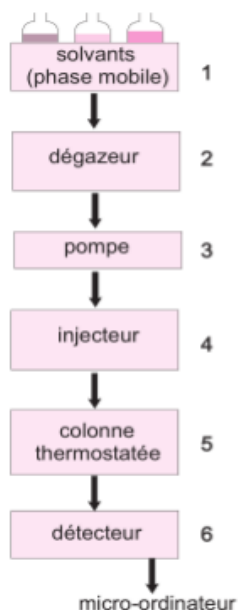


HPLC



Contacts : Brigitte Dustou (email : dustou@chimie.ups-tlse.fr),
Laure Latapie (email : latapie@chimie.ups-tlse.fr)
Vincent Bouvier (email : bouvier@chimie.ups-tlse.fr) pour Jasco

Principe de la mesure, caractéristique principale :

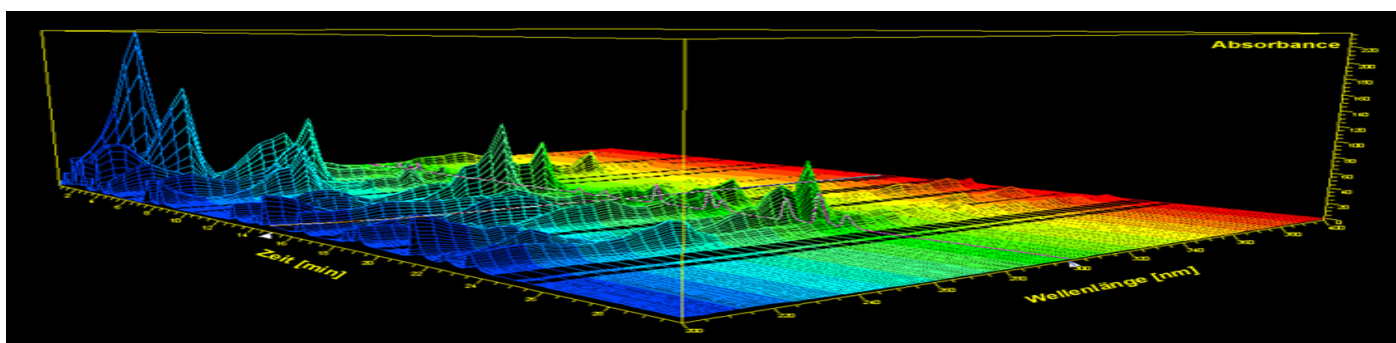
La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est une technique de chimie analytique servant à séparer, identifier et quantifier les composants d'un mélange. Un solvant liquide (organique ou aqueux) contenant l'échantillon circule à travers une colonne remplie d'un matériau solide adsorbant (également appelé phase stationnaire). Chaque composant de l'échantillon interagit avec l'adsorbant de façon spécifique donnant lieu à un temps de rétention.

*** Agilent 1100 Series HPLC System**

Le détecteur est un **UV à longueur d'onde variable** ; Sa source de radiation est une lampe deutérium pour la gamme de longueurs d'onde d'ultraviolets (UV) comprise entre 190 et 600 nm.

*** Agilent 1200 Series HPLC System**

Le détecteur ici est un **UV à barrette de diodes (DAD)** Ce système permet l'acquisition du spectre de l'échantillon en temps réel, une représentation en 3 dimensions (temps, absorbance, longueur d'onde) et une caractérisation des composés par leur spectre.



* Jasco

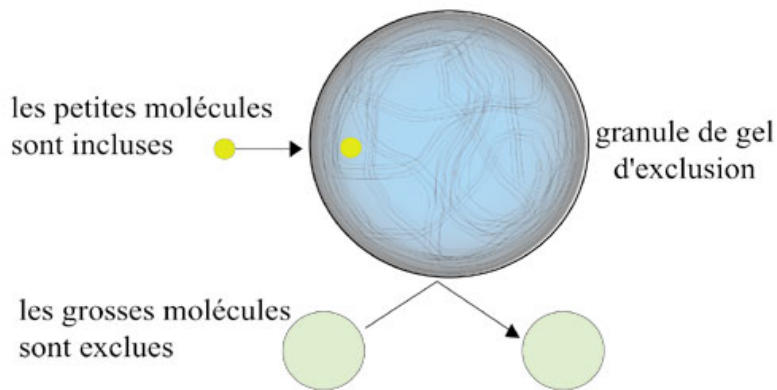
L'HPLC JASCO est utilisé au laboratoire essentiellement en **mode exclusion stérique** et est équipée de deux types de détecteurs :

- un réfractomètre, détecteur universel
- un détecteur UV pour lequel trois longueurs d'onde peuvent être sélectionnées.

L'exclusion stérique permet la séparation des molécules en fonction de leur taille et de leur forme.

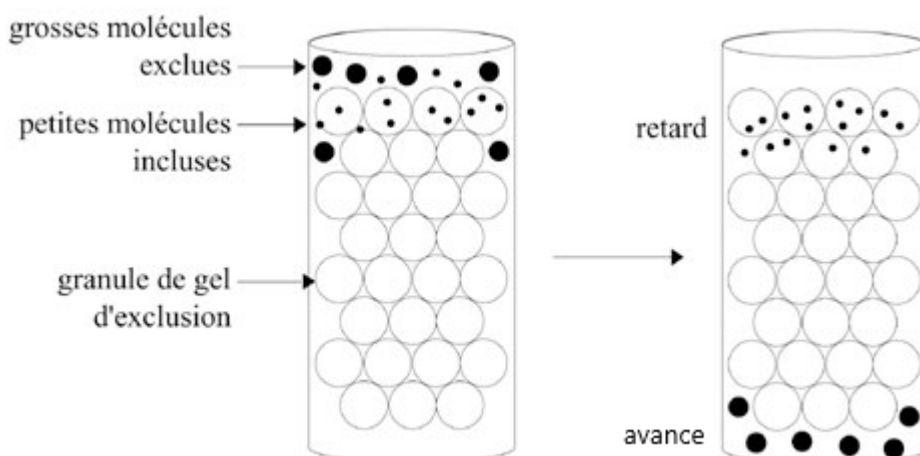
La phase stationnaire est constituée de granules de gel poreux : les grosses molécules (dont le diamètre est supérieur à celui des pores) sont exclues et sont donc éluées les premières.

Les petites et moyennes molécules sont éluées plus tardivement, car incluses dans le gel, leur migration est freinée.



Source : <http://www.123bio.net/cours/chromato/exclusion.html>

Les solutés sont donc élués dans l'ordre inverse des masses moléculaires :



Source : <http://www.123bio.net/cours/chromato/exclusion.html>