

CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

- But du TP :** - Déterminer les temps de rétention de trois composés aromatiques (Naphthalène, Anthracène et Toluène)
- Etudier la linéarité de la détection
 - Déterminer la composition et la concentration de la solution inconnue
 - Estimer la limite de détection de l'appareillage.

1. Principe et matériel utilisé

L'appareil utilisé est une chromatographie liquide équipée d'une colonne de 25cm et d'un diamètre interne de 4,6mm.

Notre phase stationnaire est de type C18, elle est composée de silice sur laquelle on a greffé des chaînes d'alcane saturés. Notre phase stationnaire est donc apolaire.

La phase mobile utilisée est un mélange de méthanol et d'eau dans les proportions suivante (Méthanol 85%, Eau 15%). Nous avons donc une phase mobile polaire.

Nous sommes en chromatographie de phase inverse. Les composés les moins apolaires sortiront en premier. Les composés apolaires sont dotés de nombreuses liaisons C-C et C-H. La masse molaire joue elle aussi un rôle sur les temps de rétention. Plus les molécules sont lourdes, plus elles auront un temps de rétention élevé.

Dans notre cas, l'ordre de sortie attendu est le suivant, nous aurons dans un premier temps le toluène, suivi du naphthalène et de l'anthracène.

Nous disposons d'un détecteur UV réglé à 254 nm permettant de mesurer quantitativement les concentrations de chaque composé.

2. Détermination des temps de rétention

Nous disposons de trois solutions à 10 ppm d'anthracène, de naphthalène, et de toluène. Nous les passons successivement afin de déterminer les temps de rétention de chaque solution.

Chaque solution a été préparée dans du méthanol. Les chromatogrammes obtenus sont notés annexe 1 à 3.

Nous obtenons les résultats suivants :

Sol. à 10ppm	t_0 (min)	$t_{\text{rétention}}$ (min)
<i>Toluène</i>	3,33	6,35
<i>Naphtalène</i>	3,33	7,27
<i>Anthracène</i>	3,33	12,73

3. Méthode de l'étalon interne

Nous avons pu remarquer au cours du TP que la réponse du détecteur en fonction du temps n'était pas linéaire (cf annexe 4).

Dans ce cas, il nous est impossible d'utiliser la méthode de l'étalonnage externe. La méthode de l'étalonnage interne permet de s'affranchir du volume injecté et de la variation de la réponse du détecteur dans le temps.

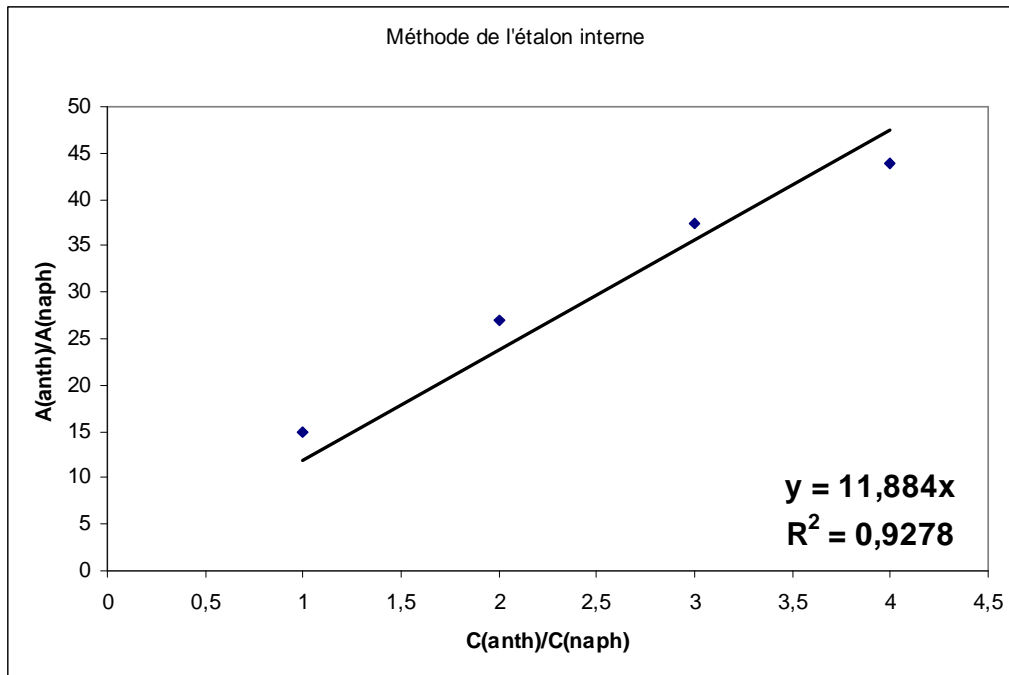
Pour cela, on ajoute à chaque solution d'anthracène un étalon interne de concentration connue.

Nous utiliserons le naphthalène comme étalon interne. Sa concentration sera de 2ppm.

En traçant la courbe d'étalonnage $A(\text{anth})/A(\text{EI})=f(C_{\text{anth}}/C_{\text{naph}})$. Nous pourrions déterminer la concentration de la solution inconnue. Les chromatogrammes obtenus sont notés annexe 5 à 9.

On remarque que les pics sont bien séparés, il n'est pas nécessaire de faire de gradient d'élution.

Solution	C(anthracène) ppm	Aire du pic Anthracène	Aire du pic Naphtalène	Rapport des aires	Rapport des concentrations
1	8	3522,8	80,18	43,9361437	4
2	6	2135,68	57,19	37,3435915	3
3	4	1984,02	73,69	26,9238703	2
4	2	1032,27	69,27	14,9021221	1
5	inconnue	2689,57	76,42	35,19	-



On obtient la droite d'équation suivante : $A(\text{anth})/A(\text{naph}) = 11,884 [C_{\text{anth}}/C_{\text{naph}}]$

D'où

$$C_{\text{anth}} = 5,92 \text{ ppm}$$

Cependant la solution analysée a été diluée par les 2ml d'étalon interne. Pour remonter à la concentration brute de la solution, il suffit d'opérer de la façon suivante.

$$C_{\text{inc}} = C_{\text{anth}} * V_{\text{tot}} / V_{\text{anth}} = 7,40 \text{ ppm}$$

Calcul de l'incertitude sur C_{incomue}

Pour les incertitudes, on procède de la manière suivante : d'après les calculs de régression linéaire $\Delta \text{pente} = \Delta a = 0,622$:

	$a + \Delta a = 12,506$	$a - \Delta a = 11,258$
X en ppm	2,814	3,126
C_{oct} en ppm	7,034	7,814

$$C_{\text{inc}} = 7,40 \pm 0,4 \text{ ppm}$$

4. Détermination de la limite de détection pour le toluène

Nous disposons d'une solution de toluène à 10ppm pour déterminer sa limite de détection par le détecteur UV à 254nm. Nous diluons successivement cette solution par un facteur 10 à chaque fois afin de déterminer la limite minimum de détection.

Pour que le composé soit détectable il faut que le rapport signal sur bruit soit supérieur à 3.

Après avoir effectué quatre dilutions de la solution à 10ppm par un facteur 10 à chaque fois, nous remarquons que le signal est confondu avec le bruit de fond. Nous pouvons en conclure que la limite de détection pour notre appareillage se trouve entre 0.001 et 0.01ppm pour le toluène. Les chromatogrammes résultant de cette expérience se trouvent de l'annexe 10 à 15.

CONCLUSION

Ce TP est intéressant puisqu'il nous a permis de nous donner une approche de la méthode pour déterminer une limite de détection.

De plus, la méthode de l'étalon interne permet de s'affranchir de la variation de la réponse du détecteur. Dans notre cas, celle-ci n'était pas linéaire pour les produits analysés.

La variation du volume injectée n'est pas à prendre en compte ici, puisque nous disposons d'une boucle d'injection qui permet d'injecter un volume bien constant en fonction du temps.