

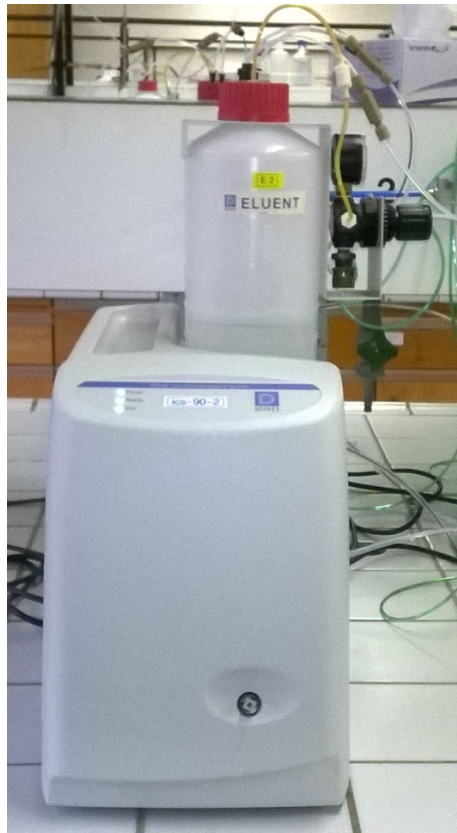
Méthodes de séparation analytiques

Chromatographie IC

Introduction

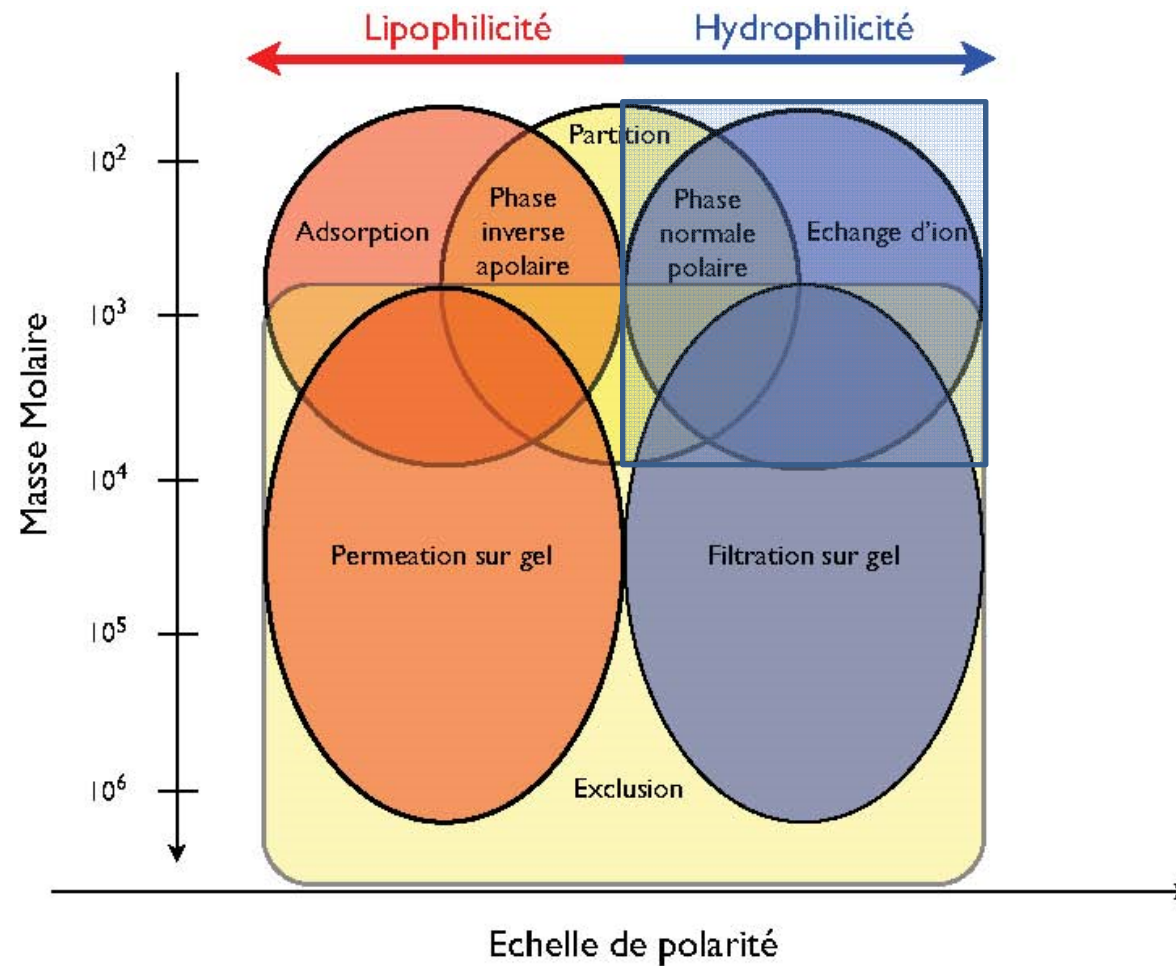
- ⇒ La chromatographie ionique (IC: Ion Chromatography) est une technique de chromatographie liquide dédiée à l'analyse des molécules ioniques, ionisables ou encore polaires dont les masses molaires sont généralement inférieures à $2000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.
- ⇒ Parmi les composés séparables en IC, on trouvera les mono- et poly- saccharides, nucléosides, nucléotides, acides carboxyliques, cations et anions organiques ou minéraux.
- ⇒ Lorsqu'il s'agit de la séparation d'ions organiques, on parle aussi de chromatographie par échange d'ion qui est considérée comme une méthode HPLC à part entière.
- ⇒ Les mécanismes de séparation IC seront basés sur l'échange et l'exclusion d'ions.
- ⇒ La chromatographie basée sur l'appariement d'ion (PIC) est quant à elle considérée comme une méthode HPLC.
- ⇒ Comme l'HPLC, l'IC peut être réalisée de façon analytique ou à des fins préparatives. Dans ce dernier cas, les pompes et colonnes utilisées sont dimensionnées en conséquence.

Chromatographie IC

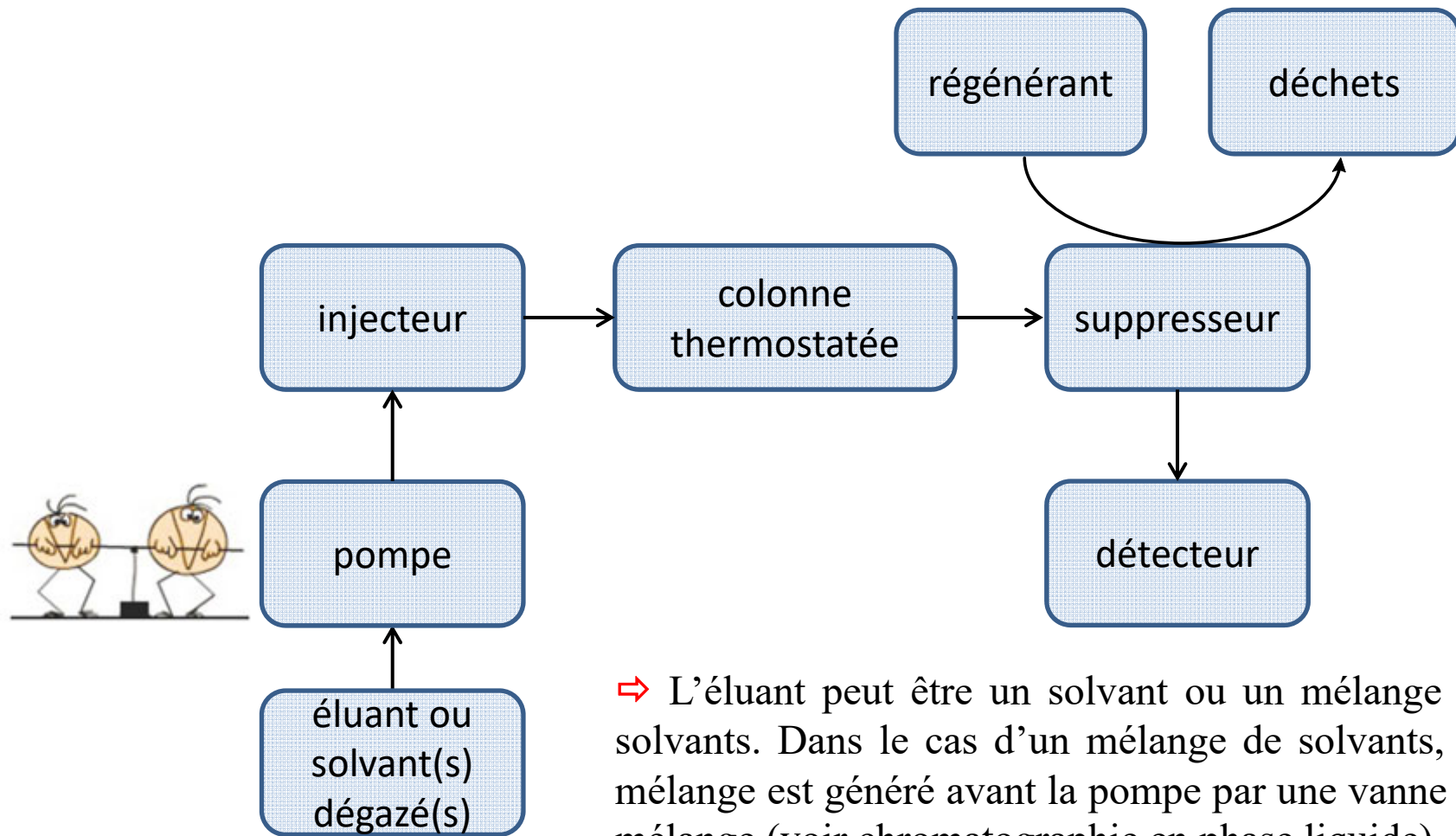


Chromatographie IC Dionex

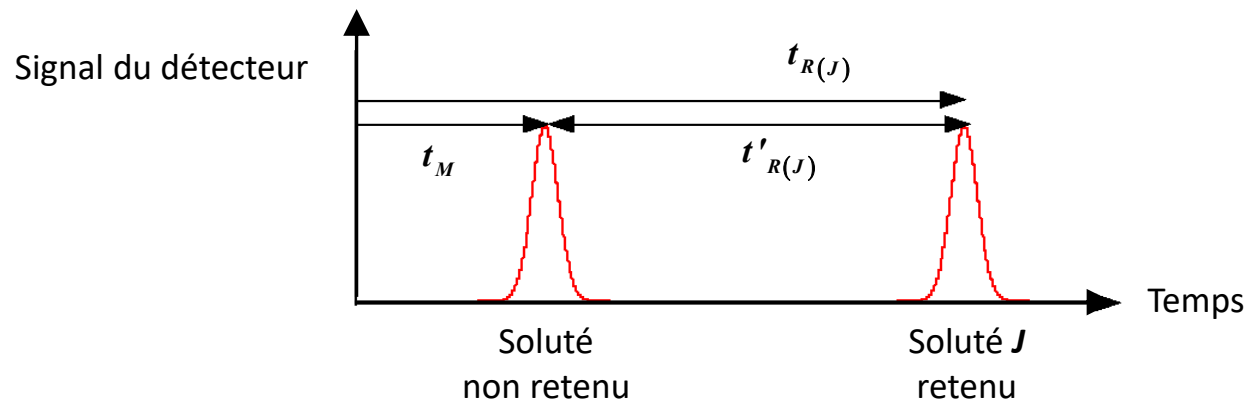
Domaine de la chromatographie IC



Principe de la chromatographie IC



⇒ Une chromatographe IC génère un chromatogramme en temps:



Eluant

- ⇒ Les éluants sont des solutions aqueuses acides ou basiques.
- ⇒ Ils peuvent comporter quelquefois un faible pourcentage de solvant organique voire des additifs (mannitol, EDTA, éther-couronne ou autres chélatants...).
- ⇒ Les parties du chromatographe en contact avec l'éluant doivent être en matériaux inertes compte tenu de l'agressivité de ce dernier.

Pompes

⇒ Les pompes IC maintiennent une pression de 50 à 400 bars au niveau de l'injecteur. Cette pression dépend du débit imposé de l'éluant, de sa viscosité, de la nature de la phase stationnaire et du gabarit de la colonne. Avec des colonnes classiques, on se situe entre 50 et 80 bars.

⇒ Les débits des pompes sont adaptés aux colonnes IC utilisées:

⇒ IC classique: 1 - 2 mL·min⁻¹

⇒ IC micro: 0,2 - 0,5 mL·min⁻¹

⇒ IC capillaire: 5 - 20 µL·min⁻¹

Injecteurs

⇒ Les injecteurs sont des vannes haute pression manuelles munies d'une boucle d'injection de volume calibré.

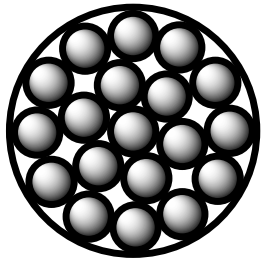
⇒ Les injecteurs peuvent être automatiques, à vannes motorisées, avec passeur d'échantillons. Dans le cas d'injecteurs automatiques, le système est munit des mêmes boucles d'injection.

La colonne chromatographique: caractéristiques physiques

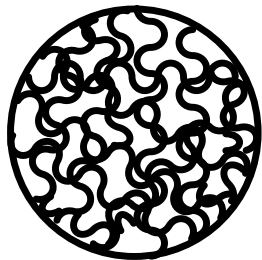
- ⇒ Les colonnes chromatographiques se présentent sous la forme d'un tube d'acier. Les colonnes standards font de 5 à 25 cm de longueur et de 3 à 7 mm de diamètre interne.
- ⇒ Ces colonnes standards peuvent être remplacées par des colonnes de plus petit diamètre interne:
 - ⇒ *micro-bore* (1 à 3 mm)
 - ⇒ *capillaires remplies* (0,2 à 0,6 mm)
- ⇒ Ces colonnes font aussi entre 5 à 25 cm de longueur.
- ⇒ Les débits de phase mobile sont de l'ordre de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ pour une colonne standard et descendent à quelques $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ pour une colonne capillaire.
- ⇒ On adapte en général une précolonne en amont de la colonne pour préserver cette dernière.
- ⇒ Il s'agit d'une courte colonne de 1 à 3 cm de longueur, remplie de la même phase stationnaire que celle de la colonne utilisée.

⇒ La précolonne permet de retenir des molécules qui auraient trop d'affinité pour la phase stationnaire de la colonne et qui de ce fait resteraient piégées dans cette dernière, causant sa dégradation.

⇒ Les colonnes sont garnies de particules sphériques de quelques micromètres de diamètre (2 à 10 μm , jusqu'à 50 μm pour les phases stationnaires pelliculaires) et d'une porosité de quelques centaines d'Angström ou d'un solide monolithe poreux constituant la phase stationnaire:



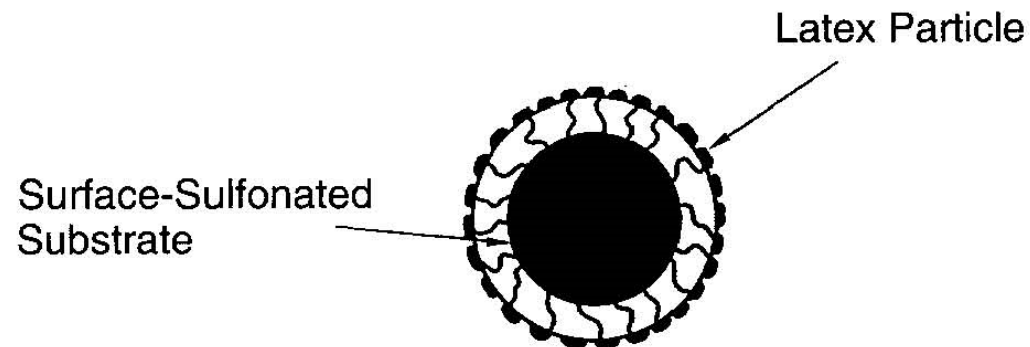
⇒ Colonne à phase stationnaire sous forme de film de liquide visqueux déposé sur des billes rigides peu poreuses.



⇒ Colonne garnie à phase stationnaire sous forme d'un solide monolithe poreux .

- ⇒ Les particules constituant la phase stationnaire engendrent une perte de charge ΔP dans la colonne obéissant à la loi de Darcy.
- ⇒ Les capacités d'échange, c'est-à-dire la capacité disponible C_D de ces phases stationnaires, représentent le nombre de groupement disponible pour l'échange ionique (en $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$).
- ⇒ On distingue les résines à faible capacité ($C_D < 100 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$), à capacité moyenne ($100 < C_D < 200 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) et à grande capacité ($C_D > 200 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$).
- ⇒ Les phases stationnaires sont à base de résine synthétique ou de silice.
- ⇒ Les phases stationnaires à base de silice sont utilisables dans un domaine de pH de 2 à 7 alors que celles à base de résines synthétiques sont utilisables dans un domaine de pH de 1 à 13.
- ⇒ Les matériaux synthétiques sont des copolymères PS-DVB (polystyrène-divinylbenzène), PMMA (polyméthacrylate de méthyle) ou polyhydroxyalkyle-méthacrylate. Les phases à base de PS sont apolaires alors que celles à base de PMMA sont polaires. Les supports polaires produiront moins d'interactions secondaires que les supports apolaires. Les supports à base de PMMA ont une moins bonne résistance mécanique que ceux à base de PS.

- Ces deux types de matériaux sont modifiés par des groupements anioniques ou cationiques pour générer des phases stationnaires pelliculaires ou macroporeuses.
- Les phases pelliculaires sont préparées à partir de latex porteur de fonctions organiques.
- Les particules de latex fonctionnalisées par des groupes ioniques, sont déposées à l'état de billes (0,1 à 0,2 μm de diamètre) sur une particule de silice ou de PS-DVB de 25 à 50 μm de diamètre. Il se forme un film échangeur d'ion d'environ 1 à 2 μm d'épaisseur.
- Les phases pelliculaires offrent un bon transfert de masse mais une moins bonne stabilité chimique que les matériaux macroporeux.



Structure d'une particule de phase stationnaire pelliculaire

- ⇒ Les matériaux poreux sont obtenus par modification chimique de silice ou des polymères précédemment décrits par des groupes fonctionnels ioniques.
- ⇒ Il existe une situation intermédiaire où des particules de silice sont imprégnées par un film polymérique arborant les groupes ioniques.
- ⇒ Les supports de silice résistent très bien à la pression.
- ⇒ La fine granulométrie, bien distribuée, des particules procure des analyses rapides avec une bonne efficacité.
- ⇒ Il peut s'agir aussi d'une structure monolithique imprégnée.
- ⇒ La nature chimique des particules conditionne le mécanisme de rétention des solutés.
- ⇒ La nature chimique des particules conditionne le choix de l'éluant utilisé pour la séparation chromatographique.

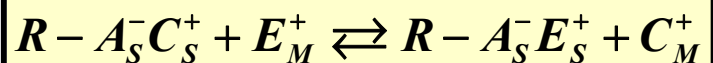
La colonne chromatographique: principes de rétention

⇒ La chromatographie IC est fondée sur la rétention sélective d'espèces ioniques, ionisables ou polaires. La phase stationnaire est constituée par une résine échangeuse d'ion. La phase stationnaire peut être anionique ou cationique, elle se comportera comme une résine échangeuse de cations ou d'anions respectivement. Comme dans toute chromatographie en phase liquide, on observe des interactions à 3 corps: soluté, phase mobile et phase stationnaire.

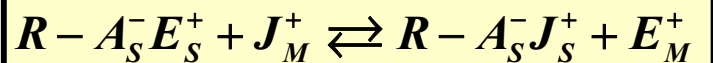
Echange d'ions: généralités

⇒ L'échange d'ions s'effectue entre le contre-ion de la phase stationnaire et le soluté de la phase mobile. Le contre-ion de la phase stationnaire est en général le co-ion de l'éluant (E) car on procède à une étape d'équilibrage de la colonne ionique.

⇒ Une résine anionique interagit avec un soluté cationique monovalent J^+ :

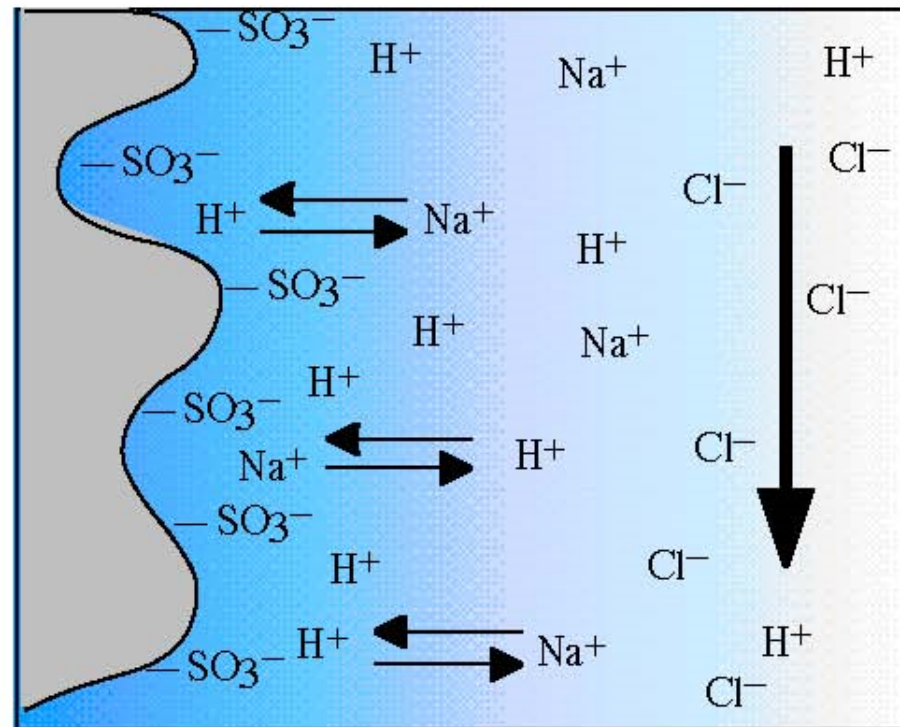


➡ Equilibrage de la colonne avec l'éluant (E^+)



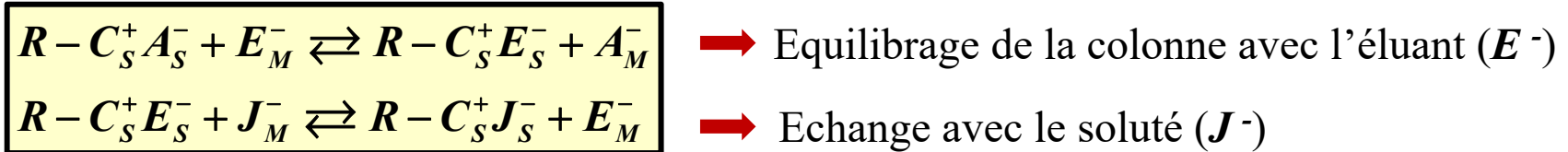
➡ Echange avec le soluté (J^+)

↪ Cas d'une résine anionique sulfonate (échangeuse de cations):

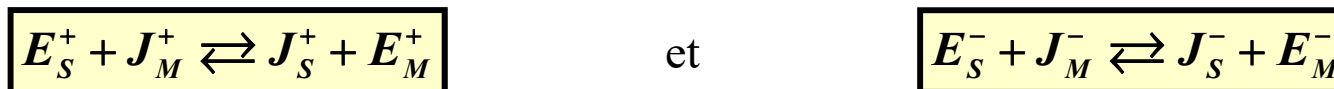


↪ Dans l'exemple ci-dessus, on a: soluté = Na^+ , phase mobile = HCl (H^+), phase stationnaire = $\text{-SO}_3\text{H}$ (SO_3^-)

⇒ Une résine cationique interagit avec un soluté anionique monovalent J^- :



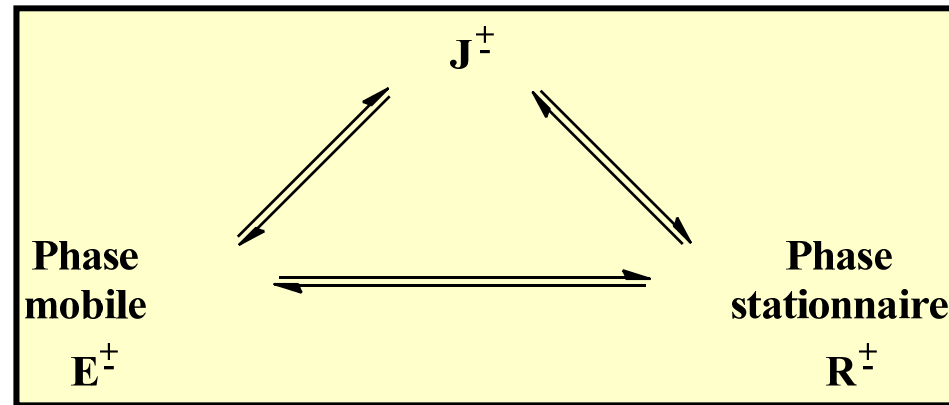
⇒ Les mécanismes d'échange d'ions s'écrivent alors:



⇒ Les constantes d'échange d'ions sont exprimées en fonction des constantes de distribution:

$K_{E^+}^{J^+} = \frac{[J^+]_S [E^+]_M}{[J^+]_M [E^+]_S} = K_{D(J^+)} \frac{[E^+]_M}{[E^+]_S}$	et	$K_{E^-}^{J^-} = \frac{[J^-]_S [E^-]_M}{[J^-]_M [E^-]_S} = K_{D(J^-)} \frac{[E^-]_M}{[E^-]_S}$
------------------------------------------------------------------------------------------------	----	------------------------------------------------------------------------------------------------

⇒ Les principes de rétention thermodynamiques sont décrits ci-après:



⇒ Le paramètre le plus important en chromatographie c'est le facteur de rétention k' . Ainsi, pour un soluté J^\pm on peut écrire:

$$k'_{(J^\pm)} = K_{D(J^\pm)} \Phi_{SM} = K_{D(J^\pm)} \frac{V_S}{V_M}$$

$$k'_{(J^\pm)} = \frac{t'_{R(J^\pm)}}{t_M} = \frac{t_{R(J^\pm)} - t_M}{t_M} = \frac{V'_{R(J^\pm)}}{V_M} = \frac{V_{R(J^\pm)} - V_M}{V_M}$$

$$V_{R(J^\pm)} = V_M + K_{D(J^\pm)} V_S$$

⇒ En chromatographie IC, les volumes effectifs et physiques des phases stationnaire et mobile sont égaux:

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

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

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

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

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

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

⇒ En chromatographie IC, la température de la colonne influence les temps de rétention bruts des solutés séparés à travers k' :

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

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

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

⇒ Les temps de rétentions sont plus courts lorsque la température de la colonne augmente.

⇒ Comme la plage de température à disposition est restreinte, l'éluant ne doit pas générer de phase gazeuse, la température n'est pas l'acteur principal de la séparation comme c'est le cas en GC.

⇒ La température est un facteur d'optimisation de la séparation.

⇒ D'un point de vue cinétique, l'équation de Van Deemter s'écrit:

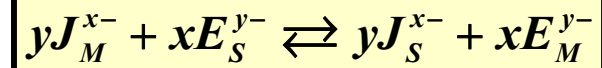
$$H = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_{M(J^\pm)}}{\bar{u}} + \left(\frac{16k'_{(J^\pm)}}{\pi(1+k'_{(J^\pm)})} \times \frac{d_p^2}{D_{S(J^\pm)}} \right) \bar{u}$$

⇒ Comme dans toutes chromatographies en phase liquide d'élution, l'équation de Knox reste valable:

$$h = A\bar{v}^{1/3} + \frac{B}{\bar{v}} + C\bar{v}$$

Echange d'ions: rétention des anions

⇒ Soit le couple d'anions $J^{x-} E^{y-}$, soluté-éluant qui s'échangent selon l'équation suivante:



⇒ La constante d'échange d'anions sera:

$$K_{E^{y-}}^{J^{x-}} = \frac{([J^{x-}]_S)^y ([E^{y-}]_M)^x}{([J^{x-}]_M)^y ([E^{y-}]_S)^x} = \left(K_{D(J^{x-})} \right)^y \left(\frac{[E^{y-}]_M}{[E^{y-}]_S} \right)^x$$

$$k'_{(J^{x-})} = K_{D(J^{x-})} \Phi_{SM} = \left(K_{E^{y-}}^{J^{x-}} \right)^{1/y} \left(\frac{[E^{y-}]_S}{[E^{y-}]_M} \right)^{x/y} \Phi_{SM}$$

↪ Comme la concentration des anions de l'éluant E^{y-} est très grande par rapport à celle du soluté J^{x-} , on peut considérer que la totalité des groupes fonctionnels de la phase stationnaire sont occupés par l'anion de l'éluant. Soit C_D , la capacité disponible de la phase stationnaire, on a:

$$[E^{y-}]_S = \frac{C_D}{y}$$

↪ Soit:

$$k'_{(J^{x-})} = \left(K_{E^{y-}}^{J^{x-}} \right)^{1/y} \left(\frac{C_D}{y} \right)^{x/y} ([E^{y-}]_M)^{-x/y} \Phi_{SM}$$

⇒ On trouvera dans la littérature la forme logarithmique:

$$\log \left(k'_{(J^{x-})} \right) = \frac{1}{y} \log \left(K_{E^{y-}}^{J^{x-}} \right) + \frac{x}{y} \log \left(\frac{C_D}{y} \right) - \frac{x}{y} \log \left([E^{y-}]_M \right) + \log (\Phi_{SM})$$

⇒ Le facteur de rétention k' dépend naturellement du rapport de phase et de la constante d'échange d'anions.

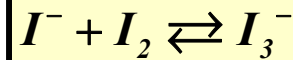
⇒ k' dépend aussi de la capacité disponible de la résine (C_D), de la charge de l'anion (x) et de l'éluant (y) ainsi que de la concentration de l'éluant.

⇒ A capacité disponible de la colonne fixée, la rétention des ions est régie par la nature, la charge et la concentration de l'éluant.

⇒ En mode isocratique, on observe l'équation suivante où A est une constante:

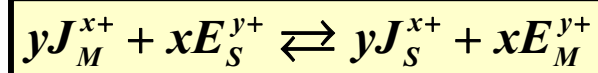
$$\log \left(k'_{(J^{x-})} \right) = A - \frac{x}{y} \log \left([E^{y-}]_M \right)$$

- ⇒ Dans le cas de molécules ionisables, cette relation permet de calculer la charge du soluté anionique J^{x-} en fonction du pH de l'éluant.
- ⇒ Dans certains cas on incorpore dans l'éluant une molécule réactive pouvant réagir sélectivement avec un soluté spécifique afin de changer son affinité avec la phase stationnaire. On peut par exemple jouer sur la taille de l'ion sans changer sa charge:



Echange d'ions: rétention des cations

- ⇒ On doit ici considérer le cas de cations qui nécessitent ou non une étape de complexation pour être séparables.
- ⇒ Les cations minéraux alcalins et alcalino-terreux ainsi que les cations organiques ne nécessitent aucune complexation pour être correctement séparés. Considérons l'équilibre suivant:



⇒ La constante d'échange de cations s'écrit:

$$K_{E^{y+}}^{J^{x+}} = \frac{([J^{x+}]_S)^y ([E^{y+}]_M)^x}{([J^{x+}]_M)^y ([E^{y+}]_S)^x} = \left(K_{D(J^{x+})} \right)^y \left(\frac{[E^{y+}]_M}{[E^{y+}]_S} \right)^x$$

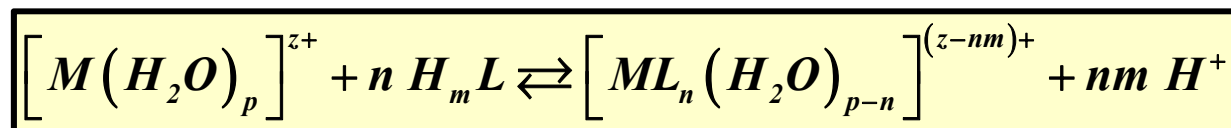
⇒ La forme logarithmique du facteur de rétention k' est alors:

$$\log \left(k'_{(J^{x+})} \right) = \frac{1}{y} \log \left(K_{E^{y+}}^{J^{x+}} \right) + \frac{x}{y} \log \left(\frac{C_D}{y} \right) - \frac{x}{y} \log \left([E^{y+}]_M \right) + \log \left(\Phi_{SM} \right)$$

⇒ Dans le cas de cations multivalents $[M(H_2O)_p]^{z+}$, on a recours quelquefois à l'incorporation d'un complexant dans l'éluant afin de changer leur affinité par rapport à la phase stationnaire.

⇒ La complexation entraîne aussi une réduction de la charge du métal et favorise la séparation de différents métaux (cas des lanthanides par exemple).

↪ La réaction de complexation qui implique un ligand de type H_mL est la suivante:



↪ Suivant l'affinité du métal pour le ligand, on peut passer de l'état cationique à l'état neutre voir anionique. Les méthodes de séparation seront alors la chromatographie cationique, l'HPLC et la chromatographie anionique respectivement.

↪ Si nécessaire, on peut toutefois écranter la charge d'un complexe en ajoutant un réactif permettant de générer une paire d'ion globalement neutre. Dans ce cas, la méthode de séparation de choix sera l'HPLC par PIC.

↪ En chromatographie ionique, lorsque l'on complexe un métal, que l'on obtienne un complexe cationique ou anionique, le facteur de rétention k' est proportionnel à la concentration en ligand H_mL :

$$\log k' = a - b[H_mL]$$

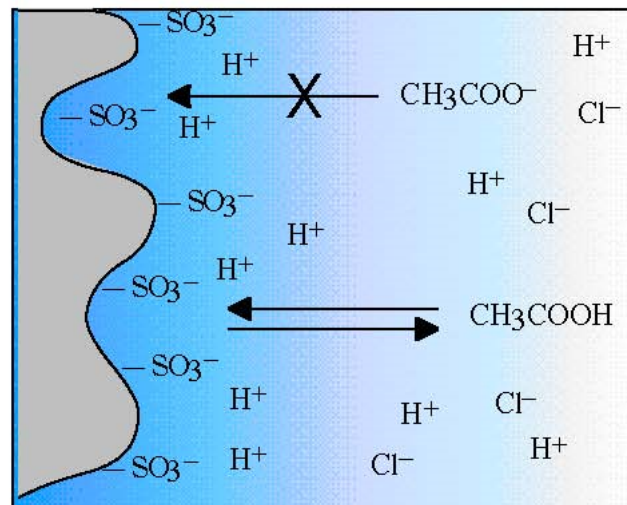
↪ En présence d'un complexant K_D diminue, entraînant ainsi une diminution de k' .

Exclusion d'ions

⇒ Cette méthode concerne des molécules ionisables notamment les acides et les bases faibles.

⇒ Il s'agit principalement de la séparation des acides carboxyliques, des sucres, des phénols ou des acides aminés.

⇒ Lorsqu'une molécule ionisable se trouve à la fois sous forme neutre et ionique, si la phase stationnaire est du même signe que le forme ionique, il y a exclusion de cette dernière alors que la forme neutre pénètre dans la phase stationnaire. Il s'agit d'un partage par équilibre de Donnan.



- ↪ Pour ce type de chromatographie, la phase stationnaire est en général une résine du même signe que la forme ionique de la molécule à exclure.
- ↪ Il s'établit à la surface de la phase stationnaire une pellicule d'eau dont la surface se comporte comme une membrane chargée.
- ↪ Seul les espèces neutres peuvent diffuser à travers cette membrane virtuelle.
- ⇒ Prenons le cas où le soluté est un acide carboxylique **HA** et l'éluant une phase aqueuse acide. Sachant que l'acide est qualifié par son pK_a , si le pH de l'éluant n'est pas assez faible ($pH < pK_a - 2$) alors l'acide existera sous deux formes A^- et **HA**.
- ↪ Alors que les ions A^- de même signe que la phase stationnaire sont exclus, il s'opère une séparation grâce à des interactions non ioniques (d'adsorption, hydrophobes, de partage...) pour les molécules neutres **HA** avec le support de la phase stationnaire. La combinaison simultanée des deux mécanismes génère un partage par équilibre de Donan.
- ↪ On définit une constante de distribution $K_{D(HA)}$ et le facteur de rétention $k'_{(HA)}$:

$$K_{D(HA)} = \frac{[HA]_S}{[HA]_M}$$

et

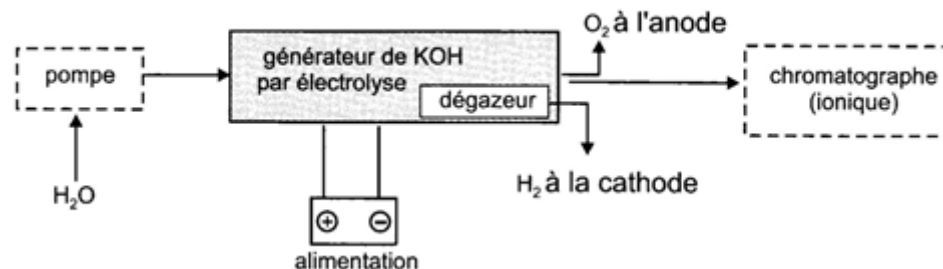
$$k'_{(HA)} = K_{D(HA)} \Phi_{SM}$$

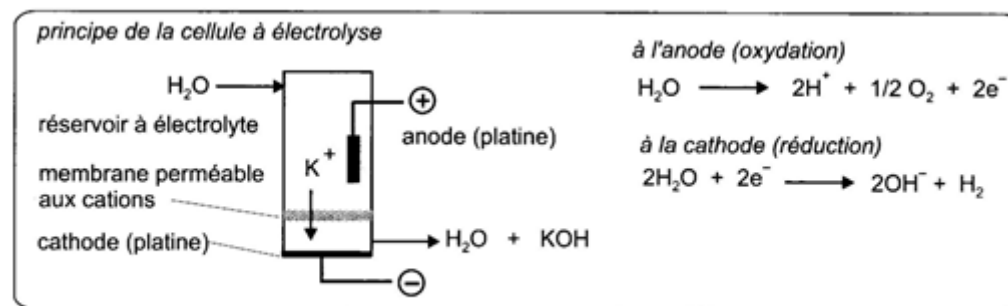
La colonne chromatographique: l'éluant

- ⇒ Les éluants sont des solutions aqueuses chargées d'ions inorganiques ou organiques. On peut incorporer un faible pourcentage de méthanol, d'acétone ou d'acétonitrile pour favoriser la solubilisation des solutés. Quelquefois des additifs (mannitol, EDTA, éther-couronne ou autres chélatants...) peuvent être incorporés.
- ⇒ La concentration des ions de l'éluant est de l'ordre de quelques $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Cette concentration doit être en adéquation avec le détecteur choisi.
- ⇒ Dans le cas où la résine échangeuse n'est pas formée de groupes acides ou basiques forts, il faut utiliser un éluant dont le pH permette une ionisation totale. On peut aussi dans ce cas précis jouer avec le pH pour affiner la capacité disponible de la colonne et / ou l'affinité des solutés pour la phase stationnaire.
- ⇒ L'eau utilisée pour fabriquer l'éluant doit être ultra pure et avoir une résistivité supérieure à $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$. Le but est de ne pas introduire d'ions parasites tout en assurant une conductivité minimale de l'éluant.
- ⇒ Pour avoir la sensibilité la meilleure, la conductivité de l'éluant doit être la plus basse possible.

Séparation des anions (colonne cationique)

- ⇒ Les ions de l'éluant sont apportés par des bases minérales: NaOH, KOH, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, Na_2CO_3 , NaHCO_3 ...
- ⇒ Les ions de l'éluant sont apportés par des sels d'acides organiques: acide phtalique, acide benzoïque, acide tartrique, acide dipicolinique...
- ⇒ Les ions de l'éluant sont apportés par des bases organiques: TRIS, acides aminés, phosphates...
- ⇒ Les solutions basiques fortes ont tendance à capturer le CO_2 de l'atmosphère qui se transforme en carbonate en consommant la base. La solution s'acidifie avec le temps. Il faut utiliser un absorbeur de CO_2 pour protéger l'éluant.
- ⇒ Une autre solution consiste en la génération de l'éluant **MOH** *in situ* par électrolyse.





Séparation des cations (colonne anionique)

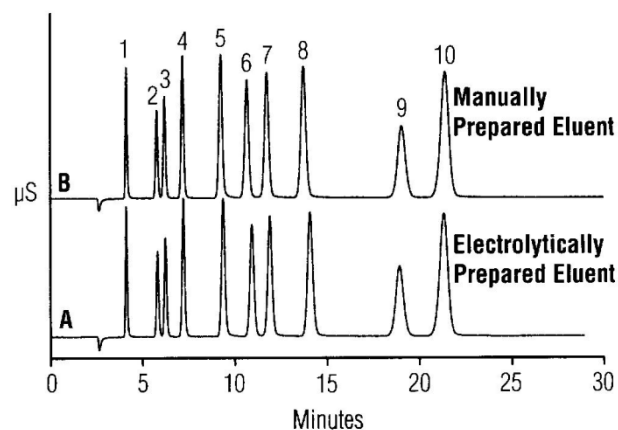
- ⇒ Les ions de l'éluant sont apportés par des acides minéraux: HCl , HNO_3 , HClO_4 , H_3BO_3 ...
- ⇒ Les ions de l'éluant sont apportés par des acides organiques: acide oxalique, acide citrique, acide tartrique, acide dipicolinique...

Séparation par exclusion d'ion

- ⇒ Les ions de l'éluant sont apportés par les acides et les bases décrites précédemment. Il faut que le pH de l'éluant favorise la forme neutre des solutés à séparer.

Séparation en mode isocratique

⇒ Le mode isocratique est le plus utilisé en chromatographie IC car il permet de séparer la plupart des mélanges ioniques.



Column: Thermo Scientific Dionex IonPac AS23
 Eluent: 4.5 mM Na_2CO_3 / 0.8 mM NaHCO_3
 Flow Rate: 1.0 mL/min
 Detection: Suppressed conductivity
 Inj. Volume: 25 μL

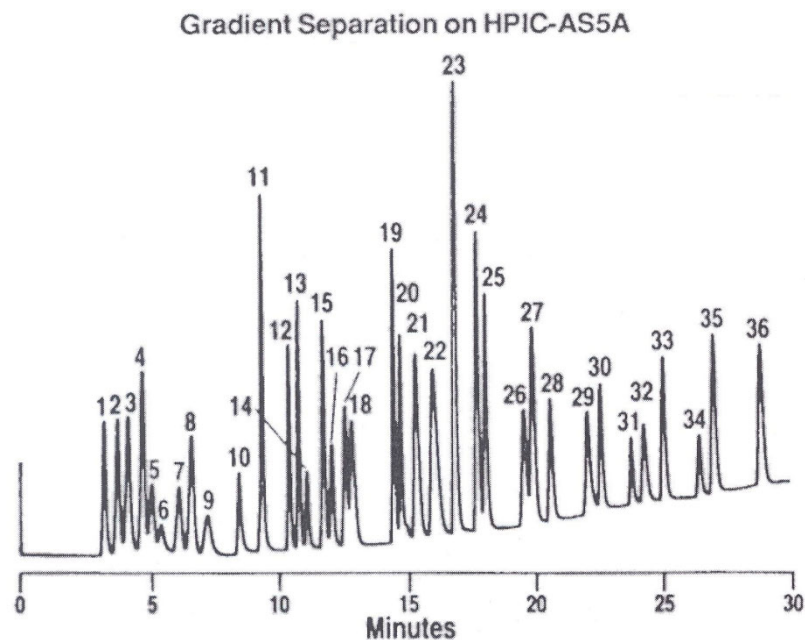
Peaks:	1. Fluoride	3.0 mg/L	6. Chlorate	25.0 mg/L
	2. Chlorite	10.0	7. Bromide	25.0
	3. Bromate	20.0	8. Nitrate	25.0
	4. Chloride	6.0	9. Phosphate	40.0
	5. Nitrite	15.0	10. Sulfate	30.0

22955

Identical separation of anions and oxyhalides using manually or electrolytically prepared eluent.

Séparation en mode gradient

- ⇒ La séparation en mode gradient est plutôt réservée à l'analyse de mélange complexes. Cette méthode est assez difficile à mettre en œuvre d'un point de vue technique (dérive de la ligne de base, contaminations...). Elle nécessite l'utilisation d'un suppresseur (voir détection).
- ⇒ Gradient de force ionique: gradient de concentration de l'ion éluant organique, acide faible ou base faible selon le type de chromatographie réalisée.
- ⇒ Gradient de pH: gradient de concentration de l'ion éluant inorganique, H^+ ou OH^- selon le type de chromatographie réalisée.
- ⇒ Gradient de composition: gradient réalisé à l'aide de plusieurs solvants de nature différente, mélangés dans des proportions qui varient au cours de la séparation chromatographique.
- ⇒ Les gradients de pH peuvent être réalisés de façon électrochimique par électrolyse de l'eau en générant MOH (voir p. 29) ou par gradient des solvants aqueux acides ou basiques de concentration déterminée obtenus à l'aide d'une vanne de mélange.
- ⇒ Les gradients de force ionique et de composition sont obtenus par gradients de solvants aqueux de composition déterminée à l'aide d'une vanne de mélange.



All anions 10 ppm unless noted

- | | |
|------------------------------|-----------------------------|
| 1. F^- (1.5 ppm) | 19. HPO_4^{2-} |
| 2. α -Hydroxybutyrate | 20. SeO_3^{2-} |
| 3. Acetate | 21. Br^- |
| 4. Glycolate | 22. NO_3^- |
| 5. Butyrate | 23. SO_4^{2-} |
| 6. Gluconate | 24. Oxalate |
| 7. α -Hydroxyvalerate | 25. SeO_4^{2-} |
| 8. Formate (5 ppm) | 26. α -Ketoglutarate |
| 9. Valerate | 27. Fumarate |
| 10. Pyruvate | 28. Phthalate |
| 11. Monochloroacetate | 29. Oxalacetate |
| 12. BrO_3^- | 30. PO_4^{3-} |
| 13. Cl^- (3 ppm) | 31. AsO_4^{3-} |
| 14. Galacturonate | 32. CrO_4^{2-} |
| 15. NO_2^- (5 ppm) | 33. Citrate |
| 16. Glucuronate | 34. Isocitrate |
| 17. Dichloroacetate | 35. cis-Aconitate |
| 18. Trifluoroacetate | 36. trans-Aconitate |

Eluant 1: Water

Eluant 2: 100 mM NaOH

Flow Rate: 1 mL/min.

Gradient Program

Minutes:	0	5	15	30
%1:	100	100	85	57
%2:	0	0	15	43

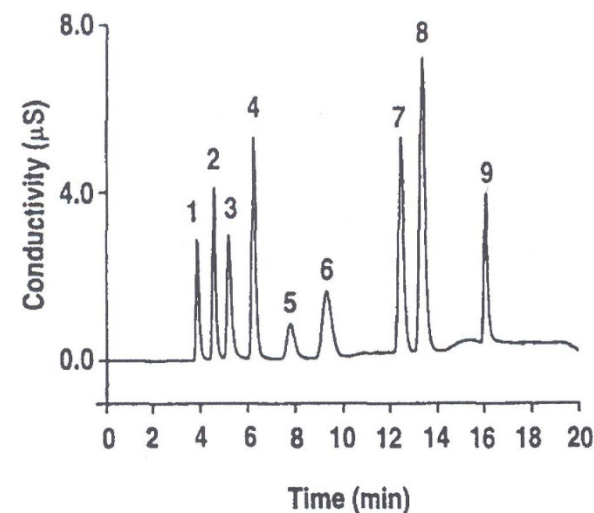


Fig. 5. Separation of Group-I and -II cations and volatile amines. Column, 25 cm \times 4 mm, 8–9 μ m IonPac CS12A; mobile phase, step gradient of 8 mM sulfuric acid–4% acetonitrile to 14 mM sulfuric acid–4% acetonitrile to 25 mM sulfuric acid–5% acetonitrile; flow rate, 1.0 ml/min; detection, conductivity with suppression from a CSRS-II Autosuppressor unit; temperature, 40°C. Sample: (1) lithium (0.5 ppm); (2) sodium (2.0 ppm); (3) ammonium (2.5 ppm); (4) potassium (5.0 ppm); (5) morpholine (10.0 ppm); (6) 2-diethylaminoethanol (10.0 ppm); (7) magnesium (2.5 ppm); (8) calcium (5.0 ppm); (9) cyclohexylamine (15.0 ppm) (courtesy of Dionex).

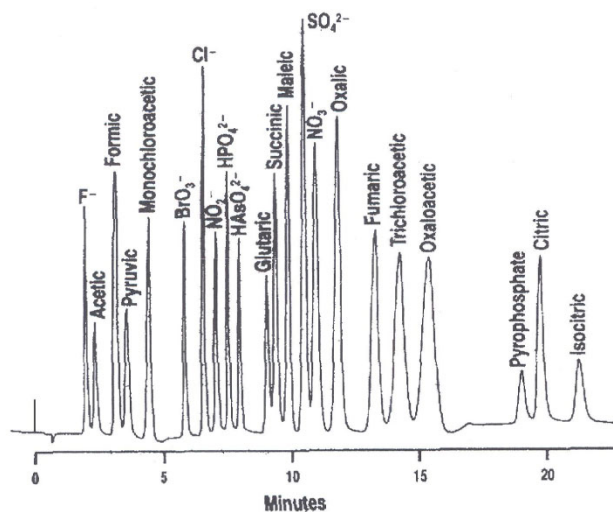
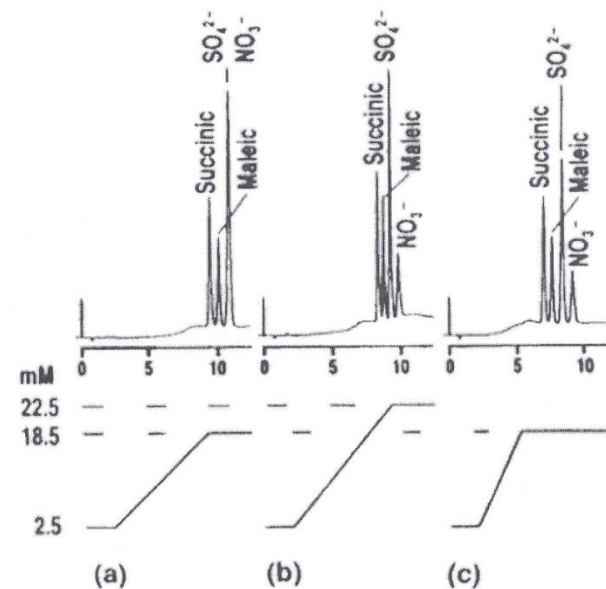


Fig. 3. Gradient elution of inorganic and organic anions on HPIC-AS6. To counteract baseline drift, the regenerant contained 200 mM boric acid in addition to 12.5 mM sulfuric acid. The following eluents were used. Eluent A, 35 mM p-cyanophenol, 50 mM ammonium hydroxide, 2% acetonitrile; eluent B, 50 mM mannitol, 2% acetonitrile; eluent C, 2% acetonitrile. Gradient program:

Time (min):	0	3	3.1	7	13	15
%A:	7	15	30	53	53	100
%B:	45	40	40	30	25	0
%C:	48	45	30	17	22	0

Flow-rate, 2.0 ml/min; sample loop, 50 μ l; 30 μ S full scale range.

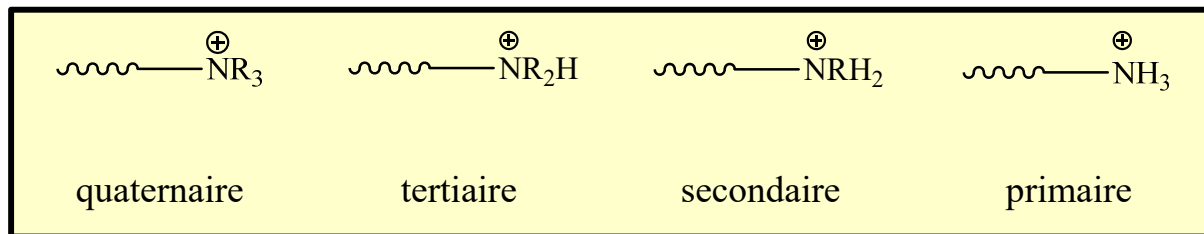
Effect of Gradient Ramp on Elution AS6, p-Cyanophenolate Eluant



La colonne chromatographique: phases stationnaires

Résines échangeuses d'anions

⇒ Elles sont constituées par des groupements de surface de type ammoniums.

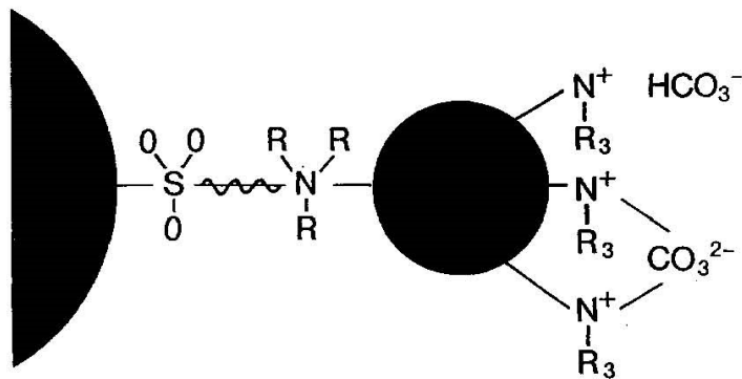


⇒ Les résines à base d'amines quaternaires sont des bases fortes qui se trouvent sous forme de sels d'ammonium quaternaire (cationique) quelque soit le pH de l'éluant.

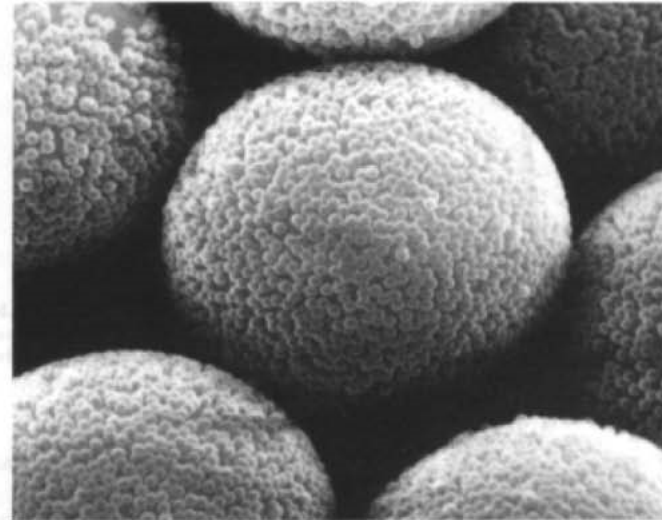
⇒ Les résines à base d'amines primaires, secondaires et tertiaires ont une charge qui dépend du pH de l'éluant.

⇒ Les résines d'ammonium quaternaires sont les plus fréquemment utilisées. Dans ce type de résine, le groupement **R** est souvent un groupe alkyle ou un groupe alcool.

Latex Anion Exchange Particle



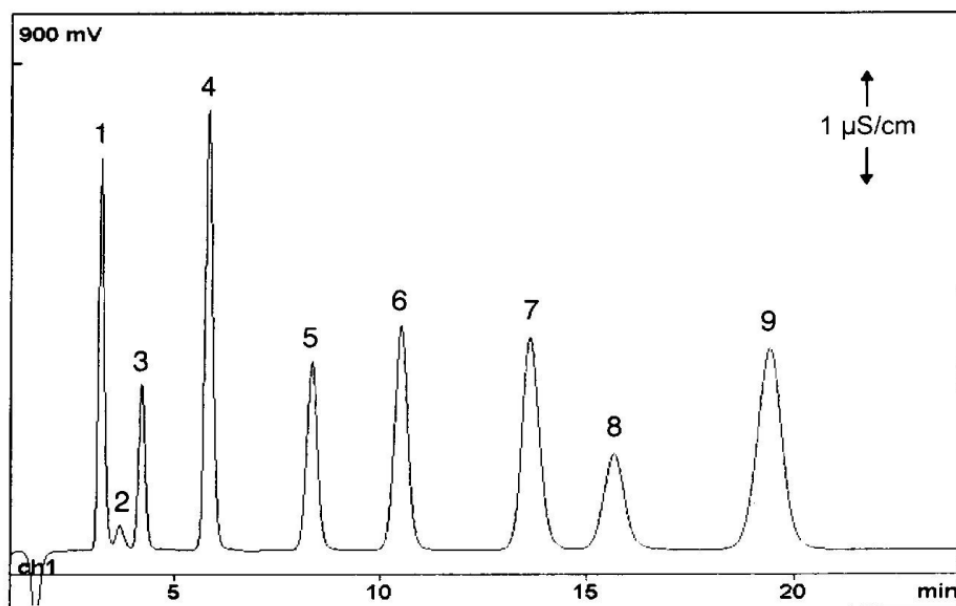
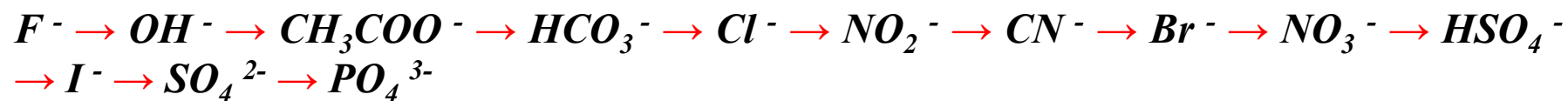
Structure of a latex-based anion exchange resin.



Scanning electron micrograph of surface agglomerated anion exchange resin particles. The diameter of the substrate particles is about 20 μm and of the colloidal particles about 3000 Å. (Micrograph was prepared by E. Bradford of the Physical Research Laboratory of the Dow Chemical Company.)

- ⇒ L'affinité de la résine cationique augmente avec le numéro atomique des anions à séparer pour une valence constante.
- ⇒ L'affinité augmente avec la valence des anions.
- ⇒ Pour une résine ternaire ou quaternaire, il y a compétition entre ***OH*** et les autres anions en fonction de l'acidité de la résine lorsqu'elle est sous forme de sel d'ammonium.

⇒ La rétention augmente le long de la série:

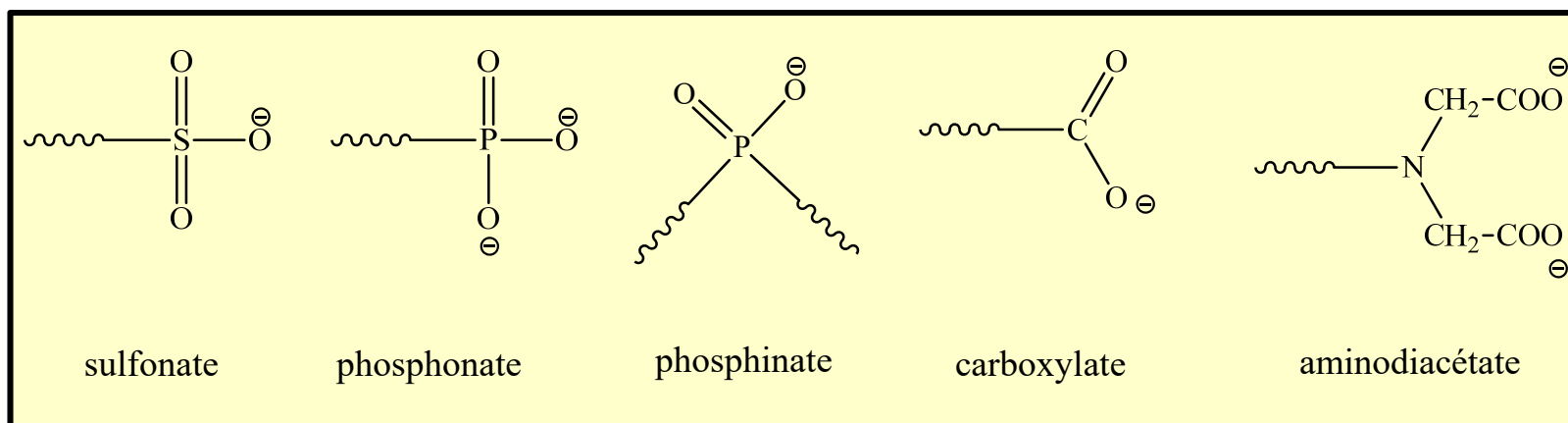


PMMA-NR₃⁺
 Na₂CO₃ 1,3 mM / NaHCO₃ 2 mM

Pic	Composant	Conc. [mg/L]	t _R [min]
1	Fluorure	2	3.2
2	Acétate	2	3.6
3	Formiate	2	4.1
4	Chlorure	5	5.8
5	Nitrite	5	8.3
6	Bromure	10	10.5
7	Nitrate	10	13.6
8	Orthophosphate	10	15.6
9	Sulfate	10	19.4

Résines échangeuses de cations

⇒ Elles sont constituées par les groupements de surface anioniques suivant:



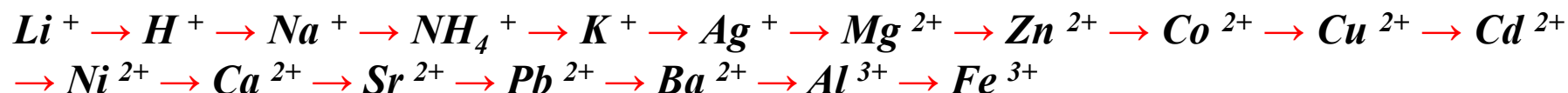
⇒ Les résines à base de groupes sulfoniques, un acide fort, se trouvent sous forme sulfonates (anionique), quelque soit le pH de l'éluant.

⇒ Les autres groupes présentés ci-dessus sont issus d'acides faibles et leur présence sous forme anionique dépend du pH de l'éluant.

⇒ Dans le cas des résines à base carboxylate, aminodiacétate, phosphonate et phosphinate, il se superpose au mécanisme d'échange d'ion simple des mécanismes de complexation avec les cations concernés (métaux alcalino-terreux, métaux de transition, lanthanides...).

⇒ Ces réactions de complexation changent l'ordre d'élution de ces cations par rapport à l'ordre d'élution observé sur résine sulfonate (pas de propriété complexante).

⇒ Sur résine sulfonate, la rétention augmente le long de la série:



⇒ L'élution suit globalement la valence et la masse molaire des cations à séparer.

⇒ Sur résine carboxylique, la rétention augmente le long de la série:



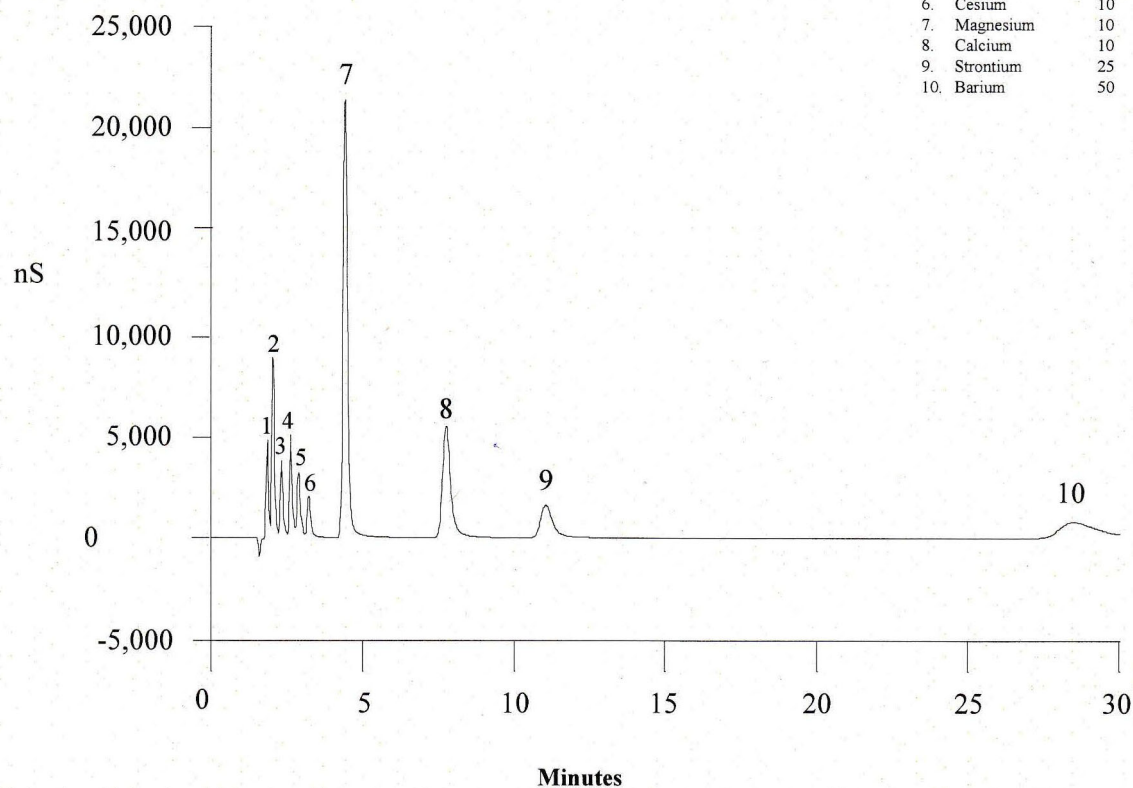
⇒ Sur résine aminodiacétate, la rétention augmente le long de la série:



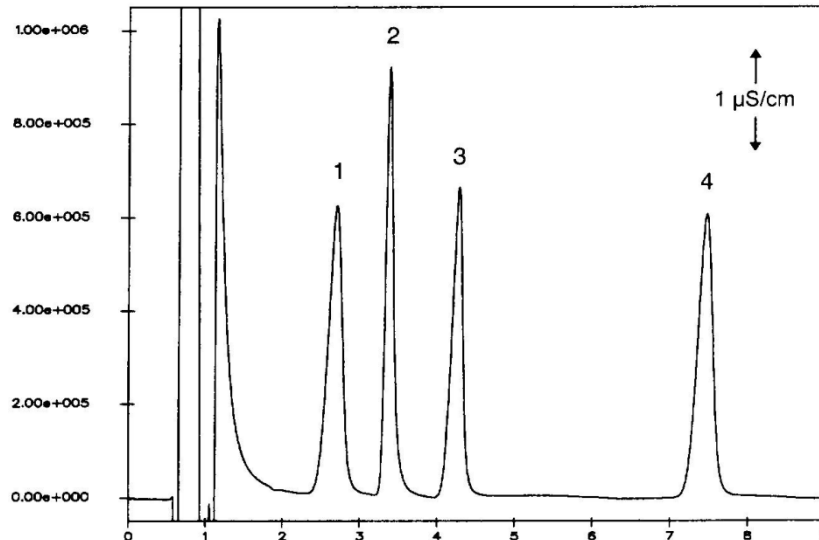
The separation and elution of the 10 inorganic cations on the IonPac CS11 2-mm Analytical Column utilizing a hydrochloric acid/DL-2,3-diaminopropionic acid (DAP) eluent is shown in this example. By using this eluent, monovalent and divalent cations can be isocratically separated and quantitated in a single injection in less than 30 minutes.

Sample Loop Volume: 2.5 µL
 Analytical Column: IonPac CS11 2-mm Analytical Column
 Eluent: 60 mM HCl/12 mM DAP·HCl
 Eluent Flow Rate: 0.25 mL/min
 SRS Suppressor: Cation Self-Regenerating Suppressor, CSRS ULTRA (2-mm)
 or MMS Suppressor: Cation MicroMembrane Suppressor, CMMS III (2-mm)
 SRS or MMS Regenerant: 100 mM TBAOH
 Expected Background Conductivity: ≤ 5 µS
 Column Storage Solution: Eluent (60 mM HCl/12 mM DAP)

Analyte	mg/L
1. Lithium	5
2. Sodium	5
3. Ammonium	5
4. Potassium	5
5. Rubidium	10
6. Cesium	10
7. Magnesium	10
8. Calcium	10
9. Strontium	25
10. Barium	50

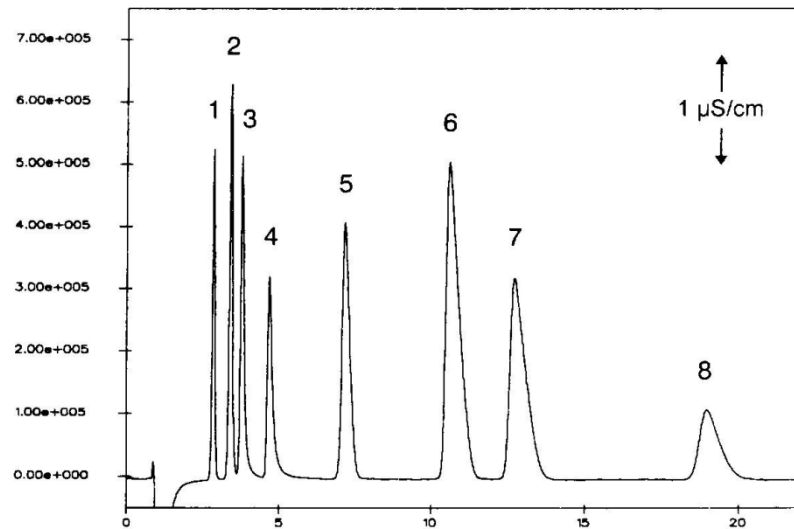


Column	Particle Diameter µm	Functional Group	Hydrophobicity
CS10 Analytical (4 x 250 mm)	8.5	Sulfonic acid	Medium
CS10 Guard (4 x 50 mm)	8.5	Sulfonic acid	Medium
CS11 Analytical (2 x 250 mm)	7.5	Sulfonic acid	Medium
CS11 Guard (2 x 50 mm)	7.5	Sulfonic acid	Medium



Gel de silice-SO₃⁻
 acide tartrique 4 mM / acide citrique 0,5 mM
 éthylènediamine 3 mM / acétone 5%

Pic	Composant	Conc. [mg/L]	t _R [min]
1	Nickel	5	2.7
2	Zinc	5	3.4
3	Cobalt	5	4.3
4	Manganèse	10	7.5

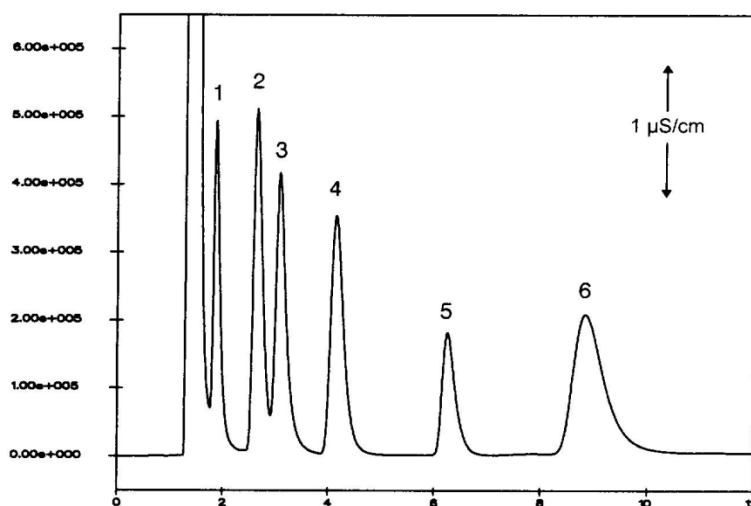


Gel de silice-acide maléïque
 acide tartrique 4 mM / acide dipicolinique 1 mM

Pic	Composant	Conc. [mg/L]	t _R [min]
1	Lithium	1	2.9
2	Sodium	5	3.4
3	Ammonium	5	3.8
4	Potassium	10	4.7
5	Calcium	10	7.2
6	Magnésium	10	10.6
7	Strontium	20	12.7
8	Baryum	20	19.0

Résines pour exclusion de Donan

- ⇒ Elles sont constituées par des groupements de surface de type sulfonates pour la séparation des acides et sous forme ammoniums pour la séparation des bases.
- ⇒ A un pH donné, si un acide est totalement protonné, il pénètre dans la structure poreuse de la phase stationnaire et sera retenu selon son affinité avec le support. Si il est totalement dissocié il sera complètement exclu par répulsion électrostatique avec les groupes de surface et donc ne sera pas retenu. Si il est partiellement dissocié, il montrera des caractéristiques de rétention intermédiaires, il se partage par équilibre de Donan.



PS-DVB-SO₃⁻
HClO₄ 1,5 mM

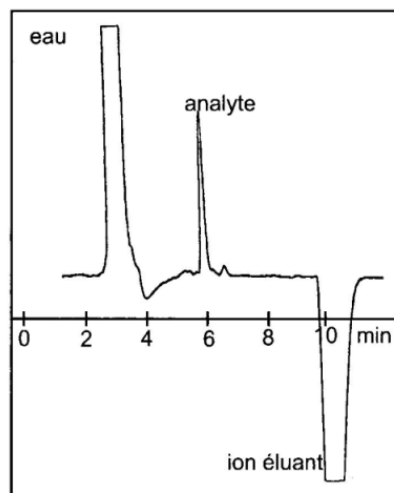
Pic	Composant	Conc. [mg/L]	t _R [min]
1	Tartrate	4	1.8
2	Malate	7.5	2.6
3	Citrate	7.5	3.1
4	Lactate	10	4.2
5	Acétate	25	6.3
6	Succinate	40	8.8

Elution en fonction du pK_a et de la taille

La colonne chromatographique: le soluté

- ⇒ On prépare en général le soluté en solution diluée (de l'ordre de quelque $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) dans l'éluant utilisé pour la séparation chromatographique. La solution finale doit générer un signal compatible avec le détecteur utilisé.
- ⇒ Le soluté peut être aussi préparé dans l'eau déionisée.
- ⇒ Sur le chromatogramme, on observe, en plus des pics des solutés, deux pics supplémentaires qui correspondent aux pics d'injection et système. Le pic d'injection est encore appelé pic de l'eau.
- ⇒ Le pic d'injection a pour origine les contre-ions du soluté et de l'éluant dans le cas où l'échantillon est préparé dans l'éluant. Dans le cas où l'échantillon est préparé dans l'eau, il résulte uniquement des contre-ions du soluté.
- ⇒ Le pic d'injection est un pic de rétention faible voir nulle.
- ⇒ Le pic d'injection est souvent considéré comme un marqueur de temps mort. En effet, quelle que soit la nature de ces contre-ions, ils ont la même charge que la résine et sont de ce fait élués sans aucune interaction avec la résine. Il peut être positif ou négatif selon le mode de détection choisi (avec ou sans suppresseur) et la quantité d'échantillon injectée.

- ⇒ Le pic d'injection peut masquer la présence de certains ions dont les temps de rétention sont faibles, voisin du temps mort.
- ⇒ Le pic système a pour origine l'ion éluant.
- ⇒ Si le soluté est préparé par dilution dans l'eau, au cours de l'injection, on sera en déficit de l'ion éluant dans le système pendant un court instant. On observera un pic système négatif correspondant au temps de rétention de l'ion éluant déficitaire.
- ⇒ Si le soluté est préparé par dilution dans l'éluant, le pic système sera positif.



- ⇒ L'intensité de ces deux pics peut être modulée en fonction du mode de détection choisi (avec ou sans suppresseur).

Le détecteur

- ⇒ En chromatographie IC, les détecteurs conductométrique, UV-Visible, fluorimétrique sont les plus courants.
- ⇒ Pour les substances pouvant être oxydées ou réduites en milieu aqueux, on peut utiliser un détecteur électrochimique.
- ↪ Le détecteur électrochimique est basé sur une électrolyse en mode potentiostatique (différence de potentiel constante).
- ↪ On enregistre le courant d'électrolyse en fonction du temps. Ce dernier est proportionnel à la quantité de soluté électrolysé.
- ⇒ La détection peut être directe ou nécessiter la dérivation chimique des solutés. La dérivation chimique n'est utile que si l'on utilise une détection UV-visible ou par fluorescence.
- ↪ Les ions étant naturellement conducteurs, ils donnent une réponse conductométrique sans nécessiter de dérivation. Le détecteur conductométrique est donc un détecteur universel pour la chromatographie IC. On doit rester néanmoins prudent dans le cas où on travaille en exclusion d'ions d'un point de vue quantitatif.

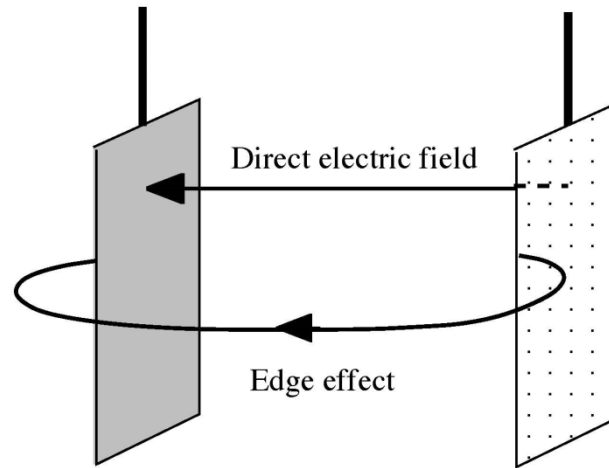
Type	Response	Noise level	C_N g cm^{-3}	Linear range	Flow cell volume, μl
Uv-visible absorption	selective	10^{-4} au	10^{-8}	10^4 – 10^5	1–8
Fluorescence	selective	10^{-7} au	10^{-12}	10^3 – 10^4	8–25
Conductivity	selective	10^{-2} $\mu\text{S cm}^{-1}$	10^{-7}	10^3 – 10^4	1–5
Amperometric	selective	0.1 nA	10^{-10}	10^4 – 10^5	0.5–5
Refractive index	universal*	10^{-7} riu	10^{-6}	10^3 – 10^4	5–15

Le détecteur conductométrique

⇒ Le détecteur conductométrique est constitué de deux électrodes identiques de surface S espacées d'une distance l .

↪ A l'aide d'un générateur de tension sinusoïdal, on perturbe la solution entre les deux électrodes.

↪ On choisit une variation de tension à haute fréquence pour ne pas générer de phénomène d'électrolyse. On mesure la résistance R entre les deux électrodes, elle est proportionnelle à la conductivité de la solution.



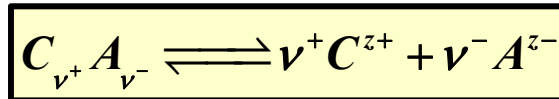
↪ R (Ω) s'exprime en fonction de la surface S (m^2) des électrodes, de la distance l (m) entre les électrodes et de la résistivité ρ ($\Omega \cdot \text{m}$) de la solution.

$$R = \rho \frac{l}{S}$$

⇒ R s'exprime en fonction de la conductivité de la solution σ ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$). $\sigma = l/\rho$.

$$R = \frac{l}{\sigma S}$$

⇒ Pour un soluté composé d'un cation C^{z+} et d'un anion A^{z-} , on aura:



⇒ La conductivité s'exprimera comme suit:

$$\sigma_{C_{\nu^+} A_{\nu^-}} = \frac{\Lambda_{C_{\nu^+} A_{\nu^-}} [C_{\nu^+} A_{\nu^-}]}{1000}$$

⇒ Le facteur 1000 provient de l'unité de la conductivité molaire Λ ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$). La concentration devra être exprimée en $\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$.

➡ Pour un électrolyte fort, totalement dissocié Λ s'exprimera en fonction de la constante de Kohlraush K ($\text{S}\cdot\text{cm}^{7/2}\cdot\text{mol}^{-3/2}$) et de la conductivité molaire limite Λ^0 ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$):

$$\Lambda_{C_{v+}A_{v-}} = \Lambda_{C_{v+}A_{v-}}^0 - K\sqrt{[C_{v+}A_{v-}]}$$

➡ Pour un électrolyte faible, un acide ou une base partiellement dissocié(e), Λ s'exprimera en fonction de la constante d'acidité K_a et de la conductivité molaire limite Λ^0 ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$):

$$\frac{1}{\Lambda_{C_{v+}A_{v-}}} = \frac{1}{\Lambda_{C_{v+}A_{v-}}^0} + \frac{\Lambda_{C_{v+}A_{v-}} [C_{v+}A_{v-}]_0}{K_a (\Lambda_{C_{v+}A_{v-}}^0)^2}$$

➡ Dans cette équation, $[C_{v+}A_{v-}]_0$ représente la concentration de l'électrolyte avant dissociation dans l'eau.

➡ La conductivité molaire limite Λ^0 s'exprime en fonction des conductivités ioniques limites λ^0 ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$):

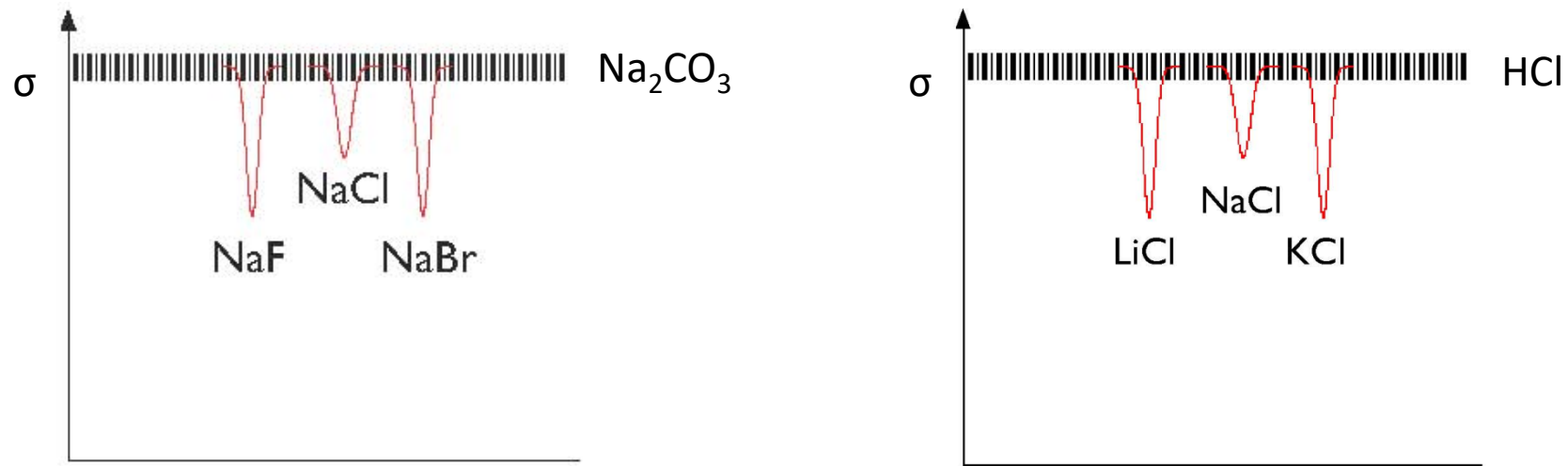
$$\Lambda_{c_{v+}, A_{v-}}^0 = \nu_{c_{v+}} \lambda_{c_{v+}}^0 + \nu_{A_{v-}} \lambda_{A_{v-}}^0$$

➡ Quelques valeurs de conductivité ionique limite λ^0 :

Cation	λ^0 ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$)	Anion	λ^0 ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$)
H^+	349,6	OH^-	199,1
Na^+	50,1	F^-	55,4
K^+	73,5	Cl^-	76,3
Ca^{2+}	119,0	Br^-	78,1
Mg^{2+}	106,0	CH_3COO^-	40,9
Zn^{2+}	105,6	SO_4^{2-}	160,0
Ba^{2+}	128	HCO_3^-	44,5
CH_3NH_3^+	58	CO_3^{2-}	138,6
Li^+	38,7	HCOO^-	54,6
Pb^{2+}	140	NO_3^-	71,4
Fe^{3+}	204	Propionate	36
Hg^{2+}	127,2	Benzoate	32

La détection conductométrique directe

- ⇒ Pour ce genre de détection, il faut que la capacité disponible de la colonne soit relativement faible afin que la quantité d'ion éluant à détecter soit assez basse pour ne pas saturer le détecteur conductométrique.
- ⇒ Lorsque l'on choisi une détection directe, les pics d'injection et du système sont très prononcés. Le pic d'injection peu être positif ou négatif en fonction de la concentration et du volume injecté de l'échantillon.
- ⇒ Lorsque l'éluant est un électrolyte fort, la détection directe engendre souvent des pics négatifs pour les solutés.
- ⇒ En effet, si l'ion éluant est plus conducteur que le soluté alors celui-ci produira un pic négatif.
- ⇒ Au contraire, si le soluté possède une conductivité égale ou légèrement supérieure à celle de l'ion éluant, on distinguera un pic très légèrement positif.
- ⇒ Dans tous les cas de figure, c'est le rapport des concentrations soluté / ion éluant qui déterminera l'intensité du pic chromatographique.



⇒ Pour la chromatographie d'anions, l'éluant utilisé est une base forte diluée (NaOH par exemple).

⇒ Pour réduire la conductivité de l'éluant, on préférera alors une solution à base de sels basiques comme les sels d'acide phtalique, salicylique ou benzoïque qui présentent une conductivité relativement faible.

⇒ Pour la chromatographie de cations, et notamment pour les ions alcalins et alcalino-terreux, l'éluant utilisé est une solution diluée d'acide fort (HNO_3 par exemple). La conductivité du proton étant très forte, on observe toujours des pics négatifs.

⇒ On préférera des solutions d'acide faible de conductivité plus basse comme éluant.

La détection conductométrique avec suppression chimique

⇒ Suppresseurs à résine échangeuse d'ion

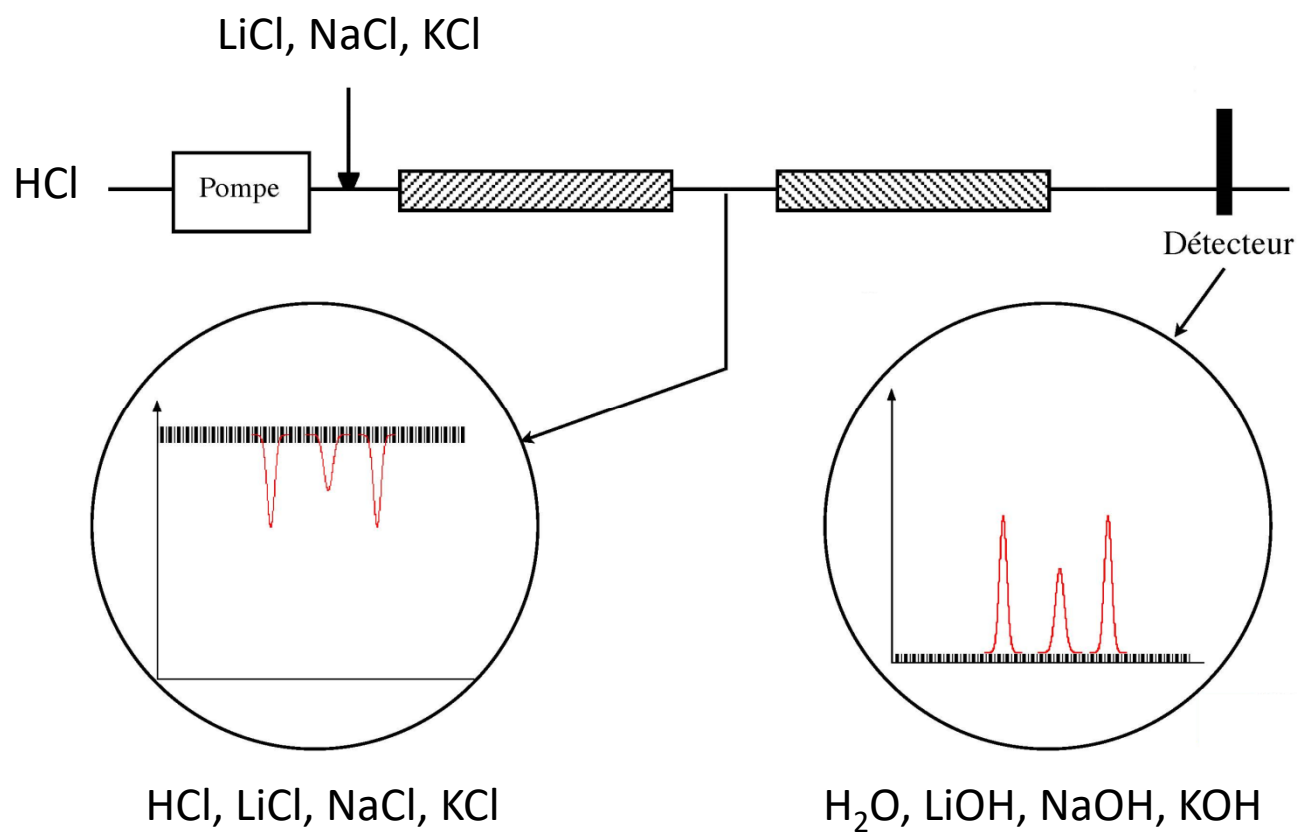
⇒ Dans bien des cas, on est obligé d'utiliser des éluants d'acides forts ou de bases fortes. Pour obtenir des pics positifs, on a recours à une suppression chimique. Cette dernière diminue aussi fortement l'intensité des pics d'injection et du système. Le pic d'injection devient négatif.

⇒ La suppression chimique peut se faire à l'aide d'une colonne échangeuse d'ions de charge opposée à celle de la colonne de séparation. Cette colonne de suppression doit posséder une forte capacité disponible pour échanger les ions éluants présents en grande concentration. Elle doit avoir aussi une forte affinité pour les ions éluants.

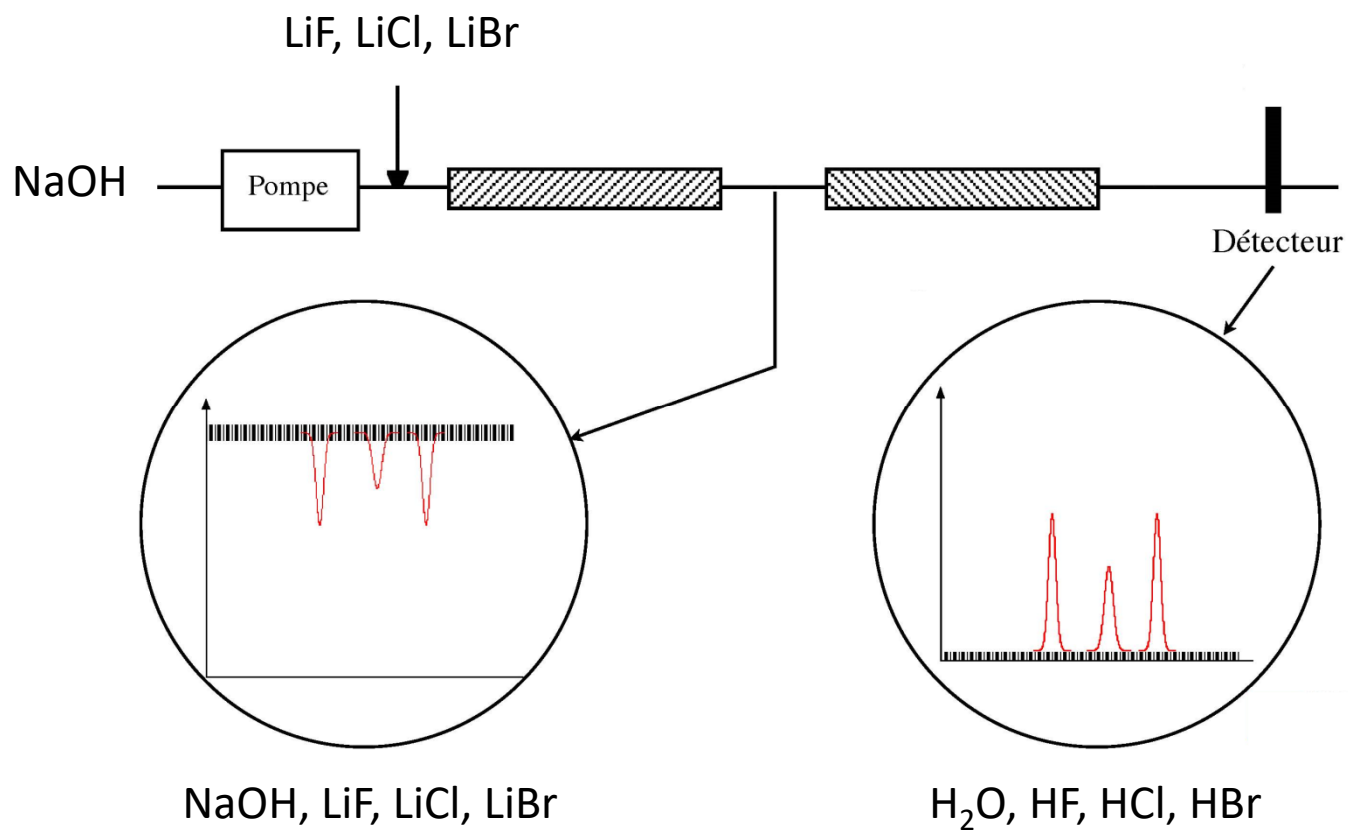
⇒ La suppression chimique permet alors de ramener la conductivité de l'éluant à celle de l'eau pure par échange d'ions. L'échange d'ions s'applique aussi au soluté et engendre une augmentation de sa conductivité et par conséquent améliore la sensibilité de l'analyse.

⇒ Ce type de suppresseur possède un grand volume mort qui diminue l'efficacité globale de la séparation. Il doit être régénéré périodiquement pour éliminer les ions éluants fixés à la colonne échangeuse d'ion. Ce système n'est pas compatible avec un mode gradient.

➡ Séparation de cations: résine anionique $\text{SO}_3^- / \text{H}^+$, suppresseur cationique $\text{NR}_3^+ / \text{OH}^-$, régénérant du suppresseur NaOH ou KOH.



➡ Séparation d'anions: résine cationique $\text{NR}_3^+ / \text{OH}^-$, suppresseur anionique $\text{SO}_3^- / \text{H}^+$, régénérant du suppresseur H_2SO_4 .



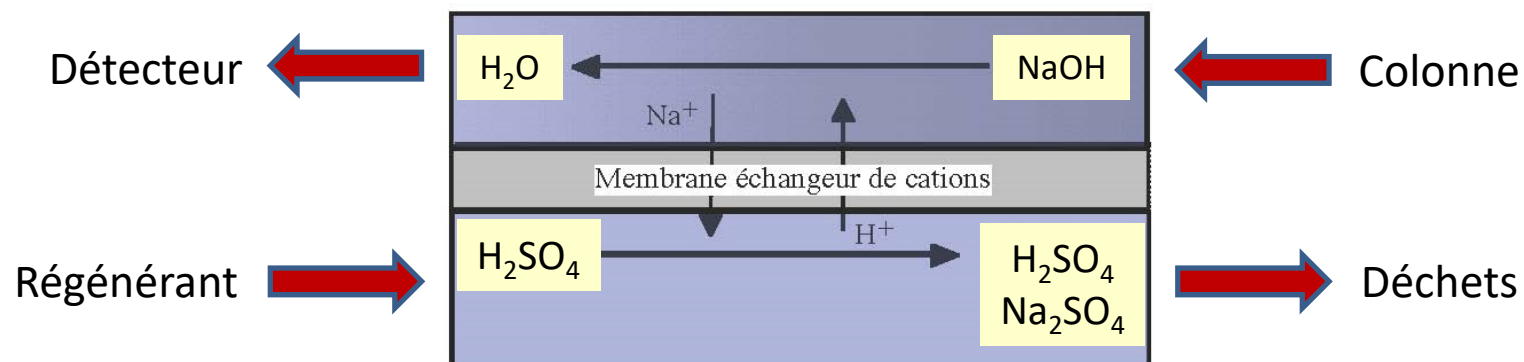
➤ Pour une séparation d'anions, si l'éluant est NaHCO_3 / Na_2CO_3 , par réaction avec H^+ on produira H_2CO_3 puis CO_2 .

➤ Plus la capacité disponible du suppresseur est grande, plus le nombre de cycles de régénération sera faible.

➡ Suppresseurs à membranes

➤ Ces suppresseurs ont de petits volumes morts, de l'ordre de $50\ \mu\text{L}$ et une forte capacité ionique. L'efficacité globale de séparation reste optimale.

➤ Ils sont compatibles avec une élution en mode gradient et fonctionnent en continu:



⇒ Pour la séparation d'anions, on est en présence d'une membrane échangeuse de cations:
 $\text{Na}^+ \leftrightarrow \text{H}^+$:

Eluant: $\text{NaOH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

Suppresseur: $\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{Na}_2\text{SO}_4$

Solutés: $\text{NaX} \rightarrow \text{HX}$

⇒ Pour la séparation de cations, on est en présence d'une membrane échangeuse d'anions:
 $\text{Cl}^- \leftrightarrow \text{OH}^-$:

Eluant: $\text{HCl} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

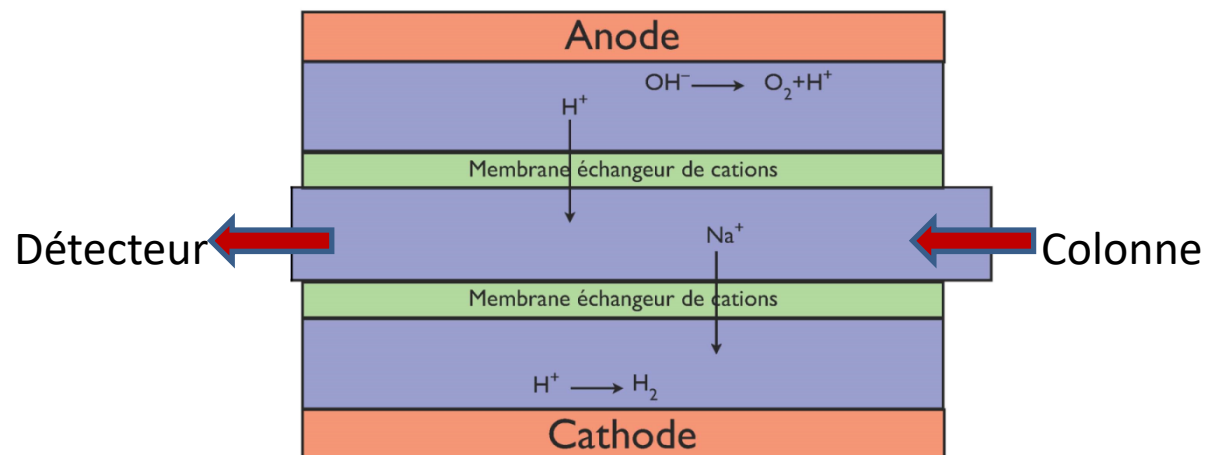
Suppresseur: $\text{NaOH} \rightarrow \text{NaCl}$

Solutés: $\text{MCl} \rightarrow \text{MOH}$

⇒ Suppresseurs électrochimiques

⇒ De nouveaux supprimeurs à membranes ont été développés pour s'auto-régénérer. On effectue des réactions d'électrolyse qui génèrent en continu les ions nécessaires au fonctionnement du supprimeur.

➡ Le schéma ci-après décrit le fonctionnement d'un suppresseur électrochimique:



➡ Pour la séparation d'anions, on est en présence d'une membrane échangeuse de cations:
 $\text{Na}^+ \leftrightarrow \text{H}^+$:

Eluant: $\text{NaOH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

Suppresseur anodique: $2\text{OH}^- \rightarrow 2\text{H}^+ + \text{O}_2$

Suppresseur cathodique: $2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2$

Solutés: $\text{NaX} \rightarrow \text{HX}$

➡ Pour la séparation de cations, on est en présence d'une membrane échangeuse d'anions:
 $\text{Cl}^- \leftrightarrow \text{OH}^-$:

Eluant: $\text{HCl} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

Suppresseur anodique: $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}^+ + \text{O}_2$

Suppresseur cathodique: $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$

Solutés: $\text{MCl} \rightarrow \text{MOH}$

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 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.

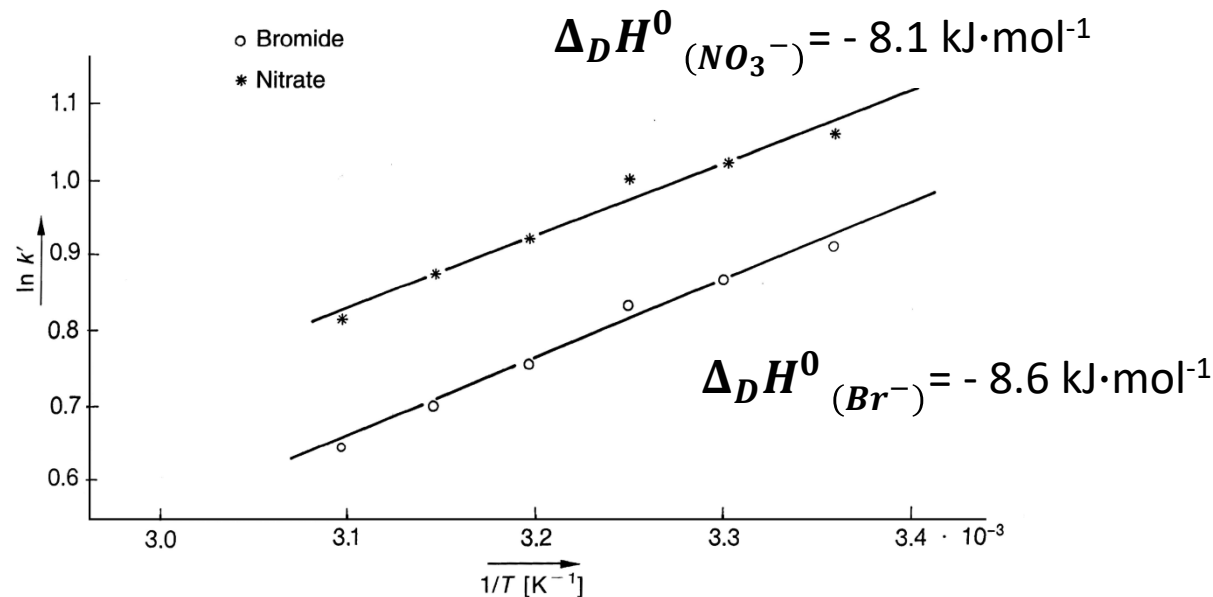
Les aspects physiques de la colonne

- ⇒ L'augmentation de la longueur de la colonne fournit un nombre de plateaux théoriques plus important ($N \times 2$ si $L \times 2$) mais accroît le temps d'analyse et la perte de charge.
- ⇒ La diminution du diamètre des particules entraîne une amélioration de la séparation à travers le nombre de plateaux théoriques ($N \uparrow$) et par conséquent joue un rôle sur la résolution ($R_s \propto N^{1/2}$), tout en générant une augmentation de la contre pression (loi de Darcy).

- ⇒ Les supports poreux présentent les groupes actifs à la surface et à l'intérieur des pores. La diffusion des solutés à l'intérieur des pores n'est pas négligeable, elle ralentit les échanges ioniques.
- ⇒ Par rapport aux supports poreux, les phases pelliculaires, support compact et imperméable, offrent une séparation fine et rapide.
- ⇒ Les phases pelliculaires, qui présentent des groupes actifs à la surface du support imperméable, permettent de concentrer l'échange ionique sur une surface minimale. Les échanges ioniques sont grandement accélérés.
- ⇒ La séparation est sous contrôle enthalpique. Le facteur de rétention k' d'un cation ou d'un anion dont la charge est x varie en fonction de la température. La constante a est positive car la réaction est exothermique:

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

- ⇒ Lorsque la température augmente, les facteurs de rétention k' et *a fortiori* les temps de rétention diminuent.



↪ Le facteur de rétention k' varie très peu avec la température de la colonne. Cette caractéristique est liée à la faible variation de la constante d'échange en fonction de la température (loi de Van't Hoff) dans la plage de température considérée ($\Delta T \approx 50^\circ\text{C}$).

↪ Lorsque la température augmente, la diffusion des solutés augmente, favorisant ainsi l'échange ionique. Le nombre de plateaux théoriques augmente aussi en fonction de la température.

↪ La résolution et la symétrie des pics s'améliorent avec l'effet de température.

Les aspects chimiques de la colonne

- ⇒ La nature chimique du support de l'échangeur d'ion joue un rôle important lorsque les ions à séparer sont de nature organique. Dans ce cas précis, d'autres interactions (Van Der Waals, liaisons hydrogènes...) faisant intervenir les parties non ioniques des molécules peuvent s'établir avec le support de l'échangeur (PS-DVB, PMMA...).
- ⇒ Le pH de l'éluant joue un rôle important sur l'intensité de ces interactions.
- ⇒ Le facteur de rétention k' d'un cation ou anion dont la charge est x en présence d'un éluant cationique ou anionique de charge y varie comme suit:

$$\log \left(k'_{(J^{x\pm})} \right) = \frac{1}{y} \log \left(K_{E^{y\pm}}^{J^{x\pm}} \right) + \frac{x}{y} \log \left(\frac{C_D}{y} \right) - \frac{x}{y} \log \left([E^{y\pm}]_M \right) + \log (\Phi_{SM})$$

- ⇒ L'augmentation de la concentration de l'éluant accélère l'élution.
- ⇒ Une augmentation de la constante d'échange, de la capacité disponible ou du volume de phase stationnaire effectif provoque une augmentation de k' .

- ↪ L'augmentation de la charge de l'ion éluant ($y \uparrow$) augmente le pouvoir d'élution de ce dernier: $k' \downarrow$.
- ↪ L'augmentation de la charge du soluté ($x \uparrow$) pour un éluant donné à faible concentration constante provoque une augmentation de k' (retardement).
- ↪ L'élution de solutés multivalents est plus fortement influencée que celle de solutés monovalents lorsque l'on augmente la concentration d'un éluant monovalent.
- ↪ Si on augmente la capacité disponible de la phase stationnaire, on doit augmenter de la même façon la concentration de l'éluant pour garder k' constant.
- ↪ Les supports poreux PS-DVB et à base de silice ont une grande capacité disponible (grande surface spécifique), on peut observer des solutés fortement retenus (cations et anions multivalents).
- ↪ Les phases pelliculaires présentent de faibles capacités disponibles (échangeur en surface).
- ↪ Les temps de rétention et par conséquent k' , augmentent souvent lorsque l'on ajoute un solvant organique à l'éluant.

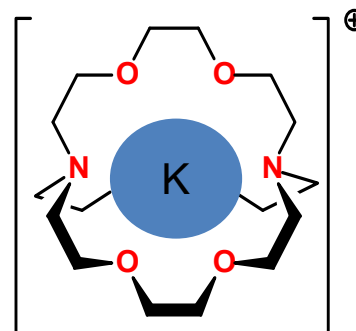
La nature des solutés à séparer

⇒ La quantité de soluté que l'on peut injecter dépend d'une part de sa solubilité dans l'eau ou dans l'éluant et d'autre part de la capacité disponible de l'échangeur. Les capacités disponibles des supports poreux sont plus importantes que celles des phases pelliculaires.

⇒ On peut modifier les temps de rétention des cations multivalents par complexation. Le complexe résultant peut être cationique (charge inférieure au cation de départ), neutre voir anionique ($Fe^{3+} + 4Cl^- \rightleftharpoons FeCl_4^-$).

⇒ La complexation diminue les temps de rétention des cations ciblés. Si on utilise un ligand sélectif, alors seul un ou quelques cations du mélange peuvent être affectés. Pour les cations monovalents, faiblement complexables, on peut utiliser des éther couronnes pour influencer leur temps de rétention et les séparer avec une meilleure sélectivité comme c'est le cas pour Na^+ , K^+ et NH_4^+ .

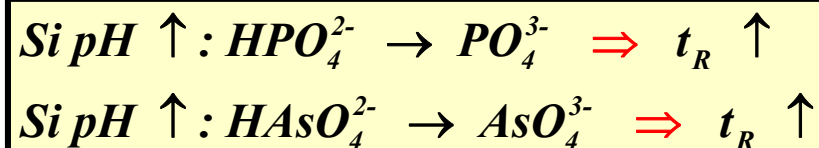
⇒ complexation de K^+ par un éther couronne:



⇒ Un changement de pH entraîne souvent un décalage des temps de rétention.

⇒ Ceci est naturellement vrai pour les acides et les bases organiques par rapport à leur état de protonation.

⇒ Ceci est également valable pour les ions inorganiques tels que les phosphates et arsénates par exemple.



⇒ Le pic d'injection peut masquer la présence de certains ions comme les chlorures et fluorures dont les temps de rétention sont faibles.

⇒ En mode suppression chimique, le pic d'injection est négatif et il sert à déterminer le temps mort (ou volume mort du système). Il peut être éliminé ou diminué par l'utilisation d'éluants générant peu de bruit de fond.

⇒ Sans suppression chimique, le pic d'injection peut être positif ou négatif en fonction de la concentration et du volume d'échantillon injecté. L'élimination de ce dernier est pratiquement impossible.

Conséquences cinétiques

⇒ On doit ici se baser sur l'équation de Van Deemter pour un soluté J^\pm :

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

⇒ Les éluions sont en général réalisées avec des débits compris entre 0,5 et 2 mL·min⁻¹. Les phases stationnaires utilisées en IC génèrent une grande résistance au transfert de masse. En se référant à l'équation de Knox, le terme C peut atteindre 1 (0,01 à 0,2 pour l'HPLC).

⇒ Pour les supports poreux, la diffusion des solutés à l'intérieur des pores n'est pas négligeable, elle augmente la résistance au transfert de masse. La diminution de la taille des particules constituant les supports poreux réduit la résistance au transfert de masse.

⇒ les phases pelliculaires, support compact et imperméable, engendrent une diminution de la diffusion des ions dans le support et par conséquent réduisent considérablement la résistance au transfert de masse.

↪ Lorsque la température augmente, la viscosité de l'éluant (phase aqueuse) diminue et par conséquent, la contre pression de la colonne est réduite (loi de darcy). La résistance au transfert de masse diminue aussi. Ainsi, une augmentation de la température permet de chromatographier avec un débit de phase mobile plus important.