



95, rue du Dessous des Berges
75013 PARIS
<http://www.etsl.fr>

TD N° 3

ligodin@free.fr
<http://ligodin.free.fr>

ANALYSE SÉPARATIVE – Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)**Exercice 1 :**

- 1) En quoi diffèrent la chromatographie gaz-liquide et gaz-solide ?
- 2) Pourquoi la chromatographie gaz-solide n'est-elle pas autant utilisée que la chromatographie gaz-liquide ?
- 3) En quoi consiste la programmation de température utilisée en CPG ?
- 4) Quels sont les principaux avantages et les principales limitations des détecteurs universels de CPG ?
- 5) Quelles propriétés doit posséder la phase stationnaire liquide en CPG ?
- 6) Quel est l'effet de l'épaisseur du film de phase stationnaire en CPG ?

Exercice 2 :

La méthode de normalisation d'aire permet de doser les constituants d'un échantillon analysé par CPG. Dans cette technique, il est nécessaire d'élué complètement tous les constituants de l'échantillon ; l'aire de chaque pic est ensuite mesurée et corrigée pour tenir compte des différences de réponses du détecteur aux différents éluats. Cette correction implique la multiplication ou la division de la surface par un facteur de correction déterminé empiriquement. On trouve la concentration de l'analyte à partir du rapport de ces surfaces corrigées à la surface totale de tous les pics.

Les aires relatives des cinq pics de CPG sont données ci-dessous, de même que les facteurs de correction de réponse du détecteur.

Calculez le pourcentage de chaque constituant dans le mélange.

Composé	Aire de pic relative	Diviseur de réponse du détecteur
A	15,5	0,80
B	21,7	0,82
C	60,1	0,85
D	50,2	0,83
E	19,0	0,88

Exercice 3 :

Pour doser le mercure dans la chair de poisson, les cations Hg^{2+} et MeHg^+ sont transformés respectivement en 2 dérivés volatils Et_2Hg et MeHgEt par traitement avec du tétraéthylborate de sodium. Ces composés sont ensuite dosés par chromatographie gazeuse sur une colonne capillaire ayant pour phase stationnaire un polysiloxane ($L = 25 \text{ m}$; $D_i = 0,25 \text{ mm}$; $e = 0,33 \text{ }\mu\text{m}$).

La phase mobile est l'hélium avec une vitesse linéaire moyenne dans la colonne de 60 cm.s^{-1} . Les caractéristiques des pics du chromatogramme sont réunies dans le tableau n°1 suivant :

Tableau 1 : Temps de rétention et largeur à la base des pics des composés mercurés à 120 °C.

	Tr (min) à 120°C	W (s) à 120°C	Tr (min) à 140°C
MeHgEt	3,08	2,24	2,02
Et ₂ Hg	3,56	2,50	?

- 1/ Quel type d'injecteur faut-il utiliser avec une colonne capillaire ? Pourquoi ?
- 2/ Quelles sont les propriétés d'un gaz utilisé comme phase mobile ?
- 3/ Évaluez le nombre de plateaux théoriques de cette colonne pour le diéthyle - mercure (Et_2Hg) à 120°C.
- 4/ Calculer le temps mort.
- 5/ Calculer la résolution de ces deux composés à 120°C. Que dire du résultat obtenu ?
- 6/ Sachant que le facteur de séparation des 2 pics est de 1,13 à 140°C, calculer le temps de rétention du diéthyle-mercure à 140°C.
(On suppose que le temps mort ne varie pas dans la gamme des températures utilisées).

Exercice 4 :

Les poissons sont les aliments les plus riches en acides gras polyinsaturés de la série oméga 3. L'alimentation des poissons est le principal facteur susceptible de modifier qualitativement et quantitativement les lipides de réserve. Par ailleurs, la coloration naturelle de la chair des saumons sauvages est la conséquence de l'ingestion de crustacés et d'algues contenant des pigments colorés (caroténoïdes) comme l'astaxanthine. Lorsqu'il s'agit de poissons d'élevage, ces composés sont ajoutés à la ration alimentaire du poisson pour obtenir une coloration proche de celle des poissons sauvages.

L'analyse de la fraction lipidique a été réalisée. Après une extraction de la matière grasse selon la norme expérimentale AFNOR V 03-030, la fraction lipidique est caractérisée par chromatographie en phase gazeuse.

Les lipides sont difficilement analysables directement car donnent des pics traînants et mal résolus ; alors que les esters méthyliques donnent de meilleurs chromatogrammes. L'estérification des acides gras peut être réalisée en les incubant avec du trifluorure de bore (catalyseur de la réaction) dans le méthanol ($\text{CH}_3\text{-OH}$, donneur des groupements méthyls), à 100°C durant 15 min.

La colonne est une colonne capillaire HP5 (95% méthylpolysiloxane, 5% phénylsiloxane) de longueur égale à 30 m. Le four est à 190 °C et l'injecteur à 250 °C. Le détecteur à ionisation de flamme est programmé à 250 °C. Le temps mort est de 1,7 minutes. Les résultats sont donnés dans le tableau n°1 ci-dessous.

Tableau n°1 : Temps de rétention et aires des acides gras élués.

t_r (min)	aire (%)
17,16	5,976
22,90	14,636
29,32	8,761
34,15	40,852
36,04	29,775

- 1/ Quelle(s) phase(s) mobile(s) peut-on utiliser avec cette méthode ?
- 2/ Quelle caractéristique de la phase stationnaire est modifiée par la substitution de 5 % des groupements méthyl par des groupements phényle ? Et dans quel sens ?
- 3/ En déduire le critère principal selon lequel les lipides sont élués et l'ordre d'élution entre des acides gras à 12 et 18 atomes de carbone.
- 4/ Calculer la vitesse linéaire moyenne de la phase mobile.
- 5/ Pour l'identification, nous utilisons comme standard interne l'acide stéarique (C18:0) qui présente un temps de rétention de 17,16 minutes. À l'aide du tableau n°2 ci-dessous, identifier les autres acides gras élués.

Tableau n°2 : Principaux acides gras et rapports du temps de rétention de l'acide gras sur le temps de rétention du standard interne.

Acides gras	rapport $t_r / (t_r \text{ C18:0})$
ac. palmitique (C16:0)	0,53
ac. stéarique (C18:0)	1,00
ac. oléique (C18:1 ; 9)	1,11
ac. linoléique (C18:2 ; 9, 12) oméga 6	1,33
ac. linoléique (C18:3 ; 9, 12, 15)	1,71
ac. arachidique (C20:0)	1,88
ac. eïcosapentaénoïque (C20:5) oméga 3	1,99
ac. docosahexaénoïque (C22:6) oméga 3	2,10

- 6/ Calculer la masse des différents acides gras dans l'échantillon, sachant que nous avons injecté 1 μL d'esters méthyliques d'acides gras saturés et insaturés à 15 g.L^{-1} .
- 7/ Quel est le principe de fonctionnement du détecteur utilisé ?