

Théorie de la chromatographie

Exercice n°1

Un soluté J est engagé dans une séparation par batteries de Craig qui comporte 5 cellules.

Donner l'expression de la masse de soluté J dans chaque cellule après 4 transferts.

Application numérique : $m_J(0,0) = 0,1 \text{ g}$, $p_J = 0,4$ puis $p_J = 0,6$.

Pour chaque cas, vérifier la conservation de la masse totale.

Dans le cas des batteries de Craig on a une expression de la distribution de la masse $m_J(n, k)$ d'un soluté J dans la cellule k après n transferts :

$$m_J(n, k) = m_J(0, 0) \binom{n}{k} p_J^k q_J^{(n-k)}$$

Ainsi, après 4 transferts, le contenu des cellules 0 à 4 est :

$$m_J(4, 0) = m_J(0, 0) \binom{4}{0} p_J^0 q_J^{(4)}$$

$$m_J(4, 1) = m_J(0, 0) \binom{4}{1} p_J^1 q_J^{(3)}$$

$$m_J(4, 2) = m_J(0, 0) \binom{4}{2} p_J^2 q_J^{(2)}$$

$$m_J(4, 3) = m_J(0, 0) \binom{4}{3} p_J^3 q_J^{(1)}$$

$$m_J(4, 4) = m_J(0, 0) \binom{4}{4} p_J^4 q_J^{(0)}$$

Application numérique pour $m_J(0,0) = 0,1 \text{ g}$ et $p_J = 0,4$:

$p_J = 0,4$ d'où $q_J = 1 - 0,4 = 0,6$

$$\begin{aligned}
m_J(4,0) &= m_J(0,0) \binom{4}{0} p_J^0 q_J^{(4)} = 0,1 \times 1 \times 1 \times 0,6^4 = 0,01296 \\
m_J(4,1) &= m_J(0,0) \binom{4}{1} p_J^1 q_J^{(3)} = 0,1 \times 4 \times 0,4 \times 0,6^3 = 0,03456 \\
m_J(4,2) &= m_J(0,0) \binom{4}{2} p_J^2 q_J^{(2)} = 0,1 \times 6 \times 0,4^2 \times 0,6^2 = 0,03456 \\
m_J(4,3) &= m_J(0,0) \binom{4}{3} p_J^3 q_J^{(1)} = 0,1 \times 4 \times 0,4^3 \times 0,6^1 = 0,01536 \\
m_J(4,4) &= m_J(0,0) \binom{4}{4} p_J^4 q_J^{(0)} = 0,1 \times 1 \times 0,4^4 \times 1 = 0,00256 \\
\sum &= 0,01296 + 0,03456 + 0,03456 + 0,01536 + 0,00256 = 0,1 \text{ g}
\end{aligned}$$

Application numérique pour $m_J(0,0) = 0,1 \text{ g}$ et $p_J = 0,6$:

$p_J = 0,6$ d'où $q_J = 1 - 0,6 = 0,4$

$$\begin{aligned}
m_J(4,0) &= m_J(0,0) \binom{4}{0} p_J^0 q_J^{(4)} = 0,1 \times 1 \times 1 \times 0,4^4 = 0,00256 \\
m_J(4,1) &= m_J(0,0) \binom{4}{1} p_J^1 q_J^{(3)} = 0,1 \times 4 \times 0,6 \times 0,4^3 = 0,01536 \\
m_J(4,2) &= m_J(0,0) \binom{4}{2} p_J^2 q_J^{(2)} = 0,1 \times 6 \times 0,6^2 \times 0,4^2 = 0,03456 \\
m_J(4,3) &= m_J(0,0) \binom{4}{3} p_J^3 q_J^{(1)} = 0,1 \times 4 \times 0,6^3 \times 0,4^1 = 0,03456 \\
m_J(4,4) &= m_J(0,0) \binom{4}{4} p_J^4 q_J^{(0)} = 0,1 \times 1 \times 0,6^4 \times 1 = 0,01296 \\
\sum &= 0,00256 + 0,01536 + 0,03456 + 0,03456 + 0,01296 = 0,1 \text{ g}
\end{aligned}$$

Exercice n°2

Lors d'une séparation par batterie de Craig, une petite quantité de soluté **J** reste toujours dans la première cellule, quels que soient le nombre de transferts et le coefficient de distribution entre les phases mobile et stationnaire.

En Supposant que $V_S = V_M$ et que $K_{D(J)} = 1$, quelle fraction de soluté J reste dans les deux premières cellules après 10 transferts ?

Dans le cas des batteries de Craig on a une expression de la distribution de la masse $m_J(n, k)$ d'un soluté J dans la cellule k après n transferts :

$$m_J(n, k) = m_J(0, 0) \binom{n}{k} p_J^k q_J^{(n-k)}$$

Ainsi, après 10 transferts, le contenu des cellules $k = 0$ et $k = 1$ est :

$$\text{cellule } k = 0 : m_J(10, 0) = m_J(0, 0) \binom{10}{0} p_J^0 q_J^{10}$$

$$\text{cellule } k = 1 : m_J(10, 1) = m_J(0, 0) \binom{10}{1} p_J^1 q_J^9$$

Pour trouver les fractions p_J et q_J , on fait appel au facteur de rétention k'_J :

$$k'_{(J)} = \frac{q_J}{p_J} = K_{D(J)} \frac{V_S}{V_M}$$

$$\frac{q_J}{p_J} = K_{D(J)} \frac{V_S}{V_M} = 1$$

$$\frac{q_J}{p_J} = 1 \text{ et } p_J + q_J = 1 \Rightarrow p_J = 0,5, q_J = 0,5$$

Application numérique : $p_J = 0,5$, $q_J = 0,5$ et la fraction est $m_J(10, k) / m_J(0, 0)$:

$$\frac{m_J(10, 0)}{m_J(0, 0)} = \binom{10}{0} p_J^0 q_J^{10} = 1 \times 1 \times 0,5^{10} = 9,77 \times 10^{-4} = 0,1\%$$

$$\frac{m_J(10, 1)}{m_J(0, 0)} = \binom{10}{1} p_J^1 q_J^9 = 10 \times 0,5 \times 0,5^9 = 9,77 \times 10^{-3} = 1\%$$

Exercice n°3

On modélise le rinçage dans un lave-linge comme un processus de distribution où la phase mobile est l'eau de rinçage et la phase stationnaire le linge contenu dans la machine.

Le volume total du lave-linge est de 60 L. On suppose que le linge occupe la moitié du lave-linge.

Sachant que chaque rinçage d'une durée de 20 min avec de l'eau pure enlève 90 % de lessive du linge, calculer le nombre de rinçages ainsi que le temps nécessaires pour obtenir un linge propre (0,01 % de lessive restant).

phase mobile : eau de rinçage

phase stationnaire : linge sale

rapport de phase : $\frac{V_{mo}}{V_{st}} = \frac{V_M}{V_S} = 1$ et $V_M + V_S = 60 \text{ L}$

pourcentage de lessive restante après un rinçage : $q_L = 10\% = 0,1$

pourcentage de lessive éliminée après un rinçage : $p_L = 90\% = 0,9$

Le lave-linge est considéré comme une batterie à une seule cellule $k = 0$.

On doit calculer alors le nombre de rinçage n à effectuer pour obtenir un linge propre c'est-à-dire ne contenant que 0,01% de lessive. On utilise la distribution de Craig :

$$m_L(n, k) = m_L(0, 0) \binom{n}{k} p_L^k q_L^{(n-k)} \Rightarrow m_L(n, 0) = m_L(0, 0) \binom{n}{0} p_L^0 q_L^n$$

$$\frac{m_L(n, 0)}{m_L(0, 0)} = \binom{n}{0} q_L^n = \frac{n!}{0!(n-0)!} q_L^n = q_L^n = 0,01\% = 1 \times 10^{-4}$$

$$q_L^n = 0,01\% = 1 \times 10^{-4}$$

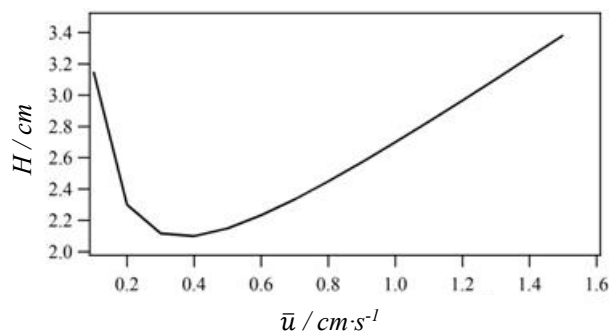
$$n \ln(q_L) = \ln(1 \times 10^{-4}) \Rightarrow n = \frac{\ln(1 \times 10^{-4})}{\ln(q_L)} = \frac{\ln(1 \times 10^{-4})}{\ln(0,1)} = 4$$

Sachant qu'un rinçage dure 20 minutes, le temps total sera de $4 \times 20 = 80$ minutes.

Exercice n°4

Les séparations chromatographiques sont régies par l'équation de Van Deemter. Cette équation exprime la hauteur à un plateau théorique H en fonction de la vitesse linéaire d'écoulement moyenne de la phase mobile \bar{u} : $H = A + B/\bar{u} + C\bar{u}$. A , B et C sont des constantes.

Esquisser le graphe $H = f(\bar{u})$.



Comment doit-on faire évoluer H pour obtenir des conditions de séparation optimales ?, en déduire la vitesse linéaire d'écoulement moyenne optimale de la phase mobile.

Le but c'est d'avoir H minimale pour obtenir un grand nombre de plateaux : $H = \frac{L}{N}$ avec

L la longueur de la colonne et N le nombre de plateaux théoriques.

H est minimum si sa dérivée $\frac{dH}{d\bar{u}} = 0$.

$$\frac{dH}{d\bar{u}} = \frac{dA}{d\bar{u}} + \frac{d(B/\bar{u})}{d\bar{u}} + \frac{d(C\bar{u})}{d\bar{u}}$$

$$\frac{dH}{d\bar{u}} = \frac{-B}{\bar{u}^2} + C$$

$$0 = \frac{-B}{\bar{u}_{opt}^2} + C$$

$$\bar{u}_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

Exprimer H_{opt} en fonction de A , B et C uniquement. Si B et C sont très petits, que vaut H ? Dans ce cas, de quoi dépend la performance de la séparation ?

$$H_{opt} = A + \frac{B}{u_{opt}} + C \overline{u_{opt}}$$

$$H_{opt} = A + \frac{B}{\sqrt{\frac{B}{C}}} + C \sqrt{\frac{B}{C}}$$

$$H_{opt} = A + 2\sqrt{BC}$$

Si B et C sont très petits on aura :

$$\sqrt{BC} \rightarrow 0 \text{ et } H_{opt} \rightarrow A$$

Dans ce cas la performance de la séparation dépend uniquement de A . Comme $A = 2\lambda d_p$, alors l'efficacité de la séparation ne dépend que du diamètre des particules qui constituent la phase stationnaire, à savoir plus d_p est petit, plus H sera petit et plus N sera grand.

En HPLC, les constantes A , B et C sont fonction des paramètres suivants : $A = f(d_p)$, $B = f(D_M)$ et $C = f(d_p^2)$ où d_p représente le diamètre des particules de la phase stationnaire et D_M représente le coefficient de diffusion du soluté analysé dans la phase mobile.

A partir de ces données, proposer un moyen (à vitesse linéaire d'écoulement moyenne, longueur de colonne et nature de la phase mobile constantes) pour améliorer la séparation.

Pour améliorer la séparation, il faut augmenter le nombre de plateaux théoriques et donc diminuer H . Ne pouvant jouer sur le coefficient de diffusion D_M de l'analyte dans la phase mobile (D_M dépend de la nature de la phase mobile et de l'analyte), on ne peut jouer que sur le diamètre des particules de la phase stationnaire. Si on diminue ce diamètre, alors on diminuera H et on augmentera par la même le nombre de plateaux théoriques N .

En vous appuyant sur la loi de Darcy, sans faire de calcul, décrire l'influence d'une telle modification ?

Sachant que la loi de Darcy pour l'HPLC est : $\Delta P = \frac{\Phi \eta L \bar{u}}{d_p^2}$, en utilisant la même phase mobile (η), la même colonne (longueur L constante), la même vitesse linéaire d'écoulement moyenne (\bar{u}), et une constante Φ (porosité interstitielle) qui varie peu, alors plus le diamètre des particules sera petit, plus la perte de charge sera grande et plus la séparation sera difficile. Il faudra alors contrecarrer ce ΔP afin de garder la qualité de séparation. La qualité d'une séparation en HPLC dépend fortement de la différence entre les pressions de sortie et d'entrée de la colonne qui doit être la plus faible possible.

Exercice n°5

En général, en chromatographie en phase liquide, le terme correspondant à la diffusion d'Eddy est le terme prépondérant de l'équation de Van Deemter lorsque $\bar{u} = \bar{u}_{opt}$.

Sachant qu'en HPLC $A = 2\lambda d_p \sim 2d_p$ pour un remplissage optimal, démontrer que $N_{max} = L / 2d_p$.

Si $\bar{u} = \bar{u}_{opt}$, on a alors : $H_{opt} = A + 2\sqrt{BC}$

Si la diffusion d'Eddy est prépondérante alors : $\sqrt{BC} \rightarrow 0$ et $H_{opt} \rightarrow A$. D'où :

$$H_{opt} \approx A \approx 2\lambda d_p \approx 2d_p$$

On aura : $H = \frac{L}{N} \Rightarrow H_{opt} = \frac{L}{N_{max}}$ (minimum de Van Deemter)

$$D'où : H_{opt} = \frac{L}{N_{max}} = 2d_p \Rightarrow N_{max} = \frac{L}{2d_p}$$

Exercice n°6

Une équation importante de la chromatographie liquide est l'équation de Knox, équation basée sur des paramètres adimensionnels.

Expliquer l'intérêt d'utiliser des paramètres adimensionnels pour l'évaluation des performances chromatographiques en phase liquide.

Pouvoir comparer la performance de colonnes dont le diamètre des particules est différent.

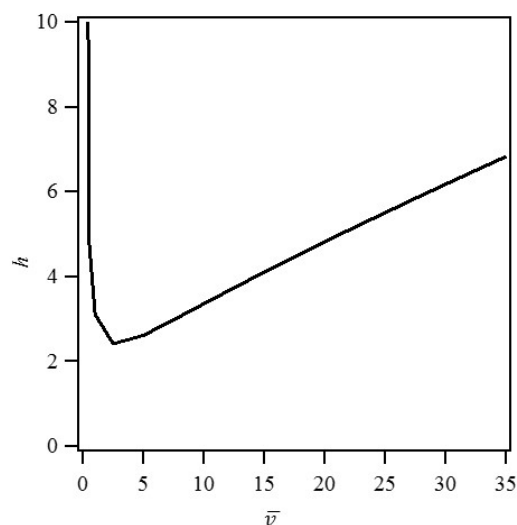
Donner l'équation de Knox et montrer en quoi elle diffère de l'équation de Van Deemter.

L'équation de Knox relie la hauteur équivalente à un plateau théorique réduite h à la vitesse d'écoulement réduite moyenne \bar{v} de la phase mobile :

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

Dans cette équation la diffusion d'Eddy n'est plus une constante, elle dépend aussi de la vitesse d'écoulement réduite moyenne \bar{v} de la phase mobile, ce qui n'est pas le cas dans l'équation de Van Deemter.

Esquisser le graphe de l'équation de Knox.



Définir les paramètres suivants : longueur réduite de la colonne, hauteur équivalente à un plateau théorique réduite et vitesse d'écoulement moyenne réduite.

La longueur réduite l représente le nombre de tranches de particules contenues dans la colonne. Deux colonnes ayant la même longueur réduite auront une efficacité équivalente si elles sont mises en œuvres avec la même vitesse réduite. La longueur réduite dépend de la longueur L de la colonne:

$$l = \frac{L}{d_p}$$

La hauteur équivalente à un plateau théorique réduite h représente le nombre de couches de particules par plateau théorique. Cette grandeur permet de comparer entre-elles des colonnes remplies de particules de tailles différentes. h s'exprime en fonction de la HEPT H comme:

$$h = \frac{H}{d_p}$$

La vitesse d'écoulement moyenne réduite \bar{v} s'exprime en fonction de la vitesse linéaire d'écoulement moyenne \bar{u} de la phase mobile, du coefficient de diffusion du soluté J dans la phase mobile $D_{M(J)}$ et du temps mort t_M :

$$\bar{v} = \frac{\bar{u}d_p}{D_{M(J)}} = \frac{Ld_p}{t_M D_{M(J)}} = \frac{ld_p^2}{t_M D_{M(J)}}$$

Exercice n°7

Soit une colonne chromatographique HPLC, colonne A , dont les caractéristiques sont les suivantes : $L = 150 \text{ mm}$, *diamètre interne* = $4,6 \text{ mm}$, *taille des particules* = $5 \mu\text{m}$.

Une chromatographie de solutés dont les coefficients de diffusion sont de $10 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ est réalisée à $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Le temps mort de la colonne est estimé à $0,5 \text{ min}$ pour ce débit.

Calculer \bar{u} , N_{\max} et H_{opt} .

$$\text{Comme : } t_M = \frac{L}{\bar{u}} \text{ alors : } \bar{u} = \frac{L}{t_M} = \frac{15}{0,5 \times 60} = 0,5 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$\text{Comme : } N_{\max} \approx \frac{L}{2d_p} \text{ alors : } N_{\max} = \frac{150 \times 10^{-3}}{2 \times 5 \times 10^{-6}} = 15000$$

$$\text{Comme : } H_{\text{opt}} = \frac{L}{N_{\max}} \text{ alors : } H_{\text{opt}} = \frac{15}{15000} = 1 \times 10^{-3} \text{ cm}$$

Calculer l , h_{opt} et $\overline{v_{\text{opt}}}$ en considérant que : $\bar{u} = \overline{u_{\text{opt}}}$. Sachant que la vitesse réduite pour une chromatographie efficace doit être : $\overline{v_{\text{opt}}} = 3$, que pouvez-vous dire sur le débit \bar{u} ?

$$l = \frac{L}{d_p} = \frac{150 \times 10^{-3}}{5 \times 10^{-6}} = 3 \times 10^4$$

$$h_{\text{opt}} = \frac{H_{\text{opt}}}{d_p} = \frac{1 \times 10^{-3}}{5 \times 10^{-6}} = 2$$

$$\overline{v_{\text{opt}}} = \frac{\overline{u_{\text{opt}}} d_p}{D_{M(J)}} = \frac{0,5 \times 10^{-2} \times 5 \times 10^{-6}}{10 \times 10^{-9}} = 2,5$$

Comme $\overline{v_{\text{opt}}} < 3$ alors, on peut dire que $\bar{u} \neq \overline{u_{\text{opt}}}$, le débit dans la colonne est trop faible. On devrait réaliser la chromatographie à un débit supérieur à $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. La HEPT H n'est donc pas minimale et par conséquent, le nombre de plateaux théoriques à disposition n'est pas le nombre de plateaux théorique maximal.

En vous basant sur les calculs précédents, déterminer la longueur d'une colonne chromatographique **B** dont l'efficacité est similaire à la colonne **A**. La colonne **B** dont le diamètre interne reste identique est constituée de particules de $2 \mu\text{m}$ de diamètre.

Pour conserver l'efficacité de cette colonne, elle doit posséder une longueur réduite identique :

$$l = \frac{L}{d_p} \Rightarrow L = l d_p = 3 \times 10^4 \times 2 \times 10^{-6} = 6 \times 10^{-2} \text{ m} = 60 \text{ mm}$$

Calculer N_{max} de cette nouvelle colonne. Que pouvez-vous en conclure ?

$$\text{Comme : } N_{max} \approx \frac{L}{2d_p} \text{ alors : } N_{max} = \frac{60 \times 10^{-3}}{2 \times 2 \times 10^{-6}} = 15000$$

On peut s'apercevoir que le nombre de plateaux théoriques maximal est le même, les colonnes A et B ont donc bien la même efficacité.

Calculer H_{opt} .

$$\text{Comme : } H_{opt} = \frac{L}{N_{max}} \text{ alors : } H_{opt} = \frac{6}{15000} = 4 \times 10^{-4} \text{ cm}$$

Calculer $\overline{u_{opt}}$ pour opérer avec $\overline{v_{opt}}$ déterminé précédemment.

$$\overline{v_{opt}} = \frac{\overline{u_{opt}} d_p}{D_{M(J)}} \Rightarrow \overline{u_{opt}} = \frac{\overline{v_{opt}} D_{M(J)}}{d_p} = \frac{2,5 \times 10 \times 10^{-9}}{2 \times 10^{-6}} = 1,25 \times 10^{-2} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1} = 1,25 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$$

Calculer le temps mort de cette nouvelle colonne. La valeur du temps mort vous paraît-elle plausible ?

$$t_M = \frac{L}{\overline{u}} = \frac{6}{1,25} = 4,8 \text{ s} = 0,08 \text{ min}$$

La valeur trouvée est plus petite que celle obtenue avec une colonne plus grande dont le débit est plus petit, c'est donc tout à fait plausible.

Exercice n°8

Soit une colonne chromatographique HPLC, colonne *A*, dont les caractéristiques sont les suivantes : *L* = 150 mm, *diamètre interne* = 4,6 mm, *taille des particules* = 5 μm.

Quelle doit-être la vitesse linéaire d'écoulement moyenne \bar{u} de la phase mobile, pour chromatographier le phénétol (coefficient de diffusion : $D_M = 0,49 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) et une macromolécule (coefficient de diffusion : $D_M = 6,2 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) avec une vitesse d'écoulement moyenne réduite optimale : $\bar{v}_{opt} = 3$?

$$\bar{v}_{opt} = \frac{\bar{u}_{opt} d_p}{D_{M(J)}} \Rightarrow \bar{u}_{opt} = \frac{\bar{v}_{opt} D_{M(J)}}{d_p}$$

$$\bar{u}_{opt}(\text{phénétol}) = \frac{3 \times 0,49 \times 10^{-9}}{5 \times 10^{-6}} = 2,94 \times 10^{-4} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}, \bar{u}_{opt}(\text{macromolécule}) = 3,72 \times 10^{-5} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$\bar{u}_{opt}(\text{phénétol}) = 2,94 \times 10^{-2} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}, \bar{u}_{opt}(\text{macromolécule}) = 3,72 \times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$$