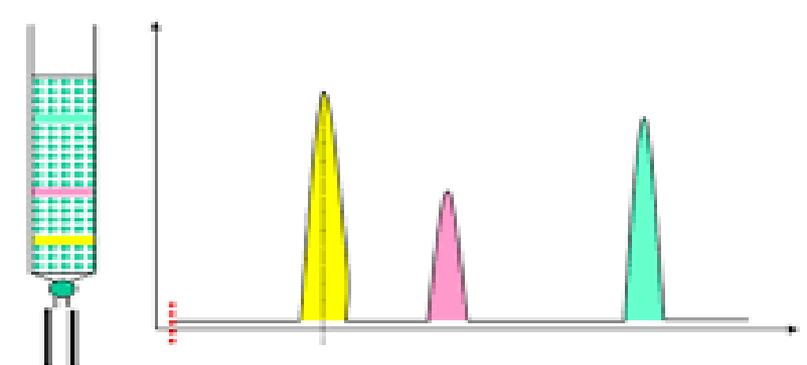


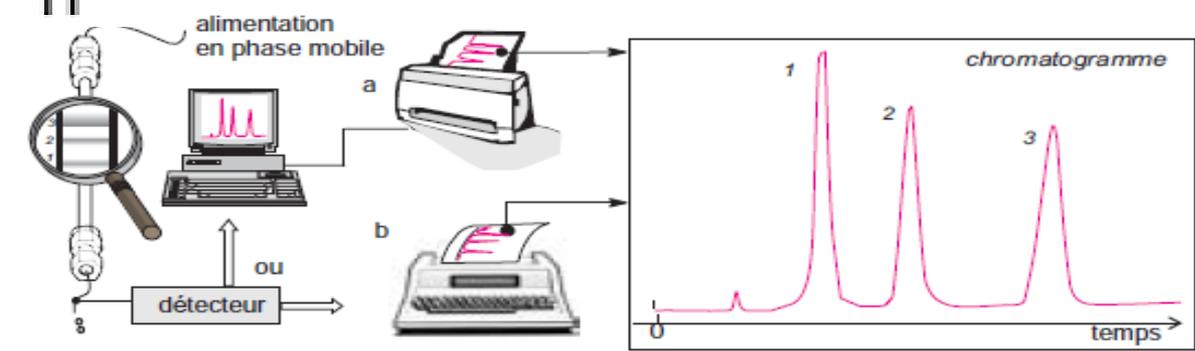
Chapitre N° 03

Chromatographie

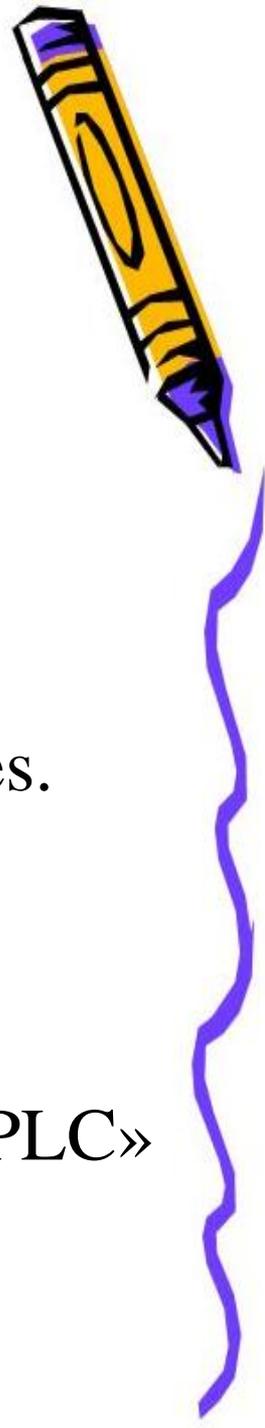


Niveau : Licence 3

Génie des procédés



Plan de cours



I. Généralités

- définitions
- principe
- grandeurs chromatographiques,
- classification des techniques chromatographiques.

II. Chromatographie en Phase Gazeuse « CPG »

III. Chromatographie Liquide Haute Performance «HPLC»

I. Aspects généraux

I-1- Définition:

La chromatographie est une méthode destinée à séparer les constituants d'un mélange (ou **soluté**) en les distribuant entre deux phases: une phase stationnaire (**PS**) et une phase mobile (**PM**) non miscibles.

Le système chromatographique est l'ensemble
(PS, PM, solutés)

I. Aspects généraux

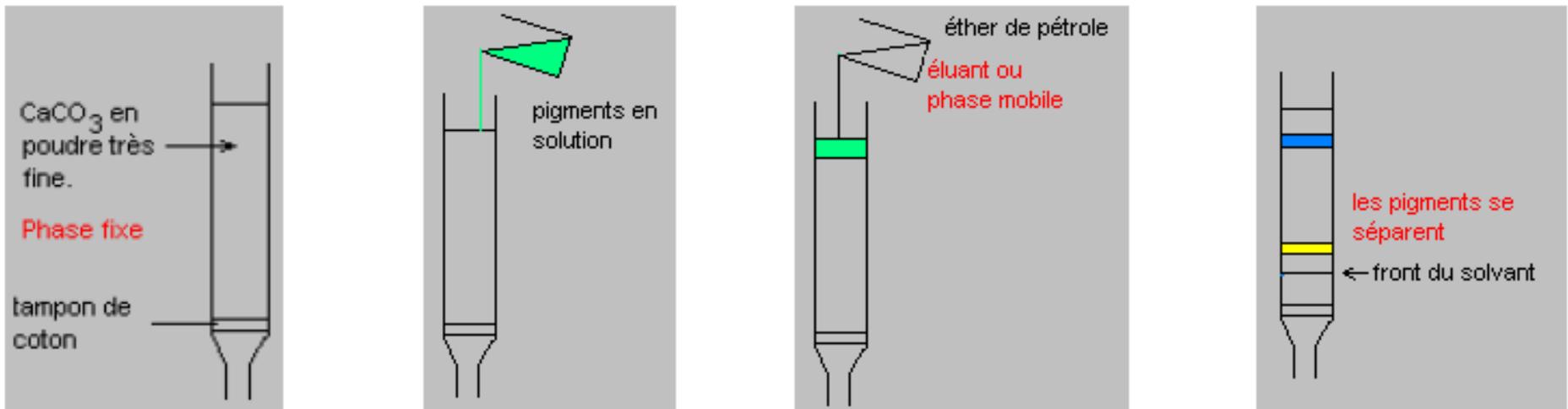
I-1- Définition:

La chromatographie est un **procédé physico-chimique de séparation**, au même titre que la **distillation**, la cristallisation ou l'extraction fractionnée, des constituants d'un mélange **homogène** liquide ou gazeux.

I. Aspects généraux

I -2- Historique

Découverte par M. Tswett vers 1906, lors de la séparation de pigments d'épinard sur une colonne en CaCO_3



Observation de couleur → séparation

Le mot chromatographie vient du grec:

Khroma= couleur;

Graphein= écrire

I. Aspects généraux

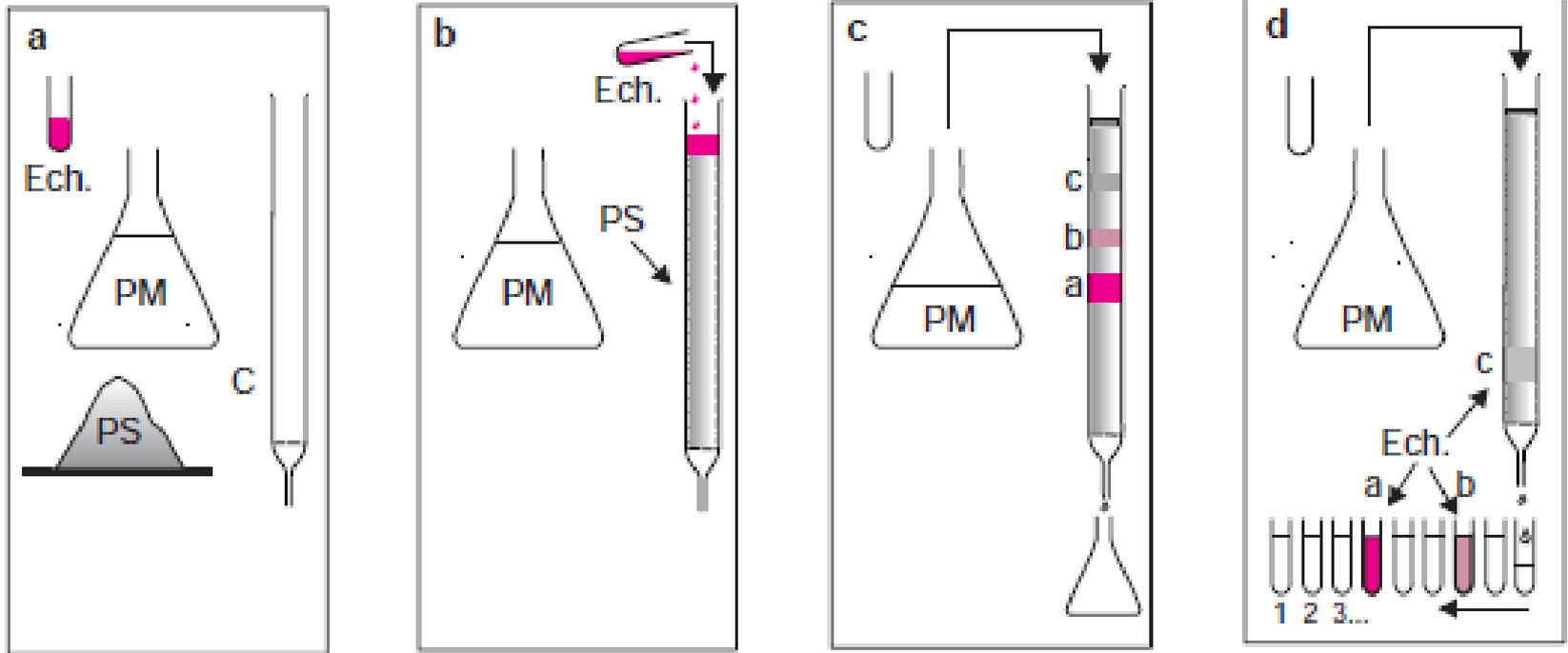
I -2- Historique

- ◆ 1903 : Découverte de la chromatographie
(Mikhaïl Tswett)
- ◆ 1952 : Première chromatographie gazeuse
(MARTIN et JAMES)
- ◆ 1965 : Début de la chromatographie liquide haute performance
(HUBER et HUZSMAN)

I. Aspects généraux

I-3- Principe générale

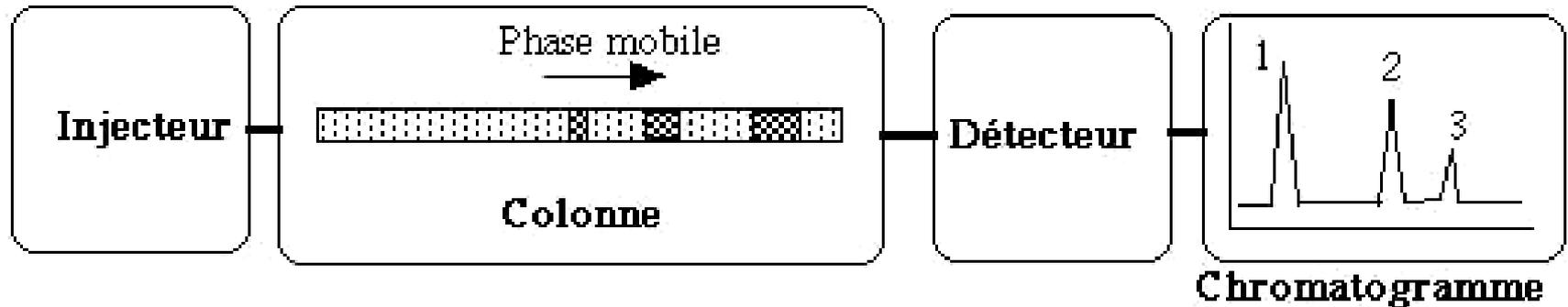
L'expérience de base en chromatographie



- Les ingrédients nécessaires C, colonne, PS, phase stationnaire, PM, phase mobile et E, échantillon ;
- le dépôt de l'échantillon ;
- le début de l'élution ;
- la récupération des produits après séparation

I. Aspects généraux

I-3- Principe générale



$$K = C_S / C_M$$

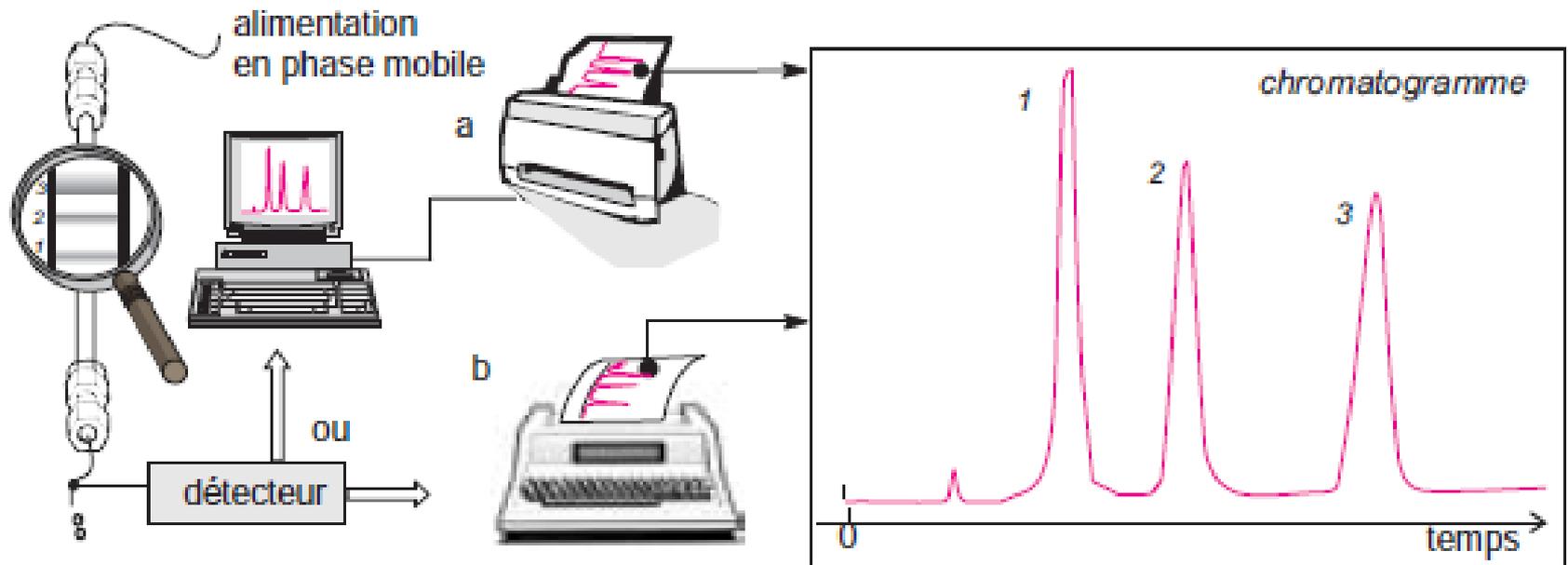
K : Coefficient de distribution

C_S : Concentration de l'analyte A dans la phase stationnaire

C_M : Concentration de l'analyte A dans la phase mobile

I. Aspects généraux

I-3- Principe générale



Principe de l'analyse par chromatographie.

I. Aspects généraux

I-4- Terminologie générale de la chromatographie

- ◆ **Soluté:** toute substance, constituant d'un mélange, séparée par chromatographie.
- ◆ **Phase mobile PM:** le vecteur, liquide ou gazeux, qui déplace le soluté.
- ◆ **Phase stationnaire PS:** le produit qui, par ses affinités avec les solutés, va permettre leur séparation quand la phase mobile les déplace.

I. Aspects généraux

I-4- Terminologie générale de la chromatographie

- ◆ **Support:** Un substrat inerte qui porte la phase stationnaire.
- ◆ **Colonne chromatographique:** tube de diamètre et longueur variable, en verre, métal ou autre substance, à l'intérieur duquel s'opèrent les séparations chromatographiques.

I. Aspects généraux

I-4- Terminologie générale de la chromatographie

- ◆ **Valeurs de rétention:** toutes données qui permettent de chiffrer l'action spécifique de la PS sur le soluté, au cours de l'analyse (temps de rétention, volume de rétention...).
- ◆ **Chromatogramme:** l'ensemble des réponses successives du détecteur, au cours de l'élution des solutés hors de la colonne.

I-5– Classement des techniques chromatographiques

I-5-1-Classification selon la nature physique des phases

Selon la nature de la **phase mobile** on distingue:

- la chromatographie en phase liquide (CPL)
- la chromatographie en phase gazeuse (CPG)
- la chromatographie en phase supercritique (CPS)

Selon la nature de la **phase stationnaire** on distingue:

- la chromatographie liquide/solide (CLS)
- la chromatographie liquide/liquide (CLL)
- la chromatographie gaz/solide (CGS)
- la chromatographie gaz/liquide (CGL)

I-5– Classement des techniques chromatographiques

I-5-2-Classification selon le mécanisme de rétention

Cette classification repose sur la nature de la phase stationnaire et son interaction avec les molécules à séparer.

- ❖ la chromatographie d'adsorption
- ❖ la chromatographie de partage
- ❖ la chromatographie d'échange d'ions
- ❖ la chromatographie d'exclusion
- ❖ la chromatographie d'affinité

I-5– Classement des techniques chromatographiques

I-5-2-Classification selon la technique mise en jeu

- la chromatographie sur colonne
- la chromatographie de surface
 - chromatographie sur papier
 - chromatographie sur couche mince

Choix de la technique

La nature du soluté

gaz, liquide volatil, liquide peu volatil, solide, macromolécule, espèce organique, ionique,...

Le but de l'analyse

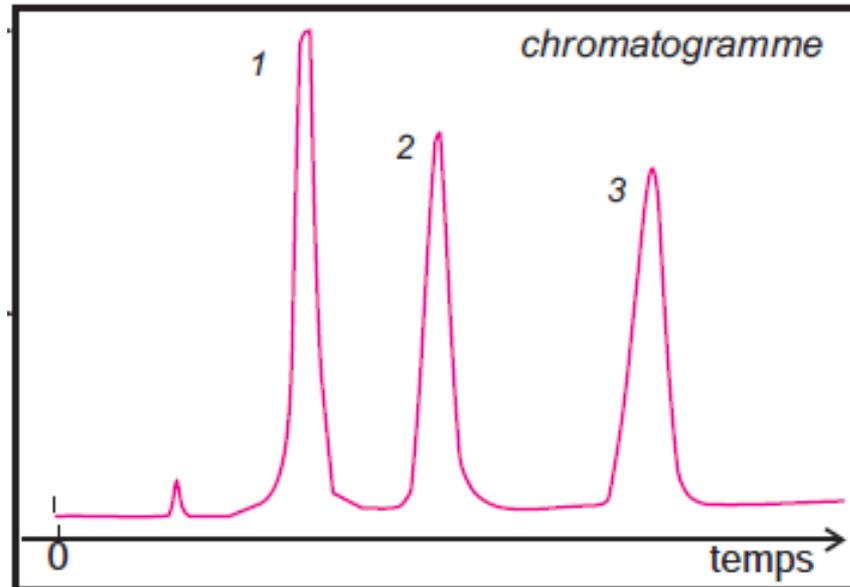
identification, contrôle de pureté, purification de produits, suivi de réaction en continu pour optimiser des paramètres, dosages, quantification

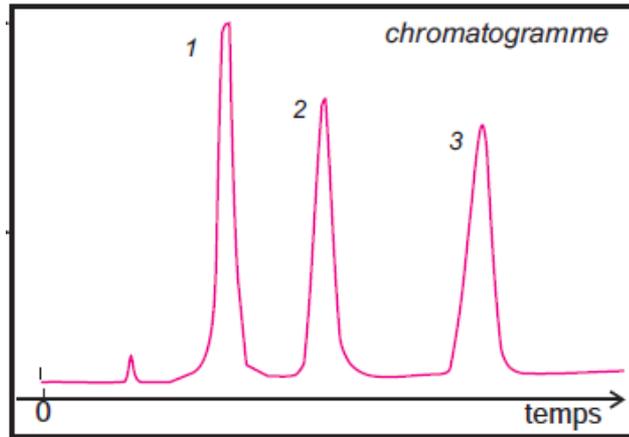
I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- I- Chromatogramme

Le chromatogramme est une courbe qui traduit la variation au cours du temps d'un paramètre relié à la concentration instantanée du soluté en sortie de colonne.

Le temps (ou très rarement le volume d'élution) est porté en abscisse et l'intensité du signal de détection en ordonnée.





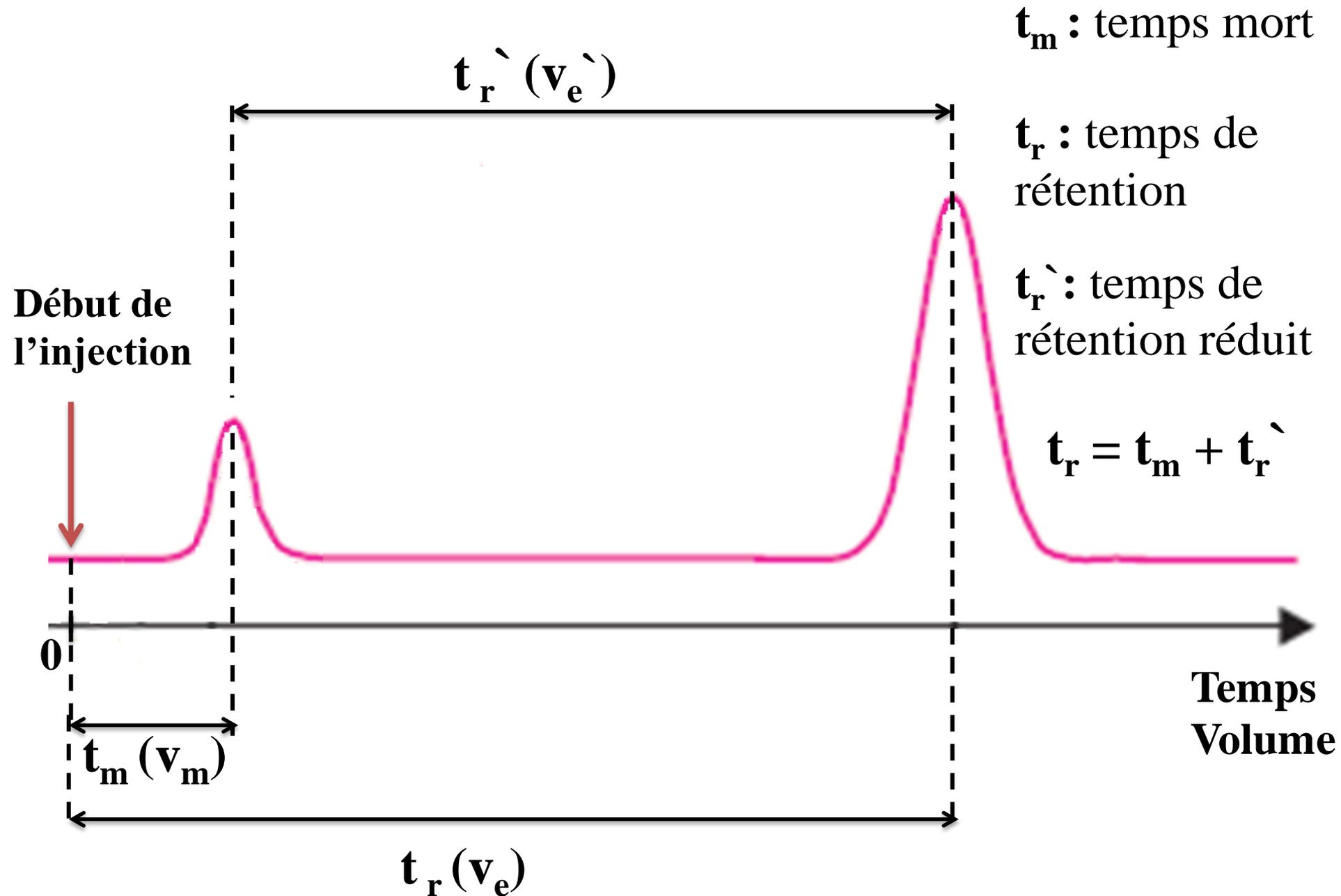
Analyse qualitative

Permet l'identification
des composés par la
position du pic

Analyse quantitative

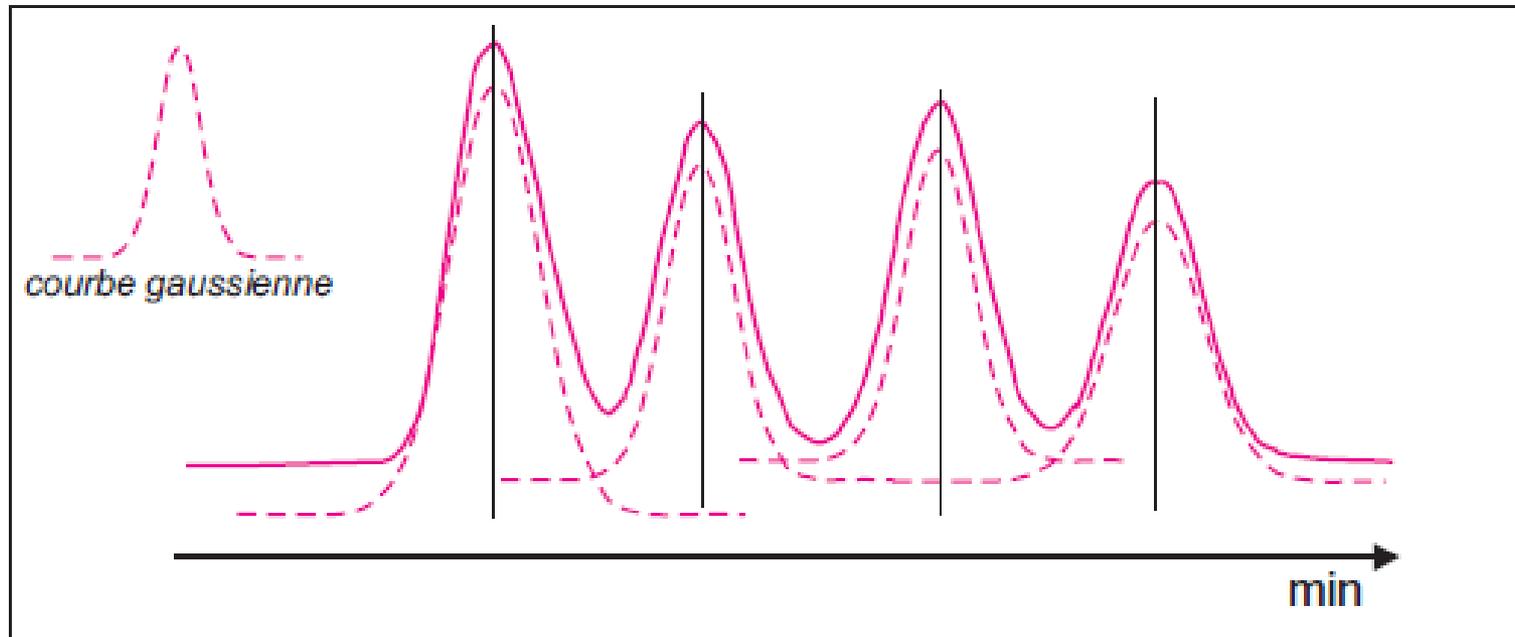
évaluer la concentration
ou la masse d'un composé
en utilisant l'aire des pics

I- 6- I- Chromatogramme



I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- I- Chromatogramme



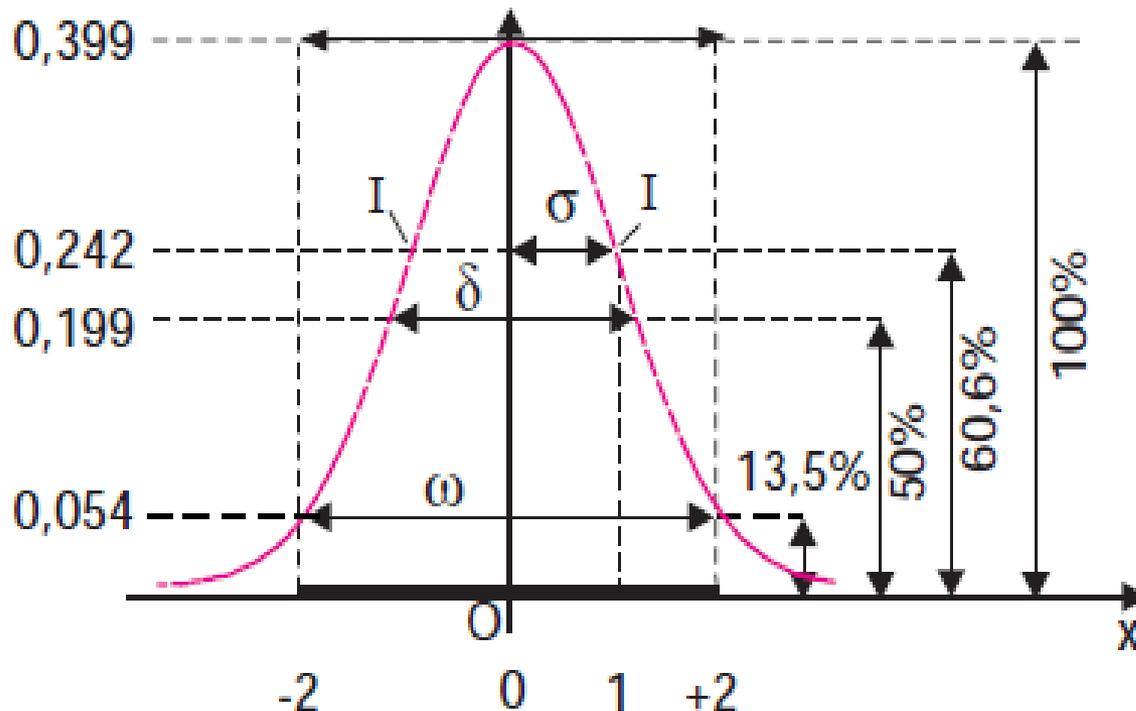
Comparaison entre un chromatogramme réel
et des courbes gaussiennes

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- II- Forme des pics en chromatographie

Les pics en chromatographie sont assimilés à une courbe de Gauss d'équation :

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{2}}$$



$$\begin{aligned} \delta &= 2,35 \sigma \\ \omega &= 4 \sigma \\ \omega &= 1,7 \delta \end{aligned}$$

l'aire comprise entre -2 et +2
vaut 95,4% de l'aire totale
comprise entre la courbe et
l'axe des x

I- 6- II- Forme des pics en chromatographie

Ce pic sera caractérisé par:

1- Écart-type σ : correspond à la moitié de la largeur du pic mesuré à 60,6% de sa hauteur.

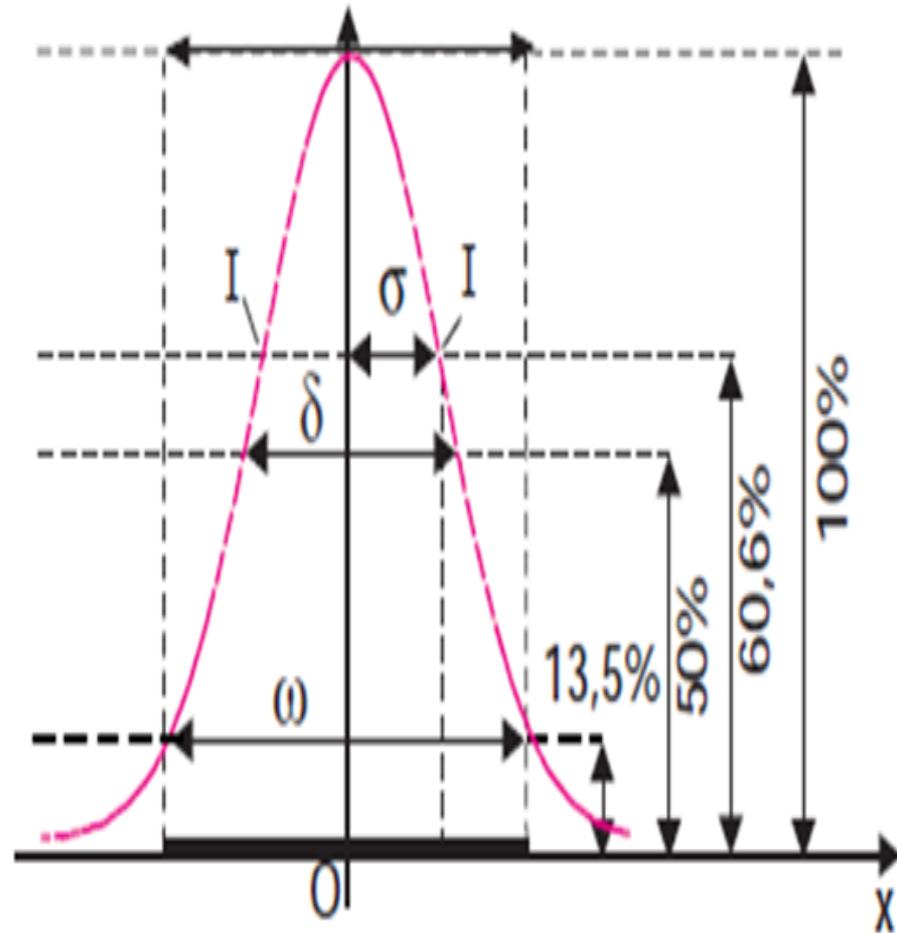
2-Variance = σ^2

3- Largeur à mi-hauteur δ :
mesurée à $h/2$. **$\delta = 2,35 \sigma$**

4- La "base" du pic ω :

Cette base est extrapolée par des tangentes aux deux branches et passant par les points d'inflexion de la courbe de Gauss.

$\omega = 4 \sigma = 1,7 \delta$



I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- III- Grandeurs de Rétention

1- temps de rétention t_r

2- volume de rétention V_r

3- temps mort t_m

4- volume mort V_m

5- volume et temps de rétention réduits

6- Facteur de rétention (ou de capacité)

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- III- Grandeurs de Rétention

I-6-3-1- temps de rétention t_r :

temps écoulé entre le début de l'injection et la sortie du produit.

t_r dépend du produit S et des conditions expérimentales (colonne, température, débit de phase mobile etc.)

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- III- Grandeurs de Rétention

I-6-3-2- volume de rétention V_r :

correspond au volume de phase mobile nécessaire pour éluer un produit S.

Si le débit D de la phase mobile est constant:

$$V_r = t_r * D$$

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- III- Grandeurs de Rétention

I-6-3-3- temps mort t_m :

temps que met la phase mobile pour traverser la colonne

On a : $\mathbf{u} = \mathbf{L} / \mathbf{t}_m$ \mathbf{u} = vitesse linéaire de la PM,

\mathbf{L} = longueur de colonne

En CPG, t_m = temps de l'air ou du méthane.

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- III- Grandeurs de Rétention

I-6-3-4- volume mort V_m :

Volume occupé par la phase mobile dans la colonne:

$$V_m = t_m * D$$

I-6-3-5- volume et temps de rétention réduits:

Volume de rétention réduit: $V'_r = V_r - V_m$

De la même façon, on définit un temps de rétention

réduit t'_r :
$$t'_r = t_r - t_m$$

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- III- Grandeurs de Rétention

I-6-3-6- Facteur de rétention (ou de capacité) :

Le facteur de rétention k' pour un produit donné est

défini comme suit: $k = \frac{m_S}{m_M} = \frac{C_S \cdot V_S}{C_M \cdot V_M} = K \frac{V_S}{V_M}$

$$\frac{n_S}{n_M} = \frac{m_S}{m_M} = \frac{t_S}{t_M} = k$$

$$k = \frac{t'_R}{t_M} = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad \Longrightarrow \quad t_R = t_M(1 + k) \quad \Longrightarrow \quad \begin{cases} V_R = V_M(1 + k) \\ V_R = V_M + K V_S \end{cases}$$

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- IV- Paramètres caractérisant les pics

1-Facteur de séparation ou sélectivité entre deux solutés

2- Facteur de résolution entre deux pics

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- IV- Paramètres caractérisant les pics

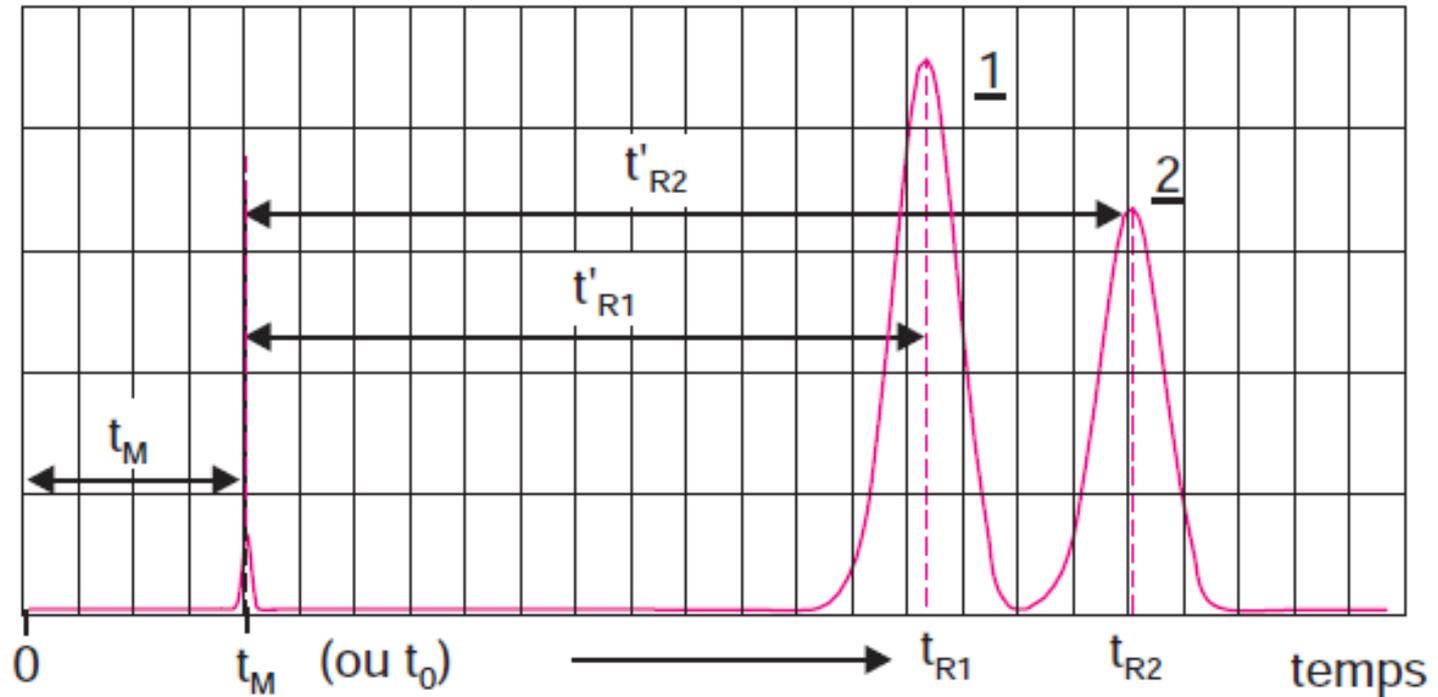
I-6-4-1-Facteur de séparation ou sélectivité entre

deux solutés: $\alpha = \frac{t'_{R(2)}}{t'_{R(1)}} \quad \alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{K_2}{K_1} > 1$

$$k_1 = \frac{t'_{R1}}{t_M} \quad k_1 = 3,08$$

$$k_2 = \frac{t'_{R2}}{t_M} \quad k_2 = 4$$

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad \alpha = 1,3$$



I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- IV- Paramètres caractérisant les pics

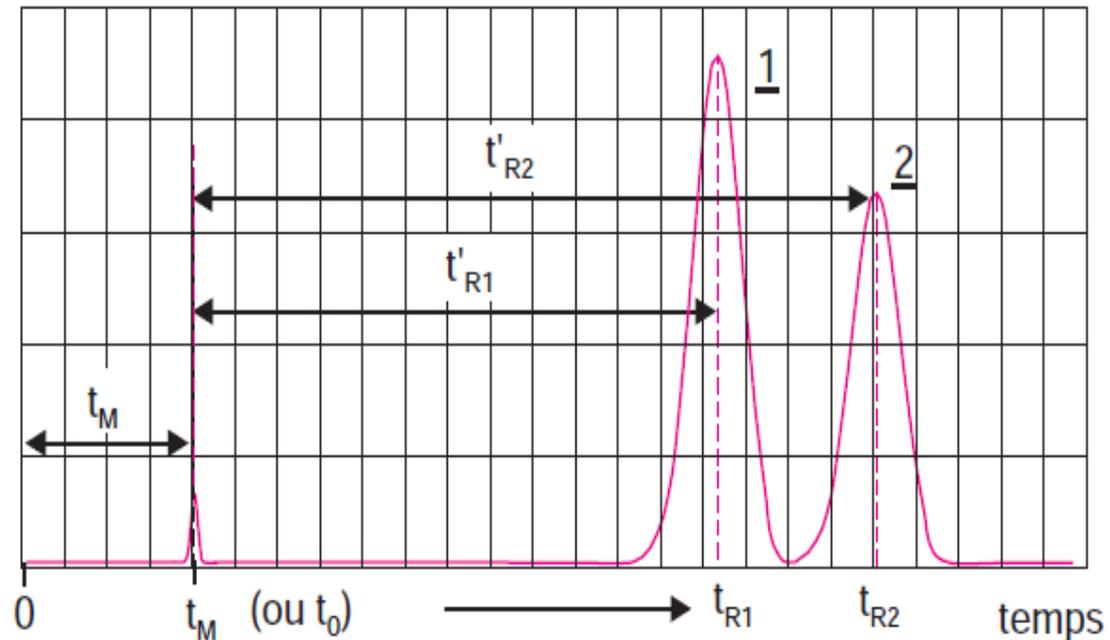
I-6-4-2- Facteur de résolution entre deux pics

$$R = 2 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\omega_1 + \omega_2}$$

$$R = 1,177 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\delta_1 + \delta_2}$$

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N_2} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k_2}{1 + k_2}$$

$$R = \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{k_2 - k_1}{k_1 + k_2 + 2}$$

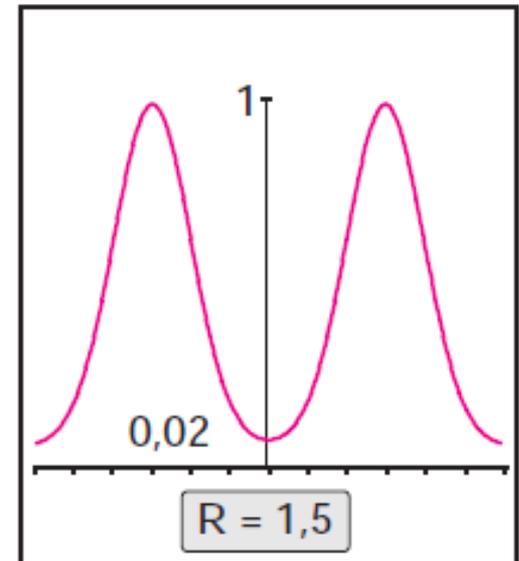
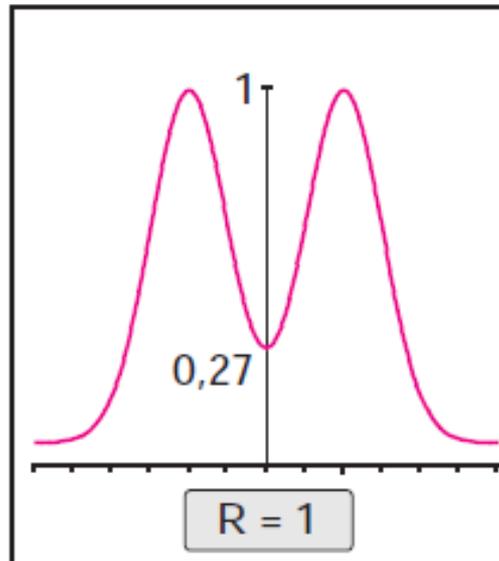
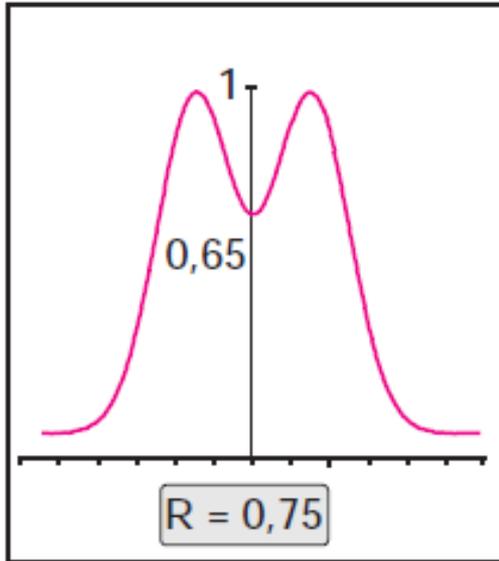


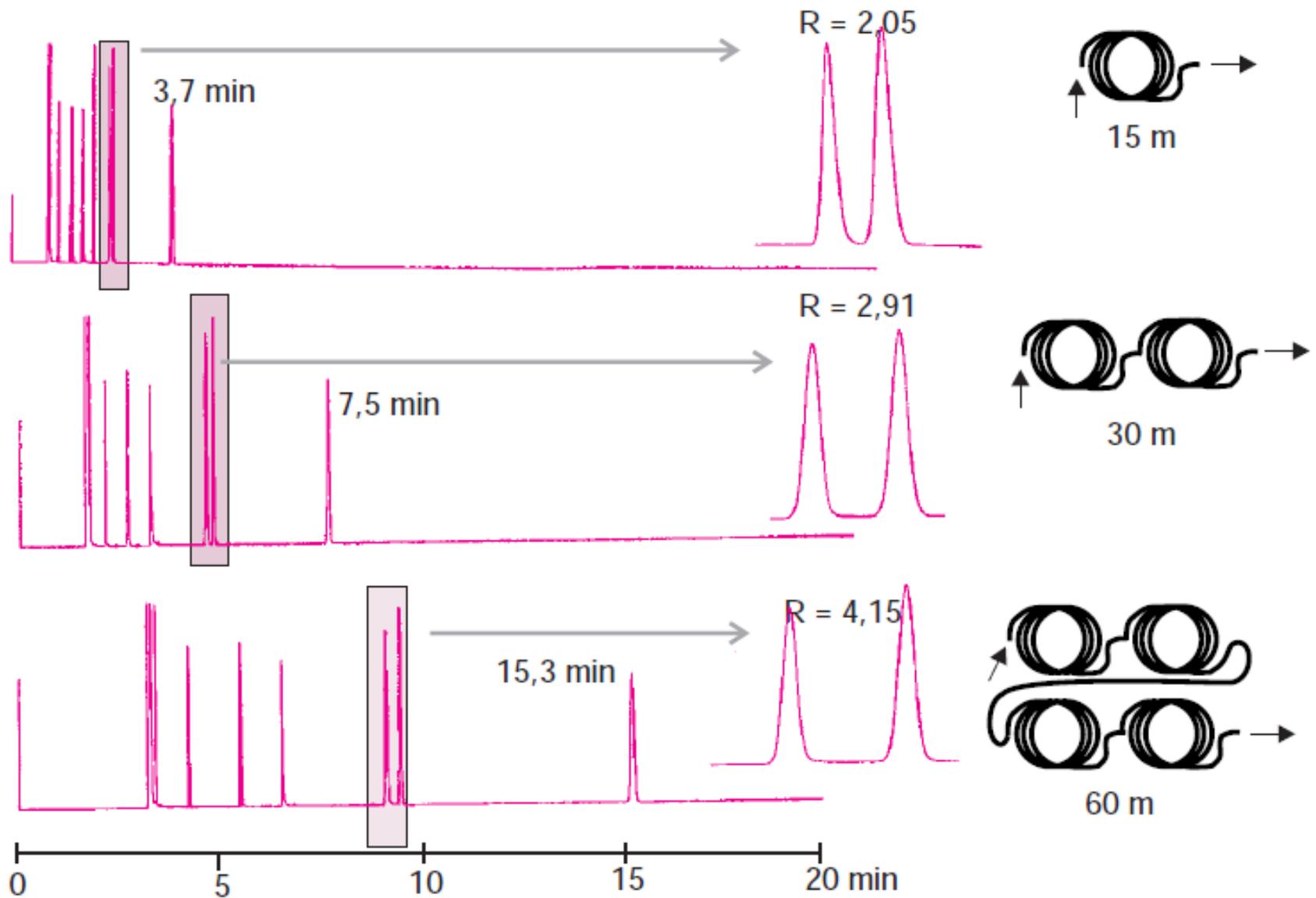
I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6- IV- Paramètres caractérisant les pics

I-6-4-2- Facteur de résolution entre deux pics

$$R = 2 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\omega_1 + \omega_2}$$





Effet de la longueur de la colonne sur la résolution

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-V- Modèle des plateaux

- ✚ Bien que la chromatographie soit un phénomène **continu**, on considère dans le **modèle statique de Craig**, que chaque soluté se déplace progressivement en une suite d'étapes distinctes.
- ✚ Le processus élémentaire est représenté par un **cycle d'adsorption/désorption**. L'enchaînement de ces étapes reproduit la **migration des fluides dans la colonne**, Chaque étape correspond à un nouvel état d'équilibre de toute la colonne.

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-V- Modèle des plateaux

- ✚ Ces équilibres successifs sont à la base de la notion de plateau théorique selon lequel la colonne de **longueur L** est découpée en **N petits disques fictifs** de **même hauteur H**, numérotés de 1 à n. Pour chacun d'eux, la concentration du soluté dans la phase mobile est en équilibre avec la concentration dans la phase stationnaire de ce soluté.

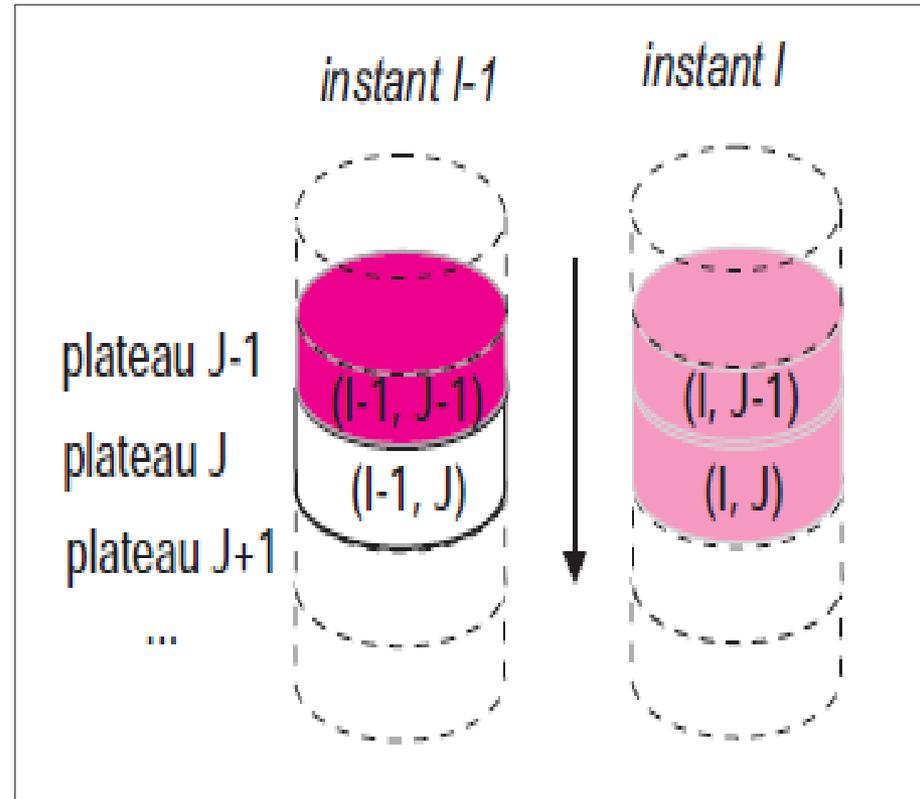
I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-V- Modèle des plateaux

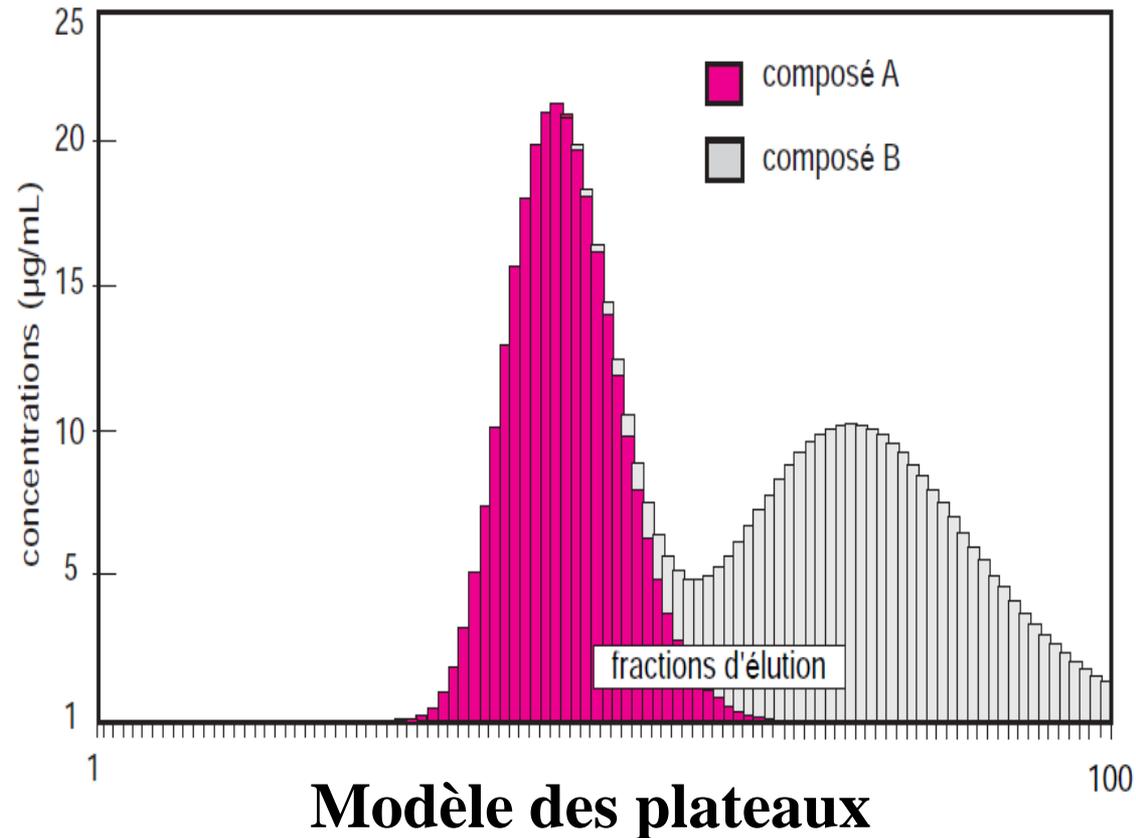
À chaque nouvel équilibre le soluté a progressé d'un petit disque supplémentaire dans la colonne, appelé **plateau théorique**.

La hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT ou H) vaut donc

$$H = \frac{L}{N}$$



Simulation à l'aide d'un tableur de l'éluion de deux composés A et B, chromatographiés sur une colonne de 30 plateaux ($K_A=0,6$; $K_B=1,6$; $M_A=300 \mu\text{g}$; $M_B=300 \mu\text{g}$). Composition du mélange en sortie de colonne pour les 100 premiers équilibres.



L'application de ce modèle montre à l'évidence une forme de **pic non symétrique**. Cependant, compte tenu de la diffusion, et comme le nombre d'équilibres est très grand, la courbe prend de plus en plus nettement **l'aspect d'une courbe de Gauss**.

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VI- Efficacité d'une colonne

- 1- Efficacité théorique (nombre de plateaux théoriques)
- 2- Efficacité réelle (nombre de plateaux théoriques effectifs)
- 3- Hauteur de plateau

I-6-Théorie de la Chromatographie

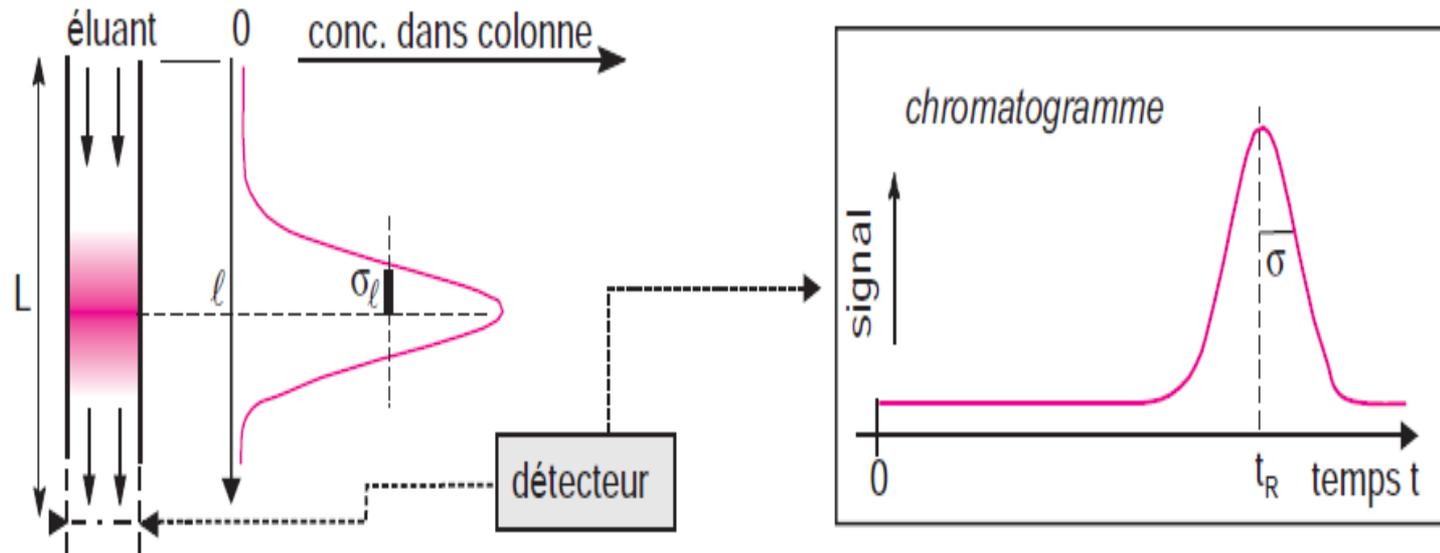
I- 6-VI- Efficacité d'une colonne

I-6-VI-1- Efficacité théorique (nombre de plateaux théoriques)

$$\sigma_L^2 = H \cdot L$$

$$N = \frac{L^2}{\sigma_L^2}$$

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma^2}$$



Dispersion d'un soluté dans une colonne et traduction sur le chromatogramme

σ_L : dispersion linéaire

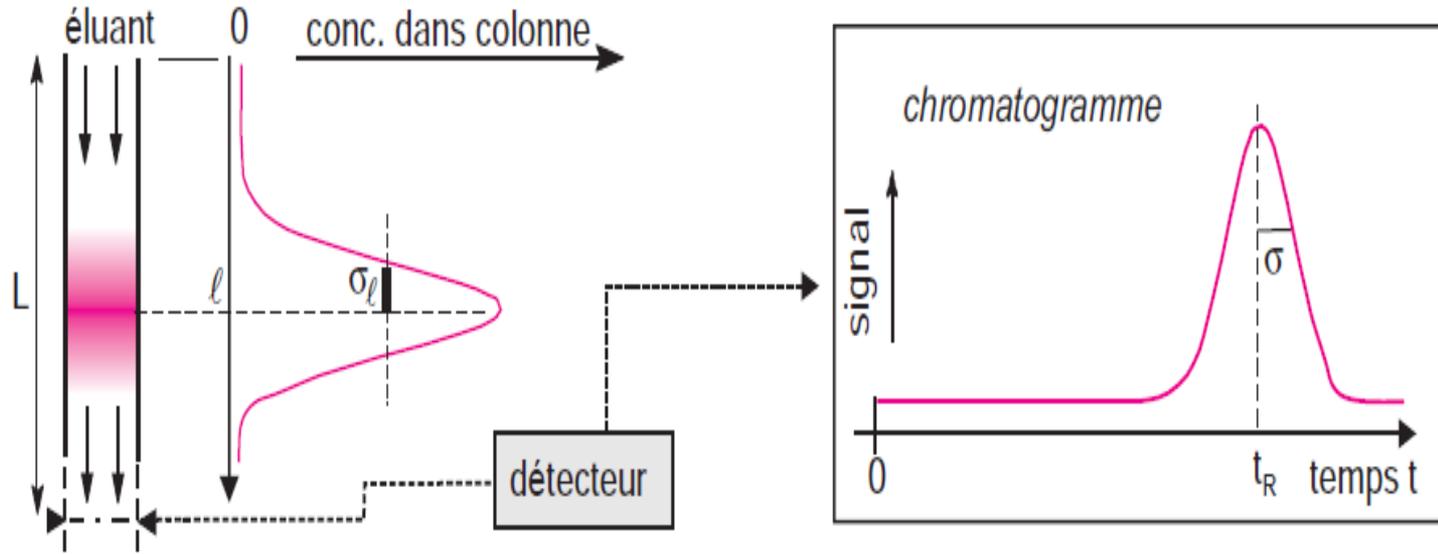
I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VI- Efficacité d'une colonne

I-6-VI-1- Efficacité théorique (nombre de plateaux théoriques)

$$N = 16 \frac{t_R^2}{\omega^2}$$

$$N = 5,54 \frac{t_R^2}{\delta^2}$$



Dispersion d'un soluté dans une colonne et traduction sur le chromatogramme

σ_L : dispersion linéaire

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VI- Efficacité d'une colonne

I-6-VI-2- Efficacité réelle (nombre de plateaux théoriques effectifs)

Afin de comparer les performances de colonnes de conceptions différentes, vis-à-vis d'un même composé.

On remplace le temps total t_R par le temps de rétention réduit t'_R qui ne tient pas compte du temps mort t_M passé par le composé dans la phase mobile. Les trois précédentes expressions deviennent

$$N_{\text{eff}} = \frac{t'^2_R}{\sigma^2}$$

$$N_{\text{eff}} = 16 \frac{t'^2_R}{\omega^2}$$

$$N_{\text{eff}} = 5,54 \frac{t'^2_R}{\delta^2}$$

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VI- Efficacité d'une colonne

I-6-VI-3- Hauteur de plateau

La hauteur équivalent à un plateau théorique (H)

$$H = \frac{L}{N}$$

✚ En chromatographie gazeuse, on a longtemps utilisé une valeur corrigée appelée *hauteur de plateau effectif* H_{eff} faisant intervenir l'efficacité *réelle* à la place de l'efficacité théorique.

$$H_{\text{eff}} = \frac{L}{N_{\text{eff}}}$$

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VI- Efficacité d'une colonne

I-6-VI-3- Hauteur de plateau

✚ *Hauteur de plateau réduite.* En chromatographie dont la phase mobile est un liquide et pour les colonnes dont le remplissage est formé de particules sphériques, on rencontre assez souvent la hauteur de plateau réduite, h , qui tient compte du diamètre moyen d_m des particules. On élimine en quelque sorte l'effet de la taille des particules. Des colonnes présentant le même rapport (longueur de la colonne)/ (diamètre des particules) conduisent à des performances semblables.

$$h = \frac{H}{d_m} = \frac{L}{N \cdot d_m}$$

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VI- Efficacité d'une colonne

I-6-VI-3- Hauteur de plateau

✚ *Hauteur de plateau réduite.* En chromatographie dont la phase mobile est un liquide et pour les colonnes dont le remplissage est formé de particules sphériques, on rencontre assez souvent la hauteur de plateau réduite, **h** , qui tient compte du diamètre moyen **d_m** des particules. On élimine en quelque sorte l'effet de la taille des particules. Des colonnes présentant le même rapport (longueur de la colonne)/ (diamètre des particules) conduisent à des performances semblables.

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VII- Théorie des plateaux

✚ La théorie des plateaux est sans doute la meilleure théorie permettant d'expliquer les phénomènes de séparation chromatographique.

- ✓ Pics gaussiens

- ✓ Calcul du nombre de plateau

✚ Limitations :

- ✓ Absence de considération des phénomènes de diffusion

- ✓ Impossibilité d'introduire tout l'échantillon dans un volume infiniment petit

- ✓ Absence de considération cinétique (vitesse d'échanges entre les deux phase)

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VIII- Théorie cinétique

I-6-VIII-1- Équation de Van Deemter

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C \cdot \bar{u}$$

La forme simplifiée, proposée en 1956, est très connue en CPG, pour les colonnes remplies

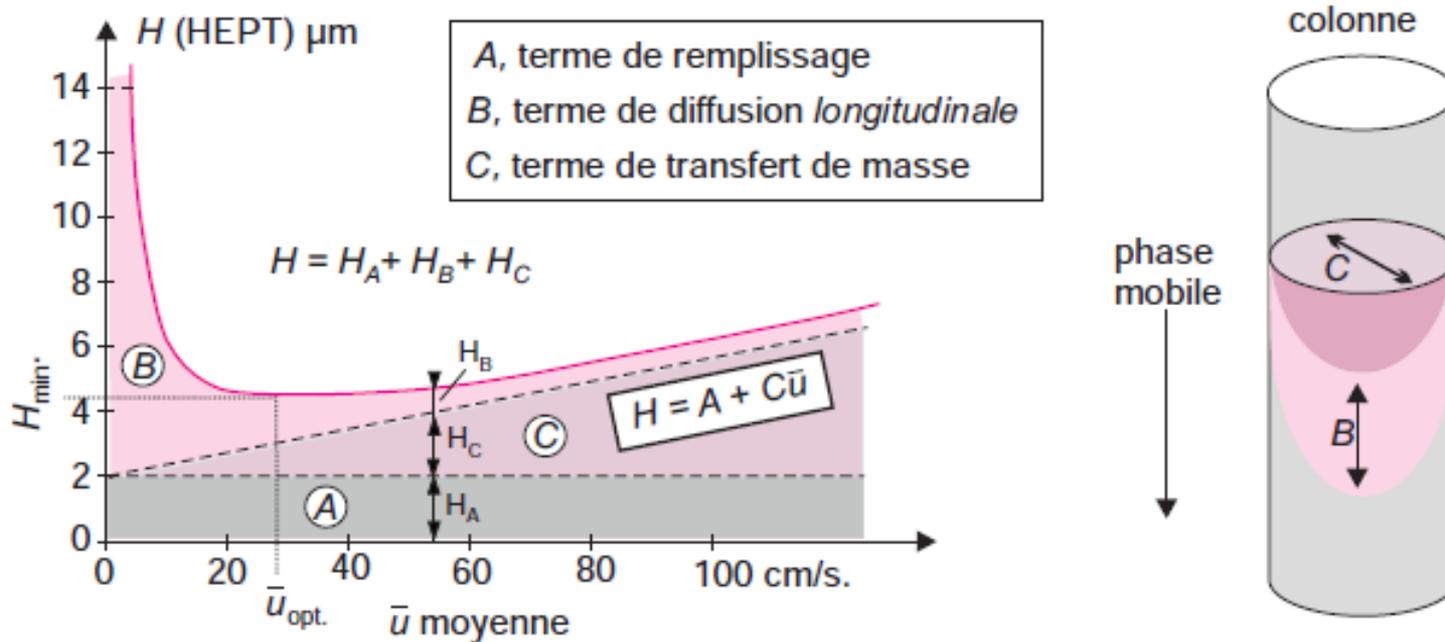
- ✚ ***H (HEPT)*** : hauteur équivalente à un plateau théorique.
- ✚ **\bar{u}** : vitesse linéaire moyenne d'écoulement de la phase mobile
- ✚ ***A*** : terme de remplissage
- ✚ ***B*** : terme de diffusion dans la phase mobile
- ✚ ***C*** : terme de transfert de masse

I-6-Théorie de la Chromatographie

I- 6-VIII- Théorie cinétique

I-6-VIII-1- Équation de Van Deemter

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C \cdot \bar{u}$$



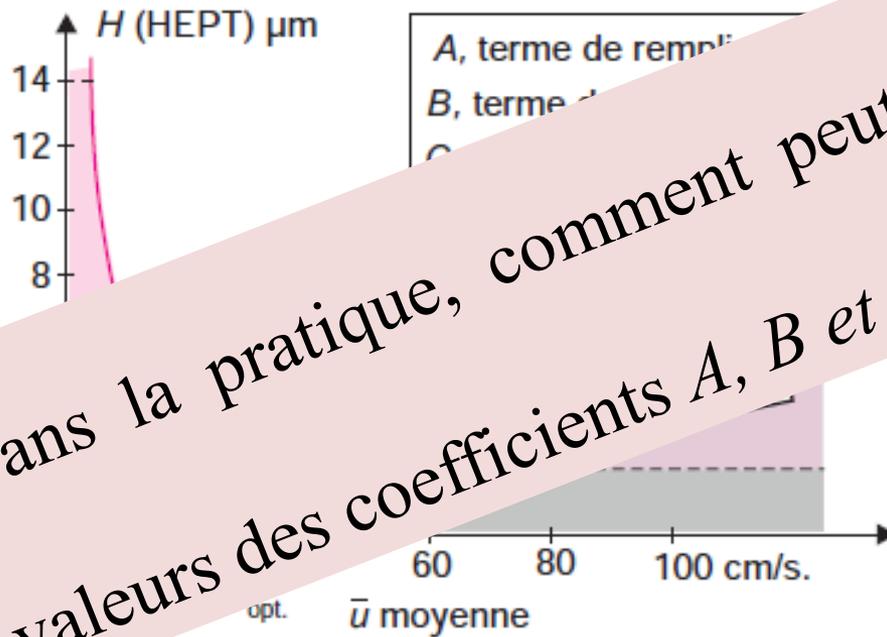
Courbe de Van Deemter en chromatographie gazeuse

I-6-Théorie de la Chromatographie

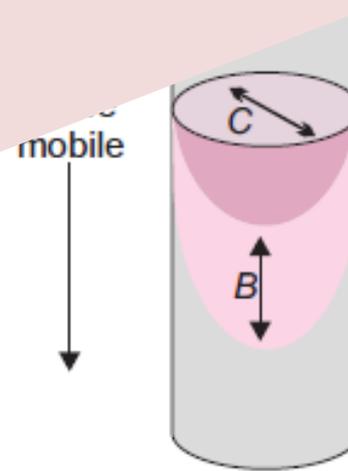
I- 6-VIII- Théorie cinétique

I-6-VIII-1- Équation de Van Deemter

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C \cdot \bar{u}$$

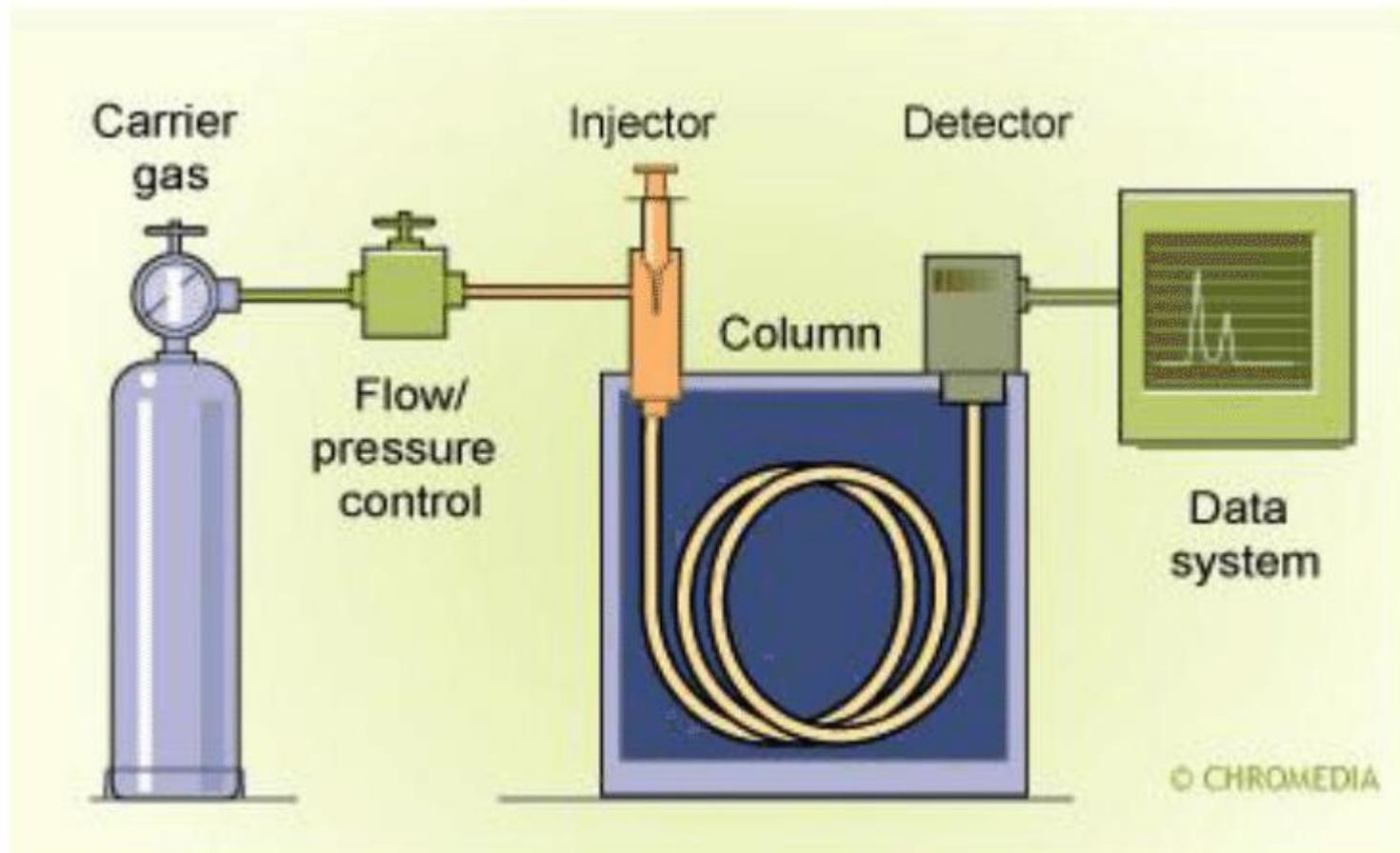


Dans la pratique, comment peut-on accéder aux valeurs des coefficients A, B et C ?



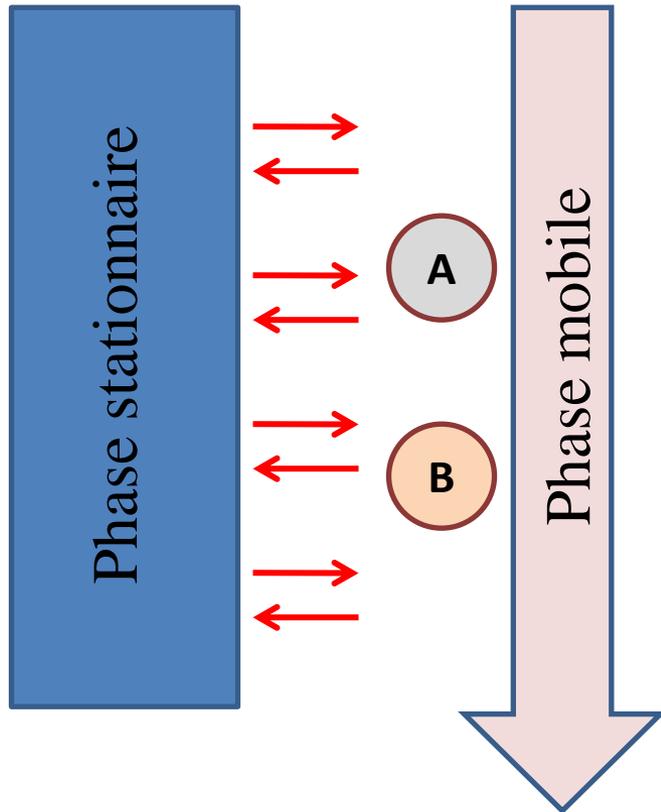
Courbe de Van Deemter en chromatographie gazeuse

Chromatographie en phase gazeuse (CPG)



II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 1- Généralités sur la CPG



➤ Méthode de séparation de composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par élévation de température sans décomposition

➤ ÉCHANGE de molécule GAZEUSE entre phase stationnaire et phase mobile

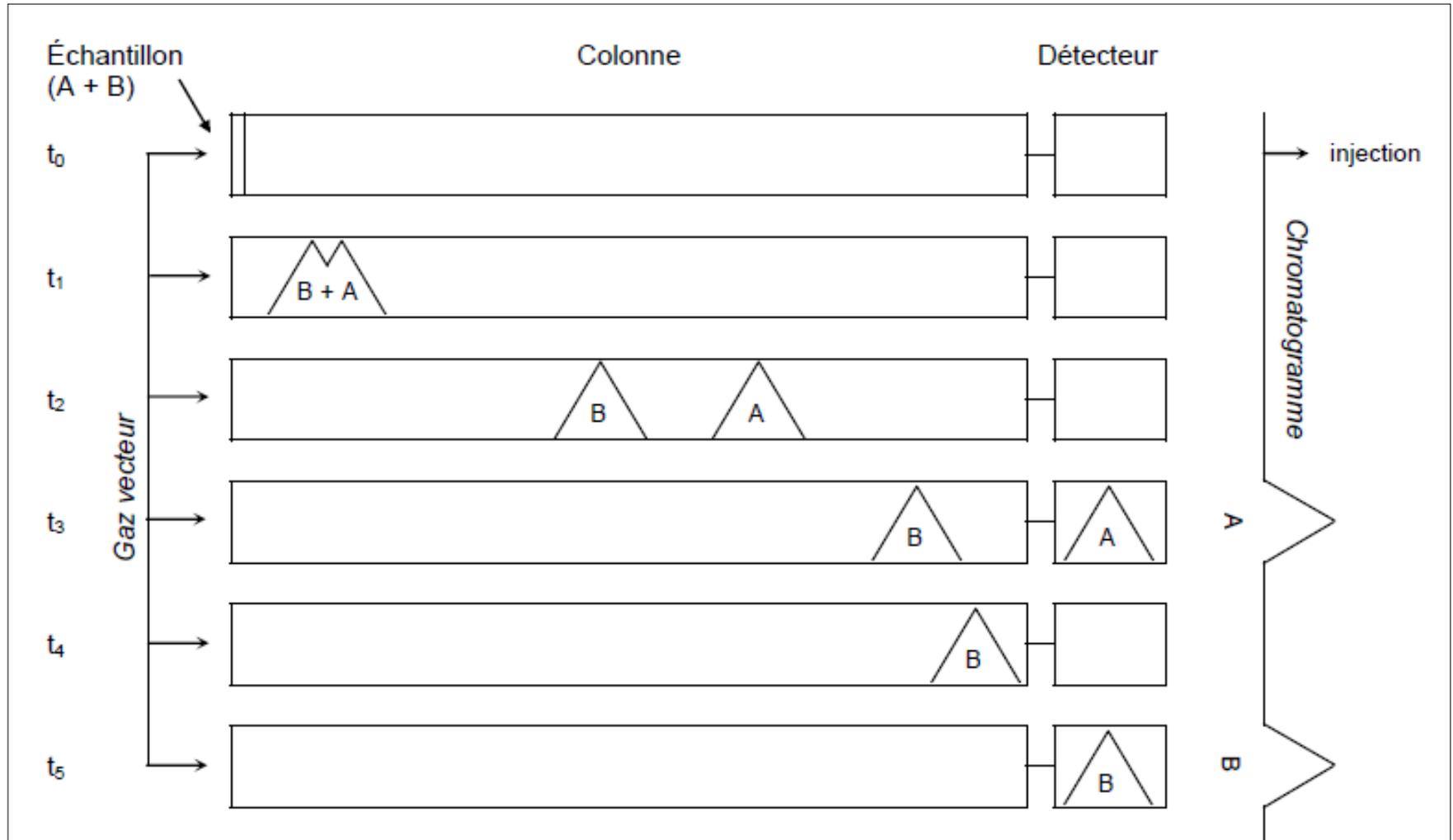
➤ Phase stationnaire liquide ou solide

➤ Phase mobile GAZEUSE

➤ La séparation exige des quantités de l'ordre de mg seulement ; parfois même de μg . (pg pour certains composés).

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 2- Principe de la CPG

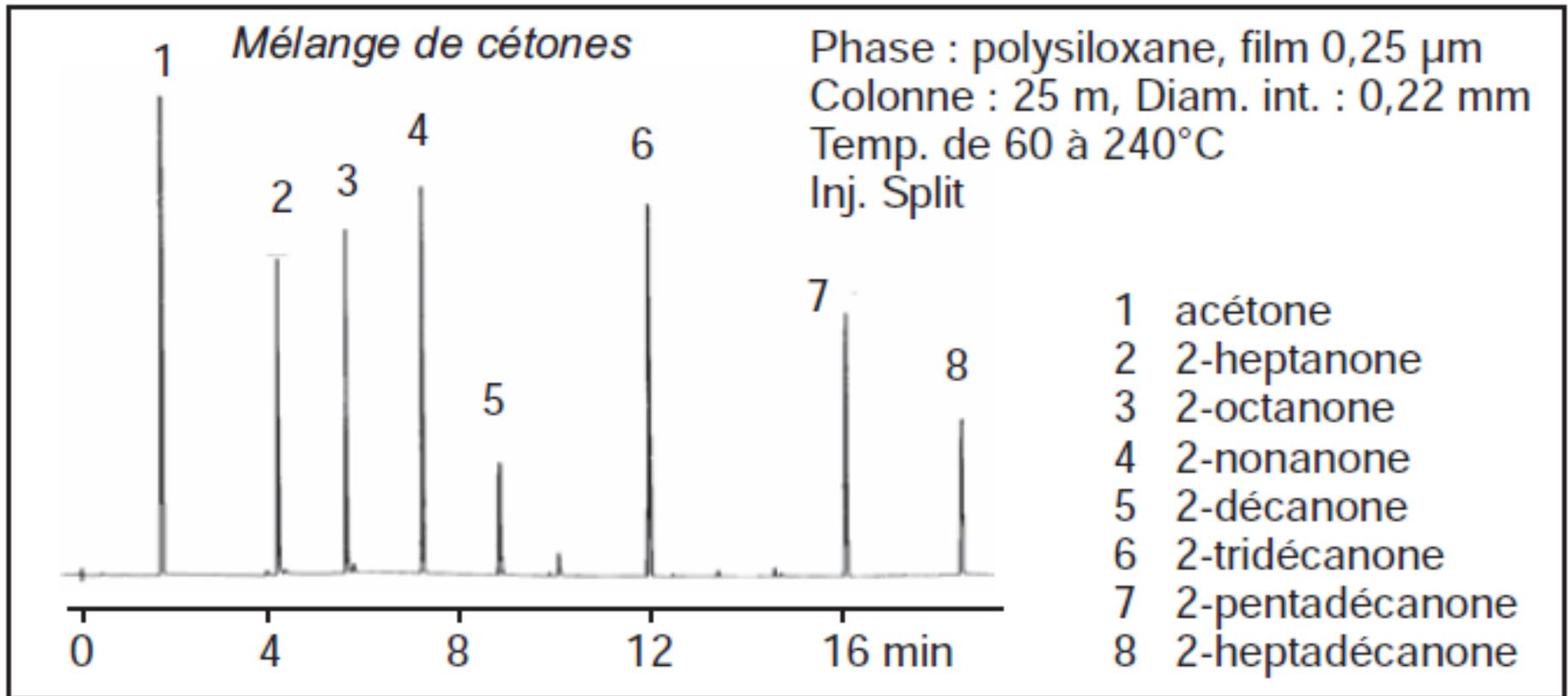


Séparation d'un mélange de deux composés en CPG

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 2- Principe de la CPG

Exemple de séparation d'un mélange de cétones



Chromatogramme d'un mélange de cétones.

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 3- Types de la CPG

Chromatographie gaz - solide (CGS) :

Chromatographie d'adsorption. Peu utilisée en raison des traînées dans les pics d'éluion provoquées par la non linéarité du processus d'adsorption.

Chromatographie gaz - liquide (CGL) :

Basée sur le partage des constituants à séparer, les solutés, entre une phase gazeuse mobile inerte appelée gaz vecteur et une phase liquide fixée sur la surface d'un support poreux inactif.

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

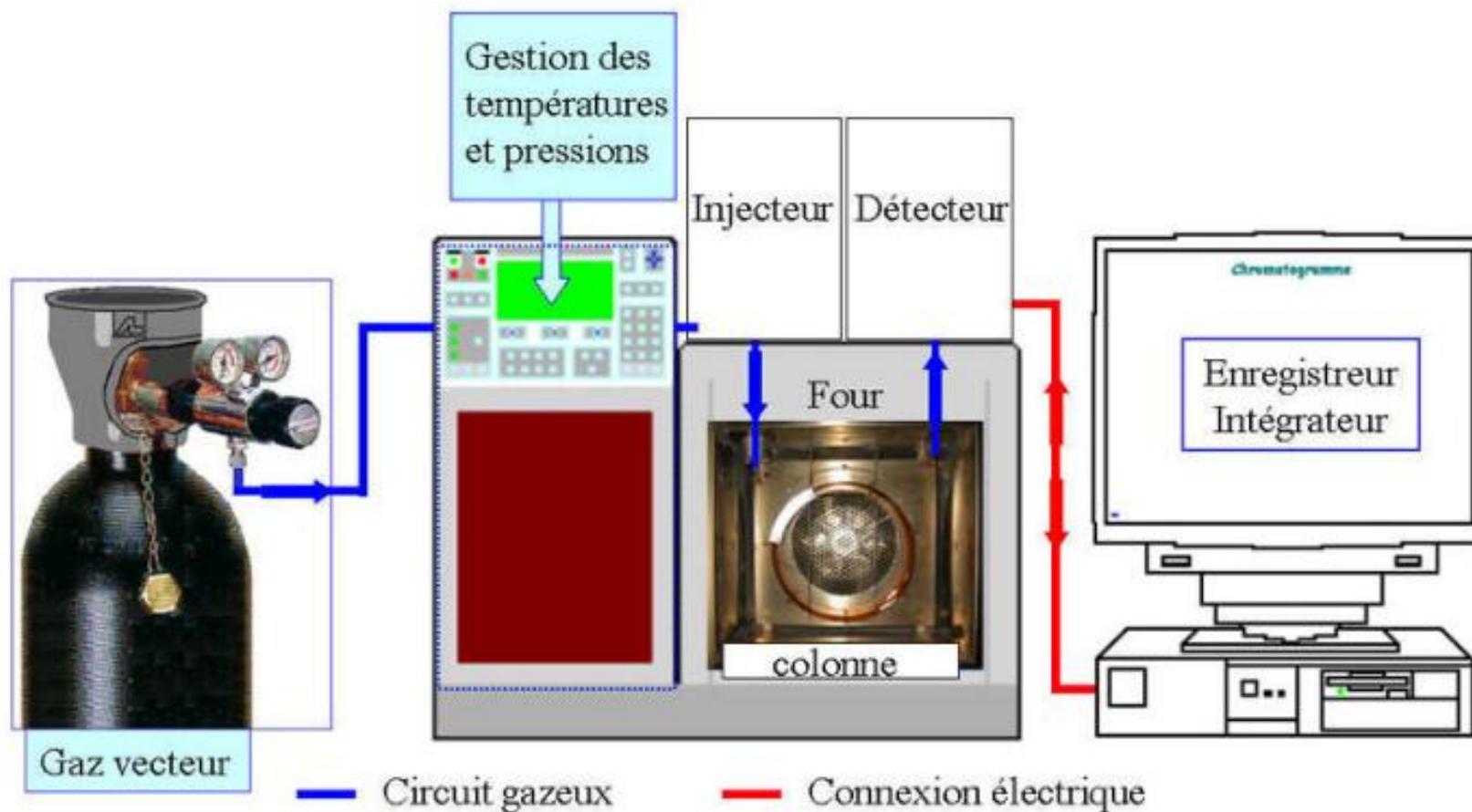


Schéma de fonctionnement d'une chaîne chromatographique gazeuse

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

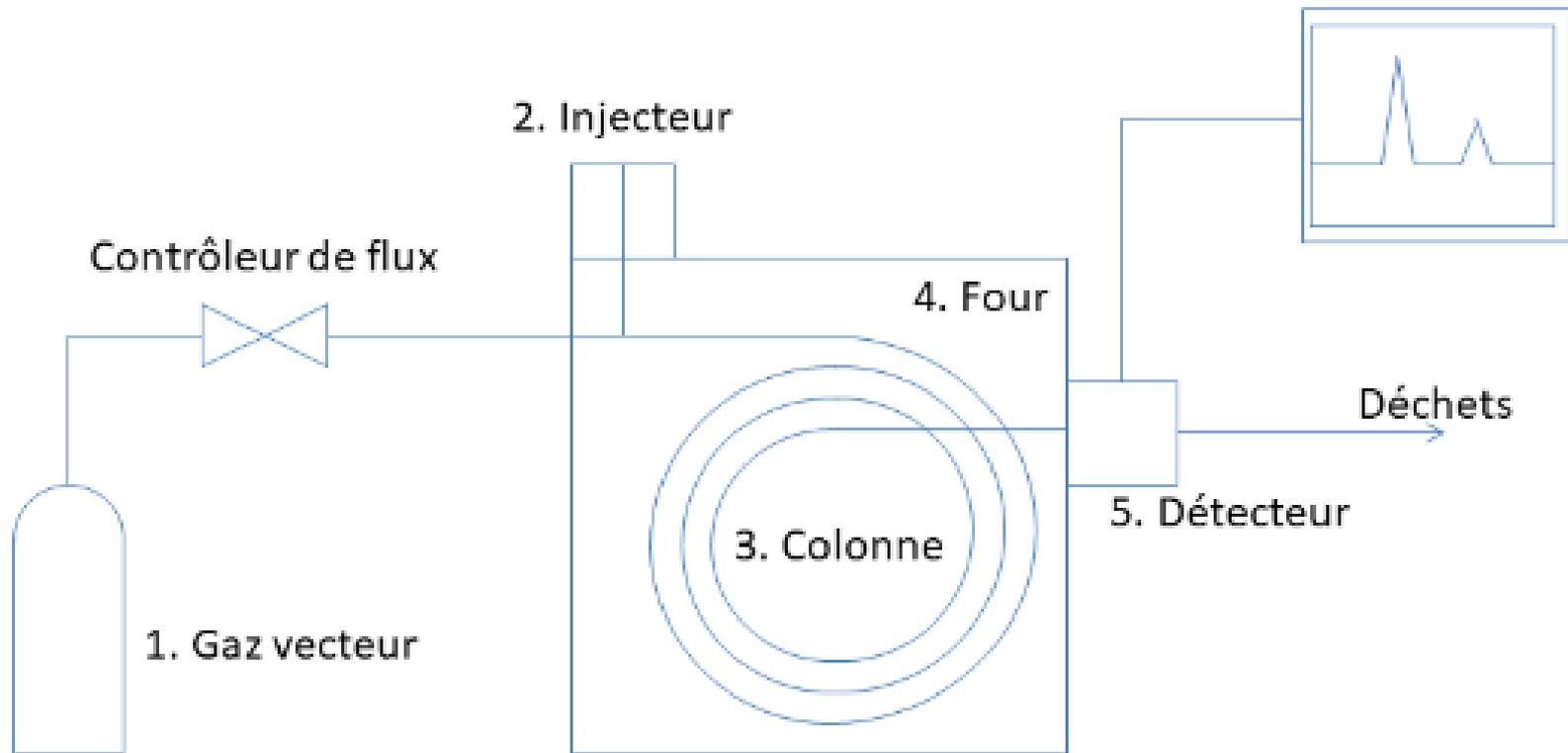


Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

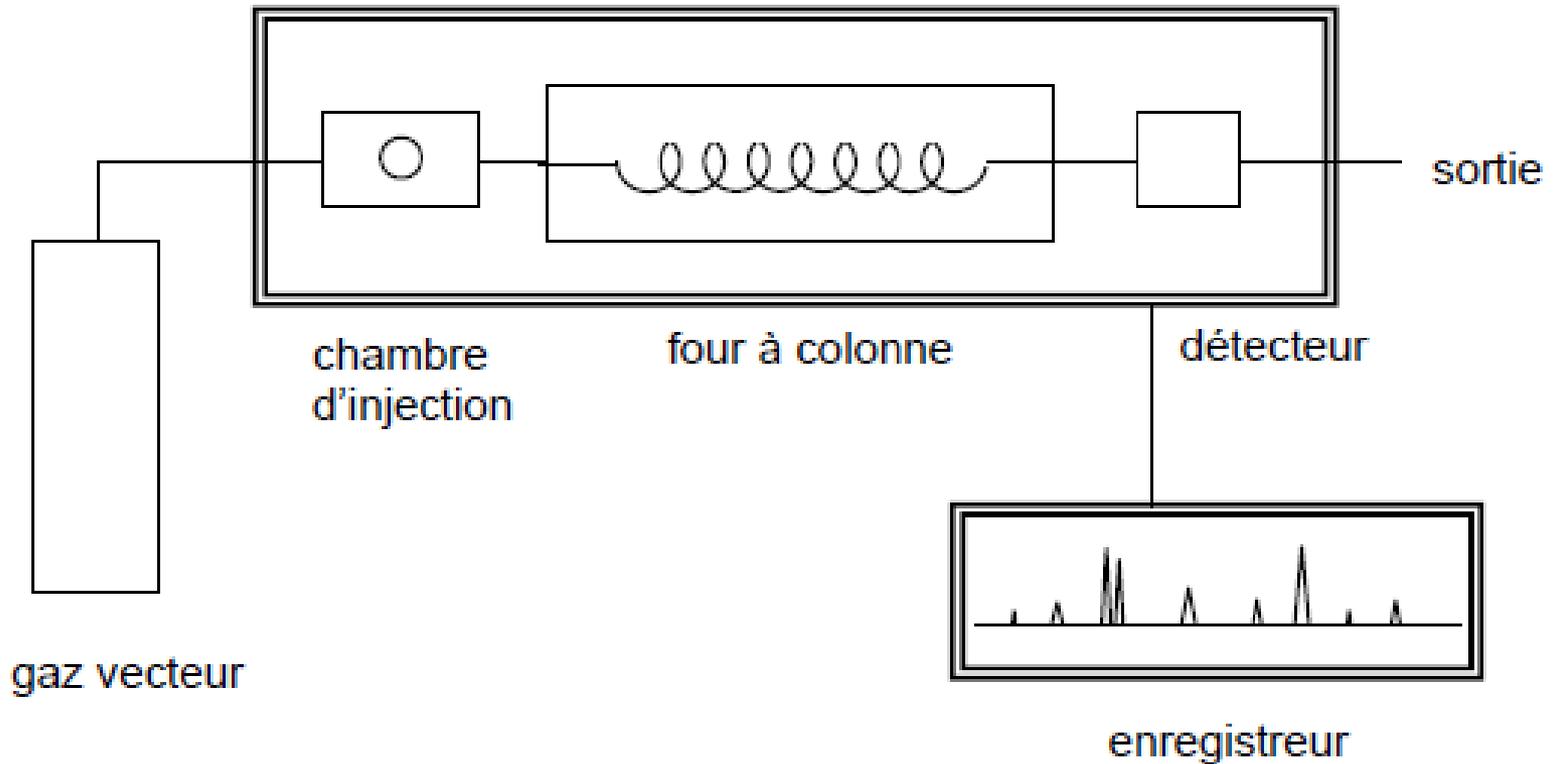


Schéma simplifié d'un chromatographe en phase gazeuse

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

II-4-1- Gaz vecteur

➤ **Nature** : Gaz inerte

- ✓ Hélium
- ✓ Diazote
- ✓ Argon
- ✓ Dihydrogène...

➤ **Propriété** : inerte vis-à-vis des solutés et des PS.

Il n'y a pas d'interaction entre le gaz et la phase stationnaire

Il n'y a pas d'interaction entre le gaz et les solutés

Le gaz doit être d'une très grande pureté

➤ **Choix du gaz vecteur** :

- ✓ Détecteur utilisé
- ✓ Coût de fonctionnement...

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

II-4-2- Système d'injection (Injecteur)

Permet l'introduction de l'échantillon dans le chromatographe, par l'intermédiaire d'une micro-seringue dont la capacité varie habituellement de 1 à 10 μL .

■ Rôle

- Interface permet d'introduire l'échantillon dans le chromatographe.
- Système de vaporisation (dans le cas d'un échantillon liquide ou solide).
- Organe de transfert dans la colonne chromatographique.



Seringue de 10 μL , utilisé en CPG.

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

II-4-3- Four

Enceinte thermostatée dans laquelle se trouve la colonne possédant un système de ventilation.



II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

II-4-3- Four

- Élément essentiel dans les chromatographes modernes
- Il doit posséder une excellente stabilité thermique (jusqu'à 450°C)
- Homogénéité de la température assurée par un ventilateur
- Programmeur de température
- Doit chauffer et refroidir très rapidement

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

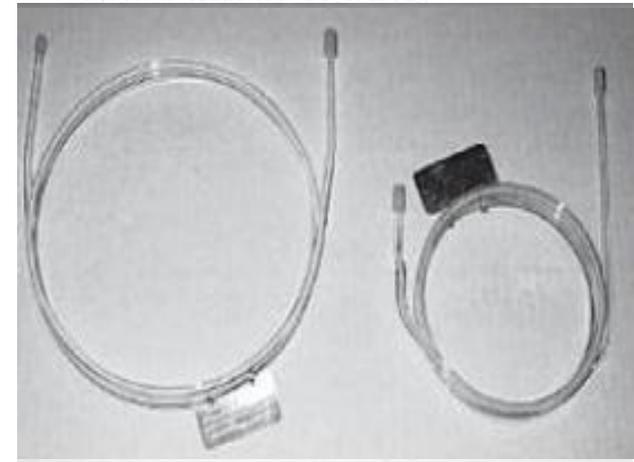
II-4-4- Colonne (PS)

• Deux principaux types de colonne en CPG

- **Les colonnes remplies**

- ✓ Verre, métal

- ✓ Courte (1 à 10 m) et épaisse (1 à 4 mm)



- **Les colonnes capillaires**

- ✓ Silice fondue

- ✓ Longue (10 à 100 m) et très fine (100 à 250 μm)



II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

II-4-5- Détecteur

● Les détecteurs sont des dispositifs qui rendent compte des changements de composition de l'éluant en sortie de colonne par la mesure de propriétés chimiques ou physiques.

● La réponse doit être aussi proportionnelle que possible à la quantité injectée.

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

II-4-5- Détecteur

● 3 types de détecteurs :

1. *Les détecteurs Universels* : Détecteur à conductivité thermique (DCT) ou catharomètre, Détecteur à ionisation de flamme (DIF).

2. *Les détecteurs Spécifiques* : Détecteur à capture d'électrons (DCE), Photomètre de flamme : (F.P.D.) ...etc

3. *Les détecteurs Couplés* :

Détecteur Infrarouge.

Détecteur de masse: GC-MS : spectromètre de basse résolution

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II- 4- Appareillage

II-4-5- Détecteur

• 2 types de réponse

- Proportionnelle au débit massique
- Proportionnelle à la concentration du soluté dans la phase mobile

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II-5- Optimisation de séparation

Plusieurs facteurs influence la séparation d'un mélange analysé par CPG

- ◆ La température
- ◆ Le débit du gaz vecteur
- ◆ La longueur de la colonne
- ◆ La nature de la phase stationnaire

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II-5- Optimisation de séparation

II-5-1- La température

La température est un paramètre majeur en GPG

Le volume de rétention V_R varie selon la loi :

$$\text{Log}(V_R) = (a/T) + b$$



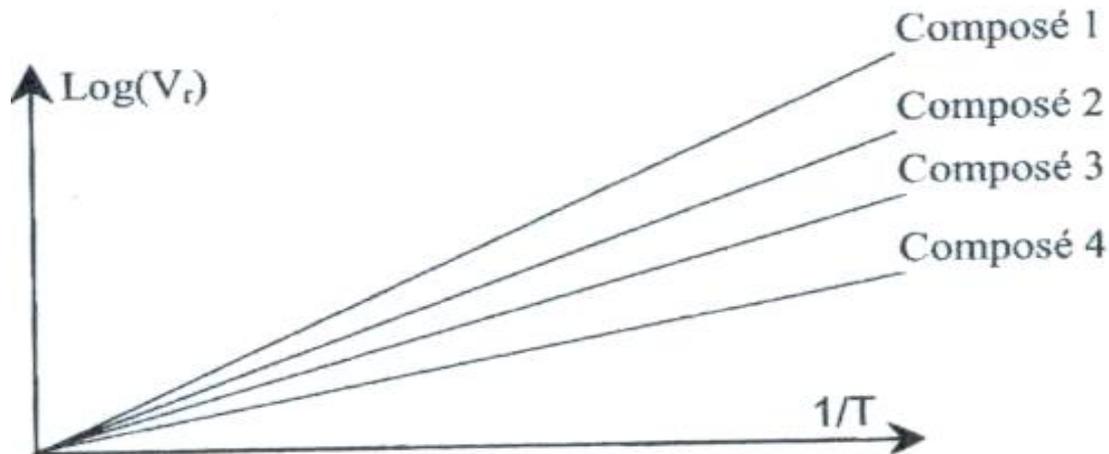
Si T augmente : le volume de rétention diminue et donc le temps de rétention diminue

II-Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II-5- Optimisation de séparation

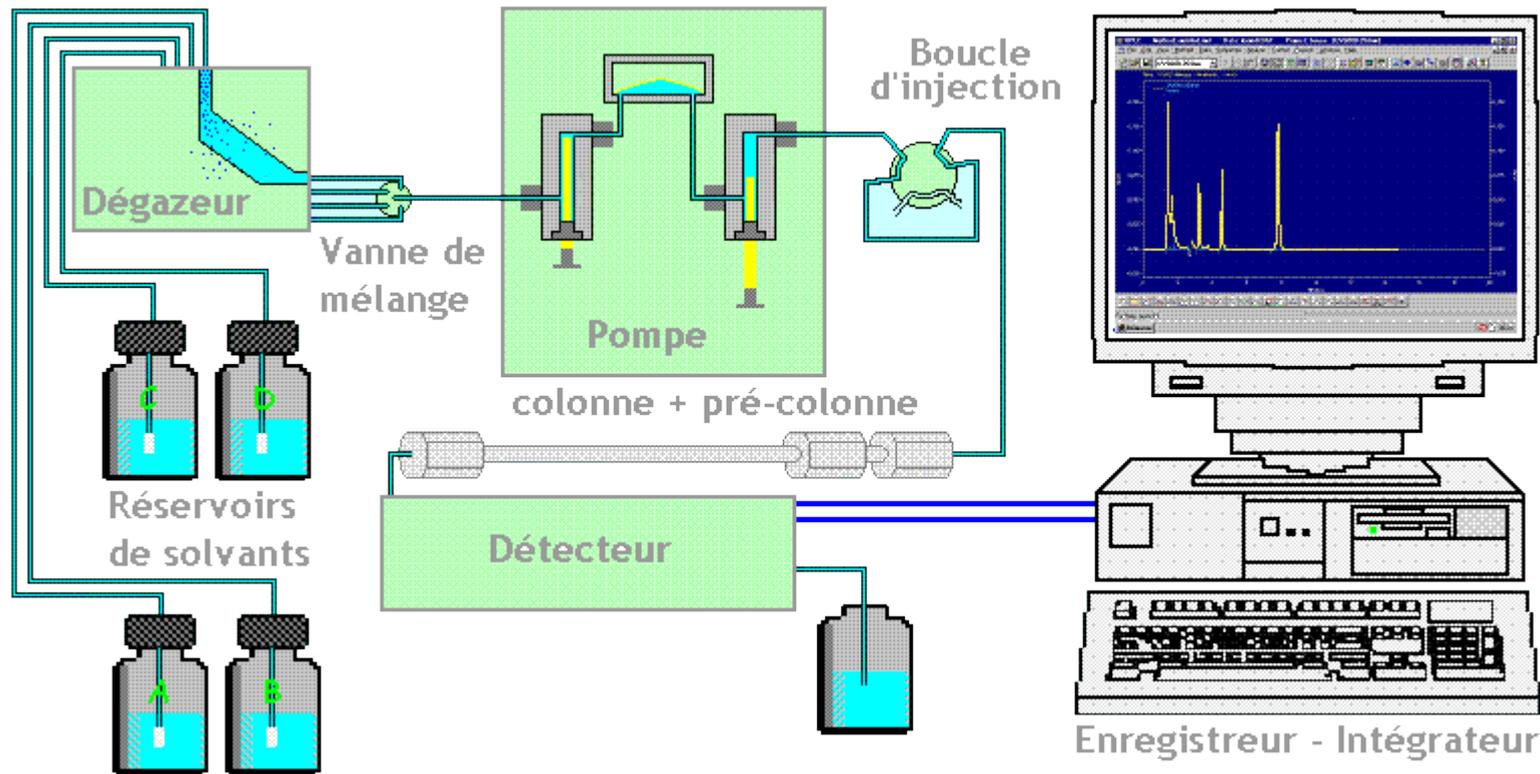
II-5-1- La température

Représentation de l'équation $\mathbf{Log(V_R) = (a/T) + b}$ pour une série de composés homologues



- Plus la température est forte, plus la séparation est rapide
- A très forte température, il n'y a plus de séparation

Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)



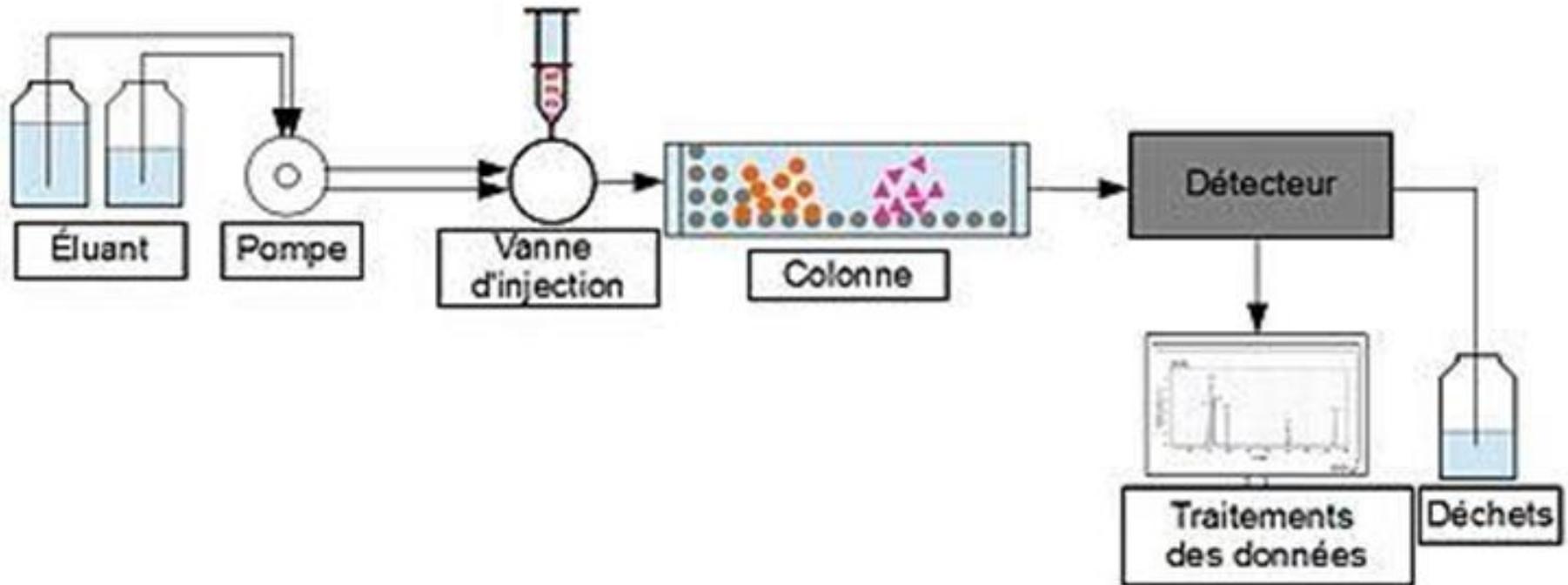
III- *Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)*

III-1- Généralités sur la HPLC

La chromatographie liquide haute performance, souvent désignée par son abréviation *CLHP* – *HPLC* en anglais –, constitue une technique analytique très générale d'emploi. Elle dérive de la forme la plus ancienne de la chromatographie liquide sur colonne dont les performances, en termes de sélectivité et de résolution, se sont trouvées grandement améliorées par la miniaturisation et l'utilisation de phases stationnaires très élaborées.

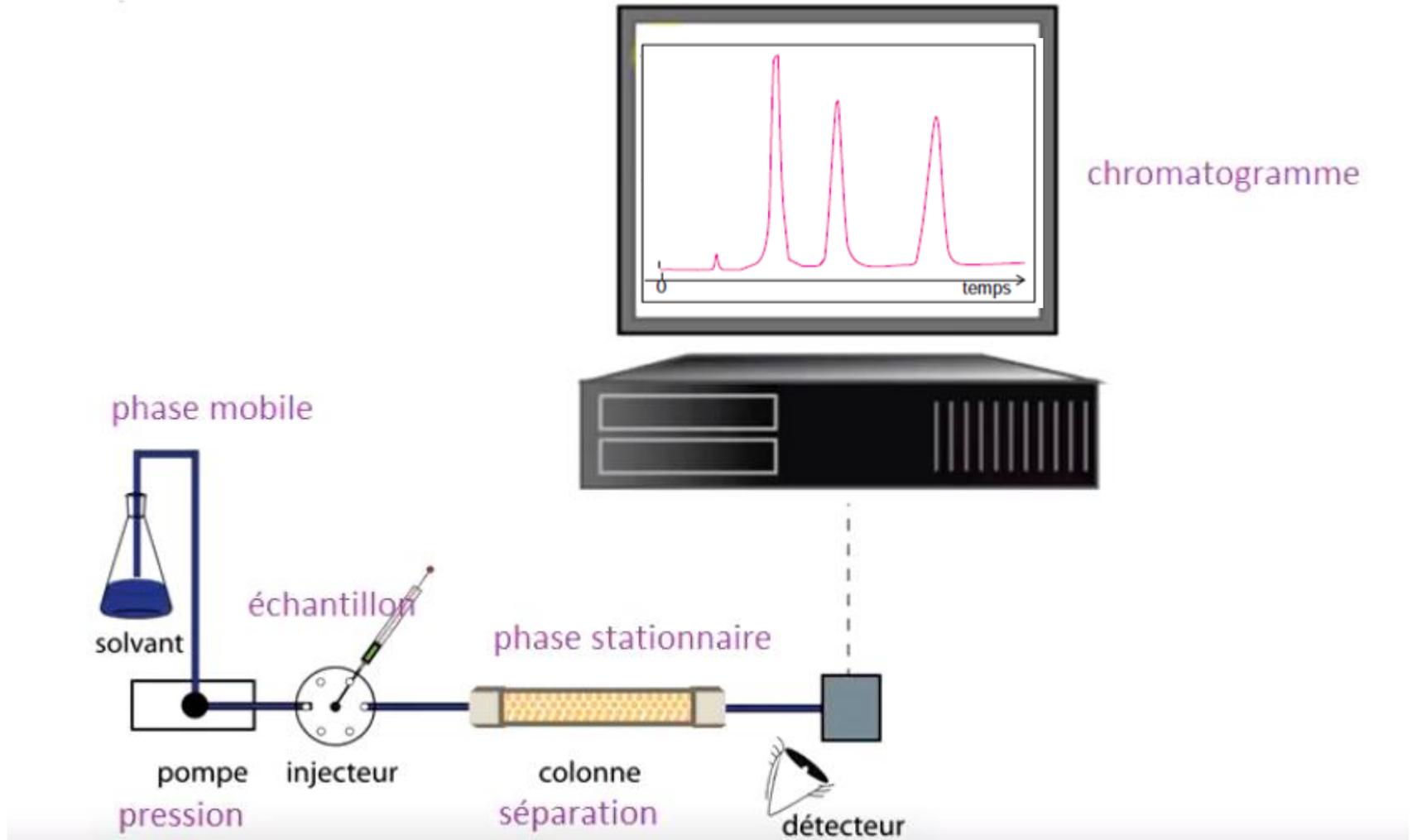
III- Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

III- 2- Principe de la HPLC



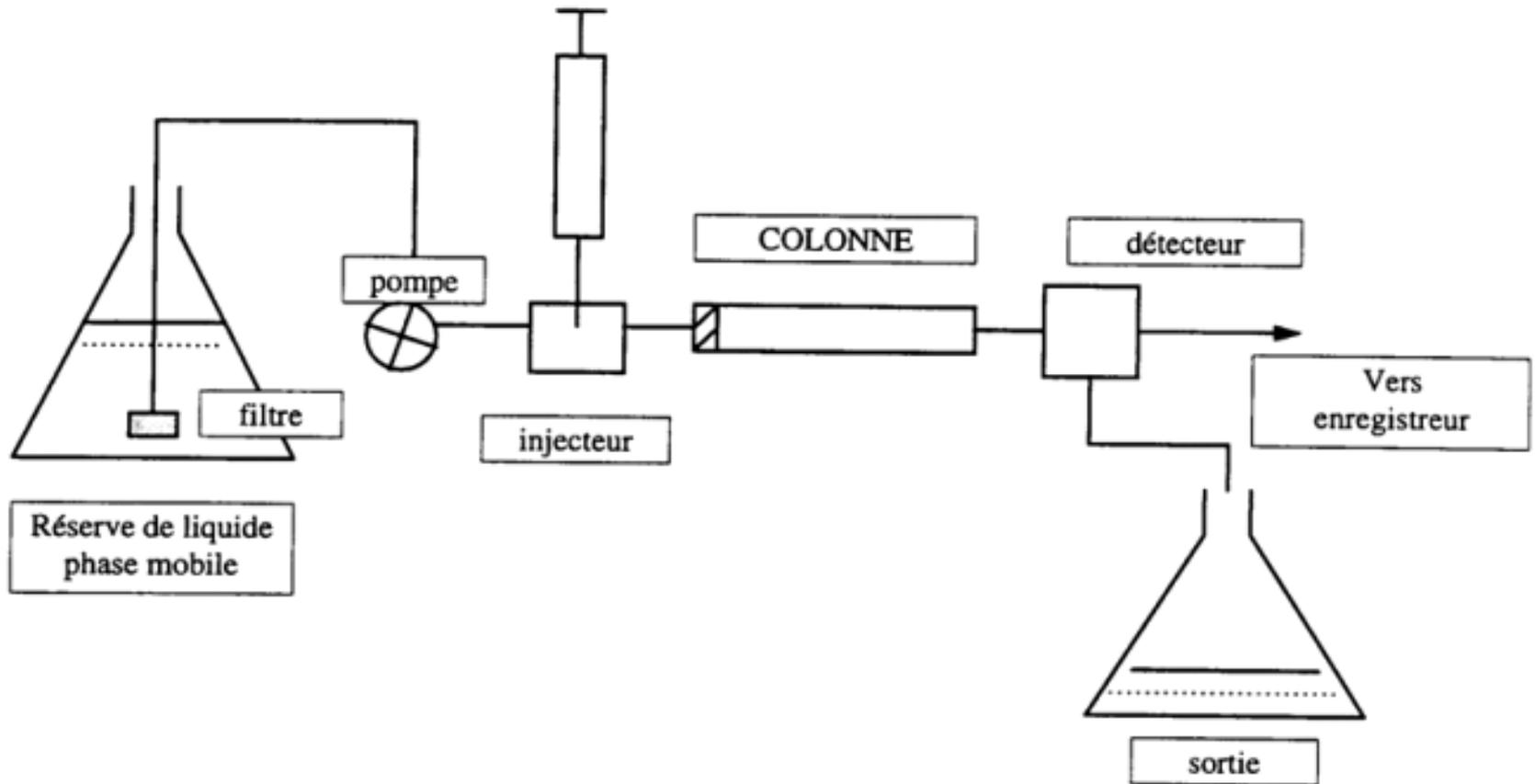
III- Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

III- 3- Appareillage



III- Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

III- 3- Appareillage



Principe de fonctionnement d'un HPLC

