

Moduł V: Optymalizacja metod HPLC, oczyszczanie prób metodą SPE oraz LLE.

## **1 Różnice w budowie pracy i zastosowaniu HPLC oraz UPLC**

### **2 Rozwiązywanie problemów w pracy HPLC**

- problemy ze wzrostem ciśnienia w układzie
- zapowietrzanie się układu, wycieki i nieszczelności
- niestabilny rozdział gradientowy
- czystość eluentów, filtrowanie fazy, praca i konserwacja filtrów i zaworów

### **3 Specyfika pracy z klasycznymi detektorami, dobór detektora do analitu**

- detekcja UV; DAD, FL; EC; łączenie detektorów

### **4 Praca z podwójnym spektrometrem mas MS/MS z jonizacją typu ESI**

- zasada pracy detektora, możliwości zastosowania
- czystość odczynników, dobór kolumn, jakość oczyszczania próbki
- optymalizacja jonizacji typu ESI

### **4 Dobór i porównywanie rozdzielców kolumn chromatograficznych**

### **5 Rozwiązywanie problemów związanych z kolumnami HPLC**

- wymiana filtra kolumny (*frit*)
- konserwacja i ochrona przed starzeniem i niszczeniem złoża
- praca z kolumnami do UPLC na zestawach HPLC

### **6 Metoda ekstrakcji do fazy stałej – SPE – optymalizacja metody**

- zasady pracy
- najczęściej popełniane błędy

### **7 Metoda ekstrakcji ciecz / ciecz – LLE – optymalizacja metody**

- szereg ekstrahentów, polarność, lipofilność
- łączenie metod oczyszczania

### **8 Standaryzacja wewnętrzna / zewnętrzna, kontrola jakości pojedynczego rozdzielania HPLC – system sprawdzania odpowiedniości – SST**

- wybór standardu wewnętrznego
- kontrola jakości serii analiz

### **9 Analiza HPLC w systemie GLP**

- zasady, dokumentacja, polityka jakości w odniesieniu do analiz HPLC
- przegląd najważniejszych przewodników i dyrektyw
- przygotowanie do pracy w systemie

### **10 Dobór odczynników i eluentów. Jak unikać błędów w postępowaniu z fazami ruchomymi: przygotowanie, rozpuszczanie, filtracja, przechowywanie.**

### **11 Optymalizacja rozdzielania HPLC / analiza chromatogramu**

- etapy projektowania metody HPLC
- efektywne prowadzenie prac doświadczalnych i testów
- kontrola stabilności analitów i standardu wewnętrznego w trakcie przygotowania próby i analizy
- analiza chromatogramu na przykładzie rozdzielców złożonych matryc biologicznych

Uwagi:

Wymagane środki: Tablica, ekran + rzutnik wideo, PC z MS PowerPoint (pakiet 2003), Internet Explorer + dostęp do sieci www. Proponowany czas trwania 1 dniowe szkolenie.