

Licence Professionnelle Métrologie chimique et nucléaire
2023-2024 UE XLP5CE033

Les techniques chromatographiques- HPLC et GC

Stéven RENAULT
steven.renault@cirs-imn.fr

Maître de conférences

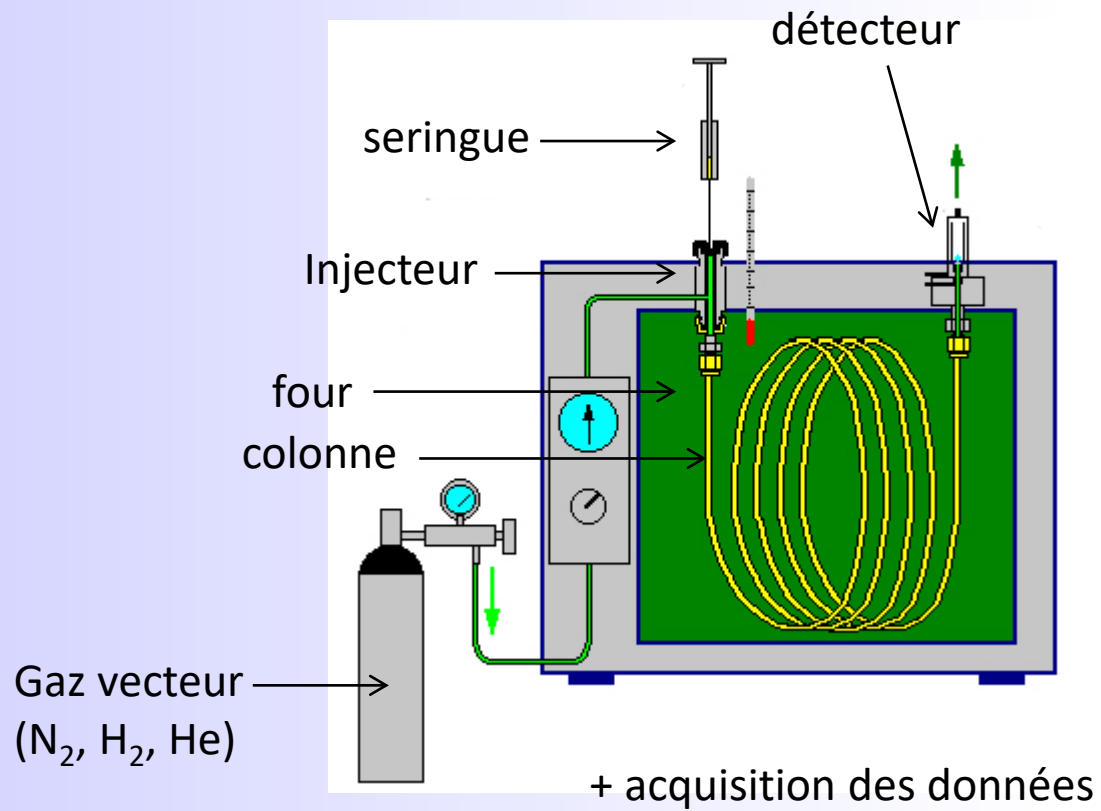
Licence Professionnelle Métrologie chimique et nucléaire
2023-2024 UE XLP5CE033

La chromatographie en phase gazeuse

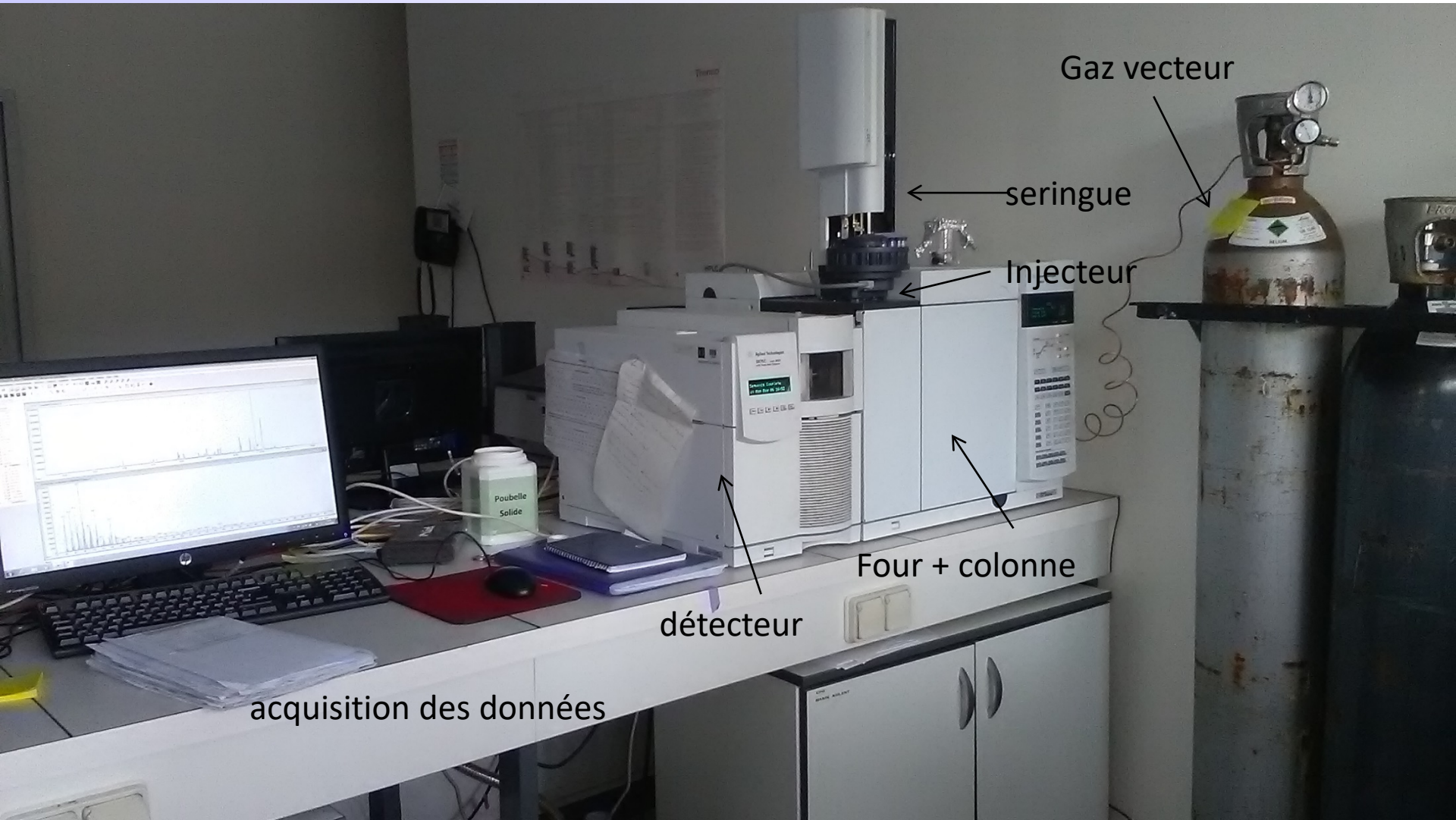
Stéven RENAULT
steven.renault@cirs-imn.fr

Maître de conférences

Pour composés volatils ($M < 300$) et non thermosensible



Pour composés volatils ($M < 300$) et non thermosensible



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

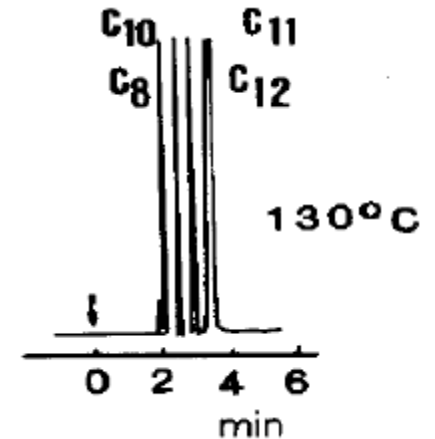
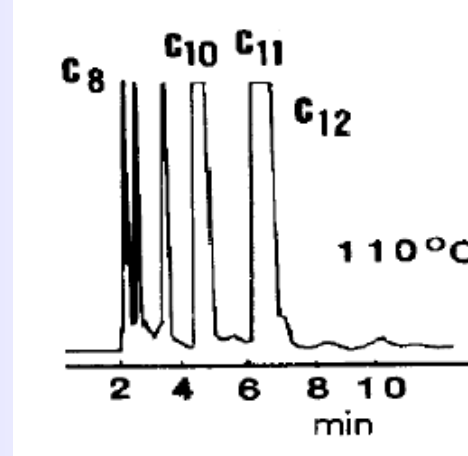
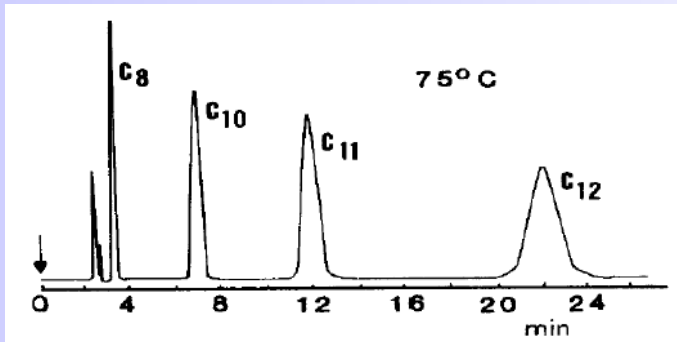
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

1. Mécanismes de rétention

En fonction de la température de la colonne

Rétention des analytes \searrow quand $T^\circ \nearrow$



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

1. Mécanismes de rétention

En fonction de la volatilité

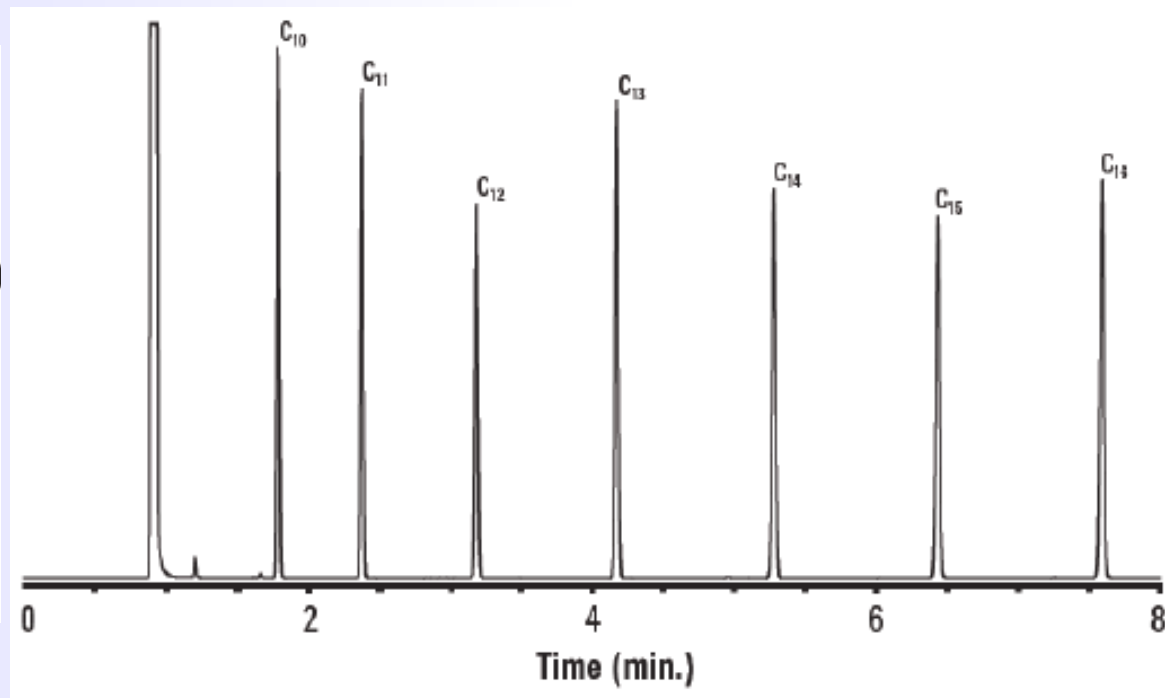
Pour une **série homologue** et pour une **même phase** les composés sortent généralement dans **l'ordre de leur $T_{\text{ébullition}}$**

Colonne : DB-1, 15 m x 0,25 mm de d.i., 0,25 μm

Gaz vecteur: hélium à 30 cm/s

Four: 60 °C pendant 1 min, 60 à 180 °C à 20 °C/min

	Point d'ébullition (°C)
1. n-décane (C_{10})	174
2. n-undécane (C_{11})	196
3. n-dodécane (C_{12})	216
4. n-tridécane (C_{13})	234
5. n-tétradécane (C_{14})	253
6. n-pentadécane (C_{15})	268
7. n-hexadécane (C_{16})	287



Phase stationnaire non polaire

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

1. Mécanismes de rétention – interactions mises en jeu

Forces de dispersion (fonction de taille des molécules donc de $T_{eb.}$)

Dipolaires

π - π

Liaisons H

Phases apolaires : interactions de dispersion / π - π

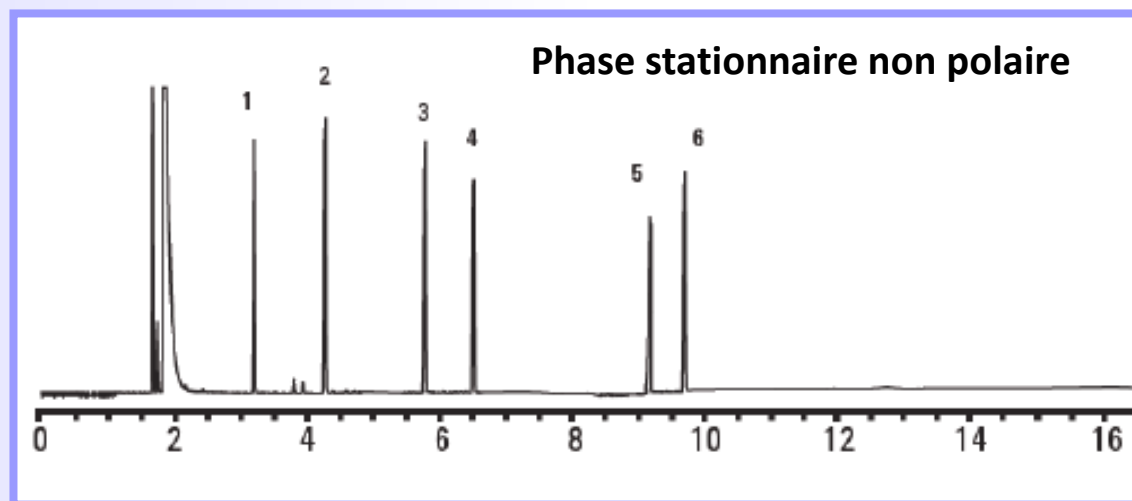
Phases polaires : interactions de dispersion / dipolaires / π - π / Liaisons H

Pour des composés non homologues l'ordre des $T_{eb.}$ peut être perturbé

Exemple 1

Colonne : DB-1, 30 m x 0,25 mm de d.i., 0,25 μ m

	Points d'ébullition, °C
1. Toluène	111
2. Hexanol	157
3. Phénol	182
4. Décane (C ₁₀)	174
5. Naphtalène	219
6. Dodécane (C ₁₂)	216



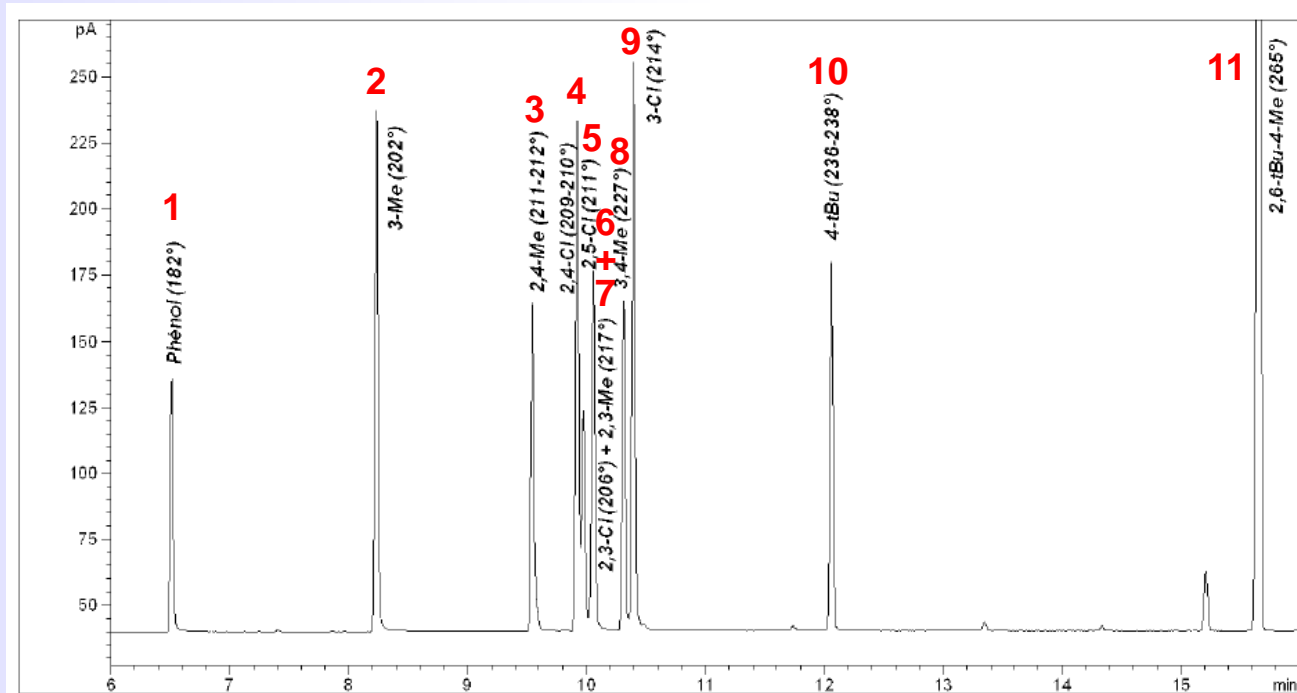
- Mécanismes de rétention
- Le gaz vecteur
- Les colonnes
- Les injecteurs
- Les phases stationnaires
- Les détecteurs
- Les paramètres chromatographiques
- Comment optimiser une séparation ?
- Maintenance préventive
- Problèmes le plus souvent rencontrés

1. Mécanismes de rétention – interactions mises en jeu

Même pour des composés homologues avec des groupements très différents
l'ordre des T_{eb} peut être perturbé

Exemple 2

	T_{eb} °C
1. Phénol	182
2. 3-Méthyl phénol	202
3. 2,4-Méthyl phénol	211,5
4. 2,4-Chloro phénol	209,5
5. 2,5-Chloro phénol	211
6. 2,3-Chloro phénol	206
7. 2,3-Méthyl phénol	217
8. 3,4-Méthyl phénol	227
9. 3-Chloro phénol	214
10. 4-tertiobutyl phénol	237
11. 2,6-tertiobutyl phénol	265



HP-Ultra1 / 25mx320µmx0.52µm / He 2ml/mn
50°C (1mn)/8°C-mn/300°C (15mn)

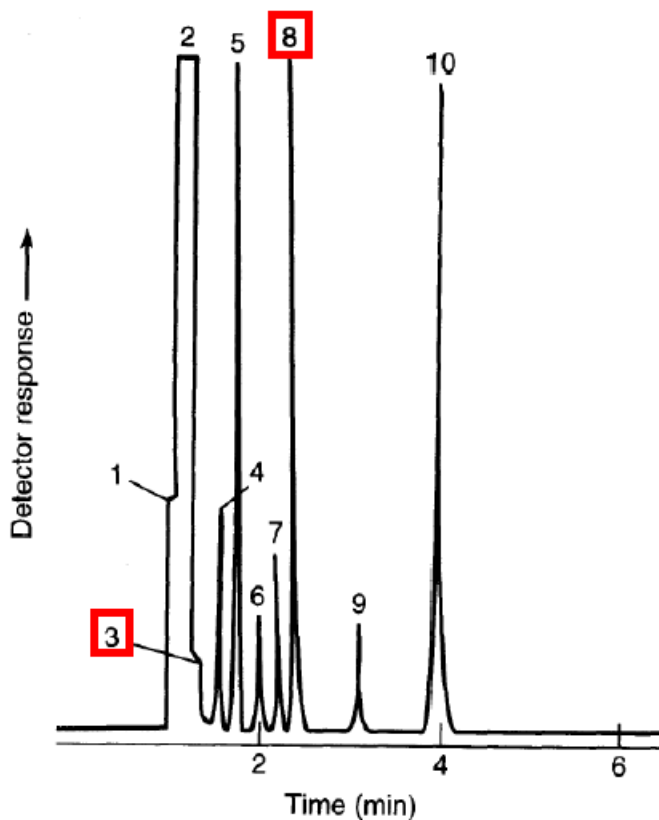
Phase stationnaire non polaire

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

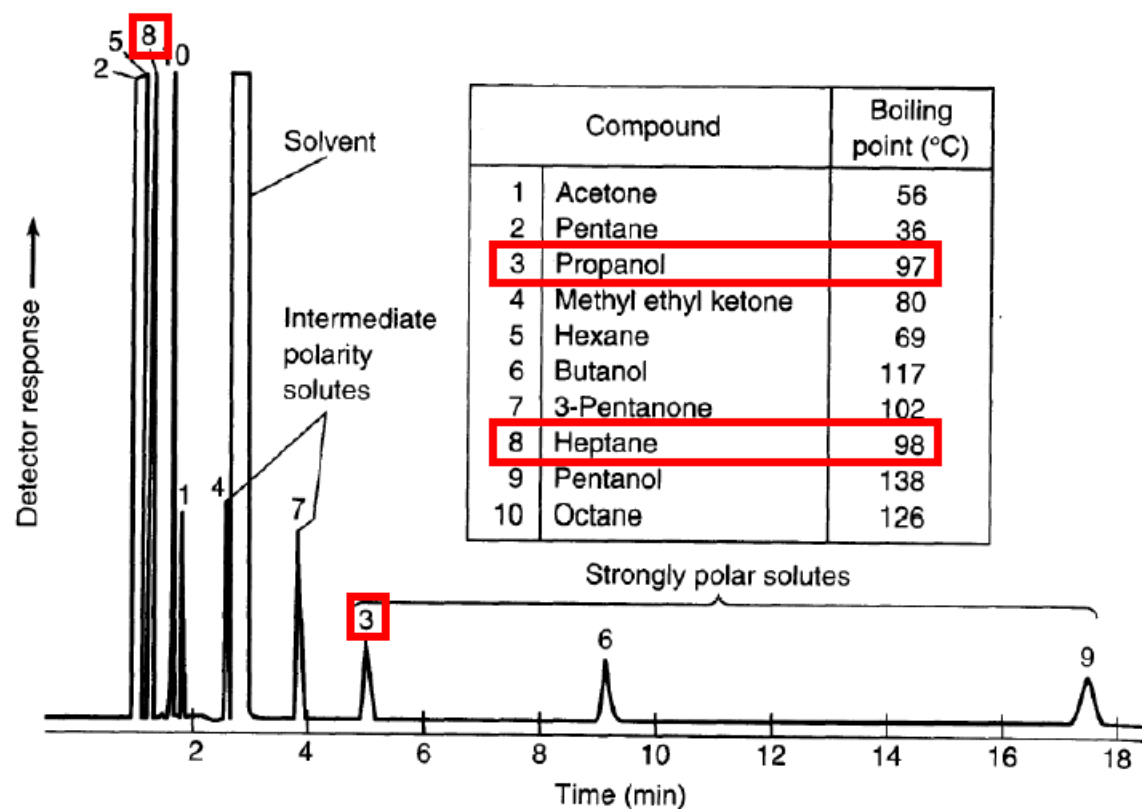
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

1. Mécanismes de rétention – interactions mises en jeu

Pour des composés de nature différente : ordre de sortie dépend des **Teb.** + **affinité** avec la **phase stationnaire**



(a) Phase stationnaire non polaire



(b) Phase stationnaire polaire

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

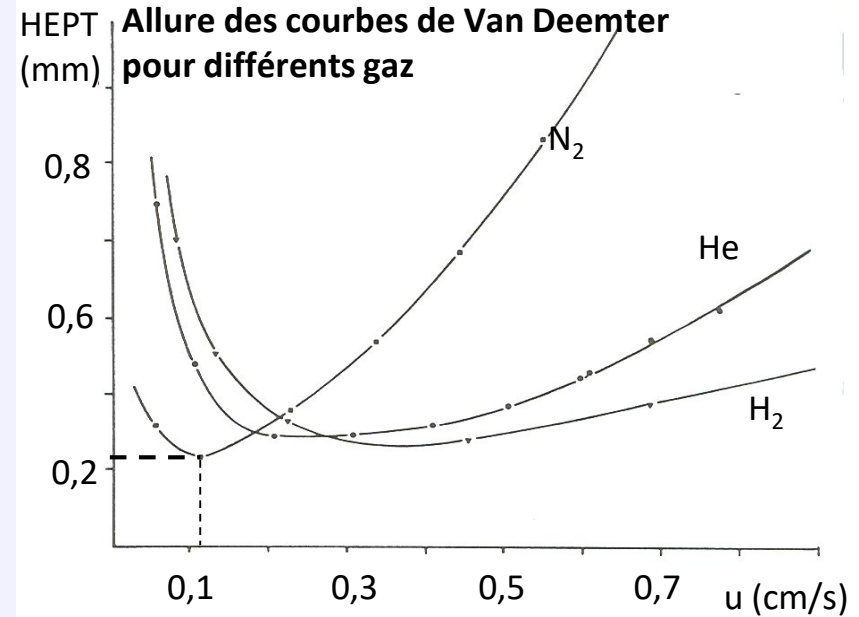
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

2. Le gaz vecteur

- sec et exempt d'O₂ (pureté : 99,9999%)
- inerte chimiquement
- compatible avec le détecteur
- Débit contrôlé
- nature, vitesse définissent l'efficacité
- choix: vitesse ↑ : H₂, He
température ↑ : H₂
prix : N₂
détecteur

$$H_{\min\text{theo}} = r \sqrt{\frac{1 + 6k + 11k^2}{3(1+k)^2}}$$

H plus petit avec colonnes capillaires



$$H = \frac{B'}{u} + C' \times r^2 \times u$$

Diffusion longitudinale

Résistance au transfert de masse

r = rayon interne de colonne

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

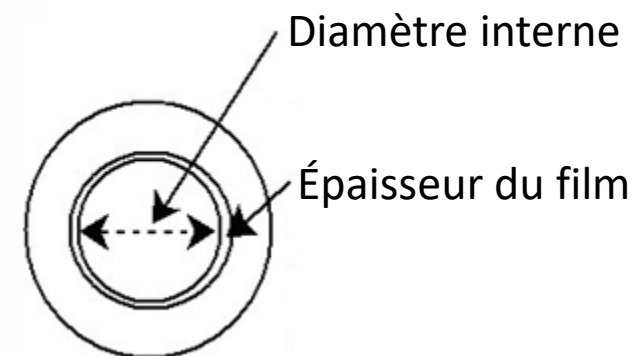
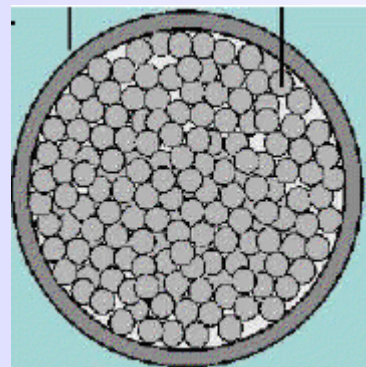
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

3. Les colonnes

Types de colonnes	Longueur (m)	Diamètre interne (mm)	Quantité injectée	PS	Tube
remplie	0,5 – 6	2 – 6	0,1 – 1 mg	Imprégnée sur bille	Métal ou verre
Mégabore (semi-capillaire)	5 – 50	0,53	0,1 – 1 mg	Film (greffé ou déposé sur les parois)	silice
capillaire	10 – 100	0,1 – 0,5	0,1 – 1 μ g		silice



Colonne remplie

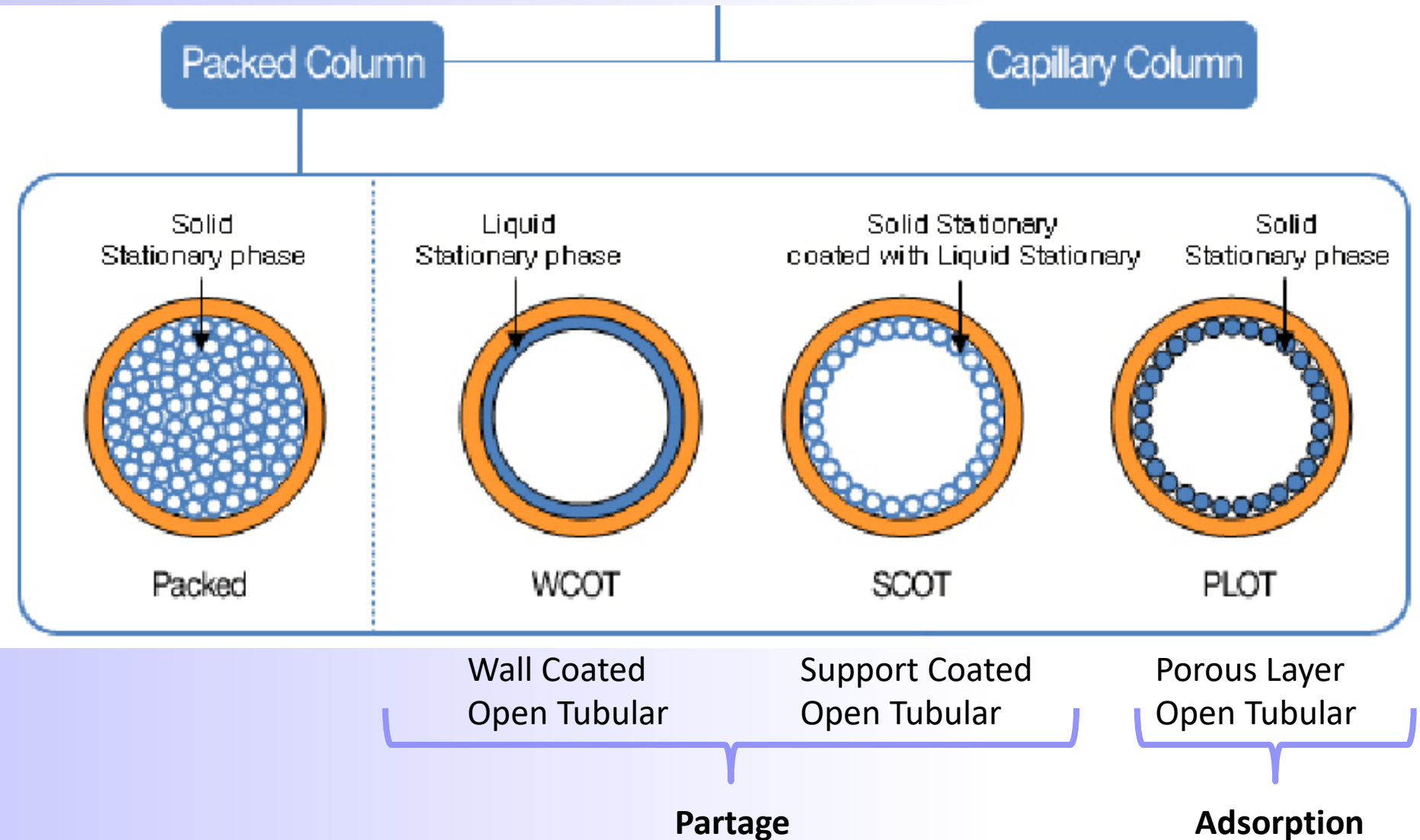


Colonne capillaire

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

3. Les colonnes



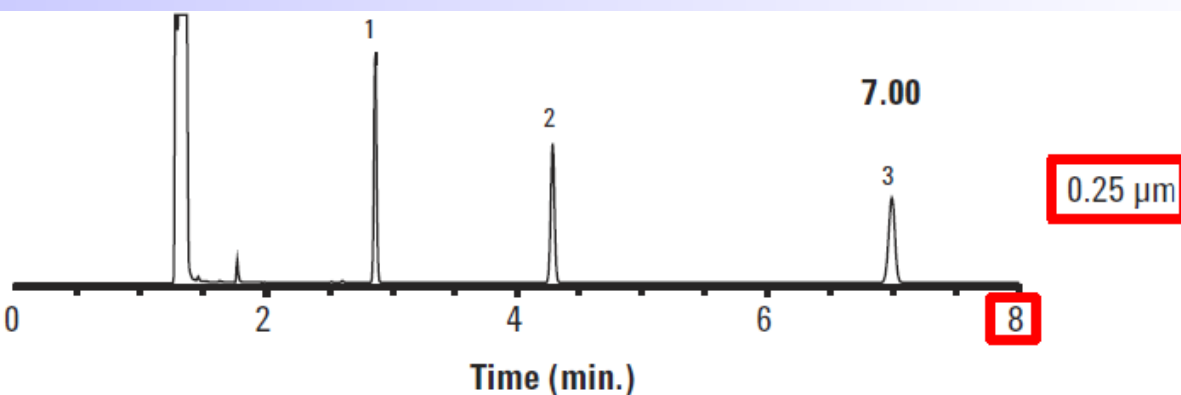
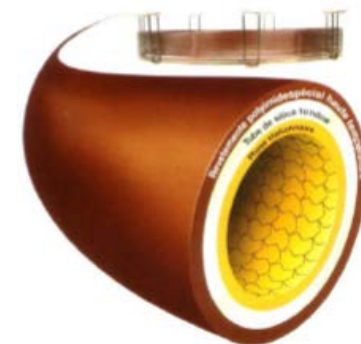
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

3. Les colonnes – Influence de l'épaisseur du film

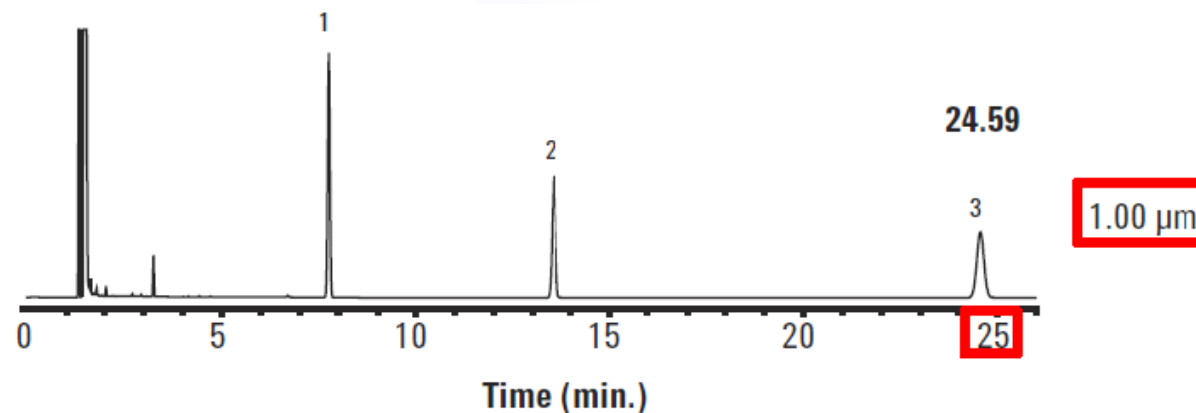
- films minces : analyse de composés peu volatils
- films épais : analyse composés très volatils

↗ épaisseur de film ⇒ ↗ t_R



1. n-Decane
2. n-Undecane
3. n-Dodecane

Column: DB-1, 30 m x 0.32 mm I.D.
Carrier: Helium at 38 cm/sec
Oven: 100°C isothermal



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

3. Les colonnes – Influence de l'épaisseur du film

CAPACITE DE LA COLONNE (ng)				
Epaisseur de film (μm)	Diamètre Interne (mm)			
	0,18	0,25	0,32	0,53
0.10	20-35	25-50	35-75	50-100
0.25	35-75	50-100	75-125	100-250
0.50	75-150	100-200	125-250	250-500
1.00	150-250	200-300	250-500	500-1000
3.00		400-600	500-800	1000-2000
5.00		1000-1500	1200-200	2000-3000

1. Mécanismes de rétention	6. Les détecteurs
2. Le gaz vecteur	7. Les paramètres chromatographiques
3. Les colonnes	8. Comment optimiser une séparation ?
4. Les injecteurs	9. Maintenance préventive
5. Les phases stationnaires	10. Problèmes le plus souvent rencontrés

3. Les colonnes

- ✓ Les phases apolaires séparent les analytes principalement par ordre croissant des T_{eb} .
- ✓ Pour les analytes présentant des différences de moment dipolaire ou de distribution des charges utiliser plutôt des phases phényl ou cyanopropyl
- ✓ Pour les analytes présentant des différences dans leur capacité à créer des liaisons H (exemple aldéhydes et alcools) utiliser plutôt des phases polyéthylène glycol
- ✓ Choisir la phase la moins polaire parmi celles qui assure la séparation requise

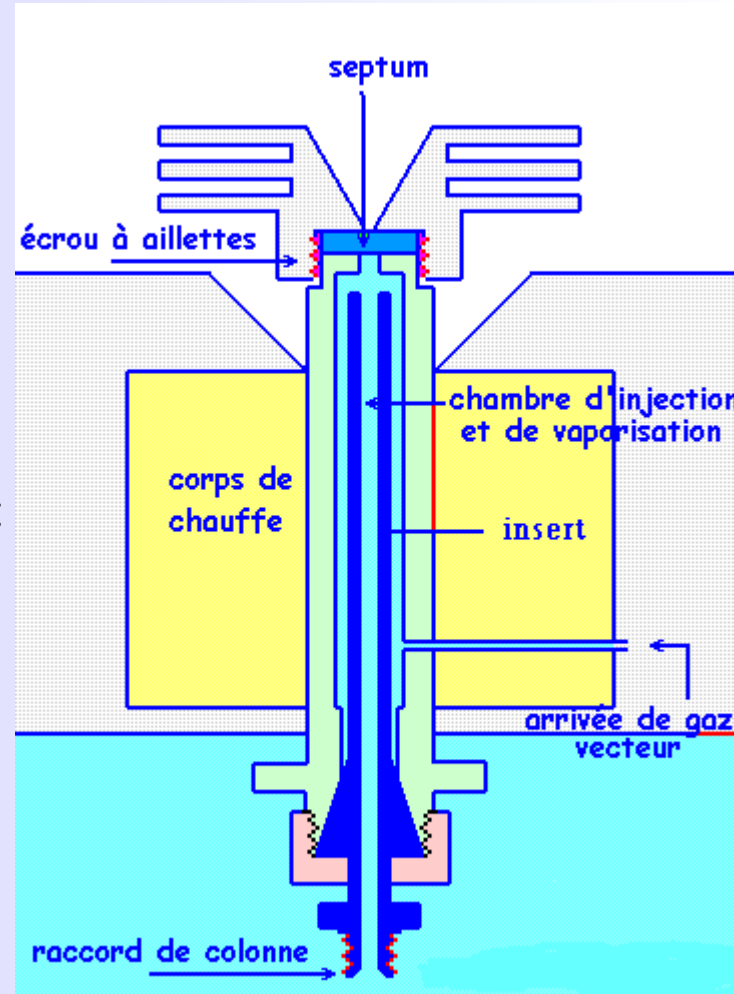
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne remplie

Objectif : Volatiliser l'échantillon

$T_{inj} > T_{colonne}$
Volatilisation
Mélange de la vapeur et
de la PM

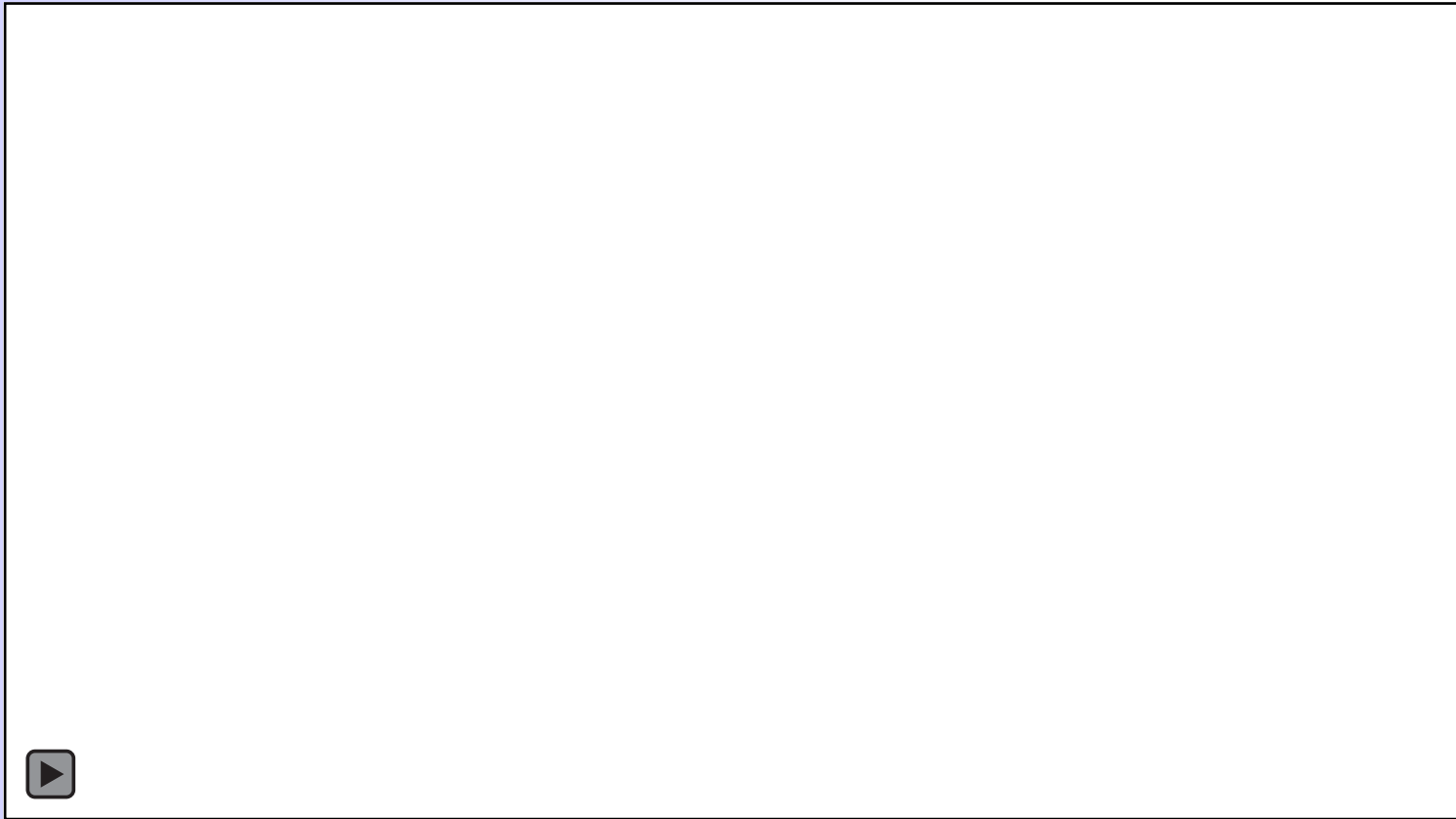


1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

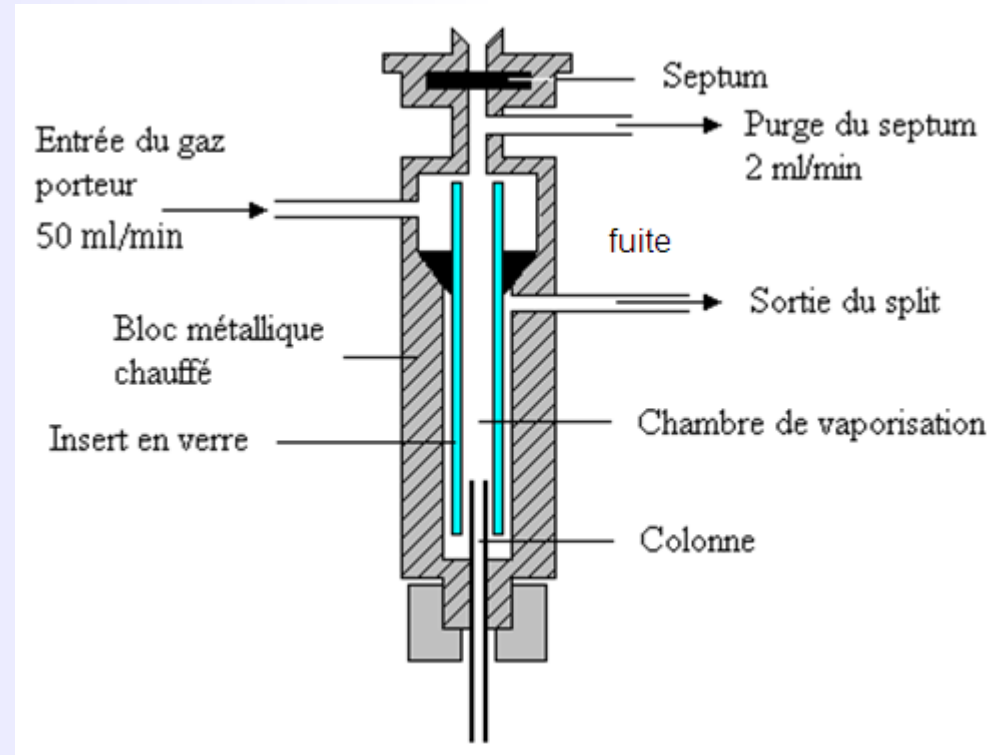
4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless

«Split » = avec division

$T_{inj} > T_{colonne}$
Volume injecté de 1 à qq μL

$$R_{\text{division}} = \frac{\text{débit fuite}}{\text{débit colonne}}$$

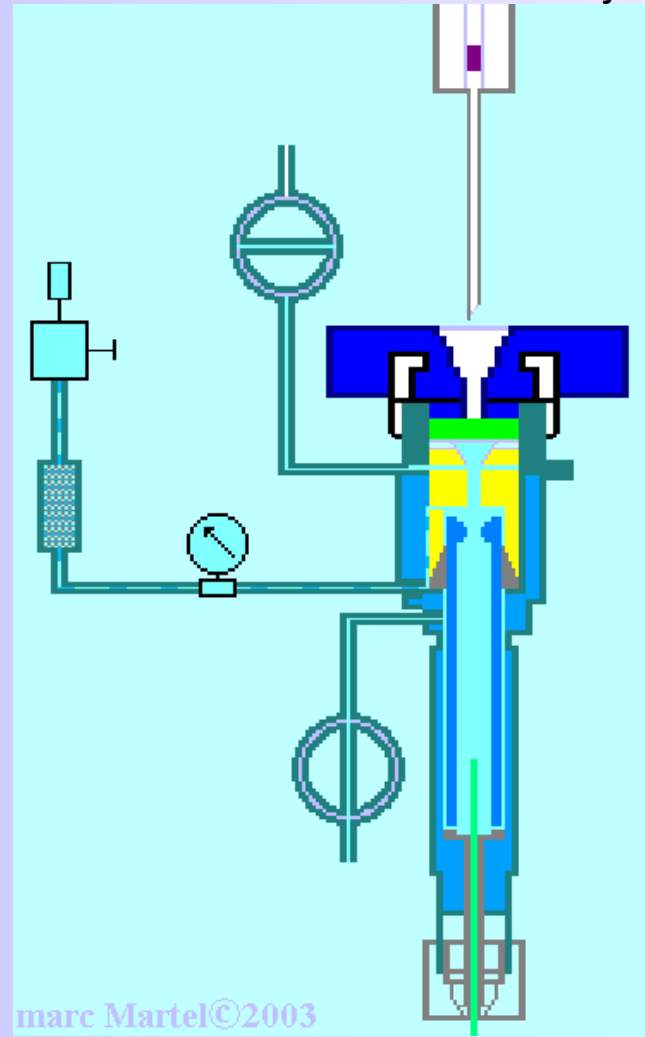


1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

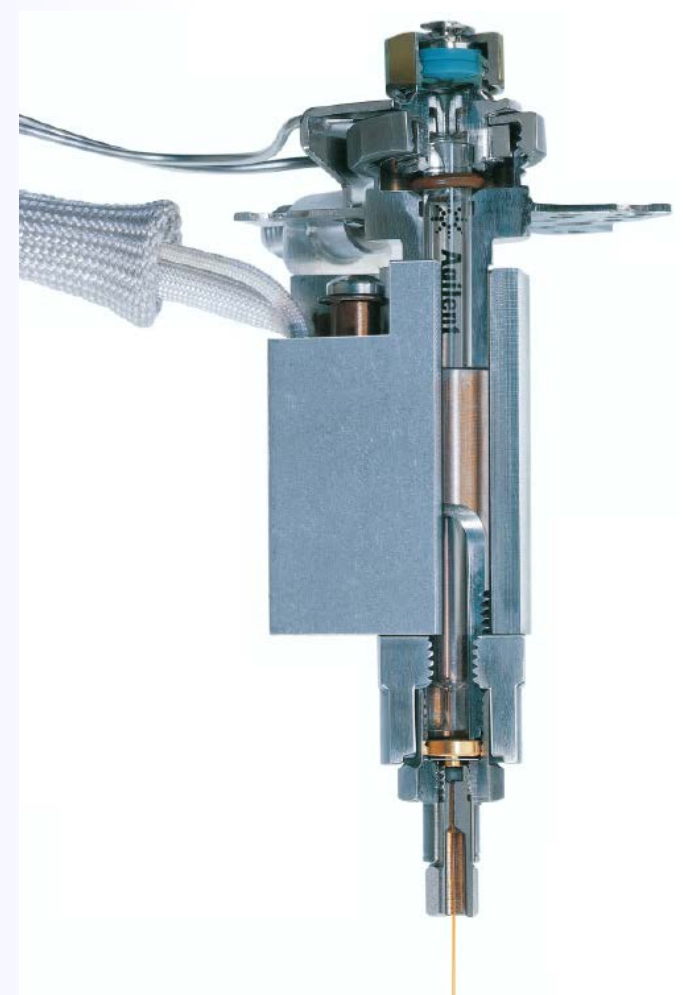
4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless



marc Martel©2003

2023-2024



Stéven Renault

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless

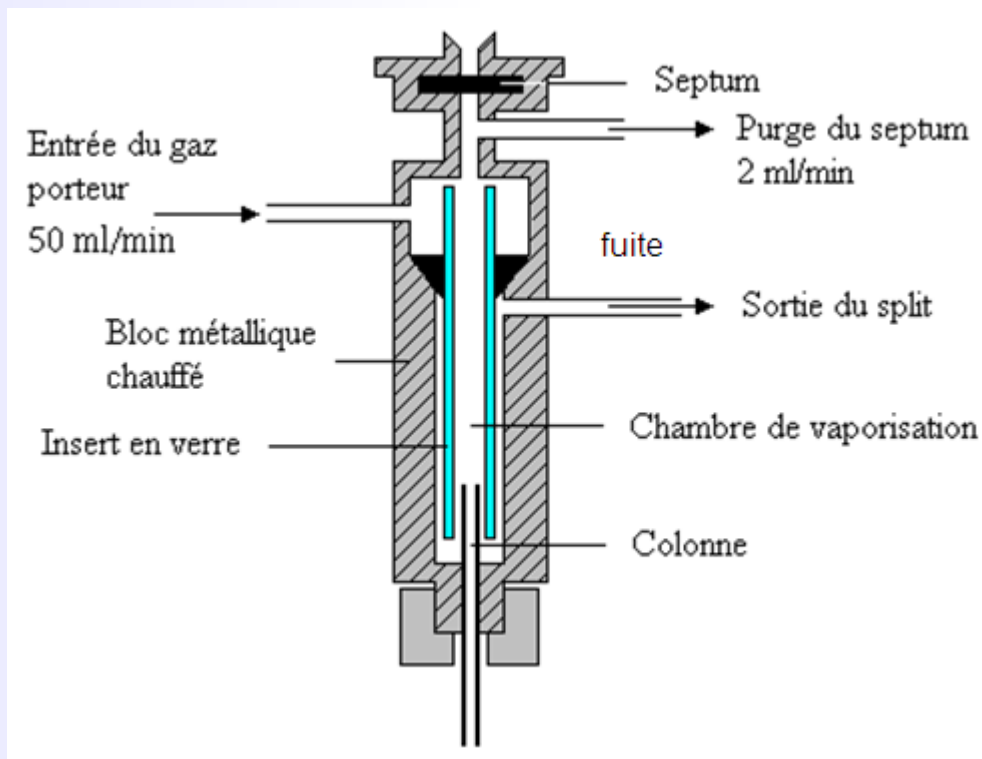
«Split »

$T_{inj} > T_{colonne}$
Volume injecté de 1 à qq μL

$$R_{\text{division}} = \frac{\text{débit fuite}}{\text{débit colonne}}$$

Discrimination des « lourds »

Solutions « concentrées »



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

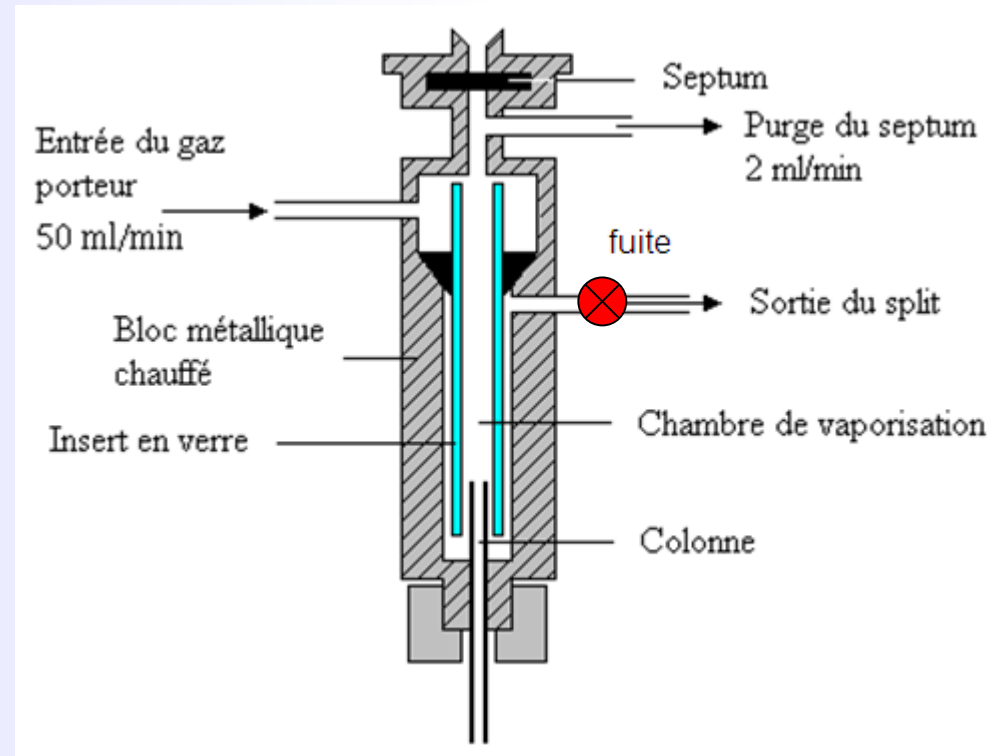
4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless

«splitless » = sans division

$T_{inj} > T_{colonne}$
Colonne plutôt basse en température
pour concentrer en tête de colonne
Ouverture de la fuite à la fin pour
purger résidus

Solutions « diluées »



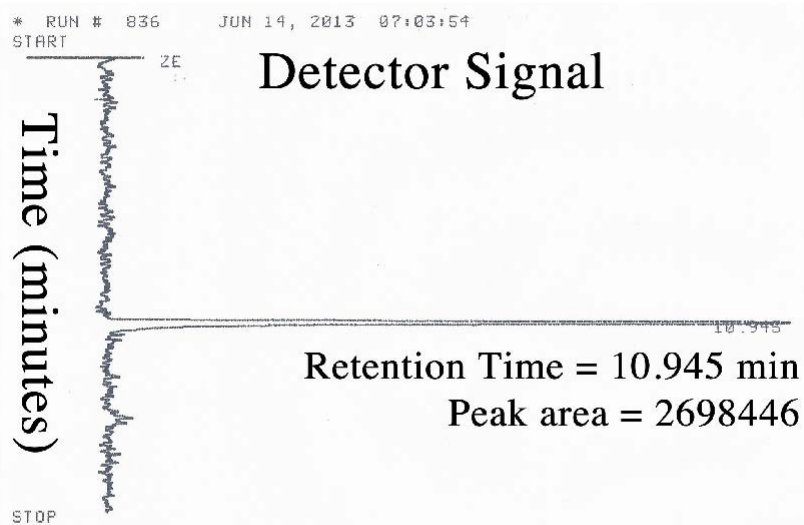
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless

Splitless Mode

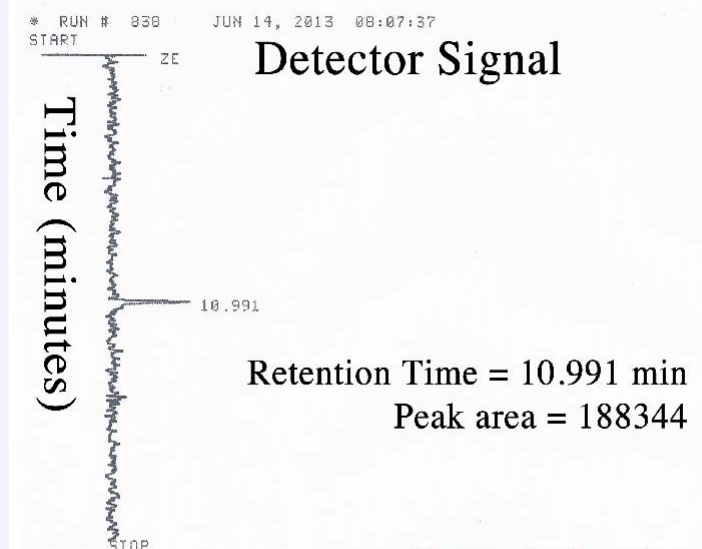


Splitless injection

RUN# 836 JUN 14, 2013 07:03:54
SIGNAL FILE: M:SIGNAL.RAW
AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
10.945	2698446	PV	.175	100.00000

Split Mode



Split injection

RUN# 838 JUN 14, 2013 08:07:37
SIGNAL FILE: M:SIGNAL.RAW
AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
10.991	188344	BB	.106	100.00000

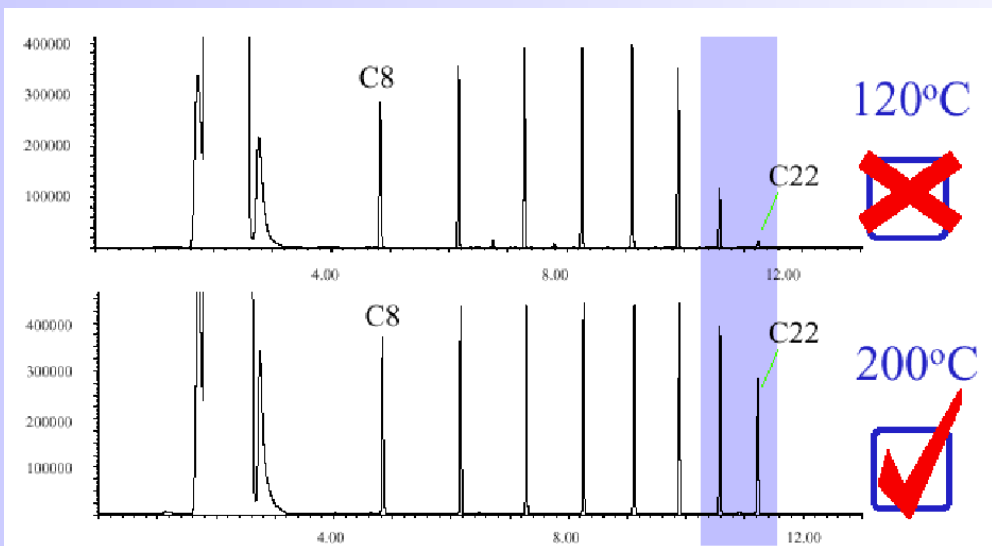
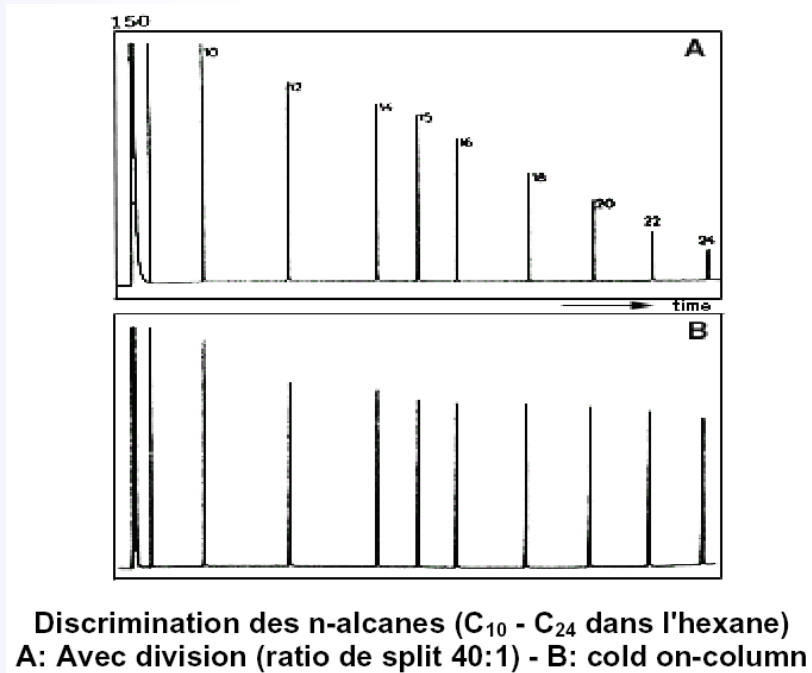
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless

Point faible du mode split
discrimination en faveur des
composés les + volatils



Ce risque est **dépendant** de la
température de l'injecteur

- | | |
|-----------------------------|--|
| 1. Mécanismes de rétention | 6. Les détecteurs |
| 2. Le gaz vecteur | 7. Les paramètres chromatographiques |
| 3. Les colonnes | 8. Comment optimiser une séparation ? |
| 4. Les injecteurs | 9. Maintenance préventive |
| 5. Les phases stationnaires | 10. Problèmes le plus souvent rencontrés |

4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur-diviseur Split/splitless

	Split	Splitless
Points forts	<p>Inj. échantillons concentrés sans dilution préalable</p> <p>Élargissement minime des pics</p> <p>Analyse de composés élués près du solvant</p> <p>Contrôle de qté. introduite dans colonne (split ratio)</p>	<p>-Inj. échantillons faiblement concentrés (analyse de traces)</p> <p>-Inj. échantillons contenant composés non volatils</p>
Points faibles	<p>-Ne convient pas aux échantillons très dilués</p> <p>- Risque de discrimination</p> <p>- Risque de dégradation thermique</p>	<p>-Pb. reproductibilité des t_R des composés en début de chromatogramme</p> <p>-Risque de discrimination</p> <p>-Risque de dégradation thermique</p>

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

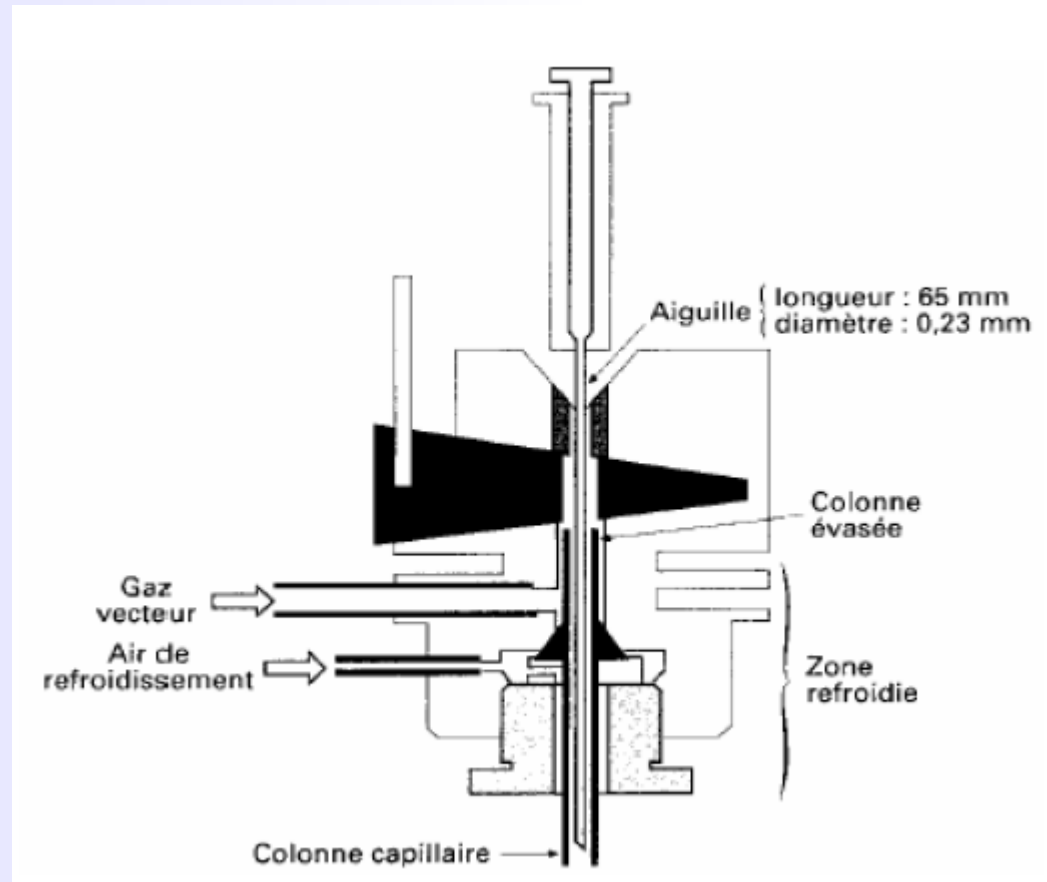
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne remplie et capillaire

Injecteur de Grob ou « on-column »

directe en tête de colonne
À froid
Pas de septum

Risque de pollution avec solutés
non volatils



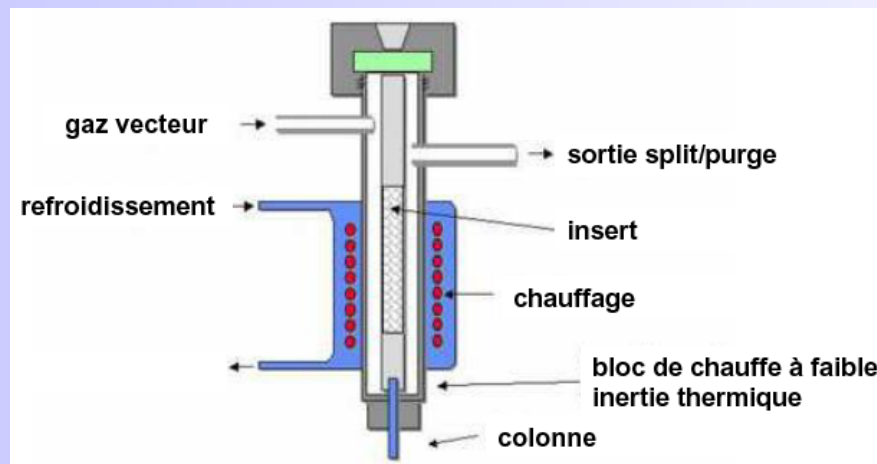
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne capillaire

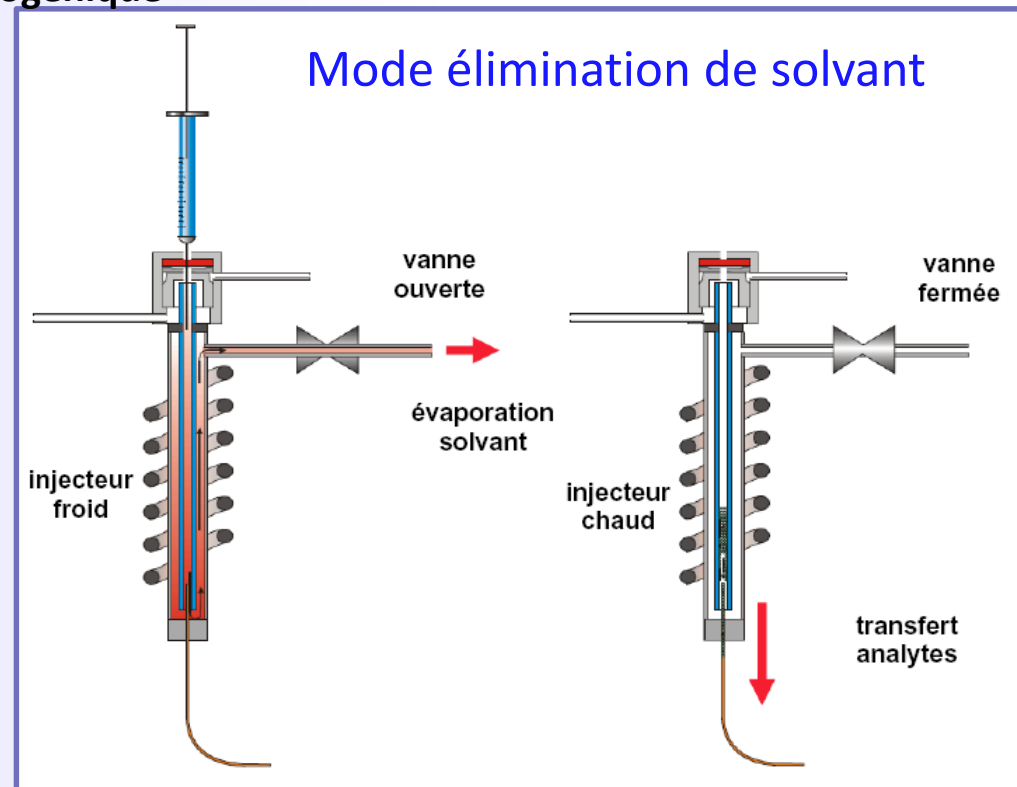
Injecteur à température programmable (PTV)

- Configuration analogue à injecteur Split/Splitless + variation température de chambre d'évaporation (10°C/s)
- Chauffage par résistance
- Refroidissement par effet Peltier ou fluide cryogénique



Ce type d'injecteur permet :

- Injections avec ou sans division à froid
- Élimination du solvant (injection large volume)



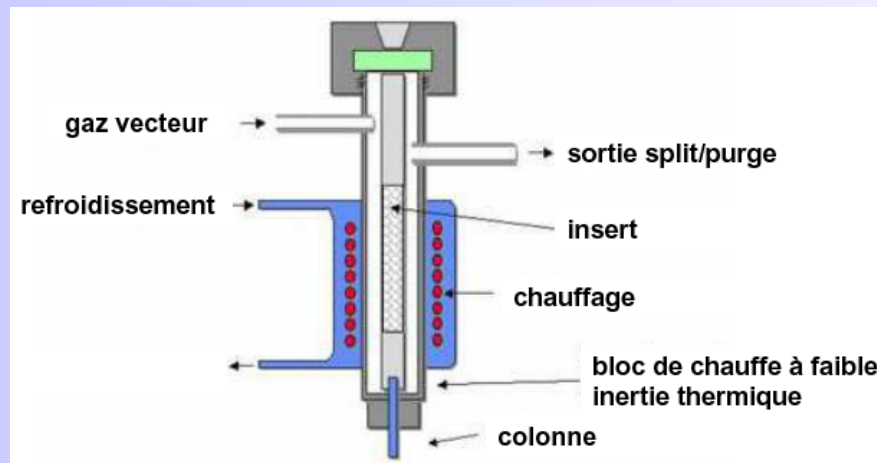
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

4. Les injecteurs – colonne capillaire

Injecteur à température programmable (PTV)

- Configuration analogue à injecteur Split/Splitless + variation température de chambre d'évaporation (10°C/s)
- Chauffage par résistance
- Refroidissement par effet Peltier ou fluide cryogénique



Ce type d'injecteur permet :

- Injections avec ou sans division à froid
- Élimination du solvant (injection large volume)

Points forts

- Discrimination limitée (inj. à froid)
- Dégradation thermique limitée
- Injection d'échantillons faiblement concentrés

Point faible

- Optimisation

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – solides

Adsorbants : particules fines

- Colonne remplie
- Colonne capillaire PLOT

Gaz et solutés
très volatils

Composés
polaires

Nature

- Charbon actif – Noir de carbone
 - Carbopak C – Carboxène
- Gel de silice ou d'alumine
 - Sphérosil - Porasil
- Tamis moléculaire de zéolithe (aluminosilicate alcalin)
- Copolymère styrène-divinylbenzène
 - Porapak

Indications de la chromatographie Gaz – solide

- Analyse des gaz permanents
 - composés gazeux à température ambiante
 - composés retenus / adsorbants à faible T

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – Films minces liquides

- **Fixé sur adsorbant** → colonne remplie
- **Déposé ou greffé sur paroi** → colonne capillaire

◆ Adsorbants

- Gel de silice (Sphérosil – Porasil)
- Carbone (Carbopak C)
- polymère organique poreux (Porapak)

◆ Utilisation

Température minimale et maximale

- Température minimale d'utilisation

Point de cristallisation

Carbowax : 65 °C

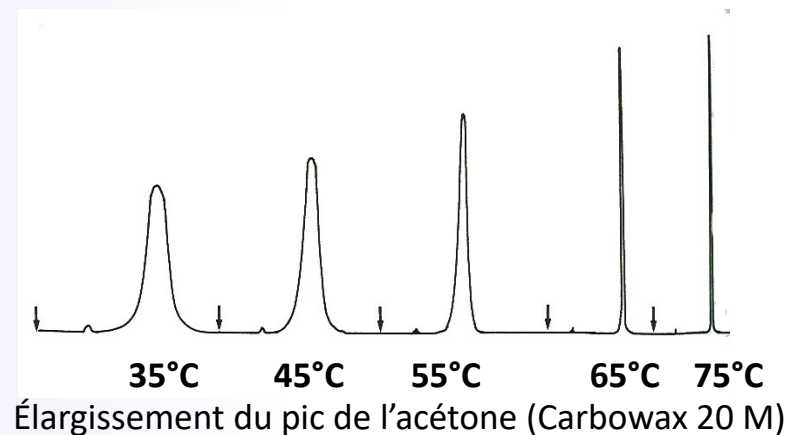
- Température maximale d'utilisation

Nature du détecteur

Sensibilité du détecteur

◆ Propriétés des phases stationnaires :

- Phase stationnaire **liquide**
- **Non volatile** à T d'analyse
- **Stabilité** chimique et thermique ("bleeding")
- **Inertie chimique** vis-à-vis des analytes



"Bleeding"

T élevée ⇒

Bruit de fond

↘ Durée de vie de la colonne

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – Films minces liquides

4 types

Squalane

Polysiloxanes

Polyéthylèneglycol

chirale

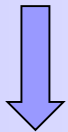
Phase de référence

Polarité nulle

Hydrocarbures très retenus

Élution en fonction de T_{eb}

Solutés polaires très peu retenus

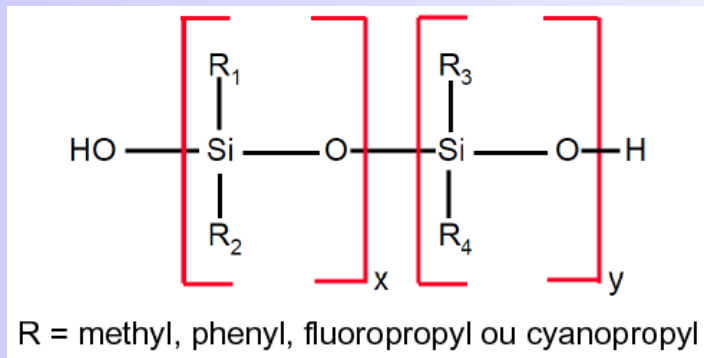
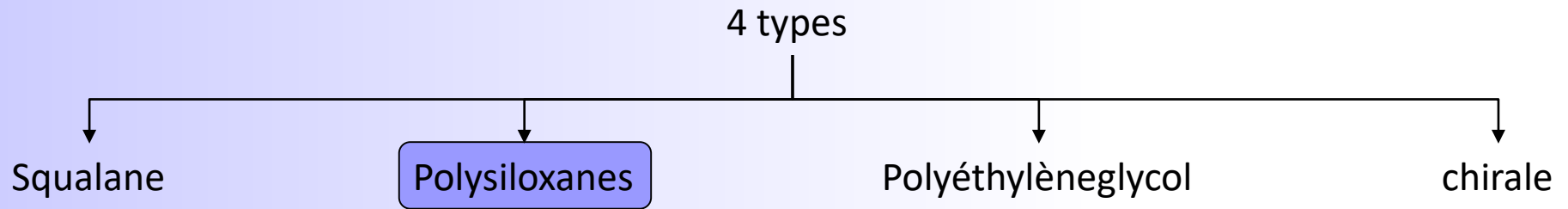


Analyse des hydrocarbures

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – Films minces liquides



Très stables
Bonne inertie chimique
Très utilisés
Efficacités élevées

Points forts

- Gamme de T° d'utilisation très étendue
- Peuvent être facilement modifiés pour introduire des groupements fonctionnels modifiant la polarité
- Chimiquement compatibles avec l'eau et les autres solvants d'injection
- Pas affectés par acides et bases organiques

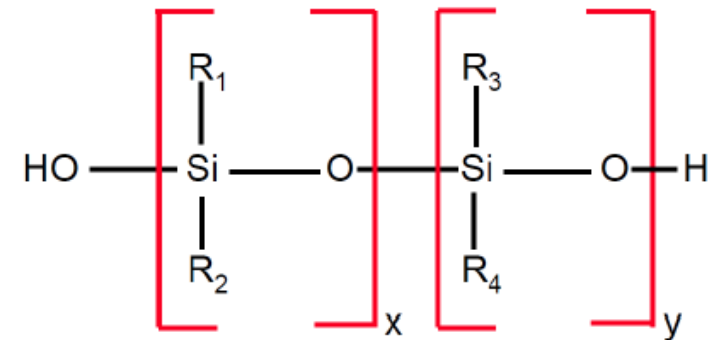
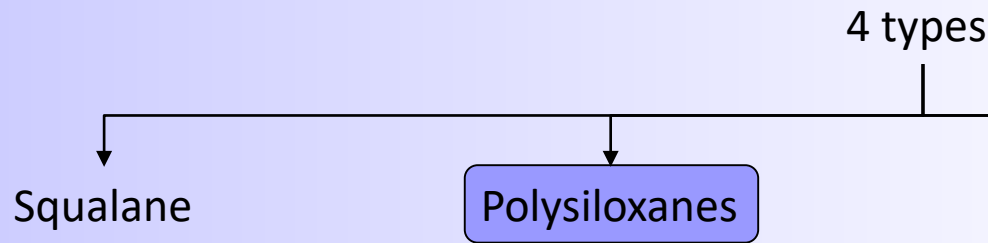
Points faibles

- Sensibles aux acides et bases inorganiques
- Groupement OH terminal favorise la dégradation

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – Films minces liquides



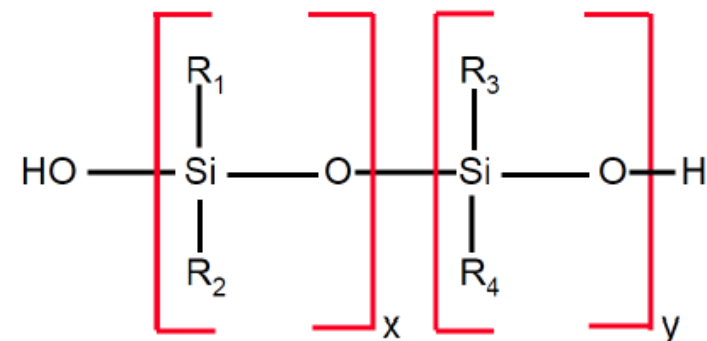
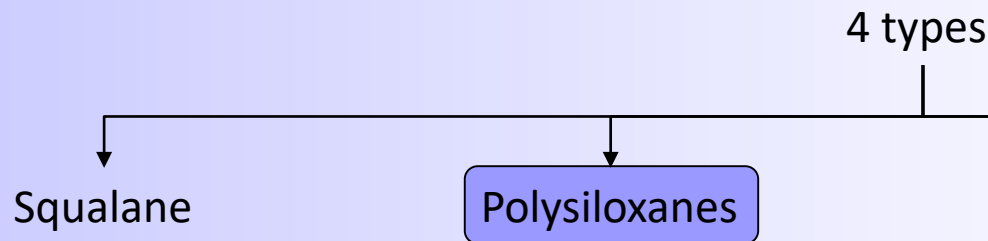
R = methyl, phenyl, fluoropropyl ou cyanopropyl

Phase stationnaire	Nom commercial	T° maximale (°C)	Polarité
Polydiméthylsiloxane (R1 = R2 = CH ₃)	OV1 ou 101, SE-30, DB1	350	faible ↓ forte
5% phényl-polydiméthyl siloxane	OV-3, SE-52, DB5	350	
50% phényl-polydiméthyl siloxane (R1 = R2 = Phényl)	OV-17	250	
50% Trifluoropropyl polydiméthyl siloxane (R1 = R2 = -CH ₂ -CH ₂ -CF ₃)	OV-210	200	
50% Cyanopropyl polydiméthyl siloxane (R1 = R2 = -CH ₂ -CH ₂ -CN)	OV-275	240	

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – Films minces liquides



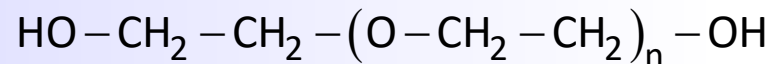
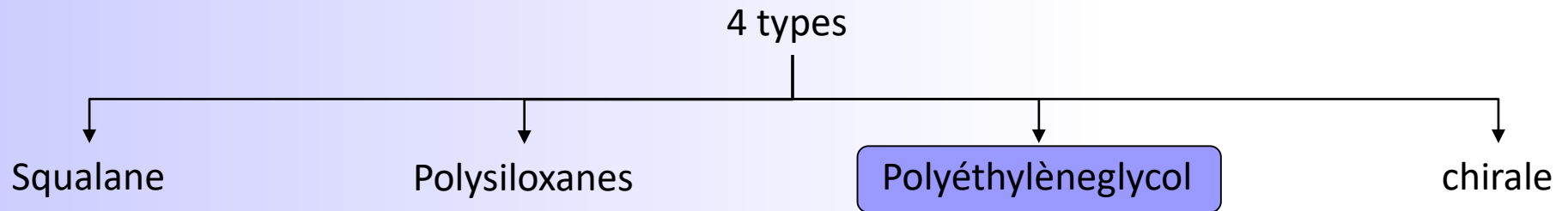
R = methyl, phenyl, fluoropropyl ou cyanopropyl

Phase stationnaire	Applications	Polarité
Polydiméthylsiloxane (R1 = R2 = CH ₃)	Hydrocarbures, stéroïdes, PCB	faible ↓ forte
5% phényl-polydiméthyl siloxane	Esters méthyliques d'acides gras, alcaloïdes, médicament, composés halogénés	
50% phényl-polydiméthyl siloxane (R1 = R2 = Phényl)	Médicaments, stéroïdes, pesticides	
50% Trifluoropropyl polydiméthyl siloxane (R1 = R2 = -CH ₂ -CH ₂ -CF ₃)	Chloroaromatiques, nitroaromatiques	
50% Cyanopropyl polydiméthyl siloxane (R1 = R2 = -CH ₂ -CH ₂ -CN)	Esters méthyliques d'acides gras, glucides	

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – Films minces liquides



Phase polaire dont polarité augmente quand n diminue

MM = 1 500 à 20 000

La plus connue Carbowax 20 M

Points forts

Chimiquement compatibles avec

- solvants organiques,
- acides et bases organiques

Points faibles

- Limite de T° + basse
- sensible à l'eau
- sensibles aux acides et bases inorganiques forts
- Groupement OH terminal favorise la dégradation
- modifications chimiques limitées

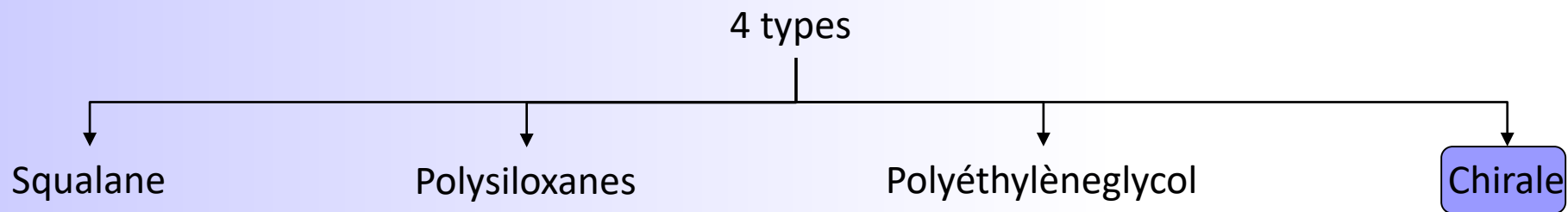
Applications : composés polaires

Acides libres, alcools, éthers, huiles essentielles

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

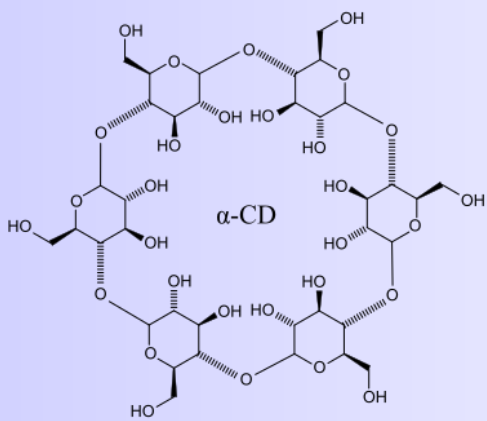
5. Les phases stationnaires – Films minces liquides



- Séparation de composés racémiques
- Identification des énantiomères

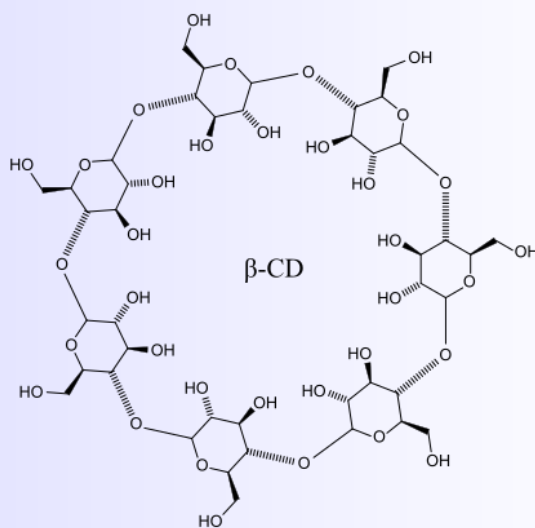
- Industrie agroalimentaire (arômes)
- Industrie cosmétique (parfums)
- Industrie chimique et pharmaceutique

α -Cyclodextrin



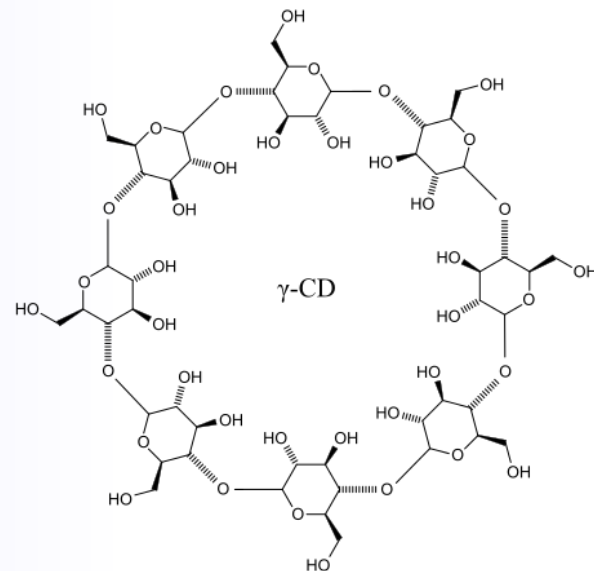
2023-2024

β -Cyclodextrin



Stéven Renault

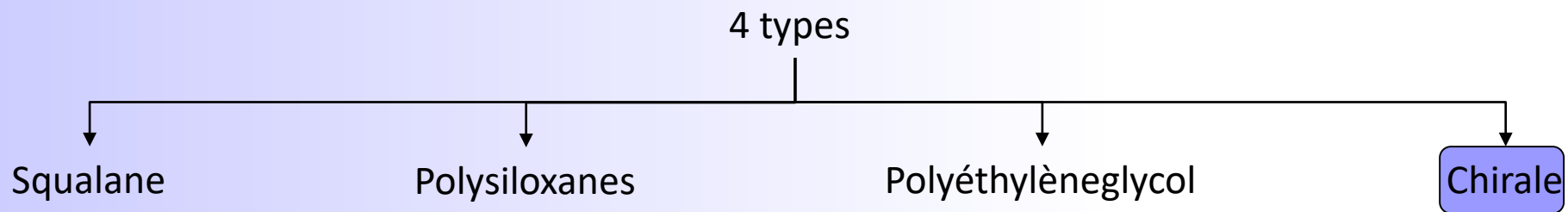
γ -Cyclodextrin



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

5. Les phases stationnaires – Films minces liquides



Exemple

Column: Cyclodex-β
112-2532
30 m x 0.25 mm, 0.25 μm

Carrier: Hydrogen, 55 cm/sec

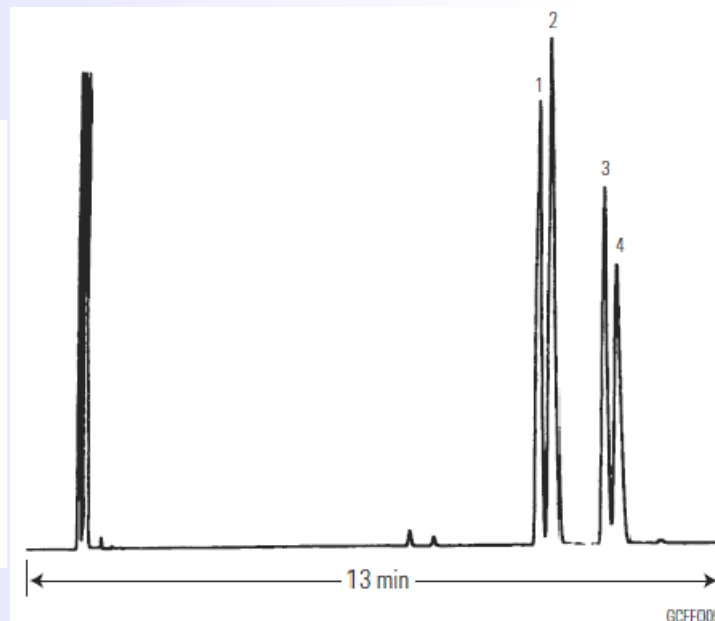
Oven: 105°C isothermal

Injection: Split, 250°C
Split ratio 1:100

Detector: FID, 300°C

Nitrogen makeup gas at 30 mL/min

Sample: 1 μL of 1 μg/μL each chloroform



1. (+)-Neomenthol
2. (-)- Neomenthol
3. (+)-Menthol
4. (-)-Menthol

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

6. Les détecteurs – Universels ou quasi-universels

Détecteur à conductibilité thermique (TCD ou catharomètre)

non destructif (chromatographie préparative)

Quantité Minimale Détectable : 1 - 10 ng

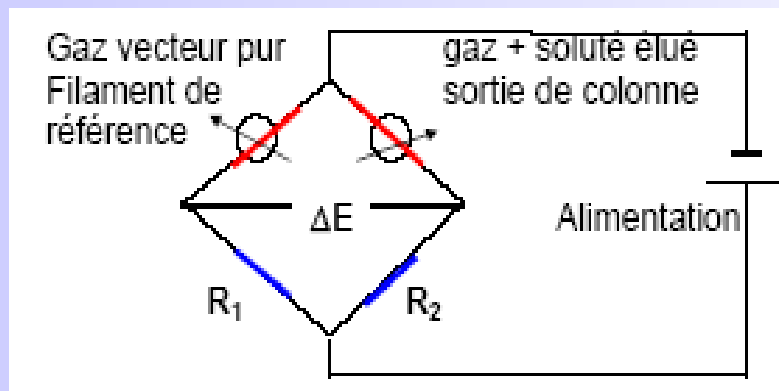
Gaz vecteur : He ou H₂ (conductibilité thermique élevée)

Domaine de linéarité 10⁶

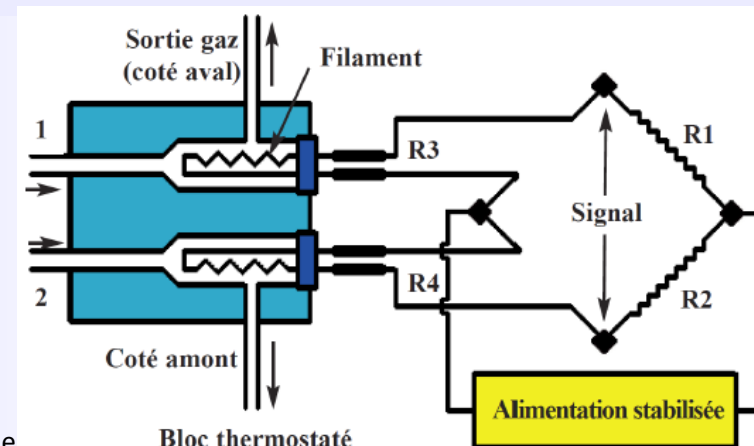
Détection de tous composés sauf composés halogénés et de faible M

Principe

- On compare en permanence la conductibilité thermique du gaz vecteur pur avec celle du gaz vecteur en sortie de colonne
- Si soluté élué avec gaz vecteur ⇒ modif. conductibilité thermique ⇒ modif. température du filament et de sa résistance



2023-2024



Stéven Re

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

6. Les détecteurs – Universels ou quasi-universels

Détecteur à ionisation de flamme (FID ou DIF)

très **sensible**

QMD 20 – 100 pg

destructif

Domaine de linéarité 10^7

Signal proportionnel au **débit-masse**

Le plus utilisé en chromatographie analytique

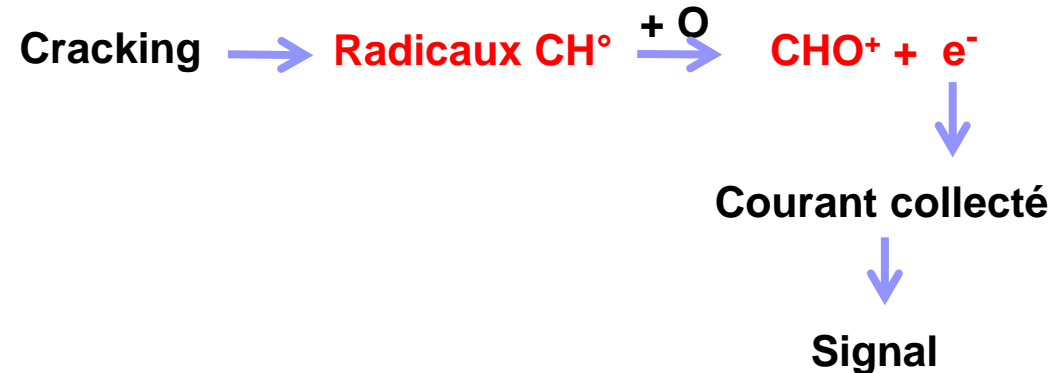
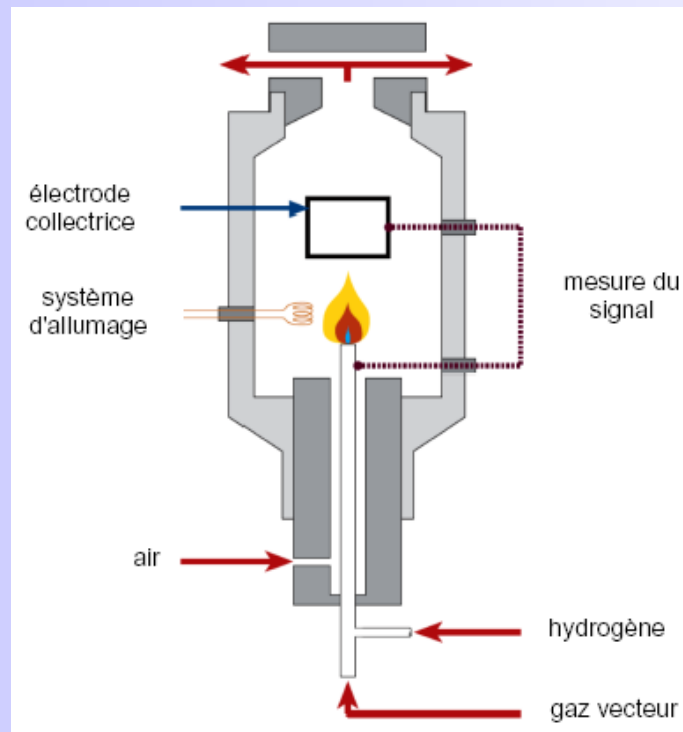
Détection de tous composés organiques

sauf formol

gaz permanents CO, CO₂

faible M

composés azotés

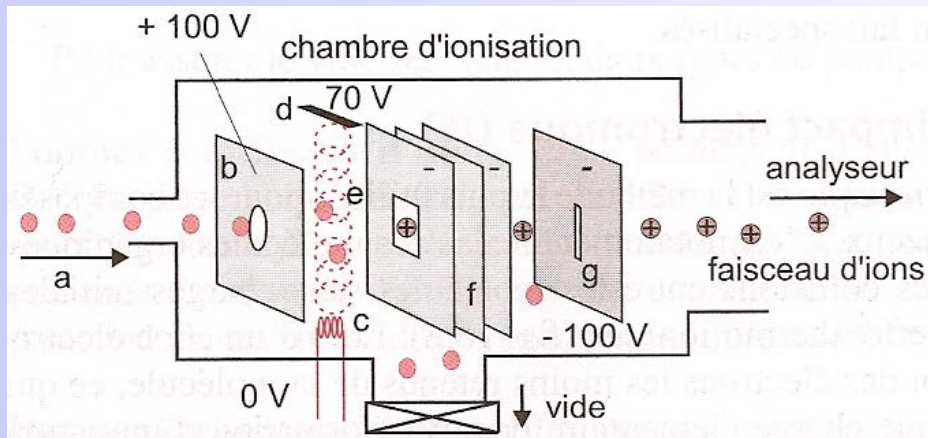


1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

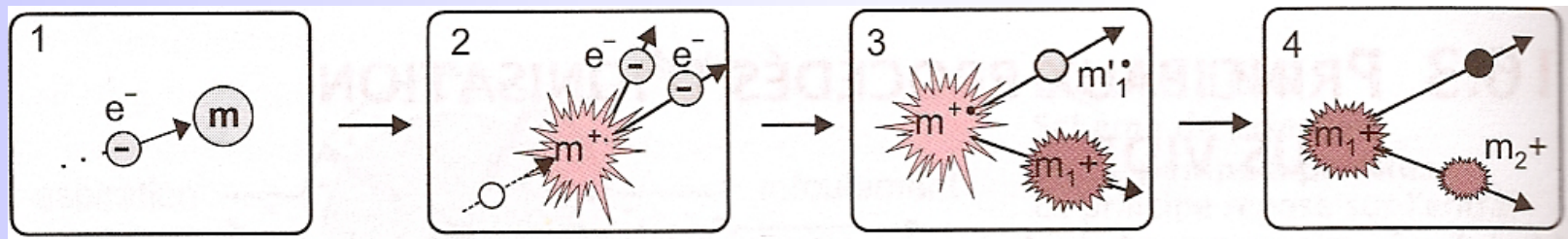
6. Les détecteurs – Universels ou quasi-universels

Spectromètre de masse (SM ou MS)

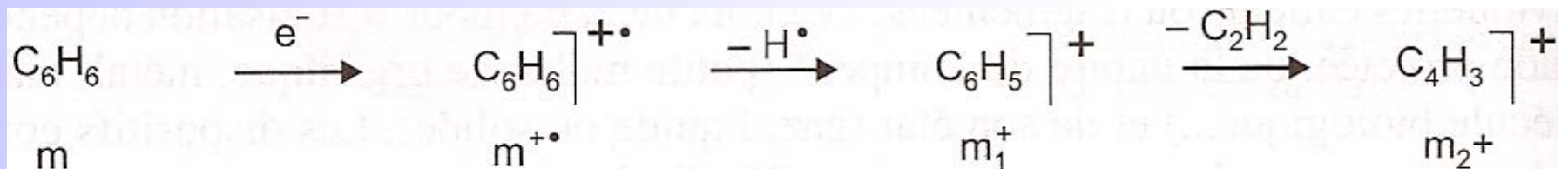


- a - entrée de l'échantillon
- b - repoussoir d'ions
- c - filament de tungstène
- d - anode de décharge
- e - faisceau d'électrons
- f - plaques d'extraction
- g - fente de sortie

Chambre d'ionisation (source d'ions)



Impact d'un électron sur une molécule: apparition de l'ion parent et des ions secondaires



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

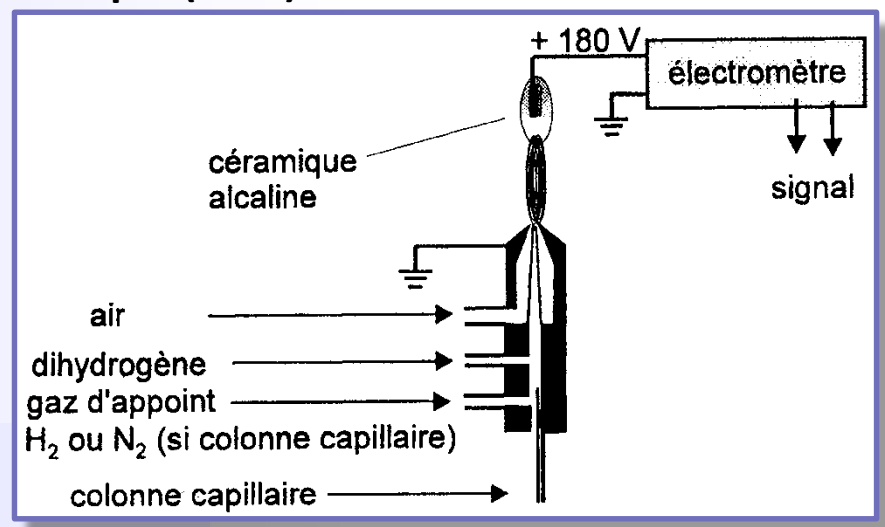
6. Les détecteurs – sélectifs

Composés azotés et phosphorés destructif
plus sensible que FID
QMD 1 - 10 pg
Domaine de linéarité $10^4 - 10^5$

● Principe

- Proche de FID
- Bille d'un sel de métal alcalin à la base de la flamme

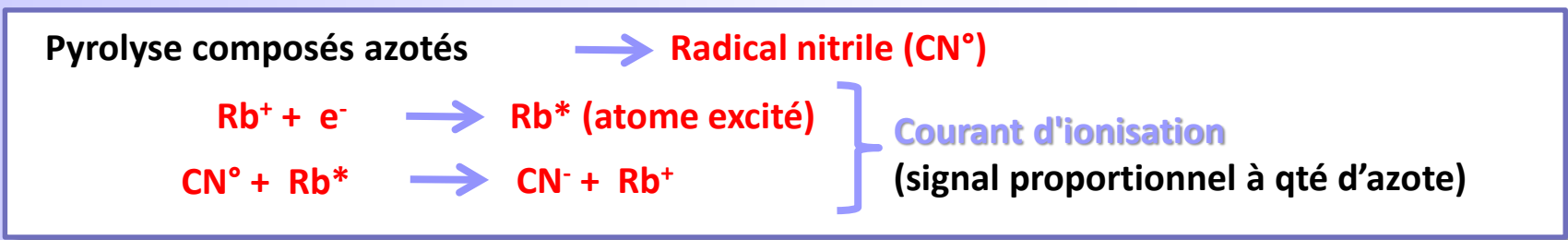
Détecteur thermoionique (NPD)



Analyse des polluants Amines

Silicate de rubidium → Composés azotés
 Silicate de césium → Composés phosphorés

Augmentation de la réponse x 100



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

6. Les détecteurs – sélectifs

Détecteur à capture d'électrons (ECD)

Composés halogénés
Insaturés
Nitrés

Affinité pour les électrons

Pesticides chlorés

Lindane $C_6H_6Cl_6$

Le plus sensible

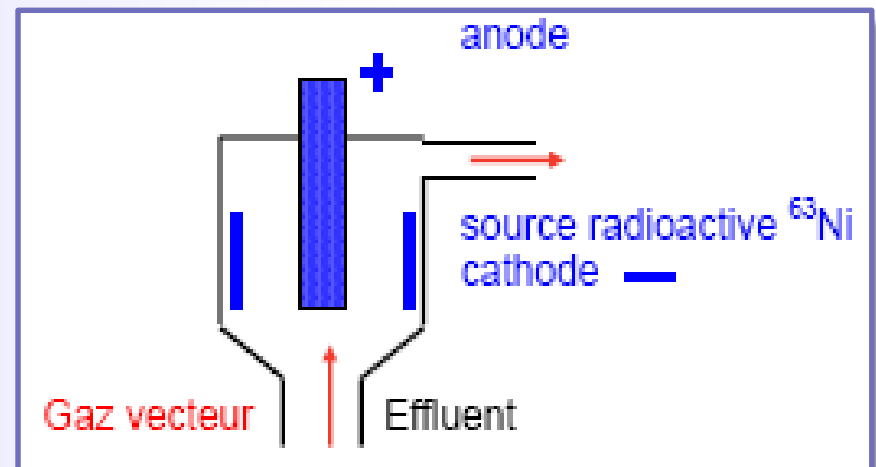
QMD 0,1 pg

Domaine de linéarité $10^4 - 10^5$

Gaz vecteur diazote

● Principe

Capacité des molécules à capter des électrons



N_2 (gaz vecteur)



β^-



Diminution du courant de base

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

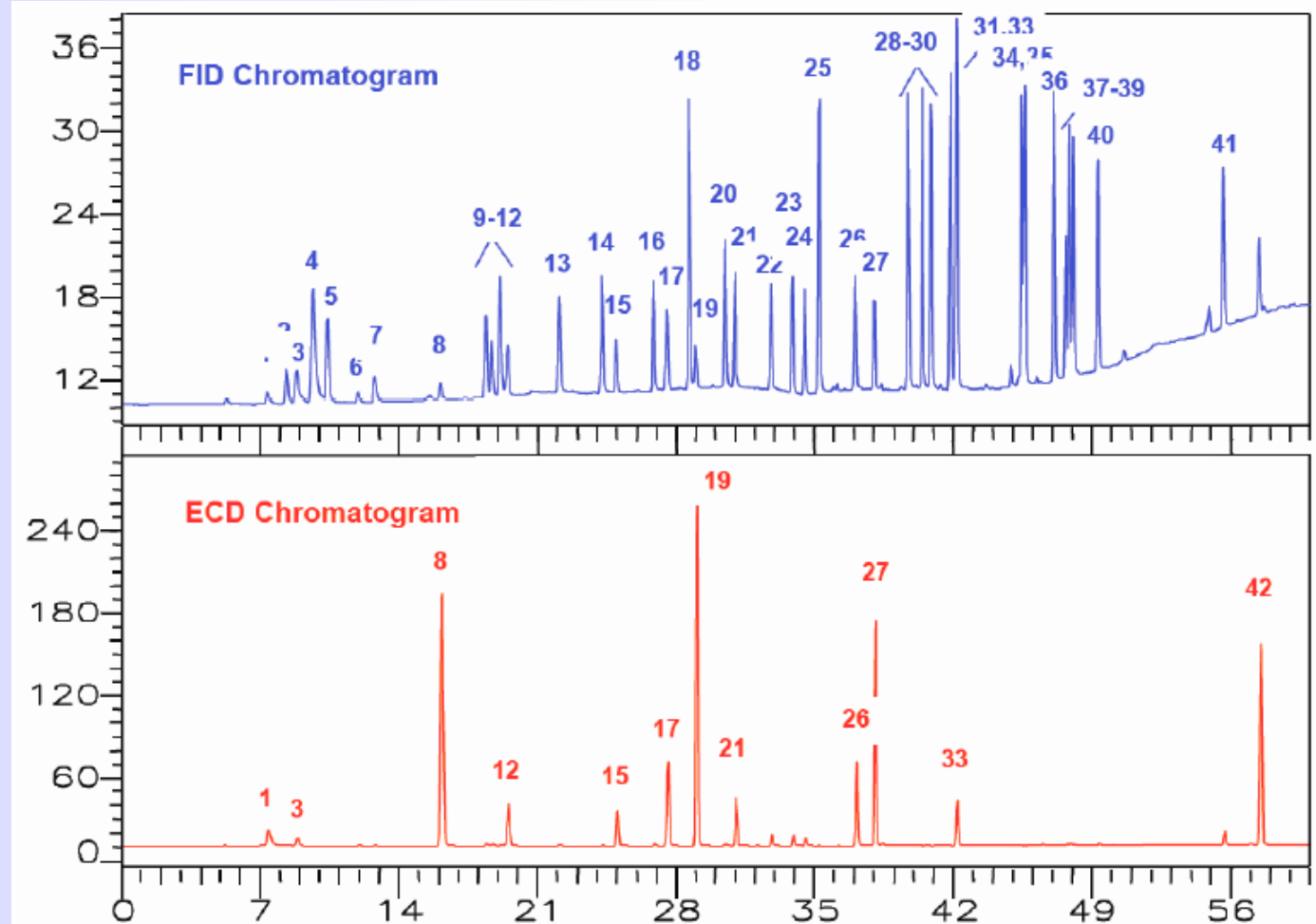
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

6. Les détecteurs – sélectifs

Détecteur à capture d'électrons (ECD)

Exemple : polluants halogénés dans l'air (10 ppb)

1. Freon® 12 2.85
2. Methyl chloride 6.39
3. Freon 114 3.81 (C₂F₄Cl₂)
4. Vinyl chloride 3.95
5. 1,3-Butadiène* 13.01
6. Bromomethane 16.55
7. Ethyl chloride 5.71
8. Freon 11 2.94 (CFCl₃)
9. Vinylidene chloride 5.54
10. Dichloromethane 7.68
11. 3-Chloropropene 6.50
12. Freon 13 3.01 (C₂F₃Cl₃)
13. 1,1-Dichloroethane 4.13
14. cis-1,2-Dichloroethylene 3.75
15. Chloroform 3.66
16. 1,2-Dichloroethane 5.36
17. Methylchloroform 2.50
18. Benzene 5.68
19. Carbon tetrachloride 1.83
20. 1,2-Dichloropropane 4.01
21. Trichloroethene 4.05
22. cis-1,3-Dichloropropene 17.57
23. trans-1,3-Dichloropropene 17.83
24. 1,1,2-Trichloroethane 3.53
25. Toluene 3.69
26. 1,2-Dibromomethane 14.73
27. Tetrachloroethene 1.12
28. Chlorobenzene 4.14
29. Ethylbenzene 4.16
30. m-, p-Xylene 3.88
31. Styrene 2.48
32. 1,1,2,2-Tetrachloroethane 3.56
33. o-Xylene 3.84
34. Ethyl toluene 3.21
35. 1,3,5-Trimethylbenzene 3.58
36. 1,2,4-Trimethylbenzene 2.78
37. Benzyl chloride 4.55
38. m-Dichlorobenzene 2.36
39. p-Dichlorobenzene 0.90
40. o-Dichlorobenzene 2.04
41. 1,2,4-Trichlorobenzene 1.27
42. Hexachlorobutadiene 1.37



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

6. Les détecteurs – Résumé

Types de détecteurs	Composés détectés		Limite de détection
Conductibilité thermique (TCD)	Universel sauf halogénés	Non destructif	1 à 10 ng
Ionisation de flamme (FID)	La plupart des composés organiques sauf formol et composés azotés	Destructif	20 à 100 pg
Thermoionique (NPD)	Azotés, phosphorés	Destructif	1 à 10 pg
Capture d'électrons (ECD)	Halogénés, nitrates, nitrites, peroxydes	Destructif	0,1 pg
Spectromètre de masse (SM)	Universel + données structurales	Destructif	10 ⁻³ à 100 pg

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

7. Les paramètres chromatographiques – Indices de rétention

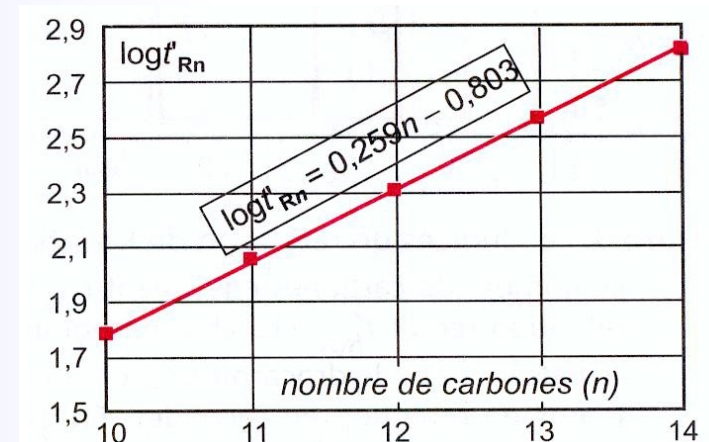
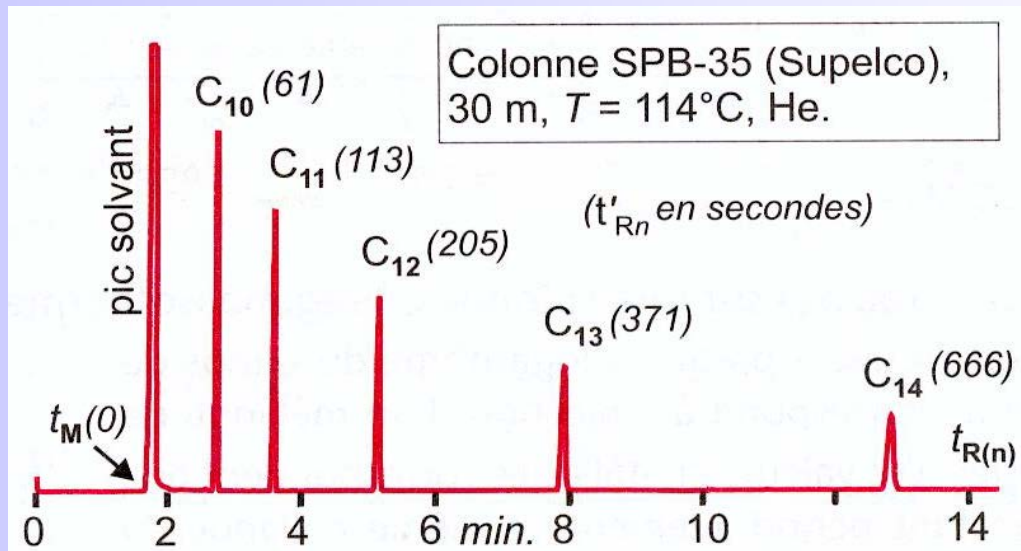
Objectif = **Caractériser un composé**

Injection d'une série homologue de n -alcanes en isotherme

Calculer $t_R' = t_R - t_M$

Tracer $\log t_R' = f(n)$ avec $n = \text{nb. carbones des alcanes}$

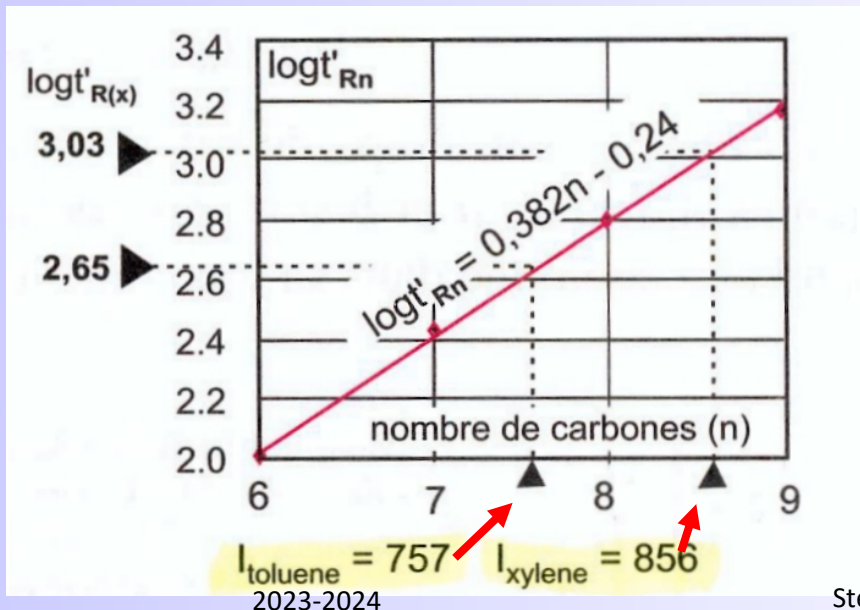
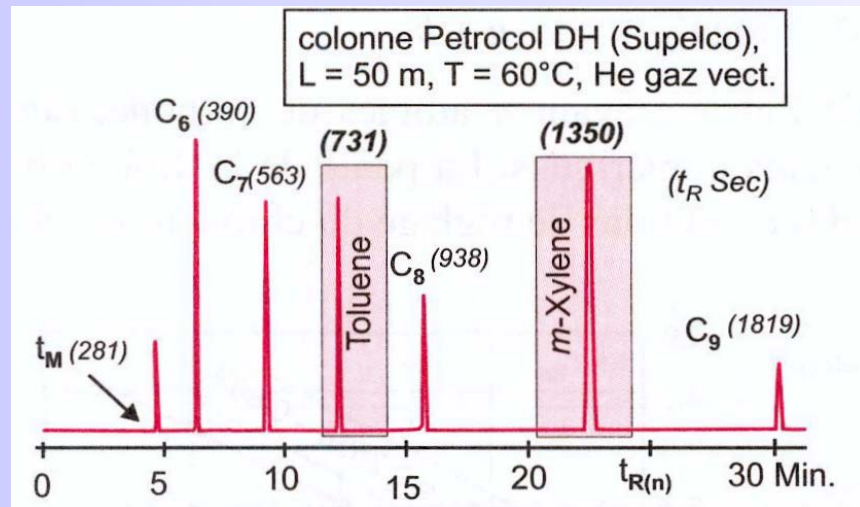
⇒ **droite de Kovats**



- Mécanismes de rétention
- Le gaz vecteur
- Les colonnes
- Les injecteurs
- Les phases stationnaires

- Les détecteurs
- Les paramètres chromatographiques
- Comment optimiser une séparation ?
- Maintenance préventive
- Problèmes le plus souvent rencontrés

7. Les paramètres chromatographiques – Indices de rétention de Kovats



Détermination de l'indice de rétention I_x d'un composé :

Injecter une série de n -alcanes

Tracer $\log t'_R = f(n)$

Injecter composé(s) à étudier

Déterminer $t'_{R(i)} = t_{R(i)} - t_M$

En isocratique

$$I_X = 100 n + 100 \frac{\log t'_{R(i)} - \log t'_{R(n)}}{\log t'_{R(n+1)} - \log t'_{R(n)}}$$

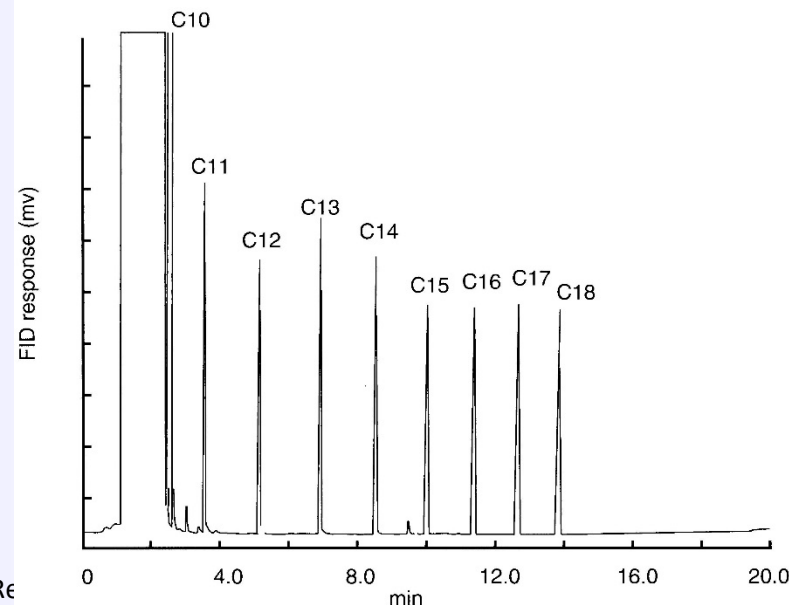
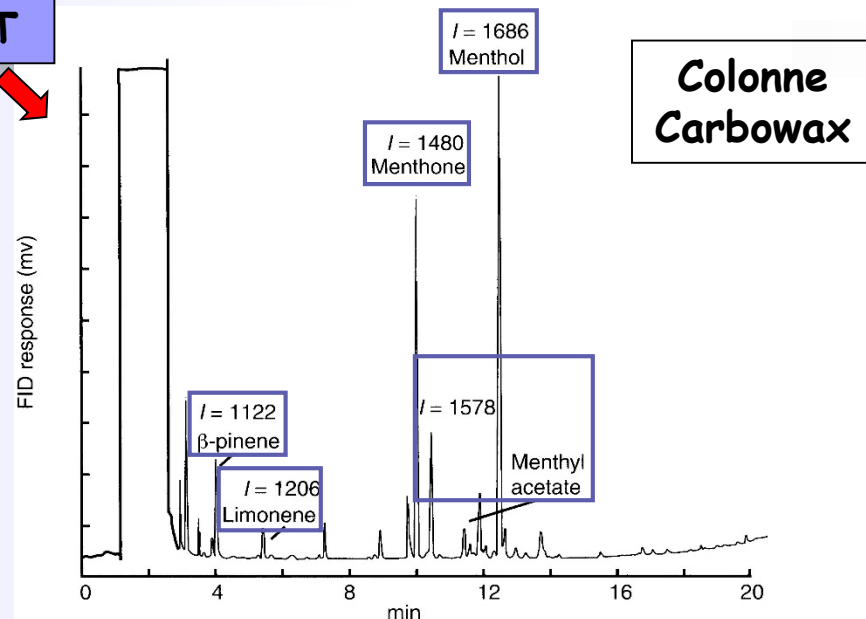
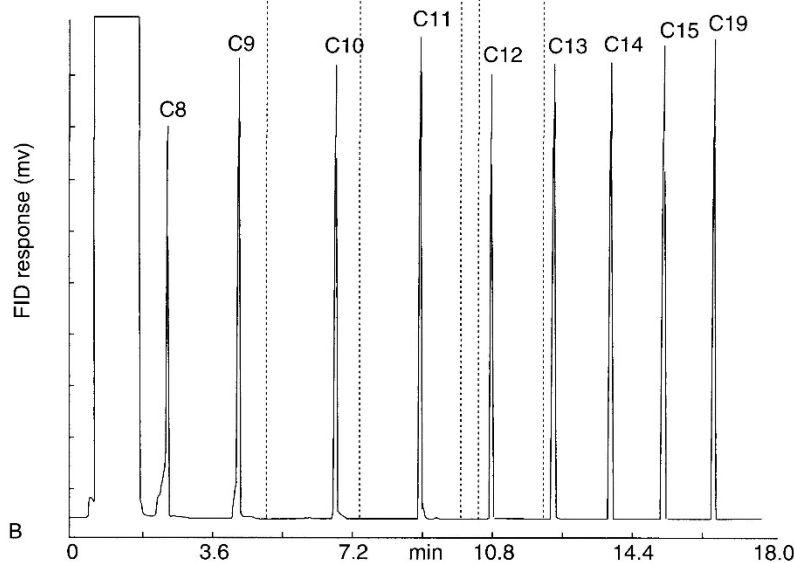
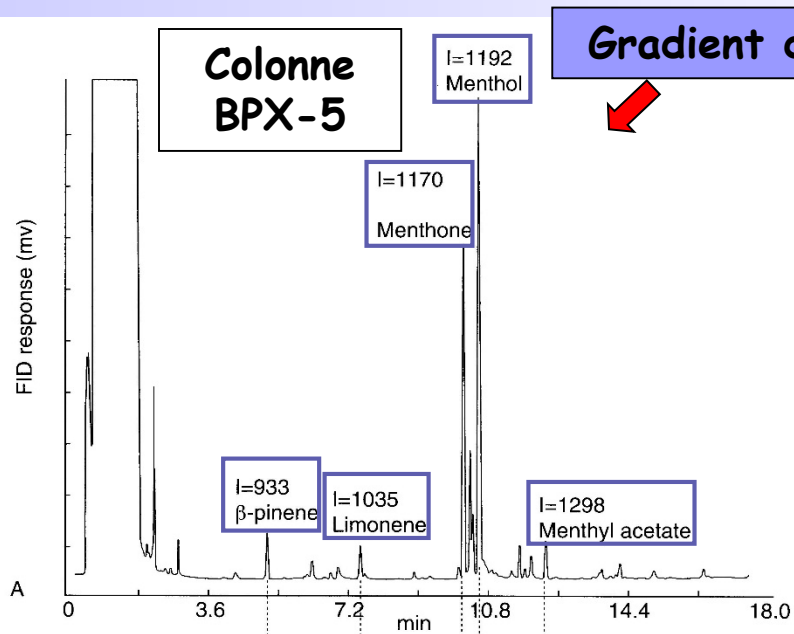
En mode gradient

$$I_X = 100 n + 100 \frac{t_{R(i)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}}$$

Objectifs

Caractériser et identifier un composé

Exemples : huile essentielle de Menthe



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

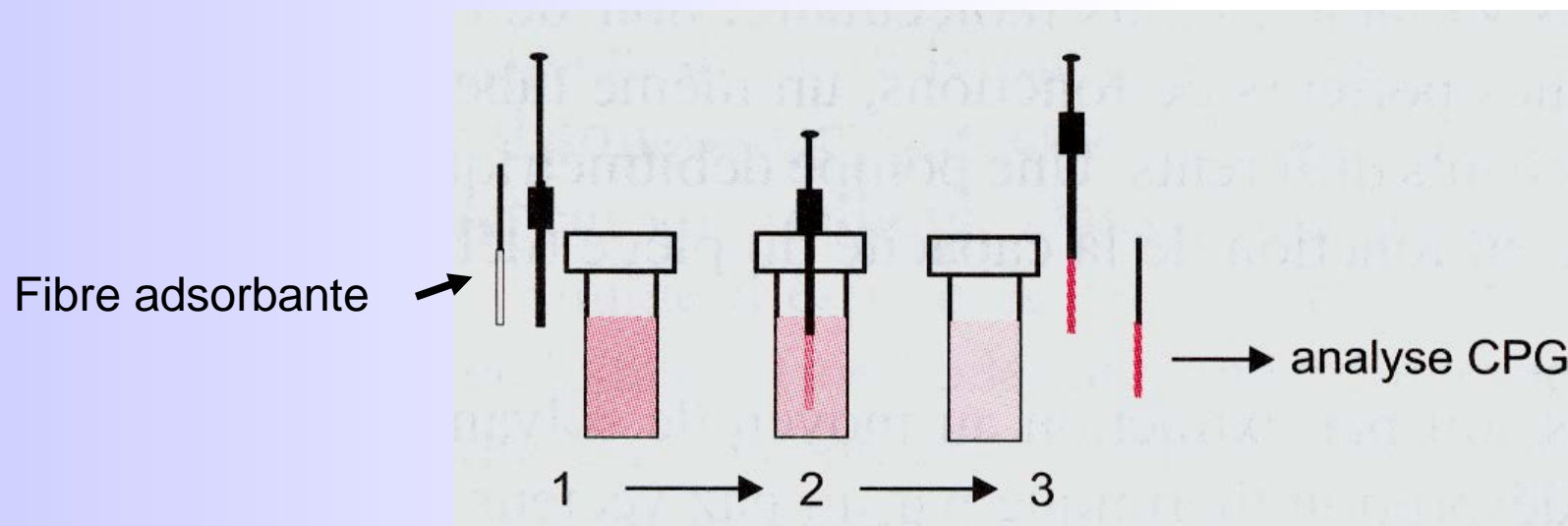
8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

• Méthodes classiques de purification

Extraction par solvant liquide – liquide

Extraction par solvant liquide – solide

Micro Extraction en phase solide (SPME)



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

- **Méthodes classiques de purification**



https://www.youtube.com/watch?time_continue=1&v=F8GmL_v0WBE

8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

• Méthodes classiques de purification

Extraction par solvant liquide – liquide

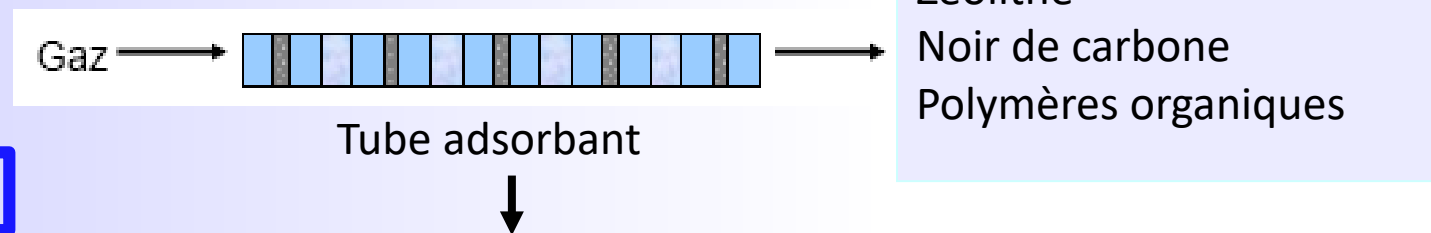
Extraction par solvant liquide – solide

Micro Extraction en phase solide (SPME)

Extraction par des fluides à l'état supercritique

• Méthodes spécifiques à la CPG

Extraction gaz – solide. Adsorption



Analyse de traces

1. Adsorption des analytes présents dans gaz à T basse
2. Désorption par élévation de T

1.	Mécanismes de rétention	6.	Les détecteurs
2.	Le gaz vecteur	7.	Les paramètres chromatographiques
3.	Les colonnes	8.	Comment optimiser une séparation ?
4.	Les injecteurs	9.	Maintenance préventive
5.	Les phases stationnaires	10.	Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

- **Méthodes classiques de purification**

Extraction par solvant liquide – liquide

Extraction par solvant liquide – solide

Micro Extraction en phase solide (SPME)

Extraction par des fluides à l'état supercritique

- **Méthodes spécifiques à la CPG**

Extraction gaz – solide. Adsorption

Espace de tête ou « Headspace »

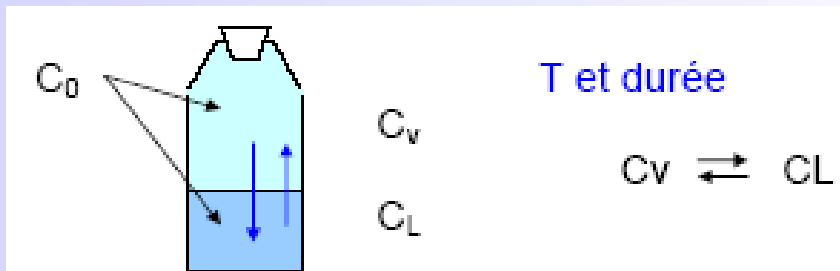
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

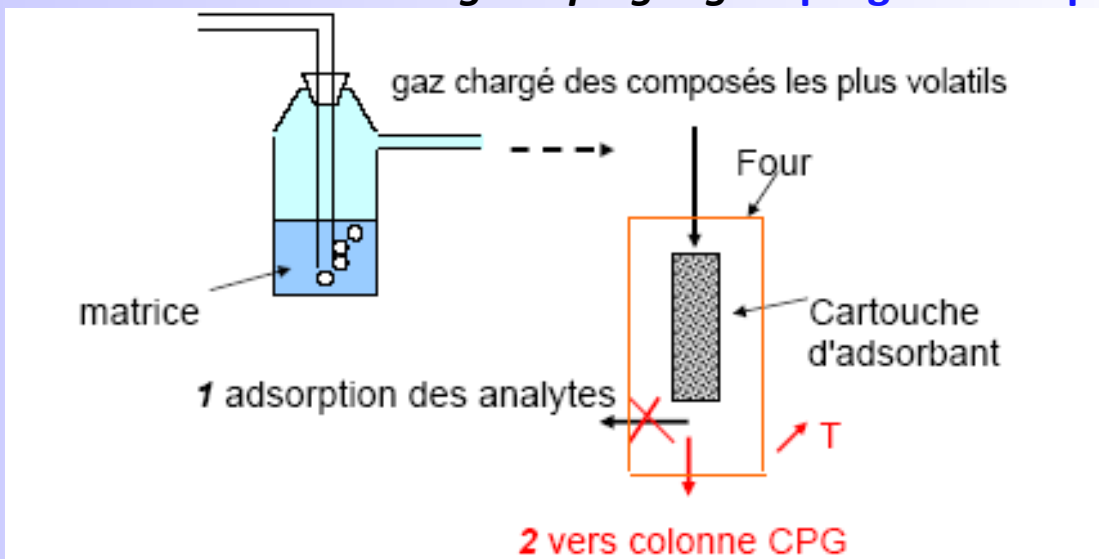
Espace de tête ou « Headspace »

► En mode statique



► En mode dynamique

Purge et piégeage « purge and trap »



Analyse de composés volatils présents dans matrice "non chromatographiable"

Système automatisé = « injecteur-concentrateur »

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

Espace de tête ou « Headspace »



<https://www.youtube.com/watch?v=yyTKPI30I3g>

1.	Mécanismes de rétention	6.	Les détecteurs
2.	Le gaz vecteur	7.	Les paramètres chromatographiques
3.	Les colonnes	8.	Comment optimiser une séparation ?
4.	Les injecteurs	9.	Maintenance préventive
5.	Les phases stationnaires	10.	Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

- **Méthodes classiques de purification**

Extraction par solvant liquide – liquide

Extraction par solvant liquide – solide

Micro Extraction en phase solide (SPME)

Extraction par des fluides à l'état supercritique

- **Méthodes spécifiques à la CPG**

Extraction gaz – solide. Adsorption

Espace de tête ou « Headspace »

Traitement de l'analyte – Dérivatisation

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Préparation d'échantillon

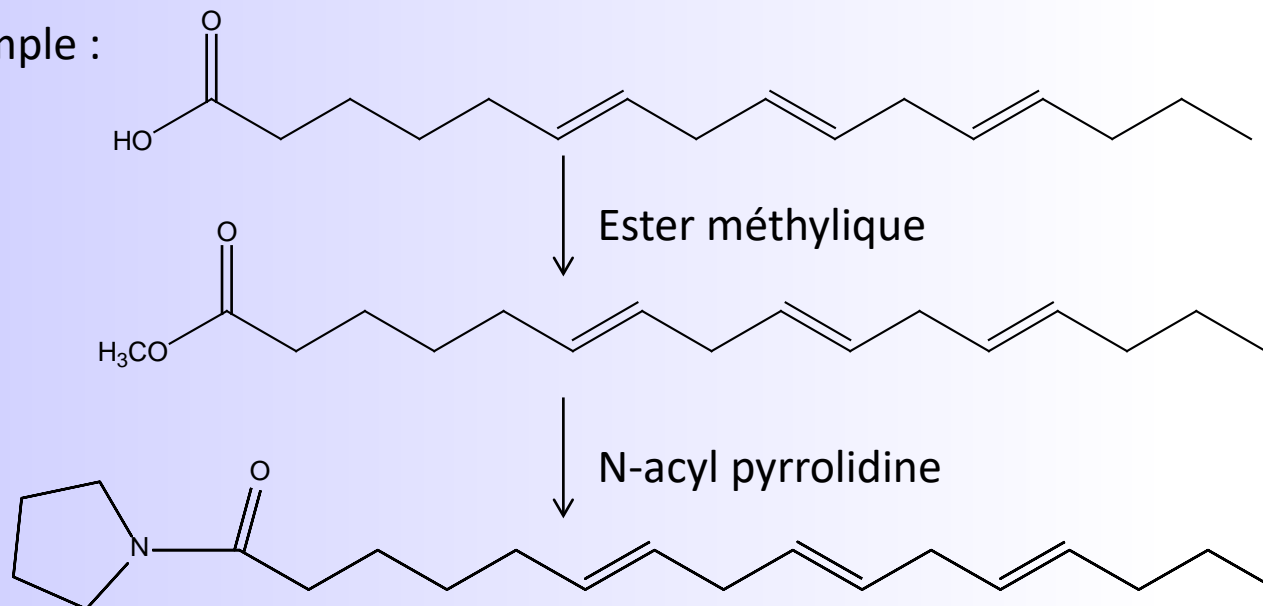
Traitement de l'analyte – Dérivatisation

Pour permettre analyse de certains composés = réactions chimiques

Diminue polarité
Augmente volatilité
Peut donner informations structurales (GC-MS)

Réactions d'acylation, de silylation ou estérification

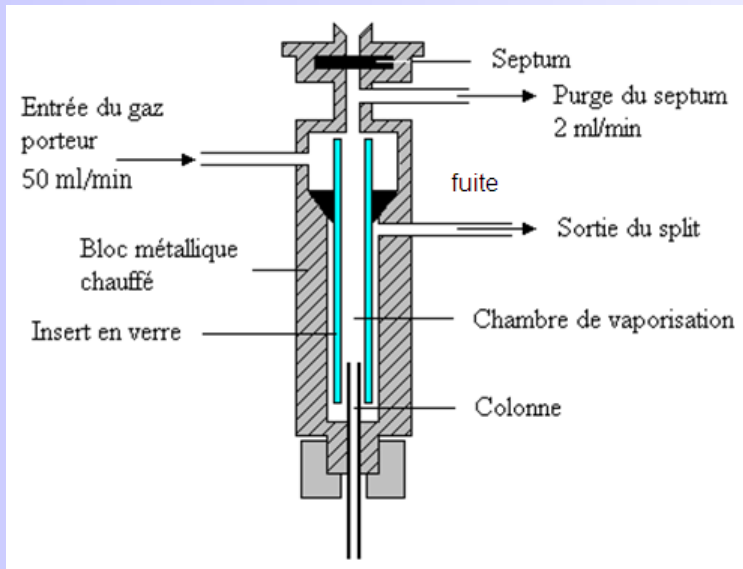
Exemple :



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Choix de l'insert



Rôle de l'insert ? Permettre

Vaporisation rapide et uniforme
Transfert rapide en tête de colonne

Choix de l'insert ?

Taille doit permettre de contenir
l'ensemble de l'échantillon une fois
vaporisé

Dépend du mode d'injection utilisé
Split ? Splitless ? Les deux ?

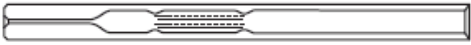


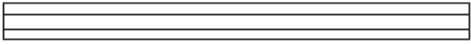
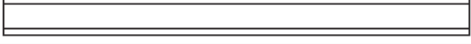








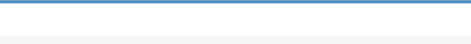
Présence de laine de quartz pour protéger
la colonne des non-volatils

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Choix de l'insert

Documentation ThermoFisher

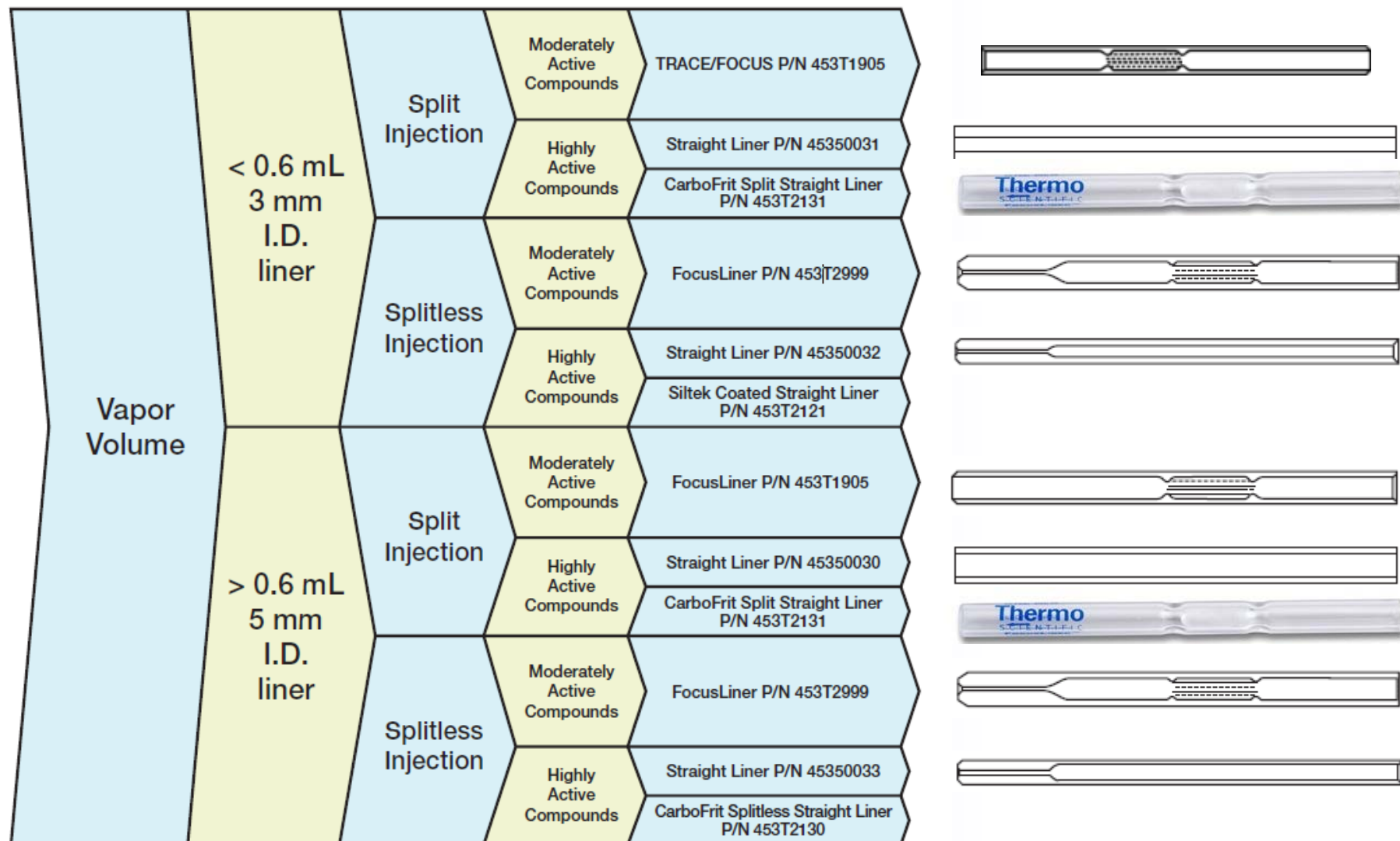
Product & Description					
Instrument		I.D. x O.D. x Length (mm)	Injection Type	Quantity	Part Number
TRACE™, Mega 8000 & FOCUS™ SSI		5 x 8 x 105	Splitless Use 70 mm Needle	5	453T2895
TRACE, Mega 8000 & FOCUS SSL		5 x 8 x 105	Splitless Use 50 mm Needle	5	453T2999
TRACE, Mega 8000 & FOCUS SSL		5 x 8 x 105	Split Use 50 mm Needle	5	453T1905
TRACE, Mega 8000 & FOCUS SSL		3 x 8 x 105	Split	5	45350031
TRACE, Mega 8000 & FOCUS SSL		5 x 8 x 105	Split	5	45350030
TRACE, Mega 8000 & FOCUS SSL		3 x 8 x 105	Splitless	5	45350032
TRACE, Mega 8000 & FOCUS SSL		5 x 8 x 105	Splitless	5	45350033
TRACE PTV		1 x 2.75 x 125	PTV	5	45352054
TRACE PTV		1 x 2.75 x 120	PTV-LVI	5	45352060
TRACE PTV		2 x 2.75 x 120	PTV	5	45352057
TRACE PTV		1 x 2.75 x 120	PTV	5	45352062
Mega 4000, 5000, 6000		3 x 5 x 79.5	Split	5	45350400
Mega 4000, 5000, 6000		5 x 5 x 79.5	Split/Splitless	5	453T2955
Mega 4000, 5000, 6000		2 x 5 x 79.5	Split	5	45350300

Note: Liners not drawn to scale.

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Choix de l'insert

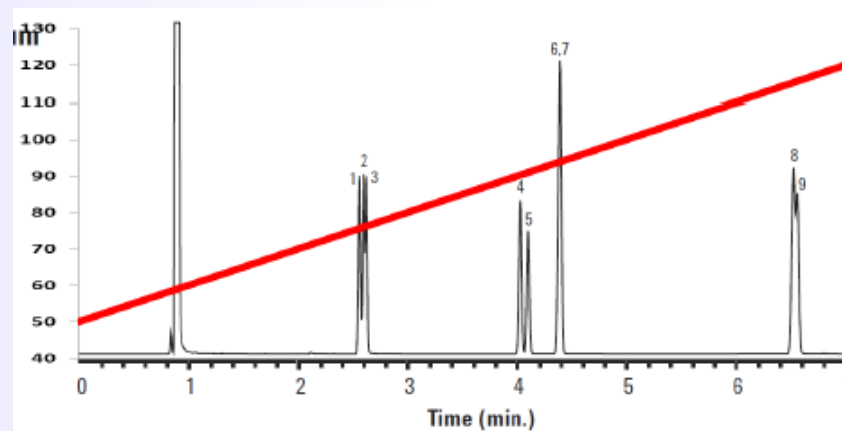
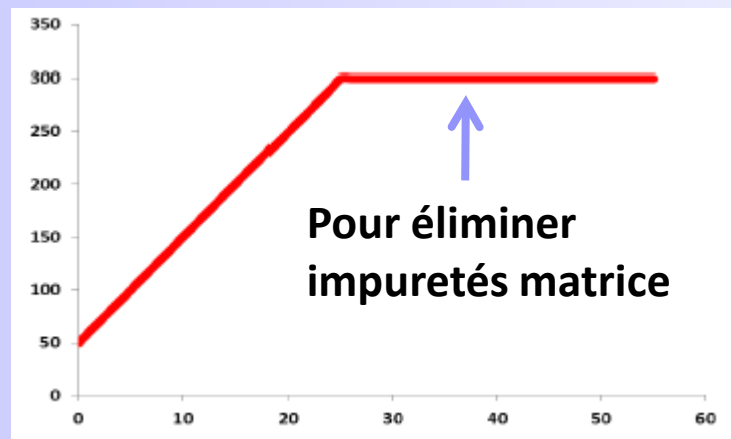


1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

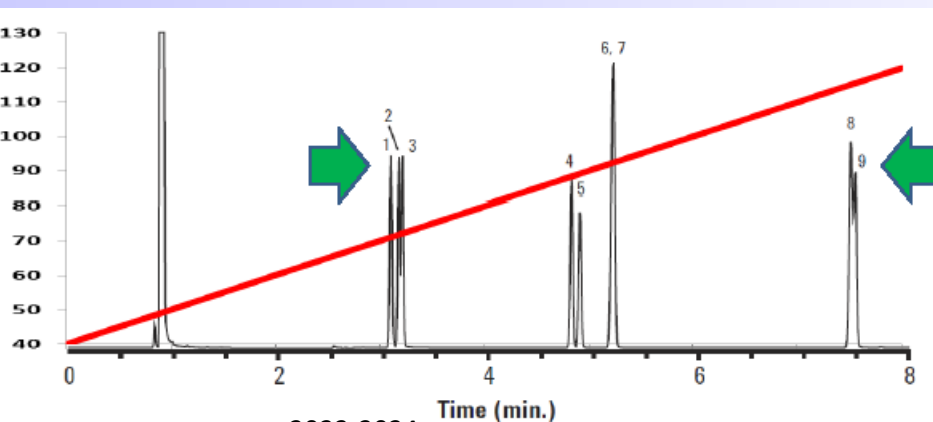
8. Comment optimiser une séparation ? Optimisation du gradient de température

Commencer par gradient de T° simple

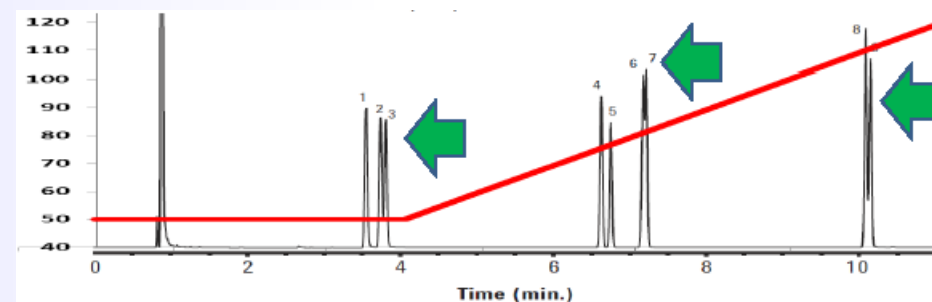


Ajuster T° initiale et ajouter plateau initial si nécessaire

Exemple : réduction T°_{initiale} (50° → 40°)



Exemple : augmentation du plateau initial (0 → 4 min)

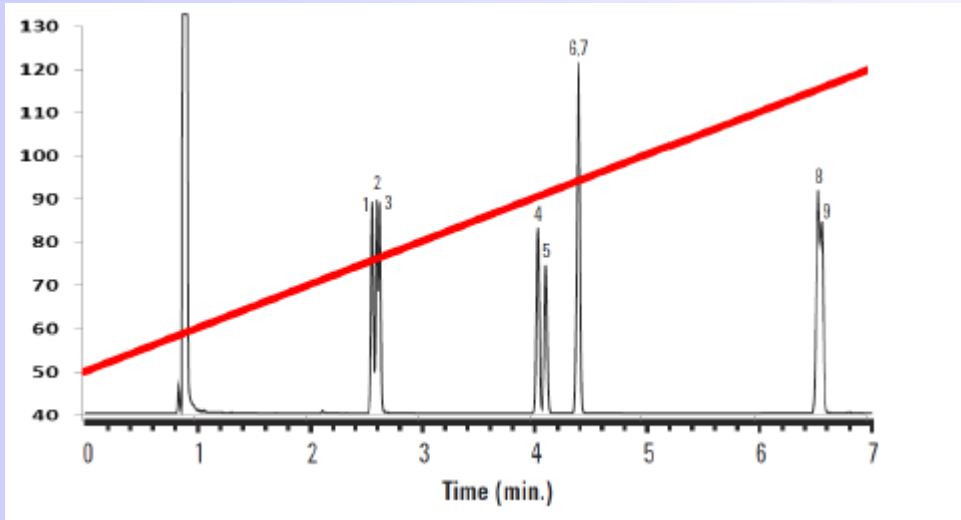


1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

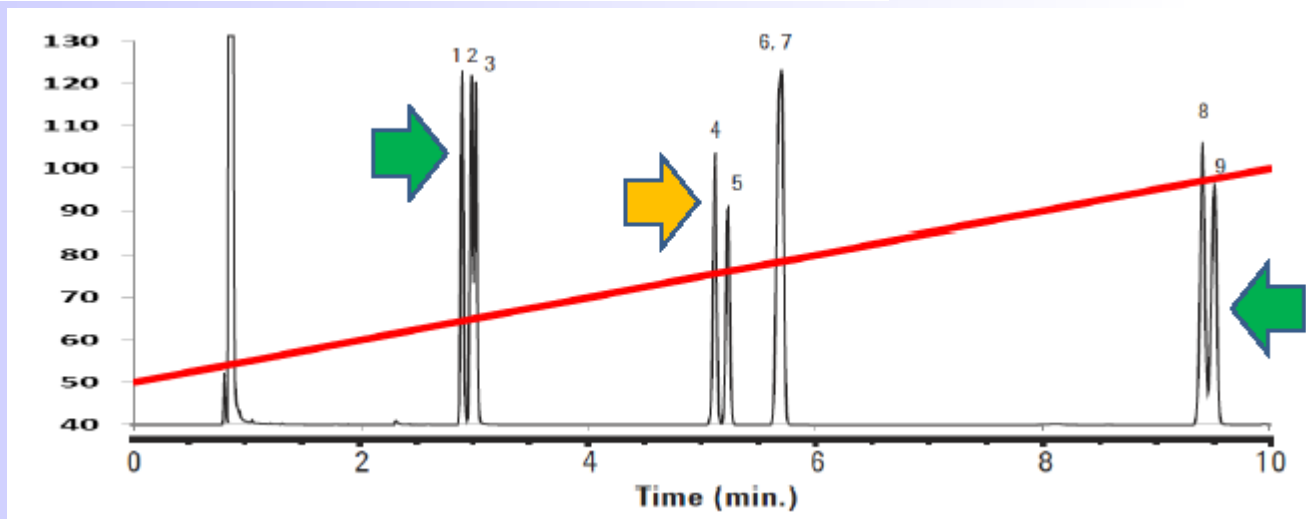
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Optimisation du gradient de température

Ajustement de la pente du gradient de température



10°/min



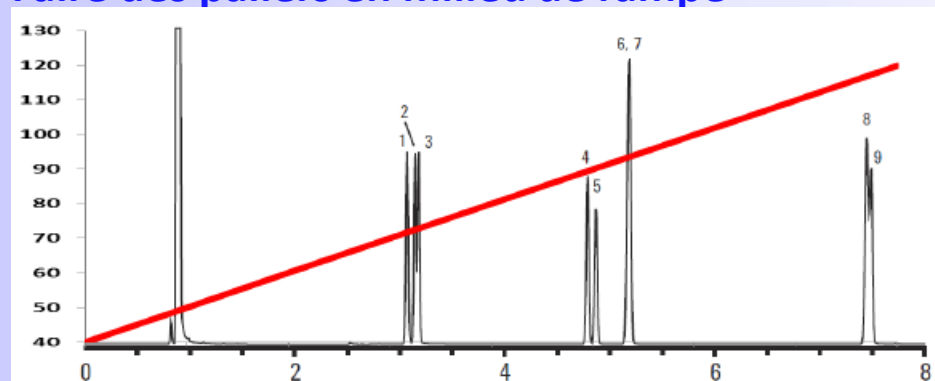
5°/min

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

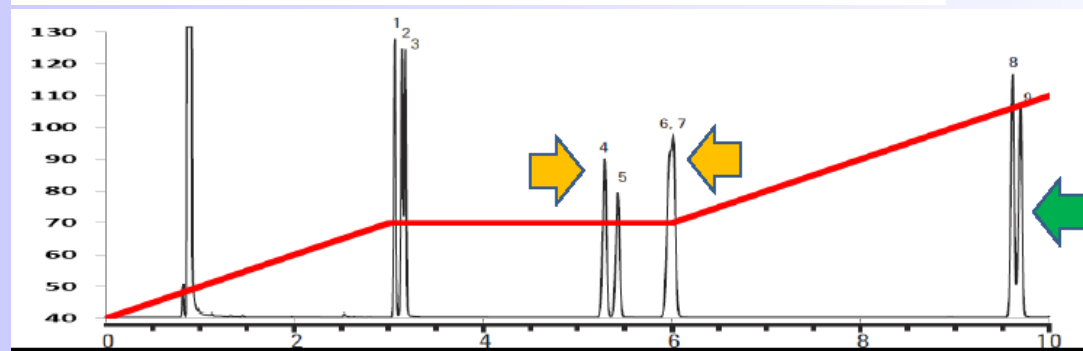
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Optimisation du gradient de température

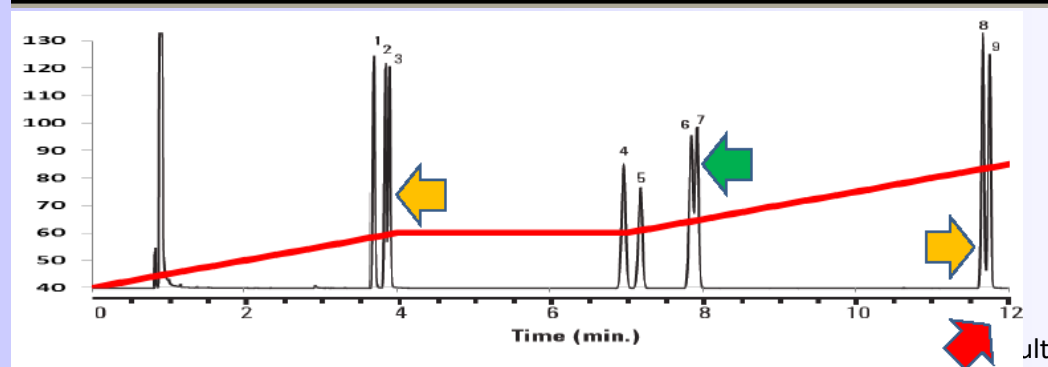
Faire des paliers en milieu de rampe



Rampe de **10°/min**



Rampe de **10°/min** et palier
de **3 min à 70°C**



Rampe de **5°/min** et palier
de **3 min à 60°C**

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Raccourcir temps d'analyse avec la *Fast-Gc*

	Conventionnelle	Fast	Ultra Fast
Colonne	DI = 0,1-0,5 mm L = 15 à 100 m $e_f^* = 0,1 \text{ à } 5 \mu\text{m}$	DI = 0,10-0,18 mm L = 5 à 15 m $e_f^* = 0,1 \text{ à } 1 \mu\text{m}$	DI = 0,10 mm L = 2 à 10 m $e_f^* = 0,1 \text{ à } 0,5 \mu\text{m}$
Programmation du four	1 à 20 °C / min	15 à 100 °C / min	100 à 1200 °C / min
Durée d'analyse	10 à 240 min	5 à 20 min	1 à 3 min

* e_f = épaisseur du film de phase stationnaire

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Raccourcir temps d'analyse avec la *Fast-Gc*

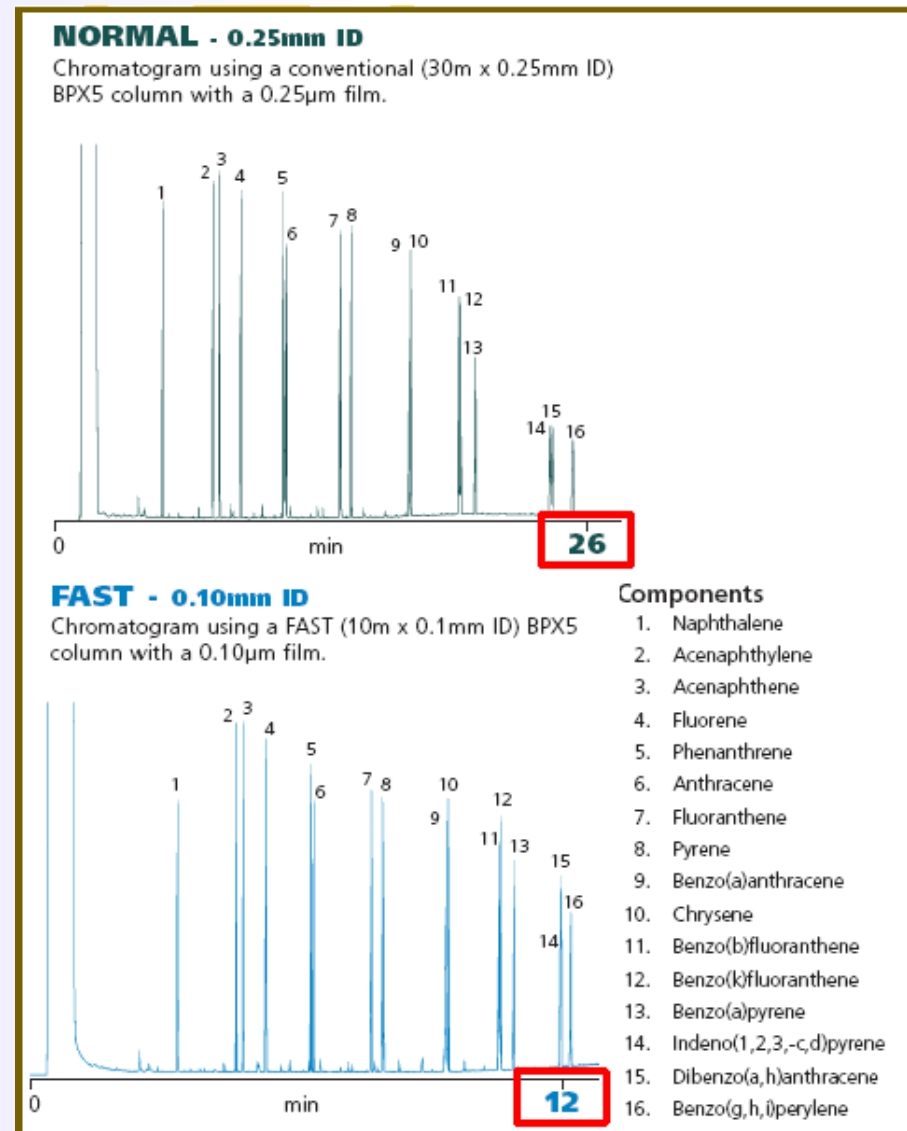
Fast vs Conventiennel

Points forts

- ↘ durée analyse d'un facteur 4 à 5
- Compatibilité avec GC classique
- Plus économique

Points faibles

- Nécessite inj. rapide
- ↘ capacité charge de colonne



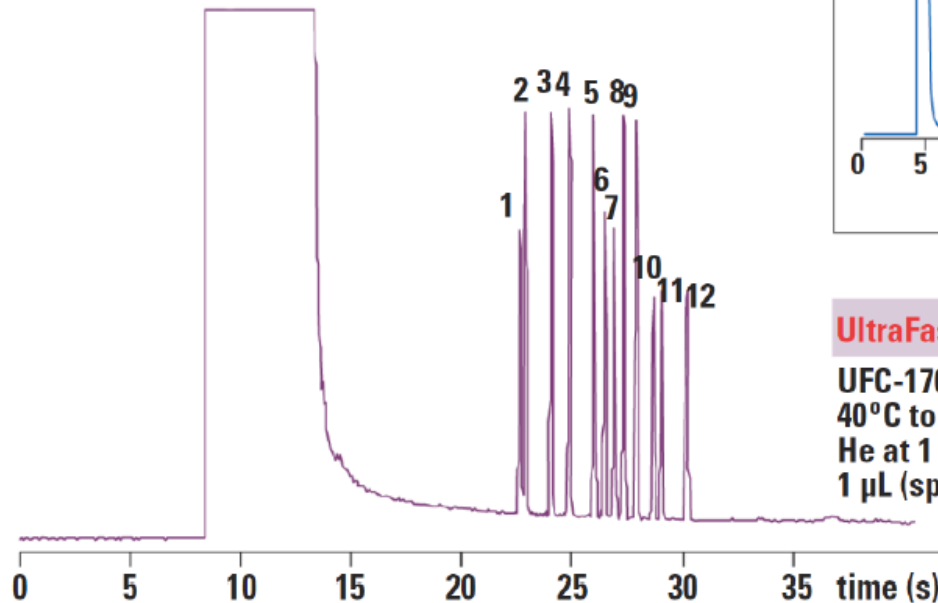
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

8. Comment optimiser une séparation ? Raccourcir temps d'analyse avec la *Fast-Gc*

Separation of VOC's in 35 seconds

- | | |
|--------------------|------------------------|
| 1 chlorobenzene | 7 4-chlorotoluene |
| 2 p-xylene | 8 tert-butylbenzene |
| 3 o-xylene | 9 sec-butylbenzene |
| 4 isopropylbenzene | 10 1,3-dichlorobenzene |
| 5 n-propylbenzene | 11 1,4-dichlorobenzene |
| 6 chlorotoluene | 12 1,2-dichlorobenzene |

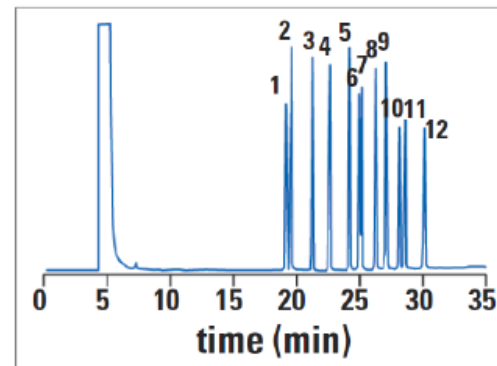


Points forts

- ↳ durée analyse d'un facteur 10-100

Ultra Fast vs Conventiennel

Conventional: 35 min.



UltraFast: 35 seconds

UFC-1701, 5 m x 0.1 mm, 0.1 µm f.t.
 40°C to 200°C at 5°C/s
 He at 1 mL/min
 1 µL (split 100:1)

Points faibles

- incompatibilité avec GC « classique »
- Nécessite inj. rapide
- ↳ capacité de charge de colonne

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

9. Maintenance préventive – Gaz vecteur

Entretien régulier des différentes parties du système

Pièce	Fréquence de remplacement
Purificateurs de gaz	6 à 12 mois
Ligne de division	6 mois
Étalonnage débitmètre	1 à 2 ans


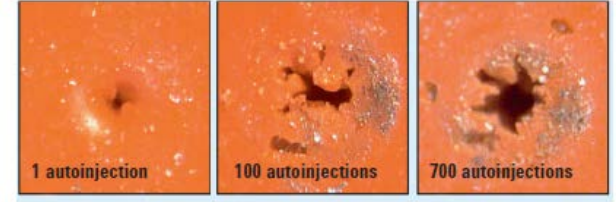



1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

9. Maintenance préventive – Injecteur split/splitless

Entretien régulier des différentes parties du système

Fréquence dépend du nombre d'injections, la « propreté » des échantillons, des pièces, de la détérioration des analyses

Pièce	Nom	Fréquence de remplacement
	<i>septum</i>	100 injections 
	<i>Liner</i>	Dépend des échantillons Échantillons « sales » : < 2 semaines Extraits aqueux : 1 mois Extraits « headspace » : 6 mois
	<i>O-ring</i>	6 mois (ou en même temps que liner)
	<i>Inlet seal</i>	Dépend des échantillons (pas plus de 6 mois)

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

9. Maintenance préventive – Colonne

Entretien régulier des différentes parties du système

Fréquence dépend du nombre d'injections, la « propreté » des échantillons, des pièces, de la détérioration des analyses

Changer les ferrules lors des maintenances de l'injecteur et du détecteur
La changer quand détérioration et que le reste est OK

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

9. Maintenance préventive – Détecteur (exemple de préconisations (Agilent®))

Détecteurs

Buses et collecteurs de FID/NPD	Le cas échéant	Nettoyez-les si des dépôts sont présents. Remplacez-les en cas d'éraflure, de déformation ou d'autre détérioration, ou si vous avez des difficultés à allumer le FID ou à le maintenir allumé.
Buse de NPD	Le cas échéant	Remplacez-la en cas de dérive du signal ou de variations importantes de la sensibilité.
FID	Tous les 6 mois	Mesurez les débits d'hydrogène, d'air et de gaz d'appoint.
TCD	Le cas échéant	Effectuez un nettoyage thermique en cas de dérive de ligne de base, d'augmentation du bruit de fond ou de variation de la réponse. Remplacez le détecteur si le nettoyage thermique ne résout pas les problèmes.
ECD	Tous les 6 mois ou selon besoin	Test d'étanchéité. Effectuez un nettoyage par étuvage en cas de ligne de base bruyante ou de signal de sortie anormalement élevé. Remplacez le détecteur si le nettoyage par étuvage ne résout pas les problèmes.
FPD	Tous les 6 mois ou selon besoin	Mesurez les débits d'hydrogène, d'air et de gaz d'appoint. Nettoyez ou remplacez les fenêtres et les joints du FPD lorsque la sensibilité du détecteur est réduite
NCD et SCD	Tous les 3 mois*	Renouveler l'huile de la pompe, le filtre coalescent et le piège chimique

Détecteurs de masse

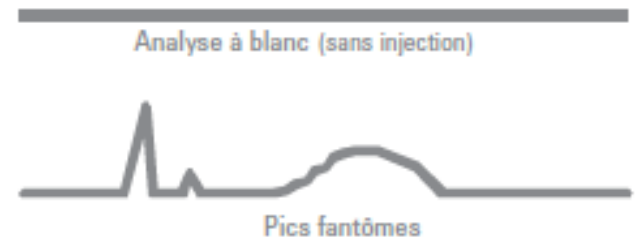
Réglez le MSD	Le cas échéant	Conservez une quantité suffisante de PFTBA (réf. 05971-60571) à disposition.
Vérifiez le flacon d'étalonnage	Tous les 6 mois	Vous pouvez refaire le niveau sans casser le vide.
Changez l'huile de la pompe primaire	Tous les 6 mois	Vérifiez l'huile toutes les semaines. Changez l'huile lorsqu'elle est décolorée ou tous les 6 mois.
Remplacez l'huile de la pompe à diffusion	Tous les ans ou le cas échéant	Contrôler chaque semaine le niveau d'huile. Un niveau trop faible conduit à une augmentation de la température de fonctionnement de la pompe à l'origine d'une dégradation de la qualité du vide. Remplacer l'huile lorsqu'elle a changé de couleur ou qu'elle contient des particules.
Nettoyez la source d'ions	Le cas échéant	Nettoyer lorsque les performances se dégradent afin d'éliminer la contamination et de restaurer les propriétés électrostatiques du système de lentilles ioniques. Remplacer les parties rayées pour maintenir des performances optimales.

*Les fréquences indiquées valent pour un usage moyen. Elles peuvent varier sensiblement selon l'application et le type d'échantillon.

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Pics fantômes ou contamination croisée

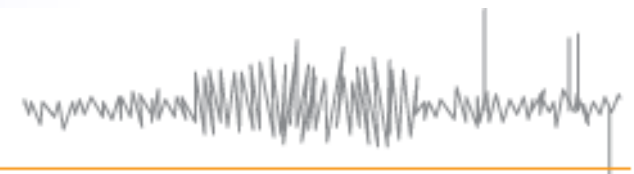


Cause possible	Solution	Remarques
Contaminants introduits avec l'échantillon	Nettoyage de l'échantillon ou du solvant	Contaminants dans le traitement de l'échantillon ou dans le solvant
Contamination de l'injecteur	Nettoyer l'injecteur, remplacer l'insert, le joint en or et le septum	Effectuer un test de condensation ; le nettoyage des lignes de gaz pourrait s'avérer nécessaire. Prendre des mesures pour éviter le reflux de l'échantillon (réduire le volume d'injection, abaisser la température de l'injecteur, utiliser un insert de plus grand volume).
Ressuage du septum	Remplacer le septum	Utiliser un septum de haute qualité, adapté à la température de l'injecteur
Contamination de l'échantillon antérieure à son introduction dans le GC	Contrôler les possibles sources de contamination au cours des étapes de préparation de l'échantillon : nettoyage, manipulation, transfert, et stockage de l'échantillon	Survient généralement après le changement d'une bouteille de gaz
Contamination par des semi-volatils (les pics sont plus larges que ceux de l'échantillon ayant des temps de rétention voisins)	Étuver la colonne. Rincer la colonne avec du solvant. Contrôler l'absence de contamination de l'injecteur, du gaz vecteur et des lignes de gaz vecteur.	Limiter la durée d'étuvage à 1 ou 2 heures. Uniquement pour les phases greffées et réticulées

- | | |
|-----------------------------|--|
| 1. Mécanismes de rétention | 6. Les détecteurs |
| 2. Le gaz vecteur | 7. Les paramètres chromatographiques |
| 3. Les colonnes | 8. Comment optimiser une séparation ? |
| 4. Les injecteurs | 9. Maintenance préventive |
| 5. Les phases stationnaires | 10. Problèmes le plus souvent rencontrés |

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Bruit de ligne de base excessif



Cause possible	Solution	Remarques
Contamination de l'injecteur	Nettoyer l'injecteur ; remplacer l'insert et le joint en or	Effectuer un test de condensation ; il peut s'avérer nécessaire de nettoyer également les lignes de gaz
Contamination de la colonne	Étuver la colonne Rincer la colonne avec du solvant	Limiter la durée de l'étuvage à 1 ou 2 heures Uniquement pour les phases greffées et réticulées Vérifier que l'injecteur n'est pas contaminé
Contamination du détecteur	Nettoyer le détecteur	Généralement, le bruit augmente dans le temps et non de façon soudaine
Gaz contaminés ou de qualité médiocre	Utiliser des gaz de meilleure qualité ; vérifier que les pièges à gaz ne sont pas en fin de vie et contrôler l'étanchéité	Survient généralement après le changement d'une bouteille de gaz
Colonne enfoncée trop profondément dans le détecteur	Réinstaller la colonne	Voir le manuel du GC pour la bonne longueur d'introduction
Débit inadéquat des gaz de détection	Régler les débits aux valeurs recommandées	Pour connaître les débits corrects, consulter le manuel du GC
Fuite lors de l'utilisation d'un MS, d'un ECD ou d'un TCD	Rechercher et éliminer la fuite	Généralement au niveau des raccords de colonne ou de l'injecteur
Filaments de catharomètre, lampe ou multiplicateur d'électrons usagés	Remplacer l'élément concerné	
Dégradation de septum	Remplacer le septum	Pour les applications à hautes températures, utiliser un septum adéquat

- 1. Mécanismes de rétention
- 2. Le gaz vecteur
- 3. Les colonnes
- 4. Les injecteurs
- 5. Les phases stationnaires
- 6. Les détecteurs
- 7. Les paramètres chromatographiques
- 8. Comment optimiser une séparation ?
- 9. Maintenance préventive
- 10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Instabilité ou perturbation de la ligne de base

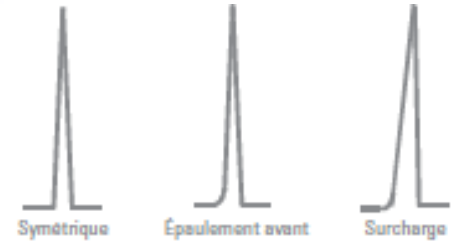


Cause possible	Solution	Remarques
Contamination de l'injecteur	Nettoyer l'injecteur	Effectuer un test de condensation ; il peut s'avérer nécessaire de nettoyer également les lignes de gaz
Contamination de la colonne	Étuver la colonne	Limiter la durée d'étuvage à 1 ou 2 heures
Détecteur non stabilisé	Laisser le détecteur se stabiliser	Il faut parfois jusqu'à 24 h pour qu'un détecteur se stabilise complètement
Colonne incomplètement conditionnée	Conditionner complètement la colonne	Essentiel pour les analyses de traces
Changement de débit de gaz vecteur pendant le programme de température	Normal dans de nombreux cas	Un MS, un TCD et un ECD réagissent aux variations de débit du gaz vecteur

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Pics à épaulement avant

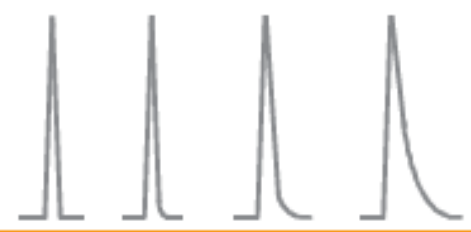


Cause possible	Solution	Remarques
Surcharge de la colonne	Réduire la quantité d'analyte injecté dans la colonne. Diminuer le volume d'injection, diluer l'échantillon ou augmenter le rapport de division.	Causes les plus courantes d'épaulements avant
Installation incorrecte de la colonne	Réinstaller la colonne dans l'injecteur	Pour connaître la longueur d'introduction convenable, consulter le manuel du GC
Méthode d'injection	Changer de méthode	Généralement lié à un actionnement irrégulier du piston ou à la présence d'échantillon dans l'aiguille de la seringue. Utiliser un échantillonneur automatique.
Composé peu soluble dans le solvant d'injection	Changer de solvant. Une précolonne peut améliorer le résultat.	Essentiel pour les analyses de traces
Échantillon dans mélange de solvants	Changer le solvant de l'échantillon	Le problème s'aggrave dans le cas de solvants ayant des polarités ou des points d'ébullition très différents

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Traînées de pics



Cause possible	Solution	Remarques
Contamination de la colonne	Raccourcir la colonne Rincer la colonne avec du solvant	Couper de 50 cm à 1 mètre en tête de colonne Uniquement pour les phases greffées et réticulées Vérifier que l'injecteur n'est pas contaminé
Activité de la colonne	Irréversible. Remplacer la colonne	N'affecte que les composés actifs
Discordance de polarité entre solvants et phases	Utiliser un seul solvant pour l'échantillon Utiliser une précolonne	Traînées plus importantes pour les pics à élution précoce ou les pics les plus proches du front de solvant Une précolonne de 3 à 5 mètres est suffisante
Disparition de l'effet de solvant pour les injections dans la colonne ou sans division	Réduire la température initiale de la colonne	Les traînées de pics diminuent avec la rétention
Rapport de division trop petit	Augmenter le rapport de division	Le débit fourni par la vanne de division doit être de 20 mL/mn au minimum
Colonne mal installée	Réinstaller la colonne	Traînées plus importantes pour les pics à élution précoce
Certains composés actifs donnent toujours des traînées	Aucun	Surtout dans le cas des amines et des acides carboxyliques

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Division des pics

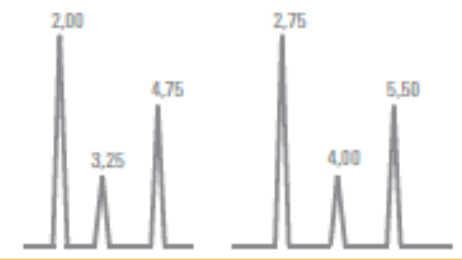


Cause possible	Solution	Remarques
Méthode d'injection	Changer de méthode	Généralement lié à un actionnement irrégulier du piston ou à la présence d'échantillon dans l'aiguille de la seringue. Utiliser un injecteur automatique.
Échantillon dans mélange de solvants	Utiliser un seul solvant pour l'échantillon	Le problème s'aggrave dans le cas de solvants ayant des polarités ou des points d'ébullition très différents
Colonne mal installée	Réinstaller la colonne	Généralement, distance d'insertion très éloignée de l'optimum
Dégradation de l'échantillon dans l'injecteur	Réduire la température de l'injecteur	Élargissement ou asymétrie des pics si la température est trop basse
	Passer à une injection "dans la colonne"	Nécessite un injecteur "dans la colonne"
Mauvaise focalisation de l'échantillon	Utiliser une précolonne	Pour une injection sans division et/ou dans la colonne

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Variation du temps de rétention

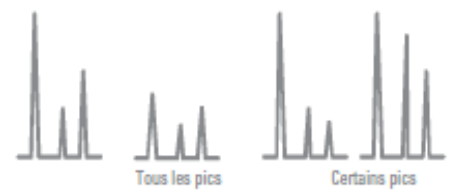


Cause possible	Solution	Remarques
Changement de débit de gaz vecteur	Vérifier le débit de gaz vecteur	Tous les pics sont décalés à peu près uniformément dans le même sens
Modification de la temp. de la colonne	Vérifier la température de la colonne	Les pics ne sont pas décalés uniformément
Modification des dimensions de la colonne	Vérifier les dimensions ou la phase de la colonne	
Importants changements de concentration des composés	Essayer une autre concentration d'échantillon	Peut aussi affecter les pics adjacents. La surcharge en échantillon se corrige en augmentant le rapport de division ou la dilution de l'échantillon.
Fuite au niveau de l'injecteur	Vérifier l'étanchéité de l'injecteur	Il se produit également un changement de dimension des pics
Ligne de gaz obstruée	Nettoyer ou remplacer la ligne obstruée	Plus courant pour la ligne de division ; vérifier également les régulateurs de débit et les électrovannes
Fuite de septum	Remplacer le septum	Vérifier si l'aiguille ne présente pas de bavure
Incompatibilité entre échantillon et solvant	Changer de solvant d'échantillon Utiliser une précolonne	Pour les injecteurs sans division

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

Changement d'intensité des pics

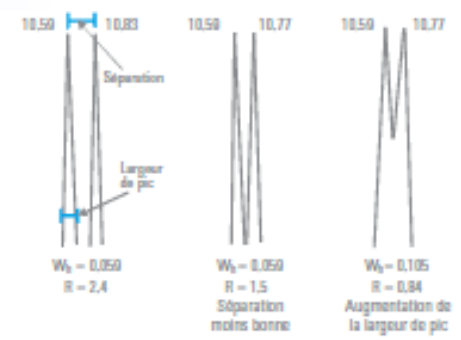


Cause possible	Solution	Remarques
Changement de réponse du détecteur	Contrôler les débits de gaz, les températures et les réglages Contrôler le bruit de fond	Les pics ne sont pas toujours tous affectés de la même manière Le détecteur n'est pas toujours en cause : possible contamination du système
Changement de rapport de division	Contrôler le rapport de division	Les pics ne sont pas toujours tous affectés de la même manière
Changement du temps d'activation de purge	Contrôler la ligne d'activation de purge	Pour les injecteurs sans division
Changement de volume d'injection	Contrôler la méthode d'injection	Les volumes d'injection ne sont pas linéaires
Changement de concentration de l'échantillon	Contrôler la concentration de l'échantillon	Les changements peuvent aussi être causés par la dégradation de l'échantillon, son évaporation, des variations de température ou de son pH
Fuite dans la seringue	Changer de seringue	Fuites d'échantillon en aval du piston ou autour de l'aiguille ; les fuites sont souvent imperceptibles
Contamination de la colonne	Raccourcir la colonne	Couper de 50 cm à 1 mètre en tête de colonne
	Rincer la colonne avec du solvant	Uniquement pour les phases greffées et réticulées
Activité de la colonne	Irréversible	N'affecte que les composés actifs
Coélution	Changer la température de la colonne ou la phase stationnaire	Réduire la température de la colonne et vérifier que les pics ne présentent pas d'épaulement ni de traînée
Changement de discrimination de l'injecteur	Conserver les mêmes paramètres d'injection	Surtout sensible pour les injections avec division
Rétrodiffusion de l'échantillon	Injecter moins, utiliser un insert de plus grande dimension, réduire la température	Moins de solvant et un débit plus élevé y contribuent
Décomposition due à la contamination de l'injecteur	Nettoyer l'injecteur ; remplacer l'insert et le joint en or	Utiliser uniquement des inserts désactivés et de la laine de verre dans l'injecteur

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (« Guide de diagnostic de panne en GC » Agilent®)

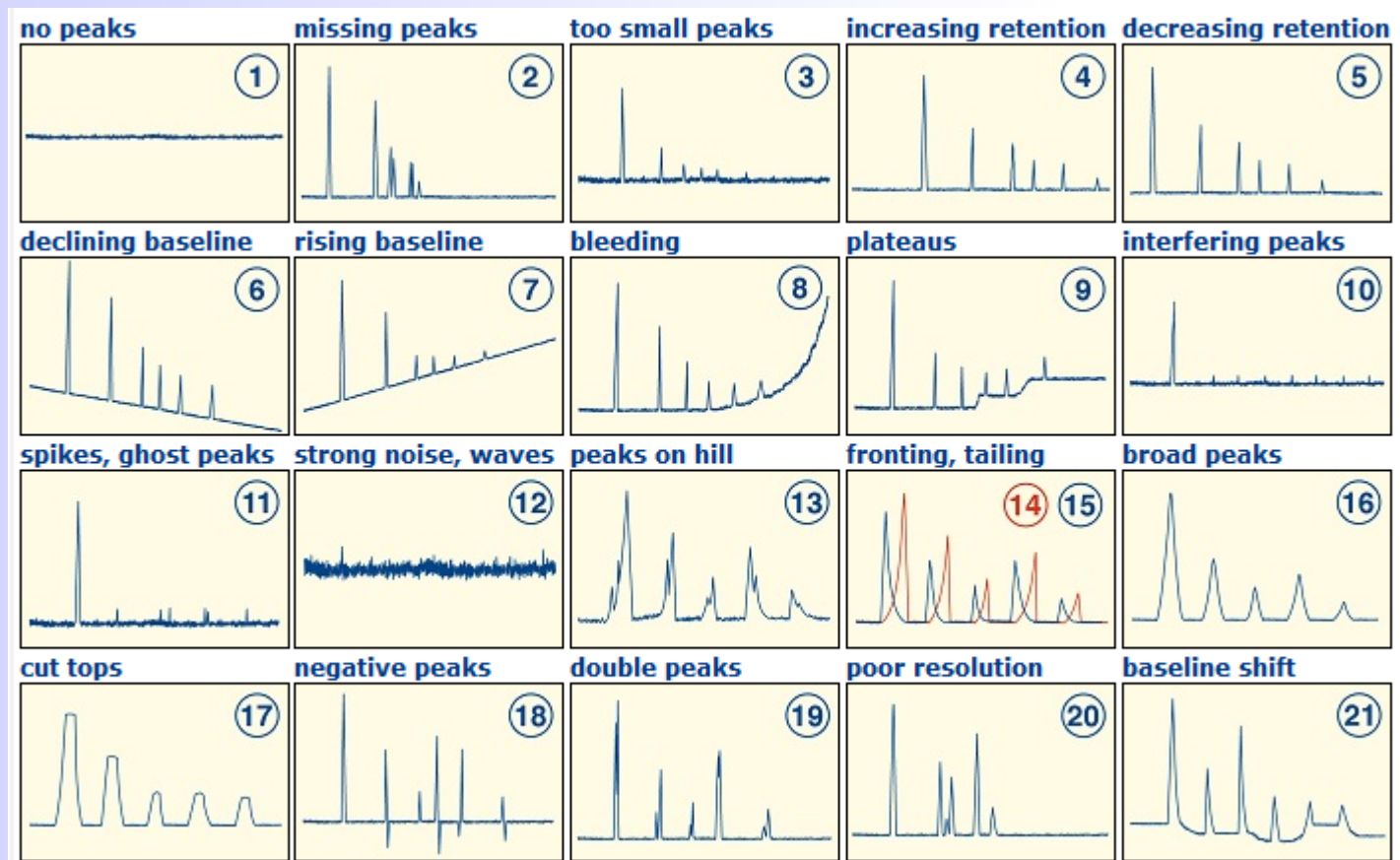
Perte de résolution



Cause possible	Solution	Remarques
Réduction de la séparation		
Température de colonne différente	Vérifier la température de la colonne	Des différences seront visibles sur d'autres pics
Dimensions ou phase de colonne différentes	Vérifier les dimensions ou la phase de la colonne	Des différences seront visibles sur d'autres pics
Coélution avec un autre pic	Modifier la température de la colonne	Réduire la température de la colonne et vérifier que les pics ne présentent pas d'épaulement ni de traînée
Augmentation de la largeur des pics		
Changement de débit de gaz vecteur	Vérifier le débit de gaz vecteur	Le temps de rétention change également
Contamination de la colonne	Raccourcir la colonne	Couper de 50 cm à 1 mètre en tête de colonne
	Rincer la colonne avec du solvant	Uniquement pour les phases greffées et réticulées
Modification de l'injecteur	Contrôler les paramètres d'injection	Points à contrôler : rapport de division, insert, température, volume d'injection
Changement de concentration de l'échantillon	Essayer une autre concentration d'échantillon	La largeur des pics augmente avec la concentration
Effet de solvant imparfait, absence de focalisation	Réduire la température du four, utiliser un solvant correspondant mieux à la polarité de la phase, utiliser une précolonne	Pour les injecteurs sans division

1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires
6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (Macherey-Nagel®)




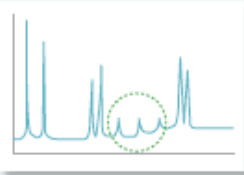
1. Mécanismes de rétention
2. Le gaz vecteur
3. Les colonnes
4. Les injecteurs
5. Les phases stationnaires

6. Les détecteurs
7. Les paramètres chromatographiques
8. Comment optimiser une séparation ?
9. Maintenance préventive
10. Problèmes le plus souvent rencontrés

10. Problèmes le plus souvent rencontrés (Phenomenex®)

PEAK SHAPE PROBLEMS

Peaks Added There are more peaks than normal in the run.

Symptom	Possible Cause	Suggested Remedy
<p>Normal</p>  <p>Extra Peaks</p> 	<p>Septum bleed (especially for runs with oven ramp).</p> <p>Carryover of sample or contaminants from previous runs.</p> <p>Contaminants in current sample or solvent.</p> <p>Impurities in carrier gas are eluting.</p> <p>Analytes are decomposing or breaking down for active or thermally labile compounds.</p>	<p>Turn off the injector heater. If extra peaks disappear, choose a higher temperature rated septum or use a lower injection temperature.</p> <p>Increase the analysis time prior to the next run or bake out the column between runs.</p> <p>Inject solvent by itself using a clean syringe. Switch to a higher quality solvent if extra peaks appear. If only solvent appears, run the solvent through any sample preparation methods, analyzing the solvent at each step of the process to identify the source of extra peaks. If only the solvent peak appears, the extra peaks are part of the sample.</p> <p>Install or check gas purifiers. Replace if necessary. Ensure only high-quality gases are used.</p> <p>If compounds are thermally labile, lower the temperature and use on-column injection, a column with thinner stationary phase, a shorter column lengths, or a higher carrier gas flow rate.</p> <p>If compounds are active, ensure an inert column is used. If necessary, replace the column. <i>See column installation.</i></p>