

Chromatographie en phase gazeuse

Plan de cours

1. Introduction
2. principe
3. Avantages et inconvénients de la CPG
4. Appareillage
5. Aspect théorique de la chromatographie
6. Chromatographie gazeuse : principe et appareillage
7. Chromatographie

1. Introduction

Le concept de CPG a été introduit par **Archer Martin** et **Richard Synge** (Anglais) en 1941 (Nobel Chimie 1952) pour le développement de la chromatographie de partage liquide-liquide.

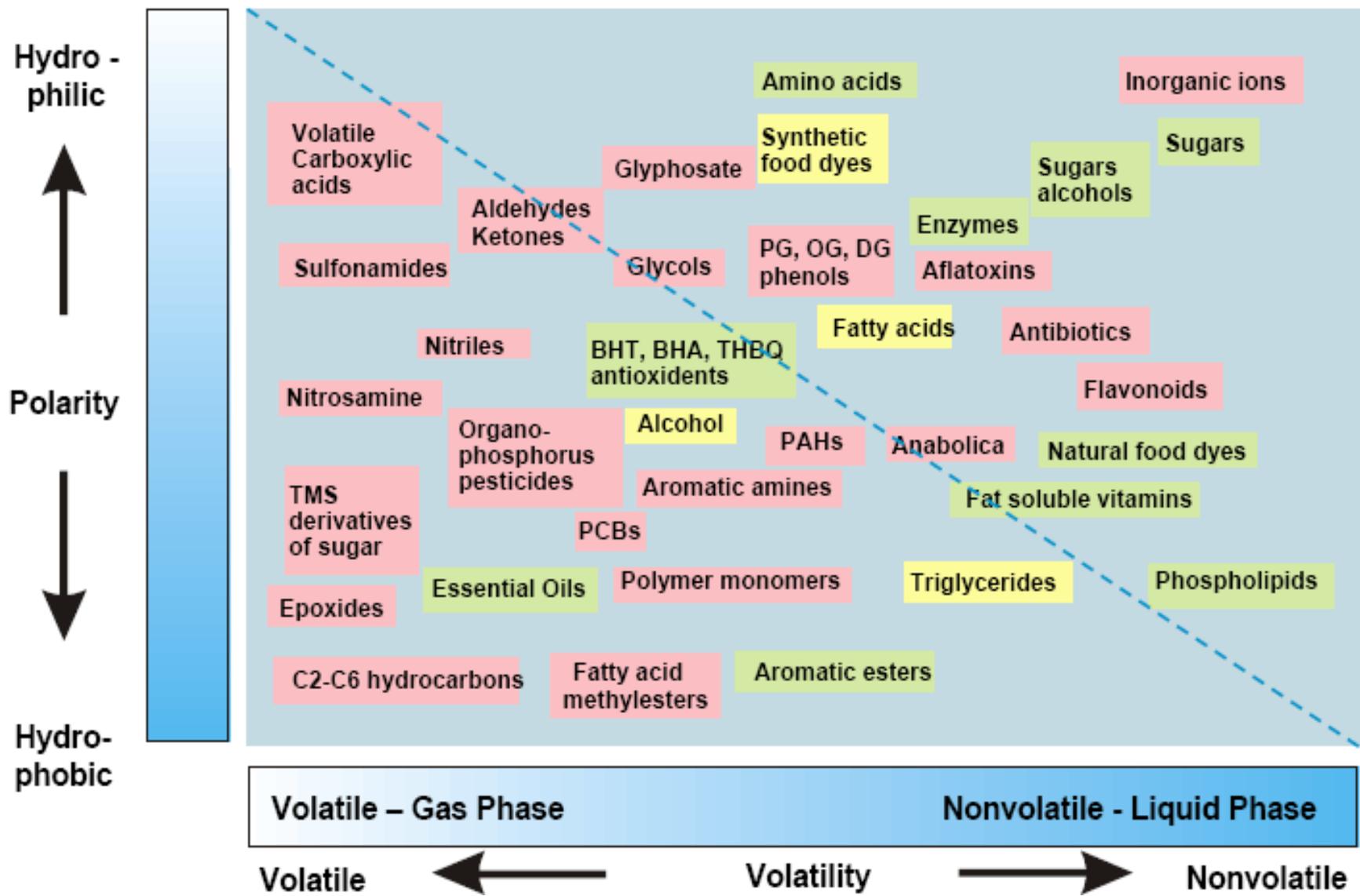


Archer J. P. Martin
1910-2002



Richard L. M. Synge
1914-1994

- La CPG est l'une des meilleures techniques analytiques dans le domaine scientifique (recherche et industrie)
- Domaines d'application variés: industries, agriculture, environnement...
- Le seuil de détection de la CPG: qqc **ppb** grâce aux détecteurs ultrasensibles.
- CG utilisée dans la séparation de petites molécules organiques et inorganiques.

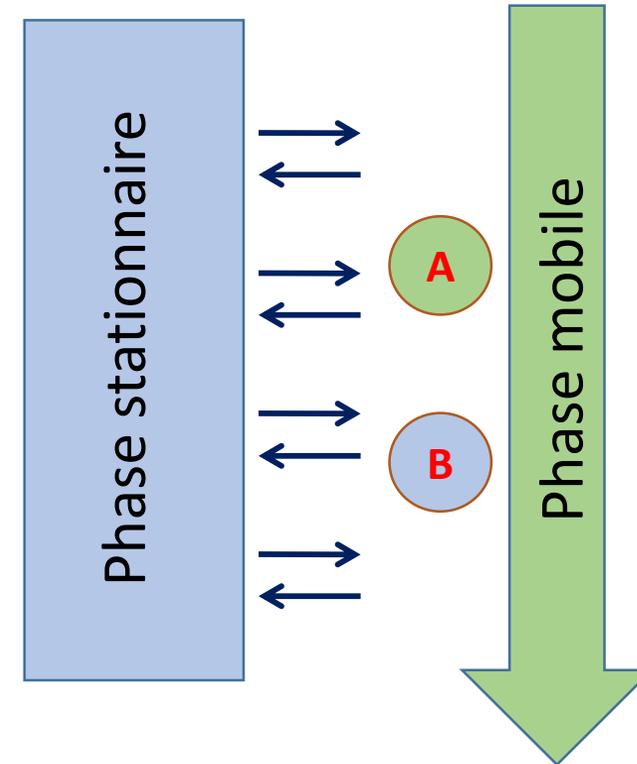


2. Principe

- Méthode de séparation de composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition
- Échange de molécules gazeuses entre phase stationnaire et phase mobile
- Phase stationnaire liquide ou solide
- Phase mobile: Gaz vecteur

2 types:

- Chromatographie gazsolide (adsorption): **CGS**
 - application limitée,
 - surtout utilisée pour des mélanges de gaz ou de solvants ayant des masses moléculaires relativement faibles
- Chromatographie gazliquide (partage): **CGL**
 - type de chromatographie la plus utilisée,
 - basée sur le partage des solutés entre une phase mobile (gaz inerte) et une phase stationnaire liquide fixée sur la surface d'un support poreux inactif.



3. Avantages et inconvénients de la CPG :

- Avantages:

- Très sensible : détection de traces de l'ordre du picogramme pour certains composés,
- Polyvalente : Application pour plusieurs domaines de la chimie,
- Rapidité de mise au point des analyses nouvelles,
- Possibilités d'automatisation.

- Principale contrainte:

La séparation sur la colonne se fait donc sur des composés à l'état gazeux. Pour être analysée en GC, une substance doit être volatile et thermiquement stable.

4. Appareillage :

Un chromatographe gaz est constitué de:

- Une bouteille de gaz munie d'un débitmètre,
- un injecteur,
- une colonne,
- un four thermostaté,
- un détecteur.

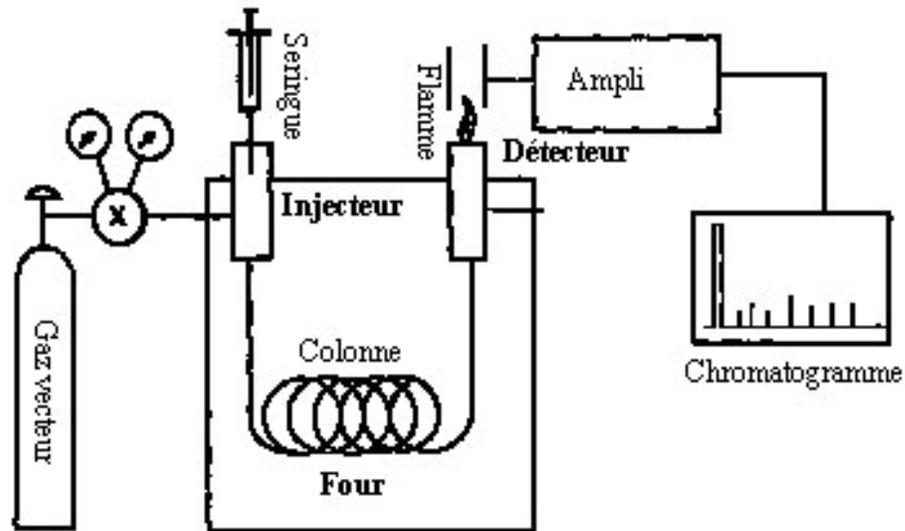


Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse



Photo d'un chromatographe gaz avec injecteur automatisé

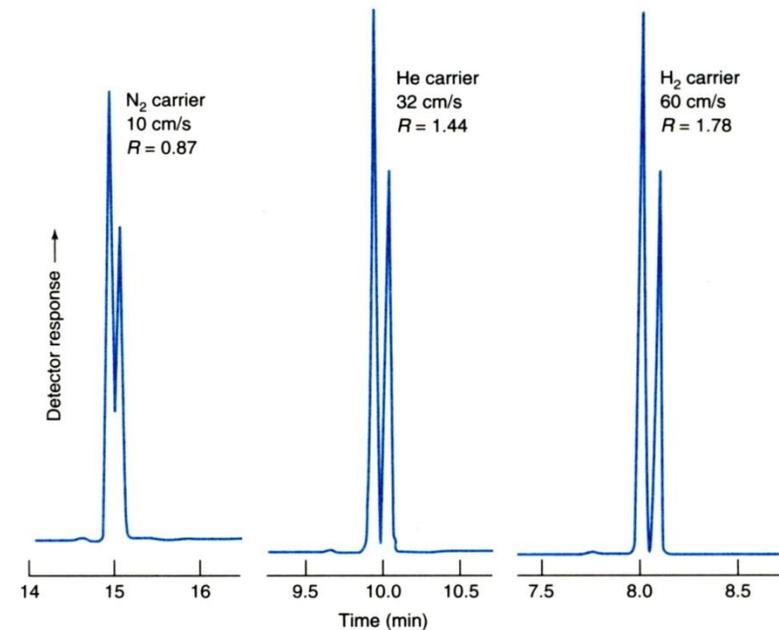
4.1 Phase mobile :

Gaz Vecteur: N₂, He et H₂

- He:
 - Plus commun et compatible avec la plupart des détecteurs
 - Meilleure résolution (hauteur de plateau faible)
 - Les solutés diffusent rapidement: terme de transfert de masse plus faible
- N₂:
 - plus faible limite de détection pour le détecteur à ionisation de flamme
 - Plus faible résolution et vitesses de diffusion des solutés
- H₂:
 - Séparations plus rapide
 - Peut réagir avec les composés insaturés sur des surfaces métalliques (catalyse)
 - Ne peut être utilisé avec la spectrométrie de masse (risque d'explosion: mélange air-H₂)
 - Meilleures résolution (hauteur de plateau faible)
 - Diffusion rapide des solutés → terme de transfert de masse plus petit

- Propriétés :
 - Inerte vis-à-vis des solutés et des phases stationnaires,
 - Exempt de traces d'hydrocarbures, de O₂ et de H₂O

- Choix du gaz vecteur: détecteur utilisé, coût de fonctionnement...



Le débit augmente N₂ < He < H₂

Les coefficients de Diffusion: H₂ > He > N₂

4.1 Phase mobile :

4.1.1 Effet de la température et de la pression:

La température T est le seul paramètre de modification important en GPG

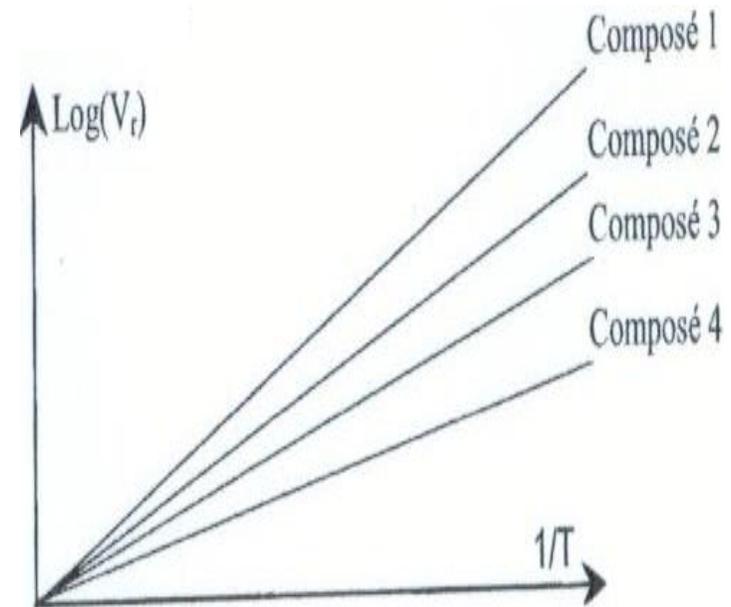
Le volume de rétention V_R varie selon la loi :

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

Si T augmente : V_R diminue et donc t_R diminue

➤ Pour une série de composés homologues

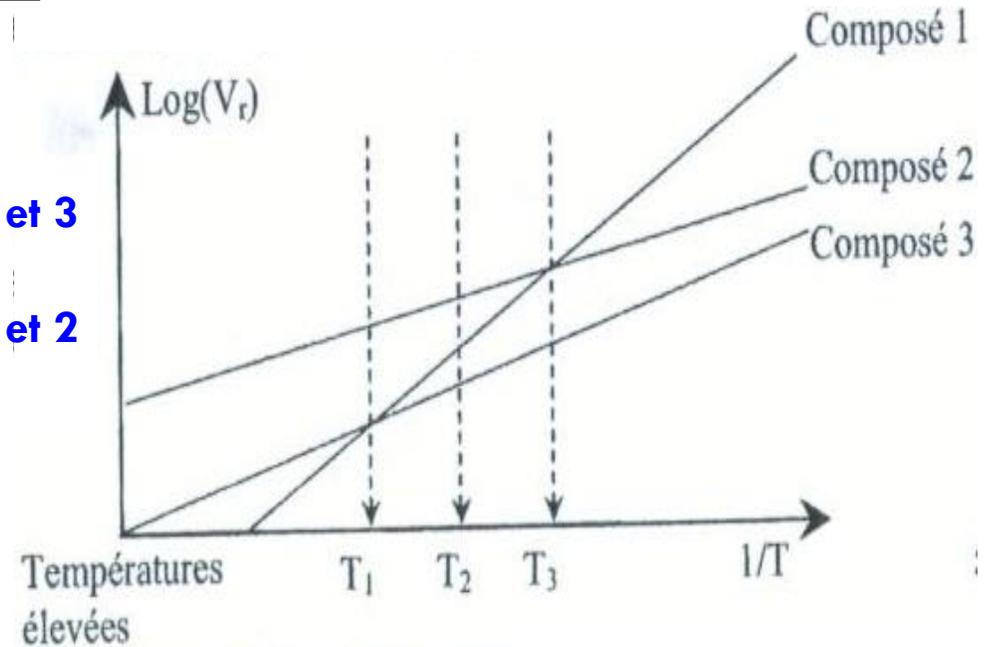
- Plus la température est forte, plus la séparation est rapide.
- A très forte température, il n'y a plus de séparation



4.1 Phase mobile :

➤ 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



En résumé :

- La rétention augmente quand la température diminue,
- Les droites ne sont pas parallèles; la sélectivité diminue avec la température,
- La séparation est meilleure à basse température,
- L'intersection des courbes indique une co-élution à cette température.

4.1 Phase mobile :

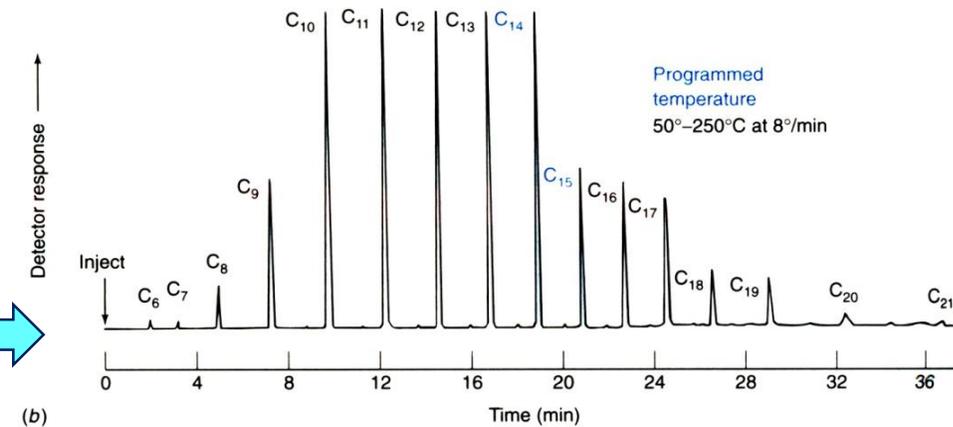
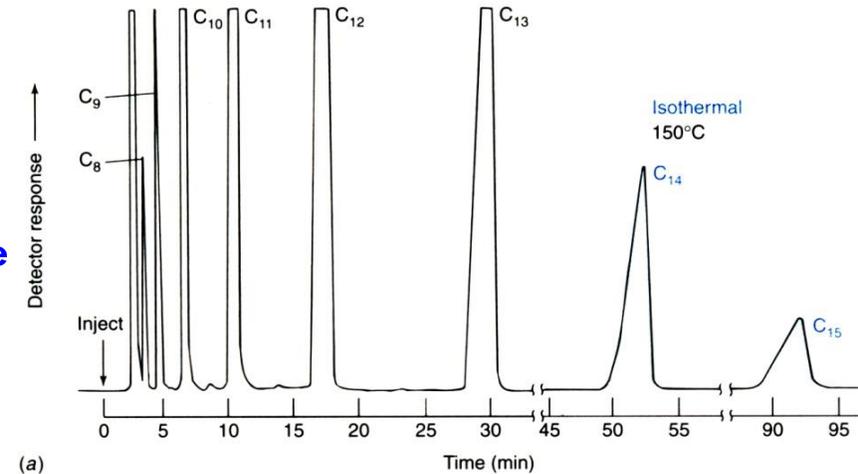
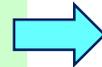
4.1.2 Programmation de la température et de la pression:

1.) Amélioration de l'efficacité de la colonne

➤ Programmation de température :

- **Augmentation de la température lors de la separation (gradient)**
- **Élévation de la pression de vapeur saturante du soluté et diminution du temps de rétention**

Le gradient de température améliore la résolution et diminue le temps de rétention



4.1 Phase mobile :

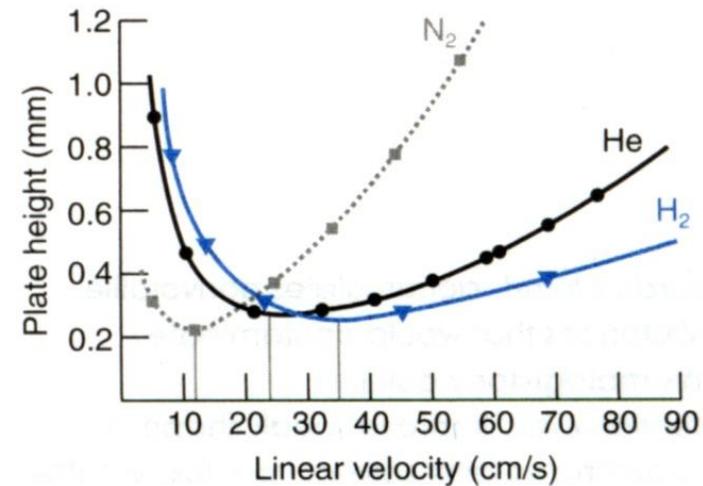
4.1.2 Programmation de la température et de la pression:

1.) Amélioration de l'efficacité de la Colonne

➤ Programmation de Pression:

- **Augmentation de la pression** → **augmentation du flux de la phase mobile (gaz vecteur)**
- **Augmentation du flux** → **diminution du temps de rétention**

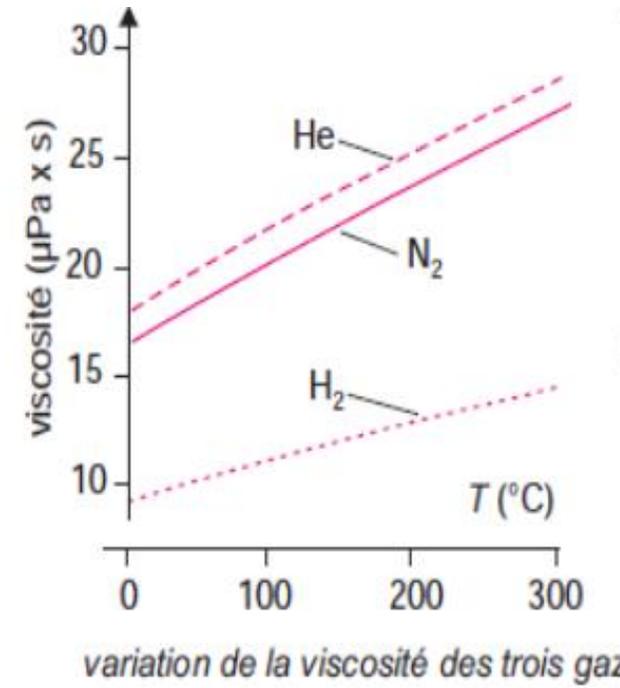
La courbe de Van Deemter indique que l'efficacité est en relation avec la vitesse moyenne du gaz



- La Pression diminue rapidement à la fin de l'essai
 - **Le temps n'est pas perdu à attendre que la colonne refroidisse**
 - **utiles pour les analytes qui se décomposent à températures élevées**

4.1 Phase mobile :

La **viscosité** et la **vitesse** du gaz influencent toutefois la dispersion des composés dans la phase stationnaire et leur diffusion dans la phase mobile. Donc, ont un effet sur l'**efficacité** N et sur la **sensibilité** de la détection.



- Pression d'admission : 0,5 - 3,5 atm.
- Débit dans la colonne: 1 - 25 mL/min (colonne capillaire).
- Débit maintenu constant dans la colonne : important lors de gradients de température où il peut y avoir changement de viscosité de la phase stationnaire.

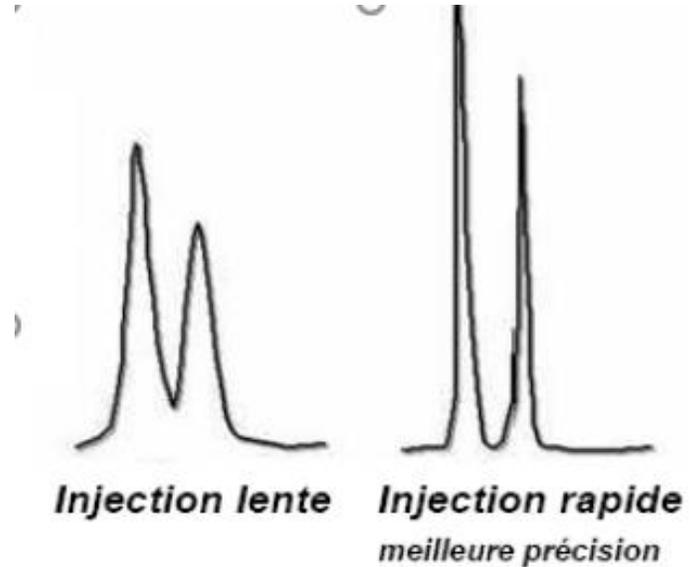
4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

La chambre d'injection possède une double fonction :

- Volatilisation instantanée des échantillons liquides
- Homogénéisation de la vapeur formée et du gaz vecteur.

Pour éviter l'élargissement des pics :

- Concentrations pas être trop élevées,
- Injection rapide: bouchon de vapeur.



4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

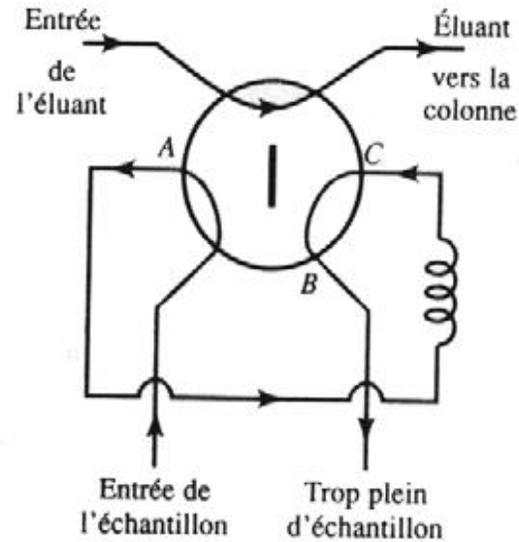
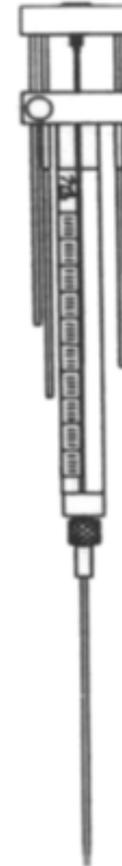
Les systèmes d'injection sont soit manuels, soit automatisés:

En mode manuel:

- Les échantillons liquides sont introduits avec une micro-seringue.

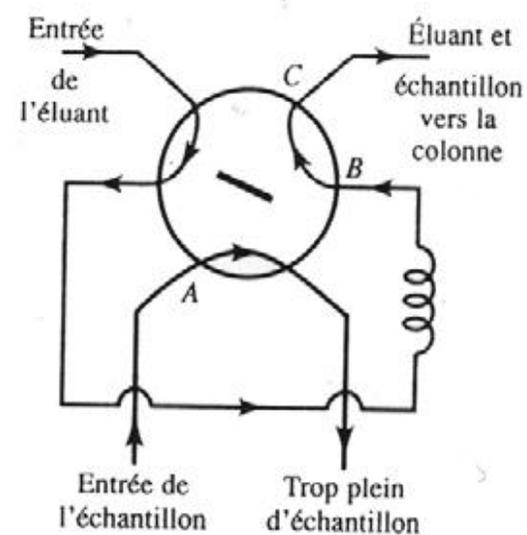
En mode automatique:

- Les échantillons gazeux seront injectés à l'aide d'une boucle d'injection similaire à celle utilisée pour la chromatographie liquide.



(a)

a) Boucle fermée



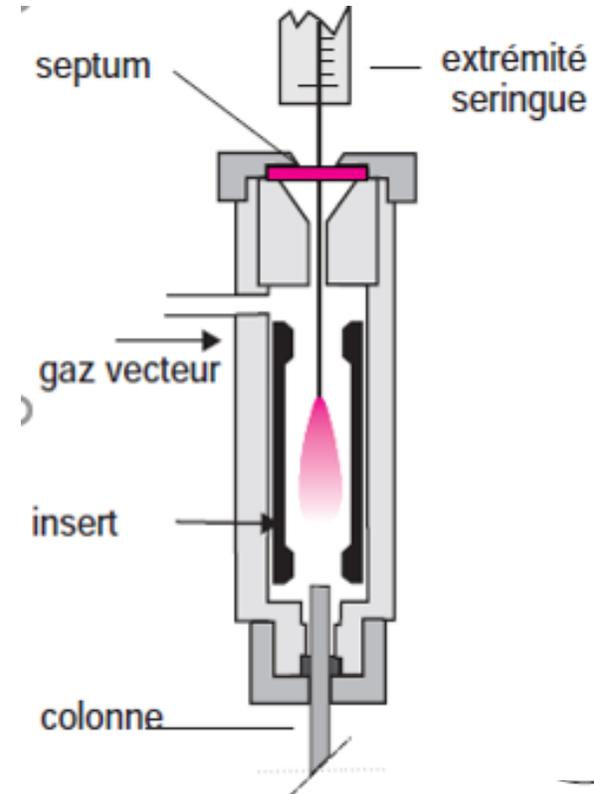
(b)

b) boucle ouverte

4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

4.2.1 Injection par vaporisation directe:

- Injection rapide ($< 1\text{s}$) a travers le septum dans la chambre d'injection
- Température de la chambre d'injection maintenue à 50°C au dessus du point d'ébullition du constituant le moins volatil de l'échantillon
- Acheminement rapide de l'échantillon dans la chambre de mélange pour mélange et vaporisation complète avant d'entrer dans la colonne



4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

Inconvénients:

Cas des fortes concentrations :

- Pour une injection de 0,1 μL (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 :

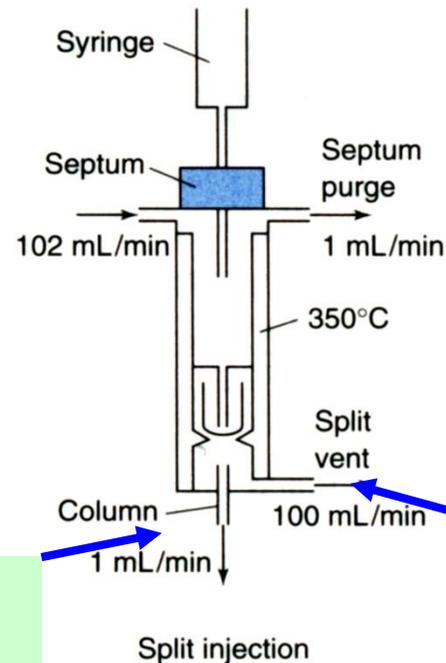
- Volume d'échantillon limité par le volume de l'insert. Si l'on travail sur des traces et que le détecteur n'est pas sensible, alors le chromatogramme sera plat.

 Pas de séparation

4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

4.2.2 Injection en mode split :

- Délivre seulement 0,2-2% de l'échantillon à la colonne
 - **Split ratio** (rapport de division) **of 50:1 to 600:1** (de l'échantillon écarté)
- Pour des échantillons où les analytes sont $>0,1\%$ de l'échantillon
 - **meilleure résolution est obtenue avec de faibles quantités d'échantillon**
 - **≤ 1 mL avec ≤ 1 ng pour chaque composé (0,5 mL volume de gaz)**
- Non quantitative, split n'est pas constant



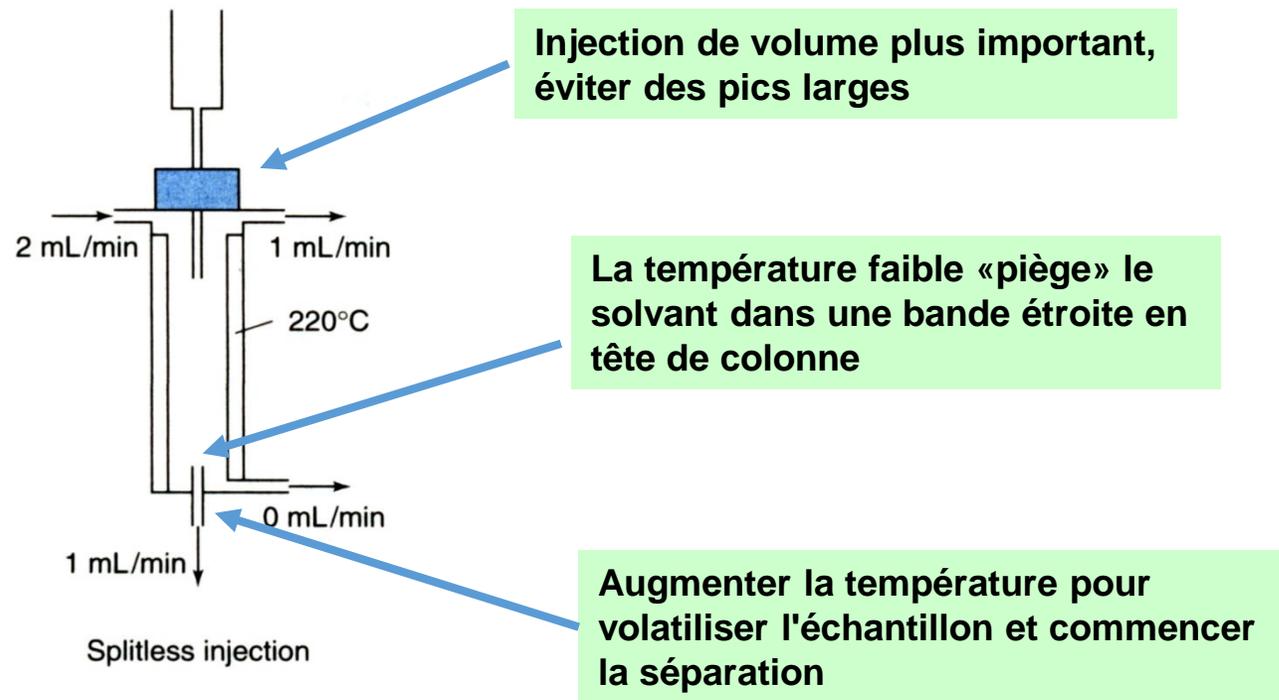
Reste de l'échantillon est acheminé de l'injecteur à la colonne

Après mélange, le régulateur de pression contrôle la fraction de l'échantillon écarté

4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

4.2.3 Injection en mode splitless :

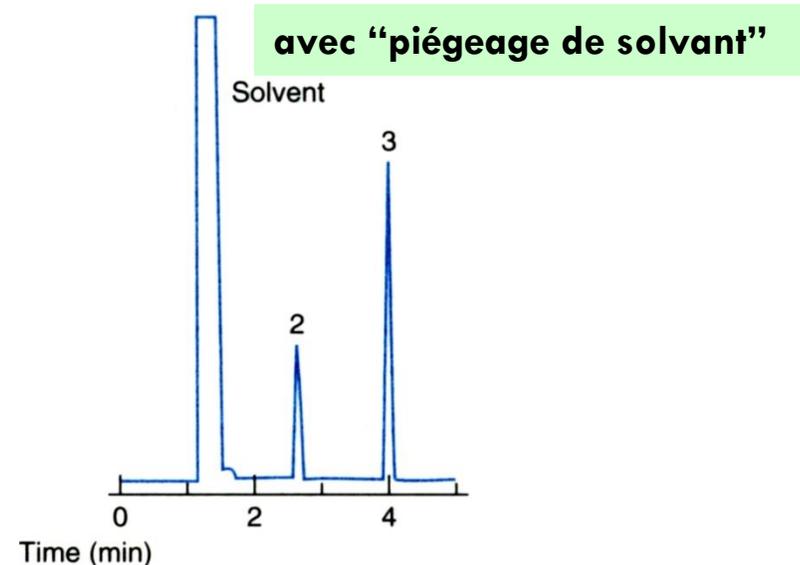
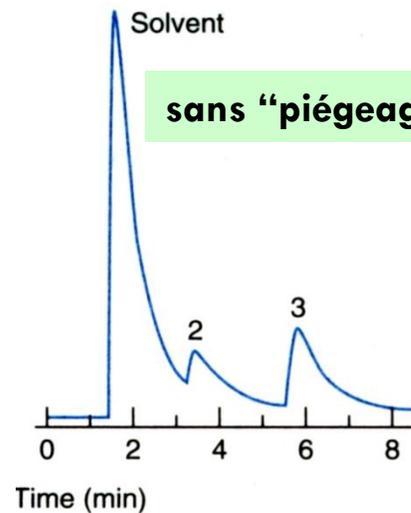
- Délivre ~80% de l'échantillon dans la colonne
- Pour l'analyse des traces, où les analytes sont < 0.01% de l'échantillon
 - **Grand volume (~2 mL) injecté lentement (2s)**
- Pas de chambre de mélange ni de dispositif de division (split vent)
 - **Température d'injection est plus faible (220°C)**
 - **40°C en dessous du point d'ébullition du solvant**



4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

4.2.3 Injection en mode splitless :

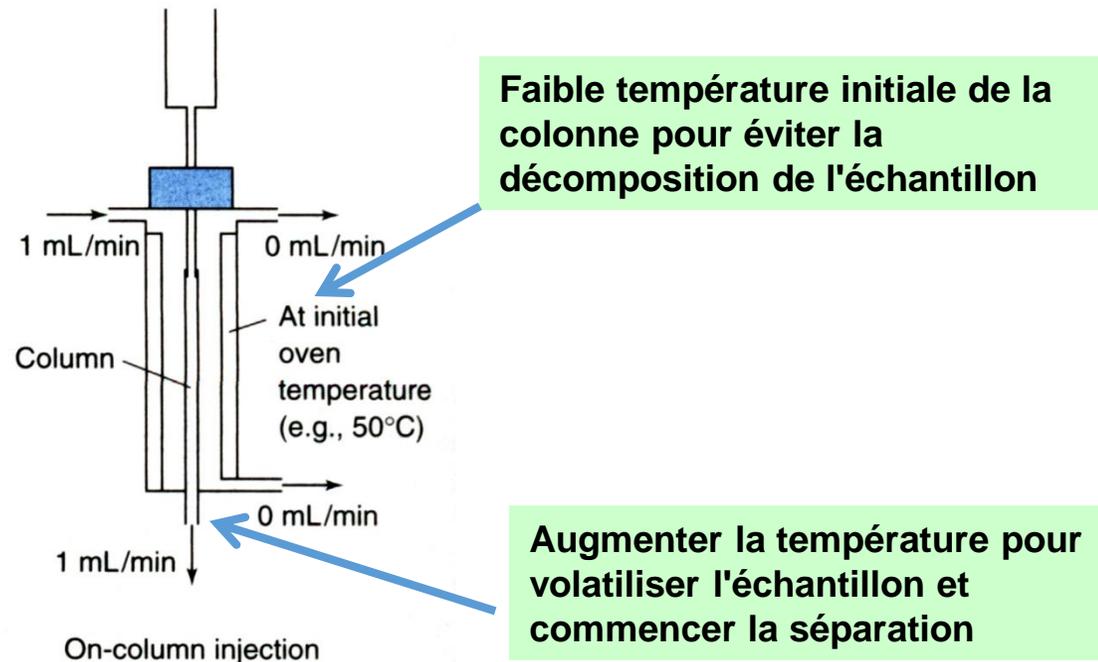
- “Le «piégeage de solvant» améliore considérablement les performances des injections sans division (splitless)
- La température initiale plus basse de la colonne pendant l'injection garde un volume plus important dans une bande étroite
- La chromatographie est initiée en augmentant la température de la colonne
- **Piégeage à froid** - condenser les solutés en bande étroite au début de la colonne en utilisant une température initiale inférieure à 150 ° C aux points d'ébullition des solutés d'intérêt
- solutés en bande étroite en tête de colonne en utilisant une température initiale de 150 ° C inférieure aux points d'ébullition des solutés d'intérêt



4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

4.2.4 Injection on column :

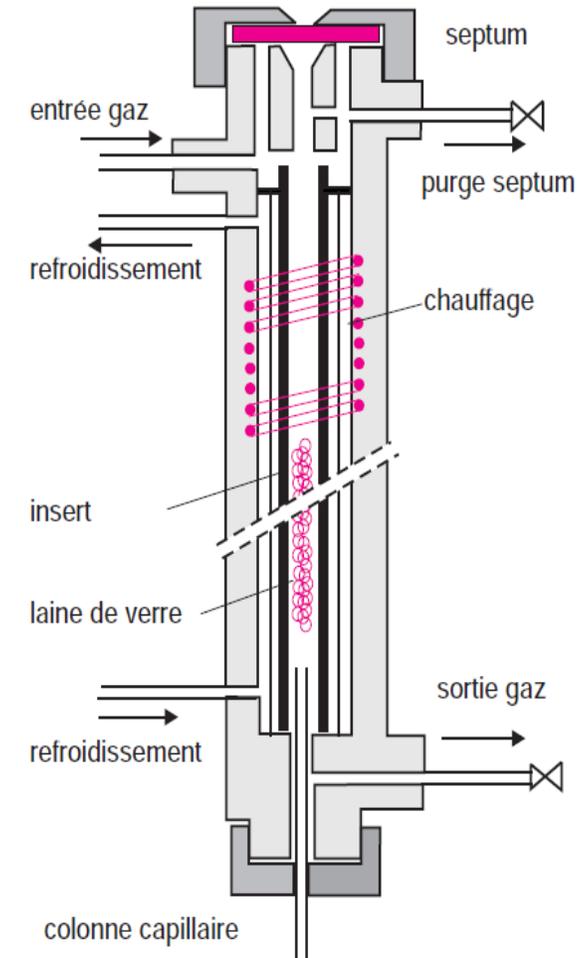
- Délivre ~100% de l'échantillon à la colonne
- Pour des solutés qui se décomposent en dessous de leur point d'ébullition
- Solution injectée directement dans la colonne
 - **La colonne chauffée lance la chromatographie**



4.2. L'injecteur (chambre d'injection) :

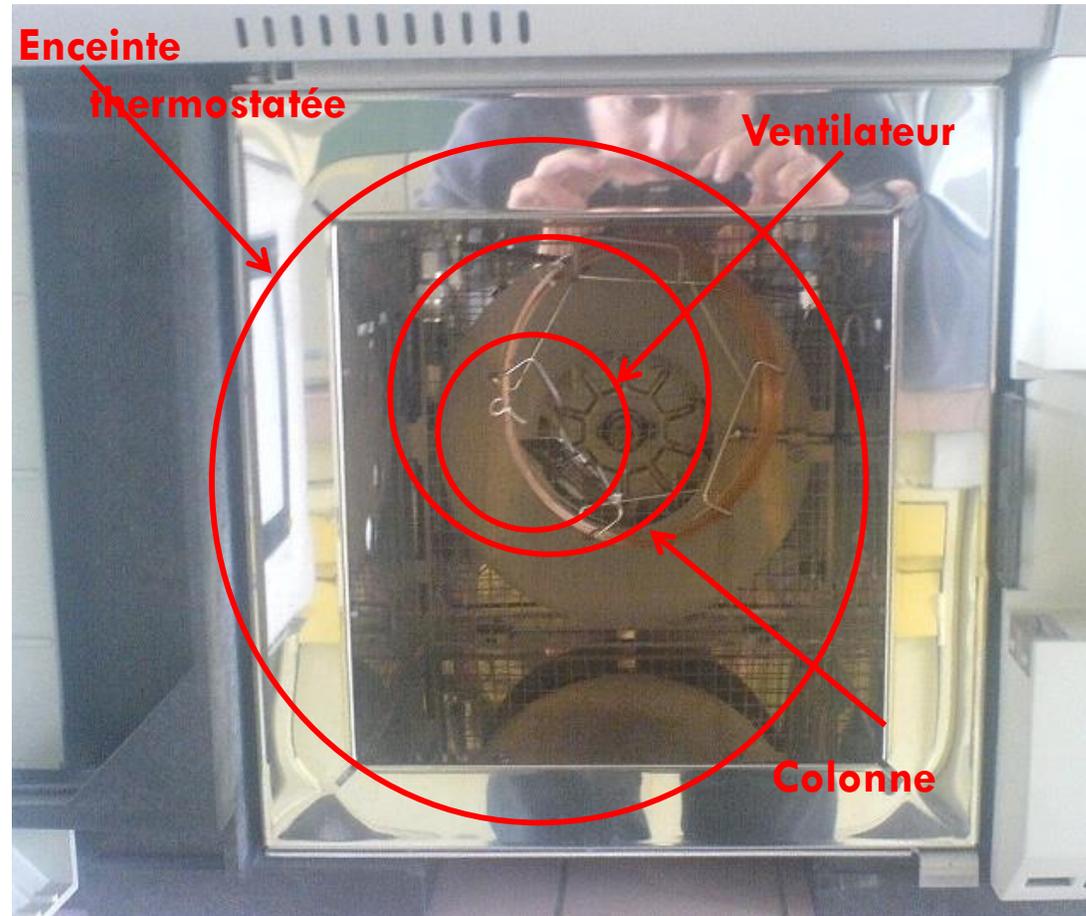
4.2.4 Injection à température programmée :

- L'injecteur PTV (*Programmed Temperature Vaporizer*) comporte un système de chauffage rapide: passage de 20 °C à 400 °C en quelques dizaines de secondes.
- Ceci permet d'injecter des échantillons sous forme liquide ou gazeuse, dont les volumes peuvent être importants, dans un insert de faible diamètre.
- Cet injecteur permet l'injection avec ou sans division et l'élimination du solvant.



4.3. Le four :

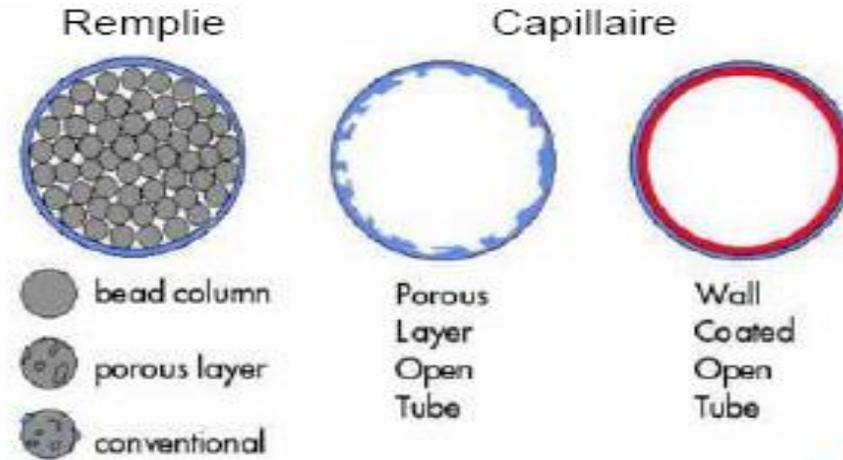
- Élément essentiel, doit posséder une excellente stabilité thermique (jusqu'à 450°C)
- Homogénéité de la température assurée par un ventilateur
- Programmateur de température
- Doit chauffer et refroidir très rapidement
- Gradient de température pour pouvoir séparer en un minimum de temps des mélanges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



4.4. Colonne :

Il existe deux principaux types de colonne en CPG:

- colonnes capillaires,
- colonnes remplies (garnies).



Propriétés physiques

Les colonnes remplies

- Verre, acier inoxydable,
- Courte (1 à 15 m) et épaisse (2 à 4 mm),
- Diamètre des particules (60 à 70 μm),
- Taux d'imprégnation (1 à 10 % en masse).

Les colonnes capillaires

- Silice fondue, quartz,
- Longue (10 à 50 m) et fine (0,1 à 0,53 mm),
- Film mince de phase stationnaire collée sur les parois du tube (0,1 à 5 μm).

4.4. Colonne :

4.4.1 colonnes capillaires:

Il existe 3 types de colonnes capillaires

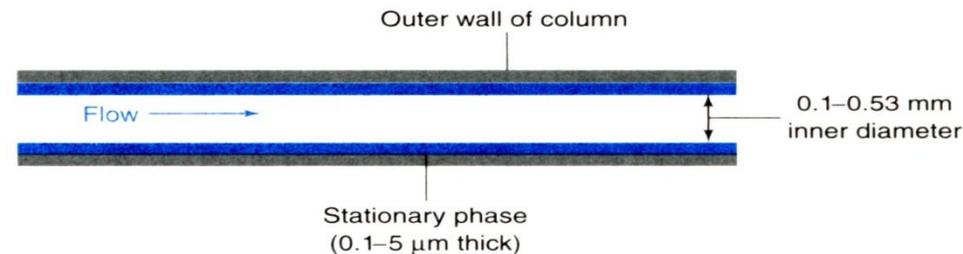
- La colonne capillaire classique ou W.C.O.T. (wall coated open tubular = tube ouvert à paroi revêtue de phase liquide),
- La colonne S.C.O.T. (Support Coated Open Tubular = tube ouvert à paroi revêtue de support imprégné),
- La colonne P.L.O.T. (Porous Layer Open tubular = tube ouvert à paroi revêtue d'une couche poreuse).

Les colonnes les plus couramment utilisées sont les colonnes W.C.O.T.

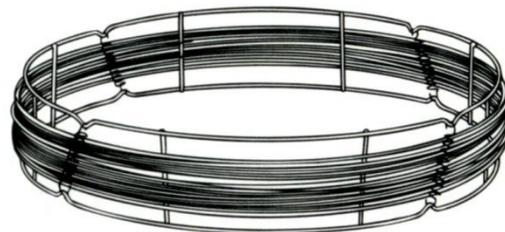
4.4. Colonne :

4.4.1 Colonnes capillaires

- Plus couramment utilisées en CG
- Plus grande résolution, temps d'analyse plus court, et plus grande sensibilité
- Capacité d'échantillon faible
- Résolution améliorée
- Colonnes plus étroites → Résolution augmente



- Resolution est proportionnelle à \sqrt{N} , et N augmente avec la longueur de la colonne

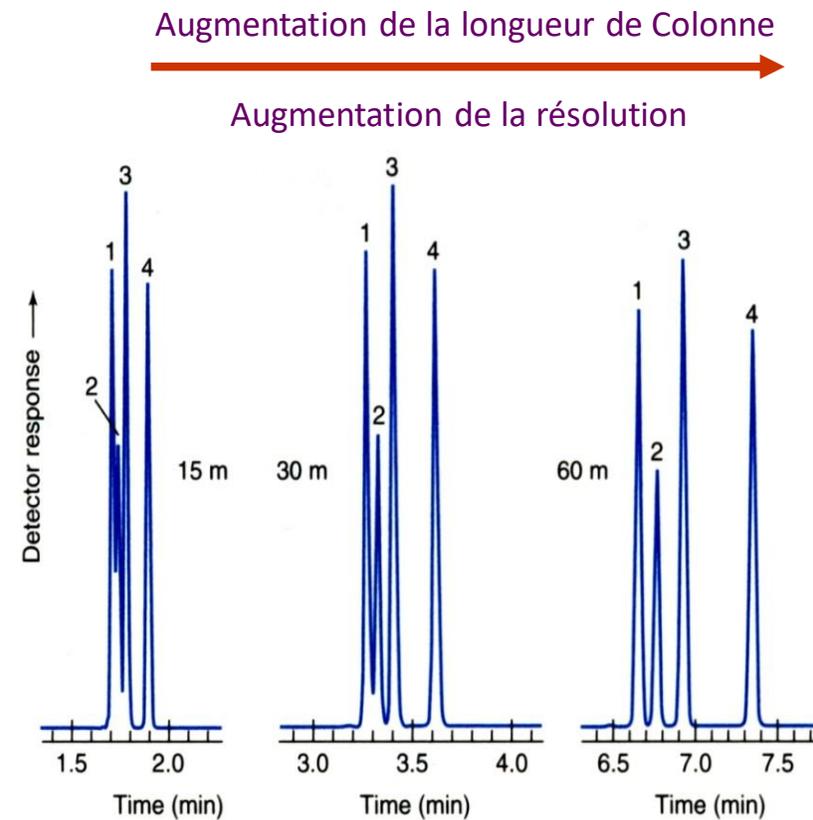
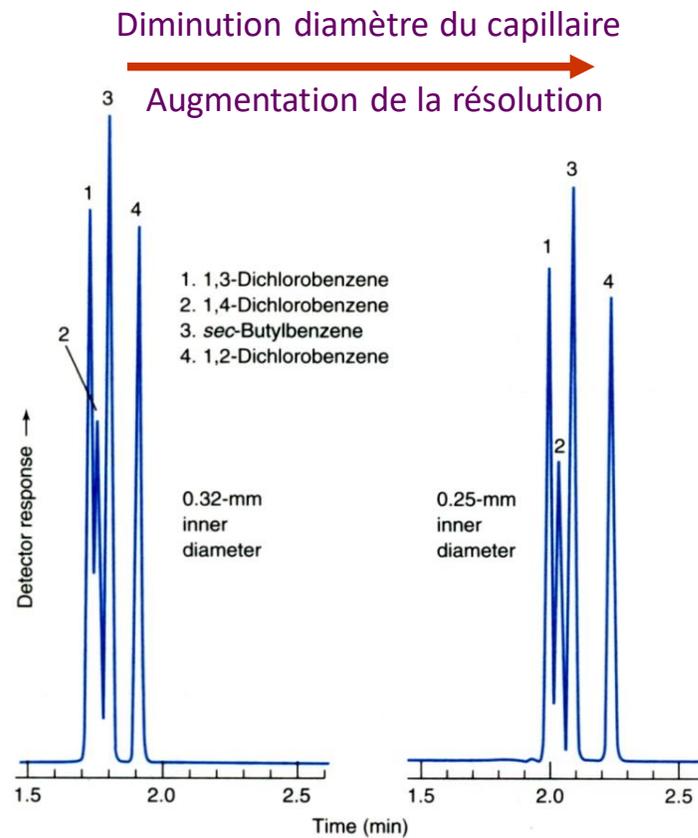


Fabrication de colonnes très longues colonnes (qq dizaines de mètres) de diamètre très fin pour maximiser la résolution

4.4. Colonne :

4.4.1 Colonnes capillaires

- Augmentation de la Résolution



4.4. Colonne :

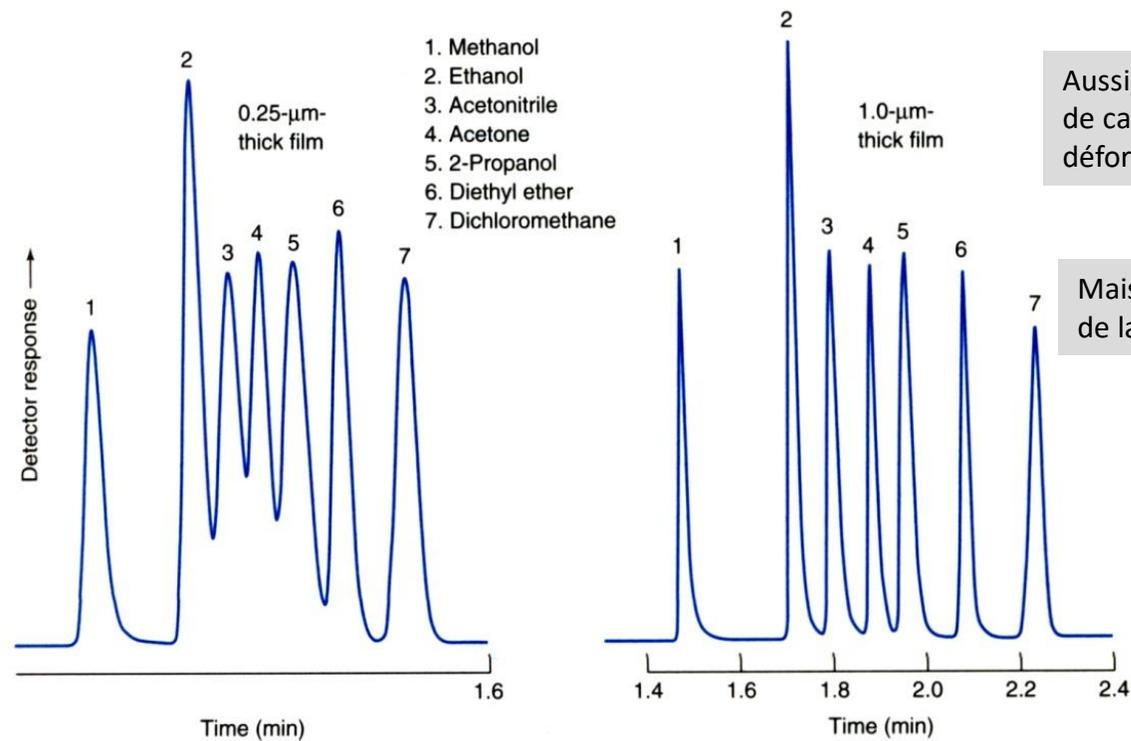
4.4.1 Colonnes capillaires

- Augmentation de la Résolution

Augmentation de l'épaisseur de la phase Stationnaire



Augmentation de la résolution et élution rapide des composés



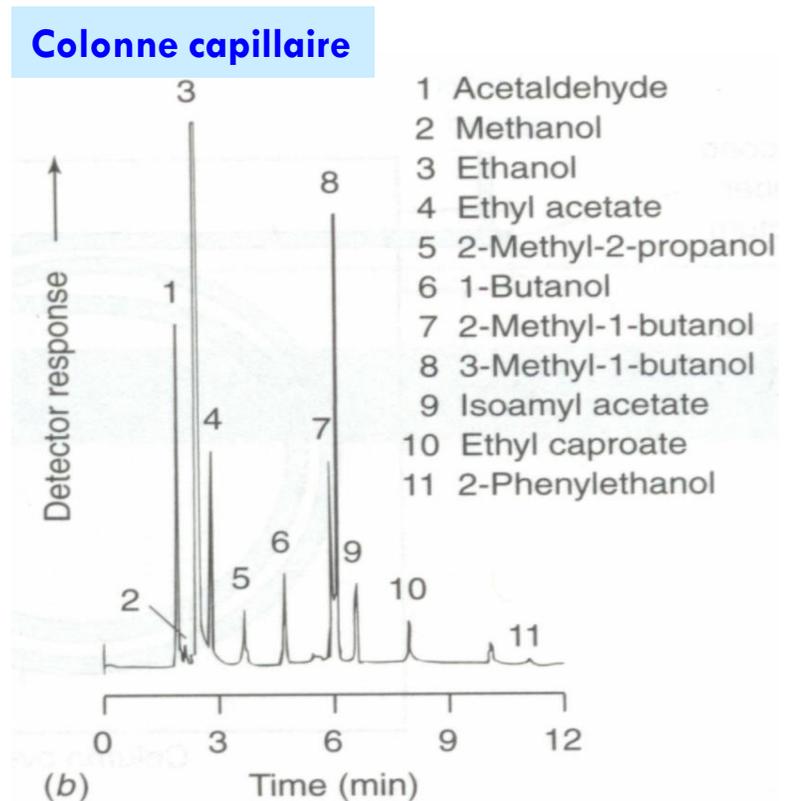
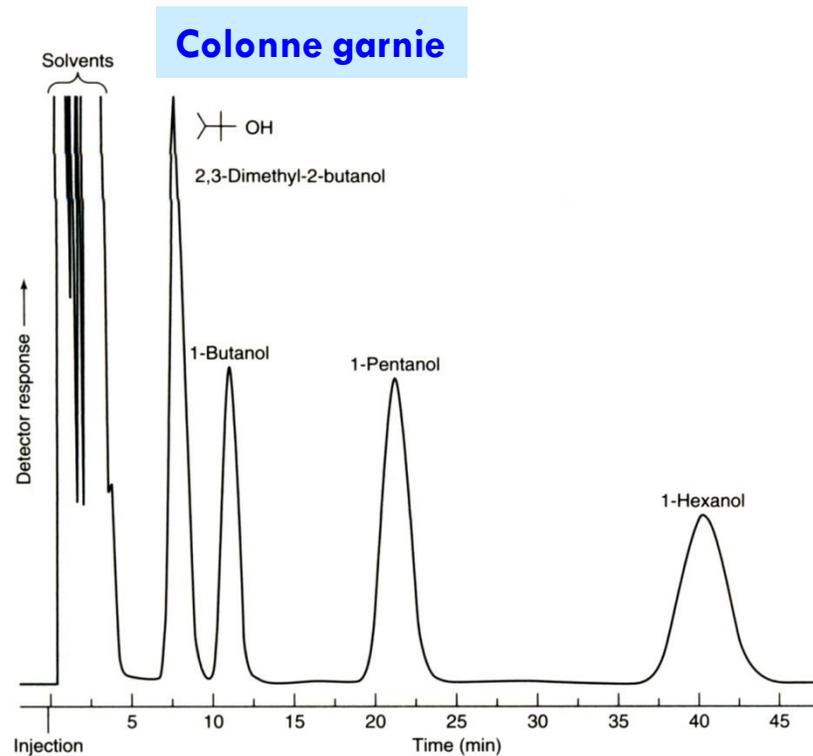
Aussi, augmentation du facteur de capacité et réduction de la déformation des pics

Mais, diminution de la stabilité de la phase stationnaire

4.4. Colonne :

4.4. Colonnes garnies

- Plus grande capacité d'échantillon
- Recouvrement des pics, temps de rétention plus long et faible résolution
 - Améliorer la résolution en utilisant des grains uniformes et de faible taille



4.4. Colonne :

4.4. Colonnes garnies

- Avantage majeur est l'utilisation pour la séparation préparative à grande échelle
- Séparation à l'échelle industrielle peut être en kilogrammes et plus

Colonne chromatographique
de 500 L



4. Détecteurs:

Il existe 3 types de détecteur:

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

Et 2 types de réponse:

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

Comment choisir un détecteur ?

Comment choisir un détecteur

DETECTEUR	TCD Catharomètre	FID ionisation de flamme	FPD Photomètre de flamme	ECD Capture d'électrons	FTD-NAD Thermo- ionique
Type	C	M	M	C	M
Linéarité	10^5	10^5	P 10^5 S 10^3	10^4	10^5
Limite de température	400 °C	400 °C	350 °C	350 °C	400 °C
Gaz vecteur	He, N ₂	He, N ₂	N ₂	N ₂	He, N ₂
Applications principales	Tous composés	Composés organiques carbonés	Composés contenant S ou P	Composés ayant une forte affinité pour e ⁻	Composés contenant N ou P

C : détecteur dont la réponse est proportionnelle à la concentration

M : détecteur dont la réponse est proportionnelle au débit massique



Caractéristiques des détecteurs :

- ✓ - Sensibilité : sensibilités différentes selon le type de détecteur,
- ✓ - Détection de 10^{-8} à 10^{-15} g de soluté,
- ✓ - Stabilité et reproductibilité,
- ✓ - Réponse linéaire sur une grande gamme de concentrations,
- ✓ - Domaine de température et de fonctionnement : T ambiante à 400°C ,
- ✓ - Temps de réponse rapide et indépendant de la vitesse d'écoulement,
- ✓ - Fiabilité et facilité d'utilisation,
- ✓ - Ne détruit pas l'échantillon.

Les différents types de détecteurs :

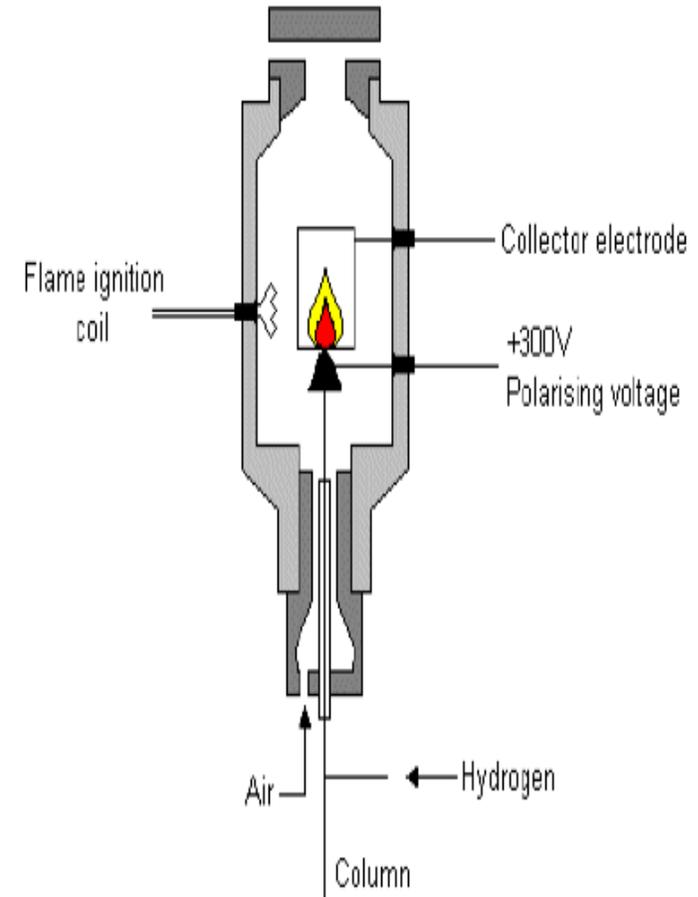
- ✓ - Détecteur à ionisation de flamme - FID (Flame Ionization Detector)
 - ✓ - Détecteur à conductivité thermique - TCD (Thermal Conductivity Detector)
 - ✓ - Détecteur à capture d'électrons - ECD (Electron Capture Detector)
 - ✓ - Détecteur thermo-ionique - TID (Thermo-Ionic Detector) ou détecteur azote/phosphore – NPD (Nitrogen Phosphorus Detector)
 - ✓ - Détecteur à émission atomique - AED (Atomic Emission Detector)
 - ✓ - Détecteur de chimiluminescence au soufre - SCD (Sulfur Chemiluminescence Detector)
- Autres détecteurs importants:**
- ✓ Spectromètre de masse
 - ✓ Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

1. Détecteur à ionisation de flamme – FID :

- Le plus utilisé et le plus applicable de tous les détecteurs.

Fonctionnement:

- L'effluent de la colonne est mélangé avec de l' H_2 et de l'air, et enflammé électriquement,
- La plupart des composés organiques sont pyrolysés par cette flamme et produisent des ions et des électrons qui peuvent conduire l'électricité à travers la flamme,
- Ce courant peut être mesuré.



- 
- Une ddp de quelques centaines de volts est appliquée entre le bout du brûleur et une électrode collectrice placée au-dessus de la flamme,
 - Le courant qui en résulte ($\gg 10^{-12}A$) est amplifié et mesuré.
 - Nbre d'ions produits est proportionnel au nbre d'atomes de C réduits dans la flamme.
 - Groupements carbonyle, alcool, halogène et amine produisent peu ou pas d'ions dans la flamme, et le détecteur FID est insensible aux gaz incombustibles comme les gaz nobles, N_2 , NH_3 , H_2O , SO_2 , CS_2 , CO , CO_2 et NO_x .



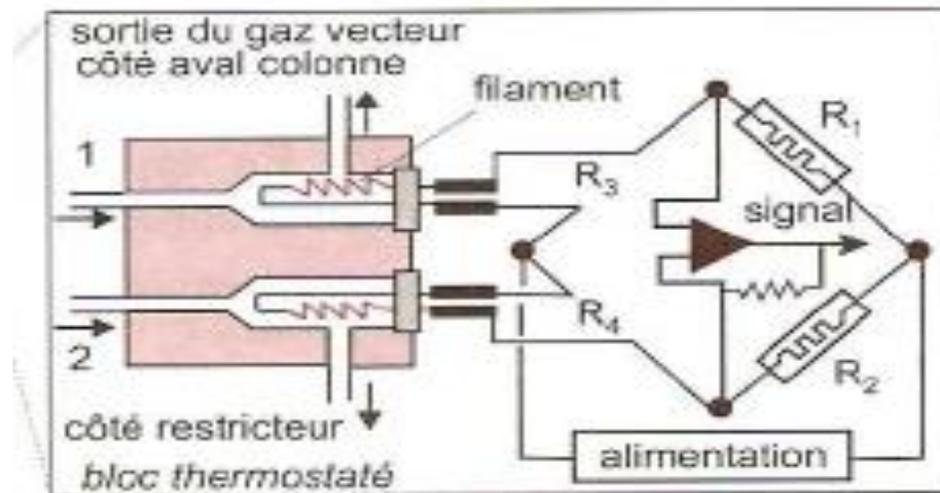
- **Avantages du FID**

- Sensibilité élevée : Mesure des concentrations aussi faibles que 10^{-13} g/par échantillon,
- Domaine de réponse linéaire étendu,
- Minimum de bruit : En l'absence d'échantillon, FID donne une ligne de base stable et il est peu être influencé par le débit, la pression et les changements de température
- **Inconvénient du FID** : détruit l'échantillon

2. Détecteur à conductivité thermique – TCD :

Le plus ancien type de détecteur encore utilisé en GC

- Son principe repose sur la mesure des variations de conductibilité thermique d'un gaz induites par la présence d'autres substances,
- La détection est basée sur un élément chauffant (Pt, W, Au, ou thermistor semi-conducteur) dont la température (à courant constant) dépend de la conductibilité thermique du gaz environnant,



catharomètre (branchement)



- Fonctionnement: Un thermistor est baigné par le gaz vecteur qui ne passe pas par la colonne, et un autre thermistor en sortie de colonne. Lors de l'élution, il y a changement de composition du gaz vecteur, ce qui modifie sa conductibilité. L'équilibre thermique est rompu, ce qui fait varier la résistance de l'élément chauffant proportionnellement à la concentration de l'analyte dans le gaz vecteur.

- On utilise l'hélium ou l'hydrogène comme gaz vecteur car leurs conductivités thermiques sont 6 à 10 fois plus grandes que celle de la plupart des composés organiques.

La présence de molécules organiques même en petite quantité entraîne donc une importante diminution de la conductivité de ces gaz, et donc une augmentation substantielle de la température du détecteur



Avantages du TCD:

- Simplicité
- Domaine étendu ($\sim 10^5$ g) de réponse linéaire
- Réponse autant aux composés organiques qu'inorganiques
- Ne détruit pas les échantillons

- Inconvénient :

- Faible sensibilité ($\sim 10^{-8}$ g de soluté/ml de gaz), comparé aux autres détecteurs qui sont plus sensibles d'un facteur 10^4 à 10^7 . *Pour cette raison, on ne peut utiliser de TCD avec les colonnes capillaires.*

Analyse qualitative en CPG

1. Méthode par exaltation des pics

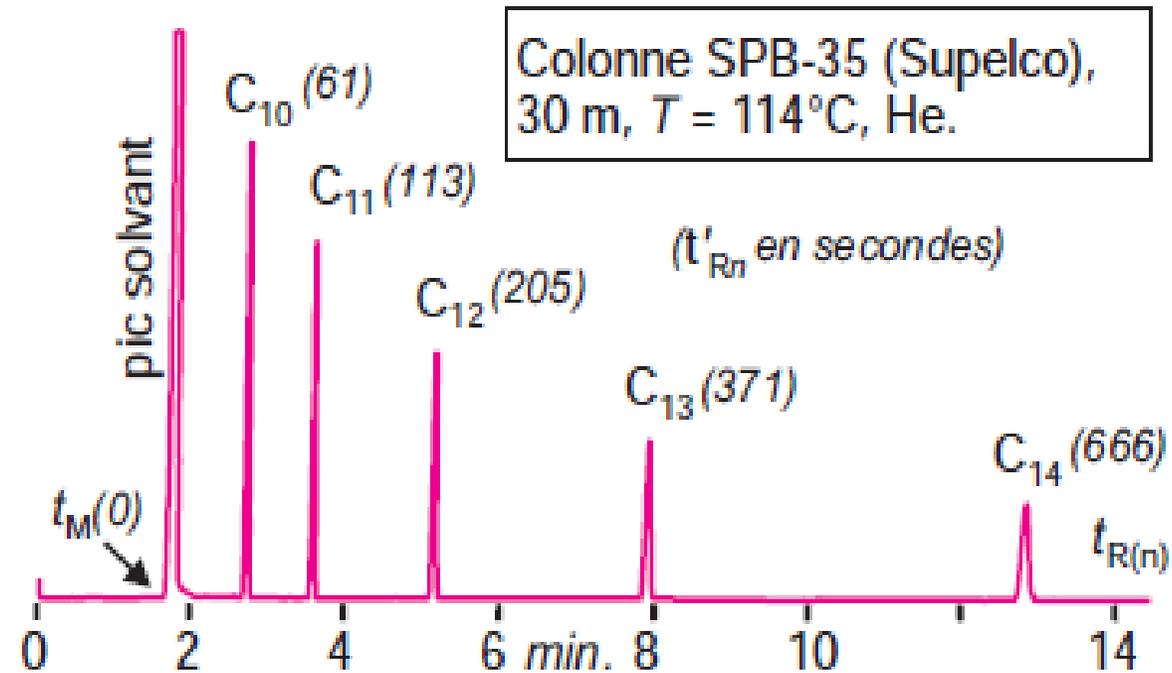
- La CPG peut permettre d'identifier un produit dans un mélange complexe, en utilisant le temps de rétention t_R .
- Dans un mélange complexe, on injecte un produit pur, on détermine le temps de rétention t_R de ce produit et on le compare au chromatogramme du mélange seul.

2. Méthode des indice de rétention

- Les indices de rétention ont été définis en 1958 par KOVATS. A chaque produit (i) est associé un indice de rétention $I(i)$.

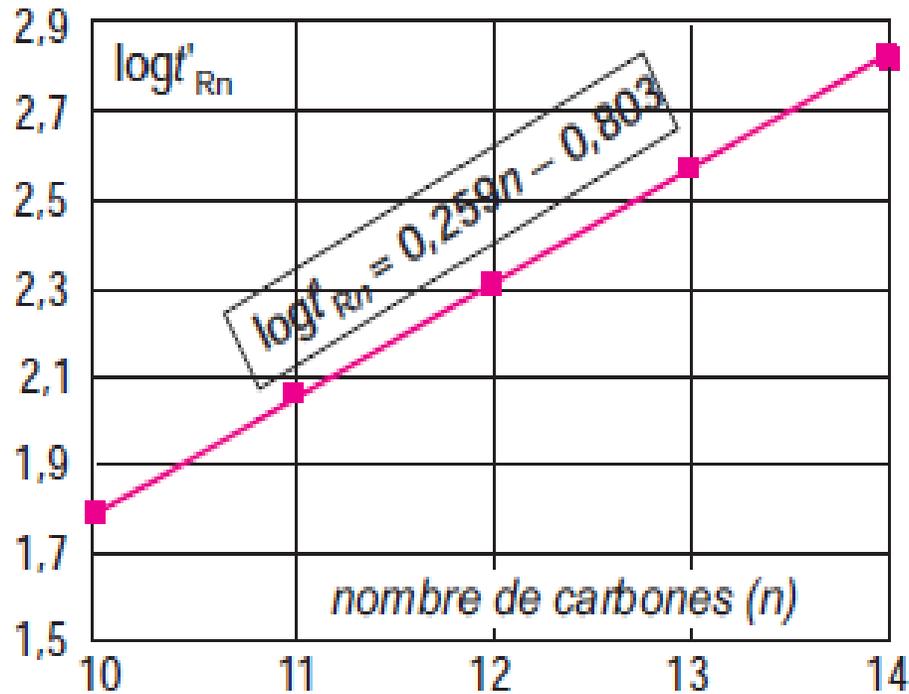
2.1 Droite de Kovats

Injection d'une série homologue de n alcanes, sur une colonne, à température constante (isotherme).



Chromatogramme d'une série homologue de n alcanes C10 à C14

Droite de Kovats



➤ Equation de droite:

$$\log(t_R) = (a.n) + b$$

Relation qui découle de:

$$\Delta G = - RT \ln K$$

$$k' = t'_R / t_M = K / \beta$$

➤ soit:

$$t'_R = K \cdot t_M / \beta$$

Il en résulte:

$$\ln(t'_R) = \ln(K) + \ln(t_M / \beta)$$

2.2 Détermination de l'indice de rétention de Kovats

- Mode isotherme: on injecte, dans la colonne à P et T données, les alcanes linéaires C_nH_{2n+2} ($n \geq 5$)
- On détermine les temps de rétention réduits: $t'_R(n)$; $t'_R(n+1)$ et $t'_R(i)$
- Si le composé est élué entre les deux alcanes (n) et ($n+1$) son indice de rétention est donné par:

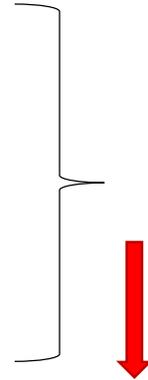
$$I(i) = 100.n + 100 \frac{\log t'_R(i) - \log t'_R(n)}{\log t'_R(n+1) - \log t'_R(n)}$$

-
- Il en résulte que les alcanes ont des indices multiples de 100:

- I(pentane)= 500

- I(hexane)= 600

- I(heptane)= 700



- Utilisation des tables répertoriant les indices de rétention: Un produit inconnu peut être identifié si l'on obtient une bonne coïncidence pour 2 phases stationnaires différentes entre les indices de la littérature et les indices expérimentaux du produit.

2.3 constantes de Mc Reynolds des phases stationnaires

$$\Delta I = I_{\text{phase}} - I_{\text{squalane}}$$

Phase stat.	benzène	1-butanol	2-pentanone	nitropropane	pyridine
Squalane	0	0	0	0	0
SPB-Octyl	3	14	11	12	11
SE-30 (OV-1)	16	55	44	65	42
Carbowax 20M	322	536	368	572	510
OV-210	146	238	358	468	310
indice de Kovats des 5 composés témoins (X' Y' Z' U' S') sur squalane					
I squalane	653	590	627	652	699

Constantes de McReynolds (ΔI) de quelques phases stationnaires.

benzène : effet inducteur, Pyridine: effet accepteur H+, Butanol: les liaisons hydrogène, nitropropane: interactions dipolaires

Chromatographie Gaz

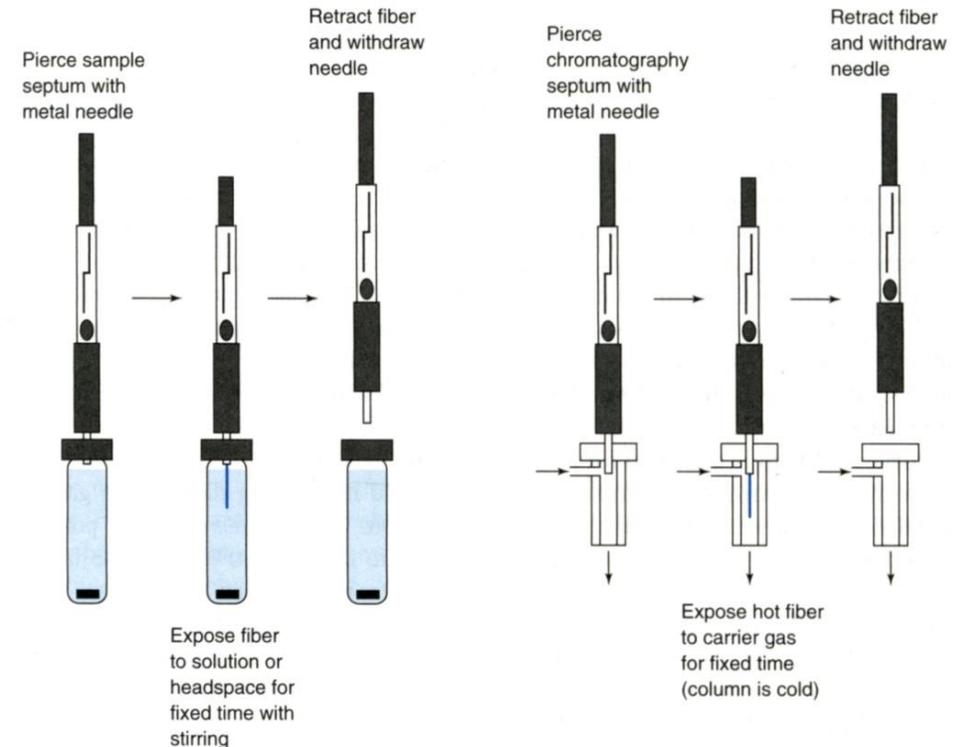
Préparation de l'échantillon

1.) Transformer l'échantillon en une forme appropriée à l'analyse

- Extraction, concentration, élimination d'espèces interférentes ou transformation chimique (dérivatisation)

2.) Microextraction en phase solide

- Extraire les analytes du mélange complexe sans solvant
- Utilise une fibre de silice fondue revêtue de phase stationnaire
 - **Phase stationnaire similaire à celle utilisée en CG**
- Exposer la fibre à l'échantillon pour extraire les analytes, puis injecter la fibre dans le CG pour évaporer les analytes



Préparation de l'échantillon

3.) Purger et piéger (Purge and Trap)

- Élimine les analytes volatiles des liquides (solides), concentre l'échantillon et le transfère au CG
- Objectif est d'éliminer 100% d'analyte

Connecter le port au GC

Chauffer la colonne à 200°C et transférer les analytes au CG

Les analytes sont capturés sur l'adsorbant de la colonne

Barboter gaz de purge (He) à travers l'échantillon chauffé pour évaporer les analytes

