

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE

***But du TP :** L'objectif est la prise en main de l'outil d'analyse CPG/SM. Pour ce faire, on étudiera les temps de rétention d'un certain nombre de composés ainsi que leur spectres de masse. On pratiquera aussi un dosage par la méthode de l'étalon interne.*

1. Principe et Matériel utilisé

On souhaite réaliser la séparation de composés aromatiques et d'alcane par CPG. Un appareil de CPG comprend schématiquement 3 modules spécifiques : un injecteur, une colonne et un détecteur. La phase mobile qui entraîne l'analyte dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur (N_2 ou He). La colonne utilisée est une CP-Sil 8 CB, c'est à dire que sa phase stationnaire est en silice greffée avec des polymères diméthylpolysiloxane. La phase stationnaire est plutôt apolaire. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétabilité des temps de rétention. L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité d'analyte, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de colonne. Celle-ci est placée dans une enceinte à température régulée.

Le détecteur de notre expérience sera donc le spectromètre de masse. La spectrométrie de masse désigne une méthode d'analyse qui repose sur la détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires individuelles de l'analyte, ce qui permet de recueillir des informations sur sa nature, sa composition et sur sa structure. Le spectromètre de masse est constitué de trois parties ; la source d'ionisation, l'analyseur et le détecteur que l'on détaillera dans le TP de spectrométrie de masse. L'appareil est constitué de plusieurs pompes à vide permettant de travailler à basse pression (10^{-4} à 10^{-7} torr).

2. Analyse de l'Anthracène et du Naphtalène par CPG/SM

Dans cette première partie, on étudie les temps de rétention des composés aromatiques et leurs spectres de masse. Tout d'abord, il faut régler les paramètres de la colonne et du spectre de masse. L'analyse de l'Anthracène et du Naphtalène se fera selon les conditions suivantes :

- L'injecteur avec division : on fait arriver un courant de gaz vecteur dans la chambre de vaporisation où il se mélange à l'échantillon injecté. Une grande partie de ce mélange gazeux est éliminé par une vanne de fuite. Seule la petite fraction restante pénètre dans la colonne et correspond au rapport de division (le Split ratio).

$$\text{Rapport de division} = (\text{débit sortie Split} + \text{débit sortie colonne}) / (\text{débit sortie colonne})$$

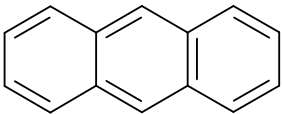
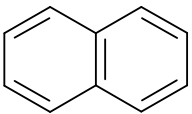
- le débit de gaz vecteur dans la colonne est fixé à 1ml/min
- la température du four réglant la température de la colonne sera régler comme suit : 120°C au début de l'analyse puis en 14min cette température augmentera jusqu'à 240°C pour s'y maintenir 10min.

Ensuite, il faut vérifier la pression dans le spectromètre de masse. La pression dans le spectromètre doit être très basse. Pour cela, on réalise un spectre de l'air contenu dans le spectromètre de masse (auto tune). Le résultat nous indique la concentration d'eau dans le spectromètre. Cette concentration doit rester inférieure à une certaine valeur connue. Si cette concentration est bonne, c'est à dire faible quantité d'eau dans l'appareil, alors on peut dire que le vide est bien respecté.

Etant donné le principe du spectromètre de masse, le maintien de ce vide est très important pour réaliser de bonnes mesures. Une très petite quantité du composé à analyser sous forme gazeuse est ionisée : les espèces porteuses de charges électriques qui en résultent sont soumises à l'action d'un champ électrique et/ou magnétique suivant l'appareil. L'étude des trajectoires suivies, dans une enceinte où règne un très bon vide, permet d'obtenir le rapport masse/charge des ions, donc éventuellement leur nature. Cette méthode détruit le composé analysé, mais il ne faut qu'une infime quantité d'analyte, car sa sensibilité est grande.

Manipulation :

On possède 2 solutions de composés aromatiques

Anthracène (100ppm)	Naphtalène (10ppm)
	

On prélève 0,2µl d'Anthracène (100ppm) avec une micro seringue, on l'injecte dans la colonne. Puis lorsque la première analyse est terminée, on injecte 0,2µl de Naphtalène (10ppm).

Résultats (Cf annexes 1 et 2) :

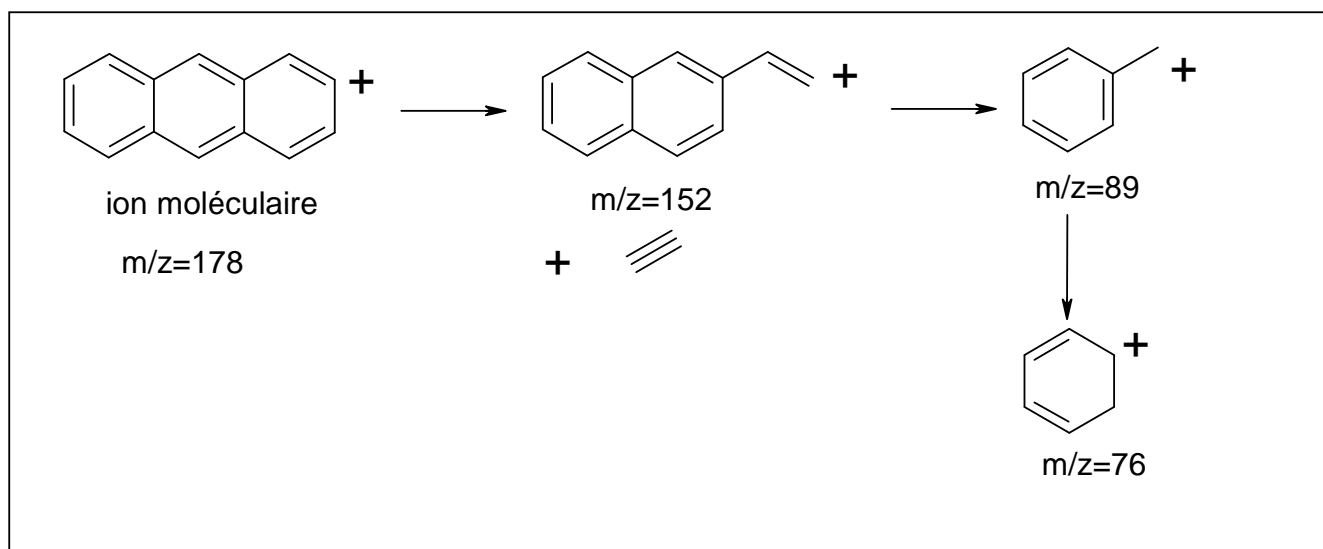
Composé analysé	Formule brute	Masse Molaire (g.mol ⁻¹)	Temps de rétention	Teb °C
Naphtalène	C ₁₀ H ₈	128,19	3,31	217,9
Anthracène	C ₁₄ H ₁₀	178,22	9,34	342

L'ordre de sortie des composés dépend de la polarité des composés et celle de la phase stationnaire. Etant donné les masses molaires des composés, l'anthracène sera le plus retenu par la phase stationnaire, il sort donc plus tard. Aussi, le naphtalène sera plus volatilisé, il sortira donc en premier.

On analyse les spectres de masse de ces composés.

➤ Spectre de l'anthracène (annexe 1)

On observe que le pic moléculaire est très intense. Ce composé est très stable. Ensuite, d'après l'intensité relative des pics, on trouve que les fragments principaux seront les suivants :

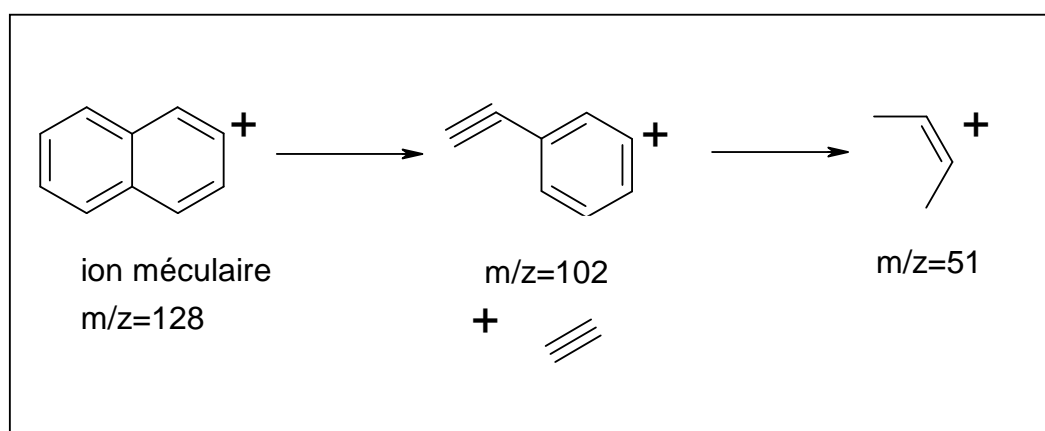


Le pic de masse :

63 : correspond à la perte du fragment C_9H_7 .

➤ Spectre du naphthalène (annexe 2)

De même que précédemment, on trouve que les fragments principaux viennent de :



De plus, les pics de masse suivante correspondent :

74 : perte du fragment C_4H_6 (54 uma).

On constate que les spectres obtenus ressemblent relativement bien aux spectres théoriques obtenus sur une bibliothèque de spectres de masse (Cf annexes 13, 14). En effet, les intensités relatives de chaque pic sont en accord.

3. Analyse de l'Hexane, l'Heptane et l'Octane par CPG/SM

On étudie les temps de rétention des alcanes (hexane, heptane, octane) ainsi que leurs spectres de masses. Il faut régler les paramètres de la colonne et du spectre de masse. L'analyse de l'Hexane, Heptane et Octane se fera selon les conditions suivantes :

-l'injecteur est réglé comme précédemment,

-la température évolue au cours de l'analyse : au début elle est fixée à 45°C et est maintenue 4 min, puis elle augmente jusqu'à 80°C. On atteindra finalement 140°C pour la fin de la séparation. Le gradient de température permet de diminuer les temps d'analyse sans diminuer la résolution.

-la pression dans la colonne évoluera aussi.

On vérifie à nouveau le vide dans le spectromètre de masse.

On procède aux analyses.

On possède 3 solutions préparées dans le méthanol :

Solution d'hexane (10ppm), solution d'heptane (10ppm), solution d'octane (10ppm). On injecte 0,2 µl de chaque solution tour à tour.

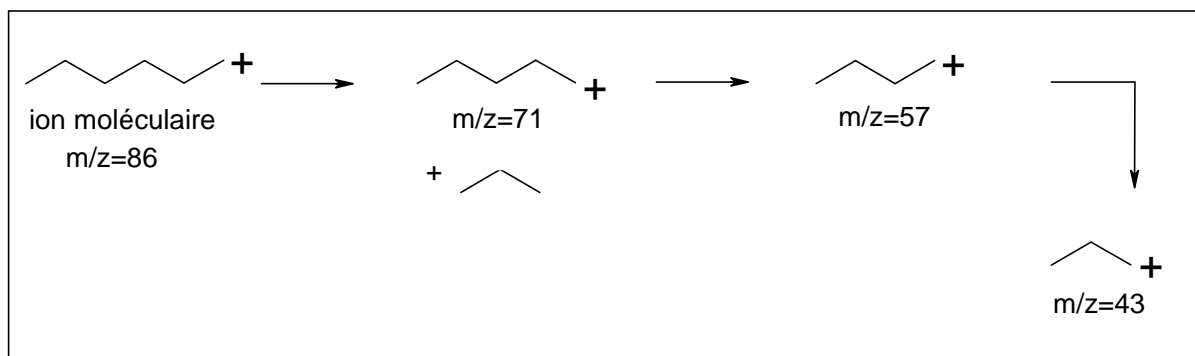
Résultats (Cf annexes 3, 4, 5) :

Composés analysés	Formule Brute	Masse Molaire (g.mol ⁻¹)	Temps de rétention en min	Teb °C
Hexane	C ₆ H ₁₄	86,18	2,883	68,73
Heptane	C ₇ H ₁₆	100,21	4,134	98,4
Octane	C ₈ H ₁₈	114,23	5,912	125,6

L'octane est le composé qui possède le plus de carbones, il est le composé le plus apolaire, il est donc le plus retenu par la colonne chromatographique. Donc, il a le temps de rétention le plus grand. L'hexane est le composé qui possède le moins de carbones, il est le composé le plus polaire, il est moins retenu par la colonne apolaire, il a le temps de rétention le plus faible.

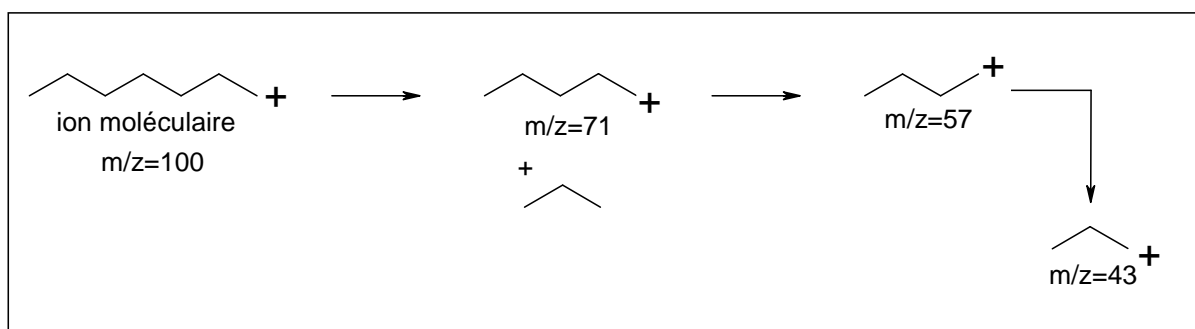
On analyse le spectre de masse des composés.

➤ Spectre de l'hexane (annexe 3)



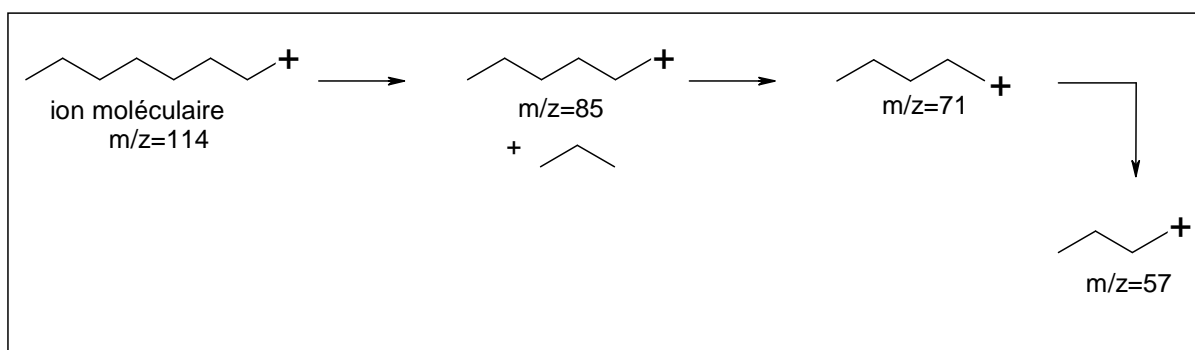
On trouve bien sur le spectre de masse les pics $m/z=86, 71, 57$. Pour le pic 41, il correspond à une perte de H_2 . La molécule se fragmente principalement en un ion de masse 57 et en une molécule neutre de masse 29.

➤ Spectre de l'heptane (annexe 4)



Sur le spectre de masse, on retrouve bien les pics $m/z=100, 71, 57$. La molécule se scinde principalement en un ion moléculaire de masse 71 et en une molécule neutre de masse 29.

➤ Spectre de l'octane (annexe 5)



Sur le spectre, on trouve le pic de masse 114 qui correspond à l'ion moléculaire. Puis, on trouve les pics de masse $m/z=85, 71, 57$. Le pic le plus intense est celui de masse 85, donc l'octane se fragmente principalement en ion de masse 85 et en molécule neutre de masse 29.

On constate que les spectres obtenus ressemblent relativement bien aux spectres théoriques obtenus sur une bibliothèque de spectres de masse (Cf annexes 1,2,3 du TP de SM). En effet, les intensités relatives de chaque pic sont en accord.

4. Dosage par la méthode de l'étalon interne

On souhaite doser une solution d'octane de concentration inconnue par la méthode de l'étalon interne. La méthode de l'étalon interne permet de s'affranchir des erreurs dues aux différences de volumes injectés dans la colonne. En effet, le volume injecté est de l'ordre de $0,2\mu\text{l}$, il est très difficile de pouvoir injecter à chaque fois ce même volume avec précision. On réalise une droite d'étalonnage à partir de solutions préparées en suivant le protocole.

On procède aux séparations et analyses des solutions étalons (Cf annexes 6 à 11)

Sol N°	Volume de méthanol	Volume d'Heptane (100 ppm) étalon interne en ml	Concentration en heptane dans la solution en ppm	Volume Octane (100 ppm) en ml	Concentration en octane dans la solution en ppm	Aire d'Heptane	Aire d'Octane	aire du pic(octane)/ aire du pic(heptane)	Rapports des compositions
1	0 ml	2	20	8	80	11204	37872	3,3802	4
2	2 ml	2	20	6	60	5128	13868	2,7043	3
3	4 ml	2	20	4	40	8775	16795	1,9139	2
4	6 ml	2	20	2	20	8905	7660	0,8601	1
5	0 ml	2	20	8	inconnue	11178	3591	0,3212	solution inconnue

Résultats :

On calcule l'incertitude sur les concentrations de la gamme. Pour un mélange on dit que :

$$\Delta(C_{\text{oct}}/C_{\text{hept}})/(C_{\text{oct}}/C_{\text{hept}}) = \Delta(C_{\text{hept}})/(C_{\text{hept}}) + \Delta(C_{\text{oct}})/(C_{\text{oct}})$$

Avec $\Delta C/C = \Delta V/V + \Delta n/n$. On néglige ici l'incertitude sur n.

Puis $\Delta V/V$ dépend du matériel utilisé pour la préparation de la gamme. Les incertitudes sur les volumes s'ajoutent selon le matériel utilisé.

pipettes	(ΔV) en ml
10 ml	0,02
5 ml	0,02
2 ml	0,01
1 ml	0,01
fioles	
1000 ml	0,2
50 ml	0,06
10 ml	0,04

Puis, dans le cas général $\Delta C/C * C = \Delta C$

On calcule donc l'incertitude sur le rapport des concentrations. On montre par exemple pour la solution 2

- On utilise une pipette de 2 ml pour prélever l'heptane :

$$\Delta(C_{\text{hept}}/C_{\text{hept}}) = 0,01/2 = 0,005$$

- On utilise une pipette de 5 ml et de 1 ml pour prélever l'octane, on utilise aussi une fiole jaugée de 10 ml qui sert à ajuster la solution :

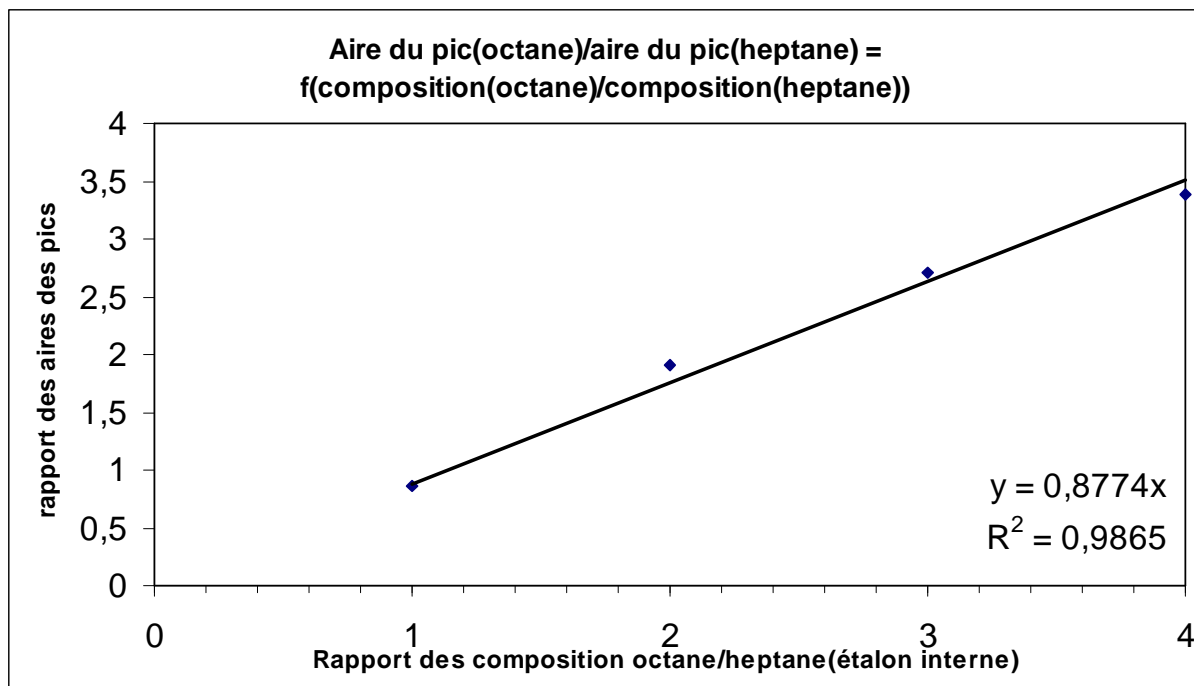
$$\Delta(C_{\text{oct}}/C_{\text{oct}}) = 0,02/5 + 0,01/1 + 0,04/10 = 0,018$$

D'où

$$\Delta(C_{\text{oct}}/C_{\text{hept}})/(C_{\text{oct}}/C_{\text{hept}}) = \Delta(C_{\text{hept}})/(C_{\text{hept}}) + \Delta(C_{\text{oct}})/(C_{\text{oct}}) = 0,005 + 0,018 = 0,023$$

Solution N°	Volume de méthanol	Volume d'Heptane (100 ppm) étalon interne en ml	Incertitude $\Delta C_{(\text{hept})}/C_{(\text{hept})}$	Volume Octane (100ppm) en ml	Incertitude $\Delta C_{(\text{oct})}/C_{(\text{oct})}$	Incertitude $\Delta(C_{\text{oct}}/C_{\text{hept}})/(C_{\text{oct}}/C_{\text{hept}}) = \Delta(C_{\text{hept}})/C_{\text{hept}} + \Delta(C_{\text{oct}})/C_{\text{oct}}$
1	0 ml	2	5,0E-03	8	4,0E-03	9,0E-03
2	2 ml	2	5,0E-03	6	1,8E-02	2,3E-02
3	4 ml	2	5,0E-03	4	1,4E-02	1,9E-02
4	6 ml	2	5,0E-03	2	9,0E-03	1,4E-02
5	0 ml	2	5,0E-03	8	4,0E-03	9,0E-03

On trace la droite d'étalonnage



On peut alors calculer la concentration de la solution d'octane inconnue

$$Y = 0,8774x$$

Le détecteur est bien linéaire. On peut déterminer la concentration de la solution inconnue.

Pour la solution inconnue $Y = 0,3212$

D'où $x = 0,3661$

Donc, $x = (C_{\text{oct}} / C_{\text{hept}})$

On obtient la concentration en octane de la solution préparée:

$$C' = x * C_{\text{hept}} = 20 * 0,3661 = 7,32 \text{ ppm}$$

Et la concentration d'heptane dans la solution est de : 20ppm.

Les incertitudes sont calculées par l'incertitude sur la pente de la droite : d'après les calculs de régression linéaire $\Delta_{\text{pente}} = \Delta a = 0,0229$

	$a + \Delta a = 0,9003$	$a - \Delta a = 0,8545$
X en ppm	0,3568	0,3759
C_{oct} en ppm	8,92	9,40

D'où enfin, la concentration de la solution inconnue : **$C = (C' * 10) / 8 = 9,15 \pm 0,24 \text{ ppm}$** . Le résultat est relativement précis, cette méthode de dosage est satisfaisante.

On peut comparer les incertitudes par les 2 méthodes ; on trouve par la méthode des incertitudes sur la dilution **$C = 9,15 \pm 0,08 \text{ ppm}$** . On suppose que dans ce cas des erreurs sont négligées.

5. Limite de détection pour l'Hexane

On souhaite déterminer la limite de détection de l'Hexane par le spectromètre de masse. Il s'agit de la plus petite quantité détectable par l'appareil. On procède donc par dilution, c'est à dire que l'on diminue la concentration d'analyte jusqu'à ce que l'appareil ne le détecte plus.

La première solution d'hexane à 10ppm est bien détectée. On dilue celle-ci 10 fois (1ppm). L'hexane est détecté par le spectromètre de masse. On dilue alors 10 fois (0,1ppm), on obtient le chromatogramme (annexe 12). On en déduit que la limite de détection est inférieure à 0,1ppm. On en déduit que le spectromètre de masse est un outil très sensible et nécessite de ne pas introduire des quantités d'analytes trop élevées sinon l'appareil sature.

CONCLUSION

Le TP nous a permis de faire une première approche du spectromètre de masse. On a pu constater son application et sa bonne sensibilité.

De plus, on a pu étudier une méthode de couplage d'appareils analytiques. La méthode d'analyse CPG/SM est une méthode très sensible. Elle permet d'étendre les applications de la CPG.

Le couplage de CPG/SM permet ainsi la détermination rapide de structure et est actuellement un des procédés les plus sûrs et les plus puissants d'identification de composé.