



Autosampler 3950User Manual

Autosampler 3950 Benutzerhandbuch

V6818



# HPLC

# **Table of Contents**

**Note** For your own safety, **read** the manual and **always** observe the warnings and safety information on the device and in the manual!

Intended Use	7
Device Overview	7
Features	7
Standard	7
Device Variants	8
Solvents	9
Flushing Solution	10
Safety for Users	11
Definition of Personal and Material Damage	
Decontamination	
Symbols and Signs	
Installation	
Scope of Delivery	
Checking the Scope of Delivery	
Unpacking and Setup	
Packaging and Transport	
Contacting the Technical Support	
Location Requirements	
Space requirements	
Unpacking	
System Adapter	
Start-Up	
Front View of the Device	
Front View with Sample Compartment	
Rear View of the Device	
Local Area Network and Automatic Configuration	
Connecting the Device in a Local Area Network (LAN) to a Computer	
-	
Injection Principles	
ILD™ of Spark Holland	
PASA <sup>™</sup> Loop Injection Principle	
Injection Methods	
Full Loop Injection	
Air Segment for Full Loop Injection	
Partial Loop Fill	
Microliter Pick-Up Injection	
Air Segment with μl-Pick-Up Injection	
Microliter Pick-Up Injection with 84+3	
Air Segment with μl-Pick-Up Injection 84+3	37
84+3 Vial Plate	39

	Details on Programming the 84+3 Injection Method	
	,	
٩i	r Needles	
	Standard Air Needle	
	Choosing the Correct Air Needle	
	Calculation Example for Air Needle	
	Handling the Sample Vials	
M	ixing and Diluting	
	An example: Add	
	An example: Mix	
	Sample Positions in Mix Method	
	Processing in Columns	
	Processing in Rows	
	Parameters for Mixing Method with 84+3 Vial Plate	
	Details on Programming the 84+3 Mixing Method	49
Cá	apillary and Hose Connections	50
	Connecting the Injection Valve	51
	Connecting the Syringe	51
	Tube Guide for Flushing Solution	51
	Connecting the Drainage Tubing	53
	PEEK Connections	53
C	onnecting the Autosampler to Other Devices	54
	Controlling the Autosampler with Chromatography Software	
	Checking and Configuring the Parameters of the Autosampler	
	Configuration Window of ClarityChrom®	
	Autosampler Device Software	
	Flushing the System	55
	System Flushing with Autosampler 3950 Service Manager	55
	I/O Connection	56
	Defining the TTL Inputs	56
	Defining the Closed-Contact Output	57
	Configuration of I/O Connection (9 pins)	57

Device Test	
Test Intervals	58
Devices and Components for the Test	58
1. Reproducibility of Sample Volume	59
Standard Setting of Autosampler	59
Method Parameters of Pump	59
Method Parameters of Autosampler	59
Method Parameters of UV Detector	59
Configuring Repeat Runs of Autosampler	59
Starting Repeat Runs	59
Analyzing the Individual Chromatograms	60
Formula for Determining the Arithmetic Mean	60
2. Sample Carryover	60
Creating a Sequence with 6 Lines	60
Analyzing the Individual Chromatograms	61
Formula for Calculating Sample Carryover	
3. Linearity	61
Analyzing the Individual Chromatograms	61
Formula for Determining the Correlation	62
4. Mixture Test	62
Creating a Sequence with 2 Lines	62
Positioning Vials for Dilution	
Analyzing the Individual Chromatograms	63
Archiving	
Test Report	64
Operation Qualification Report	65
Maintenance and Care	66
Contacting the Technical Support	
Maintenance Contract	
Which Type of Maintenance Tasks May Users Perform on the Device?	
Leaks in the Capillary Screw Fittings	
Exchanging the Fuses	
Changing the Valve and Rotor Seal	
Removing the Injection Valve and Rotor Seal	
Installing the Injection Valve	
System Flushing	
Exchanging the Sample Loop	
Exchanging the Sample Needle	
Exchanging the Air Needle	
Exchanging the Syringe	
Exchanging the Syringe Plunger or Plunger Tip	
Exchanging the Syringe Valve	
Cleaning and Caring for the Device	
Disposal	77

Troubleshooting	
Device Errors	
Checking the	Valve
LAN	
,	
System Message	es from OpenLAB®
Device and Acce Repeat Orders .	95 essories 95 95 95 95 96 96
Warranty Condi	pn
HPLC Glossary.	
List of Figures	
An alle, die es betrifft	Wenn Sie ein französischsprachiges Benutzerhandbuch zu diesem Produkt wünschen, senden Sie ihr Anliegen und die entsprechende Seriennummer per E-Mail oder Fax an KNAUER:
	<ul><li>support@knauer.net</li><li>+49 30 8015010</li><li>Vielen Dank.</li></ul>
To whom it may concern	In case you prefer a French language user manual for this product, submit your request including the corresponding serial number via email or fax to KNAUER:
	support@knauer.net
	+49 30 8015010
	Thank you.
A qui que ce soit	Si jamais vous préfériez un manuel en français pour ce poduit contacter KNAUER par email ou par fax avec le no. de série:
	support@knauer net

- +49 30 8015010

Merci beaucoup.

## **Intended Use**

Note

Only use the device for applications that fall within the range of the intended use. Otherwise, the protective and safety equipment of the device could fail.

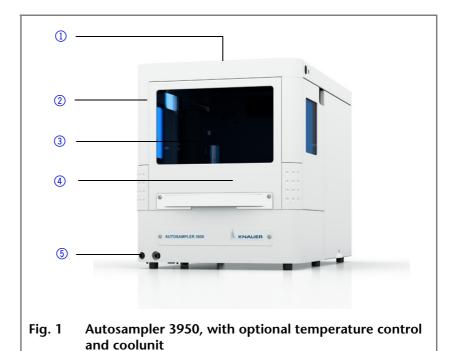
#### **Device Overview**

#### **Autosampler 3950**

The Autosampler 3950 was developed for chromatographic analyses in the high pressure (HPLC) range. An injection valve guarantees precise injection volumes with a maximum of 1000 bar. Additional variants offer temperature control. The device features fast sample injection, rapid flushing cycles and high sample throughput. The Autosampler is generally installed as a core element in an HPLC system.

#### Legend

- Opening for capillary feed
- ② Removable cover
- ③ Inward sliding glass door
- 4 Temperature control with coolunit inside the Autosampler
- 6 Hose connectors



#### Scope of application

The device can be used in the following areas:

- Biochemistry analysis
- Chemical analysis
- Food analysis
- Pharmaceutical analysis
- Environmental analysis

#### **Features**

#### **Standard**

- Injection valve with injection volume maximum of 1000 bar
- Injection volume for HPLC between 0.1 μl of maximum 5000 μl

- Intermediate Loop Decompression (ILD<sup>TM</sup>) technology<sup>1</sup>
- Temperature control between 4 40 °C<sup>2</sup>
- Flexibly equipped with microtiter plate or standard sample plate
- Maximum sample capacity of 768 Wells or 96 standard Autosampler vials
- Injection cycle < 60 s, 60 s incl. cleaning</p>
- Full loop or partial loop injection or microliter pick-up injection
- Quick-exchange injection valve
- Sample priority function
- High-resolution syringe controller

#### **Device Variants**

Two variants of the device are available:

- Autosampler without temperature control
- Autosampler with temperature control

<sup>1.</sup> ILD<sup>TM</sup> is a trademark of Spark Holland

<sup>2.</sup> Relevant to Autosampler 3950 with temperature control

#### **Solvents**

Even small quantities of other substances, such as additives, modifiers, or salts can influence the durability of the materials.

If there is any doubt, contact the Technical Support of the manufacturer.

#### **Suitable solvents**

- Acetate buffer solutions
- Acetone at 4 °C-25 °C (39.2 °F-77.0 °F)<sup>1</sup>
- Acetonitrile<sup>2</sup>
- Benzene
- Carbon dioxide (liquid 99.999 % CO<sub>2</sub>)
- Chloroform
- Dilute acetic acid (e.g. 0.1–1 %) at 25 °C/77.0 °F
- Dilute ammonia solution
- Dilute sodium hydroxide (1 M)
- Ethyl acetate
- Ethanol
- Formiate buffer solution
- Isopropanol
- Methanol
- Phosphate buffer solutions (0.5 M)
- Toluol
- Water

#### Less suitable solvents

- Diethylamine (0.1 %) (DEA)
- Dilute phosphoric acid
- Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- Methylene chloride<sup>1</sup>
- Slightly volatile solvents
- Tetrahydrofuran (THF)<sup>1</sup>
- Triethylamine (0.1 %) (TEA)
- Trifluoroacetic acid (0.1 %) (TFA)

<sup>1.</sup> valid for the specified temperature range

<sup>2.</sup> not recommended in combination with PEEK small parts and PEEK capillary

<sup>1.</sup> not recommended in combination with PEEK small parts and PEEK capillary

#### Not suitable solvents

- Concentrated mineral and organic acids
- Concentrated bases
- Halogenated hydrocarbons, e.g. Freon<sup>®</sup>
- Perfluorinated solvents, e.g. Fluorinert<sup>®</sup> FC-75, FC-40
- Perfluorinated polyether, e.g. Fomblin<sup>®</sup>
- Solvents containing particles

#### Solvents not suitable for degassers

- Azides
- Benzene
- Carbon dioxide (liquid 99.999 % CO<sub>2</sub>)
- Concentrated mineral and organic acids
- Concentrated bases
- Dilute sodium hydroxide (1 M)
- Halogenated hydrocarbons, e.g. Freon<sup>®</sup>
- Hexafluoroisopropanol
- Hexanes (60 % n-Hexane)
- Hydro fluoro solvents
- Perfluorinated solvents, e.g. Fluorinert<sup>®</sup> FC-75, FC-40
- Perfluorinated polyether, e.g. Fomblin<sup>®</sup>
- Solvents containing particles

#### **Flushing Solution**

Do not use a salt or buffer solution for flushing!

# Safety for Users

#### **Professional group**

The user manual addresses persons who are qualified as chemical laboratory technicians or have completed comparable vocational training.

The following knowledge is required:

- Fundamental knowledge of liquid chromatography
- Knowledge regarding substances that are suitable only to a limited extent for use in liquid chromatography
- Knowledge regarding the health risks of chemicals
- Participation during an installation of a device or a training by the company KNAUER or an authorized company.

If you do not belong to this or a comparable professional group, you may not perform the work described in this user manual under any circumstances. In this case, please contact your superior.

#### Safety equipment

When working with the device, take measures according to lab regulations and wear protective clothing:

- Safety glasses with side protection
- Protective gloves
- Lab coat

# What must be taken into account?

- All safety instructions in the user manual
- The environmental, installation, and connection specifications in the user manual
- National and international regulations pertaining to laboratory work
- Original spare parts, tools, and solvents made or recommended by KNAUER
- Good Laboratory Practice (GLP)
- Accident prevention regulations published by the accident insurance companies for laboratory work
- Filtration of substances under analysis
- Use of inline filters
- Once they have been used, never re-use capillaries in other areas of the HPLC system.
- Only use a given PEEK fitting for one specific port and never re-use it for other ports. Always install new PEEK fittings on each separate port.
- Follow KNAUER or manufacturer's instructions on caring for the columns

More safety-relevant information is listed in alphabetical order in the following table:

Topic	Explanations
Flammability	Organic solvents are highly flammable. Since capillaries can detach from their screw fittings and allow solvent to escape, it is prohibited to have any open flames near the analytical system.
Solvent tray	Risk of electrical shock or short circuit if liquids get into the device's interior. For this reason, place all bottles in a solvent tray.
Solvent lines	Install capillaries and tubing in such a way that liquids cannot get into the interior in case of a leak.
Leaks	Regularly check if any system components are leaking.
Power cable	Defective power cables are not to be used to connect the device and the power supply system.
Self-ignition point	Only use eluents that have a self-ignition point higher than 150 °C under normal ambient conditions.
Power strip	If several devices are connected to one power strip, always consider the maximum power consumption of each device.
Power supply	Only connect devices to voltage sources, whose voltage equals the device's voltage.
Toxicity	Organic eluents are toxic above a certain concentration. Ensure that work areas are always well-ventilated! Wear protective gloves and safety glasses when working on the device!

Where is use of the device prohibited?

Never use the system in potentially explosive atmospheres without appropriate protective equipment. For further information, contact the Technical Support of KNAUER.

Taking the device out of operation

At any time, take the device completely out of operation by either switching off the power switch or by pulling the power plug.

Opening the device

The device may be opened by the KNAUER Technical Support or any company authorized by KNAUER only.

# Definition of Personal and Material Damage

Possible dangers related to the device are divided into personal and material damage in this user manual.

Category	Explanations
DANGER!	Lethal or very serious injuries can occur.
WARNING!	Serious or moderate injuries can occur.
CAUTION!	Moderate injuries can occur. Device defects can occur.

#### **Decontamination**

Contamination of devices with toxic, infectious or radioactive substances poses a hazard for all persons during operation, repair, sale, and disposal of a device.



#### **DANGER!**

Danger if getting in contact with toxic, infectious or radio-active substances.

Before disposing off or sending away contaminated devices, commission an expert with the decontamination.

All contaminated devices must be properly decontaminated by a specialist company or the operating company before they can be recommissioned, repaired, sold, or disposed of.

All materials or fluids used for decontamination must be collected separately and disposed of properly.

# **Symbols and Signs**

The following symbols and signs can be found on the device, in the chromatography software or in the user manual:

#### Warning signs

Symbol	Meaning
<u>^i</u>	Electric shock hazard
*	Danger caused by potentially toxic substances
	Heavy weight hazard, back injuries can occur.
	Sharp edges hazard, stab wounds can occur.
<u>!</u>	General warning sign, moderate injuries can occur and also damages to system, device, or components.
Electrostatic Discharge	Electrostatic discharge hazard, damages to system, device, or components can occur.
	Wear protective gloves to avoid skin irritations.
CE	A device or system marked with CE fulfills the product specific requirements of Euro- pean directives. This is confirmed in a Declaration of Conformity.
TÜVRheinland	Testing seals in Canada and the USA at nationally recognized testing centers (NRTL). The certified device or system has

#### Mandatory signs

#### **CE** mark

rity tests.

successfully passed the quality and secu-

# Installation

# **Scope of Delivery**

Note Only use original parts and accessories made by KNAUER or a company authorized by KNAUER.

#### **Delivery** Autosampler and 250 µl syringe User manual German/English Cable: Power cable Network cable - I/O interface cable, 9 pins CD Autosampler 3950 Service Manager Sample loop, 10 µl and 100 µl PTFE tube, 300 cm in length

#### Accessories kit

## Checking the Scope of Delivery

Silicon drainage tube, 200 cm

2 x vial plate for 48 vials, 1.5 ml

5 x microtiter plate, 96 Wells

Optional: Temperature control

2 x 2.5 A fuses

1 x wash bottle

- 1. Check whether the device and accessories are complete.
- 2. If a part is missing, inform the technical support of KNAUER.

# **Unpacking and Setup**

#### **Packaging and Transport**

At the factory, the device is carefully packed for safe transport.

Note

Check for damage caused during transportation. In case you notice any damage, contact the technical support and the forwarder company.

#### **Contacting the Technical Support**

You have various options to contact the Technical Support:

Phone +49 30 809727-111

Fax +49 30 8015010

E-mail support@knauer.net

You can make your requests in English and German.

#### **Location Requirements**

#### Requirements

The location for the device must meet the following requirements:

protect from heavy ventilation

Weight of the21 kg (with temperature control)

Autosampler

Dimensions (width  $\times$  300  $\times$  377  $\times$  577 mm height  $\times$  depth)

Line voltage 95–240 V DC

Humidity 20–80 % RH

Temperature 10–40 °C 50–104 °F



#### **CAUTION!**

Defect of the device due to overheating possible! Protect the device against exposure to direct sunlight.

Make sure the room is well-ventilated.

Keep clear at least 15 cm at rear and 5 – 10 cm at each side for air circulation.

**Note** The autosampler is designed exclusively for use in closed areas with an ambient temperature of 10–40 °C.

#### **Space requirements**

Side clearance to other devices:

- If there is a device on one side, min. clearance of 5 cm.
- If there are devices on both sides, min. clearance of 10 cm.

#### Unpacking



WARNING! Back injuries while lifting or carrying the device caused by its heavy weight. To avoid injuries, you should ask a second person for help.

Store all packing material. Retain included packing list carefully for repeat orders.

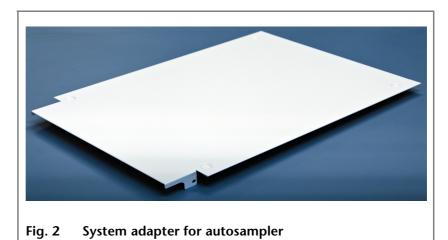
#### **Tool** Utility knife

#### **Procedure**

- 1. Setup the delivery in such a way that the label is in the correct position. Using the utility knife, cut the adhesive tape. Open the packaging.
- 2. Remove the foam insert. Take out the accessories kit and the manual.
- 3. Open the accessories kit and take out all accessories. Check the scope of delivery. In case any parts are missing, contact the Technical Support.
- 4. Clasp the device at its side panels and lift it out of the packaging.
- 5. Remove the foam inserts from the device.
- 6. Check for damage caused during transportation. In case you notice any damage, contact the Technical Support.
- 7. Set-up the device in its location.
- 8. Remove the adhesive tape from the door of the autosampler that was used as transportation protection.

# **System Adapter**

The autosampler can be integrated into an HPCL system with the help of a system adapter. The system adapter is a metal sheet which can be mounted onto the top cover of the autosampler. Afterwards, additional AZURA devices can be set up on the autosampler.



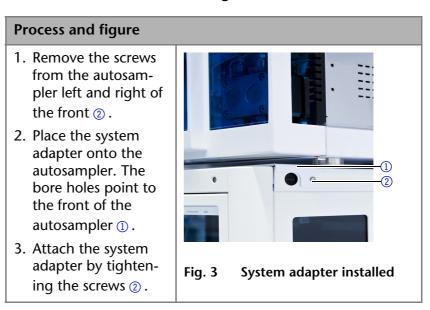
Prerequisite

The screws at the autosampler have been loosened and removed.

**Tool** Allen wrench, 2.5 mm



CAUTION! Too much weight can cause damage to the device! Do not load the system adapter with more than 60 kg!



**Next steps** Place the devices on the system adapter.

# Start-Up

Note

Before initial startup, wait approximately one hour until the temperature of the device has adapted to the ambient temperature.

**Auto-Injection System** 

The speed of the auto-injection system has been increased to fulfill the requirements of ultra-high performance liquid chromatography. However, be aware that the high speed of the auto-injection system can cause stab injuries when handled inappropriately!

#### Front View of the Device

The door of the Autosampler can be pushed horizontally into the interior of the device. The front paneling can be completely removed. In order to replace the vial plate, the cooler cover has to be removed.



CAUTION! Personal injuries can occur when the front panel is open or has been removed. Always operate the autosampler with its front panel closed.



#### Opening the door

Position your hands on both sides of the door ① and open. As shown in the figure, push the door inwards.

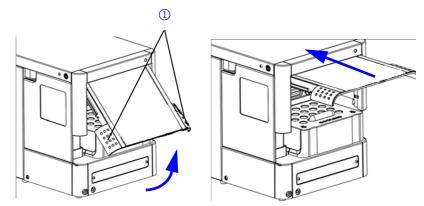


Fig. 5 Push the door into the interior

# Removing the front panel

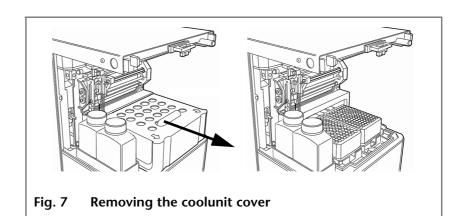
Press the buttons on the side ① at the same time and remove the front paneling.



Fig. 6 Removing the front panel

# Removing the coolunit cover

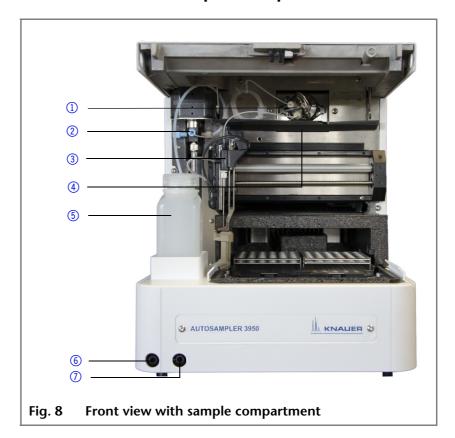
Pull the coolunit cover in the direction indicated by the arrow.



## **Front View with Sample Compartment**

#### Legend

- Valve
- ② Syringe
- 3 Needle guide
- 4 Collecting container
- 5 Flushing solution bottle
- Tube connector for waste liquid
- Tube connector for condensed water

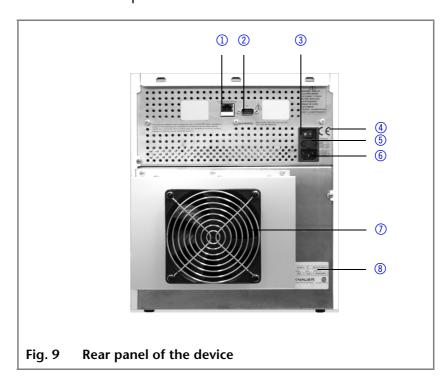


## **Rear View of the Device**

The following components, connections and warnings can be found at the rear panel of the device:

#### Legend

- ① LAN port
- 2 I/O connection (9-pin)
- 3 Power switch
- 4 CE mark
- 5 Fuse box
- 6 Mains power connection
- Cooling fan (optional)
- Serial number and year of manufacture of device



# Local Area Network and Automatic Configuration

The autosampler is operated exclusively using the chromatography software.

Remote control

Normally, the autosampler is controlled by the chromatography software through a local network (LAN).

**Automatic configuration** 

The autosampler connected to the local area network (LAN) is automatically detected by the chromatography software.

**Device Status** 

When used in a local area network (LAN), the system status of the autosampler can be checked using the chromatography software.

# Connecting the Device in a Local Area Network (LAN) to a Computer

In case no connection between the computer and the devices can be established via LAN, go through the following steps. Check after each step if the problem is solved. If the problem cannot be located, call the Technical Support.

	Check the status of the LAN connection in the Windows taskbar:	
	- 🔁 Connected	
	- ; Connection not established	
	If no connection was established, test the following:	
	Is the router switched on?	
	Is the patch cable connected correctly to the router and the computer?	
1	2. Check the router settings:	
	Is the router set to DCHP server?	
	Is the IP address range sufficient for all the connected devices?	
1	3. Check all connections:	
	Is the patch cable connected to the LAN ports and not the WAN port?	
	• Are all cable connections between devices and router correct?	
	Are the cables plugged in tightly?	
	4. If the router is integrated into a company network, pull out the patch cable from the WAN port.	
	Can the devices communicate with the computer, even though the router is disconnected from the com- pany network?	

<ul> <li>5. In case you own a Control Unit, check the settings in the menu Setup &gt; Network.</li> <li>Is LAN-DHCP set for controlling?</li> <li>Did the device receive an IP address?</li> </ul>	
<ul><li>6. Turn off all devices, router, and computer. Firstly, turn on the router and secondly turn on the devices and the computer.</li><li>Has this been successful?</li></ul>	
<ul><li>7. Replace the patch cable to the device which no connection could be established with.</li><li>Has this been successful?</li></ul>	
8. Ensure that the IP port of the device corresponds to the IP port set in the chromatography software.	

# **Injection Principles**

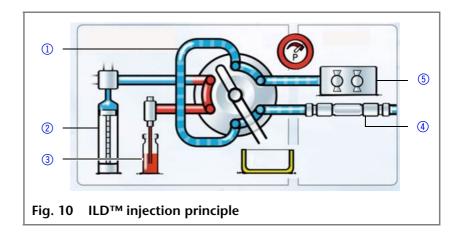
The autosampler can work with the following injection principles:

# **ILD**<sup>™</sup> of Spark Holland

For high-pressure injections of up to 1000 bar, the autosampler is equipped with a so-called  $ILD^{TM}$  valve (Intermediate Loop Decompression). This valve consists of a rotor-stator combination and includes a central port for depressurizing. For high-pressure applications, the sample loop is depressurized prior to receiving the sample. This way, the sample is not diluted with solvent. Because the valve is switched extremely fast, pressure spikes are reduced. Analyses are more precise and wear of the column is reduced.

#### Legend

- Sample loop
- ② Syringe
- 3 Sample vial
- 4 Column
- 5 Pump



# **PASA**<sup>™</sup> Loop Injection Principle

The autosampler uses loop injection with pressure assistance (Pressure Assisted Sample Aspiration PASA™) and has the following features:

- Samples do not have to be degassed
- No air bubbles in sample loop
- No clogging or contamination of sample needle
- Precise control of syringe movement

## **Injection Methods**

Three different injection methods are available:

- Full loop injection
- Partial loop injection
- Microliter pick-up injection

#### **Full Loop Injection**

In full loop injection mode, the sample loop is completely filled with the sample. The maximum reproducibility but not the maximum precision is achieved because the size of the sample loop may have a deviation of  $\pm 10$  %. The maximum injection volume equals the loop volume. The sample loop is filled with a multiple of the loop volume:

- 3 x loop volume for loops up to 100 μl
- 2 x loop volume for loops between 100 and 500 μl
- 1,5 x loop volume for loops over 500 μl

The sample loss per injection is the sum of the overfilling of the sample injection times x and the flush volume set for the needle used.

# Partial loop injection

In partial loop fill mode, the sample loop is filled with both sample and solvent. This ensures the highest precision of the sample volume with minimal loss of sample. The maximum injection volume equals 50 % of the loop volume. The sample loss per injection equals the flush volume plus 3 times the sample volume set for the needle used.

# Microliter pick-up injection

In microliter pick-up injection mode, the sample loop is filled with a very small amount of sample and solvent (mobile phase). This ensures very high precision with no loss of sample. The maximum sample volume is at 50 % of the loop volume minus 3 times the needle volume.

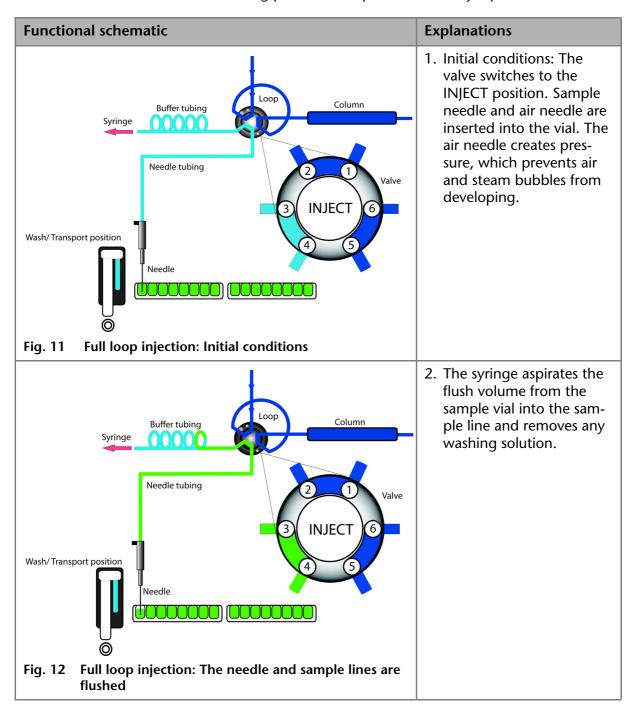
# Air needle and sample needle

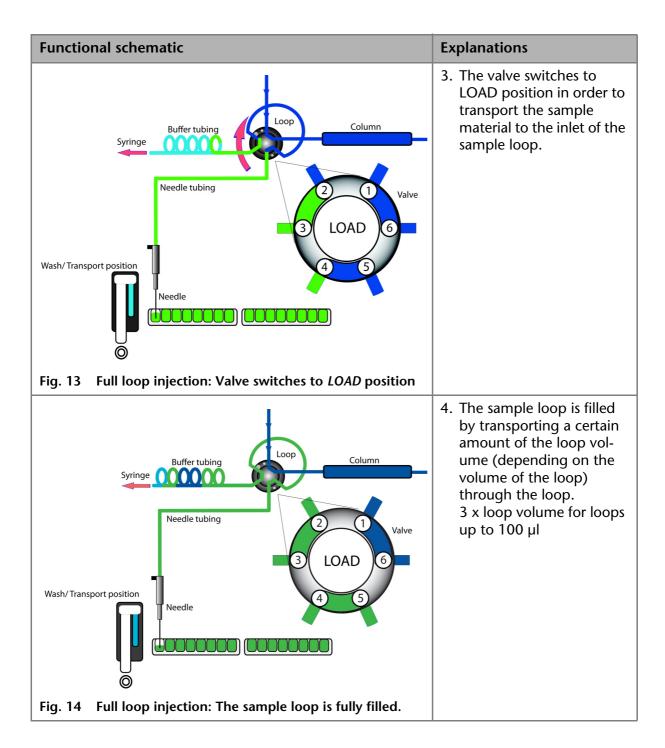
The autosampler uses a system of two telescopic needles, one that pierces through the cap of the sample vial – the air needle – and one that extracts the sample – the sample needle.

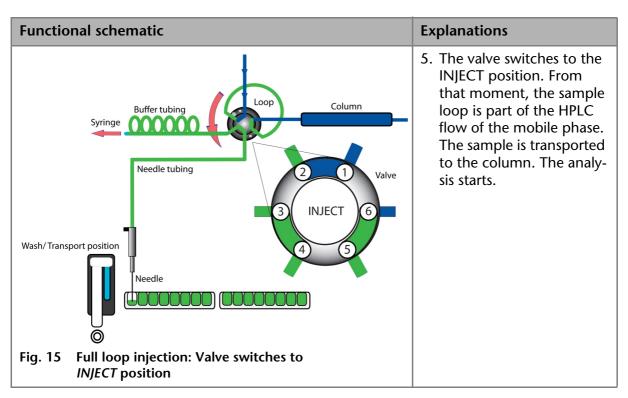
Using a syringe, the sample is aspirated through the two needles out of the sample vial while under pressure and into the sample loop. To prevent the syringe from becoming contaminated, a buffer tube is situated between the syringe and the valve. Using washing solution, sample residue is removed from the sample needle and buffer tube.

# **Full Loop Injection**

**Note** A flushing process takes places after every injection.





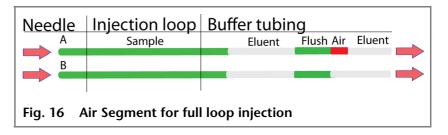


**Next steps** Flush the needle after every injection.

#### Air Segment for Full Loop Injection

You can use an air segment of 5  $\mu$ l to reduce the flush volume. The air segment precedes the flush segment and is not injected.

The flush volume must be at 30 µl in case of a standard needle and an injection with air segment; in case of an injection withouth air segment, the flush volume has to be 35 µl. You may need to insert a higher flush volume for extremely viscous samples to reduce the syringe speed and improve the performance.

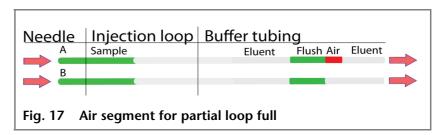


# **Partial Loop Fill**

#### Flush volume

An air segment of 5  $\mu$ l preceding the flushing volume, which is not injected, can reduce the amount of sample dilution caused by the dispersion during aspiration.

- Choose the following flush volumes for a standard needle:
  - At least 30 μl for injections with air segment
  - 35 μl for injections without air segment
- Increase the flush volume and reduce the syringe speed to achieve better results for highly viscous samples.

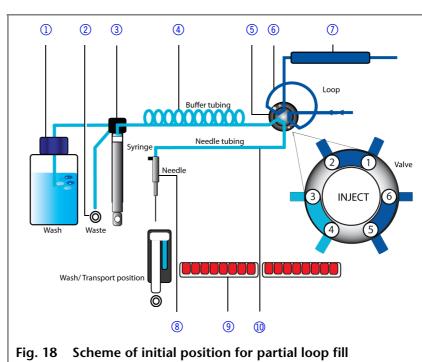


#### Sample Volume

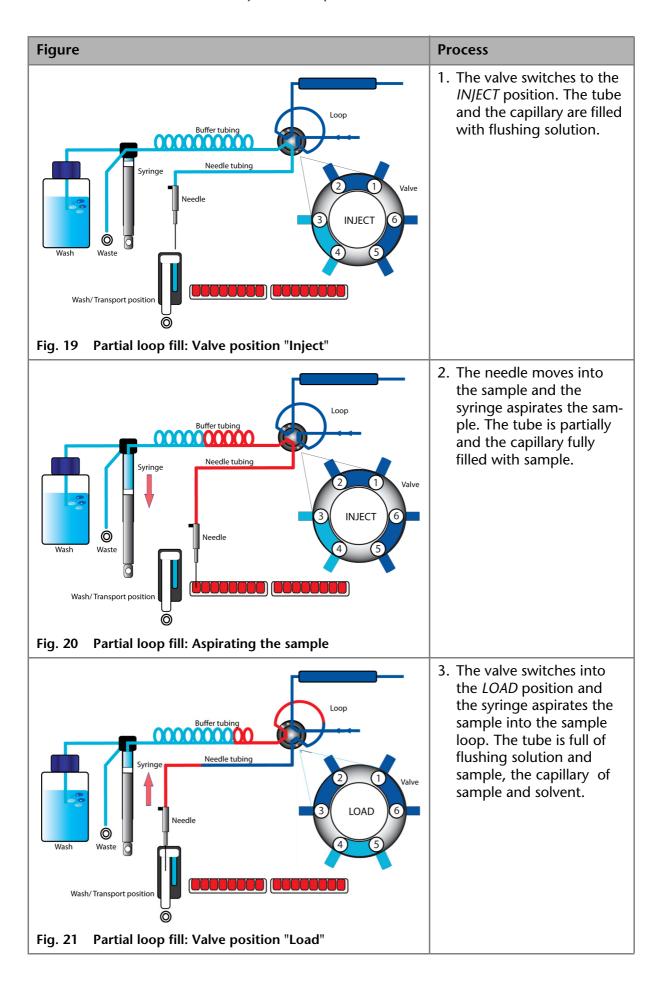
In the Autosampler 3950, the syringe moves the sample into the sample loop. In partial loop fill mode, the sample volume is maximum 50 % of the loop volume.

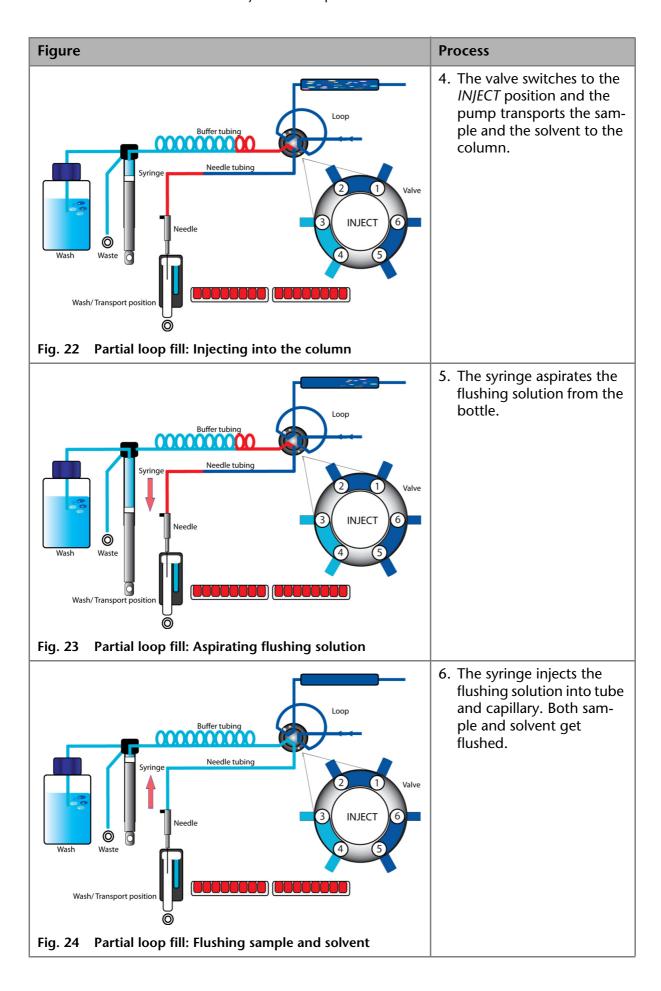
#### Legend

- Flushing solution
- ② Tube connector for waste
- 3 Syringe
- 4 Tube
- (5) Valve
- 6 Sample loop
- Olumn
- 8 Needle
- Microtiter plate with samples
- ① Capillary

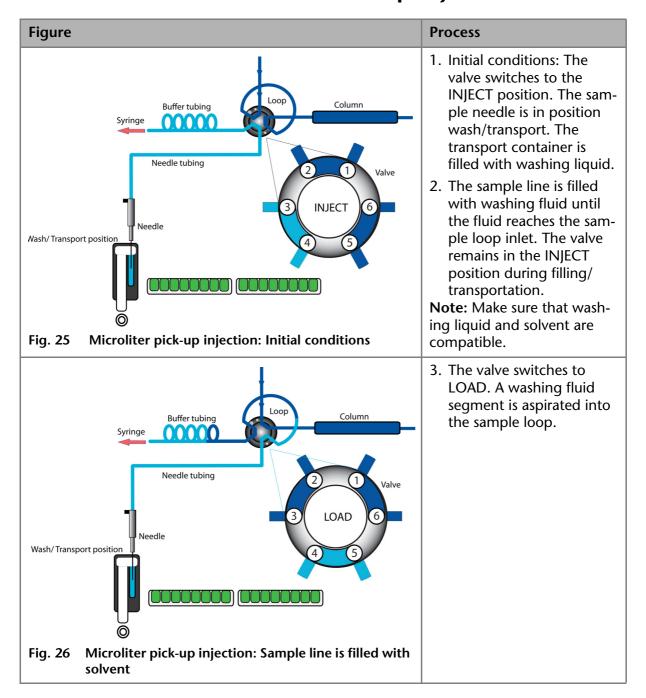


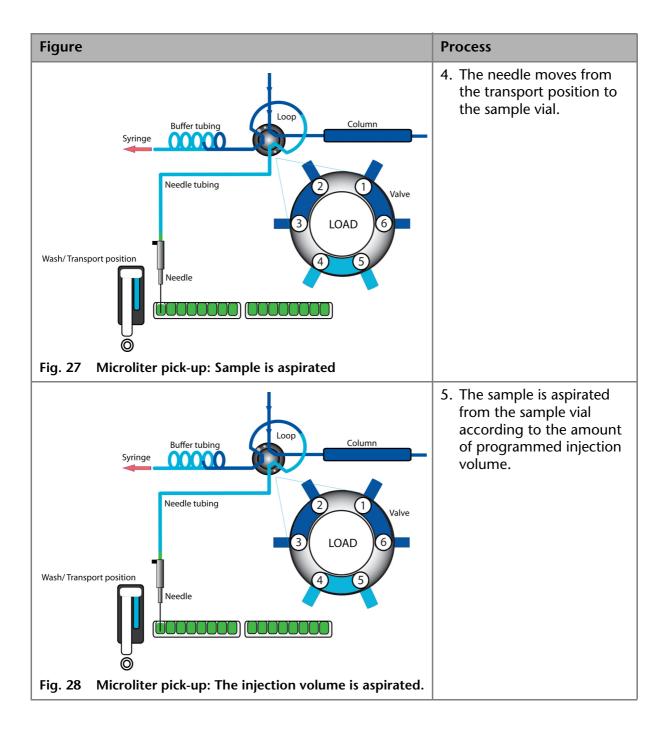
**Note** The partial loop fill is processed automatically.

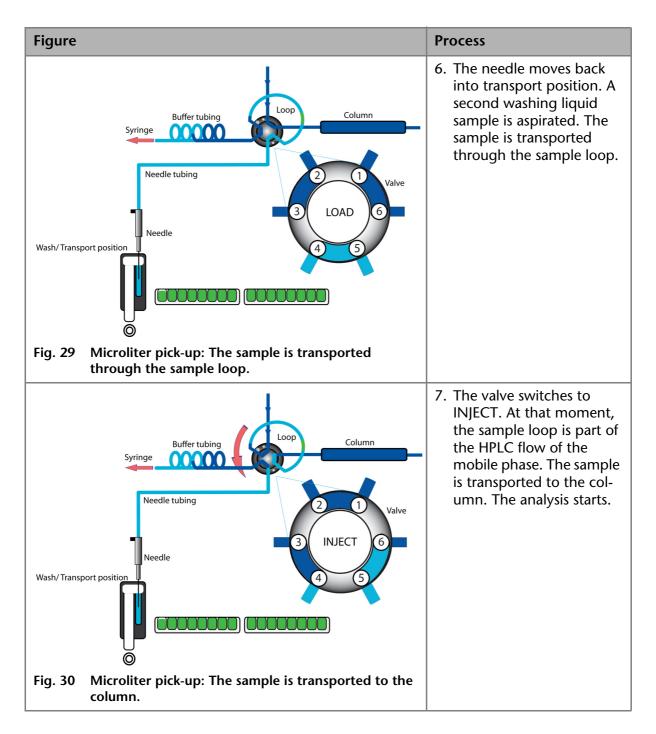




# **Microliter Pick-Up Injection**





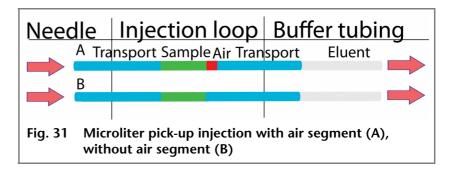


#### Air Segment with µl-Pick-Up Injection

If an air segment has been programmed, it will be inserted in front of the solvent area and in front of each sample.

The following conditions apply:

The air segment is injected into the HPLC system in front of the sample segment. • In this mode, the needle does not create pressure because the sample volume could be distorted due to the air expansion during the movement from sample vial to wash position.



# Microliter Pick-Up Injection with 84+3

If you choose to operate the microliter pick-up with the 84+3 vial plate, three 10 ml vials are used automatically for transportation. In this case, the needle position wash/transport is only used for washing the needle. The following injection process is the result:

Process	Figure
1. The sample needle begins with the wash/ transport position. The valve starts with the INJECT position.	Fig. 32 Microliter pick-up 84+3: Initial conditions
2. The first injection starts in the transport position with the syringe aspirating transport liquid from the vial to fill the sample line with transport liquid and to remove the flushing solution.	2 0 3 INJECT 6
	Fig. 33 Microliter pick-up 84+3: Sample line is filled with flushing solution.

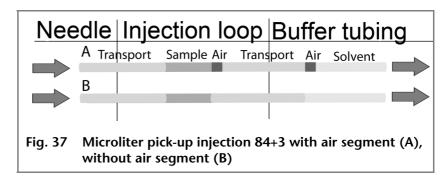
Process	Figure
3. The valve switches to LOAD. The programmed injection volume is aspirated out of the sample vial.	2 0 3 LOAD 0
	Fig. 34 Microliter pick-up 84+3: Injection valve switches to <i>LOAD</i> posi- tion
4. The needle moves back into the transport position. A second washing liquid segment is aspirated. The sample is transported through the sample loop.	Fig. 35 Microliter pick-up 84+3:
	The sample is trans- ported through the sample loop.
5. The valve switches to INJECT. From that moment, the sample loop is part of the HPLC flow of the mobile phase. The sample is transported to the column. The analysis starts.	OXXXX OXXX OXXX OXXX OXXX OXXX OXXX OX
	Fig. 36 Microliter pick-up 84+3: Injection valve switches to position <i>INJECT</i> .

#### Air Segment with µl-Pick-Up Injection 84+3

If an air segment has been programmed, it is inserted in front of the transportation liquid segment and in front of each sample.

Details on this injection mode:

 The air segment is injected into the HPLC system in front of the sample segment  In this mode, the needle does not create pressure because the sample volume could be distorted due to the air expansion during the movement from sample vial to wash position



## 84+3 Vial Plate

The 84+3 vial plate is to be ordered separately. Position the plate onto the plate holders inside the autosampler.

Hinweis: Position 87 of the vial plate must always be located at the rear right corner of the sample extraction chamber.

The vial plate offers space for maximum 84 vials with 1.5 ml and 3 vials with 10 ml. It was designed with the caps of all vials being level, independently from their unique heights, which means that one needle can be used for all vial sizes.

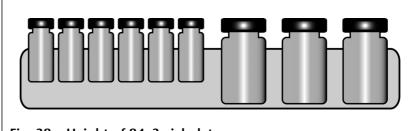
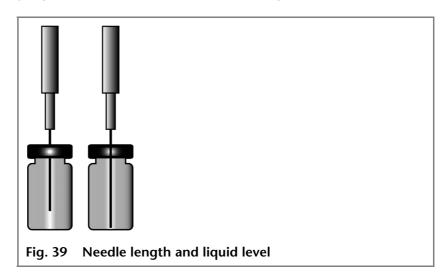
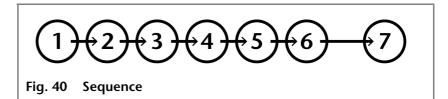


Fig. 38 Height of 84+3 vial plate

The length of the sample needle must be programmed at 1.5 ml. Relating to the liquid level in 10 ml vials, it is possible to program the needle at two different lengths.



Follow the numeric order if you are to program a sample sequence for a vial plate.



In case you are creating a sequence chart with only one sample per row (1 sample in each run), programming the sequence is free to you.

# µl-Pick-Up Parameters for the 84+3 Vial Plate

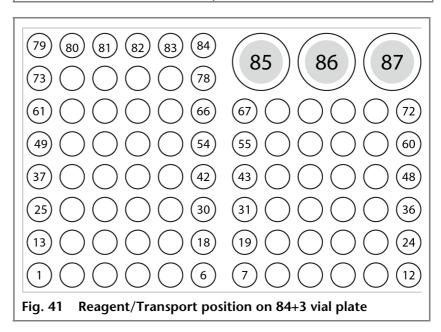
Before using the 84+3 vial plate, it is necessary to change the software settings.

Note

If you choose to operate the microliter pick-up with the 84+3 vial plate, three 10 ml vials are used automatically for transportation. In this case, the needle position wash/transport is only used for washing the needle.

The vial positions for the 84+3 vial plate are as follows:

Position of the first sample:	Vial positions 1-84
Position of the final sample:	Vial positions 1-84
First destination position:	Vial positions 1-84
Transport position:	Vial positions 85-87



You need to define the first and the final sample to enter a sample range. The transport positions are always positions 85, 86, 87.

# Details on Programming the 84+3 Injection Method

- The position of the transport vial can be programmed. Some possible positions are 85, 86, and 87. Position 85 is the standard position for transport vials. The system calculates the necessary transport volume. Make sure before system start that the vial is filled with at least 8000 µl of liquid.
- The liquid levels of the transportation liquids are not updated at system start. To avoid contamination of the air needle, the needle stops inside the transport vial in the up most position.

- If conducting a sample sequence or one sample per row, the autosampler takes the residual volume of the transport liquid into account. If the volume falls below 4000 μl, the needle moves deeper into the transport vial. If the amount of transport liquid reaches 0 μl, the autosampler sends out error message 369 (not enough transport liquid available).
- The liquid levels of the transportation liquid will reset after reprogramming the mode.
- The needle does not move automatically to the next transport vial. If transport liquid is to be taken from another position, you have to change the program settings.

## Air Needles

Six different lengths of air needles from 50 to 80 mm are available for the autosampler. The needle holder allows you to further adjust the needle height by 6 mm.

### Standard Air Needle

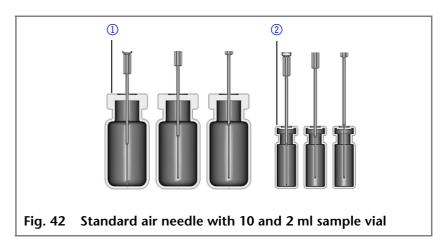
The standard air needle is 62 mm long and can be used for a wide range of deep and shallow vial plates.

When 10 ml sample vials are used, the needle deeply penetrates the sample vial. If this is not filled to more than 60%, the needle can be used in the typical manner. The same applies to deep microtiter plates.

For non-standard settings, use the corresponding needle types.

#### Legend

- 10 ml sample vial
- 2 ml sample vial

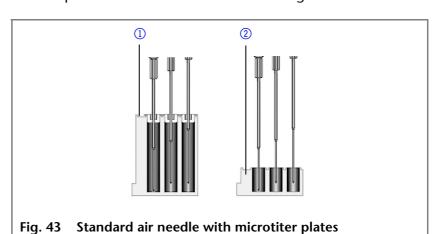


Note

The PASA™ loop injection principle is not suitable for shallow microtiter plates. The function of the air needle is only ensured when it pierces the closure to a sufficient degree.

#### Legend

- Deep microtiter plate with closure.
- ② Shallow microtiter plate



# **Choosing the Correct Air Needle**

To choose the correct air needle, take the following dimensions into consideration:

#### Legend

 $H_t$  = height of vial plate

 $D_w$  = hole depth

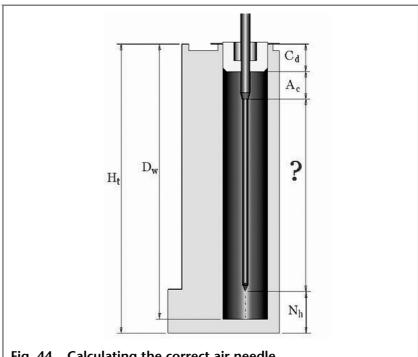
**C**<sub>d</sub> = thickness of clo-

 $N_h$  = set needle height

 $A_c$  = distance from air needle tip to closure

(min. 2 mm)

? = excess length



Calculating the correct air needle

**Condition:** 

 $H_t - D_w = 2 \text{ to } 6 \text{ mm}$ 

Excess length of the sample needle:

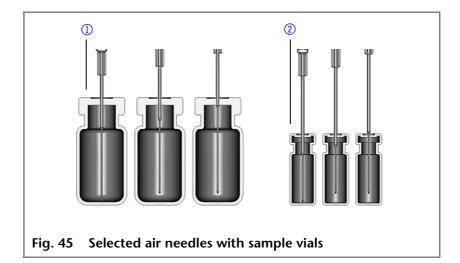
 $H_t - C_d - N_h - A_c = ?$ 

Choose the correct needle type on the basis of the excess length.

Air needle type	Protrusion length
50 mm, yellow	34-40 mm
56 mm, red	28-34 mm
62 mm, white (standard needle)	22-28 mm
68 mm, blue	16-22 mm
74 mm, green	10-16 mm
80 mm, black	4-10 mm

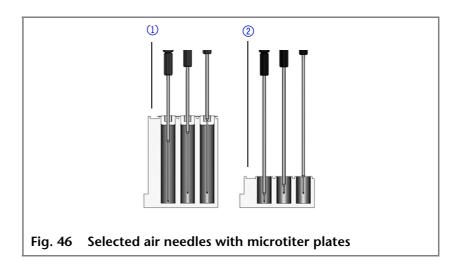
#### Legend

- 10 ml sample vial,
   50 mm air needle
- 2 ml sample vial,62 mm air needle



#### Legend

- Deep microtiter plate with closure., 56 mm air needle
- ② Shallow microtiter plate, 80 mm air needle



### **Calculation Example for Air Needle**

Starting point:

- Autosampler with standard setting for needle height.
- Deep microtiter plate with closure.

**Dimensions:** 

 $H_t = 41.4 \text{ mm}$ 

 $D_{w} = 37.8 \text{ mm}$ 

 $C_d = 3.8 \text{ mm}$ 

 $N_h = 6.0 \text{ mm (standard)}$ 

 $A_c = 2.0 \text{ mm (minimum)}$ 

Condition:

 $H_t - D_w = between 2 and 6 mm$ 

 $H_t$  -  $D_w$  = 41.4 mm - 37.8 mm = 3.6 mm. Condition has been met.

 $H_t - C_d - N_h - A_c =$ excess length

41.4 mm - 3.8 mm - 6.0 mm - 2.0 mm = 29.6 mm

Air needle type	Protrusion length
56 mm, red	28-34 mm

An air needle length of 56 mm is required.

# Handling the Sample Vials

When handling the sample vials, observe the following:

- Fill the sample vials using a pipette to allow air to escape.
- To prevent the sample from contaminating the air needle, do not fill the sample vials to the very top.
- Do not use sample vials that are unclosed.
- Only use air-tight closure seals to prevent air bubbles from forming and volatile components from evaporating.
- Do not use sample vials with hard closures that the sample needle cannot pierce.

# Mixing and Diluting

A mix method can be programmed for the autosampler to mix or dilute the sample fluid.

- Configure the mixing routine and syringe speeds using the chromatography software.
- A maximum of 15 steps can be programmed for a mix method.

Three types of actions are possible:

- 1. (Add)
- 2. (Mix)
- 3. (Wait)
- Add When adding, the defined volume is aspirated from either the sample vial, the vial with *Reagent A* or *Reagent B* or flushing fluid and then dispensed into the destination vial.
- **Note** To prevent carryover, the autosampler removes 125% of the given volume from the corresponding sample vial and uses the additional 25% to flush the tube and needle.
  - **Mix** When mixing, the contents of a specific sample vial is mixed by aspirating and dispensing the defined volume n times. If a destination vial has not been defined, mixing is performed in the current sample vial.
- **Note** When entering the *Sample Vials*, the *Destination Vial* is used automatically.
- Wait With the Wait command, the system waits until the programmed delay time has elapsed before executing the next line of the program.

## An example: Add

The command *ADD 100 µl from Reagent A to Destination* involves the following steps:

- 1. An air segment of 5  $\mu$ l is aspirated to separate the flushing solution in the buffer tube from *Reagent A*.
- 2. 50 µl of Reagent A are aspirated to flush the tube and needle.
- 3. Syringe is emptied into the waste container through the drainage tube.
- 4. 100  $\mu$ l of *Reagent A* are aspirated and then dispensed into the destination vial.
- 5. Tube and needle are flushed with flushing solution.

# An example: Mix

If this is preceded by an *ADD...* to *Destination* command, mixing is performed in the destination vial. If this is preceded by an *ADD* to *Sample* command, mixing is performed in the sample vial.

The MIX 3 times with 100 µl command triggers the following steps:

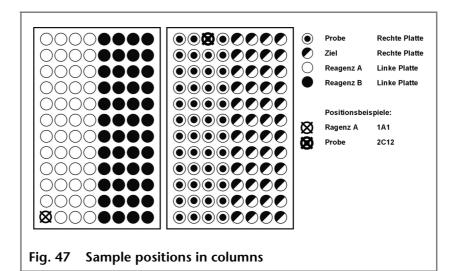
- 1. An air segment of 50 µl is aspirated to separate the flushing solution in the buffer tube from the sample solution to be mixed.
- 2. Syringe is emptied into the waste container through the drainage tube.
- 3. 100  $\mu$ l solution are aspirated and dispensed into the same sample vial.
- 4. Step 3 is repeated twice.
- 5. Tube and needle are flushed with flushing solution.

# Sample Positions in Mix Method

When configuring a mix method, the positions of the sample vials depend on whether the vial plates are to be processed in rows or columns.

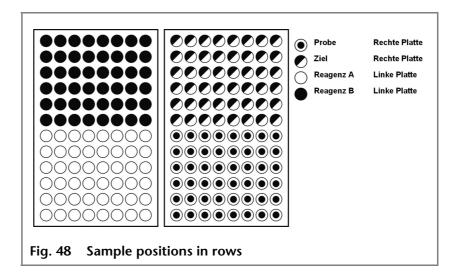
## **Processing in Columns**

When column processing is used, the following positions are possible for the *Sample, Destination, Reagent A* and *Reagent B*:



### **Processing in Rows**

When row processing is used, the following positions are possible for the Sample, Destination, Reagent A and Reagent B:

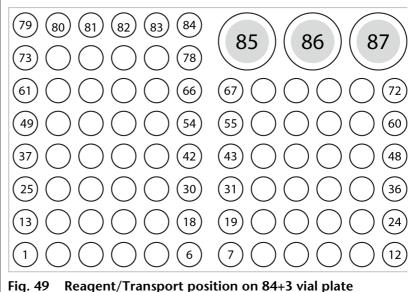


# Parameters for Mixing Method with 84+3 Vial Plate

Before using the 84+3 vial plate, it is necessary to change the software settings.

The vial positions for the 84+3 vial plate are as follows:

Position of the first sample:	Vial positions 1-84	
Position of the final sample:	Vial positions 1-84	
First destination position:	Vial positions 1-84	
Reagent position:	Vial positions 85-87	



You need to define the first and the final sample to enter a sample range. The same range can be used for the destination vials. The reagent positions are always positions 85, 86, 87.

#### Details on Programming the 84+3 Mixing Method

- The position of the reagent vial can be programmed. Some possible positions are 85, 86, and 87. The standard transport positions are 86 for Reagent A and 87 for Reagent B. The system calculates the necessary reagent volume. Make sure before system start that the vials are filled with at least 8000 µl of liquid.
- The liquid levels of the reagent liquids are not updated at system start. To avoid contamination of the air needle, the needle stops inside the reagent vial in the up most position.
- If conducting a sample sequence or one sample per row, the autosampler takes the residual volume of the reagent liquid into account. If the volume falls below 4000 µl, the needle moves deeper into the reagent vial. If the amount of reagent liquid reaches 0 µl, the autosampler sends out error message 370 (not enough reagent liquid available).
- The liquid levels of the reagent liquid will reset after reprogramming the mode.
- Reagent will only be taken from preprogrammed positions. The needle does not move automatically to the next reagent vial. You have to change the settings when reagent is to be taken from one of the other vials.

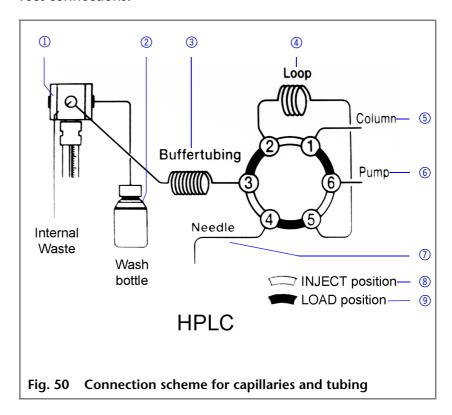
# **Capillary and Hose Connections**

**Note** Flush the system before connecting the column.

The connection scheme inside the autosampler displays the correct connections:

#### Legend

- Waste hose
- ② Flushing fluid container
- 3 Buffer tube
- 4 Sample loop
- 6 Column
- 6 Pump
- Injection needle
- 8 Position: Injection
- 9 Position: Load



# **Connecting the Injection Valve**

#### Legend

- Connection tube buffer to syringe
- ② Drainage for ILD<sup>TM</sup> valve
- ③ Connection plastic capillary to injection needle
- 4 Connection sample loop
- ⑤ Connection sample loop
- 6 Connection stainless steel capillary to column
- Connection stainless steel capillary to pump

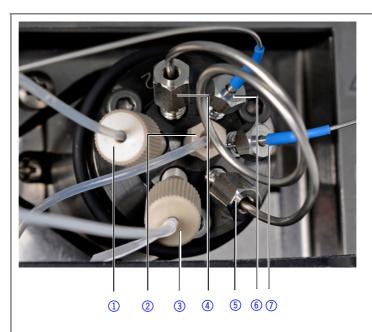
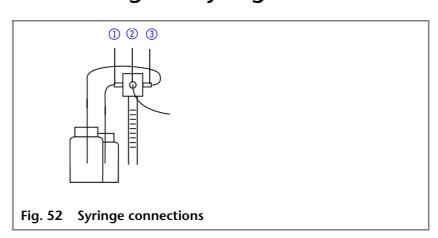


Fig. 51 Connections on the injection valve

# **Connecting the Syringe**

#### Legend

- Connection transport liquid
- Connection buffer tube
- 3 Connection flushing solution



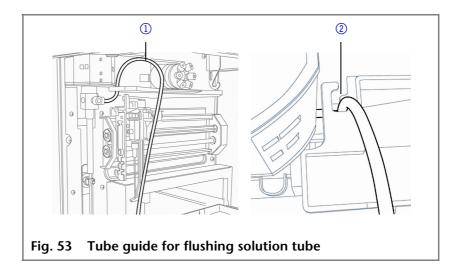
## **Tube Guide for Flushing Solution**

Note

Use the tube guide in the collecting container for the flushing solution in order to not hinder horizontal movement of the needle.

### Legend

- Tube Guide for Flushing Solution
- Collecting container with hole for tube guide (flushing fluid)



# **Connecting the Drainage Tubing**

The waste drainage removes all flushing fluids and non-injected sample solutions.

- Connect the condensed water and drainage tubing to the front panel of the device.
- Connect the adapter and insert the end of the tube into a container on the floor.

Note

Make sure that the drainage tubing is not pinched so that the liquid can drain.

#### Legend

- ① Tube for waste liquid
- 2 Tube for condensed water
- 3 Adapter for drainage tube

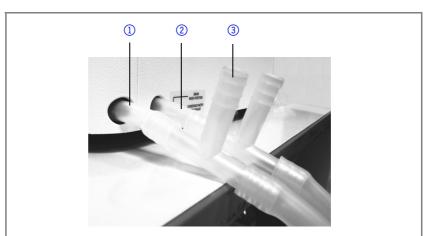


Fig. 54 Connecting the drainage tubing

### **PEEK Connections**

Disposable PEEK fittings

- One-piece disposable polyetheretherketone fittings (PEEK) for easier installation of flexible, thin capillaries (outer diameter 0.5 mm)
- Tightening torque of the PEEK screw: Tightened by hand (about 0.5 Nm)

# Connecting the Autosampler to Other Devices

# Controlling the Autosampler with Chromatography Software

You control the autosampler directly with software, e. g. KNAUER OpenLAB<sup>®</sup> and ClarityChrom<sup>®</sup>.

Using the LAN connection at the rear side of the device, connect the autosampler to the network.

# Checking and Configuring the Parameters of the Autosampler

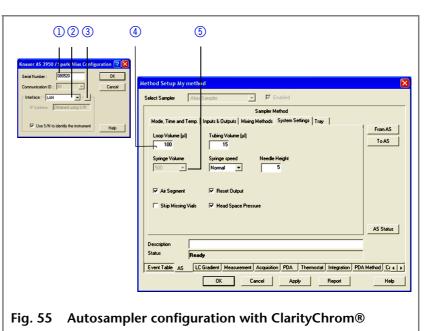
You can configure the autosampler parameters using the chromatography software, e.g. ClarityChrom®<sup>:</sup>

- 1. Select the autosampler in LAN.
- 2. Set the syringe volume to either 250  $\mu$ l (default) or 500  $\mu$ l.
- 3. Enter the serial number of the autosampler.
- 4. Choose the cooling option when your autosampler offers temperature control.

## **Configuration Window of ClarityChrom®**

#### Legend

- Serial number
- ② Device detection in local network
- 3 Manual search for device in network
- 4 Volume of sample loop
- 5 Volume of syringe



## **Autosampler Device Software**

A software CD with *Autosampler 3950 Service Manager* is included with the autosampler. Using this software, you can check and control the device. These settings can also be made with the chromatography software, so that it is not absolutely necessary to install the *Service Manager*.

# Flushing the System

The system should be flushed before the column is connected. The flushing of the system can be controlled using the chromatography software or the *Autosampler 3950 Service Manager*.

Note

KNAUER recommends using a mixture of water and isopropanol (80%/20%) or the mobile phase as the flushing solution.

The following steps are explained for when the Service Manager is used.

# System Flushing with *Autosampler 3950 Service Manager*

- 1. Install Autosampler 3950 Service Manager.
- 2. Fill the flushing solution into a solvent bottle and degas it using helium or an ultrasonic bath.
- 3. Slide the tube for the flushing solution into the solvent bottle.
- 4. Select the *Alias*  $\triangleright \Rightarrow Direct Control menu$ .
- 5. In the *Syringe* field, click *End*. One syringe volume is aspirated into the syringe through the flushing solution tube.
- 6. In the *Syringe* field, click *Home*. The syringe content is emptied into the drainage tube.
- 7. Repeat step 5 and 6 until the syringe and the flushing solution tube have been filled completely.
- 8. In the *Initial wash* field, click *Start*. All tubes that are connected to the syringe are flushed.
- 9. In the *Initial wash* field, click *Stop*.
- 10. Click *Close* to exit the *Direct Control* window.

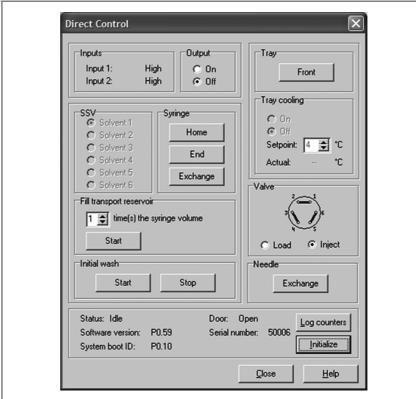


Fig. 56 System flushing with the Service Manager software

## I/O Connection

By default, the autosampler has an I/O connection that supports TTL inputs (low-active) and a closed-contact output. Devices without LAN connection that require a trigger signal for the injection can be connected by means of the I/O connection.

The TTL inputs allow you to control the autosampler using other devices and are defined using the instrument methods of the chromatography software.

**Note** Only connect the autosampler to devices that fulfill the required safety standards!

## **Defining the TTL Inputs**

- Next Injection Input: The injection sequence is started. After ending the injection sequence, the autosampler waits for the next start signal.
- Freeze Input: The analysis time is paused. The autosampler runs the configured program up to the filling of the sample loop. The injection is not performed until the input is deactivated.
- Stop Input: Immediately halts the analysis.

## **Defining the Closed-Contact Output**

- *Inject Marker*: The closed-contact output is activated when the injection valve switches from *LOAD* to *INJECT*.
- *Alarm*: The closed-contact output is activated when there is an autosampler fault.
- Auxiliary: -

## Configuration of I/O Connection (9 pins)

Explanation	Cable color
1. Output, start injection	Red in three-conductor cable
2. Output, start injection	Black in three-conductor cable
3. Input 1, programmable input for stopping injec- tions (low-active)	Red in four-conductor cable
4. Input 2, programma- ble input for stop- ping injections (low- active)	Black in four-conductor cable
5. Not occupied.	-
6. Output	Brown in three-conductor cable.
7. Not occupied.	-
8. Ground, for inputs 1 and 2	Orange in four-conductor cable
9. Ground, for inputs 1 and 2	Brown in four-conductor cable

## **Device Test**

The reproducibility of the sample volume is a critical factor for maintaining high-quality analysis results.

- Test the autosampler features with the chromatography software on a regular basis.
- If the device test determines that the autosampler does not fulfill the requirements, mark the device as defective and do not continue using it.
- Do not re-use the autosampler until it has been repaired and/ or serviced.

#### **Test Intervals**

Run the device test at the following time intervals:

- Average use of 1 to 5 days/week: Device test every 6 months
- Average use of more than 5 days/week or 24 hours/day: Device test every 3 months
- Operation with buffer solutions or other salt solutions: Device test every 3 months

# **Devices and Components for the Test**

- Autosampler 3950, standard version with 10 μl sample loop and 250 μl syringe
- HPLC pump, 1 ml/min flow rate
- UV detector (with a data rate of 50 Hz if possible, otherwise 10 Hz, flow cell: 10 mm path length)
- Chromatography software
- Solvent: 90 % water, 10 % methanol (HPLC quality)
- Test solution (sample):
  - a: 50 ppm uracil dissolved in water (HPLC quality)
  - b: 250 ppm uracil dissolved in water (HPLC quality)
- Flushing solution:
  - 80 % water, 20 % isopropanol (HPLC quality)
  - Alternative: 80 % water, 20 % methanol (HPLC quality)
- Restriction capillary:
  - Inner diameter 0.25 mm
  - Length 200 cm

**Note** Degas the solvent to prevent malfunctions caused by the presence of air bubbles.

# 1. Reproducibility of Sample Volume

The variation coefficient must not exceed 0.5 %.

- Configure the HPLC pump, UV detector and autosampler using the chromatography software
- Inject 10 μl of test solution a (50 ppm uracil, dissolved in water)

## **Standard Setting of Autosampler**

Loop volume: 10 µl
Tubing volume: 15 µl
Syringe volume: 250 µl

## **Method Parameters of Pump**

Flow: 1 ml/minTime: 1 min

### **Method Parameters of Autosampler**

Injection method: Partial loopfill

Syringe speed: normal

Flush volume: 30 μl, (40 μl for microtiter plates)

Needle wash: active 2 times

Air segment: yes

Headspace pressure: yes

Injections/vial: 9 (7 for microtiter plates)

Inj. volume: 2 μl

Vial position: 1A1. Start the single run with

#### **Method Parameters of UV Detector**

Wavelength: 254 nm

Sampling rate: 50 Hz if possible, else 10 Hz

■ Time: 0.5 min

## **Configuring Repeat Runs of Autosampler**

Injections/vial: 9x (7x for microtiter plates)

Inj. volume: 1 μl

## **Starting Repeat Runs**

- 1. Put a vial with at least 500  $\mu$ l test solution on position 1A1 of the sample plate.
- 2. Start the repeat runs.

## **Analyzing the Individual Chromatograms**

- 1. Calculate the average of the measuring values of the *Peak* areas.
- 2. Calculate the variation coefficient  $VK_1$ .
- 3. Enter the results into the Test Report form.

### Formula for Determining the Arithmetic Mean

$$\frac{1}{Peakareas} = \frac{\sum_{i=1}^{n} Peakareas_{i}}{n}$$

• Formula for determining the standard deviation (i = 1-9):

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum (Peakarea_i - \overline{Peakareas})^2}{n-1}}$$

• Formula for determining the variation coefficient:

$$VK_{1} = \frac{\sigma_{n-1}}{\overline{peakarea}} \times 100\%$$

## 2. Sample Carryover

The percentage of sample carryover must not exceed 0.3 %.

- Alternately inject 10  $\mu$ l of test solution b (250 ppm uracil, dissolved in water) followed by solvent.
- Position of sample vial: 1A1
- Position of solvent: 1A2
- Injection volume: 1 μl

## Creating a Sequence with 6 Lines

Test solution: Position 1A1

Solvent: Position 1A2

Injection volume: 1 μl

Repeats: 1

Note

For microtiter plates, select 6 consecutive positions that are alternately to be filled with test solution and solvent.

## **Analyzing the Individual Chromatograms**

- 1. Calculate the average of the measuring values of the *Peak* areas.
- 2. Put the average of the solvent injection in relation to the average of the test solution injection.
- 3. Enter the results into the *Test Report* form.

### Formula for Calculating Sample Carryover

$$PV = \frac{\sum_{i} \frac{Peakarea_{iFlie\beta mittel}}{3}}{\sum_{i} \frac{Peakarea_{i}}{3}} \times 100 \%$$

# 3. Linearity

To determine the linearity, the correlation coefficient of the regression lines is determined from the measured values for the *peak* areas and injection volume.

The correlation coefficient must not exceed 0.998 %.

- Inject 10, 20, 30, 40 and 50 μl of test solution b (250 ppm uracil, dissolved in water) respectively.
- Position of sample vial: 1A1
- Injection volume: 10 μl, 20 μl, 30 μl, 40 μl, 50 μl
- Repetition: 3

Note

Fill consecutive positions on the microtiter plates with test solution.

## **Analyzing the Individual Chromatograms**

- 1. Calculate the correlation coefficient *r* of the regression lines from the measured values for the *Peak* areas and the injection volume
- 2. Enter the results into the *Test Report* form.

## Formula for Determining the Correlation

$$r = \frac{\sum x_i y_i - n\overline{x}\overline{y}}{\sqrt{\left(\sum x_i^2 - n\overline{x}^2\right)\left(\sum y_i^2 - n\overline{y}^2\right)}}$$

 $y_i = Y$  value of measured value *i* (injection volume)

 $x_i = X$  value of measured value i (peak area)

 $\overline{y}$  y = arithmetic mean of Y across all n measured values

 $\bar{x}$  x = arithmetic mean of X across all n measured values

n = number of measured value pairs

## 4. Mixture Test

To create a mixing method, follow the instructions in the manual of the chromatography software.

- The test solution variation coefficient VK2 must not exceed 0.5 %.
- The dilution variation coefficient VK2 must not exceed ≤ 0.5 %.
- The dilution factor F10 has to be within the range of 9.85 < x < 10.25.
- Test solution: 10 μl (50 ppm uracil, dissolved in water)
- For injecting the dilution, go to *Mix methods* and create a mixing method in which 40 μl of the test solution is mixed with 360 μl solvent.
  - Dilution: 10 μl, 5 ppm uracil, dissolved in deionized water
- Inject 10 μl test solution and und 10 μl dilution three times each.

## Creating a Sequence with 2 Lines

Injection volume: 1 μl

Repeats: 3

### **Positioning Vials for Dilution**

- To position the vials on the sample plates, select the Columns option in the chromatography software.
- Put a vial with test solution (*Sample*) at position *2A1* of the vial plate.
- Put an empty vial (Destination) at position 2A5 of the vial plate.
- Put a vial with solvent (*Reagent A*) at position *1A1* of the vial plate.

**Note** Observe the plate assignments for the vials (*Sample, Reagent A, Reagent B, Destination*).

### **Analyzing the Individual Chromatograms**

- 1. Calculate the mean of the measuring values of the *Peak* areas for the test solution and the dilution.
- 2. Calculate the variation coefficient VK<sub>2</sub>.
- 3. Calculate the variation coefficient VK<sub>3</sub>.
- 4. Calculate the dilution factor *F10* from the ratio of the mean of the *Peak* areas of the test solution and the dilution.
- 5. Enter the results into the Test Report form.

## **Archiving**

- Enter all test results into the Test Report form.
- Enter the serial number, date of the test, date of the next test and name of the tester.
- File the *Test Report* form in the device logbook.

# **Test Report**

Module	Autosampler	
Autosampler 3950	Standard	Sample cooling
Serial number		

No ·	Test	Setting	Specification	Result
1	Reproducibility	<ul> <li>Inject 10 µl test solution nine times.</li> <li>Microtiter plate: Inject 10 µl test solution seven times.</li> </ul>	<i>VK</i> <sub>1</sub> ≤ 0.5 %	
2	Carryover	Alternately inject 10 µl test solution and 10 µl solvent three times.	<i>PV</i> ≤ 0,3 %	
3	Linearity	Inject 10, 20, 30, 40 and 50 µl test solution three times each.	r≥0,998	
4	Mixture test	Inject 10 µl test solution and 10 µl of the dilution created by the autosampler, three times each.	VK <sub>2</sub> ≤ 0.5 % VK <sub>3</sub> ≤ 0.5 % F10: 9,85 < x < 10,25	

Date:

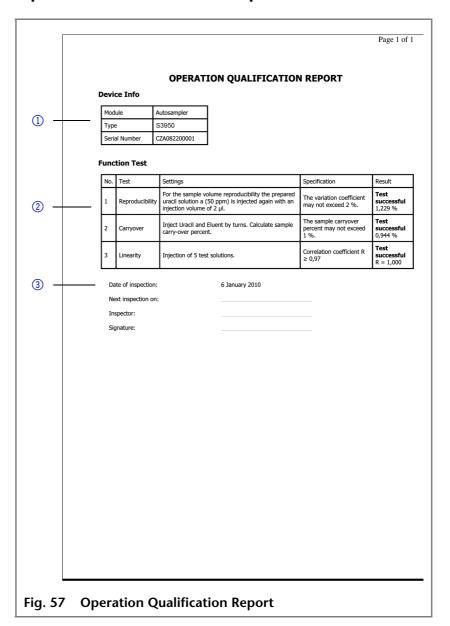
Date of the next device test:

Tester:

## **Operation Qualification Report**

#### Legend

- Detailed information of the autosampler
- 2 Detailed function test
- 3 Date and fields for signature and other information



## **Maintenance and Care**

### Contacting the Technical Support

You have various options to contact the Technical Support:

Phone +49 30 809727-111

Fax +49 30 8015010

E-mail support@knauer.net

You can make your requests in English and German.

### **Maintenance Contract**

The following maintenance work on the device may only be performed by KNAUER or a company authorized by KNAUER and is covered by a separate maintenance contract:

- Opening the device
- Removing the hood or the side panels.

# Which Type of Maintenance Tasks May Users Perform on the Device?

Users may perform the following maintenance tasks themselves:

- Exchanging the fuses
- Exchanging the air and sample needle
- Exchanging the injection valve
- Exchanging the sample loop
- Exchanging the rotor seals
- Exchanging the capillary and tubing



#### CAUTION!

Performing maintenance tasks on a switched on device can cause damage to the device. Switch off the device and pull the power plug.

## **Leaks in the Capillary Screw Fittings**

Note

If leaks occur on the capillary screw fittings after maintenance and proper assembly, do not tighten them further, but instead replace them with new connection capillaries.

## **Exchanging the Fuses**

- 1. Switch off the autosampler and remove the power plug to completely disconnect the device from the power supply.
- 2. Remove the fuses from the fuse box at the rear of the device.
- 3. Insert new fuses (2 x 2.5 A).

4. Plug in the power plug.

# **Changing the Valve and Rotor Seal**

- Regularly clean the rotor seal of the injection valve.
- Regularly replace the rotor seal (approx. every three years).
- Remove the front panel of the autosampler.
- Remove the capillary connections, except the sample loop, from the valve.
- During removal, consecutively loosen all screws by half a turn respectively, until they can be removed.

**Note** Do not remove the screw in the cover plate hole diagonal to the valve!

## Removing the Injection Valve and Rotor Seal

#### **Procedure**

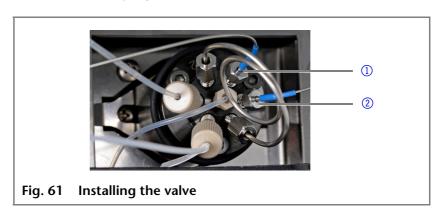
## **Process Figure** 1. With a screwdriver, remove screw ① on both sides of the injection valve housing. 2. Remove the injection valve. 3. With a hexagon wrench key, remove the screws ② from Fig. 58 Disassembling the valve the valve stator block 3. 4. Carefully remove the stator. 5. Remove the rotor seal 4) from the rotor 5. 6. Clean or exchange the rotor seal. Fig. 59 Removing the rotor seal Fig. 60 Rotor and rotor seal

## **Installing the Injection Valve**

- During installation, hold the injection valve in such a way that the bore hole for connecting the steel capillary to the pump (port 1) is facing upward.
- Alternately tighten all screws by half a turn, until all screws have been fully tightened.

#### Legend

- 1 Labeling, port 1
- Connection from capillary to pump



#### **Procedure**

- 1. Insert the rotor seal.
- 2. Place the valve stator block on the valve rotor and use a hexagon wrench key to tighten the screws.
- 3. Insert the injection valve and use a screwdriver to tighten the screw on both sides of the valve housing.
- 4. Connect the capillary again.

# **System Flushing**

#### Procedure

- 1. Connect the autosampler to the power supply.
- 2. Establish a connection to the PC.
- 3. Start Autosampler 3950 Service Manager.
- 4. Select the Alias⇒Direct Control menu.
- 5. Click *Initialize* to check whether the valve is correctly positioned at the Inject position.
- 6. In the *Initial Wash* field, click *Start* to flush the system.
- 7. In the *Initial Wash* field, click *Stop* to stop flushing the system.

# **Exchanging the Sample Loop**

By standard, the autosampler is equipped with a 10  $\mu$ l sample loop.

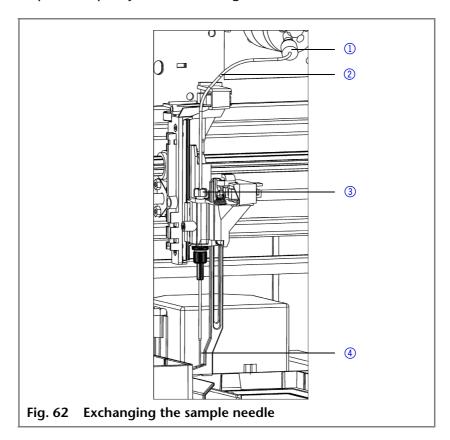
- When assembling a sample loop with a different injection volume, make sure to use the correct combination of syringe and capillaries and configure the controller software appropriately.
- Always connect the sample loop to ports 2 and 5 of the injection valve.
- Calculate the maximum injection volume according to the following formula:
  - Full loop injection:
     Maximum injection volume = 3 x loop volume for loops with 100 μl, 2 x loop volume for loops with 100–500 μl, 1.5 x loop volume for loops with over 500 μl.
  - Partial loop injection:
     Maximum injection volume = 50 % loop volume
  - Microliter pick-up injection:
     Maximum injection volume = 50 % loop volume 3 x needle volume

## **Exchanging the Sample Needle**

- When using sample plates with 12 or 48 sample vials, make sure that the needle height setting is >2 mm to prevent the needle from contacting the bottom of the sample vial.
- Tighten the screw fitting until it is finger-tight to prevent the plastic capillary from becoming blocked.

#### Legend

- ① Fitting
- 2 Plastic capillary
- 3 Union nut
- 4 Sample needle



#### Procedure

- 1. Start Autosampler 3950 Service Manager.
- 2. Select the Alias⇒Direct Control menu.
- 3. In the *Needle* field, click *Exchange*. The needle moves to the replacement position.
- 4. Loosen the union nut ③.
- 5. Loosen the screw fitting ① of the plastic capillary ② on the injection valve.
- 6. Remove the sample needle 4 with the plastic capillary.
- 7. Install a new sample needle unit. Make sure that the air seal fully surrounds the sample needle.
- 8. Fasten the sample needle with the union nut.
- 9. Fasten the plastic capillary using the screw fitting on the injection valve.
- 10. In the *Direct Control* window, click *Initialize*. The needle moves to the initial position.
- 11. In the *Initial Wash* field, click *Start* to flush the system.
- 12.In the *Initial Wash* field, click *Stop* to stop flushing the system.

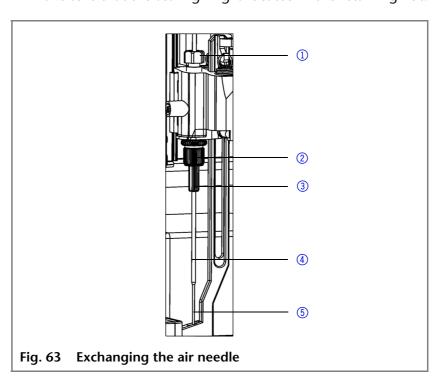
- 13. Click Close to exit the Direct Control window.
- 14. Select the *Alias⇒Adjustments* menu.
- 15. On the *Needle-Tray* tab, update the settings for the sample plates.

## **Exchanging the Air Needle**

- When exchanging the air needle, make sure that the thread of the new height adjustment screw is flush with the lower edge of the retaining nut.
- Make sure that the sealing ring is located in the retaining nut.

#### Legend

- ① Union nut
- 2 Retaining nut
- 3 Height adjustment screw
- (4) Air needle
- Sample needle



#### Procedure

- 1. Start Autosampler 3950 Service Manager.
- 2. Select the *Alias⇒Direct Control* menu.
- 3. In the *Needle* field, click *Exchange*. The needle moves to the replacement position.
- 4. Loosen the union nut ①.
- 5. Loosen the screw fitting of the plastic capillary on the injection valve.
- 6. Remove the sample needle 5 with the plastic capillary.
- 7. Loosen the retaining nut ② and pull it downwards together with the air needle ④.
- 8. Unscrew the retaining nut from the height adjustment screw 3.
- 9. Screw a new air needle with a new height adjustment screw into the retaining nut.
- 10. Screw in the retaining nut.
- 11.Insert the sample needle and fasten with the union nut.

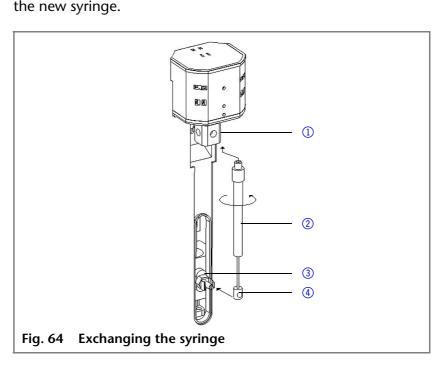
- 12. Fasten the plastic capillary using the screw fitting on the injection valve.
- 13. In the *Direct Control* window, click *Initialize*. The needle moves to the initial position.
- 14. In the *Initial Wash* field, click *Start* to flush the system.
- 15.In the *Initial Wash* field, click *Stop* to stop flushing the system.
- 16. Click Close to exit the Direct Control window.
- 17. Select the *Alias⇒Adjustments* menu.
- 18.On the *Needle-Tray* tab, update the settings for the sample plates.

## **Exchanging the Syringe**

By standard, the autosampler is equipped with a 250  $\mu$ l syringe. Use isopropanol as flushing solution to remove air bubbles from

#### Legend

- Syringe valve
- ② Syringe
- 3 Syringe drive
- 4 Syringe plunger



#### **Exchanging the Syringe**

- 1. Start Autosampler 3950 Service Manager.
- 2. Select the *Alias⇒Direct Control* menu.
- 3. In the *Syringe* field, click *Exchange*. The syringe plunger is lowered.
- 4. Unscrew the syringe ② by rotating it counterclockwise; leave the adapter in the syringe valve ①.
- 5. Remove the syringe plunger 4 from the syringe drive 3.
- 6. Fill new syringe with flushing solution.
- 7. Insert the syringe plunger into the syringe drive.
- 8. Tighten the syringe in the syringe valve by rotating it clockwise.

- 9. In the *Syringe* field, click *Home*. The syringe content is emptied into the drainage tube.
- 10. If there is still air in the syringe, click *End* in the *Syringe* field. One syringe volume is aspirated into the syringe through the flushing solution tube.
- 11. In the *Syringe* field, click *Home*. The syringe content is emptied into the drainage tube.
- 12. Slightly tap the body of the syringe if it still contains air. If necessary, repeat step 10 and 11. Repeat the step.
- 13. In the *Initial Wash* field, click *Start* to flush the system.
- 14. In the *Initial Wash* field, click *Stop* to stop flushing the system
- 15. Click Close to exit the Direct Control window.

### **Exchanging the Syringe Plunger or Plunger Tip**

- 1. Start Autosampler 3950 Service Manager.
- 2. Select the *Alias⇒Direct Control* menu.
- 3. In the *Syringe* field, click *Exchange*. The syringe plunger is lowered.
- 4. Remove the syringe (see above).
- 5. Pull the syringe plunger out of the glass cylinder of the syringe.
- 6. Use a pair of tweezers to remove the plunger tip.
- 7. Wet the new plunger tip with isopropanol.
- 8. Mount the new plunger tip onto the syringe plunger.
- 9. Push the syringe plunger into the glass cylinder of the syringe.
- 10.Install the syringe (see above.)
- 11.In the *Syringe* field, click *Home*. The syringe content is emptied into the drainage tube.

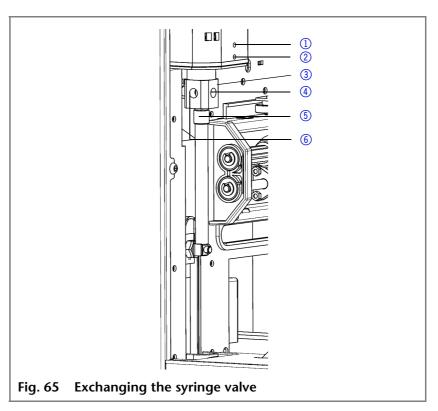
### **Exchanging the Syringe Valve**

The syringe valve has four connections, one of them remains unused.

- Hand-tighten all fittings on the connections to the syringe valve.
- To exchange the valve, set it to the Waste position, because the hexagon socket screws are only accessible if the valve is in this position.

#### Legend

- Upper hexagon socket screw
- ② Lower hexagon socket screw
- 3 Connection flushing solution tube (hidden)
- 4 Connection buffer tube
- 6 Connection syringe
- **6** Unused connection



#### **Procedure**

- 1. Start Autosampler 3950 Service Manager.
- 2. Select the *Alias⇒Direct Control* menu.
- 3. In the *Syringe* field, click *Exchange*. The syringe plunger is
- 4. Loosen the lower hexagon socket screw by 2 turns.
- 5. Loosen the upper hexagon socket screw by 2 turns.
- 6. Pull out the upper part of the syringe.
- 7. Remove the syringe.
- 8. Exchange the syringe valve.
- 9. Insert a new syringe.
- 10. Tighten the hexagon socket screws.

## **Cleaning and Caring for the Device**



#### **CAUTION!**

Intruding liquids can cause damage to the device! Place solvent bottles next to the device or in a solvent tray.

Moisten the cleaning cloth only slightly.

All smooth surfaces of the device can be cleaned with a mild, commercially available cleaning solution, or with isopropanol.

- Clean collecting container and vial plates with a soft cloth.
- To remove deposits, flush the drainage tube regularly using solvent.

# **Disposal**

Hand in old devices or disassembled old components at a certified waste facility, where they will be disposed of properly.

**AVV** marking in Ger-

many

According to the German "Abfallverzeichnisverordnung" (AVV) (January, 2001), old devices manufactured by KNAUER are marked as waste electrical and electronic equipment: 160214

**WEEE registration** 

KNAUER as a company is registered by the WEEE number DE 34642789 in the German "Elektroaltgeräteregister" (EAR). The number belongs to category 8.

All distributors and importers are responsible for the disposal of old devices, as defined by the WEEE directive. End-users can send their old devices manufactured by KNAUER back to the distributor, the importer, or the company free of charge, but would be charged for the disposal.

Solvents and other operating materials

All solvents and other operating materials must be collected separately and disposed of properly.

All wetted components of a device, e. g. flow cells of detectors or pump heads and pressure sensors for pumps, have to be flushed with isopropanol first and water afterwards before being maintained, disassembled or disposed.

# **Troubleshooting**

### **Device Errors**

One possible cause of device errors is a malfunctioning valve.

### **Checking the Valve**

Remove the valve and check all parts for wear and contamination. After the problem has been eliminated and the valve reinstalled, perform the following steps:

#### **Procedure**

- 1. Select the *Alias⇒Direct Control* menu.
- 2. In the *Direct Control* window, click *Initialize*. The needle moves to the initial position.
- 3. In the *Initial Wash* field, click *Start* to flush the system.
- 4. In the *Initial Wash* field, click *Stop* to stop flushing the system.
- 5. Click *Close* to exit the *Direct Control* window.

### LAN

Software faults can occur due to flawed communications between the devices or incorrect installation of the software.

#### **Procedure**

- 1. Check the cable connections.
- 2. Start Autosampler 3950 Service Manager.
- 3. Select the *Alias⇒Direct Control* menu.
- 4. In the Direct Control window, click Initialize.

In case no LAN connection between the computer and the devices can be established, go through the following steps. Check after each step if the problem is solved. If the problem cannot be located, call the Technical Support.

Check the status of the LAN connection in the Windows task bar:	
- 🔁 Connected	
<ul> <li>Connection not established</li> <li>If no connection was established, test the following:</li> <li>Is the router switched on?</li> <li>Is the patch cable connected correctly to the router and the computer?</li> </ul>	
<ul><li>2. Check the router settings:</li><li>Is the router set to DCHP server?</li><li>Is the IP address range sufficient for all the connected devices?</li></ul>	

3. Check all connections:	
Are the patch cables connected to the LAN ports and not the WAN port?	
• Are all cable connections between devices and router correct?	
Are the cables plugged in tightly?	
4. If the router is integrated into a company network, pull out the patch cable from the WAN port.	
Can the devices communicate with the computer, even though the router is disconnected from the com- pany network?	
5. In case you own a Control Unit, check the settings in the menu <i>Setup</i> > <i>Network</i> .	
Is LAN-DHCP set for controlling?	
Did the device receive an IP address?	
6. Turn off all devices, router, and computer. Firstly, turn on the router and secondly turn on the devices and the computer.	
Has this been successful?	
7. Replace the patch cable to the device that no connection could be established with.	
Has this been successful?	
8. Ensure that the IP port of the device corresponds to the IP port set in the chromatography software.	

## **Analytical Errors**

#### Possible causes:

- Wear due to errors in the injection and method settings.
- Unsuitable combination of sample loop, buffer tube and syringe.
- External effects such as temperature, and light-sensitive samples being exposed to light.

#### Solutions:

- Check whether the application has run previously without errors and that no changes have been made to the analytical system.
- Determine whether the fault is caused by the autosampler or other devices in the system.

If the required degree of reproducibility is not achieved, check the following possible sources of error and instigate steps to eliminate them:

Cause of fault	Elimination
Air in liquid path	Initialize the Smartline Autosampler 3950.
Leaking syringe	If the syringe is leaking at the top, check whether it has been installed correctly.
	If the syringe is leaking at the bot- tom, exchange the syringe plunger.
Leaking syringe valve	Check valve and exchange if required.
Rotor seal worn	Exchange the rotor seal and check the stator block of the valve.
Dead volume in cap- illary connections	Install new fittings onto capillary connections.

If an empty sample run returns an excessively large peak, check the following possible causes of error and instigate steps to eliminate them:

Cause of fault	Elimination
Solubility problems	Either modify sample or accept carry-over.
Interaction between the empty sample and the hardware	<ul> <li>Check hardware:         <ul> <li>Flush needle (inside and outside) or install a different needle type (steel, PEEK or with glass coating).</li> <li>Valve: Exchange rotor seal (other material).</li> <li>Capillaries and tubing: Use other connections between the autosampler and the columns (steel, PEEK) or other flushing solutions.</li> </ul> </li> </ul>
Empty sample contaminated	Use new empty sample.
Cause unknown.	Attempt to solve problem by using different solvents.

If no injection is performed:

Cause of fault	Elimination
Liquid path blocked	Disconnect the plastic capillary of the needle from the injection valve.
	2. Start system flushing.
	3. If solvent escapes at the injection valve connection to the needle, check the needle.
	4. If no solvent escapes at the injection valve connection to the needle, disconnect the buffer tube from the injection valve.
	5. Start system flushing.
	6. If solvent flows out at the open end of the buffer tube, check the rotor seal.
	7. If no solvent flows out of the open end of the buffer tube, disconnect the buffer tube from the syringe valve.
	8. Start system flushing.
	9. If solvent flows out of syringe valve, check the buffer tube.
	10.If no solvent flows out of the syringe valve, check whether the connections of the liquid path have been tightened too much.
Leaking valve	Unscrew the plastic capillary leading to the needle from the injection valve.
	2. Disconnect the plastic capillary leading to the syringe from the injection valve.
	3. Connect the HPLC pump to the injection valve.
	4. Close the connection to the column at the injection valve.
	5. Start the pump at a low flow rate.
	6. Check the connections to the syringe and to the needle at the injection valve to ensure that they are tight.
	7. If liquid escapes, check the rotor seal.
	8. If no liquid escapes, check the HPLC with a manual valve.

# **System Messages from OpenLAB®**

The various system messages of the KNAUER OpenLAB® chromatography software are explained below. The system messages are sorted alphabetically.

System message	Explanation
Autosampler is in run mode.	<ul><li>Quit the control software and restart.</li><li>Restart the device.</li></ul>
Autosampler is not responding. Please check communication settings and ensure the device is online.	Restart the device. Check the network settings. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Cannot run autosampler.	Restart the device. Check the network settings. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Cannot set destination vial to %d.	Check parameters in control software and correct entry.
Cannot set first transport vial to %d.	Check parameters in control software and correct entry.
Cannot set last transport vial to %d.	Check parameters in control software and correct entry.
Cannot stop autosampler.	Check the network settings. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Communication port for autosampler was not initialized. Please check the configuration settings.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Configuration settings do not match with the device. Run cannot start.	Check configuration and settings.
Destination position not reached.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Deviation of more than +/- 2 mm towards home.	<ul><li>Look for visible obstructions in area of vial plate.</li><li>Check the belt tension of the vial plate.</li></ul>

System message	Explanation
Dispenser error.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Electronics error.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
EEPROM error in adjust- ments.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
EEPROM error in log counter.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
EEPROM error in settings.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
EEPROM write error.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error 369	Not enough transport liquid in store. Refill transport liquid.
Error 370	Not enough reagent in store. Refill reagent.
Error by setting Mix&Dilute vials.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error occurred during initialization, the Autosampler AS-1 cannot start.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error resetting output.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error running user defines program.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.

System message	Explanation
Error setting injection mode.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting needle height.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting injection mode.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting syringe speed.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the analysis time.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the auxilia- ries.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the flush time.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the flush volume.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the injection volume.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the loop volume.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the prep. mode.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.

System message	Explanation
Error setting the syringe volume.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting timed events.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the tray configuration.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the tray temperature.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting the vial number.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting tubing volume.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Error setting wash volume.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Flush volume error.	Check parameters in control software and correct entry.
Home sensor activated when not expected.	<ul> <li>Check parameters in control software and correct entry.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Home sensor not de-activated.	Check whether there are visible obstructions impairing the vial plate.
	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.

System message	Explanation
Home sensor not reached.	<ul> <li>Check whether there are visible obstructions impairing the vial plate.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Horizontal: home sensor activated when not expected.	Restart the device. Inform the Technical Support of the man- ufacturer in case the system message repeats itself.
Horizontal: home sensor not de-activated.	<ul> <li>Check whether there are visible obstructions impairing the needle unit.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Horizontal: home sensor not reached.	<ul> <li>Check whether there are visible obstructions impairing the needle unit.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Horizontal: needle position is unknown.	Initialize the needle unit using the control software.
Illegal sensor readout.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Incorrect first destination vial.	Check parameters in control software and correct entry.
Injection needle unit error.	<ul> <li>Check whether there are visible obstructions impairing the needle unit.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Injection valve or ISS unit error.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.

System message	Explanation
Injection volume %.2f is invalid. For specified injection method, volume should be within the range %.2f µl-%.2f µl, with %2f. µl increments.	Check parameters in control software and correct entry.
Injection volume error.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid %s vial position %02d. The vial position must be between 01 and %02d.\n.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid combination of the trays. The combination of different trays for the Mix&Dilute mode is not allowed.	<ul><li>Insert the correct vial plate.</li><li>Check parameters in control software and correct entry.</li></ul>
Invalid combination of the trays. The combination of plates 384 low and 96 high is not allowed.	<ul><li>Insert the correct vial plate.</li><li>Check parameters in control software and correct entry.</li></ul>
Invalid configuration. ISS option not installed on autosampler. Please switch off this option in configuration dialog.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid configuration. SSV option not installed on autosampler. Please switch off this option in configuration dialog.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid flush volume %d µl. The flush volume should be between 0 and %d µl.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid flush volume %2f µl. The flush volume should be between 0 and %2f µl.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid input. Only values with increments of %.2f allowed.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid integer number.	Check parameters in control software and correct entry.

System message	Explanation
Invalid instrument is detected.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid loop volume %d µl. The loop volume should be between 0 and %d µl.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid loop volume %2f µl. The loop volume should be between 0 and %2f µl.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid mix program: no Destination vial is specified in the configuration dia- log.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid mix program: no Reagent A vial is specified in the configuration dia- log.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid mix program: no Reagent B vial is specified in the configuration dia- log.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid mix times. The time should be between 1 and 9.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid needle height %d mm. The needle height should be between %d and %d mm.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid time-based method. Several AUX events have the same time.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid time-based method. Several SSV events have the same time.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid tray temperature %d °C. The temperature should be between 4 and 22 °C.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid tray configuration: two or more vial positions are the same.	Check parameters in control software and correct entry.

System message	Explanation
Invalid tubing volume %d µl. The tubing volume should be between 0 and %d µl.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid tubing volume %2f µl. The tubing vol- ume should be between %2f and %2f µl.	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid wait time. The time should be between 0 and 9 h 50 min 59 sec.Invalis wash volume %d µl. The wash volume should be between %d and %d µl	Check parameters in control software and correct entry.
Invalid volume %d µl. The volume should be between the 0 and the syringe volume (%d µl).	Check parameters in control software and correct entry.
ISS valve error.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Missing destination vial.	<ul><li>Check position of sample vial.</li><li>Check parameters in control software and correct entry.</li></ul>
Missing reagent vial.	<ul><li>Check position of sample vial.</li><li>Check parameters in control software and correct entry.</li></ul>
Missing transport vial.	<ul><li>Check position of sample vial.</li><li>Check parameters in control software and correct entry.</li></ul>
Needle movement error.	<ul><li>Check position of needle unit.</li><li>Restart the device.</li></ul>
Missing vial.	<ul><li>Check position of needle unit.</li><li>Restart the device.</li></ul>
Missing wash vial error.	<ul><li>Check position of needle unit.</li><li>Restart the device.</li></ul>
No destination vial is specified in the configuration.	Check parameters in control software and correct entry.
No reagent A vial is specified in the configuration.	Check parameters in control software and correct entry.

System message	Explanation
No reagent B vial is specified in the configuration.	Check parameters in control software and correct entry.
No transport vials are defined in the tray configuration. It is not possible to use the $\mu$ l pick-up injection mode.	Check parameters in control software and correct entry.
No user defined or mix program is running.	Check parameters in control software and correct entry.
Not enough reagent liq- uid.	Check volume of liquid and change as required.
Not enough transport liq- uid available due to miss- ing transport vials.	Check volume of liquid and change as required.
Please specify inject marker or AUX event to be able to trigger the run.	Check parameters in control software and correct entry.
Selecting transport position failed.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Serial number is not valid. Please check the configuration.	Check parameters in control software and correct entry.
Setting mix program error.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Setting service mode failed.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Syringe dispenser unit error.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Syringe home sensor not de-activated.	<ul> <li>Needle flushing with control software.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>

System message	Explanation
Syringe home sensor not reached.	<ul> <li>Needle flushing with control software.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Syringe position is unknown.	Initialize the syringe unit using the control software.
Syringe rotation error.	<ul> <li>Needle flushing with control software.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Syringe valve did not find destination position.	<ul> <li>Needle flushing with control software.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Temperature above 48 °C at cooling ON.	<ul> <li>Switch off the cooling and check whether ambient temperature sensor is properly functioning.</li> <li>Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
The 10 ml syringe cannot be used for standard injections.	Exchange the syringe.
The autosampler has detected another tray than that which is currently configured. Please select the correct tray in configuration dialog.	Check control software configuration and correct entry.
ISS-A option not installed on autosampler. Please switch off ISS-A option in configuration dialog.	Check control software configuration and correct entry.
ISS-B option not installed on autosampler. Please switch off ISS-B option in configuration dialog.	Check control software configuration and correct entry.

System message	Explanation
Oven option not installed on autosampler. Please switch off oven option in configuration dialog.	Check control software configuration and correct entry.
The autosampler is not ready. Please try later.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
The injection volume of %2f µl is invalid. For the specified injection method, volume should equal %2f µl.	Check parameters in control software and correct entry.
The sample needle is not in the home position while the tray is rotating.	Check parameters in control software and correct entry.
Trace from tray cooling cannot be acquired. Tray cooling is off.	Check parameters in control software and correct entry.
Tray advance is not available at this time.	Check parameters in control software and correct entry.
Tray error.	Check parameters in control software and correct entry.
Valve error.	Check parameters in control software and correct entry.
Vertical: home sensor not de-activated.	<ul> <li>Check whether there are visible obstructions impairing the needle unit.</li> </ul>
	<ul> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the man- ufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Vertical: home sensor not reached.	<ul> <li>Check whether there are visi- ble obstructions impairing the needle unit.</li> </ul>
	<ul> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the man- ufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Vertical: needle position is unknown.	Initialize the instrument in the control software.

System message	Explanation
Vertical: stripper did not detect plate (or wash/ waste). Missing vial.	<ul> <li>Check sample vial and plate.</li> <li>Restart the device. Inform the Technical Support of the man- ufacturer in case the system message repeats itself.</li> </ul>
Vertical: stripper stuck.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Vertical: The sample needle arm is at an invalid position.	Restart the device. Inform the Technical Support of the manufacturer in case the system message repeats itself.
Vial number error.	Check parameters in control software and correct entry.
Wear-out limit reached.	Restart the device. If the system message appears again, notify KNAUER Technical Support. The valve must be replaced.
Wrong loop volume. The largest loop volume for standard injections is 1000 µl.	Check parameters in control software and correct entry.
Wrong tubing volume. The largest tubing volume for standard injections is 200 µl.	Check parameters in control software and correct entry.

# **Technical Data**

#### **Ambient conditions**

Temperature range	10 – 40 °C; 50 – 104 °F
Humidity	20–80 % RH

## **Standard Version**

### **Autosampler 3950**

	I
Injection pressure	Up to 1000 bar
Sample capacity	Microtiter plates for max. 768 wells or sample plates for max. 96 vials
Injection volume	0.1-5000 μl
Sample loop	10 μΙ
Syringe	250 μΙ, 500 μΙ
Injection time	<60 s, incl. cleaning
Injection modes	PASA <sup>™</sup> loop injection principle:  Full loop injection  Partial loop injection <i>Microliter pick-up</i> injection
Reproducibility	<ul> <li>RSD (Relative Standard Deviation):</li> <li>Full loop injection &lt; 0.3 %</li> <li>Partial loop fill with injection volumes &gt; 10 μl:</li> <li>&lt; 0.5 %</li> <li>Microliter pickup injections with injection volumes &gt; 10 μl:</li> <li>&lt; 1.0 %</li> </ul>
Carryover	< 0.05 % with needle cleaning
Temperature control	4 – 40 °C <sup>1</sup>
Weight	<ul><li>19 kg</li><li>With temperature control: 21 kg</li></ul>
Dimensions (length x width x height)	<ul> <li>510 × 300 × 360 mm</li> <li>With cooling: 575 × 300 × 360 mm</li> </ul>
Supply voltage range	95-240 V
Supply frequency	50-60 Hz
Pollution degree	2
Installation category	II

<sup>1.</sup> Relevant to Autosampler 3950 with temperature control

# **Product Range**

## **Device and Accessories**

Name	Order number
Autosampler 3950, LAN, Standard	A50070
Autosampler 3950, LAN, cool/heat	A500701
User manual	V1511

# **Repeat Orders**

Name	Order number
Accessory kit for autosampler with vials, caps, septum and pliers for opening and closing	A0664
Vial plates for 1.5 ml vials 2 pieces	A50050
96 well plate, U sanitized, 0.35 ml	A1823
96 well plate, U sanitized, 1.2 ml	A1823V1
PTFE tubing, 3.2 mm (1/8") OD, 1.5 mm ID, 300 cm length	A0732
Wash bottle 250 ml	M2054
Syringe 500 µl	M2070
Air needle, white, 62 mm	A50058
Set of air needles	A50059
Air needle, yellow, 50 mm	M20401
Air needle, red, 56 mm	M20402
Air needle, blue, 68 mm	M20403
Air needle, green, 74 mm	M20404
Air needle, black, 80 mm	M20405
2 x 2.5 A fuse	M2067
Network cable	A5255
RS-232 cable for connection to a PC	A0895
User manual, German	V1511
User manual, English	V1511A

# Accessories 84 +3

Name	Order number
Vial plate for 84x1.5ml and 3x10ml vials	A500501
125 Vials 10 ml, 500 crimp caps and 500 septa, ø 22 mm	A1662

# **Legal Information**

### **Warranty Conditions**

The factory warranty for the device is valid for 12 months after the date of dispatch. All warranty claims shall expire in the event that any unauthorized changes are made to the device.

During the warranty period, any components with material or design-related defects will be replaced or repaired by the manufacturer free of charge.

This warranty excludes the following:

- Accidental or willful damage
- Damage or errors caused by third parties that are not contractually related to the manufacturer at the time the damage occurs
- Wear parts, fuses, glass parts, columns, light sources, cuvettes and other optical components
- Damage caused by negligence or improper operation of the device and damage caused by clogged capillary
- Packaging and transport damage

In the event of device malfunctions, directly contact the manufacturer.

Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH Hegauer Weg 38 14163 Berlin, Germany

Phone: +49 30 809727-111
Telefax: +49 30 8015010
e-mail: info@knauer.net
Internet: www.knauer.net

### **Transport Damage**

The packaging of our devices provides the best possible protection against transport damage. Check the devices for signs of transport damage. In case you notice any damage, contact the Technical Support and the forwarder company within three workdays.

# **HPLC Glossary**

In the following chapter you find abbreviations and terminology that is used in HPLC.

Term	Definition
analytical	The analysis and quantitative measuring of samples in HPLC (see preparative)
capillary	Thin metal or PEEK pipe that connects the components and devices inside of an HPLC system.
chromato- gram	The record of a detector signal, depending on the flow volume of the mobile phase or time.
column	Pipe with caps which are permeated by the solvent. The pipe contains the packing material.
detector	Device measuring the composition or the quantity of a substance.
GLP	Quality assurance system for laboratories (Good Laboratory Practice)
HPLC	High-pressure liquid chromatography (HPLC). High-pressure liquid chromatography
pump	Device which conveys solvents in controlled quantities into a system.
sample	A mixture of different components which are to be separated by chromatography. They are transported by the mobile phase and removed from the column.
sample loop	A loop that is separated from the chromat- graphic system through a valve and which receives the sample first. By switching the valve, the stream of solvent is lead through the loop and the sample is flushed onto the sepa- rating column.
solvent	Flowing agent that transports the substances to be separated or isolated through the column (solvent, mobile phase)
valve	The mechanism which the sample is injected into the solvent stream.

# **List of Figures**

Fig. 1:	Autosampler 3950, with optional temperature control and coolunit	. 7
Fig. 2:	System adapter for autosampler	18
Fig. 3:	System adapter installed	18
Fig. 4:	Front view of the device	19
Fig. 5:	Push the door into the interior	20
Fig. 6:	Removing the front panel	20
Fig. 7:	Removing the coolunit cover	20
Fig. 8:	Front view with sample compartment	21
Fig. 9:	Rear panel of the device	22
Fig. 10:	ILD™ injection principle	25
Fig. 11:	Full loop injection: Initial conditions	27
Fig. 12:	Full loop injection: The needle and sample lines are flushed	27
Fig. 13:	Full loop injection: Valve switches to LOAD position	28
Fig. 14:	Full loop injection: The sample loop is fully filled	28
Fig. 15:	Full loop injection: Valve switches to INJECT position	29
Fig. 16:	Air Segment for full loop injection	29
Fig. 17:	Air segment for partial loop full	30
Fig. 18:	Scheme of initial position for partial loop fill	30
Fig. 19:	Partial loop fill: Valve position "Inject"	31
Fig. 20:	Partial loop fill: Aspirating the sample	31
Fig. 21:	Partial loop fill: Valve position "Load"	31
Fig. 22:	Partial loop fill: Injecting into the column	32
Fig. 23:	Partial loop fill: Aspirating flushing solution	32
Fig. 24:	Partial loop fill: Flushing sample and solvent	32
Fig. 25:	Microliter pick-up injection: Initial conditions	33
Fig. 26:	Microliter pick-up injection: Sample line is filled with solvent	33
Fig. 27:	Microliter pick-up: Sample is aspirated	34
Fig. 28:	Microliter pick-up: The injection volume is aspirated	34
Fig. 29:	Microliter pick-up: The sample is transported through the sample loc <b>35</b>	p.
Fig. 30:	Microliter pick-up: The sample is transported to the column	35
Fig. 31:	Microliter pick-up injection with air segment (A), without air segment (B)	36
Fig. 32:	Microliter pick-up 84+3: Initial conditions	36
Fig. 33:	Microliter pick-up 84+3: Sample line is filled with flushing solution.	36
Fig. 34:	Microliter pick-up 84+3: Injection valve switches to LOAD position	37
Fig. 35:	Microliter pick-up 84+3: The sample is transported through the sample loop	37
Fig. 36:	Microliter pick-up 84+3: Injection valve switches to position <i>INJECT</i> .	37
Fig. 37:	Microliter pick-up injection 84+3 with air segment (A),	

	without air segment (B)	38
Fig. 38:	Height of 84+3 vial plate	39
Fig. 39:	Needle length and liquid level	39
Fig. 40:	Sequence	39
Fig. 41:	Reagent/Transport position on 84+3 vial plate	40
Fig. 42:	Standard air needle with 10 and 2 ml sample vial	42
Fig. 43:	Standard air needle with microtiter plates	42
Fig. 44:	Calculating the correct air needle	43
Fig. 45:	Selected air needles with sample vials	44
Fig. 46:	Selected air needles with microtiter plates	44
Fig. 47:	Sample positions in columns	
Fig. 48:	Sample positions in rows	48
Fig. 49:	Reagent/Transport position on 84+3 vial plate	49
Fig. 50:	Connection scheme for capillaries and tubing	50
Fig. 51:	Connections on the injection valve	
Fig. 52:	Syringe connections	51
Fig. 53:	Tube guide for flushing solution tube	
Fig. 54:	Connecting the drainage tubing	53
Fig. 55:	Autosampler configuration with ClarityChrom®	54
Fig. 56:	System flushing with the Service Manager software	
Fig. 57:	Operation Qualification Report	
Fig. 58:	Disassembling the valve	68
Fig. 59:	Removing the rotor seal	68
Fig. 60:	Rotor and rotor seal	68
Fig. 61:	Installing the valve	69
Fig. 62:	Exchanging the sample needle	
Fig. 63:	Exchanging the air needle	72
Fig. 64:	Exchanging the syringe	73
Fig. 65:	Exchanging the syringe valve	75

# Index

A	Device test 58
Accessories 15	archiving <b>63</b>
Accessories kit 15	linearity <b>61</b>
Additives 9	mixture test 62
Air needle <b>26</b> , <b>42</b>	reproducibility <b>59</b>
calculation example <b>45</b>	sample carryover <b>60</b>
choosing the correct air needle 43	test interval 58
standard air needle <b>42</b>	E
types 44	_
Air segment	Environmental protection 77
full loop injection 29	F
analytical 98	Features 7
Auto-injection system 19	Front view of the device 19, 21
Automatic configuration 23	Full loop injection 25, 26, 27
AVV marking 77	air segment <b>29</b>
c	G
Capillary 98	GLP 98
Capillary connector <b>50</b>	
Care <b>66</b> , <b>76</b>	H
Chromatogram 98	Handling 45
Cleaning <b>76</b>	sample vial <b>45</b>
Column 98	Hose connectors <b>50</b>
Connecting the autosampler to other dev	. HPLC 98
54	HPLC Glossary 98
Connecting the valve 51	I
Connection	ILD™ <b>25</b>
closed-contact output 57	Initial Startup 19
drainage tubing 53	Injection methods 25
I/O connection <b>56</b> , <b>57</b>	Injection principle
LAN 54	ILD™ <b>25</b>
syringe <b>51</b>	loop injection 25
TTL inputs 56	Injection principles 25
valve 51	Installation 15
Connection to computer 23	Installation location, see location 16
Coolunit 7	Installing a local area network 23
D	Intended Use 7
Decontamination 13	1
Degasser 10	_
Detector 98	LAN 23
Device Overview 7	connection problems 78
Device overview?	connectivity problems 23
	Leak 12
	Legal Information 97
	List of figures 99
	Location 16
	Loop fill
	partial <b>30</b>

Loop injection principle 25	Safety equipment 11
M	Salts 9
Maintenance 66	Sample 98
exchange air needle <b>72</b>	Sample compartment 21
exchange fuses <b>66</b>	Sample loop 98
exchange sample loop <b>70</b>	Sample needle <b>26</b>
exchange sample needle <b>71</b>	Sample vial <b>45</b>
exchange syringe <b>73</b>	Setup 16
exchange syringe plunger or plunger tip <b>74</b>	Signs and symbols 14
exchange syringe valve <b>75</b>	Software 54
exchange valve and rotor seal <b>67</b>	Autosampler 3950 Service Manager 55
maintenance contract <b>66</b>	ClarityChrom® 54
Mandatory signs 14	Solvent 98
Methods of injection 25	flammability 12
Microliter pick-up injection 26, 33	flushing solution 10
Mixing and diluting 46	line 12
mix <b>47</b>	self-ignition point 12
sample positions 47	toxicity 12
Mixing and thinning	tray 12 Solvents 9
Add <b>46</b>	Sources of error 78
Modifiers 9	
N	Space requirement of the device 17 Spare parts 15
	Symbols and Signs 14
Needle flushing 29	System flushing
0	Autosampler 3950 Service Manager 55
Opening the door 20	,
P	Т
	Technical Data 94
Packaging 16 Partial loop fill 30	Technical Support 16, 66
Partial loop injection <b>26</b>	Temperature control 7
PASA <sup>TM</sup>	Transport 16
microliter pick-up injection 33	Transport damage 16, 97
partial loop injection 30	Transportation protection 17
PC connection 23	Troubleshooting 78
PEEK 9, 53	analytical errors <b>79</b>
Power supply 12	OpenLAB® system messages 82
power cable 12	software errors <b>78</b>
power strip 12	U
Product range 95	Unpacking 16, 17
Professional group 11	Use
Pump 98	intended 7
·	User safety 11
R	V
Rear panel of the device 22	
Removing the coolunit cover 20	Valve 98
Removing the front panel 20	W
S	Warning signs 14
Safety 11	Warranty <b>97</b>
	,

# Inhaltsverzeichnis

Hinweis

Lesen Sie **unbedingt** zu Ihrer eigenen Sicherheit das Handbuch und beachten Sie **immer** die auf dem Gerät und im Handbuch angegebenen Warn- und Sicherheitshinweise!

Bestimmungsgemaße Verwendung	7
Geräteübersicht	7
Leistungsübersicht	7
Standard	7
Gerätevarianten	8
Eluenten	9
Spüllösungsmittel	10
Sicherheit für Anwender	. 11
Definition möglicher Personen- oder Sachschäden	13
Dekontamination	13
Symbole und Kennzeichen	14
Installation	. 15
Lieferumfang	15
Lieferumfang prüfen	15
Auspacken und Aufstellen	1 <i>6</i>
Verpackung und Transport	1 <i>6</i>
Kontakt zur Kundenbetreuung	
Anforderungen an den Einsatzort	16
Platzbedarf	
Auspacken	17
Systemadapter	18
Inbetriebnahme	
Geräte-Vorderseite	19
Geräte-Vorderseite mit Probenraum	<b>2</b> 1
Geräte-Rückseite	22
Lokales Netzwerk und Autokonfiguration	23
Gerät über ein lokales Netzwerk (LAN) an den Computer anschließen	23
LAN-Eigenschaften einstellen	23
Geräte zum LAN verkabeln	24
Router einstellen	<b>2</b> 4
LAN in das Firmennetzwerk integrieren	25
Mehrere Systeme in einem LAN separat steuern	25
Injektionsprinzipien	. 26
ILD™ von Spark Holland	
PASA™ Schleifen-Injektionsprinzip	26
Injektionsmethoden	26
Vollschleifeninjektion	28
Luftsegment bei Vollschleifeninjektion	30
Partielle Schleifenfüllung	31

Mikroliter Pick-up Injektion	37 38
84+3-Probentablett	40 41
Luftnadeln Standard Luftnadel Geeignete Luftnadel auswählen Berechnungsbeispiel Luftnadel Handhabung der Probenfläschchen	43 44 46
Mischen und Verdünnen  Beispiel: Hinzufügen  Beispiel: Mischen  Probenpositionen in der Misch-	47 48
routine  Bearbeitung in Spalten  Bearbeitung in Reihen  Parameter für die Mischmethode mit dem 84+3-Probentablett  Details zur Programmierung für die 84+3 Mischmethode	48 49 49
Kapillar- und Schlauchanschlüsse Injektionsventil anschließen Spritze anschließen Schlauchführung für Spüllösungsmittel Ableitungsschläuche anschließen PEEK-Anschlüsse	51 52 52 53
Autosampler mit anderen Geräten verbinden Steuerung des Autosamplers mit Chromatografie-Software Parameter des Autosamplers prüfen und einstellen Konfigurationsfenster ClarityChrom® Autosampler Geräte-Software Waschen des Systems Systemspülung mit Autosampler 3950 Service Manager I/O-Anschluss TTL-Eingänge definieren Kontaktschlussausgang definieren Belegung I/O-Anschluss (9-polig)	54 54 55 55 55 56 56 57
Gerätetest	58

1. Reproduzierbarkeit des Probenvolumens	. 59
Standardeinstellung des Autosamplers	. 59
Methoden-Parameter der Pumpe	. 59
Methoden-Parameter des Autosamplers	. 59
Methoden-Parameter des UV-Detektors	. 59
Wiederholungsläufe des Autosamplers konfigurieren	. 59
Wiederholungsläufe starten	. 59
Einzelchromatogramme auswerten	. 60
Formel zur Ermittlung des arithmetischen	
Mittelwerts	
2. Probenverschleppung	
Sequenz mit 6 Zeilen erstellen	
Einzelchromatogramme auswerten	
Formel zur Ermittlung der Probenverschleppung	
3. Linearität	
Einzelchromatogramme auswerten	
Formel zur Ermittlung des Korrelationskoeffizienten	
4. Mischtest	
Sequenz mit 2 Zeilen erstellen	
Fläschchen für Verdünnung positionieren	
Einzelchromatogramme auswerten	
Archivierung	
Test Report	
Wartung und Pflege	
Kontakt zur Kundenbetreuung	
Wartungsvertrag	
Was darf ein Anwender am Gerät warten?	
Leckagen an den Kapillarverschraubungen	
Sicherungen wechseln	
Wechsel des Injektionsventils und der Rotordichtung	
Injektionsventil und Rotordichtung ausbauen	
Injektionsventil einbauen	
Systemspülung	
Probenschleife wechseln	
Probennadel wechseln	
Luftnadel wechseln	
Spritze wechseln	
Spritzenkolben oder Kolbenspitze wechseln	
Spritzenventil wechseln	
Entsorgung	77
Fehlerbehebung	. 78

•				
	er			
•	en von OpenLAB®			
	n			
Gerät und Zube Nachbestellunge	96 hör			
Gewährleistungs	98         Sbedingungen			
HPLC-Glossar				
Abbildungsverze	ichnis 101			
Stichwortverzeic	hnis			
An alle, die es betrifft	Wenn Sie ein französischsprachiges Benutzerhandbuch zu diesem Produkt wünschen, senden Sie ihr Anliegen und die entsprechende Seriennummer per E-Mail oder Fax an KNAUER:			
	support@knauer.net			
	<b>+49</b> 30 8015010			
	Vielen Dank.			
To whom it may concern	In case you prefer a French language user manual for this product, submit your request including the corresponding serial number via email or fax to KNAUER:			
	support@knauer.net			
	+49 30 8015010			
	Thank you.			
A qui que ce soit	Si jamais vous préfériez un manuel en français pour ce poduit			

support@knauer.net+49 30 8015010Merci beaucoup.

contacter KNAUER par email ou par fax avec le no. de série:

# Bestimmungsgemäße Verwendung

#### **Hinweis**

Das Gerät ausschließlich in Bereichen des bestimmungsgemäßen Betriebs einsetzen. Andernfalls können die Schutz- und Sicherheitseinrichtungen des Geräts versagen.

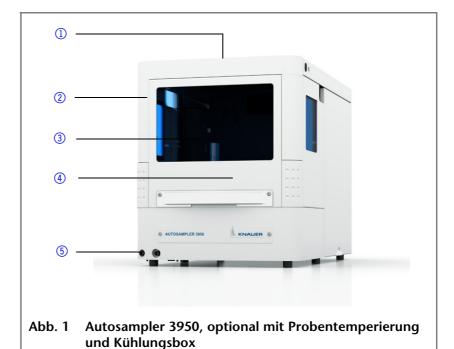
### Geräteübersicht

#### **Autosampler 3950**

Der Autosampler 3950 wurde für chromatografische Analysen im Hochleistungsbereich (HPLC) entwickelt. Das Injektionsventil garantiert die Präzision des Injektionsvolumens bis maximal 1000 bar. Eine Variante des Geräts hat eine optionale Probentemperierung. Das Gerät zeichnet sich durch schnelle Probeninjektion, schnelle Spülzyklen und hohe Probendurchsätze aus. Der Autosampler wird in der Regel als Basis-Element in ein HPLC-System eingefügt.

### Legende

- Öffnung für die Zuleitung der Kapillaren
- ② Abnehmbare Frontverkleidung
- 3 Nach innen verschiebbare Glastür
- 4 Probentemperierung mit Kühlungsbox im Innern des Autosamplers
- (5) Schlauchanschlüsse



#### Einsatzbereiche

Das Gerät kann in folgenden Bereichen eingesetzt werden:

- Biochemische Analytik
- Chemische Analytik
- Lebensmittelanalytik
- Pharmazeutische Analytik
- Umweltanalytik

### Leistungsübersicht

#### Standard

- Injektionsventil für Injektionsdrücke bis maximal 1000 bar
- Injektionsvolumen für HPLC zwischen 0,1 μl und maximal 5000 μl

- Intermediate Loop Decompression (ILD<sup>TM</sup>)-Technologie.<sup>1</sup>
- Probentemperierung 4-40 °C<sup>2</sup>
- Flexible Bestückung mit Mikrotiterplatten oder Standard-Probenplatten
- Maximale Probenkapazität 768 Wells oder 96 Standard-Autosampler-Vials
- Injektionszyklus < 60 s, 60 s inkl. Reinigung</li>
- Vollschleifen- oder partielle Schleifen-Injektion oder Mikroliter Pick-up-Injektion
- Schnell austauschbares Injektionsventil
- Probenprioritätsfunktion
- Hochauflösende Spritzensteuerung

### Gerätevarianten

Es stehen zwei Varianten des Geräts zur Verfügung:

- Autosampler ohne Probentemperierung
- Autosampler mit Probentemperierung

<sup>1)</sup> ILD<sup>TM</sup> ist ein Marke von Spark Holland

<sup>2)</sup> Gültig für den Autosampler 3950 mit Probentemperierung

### Eluenten

Schon die Zugabe kleiner Mengen anderer Substanzen wie Additive, Modifier oder Salze können die Beständigkeit der Materialien beeinflussen.

In Zweifelsfällen kontaktieren Sie die technische Kundenbetreuung.

#### **Geeignete Eluenten**

- Acetatpufferlösungen
- Aceton bei 4 °C–25 °C (39,2 °C–77,0 °F)<sup>1</sup>
- Acetonitril<sup>2</sup>
- Benzol
- Chloroform
- Essigsäureethylester
- Ethanol
- Formiatpufferlösungen
- Isopropanol
- Kohlendioxid (flüssiges 99,999 % CO<sub>2</sub>)
- Methanol
- Phosphatpufferlösungen (0,5 M)
- Toluol
- verdünnte ammoniakalische Lösung
- verdünnte Essigsäure (z. B. 0,1–1 %) bei 25 °C
- verdünnte Natronlauge (1 M)
- Wasser
- 1) gültig im angegebenen Temperaturbereich
- 2) nicht in Kombination mit PEEK-Kleinteilen oder PEEK-Kapillaren zu empfehlen

#### **Bedingt geeignete Eluenten**

- Diethylamin (0,1 %) (DEA)
- Dimethylsulfoxid (DMSO)
- leicht flüchtige Eluenten
- Methylenchlorid<sup>1</sup>
- Tetrahydrofuran (THF)<sup>1</sup>
- verdünnte Phosphorsäure
- Triethylamin (0,1 %) (TEA)
- Trifluoressigsäurelösung (0,1 %) (TFA)

<sup>1)</sup> nicht in Kombination mit PEEK-Kleinteilen oder PEEK-Kapillaren zu empfehlen

#### Nicht geeignete Eluenten

- Halogenkohlenwasserstoffe, z. B. Freon<sup>®</sup>
- konzentrierte mineralische und organische Säuren
- konzentrierte Laugen
- Partikelhaltige Eluenten
- Perfluorierte Eluenten, z. B. Fluorinert<sup>®</sup> FC-75, FC-40
- Perfluorierte Polyether, z. B. Fomblin<sup>®</sup>

#### Für Degasser nicht geeignete Eluenten

- Azide
- Benzol
- Flurkohlenwasserstoffe
- Halogenkohlenwasserstoffe, z. B. Freon<sup>®</sup>
- Heptan
- Hexafluoroisopropanol (HFIP)
- Hexan
- Flusssäure-Lösungen
- Kohlendioxid (flüssiges 99,999 % CO<sub>2</sub>)
- konzentrierte mineralische und organische Säuren
- konzentrierte Laugen
- Partikelhaltige Eluenten
- Perfluorierte Eluenten, z. B. Fluorinert<sup>®</sup> FC-75, FC-40
- Perfluorierte Polyether, z. B. Fomblin<sup>®</sup>
- Salzsäure
- verdünnte Natronlauge (1 M)

### Spüllösungsmittel

Keine Salz- oder Pufferlösung als Waschflüssigkeit verwenden.

# Sicherheit für Anwender

#### Berufsgruppe

Das Benutzerhandbuch richtet sich an Personen, die mindestens eine Ausbildung zum Chemielaboranten oder einen vergleichbaren Ausbildungsweg abgeschlossen haben.

Folgende Kenntnisse werden vorausgesetzt:

- Grundlagenkenntnisse der Flüssigchromatografie
- Kenntnisse über Substanzen, die nur bedingt in der Flüssigchromatografie eingesetzt werden dürfen
- Kenntnisse über die gesundheitlichen Risiken beim Umgang mit Chemikalien
- Teilnahme an der Installation eines Geräts oder einer Schulung durch die Firma KNAUER oder einer von KNAUER autorisierten Firma

Gehören Sie nicht zu dieser oder einer vergleichbaren Berufsgruppe, dürfen Sie die in diesem Benutzerhandbuch beschriebenen Arbeiten auf keinen Fall ausführen. Informieren Sie in diesem Fall Ihre Vorgesetzte oder Ihren Vorgesetzten.

#### Schutzausrüstung

Bei allen Arbeiten an dem Gerät sind die im Labor notwendigen Schutzmaßnahmen zu beachten und folgende Schutzkleidung zu tragen:

- Schutzbrille mit zusätzlichem Seitenschutz
- Schutzhandschuhe
- Laborkittel

#### Was ist zu beachten?

- Alle Sicherheitshinweise im Benutzerhandbuch
- Die Umgebungs-, Aufstell- und Anschlussbestimmungen im Benutzerhandbuch
- Nationale und internationale Vorschriften für das Arbeiten im Labor
- Vom Hersteller empfohlene oder vorgeschriebene Originalersatzteile, Werkzeuge und Eluenten
- Good Laboratory Practice (GLP)
- Unfallverhütungsvorschriften der Unfallkrankenkassen für Labortätigkeiten
- Aufreinigung der zu analysierenden Substanzen
- Einsatz von Inline-Filtern
- Keine gebrauchten Kapillaren an anderer Stelle im HPLC-System einsetzen
- PEEK-Verschraubungen nur für ein- und denselben Port verwenden oder grundsätzlich neue PEEK-Verschraubungen einsetzen
- Hinweise von KNAUER oder anderer Hersteller zur Säulenpflege beachten

Weitere für Ihre Sicherheit wichtige Themen sind in der folgenden Tabelle alphabetisch sortiert:

Thema	Erläuterungen
Entflammbarkeit	Organische Eluenten sind leicht ent- flammbar. Keine offenen Flammen in der Nähe des Geräts betreiben, da Kapillaren sich aus der Verschraubung lösen kön- nen, und dann eventuell leicht entflamm- barer Eluent austritt.
Flaschenwanne	Es besteht die Gefahr eines Stromschlags, falls Eluenten oder andere Flüssigkeiten in das Innere des Geräts gelangen. Deshalb immer eine Flaschenwanne verwenden.
Flüssigkeits- leitungen	Kapillare und Schläuche so verlegen, dass beim Auftreten von Lecks austretende Flüssigkeiten nicht in darunter angeord- nete Geräte eindringen können.
Lecks	Regelmäßige Sichtkontrolle des Anwenders auf Undichtigkeit im System wird empfohlen.
Netzkabel	Beschädigte Netzkabel dürfen nicht für den Anschluss der Geräte an das Strom- netz benutzt werden.
Selbstent- zündungs- temperatur	Ausschließlich Eluenten verwenden, die unter normalen Raumbedingungen eine Selbstentzündungstemperatur höher als 150°C haben.
Steckdosenleiste	Beim Anschluss von mehreren Geräten an eine einzige Steckdosenleiste immer die maximal zulässige Stromaufnahme der Geräte beachten.
Stromversorgung	Geräte dürfen nur an zugelassene Span- nungsquellen angeschlossen werden, deren Spannung mit der zulässigen Span- nung des Geräts übereinstimmt.
Toxizität	Organische Eluenten sind ab einer bestimmten Konzentration toxisch. Arbeitsraum immer gut belüften! Beim Arbeiten am Gerät Schutzhandschuhe und Schutzbrille tragen!

# Wo darf das Gerät nicht eingesetzt werden?

Das Gerät darf ohne besonderen und zusätzlichen Explosionsschutz nicht in explosionsgefährdeten Bereichen betrieben werden. Weitere Informationen erhalten Sie von der technischen Kundenbetreuung von KNAUER.

#### Gerät sicher außer Betrieb nehmen

Das Gerät lässt sich jederzeit durch Ausschalten am Netzschalter oder durch Lösen des Netzanschlusses vollständig außer Betrieb nehmen.

#### Gerät öffnen

Gerät ausschließlich von der technischen Kundenbetreuung von KNAUER oder einer von KNAUER autorisierten Firma öffnen lassen.

# Definition möglicher Personen- oder Sachschäden

Möglichen Gefahren, die von einem Gerät ausgehen können, werden in dem vorliegenden Benutzerhandbuch in Personenoder Sachschäden unterschieden.

Kategorie	Erläuterungen
GEFAHR!	Lebensgefahr oder sehr schwere Verletzungen sind möglich.
WARNUNG!	Schwere bis mittlere Verletzungen sind möglich.
VORSICHT!	Leichte bis sehr leichte Verletzungen sind möglich. Ein Defekt des Geräts ist möglich.

### **Dekontamination**

Die Kontamination von Geräten mit toxischen, infektiösen oder radioaktiven Substanzen sind sowohl in Betrieb, bei der Reparatur, beim Verkauf als auch bei der Entsorgung eines Gerätes eine Gefahr für alle Personen.



#### **GEFAHR!**

Gefahr durch den Kontakt mit toxischen, infektiösen oder radioaktiven Substanzen.

Bevor Geräte entsorgt oder zur Reparatur verschickt werden, müssen sie fachgerecht dekontaminiert werden.

Alle kontaminierten Geräte müssen von einer Fachfirma oder selbständig fachgerecht dekontaminiert werden, bevor diese wieder in Betrieb genommen, zur Reparatur, zum Verkauf oder in die Entsorgung gegeben werden.

Alle zur Dekontamination verwendeten Materialien oder Flüssigkeiten müssen getrennt gesammelt und fachgerecht entsorgt werden.

# Symbole und Kennzeichen

Die folgenden Symbole und Kennzeichen befinden sich am Gerät, in der Chromatografiesoftware oder im Benutzerhandbuch.

#### Warnzeichen

Symbol	Bedeutung
<u>\indextiller</u>	Gefährdung durch Stromschlag
	Gefährdung durch potentiell toxische Substanzen
	Mögliche Rückenverletzungen beim Tragen des Geräts oder bei der Installation
	Mögliche Stichverletzungen der Hände
!	Ein allgemeines Warnsymbol, dass bei Nichtbeachtung leichte bis sehr leichte Verletzungen möglich sind. Außerdem sind Sachschäden am System, Gerät oder bestimmten Bauteilen wahrscheinlich.
Electrostatic Discharge	Möglicher Sachschaden durch elektrosta- tische Entladung am System, Gerät oder an bestimmten Bauteilen
	Die Schutzhandschuhe schützen vor Hautschäden.
CE	Das mit dem CE-Zeichen gekennzeich- nete Gerät oder System erfüllt die pro- duktspezifisch geltenden europäischen Richtlinien. Dies wird in der Konformitäts- erklärung bestätigt.
TÜVRheinland	Das Prüfsiegel einer in Kanada und den USA national anerkannten Prüfstelle (NRTL). Das zertifizierte Gerät oder Sys-

### Gebotszeichen

#### Konformitätszeichen

tem hat die Prüfungen auf Qualität und

Sicherheit erfolgreich bestanden.

# Installation

# Lieferumfang

Hinweis

Ausschließlich Original-Teile und Original-Zubehör sowie Original-Ersatzteile von KNAUER oder einer von KNAUER autorisierten Firma verwenden.

#### Lieferung

**Beipack** 

Autosampler und 250 µl Spritze	
Benutzerhandbuch deutsch/englisch	
Kabel:	
Netzkabel	
<ul><li>Netzwerkkabel</li></ul>	
<ul> <li>I/O-Schnittstellenkabel, 9-polig</li> </ul>	
CD Autosampler 3950 Service Manager	
Probenschleife, 10 μl und 100 μl	
PTFE-Schlauch, 300 cm Länge	
Silikon Ableitungsschlauch, 200 cm	
2 x Probenplatte für 48 Vials, 1,5 ml	
5 x Mikrotiterplatte 96 Wells	
2 x 2,5 A Sicherungen	
1 x Waschflüssigkeitsflasche	
Optional: Probentemperierung	

## Lieferumfang prüfen

- 1. Gerät und Beipack auf Vollständigkeit prüfen.
- 2. Wenn ein Teil fehlt, die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.

# Auspacken und Aufstellen

### Verpackung und Transport

Das Gerät wird ab Werk sorgfältig und sicher für den Transport verpackt.

Hinweis

Karton auf Transportschäden prüfen. Im Fall einer Beschädigung die technische Kundenbetreuung kontaktieren und den Spediteur informieren.

### Kontakt zur Kundenbetreuung

Die technische Kundenbetreuung ist auf folgenden Wegen zu erreichen:

**Telefon** +49 30 809727-111

Fax +49 30 8015010

E-Mail support@knauer.net

Anfragen können in Englisch oder Deutsch gestellt werden.

### Anforderungen an den Einsatzort

Anforderungen

Folgende Anforderungen müssen bei der Wahl des Einsatzortes berücksichtigt werden:

vor starkem Luftzug schützen

Gewicht des Auto 21 kg (mit Probentemperierung)

samplers

Abmessungen  $300 \times 377 \times 577 \text{ mm}$ 

(Breite x Höhe x Tiefe)

Netzspannung 95–240 V DC

Luftfeuchtigkeit 20–80 % RH

Temperatur
 10–40 °C
 50–104 °F



#### **VORSICHT!**

Gerätedefekt durch Überhitzung möglich! Gerät vor Sonneneinstrahlung schützen. Raum immer gut lüften.

Auf der Rückseite des Geräts mindestens 15 cm und auf der Seite der Lüftungsschlitze mindestens 5–10 cm Platz für die Luftzirkulation lassen.

Hinweis

Der Autosampler ist ausschließlich für die Nutzung in geschlossenen Räumen in einem Temperaturbereich von 10–40 °C geeignet.

#### **Platzbedarf**

Seitlicher Abstand zu weiteren Geräten:

- Mindestens 5 cm, wenn auf einer Seite ein weiteres Gerät aufgestellt wird.
- Mindestens 10 cm, wenn auf beiden Seiten ein weiteres Gerät aufgestellt wird.

### **Auspacken**



WARNUNG! Verletzungen des Rückens beim Anheben oder Tragen des Geräts möglich! Um Verletzungen vorzubeugen, heben und tragen Sie das Gerät am besten mit einer zweiten Person zusammen.

Karton und Verpackung sorgfältig lagern. Beiliegende Packliste für spätere Nachbestellungen sicher aufbewahren.

#### Werkzeug

#### Cuttermesser

#### Vorgehensweise

- 1. Verpackung so aufstellen, dass die Schrift am Etikett der Kartonseite richtig herum steht. Klebeband mit einem Cuttermesser durchtrennen. Verpackung öffnen.
- 2. Schaumstoffauflage abheben. Zubehörteile und Handbuch herausnehmen.
- 3. Folie von den eingeschweißten Zubehörteilen abziehen oder Zubehörteile aus der Tüte nehmen. Lieferumfang prüfen. Im Fall einer unvollständigen Lieferung die technische Kundenbetreuung kontaktieren.
- 4. Gerät von unten umfassen und aus der Verpackung heben.
- 5. Schaumstoffteile vom Gerät abnehmen.
- 6. Gerät auf Transportschäden prüfen. Im Fall einer Beschädigung die technische Kundenbetreuung kontaktieren.
- 7. Gerät am Aufstellort platzieren.
- 8. Klebestreifen an der Tür des Autosamplers entfernen, die als Transportschutz angebracht wurden.

# Systemadapter

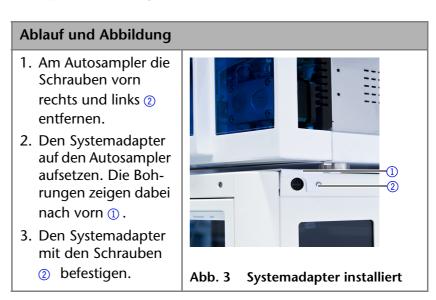
Der Autosampler kann mit einem Systemadapter in ein HPLC-System integriert werden. Der Systemadapter besteht aus einem Blech, welches auf der Gehäuseoberseite des Autosamplers festgeschraubt wird. Anschließend können zusätzliche AZURA Geräte auf dem Autosampler aufgestellt werden.



Voraussetzung Werkzeug Die Schrauben am Autosampler wurden gelöst und entfernt. Schraubendreher Innensechskant, 2,5 mm



VORSICHT! Geräteschaden durch zu hohes Gewicht möglich! Den Systemadapter mit maximal 60 kg belasten!



Nächste Schritte

Stellen Sie die Geräte auf den Systemadapter.

### Inbetriebnahme

#### Hinweis

Vor der ersten Inbetriebnahme des Autosamplers etwa eine Stunde warten, bis sich die Gerätetemperatur an die Umgebungstemperatur angepasst hat.

#### Autoinjektionssystem

Die Geschwindigkeit des Autoinjektionssystems wurde erhöht, um die Anforderungen für die UHPLC zu erfüllen. Stichverletzungen durch hohe Geschwindigkeiten des Autoinjektionssystems sind deshalb bei unsachgemäßer Handhabung möglich!

#### Geräte-Vorderseite

Die Tür des Autosamplers lässt sich waagerecht in den Innenraum des Geräts schieben. Die Frontverkleidung lässt sich komplett entfernen. Zum Auswechseln der Probenplatten lässt sich die Kühlabdeckung herausziehen.



VORSICHT! Stichverletzungen bei offener oder fehlender Frontverkleidung möglich! Schließen Sie die Frontverkleidung, während der Autosampler in Betrieb ist.



#### Tür öffnen

Die Tür mit beiden Händen an den seitlichen ① Griffpositionen anfassen und öffnen. Wie in der Abbildung gezeigt, die Tür in den Innenraum schieben.

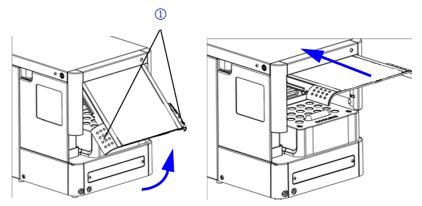


Abb. 5 Tür in den Innenraum schieben

# Frontverkleidung entfernen

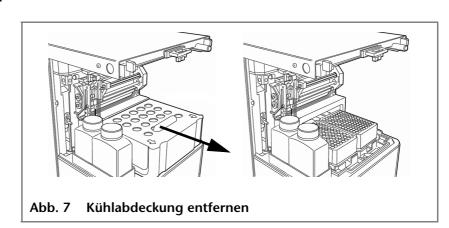
Seitliche Druckknöpfe ① gleichzeitig drücken und die Frontverkleidung herausziehen.



Abb. 6 Frontverkleidung entfernen

# Kühlabdeckung entfernen

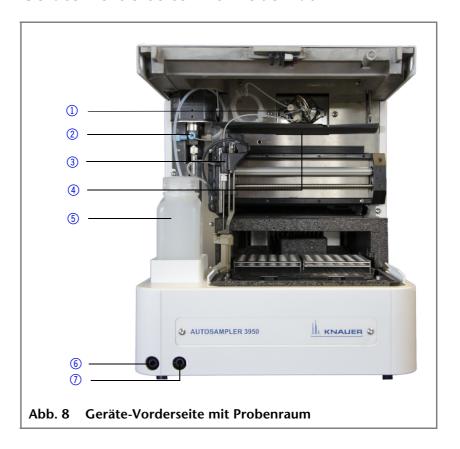
Kühlabdeckung in markierter Pfeilrichtung herausziehen.



### Geräte-Vorderseite mit Probenraum

### Legende

- Injektionsventil
- ② Spritze
- 3 Nadelführung
- 4 Auffang-Behälter
- 5 Spüllösung-Flasche
- Schlauchanschluss für Abfallflüssigkeit
- Schlauchanschluss für Kondenswasser

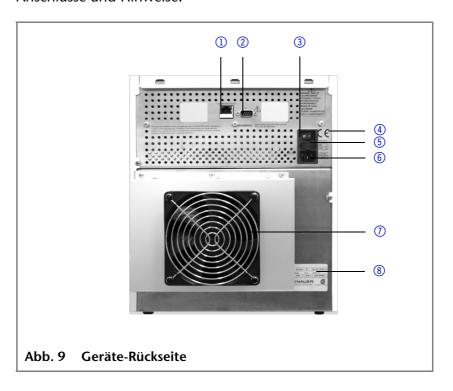


# Geräte-Rückseite

Auf der Geräte-Rückseite befinden sich folgende Bauteile, Anschlüsse und Hinweise:

### Legende

- LAN-Anschluss
- 2 I/O-Anschluss(9-polig)
- 3 Netzschalter
- 4 CE-Zeichen
- Sicherungsfach
- 6 Netzanschlussbuchse
- 7 Kühlventilator
- 8 Baujahr des Geräts und Seriennummer



## Lokales Netzwerk und Autokonfiguration

Der Autosampler wird ausschließlich über die Chromatografie-Software gesteuert.

#### **Remote-Steuerung**

In der Regel wird der Autosampler mit der Chromatografie-Software über ein lokales Netzwerk (LAN) gesteuert.

#### **Autokonfiguration**

Der im lokalen Netzwerk (LAN) angeschlossene Autosampler wird automatisch von der Chromatografie-Software erkannt.

#### Gerätestatus

Beim Betrieb im lokalen Netzwerk (LAN) ist der Systemstatus des Autosamplers mit der Chromatografie-Software überprüfbar.

# Gerät über ein lokales Netzwerk (LAN) an den Computer anschließen

Dieses Kapitel beschreibt, wie ein HPLC-System zu einem lokalen Netzwerk (LAN) aufgebaut wird und wie das LAN durch einen Netzwerkadministrator zum Datenaustausch an ein Firmennetzwerk angeschlossen werden kann. Die Beschreibung gilt für das Betriebssystem Windows® und alle gängigen Router.

#### Hinweis

Um ein LAN aufzubauen, wird die Verwendung eines Routers empfohlen. Das heißt, dass folgende Schritte erforderlich sind:

#### **Ablauf**

- 1. Am Computer in der Systemsteuerung die LAN-Eigenschaften prüfen.
- 2. Den Router mit den Geräten und dem PC verkabeln.
- 3. Am Computer den Router für das Netzwerk einrichten.
- 4. Die Chromatografiesoftware vom entsprechenden Datenträger installieren.
- 5. Die Geräte einschalten und Chromatografiesoftware starten.

#### LAN-Eigenschaften einstellen

Im LAN wird ausschließlich ein Server (im Regelfall der Router) verwendet, von dem die Geräte automatisch ihre IP-Adresse im Netzwerk beziehen.

#### Voraussetzung

- In Windows<sup>®</sup> sind Energiesparfunktionen, Ruhezustand, Standby-Funktion und Bildschirmschoner ausgeschaltet.
- Wenn eine "USB to COM"-Box verwendet wird, muss im Gerätemanager die Einstellung "Computer kann das Gerät ausschalten, um Energie zu sparen" für alle USB-Hosts deaktiviert werden.
- Nur Windows 7: Für den Netzwerkadapter im Gerätemanager die Einstellung "Computer kann das Gerät ausschalten, um Energie zu sparen" deaktivieren.

#### Vorgehensweise

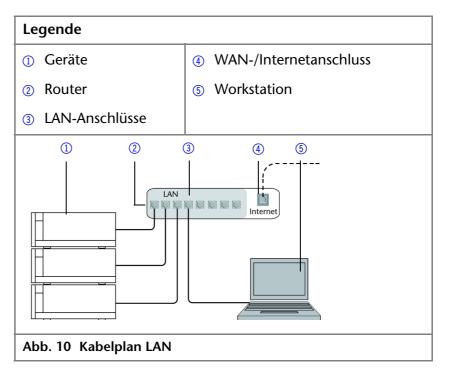
- 1. In Windows 7 Start  $\Rightarrow$  Systemsteuerung  $\Rightarrow$  Netzwerk- und Freigabecenter auswählen.
- 2. Auf LAN-Verbindung doppelklicken.
- 3. Die Schaltfläche Eigenschaften anklicken.

- 4. Internetprotokoll Version 4 (TCP/IPv4) auswählen.
- 5. Die Schaltfläche Eigenschaften anklicken.
- 6. In der Registerkarte *Allgemein* die Einstellungen prüfen. Die korrekten Einstellungen des DHCP-Clients sind:
  - a) IP-Adresse automatisch beziehen
  - b) DNS-Serveradresse automatisch beziehen
- 7. Die Schaltfläche OK anklicken.

#### Geräte zum LAN verkabeln

Der Router hat mehrere LAN-Anschlüsse und einen WAN-/Internetanschluss, über den der Router an ein Wide Area Network (WAN) angeschlossen werden kann, wie z. B. ein Firmennetzwerk oder das Internet. Die LAN-Anschlüsse dagegen dienen zum Aufbau eines Netzwerks aus Geräten und Computer. Um Störungen zu vermeiden wird empfohlen, das HPLC-System außerhalb des Firmennetzwerks zu betreiben.

Für jedes Gerät und für den Router wird ein Patch-Kabel mitgeliefert. Um den Router an das Netzwerk anzuschließen, wird ein zusätzliches Patch-Kabel benötigt, das nicht im Lieferumfang enthalten ist.



#### Voraussetzung

- Der Computer wurde ausgeschaltet.
- Für die Geräte und den Computer ist je ein Patch-Kabel vorhanden.

#### Vorgehensweise

- 1. Mit dem Patch-Kabel den Router und den Computer verbinden. Diesen Schritt wiederholen, um die Geräte anzuschließen.
- 2. Mit dem Netzteil den Router an das Stromnetz anschließen.

#### Router einstellen

Der Router wird mit werkseitigen Voreinstellungen ausgeliefert. Auf der Unterseite des Routers ist ein Aufkleber angebracht, auf dem die IP-Adresse, Benutzername und Passwort zu finden sind, mit denen man die Routerkonfiguration öffnen kann.

#### Vorgehensweise

- 1. Um die Routerkonfiguration zu öffnen, im Browser die IP-Adresse des Routers eingeben (gilt nicht für alle Router).
- 2. Den Benutzernamen und das Passwort eingeben.
- 3. Den Router als DHCP-Server einstellen.
- 4. In der Routerkonfiguration den IP-Adressbereich prüfen und ggf. ändern.

#### **Ergebnis**

Sobald der Router allen Geräten eine IP-Adresse zugewiesen hat, übernimmt die Chromatografiesoftware die Steuerung des HPLC-Systems.

#### LAN in das Firmennetzwerk integrieren

Der Router kann durch den Netzwerkadministrator an das Firmennetzwerk angeschlossen werden. Dazu wird der WAN-/Internetanschluss des Routers verwendet.

#### Voraussetzung

Das Patch-Kabel ist vorhanden.

#### Vorgehensweise

- 1. Prüfen, dass es keine Überschneidung zwischen den IP-Adressen des Routers und des Firmennetzwerks gibt.
- 2. Im Fall einer Überschneidung in der Routerkonfiguration den IP-Adressbereich ändern.
- 3. Mit dem Patch-Kabel den WAN-/Internetanschluss des Routers mit dem Firmennetzwerk verbinden.
- 4. Alle Geräte einschließlich des Computers neu starten.

#### Mehrere Systeme in einem LAN separat steuern

Die Kommunikation in LANs läuft über sogenannte Ports, die Teil der Netzwerkadresse sind. Wenn in einem LAN mehrere HPLC-Systeme vernetzt sind, die separat gesteuert werden sollen, können dafür unterschiedliche Ports verwendet werden, um Störungen zu vermeiden. Dafür muss die Portnummer an jedem Gerät geändert und die gleiche Portnummer in der Gerätekonfiguration der Chromatografiesoftware eingegeben werden. Es empfiehlt sich, für alle Geräte eines Systems dieselbe Portnummer zu verwenden.

#### Hinweis

Der Port ist bei allen Geräten werkseitig auf 10001 eingestellt. Die Portnummern in der Konfiguration der Geräte in der Chromatografiesoftware und am Gerät müssen identisch sein, ansonsten kann keine Verbindung hergestellt werden.

#### Vorgehensweise

- 1. Die Portnummer bestimmen und am Gerät ändern.
- 2. Die Portnummer in der Chromatografiesoftware eingeben.

#### **Ergebnis**

Die Verbindung wird hergestellt.

# Injektionsprinzipien

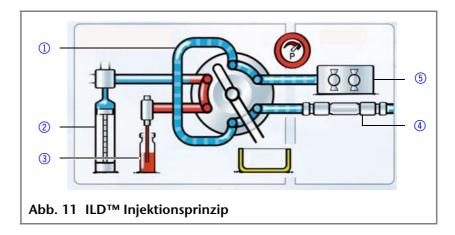
Der Autosampler kann mit folgenden Injektionsprinzipien arbeiten:

# ILD<sup>™</sup> von Spark Holland

Für Injektionen im Hochdruckbereich bis 1000 bar verfügt der Autosampler über ein ILD<sup>™</sup>-Ventil (Intermediate Loop Decompression). Dieses Ventil besteht aus einer Rotor-Stator-Kombination und verfügt über einen zentralen Port zur Druckentlastung. Bei Applikationen im Hochdruckbereich wird dabei die Probenschleife vor Aufnahme der Probe druckentlastet, damit die Probe nicht mit Eluent verdünnt wird. Ein extrem schnelles Schalten des Ventils reduziert Druckstöße weiterhin. Analysen werden dadurch genauer und die Säule wird langlebiger.

#### Legende

- Probenschleife
- ② Spritze
- 3 Sample Vial
- Säule
- 6 Pumpe



# PASA<sup>™</sup> Schleifen-Injektionsprinzip

Das Schleifen-Injektionsprinzip mit Druckunterstützung (Pressure Assisted Sample Aspiration PASA $^{TM}$ ) hat folgende Merkmale:

- Proben müssen nicht entgast werden
- Keine Luftblasen in der Probenschleife
- Keine Verstopfung oder Verschmutzung der Probennadel
- Präzise Steuerung der Spritzenbewegung

### Injektionsmethoden

Es stehen drei verschiedene Injektionsmethoden zur Auswahl:

- Vollschleifeninjektion
- Partielle Schleifen-Injektion
- Mikroliter Pick-up Injektion

#### Vollschleifeninjektion

Bei der Vollschleifeninjektion wird die Probenschleife komplett mit Probe gefüllt. Es wird maximale Reproduzierbarkeit, aber nicht maximale Genauigkeit erreicht, da die Größe der Probenschleife eine Abweichung von  $\pm$  10% haben kann. Das maximale

Injektionsvolumen entspricht dem Schleifenvolumen. Die Probenschleife wird mit einem Vielfachen des Schleifenvolumens gefüllt:

- 3 x Schleifenvolumen für Schleifen bis 100 μl
- 2 x Schleifenvolumen für Schleifen von 100 bis 500 μl
- 1,5 x Schleifenvolumen für Schleifen über 500 μl

Der Probenverlust pro Injektion setzt sich aus der x-fachen Überfüllung der Probenschleife und dem eingestellten Spülvolumen der eingesetzten Nadel zusammen.

#### Partielle Schleifen-Injektion

Bei der partiellen Schleifenfüllung wird die Probenschleife zum Teil mit Probe und zum Teil mit Fließmittel gefüllt. Es wird höchste Genauigkeit des Probenvolumens bei minimalem Probenverlust erreicht. Das maximale Injektionsvolumen entspricht 50 % des Schleifenvolumens. Der Probenverlust pro Injektion entspricht dem eingestellten Spülvolumen plus 3-faches Probenvolumen der eingesetzten Nadel.

#### Mikroliter Pick-up Injektion

Bei der Mikroliter Pick-up Injektion wird die Probenschleife mit einer sehr geringen Probenmenge und Transportflüssigkeit (mobile Phase) gefüllt. Es wird höchste Genauigkeit erreicht und es entsteht kein Probenverlust. Das maximale Probenvolumen liegt bei 50% des Schleifenvolumens minus 3-faches Nadelvolumen.

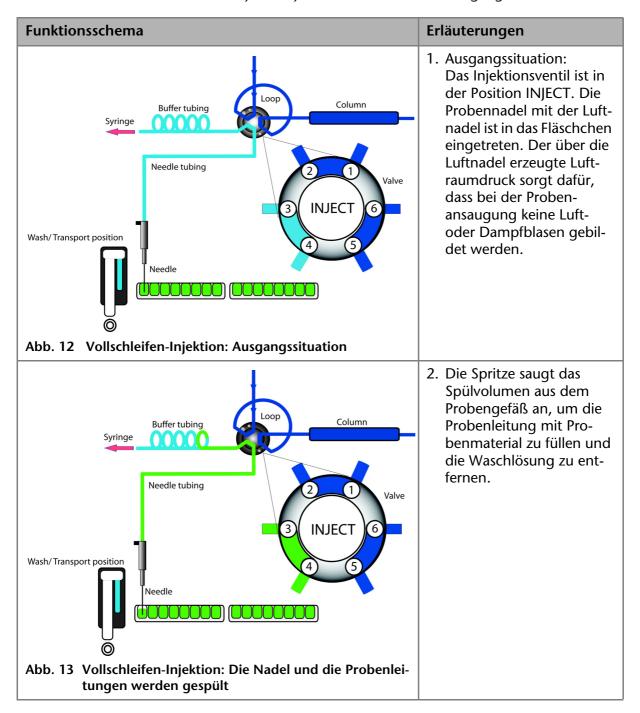
#### Luftnadel und Probennadel

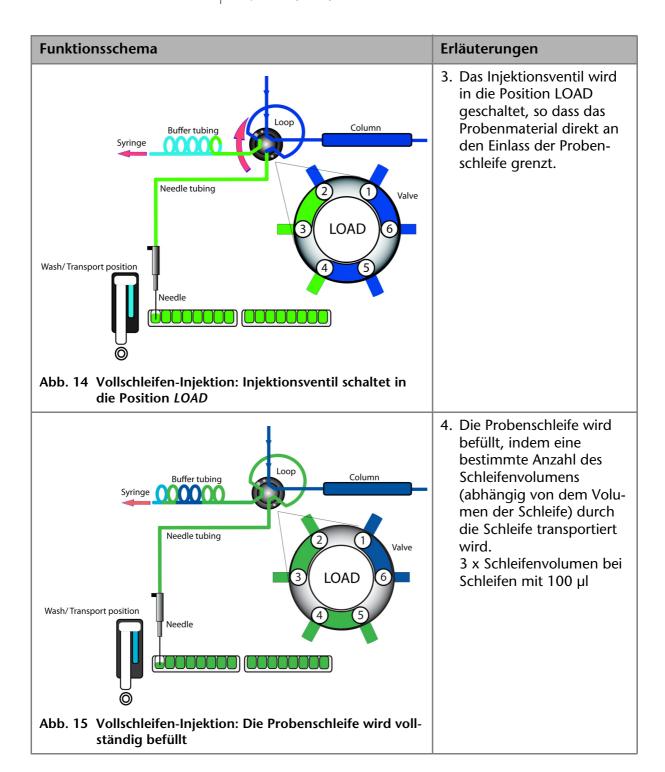
Der Autosampler verwendet ein System von zwei ineinander gesteckten Nadeln – die eine zum Durchstoßen der Kappe des Probenfläschchens, die sogenannte Luftnadel – die andere zur Probenentnahme, die sogenannte Probennadel.

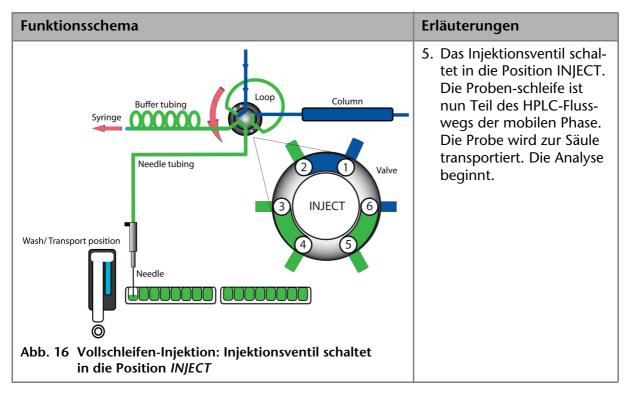
Mit einer Spritze wird die Probe durch die zwei Nadeln aus dem Sample Vial unter Druck in die Probenschleife gesaugt. Zwischen Spritze und Ventil befindet sich ein Pufferschlauch, um Verunreinigungen der Spritze zu vermeiden. Mit einem Waschlösungsmittel werden Probenreste aus der Probennadel und dem Pufferschlauch entfernt.

# Vollschleifeninjektion

**Hinweis** Nach jeder Injektion findet ein Waschvorgang statt.





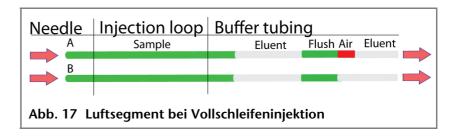


Nächste Schritte Spülen Sie die Nadel nach jeder Injektion.

### Luftsegment bei Vollschleifeninjektion

Zur Reduzierung des Spülvolumens kann ein Luftsegment von 5 µl verwendet werden. Das Luftsegment befindet sich vor dem Spülsegment und wird nicht injiziert.

Bei Verwendung einer Standardnadel und Injektionen mit Luftsegment muss das Spülvolumen mindestens 30 µl betragen, ohne Luftsegment 35 µl. Bei extrem viskosen Proben kann es erforderlich sein, größere Spülvolumina zu programmieren und zur Verbesserung der Leistung die Spritzengeschwindigkeit zu reduzieren.

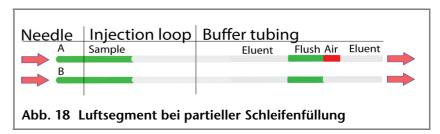


# Partielle Schleifenfüllung

#### Spülmenge

Ein Luftsegment von 5 µl vor der Spülmenge, welches nicht injiziert wird, kann die durch Dispersion verursachte Verdünnung der Probe beim Ansaugen verringern.

- Bei einer Standardnadel folgende Spülmengen einstellen:
  - Mindestens 30 µl für Injektionen mit Luftsegment
  - 35 μl für Injektionen ohne Luftsegment
- Um gute Ergebnisse für höherviskose Proben zu erzielen, die Spülmenge erhöhen und die Spritzengeschwindigkeit verringern.

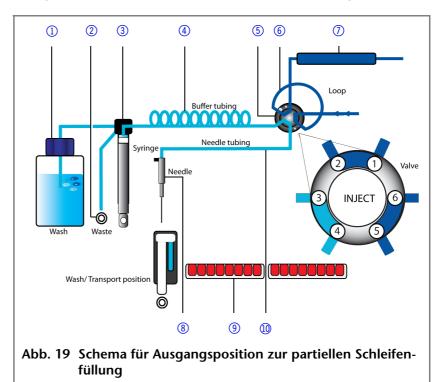


### Probenmenge

Im Autosampler 3950 schiebt die Spritze die Probe in die Probenschleife. Für die partielle Schleifenfüllung darf die Probenmenge maximal 50 % des Schleifenvolumens betragen.

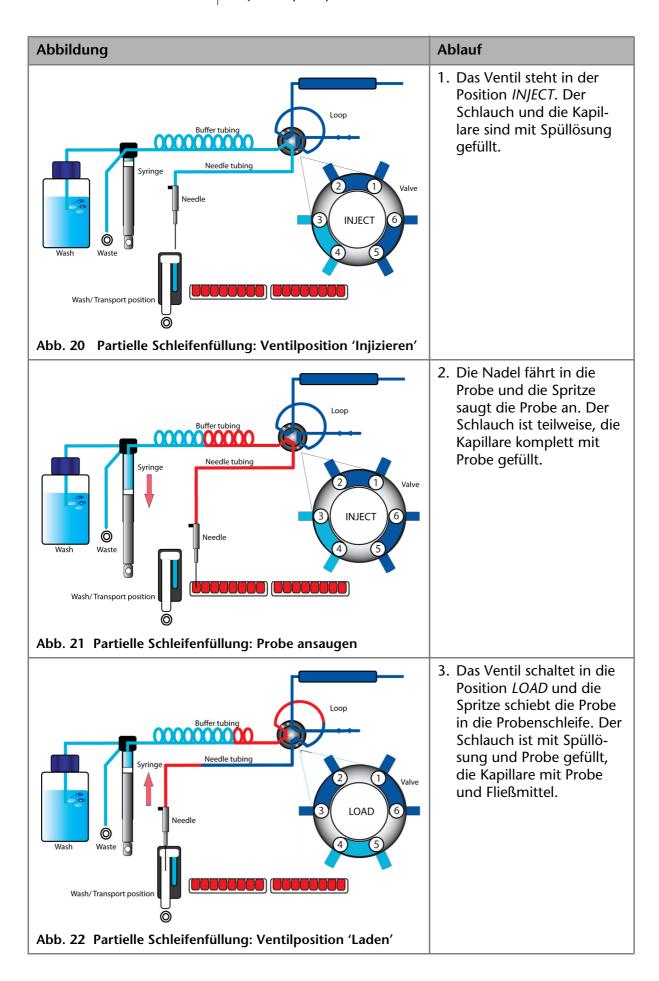
#### Legende

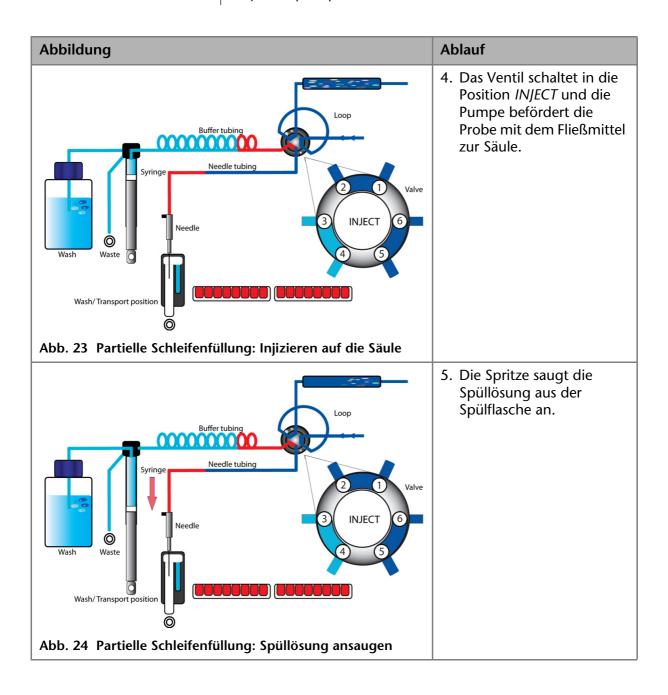
- Spülflasche
- Schlauchanschluss für Abfall
- 3 Spritze
- 4 Schlauch
- 5 Ventil
- 6 Probenschleife
- Säule
- 8 Nadel
- Mikrotiterplatte mit Proben
- Mapillare

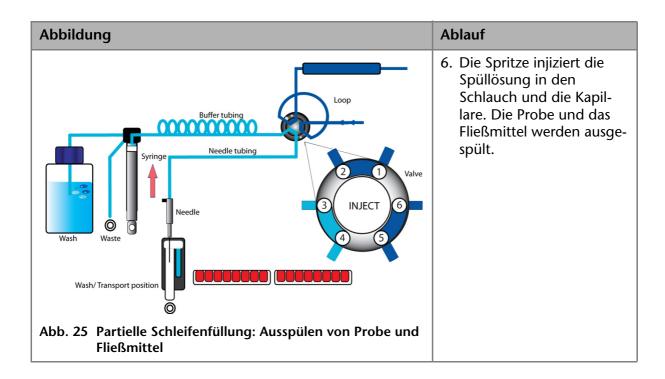


Hinweis

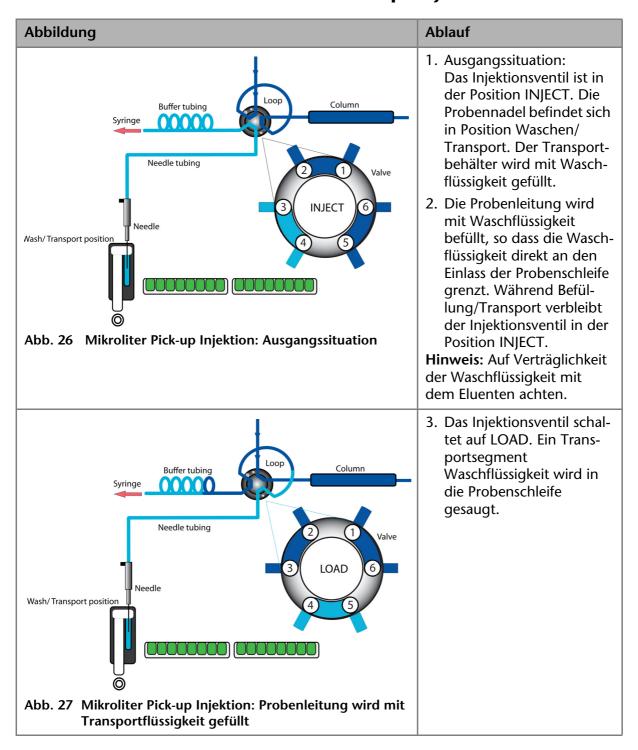
Der Ablauf der partiellen Schleifenfüllung ist vollautomatisch.

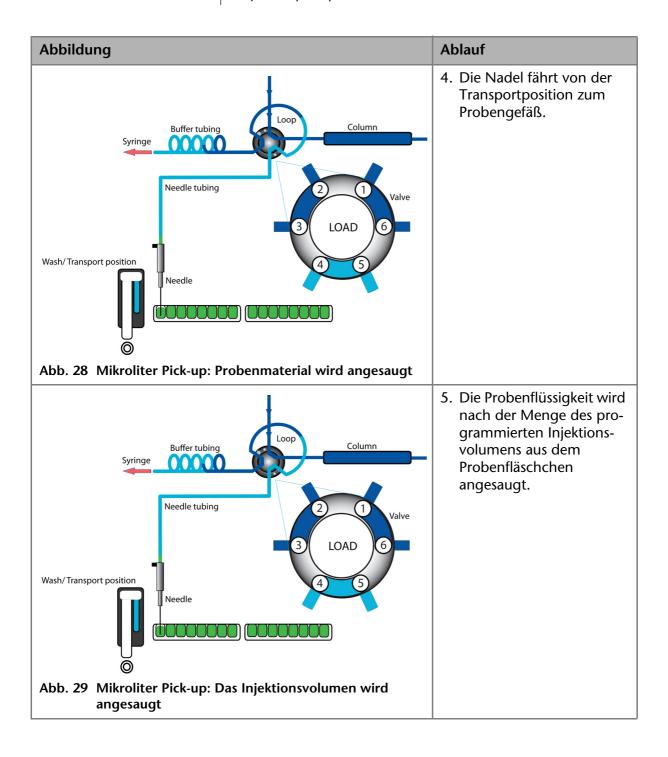


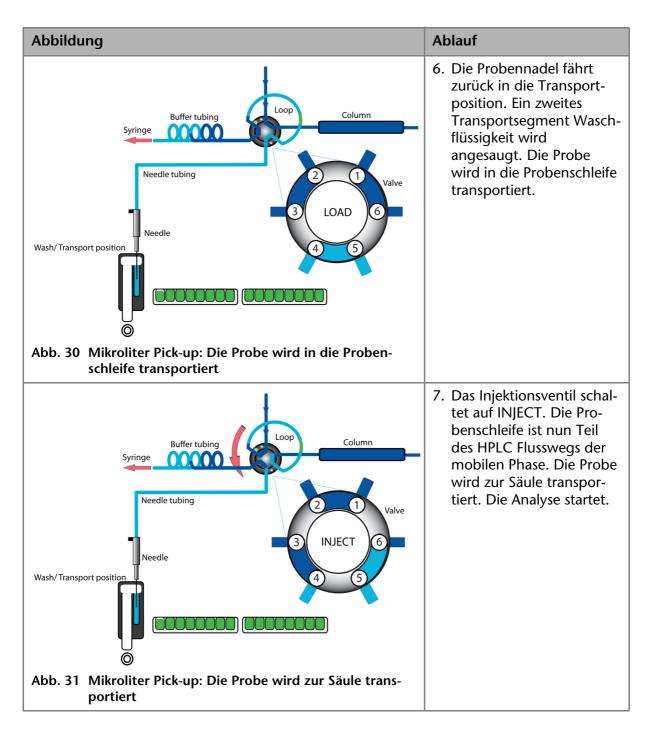




# Mikroliter Pick-up Injektion







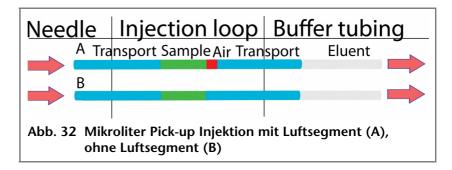
### Luftsegment mit µl Pick-up Injektionen

Wenn ein Luftsegment programmiert wurde, dann zeigt es sich vor dem ersten Transportsegment und vor jedem Probensegment.

Es gelten folgende Bedingungen:

- Das Luftsegment vor dem Probensegment wird in das HPLC-System injiziert
- In diesem Modus kann auf die Fläschchen kein Luftraumdruck ausgeübt werden, da das Probenvolumen sonst durch Aus-

dehnung der Luft während des Wechsels vom Probengefäß zur Waschposition verfälscht werden kann.



# μl Pick-up Injektionen mit 84+3

Bei Auswahl des µl Pick-up mit einem 84+3-Probentablett werden die drei 10-ml-Fläschchen automatisch für den Transport verwendet. In diesem Fall wird die Nadelposition Waschen/ Transport nur für das Waschen der Nadel verwendet. Daraus ergibt sich der folgende Injektionsablauf:

Ablauf	Abbildung
1. Zu Beginn befindet sich die Nadel noch in der Position Waschen/ Transport. Das Ventil befindet sich in der Position INJECT.	Abb. 33 Mikroliter Pick-up 84+3: Ausgangssituation
2. Für die erste Injektion saugt die Spritze Transportflüssigkeit von einem Fläschchen in der Transport-position an, um die Probenleitung mit Transportflüssigkeit zu füllen und die Waschflüssigkeit zu entfernen.	Abb. 34 Mikroliter Pick-up 84+3: Probenleitung wird mit Transportflüssigkeit befüllt

Ablauf	Abbildung
3. Das Injektionsventil schaltet auf LOAD. Das programmierte Injektionsvolumen wird aus dem Probengefäß angesaugt.	Abb. 35 Mikroliter Pick-up 84+3: Injektionsventil schaltet in die Position LOAD
4. Die Probennadel fährt zurück zum Transportfläschchen. Ein zweites Segment Transportflüssigkeit wird angesaugt. Die Probe wird in die Probenschleife transportiert.	Abb. 36 Mikroliter Pick-up 84+3: Die Probe wird in die Probenschleife transportiert
5. Das Ventil schaltet auf INJECT. Die Probenschleife ist nun Teil des HPLC-Flusswegs der mobilen Phase. Die Probe wird zur Säule transportiert. Die Analyse startet.	Abb. 37 Mikroliter Pick-up 84+3: Injektionsventil schaltet in die Position INJECT.

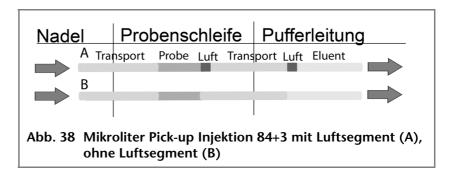
### Luftsegment mit µl Pick-up Injektion 84+3

Wenn ein Luftsegment programmiert wurde, erscheint es vor dem ersten Transportflüssigkeitssegment und vor jedem Probensegment.

In diesem Injektionsmodus:

- Das Luftsegment vor dem Probenssegment wird in das HPLC-System injiziert
- In diesem Modus kann auf die Fläschchen kein Luftraumdruck ausgeübt werden, da das Probenvolumen sonst durch Aus-

dehnung der Luft während des Wechsels vom Probengefäß zur Waschposition verfälscht werden kann

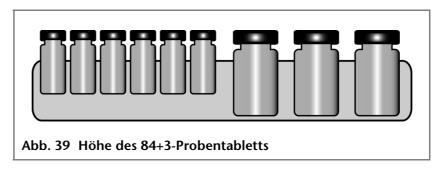


# 84+3-Probentablett

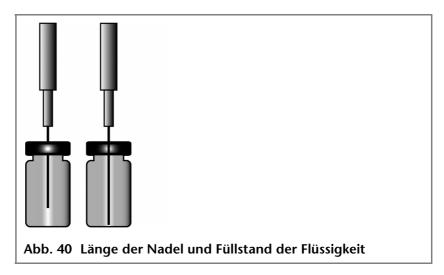
Das 84+3-Probentablett ist optional und kann separat bestellt werden. Das Tablett wird im Autosampler über beide Tabletthalter-Positionen platziert.

Hinweis: Das Probentablett immer so positionieren, dass sich die Position 87 in der hinteren rechten Ecke der Probenentnahmekammer befindet.

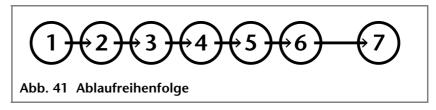
Das Probentablett bietet Platz für maximal 84 Fläschchen zu 1,5 ml + 3 Fläschchen zu 10 ml. Es ist so beschaffen, dass die Kappen aller Fläschchen unabhängig von ihrer Größe auf gleicher Höhe sind, so dass dieselbe Nadel für beide Fläschchengrößen verwendet werden kann.



Die Länge der Probennadel kann daher nur für die 1,5-ml-Fläschchen programmiert werden. Je nach Füllstand der Transportflüssigkeit stehen für die 10-ml-Fläschchen zwei fixe Längeneinstellungen der Nadel zur Verfügung.



Bei Programmierung einer Probenreihe wird die Ablaufreihenfolge für das Probentablett in numerischer Reihenfolge festgelegt:



Bei der Erstellung von Sequenztabellen mit einer Probe pro Reihe (1 Probe in jedem Lauf) kann selbstverständlich die Reihenfolge der Probenbearbeitung willkürlich programmiert werden.

# µl Pick-up-Parameter für den 84+3-Probentablett

Um das 84+3-Probentablett zu verwenden, müssen die Probentablett-Einstellungen in der Software geändert werden.

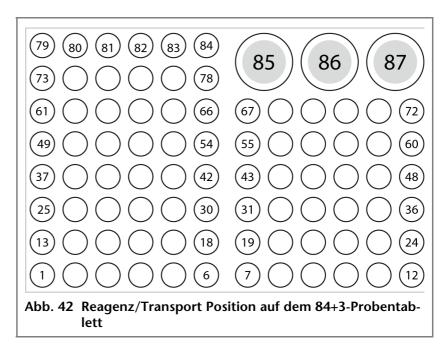
Hinweis

Bei Auswahl des µl Pick-ups mit 84+3-Probentablett werden die drei 10-ml-Fläschchen automatisch für den Transport verwendet. In diesem Fall wird die Nadelposition Waschen/Transport nur für das Waschen der Nadel verwendet.

Für das 84+3-Probentablett sind die Positionen der Proben wie folgt festgelegt:

Position der ersten zu bear- beitenden Probe:	Fläschchenpositionen 1-84
Position der letzten zu bearbeitenden Probe:	Fläschchenpositionen 1-84

Erste zu bearbeitende Zielposition:	Fläschchenpositionen 1-84
Transportpositionen:	Fläschchenpositionen 85-87



Der Probenbereich wird durch die Definition der ersten und letzten Probe angegeben. Die Transportpositionen sind fix (Fläschchen 85, 86, 87).

# Details zur Programmierung für die 84+3 Injektionsmethode

- Die Position der Transportfläschchen kann programmiert werden. Mögliche Positionen sind 85, 86 und 87. Die Position 85 ist die Standardposition für Transportfläschchen. Die Anlage berechnet das erforderliche Transportvolumen. Bitte stellen Sie beim Start der Anlage stets sicher, dass das Fläschchen mindestens 8000 µl enthält.
- Die Füllstände der Transportflüssigkeit werden bei Start eines Laufes nicht zurückgesetzt. Um eine Verunreinigung der Luftnadel zu vermeiden, hält die Nadel im Transportfläschchen auf der oberen Position an.
- Bei Bearbeitung einer Probenserie bzw. einer Probe pro Reihe berücksichtigt der Autosampler das verbleibende Volumen der Transportflüssigkeit während des Laufs. Unterschreitet das Volumen den Wert von 4000 μl, fährt die Nadel tiefer in das Transportfläschchen. Wenn die Menge der Transportflüssigkeit den Wert von 0 μl erreicht, meldet der Autosampler Fehlercode 369 (nicht genügend Transportflüssigkeit vorhanden).

- Die Füllmengen für die Transportflüssigkeit werden durch die Neuprogrammierung des Modus zurückgesetzt.
- Die Nadel fährt nicht automatisch zu einem anderen Transportfläschchen. Wenn Transportflüssigkeit von einer anderen Position gezogen werden soll, muss diese Position einprogrammiert werden.

# Luftnadeln

Für den Autosampler sind Luftnadeln in sechs verschiedenen Längen von 50-80 mm verfügbar. Die Nadelhalterung gestattet eine weitere Anpassung der Nadelhöhe um 6 mm.

### Standard Luftnadel

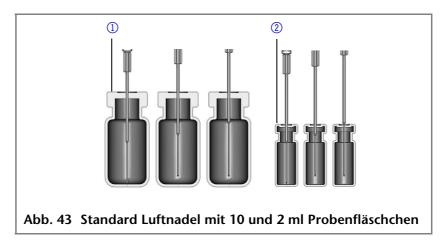
Die Standard Luftnadel ist 62 mm lang und kann in einem breiten Spektrum von tiefen und flachen Probenplatten eingesetzt werden.

Bei Einsatz von 10 ml Probenfläschchen dringt die Nadel tief in das Probenfläschchen ein. Ist dieses nicht mehr als 60% gefüllt, kann die Nadel wie üblich eingesetzt werden. Das gleiche gilt für den Einsatz tiefer Mikrotiterplatten.

Bei notwendigen Abweichungen von Standardeinstellungen sind die entsprechenden Nadeltypen zu verwenden.

#### Legende

- 10 ml Probenfläschchen
- 2 ml Probenfläschchen



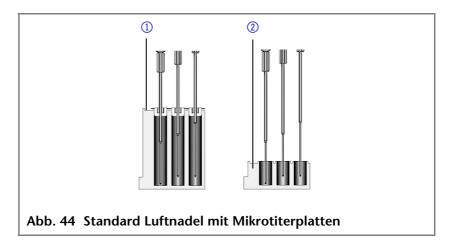
Hinweis

Das PASA™ Schleifen-Injektionsprinzip ist nicht für flache Mikrotiterplatten geeignet. Nur wenn die Luftnadel die

Verschlusskappe ausreichend durchsticht, ist ihre Funktion gewährleistet.

#### Legende

- Tiefe Mikrotiterplatte mit Verschlusskappe
- ② Flache Mikrotiterplatte



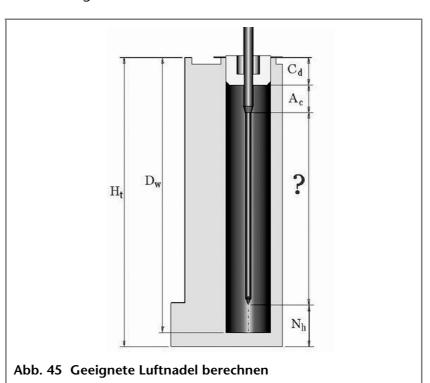
# Geeignete Luftnadel auswählen

Zur richtigen Auswahl der Luftnadel folgende Dimensionen berücksichtigen:

### Legende

**H**<sub>t</sub> = Höhe der Probenplatte

 $D_w$  = Bohrungstiefe  $C_d$  = Dicke der Verschlusskappe  $N_h$  = eingestellte Nadelhöhe  $A_c$  = Abstand der Luftnadelspitze zur Verschlusskappe (min. 2 mm) ? = Überstandslänge



**Bedingung:** 

$$H_t - D_w = 2 bis 6 mm$$

Überstandslänge Probennadel:

$$H_t - C_d - N_h - A_c = ?$$

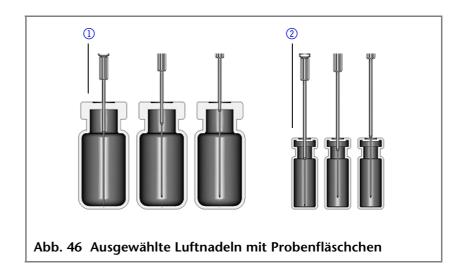
Auf Basis der berechneten Überstandslänge geeigneten Nadeltyp auswählen.

Luftnadeltyp	Überstandslänge
50 mm, gelb	34-40 mm

Luftnadeltyp	Überstandslänge
56 mm, rot	28-34 mm
62 mm, weiß (Standardnadel)	22-28 mm
68 mm, blau	16-22 mm
74 mm, grün	10-16 mm
80 mm, schwarz	4-10 mm

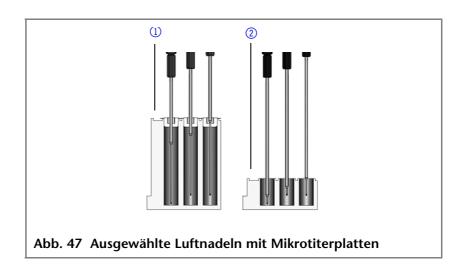
### Legende

- 10 ml Probenfläschchen,
   50 mm Luftnadel
- 2 ml Probenfläschchen,62 mm Luftnadel



### Legende

- Tiefe Mikrotiterplatte mit Verschlusskappe,
   mm Luftnadel
- ② Flache Mikrotiterplatte, 80 mm Luftnadel



#### Berechnungsbeispiel Luftnadel

Ausgangsbasis:

- Autosampler mit Standardeinstellung für die Nadelhöhe.
- Tiefe Mikrotiterplatte mit Verschlusskappe.

Dimensionen:

 $H_t = 41,4 \text{ mm}$ 

 $D_{w} = 37.8 \text{ mm}$ 

 $C_d = 3.8 \text{ mm}$ 

 $N_h = 6.0 \text{ mm (Standard)}$ 

 $A_c = 2.0 \text{ mm (Minimum)}$ 

Bedingung:

 $H_t - D_w = zwischen 2 und 6 mm$ 

 $H_t - D_w = 41.4 \text{ mm} - 37.8 \text{ mm} = 3.6 \text{ mm}$ . Bedingung erfüllt.

 $H_t$  -  $C_d$  -  $N_h$  -  $A_c$  = Überstandslänge

41,4 mm - 3,8 mm - 6,0 mm - 2,0 mm = 29.6 mm

Luftnadeltyp	Überstandslänge
56 mm, rot	28-34 mm

Eine 56 mm Luftnadel ist erforderlich.

## Handhabung der Probenfläschchen

Bei der Handhabung der Probenfläschchen auf folgende Aspekte achten:

- Probenfläschchen mit einer Pipette füllen, um ein Entweichen der Luft zu ermöglichen.
- Probenfläschchen nicht bis zum Rand füllen, damit keine Probe in die Luftnadel gelangt.
- Keine unverschlossenen Probenfläschchen benutzen.
- Nur luftdichte Kappendichtungen verwenden, um die Bildung von Luftblasen und das Verdampfen flüchtiger Bestandteile zu vermeiden.
- Keine Probenfläschchen mit harten Kappen verwenden, die zum Durchstechen mit der Probennadel nicht geeignet sind.

## Mischen und Verdünnen

Für den Autosampler kann eine Mischroutine zum Mischen oder Verdünnen von Probenflüssigkeit festgelegt werden.

- Mischroutine und die Spritzengeschwindigkeit mit der Chromatografie-Software konfigurieren.
- Maximal 15 Schritte innerhalb einer Mischroutine konfigurieren.

Drei Aktionsarten sind möglich:

- 1. Hinzufügen (Add)
- 2. Mischen (Mix)
- 3. Warten (Wait)

#### Hinzufügen

Beim Hinzufügen wird das definierte Volumen entweder aus dem Probenfläschchen, dem Fläschchen mit *Reagent A* oder mit *Reagent B* oder mit Spülflüssigkeit gesaugt und in das Ziel-Fläschchen abgegeben.

Hinweis

Zur Vermeidung von Verschleppungen entnimmt der Autosampler dem entsprechenden Probenfläschchen 125% des angegebenen Volumens und nutzt die zusätzlichen 25% zum Spülen von Schlauch und Nadel.

Mischen

Beim Mischen wird der Inhalt eines bestimmten Probenfläschchens durch n-maliges Ansaugen und Abgeben des definierten Volumens gemischt. Ist kein Zielfläschchen definiert, erfolgt das Mischen im aktuellen Probenfläschchen.

**Hinweis** 

Bei Eingabe des *Sample Vials* wird automatisch das *Destination Vial* genutzt.

Warten

Beim Warten wird die Ausführung des nächsten Programmschritts zur Gewährleistung einer Reaktionszeit um die programmierte Zeit verzögert.

## Beispiel: Hinzufügen

Der Befehl *ADD 100 µl from Reagent A to Destination* (100 µl *Reagenz A* zum Zielfläschchen hinzufügen) löst folgende Schritte aus:

- 1. Ansaugen eines Luftsegments von 5  $\mu$ l um die Spüllösung im Pufferschlauch vom *Reagent A* zu trennen.
- 2. Ansaugen von 50 μl *Reagent A* zum Spülen von Schlauch und Nadel.
- 3. Leeren der Spritze durch den Abfallschlauch in den Abfallbehälter.
- 4. Ansaugen von 100 µl *Reagent A* und Abgabe in das Zielfläschchen.
- 5. Spülen von Schlauch und Nadel mit Spüllösungsmittel.

## Beispiel: Mischen

Bei einer vorausgehenden Aktion *ADD ... to Destination* wird im Zielfläschchen gemischt. Bei einer vorausgehenden Aktion *ADD to Sample* wird im Probenfläschchen gemischt.

Der Befehl MIX 3 times with 100  $\mu$ l (dreimal mit 100  $\mu$ l mischen) löst folgende Schritte aus:

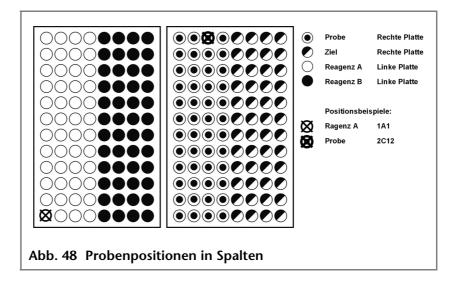
- 1. Ansaugen eines Luftsegments von 50 µl um die Spüllösung im Pufferschlauch von der zu mischenden Probenlösung zu trennen.
- 2. Leeren der Spritze durch den Abfallschlauch in den Abfallbehälter
- 3. Ansaugen von 100 µl Lösung und Abgabe in das gleiche Probenfläschchen.
- 4. Zweimaliges Wiederholen des 3. Schritts.
- 5. Spülen von Schlauch und Nadel mit Spüllösungsmittel.

## Probenpositionen in der Mischroutine

Bei der Konfiguration von Mischroutinen sind die Positionen der Probenfläschchen davon abhängig, ob die Bearbeitung der Probenplatten in Reihen oder Spalten erfolgt.

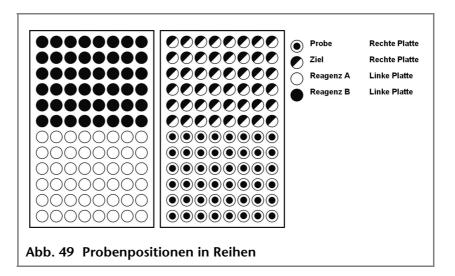
#### Bearbeitung in Spalten

Bei der Bearbeitung in Spalten sind folgende Positionen für *Probe, Ziel, Reagenz A* und *Reagenz B* möglich:



#### Bearbeitung in Reihen

Bei der Bearbeitung in Reihen sind folgende Positionen für *Probe, Ziel, Reagenz A* und *Reagenz B* möglich:

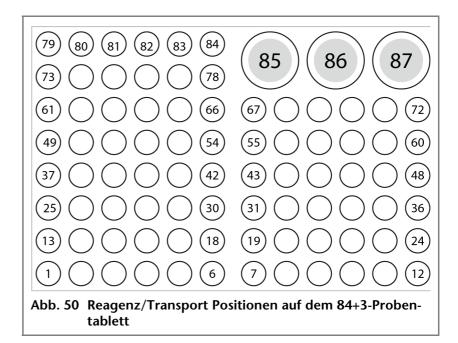


# Parameter für die Mischmethode mit dem 84+3-Probentablett

Um das 84+3-Probentablett zu verwenden, müssen die Probentablett-Einstellungen in der Software geändert werden.

Für das 84+3-Probentablett sind die Positionen der Proben wie folgt festgelegt:

Position der ersten zu bearbeitenden Probe:	Fläschchenpositio- nen 1-84
Position der letzten zu bearbeitenden Probe:	Fläschchenpositio- nen 1-84
Erste zu bearbeitende Zielposition:	Fläschchenpositio- nen 1-84
Reagenzpositionen:	Fläschchenpositio- nen 85-87



Der Probenbereich wird durch die Definition der ersten und letzten Probe angegeben. Derselbe Bereich kann auch für die Zielfläschchen verwendet werden. Die Reagenzpositionen sind fix (Fläschchen 85, 86, 87).

## Details zur Programmierung für die 84+3 Mischmethode

- Die Position der Reagenzfläschchen kann programmiert werden. Mögliche Positionen sind 85, 86 und 87. Die Standardpositionen für die Transportfläschchen sind 86 für Reagenz A und 87 für Reagenz B. Die Anlage berechnet das erforderliche Reagenzvolumen. Bitte stellen Sie beim Start der Anlage stets sicher, dass die Fläschchen mindestens 8000 µl enthalten.
- Die Füllstände der Reagenzflüssigkeit werden bei Start eines Laufes nicht zurückgesetzt. Um eine Verunreinigung der Luftnadel zu vermeiden, hält die Nadel im Reagenzfläschchen auf der oberen Position an.
- Bei Bearbeitung einer Probenserie bzw. einer Probe pro Reihe berücksichtigt der Autosampler das verbleibende Volumen der Reagenzien während des Laufs. Unterschreitet das Volumen den Wert von 4000 μl, fährt die Nadel tiefer in das Reagenzfläschchen. Wenn die Menge der Reagenzien den Wert von 0 μl erreicht, meldet der Autosampler Fehlercode 370 (nicht genügend Reagenzflüssigkeit vorhanden).
- Die Füllmengen für die Reagenzflüssigkeit werden durch die Neuprogrammierung des Modus zurückgesetzt.
- Reagenz wird nur von der programmierten Position entnommen. Die Nadel fährt nicht automatisch zu einem anderen Reagenzfläschchen. Wenn ein Reagenz von den beiden anderen Fläschchen entnommen werden soll, so ist diese Einstellung zu programmieren.

## Kapillar- und Schlauchanschlüsse

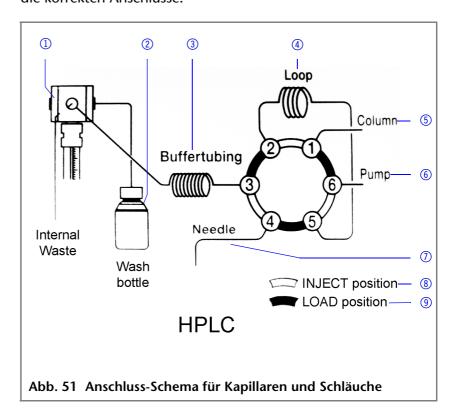
Hinweis

Vor dem Anschließen der Säule System spülen.

Das Anschluss-Schema im Innenteil des Autosamplers illustriert die korrekten Anschlüsse:

#### Legende

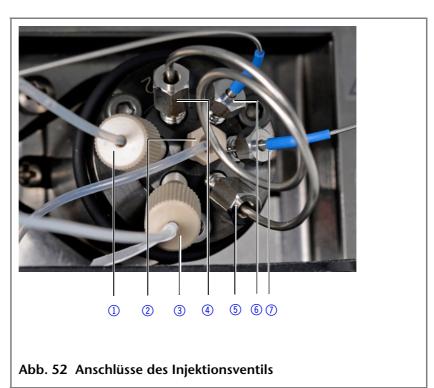
- Abfallschlauch
- Spülflüssigkeitsbehälter
- 3 Pufferschlauch
- 4 Probenschleife
- Säule
- 6 Pumpe
- 1 Injektionsnadel
- 8 Position: Injektion
- Position: Laden



## Injektionsventil anschließen

#### Legende

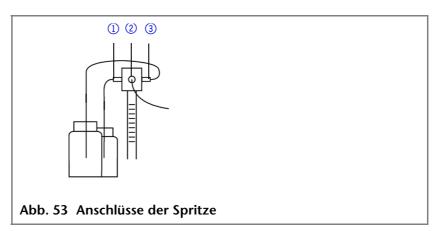
- Anschluss Pufferschlauch zur Spritze
- ② Ablauf für ILD<sup>TM</sup>-Ventil
- 3 Anschluss Kunststoff-Kapillare zur Injektionsnadel
- 4 Anschluss Probenschleife
- 5 Anschluss Probenschleife
- 6 Anschluss Edelstahlkapillare zur Säule
- Anschluss Edelstahlkapillare zur Pumpe



## Spritze anschließen

#### Legende

- Anschluss des Schlauchs für die Transportflüssigkeit
- ② Anschluss Pufferschlauch
- 3 Anschluss des Schlauchs für das Spüllösungsmittel



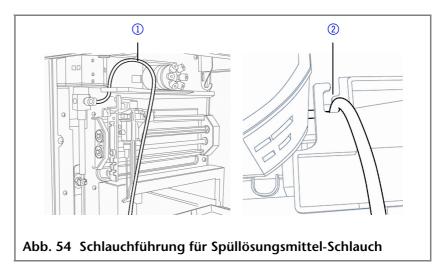
### Schlauchführung für Spüllösungsmittel

Hinweis

Schlauchführung im Auffangbehälter für Spüllösungsmittel nutzen, um die waagerechte Bewegung der Nadeleinheit nicht zu behindern.

#### Legende

- Schlauchführung für Spüllösungsmittel
- Auffangbehälter mit Aussparung für Schlauchführung (Spüllösungsmittel)



## Ableitungsschläuche anschließen

Die Ableitung für den Abfall dient dem Abtransport aller Spülflüssigkeiten und nicht injizierter Probenlösungen.

- Kondenswasser- und Abfallschlauch an der Geräte-Vorderseite anschließen.
- Adapter anschließen und das Schlauchende in einen Behälter führen, der auf dem Boden steht.

#### Hinweis

Darauf achten, dass die Ableitungsschläuche nicht geknickt sind, damit die Flüssigkeit abfließen kann.

#### Legende

- Schlauch für Abfallflüssigkeit
- Schlauch für Kondenswasser
- 3 Adapter für Ableitungsschlauch

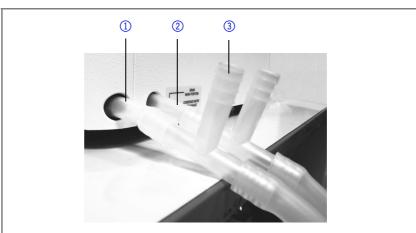


Abb. 55 Ableitungsschläuche anschließen

#### PEEK-Anschlüsse

Einwegartikel PEEK-Schraubverbindungen

- Einteilige Einwegartikel aus Polyetheretherketon (PEEK) für die einfachere Montage von flexiblen Kapillaren (Außendurchmesser 0,5 mm)
- Anzugsmoment der PEEK-Schraube: von Hand festgeschraubt (ca. 0,5 Nm)

## Autosampler mit anderen Geräten verbinden

# Steuerung des Autosamplers mit Chromatografie-Software

Der Autosampler wird direkt mit Chromatografie-Software gesteuert, zum Beispiel OpenLAB<sup>®</sup> und ClarityChrom<sup>®</sup> von KNAUER.

Autosampler über den LAN-Anschluss auf der Geräte-Rückseite mit dem Netzwerk verbinden.

## Parameter des Autosamplers prüfen und einstellen

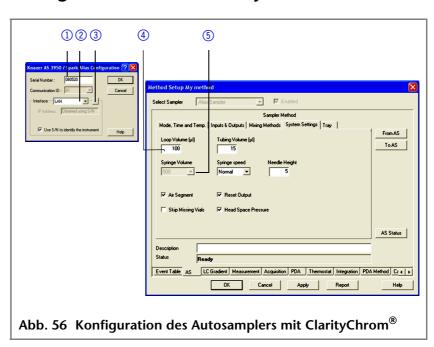
In der Chromatografie-Software werden die Parameter des Autosamplers eingestellt; zum Beispiel mit ClarityChrom<sup>®</sup>:

- 1. Autosampler im lokalen Netzwerk (LAN) auswählen.
- 2. Spritzenvolumen (Syringe volume) einstellen, wahlweise 250 µl (Standard) oder 500 µl.
- 3. Seriennummer des Autosamplers eingeben.
- 4. Kühloption auswählen, wenn der Autosampler mit einer Probenkühlung ausgestattet ist.

## Konfigurationsfenster ClarityChrom®

#### Legende

- Seriennummer
- ② Geräteerkennung im lokalen Netzwerk
- ③ Manuelle Suche des Geräts im Netzwerk
- 4 Volumen der Probenschleife
- 5 Volumen der Spritze



## **Autosampler Geräte-Software**

Dem Autosampler ist eine Software-CD mit dem Autosampler 3950 Service Manager beigefügt. Mit dieser Software kann das Gerät geprüft und gesteuert werden. Diese Einstellungen können ebenfalls mit der Chromatografie-Software vorgenommen werden, so dass es nicht zwingend erforderlich ist, den Service Manager zu installieren.

## Waschen des Systems

Vor dem Anschließen der Säule sollte das System gewaschen werden. Das Waschen des Systems kann mit der Chromatografie-Software oder dem *Autosampler 3950 Service Manager* gesteuert werden.

#### **Hinweis**

KNAUER empfiehlt als Waschlösung eine Mischung aus Wasser und Isopropanol (80%/20%) oder die Verwendung der mobilen Phase.

Die folgenden Schritte werden bei Einsatz des Service Manager erläutert.

## Systemspülung mit *Autosampler 3950 Service Manager*

- 1. Autosampler 3950 Service Manager installieren.
- 2. Waschlösung in eine Lösungsmittelflasche füllen und mit Helium oder in einem Ultraschallbad entgasen.
- 3. Schlauch für die Waschflüssigkeit in die Lösungsmittelflasche einführen.
- 4. Menü *Alias⇒Direct Control* auswählen.
- 5. Im Feld *Syringe* auf *End* klicken. Ein Spritzenvolumen wird durch den Waschflüssigkeits-Schlauch in die Spritze gesaugt.
- 6. Im Feld *Syringe* auf *Home* klicken. Der Spritzen-Inhalt wird in den Abfallschlauch entleert.
- 7. Schritt 5 und 6 wiederholen, bis Spritze und Waschflüssigkeits-Schlauch vollständig gefüllt sind.
- 8. Im Feld *Initial wash* auf *Start* klicken. Alle Schläuche, die mit der Spritze verbunden sind, werden gewaschen.
- 9. Im Feld *Initial wash* auf *Stop* klicken.
- 10. Auf *Close* klicken, um das Fenster *Direct Control* zu verlassen.

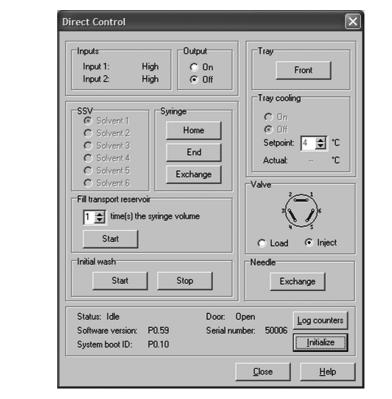


Abb. 57 Systemspülung mit der Service Manager Software

### I/O-Anschluss

Der Autosampler hat standardmäßig einen I/O-Anschluss, der TTL-Eingänge (low-aktiv) und einen Kontaktschlussausgang unterstützt. Geräte ohne LAN- Anschluss, welche ein Triggersignal für die Injektion benötigen, können über den I/O-Anschluss verbunden werden.

Die TTL-Eingänge ermöglichen die Steuerung des Autosamplers durch andere Geräte und werden über die Instrumentenmethode der Chromatografie-Software definiert.

**Hinweis** 

Autosampler nur an Geräte anschließen, welche die erforderlichen Sicherheitsstandards erfüllen!

### TTL-Eingänge definieren

- Next Injection Input: Injektionssequenz wird gestartet. Nach dem Ende der Injektionssequenz wartet der Autosampler auf das nächste Startsignal.
- Freeze Input: Die Analysenzeit wird angehalten. Der Autosampler führt das konfigurierte Programm bis zur Füllung der Probenschleife aus. Die Injektion erfolgt jedoch erst, wenn der Eingang deaktiviert wird.
- Stop Input: Bricht einen Analyse-Vorgang sofort ab.

#### Kontaktschlussausgang definieren

- Inject Marker: Kontaktschlussausgang wird aktiviert, wenn das Injektionsventil von LOAD zu INJECT schaltet.
- Alarm: Kontaktschlussausgang wird aktiviert, wenn ein Fehler am Autosampler auftritt.
- Auxiliary: -

## Belegung I/O-Anschluss (9-polig)

Erläuterung	Kabelfarbe
1. Ausgang, Injektion starten	rot im dreiadrigen Kabel
2. Ausgang, Injektion starten	schwarz im dreiadrigen Kabel
3. Eingang 1, programmierbarer Eingang zum An-hal- ten der Injektionen (low-aktiv)	rot im vieradrigen Kabel
4. Eingang 2, program- mierbarer Eingang zum An-halten der Injektionen (low- aktiv)	schwarz im vieradrigen Kabel
5. Nicht belegt	-
6. Ausgang	braun im dreiadrigen Kabel
7. Nicht belegt	-
8. Masse, für Eingang 1 und 2	orange im vieradrigen Kabel
9. Masse, für Eingang 1 und 2	braun im vieradrigen Kabel

## Gerätetest

Um eine gleichbleibende hohe Qualität der Analysenergebnisse zu erzielen, ist die Reproduzierbarkeit des Probenvolumens von entscheidender Bedeutung.

- Regelmäßig das Leistungsspektrum des Autosamplers mit Chromatografie-Software testen.
- Wenn der Gerätetest ergibt, dass der Autosampler nicht die Anforderungen erfüllt, das Gerät als defekt kennzeichnen und nicht mehr einsetzen.
- Erst nach Wartung bzw. Reparatur und Gerätetest den Autosampler wieder einsetzen.

#### **Testintervall**

Gerätetest in folgenden zeitlichen Abständen durchführen:

- Durchschnittliche Nutzung von 1-5 Tage/Woche: Gerätetest alle 6 Monate
- Durchschnittliche Nutzung mehr als 5 Tage/Woche bzw. 24 Stunden/Tag: Gerätetest alle 3 Monate
- Betrieb mit Pufferlösungen oder sonstigen Salzlösungen: Gerätetest alle 3 Monate

## Geräte und Komponenten für den Test

- Autosampler 3950, Standardversion mit 10 μl Probenschleife und 250 μl Spritze
- HPLC-Pumpe, 1 ml/min Flussrate
- UV-Detektor (Datenrate möglichst 50 Hz, anderenfalls 10 Hz, Messzelle: 10 mm Pfadlänge)
- Chromatografie-Software
- Fließmittel: 90 % Wasser, 10 % Methanol (HPLC-Qualität)
- Testlösung (Probe):
  - a: 50 ppm Uracil, gelöst in Wasser (HPLC-Qualität)
  - b: 250 ppm Uracil, gelöst in Wasser (HPLC-Qualität)
- Waschflüssigkeit:
  - 80 % Wasser, 20 % Isopropanol (HPLC-Qualität)
  - alternativ: 80 % Wasser, 20 % Methanol (HPLC-Qualität)
- Restriktionskapillare:
  - Innendurchmesser 0,25 mm
  - Länge 200 cm

**Hinweis** 

Fließmittel entgasen, um Funktionsstörungen durch vorhandene Luftblasen zu vermeiden.

## 1. Reproduzierbarkeit des Probenvolumens

Der Variationskoeffizient darf 0,5 % nicht überschreiten.

- HPLC-Pumpe, UV-Detektor und Autosampler mit der Chromatografie-Software konfigurieren
- 10 μl Testlösung a (50 ppm Uracil, gelöst in Wasser) injizieren

#### Standardeinstellung des Autosamplers

Loop volume: 10 µl
 Tubing volume: 15 µl
 Syringe volume: 250 µl

#### Methoden-Parameter der Pumpe

Flow: 1 ml/minTime: 1 min

#### Methoden-Parameter des Autosamplers

Injection method: Partial loopfill

Syringe speed: normal

Flush volume: 30 μl, (40 μl bei Mikrotiterplatten)

Needle Wash: active 2 times

Air segment: yes

Headspace pressure: yes

Injections/vial: 9 (7 for micro titer plates)

Inj. volume: 2 μl

Vial Position: 1A1. Start the single run with

#### Methoden-Parameter des UV-Detektors

Wavelength: 254 nm

Sampling rate: möglichst 50 Hz, anderenfalls 10 Hz

Time: 0,5 min

## Wiederholungsläufe des Autosamplers konfigurieren

Injections/vial: 9x (7x bei Mikrotiterplatten)

Inj. volume: 1 μl

## Wiederholungsläufe starten

- 1. Fläschchen mit mindestens 500 µl Testlösung auf Position *1A1* der Probenplatte stellen.
- 2. Wiederholungsläufe starten.

#### Einzelchromatogramme auswerten

- 1. Mittelwert der Messwerte der Peak-Flächen berechnen.
- 2. Variationskoeffizient  $VK_1$  berechnen.
- 3. Ergebnisse in das Formular Test Report eintragen.

## Formel zur Ermittlung des arithmetischen Mittelwerts

$$\frac{1}{Peakareas} = \frac{\sum_{i=1}^{n} Peakareas_{i}}{n}$$

• Formel zur Ermittlung der Standardabweichung (i = 1-9):

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum (Peakarea_i - \overline{Peakareas})^2}{n-1}}$$

Formel zur Ermittlung des Variationskoeffizienten:

$$VK_1 = \frac{\sigma_{n-1}}{\overline{peakarea}} \times 100\%$$

## 2. Probenverschleppung

Die Probenverschleppung darf 0,3 % nicht überschreiten.

- Abwechselnd 10 μl Testlösung b (250 ppm Uracil, gelöst in Wasser) und Fließmittel injizieren
- Position Probenfläschchen: 1A1
- Position Fließmittel: 1A2
- Injektionsvolumen: 1 μl

### Sequenz mit 6 Zeilen erstellen

Testlösung: Position 1A1

Fließmittel: Position 1A2

Injektionsvolumen: 1 μl

Wiederholungen: 1

Hinweis

Bei Mikrotiterplatten 6 fortlaufenden Positionen wählen, die abwechselnd mit Testlösung und Fließmittel befüllt werden.

#### Einzelchromatogramme auswerten

- 1. Mittelwert der Messwerte der Peak-Flächen berechnen.
- 2. Mittelwert der Fließmittelinjektion ins Verhältnis setzen zum Mittelwert der Testlösungsinjektion.
- 3. Ergebnisse in das Formular Test Report eintragen.

#### Formel zur Ermittlung der Probenverschleppung

$$PV = \frac{\sum_{i} \frac{Peakarea_{iFlie\betamittel}}{3}}{\sum_{i} \frac{Peakarea_{i}}{3}} \times 100 \%$$

## 3. Linearität

Um die Linearität zu bestimmen, wird der Korrelationskoeffizient der Regressionsgeraden aus den Messwerten der *Peak*-Flächen und des Injektionsvolumens ermittelt.

Der Korrelationskoeffizient darf 0,998 % nicht überschreiten.

- Jeweils 10, 20, 30, 40 und 50 μl Testlösung b (250 ppm Uracil, gelöst in Wasser) injizieren
- Position Probenfläschchen: 1A1
- Injektionsvolumen: 10 μl, 20 μl, 30 μl, 40 μl, 50 μl
- Wiederholung: 3

**Hinweis** 

Bei Mikrotiterplatten fortlaufende Positionen mit Testlösung befüllen.

### Einzelchromatogramme auswerten

- Korrelationskoeffizient r der Regressionsgeraden aus den Messwerten der Peak-Flächen und des Injektionsvolumens berechnen.
- 2. Ergebnisse in das Formular *Test Report* eintragen.

#### Formel zur Ermittlung des Korrelationskoeffizienten

$$r = \frac{\sum x_i y_i - n\overline{x}\overline{y}}{\sqrt{\left(\sum x_i^2 - n\overline{x}^2\right)\left(\sum y_i^2 - n\overline{y}^2\right)}}$$

 $y_i = Y$ -Wert von Messwert i (Injektionsvolumen)

 $x_i = X$ -Wert von Messwert i (Peakfläche)

 $\overline{y}$  = arithmetisches Mittel von Y über alle n Messwerte

 $\overline{x}$  = arithmetisches Mittel von X über alle n Messwerte

n = Anzahl der Messwertepaare

#### 4. Mischtest

Zur Erstellung einer Mischmethode den Anweisungen im Handbuch der Chromatografie-Software folgen.

- Der Variationskoeffizient VK<sub>2</sub> für Testlösung darf 0,5 % nicht überschreiten.
- Der Variationskoeffizient VK<sub>3</sub> für Verdünnung darf ≤ 0,5 % nicht überschreiten.
- Der Verdünnungsfaktor F10 soll im Bereich 9,85 < x < 10,25 liegen.</p>
- Testlösung: 10 μl (50 ppm Uracil, gelöst in Wasser)
- Zur Injektion der Verdünnung unter Mix methods eine Mischmethode erstellen, bei der 40 μl der Testlösung mit 360 μl Fließmittel gemischt werden.
  - Verdünnung: 10 μl, 5 ppm Uracil in deionisiertem Wasser gelöst
- Jeweils dreimal 10 μl Testlösung und 10 μl Verdünnung injizieren.

### Sequenz mit 2 Zeilen erstellen

Injektionsvolumen: 1 μl

Wiederholungen: 3

#### Fläschchen für Verdünnung positionieren

- Option Columns (Spalten) in der Chromatografie-Software zur Positionierung der Fläschchen auf den Probenplatten auswählen.
- Fläschchen mit Testlösung (*Probe*) auf Position *2A1* der Probenplatte stellen.
- Leeres Fläschchen (Ziel) auf Position 2A5 der Probenplatte stellen.
- Fläschchen mit Fließmittel (*Reagenz A*) auf Position *1A1* der Probenplatte stellen.

#### Hinweis

Platteneinteilung für die Fläschchen beachten (*Probe, Reagenz A, Reagenz B, Ziel*).

#### Einzelchromatogramme auswerten

- 1. Mittelwert der Messwerte der *Peak*-Flächen für Testlösung und Verdünnung berechnen.
- 2. Variationskoeffizient VK<sub>2</sub> berechnen.
- 3. Variationskoeffizient VK<sub>3</sub> berechnen.
- 4. Verdünnungsfaktor *F10* aus dem Verhältnis der Mittelwerte der *Peak*-Flächen der Testlösung und der Verdünnung berechnen.
- 5. Ergebnisse in das Formular Test Report eintragen.

## **Archivierung**

- Alle Testergebnisse in das Formular Test Report eintragen.
- Seriennummer, Datum des Tests, Datum des nächsten Tests und Name des Testers eintragen.
- Formular *Test Report* im Gerätelogbuch abheften.

## **Test Report**

Modul	Autosampler	
Autosampler 3950	Standard	Probenkühlung
Seriennummer		

Nr.	Test	Einstellung	Spezifikation	Ergebnis
1	Reproduzierbarkeit	<ul> <li>Neunmal 10 µl         Testlösung injizie-         ren.</li> <li>Mikrotiterplatte:         siebenmal 10 µl         Testlösung injizie-         ren.</li> </ul>	<i>VK</i> <sub>1</sub> ≤ 0,5 %	
2	Verschleppung	Dreimal abwechselnd 10 µl Testlösung und 10 µl Fließmittel injizieren.	<i>PV</i> ≤ 0,3 %	
3	Linearität	Jeweils dreimal 10, 20, 30, 40 und 50 µl Test- lösung injizieren.	r≥0,998	
4	Mischtest	Jeweils dreimal 10 µl Testlösung und vom Autosampler erzeugte 10 µl Verdünnung injizieren.	$VK_2 \le 0.5 \%$ $VK_3 \le 0.5 \%$ F10: 9,85 < x < 10,25	

Datum nächster Gerätetest:

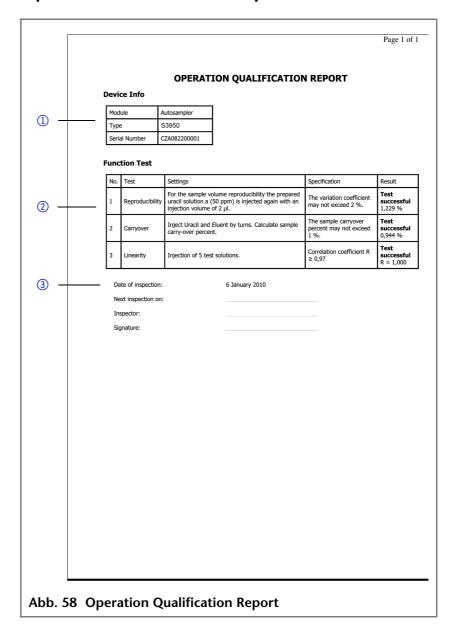
Tester:

Datum:

## **Operation Qualification Report**

#### Legende

- Detailinformationen des Autosamplers
- ② Detaillierter Funktionstest
- ③ Datum und Felder für Unterschrift und weitere Hinweise



## Wartung und Pflege

#### Kontakt zur Kundenbetreuung

Die technische Kundenbetreuung ist auf folgenden Wegen zu

erreichen:

**Telefon** +49 30 809727-111

Fax +49 30 8015010

**E-Mail** support@knauer.net

Anfragen können in Englisch oder Deutsch gestellt werden.

## Wartungsvertrag

Folgende Wartungsarbeiten am Gerät sind ausschließlich von KNAUER oder einer von KNAUER autorisierten Firma auszuführen und Teil eines separaten Wartungsvertrags:

- Gerät öffnen
- Gehäuseteile entfernen

# Was darf ein Anwender am Gerät warten?

Folgende Wartungen können Anwender selbständig durchführen:

- Sicherungen wechseln
- Luft- und Probennadel wechseln
- Injektionsventil wechseln
- Probenschleife wechseln
- Rotordichtungen wechseln
- Kapillare und Schläuche wechseln



#### **VORSICHT!**

Wartungsarbeiten an eingeschalteten Geräten können zu Geräteschäden führen. Netzschalter ausschalten und Netzstecker ziehen.

# Leckagen an den Kapillarverschraubungen

**Hinweis** 

Treten nach Wartungsmaßnahmen und ordnungsgemäßer Montage an den Kapillarverschraubungen Leckagen auf, sind diese durch neue Verbindungskapillaren zu ersetzen.

## Sicherungen wechseln

- 1. Autosampler ausschalten und Netzstecker entfernen, um das Gerät vollständig von der Stromversorgung zu trennen.
- 2. Sicherungen aus dem Sicherungsfach auf der Geräte-Rückseite nehmen.
- 3. Neue Sicherungen einsetzen (2 x 2,5 A).
- 4. Netzstecker einstecken.

# Wechsel des Injektionsventils und der Rotordichtung

- Rotordichtung des Injektionsventils regelmäßig reinigen
- Rotordichtung regelmäßig wechseln (ca. alle drei Jahre)
- Frontverkleidung des Autosamplers entfernen
- Kapillaranschlüsse mit Ausnahme der Probenschleife vom Ventil entfernen
- Beim Ausbau alle Schrauben nacheinander jeweils um eine halbe Drehung lösen, bis sie entfernt werden können

Hinweis

Nicht die Schraube entfernen, welche sich in der Aussparung der Abdeckplatte diagonal zum Ventil befindet!

## Injektionsventil und Rotordichtung ausbauen

#### Vorgehensweise

## **Ablauf Abbildung** 1. Mit einem Schraubendreher die Schraube 1 auf beiden Seiten der Halterung des Injektionsventils herausdrehen. 2. Injektionsventil entfernen. 3. Mit einem Schrau-Abb. 59 Injektionsventil ausbauen bendreher Innensechskant die Schrauben ② aus dem Stator 3 herausdrehen. 4. Vorsichtig den Stator entfernen. 5. Rotordichtung 4 vom Rotor (5) entfernen. 6. Rotordichtung reini-Abb. 60 Rotordichtung entfernen gen oder wechseln.

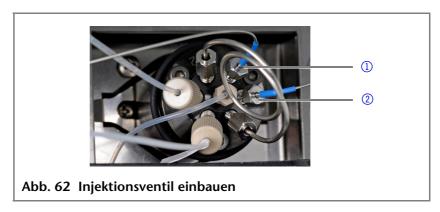
Abb. 61 Rotor und Rotordichtung

#### Injektionsventil einbauen

- Injektionsventil beim Einbau mit der Bohrung für den Anschluss der Stahlkapillare zur Pumpe (Port 1) nach oben halten
- Alle Schrauben abwechselnd jeweils um eine halbe Drehung festdrehen, bis alle Schrauben festgedreht sind

#### Legende

- Beschriftung Port 1
- ② Anschluss der Kapillare zur Pumpe



#### Vorgehensweise

- 1. Rotordichtung einsetzen.
- 2. Ventil-Statorblock auf den Ventil-Rotor setzen und mit einem Innensechskantschlüssel die Schrauben eindrehen.
- 3. Injektionsventil einsetzen und mit einem Schraubendreher die Schraube auf beiden Seiten des Ventilgehäuses eindrehen
- 4. Kapillare wieder anschließen.

## Systemspülung

#### Vorgehensweise

- 1. Autosampler an die Stromversorgung anschließen.
- 2. Verbindung zum PC herstellen.
- 3. Autosampler 3950 Service Manager starten.
- 4. Menü Alias⇒Direct Control auswählen.
- 5. Auf *Initialize* klicken um zu prüfen, ob sich das Ventil korrekt in der Position Inject befindet.
- 6. Im Feld *Initial Wash* auf *Start* klicken, um eine Systemspülung durchzuführen.
- 7. Im Feld *Initial wash* auf *Stop* klicken, um die Systemspülung zu beenden.

#### Probenschleife wechseln

Der Autosampler ist standardmäßig mit einer 10 µl Probenschleife ausgestattet.

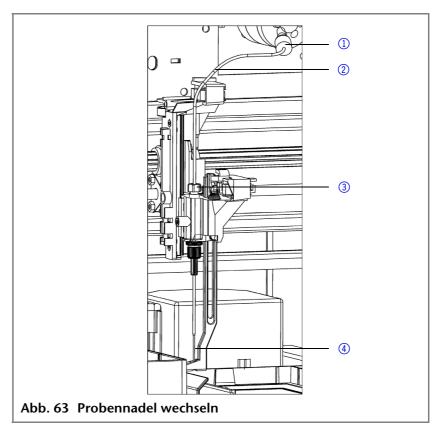
- Bei der Montage einer Probenschleife mit anderem Injektionsvolumen auf die richtige Kombination von Spritze und Kapillaren achten und die Konfigurierung der Steuerungs-Software anpassen
- Probenschleife immer an Port 2 und 5 des Injektionsventils anschließen
- Maximales Injektionsvolumen nach folgenden Gleichungen berechnen:
  - Vollschleifeninjektion:
     Maximales Injektionsvolumen = 3-faches Schleifenvolumen für Schleifen mit 100 μl, 2-faches Schleifenvolumen für Schleifen mit 100–500 μl, 1,5-faches Schleifenvolumen für Schleifen über 500 μl
  - Partielle Schleifen-Injektion:
     Maximales Injektionsvolumen = 50 % Schleifenvolumen
  - Mikroliter Pick-up Injektion:
     Maximales Injektionsvolumen = 50 % Schleifenvolumen 3-faches Nadelvolumen

#### Probennadel wechseln

- Darauf achten, das bei der Verwendung von Probenplatten mit 12 oder 48 Probenfläschchen die Einstellung der Nadelhöhe > 2 mm ist, um die Berührung des Probenfläschchen-Bodens durch die Nadel zu vermeiden
- Verschraubung nur handfest anziehen, um eine Blockierung der Kunststoff-Kapillare zu vermeiden

#### Legende

- Verschraubung
- ② Kunststoff-Kapillare
- 3 Überwurfmutter
- 4 Probennadel



#### Vorgehensweise

- 1. Autosampler 3950 Service Manager starten.
- 2. Menü Alias⇒Direct Control auswählen.
- 3. Im Feld *Needle* auf *Exchange* klicken. Die Nadel bewegt sich in die Austauschposition.
- 4. Überwurfmutter 3 lösen.
- 5. Verschraubung ① der Kunststoff-Kapillare ② am Injektionsventil lösen.
- 6. Probennadel @ mit der Kunststoff-Kapillare entfernen.
- 7. Neue Probennadel-Einheit installieren. Darauf achten, dass der Luftverschluss die Probennadel ganz umgibt.
- 8. Probennadel mit der Überwurfmutter fixieren.
- 9. Kunststoff-Kapillare mit der Verschraubung am Injektionsventil befestigen.
- 10. Im Fenster *Direct Control* auf *Initialize* klicken. Die Nadel bewegt sich in die Ausgangsposition.
- 11. Im Feld *Initial Wash* auf *Start* klicken, um eine Systemspülung durchzuführen.

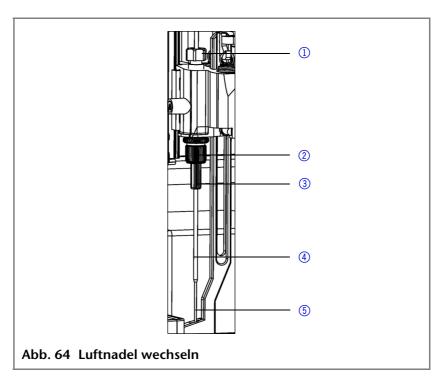
- 12.Im Feld *Initial Wash* auf *Stop* klicken, um die Systemspülung zu beenden.
- 13. Auf Close klicken, um das Fenster Direct Control zu verlassen.
- 14. *Menü Alias⇒Adjustments* wählen.
- 15. Im Reiter *Needle-Tray* die Einstellungen für die Probenplatten aktualisieren.

#### Luftnadel wechseln

- Darauf achten, dass beim Wechsel der Luftnadel das Gewinde der neuen Höhen-Einstellschraube mit der Unterkante der Sicherungsmutter bündig ist.
- Darauf achten, dass sich der Dichtungsring in der Sicherungsmutter befindet.

#### Legende

- Überwurfmutter
- ② Sicherungsmutter
- 3 Höhen-Einstellschraube
- 4 Luftnadel
- 6 Probennadel



#### Vorgehensweise

- 1. Autosampler 3950 Service Manager starten.
- 2. Menü Alias⇒Direct Control wählen.
- 3. Im Feld *Needle* auf *Exchange* klicken. Die Nadel bewegt sich in die Austauschposition.
- 4. Überwurfmutter ① lösen.
- 5. Verschraubung der Kunststoff-Kapillare am Injektionsventil lösen.
- 6. Probennadel 5 mit der Kunststoff-Kapillare entfernen.
- 7. Sicherungsmutter ② lösen und zusammen mit der Luftnadel ④ nach unten abziehen.
- 8. Sicherungsmutter von der Höhen-Einstellschraube ③ abschrauben.

- 9. Neue Luftnadel mit neuer Höhen-Einstellschraube in die Sicherungsmutter schrauben.
- 10. Sicherungsmutter einschrauben.
- 11. Probennadel einsetzen und mit der Überwurfmutter fixieren.
- 12. Kunststoff-Kapillare mit der Verschraubung am Injektionsventil befestigen.
- 13. Im Fenster *Direct Control* auf *Initialize* klicken. Die Nadel bewegt sich in die Ausgangsposition.
- 14. Im Feld *Initial Wash* auf *Start* klicken, um eine System-spülung durchzuführen.
- 15.Im Feld *Initial Wash* auf *Stop* klicken, um die Systemspülung zu beenden.
- 16. Auf Close klicken, um das Fenster Direct Control zu verlassen.
- 17. Menü Alias ⇒ Adjustments auswählen.
- 18.Im Reiter *Needle-Tray* die Einstellungen für die Probenplatten aktualisieren.

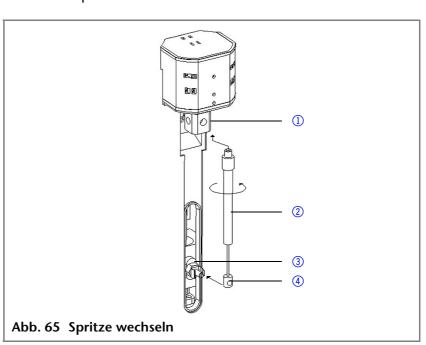
## Spritze wechseln

Der Autosampler ist standardmäßig mit einer 250 µl Spritze ausgestattet.

Isopropanol als Waschflüssigkeit verwenden, um Luftblasen aus der neuen Spritze zu entfernen.

#### Legende

- Spritzenventil
- ② Spritze
- ③ Spritzenantrieb
- 4 Spritzenkolben



#### Spritze wechseln

- 1. Autosampler 3950 Service Manager starten.
- 2. Menü Alias⇒Direct Control wählen.
- 3. Im Feld *Syringe* auf *Exchange* klicken. Der Spritzenkolben wird abgesenkt.
- 4. Spritze ② durch Linksdrehung abschrauben; Verbindungsstück im Spritzenventil ① belassen.

- 5. Spritzenkolben @ aus dem Spritzenantrieb ③ entfernen.
- 6. Neue Spritze mit Waschflüssigkeit füllen.
- 7. Spritzenkolben in den Spritzenantrieb setzen.
- 8. Spritze durch Rechtsdrehung im Spritzenventil festschrauben.
- 9. Im Feld *Syringe* auf *Home* klicken. Der Spritzeninhalt wird in den Abfallschlauch entleert.
- 10. Ist noch Luft in der Spritze, im Feld *Syringe* auf *End* klicken. Ein Spritzenvolumen wird durch den Waschflüssigkeits-Schlauch in die Spritze gesaugt.
- 11. Im Feld *Syringe* auf *Home* klicken. Der Spritzeninhalt wird in den Abfallschlauch entleert.
- 12. Leicht an den Spritzenkörper klopfen, wenn weiterhin Luft in der Spritze ist und gegebenenfalls 10. und 11. Schritt wiederholen.
- 13. Im Feld *Initial Wash* auf *Start* klicken, um eine Systemspülung durchzuführen.
- 14. Im Feld *Initial wash* auf *Stop* klicken, um die Systemspülung zu beenden.
- 15. Auf Close klicken, um das Fenster Direct Control zu verlassen.

#### Spritzenkolben oder Kolbenspitze wechseln

- 1. Autosampler 3950 Service Manager starten.
- 2. Menü Alias⇒Direct Control wählen.
- 3. Im Feld *Syringe* auf *Exchange* klicken. Der Spritzenkolben wird abgesenkt.
- 4. Spritze entfernen (siehe oben).
- 5. Spritzenkolben aus dem Glaszylinder der Spritze ziehen.
- 6. Kolbenspitze mit einer Pinzette entfernen.
- 7. Neue Kolbenspitze mit Isopropanol befeuchten.
- 8. Neue Kolbenspitze auf den Spritzenkolben montieren.
- 9. Spritzenkolben in den Glaszylinder der Spritze schieben.
- 10. Spritze einbauen (siehe oben).
- 11.Im Feld *Syringe* auf *Home* klicken. Der Spritzen-Inhalt wird in den Abfallschlauch entleert.

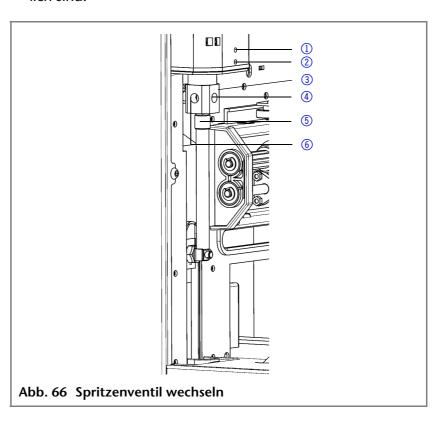
#### Spritzenventil wechseln

Das Spritzenventil hat vier Anschlüsse, davon bleibt ein Anschluss unbenutzt.

- Alle Verbindungen zum Spritzenventil mit handverschraubten Fittings herstellen.
- Ventil zum Auswechseln in die Waste-Position versetzen, da nur in dieser Position die Innensechskantschrauben zugänglich sind.

#### Legende

- Obere Innensechskantschraube
- ② Untere Innensechskantschraube
- ③ Anschluss Waschflüssigkeits-Schlauch (verdeckt)
- 4 Anschluss Pufferschlauch
- ⑤ Anschluss Spritze
- 6 Anschluss unbenutzt



#### Vorgehensweise

- 1. Autosampler 3950 Service Manager starten.
- 2. Menü Alias⇒Direct Control auswählen.
- 3. Im Feld *Syringe* auf *Exchange* klicken. Der Spritzenkolben wird abgesenkt.
- 4. Untere Innensechskantschraube um 2 Umdrehungen lösen.
- 5. Obere Innensechskantschraube um 2 Umdrehungen lösen.
- 6. Oberteil der Spritze herausziehen.
- 7. Spritze entfernen.
- 8. Spritzenventil wechseln.
- 9. Neue Spritze einsetzen.
- 10.Innensechskantschrauben festdrehen.

## Gerät reinigen und pflegen



#### **VORSICHT!**

Geräteschäden durch eintretende Flüssigkeiten möglich!

Lösungsmittelflaschen neben das Gerät oder in eine Flaschenwanne stellen. Reinigungstücher nur anfeuchten.

Alle glatten Oberflächen des Geräts können mit einer milden handelsüblichen Reinigungslösung oder mit Isopropanol gereinigt werden.

- Auffangbehälter und Probenplatten mit einem weichen Tuch reinigen
- Abfallschlauch regelmäßig mit Lösungsmittel spülen, um Ablagerungen zu beseitigen

## **Entsorgung**

Altgeräte oder demontierte alte Baugruppen können bei einem zertifizierten Entsorgungsunternehmen zur fachgerechten Entsorgung abgegeben werden.

AVV-Kennzeichnung in Deutschland Die Altgeräte der Firma KNAUER haben nach der deutschen Abfallverzeichnisverordnung (Januar 2001) folgende Kennzeichnung für Elektro- und Elektronik-Altgeräte: 160214

WEEE-Registrierungsnummer Die Firma KNAUER ist im Elektroaltgeräteregister (EAR) registriert unter der WEEE-Registrierungsnummer DE 34642789 in der Kategorie 8.

Allen Händlern und Importeuren von KNAUER-Geräten obliegt im Sinne der WEEE-Richtlinie die Entsorgungspflicht für Altgeräte. Endkunden können, wenn dies gewünscht wird, die Altgeräte der Firma KNAUER auf ihre Kosten (frei Haus) zum Händler, Importeur oder an die Firma KNAUER zurücksenden und gegen eine Gebühr entsorgen lassen.

Eluenten und andere Betriebsstoffe Alle Eluenten und anderen Betriebsstoffe müssen getrennt gesammelt und fachgerecht entsorgt werden.

Alle für die Fluidik notwendigen Baugruppen der Geräte, z. B. Messzellen bei Detektoren oder Pumpenköpfe und Drucksensoren bei Pumpen, sind vor der Wartung, der Demontage oder der Entsorgung zuerst mit Isopropanol und danach mit Wasser zu spülen.

## Fehlerbehebung

#### Gerätefehler

Gerätefehler treten unter anderem auf, wenn das Ventil nicht mehr funktioniert.

#### Ventil prüfen

Ventil ausbauen und alle Teile auf Verschleiß und Verunreinigung untersuchen. Nach der Problembeseitigung und dem Wiedereinbau des Ventils folgende Schritte ausführen:

#### Vorgehensweise

- 1. Menü Alias⇒Direct Control wählen.
- 2. Im Fenster *Direct Control* auf *Initialize* klicken. Die Nadel bewegt sich in die Ausgangsposition.
- 3. Im Feld *Initial Wash* auf *Start* klicken, um eine Systemspülung durchzuführen.
- 4. Im Feld *Initial wash* auf *Stop* klicken, um die Systemspülung zu beenden.
- 5. Auf Close klicken, um das Direct Control Fenster zu verlassen.

#### LAN

Softwarefehler können durch fehlerhafte Kommunikation zwischen den Geräten oder durch fehlerhafte Installation der Software entstehen.

#### Vorgehensweise

- 1. Kabelverbindungen prüfen.
- 2. Autosampler 3950 Service Manager starten.
- 3. Menü Alias⇒Direct Control wählen.
- 4. Im Fenster Direct Control auf Initialize klicken.

Prüfen Sie die folgenden Punkte, wenn über das LAN keine Verbindung zwischen Computer und Geräten hergestellt werden kann. Prüfen Sie nach jedem Punkt, ob das Problem behoben wurde. Wenn der Fehler nicht gefunden wird, rufen Sie die Technische Kundenbetreuung an.

- 1. Status der LAN-Verbindung in der Taskleiste von Windows prüfen:
  - 🔁 Verbindung hergestellt
  - Serbindung nicht hergestellt

Wenn keine Verbindung besteht, folgende Tests machen:

- Ist der Router eingeschaltet?
- Ist das Patch-Kabel am Router und am Computer korrekt angeschlossen?

2.	Routereinstellungen prüfen:	
	Ist der Router als DHCP-Server eingestellt?	
•	Ist ein genügend großer IP-Adressbereich für alle Geräte angegeben?	
3.	Alle Steckverbindungen prüfen:	
•	Sind die Patch-Kabel an die LAN-Anschlüsse angeschlossen und nicht an den Internetanschluss?	
	Sind alle Geräte und der Computer korrekt verkabelt?	
•	Sind die Stecker der Patch-Kabel fest eingesteckt?	
4.	Wenn der Router an ein Firmennetzwerk angeschlossen ist, das Patch-Kabel vom Internetanschluss des Routers abziehen.	
•	Können Geräte und Computer kommunizieren, wenn der Router vom Firmennetzwerk getrennt ist?	
5.	Wenn eine Control Unit für die Geräte vorhanden ist, die Einstellungen im Menüpunkt <i>Setup &gt; Network</i> prüfen:	
٠	Ist für die Steuerung LAN-DHCP eingestellt?	
•	Hat das Gerät eine IP-Adresse bezogen?	
6.	Geräte, Router und Computer ausschalten. Erst den Router, dann die Geräte und den Computer einschal- ten.	
•	War die Maßnahme erfolgreich?	
	Patch-Kabel des Geräts austauschen, zu dem keine Verbindung hergestellt werden kann.	
_	War die Maßnahme erfolgreich?	
8.	Sicherstellen, dass der IP-Port des Geräts mit dem in der Chromatografie-Software übereinstimmt.	

## **Analytische Fehler**

Mögliche Ursachen:

- Verschleiß durch Fehler in den Einstellungen für Injektion und Methode.
- Ungeeignete Kombination von Probenschleife, Pufferschlauch und Spritze.
- Externe Einflüsse wie Temperatur und Lichteinwirkung auf lichtempfindliche Proben.

#### Lösungswege:

 Prüfen ob die Applikation zuvor fehlerfrei gelaufen ist und keine Änderungen am Analysensystem vorgenommen wurden.  Ermitteln ob der Fehler durch den Autosampler oder andere Geräte des Systems verursacht wird.

Wenn die Reproduzierbarkeit nicht die Anforderungen erfüllt, folgende Fehlerursachen prüfen und Schritte zur Beseitigung ausführen:

Fehlerursache	Beseitigung	
Luft im Flüssigkeit- weg	Initialisierung des Autosamplers 3950 durchführen.	
Undichte Spritze	<ul> <li>Spritze auf richtige Montage prüfen, wenn sie oben undicht ist.</li> <li>Spritzenkolben wechseln, wenn die Spritze unten undicht ist.</li> </ul>	
Spritzenventil undicht	Ventil prüfen und gegebenenfalls wechseln.	
Rotordichtung ver- schlissen	Rotordichtung wechseln und Ventil- Statorblock prüfen.	
Totvolumen in den Kapillaranschlüssen	Kapillaranschlüsse mit neuen Fittings bestücken.	

Wenn ein Leerprobenlauf einen zu großen Peak liefert, folgende Fehlerursachen prüfen und Schritte zur Beseitigung ausführen:

Fehlerursache	Beseitigung
Löslichkeitsprobleme	Entweder Probe modifizieren oder Verschleppung akzeptieren.
Wechselwirkungen zwischen der Leer- probe und der <i>Hard-</i> <i>ware</i>	<ul> <li>Hardware prüfen:</li> <li>Nadel spülen (innen und außen) oder einen anderen Nadeltyp installieren (Stahl, PEEK oder mit Glasmantel).</li> <li>Injektionsventil: Rotordichtung wechseln (anderes Material).</li> <li>Kapillaren und Schläuche: Andere Verbindungen zwischen dem Autosampler und der Säule (Stahl, PEEK) oder andere Waschflüssigkeit verwenden.</li> </ul>
Leerprobe verunrei- nigt	Neue Leerprobe verwenden.
Ursache unklar	Problem durch Variation der Lösungs- mittel und Eluenten zu lösen versu- chen.

Wenn keine Injektion ausgeführt wird:

Fehlerursache	Beseitigung
Flüssigkeitweg blockiert	Kunststoff-Kapillare der Nadel vom Injektionsventil lösen.
	2. Systemspülung starten.
	3. Nadel prüfen wenn Lösungsmittel aus dem Injektionsventil-Anschluss zur Nadel austritt.
	4. Wenn kein Lösungsmittel aus dem Injektionsventil-Anschluss zur Nadel austritt Pufferschlauch vom Injektionsventil lösen.
	5. Systemspülung starten.
	6. Wenn Lösungsmittel aus dem offenen Ende des Pufferschlauchs fließt, Rotor- dichtung prüfen.
	7. Wenn kein Lösungsmittel aus dem offe- nen Ende des Pufferschlauchs fließt, Puf- ferschlauch vom Spritzenventil lösen.
	8. Systemspülung starten.
	9. Wenn Lösungsmittel aus dem Spritzen- ventil fließt, Pufferschlauch prüfen.
	10.Wenn kein Lösungsmittel aus dem Spritzenventil fließt, prüfen ob Anschlüsse des Flüssigkeitswegs zu fest angezogenen sind.
Undichtes Injektionsventil	Kunststoff-Kapillare zur Nadel vom Injektionsventil abschrauben.
	Kunststoff-Kapillare zur Spritze vom Injektionsventil lösen.
	HPLC-Pumpe ans Injektionsventil anschließen.
	4. Anschluss zur Säule am Injektionsventil verschließen.
	5. Pumpe mit geringer Flussrate starten.
	6. Anschlüsse zur Spritze und zur Nadel am Injektionsventil auf Dichtheit prüfen.
	7. Wenn dort Flüssigkeit auftritt, Rotordichtung prüfen.
	8. Wenn dort keine Flüssigkeit auftritt, HPLC-System mit einem manuellen Ven- til prüfen.

## Systemmeldungen von OpenLAB®

Es folgt eine Erläuterung der Lösungswege zu den System-Meldungen der KNAUER Chromatografie-Software OpenLAB<sup>®</sup>. Die Systemmeldungen sind alphabetisch sortiert.

Systemmeldung	Erläuterung
Autosampler is in run mode.	<ul><li>Steuerungssoftware beenden und neustarten.</li><li>Das Gerät aus- und einschal- ten.</li></ul>
Autosampler is not responding. Please check communication settings and ensure the device is online.	Das Gerät aus- und einschalten. Netzwerkeinstellungen prüfen. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Cannot run autosampler.	Das Gerät aus- und einschalten. Netzwerkeinstellungen prüfen. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Cannot set destination vial to %d.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Cannot set first transport vial to %d.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Cannot set last transport vial to %d.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Cannot stop autosampler.	Netzwerkeinstellungen prüfen. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Communication port for autosampler was not initialized. Please check the configuration settings.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Configuration settings do not match with the device. Run cannot start.	Konfiguration und Einstellungen prüfen.
Destination position not reached.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.

Systemmeldung	Erläuterung
Deviation of more than +/- 2 mm towards home.	<ul> <li>Nach sichtbaren Hindernissen im Bereich der Probenplatte suchen.</li> <li>Riemenspannung des Proben- tabletts pr</li></ul>
Dispenser error.	tabletts prüfen.  Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.
Electronics error.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
EEPROM error in adjust- ments.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
EEPROM error in log counter.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
EEPROM error in settings.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
EEPROM write error.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error 369	Nicht genügend Transportflüssig- keit vorhanden. Transportflüssig- keit auffüllen.
Error 370	Nicht genügend Reagenzflüssig- keit vorhanden. Reagenzflüssig- keit auffüllen.
Error by setting Mix&Dilute vials.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error occured during initia- lization, the Autosampler AS-1 cannot start.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.

Systemmeldung	Erläuterung
Error resetting output.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error running user defines program.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting injection mode.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting needle height.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting injection mode.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting syringe speed.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the analysis time.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the auxilia- ries.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the flush time.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the flush volume.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the injection volume.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.

Systemmeldung	Erläuterung
Error setting the loop volume.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the prep. mode.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the syringe volume.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting timed events.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the tray configuration.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the tray temperature.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting the vial number.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting tubing volume.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Error setting wash volume.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Flush volume error.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.

Systemmeldung	Erläuterung
Home sensor activated when not expected.	<ul> <li>Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Home sensor not de-activated.	<ul> <li>Nach sichtbaren Behinderungen des Probentabletts der Probenplatte suchen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Home sensor not reached.	<ul> <li>Nach sichtbaren Behinderungen des Probentabletts der Probenplatte suchen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Horizontal: home sensor activated when not expected.	<ul> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Horizontal: home sensor not de-activated.	<ul> <li>Nach sichtbaren Behinderungen der Nadeleinheit suchen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Horizontal: home sensor not reached.	<ul> <li>Nach sichtbaren Behinderungen der Nadeleinheit suchen</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Horizontal: needle position is unknown.	Nadeleinheit mit der Steuerungs- software initialisieren.

Systemmeldung	Erläuterung
Illegal sensor readout.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Incorrect first destination vial.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Injection needle unit error.	<ul> <li>Nach sichtbaren Behinderungen der Nadeleinheit suchen</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Injection valve or ISS unit error.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Injection volume %.2f is invalid. For specified injection method, volume should be within the range %.2f µl-%.2f µl, with %2f. µl increments.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Injection volume error.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid %s vial position %02d. The vial position must be between 01 and %02d.\n.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Invalid combination of the trays. The combination of different trays for the Mix&Dilute mode is not allowed.	<ul> <li>Passende Probenplatten einlegen.</li> <li>Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.</li> </ul>
Invalid combination of the trays. The combination of plates 384 low and 96 high is not allowed.	<ul> <li>Passende Probenplatten einlegen.</li> <li>Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.</li> </ul>

Systemmeldung	Erläuterung
Invalid configuration. The autosampler has no ISS option installed. Please switch off this option in the configuration dialog.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Invalid configuration. The autosampler has no SSV option installed. Please switch off this option in the configuration dialog.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Invalid flush volume %d µl. The flush volume should be between 0 and %d µl.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Invalid flush volume %2f µl. The flush volume should be between 0 and %2f µl.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Invalid input. Only values with with increments of %.2f allowed.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid integer number.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid instrument is detected.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid loop volume %d µl. The loop volume should be between 0 and %d µl.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid loop volume %2f µl. The loop volume should be between 0 and %2f µl.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid mix program: no Destination vial is specified in the configuration dia- log.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid mix program: no Reagent A vial is specified in the configuration dia- log.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.

Systemmeldung	Erläuterung
Invalid mix program: no Reagent B vial is specified in the configuration dia- log.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid mix times. The time should be between 1 and 9.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Invalid needle height %d mm. The needle height should be between %d and %d mm.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid time based method. Several AUX events have the same time.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid time based method. Several SSV events have the same time.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid tray temperature %d °C. The temperature should be between 4 and 22 °C.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid tray configuration: two or more vial positions are the same.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid tubing volume %d µl. The tubing volume should be between 0 and %d µl.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid tubing volume %2f µl. The tubing volume should be between %2f and %2f µl.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid wait time. The time should be between 0 and 9 h 50 min 59 sec.Invalis wash volume %d µl. The wash volume should be between %d and %d µl	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Invalid volume %d µl. The volume should be between the 0 and the syringe volume (%d µl).	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.

Systemmeldung	Erläuterung
ISS valve error.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Missing destination vial.	<ul> <li>Position der Probenfläschchen prüfen.</li> <li>Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.</li> </ul>
Missing reagent vial.	<ul> <li>Position der Probenfläschchen prüfen.</li> <li>Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.</li> </ul>
Missing transport vial.	<ul> <li>Position der Probenfläschchen prüfen</li> <li>Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.</li> </ul>
Needle movement error.	<ul> <li>Position der Nadeleinheit prüfen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten.</li> </ul>
Missing vial.	<ul> <li>Position der Nadeleinheit prüfen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten.</li> </ul>
Missing wash vial error.	<ul> <li>Position der Nadeleinheit prüfen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten.</li> </ul>
No destination vial is specified in the configuration.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
No Reagent A vial is speci- fied in the configuration.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
No Reagent B vial is speci- fied in the configuration.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.

Systemmeldung	Erläuterung
No transport vials are defined in the tray configuration. It is not possible to use the µl pick-up injection mode.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
No user defined or mix program is running.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Not enough reagent liquid.	Flüssigkeitsmenge prüfen und anpassen.
Not enough transport liquid available due to missing transport vials.	Flüssigkeitsmenge prüfen und anpassen.
Please specify inject mar- ker or AUX event to be able to trigger the run.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Selecting transport position failed.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Serial number is not valid. Please check the configuration.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Setting mix program error.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Setting service mode failed.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Syringe dispenser unit error.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Syringe home sensor not de-activated.	<ul> <li>Nadelspülung mit Steuerungs- software.</li> <li>Das Gerät aus- und einschal- ten. Bei Wiederholung der Sys- temmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>

Systemmeldung	Erläuterung
Syringe home sensor not reached.	<ul> <li>Nadelspülung mit Steuerungs- software.</li> <li>Das Gerät aus- und einschal- ten. Bei Wiederholung der Sys- temmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Syringe position is un- known.	Spritzeneinheit mit der Steue- rungssoftware initialisieren
Syringe rotation error.	<ul> <li>Nadelspülung mit Steuerungs- software.</li> <li>Das Gerät aus- und einschal- ten. Bei Wiederholung der Sys- temmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Syringe valve did not find destination position.	<ul> <li>Nadelspülung mit Steuerungssoftware.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Temperature above 48 °C at cooling ON.	<ul> <li>Kühlung abschalten und prüfen, ob Temperatursensor Umgebungstemperatur korrekt anzeigt.</li> <li>Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
The 10 ml syringe cannot be used for standard injections.	Spritze wechseln.
The autosampler has detected another tray than that which is currently configured. Please select the correct tray in the configuration dialog.	Konfiguration der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
The autosampler has no ISS-A option installed. Please switch off ISS-A option in the configuration dialog.	Konfiguration der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.

Systemmeldung	Erläuterung
The autosampler has no ISS-B option installed. Please switch off ISS-B option in the configuration dialog.	Konfiguration der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
The autosampler has no oven option installed. Please switch off Oven option in the configuration dialog.	Konfiguration der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
The autosampler is not ready. Please try later.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
The injection volume of %2f µl is invalid. For the specified injection method, volume should equal %2f µl.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
The sample needle is not in the home position while the tray is rotating.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Trace from tray cooling cannot be acquired. Tray cooling is off.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.
Tray advance is not available at this time.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Tray error.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Valve error.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Vertical: home sensor not de-activated.	<ul> <li>Nach sichtbaren Behinderungen der Nadeleinheit suchen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>

Systemmeldung	Erläuterung
Vertical: home sensor not reached.	<ul> <li>Nach sichtbaren Behinderungen der Nadeleinheit suchen</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Vertical: needle position is unknown.	Instrument in der Steuerungssoftware initialisieren
Vertical: stripper did not detect plate (or wash/ waste). Missing vial.	<ul> <li>Probenfläschchen und -platte prüfen.</li> <li>Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmeldung die technische Kundenbetreuung bei KNAUER informieren.</li> </ul>
Vertical: stripper stuck.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Vertical: The sample needle arm is at an invalid position.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren.
Vial number error.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Wear-out limit reached.	Das Gerät aus- und einschalten. Bei Wiederholung der Systemmel- dung die technische Kundenbe- treuung bei KNAUER informieren, Injektionsventil muss gewechselt werden.
Wrong loop volume. The largest loop volume for standard injections is 1000 µl.	Parameter in der Steuerungssoft- ware prüfen und Eingabe korrigie- ren.
Wrong tubing volume. The largest tubing volume for standard injections is 200 µl.	Parameter in der Steuerungssoftware prüfen und Eingabe korrigieren.

### **Technische Daten**

Umgebungsbedingungen

Temperaturbereich	10–40 °C; 50–104 °F
Luftfeuchtigkeit	20–80 % RH

#### **Standardversion**

**Autosampler 3950** 

	1: 10001
Injektionsdruck	bis 1000 bar
Probenkapazität	Mikrotiterplatten für max. 768 Wells oder Probenplatten für max. 96 Vials
Injektionsvolumen	0,1–5000 μΙ
Probenschleife	10 μΙ
Spritze	250 µl, 500 µl
Injektionszeit	< 60 s inkl. Reinigung
Injektionsmodi	PASA™ Schleifen-Injektionsprinzip:  Vollschleifeninjektion  partielle Schleifeninjektion  Mikroliter Pickup-Injektion
Reproduzierbarkeit	<ul> <li>RSD (Relative Standardabweichung):</li> <li>Vollschleifeninjektion &lt; 0,3 %</li> <li>partielle Schleifeninjektion bei Injektionsvolumen &gt; 10 μl:</li> <li>&lt; 0,5 %</li> <li>Mikroliter Pickup-Injektion bei Injektionsvolumen &gt; 10 μl:</li> <li>&lt; 1,0 %</li> </ul>
Verschleppung	< 0,05 % mit Nadelreinigung
Probentemperierung	4–40 °C <sup>1</sup>
Gewicht	<ul><li>19 kg</li><li>Mit Probentemperierung: 21 kg</li></ul>
Abmessungen (Länge x Breite x Höhe)	<ul> <li>510 x 300 x 360 mm</li> <li>Mit Kühlung:</li> <li>575 x 300 x 360 mm</li> </ul>
Netzspannungsbereich	95–240 V
Netzfrequenzbereich	50–60 Hz
Verschmutzungsgrad	2
Installationskategorie	II

## Lieferprogramm

#### Gerät und Zubehör

Bezeichnung	Bestellnummer
Autosampler 3950, LAN, Standard	A50070
Autosampler 3950, LAN, cool/heat	A500701
Benutzerhandbuch	V1511

### Nachbestellungen

Bezeichnung	Bestellnummer
Autosampler Zubehörkit mit Flaschen, Kappen, Septa, Öffnungs- und Schließ- zangen	A0664
Vial Plates für 48 1,5 ml Vials 2 Stück	A50050
Mikrotiterplatte 96 Well, U keimredu- ziert, 0,35 ml	A1823
Mikrotiterplatte 96 Well, U keimredu- ziert, 1,2 ml	A1823V1
PTFE-Schlauch, 3,2 mm (1/8") AD, 1,5 mm ID, 300 cm	A0732
Waschflasche 250 ml	M2054
Spritze 500 µl	M2070
Luftnadel weiss, 62 mm	A50058
Set Luftnadeln	A50059
Luftnadel gelb, 50 mm	M20401
Luftnadel rot, 56 mm	M20402
Luftnadel blau, 68 mm	M20403
Luftnadel grün, 74 mm	M20404
Luftnadel schwarz, 80 mm	M20405
2 x 2,5 A Sicherung	M2067
Netzwerkkabel	A5255

<sup>1)</sup> Gültig für den Autosampler 3950 mit Probentemperierung

Bezeichnung	Bestellnummer
RS-232-Kabel	A0895
Handbuch, deutsch	V1511
Handbuch, englisch	V1511A

### Zubehör 84+3

Bezeichnung	Bestellnummer
Vial-Platte für 84x1.5ml und 3x10ml Fläschchen	A500501
125 Fläschchen 10 ml, 500 Bördelkappen und 500 Septen, ø 22 mm	A1662

#### **Rechtliche Hinweise**

#### Gewährleistungsbedingungen

Die werkseitige Gewährleistung für das Gerät beträgt 12 Monate ab dem Auslieferungstermin. Die Gewährleistungsansprüche erlöschen bei unbefugtem Eingriff in das Gerät.

Während der Gewährleistungszeit ersetzt oder repariert der Hersteller kostenlos jegliche material- oder konstruktionsbedingten Mängel.

Von der Gewährleistung ausgenommen sind:

- Unbeabsichtigte oder vorsätzliche Beschädigungen
- Schäden oder Fehler, verursacht durch zum Schadenszeitpunkt nicht an den Hersteller vertraglich gebundene Dritte
- Verschleißteile, Sicherungen, Glasteile, Säulen, Leuchtquellen, Küvetten und andere optische Komponenten
- Schäden durch Nachlässigkeit oder unsachgemäße Bedienung des Geräts und Schäden durch verstopfte Kapillaren
- Verpackungs- und Versandschäden

Wenden Sie sich bei Fehlfunktionen Ihres Geräts direkt an den Hersteller:

Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH Hegauer Weg 38 14163 Berlin, Germany

Phone: +49 30 809727-111
Telefax: +49 30 8015010
E-Mail: info@knauer.net
Internet: www.knauer.net

#### Transportschäden

Die Verpackung unserer Geräte stellt einen bestmöglichen Schutz vor Transportschäden sicher. Die Verpackung auf Transportschäden prüfen. Im Fall einer Beschädigung die technische Kundenbetreuung des Herstellers innerhalb von drei Werktagen kontaktieren und den Spediteur informieren.

### **HPLC-Glossar**

Hier finden Sie Definitionen zu Abkürzungen und Fachbegriffen, die in der Flüssigchromatographie verwendet werden.

Begriff	Definition
analytisch	Die Analyse und mengenmäßige Bestimmung von Proben in der HPLC (siehe: präparativ)
Chromato- gramm	Die Aufzeichnung eines Detektorsignals, in Abhängigkeit vom Ausflussvolumen der mobi- len Phase oder der Zeit
Detektor	Der Detektor misst, je nach Beschaffenheit, die Zusammensetzung bzw. die Menge der zu analysierenden Substanz.
Eluent	Das Fließmittel, das die zu trennenden bzw. zu isolierenden Substanzen durch die Säule transportiert (Lösungsmittel, mobile Phase)
GLP	Ein Qualitätssicherungssystem im Labor nach guter Laborpraxis (Good Laboratory Practice)
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). Hochdruck-Flüssigchromatografie
Kapillare	Dünnes Metall- oder PEEK-Rohr, mit dem die Bauteile und Geräte in einem HPLC-System verbunden sind
Lösungs- mittel	Das Fließmittel, das die zu trennenden bzw. zu isolierenden Substanzen durch die Säule transportiert (Eluent, mobile Phase)
Peak	Der Detektorausschlag für einen Analyten in einem differentiellen Chromatogramm
Probe	Ein Gemisch verschiedener Komponenten, die durch Chromatographie getrennt werden sol- len. Dabei werden sie von der mobilen Phase transportiert und aus der Säule gelöst.
Proben- schleife	Eine Schleife, die durch ein Ventil vom chromatographischen System abgetrennt ist und in welche die Probe zunächst gegeben wird. Durch Umschalten wird der Eluentenstrom durch die Schleife geleitet und die Probe auf die Trennsäule gespült.
Pumpe	Der Mechanismus, mit welchem die mobile Phase mit einem kontrollierten Volumenstrom dem chromatographischen System zugeführt wird

Begriff	Definition
Säule	Das Rohr mit Endabschlüssen, die für das Fließ- mittel durchlässig sind. Das Rohr enthält das Packungsmaterial.
Ventil	Der Mechanismus, mit dem die Probe in den fließenden Eluentenstrom eingebracht wird

# Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Autosampler 3950, optional mit Probentemperierung und Kühlungsbox <b>7</b>
Abb. 2:	Systemadapter für Autosampler
Abb. 3:	Systemadapter installiert
Abb. 4:	Geräte-Vorderseite
Abb. 5:	Tür in den Innenraum schieben
Abb. 6:	Frontverkleidung entfernen
Abb. 7:	Kühlabdeckung entfernen
Abb. 8:	Geräte-Vorderseite mit Probenraum
Abb. 9:	Geräte-Rückseite
Abb. 10:	Kabelplan LAN
Abb. 11:	ILD™ Injektionsprinzip
Abb. 12:	Vollschleifen-Injektion: Ausgangssituation
Abb. 13:	Vollschleifen-Injektion: Die Nadel und die Probenleitungen werden gespült
Abb. 14:	Vollschleifen-Injektion: Injektionsventil schaltet in die Position LOAD 29
Abb. 15:	Vollschleifen-Injektion: Die Probenschleife wird vollständig befüllt 29
Abb. 16:	Vollschleifen-Injektion: Injektionsventil schaltet in die Position <i>INJECT</i>
Abb. 17:	Luftsegment bei Vollschleifeninjektion
Abb. 18:	Luftsegment bei partieller Schleifenfüllung
Abb. 19:	Schema für Ausgangsposition zur partiellen Schleifenfüllung 31
Abb. 20:	Partielle Schleifenfüllung: Ventilposition 'Injizieren'
Abb. 21:	Partielle Schleifenfüllung: Probe ansaugen
Abb. 22:	Partielle Schleifenfüllung: Ventilposition 'Laden'
Abb. 23:	Partielle Schleifenfüllung: Injizieren auf die Säule
Abb. 24:	Partielle Schleifenfüllung: Spüllösung ansaugen
Abb. 25:	Partielle Schleifenfüllung: Ausspülen von Probe und Fließmittel 34
Abb. 26:	Mikroliter Pick-up Injektion: Ausgangssituation
Abb. 27:	Mikroliter Pick-up Injektion: Probenleitung wird mit Transportflüssigkeit gefüllt
Abb. 28:	Mikroliter Pick-up: Probenmaterial wird angesaugt 36
Abb. 29:	Mikroliter Pick-up: Das Injektionsvolumen wird angesaugt 36
Abb. 30:	Mikroliter Pick-up: Die Probe wird in die Probenschleife transportiert . 37
Abb. 31:	Mikroliter Pick-up: Die Probe wird zur Säule transportiert 37
Abb. 32:	Mikroliter Pick-up Injektion mit Luftsegment (A), ohne Luftsegment (B)
Abb. 33:	Mikroliter Pick-up 84+3: Ausgangssituation
Abb. 34:	Mikroliter Pick-up 84+3: Probenleitung wird mit Transportflüssigkeit befüllt
Abb. 35:	Mikroliter Pick-up 84+3: Injektionsventil schaltet in die Position LOAD

Abb. 36:	Probenschleife transportiert	39
Abb. 37:	Mikroliter Pick-up 84+3: Injektionsventil schaltet	
	in die Position INJECT	39
Abb. 38:	Mikroliter Pick-up Injektion 84+3 mit Luftsegment (A),	40
20	ohne Luftsegment (B)	
Abb. 39:	Höhe des 84+3-Probentabletts	
Abb. 40:	Länge der Nadel und Füllstand der Flüssigkeit	
Abb. 41:	Ablaufreihenfolge	
Abb. 42:	Reagenz/Transport Position auf dem 84+3-Probentablett	
Abb. 43:	Standard Luftnadel mit 10 und 2 ml Probenfläschchen	
Abb. 44:	Standard Luftnadel mit Mikrotiterplatten	
Abb. 45:	Geeignete Luftnadel berechnen	44
Abb. 46:	Ausgewählte Luftnadeln mit Probenfläschchen	
Abb. 47:	Ausgewählte Luftnadeln mit Mikrotiterplatten	45
Abb. 48:	Probenpositionen in Spalten	48
Abb. 49:	Probenpositionen in Reihen	
Abb. 50:	Reagenz/Transport Positionen auf dem 84+3-Probentablett	50
Abb. 51:	Anschluss-Schema für Kapillaren und Schläuche	51
Abb. 52:	Anschlüsse des Injektionsventils	51
Abb. 53:	Anschlüsse der Spritze	52
Abb. 54:	Schlauchführung für Spüllösungsmittel-Schlauch	52
Abb. 55:	Ableitungsschläuche anschließen	53
Abb. 56:	Konfiguration des Autosamplers mit ClarityChrom®	54
Abb. 57:	Systemspülung mit der Service Manager Software	56
Abb. 58:	Operation Qualification Report	65
Abb. 59:	Injektionsventil ausbauen	68
Abb. 60:	Rotordichtung entfernen	68
Abb. 61:	Rotor und Rotordichtung	68
Abb. 62:	Injektionsventil einbauen	69
Abb. 63:	Probennadel wechseln	
Abb. 64:	Luftnadel wechseln	72
Abb. 65:	Spritze wechseln	73
Abb 66.	Spritzenventil wechseln	75

### Stichwortverzeichnis

A	Systemmeldungen OpenLAB® 82
Additiv 9	Fehlerursachen 78
analytisch 99	Frontverkleidung entfernen <b>20</b>
Anschluss	G
Ableitungsschläuche 53	Gebotszeichen 14
I/O-Anschluss <b>56</b>	Geräte-Rückseite <b>22</b>
Kontaktschlussausgang 57	Gerätetest 58
TTL-Eingänge 56	Archivierung 63
Injektionsventil 51 LAN 54	Linearität <b>61</b>
Spritze 52	Mischtest 62
Anschluss an Computer 23	Probenverschleppung 60
Anwendersicherheit 11	Reproduzierbarkeit <b>59</b>
Aufstellen 16	Testintervall 58
Aufstellort, siehe Einsatzort 16	Geräteübersicht 7
Auspacken 16, 17	Geräte-Vorderseite 19, 21
Autoinjektionssystem 19	Gewährleistung 98
Autokonfiguration 23	GLP 99
AVV-Kennzeichnung 77	Н
В	Handhabung 46
Beipack 15	Probenfläschchen 46
Berufsgruppe 11	HPLC 99
Bestimmungsgemäße Verwendung 7	HPLC-Glossar 99
<b>C</b>	I
	ILD™ <b>26</b>
Chromatogramm 99	Inbetriebnahme 19
D	Injektions-Methoden 26
Degasser 10	Injektionsprinzipien 26
Dekontamination 13	ILD™ <b>26</b>
Detektor 99	PASA™ <b>26</b>
E	Schleifen-Injektion <b>26</b>
Einsatzbereiche 7	Injektionsventil anschließen 51
Einsatzort 16	Installation 15
Eluent 99	K
Entflammbarkeit 12	Kapillaranschlüsse 51
Selbstentzündungstemperatur 12	Kapillare 99
Toxizität 12	Kennzeichen und Symbole <b>14</b>
Eluenten 9	Kühlabdeckung entfernen 20
Ersatzteile 15	Kühlungsbox 7
F	L
Fehlerbehebung <b>78</b>	LAN 23
Fehlersuche	Aufbau 24
Analytische Fehler <b>79</b>	Eigenschaften 23
Software-Fehler <b>78</b>	Port 25
	Router 24

S Verbindungsprobleme 78 Leistungsübersicht 7 Salze 9 Lieferprogramm 96 Säule 100 Lokales Netzwerk 23 Schlauchanschlüsse 51 Lösungsmittel 99 Schleifenfüllung Spüllösungsmittel 10 partielle 31 Luftnadel 27, 43 Schleifen-Injektionsprinzip 26 Berechnungsbeispiel 46 Schutzausrüstung 11 geeignete Luftnadel auswählen 44 Sicherheit 11 Luftnadeltypen 45 Software 54 Standard Luftnadel 43 Autosampler 3950 Service Manager 55 Luftsegment ClarityChrom® 54 Vollschleifeninjektion 30 Stromversorgung 12 Netzkabel 12 М Steckdosenleiste 12 Methoden der Injektion 26 Symbole und Kennzeichen 14 Mikroliter Pick-up Injektion 27, 35 Systemspülung Mischen und Verdünnen 47 Autosampler 3950 Service Manager 55 Hinzufügen (Add) 47 Т Mischen (Mix) 48 Probenpositionen 48 Technische Daten 95 Modifier 9 Technische Kundenbetreuung 16, 66 Transport 16 Transportschäden 16, 98 Nadelspülung 30 Transportschutz 17 Troubleshooting 78 Partielle Schleifen- Injektion 27 Tür öffnen 20 Partielle Schleifenfüllung 31 U PASA™ 26 Umweltschutz 77 Mikroliter Pick-up Injektion 35 partielle Schleifen-Injektion 31 PC-Anschluss 23 Ventil 100 Peak 99 Verbindung des Autosamplers mit anderen PEEK 9, 53 Geräten 54 Pflege 66, 76 Verpackung 16 Platzbedarf des Geräts 17 Verwendung bestimmungsgemäß 7 Port (LAN) 25 Probe 99 Vollschleifeninjektion 26, 27, 28 Probenfläschchen 46 Luftsegment 30 Probennadel 27 W/ Probenraum 21 Warnzeichen 14 Probenschleife 99 Wartung 66 Probentemperierung 7 Injektionsventil u. Rotordichtung wechseln 67 Pumpe 99 Luftnadel wechseln 72 R Probennadel wechseln 71 Rechtliche Hinweise 98 Probenschleife wechseln 70 Reinigung 76 Sicherungen wechseln 67 Router (LAN) 24 Spritze wechseln 73 Spritzenkolben oder Kolbenspitze wechseln 74

Autosampler 3950, Benutzerhandbuch, V6818, Version 1.0

Spritzenventil wechseln **75** Wartungsvertrag **66** 

Z

Zubehör 15

- © Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH Alle Rechte vorbehalten. Technische Änderungen vorbehalten. Originalausgabe des Handbuchs, Version 1.0 Datum der letzten Aktualisierung des Handbuchs: 14.07.2014 Gedruckt in Deutschland auf umweltfreundlichem Papier aus nachhaltiger Forstwirtschaft.
- ® AZURA ist ein eingetragenes Warenzeichen der Wissenschaftliche Gerätebau
- Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH
- © Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH All rights reserved. The information in this document is subject to change without prior notice. Translation of the original German edition of this manual, version 1.0 2014-07-14 Printed in Germany on environmentally friendly paper from sustainable forests.
- ® AZURA is a registered trademark of Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH

► Aktuelle Handbücher im Internet www.knauer.net/downloads

See up-to-date manuals online: www.knauer.net/downloads

www.knauer.net

**HPLC** · SMB · Osmometry

Wissenschaftliche Gerätebau Phone: +49 30 809727-0 Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH Telefax: +49 30 8015010 Hegauer Weg 38 14163 Berlin, Germany

E-Mail: info@knauer.net Internet: www.knauer.net

