

## II.3 Chromatographie en Phase gazeuse (CPG)



### Introduction :

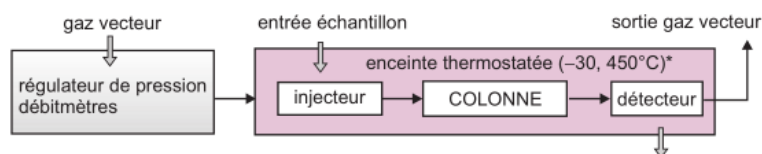
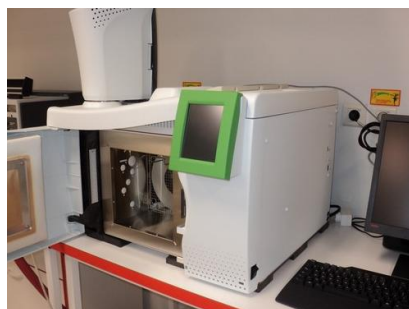
La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique très répandue, dont les premières applications sont maintenant vieilles de plus de 60 ans. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est applicable à une large gamme de composés d'intérêt pour l'analyse **toxicologique** et **chimique**, aussi pour les environnementalistes que pour les cliniciens. Si un composé a une volatilité suffisante pour que ses molécules soient dans la phase gazeuse ou vapeur à **400 °C** ou moins et ne se décompose pas à ces températures, alors le composé peut probablement être analysé par CPG.

Grace à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, à la rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent encore plus son intérêt, furent de cette technique une nécessité dans un laboratoire de Toxicologie.

### II.3.1 Principe

Un appareil de **CPG** réunit dans un bâti unique, outre les trois modules classiques, **injecteur**, **colonne** et **détecteur**, un **four thermostaté** qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée (fig. 1). La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz **vecteur**. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétabilité des temps de rétention.

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne. Celle-ci se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui-même, de 1 à plus de 100 m de longueur suivant les cas et contenant la phase stationnaire. Cette colonne est placée dans une enceinte à température régulée. Elle peut servir à des milliers d'injections successives. La phase gazeuse qui a traversé la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre. Certains modèles de chromatographes ont une alimentation autonome ainsi qu'une taille réduite pour faciliter l'emploi en milieu extérieur, sur le terrain.



**Fig. 1.** Une installation de CPG. L'instrument représenté comporte également un porte-échantillons et un injecteur automatique. Schéma fonctionnel d'un appareil de CPG. Chromatogramme d'un mélange de cétones

### (a) Gaz vecteur et régulateur du débit

On utilise comme phase mobile l'un des trois gaz suivants : l'hélium, le diazote ou le dihydrogène. Ils proviennent soit d'un cylindre sous pression soit d'un générateur (*électrolyse de l'eau pour  $H_2$  et séparation de l'air pour  $N_2$* ), ce qui a l'avantage de fournir sur place un gaz très pur. Ce gaz vecteur doit être exempt de traces d'hydrocarbures, de vapeur d'eau et de dioxygène qui se comportent comme des impuretés préjudiciables pour certaines phases stationnaires polaires et qui réduisent la sensibilité des détecteurs. C'est la raison pour laquelle on place un double filtre, desséchant et réducteur, juste en amont du chromatographe.

### ■ Influence de la nature et de la vitesse du gaz vecteur

En chromatographie en phase gazeuse (CPG), le gaz vecteur joue un rôle crucial car il transporte les analytes à travers la colonne chromatographique. Sa nature et sa vitesse influencent directement la séparation, la résolution, et la sensibilité de l'analyse.

Les gaz les plus couramment utilisés sont l'hélium, l'hydrogène et l'azote.

- **Hydrogène ( $H_2$ ) :**
  - Avantages :
    - Offre une efficacité maximale grâce à sa faible viscosité, permettant une vitesse optimale plus élevée.
    - Compatible avec des analyses rapides tout en conservant une bonne résolution.
  - Inconvénients :
    - Risque inflammable, nécessite des précautions particulières.
- **Hélium (He) :**
  - Avantages :
    - Inerte, non inflammable, et largement utilisé pour ses propriétés stables.
    - Bon compromis entre efficacité et facilité d'utilisation.
  - Inconvénients :
    - Coût élevé, surtout à mesure que les ressources mondiales diminuent.

- **Azote (N<sub>2</sub>) :**
  - Avantages :
    - Économique et disponible.
    - Utilisé pour les analyses nécessitant une phase mobile peu coûteuse.
  - Inconvénients :
    - Moins efficace à haute vitesse, ce qui peut allonger le temps d'analyse.

**Résumé de l'efficacité :** L'hydrogène est généralement le gaz vecteur le plus performant pour des analyses rapides, suivi de l'hélium. L'azote est utilisé pour des applications spécifiques où la réduction des coûts est essentielle.

■ **Influence de la vitesse du gaz vecteur** La vitesse du gaz vecteur ( $u$ ) influence fortement les performances chromatographiques. Cela est expliqué par l'équation de Van Deemter :

■ **Facteur de correction de compression (JJJ)**

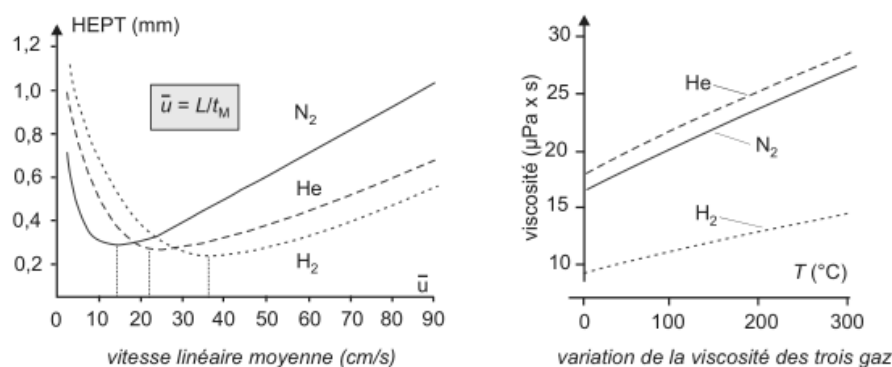
Le facteur de correction J est une composante essentielle pour ajuster la vitesse linéaire du gaz vecteur dans des colonnes capillaires, où les effets de la compressibilité du gaz deviennent significatifs en raison des pressions élevées en amont.

## Conclusion

La sélection du gaz vecteur et le réglage de sa vitesse sont des étapes critiques en CPG. L'utilisation de l'hydrogène ou de l'hélium, combinée à une vitesse optimisée selon le facteur JJJ, garantit des performances élevées et une analyse efficace. Ces ajustements influencent directement la résolution, le temps d'analyse et la reproductibilité des résultats

■ **La nature du gaz vecteur ne modifie pas de manière significative les valeurs des coefficients de distribution K des composés** par suite de l'absence d'interaction entre gaz et solutés, la température étant le seul facteur de modification important. En revanche, la viscosité et la vitesse du gaz dans la colonne ont une influence sur la dispersion des composés dans la phase stationnaire et sur la diffusion dans la phase mobile (cf. [équation de Van Deemter](#)), donc sur le paramètre d'efficacité N et sur la sensibilité de la détection (fig. 2).

La pression en tête de colonne (quelques dizaines à quelques centaines de kPa) est soit stabilisée avec un système mécanique, soit asservie électroniquement afin que le débit demeure constant (système EPC, pour electronic pressure control). En effet, pour une analyse réalisée en mode de programmation ascendante de température, la viscosité de la phase stationnaire et par suite la perte de charge augmentent au cours du temps. Il est donc préférable que la pression soit corrigée pour conserver au gaz vecteur une vitesse constante et optimale. Il en résulte une analyse plus rapide et une longévité accrue des colonnes.



**Fig. 2.** Efficacité en fonction de la nature et de la vitesse linéaire du gaz vecteur.

Ces courbes typiques de van Deemter montrent que l'hydrogène est, parmi les 3 gaz étudiés, celui qui permet les séparations les plus rapides, à performances égales, tout en donnant plus de souplesse en ce qui concerne le débit, ce qui est très utile en mode programmation de température. Noter l'augmentation de la viscosité de ces gaz avec la température  $T$ . On constate aussi que l'hélium est plus visqueux que le diazote, à température égale.

L'injecteur et le détecteur ont des volumes morts qui entrent en ligne de compte dans le volume de rétention total. En CPG la phase mobile étant compressible, le débit mesuré en sortie de colonne doit être corrigé par le facteur de correction de compression  $J$ , qui tient compte de la surpression en amont de la colonne :

$$j = \frac{\bar{u}}{u_0} = \frac{\left(\frac{P}{P_0}\right)^2 - 1}{\left(\frac{P}{P_0}\right)^3 - 1}$$

### ■ Introduction de l'échantillon dans la chambre d'injection

Une très petite quantité d'échantillon en solution (ex. 0,5 mL), est introduite dans l'appareil avec une micro-seringue (fig. 3) dont il existe de nombreux modèles adaptés aux divers injecteurs et colonnes. Pour les échantillons gazeux on utilise des vannes à boucles semblables à celles que l'on rencontre en chromatographie liquide haute performance (HPLC). Pour mieux maîtriser la reproductibilité des injections – le simple changement d'opérateur pouvant conduire, en mode manuel, à des différences –, on adapte presque toujours un injecteur automatique grâce auquel les mouvements de la seringue sont automatisés (fig. 1). Associé à un carrousel porte-échantillons, il devient possible de programmer la séquence cyclique de prélèvement de l'échantillon, de son introduction très rapide dans l'injecteur (0,2s) et du rinçage de la seringue. Cette dernière phase est importante pour éviter les contaminations

d'un échantillon à l'autre lorsqu'il s'agit de dosages enchaînés de manière automatique.



**Fig 3.** Seringue de 10 mL d'un type courant, utilisé en CPG.

### (b) Injecteurs

L'injecteur est la porte d'entrée de l'échantillon dans le chromatographe. Il a deux autres fonctions : vaporiser et entraîner en tête de colonne l'échantillon mélangé au gaz vecteur.

Les caractéristiques des injecteurs, ainsi que les modes d'injection, diffèrent suivant les types de colonnes auxquels ils sont réunis. La qualité des séparations dépend de cette phase de l'analyse.

## Les Injecteurs et les Modes d'Injection en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

L'injection d'échantillons est une étape clé en chromatographie en phase gazeuse (CPG), où l'échantillon est introduit dans la colonne chromatographique sous forme gazeuse. Les injecteurs et les modes d'injection doivent garantir une vaporisation efficace, une introduction reproductible et la préservation des analytes.

## 1. Les Principaux Types d'Injecteurs

### 1.1 Injecteur Split/Splitless

- **Mode Split :**
  - Une fraction précise de l'échantillon (généralement 1 à 10 %) entre dans la colonne, le reste étant évacué.
  - **Applications :** Échantillons concentrés pour éviter la saturation de la colonne.
- **Mode Splitless :**
  - L'intégralité de l'échantillon est introduite dans la colonne.
  - **Applications :** Échantillons dilués ou analyses de traces.

### 1.2 Injecteur à Température Programmée (PTV)

- Chauffe progressivement l'échantillon pour minimiser la dégradation thermique.
- **Applications :** Analyse des échantillons complexes ou thermosensibles.

### 1.3 Injecteur On-Column

- L'échantillon liquide est introduit directement dans la colonne, sans vaporisation préalable.
- **Applications :** Analytes très thermosensibles ou instables à haute température.

### 1.4 Injecteur à Vaporisation Directe

- L'échantillon est introduit directement dans une chambre chauffée à une température suffisamment élevée pour assurer une vaporisation complète avant l'entrée dans la colonne.
- **Avantages :**
  - Réduit les pertes analytiques pour les échantillons concentrés.
  - Favorise une distribution homogène des analytes dans la colonne.
- **Applications :** Échantillons nécessitant une vaporisation rapide et complète, tels que des mélanges concentrés ou à faible volatilité.

### 1.5 Injection en Grand Volume

- Permet d'introduire des quantités plus importantes d'échantillon (souvent des traces dans des solvants dilués), avec élimination contrôlée du solvant.

## 2. Modes d'Injection et Leur Utilisation

Mode	Principe	Applications
<b>Split</b>	Injection partielle ; le reste est évacué par le split vent.	Échantillons concentrés.
<b>Splitless</b>	Injection complète sans évacuation, idéale pour les traces.	Analyse de composés à faible concentration.
<b>On-Column</b>	Introduction directe dans la colonne, sans préchauffage.	Composés thermosensibles.
<b>Vaporisation directe</b>	L'échantillon est rapidement vaporisé dans une chambre chauffée avant d'être injecté dans la colonne.	Échantillons complexes ou concentrés.
<b>PTV</b>	Vaporisation contrôlée par température programmée.	Échantillons à large gamme de volatilité.
<b>Large Volume</b>	Injection d'un grand volume avec élimination contrôlée du solvant.	Analyse des composés en traces.

## 3. Méthodologie pour une Injection Optimale

1. **Préparation de l'échantillon :**
  - Dilution appropriée pour éviter la saturation de la colonne.
  - Utilisation de solvants compatibles avec la phase stationnaire.
2. **Choix du mode d'injection :**

- **Split** : Pour les matrices concentrées.
- **Splitless** : Pour les matrices diluées.
- **On-Column** : Pour les analytes sensibles à la chaleur.
- **Vaporisation directe** : Pour des échantillons mixtes nécessitant une vaporisation rapide.

### 3. Paramètres à contrôler :

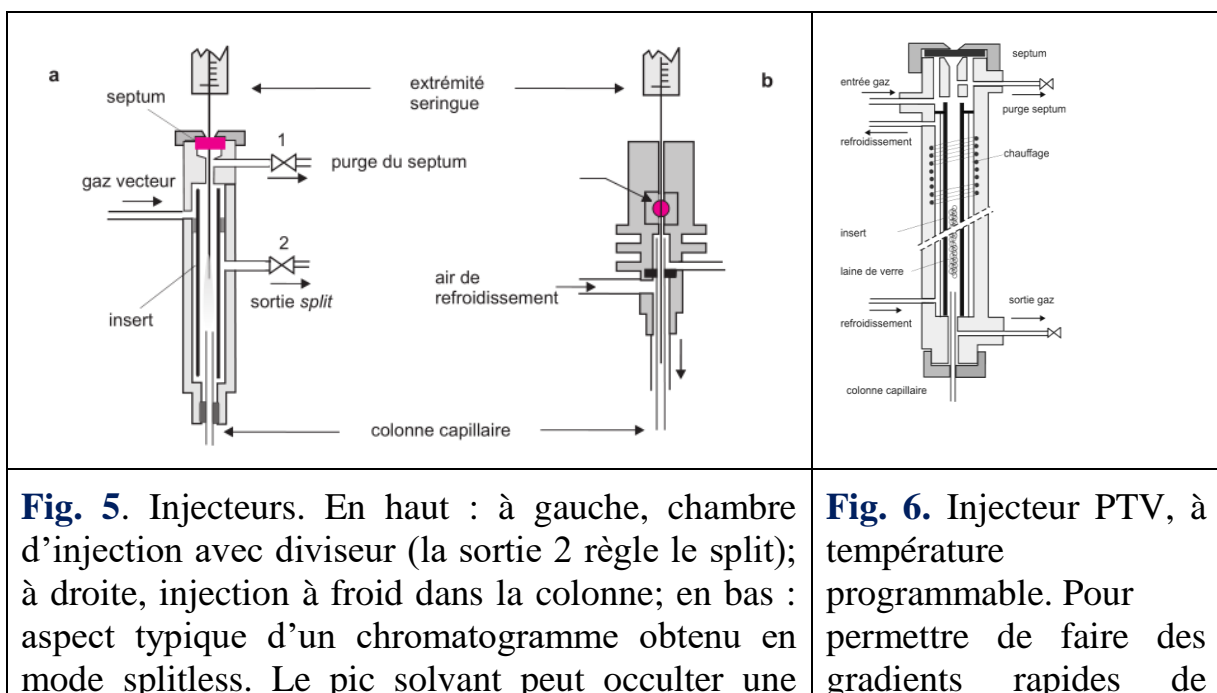
- Température de l'injecteur (supérieure au point d'ébullition des analytes, mais inférieure à leur température de dégradation).
- Débit du gaz vecteur pour une séparation reproductible.
- Volume injecté précis pour garantir une reproductibilité optimale.

## 4. Remarques Pratiques

- Les injecteurs doivent être nettoyés régulièrement pour éviter les contaminations croisées.
- Les septums et joints doivent être vérifiés pour éviter les fuites.
- L'utilisation de seringues calibrées et propres est essentielle pour une précision optimale.

## 5. Conclusion

L'utilisation appropriée des injecteurs et des modes d'injection en CPG est cruciale pour garantir des résultats analytiques fiables et reproductibles. Le choix de l'injecteur dépend des propriétés de l'échantillon, des objectifs de l'analyse, et de la configuration de l'instrument. L'injecteur à vaporisation directe se distingue par sa capacité à gérer efficacement des échantillons concentrés ou complexes, offrant une flexibilité supplémentaire dans les analyses chromatographiques.



partie des composés, à moins d'utiliser un détecteur sélectif qui ne « voit » pas le solvant.	température, la chambre d'injection est entourée d'une résistance et d'une circulation de gaz froid.
---	--

### (c) Enceinte thermostatée de la CPG

Le chromatographe comporte une enceinte qui permet de chauffer la colonne jusqu'à plus de 400° C. Elle doit avoir une faible inertie thermique pour permettre une montée contrôlée et rapide en température (rampe pouvant aller jusqu'à 100 ° C/min) et une excellente stabilisation (au 1/10 de ° C). En adjoignant une vanne cryogénique alimentée par N<sub>2</sub> ou CO<sub>2</sub> liquides, l'enceinte peut être réglée à basse température.

### (d) Colonnes

Il existe deux types de colonnes, les colonnes remplies (ou colonnes à garnissage) et les colonnes capillaires (fig. 7). Elles n'offrent pas les mêmes performances. Pour les colonnes remplies, la phase stationnaire est immobilisée par imprégnation ou par réaction chimique avec le support poreux. Pour les colonnes capillaires, une faible épaisseur de phase stationnaire est soit déposée, soit greffée sur la surface interne de la colonne.

#### Colonnes remplies (à garnissage)

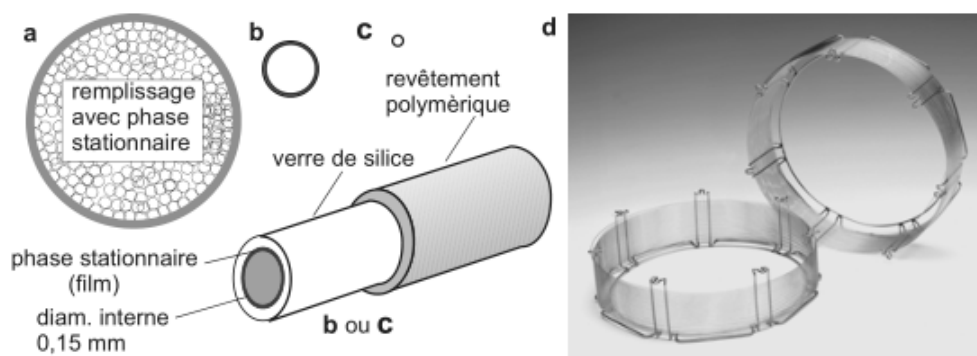
Ces colonnes, d'un diamètre de 1/8 ou 1/4 d'inch (3,18 ou 6,35 mm) et de 1 à 3 m de long, sont fabriquées à partir d'un tube d'acier ou de verre dont la paroi interne est traitée pour éviter d'éventuels effets catalytiques sur l'échantillon. Elles supportent un débit de gaz vecteur allant de 10 à 40 mL/min.

Bien qu'ayant des performances moins élevées que les colonnes capillaires, elles sont toujours utilisées pour certaines analyses de routine normalisées. Elles sont faciles à fabriquer à façon à partir d'un grand choix de phases stationnaires. Elles ne sont cependant pas adaptées aux analyses de traces actuelles.

#### Colonnes capillaires (à tube ouvert)

Elles sont généralement en silice fondue de grande pureté, obtenue par combustion de tétrachlorosilane dans une atmosphère de dioxygène. Le diamètre interne de ces colonnes varie de 100 à 530 µm (la précision est de quelques %). La technologie est particulièrement délicate pour obtenir des colonne

parfaitement cylindriques, dont la longueur peut aller jusqu'à 100 m pour une paroi d'environ 50 mm (fig. 7). Elles comportent un revêtement extérieur brun de polyimide, polymère thermiquement stable ( $T_{\max} = 370^{\circ}\text{C}$ ), pour les rendre moins fragiles et pouvoir les enrouler sur elles-mêmes grâce à un support métallique adapté. Quelques fabricants proposent aussi des colonnes faites à partir d'un capillaire en métal (aluminium, nickel ou acier) qui acceptent, si la phase stationnaire le permet, des températures atteignant  $450^{\circ}\text{C}$ ).



**Fig.7 :** Colonnes de CPG. Représentation à la même échelle des sections des trois types de colonnes. a) Colonne remplie de 2 mm de diamètre; b) colonne capillaire « 530 » de 0,53 mm; c) colonne capillaire de 0,1 mm; détail d'une colonne capillaire. À cette échelle, l'épaisseur de phase stationnaire serait à peine visible; d) colonnes commerciales de 50 m de longueur.

### (e) Phases stationnaires

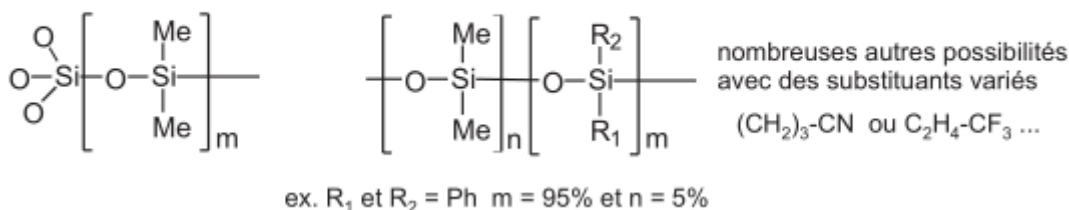
Les phases actuelles correspondent à deux principaux types de composés : les polysiloxanes et les polyéthylèneglycols, chaque catégorie pouvant faire l'objet de modifications structurales mineures. On peut y ajouter les phases particulières à base de cyclodextrines pour l'étude des composés optiquement actifs.

Toutes ces phases sont utilisables entre deux températures, l'une minimale au-dessous de laquelle les équilibres de concentration est trop lente à se faire, l'autre qui définit la limite supérieure d'utilisation sans dégradation, qui dépend de la nature et de l'épaisseur du film.

### Polysiloxanes

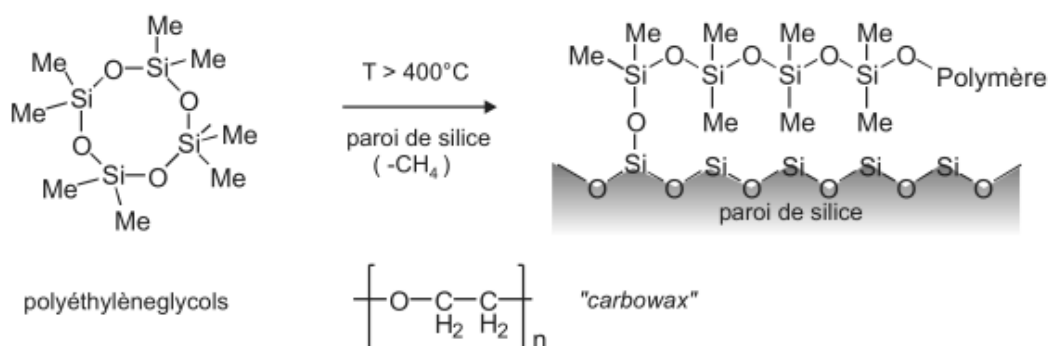
Les polysiloxanes (également connus sous le nom d'huiles et gommes silicones) correspondent à la répétition d'un motif de base comportant deux chaînes carbonées par atome de silicium :

polysiloxanes greffés (exemples)



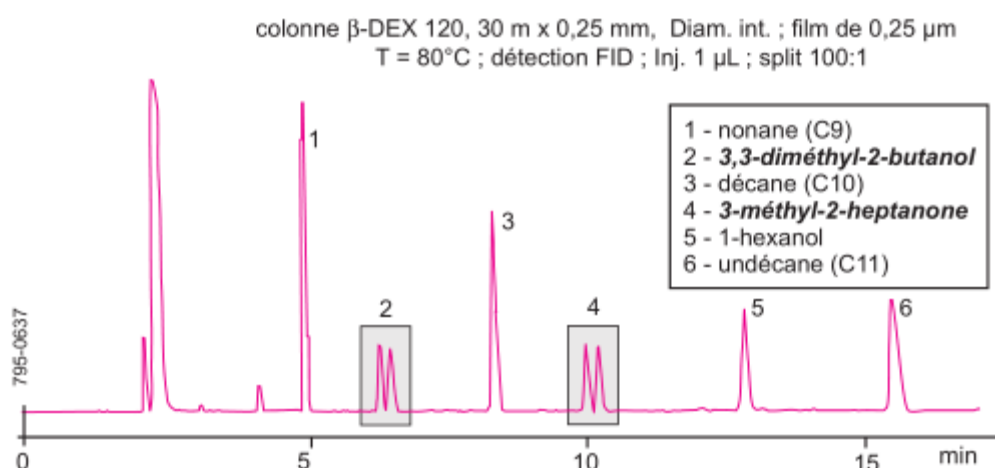
### Polyéthylèneglycols (PEG)

Les représentants les plus connus de cette famille sont les Carbowax<sup>®</sup> (fig. 3.8), polymères polaires (M = 1 500 à 20 000 – pour le Carbowax 20M) qui peuvent être utilisés en mode déposé, imprégné ou greffé (40 < T < 240/260 C, selon le type de colonne).



### Phases stationnaires chirales

Ce sont généralement des phases polysiloxanes contenant entre 10 et 20 % en masse de molécules de β-cyclodextrine (polysaccharide) incluses dans le polymère de base.



**Fig.9 :** Exemple de séparation obtenue avec une phase chirale comportant des cyclodextrines. En utilisant une colonne chirale les composés à l'état de racémate se dedoublent, ce qui est le cas pour les deux alcools 2 et 4. Noter que

cette chromatographie en régime isotherme permettrait également de calculer les indices de rétention des composés séparés.

### Phases stationnaires solides

Ces phases sont constituées par des matériaux adsorbants divers : silice ou alumine désactivées par des sels minéraux, tamis moléculaires 5 Å, verres ou polymères poreux, carbone graphité (ex. Chromosorb 100, Porapak ).

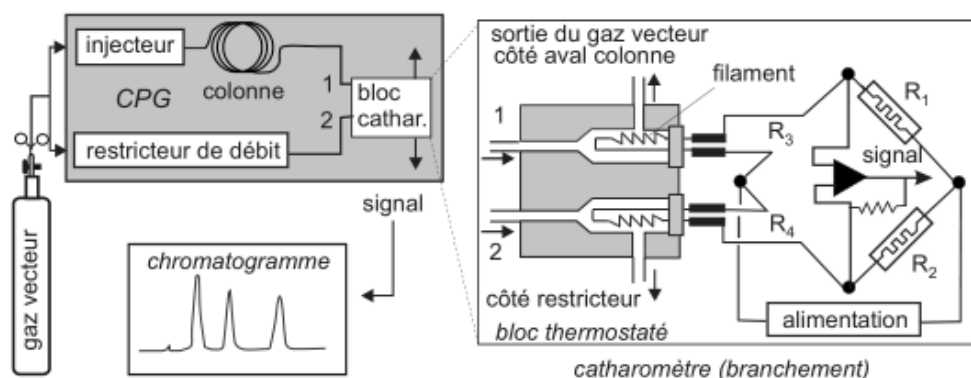
### (f) Détecteurs

Certains détecteurs sont universels, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles à pratiquement tous les composés élués, d'autres sont beaucoup plus sensibles à un type particulier de molécules.

Le choix du détecteur de chromatographie pour une application dépend de facteurs tels que le coût, la facilité d'utilisation, l'approvisionnement en consommables, la sensibilité, la sélectivité et la plage de travail linéaire.

### Détecteur à conductibilité thermique (TCD)

Ce détecteur universel, mis au point dès les débuts de la CPG, est longtemps resté incontournable. Sa miniaturisation permet de l'utiliser aussi bien pour les colonnes remplies que pour les colonnes capillaires. De sensibilité moyenne, si on le compare aux autres détecteurs, il a néanmoins une gamme dynamique très étendue (6 décades). Son principe repose sur la mesure des variations de conductibilité thermique des mélanges gazeux en fonction de leur composition. Il s'agit d'un catharomètre comportant deux thermistors identiques, placés dans deux minuscules cavités d'un bloc métallique thermostaté à une température supérieure à celle de la colonne (fig.12). L'un d'eux est baigné par le gaz vecteur prélevé en amont de l'injecteur et l'autre par le gaz vecteur en aval de la colonne.



### Détecteur à ionisation de flamme (FID)

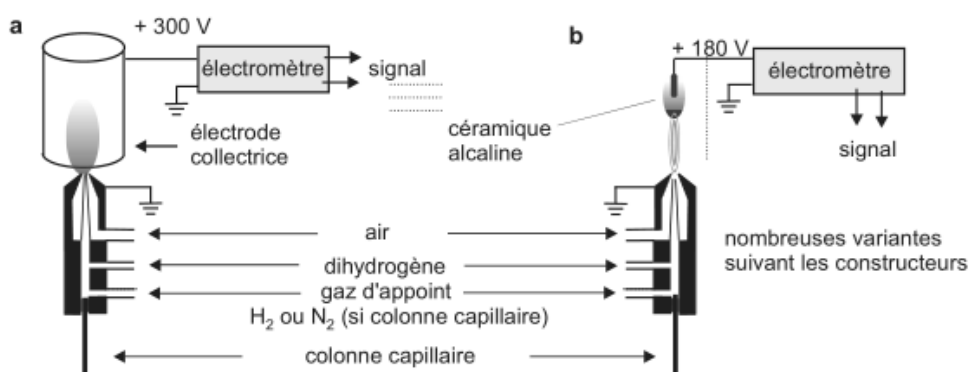
Considéré comme pratiquement universel pour les composés organiques, c'est le détecteur par excellence de la CPG actuelle. Le courant gazeux issu de la colonne pénètre dans la flamme d'un petit brûleur alimentée par un mélange d'hydrogène et d'air. Ce détecteur détruit l'échantillon dont la combustion

produit des ions et particules chargées, responsables du passage d'un courant ionique extrêmement faible ( $10^{-12}$  A) entre deux électrodes (ddp de 100 à 300 V).

Le FID est à l'abri des variations de débit qui peuvent conduire à des erreurs avec les détecteurs du type TCD. Pour les composés organiques, la sensibilité, très grande, s'exprime en C/g de l'élément carbone. La limite de détection est de 2 ou 3 pg/s. et la linéarité atteint  $10^8$  (8 décades). Cependant la linéarité ne doit pas faire oublier que c'est avec les solutions les plus diluées que la résolution est la meilleure.

### Détecteur thermoionique (NPD)

Ce détecteur est très sensible aux composés azotés (N) ou phosphorés (P). Il comporte un petit cylindre en céramique dopée avec un sel alcalin (ex. sulfate de rubidium) auquel on applique une tension électrique pour entretenir un petit plasma ( $800^\circ\text{C}$ ) alimenté par combustion d'un mélange air/hydrogène (fig. 13). À la différence du FID la flamme est plus petite. Les composés contenant N ou P donnent, assez spécifiquement, des fragments de décomposition transformés en ions négatifs. Ces ions sont recueillis sur une électrode collectrice. Le diazote de l'air est inactif. La sensibilité est typiquement de 0,1 pg/s pour N ou P et l'étendue dynamique de 5 décades, mais elle varie beaucoup avec les réglages.

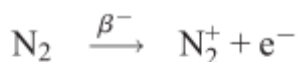


**Fig 13 :** Détecteurs FID (a) et NPD (b) . Les électromètres que l'on utilise pour ces détecteurs sont des dispositifs qui permettent de mesurer des intensités très petites, trop faibles pour un galvanomètre.

### Détecteur à capture d'électrons (ECD)

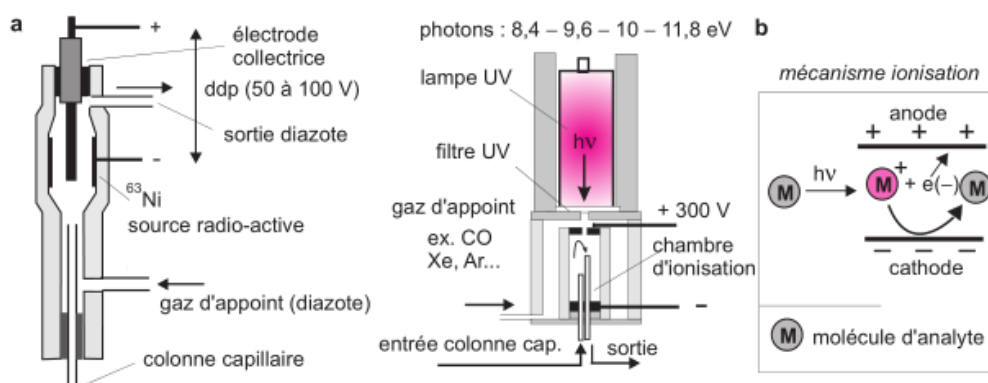
Il s'agit d'un détecteur considéré comme sélectif car il est beaucoup plus sensible aux dérivés halocarbonés. Un courant d'azote, ionisé par un flux d'électrons généré au moyen d'une source radioactive  $\beta^-$  de faible énergie (quelques mCi de  $^{63}\text{Ni}$ ), circule entre deux électrodes soumises à une ddp pulsée d'une centaine de volts (fig. 14), de telle sorte qu'il s'établit, au repos, un courant de base  $I_0$  dû essentiellement aux électrons libres, très mobiles. Si des molécules M, contenant un halogène (F, Cl ou Br), traversent la zone entre les

deux électrodes, elles captent une partie des électrons thermiques pour former des ions négatifs lourds, donc moins mobiles.



### Détecteur à photo-ionisation (PID)

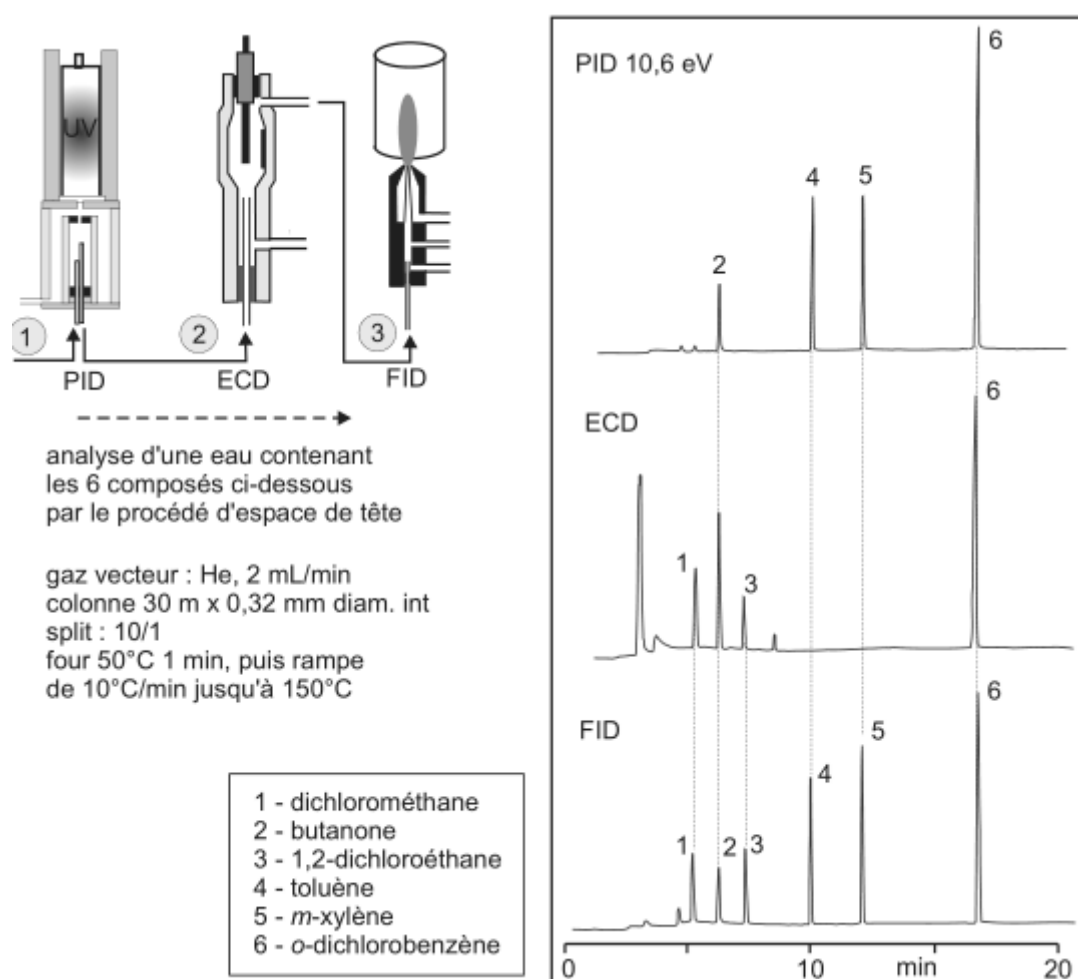
Ce détecteur assez sélectif mais peu répandu, convient aux hydrocarbures ainsi qu'aux dérivés contenant S ou P. Le principe consiste à irradier le composé élué avec une lampe UV émettant des photons très énergétiques (de 8,4 à 11,8 eV). La photo-ionisation se produit quand l'énergie du photon est supérieure à l'énergie de 1ère ionisation du composé.



**Fig. 14 :** Détecteurs à capture d'électrons (a) et détecteur à photo-ionisation (b).

### Détecteurs qui conduisent à des données structurées

Les détecteurs précédents ne donnent pas d'informations sur la nature des composés élués, tout au plus sont-ils sélectifs. L'identification repose donc sur un étalonnage préalable des temps de rétention ou sur l'utilisation des indices de rétention. Lorsque le chromatogramme présente des pics rapprochés, des confusions de composés peuvent se produire. Pour y remédier, on peut soit associer plusieurs détecteurs complémentaires, soit choisir des détecteurs permettant d'avoir des informations spectrales ou relatives à la composition élémentaire des analytes. On dispose alors à la fois du temps de rétention et de caractéristiques propres aux composés. Ces détecteurs reposent sur des méthodes indépendantes d'analyse, dont les résultats sont d'autant plus fiables que les composés ont été bien séparés par la colonne.



**Fig.15** : Association de trois détecteurs en série.

### Détecteur à émission atomique

Les composés en sortie de colonne débouchent dans un plasma à micro-ondes dont la température est suffisante pour créer les conditions rencontrées dans un appareil à émission atomique. Chaque atome présent dans les solutés élués donne des radiations caractéristiques qui permettent de l'identifier.

### Autres détecteurs

En adaptant en sortie de colonne un détecteur de masse (spectromètre de masse basse résolution), on obtient le spectre de fragmentation de chacun des composés élués. À partir du courant ionique total (TIC), on peut tracer le chromatogramme représentatif des composés élués. En sélectionnant un ion particulier (technique SIM), on obtiendra un chromatogramme sélectif. Bien que cette méthode conduise à une sensibilité moindre qu'avec les détecteurs classiques, elle est devenue irremplaçable dans nombre de dosages actuels, notamment dans les analyses de l'environnement. Elle exige néanmoins

l'utilisation de colonnes performantes (DI = 0,1 à 0,2 mm) et à ressuage ultrafaible. De même, avec un détecteur infrarouge, on obtient le spectre du moyen infrarouge (cf. chapitre 10) et avec un détecteur ultraviolet, un spectre ultraviolet de chaque composé élué.

On entre ici dans le domaine des méthodes couplées, largement utilisées pour doser les traces. Les deux modes de détection ci-dessus peuvent être réunis dans une même installation à la suite d'une CPG à colonne capillaire.

## **En Chromatographie en Phase Liquide (HPLC) :**

### **1. Injection en Boucle (Loop Injection) :**

- Une quantité précise d'échantillon est injectée à l'aide d'une boucle calibrée.
- Très répandu en HPLC pour garantir la reproductibilité.

### **2. Injection Automatique :**

- Réalisée par des échantillonneurs automatiques (autosamplers), permettant une haute précision et un traitement de plusieurs échantillons consécutifs.

## **4. Méthodologie et Préparation des Échantillons**

### **1. Méthodologie d'Injection :**

- S'assurer que la seringue est propre et calibrée.
- Vaporiser l'échantillon dans l'injecteur rapidement pour éviter une mauvaise reproductibilité.

### **2. Préparation de l'Échantillon :**

- Diluer les échantillons concentrés pour éviter la surcharge.
- Filtrer les échantillons pour éviter les particules susceptibles de boucher la colonne.

### **3. Quantité à Injecter :**

- En CPG : de l'ordre de 0.1 à 1  $\mu\text{L}$ .
- En HPLC : généralement de 5 à 50  $\mu\text{L}$  selon la colonne et le système.

### **4. Normes des Échantillons :**

- Pureté élevée du solvant pour éviter les bruits de fond.
- Utiliser des solutions standard pour la calibration.

## **5. Comparaison des Modes d'Injection (Résumé)**

Mode	Usage	Quantité Injectée	Avantages	Inconvénients
Split	Échantillons concentrés	Petite fraction (0.1 $\mu\text{L}$ )	Analyse rapide, pas de surcharge	Perte d'analytes
Splitless	Échantillons dilués ou traces	Quasi-totalité (0.5-1 $\mu\text{L}$ )	Haute sensibilité	Temps d'injection plus long
On-Column	Thermolabiles ou non volatils	Toute quantité	Pas de perte thermique	Non adapté aux colonnes capillaires
PTV	Large éventail de composés	Variables	Meilleure vaporisation contrôlée	Configuration complexe

En conclusion, le choix du mode d'injection dépend de la nature de l'échantillon, de la concentration des analytes et des objectifs de l'analyse. Ces techniques jouent un rôle clé dans l'obtention de résultats fiables en chromatographie.

En **HPLC (Chromatographie en Phase Liquide Haute Performance)**, les modes d'injection sont adaptés aux exigences de cette méthode, mais ils diffèrent des injections utilisées en chromatographie en phase gazeuse. Voici les modes d'injection typiques en HPLC :

### Modes d'injection en HPLC :

#### 1. Injection par Boucle d'Échantillon (Loop Injection)

- **Principe** : L'échantillon est introduit dans une boucle calibrée (généralement via une seringue) et est ensuite poussé dans la colonne par la phase mobile.
  - La boucle est de volume fixe, garantissant une grande précision.
  - L'injection est soit **manuelle** à l'aide d'un injecteur rotatif, soit **automatique** via un autosampler.
- **Applications** :
  - Mode standard en HPLC pour garantir des volumes d'injection reproductibles.
  - Compatible avec des échantillons liquides homogènes.

#### 2. Injection Automatique (Autosampler)

- **Principe** : Un échantillonneur automatique prélève l'échantillon à partir de flacons (vials) placés dans un plateau rotatif ou une rangée.
  - Volume injecté réglable avec une précision élevée (généralement entre 1 et 100  $\mu\text{L}$ ).
  - Réduction des erreurs humaines et possibilité de travailler avec de nombreux échantillons de manière séquentielle.
- **Avantages** :
  - Grande efficacité pour l'analyse de séries d'échantillons.
  - Reproductibilité excellente.

### 3. Injection en Ligne (On-line Injection)

- **Principe** :  
Les échantillons sont injectés directement dans le flux de la phase mobile sans passer par une boucle intermédiaire.
- **Avantages** :
  - Réduction des pertes analytiques.
  - Approprié pour les analyses nécessitant une intégration directe avec d'autres systèmes (comme les spectromètres de masse).

### 4. Injection en Grand Volume (Large Volume Injection, LVI)

- **Principe** :  
Permet l'injection d'un volume supérieur à la capacité de la boucle d'échantillon, généralement utilisée avec des colonnes de grande capacité ou des analyses nécessitant une grande sensibilité.
- **Applications** :
  - Analyse des traces.
  - Nécessite une dilution importante pour éviter la saturation de la colonne.

## Spécificités de l'Injection en HPLC :

### 1. Préparation de l'échantillon :

- Les échantillons doivent être :
  - Complètement solubles dans la phase mobile.
  - Filtrés pour éviter l'obstruction des colonnes (filtre de 0.2  $\mu\text{m}$  recommandé).
  - Dégazés pour éviter les bulles dans le système.

## 2. Volumes d'injection typiques :

- Colonnes analytiques : 5-50  $\mu\text{L}$ .
- Colonnes semi-préparatives ou préparatives :  $>100 \mu\text{L}$ .

## 3. Normes :

- Utiliser des standards certifiés pour la calibration.
- Vérifier la propreté de la boucle et des seringues pour éviter les contaminations croisées.

## 4. Quantité injectée et concentration :

- La concentration de l'échantillon doit être adaptée pour ne pas saturer la colonne ou les détecteurs.

### Conclusion :

#### ➤ Comparaison avec les Modes d'Injection en CPG :

En HPLC, il n'y a pas de modes comme *Split* ou *Splitless* car :

- Les phases liquides permettent un contrôle direct du volume injecté.
- La phase mobile transporte intégralement l'échantillon dans la colonne.

Cependant, la précision et la reproductibilité des volumes injectés sont critiques, particulièrement pour les analyses quantitatives.

Si vous souhaitez des détails supplémentaires, comme des schémas des injecteurs ou les particularités des autosamplers, n'hésitez pas à demander !