

Découverte de la chromatographie en phase gaz (CPG) et de la chromatographie liquide haute performance (CLHP)

Les objectifs de cette séance de TP sont multiples :

- découvrir la manipulation d'une CPG (manipulation du logiciel, utilisation d'une seringue, injection, etc.)
- relier, lorsque cela est possible, les temps de rétention des constituants d'un mélange aux propriétés physico-chimiques de ces constituants (pour la CPG)
- découvrir la manipulation d'une HPLC (préparation de l'échantillon, logiciel, injection, etc.)
- mettre en œuvre deux méthodes d'analyse quantitative : normalisation interne et étalon interne.

I. Chromatographie en phase gaz

Lors de cette séance, seront fournis :

- les chromatogrammes des produits purs sur colonne apolaire (référence),
- un chromatogramme étalon sur colonne apolaire,
- le chromatogramme du même mélange, sur colonne polaire.

1. Injection du mélange

A l'aide de catalogues, d'internet ou des étiquettes sur les bouteilles de produits, compléter le tableau suivant.

	Butan-1-ol	Octane	Décane	Ether
$T_{eb} / ^\circ\text{C}$				
$M / \text{g.mol}^{-1}$				
Moment dipolaire / D	1,66	0	0	1,3
Indice de polarité ¹	60,2	1,2	0,9	11,7

Vous disposez d'un pilulier dans lequel se trouve un mélange de butanol, d'octane et de décane. Injecter, à l'aide de la seringue, ce mélange en CPG (HP6890) sur la colonne apolaire (DB1 10m × 0,53mm; gaz vecteur : H₂ (débit=15 mL/min), température de l'injecteur : $T_{\text{injecteur}} = 220\text{ }^\circ\text{C}$, température initiale du four : $T_{\text{four init.}} = 60\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 0,4 min puis rampe de $\Delta T/\Delta t = 50\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, température finale du four : $T_{\text{four final}} = 170\text{ }^\circ\text{C}$, détecteur de type FID).

Q1. Attribuer chaque pic au constituant correspondant, puis remplir le tableau suivant en reportant les temps de rétention (t_r), les surfaces (A), ainsi que les pourcentages surfaciques (%A) indiqués par l'intégrateur.

Colonne apolaire			
	t_r / min	A / unité arbitraire	$\%A_{\text{int}} = A_i/A_T$
Octane			
Décane			
Butanol			

Le chromatogramme du mélange a été réalisé sur colonne polaire ((FFAP 10m × 0,53mm ; catharomètre).

Q2. Compléter le tableau suivant :

Colonne polaire			
	t_r / min	A / unité arbitraire	$\%A_{\text{int}} = A_i/A_T$
Octane			
Décane			
Butanol			

¹ L'indice de polarité est une grandeur comprise entre 0 (substance totalement apolaire) et 100 (valeur prise en référence pour l'eau).

Q3. Aspect qualitatif :

- En déduire l'influence du changement de polarité de la colonne sur l'ordre de sortie des produits.
- A quel(s) paramètre(s) physico-chimique(s) peut-on relier l'ordre de sortie des produits sur la colonne apolaire ?
- A quel(s) paramètre(s) physico-chimique(s) peut-on relier l'ordre de sortie des produits sur la colonne polaire ?

Q4. Aspect quantitatif : déterminer la composition massique du mélange, en utilisant la méthode de la normalisation interne.

2. Influence de la présence d'un solvant

Prélever quelques gouttes du mélange, et les diluer dans un pilulier contenant environ 5 mL d'éther, agiter. Injecter à nouveau le mélange, sur colonne apolaire, dans les mêmes conditions que précédemment.

Compléter le tableau suivant :

	Ether	Octane	Décane	Butanol
t_r / min				
$\% A_{\text{int}}$				

Renouveler la même injection, avec un « delay solvant » :

	Octane	Décane	Butanol
t_r / min			
$\% A_{\text{int}}$			

Q5. Conclure sur l'influence de l'ajout d'un solvant volatil, d'un point de vue qualitatif et quantitatif (utiliser à nouveau la méthode de la normalisation interne)

II. Chromatographie en phase liquide

L'objectif de cette partie est de déterminer la pureté d'un solide, la caféine, obtenue après extraction à partir de Coca-cola®, en utilisant la méthode de l'étalon interne.

Ce qui est fourni :

- la fiole de référence déjà prête
- la fiole d'étalon interne déjà prête,
- un solide dont on doit déterminer la pureté.

1. Composition des fioles fournies

Les valeurs exactes des masses pesées pour les différentes préparations sont à relever le jour de la séance. L'étalon interne utilisé pour ce dosage est le naphtalène.

Fioles mères :

- Caféine pure : environ 0,1 g dans une fiole de 20,00 mL → Fiole mère 1
- Etalon interne (= naphtalène) : environ 0,1 g dissouts dans une fiole de 20,00 mL → Fiole mère 2

Fiole de référence :

Elle a été préparée avec 80 μ L de solution de caféine (fiole mère 1) et 120 μ L de solution d'étalon interne (fiole mère 2).

Compléter les tableaux suivants, à l'aide du chromatogramme de référence et des valeurs de masses réelles :

Composition des fioles mères	fiole mère 1	fiole mère 2 étalon interne
Produit contenu dans la fiole	Caféine	Naphtalène
masse (g)		
volume fiole (mL)		

Le chromatogramme fourni correspond à l'analyse, par CLHP, de 20 μ L de la solution de référence : cette analyse se fait sur une colonne Gemini C18 (150*4,6) 5 μ m en mode isocratique avec pour éluant un mélange acétonitrile – eau, 70/30 (V/V). La boucle d'injection est de 20 μ L. La détection se fait par barrette de diodes à 254 nm. La seringue utilisée a une capacité de 250 μ L.

Q6. Se renseigner sur la signification de chacun de ces termes et compléter le tableau suivant :

Chromatogramme de la solution de référence	ρ en mg/L	Temps de rétention	%A
Naphtalène			
Caféine			

Noms :

La Chromatographie en Phase Gaz (CPG)

1. Mélange non dilué

Colonne apolaire			
	t_r / min	A / unité arbitraire	$\%A_{nt} = A_i/A_T$
Octane			
Décane			
Butanol			

Colonne polaire			
	t_r / min	A / unité arbitraire	$\%A_{int} = A_i/A_T$
Octane			
Décane			
Butanol			

2. Influence du solvant

	Ether	Octane	Décane	Butanol
t_r / min				
$\% A_{int}$				

	Octane	Décane	Butanol
t_r / min			
$\% A_{int}$			

3. Méthode de la normalisation interne : aide pour les calculs

Chromatogramme étalon - Colonne apolaire				
	t_r / min	$\%A_{nt} = A_i/A_T$	m / g	% m
Octane				
Décane				
Butanol				

$$\%m_{octane} =$$

$$\%m_{décane} =$$

$$\%m_{Butanol} =$$

