

TEISSIER Thomas
MADET Nicolas
Licence IUP SIAL

Université de Créteil-Paris XII

COMPTE-RENDU DE TP DE CHROMATOGRAPHIE:

Chromatographie en Phase Gazeuse.

CPG

Année universitaire 2003/2004

La chromatographie ionique fait partie des diverses applications de la chromatographie liquide. La chromatographie permet de séparer des molécules dans un mélange en vue de leur analyse individuellement.

I OBJECTIF.

Lors de ce TP nous allons étalonner l'appareil en analysant des échantillons d'eau contenant des quantités d'ions croissantes. Ensuite, nous effectuerons l'analyse sur deux eaux : l'eau du robinet et une eau de source (Cristalline) afin de déterminer la concentration en ion et pour l'eau de source vérifier les indications qui sont sur la bouteille.

II PRINCIPE.

La chromatographie ionique permet la séparation d'ions, en fonctionnant sur le principe de l'interaction entre les ions de charges opposés en solution.

La chromatographie ionique en phase liquide (IC) permet l'identification et la quantification simultanées de divers ions (cations et anions) inorganiques et organiques. Ses applications sont donc multiples. Le principe de la technique repose sur les différences d'affinité des ions pour un substrat fonctionnalisé (la résine échangeuse d'ions) en présence d'une phase liquide porteuse (l'éluant). Pratiquement, quelques millilitres d'échantillon préalablement mis en solution par des techniques appropriées sont injectés au travers d'une colonne contenant la résine échangeuse d'ions.

Un flux continu d'éluant est appliqué à la colonne échangeuse. Tandis que l'éluant traverse celle-ci, les ions en solution sont adsorbés à la surface de la résine au *pro rata* de leur affinité sélective et en fonction de la composition de l'éluant. Il se forme dans la colonne un front d'avancée pour chaque ion qui est en retard par rapport à l'avancée de la phase porteuse. On aura ainsi séparé à la sortie de la colonne les différents ions en solution.

La détection des ions élués est réalisée par conductimétrie ou par spectrophotométrie UV. Le dosage des ions nécessite une calibration qui consiste à déterminer précisément le temps d'éluion et la surface du pic associé au front d'avancée de chaque ion présent dans des solutions de référence.

III MATERIELS ET METHODE.

III.1 Présentation du système chromatographique.

- ✚ Eluent : Acide nitrique 1mM.
- ✚ Injecteur : il est piloté par le logiciel sur ordinateur, mais le remplissage de la boucle de 10 μ L se fait manuellement.
- ✚ Four : l'appareillage fonctionne à température ambiante.
- ✚ Colonne :
- ✚ Détecteur : Conductimètre, détecteur de conductivité thermostaté avec 2 électrodes annulaires en acier.
- ✚ (Mesure de courant alternatif avec 1 kHz et 1,7 V d'amplitude, Volume de la cellule : 1,5 μ L, Pression maximum : 50 Bar soit $5 \cdot 10^6$ Pa)
- ✚ Acquisition, intégration, impression : L'ensemble se fait à partir de l'ordinateur qui est relié au système chromatographique.

III.2 Manipulations.

III.2.1 Principe.

Nous allons préparer des solutions contenant quatre cations : Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} mais à des concentrations croissantes en passant d'un échantillon à l'autre. Ces solutions se feront à partir de solutions de cations concentrées. Pour étudier la reproductibilité de la méthode chromatographique, nous préparerons une autre solutions ne contenant que deux cations : Na^+ , K^+ et à des concentrations connues que nous analyserons trois fois pour vérifier la linéarité de la mesure.

Le blanc, qui permettra d'étalonner et d'observer le pic de solvant, sera effectué avec de l'eau distillée, donc ne contenant pas d'ions en théorie.

III.2.2 Préparation des échantillons.

Le tableau suivant traduit les concentrations recherchées en cations dans les différentes solutions à analyser.

Tableau I : Concentrations en cations pour l'analyse chromatographique.

(Les concentrations sont exprimées en mg/L)

Cation	Solution mère	Etalon 1	Etalon 2	Etalon 3	Etalon 4	Etalon 5	Reproductibilité
Na^+	1000	1	2	3	4	5	5
K^+	1000	1	2	3	4	5	5
Ca^{2+}	1000	4	8	12	16	20	
Mg^{2+}	1000	1	2	3	4	5	

Afin de préparer nos solutions, nous avons effectué une dilution préliminaire. Les volumes finaux sont de 25 mL.

Tableau II : Préparations des solutions de cations et des dilutions.

Cations	Concentrations mères	Concentrations intermédiaires	Volume prélevé pour un concentration finale de:				
			1 mg/L	2 mg/L	3 mg/L	4 mg/L	5 mg/L
Na^+ , K^+ , Mg^{2+}	1000 mg/L	100 mg/L	250 μL	500 μL	750 μL	1 mL	1,25 mL
			4 mg/L	8 mg/L	12 mg/L	16 mg/L	20 mg/L
Ca^{2+}	1000 mg/L	400 mg/L	250 μL	500 μL	750 μL	1 mL	1,25 mL
			4 mg/L	8 mg/L	12 mg/L	16 mg/L	20 mg/L

III.2.3 Calculs d'incertitudes.

$$C_f = \frac{C_i \times V_i}{V_f}$$

$$\frac{\Delta C_f}{C_f} = \frac{\Delta C_i}{C_i} \times \frac{\Delta V_i}{V_i} \times \frac{\Delta V_f}{V_f} \quad \text{Comme } \Delta C_i = 0 : \Delta C_f = C_f \times \left(\frac{\Delta V_i}{V_i} \times \frac{\Delta V_f}{V_f} \right)$$

$\Delta V_f = 0,04$ mL car nous avons utilisé des fioles de 25 mL. Pour ΔV_i , on a :

- $\Delta V_i = 0,004$ mL pour la pipette de 10 mL.
- $\Delta V_i = 1$ μL pour la pipette de 100-1000 μL

On a donc les incertitudes suivantes pour les concentrations finales :

Tableau III : Incertitudes sur les concentrations des cations dans les échantillons.

Cations	Concentrations et incertitudes				
Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺	1000,0 ± 5,8 µg/L	2000,0 ± 7,2 µg/L	3000,0 ± 8,8 µg/L	4000,0 ± 10,4 µg/L	5000 ± 12 µg/L
Ca ²⁺	4000 ± 23 µg/L	8,000 ± 0,029 mg/L	12,000 ± 0,035 mg/L	16,00 ± 0,04 mg/L	20,00 ± 0,05 mg/L

IV Analyse des chromatogrammes.

IV.1 Ordre d'élutions.

Les composés sont séparés en fonction de leur charge puis de leur masse atomique.

Comme le Sodium et le Potassium sont moins chargés, ils seront moins retenus par la phase stationnaire et donc seront élués plus rapidement que le Calcium et le Magnésium.

Le Sodium ayant une masse de 22,98977 g.mol⁻¹ et le Potassium de 39,0983 g.mol⁻¹, on peut déduire que le Sodium est élué plus rapidement, et sera donc le premier composé à sortir de la colonne après le pic de solvant.

Le Calcium ayant une masse de 40,08 g.mol⁻¹ et le Magnésium de 24,305 g.mol⁻¹, on peut déduire que le calcium sera élué en dernier.

L'ordre d'élution sera donc le suivant : Sodium (2), Potassium (3), Magnésium (4), Calcium (5).

Les courbes sont regroupées dans les annexes 1 à 5.

IV.2 Analyse de la régularité de la séparation (courbe d'étalonnage) et de sa reproductibilité.

IV.2.1 Aires en fonction de la concentration.

En traçant l'aire sous le pic pour un cation en fonction de sa concentration, on observe des points qui peuvent être alignés. Si on trace une droite de régression, on peut qualifier la linéarité des points en comparant les r². Pour les 4 cations, les r² définissant les régressions linéaires sont tous supérieurs à 0,9. On peut donc conclure que nos points sont alignés et que la linéarité des mesures sur cette gamme de concentration est bonne.

Les graphiques donnant les aires en fonction de la concentration sont regroupés dans les annexes 6 et 7.

On calcule aussi pour chaque cation, la variance et l'écart-type des valeurs trouvées.

Tableau IV : Aire pour chaque pic de soluté et calcul de la variance et de l'écart-type.

Concentration en mg/L	Aire du Pic de solvant	Aire du Sodium	Aire du Potassium	Aire du Magnésium	Concentration en mg/L	Aire du Calcium
1	350,41	8,41	3,27	12,36	4	8,69
2	237,45	11,81	4,14	22,31	8	58,58
3	228,37	18,92	7,96	34,16	12	68,58
4	97,09	23,82	10,52	44,38	16	124,70
5	83,12	32,39	14,09	53,23	20	130,26
Variance	12270,22	91,57	20,17	270,03		2545,32
Ecart type	110,77	9,57	4,49	16,43		50,45

IV.2.2 Reproductibilité

Les chromatogrammes des reproductibilités sont donnés en annexes 8 à 10.

Le graphique donnant les aires en fonction de l'essai de reproductibilité est donné dans l'annexes 11.

Tableau V : Aire des pics pour l'étude de reproductibilité et calcul des écart-types et des variances.

Reproductibilité	Aire du pic de solvant	Aire du sodium	Aire du potassium	Aire totale
1	304,863	34,02	23,99	362,88
2	296,061	30,86	18,62	345,538
3	300,688	31,04	20,85	352,575
Moyenne		31,97	21,15	
Variance		3,16	7,29	
Ecart-type		1,78	2,70	

Les écart-types calculés sont faibles par rapport aux valeurs d'aire ou même par rapport à la moyenne. On peut donc conclure que la méthode de chromatographie ionique par détection conductimétrique est reproductible, donc répétable.

IV.3 Analyse d'une eau de source et de l'eau du robinet.

Les chromatogrammes pour ses deux eaux sont donnés en annexes 12 et 13.

IV.3.1 Eau de source : Cristalline

On effectue la séparation chromatographique sur l'eau de source Cristalline pour vérifier les concentrations en cations dans cette eau et pour comparer avec les indications données sur la bouteille.

Une fois la séparation effectuée, on identifie les pics correspondants aux différents cations puis, on reporte sur nos courbes d'étalonnages correspondantes les aires sous les pics des cations. Ce report nous permet de déterminer la concentration en ions.

Pour le Calcium, nous sommes obligés d'effectuer une extrapolation de la droite de régression pour pouvoir placé le point correspondant à l'aire sous le pic de Calcium. Cette méthode n'est possible que si on suppose que la relation entre l'aire sous les pics et la concentration est linéaire même pour des concentrations élevées.

On encadre notre valeur d'aire avec +/- 1 écart-type trouvé pour la reproductibilité afin de prendre en compte la précision du système chromatographique. On ne peut faire ceci que pour le sodium et le potassium.

Tableau VI : Concentrations déduites des gammes étalons et concentrations indiquées sur la bouteille de Cristalline.

Cations	Concentrations en cations en mg/L	
	Déduite des droites	Bouteille
Sodium	3,46 {3,17-3,56}	3,5
Potassium	1,81 {0-2,73}	1,8
Magnésium	3,2	3,8
Calcium	101,6	106

D'après les résultats trouvés on peut conclure que les indications sur la bouteille sont vraies.

On peut aussi conclure que notre approximation pour l'extrapolation de la droite de régression du Calcium est plausible car la valeur trouvée est très proche de la concentration indiquée sur la bouteille.

IV.3.2 Eau du robinet.

On effectue comme pour l'eau de source en plaçant les aires des pics sur la droite et en projetant sur l'axe des abscisses on trouve les concentrations de chacun des ions.

Les droites de régression d'étalonnage qui nous ont permis de trouver les valeurs de concentrations sont données en annexes 14 à 16.

Tableau VII : Concentrations en cations de l'eau du robinet :

Cations	Concentrations en cations en mg/L
Sodium	17,8 {17,6-18,1}
Potassium	4,77 {3,89-5,52}
Magnésium	3,4
Calcium	94,7

Pour le Sodium, nous avons été obligés de faire une extrapolation linéaire de la droite de régression en prenant les mêmes hypothèses (linéarité de la fonction reliant l'aire à la concentration).

On peut remarquer que sur le chromatogramme de cette eau, un pic en plus apparaît, le pic 2. Ce pic peut correspondre au Lithium qui n'a pas été analysé dans ce TP, chargé comme le Sodium et le Potassium mais ayant une masse atomique encore plus faible.

Il est normal qu'il soit élué plus rapidement que ces deux composés.

Annexe 11 : Etude de la reproductibilité.

Etude de la reproductibilité: Aire sous le pic

