

Analyse	Noms – Prénoms :	2MC App
TP 9	Méthode d'analyse CPG	Date du Tp :

En CPG, on ne peut pas prévoir les temps de rétention des constituants d'un mélange. Il est donc nécessaire de commencer par effectuer l'analyse de solutions étalons des produits de référence. Lors de l'analyse du mélange, les conditions de **température** et de **pression**, les **conditions d'injection**, la **colonne** et le **détecteur** devront être strictement identiques.

I) Détermination de l'ordre de sortie des composés du mélange en isotherme

Compléter le tableau suivant :

Composés	Ether diéthylique	Hexane	Octane	Décane	Butan-1-ol
$\theta_{éb}$ (°C)					
M (g.mol ⁻¹)					
d					
pictogrammes de danger					
Moment dipolaire (D)					

Différentes solutions à préparer :

À l'aide d'une micropipette P10, préparer les **solutions étalons** suivantes :

Solution **S₁** : 5 µL d'**octane** dans un vial complété au compte-goutte avec de l'éther ou de l'hexane.

Solution **S₂** : 5 µL de **décane** dans un vial complété au compte-goutte avec de l'éther ou de l'hexane.

Solution **S₃** : 5 µL de **butan-1-ol** dans un vial complété au compte-goutte avec de l'éther ou de l'hexane.

Analyse	Noms – Prénoms :	2MC App
TP 9	Méthode d'analyse CPG	Date du Tp :

À l'aide d'une micropipette P10, préparer les **solutions de mélange** suivantes :

Une solution **S₄** contenant un **mélange** de 5 µL d'**octane**, 5 µL de **décane**, et 5 µL de **butan-1-ol** dans un vial complété au compte-goutte avec de l'éther ou de l'hexane.

Une solution **S₅** contenant un **mélange** de 5 µL d'**octane**, 5 µL de **décane**, et 10 µL de **butan-1-ol** dans un vial complété au compte-goutte avec de l'éther ou de l'hexane.

Placer les vials S₁ à S₅ respectivement en position 1 à 5 du carrousel de l'injecteur automatique.

Méthodes d'analyse utilisées :

Méthode isotherme 1 :

Vous injecterez 1 µL dans une colonne **apolaire** (en Front sur le GC)

Injecteur : température = 200 °C ; split = 50.

Débit : 2 mL/min

Four : mode isotherme :

Température four = 60 °C ; **Durée d'analyse = 5 min ;**

Détecteur FID : température = 300 °C

Débits : He makeup = 30 mL/min ; H₂ = 30 mL/min et Air = 300 mL/min.

Méthode isotherme 2 :

Méthode identique à la précédente avec un split de 100.

Méthode gradient :

Vous injecterez 1 µL dans une colonne **apolaire** (en Front sur le GC)

Injecteur : température = 200 °C ; split = 50.

Débit : 2 mL/min

Four : mode isotherme :

Isotherme initiale à 60 °C pendant 0,5 min

Gradient de température de 20 °C/min jusqu'à 100 °C maintenue pendant 0 min ; **Durée d'analyse totale = 2,5 min ;**

Détecteur FID : température = 300 °C

Débits : He makeup = 30 mL/min ; H₂ = 30 mL/min et Air = 300 mL/min.

Analyse	Noms – Prénoms :	2MC App
TP 9	Méthode d'analyse CPG	Date du Tp :

En pratique, **programmer une séquence d'analyse, en utilisant la méthode isotherme 1**, afin de passer successivement **S₁, S₂, S₃ et S₄**.

Les chromatogrammes sont rassemblés dans un dossier à la date du jour du Tp. Ouvrir les chromatogrammes un par un et identifier les pics principaux par le nom des molécules correspondantes. Imprimer les chromatogrammes en utilisant une feuille de style adéquate.

Relever la valeur du débit total au niveau de l'injecteur :

Les temps de rétentions sont-ils identiques lorsque les produits sont mélangés ou séparés.

Expliquer l'ordre de sortie des produits.

II) Modification de la concentration d'un constituant du mélange

Dans la séquence d'analyse précédente, compléter la dernière ligne afin d'analyser S₅. Ouvrir le chromatogramme correspondant et identifier les pics principaux par le nom des molécules correspondantes. Imprimer le chromatogramme.

Qu'observez-vous quand on double la concentration du butan-1-ol ? Peut-on utiliser cette propriété lors d'un dosage par CPG ?

Analyse	Noms – Prénoms :	2MC App
TP 9	Méthode d'analyse CPG	Date du Tp :

III) Modification du split de l'injecteur

Rajouter une ligne dans la séquence d'analyse précédente, et aller chercher **la méthode isotherme 2**, afin de passer **S₄**.

Quel est l'intérêt de doubler le split de l'injecteur ?

Vérifier, pour chaque composé du mélange, que le split a bien joué son rôle.

Relever la valeur du débit total au niveau de l'injecteur :

Comparer cette valeur à celle relevée précédemment et conclure.

IV) Utilisation d'un gradient de température

Rajouter une ligne dans la séquence d'analyse précédente, et aller chercher **la méthode gradient**, afin de passer **S₄**.

Quel est l'intérêt d'un gradient de température ?

Analyse	Noms – Prénoms :	2MC App
TP 9	Méthode d'analyse CPG	Date du Tp :

V) Répétabilité de la méthode en gradient de température

Rajouter 1 ligne dans la séquence d'analyse précédente, en indiquant 5 dans la colonne « nombre d'injections », et en allant chercher **la méthode gradient**, afin d'injecter 5 fois la solution **S4**. Imprimer en mode workspace en veillant au préalable que les temps soient donnés avec 4 cs.

Utiliser le protocole de validation de méthode d'analyse en chimie (Québec), afin d'étudier la répétabilité de la méthode (en temps et en aire) :

www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12VMC_protocole_val_chimie.pdf

Extrait du protocole utile :

Répliquabilité (Répétabilité en français)

La répliquabilité à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels successifs (n) obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dans les conditions suivantes : même analyste, même appareil, même jour. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,975;n-1)} \times s}{\sqrt{n}}$$

où s : écart type d'une série de mesures se référant à la répliquabilité.

Méthode de calcul de la répliquabilité (Répétabilité en français), la répétabilité (fidélité intermédiaire en français) et la reproductibilité

Les trois termes précédents se rapportant à la fidélité s'expriment à l'aide d'un intervalle de confiance à une concentration donnée, en fonction de l'écart type, à un niveau de confiance spécifié et pour un nombre donné de déterminations ($n = 10$ replica). Le niveau de confiance habituellement retenu est de 95 %.

L'intervalle de confiance bilatéral de la moyenne arithmétique d'une série de mesures à un niveau de confiance de 95 % est défini par la double inégalité suivante :

$$IC_{bi} = \bar{x} \pm \frac{t_{(0,975;n-1)} \times s}{\sqrt{n}}$$

Lorsque $n \geq 30$, $t_{(0,975;n-1)} = 2$. Pour $n < 30$, il faut se référer à une table statistique de la distribution de Student pour connaître la valeur de $t_{(0,975;n-1)}$ correspondant à la probabilité au dépassement bilatéral (voir Annexe IV).

Analyse	Noms – Prénoms :	2MC App
TP 9	Méthode d'analyse CPG	Date du Tp :

ANNEXE IV - VALEUR DU T DE STUDENT POUR UN INTERVALLE
BILATÉRAL À UN SEUIL DE CONFIANCE À 95 %

Degré de liberté ($n-1$)	$t_{(0,975)}$
1	12,706
2	4,303
3	3,182
4	2,776
5	2,571
6	2,447
7	2,365
8	2,306
9	2,262
10	2,228
11	2,201
12	2,179
13	2,160
14	2,145
15	2,131
16	2,120
17	2,110
18	2,101
19	2,093
20	2,086
25	2,060
30	2,042
40	2,021
60	2,000

Tiré de *Quality Assurance of Chemical Measurements*, Taylor, J., 1987,
page 267