



คณะสัตวแพทยศาสตร์

หน่วยเครื่องมือห้องปฏิบัติการวิจัยกลาง ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมทางสัตวแพทย์

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งาน

เครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง

(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

รหัสเอกสาร WI-CTL-01
เอกสารฉบับ ควบคุม ไม่ควบคุม
สำเนาฉบับที่
วันที่ประกาศใช้
ฉบับแก้ไขครั้งที่

| | ผู้จัดทำ/แก้ไข | ผู้ตรวจสอบ | ผู้อนุมัติ |
|--------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|
| ลายเซ็น | | | |
| ชื่อ-นามสกุล | น.ส.เนียรวรรณ มีเจริญ | รศ.น.สพ.ดร.กัญจน์ แก้วมงคล | ผศ.สพ.ญ.ดร.สิริรัตน์ นิยม |
| ตำแหน่ง | นักวิทยาศาสตร์ | ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายวิจัย | รองคณบดีฝ่ายวิจัย |
| วันที่ | | | |



คณะสัตวแพทยศาสตร์

หน่วยเครื่องมือห้องปฏิบัติการวิจัยกลาง ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมทางสัตวแพทย์

รหัสเอกสาร WI-CTL-01

แก้ไขครั้งที่ 00

วันที่ประกาศใช้

หน้าที่ 1 จาก 34

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

บันทึกการแก้ไข

| แก้ไขครั้งที่ | วันที่แก้ไข | หน้า | รายละเอียดการแก้ไข |
|---------------|-------------|------|--------------------|
| | | | |



ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง

(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

1. วัตถุประสงค์

เพื่อใช้เป็นแนวมาตรฐานในการใช้งานครุภัณฑ์เครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II และวัสดุอุปกรณ์ประกอบอื่น ๆ เป็นเครื่องมือสำหรับแยกและวิเคราะห์สารประกอบที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง เพื่อให้ผู้ใช้งานสามารถปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้องเหมาะสมและส่งเสริมให้ได้รับผลการทดลองวิจัยที่มีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังเป็นการบำรุงรักษาอายุการใช้งานครุภัณฑ์ ประเมินความเสี่ยงจากการเกิดอุบัติเหตุขณะปฏิบัติงาน และป้องกันการเกิดอุบัติเหตุขณะปฏิบัติงานร่วมด้วย

2. ขอบเขต

คู่มือฉบับนี้ใช้ครอบคลุมตั้งแต่แนะนำเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง ส่วนประกอบของเครื่อง ขั้นตอนการปฏิบัติงาน โดยใช้เป็นแนวทางสำหรับเจ้าหน้าที่ ผู้ปฏิบัติงาน และผู้ที่เกี่ยวข้องกับห้องปฏิบัติการวิจัยของหน่วยเครื่องมือห้องปฏิบัติการวิจัยกลาง (Central Lab) ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

3. อ้างอิง

-

4. นิยาม

เครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง หมายถึง ครุภัณฑ์เครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II ของหน่วยเครื่องมือห้องปฏิบัติการวิจัยกลาง (Central Lab)

5. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

5.1 ส่วนประกอบเครื่อง UHPLC ทั้งระบบประกอบไปด้วยอุปกรณ์ 5 ส่วนประกอบ ดังนี้ (ภาพที่ 1)

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง

(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



ภาพที่1 เครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

5.1.1 ภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase reservoirs) ควรเป็นขวดแก้วเพื่อจะได้ไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีใด ๆ กับเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่นำมาใช้ต้องกรองให้ปราศจากอนุภาคแขวนลอยต่าง ๆ เพราะจะก่อให้เกิดการอุดตันในระบบ อีกทั้งต้องได้แก๊สหรือฟองอากาศที่มีอยู่ออกก่อน เพราะหากมีฟองอากาศติดอยู่ในระบบจะทำให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ และแรงดันในระบบไม่คงที่ สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ได้แก่ ตัวทำละลายสารอินทรีย์ (Organic solvent) และสารละลายของเกลือชนิดต่าง ๆ ที่ถูกปรับ pH ให้มีค่าเหมาะสมกับการวิเคราะห์ ในกรณีที่ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำควรบรรจุในขวดแก้วสีชา เพื่อลดความเข้มแสงที่จะทำให้แบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเจริญเติบโตได้ดี คุณสมบัติที่ดีของเฟสเคลื่อนที่ มีดังนี้

1. มีความบริสุทธิ์สูง
2. เข้ากับสารละลายตัวอย่างได้ดี
3. มีความหนืดต่ำ
4. ปราศจากผง ฝุ่น และอนุภาคที่จะทำให้ระบบอุดตัน
5. เหมาะสมกับเครื่องวัดสัญญาณ (Detector)
6. ไม่ทำปฏิกิริยากับเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase)
7. ปัจจัยอื่น ๆ ที่ควรคำนึงถึงคือ ความเป็นพิษ จุดเดือด การติดไฟ และราคา

5.1.2 ระบบปั๊ม (Pumping system) ทำหน้าที่สร้างแรงดันให้กับเฟสเคลื่อนที่ เพื่อไหลเข้าคอลัมน์ในอัตราเร็วที่กำหนดได้อย่างแม่นยำ ความดันของระบบจะขึ้นอยู่กับอัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ ถ้ากำหนดให้มีอัตราเร็วในการไหลของเฟสเคลื่อนที่สูง ความดันของปั๊มจะมีค่าสูงตาม โดยปกติความดันที่ใช้ในระบบ UHPLC ไม่ควรเกิน 400 bar ถ้าขณะ Run

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

Chromatogram ความดันของปั๊มเกิดลดลงอย่างมากจนเกือบ 0 bar แสดงว่าระบบต้องมีการรั่ว (Leak) ต้องตรวจสอบและแก้ไข แต่ในทางตรงกันข้าม ถ้าความดันมีค่าสูงเกิน 400 bar แสดงว่าระบบมีการตรวจสอบและแก้ไข

5.1.3 หน่วยฉีดสารตัวอย่าง (Injection unit) การฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์ต้องมีความเที่ยงตรง และแม่นยำสูงปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ต้องไม่เกินขีดจำกัด หรือทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ลดลง

5.1.4 คอลัมน์ (Column) ในส่วนของคอลัมน์ประกอบด้วย 2 ส่วนดังนี้

1. Guard Column ทำหน้าที่กรอง Particle ก่อนเข้าคอลัมน์ และช่วยยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์โดยส่วนมากที่ใช้มีขนาด 5.0 cm x 4.6 mm ID และวัสดุที่บรรจุภายในเป็นประเภทเดียวกับคอลัมน์ที่ซื้อมา แต่มีอนุภาคใหญ่กว่าหรือเท่ากับในคอลัมน์
2. Separating Column โดยมากทำด้วย Stainless steel ซึ่งทนต่อความดันสูง ๆ ได้ดี ผิวด้านในเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากันตลอด โดยปกติที่ใช้งานทั่วไปมีขนาดดังนี้

| | | |
|-------------------|--------|---------------|
| External diameter | 6.35 | mm (1/4 inch) |
| Internal diameter | 4.60 | mm |
| Length | 10-100 | cm |
| Particle size | 5-50 | µm |

แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

- คอลัมน์สำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical column) เป็นคอลัมน์ที่ใช้สำหรับงานวิเคราะห์ทางคุณภาพ และปริมาณ ในเทคนิค UHPLC
- คอลัมน์สำหรับเตรียมตัวอย่าง (Preparative column) เป็นคอลัมน์ที่ใช้ในการแยกสารผสมออกจากกัน แล้วเก็บแต่ละส่วนที่แยกออกจากกันนำไปวิเคราะห์ต่อกับเทคนิคอื่นต่อไป

5.1.5 เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (Detector) สัญญาณที่ได้จากดีเทคเตอร์ต้องเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร

$$S=K*C$$

S = Out put signal of a detector

K = Constant factor

C = Sample concentration

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

ดีเทคเตอร์ที่ใช้ใน UHPLC มีหลายชนิด การเลือกใช้ต้องให้สัมพันธ์กับสารตัวอย่าง และผลที่ต้องการด้วยดีเทคเตอร์ใน UHPLC แบ่งเป็น 2 แบบ ตามคุณสมบัติของการตรวจวัด

1. Bulk property detectors หรือ general detectors เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของสารละลาย (เฟสเคลื่อนที่ + สารตัวอย่าง) เช่น Refractive Index และ Conductivity detector
2. Solute property detector เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของตัวถูกละลายเพียงอย่างเดียว เช่น UV-Vis, Fluorescence และ Electrochemical detector (วัดคุณสมบัติของตัวถูกละลายที่ออกจากคอลัมน์เมื่ออยู่ในตัวทำละลาย)

5.1.6 เครื่องบันทึกข้อมูล และประมวลผล (Recorder and Data processing) ปัจจุบันการบันทึกข้อมูล และประมวลผลต่าง ๆ สามารถทำได้โดยใช้ Software computer ที่บริษัทผู้ผลิตเครื่องมือเป็นผู้สร้างขึ้น และระบบการทำงานของเครื่องมือทั้งหมดถูกควบคุมได้ด้วยคอมพิวเตอร์ทำให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องและเที่ยงตรงมากขึ้น ข้อมูลที่ถูกบันทึกไว้ในหน่วยความจำของเครื่องคอมพิวเตอร์ทำให้ผู้วิเคราะห์มีความสะดวกและง่ายในการนำข้อมูลมาประมวลผลและเก็บผลนั้นไว้ได้โดยไม่สิ้นเปลืองกระดาษบันทึกผล

5.2 ขั้นตอนการใช้เครื่อง UHPLC

5.2.1 การเตรียมสารละลายที่จะใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ให้มีความเข้มข้นและปริมาณตามที่ต้องการ ซึ่งขึ้นอยู่กับเรื่องที่จะทำการทดลอง และต้องกรองเฟสเคลื่อนที่ด้วยแผ่นเมมเบรนขนาด 0.2 หรือ 0.45 μm ก่อนนำไปใช้ร่วมกับชุดกรองดังแสดงในรูปที่ 2 ชนิดของแผ่นเมมเบรนต้องเลือกให้เหมาะสมกับชนิดของตัวทำละลายด้วยดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของแผ่นกรองเมมเบรนที่เหมาะสมกับตัวทำละลายแต่ละชนิด

| ชนิดของแผ่นกรองเมมเบรน | ตัวทำละลายที่เหมาะสม |
|------------------------|---|
| Cellulose | ใช้ได้กับสารละลาย Aqueous |
| PTFE | Hydrophobic |
| Nylon 66 | ใช้ได้ทั้งสารละลาย Aqueous และ Non-aqueous แต่ไม่เหมาะสมกับกับกรดหรือเบสแก่ |

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

ในกรณีที่ไม่ได้ติดตั้ง Online degasser ให้นำสารละลายที่กรองแล้วนี้ไปทำการไล่ฟองอากาศออกด้วยการ purge ด้วย Helium gas หรือนำไปเข้าเครื่อง Ultrasonic bath เป็นเวลา 15-30 นาที ก่อนใช้งาน (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ชุดกรองตัวทำละลาย

5.2.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง ตัวอย่างที่จะนำไปฉีดเข้าระบบต้องสะอาดเพียงพอ คือปราศจากสิ่งปนเปื้อนที่จะไปลดหรือทำลายประสิทธิภาพของคอลัมน์ที่ใช้ทำการ

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

วิเคราะห์ และต้องไม่มีตะกอนหรือฝุ่นผง ดังนั้นตัวอย่างต้องผ่านขั้นตอนในการเตรียมที่เหมาะสม เช่น การใช้วิธีของ Liquid Liquid Extraction, Solid Phase Extraction และ Supercritical Fluid Extraction เมื่อเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่เหมาะสมสำหรับตัวอย่างนั้น ๆ ก่อนฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง UHPLC ควรกรองตัวอย่างด้วย Syringe membrane filter ขนาด 0.20-0.45 μm ก่อน

หมายเหตุ: เฟสเคลื่อนที่และตัวทำละลายทุกชนิดที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง ควรเป็นเกรด UHPLC เพื่อการวิเคราะห์ผลที่ถูกต้อง และอายุการใช้งานของคอลัมน์ที่ยาวนาน

5.2.3 เลือกคอลัมน์และเฟสเคลื่อนที่ (Column selection และ Mobile phase selection)

เมื่อต้องการ Run chromatogram ของสารตัวอย่างต้องศึกษาคุณสมบัติของสารตัวอย่างเพื่อเลือกคอลัมน์ และเฟสเคลื่อนที่ให้ถูกต้อง ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่สุดในการทำปฏิบัติการทดลอง การเลือกขึ้นอยู่กับชนิดและคุณสมบัติของตัวอย่างว่าเป็นประเภทใด ปัจจุบันคอลัมน์ที่นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างประเภทต่าง ๆ คือ Bond-phase column ที่มีหมู่ฟังก์ชันนอลได้หลายชนิดมีทั้งที่เป็น Polar เช่น Cyano หรือ Amino (ทำให้เกิดการวิเคราะห์แบบ Normal phase) และ Non Polar เช่น Octadecyl (ทำให้เกิดการวิเคราะห์แบบ Reverse phase) โดยคอลัมน์ที่นิยมใช้มากกว่า คือ Reverse phase column ชนิด C8 หรือ C18 ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งสารตัวอย่างที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ในกรณีของตัวอย่างที่มีขั้วใช้หลักการของ Ion-pair เมื่อต้องการให้เกิดการแยกสามารถใช้วิธีปรับเปลี่ยน pH ของเฟสเคลื่อนที่ หรือความเข้มข้นของ Pairing ion ในกรณีของสารตัวอย่างที่ไม่มีขั้ว สามารถทำให้เกิดการแยกได้โดยปรับความแรงของเฟสเคลื่อนที่

5.2.4 การ Run chromatogram ทำการศึกษาวิธีการใช้เครื่อง UHPLC อย่างละเอียดก่อนลงมือ run chromatogram เมื่อ run chromatogram เสร็จแล้ว ข้อมูลต้องถูกบันทึกไว้ใน Folder ที่จำเพาะของการเก็บข้อมูล และเป็นของแต่ละผู้วิเคราะห์ ไม่ควรปะปนกัน เพื่อสะดวกในการเรียกข้อมูลมาทำการประเมินและแปลผล

5.3 วิธีการใช้เครื่อง UHPLC และ Software OpenLab Chemstation

5.3.1 การเปิดเครื่อง UHPLC

1. บรรจุ Mobile phase ลงในขวดบรรจุ แล้ววางลงบน Solvent cabinet ใส่ Solvent inlet filter ที่ต่อเข้ากับท่อส่งตัวทำละลาย ปกติ line A จะใช้สำหรับตัวทำละลายน้ำหรือ buffer และ line B, C และ D สำหรับตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น methanol หรือ acetonitrile
2. เปิดคอมพิวเตอร์
3. เปิดสวิตช์ตัวเครื่อง UHPLC ที่อยู่ด้านล่างซ้ายมือทุก Modules

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

4. รอจนเครื่อง UHPLC ทำการ Initialize เสร็จสมบูรณ์ (ประมาณ 1 นาที) ดูได้จากไฟสัญญาณด้านขวามือด้านบนของ Modules Multisampler ดับ
5. ทำการเปิดโปรแกรม DAD (online)



6. ใส่รหัส

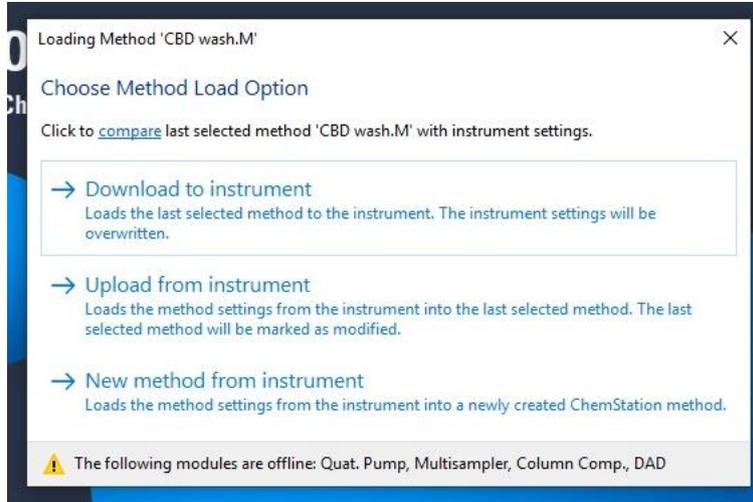


7. ถ้าใช่ Method ที่ต้องการใช้งาน เลือก Download to instrument/ ถ้าไม่ใช่ Method ที่ต้องการใช้งาน เลือก New Method from instrument

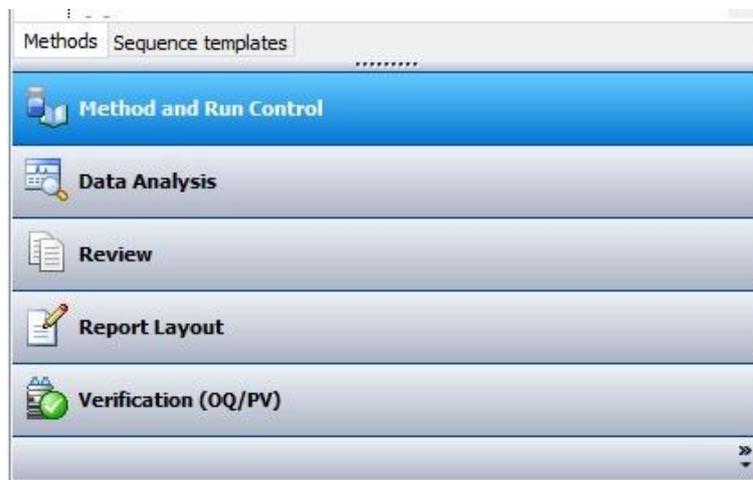
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



8. เลือก Method and Run Control



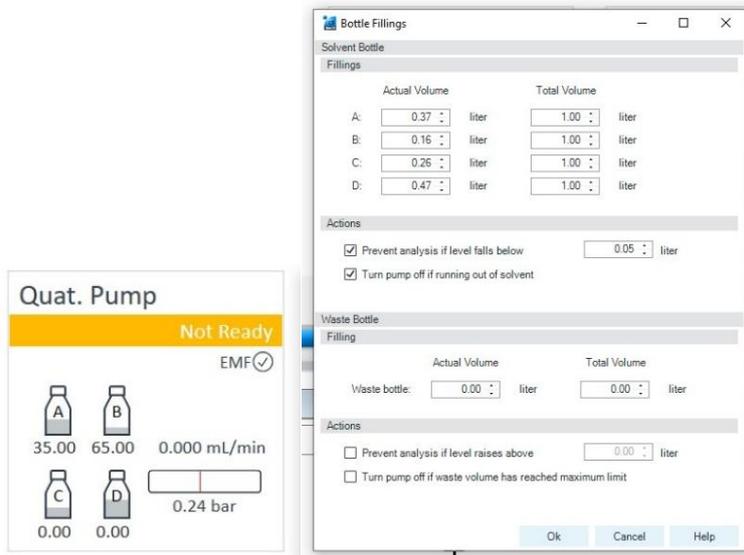
9. คลิกที่รูปขวด Mobile phase > เลือก Solvents bottle filling จะปรากฏดังรูป

- Actual Volume : ให้เติมปริมาตรของตัวทำละลายที่บรรจุอยู่จริงในขวดนั้น ๆ
- Total Volume : ให้ใส่ตัวเลขความจุของขวดที่บรรจุตัวทำละลาย
- คลิก OK

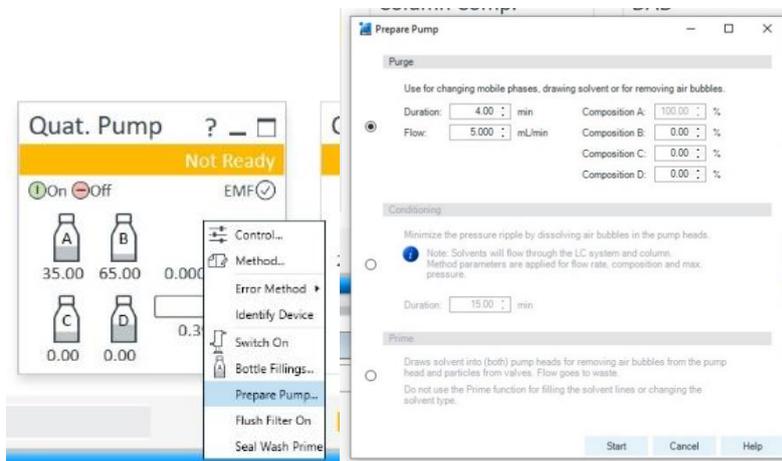
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



10. ทำการ Priming เพื่อไล่ฟองอากาศที่ค้างใน Solvent Liner โดยคลิกขวาที่ Pump
 - > เลือก Prepare pump จะปรากฏหน้าต่างดังรูป
 - Duration > 4 min
 - Flow rate > 5 mL/min
 - Composition A, B, C และ D : ตั้งค่าอัตราส่วน Mobile phase โดยใส่เลข 100% ในช่องว่างหลังชื่อ Line A
 - คลิก OK (ตรวจเช็คสายที่ต่อกับขวด Mobile phase ว่ามีการไหลของสารละลายปกติหรือไม่)
11. ทำซ้ำเพื่อไล่ฟองอากาศตาม Line ที่เหลือหรือที่ต้องการ



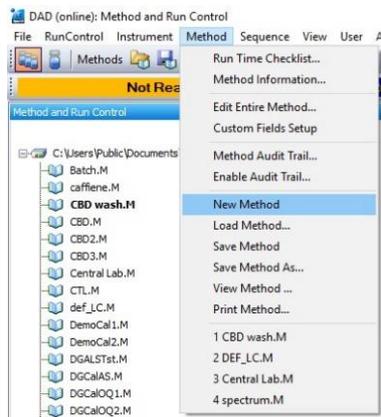
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

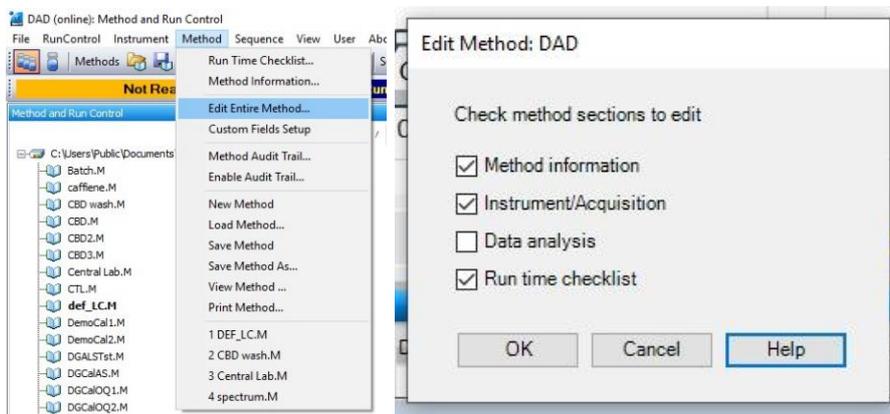
ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

5.3.2 ขั้นตอนการสร้าง Method เพื่อควบคุมระบบ UHPLC

1. ไปที่หน้าต่าง Method and Run Control
2. ไปที่เมนู Method > เลือก New Method (ถ้าถามว่าต้องการ save method เดิมหรือไม่ควรคลิก NO)



3. ไปที่เมนู Method > เลือก Edit entire Method จะปรากฏหน้าจอ Edit Method: DAD (เลือกทุกหัวข้อ ยกเว้น Data analysis) > คลิก OK

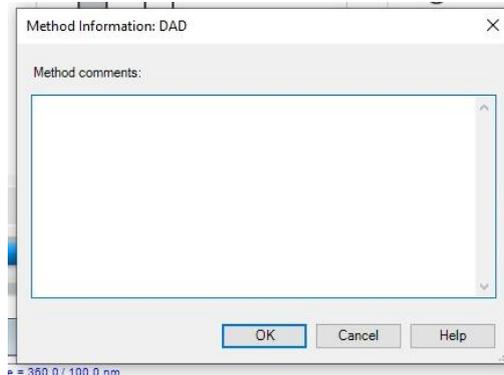


4. ให้พิมพ์ comments ตามต้องการ > คลิก OK

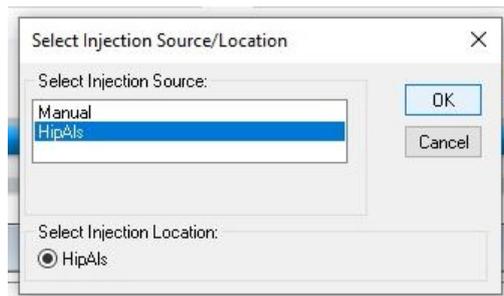
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



5. จะปรากฏหน้าจอ Solvent injection Source/Location > เลือก HipAls > คลิก OK



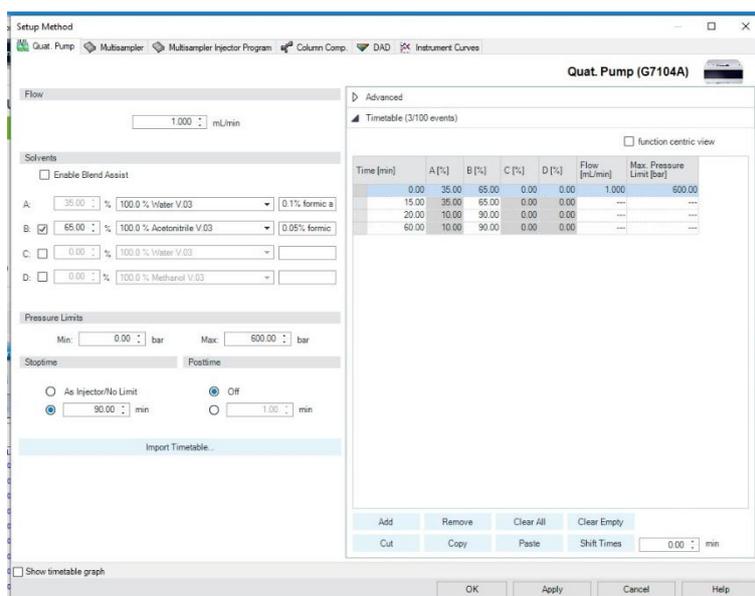
6. จะปรากฏหน้าจอ Setup Method ดังรูป > เลือกหัวข้อ Quat. Pump
- Flow : อัตราการไหลของ Solvent โดยช่วงของ flow rate คือ 0.0-5.00 ml/min
 - Solvents : ใช้กำหนดส่วนประกอบของ Solvent หรือ Mobile Phase สำหรับการวิเคราะห์ ซึ่งอาจจะเป็นแบบ Isocratic Analysis (ส่วนประกอบของ Mobile Phase คงที่) หรือ Gradient Elution Analysis (ส่วนประกอบของ mobile phase มีการเปลี่ยนแปลง) โดยกำหนด % ของ solvent ใน channel B, C และ D ซึ่งสามารถกำหนดค่าได้ตั้งแต่ 0-100% ส่วน channel A จะเป็น % ที่เหลืออยู่ : $100 - (\%B + \%C \text{ หรือ } + \%D)$ นอกจากนี้ ยังสามารถสั่ง ON และ OFF channel จาก channel scrollbar และ ใส่ชื่อของ solvent ใน channel นั้น ๆ ใน text box (ถ้าทำการวิเคราะห์แบบ Reversed Phase ควรใส่ Water ใน channel A)

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

- Stop Time : เป็นการกำหนดเวลาที่ต้องการให้หยุดทำการวิเคราะห์ ซึ่งหลังจากนี้ระบบจะกลับเข้าสู่สภาวะเริ่มต้น ค่าของ stop time มีตั้งแต่ 0.0-99999 นาที หรือ no limit
- Post Time : เป็นการตั้งช่วงเวลารอให้คอลัมน์เข้าสู่สภาวะสมดุลอีกครั้ง ก่อนจะทำการวิเคราะห์ตัวอย่างตัวถัดไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อทำการวิเคราะห์แบบ Gradient Elution Analysis
- Pressure Limits : Min (ความดันต่ำสุด) ตั้งไว้ที่ 000 bar/ Max (ความดันสูงสุด) ตั้งค่าไว้ที่แรงดันสูงสุดตามใบรับประกันของคอลัมน์ระบุไว้ หรือ 1300 bar
- Timetable : ใช้เมื่อต้องการปรับเปลี่ยนค่า Flow rate, Pressure limit และ/หรือ ปรับอัตราส่วนผสมของ Mobile Phase สำหรับการ run แบบ Gradient คลิกที่ Add เพื่อเพิ่มแถว ที่ Timetable แต่ละแถวนั้น ในช่อง
 Time : ให้ระบุเวลา (นาที)
 Function : ให้เลือก Change Solvent Composition, Change Flow หรือ Change Max Pressure
 Parameter : จะแปรเปลี่ยนตาม Function ที่เลือกไว้ ให้ระบุค่าที่ต้องการได้เลย
- เลือกควบคุม Module อื่นจาก Tab ด้านบน เพื่อ Set up ค่าต่าง ๆ ตามต้องการ หรือ คลิก OK หากต้องการกลับสู่หน้าหลัก



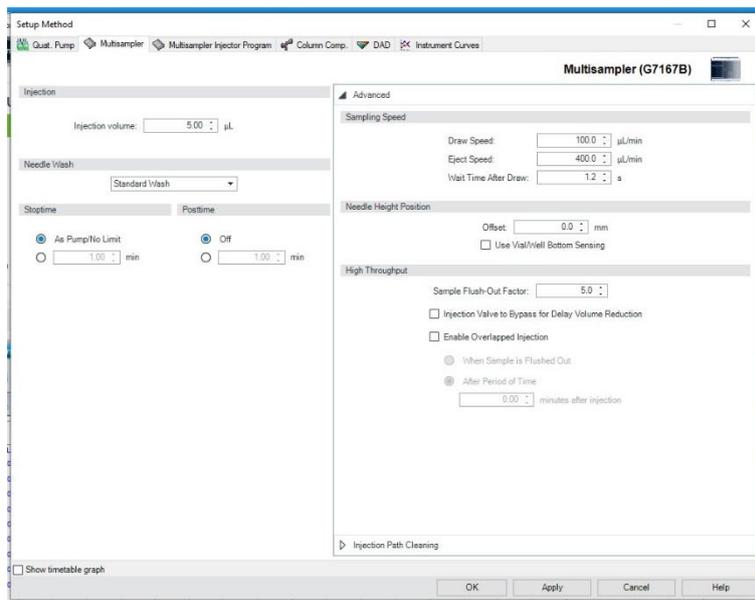
7. เลือกหัวข้อ Multisampler จากหน้า Setup Method

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

- Inject volume : ระบุปริมาตรสารตัวอย่างที่ต้องการ (μL) $> 5 \mu\text{L}$
- Needle Wash : วิธีการฉีดสารตัวอย่างตามความเหมาะสมกับงาน $>$ Standard Injection (ใช้สำหรับการ Inject แบบทั่วไป)
- ส่วนค่าอื่น ๆ ให้คงเดิมไว้ (ตามที่เห็นในรูป) ไม่ต้องเปลี่ยนแปลง



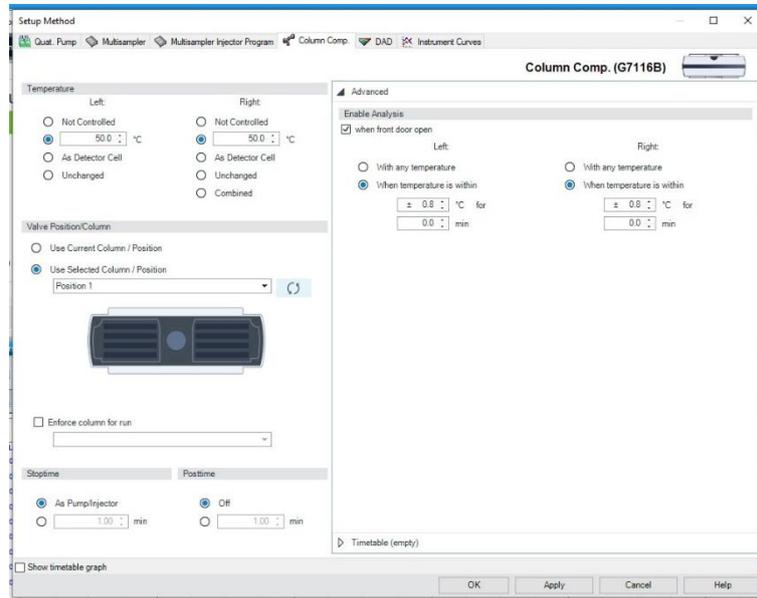
8. เลือกหัวข้อ Column comp. จากหน้า Set Up Method

- Temperature : ตั้งอุณหภูมิของคอลัมน์ทั้ง Left/ Right
- Enable Analysis : ต้องการให้ Run แบบเปิดประตูได้ เลือก when front door open
- ส่วนค่าอื่น ๆ ให้คงเดิมไว้ (ตามที่เห็นในรูป) ไม่ต้องเปลี่ยนแปลง

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



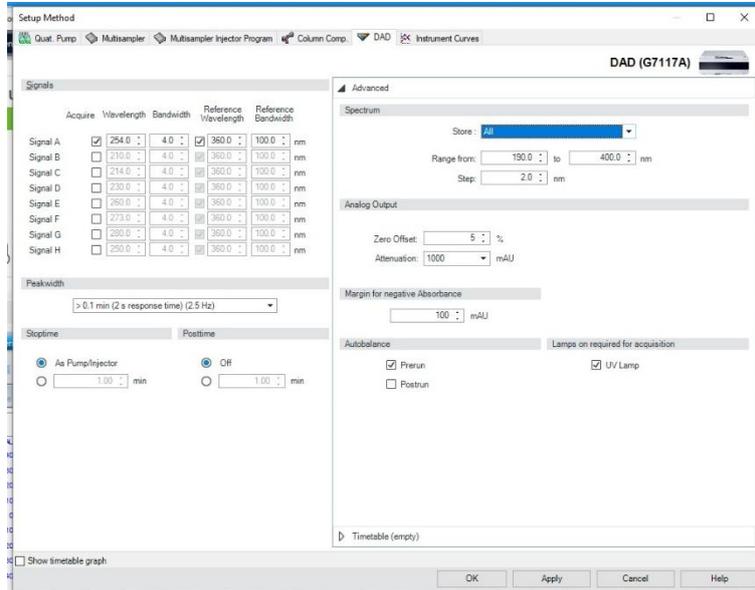
9. เลือกรหัส DAD จากหน้า Setup Method

- Use Signal A, B, C : ทำการเลือกสัญญาณที่ต้องการ
- Wave length : ระบุความยาวคลื่นที่ต้องการ (190-950 nm)
- Band width : ระบุความกว้างของสัญญาณที่ต้องการ (หากไม่ทราบให้ใส่ค่า 8)
- Reference Wavelength และ Reference Bandwidth : สัญญาณอ้างอิงเพื่อชดเชยค่า Baseline ที่อาจเปลี่ยนแปลง (ไม่ควรเลือกใช้ หากไม่ทราบค่า)
- Spectrum : เมื่อต้องการบันทึกข้อมูลสเปกตรัม ควรเลือก Store > All
- ส่วนค่าอื่น ๆ ให้คงเดิมไว้ (ตามที่ได้เห็นในรูป) ไม่ต้องเปลี่ยนแปลง

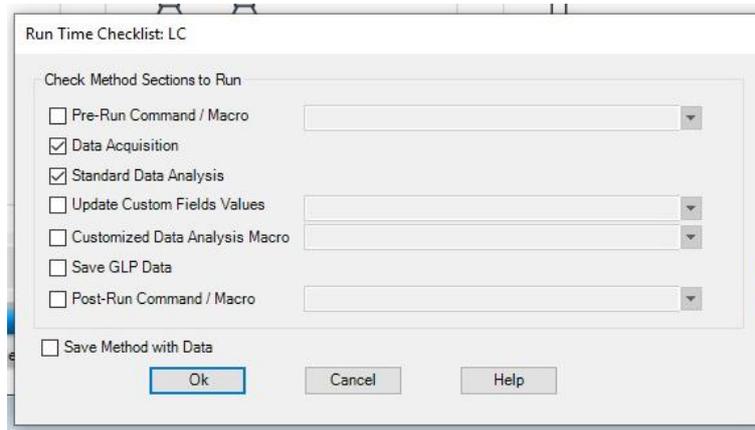
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



10. คลิก OK จะปรากฏหน้าจอ Run time Checklist: LC > เลือก Data Acquisition และ Standard Data Analysis > คลิก OK จะปรากฏหน้าจอ Method and Run Control

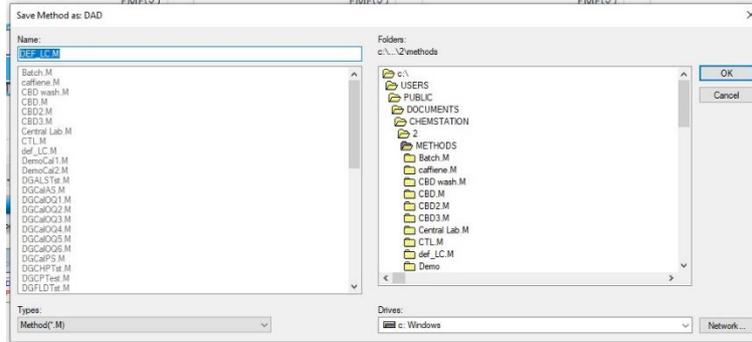


11. ไปที่เมนู Method > เลือก Save Method as: DAD ตั้งชื่อ Method ตามต้องการ > คลิก OK

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



12. ใส่คอลัมน์ที่ต้องการใช้งาน

13. คลิกที่ ON รอ 30 นาที หรือรอจน Status bar ปรากฏ Ready (สีเขียว) ก่อน Run Chromatogram

5.3.3 ขั้นตอนการนำ Method เดิมมาใช้งาน หรือเพื่อแก้ไข

1. ไปที่หน้าต่าง Method and Run Control > เลือกเมนู Method ที่ Navigation Button
2. คลิกเลือก Method ที่ต้องการ

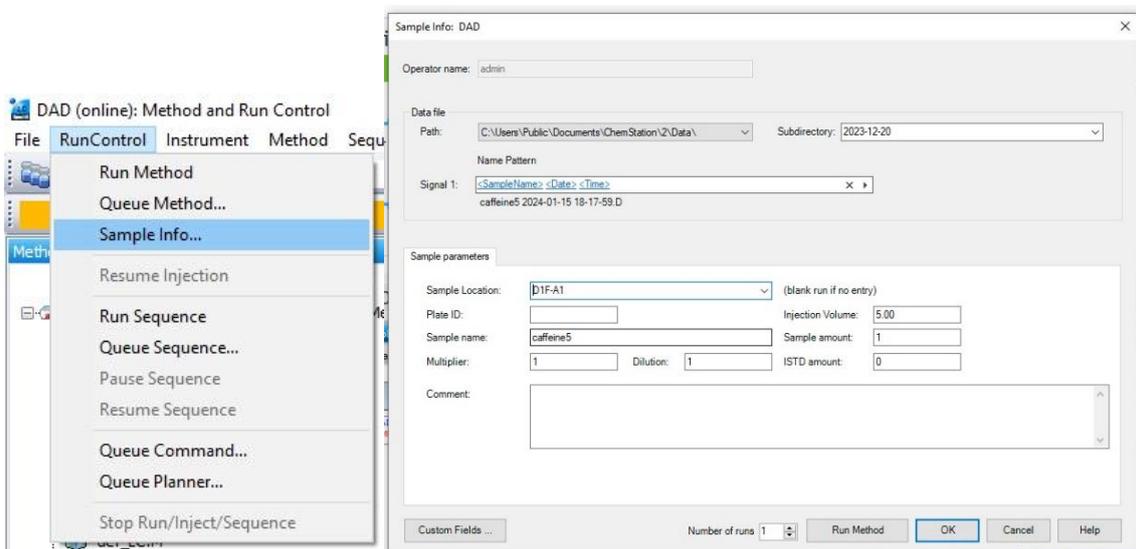
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



2. คลิกที่เมนู RunControl > เลือก Sample Info.... จะปรากฏหน้าต่าง Sample Info: DAD
3. ทำการใส่ข้อมูลของสารตัวอย่าง และรายละเอียด
 - Subdirectory : ใส่วันที่ > 2024-01-12
 - Signal 1 : ให้ตั้งชื่อ Data file ของ Chromatogram > <SampleName> <Date> <Time>
 - Sample Location : ให้ใส่หมายเลขตำแหน่ง Vial
 - Sample Name : ให้พิมพ์ชื่อ Sample



4. คลิก OK จะปรากฏหน้าจอ Method and Run Control

5. ให้คลิก  เพื่อเริ่มการวิเคราะห์

5.3.5 ขั้นตอนการ Run Chromatogram แบบ Sequence Run

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

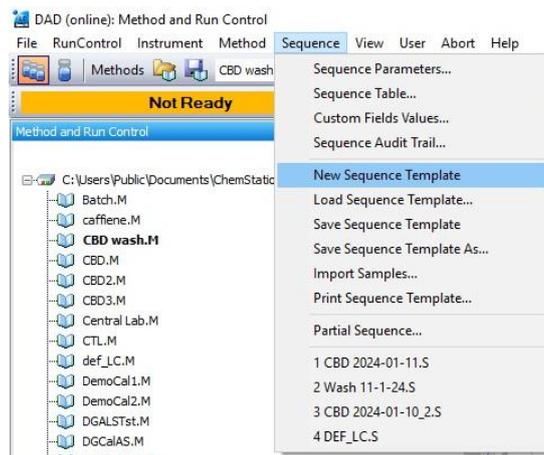
เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

1. คลิกที่รูปขวด Vial 3 ขวด



2. คลิกที่เมนู Sequence > เลือก New Sequence Template



3. เลือกที่เมนู Sequence > เลือก Sequence Parameters... จะปรากฏหน้าจอ Sequence Parameters [Current Sequence]: DAD

4. ทำการใส่ข้อมูล และรายละเอียด

- Subdirectory : ใส่วันที่ > 2024-01-12

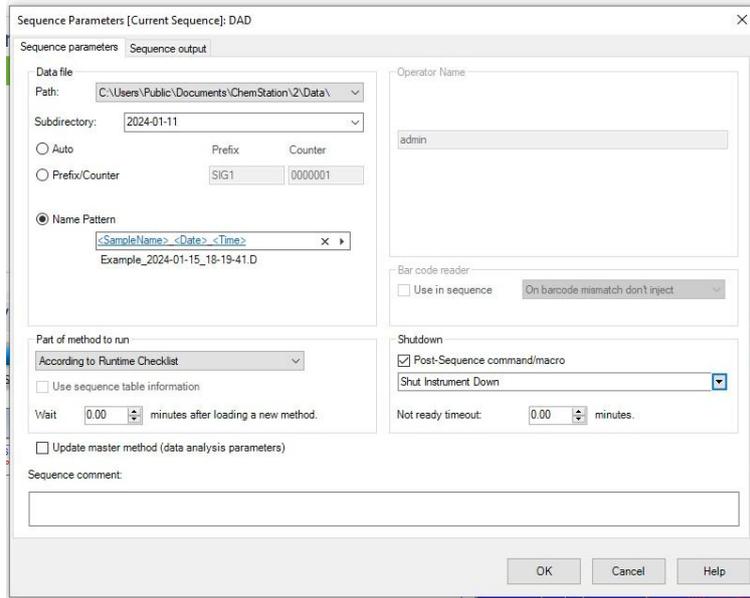
- Name Pattern : ให้ตั้งชื่อ Data file ของ Chromatogram >
<SampleName> <Date> <Time>

- Shutdown : กำหนดคำสั่งที่ต้องการให้ดำเนินการเมื่อสิ้นสุดการทำ sequence >
เลือก Post-Sequence command/macro > เลือก Shut Instrument
Down

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



5. คลิก OK

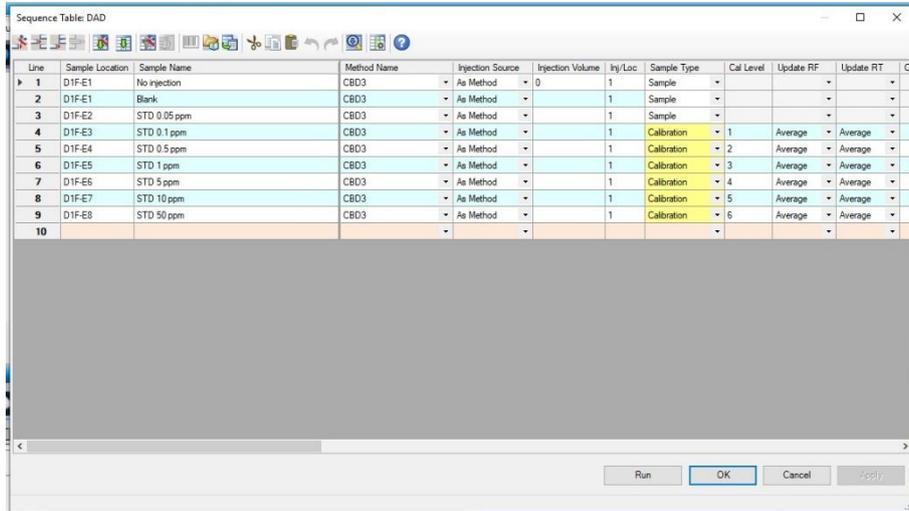
6. เลือกที่เมนู Sequence > Sequence Table จะปรากฏหน้าต่าง Sequence Table ซึ่งใช้สำหรับจัดลำดับการ inject ตัวอย่าง และสารมาตรฐานเพื่อทำ Calibration และ Recalibration

- Line ใช้บอกลำดับการฉีดสารตัวอย่าง เช่น Line 1 ก็คือ การฉีดเป็นลำดับที่ 1
- Sample Location : เป็นเลขตำแหน่งที่ขวดตัวอย่างที่วางอยู่
- Sample Name : เป็นการระบุชื่อของตัวอย่างที่อยู่ใน vial
- Method Name : ชื่อของ method ที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างใน vial
- Injection Source : As Method
- Inj/Loc : จำนวนครั้งที่จะฉีดสำหรับ vial
- Sample Type : ต้องเลือกชนิดของตัวอย่างที่ผู้ใช้กำหนด > Sample ตัวอย่าง, Calibration สารมาตรฐาน
- Cal Level : ลำดับของสารมาตรฐาน > 1, 2, 3, 4, 5

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

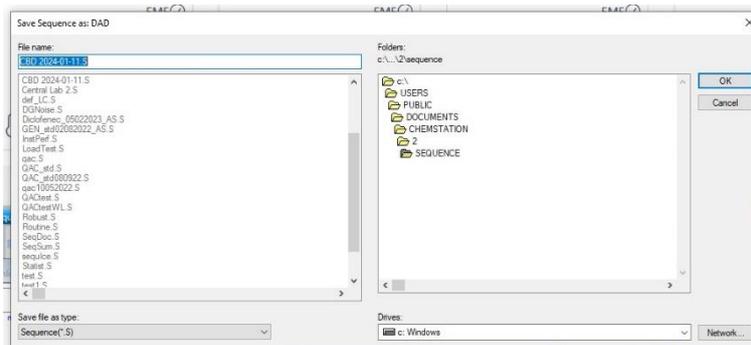
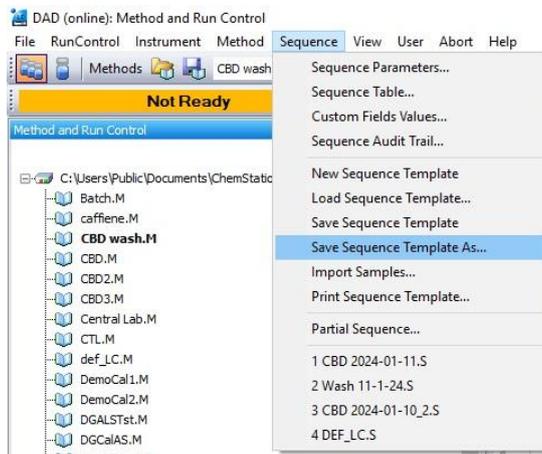
ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



| Line | Sample Location | Sample Name | Method Name | Injection Source | Injection Volume | Inj/Loc | Sample Type | Cal Level | Update RF | Update RT |
|------|-----------------|--------------|-------------|------------------|------------------|---------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | D1F-E1 | No injection | CBD3 | As Method | 0 | 1 | Sample | | | |
| 2 | D1F-E1 | Blank | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Sample | | | |
| 3 | D1F-E2 | STD 0.05 ppm | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Sample | | | |
| 4 | D1F-E3 | STD 0.1 ppm | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Calibration | 1 | Average | Average |
| 5 | D1F-E4 | STD 0.5 ppm | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Calibration | 2 | Average | Average |
| 6 | D1F-E5 | STD 1 ppm | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Calibration | 3 | Average | Average |
| 7 | D1F-E5 | STD 5 ppm | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Calibration | 4 | Average | Average |
| 8 | D1F-E7 | STD 10 ppm | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Calibration | 5 | Average | Average |
| 9 | D1F-E8 | STD 50 ppm | CBD3 | As Method | 1 | 1 | Calibration | 6 | Average | Average |
| 10 | | | | | | | | | | |

7. คลิก OK

8. เลือกที่เมนู Sequence > เลือก Save Sequence Template As ตั้งชื่อ sequence ตามต้องการ > คลิก OK



ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

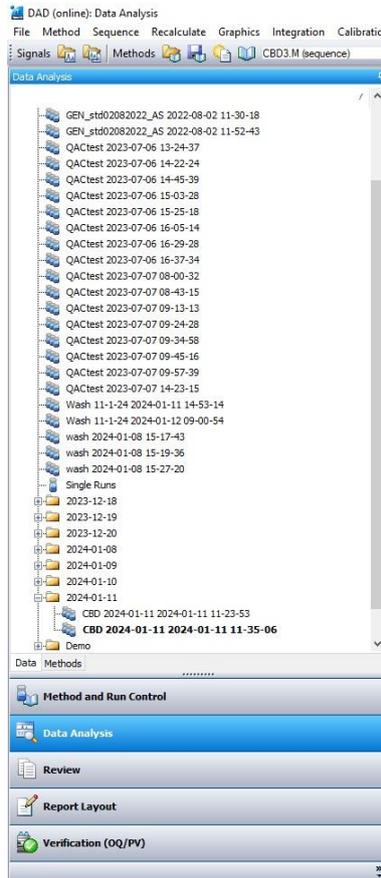
เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

9. คลิก  เพื่อเริ่มการวิเคราะห์

5.3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลอง (Data Analysis)

1. เลือกหน้าต่าง Data Analysis จากแถบ Navigator Bar ด้านซ้ายมือ
2. เลือก Method ที่ต้องการ (ควรจะเป็น Method เดิมที่ใช้ในการ Run sample)
3. เลือก Chromatogram ที่ต้องการจากหัวข้อ Data บน Navigator Bar ด้านซ้ายมือ



5.3.7 Integration มี 3 วิธี (ควรเลือกวิเคราะห์บนโปรแกรม DAD (offline))

1. เลือกหน้าต่าง Data Analysis
2. เลือก Method ที่ต้องการ
3. เรียก Chromatogram ที่ต้องการวิเคราะห์ขึ้นมา

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

วิธีที่ 1 การตั้งค่า Integration Events...

1. ไปที่เมนู Integration > เลือก Integration Event... จะปรากฏหน้าต่าง ตั้งค่าตัวแปรตามต้องการ

The screenshot shows the Agilent Data Analysis software interface. The 'Integration' menu is open, highlighting 'Integration Events...'. Below the menu, a list of data files is visible. The main window displays a chromatogram with a peak at 5.147 minutes. The 'Integration Events' table is shown below the chromatogram.

| Integration Events | Value |
|------------------------------|-----------------|
| Tangent Skim Mode | New Exponential |
| Tail Peak Skim Height Ratio | 5.00 |
| Front Peak Skim Height Ratio | 5.00 |
| Skim Valley Ratio | 20.00 |
| Baseline Correction | Advanced |
| Peak to Valley Ratio | 500.00 |

| Time | Integration Events | Value |
|---------|---------------------|-------|
| Initial | Slope Sensitivity | 5.000 |
| Initial | Peak Width | 0.020 |
| Initial | Area Reject | 5.000 |
| Initial | Height Reject | 1.000 |
| Initial | Shoulders | OFF |
| Initial | Area Percent Reject | 0.000 |
| 0.000 | Integration | OFF |
| 5.000 | Integration | ON |
| 5.500 | Integration | OFF |

2. เมื่อต้องการจะ Save ค่าจากการ Integrate ให้คลิกที่รูป  หรือ



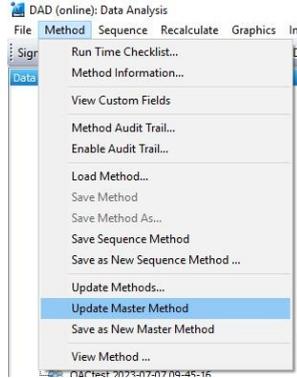
3. Save Method โดยคลิกที่รูป 

4. หากเป็น Data จาก Sequence run ให้เลือกเมนู method > Update master method

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

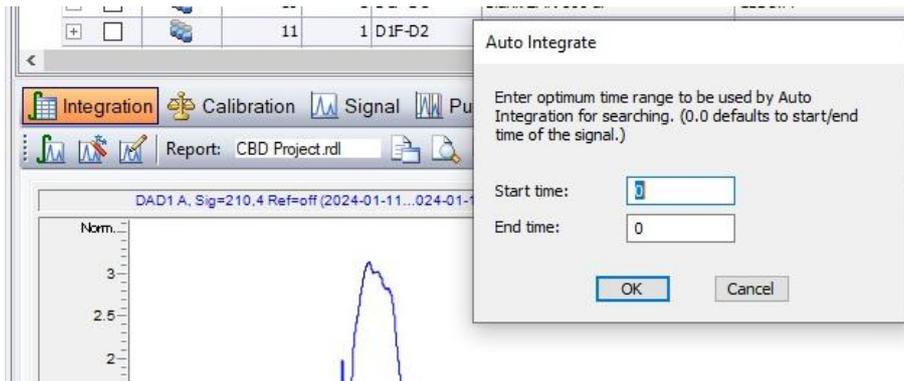
เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



วิธีที่ 2 การ Integrate แบบ Auto

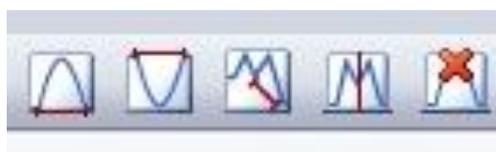
1. ไปที่เมนู Integration > เลือก Auto Integrate



2. ไปที่เมนู Report > เลือก Print Report หรือคลิกที่รูป  เพื่อดูผลของการ Auto Integrate

วิธีที่ 3 การทำ Manual Integration

1. ไปที่เมนู Integration > เลือก Integration Events...
2. ทำเครื่องหมายท่ายั่วหัวข้อ Manual Events > แล้ว Save เพื่อออกจากหน้าต่าง Integration
3. เลือกการ integrate จากตัวแปรต่าง ๆ บนหน้าจอ ดังนี้



ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

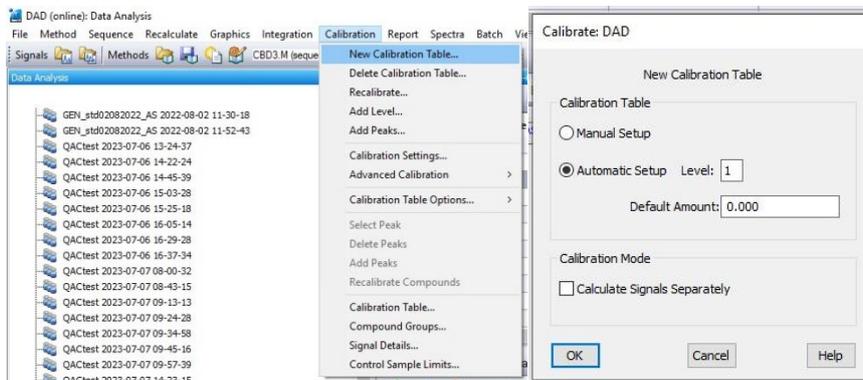
- เลือก icon ที่ต้องการ วางตำแหน่งเมาส์เพื่อกำหนดจุดเริ่มต้นของฐานพีกที่ต้องการ Integration คลิกเมาส์ (ปุ่มซ้ายมือ) ค้างไว้ ลากเมาส์ไปที่ตำแหน่งที่สอง เพื่อกำหนดเป็นจุดจบพีก ซึ่งจะปรากฏเป็นเส้นแถบสีเทา แสดงแนวที่ลากเส้นฐานสัญญาณที่เลือก จากนั้นปล่อยเมาส์ซ้ายมือ จะปรากฏตัวเลขแสดงพื้นที่พีก ฐานของพีกจะเปลี่ยนเป็นสีแดง ทำเช่นนี้จนได้พื้นที่พีกทั้งหมดทุกพีก
- จากนั้นจึงทำการ Double click เพื่อให้ได้ภาพ Chromatogram ที่ Integration
- ไปที่เมนู Report > เลือก Print Report หรือคลิกที่รูป  เพื่อดูผลของการ Integration แบบ Manual

5.3.8 การสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน (Calibration Curve) มี 2 วิธี (ควรเลือกวิเคราะห์บนโปรแกรม DAD (offline))

- เลือกหน้าต่าง Data Analysis
- เลือก Method ที่ต้องการ
- เรียก Chromatogram ที่ต้องการวิเคราะห์ขึ้นมา

วิธีที่ 1 การสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานแบบจุดเดียว (Single Level calibration)

- ไปที่เมนู Calibration > เลือก New Calibration Table จะปรากฏหน้าต่างดังรูป
 - Automatic Setup : Software จะกำหนดเริ่มต้นความเข้มข้นระดับที่ 1
 - Default Amount : ใส่ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (เฉพาะตัวเลขเท่านั้น)

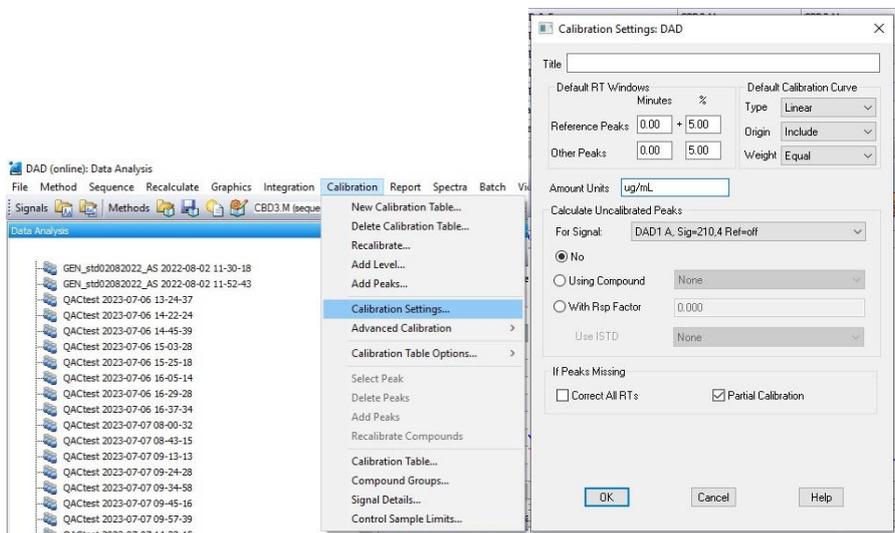


ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

2. คลิก OK หน้าต่างจะปรากฏตารางการเทียบมาตรฐาน
3. ใส่ชื่อของสารประกอบแต่ละสารในช่อง Compound ให้ตรงกับเวลาที่พิก ปรากฏ (Retention Time, RT) จนครบทุกพิกที่ต้องการ
4. หากต้องการเปลี่ยนหน่วยความเข้มข้นของสาร (Amt [ng/ml]) ให้ไปที่เมนู Calibration > เลือก Calibration Settings... แล้วใส่หน่วยความเข้มข้นที่ต้องการในช่อง Amount Units จะปรากฏดังรูป

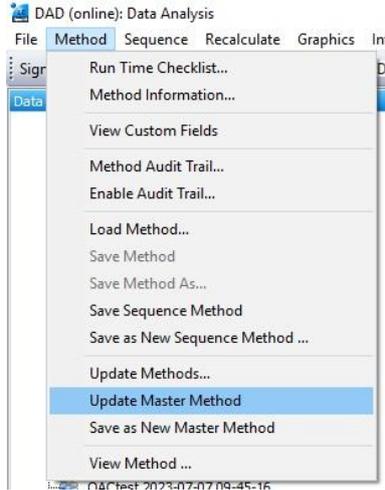


5. เมื่อได้ตารางเปรียบเทียบมาตรฐานเป็นที่พอใจแล้ว คลิก OK
6. หากเป็น Data จาก Sequence run ให้เลือกเมนู method > เลือก Update master method

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

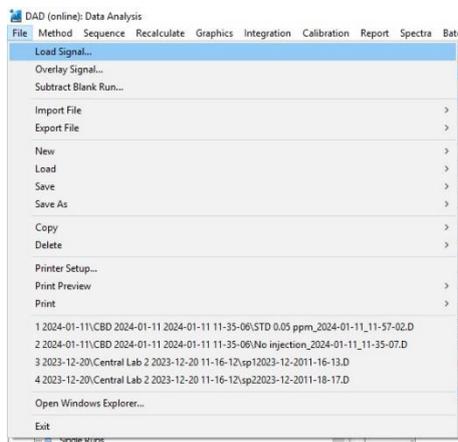
เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



วิธีที่ 2 การสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานแบบหลายระดับความเข้มข้น (Multi level calibration)

1. สร้างตามขั้นตอน การสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานแบบจุดเดียว
2. ไปที่เมนู file > เลือก load signal ของสารมาตรฐานความเข้มข้นลำดับถัดไป



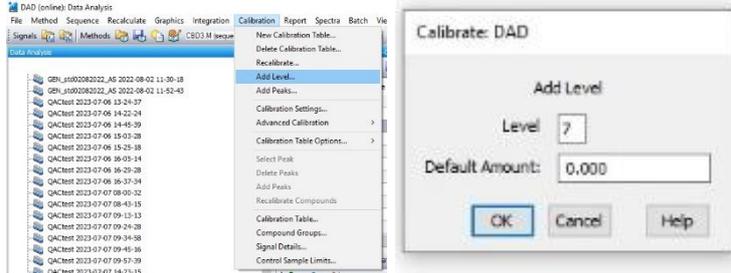
3. ไปที่เมนู calibration > เลือก Add level... เพื่อกำหนดให้ข้อมูล Chromatogram

- Level : ความเข้มข้นที่ 2, 3, 4, 5
- Default Amount : ใส่ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 2

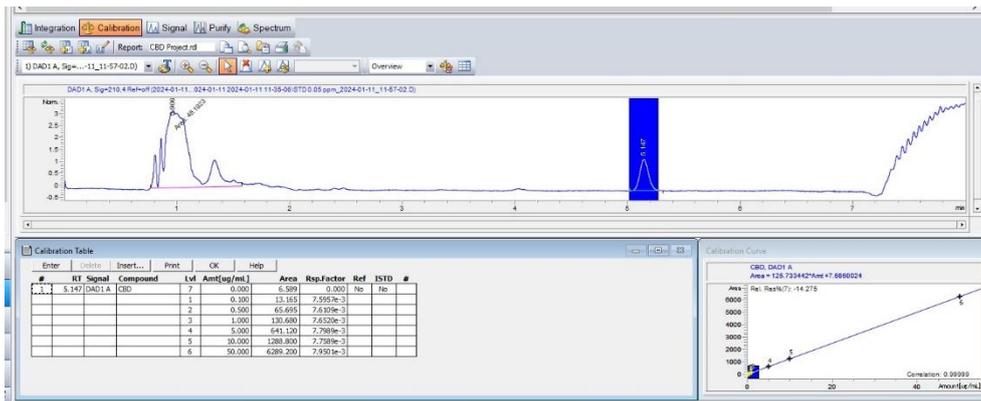
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



4. คลิก OK จะเห็นว่าตารางเทียบมาตรฐานจะเพิ่มข้อมูลความเข้มข้นระดับที่ 2 อีก 1 แถว และกราฟแสดง Calibration Curve ที่อยู่ทางขวามือด้านล่างจะปรากฏเส้นตรงที่ลากจากจุดทั้งสอง

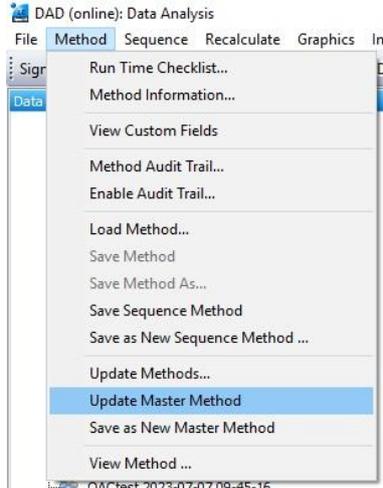


5. ถ้ามีสารมาตรฐานที่เข้มข้นขึ้นอีก ให้ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 2-3
6. หากเป็น Data จาก Sequence run ให้เลือกเมนู method > เลือก Update master method

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

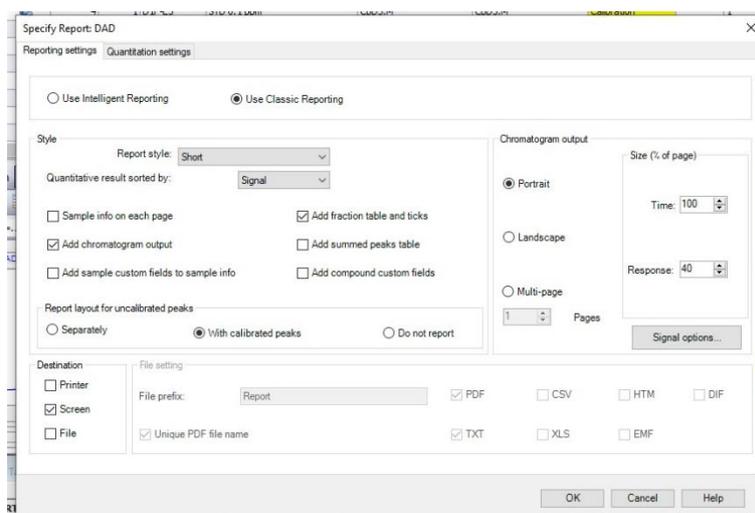
เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II



5.3.9 การวิเคราะห์คำนวณปริมาณของสารตัวอย่างและการรายงานผล (Calculate and Report)

1. เลือกหน้าต่าง Data Analysis
2. เลือก Method ที่ต้องการ
3. เรียก Chromatogram ที่ต้องการวิเคราะห์ขึ้นมา
4. คลิกที่ Report เลือก Specify Report... จะปรากฏหน้าต่างจดังรูป
 - Reporting setting : Use Classic Reporting
 - Report style : ใช้ค่าตามค่าพื้นฐานที่มีมาให้ > Short

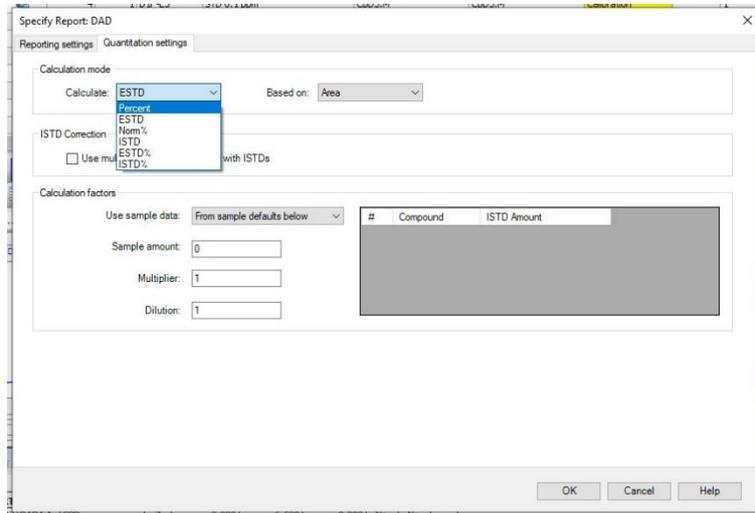


5. เลือกกำหนดวิธีการคำนวณเพื่อหาปริมาณสารตัวอย่าง โดยเลือกหัวข้อ Quantitation setting จะปรากฏรูปแบบการคำนวณขึ้นมาให้เลือกใช้
 - Calculate : Percent, ESTD

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง (Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

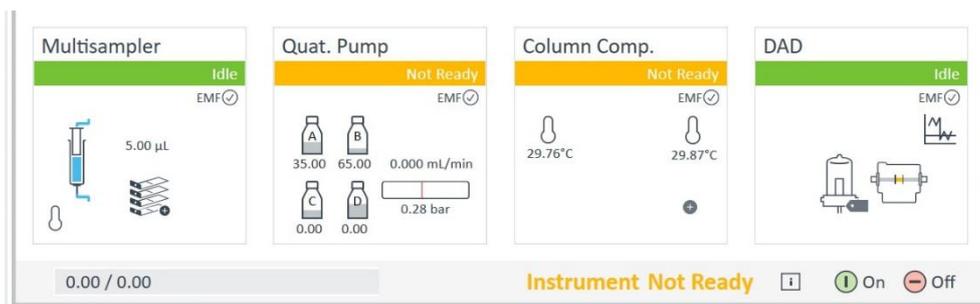


6. คลิก OK

7. คลิกที่ Report > เลือก Print Report หรือคลิกที่  เพื่อ preview ดูผลการวิเคราะห์

5.3.10 การปิดเครื่อง UHPLC

1. เลือกหน้าต่าง Method and Run Control
2. ในกรณีวิเคราะห์แบบ Reverse phase หลังจากจบงานแล้วควร Run ระบบด้วยน้ำ HPIC Grade ประมาณ 30 นาที (ถ้าใช้ Mobile Phase เป็น Buffer อาจต้อง Run นานกว่านี้) แล้ว Run ต่อด้วย 100% Methanol ประมาณ 20 นาที ตามด้วย 95% methanol (Methanol 95% + H₂O 5%) อีกประมาณ 15 นาที (ควรสร้างเป็น Method เพื่อความสะดวกในการใช้งาน)
3. คลิก Off ที่มุมขวาล่างของหน้าต่าง Instrument Status

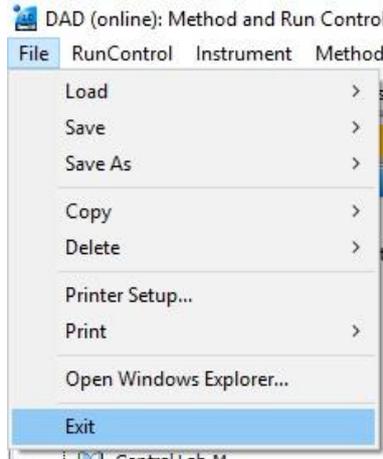


ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการใช้งานเครื่องตรวจวัดรังสีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวความดันสูง
(Ultra High Performance Liquid Chromatography: UHPLC)

ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 Infinity II

4. เข้าเมนู File > เลือก Exit เพื่อออกจาก Software



5. ให้ทำการปิดเครื่อง UHPLC ทีละ Module

6. ปิด Printer, ปิดคอมพิวเตอร์ และปิด Stabilizer หรือ UPS

6. แบบฟอร์มที่เกี่ยวข้อง

6.1 FM-CTL-29 แบบฟอร์มบันทึกการใช้งานเครื่องมือ/ ครุภัณฑ์

7. การจัดเก็บเอกสาร

| ลำดับ | ชื่อเอกสาร | ผู้รับผิดชอบการจัดเก็บ | | ระยะเวลาในการจัดเก็บ |
|-------|--|------------------------|-------|----------------------|
| | | ต้นฉบับ | สำเนา | |
| 1 | แบบฟอร์มบันทึกการใช้งานเครื่องมือ/ ครุภัณฑ์ | DC | - | 5 ปี |

8. ภาคผนวก

