

Méthodes de séparation analytiques

Chromatographie GC

Introduction

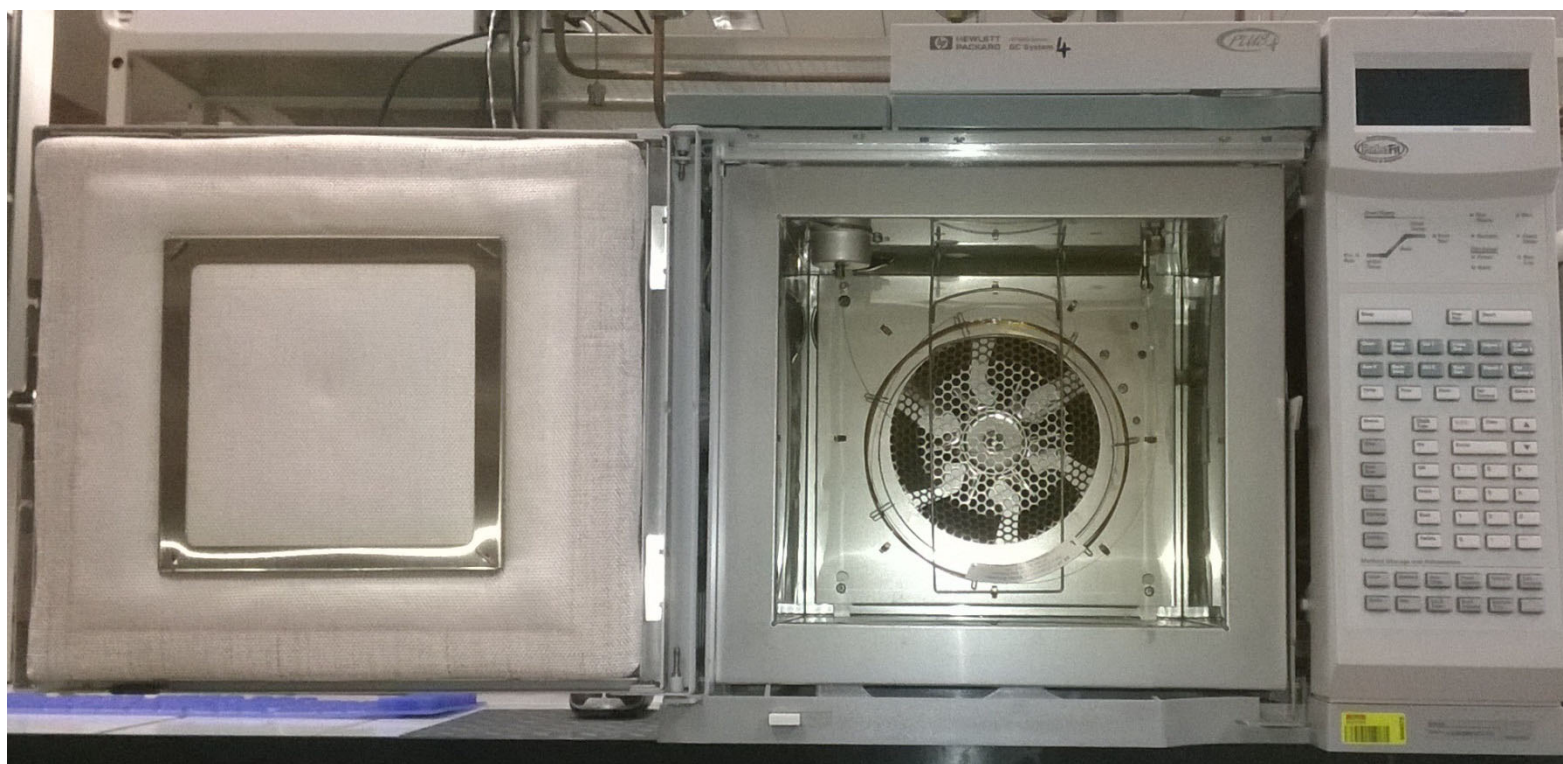
- ⇒ La chromatographie en phase gazeuse (GC) concerne la séparation de solutés à l'état gazeux.
- ⇒ C'est un type de chromatographie qui fait appel à la transformation d'état: liquide → gaz (vaporisation).
- ⇒ Il est possible d'effectuer de la GC avec des solutés solides, ils doivent être soit sublimables, soit dissous dans un solvant vaporisable.
- ⇒ Pour engager un solide pur sublimable en GC, il faut un système d'injection spécifique.
- ⇒ Dans tous les cas de figure, les solutés doivent pouvoir exister à l'état gazeux à une température ≤ 400 °C (température maximale de l'injecteur).
- ⇒ Les solutés du mélange doivent être thermiquement stables aux températures auxquelles fonctionne l'injecteur.
- ⇒ La possibilité pour un mélange de solutés d'être analysé par GC dépend grandement, hormis la stabilité thermique, de la pression de vapeur saturante des solutés composant le mélange.

Chromatographie GC



Chromatographie GC Agilent

Chromatographie GC



Domaine de la chromatographie GC

- ⇒ En conséquence, la CG concerne les solutés de faibles masses molaires et/ou les composés peu polaires. Les solutés polaires seront plus difficiles à séparer et les composés ioniques ne sont pratiquement pas séparables en GC.
- ⇒ La GC est applicable à environ 20% des composés connus.
- ⇒ Pour les composés peu volatils et/ou thermiquement instables, on peut utiliser des dérivatisations chimiques qui permettent de les engager dans une séparation par GC en améliorant la volatilité et/ou la stabilité thermique.

Chimie-physique des changements d'état

- ⇒ Pour un liquide pur A dont l'enthalpie molaire de vaporisation est $\Delta_{vap}H_{m,A}$, dans une enceinte fermée, la pression de la vapeur P_A située au-dessus du liquide varie en fonction de la température T :

$$\ln\left(\frac{P_A(T_2)}{P_A(T_1)}\right) = \frac{\Delta_{vap}H_{m,A}}{R} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right]$$

⇒ Attendu qu'il s'établit un équilibre entre la pression de la vapeur P_A de A et la pression de vapeur saturante P_A^* de A , on aura $P_A = P_A^*$:

$$\ln\left(\frac{P_A^*(T_2)}{P_A^*(T_1)}\right) = \frac{\Delta_{vap}H_{m,A}}{R} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right]$$

⇒ Le liquide A entrera en ébullition à la température $T_{eb,A}$ lorsque la pression de vapeur saturante P_A^* de A sera égale à la pression ambiante de milieu P_{amb} :

$$\ln\left(\frac{P_{amb}}{P_A^*(T_1)}\right) = \frac{\Delta_{vap}H_{m,A}}{R} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{eb,A}} \right]$$

⇒ Pour un solide A , il s'agira de la même relation exprimée en fonction de l'enthalpie molaire de sublimation $\Delta_{sub}H_{m,A}$:

$$\ln\left(\frac{P_{amb}}{P_A^*(T_1)}\right) = \frac{\Delta_{sub}H_{m,A}}{R} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{sub,A}} \right]$$

⇒ Dans le cas où l'on est en présence d'un mélange de liquides miscibles idéal dont les fractions molaires sont x_i et les pressions de vapeur saturantes P_i^* , la pression de vapeur saturante du mélange P_M^* sera à la pression totale de gaz P :

$$P = \sum_{i=1}^N x_i P_i^* = P_M^*$$

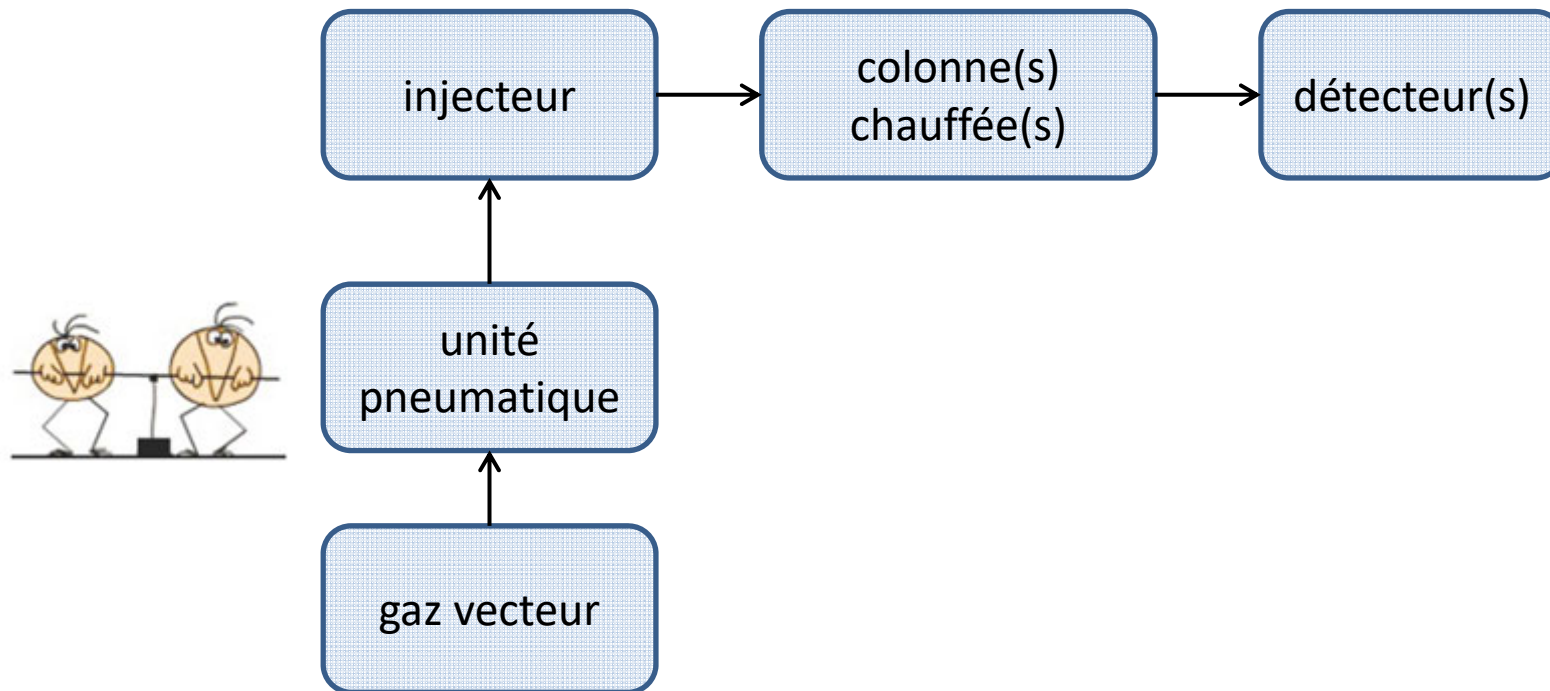
⇒ La pression de vapeur saturante du mélange P_M^* peut varier comme suit: $P_M^* < \sum x_i P_i^*$ ou $P_M^* > \sum x_i P_i^*$.

⇒ Ces déviations à l'idéalité peuvent être légères ou bien importantes comme dans les cas d'azéotropisme négatif ou positif. Il faudra faire apparaître le coefficient d'activité γ .

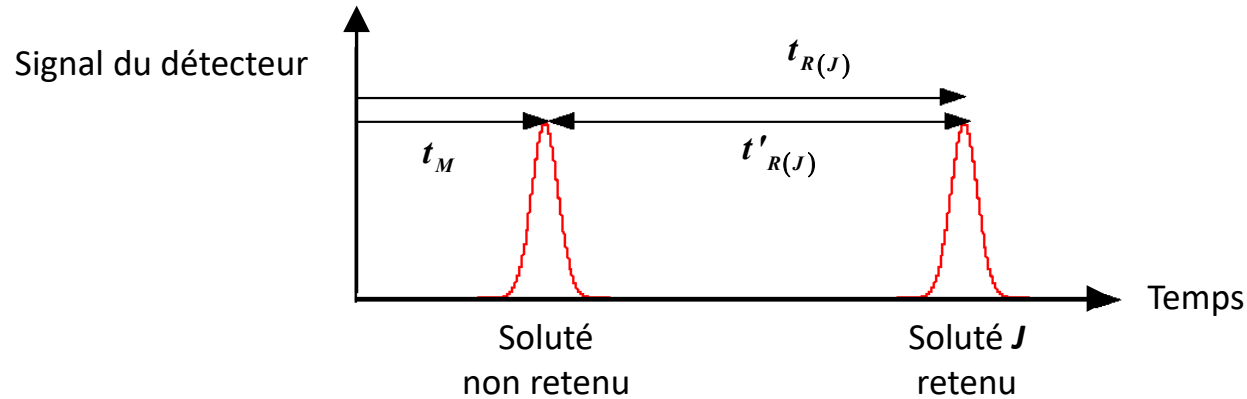
⇒ Si l'on est en présence d'un mélange de liquides non miscibles, on dissoudra ce dernier dans un solvant pour assurer l'homogénéité de l'échantillon à analyser.

⇒ Dans le cas d'un mélange de solides, il sera dans la majorité des cas dissous dans un solvant pour les mêmes raisons que celles invoquées pour les mélanges de liquides non miscibles.

Principe de la chromatographie GC



⇒ Une chromatographe GC génère un chromatogramme en temps:



Gaz vecteur et unité pneumatique

⇒ On utilise comme phase mobile les gaz suivants: H_2 , He, N_2 . Ces gaz sont appelés gaz vecteurs.

⇒ Ils proviennent soit d'un cylindre sous pression (~ 200 Bars) soit ils sont générés par des générateurs avec des débits allant de 300 à 900 $mL \cdot min^{-1}$: électrolyse de H_2O pour H_2 ou séparation des constituants de l'air pour N_2 .

⇒ Les générateurs ont l'avantage de produire sur place, en continu des gaz très purs. Ils évitent le stockage en grande quantité de gaz explosifs comme H_2 .

- ⇒ Ils doivent être exempts de toute trace d'hydrocarbures, de vapeur d'eau, de O_2 qui se comportent de façon préjudiciable pour certaines phases stationnaires polaires et qui entachent la sensibilité des détecteurs. Les détecteurs utilisés en GC ont une LOD très faible.
- ⇒ Ils sont inertes face aux solutés dû à leur structure électronique (He: gaz rare, H-H: 436 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ et $N\equiv N$: 945 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).
- ⇒ Ils sont de faible masse molaire pour minimiser leurs interactions avec la phase stationnaire.
- ⇒ La viscosité et le débit du gaz vecteur à travers la colonne ont une influence sur la dispersion des solutés dans la phase stationnaire et leur diffusion dans la phase mobile.
- ⇒ La pression en tête de colonne (quelques dizaines à quelques centaines de **kPa**) est stabilisée mécaniquement ou électroniquement (Electronic Pressure Control, *EPC*).
- ⇒ Le débit de gaz vecteur doit rester constant quelque soit la température de la colonne. Cette dernière peut être constante (mode isotherme) ou variable (mode programmation de température).

Injecteurs

Généralités

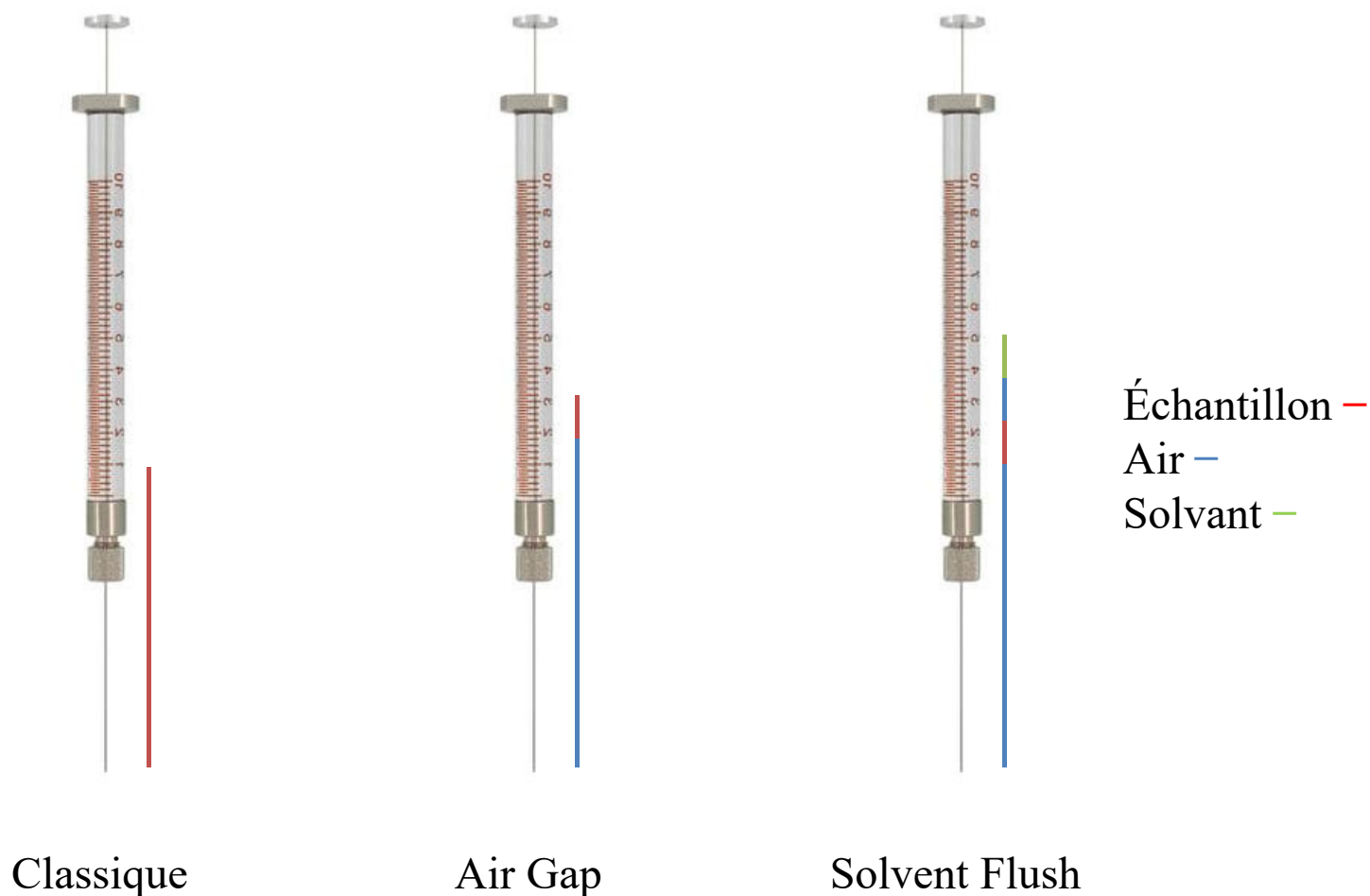
- ⇒ Lorsque l'échantillon est à l'état liquide, l'injecteur à deux fonctions: vaporiser et entraîner en tête de colonne l'échantillon mélangé au gaz vecteur.
- ⇒ La quantité d'échantillon injectée dans le GC dépendant uniquement de la précision du volume d'échantillon prélevé à l'aide d'une seringue (volume souvent inférieur à 1 μ L).
- ⇒ Si l'échantillon à analyser est gazeux à température ambiante, on utilisera des injecteurs avec une boucle d'injection.
- ⇒ La quantité d'échantillon injectée dans le GC est précise et reproductible.
- ⇒ On pourra aussi avoir recours à une technique d'adsorption-désorption réversible du gaz sur un support solide, technique TSD (Thermal Sorption Desorption).

Injection manuelle de liquides

- ⇒ L'échantillon liquide est introduit par le biais d'une seringue à travers le septum de l'injecteur. La seringue est mû manuellement.

➡ Le volume d'échantillon introduit dépend du type d'injecteur utilisé.

➡ Pour remplir la seringue on peut utiliser la méthode classique ou les méthodes "air gap" et "solvent flush".



- ⇒ Dans la technique "air gap", on remplit la seringue au-delà de la quantité à injecter, on enlève l'excès puis on remonte entièrement le liquide jusqu'à apercevoir l'air dans la seringue. L'échantillon ainsi conditionné est injecté rapidement dans le GC.
- ⇒ La technique "air gap" offre un transfert complet de l'échantillon, une meilleure répétabilité quant à la quantité d'échantillon injectée tout en prévenant de la perte des solutés volatils.
- ⇒ Dans la technique "solvent flush", on introduit successivement dans la seringue un solvant, de l'air, l'échantillon puis de l'air.
- ⇒ La technique "solvent flush" convient pour l'analyse de composés polaires pouvant s'adsorber dans la seringue en verre. La présence de solvant évite l'adsorption de ces composés.
- ⇒ Dans tous les cas de figure, la quantité injectée n'est pas toujours reproductible.

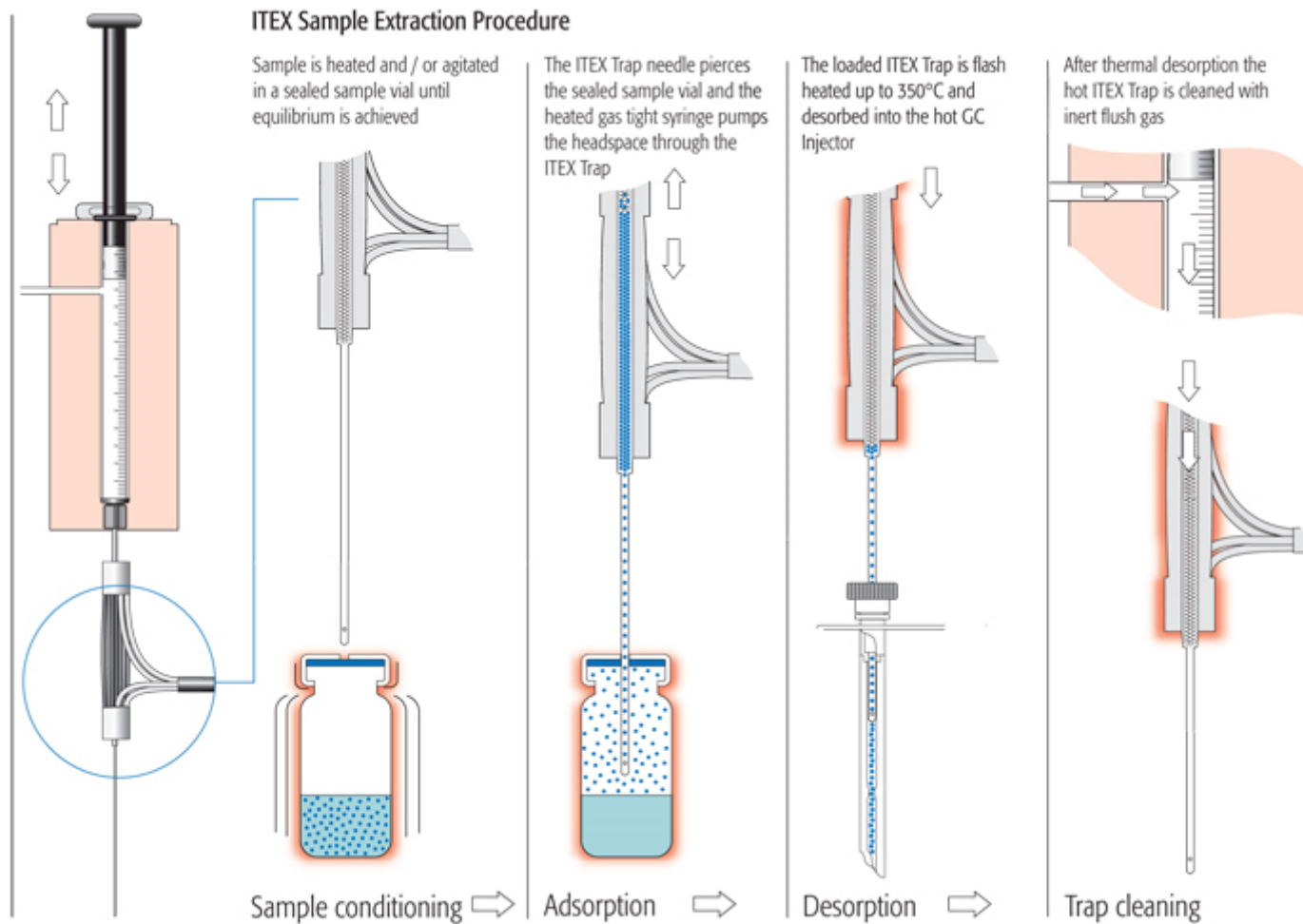
Injection automatique de liquides

- ⇒ Pour améliorer la reproductibilité d'analyse d'un échantillon liquide, on peut remplacer la main de l'opérateur par un injecteur automatique, où la seringue est mû par un moteur.

- ⇒ Dans cette configuration, les différents échantillons à analyser sont contenus dans des vials disposés dans un carrousel.
- ⇒ Un vial rempli de solution de rinçage et un autre servant aux déchets sont aussi disposés dans le carrousel pour nettoyer la seringue entre deux injections.

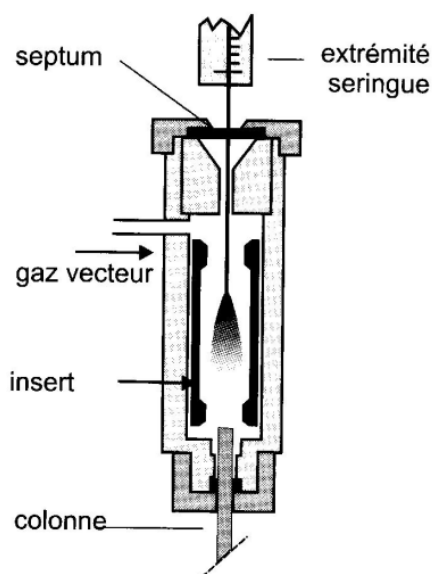
Techniques Head Space

- ⇒ Pour l'analyse d'un échantillon liquide constitué d'espèce volatiles, Il est possible de remplacer la seringue classique par des techniques "*Head Space*" statique ou dynamique.
- ⇒ Les constituants de la phase vapeur sont collectés dans la seringue et injectés.
- ⇒ Les constituants volatils peuvent être adsorbés sur une fibre située à l'intérieur de l'aiguille de la seringue "*Head Space*" puis désorbés dans l'injecteur du GC.
- ⇒ Cette technique qui s'apparente à une méthode Thermal Sorption Desorption (TSD) est appelée SPME (Solid Phase Micro Extraction). La nature chimique de la fibre peut permettre de sélectionner des composés cibles à travers une adsorption spécifique.
- ⇒ Un exemple de technique SPME est représenté ci-après:



Injecteur à vaporisation directe

⇒ L'injecteur (tube métallique) est chauffé à la température d'ébullition des échantillons à chromatographier ($\sim 250^{\circ}\text{C}$), il est balayé en continu par le gaz vecteur:

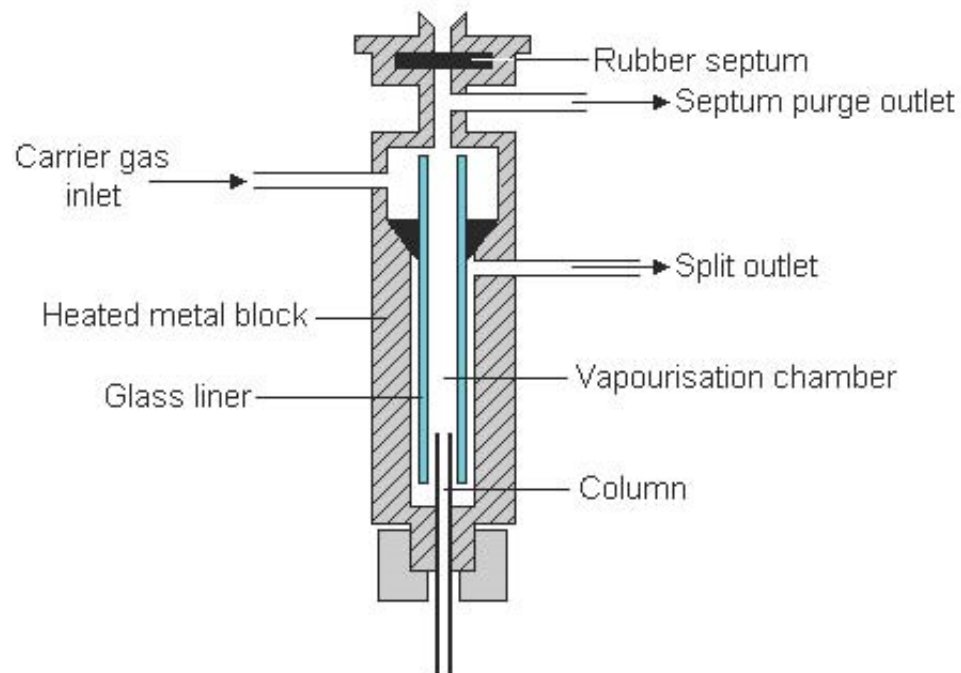


⇒ L'insert (liner) est garni de laine de verre, conducteur thermique, qui protège la colonne des produits non volatils et/ou de dégradation. La laine de verre augmente la surface de contact entre l'échantillon déposé dessus et le gaz vecteur. On améliore ainsi la vaporisation de l'échantillon.

⇒ La totalité de l'échantillon introduit est immédiatement vaporisé et entraîné dans la colonne. Cette méthode convient pour les colonnes garnies, appelées aussi colonnes remplies, et les grosses colonnes capillaires lorsque le débit du gaz vecteur atteint $8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

Injecteur avec ou sans division (split/splitless)

⇒ Pour les colonnes capillaires, à faible capacité (quelque centaines de nanogrammes), on utilise un injecteur split/splitless.



⇒ Le gaz vecteur entre dans la chambre de vaporisation avec un débit important où il se mélange à l'échantillon vaporisé.

⇒ Une vanne de fuite divise le débit en deux parts dont la plus importante est expulsée de l'injecteur (split outlet, 50 à 100 mL·min⁻¹).

⇒ L'insert (liner) est garni de laine de verre pour les mêmes raisons que précédemment.

⇒ Le rapport de split (split ratio *SR*) est compris entre 20 et 500.

$$SR = \frac{(\text{débit sortie split}) + (\text{débit sortie colonne})}{\text{débit sortie colonne}}$$

⇒ En mode split, la composition de la fraction entrant dans la colonne peut être différente de celle éliminée.

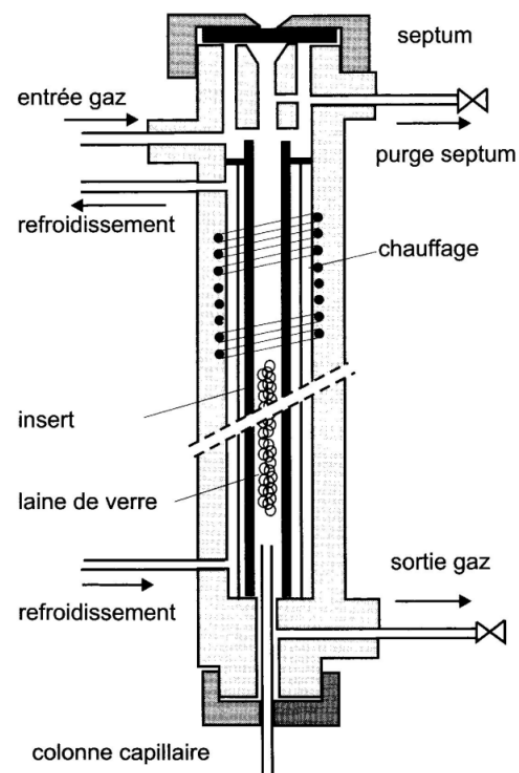
⇒ il s'agit d'une discrimination entre les composés dont les pressions de vapeurs saturantes sont très différentes.

⇒ Pour ce type d'injection, lors d'un étalonnage interne, la nature chimique de l'étalon doit être choisie judicieusement.

⇒ Ce type d'injecteur peut fonctionner en mode splitless, mode d'injection réservé aux échantillons très dilués et aux techniques *Head Space*.

Injecteur à température programmable (Programmed Temperature Vaporiser PTV)

⇒ La conception est analogue à celle de l'injecteur split/splitless. La température de la chambre de vaporisation peut varier de 20 à plus de 300 °C en quelques dizaines de secondes.



⇒ Le principal intérêt réside en l'élimination sélective du solvant de l'échantillon et/ou des composés à bas point d'ébullition.

⇒ Ceci permet donc d'utiliser de plus gros volumes d'échantillon très dilué sans perdre de signal dû à la dilution car on concentre l'échantillon par élimination sélective du solvant.

⇒ Le prélèvement d'un volume plus important d'échantillon s'accompagne d'une meilleure précision.

⇒ L'insert (liner) est garni de laine de verre pour les mêmes raisons que précédemment.

⇒ *Injection split/ splitless à chaud*: l'échantillon est injecté dans la chambre de vaporisation à haute température, le fonctionnement est identique à celui de l'injecteur split/splitless classique.

⇒ *Injection split/ splitless à froid*: l'échantillon est injecté dans la chambre de vaporisation à température ambiante.

⇒ Split: La vanne de split est ouverte et l'injecteur est chauffé. Comme l'échantillon n'est pas vaporisé instantanément, les composés pénètrent par ordre de température d'ébullition dans la colonne. Il n'y a pas de surcharge de cette dernière.

⇒ Splitless: C'est un procédé identique où la vanne de split est fermée durant l'injection. On l'utilise pour l'analyse des traces.

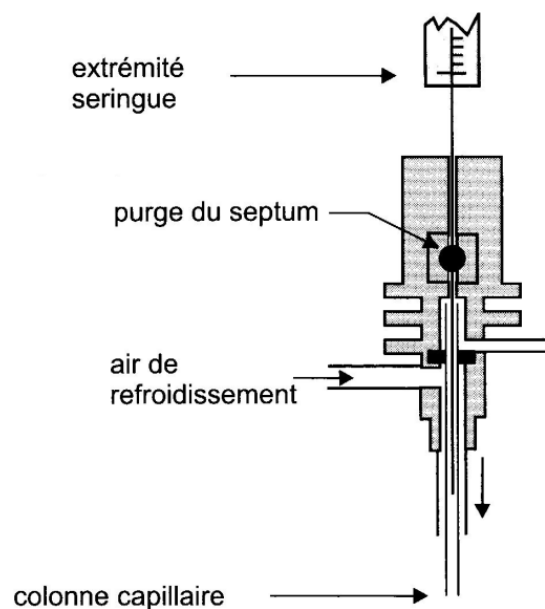
⇒ *Injection avec élimination de solvant*: l'échantillon est injecté dans la chambre de vaporisation à température ambiante.

⇒ La vanne de split s'ouvre, le débit de fuite est très élevé, jusqu'à $1000 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ pour éliminer tout le solvant.

⇒ La vanne de split se ferme puis l'injecteur est chauffé pour transférer les solutés moins volatils dans la colonne. On peut ainsi injecter jusqu'à $50 \text{ } \mu\text{L}$ d'un mélange de solutés très dilués dans un solvant très volatil.

Injecteur sans chambre de vaporisation (Cold On Column Injector)

- ⇒ L'échantillon est déposé par une seringue directement dans la colonne sans vaporisation (la seringue est refroidie à 40°C).
- ⇒ Il s'agit d'une micro-seringue dont le diamètre de l'aiguille (en acier ou silice) est de l'ordre de 0,15 mm de diamètre.



⇒ Après dépôt de l'échantillon dans la colonne à froid, au fur et à mesure de l'élévation de la température de la colonne, la pression de vapeur saturante des solutés augmente et par conséquent, la vitesse du transport des solutés dans la colonne augmente aussi.

⇒ Par rapport aux injecteurs à haute température, il n'y a pas de discrimination des solutés car même les moins volatils sont déposés dans la colonne (pas de soluté peu volatil prisonnier et/ou qui se décompose dans la chambre de vaporisation).

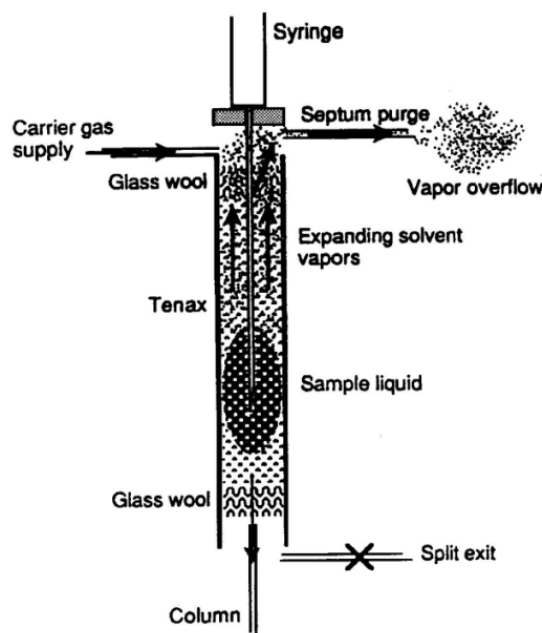
- ⇒ Ce procédé convient parfaitement aux échantillons contenant des solutés thermolabiles et/ou des solutés à très haut point d'ébullition.
- ⇒ Ce type d'injection diminue la durée de vie de la colonne car on fait pénétrer la seringue dans la colonne.
- ⇒ Il faut choisir une colonne dont la phase stationnaire est réticulée pour résister aux hautes températures utilisées pour la nettoyer afin d'éliminer les espèces à haut point d'ébullition piégées dans celle-ci.
- ⇒ La réticulation de la phase stationnaire autorise aussi un lavage à froid avec des solvants organiques.
- ⇒ Ce type de colonne peut et doit être régulièrement lavée (à température ambiante) avec des solvants pour éliminer les composés à haut point d'ébullition qui ne peuvent être éliminés par forte élévation de température et qui peuvent être thermo-convertis en produits insolubles, non pyrolysables et/ou non désorbables de la phase stationnaire.

Injecteurs à grand volume

⇒ Il s'agit d'une injection de volumes allant de 10 à 1000 μL .

↪ Injection *PTV en mode split*: On peut avoir recours à de multiples injections suivies systématiquement d'une étape de concentration par élimination de l'important volume de solvant par le split vent.

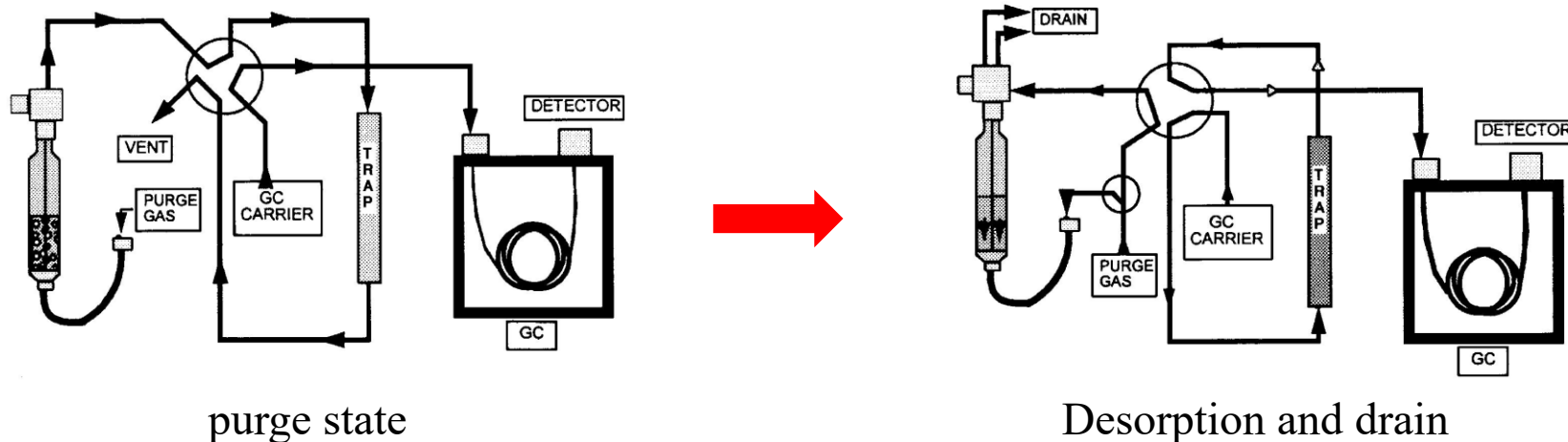
↪ Injection par *vapor overflow*: Il s'agit d'une technique dérivée de l'injection *PTV*. La seule différence réside en l'utilisation du septum purge au lieu du split vent pour éliminer le solvant.



⇒ Injection *on-column*: On ajoute en amont de la colonne une pré-colonne de rétention (tube désactivé de 1 à 15 m de long, 0,32 mm de diamètre interne) dans laquelle l'échantillon est injecté. Après injection, la température de l'ensemble colonne / précolonne croît, le solvant est vaporisé puis chassé du système à l'aide d'un split situé entre la précolonne et la colonne. Après élimination du solvant, le split se ferme puis la température croît de nouveau pour vaporiser les solutés d'intérêt.

Injecteurs pour les échantillons gazeux

⇒ Lorsque l'échantillon à analyser est gazeux, on peut utiliser une trappe à gaz (purge-and-trap sampling).



Les liners (inserts)

⇒ Un liner (insert) n'est pas universel, il en existe plusieurs types.

⇒ Ci-dessous, quelques liners commerciaux:



⇒ Le liner peut être considéré comme un réacteur dans lequel, l'échantillon liquide qui y est déposé doit se vaporiser et se mélanger au gaz vecteur.

⇒ Le liner doit assumer plusieurs fonctions:

↪ Vaporiser rapidement et de façon uniforme l'échantillon analysé.

↪ Transférer de façon efficace l'échantillon vaporisé et correctement mélangé au gaz vecteur dans la colonne chromatographique. Si le transfert de l'échantillon du liner à la colonne chromatographique n'est pas optimum, alors, des phénomènes de tailing et/ou de splitting des pics chromatographiques peuvent se produire.

⇒ Le choix du liner sera guidé par les critères suivants:

↪ Le liner ne doit pas engendrer d'interaction spécifique avec l'échantillon analysé car le transfert du liner à la colonne chromatographique ne serait pas optimal. Dans le pire des cas un ou plusieurs soluté(s) serait(ent) piégé(s) sans être analysé(s). L'image du mélange analysé serait biaisée.

↪ Dans des cas spécifiques, on peut choisir un liner capable de retenir sélectivement un soluté interférant.

↪ Le liner doit avoir un volume compatible avec le volume de vapeur générée lors de la vaporisation de l'échantillon liquide.

↪ Un guide de sélection des liners "liners guide" est donné dans les compléments de cours.

Choisir une méthode d'injection

⇒ Le choix d'une méthode d'injection est relative à la nature et aux volumes des échantillons à analyser:

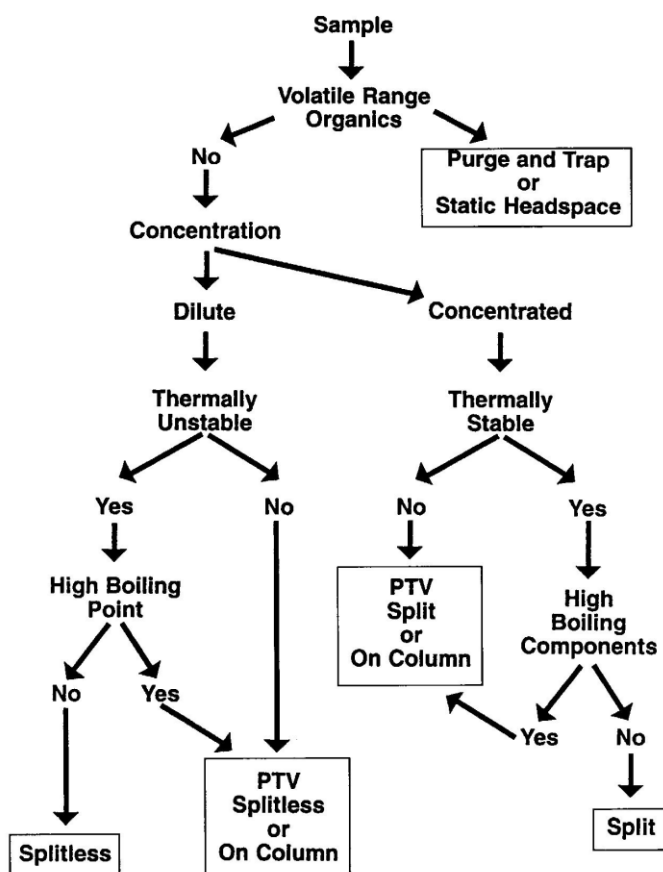


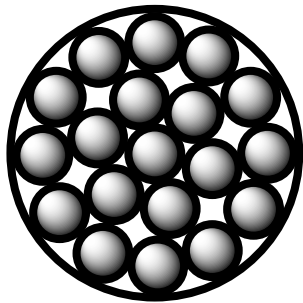
Tableau 9.1 Systèmes d'injection utilisés en chromatographie en phase gazeuse capillaire

Nom	Volume de l'échantillon (μL)	Concentration	Application
Avec division de flux	0,1–2	élevée	générale
Sans division de flux	0,5–10	faible–traces	solutions diluées
Directe à froid sur colonne	1,0–500	faible–traces	concentrations faibles "délicates"
Vaporisation à température programmée	1,0–50	faible–élevée	espèces thermiquement instables
Désorption thermique	non applicable	faible	gaz et vapeurs piégés,
Pyrolyse	10 μg à 1 mg	élevée	polymères, biopolymères

La colonne chromatographique: caractéristiques physiques

Colonnes garnies

- ⇒ Les colonnes garnies ou colonnes remplies sont constituées d'un tube d'acier ou de verre d'un diamètre de 3,18 ou 6,35 mm de diamètre et d'une longueur de 1 à 3 m.
- ⇒ La paroi interne du tube est traitée pour éviter tout éventuel effet catalytique sur l'échantillon à analyser.
- ⇒ Ces colonnes sont remplies par une phase stationnaire immobilisée par imprégnation ou par réaction chimique sur un support poreux. Le rapport de phase β varie entre 10 et 100.



- ⇒ Le support poreux de la phase stationnaire est généralement constitué de diatomites, silicates fossiles (Chromosorb®). D'autres supports synthétiques constitués de petites sphères de silice ont été développés (Spherosil®).

- ⇒ Tous ces supports possèdent des groupes silanols en surface qui permettent le greffage de la phase stationnaire. Le taux de greffage du support par la phase stationnaire peut varier de 3 à 25%.
- ⇒ Les supports poreux ont une surface spécifique de 2 à 8 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, les particules qui le composent ont un diamètre d'environ 0,2 mm.
- ⇒ Ces colonnes supportent un débit de gaz vecteur de 10 à 40 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$.
- ⇒ Ces colonnes ne sont pas adaptées à l'analyse des traces, ce qui reste l'axe de développement majeur de la chromatographie GC. Ce genre de colonne est réservée à l'analyse des gaz et des alcanes de C_1 à C_5 .

Colonnes capillaires

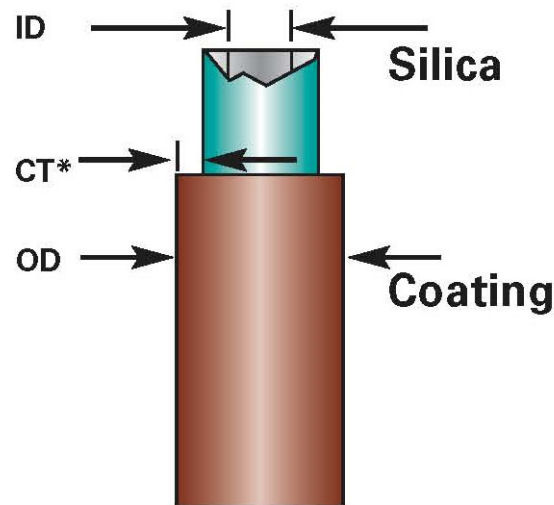
- ⇒ Les colonnes capillaires sont formées par des capillaires de silice fondue (SiO_2) de très grande pureté (combustion de SiCl_4 sous atmosphère de O_2).
- ⇒ Les longueurs sont comprises entre 10 et 100 m, voire 200 m dans certains spécifiques. Les colonnes classiques font entre 25 et 30 m.

⇒ Suivant le diamètre du capillaire (0,1 - 0,75 mm), on définit différents types de colonne:

⇒ Les colonnes *wide bore*: ID de 0,53 à 0,75 mm

⇒ Les colonnes *narrow bore*: ID \leq 0,32 mm

⇒ Les colonnes *micro bore*: ID \leq 0,18 mm



⇒ le capillaire de silice fait 50 μ m d'épaisseur.

⇒ Ces colonnes sont revêtues d'un film polymère en polyimide (brun), polymère thermiquement stable jusqu'à 370°C au maximum.

⇒ Ce film diminue la fragilité des colonnes, ce qui leur permet d'être enroulées sur elles-mêmes.

⇒ Quelques fabricants proposent des colonnes à base de capillaires en métal: Aluminium, Nickel, Acier, qui acceptent des températures allant jusqu'à 450°C si la phase stationnaire le permet.

- ⇒ La paroi interne des capillaires subit un traitement chimique pour favoriser l'accroche de la phase stationnaire.
- ⇒ Il s'agit d'un traitement chimique par HCl à 350°C ou d'un dépôt d'une fine couche d'alumine ou de gel de silice.
- ⇒ La phase stationnaire est imprégnée sur la paroi interne du capillaire modifié avec une épaisseur variant entre 0,05 à 5 μm . Le rapport de phase β varie entre 100 et 1000.
- ⇒ L'imprégnation de la phase stationnaire sur le capillaire modifié peut être réalisée par simple dépôt (interactions faibles), greffage (liaisons covalentes) qui peut être suivit d'une réaction de polymérisation et réticulation (si nécessaire).
- ⇒ Il s'agit ici de l'injection d'une phase stationnaire en solution dans un solvant qui génère le film de phase stationnaire après évaporation du solvant.
- ⇒ Cette imprégnation peut être aussi réalisée à partir d'une solution de monomères qui après dépôt /évaporation du solvant sera suivie d'une réaction de polymérisation et réticulation (si nécessaire) *in situ*.

⇒ On définit plusieurs types de colonnes en fonction du dépôt de la phase stationnaire:

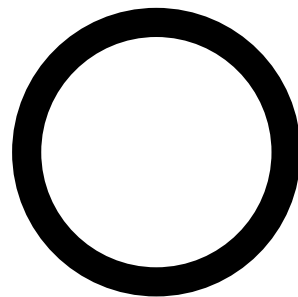
⇒ WCOT (Wall Coated Open Tubular): Phase stationnaire liquide déposée

⇒ SCOT (Support Coated Open Tubular): Phase stationnaire imprégnée sur support solide

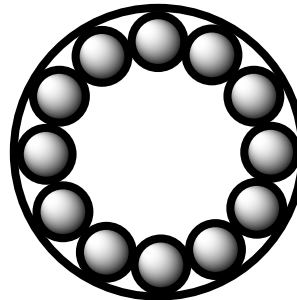
⇒ PLOT (Porous Layer Open Tubular): Phase stationnaire solide poreuse déposée

⇒ Le terme WCOT est souvent réservé aux colonnes capillaires dont le matériau de colonne est un tube en acier, en aluminium, en cuivre ou en verre.

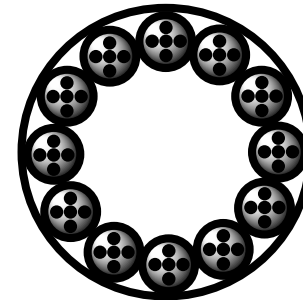
⇒ Les colonnes WCOT basées sur un capillaire de silice fondue, sont souvent appelées FSOT (Fused Silica Open Tubular) ou FSWCOT (Fused Silica Wall Coated Open Tubular).



WCOT



SCOT



PLOT

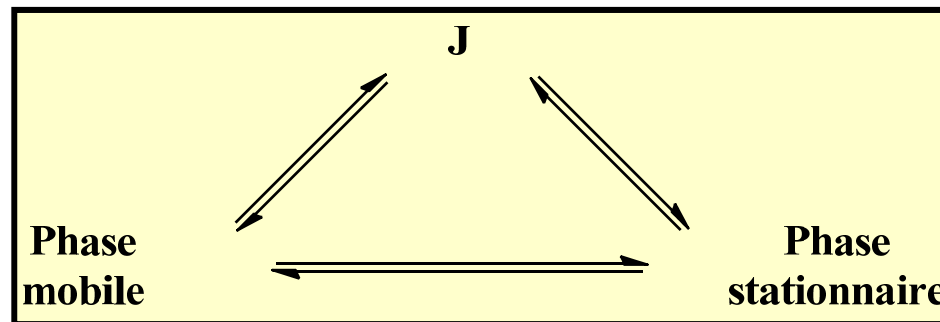
Comparaison entre colonnes garnies et colonnes capillaires

- ⇒ Pour les colonnes garnies, le diamètre des particules est d'environ 200 μm . On observe une perte de charge obéissant à la loi de Darcy.
- ⇒ Dans le cas des colonnes capillaires, il s'agit d'un film formé de petite particules qui ne se situent que sur le pourtour de la colonne. La majeure partie de la colonne est vide. La perte de charge est moindre.
- ⇒ Due à la faible viscosité du gaz vecteur, on observe pour une colonne remplie standard un ΔP d'environ 1 à 2 bars et un ΔP d'environ 0,5 bar pour une colonne capillaire.

	WCOT	SCOT	PLOT	Garnie
Longueur (m)	10-100	10-100	5-100	1-6
ID (mm)	0,1-0,75	0,50	0,25-0,53	2-4
Plateaux théoriques / m	1000-4000	600-1200	5000	500-1000
Echantillon (ng)	10-1000	10-1000	0,1-10	10-10 ⁶
Pression relative	basse	basse	moyenne	haute
Vitesse linéaire (cm·s ⁻¹)	20-30	20-30	20-30	2-5

La colonne chromatographique: principes de rétention

⇒ Les principes de rétention thermodynamiques pour une colonne garnie ou PLOT sont décrits ci-après:



⇒ L'interaction entre la phase mobile et le soluté **J** est négligeable car il s'agit d'une part d'une interaction entre deux gaz totalement miscibles entre eux et d'autre part d'une interaction faisant intervenir un gaz inerte, le gaz vecteur.

⇒ D'un point de vue rétention on peut écrire pour un soluté **J**:

$$k'_{(J)} = \frac{V_{R(J)} - V_M}{V_M} = K_{D(J)} \frac{V_S}{V_M} \Rightarrow V_{R(J)} = V_M + K_{D(J)} V_S$$

⇒ Pour les colonnes garnies et PLOT, les volumes effectifs et physiques des phases stationnaire et mobile sont égaux:

$$V_{R(J)} = V_M + K_{D(J)} V_S = V_{mo} + K_{D(J)} V_{st}$$

⇒ En exprimant $V_{R(J)}$ en fonction de V_{mo} , $K_{D(J)}$ et du rapport de phase β , on obtient:

$$V_{R(J)} = V_{mo} + K_{D(J)} V_{mo} \beta^{-1} = V_{mo} \left(1 + K_{D(J)} \beta^{-1} \right) \text{ avec } \beta = \left(\frac{V_{mo}}{V_{st}} \right)$$

⇒ Comme $V_{mo} = V_M$, la constante de distribution $K_{D(J)}$ peut être calculée comme suit:

$$V_{R(J)} = V_M \left(1 + K_{D(J)} \beta^{-1} \right)$$

$$K_{D(J)} = \left(\frac{V_{R(J)} - V_M}{V_M} \right) \beta = \left(\frac{t_{R(J)} - t_M}{t_M} \right) \beta$$

⇒ Pour une colonne garnie, l'équation de Van Deemter s'écrit comme suit. Dans cette expression, ω est une constante qui dépend de la géométrie et de la capacité de la colonne.

$$H = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_{M(J)}}{\bar{u}} + \frac{\omega d_f^2}{D_{S(J)}} \bar{u}$$

⇒ Si l'on travaille avec une colonne WCOT ou SCOT, la phase stationnaire est constituée par un film de liquide visqueux dans lequel le gaz vecteur est peu voire pas soluble (surtout à haute température pour un gaz de faible masse molaire).

⇒ Dans ce cas, comme l'interaction entre le gaz vecteur et le soluté est toujours négligeable, il ne subsiste que l'interaction entre la phase stationnaire et le soluté J .



⇒ Pour les colonnes WCOT et SCOT, on aura aussi:

$$V_{R(J)} = V_M + K_{D(J)} V_S = V_{mo} + K_{D(J)} V_{st}$$

$$V_{R(J)} = V_M \left(1 + K_{D(J)} \beta^{-1} \right)$$

$$K_{D(J)} = \left(\frac{V_{R(J)} - V_M}{V_M} \right) \beta = \left(\frac{t_{R(J)} - t_M}{t_M} \right) \beta$$

⇒ Pour une colonne capillaire, l'équation de Van Deemter est connu sous le nom d'équation de Golay (inventeur des colonnes capillaires pour GC):

$$H = \frac{2D_{M(J)}}{\bar{u}} + \frac{\left(1 + 6k'_{(J)} + 11k'_{(J)}{}^2 \right)}{\left(1 + k'_{(J)} \right)^2} \times \frac{r_c^2}{24D_{M(J)}} \bar{u} + \frac{2}{3} \times \frac{k'_{(J)}}{\left(1 + k'_{(J)} \right)^2} \times \frac{d_f^2}{D_{S(J)}} \bar{u}$$

⇒ En prenant en compte la compressibilité des gaz par rapport au liquides incompressibles, on obtient pour une colonne capillaire l'équation de Giddings:

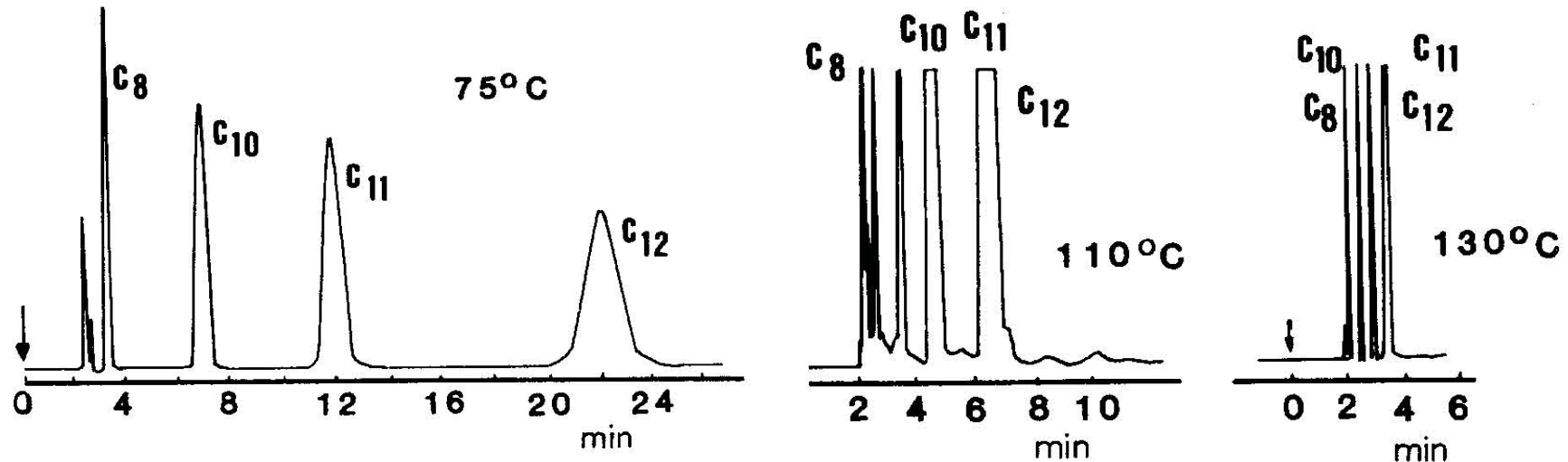
$$H = \frac{2D_{M(J)}jj''}{\bar{u}} + \frac{(1 + 6k'_{(J)} + 11k'_{(J)}{}^2)}{(1 + k'_{(J)})^2} \times \frac{r_c^2 j}{24D_{M(J)}j''} \bar{u} + \frac{2}{3} \times \frac{k'_{(J)}}{(1 + k'_{(J)})^2} \times \frac{d_f^2}{D_{S(J)}} \bar{u}$$

⇒ Dans cette expression, j et j'' sont les facteurs de James. Ils sont exprimés en fonction des pressions d'entrée (P_i) et de sortie (P_o) de la colonne chromatographique:

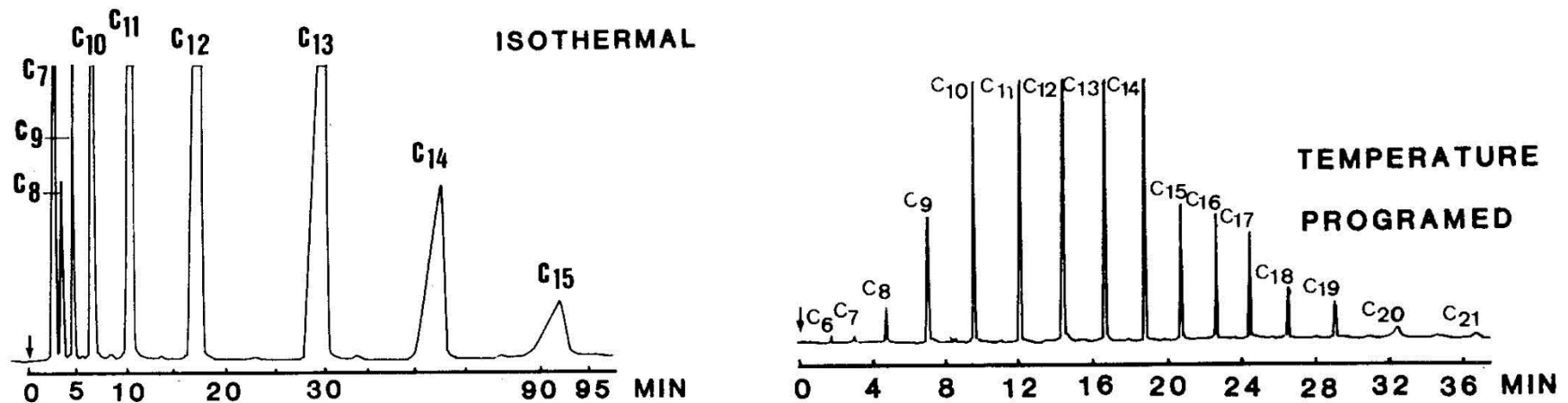
$$j = \frac{3}{2} \times \left[\frac{\left(\frac{P_i}{P_o}\right)^2 - 1}{\left(\frac{P_i}{P_o}\right)^3 - 1} \right] \quad \text{et} \quad j'' = \frac{9}{8} \times \left[\frac{\left(\left(\frac{P_i}{P_o}\right)^4 - 1\right) \times \left(\left(\frac{P_i}{P_o}\right)^2 - 1\right)}{\left(\left(\frac{P_i}{P_o}\right)^3 - 1\right)^2} \right]$$

La colonne chromatographique: température

- ⇒ Le chromatographe possède un four qui permet de chauffer la colonne jusqu'à plus de 400°C.
- ⇒ Le four présente une très bonne stabilité à $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ainsi qu'une faible inertie thermique qui permet une montée rapide et contrôlée en température jusqu'à $100^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ voire $180^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pour la chromatographie rapide .
- ⇒ Le four peut être équipé d'une vanne cryogénique alimentée par N_2 ou CO_2 liquide qui permet d'atteindre de basses températures.
- ⇒ En GC, la température est un paramètre important. La séparation peut se faire en mode isotherme ou en mode gradient de température (programmation de température).
- ⇒ En mode isotherme, les premiers pics sont intenses, étroits et serrés, tandis que les derniers sont moins intenses, larges et très espacés.
- ⇒ Les solutés à hauts points d'ébullition ne sont souvent pas détectés car leur affinité pour la phase stationnaire est si grande qu'ils sont presque totalement immobilisés en début de colonne surtout si la température de cette dernière est relativement basse.



- ⇒ En mode gradient (programmation de température), on élève la température de la colonne au cours de l'analyse.
- ⇒ On peut procéder avec des montées et des plateaux de température pour ajuster au mieux les conditions chromatographiques à la séparation des solutés d'un échantillon.
- ⇒ Cette technique permet de séparer des solutés plus rapidement qu'en mode isotherme tout en balayant une plus large gamme de points d'ébullition. Le chromatogramme résultant présente des pics plus fins et plus intenses, plus facilement qualifiables et quantifiables.



⇒ Quel que soit le mode de température, les temps de rétentions sont plus courts lorsque la température augmente:

$$\ln k'_{(J)} = -\frac{\Delta_D G^0_{(J)}}{RT} + \ln \Phi_{SM} = -\frac{\Delta_D H^0_{(J)}}{RT} + \frac{\Delta_D S^0_{(J)}}{R} + \ln \Phi_{SM} = \frac{a}{T} + b$$

↪ La constante a est positive, la réaction de partage est exothermique, sous contrôle enthalpique.

$$K_{D(J)} = \exp\left(-\frac{\Delta_D G^0_{(J)}}{RT}\right) \approx \exp\left(-\frac{\Delta_D H^0_{(J)}}{RT}\right)$$

La colonne chromatographique: phases stationnaires

⇒ Il existe différents types de phases stationnaire à base de silicone (polysiloxane $-\text{[O-Si(R)}_2\text{-O]}_n\text{-[O-Si(R')}_2\text{-O]}_n\text{-}$) ou polyethylene glycole ($\text{OH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-[O-CH}_2\text{-CH}_2\text{]}_n\text{-OH}$) voir polyester.

⇒ L'efficacité de la phase stationnaire, en terme de nombre de plateaux théoriques par mètre, décroît selon la série:

(Polydiméthylsiloxane: PDMS) = (5% diphenyl / 95% PDMS) > (12-14% phénylcyanopropyle / 86-88% PDMS) > (24-28% phenylcyanopropyle / 72-76% PDMS) = (25% trifluoropropyle / 75% PDMS) > (50% phenylcyanopropyle / 50% PDMS) = (polyéthylène glycole).

⇒ L'efficacité est meilleure pour les colonnes apolaires et diminue avec l'augmentation de la polarité de la phase stationnaire. Les phases polyesters sont considérées comme les phases stationnaires commerciales les plus polaires.

⇒ En général, les phases stationnaires apolaires procurent une durée de vie plus longue aux colonnes et doivent être utilisées dès que possible.

- ⇒ Dans le cas des phases stationnaires polysiloxanes, les Si-OH terminaux sont modifiés par *endcapping*.
- ⇒ Pour augmenter la résistance thermique et à l'oxydation des phases polysiloxanes, on peut incorporer des groupes aryls Ar ($-\text{C}_6\text{H}_4-$, $-\text{C}_6\text{R}_4-$, ...) dans la chaîne siloxane: $-\text{[O-Si(R)}_2\text{-O]}_n\text{-Ar-[O-Si(R')}_2\text{-O]}_n-$. Ces Phases stationnaires sont dénommée "MS" ou "XLB".
- ⇒ On peut aussi réticuler les phases stationnaires polysiloxanes afin de leur donner une résistance chimique et mécanique plus importante.

Composition of Selected Stationary Phases

Phase	CH ₃ ^a (%)	Phenyl (%)	CNPr ^b (%)	Other
SE-30, OV-101, DB-1	100	0	0	0
SE-54, DB-5	94	5	0	1% vinyl
OV-17, DB-17	50	50	0	0
OV-210, DB-210	50	0	0	50% TFP ^c
OV-225, DB-225	50	25	25	0
DB-1301	94	1	1	0
OV-1701, DB-1701	88	6	6	0
SP-2330, DB-2330	25	0	75	0

^aIn the bonded (DB) polysiloxane phases, the percent CH₃ figure is nominal; a few of the bonds indicated as methyl exist as crosslinks or surface bonds.

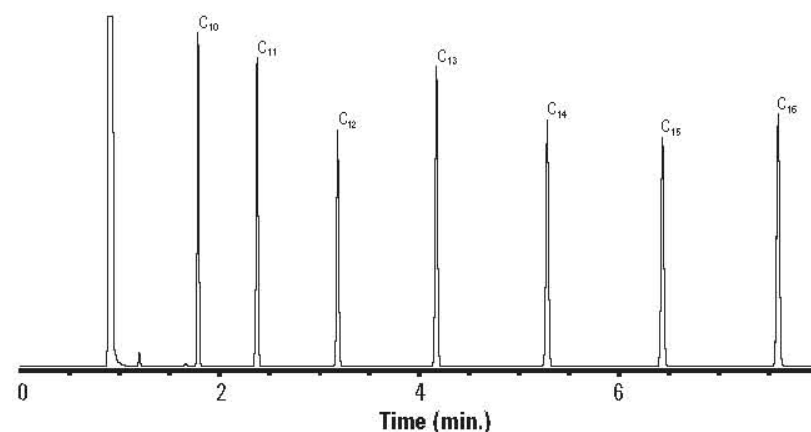
^bCyanopropyl.

^cTrifluoropropyl.

- ⇒ Les phases stationnaires à base de polyéthylène glycole sont appelées carbowax, ce sont des polymères dont la masse molaire moyenne est de l'ordre de $20000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.
- ⇒ Ces carbowax sont sensibles à l'oxydation, surtout à haute température. Le gaz vecteur utilisé doit être absent de toute trace d'oxygène.
- ⇒ Les figures ci-après mettent en évidence la relation polarité /efficacité de séparation en fonction de la nature chimique des solutés à séparer.
- ⇒ Analyses de composés standards:

Colonne : DB-1, 15 m x 0,25 mm de d.i., 0,25 μm

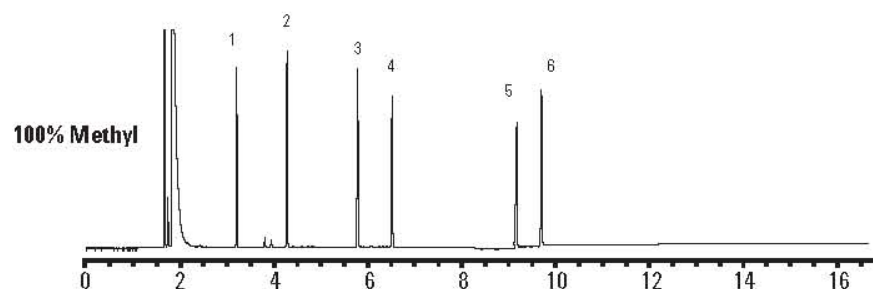
	Point d'ébullition ($^{\circ}\text{C}$)
1. n-décane (C10)	174
2. n-undécane (C11)	196
3. n-dodécane (C12)	216
4. n-tridécane (C13)	234
5. n-tétradécane (C14)	253
6. n-pentadécane (C15)	268
7. n-hexadécane (C16)	287



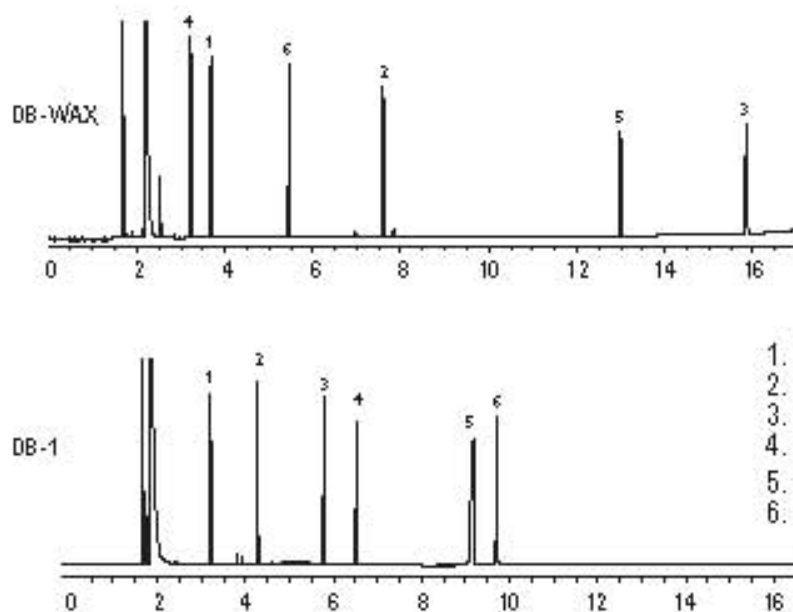
Séries homologues d'hydrocarbures. Les composés éluent dans l'ordre croissant des points d'ébullition ; les pics ne sont toutefois pas espacés proportionnellement à leurs points d'ébullition respectifs.

Colonne : DB-1, 30 m x 0,25 mm de d.i., 0,25 µm

	Points d'ébullition, °C
1. Toluène	111
2. Hexanol	157
3. Phénol	182
4. Décane (C10)	174
5. Naphtalène	219
6. Dodécane (C12)	216

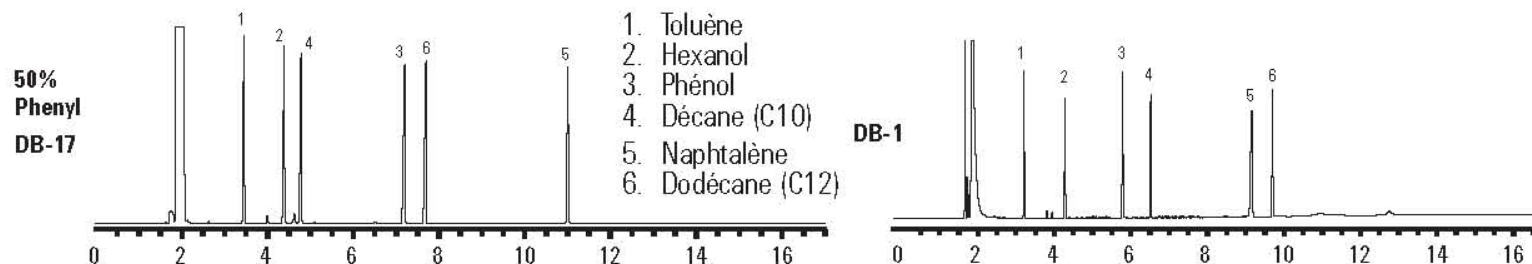


Les composés hors des séries homologues n'éluent pas dans l'ordre des points d'ébullition.



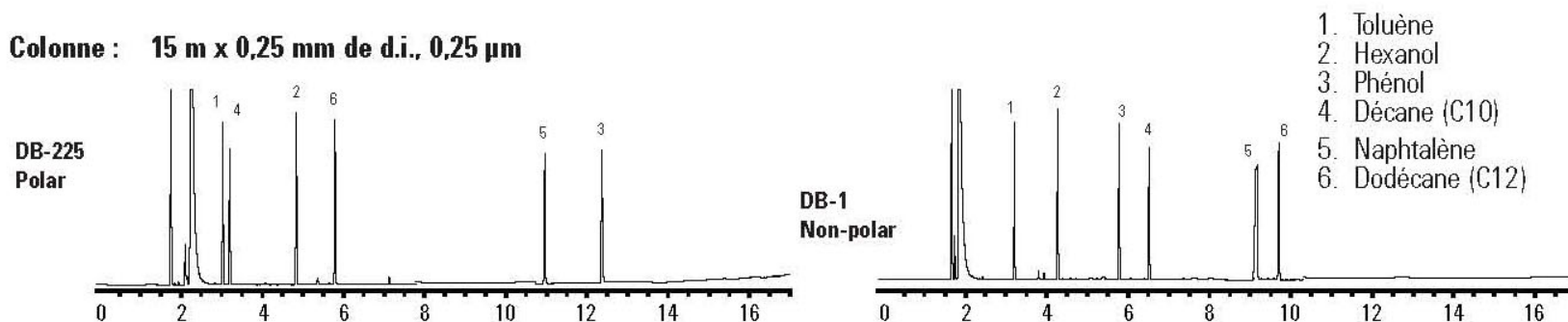
La DB-1 ne subit aucune interaction de type liaison hydrogène. La modification de l'ordre d'élution de l'hexanol et du phénol avec la DB-WAX est une combinaison des interactions dipolaires et de type liaison hydrogène.

Colonne : 15 m x 0,25 mm de d.i., 0,25 µm



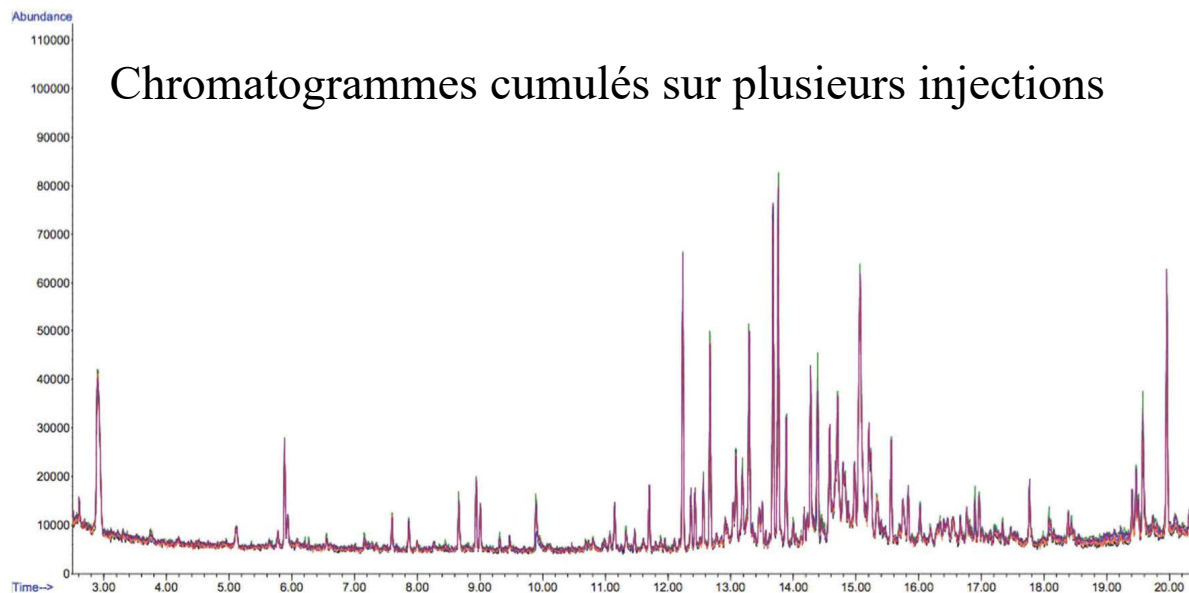
Les composés aromatiques ont une plus grande rétention que les hydrocarbures pour les colonnes DB-17. La DB-17 contient 50 % de substitution de phényle. La DB-1 ne contient aucune substitution de phényle.

Colonne : 15 m x 0,25 mm de d.i., 0,25 µm



Les alcools (polaires) ont une plus grande rétention que les hydrocarbures (non polaires) pour la colonne DB-225. La DB-225 est plus polaire que la DB-1.

Analyse de BHO par GC-MS:

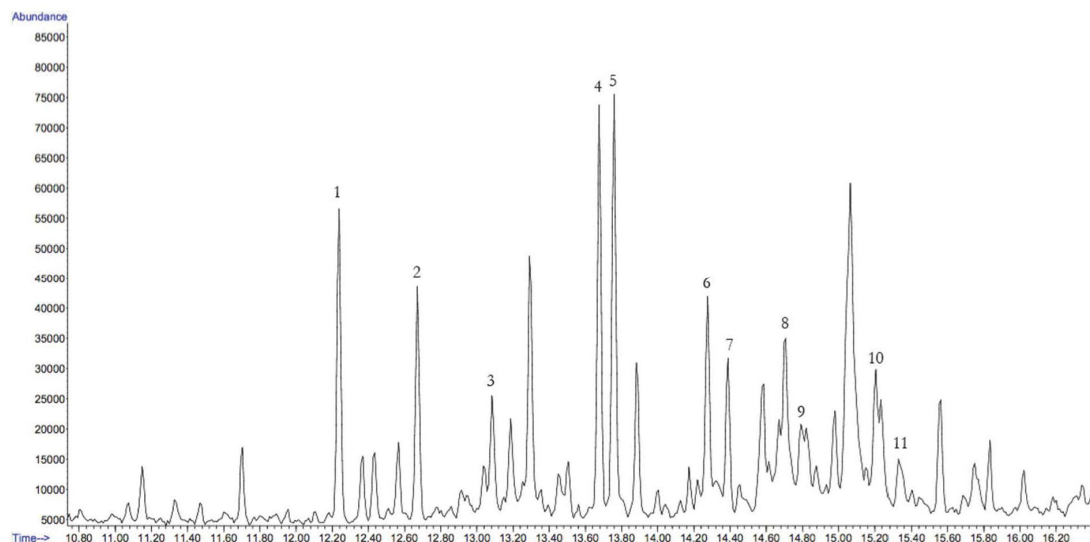


Bonne reproductibilité

Colonne HP5-MS (30 m×0,25 mm×0,25 µm)

Paramètres d'injection	
Volume injecté	2 µl
Température injecteur	280°C
Mode d'injection	Split (1 :20)
Paramètres de séparation	
Gaz vecteur	Hélium
Flux	1 ml/min
Temps d'analyse	32 minutes
Programme de température	50°C pendant 1 minute monter à 260°C à 10°C/minute puis isotherme à 260°C pendant 10 minutes Post run à 300°C pendant 5 minutes
Paramètres MS	
Température de la ligne de transfert	250°C
Température de la source d'ionisation	250°C
Température du quadropôle	150°C
Mode d'acquisition	Scan
EMV	1906V
Range m/z	30-450 m/z

Tableau 1: Paramètres d'analyse GC-MS



Zoom sur la zone: 11 – 17 min

Composés identifiés

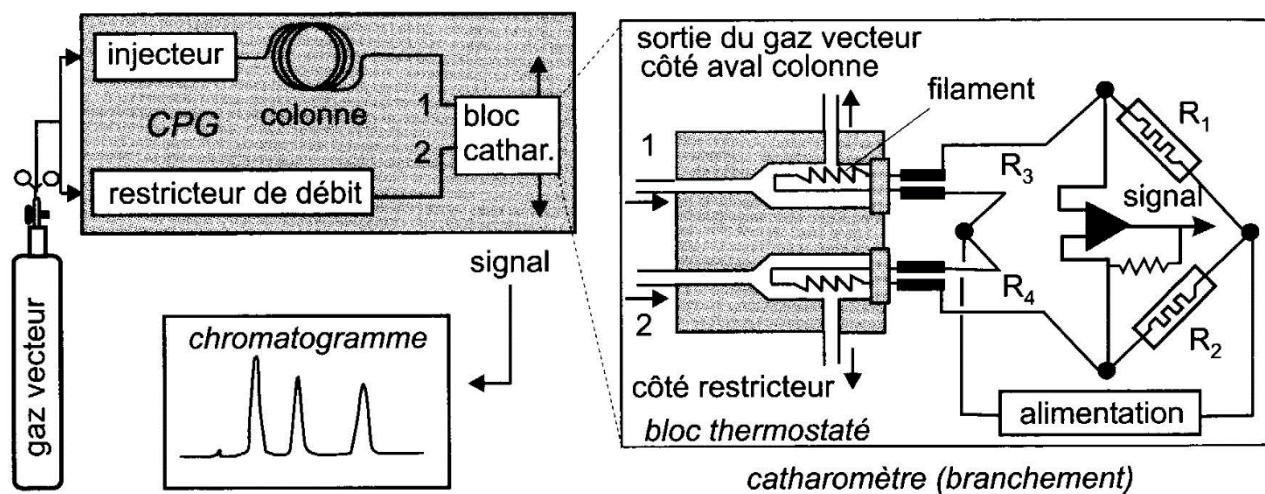
N°	Composé	RRT	Target ion & Qualifiers [m/z]
1	β -Caryophyllene	-9.118	93, 133, 41, 69
2	α -Caryophyllene	-8.686	93, 80, 121, 147
3	β -selinene	-8.272	105, 93, 70, 161
4	Valencene	-7.681	161, 204, 105, 133
5	Selina-3,7(11)-diène	-7.596	161, 122, 107, 204
6	Caryophyllène oxide	-7.080	79, 93, 41, 69
7	Guaiol	-6.967	161, 107, 59, 93
8	δ -selinene	-6.657	189, 161, 204, 133
9	γ -Eudesmol	-6.554	161, 189, 91, 204
10	Bulnesol	-6.150	107, 135, 93, 161
11	α -Bisabolol	-6.028	109, 119, 69, 43
12	Cannabinoide 1	-0.169	231, 314, 271, 299
SI	Tribenzylamine	0	91, 210, 196, 65
13	THV	0.122	271, 286, 203, 243
14	Cannabinoide 2	0.282	231, 314, 174, 243
15	Cannabicyclol	0.554	231, 232, 174, 314
16	Cannabivarin	0.639	267, 238, 282, 223
17	Cannabichromène	1.033	231, 174, 314, 299
18	Cannabidiol	1.033	231, 246, 314, 174
19	Cannabicumaronone	1.371	285, 328, 214, 258
20	Δ^9 -THC	2.019	299, 314, 231, 271
21	Cannabigérol	2.489	193, 231, 123, 316
22	Cannabinol	2.667	295, 238, 310, 223

Tableau 4 : Composés retrouvés dans tous les échantillons

Détecteurs

⇒ Le détecteur se trouve à une température supérieure à celle de la colonne chromatographique (200-300°C). Il peut nécessiter la présence de gaz d'appoint (*make up gas*) ou non.

Détecteur TCD (Thermal Conductivity Detector)



- ⇒ C'est un détecteur universel, le premier développé pour la chromatographie GC.
- ⇒ Il peut être utilisé aussi bien pour des colonnes remplies que pour des colonnes capillaires.
- ⇒ Le principe réside en la mesure des variations de conductivité thermique des mélanges gazeux en fonction de leur composition.
- ⇒ Une des entrées du détecteur est reliée à la sortie de la colonne et l'autre est directement reliée à l'unité pneumatique, alimentée par le gaz vecteur pur.
- ⇒ On mesure la variation de conductivité thermique entre les deux flux de gaz.
- ⇒ Le principe de ce détecteur repose sur un pont de Wheatstone.
- ⇒ Lorsque le gaz vecteur est seul, l'équilibre thermique induit un équilibre des résistances des filaments composant le pont de Wheatstone.
- ⇒ Lorsqu'un soluté est élué, le changement de la composition de la phase gazeuse modifie la conductivité thermique du milieu, l'équilibre thermique est rompu et par conséquent, on observe une variation de la résistance du filament qui est proportionnelle à la quantité du soluté dans le gaz vecteur.

- ⇒ La sensibilité est inversement proportionnelle au débit du gaz vecteur, elle augmente fortement lorsque l'on passe de 50 à 1 mL·min⁻¹.
- ⇒ La sensibilité est maximale avec l'hydrogène ou l'hélium car se sont les gaz dont la conductivité thermique diffère le plus de celle de la majeure partie des composés organiques.

Composé	Conductivité thermique à 100°C ·10 ⁵ (cal·cm ⁻¹ ·s ⁻¹ ·°C ⁻¹)
H ₂	54,3
He	41,5
N ₂	7,5
Ar	5,2
Butane	5,6
Nonane	4,5
Benzène	4,1
Ethanol	5,3
Acétate d'éthyle	4,1

Détecteur *FID* (Flame Ionisation Detector) et *NPD* (Nitrogen Phosphorous Dectector)

⇒ Il s'agit de deux détecteurs assez similaires dans le mesure où le détecteur *NPD* est une modification du détecteur *FID*.

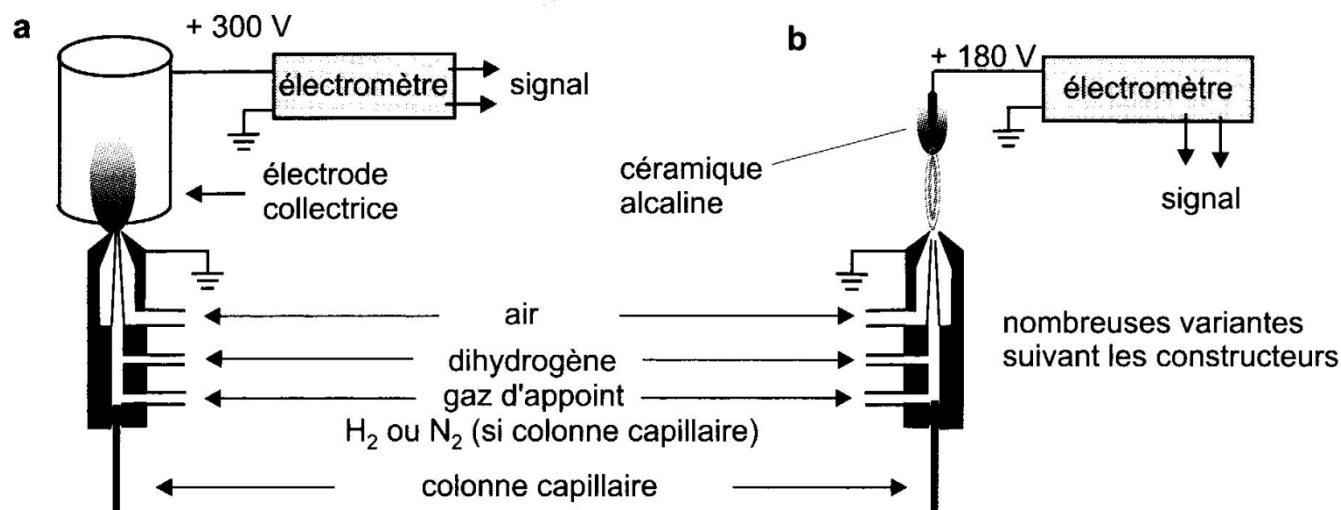


Figure 3.13 Détecteurs *FID* (a) et *NPD* (b).

Les électromètres que l'on utilise pour ces détecteurs sont des dispositifs qui permettent de mesurer des intensités très petites, trop faibles pour un galvanomètre.

⇒ Le principe du détecteur *FID* repose sur l'ionisation de solutés à base énergie d'ionisation par une flamme générée par de l'hydrogène. Les ions et électrons ainsi produits sont collectés par des électrodes polarisées et génèrent un courant.

⇒ On observe une bonne sensibilité sauf pour certains composés oxygénés tels que les alcools et les composés carbonylés ainsi que pour des composés halogénés, azotés et phosphorés. Il ne détecte pas les gaz rares, N_2 , H_2 , H_2O , NH_3 , CO_2 , NO_x , SO_2 , H_2S , les composés inorganiques. La réponse du *FID* est proportionnelle au nombre d'atomes de carbone des solutés analysés.

⇒ Le détecteur *FID* présente une sensibilité optimum pour un rapport de gaz: vecteur/hydrogène/air = 1/1/10. Basé sur la taille des orifices de ce détecteur, le débit d'hydrogène/air est en général fixé à $40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} / 400 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ pour maintenir la flamme.

⇒ Le détecteur *NPD* est une modification du *FID* où on intercale entre la flamme et l'électrode du collecteur un cylindre en céramique dopé par un sel alcalin (sulfate ou silicate de Rubidium...). A l'aide d'une tension électrique appliquée au cylindre de céramique, on entretient un petit plasma de surface ($600-800^\circ\text{C}$) alimenté par la flamme à l'hydrogène.

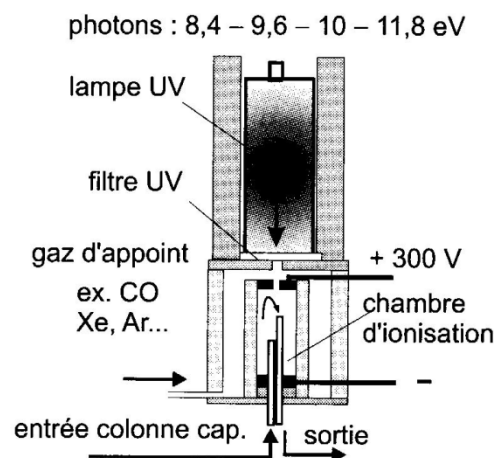
⇒ Les composés azotés et phosphorés donnent des ions négatifs. Le N_2 de l'air est inactif. Le rapport H_2 /air est maintenu à un niveau assez faible pour éviter l'ionisation des hydrocarbures, la réponse correspondant au carbone est supprimée.

⇒ La sensibilité pour les composés azotés est 50 fois supérieure à la sensibilité normale et celle pour les composés phosphorés est 500 à 1000 fois supérieure.

Détecteur FPD (Flame Photometric Detector)

- ⇒ Détecteur dérivé du *FID* sensible aux composés phosphorés et soufrés.
- ⇒ Les composés phosphorés et soufrés, lorsqu'ils sont brûlés dans une flamme H_2 /air, émettent un rayonnement à 536 nm pour les composés phosphorés et à 394 nm pour les composés soufrés. Il est très sensible à ces deux éléments par rapport au carbone et convient à l'analyse du soufre à base concentration dans l'environnement.

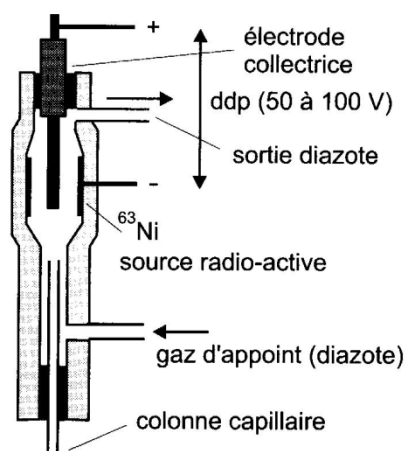
Détecteur PID (Photo-Ionisation)



- ⇒ Le principe consiste en une irradiation UV (photons de 8,4 à 11,8 eV) des solutés élués. Il s'agit d'une photo-ionisation qui n'a lieu que si l'énergie des photons est supérieure à la première énergie de ionisation des solutés.
- ⇒ On collecte les électrons libérés à une électrode polarisée qui génèrent un courant.

⇒ Le détecteur *PID* est un détecteur à ionisation qui convient aux hydrocarbures ainsi qu'aux composés soufrés et phosphorés.

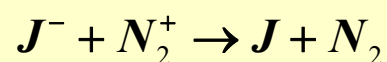
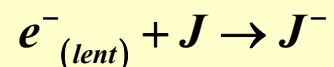
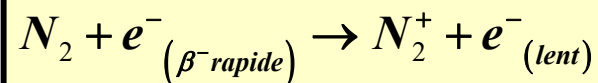
Détecteur *ECD* (Electron Capture Detector)



⇒ Le principe du détecteur *ECD* est basé sur l'utilisation d'une source radioactive émettrice de rayonnements β^- (^{63}Ni). Le rayonnement β^- (e^-) ionise d'abord le gaz vecteur (N_2 de préférence) pour produire des électrons lents qui ioniseront à leur tour les solutés.

⇒ Les électrons lents, sont continuellement attirés par une anode polarisée et génèrent un courant de fond I_0 .

⇒ Lorsque les électrons lents rencontrent un soluté J , la collision produit des anions J^- dont la masse, nettement plus grande que celle d'un électron, les rend moins mobiles. Le courant généré par ces anions est donc moindre. De plus, comme une partie des électrons lents produits est capturée par les solutés et qu'une quantité non négligeable des anions générés réagit avec l'azote ionisé, on observe une réduction globale du courant de fond I_0 .



⇒ La sensibilité est maximum si le gaz vecteur est N₂ ou un mélange CH₄/N₂.

⇒ Détecteur très sensible aux anhydrides d'acide, nitrites, nitrates, aux composés halogénés, soufrés, carbonylés conjugués et organométalliques.

⇒ Détecteur qui répond à H₂O, H₂S, CO₂, O₂ et N₂ (gaz vecteur: He).

Détecteur AED (Atomic Emission Detector)

⇒ Le principe est basé sur la formation d'un plasma d'hélium, utilisé comme gaz vecteur, dans une cavité micro-ondes. Les solutés sont décomposés en atomes excités qui émettent un rayonnement qui leur est propre.

⇒ Le tableau suivant retrace les principaux détecteurs utilisés en chromatographie GC ainsi que leurs caractéristiques.

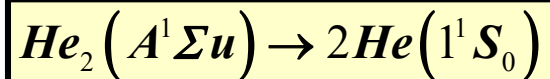
Détecteur	Abbrévia- tion anglaise	Domaine de linéa- rité	Sensibilité	Applications
Catharomètre (ou con- ductivité thermique)	<i>HWD</i> , <i>TCD</i>	10^4 à 10^5	$10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Universelles
Ionisation de flamme	<i>FID</i>	10^7	$2 \text{ pg} \cdot \text{s}^{-1}$	Composés organi- ques
Capture d'électrons	<i>ECD</i>	10^2 à 10^3	$0,01 \text{ pg} \cdot \text{s}^{-1}$	Composés électro- philes (halogénés)
Photométrie de flamme	<i>FPD</i>	10^3 à 10^4	$1\text{--}10 \text{ pg} \cdot \text{s}^{-1}$	Soufre, phosphore
Thermo-ionique	<i>AFD</i> ^a	10^4 à 10^5	$0,05 \text{ pg} \cdot \text{s}^{-1}$	Azote, phosphore
Photo-ionisation	<i>PID</i>	10^7	1 pg	Composés organi- ques
Émission atomique	<i>AED</i>	2×10^4	$1\text{--}100 \text{ pg} \cdot \text{s}^{-1}$	Éléments
Spectrométrie de masse (SM)	<i>MS</i>	$>10^5$	$1\text{--}100 \text{ pg}$	Structure
IR à transformée de Fourier (IRTF)	<i>FT-IR</i>	10^4	$0,5\text{--}50 \text{ ng}$	Structure

^a Parfois NPD.

Détecteur PDD (Pulsed Discharged Detector)

⇒ Il s'agit d'un détecteur quasi-universel qui peut remplacer les détecteurs *FID*, *TCD*, *ECD* et *AED*.

⇒ Ce détecteur est basé sur production de photons par décharges électriques pulsées dans de l'hélium pur. Les molécules de Van Der Waals He_2 (~1%), excitées par les décharges électriques émettent des photons d'énergie de l'ordre de 13,5 à 17,5 eV selon la désexcitation suivante:



⇒ Fonctionnement en mode He-PDID (Pulsed Discharge Photo-Ionisation Detector)

⇒ He-PDPID = FID + TCD

⇒ Optimisé pour les colonnes capillaires, l'ionisation des solutés s'effectue par les photons émis par la désexcitation de He_2 .

⇒ Il permet d'analyser les gaz neutres (H_2 , Ar, O_2 , N_2 , CO, CO_2), les composés halogénés, composés organiques et inorganiques volatiles. Il ne détecte ni He ni Ne.

- ⇒ La réponse du détecteur est proportionnelle au nombre d'électrons ionisables des solutés analysés.
- ⇒ La limite de détection se situe autour de 100 fg, il est plus sensible que les détecteurs FID et TCD. Le domaine linéaire est de l'ordre de 10^5 .
- ⇒ Fonctionnement en mode PDECD (Pulsed Discharge Electron Capture Detector)
- ⇒ PDECD = ECD
- ⇒ Le fonctionnement est le même que celui du détecteur ECD sans source radioactive. Il est adapté à l'analyse des pesticides.
- ⇒ Un gaz de dopage comme CH_4 ou Xe est utilisé pour générer et modérer les électrons nécessaire à l'ionisation des solutés.
- ⇒ Xe est préféré car il est commercialisé avec une plus grande pureté que CH_4 .
- ⇒ La limite de détection se situe autour de 10 à 50 fg. Le domaine linéaire est de l'ordre de 10^3 à 10^4 voire 10^5 sous certaines conditions.

⇒ Fonctionnement en mode PDED (Pulsed Discharge Emission Detector)

⇒ Les décharges sont utilisées comme source d'excitation pour analyser le spectre d'émission de certains solutés.

⇒ PDED = AED

⇒ La limite de détection se situe autour de 10 fg.

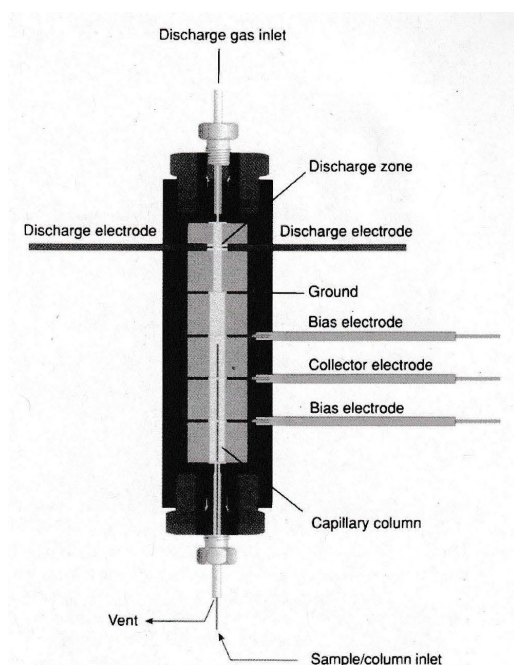


Fig. 1. Cross section of the pulsed discharge helium ionization detector (HE-PDPID). The bias and collector electrodes are rings. Reprinted with permission from Valco Instruments Co. Inc.

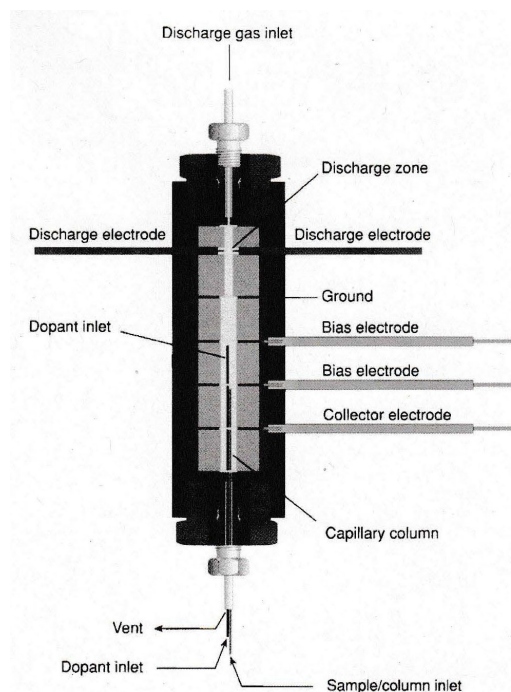


Fig. 3. Cross-section of the pulsed discharge electron capture detector (PDECD). The bias and collector electrodes are rings. Reprinted with permission from Valco Instruments Co. Inc.

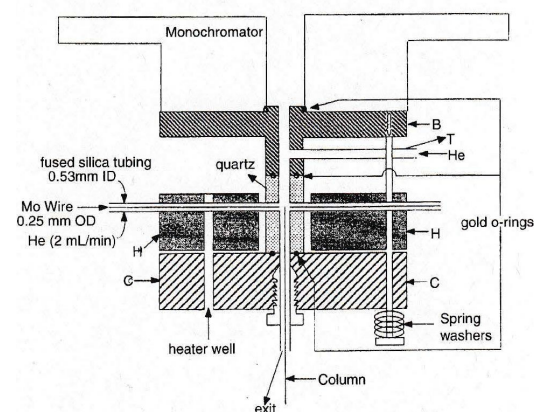


Fig. 4. Schematic diagram of PDED system. C, backplate; H, heater block; B, flange; T, 1/16 in. stainless steel tubing soldered to section B. Reprinted with permission from [16].

Le gaz d'appoint (make-up gas)

⇒ Les détecteurs sont élaborés pour des colonnes garnies, à haut débit: 10 à 40 mL·min⁻¹. C'est dans cette zone de débit que leur sensibilité est maximale. Lorsque l'on travaille avec une colonne capillaire, à plus bas débit (1-2 mL·min⁻¹), la sensibilité est par conséquent dégradée.

⇒ L'apport d'un gaz d'appoint permet au détecteur d'être plus sensible car il augmente le débit en sortie de colonne avant la zone de détection. Il contribue aussi à amélioration de la résolution des pics chromatographiques (réduit les volumes mort et par conséquent réduit la diffusion). Alors que le détecteur *PID* peut se passer de gaz d'appoint, les autres détecteurs en requièrent un. Le détecteur *PDD* ne requière aucun gaz d'appoint.

Détecteur	Gaz d'appoint	Débit total (gaz d'appoint et vecteur)
TCD	Identique au gaz vecteur	< 5 mL·min ⁻¹
FID	N ₂	30-40 mL·min ⁻¹
NPD	He	10-30 mL·min ⁻¹
FPD	He	30-60 mL·min ⁻¹
ECD	N ₂ / Ar + CH ₄	30-60 mL·min ⁻¹

Facteurs influençant la séparation

- ⇒ Les facteurs que nous allons décrire ci-après vont influencer directement la séparation par le biais de la résolution R_s entre les différents pics chromatographiques. La résolution doit être optimum tout en gardant un temps d'analyse raisonnable ($k' < 10$).
- ⇒ La capacité de pics n_c , c'est-à-dire le nombre maximal de pics pouvant être séparés pour une résolution R_s donnée dans des conditions opératoires fixées, peut être utilisée comme critère d'optimisation.
- ⇒ Les facteurs influençant la séparation seront:
 - ⇒ Les aspects physiques de la colonne
 - ⇒ Les aspects chimiques de la colonne
 - ⇒ La nature des solutés à séparer
- ⇒ On ne discutera que des colonnes WCOT et SCOT.
- ⇒ On abordera aussi les conséquences cinétiques issues de la variation de tous les paramètres cités ci-dessus, notamment à travers la vitesse linéaire d'écoulement moyenne optimale de l'éluant.

Les aspects physiques de la colonne

⇒ La longueur de la colonne

↪ On peut améliorer la qualité de la séparation à travers la résolution en jouant sur la longueur de la colonne. Une colonne "standard" fait entre 25 et 30 m de longueur.

$$R_{s(1,2)} = \frac{\sqrt{N_2}}{4} \times \left(\frac{\alpha_{(1,2)} - 1}{\alpha_{(1,2)}} \right) \times \left(\frac{k'_{(2)}}{1 + k'_{(2)}} \right)$$

↪ On ne change ni α , ni le nombre de plateaux théoriques par mètre car la nature chimique de la phase stationnaire reste la même.

Facteur	Action	Avantages	Inconvénients
L (10 à 200 m)	L ↑	<ul style="list-style-type: none"> • Meilleure séparation • Si $L \times 2 \rightarrow N \times 2$ • Si $L \times 2 \rightarrow R_s \times \sqrt{2}$ • Si $L \times 2 \rightarrow k'$ est constant (car t_R et t_M augmentent du même facteur) 	<ul style="list-style-type: none"> • Pression à appliquer ↑ • Si $L \times 2 \rightarrow t_{\text{analyse}} \times 2$ en mode isotherme • Si $L \times 2 \rightarrow t_{\text{analyse}} \times 1,5$ à 1,7 en mode programmation de temperature

⇒ Le diamètre interne (d_i) et l'épaisseur du film de phase stationnaire (d_f)

⇒ On peut améliorer la qualité de la séparation en jouant sur d_i sans changer ni α (la nature chimique de la phase stationnaire reste la même), ni d_f . Une colonne "standard" possède un diamètre interne d_i compris entre 200 et 400 μm .

$$k'_{(J)} = K_{D(J)} \frac{V_s}{V_M} = K_{D(J)} \frac{V_{st}}{V_{mo}} = K_{D(J)} \frac{4d_f}{d_i} \quad \text{avec} \quad \beta = \frac{V_{mo}}{V_{st}} = \frac{d_i}{4d_f}$$

Facteur	Action	Avantages	Inconvénients
d_i (100 à 750 μm)	$d_i \downarrow$ et $\beta \downarrow$	<ul style="list-style-type: none"> • $N \uparrow$ • Si $d_i/2 \rightarrow N \times 2$ • Si $d_i/2 \rightarrow R_s \times \sqrt{2}$ 	<ul style="list-style-type: none"> • Pression à appliquer \uparrow • Capacité disponible \downarrow • Si $d_i/2 \rightarrow k' \times 2$ en mode isotherme • Si $d_i/2 \rightarrow k' \times 1,25$ à 1,5 en mode programmation de température

➡ On peut améliorer la qualité de la séparation en jouant sur d_f sans changer ni α (la nature chimique de la phase stationnaire reste la même), ni d_i . Une colonne "standard" possède un film de phase stationnaire d'épaisseur d_f comprise entre 0,2 et 0,35 μm .

$$k'_{(J)} = K_{D(J)} \frac{V_s}{V_M} = K_{D(J)} \frac{V_{st}}{V_{mo}} = K_{D(J)} \frac{4d_f}{d_i} \quad \text{avec} \quad \beta = \frac{V_{mo}}{V_{st}} = \frac{d_i}{4d_f}$$

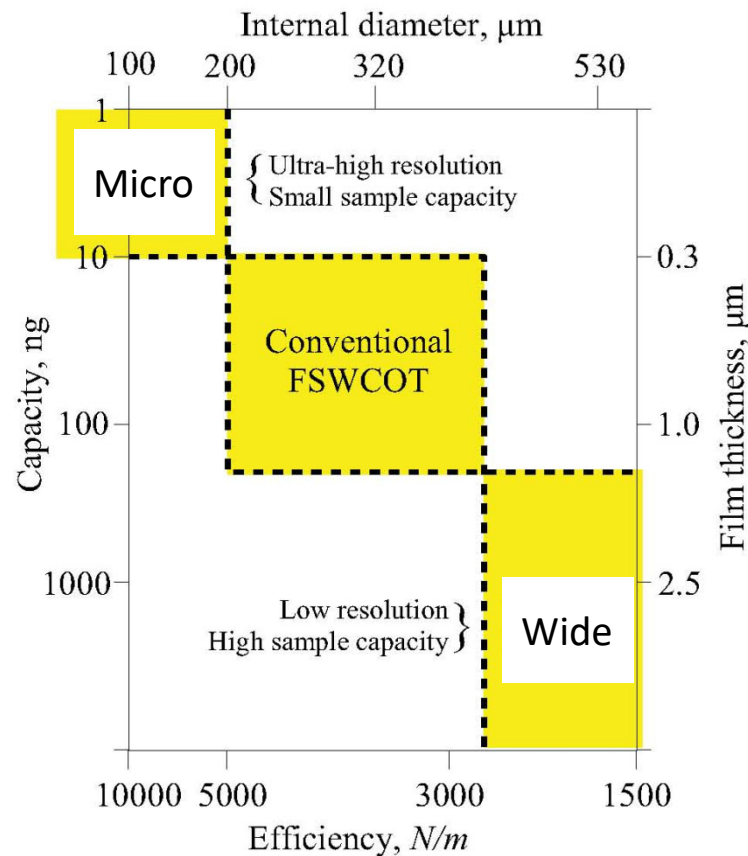
Facteur	Action	Avantages	Inconvénients
d_f (0,05 à 5 μm)	$d_f \uparrow$ et $\beta \downarrow$	<ul style="list-style-type: none"> Capacité disponible \uparrow Meilleure séparation des solutés à faible T_{eb} Amélioration de la séparation (meilleure résolution) des solutés dont $k' < 10$ 	<ul style="list-style-type: none"> Dégradation de la séparation des solutés dont $k' > 10$ Si $d_f \times 2 \rightarrow k' \times 2$ en mode isotherme Si $d_f \times 2 \rightarrow k' \times 1,25$ à 1,5 en mode programmation de température

$$k'_{(J)} = K_{D(J)} \frac{V_s}{V_M} = K_{D(J)} \frac{V_{st}}{V_{mo}} = K_{D(J)} \frac{4d_f}{d_i} \quad \text{avec} \quad \beta = \frac{V_{mo}}{V_{st}} = \frac{d_i}{4d_f}$$

Facteur	Action	Avantages	Inconvénients
d_f (0,05 à 5 μm)	$d_f \downarrow$ et $\beta \uparrow$	<ul style="list-style-type: none"> • Meilleure séparation des solutés à forte T_{eb} • Amélioration de la séparation (meilleure résolution) des solutés dont $k' > 10$ • Si $d_f/2 \rightarrow k'/2$ en mode isotherme • Si $d_f/2 \rightarrow k'/1,25$ à $1,5$ en mode programmation de température 	<ul style="list-style-type: none"> • Capacité disponible \downarrow • dégradation de la séparation des solutés dont $k' < 10$

⇒ Le rapport de phase β

⇒ Augmenter le rapport de phase entraîne la diminution des temps de rétention.



⇒ Si on veut augmenter le nombre de plateaux théoriques, on réduira le diamètre interne de la colonne ce qui entraînera une augmentation des temps de rétention.

⇒ Si on diminue en même temps le diamètre interne et l'épaisseur du film de la phase stationnaire du même facteur, alors β restera constant. On obtiendra une meilleure séparation tout en gardant un temps d'analyse optimum.

⇒ **La température de la colonne**

⇒ La rétention augmente si la température diminue, la rétention est proportionnelle à la volatilité (pression de vapeur saturante) si aucune interaction spécifique entre le soluté et la phase stationnaire ne s'établit.

⇒ La sélectivité diminue lorsque la température augmente, la séparation est donc meilleure à basse température. Une augmentation de 30°C diminue en général k' par 2.

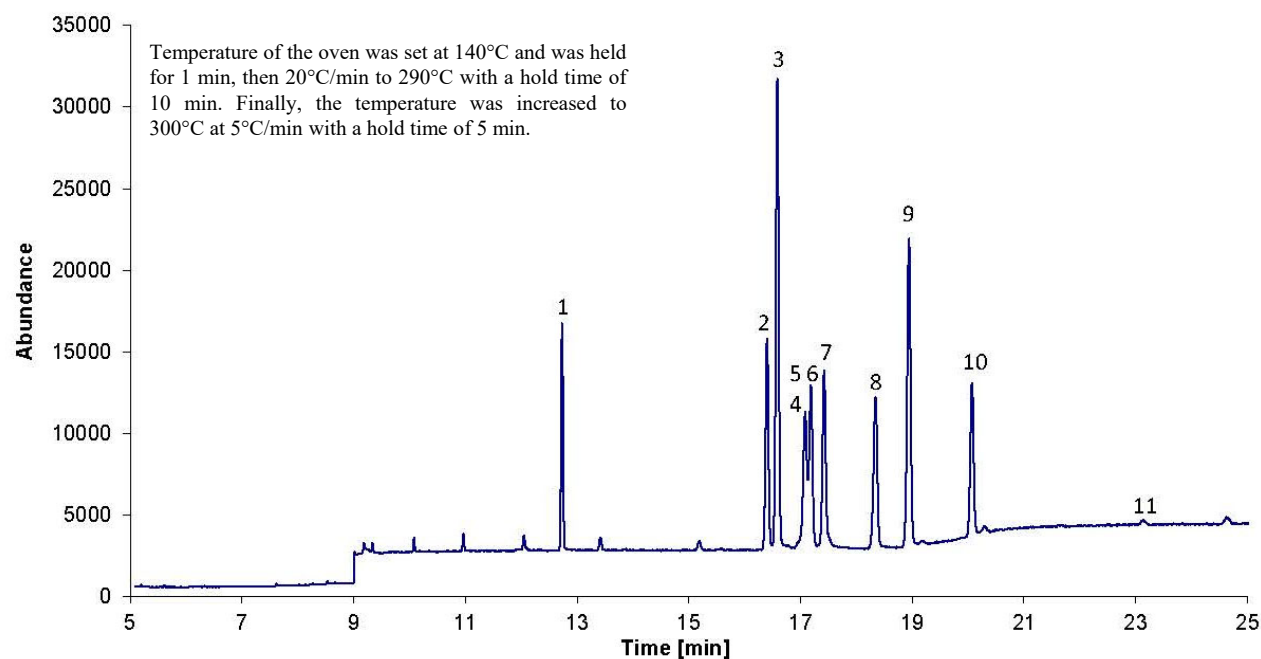
⇒ En mode isotherme, on observe de mauvaises symétries de pic et de mauvaises sensibilités pour les solutés fortement retenus. Les solutés pour lesquels $k' < 2$ sont en général mal séparés.

⇒ En mode programmation de température, les solutés sont élués avec une largeur de pic approximativement équivalente, la sensibilité augmente pour les solutés les plus retenus. Ce mode est conseillé lors d'une injection splitless pour ne pas saturer la colonne.

$$\ln k'_{(J)} = -\frac{\Delta_D G_{(J)}^0}{RT} + \ln \Phi_{SM} = -\frac{\Delta_D H_{(J)}^0}{RT} + \frac{\Delta_D S_{(J)}^0}{R} + \ln \Phi_{SM} = \frac{a}{T} + b \quad \rightarrow a > 0$$

- ↪ En mode programmation de température, la température initiale doit être la plus basse possible pour la séparation des solutés à bas point d'ébullition. Les autres solutés sont immobilisés en tête colonne.
- ↪ Lorsque la température augmente, les solutés peu volatils se vaporisent successivement et sont chromatographiés.
- ↪ La température finale doit être la plus haute possible, compatible avec la température maximale que peut supporter la colonne, maintenue au moins pendant 10 minutes pour assurer l'élution des solutés les moins volatils.
- ↪ Dans une première approche, le gradient de température entre la température initiale et finale est fixé à $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Ce gradient peut être affiné par la suite.
- ↪ Si les pics sont élués dans un temps inférieur à 25% du temps du gradient de température, il est alors possible de travailler en mode isotherme.
- ↪ Le mode programmation de température nécessite des phases stationnaires pouvant supporter les fortes variations de températures y compris des plateaux à haute température (températures finales du gradient).
- ↪ L'utilisation du mode programmation de température réduit la durée de vie des colonnes chromatographiques.

➡ Analyse des huiles alimentaires par GC-MS en mode programmation de température:



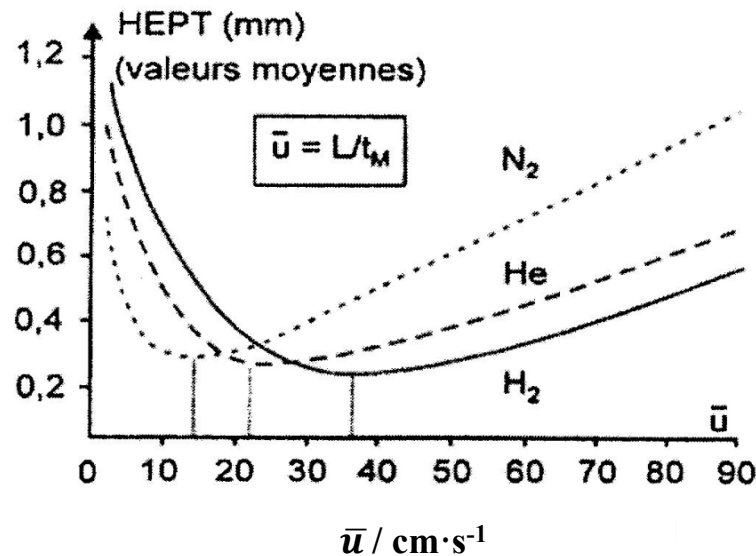
Standards separation (1. 5- α -cholestane, 2. cholesterol, 3. dihydrocholesterol, 4. desmosterol, 5. 7-dehydrocholesterol, 6. brassicasterol, 7. lathosterol, 8. campesterol, 9. stigmasterol, 10. β -sitosterol, 11. betulin)

➡ On observe une élution de la phase stationnaire pour $t > 20$ min. Cette élution naturelle à haute température peut être aggravée par la présence de O_2 dans le gaz vecteur.

Les aspects chimiques de la colonne

⇒ La nature du gaz vecteur

↪ L'efficacité des gaz vecteurs diminue le long de la série: $H_2 \rightarrow He \rightarrow N_2$.



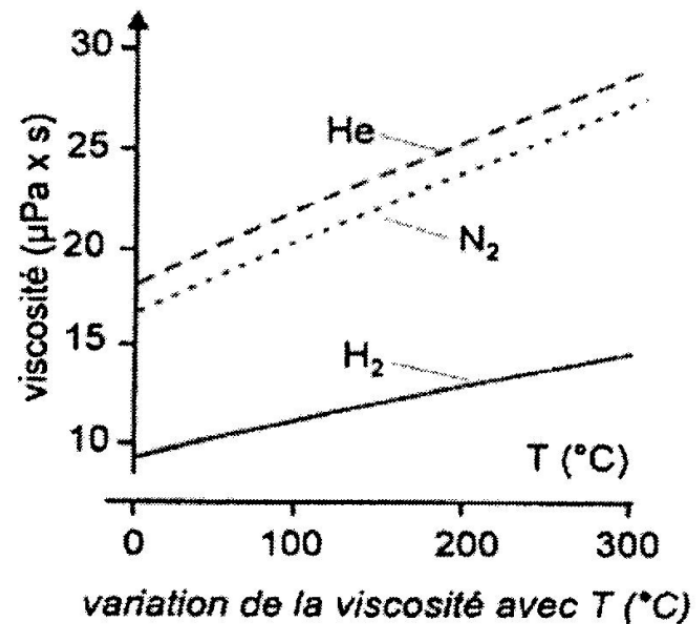
$$\bar{u}(t) = \frac{F_{vi}(t) j}{\pi r_c^2}$$

$$F_{vi}(t) = \frac{(p_i^2 - p_o^2) \pi r_c^4}{16 \eta(T_c(t)) p_o L} \times \frac{T_a}{T_c(t)}$$

$$j = \frac{3}{2} \times \left[\left(\left(\frac{p_i}{p_o} \right)^2 - 1 \right) \left(\left(\frac{p_i}{p_o} \right)^3 - 1 \right)^{-1} \right]$$

P_i et P_o : pressions du gaz vecteur en entrée et en fin de colonne (Pa), r_c et L : rayon et longueur de la colonne (m), F_{vi} : débit volumique ($m^3 \cdot s^{-1}$), T_a et T_c : températures ambiante et de la colonne ($^{\circ}C$), $\eta(T_c(t))$: viscosité du gaz vecteur à la température de la colonne T_c en fonction du temps (Pa.s)

➡ La variation de la viscosité des gaz vecteurs en fonction de la température est la suivante:



➡ Selon la littérature, He reste le gaz vecteur de choix. L'utilisation de H₂ requière un chromatographe équipé d'un four anti-déflagration.

⇒ La nature de la phase stationnaire

⇒ Les différentes interactions que présentent les différentes phases stationnaires sont:

Groupe	Dispersives	Dipolaires	Hydrogènes
-CH ₃	fortes	aucune	aucune
-C ₆ H ₅	très fortes	faibles	aucune
-C≡N	fortes	très fortes	modérées
-CF ₃	fortes	modérées	faibles
PEG	fortes	fortes	fortes

⇒ Les composés les plus volatils sont élués les premiers si aucune interaction spécifique entre le soluté et la phase stationnaire ne s'établit.

⇒ Si les solutés ont des points d'ébullition différant de plus de 30°C, ils peuvent être séparés par toutes les phases stationnaires.

⇒ Plus la teneur en groupe phényle dans une phase stationnaire est grande, plus la rétention des solutés aromatiques est importante par rapport celle des alcanes. La présence de groupes phényles augmente la polarité de la phase stationnaire *via* les électrons π .

- ➡ Si la phase stationnaire donne lieu à des interactions dipolaires, elle permet de séparer les composés dont les moments dipolaires sont différents.
- ➡ Si la différence des moments dipolaires des solutés à séparer est faible, alors une grande quantité de groupes polaires au sein de la phase stationnaire est nécessaire pour les séparer, il faut augmenter la polarité de la phase stationnaire.

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

La nature des solutés à séparer

⇒ Les indices de Kovats

⇒ Il s'agit de caractériser un composé par une grandeur plus générale que son temps de rétention dans des conditions définies. Le système d'indices de rétention permet une qualification des composés chromatographiés.

⇒ Ce système autorise la comparaison des phases stationnaires entres-elles en utilisant quelques composés de référence. Il s'agit de mieux cibler la colonne chromatographique adaptée au problème à résoudre.

⇒ En mode isotherme, les temps de rétention d'un mélange de n -alcane croît en fonction du nombre d'atome de carbone constitutifs. Il en résulte une relation linéaire entre le temps de rétention net d'un alcane et son nombre d'atome de carbone n :

$$\ln(t_R - t_M) = an + b$$

⇒ A l'aide d'un mélange de n -alcane homologues supérieurs on peut déterminer le temps mort d'une colonne chromatographique dans ses conditions de mise en œuvre.

⇒ La relation est linéaire pour les alcanes de C_6 à C_∞ . Elle est aussi valable pour d'autres séries: alcools primaires aliphatiques,...

➡ Les indices de Kovats, qui découlent de la relation du même nom permettent de qualifier un soluté inconnu.

➡ Pour ce faire, on mélange le soluté avec deux alcanes linaires dont le nombre d'atomes de carbone ne diffère que d'une unité et dont les temps de rétention (dans les conditions chromatographiques mises en œuvre) encadrent celui de soluté inconnu.

➡ L'indice de Kovats, en mode isotherme à une température T , du soluté inconnu x est $I_x(T)$:

$$I_x(T) = 100n + 100 \left(\frac{\ln(t'_{R(x)}) - \ln(t'_{R(n)})}{\ln(t'_{R(n+1)}) - \ln(t'_{R(n)})} \right)$$

➡ Dans cette relation, n correspond aux nombres d'atomes de carbone de l'alcane ayant le temps de rétention le plus petit. $t'_{R(x)}$: temps de rétention net du soluté inconnu, $t'_{R(n)}$: temps de rétention net de l'alcane à n atomes de carbone, $t'_{R(n+1)}$: temps de rétention net de l'alcane à $n+1$ atomes de carbone.

➡ Cette relation peut être exprimée en fonction des $\log(t'_R)$ au lieu des $\ln(t'_R)$.

↪ Ces indices de Kovats, ne dépendent que de la nature de la phase stationnaire et de la température à laquelle la chromatographie a été réalisée en mode isotherme.

↪ L'indice de Kovats en mode isotherme $I_x(T)$ du soluté inconnu x varie en fonction de la température T de la colonne selon la relation empirique suivante où A , B et C sont des constantes:

$$I_x(T) = A + \frac{B}{T} + C \ln(T)$$

↪ Les indices de Kovats de nombreux solutés sont consultables sur le site: <http://www.flavornet.org>. En voici quelques exemples:

OV-101	DB-5	OV-17	C-20M	Soluté	Odeur
800	800	800	800	octane	alkane
800	816	[907]	1075	butyl acetate	pear
800	829	965	1455	furfural	bread, almond, sweet
[804]	821	874	1098	methylbutanthiol	amine, smoke
[805]	822	[913]	[1170]	hydroxypentanone	truffle, earth, nut
811	[828]	[919]	[1176]	methyl pyrazine	popcorn

↪ En mode programmation de température, lorsque la rampe de température est linéaire, l'indice de Kovats du soluté inconnu x est $I_x(T)$:

$$I_x(T) = 100n + 100 \left(\frac{t_{R(x)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}} \right)$$

↪ Dans cette équation, on fait référence aux temps de rétention bruts et non aux temps de rétention nets.

↪ Les indices de Kovats donnent une assez bonne indication de la nature potentielle du soluté chromatographié.

↪ La structure du soluté doit être confirmée par une analyse GC-MS.

↪ La connaissance de la nature potentielle du soluté par la méthode de Kovats facilite l'interprétation des spectres de masse issus des analyses GC-MS.

⇒ La constante de Mc Reynolds

⇒ On compare les indices de Kovats de 5 solutés de référence possédant des fonctions chimiques différentes pour caractériser une phase stationnaire. La chromatographie du mélange est réalisée sur la phase stationnaire choisie et sur une phase stationnaire à base de Squalane (référence apolaire, $T_{\max} = 125^{\circ}\text{C}$) à la même température.

⇒ La constante de Mc Reynolds ΔI_s d'un soluté s correspond à la différence entre l'indice de Kovats du soluté s sur la phase stationnaire considérée et sur une phase stationnaire de squalane:

$$\Delta I_s = I_{s, \text{phase considérée}} - I_{s, \text{squalane}}$$

Soluté test	Familles cibles
benzène	aromatiques, oléfines
butan-1-ol	alcools, nitriles, acides carboxyliques, diols
pentan-2-one	cétones, éthers, aldéhydes, esters, époxydes, amines
nitropropane	nitrés et nitriles
pyridine	bases aromatiques

➡ Un indice de Kovats élevé révèle que la phase stationnaire a beaucoup d'affinité pour le soluté en question.

➡ Par exemple, si on veut séparer un hydrocarbure aromatique d'un mélange de cétones, on choisira une phase stationnaire pour laquelle la constante de Mc Reynolds du benzène est assez différente de celle de la pentan-2-one.

Stationary Phase	Probes*					Temp. Limits	
	Benz	Alc	Ket	N-Pr	Pyrid	Lower	Upper
Squalane	0	0	0	0	0	20	125
Apolane 87®	21	10	3	12	25	20	260
OV-1®	16	55	44	65	42	100	375
OV-101®	17	57	45	67	43	20	375
Dexsil 300®	41	83	117	154	126	50	450
OV-17®	119	158	162	243	202	20	375
Tricresylphosphate	176	321	250	374	299	20	125
QF-1	144	233	355	463	305	0	250
OV-202® and OV-210®	146	238	358	468	310	0	275
OV-225®	228	369	338	492	386	20	300
Carbowax 20M®	322	536	368	572	510	60	225
DEGS	492	733	581	833	791	20	200
OV-275®	629	872	763	1106	849	20	275

⇒ La somme des ΔI est une bonne mesure de la polarité P de la colonne choisie. Pour une colonne OV-1, on aura $P = \Sigma \Delta I = 222$.

⇒ Ainsi, la valeur de la polarité P mesurée permet de qualifier une phase stationnaire:

⇒ $0 < P < 100$: phases apolaires

⇒ $100 < P < 400$: phases à polarité intermédiaire

⇒ $400 < P$: phases à haute polarité

⇒ **Dérivatisation chimique d'un soluté**

⇒ Lorsque un soluté est peu volatil, peu détectable ou thermiquement instable, on peut procéder à une dérivatisation chimique de ce dernier.

⇒ On peut mettre en œuvre des réactions d'alkylation, d'acylation ou de silylation en fonction des groupes fonctionnels réactifs du soluté à dériver.

⇒ La nature chimique de l'agent modificateur conditionne les propriétés recherchées.

➡ Le tableau suivant consigne les réactifs les plus souvent utilisés:

Fonction	Méthode	Dérivé	Réactifs conseillés
Alcools, phénols $R'OH$	silylation	$R'O - TMS$	BSA, MSTFA, MSHFBA, TSIM, SILYL-2110, SILYL-21, SILYL-1139
	acylation	$R'O - \overset{O}{\parallel} C - R$	TFAA, HFBA, MBTFA, MBHFBA
	alkylation	$R'O - R$	TMSH
	silylation	$R'O - TMS$	TSIM, BSTFA, SILYL-991
Amines primaires, secondaires $R' - N - H$ $ $ R''	silylation	$R' - N - TMS$ $ $ R''	BSA, MSTFA, MSHFBA, SILYL-991
	acylation	$R' - N - \overset{O}{\parallel} C - R$ $ $ R''	TFAA, HFBA, MBTFA, MBHFBA
	silylation	$R' - N - TMS$ $ $ R''	MSTFA
Amides $\overset{O}{\parallel}$ $R' - C - NH_2$	silylation	instable	
	acylation	$R' - \overset{O}{\parallel} C - N - \overset{O}{\parallel} C - R$ $ $ H	TFAA, MBTFA, HFBA, MBHFBA
Acides aminés $\begin{matrix} H \\ \\ R' - C - COOH \\ \\ NH_2 \end{matrix}$	silylation	$\begin{matrix} H & O \\ & \\ R' - C - C - O - TMS \\ & \\ HN - TMS \end{matrix}$	BSA, BSTFA, MSTFA, MSHFBA
	alkylation (a) + acylation (b)	$\begin{matrix} H & O \\ & \\ R' - C - C - O - R \\ & \\ HN - C - R \\ \\ O \end{matrix}$	a) MeOH/TMCS, TMSH b) TFAA, HFBA, MBTFA, MBHFBA
Acides carboxyliques (acides gras) $R' - COOH$	silylation	$\begin{matrix} O \\ \\ R' - C - O - TMS \end{matrix}$ susceptible à l'hydrolyse	BSA, MSTFA, MSHFBA, TMCS, TSIM, SILYL-2110, SILYL-21
	alkylation	$\begin{matrix} O \\ \\ R' - C - O - R \end{matrix}$	DMF-DMA, MeOH/TMCS (1 M), TMSH
	silylation	$\begin{matrix} O \\ \\ R' - C - O - TMS \end{matrix}$ susceptible à l'hydrolyse	TMCS
Carbohydrates	silylation		MSTFA, TSIM, HMDS, SILYL-1139
	acylation		TFAA, MBTFA
Stéroïdes	silylation		BSA, TSIM
	acylation		TFAA, MBTFA, HFBA, MBHFBA

Conséquences cinétiques

⇒ Pour la GC sur colonne capillaires WCOT et SCOT, l'équation de Van Deemter pour un soluté J s'exprime comme suit:

$$H_{(J)} = \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u}$$

↪ Dans cette équation le terme A disparaît car la phase stationnaire se présente sous la forme d'un film de liquide visqueux et non pas sous forme d'un garnissage de particules.

⇒ Le minimum de la courbe est obtenu pour $\bar{u}_{opt} = \sqrt{B/C}$. En remplaçant dans l'équation précédente, on aura:

$$H_{min} = 2\sqrt{BC}$$

⇒ En comparant cette relation générique avec l'équation de Golay ou Giddings données en début de chapitre pour un soluté **J**, on peut faire les rapprochements suivants:

⇒ $B = f(D_{M(J)})$

⇒ $C = f(k'_{(J)}, r_c^2, d_f^2, D_{M(J)} \text{ et } D_{S(J)})$

⇒ Dès lors, on peut regarder l'influence de chaque paramètre discuté précédemment sur **B** et **C**:

⇒ **B** est influencé par la nature du soluté et la température.

⇒ **C** est influencé par la nature et l'épaisseur du film de la phase stationnaire, la nature du soluté, le rayon de la colonne et la température.

⇒ Néanmoins, pour un système donné (colonne, gaz vecteur, solutés, température...), toutes ces influences seront minimisées en optimisant le débit du gaz vecteur pour se situer à la vitesse linéaire d'écoulement moyenne optimale afin d'obtenir le plus grand nombre de plateaux théoriques possible.

- ⇒ A la vitesse linéaire d'écoulement moyenne optimale, les paramètres déterminants restent le rayon de la colonne et l'épaisseur du film de phase stationnaire qui influence fortement C .
- ⇒ Pour obtenir la HEPT la plus petite et donc le nombre de plateaux théoriques maximum, on peut minimaliser C en diminuant, si possible, le rayon de la colonne et l'épaisseur du film de phase stationnaire car on ne peut diminuer la température pour réduire B .

GC en deux dimensions

- ⇒ Pour les mélanges complexes, on peut avoir recours à la GC à deux dimensions.
- ⇒ On couple deux colonnes chromatographiques en série.
- ⇒ Les mécanismes de rétention de ces deux colonnes doivent être orthogonaux.
- ⇒ On utilise alors une première colonne apolaire et une seconde polaire.
- ⇒ Les solutés sont analysés par la première colonne puis sont injectés dans la deuxième comme décrit ci-après.

➡ Schéma synoptique d'une GC à deux dimensions:

Figure 3: General schematic of a multidimensional gas chromatography instrument. The 'normal' mode is to have the sample pass through 1D and restrictor column (R) to the first detector (Det 1). A suitable stimulus is applied to the interface (I) or valve (e.g., a Deans switch) to permit section(s) of the column 1 chromatographic elution to be selectively passed into column 2, where that segment of solutes undergoes further separation. A second oven is optional to house column 2D, but may assist in system optimization and provide improved operational performance.

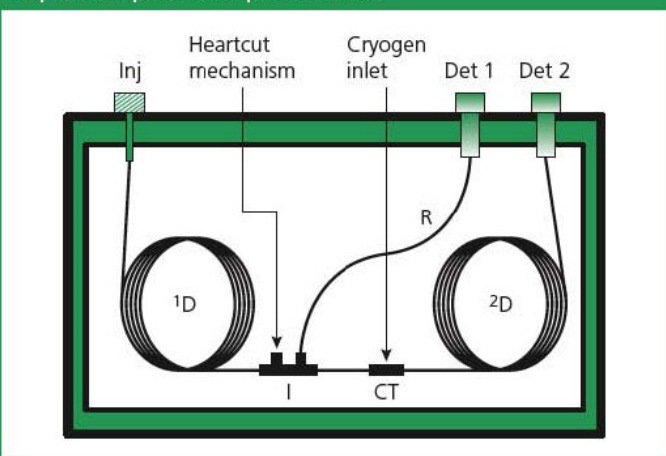


Figure 13: GCxGC result for fatty acid methyl ester analysis from blue mussel. Components, such as those circled, will have the same location in the plot for all analyses, and so this makes comparison across sample analyses easy.

