
3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	7
4. КОМПЛЕКТАЦИЯ	8
5. УСТАНОВКА ДЕТЕКТОРА	8
5.1. Размещение на рабочем месте и условия окружающей среды	8
5.2. Требования к электробезопасности.....	8
6. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ	8
6.1. Подсоединение коммуникаций и сетевого питания.	8
6.2. Промывка перед первым запуском	9
6.3. Промывка после долгого хранения или расконсервации	9
6.4. Подготовка подвижной фазы	9
7. ПОРЯДОК РАБОТЫ	9
7.1. Включение	9
7.3. Настройка детектора	10
7.4. Получение хроматограммы	10
7.5. Выключение детектора.....	10
7.6. Особенности работы с детектором.....	10
8. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ, КОНСЕРВАЦИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКА	11
8.1. Техническое обслуживание	11
8.2. Консервация.....	11
8.3. Транспортировка.....	11
9. ОСНОВНЫЕ НЕИСПРАВНОСТИ И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ	11
Приложение 1	13
Приложение 2.....	14

1. ВВЕДЕНИЕ

Настоящее руководство предназначено для персонала лабораторий при использовании детектора флуориметрической модели 121M1 (далее - детектор). Руководство содержит описание процедуры по обслуживанию, правила эксплуатации, хранения и транспортировки устройства.

Детектор предназначен для детектирования флуоресцирующих веществ и может быть использован в составе хроматографов как с градиентным, так и с изократическим формированием потока подвижной фазы. Детектор позволяет регистрировать вещества обладающие свойством флуоресценции.

К работе с детектором допускается обслуживающий персонал, имеющий среднее специальное или высшее образование, изучивший техническую документацию, правила работы с химическими реактивами, правила по ГОСТ 12.1.007, правила обеспечения электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, правила по организации безопасности труда по ГОСТ 12.0.004 и методики выполнения измерений. Настоящее руководство по эксплуатации распространяется на детектор флуориметрической модели 121M1 для высокоэффективной жидкостной хроматографии, выпускаемый по ТУ 4215-003.1.3-81696414.

2. УСТРОЙСТВО И ПРИНЦИП РАБОТЫ

Принцип работы флуориметрического детектора заключается в возбуждении флуоресценции анализируемых образцов от источника света с фиксированной длиной волны и регистрации интенсивности светового потока эмиссии (флуоресценции), прямо пропорциональной количеству вещества, заключенному в детектируемом объеме. Длины волн излучаемого образцом потока света (эмиссии) находятся в более длинноволновой области, чем длины волн облучающего потока (правило Стокса). Измерение светового потока, излучаемого образцом, осуществляется с помощью фотоэлектронного умножителя (далее ФЭУ), сигнал с которого обрабатывается электронной системой регистрации и направляется на аналоговый выход детектора. Возбуждение флуоресценции в кювете с образцом осуществляется монохроматическими светодиодами. В детекторе применена круглая проточная кювета малого объема. Для исключения влияния на ФЭУ паразитного рассеянного света, возникающего в зоне возбуждения флуоресценции (детектируемый объем) и собираемой из этой зоны полезной флуоресценцией используется оригинальная оптическая схема. Технические характеристики детектора приведены в табл.1, принципиальная оптическая схема приведена на рис.1, а внешний вид кюветы детектора – на рис. 2.

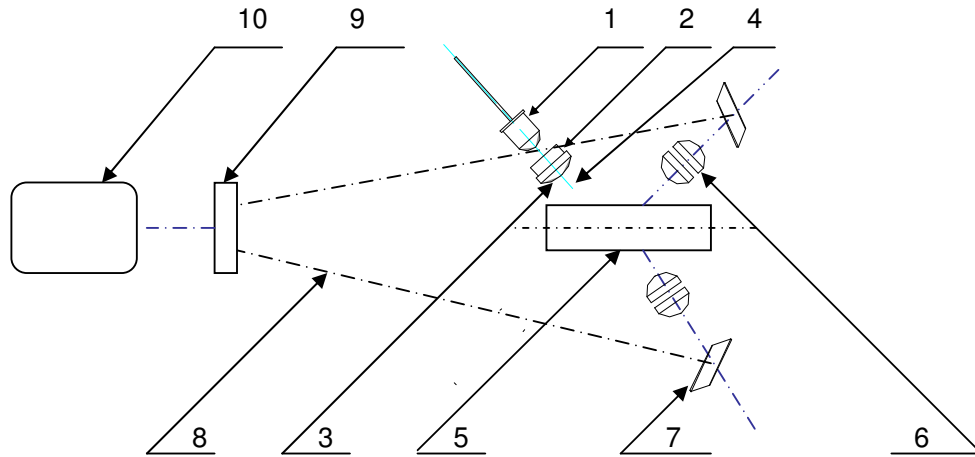


Рис. 1. Принципиальная оптическая схема детектора

1. Источник света – монохроматические светодиоды 280 и 365 нм
2. УФ светофильтр
3. Собирающая линза
4. Облучающий световой поток
5. Кювета
6. Коллиматоры
7. Селективные зеркала
8. Эмиссионный поток и рассеянный на кювете свет от источника
9. Светофильтр с переключаемой длиной волны пропускания
10. Фотоэлектронный умножитель (ФЭУ)

2.1. Внешний вид кюветы детектора

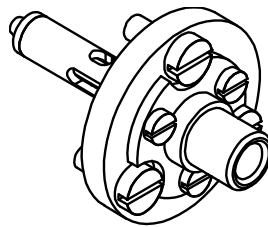


Рис.2. Кювета детектора в сборе

2.2. Вид передней панели детектора

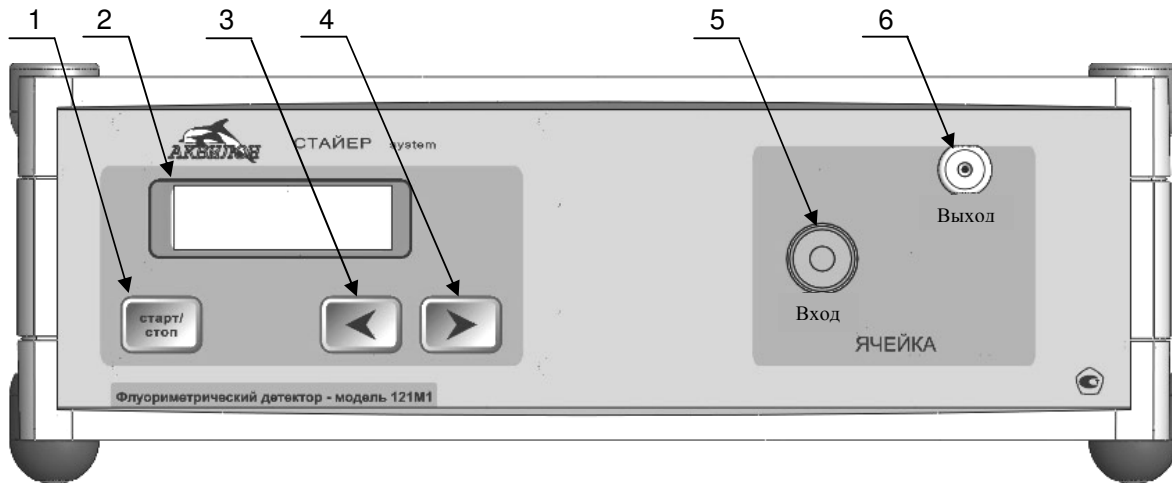


Рис.3. Вид передней панели детектора

1. Кнопка «старт/стоп»
2. Экран
3. Кнопка « < »
4. Кнопка « > »
5. Входной фитинг детектора с элементами крепления кюветы (закрит заглушкой)
6. Выходной фитинг детектора (закрит заглушкой)

После включения прибор находится в режиме ожидания. При этом на дисплее в первой строке, показывающей режим работы прибора, появляется надпись «M:Start+», а во второй строке «G1 T3 W2» высвечиваются значения текущих параметров: G – усиление, T – константа времени и W – длина волны возбуждения.

Кнопка «старт/стоп»:

1. В режиме ожидания «M:Start+» переключает прибор в режим измерения «Measure-», с одновременным обнулением уровня сигнала .
2. В режиме измерения «Measure-» при удерживании кнопки « < » переводит прибор в режим ожидания «M:Start+»
3. В режиме установки параметров «M:Setup+» позиционирует курсор на параметры T и W для установки их цифровых значений и затем возвращает в режим ожидания «M:Start+».

Кнопка « < »:

1. В режиме установки параметров «M:Setup+» служит для установки цифровых значений параметров G, T и W.
2. В остальных режимах не активна.

Кнопка « > »:

1. В режиме ожидания «M:Start+» переключает прибор в режим установки параметров «M:Setup+».
2. В режиме «M:Setup+» первое нажатие позиционирует курсор на параметр G, далее служит для установки цифровых значений параметров G, T и W.
3. В режиме измерения «Measure-» служит для переключения длины волны облучающего потока между W1 (280 нм) и W2 (365 нм). При включении детектора по умолчанию включается источник 365 нм и устанавливается дополнительный эмиссионный фильтр на 400 – 460 нм.

2.3. Вид задней панели детектора

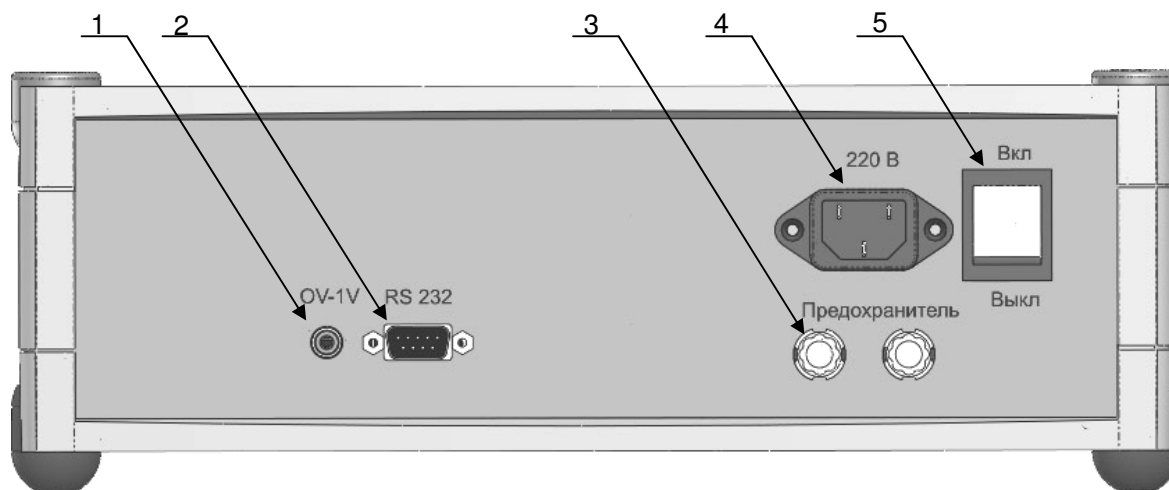


Рис.3. Вид задней панели детектора

1. Аналоговый выход для подключения АЦП. Разъем RCA (тюльпан).
2. Выход RS-232 (сервисный разъем)
3. Предохранитель
4. Разъем кабеля сетевого питания
5. Выключатель «сеть»

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Таблица 1. Технические характеристики детектора

	Характеристика	Значение
1.	Источник света	Монохроматические светодиоды
2.	Длина волны возбуждения флуоресценции, нм	365±5 или 280±5
3.	Диапазон длин волн регистрации флуоресценции, нм	400 ÷ 460 или 320 ÷ 460
4.	Детектируемый объем, мм ³ , менее	1
5.	Постколоночный объем, мм ³ , менее	3
6.	Предел детектирования по антрацену, г, не более	1*10 ⁻⁷
7.	Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала: на бидистиллированной воде, при постоянной времени 0,5 с, ОЕФ (RFU), не более	2,5*10 ⁻⁵
8.	Дрейф нулевого сигнала на бидистиллированной воде при постоянной времени 0,5 сек при работе детектора от 2,5 до 3 часов при стабильности температуры окружающего воздуха ±1 ⁰ С, ОЕФ/час, не более	2,5*10 ⁻⁵
9	Материал жидкостного тракта	PEEK*, PTFE, SS316, кварцевое стекло
10.	Максимальная скорость потока через кювету, см ³ /мин, не более	10
11.	Выход аналоговый, В/полная шкала (V/FS)	1
12.	Постоянная времени, с	0,5; 1,0; 2,0
13.	Коэффициент пересчета из мВ в ОЕФ при установленном, (ОЕФ/мВ)	0,002
14.	Фитинги входные и выходные	Внутренняя резьба 10-32 под феррулу
15.	Время выхода детектора на режим, мин, не более	10
16.	Время непрерывной работы, ч, не менее	8
17.	Питание, напряжение/частота В/Гц	220/50
18.	Предохранитель В (А)	250(1)
19.	Потребляемая мощность Вт, не более	95
20.	Габаритные размеры (высота, ширина, глубина) мм	160x330x290
21.	Масса, кг, не более	4

ОЕФ – Относительные единицы флуоресценции.

* материал PEEK может не устанавливаться

4. КОМПЛЕКТАЦИЯ

Таблица 2. Комплектация детектора.

1.	Детектор флуориметрический модель 121M1	1
2.	Сетевой кабель питания	1
3.	Кабель аналоговый для соединения с АЦП тип 2.2	1
4.	Заглушки РЕЕК или РР (установлены на приборе)	2
5.	Руководство по эксплуатации 4215-003.1.3-81696414PЭ	1
6.	Паспорт 4215-003.1.3-81696414 ПС	1
7.	Упаковка	1

5. УСТАНОВКА ДЕТЕКТОРА

5.1. Размещение на рабочем месте и условия окружающей среды

Детектор устанавливают горизонтально в стойку с аналогичным оборудованием на насосы или на физический или химический лабораторный стол так, чтобы обеспечить возможность доступа к задней панели. Температура окружающего воздуха должна быть в пределах от +10 до +30 °С, а относительная влажность от 20% до 90%.

5.2. Требования к электробезопасности

Подключение к однофазной сети переменного тока осуществляется через розетку с третьим заземляющим выводом.

6. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ

При транспортировке детектора при отрицательных температурах следует после распаковки выдержать его не менее 1-го часа при комнатной температуре.

6.1. Подсоединение коммуникаций и сетевого питания.

После установки детектора присоедините гидравлические коммуникации.

Отверните заглушки от входа и выхода ячейки. Соедините с помощью капилляра РЕЕК и винт-феррул фитинг «вход» с выходным фитингом хроматографической колонки, а фитинг «выход» с помощью фторопластового капилляра со сливной емкостью. После установки линий слегка потянув за них, убедитесь, что соединение надежно.

Внимание! В некоторых случаях в зависимости от освещенности в лаборатории в случае использования капилляра на вход ячейки из РЕЕК возможна засветка детектора, сопровождающаяся ростом фонового сигнала. Наличие засветки проверяется прикрыванием входного капилляра от света, например зажав его рукой до входа в ячейку, если наблюдается изменение фонового сигнала значит сквозь материал капилляра внешний свет попадает внутрь прибора на фотозлектронный умножитель. Либо заменяем на входе капилляр на аналогичный по внутреннему диаметру из материала SS316 (стальной).

ВНИМАНИЕ! Не следует устанавливать гидросопротивление более 2 бар на выходную гидравлическую линию детектора.

Соедините сетевым кабелем разъем сетевого питания с розеткой 220 В.

Соедините кабелем тип 2.2 аналоговый выход детектора (см. рис. 3 поз. 1) с АЦП. Для синхронизации старта в программе МультиХром с инъекцией присоедините к инжектору разъем DB-9 кабеля тип 2.2.

6.2. Промывка перед первым запуском

Детектор поставляется заполненным изопропиловым спиртом, поэтому перед работой необходимо прокачать через детектор с помощью насоса не менее 10 см³ дистиллированной воды, для этого:

заполните насос дистиллированной водой;

установите расход на насосе 1 см³/мин и нажмите кнопку «Пуск/Стоп» (смотрите PЭ насоса). Оставьте насос работать на 10 минут, затем выключите расход насоса. Промывка закончена и детектор готов к работе.

ВНИМАНИЕ! При работе с неводными подвижными фазами промойте детектор совместимым растворителем.

6.3. Промывка после долгого хранения или расконсервации

При длительном хранении возможно образование отложений на внутренней поверхности кюветы. Для промывки кюветы в этом случае используют 1% водный раствор углекислого натрия – промывной раствор №1.

ВНИМАНИЕ! Перед выполнением п.6.3. выполните п.6.2.

Для промывки необходимо воспользоваться шприцем с разъемом LUER, в который набирается промывной раствор №1, далее шприц ввинчивается по часовой стрелке в фитинг «Вход» детектора. Завернув шприц, аккуратно прокачайте 1-2 см³ промывного раствора №1 и оставьте на 10 – 20 минут детектор с промывным раствором №1, после чего промойте детектор по п.6.2.

6.4. Подготовка подвижной фазы

При работе с детектором используется стандартная процедура подготовки подвижной фазы для ВЭЖХ, т.е. фильтрация и дегазация. Особое внимание следует уделить процедуре дегазации, так как растворенный в подвижной фазе кислород способен вызывать гашение флуоресценции и, как следствие, потерю чувствительности.

7. ПОРЯДОК РАБОТЫ

7.1. Включение

Включите компьютер или систему регистрации, включите детектор выключателем «сеть» на задней панели детектора, включите остальные модули хроматографа. Допускается использование общего выключателя для всех модулей хроматографа.

По умолчанию на детекторе включен источник на 365 нм, если вы рассчитываете работать на этой длине волны, то вам ничего переключать на детекторе не нужно. Если Вы работаете на длине волны 280 нм, необходимо перед началом работы выполнить соответствующую настройку и убедиться, что на экране установлен параметр W1.

Включите подачу подвижной фазы и запустите программу сбора данных для регистрации базовой линии или интегратор.

Кнопкой «старт/стоп» переведите прибор в режим измерения «Measure-», при этом, если фоновая флуоресценция отличается от нуля, произойдет коррекция базовой линии.

Подождите 10 минут, убедитесь в стабильности базовой линии. Детектор готов к введению образца. В случае дрейфа базовой линии дождитесь ее стабилизации, после чего нажатием кнопки «старт/стоп» при удерживании кнопки « < » переводите прибор в режим ожидания «M:Start+». Следующее нажатие кнопки «старт/стоп» вернет прибор в режим измерения «Measure-», при этом произойдет коррекция базовой линии.

7.3. Настройка детектора

Параметры настройки детектора индицируются во второй строке на дисплее.

G – коэффициент усиления (“*gain*”), по умолчанию выставлено значение G1. G2 и G3 соответствуют усилению в четыре и восемь раз по отношению к базовому G1.

T – константа времени, по умолчанию выставлено значение T3, что соответствует 2 сек. T1 - 0.5 сек, T2 – 1 сек.

W – длина волны возбуждения, по умолчанию выставлено значение W2 – 365 нм, W1 – 280 нм.

Для установки требуемых значений параметров необходимо перевести прибор в режим «M:Setup+».

Если включен режим измерения «Measure-», перейдите в режим «M:Start+» нажав кнопку «старт/стоп» при удерживании кнопки « < ».

Находясь в режиме ожидания «M:Start+», нажмите кнопку « > » для перехода в режим «M:Setup+». Повторное нажатие кнопки « > » переведет курсор на параметр G. Изменить его значение можно кнопками « < » и « > ». Для перехода к следующим параметрам нажимайте «старт/стоп», при этом курсор сначала укажет на параметр T, а затем W. Для их изменения также используйте кнопки « < » и « > ». Последнее нажатие «старт/стоп» переведет прибор из режима установки «M:Setup+» в режим ожидания «M:Start+».

ВНИМАНИЕ! Значения введенных параметров теряются при выключении прибора.

Некоторые методики могут потребовать изменения длины волны возбуждения непосредственно в процессе анализа. Для этого, в режиме «Measure-», можно воспользоваться клавишей « > ». Каждое короткое нажатие клавиши вызывает смену длины волны W2 -> W1 -> W2.... (365 нм -> 280 нм -> 365 нм ...). Будьте внимательны, при удерживании « > » больше одной секунды длина волны начнет периодически меняться.

7.4. Получение хроматограммы

После инъекции образца программное обеспечение автоматически запускает запись хроматограммы (см. также Руководство пользователя ПО) (при подключенном кабеле 2.2 к разъему инжектора 9740 или 7725i)

ВНИМАНИЕ! Если хроматограмма не была получена или результат оказался неудовлетворительным, обратитесь к табл. 3.

7.5. Выключение детектора

Выключите питание детектора выключателем «сеть», расположенным на задней панели или общим выключателем.

7.6. Особенности работы с детектором

При выключении потока подвижной фазы происходит снижение базовой линии за счет разложения компонентов подвижной фазы и снижения фоновой флуоресценции. Этот показатель может служить косвенным показателем качества подвижной фазы. Чем меньше снижение базовой линии, тем ниже уровень фоновой флуоресценции, тем выше качество подвижной фазы.

ВНИМАНИЕ! Для приготовления подвижных фаз необходимо использовать растворители только хроматографической чистоты, так как в противном случае возможно загрязнение подвижных фаз веществами, обладающими значительной флуоресценцией. Это может привести к резкому снижению чувствительности или полной ее потере.

В соответствии с общепризнанным правилом значение постоянной времени следует выбирать так, чтобы ширина наиболее узкого пика на хроматограмме превышала ее более

чем в десять раз, иначе возможно значительное искажение пика. Например, при ширине пика 15 секунд и выбранной постоянной времени 2 секунды форма хроматографического пика будет значительно искажена, в этом случае рекомендуется установить постоянную времени 0,5 или 0,2 секунды.

8. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ, КОНСЕРВАЦИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКА

8.1. Техническое обслуживание

Детектор относится к разряду обслуживаемых устройств. Обслуживание детектора заключается в ежегодной процедуре промывки кюветы детектора согласно п.6.4. Рекомендуется производить данную процедуру перед проведением ежегодных поверочных испытаний.

8.2. Консервация

Производить консервацию рекомендуется в следующих случаях: перерыв в работе более 10 дней; транспортировка.

Консервация заключается в заполнении всех линий детектора изопропиловым спиртом и установке заглушек во входной и выходной фитинги.

Для промывки кюветы детектора замените подвижную фазу в ВЭЖХ насосе на изопропиловый спирт, соедините выходной фитинг насоса непосредственно с фитингом «вход» детектора, установите расход насоса 1 см³/мин, включите расход и оставьте детектор промываться на 10 минут. После промывки отсоедините капилляры от входного и выходного фитинга.

Если ВЭЖХ насос недоступен, воспользуйтесь для промывки пластиковым шприцем с разъемом Luer, заполненным изопропиловым спиртом. Вверните шприц по часовой стрелке во входной фитинг детектора и аккуратно прокачайте 1-2 см³ изопропилового спирта через кювету. Затем выверните шприц и выходной капилляр детектора и установите заглушки.

8.3. Транспортировка

Транспортировка флуориметрического детектора должна осуществляться согласно ТУ 4215-003.1.3-81696414 в упаковке фирмы-производителя или в упаковке, удовлетворяющей требованиям ТУ 4215-003.1.3-81696414. Условия транспортировки описаны в паспорте изделия.

9. ОСНОВНЫЕ НЕИСПРАВНОСТИ И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Таблица 3. Основные неисправности детектора и способы их устранения

Неисправность	Возможная причина		Способ устранения
1. Устройство не включается, не горит дисплей	1.1. Нет сетевого питания	1.1.1. Нет сетевого питания в розетке	1.1.1.1. Подключите детектор к исправной розетке сетевого питания
		1.1.2. Плохое соединение сетевого кабеля с устройством	1.1.2.1. Разъедините и снова соедините сетевой кабель.
		1.1.3. Неисправен сетевой кабель	1.1.3.1. Замените сетевой кабель
		1.1.4. Сгорел предохранитель	1.1.4.1. Замените предохранитель
	1.2. Устройство неисправно	1.2.1. Обрыв внутренних цепей	1.2.1.1. Обратитесь в сервисную службу
2. Нет отклика на хроматограмме на нажатие переход из режима «M:Setup+» в режим «Measure-». Нет пиков на хроматограмме заведомого стандарта.	2.1. Сигнал от детектора не приходит на систему регистрации	2.1.1. Не подключен аналоговый или цифровой кабель	2.1.1.1. Подключите аналоговый или цифровой кабель к детектору и/или системе регистрации
		2.1.2. Неисправен аналоговый или цифровой кабель	2.1.2.1. Замените кабель

	2.2. Неправильно настроенная система ssрегистрации	2.2.1. Ошибки при настройке системы регистрации	2.2.1.1. Обратитесь к РЭ системы регистрации
	2.3. Высокий уровень фонового излучения	2.3.1. Пузырек воздуха в кювете	2.3.1.1. Проведите промывку по п.6.3.
2.3.2. В кювете высокая концентрация флуоресцирующего вещества		2.3.2.1. Дождитесь полного вымывания флуоресцирующего вещества	
3. Резкие пики на хроматограмме	3.1. Пузырьки воздуха в кювете	3.1.1. Плохая дегазация подвижной фазы	3.1.1.1. Дегазируйте подвижную фазу
			3.1.1.2. Воспользуйтесь гидросопротивлением на линии слива детектора
	3.2. Помехи электрической сети	3.2.1. Наводки от высокочастотных источников электромагнитного излучения	3.2.1.1. Проверьте заземление прибора.
			3.2.1.2. Установите сетевой фильтр
4. Низкая чувствительность и/или повышенный шум	4.1. Загрязнена кювета	4.1.1. На стенках кюветы образовался осадок при хранении	4.1.1.1. Проведите промывку по п.6.4 РЭ.
		4.1.2. На стенках кюветы образовался осадок после введения образца	4.1.2.1. Проведите промывку по п.6.4 РЭ. и после этого промойте детектор «сильным» растворителем, например, ТГФ или гексаном, затем сразу промойте изопропиловым спиртом и водой
	4.2. Загрязнена подвижная фаза	4.2.1. Неудовлетворительное качество исходных компонентов	4.2.1.1. Замените растворители и/или соли, используемые при приготовлении буфера, на реактивы соответствующей чистоты..
5. Слишком высокий дрейф базовой линии	5.1. Загрязнена подвижная фаза	5.1.1. Неудовлетворительное качество исходных компонентов	5.1.1.1. Замените растворители и/или соли, используемые при приготовлении буфера, на реактивы соответствующей чистоты.
		5.1.2. Происходит вымывание сильно удерживаемых компонентов из колонки	5.1.2.1. Промойте детектор «сильным» растворителем, например, ацетонитрилом.
	5.2. Повреждена электроника детектора	5.2.1. Повреждение или выработка ресурса ФЭУ или иных элементов	5.2.1.1. Обратитесь в сервисную службу
6. Нет жидкости на выходе из детектора, при этом на вход в детектор жидкость подается	6.1. Повреждена кювета	6.1.1. Нарушение герметичности прокладок или разрушение кюветы	6.1.1.1. Обратитесь в сервисную службу

Приложение 1**Промывные и консервирующие растворы**

Табл. 1. Промывные и консервирующие растворы, применяемые для детектора флуориметрического модель 121М

	Наименование	Для чего используется	Состав
1	Дистиллированная вода	Промывка при расконсервации	Дистиллированная вода
2	Промывной раствор №1	Промывка при расконсервации, при проведении технического обслуживания	0,1М раствор гидрокарбоната натрия в дистиллированной воде
3	Изопропиловый спирт	Промывка и заполнение при консервации	Изопропиловый спирт

Приложение 2

Свойства некоторых соединений и флуоресцентных меток

Табл.1. Свойства некоторых соединений и флуоресцентных меток.

Соединения/Реагенты	Диапазон возбуждения флуоресценции нм.	Диапазон регистрации флуоресценции нм.
Афлатоксины	305-395	430 - 470
Антрацен	305 - 395	430 - 470
Бенз(а)пирен	305 - 395	430 - 470
Флуорантен	305-395	430 - 470
Метадон	305-395	430 - 470
Метотрексат	305-395	430 - 470
Полиядерные Ароматические Углеводороды	305 - 395	430 - 470
О - фталевый альдегид (метка)	305 - 395	430 - 470
Фенолы	305-395	430 - 470
Витамин В2	305 - 450	510-650
Витамин В3	305 - 395	430 - 470