

 LYCEE SAINT-PAUL IV	PROCEDURE	Pr Bioch Ma 034
		Version 1
	HPLC FLEXAR / SM SQ 300 : PRECAUTIONS EXPERIMENTALES	02/10/15
		Page 1/2

1. ELUANTS

- Ne pas utiliser d'éluant contenant des sels minéraux.

Les solutions tamponnées ne doivent pas contenir du Sodium, du Potassium et d'autres sels.

Exemples : CH_3COONa ,

- HCOONa ,
 - HCO_3Na ,
 - Na_2CO_3 ,
 - Tampons Phosphate (Na_2HPO_4 , K_2HPO_4),
 - NaOH
- Les acides forts sont interdits :
 - HCl ,
 - H_2SO_4 ,
 - H_3PO_4 ,
 - HNO_3 ,
 - le TFA est fortement déconseillé lorsque la LC est couplé à la Masse (Interfèrent en mode ESI Négatif)
 - Les bases fortes sont interdites :
 - NaOH ,
 - KOH ,
 - Le triéthylamine est fortement déconseillé lorsque la LC est couplé à la Masse (Interfèrent en mode ESI Positif)
 - Pour les éluants acides, favoriser les acides organiques :
 - Acide formique (HCOOH) de 0.1 à 1% en solution
 - Acide Acétique (CH_3COOH) : 1 à 2% en solution

Vérifier que la colonne est stable en pH acide.

- Pour les éluants basiques, favoriser :
 - HCO_3NH_4 et ajuster le pH avec de l'ammoniac à 25%

Vérifier que la colonne est stable en pH basique

- Pour les éluants tamponnés, utiliser les couples ci dessous.
 - HCOOH (Acide formique) / HCOONH_4 (Formiate d'ammonium)
 - CH_3COOH (Acide acétique) / $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (Acétate d'ammonium)

Les concentrations en sels doivent être inférieures à 10 mM pour éviter de boucher le capillaire de la Masse.

- Pour les solvants favoriser l'Acétonitrile ou le Méthanol
Toujours mettre les solutions aqueuses et tamponnées en voie A et le solvant d'éluion en voie B
Une purge de chaque voie de la pompe devra être effectuée à chaque changement d'éluant.

Rédigé par Jean-Patrick IDOUMBIN le 01/10/2015	Vérifié par Sumio Michnick le 02/10/2015	Approuvé par Pascal Lamauve le 02/10/2015
---	---	--

	PROCEDURE	Pr Bioch Ma 034
		Version 1
	HPLC FLEXAR / SM SQ 300 : PRECAUTIONS EXPERIMENTALES	02/10/15
		Page 2/2

2. COLONNES

- Vérifier que les pompes HPLC supportent la contre pression de la colonne. Des pressions trop élevées risquent d'abîmer voir de détruire les pompes.
- Les colonnes UPLC dont la granulométrie est inférieure à 2 µm sont interdites
- Favoriser des colonnes possédant les caractéristique suivantes :
 - diamètre supérieur ou égale à 2,1mm,
 - granulométrie supérieure à 2.6 µm,
 - longueur de 50 à 100mm. Les colonnes de longueur supérieure ne pourront pas tenir dans le compartiment colonne.
- Après manipulation, laver votre colonne avec un mélange Eau/Méthanol (50/50 V/V) si votre éluant A contenait des sels d'ammonium et ensuite saturer votre colonne avec de l'acétonitrile avant d'éteindre l'appareil. Le cas échéant, rincer directement avec de l'acétonitrile
- Lors de l'installation d'une nouvelle colonne, conditionner avec de l'acétonitrile pendant 4H à un débit de 0.2mL/min avant utilisation.
- Bien vérifier le sens de la colonne lors de l'installation.
- Ne pas utiliser de colonne sans garde colonne.

3. ECHANTILLONS

- Les extraits injectés doivent être limpides, filtrés, ne contenant pas de matière en suspension.
- Les extraits doivent être hydrosolubles. Il est interdit d'injecter des échantillons gras, protéinés ou saturés en sucres.
- Les extraits doivent être clairs ou très peu colorés pour ne pas souiller la chambre d'ionisation du spectromètre de masse. Le cas échéant, diluer les échantillons au maximum.
- Pour conserver le détecteur de la Masse, les concentrations d'échantillons doivent être inférieures à 5 mg/L (5 ppm). Le cas échéant diluer les échantillons au maximum.

Rédigé par Jean-Patrick IDOUMBIN le 01/10/2015	Vérifié par Sumio Michnick le 02/10/2015	Approuvé par Pascal Lamauve le 02/10/2015
---	---	--