

HPLC - Choix et optimisation des performances des colonnes

OBJECTIFS

- Savoir obtenir les informations nécessaires au choix d'une colonne HPLC
- Comprendre les paramètres d'utilisation optimale des colonnes HPLC
- Comprendre les paramètres responsables d'une diminution des performances de la colonne et les méthodes pratiques d'optimisation de celles-ci

PUBLIC CONCERNÉ

Ce cours s'adresse aux personnes impliquées dans les processus de développement de méthode en chromatographie liquide et/ou d'utilisation de colonnes HPLC.

Pré-requis : notions de base en chromatographie liquide. Une évaluation des pré-requis aura lieu en début de formation

PROGRAMME

LE CHOIX D'UNE TECHNIQUE CHROMATOGRAPHIQUE

- Les sources d'information
 - Données physico-chimiques : pKa, log P, log D
 - Bases de données, littérature
- Les grandes familles de composés
 - Polymères
 - Protéines, peptides, acides nucléiques
 - Sucres, oligosaccharides
 - Ions inorganiques
- Les autres molécules organiques

TECHNOLOGIES ET MÉTHODES DE FABRICATION DES PHASES STATIONNAIRES POUR L'HPLC

- Le traitement de la silice
- Les techniques de greffage
- La caractérisation des phases stationnaires
- Le choix de la phase stationnaire
- La chromatographie des composés polaires
- La chromatographie des composés ionisables
- Choix de la phase stationnaire en fonction du pH du tampon

L'U-HPLC

- Objectifs et méthodes
- Les diagrammes cinétiques : choix de la méthode
- Le transfert de l'HPLC vers l'U-HPLC
- Les supports monolithiques
- Les supports superficiellement poreux
- Quelle technique choisir ?

L'UTILISATION DES COLONNES HPLC

- Installation et équilibrage
- Les solvants pour l'HPLC et l'U-HPLC
- Compatibilité et miscibilité des solvants méthanol ou acétonitrile ?

Effets des phases mobiles tamponnées sur la phase stationnaire :

- Influence du contre-ion, influence de l'ion
- Influence de la concentration, influence de la température

Influence de la température sur la rétention

L'utilisation du gradient d'élution

Suivi des performances, Protection et stockage



RÉSOLUTION DES ANOMALIES DE FONCTIONNEMENT

Problèmes liés à la forme des pics :

- Effets extra colonne
- Effets de surcharge
- Effets des interactions secondaires
- Effets de la distribution des échantillons
- Effets de tassement
- Effets des équilibres secondaires

Problèmes liés au temps de rétention :

- Variation aléatoire du temps de rétention
- Dérive du temps de rétention

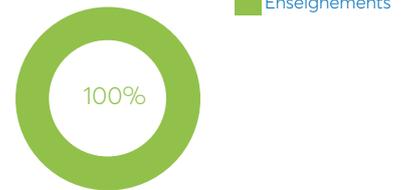
Autres anomalies :

- Pics « fantômes », Perte de charge, Bruit de fond, Dérive

LE TEST DE CONFORMITÉ D'UNE ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Au cours de cette formation seront débattues les questions des participants quant à leurs difficultés d'analyse en HPLC. Il est possible pour les participants d'amener des exemples de procédures dont la mise en œuvre pose problème.

RÉPARTITION DE LA FORMATION



Evaluation des acquis : QCM.

DURÉE : 3 jours

LOCALITÉ : VWR International, Rosny-sous-Bois

DATE : Du 29 au 31 Mai 2024
Du 16 au 18 Octobre 2024

COÛT : 1400 € NET

RÉFÉRENCE : MA004

INTERVENANT : Jean-Marc ROUSSEL,
Dr en chimie analytique