

CHAPITRE V CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (CPG)

1. Introduction

Cette technique a été développée par Archer John Porter Martin, Richard Laurence Millington Synge, lauréats du Prix Nobel de chimie 1952 pour l'invention de la chromatographie de partage. Dans cette technique la phase mobile est constituée d'un neutre dit gaz vecteur. Ce dernier ne modifie pas de manière significative les valeurs des coefficients de distribution K des composés car il n'existe aucune interaction entre gaz et solutés, la température étant le seul facteur de modification important. En revanche, la viscosité et la vitesse du gaz dans la colonne ont une influence sur la dispersion des composés dans la phase stationnaire et sur la diffusion dans la phase mobile (équation de Van Deemter) et par conséquent sur le paramètre d'efficacité N et sur la sensibilité de la détection.

2. Définition

La chromatographie en phase gaz (CPG) permet la séparation de mélange rendu gazeux par une suite continue d'équilibre entre la phase mobile gazeuse et la phase fixe solide ou liquide, situé à l'intérieur de la colonne. Cette technique s'applique donc aux molécules de bas poids moléculaires ($PM < 500 \text{ g mol}^{-1}$) et aux composés stables avec la température, pour les composés thermolabiles ou peu volatils, l'analyse ne sera possible qu'après des réactions de transformation (dérivatisation).

Dans cette technique chromatographique :

- la phase stationnaire est soit un liquide soit un solide.
- la phase mobile est un gaz qui balaie en permanence la colonne et qui est encore appelé gaz vecteur.

Il existe deux types de chromatographie en phase gazeuse :

• **Chromatographie gazeuse d'adsorption** : phase stationnaire est un solide (gel de silice, charbon actif, tamis moléculaire...). La séparation est déterminée par les propriétés adsorbantes du solide vis-à-vis de la substance à analyser.

• **Chromatographie gazeuse d'absorption** : phase stationnaire est un liquide (PSL) fixé sous forme d'une couche mince ininterrompue sur la surface d'un porteur solide (support) inerte. La séparation est déterminée par les propriétés du liquide. Cette technique est la plus utilisée.

Dans les deux cas, le gaz vecteur est le gaz qui véhicule les solutés ; la phase mobile est constituée du gaz vecteur et des solutés gazeux.

3. Appareillage

Un appareil de CPG comprend schématiquement trois modules spécifiques : un injecteur, une colonne et un détecteur (Figure1). La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétabilité des temps de rétention.

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne; cette dernière se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui même, de 1 à plus de 100 m de longueur suivant les cas et contenant la phase stationnaire. La colonne est placée dans une enceinte à température régulée. La phase gazeuse en aval de la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre. Certains modèles de chromatographes ont une alimentation autonome qui permet leur emploi sur le terrain.

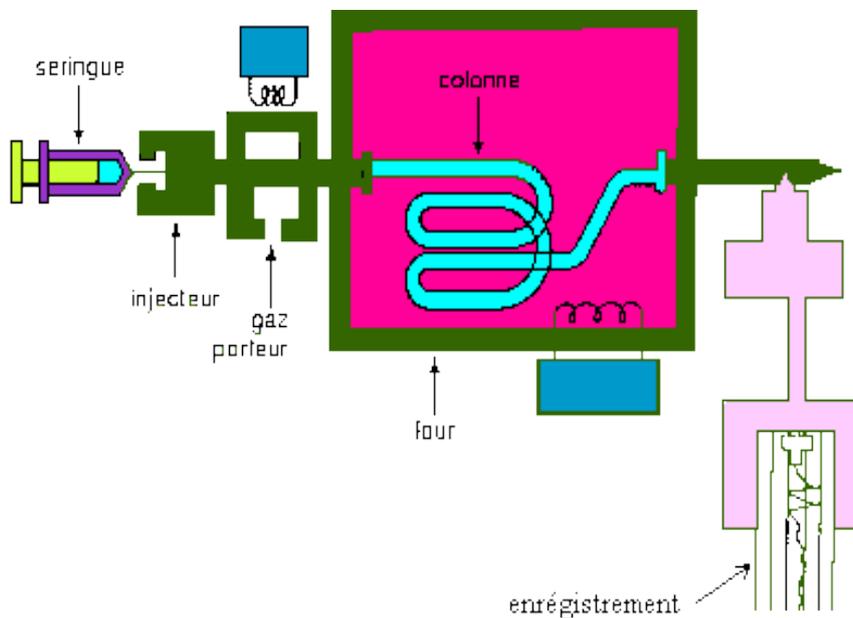


Figure 1. Schéma général d'un chromatographe en phase gazeuse

3.1. Gaz vecteur

Le choix du gaz vecteur est conditionné par l'efficacité de la séparation et la sensibilité du détecteur. Le gaz vecteur doit être pur, inerte (il ne doit pas réagir avec les constituants du mélange à séparer) et le moins miscible possible avec la phase stationnaire. Le choix du gaz vecteur est en grande partie lié à la nature du détecteur utilisé : hydrogène ou azote avec un détecteur à conductibilité thermique (catharomètre), azote ou hélium avec un détecteur à ionisation de flamme, azote ou mélange argon-méthane avec un détecteur à capture d'électrons.

3.2 Injecteur

L'injecteur est la porte d'entrée de l'échantillon dans le chromatographe. Il a deux autres fonctions : vaporiser et entraîner en tête de colonne l'échantillon mélangé au gaz vecteur.

Les caractéristiques des injecteurs, ainsi que les modes d'injection, diffèrent suivant les types de colonnes auxquels ils sont réunis. La qualité des séparations dépend de cette phase de l'analyse.

-Injection par vaporisation directe

Il consiste en un tube métallique doublé d'un chemisage de verre (appelé *insert*), balayé par le gaz vecteur et chauffé à la température moyenne d'ébullition des composés à chromatographie. L'aiguille de la microseringue contenant l'échantillon traverse l'une des extrémités de l'injecteur obturée par une pastille d'élastomère siliconé (le *septum*). L'autre extrémité est raccordée à la colonne également chauffée (Figure 2). La totalité de l'échantillon introduit, immédiatement vaporisé, part dans la colonne en quelques secondes. Cette méthode convient pour les colonnes remplies et les grosses colonnes capillaires, quand le débit de gaz vecteur atteint au moins 8 mL/min.

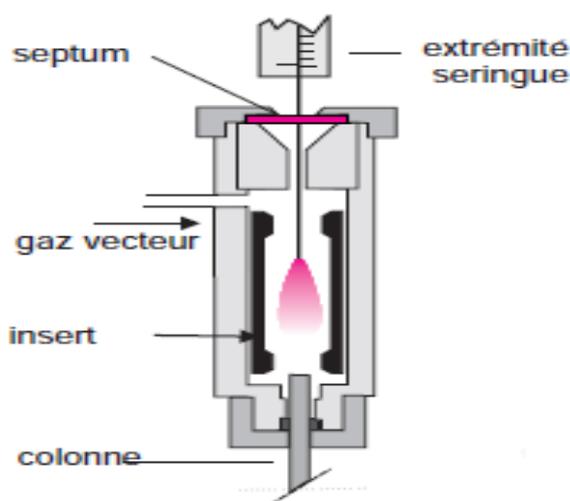


Figure 2. Injecteur à vaporisation directe utilisé pour colonnes remplies.

L'introduction du mélange se fait par l'intermédiaire d'une microseringue dont le volume varie généralement de 1 à 10 μ L et dont l'aiguille a un diamètre de l'ordre de 0,15 mm.



Figure 3. Seringue de 10 mL

-Injection avec ou sans division. « split/splitless »

Il s'agit d'injecteurs pouvant fonctionner suivant deux modes, avec ou sans division (encore appelés split ou splitless). En mode split, le gaz vecteur arrive avec un grand débit dans la chambre de vaporisation ; une vanne de fuite sépare le courant gazeux en deux parties dont la plus petite est la seule à pénétrer dans la colonne. Ce mode est utilisé dans le cas des colonnes capillaires à faible débit. Le mode splitless est réservé aux échantillons très dilués.

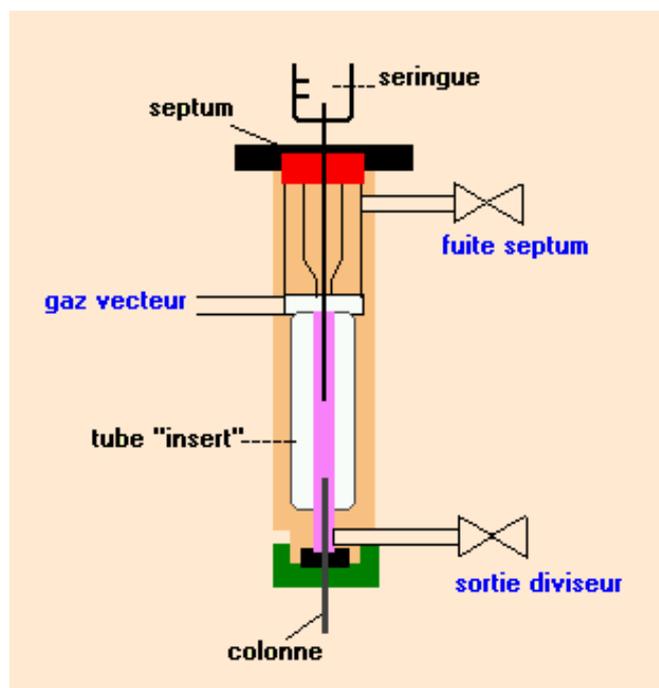


Figure 4. Injection avec diviseur

3.3. Colonne

Il existe deux grands types de colonnes.

3.3.1. Colonnes remplies

Ces colonnes, d'un diamètre de 1/8 ou 1/4 d'inch (3,18 ou 6,35 mm) et de 1 à 3 m de long, sont fabriquées à partir d'un tube d'acier ou de verre dont la paroi interne est traitée pour éviter d'éventuels effets catalytiques sur l'échantillon. Elles supportent un débit de gaz vecteur allant de 10 à 40 mL/min. Elles contiennent un support poreux et inerte. Il s'agit de solides ayant une surface spécifique de 2 à 8 m²/g qui se présentent sous forme de grains sphériques d'environ 0,2 mm de diamètre. Ils sont obtenus à partir de diatomites, silicates fossiles (kieselguhr, tripoli) dont le squelette est chimiquement comparable à de la silice amorphe, et d'un liant. L'un des plus connus porte le nom de Chromosorb®. D'autres matériaux de synthèse ont également été développés, tel le Spherosil® constitué de petites sphères de silice. La présence de nombreux groupements silanols confère à tous ces supports une réactivité chimique comparable à celle du gel de silice. Tous ces supports permettent le greffage ou l'imprégnation de la phase stationnaire (à un taux qui peut varier entre 3 et 25 %).

3.3.2. Colonnes capillaires

Elles sont généralement en silice fondue de grande pureté, obtenue par combustion de tétrachlorosilane (SiCl₄) dans une atmosphère de dioxygène. Le diamètre interne de ces colonnes varie de 100 à 530 µm (la précision est de quelques %). La technologie est particulièrement délicate pour obtenir des colonnes parfaitement cylindriques, dont la longueur peut aller jusqu'à 100 m pour une paroi d'environ 50 µm. Elles comportent un revêtement extérieur brun de polyimide, polymère thermiquement stable ($T_{\max} = 370$ °C), pour les rendre moins fragiles et pouvoir les enrouler sur elles-mêmes grâce à un support métallique adapté. Quelques fabricants proposent aussi des colonnes faites à partir d'un capillaire en métal (aluminium, nickel ou acier) qui acceptent, si la phase stationnaire le permet, des températures atteignant 450 °C. La paroi interne de la colonne subit divers traitements pour la préparer à une bonne fixation de la phase stationnaire. Il peut s'agir d'une attaque chimique (HCl à 350 °C), ou d'un dépôt d'une fine épaisseur d'alumine ou de gel de silice. La faible quantité de phase stationnaire permet des analyses rapides mais impose l'injection d'une quantité très faible d'échantillon.

La phase stationnaire recouvre la paroi interne sur une épaisseur régulière pouvant aller de 0,05 à 5 μm . Elle est ou simplement déposée ou mieux greffée par des liaisons covalentes éventuellement suivie d'une polymérisation avec réticulation sur la paroi. Ce dépôt est obtenu par évaporation d'une solution ou par polymérisation in situ au contact de la paroi.

- WCOT (Wall Coated Open Tubular) lorsque la phase stationnaire est liquide
 - SCOT (Support Coated Open Tubular) lorsque la phase stationnaire est déposée sur un support solide inerte
 - PLOT (Porous Layer Open Tubular) lorsque la phase stationnaire est une couche poreuse.
- L'avantage essentiel sur les colonnes remplies est de conduire à des pics plus étroits donc à des séparations plus poussées dans le cas de mélanges complexes.

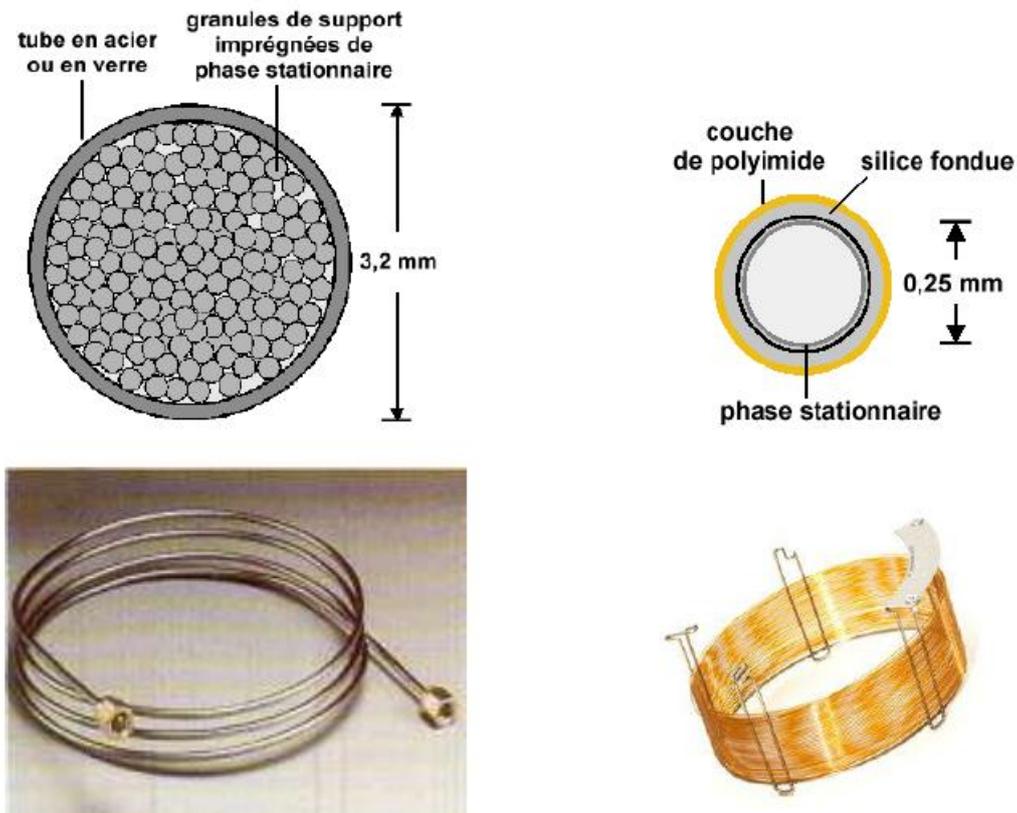


Figure 5. Colonnes remplies et capillaires utilisées en CPG

3.5. Détecteur

Le détecteur est un élément très important du chromatographe puisque c'est lui qui, par l'intermédiaire d'un système d'enregistrement, permet de visualiser la composition du gaz élué de la colonne chromatographique, de repérer la sortie des composés injectés, de vérifier si la séparation désirée est obtenue avec une résolution suffisante et d'effectuer le dosage des constituants du mélange analysé.

Il existe plusieurs types de détecteurs dont deux utilisés le plus couramment.

3.5.1. Détecteur à conductibilité thermique (DCT) ou catharomètre

Le DCT est le détecteur le plus répandu aux débuts de la chromatographie en phase gazeuse, c'est un appareil à réponse universelle, mais relativement peu sensible. Il est fondé sur une comparaison continue entre le flux de chaleur emporté par le gaz vecteur pur et le flux de chaleur emporté par le gaz vecteur chargé des molécules de soluté. Ces flux de chaleurs sont produits par des thermistances, parcourues par un courant continu de tension fixe, dans une enceinte thermostatée avec précision. Les thermistances sont montées en pont de Wheastone et celui-ci permet de suivre l'évolution du courant en fonction de la variation des résistances consécutive aux variations de température autour des filaments. Un galvanomètre ou un potentiomètre enregistreur suivent le courant dans le pont (Figure 7).

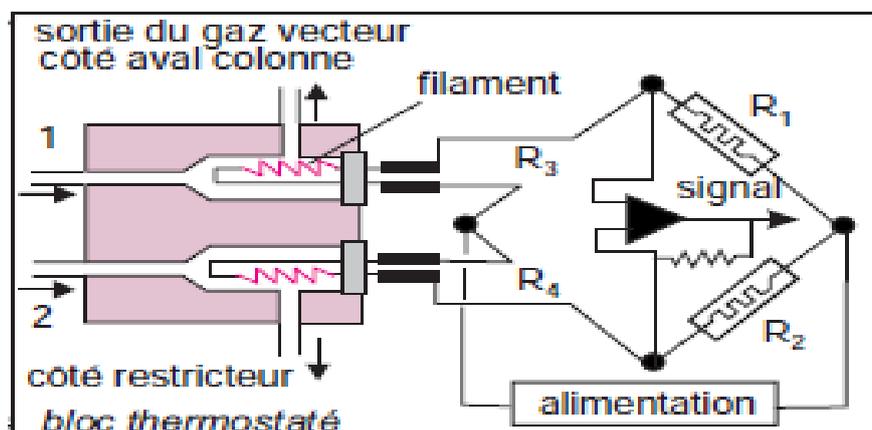


Figure 7. Détecteur à conductibilité thermique (DCT)

Le catharomètre présente l'avantage de ne pas détruire les substances analysées. Mais son principal inconvénient provient de sa faible sensibilité (de l'ordre du microgramme).

3.5.2. Détecteur à ionisation de flamme (FID)

C'est le détecteur le plus utilisé en CPG. Le courant gazeux issu de la colonne pénètre dans un petit brûleur dont la flamme est alimentée par un mélange d'hydrogène et d'air. La combustion des composés organiques élués produit des ions qui sont collectés au moyen de deux électrodes. Le courant très faible qui en résulte est transformé en une tension qui est enregistrée (Figure 8).

L'avantage de ce détecteur est que les variations de débit de la phase mobile ont peu d'influence sur la réponse et il présente l'inconvénient de détruire l'échantillon au cours de l'étape de combustion.

3.5.3. Détecteur thermoionique (NPD)

Ce détecteur est très sensible aux composés azotés (N) ou phosphorés (P). Il comporte un petit cylindre en céramique dopée avec un sel alcalin (ex. sulfate de rubidium) auquel on applique une tension électrique pour entretenir un petit plasma (800 °C) alimenté par combustion d'un mélange air/hydrogène (figure 8). À la différence du FID la flamme est plus petite. Les composés contenant N ou P donnent, assez spécifiquement, des fragments de décomposition transformés en ions négatifs. Ces ions sont recueillis sur une électrode collectrice. Le diazote de l'air est inactif. La sensibilité est typiquement de 0,1 pg/s pour N ou P.

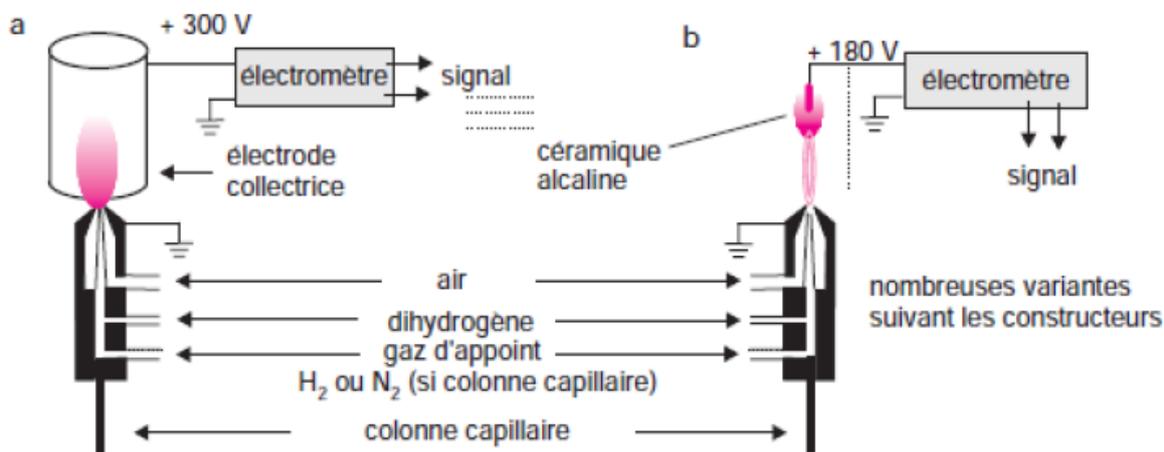


Figure 8. Détecteur FID (a) et détecteur NPD (b).

3.5.4. Détecteur à capture d'électrons (ECD)

Une source telle que le tritium (³H) ou le (⁶³Ni) envoie des électrons libres dans le détecteur. Quand ce détecteur est traversé par des substances ayant une affinité pour les électrons libres, il se produit des ions qui, comme pour le détecteur à ionisation de flamme, dans le champ

électrostatique existant, sont recueillis par une électrode et forment un courant d'ionisation à amplifier convenablement

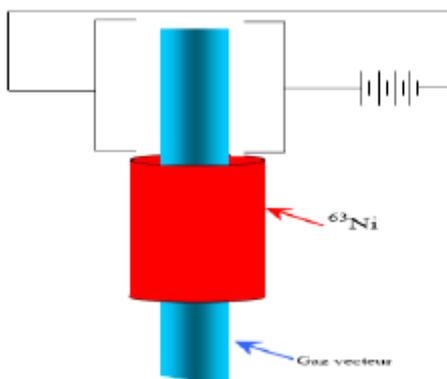


Figure 9. Détecteur à capture d'électrons (ECD)

3.6. Enregistreurs

Relié au chromatographe, l'enregistreur reçoit les impulsions électriques venant du détecteur et les transmet sur un papier déroulant à une vitesse donnée sous forme de pics. On obtient un **chromatogramme** et c'est sur celui-ci que sont données toutes les informations nécessaires à l'analyse qualitative et quantitative. Actuellement, l'informatique tend à supplanter l'enregistreur, grâce aux logiciels d'applications (ex. : Millenium). Ces logiciels sont capables, non seulement de conserver les signaux du détecteur dans un fichier de données, mais également d'en faire l'analyse qualitative (temps de rétention) et quantitative (calcul de surface de pic, courbe d'étalonnage, etc.).

4. Optimisation de séparation

Plusieurs facteurs influencent la séparation d'un mélange analysé par CPG :

4.1. Température

Généralement, les composés les plus volatils sont les plus rapidement entraînés ; du fait leur tension de vapeur plus élevée. Cependant, si la température de la colonne est trop élevée, l'équilibre des composants ne peut s'établir dans chaque phase et les pics apparaissent presque tous en même temps. D'autre part, si la température est trop basse ; la vitesse est lente et la diffusion importante et le temps de rétention devient trop long. Lorsque l'écart entre les points d'ébullition des constituants du mélange à séparer est grand, il est souvent préférable d'augmenter la température du four.

4.2. Débit du gaz vecteur

Il doit être tel que les différents constituants du mélange puissent s'équilibrer entre les deux phases mobile et stationnaire. Si le débit est trop rapide, la séparation des pics est médiocre. S'il est trop lent, les pics perdent leur finesse par suite d'une diffusion trop importante des constituants dans le gaz vecteur. Quand le débit est bien réglé, on a intérêt à augmenter la température du four pour améliorer la finesse des pics.

4.3. Longueur de la colonne

De façon générale, on accroît l'efficacité de la séparation en augmentant la longueur de la colonne mais ceci se fait au détriment de la finesse des pics. De plus, la longueur des colonnes est limitée par le fait qu'une colonne trop longue exige une trop forte pression du gaz vecteur.

4.4. Nature de la phase stationnaire

Le liquide qui constitue la phase stationnaire est, selon les cas, un hydrocarbure ramifié tel que le squalane de polarité nulle, un polyalkylsiloxane peu polaire, un polyéther polaire ou un polyester très polaire. Ce liquide doit être chimiquement inerte vis à vis des composants du mélange à séparer. De plus, on ne doit l'utiliser que dans les limites de températures pour lequel il est prévu : si la température devient trop basse, la phase stationnaire devient visqueuse, ce qui diminue considérablement la vitesse d'échange entre le gaz vecteur et la phase stationnaire ; si la température devient trop élevée, il y a perte de la phase stationnaire par vaporisation. Le principe général qui doit servir de guide au choix de la phase stationnaire est le suivant : les structures de polarités voisines ont des affinités entre elles. Ainsi, pour séparer des substances polaires, on utilise une phase fixe polaire car ces substances sont fortement retenues par la phase fixe ; dans ce cas, l'ordre de sortie des composés d'une série homologue est l'ordre croissant de leur point d'ébullition. Si des composés peu polaires se trouvent dans le mélange analysé, ils sont peu retenus par la phase stationnaire polaire et sont élués avant les composés polaires ayant même point d'ébullition. Si la phase stationnaire est apolaire, c'est l'inverse qui se produit : les composés non polaires sont bien retenus et sont élués selon l'ordre de leur point d'ébullition croissant dans une série homologue et un composé polaire est élué avant un composé non polaire ayant même point d'ébullition.

Tableau 2. Ordre d'élution des constituants d'un mélange sur une phase polaire

Composé	Propan-1-ol	Butan-1-ol	Pentan-1-ol	Heptane
Teb / °C	97	117	137	98
Ordre de sortie	2	3	4	1

Tableau 3. Ordre d'élution des constituants d'un mélange sur une phase apolaire

Composé	Heptane	Octane	Nonane	Propan-1-ol
Teb / °C	98	126	151	97
Ordre de sortie	2	3	4	1

La polarité d'une phase est donnée par la constante de McReynolds : plus le nombre est élevé, plus la phase est polaire.

5. Indices de rétention et constantes des phases stationnaires

L'introduction de ces paramètres a au moins trois objectifs :

- Caractériser tout composé par une grandeur plus générale que son temps de rétention dans des conditions définies. Il en résulte le système des indices de rétention qui est un moyen efficace et peu coûteux pour éviter certaines erreurs d'identification.
- Suivre l'évolution dans le temps des colonnes et par suite leurs performances
- Classer entre elles les phases stationnaires connues pour faciliter le choix d'une colonne bien adaptée pour tout problème nouveau de séparation, sachant que la polarité ou la nature chimique d'une phase stationnaire ne permet pas, seules, de prévoir sa réelle aptitude séparatrice. On examine pour cela le comportement des phases stationnaires vis-à-vis de quelques composés de référence. On aboutit aux constantes des phases stationnaires.

5.1. Droite de Kovats

Pour déterminer les indices de rétention on met à profit la propriété générale suivante:

Quand on injecte un mélange constitué de composés appartenant à une série homologue de n -alcanes sur une colonne maintenue en régime isotherme, le chromatogramme qui en résulte est tel que les logarithmes des temps de rétention réduits $t'_R(n)$ croissent linéairement avec le nombre n d'atomes de carbone des n -alcanes correspondants (Figure 9).

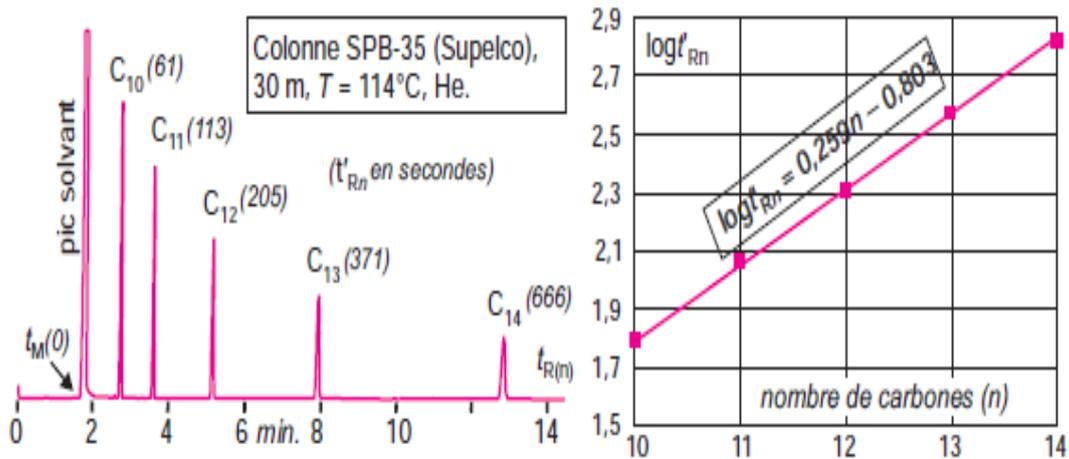


Figure 9 . Droite de kovats.

Chromatogramme en régime isotherme d’une série de 5 n-alcanes (C₁₀-C₁₄) et droite de kovats correspondante pour la phase stationnaire et les conditions d’analyse précises.

En reportant sur un graphe n et $\log t'_{R(n)}$ on obtient, en effet, des points bien alignés :

$$\text{Log } t'_{R(n)} = a.n + b$$

Dans cette relation semi-empirique :

- $t'_{R(n)}$ représente le temps de rétention de l’alcane à n atomes de carbone,
- a et b sont des coefficients numériques.

La pente de la droite obtenue dépend de la colonne dans sa globalité et des réglages du chromatographe.

Cette droite de Kovats permet de juger les performances de la colonne. Pour cela, on utilise le nombre de séparation TZ appelé trennsahl :

$$TZ = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\delta_2 + \delta_1} - 1 \quad \text{ou} \quad TZ = \frac{R}{1.18} - 1$$

Les deux temps de rétention se rapportent à deux alcanes successifs possédant donc n et $n+1$ atomes de carbones. TZ indique combien de composés seraient convenablement séparés par la colonne dans un intervalle d’élution de ces deux composés.

5.2. Indice de rétention de Kovats

Sans changer les réglages de l'appareil, on injecte un composé inconnu X. Le nouveau chromatogramme va permettre de calculer l'indice de rétention de Kovats de X sur la colonne considérée. Il est défini comme étant le produit par 100 du nombre de carbones de « l'alcane linéaire » ayant le même temps de rétention réduit que le composé inconnu injecté.

Deux méthodes sont utilisées pour trouver ce nombre de carbones :

- la méthode graphique qui s'appuie sur la droite de Kovats,
- la méthode basée sur le temps de migration réduit des deux alcanes qui encadrent le produit X sur le chromatogramme :

$$I_X = 100n + 100 \frac{\log t'_{R(X)} - \log t'_{R(n)}}{\log t'_{R(n+1)} - \log t'_{R(n)}}$$

A la différence de la droite de Kovats, les indices de rétention ne dépendent que de la phase stationnaire et non de la colonne et des conditions opératoires d'analyse.

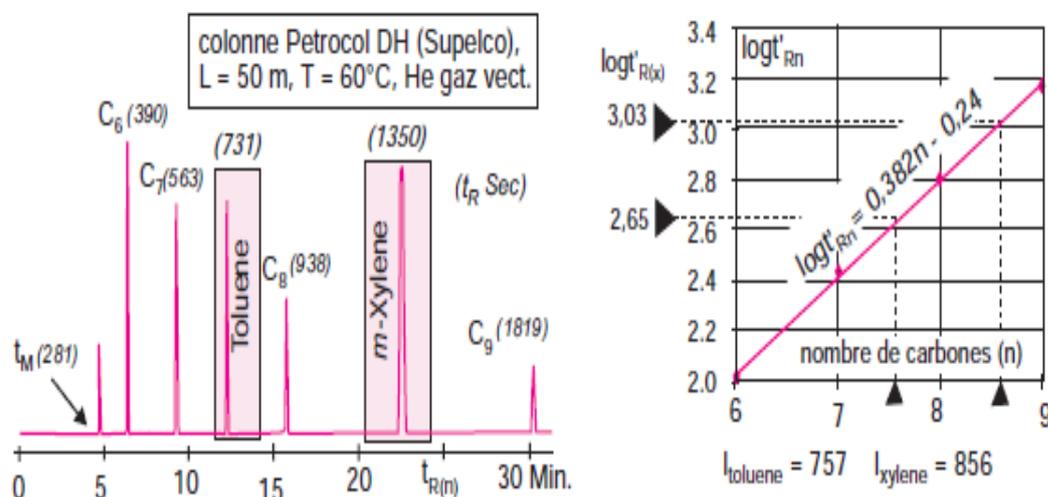


Figure 10. Indices de rétention de Kovats

5.3. Constantes de McReynolds des phases stationnaires

Cette constante est calculée en comparant les indices de Kovats de 5 composés témoins appartenant à des groupes fonctionnels différents sur la phase étudiée, d'une part, et sur le squalane d'autre part. Le squalane est la phase prise comme référence car c'est la seule phase apolaire qui est reproductible car c'est un produit pur.

Les 5 constantes de McReynolds sont calculées, pour une phase donnée, par différence de l'indice de Kovats calculé sur la colonne squalane et sur la phase

Étudiée :

$$Cte \text{ de Mc Reynolds} = \Delta I = (I_{\text{squalane}} - I_{\text{Phase}})$$

La somme de ces 5 valeurs calculées a été retenue pour définir la polarité globale de la phase testée.

Ces constantes, qui ont un lien avec la structure des molécules, permettent d'apprécier les forces d'interaction soluté/phase stationnaire en relation avec quelques grandes classes de composés. Un produit dont l'indice a une valeur élevée indique que la phase étudiée retient fortement les composés qui seront porteurs de la fonction organique considérée.

Ainsi pour séparer un hydrocarbure aromatique d'un mélange contenant des cétones, on choisira une colonne pour laquelle la constante pour le benzène est assez différente de celle de la butanone. Ces différences d'indices de rétention figurent dans la plupart des catalogues de fabricants de colonnes de chromatographie.

Le calcul des indices de rétention implique que les mesures soient effectuées dans des conditions isothermes.

Tableau 4. Constantes de McReynolds (ΔI) de quelques phases stationnaires.

Phase stat.	benzène	1-butanol	2-pentanone	nitropropane	pyridine
Squalane	0	0	0	0	0
SPB-Octyl	3	14	11	12	11
SE-30 (OV-1)	16	55	44	65	42
Carbowax 20M	322	536	368	572	510
OV-210	146	238	358	468	310
indice de Kovats des 5 composés témoins (X_ Y_ Z_ U_ S_) sur squalane					
<i>I</i> squalane	653	590	627	652	699