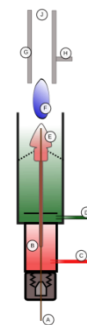


## 6- Détecteur :

### 6.1 Définition : Détecteur chromatographique

Un **détecteur chromatographique** est un instrument placé à la sortie de la colonne qui permet de **mesurer** la concentration des solutés présents dans l'effluent de la colonne. Il convertit cette mesure en un **signal électrique** proportionnel à la concentration du soluté, produisant ainsi un **chromatogramme**.



#### ■ Principe de la détection :

Le principe de la détection est basé sur la mesure d'une **propriété physique** ou **chimique** du soluté lorsque celui-ci passe dans le détecteur. Ces propriétés peuvent inclure :

- **Absorption de la lumière** (UV-visible)
- **Conductivité**
- **Réfractométrie**
- **Ionisation** ou **variation de la masse**.

Les variations dans ces propriétés sont converties en **signaux** par le détecteur, qui sont ensuite enregistrés sous forme de **chromatogramme**.

### 6.2 Les différents types de détecteurs en chromatographie :

Il existe plusieurs types de détecteurs utilisés en fonction du type de chromatographie et des propriétés des solutés. Les détecteurs peuvent être classés en deux catégories principales : **détecteurs universels** et **détecteurs spécifiques**.

a) Détecteurs pour Chromatographie en Phase Liquide (HPLC) :

#### 1. Détecteur UV-Visible (UV-Vis) :

- **Principe** : Mesure l'absorption de la lumière UV ou visible par les solutés. Les composés absorbant la lumière génèrent un signal proportionnel à leur concentration.
- **Avantages** : Sensible et largement utilisé pour les composés aromatiques ou conjugués.
- **Inconvénients** : Moins efficace pour les composés qui n'absorbent pas la lumière UV.

#### 2. Détecteur à Réfractométrie Différentielle (RID) :

- **Principe** : Mesure les variations de l'indice de réfraction entre la phase mobile pure et la phase mobile contenant le soluté.
- **Avantages** : Détecteur universel, fonctionne pour les composés qui n'absorbent pas la lumière UV.
- **Inconvénients** : Moins sensible que le détecteur UV-Vis.

#### 3. Détecteur de Fluorescence :

- **Principe** : Mesure l'émission de lumière par les solutés après excitation par une source lumineuse.
- **Avantages** : Très sensible et sélectif pour les composés fluorescents.

- **Inconvénients** : Limité aux composés fluorescents ou aux composés marqués par des agents fluorescents.

#### 4. Détecteur de Conductivité Electrochimique :

- **Principe** : Mesure la conductivité électrique de la solution en présence de composés ioniques.
- **Avantages** : Sensible pour les composés ioniques.
- **Inconvénients** : Nécessite une phase mobile conductrice.

#### b) Détecteurs pour Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) :

##### 1. Détecteur à Ionisation de Flamme (FID) :

- **Principe** : Brûle les solutés organiques dans une flamme d'hydrogène, générant des ions qui sont détectés comme un courant électrique.
- **Avantages** : Sensible pour les composés organiques. Détecteur universel pour les hydrocarbures.
- **Inconvénients** : Ne détecte pas les composés inorganiques ou non ionisables.

##### 2. Détecteur à Capture d'Électrons (ECD) :

- **Principe** : Mesure la capture d'électrons par les composés électronégatifs (souvent des halogènes).
- **Avantages** : Très sensible pour les pesticides, PCB, et autres composés halogénés.
- **Inconvénients** : Sélectif pour certains composés.

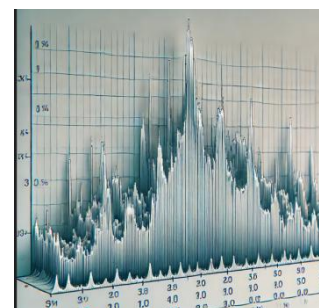
##### 3. Détecteur de Masse (MS) :

- **Principe** : Ionise les solutés et les sépare en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ).
- **Avantages** : Très sensible et permet l'identification précise des composés.
- **Inconvénients** : Complexe et coûteux.

**Conclusion : Résultats de la détection : Le chromatogramme** Un chromatogramme est le graphique produit par le détecteur. Il représente le **signal** en fonction du **temps**.

### 6.1 Chromatogramme

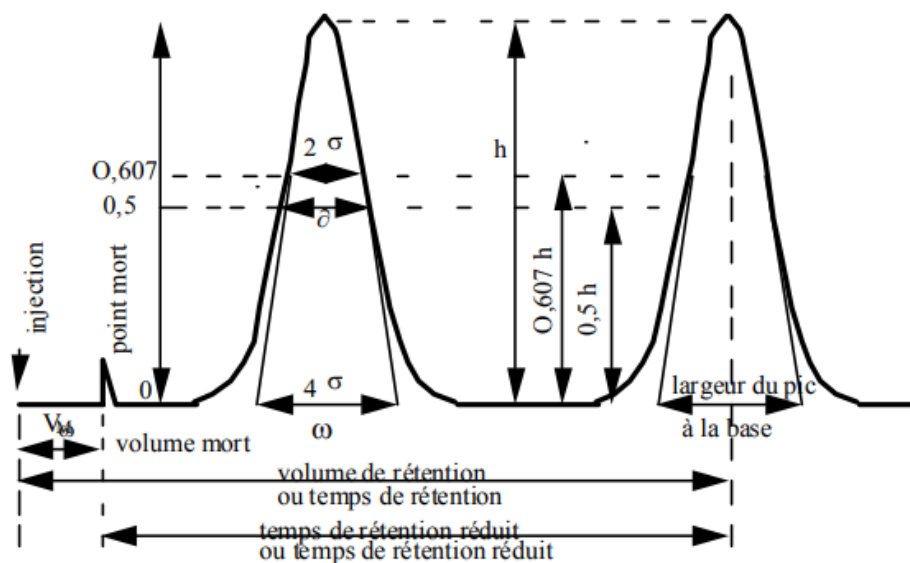
Un chromatogramme est le résultat graphique d'une analyse chromatographique, permettant de visualiser la séparation des composants d'un mélange en fonction de leur temps de rétention dans la colonne. Voici une explication détaillée de ses éléments et de la façon de l'interpréter.



#### (a) Définition d'un Chromatogramme

Un chromatogramme est une représentation graphique où l'intensité du signal détecté (généralement par un détecteur UV, de fluorescence, ou de masse) est tracée en fonction du

temps. Il permet d'observer la séparation des composés d'un mélange, chaque composé apparaissant sous la forme d'un pic distinct.



### Chromatogramme : Variations et Axe des Coordonnées

Dans un chromatogramme, l'axe des **ordonnées** représente l'intensité du signal détecté, qui est souvent relié à la concentration ou à la quantité d'un composé dans l'échantillon. L'axe des **abscisses** représente le temps, et chaque pic sur le chromatogramme correspond à un moment précis de détection, c'est-à-dire au temps de rétention du composé.

- **Variation du signal en fonction du temps** : Le chromatogramme montre comment le signal détecté varie en fonction du temps, où chaque pic apparaît au moment où un composant spécifique est détecté.
- **Interprétation des résultats** : En comparant les temps de rétention obtenus aux temps de rétention connus pour des composés standards, on peut identifier chaque pic.

### Signification d'une Ligne Droite (Absence de Pics)

- Une ligne droite sur un chromatogramme (absence de pics) signifie qu'aucun composé n'a été détecté pendant cette période. Cela peut indiquer une phase où il n'y a pas de composants retenus par la phase stationnaire ou une période où les composants sont soit très faiblement concentrés, soit indétectables par le détecteur utilisé.
- Une ligne droite peut également apparaître avant l'injection de l'échantillon, pendant la période d'équilibrage ou de stabilisation du signal.

### ■ Identification des Composés

Pour déterminer l'identité d'un composé :

- ✓ **Temps de rétention** : Le premier indicateur est le temps de rétention du pic. En le comparant à des standards connus, il est possible de faire une première identification.
- ✓ **Analyse du spectre ou d'autres caractéristiques** : Dans certaines techniques (comme la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse), le spectre de chaque pic peut être analysé pour fournir une identification plus précise.
- ✓ **Intensité du pic** : L'intensité et la forme du pic peuvent aussi donner des indices sur la nature et la concentration du composé.

En conclusion, le chromatogramme est une méthode puissante pour analyser et quantifier les composants d'un mélange, chaque pic correspondant à un composé distinct et son temps de rétention aidant à identifier les composés en comparaison avec des standards.

❖ **Temps de rétention ( $t_R$ ):** Le **temps de rétention** est le temps écoulé entre l'injection de l'échantillon dans la colonne chromatographique et l'apparition du pic correspondant au soluté détecté. Il représente le temps nécessaire pour que le soluté migre à travers la colonne sous l'influence de la phase mobile : **Interprétation** : Un temps de rétention élevé indique que le soluté a interagi plus longuement avec la phase stationnaire, tandis qu'un temps de rétention court indique une interaction faible.

❖ **Volume de rétention ( $V_R$ ):** Le **volume de rétention** est le volume de phase mobile nécessaire pour éluier (faire sortir) un soluté spécifique de la colonne. Il est calculé en multipliant le temps de rétention par le débit volumétrique de la phase mobile (F) :

$$V_R = t_R \times F$$

$$V_R = t_R \times v \times s$$

- (v): vitesse lineaire de la phase mobile
- (s) : section reduite de la colonne
- $s = s' \times \varepsilon$
- (s') : section de la colonne

$$\varepsilon = V_M / V_T$$

- $\varepsilon$ : porosité

$$V_M = F \times t_0$$

❖  **$V_M$ : volume de la phase mobile dans la colonne**

- les espaces non retenues par la phase stationnaire apparaissent dans l'effluent après le temps ( $t_0$ ) correspondant à l'écoulement du volume interstitiel de la colonne ou volume de phase mobile ( $V_M$ ) contenu dans la colonne.

Le volume de rétention ( $V_R$ ) est relié directement au coefficient de distribution K par la relation :

$$V_R = V_M + K \cdot V_S$$

( $V_S$ ) : volume de la phase stationnaire (ou masse ou surface spécifique selon les unités de K) ; cette relation ne s'applique que dans le cas d'éluition linéaire c'est-à-dire quand K varier linéairement avec la concentration du compose dans chaque phase.

❖ **Définition du temps mort ( $t_0$ ) :**

- *Le temps mort est aussi appelé temps de passage du volume interstitiel ou temps d'écoulement de la phase mobile.*
- *Les molécules non retenues sont celles qui n'ont aucune interaction ou une interaction négligeable avec la phase stationnaire. Elles se déplacent donc uniquement avec la phase mobile.*

(c) **Volume interstitiel (Volume mort ou  $V_M$ ) :**

**Exemple :**

*Si vous effectuez une chromatographie et observez un pic très précoce à un temps  $t_0=2\text{min}$ , cela signifie que la phase mobile a mis 2 minutes pour traverser la colonne. Les*

solutés qui ont des interactions avec la phase stationnaire apparaîtront après cette période, par exemple à  $t_R=5$ ,  $t_R=7$ min, etc.

En résumé,  $t_0$  vous donne une idée de la **vitesse** de la phase mobile et sert de **référence** pour estimer le temps de rétention réel des solutés qui interagissent avec la phase stationnaire.

$\omega$  : largeur du pic a la base, distance entre les points d'intersection des tangents au point d'inflexion avec la ligne de base

$\delta$  : largeur du pic a mi-hauteur

#### ❖ Temps de rétention réduit ( $t_{R'}$ )

Le **temps de rétention réduit** est défini comme le temps de rétention du soluté moins le temps mort ( $t_M$ ) :

$$t_{R'} = t_R - t_M$$

- **Interprétation** : Il représente le temps pendant lequel le soluté interagit effectivement avec la phase stationnaire, en excluant le temps que la phase mobile met pour traverser la colonne.

#### ❖ Volume de rétention réduit ( $V_{R'}$ )

Le **volume de rétention réduit** est calculé de la même manière que le temps de rétention réduit, en tenant compte du volume mort ( $V_M$ ) :

$$V_{R'} = V_R - V_M$$

- **Interprétation** : Il correspond au volume de phase mobile que le soluté a parcouru en interagissant avec la phase stationnaire.

#### ❖ Point mort (Temps mort ou Temps mort ( $t_M$ ))

Le **point mort** ou **temps mort** est le temps nécessaire à une molécule non retenue (ou peu retenue) par la phase stationnaire pour traverser la colonne. Ce temps est pris comme référence pour calculer le temps de rétention réduit :

- **Interprétation** : Il représente le temps que met un composé non retenu (n'interagissant pas avec la phase stationnaire) à parcourir la colonne, et donne une idée de la vitesse de la phase mobile.

#### ❖ Volume mort ( $V_M$ )

Le volume mort correspond au volume de phase mobile nécessaire pour traverser la colonne sans interaction avec la phase stationnaire.

$$V_M = F \times t_M$$

- **F** : débit volumétrique de la phase mobile (mL/min).
- **$t_M$**  : temps mort (en minutes).

Si on connaît la section de la colonne et la vitesse de la phase mobile, on peut exprimer le volume mort par :

$$V_M = V \times S \times \epsilon$$

- **S** : section transversale de la colonne, avec  $r$  le rayon de la colonne.
- **V** : vitesse linéaire de la phase mobile

- $\epsilon$  : porosité de la colonne, qui représente la fraction du volume occupé par la phase mobile.

#### ❖ Section réduite de la colonne

La section réduite de la colonne fait référence à la surface de la colonne prise en compte après la réduction par la présence de particules de la phase stationnaire.

#### (b) Coefficient de partage (K)

Le **coefficient de partage** (*Coefficient de distribution*) est le rapport entre la concentration du soluté (analyte) dans la phase stationnaire ( $C_s$ ) et dans la phase mobile ( $C_m$ ) :

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

- **Interprétation** : Un coefficient de partage élevé signifie que le soluté a une forte affinité pour la phase stationnaire, augmentant ainsi le temps de rétention.

#### ■ Analyse du Chromatogramme : Identification et Quantification des Analytes

a) Identification :

- **Temps de rétention:**

- Le **temps de rétention** est le temps nécessaire pour qu'un analyte atteigne le détecteur après injection.
- Chaque composé a un temps de rétention spécifique, qui dépend de ses interactions avec la phase stationnaire et la phase mobile.
- En comparant le  $t_{Rt\_RtR}$  d'un pic avec celui d'une **substance standard** connue, on peut identifier l'analyte.

- **Comparaison avec des standards :**

- On injecte des solutions standards (échantillons de référence) et on compare leurs temps de rétention avec ceux des analytes de l'échantillon pour les identifier.

b) Quantification :

Pour quantifier la concentration des analytes, deux méthodes sont principalement utilisées :

- **Méthode de la hauteur du pic** : on utilise la hauteur du pic ( $h$ ) pour estimer la concentration si la relation est linéaire.
- **Méthode de la surface du pic** : La **surface du pic** ( $A$ ) est calculée comme l'intégrale du pic (aire sous la courbe).