

Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse est une technique de chromatographie très répandue, extrêmement sensible, dont les premières applications, qui remontent au début des années 40, ont concerné le contrôle des fractions légères des raffineries de pétrole. La chromatographie en phase gazeuse est une transposition de la chromatographie sur colonne dans laquelle la phase mobile liquide a été remplacée par un gaz. C'est une **méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition**. Elle permet ainsi l'analyse de mélanges éventuellement très complexes dont les constituants peuvent différer de façon considérable par leur nature et leur volatilité.

1. Généralités

La **CPG gaz-solide** est une **chromatographie d'adsorption**, la phase stationnaire étant un solide adsorbant. Les constituants du mélange injecté sont en équilibre entre la phase gazeuse et la surface du solide où ils s'adsorbent. Le gaz qui véhicule les constituants du mélange (souvent nommés solutés) constitue la phase mobile et est appelé **gaz vecteur**. A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne le long de celle-ci. Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange sont inégalement retenus par celle-ci lors de la traversée de la colonne. De ce phénomène nommé « rétention », il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de migration respectives sont inégales. De ce fait, les constituants du mélange sortent de la colonne les uns après les autres au sein de la phase mobile. A la sortie de la colonne se trouve un détecteur relié à un enregistreur. Lorsqu'un constituant du mélange arrive au niveau du détecteur, un pic apparaît sur l'enregistreur. Le temps de sortie de chaque constituant t_R , nommé **temps de rétention**, caractérise de façon qualitative le constituant. L'**aire du pic** permet de déterminer la **concentration massique** de chaque soluté dans le mélange injecté. L'analyse d'un mélange peut donc être quantitative.

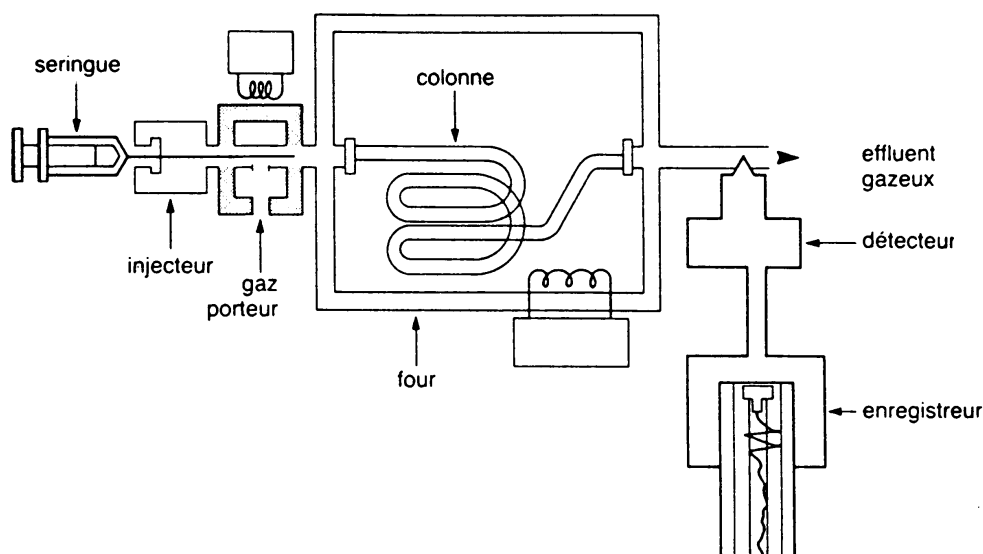
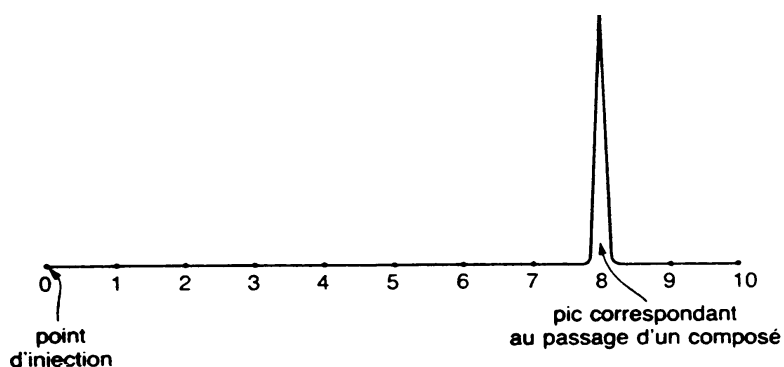
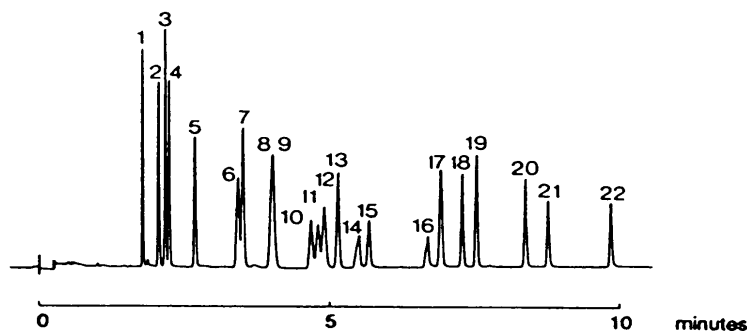


Schéma de principe d'un chromatographe à gaz



Chromatogramme d'un échantillon contenant un seul constituant



Chromatogramme d'un mélange contenant au moins 22 constituants

2. Description de l'appareillage

2.1. Gaz vecteur

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

2.2. Injecteur

Le système d'injection joue plusieurs rôles, que l'échantillon se trouve sous forme solide, liquide ou gazeuse :

- rôle d'interface qui permet d'introduire l'échantillon dans le chromatographe
- rôle de système de vaporisation (dans le cas d'un échantillon liquide ou solide)
- rôle d'organe de transfert dans la colonne chromatographique

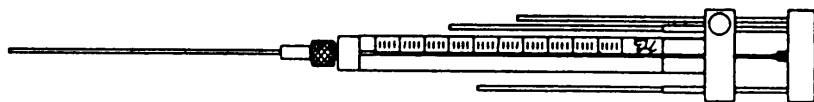
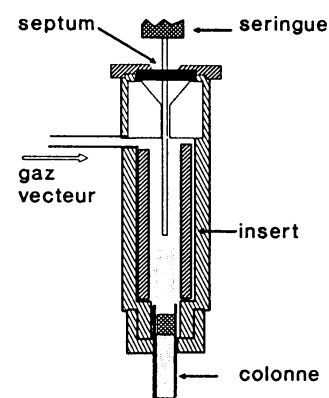
Les caractéristiques des injecteurs, ainsi que les modes d'injection, diffèrent suivant le type de colonne auxquelles ils sont reliés.

a) Injection par vaporisation directe

Le système le plus courant est l'injecteur à septum représenté ci-dessous. Il s'agit d'un tube métallique, doublé d'un chemisage de verre (insert), balayé par le gaz vecteur et chauffé à une température supérieure de 20 à 30 °C au point d'ébullition du constituant le moins volatil du mélange analysé de façon à permettre une vaporisation immédiate de tous les constituants du mélange.

L'une des extrémités de l'injecteur est obturée par une pastille d'élastomère siliconé nommée septum pour permettre le passage de l'aiguille de la microseringue qui contient l'échantillon à injecter et l'autre est reliée à la colonne. La totalité de l'échantillon injecté est transféré dans la colonne.

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



Dessin d'une seringue de 10 μL , couramment utilisée en CPG

Il existe des injecteurs automatiques pour liquides, automates qui répètent avec une excellente reproductibilité la séquence rinçage de la seringue, prélèvement de l'échantillon et introduction de celui-ci dans l'injecteur. La reproductibilité des volumes injectés est meilleure que 2%. Dans ce cas, un passeur automatique d'échantillons est inclus dans l'appareil. Ce mode d'injection est utilisé pour les colonnes remplies et certaines colonnes capillaires.

b) Injection « split/splitless »

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

2.3. Four

Le four est une enceinte thermostatée dans lequel se trouve la colonne. La programmation de la température du four est un facteur essentiel à l'obtention d'une bonne séparation avec une durée d'analyse acceptable.

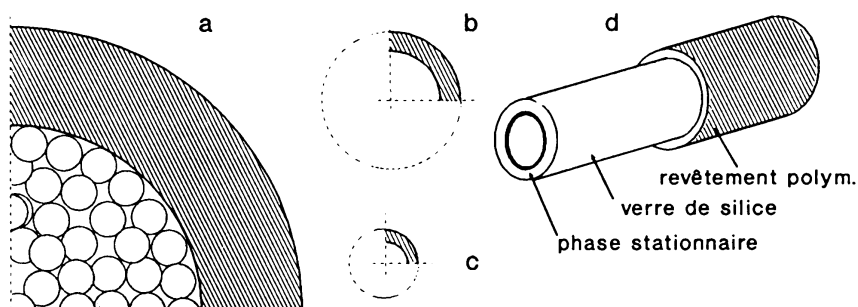
2.4. Colonne

On distingue trois types de colonnes.

a) *Colonne à remplissage* également appelée colonne classique ou colonne remplie : existant depuis les débuts de la CPG, les colonnes analytiques classiques sont le plus souvent en acier ou plus rarement en verre, de diamètre intérieur de 2 à 6 mm, ont une longueur comprise entre 1 et 3 m et sont enroulées sous forme hélicoïdale. Elles sont remplies d'un support poreux (dimension des particules : 100 à 200 μm) imprégné de 5 à 20% de phase stationnaire (chromatographie gaz-liquide) ou sont remplies d'un adsorbant (chromatographie gaz-solide).

b) *Colonne capillaire* : en acier à l'origine (1970) et maintenant en verre de silice, elles ont un diamètre interne variant entre 0,05 et 0,35 mm et une longueur comprise entre 10 et 50 m. Pour plus de robustesse, elles sont revêtues d'une couche de polymère ou d'un film d'aluminium et sont enroulées sur un support métallique cylindrique léger, en forme de cage. Il n'y a alors pas de remplissage : la phase stationnaire ou l'adsorbant est déposé sur la paroi interne de la colonne. La faible quantité de phase stationnaire permet des analyses rapides mais impose l'injection d'une quantité très faible d'échantillon.

c) *Colonne semi-capillaire* : plus récentes que les colonnes capillaires (1983), elles sont constituées d'un tube de silice de 0,53 mm de diamètre interne et ont une longueur variant de 5 à 50 m. Elles remplacent, à l'heure actuelle, les colonnes à remplissage sur les chromatographes anciens, tout en conservant les mêmes injecteurs et détecteurs. Elle supporte l'injection d'une quantité plus grande d'échantillon qu'une colonne capillaire mais la résolution est moins bonne (plus le diamètre d'une colonne est faible, meilleure est la résolution). La colonne, enroulée sous forme hélicoïdale, est reliée à l'injecteur à l'une de ses extrémités et au détecteur à l'autre. Elle est disposée dans un four muni d'un système de régulation de température.



Représentation, à la même échelle, des trois types de colonnes de CPG : a. colonne remplie, b. colonne semi-capillaire, c. colonne capillaire et d. détail d'une colonne capillaire

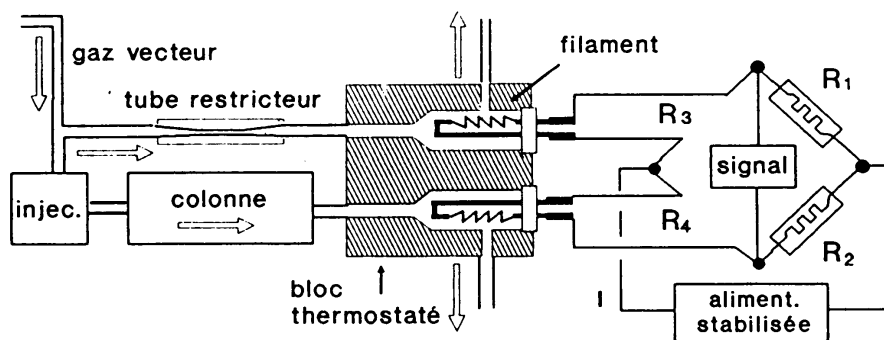
Propriétés et caractéristiques de quelques colonnes de CPG

Type de colonne	FSOT	WCOT	SCOT	Remplie
Longueur / m	10-100	10-100	10-100	1-6
Diamètre interne / mm	0,1-0,3	0,25-0,75	0,5	2-4
Efficacité, plateaux / m	2000-4000	1000-4000	600-1200	500-1000
Masse de l'échantillon / ng	10-75	10-1000	10-1000	$10-10^6$
Pression relative	faible	faible	faible	élevée
Vitesse relative	rapide	rapide	rapide	lente
Inertie chimique	la meilleure	—	—	la moins bonne
Flexibilité mécanique	oui	non	non	non

2.5. Détecteur

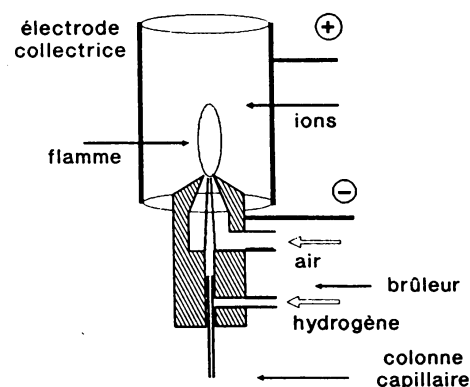
Il existe plusieurs types de détecteurs dont deux utilisés le plus couramment.

a) *Détecteur à conductibilité thermique (catharomètre)* : ce fut le détecteur le plus répandu aux débuts de la chromatographie en phase gazeuse. Son principe repose sur le fait que la résistance d'un métal parcouru par un courant d'intensité constante varie lorsqu'il est soumis à un gradient de température : la résistance d'un thermistor suit une loi du type $R = R_0(1 + \alpha T)$.



Le catharomètre comporte deux thermistors identiques, placés dans deux petites cavités taillées dans un bloc métallique thermostaté à une température légèrement supérieure à celle de la colonne. L'un d'eux est baigné par le gaz vecteur prélevé en amont de l'injecteur et l'autre par le gaz vecteur sortant de la colonne. En régime stationnaire, il s'établit un équilibre de température, donc de résistance, fonction de la conductibilité thermique du gaz vecteur et de l'intensité I . Lorsqu'un soluté est élué, le changement de composition de la phase mobile entraîne une variation de la conductibilité. L'équilibre thermique est alors rompu et il en résulte une variation de la résistance du filament, proportionnelle à la concentration du composé élué pour les grandes dilutions. Ces thermistors sont intégrés dans un montage type pont de Wheatstone, alimenté en tension continue. Le catharomètre présente l'avantage de ne pas détruire les substances analysées d'où son utilisation en CPG préparative. Mais son principal inconvénient provient de sa faible sensibilité (de l'ordre du microgramme).

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



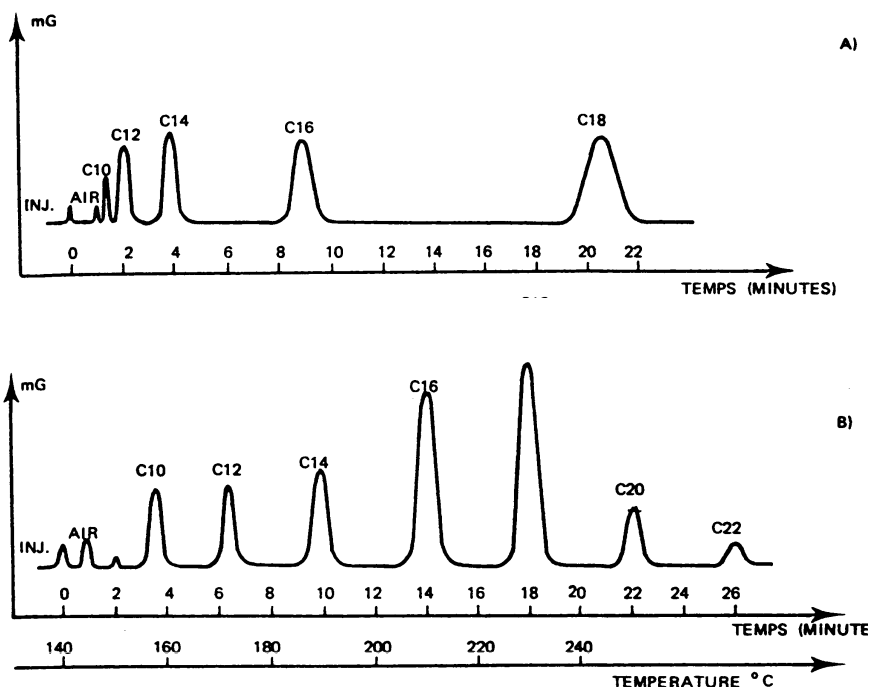
Il existe d'autres types de détecteurs, comme le détecteur thermoionique (NPD) spécifique des composés azotés et phosphorés, celui à capture d'électrons (CED) particulièrement sensible aux composés halogénés et celui à photométrie de flamme spécifique des composés contenant du soufre et du phosphore. Habituellement, on fixe la température du détecteur sensiblement à la même valeur que celle de l'injecteur.

3. Facteurs dont dépend la séparation

3.1. Température

Généralement, si les constituants du mélange à séparer ont des polarités voisines, les composés les plus volatils sont les plus rapidement entraînés. Si la température de la colonne est trop basse, la vitesse d'échange entre la phase stationnaire et le gaz vecteur est lente, la diffusion devient importante, le temps de rétention de certains composés trop long et les pics correspondants sont dissymétriques ou déformés. Si la température de la colonne est trop élevée, l'équilibre de chaque constituant entre les deux phases mobile et stationnaire n'a pas le temps de s'établir et tous les constituants apparaissent à la sortie de la colonne en même temps. Lorsque l'écart entre les points d'ébullition des constituants du mélange à séparer est grand, il est souvent préférable d'augmenter la température du four. Un

programmeur électronique, mis en route à l'injection, fait varier la température du four selon un profil choisi. Exemple : les deux chromatogrammes ci-dessous sont ceux de l'analyse d'un mélange d'esters méthyliques d'acides gras ($R-CO_2-CH_3$).



Si la température de la colonne est constante (chromatographie isotherme ; la température du four est constante, égale à 200 °C), le chromatogramme se présente comme une suite de pics de plus en plus espacés (cas A). Si on effectue une programmation de la température du four, le chromatogramme présente alors des écarts beaucoup plus faibles entre les différents pics (cas B).

3.2. Débit du gaz vecteur

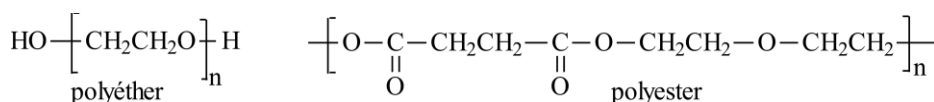
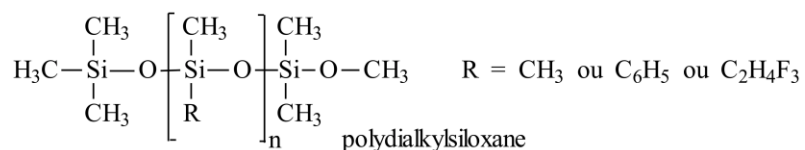
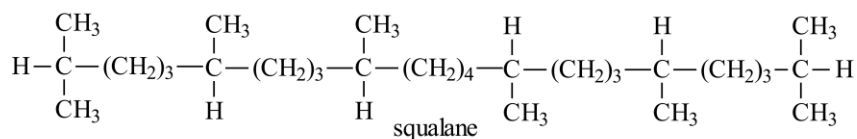
Il doit être tel que les différents constituants du mélange puissent s'équilibrer entre les deux phases mobile et stationnaire. Si le débit est trop rapide, la séparation des pics est médiocre. S'il est trop lent, les pics perdent leur finesse par suite d'une diffusion trop importante des constituants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

3.3. Longueur de la colonne

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

3.4. Nature de la phase stationnaire

Le liquide qui constitue la phase stationnaire est, selon les cas, un hydrocarbure ramifié tel que le squalane de polarité nulle, un polyalkylsiloxane peu polaire, un polyéther polaire ou un polyester très polaire.



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

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

Composé	Propan-1-ol	Butan-1-ol	Pentan-1-ol	Heptane
$T_{eb} / ^\circ C$	97	117	137	98
Ordre de sortie	2	3	4	1

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

Composé	Heptane	Octane	Nonane	Propan-1-ol
$T_{eb} / ^\circ C$	98	126	151	97
Ordre de sortie	2	3	4	1

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

4. Précautions générales à prendre pour effectuer une CPG

- l'échantillon à analyser doit toujours avoir subi un traitement minimum de purification : élimination des goudrons, de l'eau et des particules en suspension
- contrôle de la nature de la phase stationnaire de la colonne
- ne jamais utiliser la colonne en dehors des limites de températures indiquées par le fabricant
- la seringue doit être rincée plusieurs fois avec l'échantillon avant l'injection
- il faut prendre soin de ne pas courber l'aiguille au moment de son introduction à travers le septum de l'injecteur
- le septum doit être changé régulièrement (toutes les 50 injections environ)
- il faut injecter le mélange dès que l'aiguille est enfoncée