

## 7- Colonnes/ phase stationnaire/ Nombre de plateaux théoriques

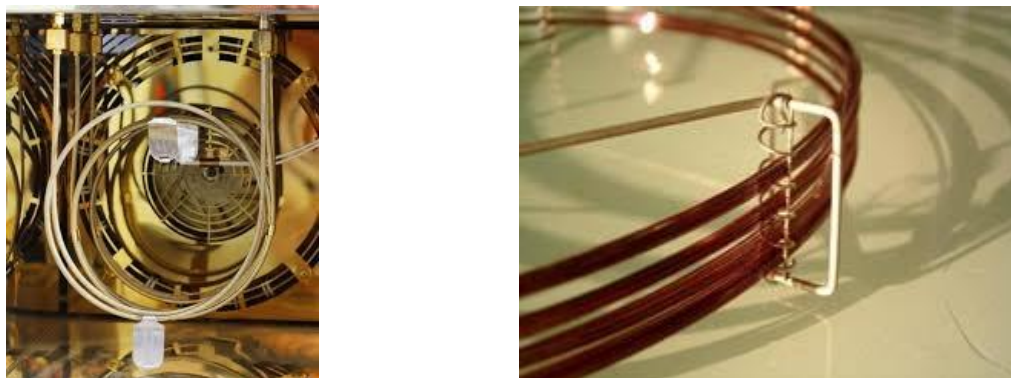


Fig : Colonnes chromatographie

## 7.1. Colonne Chromatographique

Une colonne chromatographique est un tube cylindrique contenant la **phase stationnaire**, par laquelle la **phase mobile** transporte les analytes. La colonne est essentielle pour la séparation des composés dans un mélange.

## a) Types de Colonnes

- **Colonnes remplies (packed columns) :**
  - Utilisées en chromatographie liquide (HPLC) et en chromatographie en phase gazeuse (GC).
  - Elles sont remplies de particules de **phase stationnaire** ou de matériau support recouvert de phase stationnaire.
  - Diamètre interne typique : 2-4 mm, longueur : 10-30 cm pour HPLC.
- **Colonnes capillaires (open tubular columns) :**
  - Principalement utilisées en chromatographie en phase gazeuse (GC).
  - Tube capillaire avec une fine couche de **phase stationnaire** sur la paroi interne.
  - Diamètre interne : 0,1-0,5 mm, longueur : 10-100 m.

## b) Paramètres de la colonne

- **Longueur de la colonne (L) :** Affecte le nombre de plateaux théoriques et la résolution de la séparation.
- **Diamètre interne :** Plus le diamètre est petit, meilleure est la résolution, mais cela peut entraîner une augmentation de la pression.
- **Type de matériau :** Acier inoxydable, verre, ou polymères, en fonction des besoins analytiques.

## 7.2 Phase Stationnaire

La **phase stationnaire** est le composant de la colonne avec lequel les analytes interagissent. Elle peut être solide ou liquide (supportée par un solide) et détermine le mécanisme de séparation.

#### a) Types de Phases Stationnaires

- **Phase stationnaire polaire :**
  - Capable de retenir les composés polaires.
  - Exemple : Silice (SiO<sub>2</sub>), cyano (CN).
- **Phase stationnaire apolaire :**
  - Capable de retenir les composés apolaires.
  - Exemple : C18 (octadécylsilane, ODS), C8.
- **Phase stationnaire chirale :**
  - Utilisée pour séparer des énantiomères.
  - Composée de matériaux qui interagissent différemment avec chaque énantiomère.

#### b) Choix de la Phase Stationnaire

- Dépend de la nature des analytes et de l'objectif de la séparation.
- Une phase stationnaire apolaire est choisie pour les composés apolaires, et une phase polaire pour les composés polaires.

### 7.3 Nombre de Plateaux Théoriques (N)

Le **nombre de plateaux théoriques** est une mesure de l'efficacité de la colonne chromatographique. Il reflète le degré de séparation que la colonne peut atteindre.

#### a) Définition

- Le nombre de plateaux théoriques (N) indique le nombre de zones d'équilibre dans une colonne où l'analyte se distribue entre la phase mobile et la phase stationnaire.
- Plus N est élevé, plus la séparation est efficace et plus les pics chromatographiques sont étroits.

#### b) Formule de Calcul

Le nombre de plateaux théoriques est calculé par :

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{\sigma} \right)^2 = 5.54 \left( \frac{t_R}{\delta} \right)^2$$

#### c) Hauteur Équivalente d'un Plateau Théorique (HEPT ou H)

- La **HEPT** ou **H** est une autre mesure de l'efficacité de la colonne, donnée par :

$$\text{HEPT} = \frac{L}{N}$$

- **L** : Longueur de la colonne.
- Plus la valeur de H est petite, meilleure est l'efficacité de la colonne.

#### d) Facteurs influençant N et H

- **Taille des particules** : Des particules plus petites augmentent N.

- **Longueur de la colonne** : Une colonne plus longue augmente  $N$ , mais peut nécessiter une pression plus élevée.
- **Débit de la phase mobile** : Un débit optimal maximise  $N$ .

#### e) Applications du Nombre de Plateaux Théoriques

- **Évaluation de la performance** :  $N$  est utilisé pour comparer l'efficacité des colonnes.
- **Optimisation de la séparation** : Les paramètres de la colonne peuvent être ajustés pour maximiser  $N$ .
- **Qualité des pics chromatographiques** : Une valeur  $NNN$  élevée correspond à des pics plus étroits et mieux définis.

#### ■ Exemple d'Application : Séparation de l'Aniline et du Toluène

Supposons que nous analysons un mélange d'aniline et de toluène. Le chromatogramme montre deux pics distincts, avec :

- **Temps de rétention** pour l'aniline  $t_R=5.2\text{min}$ .
- **Temps de rétention** pour le toluène  $t_R 7.8 \text{ min}$ .
- **Largeur à mi-hauteur** de l'aniline  $\omega_{1/2}= 0.12 \text{ min}$ .
- **Largeur à mi-hauteur** du toluène  $\omega_{1/2}=0.15 \text{ min}$ .
- En appliquant la formule  $N$

#### • Conclusion

- La compréhension des paramètres de la colonne, de la phase stationnaire et du nombre de plateaux théoriques est cruciale pour optimiser une méthode chromatographique. L'efficacité de la colonne peut être ajustée en modifiant des paramètres tels que la taille des particules, la longueur de la colonne et le débit de la phase mobile, pour obtenir des séparations optimales et des résultats analytiques précis.

#### f) Facteur de Symétrie

##### ■ Définition

Le facteur de symétrie (ou facteur d'asymétrie) est une mesure de la forme d'un pic chromatographique. Idéalement, un pic chromatographique doit être symétrique et en forme de gaussienne, mais en pratique, les pics peuvent être asymétriques. Le facteur de symétrie ( $A_s$ ) permet de quantifier cette déviation par rapport à la symétrie idéale.

##### ■ Formule

Le facteur de symétrie est donné par:

$$A_s = \frac{b}{a}$$

- ▣ **a**: Distance du début du pic jusqu'au point d'inflexion gauche (mesuré à 10 % de la hauteur du pic).
- ▣ **b** : Distance de la fin du pic jusqu'au point d'inflexion droit (mesuré à 10 % de la hauteur du pic).

##### ■ Interprétation

- **As=1** : Le pic est parfaitement symétrique.
- **As>1** : Le pic est étalé à droite (queue de pic ou "tailing").
- **As<1**: Le pic est étalé à gauche (front de pic ou "fronting").

#### ■ Importance

- **Optimisation** : Un facteur de symétrie proche de 1 est souhaitable pour une bonne séparation et une quantification précise des analytes.
- **Diagnostic** : Un pic asymétrique peut indiquer des problèmes de colonne chromatographique, comme une surcharge d'échantillon ou des interactions indésirables avec la phase stationnaire.

#### ■ Exemples d'utilisation

En chromatographie HPLC et GC, le facteur de symétrie est utilisé pour évaluer la qualité des pics. Des facteurs de symétrie élevés (ex.  $As > 2$ ) peuvent nécessiter une optimisation des conditions chromatographiques ou un nettoyage de la colonne.

### (g) Facteur de Capacité (ou Facteur de Rétention) en Chromatographie

Le facteur de capacité, également appelé facteur de rétention (symbolisé par  $k'$ ), est une mesure fondamentale utilisée en chromatographie pour décrire le comportement d'un analyte lors de la séparation. Il indique combien de temps une molécule passe dans la phase stationnaire par rapport à la phase mobile. C'est un paramètre essentiel pour évaluer l'efficacité de la séparation.

■ **Définition** : Le facteur de capacité  $k'$  est défini comme le rapport entre le temps que passe un soluté dans la phase stationnaire et le temps qu'il passe dans la phase mobile. Il est également interprété comme le nombre de fois qu'une molécule interagit avec la phase stationnaire avant d'être éluée : La formule du facteur de capacité est donnée par :

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

- $t_R$  : Temps de rétention du soluté (temps pris par le soluté pour être élué de la colonne).
- $t_0$  : Temps mort ou temps de rétention du composé non retenu (c'est le temps nécessaire à la phase mobile pour traverser la colonne sans interaction avec la phase stationnaire).

#### ■ Principe

- Si  $k' = 0$ , le composé n'est pas retenu et s'écoule directement avec la phase mobile.
- Si  $k'$  est élevé, cela signifie que le soluté interagit fortement avec la phase stationnaire et passe plus de temps dans celle-ci, augmentant ainsi le temps de rétention.
- En général, une valeur optimale de  $k'$  se situe entre **1 et 10** pour garantir une bonne séparation sans prolonger excessivement le temps d'analyse.

#### ■ Exemple

Prenons un exemple simple pour illustrer le calcul du facteur de capacité :

Supposons que lors d'une analyse chromatographique, nous avons les données suivantes :

- **(temps de rétention du soluté)** : 10 minutes

- **(temps mort)** : 2 minutes

Le facteur de capacité  $k' = 4$  : Cela signifie que le soluté passe 4 fois plus de temps dans la phase stationnaire que dans la phase mobile.

#### ■ Importance du Facteur de Capacité

- **Évaluation de l'efficacité** : Un  $k'$  trop faible indique une mauvaise rétention, ce qui peut entraîner un chevauchement des pics. Un  $k'$  trop élevé allonge le temps d'analyse inutilement.
- **Optimisation de la séparation** : Le facteur de capacité aide à ajuster les conditions chromatographiques (type de phase stationnaire, choix de la phase mobile) pour obtenir une séparation efficace des composés.
- **Comparaison de méthodes** : En utilisant le facteur de capacité, on peut comparer différentes colonnes et phases mobiles pour évaluer laquelle offre une meilleure rétention et séparation.

#### ■ Relation avec d'autres paramètres chromatographiques

Le facteur de capacité est souvent utilisé en conjonction avec d'autres paramètres tels que le **facteur de sélectivité** ( $\alpha$ ) et le **nombre de plateaux théoriques** (N) pour décrire et optimiser le processus de séparation.

- **Facteur de sélectivité** ( $\alpha$ ) : Défini par le rapport des facteurs de capacité de deux composés, il permet d'évaluer la résolution entre deux pics.

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} \quad [k'_2 > k'_1]$$

#### ■ Exemples d'application

- **Chromatographie en phase liquide (HPLC)** : En ajustant la polarité de la phase mobile, le facteur de capacité des analytes peut être modifié pour améliorer la séparation.
- **Chromatographie en phase gazeuse (GC)** : En modifiant la température de la colonne, on peut influencer le facteur de capacité des analytes.

#### ■ Avantages et inconvénients

- **Avantages** :
  - Permet une estimation rapide de la rétention des analytes.
  - Aide à optimiser les conditions chromatographiques.
- **Inconvénients** :
  - Un  $k'$  trop élevé allonge le temps d'analyse et peut nuire à l'efficacité de la séparation.
  - Un  $k'$  trop faible peut entraîner une mauvaise séparation des composés.

#### ■ Conclusion

Le facteur de capacité est un outil essentiel en chromatographie pour évaluer et optimiser les conditions de séparation. En jouant sur les variables expérimentales comme la nature de la phase stationnaire ou la composition de la phase mobile, on peut ajuster le facteur

de capacité pour obtenir des séparations optimales et des analyses plus rapides et plus précises.

### (h) Facteur de Sélectivité ( $\alpha$ ) en Chromatographie

#### ■ Définition

Le facteur de sélectivité, noté  $\alpha$ , est un paramètre clé en chromatographie qui mesure la capacité d'une colonne chromatographique à distinguer deux composés différents. Il indique la différence de rétention entre deux analytes sur une même colonne et permet d'évaluer leur séparation.

#### ■ Formule

Le facteur de sélectivité est défini par le rapport des facteurs de capacité ( $k'$ ) de deux analytes distincts :

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1}$$

- $k'_2$  : Facteur de capacité du composé le plus retenu ( $k'_2 > k'_1$ ).
- $k'_1$  : Facteur de capacité du composé le moins retenu.

Le facteur de sélectivité est toujours supérieur à 1 ( $\alpha > 1$ )

#### ■ Principe

Le facteur de sélectivité permet de quantifier la différence de rétention entre deux solutés. Plus le facteur de sélectivité est élevé, plus la différence de rétention est importante, ce qui se traduit par une meilleure séparation des deux composés.

- ( $\alpha \approx 1$ ): Les analytes sont faiblement séparés ou ne sont pas du tout séparés (pics qui se chevauchent).
- ( $\alpha > 1$ ): Indique une bonne séparation des analytes.
- $\alpha$  très élevé : Indique une séparation plus nette, mais si  $\alpha$  est trop grand, cela peut entraîner un temps d'analyse prolongé pour le composé le plus retenu.

#### ■ Exemple de Calcul

Supposons que nous ayons deux composés, A et B, analysés par chromatographie avec les paramètres suivants :

- Temps de rétention du composé A ( $t_{R1}$ ) : 5 minutes
- Temps de rétention du composé B ( $t_{R2}$ ) : 10 minutes
- Temps mort ( $t_0$ ) : 2 minutes

Calculons d'abord les facteurs de capacité :

$$k'_2 = \left( \frac{10 - 2}{2} \right) = 4 \quad \text{and} \quad k'_1 = \left( \frac{5 - 2}{2} \right) = 1.5 \quad \text{So : } \alpha = 2.67$$

**Interprétation** : Un facteur de sélectivité de 2.67 signifie que le composé B est significativement plus retenu que le composé A, indiquant une bonne séparation.

### ■ Importance du Facteur de Sélectivité

- **Optimisation des Séparations** : Le facteur de sélectivité est utilisé pour ajuster les conditions expérimentales afin d'améliorer la séparation des analytes.
- **Choix de la Phase Stationnaire** : La sélectivité dépend de la nature de la phase stationnaire. En changeant de colonne, on peut obtenir une meilleure séparation des analytes en augmentant  $\alpha$ .
- **Comparaison des Analytes** : Le facteur de sélectivité permet de comparer la rétention de plusieurs composés sur la même colonne.

### ■ Amélioration de la Sélectivité

- **Modification de la phase mobile** : En changeant la polarité ou la composition de la phase mobile, on peut influencer la rétention des analytes et augmenter le facteur de sélectivité.
- **Changement de la phase stationnaire** : Utiliser une phase stationnaire avec des interactions chimiques différentes peut augmenter la différence de rétention entre deux analytes.
- **Température** : En chromatographie en phase gazeuse (GC), l'ajustement de la température peut affecter les temps de rétention et améliorer la sélectivité.

### ■ Exemple Pratique

Supposons une analyse HPLC où l'on souhaite séparer deux isomères : l'ibuprofène et le naproxène.

- En utilisant une colonne C18 avec une phase mobile aqueuse acétonitrile (50:50), on observe que les temps de rétention sont très proches, et  $\alpha \approx 1.05$ .
- En ajustant la composition de la phase mobile à 60 % d'acétonitrile, le temps de rétention du naproxène augmente plus que celui de l'ibuprofène, et  $\alpha$  passe à 1.2.
- Cette amélioration de la sélectivité ( $\alpha$ ) permet une meilleure séparation des pics sur le chromatogramme.

### ■ Relation avec la Résolution ( $R_s$ )

Le facteur de sélectivité est un composant clé de la formule de résolution ( $R_s$ ), qui mesure la séparation entre deux pics chromatographiques :

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k_2'}{1 + k_2'}$$

- **N** : Nombre de plateaux théoriques
- **$\alpha$**  : Facteur de sélectivité
- **$k_2'$**  : Facteur de capacité du composé le plus retenu

### ■ Avantages :

- Permet d'évaluer et d'optimiser la séparation des analytes.
- Utilisé pour comparer l'efficacité de différentes colonnes et conditions expérimentales.

### ■ Limitations :

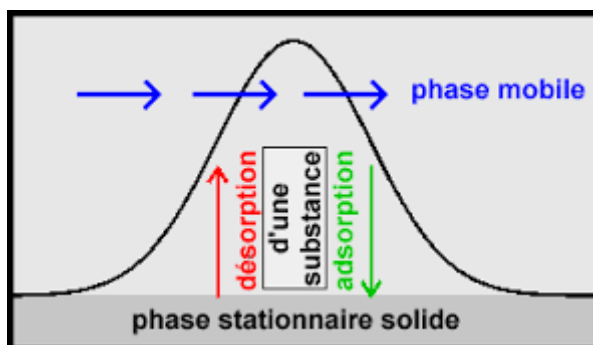
- Un  $\alpha$  proche de 1 rend difficile la séparation et peut nécessiter des ajustements importants des conditions chromatographiques.
- Si  $\alpha$  est très élevé, le temps d'analyse peut être prolongé inutilement pour certains analytes.

## Conclusion

Le facteur de sélectivité ( $\alpha$ ) est un paramètre essentiel pour évaluer et optimiser la séparation des analytes en chromatographie. Il permet de comprendre et d'ajuster les interactions entre les analytes et la phase stationnaire, influençant directement la qualité de la séparation et la résolution des pics chromatographiques. L'ajustement de la phase mobile, le choix de la phase stationnaire et la modification des conditions expérimentales sont des méthodes clés pour optimiser la sélectivité et ainsi obtenir des analyses précises et fiables.

### 7.2 Phase mobile :

En chromatographie, l'éluant, ou phase mobile, est le liquide ou gaz qui circule à travers la colonne chromatographique et transporte les composants de l'échantillon à analyser. Sa fonction principale est d'entraîner ces molécules le long de la phase stationnaire, qui est fixée à l'intérieur de la colonne.



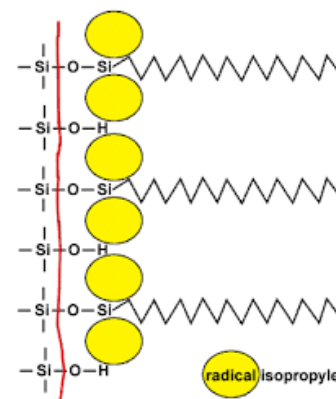
- ❏ **Interaction avec la phase stationnaire :** Dans la colonne, l'échantillon est séparé en fonction de son interaction avec la phase stationnaire et la phase mobile. Les composants qui interagissent faiblement avec la phase stationnaire sont entraînés plus rapidement par la phase mobile et ont donc un temps de rétention plus court, tandis que ceux qui interagissent plus fortement restent plus longtemps dans la colonne.
- ❏ **Polarité de l'éluant :** Dans la chromatographie liquide, par exemple, la polarité de l'éluant est cruciale, car elle peut influencer la séparation des composants. Par exemple, en chromatographie en phase normale, un éluant moins polaire favorise la rétention des composés polaires sur la phase stationnaire polaire. En revanche, en chromatographie en phase inverse, une phase mobile plus polaire entraîne plus facilement les composés polaires.
- ❏ **Vitesse de séparation :** La vitesse de déplacement de la phase mobile influe aussi sur la résolution de la séparation. Une phase mobile rapide réduit le temps d'analyse, mais peut entraîner une moindre séparation des composants (pics moins bien résolus).

Ainsi, la phase mobile est essentielle pour le mouvement des analytes dans la colonne et affecte directement l'efficacité de la séparation et la qualité des résultats analytiques.

### 7.3 Phase Stationnaire :

#### ■ Définition :

La phase stationnaire est une composante clé dans les techniques de chromatographie. Il s'agit du matériau solide ou liquide immobilisé dans une colonne ou sur une surface où les différents composés de l'échantillon interagissent. Son rôle est de permettre la séparation des différents analytes en fonction de leurs interactions avec elle, et avec la phase mobile (le solvant ou le gaz qui traverse la phase stationnaire)



#### ■ Principe :

Le principe de la phase stationnaire repose sur l'interaction différentielle des analytes (molécules présentes dans l'échantillon) avec la phase stationnaire. Lorsqu'un échantillon traverse la phase stationnaire avec l'aide de la phase mobile, les molécules qui interagissent fortement avec la phase stationnaire se déplacent plus lentement, tandis que celles qui interagissent moins passent plus rapidement. Cela conduit à une séparation des composants selon leur affinité avec la phase stationnaire.

#### ■ Types de Phase Stationnaire :

Il existe plusieurs types de phases stationnaires utilisées selon le type de chromatographie employé :

##### ✚ Phase Stationnaire Solide (Chromatographie d'Adsorption) :

- Utilisée principalement dans la chromatographie d'adsorption, elle se compose de solides adsorbants tels que le gel de silice, l'alumine, ou le charbon actif.
- Les analytes se fixent temporairement à la surface des particules de la phase stationnaire, ce qui entraîne leur séparation.

##### ✚ Phase Stationnaire Liquide (Chromatographie de Partition) :

- Dans la chromatographie de partition, la phase stationnaire est une couche de liquide immobilisé sur un support solide.
- Exemples : l'octadécylsilane (C18) utilisé dans la chromatographie liquide haute performance (HPLC) est une phase stationnaire liquide commune.

##### ✚ Phase Stationnaire Polymère :

- Utilisée principalement dans la chromatographie d'échange d'ions.
- Composée de résines polymériques chargées qui interagissent avec les ions en fonction de leurs charges opposées.

##### ✚ Phase Stationnaire Gazeuse (Chromatographie en Phase Gazeuse - CPG) :

- La phase stationnaire est un liquide immobilisé ou un polymère recouvrant l'intérieur de la colonne capillaire.
- Les analytes se dissolvent dans ce liquide avant de se redistribuer dans la phase mobile.

#### ■ Formes de Phase Stationnaire :

##### ✚ Colonnes Remplies :

- Les colonnes remplies contiennent des particules de phase stationnaire sous forme de poudre ou de gel.
- Utilisées dans la chromatographie en phase liquide.

#### ✚ Colonnes Capillaires :

- Dans les colonnes capillaires (surtout pour la CPG), une fine couche de phase stationnaire est recouverte sur les parois internes d'un tube capillaire.

#### ■ Interactions avec la Phase Stationnaire :

Les interactions analyte-phase stationnaire dépendent de plusieurs phénomènes physiques et chimiques :

#### ✚ Adsorption : Interaction des analytes avec la surface d'une phase stationnaire solide.

- Exemples : Les interactions de Van der Waals, forces de London.

#### ✚ Partition : Distribution des analytes entre la phase stationnaire liquide et la phase mobile.

- Les molécules se dissolvent temporairement dans la phase stationnaire avant de retourner dans la phase mobile.

#### ✚ Échange d'Ions : Les analytes chargés échangent leurs ions avec les ions de la phase stationnaire chargée opposée.

- Utilisé pour les composés ioniques, acides aminés, protéines.

#### ✚ Exclusion Stérique : La séparation se fait en fonction de la taille des molécules.

- Les petites molécules pénètrent dans les pores de la phase stationnaire et sont retenues plus longtemps.

#### ■ Lois Régissant les Interactions :

#### ✚ Loi de Nernst (Partition) :

- Décrit la distribution d'un analyte entre deux phases (stationnaire et mobile).

#### ✚ Isothermes d'Adsorption (Langmuir, Freundlich) :

- Décrivent comment un analyte s'adsorbe à la surface d'une phase stationnaire solide.

#### ■ Choix de la Phase Stationnaire :

#### ✚ Le choix de la phase stationnaire dépend de plusieurs facteurs :

#### ✚ Nature des Analytes : La polarité, la taille, la charge des analytes.

- Exemples :
  - Les analytes polaires utilisent souvent des phases stationnaires polaires comme la silice.
  - Les analytes non polaires utilisent des phases apolaires comme le C18.

#### ✚ Type de Chromatographie :

- Pour la chromatographie d'adsorption, les solides comme la silice sont courants.
- Pour la chromatographie en phase inverse (HPLC), les phases comme C8 ou C18 sont choisies.

### + Compatibilité avec la Phase Mobile :

- La phase stationnaire doit être stable et insoluble dans la phase mobile pour éviter la contamination et la détérioration.

### ■ Distribution de la Phase Stationnaire dans la Colonne :

#### + Sur la Surface :

- Dans la chromatographie en phase liquide, la phase stationnaire liquide est immobilisée sur une surface solide comme des billes de silice.

#### + À l'Intérieur des Pores :

- Pour la chromatographie d'exclusion stérique, la phase stationnaire comporte des pores dans lesquels les petites molécules peuvent pénétrer.

### ■ Exemples Pratiques :

#### + Chromatographie en Phase Inverse (HPLC) :

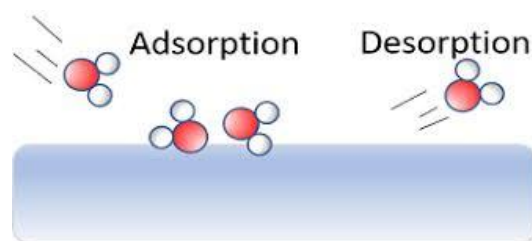
- Phase stationnaire : Octadécylsilane (C18)
- Phase mobile : Eau/méthanol
- Application : Séparation de composés organiques non polaires comme les huiles essentielles.

#### + Chromatographie d'Échange d'Ions :

- Phase stationnaire : Résine de sulfonate pour échange cationique.
- Application : Analyse des acides aminés.

## 7.4 Isotherme de sorption

Les **isothermes de sorption** sont des modèles mathématiques qui décrivent comment un soluté (ou un analyte) interagit avec une surface adsorbante (la phase stationnaire) à une température constante. Ces isothermes montrent la relation entre la quantité de soluté adsorbée par unité de masse d'adsorbant et la concentration du soluté en phase mobile.



**Fig : Phénomène de sorption**

Les isothermes de sorption sont particulièrement importantes en chromatographie et en analyse des matériaux, car elles aident à comprendre le comportement de l'adsorption et à optimiser les processus de séparation.

### ■ Types d'Isothermes de Sorption :

Il existe plusieurs types d'isothermes d'adsorption qui sont couramment utilisés pour modéliser l'interaction entre l'adsorbant et l'adsorbé :

#### 1. Isotherme de Langmuir :

##### • Principe :

- L'isotherme de Langmuir suppose que l'adsorption se produit sur une surface homogène avec un nombre fini de sites d'adsorption, où chaque site est équivalent.

- Une fois qu'une molécule est adsorbée sur un site, il n'y a pas d'interaction supplémentaire avec les molécules voisines, et chaque site ne peut accueillir qu'une seule molécule.

■ **Équation :**

$$q_e = \frac{K_L \cdot C_e \cdot q_{\max}}{1 + K_L \cdot C_e}$$

- $q_e$  : Quantité adsorbée à l'équilibre (mg/g).
- $q_{\max}$  : Capacité maximale d'adsorption (mg/g).
- $K_L$  : Constante de Langmuir (L/mg).
- $C_e$  : Concentration du soluté en phase mobile à l'équilibre (mg/L).

■ **Applications :**

- Utilisé pour les systèmes où l'adsorption atteint une saturation, par exemple dans la chromatographie d'adsorption pour la purification des composés organiques.

(a) **Isotherme de Freundlich :**

■ **Principe :**

- L'isotherme de Freundlich est un modèle empirique qui suppose une surface hétérogène avec des sites d'adsorption de différentes énergies. Ce modèle permet une adsorption multilayer.
- Il est souvent utilisé pour décrire des systèmes où l'adsorption est non linéaire et s'applique aussi bien pour les concentrations élevées que faibles.

■ **Équation :**

$$q_e = K_F \cdot C_e^{1/n}$$

- $K_F$  : Capacité d'adsorption (mg/g)(L/mg).
- $1/n$  : Indice d'hétérogénéité (sans unité).

Si  $(1/n) < 1$ , l'adsorption est favorable.

■ **Applications :**

- Utilisée pour les systèmes hétérogènes, par exemple dans la séparation des composés aromatiques complexes.

(b) **Isotherme de BET (Brunauer, Emmett, Teller) :**

■ **Principe :**

- L'isotherme de BET étend le modèle de Langmuir pour les adsorptions multilayers. Il considère que les molécules adsorbées sur la surface forment

plusieurs couches et que l'adsorption dans les couches successives suit une distribution géométrique.

■ **Équation :**

$$q_e = \frac{q_{\max} \cdot C_e \cdot K_{\text{BET}}}{(1 - C_e)[1 + (K_{\text{BET}} - 1) \cdot C_e]}$$

$K_{\text{BET}}$  : Constante de BET.

■ **Applications :**

- Utilisé dans l'analyse des surfaces des solides, par exemple pour déterminer la surface spécifique des catalyseurs.

(c) **Isotherme de Temkin :**

■ **Principe :**

- L'isotherme de Temkin prend en compte les interactions entre l'adsorbant et l'adsorbat. Il suppose que la chaleur d'adsorption diminue de manière linéaire en raison des interactions.

■ **Équation :**

$$q_e = \frac{RT}{b} \ln(K_T C_e)$$

- $b$  : Constante de Temkin.
- $K_T$  : Constante d'équilibre d'adsorption.

■ **Applications :**

- Utilisée pour les systèmes où les interactions moléculaires sont significatives, par exemple dans la séparation des produits chimiques volatils.

■ **Applications Pratiques des Isothermes de Sorption en Chromatographie :**

Les isothermes d'adsorption aident à comprendre comment les analytes se distribuent entre la phase mobile et la phase stationnaire en chromatographie. Cela permet de prédire la rétention, l'élution et l'efficacité de la séparation.

- **Optimisation des conditions chromatographiques :** En connaissant l'isotherme, il est possible d'ajuster la phase mobile pour obtenir une séparation optimale.
- **Analyse de la capacité de la phase stationnaire :** Les isothermes fournissent des informations sur la capacité d'adsorption maximale de la phase stationnaire.
- **Conception de colonnes chromatographiques :** Les isothermes permettent de choisir le type et la quantité de phase stationnaire pour une séparation efficace.

■ **Exemple Pratique :**

Supposons que l'on souhaite séparer un mélange de deux composés A et B à l'aide de chromatographie liquide sur une colonne remplie de gel de silice (adsorbant solide). L'isotherme de Langmuir peut être utilisé pour modéliser la rétention des composés. Si le composé A présente une interaction plus forte avec la silice, son facteur de rétention sera plus élevé et il sera élué plus lentement que le composé B. En ajustant la polarité de la phase mobile, on peut moduler ces interactions pour obtenir une séparation efficace.

■ **Conclusion :**

Les isothermes de sorption sont des outils essentiels pour comprendre et prédire les interactions entre les analytes et la phase stationnaire en chromatographie. Les modèles de Langmuir, Freundlich, BET et Temkin fournissent des cadres mathématiques pour décrire ces interactions et optimisent ainsi le processus de séparation analytique.

### 7.5 Interaction intermoléculaire :

En chromatographie, les interactions intermoléculaires jouent un rôle clé dans le processus de séparation. Ces interactions se manifestent sous différentes formes, telles que les forces électrostatiques et les forces de Van der Waals. Voici une explication plus détaillée des principales forces intermoléculaires et leur rôle en chromatographie.

#### (a) Forces Électrostatiques :

■ **Définition :** Les forces électrostatiques sont des forces d'attraction ou de répulsion entre deux particules chargées. Elles résultent de l'interaction entre des charges positives et négatives.

■ **Principe :**

- En chromatographie, les forces électrostatiques se manifestent principalement dans les phases stationnaires d'échange d'ions.
- Les ions présents dans la phase mobile interagissent avec les sites chargés de la phase stationnaire.
- Plus l'interaction ionique est forte, plus la rétention de l'analyte est élevée.

■ **Exemple :**

En chromatographie d'échange cationique, les cations présents dans la solution interagissent avec les groupes sulfonates ( $-\text{SO}_3^-$ ) fixés sur la phase stationnaire.

#### (b) Forces de Van der Waals :

Les forces de Van der Waals regroupent plusieurs types d'interactions intermoléculaires faibles, mais cumulatives, entre des molécules neutres. Elles se divisent en trois catégories principales : **forces de dispersion de London**, **forces d'induction de Debye**, et **forces d'orientation de Keesom**.

##### b.1. Forces de Dispersion de London :

**Définition :** Les forces de London sont des forces d'attraction qui apparaissent entre des molécules apolaires en raison de la formation de dipôles instantanés et temporaires.

**Principe :**

- Ces forces sont dues à une fluctuation temporaire de la distribution des électrons dans une molécule, créant un dipôle instantané.
- Elles augmentent avec la taille et la polarisation des molécules.

**Exemple :** En chromatographie sur phase inverse (HPLC C18), les composés apolaires tels que les hydrocarbures interagissent avec la phase stationnaire apolaire via des forces de dispersion de London, augmentant leur rétention.

##### b.2. Forces d'Induction de Debye :

**Définition:** Les forces de Debye (ou forces d'induction) sont des forces d'attraction entre une molécule polaire (ayant un dipôle permanent) et une molécule apolaire.

**Principe :**

- La molécule polaire induit un dipôle temporaire dans la molécule apolaire par attraction des électrons.
- Ces forces sont influencées par la polarité de la molécule polaire et la capacité de polarisation de la molécule apolaire.

**Exemple :** Lors de l'analyse de mélanges avec des solvants polaires (comme l'éthanol), la molécule de solvant induit un dipôle dans l'analyte, augmentant les interactions de Debye et la rétention.

### **b.3. Forces d'Orientation de Keesom :**

**Définition :** Les forces de Keesom (ou interactions dipôle-dipôle) sont des forces d'attraction entre deux molécules polaires possédant des dipôles permanents.

#### **Principe :**

- Les dipôles permanents de deux molécules s'alignent de manière à minimiser l'énergie, créant une attraction entre les pôles opposés.
- Ces forces dépendent de la température : elles diminuent lorsque la température augmente.

**Exemple :** Dans une phase stationnaire polaire (comme la silice), les analytes polaires tels que les cétones ou les alcools sont retenus par des interactions dipôle-dipôle avec les groupes silanol (Si-OH).

### **(c) Liaisons Hydrogène :**

**Définition :** La liaison hydrogène est une interaction forte entre un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (comme O, N, ou F) et un autre atome électronégatif possédant un doublet libre d'électrons.

#### **Principe :**

- La liaison hydrogène influence fortement la rétention des analytes en chromatographie.
- Plus il y a de possibilités de liaison hydrogène, plus l'analyte est retenu dans la colonne.

**Exemple :** Dans la chromatographie en phase normale (HPLC), un analyte contenant des groupes hydroxyles (par exemple, le glucose) formera des liaisons hydrogène avec la phase stationnaire, augmentant sa rétention.

### **(d) Interactions Hydrophobes :**

**Définition :** Les interactions hydrophobes se produisent lorsque des molécules apolaires se regroupent pour éviter le contact avec une phase aqueuse.

#### **Principe :**

- Ces interactions jouent un rôle important en chromatographie sur phase inverse (HPLC), où les analytes apolaires sont retenus par la phase stationnaire hydrophobe (comme C18).
- Plus l'analyte est apolaire, plus l'interaction hydrophobe est forte et plus la rétention est élevée.

**Exemple :** Dans l'analyse des hydrocarbures aromatiques, ceux-ci montrent une forte rétention dans une colonne C18 à cause des interactions hydrophobes.

### ☒ Choix de la Phase Stationnaire :

Le choix de la phase stationnaire dépend des interactions intermoléculaires souhaitées pour la séparation :

- **Phases apolaires** (C18, C8) pour des analytes apolaires (hydrocarbures).
- **Phases polaires** (silice, cyano) pour des analytes polaires (alcools, amines).
- **Phases d'échange d'ions** pour des analytes ionisés (acides aminés, protéines).

### ☒ Distribution dans la Colonne :

La répartition des analytes entre la phase mobile et la phase stationnaire dépend de :

- **L'affinité** de l'analyte pour la phase stationnaire (basée sur les interactions intermoléculaires).
- **La vitesse d'écoulement** de la phase mobile.
- **Le type de phase stationnaire** utilisé (surface recouverte d'un film, particules solides).

Les analytes s'adsorbent et désorbent en continu à la surface de la phase stationnaire, ce qui permet la séparation au fur et à mesure de l'avancement dans la colonne.

### ■ Conclusion :

Les interactions intermoléculaires sont déterminantes dans les mécanismes de séparation en chromatographie. Comprendre ces forces permet de sélectionner la phase stationnaire adéquate et d'optimiser les conditions de la phase mobile pour une séparation efficace des analytes, tout en améliorant la résolution et l'efficacité de l'analyse.

Cela inclut une compréhension approfondie des forces de London, de Debye et de Keesom, ainsi que des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène, qui influencent la rétention et la sélectivité des analytes dans une analyse chromatographique.