

## II.1 Introduction

Le nom de chromatographie dérive du mot grec *khrôma* qui signifie *couleur*, parce que le premier scientifique à utiliser cette technique, le botaniste russe Tswett, sépara en 1903 les pigments colorés d'une plante verte en filtrant un extrait de celle-ci sur une colonne de verre remplie de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) finement pulvérisée. Ce fut la première application de la chromatographie sur colonne<sup>[46]</sup>.

## II .2 Définition

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de **deux phases**, l'une **stationnaire ou fixe**, l'autre **mobile**. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur **adsorption** et de leur **désorption** successive sur la phase stationnaire, soit de leur **solubilité différente** dans chaque phase<sup>[47]</sup>.

## II .3 Nature des phases

### II .3.1 Phase fixe

La phase fixe peut être solide ou liquide. Les solides, permettent la séparation des composants des mélanges grâce à leurs propriétés adsorbantes. Ils peuvent être employés soit dans le remplissage d'une colonne ou étalés en couche mince sur une plaque de verre, d'aluminium ou sur une feuille de matière plastique (chromatographie sur couche mince ou CCM).

La phase fixe peut aussi être constituée par un liquide imprégnant un support solide.

### II.3 .2 Phase mobile

La phase mobile est soit un gaz, et c'est le cas de la chromatographie en phase gazeuse, soit un liquide comme en chromatographie sur couche mince, ou sur colonne.

Lorsque la phase mobile est gazeuse, elle est nommée gaz vecteur ou porteur, lorsqu'elle est liquide, on l'appelle éluant<sup>[48]</sup>.

## II .4 Types de chromatographie

On peut classer les méthodes chromatographiques d'après la nature des phases utilisées ou celle des phénomènes mis en œuvre dans la séparation :

- **La chromatographie d'affinité**

Dans ce type de chromatographie, la phase stationnaire est constituée d'un polymère sur lequel on a greffé un groupement chimique réactif spécifique et qui présente une affinité pour un soluté de l'échantillon à analyser.

- **La chromatographie de partage**

La séparation est fondée sur des différences de solubilités, la phase stationnaire dans ce cas est un liquide tandis que la phase mobile peut être un gaz ou un mélange liquide.

- **La chromatographie d'adsorption**

La phase stationnaire est un solide et la séparation est fondée sur les différences d'adsorption des molécules du mélange par la phase stationnaire.

- **La chromatographie d'échange d'ions**

La phase stationnaire est un solide, ayant des propriétés particulières que l'on appelle un échangeur d'ions, ce solide est généralement poreux et comporte des groupements fonctionnels ionisés<sup>[49]</sup>.

Selon le type d'appareillage utilisé on distingue aussi :

- La chromatographie sur couche mince ;
- La chromatographie en phase liquide basse pression « CLBP » ;
- La chromatographie en phase liquide à haute performance « HPLC » ;
- La chromatographie en phase gazeuse « CPG »<sup>[50]</sup>.

Cette dernière, fera l'objet de ce travail de thèse, elle sera décrite en détail dans les paragraphes suivants.

## II .5 La chromatographie en phase gazeuse

### II .5.1 Introduction

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est la technique de séparation la plus utilisée car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'identification et la caractérisation détaillée de mélanges complexes dans des domaines très variés tel que la pétrochimie, l'environnement, parfumerie, et l'industrie agro-alimentaire <sup>[51]</sup>.

### II .5 .2 Principe de la chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse est une technique de séparation pour substances volatils, cette séparation est basée sur les différences de distributions des produits à séparer, l'échange s'effectue entre la phase mobile qui est un gaz vecteur et la phase stationnaire quelle soit solide ou liquide déposé sur un support solide inerte.

À l'instant initial le mélange ou l'échantillon solide, gazeux ou liquide est injecté à l'aide d'une micro seringue dans la chambre d'injection, puis vaporisé dans le gaz vecteur. L'injecteur est équipé d'un système de chauffage indépendant, ce qui permet à travailler à des températures supérieurs à celle de la colonne afin d'éviter toute condensation après injection. La phase mobile entraine le mélange vers la colonne ou il va être analysé à sa sortie grâce à un détecteur (figure 20).

La séparation des différentes solutés du mélange est déterminée par un coefficient de partage K définie comme suit :

$$K = C_S / C_M$$

Avec  $C_S$  : concentration du soluté dans la phase stationnaire.

Et  $C_M$  : concentration du soluté dans la phase mobile <sup>[52, 53]</sup>.

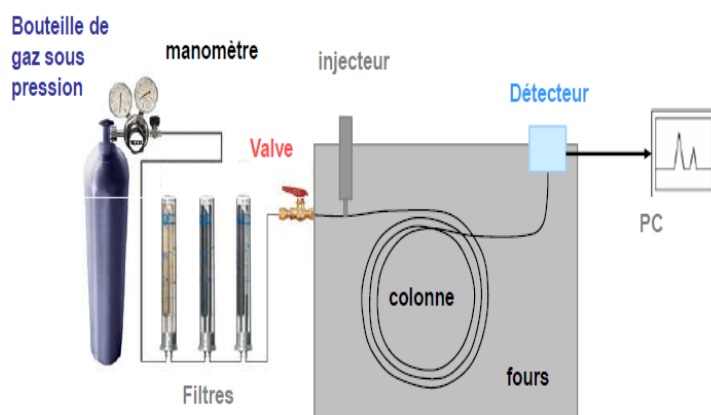


Figure 20 : Schéma simplifié d'un chromatographe.

### II .5.3 L'appareillage

Un appareil pour chromatographie en phase gazeuse nommé chromatographe est constitué de :

#### II .5.3.1 Source de gaz vecteur

L'hydrogène, l'hélium, l'azote et l'argon sont les gaz porteurs les plus utilisés, ils constituent la phase mobile. Conservés sous pression dans des bouteilles métalliques, ils passent dans un détendeur permettent d'obtenir des pressions allant de 0.2 à 4 bars. Le gaz vecteur ne doit pas contenir des traces d'eau ou d'oxygène souvent préjudiciable aux phases stationnaires<sup>[54]</sup>.

#### II .5.3.2 Système d'injection

Il possède une double fonction : provoquer la volatilité instantanée de l'échantillon introduit et assurer le mélange homogène de la vapeur ainsi formée et du gaz vecteur. Il y'a en chromatographie en phase gazeuse de types de système d'injection<sup>[53]</sup> :

- **Injection par vaporisation directe** : composé d'un tube métallique entouré de verre. Le gaz vecteur qui doit chauffer l'échantillon jusqu'à sa température d'ébullition se déplace entre le verre et le métal.
- **Injection « split-splitless »** : elle est utilisée pour les colonnes capillaires à faible débit<sup>[55]</sup> (figure 21).

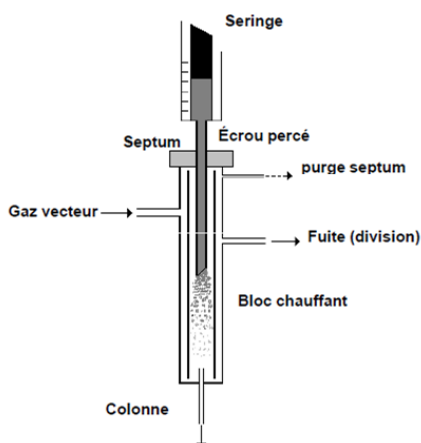


Figure 21 : Système d'injection en mode split/splitless .

### II .5.3.3 Le four (enceinte thermostatée)

Le chromatographe comporte une enceinte suffisante et facile d'accès pour y installer la colonne et la porter à la température désirée. L'atmosphère de ce four d'inertie thermique faible est brassée en permanence par ventilation forcée, en adjoignant une vanne cryogénique alimentée par l'azote, l'enceinte peut être réglée à basse température [56].

### II .5.3.4 La colonne

La colonne est le cœur du système chromatographique, elle est composée d'un tube rigide creux de longueur variable, à l'intérieur duquel on trouve les deux phases stationnaires et mobiles et c'est dans la colonne que se passe la séparation des constituants d'un mélange. Ils existent deux types de colonnes : les colonnes classiques ou remplies et les colonnes capillaires dont le diamètre est moins inférieur [57].

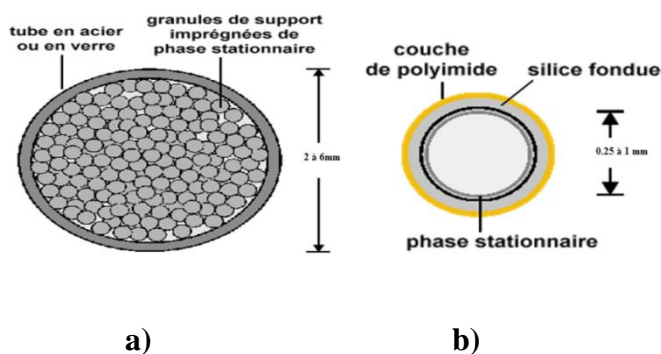


Figure 22 : a) Colonne classique ou remplie, b) colonne capillaire.

### II .5.3.5 Les détecteurs

Il est placé à la sortie de la colonne, sa fonction est d'avoir une sensibilité à la substance à analyser, il donne une réponse spéciale qui est relative à la concentration de cette substance dans le gaz vecteur. Ils existent plusieurs types de détecteurs : détecteur à conductibilité thermique (**TCD**), détecteur à ionisation à flamme (**FID**), détecteur à capture d'électrons (**ECD**), détecteur thermoïonique (**NPD**)<sup>[55]</sup>.

### II .5.3.6 La phase stationnaire

C'est un liquide, un polymère ou un cristal liquide repartit en film mince sur un support dans la colonne remplie, ou sur la paroi interne d'une colonne capillaire, elle doit présenter une affinité, envers les composants de l'échantillon, afin que leur temps de rétention ne soient pas les mêmes et arrivent séparément au détecteur, cette affinité dépend des forces d'interactions (soluté – solvant).

## II.5.4 Les colonnes classiques

### II.5.4.1 Définition

Elles sont constituées d'un tube en verre, en cuivre ou en acier inoxydable de diamètre de 2 à 6 mm et de longueur de 1 à 2 mètres. La colonne est remplie d'un support constitué par des grains inactifs sur lequel est imprégné le liquide non volatil constituant la phase stationnaire.

La nature du support joue un rôle important, car il conditionne plusieurs qualités de la colonne, aussi l'obtention d'un film mince de phase stationnaire impose l'utilisation d'un support granule de surface spécifique assez grande de quelque mètres carrés par gramme.

### II.5.4.2 Imprégnation du support

Pour imprégner un support il faut dissoudre la phase stationnaire choisie, puis la mélanger avec le support et évaporer le solvant.

Le taux d'imprégnation est exprimé en pourcentage, et par convention c'est la masse de la phase stationnaire pour 100 grammes de support<sup>[57]</sup>.

### II.5.4.3 Evaporation du solvant

Le rôle du solvant est de solubiliser la phase stationnaire, l'évaporation du solvant doit être conduite de façon régulière afin d'obtenir un dépôt homogène de phase stationnaire sur les supports, on distingue deux techniques d'évaporation <sup>[58]</sup> :

- **L'évaporation rotative** : elle présente l'avantage d'une grande rapidité, et utilisée à faible vitesses de rotations pour éviter la formation de fines.
- **L'évaporation simple** : on utilise soit un plat, soit une grande fiole à vide pour obtenir une faible épaisseur de support mouillé de solution de phase stationnaire chauffée sous hôte <sup>[57]</sup>.

### II.5.4.4 Remplissage de la colonne

Le remplissage s'effectue en introduisant successivement de petites quantités de granules dans le tube obturé à une extrémité par la laine de verre, extrémité par laquelle il est relié par source de vide, la colonne étant vibré énergiquement.

## II.5.5 Les colonnes capillaires

### II.5.5.1 Définition

Elles ont été introduites en 1957 par « GOLAY », et conduisent à des meilleurs séparations que celles obtenues sur colonnes classiques, elles ont un diamètre interne allant de 0.25 à 1mm et une longueur comprise entre 10 et 100 mètres.

Elles sont généralement en verre, plus récemment en quartz et rarement en acier. La phase stationnaire ne doit pas réagir avec les substances à analyser, mais certain impuretés de la phase stationnaire peuvent réagir avec les solutés <sup>[59]</sup>.

### II.5.5.2 Traitement de la paroi interne

Ce traitement permet de modifier la paroi interne de la colonne qui est parfaitement lisse, cette modification peut se faire soit par attaque chimique soit par dépôt de fine particule adhérent.

### II.5.5.3 La désactivation

L'objectif de la désactivation est de faire disparaître le nombre de sites actifs du verre responsables de phénomènes d'activation de surface indésirables. Elle est réalisée en faisant

passer une solution de 1% de polyéthylène glycol dans du dichloroéthane sous courant d'azote, la colonne est ensuite séchée, puis placée dans un four chauffé à 270C° pendant quatre heures.

#### II.5.5.4 Le remplissage de la colonne

On distingue deux méthodes de remplissage :

- **La méthode statique** : dans cette méthode la colonne est complètement remplie d'une solution très diluée de phase stationnaire dans un solvant. Il faut ensuite sceller une extrémité de la colonne mais elle est difficile à mettre en œuvre.
- **La méthode dynamique** : elle consiste à remplir une dizaine de spire par une solution de 10% de phase stationnaire dans un solvant approprié. la solution est poussée par un faible courant d'azote jusqu'à ce qu'elle traverse toute un film de phase stationnaire et se dépose sur les parois interne de la colonne <sup>[60]</sup>.

## II .6 Paramètres chromatographiques

### II.6.1 Grandeurs de rétentions

- **Temps de rétention ( $t_R$ )** : C'est le temps qui s'écoule entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du pic du soluté considéré.
- **Temps de rétention réduit ( $t_R'$ )**: présenté par l'équation suivante :

$$t_R' = t_R - t_m$$

Avec  $t_m$  le temps mort qui représente le temps de rétention du solvant supposé non retenue

- **Volume de rétention ( $V_R$ )** : c'est le volume du gaz vecteur qui traverse la colonne depuis l'entrée du soluté jusqu'à la sortie du maximum du pic :

$$V_R = t_R \cdot D_S$$

Avec  $D_S$  : le débit du gaz vecteur à la sortie de la colonne.



- **Volume de rétention réduit ( $V_R'$ )** : par analogie au temps de rétention réduit on définit le Volume de rétention réduit par l'équation suivante :

$$V_R' = t_R' \cdot D_S$$

- **Coefficient de correction** : pour corriger la perte de pression ou de volume « James et Martin » on suppose le coefficient appelé J :

$$J = (3/2) \cdot [(P_e/P_s)^2 - 1 / (P_e/P_s)^3 - 1]$$

Avec  $P_e$  : pression d'entrée,  $P_s$  : pression de sortie.

- **Volume de rétention spécifique  $V_g$**  : le volume de rétention spécifique dépend du couple soluté-phase stationnaire et de la température de la colonne.

$$V_g = (V_N / m_s) \cdot (273 / T)$$

Avec  $T$  : température de la colonne,  $m_s$  : masse de la phase stationnaire,  $V_N$  : volume de rétention absolu ou net :

$$V_N = j \cdot V_R'$$

- **Facteur de capacité  $K'$**  : définit comme étant le rapport de  $t_R'$  sur  $t_m$

$$k' = t_R' / t_m$$

Ce coefficient de capacité va déterminer le temps relatif de la molécule, c'est-à-dire si :

- $k' = 0$  la molécule n'est pas retenue.
- $k' > 1$  molécule est trop retenue.
- $k' < 1$  molécule est peu retenue.
- $k' = 1$  molécule est retenue.

## II .6.2 Grandeurs de séparation

- **La résolution R :** elle permet de mesurer la qualité d'une séparation chromatographique :

$$R = 2 \cdot (t_{RA} - t_{RB}) / (w_A + w_B)$$

Avec  $w$  : largeur du pic et  $t_R$  : temps de rétention.

- **Efficacité d'une colonne :** La performance d'une colonne est quantifiée par la valeur du nombre des plateaux théoriques qu'elle possède par analogie avec une colonne de distillation :

$$N = 16 \cdot (t'_R / w)^2$$

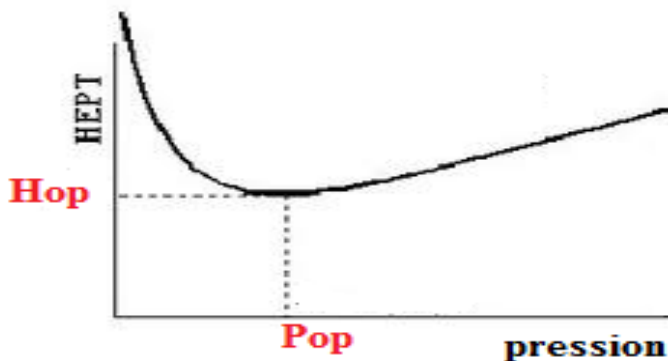
- **La hauteur équivalente à un plateau théorique HEPT :**

L'efficacité d'une colonne dépend principalement du nombre de plateaux théoriques qu'elle peut contenir, de ce fait elle dépend aussi des conditions opératoires utilisées : la pression d'entrée et de sortie, le débit du gaz vecteur, la température de la colonne.

La pression optimale du gaz vecteur est la pression où peut atteindre la colonne une plus grande efficacité, en traçant la courbe de Van Deemter (figure 23) HEPT en fonction de la pression, on obtient la pression optimale du gaz vecteur. En injectant un mélange d'un ou deux alcanes avec variation de la pression du gaz vecteur, on obtient des temps de rétentions qui servent à calculer le nombre de plateaux théoriques ainsi HEPT en utilisant la relation suivante :

$$HEPT = L / N$$

avec  $L$  : longueur de la colonne  
et  $N$  : efficacité de la colonne



**Figure 23 :** Courbe de Van Deemter : variation de la hauteur d'un plateau théorique en fonction de la pression du gaz vecteur.

### II .6.3 Grandeurs thermodynamiques

- **Equation d'Antoine** : la valeur de la pression de vapeur à la température de la colonne est obtenue à partir des données de la littérature en utilisant l'équation d'Antoine :

$$\text{Log } p^{\circ} = A+B/(C+T)$$

avec A , B, C constants d'Antoine P° pression de vapeur saturante et T température de la colonne .

- **Le coefficient d'activité à dilution infini**  $\gamma^{\infty}$  : il est exprimé ainsi

$$\gamma^{\infty} = 273.15.R/ V_g.M_s.p^{\circ}$$

Avec M<sub>s</sub> : masse de la phase stationnaire, R : constante des gaz parfait, p° : pression de vapeur du soluté à la température de la colonne.

- **l'énergie libre, l'entropie et l'enthalpie** : les grandeurs thermodynamiques se déduisent immédiatement du coefficient d'activité  $\gamma^{\infty}$  :

- **l'enthalpie** :  $\Delta H^E = R \ln (\gamma^{\infty})_{T2} - R \ln (\gamma^{\infty})_{T1} / (1 / T_2) - (1 / T_1)$

- **l'énergie libre** :  $\Delta G = R.T.\ln (\gamma^{\infty})$ .

- **L'entropie** :  $\Delta S = \Delta H^E - \Delta G / T^{[50]}$ .

### II.7 La chromatographie en phase gazeuse inverse

Sur le plan technique, c'est une chromatographie tout à fait normale. sur le plan de la finalité : c'est l'étude de la phase stationnaire au moyen d'un soluté test, au lieu de l'analyse de mélange au moyen d'une phase stationnaire. L'emploi d'un soluté sonde volatil dont le temps de rétention étudié en fonction de différents paramètres renseigne sur les états de phase ou sur la texture du matériau qui constitue la phase stationnaire.

La CPGI trouve son application pour l'étude des états de phase des cristaux liquides, des résultats importants dans ce domaine ont été obtenus au moyen de colonnes capillaires et classiques [57].