

- obj 1 - sépa tr,
2 - id.
3 - quantitatf.

①.

Chromatographie (HPLC & CPV) analyse qualitative & quantitative

Niveau L2/L3

Pré requis : (CCM) Chromatographie colonnes. W.d.V, liaison H.

Introduction: (péda) leçon théorique car pas possible de faire

pb : "boîte noire"

en TP : on y injecte et on sait pas
trop ce qu'il se passe

↳ bien étudier la théorie car tp ne
pourra pas être visuel.

Intro : lorsque l'on a un mélange le séparer par
chromato colonnes sur silice. ok.

Comment savoir ce que l'on a ds le mélange
& en quelle quantité ?

I7 HPLC High performance liquid chromatography
Chromatographie liquide haute performance.

1) Description.

→ Schéma de principe

→ photo p 40 analyse chimique Rouessac

Reservoir de phase mobile sur bouteille en verre avec un tube
avec une extrémité filtrante
en H₂O / P₁cm

- Pompe: sys de gradient $\Rightarrow$ on peut prog la nature du solvant
 - mode isocratique: m^e éluant tt le long
 - mode gradient: variation de c° des constituant du mélange d'éluant.
- débit: μL à mL/min .

- Injecteur: inject° sur tps brief pr limiter les perturbations.

$\rightarrow$ Figure 3.5. Rouessac p 43.

volume injecté cte
chargem^t = vanne relie pompe $\times$ colonne
seringue ($99 \mu\text{L}$)

- Colonne.

$\rightarrow$ Figure 3.6. p 44 Rouessac

construit ds matériaux le + possible inerte. inox ou en verre
section constante

ϕ $4 \times 20 \text{ mm}$

longueur: 5 à 25 cm.

$\rightarrow$ tableau.

$\neq$ en fonction de ce que le veut.

- Phase stationnaire:

- normale: gel de silice très polaire

$\Rightarrow$ éluant apolaire

pb: détensional° rapide
du gel de silice

$\Rightarrow$ pb de reproductibilité

- inverse: silice greffées par des chaînes linéaires (C_8 à C_{18})

$\Rightarrow$ apolaire

$\Rightarrow$ éluant polaire.

$\oplus$ liaison H
qui complique.

$\rightarrow$ Figure 3.7 Rouessac
p 46

$\rightarrow$ figure 3.9. Rouessac

différente
famille

→ tableau élution

• Détecteurs.

- UV-vis → Figure 3.13.

Voir fct bande de diode Beer

- réfractomètre. → figure 3.15, p53.

Lambert photo diode

- spectre de masse: identifie^{re} + sensible

qui détecte.

2) Grandeurs caractéristiques.

1 diode ~ 1 abs.

- temps de rétention t_R .

donner des cas limite

- facteur de rétention $k' =$

sens physique

mobile.

$$\frac{C_s V_s}{C_m V_m} = K \frac{V_s}{V_m}$$

(Note: The original image has a red 'X' over this equation and the word 'stationnaire' written above it.)

$t_R = 0$

k' très gel

t_R très long.

$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$ rétention de la molécule par la colonne

coeff de distribution $K = \frac{C_s}{C_m}$

$$t_R = t_0 (1 + k')$$

porosité totale de la colonne $\epsilon_c = \frac{V_m}{V_c}$
volume phase mobile
volume colonne

ac.
$$V_m = V_i + V_p$$

volume interstitiel volume poreux

Debit de la phase mobile: $D = u \cdot s \cdot \epsilon_c$

vitesse phase mobile.

section de la colonne.

$$t_0 = \frac{L}{u}$$
 longueur colonne

tps de rétention nulle.

$$V_R = t_R \cdot D.$$

volume de rétention

$$V_m = t_0 \cdot D.$$

$$V_R = V_m (1 + k')$$

$$t_R = \frac{L}{u} (1 + k')$$

entre deux espèces 1 & 2.

• Sélectivité : $\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0}$

différence de distribution thermodynamique.

① pic asymétrique
formule plus valables.

• Efficacité d'une colonne - nb de plateau théorique.

↳ colonne à plateau (histogram)

écart-type $\sigma^2 = \frac{t_R^2}{N}$

largeur de pic à une ordonnée déterminée.

$w^2 = a \sigma^2$

facteur dépendant de la hauteur par rapport à la ligne de base ou est mesurée w .

⊕ le pic est large ⊖ manip est bonne.

$$N = a \left(\frac{t_R}{w} \right)^2$$

démonstration

→ HEPT à ajouter
permet de s'affranchir de la t_R & w ds la m^{me} unité
long de la colonne

• Résolution :

entre 2 pics 1 et 2 $R_s = 2 \frac{(t_{R1} - t_{R2})}{w_2 + w_1}$

largeur de base.

Relation de Purnell (savoir le démontrer).
 (5) *Pr info si on fait pas la manip.*

$$R_s = \frac{1}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k'_2}{1 + k'_2} \sqrt{N_2}$$

2 état de composé $A \oplus$ obtenu.

*approx
largeur égales
→ pic de 2 pics
consécutifs.*

• Perte de charge: $\Delta P = \phi \frac{\eta L u}{d_p^2}$

P_a

η : viscosité de la phase mobile (Pa.s)

L : longueur de la colonne (m)

d_p : diamètre des particules de la phase stationnaire

ϕ facteur de résistance à l'écoulement.

dép forme des particules.

≈ 500 poreuses / sphériques

≈ 1000 " / irrégulière (forme).

• Indice de Performance: $I_p = \frac{N^2}{t_R \Delta P}$

$10^3 < I_p < 10^5$ pr bonne colonne & bonne utilité

→ pb 4 p 12. projeter ce qui est intéressant.

c) Analyse qualitative.

α : facteur de sélectivité: $\alpha = 1$ pics coïncident

$\alpha = 1,05$ séparat° possible.

$R > 1$ bonne séparat°

$R < 1$ mauvaise séparation.

→ Pb suite & fin

d) Analyse quantitative:

- le pic chromatographique est $\propto$ à la c° ou qte de prod analysé

$$\frac{A_e}{m_e} = \frac{A_{et}}{m_{et}}$$

et: étalon
e échantillon

A_i : aire du pic
 m_e : c° ou masse du produit.

→ Technique de l'ingé

Autres méthodes: méthode des ajouts.
méthode de l'étalon interne.
et externe

II) CPV Chromatographie phase vapeur

1) Description

→ figure p20 Rouessac cher OK ⊕ pot.

- gaz vecteur. He, N₂, ~~Ar~~, H₂. ⊕ pas inerte
- (phase mobile) → besoin de très bonne qualité
- pas de O₂ ni H₂O (pour pas abîmer la phase stationnaire)

Ⓡ → figure 2.2 p21 Rouessac.

il faut que la vitesse de l'échantillon soit ds le domaine de vitesse du gaz vecteur. (H₂ mieux)
~~soit ds le domaine de vitesse du gaz vecteur. (H₂ mieux)~~
optimum = min de HETP.

HEPT

• Injecteur

→ efficace ds le domaine qu'on agit.

- micro seringue pr liq
- vanne à boucle pr gaz

→ figure 2.4. Rouessac p23

T° chambre inject° > T° colonne pr facilité l'évaporat° des échantillons.

Injection split ou splitless. (pr colonne capillaire)

split : diviseur de flux

seul 1% de l'échantillon injecté ds la colonne reste ds la sortie

split. p 24 Rouessac

=> nécessaire pr échan très conc.

splitless : ss diviseur de flux.

tt est injecté pr échan dilué.

se se fait plus.

• Colonne.

à garnissage.

ϕ mm (99)

L : $\phi \sim 1$ m.

remplie ac solide

poroux imprégné

ou greffé ac phase stationnaire

choisie,

débit : 10 à 40 mL/min.

Capillaire.

ϕ 0,1 à 0,7 mm

L : 10 à 100 m.

revêtement polym.

verre de silice

phase stat°

figure 2.6 p 25 Rouessac

débit 0,1 à 10 mL/min

→ image fsmv.univ

• Phase stationnaire : en fct de ce qu'on veut séparer.

→ tableau fsmv.univ

- four: T° 20 à 400 $^\circ\text{C}$ programmable.
isotherme: $T^\circ = \text{cte}$
ou gradient T° varie ds colonne.

Détecteur:

- TCD: conductibilité thermique - catharomètre (historique)

→ variabilité de résistance du filament

$$R = R_0 (1 - \alpha t)$$

| coeff de résistance spécifique
du filament

→ 2.10 p31 Rouessac

- volume 20 μL à 10 μL
- répond en $^\circ$ → quantitativ
- contrôle T° très imp.

- FID: ionisat^o de flamme.

- $\oplus$ utilisée

- flamme hydrogène / air

→ oxyde les molécules

→ ~~acc~~ collecte des ions

⇒ signal. électriq.

• destructif.

- Couple spectre de Mass GC-MS

Moult autres. . .

c) analyse.

Droites de Kovats:

pas utilisé: faire plutôt indice de Kovats.

mélange de n-alcanes (d'une famille donnée)

$$\log(t_n - t_0) = an + b.$$

t_0 retent^o de l'alcane à n atome de C

qualitativ juste au tr.

→ Figure 2.14 -

⇒ on peut donc avoir du qualitatif.

• Indices de rétention de Kovats.

utilise ce que vu précédemment pour retrouver la valeur de n pour notre alcane.

- on peut aussi faire ac aine com précédent?
- Et t_{imp} est là?
- quoi en lieu quoi laisser?

Conclusion.

Même si boîte noire on a vu comment ça fonctionne.

Même si appareil au ~~tr~~ prix très élevé très pratique à t_{imp} pour l'analyse.

CPV

tps restant : si manip fait pas
comment $\rightarrow$ change les cond ap $\rightarrow$

aug $T^0 \Rightarrow$ tps $\oplus$ court $\Rightarrow$ resche $^0 \searrow$
si besoin resche $^0 \nearrow \Rightarrow T^0 \searrow$

Analyse qualitative
I) Grandeur $\rightarrow$ ~~par~~ carac

HPLC : RT
plus mobile a modifier
identification
de suffisent

Nds HPLC.

II) Quantitatif

$\Rightarrow$ techniq de l'ing $\rightarrow$

CPV avant HPLC	
10 000 €	20 000 €
20 000	35 000

T^0 ebu. $\oplus$ plaider insister

$\hookrightarrow$ donner exp-

predic $^0 \oplus$ dur en HPLC

log(P) etc de partage.