

M2P- Chimie analytique

Semestre1 : 2019-2020 ENSup

Document 1 : METHODE DE SEPARATION ET DE CONCENTRENTION

1. Généralités sur l'extraction par un solvant non miscible

Les méthodes d'extraction sont parmi les plus utilisés en analyse immédiate. Si on agite une solution aqueuse d'un composé avec un autre liquide immiscible (mutuellement insoluble) à l'eau, une partie du composé peut se dissoudre dans l'autre solvant. Par exemple, l'iode moléculaire I_2 est très peu soluble dans l'eau, mais très soluble dans le tétrachlorométhane CCl_4 , qui est immiscible à l'eau. Lorsqu'on ajoute du tétrachlorométhane à de l'eau contenant de l'iode, la plus grande partie de l'iode se dissout dans le CCl_4 . On dit que le soluté se partage entre les deux solvants. On utilise l'extraction par un solvant pour obtenir les parfums et les arômes de plantes à partir de bouillies aqueuses obtenues par broyage de la plante dans un mixeur.

Dans certains cas, les solides eux-mêmes sont soumis à l'extraction par un solvant. Par exemple, dans un procédé utilisé pour le café décaféiné, on mélange les grains de café avec du charbon actif et on fait passer sur ces grains un courant à haute pression de « dioxyde de carbone supercritique » (du dioxyde de carbone sous haute pression et au-dessus de sa température critique) à environ 90 °C. Un solvant supercritique est un fluide extrêmement mobile avec une très faible viscosité. Le dioxyde de carbone emporte la caféine très soluble sans extraire les arômes et s'évapore sans laisser de résidus toxiques.

1.1 Expression du partage

On considère un soluté A se répartissant entre un solvant S1 où il est initialement présent et un solvant S2 non miscible au premier. On néglige les interactions du soluté avec les autres substances, car une solution en contient plusieurs en général. Lorsque l'équilibre dynamique est atteint, après une agitation suffisante, le soluté se distribue entre les deux phases (aqueuse et organique) dans une proportion définie. Dans ces conditions l'énergie libre du soluté a une valeur identique dans chacune des deux phases.

1.1.1 Coefficient de partage

Un coefficient de partage thermodynamique est le rapport des fractions molaires, x_{org} et x_{aq} du soluté dans les deux phases à l'équilibre :

$$\lambda = \frac{x_{org}}{x_{aq}} \quad (Eq. 1.1)$$

Ce rapport est une constante à une température donnée et dans des conditions idéales où il n'y a aucune interaction entre le soluté et le solvant. Comme la fraction molaire n'est pas

facilement accessible, on utilise classiquement un coefficient de partage K , qui est le rapport des concentrations du soluté A dans les deux phases, après réalisation de l'équilibre.

$$K = \frac{[A]_{org}}{[A]_{aq}} \quad (Eq. 1.2)$$

A une température donnée dans le cas où il n'y a aucune interaction solvant-soluté et où les solvants sont parfaitement non miscibles, K est une constante. On dit alors que la distribution du soluté entre les deux solvants est *régulière*.

Le coefficient de partage dépend de la solubilité du soluté dans les deux solvants. Lorsque la saturation est atteinte, K est exprimé en fonction des coefficients de solubilité $S_{(aq)}$ et $S_{(org)}$.

Quelles que soient les valeurs de la solubilité d'un corps à partager entre deux solvants non miscibles et quels que soient les volumes de ces solvants mis en œuvre, *le corps se répartit à l'équilibre de telle sorte que les concentrations soient dans un rapport constant*.

Le coefficient de partage est caractéristique du soluté pour un couple de solvant donné.

1.1.2 Taux de distribution

Lorsque la substance se trouve sous plusieurs formes dont une seule intervient dans le partage, il convient alors de faire apparaître une nouvelle notion : le taux de répartition ou de distribution. C'est le rapport entre les concentrations totales du soluté dans les deux phases sous quelque état qu'il se trouve. Si le soluté existe sous plusieurs formes, c'est la somme des concentrations en chaque forme qui intervient, que cette forme participe ou non au partage : liaison hydrogène, ionisation, complexation.

$$D = \frac{\Sigma[A]_{org}}{\Sigma[A]_{aq}} \quad (Eq. 1.3)$$

Dans le cas idéal où le soluté se trouve sous la même forme dans les deux solvants : $D = K$: la distribution est régulière sinon elle est dite irrégulière ou quelconque.

Exemple 1 : L'acide faible se trouvera sous forme moléculaire et ionique dans la phase aqueuse.

$$D = \frac{[R-COOH]_{org}}{[R-COOH]_{aq} + [R-COO^-]_{aq}}$$

1.2 Relations relatives aux quantités

1.2.1 Expression du rendement

Le but de l'extraction est d'extraire la plus grande quantité de matière possible de substance à l'aide d'un volume V donné de solvant extractif. Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité totale de soluté extrait par le solvant S_2 , à la quantité initiale.

$$r = \frac{\Sigma n_{(org)}}{n_0} \quad (Eq. 1.4)$$

1.2.2 Rapport de quantité

Le rapport de la quantité extraite dans le solvant S2, à celle qui reste dans le solvant initial S1 n'est pas constant, il dépend du rapport des volumes des deux solvants qui sont mis en œuvre.

$$\alpha = \frac{n_{(org)}}{n_{(aq)}} = \frac{C_{(org)}}{C_{(aq)}} \times \frac{V_{org}}{V_{aq}} = K \frac{V_{org}}{V_{aq}} \quad (Eq. 1.5)$$

2. Extraction simple et extractions répétées

2.1 Extraction simple

Elle consiste à extraire en une seule opération un maximum de soluté par le solvant S2. La phase correspondant au solvant S2 qui a dissous une partie du soluté est appelée couche extraite ou extrait. La phase correspondant au solvant S1, appauvrie en substance A est appelée couche raffinée ou raffiné.

2.1.1 Distribution régulière de A entre S1 et S2 :

Le rendement :

$$r = \frac{n_{org}}{n_0}$$

Conservation de la quantité de matière : $n_0 = n_{org} + n_{aq}$

Rapport de quantité : $\alpha = \frac{n_{org}}{n_{aq}}$

Les quantités de matières n_{org} et n_{aq} ont pour expression :

$$n_{org} = n_0 \left(\frac{\alpha}{1+\alpha} \right) \quad (Eq. 1.5)$$

$$n_{aq} = \frac{n_0}{\alpha+1} \quad (Eq. 1.6)$$

Le rendement a pour expression :

$$r = \frac{\alpha}{1+\alpha} \quad (Eq. 1.7)$$

2.1.2 Mise en œuvre pratique de l'extraction

Au laboratoire, l'extraction simple est réalisée le plus couramment avec une ampoule à décanter, de tailles et de formes diverses. L'agitation peut être manuelle ou mécanique, et est réalisée de façon à éviter les émulsions. Dans l'industrie la centrifugation est utilisée pour accélérer la décantation.

2.2 Extractions répétées

L'extraction simple n'offre généralement pas un rendement satisfaisant. C'est pourquoi on réalise une ou plusieurs extractions sur le raffiné.

- **Cas où les volumes de solvant extractif utilisés sont égaux**

Si V_{org} est constant, comme V_{aq} ne varie pas, le rendement s'écrit :

$$r = 1 - \frac{1}{(1+\alpha)^i} = 1 - \frac{1}{\left(1 + K \frac{V_{org}}{V_{aq}}\right)^i} \quad (Eq. 1.9)$$

- **Cas d'une limitation du volume extractif utilisé**

Lorsque le volume total est fractionné en i volumes élémentaires égaux v_{org} soit $V_{org} = i v_{org}$:

$$r = 1 - \frac{1}{\left(1 + \frac{K}{i} \frac{V_{org}}{V_{aq}}\right)^i} \quad (Eq. 1.10)$$

Exemple 2 : La constante de distribution du diiode entre un solvant organique et l'eau vaut 85. Calculer la concentration en I_2 restant dans la phase aqueuse après extraction de 50,0 mL de I_2 de concentration $1,00 \cdot 10^{-3} M$ par les quantités suivantes de solvant organique : (a) 50,0 mL, (b) deux portions de 25,0 mL, (c) cinq portions de 10,0 mL.

- **Mise en œuvre pratique de l'extraction**

Pour les extractions successives, on peut aussi utiliser l'ampoule à décanter, mais le cas le plus habituel est celui de l'extraction continue. Pour cela, on opère une distillation du solvant qui retombe dans la solution à extraire. L'avantage en est la réduction du volume de solvant extractif puisque celui-ci sert plusieurs fois. Mais l'inconvénient c'est que l'extraire est chauffé et il y a donc un risque d'altération de substances fragiles.

2.3 Application de l'extraction liquide-liquide

2.3.1 Molécules extractibles par un solvant organique

- Influence de la longueur de la chaîne carbonée ;
- Influence de la présence d'hétéroatome ;
- Influence de l'association des molécules entre elles ;
- Influence de l'inclusion de la molécule dans un complexe chargé ;
- Influence du pH.

2.3.2 Extraction de chélates métalliques

Un ion métallique, de par sa charge électrique, possède une affinité très grande pour les solvants polaires et essentiellement pour l'eau. Il en résulte qu'en phase aqueuse, un certain

nombre de molécules d'eau sont associées à cet ion, non seulement par des liaisons électrostatiques, mais fréquemment sous forme de complexes. Pour ces diverses raisons, un sel métallique ionisé n'a aucune tendance à se dissoudre dans un solvant organique hydrophobe.

Si l'on veut tenter cette dissolution il est nécessaire de supprimer les deux caractères que sont la charge électrique et l'association avec les molécules d'eau. Il faut donc trouver des ions de charge opposée, susceptibles de jouer le rôle de coordinaat en formant des complexes non chargés, plus stables que les complexes aqua initialement présents. Ces anions peuvent donc déplacer les molécules d'eau. Si en outre ils possèdent un certain caractère hydrophobe, en raison de leur structure, ils favorisent l'extraction du complexe métallique formé en phase organique. L'ensemble des qualités demandées à ces agents complexants, montre qu'il s'agit d'anions organiques plurifonctionnels susceptibles de former des chélates qui se comportent comme des composés pseudomoléculaires.

- **Equilibres intervenant dans l'extraction**

Il faut considérer à la fois les équilibres intéressant le chélateur et ceux où intervient le chélate.

Si HL est l'acide, le plus souvent hydrophobe donc soluble en phase organique, et dont l'anion L^- est chélateur, et M^{n+} l'ion métallique, initialement associé à p molécules d'eau pour donner $\left[M(H_2O)_p \right]^{n+}$; il s'établit des équilibres peuvent être schématisées (Cf. cours).

- **Facteurs influençant l'extraction**

- Influence de la nature du chélateur ;
- Influence de la concentration en réactif ;
- Influence du pH ;
- Influence de la nature de l'ion métallique ;
- Influence de l'addition d'agents complexants dans la phase aqueuse ;
- Elimination de l'eau d'hydratation de l'ion métallique.

- **Rendement et modalités pratiques**

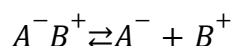
- Le rendement dépend de la nature de l'ion métallique et du pH (Cf. courbes).
- Le chélateur doit avoir un pôle hydrophobe suffisant.
- Les bons solvants organiques qui ne forment pas de liaisons hydrogènes sont des solvants chlorés.
- Les solvants organiques combustibles permettent le dosage par absorption atomique.

2.3.3 Extraction de paires d'ions

De façon générale, l'opération consiste à éliminer ou masquer la charge de l'ion pour permettre son extraction.

- **Mécanisme de l'extraction des paires d'ions**

Ces associations d'ions existent dans les solvants peu dissociants. Mais dans l'eau, solvant dissociant, les molécules neutres formées, sont dissociées. Cependant il existe un certain équilibre entre les paires d'ions et les ions libres.



$$K_D = \frac{[A^{-}][B^{+}]}{[A^{-}B^{+}]}$$

Cette constante est très élevée, mais si l'un des ions est volumineux, avec des groupements hydrophobes, l'équilibre se déplace en faveur de la paire d'ions. Dans ces conditions, les paires d'ions sont extractibles et facilement par des solvants organiques, car elles ont tendance à s'associer par leur pôle hydrophobe avec le solvant organique. Ces paires d'ions ont toujours leurs charges électriques, mais masquées par les chaînes, donc elles se présentent comme des molécules facilement extractibles.

- **Principaux types de paires d'ions**

Les composés tensioactifs anioniques comme les sulfonates ou le tétraphényl borate.

Les composés cationiques, comme les ammoniums quaternaires à longue chaîne (benzyltriakylammonium, triphenylméthane).

Les chélates métalliques obtenus à partir de l'orthophenantroline, donc chargés, peuvent être extraits sous forme de dioctylsulfosuccinates.

- **Stabilité des ions et facteurs influant sur l'extraction**

- Lorsque dans la phase aqueuse initiale, coexistent plusieurs ions susceptibles de s'associer avec un ion antagoniste, c'est la paire d'ions la plus stable (tendance à l'association) en phase organique qui se forme la première. Il peut y avoir déplacement d'équilibre, lorsque la paire d'ions contenue dans la phase organique est agitée avec une phase aqueuse contenant un ion antagoniste.
- L'adjonction d'agents relargants augmentent la concentration en électrolytes hétéroioniques ce qui diminue l'activité de l'eau libre et tend à provoquer l'élimination de la couche d'hydratation éventuellement présente autour d'un cation métallique par exemple. Cette adjonction entraîne donc une diminution de la constante diélectrique de la phase aqueuse, ce qui favorise l'association ionique.
- Si l'un des ions se comporte comme un acide ou une base vis-à-vis de l'eau, à un certain pH, il peut former une molécule, et la paire d'ions n'existera plus.

3. Séparations chromatographiques

3.1 Introduction

Dans la première partie du XX^e siècle, le botaniste russe M. S. Tswett a trouvé un moyen de séparer les nombreux pigments des fleurs et des feuilles. Il a broyé la plante et a dissous les pigments, puis il a versé la solution au sommet d'un tube vertical contenant de la craie pulvérisée. Les différents pigments se sont écoulés à travers la craie à des vitesses différentes, en formant des bandes colorées dans le tube, ce qui a inspiré le nom de chromatographie (« écriture en couleurs »). Les séparations se sont produites parce que les différents pigments ont été adsorbés à des degrés différents par la craie.

La chromatographie sert en analyse pour identifier et quantifier des composés au sein d'échantillons divers. Le principe de base repose sur les équilibres de concentration qui apparaissent lorsqu'un composé est mis en présence de deux phases non miscibles. En chromatographie, l'une, dite stationnaire, est emprisonnée dans une colonne ou fixée sur un support et l'autre, dite mobile, se déplace au contact de la première. Si plusieurs composés sont présents, ils se trouvent entraînés à des vitesses différentes, provoquant leur séparation. Ce procédé hydrodynamique a donné naissance à une méthode analytique instrumentale qui a un très grand domaine d'applicabilité et par suite se trouve très répandue.

SMTOUNKARA

3.2 Classification des méthodes chromatographiques

Les méthodes chromatographiques sont de deux sortes : la chromatographie sur colonne et la chromatographie planaire.

Ces méthodes chromatographiques peuvent être classées en plusieurs catégories selon la nature de la phase mobile.

3.2.1 Chromatographie en phase liquide (CPL)

Ici la phase mobile est un liquide. Cette catégorie très répandue peut être subdivisée d'après le phénomène mis en jeu.

- Chromatographie liquide/solide (ou d'adsorption)

La phase stationnaire est un milieu solide perméable sur lequel les molécules adhèrent par un double effet de physisorption et de chimisorption. Le paramètre physico-chimique concerné est le coefficient d'adsorption. Les phases stationnaires ont fait beaucoup de progrès depuis Tswett, qui utilisait le carbonate de calcium ou l'inuline (un polymère en poudre très fine du sucre ordinaire).

- Chromatographie ionique

La phase stationnaire solide comporte en surface des sites ioniques et la phase mobile est une solution-tampon aqueuse. La séparation met en jeu des échanges entre les ions de l'échantillon avec ceux de la phase stationnaire. La séparation repose sur les coefficients de distribution ionique.

- Chromatographie d'exclusion

La phase stationnaire est un matériau comportant des pores dont les dimensions sont choisies en rapport avec la taille des espèces à séparer. On réalise ainsi une sorte de perméation sélective à l'échelle moléculaire. Selon la nature, aqueuse ou organique de la phase mobile, cette technique est désignée par filtration sur gel ou perméation de gel. Le coefficient de distribution prend le nom de coefficient de diffusion.

- Chromatographie liquide/liquide ou de partage (CLL)

La phase stationnaire est un liquide immobilisé sur un matériau inerte et poreux qui n'a qu'un rôle de support.

- Chromatographie liquide/phase greffée

Pour immobiliser la phase stationnaire (il s'agit généralement d'un polymère de type liquide), on fixe de manière définitive les espèces qui la composent par des liaisons covalentes : c'est la technique du greffage. La séparation repose sur le coefficient de partage K du soluté entre les deux phases, un phénomène comparable à l'extraction d'une phase aqueuse avec un solvant dans une ampoule à décanter.

3.2.2 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La phase mobile est un gaz inerte et, comme précédemment, ce type de chromatographie peut être subdivisé selon le phénomène mis en œuvre.

- Chromatographie gaz/liquide (CGL)

La phase mobile est un gaz et la phase stationnaire est un liquide immobilisé soit par imprégnation, soit par greffage sur un support inerte lequel peut être tout simplement la paroi de la colonne. À défaut d'être un gaz, l'échantillon doit donc être porté à l'état de vapeur. Ici encore c'est le coefficient de partage K qui est concerné.

- Chromatographie gaz/solide (CGS)

La phase stationnaire est un solide poreux (carbone graphite ou gel de silice ou alumine) et la phase mobile est un gaz. Ce type de CPG est très performant pour les analyses de mélanges de gaz ou de composés à bas point d'ébullition. Le paramètre concerné est le coefficient d'adsorption.

- Chromatographie en phase supercritique

La phase mobile est un fluide à l'état supercritique, tel le dioxyde de carbone vers 50 °C et 150 bars (15 MPa). La phase stationnaire peut être un liquide ou un solide. On réunit ainsi les avantages propres aux techniques précédentes (gaz/phase greffée ou liquide/phase greffée).

3.3 Elution en chromatographie sur colonne et vitesses de déplacement des solutés

3.3.1 Elution en chromatographie sur colonne

L'expérience de base en chromatographie peut être décrite comme suit (fig. 3.1) :

- On immobilise dans une colonne un solide finement divisé appelé phase stationnaire.
- On place au sommet de cette colonne un petit volume de l'échantillon à séparer.
- On force cet échantillon à traverser la colonne de haut en bas au moyen de la phase mobile afin d'entraîner ses divers constituants. Si les composés présents migrent à des vitesses différentes, ils pourront être recueillis séparément, chacun en solution dans la phase mobile.

Il faut placer en sortie de colonne un détecteur pour repérer les changements de composition de la phase mobile.

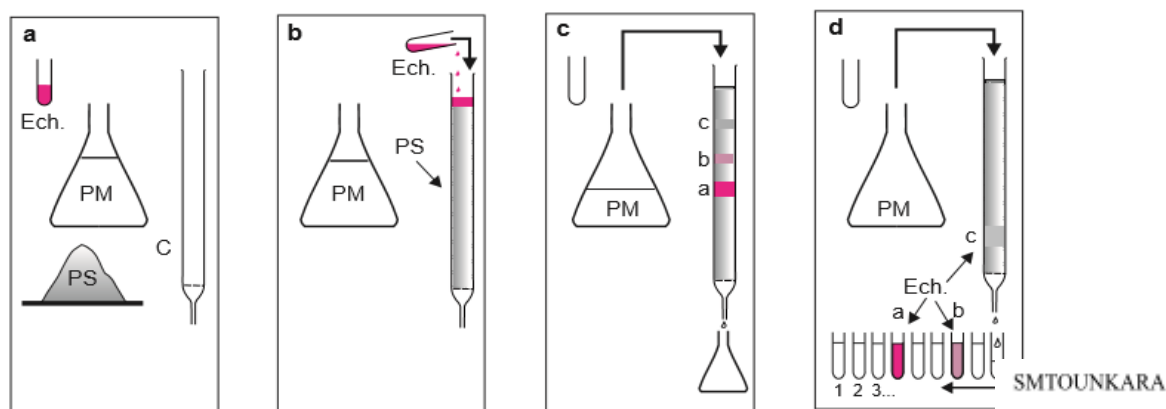


Figure 3.1 : L'expérience de base en chromatographie. a) Les ingrédients nécessaires C, colonne, PS, phase stationnaire, PM, phase mobile et E, échantillon ; b), le dépôt de l'échantillon; c) le début de l'élution; d) la récupération des produits après séparation.

3.3.2 Les vitesses de déplacement des solutés

a) Le **coefficient de partage**, comme dans le cas de l'extraction, pour un composé A est :

$$A(\text{mobile}) \rightleftharpoons A(\text{stationnaire})$$

$$K_c = \frac{c_s}{c_M} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

b) Le **chromatogramme** est une courbe qui traduit la variation au cours du temps d'un paramètre relié à la concentration instantanée du soluté en sortie de colonne (fig. 3.2). Le temps (ou très rarement le volume d'élution) est porté en abscisse et l'intensité du signal de détection en ordonnée. La ligne de base correspond au tracé obtenu en l'absence de composé élué.

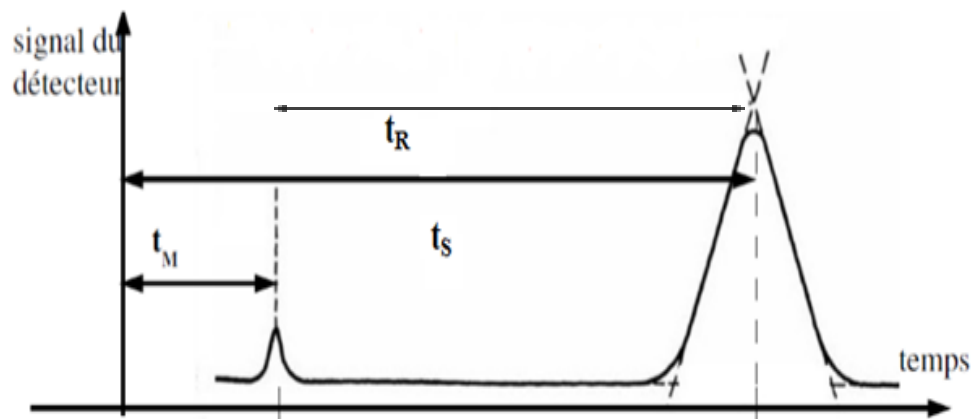


Figure 3.2 : Le chromatogramme

c) Le **temps mort** (t_M) est le temps nécessaire pour qu'une molécule de la phase mobile (ou le soluté qui n'est pas retenu par la phase stationnaire) traverse la colonne. Tous les constituants passent au moins un temps mort dans la phase mobile. Le **temps de rétention** d'un constituant retenu par la phase stationnaire (t_R) est le temps écoulé entre l'injection et le moment où le constituant sort de la colonne. Le constituant est ralenti parce qu'il passe un temps (t_s) sur la phase stationnaire. Le temps de rétention vaut donc :

$$t_R = t_s + t_M \quad (\text{Eq. 3.2})$$

d) La **vitesse linéaire moyenne** $\bar{v}$ (généralement en $\frac{cm}{s}$), de déplacement du soluté, est égale à :

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad (\text{Eq. 3.3})$$

où L est la longueur utile de la colonne (longueur de la phase stationnaire). La **vitesse linéaire moyenne** u des molécules de la phase mobile est donnée par :

$$u = \frac{L}{t_M} \quad (\text{Eq. 3.4})$$

e) Le **facteur de rétention** permet de comparer les vitesses de progression des solutés dans les colonnes. Pour le soluté A, le facteur de rétention k_A est défini par :

$$k_A = \frac{n_s}{n_M} = \frac{m_s}{m_M} = \frac{C_s V_s}{C_M V_M} = \frac{K_A V_s}{V_M} \quad (\text{Eq. 3.8})$$

où K_A est le coefficient de distribution du soluté A.

Ce facteur de rétention peut être obtenu à partir du chromatogramme par la relation

$$\frac{L}{t_R} = \frac{L}{t_M} \times \frac{1}{1+k_A} \quad (\text{Eq. 3.9})$$

Cette équation peut être reformulée en

$$k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_S}{t_M} \quad (\text{Eq. 3.10})$$

Les temps t_R et t_M sont directement accessibles à partir du chromatogramme. Si un facteur de rétention est beaucoup plus petit que 1, le soluté sort de la colonne après un temps très proche du temps mort. Si le temps de rétention est supérieur à 20 ou 30, les durées d'élution deviennent exagérément longues. Les séparations s'effectuent de manière optimale lorsque les facteurs de rétention des solutés sont de l'ordre de 1 à 5.

g) Le facteur de séparation α d'une colonne pour les deux solutés A et B est défini par

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} = \frac{k_B}{k_A} \quad (\text{Eq. 3.11})$$

où K_B est la constante de distribution de l'espèce la plus retenue et K_A , celui de l'espèce la plus éluée et où k_B et k_A sont les facteurs de rétention de ces deux espèces. L'expression suivante permet de déterminer α à partir d'un chromatogramme expérimental.

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} \quad (\text{Eq. 3.12})$$

Exemple 3.1 : Calculer le facteur de séparation en se servant du schéma ci-dessous.

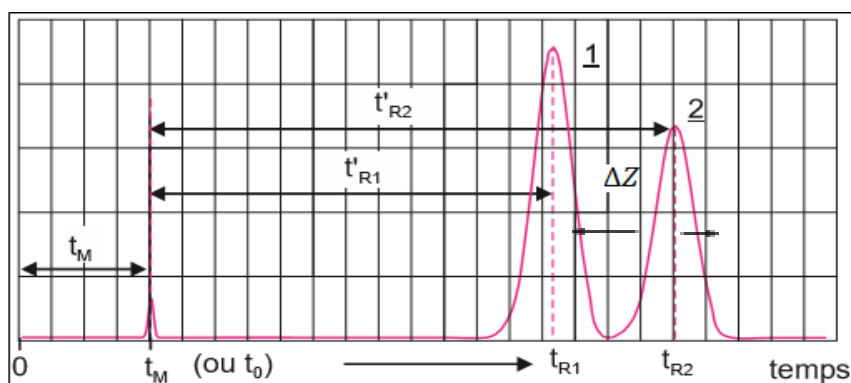


Figure 3.2 : Facteurs de rétention et de séparation entre deux composés adjacents.

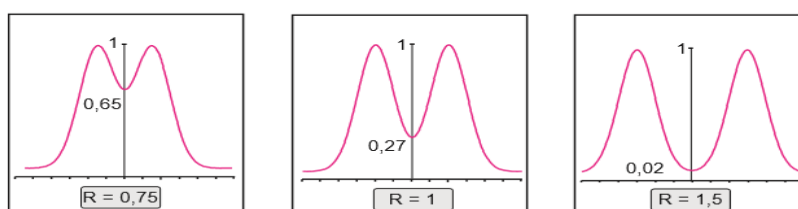


Figure 3.3 : Résolution de trois colonnes différentes.

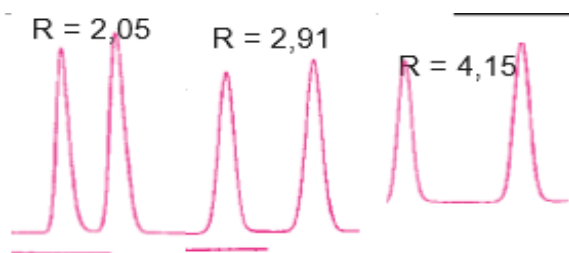


Figure 3.4 : Amélioration de la résolution avec la longueur de la colonne (mais plus la colonne est longue, plus le temps d'élution est long).

3.4 Analyse quantitative par chromatographie

Pour déterminer les aires des pics, on utilise les fonctions spécialement prévues des logiciels de chromatographie, qui assurent non seulement le pilotage du chromatographe, mais qui peuvent, en plus de l'acquisition des chromatogrammes, analyser les données, quantifier et fournir le rapport d'analyse correspondant à l'une des méthodes d'analyse quantitative préprogrammées

La méthode de l'étalonnage externe permet de calculer la teneur (en termes de concentration ou de pourcentage massique) d'un ou plusieurs constituants apparaissant séparés sur le chromatogramme, même en présence d'autres composés donnant des pics non résolus. Facile de mise en œuvre, elle correspond à l'application d'un principe commun à beaucoup de dosages. Le procédé repose sur la comparaison de deux chromatogrammes obtenus successivement sans changer les conditions de réglage de l'appareil. L' SMTOUNKARA un chromatogramme de référence acquis à partir d'une solution de référence (conc. $C_{réf}$) dans un solvant, du composé qui fait l'objet du dosage. On injecte un volume V de cette solution et on repère sur le chromatogramme l'aire $A_{réf}$ du pic correspondant. Le second résulte de l'injection d'un volume identique V de l'échantillon en solution, contenant le composé à doser (conc. $C_{éch}$). Soit $A_{éch}$ l'aire du pic correspondant. Puisque les volumes injectés sont égaux, il y a proportionnalité entre les aires, qui dépendent des masses injectées, et les concentrations correspondantes ($m_i = C_i \cdot V$).

$$m_{réf} = C_{réf} \cdot V = K \cdot A_{réf} \text{ et } m_{éch} = C_{éch} \cdot V = K \cdot A_{éch} \quad \text{SMTOUNKARA}$$

$$C_{éch} = C_{réf} \frac{A_{éch}}{A_{réf}} \quad (Eq. 4.18)$$

4. Chromatographie ionique

Cette technique de chromatographie est orientée vers la séparation des ions et des composés polaires. Pour cela on utilise des colonnes contenant des phases stationnaires comportant des sites ioniques pour qu'il se crée des interactions dipolaires avec les analytes à séparer. Plus grande est la charge portée par un soluté, plus ce dernier est retenu par la

phase stationnaire. Ce processus d'échange est lent, comparé à ceux qui régissent les autres types de chromatographie.

4.1 Principe de la chromatographie ionique

Les parties des appareils au contact de la phase mobile doivent être en matériaux inertes compte tenu de l'agressivité des solutions aqueuses acides ou basiques qui servent d'éluants.

La progression et la séparation des composés de l'échantillon reposent sur des phénomènes d'échanges ioniques. On distingue deux situations :

- Si on cherche à séparer des espèces cationiques (type M^+), on choisit une colonne, appelée cationique, dont la phase stationnaire comporte des sites aptes à échanger les cations. Une telle phase est constituée par exemple par un polymère greffé avec des groupements $-SO_3H$ (c'est par conséquent l'équivalent d'un polyanion).
- En revanche, si on cherche à séparer des anions (type A^-) on choisit une colonne dite anionique. Celle-ci est obtenue par exemple à partir d'un polymère comportant des groupements ammonium).

L'injecteur et le détecteur ont des volumes morts qui entrent en ligne de compte dans le volume de rétention total. L'analyse par chromatographie a rarement pour but de déterminer la composition totale de l'échantillon, mais plutôt de repérer la présence ou doser un composé présent, pour lequel on a choisi un détecteur bien adapté. Cependant quel qu'il soit, le détecteur doit réunir un certain nombre de qualités : donner pour chaque composé détecté une réponse proportionnelle à sa concentration instantanée, être sensible et avoir peu de bruit de fond, être stable dans le temps. Les modes de détection les plus courants reposent sur les propriétés optiques des composés : absorption, fluorescence et indice de réfraction.

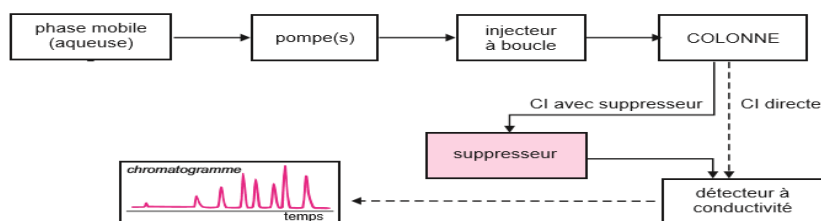


Figure 4.1 : Schéma de principe d'une installation de chromatographie ionique.

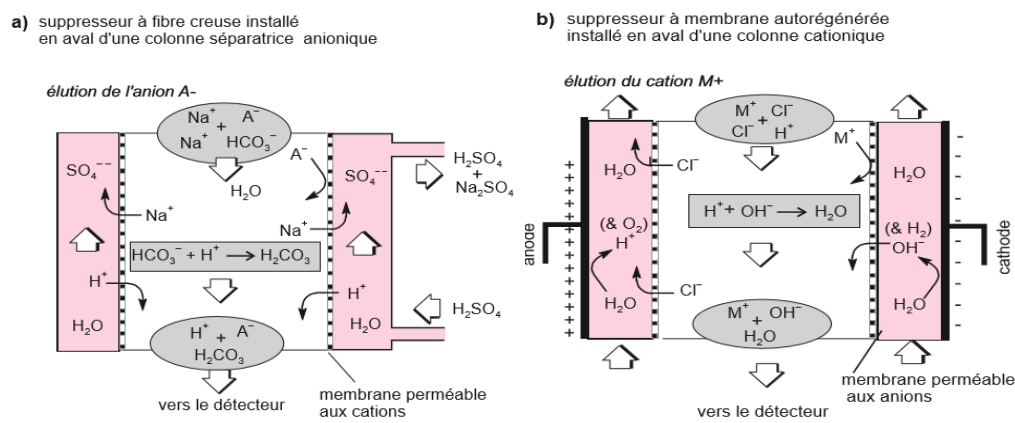


Figure 4.2 : Principe de fonctionnement d'un suppresseur à membrane

4.3 Phases stationnaire et mobile

4.3.1 Phase stationnaire

Parmi tous les matériaux qui ont été ou sont actuellement utilisés pour la confection des phases stationnaires, le gel de silice tient une place prépondérante. Ce matériau de base est un solide amorphe ayant pour formule de composition $\text{SiO}_2(\text{H}_2\text{O})_n$. Bien qu'ayant une capacité d'adsorption élevée, le gel de silice décrit précédemment n'est plus utilisé tel quel en chromatographie analytique. Hydrophile par nature, ses caractéristiques évoluent au cours du temps, entraînant un manque de reproductibilité des séparations. Pour diminuer sa polarité jugée excessive dans de nombreux cas on le rend essentiellement hydrophobe. Les modifications classiques mettent à profit la réactivité des fonctions silanols présentes en surface pour fixer des molécules organiques par des liaisons covalentes. Le gel de silice ainsi modifié devient assimilable à un liquide immobilisé, la séparation mettant en jeu les coefficients de partage et non plus les coefficients d'adsorption.

Le gel de silice, à son tour, peut être remplacé par l'alumine ou l'oxyde de zirconium (ZrO_2) comme supports de dépôts réticulés à base de polybutadiène ou d'autres polymères styrène/divinylbenzène ou hydroxyméthylstyrène. Ces phases stationnaires présentent une meilleure stabilité en milieu basique ou acide, certaines colonnes pouvant être rincées à la soude 1M, ce que ne supportent pas les liaisons $\text{Si}-\text{O}-\text{C}$. Signalons enfin que le graphite poreux sous forme de sphères dont la surface est 100 % carbone, donc totalement hydrophobe, a reçu des applications pour les composés ayant des facteurs de rétention élevés.

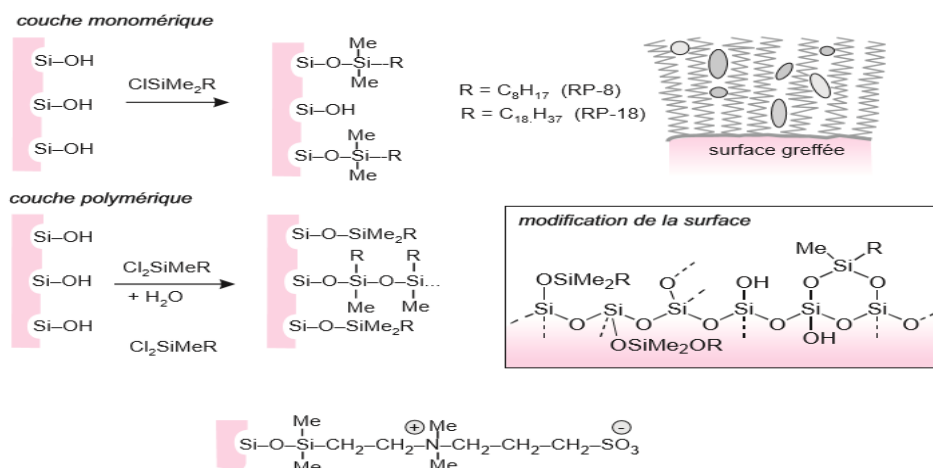


Figure 4.3 : Formation d'organosilanes greffés à l'interface du gel de silice

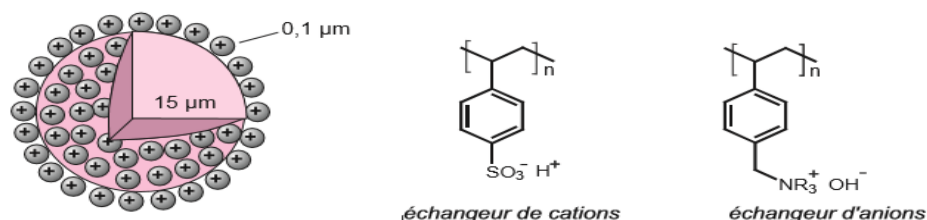


Figure 4.4 : Phase stationnaire en chromatographie ionique

4.3.2 Phase mobile

Les éluants servant de phases mobiles sont des solutions aqueuses chargées d'ions salins ou organiques et, si nécessaire, d'un peu de méthanol ou d'acétone pour faciliter la dissolution de certains échantillons. Suivant le type, cationique ou anionique de la colonne, les ions de l'éluant sont apportés soit par des acides minéraux ou organiques (perchlorique, benzoïque, phthalique, méthanesulfonique...), soit par des bases (hydroxyde de potassium, ...).

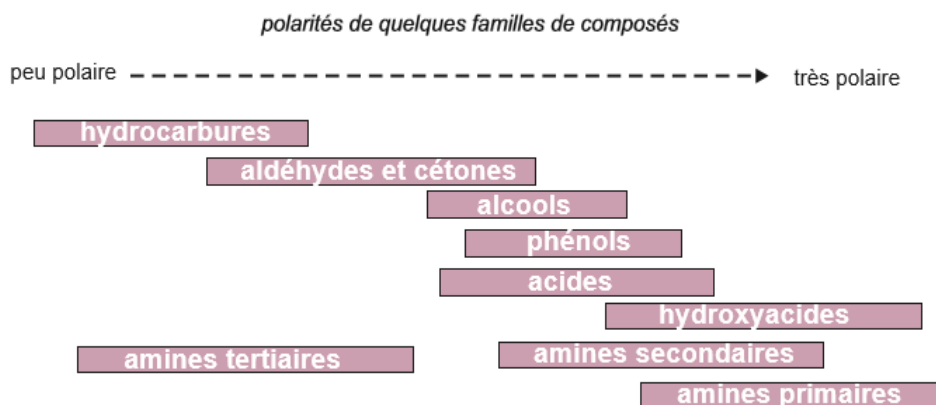


Figure 4.5 : Polarités de quelques familles de composés organiques.

4.3.3 Chromatographie planaire

La séparation par chromatographie planaire, également connue sous le nom de chromatographie sur couche mince (CCM), des constituants de l'échantillon est réalisée sur une fine couche (100–200 nm) de phase stationnaire, généralement à base de gel de silice, déposée sur une plaque rectangulaire de verre, de plastique ou d'aluminium, de quelques centimètres de côté. Pour maintenir la phase stationnaire sur le support et assurer la cohésion des particules, un liant organique est incorporé au cours de la fabrication de la plaque.

On commence par déposer un petit volume (compris entre quelques nanolitres et plusieurs microlitres) de l'échantillon en solution diluée, à proximité du bord inférieur de la plaque sous forme d'une tache de 1 à 3 mm de diamètre.

La phase mobile migre par capillarité à travers la phase stationnaire sèche, entraînant à des vitesses différentes les constituants à séparer. Le temps de migration (plusieurs minutes) dépend de divers paramètres. Quand le front de solvant a parcouru une distance considérée comme suffisante (quelques centimètres), on retire la plaque de la cuve, on repère la position limite atteinte par la phase mobile et on évapore cette dernière.

Les composés qui donnent des taches invisibles doivent être « révélés » (fig. 5.2). À cette fin la phase stationnaire contient un indicateur consistant en un sel de zinc qui émet une fluorescence verte lorsqu'on éclaire la plaque au moyen d'une lampe UV à vapeur de mercure ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Tout composé qui absorbe à cette longueur d'onde apparaît sous forme d'une tache sombre (ou quelquefois colorée) sur un fond illuminé en vert.

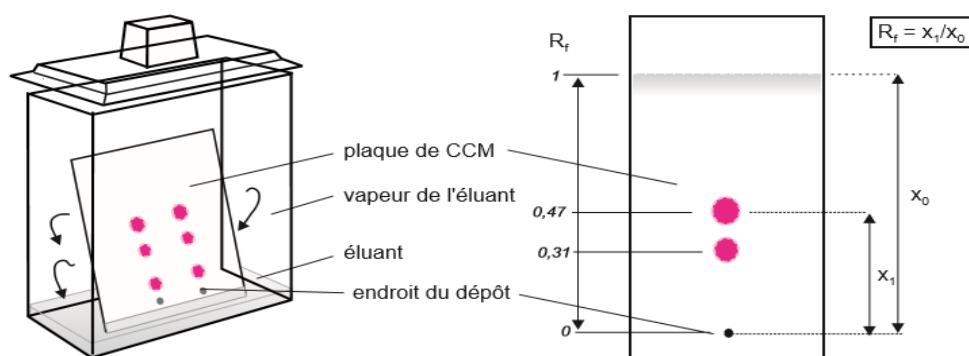


Figure 4.6 : Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM.