

# 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

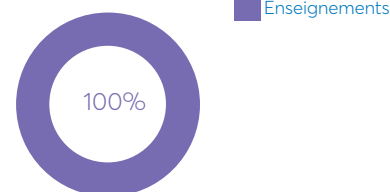
### Autres anomalies :

- 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 18 au 20 Mai 2026  
Du 12 au 14 Octobre 2026

**COÛT :** 1400 € NET

**RÉFÉRENCE :** MA004

**INTERVENANT :** Jean-Marc ROUSSEL,  
Dr en chimie analytique