



ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ (HPLC)

ΕΚΠΟΝΗΘΗΚΕ ΑΠΟ:

ΚΑΡΓΑΚΗ ΓΕΩΡΓΙΟ

Φοιτητής Τμήματος Π.Σ.Ε. «Τεχνολογία Ιατρικών Συστημάτων»

Σχολή Τεχνολόγων Εφαρμογών

Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Καθ. ΑΛΕΓΚΑΚΗΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2004

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΑΛΕΓΚΑΚΗΣ

ΤΑ ΜΕΛΗ

Δρ. ΛΕΩΝΙΔΑΣ ΝΑΟΥΜΙΔΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Τ.Ε.Ι.

Δρ. ΘΕΟΧΑΡΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Τ.Ε.Ι.

ABSTRACT

The aim of this diploma project was to help the user of liquid chromatography to improve his qualitative work in the laboratory and his skills in solving problems of maintenance and function problems, such as liquid chromatography system.

It was used the liquid chromatography system SP 8800 of Spectra Physics Co. as a base for the analysis of all the problems than can appear in a system of liquid chromatography. The most systems of liquid chromatography present major complexity because of the combination parts of different technical fields (pumps, detectors, electronic). So because of this complexity solving problems, causes and damages is a difficult procedure for the user of liquid chromatography system.

The need of these problems made the programming in base of Access 2000 of Microsoft Office. The program is called Help Troubleshooting Guide. In this program everything has classified, analyzed and categorized, so that will help the user of liquid chromatography to have instant access in any problems, causes and of course in their solutions.

In brief, the aims of the present diploma project may be summarized as following:

- I. Analysis and classification of the problems and causes that are present in liquid chromatography systems.
- II. Technical analysis of the parts of the liquid chromatography system.
- III. Information and advises for the repair and for preventative maintenance of taking the necessary action as required, in order to maintain all system in best conditions.
- IV. The creation of a manual and guide problems & maintenance for the systems of liquid chromatography for pc.

The diploma project was divided in four sections:

Section First: In this section is presented the meaning of High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Also has been described analytical all the parts that a system of liquid chromatography can have. And many kinds of these parts that used until today in liquid chromatography.

Section Second: In the second section is presented the system of SP 8800, which was used as a base for my project. Also, it is described how user can operate this system. There are units of maintenance, about the safety of user and of system.

Section Third: In this section, all causes, problems and their solutions have been analyzed and categorized. The categorization has been: a) because of the problems, which are in baseline of the chromatogram, b) chromatogram 's problems that make the baseline to have declination from the chromatogram's prototype baseline and c) because of the most mechanical problems of the system.

Section Fourth: In the last section, is presented how the programming of a troubleshooting guide in Access of Microsoft Office was made of. So that, user of any liquid chromatography system can have an useful guide of troubleshooting, of solutions, of technical instructions of maintenance.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η βελτίωση της ποιότητας εργασίας του χειριστή υγρής χρωματογραφίας και η εξειδίκευση του χειριστή στην αντιμετώπιση προβλημάτων λειτουργίας και συντήρησης.

Ως βάση μελέτης για την ανάλυση των προβλημάτων χρησιμοποιήθηκε το σύστημα υγρής χρωματογραφίας SPECTRA PHYSICS SP8800. Γενικά τα συστήματα υγρής χρωματογραφίας παρουσιάζουν μεγάλη οργανολογική πολυπλοκότητα, λόγω του ότι συνδυάζουν ποικίλα μέλη (αντλίες, ηλεκτρονικά εξαρτήματα, ανιχνευτές κ.ά.), που εμπίπτουν σε διαφορετικά τεχνολογικά πεδία. Λόγω της πολυπλοκότητας τους η αντιμετώπιση βλαβών και προβλημάτων είναι μια εξαιρετικά δύσκολη διαδικασία.

Οι στόχοι που υλοποιήθηκαν με την παρούσα πτυχιακή εργασία είναι:

- I. Ανάλυση και ταξινόμηση των προβλημάτων που παρουσιάζονται κατά την χρήση του συστήματος υγρής χρωματογραφίας.
- II. Τεχνική ανάλυση των τμημάτων κι εξαρτημάτων που αποτελούν ένα σύστημα της υγρής χρωματογραφίας.

- III. Η αντιμετώπιση εμφάνισης των πιθανών προβλημάτων στην λειτουργία του συστήματος της υγρής χρωματογραφίας.
- IV. Τεχνικές οδηγίες για τη συντήρηση του συστήματος υγρής χρωματογραφίας και την βελτιστοποίηση της λειτουργίας του.
- V. Η δημιουργία ενός ηλεκτρονικού εγχειριδίου αντιμετώπισης προβλημάτων (troubleshooting) και συντήρησης (maintenance) ως βοήθημα για τον χειριστή της υγρής χρωματογραφίας.

Η διπλωματική εργασία μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις ενότητες.

Στην πρώτη ενότητα, παρουσιάζεται ο προσδιορισμός της Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης ή Υψηλής Πίεσης (HPLC), περιγράφονται αναλυτικά τα μέρη από τα οποία αποτελείται ένα σύστημα HPLC SP 8800 (αντλίες, εγχυτήρες, ανιχνευτές, στήλες HPLC, καταγραφικό κ.ά.). Επίσης, παρουσιάζονται είδη ανιχνευτών και στήλης HPLC, από την δεκαετία του '80 μέχρι και σήμερα. Σημειώνεται ότι οι τεχνικές διαχωρισμού με χρωματογραφικές μέθοδοι έχουν βελτιωθεί σημαντικά τόσο στον διαχωρισμό, στον προσδιορισμό και στην αφαίρεση ξένων ουσιών, ενώ δίνονται και στοιχεία για τα υλικά πλήρωσης των στηλών.

Στην δεύτερη ενότητα, παρουσιάζεται το σύστημα του HPLC SP 8800 και συμβουλές για την ορθή χρήση του συστήματος SP8800 αλλά και γενικότερα των χρωματογραφικών συστημάτων. ώστε να εξασφαλιστεί ένα σωστό χρωματογράφημα. Παρουσιάζεται η διαδικασία ανάλυσης ενός δείγματος, έτσι ώστε και ο μη-χειριστής να κατανοήσει τον τρόπο λειτουργίας του. Τα θέματα συντήρησης του μηχανήματος HPLC παρουσιάζονται σε αυτή την ενότητα. Τα κυριότερα σημεία συντήρησης αφορούν τα τμήματα του HPLC: αντλία και ανιχνευτή, χωρίς ωστόσο να παραλείπεται και η συντήρηση ή έλεγχος άλλων εξαρτημάτων π.χ. εγχυτήρας. Δίνονται επίσης στοιχεία για την ασφάλεια χρήσης του συστήματος HPLC αλλά και επιπλέον πληροφορίες που αφορούν τα χρησιμοποιούμενα χημικά, τη βαθμονόμηση (calibration) του οργάνου, οι ηλεκτρονικοί έλεγχοι (tests) του συστήματος.

Στην τρίτη ενότητα, αναλύονται τα προβλήματα του χρωματογραφικού συστήματος. Τα προβλήματα κατηγοριοποιούνται: α) με βάση το «πρόβλημα» στη γραμμή αναφοράς β) σε απόκλιση από το πρότυπο χρωματογράφημα και γ) με βάση τα κυριότερα μηχανικά προβλήματα του συστήματος. Για κάθε πρόβλημα δίνεται ένας οδηγός αντιμετώπισης των προβλημάτων καθώς και η πιθανή αιτία ύπαρξής του.

Τέλος, στην τέταρτη ενότητα παρουσιάζεται η υλοποίηση του προγράμματος. Παρουσιάζονται οι βασικές δομικές μονάδες από τις οποίες αποτελείται όπως οι πίνακες, οι σχέσεις μεταξύ τους, οι μακροεντολές και τα ερωτήματα που δημιουργήθηκαν για να υπάρχει λειτουργικότητα, η

δημιουργία των φορμών. Με την υλοποίηση του προγράμματος ο χειριστής διαθέτει ένα εύχρηστο εγχειρίδιο-οδηγό για τα προβλήματα του HPLC, τις αντίστοιχες λύσεις τους, τις τεχνικές οδηγίες για τη σωστή συντήρηση του συστήματος HPLC SP 8800 και την βελτιστοποίηση της λειτουργίας του.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ.....	2
ΤΑ ΜΕΛΗ.....	2
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	8
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
ABSTRACT.....	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ 1 ^{ΗΣ} ΕΝΟΤΗΤΑΣ.....	14
1.2. ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ Ή ΑΠΟΔΟΣΗΣ, HPLC – (HIGH LIQUID PRESSURE CHROMATOGRAPHY).....	15
1.3. ΤΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HPLC.....	19
1.3.1. Σύστημα Παροχής Κινητής Φάσης.....	19
1.3.2. Σύστημα Έγχυσης Δείγματος.....	22
1.3.3. Στήλη.....	24
1.3.4. Ανιχνευτής.....	29
1.3.5. Καταγραφικό Δεδομένων.....	37
ΕΙΣΑΓΩΓΗ 2 ^{ΗΣ} ΕΝΟΤΗΤΑΣ.....	39
2.2. ΣΚΙΑΓΡΑΦΗΣΗ ΤΡΟΠΟΥ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HPLC SP 8800.....	40
2.3. ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HPLC.....	51
2.4. ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.....	54
2.5. ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ.....	58
2.5.1. Διατήρηση Αρχείων.....	58
2.6. ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗΣ.....	59
2.6.1. Συνθήκες Ασφαλείας Χειριστή.....	59
2.6.2. Μέτρα Προφύλαξης Συστήματος HPLC.....	60
2.6.3. Βαλβίδες Ελέγχου.....	67
2.6.4. Δακτύλιοι Στεγανοποίησης.....	70
2.6.5. Ανιχνευτής και Λαμπτήρες.....	72
2.6.6. Λοιπά Εξαρτήματα.....	78
2.6.7. Βαθμονόμηση - Calibration.....	78
2.7. ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ HPLC (TESTS).....	80
ΕΙΣΑΓΩΓΗ 3 ^{ΗΣ} ΕΝΟΤΗΤΑΣ.....	83
3.2. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΓΡΑΜΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ.....	84
3.2.1. Εμφάνιση Απόκλισης, Θορύβου ή Ασυνήθιστης Βασικής Γραμμής Αναφοράς.. (Μυτερή).....	84
3.2.2. Διαφορετικές Κορυφές Με Χρήση Ίδιου Διαλύτη.....	85
3.2.3. Θόρυβος Στη Βασική Γραμμή Αναφοράς.....	86
3.2.4. Σύγχρονος Θόρυβος.....	88
3.2.5. Ασύγχρονος Θόρυβος.....	89
3.2.6. Απόκλιση Της Βασικής Γραμμής Αναφοράς.....	90
3.2.5. Εναλλασσόμενη Βασική Γραμμή Αναφοράς.....	93
3.2.6. Ακίδες.....	94

3.2.7.	Αρνητικές & Θετικές Κορυφές	95
3.3.	ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑ ΕΚΤΟΣ ΓΡΑΜΜΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	97
3.4.	ΜΗΧΑΝΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ	110
3.4.1.	Οδηγός Αντιμετώπισης Προβλημάτων	110
3.4.2.	Οδηγός Προβλημάτων Αντλίας.....	111
3.4.3.	Οδηγός Προβλημάτων Ανιχνευτή & Βαλβίδας Ελέγχου	115
3.4.4.	Προβλήματα Στην Κινητή Φάση.....	121
3.4.5.	Προβλήματα Στον Εγχυτήρα.....	122
3.4.6.	Προβλήματα Στην Στήλη	123
3.4.7.	Προβλήματα Στο Όργανο Καταγραφής	123
	ΕΙΣΑΓΩΓΗ 4 ^{ΗΣ} ΕΝΟΤΗΤΑΣ	125
4.2.	ΟΔΗΓΟΣ ΕΠΙΛΥΣΗΣ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ HPLC.....	127
4.2.1.	Στόχοι του Προγράμματος	127
4.2.2.	Ορισμός Βάσης Δεδομένων.....	127
4.3.	ΜΕΡΗ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	128
4.4.	ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ	134
4.4.1.	Παρουσίαση Πινάκων	135
4.4.2.	Λεπτομερής Ανάλυση Πινάκων	136
4.3.	ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΧΕΣΕΩΝ	145
4.4.	ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΡΩΤΗΜΑΤΩΝ.....	146
4.4.1.	Λεπτομερής Ανάλυση Ερωτήματος	147
4.5.	ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΑΚΡΟΕΝΤΟΛΩΝ.....	148
4.5.1.	Λεπτομερής Ανάλυση Μακροεντολών	150
4.6.	ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΟΡΜΩΝ	159
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	168
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	170
	Hyperlinks	171
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ - ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ	174

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Αν και φαίνεται τυπική η διαδικασία των ευχαριστιών εντούτοις, περιλαμβάνει γνήσια συναισθήματα, που έχουν κατασταλάξει κατά την διάρκεια εκπόνησης της εργασίας. Κατά την πάροδο του χρόνου που χρειάστηκε για να ολοκληρωθεί η εργασία, οι εμπειρίες ήταν πολλές και ιδιαίτερα χρήσιμες. Για όλα αυτά τα χρήσιμα στοιχεία που αποκόμισα, κύριος υπεύθυνος είναι ο εισηγητής κι επιβλέπων καθηγητής Αλεγκάκης Αθανάσιος, τον οποίο κι ευχαριστώ θερμότατα

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Τοξικολογίας Αναπληρωτή Καθηγητή Τσατσάκη Αριστείδη από το εργαστήριο Τοξικολογίας για την πολύτιμη συμβολή του στην συλλογή πληροφοριών γύρω από το θέμα της πτυχιακής εργασίας Τον Τζατζαράκη Εμμανουήλ, PhD, για την πολύτιμη βοήθεια για την ανάπτυξη του συστήματος της υγρής χρωματογραφίας HPLC SP 8800 της εταιρείας Spectra Physics.

Τέλος, να ευχαριστήσω για την καθοδήγηση και τις συμβουλές του, τον καθηγητή Ναουμίδα Λεωνίδα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η βελτίωση της ποιότητας εργασίας του χειριστή υγρής χρωματογραφίας και η εξειδίκευση του χειριστή στην αντιμετώπιση προβλημάτων λειτουργίας και συντήρησης.

Ως βάση μελέτης για την ανάλυση των προβλημάτων χρησιμοποιήθηκε το σύστημα υγρής χρωματογραφίας SPECTRA PHYSICS SP8800. Γενικά τα συστήματα υγρής χρωματογραφίας παρουσιάζουν μεγάλη οργανολογική πολυπλοκότητα, λόγω του ότι συνδυάζουν ποικίλα μέλη (αντλίες, ηλεκτρονικά εξαρτήματα, ανιχνευτές κ.ά.), που εμπίπτουν σε διαφορετικά τεχνολογικά πεδία. Λόγω της πολυπλοκότητας τους η αντιμετώπιση βλαβών και προβλημάτων είναι μια εξαιρετικά δύσκολη διαδικασία.

Οι στόχοι που υλοποιήθηκαν με την παρούσα πτυχιακή εργασία είναι:

- VI. Ανάλυση και ταξινόμηση των προβλημάτων που παρουσιάζονται κατά την χρήση του συστήματος υγρής χρωματογραφίας.
- VII. Τεχνική ανάλυση των τμημάτων κι εξαρτημάτων που αποτελούν ένα σύστημα της υγρής χρωματογραφίας.
- VIII. Η αντιμετώπιση εμφάνισης των πιθανών προβλημάτων στην λειτουργία του συστήματος της υγρής χρωματογραφίας.
- IX. Τεχνικές οδηγίες για τη συντήρηση του συστήματος υγρής χρωματογραφίας και την βελτιστοποίηση της λειτουργίας του.
- X. Η δημιουργία ενός ηλεκτρονικού εγχειριδίου αντιμετώπισης προβλημάτων (troubleshooting) και συντήρησης (maintenance) ως βοήθημα για τον χειριστή της υγρής χρωματογραφίας.

Η διπλωματική εργασία μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις ενότητες.

Στην πρώτη ενότητα, παρουσιάζεται ο προσδιορισμός της Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης ή Υψηλής Πίεσης (HPLC), περιγράφονται αναλυτικά τα μέρη από τα οποία αποτελείται ένα σύστημα HPLC SP 8800 (αντλίες, εγχυτήρες, ανιχνευτές, στήλες HPLC, καταγραφικό κ.ά.). Επίσης, παρουσιάζονται είδη ανιχνευτών και στήλης HPLC, από την δεκαετία του '80 μέχρι και σήμερα. Σημειώνεται ότι οι τεχνικές διαχωρισμού με χρωματογραφικές μέθοδοι έχουν βελτιωθεί σημαντικά τόσο στον διαχωρισμό, στον προσδιορισμό και στην αφαίρεση ξένων ουσιών, ενώ δίνονται και στοιχεία για τα υλικά πλήρωσης των στηλών.

Στην δεύτερη ενότητα, παρουσιάζεται το σύστημα του HPLC SP 8800 και συμβουλές για την ορθή χρήση του συστήματος SP8800 αλλά και γενικότερα των χρωματογραφικών συστημάτων, ώστε να εξασφαλιστεί ένα σωστό χρωματογράφημα. Παρουσιάζεται η διαδικασία ανάλυσης ενός δείγματος, έτσι ώστε και ο μη-χειριστής να κατανοήσει τον τρόπο λειτουργίας του. Τα θέματα συντήρησης του μηχανήματος HPLC παρουσιάζονται σε αυτή την ενότητα. Τα κυριότερα σημεία συντήρησης αφορούν τα τμήματα του HPLC: αντλία και ανιχνευτή, χωρίς ωστόσο να παραλείπεται και η συντήρηση ή έλεγχος άλλων εξαρτημάτων π.χ. εγχυτήρας. Δίνονται επίσης στοιχεία για την ασφάλεια χρήσης του συστήματος HPLC αλλά και επιπλέον πληροφορίες που αφορούν τα χρησιμοποιούμενα χημικά, τη βαθμονόμηση (calibration) του οργάνου, οι ηλεκτρονικοί έλεγχοι (tests) του συστήματος.

Στην τρίτη ενότητα, αναλύονται τα προβλήματα του χρωματογραφικού συστήματος. Τα προβλήματα κατηγοριοποιούνται: α) με βάση το «πρόβλημα» στη γραμμή αναφοράς β) σε απόκλιση από το πρότυπο χρωματογράφημα και γ) με βάση τα κυριότερα μηχανικά προβλήματα του συστήματος. Για κάθε πρόβλημα δίνεται ένας οδηγός αντιμετώπισης των προβλημάτων καθώς και η πιθανή αιτία ύπαρξης του.

Τέλος, στην τέταρτη ενότητα παρουσιάζεται η υλοποίηση του προγράμματος. Παρουσιάζονται οι βασικές δομικές μονάδες από τις οποίες αποτελείται όπως οι πίνακες, οι σχέσεις μεταξύ τους, οι μακροεντολές και τα ερωτήματα που δημιουργήθηκαν για να υπάρχει λειτουργικότητα, η δημιουργία των φορμών. Με την υλοποίηση του προγράμματος ο χειριστής διαθέτει ένα εύχρηστο εγχειρίδιο-οδηγό για τα προβλήματα του HPLC, τις αντίστοιχες λύσεις τους, τις τεχνικές οδηγίες για τη σωστή συντήρηση του συστήματος HPLC SP 8800 και την βελτιστοποίηση της λειτουργίας του.

ABSTRACT

The aim of this diploma project was to help the user of liquid chromatography to improve his qualitative work in the laboratory and his skills in solving problems of maintenance and function problems, such as liquid chromatography system.

It was used the liquid chromatography system SP 8800 of Spectra Physics Co. as a base for the analysis of all the problems than can appear in a system of liquid chromatography. The most systems of liquid chromatography present major complexity because of the combination parts of different technical fields (pumps, detectors, electronic). So because of this complexity solving problems, causes and damages is a difficult procedure for the user of liquid chromatography system.

The need of these problems made the programming in base of Access 2000 of Microsoft Office. The program is called Help Troubleshooting Guide. In this program everything has classified, analyzed and categorized, so that will help the user of liquid chromatography to have instant access in any problems, causes and of course in their solutions.

In brief, the aims of the present diploma project may be summarized as following:

- V. Analysis and classification of the problems and causes that are present in liquid chromatography systems.
- VI. Technical analysis of the parts of the liquid chromatography system.
- VII. Information and advises for the repair and for preventative maintenance of taking the necessary action as required, in order to maintain all system in best conditions.
- VIII. The creation of a manual and guide problems & maintenance for the systems of liquid chromatography for pc.

The diploma project was divided in four sections:

Section First: In this section is presented the meaning of High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Also has been described analytical all the parts that a system of liquid chromatography can have. And many kinds of these parts that used until today in liquid chromatography.

Section Second: In the second section is presented the system of SP 8800, which was used as a base for my project. Also, it is described how user can operate this system. There are units of maintenance, about the safety of user and of system.

Section Third: In this section, all causes, problems and their solutions have been analyzed and categorized. The categorization has been: a) because of the problems, which are in baseline of the chromatogram, b) chromatogram 's problems that make the baseline to have declination from the chromatogram's prototype baseline and c) because of the most mechanical problems of the system.

Section Fourth: In the last section, is presented how the programming of a troubleshooting guide in Access of Microsoft Office was made of. So that, user of any liquid chromatography system can have an useful guide of troubleshooting, of solutions, of technical instructions of maintenance.

1^H ENOTHTA

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 1^{ΗΣ} ΕΝΟΤΗΤΑΣ

Η χρωματογραφική ανάλυση, γνωστή ως χρωματογραφία περιλαμβάνει σειρά τεχνικών φυσικού διαχωρισμού και προσδιορισμού των συστατικών μείγματος ανόργανων ή οργανικών ουσιών. Ο διαχωρισμός βασίζεται στις διαφορές που υπάρχουν σε ορισμένες ιδιότητες των συστατικών ενός μείγματος, όπως είναι το σημείο ζέσεως, η πολικότητα, τα ηλεκτρικά φορτία, το μέγεθος των φορτίων κ.ά.

Η χρωματογραφία ως τεχνική ανάλυσης προσδιορισμού και διαχωρισμού ενώσεων ξεκίνησε το 1906 στη Βαρσοβία από το Ρώσο Βοτανολόγο Michael Tswett, στην προσπάθεια του να διαχωρίσει τις χρωστικές των φύλλων με εκχύλιση χρωστικών ουσιών. Σήμερα η χρωματογραφία αποτελεί την καλύτερη τεχνική διαχωρισμού, αναλύσεως πολύπλοκων μειγμάτων και απομονώσεως ουσιών, με εφαρμογές σε πολλές επιστήμες, όπως στην Βιολογία, στην Ιατρική, στην Χημεία, στην Επιστήμη Τροφίμων, Περιβάλλοντος κ.ά.. Η χρωματογραφία βασίζεται στις διαφορετικές κατανομές των συστατικών ενός μείγματος μεταξύ δύο φάσεων. Η μια φάση παραμένει σταθερή και λέγεται **στάσιμη φάση** (static phase), ενώ η άλλη λέγεται **κινητή φάση** (mobile phase) και διέρχεται μέσα από την σταθερή ή στάσιμη φάση. Το υλικό που χρησιμοποιείται στη στάσιμη φάση λέγεται και **υλικό πλήρωσης** και είναι συνήθως το πυρίτιο ή ενώσεις του (silica or silica gels). Η κινητή φάση προκαλεί μετατόπιση των συστατικών του μείγματος σε διαφορετικές θέσεις μέσα στη χρωματογραφική στήλη, οπότε εξέρχονται από τη στήλη σε διαφορετικούς χρόνους, με αποτέλεσμα το διαχωρισμό τους. Η κινητή φάση μπορεί να είναι κάποιο αέριο οπότε η χρωματογραφία ονομάζεται **αέρια** (gas) ή υγρό οπότε ονομάζεται **υγρή** (liquid).

Άλλοι διαχωρισμοί εκτός από τη φύση της κινητής και στατικής φάσης αφορούν:

α) **το μηχανισμό διαχωρισμού**. Χρωματογραφία προσρόφησης (adsorption), ιοντοανταλλαγής (ion-exchange), κατανομής (partition), μοριακού αποκλεισμού (particle size), συγγένειας (affinity).

β) **τη φυσική μορφή της στατικής φάσης**. Χρωματογραφία πληρωμένων στηλών και χρωματογραφία ανοικτών τριχοειδών στηλών.

γ) **τον τρόπο εισαγωγής και κινήσεως του δείγματος**. Χρωματογραφία εκτοπίσεως και στη χρωματογραφία εκλούσεως.

Με το αρκτικόλεξο **HPLC** περιγράφεται η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας High Performance (or Pressure) Liquid Chromatography, δηλαδή Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (Πίεσης).

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης αναπτύχθηκε στα μέσα της δεκαετίας του '70 και βελτιώθηκε γρήγορα με την ανάπτυξη των υλικών περιβλήματος στήλης και την προσθήκη των on-line ανιχνευτών. Προς το τέλος της δεκαετίας του '70, οι νέες μέθοδοι συμπεριλαμβανομένης της **ανάστροφης φάσης** (reversed phase) υγρής χρωματογραφίας επέτρεψαν τη βελτίωση στο διαχωρισμό μεταξύ των πολύ όμοιων ενώσεων.

Μέχρι τη δεκαετία του '80 το HPLC χρησιμοποιήθηκε συνήθως για το διαχωρισμό των χημικών ενώσεων. Οι νέες τεχνικές βελτίωσαν το διαχωρισμό, τον προσδιορισμό, της αφαίρεσης ξένων ουσιών και τον προσδιορισμό της ποσότητας πολύ πιο πάνω από τις προηγούμενες αναλυτικές τεχνικές. Με την εξέλιξη της τεχνολογίας, οι υπολογιστές, η αυτοματοποίηση και η ανάπτυξη των υπολογιστικών συστημάτων βελτίωσαν τον διαχωρισμό, τον προσδιορισμό, την αφαίρεση ξένων ουσιών και τον προσδιορισμό της ποσότητας με περισσότερη ακρίβεια από ότι με παλιότερες τεχνικές και συστήματα. Έγιναν επίσης, βελτιώσεις στον τύπο στηλών και έτσι υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης μικροστήλων (micro-column). Επομένως, υπάρχουν απαιτήσεις για μεγαλύτερη ανάγκη και καταλληλότητα του HPLC.

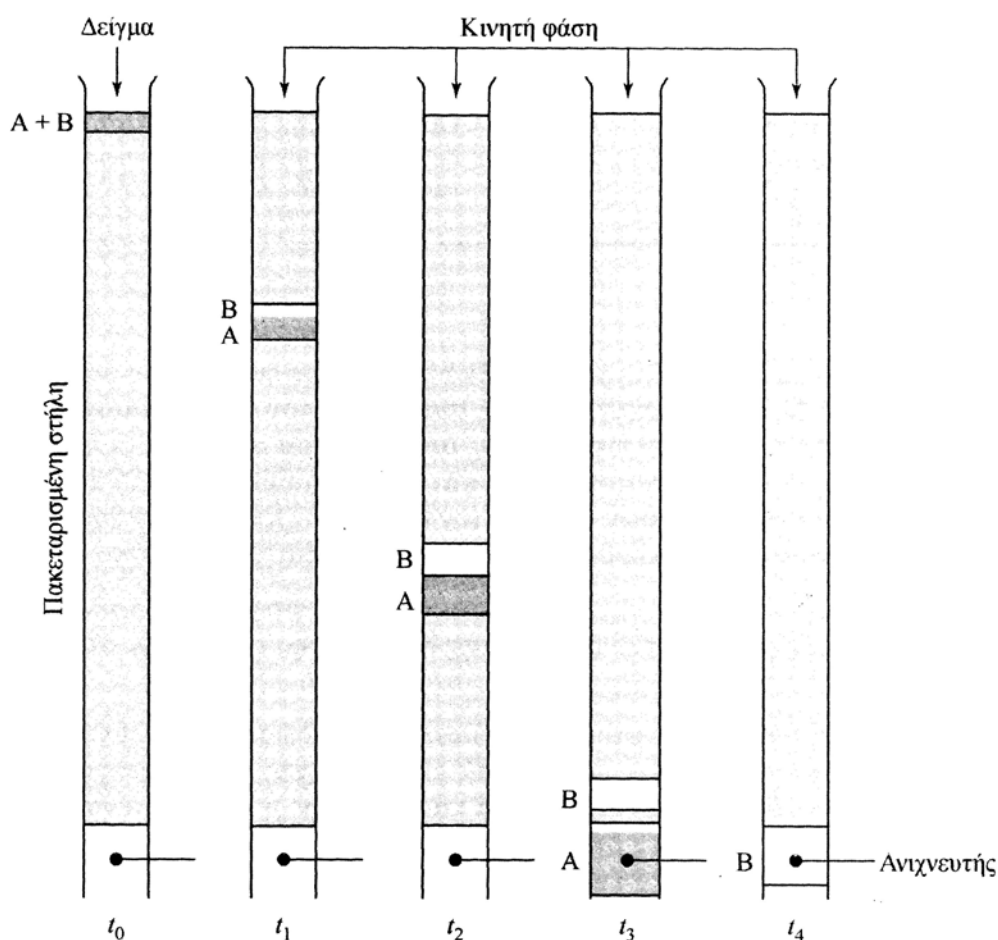
Το σύστημα που εξετάστηκε στο εργαστήριο Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής ήταν το HPLC SP 8800 της Spectra Physics. Ένα συνηθισμένο σύστημα αποτελείται από τις στήλες, τις αντλίες, τις δεξαμενές, τις βαλβίδες, τους εγχυτήρες, τους ανιχνευτές, τους συλλέκτες κλάσματος τον ελεγκτή συστημάτων και το καταγραφικό. Η πρόοδος της τεχνολογίας αλλάζει συνήθως τις μονάδες της στήλης, της αντλίας και του ανιχνευτή. Έτσι υπάρχουν στήλες ασφαλείας, παραγωγής, τριχοειδείς, γρήγορες, και προπαρασκευαστικές. Επίσης, αντλίες τύπου παλινδρομικές αντλίες, αντλίες σύριγγας και αντλίες σταθερής πίεσης. Ενώ, είδη ανιχνευτών είναι διαθλαστικών δεικτών, διαφορικών με δείκτη διάθλασης, υπεριώδους-ορατού φωτός, φθορισμού, υπερύθρου, ηλεκτροχημικός ανιχνευτής και ανιχνευτής φασματομέτρου μαζών.

1.2. ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ Ή ΑΠΟΔΟΣΗΣ, HPLC – (High Liquid Pressure Chromatography)

Στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης ή απόδοσης (ή απλώς υγρή χρωματογραφία), η στατική φάση είναι στερεό υπόστρωμα, που βρίσκεται συσκευασμένο σε στήλη, ενώ η κινητή φάση είναι υγρό. Η διαβίβαση της υγρής κινητής φάσης μέσα από τη στατική φάση πετυχαίνεται με την χρησιμοποίηση αντλιών υψηλής πίεσεως, όταν η στατική φάση αποτελείται από πολύς μικρής διαμέτρου κι επομένως μεγάλης αντίστασης, σωματίδια υψηλής διαχωριστικής απόδοσης (Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης ή Απόδοσης - HPLC).

Η υγρή χρωματογραφία είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για το διαχωρισμό και την ανάλυση μειγμάτων μοριακών ή ιοντικών ενώσεων με χαμηλές τάσεις ατμών, καθώς και θερμικά ασταθών ενώσεων, που δεν μπορούν να εξαερωθούν χωρίς να διασπασθούν. Η HPLC είναι σήμερα η περισσότερο χρησιμοποιούμενη χρωματογραφική τεχνική για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση πολύπλοκων μειγμάτων.

Για την καλύτερη κατανόηση της βασικής αρχής της χρωματογραφίας και συγκεκριμένα της υγρής χρωματογραφίας, δίνεται στην εικόνα 1.1. το σχηματικό διάγραμμα ενός χρωματογραφικού διαχωρισμού.



Εικόνα 1.1. – Διαχωρισμός Υγρής Χρωματογραφίας

Ορισμένη ποσότητα δείγματος δύο συστατικών, A και B, προστίθεται στην κινητή φάση στην κορυφή ή αρχή της στήλης. Καθώς το δείγμα μετακινείται στη στήλη, τα συστατικά του κατανέμονται, με κάποιο μηχανισμό, μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης. Το κλάσμα κάθε συστατικού, που βρίσκεται στην κινητή φάση, μετακινείται στη στήλη, ερχόμενο σε επαφή με νέο τμήμα της στατικής φάσης, οπότε συμβαίνει νέα κατανομή. Κατά τον ίδιο χρόνο, το κλάσμα του συστατικού, που βρισκόταν στη στατική φάση, έρχεται σε επαφή με νέο τμήμα της

κινητής φάσης, οπότε υφίσταται περαιτέρω κατανομή. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται πολλές φορές, καθώς διαβιβάζεται συνεχώς, και συνήθως με σταθερή παροχή και νέα κινητή φάση στη στήλη. Τα συστατικά μετακινούνται μέσα από τη στήλη, μόνο όταν βρίσκονται στην κινητή φάση και η ταχύτητα μετακινήσεως τους εξαρτάται από το κλάσμα του χρόνου παραμονής τους σε αυτή, το οποίο είναι συνάρτηση του συντελεστή κατανομής τους σε δύο φάσεις. Έτσι, συστατικά με διαφορετικούς συντελεστές κατανομής θα μετακινούνται με διαφορετικές ταχύτητες μέσα από τη στήλη, με αποτέλεσμα να διαχωρίζονται σε ζώνες, όπως φαίνεται στην εικόνα 1.1.. Στο τέλος τα διαχωρισμένα συστατικά εξέρχονται από τη στήλη, όπου μπορούν να ανιχνευθούν ή / και να συλλέγουν.

Η κινητή φάση (υγρό) ονομάζεται **υγρό έκλουσης** (eluent), ενώ το διάλυμα, που εξέρχεται από τη στήλη, **έκλουσμα** (eluate). Η διαδικασία αυτή, δηλαδή η διαβίβαση υγρού εκλούσεως μέσα από τη χρωματογραφική στήλη, ονομάζεται έκλουση και αν αυτή γίνεται με σταθερή παροχή, τότε η διαδικασία ονομάζεται **ισοκρατική έκλουση** (isocratic elution), διαφορετικά αν γίνεται με συνεχείς αλλαγές της παροχής, τότε θα ονομαστεί **βαθμιαία έκλουση** (gradient elution). Στο τέλος της στήλης τοποθετείται συνήθως ένας ανιχνευτής που παρακολουθεί μια αναλυτική ιδιότητα του εκλούσματος και παράγει ένα σήμα, κάθε φορά που εκλύεται ένα συστατικό (χρωματογραφική κορυφή).

Υπάρχουν δύο ειδών HPLC: Το **προπαρασκευαστικό HPLC** (preparative HPLC) που αναφέρεται στη διαδικασία της απομόνωσης και της αφαίρεσης ξένων ουσιών των ενώσεων. Σημαντικός είναι ο βαθμός καθαρότητας της διαλυτής ουσίας και του ρυθμού απόδοσης, ο οποίος είναι το ποσό ένωσης που παράγεται ανά μονάδα χρόνου. Το προπαρασκευαστικό HPLC διαφοροποιείται από το **αναλυτικό HPLC** (analytical HPLC), όπου η εστίαση είναι να ληφθούν πληροφορίες για το δείγμα ένωσης. Οι πληροφορίες που λαμβάνονται, περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό ουσίας, τον προσδιορισμό της ποσότητας της, και την ανάλυση μιας ένωσης.

Οι χημικοί διαχωρισμοί μπορούν να γίνουν με HPLC, μια και οι χημικές ενώσεις δίνουν διαφορετικούς χρόνους έκλουσης σε μια συγκεκριμένη στήλη και σε μια κινητή φάση. Κατά συνέπεια, ο χρωματογράφος μπορεί να διαχωρίσει τις ενώσεις τη μια από την άλλη χρησιμοποιώντας το HPLC, η έκταση ή ο βαθμός διαχωρισμού καθορίζεται συνήθως από την επιλογή της στάσιμης φάσης και της κινητής φάσης.

Η αφαίρεση ξένων ουσιών αναφέρεται στη διαδικασία διαχωρισμού ή στην αφαίρεση ένωσης από άλλες (ενδεχομένως δομικά σχετικές) ενώσεις ή μολυσματικούς παράγοντες. Κάθε ένωση πρέπει να έχει μια χαρακτηριστική κορυφή υπό ορισμένες χρωματογραφικές συνθήκες. Ανάλογα με αυτό που πρέπει να διαχωριστεί και πόσο πολύ χημικά όμοιες είναι οι ενώσεις, ο χρωματογράφος μπορεί να επιλέξει τις συνθήκες, όπως η κατάλληλη κινητή φάση, για να

επιτρέψει στον επαρκή διαχωρισμό προκειμένου να συλλέξει ή να εξάγει την επιθυμητή ένωση. Η έκλυση των ενώσεων και οι μολυσματικοί παράγοντες μέσω της στήλης πρέπει να διαφέρουν αρκετά έτσι ώστε η καθαρή επιθυμητή ένωση να μπορεί να συλλεχθεί ή να εξαχθεί χωρίς να υποστεί οποιαδήποτε άλλη ανεπιθύμητη αλλοίωση.

Ο προσδιορισμός των ενώσεων με χρήση HPLC είναι ένα κρίσιμο μέρος οποιασδήποτε συστήματος HPLC. Προκειμένου να προσδιοριστεί οποιαδήποτε ένωση από το HPLC επιλέγουμε πρώτα τον τύπο του ανιχνευτή. Μόλις επιλεγεί ο ανιχνευτής και τεθεί στις βέλτιστες ρυθμίσεις ανίχνευσης, μπορούμε να αναπτύξουμε μια ανάλυση διαχωρισμού. Οι παράμετροι αυτής της ανάλυσης πρέπει να είναι τέτοιες που να παρατηρείται μια καθαρή κορυφή του γνωστού δείγματος στο χρωματογράφημα. Η προσδιοριζόμενη κορυφή πρέπει να έχει έναν λογικό χρόνο διατήρησης και πρέπει να διαχωριστεί καλά από ξένες κορυφές στα επίπεδα ανίχνευσης, στα οποία εκτελούμε την ανάλυση. Διάφορες παράμετροι επηρεάζουν το χρόνο διατήρησης μιας ένωσης στην στήλη. Ο πρώτος είναι η επιλογή της στήλης, άλλος παράγοντας είναι η επιλογή της κινητής φάσης, και τελευταίος είναι η επιλογή της ταχύτητας ροής.

Ο προσδιορισμός μιας ένωσης από το HPLC ολοκληρώνεται με την έρευνα της βιβλιογραφίας και με τεχνικές δοκιμής – λάθους. Ένα δείγμα μιας γνωστής ένωσης πρέπει να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να βεβαιωθεί ο προσδιορισμός της άγνωστης ένωσης. Ο προσδιορισμός των ενώσεων μπορεί να βεβαιωθεί με το συνδυασμό δύο ή περισσότερων μεθόδων ανίχνευσης.

Ο προσδιορισμός της ποσότητας των ενώσεων από το HPLC είναι η διαδικασία προσδιορισμού άγνωστης συγκέντρωσης μιας ένωσης σε ένα γνωστό διάλυμα. Περιλαμβάνει την έγχυση μιας σειράς γνωστών συγκεντρώσεων ενός σταθερού διαλύματος ενώσεων στο HPLC για την ανίχνευση. Ο χρωματογράφος αυτών των γνωστών συγκεντρώσεων θα δώσει μια σειρά κορυφών που συσχετίζονται στη συγκέντρωση της ένωσης που εγχέεται. Το διάγραμμα αυτό ως συνάρτηση του όγκου του εκλούσεως ονομάζεται χρωματογράφημα. Τα χρωματογραφήματα εκλούσεως παρέχουν πληροφορίες, χρήσιμες για την ποιοτική και την ποσοτική ανάλυση, επειδή ο χρόνος που χρειάζεται ένα συστατικό για να εκλουσθεί, είναι χαρακτηριστικός για το συστατικό αυτό, ενώ το ύψος ή η ολοκληρωμένη επιφάνεια της κορυφής του σήματος μπορεί να συσχετισθεί με την συγκέντρωση του συστατικού.

1.3. ΤΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HPLC

Η επίτευξη ταχύτερων και αποδοτικότερων διαχωρισμών με τη χρησιμοποίηση λεπτότατα διαμερισμένου πληρωτικού υλικού στηλών, απαιτεί υψηλή πίεση και ειδικές συσκευές για την επίτευξη και αντιμετώπιση της. Έτσι, απαιτούνται συνήθως πιέσεις 7-35 Mpa (MegaPascal, 1atm = 101,325 Pa), δηλαδή 70-350 atm, για να επιτευχθεί ταχύτητα ροής 0,5 – 5 mL / min, σε στήλες διαμέτρου 1 – 5 mm και μήκους 10 – 50 cm, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις απαιτούνται πιέσεις και μέχρι 41 Mpa. (Μία άλλη μονάδα πίεσεως, που χρησιμοποιείται στην υγρή χρωματογραφία HPLC είναι η psi, 1 psi = 0,068 atm = 6,890 Pa). Το 80 – 90% των διαχωρισμών με HPLC, πετυχαίνονται με πιέσεις μικρότερες των 8,3 Mpa (1200 psi). Μερικά νέα υλικά πληρώσεως στηλών (πολυουρεθάνες) απαιτούν πολύ χαμηλές πιέσεις, σχεδόν ατμοσφαιρικές.

Ένα σύστημα HPLC περιλαμβάνει εξαρτήματα ή πλήρεις χρωματογραφικές μονάδες. Συνήθως αποτελείται από:

1. τις στήλες και τα εξαρτήματά τους (προσαρμογείς, φίλτρα, περιβλήματα, συσκευές ελέγχου)
2. τα συστήματα παροχής της κινητής φάσης ή τις αντλίες
3. τις δεξαμενές κινητής φάσης
4. τα συστήματα εισαγωγής δείγματος ή εγχυτήρες (που χρησιμοποιούνται για να εφαρμόσουν τα δείγματα υπό πίεση στη στήλη)
5. τους ανιχνευτές (για να μετρήσουν την παρουσία διαλυτών ουσιών)
6. και από το καταγραφικό σύστημα ή/και σύστημα υπολογιστή

Ένα σύστημα HPLC περιλαμβάνει τα παρακάτω βασικά κύρια μέρη που παρουσιάζονται στις παρακάτω παραγράφους:

1.3.1. Σύστημα Παροχής Κινητής Φάσης

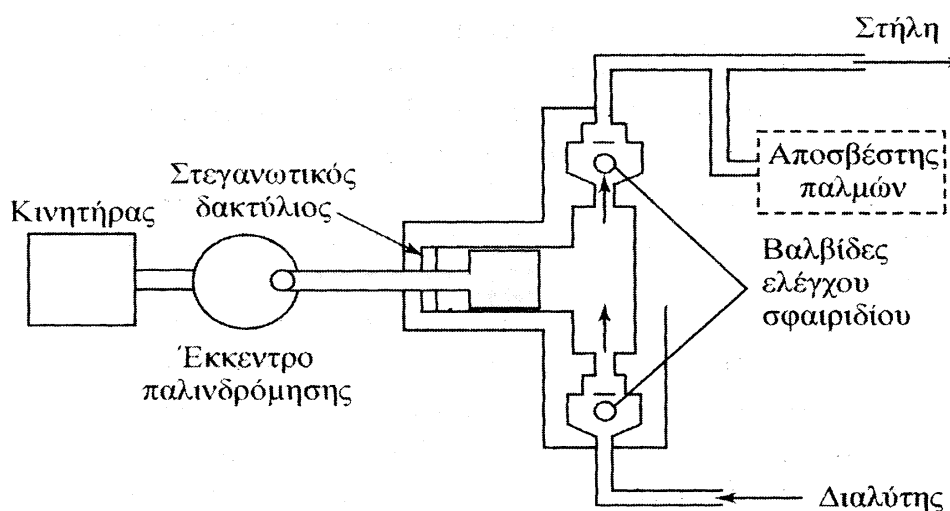
Αποτελείται από μια αντλία υψηλής πίεσεως και συνήθως ένα σύστημα για τη βαθμιαία αλλαγή της σύστασης της κινητής φάσης. Σε αντίθεση με την ισοκρατική έκλουση, στην οποία η κινητή φάση έχει σταθερή σύσταση, στη **βαθμωτή έκλουση** (gradient elution) η σύσταση της κινητής φάσης μεταβάλλεται βαθμιαία ή κατά τακτά χρονικά διαστήματα, με βάση διάφορα προγράμματα. Για την επίτευξη της βαθμωτής έκλουσης, απαιτείται μονάδα προγραμματισμού κι ελέγχου του συστήματος παροχής, που συνήθως ελέγχεται από μικροϋπολογιστή ή ηλεκτρονικό κύκλωμα. Η σύνθεση της κινητής φάσης μπορεί να κρατηθεί σταθερή κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού ή μπορεί να αλλάζει κατά τη διάρκεια της βαθμωτής έκλουσης.

Υπάρχουν δύο επιλογές για τη λειτουργία του συστήματος παροχής κινητής φάσης: μίξη υψηλής πίεσης (που απαιτεί μια αντλία για κάθε διαλύτη) και μίξη χαμηλής πίεσης (που απαιτεί μόνο μια αντλία).

Τα δοχεία αποθηκείσεως διαλυτών πληρώνονται με διαλύτες διαφορετικής πολικότητας (με την προϋπόθεση ότι είναι αναμίξιμοι) ή διαλύματα διαφορετικού pH ή διαφορετικής ιονικής ισχύος ή συγκεντρώσεως κάποιου άλατος, ανάλογα με το είδος του μηχανισμού διαχωρισμού, και αναμιγνύονται στον θάλαμο αναμίξεως πριν την προώθηση τους από την αντλία. Οι διαλύτες πρέπει να είναι καθαροί και να απαερώνονται.

Η ιδανική αντλία πρέπει να είναι ικανή να παραδίδει ένα ευρύ φάσμα σταθερών και ακριβών ποσοστών ροής στη (κορυφή) της στήλης. Οι απαιτήσεις ενός συστήματος άντλησης στην HPLC είναι αυστηρές και περιλαμβάνουν: α) ανάπτυξη πιέσεων μέχρι 600 psi, β) απαλλαγή από παλμούς ροής, γ) ταχύτητες ροής που κυμαίνονται από 0,1 έως 10 mL / min, δ) έλεγχο ροής και επαναληψιμότητα ροής 0,5% ή καλύτερη και ε) τμήματα ανθεκτικά στην διάβρωση (φλάντζες από ανοξείδωτο χάλυβα ή Teflon). Οι υψηλές πιέσεις από τις αντλίες της υγρής χρωματογραφίας, δεν δημιουργούν κίνδυνο έκρηξης, επειδή τα υγρά δεν είναι πολύ συμπίεσιμα. Συνεπώς, η ρήξη ενός τμήματος του συστήματος μπορεί να προκαλέσει μόνο τη διαρροή του διαλύτη. Μερικά μέσα πλήρωσης προσφέρουν ουσιαστική αντίσταση στη ροή κι επομένως απαιτείται ικανότητα υψηλής πίεσης. Υπάρχουν τρεις τύποι αντλιών, που ο καθένας έχει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά του: οι παλινδρομικές αντλίες, οι αντλίες σύριγγας ή εκτόπισης και οι αντλίες πνευματικές ή σταθερής πίεσης.

Οι **παλινδρομικές αντλίες** χρησιμοποιούνται σήμερα στο 90% των εμπορικά διαθέσιμων συστημάτων HPLC και αποτελούνται συνήθως από ένα μικρό θάλαμο, στον οποίο ο διαλύτης αντλείται παλινδρομικά με ένα μηχανικά κινούμενο έμβολο όπως είναι το παρακάτω σχήμα 1.1.



Σχήμα 1. 1. – Παλινδρομική Αντλία Με Απόσβεση Παλμών

Δύο σφαιρικές βαλβίδες ανοίγουν και κλείνουν εκ περιτροπής κι ελέγχουν τη ροή του διαλύτη μέσα και έξω από ένα κύλινδρο. Ο διαλύτης βρίσκεται σε άμεση επαφή με το έμβολο, το οποίο κινείται παλινδρομικά σε μια υδραυλική αίθουσα που μπορεί να ποικίλει από 35 - 400 μl σε όγκο. Στο πίσω μέρος, η βαλβίδα στηλών διαχωρισμού είναι κλειστή, και το έμβολο τραβά στο διαλύτη από τη δεξαμενή κινητής φάσης. Στο μπροστινό μέρος, η αντλία ωθεί το διαλύτη έξω από τη στήλη, από τη δεξαμενή. Ένα ευρύ φάσμα των ταχυτήτων ροής μπορεί να επιτευχθεί με την αλλαγή του όγκου κτυπήματος εμβόλων κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου, ή με την αλλαγή της συχνότητας κτυπήματος. Εναλλακτικά, μπορεί να μεταδίδεται πίεση στον διαλύτη μέσω ενός εύκαμπτου διαφράγματος, το οποίο με τη σειρά του αντλείται πνευματικά από ένα παλινδρομικό έμβολο. Οι αντλίες αυτές έχουν το μειονέκτημα ότι παράγουν παλμούς ροής, που πρέπει να αποσβένονται, επειδή η παρουσία τους γίνεται εμφανής ως θόρυβος στην βασική γραμμή αναφοράς του χρωματογραφήματος. Πλεονεκτήματα των παλινδρομικών αντλιών είναι οι μικροί εσωτερικοί (όγκοι 35 έως 400 μL), οι υψηλές πιέσεις (μέχρι 10000 psi), η εύκολη προσαρμογή σε βαθμωτή έκλυση και οι σταθερές ταχύτητες ροής, οι οποίες είναι ανεξάρτητες από την **οπισθοπίεση** (backpressure) της στήλης και το ιξώδες του διαλύτη. Υπάρχουν τέλος, διπλές και τριπλές κεφαλές αντλιών που αποτελούνται από τις ίδιες μονάδες εμβόλου-θαλάμου, οι οποίες λειτουργούν σε 180 ή 120 βαθμούς διαφορά φάσης. Αυτός ο τύπος συστήματος αντλιών είναι σημαντικά ομαλότερος επειδή μια αντλία γεμίζει ενώ η άλλη είναι στον κύκλο παράδοσης.

Οι **αντλίες τύπου σύριγγας ή εκτόπισης**, είναι οι καταλληλότερες για στήλες μικρής διαμέτρου, επειδή αυτή η αντλία παραδίδει μόνο έναν πεπερασμένο όγκο της κινητής φάσης προτού να χρειαστεί να ξαναγεμίσει. Αυτές οι αντλίες έχουν έναν όγκο μεταξύ 250 έως 500 ml. Οι αντλίες εκτόπισης συνήθως αποτελούνται από μεγάλους θαλάμους τύπου συριγγών εφοδιασμένες με ένα έμβολο, που ενεργοποιείται από ένα κοχλιωτό μηχανισμό ο οποίος οδηγείται από ένα βηματικό κινητήρα και μια μηχανοποιημένη βίδα μολύβδου που παραδίδει την κινητή φάση στη στήλη σε ένα σταθερό ποσοστό. Η αλλαγή της τάσης στη μηχανή ελέγχει το ποσοστό διαλυτικής παράδοσης. Οι αντλίες εκτόπισης παράγουν ροή σχεδόν ανεξάρτητη από το ιξώδες και την οπισθοπίεση. Επιπλέον, η ροή είναι απαλλαγμένη από τις παλμικές διακυμάνσεις. Στα μειονεκτήματα τους περιλαμβάνονται η περιορισμένη χωρητικότητα διαλύτη (250 mL) και η σημαντική δυσκολία κατά την αλλαγή των διαλυτών.

Στις **σταθερές αντλίες πίεσης ή πνευματικές αντλίες**, η κινητή φάση περιέχεται σε ένα πτυσσόμενο δοχείο που βρίσκεται σε χώρο, που μπορεί να συμπιέζεται με πεπιεσμένο αέριο και οδηγείται μέσω της στήλης με τη χρήση της πίεσης από έναν κύλινδρο αερίου. Μια χαμηλής πίεσεως πηγή αερίου απαιτείται για να παραγάγει τις υψηλές υγρές πιέσεις. Οι αντλίες του τύπου αυτού είναι φθηνές και απαλλαγμένες από παλμικές ροές, ενώ η ρύθμιση της βαλβίδας επιτρέπει

το γρήγορο ξαναγέμισμα του θαλάμου του διαλύτη του οποίου η χωρητικότητα είναι περίπου 70 ml. Αυτό παρέχει ποσοστά συνεχούς ροής κινητής φάσης. Ωστόσο, έχουν μικρή χωρητικότητα και χαμηλή παρεχόμενη πίεση και η ταχύτητα ροής εξαρτάται από το ιξώδες και την οπισθοπίεση της στήλης. Ενώ, δεν προσαρμόζονται σε βαθμωτή έκλυση και περιορίζονται σε πιέσεις μικρότερες από 2000 psi.

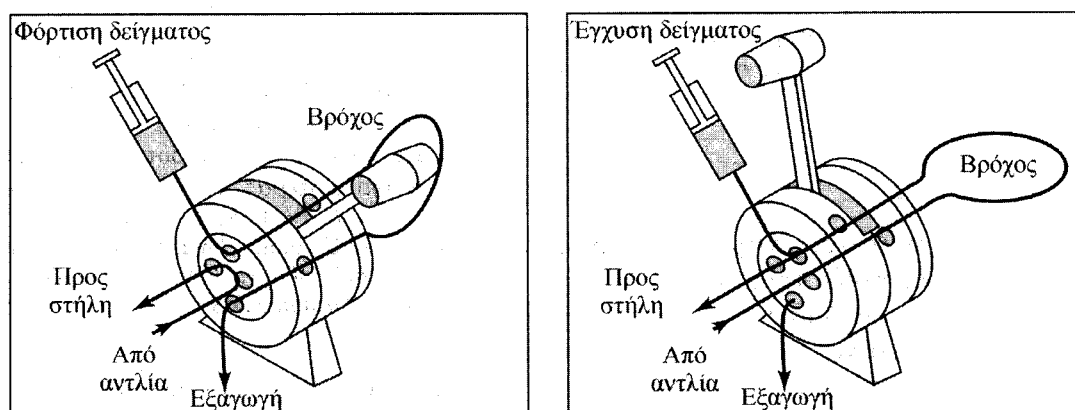
Επειδή, κατά τη λειτουργία της αντλίας δημιουργούνται παλμοί ροής που διαταράσσουν τη σταθερότητα του χρωματογραφήματος, παρεμβάλλεται μία συσκευή αποσβέσεως των παλμών για την εξομάλυνση του καταγραφήματος, όπως φαίνεται στο σχήμα 1.1.

1.3.2. Σύστημα Έγχυσης Δείγματος

Συχνά, ο περιοριστικός παράγοντας στην επαναληψιμότητα των μετρήσεων στην υγρή χρωματογραφία είναι ο τρόπος εισαγωγής των δειγμάτων στη στήλη. Το πρόβλημα επιδεινώνεται με τη διεύρυνση των κορυφών, που προκαλεί η υπερφόρτωση των στηλών. Ο **εγχυτήρας δείγματος** (sample injector) τοποθετεί το δείγμα στην κινητή φάση και περιλαμβάνει έναν βρόγχο δείγματος 20 μl. Ο απλός και ο πιο παλιός τρόπος εισαγωγής δείγματος ήταν η έγχυση με σύριγγα μέσω ενός **ελαστικού διαφράγματος** γνωστού ως septum. Το πλεονέκτημα της συνθήκης αυτής είναι η απλότητα της. Δυστυχώς, η επαναληψιμότητα της έγχυσης με σύριγγα, σπάνια είναι καλύτερη από 2% έως 3%.

Σήμερα, είναι διαθέσιμοι και **αυτοματοποιημένοι εγχυτήρες** (autosamplers) για HPLC.

Η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος εισαγωγής δείγματος στην υγρή χρωματογραφία βασίζεται σε βρόγχους δειγμάτων, όπως αυτός που φαίνεται στο σχήμα 1.2.

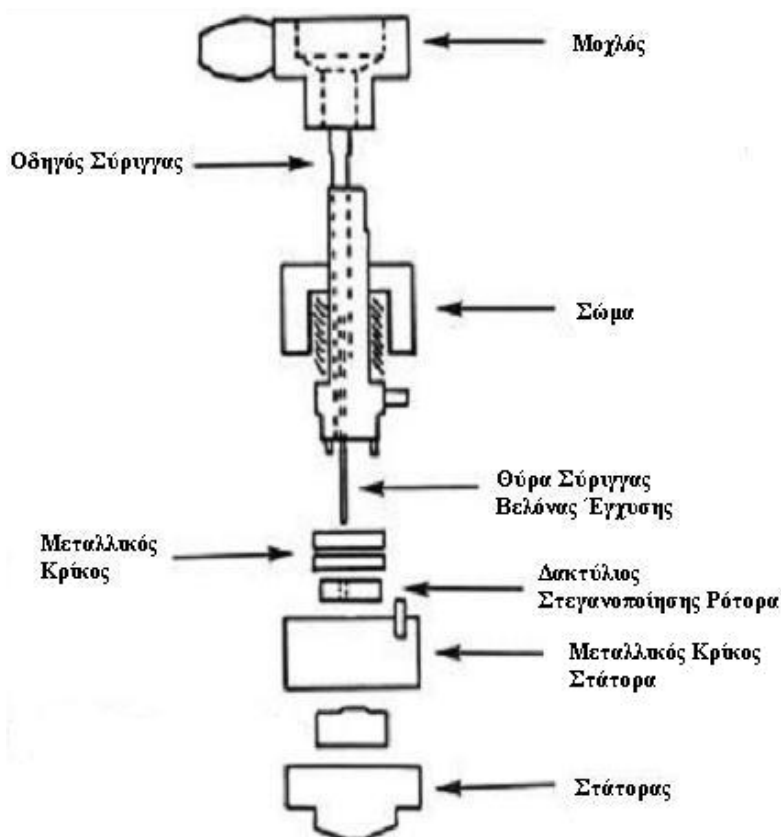


Σχήμα 1. 2. – Αυτοματοποιημένοι Εγχυτήρες 6 Διαύλων

Μια περιστρεφόμενη βαλβίδα υψηλής πίεσης, με **βρόγχο δείγματος** (sample loop). Αποτελείται από ένα ακίνητο χαλύβδινο κύλινδρο με 6 διαύλους, από τους οποίους ο ένας οδηγεί στη στήλη. Μέσα στο χαλύβδινο κύλινδρο υπάρχει ένας κινητός κύλινδρος από Teflon, ο οποίος διαθέτει τρεις αύλακες, ο καθένας από τους οποίους συνδέει ένα ζευγάρι διαύλων. Στη

θέση φορτώσεως, η κινητή φάση προωθείται προς τη στήλη, ενώ με τη βοήθεια ειδικής **σύριγγας** (syringe) πληρώνεται ο βρόγχος δείγματος με το προς ανάλυση διάλυμα του δείγματος. Στη θέση εισαγωγής ο δακτύλιος έχει στραφεί κατά 30° , οπότε η κινητή φάση παρασύρει ποσοτικά τον όγκο του δείγματος και τον προωθεί προς τη στήλη.

Τα δείγματα εγχέονται στο HPLC μέσω μιας **θύρας εγχύσεων** (injection port), στο κεφάλι της στήλης (στενή ζώνη), με την ελάχιστη διαταραχή στο θαλαμίσκο της στήλης, είναι σημαντικό να εισάγεται το δείγμα χωρίς να προκαλείται διαταραχή της ροής του συστήματος. Αυτό πρέπει να γίνει χωρίς παύση της ροής του διαλύτη στη στήλη, χρησιμοποιώντας βαλβίδες βρόχων δείγματος υψηλής πίεσης ανοξείδωτου χάλυβα. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται μικροσύριγγες σχεδιασμένες να αντέχουν σε πιέσεις μέχρι 1500 psi. Στη **θέση πλήρωσης**, η ανακύκλωση του δείγματος γεμίζει με αέρα σε ατμοσφαιρική πίεση. Όταν η βαλβίδα ωθείται, το δείγμα ανακύκλωσης περνάει στη στήλη.



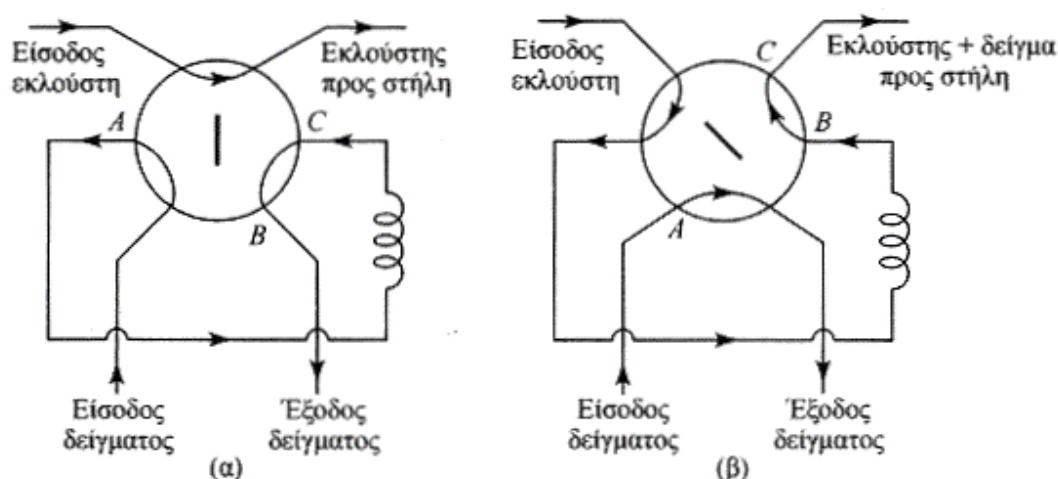
Σχήμα 1. 3. - Αναλυτικό Σύστημα Έγχυσης

Η θύρα έγχυσης ενός HPLC αποτελείται συνήθως από μια βαλβίδα έγχυσης και το βρόγχο δείγματος. Το δείγμα τυπικά διαλύεται στην κινητή φάση πριν από την έγχυση στο βρόγχο δείγματος. Το δείγμα σύρεται έπειτα σε μια σύριγγα και εγχέεται στο βρόγχο μέσω της **βαλβίδας έγχυσης** (injection valve). Μια περιστροφή του **ρότορα βαλβίδας** (rotor valve) κλείνει τη βαλβίδα και ανοίγει το βρόγχο προκειμένου να εγχυθεί το δείγμα στο ρεύμα της

κινητής φάσης. Οι διατάξεις αυτές είναι συχνά είναι ένα αλληλένδετο τμήμα ενός συστήματος HPLC με βρόγχους μεταβλητού όγκου από 5 έως 500 μL . Με βρόγχους αυτού του τύπου εισάγονται δείγματα σε πιέσεις μέχρι 7000 psi με επαναληψιμότητα όγκου έγχυσης μέχρι 1%. Επίσης, είναι διαθέσιμες βαλβίδες έγχυσης για μικροόγκους με βρόγχους δείγματος από 0,5 έως 5 μL .

Η έγχυση stopped-flow είναι μια μέθοδος με την οποία η αντλία κλείνει, επιτρέποντας την θύρα έγχυσης να αποκτήσει ατμοσφαιρική πίεση. Η σύριγγα που περιέχει το δείγμα εγχέεται έπειτα στη βαλβίδα με το συνηθισμένο τρόπο, και η αντλία ανοίγει. Για τύπους συριγγών και για τη παλινδρομική κίνηση των αντλιών, η ροή στη στήλη μπορεί να παρουσιαστεί μηδέν και να επαναληφθεί γρήγορα με την παρέκκλιση της κινητής φάσης με τη βοήθεια μιας τριπλής βαλβίδας που τοποθετείται μπροστά από τον εγχυτήρα. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολύ υψηλές πιέσεις.

Η περιστροφική βαλβίδα δείγματος, που απεικονίζεται στο σχήμα 1.4.,



Σχήμα 1. 4. – Περιστροφική Βαλβίδα Δείγματος

χρησιμοποιείται για ποσοτικές μετρήσεις. Στην θέση 1.4.α) υπάρχει η θέση πλήρωσης του βρόγχου δείγματος ACB, ενώ στην θέση 1.4.β) υπάρχει η εισαγωγή του δείγματος στη στήλη. Με την βαλβίδα αυτή τα σφάλματα που οφείλονται στην ποσότητα του δείγματος, περιορίζονται στο 0,5 έως 2%. Κατά την έγχυση του δείγματος πληρούται ο βρόγχος του δείγματος (α). Με περιστροφή της βαλβίδας κατά 45 μοίρες, το δείγμα που καταλαμβάνει τον αναπαραγωγίμο όγκο ACB, εισάγεται στην κινητή φάση.

1.3.3. Στήλη

Η στήλη είναι η καρδιά του χρωματογραφικού συστήματος γιατί περιέχει τη στάσιμη φάση. Η επιτυχία ή η αποτυχία του διαχωρισμού εξαρτάται από την επιλογή της καθώς επίσης

και το υλικό περιβλήματος (μέσο). Οι στήλες αποτελούνται γενικά από γυαλί, από ακρυλικό ή ανοξειδωτο χάλυβα. Ποικίλλουν σε διάμετρο από μερικά χιλιοστάμετρα ή περισσότερο και σε μήκος από μερικά εκατοστάμετρα και πάνω. Η πλήρωση τέτοιων στηλών είναι πολύ δύσκολο να γίνει από τον αναλυτή και για αυτό οι στήλες συνήθως αγοράζονται έτοιμες από τις διάφορες παρασκευάστριες εταιρείες.

Η προηγούμενη δεκαετία είχε μια απέραντη ανάπτυξη σε **μικροστήλες** (micro-columns), και σε άλλες ειδικευμένες στήλες. Οι διαστάσεις μιας τυπικής στήλης HPLC είναι: XXX mm. στο μήκος με μια εσωτερική διάμετρο μεταξύ 3-5 mm.. Η συνηθισμένη διάμετρος των μικροστηλών, ή τριχοειδών στηλών, κυμαίνεται από 3 μm σε 200 μm.

Η παρασκευή των στηλών είναι ένα πολύ κρίσιμο στάδιο για την καλή απόδοση της τεχνικής. Μια καλά πληρωμένη στήλη, μπορεί να έχει μια απόδοση περίπου 400 θεωρητικών πλακών ανά cm με σωματίδια 5-10μm. Συνηθισμένο μήκος στήλης είναι 20-25 cm. Η υψηλή πίεση και οι μεγάλες ταχύτητες ροής, που χρησιμοποιούνται στην HPLC, έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση της λεπτής στιβάδας της στατικής φάσης από την κινητή. Για την αποφυγή αυτού του προβλήματος, χρησιμοποιούνται πορώδη σφαιρίδια διοξειδίου του πυριτίου τα οποία εστεροποιούνται με διάφορες αλκοόλες και σχηματίζουν τους αντίστοιχους πυριτικούς εστέρες.

Το περισσότερο χρησιμοποιούμενο υλικό για την παρασκευή στατικής φάσης προσροφήσεως είναι η πηκτή διοξειδίου του πυριτίου (Silica gel, $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$). Το μέγεθος των πόρων, η ενεργή επιφάνεια και το pH της επιφάνειας της στατικής φάσεως εξαρτώνται από τις συνθήκες παρασκευής της. Τα ενεργά κέντρα προσροφήσεως είναι οι επιφανειακές ομάδες Si-O-H, που ενεργοποιούνται με θέρμανση της πηκτής στους 200 °C για την εκδίωξη του νερού που προσροφάται από αυτές από την ατμόσφαιρα. Η πηκτή διοξειδίου του πυριτίου είναι ασθενής όξινη και για αυτό τον λόγο αλληλεπιδρά ισχυρά με βασικά συστατικά.

Ένα άλλο υλικό είναι το τριοξείδιο του αργιλίου (alumina, $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$), που ενεργοποιείται με πύρωση στους 1100 °C. Κάνοντας πύρωση στους 400 °C, παρέχει ένα υψηλής ενεργότητας προσροφητικό υλικό. Με εξισορρόπηση του υλικού αυτού με νερό, λαμβάνονται υλικά μικρότερης ενεργότητας με περιεκτικότητα σε νερό. Το ενεργοποιημένο τριοξείδιο του αργιλίου είναι ασθενώς βασικό και έχει την συμπεριφορά τα βασικά κέντρα να προσροφούν τα ισχυρώς όξινα συστατικά.

Αποδοτικότητα Στήλης

Η **αποδοτικότητα στήλης** (column efficiency) αναφέρεται στην απόδοση της στάσιμης φάσης ως προς την ολοκλήρωση συγκεκριμένων διαχωρισμών. Αυτό συνεπάγεται πόσο καλό είναι το περίβλημα της στήλης και η κινητική απόδοσή της. Η αποδοτικότητα μιας στήλης μπορεί να μετρηθεί με διάφορες μεθόδους, οι οποίες μπορούν ή δεν μπορούν να επηρεαστούν

από τις χρωματογραφικές ανωμαλίες, όπως "η παρακολούθηση" ή η εμφάνιση ενός "μετώπου". Αυτό είναι σημαντικό επειδή πολλές χρωματογραφικές κορυφές δεν εμφανίζονται στην πρότυπη μορφή, της κανονικής - Gaussian- κατανομής. Για τον λόγο αυτό, η αποδοτικότητα μπορεί να έχει μια «αινιγματική» τιμή δεδομένου ότι οι κατασκευαστές μπορούν να χρησιμοποιήσουν διαφορετικές μεθόδους στον καθορισμό της αποδοτικότητας των στηλών τους.

Στην Εξίσωση 1.1 παρουσιάζονται ο μαθηματικός τύπος υπολογισμού της αποδοτικότητας στήλης ή του αριθμού **N των θεωρητικών πλακών** (theoretical plates):

$$N = a * \frac{t_r^2}{W^2}$$

Εξίσωση 1. 1. – Υπολογισμός Αποδοτικότητας της Στήλης

Όπου, a : σταθερά, εξαρτάται από το ύψος στο οποίο μετράται το πλάτος της κορυφής

t_r : χρόνος διατήρησης

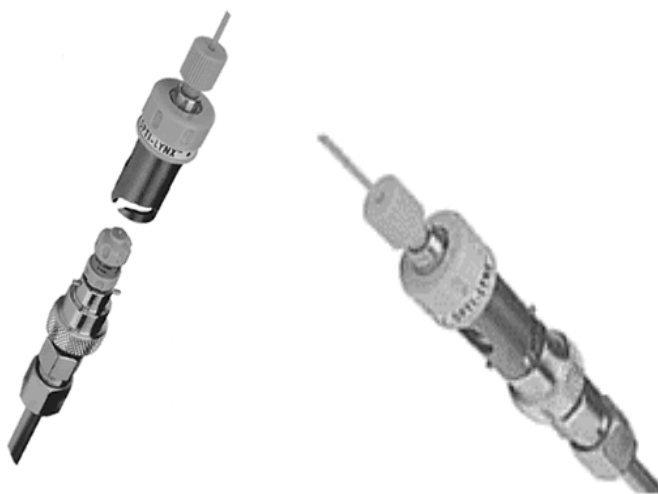
W : πλάτος κορυφής

Είδη στηλών HPLC

Στις παρακάτω παραγράφους περιγράφονται τα είδη και οι χρήσεις των στηλών.

Στήλες ασφαλείας (Guard columns)

Τοποθετούνται μπροστά από τη στήλη διαχωρισμού (εικόνα 1.1.). Αυτό χρησιμεύει ως ένας προστατευτικός παράγοντας που παρατείνει τη ζωή και τη χρησιμότητα της στήλης διαχωρισμού.



Εικόνα 1. 2. – Στήλη Ασφαλείας

Είναι στήλες που σχεδιάστηκαν να φιλτράρουν ή να αφαιρούν:

- 1) μόρια που φράζουν τη στήλη διαχωρισμού
- 2) ενώσεις και ιόντα που θα μπορούσαν τελικά να προκαλέσουν τη «κλίση» στη βασική γραμμή αναφοράς, μειώνοντας έτσι την ανάλυση, την ευαισθησία και δημιουργώντας λανθασμένες κορυφές
- 3) ενώσεις που μπορούν να προκαλέσουν καθίζηση πάνω στην επαφή με τη στάσιμη ή με τη κινητή φάση και
- 4) ενώσεις που να εξάγουν και να προκαλούν ξένες κορυφές και να παρεμποδίζουν την ανίχνευση ή /και τον προσδιορισμό της ποσότητας.

Αυτές οι στήλες πρέπει να αλλάζουν σε κανονική βάση προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η προστατευτική τους λειτουργία. Το μέγεθος του περιβλήματος ποικίλλει με τον τύπο προστασίας που απαιτείται.

Στήλες παραγωγής (Derivatizing columns)

Πριν – ή μετά – η αρχική στήλη παραγωγής μπορεί να είναι μια σημαντική πτυχή της ανάλυσης δείγματος. Η μείωση ή η αλλαγή της αρχικής ένωσης σε ένα χημικά σχετικό μόριο ή ένα τεμάχιο που προήλθε από την μητρική ένωση αποσπά συγκεκριμένα δεδομένα, τα οποία μπορούν να συμπληρώσουν άλλα αποτελέσματα ή προγενέστερη ανάλυση. Σε λίγες περιπτώσεις, το βήμα παραγωγής μπορεί να χρησιμεύσει, ώστε να αναγκάσει τα δεδομένα να γίνουν αμφισβητήσιμα, λόγος για τον οποίο το HPLC έχει περισσότερα πλεονεκτήματα από την αέρια χρωματογραφία. Επειδή η αέρια χρωματογραφία απαιτεί πτητικό υλικό, θερμική σταθερότητα, ή μη πολικούς αναλυτές, η στήλη παραγωγής απαιτήθηκε συνήθως για εκείνα τα δείγματα, τα οποία δεν περιείχαν αυτές τις ιδιότητες. Η ακετυλίωση, η silylation, ή η όξινη υδρόλυση είναι μερικές τεχνικές παραγωγής.

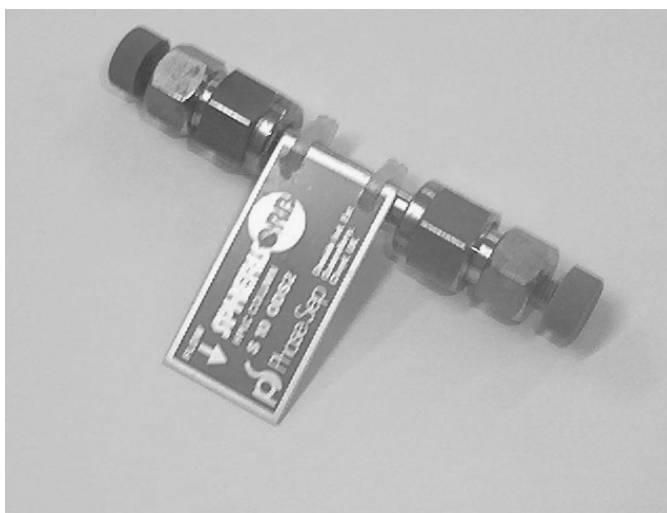
Τριχοειδείς στήλες (Capillary columns)

Πλεονέκτημα αυτών των στηλών είναι ότι μειώνει το μέγεθος (μήκος) των αναλυτικών στηλών. Επίσης γνωστές ως **μικρο-στήλες**, οι τριχοειδείς στήλες έχουν μια διάμετρο πολύ μικρότερη από ένα χιλιοστόμετρο και υπάρχουν τρεις τύποι: **ανοικτή-σωληνοειδής**, με **αραιό περίβλημα** και με **πυκνό περίβλημα**. Επιτρέπουν στο χρήστη να δουλέψει με όγκους δειγμάτων της τάξεως του νανόλιτρου (nl), με μειωμένο ποσοστό ροής, και με χρήση μειωμένου όγκου διαλύτη και μπορούν να οδηγήσουν στην αποτελεσματική μείωση δαπανών (π.χ. στον όγκο διαλύτη). Οι στήλες μικρής και micro διαμέτρου χρησιμοποιούνται επίσης για τις αναλυτικές και μικρές δοκιμές όγκων. Μια χαρακτηριστική διάμετρος για μια στήλη μικρής διαμέτρου είναι 1-2 mm. Όπως τις τριχοειδείς στήλες, τα όργανα πρέπει συνήθως να τροποποιηθούν για να

προσαρμόσουν αυτές τις στήλες μικρής ικανότητας (π.χ. μειωμένο ποσοστό ροής). Εντούτοις, εκτός από το πλεονέκτημα του όγκου μικρότερου δείγματος και του όγκου κινητής φάσης, υπάρχει μια σημειωμένη αύξηση στη μαζική ευαισθησία χωρίς σημαντική απώλεια στην ανάλυση.

Γρήγορες στήλες (Fast columns)

Ένας από τους αρχικούς λόγους για τη χρήση αυτών των στηλών, είναι να ληφθεί πιο βελτιωμένη απόδοση δείγματος (ποσό ένωσης ανά χρονική μονάδα). Για πολλές στήλες, η αύξηση του ποσοστού ροής ή του ποσοστού μεταφοράς μέσω της στάσιμης φάσης έχει επιπτώσεις στην ανάλυση και το διαχωρισμό. Επομένως, οι γρήγορες στήλες σχεδιάζονται για να μειώσουν το χρόνο της χρωματογραφικής ανάλυσης χωρίς σημαντικές αποκλίσεις στα αποτελέσματα. Αυτές οι στήλες έχουν την ίδια εσωτερική διάμετρο αλλά πολύ πιο μικρό μήκος από τις περισσότερες άλλες στήλες, όπως φαίνεται και στην εικόνα 1.3.

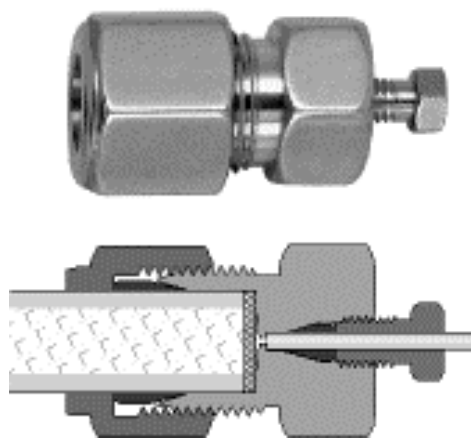


Εικόνα 1. 3. – Γρήγορη Στήλη

Οι γρήγορες στήλες περιβάλλονται με μικρότερα μόρια που είναι τυπικά σε διάμετρο 3 μm. Στα πλεονεκτήματα τους είναι η αυξανόμενη ευαισθησία, ο μειωμένος χρόνος ανάλυσης, η μειωμένη χρήση κινητής φάσης, και η αυξανόμενη δυνατότητα αναπαραγωγής.

Προπαρασκευαστικές στήλες (Preparative columns)

Αυτές οι στήλες χρησιμοποιούνται, για την προετοιμασία ενός όγκου δείγματος για εργαστηριακές προπαρασκευαστικές εφαρμογές. Μια προπαρασκευαστική στήλη (Εικόνα 1.4.) έχει συνήθως μια μεγάλη διάμετρο, η οποία σχεδιάζεται για να διευκολύνει τις μεγάλες εγχύσεις όγκου στο σύστημα HPLC.



Εικόνα 1. 4. – Προπαρασκευαστική Στήλη

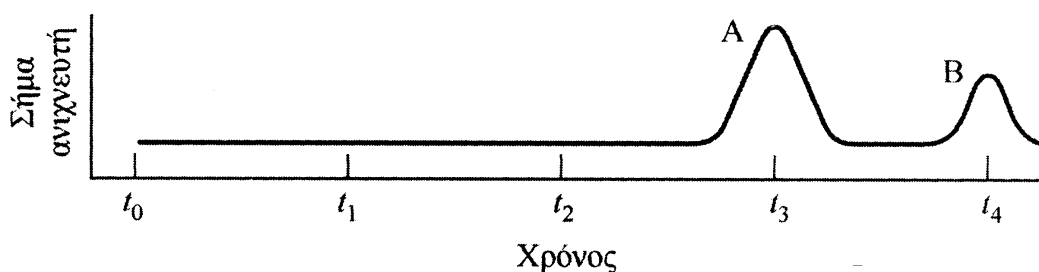
Σημαντικά εξαρτήματα που αναφέρονται είναι ο **ρυθμιστής οπισθοπίεσης** (backpressure controller) και ο **συλλέκτης κλάσματος** (sample collection). Ο ρυθμιστής οπισθοπίεσης τοποθετείται αμέσως μετά τον ανιχνευτή HPLC. Έχει ως σκοπό να σταθεροποιήσει την πίεση στην έξοδο του ανιχνευτή, με στόχο την αποτροπή σχηματισμού φυσαλίδων αέρα μέσα στο σύστημα. Επίσης, βελτιώνει τη χρωματογραφική σταθερότητα της **βασικής γραμμής αναφοράς** (baseline). Ο συλλέκτης κλάσματος είναι μια αυτοματοποιημένη συσκευή συλλογής τμημάτων της εξόδου του HPLC. Τα φιαλίδια τοποθετούνται σε ένα περιστρεφόμενο εξάρτημα της συσκευής, προγραμματισμένο να περιστρέφεται σε σταθερά χρονικά διαστήματα. Με τον τρόπο αυτό, στο τέλος της έκλουσης κάθε φιαλίδιο περιέχει τα μέρη κινητής φάσης και δείγματος στον αντίστοιχο χρόνο της εξαγωγής.

Τα περιβλήματα για τις στήλες είναι διαφορετικά δεδομένου ότι υπάρχουν πολλοί τύποι HPLC. Είναι διαθέσιμα σε διαφορετικά μεγέθη, διάμετροι, μεγέθη πόρων, ή μπορούν να είναι συνδεδεμένα με ειδικά υλικά (όπως ένα αντιγόνο ή ένα αντίσωμα). Τα διαθέσιμα περιβλήματα εξαρτώνται από τις συγκεκριμένες εφαρμογές που απαιτούνται (συγγένεια, βιολογικές, κλπ.), κι έχουν εφαρμογές για κάθε χρήση. Τα περιβλήματα συνδέονται με το εσωτερικό της στήλης από τις ρητίνες ή τις υποστηρίξεις, οι οποίες περιλαμβάνουν οξείδια, πολυμερή σώματα, τον άνθρακα, χάντρες φωσφορικού ασβεστίου, την αγαρόζη, ή το πυρίτιο, το πιο κοινό είδος.

1.3.4. Ανιχνευτής

Ο ανιχνευτής είναι ένα σημαντικό στοιχείο του συστήματος HPLC, γιατί κάνει ορατό το διαχωρισμό που γίνεται στη στήλη. Εάν ένας ανιχνευτής, ο οποίος αποκρίνεται στη συγκέντρωση των διαλυμένων ουσιών, τοποθετηθεί αμέσως μετά στη στάσιμη φάση και στην έξοδο της στήλης προκειμένου να ανιχνευθούν οι ενώσεις όπως εξάγονται από τη στήλη, το σήμα του θα καταγραφεί ως συνάρτηση του χρόνου και θα λαμβάνεται σειρά κορυφών, όπως

απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα. Η **κορυφή** (peak) που παρατηρείται είναι όταν μια ένωση εξάγεται από τη στήλη. Ο χρόνος διατήρησης της κορυφής χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει την ένωση. Το **ύψος κορυφής** (peak height) (ή περιοχή) (peak area) είναι ανάλογο προς το ποσό της ένωσης στο δείγμα.



Σχήμα 1. 5. – Σήμα Ανιχνευτή Ως Προς Τον Χρόνο

Το διάγραμμα αυτό ονομάζεται **χρωματογράφημα** (chromatogram) και είναι χρήσιμο τόσο για ποιοτική όσο και ποσοτική ανάλυση. Οι θέσεις των κορυφών ως προς τον άξονα του χρόνου εξυπηρετούν την ταυτοποίηση των συστατικών του δείγματος και το εμβαδόν κάθε κορυφής αποτελεί ποσοτικό μέτρο κάθε συστατικού. Το **εύρος ζώνης** (bandwidth) και το ύψος των κορυφών μπορούν συνήθως να ρυθμιστούν, χρησιμοποιώντας χονδροειδείς και λεπτούς ελέγχους, και οι παράμετροι ανίχνευσης και ευαισθησίας μπορούν επίσης να ελεγχθούν (στις περισσότερες περιπτώσεις).

Ένας ανιχνευτής χρησιμοποιείται για να μετρήσει την απορροφητικότητα, το φθορισμό, την αγωγιμότητα ή το διαθλαστικό δείκτη της κινητής φάσης. Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι ανιχνευτών στην υγρή χρωματογραφία. Αυτοί που ανταποκρίνονται σε μια βασική ιδιότητα της κινητής φάσης, όπως ο δείκτης διάθλασης, η διηλεκτρική σταθερά ή η πυκνότητα, οι τιμές των οποίων επηρεάζονται από την παρουσία των εκλουόμενων συστατικών. Αντίθετα, υπάρχουν ανιχνευτές που αποκρίνονται σε ιδιότητα του εκλουόμενου συστατικού, όπως είναι η απορρόφηση στο υπεριώδες, ο φθορισμός ή το ρεύμα διάχυσης. Την ιδιότητα αυτή δεν πρέπει να την διαθέτει η κινητή φάση.

Ένας ιδανικός ανιχνευτής θα πρέπει να διαθέτει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- ✓ Ικανοποιητική ευαισθησία.
- ✓ Σταθερότητα και αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων
- ✓ Γραμμική απόκριση επεκτεινόμενη σε περιοχή αρκετών τάξεων μεγέθους
- ✓ Περιοχή θερμοκρασιών λειτουργίας από τη θερμοκρασία δωματίου μέχρι τουλάχιστον τους 80 βαθμούς Κελσίου για την υγρή χρωματογραφία
- ✓ Σύντομους χρόνους απόκρισης ανεξάρτητους από την ταχύτητα ροής

- ✓ Εξαιρετική αξιοπιστία κι ευκολία στη χρήση
- ✓ Παρόμοια απόκριση προς όλες τις διαχωριζόμενες ουσίες ή εκλεκτική απόκριση για μία ή περισσότερες ομάδες ενώσεων
- ✓ Να μην καταστρέφει το δείγμα
- ✓ Να μην αποκρίνεται στην κινητή φάση
- ✓ Να επιτρέπει χαμηλά όρια ανίχνευσης, στην περιοχή των ng – μg
- ✓ Τέλος, θα πρέπει να έχει τον ελάχιστο δυνατό όγκο για να περιορίζεται η διεύρυνση των κορυφών

Είναι προφανές, ότι δεν υπάρχει ανιχνευτής που να συνδυάζει όλα αυτά τα χαρακτηριστικά και είναι απίθανο να υπάρξει στο μέλλον. Γίνεται όμως, συνεχής προσπάθεια για τη βελτίωση των ανιχνευτών και χρησιμοποιείται ένας μεγάλος αριθμός ανιχνευτών, περισσότεροι από 20 τύποι είναι διαθέσιμοι για τα συστήματα HPLC. Οι βελτιώσεις στην τεχνολογία του ανιχνευτή, τους έχουν καταστήσει ανθεκτικότερους και ευκολότερους για χρήση, οι κυριότεροι από αυτούς περιγράφονται στη συνέχεια

Είδη Ανιχνευτών HPLC

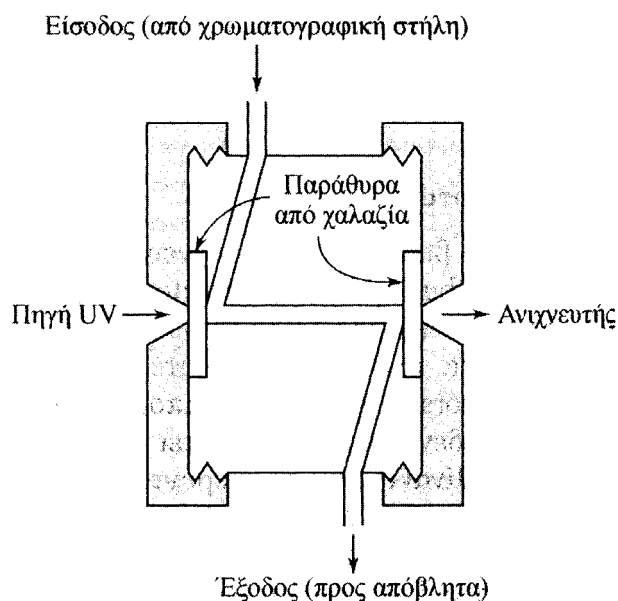
Κανένας ανιχνευτής δεν είναι αρκετά καθολικός να ανιχνεύσει όλους τους τύπους διαλυτών ουσιών. Μερικοί από τους πιο κοινούς ανιχνευτές είναι: **Διαθλαστικός δείκτης** (refraction index -RI), **υπεριώδους ακτινοβολίας** (ultraviolet absorption-UV), **φθορισμού** (polarization), **ραδιοχημικός** (radiochemical), **ηλεκτροχημικός** (electrochemical), **εγγύς-υπέρυθρου** (Near-Infra Red Near-IR), **φασματοσκοπίας μάζας** (mass-spectrometry-MS), **πυρηνική μαγνητική συντονισμού** (Nuclear Magnetic Resonance- NMR), και **σκέδασης φωτός** (light scattering-LS).

Ανιχνευτές διαθλαστικών δεικτών (RI)

Μετρούν τη ικανότητα των μορίων δείγματος να διαθλούν το φως. Αυτή η ικανότητα για κάθε μόριο ή ένωση καλείται διαθλαστικός δείκτης. Για τους περισσότερους RI ανιχνευτές, το φως διέρχεται μέσω διπλής **κυψελίδας ροής** (flow-cell) σε έναν φωτοανιχνευτή. Το ένα κανάλι ροής κατευθύνει την κινητή φάση που περνά μέσω της στήλης, ενώ το δεύτερο κατευθύνει μόνο την κινητή φάση. Η ανίχνευση μετράτε με την διάθλαση του φωτός που προκαλείται από τα εξαγόμενα δείγματα της στήλης. Το σήμα που παράγεται εξαρτάται από τη διαφορά του RI μεταξύ των δύο καναλιών.

Ανιχνευτές απορρόφησης

Στο σχήμα 1.6. απεικονίζεται μια αντιπροσωπευτική κυψελίδα ροής σχήματος Z, για μετρήσεις απορρόφησης του εκλούσματος χρωματογραφικής στήλης. Ο όγκος μιας τέτοιας κυψελίδας θα πρέπει να είναι ο ελάχιστος δυνατός από 1 – 10 μL. Οι περισσότερες κυψελίδες αυτού του τύπου λειτουργούν σε πιέσεις όχι μεγαλύτερες από 600 psi.

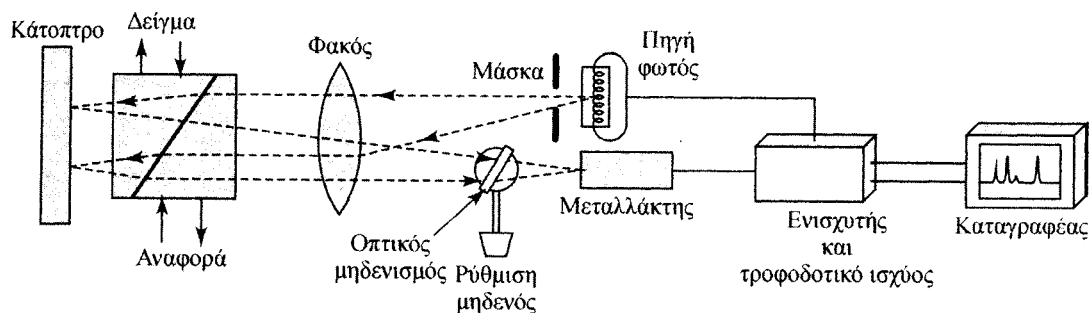


Σχήμα 1. 6. – Κυψελίδα Ανιχνευτή Υπεριώδους Για HPLC

Οι περισσότεροι ανιχνευτές απορρόφησης είναι διατάξεις διπλής δέσμης, στις οποίες η μια δέσμη προέρχεται από την κυψελίδα έκλυσης και η άλλη μέσω ενός φίλτρου για μείωση της έντασης της. Στη συνέχεια χρησιμοποιούνται φωτοηλεκτρικοί ανιχνευτές για σύγκριση των εντάσεων των δύο δεσμών. Το χρωματογράφημα είναι ο λογάριθμος του λόγου των δύο σημάτων των δύο μεταλλακτών ως συνάρτηση του χρόνου.

Διαφορικός ανιχνευτής δείκτη διαθλάσεως

Στο παρακάτω σχήμα 1.7. απεικονίζεται ένας **διαφορικός ανιχνευτής δείκτης διάθλασης**, ο οποίος μετρά διαφορές στο δείκτη διαθλάσεως του υγρού εκλούσεως, που προκαλείται από την παρουσία των διαχωριζόμενων συστατικών του μείγματος. Σε αυτούς τους η κυψελίδα είναι χωρισμένη σε δύο τμήματα. Από το ένα τμήμα διέρχεται ο διαλύτης και ο διαλύτης μαζί με την δείγμα από το άλλο μισό. Τα δύο τμήματα χωρίζονται με μια γυάλινη πλάκα τοποθετημένη σε τέτοια γωνία έτσι ώστε, η προσπίπτουσα ακτίνα να αλλάζει κατεύθυνση όταν τα δύο διαλύματα διαφέρουν ως προς τον δείκτη διάθλασης. Η τελική μετατόπιση της ακτίνας στη φωτοευαίσθητη επιφάνεια του ανιχνευτή προκαλεί μεταβολή στο σήμα εξόδου το οποίο, αφού ενισχυθεί, καταγράφεται στο χρωματογράφημα.



Σχήμα 1. 7. – Σχηματική Διάταξη Ενός Ανιχνευτή Δείκτη Διάθλασης

Το σημαντικό πλεονέκτημα του είναι ότι αποκρίνεται σε όλες τις ενώσεις και σε όλα σχεδόν τα συστατικά έκλουσης. Επίσης, είναι αξιόπιστοι και δεν επηρεάζονται από την ταχύτητα ροής. Τα μειονεκτήματα του είναι η σχετικά μικρή ευαισθησία του (είναι κατάλληλος για περιοχή συγκεντρώσεων 1-10 $\mu\text{g} / \text{mL}$), η ευαισθησία του σε μεταβολές της θερμοκρασίας - κι επομένως θα πρέπει να διατηρούνται σε σταθερή θερμοκρασία, με ακρίβεια εκατοστών βαθμού Κελσίου, και τέλος, χρησιμοποιείται μόνο σε ισοκρατική έκλουση.

Ανιχνευτής υπεριώδους-ορατού

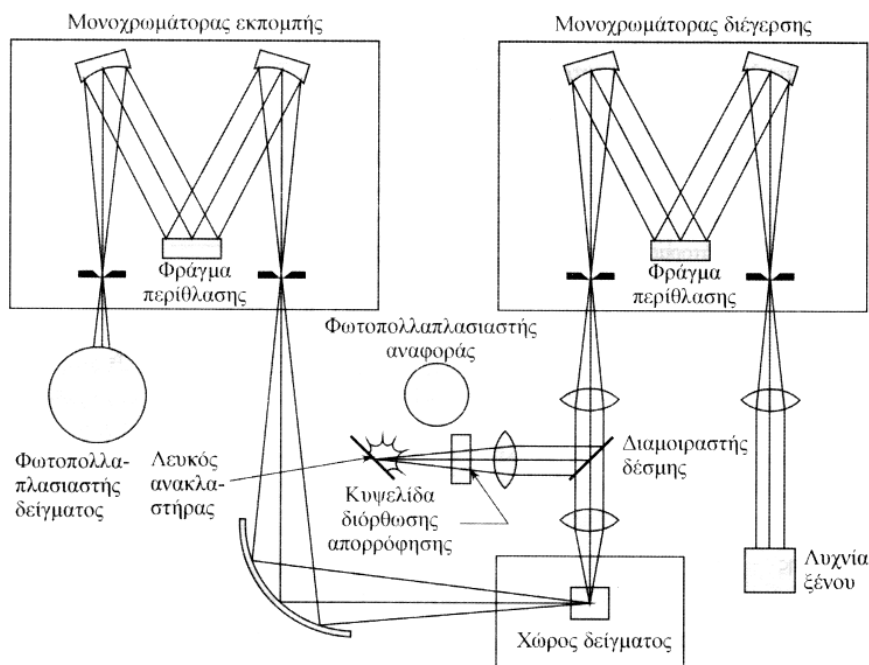
Ο συγκεκριμένος ανιχνευτής, είναι στην ουσία ένα φασματοφωτόμετρο στο τέλος της στήλης της χρωματογραφικής διάταξης. Το υγρό έκλουσης διαβιβάζεται μέσα από μια μικροκυψελίδα ροής όγκου 5 – 10 μL . Αποτελείται από μικροκυψελίδες ροής μέσα από τις οποίες διέρχεται το υγρό έκλουσης. Υπάρχουν τρεις τύποι αυτού του ανιχνευτή: ο ανιχνευτής σταθερού μήκους κύματος, που μετρά την απορρόφηση σε ένα σταθερό μήκος κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας, συνήθως στα 254 nm (κύρια γραμμή εκπομπής του φάσματος του υδραργύρου). Ως πηγή φωτός χρησιμοποιείται μια λυχνία υδραργύρου χαμηλής πίεσης. Σε αυτό το μήκος κύματος απορροφούν οι περισσότερες οργανικές ενώσεις που έχουν διπλούς δεσμούς ή αρωματικές ομάδες.

Υπάρχει και ο ανιχνευτής **πολλαπλών σταθερών μηκών κύματος**, έχει δηλαδή τη δυνατότητα επιλογής περισσότερων μηκών κύματος με τη βοήθεια φίλτρων στο υπεριώδες και στο ορατό. Τέλος, υπάρχει και ο **ανιχνευτής μεταβαλλόμενου μήκους κύματος**, ο οποίος επιτρέπει την επιλογή οποιουδήποτε μήκους κύματος με τη βοήθεια μονοχρωμάτορα. Τα πλεονεκτήματα του τελευταίου τύπου ανιχνευτή είναι η ευαισθησία του, η οποία εξαρτάται από τη μοριακή απορροφητικότητα των διαφόρων συστατικών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συγκεντρώσεις της τάξης του 0,01 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Είναι σταθερός στις μεταβολές της θερμοκρασίας και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στη βαθμωτή έκλουση. Τέλος, είναι σχετικά φθηνός και αποκρίνεται σε ένα μεγάλο αριθμό οργανικών ενώσεων. Εξαιτίας αυτών των πλεονεκτημάτων είναι ο περισσότερο χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής (στο 80% περίπου των αναλύσεων με HPLC). Το μειονέκτημα είναι ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί με διαλύτες κινητής φάσης, που

απορροφούν ισχυρά στο υπεριώδες ή σε διαχωρισμούς συστατικών που δεν απορροφούν στο υπεριώδες.

Ανιχνευτής φθορισμού

Οι ανιχνευτές φθορισμού στην υγρή χρωματογραφία βασίζουν την λειτουργία τους στην λειτουργία ενός φασματοφθορισμομέτρου, όπως φαίνεται στο σχήμα 1.8..



Σχήμα 1. 8. – Ένα Φασματοφθορισμόμετρο

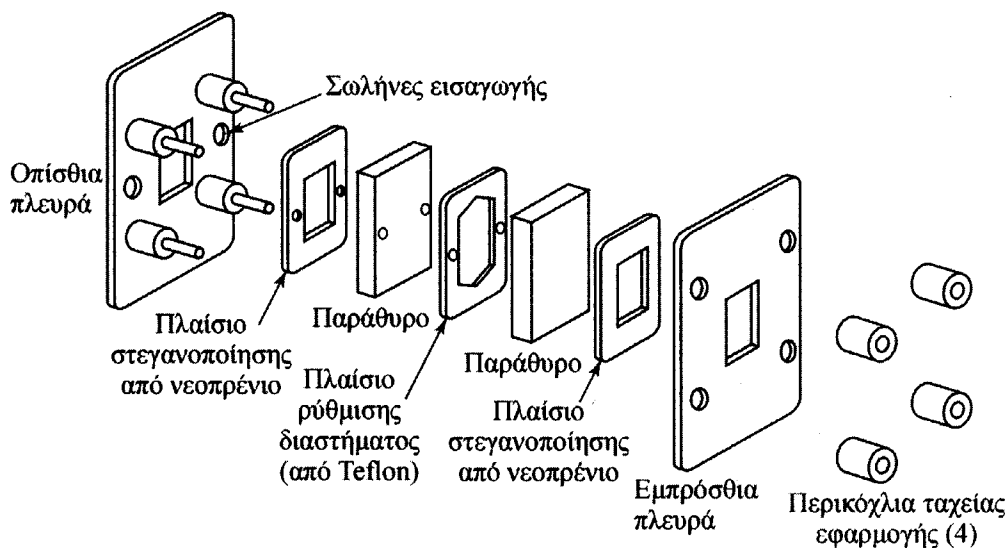
Ο φθορισμός παρατηρείται με φωτοηλεκτρικό ανιχνευτή τοποθετημένο σε γωνία 90° μοιρών σε σχέση με την δέσμη διέγερσης. Οι πιο απλοί ανιχνευτές χρησιμοποιούν πηγή υδραργύρου για διέγερση των μορίων κι ένα ή περισσότερα φίλτρα για την απομόνωση μιας ζώνης από την εκπεμπόμενη ακτινοβολία. Τα πιο ακριβή όργανα χρησιμοποιούν πηγή αερίου ξένου και χρησιμοποιούν μονοχρώματα για απομόνωση της ακτινοβολίας φθορισμού.

Πλεονέκτημα αυτής της κατηγορίας ανιχνευτών είναι η μεγάλη τους ευαισθησία, (μία τάξη μεγέθους μεγαλύτερη από τις περισσότερες μεθόδους απορρόφησης). Το πλεονέκτημα αυτό, χρησιμοποιείται στην υγρή χρωματογραφία για τον διαχωρισμό και προσδιορισμό των συστατικών των δειγμάτων που φθορίζουν. Στα αρνητικά του, χρησιμοποιείται μόνο σε φθορίζουσες ουσίες.

Ανιχνευτής υπερύθρου

Στο εμπόριο διατίθενται δύο τύποι ανιχνευτών υπερύθρου. Ο πρώτος είναι με σάρωση μήκους κύματος με χρήση τριών ημικυκλικών σφηνοειδών φίλτρων. Ο δεύτερος και πιο εξελιγμένος τύπος ανιχνευτή βασίζεται στο μετασχηματισμού Fourier. Οι κυψελίδες ανιχνευτών υπερύθρου είναι παρόμοιες στην κατασκευή με εκείνες που χρησιμοποιούνται στην υπεριώδη

ακτινοβολία, με τη διαφορά ότι τα παράθυρα είναι κατασκευασμένα από χλωριούχο νάτριο ή από φθοριούχο ασβέστιο. Παρακάτω, παρουσιάζεται σχηματικά συναρμολογούμενη κυψελίδα υπερύθρου για υγρά δείγματα.

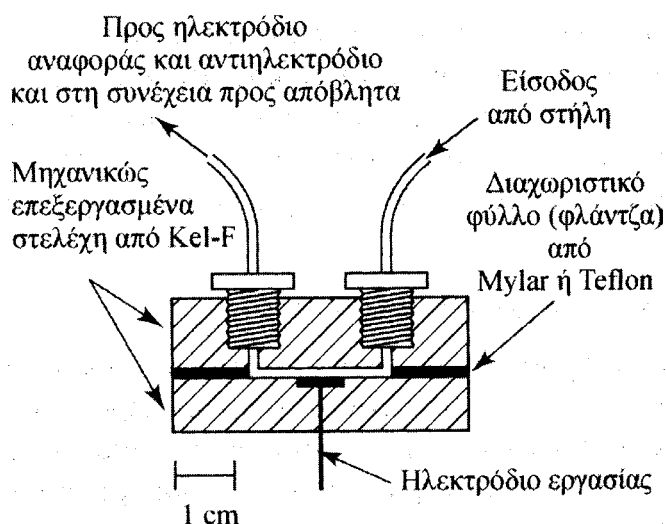


Σχήμα 1. 9. – Κυψελίδα Υπερύθρου Υγρής Χρωματογραφίας

Ένας σημαντικός περιορισμός στη χρήση αυτών των ανιχνευτών είναι η χαμηλή διαπερατότητα πολλών διαλυτών. Δεν είναι ευαίσθητος και έχει μικρή εκλεκτικότητα, επειδή οι περισσότεροι διαλύτες της κινητής φάσεως απορροφούν στο υπέρυθρο. Με την επιλογή όμως κατάλληλης συχνότητας, η εκλεκτικότητα του αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό.

Ηλεκτροχημικός ανιχνευτής

Οι ανιχνευτές αυτοί βασίζονται σε ηλεκτροαναλυτικές μεθόδους και δεν έχουν αξιοποιηθεί στον ίδιο βαθμό με τους οπτικούς ανιχνευτές (UV, IR κλπ). Έτσι, η ηλεκτροχημική ανίχνευση φαίνεται να εκπληρώνει μια μακρόχρονη ανάγκη στην HPLC, που αφορά την χρήση ενός ευαίσθητου και γενικού ανιχνευτή. Έχει περιγραφεί μια ποικιλία κυψελίδων ηλεκτροχημικού ανιχνευτή για HPLC, ενώ μερικές από αυτές είναι κι εμπορικά διαθέσιμες. Το σχήμα 1.10. παρουσιάζεται ένα σχεδιάγραμμα μιας απλής κυψελίδας ροής, (τύπος λεπτής στοιβάδας για ανίχνευση ρεύματος).



Σχήμα 1. 10. – Κυψελίδα Αμπερομετρικού Ανιχνευτή Λεπτού Στρώματος

Σε αυτόν τον ανιχνευτή, η ένταση του ρεύματος, παρακολουθείται με εφαρμογή επιλεγόμενου σταθερού δυναμικού. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διαχωρισμούς ηλεκτρενεργών ουσιών, ικανών να αναχθούν ή να οξειδωθούν στο ηλεκτρόδιο εργασίας, στην τιμή του δυναμικού που επιλέγεται, με εξαιρετική ευαισθησία. Επίσης, προσφέρουν απλότητα κι ευρεία χρήση σε πολλές περιπτώσεις. Βρίσκει εφαρμογή σε διαχωρισμούς και προσδιορισμούς ενώσεων βιοχημικού και φαρμακολογικού ενδιαφέροντος.

Φασματοόμετρο μάζας

Συνδυάζεται η φασματοσκοπία μάζας με την υγρή ή την αέρια χρωματογραφία. Όλη η διάταξη ελέγχεται από ηλεκτρονικό υπολογιστή και κατάλληλο λογισμικό. Ο συνδυασμός αυτός χαρακτηρίζεται από εξαιρετική ευαισθησία, εκλεκτικότητα και αξιοπιστία. Το φασματοόμετρο μαζών ανιχνεύει ιόντα με προκαθορισμένη τιμή m/z , (μάζας/φορτίου) οπότε το χρωματογράφημα θα έχει τις κορυφές μόνο των ουσιών που αποτελούνται από τα συγκεκριμένα ιόντα. Σε κάθε νέα καταγραφόμενη τιμή m/z , ο υπολογιστής καταχωρεί το αντίστοιχο σήμα από τον ανιχνευτή, που αντιστοιχεί σε δεδομένο χρόνο κατακρατήσεως. Μετά από την πλήρη έκλυση όλων των συστατικών, ο υπολογιστής αναπαραγάγει το χρωματογράφημα που αντιστοιχεί σε κάθε τιμή m/z . Το σύστημα LC/MS (Υγρής Χρωματογραφίας/Φασματοσκοπίας Μάζας) αποτελεί σήμερα την πλέον αξιόπιστη τεχνική ταυτοποίησης ουσιών σε πολύπλοκα βιολογικά δείγματα. Στα αρνητικά, το κόστος του παραμένει πολύ υψηλό έτσι, ώστε η αγορά τους από τα περισσότερα εργαστήρια είναι ανέφικτη.

Από δημοσιευμένες εργασίες στις οποίες η HPLC έπαιζε σημαντικό ρόλο διαπιστώθηκε ότι στο 71% γινόταν χρήση ανιχνευτή απορρόφησης UV, στο 15% φθορισμού, στο 5,4% δείκτη διάθλασης, στο 4,3% γινόταν χρήση ηλεκτροχημικού ανιχνευτή και στο 4,7%

χρησιμοποιήθηκαν διάφορα άλλα συστήματα μέτρησης. Επομένως, τα περισσότερα μείγματα μπορούν να διαχωριστούν και να αναλυθούν με την HPLC αρκεί να επιλεγεί το κατάλληλο σύστημα στατικής και κινητής φάσης.

1.3.5. Καταγραφικό Δεδομένων

Αποτελεί το φθηνότερο και απλούστερο τρόπο παρουσιάσεως του χρωματογραφήματος. Πρόκειται για μια μόνιμη συσκευή καταγραφής των σημάτων του ανιχνευτή σε μηχανογραφικό χαρτί (θερμογραφικό, μελάνης ή κρουστικό). Πρέπει να χαρακτηρίζεται από ταχεία απόκριση και να έχει τη δυνατότητα επιλογής ενισχύσεως του σήματος.

Επίσης, τα σύγχρονα συστήματα HPLC, αντί για καταγραφικό δεδομένων ή παράλληλα με αυτόν, διαθέτουν υπολογιστές με κατάλληλο λογισμικό, οι οποίοι πέραν της συλλογής, αποθήκευσης, επεξεργασίας και παρουσίαση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης, ελέγχουν και τη λειτουργία του HPLC συστήματος, τη παροχή της κινητής φάσης κ.ά.

2^H ENOTHTA

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 2^{ΗΣ} ΕΝΟΤΗΤΑΣ

Όπως αναφέρθηκε στην πρώτη ενότητα ότι ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας – συνεπώς και το εξεταζόμενο σύστημα HPLC SP 8800- αποτελείται κυρίως από την αντλία, τη στήλη, τον ανιχνευτή, τον εγχυτήρα, τις βαλβίδες ελέγχου και το καταγραφικό.

Σε αυτή την ενότητα θα περιγραφεί η τεχνική της λειτουργίας του συστήματος HPLC SP 8880 ενώ θα περιγραφούν τα επιμέρους τμήματα του (αντλία, ανιχνευτής κλπ) και θα σκιαγραφηθεί ο ρόλος τους. Το συγκεκριμένο μοντέλο αν και παλιό, παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με αρκετά σύγχρονα. Μερικά από αυτά κατά τη γνώμη μας είναι: α) σχετικά εύκολο στη λειτουργία του λόγω των λιγότερων παραμέτρων που παρουσιάζει σε σχέση με τα σύγχρονα συστήματα, β) ο χειριστής μπορεί να αντικαταστήσει σχετικά εύκολα προβληματικά εξαρτήματα του και γ) είναι κατάλληλο για ένα αρχάριο χρήστη χρωματογραφίας.

Για να λειτουργήσουν τα κύρια μέρη (αντλία, στήλη, ανιχνευτής, εγχυτήρας, βαλβίδες ελέγχου και το καταγραφικό) αρμονικά και χωρίς προβλήματα θα πρέπει να γίνεται σωστή συντήρηση – κυρίως στην αντλία, η οποία δέχεται τις περισσότερες καταπονήσεις – αλλά προφανώς και στα υπόλοιπα μέρη για να μην προκαλούνται συχνά προβλήματα. Ομοίως ο ανιχνευτής, ο οποίος θα πρέπει να διατηρείται συνεχώς σε πολύ καλή κατάσταση, γιατί το χρωματογράφημα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από αυτόν.

Δίνονται επίσης οδηγίες αλλαγής αντικατάστασης εξαρτημάτων όπως για παράδειγμα αλλαγή της κυψελίδας ροής, στην εγκατάσταση ή στην αλλαγή της λάμπας του ανιχνευτή, στο φιλτράρισμα οποιοδήποτε δείγματος ή διαλύτη που χρησιμοποιείται στη χρήση των κατάλληλων - υψηλής ποιότητας – διαλυτών.

Παρουσιάζονται επίσης μια σειρά από έλεγχοι (τεστ) που αξιολογούν την κατάσταση της τριπλής βαλβίδας (A, B, C), του κινητήρα της αντλίας, την πίεση της διάταξης και των ηλεκτρονικών κυκλωμάτων του συστήματος.

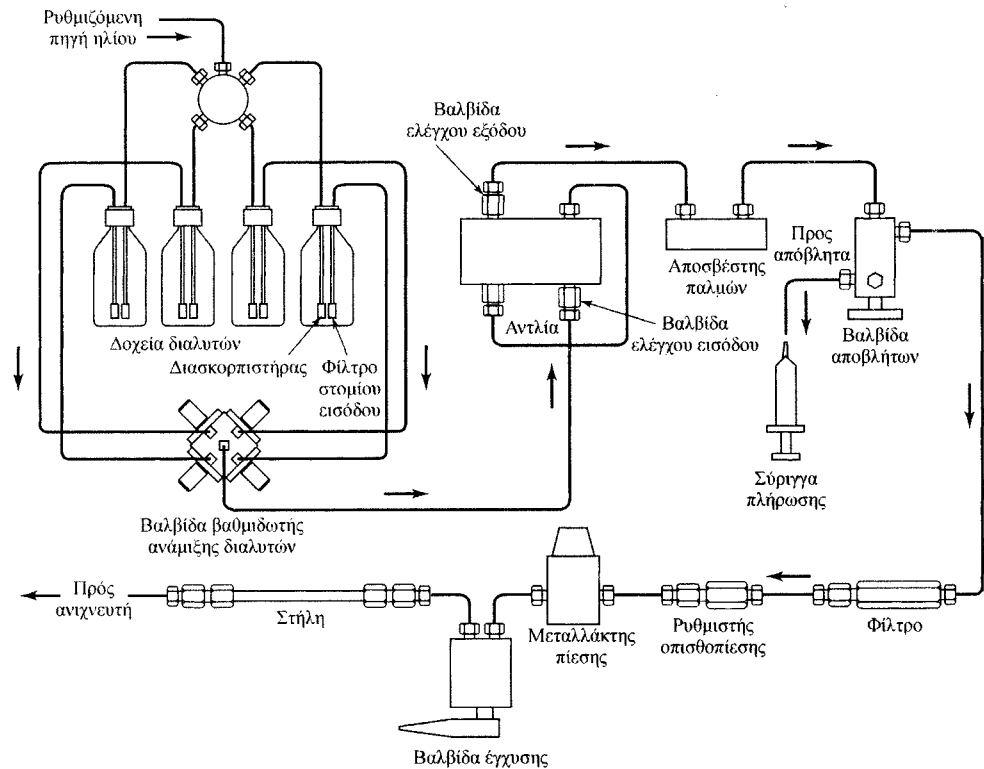
Γενικότερες οδηγίες για την ασφάλεια του μηχανήματος αλλά και του χρήστη παρουσιάζονται σε αυτή την ενότητα. Επίσης, βασικοί κανόνες κατά τη χρήση εργαστηριακών μηχανημάτων όπως η χρήση προστατευτικών, η διαρροή τοξικών και εύφλεκτων διαλυτών, που χρησιμοποιούνται και αποθηκεύονται στο εργαστήριο.

Τέλος, ο χειριστής θα πρέπει κάθε φορά μετά την προληπτική συντήρηση ή τον καθαρισμό του συστήματος να κάνει και την απαιτούμενη βαθμονόμηση του.

2.2. ΣΚΙΑΓΡΑΦΗΣΗ ΤΡΟΠΟΥ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HPLC SP 8800

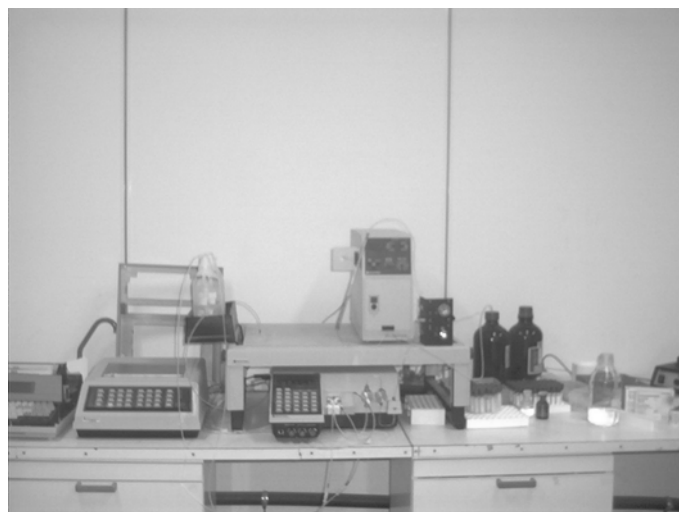
Σε αυτή την ενότητα θα προσπαθήσουμε να περιγράψουμε την τεχνική λειτουργίας του συστήματος HPLC SP8880 καθώς επίσης και το ρόλο που έχουν τα επιμέρους τμήματα του (αντλία, ανιχνευτής κλπ).

Στο Σχήμα 2.1. παρουσιάζεται η διάταξη ενός συστήματος HPLC.



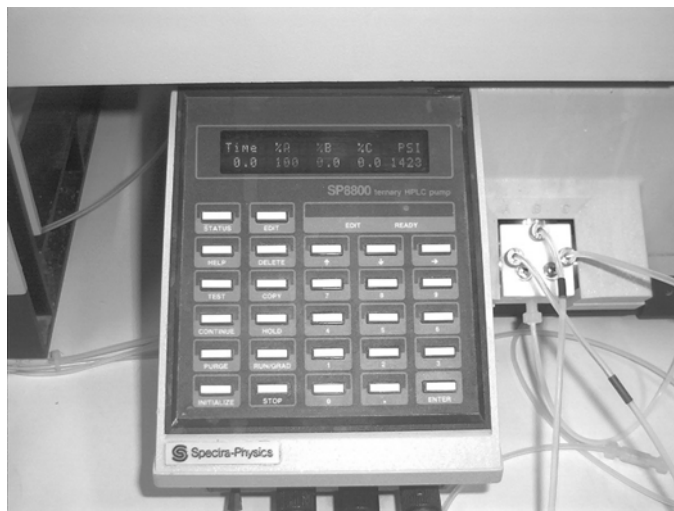
Σχήμα 2. 1. – Σχηματική Παράσταση Μιας Διάταξης HPLC

Ενώ, στην Εικόνα 2.1. παρουσιάζεται το σύστημα HPLC που μελετήθηκε.



Εικόνα 2. 1. – Σύστημα HPLC SP 8800

Το SP8800 τίθεται σε λειτουργία από ένα διακόπτη στο πίσω μέρος του **πίνακα ελέγχου**. Με τον άνοιγμα το διακόπτη εμφανίζονται στον Πίνακα ελέγχου (Εικόνα 2.2.) οι παράμετροι λειτουργίας του (ροή διαλύτη, φάκελος προγράμματος κλπ.).



Εικόνα 2. 2. – Πίνακας Ελέγχου

Η πρώτη κίνηση που θα πρέπει να κάνει ο χειριστής του μηχανήματος είναι η διαδικασία **PURGE**. Το PURGE βρίσκεται στο πληκτρολόγιο του Πίνακα Ελέγχου του μηχανήματος. Ο σκοπός του PURGE είναι να απομακρύνει τυχόν φυσαλίδες που βρίσκονται μεταξύ των σωληνώσεων που συνδέουν: τις δεξαμενές διαλύτη με την αντλία, την αντλία με τον εγχυτήρα. Με το PURGE το σύστημα λειτουργεί στην μέγιστη δυνατή ροή και απομακρύνει τις φυσαλίδες χωρίς αυτές να περάσουν από τον εγχυτήρα.

Στη συνέχεια ο χειριστής μπορεί να ρυθμίσει την ροή στις επιθυμητές για την ανάλυση του συνθήκες. Μπορεί επίσης, να χρησιμοποιήσει ισοκρατικό μοντέλο (ένα διαλύτη με σταθερή ροή) ή βαθμωτό (περισσότεροι από ένας διαλύτες με διαφορετικές ροές). Την ίδια εργασία μπορεί να την εκτελέσει με την χρήση **φακέλου** (file). Στο φάκελο περιέχονται παράμετροι για την ταχύτητα ροής, το χρόνο ροής κλπ. Με το πλήκτρο **RUN** τίθεται σε λειτουργία η αντλία και ο χειριστής είναι ένα βήμα πριν την ανάλυση.

Ο χειριστής θα πρέπει να περιμένει ένα χρονικό διάστημα (συνήθως 10-15 λεπτά) ώστε το σύστημα να έρθει σε ισορροπία. Με τον όρο ισορροπία, το σύστημα θα έχει μια σταθερή ροή και πίεση που αναγράφεται και αυτή στον πίνακα ελέγχου και δεν θα πρέπει να παρουσιάζει διακυμάνσεις. Η ισορροπία του συστήματος εξαρτάται από αρκετές παραμέτρους, όπως το είδος της στήλης, των διαλυτών, των διαλυτών που είχαν προηγουμένως χρησιμοποιηθεί κλπ. Οι φωτεινές ενδείξεις **RDY** δείχνουν εάν το σύστημα είναι σε ισορροπία, κάτι που μπορεί επίσης να ελεγχθεί με διάφορα **ROM TEST** που αναλύονται σε άλλη ενότητα.

Κατά τη διάρκεια λειτουργίας του HPLC συμβαίνουν τα εξής.
Η αντλία στην Εικόνα 2.3. αντλεί συνεχώς



Εικόνα 2. 3. – Αντλία

από τις δεξαμενές διαλυτών, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.4.

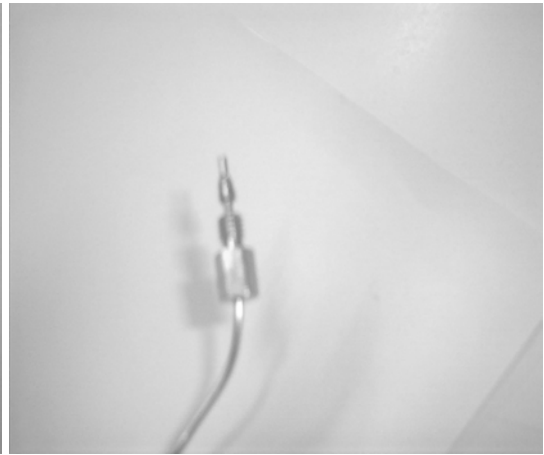


Εικόνα 2. 4. – Δεξαμενές Διαλυτών

μέσω της πλαστικής σωλήνωσης στις Εικόνες 2.5. και 2.6. έτσι ώστε να διατηρείται σταθερή ροή στο σύστημα.

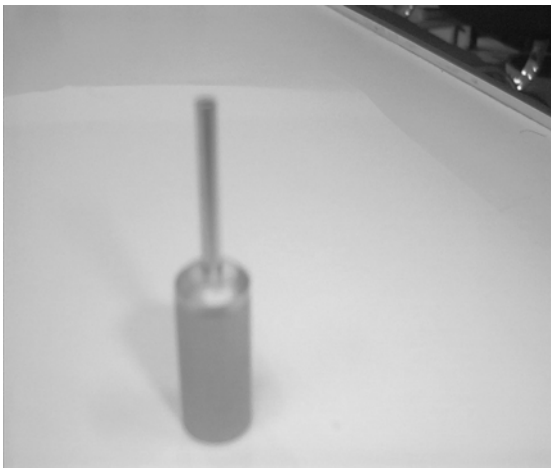


Εικόνα 2. 5. – Πλαστική Σωλήνωση



Εικόνα 2. 6. – Μεταλλική Σωλήνωση

Προκειμένου να αποφευχθούν να εισέλθουν τυχόν ακαθαρσίες μέσα στο σύστημα οι άκρες των πλαστικών σωληνώσεων που καταλήγουν στις δεξαμενές διαθέτουν ειδικά φίλτρα της Εικόνας 2.7. και 2.8..

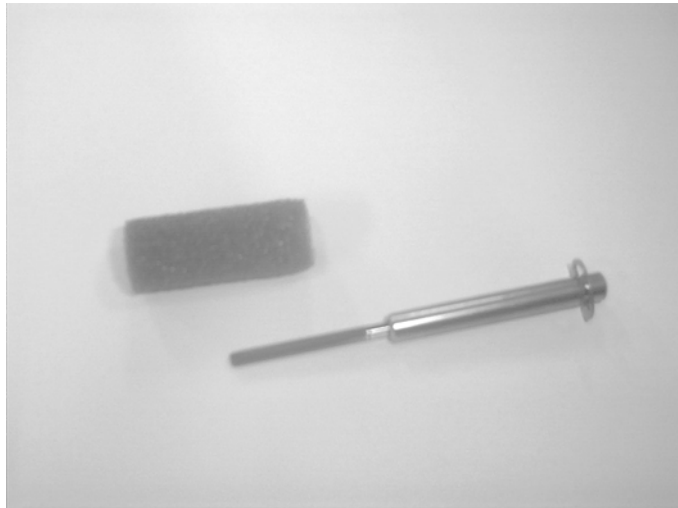


Εικόνα 2. 7. – Φίλτρο Διαλύτη



Εικόνα 2. 8. – Φίλτρο Διαλύτη

Η αντλία αποτελείται από δύο πιστόνια, όπως φαίνονται στην Εικόνα 2.9. και ένα σύστημα μίξης της Εικόνας 2.10. εφόσον από το σύστημα διέρχονται περισσότεροι του ενός διαλύτες.



Εικόνα 2. 9. – Πιστόνι

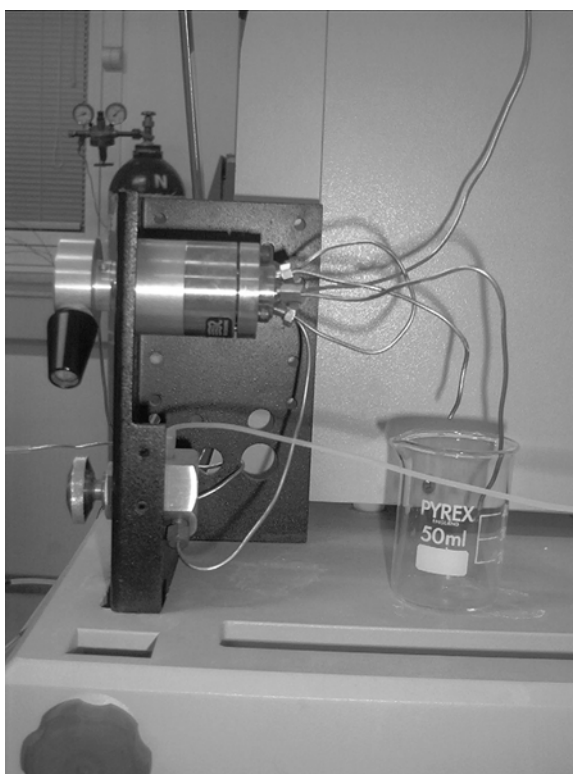
Ο μείκτης εξασφαλίζει τη σταθερότητα σύνθεσης του διαλύτη ενώ τα πιστόνια τη ροή του διαλύτη.



Εικόνα 2. 10. – Σύστημα Μείκτη

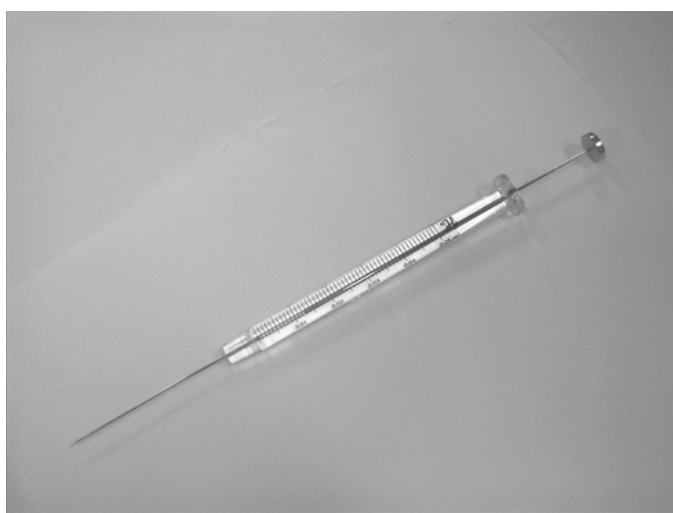
Επιπλέον τμήματα της αντλίας είναι οι βαλβίδες και οι ρότορες.

Μετά την διέλευση από την αντλία ο διαλύτης μεταφέρεται μέσω πλαστικών ή μεταλλικών σωληνώσεων (βλ. Εικόνα 2.6.) προς τον εγχυτήρα, τη στήλη και τον ανιχνευτή. Οι σωληνώσεις έχουν διάμετρο μικρότερη του χιλιοστού τις ίντσας. Κατά τη διέλευση του διαλύτη από τον εγχυτήρα συμπαρασύρεται η διαλυτή ουσία την οποία ο χειριστής έχει εγχύσει. Ο ρόλος του εγχυτήρα είναι να διακόπτει όσο το δυνατό πιο ομαλά τη ροή από τις σωληνώσεις και να ενσωματώνει το διάλυμα



Εικόνα 2. 11. – Εγχυτήρας

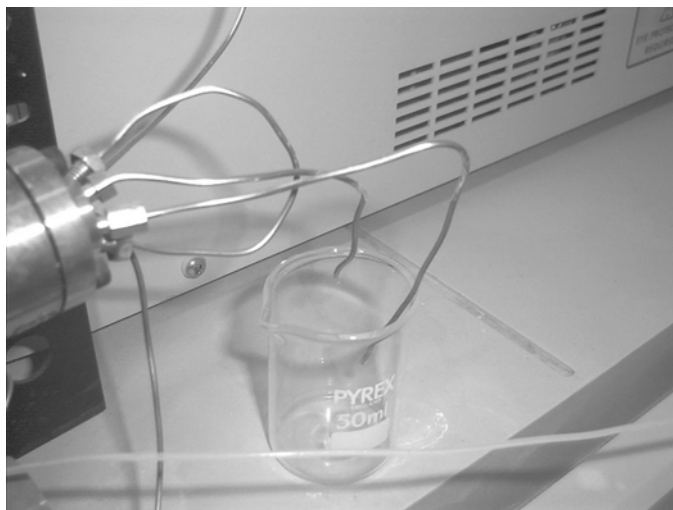
Εικόνα του εγχυτήρα παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.11.. Ο εγχυτήρας αποτελείται από ένα κινητό μέρος με δύο θέσεις.



Εικόνα 2. 12. – Ένεση

Η μία από τις θέσεις είναι για την φόρτιση του δείγματος με την κατάλληλη ένεση (Εικόνας 2.12.). Στη δεύτερη θέση το δείγμα μεταφέρεται μέσω των μεταλλικών σωληνώσεων προς τη στήλη χωρίς να επηρεάζεται σημαντικά η ροή της κινητής φάσης.

Στο πίσω μέρος του εγχυτήρα της παρακάτω εικόνας μπορούμε να παρατηρήσουμε έναν **βρόγχο** (loop) που χρησιμοποιείται για να επιτρέπει τη διέλευση συγκεκριμένου όγκου δείγματος (π.χ. 10 ή 20 μl).



Εικόνα 2. 13. – Βρόγχος Εγχυτήρα

Αν κάποιος προσπαθήσει να εισάγει μεγαλύτερο όγκο (π.χ. 50 μl) τότε η πλεονάζουσα ποσότητα εξέρχεται από την ανοικτή σωλήνωση στο δοχείο αποβλήτων.

Στη συνέχεια το μίγμα κινητής φάσης και διαλύματος μεταφέρεται μέσω των σωληνώσεων στην στήλη (Εικόνας 2.14.).



Εικόνα 2. 14. – Στήλη

Η στήλη λέγεται και στάσιμη φάση και αποτελεί το βασικότερο εξάρτημα του HPLC μια και γίνεται ο διαχωρισμός της ουσίας. Οι διάφορες ενώσεις που υπάρχουν στη διαλυτή ουσία διέρχονται σε διαφορετικούς χρόνους από τη στήλη με αποτέλεσμα να γίνεται ο διαχωρισμός και ο ποιοτικός-ποσοτικός προσδιορισμός τους.

Υπάρχουν πολλά είδη στήλης στην αγορά ανάλογα με το είδος των ενώσεων που θέλουμε να διαχωρίσουμε. Η βασική ένωση που υπάρχει στις στήλες είναι πυριτικές γέλες (silica gels). Στην πάνω και κάτω άκρη της στήλης υπάρχουν τα **frits** (ειδικά φίλτρα). Ο λόγος ύπαρξης των ειδικών φίλτρων είναι είτε να μην επιτρέπουν τη διαρροή του υλικού της στήλης μέσω των σωληνώσεων και είτε να συγκρατούν τυχόν ακαθαρσίες του διαλύτη. Σε αρκετές περιπτώσεις στο σύστημα τοποθετείται προστήλη ή στήλη προστασίας (guard column), όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.15.



Εικόνα 2. 15-Προστήλη

Η **προστήλη** (guard column) προφυλάσσει την κυρίως στήλη από «ακαθαρσίες», υψηλά ή χαμηλά pH και γενικότερα ουσίες που μπορεί να βλάψουν τη στήλη.

Προκειμένου να πετύχουμε τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό του δείγματος που διέρχεται από τη στήλη υπάρχει η αναγκαιότητα της ύπαρξης του ανιχνευτή. Στο μοντέλο που χρησιμοποιούμε ο ανιχνευτής είναι της κατηγορίας του UV-VIS (ορατού υπεριώδους φάσματος).

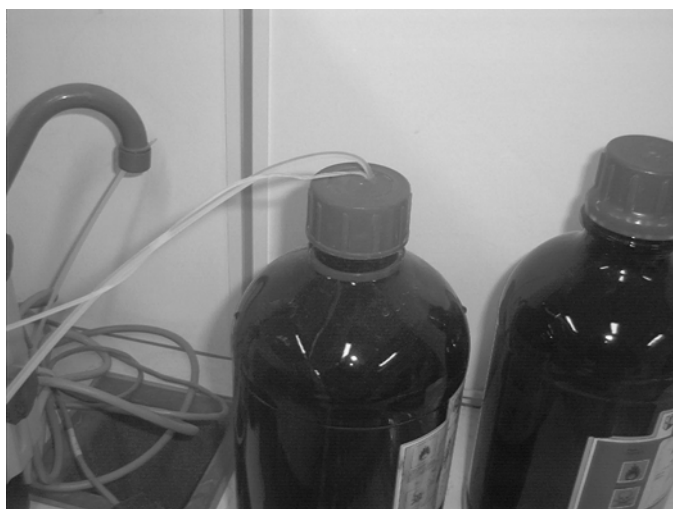
Η αρχή λειτουργίας του UV-VIS βασίζεται στο νόμο της απορρόφησης διαλυμάτων των Beer-Lambert δηλαδή το ότι η απορρόφηση του διαλύματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του διαλύματος.

Ο ανιχνευτής είναι ένα αρκετά πολύπλοκο μηχάνημα με αρκετά ηλεκτρονικά εξαρτήματα που έχουν ως στόχο την μετατροπή των αλλαγών της συγκέντρωσης σε ηλεκτρικό σήμα.



Εικόνα 2. 16. – Ανιχνευτής

Η «καρδιά» του ανιχνευτή είναι η κυψελίδα η οποία αποτελείται από δύο μεταλλικά τμήματα τα οποία συνδέονται με μεταλλικές βίδες. Στη μέση των δύο τμημάτων βρίσκονται δύο κομμάτια χαλαζία τα οποία επιτρέπουν να διέρχεται φως που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της απορρόφησης. Όλες οι μετρήσεις γίνονται συγκριτικά είτε σε σχέση με την απορρόφηση του αέρα είτε με την απορρόφηση της κινητής φάσης. Μετά τη διέλευση από την κυψελίδα του ανιχνευτή η διερχόμενη κινητή φάση συλλέγεται στο δοχείο αποβλήτων.



Εικόνα 2. 17. – Δοχείο Αποβλήτων

Το παραγόμενο μονοχρωματικό φως παράγεται από μία λάμπα μεταβλητού μήκους κύματος.



Εικόνα 2. 18. – Λαμπτήρας Ανιχνευτή

Για την τοποθέτηση, αλλαγή και βαθμονόμηση της λάμπας θα ασχοληθούμε σε άλλη ενότητα. Σε άλλη ενότητα επίσης, παρουσιάζονται τα πλήκτρα που καθορίζουν τα όρια ανίχνευσης, τον χρόνο απόκρισης του ανιχνευτή. Η απορρόφηση των ουσιών του δείγματος θα μετατραπεί σε ηλεκτρικό σήμα από τις πλακέτες του ανιχνευτή.

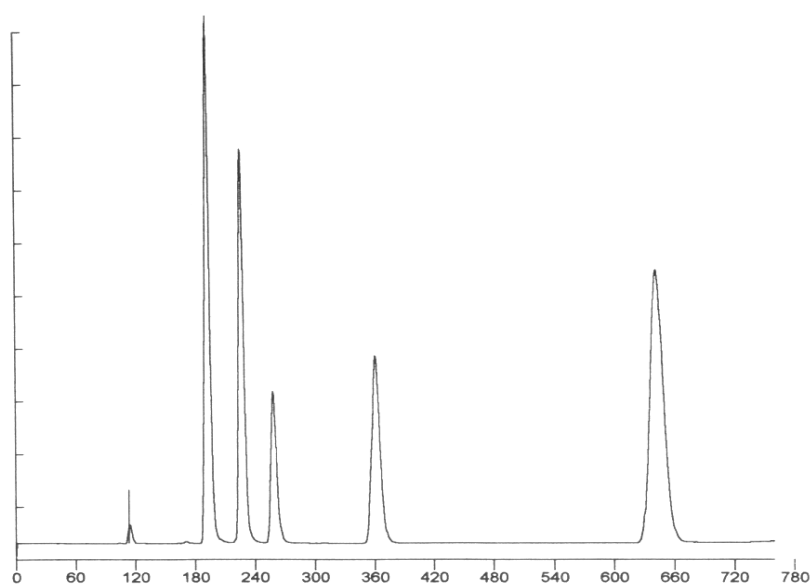
Για να έχουμε μια εποπτεία της ανάλυσης το ηλεκτρικό σήμα «μεταφέρεται» από τον ανιχνευτή στο καταγραφικό μέσω σειριακής θύρας και καλωδίων. Το καταγραφικό μας δίνει την χρονική μεταβολή της απορρόφησης του δείγματος που διέρχεται από την κυψελίδα. Ένα τυπικό χρωματογράφημα παρουσιάζεται στο σχήμα 2.2..

Το καταγραφικό της Εικόνας 2.19. διαθέτει μια σειρά από πλήκτρα τα οποία καθορίζουν την ενίσχυση του σήματος, την ταχύτητα του χαρτιού του καταγραφικού, το μέγεθος της κορυφής κ.ά.



Εικόνα 2. 19. – Καταγραφικό

Το σύστημα SP8800 μπορεί επίσης να συνδεθεί με υπολογιστή μέσω σειριακής θύρας με υπολογιστή για την καταγραφή του σήματος, χρωματογραφήματος που παρουσιάζεται στο σχήμα 2.2.



Σχήμα 2. 2. – Ένα Σωστό Τυπικό Χρωματογράφημα

Για να υπάρξει ένα σωστό χρωματογράφημα όπως του Σχήματος 2.2. και να μπορεί ο χειριστής να βγάλει κάποια συμπεράσματα για την εξέταση θα πρέπει να έχει φροντίσει και να έχει εξασφαλίσει τα εξής:

1. Να μην υπάρχουν φυσαλίδες στη σύριγγα.
2. Οι θύρες έγχυσης να μην έχουν σφικτεί πάρα πολύ, δεδομένου ότι αυτό θα προκαλέσει πάρα πολλή πίεση στη βελόνα σύριγγας με αποτέλεσμα την δύσκολη έγχυση.

3. Να αποφευχθούν οι δραστικές αλλαγές στη θερμοκρασία δωματίου επειδή αυτό θα προκαλέσει αλλαγές στους χρόνους διατήρησης (ένας βαθμός Κέλσιου μπορεί να έχει επιδράσεις στο χρόνο διατήρησης μέχρι και 10%).

4. Να δοκιμαστούν οι σύριγγες για τυχόν διαρροές. Η ακόλουθη εφαρμογή θα βοηθήσει να ελεγχθούν αν υπάρχουν διαρροές, η σύριγγα να γεμίσει με χρωστική ουσία και να γίνει η έγχυση.

5. Να διατηρείται σταθερή σύνθεση του διαλύτη γιατί οι χρόνοι διατήρησης και τα μεγέθη κορυφής αλλάζουν με τη μεταβολή της σύνθεσης διαλύτη. Οι πτητικοί διαλύτες θα πρέπει να είναι καλυμμένοι για να αποτραπεί η εξάτμιση τους.

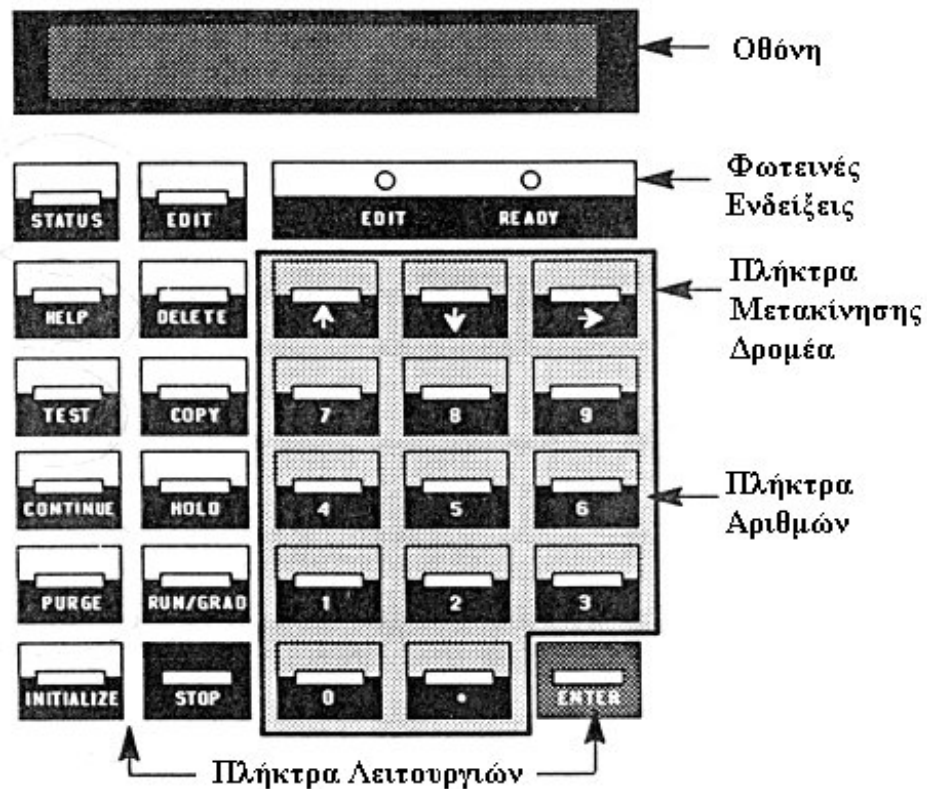
6. Ο όγκος των συστατικών να είναι τουλάχιστον στο 20% περίπου του αρχικού για βέλτιστη ακρίβεια των μετρήσεων του ύψους της κορυφής.

7. Όταν διαχωρίζεται δείγμα ιόντων, θα πρέπει το δείγμα να είναι στην κατάλληλη μορφή πριν γίνει η έγχυση, με τη βάση άλατος και την ελεύθερη βάση να διαχωρίζονται εμφανίζοντας δύο ξεχωριστές κορυφές. Η λύση είναι να χρησιμοποιηθούν **απομονωτές** για να ασφαλίσουν ότι το ιοντικό είναι στη σωστή μορφή.

Επίσης, για να υπάρξει ένα πολύ σωστό χρωματογράφημα, θα πρέπει να γίνεται και σωστή συντήρηση του συστήματος. Αλλά πριν τη συντήρηση, ο χειριστής θα πρέπει να ξέρει καταρχήν πώς να χειρίζεται σωστά το σύστημα της υγρής χρωματογραφίας, έτσι ώστε να αποφεύγονται τα εύκολα λάθη.

2.3. ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HPLC

Το πληκτρολόγιο του SP 8800 περιέχει 13 πλήκτρα λειτουργιών, 3 πλήκτρα πλοήγησης, 10 πλήκτρα που αντιστοιχούν στους αριθμούς από 0 έως 9, ένα πλήκτρο για την υποδιαστολή και 2 φωτεινούς δείκτες. Τα δεδομένα και η κατάσταση του συστήματος εμφανίζονται σε μια οθόνη 2 γραμμών, όπως φαίνονται στο παρακάτω σχεδιάγραμμα:



Σχήμα 2. 3

Τα πλήκτρα: **STATUS**, **HELP**, **TEST**

Παρέχουν πληροφορίες για τις τρέχουσες συνθήκες της αντλίας.

- ✓ **STATUS:** Αναφέρει τις τρέχουσες συνθήκες εφαρμογής
- ✓ **HELP:** Παρέχει πληροφορία για την τελευταία ενεργοποιημένη λειτουργία
- ✓ **TEST:** Παρέχει πρόσβαση σε μια σειρά από επιλογές, τεστ και διαγνώσεις
- ✓ **PURGE:** Η αντλία λειτουργεί στη μέγιστη ροή ή πίεση, όποιο από τα δύο φαινόμενα φτάσει πρώτο στο μέγιστο (αυτό κάνει το Purge??)

Όταν πατηθεί το πλήκτρο του **STATUS**, τότε στην οθόνη φαίνονται τα εξής:

Time	%A	%B	%C	PSI
0.0	100	0.0	0.	0

Εικόνα 2. 20. – Ένδειξη Οθόνης Πίνακα Ελέγχου

Αν πατηθεί ξανά τότε στην οθόνη θα εμφανιστεί το εξής μήνυμα:

File	Stat	Flow	MaxP	PSI
1	STOP	1.00	2000	0

Εικόνα 2. 21 – Ένδειξη Οθόνης Πίνακα Ελέγχου

Οι όροι που εμφανίζονται στην οθόνη, έχουν την εξής έννοια:

TIME: τρέχων χρόνος εφαρμογής. Δείχνει 0.0 και παραμένει έτσι μέχρι να πατηθεί το πλήκτρο RUN /GRAD, για να ξεκινήσει η εφαρμογή. Επιτρεπόμενες τιμές: 0 – 650 λεπτά, με προσαύξηση 0,1 λεπτά.

% A, B, C: τρέχων ποσοστό συγκέντρωσης του κάθε διαλύτη ξεχωριστά. Δείχνει τις μεταβολές του κάθε διαλύτη κατά την εφαρμογή. Η τιμή αλλάζει κάθε 0,1 λεπτά. Επιτρεπόμενες τιμές από 0% μέχρι 100% με προσαυξήσεις 0,1%. Το άθροισμα και των τριών μερών θα πρέπει να είναι ίσο με 100%.

PSI: τρέχουσα πίεση. Μπορεί να αλλάξει η μονάδα μέτρησης σε BARS ή σε Mpa. Η τιμή αλλάζει κάθε 0,5 δευτερόλεπτα.

FILE: ο τρέχων ή ο τελευταίος φάκελος προγράμματος της αντλίας. Η τιμή « n*» δείχνει ότι ο φάκελος προγράμματος έχει αλλάξει.

FLOW: η τρέχουσα ρύθμιση ροής ή η ροή να είναι στην τιμή 0,0. Επιτρεπόμενες τιμές από 0-10ml / min με προσαυξήσεις 0,01ml / min.

MaxP: η μέγιστη οριακή τιμή της πίεσης, που δίνεται από τον χειριστή. Αν την υπερβεί, τότε η αντλία θα σταματήσει να λειτουργεί.

Stat: η τρέχουσα κατάσταση της αντλίας (π.χ. αναμονή, εκτέλεση εφαρμογής, καθαρισμός, παύση, αρχειοθέτηση, έτοιμη, όχι έτοιμη).

HOLD: η αντλία μπορεί να κρατηθεί σε αναμονή, σε χρόνο και σε ποσοστά διαλύτη που έχει διαλέξει ο χειριστής.

RUN: ξεκινάει η εφαρμογή σταθερής ή βαθμιαίας ροής.

INIT: ένας φάκελος έχει αρχειοθετηθεί, αλλά η αντλία δεν έχει προσαρμοστεί εντελώς στις νέες τιμές ροής.

RDY: η αντλία είναι έτοιμη κι εκτελεί την εφαρμογή της στις αρχικές συνθήκες που έχουν δοθεί από τον χειριστή.

NRDY: η αντλία δεν είναι έτοιμη. Η αντλία λειτουργεί, αλλά για κάποιο λόγο δεν υπάρχει σταθερή ροή. Η αντλία αυτόματα ξανά ξεκινάει κι επανέρχεται στην κατάσταση RDY.

PURG: η αντλία κινείται στη μέγιστη τιμή ροής ή στο όριο πίεσης.

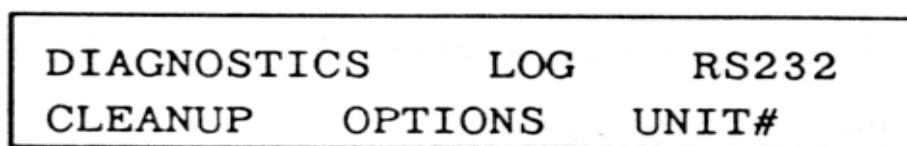
STOP: η αντλία έχει σταματήσει.

Εντολή ή Πλήκτρο: HELP

Όταν πατηθεί, παρέχεται βοήθεια για τη λειτουργία της τελευταίας εντολής που δόθηκε. Αν πατηθεί 2 φορές, τότε υπάρχει το κείμενο της βοήθειας, στο οποίο μπορεί ο χειριστής να κάνει πλοήγηση με τον κέρσορα.

Εντολή ή Πλήκτρο: TEST

Αυτό το πλήκτρο παρέχει πρόσβαση σε λειτουργίες ή εφαρμογές ρουτίνας και διαγνωστικά στοιχεία για την αντλία. Αν ο χειριστής επιλέξει την επιθυμητή λειτουργία με τον κέρσορα και πατήσει ENTER, τότε εμφανίζονται:



Εικόνα 2. 22. – Ένδειξη Οθόνης Πίνακα Ελέγχου

Οι όροι που εμφανίζονται τώρα στην οθόνη του SP 8800, σημαίνουν τα εξής:

DIAGNOSTICS: παρέχει πληροφορίες για την παρούσα κατάσταση της αντλίας. Τα τεστ αυτά, βοηθούν να εντοπιστούν τα προβλήματα γρήγορα. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα τεστ απομονώνουν τα προβλήματα σε συγκεκριμένα τμήματα του συστήματος. Υπάρχουν ενεργά και παθητικά τεστ. Τα παθητικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οποιαδήποτε στιγμή και δεν επηρεάζουν την μνήμη του controller ή την απόδοση της αντλίας. Τα ενεργά τεστ όμως, δεν πρέπει να γίνονται, όταν λειτουργεί η αντλία, γιατί θα επηρεάσουν την απόδοση της. Μετά από κάθε τεστ εμφανίζεται ένα μήνυμα, το οποίο αναφέρει τα αποτελέσματα του τεστ. Στις περισσότερες περιπτώσεις, αν το πρόβλημα βρεθεί, το μήνυμα θα δείξει την αποτυχία ή το αποτυχημένο μέρος του συστήματος.

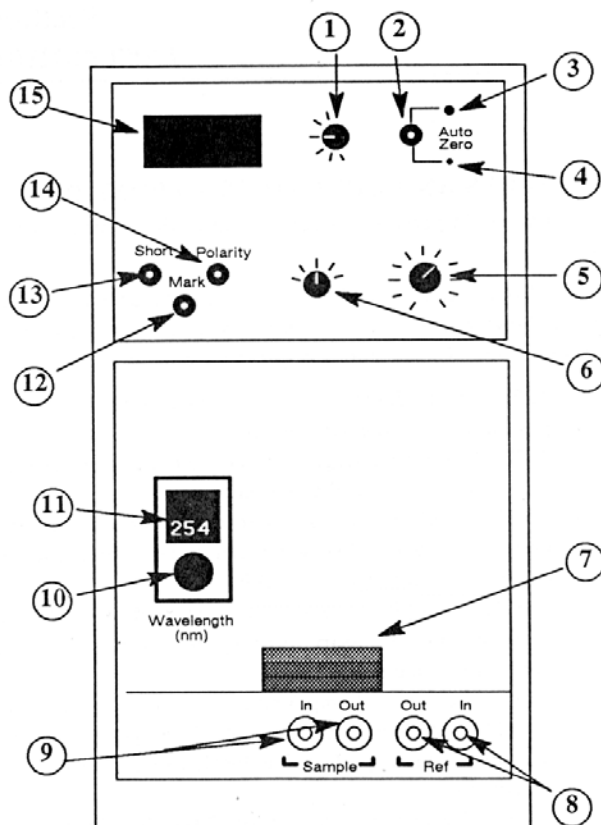
Τα παθητικά test είναι: το ROM test, το Program Version, το Flow Stability, το Pump Cycle Step Count, το External Inputs και το Display test.

Ενώ, τα ενεργά test είναι: το RAM test, το Check Valve, το Maintenance Position, το Transducer Range, το Transducer Auto Zero, το Motor Step / Valve test και το Hardware Series test.

2.4. ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Στην παρακάτω εικόνα, παρουσιάζεται ο πίνακας ελέγχου του ανιχνευτή

Σημεία Ελέγχου Κι Ενδείξεις



Σχήμα 2. 4 - Πλήκτρα Πρόσοψης Ανιχνευτή

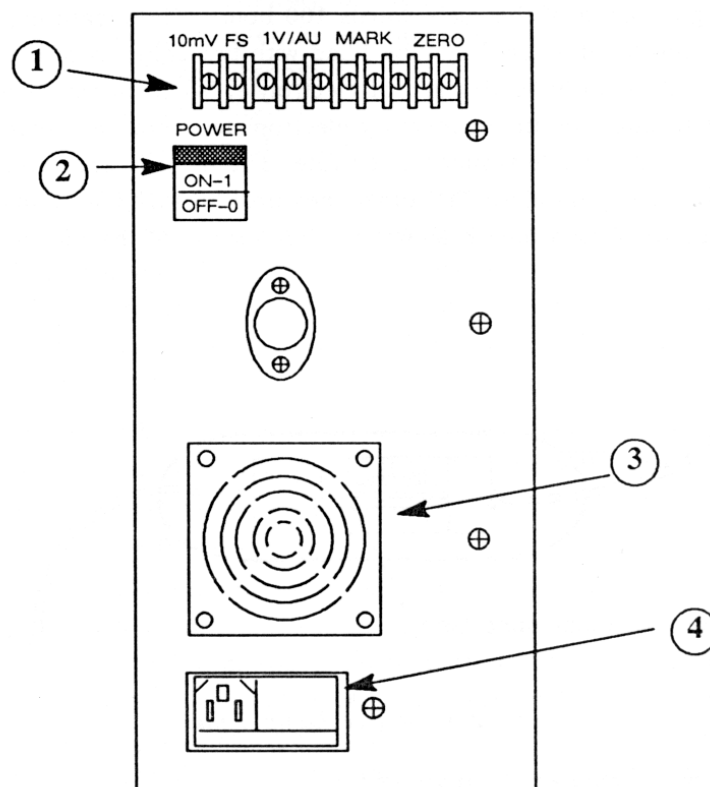
- ✓ Διακόπτης ελέγχου ψηφιακής ένδειξης (1). Οι οχτώ θέσεις περιστροφής επιτρέπουν στον χειριστή να επιλέξει μια από τις οχτώ λειτουργίες μέτρησης:
1. Ένδειξη «SE», (**Sample Energy**): ενέργεια δείγματος, παρουσιάζει μια μέτρηση τάσης που προέρχεται από την απορρόφηση, από το κελί δείγματος του ανιχνευτή.
 2. Ένδειξη «RE», (**Reference Energy**): ενέργεια αναφοράς, παρουσιάζει μέτρηση τάσης που προέρχεται από την απορρόφηση από το κελί αναφοράς του ανιχνευτή.
 3. Ένδειξη «AU», (**Absorbance Units**): μονάδες απορρόφησης, μετρώνται σε 1V/AU στην έξοδο του πίνακα οργάνων (panel). Η απορρόφηση υπολογίζεται συγκρίνοντας την «SE» προς την «RE».
 4. Ένδειξη «Zero»: μηδέν, δείχνει το σύνολο των μηδενισμών του σήματος έναρξης στις μονάδες απορρόφησης για να τείνει η έξοδος του καταγραφικού ή του ολοκληρωτή στη βασική γραμμή αναφοράς (auto zero).
 5. Ένδειξη «D2V», (**Deuterium Lamp Voltage**): δείχνει την τάση της λυχνίας.
 6. Ένδειξη «D2C», (**Deuterium Lamp Current**): δείχνει το ρεύμα της λυχνίας σε Ampere. Μια τιμή των 0,3 θα ήταν ιδανική. Δεκτές τιμές είναι από 0,285 - 0,315 Ampere.

7. **Ένδειξη «+15»:** δείχνει την τάση λειτουργίας των +15 Volts. Η τιμή του +1,000 σημαίνει +15 Volts. Αποδεκτή τιμή σωστής λειτουργίας του ανιχνευτή κυμαίνεται από +0,950 έως +1,050 Volts.
8. **Ένδειξη «-15»:** δείχνει την τάση λειτουργίας των -15 Volts. Η τιμή του -1,000 σημαίνει -15 Volts. Αποδεκτή τιμή σωστής λειτουργίας του ανιχνευτή κυμαίνεται από -0,950 έως -1,050 Volts.
- ✓ **Διακόπτης Auto zero (2).** Πλήκτρο μηδενισμού του σήματος στη βασική γραμμή αναφοράς. Το auto zero έχει κλίμακα $\pm 0,7$ AU.
 - ✓ **Auto zero Over Range Lamp (3).** Ένδειξη λυχνίας auto zero, όταν το σήμα εξόδου της βασικής γραμμής αναφοράς υπερβεί τη κλίμακα του auto zero ($\pm 0,7$ AU), η λυχνία τότε θα αρχίσει να αναβοσβήνει, που σημαίνει ότι είτε το δείγμα ή η ένδειξη αναφορά της λυχνίας έχει μειωθεί αρκετά. Αυτό μπορεί να έχει προκληθεί από φυσαλίδες, μόλυνση ή υψηλή απορρόφηση της κινητής φάσης στη κυψελίδα ροής.
 - ✓ **Auto zero Offset Adjustment (4).** Ρυθμίζει το μηδέν» της βασικής γραμμής αναφοράς.
 - ✓ **Range (AUFS) (5).** Ένας περιστρεφόμενος διακόπτης 11 θέσεων, επιτρέπει την επιλογή ευαισθησίας των μονάδων ευαισθησίας. Αυτή η ρύθμιση δεν επιδρά στην έξοδο του ολοκληρωτή.
 - ✓ **Response Time (sec) (6).** Ένας περιστρεφόμενος διακόπτης 5 θέσεων επιτρέπει στον χειριστή να διαλέξει 1 από 5 διαφορετικούς χρόνους απόκρισης:
 9. 0,05 sec – ταχύτατη απόκριση για στενές κορυφές, αλλά παράγει περισσότερο θόρυβο στην βασική γραμμή αναφοράς.
 10. 0,10 sec – γρήγορη απόκριση με ελαφρά λιγότερο θόρυβο από τα 0,05 sec.
 11. 0.5 sec – πιο γρήγορη απόκριση από την κανονική (1,0 sec), ελαφρά περισσότερος θόρυβος από τον κανονικό.
 12. 1,0 sec – κανονική απόκριση για στενές κορυφές και μέτρια απόκρυψη χαμηλού θορύβου.
 13. 5,0 sec – αργή χρονική απόκριση για μέγιστη απόκρυψη του σύντομου θορύβου.
Η παρούσα επιλογή ίσως επιδρά στα σχήματα των γρήγορων κορυφών.
 - ✓ **Wavelength (NM) (10).** Αυτό το κουμπί χειρισμού επιτρέπει στην χειροκίνητη επιλογή οποιουδήποτε μήκους κύματος μεταξύ 190nm – 700nm με υποδιαίρεση των 0,2nm.
 - ✓ **Wavelength Display (11).** Δείχνει το μήκος κύματος που έχει επιλεγεί από το κουμπί χειρισμού. Το μήκος κύματος που εμφανίζεται μετράται σε nm.

- ✓ **Mark (12).** Εφαρμόζει ένα στιγμιαίος παλμός στο σήμα εξόδου του καταγραφικού ή του ολοκληρωτή, παράγοντας έτσι μία γραμμή στο χρωματογράφημα.
- ✓ **Short Switch (13).** Συνδέει τα τερματικά (+) και (-) εξόδου του καταγραφικού, έτσι ώστε να καταργήσει το σήμα του καταγραφικού.
- ✓ **Polarity Switch (14).** Αντιστρέφει την πολικότητα του σήματος στην έξοδο του καταγραφικού.
- ✓ **Flow Cell Panel Latch (7).** Επιτρέπει στον χειριστή την πρόσβαση στην κυψελίδα.
- ✓ **Fluid Connection (8) και (9).** Συνδέσεις δείγματος και υγρού αναφοράς των 0,01 inch ID x 0.062 inch OD.
- ✓ **Display (15).** Κόκκινη φωτεινή ένδειξη τριών και μισού ψηφίων.

Κουμπιά Ελέγχου και Συνδέσεις –Το Πίσω Τμήμα Πίνακα Ελέγχου

Η πίσω όψη του ανιχνευτή, όπου υπάρχουν οι συνδέσεις και γίνονται κάποιες ρυθμίσεις, φαίνεται στο σχήμα 2.5..



Σχήμα 2. 5. – Πίσω Όψη Ανιχνευτή...

- ✓ **Terminal Block (1).** Είναι ένα τερματικό 10 συνδέσεων και παρέχει εξόδους για καταγραφικό, ολοκληρωτή ή άλλη συσκευή δεδομένων.
 1. 10mV / FS – 10mV έξοδος, μέγιστη αντίσταση της πηγής 2KΩ.

2. 1V / AU – 1.0V για κάθε έξοδο AU. μέγιστη αντίσταση της πηγής.2KΩ
 3. MARK – στιγμιαία επαφή τερματισμού εισόδου για εξωτερική ενέργεια του διακόπτη MARK.
 4. ZERO – στιγμιαία επαφή τερματισμού εισόδου για εξωτερική ενέργεια του διακόπτη AUTO ZERO.
- ✓ **Power Switch** (2). Διακόπτης τροφοδοσίας ON / OFF συστήματος.
 - ✓ **Line Voltage Connection** (4). Αυτή η μονάδα περιέχει την υποδοχή του καλωδίου ισχύος, την ασφάλεια ισχύος και την κάρτα επιλογής της τάσης.
 - ✓ **Exhaust Fan** (3). Ανεμιστήρας αποβολής αερίων, ελέγχεται από τον διακόπτη τροφοδοσίας (2).

2.5. ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

2.5.1. Διατήρηση Αρχείων

Τα περισσότερα προβλήματα δεν εμφανίζονται ξαφνικά, αλλά αναπτύσσονται σταδιακά. Η ακριβής τήρηση αρχείων, έπειτα, έχει σημαντικό ρόλο στην ανίχνευση και επίλυση πολλών προβλημάτων. Θα πρέπει να γίνεται αξιολόγηση κάθε στήλης που χρησιμοποιείται για πρώτη φορά κι επίσης να γίνεται σε τακτά χρονικά διαστήματα κατά την χρησιμοποίησή της. Με την κράτηση ενός αρχείου της αποδοτικότητας της στήλης, της κινητής φάσης που χρησιμοποιείται, του ρεύματος του λαμπτήρα, της απόδοσης της αντλίας, κ.λ.π. ελέγχεται η απόδοση του συστήματος. Η διατήρηση αρχείων όπως το είδος του δείγματος, της μείξης, οι ρυθμίσεις του συστήματος αλλά και σημαντικών παραμέτρων (χρόνοι διατήρησης, ανάλυση και σχήματα κορυφών, πίεση στήλης, ευαισθησία ανιχνευτή κ.ά.) θα βοηθήσουν για μελλοντική αναφορά, στην σύγκριση αντίστοιχων παραμέτρων για να προκύψουν συμπεράσματα σε βλάβες του συστήματος. Τα αξιόπιστα αρχεία είναι ο καλύτερος τρόπος να εξασφαλιστεί ότι μια τροποποίηση δεν εισάγει προβλήματα.

Επίσης, η διατήρηση αρχείων συντήρησης παρέχει έναν εύκολο τρόπο για να αποτρέπονται λάθη, όπως η εισαγωγή του νερού σε μια στήλη πυριτίου, ή η καθίζηση του απομονωτή στο σύστημα με την προσθήκη πάρα πολύ οργανικού διαλύτη. Ενώ, αν κάποια συντήρηση δεν έχει γίνει, το αρχείο συντήρησης θα το θυμίσει στον χειριστή. Διατηρεί ξεχωριστά αρχεία, π.χ. για τα λίτρα που έχουν αντληθεί, για την συντήρηση κάθε μηχανισμού (π.χ. πώματα αντλίας, πιστόνια, βαλβίδες ελέγχου). Ο χειριστής επίσης, μπορεί να θέσει χρονικά διαστήματα για να κάνει π.χ. αλλαγές πωμάτων, καθαρισμό αντλίας, καθαρισμό στήλης. Το αρχείο συντήρησης έχει επίσης, την εξής δυνατότητα: ο μετρητής των λίτρων που έχουν αντληθεί, μπορεί να υπάρξει ξεχωριστός για κάθε μέρος του συστήματος, και να αυξάνει κατά 1

μονάδα για κάθε λίτρο που αντλείται. Οπότε, ο μετρητής θα ξεπεράσει το όριο που έχει οριστεί, στην οθόνη θα εμφανίζεται κάποιο μήνυμα.

ITEM	DATE	SMD	VOL
Seal1	9/ 4/86	200	*201
Seal2	9/ 4/86	200	*201
Piston1	10/ 9/85	600	400
Piston2	10/ 9/85	600	400
Inlet	9/ 4/86	600	201
Outlet	9/ 4/86	600	201

Report Local/Remote

Εικόνα 2. 23. – Ένδειξη Οθόνης Πίνακα Ελέγχου

Ο αστερίσκος (*) στην Εικόνα 2.23., δείχνει ότι ο αντλούμενος όγκος έχει υπερβεί αυτόν που καθορίστηκε (τα 200 λίτρα), αυτό σημαίνει είτε ότι πρέπει να γίνει συντήρηση ή να επανεκτιμηθεί η απόδοση της αντλίας και να αυξηθεί το όριο του αντλούμενου όγκου. Ο αστερίσκος θα παραμείνει ενεργός μέχρι να αυξηθεί το όριο.

Τα μέρη του συστήματος που δέχονται αντικατάσταση, είναι:

1. οι βαλβίδες ελέγχου
2. το πιστόνι
3. το ελατήριο
4. το δαχτυλίδι
5. το kel-F πάμα στον κύλινδρο πρέπει να μετακινηθεί μόνο αν καταστραφεί (γρατσουνιά ή γδάρισμα).

Μετά το χειρισμό του συστήματος HPLC και την διατήρηση των αρχείων, ο χειριστής του HPLC έχει μια γενική εικόνα της κατάστασης του συστήματος, η οποία θα τον βοηθήσει στα στάδια της συντήρησης των τμημάτων του συστήματος HPLC.

2.6. ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗΣ

2.6.1. Συνθήκες Ασφαλείας Χειριστή

Ο χειριστής θα πρέπει να είναι πολύ προσεκτικός για την ασφάλεια του γιατί υπάρχει μεγάλος κίνδυνος, εξαιτίας των τοξικών και εύφλεκτων διαλυτών, που χρησιμοποιούνται και αποθηκεύονται στο εργαστήριο. Έτσι θα πρέπει:

- ✓ ο χώρος να έχει σωστή εξαέρωση

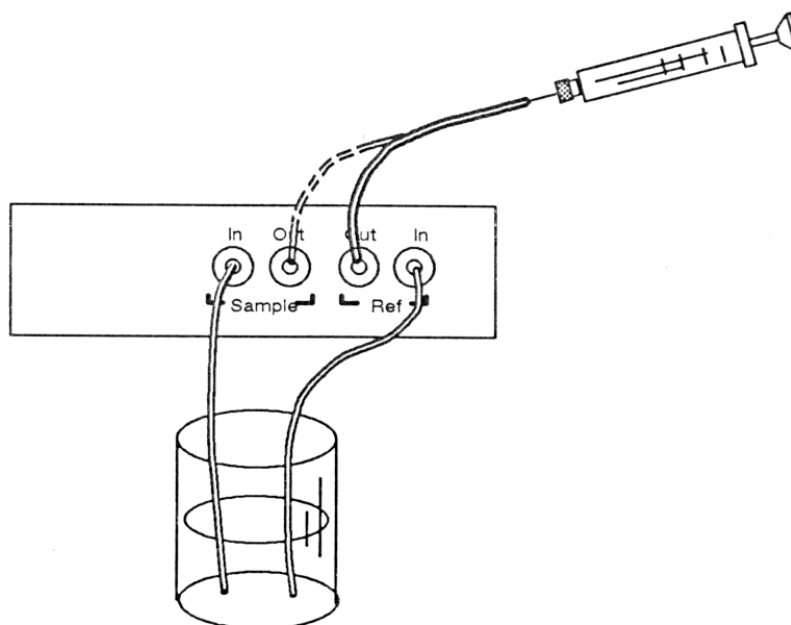
- ✓ Να γίνεται προσεκτική αποθήκευση των διαλυτών
- ✓ Να γίνονται προσεκτικοί χειρισμοί από τον χειριστή
- ✓ Να γίνεται σωστή ταξινόμηση των διαλυτών και των δειγμάτων
- ✓ Ο χειριστής να είναι εξοικειωμένος με την τοξικότητα και τους κινδύνους που συνοδεύουν όλα τα χημικά προϊόντα που υπάρχουν σε ένα εργαστήριο.
- ✓ Ο χειριστής να προσέχει πάρα πολύ και να έχει τη συγκέντρωση του, όταν χειρίζεται επιβλαβή για τον ίδιο δείγματα ή διαλύτες και να παρατηρεί τις ενδεικτικές μετρήσεις που υπάρχουν στα δοχεία των διαλυτών.
- ✓ Τέλος, ο χειριστής στον χώρο εργασίας, θα πρέπει να φοράει προστατευτικά γυαλιά, γάντια για την αποφυγή εγκαυμάτων και κάποια στολή για να μην καταστρέφεται ο ρουχισμός του.

2.6.2. Μέτρα Προφύλαξης Συστήματος HPLC

Προληπτική Συντήρηση

Η προληπτική συντήρηση γίνεται καταρχήν σε απαραίτητα σημεία του συστήματος, έτσι ώστε να διατηρούνται κάποια μέρη σε καλή κατάσταση, να έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και επομένως, η ροή της κυψελίδας να γίνεται στις καλύτερες συνθήκες. Συστήνονται τα παρακάτω προληπτικά μέτρα:

- ✓ Ο χειριστής οφείλει να χρησιμοποιεί υψηλής καθαρότητας διαλύτες σε όλες τις εφαρμογές (για ανάλυση, για ξέπλυμα και για καθαρισμό). Να χρησιμοποιεί υψηλής καθαρότητας αέρια για να στεγνώσει τις ίδιες περιοχές.
- ✓ Όλα τα περιφερειακά μέρη, υδραυλικά, αντλίες κ.ά., θα πρέπει να ξεπλύνονται και να καθαρίζονται ολοκληρωτικά πριν τη σύνδεση στην κυψελίδα.
- ✓ Να αποφεύγει την μικρομοριακή ή βακτηριδιακή μόλυνση και το βούλωμα του καναλιού ροής με τη μέγιστη χρήση φιλτραρισμού.
- ✓ Να αποφεύγει, να αφήνει ρυθμιστικά διαλύματα στο κελί για μεγάλα χρονικά διαστήματα, με το να μειωθεί ο χρόνος μεταξύ των εφαρμογών.
- ✓ Να ξεπλύνει πολύ καλά όλο το υδραυλικό σύστημα (συμπεριλαμβάνοντας και την κυψελίδα), με πλύση διαλύτη (ισοπροπυλική αλκοόλη), όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 2. 24. – Πλύση Διαλύτη

Τα παραπάνω προληπτικά μέτρα δεν λαμβάνονται σε μεγάλη συχνότητα σε σχέση με τα παρακάτω, τα οποία κάθε φορά που ξεκινάει ο χειριστής την λειτουργία του συστήματος HPLC, θα πρέπει να τα ακολουθεί. Έτσι ώστε, η λειτουργία του συστήματος να γίνεται σωστά και το αποτέλεσμα - χρωματογράφημα να μην είναι προβληματικό.

✓ Οι διαλύτες να φιλτράρονται πολύ καλά.

Οι περισσότεροι κατασκευαστές παρέχουν υψηλής καθαρότητας ή ποιοτικού φάσματος αντιδραστήρια, τα οποία είναι χωρίς ξένες προσμείξεις. Η ρουτίνα φιλτραρίσματος όλων των διαλυτών μέσα από ένα φίλτρο 2μm ή μικρότερο, πριν την τοποθέτησή τους για χρήση, θα είχε σαν αποτέλεσμα τα φίλτρα εισόδου, οι βαλβίδες ελέγχου, οι δακτύλιοι στεγανοποίησης του εγχυτή και της στήλης να έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και να είναι πιο αποτελεσματικά,

Προσοχή!!!

Ο χειριστής να μην χρησιμοποιεί ποτέ διαλύματα υδροχλωρικού οξέος (HCl). Γενικά, οποιοδήποτε αλογονίδιο τείνει να οξειδώσει το ανοξειδωτο ατσάλι, χωρίς να παίζει ρόλο η συγκέντρωση. Στην μείξη χημικών ή ρυθμιστικών διαλυμάτων, να προσέχει να αποφεύγονται υψηλές συγκεντρώσεις των οργανικών οξέων κι αλάτων. Επίσης, υδάτινα διαλύματα που περιέχουν μεταλλικά ιόντα και μπορούν να επιδράσουν στο ανοξειδωτο ατσάλι, αφού παράγουν ηλεκτροχημικές αντιδράσεις, οι οποίες προάγουν την οξείδωση. Τέλος, να αποφεύγονται και τα διαλύματα άλατος των παρακάτω μετάλλων: χρώμιο, νικέλιο, μαγγάνιο, σίδηρος, χαλκός, μόλυβδος.

✓ Προετοιμασία δείγματος.

Ο χειριστής θα πρέπει πάντα να εξετάζει την διαλυτότητα του δείγματος στην κινητή φάση. Η καθίζηση του δείγματος μπορεί να βουλώσει το σύστημα, φράζοντας τη ροή στον εγχυτή και στη στήλη. Αυτό, μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα ανεπανόρθωτη ζημιά σε μέρη του συστήματος. Επομένως, θα πρέπει να φιλτράρονται τα δείγματα από φίλτρα 2μm ή μικρότερα, πριν εισαχθούν στο σύστημα της χρωματογραφίας.

✓ Απαερίωση των διαλυτών

Η απαερίωση των διαλυτών, μπορεί να γίνει απλά, βγάζοντας τον κενό αέρα από τα φιαλίδια των διαλυτών για μερικά δευτερόλεπτα. Άλλος τρόπος είναι η χρήση του ήλιου. Με τη βοήθεια του ήλιου, μπορεί να υπάρχει η βεβαιότητα ότι δεν υπάρχουν φυσαλίδες στις χαμηλές πιέσεις της αντλίας κι έτσι δεν θα μειωθεί η απόδοση της αντλίας και γενικότερα του συστήματος. Επίσης, ο χειριστής θα πρέπει να σιγουρευτεί, ότι το καπάκι του κάθε διαλύτη είναι σε καλή κατάσταση, με τα σωληνάκια να εφαρμόζουν απόλυτα, έτσι ώστε να μην μπαίνει αέρας μέσα στους διαλύτες. Ενώ, θα πρέπει ο χειριστής να ελέγχει ότι η ροή του ηλίου σε κάθε μπουκάλι του διαλύτη είναι επαρκής, για να κάνει την απαερίωση (περίπου 5ml / λεπτό).

✓ Καθαρισμός στις σωληνώσεις των διαλυτών

Αν η ροή της αντλίας έχει κλείσει ή κάποιες από τις σωληνώσεις των διαλυτών στην τριπλή βαλβίδα δεν έχουν χρησιμοποιηθεί για κάποιες ώρες, τότε θα πρέπει να καθαριστούν με διαλύτη απαερίωσης πριν από την χρήση, λόγω του αέρα που έχει περάσει μέσα στις σωληνώσεις. Επίσης, πολλά προβλήματα μπορούν να δημιουργηθούν από την «εκτέλεση» διαφορετικού προγράμματος σύστασης διαλύτη και ροής διαλύτη, από ότι από αυτό που επιθυμεί ο χειριστής. Π.χ. μεγαλύτερη ροή 2ml / min, από αυτή που επιθυμεί ο χειριστής 1ml / min.

✓ Αλλαγή διαλύτη και ρύθμιση στήλης

Κατά αρχήν, θα πρέπει η στήλη να ρυθμιστεί στην σύνθεση του νέου διαλύτη, έτσι ώστε ο νέος διαλύτης να ξεπλύνει τον παλιό, και σε βαθμό ροής από 10 έως 20 όγκους στήλης. Κι αυτό γιατί από διαλύτη σε διαλύτη, αλλάζει η πολικότητα τους, η οξύτητα τους κ.ά..

✓ Σωστό πλύσιμο

Για να υπάρχει καλή χρωματογραφία θα πρέπει η αντλία και η στήλη να μην έχουν άλατα ή οξειδωτικά στοιχεία. Με τη συμπλήρωση μιας σειράς εξετάσεων από δείγματα, πρέπει να ξεπλυθεί η αντλία, όλες οι σωληνώσεις και η στήλη από όλα τα άλατα και τα οξειδωτικά στοιχεία.

✓ Σωστή συντήρηση

Το αρχείο λειτουργίας συντήρησης του μηχανήματος, σχεδιάστηκε για να επιτρέπει στον χειριστή να καταγράφει τις συντηρήσεις που γίνονται και να θέτει χρονικές συντηρήσεις ή ελέγχους, έτσι ώστε να αποφεύγονται προβλήματα που θα μειώνουν την απόδοση του χρωματογράφου.

✓ Απόδοση αντλίας

Οι αντλίες του συστήματος έχουν την ικανότητα αυτόματα να παρουσιάζουν την απόδοση τους πάνω στην οθόνη του HPLC και να ενημερώνουν τον χειριστή αν υπάρχει πρόβλημα ροής. Τα τεστ σταθερότητας ροής μπορούν να υλοποιηθούν με τρεις διαφορετικούς τρόπους:

α) Συνθήκες σίγουρης ροής παρουσιάζονται συνεχώς στην οθόνη του συστήματος και β) συνθήκες ασταθούς ροής. Αν υπάρξουν συνθήκες ασταθούς ροής, π.χ. η αντλία έχει τελειώσει από διαλύτη ή οι δακτύλιοι στεγανοποίησης έχουν αρχίσει να χαλαρώνουν ή η βαλβίδα ελέγχου έχει παγιδεύσει φυσαλίδες, η αντλία θα παρουσιάσει στην οθόνη το εξής μήνυμα:

OUT OF SOLVENT or UNSTABLE FLOW

Η εμφάνιση της εντολής **OUT OF SOLVENT**, έχει σαν αποτέλεσμα, η αντλία να κλείσει αυτόματα. Ωστόσο, μπορεί ο χειριστής να ορίσει την αντλία να αποκρίνεται στο μήνυμα **UNSTABLE FLOW**. Η αντλία, στην περίπτωση αυτή, αναφέρει συνεχώς το λάθος.

✓ Κλείσιμο, λόγω μη σταθερής ροής

Η αντλία αξιολογεί τη σταθερότητα της ροής σχεδόν πάνω από 10 κύκλους του πιστονιού, και ανάλογα από το ποσοστό ροής θα κλείσει αυτόματα ή όχι.

✓ Ανάκτηση από διακοπή ρεύματος

Η λειτουργία της αντλίας μπορεί να ανακτηθεί με τον ένα από τους δύο τρόπους: Η πρώτη επιλογή, είναι να φορτωθεί το αρχείο στο οποίο έχει αποθηκευτεί η ενέργεια του χειριστή, και να συνεχίσει η αντλία από εκεί που είχε σταματήσει πριν την διακοπή. Η δεύτερη επιλογή, είναι η αντλία να επαναλειτουργήσει με την μνήμη της, αλλά θα παραμείνει σε κατάσταση αναμονής, μέχρι να αρχισοθετηθεί ξανά ένας νέος φάκελος ή να πατηθεί το πλήκτρο εκτέλεσης της εφαρμογής (RUN / GRADE).

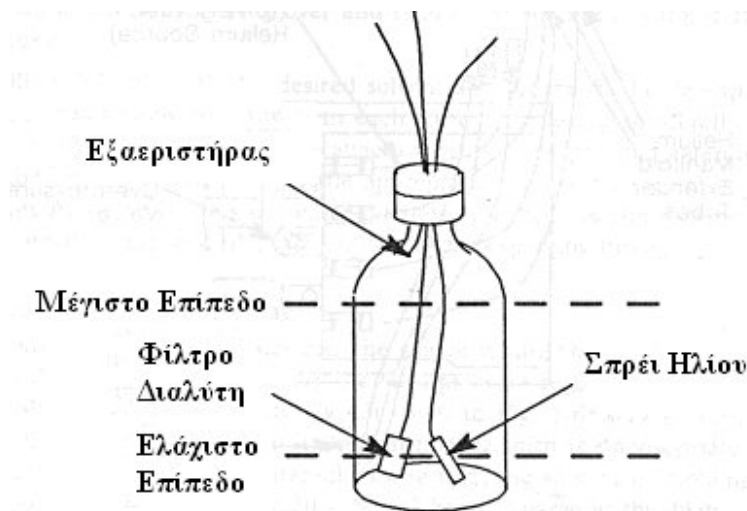
Μέτρα Προφύλαξης Αντλίας

Ο όγκος της κινητής φάσης που αναμένεται να αντληθεί πριν τη συντήρηση, εξαρτάται πάρα πολύ, πώς η αντλία χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια χρήσης της. Ακολουθώντας λοιπόν τις παρακάτω οδηγίες, ο χειριστής θα μπορέσει να παρατείνει τη διάρκεια ζωής της αντλίας και να βελτιώσει την απόδοσή της.

- ✓ Να γίνεται χρήση μόνο υψηλής ποιότητας, διαλυτών HPLC
- ✓ Θα πρέπει να ελέγχονται τα φίλτρα διαλύτη, να είναι τουλάχιστον 2 μικρών, πριν τοποθετηθούν στα ντεπόζιτα διαλυτών
- ✓ Να προ-φιλτραριθεί το νερό από φίλτρο τουλάχιστον 2 μικρών, για να αφαιρεθεί η μοριακή ύλη και η οργανική μόλυνση
- ✓ Να αποφεύγονται οι οριακές τιμές του pH (π.χ. μικρότερες του 1,2 ή μεγαλύτερες του 8,0)
- ✓ Να επαληθεύεται ότι οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι αναμίξιμοι σε όλα τα μέρη. Αυτό είναι πολύ σημαντικό για μια ρυθμιστική κινητή φάση, ενώ η καθίζηση αλάτων καταστρέφει γρήγορα τα μέρη συντήρησης
- ✓ Ποτέ να μην αφήνεται η αντλία γεμάτη με ρυθμιστικό διαλύτη, όταν δεν αντλείται, η αντλία να ξεπλυθεί πολύ καλά με τουλάχιστον 25ml καθαρού φιλτραρισμένου νερού
- ✓ Η αντλία πρέπει να γεμίσει με μεθανόλη, αν είναι να μείνει αδρανής για περισσότερο από 2 μέρες. Έτσι αποφεύγεται η πιθανή ανάπτυξη μολυσματικών μικρο - οργανισμών στο σύστημα από τους υδάτινους διαλύτες
- ✓ Ποτέ να μην χρησιμοποιούνται διαλύματα υδροχλωρικού οξέος. Γενικά, οποιοδήποτε αλογονίδιο τείνει να φθείρει το σκληρό ανοξειδωτο χάλυβα σε οποιαδήποτε συγκέντρωση οξέος
- ✓ Να αποφεύγονται τα ιόντα μετάλλου, που μπορούν να προκαλέσουν φθορά, και που οφείλονται σε ηλεκτροχημικές διεργασίες. Τυπικά, θα πρέπει να αποφεύγονται τα εξής ιόντα μετάλλων: μαγγάνιο, χρώμιο, νικέλιο, χαλκός, σίδηρος και μόλυβδος

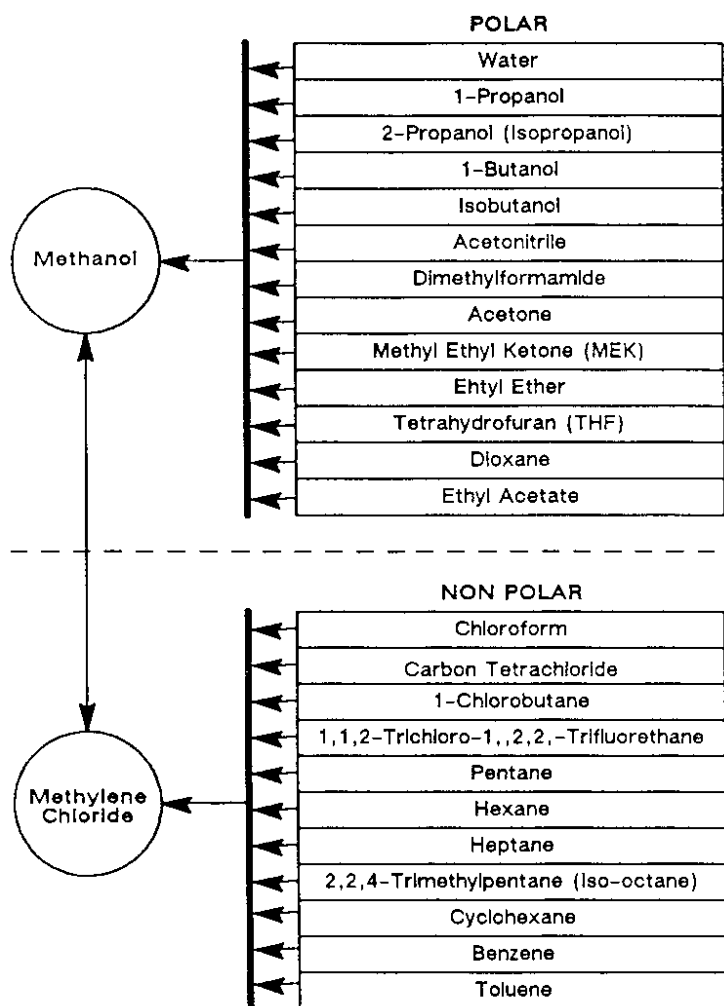
Στην περίπτωση που εισχωρήσει αέρας στην αντλία, θα πρέπει να είναι αποσυνδεδεμένη από την στήλη ή τη βαλβίδα, να είναι ανοιχτή και η έξοδος της αντλίας να οδηγεί σε κάποιο δοχείο αποβλήτων. Ο χειριστής τότε, θα αποσυνδέσει τη σύριγγα από την βαλβίδα ελέγχου της εξόδου και θα επανασυνδέσει τον σωλήνα διασταύρωσης. Στη συνέχεια, η αντλία πρέπει να καθαριστεί και οι σωληνώσεις παροχής του διαλύτη να μην περιέχουν αέρα, ενώ για μεγαλύτερη

ασφάλεια θα πρέπει τα φίλτρα εισόδου των διαλυτών να είναι τοποθετημένα κάθετα μέσα στο μπουκάλι, έτσι ώστε να μην μπορεί να εισχωρήσει αέρας, αν το φίλτρο μετακινηθεί ελάχιστα, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.6..



Σχήμα 2. 6. – Φίλτρο Εισόδου Διαλύτη Σε Δοχείο Διαλύτη

Αν στην περίπτωση που ασύμβατος διαλύτης παραμένει στην αντλία, να ξεπλυθεί πρώτα με τους κατάλληλους διαλύτες και κατόπιν να ξεπλυθεί τουλάχιστον με 25ml μεθανόλη. Για παράδειγμα, αν το χλωροφόρμιο χρησιμοποιείται ως διαλύτης στην κινητή φάση, τότε ένα ξέπλυμα 25ml χλωρίδιο του μεθυλενίου θα ήταν απαραίτητο, για να ξεπλυθεί πριν τη μεθανόλη. Σύμφωνα, με το παρακάτω σχεδιάγραμμα, όπου παρουσιάζονται οι χημικές ενώσεις χωρισμένες σε δύο κατηγορίες στις πολικές και στις μη πολικές. Αντίστοιχα, στην κάθε κατηγορία οι χημικές ενώσεις είναι ταξινομημένες ανάλογα με το βαθμό πολικότητας και μη πολικότητας:



Πίνακας 2. 1

Κάποιοι από τους παραπάνω διαλύτες έχουν τις παρακάτω χαρακτηριστικές ιδιότητες ως προς τον ανιχνευτή:

ΔΙΑΛΥΤΗΣ	R.I.	UV Cutoff
Acetone	1,359	330
Acetonitrile	1,344	190
Ethanol	1,353	215
Methanol	1,329	205
n-Hexane	1,375	195
Water	1,333	180

Πίνακας 2. 2

2.6.3. Βαλβίδες Ελέγχου

Διάγνωση Προβλημάτων στις Βαλβίδες Ελέγχου

Τα περισσότερα προβλήματα στις βαλβίδες ελέγχου οφείλονται στη βαλβίδα εισόδου, δεδομένου ότι η βαλβίδα εξόδου έχει συνήθως ένα φίλτρο για να την προστατεύει. Εάν υπάρχουν υποψίες για προβλήματα που οφείλονται στις βαλβίδες, τότε η ακόλουθη δοκιμή θα επιβεβαιώσει ότι όντως οι βαλβίδες ελέγχου και δη η βαλβίδα εισόδου είναι πράγματι το πρόβλημα.

1. Με το μπουκάλι διαλύτη στο ίδιο επίπεδο με την αντλία, να εισαχθεί μια μικρή φυσαλίδα αέρα στη γραμμή εισαγωγής.
2. Με την αντλία που τρέχει κάτω από πίεση, να ελεγχθεί η πορεία της φυσαλίδας στην γραμμή. Εάν η φυσαλίδα προχωρεί προς την αντλία χωρίς οποιαδήποτε οπίσθια κίνηση, τότε και οι δύο βαλβίδες εισόδου κι εξόδου λειτουργούν κανονικά.
3. Εάν η φυσαλίδα κινείται πέρα δώθε συγχρονισμένα με το κτύπημα της αντλίας, τότε η βαλβίδα εισόδου αποτυγχάνει να κλείσει κατάλληλα.
4. Εάν η φυσαλίδα δεν κινείται καθόλου, τότε η βαλβίδα εξόδου έχει πρόβλημα.

Καθαρισμός Βαλβίδων Ελέγχου

Αν ο χειριστής παρατηρήσει ότι υπάρχουν μολυσματικοί παράγοντες στις βαλβίδες ελέγχου, θα πρέπει να τις καθαρίσει. Αλλά μπορεί να προλάβει τα προβλήματα στις βαλβίδες ελέγχου χρησιμοποιώντας:

1. Διαλυτικό φίλτρο εισόδου

Να χρησιμοποιείται πάντα ένα φίλτρο 10 μm ή και πιο λεπτό στη γραμμή αναρρόφησης διαλύτη. Αν δεν χρησιμοποιηθεί τότε η βαλβίδα ελέγχου θα έχει φθορές από μόλυνση κι έτσι ο διαλύτης μπορεί να εμφανιστεί αλλοιωμένος μετά την έκθεση του στον αέρα από τα μόρια της σκόνης.

2. Φίλτρο βαλβίδας εξόδου

Ο σκοπός του φίλτρου βαλβίδας εξόδου είναι για να εγγραφεί την αξιοπιστία με την παρεμπόδιση της φθοράς από το υλικό του δακτυλίου στεγανοποίησης και άλλων μολυσματικών παραγόντων από την βαλβίδα εισόδου. Το φίλτρο θα πρέπει να ελέγχεται όποτε γίνεται αλλαγή στο δακτύλιο στεγανοποίησης της αντλίας. Στις περισσότερες αντλίες, το φίλτρο θα διαρκέσει για τουλάχιστον δύο χρόνια πριν αλλαχτεί αναγκαστικά, αλλά εάν ο δακτύλιος της αντλίας φθείρεται συχνά, η διάρκεια ζωής του φίλτρου θα είναι πιο μικρή και θα οφείλεται στη φθορά του

υλικού του δακτυλίου, επομένως η αλλαγή του φίλτρου θα πρέπει να γίνεται πιο συχνά.

3. Καθαρίζοντας τις βρώμικες βαλβίδες

Για να καθαριστούν οι βαλβίδες ελέγχου που περιέχουν μολυσματικούς παράγοντες, απαιτείται μια σύριγγα για να ξεπλυθεί η βαλβίδα με 50 mL καθαρού βαθμού ισοπροπανόλης HPLC ή απιονισμένου νερού. Αυτή η απλή διαδικασία γίνεται στο 90% των περιπτώσεων. Αν δεν καθαριστούν τότε θα πρέπει να ξεπλυθούν με 20% νιτρικού οξέος (ο χειριστής να φοράει τα προστατευτικά γυαλιά ασφάλειας) για να καταστραφούν οι μολύνσεις ή να γίνει πλύση σε μηχανήμα υπέρηχων για 20 λεπτά.

Μετά, οι βαλβίδες θα πρέπει να ξανά ξεπλυθούν με 50 mL νερού βαθμού HPLC.

Σημείωση: Η καταστροφή των μολυσματικών παραγόντων με υπερήχους προκαλεί συνήθως διάβρωση μεταξύ της σφαίρας και του καθίσματος της αντλίας, για αυτό η χρήση αυτή της μεθόδου είναι η τελευταία λύση.

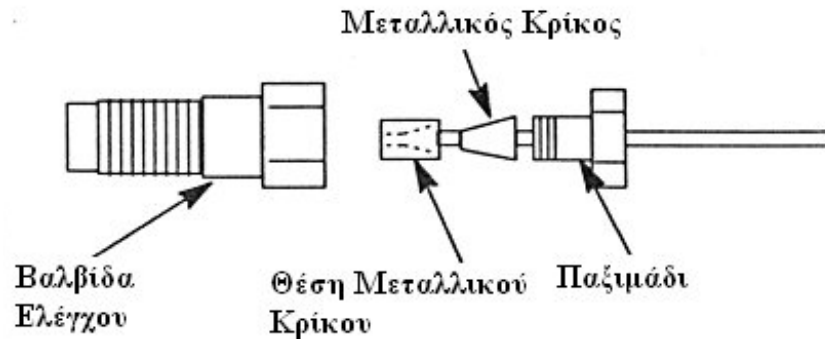
Εγκατάσταση Βαλβίδων Ελέγχου

Η χρονική διάρκεια ζωής μιας βαλβίδας ελέγχου εξαρτάται εξ ολοκλήρου από τους όρους service της προμηθεύτριας εταιρείας. Η χρονική διάρκεια της ζωής μιας βαλβίδας εξαρτάται : α) από την μόλυνση της κινητής φάσης, β) από τη μόλυνση από τα φθαρμένα υλικά του δακτυλίου στεγανοποίησης της αντλίας, και γ) από τη συγκέντρωση αλάτων στη βαλβίδα. Εντούτοις, για την καλύτερη αξιοπιστία και των επαναλαμβανόμενων χρόνων διατήρησης, συστήνεται η αντικατάσταση των βαλβίδων κάθε δεύτερη φορά που οι δακτύλιοι στεγανοποίησης των εμβόλων αντικαθίστανται.

Είναι πολύ σημαντικό να υπάρχει ένα καθαρό περιβάλλον χωρίς μικρόβια, όταν βαλβίδες ελέγχου τοποθετούνται στο HPLC, γιατί οι βαλβίδες ελέγχου έχουν κατασκευαστεί σε εργαστηριακό χώρο που είναι απολυμασμένος, χωρίς μικρόβια και είναι καλυμμένες για να προστατεύονται από τη μόλυνση.

Εγκατάσταση Βαλβίδας Εισόδου

1. Ο χειριστής να αφαιρέσει τη σωλήνα εισόδου από την βαλβίδα ελέγχου, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.7. και να προσέξει να μην χαλαρώσει το τμήμα της στεφάνης, το οποίο πέφτει από την βαλβίδα ελέγχου.



Σχήμα 2. 7. – Βαλβίδα Ελέγχου

2. Να μετακινήσει την ελαττωματική βαλβίδα ελέγχου, περιστρέφοντας την βαλβίδα δεξιόστροφα με κλειδί ½ ίντσας.
3. Να εγκαταστήσει την καινούρια βαλβίδα ελέγχου βιδώνοντας μέχρι η βαλβίδα να ασφαλιστεί στον κύλινδρο και να επανασυνδέσει τη σωλήνα εισόδου, αφού πρώτα έχει τοποθετήσει το νέο τμήμα της στεφάνης.

Εγκατάσταση Βαλβίδας Εξόδου

1. Να μετακινήσει τη σταυρωτή σωλήνα από την βαλβίδα ελέγχου της εξόδου και την κορυφή της κεφαλής της αντλίας (τη δεξιά της εξόδου).
2. Να μετακινήσει την ελαττωματική βαλβίδα ελέγχου, περιστρέφοντας την βαλβίδα δεξιόστροφα με κλειδί ½ ίντσας.

Να εγκαταστήσει την καινούρια βαλβίδα ελέγχου βιδώνοντας μέχρι η βαλβίδα να ασφαλιστεί και να σφίχτεί με κλειδί ½ ίντσας. Να αντικαταστήσει τη σωλήνα σύνδεσης και να σφίξει τα εξαρτήματα αρκετά για να μην υπάρχουν διαρροές.

Μέτρα Προφύλαξης των Βαλβίδων Ελέγχου

Το πρόβλημα που εμφανίζουν πιο συχνά οι βαλβίδες ελέγχου είναι να είναι κολλημένες και αυτό μπορεί να οφείλεται κατά τη διάρκεια της μακροπρόθεσμης αποθήκευσης τους ή και της αδράνειας τους.

Οι ιδιαίτερα καλά γυαλισμένες επιφάνειες της αντλίας από ζαφείρι, ρουμπίνιο ή από κεραμικά, και το κάθισμα στις βαλβίδες ελέγχου θα τείνουν να αλληλεπιδράσουν η μια με την άλλη κατά την διάρκεια της ξήρανσης. Η σοβαρότητα αυτού του προβλήματος εξαρτάται από ποιος διαλύτης ήρθε τελευταίος σε επαφή τόσο με τη σφαίρα και όσο και με το κάθισμα. Με το ακετονιτρίλιο, το πρόβλημα είναι αρκετά σοβαρό, με τους περισσότερους άλλους διαλύτες το πρόβλημα δεν είναι τόσο σημαντικό και συχνό. Ο καλύτερος τρόπος για να αποτραπεί το πρόβλημα, είναι η βαλβίδα να αποθηκεύεται στην αρχική θήκη της που έρχεται από την εταιρεία κατασκευής, και θα πρέπει να υπάρχουν στη θήκη μερικά ml ισοπροπανόλη. Το νερό μπορεί

επίσης να χρησιμοποιηθεί εφ' όσον προστεθούν 20% ισοπροπανόλη για να αποτραπεί η αύξηση της ξήρανσης.

2.6.4. Δακτύλιοι Στεγανοποίησης

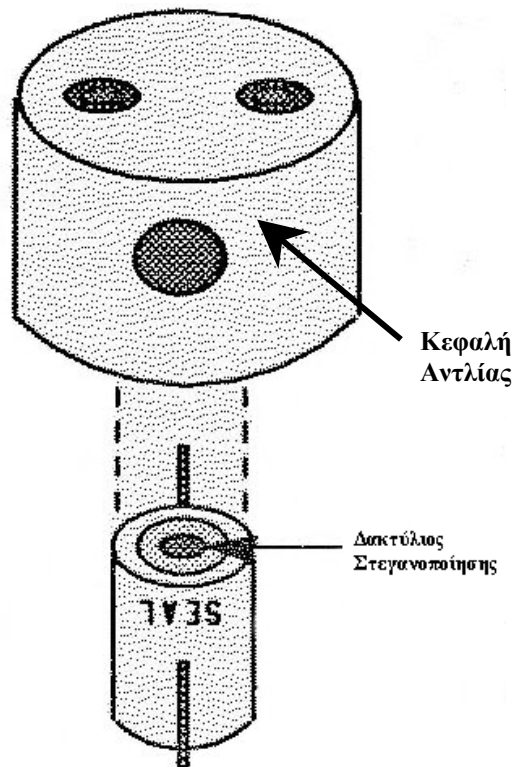
Ελαστικότητα Δακτυλίου Στεγανοποίησης (seal compliance)

Το τεφλόν είναι ένα υλικό μαλακό και ελαστικό σε σχέση με το υλικό UHMW-PE, με αποτέλεσμα να προσαρμόζεται καλύτερα σε ένα φθαρμένο έμβολο. Επίσης, είναι πιθανόν να υπάρχει διαρροή ακόμα και κατά την αντικατάσταση του δακτυλίου με τεφλόν αν το έμβολο είναι φθαρμένο ή γρατσουνισμένο. Εάν έχει πρόσφατα εγκατασταθεί δακτύλιος στεγανοποίησης του υλικού UHMW-PE και υπάρχει διαρροή, τότε να εφαρμοστεί στην αντλία 2.000 psi ή περισσότερα για 30 λεπτά με IPA ή νερό, και η διαρροή θα σταματήσει καθώς ο δακτύλιος θα αρχίσει προσαρμόζεται και στην κοιλότητα και στο έμβολο. Εάν η διαρροή δεν σταματά μετά από 30 λεπτά, τότε ο δακτύλιος στεγανοποίησης είτε καταστράφηκε κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης είτε το έμβολο είναι φθαρμένο ή γρατσουνισμένο και θα πρέπει να αντικατασταθεί.

Το τεφλόν είναι ένα απόλυτα αδρανές σε οποιοδήποτε διαλύτη HPLC. Ενώ ο δακτύλιος από UHMW-PE θα έχει μειωμένη διάρκεια ζωής, όταν χρησιμοποιείται με πολύ ισχυρούς οργανικούς διαλύτες όπως το καθαρό μεθυλένιο χλωρίδιο και το τολουόλιο. Εντούτοις, είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη η διαλυτική συμβατότητα όπως ποια αντλία, ποιο έμβολο χρησιμοποιείται και εάν ο δακτύλιος στεγανοποίησης έχει φθαρεί κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης.

Εγκατάσταση Δακτυλίου Στεγανοποίησης του Εμβόλου

Εάν ο δακτύλιος στεγανοποίησης του εμβόλου του Σχήματος 2.8. παρουσιάζει σημαντική φθορά, η κεφαλή αντλίας θα μολυνθεί με το υλικό φθοράς του δακτυλίου. Τότε, θα πρέπει οι βαλβίδες ελέγχου να απομακρυνθούν, ενώ η κεφαλή αντλίας να τοποθετηθεί είτε σε λουτρό υπερήχων (ultrasonic bath), είτε σε 20% διαλύματος νιτρικού οξέος για 30 λεπτά, για να καταστραφούν οι μολυσματικοί παράγοντες. Αν χρησιμοποιηθεί η μέθοδος του νιτρικού οξέος θα πρέπει να ξεπλυθεί στη συνέχεια προσεχτικά, για 10 λεπτά με δις απιονισμένο νερό. Μετά, να στεγνώσει με ξηρό συμπιεσμένο αέριο ή πετρελαϊκό αιθέρα. Η βαλβίδα εισόδου και το φίλτρο βαλβίδας εξόδου εάν υπάρχει φίλτρο στην έξοδο θα πρέπει να ξεπλυθούν με 50 mL ισοπροπανόλης ή νερού καθαρότητας HPLC και μετά με 50 mL απιονισμένου νερού.



Σχήμα 2. 8. – Δακτύλιος Στεγανοποίησης

Όταν γίνει η εγκατάσταση του δακτυλίου του εμβόλου θα πρέπει ο δακτύλιος στεγανοποίησης και η κεφαλή της αντλίας να πλυθούν με ισοπροπανόλη. Η ισοπροπανόλη χρησιμεύει και σαν ένα λιπαντικό στοιχείο ενώ σαν ένα βρεγμένος οδηγός επιφάνειας, θα μειωθεί το ποσό αέρα που παγιδεύεται στη κεφαλή. Κατά την εγκατάσταση του νέου δακτυλίου να χρησιμοποιηθεί κατάλληλο εργαλείο εάν είναι διαθέσιμο για να μην καταστραφεί το χείλος του. Μετά η αντλία θα πρέπει να λειτουργήσει με ισοπροπανόλη σε περίπου 2.000 psi για 30 λεπτά και να τεθεί σε λειτουργία ο δακτύλιος στεγανοποίησης.

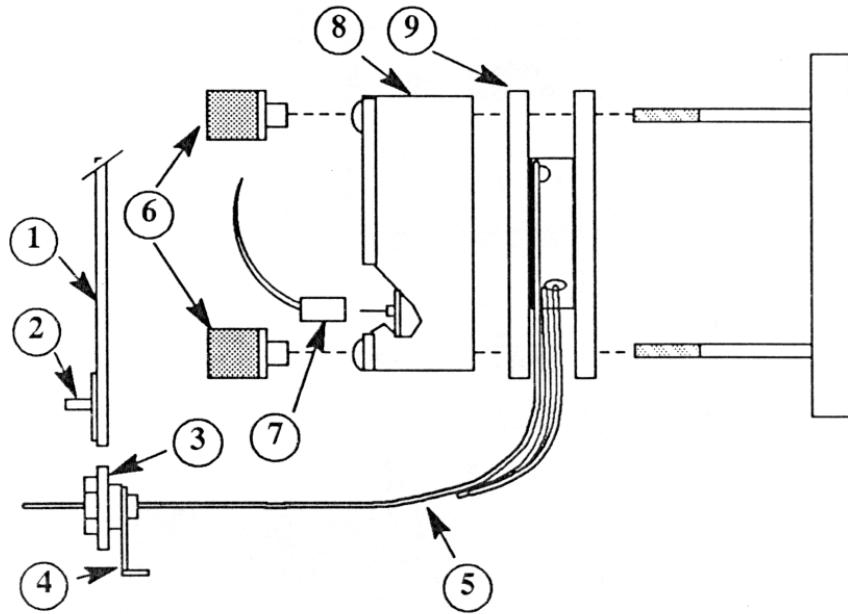
Εάν ο δακτύλιος έχει διαρροή μετά από τα πρώτα 30 λεπτά, τότε:

1. Να ελεγχθεί ότι το χείλος του δακτυλίου ότι δεν έχει φθαρεί κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης.
2. Να εξεταστεί προσεκτικά το έμβολο για φθορά ή για γρατσουνιές. Είναι δύσκολο να ανιχνευθεί ένα χαλασμένο ή φθαρμένο έμβολο εκτός αν χρησιμοποιηθεί ένα τουλάχιστον 10x μεγεθυντικός φακός, για να προσδιοριστούν οποιοδήποτε βερνικωμένες ή τραχιές επιφάνειες, αυλάκια ή γρατσουνιές. Σε περίπτωση αμφιβολίας, καλύτερα να αντικατασταθεί το έμβολο.

2.6.5. Ανιχνευτής και Λαμπτήρες

Μετακίνηση / Αντικατάσταση Κελιού Ροής

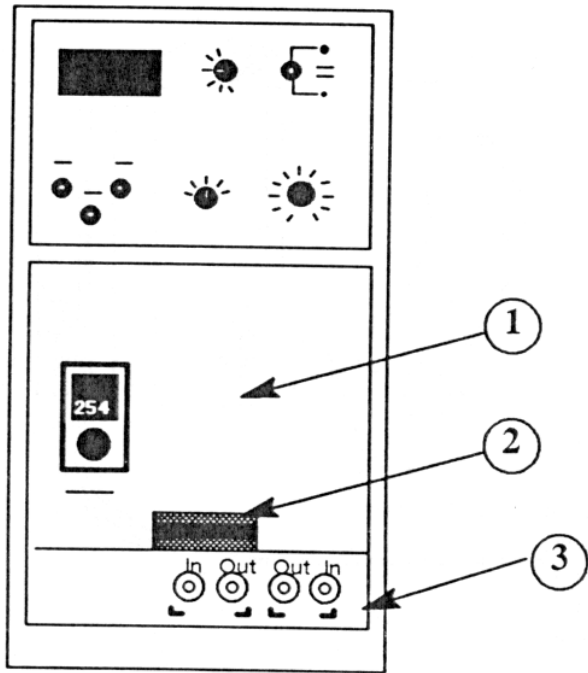
Στο σχήμα 2.9. είναι ένα σχεδιάγραμμα σύνδεσης του κελιού ροής και της φωτοδίοδου. Τα σχήματα 2.10., 2.11. και 2.12. δείχνουν τη διαδικασία αφαίρεσης. Τα νούμερα στα αντικείμενα του σχήματος 2.9. αντιστοιχούν σε αυτά των σχημάτων 2.10., 2.11. και 2.12..



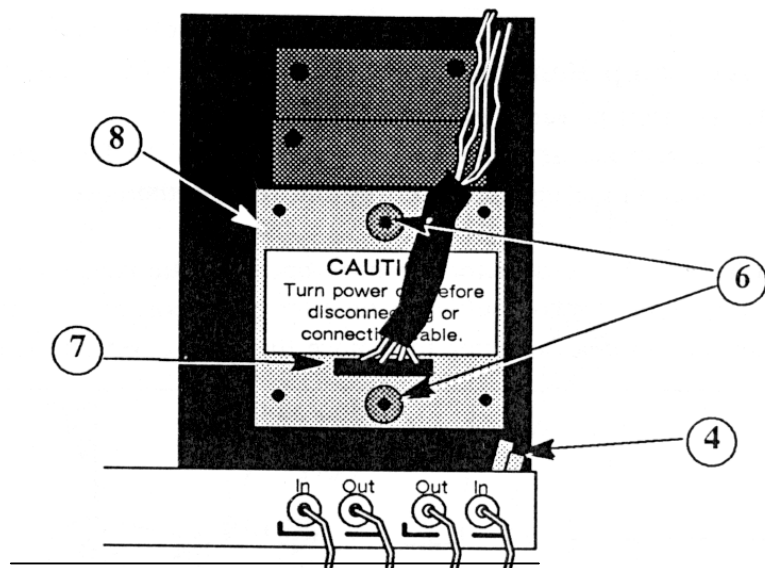
Σχήμα 2. 9. – Σύνδεση Κελιού Ροής

Τα μέρη του κελιού ροής αναφέρονται παρακάτω:

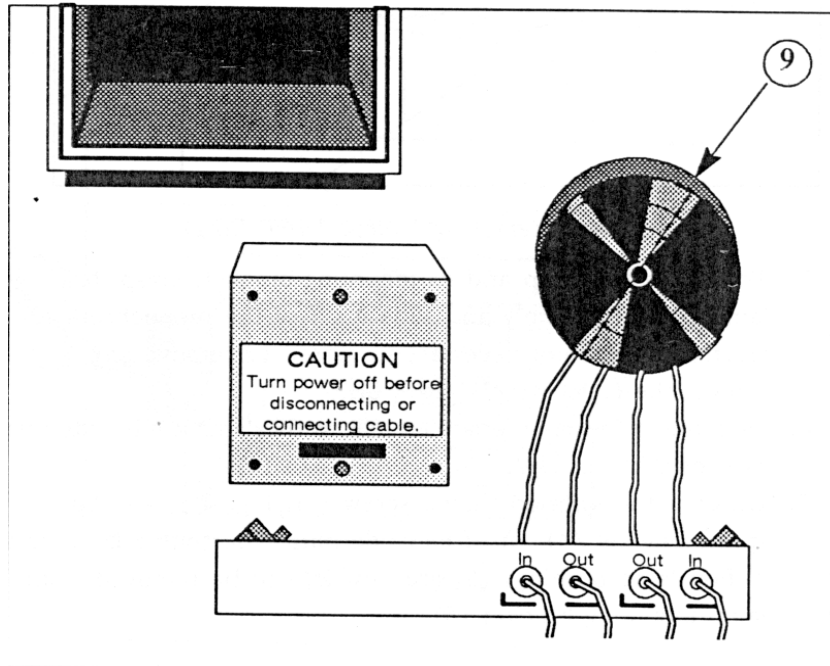
1. Πίνακας ελέγχου
2. Μανταλάκι πίνακα
3. Μικρός πίνακας ελέγχου
4. Βραχίονας ασφάλισης
5. Σωλήνωση
6. Δύο μικρά εξογκώματα
7. Ηλεκτρική σύνδεση
8. Φωτοδίοδο
9. Κελί ροής



Σχήμα 2. 10. – Πίνακας Ελέγχου Ανιχνευτή



Σχήμα 2. 11. – Εσωτερικός Πίνακας Ελέγχου Ανιχνευτή

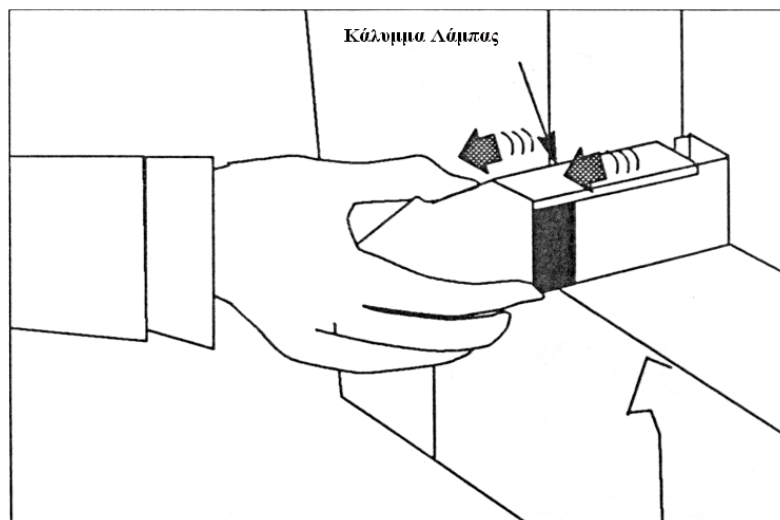


Σχήμα 2. 12. – Εσωτερικός Πίνακας Ελέγχου Ανιχνευτή

Μετακίνηση Λαμπτήρα

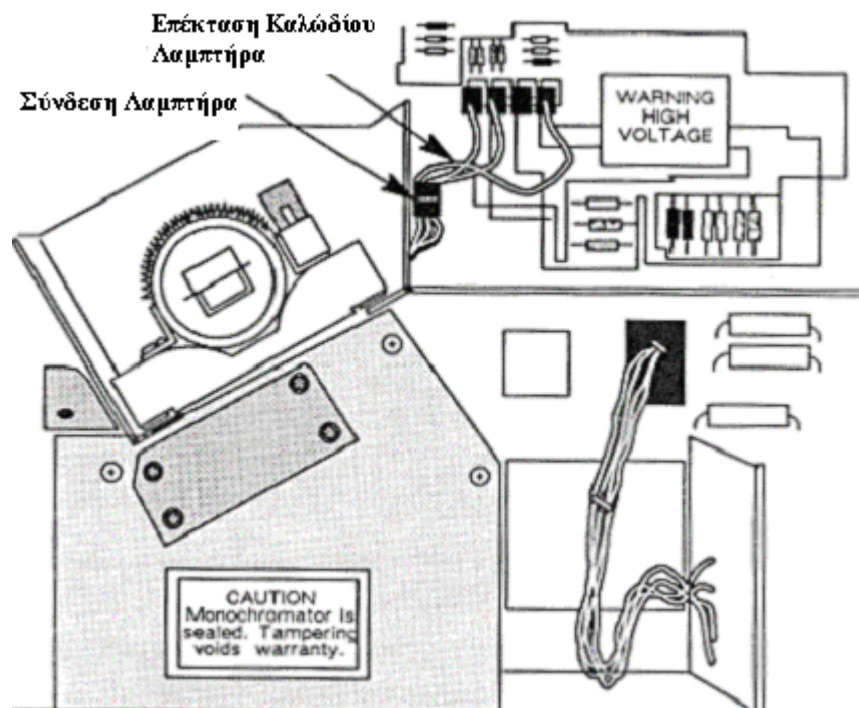
Αν πριν τη μετακίνηση του λαμπτήρα, το μηχάνημα είχε δουλέψει και ο ανιχνευτής τότε θα πρέπει να περάσει κάποιο χρονικό διάστημα για να κρυώσει ο λαμπτήρας.

1. Κλείσιμο του μηχανήματος
2. Πρόσβαση στο λαμπτήρα, αφαιρώντας τις 4 βίδες του καλύμματος (βλέπε Εικόνα 2. 25.).

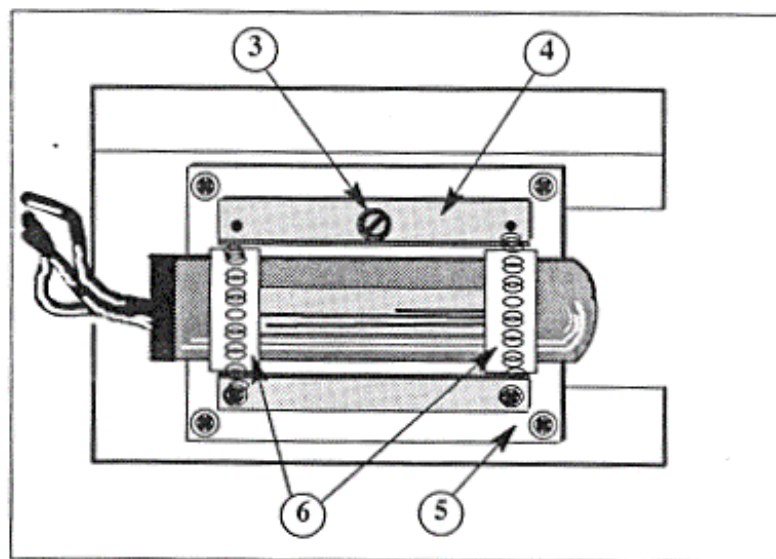


Εικόνα 2. 25. – Αφαίρεση Καλύμματος Λάμπτήρα

3. Για την αφαίρεση του λαμπτήρα χρειάζεται απαλό τράβηγμα στους ανυψωμένους βραχίονες, και του καλύμματος του λαμπτήρα από το μονοχρωμάτορα.
4. Να αποσυνδέσει τη σύνδεση του λαμπτήρα, όπως φαίνεται στην εικόνα 2. 26..
5. Να ξεβιδώσει τις βίδες (3, 5), όπως φαίνεται στην εικόνα 2.27. και να σηκώσει τους ελαστικούς βραχίονες (4, 6). Οι πλαστικές ροδέλες της πηγής και του λαμπτήρα του Teflon είναι τώρα ελεύθερες να μετακινηθούν από τον λαμπτήρα του ανυψωμένου βραχίονα.



Εικόνα 2. 26. – Αποσύνδεση Λαμπτήρα

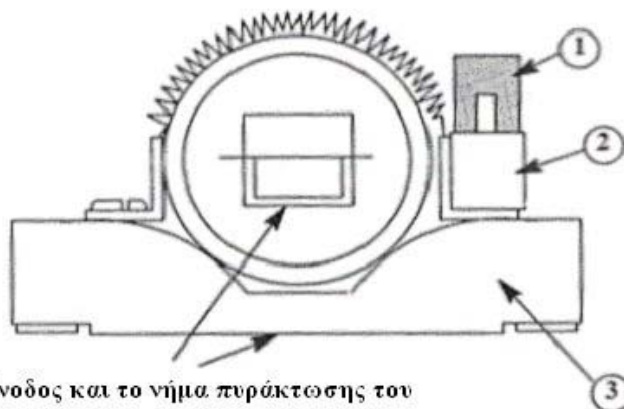


Εικόνα 2. 27. – Αφαίρεση Βιδών Ασφαλείας

Εγκατάσταση / Ευθυγράμμιση Λαμπτήρα

Πριν την τοποθέτηση, πρέπει να γίνει καθαρισμός του νέου λαμπτήρα με μεθανόλη. Ο χειριστής πρέπει να προσέχει να μην ακουμπήσει το κάλυμμα / επιφάνεια του λαμπτήρα κατά την εγκατάσταση.

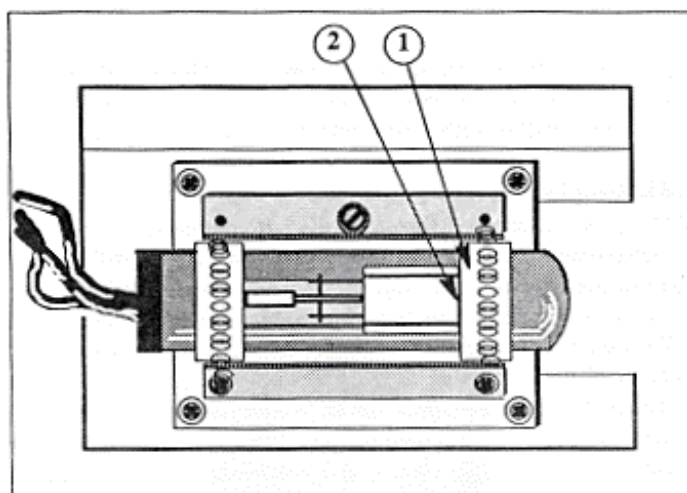
1. Αφαιρούνται οι πλαστικές ροδέλες της λάμπας του Teflon από τον παλιό λαμπτήρα και τοποθετούνται στη νέα.
2. Το διάφραγμα του λαμπτήρα να «βλέπει» στο στρογγυλό παράθυρο του βραχίονα στήριξης, όπως φαίνεται στην εικόνα 2. 28.. Επίσης η εσωτερική άνοδος του λαμπτήρα και το κάλυμμα του νήματος πρέπει να ευθυγραμμισθεί παράλληλα στη βάση του βραχίονα στήριξης, όπως φαίνεται στην εικόνα 2. 28..



Η άνοδος και το νήμα πυράκτωσης του λαμπτήρα θα πρέπει να είναι παράλληλα με τη βάση

Εικόνα 2. 28. – Ευθυγράμμιση Λαμπτήρα

3. Μετά την τοποθέτηση του λαμπτήρα τοποθετείται το ελατήριο και ο βραχίονας (2) πάνω στον λαμπτήρα και στους οδηγούς. Σφίγγοντας τις βίδες ασφαρίζεται το ελατήριο στήριξης
4. Η ευθυγράμμιση του λαμπτήρα επιτυγχάνεται χειροκίνητα τραβώντας μπρος – πίσω τις πλαστικές ροδέλες του Teflon.



Εικόνα 2. 29. – Ευθυγράμμιση Ανόδου με το Διάφραγμα

5. Η άκρη της ανόδου ευθυγραμμίζεται με το κάλυμμα του διαφράγματος, όπως δείχνει η Εικόνα 2. 29..

ΠΡΟΣΟΧΗ

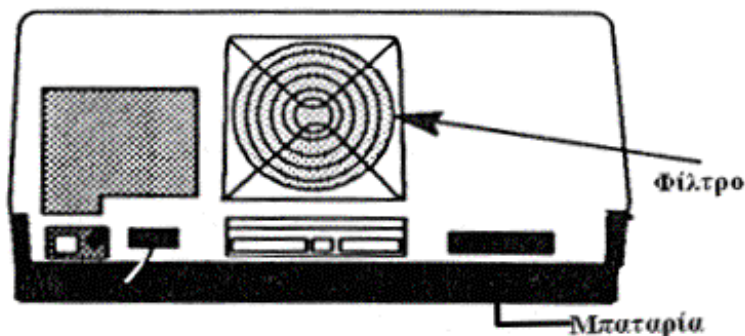
Απαραίτητα στον χειριστή κατά το άνοιγμα του συστήματος είναι τα γάντια και τα γυαλιά ασφαλείας, εξαιτίας των υψηλών τάσεων και της ζέστης που υπάρχουν στο μηχάνημα. Επίσης, η λάμπα θα εκπέμπει υπεριώδη ακτινοβολία, οπότε απαιτείται ο χειριστής να φοράει απορροφητικά γυαλιά UV.

6. Για τη σύνδεση της λάμπας το κόκκινο καλώδιο είναι στην άνοδο και το μαύρο στην κατάληξη FIL.
7. Μετά την τοποθέτηση της λάμπας χρειάζεται η ρύθμιση του συστήματος. Τα βήματα της ρύθμισης είναι
 - ✓ Άνοιγμα του συστήματος
 - ✓ Περιστροφή του διακόπτη ελέγχου στο RE
 - ✓ Επιλογή μήκους κύματος στα 580nm
8. στη συνέχεια η λάμπα πρέπει να μετακινηθεί δεξιά και αριστερά (να μην την περιστρέψει) μέχρι να εμφανιστεί η μέγιστη ένδειξη στην οθόνη του ανιχνευτή.
9. Τελειώνοντας να σφίξει την βίδα (1) και να κλείσει το σύστημα. Να τοποθετήσει το κάλυμμα της λάμπας και του οργάνου.

2.6.6. Λοιπά Εξαρτήματα

Συντήρηση Φίλτρου Ανεμιστήρα

Η αντλία χρησιμοποιεί έναν ηλεκτρικό ανεμιστήρα για να αφαιρεί την θερμότητα, που παράγεται στα ηλεκτρικά κυκλώματα και στον κινητήρα της αντλίας.



Σχήμα 2. 13. – Φίλτρο & Μπαταρία Συστήματος

Ένα αφρώδες φίλτρο μετακινεί τα αιωρούμενα μικρόβια από τον αέρα ψύξης. Με το χρόνο (ανάλογα με το περιβάλλον) το φίλτρο θα βουλώσει, σταματώντας τη ροή του αέρα. Αν ο χειριστής δεν το καταλάβει, τότε το σύστημα θα υπερθερμανθεί. Η αντλία θα σταματήσει αυτόματα αν συνεχιστεί η υπερθέρμανση και τότε θα εμφανιστεί στην οθόνη κάποιο μήνυμα. Για να αποφευχθεί αυτό, θα πρέπει το φίλτρο να αλλάζει κάθε 6 μήνες (πιο συχνά, αν το περιβάλλον δεν είναι τόσο καθαρό).

Μπαταρία

Υπάρχει μια μπαταρία 9Volts, στο σημείο όπου φαίνεται στο σχήμα 2.13., η οποία παρέχει την τάση στην αντλία, σε περίπτωση διακοπής τροφοδοσίας. Μια εντελώς φορτισμένη αλκαλική μπαταρία διαρκεί 100 ώρες. Στην οθόνη, εμφανίζεται μήνυμα προειδοποίησης αυτόματα κάθε 10 ώρες, ότι η μπαταρία εκφορτίζεται μέχρι να αντικατασταθεί.

2.6.7. Βαθμονόμηση - Calibration

Η ρύθμιση θα πρέπει να είναι η τελευταία ενέργεια σε περιπτώσεις εντοπισμού βλάβης. Η κυριότητα των προβλημάτων εντοπίζεται κυρίως στο θόρυβο, μη σωστό χειρισμό, λειτουργία ή σε ανεπαρκή καθαρισμό. Ο ανιχνευτής σχεδιάστηκε να είναι υπερβολικά ευαίσθητος και ηλεκτρικά σταθερός. Οι ρυθμίσεις του calibration, είναι απαραίτητες:

Ο χειριστής θα πρέπει να πάρει 2 σύριγγες για τα διαλύματα του calibration. Να γεμίσει τη μια σύριγγα με απιονισμένο νερό χωρίς να υπάρχει αέρας και την άλλη με άλας χρωμικού καλίου.

- ✓ Έγχυση νερού μέσα στο δείγμα από την κυψελίδα. Προσοχή από τη μεριά της κυψελίδας να μην εμφανίζονται φυσαλίδες.
- ✓ Να πιέσει το διακόπτη Short και να ρυθμιστεί το Zero Control του καταγραφικού, για να συμπίπτει με το χαρτί του καταγραφικού.
- ✓ Να ρυθμιστεί η κλίμακα στο 1.00 και το μήκος κύματος στα 275nm.
- ✓ Να γίνει η έγχυση του άλας του χρωμικού καλίου στο διάλυμα πολύ αργά για να μην δημιουργούνται φυσαλίδες από τη κυψελίδα.
- ✓ Η διαίρεση του χαρτιού για το σχεδιάγραμμα να είναι 75,7% (0,757 AUFS) με απόκλιση $\pm 2\%$ στα 275nm.
- ✓ Αν η ανάγνωση είναι πολύ υψηλή ή πολύ χαμηλή, να ρυθμιστεί το ποτενσιόμετρο μέχρι την απόκλιση του 75,7%.
- ✓ Να γίνει ξανά η έγχυση με νερό και έλεγχος ότι το χρωματογράφημα είναι στο μηδέν.
- ✓ Να επαναλάβει τα βήματα από 4 έως 7 μέχρι η μονάδα να λειτουργήσει κανονικά.
- ✓ Να ρυθμιστεί το μήκος κύματος στα 254nm και το σχεδιάγραμμα να διαβάζει στα 43%. Καλό ξέπλυμα της κυψελίδας με απιονισμένο νερό μετά το τέλος του test. Να μην επιτραπεί στο άλας του χρωμικού καλίου να παραμείνει στην κυψελίδα ροής περισσότερο από δύο λεπτά.
- ✓ Η κυψελίδα να αποπλυθεί με ξηρό αέρα αζώτου μέχρι να μην υπάρχει απόκλιση από το σημείο μηδέν, ενώ η θέση του διακόπτη να είναι στην κλίμακα 0,01.
- ✓ Να τοποθετηθεί το μηχάνημα στα 254nm σε κλίμακα 0,001 με καθαρισμένη την κυψελίδα και με λιγότερο από 2% θόρυβο και λιγότερο από 10% απόκλιση / ώρα.

Διαλύματα Βαθμονόμησης & Καθαρισμού

Τα παρακάτω χημικά διαλύματα ή μείγματα συστήνονται για καθαρισμό και για βαθμονόμηση του συστήματος:

- ✓ Διάλυμα Καθαρισμού: Χρωμικό οξύ.

ΠΡΟΣΟΧΗ: αυτό είναι ένα οξειδωτικό διάλυμα. Ο χειριστής πρέπει να το αποθηκεύσει σε κλειστό δοχείο, από τη στιγμή διάλυσης γιατί γίνεται περισσότερο οξειδωτικό, καθώς απορροφάει περισσότερο υγρασία από τον αέρα.

1. Να μετρήσει 100ml συγκέντρωσης H_2SO_4 .
2. Να μετρήσει 3,5ml κορεσμένο διάλυμα άλατος του χρωμικού καλίου.
3. Να χύσει αργά το H_2SO_4 μέσα στο διάλυμα άλατος του χρωμικού καλίου.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Μη χύνεται το χρωμικό άλας σε οξύ, γιατί θα προκύψει μια επικίνδυνη αντίδραση.

✓ Διάλυμα Βαθμονόμησης – Calibration: Άλας του χρωμικού καλίου.

ΠΡΟΣΟΧΗ: το παρακάτω διάλυμα χρησιμοποιείται από τον κατασκευαστή για την βαθμονόμηση – calibration του ανιχνευτή. Είναι ευαίσθητο στην θερμοκρασία και στο φως. Για ακριβή αποτελέσματα, θα πρέπει η απορρόφηση της μείξης να μετρηθεί όταν χρησιμοποιείται.

Το διάλυμα βαθμονόμησης – calibration, προετοιμάζεται ως εξής:

1. Ο χειριστής να μετρήσει 2 γραμμάρια K_2CrO_4 (άλας χρωμικού καλίου). Να ξεπλύνει ένα εργαστηριακό ογκομετρικό φιαλίδιο των 500ml.
2. Να προσθέσει 250ml του 0,1N KOH (υδροξείδιο του καλίου).
3. Να προσθέσει αρκετό απιονισμένο νερό μέχρι τα 500ml.

Αυτό είναι το απόθεμα του διαλύματος, τώρα πρέπει να ετοιμαστεί το διάλυμα βαθμονόμησης – calibration.

1. Ο χειριστής να πάρει μια πιπέτα των 10ml από το απόθεμα διαλύματος και να το ρίξει σε ένα λίτρο εργαστηριακού ογκομετρικού φιαλιδίου.
2. Να προσθέσει 500ml 0.1N KOH.
3. Να προσθέσει απιονισμένο νερό μέχρι την ένδειξη του ενός λίτρου.
4. Να ανακατέψει πολύ καλά.

ΠΡΟΣΟΧΗ: ο χειριστής να μην αφήσει το παραπάνω μείγμα στα όργανα του συστήματος περισσότερο από 2 λεπτά. Να ξεπλύνει την κυψελίδα πολύ καλά με απιονισμένο νερό και μετά να το ξεπλύνει πάλι με άζωτο.

2.7. ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ HPLC (TESTS)

Αυτά τα τεστ αξιολογούν την κατάσταση της τριπλής βαλβίδας (A, B, C), του κινητήρα της αντλίας, την πίεση της διάταξης και των ηλεκτρονικών κυκλωμάτων του συστήματος. Η αντλία δεν θα πρέπει να λειτουργεί σε αυτά τα τεστ.

TEST ⇒ ENTER ⇒ με τον κέρσορα προς τα πάνω, ο χειριστής επιλέγει: (Hardware Series) ⇒ ENTER. Ή ο χειριστής πληκτρολογεί 220 ⇒ ENTER, άμεσα, τότε εμφανίζεται στην οθόνη: «απελευθέρωσε την πίεση του συστήματος» (release system pressure), είτε από την βαλβίδα παράκαμψης της στήλης, είτε από κάπου αλλού. Αυτό είναι σημαντικό, αν η αντλία λειτουργεί κατά τη διάρκεια του τεστ και θα δημιουργείται μια υπερβολικά υψηλή πίεση της στήλης. Μετά

από το πάτημα του ENTER, το τεστ αρχίζει και τα μέρη της αντλίας αρχίζουν να εξετάζονται κατά την ακόλουθη σειρά:

1. πίεση κυκλώματος
2. θύρες εισόδου / εξόδου
3. τριπλή βαλβίδα (A, B, C) διαχωρισμού
4. διάταξη κινητήρα
5. το έκκεντρο κύκλωμα
6. κινητήρας περιστροφής ημίτονου / συνημίτονου

Αν όλα είναι εντάξει, και δεν υπάρχει κάποιο πρόβλημα, τότε θα εμφανιστεί στην οθόνη το εξής μήνυμα: «Hardware series tests completed – PASSED». Ενώ, αν υπάρχει πρόβλημα, θα εμφανιστεί και πάλι μήνυμα, το οποίο όμως τώρα, θα περιγράφει το πρόβλημα.

3^H ENOTHTA

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 3^{ΗΣ} ΕΝΟΤΗΤΑΣ

Σε ένα σύστημα HPLC, τα προβλήματα μπορούν να προκύψουν από πολλές πηγές. Αρχικά θα πρέπει να καθοριστεί το πρόβλημα, να απομονωθεί η πηγή του προβλήματος και τέλος, (συνήθως) με την διαδικασία της αποβολής να επισημανθεί η συγκεκριμένη αιτία και να επιδιορθωθεί το πρόβλημα αν είναι εφικτό από τον χειριστή ή διαφορετικά να κληθεί ο τεχνικός της εταιρείας.

Για να μπορεί ο χειριστής να έχει βοήθεια στο πώς να μπορέσει να ανακαλύπτει μόνος του και να βρίσκει τι φταίει με τη μέθοδο της επαγωγή σε άτοπο, θα πρέπει να υπάρχουν και να ανανεώνονται συνεχώς αρχεία για τις συνθήκες όλου του συστήματος (π.χ. για τους χρόνους διατήρησης και την περιοχή κορυφής, το σχήμα κορυφής κι ανάλυση, την πίεση στήλης, την ευαισθησία ανιχνευτή κ.ά.). Επίσης, θα πρέπει να υπάρχει ένα χρωματογράφημα ενός τυποποιημένου δείγματος με γνωστή συγκέντρωση και σε δεδομένες συνθήκες του συστήματος, για μελλοντική αναφορά και σύγκριση. Επομένως, μια σύγκριση στους χρόνους διατήρησης, στα σχήματα κορυφών, στην πίεση της στήλης, στην ευαισθησία κορυφής και στον θόρυβος βασικής γραμμής, θα μπορεί να δώσει απαντήσεις σε ερωτήματα αναγνώρισης κι επίλυσης προβλημάτων.

Τα προβλήματα που παρουσιάζονται σε αυτή την ενότητα δεν αφορούν μόνο το σύστημα HPLC SP8800 αλλά και όλες τις χρωματογραφικές διατάξεις. Στην ενότητα υπάρχουν τρεις σαφείς διαχωρισμένες υποενότητες. Οι δύο πρώτες αφορούν προβλήματα που γίνονται αντιληπτά από το χρωματογράφημα.

Η πρώτη υποενότητα παρουσιάζει προβλήματα που παρατηρούνται στη **βασική γραμμή αναφοράς** (baseline) του χρωματογραφήματος. Ως τέτοια μπορούμε να αναφέρουμε α) να υπάρχει θόρυβος στην γραμμή αναφοράς, β) να υπάρχει σύγχρονος (περιοδικός) ή ασύγχρονος (μη περιοδικός) θόρυβος, γ) να υπάρχει απόκλιση (κλίση γραμμής αναφοράς), δ) η βασική γραμμή να εναλλάσσεται, ε) να υπάρχουν ακίδες, στ) να μην υπάρχουν κορυφές (μόνο η γραμμή αναφοράς) και ζ) να υπάρχουν αρνητικές και θετικές κορυφές.

Στη δεύτερη υποενότητα βρίσκονται τα λανθασμένα χρωματογραφήματα που προκύπτουν **εκτός βασικής γραμμής αναφοράς** κι οφείλονται σε προβλήματα που παρουσιάζονται στην κινητή φάση, στην αντλία, στην ποιότητα των διαλυτών, στον εγχυτήρα, στην στήλη, στον ανιχνευτή, στο όργανο καταγραφής αλλά και σε άλλους παράγοντες. Για τα αντίστοιχα προβλήματα υπάρχουν και οι λύσεις. Όπως και κάποιες πληροφορίες για τυχόν μηχανικές βλάβες τις οποίες θα μπορεί να διαπιστώσει ο χειριστής γρήγορα πριν η βλάβη επιδεινωθεί.

Η τρίτη υποενότητα αφορά προβλήματα που γίνονται αντιληπτά όχι απαραίτητα από το χρωματογράφημα που συνήθως σχετίζονται με μηχανικά προβλήματα του συστήματος.

3.2. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΓΡΑΜΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Ο χειριστής πρέπει να έχει πάντα υπ' όψιν του, ότι τα συστήματα ανάλυσης είναι ακριβά. Αν δεν είναι σίγουρος ότι μπορεί να αντιμετωπίσει την βλάβη ή κάποιο πρόβλημα που θα στο σύστημα, το καλύτερο που έχει να κάνει είναι να επικοινωνήσει με κάποιον πιο έμπειρο στο εργαστήριο ή με την εταιρεία αγοράς – συντήρησης του μηχανήματος.

Καταρχήν, ο χειριστής μπορεί να αποτρέψει κάποια ασυνήθιστα προβλήματα που εμφανίζονται στην βασική γραμμή αναφοράς:

3.2.1. Εμφάνιση Απόκλισης, Θορύβου ή Ασυνήθιστης Βασικής Γραμμής Αναφοράς (Μυτερή)

Στην εμφάνιση απόκλισης της βασικής γραμμής αναφοράς ο χειριστής, σαν πρώτο βήμα, θα πρέπει να σταματήσει η ροή αντλίας και να ελέγξει τη γραμμή αναφοράς του ανιχνευτή. Αν ο θόρυβος και η παρέκκλιση / απόκλιση υπάρχουν μετά από 10 λεπτά, τότε το λάθος είναι πιθανόν στον ανιχνευτή.

- ✓ Εξισορρόπηση. Ο χειριστής θα πρέπει να επιτρέψει στο σύστημα αρκετή ώρα αναμονής για να εξισορροπήσει εντελώς. Το σύστημα πρέπει να είναι σε θερμοκρασία και σε ισορροπία σύνθεσης στην κινητή φάση για να αποφευχθεί η παρέκκλιση / απόκλιση της βασικής γραμμής.
- ✓ Αποκοπή Διαλύτη UV. Το μήκος κύματος του ανιχνευτή να είναι κοντά στο μήκος κύματος της κινητής φάσης, η αποκοπή UV προκαλεί υπερβολική ροή που σχετίζεται με το θόρυβο στη γραμμή αναφοράς και στην αλλαγή της γραμμής αναφοράς. Για παράδειγμα, ο βαθμός αποκοπής UV στη μεθανόλη είναι 205nm, όπου η μεθανόλη έχει 1,0 μονάδα απορρόφησης. Ωστόσο, ακόμα και στα 220nm η μεθανόλη απορροφά περισσότερο από 0,2 μονάδες απορρόφησης. Το να μειώσει ο χειριστής αυτή την ευαισθησία του ανιχνευτή στην κινητή φάση, θα πρέπει είτε να αυξήσει το μήκος κύματος του ανιχνευτή ή να αλλάξει το διαλύτη με πιο χαμηλή αποκοπή UV. Σε αυτή την περίπτωση, ο βαθμός αποκοπής UV του ακετονιτριλίου είναι 190nm και ίσως είναι καλύτερος διαλύτης για χρήση.
- ✓ Απαερίωση Κινητής Φάσης. Ο χειριστής να κάνει χρήση διαλυτών με απαερίωση για να αποφεύγει το θόρυβο και τα καρφιά στο σχεδιάγραμμα, που αποδίδονται

σε αέρια στην κινητή φάση. Το μοντέλο αυτό, παρέχει αντλία με συνεχή απαερίωση ηλίου. Ο χειριστής θα πρέπει να διατηρήσει αρκετή ροή ηλίου για να σιγουρευτεί για την θετική ροή από τον αεραγωγό.

- ✓ Σύνθεση Κινητής Φάσης. Ο χειριστής να βεβαιωθεί ότι η αντλία ή οι αντλίες κατανέμουν κατά αναλογία τους διαλύτες. Να χρησιμοποιήσει έναν διαλύτη, ο οποίος να έχει απόδοση στο χρωματογράφημα μυτερή κορυφή με ένα UV απορροφητικό υλικό (π.χ. τολουένιο, ανισόλιο κτλ).
- ✓ Στήλη. Ο χειριστής να αντικαταστήσει ή να συντηρήσει τη στήλη, να αποφεύγει τις παρεκκλίσεις / αποκλίσεις εξαιτίας της ηλικίας της στήλης ή της διάσπασης.
- ✓ Μόλυνση Διαλύτη. Ο χειριστής να αλλάξει τους διαλύτες που χρησιμοποιεί για την κινητή φάση. Οι κορυφές φαντάσματα, συχνά συσχετίζονται σε ακαθαρσίες στους διαλύτες της κινητής φάσης.

Στην εμφάνιση «μυτερής» γραμμής αναφοράς ο χειριστής θα πρέπει άμεσα να σταματήσει την ροή της αντλίας για να δει, αν η μυτερή γραμμή αναφοράς οφείλεται σε ηλεκτρικά παράσιτα ή από φυσαλίδες στην κινητή φάση, οι οποίες περνάνε μέσα από την κυψελίδα του ανιχνευτή. Αν οι μυτερές κορυφές δεν σταματήσουν, όταν η ροή αντλίας σταματήσει, τότε το πρόβλημα πιθανότατα να οφείλεται σε ηλεκτρονικά μέρη του συστήματος.

- ✓ Φυσαλίδες. Να αφαιρέσει τον αέρα εντελώς από τους διαλύτες της κινητής φάσης. Να ελέγξει όλες τις συνδέσεις για σφίξιμο. Να καθαρίσει ή να αντικαταστήσει τα βουλωμένα φίλτρα εισόδου των διαλυτών, τα οποία ίσως προκαλούν τη δημιουργία των φυσαλίδων στο πιστόνι της αντλίας.

3.2.2. Διαφορετικές Κορυφές Με Χρήση Ίδιου Διαλύτη

Επίσης, μπορεί να υπάρξει το πρόβλημα με ίδιο διαλύτη να υπάρχουν διαφορετικές κορυφές στο χρωματογράφημα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην σύνθεση του διαλύτη, στη ροή και στην στήλη.

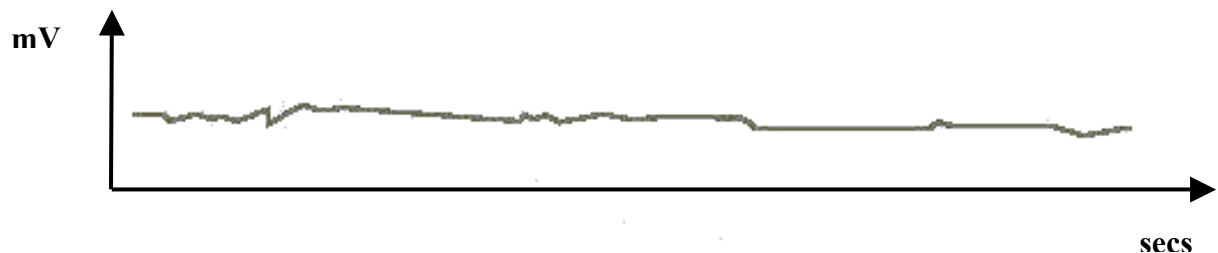
- ✓ Σύνθεση. Ίσως να υπάρχει ακατάλληλη σύνθεση κατανομής, αν οι χρόνοι διατήρησης κορυφής ποικίλλουν, επίσης η κορυφή δεν διατηρείται σταθερά από εφαρμογή σε εφαρμογή.
- ✓ Ποσοστό Ροής. Η ροή της αντλίας που επηρεάζει τον χρόνο διατήρησης και είναι ασύμφωνη, θα επιδράσει την κορυφή. Ο χειριστής να μετρήσει τη ροή της αντλίας με τη στήλη, για να ανιχνεύσει τις ανωμαλίες ροής που οφείλονται σε εμπόδια της στήλης.

- ✓ Στήλη. Καθώς η στήλη παλαιώνει ή αρχίζει να αλλοιώνεται, τότε οι χρόνοι διατήρησης μεγαλώνουν συνεχώς από εφαρμογή σε εφαρμογή.

Τα προβλήματα που παρουσιάζονται στην βασική γραμμή αναφοράς σε ένα χρωματογράφημα, είναι: Θόρυβος στην βασική γραμμή αναφοράς, Σύγχρονος (περιοδικός) θόρυβος, Ασύγχρονος (μη περιοδικός) θόρυβος, Θόρυβος θετικής ή αρνητικής κατεύθυνσης, Εναλλασσόμενος θόρυβος, Ακίδες, Έλλειψη κορυφών και να υπάρχουν Θετικές & Αρνητικές κορυφές. Επίσης, παρακάτω δίνονται και οι λύσεις στις οποίες θα πρέπει να προβεί ο χειριστής για την αντιμετώπιση τέτοιου είδους προβλημάτων.

3.2.3. Θόρυβος Στη Βασική Γραμμή Αναφοράς

Ο θόρυβος στην βασική γραμμή αναφοράς του χρωματογραφήματος, δημιουργείται κυρίως λόγω προβλημάτων που παρουσιάζονται, στον ανιχνευτή, στην αντλία και στον εγχυτήρα. Ένα σχεδιάγραμμα μιας θορυβώδους γραμμής αναφοράς παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.1..



Σχήμα 3. 1. – Θορυβώδης Βασική Γραμμή αναφοράς

Εκτός από πρόβλημα στα όργανα μπορεί να υπάρχει και πρόβλημα στα διαλύματα και στους διαλύτες. Μια περιγράφει των πιθανών αιτιών αλλά και των προτεινόμενων λύσεων παρουσιάζονται παρακάτω.

ΛΟΓΩ ΟΡΓΑΝΩΝ

ΑΣΘΕΝΗΣ ΛΑΜΠΙΤΗΡΑΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Αντικατάσταση λαμπτήρα.

ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΣΤΗΝ ΛΑΜΠΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Να αντικατασταθεί η UV λάμπα (η διάρκεια ζωής της είναι περίπου 1000 ώρες).

ΔΙΑΡΡΟΕΣ ΣΥΝΔΕΣΜΩΝ

Παύση των διαρροών και αντικατάσταση των συνδέσεων με μεταλλική ενίσχυση ή σφίξιμο των εξαρτημάτων.

ΔΙΑΡΡΟΕΣ ΒΑΛΒΙΔΑΣ ΕΓΧΥΣΗΣ

Αν υπάρχει διαρροή στην βαλβίδα έγχυσης, τότε ο ρότορας της βαλβίδας είναι φθαρμένος και θα πρέπει να αντικατασταθεί.

ΔΙΑΡΡΟΕΣ ΑΝΤΛΙΑΣ

Επίσης, να γίνει έλεγχος της αντλίας για διαρροή, για συγκέντρωση αλάτων και για ασυνήθιστους θορύβους και να γίνει αλλαγή των πωμάτων αντλίας (pistons seals) αν είναι απαραίτητο.

ΑΚΑΘΑΡΤΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Ξέπλυμα με νιτρικό οξύ συγκέντρωσης 10%.

ΑΕΡΑΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ, ΣΤΗΝ ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ Η ΣΤΗΝ ΑΝΤΛΙΑ

Εξαέρωση του διαλύτη. Να ξεπλυθεί το σύστημα για να αφαιρεθεί ο αέρας από την κυψελίδα του ανιχνευτή ή από την αντλία.

«ΧΤΥΠΗΜΑΤΑ» (ΘΟΡΥΒΟΙ) ΑΝΤΛΙΑΣ

Να ενσωματωθεί στο σύστημα του HPLC διάταξη απόσβεσης παλμών ή «χτυπημάτων».

ΦΥΣΑΛΙΔΑ ΑΕΡΑ ΣΤΗΝ ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΡΟΗΣ ΤΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Τοποθέτηση σωλήνωσης διαμέτρου 9 χιλιοστών της ίντσας (0,009”) μετά από τον ανιχνευτή. Να καθαρισθεί ο ανιχνευτής με συνεχή ροή διαλύτη.

ΕΞΩΤΕΡΙΚΗ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΟΛΗ

Να χρησιμοποιηθεί σταθεροποιητής τάσης (UPS) για το σύστημα υγρής χρωματογραφίας.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΣ ΘΟΡΥΒΟΣ

Να απομονωθεί από το σύστημα υγρής χρωματογραφίας, ο ανιχνευτής και το όργανο καταγραφής για να καθοριστεί αν η πηγή του προβλήματος είναι εξωτερική. Αν το πρόβλημα συνεχίζεται να αφαιρεθεί η πηγή ή να καθαριστεί. Τέλος, αν υπάρχουν φθαρμένα καλώδια να αντικατασταθούν το συντομότερο δυνατόν.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ

Αν η στήλη είναι σε υψηλή θερμοκρασία ή ο ανιχνευτής είναι κρύος, τότε να προστεθεί ανταλλάκτης θερμότητας.

ΠΟΛΥ ΥΨΗΛΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Ρύθμιση σε χαμηλότερη ευαισθησία και ρύθμισης της ενίσχυσης του ανιχνευτή.

ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΤΟ ΒΡΟΧΟ Η ΤΗ ΣΤΗΛΗ

Να εξεταστεί η κατάσταση βρόγχου / στήλης με διάλυμα.

Ο ΑΥΤΟΜΑΤΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΠΤΗΣ ΕΧΕΙ ΜΠΛΟΚΑΡΙΣΜΕΝΕΣ ΤΙΣ ΓΡΑΜΜΕΣ ΡΟΗΣ

Να ελεγχθεί ότι δεν υπάρχει καμία παρεμπόδιση της ροής.

Ο ΒΡΟΧΟΣ ΤΟΥ ΕΓΧΥΤΗΡΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΓΕΜΑΤΟΣ

Να ελεγχθεί ότι ο βρόγχος είναι γεμάτος με το δείγμα. Αν είναι, να χρησιμοποιηθούν εσωτερικά πρότυπα κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας του δείγματος και να βελτιστοποιηθεί η μέθοδος προετοιμασίας του δείγματος.

ΔΙΑΡΡΟΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΠΛΗΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΣΤΗΛΗΣ

Να αντικατασταθεί η στήλη και καθαριστεί πολύ καλά το σύστημα με συνεχή ροή διαλύτη.

ΧΗΜΙΚΟΙ ΛΟΓΟΙ

ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΤΟΝ ΔΙΑΘΛΑΣΤΙΚΟ ΔΕΙΚΤΗ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΤΗ ΕΓΧΥΣΗΣ

(Μόνο για RI, ECD ανιχνευτές) Να χρησιμοποιηθεί η κινητή φάση για τον ανιχνευτή διάθλασης, ο διαλύτης του δείγματος.

ΜΗ ΣΩΣΤΗ ΜΙΞΗ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ

Να γίνει η μίξη της κινητής φάσης χειροκίνητα ή να χρησιμοποιηθεί διαλύτης με μικρότερο ιξώδες.

ΕΞΟΔΟΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗ ΣΤΗΛΗ

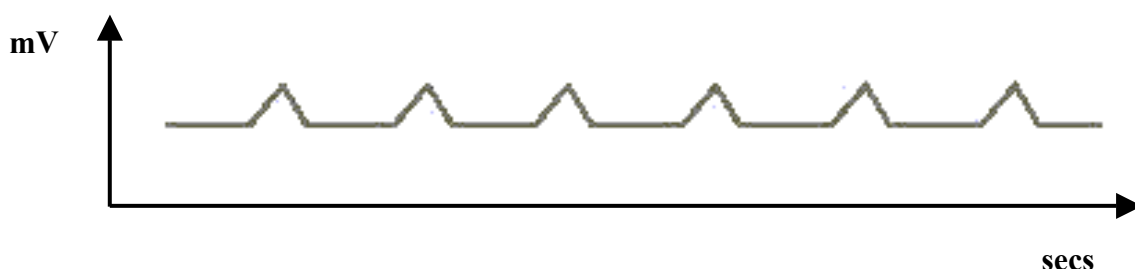
Πλύση της στήλης με ισχυρό διαλύτη (διάλυμα 10% νιτρικού οξέος), καθάρισμα του δείγματος και χρήση καθαρότερων διαλυτών HPLC.

ΠΟΛΥ ΥΨΗΛΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Να γίνει αραίωση/συμπύκνωση για να είναι η συγκέντρωση του διαλύματος τέτοια που οι κορυφές να μην είναι έξω από τη γραμμική κλίμακα του ανιχνευτή.

3.2.4. Σύγχρονος Θόρυβος

Ο σύγχρονος θόρυβος προκαλείται σχεδόν πάντα από το τμήμα της αντλίας, μια απεικόνιση αυτού του είδους θορύβου, παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.2..



Σχήμα 3. 2. – Σύγχρονος Θόρυβος Στη Βασική Γραμμή

Ο σύγχρονος (περιοδικός) θόρυβος μπορεί να οφείλεται:

ΥΠΑΡΞΗ ΑΕΡΑ ΣΤΗΝ ΚΕΦΑΛΗ ΤΗΣ ΑΝΤΛΙΑΣ

Έλεγχος αντλίας, επανεγκατάσταση της και εξαέρωση διαλύτη.

ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ Η ΒΛΑΒΗ ΠΩΜΑΤΟΣ (ΤΣΙΜΟΥΧΑ) Ή ΠΙΣΤΟΝΙΟΥ ΑΝΤΛΙΑΣ

Να αντικατασταθεί το πώμα ή το πιστόνι της αντλίας.

ΦΥΣΑΛΙΔΑ ΣΤΗΝ ΑΝΤΛΙΑ

Εξαέρωση της αντλίας με ήλιο.

ΝΑ ΓΙΝΕΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΤΗΝ ΒΑΛΒΙΔΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΧΡΟΝΟ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗΣ

Επισκευή ή αντικατάσταση της βαλβίδας.

ΣΠΑΣΜΕΝΟ ΕΜΒΟΛΟ

Άμεση αντικατάσταση του εμβόλου.

ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΤΑΧΥΤΗΤΑΣ ΡΟΗΣ

Έλεγχος κι επαναρύθμιση της ταχύτητας ροής.

ΥΠΕΡΦΟΡΤΩΣΗ ΤΗΣ ΣΤΗΛΗΣ ΜΕ ΔΕΙΓΜΑ

Μείωση του όγκου δείγματος.

ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΜΕΙΞΗ

Αύξηση του όγκου δείγματος.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΣ ΘΟΡΥΒΟΣ

Είτε να γίνει αλλαγή στα κυκλώματα από το service της εταιρίας ή να μετακινηθεί η πηγή παρεμβολής. Επίσης καλό θα είναι να απομακρυνθούν τα κινητά.

3.2.5. Ασύγχρονος Θόρυβος

Ο ασύγχρονος (μη περιοδικός) θόρυβος προκαλείται κυρίως από φυσαλίδες που μπορεί να υπάρχουν στην κυψελίδα ροής, στον ανιχνευτή, στις σωληνώσεις. Το χρωματογράφημα θα παρουσιάζεται με την εξής μορφή (Σχήμα 3.3.):



Σχήμα 3. 3. – Ασύγχρονος Θόρυβος Στη Βασική Γραμμή Αναφοράς

Οπότε, ο χειριστής θα πρέπει να προσέχει τα εξής:

ΦΥΣΑΛΙΔΕΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ

Αν υπάρχουν, να γίνει εξαέρωση της κινητής φάσης.

ΦΥΣΑΛΙΔΑ ΑΕΡΑ ΣΤΗΝ ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΤΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Να επαναληφθεί σωστότερα η εξαέρωση της κινητής φάσης. Αν το πρόβλημα εμμένει να γίνει ξέπλυμα με αντίστροφη ροή από την έξοδο προς την είσοδο του ανιχνευτή.

ΔΙΑΡΡΟΕΣ

Να ελεγχθούν τα τμήματα που πιθανόν να έχουν διαρροές (αντλία, σύνδεσμοι, ανιχνευτής). Να αντικατασταθούν τα μέρη ή να σφίχτούν τα εξαρτήματα συνδέσεων έτσι ώστε να μη διέρχεται αέρας στο σύστημα και να δημιουργούνται φυσαλίδες.

ΜΕΙΩΣΗ ΤΗΣ ΤΑΧΥΤΗΤΑΣ ΡΟΗΣ

Να διορθωθούν οι διαρροές στις γραμμές ροής, να αντικατασταθούν τα πόματα αντλίας, να γίνει έλεγχος για τη δημιουργία κοιλότητας στην αντλία.

ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ Η ΒΛΑΒΗ ΔΑΚΤΥΛΙΟΥ ΣΤΕΓΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Να αντικαταστήστε οι δακτύλιοι στεγανοποίησης (seals)

ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΜΕΙΞΗ

Αύξηση του όγκου του συστήματος.

ΑΑΝΘΑΣΜΕΝΕΣ ΣΥΝΔΕΣΕΙΣ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΟ ΜΕΙΚΤΗ

Επιδιόρθωση των γραμμών ροής, ξέπλυμα του συστήματος

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΣ ΘΟΡΥΒΟΣ

Είτε να γίνει αλλαγή στα κυκλώματα από το service της εταιρίας ή να μετακινηθεί η πηγή παρεμβολής. Επίσης καλό θα είναι να απομακρυνθούν τα κινητά.

3.2.6. Απόκλιση Της Βασικής Γραμμής Αναφοράς

Η απόκλιση της βασικής γραμμής αναφοράς μπορεί να οφείλεται σε προβλήματα τμημάτων του συστήματος αλλά και λόγω των διαλυτών που χρησιμοποιούνται στην στήλη. Μια τέτοια είδους απόκλιση παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.4..



Σχήμα 3. 4. – Απόκλιση Της Βασικής Γραμμής Αναφοράς

ΛΟΓΩ ΟΡΓΑΝΩΝ

ΣΤΗΝ ΒΑΘΜΩΤΗ ΕΚΔΟΥΣΗ, Ο ΔΙΑΛΥΤΗΣ Β ΑΠΟΡΡΟΦΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΤΟΝ ΔΙΑΛΥΤΗ Α

Να γίνει δοκιμή μιας νέας κινητής φάσης.

ΑΛΛΑΓΗ ΔΙΑΛΥΤΗ (ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΑΕΡΑ, ΕΞΑΤΜΙΣΗ ΔΙΑΛΥΤΗ)

Να γίνει απαραίτητη απαερίωση με ήλιο κι εμφιάλωση των διαλυτών.

ΔΙΑΡΡΟΕΣ ΔΙΑΛΥΤΗ

Καταρχήν να σφικτούν οι συνδέσεις και αν το πρόβλημα συνεχίζεται να αντικατασταθούν.

Η ΔΙΑΤΑΞΗ ΕΧΕΙ ΜΟΛΥΝΘΕΙ

Να ξεπλυθεί η στήλη και να καθαριστεί το δείγμα, με την χρήση καθαρών διαλυτών.

ΑΠΟΡΡΟΦΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ Β

(Μόνο σε ανιχνευτές UV) Να χρησιμοποιηθούν διαλύτες με υψηλότερο μήκος κύματος απορρόφησης σε UV.

ΒΟΥΛΩΜΕΝΟ ΥΑΛΟΒΕΡΝΙΚΩΜΑ (FRIT)

Για να αποφευχθεί η υψηλή υποπίεση στήλης, θα πρέπει να αντικατασταθούν οι καταλήξεις, (end fittings). Να ξεπλυθεί η στήλη συνδέοντας τη αντίστροφα στη ροή του διαλύτη για χρονικό διάστημα μέχρι μισή ώρα.. Αν συνεχίζει το υαλοβερνίκωμα να είναι βουλωμένο, τότε να αντικατασταθεί το γραμμικό φίλτρο με ένα 0,5 μm πορώδες φίλτρο.

ΚΕΝΑ ΣΤΗ ΣΤΗΛΗ (ΦΟΡΑ ΣΤΗΛΗΣ)

Να πληρωθεί η στήλη με νέο υλικό ή να αντικατασταθεί με νέα στήλη.

Η ΘΥΡΑ ΕΓΧΥΣΗΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΕΥΘΥΓΡΑΜΜΙΣΜΕΝΗ

Να αντικατασταθεί ο ρότορας του εγχυτήρα.

ΥΠΕΡΦΟΡΤΩΣΗ ΤΗΣ ΣΤΗΛΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ

Να μειωθεί το μέγεθος δείγματος και αν δεν βελτιωθεί, να χρησιμοποιηθεί στάσιμη φάση υψηλότερης χωρητικότητας ή να αυξηθεί η διάμετρος της στήλης.

ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΚΟΙΛΟΤΗΤΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΤΛΙΑ

Να αντικατασταθεί η αντλία

Ο ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ (UV) ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΕΙ ΣΤΟ ΜΕΓΙΣΤΟ ΤΗΣ

ΑΠΟΡΡΟΦΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΛΛΑ ΣΤΗΝ ΚΛΙΣΗ ΤΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ

Να μεταβληθεί το μήκος κύματος σε UV στη μέγιστη απορροφητικότητα της ουσίας (καλιμπράρισμα).

ΑΝΕΠΑΡΚΗΣ ΡΟΗ

Η δεξαμενή της κινητής φάσης έχει σφραγιστεί πολύ σφιχτά, να χαλαρώσει η σύνδεση, για να μην μειωθεί η πίεση.

ΑΝΕΠΑΡΚΗΣ ΡΟΗ ΣΤΗΝ ΣΤΗΛΗ

Απελευθερώστε τη γραμμή πριν από την αντλία, για να μην μειώνεται η πίεση.

ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

Να μονωθεί η στήλη και η σωλήνωση, επίσης να τοποθετηθεί ένας θερμοστάτης στη στήλη και στη σωλήνωση πριν τον ανιχνευτή για να υπάρχει καλύτερος έλεγχος της θερμοκρασίας.

ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΩΜΑΤΙΟΥ

Να παρατηρείται και να ελέγχεται η θερμοκρασία δωματίου.

ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ (ΕΙΔΙΚΑ ΣΤΟΥΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ ΔΙΑΘΛΑΣΗΣ RI, ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ ECD)

Να ρυθμιστεί η θερμοκρασία της κυψελίδας ροής.

ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΠΙΕΣΗ

Επίσης, αν υπάρχει παρεμπόδιση της στήλης με το δείγμα που έχει προσροφήσει, τότε θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί στήλη προστασίας και να γίνεται καλύτερος καθαρισμός. Αν οι αλλαγές στην πίεση οφείλονται σε βουλωμένη γραμμή εξόδου, τότε θα πρέπει να ξεβουλώσει ή να αντικατασταθεί, διότι η υψηλή πίεση μπορεί να προκαλέσει ρήγμα στο παράθυρο της κυψελίδας.

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΜΙΞΗΣ

Να αυξηθεί ο όγκος του συστήματος.

Ο ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΓΧΥΣΗΣ ΕΙΝΑΙ ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ ΙΣΧΥΡΟΣ

Χρησιμοποιήστε πιο αδύνατο διαλύτη έγχυσης ή κινητή φάση.

ΧΗΜΙΚΟΙ ΛΟΓΟΙ

ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΠΙΕΣΗ

Οι διαλύτες και τα δείγματα να φιλτραριστούν πολύ καλά. Μπορεί το ιξώδες του δείγματος να είναι μεγάλο.

ΜΕΓΕΘΟΣ ΜΟΡΙΩΝ

Να χρησιμοποιηθεί μια στήλη μεγαλύτερης πλήρωσης.

ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΕΚΛΟΥΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΣΤΗΛΗ

Έκλυση διαλύτη μέχρι ώστε η γραμμή αναφοράς να είναι σταθερή.

ΟΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΤΗΣ ΒΑΘΜΩΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΚΑΘΑΡΟΙ

Να ελεγχθεί εάν οι διαλύτες είναι για βαθμωτή έκλυση. Αν ναι, να χρησιμοποιηθούν διαλύτες από άλλη παρτίδα ή εταιρία.

ΜΕΓΑΛΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ ΤΗΣ ΣΤΗΛΗΣ (ΟΤΑΝ ΑΛΛΑΖΕΙ Η ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ)

Να ξεπλυθεί η στήλη με διαλύτη ενδιάμεσης ισχύς και να εφαρμοστούν 10-20 όγκοι στήλης της νέας κινητής φάσης πριν από την ανάλυση.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΕΝΤΟΝΑ ΥΨΗΛΟ k' (ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ)

Τα δείγματα, μπορεί να εκλουθούν ως πολύ ευρείες κορυφές με τη γραμμή αναφοράς να έχει μια ανοδική πορεία. Η στήλη θα πρέπει να ξεπλένεται με ισχυρό διαλύτη μεταξύ των εγχύσεων ή περιοδικά κατά την διάρκεια της ανάλυσης.

ΠΟΛΥ ΜΕΓΑΛΟΣ ΟΓΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Όταν η κινητή φάση χρησιμοποιείται για έγχυση, ο όγκος έγχυσης πρέπει να είναι το 1/6 του αρχικού.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΜΟΡΙΩΝ ΣΤΟ ΦΙΛΤΡΟ

Για να μην υπάρχει αύξηση της υποπίεσης, θα πρέπει να ελεγχθεί το δείγμα φίλτρου, το σε σειρά φίλτρο, και το φίλτρο της κινητής φάσης.

ΚΑΘΙΖΗΣΗ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ (BUFFER)

Να δοκιμαστεί η μίξη οργανικών ρυθμιστικών διαλυμάτων, για να εξασφαλιστεί η συμβατότητα μεταξύ τους κι έτσι να αποφευχθεί η ανεπαρκής ανάλυση.

ΜΟΛΥΝΣΗ ΣΤΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΤΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Αν υπάρχει συγκέντρωση μολυσματικών παραγόντων στην κυψελίδα του ανιχνευτή, τότε να ξεπλυθεί με μεθανόλη ή με άλλον ισχυρό διαλύτη. Εάν είναι απαραίτητο, να γίνει καθαρισμός με 1N νιτρικού οξέος (HNO_3) (ποτέ με HCl και ποτέ με πυκνό διάλυμα νιτρικού οξέος).

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕ ΤΗΝ ΣΤΑΣΙΜΗ ΦΑΣΗ

Να τροποποιηθεί ή να αλλάξει η κινητή φάση.

ΑΝΟΜΟΙΟΓΕΝΗΣ ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ

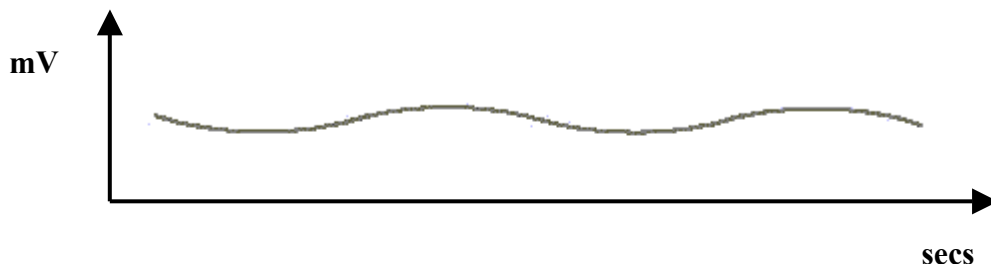
Να χρησιμοποιηθούν διαλύτες καθαρότητας HPLC, άλατα υψηλής καθαρότητας. Να απαερωθεί με ήλιο η κινητή φάση πριν από τη χρήση αλλά και τη διάρκεια της χρήσης.

ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΚΙΝΗΤΗΣ & ΣΤΑΤΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ

Για να γίνει αλλαγή της στη σύνθεση της κινητής φάσης, θα πρέπει το τμήμα της κινητής φάσης να καλύπτεται. Επίσης, αν υπάρχουν ενεργές περιοχές στη πλήρωση του πυριτίου, να προστεθεί ανταγωνιστική βάση στην κινητή φάση και να χρησιμοποιηθεί υψηλότερη κάλυψη πλήρωσης για τη στάσιμη φάση.

3.2.5. Εναλλασσόμενη Βασική Γραμμή Αναφοράς

Η βασική γραμμή αναφοράς εναλλάσσεται, «κυκλικά» όπως φαίνεται στο παρακάτω Σχήμα:



Σχήμα 3. 5. – Εναλλασσόμενη Βασική Γραμμή Αναφοράς

και αυτό μπορεί να οφείλεται:

ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΙΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ

Να γίνει θερμική μόνωση του συστήματος. Επίσης, να απομακρυνθούν οι διαλύτες από τον εξαερισμό. Και τέλος, να αυξηθεί η θερμοκρασία της κυψελίδας (αν είναι θερμοστατούμενη).

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΜΙΞΗΣ

Να αυξηθεί ο όγκος του δείγματος.

ΑΕΡΑΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ

Να γίνει σωστή απαερίωση των διαλυτών.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΣ ΘΟΡΥΒΟΣ

Είτε να γίνει αλλαγή στα κυκλώματα ή να μετακινηθεί η πηγή. Επίσης καλό θα είναι να απομακρυνθούν πηγές ηλεκτρικού θορύβου (όπως κινητά τηλέφωνα).

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΤΛΙΑ

Αν υπάρχει κάποιο εμπόδιο ή «βρωμιά» να ξεπλυθεί κατάλληλα όλο το σύστημα (συνεχής ροή κινητής φάσης). Αν επιμένει το πρόβλημα, να επισκευασθεί η αντλία άμεσα.

3.2.6. Ακίδες

Οι ακίδες οφείλονται κυρίως σε λάθος συνδέσεις και στις διαρροές στα ηλεκτρικά κυκλώματα. Απεικόνιση χρωματογραφήματος με ακίδες παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.6.:



Σχήμα 3. 6. – Ακίδες

Οι πιθανές αιτίες και οι αντίστοιχες προτεινόμενες λύσεις στο συγκεκριμένο πρόβλημα καταγράφονται παρακάτω.

ΦΥΣΑΛΙΔΕΣ

Να γίνεται πιο σωστή και λεπτομερής εξαέρωση των διαλυτών ή της κινητής φάσης και του ρυθμιστή της υποπίεσης.

ΚΑΚΗ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΣΥΝΔΕΣΗ, ΧΑΛΑΡΗ ΚΑΛΩΔΙΩΣΗ

Να καθαριστούν και να σφίχτούν οι κεφαλές του ανιχνευτή, να ελεγχθεί η καλωδίωση αν είναι σωστή και να αντικατασταθούν τα φθαρμένα καλώδια αν υπάρχουν.

ΧΡΗΣΗ ΛΑΜΠΤΗΡΑ ΕΦΕΔΡΕΙΑΣ

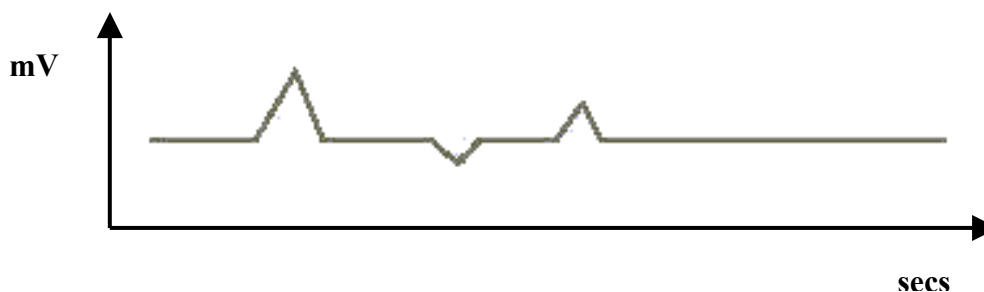
Ο λαμπτήρας έχει καεί και ο ανιχνευτής χρησιμοποιεί εφεδρικό λαμπτήρα ο οποίος δεν έχει την ίδια απόδοση.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΣ ΘΟΡΥΒΟΣ

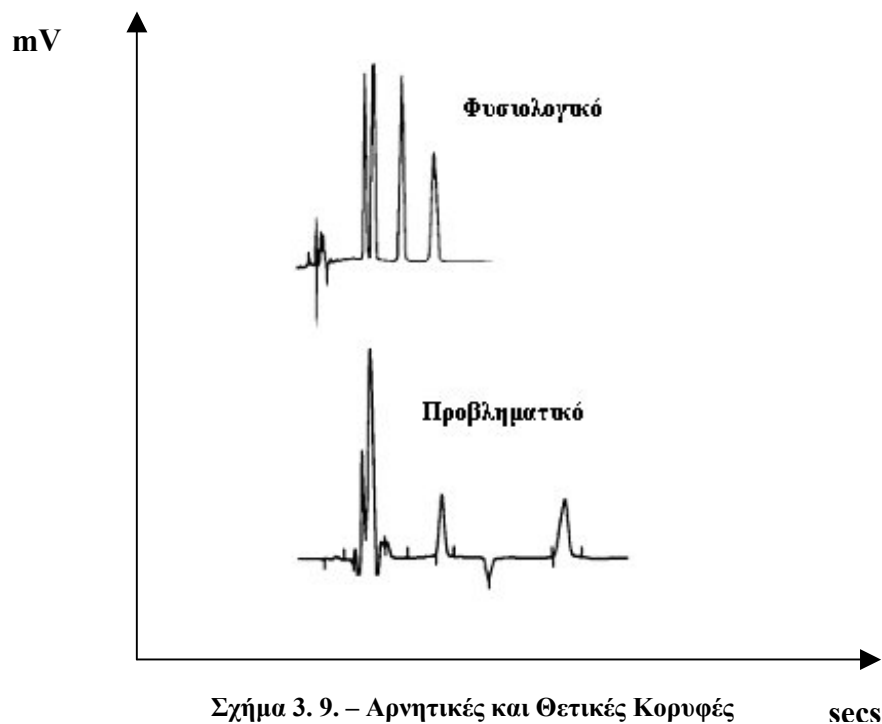
Να γίνει αντικατάσταση των κυκλωμάτων, και να αφαιρεθεί η πηγή. Οι κοινές πηγές περιλαμβάνουν συνήθως προβλήματα κάπου στους διακόπτες, στους συμπιεστές, στο κάλυμμα κλιβάνων, στους συλλέκτες κομματιών, στα εξαρτήματα ισχύος, στον φωτισμό, και στην φτωχή ή κακή πηγή ενέργειας.

3.2.7. Αρνητικές & Θετικές Κορυφές

Σε ένα χρωματογράφημα είναι πιθανόν να παρουσιαστούν **θετικές** (positive) και **αρνητικές** (negative) **κορυφές** (peaks).



Σχήμα 3. 8. – Αρνητικές Και Θετικές Κορυφές



Σχήμα 3. 9. – Αρνητικές και Θετικές Κορυφές

ΛΟΓΩ ΟΡΓΑΝΩΝ

ΦΥΣΑΛΙΔΕΣ ΣΤΗΝ ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΡΟΗΣ

Να εξαερωθεί η κινητή φάση.

Ο ΔΙΑΘΛΑΣΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΟΥΣΙΑΣ ΕΙΝΑΙ ΜΙΚΡΟΤΕΡΟΣ ΑΠΟ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΤΗ

Θα πρέπει να αναστραφεί η πολικότητα και να χρησιμοποιηθεί κινητή φάση με χαμηλότερο διαθλαστικό δείκτη, ή όργανα καταγραφής αντίστροφων κεφαλών.

ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΟΡΓΑΝΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ

Να ελεγχθεί η πολικότητα στο όργανο καταγραφής ή στον ανιχνευτή.

Η ΔΙΑΛΥΜΕΝΗ ΟΥΣΙΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΡΟΦΑΤΑΙ ΕΙΝΑΙ ΜΙΚΡΟΤΕΡΗ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ

Να χρησιμοποιηθεί κινητή φάση με μικρότερο UV απορρόφησης, να μην ανακυκλώνεται ο διαλύτης πάρα πολύ ή χρησιμοποιηθεί κινητή φάση που δεν απορροφά στο επιλεγμένο μήκος κύματος.

ΧΗΜΙΚΟΙ ΛΟΓΟΙ

ΜΕΡΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΕΚΛΟΥΟΝΤΑΙ, ΑΠΟΡΡΟΦΟΥΝ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΔΙΑΛΥΤΗ ΑΠΟ ΤΟ ΚΑΝΟΝΙΚΟ

Να χρησιμοποιηθεί ένας διαφορετικός ή ένας πιο καθαρός διαλύτης.

ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΔΙΑΛΥΤΗ ΚΑΙ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ ΔΙΑΦΕΡΟΥΝ ΠΟΛΥ ΣΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ

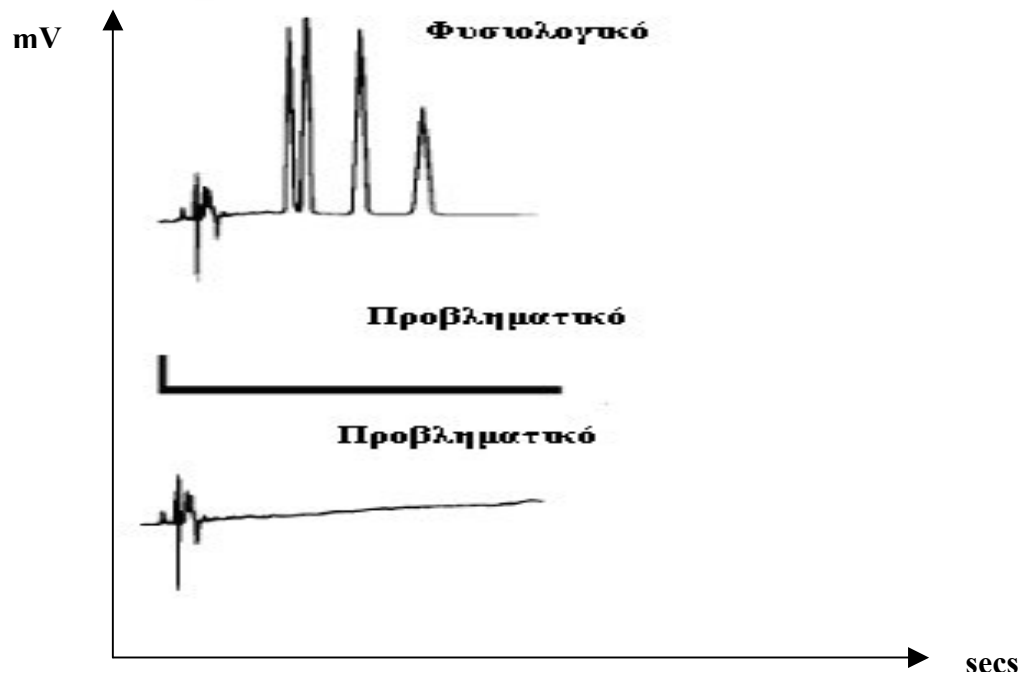
Να ρυθμιστεί ή να αλλάξει ο διαλύτης του δείγματος. Να αραιώσει το δείγμα στην κινητή φάση, αν είναι δυνατόν.

3.3. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑ ΕΚΤΟΣ ΓΡΑΜΜΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Τα χρωματογραφήματα που παρουσιάζονται παρακάτω, είναι χρωματογραφήματα που εμφανίζονται λανθασμένα εξαιτίας κάποιων αιτιών. Επίσης παρουσιάζονται οι λόγοι και οι προτάσεις έτσι ώστε να μην υπάρχουν πλέον προβλήματα και τα χρωματογραφήματα να παρουσιάζονται στην έξοδο του καταγραφικού σωστά.

Πρόβλημα 1 - Δεν Υπάρχουν Κορυφές / Πολύ Μικρές Κορυφές

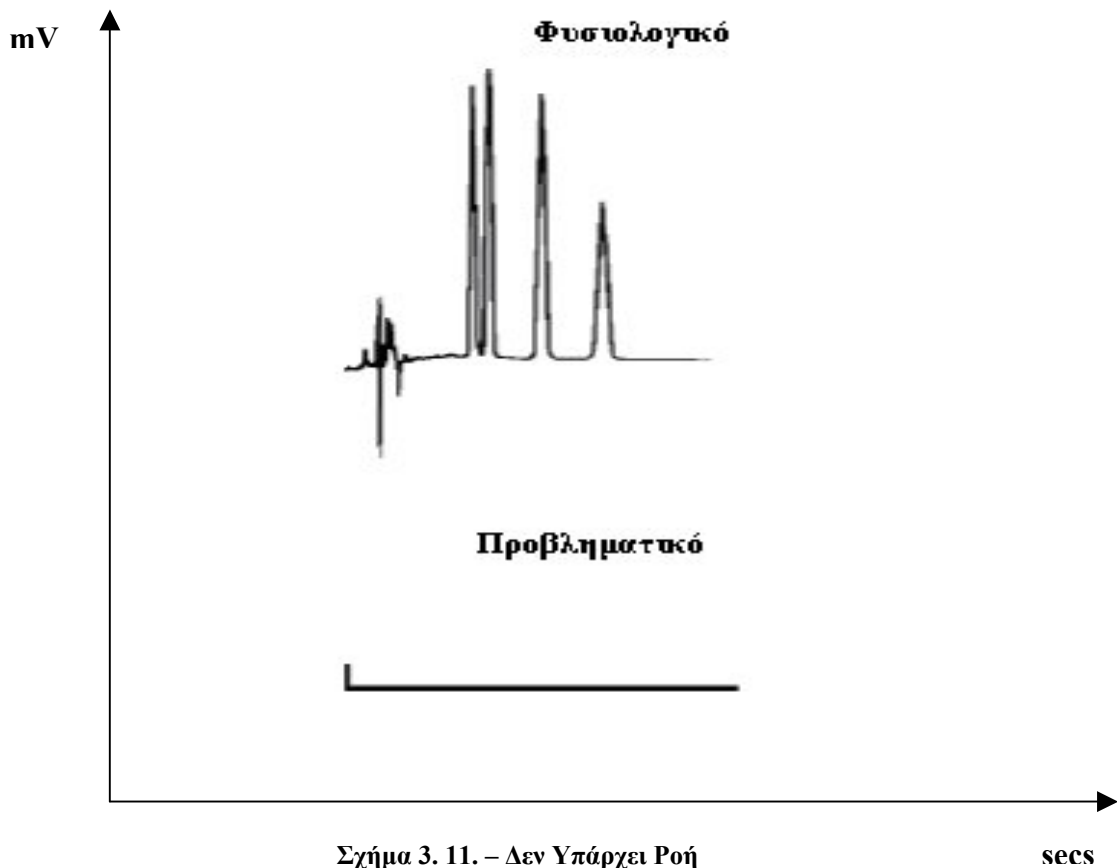
<ol style="list-style-type: none">1.Ο λαμπτήρας του ανιχνευτή είναι κλειστός ή ο ανιχνευτής δεν μπορεί να ανιχνεύσει.2.Μη συνδεδεμένο ή χαλασμένο καλώδιο μεταξύ του ανιχνευτή και του ολοκληρωτή ή του οργάνου καταγραφής.3.Δεν υπάρχει ροή στην κινητή φάση.4.Κανένα δείγμα / κακής ποιότητας δείγμα / λανθασμένο δείγμα.5.Πολύ υψηλές ρυθμίσεις στον ανιχνευτή ή στο όργανο καταγραφής.6.Ο εγχυτήρας δεν κάνει καθόλου εγχύσεις στην αντλία.7.Στην κινητή φάση υπάρχουν λάθος ή αλλοιωμένα πρότυπα ή δείγματα.8.Λάθος τοποθέτηση στήλης με αποτέλεσμα να συγκρατεί όλες τις ενώσεις..	<ol style="list-style-type: none">1.Να πατήσει το διακόπτη λειτουργίας του λαμπτήρα.2.Έλεγχος στις ηλεκτρικές συνδέσεις και στα καλώδια.3.Να διαπιστωθεί ότι δεν υπάρχει ροή. (Πρόβλημα Νο.2)4.Έλεγχος στον αυτόματο δειγματολήπτη, των φιαλιδίων, να έχουν ικανοποιητική ποσότητα υγρού και καθόλου φυσαλίδες στο δείγμα. Να γίνει αξιολόγηση της απόδοσης του συστήματος με τα φρέσκα πρότυπα για να επιβεβαιωθεί το δείγμα ως πηγή του προβλήματος.5.Να ελεγχθούν οι ρυθμίσεις εξασθένισης (κουμπί attenuation) ή οι ρυθμίσεις ενίσχυσης (κουμπί gain) του σήματος. Επίσης, η κατάσταση της λάμπας. Εάν είναι απαραίτητο να μηδενιστεί η γραμμή αναφοράς (κουμπί autozero).6.Να γίνει έλεγχος με χρήση ένεσης ακετόνης.7.Να γίνει έλεγχος με χρήση ένεσης ακετόνης.8.Να τοποθετηθεί η στήλη σωστά.
---	--



Σχήμα 3. 10. – Πολύ Μικρές Κορυφές & Δεν Υπάρχουν Κορυφές

Πρόβλημα 2 - Δεν Υπάρχει Ροή

<ol style="list-style-type: none"> 1.Αντλία κλειστή. 2.Ροή που διακόπτεται ή που παρεμποδίζεται. 3.Διαρροή στον εγχυτήρα, στην αντλία, στον ανιχνευτή. 4.Αέρας που παγιδεύεται στη κεφαλή της αντλίας. (Αποκαλύπτεται από τις διακυμάνσεις της πίεσης). 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Προσοχή, η αντλία να μην είναι κλειστή. 2.Ελέγχος στο επίπεδο της κινητής φάσης, στις φιάλες δεξαμενή, στην ροή σε όλο το σύστημα. Να ελεγχθεί επίσης, αν ο βρόγχος δείγματος για κάποιο εμπόδιο ή για την ύπαρξη αέρα. Να επιβεβαιωθεί ότι τα συστατικά της κινητής φάσης είναι αναμίξιμα και η κινητή φάση εξαερώνεται κατάλληλα. 3.Να ελεγχθεί όλο το σύστημα για χαλαρές συνδέσεις, η αντλία για διαρροές, για συγκέντρωση αλάτων, για ασυνήθιστους θορύβους. Να αντικατασταθούν οι δακτύλιοι στεγανοποίησης αν είναι απαραίτητο. 4.Να αποσυνδεθεί η σωλήνωση από το προστατευτικό της στήλης (εάν υπάρχει) ή από την είσοδο της στήλης. Να ελεγχθεί η ροή. Να καθαριστεί η αντλία σε υψηλή ροή (π.χ. 5-10 ml/min.), και το κύριο σύστημα εάν είναι απαραίτητο. (Πρωταρχικά κάθε κεφαλή αντλιών χωριστά. Αν το σύστημα έχει τη βαλβίδα αντεπιστροφής, να χαλαρώσει η βαλβίδα για να επιτρέψει τη διαφυγή του αέρα. Εάν το πρόβλημα εμμένει, να ξεπλυθεί το σύστημα με 100% μεθανόλη ή ισοπροπανόλη. Εάν και πάλι, το πρόβλημα εμμένει ο χειριστής θα πρέπει να επικοινωνήσει με τον κατασκευαστή του συστήματος.
---	---



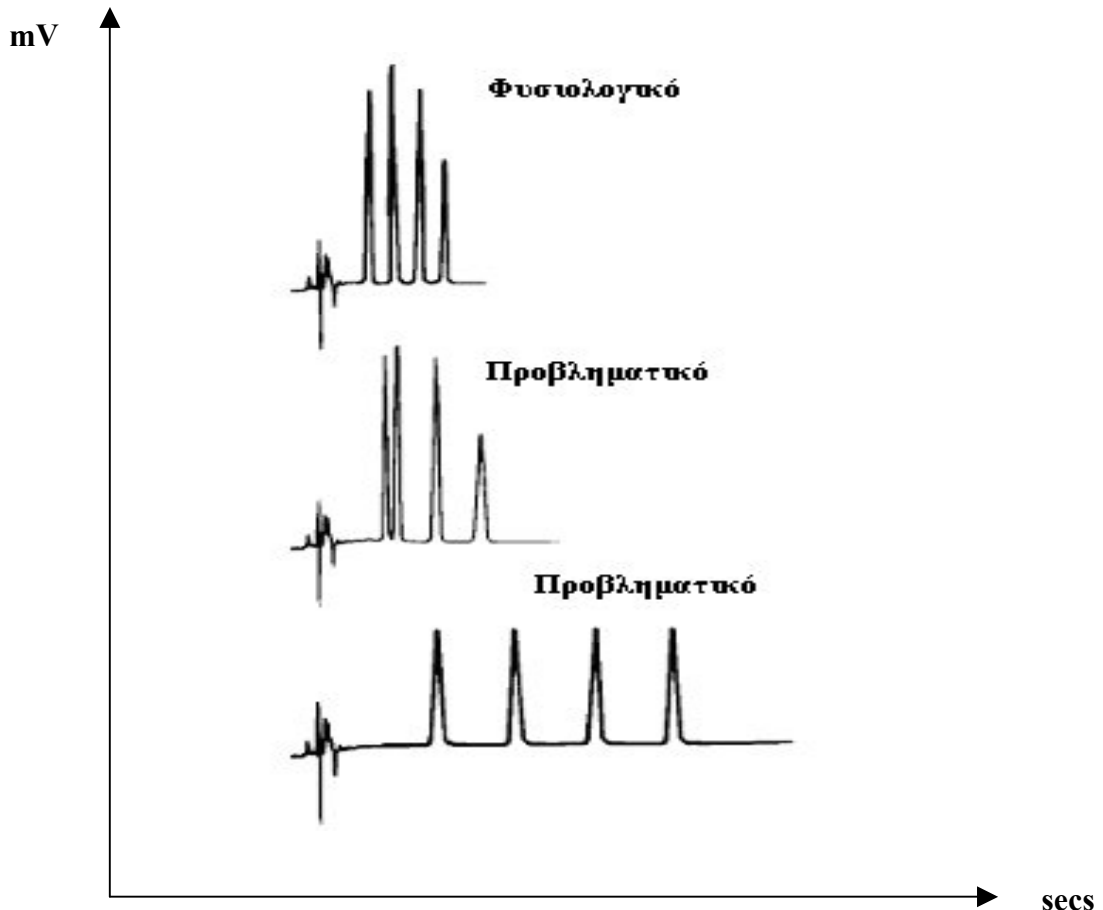
Σχήμα 3. 11. – Δεν Υπάρχει Ροή

secs

Πρόβλημα 3 - Ποικίλοι Χρόνοι Έκλουσης

<p>1. Διαρροή.</p> <p>2. Αλλαγή στη σύνθεση της κινητής φάσης. (Οι μικρές αλλαγές μπορούν να οδηγήσουν σε μεγάλες αλλαγές στους χρόνους έκλουσης).</p> <p>3. Αέρας που παγιδεύεται στην αντλία. (Οι χρόνοι διατήρησης αυξάνονται και μειώνονται σε τυχαία διαστήματα).</p> <p>4. Διακυμάνσεις θερμοκρασίας της στήλης (ιδιαίτερα εμφανείς στα συστήματα ανταλλαγής ιόντων).</p> <p>5. Υπερφόρτωση στήλης. (Οι χρόνοι διατήρησης μειώνονται συνήθως δεδομένου ότι η μάζα της διαλυτής ουσίας που εγχέεται στη στήλη υπερβαίνει την χωρητικότητα της στήλης).</p> <p>6. Δείγμα διαλύτη ασύμβατο με την κινητή φάση.</p> <p>7. Πρόβλημα στήλης. Συνηθισμένο πρόβλημα στήλης είναι η ασταθής συγκράτηση αν δεν αντικατασταθεί για μεγάλο διάστημα. Δεδομένου ότι τα χρόνια της στήλης, οι χρόνοι διατήρησης μειώνονται βαθμιαία.</p>	<p>1. Να ελεγχθεί όλο το σύστημα για χαλαρές συνδέσεις, η αντλία για διαρροές, για συγκέντρωση αλάτων, και ασυνήθιστους θορύβους. Να αντικατασταθούν οι δακτύλιοι στεγανοποίησης ασφαλείας της αντλίας, αν είναι απαραίτητο.</p> <p>2. Να ελεγχθεί η διάταξη της κινητής φάσης. Εάν η κινητή φάση είναι μηχανικά αναμίξιμη χρησιμοποιώντας ίδιες αναλογίες, να δημιουργηθεί κινητή φάση χειροκίνητα από φιάλη.</p> <p>3. Να απομακρυνθεί ο αέρας από την κεφαλή της αντλίας ή και να ελεγχθούν οι βαλβίδες της αντλίας. Να αντικατασταθούν οι βαλβίδες ασφαλείας της αντλίας αν είναι απαραίτητο. Επίσης, είναι απαραίτητο η κινητή φάση εξαερώνεται.</p> <p>4. Να χρησιμοποιείται αξιόπιστος φούρνος στήλης. (Σημείωση: υψηλές θερμοκρασίες στήλης αυξάνουν την αποδοτικότητα της στήλης. Για βέλτιστα αποτελέσματα, ζεστάνετε το eluant πριν εισαχθεί στη στήλη).</p>
--	---

5. Να γίνεται έγχυση μικρότερου όγκου (10μl έναντι 100μl) ή ίδιου όγκου μετά από 1:10 ή 1:100 διαλύσεις του δείγματος.
6. Να ρυθμιστεί ο διαλύτης. Όποτε είναι δυνατόν, να γίνει η έγχυση των δειγμάτων στην κινητή φάση.
7. Να αντικατασταθεί με καινούργια στήλη του ίδιου τύπου για να επιβεβαιωθεί ότι η στήλη είναι η αιτία και να απορριφθεί η παλιά στήλη.



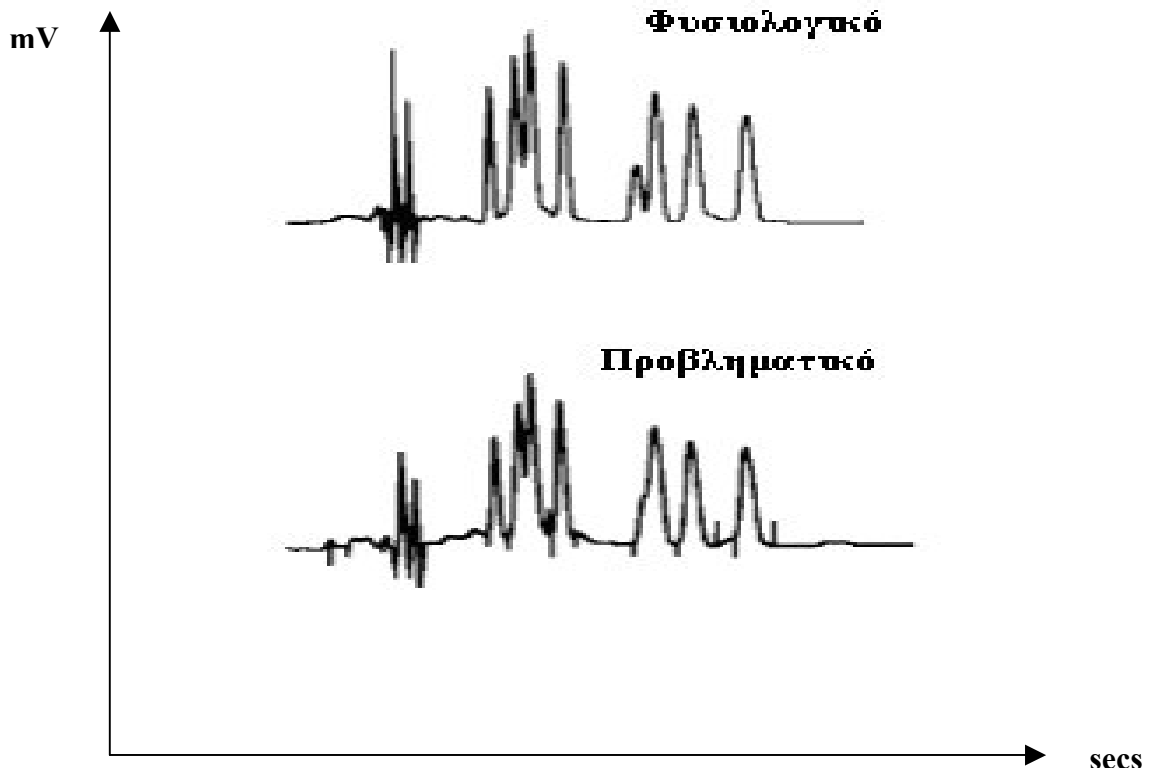
Σχήμα 3. 12. – Ποικίλοι Χρόνοι Έκλουσης

Πρόβλημα 4 - Απώλεια Ανάλυσης

1. Κινητή φάση που έχει μολυνθεί ή που είναι κακής ποιότητας προκαλεί αλλαγή στους χρόνους διατήρησης ή / και της έκλουσης με την επιλεκτικότητα να αλλάζει.
2. Παρεμβάλλεται το προστατευτικό στήλης ή η αναλυτική στήλη.

1. Να γίνει προετοιμασία νέας κινητής φάσης.
2. Να αφαιρεθεί η στήλη προστασίας (αν είναι παρούσα) και να γίνει προσπάθεια νέας ανάλυσης. Να αντικατασταθεί η στήλη προστασίας, εάν είναι απαραίτητο. Αν η αναλυτική στήλη είναι φραγμένη, αντιστρέψετε και ξεπλύνετε την στήλη, ενώ την έχετε αποσυνδέσει από τον ανιχνευτή. Εάν το πρόβλημα εμμένει, η στήλη μπορεί να έχει φραχτεί με μολυσματικούς παράγοντες. Τότε

θα πρέπει να καθαριστεί. Αν το πρόβλημα εμμένει ακόμα, να αντικατασταθεί το υαλοβερνίκωμα στην είσοδο ή η στήλη.



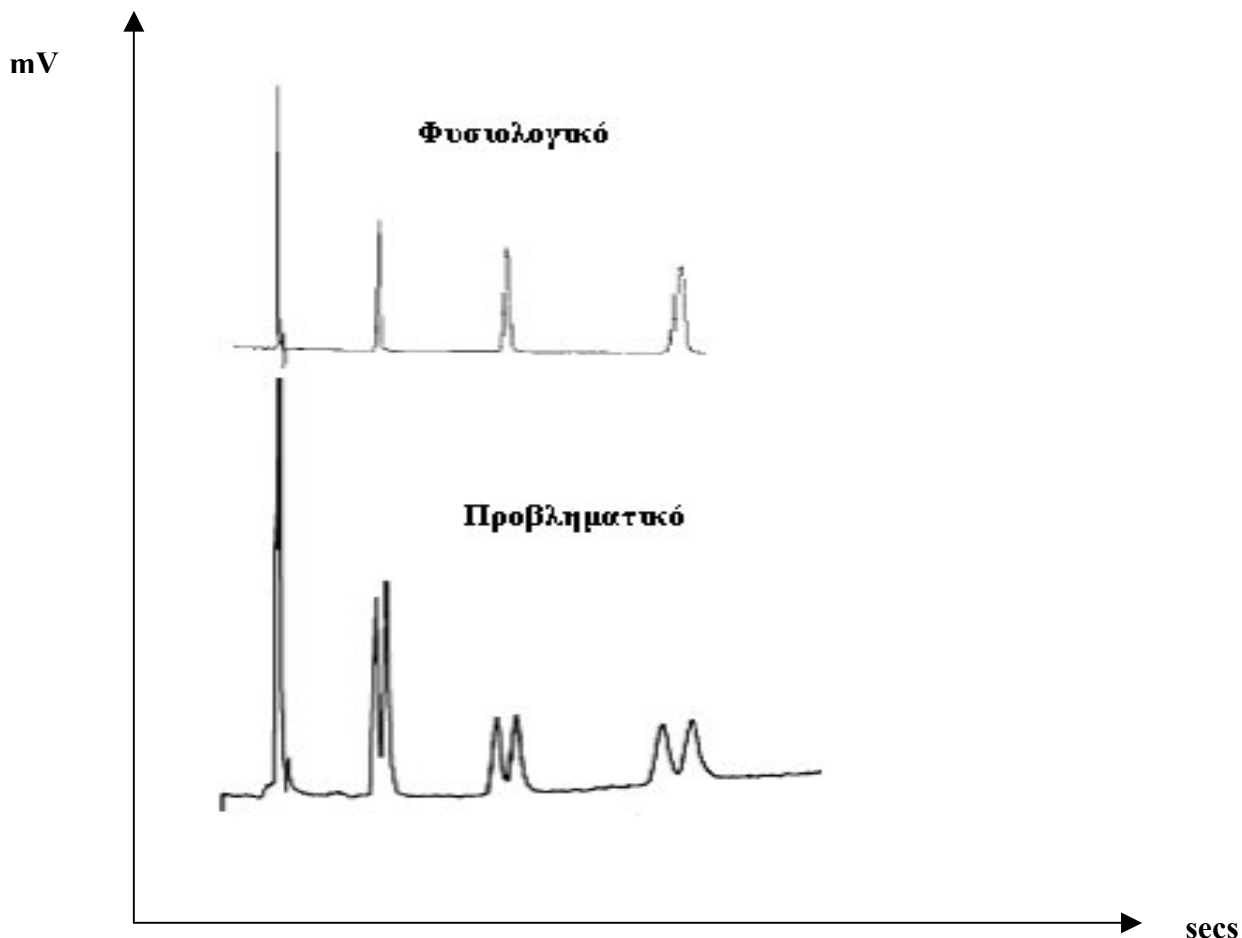
Σχήμα 3. 13. – Απώλεια Ανάλυσης

Πρόβλημα 5 – Χωρισμένες Κορυφές (Split Peaks)

- 1.Μόλυνση στην στήλη προστασίας ή στην είσοδο της στήλης.
- 2.Μερικώς παρεμποδισμένο υαλοβερνίκωμα.
- 3.Μικρό κενό στην είσοδο της στήλης.
- 4.Δείγμα διαλύτη ασύμβατο με την κινητή φάση.

- 1.Να αφαιρεθεί η στήλη προστασίας και να επιχειρηθεί νέα προσπάθεια ανάλυσης. Να αντικατασταθεί η στήλη προστασίας, εάν είναι απαραίτητο. Αν η αναλυτική στήλη εμποδίζεται, να αντιστραφεί και να ξεπλυθεί, ενώ έχει αποσυνδεθεί από τον ανιχνευτή. Εάν το πρόβλημα εμμένει, η στήλη μπορεί να έχει φραχτεί με μολυσματικούς παράγοντες, οπότε και θα πρέπει να καθαριστεί. Αν το πρόβλημα εμμένει ακόμα, να αντικατασταθεί το υαλοβερνίκωμα στην είσοδο της στήλης ή η στήλη.
- 2.Να αντικατασταθεί το υαλοβερνίκωμα.
- 3.Να περιβληθεί (repack) η κορυφή της στήλης με τα μεμβρανώδη μόρια της ίδιας λειτουργίας φάσης δεσμών και να συνεχιστεί να χρησιμοποιείται η στήλη στην κατεύθυνση της αντίστροφης ροής.

4. Να ρυθμιστεί ο διαλύτης. Όποτε είναι δυνατόν, να γίνει η έγχυση των δειγμάτων στην κινητή φάση.



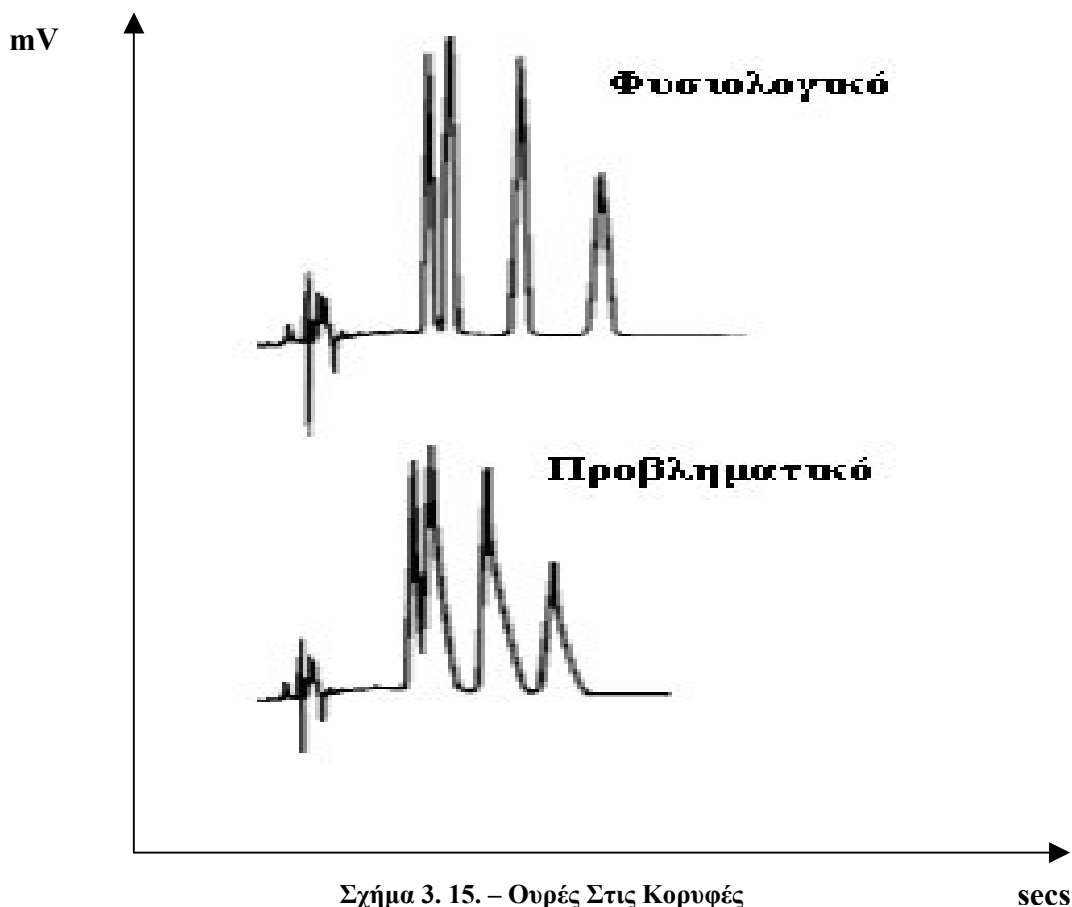
Σχήμα 3. 14. – Χωρισμένες Κορυφές

Πρόβλημα 6 - Ουρές στις Κορυφές στις Αρχικές ή στις Τελικές Ενέσεις Έγχυσης.

1. Δείγμα που αντιδρά με τις ενεργές περιοχές.
2. Λανθασμένο pH στην κινητή φάση.
3. Λανθασμένος τύπος στήλης.
4. Μικρό κενό στην είσοδο της στήλης.
5. Λανθασμένη έγχυση διαλύτη.
6. Το προστατευτικό ή η αναλυτική στήλη είναι μολυσμένο / φθαρμένο.
7. Κινητή φάση μολυσμένη / κακής ποιότητας.
8. Παρέμβαση στο δείγμα

1. Πρώτα να ελεγχθεί η απόδοση στήλης με το τυποποιημένο μίγμα δοκιμής. Εάν τα αποτελέσματα του μίγματος δοκιμής είναι καλά, να προστεθεί το ιονικό ζεύγος αντιδραστηρίου ή η ανταγωνιστική βάση ή ο όξινος τροποποιητής.
2. Να ρυθμιστεί η κλίμακα του pH. Για τις βασικές ενώσεις, το χαμηλότερο pH παρέχει συνήθως τις περισσότερες συμμετρικές κορυφές.
3. Να δοκιμαστεί ένα άλλο είδος στήλης (π.χ. απενεργοποιημένη στήλη για τις βασικές ενώσεις).
4. Να περιβληθεί (repack) η κορυφή της στήλης με τα μεμβρανώδη μόρια της ίδιας λειτουργίας φάσης δεσμών και να συνεχιστεί να χρησιμοποιείται η στήλη στην κατεύθυνση της αντίστροφης ροής.
5. Οι κορυφές μπορούν να παρακολουθήσουν πότε το δείγμα εγχέεται σε ισχυρότερο διαλύτη από την κινητή φάση. Να γίνεται η διάλυση του δείγματος στην κινητή

	<p>φάση.</p> <p>6. Να αφαιρεθεί η στήλη προστασίας (αν υπάρχει) και να σταματήσει η προσπάθεια ανάλυσης. Να αντικατασταθεί η στήλη προστασίας, εάν είναι απαραίτητο. Εάν η αναλυτική στήλη είναι η πηγή του προβλήματος, να απομακρυνθεί. Αν το πρόβλημα εμμένει, αντικαταστήστε τη στήλη.</p> <p>7. Να ελεγχθεί η διάταξη της κινητής φάσης.</p> <p>8. Τέλος, να ελεγχθεί η απόδοση της στήλης με πρότυπα διαλύματα.</p>
--	--

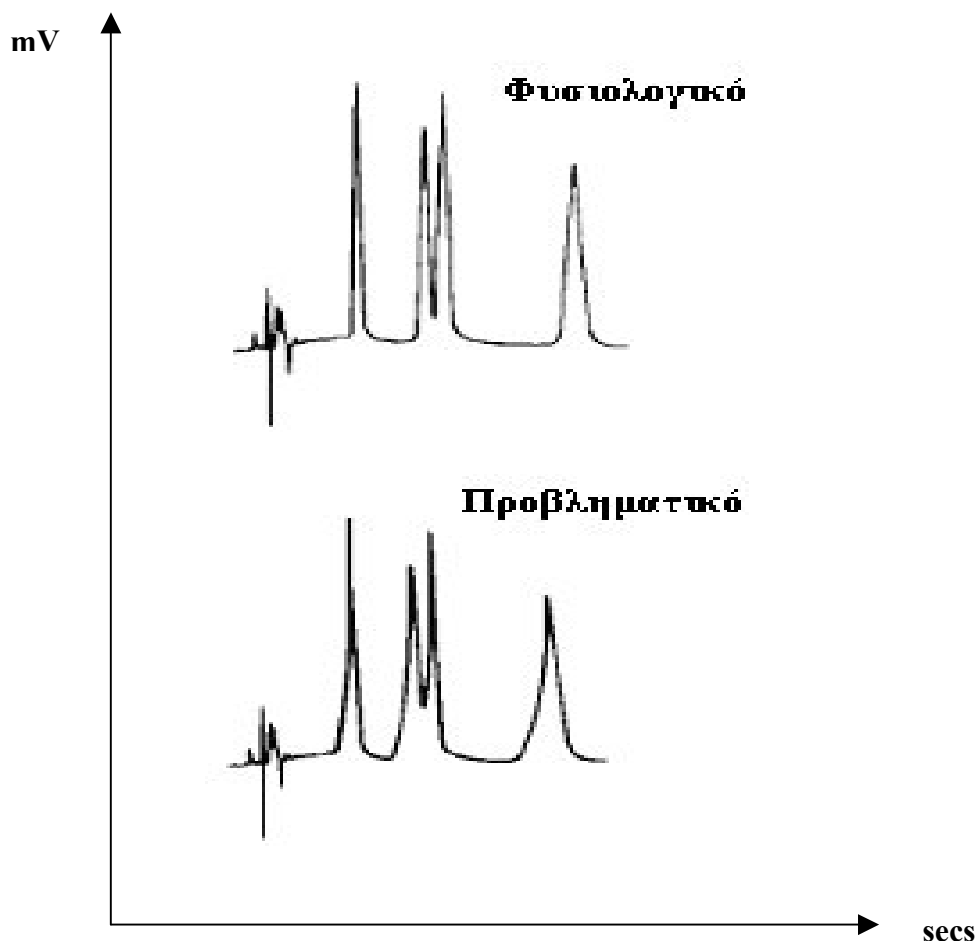


Σχήμα 3. 15. – Ουρές Στις Κορυφές

Πρόβλημα 7 – Μπροστινές Κορυφές (Fronting Peaks)

<p>1. Υπερφόρτωση στήλης.</p> <p>2. Δείγμα διαλύτη ασύμβατο με την κινητή φάση.</p> <p>3. Η γραμμή αναφοράς παρουσιάζει κύρτωμα ή η κλίση πριν από τη κύρια κορυφή, κάτι που μπορεί να είναι έκλυση άλλου συστατικού δείγματος.</p>	<p>1. Να γίνεται έγχυση μικρότερου όγκου (π.χ. 10μl έναντι 100μl). Να αραιωθεί το δείγμα 1:10 ή 1:100 σε περίπτωση υπερφόρτωσης της στήλης.</p> <p>2. Να ρυθμιστεί ο διαλύτης. Όταν θα είναι εφικτό, να εγχυθεί το δείγμα στην κινητή φάση. Να ξεπλυθεί η πολική στήλη με 50 όγκους στήλης διαλύματος αιθυλικού οξικού άλατος αναλυτικότητας HPLC για 2-3 φορές στην υπάρχουσα ροή, έπειτα να ξεπλυθεί με διαλύτη ενδιάμεσης πολικότητας πριν από την</p>
--	---

	<p>ανάλυση.</p> <p>3. Να αυξηθεί η απόδοση ή να αλλάξει η επιλεκτικότητα του συστήματος με σκοπό να βελτιωθεί η ανάλυση. Να δοκιμαστεί ένας άλλος τύπος στήλης, εάν είναι απαραίτητο (π.χ. αλλαγή στήλης από μη πολικό C₁₈ σε πολική CN στήλη).</p>
--	--

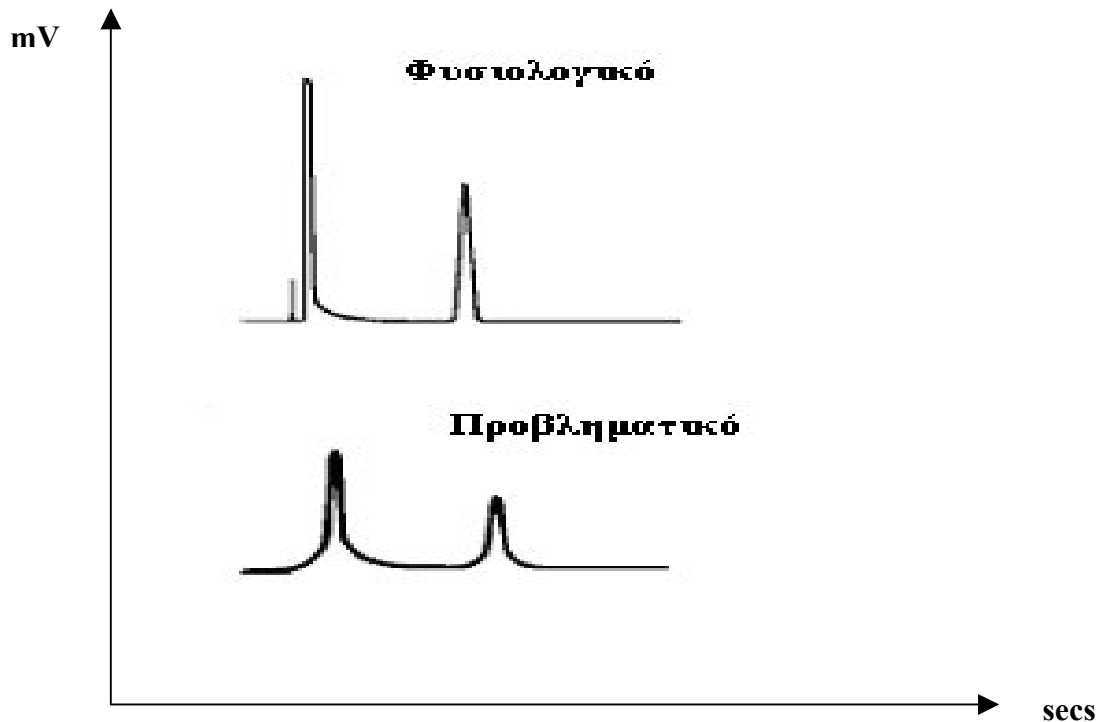


Σχήμα 3. 16. – Μπροστινές Κορυφές

Πρόβλημα 8 - Στρογγυλεμένες Κορυφές

<p>1. Ο ανιχνευτής λειτουργεί έξω από τη γραμμική δυναμική περιοχή.</p> <p>2. Το πλήκτρο gain του οργάνου καταγραφής είναι ρυθμισμένο σε χαμηλή κλίμακα.</p> <p>3. Υπερφορτωμένη στήλη.</p> <p>4. Αλληλεπίδραση δείγματος στήλης.</p> <p>5. Οι χρονικές σταθερές ανιχνευτή και / ή οργάνου καταγραφής τίθενται πάρα πολύ υψηλά.</p>	<p>1. Να μειωθεί ο όγκος δείγματος ή / και η συγκέντρωση δείγματος.</p> <p>2. Να ρυθμιστεί εκ νέου η ενίσχυση σήματος (κουμπί gain).</p> <p>3. Να γίνεται έγχυση μικρότερου όγκου (π.χ. 10μl έναντι 100μl) ή 1:10 και 1:10 διάλυση του δείγματος.</p> <p>4. Να αντικατασταθεί το ρυθμιστικό διάλυμα λόγω του pH, ή η σύνθεση της κινητής φάσης. Εάν είναι απαραίτητο, να αυξηθεί η θερμοκρασία στήλης ή να γίνει αλλαγή στον τύπο της στήλης.</p> <p>5. Να μειωθούν οι ρυθμίσεις σε χαμηλότερες τιμές ή σε τιμές στις</p>
---	---

οποίες δεν προβλέπονται περαιτέρω βελτιώσεις.

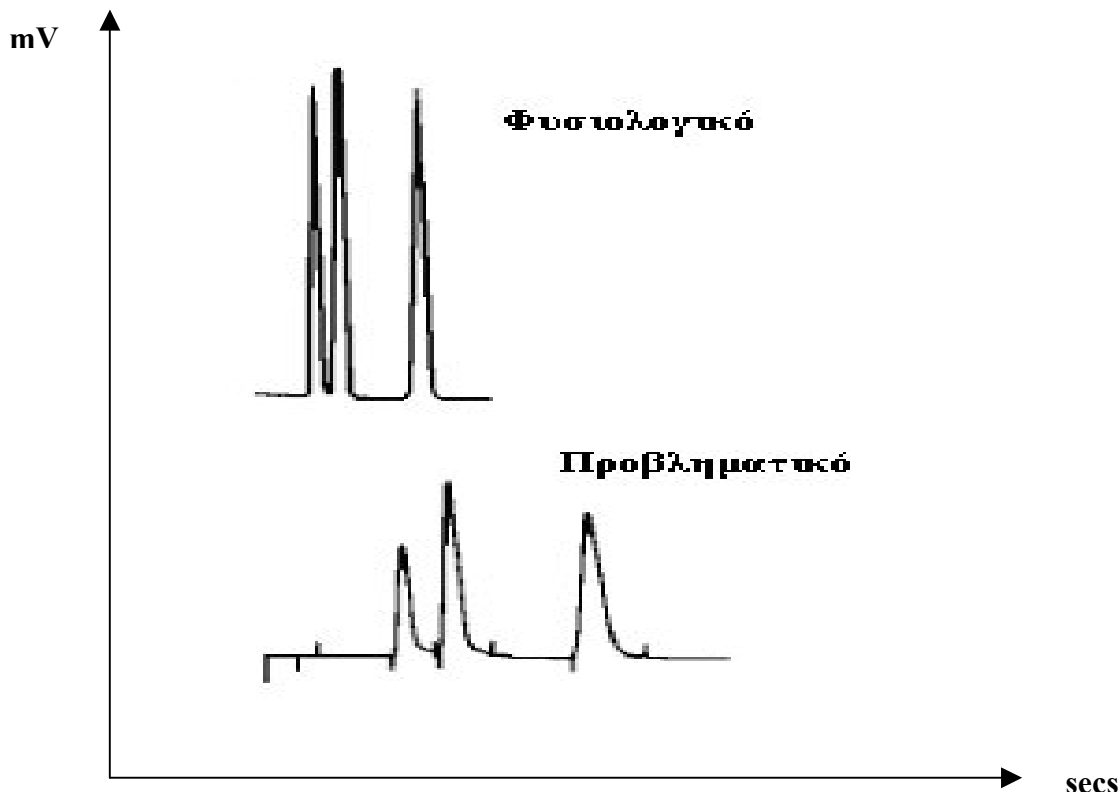


Σχήμα 3. 17. – Στρογγυλεμένες Κορυφές

Πρόβλημα 9 - Φαρδιές Κορυφές

<p>1.Αλλαγή σύνθεσης της κινητής φάσης.</p> <p>2.Η ροή της κινητής φάσης είναι πολύ χαμηλή.</p> <p>3.Διαρροή (ειδικά μεταξύ της στήλης και του ανιχνευτή).</p> <p>4.Λανθασμένες ρυθμίσεις ανιχνευτή.</p> <p>5.Επιδράσεις της στήλης:</p> <p>α) Η στήλη υπερφορτώθηκε.</p> <p>β) Ο χρόνος απόκρισης του ανιχνευτή ή ο όγκος του κελιού πολύ μεγάλος.</p> <p>γ) Σωλήνωση μεταξύ της στήλης και του ανιχνευτή πολύ μακριά.</p> <p>δ) Χρόνος απόκρισης του οργάνου καταγραφής πολύ υψηλός.</p> <p>6.Συγκέντρωση ρυθμιστικού διαλύματος πάρα πολύ χαμηλή.</p> <p>7.Προστατευτικό στήλης μολυσμένο / φθαρμένο.</p> <p>8.Στήλη μολυσμένη / φθαρμένη.</p> <p>9.Κενό στην είσοδο της στήλης.</p> <p>10.Η κορυφή αντιπροσωπεύει δύο ή περισσότερες κακά αναλυμένες</p>	<p>1.Να προετοιμαστεί μια νέα κινητή φάση.</p> <p>2.Να ρυθμιστεί η ροή.</p> <p>3.Να ελεγχθεί όλο το σύστημα για χαλαρές συνδέσεις, η αντλία για διαρροές, για συγκέντρωση αλάτων, και για ασυνήθιστους θορύβους. Να αντικατασταθεί η αντλία, αν είναι απαραίτητο.</p> <p>4.Να προσαρμοστούν εκ νέου οι ρυθμίσεις του ανιχνευτή.</p> <p>5.α) Να γίνεται έγχυση μικρότερου όγκου (π.χ. 10μL έναντι 100μL) ή 1:10 και 1:100 διάλυση του δείγματος.</p> <p>β) Να μειωθεί ο χρόνος απόκρισης ή να χρησιμοποιηθεί μικρότερη κυψελίδα</p> <p>γ) Να χρησιμοποιηθεί ένα μέρος 0,007''-0,010'' της ίντσας διαμέτρου, σωλήνωση.</p> <p>δ) Να μειωθεί ο χρόνος απόκρισης.</p> <p>6.Αύξηση της συγκέντρωσης.</p> <p>7.Αντικατάσταση της στήλης προστασίας.</p> <p>8.Αντικατάσταση της στήλης με μια καινούργια του ίδιου τύπου. Εάν η νέα στήλη δεν παρέχει στενές κορυφές, να ξεπλυθεί η παλιά στήλη και κατόπιν ξαναδοκιμαστεί.</p> <p>9.Αντικατάσταση της στήλης ή να περιβληθεί (repack) η κορυφή της στήλης με τα μεμβρανώδη μόρια της ίδιας</p>
--	--

<p>ενώσεις.</p> <p>11.Θερμοκρασία στήλης πολύ χαμηλή.</p>	<p>λειτουργίας φάσης δεσμών και να συνεχιστεί να χρησιμοποιείται η στήλη στην κατεύθυνση της αντίστροφης ροής.</p> <p>10.Αλλαγή του τύπου της στήλης για να βελτιωθεί ο διαχωρισμός.</p> <p>11.Να αυξηθεί η θερμοκρασία, να μην υπερβεί τους 75°C εκτός αν υψηλότερες θερμοκρασίες είναι αποδεκτές από τον κατασκευαστή της στήλης.</p>
--	---



Σχήμα 3. 18. – Φαρδιές Κορυφές

Πρόβλημα 10 - Αλλαγή στο Ύψος της Κορυφής

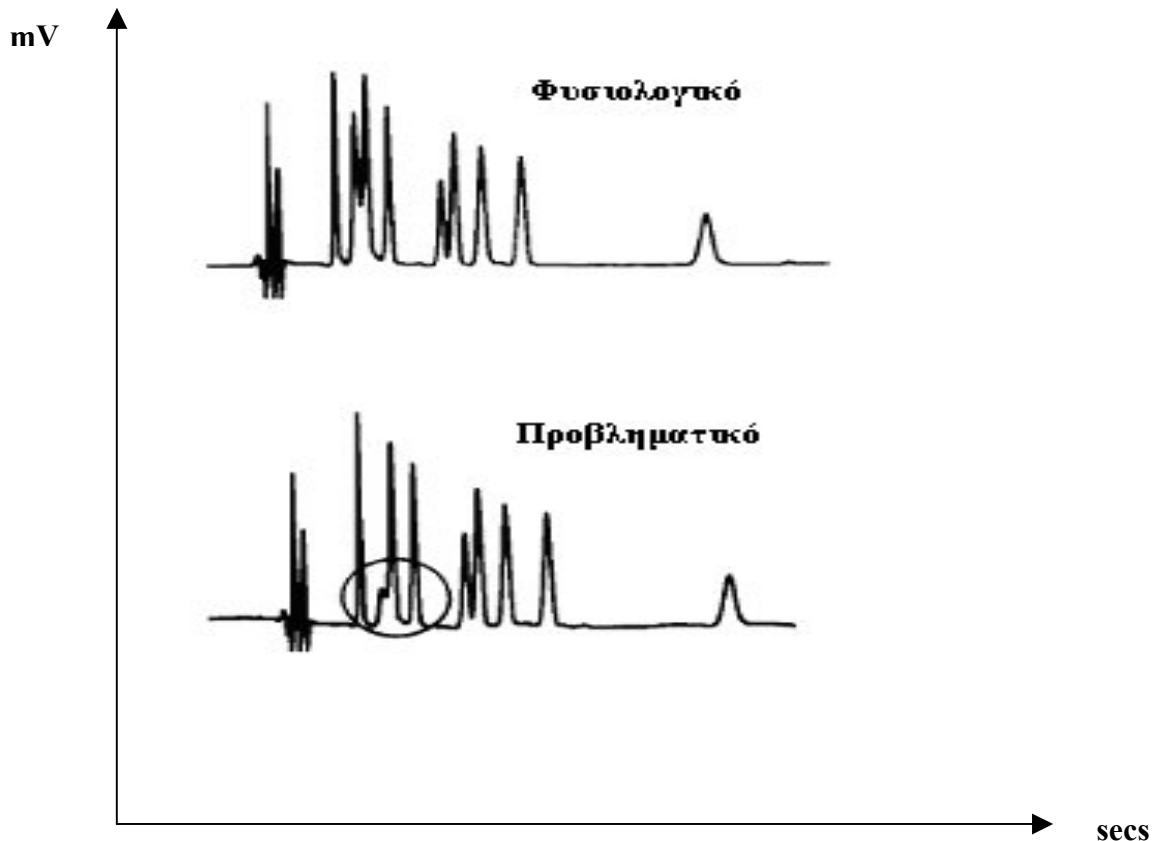
<p>1.Έχει αλλάξει ένα ή περισσότερα συστατικά του δείγματος ή η δραστηριότητα της στήλης έχει μεταβληθεί.</p> <p>2.Διαρροή, ειδικά μεταξύ της θύρας έγχυσης και της εισόδου της στήλης.</p> <p>3.Ακατάλληλος όγκος δείγματος.</p> <p>4.Αλλαγή ρύθμισης ανιχνευτή ή οργάνου καταγραφής.</p> <p>5.Αδύναμος ο λαμπτήρας του ανιχνευτή.</p> <p>6.Μόλυνση στην κυψελίδα του ανιχνευτή.</p>	<p>1.Να χρησιμοποιήσετε καινούργιο ή πρότυπο δείγμα για να επιβεβαιωθεί ότι το δείγμα είναι η πηγή του προβλήματος. Εάν μερικές ή όλες οι κορυφές είναι ακόμα μικρότερες από το αναμενόμενο, να αντικατασταθεί η στήλη. Εάν η νέα στήλη βελτιώνει την ανάλυση, να γίνει προσπάθεια να διορθωθεί η στήλη. Αν και πάλι η απόδοση της στήλης δεν βελτιώνεται, καλύτερο να απορριφθεί.</p> <p>2.Να γίνει έλεγχος σε όλο το σύστημα για χαλαρές συνδέσεις, η αντλία για διαρροές, για συγκέντρωση αλάτων, και ασυνήθιστους θορύβους. Να αντικατασταθεί η αντλία, αν είναι απαραίτητο.</p> <p>3.Να ελεγχθεί ότι τα δείγματα είναι αμετάβλητα. Η ποσότητα του βρόγχου δείγματος να είναι σταθερή, να χρησιμοποιείται 2 φορές ο όγκος βρόγχου για να εξασφαλίζεται ότι ο βρόγχος γεμίζει εντελώς. Να</p>
---	---

επιβεβαιωθεί, ότι τα φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη δεν περιέχουν επαρκή δείγμα και καθόλου φυσαλίδες. Επίσης, οι εγχυτήρες τύπου σύριγγας να μην περιέχουν αέρα. Στο βήμα του πλυσίματος ή του καθαρίσματος, να υπάρχει βεβαιότητα ότι το διάλυμα του πλυσίματος δεν καθιζάνει τα συστατικά του δείγματος.

4. Να ελεγχθούν οι ρυθμίσεις.

5. Αντικατάσταση του λαμπτήρα.

6. Να καθαριστεί η κυψελίδα του ανιχνευτή.



Σχήμα 3. 19. – Αλλαγή στο Ύψος της Κορυφής

Πρόβλημα 11 - Αλλαγές στην Επιλεκτικότητα

1. Αύξηση ή μείωση της ιοντικής ισχύς, του pH, ή της πρόσθετης συγκέντρωσης (έχει επιπτώσεις ειδικά στις ιοντικές διαλυτές ουσίες).

2. Έχει αλλαχθεί η στήλη, η καινούργια στήλη έχει διαφορετική επιλεκτικότητα από την παλιά.

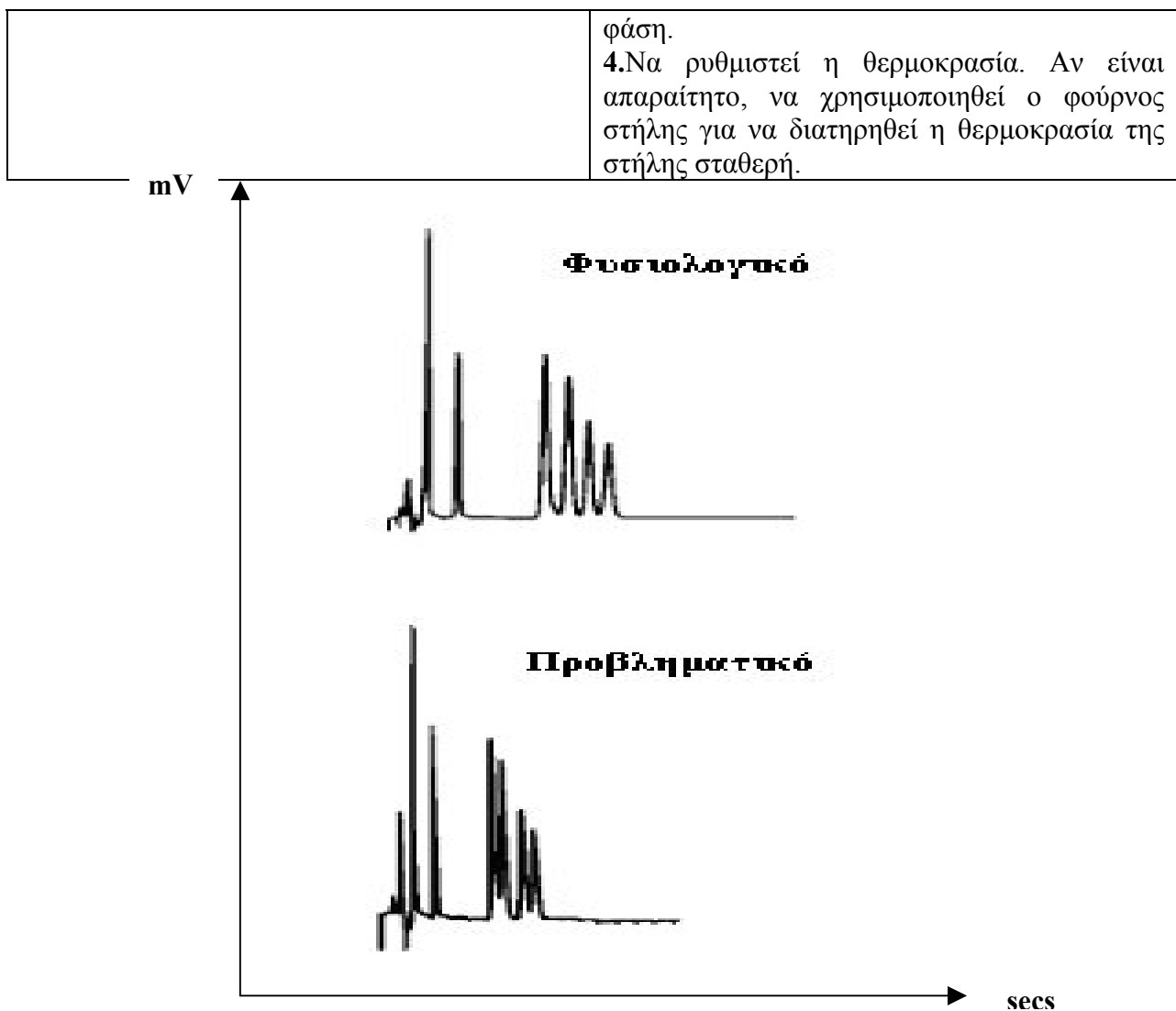
3. Δείγμα που εγχέεται σε λανθασμένο διαλύτη ή σε υπερβολική ποσότητα (100-200μl) ισχυρού διαλύτη.

4. Αλλαγή θερμοκρασίας στήλης.

1. Να ελεγχθεί η διάταξη της κινητής φάσης.

2. Να επιβεβαιωθεί η ταυτότητα της πλήρωσης της στήλης. Να χρησιμοποιείται ο ίδιος τύπος στήλης για να αναπαραγωγή αναλύσεων. Να καθοριστεί αν η αλλαγή πραγματοποιήθηκε βαθμιαία. Σε αυτή την περίπτωση, η φάση δεσμών ίσως να έχει γυμνωθεί, η δραστηριότητα στήλης ίσως να έχει αλλάξει, ή η στήλη μπορεί να έχει μολυνθεί.

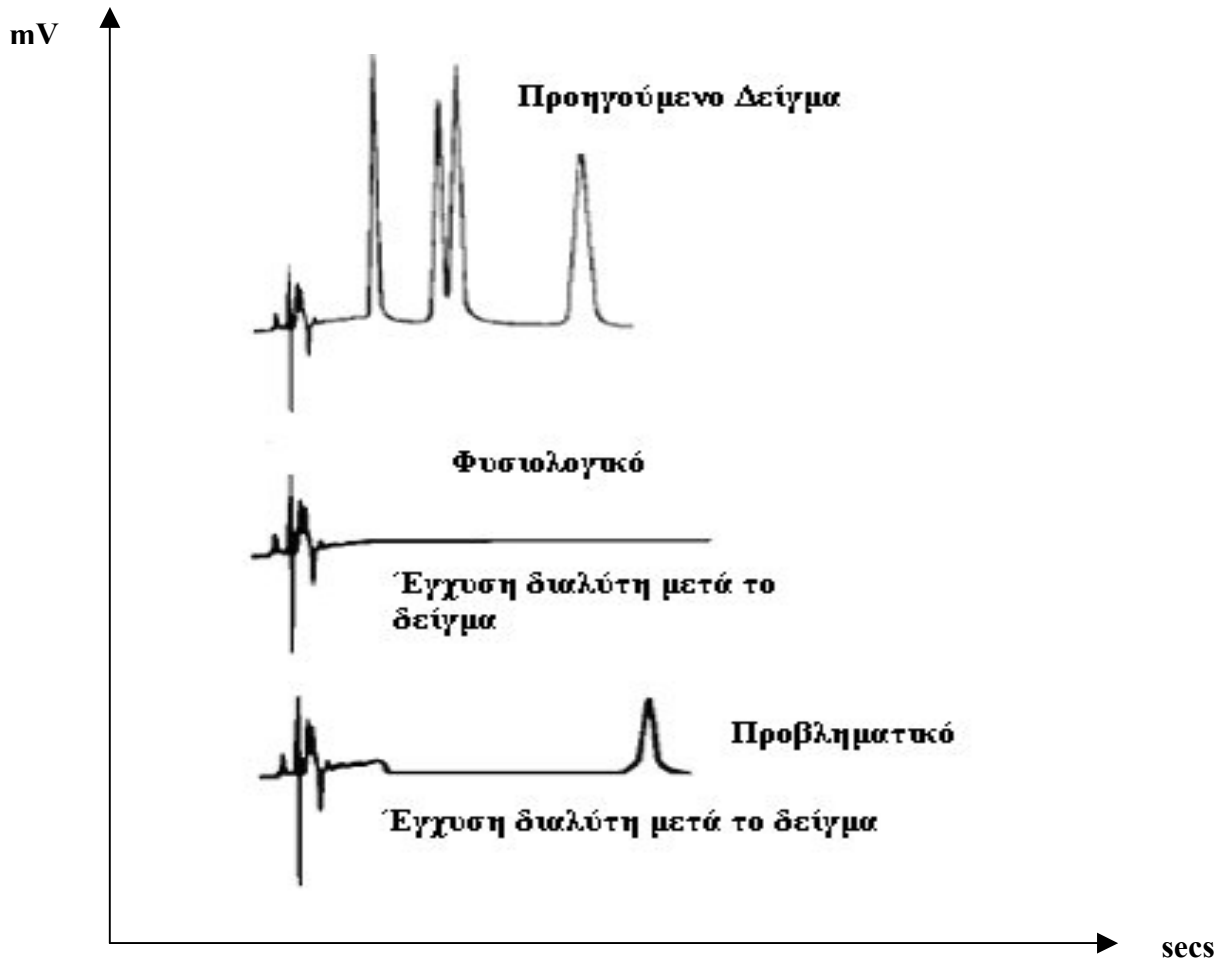
3. Να ρυθμιστεί ο διαλύτης. Όποτε είναι δυνατόν, να αραιωθεί το δείγμα στην κινητή



Σχήμα 3. 20. – Αλλαγές στην Επιλεκτικότητα

Πρόβλημα 12 – Ψευδοκορυφές

<ol style="list-style-type: none"> 1. Μόλυνση στον εγχυτήρα ή στη στήλη. 2. Πρόσφατη κορυφή έκλουσης (συνήθως πλατειά) παρούσα στο δείγμα. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Να ξεπλυθεί ο εγχυτήρας μεταξύ των αναλύσεων (μια καλή ρουτίνα). Αν είναι απαραίτητο, να εφαρμοστεί ροή ισχυρού διαλύτη για να αφαιρεθούν οι πρόσφατοι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες. Επίσης, το τελικό βήμα πλυσίματος να γίνεται στο τέλος των αναλύσεων κλίσης, για να αφαιρούνται οι έντονα συνδεδεμένες ενώσεις. 2. α) Να ελεγχθεί η προετοιμασία δείγματος. β) Να χρησιμοποιηθεί η βαθμωτή έκλουση για να εκλούσετε γρήγορα το συστατικό.
--	---



Σχήμα 3. 21. – Ψευδοκορυφές

3.4. ΜΗΧΑΝΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ

Τα προβλήματα αυτής της κατηγορίας δεν είναι απαραίτητο ότι ανιχνεύονται στο χρωματογράφημα. Αρκετά από αυτά, είναι καταστροφικά για τα μέρη του μηχανήματος (π.χ. αντλία, ανιχνευτής).

Ο χειριστής θα πρέπει να προσέχει εκτός από το αποτέλεσμα (χρωματογράφημα) αν είναι σωστό ή όχι και όλο το σύστημα του HPLC. Περίεργοι, περιοδικοί ή μη περιοδικοί θόρυβοι, ακανόνιστες ροές ή πιέσεις στον πίνακα ελέγχου κ.ά. θα πρέπει να γίνονται άμεσα αντιληπτά.

Σε αρκετές από τις περιπτώσεις, ο χειριστής θα πρέπει να από- και να επανα-συναρμολογήσει κάποιο τμήμα του HPLC. Αν δεν διαθέτει την πείρα ή έχει κάποιο φόβο με το μηχάνημα, θα ήταν καλύτερο πριν προβεί σε οποιαδήποτε ενέργεια να καλέσει το service της εταιρείας ή κάποιο πιο έμπειρο χρήστη του μηχανήματος SP 8800.

3.4.1. Οδηγός Αντιμετώπισης Προβλημάτων

Ο παρακάτω οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων, είναι σημαντικός για τον χειριστή του HPLC:

- ✓ Ο χειριστής θα πρέπει να μελετά και να καταγράφει τις επιδράσεις αλλαγής του ποσοστού ροής ή της σύνθεσης του διαλύτη στο χρωματογράφημα και να αλλάζει μια μεταβλητή κάθε φορά, καθώς θα παρατηρεί το αποτέλεσμα αλλαγής της κάθε μεταβλητής.
- ✓ Ο χειριστής να βρει πληροφορίες για το λόγο ύπαρξης συμπτωμάτων και να καταγράφει όλες τις ρυθμίσεις των παραμέτρων.
- ✓ Να είναι σίγουρος, ότι το πρόβλημα θα επαναληφθεί, αν δεν έχει λυθεί. Αν όμως είναι τυχαίο, μπορεί να μην επαναληφθεί ξανά. Να σημειώνει την ώρα, την ημερομηνία για κάθε συμβάν που γίνεται και τη σειρά των γεγονότων που έγιναν πριν παρουσιαστεί το πρόβλημα.
- ✓ Να αφαιρεί τους χημικούς συντελεστές που συμβάλλουν στην κακή λειτουργία του συστήματος. Να ελέγχει συνεχώς τη στήλη για τυχόν προβλήματα και να την αντικαθιστά, όποτε είναι απαραίτητο. Να καθαρίσει την στήλη όποτε είναι δυνατόν και να ελέγχει την καθαρότητα της κινητής φάσης. Να εφαρμόζει στους διαλύτες ένα σπεκτρόμετρο ανίχνευσης UV σε κλίμακα 50nm μήκος κύματος για τον έλεγχο της ποιότητας των διαλυτών.
- ✓ Να ελέγχει την αντλία αν παρουσιάζει ακρίβεια στο ποσοστό ροής.

- ✓ Ο χειριστής να προσέχει για αλλαγές που έχουν γίνει στο σύστημα (π.χ. νέοι διαλύτες, στήλες ή δείγματα). Αν το πρόβλημα δημιουργηθεί μετά από μια αλλαγή που έχει γίνει, τότε να επιστρέψει στις προηγούμενες συνθήκες που υπήρχαν πριν εμφανιστεί το πρόβλημα.
- ✓ Να ελέγχει πάντα την ημερομηνία για την τελευταία περιοδική συντήρηση που έγινε και πότε αντικαταστάθηκαν αν έχουν αλλαχθεί τα πώματα αντλίας και τα φίλτρα.
- ✓ Να βεβαιωθεί ότι οι διαλύτες έχουν εξεραρωθεί και ότι ο αέρας έχει αποκλειστεί από όλα τα σωληνάκια. Αν υπάρχουν φυσαλίδες, τότε να ελέγξει την κατάσταση των φίλτρων εισόδου και να σφίξει τους δακτυλίους στεγανοποίησης στις ενώσεις των συνδέσεων και όλες τις σωληνώσεις για τυχόν διαρροές.
- ✓ Να εφαρμόζει για δοκιμή ένα τυποποιημένο δείγμα. Οι περισσότεροι κατασκευαστές στήλης παρέχουν ένα τυποποιημένο δείγμα με το χρωματογράφημα του κι ένα σετ ρυθμίσεων για να το χρησιμοποιήσει ο χειριστής. Να γίνει σύγκριση του νέου χρωματογραφήματος με αυτό του κατασκευαστή.
- ✓ Να παρατηρεί προσεκτικά πόσο συνεπής, σύμφωνη είναι η πίεση κάτω από ισοκρατικές συνθήκες με το να αντικαθιστά τη στήλη με έναν περιοριστή ροής (μια στήλη γεμάτη με γυάλινες χάντρες), η οποία αποδίδει το λιγότερο 1000 psi ή 69 bars σε φυσιολογικά ποσοστά ροής.

3.4.2. Οδηγός Προβλημάτων Αντλίας

Η αντλία πρέπει να παραδίδει μια σταθερή ροή του διαλύτη στη στήλη πέρα από ένα ευρύ φάσμα συνθηκών. Σύγχρονες αντλίες HPLC συμπεριλαμβάνουν μονό ή διπλό έμβολο, σύριγγα, ή διαφράγματα αντλιών. Τα προβλήματα συστήματος άντλησης είναι συνήθως εύκολα να εντοπιστούν και να διορθωθούν. Μερικά από τα πιο κοινά συμπτώματα είναι ακανόνιστοι χρόνοι διατήρησης, θορυβώδεις βασικές γραμμές, ή ακίδες στο χρωματογράφημα. Οι διαρροές στα εξαρτήματα αντλίας ή στις συνδέσεις θα οδηγήσουν σε κακή χρωματογραφία. Ένα σίγουρο σημάδι διαρροής είναι η συγκέντρωση των αλάτων σε μια σύνδεση. Τα άλατα των ρυθμιστικών διαλυμάτων πρέπει να ξεπλύνονται από το σύστημα καθημερινά με δις φιλτραρισμένο απιονισμένο νερό. Τα προβλήματα που συνήθως παρουσιάζονται, είναι τα εξής:

Πρόβλημα (Σύμπτωμα)	Αιτία	Λύση
Μεταβαλλόμενη πίεση.	Ο διαλύτης δεν εξαερώνεται σωστά, ενώ ίσως τα εξαρτήματα να μην είναι σφιχτά.	Έλεγχος στην κινητή φάση ότι εξαερώνεται κατάλληλα και στις συνδέσεις για διαρροές.
Πτώση πίεσης.	Τα εξαρτήματα δεν είναι σφιχτά συνδεδεμένα, ενώ ίσως να υπάρχει μακροχρόνια χρήση από την τελευταία αλλαγή του δακτυλίου στεγανοποίησης.	Έλεγχος στις συνδέσεις για τις διαρροές και σφίξιμο των εξαρτημάτων των συνδέσεων, αν απαιτείται. Επίσης, ίσως να χρειάζεται αντικατάσταση ο δακτύλιος στεγανοποίησης του εμβόλου.
Η αντλία κλείνει.	Η κινητή φάση δεν φιλτράρεται σωστά.	Να αφαιρεθεί άμεσα από το σύστημα η βαλβίδα ελέγχου στην έξοδο και να αλλαχτεί το φίλτρο της κινητής φάσης.
Απουσία ροής έξω από την έξοδο βαλβίδας ελέγχου.	Μόρια από το φθαρμένο δακτύλιο του εμβόλου κατακρατούνται στη βαλβίδα ελέγχου με αποτέλεσμα να βουλώνει το φίλτρο εισόδου.	Καθαρισμός ή αντικατάσταση των βαλβίδων ελέγχου και των φίλτρων που βρίσκονται στην είσοδο των βαλβίδων.
Παρουσία ρευστού υλικού μεταξύ της κεφαλής της αντλίας και του σώματος.	Ύπαρξη καθίζησης αλάτων στο δακτύλιο στεγανοποίησης.	Να ελεγχθεί για ύπαρξη αλάτων και το έμβολο και να καθαριστεί με πολύ προσοχή χωρίς να γρατσουνιστεί..
Η αντλία κάνει έναν δυνατό μεταλλικό ήχο ή κρότο.	Τα παξιμάδια στο καπάκι της κεφαλής αντλίας δεν έχουν βιδωθεί σφιχτά. Ίσως, να έχουν φθορές ο δακτύλιος στεγανοποίησης κι ο οδηγός του εμβόλου. Ύπαρξη συγκέντρωσης αλάτων στο φορέα του εμβόλου από τη χρήση των ρυθμιστικών διαλυμάτων. Τέλος, γίνεται υπερβολική χρήση λιπαντικού στο φορέα του εμβόλου.	Έλεγχος και σφίξιμο στα παξιμάδια στο καπάκι της κεφαλής αντλίας εάν είναι απαραίτητο. Να γίνει αντικατάσταση στους δακτυλίους στεγανοποίησης και στον οδηγό εμβόλου και τα πώματα. Να καθαριστεί η κεφαλή της αντλίας αν έγινε η χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων και το υπερβολικό λιπαντικό που χρησιμοποιήθηκε και οι ακαθαρσίες από το φορέα του εμβόλου.
Μπλε χρωστική ουσία στην κινητή φάση	Ξαφνική πτώση πίεσης κατά το καθαρισμό του συστήματος.	Να γίνει άμεση αντικατάσταση στο διάφραγμα αποσβεστήρα των παλμών της αντλίας.

Πρόβλημα (Σύμπτωμα)	Αιτία	Λύση
Η αντλία εφαρμόζεται για 50 κτυπήματα αντλίας, και μετά κλείνει.	Η κινητή φάση δεν φιλτράρεται σωστά ενώ, μόρια από το φθαρμένο δακτύλιο στεγανοποίησης παγιδεύονται στο σύστημα (π.χ. σωληνώσεις, φίλτρα, βαλβίδα έγχυσης, είσοδος στήλης).	Έλεγχος ότι το όριο χαμηλής πίεσης είναι 0 psi. Να αυξηθεί μόνο το όριο χαμηλής πίεσεως αφότου η αντλία επιτυγχάνει τη πίεση λειτουργίας. Αν το πρόβλημα εμμένει, να γίνει επικοινωνία με το τμήμα service.
Η αντλία διακόπτει την λειτουργία της, μετά την εφαρμογή της και χωρίς η στήλη να έχει συνδεθεί.	Το σύστημα υγρών ίσως να είναι βουλωμένο.	Αφαιρέστε και καθαρίστε τα φίλτρα εισόδου και διαφραγμάτων.
Η αντλία εφαρμόζεται στη μέγιστη πίεση και διακόπτεται.	Το σύστημα ροής ίσως να είναι βουλωμένο.	Να ξεπλυθεί το σύστημα ροής με δις απιονισμένο νερό. Εάν το πρόβλημα εμμένει, αφαιρέστε τη σωλήνωση από το σύστημα ένα κομμάτι κάθε φορά έως ότου βρείτε το φραγμένο κομμάτι. Τα περισσότερα φραξίματα εμφανίζονται έξω από την ίδια την αντλία.
Δεν υπάρχει καθόλου ισχύς όταν η αντλία ανοίγεται. Ο ανεμιστήρας δεν δουλεύει.	Αυξομειώσεις της ισχύς, μπορεί να οφείλονται στο δίκτυο τροφοδοσίας ρεύματος.	Να ελεγχθούν οι και να αντικατασταθούν αν είναι απαραίτητο μόνο με ασφάλειες (2A για 100/110 Vac ή 1A για 220/240 Vac). Επικοινωνία με τον τεχνικό του service εάν το πρόβλημα εμμένει.
Ο μπροστινός πίνακας εμφανίζει OK, αλλά ο κινητήρας αντλίας δεν λειτουργεί.	Απώλεια ή διακοπή ισχύς	Να ελεγχθούν οι και να αντικατασταθούν αν είναι απαραίτητο μόνο με ασφάλειες (2A για 100/110 Vac ή 1A για 220/240 Vac). Επικοινωνία με τον τεχνικό του service εάν το πρόβλημα εμμένει.
Διαρροή στα εξαρτήματα ή σε τμήματα.	Ύπαρξη κρούστας ή κρύσταλλα αλάτων από τη μεμβράνη του ρευστού που υπάρχει ανάμεσα στις δύο επιφάνειες. Ίσως, κάποια από τις δύο επιφάνειες ή και οι δύο έχουν γρατσουνιές.	Να καθαρίστε και στεγνώσουν οι επιφάνειες, πριν ξαναέρθουν σε επαφή. Εάν κάποια επιφάνεια έχει γρατσουνιές να αντικατασταθεί άμεσα, πριν προκαλέσει μεγαλύτερες φθορές.

Πρόβλημα (Σύμπτωμα)	Αιτία	Λύση
Δεν υπάρχει πίεση, είναι χαμηλότερη από τη συνηθισμένη.	Υπάρχει διαρροή στην είσοδο της στήλης. Η ροή κινητής φάσης μπορεί να διακόπτεται ή να εμποδίζεται. Ύπαρξη αέρα, που παγιδεύεται στην κεφαλή της αντλίας ή κάπου αλλού στο σύστημα. Η αντλία να έχει πρόβλημα και να προκαλεί τις διαρροές γύρω από τη κεφαλή της αντλίας.	Να γίνει έλεγχος στο σύστημα για χαλαρές συνδέσεις, για συγκέντρωση αλάτων, για ασυνήθιστους θορύβους. Να γίνει αλλαγή στις βαλβίδες ασφαλείας της αντλίας αν είναι απαραίτητο. Να ελεγχθεί η ποσότητα της κινητής φάσης στη δεξαμενή και η ροή σε όλο το σύστημα. Όπως και ο βρόγχος δείγματος αν υπάρχει κάποιο εμπόδιο ή ύπαρξη αέρα. Τα συστατικά της κινητής φάσης πρέπει να είναι αναμίξιμα και η κινητή φάση να εξαερώνεται κατάλληλα. Να αποσυνδεθεί η σωλήνωση στη κολώνα προστασίας ή η αναλυτική είσοδο της στήλης. Να καθαριστεί η αντλία σε υψηλό ποσοστό ροής (π.χ. 5-10 ml/min.), και το κύριο σύστημα εάν είναι απαραίτητο. (Πρωταρχικά κάθε κεφαλή αντλιών χωριστά. Αν το σύστημα έχει τη βαλβίδα αντεπιστροφής, χαλαρώστε τη βαλβίδα για να επιτρέψετε στον αέρα να δραπετεύσει. Να επανασυνδεθεί η στήλη και ο διαλύτης αντλίας στη διπλάσια ροή. Εάν η πίεση είναι ακόμα χαμηλή, να ελεγχθούν για διαρροές στην είσοδο ή στο τέλος των συνδέσεων της στήλης. Να αποσυνδέσετε το προστατευτικό και την στήλη της ανάλυσης και να καθαριστεί το σύστημα. Εάν το πρόβλημα εμμένει, να χρησιμοποιηθεί μεθανόλη ή ισοπροπανόλη 100%. Να αντικατασταθεί το πόμα αντλίας. Εάν το πρόβλημα εμμένει, να αντικατασταθεί το έμβολο.
Πίεση υψηλότερη από τη συνηθισμένη.	Πρόβλημα στην αντλία, τον εγχυτήρα, το ευθύγραμμο φίλτρο, ή τη σωλήνωση. Επίσης, μπορεί να παρεμβάλλεται το προστατευτικό στήλης ή η αναλυτική στήλη.	Να αφαιρεθεί η προστατευτική στήλης και η στήλη ανάλυσης από το σύστημα. Να αντικατασταθούν οι συνδέσεις με 0,010" της ίντσας διαμέτρου σωλήνωσης ή μεγαλύτερη σωλήνωση για να επανασυνδεθεί ο εγχυτήρας στον ανιχνευτή. Να εφαρμοστεί στην

		<p>αντλία ροή 2-5 ml/min. Εάν η πίεση δεν είναι ελάχιστη, τότε να απομονωθεί η αιτία απομονώνοντας ένας ένα τα μέρη του συστήματος, αρχίζοντας με τον ανιχνευτή, έπειτα το ευθύγραμμο φίλτρο, και τέλος την αντλία. Να αντικατασταθεί το φίλτρο στην αντλία αν χρειάζεται. Αν η πίεση είναι ελάχιστη, να αφαιρεθεί η στήλη προστασίας (αν υπάρχει) και να ελεγχθεί η πίεση. Να αντικατασταθεί η στήλη προστασίας, εάν είναι απαραίτητο. Αν η στήλη ανάλυσης έχει πρόβλημα, να αντιστραφεί και να ξεπλυθεί, ενώ έχει αποσυνδεθεί από τον ανιχνευτή. Εάν το πρόβλημα εμμένει, η στήλη μπορεί να έχει φραχτεί με μολυσματικούς παράγοντες. Αν το πρόβλημα εμμένει ακόμα μετά τον καθαρισμό αντικαταστήστε τη στήλη.</p>
<p>Οι κεφαλές εμφανίζουν διαρροή στο διάλυμα ξεπλυσίματος.</p>	<p>Δεν χρησιμοποιήθηκαν δακτύλιοι στεγανοποίησης. Η κεφαλή της αντλίας δεν έχει σφικτεί αρκετά, ενώ υπάρχουν γρατσουνιές στην επιφάνεια της αντλίας.</p>	<p>Να τοποθετηθούν δακτύλιοι στεγανοποίησης όπου είναι απαραίτητο και να γίνει σφίξιμο στην κεφαλή της αντλίας. Να αντικατασταθούν τα μέρη που προκαλούν διαρροές.</p>

3.4.3. Οδηγός Προβλημάτων Ανιχνευτή & Βαλβίδας Ελέγχου

Πρόβλημα Ευαισθησίας Στον Ανιχνευτή

Ο χειριστής χειροκίνητα να εγχύσει ένα τυποποιημένο δείγμα και να συγκρίνει τα αποτελέσματα με τα αποτελέσματα που προηγουμένως, τον έκαναν να πει, είτε ότι ο ανιχνευτής έχει χάσει την ευαισθησία του είτε ότι το σύστημα χρωματογραφίας έχει κάποιο πρόβλημα. Με τον τρόπο αυτό θα έχει μια γενική άποψη για τι μπορεί να φταίει:

- ✓ Η Στήλη. Να βεβαιωθεί ότι η στήλη δεν έχει αρχίσει να αλλοιώνεται και ότι είναι η σωστή στήλη για ανάλυση. Να αντικαταστήσει τη στήλη με μια καινούρια.
- ✓ Οι Εγχύσεις. Αν το σύστημα έχει αυτόματο δειγματολήπτη, θα πρέπει ο χειριστής να βεβαιωθεί για τον όγκο του δείγματος που εγχέεται χειροκίνητα, ξανακάνοντας τις εγχύσεις. Να βεβαιωθεί για τον βρόγχο του δείγματος και για την κατάσταση της βαλβίδας του δείγματος.

- ✓ Το Δείγμα. Ο χειριστής να χρησιμοποιήσει ένα γνωστό τεστ δείγματος για να επιβεβαιώσει την απόκριση του ανιχνευτή. Το δείγμα, ίσως να μην είναι σταθερό στο περιβάλλον, όπου βρίσκεται. Να βεβαιωθεί για την συγκέντρωση του δείγματος.

Ανιχνευτής

Οι χρωματογράφοι παρατηρούν περιστασιακά μια θορυβώδη ή παρεκκλίνουσα βασική γραμμή, ειδικά όταν η σύνθεση της κινητής φάσης αλλάζει. Οποτεδήποτε παρατηρείται η κλίση ή ο θόρυβος, ο χειριστής πρέπει να αποφασίσει εάν το πρόβλημα είναι στον ανιχνευτή, την αντλία, στην κινητή φάση ή στη στήλη. Τα προβλήματα των ανιχνευτών χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: ηλεκτρικά και μηχανικά / οπτικά. Για τα ηλεκτρικά προβλήματα, πρέπει να έρθετε σε επαφή με τον κατασκευαστή. Τα μηχανικά ή οπτικά προβλήματα συνήθως εντοπίζονται στο τμήμα ροής. Τα προβλήματα που σχετίζονται με τον ανιχνευτή περιλαμβάνουν τις διαρροές, τις φυσαλίδες, και την ύπαρξη μολυσματικών παραγόντων στη κυψελίδα ροής. Αυτά συνήθως παράγουν ακίδες ή θόρυβο στη βασική γραμμή στα χρωματογραφήματα ή τη χαμηλή ευαισθησία.

Ένα πρώτο βήμα που πρέπει να γίνει, είναι να μειωθεί η ποσότητα του δείγματος που περνάει από την είσοδο του ανιχνευτή και να παρατηρηθεί η βασική γραμμή αναφοράς. Εάν το πρόβλημα παραμένει, να ξεπλυθεί ο ανιχνευτής με έναν καθαρό διαλύτη, να καθαριστεί το κελί ροής με ξηρό αέριο εργαστηριακής ποιότητας και να ελεγχθεί ξανά για θόρυβο. Εάν, το πρόβλημα παραμένει, αλλά ο θόρυβος μειώνεται, τότε το πρόβλημα οφείλεται στην αντλία ή σε χημικό μέρος του συστήματος.

Μερικές κυψελίδες ροής ειδικά, εκείνες που χρησιμοποιούνται στους ανιχνευτές διαθλαστικών δεικτών, είναι ευαίσθητες στην πίεση. Τα ποσοστά ροής ή οι υποπιέσεις που υπερβαίνουν τη σύσταση του κατασκευαστή θα σπάσουν το παράθυρο της κυψελίδας ροής. Επομένως, θα πρέπει να χρησιμοποιείται περιοριστής ροής και η κινητή φάση να περάσει από φίλτρο (0,2 ή 0,45 μm) αν υπάρξει στο χρωματογράφημα μια θορυβώδη ή παρεκκλίνουσα βασική γραμμή αναφοράς.

Εάν, το πρόβλημα παραμένει, τότε το πρόβλημα περιορίζεται στη στήλη ή στην κινητή φάση, δεδομένου ότι στις περισσότερες περιπτώσεις η κινητή φάση αφαιρεί τις ενώσεις από τη στήλη που δεν διαχωρίστηκαν προηγουμένως με έκλυση. Σε μερικές περιπτώσεις βέβαια, η κινητή φάση προσροφά τις ενώσεις στη στήλη, οι οποίες εκλύονται αργότερα βαθμιαία. Για να ελεγχθεί καλύτερα που οφείλεται το πρόβλημα να χρησιμοποιηθούν καθαροί διαλύτες και να ελεγχθεί ξανά ο θόρυβος: εάν το πρόβλημα περιορίζεται είναι η στήλη.

Οι στήλες HPLC πρέπει να ανανεώνονται για να αποφεύγονται αυτά τα προβλήματα. Η διαδικασία καθαρισμού εξαρτάται από τον τύπο στήλης που χρησιμοποιείται.

Οι παλιοί ή οι ελαττωματικοί λαμπτήρες ανιχνευτή καθώς επίσης και ο ανακριβής χρόνος ανόδου ανιχνευτή, το κέρδος ή η εξασθένηση του ανιχνευτή θα μειώσουν την ευαισθησία και το ύψος κορυφής του χρωματογραφήματος. Οι ελαττωματικές ή οι ανεστραμμένες συνδέσεις καλωδίων μπορούν επίσης να είναι πηγές προβλημάτων.

Ο ακόλουθος οδηγός ανίχνευσης μηχανικών βλαβών αφορά τις βαλβίδες ελέγχου και τον ανιχνευτή.

Πρόβλημα (Σύμπτωμα)	Αιτία	Λύση
Ακανόνιστη πίεση.	Η βαλβίδα εισόδου περιέχει μολυσματικούς παράγοντες.	Να αφαιρεθεί η βαλβίδα εισόδου και να ξεπλυθεί με 50 mL διαλύτη καθαρότητας HPLC.
	Η βαλβίδα εξόδου περιέχει μολυσματικούς παράγοντες.	Να αντικατασταθεί η βαλβίδα εξόδου με νέα βαλβίδα (μια βαλβίδα εισόδου μπορεί να αντικατασταθεί στην έξοδο εάν δεν είναι διαθέσιμες βαλβίδες εξόδου). Εάν δεν υπάρχει η δυνατότητα να τοποθετηθεί φίλτρο στην έξοδο, τότε μπορεί να καθαριστεί με τον ίδιο τρόπο με την είσοδο.
	Το φίλτρο εισαγωγής των διαλυτών είναι φραγμένο.	Να γίνει άμεση η αντικατάσταση του με νέο φίλτρο.
	Ύπαρξη διαρροής στη διαλυτική γραμμή εισόδου.	Να σφικτούν τα συναρμολογούμενα μέρη και να αντικατασταθούν οι δακτύλιοι στεγανοποίησης και οι σωληνώσεις της διαλυτικής γραμμής εισόδου.

Σημείωση: Αυτό το πρόβλημα μπορεί να μην είναι εύκολο να ανιχνευθεί. Από την πλευρά εισαγωγής της αντλίας υπάρχει ένα μικρό κενό, έτσι ο αέρας θα διαρρέψει στην αντλία παρά το διαλύτη που διαρρέει. Δεν θα υπάρξει κανένα ορατό σημάδι της διαρροής. Για να ανιχνευθεί το πρόβλημα, να επιβεβαιωθεί, ότι δεν υπάρχει καθόλου αέρας στις γραμμές εισαγωγής, κατόπιν να αποσυνδεθεί η συναρμολόγηση και ο χειριστής μπορεί να παρακολουθήσει τις φυσαλίδες που βγαίνουν (αν τοποθετήσει μια σταγόνα διαλύτη στη συναρμολόγηση στην έξοδο και να παρατηρήσει τις φυσαλίδες). Αν το φαινόμενο συνεχίζει να παρατηρείται μετά από 60 δευτερόλεπτα, τότε ο αέρας εισάγεται πιθανώς από τη κεφαλή της συναρμολόγησης στην είσοδο, από ένα διαρρέων δακτύλιο στεγανοποίησης της αντλίας, ή από ένα ανεπαρκώς σφίξιμο του περιβλήματος εισόδου.

Πρόβλημα	Αιτία	Λύση
Ακανόνιστη πίεση	Ο δακτύλιος στεγανοποίησης της αντλίας ή το έμβολο της αντλίας έχει υποστεί φθορές.	Να γίνει αντικατάσταση του δακτυλίου στεγανοποίησης της αντλίας. Να ελεγχθεί το έμβολο της αντλίας και να αντικατασταθεί άμεσα αν έχει υποστεί φθορά.

Σημείωση: Εάν το έμβολο έχει όντως φθαρεί, θα πρέπει να αντικατασταθεί όσο το δυνατόν πιο γρήγορα.

Πρόβλημα	Αιτία	Λύση
Ακανόνιστη Πίεση	Ύπαρξη αέρα στη κεφαλή της αντλίας	Να καθαριστεί η αντλία πολύ καλά για 30 δευτερόλεπτα, και λειτουργήσει σε 1.000 ή περισσότερα psi. Ο αέρας θα διαλυθεί, λόγω της μεγάλης πίεσης που θα υπάρξει στο διαλύτη και θα αποβληθεί περίπου μέσα σε 30 λεπτά.

Σημείωση: Αυτό το σύμπτωμα είναι φυσικό μετά από αντικατάσταση του δακτυλίου στεγανοποίησης ή του εμβόλου. Ο χειριστής μπορεί να βρέξει το δακτύλιο στεγανοποίησης και το εσωτερικό της κεφαλής αντλίας με ισοπροπανόλη για να μειωθεί το χρονικό διάστημα που χρειάζεται για να αποβληθεί ο αέρας από τη κεφαλή της αντλίας.

Πρόβλημα	Αιτία	Λύση
Ακανόνιστη Πίεση	Να μην γίνεται η χρήση απαεριωμένων διαλυτών.	Να γίνει εξαέρωση των διαλυτών με τη χρήση του κενού αέρος και των υπερήχων.
	Παρουσία φυσαλίδων στη γραμμή εισόδου	Να εξαερωθεί ο διαλύτης και να αντικατασταθεί το φίλτρο εισόδου του διαλύτη. Επίσης, να ελεγχθεί ότι το διαλυτικό μπουκάλι έχει ακόμα διαλύτη και δεν περνάει αέρας στην είσοδο του διαλύτη.
Συχνή αποτυχία βαλβίδας ελέγχου	Ο διαλύτης έχει μολυσματικούς παράγοντες.	Να γίνεται πάντα χρήση διαλύτη καθαρού βαθμού HPLC.
	Δεν υπάρχει φίλτρο εισόδου του διαλύτη	Πάντα να χρησιμοποιείται φίλτρο διαλύτη 10 μικρών ή πιο λεπτό.
	Ο δακτύλιος στεγανοποίησης της αντλίας ή το έμβολο της αντλίας έχουν φθαρεί.	Να γίνει αντικατάσταση του δακτυλίου στεγανοποίησης της αντλίας. Να ελεγχθεί το έμβολο της αντλίας και να αντικατασταθεί άμεσα αν έχει υποστεί φθορά.

Σημείωση: Εάν ο δακτύλιος στεγανοποίησης έχει φθαρεί άσχημα, τότε η κεφαλή αντλίας θα μολυνθεί με το υλικό φθοράς του δακτυλίου. Οπότε θα πρέπει οι βαλβίδες ελέγχου και ο δακτύλιος από τη κεφαλή της αντλίας να απομακρυνθούν και να χρησιμοποιηθούν σε λουτρό υπερήχων ή σε διάλυμα νιτρικού οξέος 20% για 30 λεπτά για να καθαριστούν. Μετά θα πρέπει να ξεπλυθούν λεπτομερώς, για 10 λεπτά σε διπλά απιονισμένο νερό. Η βαλβίδα εισόδου πρέπει να ξεπλυθεί με 50 mL διαλύτη καθαρότητας HPLC (ισοπροπανόλη) ή με απιονισμένο νερό και να ελεγχθεί το φίλτρο βαλβίδας εξόδου.

Πρόβλημα	Αιτία	Λύση
Συχνή αποτυχία βαλβίδων αντεπιστροφής	Η διάρκεια ζωής της βαλβίδας ελέγχου έχει ξεπεραστεί	Να εγκατασταθούν νέες βαλβίδες.
Πρώτη αποτυχία	Υπερβολική υποπίεση στη κεφαλή της αντλίας	Να αποσυνδεθεί η βαλβίδα και να καθαριστεί, ή να αποσυνδεθούν οι συναρμολογήσεις στην έξοδο και η βαλβίδα ελέγχου της εξόδου και να καθαριστούν.
	Η βαλβίδα ελέγχου έχει τοποθετηθεί ανάποδα	Να ελεγχθεί ότι το βέλος (σημείο αναγνώρισης) είναι πάνω και για την είσοδο.
	Το φίλτρο εισόδου του διαλύτη είναι φραγμένο.	Να καθαριστεί ή να αντικατασταθεί με νέο φίλτρο.
	Το φίλτρο στην βαλβίδα εξόδου είναι φραγμένο.	Να αντικατασταθεί το φίλτρο βαλβίδας εξόδου.

Σημείωση: Το φίλτρο βαλβίδας εξόδου πρέπει να διαρκέσει τουλάχιστον 2 έτη σε κανονική εργασία. Εντούτοις, εάν τα πώματα εμβόλου φθείρονται συχνά, το υλικό φθοράς από το πώμα μπορεί να προκαλέσει πρόωρη απόφραξη του υαλοβερνικόματος στην έξοδο, καθώς επίσης και μόλυνση της βαλβίδας εισόδου.

Πρόβλημα	Αιτία	Λύση
Η λειτουργία πίεσης είναι χαμηλότερη από την κανονική	Ο δακτύλιος στεγανοποίησης ή το έμβολο της αντλίας είναι φθαρμένα.	Να γίνει αντικατάσταση του δακτυλίου στεγανοποίησης της αντλίας. Να ελεγχθεί το έμβολο της αντλίας και να αντικατασταθεί άμεσα αν έχει υποστεί φθορά.
	Ύπαρξη αέρα στη κεφαλή της αντλίας ή στην γραμμή εισαγωγής	Να καθαριστεί η αντλία πολύ καλά για 30 δευτερόλεπτα, και λειτουργήσει σε 1.000 ή περισσότερα psi. Ο αέρας θα διαλυθεί, λόγω της μεγάλης πίεσης που θα υπάρξει στο διαλύτη και θα αποβληθεί περίπου μέσα σε 30 λεπτά.

	Το φίλτρο εισόδου του διαλύτη είναι φραγμένο.	Να καθαριστεί ή να αντικατασταθεί με νέο φίλτρο.
Η λειτουργία πίεσης είναι χαμηλότερη από την κανονική	Η βαλβίδα εισόδου περιέχει μολυσματικούς παράγοντες.	Να αφαιρεθεί η βαλβίδα εισόδου και να ξεπλυθεί με 50 mL διαλύτη καθαρότητας HPLC.
	Η βαλβίδα εξόδου περιέχει μολυσματικούς παράγοντες.	Να αντικατασταθεί η βαλβίδα εξόδου με νέα βαλβίδα (μια βαλβίδα εισόδου μπορεί να αντικατασταθεί στην έξοδο εάν δεν είναι διαθέσιμες βαλβίδες εξόδου). Εάν δεν υπάρχει η δυνατότητα να τοποθετηθεί φίλτρο στην έξοδο, τότε μπορεί να καθαριστεί με τον ίδιο τρόπο με την είσοδο.
	Κάποια συναρμολόγηση σε σύνδεση παρουσιάζει διαρροές.	Να σφιχτεί η συναρμολόγηση και να αντικατασταθεί ο δακτύλιος στεγανοποίησης ή ο συνδετικό δακτύλιος των συνδέσεων.

Σημείωση: Εάν ένα πρόσθετο σφίξιμο δεν σταματήσει τη διαρροή, να αντικατασταθεί είτε ο δακτύλιος στεγανοποίησης είτε ο συνδετικός κρίκος. Το υπερβολικό σφίξιμο μπορεί να βλάψει το κάθισμα, τα σπειρώματα, ή χειρότερα να κοπεί το καρύδι (όριο τα 15 in-lbs της ροπής).

Πρόβλημα	Αιτία	Λύση
Η χρονική διάρκεια ζωής του πάματος είναι μικρή	Το έμβολο παρουσιάζει φθορές και γρατσουνιές.	Να αντικατασταθεί άμεσα το παλιό έμβολο με νέο.

Σημείωση: Δεν είναι πάντα προφανές οπτικά αν ένα έμβολο έχει φθαρεί ή είναι γρατσουνισμένο. Χρησιμοποιήστε ένα μεγεθυντικό φακό για να βρείτε μια γυαλισμένη εμφάνιση, ή αυλάκια και γρατσουνιές. Το έμβολο έχει φθαρεί άσχημα αν οποιοδήποτε από αυτά είναι ορατά.

Πρόβλημα	Αιτία	Λύση
Η χρονική διάρκεια ζωής του δακτυλίου στεγανοποίησης είναι σχετικά μικρή	Εμφάνιση συγκέντρωσης αλάτων στο έμβολο της αντλίας.	Χρησιμοποιήστε την επιλογή να ξεπλύνετε το έμβολο αν είναι διαθέσιμη. Πάντα να εφαρμόζετε νερό DI μέσω της αντλίας για να μην διακοπεί όταν θα υπάρξουν απομονωτές.
	Η κινητή φάση δεν είναι συμβατή με το υλικό του δακτυλίου στεγανοποίησης.	Να γίνει η χρήση του δακτυλίου κατασκευασμένο από το υλικό Teflon.

Σημείωση: Το μίγμα UHMW-PE που χρησιμοποιείται από το ASI είναι ανθεκτικό σχεδόν σε όλους τους διαλύτες του HPLC. Εντούτοις, υπάρχουν μερικοί διαλύτες για τους οποίους το Teflon είναι το πιο κατάλληλο. Αυτοί είναι οι 100 % χλωρίδιο του μεθυλενίου και 100 % τολουόλιο.

3.4.4. Προβλήματα Στην Κινητή Φάση

Η χαμηλή ευαισθησία και η ανυψωμένη βασική γραμμή, ο θόρυβος ή ακίδες στο χρωματογράφημα μπορούν συχνά να αποδοθούν στην κινητή φάση. Οι μολυσματικοί παράγοντες στην κινητή φάση εμφανίζονται πιο συχνά στην βαθμιαία έκλυση. Η βασική γραμμή αναφοράς μπορεί να αυξηθεί, και οι ψεύτικες κορυφές μπορούν να εμφανιστούν καθώς το επίπεδο του μολυσμένου συστατικού αυξάνεται. Το νερό είναι η πιο κοινή πηγή μόλυνσης στις αναλύσεις ανάστροφης φάσης.

Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο υψηλής καθαρότητας αποσταγμένο ή μη ιονιζόμενο νερό κατά τη τυποποίηση των κινητών φάσεων και διαλύτες HPLC (άλατα, ιονικά αντιδραστήρια, και τροποποιητές οξέων και βάσεων). Τα ελάχιστα στοιχεία των μολυσματικών παραγόντων μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα όταν γίνεται η χρήση ενός ανιχνευτή υψηλής ευαισθησίας υπεριώδους ακτίνας ή φθορισμού.

Επειδή πολλοί υδάτινα ρυθμιστικά διαλύματα προωθούν την αύξηση των βακτηριδίων, πρέπει να απορρίπτονται τα θολά ρυθμιστικά διαλύματα και να αντικαθίστανται με καινούργια. Υπάρχει η δυνατότητα με τη προσθήκη περίπου 100ppm του αζιδίου νατρίου στα υδάτινα ρυθμιστικά διαλύματα να αποτραπεί η αύξηση μικροοργανισμών. Εναλλακτικά, αυτά τα ρυθμιστικά διαλύματα μπορούν επίσης να αναμιχθούν με 20% ή περισσότερο ενός οργανικού διαλύτη όπως η αιθανόλη ή το ακετονιτρίλιο.

Άλλη πηγή προβλημάτων στην κινητή φάση είναι οι φυσαλίδες, η κινητή φάση μπορεί να εξαερώνεται πριν από τη χρήση της ή να ψεκάζεται με το ήλιο (3- 5 psi) κατά τη διάρκεια της χρήσης της. Επίσης, η κινητή φάση θα πρέπει να φιλτράρεται μέσω ενός φίλτρου 0,2 ή 0,45 μm και να χρησιμοποιείται συσκευή φιλτραρίσματος κενού για να αποβάλλεται το διαλυμένο αέριο. Η μέθοδος, αυτή μπορεί να αφαιρέσει επίσης μόρια που θα μπορούσαν να παραγάγουν θορυβώδεις βασικές γραμμές ή να βουλώσουν τη στήλη.

Η χρήση των ιονικών αντιδραστηρίων να γίνεται προσεκτικά. Οι υψηλές συγκεντρώσεις (> 50%) του ακετονιτριλίου και μερικών άλλων οργανικών διαλυτών μπορούν να καθιζάνουν τα ιονικά αντιδραστήρια γιατί είναι αδιάλυτα στο νερό και καθιζάνουν. Αυτό μπορεί να

αποφευχθεί με τη χρησιμοποίηση του νάτριο – που περιέχεται στα ρυθμιστικά διαλύματα παρουσία των σουλφονικών οξέων, μεγάλων αλυσίδων (π.χ. dodecyl θειικό άλας νατρίου), αντί του καλίου που περιέχεται. Οι πτητικοί βασικοί και όξινοι τροποποιητές, όπως ο triethylamine (TEA) και το trifluoroacetic οξύ (TFA) είναι χρήσιμοι όταν πρέπει να ανακτηθεί μια ένωση για περαιτέρω ανάλυση. Με τη χρήση αυτών των τροποποιητών αποφεύγονται τα προβλήματα που συνδέονται με τα ιονικά αντιδραστήρια. Μπορούν να προστεθούν στο ρυθμιστικό διάλυμα συγκεντρώσεις από 0,1 % έως 1,0 % TEA και 0,05% έως 0,15% TFA. Η αύξηση της συγκέντρωσης μπορεί να βελτιώσει το σχήμα της κορυφής για ορισμένες ενώσεις, αλλά μπορεί να αλλάξει τους χρόνους διατήρησης.

Η ανακύκλωση της κινητής φάσης χρησιμοποιείται για τις ισοκρατικές εκλούσεις και χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια ως αποτέλεσμα μείωσης του κόστους των διαλυτών, της διάθεσής τους, και του χρόνου προετοιμασίας της κινητής φάσης. Μια απλή συσκευή, όπως το διαλυτικό σύστημα αποκατάστασης (Supelco SRS-3000), χρησιμοποιεί ένα ελεγχόμενο μικροεπεξεργαστή βαλβίδας μετατροπής που κατευθύνει το διαλύτη να εξαντληθεί όταν ανιχνεύεται η κορυφή. Έτσι, όταν η βασική γραμμή αναφοράς εμπίπτει στο επιλεγμένο κατώτατο όριο, ο μη μολυσμένος διαλύτης θα οδηγηθεί πίσω στη δεξαμενή του διαλύτη.

3.4.5. Προβλήματα Στον Εγχυτήρα

Ο εγχυτήρας εισάγει γρήγορα το δείγμα στο σύστημα με την ελάχιστη διακοπή της ροής του διαλύτη. Τα συστήματα HPLC χρησιμοποιούν το μεταβλητό βρόγχο, το σταθερό βρόγχο, και τους εγχυτήρες τύπου σύριγγας. Αυτοί ενεργοποιούνται με το χέρι, πνευματικά, ή ηλεκτρικά. Μηχανικά προβλήματα περιλαμβάνονται στον εγχυτήρα (π.χ. διαρροές, βουλωμένη τριχοειδή σωλήνωση, φθαρμένα σφραγίσματα) είναι εύκολα να εντοπιστούν και να διορθώνουν.

Άλλα προβλήματα, όπως οι μη αναπαραγόμενες εγχύσεις, είναι λόγω του ότι δεν υπάρχει σωστή διάλυση, ενώ προβλήματα που εμφανίζονται στα μεταβλητά ύψη κορυφής, σε διασπώμενες κορυφές, και σε ευρείες κορυφές μπορούν να προκληθούν από τους ημιτελής γεμισμένους βρόγχους δειγμάτων, από την ασυμβατότητα της έγχυσης διαλύτη με την κινητή φάση, ή από τη κακή διαλυτότητα δείγματος. Επομένως, η καλύτερη λύση σε τέτοιες περιπτώσεις είναι να γίνεται πρώτα η διάλυση και μετά να γίνεται η έγχυση των δειγμάτων στην κινητή φάση.

Να χρησιμοποιείται πάντα ένα **φίλτρο προ-στήλης** (pre-column filter) για να αποτρέπεται το βούλωμα της στήλης υαλοβερνικόματος λόγω της φυσικής αποσύνθεσης των ενώσεων (του σφραγίσματος) του εγχυτήρα.

3.4.6. Προβλήματα Στην Στήλη

Το πιο κοινό πρόβλημα που συνδέεται με τις αναλυτικές στήλες είναι η φθορά. Αυτό ισχύει ανεξάρτητα από αν η στήλη περιέχει π.χ. μια αντίστροφη φάση δεσμών ή κανονική φάση, μια ανταλλαγή ιόντων ή μια συγγένεια.

Τα συμπτώματα της φθοράς της είναι η κακή μορφή κορυφής, οι διασπασμένες κορυφές, τα κυρτώματα, η απώλεια ανάλυσης, οι μειωμένοι χρόνοι διατήρησης και η υψηλή υποπίεση. Αυτά τα συμπτώματα δείχνουν ότι μολυσματικοί παράγοντες έχουν συσσωρεύσει στην είσοδο της στήλης, υπάρχει αέρας στα κανάλια, ή μια συμπίεση στο κομμάτι πλήρωσης. Επίσης, η υπερφόρτωση μιας στήλης μπορεί να προκαλέσει κακές μορφές κορυφών και άλλα προβλήματα.

Η χωρητικότητα στήλης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, αλλά οι χαρακτηριστικές τιμές είναι:

- ✓ Αναλυτική στήλη (25cm X 4,6mm) < 500μg
- ✓ Ημι προπαρασκευαστική στήλη (25cm X 10mm) < 100mg
- ✓ Προπαρασκευαστική στήλη (25cm X 21,2mm) < 500mg

Για να αποφεύγονται τα προβλήματα στη στήλη, η οποία είναι ένα από τα αναπόσπαστα τμήματα του περισσότερου εξοπλισμού, (π.χ. φίλτρα εισόδου κινητής φάσης, φίλτρα προ-εγχυτήρα και προ-στήλης) θα πρέπει όλα τα δείγματα να φιλτράρονται μέσω φίλτρου 0,45 μm ή 0,2 μm. Τα φίλτρα και τα προστατευτικά στήλης αποτρέπουν τη συσσώρευση μορίων από ενώσεις από τη συσσώρευση στην στήλη ανάλυσης. Τα μόρια πυριτίου σε μια στήλη κορεσμού διαλύονται στις κινητές φάσεις υψηλού pH, που προστατεύουν την πλήρωση που βασίζεται στο πυρίτιο στην αναλυτική στήλη.

Η διάρκεια ζωής της στήλης εξαρτάται από τη σύνθεση της κινητής φάσης, την καθαρότητα δειγμάτων, το pH, κ.λ.π.. Δεδομένου ότι αυτές οι συσκευές μολύνονται ή βουλώνονται με τα μόρια, αυξάνεται η πίεση και οι κορυφές διευρύνονται ή διασπώνται.

3.4.7. Προβλήματα Στο Όργανο Καταγραφής

Το μέρος του οργάνου καταγραφής αλλά και ο θερμοαντήρας της στήλης σπάνια θα προκαλέσουν προβλήματα στο σύστημα.

4^H ENOTHTA

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 4^{ης} ΕΝΟΤΗΤΑΣ

Είναι γνωστό ότι σε κάθε σύγχρονο χημικό αναλυτικό εργαστήριο ή σε αντίστοιχα εργαστήρια αναλυτικής χημείας, υπάρχει μια πληθώρα μηχανημάτων με στόχο την γρήγορη και με ακρίβεια ανάλυση. Επίσης υπάρχουν διαφορετικές «αρχές» που διέπουν την ανάλυση. Αρκετά από τα μηχανήματα βασίζονται σε ανοσοενζυμικές τεχνικές, ενώ άλλα στις λεγόμενες χρωματογραφικές.

Μέθοδοι όπως η FPIA (Fluorescence Polarization ImmunoAssay) και η ELISA (Enzyme Linked ImmunoAssay) ανήκουν στις ανοσοενζυμικές, ενώ μέθοδοι όπως η GC (Gas Chromatography- Αέρια Χρωματογραφία), η TLC (Thin Layer Chromatography- Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας), η HPLC (High Pressure Performance Liquid Chromatography- Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης - απόδοσης) ανήκουν στις χρωματογραφικές.

Συνεχώς νέες τεχνικές αναπτύσσονται ή προκύπτουν από «συγχώνευση» διαφορετικών τεχνολογιών. Η τεχνική LC-MS προκύπτει από την χρήση της υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με τη τεχνική της φασματοφωτομετρίας της μάζας. Αντίστοιχη τεχνική με την LC-MS είναι η GC-MS. Τελευταία, μέθοδος όπως η Capillary Electrophoresis (CE) αρχίζουν να ενσωματώνονται σε κάθε εργαστήριο.

Η τεχνολογία έχει βοηθήσει πάρα πολύ τον ερευνητή για την αρτιότερη, ευκολότερη και πιο φιλική χρήση των τεχνικών και των μηχανημάτων. Τα περισσότερα από τα συστήματα της αγοράς πλέον αποτελούνται από πολύπλοκα ηλεκτρονικά και μηχανικά μέρη, ελεγχόμενα συνήθως από υπολογιστές, ενώ διαθέτουν αναλυτικά εγχειρίδια χρήσεως... εκατοντάδων σελίδων.

Το HPLC είναι και αυτό ένα εξελισσόμενο σύστημα. Σήμερα η λειτουργία των περισσότερων HPLC βασίζεται σε μικροϋπολογιστές, οι οποίοι κάνουν την αποθήκευση κι επεξεργασία των ανιχνευτών και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων των αναλύσεων.

Το παρόν πρόγραμμα αποτελεί μια προσπάθεια για την ηλεκτρονική καταχώριση των προβλημάτων των συστημάτων HPLC. Έτσι μπορεί ο χειριστής εκ των προτέρων να προλαβαίνει τα προβλήματα κάνοντας συντήρηση όπου χρειάζεται και είναι απαραίτητη, να μην αμελεί να τα επιλύει για μεγάλο χρονικό διάστημα ψάχνοντας κάποια λύση στα εγχειρίδια χρήσεως.

Η υλοποίηση του προγράμματος, το οποίο έχει σαν σκοπό να βοηθήσει τον χειριστή στην εύρεση, αντιμετώπιση και λύση των προβλημάτων αλλά και στη συντήρηση του συστήματος HPLC SP 8800 σχεδιάστηκε στη βάση ACCESS 2000. Σχεδιάστηκε κυρίως για να βοηθήσει τον αρχάριο χειριστή να εξοικειωθεί όσο το δυνατό γρήγορα κι εύκολα χωρίς να τον

δυσκολέψει στην αντιμετώπιση των προβλημάτων που θα συναντήσει. Στο πρόγραμμα υπάρχουν πληροφορίες για το σύστημα και τεχνικές αναλύσεις των τμημάτων του HPLC, καταγραφή ταξινόμηση κι ανάλυση των περισσότερων χρωματογραφημάτων, τα οποία για κάποιους λόγους είναι λανθασμένα, ένα ευρύ λεξιλόγιο με ποικίλες ορολογίες, μέθοδοι συντήρησης και βελτιστοποίησης της λειτουργίας του SP 8800. Για την υλοποίηση του προγράμματος χρησιμοποιήθηκαν 33 πίνακες, 10 ερωτήματα, 45 μακροεντολές και 40 φόρμες. Η δομή του προγράμματος είναι τέτοια που αφήνει ικανοποιημένο κι ένα χρήστη του HPLC, ο οποίος δεν είναι και πολύ καλά εξοικειωμένος με τους υπολογιστές. Έχει εύκολο μενού για άμεση πρόσβαση στην εύρεση των αιτιών και των αντίστοιχων λύσεων είτε για τα μηχανικά προβλήματα είτε για τα λανθασμένα χρωματογραφήματα που θα προκύπτουν.

4.2. ΟΔΗΓΟΣ ΕΠΙΛΥΣΗΣ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ HPLC

4.2.1. Στόχοι του Προγράμματος

Η καταγραφή, ταξινόμηση και ανάλυση των προβλημάτων τους έγινε σε εύχρηστη ηλεκτρονική βάση δεδομένων. Με σκοπό να βοηθήσει ως ένα απευθείας εγχειρίδιο αντιμετώπισης προβλημάτων και συντήρησης του HPLC. Σχεδιάστηκε κυρίως για να βοηθήσει τον αρχάριο χειριστή του μηχανήματος να εξοικειωθεί με το σύστημα HPLC, να τον βοηθήσει σε τυχόν απορίες του, τις οποίες δεν μπορεί κάποιος να του εξηγήσει απλά κι εύκολα. Επίσης, το πρόγραμμα μπορεί να βοηθήσει τον χειριστή στο μέλλον να εμβαθύνει τις γνώσεις του όσον αφορά τα προβλήματα λειτουργίας του συστήματος HPLC, τα αίτια που τα προκάλεσαν και τις λύσεις, με τις οποίες θα μπορέσει να ξεπεράσει τα προβλήματα αυτά ανώδυνα και για το μηχάνημα.

4.2.2. Ορισμός Βάσης Δεδομένων

ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η βάση δεδομένων είναι μία συλλογή πληροφοριών που σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο θέμα ή σκοπό όπως π.χ. την παρακολούθηση των παραγγελιών των πελατών ή την οργάνωση μιας συλλογής μουσικών κομματιών. Αν η βάση δεδομένων είναι αποθηκευμένη σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, ενδέχεται να παρακολουθούνται πληροφορίες οι οποίες θα βοηθούν στο να γίνεται η δουλειά του χειριστή εύκολα, συντονισμένα και οργανωμένα.

Τα δεδομένα, τα οποία χρησιμοποιεί ο υπολογιστής στις διάφορες επεξεργασίες, είναι συνήθως αποθηκευμένα στις μονάδες βοηθητικής μνήμης RAM και ROM.

Μία **Βάση Δεδομένων** είναι μια οργανωμένη συλλογή από συσχετιζόμενα δεδομένα που χρησιμοποιούνται από όλες τις εφαρμογές του οργανισμού ή της επιχείρησης.

Οι περισσότεροι γνωστές δομές των Βάσεων Δεδομένων είναι:

- ✓ Ιεραρχική
- ✓ Δικτυωτή
- ✓ Σχεσιακή

Ο σκοπός δεν είναι να αναπτυχθούν λεπτομερώς τα είδη των ΒΔ¹. Από τις τρεις δομές η πιο συχνά συναντώμενη είναι η σχεσιακή. Οι πιο γνωστές σχεσιακές βάσεις δεδομένων – εμπορικές- είναι η Oracle (Oracle Co) και η Access (Microsoft).

Πλεονεκτήματα της σχεσιακής δομής είναι πολλά, όπως:

1. Η σχεσιακή δομή παρέχει διαφάνεια και σαφήνεια.

¹ Βάση Δεδομένων

2. Διευκολύνει τον χρήστη στην κατανόηση και στην υλοποίηση.
3. Είναι εύκολη η μετατροπή κάθε άλλης δομής σε σχεσιακή.
4. Είναι εύκολη η αναπαραγωγή και η υλοποίηση νέων σχέσεων για ειδικές εφαρμογές.
5. Η αναζήτηση δεδομένων είναι πολύ ταχύτερη από κάποια άλλη δομή που απαιτεί μια σειρά από δείκτες.
6. Η σχεσιακή δομή, μπορεί να τροποποιηθεί πολύ ευκολότερα από την ιεραρχική ή τη δικτυωτή, και αυτό προσδίνει ευελιξία στο σύστημα.

ΣΧΕΣΙΑΚΗ ΔΟΜΗ

Η σχεσιακή δομή εμφανίζει τα δεδομένα σε μορφή πίνακα με σχετιζόμενες γραμμές και στήλες. Κάθε πίνακας αντιπροσωπεύει είτε μία σχέση είτε μία οντότητα (entity). Κάθε στήλη του πίνακα παριστάνει ένα διαφορετικό πεδίο. Τα δεδομένα σε ένα πεδίο μπορεί να διαφέρουν, όμως κάθε πεδίο περιλαμβάνει δεδομένα του ίδιου τύπου. Κάθε εγγραφή αποτελείται από καθορισμένο αριθμό πεδίων.

Ένα από τα πεδία της σειράς, χρησιμοποιείται ως πρωτεύον κλειδί,. Η έννοια του πρωτεύοντος κλειδιού καθορίζει:

1. Την μοναδικότητα κάθε εγγραφής
2. Την επιτάχυνση της ταξινόμησης.
3. Την επιτάχυνση της αναζήτησης πληροφοριών.
4. Τον καθορισμό της σειράς εμφάνισης.
5. Την υποστήριξη σχέσεων μεταξύ πινάκων.
6. Την διασφάλιση της μοναδικότητας του πεδίου (μπορούμε όμως να επιτρέπουμε και διπλότυπες εισαγωγές).

Κάθε σειρά της σχέσης, είναι ταξινομημένη ως προς το πρωτεύον κλειδί. Η τιμή του πρωτεύοντος κλειδιού πρέπει να είναι μοναδική στη σχέση, ενώ οι τιμές των άλλων πεδίων μπορεί να επαναλαμβάνονται μεταξύ των σειρών.

Ένα σημαντικό σημείο είναι σύνδεση των πινάκων της Βάσης Δεδομένων. Η σύνδεση αυτή επιτρέπει στους χρήστες να πάρουν πληροφορίες με συνδυασμό διαφόρων σχέσεων. Αυτό θα ήταν δυσκολότερο, αν κάθε σχέση, ήταν ανεξάρτητο αρχείο και δεν ανήκε σε μια Βάση Δεδομένων.

4.3. ΜΕΡΗ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Όπως έχει αναφερθεί η βάση δεδομένων που σχεδιάστηκε αποτελείται από πίνακες, σχέσεις, ερωτήματα, μακροεντολές και φόρμες.

ΠΙΝΑΚΑΣ

Τα δεδομένα είναι οργανωμένα με διάφορες μεθόδους, για τις οποίες υπάρχουν κι ανάλογες μέθοδοι προσπέλασης κι επεξεργασίας. Για να είναι δυνατή η επεξεργασία, τα δεδομένα οργανώνονται σε **Χαρακτήρες, Πεδία, Εγγραφές, Πίνακες**.

- ✓ **Χαρακτήρας**, είναι ένα γράμμα, ένας αριθμός ή ένα σύμβολο.
- ✓ **Πεδίο**, είναι ένα σύνολο ομαδοποιημένων χαρακτήρων. Μήκος πεδίου, είναι ο αριθμός των χαρακτήρων του πεδίου. Ένα πεδίο μπορεί να είναι σταθερού ή μεταβλητού μήκους.
- ✓ **Εγγραφή**, είναι ένα σύνολο ομαδοποιημένων πεδίων. Μήκος εγγραφής, είναι το άθροισμα των μήκων των πεδίων της εγγραφής.
- ✓ **Πίνακας**, είναι μια σειρά από ομοειδείς εγγραφές. Κάθε εγγραφή στον ίδιο πίνακα, έχει γενικά την ίδια δομή, δηλαδή είναι μια οργανωμένη συλλογή από συσχετιζόμενα δεδομένα.

Ο πίνακας είναι η θεμελιώδης δομή του συστήματος διαχείρισης μιας βάσης δεδομένων. Στη Microsoft Access, ο πίνακας είναι ένα αντικείμενο που αποθηκεύει δεδομένα σε εγγραφές (γραμμές) και πεδία (στήλες).

Εγγραφή είναι η συλλογή δεδομένων σχετικά με πρόσωπα, τοποθεσία, κάποιο συμβάν ή κάποιο άλλο στοιχείο. Μια εγγραφή αντιπροσωπεύεται ως γραμμή σε προβολή φύλλου δεδομένων πίνακα, ερωτήματος ή φόρμας.

Πεδίο είναι το στοιχείο ενός πίνακα που περιέχει ένα συγκεκριμένο στοιχείο πληροφοριών, όπως π.χ. επώνυμο. Το πεδίο αντιπροσωπεύεται από στήλη ή κελί σε μια βάση δεδομένων.

Τα δεδομένα αφορούν συνήθως μια συγκεκριμένη κατηγορία πραγμάτων. Είναι δηλαδή, μια συλλογή δεδομένων σχετικών με ένα συγκεκριμένο θέμα, όπως π.χ. προϊόντα ή προμηθευτές. Χρησιμοποιώντας διαφορετικό πίνακα για κάθε θέμα τα δεδομένα αποθηκεύονται μόνο μία φορά, πράγμα που κάνει τη βάση δεδομένων πιο αποδοτική και μειώνει τα σφάλματα καταχώρισης δεδομένων.

Επίσης στον πίνακα, υπάρχουν εκτός από τα πεδία (όνομα πεδίου), ο τύπος δεδομένων για κάθε πεδίο που καταχωρείται και η αντίστοιχη περιγραφή του. Υπάρχουν διάφοροι τύποι πεδίων:

1. Κείμενο (έως 255 χαρακτήρων)
2. Υπόμνημα (δεν υπάρχουν περιορισμοί στους χαρακτήρες)
3. Αριθμός (ακέραιος, δεκαδικός κτλ.)

4. Ημερομηνία / Ώρα (ημέρα, ώρα κτλ.)
5. Νομισματική Μονάδα (δρχ, €, \$ κτλ.)
6. Αυτόματη Αρίθμηση (1,2,3,... ή κωδικός αναπαραγωγής)
7. Ναι / Όχι (αληθής ή ψευδής κτλ.)
8. Αντικείμενο OLE (αντικείμενα όπως ήχοι, εικόνες κτλ.)
9. Υπέρ-σύνδεση (hyperlink)

Στην δημιουργία πινάκων, υπάρχουν τρεις στήλες, από τις οποίες, οι δύο στήλες δεν χρησιμοποιούνται τόσο εκτενέστατα, όσο η στήλη της περιγραφής.

ΣΧΕΣΕΙΣ

Αφού οριστούν οι διάφοροι πίνακες για κάθε θέμα στη βάση δεδομένων της Microsoft Access, τα κλειδιά ευρετήρια και το πρωτεύον κλειδί για κάθε πίνακα, θα πρέπει ο χειριστής να συγκεντρώσει πάλι μαζί αυτές τις πληροφορίες (που βρίσκονται στους πίνακες). Το πρώτο βήμα στη διαδικασία αυτή είναι ο ορισμός σχέσεων ανάμεσα στους πίνακες και θα πρέπει να υπακούουν στους παρακάτω κανόνες:

- ✓ Κάθε πίνακας πρέπει να είναι ξεχωριστός και τα πεδία ξεχωριστά.
- ✓ Κάθε πεδίο σε ένα πίνακα, να είναι ξεχωριστό.
- ✓ Δεν δημιουργούμε πανομοιότυπες ομάδες πεδίων σε πίνακες.
- ✓ Σε ένα πίνακα δεν περιλαμβάνουμε πεδία που μπορούν να υπολογίζονται.

Αφού γίνει ο ορισμός των σχέσεων, μπορείτε να δημιουργήσετε ερωτήματα, φόρμες και εκθέσεις για να παρουσιάσετε πληροφορίες από αρκετούς πίνακες ταυτόχρονα.

Τα είδη των σχέσεων είναι:

- ✓ Σχέση ένα προς ένα

Σε αυτή την σχέση, τα δυο πεδία που χρησιμοποιούνται για τη σχέση είναι πρωτεύοντα κλειδιά ή έχουν μοναδικά ευρετήρια. Στη σχέση ένα προς ένα, κάθε εγγραφή του Πίνακα Α μπορεί να έχει μόνο μια αντίστοιχη εγγραφή του Πίνακα Β και κάθε εγγραφή του Πίνακα Β μπορεί να έχει μία μόνο αντίστοιχη εγγραφή στον Πίνακα Α. Αυτός ο τύπος σχέσης δεν είναι συνηθισμένος, γιατί πληροφορίες που σχετίζονται κατ' αυτόν τον τρόπο περιλαμβάνονται συνήθως στον ίδιο πίνακα. Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε μια σχέση ένα προς ένα για να διαιρέσετε έναν πίνακα με πολλά πεδία, να απομονώσετε μέρος ενός πίνακα για λόγους ασφαλείας ή να αποθηκεύσετε πληροφορίες που έχουν εφαρμογή μόνο σε ένα υποσύνολο του κυρίως πίνακα. ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ: ένα παράδειγμα είναι η σχέση μεταξύ ενός πίνακα Υπάλληλοι κι ενός πίνακα Γραμματοκιβώτια που

χρησιμοποιείται για να αποθηκεύει πληροφορίες σχετικά με διευθύνσεις ηλεκτρονικού ταχυδρομείου υπάλληλων. Ο πίνακας έχει σχέση ένα προς ένα γιατί κάθε υπάλληλος έχει μόνο ένα γραμματοκιβώτιο και κάθε γραμματοκιβώτιο αντιστοιχεί σε έναν μόνο υπάλληλο.

✓ Σχέση ένα προς πολλά

Η σχέση αυτή, σημαίνει ότι ένα από τα πεδία που χρησιμοποιούνται για τη σχέση είναι πρωτεύον κλειδί ή έχει μοναδικό ευρετήριο (=δεν επιτρέπει διπλότυπη καταχώρηση στα πεδία, η ρύθμιση του πεδίου ως πρωτεύον κλειδί ορίζει αυτόματα το πεδίο ως μοναδικό ευρετήριο). Η σχέση ένα προς πολλά αποτελεί το συνηθέστερο τύπο σχέσης. σε μια σχέση ένα προς πολλά, μια εγγραφή του Πίνακα Α μπορεί να έχει πολλές αντίστοιχες εγγραφές στον Πίνακα Β, αλλά μια εγγραφή του Πίνακα Β έχει μόνο μία αντίστοιχη εγγραφή στον Πίνακα Α. ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ: ένα παράδειγμα είναι η σχέση μεταξύ ενός πίνακα Πελάτες κι ενός πίνακα Παραγγελίες, στην οποία κάθε πελάτης μπορεί να έχει πολλές παραγγελίες αλλά κάθε παραγγελία σχετίζεται με έναν μόνο πελάτη.

✓ Σχέση πολλά προς πολλά

Σε μια σχέση πολλά προς πολλά, μια εγγραφή του Πίνακα Α μπορεί να έχει πολλές αντίστοιχες εγγραφές στον Πίνακα Β και μια εγγραφή του Πίνακα Β μπορεί να έχει πολλές αντίστοιχες εγγραφές στον Πίνακα Α. Αυτός ο τύπος σχέσης είναι εφικτός μόνο αν ορίσετε έναν τρίτο πίνακα (που λέγεται πίνακας σύνδεσης) του οποίου το πρωτεύον κλειδί αποτελείται από δύο πεδία — τα ξένα κλειδιά από τους Πίνακες Α και Β. Μια σχέση πολλά προς πολλά είναι ουσιαστικά δύο σχέσεις ένα προς πολλά με έναν τρίτο πίνακα.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ: ένα παράδειγμα είναι ο πίνακας Προϊόντα και ο πίνακας Παραγγελίες, μια παραγγελία μπορεί να περιλαμβάνει περισσότερο του ενός προϊόντα κι ένα προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται σε περισσότερες της μία παραγγελίες. Πρέπει να δημιουργηθεί ένας τρίτος πίνακας σύνδεσης που να περιλαμβάνει τα πεδία πρωτεύοντος κλειδιού από τον κάθε πίνακα, και να έχει σχέση ένα προς πολλά με τον πίνακα Προϊόντα και σχέση ένα προς πολλά με τον πίνακα Παραγγελίες.

✓ Αόριστη σχέση

Σε αυτή την σχέση, κανένα από τα δυο πεδία των συσχετιζόμενων πινάκων δεν είναι πρωτεύον κλειδί, ούτε έχει μοναδικό ευρετήριο. Η αόριστη σχέση δεν είναι

λειτουργική και δεν μπορεί να διαχειρισθεί από το ΣΔΒΔ². Για να αποτραπεί η αόριστη σχέση, θα πρέπει να οριστεί τουλάχιστον ένα πρωτεύον κλειδί ή ένα μοναδικό ευρετήριο για ένα από τα δύο συσχετισμένα πεδία. Εάν σύρετε ένα πεδίο που δεν αποτελεί πρωτεύον κλειδί και δεν έχει μοναδικό ευρετήριο, δημιουργείται μια αόριστη σχέση. Σε ερωτήματα που περιέχουν πίνακες που συνδέονται με αόριστη σχέση, η Microsoft Access εμφανίζει μια προεπιλεγμένη γραμμή σύνδεσης ανάμεσα στους πίνακες.

Αφού έχουν οριστεί οι σχέσεις, μεταξύ των πινάκων και υπάρχουν οι κατάλληλες προϋποθέσεις, τότε μπορεί να ακολουθήσει η περαιτέρω σχεδίαση της βάσης δεδομένων, όπως είναι: η σχεδίαση των φορμών, των εκθέσεων, των ερωτημάτων και των μακροεντολών.

ΕΡΩΤΗΜΑ

Τα ερωτήματα χρησιμοποιούνται για να εμφανίσουν, να αλλάξουν ή να αναλύσουν δεδομένα με διαφορετικούς τρόπους. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως προέλευση εγγραφών για φόρμες, εκθέσεις και σελίδες πρόσβασης δεδομένων.

ΦΟΡΜΑ

Η φόρμα είναι ένα αντικείμενο της βάσης δεδομένων της Microsoft Access, στο οποίο τοποθετούνται στοιχεία ελέγχου για να κάνει τις ενέργειες που θέλει ο χειριστής, όπως πληκτρολόγηση, εμφάνιση κι επεξεργασία δεδομένων σε πεδία.

Οι φόρμες χρησιμοποιούνται για διάφορες λειτουργίες και παίζουν σημαντικό ρόλο σε μια βάση δεδομένων γιατί παρουσιάζουν το προφίλ του προγράμματος.

ΕΚΘΕΣΗ

Η έκθεση είναι ένα αντικείμενο της βάσης δεδομένων της Microsoft Access, που εκτυπώνει πληροφορίες μορφοποιημένες και διατεταγμένες σύμφωνα με τις απαιτήσεις του χειριστή. Επίσης, είναι ένας αποτελεσματικός κι εύχρηστος τρόπος για να παρουσιαστούν τα δεδομένα σε έντυπη μορφή.

ΜΑΚΡΟΕΝΤΟΛΗ

Οι μακροεντολές είναι ένας εύκολος τρόπος εκτέλεσης απλών εργασιών, όπως το άνοιγμα και το κλείσιμο φορμών, η εμφάνιση και απόκρυψη γραμμών εργαλείων και η εκτέλεση εκθέσεων. Με τις μακροεντολές μπορεί να γίνει γρήγορα και εύκολα η σύνδεση των

² Σύστημα Διαχείρισης Βάσης Δεδομένων

αντικειμένων βάσης δεδομένων (πίνακες, ερωτήματα, φόρμες, εκθέσεις) που έχουν δημιουργηθεί.

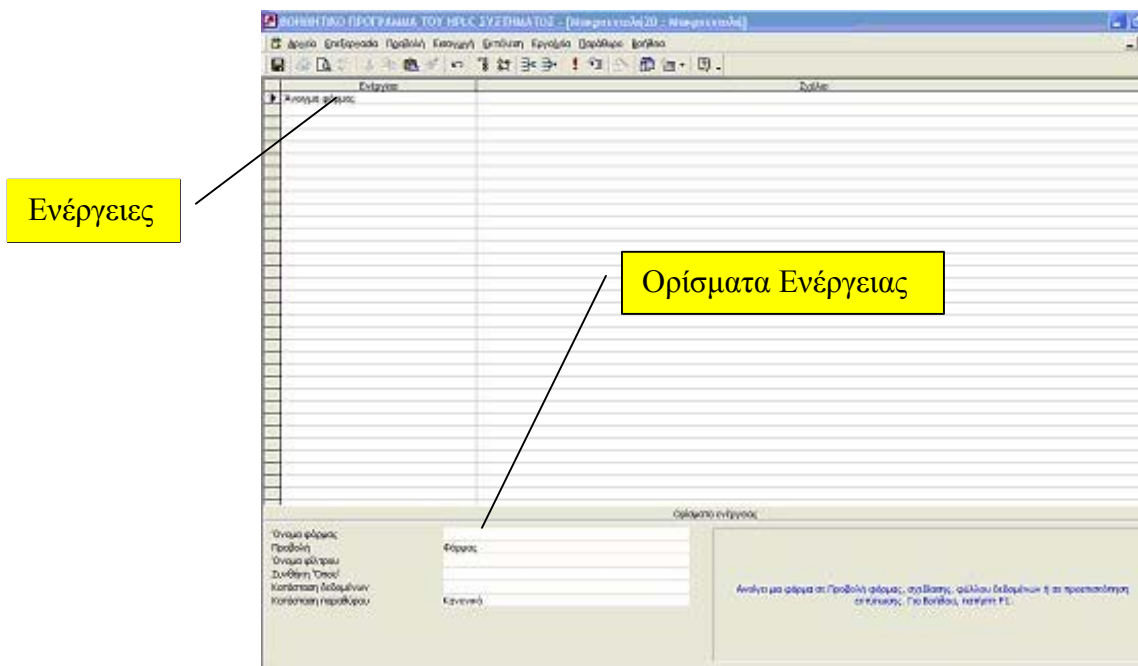
Επιπρόσθετα στην ευκολία χρήσης που παρέχουν οι μακροεντολές, χρησιμοποιούνται ως εξής:

1. Δημιουργία καθολικών αντιστοιχίσεων πλήκτρων, μπάρες πλοήγησης.
2. Εκτέλεση ενέργειας ή ενεργειών, για να γίνει η εκτέλεση συγκεκριμένων συμβάντων, όπως το άνοιγμα μιας φόρμας.

Όταν εκτελείται μια μακροεντολή, η Microsoft Access αρχίζει από την αρχή της μακροεντολής και εκτελεί όλες τις ενέργειες στη μακροεντολή μέχρι, είτε να συναντήσει μια άλλη μακροεντολή (αν η μακροεντολή ανήκει σε ομάδα μακροεντολών), είτε να φτάσει στο τέλος της μακροεντολής. Για παράδειγμα, μπορεί να προσαρτηθεί μια μακροεντολή σε ένα κουμπί εντολής σε φόρμα, έτσι ώστε η μακροεντολή να εκτελείται, όταν ο χειριστής κάνει κλικ στο κουμπί. Μπορεί, επίσης, να δημιουργηθεί μια προσαρμοσμένη εντολή μενού (Menubar) ή ένα κουμπί γραμμής εργαλείων που να εκτελεί μια μακροεντολή ή να εκτελείται μια μακροεντολή, αυτόματα, όταν ανοίγεται μια βάση δεδομένων.

Οι ενέργειες που υπάρχουν, είναι:

Ακύρωση συμβάντος, Άνοιγμα αποθηκευμένης διαδικασίας, Άνοιγμα διαγράμματος, Άνοιγμα έκθεσης, Άνοιγμα ερωτήματος, Άνοιγμα λειτουργικής μονάδας, Άνοιγμα πίνακα, Άνοιγμα προβολής, Άνοιγμα σελίδας πρόσβασης δεδομένων, Άνοιγμα φόρμας, Αντήχηση, Αντιγραφή αντικειμένου, Αποθήκευση, Αποκατάσταση, Αποστολή αντικειμένου, Αποστολή χαρακτήρων, Διαγραφή αντικειμένου, Διακοπή όλων των μακροεντολών, Διακοπή της μακροεντολής, Εκτέλεση εντολής, Εκτέλεση εντολής SQL, Εκτέλεση εφαρμογής, Εκτέλεση κώδικα, Εκτέλεση μακροεντολής, Εκτύπωση, Ελαχιστοποίηση, Εμφάνιση γραμμής εργαλείων, Ενημέρωση αντικειμένου, Έξοδος, Έξοδος σε, Επανεκτέλεση ερωτήματος, Επιλογή αντικειμένου, Επισημάνσεις, Εύρεση εγγραφής, Εύρεση επομένου, Εφαρμογή φίλτρου, Ηχητικό σήμα, Κατάσταση στοιχείου μενού, Κλείσιμο, Κλεψύδρα, Μεγιστοποίηση, Μετάβαση σε εγγραφή, Μετάβαση σε σελίδα, Μετάβαση σε στοιχείο ελέγχου, Μετακίνηση-Προσαρμογή μεγέθους, Μεταφορά βάσης δεδομένων, Μεταφορά κειμένου, Μεταφορά Υπολογιστικού Φύλλου, Μετονομασία, Όλες οι εγγραφές, Ορισμός τιμής, Πλαίσιο μηνύματος, Προσθήκη μενού.



Εικόνα 4. 1 - Μακροεντολή

Στην εικόνα ένα παράδειγμα μακροεντολής. Η στήλη ενέργεια εκτελεί μια από τις ενέργειες της προηγούμενης παραγράφου, ενώ στο κάτω μέρος περιλαμβάνονται τα ορίσματα της, όπως όνομα φόρμας, το είδος της προβολής, φίλτρο, κατάσταση δεδομένων κ.ά..

4.4. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Το πρόγραμμα ονομάστηκε «Βοηθός Επίλυσης Προβλημάτων Του HPLC Συστήματος» (HTG-HPCL) Help and Troubleshooting Guide for HPLC). Το πρόγραμμα σχεδιάστηκε με το πρόγραμμα Access 2000, του Microsoft Office 2000. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε λογισμικό Windows 95, 98, 2000, Me και σε Windows XP. Επίσης το πρόγραμμα μπορεί να λειτουργήσει σε παλαιότερες και νεότερες εκδόσεις της Microsoft Access.

Το ασυμπίεστο μέγεθος του προγράμματος είναι 160 Mbytes.

Το πρόγραμμα ελέγχθηκε ως προς τις ελάχιστες απαιτήσεις. Χρησιμοποιήθηκε υπολογιστής (PC) με επεξεργαστή Pentium II στα 600 MHz και μνήμη 128 Mbytes όπου και λειτούργησε ικανοποιητικά. Εγκατεστημένο το Microsoft Office 2000 ή νεότερης έκδοσης.

Συμβάσεις του προγράμματος: Κατά τη γραφή της ανάλυσης και της παρουσίασης του προγράμματος χρησιμοποιήθηκαν οι εξής συμβάσεις για την καλύτερη ανάγνωση και κατανόηση της τέταρτης ενότητας:

- ✓ Τα ονόματα όλων των πινάκων, των φορμών, των ερωτημάτων και των μακροεντολών ξεκινάνε με τα αντίστοιχα κεφαλαία γράμματα, Π για τους πίνακες, Φ για τις φόρμες, Ε για τα ερωτήματα και Μ για τις μακροεντολές. Ενώ, τα αντίστοιχα ονόματα έχουν γραφεί με **έντονη γραφή (Bold)**.

- ✓ Με *πλάγια γραφή* (Italics) έχουν γραφεί οι ιδιότητες του κάθε πεδίου του κάθε πίνακα.

4.4.1. Παρουσίαση Πινάκων

Το πρόγραμμα αποτελείται από 19 πίνακες. Αναλυτικά, είναι οι εξής:

✓ Π-Ανιχνευτής	✓ Π-Αντλία
✓ Π-Βαλβίδες Ελέγχου	✓ Π-Τμήματα HPLC
✓ Π-Γραφική Παράσταση	✓ Π-Γραφική Παράσταση Μέρους
✓ Π-Εγχυτήρας	✓ Π-Ελεγκοί Τμημάτων
✓ Π-Καταγραφή Ρουτίνας	✓ Π-Καταγραφή Συντήρησης
✓ Π-Κινητή Φάση	✓ Π-Λεξικό
✓ Π-Λίστα Μερών Μηχ/τος	✓ Π-Μέρη Συστήματος HPLC
✓ Π-Μέτρα Προφύλαξης Συστήματος HPLC	✓ Π-Μέτρα Προφύλαξης Χειριστή
✓ Π-Πρόβλημα, Λύση Μέρους	✓ Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση
✓ Π-Στήλη	

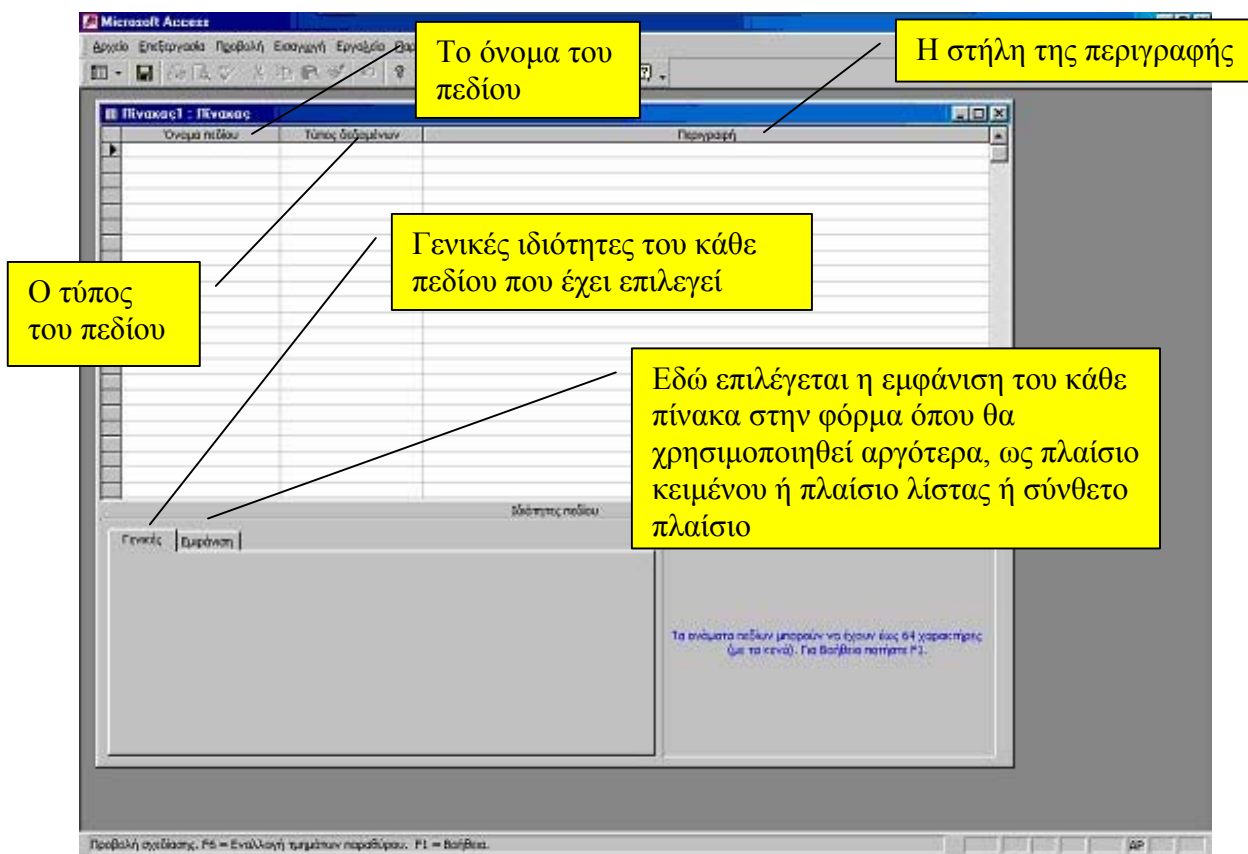
Πίνακας 4. 1. – Παρουσίαση Των Πινάκων

Όπως έχει αναφερθεί, ο κάθε πίνακας αποτελείται από πεδία κι εγγραφές. Υπάρχουν 3 στήλες:

1. το όνομα πεδίου
2. ο τύπος δεδομένων
3. περιγραφή

Σε κάθε ένα από τους παραπάνω πίνακες οι 2 από τις στήλες αυτές αλλάζουν, το όνομα του πεδίου και ο τύπος δεδομένων, ενώ η στήλη της περιγραφής για όλους τους πίνακες έμεινε κενή.

Το τυπικό διάγραμμα ενός πίνακα είναι το παρακάτω:



Εικόνα 4. 2 - Πίνακας

4.4.2. Λεπτομερής Ανάλυση Πινάκων

ΠΙΝΑΚΕΣ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

Τα προβλήματα και οι λύσεις τους έχουν καταγραφεί και ταξινομηθεί ανάλογα με το μέρος (τμήμα) του HPLC, που παρουσιάζει το πρόβλημα. Με βάση, αυτή την λογική οι πίνακες **Π-Ανιχνευτής**, **Π-Αντλία**, **Π-Βαλβίδες Ελέγχου**, **Π-Εγχυτήρας**, **Π-Κινητή Φάση**, και **Π-Στήλη** περιέχουν τα προβλήματα ανά τμήμα. Κάθε ένας από αυτούς τους πίνακες περιέχει πέντε πεδία.

Το πρώτο πεδίο που αποτελεί και το **πρωτεύον κλειδί** του πίνακα είναι ο κωδικός προβλήματος. Το δεύτερο πεδίο αντιστοιχεί στην περιγραφή του προβλήματος ενώ, το τρίτο και τέταρτο πεδίο αντιστοιχούν στο καταγεγραμμένο πρόβλημα και στην λύση του αντίστοιχα. Τέλος, το πέμπτο πεδίο χρησιμοποιείται για σημείωση που αναφέρεται στη λύση 'του προβλήματος.

Αναλυτικά:

Π-Ανιχνευτής	Π-Αντλία	Π-Βαλβίδες Ελέγχου	Π-Εγχυτήρας	Π-Κινητή Φάση	Π-Στήλη
Κωδικός Προβλήματος Ανιχνευτής	Κωδικός Προβλήματος Αντλία	Κωδικός Προβλήματος Βαλβίδες Ελέγχου	Κωδικός Προβλήματος Εγχυτήρας	Κωδικός Προβλήματος Κινητή Φάση	Κωδικός Προβλήματος Στήλη
Πρόβλημα	Πρόβλημα	Πρόβλημα	Πρόβλημα	Πρόβλημα	Πρόβλημα
Αιτία	Αιτία	Αιτία	Αιτία	Αιτία	Αιτία
Λύση	Λύση	Λύση	Λύση	Λύση	Λύση
Σημείωση	Σημείωση	Σημείωση	Σημείωση	Σημείωση	Σημείωση

Πίνακας 4. 2. – Πίνακες Προβλημάτων

Τα πρωτεύοντα κλειδιά στους παραπάνω πίνακες (Κωδικός Προβλήματος Ανιχνευτής) με τύπο δεδομένων την *Αυτόματη αρίθμηση* έχουν τις εξής ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου να είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, οι νέες τιμές να γίνονται *Βηματικά*, χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, *Με Ευρετήριο* να μην επιτρέπονται όμως οι διπλότυπες εγγραφές.

Το πεδίο (Πρόβλημα) του κάθε πίνακα με τύπο δεδομένων, *Κείμενο*, έχει τις ιδιότητες: Το μέγεθος του πεδίου είναι *255 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος* και *Ευρετήριο*, με *Συμπίεση Unicode* όμως.

Τα πεδία (Αιτία, Λύση και Σημείωση) του κάθε πίνακα με τύπο δεδομένων, *Υπόμνημα*, έχουν τις εξής ιδιότητες:

Χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, με κενό την *Προεπιλεγμένη Τιμή*, τον *Κανόνα Επικύρωσης*, το *Κείμενο Επικύρωσης*, *Δεν Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, με *Συμπίεση Unicode*.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π-Γραφική Παράσταση & Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση

Ο πίνακας **Π-Γραφική Παράσταση** σε συνδυασμό με τον πίνακα **Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση** δημιουργήθηκε με σκοπό αργότερα στο σχεδιασμό της φόρμας **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμή Αναφοράς** αλλά και της φόρμας **Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων Εκτός Γραμμής Αναφοράς** να μπορεί ο χειριστής του προγράμματος να έχει μπροστά του (στην οθόνη του υπολογιστή) όλα τα προβληματικά χρωματογραφήματα που βρίσκονται **εκτός βασικής γραμμής αναφοράς** και κάνοντας ένα μόνο κλικ πάνω στο προβληματικό χρωματογράφημα στην φόρμα **Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων**

Εκτός Γραμμής Αναφοράς να του εμφανίζει όλες τις πιθανές αιτίες και τις αντίστοιχες λύσεις, αλλά και πως θα έπρεπε να ήταν φυσιολογικό χρωματογράφημα.

Αναλυτικά χρησιμοποιήθηκαν:

Π-Γραφική Παράσταση	Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση
Κωδικός Γρ. Παράστασης	Κωδικός Προβλήματος
Γρ. Παράσταση	Πρόβλημα
	Λύση
	Κωδικός Γρ. Παράστασης

Πίνακας 4. 3. – Π-Γραφική Παράσταση & Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση

Το πρωτεύον κλειδί στο πίνακα **Π-Γραφική Παράσταση** (Κωδικός Γρ. Παράστασης), με τύπο δεδομένων την *Αυτόματη αρίθμηση* έχει τις εξής ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου να είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, οι νέες τιμές να γίνονται *Βηματικά*, χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, *Με Ευρετήριο* να μην επιτρέπονται όμως οι διπλότυπες εγγραφές.

Το πεδίο Γρ. Παράσταση στο **Π-Γραφική Παράσταση**, με τύπο δεδομένων *Αντικείμενο OLE* και με τις εξής ιδιότητες:

Χωρίς *Λεζάντα* και *Να Απαιτείται*.

Ενώ, το πρωτεύον κλειδί στο **Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση** είναι το πεδίο Κωδικός Προβλήματος, με τύπο δεδομένων την *Αυτόματη αρίθμηση* και με τις εξής ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου να είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, οι νέες τιμές να γίνονται *Βηματικά*, χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, *Με Ευρετήριο* να μην επιτρέπονται όμως οι διπλότυπες εγγραφές.

Το πεδίο Πρόβλημα του **Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση** με τύπο δεδομένων *Κείμενο* είναι με τις εξής ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *255 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος* και *Ευρετήριο*, με *Συμπίεση Unicode* όμως.

Ενώ, το πεδίο Λύση του **Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση** με τύπο δεδομένων *Υπόμνημα* είναι με τις εξής ιδιότητες:

Χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, με κενό την *Προεπιλεγμένη Τιμή*, τον *Κανόνα Επικύρωσης*, το *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, με *Συμπίεση Unicode*.

Τέλος, το πεδίο Κωδικός Γρ. Παράστασης με τύπο δεδομένων *Αριθμός*, να έχει τις εξής ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *Ακέραιος μεγάλου μήκους*, με δεκαδικές θέσεις *Αυτόματα* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα*

Επικύρωσης και Κείμενο Επικύρωσης, Απαιτείται, Με Ευρετήριο να επιτρέπονται όμως οι διπλότυπες εγγραφές.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π-Γραφική Παράσταση Μέρους & Π-Πρόβλημα, Λύση Μέρους

Ο πίνακας Π-Γραφική Παράσταση Μέρους σε συνδυασμό με τον πίνακα Π-Πρόβλημα, Λύση Μέρους δημιουργήθηκε με σκοπό αργότερα στο σχεδιασμό της φόρμας Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς αλλά και της Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων Στην Γραμμής Αναφοράς να μπορεί ο χειριστής του προγράμματος να έχει μπροστά του (στην οθόνη του υπολογιστή) όλα τα προβληματικά χρωματογραφήματα που βρίσκονται στη βασική γραμμή αναφορά και κάνοντας ένα μόνο κλικ πάνω στο προβληματικό χρωματογράφημα στην Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων Στην Γραμμή Αναφοράς να του εμφανίζει όλες τις πιθανές αιτίες και τις αντίστοιχες λύσεις, αλλά και πως θα έπρεπε να ήταν φυσιολογικό χρωματογράφημα.

Αναλυτικά χρησιμοποιήθηκαν:

Π-Γραφική Παράσταση Μέρους	Π-Πρόβλημα, Λύση Μέρους
Κωδικός Μέρους Γραφ. Παράστασης	Κωδικός Πρόβλημα-Λύση Μέρους
Αιτία	Πρόβλημα Μέρους
Γραφ. Παράσταση Μέρους	Λύση Μέρους
	Κωδικός Μέρους Γραφ. Παράστασης

Πίνακας 4. 4. – Π-Γραφική Παράσταση Μέρους & Π-Πρόβλημα, Λύση Μέρους

Το πρώτο πεδίο που αποτελεί και το πρωτεύον κλειδί του Π-Γραφική Παράσταση Μέρους είναι το πεδίο Κωδικός Μέρους Γραφ. Παράστασης με τύπο δεδομένων *Αυτόματη αρίθμηση* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου να είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, οι νέες τιμές να γίνονται *Βηματικά*, χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, *Με Ευρετήριο* να μην επιτρέπονται όμως οι διπλότυπες εγγραφές.

Το πεδίο Αιτία περιγράφει την κατηγορία για την οποία είναι χωρισμένα τα προβληματικά χρωματογραφήματα, δηλαδή είτε λόγω Οργάνων είτε Χημικών λόγων, με τύπο δεδομένων το *Κείμενο* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *30 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, δεν *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, να υπάρχει *Ευρετήριο* και *Συμπίεση Unicode*.

Τέλος, το τρίτο πεδίο περιέχει τις εικόνες από τα προβληματικά χρωματογραφήματα, με τύπο δεδομένων *Αντικείμενο OLE* και με τις ιδιότητες:

Χωρίς *Λεζάντα* και να *Απαιτείται*.

Ενώ, τα πεδία του **Π-Πρόβλημα, Λύση Μέρους** έχουν τις ίδιες ιδιότητες με αυτά που βρίσκονται στον πίνακα 4.2. του **Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση**.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π-Λίστα Μερών Του Μηχ/τος

Με την λειτουργικότητα αυτού του πίνακα, ο χειριστής μπορεί να βρει τα προβλήματα, τις αντίστοιχες λύσεις και τα χρωματογραφήματα ανάλογα, σε ποιο μέρος του συστήματος υπάρχει το πρόβλημα.

Αναλυτικά χρησιμοποιήθηκαν:

Π- Λίστα Μερών Του Μηχ/τος
Κωδικός Μέρους Μηχανήματος
Μέρος Μηχανήματος

Πίνακας 4. 5. – Π-Λίστα Μερών Του Μηχ/τος

Χρησιμοποιήθηκαν δύο πεδία, το πεδίο με ονομασία Κωδικός Μέρους Μηχανήματος και το πεδίο Μέρος Μηχανήματος, που περιέχει τα μέρη του μηχανήματος (π.χ. αντλία, ανιχνευτής, βαλβίδες ελέγχου, κ.ά.).

Το πρωτεύον κλειδί είναι το πεδίο Κωδικός Μέρους Μηχανήματος με τύπο δεδομένων την *Αυτόματη αρίθμηση* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου να είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, οι νέες τιμές να γίνονται *Βηματικά*, χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, *Με Ευρετήριο* να μην επιτρέπονται όμως οι διπλότυπες εγγραφές.

Ενώ, το πεδίο Μέρος Μηχανήματος με τύπο δεδομένων το *Κείμενο*, έχει τις ιδιότητες: Το μέγεθος του πεδίου είναι *50 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και χωρίς *Κείμενο Επικύρωσης*, δεν *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος* και *Ευρετήριο*, με *Συμπίεση Unicode* όμως.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ - ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

Οι μέθοδοι συντήρησης, παρέχουν οδηγίες και πληροφορίες στον χειριστή για να μπορεί να κάνει εύκολα και αποτελεσματικά διάγνωση προβλημάτων σε κάποια μέρη του συστήματος και σωστή συντήρηση. Με αποτέλεσμα να μπορεί να κερδίζει χρόνο και κόπο. Αλλά και να μπορεί να κάνει κάποιες «επεμβάσεις» στο σύστημα χωρίς να έχει επιπτώσεις στην ασφάλεια του προσωπικού του εργαστηρίου και στην σωστή λειτουργία του μηχανήματος. Η συντήρηση χωρίστηκε σε δύο ενότητες: α) Έλεγχος Τμημάτων με τον **Π-Έλεγχος Τμημάτων** και β) Μέτρα Προφύλαξης HPLC με τον **Π- Μέτρα Προφύλαξης HPLC**.

Αναλυτικά χρησιμοποιήθηκαν:

Π-Ελεγχος Τμημάτων	Π- Μέτρα Προφύλαξης HPLC
Περιγραφή Ελέγχου	Περιγραφή
Διαπίστωση Προβλήματος	Μέτρα Ασφαλείας Συστήματος
Σημείωση	

Πίνακας 4. 6. – Π-Ελεγχος Τμημάτων & Π- Μέτρα Προφύλαξης HPLC

Και στους δύο πίνακες δεν υπήρχε η ανάγκη να δημιουργηθούν πρωτεύοντα κλειδιά σε κάποιο από τα παραπάνω πεδία, οπότε:

Για τον **Π-Ελεγχος Τμημάτων**, και τα τρία πεδία που χρησιμοποιήθηκαν με τύπο δεδομένων, *Υπόμνημα* και να περιέχει τις ιδιότητες:

Χωρίς Μορφή και Λεζάντα, με κενό την Προεπιλεγμένη Τιμή, τον Κανόνα Επικύρωσης, το Κείμενο Επικύρωσης, Δεν Απαιτείται, χωρίς Μηδενικό Μήκος, με Συμπίεση Unicode.

Επίσης, για τον **Π-Μέτρα Προφύλαξης HPLC**, και τα δύο πεδία που χρησιμοποιήθηκαν με τύπο δεδομένων, το *Υπόμνημα* και να περιέχει τις ιδιότητες:

Χωρίς Μορφή και Λεζάντα, με κενό την Προεπιλεγμένη Τιμή, τον Κανόνα Επικύρωσης, το Κείμενο Επικύρωσης, Δεν Απαιτείται, χωρίς Μηδενικό Μήκος, με Συμπίεση Unicode.

ΘΕΩΡΙΑ & ΓΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ HPLC SP 8800

Σε αυτή την ομάδα πινάκων υπάρχουν πληροφορίες, θεωρίες και γνώσεις εγκυκλοπαιδικές σχετικά με το HPLC SP 8800. Με βάση λοιπόν αυτές τις πληροφορίες δημιουργήθηκαν ο πίνακας: Π-Τμήματα HPLC. Ο πίνακας Π-Τμήματα HPLC φέρνει πληροφορίες για τον ρόλο του κάθε μέρους του συστήματος, όπως παρουσιάζονται στο σχετικό διάγραμμα και αναφέρονται τα κυριότερα είδη των αντίστοιχων τμημάτων του HPLC με τη βοήθεια του **Π-Μέρη Συστήματος HPLC**.

Αναλυτικά οι πίνακες:

Π-Τμήματα HPLC	Π- Μέρη Συστήματος HPLC
Σύστημα HPLC	Μέρος HPLC
Τμήμα	Εικόνα
Είδη	
Ρόλος	

Πίνακας 4. 7. – Π-Τμήματα HPLC & Π- Μέρη Συστήματος HPLC

Ο **Π-Τμήματα HPLC** περιέχει τέσσερα πεδία, το πεδίο Σύστημα HPLC, με τύπο δεδομένων *Αντικείμενο OLE*, με ιδιότητες:

Χωρίς Λεζάντα και Δεν Απαιτείται.

Το δεύτερο πεδίο περιέχει τα κυρίως τμήματα του SP 8800 (π.χ. αντλία, στήλη) με τύπο δεδομένων το *Κείμενο* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *255 Χαρακτήρες χωρίς Μορφή και Μάσκα Εισαγωγής, χωρίς Προεπιλεγμένη Τιμή και Λεζάντα, χωρίς Κανόνα Επικύρωσης και Κείμενο Επικύρωσης, Απαιτείται, χωρίς Μηδενικό Μήκος, υπάρχει Ευρετήριο* (δεν επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές) και με *Συμπίεση Unicode*.

Τέλος, το τρίτο και τέταρτο πεδίο περιέχουν πληροφορίες για τον ρόλο του κάθε τμήματος και για τα είδη των τμημάτων του συστήματος που υπάρχουν, με τύπο δεδομένων το *Υπόμνημα* και με τις εξής ιδιότητες:

Χωρίς Μορφή και Λεζάντα, με κενό την Προεπιλεγμένη Τιμή, τον Κανόνα Επικύρωσης και το Κείμενο Επικύρωσης, Απαιτείται, χωρίς Μηδενικό Μήκος, και με Συμπίεση Unicode.

Ο πίνακας **Π-Μέρη Συστήματος HPLC** αποτελείται από δύο πεδία, από το πεδίο Μέρος HPLC, με τύπο δεδομένων *Κείμενο*, με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *50 Χαρακτήρες χωρίς Μορφή και Μάσκα Εισαγωγής, χωρίς Προεπιλεγμένη Τιμή και Λεζάντα, χωρίς Κανόνα Επικύρωσης και Κείμενο Επικύρωσης, Δεν Απαιτείται, χωρίς Μηδενικό Μήκος, Ευρετήριο και με Συμπίεση Unicode.*

Και από το πεδίο *Εικόνα*, με τύπο δεδομένων *Αντικείμενο OLE*, με τις ιδιότητες:
Χωρίς Λεζάντα και Δεν Απαιτείται.

ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ

Ο **Π-Λεξικό** ανήκει και αυτός στο μέρος του προγράμματος, το οποίο παρέχει τις γνώσεις και τις πληροφορίες ως προς τις άγνωστες λέξεις. Με εύρεση οποιασδήποτε λέξης που θεωρήθηκε ότι θα πρέπει ο χειριστής του μηχανήματος να γνωρίζει.

Αναλυτικά ο πίνακας:

Π-Λεξικό
Κωδικός Λέξης
Λέξη
Ερμηνεία

Πίνακας 4. 8. – Π-Λεξικό

Το πρωτεύων κλειδί είναι το πεδίο Κωδικός Λέξης, με τύπο δεδομένων την *Αριθμός* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, χωρίς *Μορφή*, οι δεκαδικές θέσεις είναι *Αυτόματα*, χωρίς *Μάσκα Εισαγωγής* και *Λεζάντα*, η προεπιλεγμένη τιμή είναι *Μηδέν*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, δεν *Απαιτείται*, με *Ευρετήριο* (να επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές.).

Το δεύτερο πεδίο *Λέξη*, με τύπο δεδομένων, *Κείμενο* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *255 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, υπάρχει *Ευρετήριο* (δεν επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές.) και με *Συμπίεση Unicode*.

Τέλος, το τρίτο πεδίο *Ερμηνεία*, με τύπο δεδομένων, *Υπόμνημα* και με ιδιότητες:

Χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, με κενό την *Προεπιλεγμένη Τιμή*, τον *Κανόνα Επικύρωσης* και το *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, και με *Συμπίεση Unicode*.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΡΟΥΤΙΝΑΣ & ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

Οι πίνακες **Π-Καταγραφή Ρουτίνας** και **Π-Καταγραφή Συντήρησης** δημιουργήθηκαν για να μπορεί ο χειριστής να καταχωρεί και να διατηρεί σε απλές, κατανοητές κι εύκολες στη χρήση φόρμες αρχεία σχετικά με τη συντήρηση του συστήματος HPLC.

Αναλυτικά οι πίνακες:

Π-Καταγραφή Ρουτίνας	Π-Καταγραφή Συντήρησης
A/A	A/A
Ημερομηνία	Ημερομηνία
Χρήστης	Χρήστης
Αναλυμένη Ουσία	Αλλαγή Οργάνου
Ελάχιστη Συγκέντρωση	Ημερομηνία Αλλαγής
Μέγιστη Συγκέντρωση	
Στήλη	
Διαλύτες	
Ισοκρατική Έκκλιση	
Ροή 1	
Ροή 2	
Κλίμακα Ανιχνευτή	
Μήκος Κύματος Ανιχνευτή	
Παρατηρήσεις	

Πίνακας 4. 9. – Π-Καταγραφή Ρουτίνας & Π-Καταγραφή Συντήρησης

Ο **Π-Καταγραφή Ρουτίνας** περιέχει δεκατέσσερα πεδία. Το πρωτεύων κλειδί είναι το πεδίο A/A, με τύπο δεδομένων *Αυτόματη αρίθμηση* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου να είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, οι νέες τιμές να γίνονται *Βηματικά*, χωρίς *Μορφή*, *Λεζάντα* και *Ευρετήριο*.

Το επόμενο πεδίο Ημερομηνία, με τύπο δεδομένων, *Ημερομηνία / Ωρα* και με ιδιότητες: Η μορφή να είναι *Γενική Ημερομηνία*, με μάσκα εισαγωγής *99/99/0000;0;#*, χωρίς *Λεζάντα*, Προεπιλεγμένη τιμή *Date()*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, Με *Ευρετήριο* (να επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές).

Τα πεδία Χρήστης, Αναλυμένη Ουσία, Στήλη και Διαλύτες έχουν τύπο δεδομένων, *Κείμενο* και ιδιότητες:

Το μέγεθος των πεδίων να είναι *70 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, υπάρχει *Ευρετήριο* (επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές) και με *Συμπίεση Unicode*.

Τα πεδία Ροή 1 και Ροή 2, επίσης έχουν τύπο δεδομένων *Κείμενο*, αλλά με διαφορετικές ιδιότητες σε σχέση με τα παραπάνω:

Το μέγεθος των πεδίων να είναι *10 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Δεν Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος* και *Ευρετήριο* και με *Συμπίεση Unicode*.

Τα πεδία Ελάχιστη Συγκέντρωση, Μέγιστη Συγκέντρωση, Κλίμακα Ανιχνευτή και Μήκος Κύματος Ανιχνευτή με τύπο δεδομένων *Αριθμός* και τις εξής ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, χωρίς *Μορφή*, οι δεκαδικές θέσεις είναι *Αυτόματα*, χωρίς *Μάσκα Εισαγωγής* και *Λεζάντα*, η προεπιλεγμένη τιμή είναι *Μηδέν*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Δεν Απαιτείται*, χωρίς *Ευρετήριο*.

Το πεδίο Ισοκρατική Έκλυση έχει τύπο δεδομένων *Ναι / Όχι* και ιδιότητες:

Η μορφή είναι *Ναι / Όχι*, χωρίς *Λεζάντα* και *Προεπιλεγμένη τιμή*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, υπάρχει *Ευρετήριο* (δεν επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές).

Το πεδίο Παρατηρήσεις έχει τύπο δεδομένων *Υπόμνημα* και ιδιότητες:

Χωρίς *Μορφή* και *Λεζάντα*, με κενό την *Προεπιλεγμένη Τιμή*, τον *Κανόνα Επικύρωσης* και το *Κείμενο Επικύρωσης*, *Δεν Απαιτείται*, χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, και με *Συμπίεση Unicode*.

Ο **Π-Καταγραφή Συντήρησης** περιέχει πέντε πεδία. Το πρωτεύων κλειδί είναι το πεδίο A/A, με τύπο δεδομένων *Αυτόματη αρίθμηση* και με ιδιότητες:

Το μέγεθος του πεδίου να είναι *Ακέραιος Μεγάλου Μήκους*, οι νέες τιμές να γίνονται *Βηματικά*, χωρίς *Μορφή*, *Λεζάντα* και *Ευρετήριο*.

Τα επόμενο πεδίο Ημερομηνία, με τύπο δεδομένων, *Ημερομηνία / Ωρα* και με ιδιότητες: Η μορφή να είναι *Γενική Ημερομηνία*, με μάσκα εισαγωγής *99/99/0000;0;#*, χωρίς *Λεζάντα*, Προεπιλεγμένη τιμή *Date()* (για το πεδίο Ημερομηνία), χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* (για το πεδίο Ημερομηνία Αλλαγής), χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται*, *Με Ευρετήριο* (να επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές.).

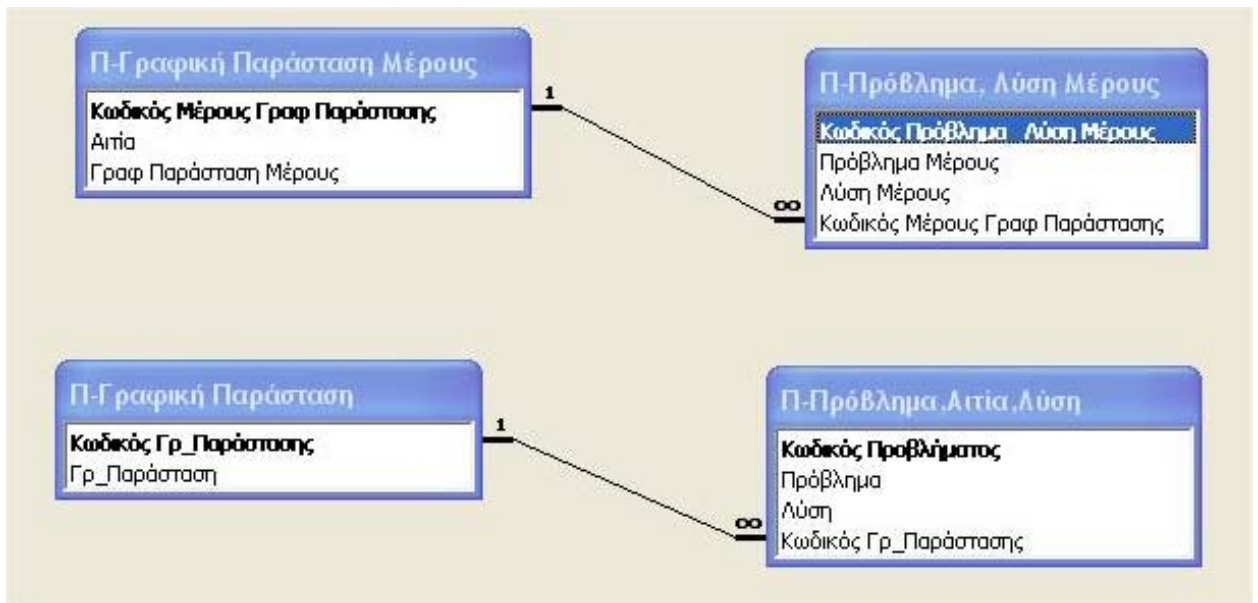
Τα πεδία Χρήστης και Αλλαγή Οργάνου έχουν τύπο δεδομένων, *Κείμενο* και ιδιότητες:

Το μέγεθος των πεδίων να είναι *70 Χαρακτήρες* χωρίς *Μορφή* και *Μάσκα Εισαγωγής*, χωρίς *Προεπιλεγμένη Τιμή* και *Λεζάντα*, χωρίς *Κανόνα Επικύρωσης* και *Κείμενο Επικύρωσης*, *Απαιτείται* (για το πεδίο Χρήστης), *Δεν Απαιτείται* (για το πεδίο Αλλαγή Οργάνου), χωρίς *Μηδενικό Μήκος*, υπάρχει *Ευρετήριο* (επιτρέπονται οι διπλότυπες εγγραφές) και με *Συμπίεση Unicode*.

4.3. ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΧΕΣΕΩΝ

Το πρώτο βήμα ολοκληρώθηκε, με τη δημιουργία και τον σχεδιασμό των πινάκων. Επομένως τώρα θα πρέπει να γίνει η συσχέτιση των πινάκων, για να επακολουθήσει αργότερα η δημιουργία των ερωτημάτων, των φορμών και των εκθέσεων. Δεν είναι απαραίτητο, να γίνει συσχέτιση σε όλους τους πίνακες, αλλά σε αυτούς, τους οποίους θεωρεί ο προγραμματιστής ότι θα πρέπει να γίνει. Η συσχέτιση έγινε στους εξής πίνακες, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα ανάλυσης των σχέσεων:

1. Ο πίνακας Π-Γραφική Παράσταση Μέρους έγινε συσχέτιση με τον πίνακα Π-Πρόβλημα, Λύση Μέρους με είδος σχέσης ένα προς πολλά ($1 \rightarrow \infty$).
2. Ο πίνακας Π-Γραφική Παράσταση έγινε συσχέτιση με τον πίνακα Π-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση με είδος σχέσης ένα προς πολλά ($1 \rightarrow \infty$).



Εικόνα 4. 3. – Ανάλυση Σχέσεων

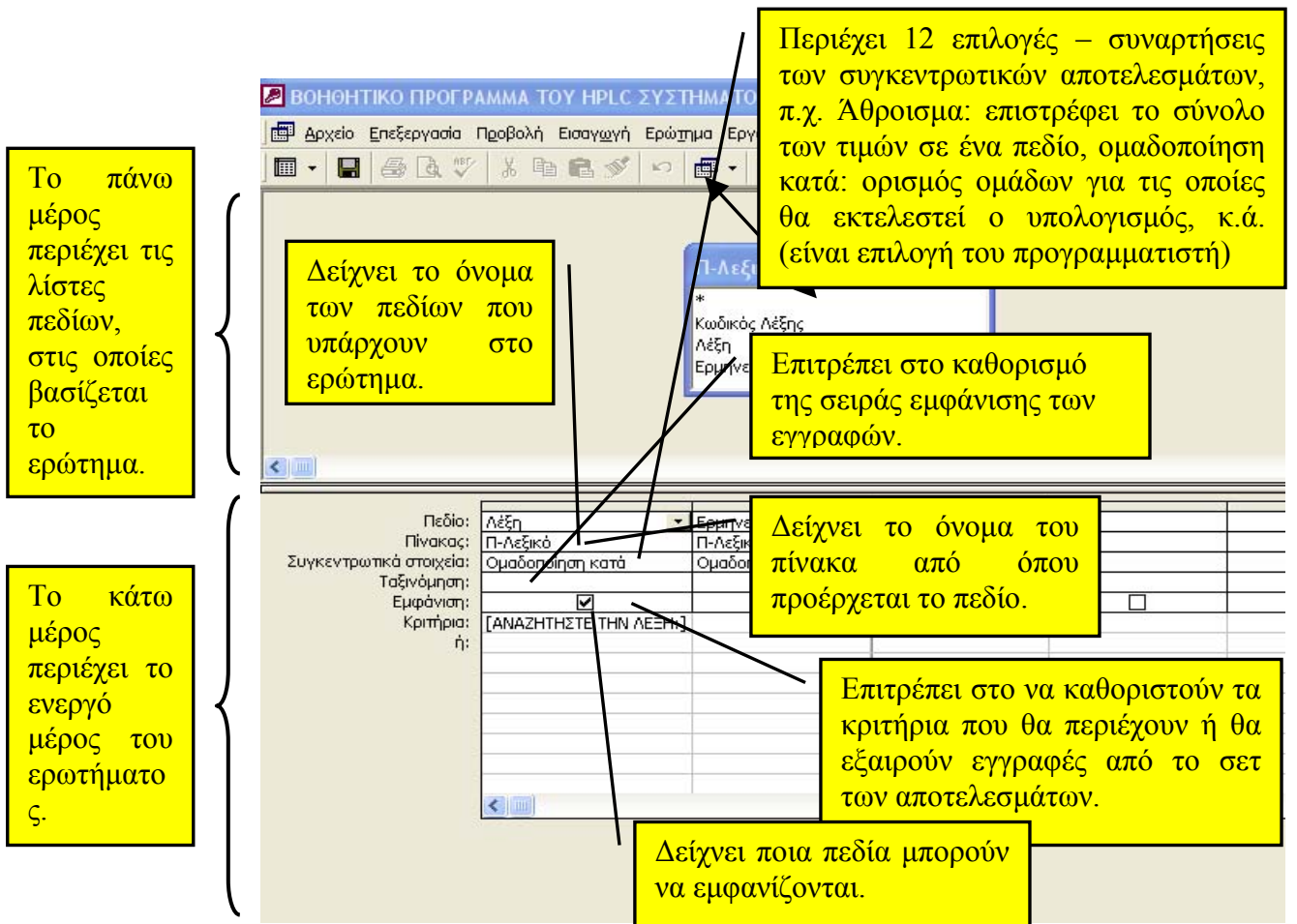
4.4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΡΩΤΗΜΑΤΩΝ

Αφού, έγινε λοιπόν η συσχέτιση των πινάκων, η ανάλυση θα προχωρήσει στα ερωτήματα που δημιουργήθηκαν για να χρησιμοποιηθούν ως προέλευση εγγράφων στις φόρμες. Και είναι τα εξής:

- Ε-Αναζήτηση λέξης

Παρακάτω, φαίνεται η επεξήγηση της υλοποίησης ενός ερωτήματος:

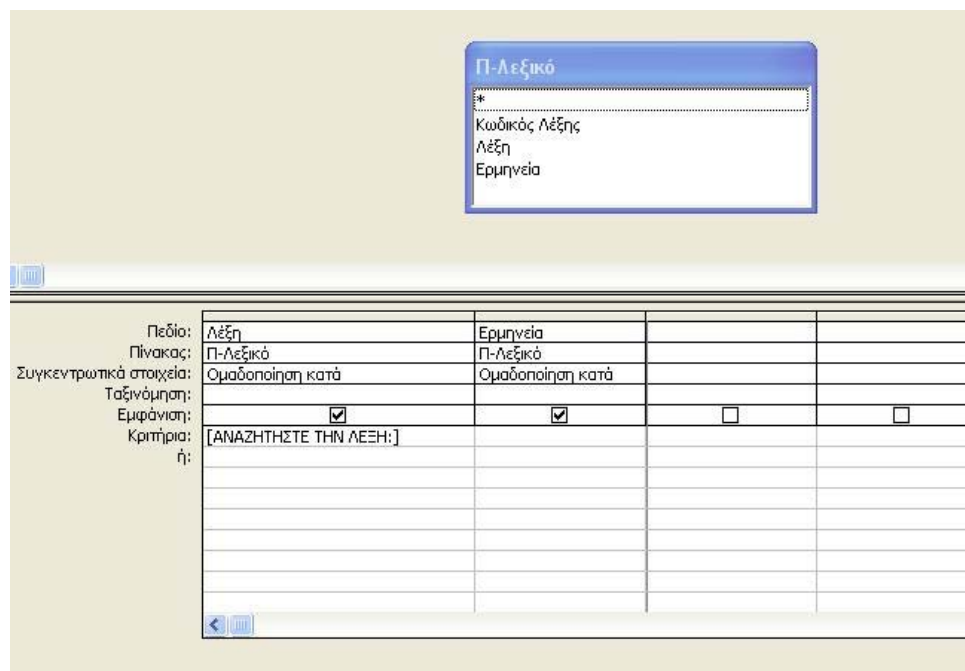
Ενώ, εδώ φαίνεται η σχηματική επεξήγηση, η ανάλυση και η δομή ενός ερωτήματος:



Εικόνα 4. 4. – Αναλυτική Απεικόνιση Ερωτήματος

4.4.1. Λεπτομερής Ανάλυση Ερωτήματος

Τέλος, για το ερώτημα Ε-Αναζήτηση λέξης υπήρχαν οι εξής ρυθμίσεις, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 4. 5. – Το Ερώτημα Αναζήτηση Λέξης

Το ερώτημα αυτό δημιουργήθηκε για να μπορεί ο χειριστής μέσα από τη φόρμα Φ-Λεξικό να μπορεί να βρίσκει εύκολα και γρήγορα πληροφορίες για όρους, τύπους κτλ. που αφορούν το HPLC SP 8800. Οι ρυθμίσεις για το ερώτημα αυτό, είναι:

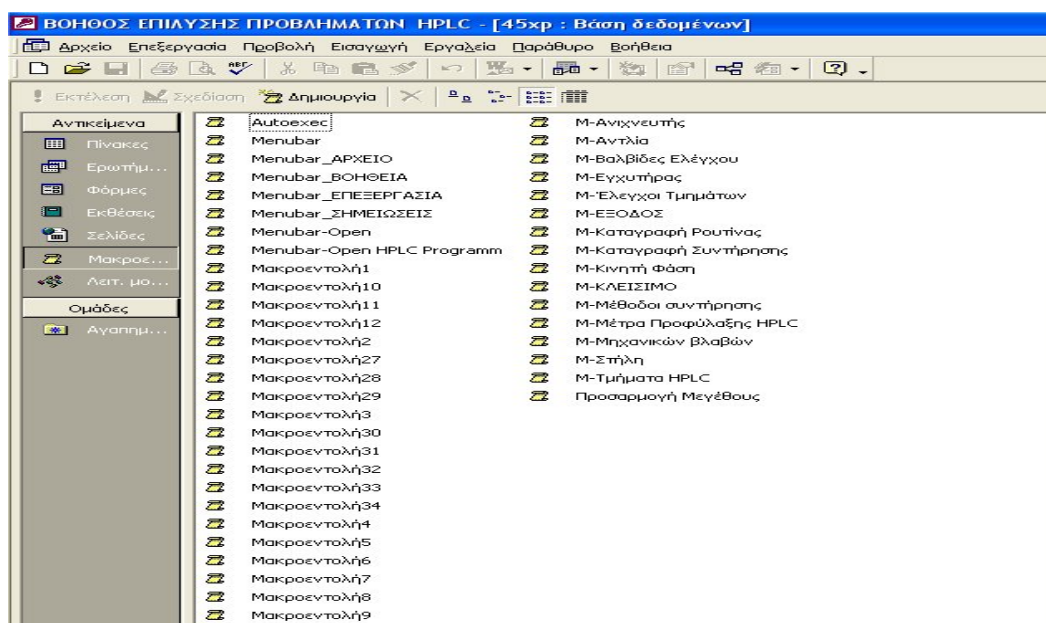
- ✓ Τα πεδία που υπάρχουν στο ερώτημα είναι τα:
 1. Λέξη
 2. Ερμηνεία
- ✓ Τα πεδία αυτά προήλθαν από τον πίνακα: Π- Λεξικό.
- ✓ Στην γραμμή της ταξινόμησης δεν σημειώθηκε τίποτα.
- ✓ Στην γραμμή της εμφάνισης σημειώθηκε να εμφανίζονται και τα δύο πεδία.
- ✓ Στην γραμμή των κριτηρίων σημειώθηκε μόνο στο πεδίο του Προβλήματος, η παράμετρος : [ΑΝΑΖΗΤΗΣΤΕ ΤΗΝ ΛΕΞΗ:].
- ✓ Στα συγκεντρωτικά στοιχεία έγινε η επιλογή: Ομαδοποίηση Κατά και για τα δύο πεδία.

Ο Κώδικας SQL για το ερώτημα είναι:

```
SELECT [Π-Λεξικό].Λέξη, [Π-Λεξικό].Ερμηνεία
FROM [Π-Λεξικό]
GROUP BY [Π-Λεξικό].Λέξη, [Π-Λεξικό].Ερμηνεία
HAVING ((([Π-Λεξικό].Λέξη)=[ΑΝΑΖΗΤΗΣΤΕ ΤΗΝ ΛΕΞΗ:]));
```

4.5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΑΚΡΟΕΝΤΟΛΩΝ

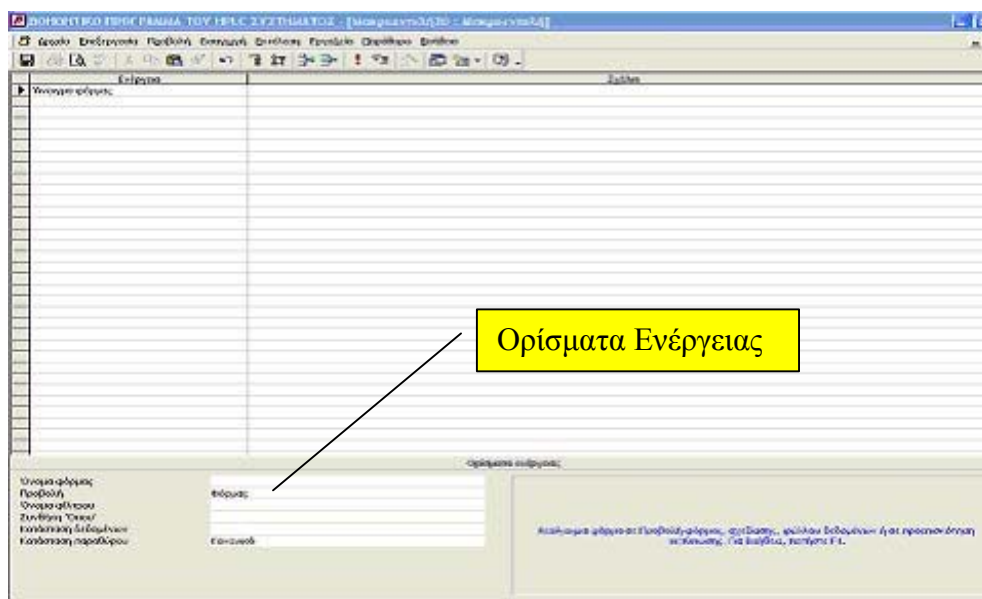
Το σύνολο των μακροεντολών που χρησιμοποιήθηκαν στο πρόγραμμα, είναι:



Εικόνα 4. 6. – Απεικόνιση Όλων Των Μακροεντολών

Δεν χρησιμοποιήθηκαν όλες οι αναφερόμενες ενέργειες, όπως αναφέρθηκαν στο εισαγωγικό μέρος, αλλά κάποιες από αυτές: Άνοιγμα φόρμας, Προσθήκη μενού, Εκτέλεση εντολής, Εκτέλεση μακροεντολής, Εκτέλεση εφαρμογής, Μεγιστοποίηση, Μετάβαση σε εγγραφή και Μετακίνηση-Προσαρμογή Μεγέθους.

Η κάθε ενέργεια περιέχει ένα πλαίσιο στο κάτω μέρος, σε αυτό το πλαίσιο, υπάρχουν τα ορίσματα ενέργειας, τα οποία ανάλογα πώς θα συμπληρωθούν, θα είναι και η συμπεριφορά της μακροεντολής.



Εικόνα 4. 7. – Απεικόνιση Σχεδιασμού Μακροεντολής

Έτσι, για το άνοιγμα φόρμας υπάρχουν τα εξής ορίσματα:

Όνομα φόρμας, Προβολή, Όνομα φίλτρου, Συνθήκη «Όπου», Κατάσταση δεδομένων, Κατάσταση παραθύρου.

Για την ενέργεια προσθήκης μενού, τα ορίσματα ενέργειας είναι:

Όνομα μενού, Όνομα μακροεντολής μενού, Κείμενο γραμμής κατάστασης.

Για την ενέργεια εκτέλεση εντολής, τα ορίσματα ενέργειας, έχουν ως εξής:

Εντολή

Για την ενέργεια εκτέλεση μακροεντολής, ισχύουν τα παρακάτω ορίσματα ενέργειας:

Όνομα μακροεντολής, Μέτρηση ελέγχου επαναλήψεων, Έκφραση ελέγχου επαναλήψεων

Για την ενέργεια εκτέλεση εφαρμογής, τα ορίσματα ενέργειας είναι:

Γραμμή εντολής

Για την ενέργεια μετάβαση εγγραφής, τα ορίσματα ενέργειας, έχουν ως εξής:

Τύπος αντικείμενου, Όνομα αντικείμενου, Εγγραφή, Απόσταση

4.5.1. Λεπτομερής Ανάλυση Μακροεντολών

Οι μακροεντολές που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

✓ Autoexec	✓ Menubar
✓ Menubar_ΑΡΧΕΙΟ	✓ Menubar_ΒΟΗΘΕΙΑ
✓ Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	✓ Menubar_ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ
✓ Menubar-Open	✓ Menubar-Open HPLC Program
✓ M-Ανιχνευτής	✓ M-Αντλία
✓ M-Βαλβίδες Ελέγχου	✓ M-Εγχυτήρας
✓ M-Ελεγχοί Τμημάτων	✓ M-ΕΞΟΔΟΣ
✓ M-Καταγραφή Ρουτίνας	✓ M-Καταγραφή Συντήρησης
✓ M-Κινητή Φάση	✓ M-ΚΛΕΙΣΙΜΟ
✓ M-Μέθοδοι συντήρησης	✓ M-Μέτρα Προφύλαξης HPLC
✓ M-Μηχανικών βλαβών	✓ M-Στήλη
✓ M-Τμήματα HPLC	✓ Προσαρμογή Μεγέθους
✓ Μακροεντολή1	✓ Μακροεντολή2
✓ Μακροεντολή3	✓ Μακροεντολή4
✓ Μακροεντολή5	✓ Μακροεντολή6
✓ Μακροεντολή7	✓ Μακροεντολή8
✓ Μακροεντολή9	✓ Μακροεντολή10
✓ Μακροεντολή11	✓ Μακροεντολή12
✓ Μακροεντολή27	✓ Μακροεντολή28
✓ Μακροεντολή29	✓ Μακροεντολή30
✓ Μακροεντολή31	✓ Μακροεντολή32
✓ Μακροεντολή33	✓ Μακροεντολή34

Πίνακας 4. 10. – Παρουσίαση Των Μακροεντολών

Για την κάθε μακροεντολή που αναφέρεται πιο πάνω, οι ενέργειες και τα ορίσματα ενεργειών που συμπληρώθηκαν για τη σωστή λειτουργία τους, είναι τα εξής:

ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΕΚΚΙΝΗΣΗ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

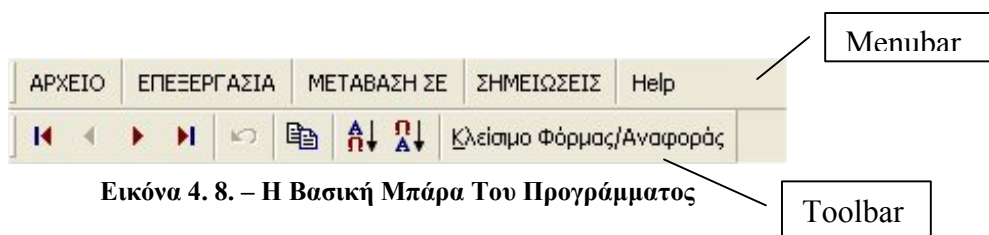
Καταρχήν η μακροεντολή M-Autoexec σχεδιάστηκε για να γίνεται το άνοιγμα του προγράμματος αυτόματα, χωρίς ο χειριστής να κάνει άλλη ενέργεια πέρα από ένα διπλό κλικ στο εικονίδιο του προγράμματος κι έτσι να ανοιχτεί η φόρμα του κεντρικού μενού. Οι ρυθμίσεις που έγιναν σε αυτή την μακροεντολή ήταν:

Η ενέργεια της μακροεντολής είναι *Άνοιγμα Φόρμας*, ενώ τα ορίσματα ενέργειας είναι τα εξής: το όνομα φόρμας είναι *Φ-Main Menu*, η προβολή είναι *Φόρμα*, χωρίς όνομα φίλτρου και η συνθήκη «Όπου» *κενή*, ενώ η κατάσταση δεδομένων είναι *Μόνο για ανάγνωση* και κατάσταση παραθύρου *Κανονικό*.

ΓΡΑΜΜΕΣ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ – Menubar & Toolbar

Η μακροεντολή **Menubar** χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία «menubar», μπάρας ή γραμμής εργαλείων, η οποία βοηθάει στην πλοήγηση του προγράμματος. Ενώ, η γραμμή

εργαλείων Toolbar βοηθάει στην πλοήγηση των φορμών. Με αυτή τη μακροεντολή, βλέπει ο χειριστής συνεχώς την γραμμή εργαλείων, όπως φαίνεται στην εικόνα:



Εικόνα 4. 8. – Η Βασική Μπάρα Του Προγράμματος

Οι ρυθμίσεις είναι:

Η μακροεντολή **Menubar** έχει τέσσερις ενέργειες *Προσθήκη Μενού*, πιο αναλυτικά:

Ορίσματα Ενέργεια	Όνομα μενού	Όνομα μακροεντολής μενού	Κείμενο γραμμής κατάστασης
Προσθήκη Μενού της M-Menubar	<i>ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ</i>	<i>Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ</i>	<i>KENO</i>
Προσθήκη Μενού της M-Menubar	<i>ΑΡΧΕΙΟ</i>	<i>Menubar_ΑΡΧΕΙΟ</i>	<i>KENO</i>
Προσθήκη Μενού της M-Menubar	<i>ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ</i>	<i>Menubar_ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ</i>	<i>KENO</i>
Προσθήκη Μενού της M-Menubar	<i>ΒΟΗΘΕΙΑ</i>	<i>Menubar_ΒΟΗΘΕΙΑ</i>	<i>KENO</i>

Πίνακας 4. 11. – Menubar & Toolbar

ΓΡΑΜΜΕΣ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ - Εντολές

Οι μακροεντολές **Menubar_ΑΡΧΕΙΟ**, **Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ**, **Menubar_ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ**, **Menubar-Open**, **Menubar-Open HPLC Program** βοήθησαν στην δημιουργία των εντολών στις γραμμές εργαλείων που είδαμε πιο πριν. Έτσι δημιουργήθηκαν εντολές όπως η επικόλληση, αντιγραφή, αποκοπή, εκτύπωση, έξοδος του προγράμματος, επιλογή της κατάλληλης γραμματοσειράς κ.ά..

Η μακροεντολή **Menubar_ΑΡΧΕΙΟ** έχει δύο ενέργειες για *Εκτέλεση Εντολής*, ενώ η μακροεντολή **Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ** έχει επτά ενέργειες ως *Εκτέλεση Εντολής*. Οι ρυθμίσεις των μακροεντολών είναι:

Ορίσματα	Εντολή
Ενέργεια	
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ARXEIO	Εκτύπωση
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ARXEIO	Έξοδος
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	Αναίρεση
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	Αποκοπή
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	Αντιγραφή
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	Επικόλληση
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	Αύξουσα ταξινόμηση
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	Φθίνουσα ταξινόμηση
Εκτέλεση Εντολής της M-Menubar_ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	Γραμματοσειρά

Πίνακας 4. 12. – Εντολές

Η μακροεντολή **Menubar_ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ** έχει σαν ενέργεια την *Εκτέλεση Εφαρμογής* και σαν όρισμα ενέργειας την γραμμή εντολής *notepad.exe*, με την οποία ανοίγει το σημειωματάριο των Windows (οποιασδήποτε έκδοσης).

Οι μακροεντολές **Menubar-Open** και **Menubar-Open HPLC Program** βοηθάνε στη πλοήγηση και στη μετακίνηση στις διάφορες φόρμες του προγράμματος. Και οι δύο μακροεντολές έχουν σαν βασική τους ενέργεια το *Άνοιγμα Φόρμας*. Πιο αναλυτικά, η **Menubar-Open** έχει έντεκα ενέργειες σαν *Άνοιγμα Φόρμας*, τρεις ενέργειες σαν *Μετάβαση Σε Εγγραφή* και μία ενέργεια σαν *Μεγιστοποίηση*. Η μακροεντολή **Menubar-Open HPLC Program** έχει τρεις ενέργειες, *Άνοιγμα Φόρμας*. Αναλυτικά:

Ορίσματα	Όνομα φόρμας	Προβολή	Κατάσταση δεδομένων	Κατάσταση παραθύρου
Ενέργεια				
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Λεξικό	Φόρμας	Επεξεργασία	Κανονικό
Άνοιγμα Φόρμας	Main Menu	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Λίστα Μερών Μηχ/τος	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό
Άνοιγμα Φόρμας της Menubar-Open	Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων Εκτός	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό

	<i>Γραμμής Αναφοράς</i>			
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φήμάτων Στην Γραμμής Αναφοράς</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Συνολικά Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς1</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Συνολικά Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς2</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Προβλήματα Χρωμ/φήμάτων Εκτός Γραμμής Αναφοράς</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Μέθοδοι Συντήρησης</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Σχετικά</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Βοήθεια Χειρισμού Προγράμματος</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>

Πίνακας 4. 13. – M-Menubar-Open και M-Menubar-Open HPLC Program

Τα ορίσματα ενέργειας Όνομα Φίλτρου και Συνθήκη Όπου δεν χρησιμοποιήθηκαν.

Οι υπόλοιπες ενέργειες της μακροεντολής Menubar-Open, η μία ενέργεια σαν *Μεγιστοποίηση*, η οποία δεν έχει ορίσματα ενέργειας και τις τρεις σαν *Μετάβαση Σε Εγγραφή* αναλύονται παρακάτω:

Ορίσματα Ενέργεια	Τύπος αντικειμένου	Όνομα αντικειμένου	Εγγραφή	Απόσταση
Μετάβαση Σε Εγγραφή	<i>Φόρμα</i>	<i>Φ-Λεξικό</i>	<i>Πρώτη</i>	<i>KENO</i>
Μετάβαση Σε Εγγραφή	<i>Φόρμα</i>	<i>Φ-Συνολικά Λανθασμένα</i>	<i>Πρώτη</i>	<i>KENO</i>

			<i>Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς1</i>		
Μετάβαση Σε Εγγραφή	<i>Φόρμα</i>		<i>Φ-Συνολικά Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς2</i>	<i>Πρώτη</i>	<i>KENO</i>

Πίνακας 4. 14. – M-Menubar-Open & M-Menubar-Open HPLC Program

ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΑΝΑ ΤΜΗΜΑ

Οι μακροεντολές **M-Ανιχνευτής**, **M-Αντλία**, **M-Βαλβίδες Ελέγχου**, **M-Εγχυτήρας**, **M-Κινητή Φάση** και **M-Στήλη** έχουν σαν σκοπό μέσα από τη **Φ-Λίστα Μερών Μηχ/τος**, να ανοίγουν οι αντίστοιχες **Φ-Ανιχνευτής**, **Φ-Αντλία**, **Φ-Βαλβίδες Ελέγχου**, **Φ-Εγχυτήρας**, **Φ-Κινητή Φάση** και **Φ-Στήλη**, οι οποίες παρουσιάζουν τα προβλήματα που οφείλονται σε αυτά τα τμήματα του συστήματος και τις αντίστοιχες λύσεις τους.

Κάθε μακροεντολή έχει δύο ενέργειες, την ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας* και την ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή*. Τα ορίσματα ενέργειας για το άνοιγμα φόρμας είναι:

Ορίσματα Ενέργεια	Όνομα φόρμας	Προβολή	Κατάσταση δεδομένων	Κατάσταση παραθύρου
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Ανιχνευτής</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Αντλία</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Βαλβίδες Ελέγχου</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Εγχυτήρας</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Κινητή Φάση</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>
Άνοιγμα Φόρμας	<i>Φ-Στήλη</i>	<i>Φόρμας</i>	<i>Μόνο για ανάγνωση</i>	<i>Κανονικό</i>

Πίνακας 4. 15. – Μηχανικές Βλάβες Ανά Τμήμα

Τα ορίσματα ενέργειας Όνομα Φίλτρου και Συνθήκη ‘Όπου’ δεν χρησιμοποιήθηκαν.

Ενώ, τα ορίσματα ενέργειας για την ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή* είναι:

Ορίσματα Ενέργεια	Τύπος αντικειμένου	Όνομα αντικειμένου	Εγγραφή	Απόστασ η
----------------------	-----------------------	--------------------	---------	--------------

Μετάβαση Σε Εγγραφή	Φόρμα	Φ-Ανιχνευτής	Πρώτη	KENO
Μετάβαση Σε Εγγραφή	Φόρμα	Φ-Αντλία	Πρώτη	KENO
Μετάβαση Σε Εγγραφή	Φόρμα	Φ-Βαλβίδες Ελέγχου	Πρώτη	KENO
Μετάβαση Σε Εγγραφή	Φόρμα	Φ-Εγχυτήρας	Πρώτη	KENO
Μετάβαση Σε Εγγραφή	Φόρμα	Φ-Κινητή Φάση	Πρώτη	KENO
Μετάβαση Σε Εγγραφή	Φόρμα	Φ-Στήλη	Πρώτη	KENO

Πίνακας 4. 16. – Μηχανικές Βλάβες Ανά Τμήμα

ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

Οι μακροεντολές **Μ-Έλεγχοι Τμημάτων**, **Μ-Μέτρα Προφύλαξης HPLC**, και **Μ-Μέθοδοι Συντήρησης** βοηθούν στη φόρμα **Φ-Μέθοδοι Συντήρησης**, όπου ο χειριστής μπορεί να αναγνωρίσει μεθόδους και υποδείξεις για την καλύτερη συντήρηση του συστήματος HPLC. Οι **Μ-Έλεγχοι Τμημάτων** και **Μ-Μέτρα Προφύλαξης HPLC** έχουν δύο ενέργειες, την ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας* και την ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή*. Η **Μ-Μέθοδοι Συντήρησης** έχει την ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας*. Τα ορίσματα ενέργειας για την ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας* και των τριών μακροεντολών είναι τα ακόλουθα:

Ορίσματα Ενέργεια	Όνομα φόρμας	Προβολή	Κατάσταση δεδομένων	Κατάσταση παραθύρου
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Έλεγχοι Τμημάτων	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Μέτρα Προφύλαξης Συστήματος HPLC	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Μέθοδοι Συντήρησης	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό

Πίνακας 4. 17. – Μέθοδοι Συντήρησης

Τα ορίσματα ενέργειας Όνομα Φίλτρου και Συνθήκη 'Όπου' δεν χρησιμοποιήθηκαν.

Για τις **Μ-Έλεγχοι Τμημάτων**, **Μ-Μέτρα Προφύλαξης HPLC** τα ορίσματα ενέργειας για την ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή* είναι τα εξής:

Ορίσματα Ενέργεια	Τύπος αντικειμένου	Όνομα αντικειμένου	Εγγραφή	Απόσταση
Μετάβαση Σε Εγγραφή της	Φόρμα	Φ-Ελεγχοι Τμημάτων	Πρώτη	KENO
Μετάβαση Σε Εγγραφή της	Φόρμα	Φ-Μέτρα Προφύλαξης Συστήματος HPLC	Πρώτη	KENO

Πίνακας 4. 18. – Μέθοδοι Συντήρησης

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ

Οι μακροεντολές **M-Μακροεντολή1** έως **M-Μακροεντολή12** και **M-Μακροεντολή27** έως **M-Μακροεντολή34** έχουν σαν σκοπό από τη φόρμα **Φ-Προβλήματα Γραφικών** να επιλεγούν τα χρωματογραφήματα που θέλει να δει και να ελέγξει ο χειριστής. Οι **M-Μακροεντολή1** έως **M-Μακροεντολή12** λοιπόν θα τον οδηγήσουν στην φόρμα **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς**, όπου εκεί θα συναντήσει λύσεις στα προβλήματα των χρωματογραφημάτων που βρίσκονται **εκτός** βασικής γραμμής αναφοράς. Ενώ, οι **M-Μακροεντολή27** έως **M-Μακροεντολή34** θα τον οδηγήσουν στην **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς** όπου εκεί θα συναντήσει λύσεις στα προβλήματα των χρωματογραφημάτων που βρίσκονται **στην** βασική γραμμή αναφοράς.

Υπάρχουν δύο ενέργειες για όλες τις μακροεντολές, η ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας* και η ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή*. Τα ορίσματα ενέργειας για την ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας* είναι τα ίδια για όλες τις μακροεντολές από **M-Μακροεντολή1** έως **M-Μακροεντολή26** και είναι:

Ορίσματα Ενέργεια	Όνομα φόρμας	Προβολή	Κατάσταση δεδομένων	Κατάσταση παραθύρου
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό

Πίνακας 4. 19. – Χρωματογραφήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς

Τα ορίσματα ενέργειας Όνομα Φίλτρου και Συνθήκη 'Όπου' δεν χρησιμοποιήθηκαν.

Ενώ, τα ορίσματα ενέργειας για την ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή* είναι τα ίδια σε όλες τις μακροεντολές από **M-Μακροεντολή1** έως την **M-Μακροεντολή12** εκτός από το όρισμα της απόστασης που αλλάζει, όπως παρουσιάζεται και στον παρακάτω πίνακα:

Ορίσματα	Τύπος αντικειμένου	Όνομα αντικειμένου	Εγγραφή	Απόσταση
Ενέργεια				
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή1	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς	Μετάβαση στην	=1
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή2	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς	Μετάβαση στην	=2
<u>ΕΩΣ</u>				
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή11	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς	Μετάβαση στην	=11
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή12	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς	Μετάβαση στην	=12

Πίνακας 4. 20. – Χρωματογραφήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς

Υπάρχουν επίσης, δύο ενέργειες για τις **Μ-Μακροεντολή27** έως **Μ-Μακροεντολή34**, η ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας* και η ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή*. Τα ορίσματα ενέργειας για την ενέργεια *Άνοιγμα Φόρμας* είναι τα ίδια για όλες τις μακροεντολές από **Μ-Μακροεντολή27** έως **Μ-Μακροεντολή34** και είναι:

Ορίσματα	Όνομα φόρμας	Προβολή	Κατάσταση δεδομένων	Κατάσταση παραθύρου
Ενέργεια				
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό

Πίνακας 4. 21. – Χρωματογραφήματα Στην Γραμμή Αναφοράς

Τα ορίσματα ενέργειας Όνομα Φίλτρου και Συνθήκη 'Όπου' δεν χρησιμοποιήθηκαν.

Ενώ, τα ορίσματα ενέργειας για την ενέργεια *Μετάβαση Σε Εγγραφή* είναι τα ίδια σε όλες τις μακροεντολές από Μ-Μακροεντολή27 έως την Μ-Μακροεντολή38 εκτός από το όρισμα της απόστασης που αλλάζει, όπως παρουσιάζεται και στον παρακάτω πίνακα:

Ορίσματα Ενέργεια	Τύπος αντικειμένου	Όνομα αντικειμένου	Εγγραφή	Απόσταση
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή27	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς	Μετάβαση στην	=1
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή28	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς	Μετάβαση στην	=2
<u>ΕΩΣ</u>				
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή33	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς	Μετάβαση στην	=6
Μετάβαση Σε Εγγραφή της Μ-Μακροεντολή34	Φόρμα	Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς	Μετάβαση στην	=8

Πίνακας 4. 22. – Χρωματογραφήματα Στην Γραμμή Αναφοράς

ΜΑΚΡΟΕΝΤΟΛΕΣ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ

Οι μακροεντολές **Μ-Καταγραφή Ρουτίνας** και **Μ-Καταγραφή Συντήρησης**, δημιουργήθηκαν για το άνοιγμα των αντίστοιχων φορμών **Φ-Καταγραφή Ρουτίνας** και **Φ-Καταγραφή Συντήρησης**. Έχουν μια ενέργεια, το *Άνοιγμα Φόρμας*, ενώ τα αντίστοιχα ορίσματα ενέργειας για την κάθε μακροεντολή είναι:

Ορίσματα Ενέργεια	Όνομα φόρμας	Προβολή	Κατάσταση δεδομένων	Κατάσταση παραθύρου
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Καταγραφή Ρουτίνας	Φόρμας	Επεξεργασία	Κανονικό

Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Καταγραφή Συντήρησης	Φόρμας	Επεξεργασία	Κανονικό
----------------	---------------------------	--------	-------------	----------

Πίνακας 4. 23. – Καταγραφή Ρουτίνας & Συντήρησης

ΑΛΛΕΣ ΜΑΚΡΟΕΝΤΟΛΕΣ

Οι μακροεντολές **M-Μηχανικών βλαβών**, και **M-Τμήματα HPLC**, έχουν μια ενέργεια, το *Άνοιγμα Φόρμας*, ενώ τα αντίστοιχα ορίσματα ενέργειας αλλάζουν από μακροεντολή σε μακροεντολή.

Ορίσματα Ενέργεια	Όνομα φόρμας	Προβολή	Κατάσταση δεδομένων	Κατάσταση παραθύρου
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Μηχανικών Βλαβών	Φόρμας	Μόνο για ανάγνωση	Κανονικό
Άνοιγμα Φόρμας	Φ-Τμήματα HPLC	Φόρμας	Επεξεργασία	Κανονικό

Πίνακας 4. 24. – Καταγραφή Ρουτίνας & Συντήρησης

Τα ορίσματα ενέργειας Όνομα φίλτρου και η Συνθήκη «Όπου» έμειναν κενά.

Η μακροεντολή **M-ΕΞΟΔΟΣ** δημιουργήθηκε για να μπορεί ο χειριστής να βγαίνει από το πρόγραμμα σωστά και να επιστρέφει στα Windows. Η ενέργεια της μακροεντολής είναι *Εξοδος* και το όρισμα ενέργειας είναι επιλογή *Εξοδος*.

Η μακροεντολή **M-ΚΛΕΙΣΙΜΟ** δημιουργήθηκε για να μπορεί ο χειριστής να κλείνει κάποιες φόρμες χωρίς να βγαίνει από το πρόγραμμα και μετά να ξαναμπάνει. Η ενέργεια της M-ΚΛΕΙΣΙΜΟ είναι *Εκτέλεση Εντολής* και το όρισμα ενέργειας είναι εντολή *Κλείσιμο*.

Η μακροεντολή **Προσαρμογή μεγέθους** δημιουργήθηκε για να προσαρμοστεί το μέγεθος των εικόνων που χρησιμοποιήθηκαν σαν φόντο σε κατάλληλο μέγεθος. Η μακροεντολή έχει σαν ενέργεια την *Μετακίνηση-Προσαρμογή μεγέθους* και σαν ορίσματα ενέργειας τα εξής: δεξιά 1,982εκ., κάτω 1,577εκ., πλάτος 17,901εκ. και ύψος 12,547εκ..

4.6. ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΟΡΜΩΝ

Αφού ολοκληρώθηκε ο σχεδιασμός και η υλοποίηση των πινάκων, η συσχέτιση μεταξύ τους, η δημιουργία των ερωτημάτων και των μακροεντολών, τώρα το πρόγραμμα πλησιάζει στην τελική του μορφή με το σχεδιασμό των φορμών, οι οποίες παρουσιάζουν το προφίλ του προγράμματος. Όπως έχει αναφερθεί, στην φόρμα τοποθετούνται στοιχεία ελέγχου για να κάνει τις ενέργειες που θέλει ο χειριστής, όπως πληκτρολόγηση, εμφάνιση κι επεξεργασία δεδομένων σε πεδία. Οι φόρμες που δημιουργήθηκαν είναι:

✓ Main Menu	✓ Φ-Ανιχνευτής
✓ Φ-Αντλία	✓ Φ-Βαλβίδες Ελέγχου
✓ Φ-Εγχυτήρας	✓ Φ-Ε-Εύρεση λέξης
✓ Φ-Έλεγχοι Τμημάτων	✓ Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φήμάτων Εκτός Γραμμής Αναφοράς
✓ Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φήμάτων Στην Γραμμής Αναφοράς	✓ Φ-Καταγραφή Ρουτίνας
✓ Φ-Καταγραφή Συντήρησης	✓ Φ-Κινητή Φάση
✓ Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς	✓ Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς
✓ Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς Δευτερεύουσα φόρμα	✓ Φ-Λεξικό
✓ Φ-Λίστα Μερών Μηχ/τος	✓ Φ-Μέθοδοι Συντήρησης
✓ Φ-Μέρη Συστήματος HPLC	✓ Φ-Μέτρα Προφύλαξης Συστήματος HPLC
✓ Φ-Πρόβλημα, Λύση Μέρους Δευτερεύουσα φόρμα2	✓ Φ-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση Δευτερεύουσα φόρμα1
✓ Φ-Στήλη	✓ Φ-Συνολικά Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς1
✓ Φ-Συνολικά Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στην Γραμμή Αναφοράς2	✓ Φ-Σχετικά
✓ Φ-Τμήματα HPLC	

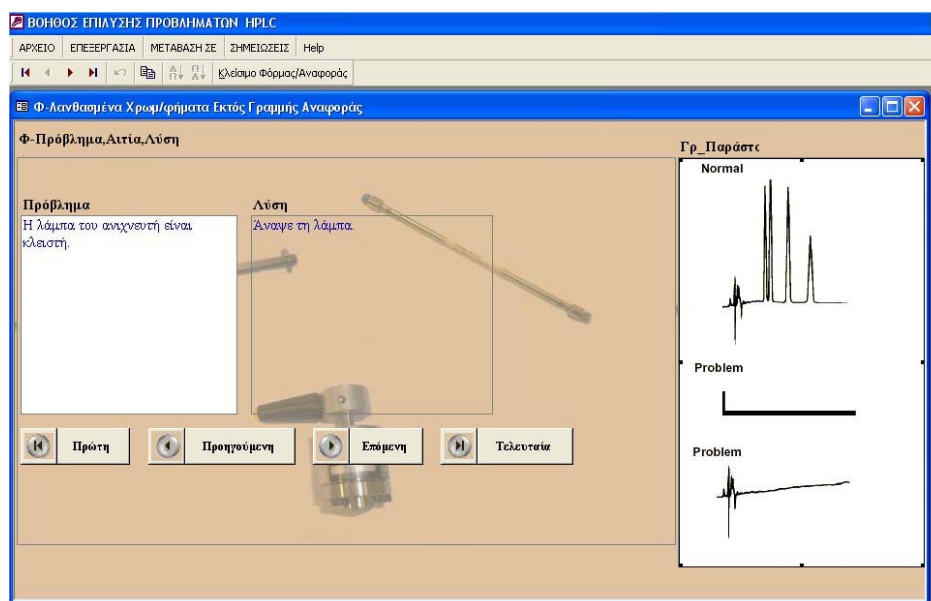
Πίνακας 5. 25. – Παρουσίαση Των Φορμών

Όπως είδαμε στις προηγούμενες παραγράφους ως προς τις αναλύσεις των πινάκων και των μακροεντολών, όπου υπήρχαν ιδιότητες για κάθε πίνακα και για κάθε μακροεντολή, έτσι και οι φόρμες περιέχουν ιδιότητες, οι οποίες παίζουν ρόλο στον τρόπο εμφάνισης τους και στην λειτουργία τους.

Οι φόρμες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες στις κύριες και στις δευτερεύουσες φόρμες. Δευτερεύουσα φόρμα υπάρχει όταν πρέπει να συνδυαστούν δύο φόρμες για να δημιουργηθεί μία γενική. Τότε, η μία ονομάζεται κύρια και η άλλη δευτερεύουσα φόρμα. Όταν, δεν υπάρχει αυτός ο συνδυασμός, τότε υπάρχει μία φόρμα και η οποία θα ονομάζεται κύρια.

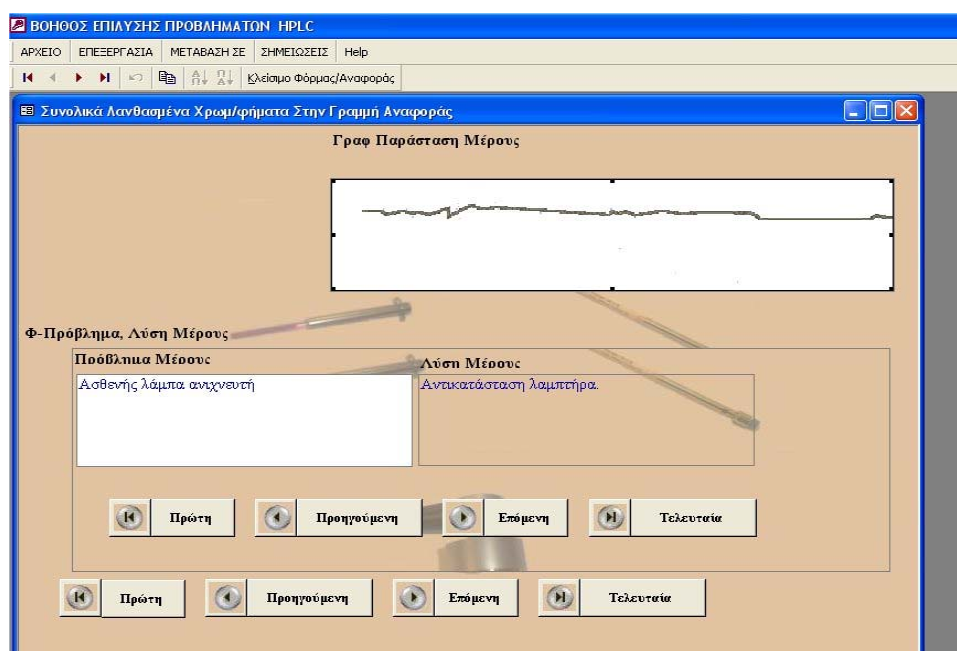
Οι κύριες φόρμες και οι δευτερεύουσες φόρμες που συγχρόνως υπάρχουν, είναι:

- ✓ Η φόρμα **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς** και η **Φ-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση Δευτερεύουσα φόρμα**



Εικόνα 4. 9. – Φόρμα Φ-Λανθασμένα Χρωματογραφήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς

- ✓ Η φόρμα **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στη Γραμμή Αναφοράς** και η **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στη Γραμμή Αναφοράς Δευτερεύουσα φόρμα**



Εικόνα 4. 10. – Φόρμα Φ-Λανθασμένα Χρωματογραφήματα Στη Γραμμή Αναφοράς

Σε αυτές τις φόρμες, υπάρχουν τα χρωματογραφήματα χωρισμένα με βάση σε ποια κατηγορία ανήκουν, δηλαδή αν εμφανίζονται τα λανθασμένα χρωματογραφήματα στη βασική γραμμή αναφοράς ή όχι. Επίσης, δίνονται ως πληροφορίες ποιο μέρος του συστήματος του HPLC έχει το πρόβλημα και ποια είναι η αιτία του λανθασμένου χρωματογραφήματος οι αντίστοιχες λύσεις, τις οποίες θα πρέπει ο χειριστής να εφαρμόσει ενώ, υπάρχουν και τα σωστά χρωματογραφήματα

Οι αιτίες και οι λύσεις για κάθε χρωματογράφημα βρίσκονται στην δευτερεύουσα φόρμα. Με αυτές τις φόρμες ο χειριστής μπορεί εύκολα, απλά και πρακτικά να βρει το λανθασμένο χρωματογράφημα το πρόβλημα στο οποίο οφείλεται και την λύση του προβλήματος, με την οποία αν καταφέρει να λύσει το πρόβλημα, θα μπορεί να έχει και το σωστό και φυσιολογικό χρωματογράφημα.

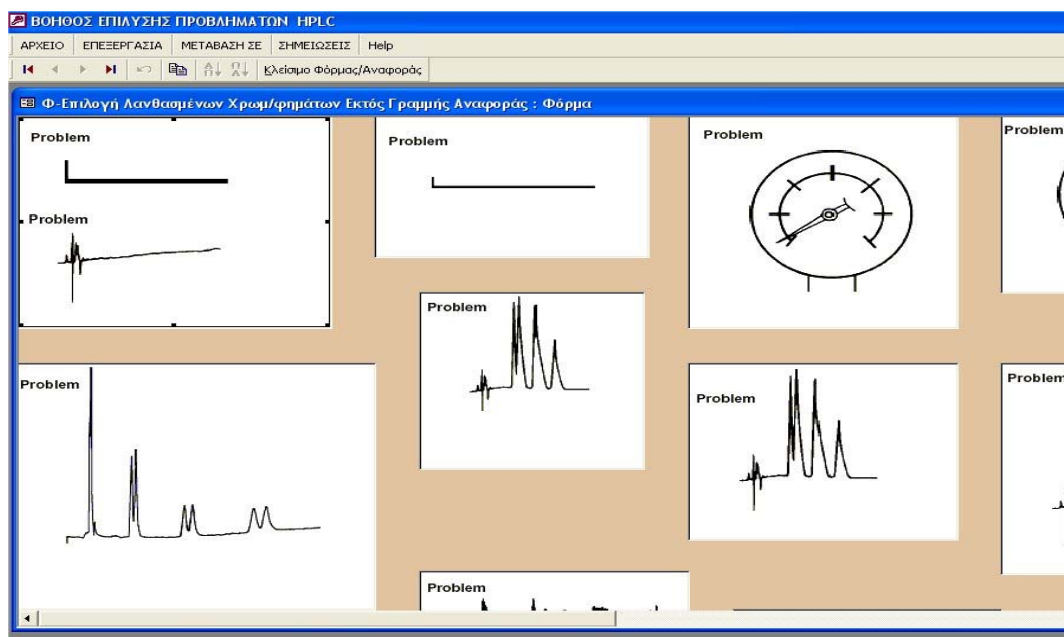
- ✓ Η φόρμα **Συνολικά Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς** και η **Φ-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση Δευτερεύουσα φόρμα**
- ✓ Η φόρμα **Συνολικά Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στη Γραμμή Αναφοράς** και η **Φ-Πρόβλημα, Λύση Μέρους Δευτερεύουσα φόρμα**

Σε αυτές τις φόρμες, υπάρχουν καταχωρημένα όλα τα χρωματογραφήματα μαζί με τις πιθανές αιτίες και λύσεις τους, έτσι ώστε αν ακολουθηθούν από τον χειριστή να πάρει από το καταγραφικό, το φυσιολογικό χρωματογράφημα. Οι κύριες φόρμες παρουσιάζουν όλα τα χρωματογραφήματα, ενώ οι δευτερεύουσες φόρμες παρουσιάζουν τις αιτίες και τις αντίστοιχες λύσεις των λανθασμένων χρωματογραφήματων. Έτσι, ο χειριστής έχει μια συνολική εικόνα για τα λανθασμένα χρωματογραφήματα, τα προβλήματα στα οποία οφείλουν την ύπαρξη τους και τις αντίστοιχες λύσεις τους.

Για τις υπόλοιπες φόρμες, δεν υπάρχουν δευτερεύουσες φόρμες και η κάθε μία είναι μόνη της. Οι φόρμες λοιπόν, που χρησιμοποιούνται μόνο ως κύριες, θα αναλυθούν παρακάτω:

Η φόρμα **Φ-Τμήματα HPLC** περιέχει σχηματικά ένα τυπικό σύστημα του HPLC και τα μέρη από τα οποία αποτελείται σε μεγέθυνση. Επίσης, υπάρχει μια ανάλυση των κύριων μερών και ειδών που χρησιμοποιούνται στο σύστημα HPLC.

Η φόρμα **Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων Εκτός Γραμμής Αναφοράς**, έχει το πλεονέκτημα ο χειριστής να επιλέγει απευθείας το χρωματογράφημα το οποίο νομίζει ο ίδιος ότι συμπίπτει με το δικό του και πατώντας **αριστερό κλικ** στο ποντίκι μπορεί να δει πώς θα έπρεπε να ήταν το χρωματογράφημα σωστό και ποια ή ποιες είναι οι πιθανές αιτίες, ενώ μπορεί να διαβάσει και τις αντίστοιχες λύσεις των προβλημάτων που εμφανίστηκαν. Η φόρμα αυτή, συνεργάζεται μέσω των μακροεντολών Μακροεντολή1 έως Μακροεντολή12 με τις φόρμες **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Εκτός Γραμμής Αναφοράς** και **Φ-Πρόβλημα, Αιτία, Λύση Δευτερεύουσα φόρμα**.

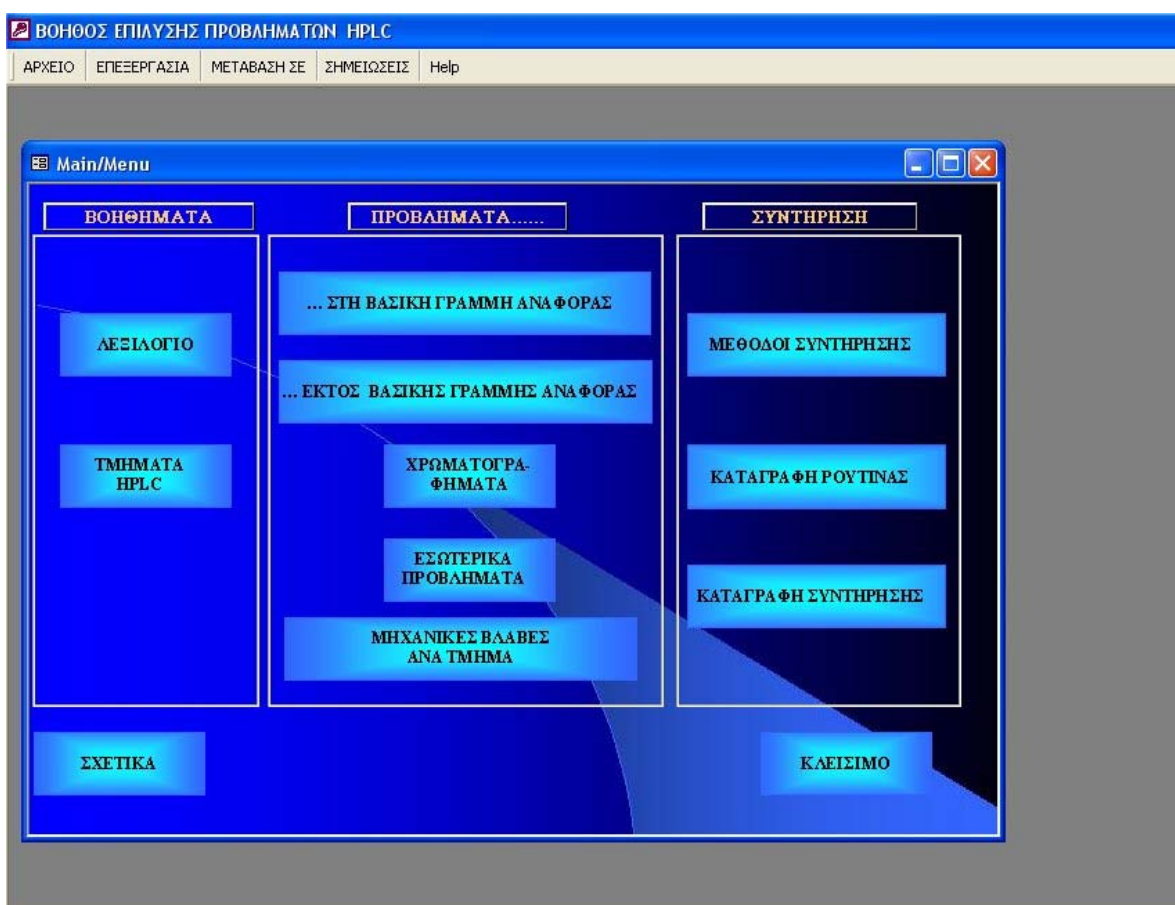


Εικόνα 4. 11. – Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων Εκτός Γραμμής Αναφοράς

Ομοίως, στη φόρμα **Φ-Επιλογή Λανθασμένων Χρωμ/φημάτων Στη Γραμμής Αναφοράς**, ο χειριστής έχει την επιλογή κάνοντας αριστερό κλικ να επιλέξει πιο προβληματικό ή λανθασμένο χρωματογράφημα που εμφανίζεται πάνω στην γραμμή αναφοράς (όπως θόρυβος, ακίδες, αρνητικές κορυφές, θετικές κορυφές εναλλασσόμενη γραμμή αναφοράς κ.ά.) πώς θα έπρεπε να ήταν το φυσιολογικό χρωματογράφημα ποια ή ποιες είναι οι πιθανές αιτίες και οι αντίστοιχες λύσεις των προβλημάτων που εμφανίστηκαν. Αυτή η φόρμα συνδέεται μέσω των μακροεντολών Μακροεντολή27 έως Μακροεντολή34 με τις φόρμες **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στη Γραμμή Αναφοράς** και **Φ-Λανθασμένα Χρωμ/φήματα Στη Γραμμή Αναφοράς Δευτερεύουσα φόρμα**.

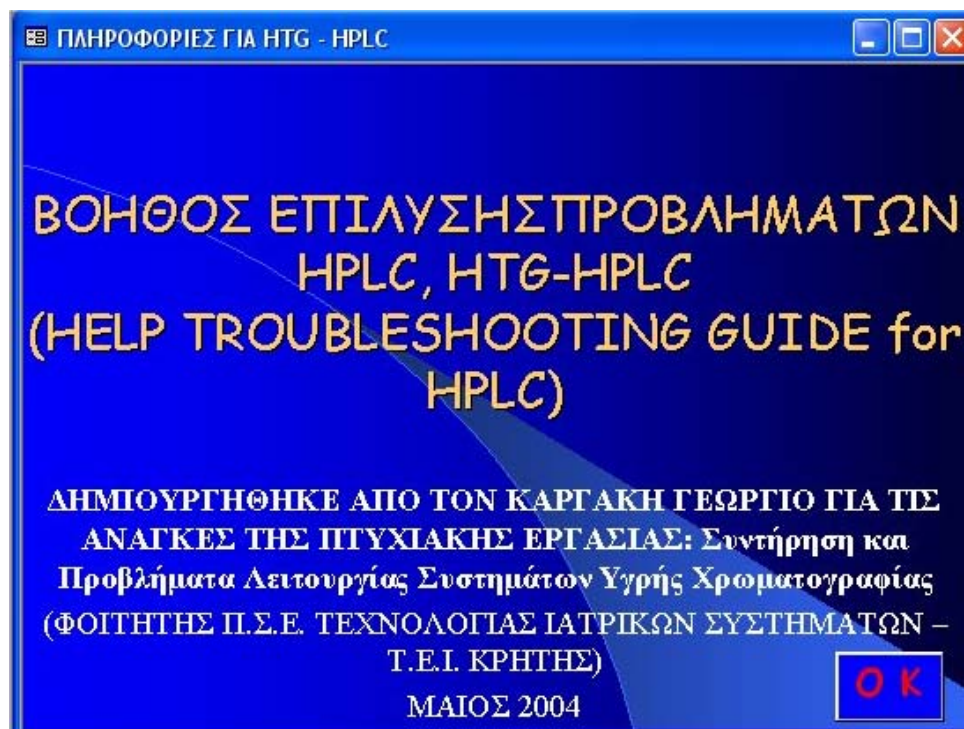
Η φόρμα **Main Menu**, δημιουργήθηκε για να παρουσιάζει τις πρώτες εικόνες του προγράμματος με τα μενού και τα κουμπιά πλοήγησης. Η φόρμα Main Menu είναι χωρισμένη σε τέσσερις ενότητες, η πρώτη ενότητα που ονομάζεται ΒΟΗΘΗΜΑΤΑ και περιέχονται οι υποενότητες τις ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ και ΤΜΗΜΑΤΑ HPLC, η δεύτερη ενότητα ονομάζεται

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ... και περιέχει τις υπο-ενότητες ...ΕΚΤΟΣ ΒΑΣΙΚΗΣ ΓΡΑΜΜΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ, ... ΣΤΗ ΒΑΣΙΚΗ ΓΡΑΜΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ, ... ΣΕ ΟΛΑ ΤΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΕΚΤΟΣ ΓΡΑΜΜΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ και ..ΣΕ ΟΛΑ ΤΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΣΤΗ ΒΑΣΙΚΗ ΓΡΑΜΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ, ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΑΝΑ ΤΜΗΜΑ, η τρίτη ενότητα ονομάζεται ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ και περιέχει τις υπο-ενότητες ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ, ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΡΟΥΤΙΝΑΣ και ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ και τέλος, η τέταρτη ενότητα περιέχει τις εφαρμογές ΚΛΕΙΣΙΜΟ που είναι η έξοδος του προγράμματος και η εφαρμογή ΣΧΕΤΙΚΑ, με την οποία αναφέρονται πληροφορίες του προγράμματος.



Εικόνα 4. 12. – Φόρμα Main Menu

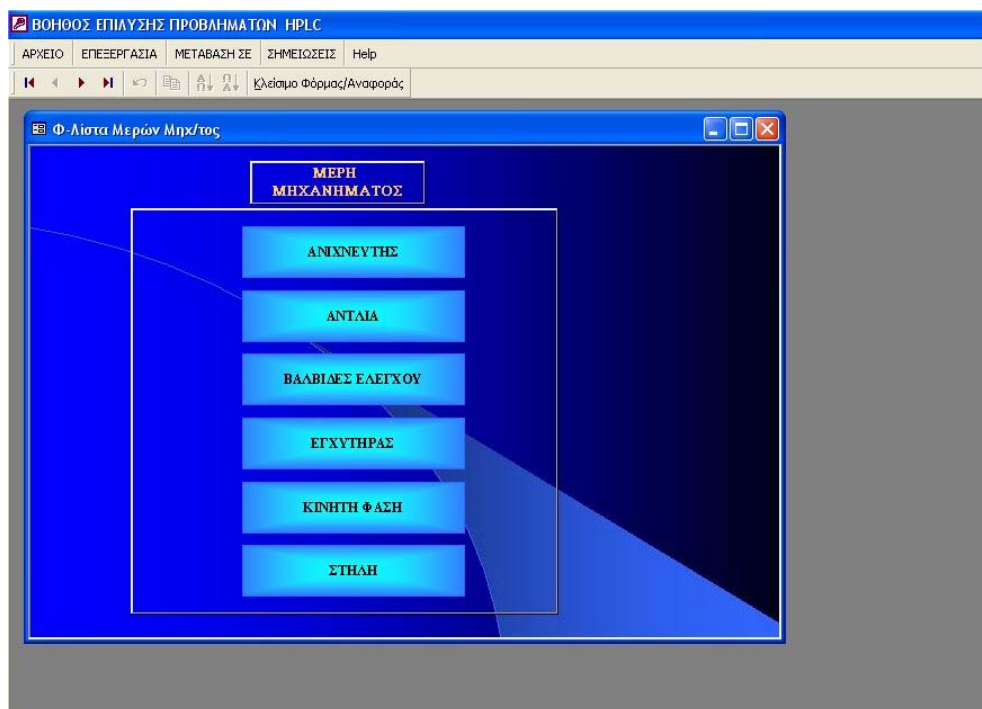
Η φόρμα **Φ-Σχετικά**, περιέχει πληροφορίες σχετικά με τον σχεδιαστή του προγράμματος, την έκδοση του προγράμματος και την ημερομηνία δημιουργίας του



Εικόνα 4. 13. – Φόρμα Φ-Σχετικά

Οι **Φ-Λίστα Μερών Μηχ/τος** και **Φ-Μέθοδοι Συντήρησης** χρησιμοποιούνται σαν φόρμες πλοήγησης, συνεργάζονται άμεσα με κουμπιά εντολής, τα οποία με τη βοήθεια των μακροεντολών οδηγούν σε άλλες φόρμες με τα δεδομένα, τα οποία ενδιαφέρουν τον χειριστή του συστήματος ΗΡΛC.

Η **Φ-Λίστα Μερών Μηχ/τος** περιέχει τα κουμπιά εντολής σαν μέρη του συστήματος ΗΡΛC τα οποία οδηγούν στις αντίστοιχες φόρμες. Οι φόρμες περιγράφουν τις πιο συχνές βλάβες κι έχουν ταξινομηθεί σε έξι διαφορετικές κατηγορίες, ανάλογα σε ποιο μέρος του συστήματος του ΗΡΛC εμφανίζονται. Τα κουμπιά εντολής, είναι: **Ανιχνευτής**, **Αντλία**, **Βαλβίδες Ελέγχου**, **Εγχυτήρας**, **Κινητή Φάση** και **Στήλη**. Το κάθε κουμπί ανοίγει τις αντίστοιχες φόρμες: **Φ-Ανιχνευτής**, **Φ-Αντλία**, **Φ-Βαλβίδες Ελέγχου**, **Φ-Εγχυτήρας**, **Φ-Κινητή Φάση** και **Φ-Στήλη**, οι οποίες θα αναλυθούν παρακάτω.

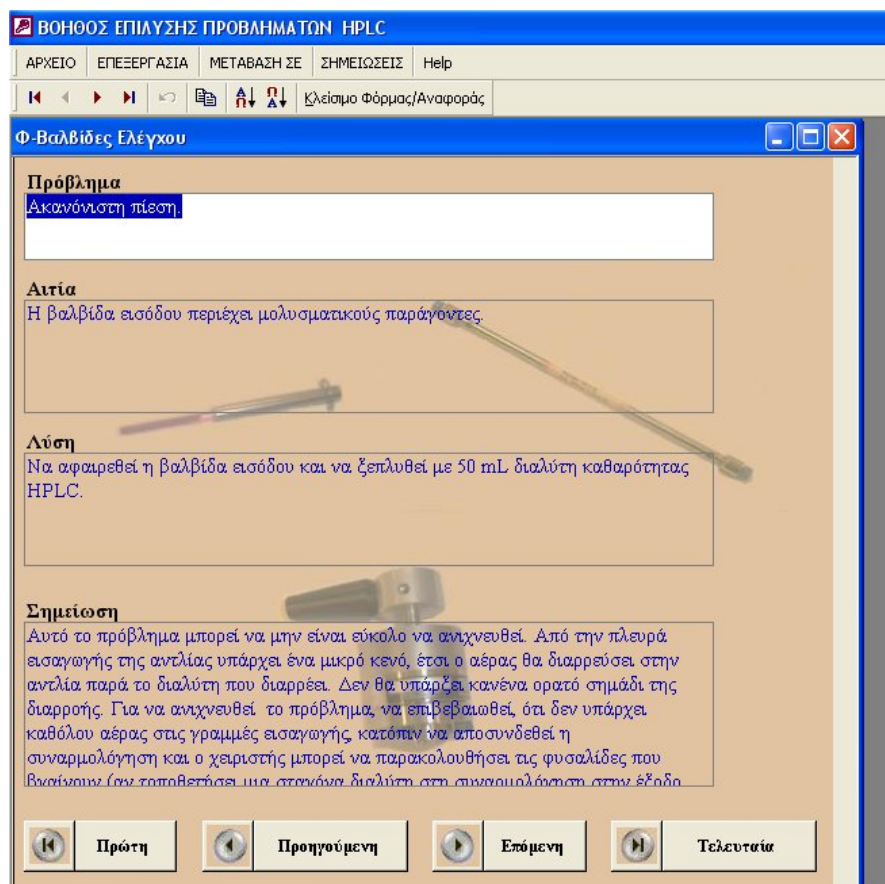


Εικόνα 4. 14. – Φόρμα Φ-Λίστα Μερών Μηχ/τος

Η **Φ-Μέθοδοι Συντήρησης** περιέχει τα κουμπιά εντολής σαν μέθοδοι συντήρησης: ΕΛΕΓΧΟΙ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΗΡΛC, ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗΣ ΗΡΛC και ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ. Τα κουμπιά αυτά ανοίγουν τις αντίστοιχες φόρμες **Φ-Έλεγχοι Τμημάτων**, **Φ-Προληπτικά Μέτρα Συντήρησης** και **Φ-Μέτρα Προφύλαξης Συστήματος ΗΡΛC**.

Οι φόρμες αυτές δίνουν οδηγίες για το τι πρέπει να κάνει ο χειριστής του μηχανήματος σε μια συντήρηση, τι προληπτικά μέτρα πρέπει να τηρεί, πώς να κάνει έλεγχο στα μέρη του συστήματος για τυχόν βλάβες, πώς να αντιμετωπίσει τις βλάβες. Έτσι ώστε, το μηχάνημα να διατηρείται σε πολύ ικανοποιητική κατάσταση και τα χρωματογραφήματα να είναι φυσιολογικά και όχι λανθασμένα και προβληματικά. Επίσης, έχουν καταχωρηθεί σημειώσεις – οδηγίες για αλλαγή κάποιων τμημάτων του συστήματος (π.χ. Βαλβίδες Ελέγχου) και τι θα πρέπει ο χειριστής να προσέχει. Τέλος, πώς ο χειριστής μπορεί να προφυλάξει το σύστημα του ΗΡΛC από διάφορες συνθήκες, όπως π.χ. από την αδράνεια του συστήματος..

Οι φόρμες **Φ-Ανιχνευτής**, **Φ-Αντλία**, **Φ-Βαλβίδες Ελέγχου**, **Φ-Εγχυτήρας**, **Φ-Κινητή Φάση** και **Φ-Στήλη**, περιέχουν τα πιο συχνά προβλήματα που εμφανίζονται στα παραπάνω αντίστοιχα τμήματα του ΗΡΛC. Τις πιθανές αιτίες των προβλημάτων αυτών και τις αντίστοιχες λύσεις τους. Επίσης, υπάρχουν κάποιες σημειώσεις – οδηγίες, οι οποίες επεξηγούν στον χειριστή πώς θα πρέπει να αντιδράσει.



Εικόνα 4. 15. – Φόρμα Φ-Βαλβίδες Ελέγχου

Οι φόρμες **Φ-Λεξικό** και **Φ-Ε-Εύρεση λέξης**] χρησιμοποιήθηκαν για να μπορεί ο χειριστής του μηχανήματος ή ο χειριστής του προγράμματος, να βρίσκει οποιαδήποτε άγνωστη λέξη ή επιστημονική ορολογία. Η φόρμα επίσης, συνεργάζεται με το ερώτημα Ε-Αναζήτηση λέξης και με ένα κουμπί εντολής στην φόρμα, το οποίο αν ο χειριστής κάνει αριστερό κλικ θα παρουσιαστεί ένα πλαίσιο το οποίο θα αναγράφει «ΑΝΑΖΗΤΗΣΤΕ ΤΗΝ ΛΕΞΗ:», αρκεί λοιπόν να γράψει την άγνωστη λέξη και θα εμφανιστεί μια νέα φόρμα, της **Φ-Ε-Εύρεση λέξης** με την αντίστοιχη ορολογία της άγνωστης λέξης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- ✓ Προσδιορίστηκαν οι βασικές έννοιες της χρωματογραφίας και της υγρής χρωματογραφίας ειδικότερα.
- ✓ Παρουσιάστηκαν αναλυτικά τα μέρη από τα οποία αποτελείται ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας καθώς και οι τεχνολογίες που βασίζονται οι αρχές λειτουργίας τους.
- ✓ Με βάση το σύστημα υγρής χρωματογραφίας SP8800 της Spectra Physics, περιγράφηκε η βασική διαδικασία λειτουργίας του.
- ✓ Δόθηκε η περιγραφή των κυριότερων τμημάτων ελέγχου του μηχανήματος. Περιγράφηκαν οι βασικές λειτουργίες των πλήκτρων α) του πίνακα ελέγχου της αντλίας, β) του ανιχνευτή.
- ✓ Βασικές οδηγίες προφύλαξης του χειριστή και του συστήματος της υγρής χρωματογραφίας παρουσιάστηκαν .
- ✓ Ταξινομήθηκαν και κατηγοριοποιήθηκαν τα κυριότερα σημεία συντήρησης κι ελέγχου που αφορούν τη σωστή λειτουργία του HPLC.
- ✓ Κατηγοριοποιήθηκαν τα πιο πιθανά προβλήματα: με βάση το «σύμπτωμα» που παρατηρούμε και εάν το πρόβλημα εμφανίζεται: α) στη βασική γραμμή αναφοράς, β) εκτός βασικής γραμμής αναφοράς, γ) όχι απαραίτητα στο χρωματογράφημα. Για κάθε πρόβλημα υπήρξε κι ένας οδηγός αντιμετώπισης των προβλημάτων καθώς και η πιθανή αιτία ύπαρξής του.
- ✓ Δίνεται μια σύνοψη με τα κυριότερα μηχανικά προβλήματα ανά τμήμα του συστήματος. Τα προβλήματα χωρίζονται στα εξής τμήματα εμφάνισης: α) αντλία, β) συστήματα παροχής κινητής φάσης, γ) στήλης δ) ανιχνευτή ε) εγχυτήρα.
- ✓ Η καταγραφή και επεξεργασία των προβλημάτων οδήγησε στη δημιουργία μιας βάσης δεδομένων στη οποία ο χειριστής μπορεί να έχει γρήγορη κι άμεση πρόσβαση σε τεχνικές οδηγίες για τη: α) σωστή συντήρηση του συστήματος υγρής

χρωματογραφίας β) την αντιμετώπιση των προβλημάτων λειτουργίας, γ) την εύρεση των πιθανών βλαβών.

- ✓ Επίσης, ο εύχρηστος ηλεκτρονικός οδηγός θα απαντάει γρήγορα και απλά στα προβλήματα χρωματογραφίας, που μπορεί να αντιμετωπίσει ο χειριστής (έμπειρος ή μη έμπειρος) κατά τη δημιουργία ενός χρωματογραφήματος.
- ✓ Οι οδηγίες συντήρησης, αντιμετώπισης προβλημάτων και όροι χρωματογραφίας δίνονται στα ελληνικά, κάτι που κάνει πιο εύχρηστο το ηλεκτρονικό εγχειρίδιο, μια και τα περισσότερα εγχειρίδια είναι στην αγγλική γλώσσα.
- ✓ Τέλος, στα πλαίσια της εργασίας αναπτύχθηκε ένα λεξιλόγιο με τους πιο σημαντικούς όρους της υγρής χρωματογραφίας, το οποίο παρουσιάζεται στο παράρτημα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Αρχές της ενόργανης ανάλυσης (2002), των SKOOG D.A., HOLLER J.F., NIEMAN T.A.. Εκδόσεις ΚΩΣΤΑΡΑΚΗΣ (5^H).
- [2] High performance liquid chromatography for the biochemist – Basic Principles. (1982). LKB Bromma editions.
- [3] Μαρία Καλιτσουνάκη. (2002). Συγκριτική μελέτη προσρόφησης μυκοτοξινών σε διασταυρούμενα πολυμερικά υλικά. Διπλωματική Εργασία, Ηράκλειο.
- [4] Αλεγκάκης Αθανάσιος. (2001). Συμπολυμερή της βινυλοπυρρολιδόνης ως αντίδοτα εξωγενών ουσιών: Παρασκευή και φυσικοχημικές μελέτες. Διδακτορική Διατριβή, Ηράκλειο.
- [5] Εισαγωγή στις βάσεις δεδομένων – Αναπτυξιακή προσέγγιση (2002), των ΞΕΝΟΣ ΜΙΧ., ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΑΚΗΣ ΔΗΜ.. Εκδόσεις ΠΑΠΑΣΩΤΗΡΙΟΥ.
- [6] Ενόργανη Ανάλυση (2000), των Θ. Π. ΧΑΤΖΗΩΑΝΝΟΥ, Μ. Α. ΚΟΥΠΠΑΡΗ, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις.
- [7] Variable UV-Vis Detector Operator Manual (1986), Εκδόσεις Spectra Physics.
- [8] Integrator Users Guide (1986), Εκδόσεις Spectra Physics.
- [9] LC Pump Operator Manual (1986), Εκδόσεις Spectra Physics.
- [10] Microsoft Office Access 2000 (2002), Εκδόσεις Γκιούρδας.
- [11] Βάσεις Δεδομένων (2002), Σειρά ECDL, Εκδόσεις Παπασωτηρίου.

Hyperlinks

- i. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts1.html>
- ii. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts2.html>
- iii. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts3.html>
- iv. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts4.html>
- v. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts5.html>
- vi. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts6.html>
- vii. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts7.html>
- viii. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts8.html>
- ix. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts9.html>
- x. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts10.html>
- xi. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts11.html>
- xii. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts12.html>
- xiii. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts13.html>
- xiv. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts14.html>
- xv. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts15.html>
- xvi. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts16.html>
- xvii. <http://www.dq.fct.unl.pt/QOF/hplcts17.html>
- xviii. <http://chrom.tutms.tut.ac.jp/JINNO/ENGLISH/MEMBER/T/JINNO/BOOK.html>
- xix. <http://www.lcgceurope.com/lcgceurope/article/articleList.jsp?categoryId=535>
- xx. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble1.html>
- xxi. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble2.html>
- xxii. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble3.html>
- xxiii. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble4.html>
- xxiv. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble5.html>
- xxv. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble6.html>
- xxvi. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble7.html>
- xxvii. <http://www.chromatography.co.uk/Techniqs/hplc/trouble8.html>
- xxviii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/troubleshooting.html>
- xxix. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/peaks/broad_peaks.htm
- xxx. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/peaks/ghost_peaks.htm
- xxxi. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/peaks/negative_peaks.htm
- xxxii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/peaks/peak_doubling.htm
- xxxiii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/peaks/peak_fronting.htm

- xxxiv. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/peaks/peak_tailing.htm
- xxxv. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/peaks/spikes.htm>
- xxxvi. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/leaks/leak_column.htm
- xxxvii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/leaks/leak_detector.htm
- xxxviii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/leaks/leak_injection.htm
- xxxix. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/leaks/leak_pump.htm
- xl. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/recovery/poor_sample.htm
- xli. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/sensitivity/lack_sensitivity.htm
- xl.ii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/retention/change_retention.htm
- xl.iii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/retention/decrease_ret.htm
- xl.iv. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/retention/increase_ret.htm
- xl.v. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/retention/total_permeation.htm
- xl.vi. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/equilibration/slow_column.htm
- xl.vii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/equilibration/varying_ret.htm
- xl.viii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/baseline/disturbance_void.htm
- xl.ix. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/baseline/drifting_baseline.htm
- l. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/baseline/noise.htm>
- li. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/pressure/decrease_pres.htm
- lii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/pressure/fluctuating_press.htm
- lii.iii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/pressure/high_back_press.htm
- li.v. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/HPLC/pressure/increase_press.htm
- lv. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/theory_of_operation.html
- lv.ii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/column_efficiency.html
- lv.iii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/mobile_phase.html
- lv.iiii. http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/stationary_phase.html
- lv.v. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/injectors.html>
- lv.vi. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/pumps.html>
- lv.vii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/detectors.html>
- lv.viii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/columns.html>
- lv.iiiiii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/manufacturers.html>
- lv.iiiiiii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/history.html>
- lv.iiiiiiii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/bibliography.html>
- lv.iiiiiiiii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/applications.html>
- lv.iiiiiiiiiii. <http://kerouac.pharm.uky.edu/ASRG/HPLC/HPLCMYTRY.HTML>

- lxviii. http://home4u.de/niven/rn_know1.htm
- lxix. <http://www.restekcorp.com/>
- lxx. <http://www.restekcorp.com/restek/Templates/Restek34a4/Products.asp>
- lxxi. <http://www.ssi.shimadzu.com/products/>
- lxxii. <http://www.ssi.shimadzu.com/indexlow.cfm>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ - ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ

Alkoxysilane: Ένα αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται για την προετοιμασία των χημικών δεσμών των φάσεων. Θα αντιδράσει με το γαλάκτωμα υδροξειδίου του πυριτίου.

Backflushing: Μια τεχνική στήλης αλλαγής στην οποία μια βαλβίδα 4 εξόδων είναι τοποθετημένη μεταξύ του εγχυτήρα και της στήλης, επιτρέπει τη ροή κινητής φάσης σε καθεμία κατεύθυνση. Χρησιμοποιείται για να διαχωρίσει με εξαγωγή τις ενώσεις των ισχυρών δεσμών στην αρχή της στήλης. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αναλύσει αυτές τις ενώσεις ή μόνο για να τις αφαιρέσει από τη στήλη.

C4, C8, C18, κ.λπ.: Αναφέρεται στο αλκυλικό μήκος αλυσίδων μιας ανεστραμμένης χημικά ενωμένης φάσης.

Counter ion: Σε μια διαδικασία εναλλαγής ιόντων, το ιόν στο διάλυμα χρησιμοποιείται για να μετατοπίσει το ιόν ενδιαφέροντος από την ιοντική περιοχή. Στην ιονική ένωση, είναι το ιόν του αντίθετου φορτίου που προστίθεται στην κινητή φάση για να διαμορφώσει στο διάλυμα ένα ουδέτερο ιονικό ζευγάρι.

Diol φάση: Μια στατική φάση, χρήσιμη και στη κανονικότητα και στην αντίστροφη φάση της χρωματογραφίας. Αποτελείται από μια δομή (δύο ομάδες -OH σε γειτονικά άτομα άνθρακα σε μια αλειφατική αλυσίδα). Λιγότερη πολικότητα από τις στάσιμες φάσεις πυριτίου που χρησιμοποιούνται στη φυσιολογική φάση χρωματογραφίας, έχει χρησιμοποιηθεί για τον διαχωρισμό στην αντίστροφη φάση των πρωτεϊνών και των πολυπεπτιδίων.

Eluant (Eluent): Υγρό έκλουσης ή κινητή φάση.

Eluate: Έκλουσμα, η κινητή φάση, μετά την έξοδο της στήλης.

ELUOTROPIC Σειρές: Κατάλογος διαλυτών, ταξινομημένος με βάση τις δυνάμεις έκλουσης τους, όταν οι κινητές φάσεις είναι στη χρωματογραφία προσρόφησης.

Endcapping: Η στήλη, στην οποία, όταν ένας οδηγός (π.χ. trimethylchlorosilane) χρησιμοποιείται για να ενώσει τις υπόλοιπες ομάδες πυριτίου, στην επιφάνεια της πλήρωσης. Περισσότερο χρησιμοποιούνται στην αντίστροφη φάση της πλήρωσης. Μπορεί να περικοπεί η ανεπιθύμητη προσρόφηση των βασικών ή ιοντικών ενώσεων.

HETP: Ύψος ισοδύναμο με ένα θεωρητικό πιάτο. Μια μεταφορά από τη θεωρία απόσταξης: μέτρο αποδοτικότητας της στήλης. Για μια τυπική στήλη HPLC με καλό περίβλημα με μόρια 5 μm, οι τιμές του HETP (ή H) είναι συνήθως μεταξύ 0.01 και 0.03 mm. $HETP = L/N$, όπου το L είναι το μήκος της στήλης και N είναι ο αριθμός των θεωρητικών πιάτων.

Kieselguhr: Ένα υλικό που χρησιμοποιείται στις χρωματογραφικές στήλες ως μέσο καθαρισμού δειγμάτων. Σπάνια χρησιμοποιείται στο HPLC.

Microbore: Αναφέρεται στις στήλες της τάξης μικρότερης από συνηθισμένη εσωτερική διάμετρο (<2 mm), που χρησιμοποιούνται στο HPLC.

Mixed-bed στήλη: Συνδυασμός δύο ή περισσότερων στάσιμων φάσεων στην ίδια στήλη, χρησιμοποιείται πιο συχνά στο IEC και στο SEC (Size – Exclusion Chromatography). Το

πλεονέκτημα στο IEC είναι η συνολική αφαίρεση των ιοντικών ενώσεων: χρήσιμο στο SEC επειδή μια ευρύτερη κλίμακα μοριακού βάρους μπορεί να προσαρμοστεί από τη στήλη.

Octadecylsilane: Η δημοφιλέστερη αντίστροφη φάση στο HPLC. Συνδέονται χημικά με το πυρίτιο ή με πολυμερή πλήρωσεις. Και οι μονομερές και οι πολυμερείς φάσεις είναι διαθέσιμες.

PEL: Πολυαιθυλανιμίνη (polyethyleneimine), μια ανιονική πολυμερής φάση που χρησιμοποιείται για να περιβάλλει το πυρίτιο. Συχνότερα χρησιμοποιημένη για το διαχωρισμό των πρωτεϊνών και των πεπτιδίων.

SAX: Ισχυρός ανταλλάκτης ανιόντων. Μια τυπική ισχυρή λειτουργική ομάδα ανταλλαγής ανιόντων θα ήταν η tetraalkylam monium.

SCX: Ισχυρός ανταλλάκτης κατιόντων. Μια τυπική ισχυρή λειτουργική ομάδα ανταλλαγής κατιόντων θα ήταν ένα σουλφονικό οξύ.

Silylation: Η αντίδραση του organoalkoxysilane με μια ένωση που περιέχει μια αντιδραστική ομάδα. Στην υγρή χρωματογραφία, αναφέρεται στη διαδικασία παραγωγού της διαλυτής ουσίας πριν από τη χρωματογραφία προκειμένου να το καταστήσει ανιχνεύσιμο ή για να αποτρέψει τις ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις της στατικής φάσης. Μπορεί επίσης να αναφερθεί στη διαδικασία πρόσθεσης μια χημικά δεσμευμένης φάση σε μια υποστήριξη στερεά (solid support) ή στην απενεργοποίηση της πλήρωσης για να περικόψει τη δραστηριότητα επιφάνειας.

$$V_R = F \cdot t_R.$$

WAX: Αδύναμος ανιον-ανταλλάκτης. Ιονιζόμενες ομάδες όπως οι πρωτεύουσες, δευτερεύουσες ή τριτογενείς αμινο ομάδες στη πλήρωση θεωρούνται ως αδύναμες.

WCX: Αδύναμος ανταλλάκτης κατιόντων. Οι καρβοξυλικές ομάδες στη πλήρωση είναι τυπικές ενός αδύναμου ανταλλάκτη κατιόντων.

Αγαρόζη: Πολυσακχαρίτης υψηλού μοριακού βάρους, παρασκευάζεται από μια πολύ-γαλακτοπυρανοζη με τη μορφή μαλακών σφαιριδίων τα οποία δεν αντέχουν σε υψηλές πιέσεις και χρησιμοποιείται ως μέσο διαχωρισμού στη βιοχρωματογραφία. Χρησιμοποιείται με μορφή χαντρών, συχνά στη χρωματογραφία γαλακτώματος-διήθησης με τις υδάτινες κινητές φάσεις. Χρησιμοποιείται για μοριακά βάρη πάνω από 500.000.

Αεροτζέλ: Μια πλήρωση που μπορεί να προετοιμαστεί εάν το διαλυμένο συστατικό μπορεί να απομακρυνθεί από το σύστημα γαλακτώματος χωρίς κατάρρευση της δομής του γαλακτώματος. Τα κολλοειδή γαλακτώματα πυριτίου και οι χάντρες γυαλιού χρησιμοποιούνται για τη χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού (Size – Exclusion Chromatography) (SEC) είναι παραδείγματα των αεροτζέλ, τα οποία μπορούν να διατηρήσουν τις δομές τους ακόμη και στις υψηλές πιέσεις που χρησιμοποιούνται στο HPLC.

Ακτινωτή διάχυση: Διάχυση εγκάρσια της στήλης LC σε μια ακτινωτή κατεύθυνση. Εάν το δείγμα εγχέεται ακριβώς στο κέντρο της στήλης, θα διαδώσει όχι μόνο σε μια διαμήκη κατεύθυνση καθώς ρέει, αλλά επίσης και ακτινωτά.

Ακτινωτή συμπίεση: Η χρήση της ακτινωτής πίεσης εφαρμόζεται σε μια στήλη με εύκαμπτο τοίχωμα να ελαττώσει τις επιδράσεις των τοιχωμάτων.

Αλουμίνα:Ένα προσροφητικό που χρησιμοποιείται αρκετές φορές στη χρωματογραφία προσρόφησης. Το οξείδιο αργιλίου (Al_2O_3) είναι ένα πορώδες προσροφητικό που έχει μια λεπτή βασική επιφάνεια. Για αυτόν τον λόγο, μπορεί να έχει περισσότερα πλεονεκτήματα από το πυρίτιο, το οποίο θεωρείται ότι έχει μια όξινη επιφάνεια.

Αμινο φάση:Μια στατική φάση propylamino που χρησιμοποιείται συνήθως στη χρωματογραφία φάσης δεσμών (bonded-phase chromatography). Είναι περίπου αντιδραστήριο για οποιαδήποτε μόριο διαλυτής ουσίας ή πρόσθετης ουσίας κινητής φάσης που μπορεί να αντιδράσει με τις αμίνες.

Αναγέννηση:Επιστρέφει τη πλήρωση στη στήλη στην αρχική κατάσταση μετά από την κλίση εξαγωγής. Η κινητή φάση περνάει μέσω της στήλης βηματικά ή βαθμωτά. Η στατική φάση είναι η μετατροπή του σύμπλοκου ιόντος στην αρχική της κατάσταση. Στην χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων, η αναγέννηση περιλαμβάνει την αντικατάσταση των ιόντων που λαμβάνονται στη διαδικασία ανταλλαγής με τα αρχικά ιόντα που κατέλαβαν οι περιοχές ανταλλαγής. Η αναγέννηση μπορεί επίσης αναφέρεται ότι μπορεί να φέρει πίσω οποιαδήποτε στήλη στην αρχική της κατάσταση (π.χ. η αφαίρεση των ακαθαρσιών με έναν ισχυρό διαλύτη).

Ανακύκλωση:Μια τεχνική, στην οποία τα απόβλητα αποχέτευσης της στήλης διανέμονται εκ νέου στη κεφαλή της στήλης σε μία προσπάθεια να αποκομιστεί το πλεονέκτημα του εκτεταμένου μήκους στηλών. Μια εναλλακτική τεχνική χρησιμοποιεί δύο στήλες που συνδέονται με μια βαλβίδα μετατροπής. Πολύ σπάνια χρησιμοποιείται στο HPLC, και έπειτα μόνο στη χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους.

Αναλογία Απορροφητικότητας:Η αναλογία της απορρόφησης, σε δύο διαφορετικά μήκη κύματος του υπεριώδους φωτός ή του ορατού, μιας χρωματογραφικής ζώνης (κορυφής). Για μια καθαρή ένωση, είναι μια σταθερά (ίση στην αναλογία των μοριακών συντελεστών εξάλειψης σε εκείνα τα μήκη κύματος). Η μέτρησή της παρέχει μια δοκιμή της ταυτότητας και της ποιότητας της κορυφής.

Ανάλυση Βασικής Γραμμής:Διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος έτσι ώστε, σε ένα ίχνος οργάνου καταγραφής, να μην υπάρχει καμία επικάλυψη σε οποιασδήποτε περιοχή κορυφής.

Ανάλυση, διάλυση (R_s):Δυνατότητα μιας στήλης να διαχωρίζει τις χρωματογραφικές κορυφές. Εκφράζεται συνήθως σε όρους διαχωρισμού των δύο κορυφών. Κάποια από τις δύο προσπαθεί να επιτύχει την καλύτερη πιθανή ανάλυση.

Ανάλυση:Μέτρηση του βαθμού διαχωρισμού δύο διαδοχικών συστατικών που εκκλύονται σε μια χρωματογραφική εφαρμογή (δύο παρακείμενες κορυφές σε ένα χρωματογράφημα). Ορίζεται ως η απόσταση μεταξύ των κέντρων των δύο κορυφών που διαιρούνται με το μέσο όρο βάσης των πλατών των δύο κορυφών.

Ανιχνευτής:Ένα όργανο μετρητής, της ποιοτικής και ποσοτικής παρουσίας διαλυτών ουσιών στην έξοδο της στήλης, από τη μέτρηση κάποιας περιοχής της κινητής φάσης. Τα συνηθέστερα χρησιμοποιημένα μέσα είναι: Απορρόφηση του φωτός από τη διαλυτή ουσία στο υπεριώδες φως ή στο ορατό, της διαφοράς στο διαθλαστικό δείκτη που παρέχεται από τη διαλυτή ουσία, του φθορισμού της διαλυτής ουσίας, και της ηλεκτροχημικής (αμπερομετρική) ευαισθησίας της διαλυτής ουσίας.

Ανοικτές σωληνοειδή στήλες: Στήλες μικρής εσωτερικής διαμέτρου, που συνήθως έχουν διερευνηθεί για το HPLC, το SFC, και ηλεκτροφόρηση των τριχοειδή αγγείων. Οι στάσιμες φάσεις μπορούν να ενωθούν χημικά στους εσωτερικούς τοίχους των στηλών αυτών. Ο πιο κοινός τύπος είναι η σωλήνωση με σωλήνα πυριτίου που δημιουργήθηκε για την τριχοειδή GC.

Ανομοιογενής πλήρωση: Αναφέρεται στη μορφή μιας πλήρωσης από υλικό πυριτίου. Ανομοιογενές πυρίτιο είναι διαθέσιμο σε μεγέθη μικρο-μορίων. Οι πληρώσεις οι οποίες φτιάχνονται από τη λείανση του ηλεκτρόλυτου πυριτίου στα μικρά μόρια και έπειτα την ταξινόμηση τους στα στενά μέρη χρησιμοποιώντας μηχανήματα ταξινόμησης. Οι σφαιρικές πληρώσεις χρησιμοποιούνται τώρα συχνότερα από τις ανομοιογενείς πληρώσεις στο HPLC, αλλά οι λιγότερο ακριβή ανομοιογενή πληρώσεις χρησιμοποιούνται ακόμα ευρέως στο LC.

Απαερίωση: Η διαδικασία αφαίρεσης αερίου διαλυμένου στην κινητή φάση πριν ή κατά τη διάρκεια της χρήσης. Το διαλυμένο αέριο μπορεί να διέλθει μέσω του διαλύματος στον ανιχνευτή και να προκαλέσει πρόβλημα στις ακίδες και θόρυβο. Ο διαλυμένος αέρας μπορεί να έχει επιπτώσεις στους ηλεκτροχημικούς ανιχνευτές (με αντίδραση) ή στους ανιχνευτές φθορισμού (με την απόσβεση). Η απαερίωση πραγματοποιείται από τη θέρμανση του διαλύτη ή από το κενό (σε μια κενή φιάλη), ή σε απευθείας χρησιμοποίηση εκκένωσης ενός σωλήνα, κατασκευασμένο από μια αεριο-διαπερατή ουσία, όπως το PTFE, ή σπρέι ηλίου.

Απόδοση στήλης: Αναφέρεται στην αποδοτικότητα μιας στήλης μετρημένη ως αριθμός θεωρητικών πιάτων για μια δεδομένη ένωση δοκιμής.

Αποδοτικότητα: Ποσότητα στην οποία οι όγκοι συγκεκριμένων μοριακών ειδών που εγχέονται διατρέχουν τη στήλη ως "ζώνες", χωρίς να υπάρχει διάδοση. Όσο λιγότερη είναι η διεύρυνση (διάδοση ζώνης), τόσο ακόμα λιγότερη θα είναι η πιθανή επικάλυψη των ζωνών (κορυφών). Όσο πιο πλήρης είναι ο διαχωρισμός τόσο υψηλότερη είναι η αποδοτικότητα. Η αποδοτικότητα συχνά εκφράζεται αριθμητικά ως η αριθμός πιάτων ή πλακών, ή ως ύψος ισοδύναμο με το θεωρητικό πιάτο (HETP). Είναι μια μέτρηση της "ποιότητας" μιας γεμάτης στήλης. Επίσης, είναι ένα μέτρο που καθορίστηκε από τον αριθμό θεωρητικών πιάτων υπολογισμένο από την εξίσωση που δείχνει το H (βλ. HETP).

Αποκατάσταση: Το ποσό διαλυτής ουσίας (δείγμα) που εξάγει από μια στήλη σχετικά με το ποσό που εγχέεται. Περισσότερο συχνά χρησιμοποιείται με τους διαχωρισμούς πρωτεϊνών στους οποίους οι πρωτεΐνες «κρέμονται» στις ενεργές περιοχές της πλήρωσης σε ορισμένες στήλες.

Αποκλεισμός ιόντων: Η διαδικασία στην οποία οι ιονισμένοι διαλύτες μπορούν να διαχωριστούν από μη ιονισμένους ή ιονισμένους διαλύτες χρησιμοποιώντας τις ρητίνες ιοντοανταλλαγής. Ο διαχωρισμός προκύπτει από τη διαφορά δυναμικού, όπου οι ιοντικοί διαλύτες υπάρχουν σε μια υψηλότερη συγκέντρωση στο διάλυμα απ' ό,τι στη ρητίνη, ενώ οι μη ιονισμένοι διαλύτες διανέμονται ομοιόμορφα μεταξύ της κινητής φάσης και της ρητίνης. Επομένως οι ιοντικοί διαλύτες θα κινηθούν γρηγορότερα κάτω από τη στήλη από τους μη ιοντικούς διαλύτες.

Απόκριση Ανιχνευτή: Το ηλεκτρικό σήμα εξόδου ενός ανιχνευτή, το οποίο είναι μια συνάρτηση της συγκέντρωσης ενός συστατικού έκλουσης. Μπορεί να μετρηθεί, και να συγκριθεί, ως ύψος κορυφής ή περιοχή κορυφής. Μια καμπύλη βαθμονόμησης, δείχνει την απόκριση ανιχνευτή σε μια δεδομένη συγκέντρωση της ένωσης, προετοιμάζεται από γνωστά χρωματογραφικά ποσά προτύπων πέρα από τη περιοχή συγκέντρωσης ενδιαφέροντος, και παριστάνεται γραφικά στην ανταπόκριση του ανιχνευτή (π.χ. ύψος κορυφής, περιοχή κορυφής) έναντι του ποσού που εγχέεται. Η κλίση μιας τέτοιας γραφικής είναι ο παράγοντας ανταπόκρισης.

Απορροφητικότητα: Μέτρηση απορρόφησης συγκεκριμένου μήκους κύματος υπεριώδους φωτός από ένα δείγμα.

Αποτελέσματα εκτός στήλης: Τα αποτελέσματα διεύρυνσης της ζώνης πάνω στα φιλμ του χρωματογραφικού συστήματος έξω από την ίδια τη στήλη. Τα αποτελέσματα εκτός στήλης πρέπει να ελαχιστοποιηθούν προκειμένου να διατηρηθεί η αποδοτικότητα της στήλης. Οι περιοχές διεύρυνσης ζώνης μπορούν να περιλάβουν τον εγχυτήρα, το σωλήνα σύνδεσης, τα endfittings, τα υαλοβερνικάματα, τον όγκο του ανιχνευτή κυττάρου, και τον ανιχνευτή εσωτερικής σωλήνωσης. Οι διαφορές όλων αυτών των συνεισφορών είναι πρόσθετες.

Ασυμμετρία: Παράγοντας που περιγράφει τη μορφή μιας χρωματογραφικής κορυφής. Η θεωρία χρωματογραφίας υποθέτει μια γκαουσιανή κατανομή και ο μέγιστος παράγοντας ασυμμετρίας είναι η αναλογία (σε 10% του μέγιστου ύψους) της απόστασης μεταξύ της μέγιστης κορυφής και της πίσω πλευράς της χρωματογραφικής καμπύλης στην απόσταση μεταξύ της μέγιστης κορυφής και της μπροστινής πλευράς του χρωματογραφικής καμπύλης. Μια τιμή > 1 , είναι μια πίσω κορυφή, ενώ μια τιμή < 1 , είναι μια μπροστινή κορυφή.

Αφαίρεση αλάτων: Τεχνική στην οποία τα άλατα μικρού μοριακού βάρους και άλλες ενώσεις αφαιρούνται από τις μη ιονικές και υψηλού μοριακού βάρους ενώσεις. Ένα παράδειγμα, είναι η χρήση μιας αντίστροφης φάσης πλήρωσης για να διατηρήσει τις ενώσεις δειγμάτων από τις υδροφοβικές επιδράσεις αλλά και να επιτρέψει στα άλατα να περάσουν ανεπηρέαστα. Η χρήση μιας στήλης SEC για να αποκλείσει τα μεγάλα μόρια και να διατηρήσει τα άλατα χαμηλού μοριακού βάρους, είναι ένα άλλο παράδειγμα.

Βαθμιαία Έκλυση: Χρήση διαλυτών διαφορετικών ειδών και συνθέσεων κατά τη διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης. Με την πάροδο του χρόνου ο διαλύτης μεταβάλλεται. Η συνθήκη στην οποία η διαλυτική σύνθεση (και, ως εκ τούτου, η ισχύς έκλυσης) της κινητής φάσης αλλάζει κατά τη διάρκεια μιας εφαρμογής. Μπορεί να γίνει σε μια συνεχή γραμμική ή μη γραμμική μορφή, ή σταδιακά. Οι συνεχείς κλίσεις (gradients) μπορούν να είναι γραμμικές (σταθερό ποσοστό αλλαγής), κοίλες (μειωμένο ποσοστό αλλαγής) ή κυρτές (αυξανόμενο ποσοστό αλλαγής). Το ποσοστό ροής της κινητής φάσης μπορεί να ποικίλει κατά τη διάρκεια μιας χρωματογραφικής εφαρμογής. Αυτό είναι γνωστό ως προγραμματισμός ροής.

Βαθμωτό μοντέλο HPLC (gradient HPLC): Τεχνική μείωσης του χρόνου διαχωρισμού με αύξηση της διάρκειας της κινητής φάσης κατά τη χρονική διάρκεια του διαχωρισμού. Οι διαλύτες διέρχονται από την στήλη με συνεχείς ή σταδιακές μεταβολές στη σύσταση τους. Χρησιμοποιείται στο HPLC όταν έχουμε δύο ή περισσότερα είδη διαλυτών ως κινητές φάσεις.

Γαλάκτωμα: Η στερεά πλήρωση που χρησιμοποιείται στη διείδυση του γαλακτώματος στην χρωματογραφία. Ένα γαλάκτωμα αποτελείται πραγματικά από δύο μέρη: το διαλυμένο μέσο (στερεό μέρος) και το διαλύτη.

Γκαουσιανή καμπύλη: Μια καμπύλη γνωστή και ως κανονική κατανομή. Είναι μια συμμετρική, με κωνοειδές σχήμα καμπύλη. Η χρωματογραφική θεωρία υποθέτει ότι οι χρωματογραφικές κορυφές ακολουθούν μια γκαουσιανή κατανομή.

Γραμμικό φίλτρο: Μια συσκευή που αποτρέπει τη μοριακή ουσία από την καταστροφή της στήλης. Τα σύγχρονα ευθύγραμμα φίλτρα μπορούν να τοποθετηθούν μεταξύ του εγχυτήρα και της στήλης χωρίς τη συμβολή διεύρυνσης ζωνών. Ένα φίλτρο σε αυτήν την θέση

χρησιμοποιείται για να αποτρέψει τα μόρια δειγμάτων από την είσοδο του υποστρώματος ή της ενίσχυσης του υαλοβερνικώματος.

Διαλυμένη ουσία: Το διαλυμένο συστατικό ενός μίγματος που πρόκειται να διαχωριστεί στη χρωματογραφική στήλη.

Διαμήκης διάχυση: Μοριακής διάχυση, ο δεύτερος όρος στην εξίσωση van Deemter. Δείτε την εξίσωση van Deemter.

Διανομή μοριακού βάρους: Η διανομή του μοριακού βάρους των μορίων σε ένα πολυμερές δείγμα. Η διανομή μπορεί να οριστεί ως ο μέσος όρος βάρους και ο μέσος όρος αριθμού.

Διανομή μοριακού μεγέθους: Ένα μέτρο της διανομής των μορίων που χρησιμοποιούνται για να πληρώσουν τη στήλη LC. Στο HPLC, μια στενή διανομή μοριακού μεγέθους είναι επιθυμητή. Μια διανομή μοριακού μεγέθους $dp \pm 10\%$ θα σήμαινε ότι το 90% των μορίων θα κυμαίνεται μεταξύ 9 και 11 μm για μια μέση πλήρωση των 10 μm dp .

Διαπλάτωση ζωνών: Η διαπλάτωση μιας χρωματογραφικής ζώνης καθώς κινείται μέσα στη στήλη. Το μέτρο της διεύρυνσης ζωνών είναι το πλάτος ζωνών, ή πιο σωστά, ο αριθμός θεωρητικών πιάτων στη στήλη N .

Διασύνδεση: Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας συμπολυμερισμού των ρητινών για να διαμορφωθεί ένα τρισδιάστατο περίβλημα, ένα δυσλειτουργικό μονομερές προστίθεται στην διασύνδεση μεταξύ συνεχόμενων πολυμερών αλυσίδων. Ο βαθμός διασύνδεσης καθορίζεται από το ποσό αυτού του μονομερούς που προστίθεται στην αντίδραση. Τα χαρακτηριστικά διόγκωσης και διάχυσης μιας ρητίνης καθορίζονται από το βαθμό διασύνδεσής του.

Διαφορικός Μετρητής Διάθλασης: Μια συσκευή για την μέτρηση της συγκέντρωσης ουσιών με χρήση του εξαιρετικά ευαίσθητου διαθλαστικού δείκτη. Είναι ο πιο κοινά παγκοσμίως χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής σε LC, όπου η ανίχνευση εξαρτάται μόνο από τη διαφορά στο διαθλαστικό δείκτη μεταξύ της διαλυτής ουσίας και της κινητής φάσης.

Διείσδυση: Στο SEC, αναφέρεται στη διαδικασία στην οποία ένα διάλυμα μπορεί να εισαγάγει πόρους στην κινητή φάση της πλήρωσης.

Διεύρυνση Ζωνών: Η διεύρυνση της κορυφής δείγματος. Μπορεί να οφείλεται στην ανεπάρκεια του τμήματος στήλης ή, επιλογή της κινητής φάσης.

Διόγκωση: Διαδικασία στην οποία οι ρητίνες και τα κolloειδή αυξάνουν τον όγκο τους σε διάλυμα. Ο διαλύτης απορροφάται από την ρητίνη ανταλλαγής ιόντων και μειώνει την συγκέντρωση ιόντων. Στα κolloειδή, ο διαλύτης διαπερνά τους πόρους και αυξάνει τον όγκο.

Διοξείδιο τιτανίου: TiO_2 , είδος προσροφητικού που χρησιμοποιείται στη χρωματογραφία προσρόφησης.

Διοχέτευση: Εμφανίζεται, όταν τα κενά που δημιουργούνται στο υλικό περιβλήματος της στήλης μπορούν να αναγκάσουν την κινητή φάση και τις συνοδευτικές διαλυτές ουσίες για να κινηθούν γρηγορότερα από τη μέση ταχύτητα ροής, με συνέπεια τη διεύρυνση ζωνών. Τα κενά, δημιουργούνται από το φτωχό περίβλημα ή από τη διάβρωση πλήρωσης του υποστρώματος.

Διπολικά ιόντα: Ενώσεις που διαθέτουν θετικά και αρνητικά φορτία στο διάλυμα.

Δραστηριότητα: Το κολλοειδές πήκτωμα πυριτίου, όσο περισσότερο εκτίθεται στις πυριτικές ομάδες, τόσο πιο ενεργή γίνεται η επιφάνεια. Η δραστηριότητα μπορεί να ελεγχθεί με την προσθήκη του ύδατος ή ενός άλλου πολικού μετατροπέα, ο οποίος δεσμεύει τα άτομα υδρογόνου στις ενεργές περιοχές, με αυτόν τον τρόπο μειώνοντας τη δραστηριότητα στην επιφάνεια.

Δύναμη διαλύτη: Αναφέρεται στη δυνατότητα ενός διαλύτη να εξάγει μια συγκεκριμένη διαλυτή ουσία ή μια ένωση από τη στήλη.

Έγχυση: Η διαδικασία εισαγωγής ενός δείγματος στην κινητή φάση σε ένα υγρό χρωματογράφο. Ενώ η πιο κοινή συσκευή για τη μέτρηση του ποσού δείγματος είναι μια σύριγγα με βελόνα, τώρα σπάνια χρησιμοποιείται για την άμεση έγχυση στην κινητή φάση. Για να εγχύσει το δείγμα υιοθετείται ένας μηχανικός εγχυτήρας, ο οποίος μπορεί να λειτουργήσει ακριβώς και αποτελεσματικά.

Ειδικό εμβαδόν επιφάνειας: Το εμβαδόν επιφάνειας μιας προσροφητής πλήρωσης, βασισμένη στη μέτρηση από μια αποδεκτή τεχνική, όπως η μέθοδος BET που χρησιμοποιεί την προσρόφηση αζώτου.

Είσοδος στήλης: Το αρχικό μέρος της στήλης, όπου ο διαλύτης και το δείγμα εισάγονται. Υπάρχει συνήθως ένα υαλοβερνίκωμα στην είσοδο που κρατά τη πλήρωση στη θέση της και, σε μερικές περιπτώσεις, προστατεύει το υπόστρωμα πλήρωσης.

Έκλουση: Η διέλευση συστατικών του δείγματος από της κινητής φάσης μέσω της χρωματογραφικής στήλης.

Έκπλυση: Μια τεχνική που χρησιμοποιείται για να διαχωρίσει σε συστατικά ως προς το μέγεθος τα μόρια της πλήρωσης. Περισσότερο χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των ρητινών ανταλλαγής ιόντων, όπως οι ρητίνες αμινοξέων, τα οποία πρέπει να έχουν ένα ιδιαίτερα μικρό μέγεθος. Η τεχνική ανακατεύει την ανερχόμενη ροή του νερού σε έναν μεγάλο σωλήνα. Οι ανόμοιες μεγέθους χάντρες προστίθενται στο κινούμενο νερό, και τα μόρια αναζητούν το επίπεδό τους, ανάλογα με την πυκνότητα και το μέγεθος των μορίων τους.

Ελάχιστο ύψος πιάτων: Το ελάχιστο της καμπύλης που προκύπτει από μια παράσταση μεταξύ του H και του u. Αυτή η αξία αντιπροσωπεύει τα περισσότερο θεωρητικά πιάτα που μπορούν να ληφθούν για μια στήλη και ένα σύστημα κινητής φάσης. Συνήθως εμφανίζεται στα πολύ χαμηλά ποσοστά ροής.

Εμβαδόν ενεργής επιφάνειας: Σε ένα προσροφητικό υλικό, αναφέρεται το συνολικό εμβαδόν της στερεάς επιφάνειας όπως καθορίζεται από μια αποδεκτή τεχνική μέτρησης λ.χ. η μέθοδος BET που χρησιμοποιεί την προσρόφηση αζώτου. Η περιοχή επιφάνειας ενός τυπικού πορώδους προσροφητικού όπως το κολλοειδές πήκτωμα πυριτίου μπορεί να ποικίλει από 100 έως 600 m²/g.

Εμπλουτισμός ιχνών: Τεχνική στην οποία τα ποσά ιχνών των ενώσεων από μια ασθενή κινητή φάση ή διαλύματος διατηρούνται στη πλήρωση HPLC και έπειτα εκλύονται από την προσθήκη μιας ισχυρότερης κινητής φάσης σε μια συγκεντρωμένη μορφή. Η τεχνική η οποία έχει εφαρμοστεί περισσότερο στη συγκέντρωση των ποσών ιχνών των υδροφοβικών ενώσεων (π.χ. πολυπυρηνικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες) από το νερό που χρησιμοποιεί μια στήλη αντίστροφης φάσης. Ένας ισχυρός διαλύτης όπως το ακετονιτρίλιο, που χρησιμεύει να διαχωρίσει με έκλουση τις εμπλουτισμένες ενώσεις.

Ένζυμο, Αντιγόνο, Ορμόνη: Στη χρωματογραφία ανταλλαγής ενζύμων, αντιγόνων, ορμόνων αναφέρεται στο μόριο που προστίθεται στην κινητή φάση και που ενεργεί ως οδηγός σχηματισμού χημικής ένωσης για να διαμορφώσει τη στήλη συγγένειας.

Ένωση που δεν διατηρείται: Συστατικό ενός μίγματος, το οποίο κινείται μέσω της στήλης, στην ίδια ταχύτητα με τη κινητή φάση, π.χ. η μετάβαση της δεν καθυστερείται από την αλληλεπίδραση, φυσική ή χημική, με τη στάσιμη φάση. Μεταφέρεται μέσω της στήλης στον κενό όγκο της κινητής φάσης.

Εξαγωγή στερεής φάσης (SPE): Μια τεχνική προετοιμασιών δείγματος που χρησιμοποιεί πλήρωση στερεής φάσης, που περιλαμβάνεται σε μια μικρή πλαστική κασέτα. Οι στερεές στάσιμες φάσεις είναι οι ίδιες με τις πληρώσεις HPLC, εντούτοις. Η αρχή είναι διαφορετική από το HPLC. Μερικές φορές αναφέρεται ως ψηφιακή χρωματογραφία. Η διαδικασία ως η πιο συχνά εξασκημένη απαιτεί τέσσερα βήματα: ρυθμίζοντας το απορροφητικό υλικό, προσθέτοντας το δείγμα, πλένοντας τις ακαθαρσίες, και εξάγοντας το δείγμα σε έναν όσο το δυνατόν μικρότερο όγκο με έναν ισχυρό διαλύτη.

Εξαιρετικά κρίσιμη χρωματογραφία υγρού (SFC): Μια τεχνική που χρησιμοποιεί ένα εξαιρετικά κρίσιμο ρευστό ως κινητή φάση. Η τεχνική έχει ήδη εφαρμοστεί στο διαχωρισμό των ουσιών που δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά από την υγρή χρωματογραφία (λόγω των προβλημάτων ανίχνευσης) ή τη χρωματογραφία αερίου (λόγω της έλλειψης αστάθειας). Τα παραδείγματα είναι διαχωρισμοί των τριγλυκεριδίων, των υδρογονανθράκων, και των λιπαρών οξέων. Οι ανιχνευτές του GC και οι αντλίες του HPLC έχουν χρησιμοποιηθεί μαζί στο SFC.

Εξίσωση Knox: Μια τροποποίηση της εξίσωσης van Deemter που αναπτύχθηκε από τον John Knox.

Εξίσωση van Deemter: Μια εξίσωση που εξηγεί τη διεύρυνση πλάτους των κορυφών στην χρωματογραφία.

Επαμφοτερίζουσα ρητίνη: Ρητίνες που έχουν και θετικές και αρνητικές ιοντικές ομάδες.

Επίδραση άπειρων διαμέτρων: Ένα όνομα που δόθηκε από τον John Knox στο ακόλουθο φαινόμενο: Σε ένα ορισμένο μήκος στήλης, ένα δείγμα που εγχέεται στο κέντρο του υποστρώματος πλήρωσης διαδίδεται από ακτινωτή διάχυση, αλλά ποτέ δεν φθάνει στο τοίχωμα της στήλης, όπου το τοίχωμα επηρεάζει και μπορεί να προκαλέσει διεύρυνση ζωνών. Ο Knox έδειξε ότι μια κορυφή δείγματος που συλλέγεται στο ακριβές κέντρο της στήλης εξόδου επέδειξε υψηλότερη αποδοτικότητα από μια κορυφή δείγματος που συνέλεξε κοντά στο τοίχωμα. Η επίδραση της απεριόριστης διαμέτρου εξαρτάται από το μήκος της στήλης, την εσωτερική διάμετρο, το μέγεθος μορίων, και τις ιδιότητες της κινητής φάσης. Πολύ σπάνια εφαρμόζεται στο HPLC.

Επίδραση τοιχωμάτων: Η συνέπεια της χαλαρής πυκνότητας της πλήρωσης κοντά στα τοιχώματα της άκαμπτης στήλης του HPLC. Η κινητή φάση έχει μια τάση να ρέει ελαφρώς γρηγορότερα κοντά στα τοιχώματα λόγω της μειωμένης διαπερατότητας. Τα μόρια της διαλυμένης ουσίας που συμβαίνουν να είναι κοντά στα τοιχώματα μεταφέρονται κατά μήκος γρηγορότερα από το μέσο όρο στη ζώνη διαλυτής ουσίας και συνεπώς πραγματοποιείται η διάδοση ζωνών.

Επιλεκτικότητα: Όπως ο παράγοντας διαχωρισμού ή τη σχετική αναλογία διατήρησης. Ένας θερμοδυναμικός παράγοντας που είναι μέτρο της σχετικής διατήρησης δύο ουσιών. Σταθερός από μια καθορισμένη στατική και κινητή φάση. $\alpha = k'_2/k'_1$.

Εσωτερική τομή (Heart cutting): Στο προπαρασκευαστικό LC, αναφέρεται στη συλλογή του κέντρου της κορυφής, όπου η καθαρότητα πρέπει να είναι μέγιστη. Επίσης χρησιμοποιείται στην αλλαγή της στήλης.

Ευαισθησία: Ελάχιστο όριο ανίχνευσης ενός δεδομένου είδους. Καθορίζεται από τη μικρότερη αναλογία του ύψους κορυφής με το θόρυβο της βασικής γραμμής αναφοράς (σήμα αναλογίας ως προς το θόρυβο) που επιτρέπει τον ακριβή και αναπαραγωγίσιμο προσδιορισμό του ύψους κορυφής ή της περιοχής (σήμα). Αυτό ποικίλλει με τη μέθοδο ανίχνευσης, το όργανο που χρησιμοποιείται και τα είδη που ανιχνεύονται.

Εύρος Ζώνης: Εύρος του δείγματος που κινείται μέσω της στάσιμης φάσης, που μεταφέρεται από τη κινητή φάση. Αναπαριστάται στο χρωματογράφημα ως αιχμή.

$$H = A + B/u + C u$$

H = Στροβιλώδης διάχυση + Επιμήκης διάχυση + Μεταφορά μάζα

Η εξίσωση αντιπροσωπεύει το ύψος ισοδύναμο ενός θεωρητικού πιάτου και έχει τρεις όρους. Ο πρώτος όρος χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη διαπλάτυνση κορυφής, που οφείλεται στις διαφορετικές πορείες, που ακολουθεί ο διαλύτης όταν περνάει από μόρια διαφορετικών μεγεθών. Ο δεύτερος όρος αφορά τη μοριακή διάχυση ή το διαμήκης διάχυση της διαλυτής ουσίας που διέρχεται από τη στήλη. Ο τρίτος όρος είναι η συμβολή της μαζικής μεταφοράς και επιτρέπει το πεπερασμένο ποσοστό μεταφοράς της διαλυτής ουσίας μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης. Η μορφή της εξίσωσης Van Deemter είναι $h(v) = A + B/v + C v$ όπου h η διαπλάτυνση και v η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης.

Η χρωματογραφία αυτή βασίζεται στην αλληλεπίδραση ενός μορίου του μείγματος, με ένα μόριο που έχει δεσμευθεί στη στερεή στατική φάση. Όταν το διάλυμα του μείγματος διαβιβασθεί μέσα από τη στήλη, θα κατακρατηθεί μόνο το ένα συστατικό από τη στατική φάση. Μετά την έξοδο των άλλων συστατικών από τη στήλη, το συστατικό που έχει κατακρατηθεί, εκλύεται με προσθήκη υγρού το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα να εξασθενεί τη σύνδεση του συστατικού με τη στατική φάση. Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται σε διαχωρισμούς ουσιών βιοχημικού χαρακτήρα.

Θεωρητικό πιάτο: Μια έννοια που περιγράφεται από τους Manin και Synge. Αφορά το χρωματογραφικό διαχωρισμό της θεωρίας της απόσταξης. Μέτρο της αποδοτικότητας στήλης. Το μήκος της στήλης σχετικά με αυτήν την έννοια καλείται ύψος ισοδύναμο με το θεωρητικό πιάτο (HETP). Δείτε τον όρο του HETP.

Θόρυβος: Ηλεκτρονικό σήμα υποβάθρου, που παρεμποδίζει την ανίχνευση δείγματος.

Ιζηματογένεση: Μια τεχνική που χρησιμοποιείται για να ταξινομήσει τις ρητίνες για την χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων. Τα μόρια διαφορετικών μεγεθών και της πυκνότητας θα εγκατασταθούν σε διαφορετικές ταχύτητες σε μια κλίση.

Ικανότητα ανταλλαγής ιόντων: Ο αριθμός ιοντικών θέσεων στη πλήρωση που μπορεί να συμμετέχει στη διαδικασία ιοντο-ανταλλαγής. Η ικανότητα ανταλλαγής εκφράζεται σε mequiv/g. Τυπικές τιμές ανιόντων ανταλλαγής όπως κάποιες ρητίνες μπορεί να είναι από 3-5 mequiv/g.

Ιονική καθυστέρηση, επιβράδυνση: Αναφέρεται στη χρήση των ρητινών που ανταλλάζουν τα ιόντα τους, έχουν όξινες και βασικές ιδιότητες (επαναμφοτερίζουσες), χρησιμοποιούνται για να

καθυστερήσουν τα ιονικά μόρια και να επιτρέψουν στα μη ιονικά μόρια ή σ' αυτά που δεν έχουν ηλεκτρολύτες να εξέλθουν κατά προτίμηση.

Ιονική καταστολή, απόθηση: Απομόνωση σε μια υδάτινη κινητή φάση σε ένα συγκεκριμένο pH για να καταστείλει, απωθήσει τον ιονισμό διαλυτής ουσίας. Για παράδειγμα κάποιος μπορεί να καταστείλει τον ιονισμό των αδύναμων οξέων (carboxylic) με τη ρύθμιση του pH κάτω από τη σταθερά ιονισμού τους. Χρήσιμη για τη βελτίωση της μέγιστης κορυφής των αδύναμων οξέων και βάσεων στο RPC.

Ισοκρατικό μοντέλο HPLC: Ονομάζεται το μοντέλο όπου η σύσταση της κινητής φάσης καθώς και η ροή της παραμένει σταθερή ως προς το χρόνο.

Κάμψη: Η κλίση της πλήρωσης στήλης που ο βαθμός ανομοιογένειας δείχνει τη πορεία που ακολουθείται από το μόριο διαλυτής ουσίας καθώς περνά κάτω από τη στήλη. Περιλαμβάνεται στον πρώτο όρο της εξίσωσης van Deemter.

Κενό στη στήλη: Ο σχηματισμός ενός διαστήματος, συνήθως στη κεφαλή της στήλης. Προκαλούμενος από ρύθμιση ή διάλυση της πλήρωσης. Ένα κενό στη στήλη οδηγεί σε μειωμένη αποδοτικότητα και σε απώλεια ανάλυσης. Ακόμη και ένα μικρό κενό μπορεί να είναι καταστρεπτικό για τα μικρά μικρομόρια στήλης. Το κενό μπορεί μερικές φορές να αφαιρεθεί με την πλήρωση του με τις χάντρες γυαλιού ή με πορώδης πλήρωση.

Κενός Όγκος: Ο συνολικός όγκος της κινητής φάσης σε μια πλήρως υγρή στήλη πλήρωσης: ο όγκος μεταξύ των μορίων της στάσιμης φάσης (ενδιάμεσος όγκος) συν τον όγκο μέσα στα μόρια (όγκος πόρων). Είναι ο όγκος της κινητής φάσης που απαιτείται για να φέρει το συστατικό που δεν διατηρείται μέσω μιας στήλης.

Κενός όγκος: Ο συνολικός όγκος της κινητής φάσης στη στήλη: το υπόλοιπο της στήλης λαμβάνεται από το υλικό πλήρωσης. Μπορεί να καθοριστεί με την έγχυση μιας ουσίας που μετρά τον κενό όγκο συν τον όγκο της επιπλέον στήλης. (V_0 ή V_m χρησιμοποιούνται μερικές φορές ως σύμβολα).

Κενός χρόνος (t_m ή t_0): Ο χρόνος για την εξαγωγή κορυφής που δεν εξασφαλίζεται.

Κινητή Φάση: Ένας υγρός μεταφορέας του διαλυμένου δείγματος μέσω της στήλης στο LC. Μπορεί να είναι ένας διαλύτης ή ένα ομοιογενές μίγμα μερικών διαλυτών. Επίσης καλείται eluent. Η σύνθεση της κινητής φάσης μπορεί να κρατηθεί σταθερή (ισοκρατική έκλυση) ή μπορεί να ποικίλει (έκλυση κλίσης gradient) κατά τη διάρκεια μιας εφαρμογής. Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης συνήθως διατηρείται σταθερό, αλλά μπορεί να ποικίλει (ροή προγράμματος).

Κλίμακα διαχωρισμού σε συστατικά διαφορετικών ιδιοτήτων: Στο SEC, αναφέρεται στη κλίμακα λειτουργίας ενός γαλακτώματος ή της πλήρωσης. Αυτή είναι η κλίμακα στην οποία η πλήρωση μπορεί να διαχωρίσει τα μόρια ανάλογα με το μέγεθός τους. Τα μόρια που είναι πάρα πολύ μεγάλα για να κάνουν διάχυση στους πόρους, αποκλείονται. Τα μόρια που μπορούν να κάνουν διάχυση σε όλους τους πόρους διαπερνούν συνολικά τη πλήρωση, εκκλύοντας τον όγκο διεύδυσης.

Κολλοειδές πήκτωμα πυριτίου (silica gel): Η πιο κοινά χρησιμοποιημένη πλήρωση στην υγρή χρωματογραφία. Έχει μια άμορφη δομή, είναι πορώδης, και αποτελείται από την οργανική ένωση πυριτίου (siloxane) και τις ομάδες πυριτίου. Χρησιμοποιείται ως πλήρωση για την προσρόφηση, στην υγρή χρωματογραφία ή για τις χημικά δεσμευμένες φάσεις, και με τα

διάφορα μεγέθη πόρων, σαν πλήρωση στη χρωματογραφία αποκλεισμού-μεγέθους. Τα μικρομόρια διοξειδία πυριτίου με μέση διάμετρο μορίου 5 και 10 μm χρησιμοποιούνται στο HPLC.

Κοντή στήλη LC: Η χρήση στο HPLC των κοντών στηλών (3-7 εκατ. σε μήκος) με τυπικές εσωτερικές διαμέτρους (2-6 $\chi\lambda.$), που περιβάλλονται με μικρά μόρια (3- ή 5- $\mu\text{m } d_p$). Οι πιο συνηθισμένα είναι σε δευτερόλεπτα έως μερικά λεπτά.

Κορυφή Μετώπου: Μορφή κορυφής στην οποία το μπροστινό κοίλωμα της κορυφής (πριν από την κορυφή) σε ένα χρωματογράφημα λεπταίνει σε σχέση με το υπόλοιπο της κορυφής. Υπάρχει μια ασυμμετρική διανομή με μια κύρια κορυφή. Ο παράγοντας ασυμμετρίας για μια τέτοια κορυφή έχει τιμή < 1 .

Κορυφή: Καταγραφή ίχνους που αντιπροσωπεύει την απόκριση ανιχνευτή σε μια χρωματογραφική ζώνη που προκύπτει από τη διέλευση δείγματος μέσω στήλης. Ιδανικά, έχει γκαουσιανή μορφή. Ο όρος κορυφή, χρησιμοποιείται συχνά για τη ζώνη του υλικού που αντιπροσωπεύει, όπως, π.χ., στην έκφραση "κορυφή καθαρότητας".

Κυανή φάση: Μια στατική φάση που αποτελείται συνήθως από τις cyanopropylsilyl ομάδες. Χρησιμοποιείται και στην χρωματογραφία κανονική και στην ανάστροφη φάση.

Κυμαινόμενη ροή: Ροή που προέρχεται από μια παλινδρομική αντλία. Κανονικά, οι παλμοί ηχομονώνονται από ένα αποσβεστήρα παλμού, από ένα ηλεκτρονικό κύκλωμα ανάδραση πίεσης ή από μια ενεργή αντλία αποσβεστήρα. Μερικοί ανιχνευτές (π.χ. ηλεκτροχημικοί) επηρεάζονται από τους παλμούς ροής.

Λιποφιλικός: Ουσία με χημική συγγένεια με τις λιπαρές ουσίες (λιπίδια).

Λιποφοβικός: Απόρριψη των λιπαρών ουσιών (λιπιδίων).

Μαζική μεταφορά: Η διαδικασία μετακίνησης της διαλυτής ουσίας σε και από τη στατική φάση ή την κινητή φάση. Ο τρίτος όρος της εξίσωσης van Deemter αναφέρεται ως όρος μαζικής μεταφοράς. Όσο περισσότερο διαρκεί η διαδικασία της μαζικής μεταφοράς, τόσο καλύτερη η αποδοτικότητα της στήλης. Στο HPLC, η μαζική μεταφορά είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει στην αποδοτικότητα της στήλης. Αυξάνεται με την χρήση των μικρών μορίων στη πλήρωση, των λεπτών στρωμάτων της στατικής φάσης, του χαμηλού ιξώδους των κινητών φάσεων και των υψηλών θερμοκρασιών.

Μακροπορώδης ρητίνη: Η διασύνδεση των ρητινών ανταλλαγής ιόντων που έχουν και τα δύο, μικροπόρους (micropores) μοριακών διαστάσεων και μακροπόρους (macropores) πλάτους αρκετών εκατοντάδων \AA . Αυτές είναι ιδιαίτερα πορώδεις ρητίνες με μεγάλες εσωτερικές περιοχές επιφάνειας προσοιτές στα μεγάλα μόρια.

Μέγεθος μορίων (d_p): Το μέσο μέγεθος μορίων της πλήρωσης σε μια στήλη LC. Μια στήλη 5 μm θα ήταν πληρωμένη με μόρια που έχουν καθορισμένο μέγεθος μορίων.

Μέθοδος Bet: Μια μέθοδος που αναπτύχθηκε από τους Brunauer, Emmett και Teller για τη μέτρηση της επιφάνειας με τη χρησιμοποίηση της προσρόφησης συμπυκνωμένου υγρού αζώτου. Η κατανομή του όγκου και του μεγέθους των πόρων, μπορούν επίσης να ληφθούν μ' αυτό τον τρόπο.

Μειωμένη ταχύτητα (v):Μαζί με το μειωμένο ύψος πιάτου, χρησιμοποιείται για να συγκρίνει τις διαφορετικές χρωματογραφικές στήλες. Συσχετίζεται με το συντελεστή διάχυσης διαλυτής ουσίας (D_m) στην κινητή φάση στο μέγεθος μορίων της πλήρωσης της στήλης (d_p)* $V = d_p/D_m$.

Μειωμένο ύψος πιάτων (h):Χρησιμοποιημένος για να μετρήσει την αποδοτικότητα των στηλών. Μια στήλη HPLC με μια τιμή $h \leq 2$ θεωρείται ότι πληρώνεται καλά. $h = H/d_p$.

Μέση διάμετρος πόρων:Η μέση διάμετρος πόρων του πόρου σε μια πορώδη πλήρωση. Η διάμετρος πόρων είναι σημαντική δεδομένου ότι πρέπει να επιτρέψει την ελεύθερη διάχυση των μορίων διαλυτής ουσίας μέσα και έξω από τον πόρο έτσι ώστε η διαλυτή ουσία να μπορεί να αλληλεπιδράσει με τη στατική φάση. Στο SEC οι πληρώσεις έχουν διαφορετικές διαμέτρους πόρων, και επομένως τα μόρια των διαφορετικών μεγεθών μπορούν να χωριστούν. Για ένα τυπικό προσροφητικό όπως το πήκτωμα πυριτίου, οι διάμετροι πόρων 60-Å και 100-Å οι δημοφιλέστεροι. Για τις πληρώσεις που χρησιμοποιούνται για το χωρισμό των βιομορίων, οι διάμετροι πόρων που χρησιμοποιούνται είναι ≥ 300 Å.

Μέσο Δεσμευμένης Φάσης:Υλικό πλήρωσης στήλης (ενίσχυση στερεού, στάσιμη φάση) στο οποίο ένας οργανικός, π.χ. το octadecyl ($C_{18}H_{37}$), συνδέεται ομοιοπολικά με την ενίσχυση, π.χ. το πυρίτιο. Δεδομένου ότι το octadecyl ($C_{18}H_{37}$) παρέχει το λιπόφιλο (μη πολικό) χαρακτήρα σε έναν κανονικά υδρόφιλο χαρακτήρα της ενίσχυσης.

Μετατόπιση χρωματογραφίας:Διαδικασία χρωματογραφίας, στην οποία το δείγμα τοποθετείται επάνω στη κεφαλή της στήλης και μετατοπίζεται έπειτα από μια ένωση που απορροφάται πιο έντονα από τις ενώσεις του αρχικού μίγματος. Τα μόρια του δείγματος μετατοπίζονται το ένα με το άλλο και περισσότερο όσο πιο έντονα απορροφάται η ένωση. Το αποτέλεσμα είναι ότι η ουσία του δείγματος έκλουσης μπορεί να οξυνθεί, οι τεχνικές μετατόπισης έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως σε προπαρασκευαστικές εφαρμογές του HPLC.

Μεταφορέας:Ένας όρος που χρησιμοποιείται περισσότερο στη χρωματογραφία συγγένειας. Μεταφέρει το ενεργό ένζυμο, αντιγόνο, ορμόνη, συνήθως από έναν ομοιοπολικό δεσμό. Μπορεί επίσης να αναφέρεται ως το μέσο σε άλλους τύπους χρωματογραφίας.

Μετρητής Ιόντων:Ένα οργανικό ιονικό είδος που εισάγεται στην κινητή φάση για να διαμορφώσει τα ιονικά ζευγάρια με αντίθετα φορτισμένα ιονικά ή ιονιζόμενα συστατικά του δείγματος. Το ιόν μετρητής επιλέγεται ώστε να παρέχεται αρκετή λιποφιλικότητα στο ιονικό ζευγάρι έτσι ώστε να κατακρατηθεί από μια λιπόφιλη (αντίστροφη φάση) στάσιμη φάση. Η διαδικασία είναι γνωστή ως χρωματογραφία ζευγαρώματος ιόντων (PIC).

Μετωπική ανάλυση:Χρωματογραφική τεχνική που περιλαμβάνει τη συνεχή προσθήκη δείγματος στη στήλη. Με αποτέλεσμα ότι μόνο η ελάχιστη απορροφημένη ένωση, η οποία κινείται σε γρήγορο ρυθμό λαμβάνεται σε καθαρό βαθμό. Η δεύτερη ελάχιστη απορροφημένη ένωση εξάγει με την πρώτη εξαγόμενη ένωση, η τρίτη ελάχιστη απορροφημένη ένωση με την πρώτη και δεύτερη ένωση, κ.λ.π., μέχρι το αρχικό δείγμα να εξάγεται στην έξοδο της στήλης. Η μετωπική ανάλυση χρησιμοποιείται σπάνια και είναι κυρίως μια τεχνική προετοιμασίας.

Μη αντιστρεπτή προσρόφηση:Όταν μια ένωση που έχει μια πολύ ισχυρή συγγένεια με το υλικό προσρόφησης εγγέεται σε στήλη, μπορεί να προσροφηθεί τόσο έντονα που δεν μπορεί να εξαχθεί από τη στήλη. Συνήθως μη αντιστρεπτές προσροφήσεις συμβαίνουν όταν η χημική ένωση του διαλύματος αντιδρά χημικά με το υλικό της στήλης (φαινόμενο χημειοπροσρόφησης).

Μήκος αλυσίδας: Το μήκος της αλυσίδας άνθρακα υδρογονανθράκων μιας αντίστροφης φάσης περιβλήματος, εκφράζεται ως αριθμός ατόμων άνθρακα (π.χ. C₈, C₁₈).

Μικρό LC: Αναφέρεται συλλογικά στις τεχνικές στις οποίες μια στήλη της τάξης μικρότερης από συνηθισμένη εσωτερική διάμετρο, χρησιμοποιείται για το χωρισμό. Στο μικρό HPLC οι στήλες που χρησιμοποιούνται είναι < 0.5mm.

Μικρομόριο: Αναφέρεται στα μικρά μόρια που χρησιμοποιούνται στις στάσιμες φάσεις στο HPLC. Γενικά, πληρώσεις με μια διάμετρο μορίου < 10 lm που είναι συνολικά πορώδη θεωρούνται μικρομόρια.

Μόριο μη πορώδη: Αναφέρεται σε ένα στερεό μόριο που χρησιμοποιείται ως μια πορώδης-επιστρωμένη φάση ή μια φάση χημικών δεσμών.

Μορφή κορυφής: Περιγράφει το σχεδιάγραμμα μιας χρωματικής γραφικής κορυφής. Η θεωρία υποθέτει μια κορυφή γκαουσιανής μορφής (τέλεια συμμετρική) ο συντελεστής ασυμμετρίας κορυφής περιγράφει τη μορφή ως αναλογία. Δείτε την ασυμμετρία. Μπορεί να συναρμολογηθεί από τα συστατικά ή μπορεί να προμηθευτεί ως μονάδα.

Ξηροκολλοειδή γαλακτώματα (Xerogels): Κολλοειδή πηκτώματα που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού.

Ο όρος **C (Mass transfer)** αντιπροσωπεύει τη διεύρυνση της ζώνης που οφείλεται σε κατάσταση μη ισορροπίας και έχει σχέση με την ακίνητη φάση, το συντελεστή κατανομής και την ταχύτητα διάχυσης των δυο φάσεων.

Ο όρος **A (Eddy diffusion)** έχει σχέση με το μέγεθος και την ομοιομορφία των σωματιδίων πλήρωσης της στήλης. Οι σφιχτά γεμισμένες στήλες με μικρά σωματίδια δίνουν μικρές τιμές του **A**, ενώ σε πολύ καλά συσκευασμένες στήλες οι τιμές του **A** τείνουν προς το μηδέν.

Ο όρος **B (Diffusion along the column)** σχετίζεται με τη διάχυση κατά μήκος της στήλης. Η διάχυση στα υγρά είναι μικρότερη από ότι στα αέρια, οπότε ο όρος **B** είναι ασήμαντος με μια υγρή κινητή φάση.

Όγκος αποκλεισμού (V_e): Ο όγκος διατήρησης ενός μορίου σε μια πλήρωση SEC, όλα τα μόρια μεγαλύτερα σε μέγεθος από το μεγαλύτερο πόρο αποκλείονται συνολικά και εξάγουν το διάμεσο όγκο της στήλης.

Όγκος διάσπασης (Breakthrough volume): Ο όγκος στον οποίο μια συγκεκριμένη διαλυτή ουσία αντλείται συνεχώς μέσω της στήλης. Είναι χρήσιμος στον καθορισμό της συνολικής χωρητικότητας δείγματος της στήλης για μια συγκεκριμένη διαλυτή ουσία.

Όγκος διατήρησης (V_R): Ο όγκος της κινητής φάσης που απαιτείται, από την έγχυση δείγματος, να εκλούσει ένα συγκεκριμένο συστατικό από τη στήλη, ο όγκος αυτός είναι χαρακτηριστικός για το συστατικό κάτω από ένα δεδομένο σύνολο συνθηκών λειτουργίας. Ο όγκος της κινητής φάσης που απαιτείται για να εξάγει μια ουσία από τη στήλη $V_R = F \cdot t_R$ ή $V_R = V_m - K_D V_s$, όπου το V_m είναι ο κενός όγκος, K_D ο συντελεστής διανομής, και V_s ο όγκος στατικής φάσης.

Όγκος έκλυσης (V_R): Αναφέρεται στον όγκο της κινητής φάσης, που απαιτείται για να γίνει η εξαγωγή της διαλυμένης ουσίας από τη στήλη στη μέγιστη συγκέντρωση.

Όγκος πόρου: Ο συνολικός όγκος των πόρων σε μια πορώδη πλήρωση, συνήθως εκφρασμένος σε mL/g. Μετρείται με τη μέθοδο BET προσρόφησης αζώτου ή από την παρείσφρηση, εισβολή του υδραργύρου, όπου το Hg αντλείται στους πόρους κάτω από υψηλή πίεση.

Όγκος πρόσθετου ξένου ιόν στο κρυσταλλικό πλέγμα (V_0): Ο συνολικός όγκος της κινητής φάσης μέσα στο μήκος της στήλης. Αποτελείται από τον ενδομοριακό όγκο (μέσα στο περίβλημα) και τον μεσομοριακό όγκο (μεταξύ των μορίων περιβλήματος). Όπως τον κενό όγκο. Επίσης ως συντόμευση V ή V_m .

Οπτικά ενεργός ρητίνη: Ενσωμάτωση των οπτικά ενεργών ομάδων σε μια ρητίνη με ανταλλαγή ιόντων για να επιτρέψει το διαχωρισμό των οπτικά ενεργών ισομερών. Πολλοί δεν είναι εμπορικά διαθέσιμοι στο HPLC.

Οργανική ένωση πυριτίου (Siloxane): Δεσμός Si-O Si. Σταθερός εκτός από τις υψηλές τιμές pH.

Οργανικός τροποποιητής: Ο ικανός για ανάμειξη με νερό οργανικός διαλύτης προστίθεται σε μια υδάτινη κινητή φάση για να επιδρά στους διαχωρισμούς στην αντίστροφη φάση HPLC.

Όριο αποκλεισμού: Στο SEC, το ανώτερο όριο του μοριακού βάρους (ή μεγέθους), πέρα από το οποίο τα μόρια θα εξαχθούν στον ίδιο όγκο διατήρησης, που ονομάζεται όγκος αποκλεισμού. Πολλές πληρώσεις SEC αναφέρονται στο όριο αποκλεισμού τους. Π.χ., μια στήλη με μοριακό βάρος 10 πορώδους πηκτώματος πυριτίου θα αποκλείσει οποιεσδήποτε ενώσεις με ένα μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 100.000, βασισμένο στα πρότυπα βαθμολόγησης πολυστυρενίου.

Όρος διάχυσης Eddy: Ο πρώτος όρος στην εξίσωση van Deemter. Είναι η συμβολή στο ύψος κορυφών που οφείλεται στα μόρια που ταξιδεύουν κατά μήκος διαφορετικών δρόμων μέσω της στήλης: και εξαρτάται από το μέγεθος των μορίων και τη γεωμετρία της πλήρωσης της σταθερής φάσης. Επίσης καλείται σαν όρος πολλαπλών διαδρομών.

Όρος μοριακής διάχυσης: Αναφέρεται στο δεύτερο όρο της εξίσωσης van Deemter. Επίσης αποκαλούμενος διαμήκης ή αξονικός όρος διάχυσης. Σημαντικός στη διεύρυνση ζωνών μόνο σε πολύ χαμηλά ποσοστά ροής κάτω από το ελάχιστο ύψος πιάτων που η διάχυση των μεμονωμένων διαλυτών ουσιών μπορεί να εμφανιστεί σε μια διαμήκη (κατά μήκος) κατεύθυνση στη στήλη. Δείτε την εξίσωση van Deemter.

Ουρά κορυφής: Το φαινόμενο στο οποίο η κανονική γκαουσιανή κορυφή έχει παράγοντα ασυμμετρίας > 1 . Η κορυφή που θα είναι λοξή στο απώτατο άκρο της. Η παρακολούθηση προκαλείται από τις περιοχές στο περίβλημα που έχουν μια ισχυρή, από την φυσιολογική διατήρηση για τη διαλυτή ουσία. Ένα τυπικό παράδειγμα ενός φαινομένου παρακολούθησης είναι η ισχυρή προσρόφηση των αμινών στις υπόλοιπες ομάδες πυριτίου της πλήρωσης μιας αναστροφής φάσης χαμηλής κάλυψης.

Παράγοντας Ικανότητας(k'): Ο όρος "ικανότητα" περιγράφει το μέγιστο ποσό υλικού που μπορεί να χρωματογραφηθεί σε μια στήλη χωρίς να υποβαθμίζεται η δυνατότητα διαχωρισμού στην υπερφόρτωση.

Παράγοντας χωρητικότητας (capacity factor): Χρωματογραφική παράμετρος που μετρά το βαθμό διατήρησης.

Πιάτα: Αναφέρεται στα θεωρητικά πιάτα, στο περίβλημα στήλης. Δείτε τον όρο θεωρητικό πιάτο.

Πίεση κεφαλής: Η πίεση στην αρχή της στήλης, εκφράζεται σε psig, bar, atm, ή Mpa.

Πίσω πίεση στηλών: Δείτε την πίεση στη κεφαλή.

Πλάτος ζωνών (t_w): Το πλάτος της χρωματογραφικής ζώνης κατά τη διάρκεια της εξαγωγής από τη στήλη. Μετρείται συνήθως στη βασική γραμμή από το σχεδιασμό των εφαπτόμενων στις πλευρές της γκαουσιανής καμπύλης που αντιπροσωπεύει την κορυφή. Τα μικρά πλάτη ζωνών αντιπροσωπεύουν συνήθως την απόδοση των διαχωρισμών. Επίσης αναφέρεται σαν πλάτος κορυφής.

Πλάτος κορυφής: Όπως ο όρος πλάτος ζωνών.

Πλήρης Κλίμακα Μονάδων Απορροφητικότητας (AUFS): Στην ανίχνευση απορρόφησης από το υπεριώδες ή το ορατό φως, η μέγιστη τιμή της απορροφητικότητας μετράται με συγκεκριμένη μείωση του ανιχνευτή.

Πλήρωση πηλού: Η πιο πολύ χρησιμοποιημένη τεχνική για να περιβάλλει τις στήλες HPLC με μικρομόρια. Η πλήρωση αναστέλλεται σε έναν πηλό (10% wt/vol) και αντλείται γρήγορα στην άδεια στήλη. Ειδικές αντλίες υψηλής πίεσης χρησιμοποιούνται.

Πλήρωση: Το προσροφητικό, το κolloειδές πήκτωμα, ή το στερεό υλικό που χρησιμοποιείται στη στήλη HPLC. Τα περισσότερα περιβλήματα HPLC είναι <10 μm κατά μέσης τιμής διαμέτρου.

Πολικές ενώσεις: Μέσο πυριτίου.

Πολυακρυλαμίδιο κolloειδές πήκτωμα: Ουδέτερο υδρόφιλο πολυμερές πλήρωση που χρησιμοποιείται στο υδάτινο SEC. Προετοιμάζεται από τον συμπολιμερισμό της ακρυλαμίδης.

Πολυμερή πληρώσεις: Πληρώσεις βασισμένες στα πολυμερή υλικά, συνήθως υπό μορφή σφαιρικών χαντρών. Τα κοινά πολυμερή σώματα που χρησιμοποιούνται σε LC είναι πολυστυρόλιο-divinylbenzene, πολυακρυλαμίδιο, πολυμεθύλιο, οξειδίο πολυαιθυλενίου, polydextran, και πολυσακχαρίτης.

Πολυστυρόλιο-divinylbenzene ρητίνη (PS-DVB): Η πιο κοινή βάση πολυμερούς για τη χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων. Οι ιοντικές ομάδες ενσωματώνονται από τις διάφορες χημικές αντιδράσεις. Οι ουδέτερες χάντρες PS-DVB χρησιμοποιούνται στην χρωματογραφία αντίστροφης φάσης. Η πορώδης και η μηχανική σταθερότητα μπορεί να αλλάξει με την ποικιλία της διασύνδεσης μέσω της μεταβολής του περιεχομένου DVB.

Πορώδης υφή: Για ένα πορώδες προσροφητικό, ο λόγος όγκου του κενού χώρου προς τον όγκο των στερεών μορίων. Ο όγκος πόρων χρησιμοποιείται επίσης ως μέτρηση της πορώδους υφής.

Προ Στήλη: Μια μικρή στήλη που τοποθετείται μεταξύ και της αναλυτικής στήλης. Προστατεύει την αναλυτική στήλη από τη μόλυνση από δείγματα με διαφορετικά σωματίδια και, ίσως από είδη που διατηρούνται περισσότερο. Η στήλη προφύλαξης, καθώς η αναλυτική στήλη είναι συχνά από το ίδιο υλικό. Είναι πιο κοντή, κοστίζει λιγότερο, και συνήθως απορρίπτεται όταν μολυνθεί.

Προγραμματισμός θερμοκρασίας: Κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού μπορούμε να μεταβάλλουμε τη θερμοκρασία της στήλης ως συνάρτηση του χρόνου.

Προγραμματιστής Διαλύτη: συσκευή για να παραγάγει τις κλίσεις gradients (βαθμιαία έκλυση Gradient Elution) ή τις κλίσεις ροής (προγραμματισμένη ροή) σε μια κινητή φάση κατά τη διάρκεια της εφαρμογής.

Προπαρασκευαστική (Preparative) χρωματογραφία: Η διαδικασία χρήσης της υγρής χρωματογραφίας για να απομονώσει ένα επαρκή ποσό υλικού για άλλους πειραματικούς ή λειτουργικούς λόγους. Για τους φαρμακευτικούς ή βιοτεχνολογικούς καθαρισμούς, οι στήλες με αρκετά πόδια διαμέτρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν για πολλαπλά γραμμάρια υλικού. Για την απομόνωση μόλις μερικών μικρογραμμαρίων μιας χημικής ένωσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια αναλυτική στήλη. Και οι δύο προσεγγίζουν την προπαρασκευαστική χρωματογραφία.

Προσαρμογή (Endfitting): Ο καθαρισμός στο τέλος της στήλης που τον συνδέει με τον εγχυτήρα ή τον ανιχνευτή. Οι περισσότερες προσαρμογές HPLC περιέχουν ένα υαλοβερνίκωμα για να κρατήσουν τη πλήρωση και να έχουν έναν χαμηλό νεκρό όγκο για την ελάχιστη διάδοση ζωνών. Συνήθως κατασκευάζεται από ανοξείδωτο χάλυβα.

Προσρόφηση: Η διαδικασία της αλληλεπίδρασης μεταξύ ενός διαλύματος και της επιφάνειας ενός στερεού προσροφητικού. Οι δυνάμεις που δημιουργούνται μπορούν να είναι ισχυρές (παραδείγματος χάριν, δεσμοί υδρογόνου) ή αδύνατες (δυνάμεις van der Waals). Για το (γαλάκτωμα) πυριτίου, η πυριτική ομάδα είναι η κύρια δύναμη για την προσρόφηση, και οποιαδήποτε λειτουργική ομάδα διαλυμένης ουσίας που μπορεί να αλληλεπιδράσει με αυτήν την ομάδα μπορεί να διατηρηθεί από την υγρή-στερεά χρωματογραφία στο πυρίτιο.

Προσροφητικό υλικό: Αναφέρεται σε πλήρωση προσρόφησης που χρησιμοποιείται στην υγρή χρωματογραφία. Ένας κοινό απορροφητικό υλικό είναι το κολλοειδές πήκτωμα πυριτίου.

Προσροφητικό: Συσκευασία που χρησιμοποιείται στη χρωματογραφία προσρόφησης. Το κολλοειδές πήκτωμα πυριτίου και η αλουμίνα είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιημένα προσροφητικά στο HPLC.

Πυρίτιο: Η ομάδα Si-OH που βρίσκεται στην επιφάνεια του κολλοειδούς πηκτώματος του πυριτίου. Υπάρχουν διαφορετικές δυνάμεις πυριτίου, ανάλογα με τη θέση και τη σχέση τους το ένα με το άλλο. Τα ισχυρότερα είδη πυριτίου είναι όξινα και συχνά οδηγούν σε ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις με τις βασικές ενώσεις κατά τη διάρκεια της χρωματογραφίας.

Ρητίνη Microreticular: Διασυνδεδεμένες συνθετικές ρητίνες ιονικής ανταλλαγής με ανοίγματα πόρων που αντιστοιχούν σε μοριακά μεγέθη. Η διάχυση στους στενούς πόρους μπορεί να εξασθενήσει, και να θεωρηθεί σε χαμηλές ανταλλαγές, καθώς επίσης και κακή απόδοση, μπορεί να παρουσιαστεί ειδικά και για τα μεγάλα μόρια.

Ρητίνη: Κατηγορία ουσιών πλήρωσης που χρησιμοποιούνται στις στήλες ανταλλαγής ιόντων. Οι δημοφιλέστερες ρητίνες είναι συμπολυμερή του πολυστυρόλιο και του διβινυλβενζόλιο, με μέγεθος σωματιδίων (< 10 μ).

Ρυθμός ροής (F): Η μεταβολή της ροής της κινητής φάσης διαμέσου μιας στήλης LC. Για μια συμβατική στήλη HPLC των 4,6mm έχει τυπικούς ρυθμούς ροής από 1 έως 2 ml/min.

Σειρά Eluotropic: Μια σειρά από διαλύτες, με έναν αυξανόμενο βαθμό πολικότητας, που γενικά χρησιμοποιείται για να εξηγήσει τη διαλυτική δύναμη στην υγρή - στερεά χρωματογραφία ή στην χρωματογραφία προσρόφησης. Ένας μη πολικός διαλύτης όπως το πεντάνιο θα ήταν από τη μία πλευρά της κλίμακας, το διχλωρομεθάνιο θα είναι ένας ενδιάμεσος διαλύτης, ένας πιο

έντονα πολικός διαλύτης, όπως το νερό, θα ήταν στην άλλη άκρη της κλίμακας. Κατά συνέπεια, κατά την ανάπτυξη μιας μεθόδου ή της εφαρμογής μιας κλίσης (gradient), μια σειρά eluotropic είναι χρήσιμη για την επιλογή διαλυτών.

Στάσιμες φάσεις (CSP):Στάσιμες φάσεις που σχεδιάζονται να διαχωρίζουν τα εναντιομερή συστατικά. Μπορούν να συνδεθούν χημικά με στερεά σωματίδια ή να δημιουργηθούν επί τόπου στην επιφάνεια του στερεού υποστρώματος, ή μπορούν να είναι κοιλότητες επιφάνειας που επιτρέπουν τις συγκεκριμένες αλληλεπιδράσεις με μια εναντιομερή μορφή.

Στάσιμη Φάση:Στην προσρόφηση, η διείσδυση κολλοειδών πηκτωμάτων ή η χρωματογραφία εναλλαγής ιόντων, το μέσο με το οποίο μια στήλη πληρώνεται. Στην υγρού-υγρού χρωματογραφία χωρισμάτων, είναι η μη-κινητή φάση που περιβάλλεται σε μια στερεά υποστήριξη.

Στατική φάση:Η ακίνητη φάση που περιλαμβάνεται στη χρωματογραφική διαδικασία. Η στατική φάση στην υγρή χρωματογραφία μπορεί να είναι ένα στερεό, ή δεσμευμένη ή επιστρωμένη φάση σε ένα στερεό, ή σε μια φάση εσωτερικής επιστρωμένης κοιλότητας. Η στατική φάση χρησιμοποιούμενη συχνά χαρακτηρίζει τον τύπο LC. Π.χ. το κολλοειδές πήκτωμα πυριτίου χρησιμοποιείται στη χρωματογραφία προσρόφησης, μια octadecylsilane δεσμευμένη φάση στην αντίστροφη φάση χρωματογραφίας, κ.λ.π..

Στερική χρωματογραφία αποκλεισμού (SEC) :Ο κύριος τύπος LC στον οποίο τα δείγματα διαχωρίζονται ως προς το μέγεθος τους στο διάλυμα. Επίσης, γνωστός ως αποκλεισμός μεγέθους, διείσδυση, διήθηση, ή χρωματογραφία κολλοειδών πηκτωμάτων.

Στήλη καταστολέα:Στην ιονική χρωματογραφία, αναφέρεται στη στήλη που τοποθετείται στη στήλη μετά την ανταλλαγή ιόντων. Ο σκοπός του είναι να καταστείλει τα απομονωμένα ιόντα , έτσι ώστε το δείγμα ιόντων μπορεί να παρατηρηθεί σε ένα αδύναμο αγώγιμο υπόβαθρο με έναν ανιχνευτή αγωγιμότητας.

Στήλη κορεσμού:Δείτε τον όρο της προ στήλης (Precolumn).

Στήλη προστασίας (Precolumn):Μια μικρή στήλη που τοποθετείται μεταξύ της αντλίας και του εγχυτήρα. Αφαιρεί το μοριακό θέμα που μπορεί να είναι στην κινητή φάση, και χημικά απορροφά ουσίες που ίσως να συμβάλλουν στο διαχωρισμό ή ως μια στήλη κορεσμού, η κινητή φάση με τη στατική φάση για να αποτρέψει τη «γύμνια» της στήλης. Ο όγκος του έχει λίγη επίδραση στην ισοκρατική εξαγωγή αλλά συμβάλλει σε μια καθυστέρηση στην κλίση στην κλίση εξαγωγής.

Στήλη στενής διαμέτρου:Στήλες < 0.5mm, χρησιμοποιείται στο HPLC. Αυτή τη στιγμή. Λίγες στήλες αυτού του τύπου είναι εμπορικά διαθέσιμες.

Συγκράτηση με χημικό δεσμό:Απορρόφηση που προκαλείται από μια χημική αντίδραση με το περίβλημα. Οι περισσότερες τέτοιες αλληλεπιδράσεις είναι αμετάκλητες, συνήθως συμβαίνουν στα περιβλήματα με τις αντιδραστικές λειτουργικές ομάδες όπως το πυρίτιο ή οι δεσμοί των αμινο φάσεων.

Συμβατότητα στήλης:Όρος για να δείξει ότι το τμήμα στήλης ή άλλου οργάνου δεν θα προσροφήσει ή δεν θα απενεργοποιήσει τα βιομόρια, όπως οι πρωτεΐνες. Επομένως το τμήμα αυτό θα πρέπει να είναι συμβατό με τις πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται.

Συνδεδεμένες στήλες:Μια μορφή μετατροπής στήλης. Χρησιμοποιεί μια αρχική στήλη που συνδέεται με δύο δευτεροβάθμιες στήλες μέσω μιας βαλβίδα επιλογής. Τα μέρη από την πρώτη στήλη μπορούν να μεταφερθούν επιλεκτικά σε δύο άλλες στήλες για πρόσθετο διαχωρισμό. Ο όρος που χρησιμοποιείται επίσης για να περιγράψει δύο ή περισσότερες στήλες συνδεδεμένες στη σειρά, παρέχει αύξηση στον αριθμό πιάτων.

Συνολικός όγκος διείσδυσης (V_p):Ο όγκος διατήρησης στη πλήρωση SEC, στο οποίο όλα τα μόρια μικρότερα από το μικρότερο πόρο θα εξαχθούν.

Συντελεστής k' :Συντελεστής χωρητικότητας, $k' = (\text{μάζα στην στατική φάση}) / (\text{μάζα στην κινητή φάση})$.

Συντελεστής διάχυσης (D_m ή D_s):Μια θεμελιώδης παράμετρος ενός μοριακού διαλύματος (D_m) ή της στατικής φάσης (D_s). Εκφρασμένη σε cm^2/s . Η παράμετρος D_m εξαρτάται από το μοριακό βάρος της διαλυτής ουσίας, από τη θερμοκρασία, από το διαλυτικό ιξώδες, και από το μοριακό όγκο της διαλυτής ουσίας. Μια χαρακτηριστική τιμή ενός μικρού μορίου σε RPC, σε θερμοκρασία δωματίου θα ήταν $5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Συντελεστής χωρισμάτων:Το ποσό διαλυτής ουσίας στη στατική φάση σχετικά με το ποσό διαλυτής ουσίας στην κινητή φάση.

Σύστημα:Ένα σύστημα είναι μια πλήρης χρωματογραφική μονάδα (συμπεριλαμβανομένης της στήλης)

Σφαιρική πλήρωση:Αναφέρεται στα σφαιρικά στερεά υλικά πλήρωσης. Η σφαιρική πλήρωση προτιμάται από τα μη σφαιρικά (μη ομοιόμορφα) μόρια.

Σχετικός όγκος έκλουσης: $V'_R = V_R - V_m$, όπου V_m , είναι ο νεκρός ή ο κενός όγκος.

Σχετικός χρόνος έκλουσης (t'_R):Ένα μέτρο του χρόνου έκλουσης που ρυθμίζεται για τον κενό όγκο, $t'_R = t_R - t_m$ (or t_0).

Ταχύτητα ροής (u):Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης.

Ταχύτητα ροής (u):Η ταχύτητα της κινητής φάσης στην στήλη. Εκφράζεται σε cm/s . Συσχετίζεται με το ποσοστό ροής από τη διατομή της. Μερικές φορές εκφράζεται ως $v \cdot (1 - R_f) / R_f$.

Τιμή Άλφα (α):Τιμή του διαχωρισμού δύο οποιοδήποτε συστατικών κάτω από δεδομένες συνθήκες. Είναι η αναλογία των όγκων διατήρησης (έκλουσης) των δύο συστατικών, π.χ. η σχετική διατήρησή τους, όταν $\alpha = 1,5$, ο διαχωρισμός είναι ουσιαστικά πλήρης.

Τριχοειδής σωλήνωση:Σωλήνωση για τη σύνδεση των διάφορων μερών του χρωματογράφου. Η πιο συνηθισμένη τριχοειδής σωλήνωση που χρησιμοποιείται στο HPLC είναι < 0.020 inches. Η μικρότερη χρήσιμη σωλήνωση είναι περίπου $0,004$ inches.

Τροποποιητής (Modifier):Πρόσθετη ουσία που αλλάζει το χαρακτήρα της κινητής φάσης. Π.χ. στην αντίστροφη φάση, το νερό είναι ο αδύνατος διαλύτης, η μεθανόλη, ο ισχυρός διαλύτης, και μερικές φορές καλείται ως τροποποιητής.

Υαλοβερνίκωμα:Το πορώδες στοιχείο σε κάθε τέλος μιας στήλης που χρησιμεύει να περιέχει τη πλήρωση στήλης. Τοποθετείται στις άκρες του σωλήνα στήλης ή πιο συνηθισμένα στις

προσαρμογές (endfitting). Τα υαλοβερνικόματα κατασκευάζονται από ανοξείδωτο χάλυβα ή από άλλο μέταλλο ή πλαστικό, όπως το πορώδες PTFE ή το πολυπροπυλένιο.

Υγρή ρευστή χρωματογραφία (LLC): Ίδια όπως τη χρωματογραφία χωρισμάτων. Η πιο πρόωρη μορφή HPLC, αυτό έδειξε το δρόμο στις χημικά συνδεδεμένες φάσεις στις αρχές της δεκαετίας του '70.

Υγρή στερεά χρωματογραφία (LSC): Ίδια όπως τη χρωματογραφία προσρόφησης.

Υγρή Χρωματογραφία (LC): Μια μέθοδος διαχωρισμού μιγμάτων στα επιμέρους συστατικά τους με σκοπό την απομόνωση, τον προσδιορισμό ή τον ποσοτικό προσδιορισμό. Ένας όγκος δειγμάτων, που διαλύεται σε ένα υγρό, μεταφέρεται από ένα υγρό που ρέει (κινητή φάση) μέσω μιας στήλης, που έχει πλήρωση με ένα λεπτά διαιρεμένο στερεό υλικό (στάσιμη φάση). Κατά τη διάρκεια της μετάβασής τους, τα συστατικά κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες λόγω των διαφορών τους στη χημική ή φυσική αλληλεπίδραση με τη στάσιμη φάση, που προκύπτει μέσω της στήλης χωριστά. Η υψηλή ισχύς διαχωρισμού επιτυγχάνεται με την χρήση πλήρωσης των πυκνά, πολύ μικρών μορίων και της μεγάλης ενεργής επιφάνειας (π.χ. 300 meter²/gram). Επειδή η βαρύτητα είναι ανεπαρκής να επιτύχει τα ικανοποιητικά ποσοστά ροής μέσω μιας σύγχρονης μικρομοριακής στήλης, μια αντλία χρησιμοποιείται, με πιέσεις λειτουργίας συχνά υψηλότερες από αρκετές χιλιάδες psi (αρκετές εκατοντάδες bar). Οι αρχικοί προσδιορισμοί "υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης" και "υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης" αντιστοιχούν στο προτιμημένο συλλογικό όνομα, "υγρή χρωματογραφία".

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης: Δείτε την υγρή χρωματογραφία.

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης: Δείτε την υγρή χρωματογραφία.

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Ταχύτητας: Δείτε την υγρή χρωματογραφία.

Υγρή-Στερεά Χρωματογραφία (LSC): Η προσρόφηση του δείγματος στα πολικά μέσα.

Υγρή-Υγρή Χρωματογραφία (LLC): Ένας τρόπος στον οποίο η στάσιμη φάση είναι ένα υγρό που ακινητοποιείται σε μια στερεά υποστήριξη (το υλικό πλήρωσης στήλης), και ένα δεύτερο υγρό, μη αναμίξιμο (η κινητή φάση) ρέει πέρα από αυτό, με συνέπεια μια σειρά από διαχωρισμούς (εξαγωγές) υγρού-υγρού των διαλυμένων διαλυτών ουσιών. Οι διαφορές στους συντελεστές διαχωρισμών για τα διαφορετικά μόρια διαλυτής ουσίας οδηγούν σε διαφορετικά ποσοστά μετακίνησης και διαχωρισμού κατά μήκος της στήλης.

Υδρόφιλος: Υδρόφιλη καλείται μια ένωση η οποία μπορεί να ασκήσει δυνάμεις σε υδατοδιαλυτά μόρια. Στην χρωματογραφία αφορά τα υλικά που μπορούν να ασκήσουν υδρόφιλες δυνάμεις στις διαλυμένες ουσίες.

Υδροφοβικός: Τα μόρια των στάσιμων φάσεων που δεν έχουν συγγένεια με το νερό. Υπάρχουν λίγες λειτουργικές ομάδες, όπως οι υδρογονάνθρακες. Αντίστοιχα με υδρόφιλα.

Υπερφόρτωση: Στην προπαρασκευαστική χρωματογραφία, ο όρος υπερφόρτωσης ορίζεται ως η μάζα του δείγματος που εγχέεται στη στήλη στην οποία η αποδοτικότητα και η διάλυση αρχίζουν να επηρεάζονται εάν το μέγεθος του δείγματος αυξάνεται περαιτέρω. Δείτε την χωρητικότητα δείγματος.

Υπόλοιπα πυριτίου: Οι ομάδες πυριτίου (-Si-OH) που παραμένουν στην επιφάνεια της πλήρωσης μετά από μια φάση που δεσμεύεται χημικά πάνω στην επιφάνειά της. Αυτές οι ομάδες

πυριτίου μπορούν να μην είναι προσιτές στο αντιδρόν ογκώδες organosilane (π.χ. octadecyldimethylchlorosilane), αλλά μπορεί να είναι προσιτές στις μικρές πολικές ενώσεις.

Φαινολική φάση:Μια μη πολική φάση χημικών δεσμών που προετοιμάζεται από την αντίδραση του dimethylphenylchlorosilane με το κolloειδές πήκτωμα πυριτίου. Ισχύει ότι έχει τη συγγένεια για αρωματικές ενώσεις.

Φορτίο:Το ποσοστό της στατικής φάσης που επικαλύπτεται. Στην υγρή ρευστή χρωματογραφία, το ποσό milligram υγρής φάσης ανά γραμμάριο πλήρωσης. Στο BPC το φορτίο μπορεί να εκφραστεί σε $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ή %C. Δείτε τον όρο της κάλυψης.

Χάντρα πορώδους στρώματος:Μια μικρή χάντρα γυαλιού που περιβάλλεται με ένα λεπτό στρώμα στατικής φάσης. Το λεπτό στρώμα μπορεί να είναι ένα προσροφητικό, μια ρητίνη, ή μια φάση που δεσμεύεται χημικά στο προσροφητικό. Αυτές ήταν οι πρώτες πληρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στο HPLC. Ήταν μεγαλύτερες (20-40 μm) από τις σημερινές πληρώσεις με τα ξεχωριστά μικροσωματίδια, αλλά ήταν εύκολο να πληρώσουν στις στήλες και να δώσουν επαρκή αποδοτικότητα. Επίσης αναφέρεται ότι έλεγχαν την πορώδους επιφάνεια που ενίσχυε τη μεμβρανώδη πλήρωση.

Χρόνος διατήρησης (t_R):Ο χρόνος μεταξύ της έγχυσης και της εμφάνισης του μεγίστου της κορυφής. Ο κανονικό χρόνος διατήρησης t'_R που ρυθμίζει για τον κενό όγκο στήλης. $t'_R = t_R - t_0$ (or t_m).

Χρόνος Διατήρησης:Δείτε το χρόνο έκλουσης.

Χρόνος Έκλουσης:Ο χρόνος που απαιτείται, από την έγχυση δείγματος, να εκλούσει ένα συγκεκριμένο συστατικό από τη στήλη. Ο χρόνος αυτός είναι χαρακτηριστικός για το συστατικό κάτω από ένα δεδομένο σύνολο συνθηκών λειτουργίας.

Χρωματογράφημα:Η ανίχνευση σημάτων εξόδου ως προς τον χρόνο ή του όγκου εξαγωγής κατά τη διάρκεια της χρωματογραφικής διαδικασίας.

Χρωματογραφία διαχωρισμού:Διαδικασία χωρισμού στην οποία μια από τις υγρές φάσεις κρατιέται στατική ενώ η άλλη επιτρέπεται να ρεύσει ελεύθερα κάτω από τη στήλη. Οι ίδιοι δαιλύτες ουσιών, μεταξύ των δύο φάσεων βασίζονται στους ανεξάρτητους συντελεστές των χωρισμάτων τους. Η υγρού-υγρού χρωματογραφία είναι ένα παράδειγμα.

Χρωματογραφία Ανάστροφης Φάσης (RP):Χρωματογραφία προσρόφησης στην οποία η στάσιμη φάση είναι αρκετά μη πολική, π.χ. μια πλήρωση φάσης δεσμών με τις ουσίες octadecyl ($\text{C}_{18} \text{H}_{37}$). Οι πιο ισχυροί διαλύτες έκλουσης είναι μη πολικοί, π.χ. το εξάνιο, και ισχυροί διαλύτες έκλουσης είναι μη πολικοί, π.χ. το νερό. Κατά συνέπεια, οι μη πολικές ενώσεις (λιπόφιλες, υδροφοβικές) διατηρούνται έντονα και εκλούνται αργά, τα πολικά (υδρόφιλα, λιποφοβικά) είδη διατηρούνται ασθενώς και εκλούνται νωρίς, στη χρωματογραφία RP.

Χρωματογραφία ανιοντο ανταλλαγής (Anion –exchange):Η διαδικασία ανταλλαγής ανιόντων χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό τους. Και οι ρητίνες και οι δεσμοί των φάσεων είναι διαθέσιμες για αυτόν τον τρόπο. Η ομάδα tetraalkylammonium είναι χαρακτηριστικά ισχυρή λειτουργική ομάδα στην εναλλαγή ανιόντων. Μια αμινο ομάδα σε ένα δεσμό ή σε ένα στρώμα σε στατική φάση θα ήταν ένα παράδειγμα ενός αδύναμου εναλλάκτη ανιόντων.

Χρωματογραφία ανταλλαγής ενζύμου, αντιγόνου, ορμόνης:Μια τεχνική στην οποία οι σχηματιζόμενες χημικές ενώσεις ενζύμων, αντιγόνων, ορμόνων προστίθενται στην κινητή φάση και υποβάλλονται στην απορρόφηση πάνω στη πλήρωση. Αυτά τα απορροφημένα μόρια μπορούν να ενεργήσουν ως οδηγοί σχηματισμού χημικής ένωσης με τις διαλυτές ουσίες. Ένα παράδειγμα θα ήταν η χρήση των χημικών ενώσεων αμινών χαλκού για το διαχωρισμό των αμινοξέων που σχηματίζουν τις χημικές ενώσεις ρητινών.

Χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων (IEC):Ένα είδος χρωματογραφίας στον οποίο οι ιοντικές ουσίες είναι χωρισμένες στις κατιονικές ή ανιοντικές πλευρές της πλήρωσης. Το δείγμα ιόν (συνήθως ένα αντίθετο ιόν) θα ανταλλάξει με τα ήδη ιόντα στην ιοντογενή ομάδα της πλήρωσης. Η ικανότητα συγκράτησης βασίζεται στη συγγένεια των διαφορετικών ιόντων για κάθε πλευρά και σε διάφορες άλλες παραμέτρους λύσης (pH, ιοντική δύναμη, τύπο αντίθετου ιόν, κ.λ.π.).

Χρωματογραφία Ανταλλαγής Ιόντων (IEC):Ένας τρόπος στον οποίο τα διάφορα ιοντικά είδη του δείγματος στην κινητή φάση έλκονται στις αντίθετα φορτισμένες ιοντικές περιοχές στη στάσιμη φάση. Η εκλεκτική μετατόπιση (έκλυση) των διάφορων ιοντικών ειδών από αυτές τις περιοχές λαμβάνεται συνήθως από τη μεταβαλλόμενα ιοντική δύναμη ή / και το pH της κινητής φάσης κατά τη διάρκεια της εφαρμογής.

Χρωματογραφία αντίστροφης φάσης (RPC):Ο πιο κοινός τρόπος HPLC. Χρησιμοποιεί υδροφοβικές πληρώσεις όπως το octadecyl - ή οι octylsilane φάσεις που δεσμεύονται με το πυρίτιο ή με τις ουδέτερες πολυμερείς χάντρες. Η κινητή φάση είναι συνήθως νερό και ένας οργανικός διαλύτης αναμιξιμοί με νερό όπως η μεθανόλη ή το ακετονιτρίλιο. Υπάρχουν πολλές παραλλαγές RPC στις οποίες οι διάφορες πρόσθετες ουσίες κινητής φάσης χρησιμοποιούνται να συγκροτούν μια διαφορετική επιλεκτικότητα. Π.χ., για το RPC των ανιόντων, η προσθήκη ενός απομονωτή και το άλας tetraalkylammonium θα επέτρεπαν στην ιονική ένωση για να εμφανιστεί και να επηρεάσει τους διαχωρισμούς, που συναγωνίζεται τη χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων.

Χρωματογραφία απευθείας φάσης:Όπως η χρωματογραφία κανονικής φάσης.

Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC):Όπως ο όρος στερικής χρωματογραφίας αποκλεισμού.

Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγέθους:Δείτε τη χρωματογραφία αποκλεισμού.

Χρωματογραφία αποκλεισμού:Δείτε τη χρωματογραφία χωρικού αποκλεισμού.

Χρωματογραφία Αποκλεισμού:Ένας τύπος του LC στον οποίο η διαφοροποίηση μεταξύ των διαφορετικών μορίων στο δείγμα εξαρτάται από τα διαφορετικά μεγέθη τους, κι όχι από τις συγγένειες, για τη στάσιμη φάση. Οι διαφορές στο μέγεθος οδηγούν σε διαφορετικές δυνατότητες στο να διαπεράσουν τα διαφορετικά μόρια(διάχυση) τους πόρους της στάσιμης φάσης. Τα μικρότερα μόρια διαπερνούν περισσότερους πόρους, ξεοδεύοντας κατά συνέπεια λιγότερο χρόνο στην κινητή φάση, και διαπερνούν τη στήλη πιο αργά από τα μεγαλύτερα μόρια. Το είδος της χρωματογραφίας είναι επίσης γνωστό ως διεϊσδυση κολλοειδών ηηκτωμάτων, αποκλεισμός μεγέθους, χρωματογραφία διήθησης κολλοειδών ηηκτωμάτων.

Χρωματογραφία γραμμικής εξαγωγής προσρόφησης (LEAC):Ένας όρος που δημιουργήθηκε από τον Lloyd Snyder. Αναφέρεται στη χρωματογραφία προσρόφησης που πραγματοποιείται λόγω ισόθερμης προσρόφησης.

Χρωματογραφία διείσδυσης κολλοειδούς πηκτώματος (GPC): Το SEC που πραγματοποιείται με τις οργανικές κινητές φάσεις. Χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό και το χαρακτηρισμό των πολυμερών σωμάτων SEC με τις υδάτινες κινητές φάσεις, αναφέρεται ως υδάτινο GPC, ή GFC.

Χρωματογραφία Διείσδυσης Κολλοειδών Πηκτωμάτων (GPC): Δείτε τη χρωματογραφία αποκλεισμού.

Χρωματογραφία διήθησης κολλοειδούς πηκτώματος (GFC): Η χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού πραγματοποιείται με υδατικές κινητές φάσεις. Γενικά αναφέρεται στους διαχωρισμούς που πραγματοποιούνται στα μαλακά κολλοειδή πηκτώματα όπως οι πολυδεξτράνες. Οι περισσότεροι διαχωρισμοί μέσω διήθησης κολλοειδούς πηκτώματος γίνονται συνήθως για βιοπολυμερή.

Χρωματογραφία έκλυσης: Η περισσότερα κοινά χρησιμοποιημένη χρωματογραφική μέθοδος. Το δείγμα εφαρμόζεται στη κεφαλή της στήλης, και τα μεμονωμένα μόρια είναι διαχωρισμένα κι εκκλούνται στο τέλος της στήλης.

Χρωματογραφία εναλλαγής κατιόντων: Η μορφή χρωματογραφίας της εναλλαγής ιόντων, που χρησιμοποιεί τις ρητίνες ή περιβλήματα με τις λειτουργικές ομάδες που μπορούν να χωρίσουν τα κατιόντα. Ένα σουλφονικό οξύ θα ήταν ένα παράδειγμα μιας ισχυρής ομάδας εναλλαγής κατιόντων, ένα καρβοξυλικό οξύ θα ήταν μια αδύναμη ομάδα εναλλαγής κατιόντων.

Χρωματογραφία ημι-προπαρασκευαστική: Αναφέρεται στην προπαρασκευαστική υγρή χρωματογραφία που πραγματοποιείται σε ένα αναλυτικό μέγεθος (4-5 mm) ή ελαφρώς μεγαλύτερο (6-10 mm) στήλη. Το κανονικό μέγεθος εγχύσεων είναι σε milligram στη κλίμακα μικρών γραμμαρίων. (Ένας κάπως υποκειμενικός όρος).

Χρωματογραφία ιονικού ζευγαριού: Μορφή χρωματογραφίας στην οποία τα ιόντα του διαλύματος μπορούν να ζευγαρωθούν ή να εξουδετερωθούν και να διαχωριστούν ως ιονική ένωση στην στήλη αντίστροφης φάσης. Οι οδηγοί της ιονικής ένωσης είναι συνήθως ιοντικές ενώσεις που περιέχουν μια αλυσίδα υδρογονανθράκων, έτσι ώστε η ιονική ένωση μπορεί να διατηρηθεί στη στήλη της αντίστροφης φάσης. Η ιονική ένωση μπορεί επίσης να εμφανιστεί στη χρωματογραφία κανονικής φάσης, όταν ένα μέρος του ζευγαριού φορτιστεί από ένα απορροφητικό υλικό, αλλά αυτή η τεχνική δεν είναι τόσο δημοφιλής όσο η τεχνική RPC.

Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής (IC): Μια τεχνική ανταλλαγής ιόντων στην οποία οι χαμηλές συγκεντρώσεις των ανιόντων ή των κατιόντων καθορίζονται χρησιμοποιώντας μικρής χωρητικότητας ιονικούς ανταλλάκτες με αδύναμα ρυθμιστικά διαλύματα. Η ανίχνευση αγωγιμότητας χρησιμοποιείται συχνά. Η ιονική χρωματογραφία ασκείται σε δύο χρόνους. Όταν καταστέλλεται η ιοντική χρωματογραφία, μια δεύτερη στήλη χρησιμοποιείται για να αφαιρέσει τα ιόντα των ρυθμιστικών διαλυμάτων έτσι ώστε τα ιόντα του δείγματος να μπορούν να ανιχνευθούν ευκολότερα, ένας διαχωριστής μεμβράνης χρησιμοποιείται μερικές φορές. Όταν δεν καταστέλλεται η ιοντική χρωματογραφία, τα ρυθμιστικά διαλύματα χαμηλής συγκέντρωσης που άγουν αδύναμα επιλέγονται προσεκτικά.

Χρωματογραφία Ιόντων Κατά Ζεύγη: Δείτε το αντίθετο ιόν.

Χρωματογραφία Κανονικής Φάσης (NP): Χρωματογραφία προσρόφησης στην οποία η στάσιμη φάση είναι αρκετά πολική, π.χ. το πυρίτιο. Κατά συνέπεια, οι πολικές (υδροφιλικές, λιποφοβικές) ενώσεις διατηρούνται έντονα και εκκλούνται αργά, οι μη πολικές (λιποφιλικές,

υδροφοβικός) ενώσεις διατηρούνται αδύναμα και εκλύονται νωρίς, στη μη πολική χρωματογραφία.

Χρωματογραφία κανονικής φάσης: Ένας τρόπος χρωματογραφίας που πραγματοποιείται με μια πολική στατική φάση και μια μη πολική κινητή φάση. Η προσρόφηση στο πήκτωμα πυριτίου που χρησιμοποιεί το εξάνιο για κινητή φάση θα ήταν ένα χαρακτηριστικό σύστημα κανονικής φάσης. Επίσης αναφέρεται στη χρήση των πολικών φάσεων χημικών δεσμών, όπως η CN ή NH₂. Μερικές φορές αναφέρεται ως χρωματογραφία επίπεδης φάσης.

Χρωματογραφία κενού: Τεχνική στην οποία η πρόσθετη κινητή φάση προκαλεί μια θετική παραγωγή σημάτων ανιχνευτών. Όταν μια διαλυτή ουσία εκλύεται από τη στήλη, το σήμα εξασθενεί και δίνει μια αρνητική κορυφή (ένα κενό). Η τεχνική έχει εφαρμοστεί πρόσφατα στην ιονική χρωματογραφία χωριστής στήλης, στην οποία οι κινητές φάσεις που απορροφούν στην UV περιοχή, όπως οι απομονωτές κιτρικού άλατος και φθαλικού εστέρα. Όταν ένα ανιόν απορροφάται εξάγει, αραιώνει το UV, απορροφώντας στο background και προκαλεί μια αρνητική κορυφή που οι ανιχνευτές εξόδου που οδηγούν αντιστρέφονται συνήθως έτσι ώστε το χρωματογράμμα να φαίνεται κανονικό.

Χρωματογραφία κολλοειδών σωματιδίων (Micellar): Η προσθήκη κολλοειδών σωματιδίων στην κινητή φάση στους χωρισμούς επίδρασης. Τα κολλοειδή σωματίδια ενεργούν ως μετατόπιση των οδηγιών και παρέχουν μια άλλη παράμετρο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αλλάξει την επιλεκτικότητα.

Χρωματογραφία πολυδιαστατική: Η χρήση δύο ή περισσότερων στηλών ή χρωματογραφικών τεχνικών για να επηρεαστεί ένας καλύτερος διαχωρισμός. Χρήσιμος για τον καθαρισμό δειγμάτων, την αυξανόμενη διάλυση, και την αυξανόμενη παραγωγή. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί μη ελεγχόμενα, με τη συλλογή των μερών και να επανεισαγάγει πάνω σε μια δεύτερη στήλη ή απευθείας με την χρήση αλλαγής μιας βαλβίδας. Επίσης αποκαλείται χρωματογραφία ζεύγους στηλών, αλλαγή στηλών, χρωματογραφία πολλαπλών στηλών.

Χρωματογραφία προσρόφησης: Μία από τις βασικές μεθόδους υγρής χρωματογραφίας. Ο διαχωρισμός βασίζεται στο φαινόμενο της προσρόφησης. Προτιμάται για το διαχωρισμό παρόμοιων ενώσεων με διαφορετικές στερεοχημικές δομές. Στη χρωματογραφία αυτή τα διάφορα συστατικά του μείγματος που θέλουμε να ανιχνεύσουμε προσροφούνται από την επιφάνεια ενός προσροφητικού υλικού που αποτελεί τη στατική φάση. Οι δυνάμεις προσρόφησης μπορεί να είναι ιονικές, διπόλου-διπόλου, δυνάμεις London κλπ. Όμως τα πιο συνηθισμένα υλικά που χρησιμοποιούνται σαν προσροφητές είναι το διοξείδιο του πυριτίου και η αλουμίνα. Σπανιότερα χρησιμοποιούνται ο ενεργός ξυλάνθρακας, το ένυδρο οξείδιο του μαγνησίου και το οξείδιο του μαγνησίου.

Χρωματογραφία σαπουνιού: Ένα πρόωρο όνομα για τη χρωματογραφία ιονικού ζευγαριού.

Χρωματογραφία στήλης: Οποιαδήποτε μορφή χρωματογραφίας που χρησιμοποιεί μια στήλη ή έναν σωλήνα για να συγκρατήσει τη στατική φάση. Τέτοια είδη χρωματογραφίας είναι η χρωματογραφία ανοικτής στήλης, το HPLC, η ανοικτή-σωληνοειδής και η τριχοειδής χρωματογραφία

Χρωματογραφία συγγένειας (affinity): Τεχνική στην οποία ένα βιοσυμβατό προσροφητικό συνδέεται με ένα συγκεκριμένο ένζυμο, αντιγόνο ή ορμόνη για τη δημιουργία ενός μακρομορίου σε ένα στερεό μεταφορέα. Αυτό το σταθεροποιημένο ένζυμο, αντιγόνο, ορμόνη αλληλεπιδρά επιλεκτικά μόνο με τα μόρια που μπορούν να δεσμευθούν με αυτό. Τα μόρια που δεν θα

δεσμεύσουν διαχωρίζονται με εξαγωγή. Η διατηρημένη ένωση μπορεί αργότερα να απελευθερωθεί με διάφορες τεχνικές. Η χρωματογραφία συγγένειας δεν είναι μια χρωματογραφική τεχνική, αλλά μια εκλεκτική διήθηση.

Χρωματογραφία υδροφοβικής αλληλεπίδρασης:Μια τεχνική στην οποία, οι πληρώσεις αντίστροφης φάσης συνηθίζουν να διαχωρίζουν τα μόρια των αλληλεπιδράσεων στην επιφάνεια μεταξύ των υδροφοβικών τους τμημάτων και περιοχών. Υψηλές συγκεντρώσεις άλατος χρησιμοποιούνται στην κινητή φάση, οι διαχωρισμοί επηρεάζονται με την αλλαγή συγκέντρωσης του άλατος. Η τεχνική είναι ανάλογη με την προσθήκη άλατος στα μόρια του διαλύματος.

Χρωματογραφία φάσης δεσμών (BPC):Ο δημοφιλέστερος τρόπος LC. Η στατική φάση που χημικά αλληλεπιδρά με ένα μέσο διαχωρισμού. Είναι μικρά ξεχωριστά σωματίδια γαλακτώματος πυριτίου και ο δημοφιλέστερος τύπος φάσης είναι η *ganosilane*, όπως το *octadecyl* (για την χρωματογραφία ανάστροφης φάσης).

Χωρητικότητα δειγμάτων:Αναφέρεται στο ποσό δείγματος που μπορεί να εγχέει επάνω σε μια στήλη LC χωρίς υπερφόρτωση. Συχνά εκφράζεται ως γραμμάρια δείγματος ανά γραμμάριο πλήρωσης. Η υπερφόρτωση ορίζεται ως η μάζα δειγμάτων που εγχέεται, στην οποία η αποδοτικότητα στήλης μειώνεται σε 90% της κανονικής τιμής της.