(LIUC)





Protocolo de Prendido y Estabilización del Equipo HPLC

Si es la **primera vez** que usa el sistema o **no está seguro de su funcionamiento,** se necesita la supervisión de Marcelo Pereyra.

Recuerde que para que la separación sea viable, el analito tiene que ser miscible en las concentraciones de trabajo en el solvente o mezclas de solvente seleccionado. La muestra debe estar libre de material particulado, por lo que tiene que ser SIEMPRE FILTRADA por filtros de 0.2 micrones.

Antes de colocar la columna conviene limpiar todo el sistema en ausencia de la misma.

- 1) Encender los estabilizadores de corriente
- 2) Informarse en el libro de uso del Equipo, el sistema de solvente y columna utilizado previamente y pensar la compatibilidad (miscibilidad) con el solvente necesario. Recordar que los solventes deben ser filtrados con filtros de o,2 µm y de calidad HPLC (Cualquier duda PREGUNTAR a M. Pereyra). Completar el libro de uso.
- Verificar que las botellas del canal a usar tengan el solvente requerido (Canal A y B: Fase Reversa; Canal C y D: Fase Normal, si fuera necesaria una mezcla terciaria o cuaternaria preguntar) Canal A: H₂O

Canal B: ACN, MeOH

Canal C: Hexano, Diclorometano

Canal D: Acetato de Etilo, Isopropanol, THF

- 4) Encender el desgasificador y esperar a que la luz del mismo se ponga verde
- 5) Encender :

Modulo Temperatura,

Modulo Bomba,

Modulo Horno de Columna

- 6) En consola pulsar SET UP (Verificar máximos y mínimos).
- 7) Abrir válvula de purga (Válvula de acero inoxidable, moverla hacia la derecha). Asegurarse que haya un recipiente en la descarga.
- 8) En consola pulsar DIRECT, aquí vamos a fijar las condiciones de la purga. Purgar cada canal a usar y después utilizando el mezclador

FASE REVERSA

-1º) %A: 100 (~2 min) -2º) %B: 100 (~2 min) -3º) %A: 50; %B 50 (~2 min) Flujo: 1 ml/min



(LIUC)



21-09-2015	ID Nº: P-HPLC-01	Versión: 00	Páginas: 2 de 16
------------	------------------	-------------	------------------

FASE NORMAL

-1^o) %C: 100 (~2 min)
-2^o) %D: 100 (~2 min)
-3^o) %C: 50; %D: 50 (~2 min)
Flujo: 1 ml/min
Recordarse de presionar ENTER luego de setear c/u de los solventes en cada paso y finalmente luego de setear el flujo. Una vez que no salen burbujas en consola DIRECT- STOP FLOW.

- 9) Cerrar válvula de purga asegurandoseque no haya pérdida de solvente por la descarga exterior del solvente (se procederá a purgar el resto del equipo)
- 10) En ausencia de flujo limpiar el inyector en la posición LOAD con el objetivo de limpiar el LOOP (repetir el lavado varias veces con ambos solventes a utilizar). Insertar la jeringa con delicadeza, de lo contrario podría dañarse el inyector. Recordar que la AGUJA debe ser de PUNTA RECTA y no sesgada. Al finalizar pasar a la posición INYECT nuevamente, tomando la precaución de dejar la jeringa colocada para que impedir la entrada de aire en el sistema).



11) Purga del resto de las líneas previo a la colocación de la columna (Insertar el tubito conector que normalmente esta conectado a la salida del detector al extremo en el cuál posteriormente se interpondrá la columna). Nuevamente en consola pulsar DIRECT y fijar las condiciones de la purga: <u>FASE REVERSA</u>

-1º) %A: 100 (~3 min) -2º) %B: 100 (~3 min) -3º) %A: 50; %B 50 (~3 min) Flujo: 1 ml/min



(LIUC)



21-09-2015 ID N°: P-HPLC-01 Versión: 00 Páginas: 3 (

FASE NORMAL

-1º) %C: 100 (~2 min)

-2º) %D: 100 (~2 min)

-3º) %C: 50; %D: 50 (~2 min)

Flujo: 1 ml/min

Recordar que para efectuar la purga el inyector debe estar en posicion INJECT, para limpiar el LOOP junto al resto de las conexiones hasta llegar a la columna (en la posición LOAD limpiaría el sistema sin pasar por el LOOP).

- 12) Colocar la columna
- 13) Estabilizar la columna. Esto es muy importante y dependerá de la columna utilizada y de la mezcla de solventes

FASE REVERSA

Gradiente Sugerido:

%B: 100 (5 min)

%B: 80 (5 min)

%B: 50 (5 min)

%B: Final: el requerido para las condiciones iniciales de trabajo. Dejar este porcentaje por 5 min aprox. hasta alcanzar un valor de presión estable.

Flujo Máximo: 1 ml/min. Conviene siempre iniciar con un flujo lento (F max: 0,5 ml/min) una vez que coloqué la columna. Una vez estabilizada la columna con el %B requerido para las condiciones de trabajo aumentar el flujo lentamente hasta el valor de flujo máximo que se utilizará en la experiencia. Mantener cada valor de flujo por 5 min aprox. hasta presión constante. Al finalizar fijar el valor del flujo al requerido para las condiciones iniciales.

FASE NORMAL

Gradiente Sugerido:

%D: 80 (o el admitido máximo para este sistema) (5 min)

%D: 50 (2 min)

%D: Final: el requerido para las condiciones iniciales. Dejar este porcentaje por 5 min hasta presión constante. Si todo está bien seguir paso 11, sino PREGUNTAR!

Flujo Máximo: 1 ml/min. Tener en cuenta las consideraciones especificadas para la estabilización de la columna en FASE REVERSA.

- 14) Encender lámpara UV-Vis
- 15) Encender PC, monitor, impresora. A partir de este momento todo control del HPLC se hará desde la computadora. Importante: el software va más lento que nuestros dedos o pensamientos, por lo que se recomienda seguir al pie de la letra y dar tiempo a que el software y el sistema hagan la función pedida.



С	С	Т
BAHI	A BLA	NCA
C		
CO	NIC	EΤ
11	IQUISUR	

(LIUC)

16) En pantalla: Click EMPOWER

USER: system

PASS: manager

17) Con el software abierto (esta ventana no debe cerrarse durante el uso del equipo porque se apagará la conexión con todo el sistema):

RUN SAMPLES: Seleccionar el proyecto personal del usuario donde está guadardo el método de análisis (este comando conecta el equipo y la computadora, suele tardar 5 min)



- 18) En pantalla, seleccionar Método de Instrumento (nombre_IM).
- 19) En pantalla, EDIT. Chequear o especificar las condiciones de corrida. Guardar los cambios.
- 20) En pantalla, SET UP (no olvidar este paso, de lo contrario no registrará el método de instrumento seleccionado ni las condiciones o cambios ejecutados en EDIT).



(LIUC)



21-09-2015 ID N°: P-HPLC-01 Versión: 00 Páginas: 5 de 16	
---	--

File Edit View Inject Actions Customize Help Sample Name: Std Mezcla 4 Plun Only Continue on Fault 2999 Ch1 220nm@1 2nm Sample Name: Std Mezcla 4 2999 Ch1 220nm@1 2nm 2999 Ch1 220nm@1 2nm Method Set: Veronica_MS Image: Std Method Set: Veronica_MS Viat 1 Develop Methods Injection Volume: 5.0 - - Run Time: 20.00 Options 0,00136 9,00 10,00 11,00 12,00 13,00 14,00 15,00 16,00 17,00 18,00 Name: 5.0 -
Image: Std Mezcla 4
Sample Name: Std Mezcla 4 2999 Ch1 220nm@1 2nm Function: Inject Samples
Function: Inject Samples Image: Sample samp
Method Set Veronica_MS Immutes Viat 1 Develop Methods Injection Volume: 5.0 Run Time: 20.00 9,00 10,00 11,00 12,00 13,00 14,00 15,00 17,00 18,00
Vial 1 Develop Injection Volume: 5.0 2998 et 210,00 - 2998 (210-500)nm Run Time: 20.00 0,00135 9,00 10,00 11,00 12,00 13,00 14,00 15,00 17,00 18,00
Run Time: 20,00 - Options 9,00 10,00 11,00 12,00 13,00 14,00 15,00 16,00 17,00 18,00 Minutes
9,00 10,00 11,00 12,00 13,00 14,00 15,00 16,00 17,00 18,00 Minutes
고20,00 240,00 260,00 280,00 300,00 320,00 340,00 380,00 400,00 420,00 440,00 460,00 480,00 500,00 Wavelength
9,00 10,00 11,00 12,00 13,00 14,00 15,00 16,00 17,00 18,00 Minutes
Single & Samples
Sample Set 0,000 0,002 0,004 0.006 0,008 0,010 Litters Litter
Temperature (°C) Flow (nL/min) Pressure (psi) TCM Heater 1 22,0 Flow 0.70 Pressure 1740,0 XA 100,0 Pressure 1740,0 High Limit 4000,0 XB 0,0 O,0 XC 0,0 O,0 XD 0,0 Pressure 1740,0 New Sample Set Time Remaining: 00:00:00 New Sample Set Time: New Sample Set Time:
For Help, press F1 Monitoring Aut - 9.08
🚰 Inicio 🖉 🖉 🖻 Empower Pro 😌 HPLC in Vitamina C1\ 🖬 Processing Server Mo ES 📢 👰 💱 🇐 🚫 🎽 🙆 02:37 p.m. :

21) En pantalla, MONITOR y controlar la línea de base a 210 nm (si en pantalla no se muestra el cromatograma a 210 nm, click botón derecho en la parte superior derecha de la pantalla, click Customize Channels y tildar los canales deseados).



(LIUC)



21-09-2015 ID N°: P-HPLC-01 Versión: 00 Páginas: 6 de 16

HPLC in Vitamina C1Warcelo as System/Administrator	- Run Samples				_ 7 🛛
File Edit View Inject Actions Customize Help					
▶ २ २ ⊘ ∕> ७ ७ №	XBB	Run Only 💌	Continue on Fault		
Sample Name: Std Mezcla 4		and the second		2998 Ch	1 220nm@1.2nm
Function: Inject Samples		9,00 10,00 1	1,00 12,00 13,00 14	,00 15,00 16,00	17,00 18,00
Method Set: Veronica_MS	FullView Unzoom		Windles		Þ
Viat 1 Develop Methods	Scrollba Copy	rs		2998 at 210,00 - 29	398 (210-500)nm
Run Time: 20.00 + Options	Print Propert Hide	ies			
jo "o	Review Custom	D,00 11	1,00 12,00 13,00 14, Minutes	00 15,00 16,00	17,00 18,00
		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
	220,00 2	40,00 260,00 280,00 300,0	0 320,00 340,00 360,00 380,00 - Wavelength	400,00 420,00 440,00 460	0,00 480,00 500,00
					Þ
),00 10,00 11,00	12,00 13,00 14,00 Minutes	15,00 16,00	17,00 18,00
✓ ► \ Single & Samples & Samp	<u> </u>				Þ
	Instrument Method:				
	Veronica_IM	•			
Sample Set 0,000 0,002 0,004 0.006 0,008 0,010 Liters	Edit	onitor Setup			
Temperature (*C) Flow (mL/min) Pressure (psi) TCM Heater 1 22,0 Flow 0,70 Pressure 1746/ %A 100,0 0,70 Pressure 1746/ %B 0,0 0,00 Pressure 1746/	2998 PDA Detecto	r 🍦 Lamp	Sample Set Time Remaining: Total Samples Time Remaining:	00:00:00	
	Shutter: Open	۲	New Sample Set Time:		
For Help, press F1	Monitorin	g		() #	⊘10,33
🛃 Inicio 🤌 🙆 🗈 Empower Pro 😫	HPLC in Vitamina C1\	Processing Server Mo		ES 🔇 🖻 👷 🕏 🔂 🦲	🏠 💽 02:38 p.m.

22) En pantalla, ingresar Sample Name: nombre de la muestra, Function: Inyect samples, Method Set: nombre_MS (importante recordar que el "Instrument Method_IM" previamente seleccionado debe estar incluído dentro del Method Set:_MS), volumen de inyección y si se trabaja con gradientes lo más importante es que el RUN TIME debe coincidir con el tiempo final de corrida seleccionado en el método de instrumento.





HPLC in Vitamina C1Warcelo as System/Administrator - R	un Samples	
Fle Edit View Inject Actions Customize Help	L Bun Dok 🔹 Contin	ue on Fault
Sample Name: blanco 16spt2015		2998 Ch1 220nm@1 2nm
Function: Inject Samples	25,00 26,00 27,00 2	18,00 29,00 30,00 31,00 32,00 33,00 34,00 Minutes
Viat 1 - Develop Methods	- 0,00095	2998 at 210,00 - 2998 (210-500)nm
Run Time: 20,00 📩 Options	25,00 28,00 27,00 2	18,00 29,00 30,00 31,00 32,00 33,00 34,00 Minutes
	220,00 240,00 260,00 280,00 300,00 320,00	340,00 360,00 380,00 400,00 420,00 440,00 460,00 480,00 500,00 Wevelength
	25,00 26,00 27,00 28,00	29,00 30,00 31,00 32,00 33,00 34,00 Minutes
Single (Samples (Sam)		
l h	nstrument Method: /eronica_IM	
Sample Set	Edit Monitor Setup	
Temperature (°C) Flow (mL/min) Pressure (ps) TCM Heater 1 22,0 Flow 0,70 Pressure 1812,0 %A 100,0 38 0.0 Link 4000,0	2998 PDA Detector	uple Set Time Remaining. 00:00:00 Samples Time Remaining. 00:00:00
20 0,0 49 COVENIA 100.0	Shutter: Open	New Sample Set Time:
For Help, press F1	System Idle) # ⊀ # ⊘26,37
🛃 Inicio 🧷 🧭 🛃 Empower Pro 😂 HPL	Cin Vitamina C1\ 📰 Processing Server Mo	ES 🏈 🛃 😵 🔛 💁 02:55 p.m.

- 23) Chequear que la presión sea constante y la línea de base lineal y el sistema está listo para inyectar.
 Sin embargo hay que ser paciente y recordar que debemos esperar para que cada comando se ejecute
- 24) ABORT (Botón rojo)



(LIUC)



21-09-2015	ID Nº: P-HPLC-01	Versión: 00	Páginas: 8 de 16
------------	------------------	-------------	------------------

HPLC in Vitamina C1 Warcelo as System/Administrator -	Run Samples		- 6 🛛
File Edit View Inject Actions Customize Help			
🔈 🕞 💽 🌭 🕲 🗰 🔛	K 📴 🖪 Run Only 💌 Co	ontinue on Fault	
Sample Name: Std Mezcla 4	₹ 8,25×10·4		2998 Ch1 220nm@1.2nm
Function: Inject Samples	9,00 10,00 11,00	0 12,00 13,00 14,00 15,00 Minutes	16,00 17,00 18,00
Method Set Veronica_MS	I I		•
Viat 1 Develop Methods Injection Volume: 5.0	• 0,00135	2998 at 2	10,00 - 2998 (210-500)nm
Run Time: 20,00 - Options	▼ 0,00130-		
	9,00 10,00 11,00	12,00 13,00 14,00 15,00 Minutes	16,00 17,00 18,00
<u>,6</u>	•		•
	220,00 240,00 260,00 280,00 300,00 320	0,00 340,00 360,00 380,00 400,00 420,00 4 Wavelength	40,00 460,00 480,00 500,00
	•		•
	9,00 10,00 11,00 1	12,00 13,00 14,00 15,00 Minutes	15,00 17,00 18,00
Single (Samples (Same			•
	nstrument Method:		
	Veronica_IM		
<u></u>			
Sample Set 0,000 0,002 0,004 0.006 0,008 0,010	Edit Monitor Setup		
Temperature (*C) Flow (mL/min) Pressure (psi)	2998 PDA Detector	Sample Set Time Remaining: 00:00:00	
TCM Heater 1 22,0 Flow 0,70 Flow 0,70 High Limit 4000,0 High Limit 4000,0	Running	otal Samples Time Remaining: 00:00:00	
*B 0.0 40 *C 0.0 40 *D 0.0	Shutter: Open	New Sample Set Time:	
For Help, press F1	Monitoring	} #	* # 🕞 9,08
🛃 Inicio 🤌 🧭 🖻 Empower Pro 😫 HP	.C in Vitamina C1\ 🔠 Processing Server Mo	ES 🔇 🖬 👷 🕽	🕏 💫 🚰 🔟 02:37 p.m.

25) En pantalla, INJECT (icono de inyección) y esperar a que el sistema diga, WAITING FOR INJECTION.





	21-09-2015	ID Nº: P-HPLC-01	Versión: 00	Páginas: 9 de 16	
--	------------	------------------	-------------	------------------	--

B HPLC in Vitamina C1 Warcelo as System/Administrator - Ru	in Samples	
File Edit View Inject Actions Customize Help		
6 2000	Run Only 🔽	Continue on Fault
Sample Name: blanco 16spt2015	→ ₹ 0,00033	2998 Ch1 220nm@1.2nm
Function: Inject Samples	25,00 26,00 27,00	28,00 29,00 30,00 31,00 32,00 33,00 34,00
Method Set Veronica_MS	•	Minutes
Viat 1 * Develop Methods	A 0.00005	2998 at 210,00 - 2998 (210-500)nm
Injection Volume: 5.0 +	3 000000	
Run Time: 20,00 - Options		
	25,00 26,00 27,00	28,00 29,00 30,00 31,00 32,00 33,00 34,00 Minutes
<u>~</u>	<u> </u>	
	220,00 240,00 260,00 280,00 300,00 3	20,00 340,00 360,00 380,00 400,00 420,00 440,00 460,00 480,00 500,00
-	. I	vvaveengm
	···· a ·······························	28.00 29.00 30.00 31.00 32.00 33.00 34.00
		Minutes
Single & Samples & Samples		
Ins	strument Method:	
Ve	eronica_IM 🗨	
Sample Set 0,000 0,002 0,004 0,008 0,010 Liters	Edit Monitor Setup	
Temperature (°C) Flow (mL/min) Pressure (psi) TCM Heater 1 22,0 Flow 0,70 Pressure 1812,0 XA 100,0 Hinh Limit 4000.0	2998 PDA Detector	Sample Set Time Remaining, 00:00:00
XB 0,0 XC 0,0 XD 0,0 XD 0,0	Shutter: Open	New Sample Set Time:
	W	
For Help, press F1	System Idle	} # √ # ⊘26,37



(LIUC)



	21-09-2015	ID Nº: P-HPLC-01	Versión: 00	Páginas: 10 de 16	
--	------------	------------------	-------------	-------------------	--

📽 HPLC in Vita	mina C1 Ma	celo as System/	Administrator	- Run	Sampl	es										B ×
File Edit View 1	Inject Actions	Customize Help														
₽ 2 8		<u>*</u> 🕓 🖉		X	ß		Run Only		•	Continue on	Fault	•				
Sample Name:	Muestra 1 dil (50/50)			₹	1,00							2998 at	210,00 - 29	98 (210-50	0)nm
Function	Inject Sample	\$	•			0,00	2,00	4,00	6,00	0 8,00	10,00 Minutes	12,00	14,00	16.00	18,00	20,00
Method Set:	Veronica_MS		•			•										•
Viat	1 *	Develop Methods		ĺ	र्ग न	1,00									2	2998
Injection Volume:	5,0 📩		_		_ (220,	00 240,00 2	160,00 280,0	00 300,	00 320,00 34	0,00 360,00	380,00 4	00,00 420,00	440,00 460	0,00 480,00	500,00
Run Time:	20,00 🔹	Options				•					Wavelength	า				Þ
	30	്		Ī	<u>ੀ</u> ਤੂ	1,00									2998 (Max	Plot)
	<u></u>	<u></u>			<u> </u>	0,00 0,00	2,00	4,00	6,00	0 8,00	10,00 Micutes	12,00	14,00	16.00	18,00	20,00
						4										
				l	⊥ ⇒ ¹	1,00								2998 Ch1	220nm@1	.2nm
						0,00 0,00	2,00	4,00	6,00	0 8,00	10,00	12,00	14,00	16,00	18,00	20,00
						•					Minutes					Þ
I Single <i>X</i> 8	Samples 🔏 Sa	im; 🗹														
				Instr	ument Me	ethod:			_							
W600 A				Ver	onica_IM				-							
Sample Set	• 0,00	0,01 0,02 0.03	3 0,04 0,05		Edit	M	onitor	Setup	P							
Temperature (*C)	Flov	/ (mL/min)	Pressure (psi)	2	998 PDA	Detecto	or .		•	Sample S	et Time Rem	aining	00:20:00			
TCM Heater (22,	,1 F10V %Å ≫D	100,0	High Limit 4000,0	í I	Ready				am p	Total Sampl	es Time Rem	naining:	00:20:00			
	%D	0,0	Low Link Tool	s	hutter:	Open		ę		Ne	w Sample Se	t Time:				
For Holp, proce 51						Single In	iach - Walkie	a for Inic-H					Ĥ#1	1	2 0	1.00
Haniejo, press P1	60	Empower Pro		нясь	Vitamina	C11	Proce	essing Serve	er Mo			ES		*#* 0 🕄 🖌	S [0] 03:2	9 p.m.
					- Acarmina											

26) Colocar jeringa, mover el injector a LOAD, cargar el loop y bajar el inyector a INJECT. Si todo está bien, se escucha un pitido y el cromatograma aparece en pantalla. Es importante controlar que los valores de absorvancia no superen 1 AU (evaluar previamente cual será el rango de concentraciones adecuado de las soluciones a utilizar). Verificar que el sistema indique: Injection Running.



(LIUC)



21-09-2015 ID N°: P-HPLC-01 Versión: 00 Páginas: 11 d	16
--	----

😫 HPLC in Vita	mina C1Warcelo as System/Administrato	r - Ru	n Samples								J 🛛
File Edit View	Inject Actions Customize Help										
b 2 0		X		ın Only	•	Continue on Fa	ult 💌]			
Sample Name:	blanco16sept2015		0,00000	www.					2998 Ch	1 220nm@1.:	2nm
Function:	Inject Samples		0,00	2,00 4,0	00 6	5,00 8,00	10.00 Minutes	12,00 14	,00 16,00	18,00	20,00
Method Set	Veronica_MS		•								•
Viat	1 Develop Methods		-0,00000-	ww				299	8 at 210,00 - 29	98 (210-500	i)nm
Injection Volume:	5.0		0,00	2,00 4,0)O 6	5,00 8,00	10,00 Minutes	12,00 14	,00 16,00	18,00	20,00
Hun Time:	20,00 Uptions		•]							•
	Jo S		0,002 -0,002 220,	00 240,00 260,00 2	80,00 300	0,00 320,00 340, V	00 360,00 38 /avelength	30,00 400,00 42	20,00 440,00 46	2	198 500,00
			•								•
			€ 0,0001 0,0000 0,000	2,00 4,00	6,0	00 8,00	10,00 Minutes	12,00 14,	00 16,00	2998 (Max F	Plot) 20,00
Single A	Samples 🖌 Sami		<u> </u>								<u> </u>
14600 A		Ins ∀e	rument Method: ronica_IM		~						
Sample Set	▼ 0,00 0,01 0,02 0.03 0,04 0,05 Liters		Edit	itor Set	up						
Sample Set			Edit Mor 2998 PDA Detector Running Shutter: Open	itar. Set	up	Sample Set T Total Samples T New Sa	Time Remainin Time Remainin ample Set Tin	ng: 00:18:41 ng: 00:18:41 me:			
Sample Set	↓ 0,00 0,01 0,02 0,03 0,04 0,05 ↓ Liters Liters Pressure (psi) ↓ Flow (nL/min) Theresure (nc) Pressure (nc) ↓ 100.0 28 0.0 2C 0.0 Q Linit 4000, 2D 0.0 Q Linit 100,		Edit Mor 1998 PDA Detector Running Shutter: Open	itor Set	up Lamp	Sample Set T Total Samples T New S	Time Remainin Time Remainin ample Set Tin	ng: 00:18:41 ng: 00:18:41 ne:			
Sample Set Temperature (°C) TCM Heater 1 22 For Help, press F1	• 0,00 0,01 0,02 0.03 0,04 0,05 Liters • 0,00 0,01 0,02 0.03 0,04 0,05 • 1000 • 0,00 0,01 0,02 • 1000 • 0,00 0,01 0,02 • 0,00 0,01 0,02 • 0,00 • 0,00 • 0,00 • 0,00 • 0,00 • 0,00 • 0,0 • 0,0		Edit Mor 2998 PDA Detector Running Shutter: Open Single Inje	itor Set	up Lams Q	Sample Set T Total Samples T New S	Time Remainin Time Remainin ample Set Tim	ng: 00:18:41 ng: 00:18:41 ne: ()#1		1 01,	35

27) Al terminar la inyección, ya se pueden procesar los datos en BROWSE PROJECT.





ca	21 00 2015	Varaián: 00	Béginage 12 do 16	
	21-09-2015	version. 00	Paymas. 12 de 10	



- 28) Si quiere inyectar nuevamente, ir a pantalla SET UP y luego MONITOR. Continuar con el paso 23 (No olvidar cambiar el nombre de la muestra). Si se desea modificar algunos de los parámetros de la corrida ejecutar las acciones 19 y 20.
- 29) En caso de dejar el equipo encendido por más de dos horas apagar la lámpara UV (click en icono del shutter en la parte de la pantalla donde se muestra el estado del 2998 PDA detector > Turn the Detector Lamp ON or OFF > OFF) y dejar correr el solvente de trabajo con un flujo mínimo de 0.1 mL/min. Controlar que la cantidad de solvente restante sea suficiente para hacer circular solvente por la columna, al flujo seleccionado, durante todo el tiempo que sea necesario. Verificar tambien el nivel de solvente en el recipiente de desecho para evitar derrames.



(LIUC)



	21-09-2015	ID Nº: P-HPLC-01	Versión: 00	Páginas: 13 de 16	
--	------------	------------------	-------------	-------------------	--



30) Para buscar los datos de la corrida y procesarlos: Review Data, seleccionar el proyecto deseado, en la ventana emergente seleccionar Channels y luego abrir el cromatograma deseado.





ica	21-09-2015	ID Nº P-HPI C-01	Versión: 00	Páginas: 14 de 16	
	21-05-2015		version. 00		



(LIUC)



_ 7 🗙

Departamento de Química

🖻 Vitamina C1Warcelo as System/Administrator - Project (Data Selection Mode)

21-09-2015 ID N°: P-HPLC-01 Versión: 00 Páginas:

Páginas: 15 de 16

File	Edit View Tools Database Ap	oplical	tion Help	I				
Filter	By: Default			Edit Vie <u>w</u>	Update Max Rows: 1000			
	Review						1	
◀▶	Sample Sets Injections Chan	nels	Method	s Result Sets	Results Peaks Sign Offs C	urves View Filters Custom	Fields Audit Trails	
60	SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Date Acquired	Channel	Channel Description	<u>^</u>
1	Lavado 12	1	4	Unknown	16/09/2015 04:21:14 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	1 –
2	Lavado 12	1	4	Unknown	16/09/2015 04:21:14 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	1
3	Lavado 12	1	4	Unknown	16/09/2015 04:21:14 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	1
4	Lavado 11	1	3	Unknown	16/09/2015 03:59:28 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	
5	Lavado 11	1	3	Unknown	16/09/2015 03:59:28 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	1
6	Lavado 11	1	3	Unknown	16/09/2015 03:59:28 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	
7	Muestra 1 dil (50/50)	1	2	Unknown	16/09/2015 03:31:31 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	
8	Muestra 1 dil (50/50)	1	2	Unknown	16/09/2015 03:31:31 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	
9	Muestra 1 dil (50/50)	1	2	Unknown	16/09/2015 03:31:31 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	
10	blanco 16sept2015	1	1	Unknown	16/09/2015 02:58:38 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	
11	blanco 16sept2015	1	1	Unknown	16/09/2015 02:58:38 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	
12	blanco 16sept2015	1	1	Unknown	16/09/2015 02:58:38 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	
13	Std Mezcla 4	1	7	Unknown	04/09/2015 01:19:16 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	
14	Std Mezcla 4	1	7	Unknown	04/09/2015 01:19:16 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	
15	Std Mezcla 4	1	7	Unknown	04/09/2015 01:19:16 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	
16	lavado 10	1	6	Unknown	04/09/2015 12:49:01 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	
17	lavado 10	1	6	Unknown	04/09/2015 12:49:01 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	
18	lavado 10	1	6	Unknown	04/09/2015 12:49:01 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	
19	Std Mezcla 3	1	5	Unknown	04/09/2015 12:27:48 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	
20	Std Mezcla 3	1	5	Unknown	04/09/2015 12:27:48 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	
21	Std Mezcla 3	1	5	Unknown	04/09/2015 12:27:48 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	
22	Lavado 9	1	4	Unknown	04/09/2015 12:06:30 PM ART	2998	2998 (210-500)nm	1
23	Lavado 9	1	4	Unknown	04/09/2015 12:06:30 PM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	
24	Lavado 9	1	4	Unknown	04/09/2015 12:06:30 PM ART	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	2998 Ch2 MaxPlot(210-500)nm	1
25	Std Mezcla 2	1	3	Unknown	04/09/2015 11:26:07 AM ART	2998 Ch1 220nm@1.2nm	2998 Ch1 220nm@1.2nm	1
26	Std Mezcla 2	1	3	Unknown	04/09/2015 11:26:07 AM ART	2998	2998 (210-500)pm]
1558 t	otal							
-	Inicio 🧷 🧀 📴 🖬 🖬	npow	er Pro	8	HPLC in Vitamina C1\ 🔳 I	Processing Server Mo 🔒	Vitamina C1\Marcelo	ES 🔇 🛃 💕 04:25 p.m.



(LIUC)



Protocolo de Apagado del Sistema

- 1) ACTION-STOP FLOW
- 2) Lavar loop inicialmente con el solvente A y luego con el B (Inyector en posición LOAD)
- 3) Protocolo para el lavado de la columna, por ejemplo:

FASE REVERSA

Gradiente Sugerido:

%A: 100 (5 min)

- %A: 80 (5 min)
- %A: 50 (5 min)
- %A: 20 (5 min)

%B: Final: 100 (5 min)

Flujo Máximo: 1 ml/min. Mantener cada valor de flujo por 5 min aprox. hasta presión constante. Si se usaron solventes con sales, o agresivos para el equipo, es necesario lavar con un solvente miscible pero no agresivo.

- 4) Action: MONITOR. Si no sale nada después de 5 minutos STOP FLOW. (Tener en cuenta que la columna será almacenada en estas condiciones)
- 5) Apagar en este orden:

Programa desde PC, PC, monitor, impresora,

Módulo de lámpara, columna, bomba y controlador de temperatura, desgasificador

- 6) Apagar los estabilizadores de corriente
- 7) Dejar botellas vacías en lugar de las de solvente.

Anotar cualquier incidencia ocurrida, ya se positiva o negativa en el libro de uso.

USO DE AGUJAS Y DE FILTROS DE SOLVENTES Y DE MUESTRAS

Las agujas para la inyección deben ser de punta recta, ya que las de punta sesgada podrían dañar al inyector.

Cada usuario podrá utilizar filtros (para solventes y/o muestras) propios o del LIUC.

Los filtros de solventes tienen que ser tipo Millipore GVWP04700 de membrana Durapore PVDF de 0.22 μ m de poro y 47 mm de diámetro, blancos, lisos. –Hidrofila- o equivalente.

Los filtros de muestras tienen que ser de membrana de 0.22 μm de poro.

Si se van a utilizar filtros del LIUC recordar pedirlos con antelación al personal del LIUC.