

LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (CPG)

C'est une méthode de séparation de composés susceptibles d'être vaporisés par chauffage (sans décomposition).

La séparation se fait dans une colonne soit par partage soit par adsorption. Elle permet :

- la microanalyse (du μg au mg)
- la séparation de mélanges complexes
- une analyse qualitative et quantitative aisée
- des analyses dans de nombreux domaines d'applications.

Ses limites d'applications : elle ne convient pas pour les produits

- qui se décomposent à chaud (thermolabiles)
- qui sont peu volatils
- ionisés.

APPAREILLAGE ET CARACTÉRISTIQUES

1. Schéma d'appareillage

Un appareil de CPG comprend schématiquement 3 modules spécifiques : un injecteur(1), une colonne contenue dans une enceinte thermostatée (four)(2) et un détecteur (3) relié à un intégrateur ou un ordinateur (4) sur lequel apparaît le chromatogramme .

Le mélange à analyser est injecté sous forme d'un fluide et est vaporisé dans l'injecteur. Le gaz vecteur l'entraîne dans la colonne de séparation thermostatée.

Les composés se répartissent différemment dans les 2 phases, se déplacent donc à des vitesses différentes puis sortent à des temps différents. A leur sortie, ils sont détectés et un pic apparaît sur l'enregistreur.

2. Injecteur

Il permet : l'introduction de l'échantillon, son évaporation et son entraînement par le gaz vecteur vers la colonne : un volume précis est injecté dans l'injecteur qui va vaporiser le liquide et permettre le transfert de l'échantillon vaporisé vers la colonne de chromatographie. Cette injection est faite dans un tube chauffé. Le gaz vecteur arrive par l'une des extrémités du tube et entraîne les solutés vaporisés vers la colonne raccordée à l'autre extrémité.

a) L'injection : se fait par le biais d'une seringue de faible volume (microseringue de 1 à 10 μL). Elles posent deux problèmes :

- Mauvaise reproductibilité des volumes injectés $\Rightarrow$ certains appareils sont donc pourvus d'injecteur automatique.
- Chauffage brutal du contenu de l'aiguille de la seringue lorsqu'on l'introduit dans l'injecteur, qui entraîne une injection en 2 temps visible sur le chromatogramme. $\Rightarrow$ la solution consiste à mesurer le volume désiré puis reculer le piston de façon à aspirer le contenu de l'aiguille, ainsi lorsque l'aiguille sera introduite dans l'injecteur, elle sera vide !, puis il faut injecter rapidement.

L'aiguille de la microseringue entre dans l'injecteur en traversant un septum (une pastille d'élastomère siliconé) qui évite les fuites de gaz au niveau de l'entrée. L'état du septum doit régulièrement être contrôlé.

b) Température de l'injecteur : L'injecteur est thermostaté à une certaine température de manière à ce que le solvant et les différents solutés de l'échantillon soient vaporisés. Pour éviter la condensation des produits injectés $\Rightarrow T^{\circ}_{\text{injecteur}} = T^{\circ}_{\text{produit le moins volatil}} + 20^{\circ}\text{C}$

c) Différents types d'injecteurs : Selon les types de colonnes reliées aux injecteurs, les caractéristiques des injecteurs et leur mode d'injection sont différentes de façon à optimiser la qualité de la séparation :

- Injecteur à vaporisation directe :

pour les colonnes remplies et les colonnes capillaires de grc introduit par la seringue est entièrement entraîné dans la colonne

Pb. : Pour les colonnes capillaires à faible débit, les quantités de composés dans la colonne doivent être très petites pour éviter la **saturation** des colonnes. Les volumes injectés doivent être très faibles (saturation même pour des $v_{\text{injectés}} = 0,1 \mu\text{L}$). Or les volumes injectés ne peuvent être inférieurs à $0,1 \mu\text{L}$ et l'utilisation de solutions très diluées entraîne des perturbations dues à l'excès de vapeur de solvant. Il existe donc différents injecteurs permettant de résoudre ce problème :

- Injecteur avec système de fuite :

Une grande partie de l'échantillon injecté, vaporisé et mélangé à l'injecteur par une vanne de fuite. Ainsi, une petite fraction va dans la colonne. Il existe deux modes selon que l'on injecte vanne ouverte ou vanne fermée pendant environ 1 minute après l'injection (mode split ou splitless).

- Injecteur à température programmable (PTV) :

Le mélange est introduit liquide dans l'injecteur à froid puis l'injecteur est chauffé en mode split ou splitless pour vaporiser les composés.

- Injection à froid dans la colonne : le mélange est injecté directement froid et liquide dans la colonne

3. Four

Les colonnes sont placées dans des enceintes chauffées appelées four dont la température peut-être régulée au 1/10^{ème} de °C près.

La température du four peut-être :

- stable et identique du début à la fin de la manipulation (= conditions isothermes)
- programmée par palier successif (= en gradients)

4. Colonnes

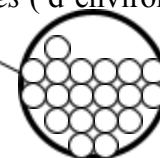
Elles contiennent la phase stationnaire. Elles se présentent sous forme de tubes fins enroulés. Il existe deux types de colonnes :

4.1. Les colonnes remplies

Diamètre de 2 à 6 mm et longueur de 1 à 3 m. Elles sont en tubes d'acier ou verre.

Elles sont remplies d'un support poreux et inerte sous forme *de grains sphériques* (d'environ 0,2 mm de diamètre) sur lequel est imprégnée la phase stationnaire.

Moins résolutive que les colonnes capillaires.

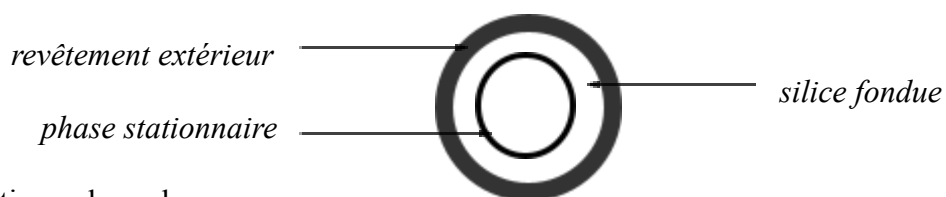


Exemple de supports : Chromosorb® ; Sphérosil® ; Porapak®

4.2. Les colonnes capillaires (à tube ouvert)

Diamètre de 0,1 à 0,53 mm et longueur de 10 à 100 m. Elles sont en tubes d'acier inoxydable ou en silice fondue ;

La phase stationnaire est directement déposée sur la paroi interne de la colonne sur une épaisseur de 0,05 à 5 µm.



On distingue les colonnes

- WCOT (Wall Coated Open Tubular) : où la phase stationnaire forme une pellicule liquide à l'intérieur du tube.
- PLOT (Porous Layer Open Tubular) : où la phase stationnaire forme une couche d'adsorbant solide.

4.3. Recommandations d'utilisation des colonnes

- *Avant sa première utilisation* : il faut la débarrasser des traces de solvant et des produits volatils qu'elle peut contenir en la maintenant au moins 12 h au voisinage de sa température limite d'utilisation sans brancher le détecteur pour éviter son encrassement
= **maturation**
- *Après une longue période d'utilisation* : remettre la colonne à maturation pendant 2h.
- *Stockage* : avec des bouchons (évite l'oxydation, l'humidification,...)

- Une colonne doit toujours être parcourue par le gaz vecteur

5. Phases

5.1. Phase mobile

Elle constitue le gaz vecteur. Il s'agit d'un gaz inerte et pur tel que l'hélium, le diazote ou le dihydrogène. La nature du gaz ne modifie pas de manière significative la séparation des composants du fait de l'absence d'interaction entre le gaz et les solutés, seul le facteur température est important.

5.2. Phase stationnaire

a) Choix de la phase stationnaire

- Une phase apolaire retiendra d'autant plus un composé qu'il sera apolaire (et inversement)

Exemple : Squalane (apolaire) ; Carbowax (polaire)

- Une phase apolaire retiendra les composés dans l'ordre de leur température d'ébullition (donc sortie des composés dans l'ordre de leur température d'ébullition croissante)
- Une phase phénylée retiendra mieux un composé aromatique

Ex. : phases OV225 ; DC550

- Une phase fluorée retiendra mieux les cétones

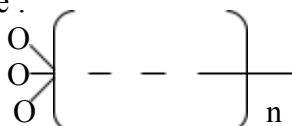
Ex. : phase QF1

On définit le **taux d'imprégnation** : la masse de phase stationnaire pour 100g de support

b) Différentes phases stationnaires

Les phases les plus courantes sont formées de deux principaux types de constituants :

- Les polysiloxanes (« huiles et gommes de silicones ») : correspondant à la répétition d'un motif de base de type :



- Les polyéthylèneglycols (PEG) : polymères polaires (composés des colonnes Carbowax®) de type :



- les phases stationnaires solides constituées de matériaux adsorbants divers tels que de la silice ou de l'alumine désactivée par des sels minéraux, verres ou polymères poreux, carbone graphité (Chromosorb®100, Porapak®)

6. Détecteurs

6.1. Généralités

Ils peuvent être plus ou moins spécifiques des composés à détecter. S'il n'y a pas de spécifications sur la notice de l'appareil

$$\Rightarrow T^{\circ}_{\text{détecteur}} = T^{\circ}_{\text{produit le moins volatil}} + 20^{\circ}\text{C}$$

On détermine :

- Sa quantité minimale détectable (QMD)
- Sa sensibilité : correspond au rapport entre signal / concentration (mg/mL) ou entre signal / débit (mg/s)

Il existe différents types de détecteurs comme le montre le tableau ci-dessous :

DETECTEUR	Gaz vecteur	Linéarité	QMD	Sélectivité (spécificité)	Applications
Catharomètre	H ₂ /He	10 ⁵	1 à 10 ng	NS	Tous composés
FID	He/N ₂	10 ⁷	20 à 100 pg	NS	Composés organiques
Capture d'e ⁻	N ₂	10 ⁴	0,1 pg	S	Composés halogénés
Thermoionique	N ₂	10 ⁴	P : 1 pg / N : 10 pg	S	Composés avec N ou P
Photométrie de flamme	N ₂ /H ₂	10 ³	P : 10 pg S : 1 ng	S	Composés avec S ou P

6.2. Principes des principaux détecteurs

a) détecteur à ionisation de flamme (FID)

Le plus utilisé pour les composés organiques et de grande sensibilité.

Les composés (gazeux) qui sortent de la colonne pénètrent dans la flamme du détecteur. Leur combustion entraîne la formation d'ions et de particules chargées qui sont alors collectés par 2 électrodes. Le courant très faible qui en résulte est fortement amplifié et transformé en une tension mesurable par un électromètre.

L'air du pic reflète la quantité de composé élué.

b) détecteur à conductibilité thermique (TCD)

Détecteur universel mais de sensibilité moyenne;

Il est formé d'un catharomètre composé de 2 thermistors (= filaments chauffés) dont un est balayé par le gaz vecteur seul et l'autre par le gaz en sortie de colonne; Quand un courant gazeux passe sur les filaments, ils sont refroidis en fonction de la température, du débit et de la nature du gaz; la température et le débit sont les mêmes pour le gaz arrivant sur les 2 filaments mais la présence d'1 composé en sortie de colonne modifie la nature du gaz qui alors refroidi moins le 2^{ème} filament. Il en résulte une variation de résistance proportionnelle à la concentration du composé.

c) détecteur thermoionique (NPD) (détecteur catharomètre)

Spécifique aux composés azotés ou phosphorés. Un petit cylindre en céramique est chauffée par une résistance électrique à 800°C et est alimenté par un mélange air/hydrogène. Les composés contenant N et P sont décomposés en ions négatifs qui sont recueillis par une électrode collectrice reliée à un électromètre qui traduit le courant obtenu en un signal.

d) détecteur à capture d'électrons (ECD)

Spécifique des dérivés halogénés et très sensible.

Une source radioactive émet des particules β génère des électrons au contact d'un courant d'azote. Ces électrons produisent un courant constant qui diminue lors du passage de composés contenant un halogène (F, Cl, Br) car ces composés captent une partie des électrons; la diminution du courant se traduit par un pic.

e) autres

- détecteur à photométrie de flamme: sélectif pour S et P
- détecteur à photo-ionisation: envoi de photons (lampe UV) sur les composés entraîne leur ionisation.
- Détecteur à émission atomique
- Couplage de plusieurs détecteurs en série.