Espace pédagogique de l'académie de Poitiers > Biotechnologies - Biochimie Génie Biologique - STMS > S'informer > Les Enseignements > Biochimie et Techniques de Laboratoire https://ww2.ac-poitiers.fr/biochimie/spip.php?article234 - Auteur : Jules Guittard

ſ	

Mallette FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography)

publié le 13/09/2016

Extraction et purification du lysozyme du blanc d'oeuf

Descriptif :

Fiche technique de l'utilisation d'un chromatographe basse pression ÄTKA Start et du logiciel Unicorn® Protocole d'extraction et de purification du lysozyme du blanc d'oeuf

Sommaire :

- 1. Composition de la mallette FPLC
- 2. Principe de la FPLC (Système ÄTKA Start)
- 3. Extraction et purification du lysozyme du blanc d'œuf
- 4. Mesure de l'activité enzymatique
- 5. Calculs et résultats
- 6. Consignes d'utilisation de ÄTKA
- 7. Utilisation d'UNICORN®

• 1. Composition de la mallette FPLC

- Un système chromatographique automatisé ÄKTA Start®
- Un PC Acer Windows 8.1 muni du logiciel Unicorn®



Vue de face de l'ÄTKA

2. Principe de la FPLC (Système ÄTKA Start)

Il s'agit d'une chromatographie sur colonne réalisée avec un système automatisé. Ce système utilise une pompe, réglée à un débit consigne, qui permet au solvant d'entrainer les constituants d'un mélange (protéines) sur une colonne remplie de matrice.

Ce système automatisé accepte quatre types de colonne, à savoir :

- Des colonnes d'affinité
- Des colonnes échangeuses d'ions (IEX)

- Des colonnes d'interaction hydrophobe (HIC)
- Des colonnes d'exclusion de taille (SEC).

La plupart des protocoles de purification de protéines nécessitent l'utilisation de plusieurs de ces types de procédures chromatographiques pour obtenir la pureté nécessaire pour les applications en aval. Le choix de la (les) méthode(s) chromatographique(s) la (les) plus appropriée(s) et l'ordre de ces méthodes est essentielle dans l'optimisation d'une méthode de purification des protéines.

En analysant la séquence d'une protéine, des caractéristiques uniques peuvent être identifiées qui peuvent aider à sa purification. La taille et la charge d'une protéine (à un pH spécifique) peut être déterminée, ainsi que l'identification de grandes régions de résidus hydrophobes.

Type de Chromatographie	Sépare les protéines par	lie avec	Elue avec
Affinité	une interaction spécifique	pas de ligand de compétition	ligand de compétition (spécifique); conditions qui rompent les interactions protéine/protéine (non-spécifique)
Echange d'ions	Charge de surface nette	force ionique faible	Force ionique élevée, augmentant (échange de cations) ou diminuant (échanges d'anions) pH
Interactions Hydrophobe	Hydrophobicité	force ionique élevée	force ionique faible
Exclusion de taille	Radius Hydrodynamique		

▶ Référence : Purification de Protéine par chromatographie sur colonne 🕑

• 3. Extraction et purification du lysozyme du blanc d'œuf

O 3.1 Généralités

Le lysozyme EC. 3.2.1.17, catalyse l'hydrolyse des liaisons $\beta(1-4)$ osidiques entre l'acide N-acétylmuramique et la N-acétylglucosamine du peptidoglycane des parois bactériennes.

Cette hydrolyse de la couche rigide de la paroi provoque la lyse des cellules en milieu hypotonique. Le lysozyme, découvert en 1929 par Fleming dans les larmes, est également présent dans le blanc d'œuf où il représente 7 à 8 % des protéines. Son pHi est de 11 (nettement supérieur à celui des autres protéines du blanc d'œuf) et son poids moléculaire est de 14600 Da.

O 3.2 Description de la procédure de purification du lyzozyme

Deux étapes de purification sont proposées pour obtenir un lysozyme purifié du blanc d'œuf

- Une chromatographie par échange d'ions (IEX) qui sépare les protéines en fonction de leur charge de surface nette. La colonne utilisée est une colonne échangeuse de cations faibles à carboxyméthyl (CM)
- Une chromatographie d'exclusion (SEC) qui sépare les molécules présentes, en fonction de leur rayon (taille) hydrodynamique. La colonne utilisée contient une résine Séphadex G-25 (fractionne jusqu'à 5000 Da)

O 3.3 Préparation de l'échantillon

- Peser le blanc d'un œuf et le transvaser quantitativement dans une fiole de 200 mL
- Compléter la fiole avec le tampon Tris-HCl (pH 8,5 0,1 M NaCl)
- Garder une fraction pour étude complémentaire (Tube SBO)

O 3.4 1ère étape de purification : Chromatographie IEX

- Préparer la colonne (voir 6.3 Démarrage)
- Monter la colonne HiTrap CM FF 5mL (voir 6. Consignes d'utilisation)
- Plonger les crépines dans les solvants respectifs (Solvant A = Tris-HCl pH8,5 à 0,1M NaCl ; Solvant B = Tampon pH8,5 à 1M de NaCl)
- Allumer le chromatographe
- Ouvrir le logiciel Unicorn® (System Control ; Evaluation) (voir 7. Utilisation unicorn)
- Sur System Control, connecter le chromatographe à Unicorn® en cliquant sur « Connect »

- Lancer la méthode en cliquant sur « Method Run », choisir « Lysozyme2 »
- Suivre les instructions à l'écran (le volume de blanc d'œuf à injecter est de 1 mL)
- Sur Évaluation, intégrer et éditer vos pics
- Garder la fraction la plus intéressante pour étude complémentaire (Tube P1)
- Re-conditionner la colonne (voir 6.4 Rinçage)

O 3.5 2ème étape de purification : Chromatographie SEC

- Préparer la colonne (voir 6.3 Démarrage)
- Changer de colonne, monter la colonne HiTrap Desalting 5mL (voir 6. Consignes d'utilisation)
- Plonger la crépine A dans de l'eau distillée (Remarque : la crépine B peut aussi plonger dans le même récipient que la A)
- Allumer le chromatographe
- Ouvrir le logiciel Unicorn® (System Control ; Évaluation) (voir 7. Utilisation unicorn)
- Sur System Control, connecter le chromatographe à Unicorn® en cliquant sur « Connect »
- Lancer la méthode en cliquant sur « Method Run », choisir « dessalage »
- Suivre les instructions à l'écran (le volume de fraction à injecter est de 1 mL)
- Sur Évaluation, intégrer et éditer vos pics
- Garder la fraction la plus intéressante pour étude complémentaire (Tube P2)
- Re-conditionner la colonne (voir 6.4 Rinçage)

• 4. Mesure de l'activité enzymatique

O 4.1 Mode opératoire

- Opérer en cuve de spectrophotomètre, si possible à 25°C
- Introduire :
 - 2,9 mL de substrat (suspension de parois de Micrococcus à 200mg/L)
 - 0,1 mL de fraction enzymatique
- Trois fractions sont testées préalablement diluées comme suit :

Fraction	SBO	P1	P ₂
dilution proposée	1/10	Non diluée	Non diluée

• la variation d'absorbance à 450 nm pendant 2 à 3 min et déterminer le A/min

L'activité catalytique du lysozyme est mesurée par diminution de l'absorbance à 450 nm d'une suspension bactérienne de Micrococcus lysodeikticus à pH 6,24. Une unité d'activité enzymatique est définie comme étant la quantité d'enzyme qui provoque une variation d'absorbance de 0,001 par minute dans les conditions de l'expérience et à 25°C.

O 4.2 Dosage colorimétrique des protéines (par FOLIN-LOWRY)

- Réalisation de la gamme d'étalonnage :
 - A l'aide d'une solution de protéine étalon (SAB) à 0,5 g.L-1, réaliser une gamme 6 tubes contenant au maximum 1 mL de solution de protéine étalon.
 - Ajouter dans chaque tube 5 mL de réactif de LOWRY et agiter et attendre 10 minutes
 - Ajouter dans chaque tube 0,5 mL de réactif de FOLIN, puis agiter immédiatement et laisser la coloration se développer 30 minutes à l'obscurité, à température ambiante.
 - Mesurer l'absorbance à 650 nm contre un témoin réactif.
- Dosage des protéines :

Réaliser, selon le même protocole que la gamme étalon, le dosage des fractions SBO, P1 et P2.

Les éventuelles dilutions seront réalisées en eau physiologique. Une estimation des protéines présentes peut être

• 5. Calculs et résultats

Remplir les différents tableaux suivants :

O 5.1 Mesure de l'activité enzymatique

Fraction	SBO	P ₁	P ₂
Dilution effectuée			
A ₄₅₀ /min (Slope)			

O 5.2 Gamme de dosage des protéines

m protéines mg/tube	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
A _{650nm}						

O 5.3 Dosage des protéines dans les fractions

Fraction	SBO	P1	P ₂
Prise d'essai			
Dilution			
A650nm			
Concentration en protéine en mg.mL-1			

O 5.4 Résultats des activités totales et spécifiques

				b					
Fraction	Volume (mL) (à lire sur « exaluation »)	Dilution	∆A/min	b U/mL Fraction diluée	b U/mL Fraction non diluée	Teneur Protéines mg/mL	Zı U	Quantité totale de protéines mg	Z _{sp} U/mg
SBO									
P ₁									
P ₂									

O 5.5 Calculs du Rendement de purification et de l'enrichissement

Fractions à comparer	Rendement %	Enrichissement
P ₁ par rapport à S _{BO}		
P ₂ par rapport à S ₈₀		
P2 par rapport à P1		

O 5.6 Principes et conditions opératoires

Caractéristiques des étapes de purification	1 ^{er} étape de purification	2 ^{ème} étape de purification
Méthode chromatographique utilisée		
Principe de cette méthode		
Caractéristiques des étapes de purification	1ª étape de purification	2 ^{ème} étape de purification
Nom de la colonne		
Valeur du CV en mL		
Nature du solvant A		
Nature du solvant B		
Débit de filtration		
Débit d'élution		
Méthode d'élution (gradient ou isocratique) Détailler la programmation		
Volume des fractions de filtration en mL		
Volume des fractions d'élution en mL		

• 6. Consignes d'utilisation de ÄTKA

Pour le bon fonctionnement de l'appareil ces consignes sont à suivre impérativement.

0 6.1 Traitement de la pompe

Prière de desserrer le système péristaltique de la pompe après utilisation.



O 6.2 Montage et démontage d'une colonne

Les colonnes peuvent facilement être installées et retirées.

Pour le montage, il convient de viser d'abord la partie basse de la colonne puis la partie haute. Pour le démontage l'opération doit être inversée, d'abord le haut puis le bas



O 6.3 Démarrage avec une colonne

A chaque démarrage ou à chaque changement de colonne, il faut faire un rinçage manuel avec le solvant A pour une colonne échangeuse d'ions ou avec de l'eau distillée avec une colonne d'exclusion. La procédure est la suivante :

- Plonger les crépines A et B dans le solvant A ou l'eau distillée
- Déconnecter le tube collecteur de fractions de son emplacement et le brancher sur le récipient poubelle. (voir le 1 sur le schéma ci-dessous)
- Allumer le chromatographe
- Ouvrir le logiciel Unicorn® (System Control) (voir 7. Utilisation unicorn)
- Sur System Control, connecter le chromatographe à Unicorn® en cliquant sur « Connect »
- Mettre la boucle en position « 'inject »
- Lancer la méthode manuelle en cliquant sur « Manual Run »
- Choisir un débit de 4 mL/min (Pump, flow rate)
- Ouvrir les vannes (en cliquant sur le schéma présenté sur System control) pour que le solvant A ou l'eau passe par l'ensemble du système comme présenté sur ce schéma (chemin en vert).
- Laisser tourner 5 min et cliquer sur stop (voir le 2 sur le schéma ci-dessous)
- Remettre la boucle sur la position « Load » et le tube collecteur de fractions sur son emplacement d'origine.
 Remarque : pour ouvrir ou fermer une vanne, il suffit de cliquer sur la vanne sur l'écran directement. (Vanne bleu = ouvert ; vanne blanche = fermé (exemple : voir 3 sur le schéma ci-dessous))



Schéma du principe de la FPLC ATKA : procédure de rinçage

O 6.4 Rinçage de la colonne en fin de manipulation

A l'arrêt de l'utilisation de l'appareil et pour conserver les colonnes, un rinçage du circuit est à réaliser avec de l'éthanol à 20% (colonne échangeuse d'ions et colonne d'exclusion). Suivre la même procédure que le démarrage de la colonne.

• 7. Utilisation d'UNICORN®

Le logiciel Unicorn® comprend 4 applications que l'on peut ouvrir simultanément.

07.1 Utilisation de l'application « Method Editor »

Cette application permet **d'éditer** une procédure.

Exemple d'édition d'une méthode pour une « Chromatographie échangeuse d'ions » :

• Ouvrir « UNICORN® » en cliquant sur l'icône située sur le bureau



Choisir les applications à ouvrir "METHOD EDITOR"



• Puis « FILE » et « NEW METHOD »

1					Method
File	Edit View	Phases	Tools	Help	
1	New Method	Ct	rl+N		
2	Open Close New Folder	Ct	rl+0		
10	Save Save As	C	trl+S		
	Export Import				
	Properties Recent Methods	l.			
	Exit UNICORN				

Choisir pour la méthode à éditer, le type de chromatographie
 Echangeuse de cations

Edit View Phases Tools Help		
	New A System: coccoccoccccccto2122 Create a new method by using the: Predefined Method: Cliciton Exchange Affinity Affinity Dealing Conferences Dealing Minitiation Affinition Dealing Minitiation Affinition	Aethod
		OK Cancel

La méthode « échangeuse de cations » présente 6 pages à programmer :

• 1ère page : Method Setting : Choix de colonne et choix de débit général

Method Settings	Column Selection					
		Show by technique	Cation Exchange		¥	Choisir dans
Prime and Equilibration	I T	Column type	HiTrap CM FF, 5 ml	+	-	liste votre
٣				Column F	roperties	référence co
Sample Application		Column volume	5.627	mi	JO. 100 - 350-00	0
	-	Pressure limit	0.30	MPa	(0.00 - 0.50)	
Wash out unbound						
Elution and Fractionation	-9-	Flow rate	0.5	milinin	(D.5 - 5.0)	
	-		t			
Prime and Equilibration			1			
			Choisir le	débit a	énéral	

• 2ème page : Prime Equilibration : Programmation de mise en route de la colonne

Method	Method Settings	Prime and Equilibration Prime Rincage général, 5 mL de chaque exchange exchange entre la mathème
Neoptier	Prime and Equilibration V Sample Application	Solvant sont passes dans le systeme Eautrate ouvre Eautrate ouvre Eautrate ouvre Eautrate ouvre This Refe Ouvre fe same four reis as in Merica Sense Choisir le débit du rinçage
	Elurion and Fractionation	Stat concentration Stat concentration Stat UB concentration Stat UB concentration O NB BS- 100 Technology Planet UV revolary (July Zero) Planet UV revol

• 3ème page : Sample Application : Choix du type injection

Method Settings	Sample Application
Prime and Equilibration	Sangla application
	Sergle volume 10 ml (0.1-1000.0) Choix du type injection
Sample Application	Row Rate Soit par la boucle
•	Flow rate O5 solit par aspiration solit par aspiration
Wash out unbound	Enterter les teut
•	Erable fractionation de l'injection
Elution and Fractionation	Aure per factors 10 ml (\$5-15.0)
*	2000
Prime and Equilibration	Hide Advanced Options
	Possibilité de réaliser des fractions pendant l'injection

• 4ème page : Wash out unbound : Programmation de la filtration

Met	hod Settings	Wash out unbound			Choix c	
Prime a	and Equilibration	Tribesh column of	e 0.5 CV	(p.o. 100.0)	volume	à filtrer
	*	Row Rate	Use the same flow rat	te as in Method Settings 👍	Choisi	r le débit lo
Sang	ple Application		Flow rate	0.5 milmin (0	de la l	filtration
West	*	Stat concentration				
	•		Set %B Concentratio	e 0.0 %8 p	(0 - 100.0)	
Elution	and Fractionation	Fractionation			🦰 % de solvar	nt B durant
	•	-	Enable Fractionation		la filtration	(si 0 alors
Prime a	and Equilibration		Fractionation Volume	2.7 mi (0.5-15	a 100% de so	lvant A)

• 5ème page : Elution and Fractionation : Programmation de l'élution

Method Settings	Choisir le mode d'élution
Prime and Equilibration	Set target 1.8 concentration 0.8 1.8 p.0 - 100 g
•	Set eldon volume 13 CV isocratique
Sample Application	@ Gradent elution
Wash out unbound	Start UB concentration at 0.0 %B (0.0-100.0) Paramètres mode gradient
	Taget 18 Volume Add Segment
Elution and Fractionation	1 Urear v 100.0 4.00 Deleta Segnar
•	Choicir % final de B at volume d'élution
	Possibilité de réaliser des fractione pendant l'élution
	Choisir le v des fraction
	How Hate W Use the same flow rate as in Method Settings Phone +electronic Choisir le débit de l'élution
	Solet hashershore after: 92 CV (only for isocratic elution)

• 6ème page : Prime and Equilibration : rinçage et remise en condition

2		Prime and Equilibration
lethod Na	Method Settings	Rinçage général, 5 mL de chaque
mater	Prime and Equilibration	Spullbate column
	٣	Equilibrate with 0.0 CV (0.0-100.0) Choisir le volume de solvant qui rince la colonne
	Sample Application	Row Rate
	Wash out unbound	Pievrate 05 million (25-50) rinçage
	*	Sat concentration
	Elution and Fractionation	Set 1/1 Set 1/1 concertantion 0.0 1/10 (20-1000) - % de solvant B pour
	•	nincer la colonne
	Prime and Equilibration	Zéro du spectro
		Hide Advanced Options

• Ouvrir « UNICORN® » en cliquant sur Icône situé sur le bureau



Choisir les applications à ouvrir "METHOD EDITOR"

1	Select Application	×
	Administration 🛛 🌉 System	
	Method Editor Evaluation	m
0	OK Cancel	

• Puis « FILE » et « NEW METHOD »

						Method Edi
File	Edit View	Phases	Tools	Help		
1	New Method	Ctrl	+N			
٢	Open	Ctrl-	+0			
	Close					
	New Folder					
d,	Save	Ctrl	I+S			
	Save As					
	Export			1		
	Import					
	Properties					
	Recent Methods					
	Exit UNICORN					

• Choisir pour la méthode à éditer, le type de chromatographie Desalting (Dessalage par exclusion)

	Method Editor	
le Edit View Phases Tools He	ip	
🗄 🚵 🔚 🔝 System:		
1		
	New Method	×
	System:	
	0000000000002002132	~
	Create a new method by using the	
	Predefined Method:	
	Desating	4
	Afinity Arion Exchange	
	Cation Exchange Decetoring	
	MGelFitration	
	After equilibration and sample application, the proteins are elute isocratically. The technique commonly used for buffer exchange	e.
		(C)

La méthode « échangeuse de cations » présente 4 pages à programmer :

• 1ère page : Method Setting : Choix de colonne et choix de débit général

He	Method Settings	Nethod Settings Column Selection					î
od Neegator	Prime and Equilibration		Show by technique Column type	Desaiting HiTrap Desaiting	Column Prop	Choisir liste vot référence	dans la tre te colonn
	Sample Application		Column volume Pressure limit	6.30	wi MPa	(p. 100 - 350.000) (p. 00 - 0.50)	
	Elution and Fractionation	Row rate	Flow rate	05	milmin (D	5 - 5.0]	
				Choisir le d	débit géne	éral	
-		<					,

• 2ème page : Method Setting : Choix de colonne et choix de débit général

E	Method Editor - dessalage -
File Edit View Phases Tools Help	000000112
Method Settings	Prine and Equilibrium
Prime and Equilibration	Brinste pure solvant sont passés dans le système taileate colum
T Sample Application	Equilibrate with 0.0 CV [90-100.0] Choisir le volume de solvant qui rince la colonne
¥ Elution and Fractionation	Flow rate 05 edites 25-50 Choisir le débit du
	Set concentration Set 18 concentration B0 18 (0.0-100.0) % de solvant B pour rincer la colonne
	Zero du spectro
Delete Method summary	*

• 3ème page : Method Setting : Choix de colonne et choix de débit général



• 4ème page : Method Setting : Choix de colonne et choix de débit général



o 7.2 Utilisation de l'application « System Control »

Elle permet de lancer une méthode déjà enregistrée.

Exemple de lancement d'une méthode "test" :

• Lancer SYSTEM CONTROL et cliquer sur « CONNECT »



• Cliquer sur METHOD RUN et choisir la méthode dans la liste puis OK

6	System Contr	te anne instant i tha an aile aile ai	- 0 2010	
He Hew Menud From To	vih Hele Select Metho		/ .	
C assossssssssssssssssssssssssssssssssss	Beledion Orleria # User defined		· · ·	Multine for Instant
etce = Hetce	OPre-adved			
100 80 80 80 80 80 80 80 80 80 80 80 80 8	Foto care Spaten	Last realities Dested to 00/10/0815/18.30. System 00/10/0815/18.30. Defeat	/	
80 80 80 80 80 80 80 80 80	Biet	DEC DE LO DE		

0 0.00 01 0.15 0			EM 1.8 ON 1	1
The same of	(e)	Ch Canal		- 100

• Valider la méthode par Next

ariable List	>>	Phase	ariable	Value	Range	
lesuit Name and Location		Method Settings	ColomVolume (CV)	1.000	(0.100-999999-0)	
			Column	Any v		
		Method Settings	RowRate (Jmin)	1.0	[0.5 - 5.0]	
		Prime and Equilibration	Equilibration June (CV)	1.00	[0.00 - 999999.0]	
		Sample Application	Loop Sample Volume (ml)	1.00	(0.00 - 999999 0)	
		Wash out unbound	Wash Column With V	1.00	(0.00 - 999999 0)	
		Button and Fractionation	Bution Start at 8 Concentration (%8)	0.0	[0.0 - 100.0]	
		Buton and Fractionation	Bution Rived Fractionation Jolume (mi)	1.0	[0.5 - 15.0]	
		Bution and Fractionation	Target 8 concentration for encon segment_(T) (%8)	100.0	(0.0 - 100.0)	
			volume of elution gradient segment (1) (ml)	20.0	[0.0 - 10000.0]	
		Bution and Fractionation	Target B concentration for elution a gment_(2) (%B)	100.0	[0.0 - 100.0]	
			volume of elution gradient segment_(2) v()	0.0	(0.0 - 10000.0)	
		Prime and Equilibration	Equilbration Volume_1 (CV)	1.00	[0.00-999999.0]	
		Show details				
				1		
		Times tooks for extend	ed variable cells			

• Donner un nom au fichier « résultats » et lancer la procédure

	Start Protocol - 000000000000202132 - test1	
Variable List Result Name and Location (22)	Run and	
	Date: 09/12/2015 11:11:18 +01:00	
	User Default	
	Method left1	
	Rest	
	□ No reut	
	Add inique identifier to result name	
	Directory:	
	/Defaultione Bow	H
	Name	
	test1 003	
	N 1	
		10 C
	5.6	N N
		1
22	(Park Linds	Put Caud

Remarque : suivre à l'écran le déroulé des différentes étapes. Une demande et une confirmation seront proposées au cours de la procédure si vous avez choisi l'injection par la boucle (LOOP).

O 7.3 Utilisation de l'application « Evaluation »

Elle permet d'analyser les profils obtenus lors des chromatographies.

Exemple d'évaluation d'une "Chromatographie échangeuse d'ions"

- Ouvrir l'application « EVALUATION »
- Ouvrir le fichier résultats



• Choisir le fichier correspondant à l'analyse à faire.



• Intégrer les pics et choisir les paramètres à laisser sur le graphe



• Éditer les pics obtenus (Nommer et/ou éliminer certains pics)



• Pour éliminer les pics non désirés



• Pour nommer les pics obtenus

File Edit Integrate		Edit Peak Table -	(UV@25,PEAK (1))	1	
mAU 700 600 600 600 500 500 500 500 500 500 5	9 W Sutar Sia 		0 - Singleton	Constitution 9 Unigot BAGBA-Editors - Examinan - 11.277 - 10 15 20 25	ni
Peak data	Atention InD Retention at start ini	Betenton at end init. Area init	540	Chosen algotthm Classic Morphological Zero baseli	16
1	3.538 1.6	6 9.35 1826	5420 Delete Sol	E Baseline	-
* 2	TL750 9.3	5 1542 334	2019 Delete Sol	Minimum diatance between points: 73	20 ml
				De	fault Values

• Trouver l'aire correspondant à chaque fraction Operations>Fraction Histogram



ce chromatogram and curve:	Source chromatogram	and fraction curve:	Target chr	omatogram and curve	e
m.1 v	Owom.1		Chrom.1		
Conductivity Graduate Concentration System Row Pressure UVIGOT.BASEM (1)	011 Fradion		004 005: 009: 010: 013: 014: 015: 014: 015: 016: 017: 016: 017: 016: 017: 016: 017: 016: 017: 016: 017: 016: 017: 016: 020: 020: 020: 020: 020: 020: 020: 02		*
			Curve nam UV(20111	ж HIST	
h length (cm)		UV@0111.HIST	Curve nam UV@0111	ж HIST	Export Table
h length (cm) Fraction Start (ml) Stop (ml) 5 701 6 198	Duration (nl) Area	UV@0111.HIST (ml*mAU) Ext. coef.	Curve nam UV@0111	e: HIST Amount	Export Table Printrable
h length (cm) Fraction Start (m) Stop (m) 5.701 6.198 6.198 7.198	Duration (nl) Area 0.497	UV@0111.HIST (ml*mAU) Est. coof. 59.227 56.148	Curve nam UV@0111	HIST	Export Table Print Table
h length (cm) Fraction Start (ml) Stop (ml) 5701 6.196 6.196 2.202 2.166 8.202	Duration (ml) Area 0.497 1.000 1.004	UV@0111.HIST (ml*mAU) Est. coef. 59.227 56.148 15.997	Curve nem UV@0111.	N: HIST Amount	Export Table Printrable
h length (cm) Fraction 5.701 6.198 6.198 7.198 7.196 8.202 8.202 9.205	Duration (nl) Area 0.497 1.000 1.004 1.003	UV@0111.HIST (ml*mAU) Est. coef. 59.227 56.148 35.997 31.005	Curve nam UVI20111	n: HIST Amount	Export Table Print rable
h length (cm) Fraction 5:701 6:198 7:198 8:202 8:202 8:202 9:205 10:199	Duration (ml) Area 0.497 1.000 1.004 1.003 0.994	UV(@0111.HIST (ml*AU) Ext. coef. 59.227 56.148 35.997 31.006 29.632	Curve nem	n: HIST Amount	Export Table Print Table
h length (cm) Fraction Start (m) Stop (m) 5.701 6.198 7.198 8.202 8.202 8.205 9.205 9.11.199 10.199 11.199	Duration (ef) Area 0.497 1.000 1.004 1.003 0.994 1.000	UV@0111.HIST (ml*mAU) Est.coof. 56.148 35.897 31.006 29.632 58.266	Curve nam	n: HIST Amount	Export Table Print Table Possibilité
h length (cm) Fraction 5701 6.198 6.198 7.198 8.202 8.202 8.205 9.205 10.199 10.195 11.199 11.199 12.203	Duration (inf) Area 0.437 1.000 1.004 1.003 0.994 1.000 1.004	UV@0111.HIST 59.227 56.148 35.997 31.005 29.632 58.286 137.966	Curve nam	M. HIST Amount	Export Table Print Table Possibilité d'export en
h length (cm) Fraction Start (m) Stop (m) 5707 6.198 7.198 8.202 8.202 8.205 9.205 10.199 10.199 11.199 11.203 12.203 13.206	Duration (nl) Area 0.497 1.000 1.004 1.003 0.994 1.000 1.004	UVi@01111.HIST 59.227 56.148 35.897 31.005 229.532 58.286 137.966 81.622	Conc.	Amount	Export Table Printrable Possibilité d'export en
h length (cm) Fraction 5/01 6.198 6.198 7.198 2.202 8.202 8.202 9.205 9.205 10.199 11.199 11.203 11.203 11.203	Duration (ad) Area 0.497 1.000 1.004 1.003 0.994 1.000 1.004 1.004 0.993	UV@0111.HIST (al"AAU) Est.coof. 59.227 56.148 35.897 31.005 59.226 59.226 137.966 81.622 22.245	Curve nem UVe0111	Amount	Expert Table Print Table Print Table Print Table Print Table Print Table Print Table Print Table Print Table Print Table

o 7.4 Application « Administration »

Elle permet d'installer et de paramétrer le logiciel Unicorn®

Exemples de résultats obtenus :

E Feuille de résultats obtenus (PDF de 62.9 ko)

Ce document contient des résultats expérimentaux obtenus par les étudiants de BTS 2ème année du lycée Valin à La Rochelle en avril 2016



Académie de Poitiers. de Poitiers II ne peut en aucun cas être proposé au téléchargement ou à la consultation depuis un autre site.