

## Programme détaillé

### HPLC – Niveau intermédiaire

La structure des journées proposée est la suivante :

|      |       |                             |   |
|------|-------|-----------------------------|---|
| 3H00 | 9H00  | Présentation                | Visite laboratoire                              |
|      | 9H30  | T1 : Notions de bases       |   |
|      | 10H00 |                             | T2 : Les chromatographies                       |
|      | 10H30 |                             |   |
|      | 11H00 | TD2 : HPLC vers uHPLC       |   |
|      | 11H30 |                             |   |
|      |       |                             |   |
| 4H00 | 13H00 | T3 : les colonnes           | T5 : Défauts de fonctionnement                  |
|      | 13H30 |                             |   |
|      | 14H00 |                             |   |
|      | 14H30 | T4 : Architectures des HPLC | T6 : Bien choisir ses conditions de séparations |
|      | 15H00 |                             |   |
|      | 15H30 |                             | TD 3 : De l'échantillon à la méthode            |
|      | 16H00 |                             |   |
|      | 16H30 |                             |   |

## Cours théoriques 1 : Notions de base de la chromatographie (1h00)

Chromatographie, séparation, sélectivité, résolution, perte de charge, dispersion, efficacité (théories des plateaux et cinétique)...

## Cours théoriques 2 : Les différents modes de chromatographies liquides (1h30)

- Histoire de la chromatographie
- Chromatographie en phase normale
- Chromatographie en phase inverse
- Chromatographie HILIC
- Chromatographie chirale, Exclusion stérique, un aperçu

## Cours théoriques 3 : Colonnes de chromatographie (1h30)

- Colonnes de chromatographie en phase inverse
  - o Les technologies (granulométries du 5 $\mu$ m au 1.3 $\mu$ m, coreshell, monolith)
  - o Phase stationnaire, de la C18 à la PFP, choisir sa phase stationnaire
  - o Dimensions (I, L, granulométrie, pore) : pourquoi et comment choisir
  - o Paramètres influençant la séparation (efficacité, factor de rétention)
- Colonnes de chromatographie HILIC
- Colonne Mixed Mode

## Cours théoriques 4 : Architecture des HPLC (2h00)

- Modules (pompes, injecteur, four)
- Détecteur (UV (DAD, MWD), FLD, RI, DEDL, corona, MS)
- Choix d'un détecteur et son optimisation

## Cours théoriques 5 : Les défauts de fonctionnement (1h30)

- Revues de différents cas de figure et retours d'expériences des utilisateurs
- Guide méthodologique pour solutionner un défaut chromatographique

## Cours théoriques 6 : Bien choisir ses conditions de séparations

- Recherche bibliographique
  - o Fournisseurs
  - o Publications scientifiques
- Colonnes de chromatographie en phase inverse
  - o Les technologies (granulométries du 5 $\mu$ m au 1.3 $\mu$ m, coreshell, monolith)
  - o Phase stationnaire, de la C18 à la PFP, choisir sa phase stationnaire
  - o Dimensions (I, L, granulométrie, pore) : pourquoi et comment choisir
- Solvants
- Modificateurs

## Travaux dirigés

### TD 1 : Bonnes pratiques (1h00)

- Les étapes de préparations du système HPLC
- Qualifier son système, sa colonne
- Les solvants
- Effet mémoire

### TD 2 : Migrer une méthode HPLC vers l'uHPLC (1h)

- Définir vos objectifs : résolution ou rapidité
- Le matériel et son optimisation (cellule de détections, délais de gradient, vitesse d'acquisition)

### TD 3 : De l'échantillon à la méthode (2h00)

Initiation au développement de méthodes HPLC tout en anticipant les problèmes