

## TRAVAUX PRATIQUES : PROCEDURE D'Etalonnage interne

### 1 RENSEIGNEMENT DES PARAMETRES D'ETALONNAGE INTERNE A PARTIR DE LA METHODE GLOBALE

☛ Fermer tous les chromatogrammes ouverts.

☞ Fermer, puis réouvrir la méthode globale : dans l'onglet Data (en bas à gauche), cliquer sur **Peak Identification** : on voit le tableau de l'étalon apparaître. **Indiquer manuellement, les noms des composés ;**

Remarque : pour rechercher un nom de fichier rapidement, il suffit de taper \*début du nom de fichier, dans File Name.

☛ Choisir la rubrique **Calibration** dans la fenêtre en bas à gauche, la méthode correspondante doit bien entendu, être ouverte.

☞ Dans calibration (dans la méthode globale), on peut maintenant remplir la feuille de calibration avec le nom de la courbe de calibration que l'on souhaite.

Remarque : si une feuille de recalcul des chromatogrammes avait été déjà remplie, il faut rafraichir la méthode dans cette feuille !

Une fenêtre de remplissage apparaît sur la droite :

Component	ISTD?	ISTD Name	Model	(0.0)?	Add(0.0)?	Weighting	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5	Control Sample
ethanol	<input type="checkbox"/>	isopropanol	Linear	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	None	1,00	1,50	2,00	2,50	3,00	
isopropanol	<input checked="" type="checkbox"/>		Linear	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	None	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	

☛ Dans **Type** : côcher Internal Standard

☛ Dans **Calibration Curve** : File : indiquer un nom de fichier (dans lequel va se trouver votre courbe d'étalonnage) sous le format : etalon-interne-jjmm-initiales

☛ Dans **Option** : Response unit : Curve unit, et côcher Subtract ISDT quantity.

☛ Dans **Standard Unit** : % v/v

☛ Clic sur **Initialise from ID tables** : il faut côcher **isopropanol** en ISTD.

## TRAVAUX PRATIQUES : PROCEDURE D'Etalonnage interne

☛ **TRÈS IMPORTANT À REMPLIR :** Dans la ligne **ethanol**, le nombre de Level (Level correspond à un point de gamme), ici 5. Indiquer dans level 1 : 1,00 ; level 2 : 1,50 ; level 3 : 2,00 et level 4 : 2,50 et level 5 : 3,00.

**Dans la ligne isopropanol**, les 5 level doivent être à 5.

Côcher « Average Levels ».



Remarque

Les « level » se remplissent en bas de la fenêtre, si vous ne les voyez pas, il faut agrandir la fenêtre.

☛ **Cliquer sur la roue dentée :** une fenêtre s’ouvre, cliquer sur **Reprocess**, puis **close**.

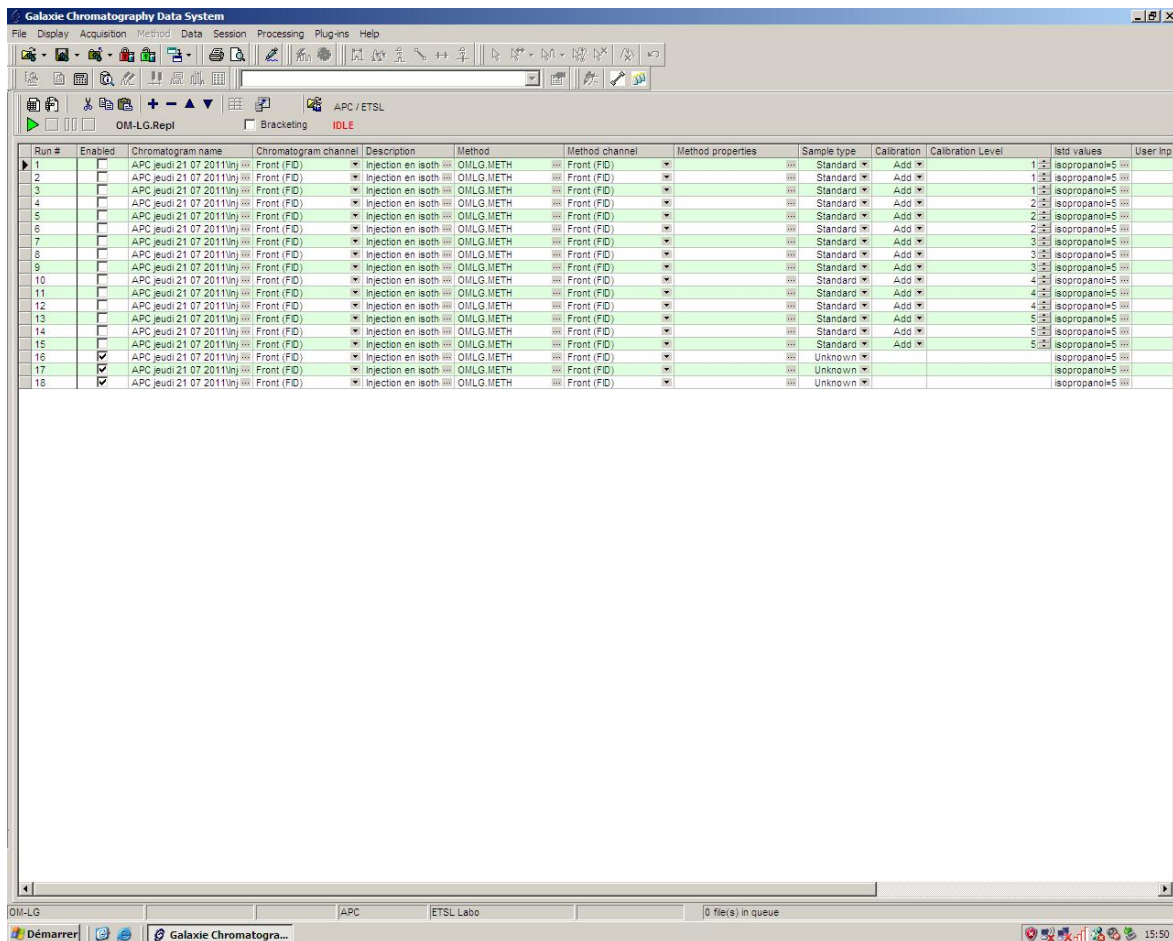
☛ **Sauver la méthode :** **Save Update Method** avant de retraiter les chromatogrammes.

### 2 RETRAITEMENT DES CHROMATOGRAMMES

☞ Ensuite, on retraite les chromatogrammes (afin d’obtenir les résultats de l’étalonnage interne, c’est-à-dire la courbe Aire pics d’éthanol/Aire pics d’isopropanol = f(cc en éthanol/cc en isopropanol). Il existe une méthode qui permet d’effectuer cette opération sur tous les chromatogrammes en même temps (très utile, lorsqu’il y a beaucoup de chromatogrammes à retraiter), en créant, au préalable, une liste de re-calcu, pour cela :

#### FILE / NEW / NEW REPROCESSING LIST

☛ Indiquer le nombre de lignes à retraiter (une ligne correspond à un chromatogramme).



## TRAVAUX PRATIQUES : PROCEDURE D'Etalonnage interne

☛ Remplir la colonne « Chromatogram name » en cherchant les fichiers data utiles de la gamme d'étalonnage interne, avec les inconnues (ATTENTION : dans un premier temps : celles-ci devront être décôchées), puis on indique la méthode utilisée pour l'étalonnage interne. On indique pour les rubriques :

« **Method properties** » :

**cliquer sur les petits points afin de modifier la prise en compte de l'integration :**

décôcher : **Clear chromatogram manual operations.**

« **Sample type** » : **Standard** ;

« **Calibration** » : **Add** ;

« **Calibration level** » : **1** (correspond au premier point de gamme, **2** pour le second point, et ainsi de suite...);

et on indique la valeur de l'étalon interne dans la rubrique « **ISTD Values** », la valeur **5**.

☛ On sauvegarde la liste :

**SAVE / SAVE REPROCESSING LIST**

☛ Appuyer sur la touche verte pour démarrer le calcul.

**ATTENTION : TOUS LES CHROMATOGRAMMES DOIVENT ÊTRE FERMÉS POUR QUE LE RETRAITEMENT PUISSE AVOIR LIEU**

☛ Ensuite, il faut recalculer les inconnues, pour cela il suffit de décôcher les points de gamme, et de côcher les inconnues

On indique pour les rubriques :

« **Sample type** » : **Unknown** ;

« **Calibration** » : **Rien** ;

« **Calibration level** » : **Rien** ;

et on indique la valeur de l'étalon interne dans la rubrique « **ISTD Values** », la valeur **5**.

☛ On sauvegarde la liste :

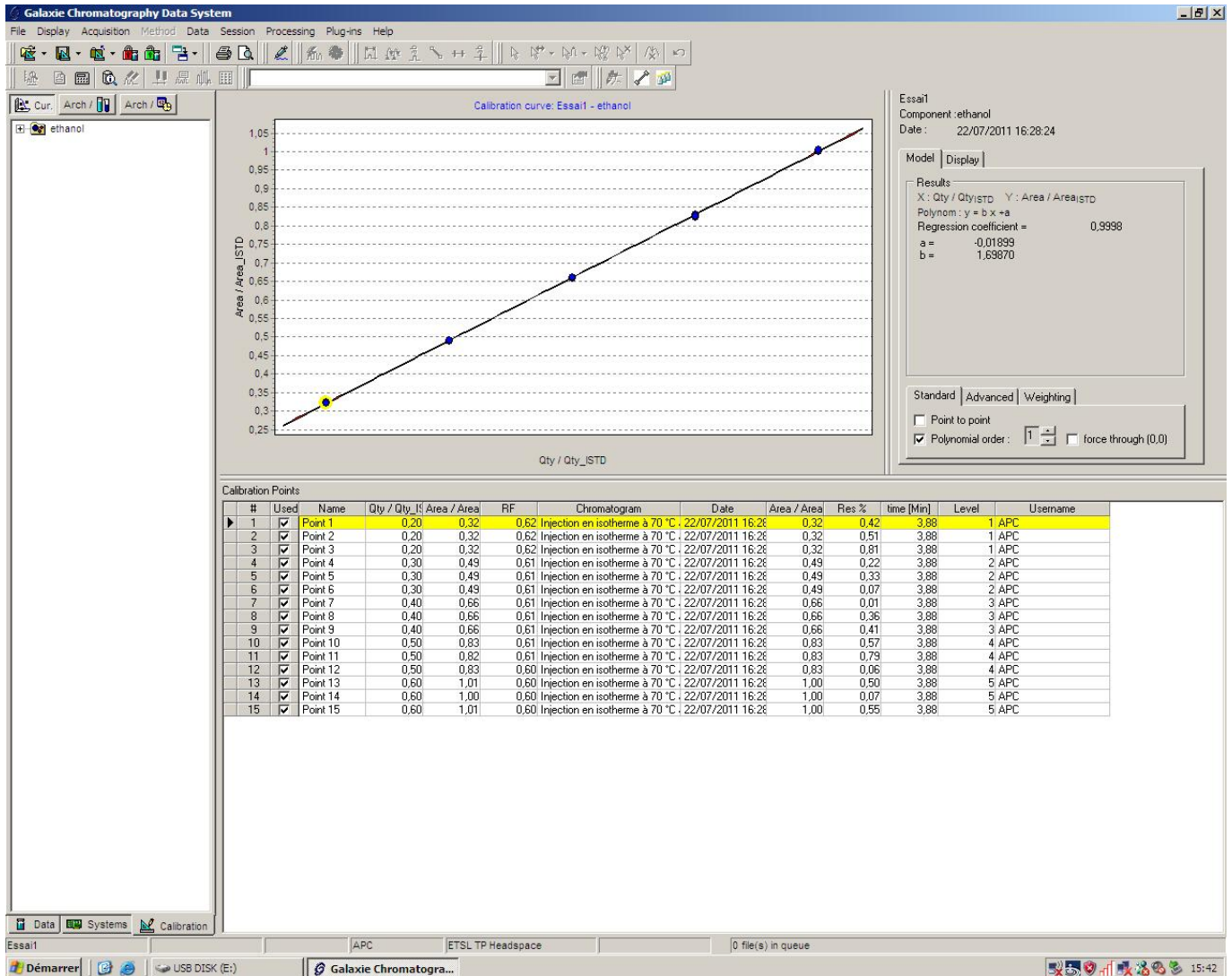
**SAVE / SAVE REPROCESSING LIST**

et appuyer sur la touche verte.

## TRAVAUX PRATIQUES : PROCEDURE D'Etalonnage interne

### 3 OBTENTION DE LA COURBE DE CALIBRATION ET RÉSULTATS

☞ Observer les résultats de l'étalonnage : FILE / OPEN CALIBRATION CURVE



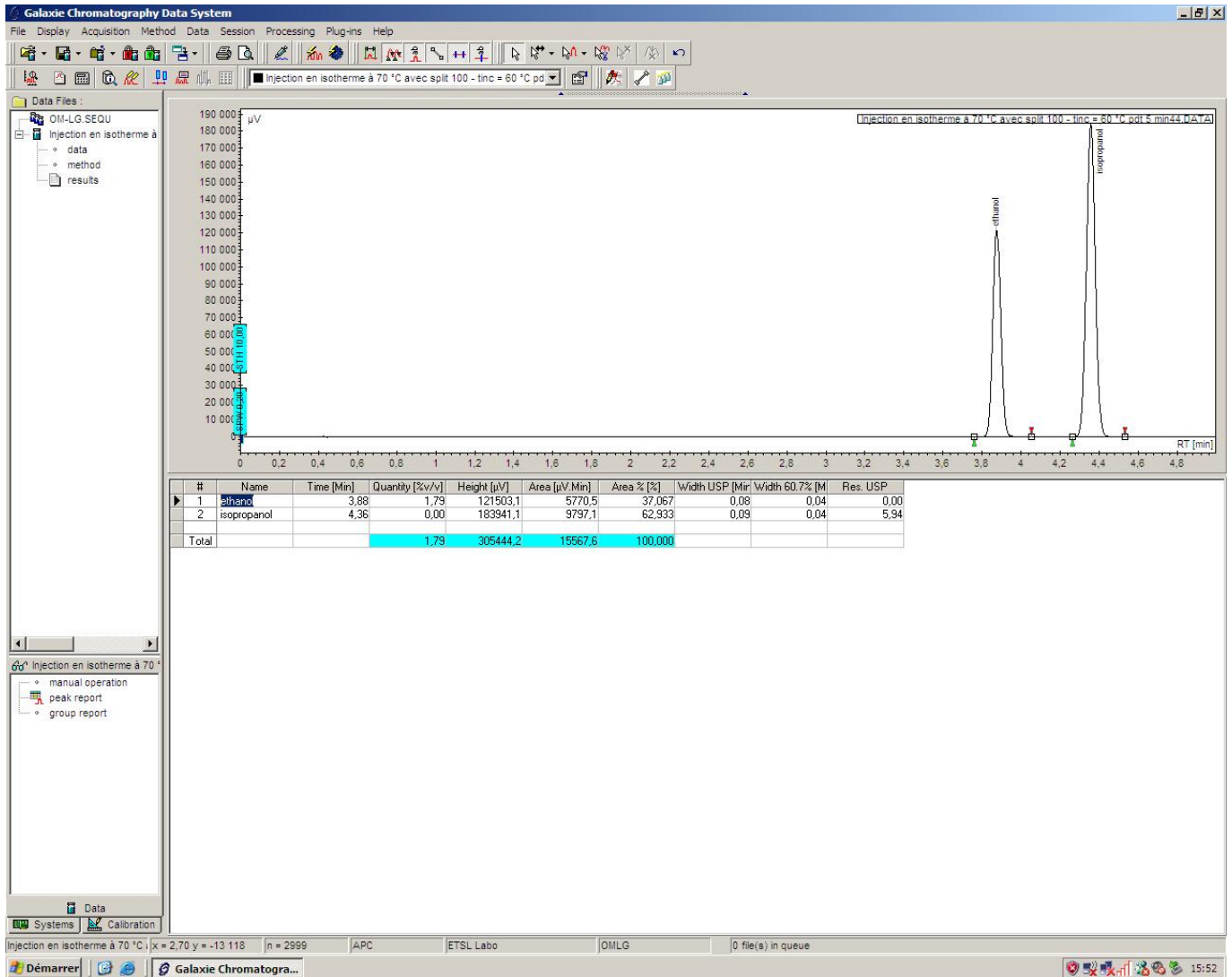
☞ Cliquer sur le fichier de la première inconnue,

☞ Pour **imprimer la courbe de calibration**, il faut choisir la feuille de style : " Courbe-Calibration-Report.STYL " faire un aperçu avant impression, puis imprimer si le résultat convient.

### 4 OBTENTION DES RESULTATS DE QUANTIFICATION POUR LES INCONNUES

☞ Dans le fichier de la première inconnue, le résultat s'affiche dans « Result » (cf page (5)), supprimer les lignes inutiles,

TRAVAUX PRATIQUES : PROCEDURE D'Etalonnage interne



Faire une sauvegarde : FILE / SAVE / SAVE CHROMATOGRAM  
FILE / SAVE / SAVE CHROMATOGRAM METHOD

Pour **imprimer les chromatogrammes inconnus avec les résultats**, il faut choisir la feuille de style (par exemple) : " ETSL1-report.STYL ", puis faire un aperçu avant impression, puis imprimer si le résultat convient, sinon, modifier la feuille de style, puis recommencer.

Recommencer pour les deux autres fichiers inconnus.