

Réalisation d'un protocole HPLC

Bibliographie

https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie_en_phase_liquide_%C3%A0_haute_performance

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-020-00514-0>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002196730183404X>

protocole simple avec colonne C18, phase mobile eau ou acétonitrile, pour HPLC

taille de la colonne disponible au Fablab.

C18 = une type de colonne = RP = revert phase

Comment cela fonctionne ?

https://www.researchgate.net/publication/341152830_HPLC_Method_for_Determination_of_Caffeine_in_Food_Supplements_for_Weight_Loss

Réactifs :

- Caféine comme référence standard
- Acétonitrile
- Eau ultra pure;
- Échantillons tests- supplément alimentaire à base de caféine.

Matériels :

- Varian Pro Star HPLC system,
- détecteur UV
- colonne C18, 4.6 mm
- thermostat,
- bain à ultrason
- seringue Hamilton conçue pour injection manuelle dans les ports HPLC (25mcl).

Conditions expérimentales :

La chromatographie s'effectue en phase mobile avec 65% d'eau et 35% acétonitrile et les paramètres suivants :

- Détection UV : 274 nm,
- Débit : 1 ml/min,
- Colonne : C18,
- Température thermostat : 25°C.

Préparation des solutions standards :

Dilution dans une solution d'acétonitrile/eau pendant 15 min dans un bain à ultrason.

Préparation des échantillons tests :

1. Extraction avec de l'acétonitrile/eau, une ultrasonication dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes.

2. Filtration deux fois pour toutes les solutions:

- Préfiltration pour éliminer les grosses particules des solutions.
- Filtration plus fine avec des filtres à seringue (taille des pores 0,45 µm).

3. Analyse de tous les échantillons en triplicata.

Peser la capsule pour avoir son poids exacte

Réduire la capsule alimentaire à analyser sous forme de poudre.

Dans un bécher de 50 ml, dissoudre la poudre obtenue dans la phase mobile acétonitrile:eau 35:65

Filtrer sous Buchner.

Récupérer le filtrat et le diluer dans la phase mobile en proportion 100/200

Injecter 20 µl de la solution dans l'appareil HPLC à l'aide d'une seringue Hamilton de 25 µl

Revision #21

Created 2 December 2024 13:38:52 by Vreugdenhil Juliette

Updated 2 December 2024 15:59:24 by Vreugdenhil Juliette