

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

<http://ligodin.free.fr>

Ligodin@free.fr

■ En **Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)**, l'échantillon est vaporisé et injecté au sommet de la colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile. Contrairement à la plupart des autres types de chromatographie, il n'y a pas d'interaction entre les molécules d'analyte et la phase mobile; sa seule fonction est de transporter l'analyte dans la colonne.

■ Il existe 2 types de chromatographie gazeuse : la **Chromatographie Gaz-Solide (CGS)** et la **Chromatographie Gaz-Liquide (CGL)**.

■ La **CGL** est largement employée dans de nombreux domaines et son nom est parfois abrégé en Chromatographie Gazeuse (CG).

Elle est basée sur le partage de l'analyte entre une phase gazeuse mobile et une phase liquide immobilisée sur la surface d'un support inerte.

■ La **CGS** utilise une phase stationnaire solide sur laquelle la rétention des analytes résulte d'une adsorption physique. La CGS n'a que des applications limitées à cause de la trop forte rétention des molécules polaires et de la présence de traînées importantes dans les pics d'élution (une conséquence du caractère non linéaire du processus d'adsorption). Il s'ensuit que cette technique se limite à la seule séparation de qqs espèces gazeuses de faible masse molaire.

I - APPAREILLAGE DE CGL

Regarder la vidéo suivante : <https://www.youtube.com/watch?v=iX25exzwKhl>

Q/ La figure 1 représente les composantes de base d'un appareil de CG (toutes les composantes seront décrites par la suite). Indiquer les différents composants du CG :

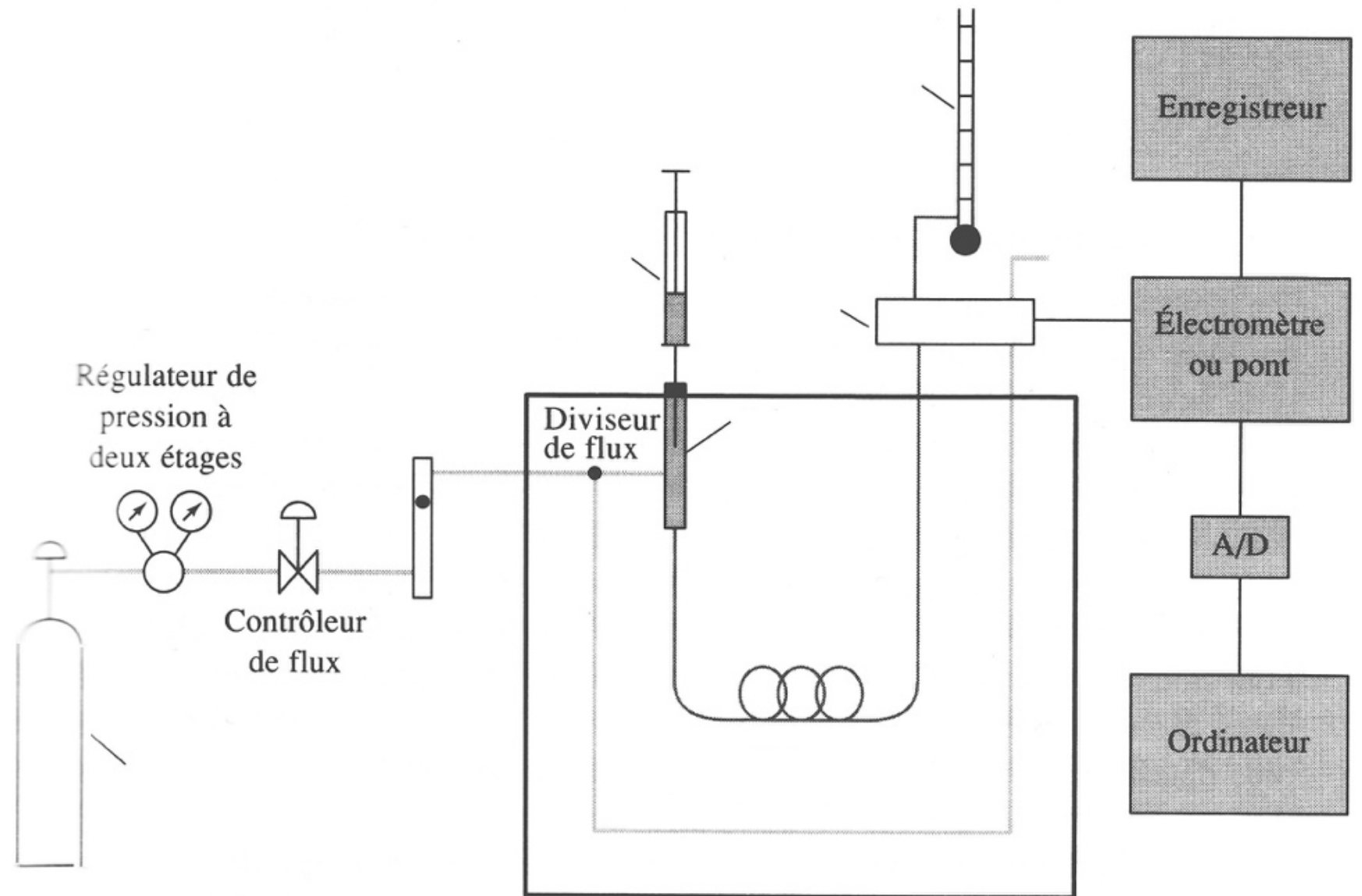


Figure 1

Schéma d'un appareil de chromatographie gazeuse.

I) Alimentation en gaz vecteur

▀ Regarder la vidéo suivante :

<https://www.youtube.com/watch?v=rlBRryi9Cjg>

1/ Quelle propriété chimique doivent avoir les gaz vecteurs ? Précisez les gaz vecteurs rencontrés en CG. Quel est la phase mobile la plus couramment employée ?

2/ Le gaz vecteur ne modifie pas le coefficient de partage K , par contre que modifie-t-il ?

3/ Indiquer le gaz vecteur permettant d'obtenir la meilleure efficacité de colonne dans des conditions opératoires données. Pourquoi alors est-il moins utilisé ?

▮ Le choix du gaz est souvent dicté par le type de détecteur utilisé. A l'alimentation en gaz sont associés des régulateurs de pression, des jauges et des débitmètres, et souvent un tamis moléculaire qui élimine l'eau et d'autres impuretés.

▮ Les pressions d'admission sont usuellement comprises entre 10 et 50 psi au dessus de la pression ambiante, avec des débits de l'ordre de 25 à 150 mL/min pour les colonnes remplies et de 0,5 à 5 mL/min pour les colonnes capillaires.

▮ On admet que le débit reste constant si la pression d'entrée est fixe.

2) Système d'injection de l'échantillon

▀ L'efficacité de la colonne nécessite que l'échantillon occupe un volume adéquat. On l'introduit sous forme d'un “bouchon” de vapeur; l'introduction trop lente d'échantillon volumineux cause un élargissement des pics et réduit la résolution. la méthode la plus courante consiste à utiliser une μ seringue (fig. 3) avec laquelle on injecte l'échantillon liquide ou gazeux à travers un septum en élastomère dans une chambre à vaporisation instantanée située au sommet de la colonne.

▀ La chambre d'injection est habituellement maintenue à environ 50 °C au-dessus du point d'ébullition du constituant le moins volatil de l'échantillon.

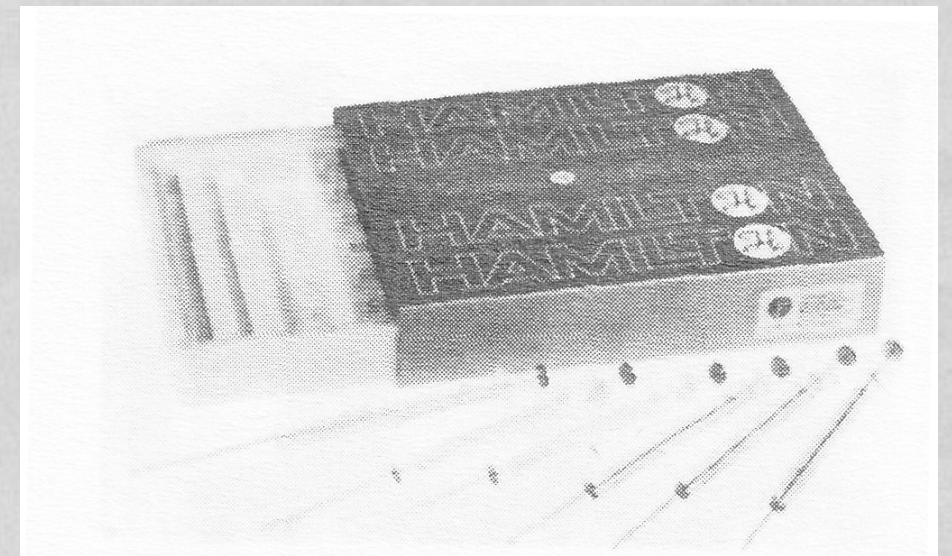


Figure 3

Jeu de microseringues pour l'injection d'échantillons. (Document de Chrompack Inc., Raritan, NJ.)

La figure 4 représente une telle chambre d'injection, encore appelée injecteur. Les volumes d'échantillon varient usuellement de qqs dixièmes de μL à $20 \mu\text{L}$.

Dans le cas des colonnes capillaires, qui nécessitent des échantillons beaucoup plus réduits (de $0,1$ à $0,01 \mu\text{L}$), on utilise un injecteur diviseur qui n'injecte qu'une fraction minime de l'échantillon dont le reste est rejeté pour ne pas saturer la colonne.

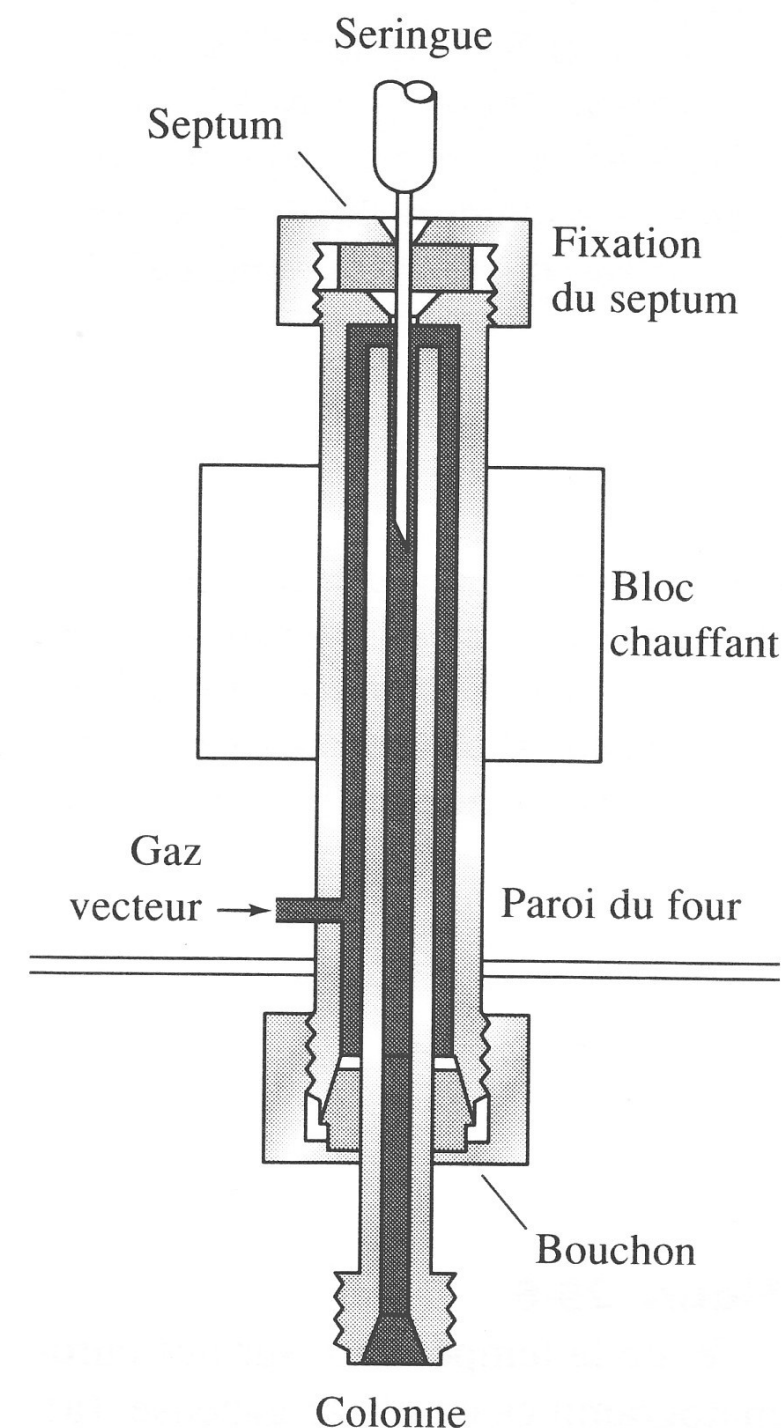


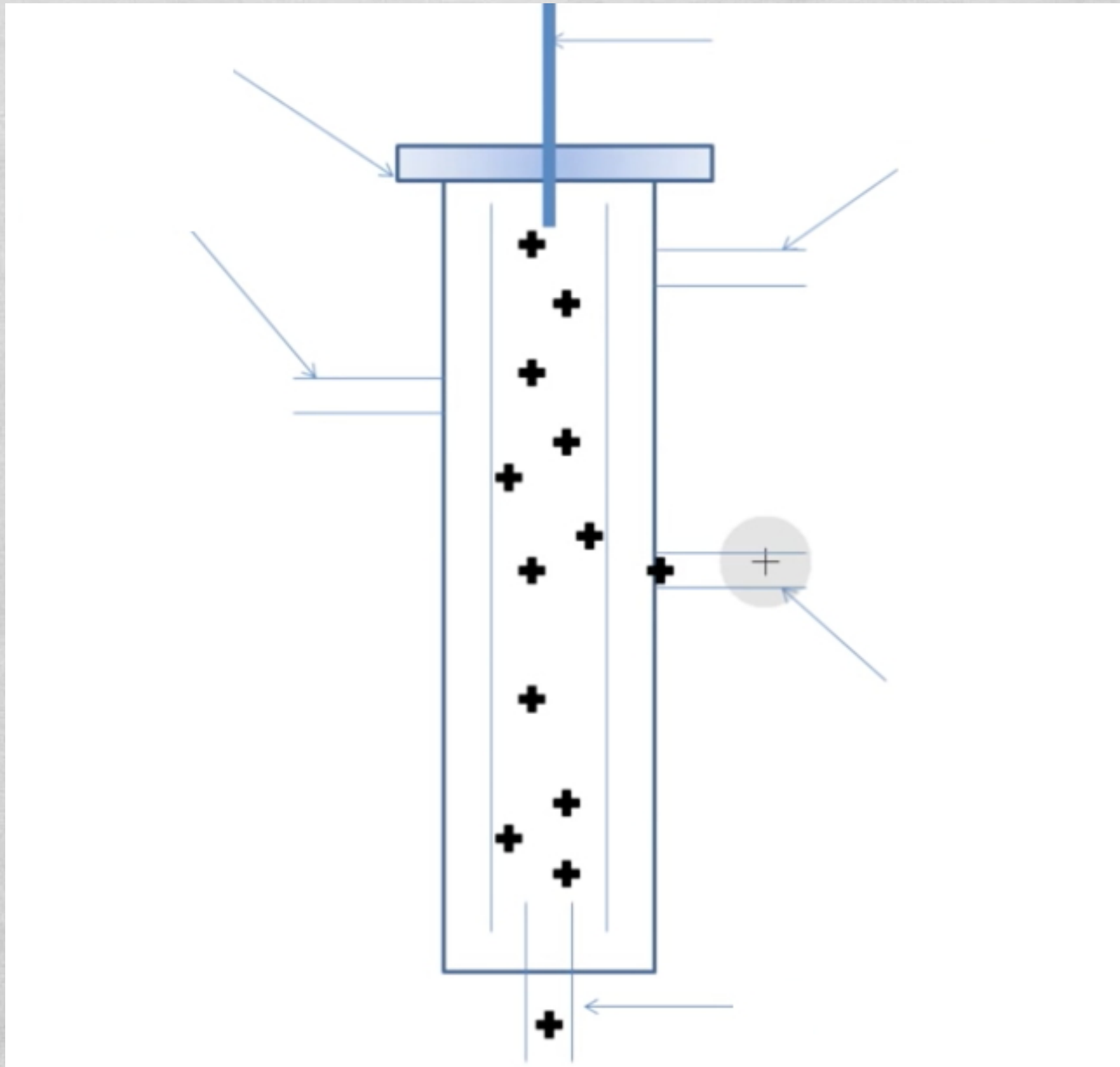
Figure 4

Une chambre d'injection chauffée.
(D'après H. H. Willard, L. L. Merritt, J. A. Dean et F. A. Settle, *Instrumental Methods of Analysis*, 7e éd. p. 542. Belmont, CA : Wadsworth, 1988. Avec autorisation.)

Regarder la vidéo suivante :

https://www.youtube.com/watch?v=gVk_wDhjkSc

I/ Compléter le schéma de l'injecteur SSL :



2/ Rappeler les deux modes principaux d'injection ?

3/ Que se passe-t-il en mode SPLIT ? À quoi sert ce mode de fonctionnement ?

4/ Pourquoi le mode SPLIT est-il le plus souvent utilisé ?

5/ Que se passe-t-il en mode SPLITLESS ?

6/ Pourquoi doit-on purger le septum ?

7/ Dans quel cas, le mode SPLITLESS, est-il le plus souvent utilisé ?

8/ En quoi consiste le liner et à quoi sert-il ?

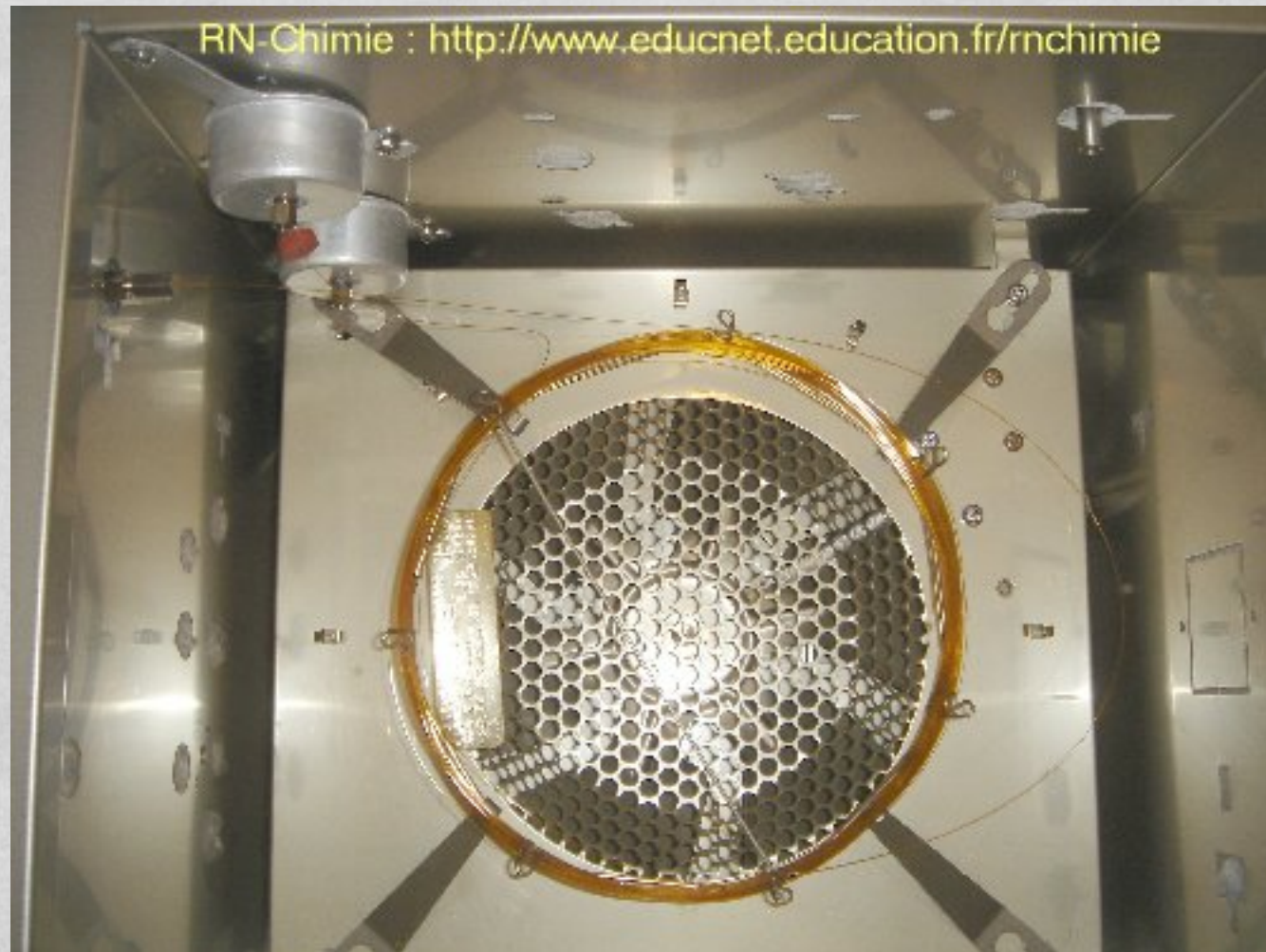
3) Configuration des colonnes et de leurs fours

Il existe 2 types de colonnes en CPG, les **colonnes remplies** et les **colonnes tubulaires ouvertes**, ou **colonnes capillaires**.

La plupart des mesures sont réalisées maintenant à partir de colonnes capillaires, plus efficaces et plus rapides.

Les colonnes chromatographiques ont des longueurs comprises entre 2 et 100 m. Elles sont en aciers inoxydables, en silice fondue ou en téflon. Pour pouvoir s'emboîter dans un four thermostatique, elles sont usuellement formées d'enroulement de 10 à 30 cm de diamètre.

La température de la colonne est un paramètre important qui doit être contrôlé à qqs dixièmes de degré. C'est pourquoi, on place la colonne dans une enceinte thermostatique.



■ Pour des échantillons qui ont une gamme étendue de points d'ébullition, il est préférable d'employer une programmation de température tel que la température de la colonne ↗ de manière continue ou discontinue au cours de la séparation.

la fig. 6 illustre l'efficacité de la programmation de température sur l'amélioration de la résolution.

■ En général, la résolution optimale est associée à une température minimale; cependant, l'abaissement de température ↗ le temps d'élution et donc la durée de l'analyse.

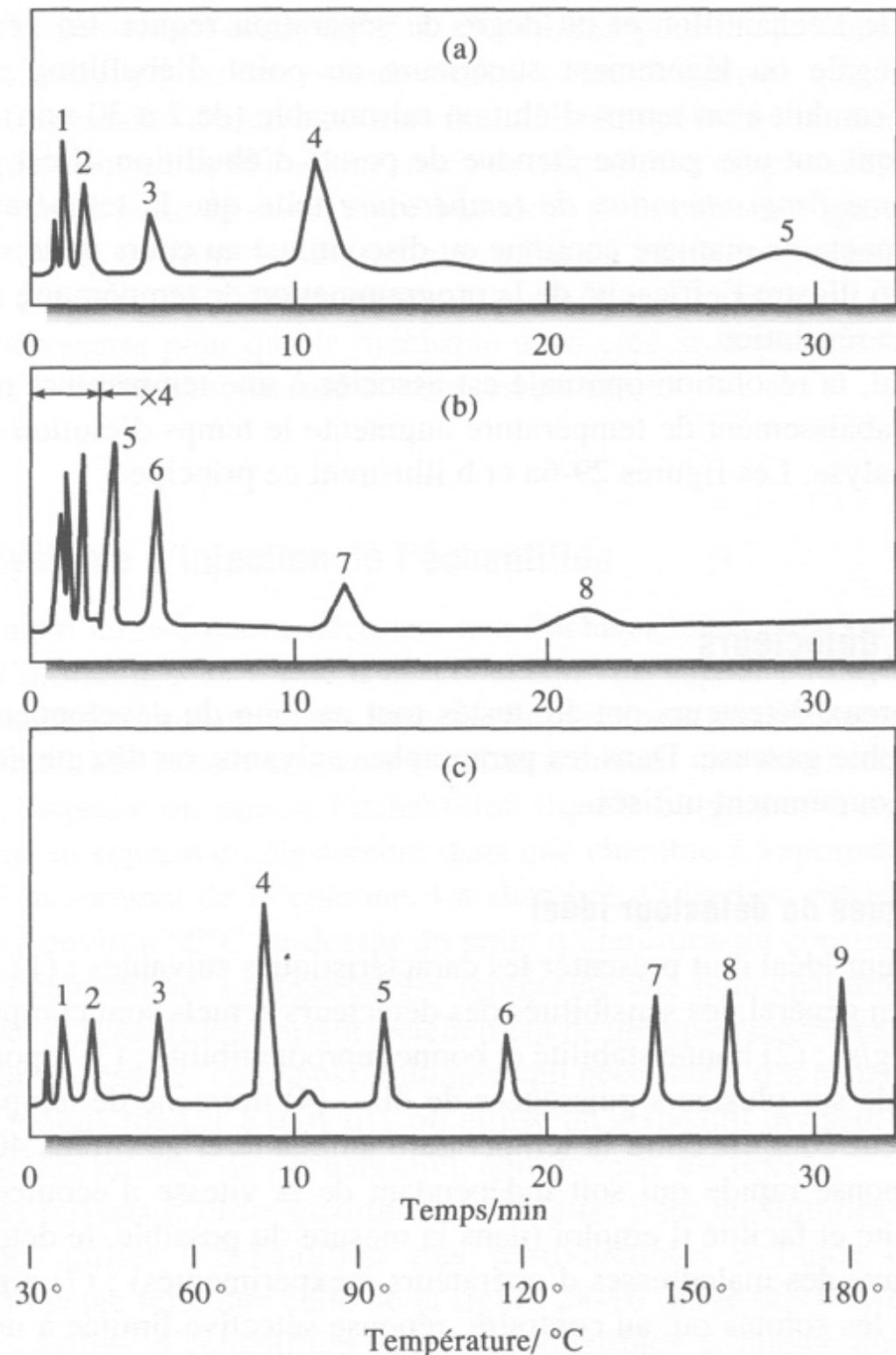


Figure 6

Effet de la température sur des chromatogrammes en phase gazeuse. (a) Mode isotherme à 45°C ; (b) Mode isotherme à 145°C ; (c) Programmation de 30 à 180°C. (D'après W. E. Harris et H. W. Habgood, *Programmed Temperature Gas Chromatography*, p. 10. New York : Wiley, 1966. Reproduit avec autorisation.)

4) Les détecteurs

4.1 Caractéristiques du détecteur idéal

Le détecteur idéal doit présenter les caractéristiques suivantes :

- ① **Sensibilité approprié** (en général), les sensibilités des détecteurs actuels sont comprises entre 10^{-8} à 10^{-15} g/s);
- ② **Bonne stabilité** (pas de dérive au cours du temps) et **bonne reproductibilité**;
- ③ **Réponse linéaire** qui s'étende sur plusieurs puissances de 10;
- ④ **Domaine de température de fonctionnement compris entre la t° ambiante et 400°C** ;
- ⑤ **Temps de réponse rapide** qui soit indépendant de la vitesse d'écoulement;
- ⑥ **Grande fiabilité et facilité d'emploi**;
- ⑦ **Réponse uniforme** à tous les solutés ou, au contraire, **réponse sélective** limitée à une ou plusieurs classes de solutés, et
- ⑧ **Préservation de l'intégrité de l'échantillon**.

Il est inutile de dire qu'aucun détecteur ne remplit à la fois toutes ces conditions, et qu'il est peu probable qu'on puisse jamais en concevoir un.

4.2 Détecteur à ionisation de flamme Flame Ionization Detector (FID)

▀ C'est le détecteur le plus utilisé. Dans un brûleur, l'éluat de la colonne est mélangé avec de l'hydrogène et de l'air qui est enflammé électriquement.

<https://www.youtube.com/watch?v=rMZDQsCmZhQ>

▀ La plupart des composés organiques sont pyrolysés à la température d'une flamme H₂-air en produisant des ions et des e⁻ capables de conduire l'électricité à travers la flamme.

1/ Comment est alimentée la flamme du FID ?

2/ Comment sont transformées les molécules d'intérêts ?

3/ Préciser les avantages et inconvénients du FID ?

☛ Le **FID est un détecteur d'utilisation générale** pour l'analyse de la plupart des échantillons organiques, y compris ceux qui sont contaminés par de l'eau et des oxydes d'azote et de soufre.

4.3 Détecteur à conductivité thermique Thermal Conductivity Detector (TCD)

- Le TCD, ou catharomètre, fut l'un des 1^{er} détecteurs employés. Cet instrument, toujours largement utilisé, est basé sur la mesure des variations de la conductivité thermique d'un flux gazeux liées à la présence de molécules d'analyte.
- La partie sensible du TCD consiste en un élément chauffé électriquement, dont la température à courant constant dépend de la conductivité thermique du gaz environnant.
L'élément chauffé peut être un filament de Pt, Au ou W, ou une thermistance semi-conductrice.

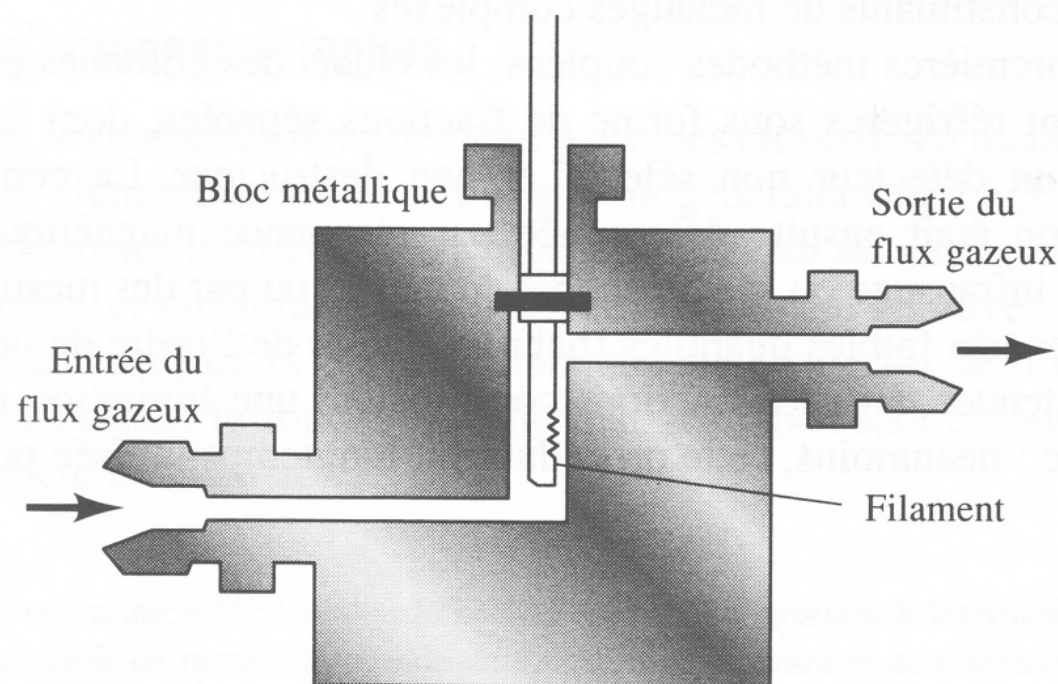


Figure 8
Détecteur à conductivité thermique.
(Document de Varian Instrument
Division, Palo Alto, CA.)



■ La valeur de la résistance du filament ou de la thermistance est une fonction de la température, qui dépend notamment de la vitesse à laquelle les molécules de gaz environnant évacuent par conduction l'énergie thermique de l'élément détecteur vers les parois d'un bloc métallique dans lequel il est placé.

■ Dans les appareils de chromatographie, on emploie un système de détection différentiel dont un élément est placé dans le flux gazeux en **amont** et l'autre en **aval** de la colonne. L'effet de la conductivité thermique du gaz vecteur s'annule, et les fluctuations du débit, de la pression et du courant électrique sont minimisés.

On compare généralement les résistances des détecteurs couplés en les incorporant dans les 2 bras d'un pont de Wheatstone.

■ Les conductivités thermiques de H_2 et He sont environs 6 à 10 fois plus grandes que celles de la plupart des composés organiques. Dès lors, la présence de molécules organiques, même en faible quantité, entraîne une $\searrow$ importante de la conductivité thermique de l'éluat; il en résulte une $\nearrow$ notable de la température du détecteur.

Les conductivités de la plupart des autres gaz vecteurs sont trop proches de celles des constituants organiques; c'est pourquoi l'utilisation d'un détecteur à conductivité thermique impose l'utilisation de H_2 , de He ou de N_2 .

■ Les avantages d'un TCD sont sa simplicité, son large domaine dynamique de linéarité ($\approx 10^5$), sa réponse générale aux espèces organiques et inorganiques, et son caractère non destructif qui permet de collecter les solutés après leur détection. Sa sensibilité est faible ($\approx 10^{-8}$ g de soluté / mL de gaz vecteur).

4.4 Détecteur thermoionique ou Thermoionic Detector (TID)

▀ Le **TID** est sélectif pour les composés organiques qui contiennent du P et de l'N. Sa réponse à un atome de P est environ 10 fois plus grande qu'à un atome d'N et 10^4 à 10^6 fois plus grande qu'à un atome de C.

Si l'on compare au FID, le TID est environ 500 fois plus sensible pour les composés contenant P et 50 fois plus sensibles pour ceux contenant N.

▀ Ces détecteurs sont surtout utilisés pour la détection et le dosage des nombreux pesticides organophosphorés.

4.5 Autres types de détecteurs

Le **détecteur par photométrie de flamme** est largement appliqué à l'analyse des polluants de l'air et de l'eau, des pesticides et des produits d'hydrogénation de la houille. C'est un instrument sélectif qui est particulièrement sensible aux composés contenant du S et du P. On y fait passer l'éluat dans une flamme H₂-air à basse température, qui transforme une partie du P en une espèce HPO qui émet des bandes de rayonnement centrées à environ 510 et 526 nm. Le soufre de l'échantillon est simultanément transformé en S₂, qui émet une bande centrée à 394 nm. D'autres éléments peuvent être détectés par photométrie de flamme, notamment les X, N et plusieurs métaux tel que Sn, Cr, Se et Ge.

Dans le **détecteur à photoionisation**, l'effluent est irradié par un faisceau intense de rayonnement UV dont l'énergie qui varie de 8,3 à 11,7 eV ($\lambda = 149$ à 106 nm) provoque l'ionisation des molécules. L'application d'une ddp dans la zone contenant les ions provoque un courant ionique qui est amplifié et enregistré.

4.6 Les méthodes couplées

La CPG est souvent combinée avec des techniques sélectives de spectroscopie. Les **méthodes couplées** qui en résultent (par exemple, GC-MS et GC-IR) donnent à l'analyste des outils puissants pour identifier les constituants de mélanges complexes.

II - LES COLONNES DE CG ET LA PHASE STATIONNAIRE

I) Les colonnes remplies

- Ce sont des tubes en verre, en métal (acier inoxydable, Cu, Al) ou en téflon qui ont généralement 2 à 3 m de long et 2 à 4 mm de diamètre intérieur.
- On y tasse un matériau de garnissage ou support solide, finement et uniformément divisé, préalablement recouvert d'une couche mince (0,05 à 1 μm) de la phase stationnaire liquide. Afin de n'occuper qu'un volume restreint dans le four thermostatique, les tubes sont enroulés en spirales d'environ 15 cm de diamètre.

I.1 Support solide

▣ Dans une colonne remplie, le support solide sert à maintenir la phase stationnaire liquide de manière à ce que son aire de contact avec la phase mobile soit la plus grande possible.

▣ Le support idéal est constitué de petites particules sphériques uniformes qui ont une bonne résistance mécanique et une surface spécifique d'au moins $1 \text{ m}^2/\text{g}$. Le matériau doit rester inerte à température élevée et être uniformément mouillée par la phase liquide.

▣ Le support le plus utilisé est préparé à partir d'un matériau naturel, la terre de diatomées, constituée des squelettes siliceux de milliers d'espèces d'algues unicellulaires qui vivaient autrefois dans les lacs et les mers.

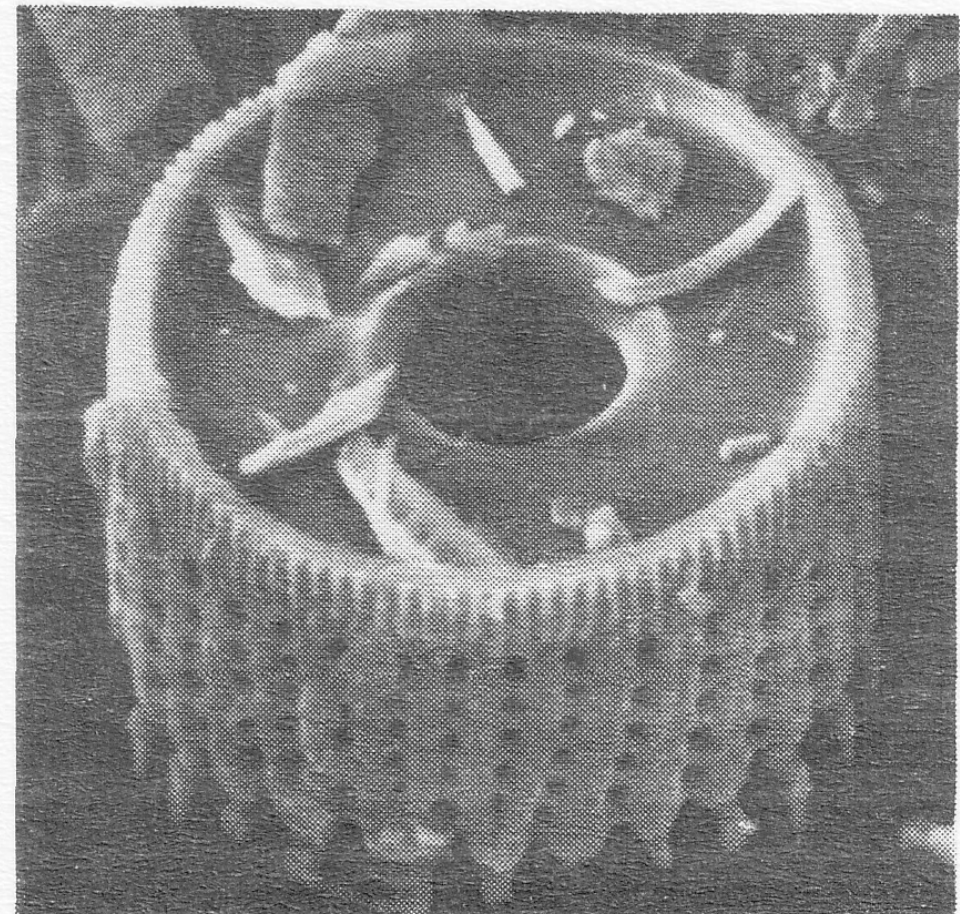


Figure 9

Micrographie de terre de diatomées.
Agrandissement 5000×

I.2 Granulométrie des supports

■ L'efficacité d'une colonne de CG ↗ si le diamètre moyen des grains de support ↘. Cependant, la différence de pression requise pour maintenir un débit donné de gaz vecteur est tel que :

$$\Delta P \propto l/d^2$$

■ Cette relation fixe la limite inférieure des dimensions particulières utilisables en CG, car il n'est pas commode d'imposer des différences de pression supérieures à environ 50 psi.
Par conséquent, la granulométrie du support est de 60 à 100 mesh (de 0,25 à 0,15 mm).

2) Les colonnes capillaires

- ▀ Les colonnes tubulaires ouvertes, ou colonnes capillaires, se différencient entre elles par les caractéristiques de la phase stationnaire qui tapisse leur paroi interne, soit **sous forme d'un film (WCOT)**, soit **sous forme de fines particules poreuses adhérentes (SCOT ou PLOT)**. Les colonnes WCOT sont de simples capillaires recouverts d'une couche mince de la phase stationnaire. Dans les colonnes SCOT, la surface interne du capillaire est tapissée d'un film mince ($\approx 30 \mu\text{m}$) d'un matériau support, tel que la terre de diatomées.
- ▀ Ce type de colonne contient plusieurs fois plus de phase stationnaire qu'une colonne WCOT et peut donc tolérer un plus grand volume d'échantillon. En général, l'efficacité d'une colonne SCOT est inférieure à celle d'une colonne WCOT, mais nettement supérieure à celle d'une colonne remplie.
- ▀ Les nouvelles colonnes WCOT, qui sont apparues en 1979, sont en silice fondue (**FSOT**). Leur parois sont beaucoup plus minces que celles des capillaires en verre; ils sont renforcés par une gaine en polyimide.
- ▀ Dans la plupart des applications, elles ont remplacé les anciennes colonnes WCOT en verre.

▣ Les colonnes capillaires en silice les plus utilisées ont des diamètres intérieurs de 0,32 et 0,25 mm. On trouve également des colonnes qui ont une meilleure résolution, avec des diamètres de 0,20 et 0,15 mm. Ces colonnes sont plus difficiles à utiliser et nécessitent des systèmes d'injection et de détection plus sophistiqués.

▣ Le tableau ci-dessous compare les caractéristiques des colonnes capillaires en silice fondue à celles des colonnes WCOT, SCOT, et remplies :

Propriétés et caractéristiques de colonnes de chromatographie gazeuse

	Type de colonne			
	FSOT [*]	WCOT [†]	SCOT [‡]	Remplie
Longueur, m	10–100	10–100	10–100	1–6
Diamètre interne, mm	0,1–0,3	0,25–0,75	0,5	2–4
Efficacité, plateaux/m	2000–4000	1000–4000	600–1200	500–1000
Taille de l'échantillon, ng	10–75	10–1000	10–1000	10–10 ⁶
Pression relative	faible	faible	faible	élevée
Vitesse relative	rapide	rapide	rapide	lente
Inertie chimique	la meilleure	—————→		la moins bonne
Flexibilité mécanique	oui	non	non	non

^{*}*Fused-silica open tubular column.*

[†]*Wall-coated open tubular column.*

[‡]*Support-coated open tubular column* (appelée aussi “*porous-layer open tubular*” ou *PLOT*).

3) La phase stationnaire liquide

☛ La phase liquide immobilisée dans une colonne de CGL doit présenter les propriétés suivantes :

- ① **Faible tension de vapeur** (idéalement, le point d'ébullition du liquide doit être au moins à 100 °C au-dessus de la température maximale d'utilisation de la colonne);
- ② **Bonne stabilité thermique;**
- ③ **Inertie chimique;**
- ④ **propriétés de solvant** tel que les valeurs de k' et α se situent dans le domaine optimal pour les solutés à séparer.

☛ Pour qu'une espèce donnée ait un temps de séjour raisonnable dans la colonne, elle doit présenter une certaine compatibilité (solubilité) avec la phase stationnaire. Dans ce cas, **le principe "les semblables dissolvent leurs semblables" s'applique**, la similitude se rapportant ici aux polarités du soluté et du liquide immobilisé.

☛ **En général, la polarité de la phase stationnaire doit correspondre à celle des constituants de l'échantillon. Lorsque cet accord est bon, l'ordre d'élution est déterminé par le point d'ébullition des éluants.**

▮ Regarder la vidéo suivante :

<https://www.youtube.com/watch?v=JW4pTK-bkN0>

1/ Comment est placée la phase stationnaire à l'intérieur d'une colonne capillaire ?

2/ Préciser le type de phase stationnaire polaire utilisée ?

3/ Préciser le type de phase stationnaire apolaire utilisée ?

4/ Pourquoi n'utilise-t-on quasiment plus que des colonnes capillaires ?

3.1 Quelques phases stationnaires très utilisées

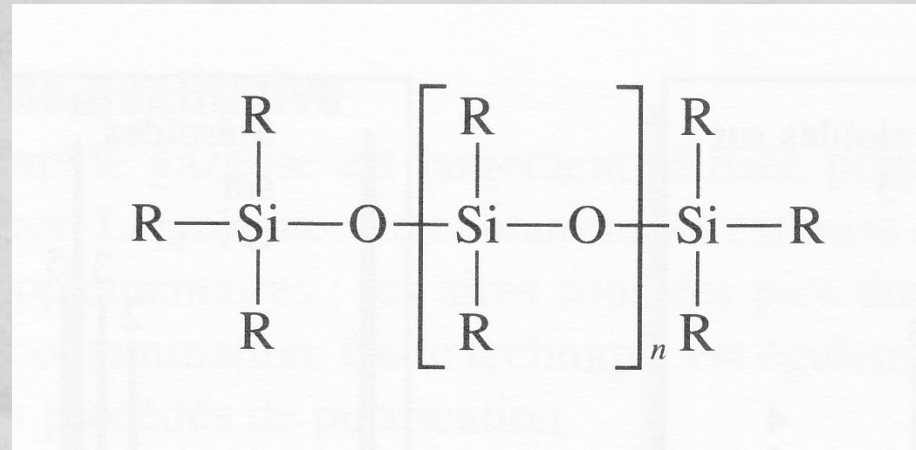
Le tableau donne les phases stationnaires les plus utilisées dans les colonnes remplies et capillaires en CG, par ordre de polarité croissante.

Quelques phases stationnaires liquides courantes pour la chromatographie gaz-liquide

Phase stationnaire	Nom commercial	Température maximale/°C	Utilisations habituelles
Polydiméthyl siloxane	OV-1, SE-30	350	Phase non polaire à usage général ; hydrocarbures ; aromatiques polynucléaires ; médicaments ; stéroïdes ; PCB
5% Phényl-polydiméthyl siloxane	OV-3, SE-52	350	Esters méthyliques d'acides gras ; alcaloïdes ; médicaments ; composés halogénés
50% Phényl-polydiméthyl siloxane	OV-17	250	Médicaments ; stéroïdes ; pesticides ; glycols
50% Trifluoropropyl-polydiméthyl siloxane	OV-210	200	Chloroaromatiques ; nitroaromatiques ; alkylbenzènes substitués
Polyéthylène glycol	Carbowax 20M	250	Acides libres ; alcools ; éthers ; huiles essentielles ; glycols
50% Cyanopropyl-polydiméthyl siloxane	OV-275	240	Acides gras polyinsaturés ; acides de la colophane ; acides libres ; alcools

Ces 6 liquides peuvent conduire à des séparations satisfaisants pour au moins 90 % des échantillons que l'on peut rencontrer.

■ 5 des liquides du tableau précédent sont des polysiloxanes qui ont la structure générale :

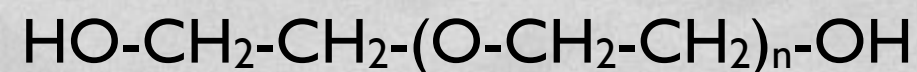


■ Dans le premier, le polydiméthyl siloxane, les groupements -R sont tous des -CH₃, ce qui donne un liquide relativement non polaire. dans les autres polysiloxanes du tableau, une partie des groupements méthyle sont remplacés par des groupements fonctionnels tel que le phényl (-C₆H₅), le cyanopropyle (-C₃H₆CN) et le trifluoropropyle (-C₃H₆CF₃).

■ Le pourcentage donne dans chaque cas la fraction du groupement méthyle remplacés par le groupement indiqué sur le squelette polysiloxane.

Exemple : le 5 % phényl-polydiméthyl siloxane possède un cycle phényle lié à 5 % des atomes de Si du polymère. Ces substitutions ↗ la polarité à des degrés divers.

■ La cinquième entrée du tableau est un polyéthylèneglycol qui à la structure :

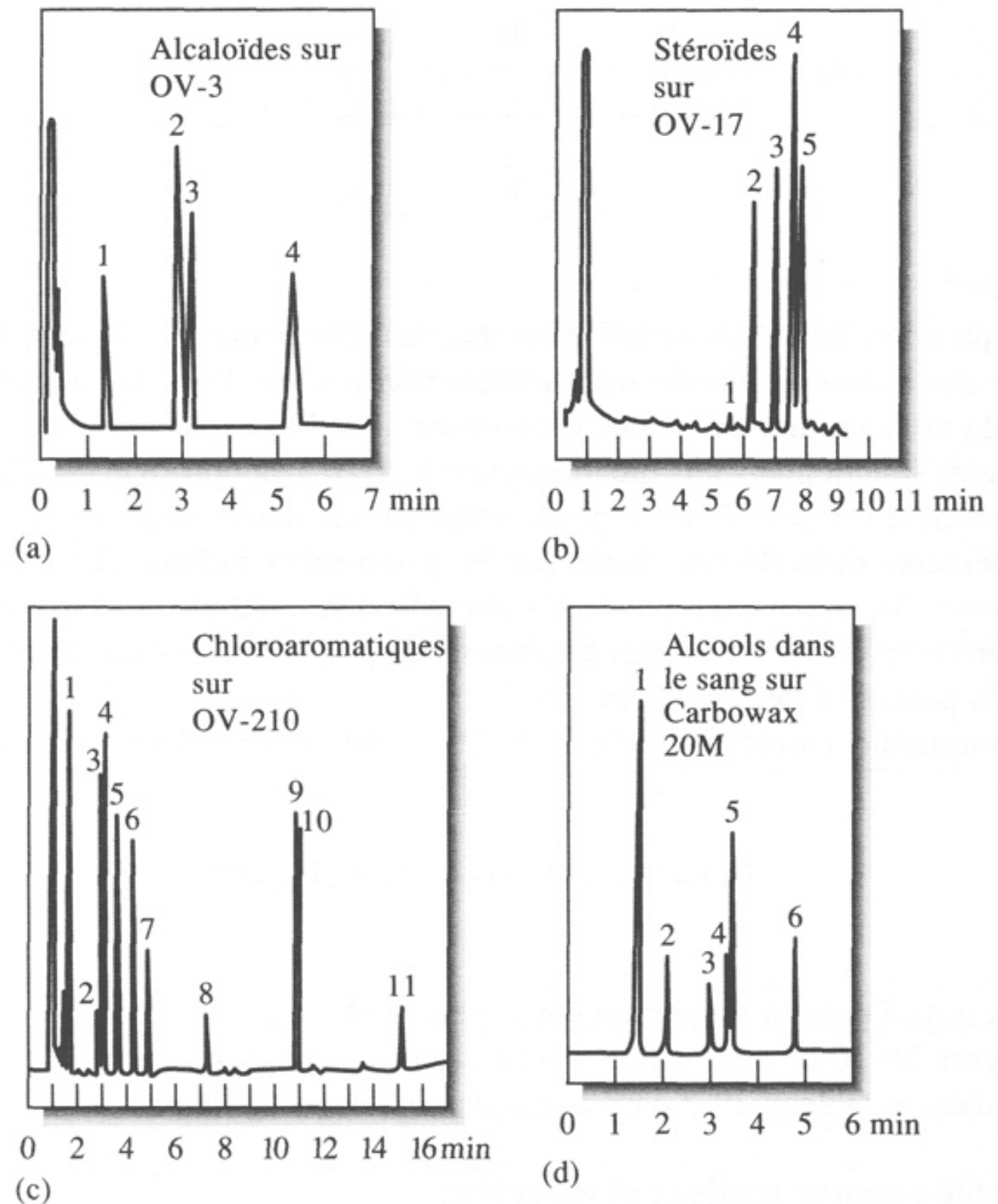


Il est très utilisé pour la séparation des espèces polaires.

La figure ci-contre illustre quelques utilisations des phases stationnaires liquides données dans le tableau précédent.

Figure 10

Exemples de chromatogrammes sur colonnes capillaires tapissées des phases données dans le tableau 29-2. Identification des composés : (a) 1. cocaïne, 2. codéine, 3. morphine, 4. quinine ; (b) 1. 17- α -estradiol, 2. dihydroéquiline, 3. testostérone, 4. estrone, 5. équiline ; (c) 1. chlorobenzène, 2. hexachloroéthane, 3. dichloro-1,3-benzène, 4. dichloro-1,4-benzène, 5. dichloro-1,2-benzène, 6. chloro-4-styrène, 7. hexachlorobutadiène, 8. hexachlorocyclopentadiène, 9. chloro-2-naphtalène, 10. chloro-1-naphtalène, 11. hexachlorobenzène, (d) 1. acétaldéhyde, 2. acétone, 3. méthanol, 4. isopropanol, 5. éthanol, 6. *n*-propanol.



3.2 Phases stationnaires greffées et réticulées

- Des firmes commerciales proposent des colonnes dont les phases stationnaires sont greffées et/ou réticulées. Le greffage et la réticulation ont pour but d'augmenter la durée de vie de la phase stationnaire qui peut être rincée à l'aide de solvant s'il y a eu contamination. Au cours de leur utilisation, les colonnes non traitées perdent progressivement leur phase stationnaire parce qu'une petite quantité de liquide immobilisée quitte la colonne au cours de l'élution.
- Ce phénomène s'amplifie lorsqu'on doit rincer la colonne avec un solvant afin de la décontaminer. **la liaison chimique et la réticulation s'opposent à ces pertes.**
- Pour greffer une phase stationnaire, on combine une couche monomoléculaire de la phase stationnaire à la surface de la silice de la colonne par une réaction chimique. Pour les colonnes commerciales, la nature de ces réactions reste un secret de fabrication.

3.3 Epaisseur du film

- Les colonnes commerciales ont des phases stationnaires dont l'épaisseur varie de 0,1 à 5 μm . L'épaisseur du film affecte surtout le pouvoir de rétention et la capacité de la colonne.
- On utilise des films épais pour les analytes très volatils parce que de tels films retiennent les solutés pendant un temps plus long, ce qui améliore la séparation. Les films minces sont utilisés pour séparer des espèces peu volatiles en un temps raisonnable.
- Dans la plupart des cas, on utilise une épaisseur de film de 0,25 μm pour des colonnes de 0,25 ou 0,32 mm de diamètre.