



Licence Professionnelle

Industries Chimiques et Pharmaceutiques

## Chromatographie en Phase Gazeuse

CPG

Enseignant : Y. FRANCOIS

Yannis FRANCOIS

Laboratoire de Spectrométrie de Masse des  
Interactions et des Systèmes  
Tour de Chimie, 12<sup>ème</sup> étage

e-mail: yfrancois@unistra.fr

### Plan de cours

#### 1. Introduction générale sur la chromatographie

2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonnes
6. Détecteurs
7. Analyse quantitative
8. Prétraitement de l'échantillon

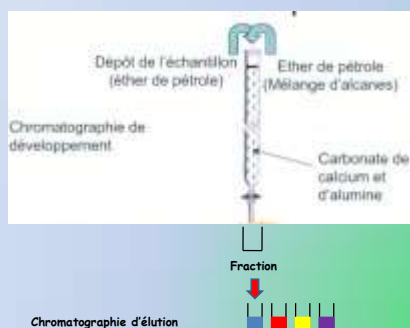
### Introduction chromatographie

#### Historique

- 1900 : Invention de la chromatographie (Michel TSWETT)
- 1938 : Première chromatographie sur couches minces (Ismailov et Schraiber)
- 1952 : Naissance officielle de la chromatographie phase gaz (Martin et Synge, Nobel 1952)
- 1955 – 1960 : Age d'or de la chromatographie en phase gazeuse
- Fin des années 60 : Naissance de la chromatographie en phase liquide à haute performance
- De nos jours : Amélioration instrumentale (informatisation) et innovation dans le domaine de la miniaturisation (nanotechnologie)

### Introduction chromatographie

#### Principe



### Introduction chromatographie

#### Principe

- Séparation de mélange complexe
- Basée sur des équilibres particuliers entre les composés et deux phases :
  - ✓ Phase stationnaire
  - ✓ Phase mobile
- Différentes interactions peuvent entrer en jeu :
  - ✓ Adsorption
  - ✓ Partage
  - ✓ Paires d'ions
  - ✓ Échange d'ions
  - ✓ Exclusion stérique

## Introduction chromatographie

### Principe

- Affinité forte du produit pour la phase stationnaire :
  - ✓ Le produit progresse lentement dans la phase stationnaire
  - ✓ Le temps de rétention du produit est long
- Affinité forte du produit pour la phase mobile :
  - ✓ Le produit progresse rapidement dans la phase stationnaire
  - ✓ Le temps de rétention du produit est plus court
- Le temps de rétention du composé permet son identification

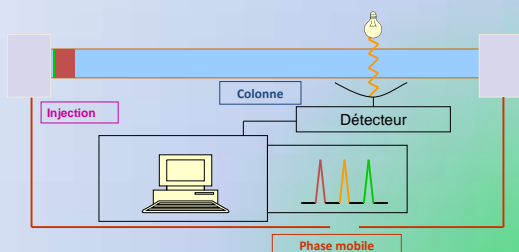
## Introduction chromatographie

### Principe

- Amélioration technique permanente de la chromatographie :
- Miniaturisation et automatisation des systèmes d'injections
  - ✓ Injection de petit volume
  - ✓ Répétabilité des injections
- Grande variété de phase stationnaire
  - ✓ Variation des types d'interactions
- Augmentation de la sensibilité des détecteurs
  - ✓ Étude de traces

## Introduction chromatographie

### Principe



## Introduction chromatographie

### Domaines d'applications

- De nos jours, la chromatographie est la technique de séparation la plus largement utilisée
- Techniques très répandues dans le monde industriel
- Très grand domaine d'applicabilité

## Introduction chromatographie

### Domaines d'applications

- Industrie chimique : production, contrôle...
- Industrie alimentaire : corps gras, vins et spiritueux, bière, arôme...
- Industrie cosmétique et parfums
- Industrie pharmaceutique
- Energie : raffinerie de pétrole, gaz naturel, biomasse...
- Contrôle pollution : eaux, sols, atmosphère
- Exploration spatiale
- Police scientifique
- Recherche scientifique

## Introduction chromatographie

### Les questions que vous aurez à vous poser ?

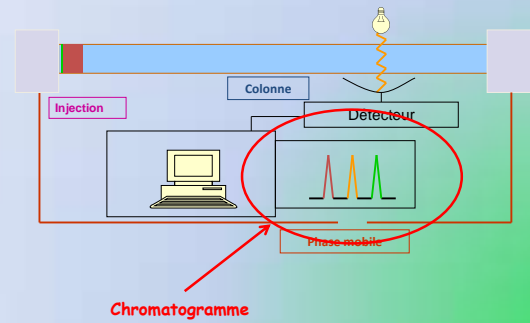
- Quel type d'échantillon ? Solide, liquide, gazeux
- Que veut on doser ? Composé majeur, mineur ou des traces
- Analyse partielle ou complète de l'échantillon ?
- Récupération de l'échantillon ?
- Précision de l'analyse ? Qualitatif ou quantitatif
- Durée de l'analyse ?
- Quel sera le coût de l'analyse ?
- Poids de l'analyse sur l'environnement ?

## Plan de cours

1. Introduction générale sur la chromatographie
2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonnes
6. Détecteurs
7. Analyse quantitative
8. Prétraitement de l'échantillon

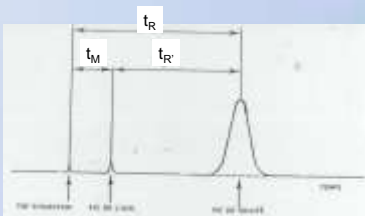
## Aspect théorique

### Le chromatogramme



## Aspect théorique

### Le chromatogramme



$t_M$  : Temps mort  
 $t_R$  : Temps de rétention  
 $t'_R$  : Temps de rétention réduit

## Aspect théorique

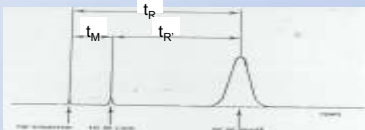
### Coefficient de partage

$$K = \frac{C_s}{C_M}$$

- ✓  $C_s$  : concentration dans la phase stationnaire
- ✓  $C_M$  : concentration dans la phase mobile

## Aspect théorique

### Grandeurs physiques : Temps



$t_M$  (Temps mort) : temps écoulé pour un composé non retenu par la colonne

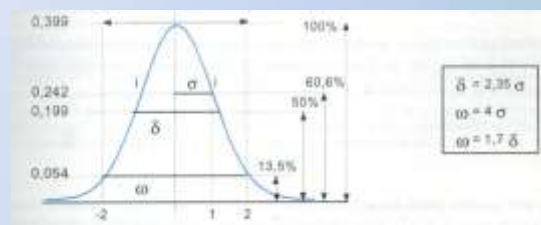
$t_R$  (Temps de rétention) : temps écoulé entre l'instant de l'injection et le max du pic du composé

$t'_R$  (Temps de rétention réduit) : temps de rétention affranchit des phénomènes hors phase stationnaire

$$t'_R = t_R - t_M$$

## Aspect théorique

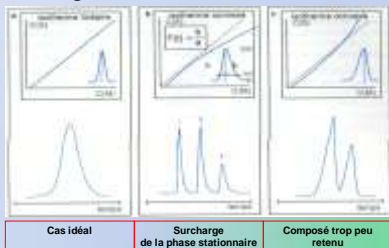
### Le chromatogramme idéal



Caractéristiques de la courbe de Gauss

### Aspect théorique

#### Le chromatogramme réel



- > Irrégularité de concentration dans la zone de dépôt
- > Vitesse de la phase mobile non constante dans la colonne

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Volume

$V_M$  (Volume mort) : Volume de la phase mobile

$$V_M = t_M \cdot D$$

$t_M$  : tps mort  
D : Débit

**Attention**  
 $V_M$  différent du volume de la colonne car il faut prendre en compte la porosité  $\epsilon$  de la colonne

$$V_{Col} = \text{Volume de la colonne} = \pi \cdot (d/2)^2$$

$$V_M = \text{Volume mort} = \pi \cdot (d/2)^2 \cdot \epsilon$$

$\epsilon = 0,8$  pour une bonne colonne

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Volume

$V_M$  (Volume mort) : Volume de la phase mobile

$$V_M = t_M \cdot D$$

$t_M$  : tps mort  
D : Débit

$V_S$  (Volume stationnaire) : Volume de la phase stationnaire

$$V_S = V_{tot} - V_M$$

$V_{tot}$  : Vol. total interne

$V_R$  (Volume rétention) : Volume de la phase mobile qu'il faut faire passer pour faire migrer le soluté

$$V_R = t_R \cdot D$$

$t_R$  : tps rétention  
D : Débit

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Facteur de rétention $k'$

$$k = \frac{m_S}{m_M} = K \frac{V_S}{V_M}$$

$$k' = K \cdot \frac{V_S}{V_M} = \frac{C_S}{C_M} \cdot \frac{V_S}{V_M} = \frac{n_S}{n_M}$$

- ✓ Indépendant du débit
- ✓ Indépendant de la longueur de la colonne
- ✓ Définit le comportement des colonnes

$$t_R = t_M(k' + 1)$$

$$k' = t'_R / t_M$$

### Aspect théorique

#### Règle générale : Facteur de rétention $k'$

- >  $k' = 0 \rightarrow t_R = t_M$  ou  $V_R = V_M$ 
  - Composé non retenu par la phase stationnaire
- >  $k'$  faible
  - Composé peu retenu par la phase stationnaire
  - $t_R$  rapide
- >  $k'$  très grand
  - Composé très retenu par la phase stationnaire
  - $t_R$  très grand
- >  $k'$  trop grand
  - Composé trop retenu par la phase stationnaire
  - Phénomène de diffusion, le pic s'élargit

### Aspect théorique

#### Règle générale : Facteur de rétention $k'$

- > Ordre de grandeur de  $k'$  : Compris entre 1 et 10
- > Le meilleur compromis :
  - Analyse courte
  - Bonne séparation

$$2 < k' < 6$$

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie des plateaux

- La théorie des plateaux est sans doute la meilleure théorie permettant d'expliquer les phénomènes de séparation chromatographique.
- Modélisation des équilibres Soluté/Phase stationnaire/Phase mobile sous la forme de plateaux.
- Limitations :
  - ✓ Absence de considération des phénomènes de diffusion
  - ✓ Impossibilité d'introduire tout l'échantillon dans un volume infiniment petit
  - ✓ Absence de considération cinétique (vitesse d'échanges entre les deux phases)

↳ Théorie cinétique (Vu plus tard dans le cours)

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Efficacité

- Paramètre N : Nombre de plateaux théoriques
- Paramètre H : Hauteur des plateaux théoriques

$$H = L/N$$

- N : paramètre relatif, dépend du soluté et des conditions opératoires

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Efficacité théorique



Dispersion d'un soluté dans la colonne et traduction sur le chromatogramme

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma^2}$$

$$N = 5,54 \frac{t_R^2}{\delta^2}$$

ou

$$N = 16 \frac{t_R^2}{\omega^2}$$

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Efficacité réelle

Pour comparer les performances de différentes colonnes, pour un même composé, on utilise le nombre de plateaux théoriques effectifs.

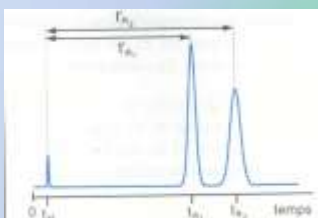
$$N_{\text{eff}} = 5,54 \frac{t'_R{}^2}{\delta^2}$$

$t'_R$  : tps réduit

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Sélectivité $\alpha$

- La mesure de la sélectivité d'une séparation entre deux composés est réalisée à l'aide du facteur de sélectivité  $\alpha$
- Le facteur de sélectivité  $\alpha$  décrit la position, l'un par rapport à l'autre, de deux pics adjacents



### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : Sélectivité $\alpha$

- Le facteur de sélectivité  $\alpha$  peut être exprimé à l'aide des paramètres de rétention :

- Avec les temps de rétention :

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M}$$

- Avec les volumes :

$$\alpha = (V_{R2} - V_M)/(V_{R1} - V_M)$$

- ✓  $V_{R2} = V_M + K_2 V_S$
- ✓  $V_{R1} = V_M + K_1 V_S$

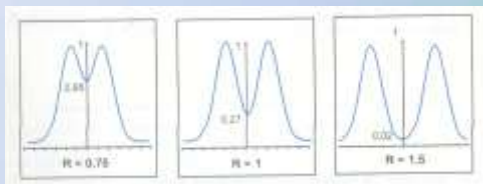
$$\alpha = \frac{K_2}{K_1}$$

Or  $K_i = k_i \cdot V_M/V_S$

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1}$$

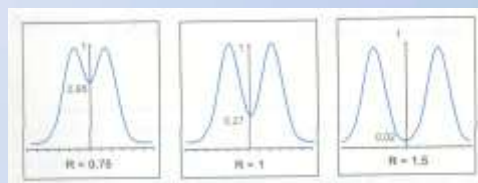
Aspect théoriqueGrandeurs physiques : Résolution R ou  $R_s$ 

- Le facteur de résolution R permet de traduire numériquement la qualité de la séparation entre deux pics.



- La résolution

$$R_s = 2 \cdot \frac{t_{r2} - t_{r1}}{\omega_2 + \omega_1}$$

Aspect théoriqueExemple : Résolution R ou  $R_s$ 

Pour une bonne séparation :

$$R_s > 1,5$$

Aspect théoriqueGrandeurs physiques : Relation entre N et  $R_s$ 

- Pour deux pics homologues :  $\frac{\omega_2 + \omega_1}{2} = \omega_1$

Or  $\omega_1 = \frac{4 \cdot t_{r1}}{\sqrt{N}} = \frac{4 \cdot t_{r1} \cdot (1+k'_1)}{\sqrt{N}}$

$$R_s = \frac{k'_2(1+k'_1) - k'_1(1+k'_2)}{4 \cdot t_{r1} \cdot (1+k'_1)} \cdot \sqrt{N}$$

$$R_s = \frac{(k'_2 - k'_1)}{1 + k'_1} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}$$

Aspect théoriqueGrandeurs physiques : Relation entre  $R_s$  et  $\alpha$ 

$$R_s = \frac{(k'_2 - k'_1) \sqrt{N}}{1 + k'_1} = \frac{k'_2 - k'_1}{k'_1} \cdot \frac{k'_1 \sqrt{N}}{1 + k'_1}$$

Or  $\alpha = \frac{k'_2}{k'_1}$

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} (\alpha - 1) \frac{k'}{1 + k'}$$

Approximation :  $k'$  = moyenne de  $k'_1$  et  $k'_2$  si les pics sont similaires ou presque

Aspect théorique

Question :

Que faire quand les pics sont mal résolus ?

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} (\alpha - 1) \frac{k'}{1 + k'}$$

- On augmente le facteur de rétention  $k'$
- On augmente l'efficacité N
- On augmente la sélectivité  $\alpha$

Aspect théorique

Exemple appliqué à la CPG:

- Séparation de deux composés A et B sur une colonne de 2 m :
- Calculer la résolution de la colonne ?

o Données expérimentales :

$$\begin{array}{ll} \checkmark t_{rA} = 400 \text{ sec} & \omega_A = 19,5 \text{ sec} \\ \checkmark t_{rB} = 420 \text{ sec} & \omega_B = 20,5 \text{ sec} \\ \checkmark t_M = 50 \text{ sec} & \end{array}$$

$$R = 2 \cdot (420 - 400) / (19,5 + 20,5) = 1$$

➔ Mauvaise séparation

### Aspect théorique

#### Exemple appliqué à la CPG:

- Calculer le nombre de plateaux théoriques de la colonne ?

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N_s} (\alpha - 1) \frac{k'_2}{1 + k'_2}$$

Avec  $\left\{ \begin{array}{l} k'_B = \frac{t_R - t_0}{t_0} = 7,4 \\ k'_A = \frac{t_R - t_0}{t_0} = 7 \end{array} \right.$  et  $\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = 1,06$   
 $\alpha - 1 = 0,06$

$N_B = 5727$  plateaux

### Aspect théorique

#### Exemple appliqué à la CPG:

- Quelle longueur de colonne serait nécessaire pour avoir  $R = 1,5$  ?

$$\frac{L_2}{L_1} = \frac{N_2}{N_1} = y \quad \sqrt{N} \rightarrow \frac{R_2}{R_1} = \sqrt{\frac{N_2}{N_1}} = \sqrt{y}$$

- Application numérique :

$$R_2/R_1 = 1,5/1 = 1,5 = \sqrt{y}$$

$$y = 2,25$$

$$L_2 = 2,25 \cdot 2 \text{ m} = 4,5 \text{ m}$$

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie des plateaux

- La théorie des plateaux est sans doute la meilleure théorie permettant d'expliquer les phénomènes de séparation chromatographique.
  - ✓ Pics gaussiens
  - ✓ Calcul du nombre de plateaux
- **Limitations :**
  - ✓ Absence de considération des phénomènes de diffusion
  - ✓ Impossibilité d'introduire tout l'échantillon dans un volume infiniment petit
  - ✓ Absence de considération cinétique (vitesse d'échanges entre les deux phase)
  - ✓ Causes d'élargissement des pics

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie cinétique

- La théorie cinétique considère le pic chromatographique comme représentatif de la distribution statistique des temps de rétention des molécules d'une substance donnée sur la colonne.
- La théorie cinétique considère les **phénomènes de diffusion** et de **transfert de masse**

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie cinétique

##### Phénomènes de diffusion :

Diffusion moléculaire longitudinale



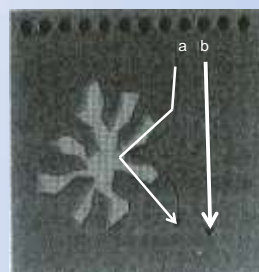
Diffusion turbulente  
Remplissage



### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie cinétique

##### Transfert de masse



✓  $t_{0,}$  les molécules a et b d'une même substance sont sur la même ligne

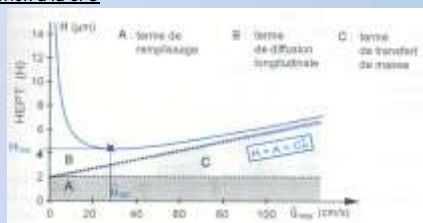
✓  $t_r$ , a va rester dans le pore du grain de la phase stationnaire et b dans la phase mobile

✓  $t_r$ , b ira plus vite que la molécule a

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie cinétique

##### Application à la CPG



Equation de Van Deemter

$$H = A + B/\bar{u} + C \cdot \bar{u}$$

$\bar{u}$  = vitesse linéaire moyenne d'écoulement de la phase mobile dans la colonne

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie cinétique

##### Les solutions pour minimiser des phénomènes de diffusion :

- Améliorer l'homogénéité de la phase:
  - ✓ Absence d'hétérogénéités
  - ✓ Absence de bulle
  - ✓ Absence de vide
- Réduire le diamètre des particules  $d_p$
- Homogénéiser le débit de la phase mobile
- Diminuer la taille des grains et des pores

### Aspect théorique

#### Grandeurs physiques : la théorie cinétique

##### En résumé :

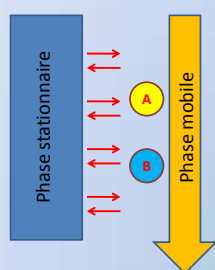
- Prendre des particules
  - ✓ De petites tailles
  - ✓ De faible porosité
- Réaliser des chromatographies
  - ✓ Rapides
  - ✓ Avec des phases stationnaires miniaturisées
- Travailler
  - ✓ A faible température
  - ✓ En réduisant les volumes morts

### Plan de cours

1. Introduction générale sur la chromatographie
2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonnes
6. Détecteurs
7. Analyse quantitative
8. Prétraitement de l'échantillon

### Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

#### Principe



- Méthode de séparation de composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés dans décomposition
- ÉCHANGE de molécule GAZEUSE entre phase stationnaire et phase mobile
- Phase stationnaire liquide ou solide
- Phase mobile **GAZEUSE**

### Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

#### Phase mobile ou gaz vecteur

- Nature : Gaz inerte
  - ✓ Hélium
  - ✓ Diazote
  - ✓ Argon
  - ✓ Dihydrogène...
- Propriété : inerte vis-à-vis des solutés et des phases stationnaires
- Choix du gaz vecteur
  - ✓ Détecteur utilisé
  - ✓ Coût de fonctionnement...

Il n'y a pas d'interaction entre le gaz et la phase stationnaire

Il n'y a pas d'interaction entre le gaz et les solutés



## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### Pureté du gaz vecteur

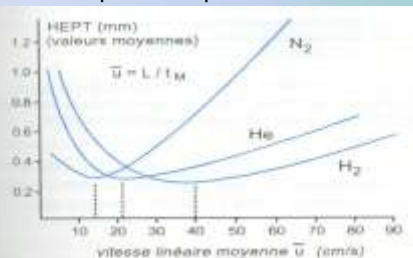
- Impératif : Le gaz doit être d'une très grande pureté
- Référence A.0 (ou NA0), A indique le nombre de 9 présent dans le chiffre de pureté :
  - ✓ 6.0 (ou N60) a une pureté de 99,9999%
  - ✓ 3.5 (ou N35) a une pureté de 99,95%

En CPG, on utilise des gaz de pureté 5.0 (ou N50)

## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### Phase mobile ou gaz vecteur

- La nature et la vitesse linéaire d'une phase mobile donnée, contribuent à la qualité de la séparation



## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### La température T

La température T est un paramètre majeur en GPG

- Le volume de rétention  $V_R$  varie selon la loi :

$$\text{Log}(V_R) = (a/T) + b$$



Si T augmente : le volume de rétention diminue et donc le temps de rétention diminue

## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### La température T

- Représentation de l'équation pour une série de **composés homologues**

$$\text{Log}(V_R) = (a/T) + b$$



- Plus la température est forte, plus la séparation est rapide
- A très forte température, il n'y a plus de séparation

## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### La température T

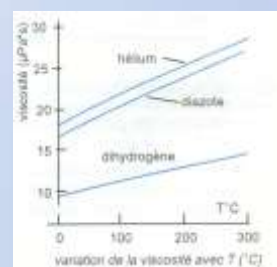
- Représentation de l'équation pour une série de **composés différents**



- A  $T_1$ , on ne sépare pas les composés 1 et 3
- A  $T_3$ , on ne sépare pas les composés 1 et 2
- A  $T_2$ , on sépare des composés 1, 2 et 3

## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### Relation entre gaz vecteur et température



Paramètre important : Choix du gaz vecteur

## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### Appareillage



## Plan de cours

1. Introduction générale sur la chromatographie
2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonnes
6. Détecteurs
7. Analyse quantitative
8. Prétraitement de l'échantillon

## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### Appareillage



## Systèmes d'injection

### ROLE :

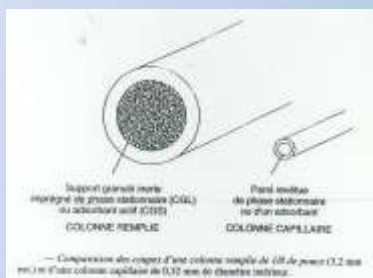
- Interface échantillon-chromatographe
- Système de vaporisation
- Organe de transfert dans la colonne

### IDEAL :

- Récupération représentative de l'échantillon sans discrimination
- Permettre l'analyse quantitative
- Permettre l'analyse de traces
- Volume mort minimum, capacité suffisante
- Inertie chimique
- Répétabilité pour des injections manuelles
- Automatisation...

## Systèmes d'injection

### Deux principaux types de colonne en CPG



## Systèmes d'injection

### Choix du système

#### Colonnes remplies

- Injecteur classique à septum
- Injection directe
- Injecteur automatique
- Vanne à gaz
- Injecteur à solides

## Systèmes d'injection

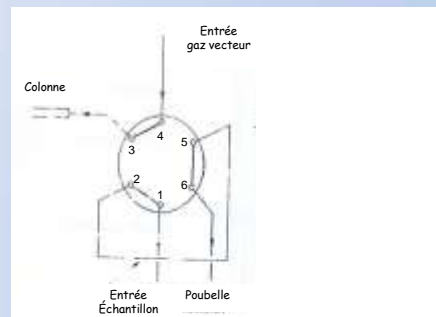
### Choix du système

#### Colonnes capillaires

- Injection directe
- Injection avec division (split injection)
- Injection sans division (splitless injection)
- Injection dans la colonne (on column)
- Injection à température programmée
- Injection à évaporation de solvant

## Systèmes d'injection

### Boucle d'injection



## Systèmes d'injection

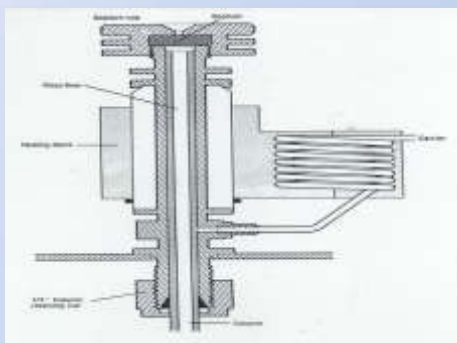


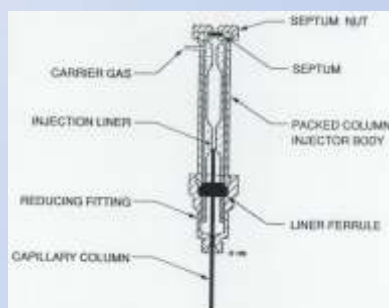
Schéma d'un système d'injection

## Systèmes d'injection

### Injection direct

- Système de première génération
- Utilisé pour des colonnes remplies et des colonnes capillaires
- Limitation du volume injecté
- Variation du diamètre de l'insert suivant le type de colonne
  - ✓ Grand diamètre pour colonnes remplies
  - ✓ Petit diamètre pour colonnes capillaires
- Limitation du diamètre interne des colonnes capillaires (0,53 mm)

## Systèmes d'injection



Injecteur « direct »

## Systèmes d'injection

### Injection direct : Exemple

#### Cas des fortes concentrations :

- Pour une injection de 0,1  $\mu\text{L}$  (minimum possible) d'un produit dont la concentration est de l'ordre de 10%, alors il y aura saturation d'une colonne capillaire



Mauvaise efficacité, mauvaise séparation

#### Cas des faibles concentrations :

- Volume d'échantillon limité par le volume de l'insert. Si l'on travail sur des traces et que le détecteur n'est pas sensible, alors le chromatogramme sera plat.



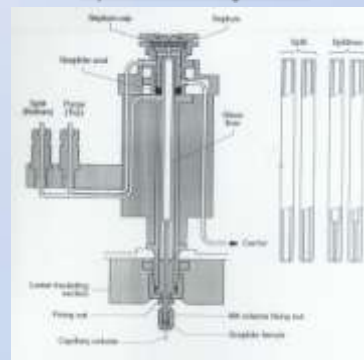
Pas de séparation

## Systèmes d'injection

### Injection split/splitless

- Système le plus répandu pour les séparation colonne capillaire
- Injection de volume d'échantillon compatible avec la quantité de phase stationnaire dans la colonne
- Split : système pour les échantillons très concentrés
  - ✓ Utilisation d'une vanne de Split pour diviser le volume total injecté
  - ✓ Réduction du volume injecté dans la colonne
- Splitless : système pour les échantillons très dilués
  - ✓ Utilisation de la vanne de Split pour pré concentrer
  - ✓ Pré concentration en tête de colonne

## Systèmes d'injection



Injecteur Split/Splitless

## Systèmes d'injection

### Injection split/splitless

Fonctionnement Split :

- Injection d'un volume total d'échantillon dans le liner à l'aide d'une seringue
- L'injecteur étant chauffé, l'échantillon est instantanément vaporisé
- L'échantillon est ensuite divisé en deux parties par une vanne de split
- La plus petite partie est injectée dans la colonne
- La plus grande est évacuée par ce que l'on appelle la fuite

Rapport de division R = débit de fuite/débit de la colonne

## Systèmes d'injection

### Injection split/splitless

Exemple Split :

- Débit de l'injecteur : 52 ml/min
- Vanne de fuite : 50 ml/min
- On en déduit le débit de la colonne à 2 ml/min

$$R = \text{débit de fuite} / \text{débit de la colonne}$$

$$R = 50 / 2 = 25$$

Si on injecte 1  $\mu\text{L}$ , alors on introduit 1/25 de  $\mu\text{L}$  dans la colonne

## Systèmes d'injection

### Injection split/splitless

Fonctionnement Splitless :

- La vanne de split est fermée
- On introduit l'échantillon (max 3 $\mu\text{L}$ )
- On attend quelques dizaines de secondes
  - ✓ Refocalisation dans les premiers cm de la colonne
- On ouvre la vanne de fuite pour purger la chambre d'injection

Application Splitless :

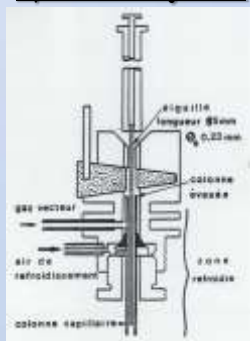
- Piège à froid
- Effet solvant

## Systèmes d'injection

### Injection On column

- Particulièrement utilisée pour l'analyse de composés présentant une température d'ébullition élevée et à l'état de traces
- Pour les composés facilement dégradables
- Introduction directement dans la colonne sans vaporisation
- Vaporisation directe dans la colonne et progressive

## Systèmes d'injection



Injecteur On column

## Systèmes d'injection

### Injection On column

#### Avantage :

- Pas de discrimination et de dégradation thermique
- Pas de décomposition des substances fragile
- Pas de septum

#### Limitation :

- Nécessité d'utiliser des solution diluées car on ne dilue pas l'échantillon
- Pollution de la colonne par des échantillons non volatils
- Nécessité de dégarnir de phase stationnaire le début de la colonne
- Pas encore automatisé

## Systèmes d'injection



Injecteur à aiguille de verre

## Systèmes d'injection

### Injection à aiguille de verre

#### Avantage :

- Pré concentration de l'échantillon
- Quantité d'échantillon injectée aussi faible que l'on souhaite
- Pas de septum, pas de pic de solvant
- Les composés non volatils ne rentrent pas dans la colonne, il reste dans la seringue

#### Limitation :

- Manipulation délicate
- Non automatique

## Systèmes d'injection



Type de liner

## Systèmes d'injection

### Liner ou insert

- Chemisage de la chambre d'injection pour la rendre inerte
- Premier point de contact de l'échantillon avec le système analytique
- Permet de faire évoluer la qualité de l'injection
  - ✓ Différents diamètres d'insert
  - ✓ Possibilité de les modifier chimiquement
  - ✓ Dérivation online des échantillons
- Grand nombre de liner proposé sur le marché
  - ✓ Choix du liner idéal très compliqué (compromis)
- Possibilité d'activer ou de désactiver chimiquement le liner
  - ✓ Augmentation du champs d'applications
- Entretien permanent du liner

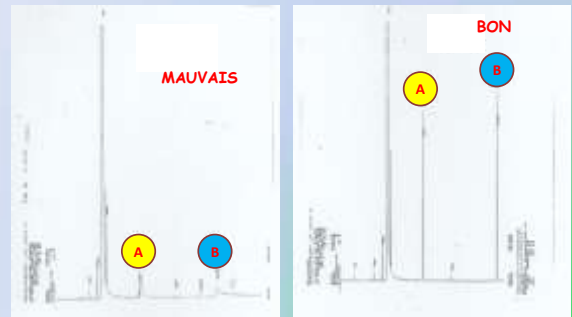
## Systèmes d'injection

Choix du Liner	Splitless Liners	Splitless Liners (SPL)
<p><b>CD4 &amp; P1's Liners</b></p> <p>... (text obscured) ...</p>	<p>... (text obscured) ...</p>	<p>... (text obscured) ...</p>
<p><b>SPLITLESS Liners</b></p> <p>... (text obscured) ...</p>	<p>... (text obscured) ...</p>	<p>... (text obscured) ...</p>

## Systèmes d'injection

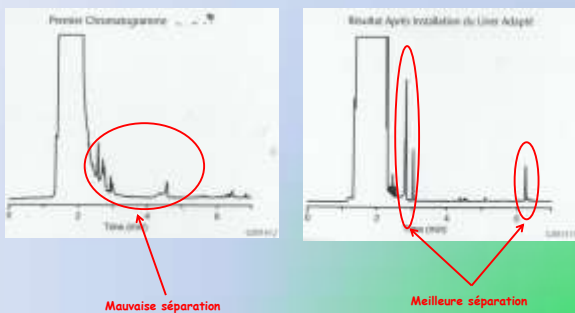
Injecteur et entrée de colonne encrassés

Injecteur et entrée de colonne nettoyés

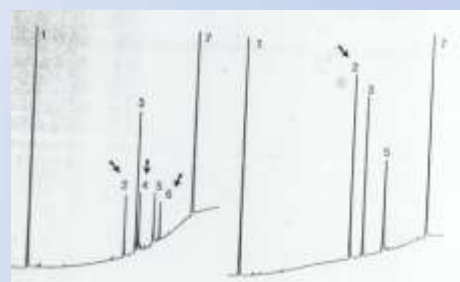


## Systèmes d'injection

Choix du liner



## Systèmes d'injection



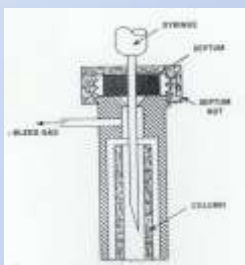
Insert non désactivé  
62 % de décomposition de l'endrine

Insert désactivé  
1 % de décomposition de l'endrine

1. 2,4,5,6-tétrachloro-m-xylène
2. Endrine
3. 4,4'-DDT
4. Endrin aldehyde
5. Methoxychlor
6. Endrin ketone
7. decachlorobiphenyl

## Systèmes d'injection

Le septum



## Systèmes d'injection

Le septum

- Le septum doit permettre l'injection et également assurer l'étanchéité du système
- Matériaux de confection :
  - ✓ Facilité de perçage
  - ✓ Bonne étanchéité
  - ✓ Résistance thermique élevée
- Amélioration des séparations :
  - ✓ Utiliser des septums comportant une phase teflon (inertie, temp. basses)
  - ✓ Conditionner avant utilisation (étuve à 250 C)

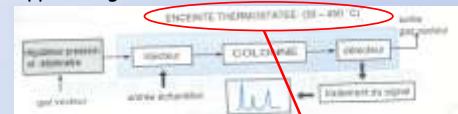
## Systèmes d'injection

### Le septum

- Durée de vie très variable. Elle dépend :
  - ✓ De la température de l'injecteur
  - ✓ De la forme et du diamètre de l'aiguille de la seringue
  - ✓ Du degré de serrage
- Problèmes dus au septum:
  - ✓ Fuite de la chambre d'injection
  - ✓ Largage polymérique en tête de colonne
  - ✓ Pic de solvant

## Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

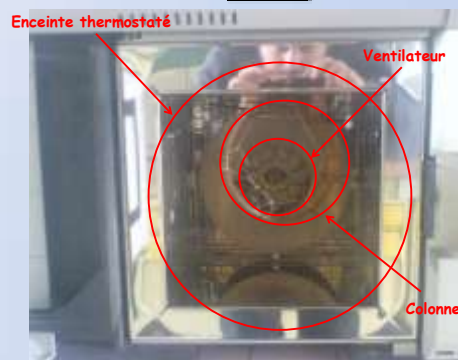
### Appareillage



## Le four

- Élément essentiel aux chromatographes modernes car doit posséder une excellente stabilité thermique (jusqu'à 450 C)
- Homogénéité de la température assurée par un ventilateur
- Programmeur de température
- Doit chauffer et refroidir très rapidement
- Gradient de température pour pouvoir séparer en un minimum de temps des mélanges de composés peu volatils et très volatils

## Le four



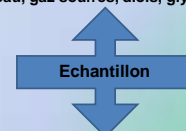
## Plan de cours

1. Introduction générale sur la chromatographie
2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonne
6. Détecteurs
7. Analyse quantitative
8. Prétraitement de l'échantillon

## La colonne

Chromatographie d'adsorption

Gaz permanents, eau, gaz soufres, diols, glycols, amines légères



Mélanges complexes de solutés organiques de plus de 5 carbones

Chromatographie de partage

## La colonne

### Deux principaux types de colonne en CPG

#### > Les colonnes remplies

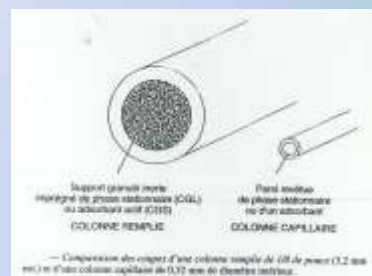
- ✓ Verre, métal
- ✓ Courte (1 à 15 m) et épaisse (1 à 4 mm)

#### > Les colonnes capillaires

- ✓ Silice fondue
- ✓ Longue (15 à 100 m) et très fine (100 à 250  $\mu\text{m}$ )

## La colonne

### Deux principaux types de colonne en CPG



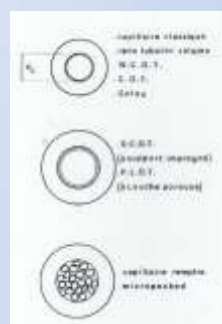
## La colonne

### Propriétés physiques

	Colonnes remplies analytiques	Colonnes capillaires remplies	Colonnes capillaires
Diamètre intérieur $d_i$ (mm)	2 à 6	0,3 à 1	0,1 à 0,5
Longueur $L_c$ (m)	0,3 à 6	0,25 à 10	10 à 50
Perméabilité $k$ ( $\text{cm}^2$ )	$0,2 \cdot 10^{-6}$	$0,6 \cdot 3 \cdot 10^{-9}$	$3 \cdot 80 \cdot 10^{-9}$
Hauteur équivalente à un plateau théorique $h$ (mm)	0,5 à 1	0,1 à 0,5	0,1 à 0,5
Rapport $\beta = \frac{\text{volume phase mobile}}{\text{volume phase stationnaire}}$	10 à 100	50 à 100	20 à 1 000
Quantités injectées	0,1 à 1 $\mu\text{l}$	1 à 10 $\mu\text{g}$	0,1 à 1 $\mu\text{g}$
Pression d'entrée (bar)	1 à 3	2 à 10	0,1 à 2

## La colonne

### Différents types de colonnes capillaires



- > Colonne usuelle  
dc = 0,25 à 0,32 mm

- > Colonne macrobore gaz-solide (macrocapillaire)  
dc = 0,32 à 0,53 mm

- > Colonne microbore (microcapillaire)  
hybride entre remplies et capillaires

## La colonne

### Colonnes capillaires

#### > Absence de remplissage

- ✓ Bonne répétabilité
- ✓ Possibilité de grandes longueurs
- ✓ Faible épaisseur de phase = grandes vitesses d'échange
- ✓ Analyse rapide
- ✓ **Inconvénient** : faibles volumes injectés

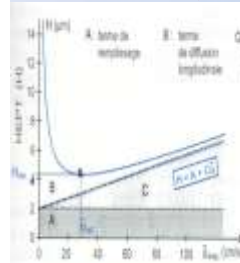
#### > Grande perméabilité des capillaires

- ✓ Diminution de la perte de charge
- ✓ A débit égal, il faut appliquer une pression de :
  - 1 bar pour 100 m de capillaire
  - 1 bar pour 1 m de colonne remplie

Vitesse du gaz homogène tout au long de la colonne

## La colonne : aspect théorique

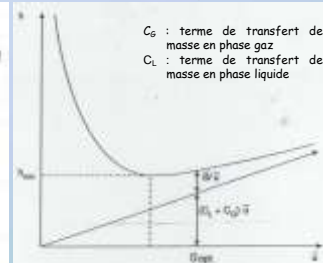
### Les colonnes remplies



Equation de Van Deemter

$$H = A + B/u + C \cdot u$$

### Les colonnes capillaires



Equation de Golay

$$H = B/u + (C_G + C_L) \cdot u$$



## Choix de la colonne

- > Nature de l'échantillon
- > **Nature de la phase stationnaire**
- > Diamètre de la colonne
- > Longueur de la colonne
- > Épaisseur du film de la phase stationnaire

**Paramètre important : Choix de la colonne**

## Phase stationnaire

- > Film polymérique qui recouvre ou qui est greffé sur la paroi interne de la colonne capillaire
- > Équilibres d'interactions entre solutés et phases différents suivant la nature de la phase

### Paramètres de choix de la phase stationnaire

- ✓ Nature
- ✓ Polarité
- ✓ Stabilité
- ✓ Température mini et maxi d'utilisation

## Phase stationnaire : Polarité

### Composé non polaire

Une phase stationnaire **non polaire** convient pour la séparation des **substances non polaires** : composés uniquement de C et H

Les interactions les composés non polaires et les phases non polaires sont « dispersives » c'est à dire que les molécules entrent dans la film de phase et en sortent de façon aléatoire.

La séparation est donc basée uniquement sur la température d'ébullition.

### Composé polaire

Composés principalement de carbone, d'hydrogène + 1 ou plusieurs atomes de brome, chlore, fluor, azote, oxygène, phosphore, soufre.

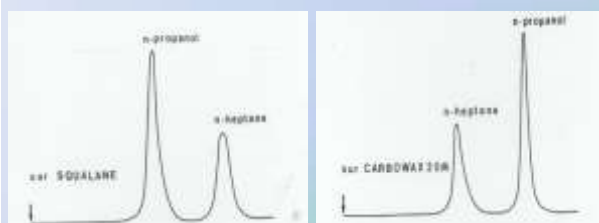
Outre les interactions dispersives, il existe entre molécules polaires et phase polaires des interactions du type dipole-dipole et ou acide-base.

## Phase stationnaire : Polarité

TYPE DE MOLECULES	EXEMPLES	TYPE DE PHASE
molécules non polaires Carbone-hydrogène Alcane C-C	hydrocarbures	apolaire
molécules polaires Carbone-hydrogène-Br ou Cl ou F ou N ou O ou P ou S	alcools, amines, acides carboxyliques, éthers, éthers, nitro, chloro, fluoro...	polaire
molécules polarisables Carbone-hydrogène C=C, C=O	alcènes, hydrocarbures aromatiques	intermédiaire polaire

## Phase stationnaire : Polarité

### Exemple



... Effet de la polarité sur l'ordre de sortie des substances :  
 - sur squalane, phase non polaire, le n-propyl ( $P_b = 97^\circ\text{C}$ ) est plus soluble donc peu retenu ; il sort avant le n-butane ( $P_b = 98^\circ\text{C}$ ) qui est très soluble donc très retenu ;  
 - sur Carbowax 20M, phase polaire, c'est le n-butane qui est plus soluble et qui sort le premier. Le n-propyl est bien soluble dans le polyéthylenglycol et sort long-temps après.

## Échelles de polarité

### Indices de rétention et constantes des phases

- > Caractériser tout composé par une grandeur plus générale que le temps de rétention
- > Suivre l'évolution des performances des colonnes
- > Classer entre elles les phases stationnaires

## Échelles de polarité

### Indices de rétention : Historique

- **1959 : Rohrschneider**
  - ✓ Proposition d'une échelle de 0 à 100 entre le squalane (phase non polaire) et le  $\beta\beta$ -oxydipropionitrile
- **1959 : Wehrli et Kovats**
  - ✓ Mesure de la polarité d'une phase vis-à-vis de nombreuses fonctions chimiques en fonction d'une référence (n-alcane)
  - ✓ Obtention de l'indice de Kovats  $\Delta I$
  - ✓ Théorie d'avant garde, mais trop complexe
- **1965 : Rohrschneider**
  - ✓ Choisit 3 substances témoins : benzène, éthanol, méthyléthylcétone
  - ✓ Mesure des indices de rétention sur la phase considérée et sur squalane
  - ✓ Détermination de trois constante x, y, z

$\Delta I = \frac{1}{100} \left( \frac{I_{\text{substance}} - I_{\text{squalane}}}{I_{\text{benzène}} - I_{\text{squalane}}} + \frac{I_{\text{substance}} - I_{\text{squalane}}}{I_{\text{éthanol}} - I_{\text{squalane}}} + \frac{I_{\text{substance}} - I_{\text{squalane}}}{I_{\text{methyléthylcétone}} - I_{\text{squalane}}} \right)$

## Échelles de polarité

### Indices de rétention : Historique

- **1970 : Mac Reynolds**
  - ✓ Reprend la théorie de Rohrschneider en changeant la nature des composés test
  - ✓ Constantes de Mc Reynolds
- **1970 : classement des phases imaginé par Mc Reynolds**
  - ✓ Évaluation de forces intermoléculaires majoritaires par les différences d'indices de rétention de 10 substances test
  - ✓ Évaluation sur la phase que l'on veut classer
  - ✓ Évaluation sur squalane

Toute les phases du commerces sont évaluées de cette manière

## Échelles de polarité

### Constantes de Mc Reynolds

— Constantes de Mc Reynolds et substances témoins utilisées pour caractériser la polarité des phases stationnaires.

Code	Substance témoins	Principales fonctions caract.
1 <sup>o</sup>	Benzène	Aromatiques, sulfonates
2 <sup>o</sup>	1-butanol	Alcools, acides, acides
3 <sup>o</sup>	Méthylpropylcétone	Cétones, aldéhydes, esters, éthers, époxydes, éthers à groupement diméthylamine
4 <sup>o</sup>	Nitropropane	Nitriles, nitro et groupements nitro
5 <sup>o</sup>	Pyridine	Pyridine
H	3-méthyl-2-pentanol	Chaines saturées, en particulier les alcools
J	1-octadécane	Fonctions halogénées
K	2-octane	Fonctions acétyléniques
L	1-4-dioxane	
M	Cis-1,2-cyclohexane	

## Échelles de polarité

### Constantes de Mc Reynolds

Phase stationnaire	Valeurs des $\Delta I$ (%)					$\Delta I$
	1 <sup>o</sup> Benzène	2 <sup>o</sup> 1-butanol	3 <sup>o</sup> méthylpropylcétone	4 <sup>o</sup> nitropropane	5 <sup>o</sup> pyridine	
Squalane	0	0	0	0	0	0
Apiezon-L	22	22	15	32	41	195
OV-101	11	11	48	84	41	233
OV-17	36	33	66	95	47	239
OV-17F	11	11	47	87	41	238
OV-17L	31	31	50	88	47	234
OV-17E	41	38	60	108	56	274
OV-17D	31	37	116	143	116	493
OV-17C	36	36	117	176	121	639
OV-17B	36	36	100	136	107	611
OV-17A	109	106	162	283	282	1088
OV-1	149	143	265	465	392	1788
OV-1A3	146	138	265	446	378	1738
OV-1B	188	181	330	570	567	2332
OV-1B3	238	188	333	607	586	3017
OV-1B2	232	188	300	572	544	2846
OV-1B1	269	191	427	664	628	3767
OV-1B0	311	198	444	698	662	4278
OV-1B0.5	384	194	581	841	778	5389
OV-100	499	291	893	1249	1049	7103
OV-100C	527	293	899	1269	1069	7369
OV-100B	781	198	889	1377	1089	8193

### Exemple

X' sur OV17 =  $\Delta I$  du benzène sur OV17  
 = I du benzène sur OV17 - I du benzène sur le squalane  
 = 772 - 653 = 119

Constant de Mc Reynolds faible signifie que la phase retient sélectivement les fonctions chimiques du même type

## Échelles de polarité

### Constantes de Mc Reynolds

Phase stationnaire	Valeurs des $\Delta I$ (%)					$\Delta I$
	1 <sup>o</sup> Benzène	2 <sup>o</sup> 1-butanol	3 <sup>o</sup> méthylpropylcétone	4 <sup>o</sup> nitropropane	5 <sup>o</sup> pyridine	
Squalane	0	0	0	0	0	0
Apiezon-L	22	22	15	32	41	195
OV-101	11	11	48	84	41	233
OV-17	36	33	66	95	47	239
OV-17F	11	11	47	87	41	238
OV-17L	31	31	50	88	47	234
OV-17E	41	38	60	108	56	274
OV-17D	31	37	116	143	116	493
OV-17C	36	36	100	136	107	611
OV-17B	109	106	162	283	282	1088
OV-1	149	143	265	465	392	1788
OV-1A3	146	138	265	446	378	1738
OV-1B	188	181	330	570	567	2332
OV-1B3	238	188	333	607	586	3017
OV-1B2	232	188	300	572	544	2846
OV-1B1	269	191	427	664	628	3767
OV-1B0	311	198	444	698	662	4278
OV-1B0.5	384	194	581	841	778	5389
OV-100	499	291	893	1249	1049	7103
OV-100C	527	293	899	1269	1069	7369
OV-100B	781	198	889	1377	1089	8193

### Les marques

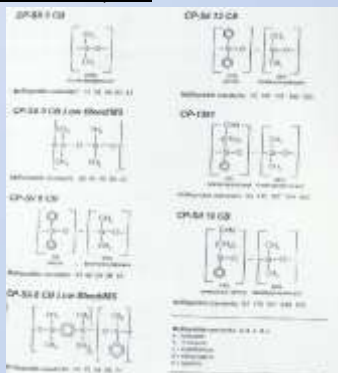
- ✓ OV : Ohio Valley
- ✓ DB : JandW
- ✓ HP : Hewlett Packard
- ✓ CP-Sil : Varian

## Échelles de polarité

### Constantes de Mc Reynolds

## Échelles de polarité

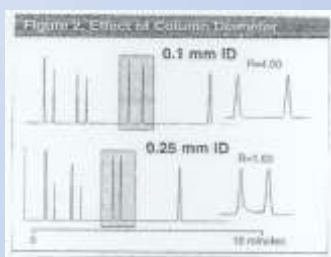
Constantes de Mc Reynolds



## Choix de la colonne

- Nature de l'échantillon
- Nature de la phase stationnaire
- Diamètre de la colonne
- Longueur de la colonne
- Épaisseur du film de la phase stationnaire

## Choix du diamètre



- Gain en temps d'analyse
- Perte en efficacité (N) et en résolution (R)
- Gain en capacité d'échantillon

## Choix du diamètre

Effet du diamètre interne sur les caractéristiques des colonnes GC\*

Internal Diameter	Sample Capacity (ng each component)	Efficiency (theoretical plates/meter)	Optimum Flow Rate (cc/min)
0.20mm	5-30	5900	0.4
0.25mm	50-100	4170	0.7
0.32mm	400-500	3330	1.4
0.53mm	1000-2000	1670	2.5
0.75mm	10,000-15,000	1170	5.0
3mm (packed column)	20,000	2000	20

## Choix de la colonne

- Nature de l'échantillon
- Nature de la phase stationnaire
- Diamètre de la colonne
- Longueur de la colonne
- Épaisseur du film de la phase stationnaire

## Influence de la longueur

Plus la colonne est longue :

- ✓ Plus la résolution est améliorée
- ✓ Mais plus le temps d'analyse augmente
- ✓ Plus le coût de la colonne est important

Exemple

- Avec une colonne de 60 m, on gagne 40% en résolution par rapport à une colonne de 30 m
- Avec une colonne de 60 m, on double le temps d'analyse par rapport à une colonne de 30 m

La résolution augmente proportionnellement à la racine carrée de la longueur de la colonne

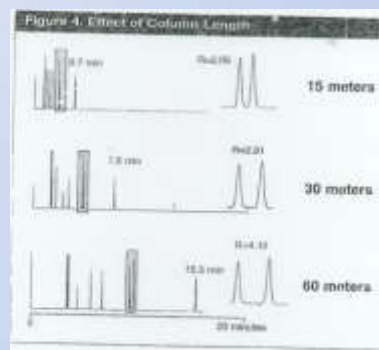
## Influence de la longueur

Paramètres de performance et de fonctionnement de colonnes de DI 0,25 mm de différentes longueurs

Column Length (m)	Plate Number (N)	nC13 Retention Time* (min)	Optimum Gas Velocity (cm/sec, He)	Inlet Pressure (psig)
30	155,000	15.2	23	18
60	304,000	38.8	19	28
120	550,000	82.4	17	53
150	719,000	125.0	14	57

SPB-5 columns, 0.25mm ID x 1.0µm film (β = 62.5), Col. Temp.: 145°C

## Influence de la longueur



## Choix de la colonne

- > Nature de l'échantillon
- > Nature de la phase stationnaire
- > Diamètre de la colonne
- > Longueur de la colonne
- > Épaisseur du film de la phase stationnaire

## Influence de l'épaisseur du film

Les effets de l'épaisseur du film de phase et du diamètre interne de la colonne sont interdépendants

- > Utilisation du rapport  $\beta$  pour sélectionner les colonnes :

$$\beta = \frac{\text{volume phase mobile}}{\text{volume phase stationnaire}}$$

- > Plus la valeur de  $\beta$  est faible, plus la capacité et la rétenion du composé sont élevées
- > Application en fonction de  $\beta$  :
  - ✓ Pour  $\beta < 100$  - composés très volatils, masses faibles
  - ✓ Pour  $\beta$  entre 100 et 400 - travaux courants, intervalles importants
  - ✓ Pour  $\beta > 400$  - masses moléculaires élevée

## Influence de l'épaisseur du film

Rapports de phase et capacités des colonnes capillaires

Column ID (mm)	Film Thickness (µm)	Phase Ratio (β)	Sample Capacity (ng/µl/ste)
0.20	0.10	500	10-20
	0.20	250	30-45
	0.50	93	200-300
0.25	0.10	825	30-40
	0.25	250	100-150
	0.50	125	200-300
	1.0	63	400-500
0.30	0.10	800	50-70
	0.25	320	100-200
	0.50	160	200-300
	1.0	80	400-500
	2.0	40	700-800
0.50	0.10	20	1500-2000
	0.10	1305	50-100
	0.25	320	200-300
	0.50	205	500-700
	1.0	133	1000-1500
	1.5	88	1500-2000
0.80	1.0	44	4000-6000
	5.0	27	8000-15,000

## Choix de la colonne

Vu la grande diversité de phase stationnaire, il est très important de faire le bon choix de colonne pour optimiser sa séparation

COLONNES REMPLIES	ECHANTILLON	COLONNES CAPILLAIRES
Taxes moléculaires Sulfonés Carboxyles	Gas permanents	Méthane SA Carboxyle
Propag Carboxyle gras	HH Cl & CS	Hydrogène Paraphé Q sec 5
Cholestérol série 100	Amines légères	Paraphé amines
Taux	Diole, glycolis	Paraphé
Propag Cholestérol série 100	Eau	Paraphé
Hydrogène Propag	Gas sulfurés	Tétraolé
Propag	Oxydes d'azote	Paraphé 11

## Plan de cours

1. Introduction générale sur la chromatographie
2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonnes
6. Détecteurs
7. Analyse quantitative
8. Prétraitement de l'échantillon

## Détecteurs

### ROLE :

- Appareil de mesure physico-chimique qui ne réagit qu'au passage des solutés voire d'espèces spécifiques du soluté
- Signal traité après amplification par un système informatique d'acquisition

### IDEAL :

- Sensible
  - ✓ Rapport signal électrique/débit massique
  - ✓ Rapport signal électrique/concentration
- Universel
- Robuste
- Domaine de linéarité large

## Détecteurs

### 3 types de détecteur

- Les détecteurs universels
- Les détecteurs semi-universels
- Les détecteurs spécifiques

### 2 types de réponse

- Proportionnelle au débit massique
- Proportionnelle à la concentration du soluté dans la phase mobile

## Détecteurs

### Comment choisir un détecteur ?

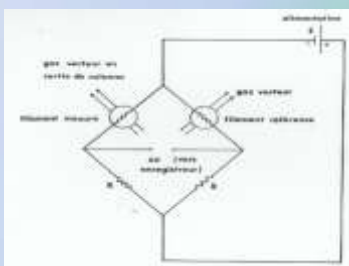
DÉTECTEUR	TCD Catharomètre	FID Ionisation de flamme	FPD Phosphore de flamme	ECD Capture d'électrons	FTO-NPD Thermo- ionique
Type	C	M	M	C	M
Linéarité	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> 5 10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
Limite de température	400 °C	400 °C	350 °C	350 °C	400 °C
Gas vecteur	H <sub>2</sub> , N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> , N <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> , N <sub>2</sub>
Applications principales	Tous composés	Composés organiques carbonés	Composés contenant S ou P	Composés ayant une forte affinité pour e <sup>-</sup>	Composés volatils R ou P

C : détecteur dont la réponse est proportionnelle à la concentration  
M : détecteur dont la réponse est proportionnelle au débit massique

## Le catharomètre

### Principe :

On mesure la différence de conductivité entre le gaz vecteur seul et le gaz vecteur chargé d'échantillon



## Le catharomètre

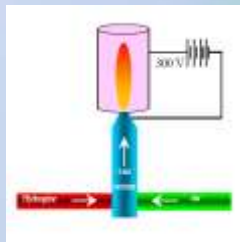
### Avantages et inconvénients:

- Premier monté sur des GC commerciaux
- Le plus universel
- Simple d'utilisation
- Considéré comme peu sensible
- Amélioration de la sensibilité grâce à la miniaturisation

## Détecteur à ionisation de flamme (FID)

### Principe :

Mesure le courant ionique généré dans une flamme hydrogène au passage de l'échantillon



## FID

### Réponse

- > Non proportionnelle au nombre d'atomes de carbone : à masse égale injectée, un C6 donne approx. La même réponse qu'un C1
- > Le chlorure de méthylène donne une réponse moins grande que le méthane (le chlore refroidit localement la flamme)

### Sensibilité

- > Très élevée, s'exprime en coulomb/gramme

### Limite de détection

- > Peut atteindre 2 à 3 pg/sec

## FID

### Avantages et inconvénients:

- > Décrit la première fois en 1958
- > Le plus couramment utilisé
- > Grande sensibilité
- > Bonne linéarité
- > Faible volume mort
- > Presque universel
- > Destructive

## FID

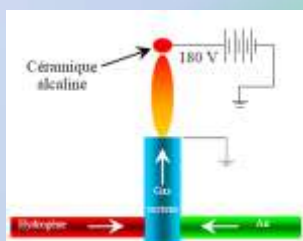
— Composés donnant peu ou pas de réponse avec un détecteur à ionisation de flamme.

He	H <sub>2</sub> S	CO
Ar	SO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>
Kr	NO	COS
Ne	N <sub>2</sub> O	CS <sub>2</sub>
Xe	NO <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O
O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	CHOOH
N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	SiCl <sub>4</sub>

## FID alcalin (NDP)

### Principe :

Comporte un petit cylindre en céramique dopé avec un sel alcalin (rubidium ou césium).



## NPD

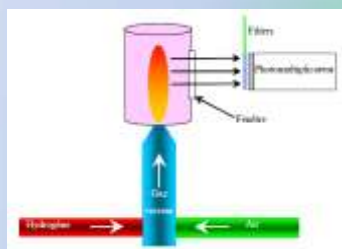
### Avantages et inconvénients:

- > Grande sensibilité (de l'ordre de 0,1 pg)
- > Bonne linéarité
- > Faible volume mort
- > Spécificité à l'azote (N) et au phosphore (P)

## Photomètre de flamme (FPD ou SPD)

### Principe :

Présence d'un tube photomultiplicateur qui converti les photons émis en un signal électrique



## FPD

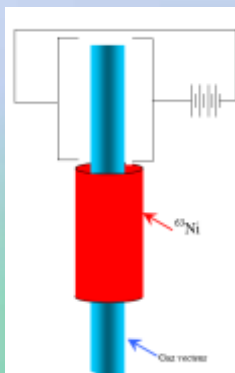
### Avantages et inconvénients:

- Présenté pour la première fois en 1966
- Très grande sélectivité vis-à-vis des composés organiques soufrés ou phosphorés
- Pas universel

## Détecteur à capture d'électron (ECD)

### Principe :

- Ionisation des analytes par des particules  $\beta$  émises par une source radioactive  $^{63}\text{Ni}$
- Lorsque les analytes arrivent, ils seront ionisés par capture des électrons :  $A + e^- \rightarrow A^-$
- Lors du passage des analytes, le courant de base diminue
- Ce suivi de courant est traduit sous la forme d'un chromatogramme



## (ECD)

### Avantages et inconvénients:

- Décrit par Lovelock en 1960
- Détecteur très sélectif couramment utilisé
- Détecte les composés électronégatifs
- Très sensible pour les composés halogénés
- Détection des composés nitrilés, cyanés, polyaromatiques
- Insensible aux composés de type alcool et carbures saturés
- Très utilisé pour la détection des pesticides organochlorés
- Détecteur peu commun dans un laboratoire car présence de matière radioactive (norme et contrôle important)

## Spectrométrie de masse



Détermination de données structurales sur les composés

## Plan de cours

1. Introduction générale sur la chromatographie
2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonnes
6. Détecteurs
7. Analyse qualitative et quantitative
8. Prétraitement de l'échantillon

### Aspects qualitatifs

L'aspect qualitatif d'une chromatographie consiste à identifier un composé

- Comparaison des temps de rétention avec ceux des standards
- Détermination des  $k'$  et des  $\alpha$ 
  - ✓ Indices de Kowats
  - ✓ Méthode des surcharges
  - ✓ Détecteurs sélectifs (Fluo, ECD, NPD,...)

### Aspects qualitatifs

Si la comparaison avec les standards ne suffit pas :

- Certains détecteurs peuvent en plus fournir une information sur la nature du produit
  - ✓ Spectrométrie de masse
  - ✓ RMN

Double assurance concernant la nature du composé détecté

### Aspects quantitatifs

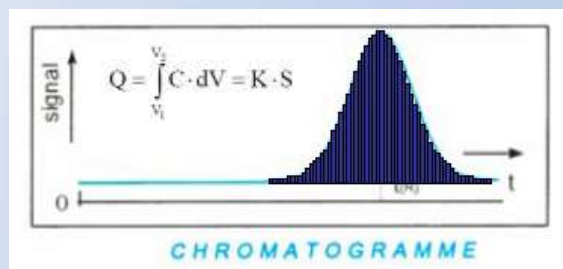
L'aspect quantitatif d'une chromatographie consiste à identifier un composé et à le **dosier**

- Pour un détecteur donné, on admet qu'il existe une relation linéaire entre l'aire d'un pic chromatographique et la quantité de composé responsable de ce pic
- La quantité de produit injecté dans la colonne se répartit sur toute la surface du pic chromatographique
- Avant, on découpait le pic et on le pesait
- De nos jours, on intègre la surface du pic (intégrateur)

$$Q = \int_{V_1}^{V_2} C \cdot dV = K \cdot S$$

### Aspects quantitatifs

Intégration du pic :



**Problème** : on ne connaît pas la valeur du coefficient de réponse  $K$  qui lie la surface à la quantité injectée

### Aspects quantitatifs

Comment faire pour doser un composé?

Utilisation du technique d'étalonnage

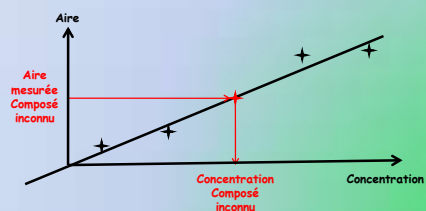
- Étalonnage externe
- Étalonnage interne
- Technique des ajouts dosés
- ...

### Aspects quantitatifs

Étalonnage externe

Principe :

On injecte des solutions étalons à différentes concentrations (encadrant la concentration de la solution à analyser)





## Aspects quantitatifs

### Étalonnage externe

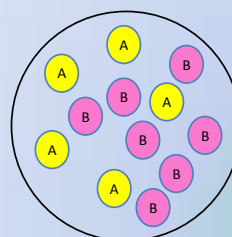
#### Problèmes

- Il peut y avoir des problèmes de répétabilité du volume injecté
- la référence est indispensable et peut être indisponible dans le commerce
- Effets de matrice

## Aspects quantitatifs

### Étalonnage par ajouts dosés

Mélange de A et B



On veut doser A

Le détecteur doit détecter A

**Mais** B interfère car le détecteur détecte un peu B

Alors on aura un signal correspondant à la quantité de A et un peu de la quantité de B

Du coup, [A] sera surestimée

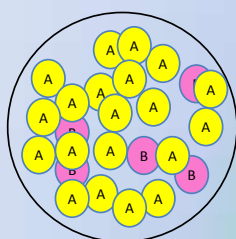


Effet de matrice

## Aspects quantitatifs

### Étalonnage par ajouts dosés

Mélange de A et B  
Dopé en A



On veut doser A

L'échantillon est dopé en A (concentration connue)

B interfère toujours

Mais l'effet de B est réduit jusqu'à négligeable

Du coup, [A] n'est plus surestimée



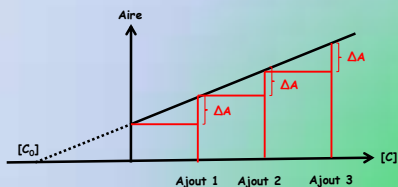
Suppression  
Effet de matrice

## Aspects quantitatifs

### Étalonnage par ajouts dosés

#### Principe :

Ajouter à une concentration inconnue mais constante, de notre composé des ajouts successifs de substance à analyser



## Aspects quantitatifs

### Étalonnage interne

#### Rappel :

Le **problème majeur** de l'étalonnage externe est basé sur la **non répétabilité de l'injection**.



#### Résultat :

Droite d'étalonnage non exploitable car **non représentative**

Solution : étalonnage interne

## Aspects quantitatifs

### Étalonnage interne

#### Nomenclature :

$E_i$  : étalon interne  
 $E_{ech}$  : échantillon inconnue analysé  
 $E_{st}$  : échantillon standard

#### Principe :

- Utiliser un  $E_i$  à une concentration fixe
- Optimiser la séparation des deux composés  $E_i$  et  $E_{ech}$
- Réaliser une droite d'étalonnage en faisant varier la concentration de l' $E_{st}$  et en gardant concentration de l' $E_i$  fixe
- Représenter la droite d'étalonnage :
 
$$\text{Aire } E_{ech} / \text{Aire } E_i = f([E_{ech}] / [E_i])$$
- Injecter le mélange contenant l' $E_i$  et l' $E_{ech}$
- Reporter la valeur mesurée sur la courbe et en déduire  $[E_{ech}]$

### Aspects quantitatifs

#### Étalonnage interne

**Dans la pratique :**

Solution mère  $E_{St}$

$V_1$     $V_2$     $V_3$     $V_4$     $V_5$

1 mg/ml  $E_{St}$    2 mg/ml  $E_{St}$    3 mg/ml  $E_{St}$    4 mg/ml  $E_{St}$    5 mg/ml  $E_{St}$   
1 mg/ml  $E_i$    1 mg/ml  $E_i$    1 mg/ml  $E_i$    1 mg/ml  $E_i$    1 mg/ml  $E_i$

Solution mère  $E_i$

### Aspects quantitatifs

#### Étalonnage interne

**Résultat :**

$E_i$   
Concentration constante

$E_{St}$   
Gradient  
Concentration

### Aspects quantitatifs

#### Étalonnage interne

**Résultat :**

Aire  $E_{St}$  / Aire  $E_i$

Aire  $E_{ech}$  / Aire  $E_i$

[ $E_{ech}$ ] / [ $E_i$ ]

[ $E_{St}$ ] / [ $E_i$ ]

$[E_{ech}] = (A_{Eech} / A_{Ei}) \cdot [E_i]$

### Aspects quantitatifs

#### Étalonnage interne

**Propriété de l' $E_i$  :**

- > Structure chimique très proche
- > Temps de rétention très proche
- > Concentration très proche

**But de l'utilisation d'un  $E_i$  :**

- > Utiliser un rapport de concentration
- > Corriger des erreurs de répétabilité de volume injecté

6 heures

### Aspects quantitatifs

#### Critère de qualité

En analyse chromatographique comme pour d'autres techniques de mesure, le calcul statistique est incontournable

Un résultat d'analyse n'a de valeur que s'il est assorti d'une estimation de l'erreur possible

Pour être acceptable, une mesure doit être répétée : une exploitation statistique est alors possible

### Aspects quantitatifs

#### Critère de qualité

- > Moyenne arithmétique  $\bar{x}$  de n mesure :
 
$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$$
- > Écart type ou déviation standard :
 
$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$
- > Coefficient de variation CV :
 
$$CV = 100 \times \frac{s}{\bar{x}}$$

**↳ Bonne indication de la dispersion des résultats**

## Aspects quantitatifs

### Critère de qualité

- **La répétabilité** s'exprime par l'écart-type des résultats d'essais indépendants entre eux obtenus sur le même échantillon avec la même méthode, dans un intervalle réduit de temps
- **La reproductibilité** s'exprime par l'écart-type des résultats d'essais indépendants entre eux obtenus sur le même échantillon avec la même méthode, avec des équipements différents et des opérateurs différents
- **La précision** c'est la dispersion des résultats autour de la moyenne. Elle est généralement exprimée par l'écart-type des mesures et correspond aux erreurs aléatoires
- **La justesse** c'est l'écart entre la moyenne des mesures et de la valeur réelle. Elle est généralement inaccessibles et correspond aux erreurs systématiques
- **La linéarité** est la plage dans laquelle la réponse reste proportionnelle à la quantité soumise à l'analyse. Elle est représentée par une droite de régression de la forme :  $y = ax + b$  et la validité est exprimée par le coefficient de corrélation

## Plan de cours

1. Introduction générale sur la chromatographie
2. Aspect théorique de la chromatographie
3. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
4. Introduction de l'échantillon : systèmes d'injections
5. Colonnes
6. Détecteurs
7. Analyse quantitative
8. **Prétraitement de l'échantillon**

## Préparation de l'échantillon

### Préambule

- De nombreux échantillons ne sont pas injectables directement dans l'état dans le chromatographe
- Les sciences analytiques demandent souvent un prétraitement de l'échantillon
- La préparation de l'échantillon peut être très complexe et représenter l'essentiel du travail de l'analyste
- C'est une science à part entière

## Préparation de l'échantillon

### Techniques :

- **Mise en solution**
- Distillation
- Extraction
- Méthodes par adsorption
  - ✓ Purge and trap
  - ✓ SPE
  - ✓ SPME
- Dérivation

## Préparation de l'échantillon

### Mise en solution :

- Choix du solvant :
  - ✓ Solubilité
  - ✓ Absence de réaction chimique avec l'échantillon
  - ✓ Pureté suffisante
- Inertie du solvant
  - ✓ Formation de peroxydes
- Propriétés corrosives marquées (chlorés)
- toxicité

## Préparation de l'échantillon

### Techniques :

- Mise en solution
- **Distillation**
- Extraction
- Méthodes par adsorption
  - ✓ Purge and trap
  - ✓ SPE
  - ✓ SPME
- Dérivation

## Préparation de l'échantillon

### Distillation :

- Distillation simple
- Évaporateur rotatif
- Distillation fractionnée
- Entraînement à la vapeur d'eau

### But:

- Séparer les volatils des non volatils
- Permettre de concentrer en éliminant les légers ou supprimer les lourds

## Préparation de l'échantillon

### Techniques :

- Mise en solution
- Distillation
- **Extraction**
- Méthodes par adsorption
  - ✓ Purge and trap
  - ✓ SPE
  - ✓ SPME
- Dérivation

## Préparation de l'échantillon

### Extraction :

- Extraction classique par solvant
- Extraction par fluide en phase super critique (matrices solides)

### But:

- Extraire les composés sélectivement d'un mélange complexe
- Exemple : extraction de l'eugénol contenu dans le clou de girofle

## Préparation de l'échantillon

### Techniques :

- Mise en solution
- Distillation
- Extraction
- **Méthodes par adsorption**
  - ✓ Purge and trap
  - ✓ SPE
  - ✓ SPME
- Dérivation

## Préparation de l'échantillon

### Méthode par adsorption :

- Adsorption des gaz
- Adsorption des liquides : extraction en phase solide SPE ou SPME

### But:

- Concentration de constituants mineurs d'une matrice gazeuse
- Extraction sélective des composés d'un mélange complexe
- Injection directe d'un composé dans un GC

## Préparation de l'échantillon

### Adsorption des gaz

- On utilise un adsorbant spécifique placé dans un tube et l'on fait passer le gaz à l'aide d'une pompe (**Exemple : Liner**)
- Les adsorbants les plus utilisés :
  - ✓ Tenax (polymère organique, hydrophobe, excellente stabilité thermique)
  - ✓ Charbon actif : piégeage de polluants organiques variés dans l'atmosphère
  - ✓ Le noir de carbone graphité : grande surface spécifique, piégeage gaz et composés très volatils
  - ✓ Gel de silice et d'alumine : affinité pour les composés volatils polaires

### Remarque :

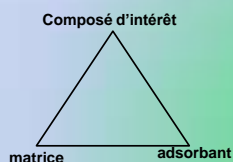
Il est courant d'utiliser des cartouches mixtes avec divers adsorbants en série

## Préparation de l'échantillon

### Adsorption des liquides : SPE

- Extraction en phase solide SPE : utilisation de cartouches ou disques remplis avec divers adsorbants
- Sert soit à concentrer, soit à simplifier la matrice

La procédure répond au triangle d'équilibre entre :  
composé d'intérêt – matrice – adsorbant



## Préparation de l'échantillon

### SPE : Principe

- Similaire à la chromatographie en phase liquide
- On bloque certaines molécules sur un adsorbant et on les élue brutalement et sélectivement en les décrochant du support par un solvant spécifique

## Préparation de l'échantillon

### SPE : procédure

Première étape : conditionnement et solvatisation

- ✓ Lavage avec un solvant adapté
- ✓ La cartouche ne doit plus être séchée

Deuxième étape : équilibration

- ✓ Équilibration de la cartouche avec le solvant de l'échantillon

Troisième étape : dépôt de l'échantillon

Quatrième étape : élution

- ✓ Un solvant de polarité convenable est introduit dans la cartouche
- ✓ Permet selon le choix du solvant d'éluer les produits à isoler et retenir les interférents ou l'inverse

## Préparation de l'échantillon

### SPE : procédure



## Préparation de l'échantillon

### SPE : buts

- Isolation d'un composé d'un mélange complexe
- Concentration de l'échantillon
- Purification de l'échantillon
- Changement de solvant
- Les 4 objectifs à la fois

## Préparation de l'échantillon

### SPE : matériel

- Cartouches en forme de seringues ou disques (capacité de 2,5 mg à 500 mg, volume d'élution de 125 µl à 25 ml)
- Corps en polypropylène ou en verre
- Fritté en polyéthylène
- Divers adsorbants
  - ✓ Silice greffée
  - ✓ Résines
  - ✓ Florisil, alumine, carbone graphité...

## Préparation de l'échantillon

### SPE : avantages

- Technique rapide, sélective et peu consommatrice de solvant
- Extraction d'un ou plusieurs composés d'une matrice complexe
- Enrichissement de traces (préconcentration)
- Dessalage de solutions
- Dérivatisation en ligne
- Grande variété d'adsorbants

Adsorbant	Catégorie de composition des matrices	Composition des adsorbants	Mode de liaison	Exemples d'ions/anions	Hydrophobicité	Température de l'adsorption	Température de l'élution	Exemples
Cellulose II	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose III	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose IV	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose V	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose VI	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose VII	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose VIII	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose IX	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose X	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XI	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XII	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XIII	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XIV	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XV	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XVI	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XVII	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XVIII	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XIX	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques
Cellulose XX	matrice polaire	$H_2O$ et $H_2O$	+400	100	hydrophobe	20°C	50°C	hydrophobes non ioniques

## Préparation de l'échantillon

### SPE : guide de choix

#### Matrice aqueuse : composés d'intérêt

- Apolaires : phase apolaire
- Ionisables basiques : résine échangeuse de cations
- Ionisables acides : résine échangeuse d'anion
- Non ionisables polaires : SPE non adaptée

## Préparation de l'échantillon

### SPE : guide de choix

#### Matrice organique apolaire : composés d'intérêt

- Polaires : phase polaire
- Moyennement polaire : phase polaire
- Apolaires : SPE non adaptée

## Préparation de l'échantillon

### Microextraction en phase solide : SPME

- Utilisation d'une seringue spéciale comportant une aiguille creuse dans laquelle coulissera une fibre en silice fondue recouverte d'une fine couche de phase stationnaire
- Adsorption d'un composé d'intérêt sur cette fibre



**Extraction sélective**

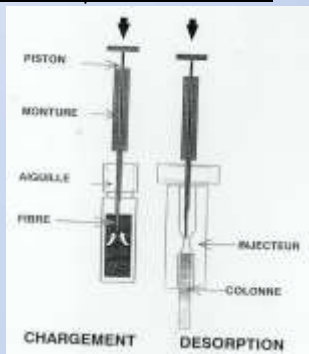
## Préparation de l'échantillon

### Microextraction en phase solide : SPME

- Fibre peut être utilisée soit en immersion soit en espace de tête
- Fibre ensuite désorbée directement dans l'injecteur du GC
- Domaines d'applications innombrables
- Évite l'utilisation de solvants
- Fibre réutilisable

## Préparation de l'échantillon

### Microextraction en phase solide : SPME



## Préparation de l'échantillon

### Microextraction en phase solide : SPME

#### Méthode de l'espace de tête

- Analyse constituants volatils d'un échantillon lorsqu'il n'est pas souhaitable d'introduire l'ensemble de l'échantillon dans la GC



## Préparation de l'échantillon

### Techniques :

- Mise en solution
- Distillation
- Extraction
- Méthodes par adsorption
  - ✓ Purge and trap
  - ✓ SPE
  - ✓ SPME
- **Dérivation**

## Préparation de l'échantillon

### Dérivation :

#### But:

- Rendre les constituants d'un mélange moins polaires et plus volatils en les dérivant chimiquement

#### Les réactions les plus courantes :

- Silylation
- Alkylation
- Acylation

## Préparation de l'échantillon

### Dérivation :

#### Silylation

- Sur fonctions alcool, phénol, amine. Substitution d'un groupe triméthylsilyle (TMS) à un atome d'hydrogène mobile

#### Acylation

- On remplace un hydrogène mobile par un groupement acyle (obtention d'un ester)

#### Alkylation

- Remplacement d'un hydrogène mobile par un radical alkyle, en générale un méthyle