

**NOTIONS
FONDAMENTALES
DE
CHROMATOGRAPHIE**

Marie-Paule Bassez

<http://chemphys.u-strasbg.fr/mpb>

PLAN

1. Introduction
2. Grandeurs chromatographiques
 - 2.1 Rapport de distribution K du soluté
 - 2.2 Thermodynamique de la chromatographie
 - 2.3 Temps de rétention du soluté
 - 2.4 Facteur de rétention
 - 2.5 Facteur de sélectivité ou de séparation
 - 2.6 Courbe de Gauss
 - 2.7 Résolution des pics
 - 2.8 La théorie des plateaux
 - 2.9 La théorie cinétique
 - 2.10 Exemple d'application

Bibliographie

1. Introduction

La chromatographie est une technique analytique qui permet de séparer les constituants d'un mélange homogène liquide ou gazeux.

On distingue deux types de chromatographie: **sur colonne et planaire.**

- Une **colonne** est remplie avec une **phase stationnaire** ou fixe.
- Une **phase mobile**, ou solvant organique (ou mélange de solvants) ou **éluant**, est introduite au sommet de la colonne et entraîne les constituants (ou solutés) du mélange.
- Le solvant entraîne les molécules de solutés. Il existe une série de **transferts entre les 2 phases**.
- Les constituants du mélange migrent avec des **vitesse**s différentes. Ils sont élués (déplacés) et recueillis séparément, en solution dans la phase mobile, dans un détecteur de concentration.
- Un **chromatogramme** présente des pics en fonction du temps.

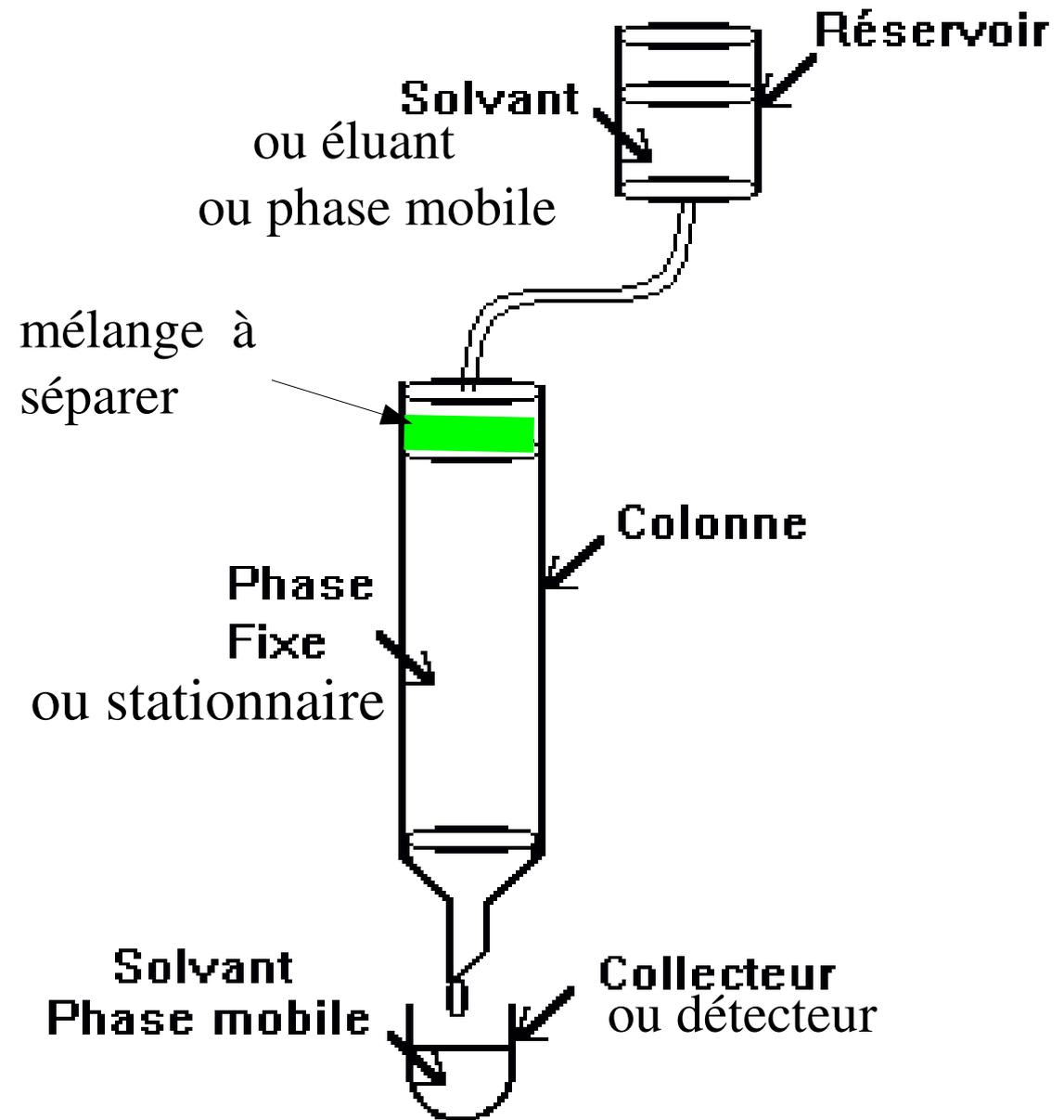


Fig. Chromatographie d'élution sur colonne

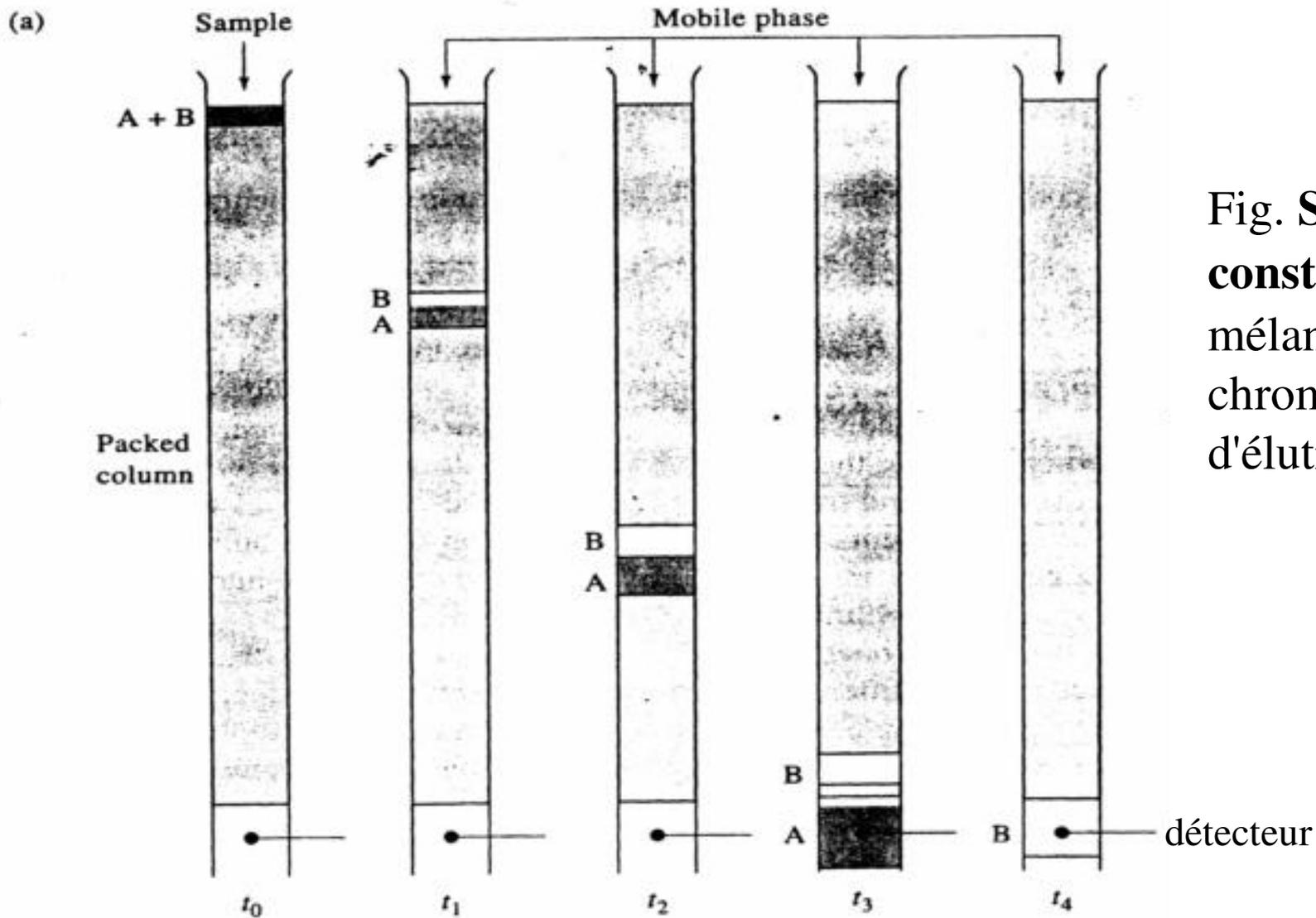
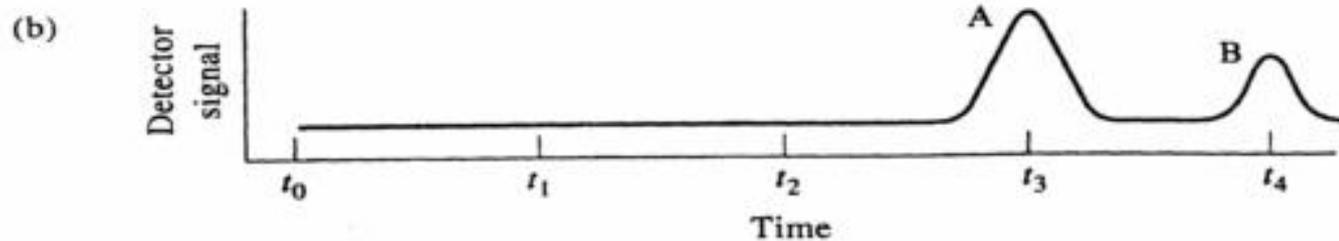


Fig. Séparation des constituants d'un mélange par chromatographie d'éluion sur colonne.



Classement des méthodes de **chromatographie sur colonne**

1. La chromatographie en phase liquide, **CPL**: la phase mobile est un liquide.
2. La chromatographie en phase gaz, **CPG**: la phase mobile est un gaz.
3. La chromatographie en fluide supercritique, **CFS**: P. M. = fluide supercritique.

Chromatographie en phase liquide

phase stationnaire

type de séparation

CLL	Liquide fixé sur un solide	Partage entre liquides non miscibles
CLPgreffée	Groupem ^t org. lié chimiquement à un gel	Partage entre liq. et surface greffée
CLS	Solide ou gel	Adsorption
CLG (Chr. liquide-gel; perméation; size exclusion)	Liq. ds les pores d'un gel de polymère réticulé	Partage/Tamisage(sieving)
C.Ionique	Polymère organique réticulé greffé	Echange d'ions
C.Affinité	Support greffé porteur d'ions (IMAC)	Liaison donneur-accepteur
ElectroC	gel de silice ou polymère organ. greffé	Mobilité ds champ électr.

2. Grandeurs chromatographiques

2.1 Rapport de distribution K du soluté

(rappel: soluté= corps minoritaire dans un solvant; corps simple = entité moléculaire formée d'atomes identiques: ex. O₂; corps composé = entité moléculaire formée d'atomes différents: H₂O; corps pur = corps formé d'entités moléculaires identiques).

Les séparations chromatograph. sont basées sur la répartition des solutés dans deux phases: **soluté A (phase mobile) ↔ soluté A (phase stationnaire)**

La constante d'équilibre de cette réaction est appelée: **rapport de distribution K**. C'est le terme recommandé par l'UICPA (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée) depuis 1993 au lieu de **constante de distribution, coefficient de distribution et coefficient de partage** encore utilisés.

K est égal au rapport des concentrations du soluté A dans les deux phases:

$$K_A = [A]_{\text{stat}} / [A]_{\text{mob}}$$

$[A]_{\text{stat}}$ = concentration en mol.L⁻¹ du soluté dans la phase stationnaire = $[A]_s$

ou $[A]_{\text{org}}$ conc. dans la phase organique greffée sur un support.

$[A]_{\text{mob}}$ = phase mobile = $[A]_M$

2.2 Thermodynamique de la chromatographie

Les relations de la thermodynamique s'appliquent aux équilibres de distribution.

soluté A (phase mobile) \leftrightarrow soluté A (phase stationnaire)

$$K_A = [A]_{\text{stat}} / [A]_{\text{mob}}$$

$$\Delta G^\circ = -RT \cdot \ln K$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$$

de la valeur de K on déduit ΔG° , ΔH° et $T\Delta S^\circ$

Les trois fonctions sont < 0 . La réaction est spontanée.

$\Delta S^\circ < 0$: l'entropie diminue quand le constituant quitte la phase mobile pour se fixer sur la phase stationnaire.

Equation de van't Hoff: $d \ln K / dT = \Delta H^\circ / RT^2$

permet de calculer l'effet de la température sur le temps de rétention.

2.3 Temps de rétention du soluté

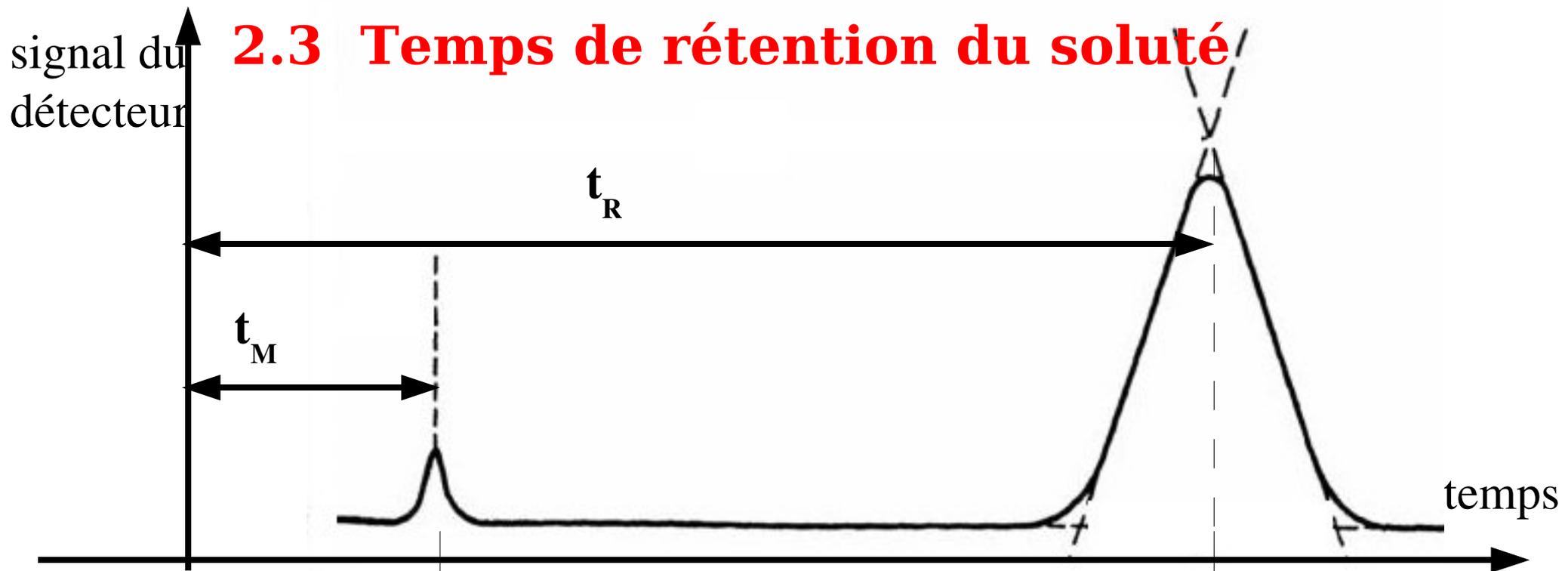


Fig. **Courbe d'éluion** ou **Chromatogramme d'un mélange à 2 constituants**

Le pic de gauche correspond au soluté qui n'est pas retenu par la phase stationnaire et qui atteint le détecteur à la même vitesse que celle de l'éluant. Son temps de rétention t_M est le temps nécessaire pour qu'une molécule de la phase mobile traverse la colonne.

t_M = temps mort = t_0 = temps nécessaire pour que le pic d'un constituant non retenu par la PS apparaisse (retention time of an unretained peak or solvent front).

t_R = temps de rétention d'un constituant retenu par la PS (retained peak)

= temps écoulé entre l'injection et le moment où le constituant sort de la colonne.

- $t'_R = t_R - t_M =$ **temps de rétention réduit ou corrigé** (adjusted retention time)
 $v = L / t_R =$ vitesse moyenne de déplacement du soluté (L=longueur de la colonne)
 $u = L / t_M =$ vitesse moyenne des molécules de la phase mobile ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$).
 $v = u \cdot f$ (fraction de temps passé par le soluté dans la phase mobile)
- $V_M = V_0 =$ **volume de la PM** dans la col. = vol. interstitiel accessible (=vol. mort).

Il est mesuré par introduction d'un soluté non retenu par la PS.

$$V_M = t_M \cdot D$$

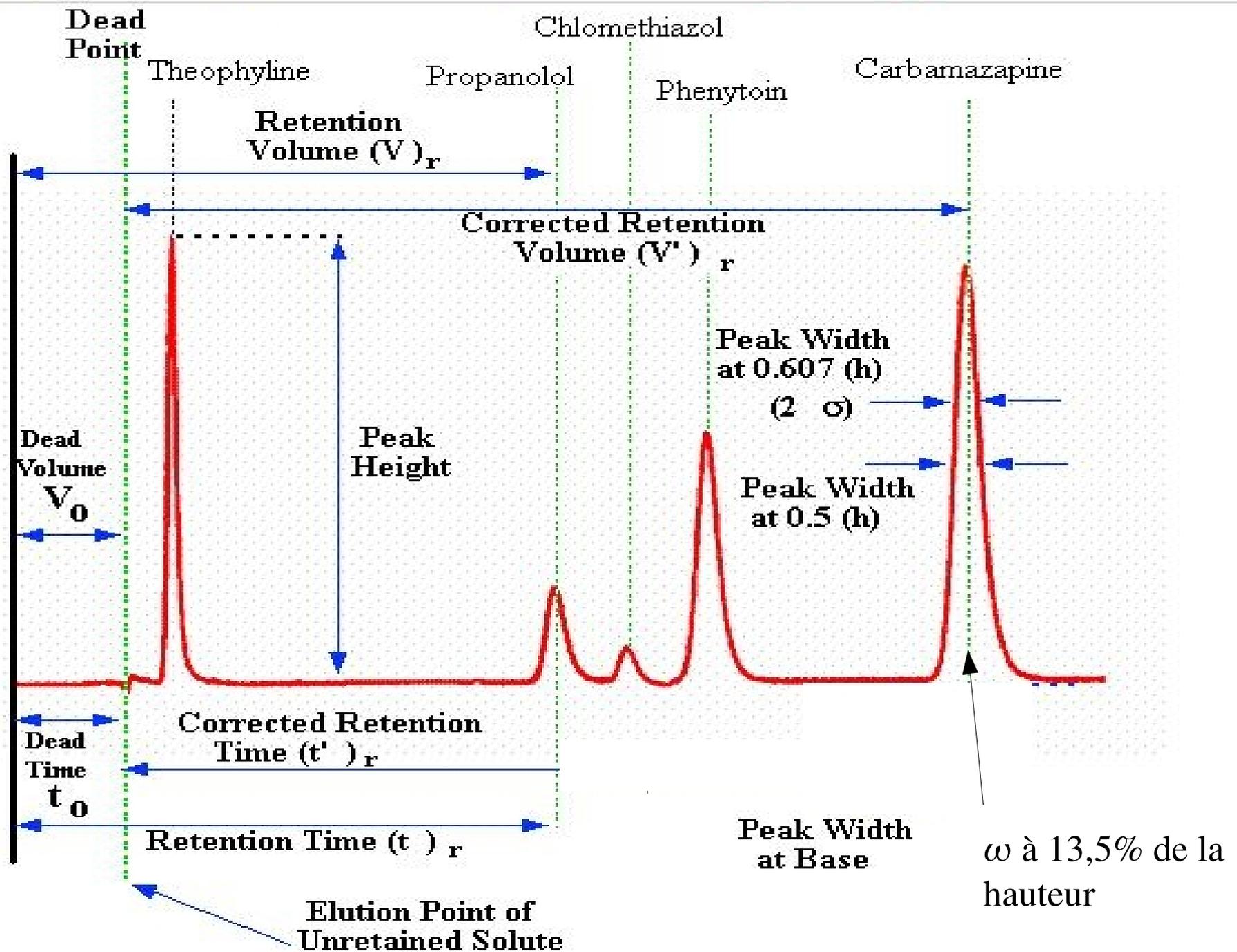
D est le débit de la phase mobile (flow rate)

c'est un volume par unité de temps: $\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ou $\text{mL} \cdot \text{s}^{-1}$

$u = D / S$ (S= section de la colonne) ($\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1} / \text{cm}^2$).

- $V_S =$ **volume de la PS = V (colonne vide) - V_M**
- $V_R =$ **volume d'éluion ou de rétention du soluté** = volume de la PM nécessaire pour entraîner le soluté jusqu'à la sortie de la colonne = V (P.M.) qui s'est écoulé entre le moment de l'injection et celui correspondant au sommet du pic. $V_R = t_R \cdot D$
- $V'_R = V_R - V_0 =$ **volume de rétention réduit du soluté** (adjusted retention volume)

Rem. définition du **débit**: quantité d'une grandeur, ici le volume, par unité de temps.
 débit d'information = quantité d'information transmise par unité de temps: baud=bit. s^{-1}



D'après PRW Scott, Principle and Practice of Chromatography on-line textbook
<http://www.chromatography-online.org/Principles/Nomenclature/rs11.html>

2.4 Facteur de rétention

Un composé de masse m_T se répartit en m_M dans la phase mobile et m_S dans la phase stationnaire. Si les conditions opératoires ne changent pas, m_M et m_S restent constantes au cours de la migration dans la colonne. Leur rapport est indépendant de m_T . Il est appelé facteur de rétention (recommandé par UICPA) plutôt que facteur de capacité. Ce n'est pas une constante.

$$k'_A = m_S / m_M = C_S \cdot V_S / C_M \cdot V_M = K_A \cdot V_S / V_M$$

$$\text{avec le rapport de phase } \beta = V_M / V_S : \quad K_A = \beta \cdot k'_A$$

Si $K = 0$, le soluté migre aussi vite que le solvant; si $K = \infty$ le soluté reste sur la colonne.

On démontre: $k'_A = (t_R - t_M) / t_M = t'_R / t_M$ (donc $K_A = \beta \cdot t'_A / t_M$)

rem. $(2t_M - t_M) / t_M = 1$ donc si $t_R < 2t_M$ alors $k'_A < 1$; élution très rapide, difficile à étudier.

si $k'_A > 20$ ou 30 ; durée d'élution très longue.

En HPLC, la séparation est optimale pour $2 < k' < 10$ afin que le temps de passage des constituants ne soit pas trop long; $k'=5$ =valeur "idéale".

Le facteur de rétention exprime mathématiquement la capacité plus ou moins grande de la colonne à retenir chaque constituant.

2.5 Facteur de sélectivité ou de séparation

$$\alpha = K_B / K_A$$

α = rapport de distribution du constituant B le plus retenu sur le rapport de distribution du constituant A le moins retenu (1er pic).

$$K_B = [B]_S / [B]_M \quad \text{et}$$

α est toujours > 1

$$k'_A = K_A \cdot V_S / V_M \quad k'_B = K_B \cdot V_S / V_M \quad \text{donc: } K_B / K_A = k'_B / k'_A \quad \text{et}$$

$$\alpha = k'_B / k'_A$$

$$\alpha = [(t_R(B) - t_M) / t_M] \cdot [t_M / (t_R(A) - t_M)]$$

$$\alpha = t'_R(B) / t'_R(A)$$

Le facteur de sélectivité exprime la position relative de 2 pics sur le chromatogramme.

pour le soluté A: $K_A = [A]_S / [A]_M$ et $\Delta G_A^\circ = -RT \cdot \ln K_A$

enthalpie libre de dissolution du soluté A dans la phase stationnaire

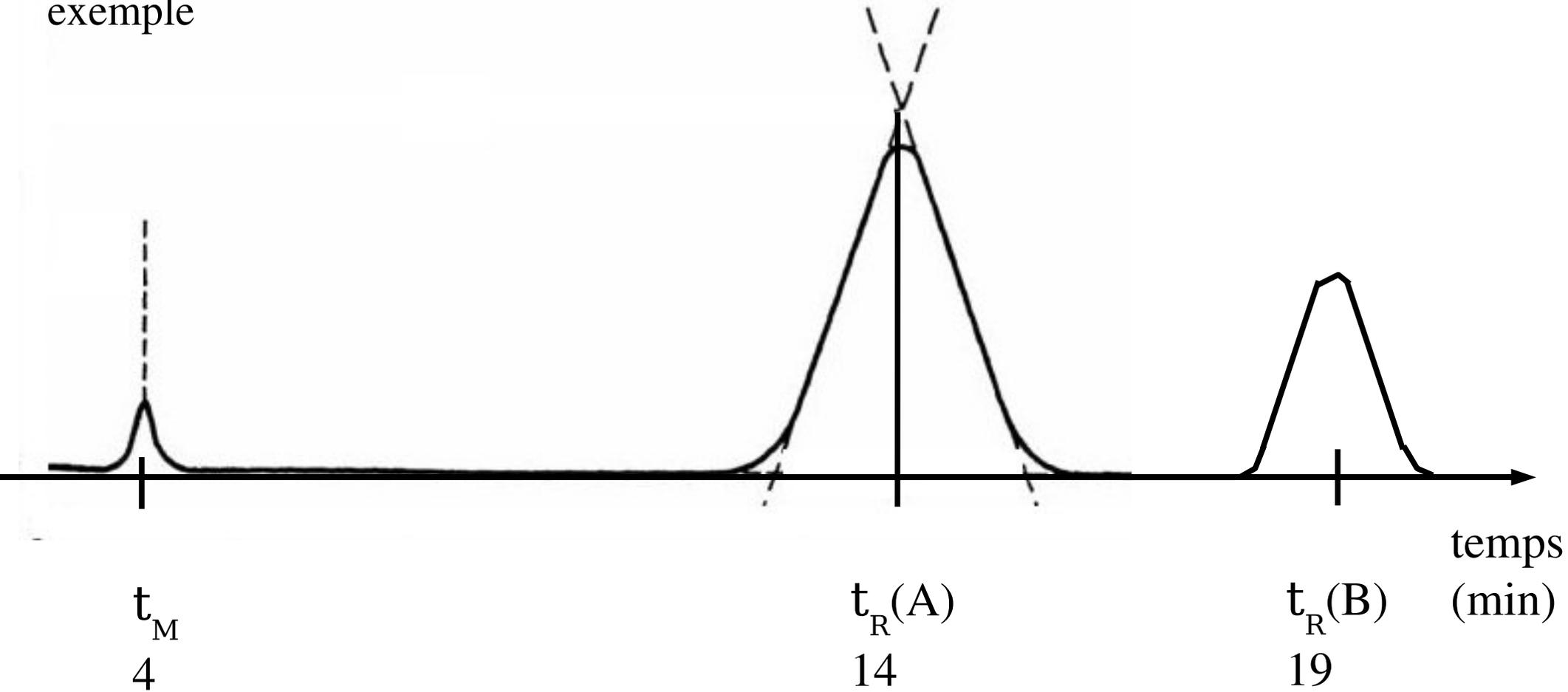
pour le soluté B: $K_B = [B]_S / [B]_M$ et $\Delta G_B^\circ = -RT \cdot \ln K_B$

$$\Delta G_B^\circ - \Delta G_A^\circ = -RT \cdot (\ln K_B - \ln K_A) = -RT \cdot (\ln K_B / K_A) = -RT \cdot \ln \alpha$$

$$\Delta G_B^\circ - \Delta G_A^\circ = -RT \cdot \ln \alpha$$

$$\alpha = K_B / K_A \quad \alpha = \exp(\Delta G_A^\circ - \Delta G_B^\circ) / RT$$

exemple



facteur de rétention: $k'_A = (t_R - t_M) / t_M = t'_R / t_M = 10/4 = 2,5$

$$k'_B = 15/4 = 3,75$$

facteur de sélectivité ou de séparation: $\alpha = t'_R(B) / t'_R(A) = 3,75 / 2,5 = 1,5$

2.6 Courbe de Gauss

Les pics chromatographiques ont une allure gaussienne
L'aire des pics est calculée en assimilant le pic à un triangle.

La largeur d'une courbe de Gauss est définie par

σ, δ, ω :

σ = écart-type = $\frac{1}{2}$ largeur du pic à la hauteur des points d'inflexion, à 60,6% de la hauteur.

$\delta = 2,35 \sigma =$ largeur à mi-hauteur

$\omega = 4\sigma = 1,7\delta =$ largeur mesurée à 13,5% de la hauteur = **largeur à la base du pic**

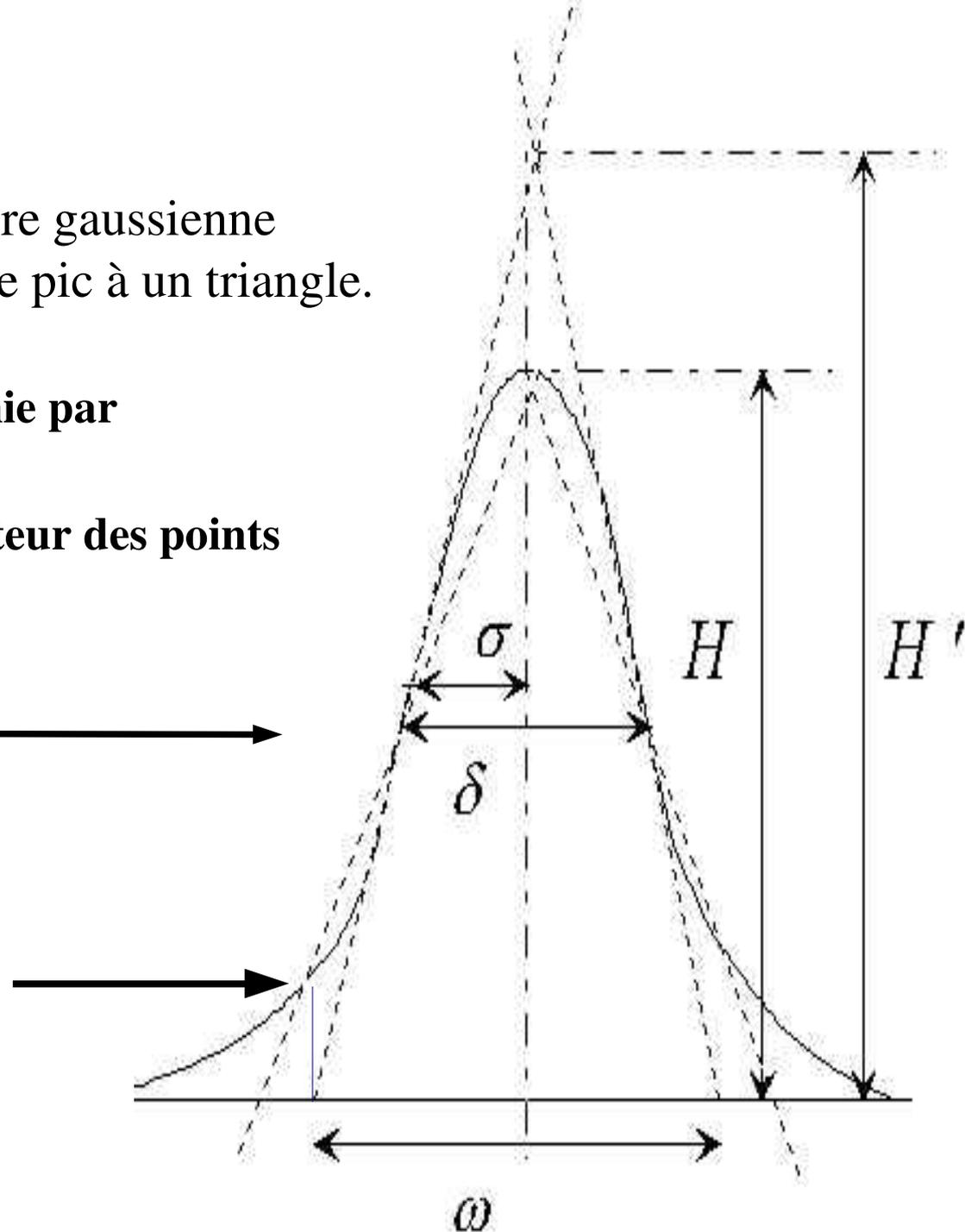


Fig. Courbe de Gauss

du site: http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/physique/CHIM/Jumber/Chromato/Chromato_gen.htm

2.7 Résolution des pics

La résolution est la grandeur qui caractérise l'aptitude d'un système chromatographique (colonne, solutés, solvants) à séparer 2 solutés. Le but de la chromatographie est d'obtenir la meilleure résolution dans le temps le plus court.

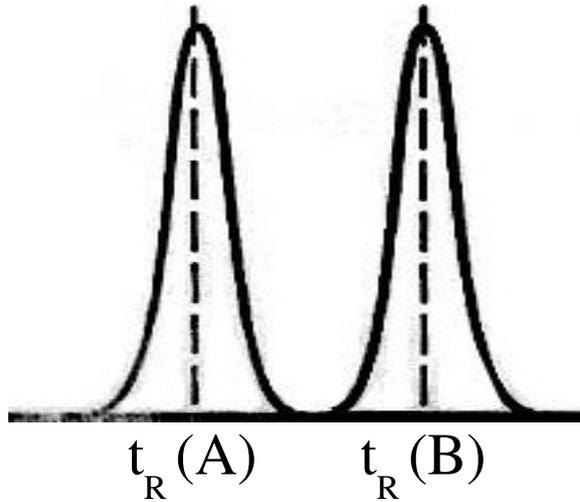


Fig. Séparation de 2 pics adjacents
Les pics sont résolus pour $R = 1,5$

Facteur de résolution: $R = 2 [t_R(B) - t_R(A)] / [\omega(B) + \omega(A)]$

Effet des facteurs de sélectivité et de rétention sur la résolution:

$$R = [(N^{1/2} / 4)] \cdot [(\alpha - 1) / \alpha] \cdot [k'_B / (1 + k'_B)] \quad (1)$$

efficacité sélectivité rétention

Effet de R sur le temps de rétention: $t_R(B) = (16R^2H/u) \cdot [\alpha / (\alpha - 1)]^2 \cdot [(1 + k'_B)^3 / k'_B{}^2]$ (2)

on déduit: $R_1 / R_2 = (N_1 / N_2)^{1/2}$ et $t_{R1}(B) / t_{R2}(B) = R_1^2 / R_2^2$

Une bonne séparation est un compromis entre une résolution suffisante des pics et un temps de séparation raisonnable.

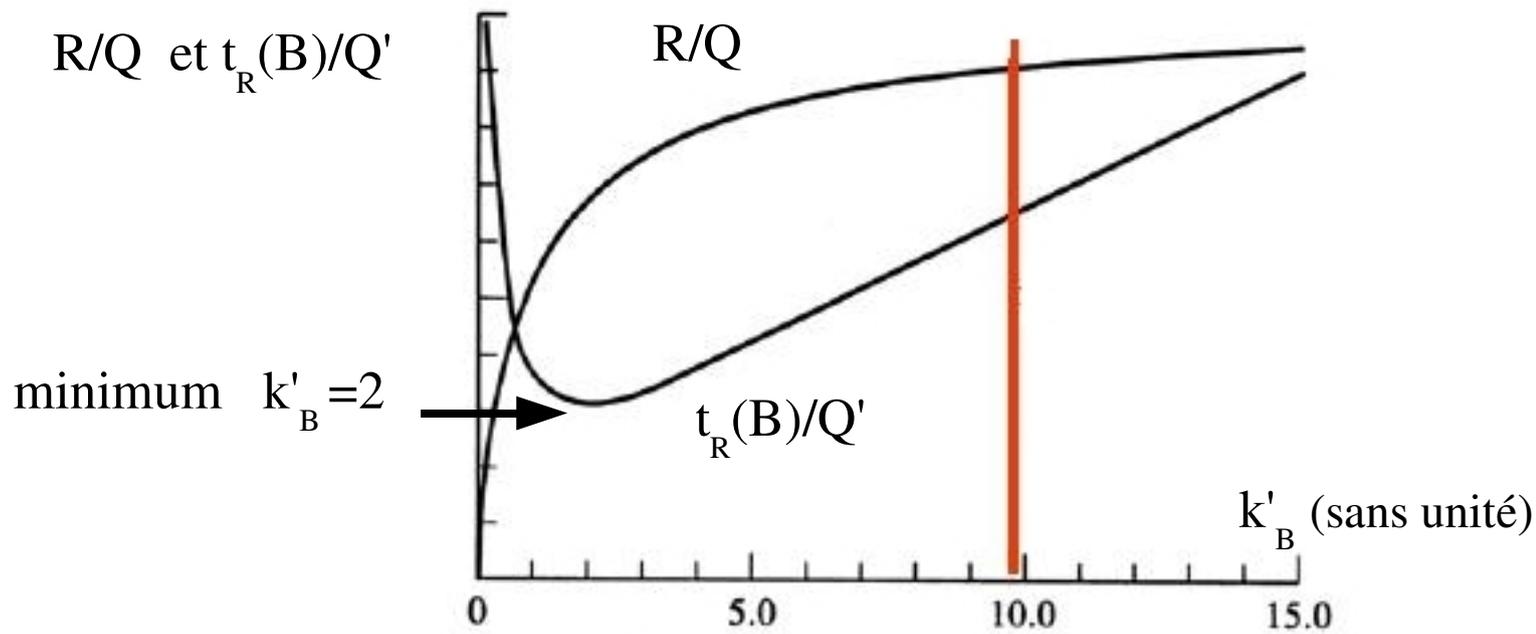


Fig. Effet du facteur de rétention k'_B sur le facteur de résolution R et sur le temps de rétention $t_R(B)$

Les équations 1 et 2 précédentes peuvent être réarrangées:

$$R = Q \cdot k'_B / (1+k'_B) \quad \text{et} \quad t_R(B) = Q' (1+k'_B)^3 / k'_B{}^2$$

Les courbes ont été tracées avec Q et Q' cts. C'est l'influence de k' qui est évaluée indépendamment des autres termes. Il faut remarquer toutefois que Q' varie avec R.

Rem. Les valeurs de $k'_B > 10$ correspondent à une faible augmentation de la résolution pour un temps de séparation plus long. Il vaut mieux les éviter. Les séparations sont optimales en général pour $2 < k'_B < 10$. En CPL, k' peut varier avec une modification de la composition du mélange de solvants (en CPG avec la température).

The effect of mobile phase solvent strength in reversed phase HPLC

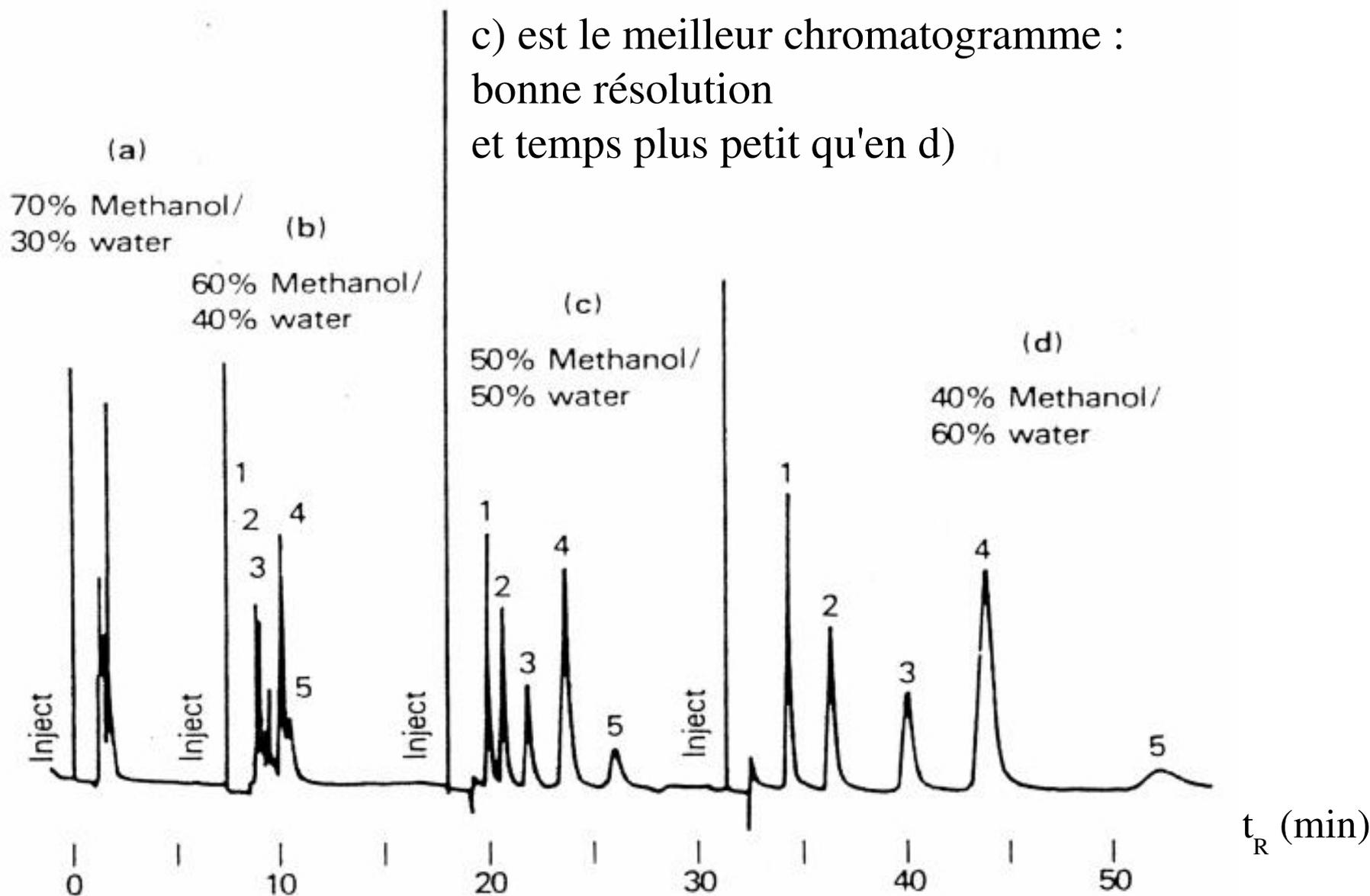
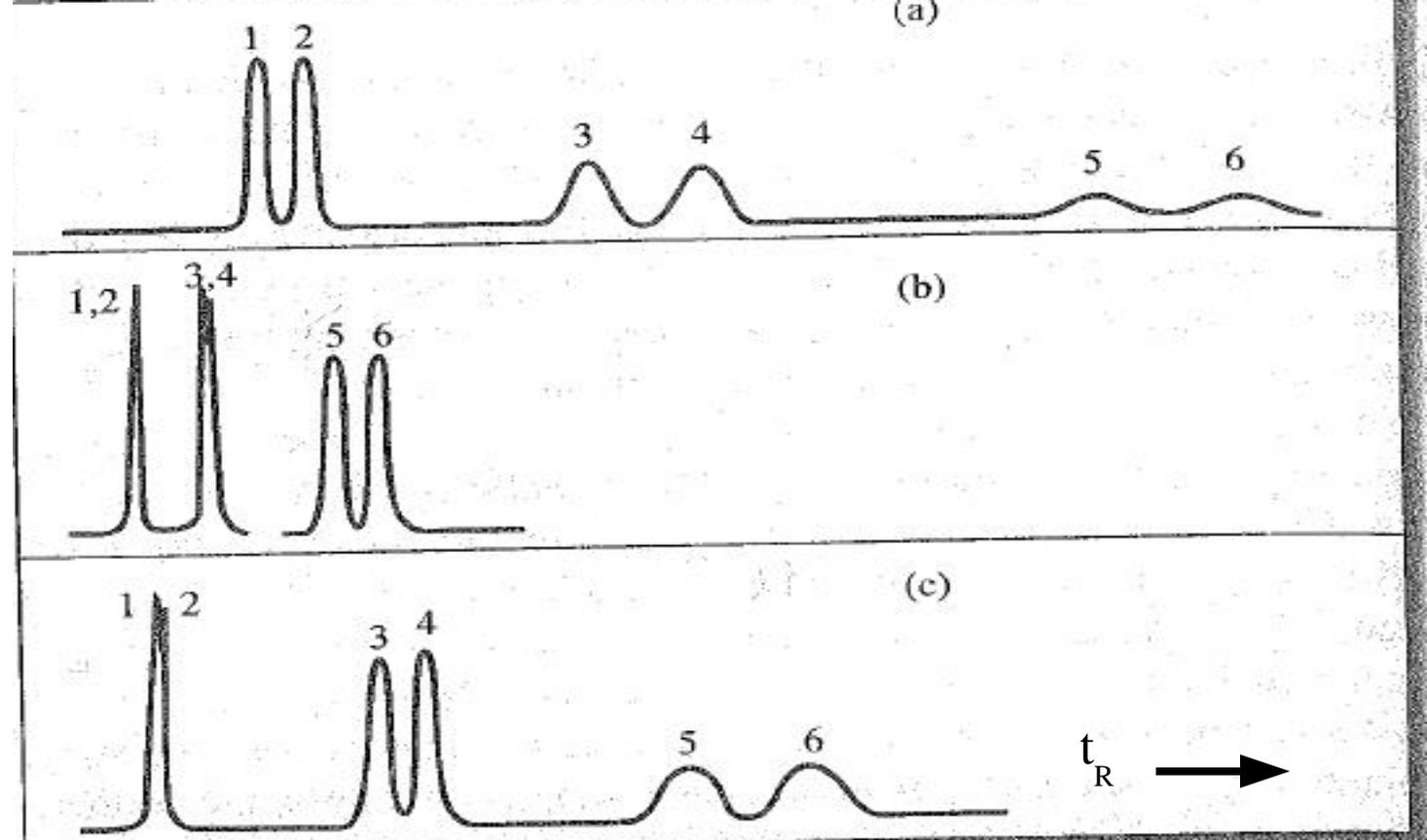


Fig. Effet de la modification de la composition du solvant sur la séparation des solutés

D'après D.A.Skoog et <http://web.uconn.edu/rusling/StuartLC3.pdf>

Fig. **Séparation d'un mélange complexes de 6 constituants**
d'après D.A. Skoog et
www.unige.ch.....



a) Les conditions de l'expérience permettent aux pics 1 et 2 d'avoir une résolution optimale, avec des facteurs de rétention $2 < k' < 10$. Mais 5 et 6 ont des t_R trop grands et sont mal résolus.

b) Avec d'autres conditions, 5 et 6 apparaissent bien mais 1-2 et 3-4 ne sont pas résolus.

c) 3 et 4 sont résolus mais pas 1-2 ni 5-6.

Pour bien séparer les pics, il est parfois possible de faire varier les conditions expérimentales au cours de l'élution: au début de l'élution les conditions sont celles qui conduisent au chromatogramme a, après apparition des pics 1 et 2, les conditions sont changées pour devenir celles optimales pour 3 et 4 (c) puis de nouveau changées pour faire apparaître 5 et 6 (b).

Une bonne séparation des constituants d'un mélange est ainsi obtenue en un temps minimum.

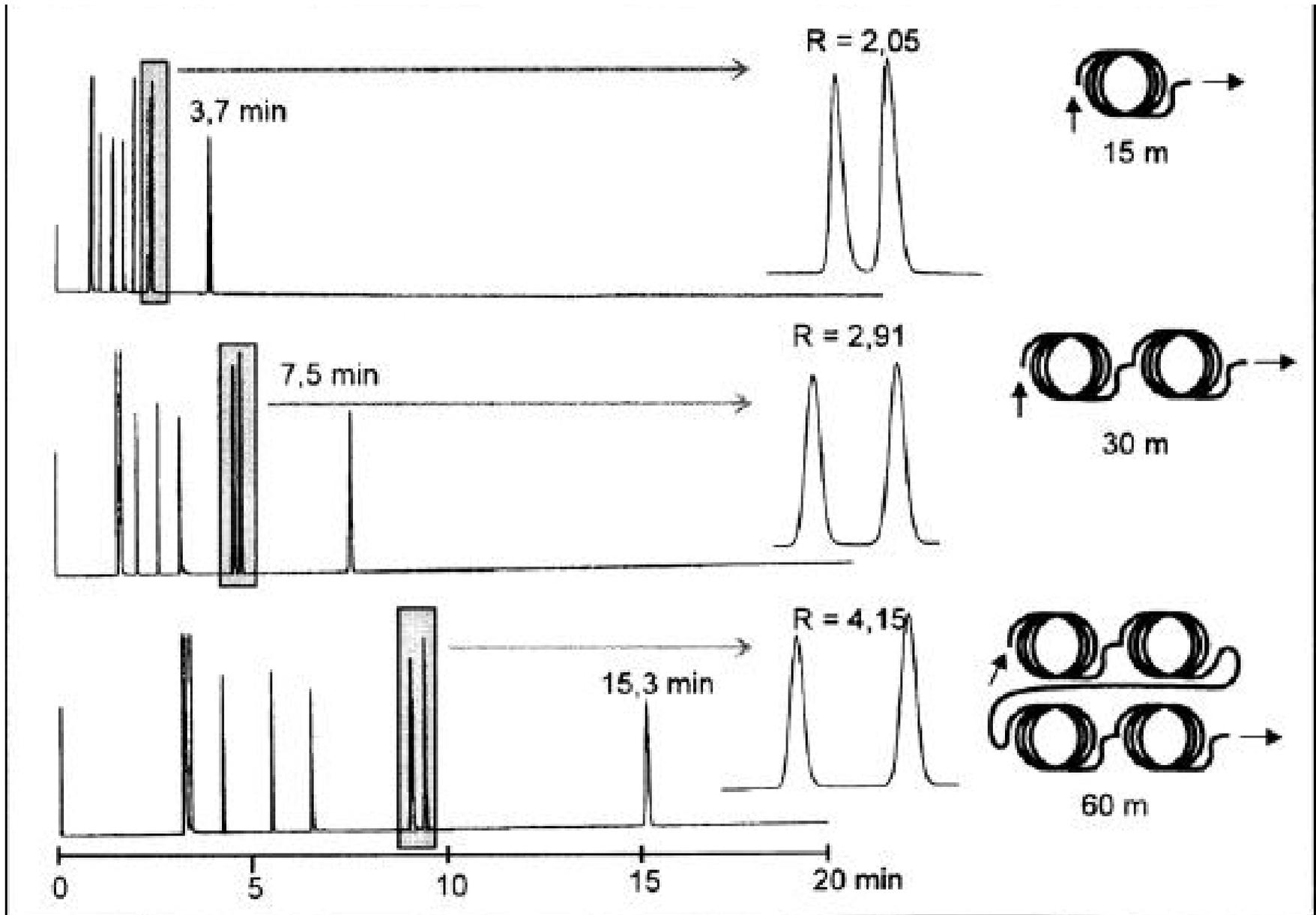


Fig. Effet de la longueur d'une colonne CPG sur la résolution

Modification de la longueur de la colonne capillaire: **en doublant L, R est multiplié par $\sqrt{2}$**

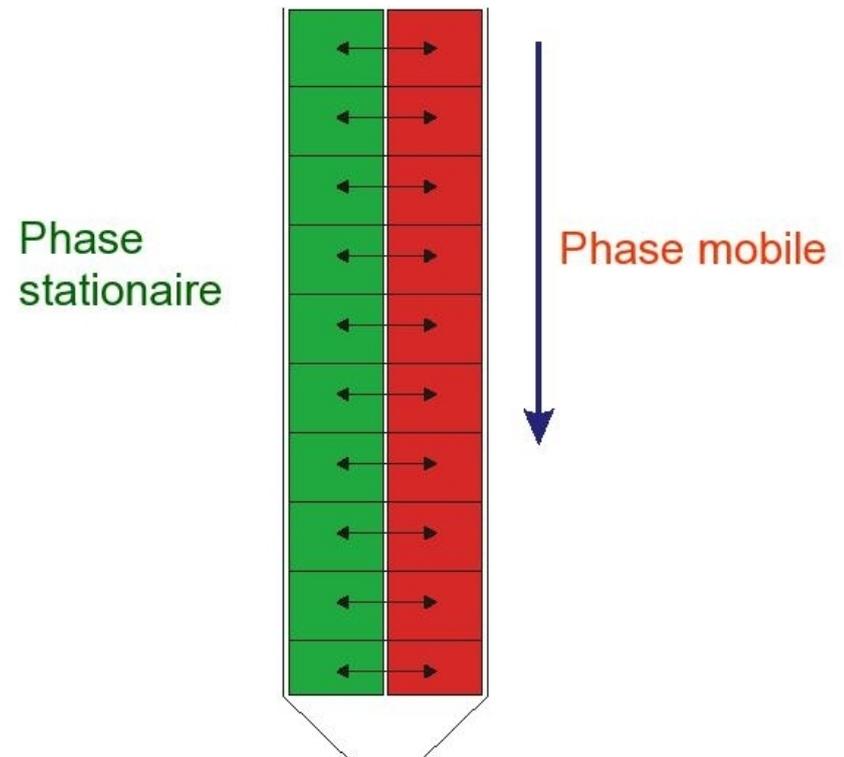
2.8 La théorie des plateaux

Elle est utilisée pour expliquer la forme des pics.

En 1941, Martin et Synge ont considéré la colonne de chromatographie comme une colonne de distillation, constituée de « plateaux théoriques ».

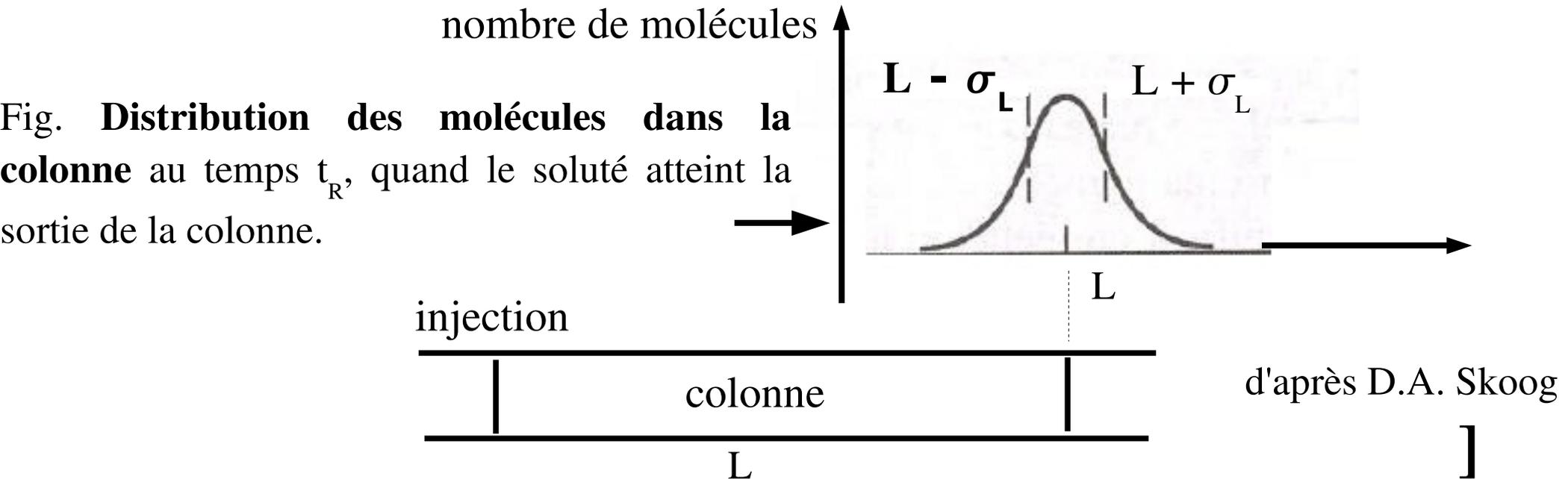
Au niveau de chaque plateau, l'équilibre est réalisé entre les deux phases. Il y a échange de matière horizontalement, jusqu'à ce que $K_A = [A]_{\text{stat}} / [A]_{\text{mob}}$ soit atteint. Il n'y a pas d'échange vertical.

En fait cet état d'équilibre ne peut jamais être atteint en présence d'une phase mobile en mouvement continu. La théorie des plateaux est de plus en plus remplacée par la théorie cinétique.



[Description qualitative des pics chromatographiques

Les pics d'un chromatogramme ont une allure de courbe de Gauss représentant une distribution symétrique de la grandeur étudiée (nbre de molécules) de part et d'autre d'une valeur moyenne. **Les molécules subissent de très nombreux transferts entre la phase mobile et la phase stationnaire.** Elles ont des comportements individuels aléatoires, certaines pouvant rester dans la phase stationnaire plus longtemps que la durée moyenne. **La largeur de la bande augmente en longueur au cours du déplacement dans la colonne et cela se répercute dans la largeur du pic du chromatogramme en fonction du temps.**



Hauteur équivalente à un plateau théorique, définie par: $H \text{ (cm)} = \frac{\sigma_L^2}{L} = \text{HEPT}$
Nombre de plateaux théoriques = L / H donc $N = L^2 / \sigma_L^2$

t_R et σ sont dans le même rapport que L et σ_L :

$$N = t_R^2 / \sigma^2 = t_R^2 / (\omega/4)^2 = \mathbf{16 t_R^2 / \omega^2 = 5,54 \cdot t_R^2 / \delta^2}$$

Nombre de plateaux théoriques effectifs, ou efficacité réelle: $N_{\text{eff}} = t_R'^2 / \sigma^2$

Ce nombre correspond au nombre d'équilibres successifs qu'a rencontré un soluté.

+ N grand, + la **colonne est efficace** et + le pic est fin.

N est une grandeur caractéristique d'un système chromatographique. Il peut être \uparrow en réduisant le débit de la PM, mais t_R est aussi \uparrow .

Hauteur de plateau effectif: $H_{\text{eff}} = L / N_{\text{eff}}$

Hauteur de plateau réduite: $h = H/d_p = L / (N \cdot d_p)$

d_p = diamètre moyen des particules sphériques des colonnes;

des colonnes ayant même L/d_p ont des efficacités ou performances semblables.

Le nombre de plateaux théoriques exprime l'efficacité de la colonne.

tableau: HEPT pour chromato CPG et CPL (master chimie-Paris Sud)

2.9 La théorie cinétique

Equation de van Deemter (1956): $H = A + B/u + C.u$

C'est une description mathématique pour comprendre la forme des pics.

Les 3 termes A, B et C contribuent à l'élargissement des pics.

• $u = L / t_M =$ **vitesse** moy. de déplacement ou d'écoulement des mol. **de la P.M.** (mm.s^{-1})

• **A** : lié à l'anisotropie d'écoulement; dépend de la taille et de la répartition des particules de la PS. La largeur de la bande dépend des chemins que peuvent suivre les molécules durant l'élution. Les molécules de soluté arrivent en sortie de colonne à des instants différents. C'est le phénomène de **diffusion turbulente**.

Le chemin parcouru par la molécule 2 est supérieur à celui de la molécule 1. 1 arrive en B avant 2. Le trajet dépend du diamètre des particules qui remplissent la colonne.

A = facteur de diffusion d'Eddy = $2\lambda.d_p$ (μm)

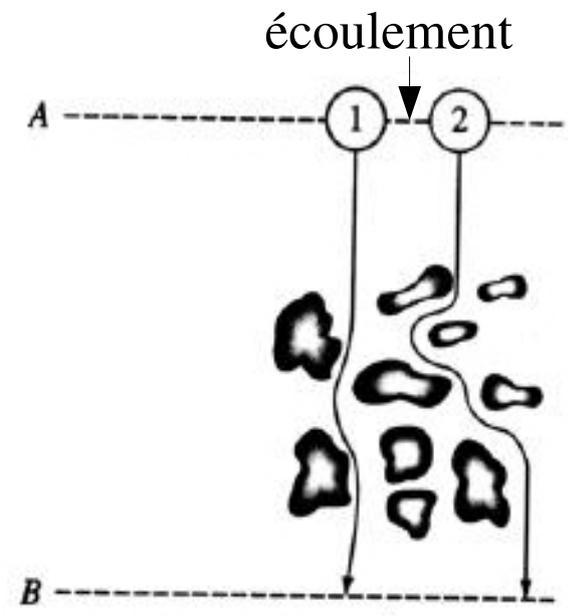
ou terme de diffusion turbulente

λ = cte concernant la régularité du remplissage (voisin de 1)

d_p = diamètre des particules. **A gd si d_p gd.**

Plus les particules sont petites, plus le remplissage est homogène, plus A petit et plus l'efficacité de la colonne augmente.

La contribution de A est nulle pour une colonne capillaire de chromatographie en phase gaz.



d'après D.A. Skoog et

- **B/u** : terme de **diffusion moléculaire longitudinale** **$B/u = 2\gamma \cdot D_M$**

inversement proportionnel à la vitesse d'écoulement de la phase mobile. B/u petit si u gd.

L'efficacité d'une colonne augmente avec la vitesse de la P.M.

Les molécules de soluté diffusent des régions les plus concentrées vers les plus diluées. Elles se dispersent dans toutes les directions, d'autant plus que le débit est faible.

En CLHP, une forte pression est exercée sur la phase mobile, ce qui permet d'obtenir des débits convenables avec des micro-particules de 2 à 5 μm de diamètre. De bonnes séparations sont ainsi obtenues en CLHP.

(diffusion= quand une grandeur change de direction; ex. transfert de matière dû à l'agitation moléculaire.)

B = terme lié à la diffusion moléculaire longitudinale (en $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

γ = cte sans dimension liée à l'espace entre les particules de remplissage.

$\gamma = 0,6$ pour les colonnes remplies et $1,0$ pour les colonnes capillaires.

D_M = coefficient de diffusion du soluté dans la phase mobile (en $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Il est 5 fois + gd en CPG qu'en CPL. La contribution de la diffusion longitudinale est considérée comme négligeable en CLHP.

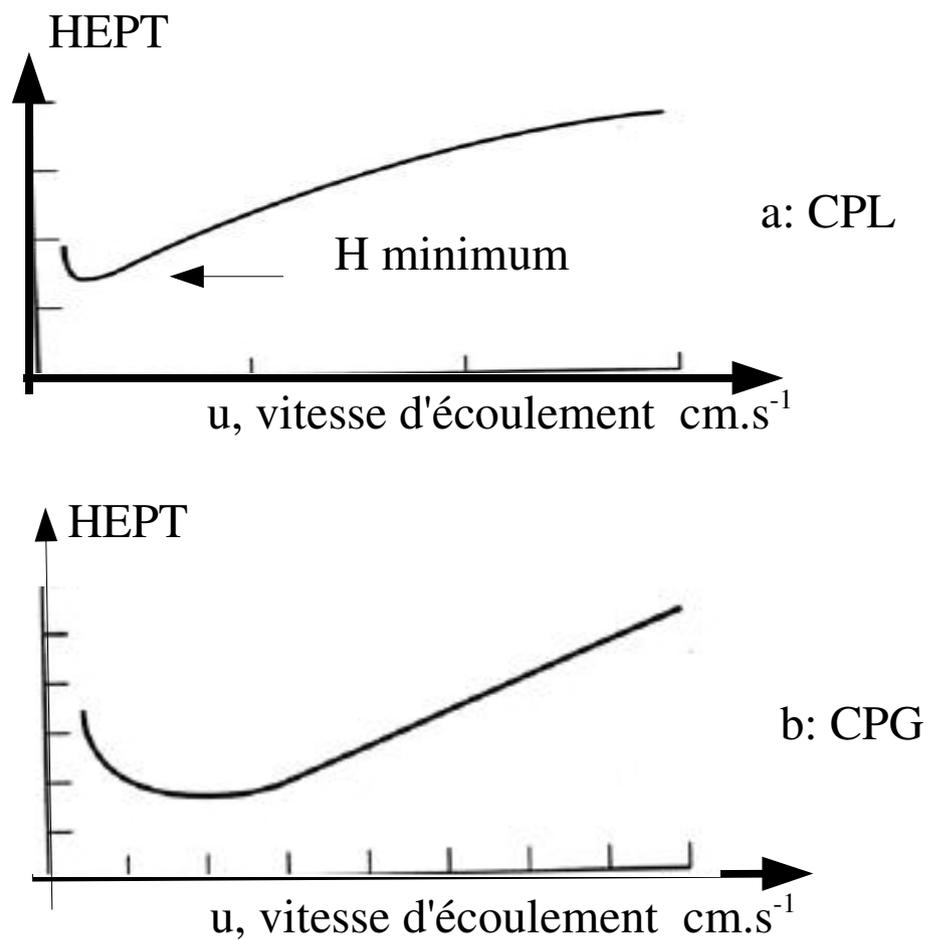


Fig. **Courbes de van Deemter**

Effet de la vitesse d'écoulement de la PM sur HEPT

a) pour la CPL et b) pour la CPG.

La pente est < 0 pour u faible. L'effet est plus important quand la PM est un gaz (car les **coefficients de diffusion dans les gaz sont $>$ ceux en phase liq.**).

Longitudinal Diffusion

Solutes when contained in a fluid naturally diffuse and spread driven by their concentration gradient. Thus, in a chromatographic column a discrete solute band will diffuse in the gas or liquid mobile phase. It also follows, that because the diffusion process is random in nature, a concentration curve that is Gaussian in form will be produced. This diffusion effect occurs in the mobile phase of both GC and LC columns. The diffusion process is depicted in figure 21.

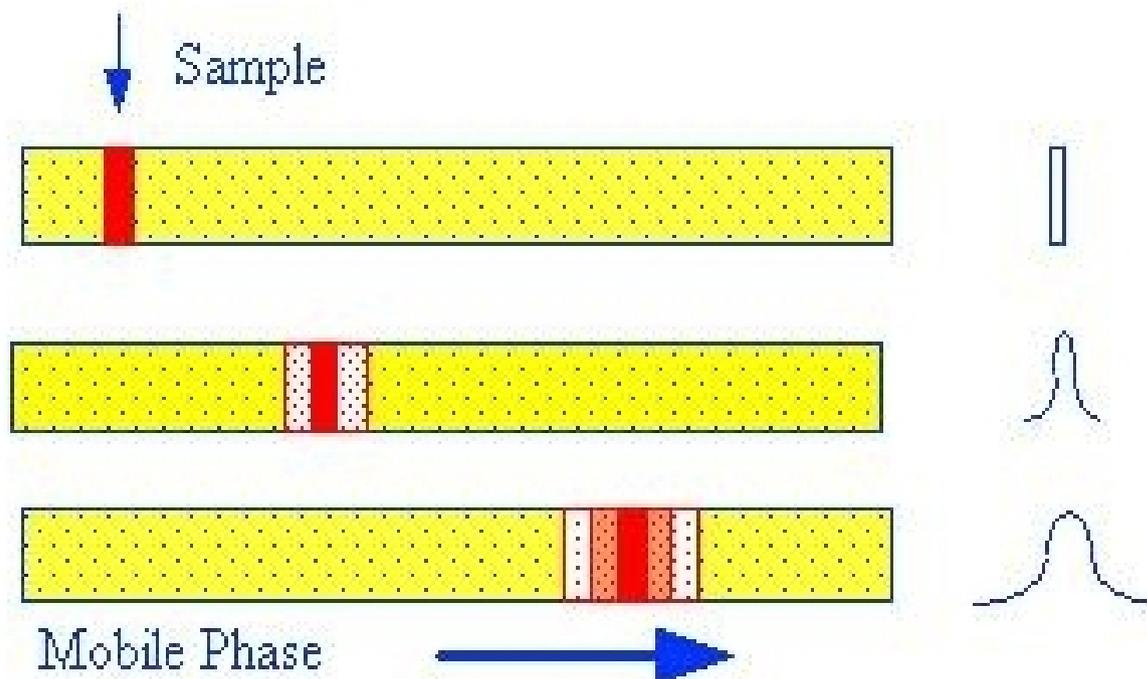


Figure 21 Peak Dispersion by Longitudinal Diffusion

- $C \cdot u = (C_s + C_M) \cdot u$

= terme de **résistance au transfert de masse** du soluté entre les deux phases.

Le transfert de molécules entre la PM et la PS n'est pas instantané. Par ex. les molécules éloignées de la PS peuvent être entraînées avant d'être transférées sur la PS.

Le terme C devient important quand la vitesse d'écoulement ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$) de la phase mobile ou son débit ($\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) est trop rapide. Cette résistance empêche la formation de l'équilibre: soluté dans PM-soluté dans PS.

Plus **u petit**, plus les molécules pénètrent dans la PS et **plus la colonne est efficace**.

- C_s , terme de transfert de masse dans la phase stationnaire; est proportionnel à d_f^2 / D_s

d_f = épaisseur moyenne de la couche de PS déposée sur les particules du support solide.

D_s = coefficient de diffusion du soluté dans la phase stationnaire

- C_M , terme de transfert de masse dans la phase mobile; est proportionnel à d_p^2 / D_M

d_p = diamètre des particules de remplissage.

D_M = coefficient de diffusion du soluté dans la phase mobile.

Les **colonnes efficaces** sont **régulièrement remplies, avec un d_p le plus faible possible**.

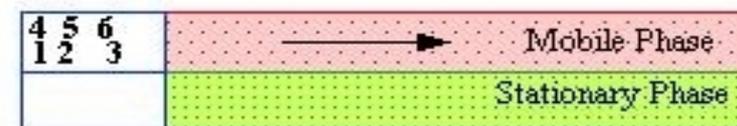
Il est aussi préférable d'**utiliser un solvant de faible viscosité pour minimiser C**.

L'**élargissement longitudinal** du pic provient du déplacement des molécules dans des directions parallèles à l'écoulement

L'**élargissement dû au transfert de masse** provient de la diffusion dans une direction perpendiculaire à l'écoulement.

[The Resistance to Mass Transfer in the Mobile Phase

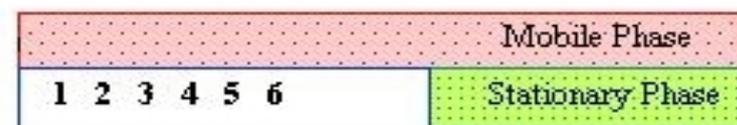
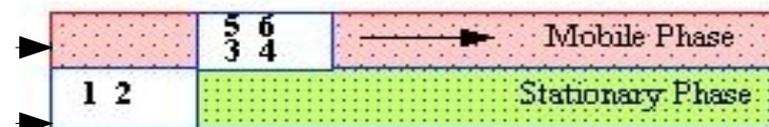
During passage through a chromatographic column, the solute molecules are constantly and reversibly transferring from the mobile phase to the stationary phase. This transfer is not instantaneous; time is required for the molecules to pass (by diffusion) through the mobile phase to reach the interface and enter the stationary phase. Those molecules close to the stationary phase enter it immediately, whereas those molecules some distance away will find their way to it some time later. Since the mobile phase is continually moving, during this time interval, those molecules that remain in the mobile phase will be swept along the column and dispersed away from those molecules that were close and entered the stationary phase immediately. This process is depicted in figure 22. The diagram shows 6 solute molecules in the mobile phase and the pair closest to the surface, (1 and 2), enter the stationary phase immediately. While molecules 3 and 4 diffuse through the mobile phase to the interface, the mobile phase moves on. As a consequence, when molecules 3 and 4 reach the interface, they enter the stationary phase some distance ahead of the first two. Finally, while molecules 5 and 6 diffuse to the interface, the mobile phase has moved even further down the column until molecules 5 and 6 enter the stationary phase ahead of molecules 3 and 4. Thus, the 6 molecules, originally relatively close together, are now spread out in the stationary phase. This explanation, although over-simplified, gives a correct description of the mechanism of mass transfer dispersion.



Et inversement pour le transfert PS vers PM.

RPW Scott <http://www.chromatography-online.org/Principles/Peak-Dispersion/Stationary-Phase/rs46.html>

P.M.
P. S.



]

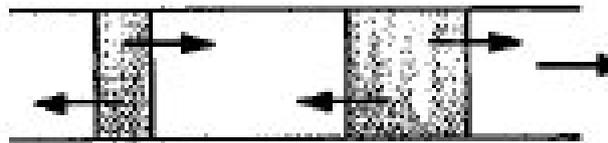
L'équation de Van Deemter



- A : **diffusion turbulente**, due aux irrégularités d'écoulement de la PM à travers la PS

$$A = 2 \lambda d_p$$

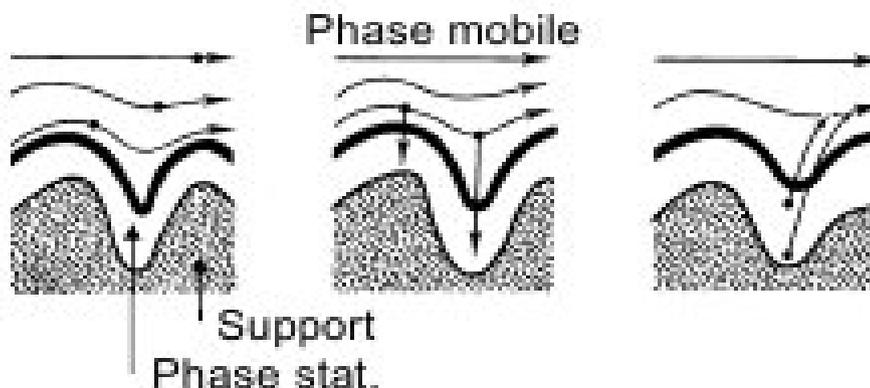
λ : paramètre d'irrégularité du remplissage et d_p : diamètre des particules



- B : **diffusion longitudinale** des molécules de soluté dans une direction parallèle à l'axe de la colonne

$$B = 2 \gamma D_M$$

γ : facteur de tortuosité et D_M : coefficient de diffusion du soluté dans PM



- C : **résistance au transfert de masse** des molécules de soluté entre la PS (C_S) et la PM (C_M)

$$C = C_S + C_M$$

La **courbe de van Deemter** est une hyperbole.
Il existe un **minimum** de $H=L/N$. Il correspond à une **efficacité maximale de la colonne**, pour une **vitesse u optimale** (ou un **débit optimal**) et pour un nbre de plateaux théoriques N maximal.

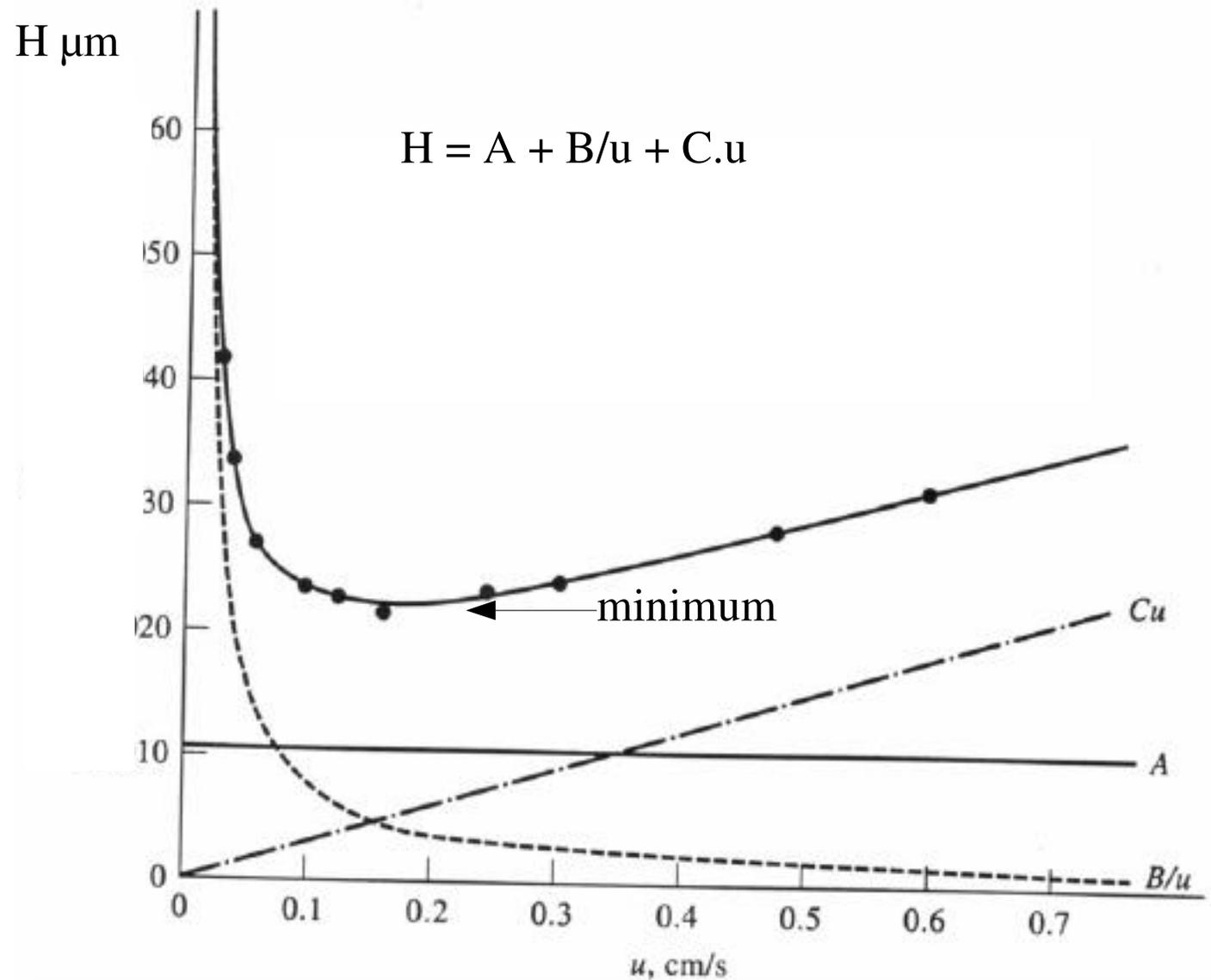


Fig. **Courbe de van Deemter** d'une colonne de chromatographie. Les points sont les données expérimentales. Les courbes inférieures représentent les termes A , B/u et Cu .

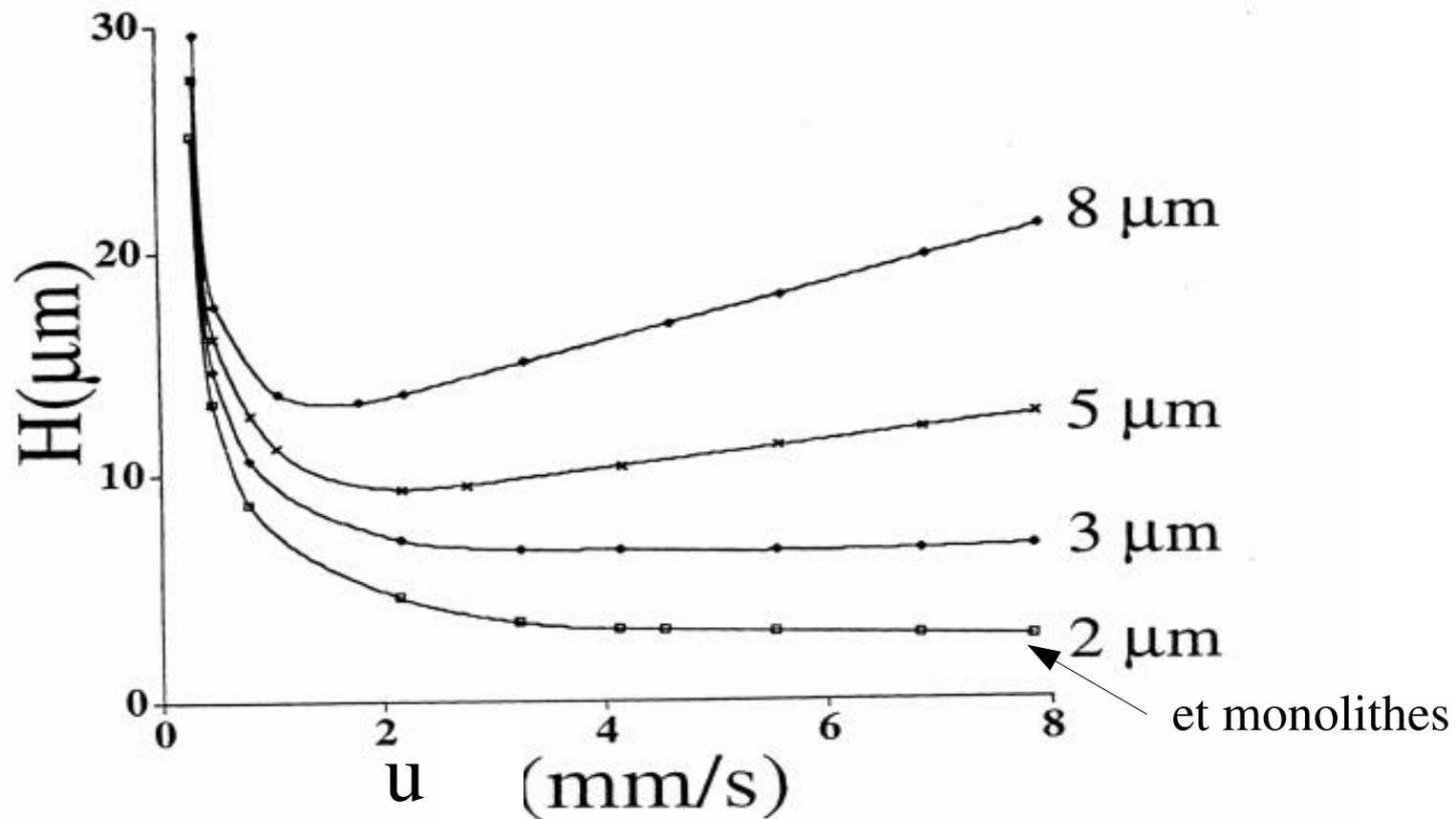


Fig. Hauteur équivalente à un plateau théorique en fonction de la vitesse de la phase mobile pour des colonnes avec différents diamètres de particules

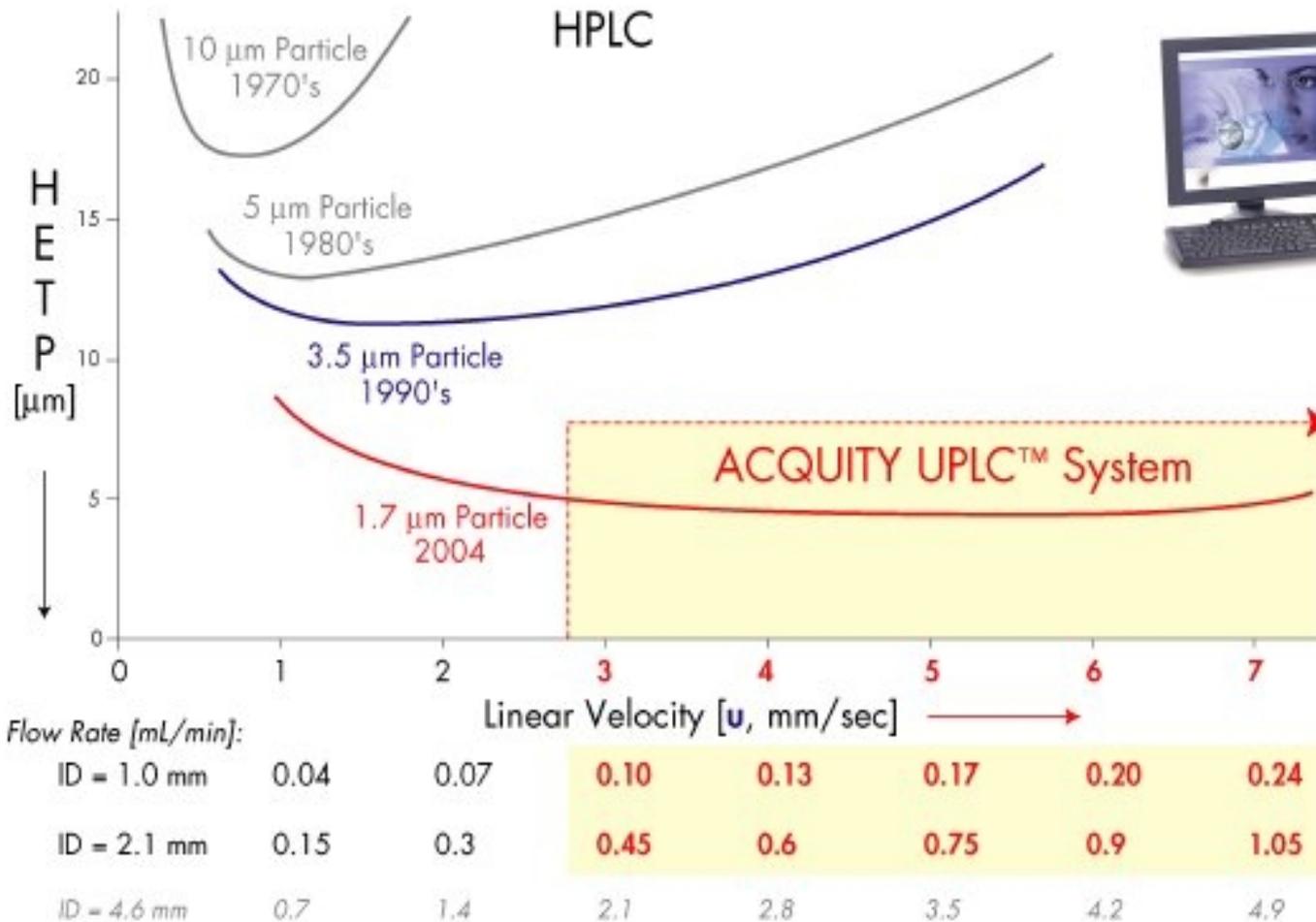
Pour des particules de diamètre inférieur à 5 μm , H garde sa valeur minimale quand $u \uparrow$.

Des colonnes à particules de petit diamètre ou remplies d'un monolithe, peuvent être utilisées avec des grandes vitesses de phase mobile sans perte d'efficacité.

©2005 Waters Corporation

- Résolution
- Rapidité
- Sensibilité
- Innovation

terme de la société Waters

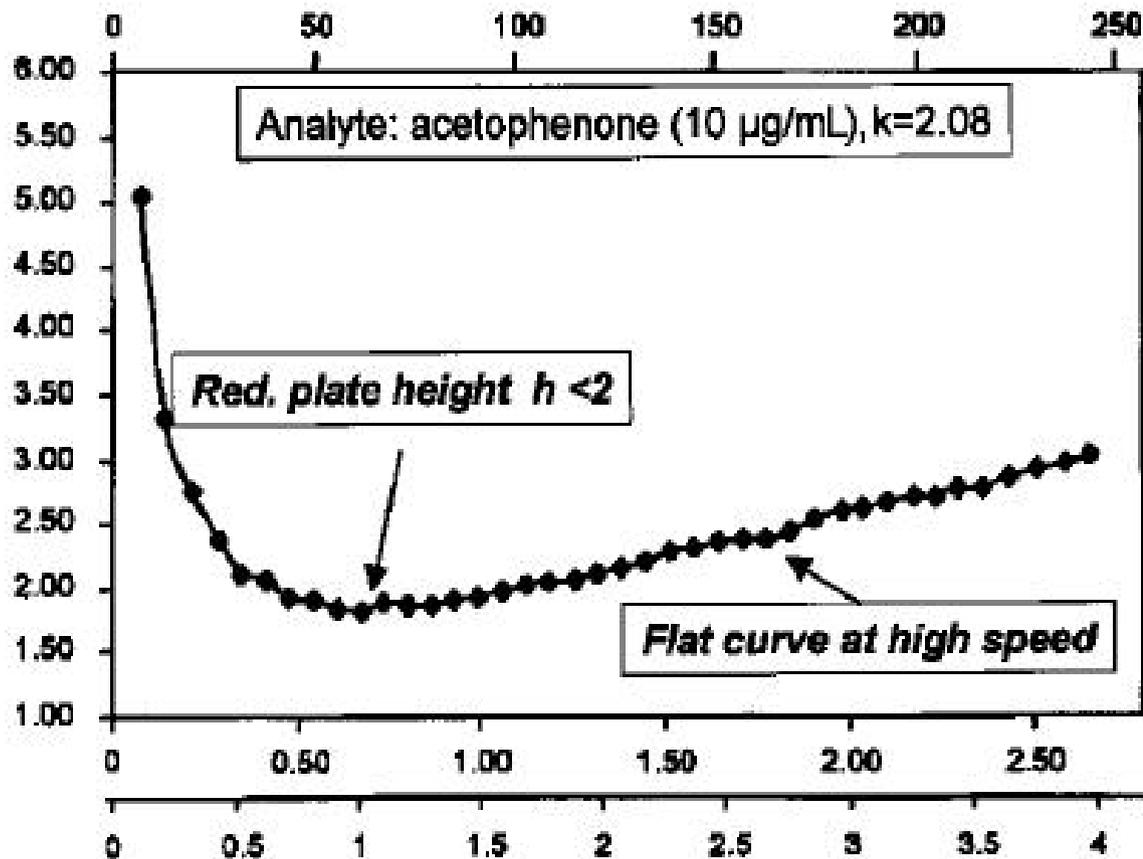


Il existe d'autres équations: de Golay: $H = B/u + C.u$

ou de Knox: $h = A/u^{1/3} + B/u + C.u$

A peu important en CPL est nul pour les colonnes capillaires WCOT en CPG (cf equ. Golay).

$$h = H/d_p$$



Pressure drop (bar)

OmniSpher 5 C18,
150 x 4.5 mm i.d.
ACN/H₂O=50/50(vol/vol)
Temp: 35 °C
Injection: 5 μL

$$d_p = 5 \mu\text{m}$$

vitesse de la pm (mm.s⁻¹)
débit de la pm (mL.mn⁻¹)

Figure *H-u curve of OmniSpher 5 C18 column. (Courtesy of Prof. T. Welsch, University of Ulm, Germany.)*

Ref: <http://www.americanlaboratory.com/articles/al/a0010ver.pdf>.

"Next-generation universal columns for Reversed-Phase Liquid Chromatography. RPLC". Octobre 2000

Hydrocarbures aromatiques polycycliques

Séparation en gradient des HAP polluants prioritaires

Technique	: HPLC
Colonne	: ChromSpher 3 PAH 100 x 4,6 mm ChromSep acier inoxydable Référence CP29224
Phase mobile	: acétonitrile/eau - 50/50 → 100/0
Température	: 35°C
Débit	: 2 ml/min
Détecteur	: Détecteur UV, $\lambda = 255 \text{ nm}$
Echantillon	: NIST 16473 standard
Volume d'échantillon	: 4 μl
Gamme de concentration	: (4-20 ng/ml)

Identification des pics:

1. naphthalène
2. acénaphthylène
3. acénaphthène
4. fluorène
5. phénanthrène
6. anthracène
7. fluoranthène
8. pyrène
9. benz[a]anthracène
10. chrysène
11. benzo[b]fluoranthène
12. benzo[k]fluoranthène
13. benzo[a]pyrène
14. dibenz[a,h]anthracène
15. benzo[ghi]perylène
16. indéno[1,2,3,cd]pyrène

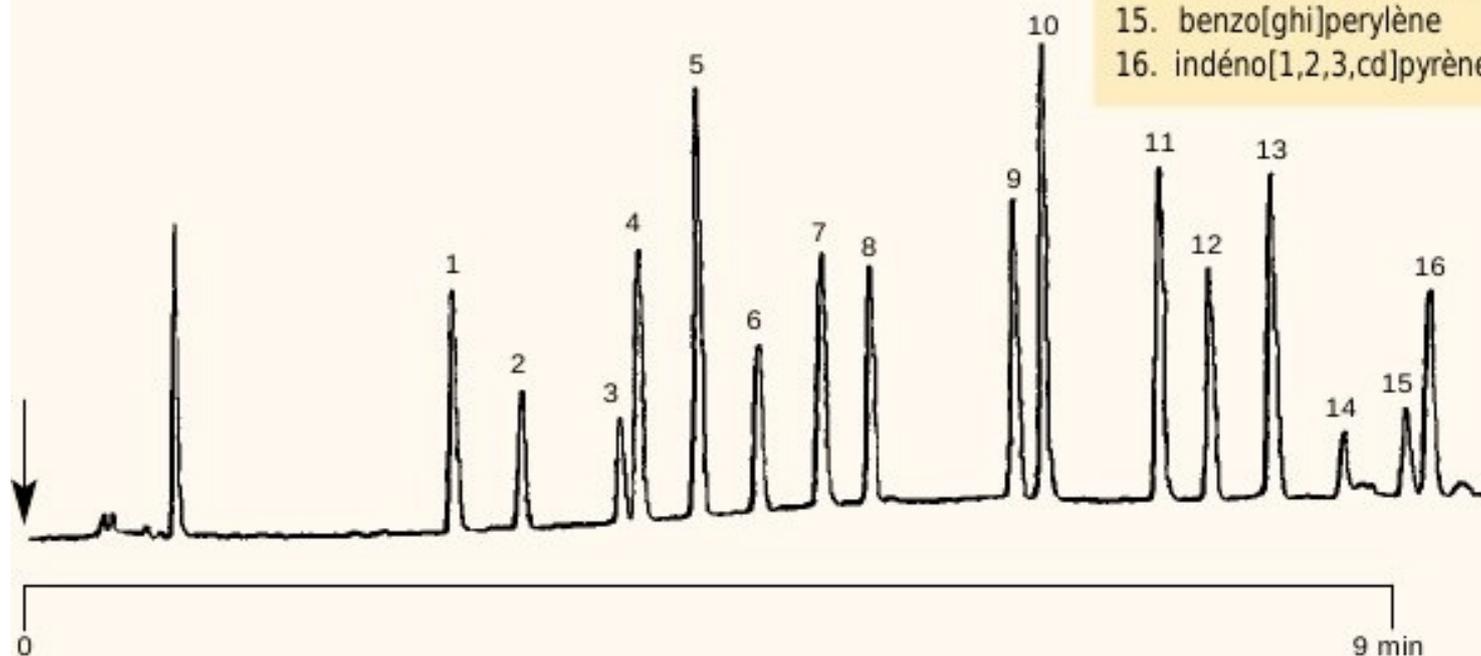


Fig. Exemple de chromatogramme avec description des conditions opératoires
Varian

2.10 Exemple d'application

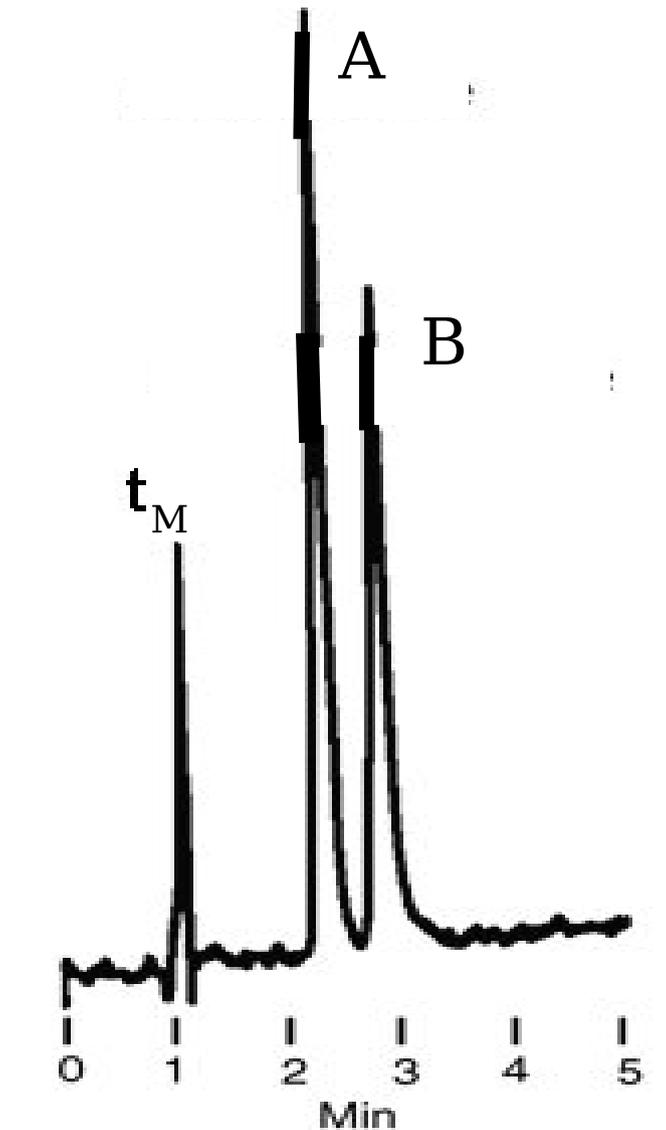
Technique : HPLC
Colonne : Phase Stationnaire: C₁₈,
15 cm x 4,6 mm, d_p = 5 μm
Phase Mobile : acétonitrile, CH₃CN
Température : 30 °C

$$t_M = 1,07 \text{ min}$$

$$t_R(A) = 2,40 \text{ min}; \delta_A = 5 \text{ s (largeur du pic à mi-hauteur)}$$

$$t_R(B) = 2,85 \text{ min}; \delta_B = 6 \text{ s}$$

Rem: C₁₈: chaîne alkyle en C₁₈: -(CH₂)₁₇-CH₃ qui a été greffée sur du gel de silice: Si-O-Si(CH₃)₂-(CH₂)₁₇-CH₃
acétonitrile = cyanure de méthyle



1. Calcul du facteur de sélectivité α

$$\alpha = K_B / K_A = \alpha = k'_B / k'_A = \alpha = t'_R(B) / t'_R(A)$$

$$\alpha = K(\text{soluté le + retenu: pic éloigné}) / K(\text{soluté le - retenu: 1er pic})$$

$$\alpha = (2,85 - 1,07) / (2,40 - 1,07) = 1,34$$

2. calcul du facteur de résolution

$$R = 2 [t_R(B) - t_R(A)] / [\omega(B) + \omega(A)]$$

$$\omega = 1,7\delta$$

$$R = 2 \cdot (2,85 - 2,40) \cdot 60 / 1,7 \cdot (6 + 5) = 2,89$$

3. Calcul du nombre de plateaux théoriques de la colonne

régime isocratique: 1 seul solvant de composition constante

$$R = [(N^{1/2} / 4)] \cdot [(\alpha - 1) / \alpha] \cdot [k' / (1 + k')] \quad k' = (k'_A + k'_B) / 2$$

$$k'_A = t'_R / t'_M = (2,40 - 1,07) / 1,07 = 1,24$$

$$k'_B = t'_R / t'_M = (2,85 - 1,07) / 1,07 = 1,66 \quad (\alpha = k'_B / k'_A = 1,66 / 1,24 = 1,34)$$

$$N = [4 \cdot 2,89 \cdot 1,34 \cdot (1 + 1,45)]^2 / [(1,34 - 1) \cdot 1,45]^2 = 4646 \text{ plateaux théoriques}$$

4. Calcul de la différence d'enthalpie libre de dissolution des 2 solutés dans la phase stationnaire

soluté A (PM) \rightarrow soluté A (PS)

$$\Delta G_B^\circ - \Delta G_A^\circ = -RT \cdot \ln \alpha \quad (\text{cf. par. facteur de sélectivité})$$

$$\Delta G_B^\circ - \Delta G_A^\circ = -8,314 \cdot 303 \cdot \ln 1,34 = -737 \text{ J.mol}^{-1}$$

BIBLIOGRAPHIE

Gwenola BURGOT et Jean-Louis BURGOT, *Méthodes Instrumentales d'Analyse Chimique*, Tec et Doc 2002.

Colin F. POOLE, *The Essence of Chromatography*, Elsevier 2003.

Douglas A. SKOOG, F. James HOLLER, Timothy A. NIEMAN, *Principes d'Analyse Instrumentales*, De Boeck 2003.

Francis ROUESSAC et Annick ROUESSAC, *Analyse chimique*, Dunod 2004.

Rem. De nombreux graphiques de ce site ont été trouvés sur la toile à l'adresse:
http://www.unige.ch/cabe/chimie_anal/chromato.pdf.

Compléments:

<http://www.masterchimie1.u-psud.fr/Chromatoweb/optimisation.html#A63>