

CHROMATOGRAPHIE HAUTE PERFORMANCE EN PHASE GAZEUSE

A/ INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR UNE ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

But du TP : On souhaite approfondir les connaissances sur l'utilisation de la CPG. Pour cela, on étudiera la variation des facteurs de rétention en fonction de la température du four.

1. Principe et Matériel Utilisé

Un appareil de CPG comprend schématiquement trois modules spécifiques : un injecteur, une colonne et un détecteur. La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz vecteur.

Les débits permettent une grande répétabilité des temps de rétention. L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, 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.

La colonne se présente comme un tube en roulé sur lui-même et contenant la phase stationnaire. La colonne est placée dans une enceinte à température régulée, en effet la température joue un rôle essentiel sur la séparation.

La phase gazeuse passe ensuite dans un détecteur avant de sortir de l'appareil de CPG. Pour une phase stationnaire donnée, la Longueur de la colonne (L), la vitesse de la phase mobile (u), la température (T), et le rapport de phase (β) jouent sur l'efficacité et sur les facteurs de rétention.

1.1. La colonne

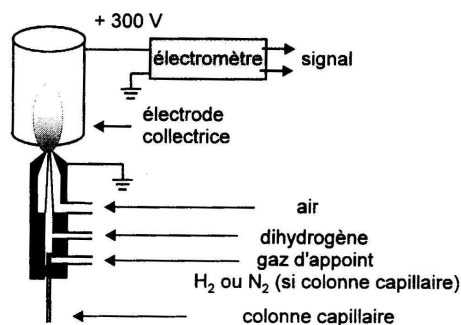
La colonne est l'élément essentiel de l'appareil chromatographique. Il est important de noter que dans le cas de la CPG, les interactions ne se produisent qu'entre l'analyte et la phase stationnaire.

La phase mobile étant un gaz inerte, il n'y a pas d'interactions entre celui-ci et l'analyte. La phase stationnaire utilisée est plutôt apolaire, il s'agit de silice greffée en groupement diphényle.

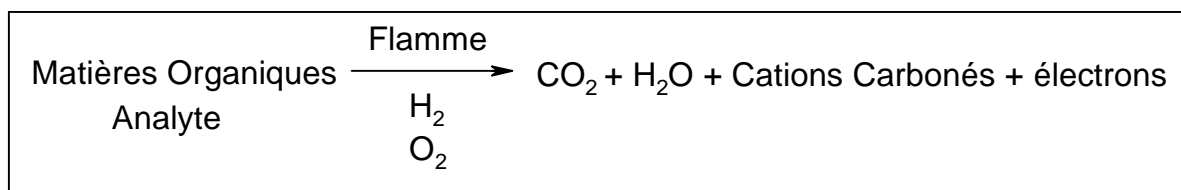
1.2. Le détecteur

➤ Le FID (Détecteur à ionisation de flamme)

Ce détecteur est considéré comme pratiquement universel pour les composés organiques. Le courant gazeux issu de la colonne pénètre dans la flamme d'un petit brûleur alimenté par un mélange d'hydrogène et d'air. Ce détecteur détruit l'échantillon dont la combustion produit des ions et particules chargées, responsables du passage d'un courant ionique extrêmement faible (10-12 A) entre 2 électrodes (ddp de 100 à 300 V). L'extrémité du brûleur sert d'électrode de polarisation. La seconde électrode, de forme annulaire, entoure la flamme. Le signal est amplifié par un électromètre en une tension mesurable.



En résumé :

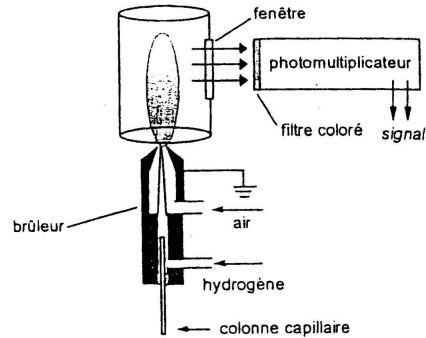


L'intensité obtenue est proportionnelle au nombre d'électrons produits, d'où elle est proportionnelle au nombre de carbones.

Ce détecteur possède une très grande sensibilité, une fiabilité excellente

➤ Le FPD

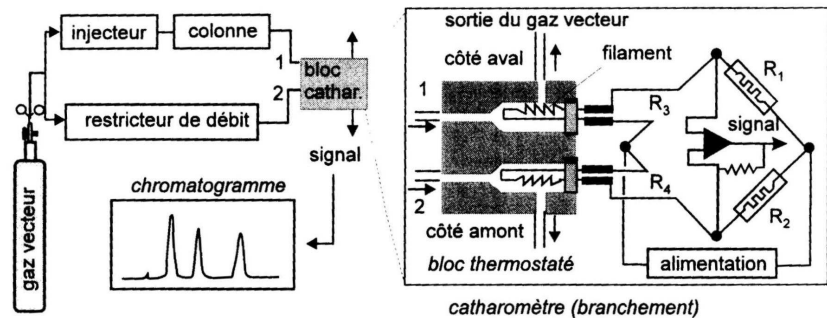
Il s'agit du détecteur à photométrie de flamme. Les composés sont brûlés par la flamme. Les molécules sont alors excitées, en se désexcitant elles émettent des photons : il y a émission de raies.



➤ Le TCD

On l'appelle catharomètre ou détecteur à conductibilité thermique. Ce détecteur universel peut être utilisé avec des colonnes capillaires. Son principe repose sur la mesure des variations de conductibilité thermique des mélanges gazeux en fonctions de leur composition.

Le catharomètre comporte 2 thermistors identiques, placés dans 2 petites cavités d'un bloc métallique thermostaté à une température supérieure à celle de la colonne. Un



des thermistors est plongé dans le gaz vecteur uniquement, l'autre reçoit directement le mélange gazeux sortant de la colonne. En régime stationnaire il s'établit un équilibre de température, donc de résistance, fonction de la conductibilité thermique du gaz vecteur et de l'intensité électrique. Lorsqu'un soluté est élué, le changement de composition de la phase gazeuse modifie sa conductibilité. Il en résulte une variation de la résistance du filament proportionnelle à la concentration du composé dans le gaz vecteur.

Pour nos analyses, on suggère que le FID est le mieux adapté.

2. Analyse des composés et Résultats

Tout d'abord, il faut vérifier les paramètres suivants :

La température des injecteurs (250°C), et la température des détecteurs (250°C). Ceux-ci resteront identiques pour toutes les analyses.

Dans un premier temps, on injecte les solutions préparées d'hexane, heptane et d'octane à 100 ppm. Pour ces manipulations, on programme les paramètres de l'appareil.

La température initiale du four : 45°C.

Après 5 minutes, la température augmente de 15°C/min et ceci pendant 15 minutes.

La pression dans la voie B est fixe à 20kPa. On injectera un volume de 5 µl pour toutes les analyses. On obtient les chromatogrammes suivants (Cf annexes 1, 2, 3) :

	hexane	heptane	octane
tr en min	6,342	7,981	10,264

On remarque que les aires des pics des analytes sont très faibles par rapport à l'aire du pic de solvant. Il est donc difficile d'intégrer précisément chaque pic.

On veut maintenant séparer deux solutions, une de naphthalène et une d'anthracène à 100 ppm chacune. On modifie le programme de température et de pression. La température initiale est fixée à 50°C, elle augmentera immédiatement de 10°C/min. l'analyse durera au maximum 20 minutes. La pression est fixée à 80kPa (Cf annexes 4, 5).

	naphthalène	anthracène
tr en min	8,022	16,394

Cette troisième manipulation permettra d'étudier l'influence de la température sur les temps de rétentions des composés. Pour cela, on injectera l'heptane et l'octane en suivant différent programme de température.

1^{er} programme : la température est fixée durant toute l'analyse à 80°C.

2nd programme : la température est fixée à 120°C pendant toute l'analyse.

3^{em}e programme : la température initiale est 80°C, après 5 min elle augmente de 5°C/min jusqu'à atteindre 120°C.

(Cf annexes 6 à 11)

	tr en min	k à 80°C	tr en min	k à 120°C	tr en min	K en programmation de température
Heptane (annexes 6, 7, 8)	6,699	0,22804766	6,233	0,07151453	6,481	0,154024217
Octane (annexes 9, 10, 11)	7,994	0,46544455	6,697	0,15128073	7,268	0,294159544
Méthanol to	5,455		5,817		5,616	

Le facteur de rétention k rend compte de la capacité d'une colonne à retenir chaque composé.

$$k = (tr - to) / to \text{ et } k = m_s / m_M$$

m_s est la masse d'analyte dans la phase stationnaire.

m_M est la masse d'analyte dans la phase mobile.

Au cours de l'analyse, la masse totale d'analyte se répartie selon les conditions dans la phase stationnaire et mobile. Le rapport varie donc selon certains paramètres. Si k est faible, le composé est majoritairement dans la phase mobile, le temps de rétention du composé est faible, c'est-à-dire que le composé sort rapidement de la colonne. La température de la colonne joue un rôle essentiel sur la valeur de ce facteur k . On explique l'évolution des facteurs k selon la température : plus la température de la colonne augmente plus le composé sera volatilisé donc il sera majoritairement dans la phase mobile, le facteur k est petit, et le composé sort rapidement. On constate bien que $k(80^\circ\text{C}) > k(120^\circ\text{C})$. Il est donc important en CPG de pouvoir jouer correctement avec l'évolution de température au cours de l'analyse afin d'obtenir un k raisonnable pour ne pas avoir un temps d'analyse trop long tout en gardant une bonne séparation des composés.

Le facteur k ne dépend pas de la longueur de la colonne alors que le temps de rétention dépend lui de la longueur de la colonne. En parlant de facteur de rétention, on peut ainsi comparer les composés.

B/ DOSAGE QUANTITATIF EN CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE

But du TP : On souhaite déterminer la concentration en octane dans une solution inconnue par deux méthodes : étalon externe et étalon interne.

1. Préparation des solutions

On prépare les solutions suivant le tableau ci-dessous :

Volume de méthanol en ml	Volume d'heptane (100ppm) en ml	Volume d'octane (100ppm) en ml	Volume Total en ml
0	2	8	10
2	2	6	10
4	2	4	10
6	2	2	10
0	2	8	10

Le programme de température est :

La température initiale est de 50°C après 2min30sec, on augmente la température de 15°C/min pendant 15min. La pression est fixée à 20kPa.

2. Méthode de l'étalon externe

On cherche la concentration en octane de la solution 5. Pour cela, on calcule pour les solutions 1 à 4 le facteur de réponse, c'est-à-dire le rapport entre le signal (surface du pic) et la concentration de la solution injectée. On injecte 5µl de solution avec une micro seringue. On obtient les résultats suivants (Cf annexes 12 à 16) :

Volume de méthanol en ml	Volume d'octane (100ppm) en ml	Volume Total en ml	Concentration en octane en ppm	Aire du pic d'octane
0	8	10	80	5352
2	6	10	60	4260
4	4	10	40	3390
6	2	10	20	1471
0	8 (solution inconnue)	10		2186

2.1. Calcul des incertitudes sur la gamme étalon

L'incertitude sur la gamme d'étalonnage se calcule de la façon suivante pour cette méthode.

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

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.

Par exemple pour la solution 3 : on utilise 2 fois la pipette de 2ml et une fiole jaugée de 10ml donc $\Delta C/C = 2 \cdot 0,01/2 + 0,04/10 = 0,014$

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

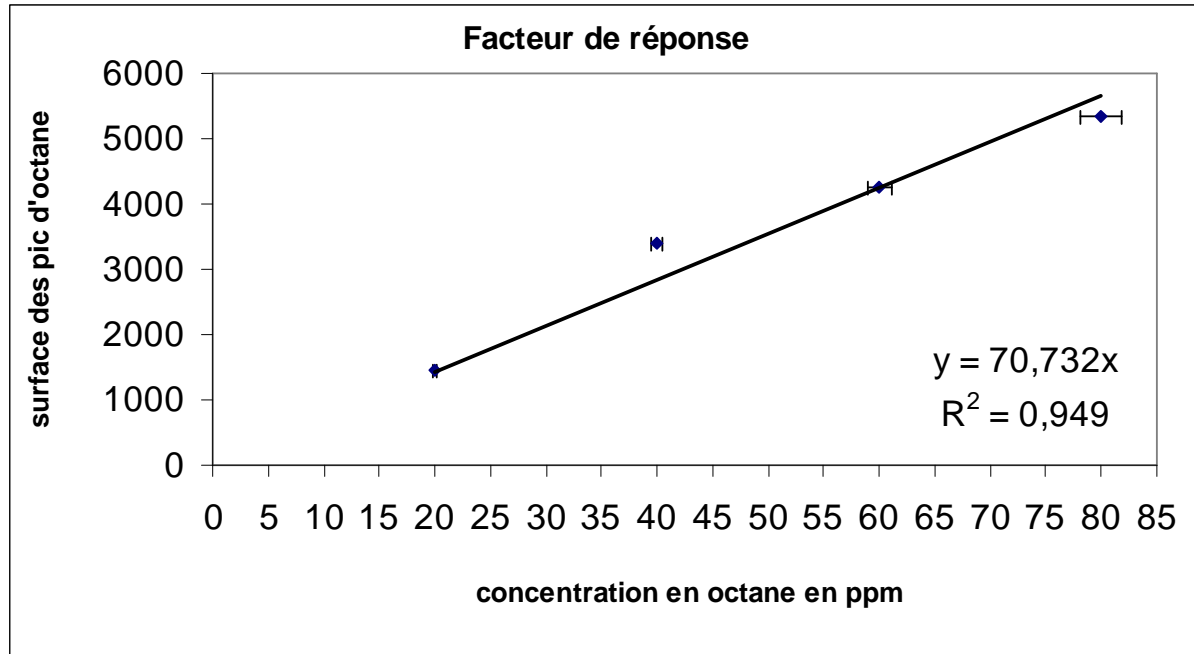
pipettes	(ΔV) en ml
10 ml	0,02
5 ml	0,02
2 ml	0,01
1 ml	0,01
fioles	
1000 ml	0,2
50 ml	0,06
10 ml	0,04

Solution N°	Concentration en octane	Incertitude $\Delta C/C$	Incertitude ΔC
1	80	2,3E-02	1,8E+00
2	60	1,8E-02	1,1E+00
3	40	1,4E-02	5,6E-01
4	20	9,0E-03	1,8E-01
inconnue		2,3E-02	

On peut ainsi observer la précision de la manipulation. En effet, plus la barre d'erreur sur la concentration est grande, moins la manipulation est bonne.

2.2. Résultats

D'après le tableau des résultats obtenus précédemment on trace la droite d'étalonnage telle que : Aire des pics = f (Concentration en octane)



Le facteur de corrélation n'est pas très bon. On suppose qu'une solution est peut être mal préparée.

On trouve une concentration de la solution inconnue :

$$Y=2186 = 70,732x \text{ donc } x = 30,91\text{ppm.}$$

Donc la solution mère inconnue a une concentration en octane de :

$$C_{\text{oct}} = (V_{\text{total}} \cdot x) / V_{\text{oct}} = (10 \cdot 30,91) / 8 = 38,63\text{ppm}$$

Pour les incertitudes, on procède de la manière suivante : d'après les calculs de régression linéaire $\Delta_{\text{pente}} = \Delta a = 3,382$

	$a + \Delta a = 74,114$	$a - \Delta a = 67,350$
X en ppm	29,50	32,46
C_{oct} en ppm	36,87	40,57

Donc $C_{\text{oct}} = 38,63 \pm 1,85\text{ppm}$. Cette méthode n'est pas très précise.

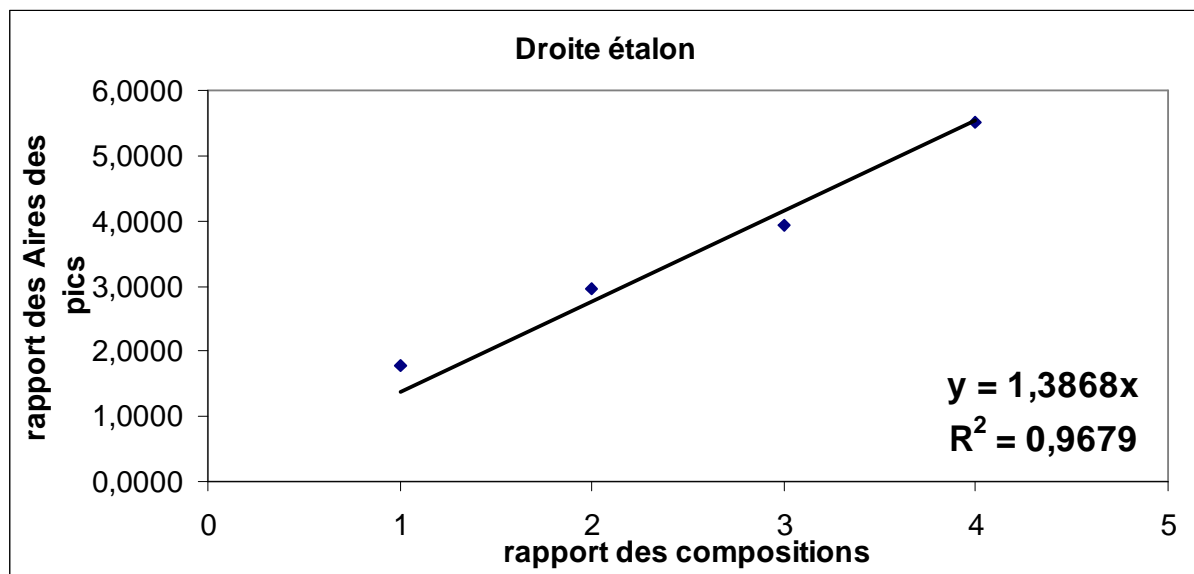
3. Méthode par étalon interne

Les solutions utilisées sont identiques. Elles contiennent un étalon interne : l'heptane. La même quantité d'heptane est donc introduite dans toutes les solutions. On injecte toujours 5µl de solution. On obtient :

Volume de méthanol en ml	Volume d'heptane (100ppm) en ml	Volume d'octane (100ppm) en ml	Volume Total en ml	Aire du pic d'heptane	Aire du pic d'octane	Aire du pic d'octane/aire du pic d'heptane	Rapport des compositions
0	2	8	10	1539	5352	5,5181	4
2	2	6	10	772	4260	3,9449	3
4	2	4	10	1486	4390	2,9542	2
6	2	2	10	823	1471	1,7874	1
0	2	8 (solution inconnue)	10	1338	2186	1,6338	

On a donné les résultats, on trace alors la droite étalon telle que :

$(\text{Aire du pic d'octane/aire du pic d'heptane}) = f(\text{concentration(oct)/concentration(hept)})$



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

$$Y = 1,3868X$$

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

Pour la solution inconnue $Y = 1,6338$, on trouve $x = 1,1781 = C'_{\text{oct}}/C_{\text{hept}}$

$$C_{\text{hept}} = 2 \cdot 100 / 10 = 20 \text{ ppm}$$

$$C'_{\text{oct}} = x \cdot 20 = 23,56 \text{ ppm}$$

$$C_{\text{oct}} \text{ inconnue} = (C'_{\text{oct}} \cdot V_{\text{total}}) / V'_{\text{oct}} = (23,56 \cdot 10) / 8 = \mathbf{29,45 \text{ ppm}}$$

Pour l'incertitude du résultat, on procède comme pour l'étalon externe : $\Delta a = 0,0516$

	$\Delta a + a = 1,4384$	$\Delta a - a = 1,3352$
X correspondant en ppm	1,136	1,2236
C_{oct} en ppm	28,40	30,59

On trouve $\Delta C = 2,20$

Donc, **$C_{\text{oct}} = 29,45 \pm 1,10\text{ppm}$** .

Le résultat n'est pas très précis, on voit aussi que le coefficient de corrélation de la droite n'est pas très bon. La préparation des solutions ne devait pas être très bien effectuée.

Les deux résultats semblent convenables d'après la précision cependant la première méthode n'élimine pas les erreurs dues aux différences de volume injecté dans la colonne. Car le détecteur répond bien linéairement en fonction de la quantité injectée, mais il est évident que cette quantité dépend du volume de solution injectée. On a vu que le volume est d'environ $5\mu\text{l}$ mais il est très difficile d'injecter avec une micro seringue un volume constant. On le vérifie bien puisque la concentration d'heptane est la même dans les 5 solutions et pourtant les aires mesurées ne sont pas rigoureusement identiques. La méthode de l'étalon interne permet de s'affranchir de cette erreur de volume puisque le calcul se fait grâce à un rapport de concentration, elle est plus juste. On le vérifie bien par les incertitudes trouvées.

CONCLUSION

La méthode d'analyse CPG est une méthode facile d'utilisation, on peut modifier très facilement les paramètres permettant d'améliorer la séparation.

La CPG est une méthode rapide, puisque généralement les séparations durent moins d'une heure.

La CPG est surtout utilisée à des fins analytiques qualitatives ou quantitatives. On a pu étudier les méthodes de l'étalon externe et interne et les comparer pour constater que l'étalon interne est la meilleure méthode pour un dosage quantitatif.