

	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 011
	<b>Utilisation CPG Clarus 580 GC</b>	Version : 6
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 26/04/2013
		Mise à jour AQ : 30/08/2016
		Page : 1/4

### 1. Préparation du chromatographe :

1.1. Ouvrir le robinet d'entrée d'air pressurisé au niveau de l'arrivée de compresseur général. Retirer le tube blanc au niveau de cette vanne afin d'effectuer la purge. A la fin de la purge, remettre le tuyau blanc et laisser la vanne ouverte

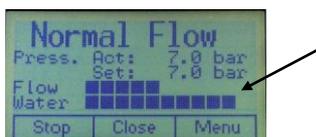
1.2. Allumer le générateur d'air (attendre environ 30 minutes qu'il soit opérationnel avant d'allumer la CPG. Au toucher, la face doit être chaude). Pression réglée sur 6 bars (manomètre sur le côté). Purger l'eau si besoin à côté du manomètre.

1.3. Allumer le générateur d'hydrogène : appuyer sur le bouton « **start** ».

L'unité monte en pression interne, affichage : « **reach normal pressure** ». Attendre qu'il atteigne 100%. Le générateur affiche « **normal pressure** ».

Si la CPG n'est pas encore allumée, le générateur ne peut atteindre sa pression de travail (**Flow** à 0 barre).

Quand la CPG est allumée et que le générateur est opérationnel, il affiche : « **Normal flow ; pression set : 7 bar ; pression act : 7 bar ; Stop et Close** ».



Les barres représentent le débit réel.

10 barres = 160 mL H<sub>2</sub>/mL H<sub>2</sub>O.

On ne doit jamais aller au-delà de 80% du max, sinon **risque de fuite**.

1.4. Mise en route du chromatographe : fermer la porte du four et allumer l'appareil (bouton marche/arrêt sur le côté).

1.5. Appuyer sur « **login** » sur l'écran de la CPG et s'identifier en tant que « administrateur ».

### 2. Configurer la CPG :

2.1. Appuyer sur « **tools** » puis « **Editeur de méthode** » puis « **fichier** » puis « **nouvelle méthode** » ou « **ouvrir** ». Si nouvelle méthode, procéder à la programmation du four.

Appuyer sur « **Bien** » pour valider son choix.

2.2. Appuyer sur « **appliquer la méthode** » puis « **bien** » pour valider.

2.3. Appuyer sur « **quitter l'éditeur** » : l'écran se remet sur sa position d'attente.

2.4. Vérifier dans « **configuration injecteur A** » que : **Longueur colonne = 30,00 m**, diamètre interne = **250 µm**.



- Vérifier dans « **tools** » puis « **configuration du four** ». T° limite = **220°C**.



- Vérifier dans « **tools** » puis « **configuration A-FID** » que : **Air = 400 mL/min ; H2 = 40 mL/min ; Offset = 5 mV**.



- Vérifier dans la méthode choisie, que :

« **A-Cap** » = température injecteur au **moins 20°C au-dessus** de la température d'ébullition du composé le moins volatil (par ex : **220°C** pour méthode dosage alcools, bien au-dessus des points d'ébullition), la température doit toujours être comprise entre 220 et 250°C.

« **fente** » = split sur **60 mL/min (pour méthode dosage alcools)**.



Rédigé par : M.GENSSE Date : 21/11/2012	Vérifié par : E. SOW – S. GERBELOT Date : 25/04/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
--	---	---

	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 011
	<b>Utilisation CPG Clarus 580 GC</b>	Version : 6
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 26/04/2013
		Mise à jour AQ : 30/08/2016
		Page : 2/4

- Vérifier que : «**A-FID**» = température détecteur au **moins 20°C au-dessus** de la température d'ébullition du composé le moins volatil (par exemple, **220°C pour méthode dosage alcools**), atténuation sur : **8**.

**La température du FID ne doit jamais être en-dessous de celle du four (sinon alarme qui se déclenche).**

**Remarque :** en mode manuel, n'allumer la flamme que quand la **température du FID est > 100°C**.



-Vérifier que la programmation du four = « **oven** » est correcte.

**Remarques :** la rampe est programmée en °C/min.

On n'injecte pas d'eau dans une CPG.

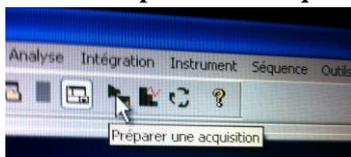
### 3. Préparation du mode injection :

3.1. Pour passer en mode « **injection** », appuyer sur l'icône «  » en haut de l'écran de la CPG : vérifier qu'à l'affichage apparaît « **Ready** » + petite bille verte. Ne pas mettre de compte à rebours.

**Attention : ne pas lancer d'injection tant que « Ready » n'apparaît pas.**

3.2. Allumer l'ordinateur avec ses identifiants : **Administrateur**, pas de mot de passe, « **sur cet ordinateur** ». Ouvrir le logiciel « **Azur** ».

3.3. Cliquer dans le menu en haut « **Préparer une acquisition** » ou dans le bandeau du haut « **Instrument** » puis



« **préparer une acquisition** » puis cliquer sur « **Clarus** ».

Rentrer les paramètres désirés (nom du fichier, paramètres de l'injection,..), important pour la sauvegarde des données.

Activer « **Etalonnage interne** ».

3.4. **TOUJOURS démarrer une acquisition avant d'injecter** (sinon pas de sauvegarde des données) : pour cela, à



l'ordinateur, cliquer sur le bandeau latéral «**Signal**» puis en haut du chromatogramme le bouton « **flèche**

**verte** ». L'affichage « **En attente** » doit apparaître en bas.

### 4. Injection :

4.1. **Rincer la seringue Hamilton de 1 µL à l'eau MilliQ puis avec le liquide à injecter 2 fois.**

4.2. Vérifier l'absence de bulles, essayer délicatement au papier essuie-tout l'extrémité de la seringue.

4.3. Injecter 0,1 µL (attention à la lecture de la graduation).

4.4. L'injection doit être très rapide, on retire tout aussi rapidement la seringue et tout de suite après, on appuie sur « **démarrer** » à l'écran de la CPG. Le délai entre l'introduction de la seringue et l'enclenchement du bouton « **démarrer** » ne doit pas excéder **6s**.

L'ordinateur est asservi à la CPG. Automatiquement, l'acquisition se fait par suivi à l'écran de l'ordinateur. Le temps

écoulé apparaît en **vert**, le temps restant en **bleu**. . Si pas de décompte du temps, pas de sauvegarde. L'affichage « **En cours** » vert doit aussi apparaître en bas.

4.5. Pour **zoomer/dézoomer** sur le tracé (utile pour voir si le pic est bien symétrique donc l'injection bonne), **clique**

Rédigé par : M.GENSSE Date : 21/11/2012	Vérifié par : E. SOW – S. GERBELOT Date : 25/04/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
--	---	---

	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 011
	<b>Utilisation CPG Clarus 580 GC</b>	Version : 6
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 26/04/2013
		Mise à jour AQ : 30/08/2016
		Page : 3/4

**droit** à la souris et suivre les indications.

4.6. Pour arrêter une acquisition, utiliser le menu « **Instrument** » puis « **Stop** » ou, plus simplement, cliquer sur le bouton « **Stop** » du bandeau (à côté de flèche verte). Le logiciel demande alors si sauvegarder.

**Remarque** : éviter cependant les arrêts précoces. Il faut en effet décrocher le maximum d'impuretés de la colonne avant une nouvelle injection.

## 5. Traitement des données :

5.1. Vérifier dans l'onglet « **Affichage** » sur le bandeau du haut que « **Azur Bar** » est bien coché (cela facilite grandement la convivialité du logiciel).

5.3. Pour ouvrir une analyse à traiter, aller dans le menu « **Fichier** » puis « **ouvrir** », puis « **Analyse** »  sélectionner le fichier désiré puis « **OK** » ou s'il a été coché, sur le bandeau latéral « **Nom du fichier** ».

5.4. A l'ouverture, le chromatogramme apparaît (on peut le retrouver en cliquant sur « **Chromatogramme** »  sur le bandeau latéral central). Ce fichier contient le chromatogramme, la méthode de traitement utilisée sur le chromatogramme + toutes les informations associées.

5.5. Afin d'évaluer la **largueur des pics**, cliquer au haut du chromatogramme sur le bouton **PW**  et sélectionner à la souris le pic le plus fin que l'on souhaite intégrer.

5.6. Dans un second temps, afin d'évaluer le **seuil de détection correct**, cliquer sur le bouton **TH**  et sélectionner à la souris le bruit de fond du chromatogramme.

5.7. Dans la barre du milieu, cliquer sur « **Traitement** »  puis, dans le bandeau du bas, sur « **Identification** »  : nommer les pics, puis sur le bandeau tout en haut cliquer sur « **Intégration** » puis « **Traitement** » ou [F5]. La table des pics est alors automatiquement créée.

## 6. Création d'une méthode de traitement :

6.1. Une fois les données traitées sur un chromatogramme, il est intéressant d'appliquer la même méthode à tous les autres chromatogrammes qui ont été acquis avec le même mode opératoire en CPG afin d'identifier automatiquement les pics d'intérêt.

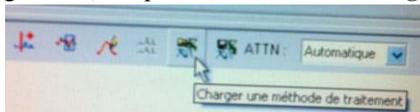
Aller dans le menu « **analyse** » tout en haut puis « **Enregistrer la méthode de traitement** ». Donner un nom puis « **OK** » ou, sur le bandeau en haut du chromatogramme, cliquer sur l'icône « **Enregistrer la méthode de traitement** »



## 7. Utilisation d'une même méthode de traitement pour tous les chromatogrammes :

7.1. Pour ouvrir une analyse à traiter, allez dans le menu « **Fichier** » puis « **Ouvrir** », puis « **Clarus 580** » sélectionner le fichier désiré puis « **OK** » ou, plus simplement, bandeau latéral « **Nom du fichier** » sauvegardé.

7.2. Sur le bandeau en haut du chromatogramme, cliquer sur l'icône « **Charger une méthode de traitement** » et



recupérer la méthode de traitement désirée. ou menu tout en haut « **Analyse** » et « **Charger une méthode de traitement** »

7.3. Aller dans le menu « **Intégration** » tout en haut puis « **Traitement** » puis « **OK** » ou directement [F5].

Aller ensuite dans le menu « **Intégration** » puis « **Identification et quantification** » puis « **OK** » ou directement [F7]. Les pics identifiés précédemment par la méthode de traitement s'affichent alors automatiquement sur le chromatogramme.

**Remarque** : si présence de nouveaux pics identifiés, dans la barre du milieu, cliquer sur « **Traitement** »  puis, dans

Rédigé par : M.GENSSE Date : 21/11/2012	Vérifié par : E. SOW – S. GERBELOT Date : 25/04/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
--	---	---

	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 011
	<b>Utilisation CPG Clarus 580 GC</b>	Version : 6
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 26/04/2013
		Mise à jour AQ : 30/08/2016
		Page : 4/4

le bandeau du bas, sur « **Identification**  ». Nommer les nouveaux pics.

7.4. **Visualisation** des résultats. Aller dans « **Résultats**  » pour visualiser la Table des résultats.

Affichage : Tr, Aire ; % Aire.

Au bas du tableau de résultats, cliquer sur « **Résultats (identifiés)** » pour n'afficher que les résultats des pics identifiés.

7.5. **Imprimer un rapport**. Au choix :

- Méthode simplifiée : aller dans le menu « **Fichier** » puis « **Imprimer** » puis sélectionner une méthode. Le format « **Etalonnage interne** » est très bien pour une application avec les élèves (Impression seule du chromatogramme + tableau des résultats).

- Méthode intégrale : dans l'onglet « **Affichage** » sur le bandeau du haut, cocher « **Sélecteur de données** ». Cliquer sur l'icône de la barre du milieu « **Format du rapport**  ». Choisir un format et modifier ses paramètres internes selon ce que l'on souhaite imprimer. Cliquer sur « **Aperçu avant impression** » en haut et si OK sur « **Imprimer** ».

## 8. Recommencer une nouvelle acquisition

8.1. Fermer le fichier du chromatogramme et, éventuellement le sauvegarder, ou, tout en bas, cliquer sur « **Clarus 580** » qui correspond à l'instrument. Recommencer à partir du 3.3.

## 9. Mise en standby de la CPG (mode d'attente si fonctionnement sur plusieurs jours)

9.1. Appuyer sur « **tools** » puis « **Editeur de méthode** » puis « **Fichier** » puis « **Ouvrir** » puis « **Standby** ».

Appuyer sur « **Bien** » pour valider son choix.

Programmer dans « **Configuration** » :

**Four à 90°C.**

**FID : débit de flamme = 0, air = 0, T° FID = 220°C.**

**A-Cap = Off.**

L'appareil se met sur des débits nuls de H<sub>2</sub> et d'air mais ne s'arrête pas complètement.

## 10. Arrêt de la CPG (si pas de fonctionnement pendant plusieurs semaines)

10.1. Programmer dans « **Configuration** » :

**Four = 20°C ; A-Cap = Off ; FID = Off.**

10.2. Attendre 30 à 45 minutes que le four soit froid (< à 35°C).

10.3. Couper l'**alimentation** puis couper le générateur H<sub>2</sub> : boutons « **Close** » puis « **Stop** ».

10.5. Vérifier que le manomètre du générateur d'air soit **redescendu à 0** ou purger l'air.

10.6. Débrancher l'intégralité des appareils (prévention des surtensions en absence d'un onduleur).

10.7. Fermer le robinet d'arrivée d'air du compresseur général.

Rédigé par : M.GENSSE Date : 21/11/2012	Vérifié par : E. SOW – S. GERBELOT Date : 25/04/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
--	---	---