

**EC- CHRO**  
**Chapitre II.**  
**Fondements théoriques de la**  
**chromatographie par élution**

**Isabelle DELAROCHE**  
**Soumaya MEZGHICH**

## **Chapitre II.**

### **Fondements théoriques de la chromatographie par élution**

#### **I. Grandeurs de rétention**

- A. Temps de rétention et volume de rétention**
- B. Facteur de capacité**

#### **II. Efficacité d'une colonne**

- A. Nombre de plateaux théoriques**
- B. Hauteur Equivalente à un Plateau Théorique**
- C. Asymétrie d'un pic**

#### **III. Séparation entre deux pics**

- A. La sélectivité**
- B. La résolution**
- C. Facteurs influençant la résolution**

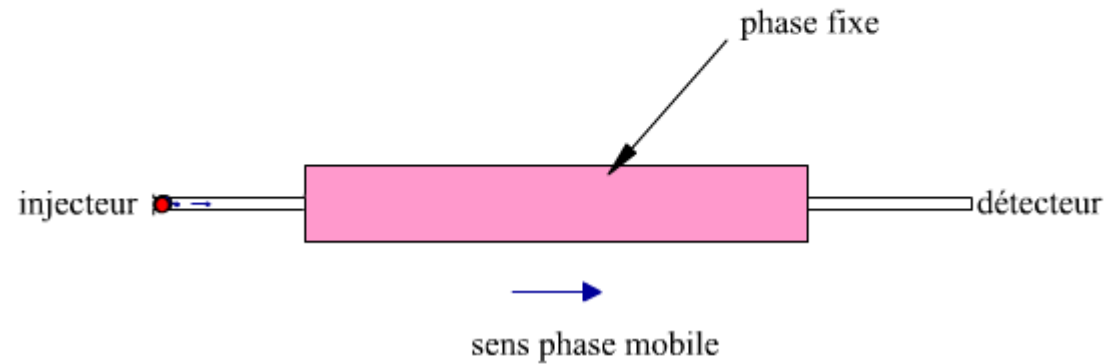
#### **IV. Mécanisme de dispersion d'un pic d'élution**

- A. Cas des colonnes remplies : Courbe de Van Deemter**
- B. Cas des colonnes capillaires : Courbe de Golay**

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## Introduction

---



$$K = \frac{C_F}{C_M}$$

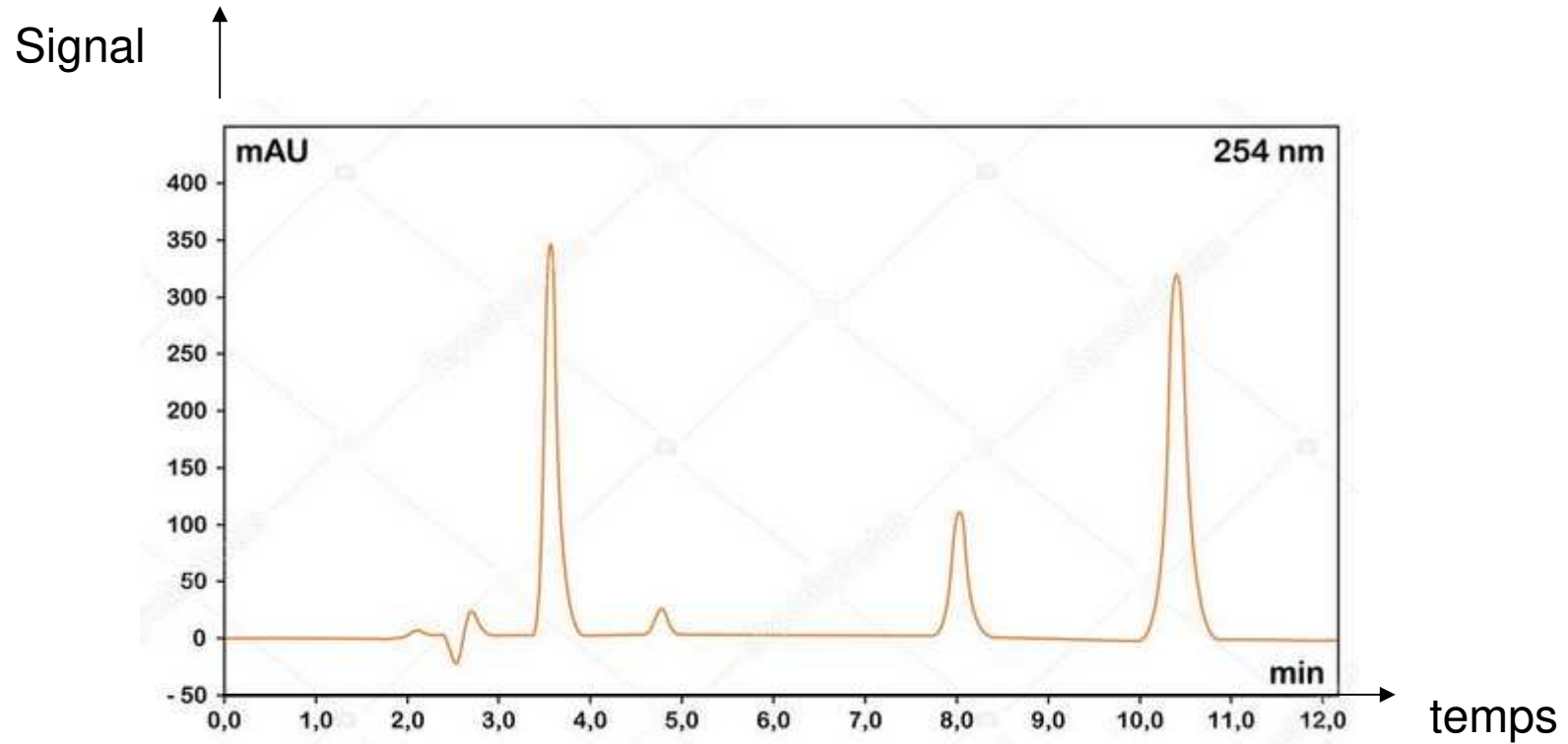
K ne dépend que de :

- 
- 
-

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## I. Grandeur de rétention

### A. Temps de rétention et volume de rétention

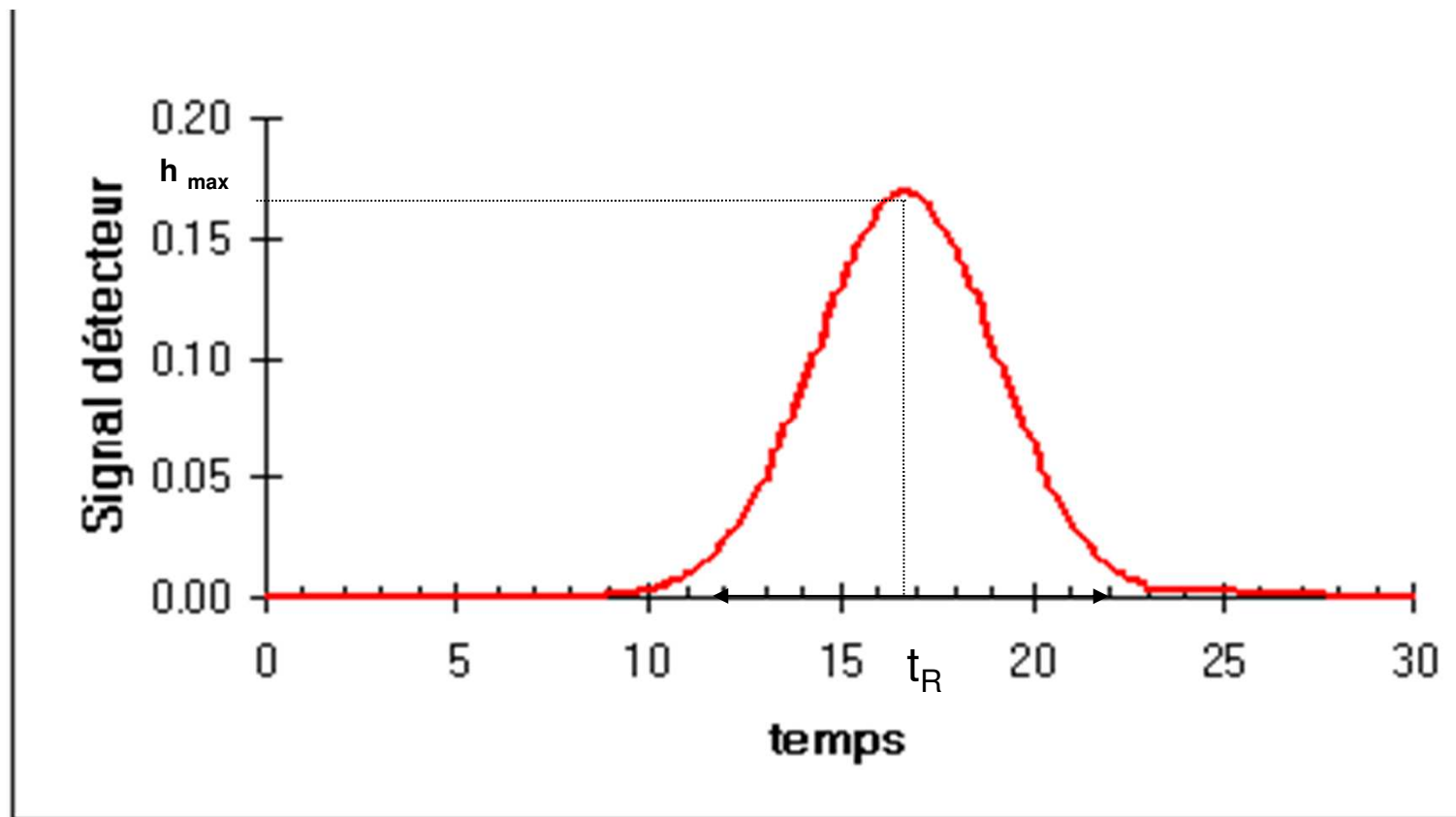


Chromatogramme

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## I. Grandeurs de rétention

### A. Temps de rétention et volume de rétention



$t_r$  est le **temps de rétention** : temps mis par le produit pour parcourir la distance injecteur-détecteur

$t_0$  est le **temps mort**: temps mis par un composé non retenu par la phase fixe pour parcourir la distance injecteur détecteur

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## I. Grandeurs de rétention

### A. Temps de rétention et volume de rétention

---

$V_r$  est le **volume de rétention** : volume de phase mobile passé depuis l'injection jusqu'au temps correspondant au max du pic

$V_0$  est le **volume mort**: volume de phase mobile nécessaire pour faire parcourir la distance injecteur-détecteur à un produit sans affinité avec la phase fixe

$$V_r =$$
$$V_0 =$$

Si on considère une colonne remplie, ce volume  $V_0$  correspond à :

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## I. Grandeurs de rétention

### A. Temps de rétention et volume de rétention

---

On définit aussi  $t_r$  le **temps de rétention réduit**

Intérêt :

De même  $V_r$  est le **volume réduit**

Chaque molécule d'un analyte passe alternativement de la phase mobile (où elle progresse à la vitesse de celle-ci) à la phase stationnaire (où elle est alors immobile).

On peut décomposer  $t_r$  en temps passé dans la phase mobile ( $t_M$ ) et temps passé dans la phase fixe ( $t_F$ )

$t_r =$

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## I. Grandeurs de rétention

### B. Facteur de capacité ou facteur de rétention $k'$

---

Définition :  $k' =$



Relation pratique pour calculer  $k'$

**Expression de  $k'$  en fonction de  $K$ :**

**$k'$  est donc indépendant de la longueur de la colonne**



# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## I. Grandeurs de rétention

### B. Facteur de capacité $k'$

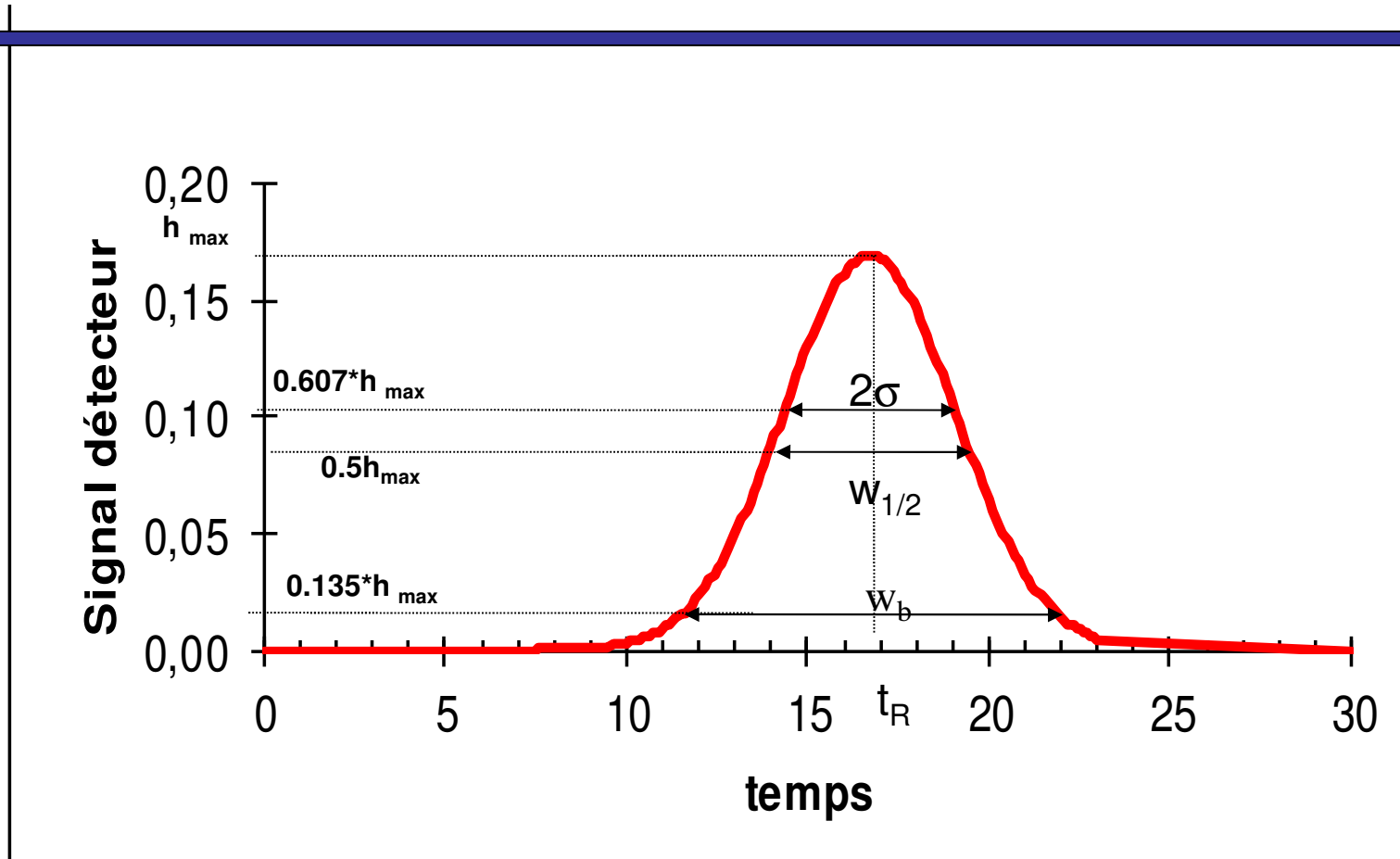
---

Variation de  $k'$  avec T

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## II. Efficacité d'une colonne

### A. Nombre de plateaux théoriques



$\sigma^2$  est la variance,  $w_{1/2}$  est la largeur à mi-hauteur et  $w_b$  la largeur à la base

$$w_b = 4\sigma$$
$$w_{1/2} = 2,35 \sigma$$

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## II. Efficacité d'une colonne

### A. Nombre de plateaux théoriques

---

L'efficacité d'une colonne chromatographique est quantifiée par le **nombre de plateaux théoriques N**.

Ce nombre caractérise l'étalement des pics.

**N=**

**N<sub>eff</sub> =**

(N<sub>eff</sub> peut servir à comparer entre elles les performances des colonnes )

Analogie avec la théorie des plateaux en distillation

Plateau de distillation :

Plateau en chromatographie :

Modèle peu réaliste : pas de prise en compte de la diffusion et pas de vrais plateaux dans notre cas!

Notes :

- A temps de rétention voisin + N ↗

- N est **proportionnel** à la longueur de la colonne.

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## II. Efficacité d'une colonne

### B. Hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT)

---

**HEPT =**

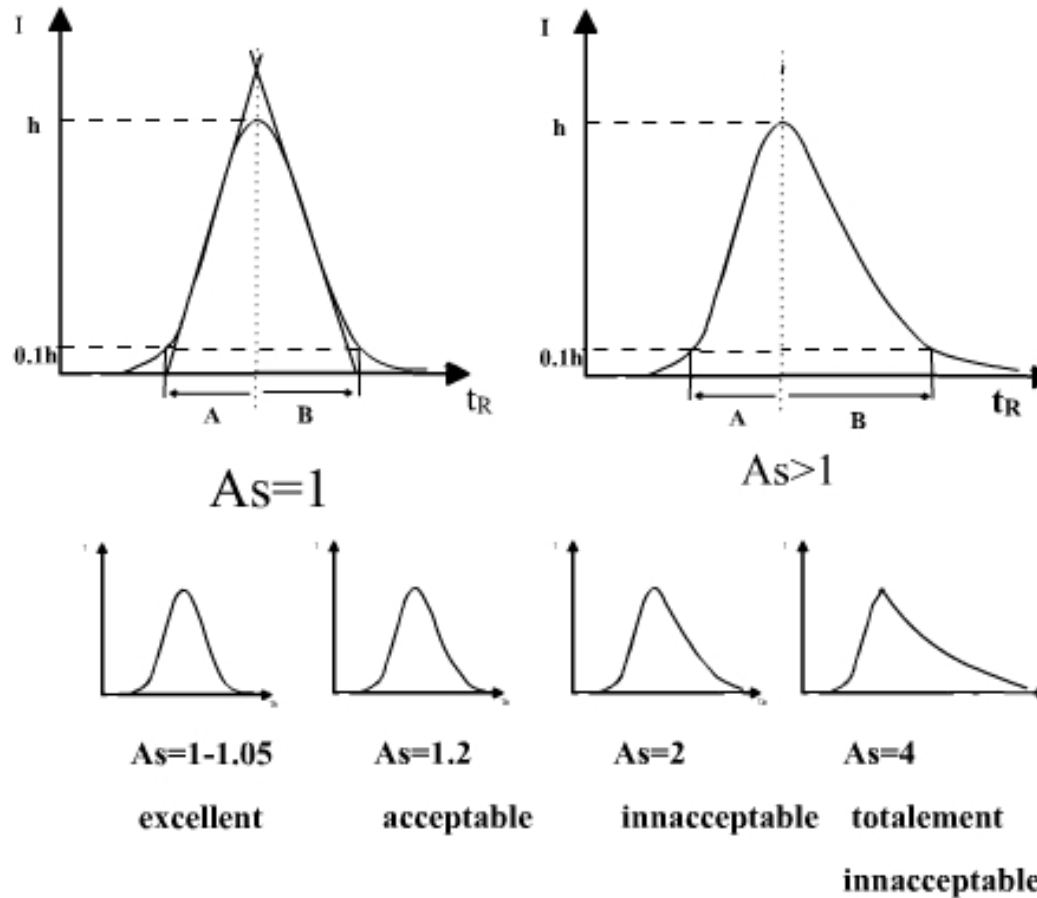
Propriété importante :

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## II. Efficacité d'une colonne

### C. Asymétrie de pic

$$As = B/A$$



- En général on observe une trainée de pic
- $As < 1,5-2$  pour permettre une intégration correcte

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## II. Efficacité d'une colonne

### C. Asymétrie de pic

---

A quoi peut-être due l'asymétrie?

Quelles sont les conséquences?

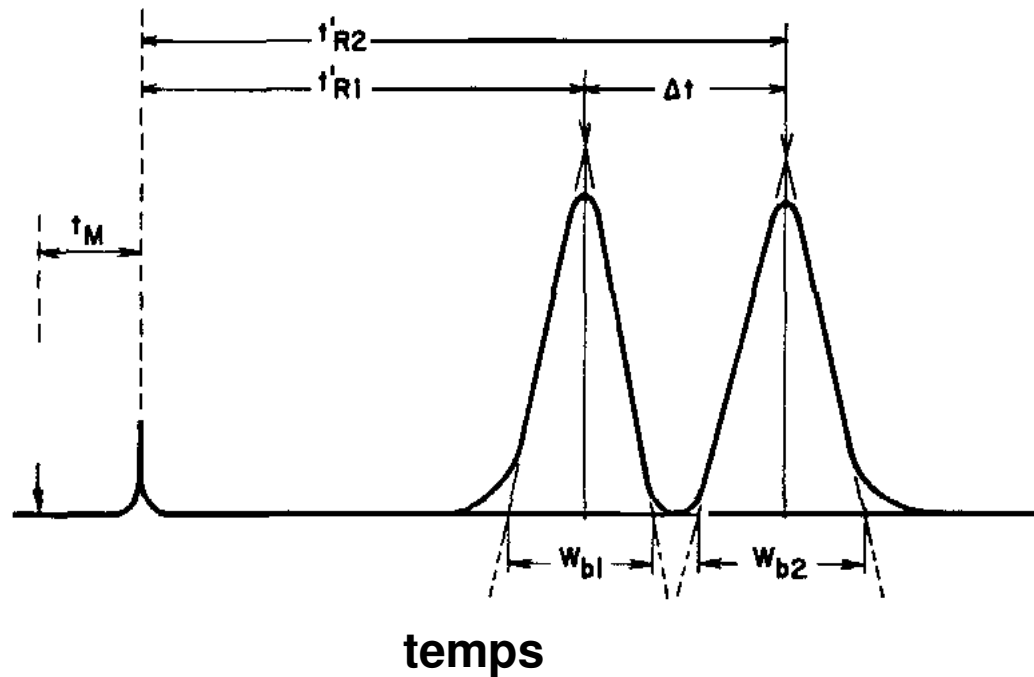
Comment résoudre le problème?

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## III. Séparation entre 2 pics

### A. La sélectivité

---



**Sélectivité : caractérise la distance entre les sommets de 2 pics adjacents**

$$\alpha_{1/2} = \frac{k'_2}{k'_1}$$

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## III. Séparation entre 2 pics

### A. La sélectivité

---

$$\alpha_{1/2} =$$

La sélectivité est indépendante de :

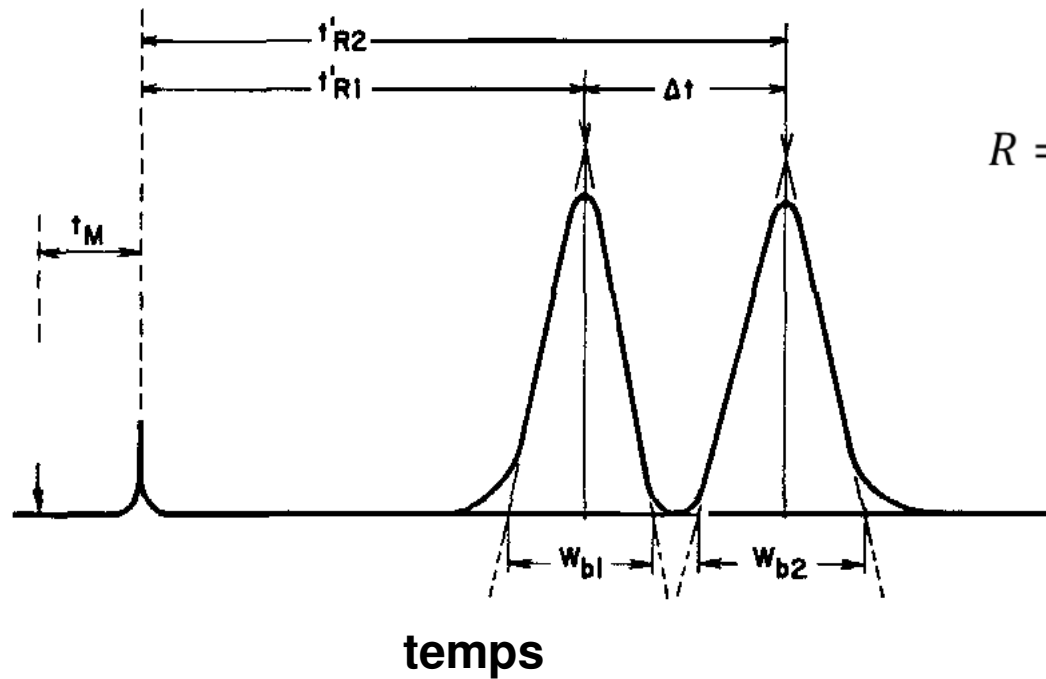
Comment modifier  $\alpha$  ?



# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## III. Séparation entre 2 pics

### B. La résolution



$$R = 2 \frac{t_{r2} - t_{r1}}{w_{b1} + w_{b2}}$$

### Résolution

$$R = 1,18 \frac{t_{r2} - t_{r1}}{w_{1/2}^2 + w_{1/2}^1}$$

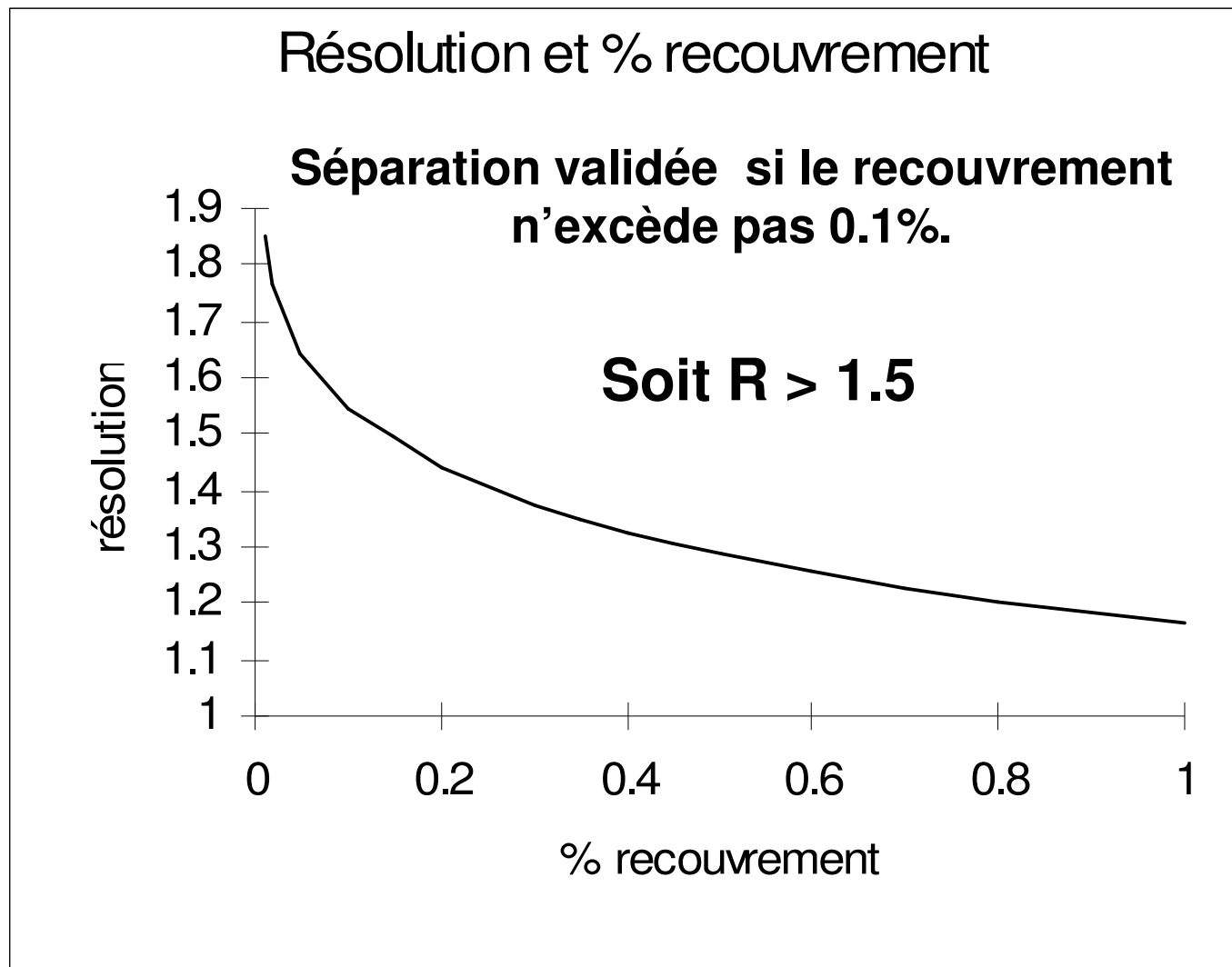
(1)

Attention : relation valable uniquement pour des pics de taille voisine

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## III. Séparation entre 2 pics

### B. La résolution



# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## III. Séparation entre 2 pics

### C. Facteurs influençant la résolution

---

L'optimisation de la méthode chromatographique a pour but de

La résolution peut être reliée aux paramètres chromatographiques par la relation de Purnell :

$$R = \frac{\sqrt{N_2}}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k'_2}{k'_2 + 1} \quad (2)$$

$$R = \frac{\sqrt{N_{2\text{eff}}}}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \quad (3)$$

Démonstration:

# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## III. Séparation entre 2 pics

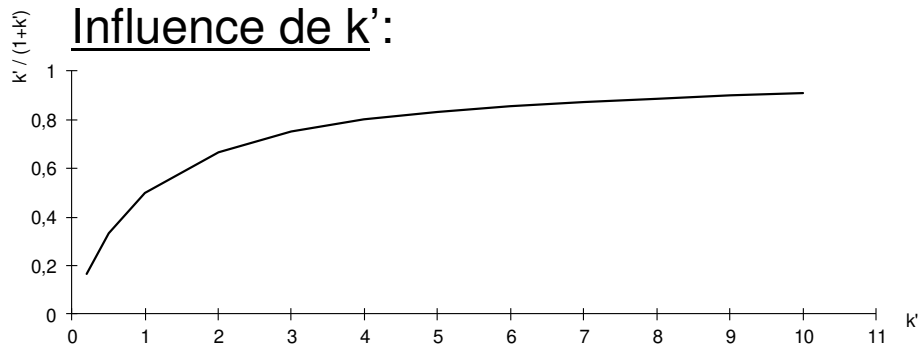
### C. Facteurs influençant la résolution

Utilisons la relation de Purnell pour étudier l'influence de différents paramètres

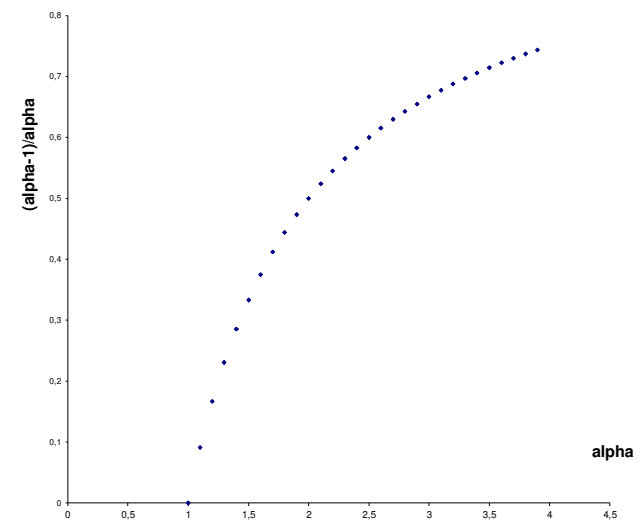
Influence de N:

$$R = \frac{\sqrt{N_2}}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k'_2}{k'_2 + 1}$$

Influence de k':



Influence de  $\alpha$ :

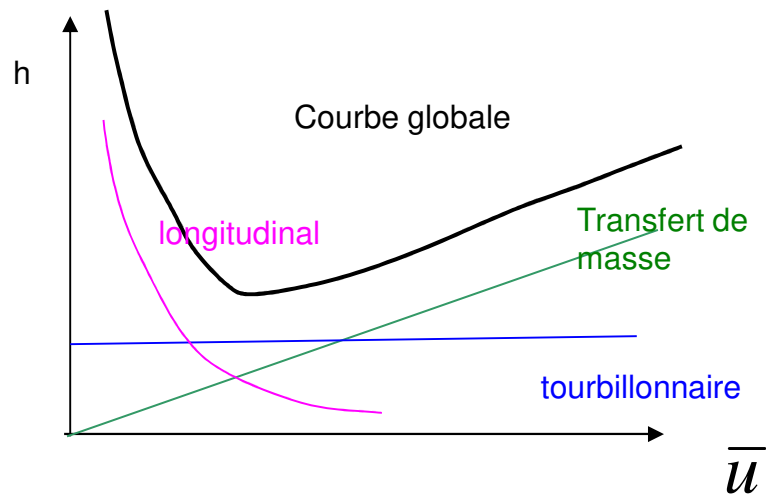


# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## IV. Mécanisme de dispersion d'un pic d'élution

### A. Cas des colonnes remplies: équation de Van Deemter

Équation valable pour les colonnes remplies HPLC et GC



$$h = \frac{B}{\bar{u}} + A + C\bar{u}$$

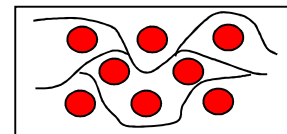
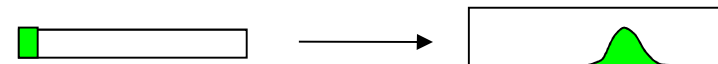
$h$  est la HEPT

$\bar{u}$  est la vitesse moyenne de  $\phi_M$

$B/u$  : diffusion moléculaire longitudinale

$A$  : diffusion tourbillonnaire (chemins multiples)

$C.u$  : transfert de masse entre les deux phases



# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

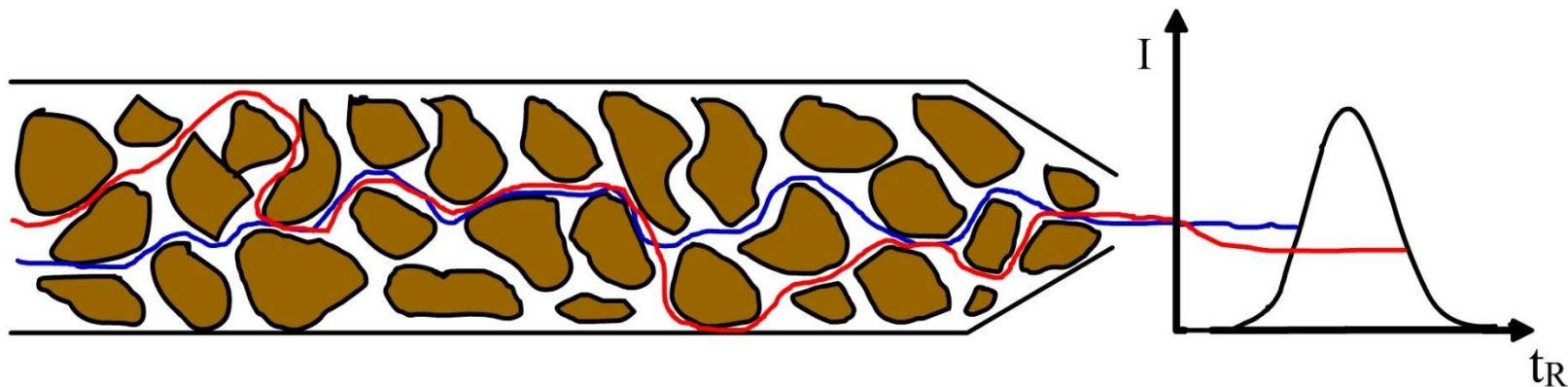
## IV. Mécanisme de dispersion d'un pic d'élution

### A. Cas des colonnes remplies: équation de Van Deemter

---

#### A : diffusion tourbillonnaire (chemins multiples)

- Ne s'applique que pour les colonnes remplies
- Plus les particules sont petites, plus la diffusion tourbillonnaire est faible (meilleure efficacité).



$\lambda$  : facteur géométrique de remplissage

$d_p$  : diamètre des particules

$$A = 2\lambda d_p$$

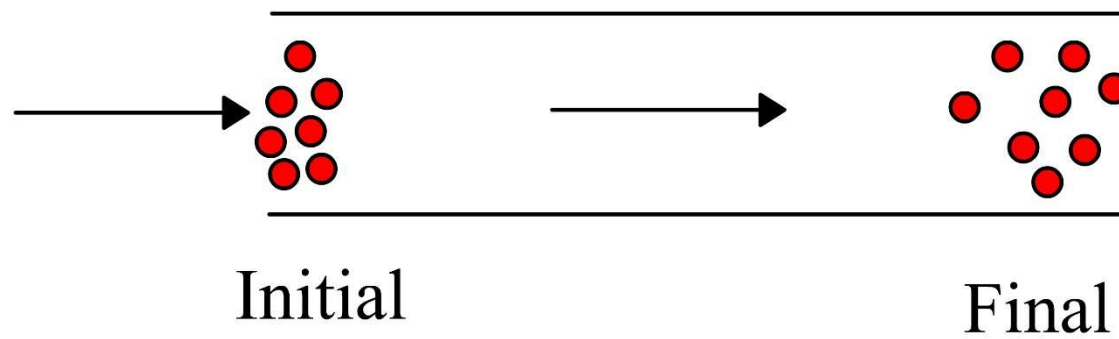
# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## IV. Mécanisme de dispersion d'un pic d'élution

### A. Cas des colonnes remplies: équation de Van Deemter

---

B/u : diffusion moléculaire longitudinale



# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

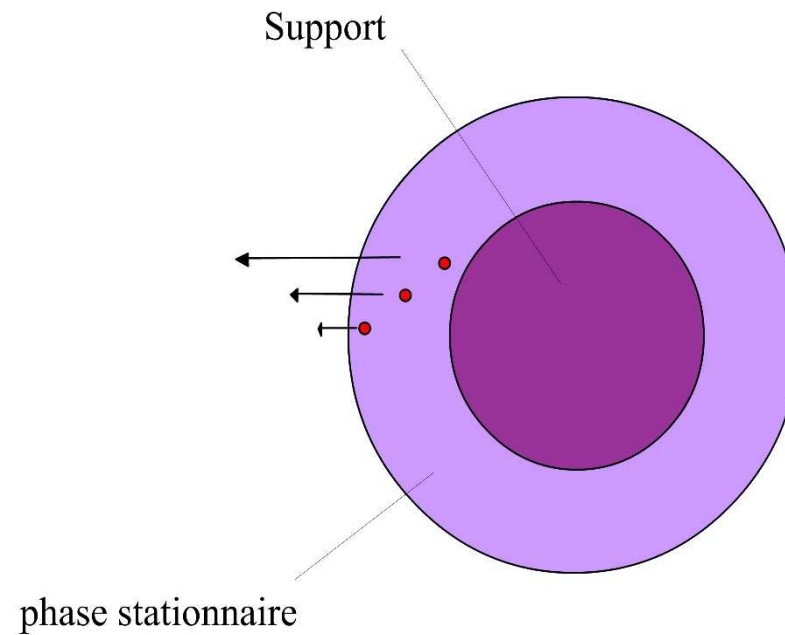
## IV. Mécanisme de dispersion d'un pic d'élution

### A. Cas des colonnes remplies: équation de Van Deemter

---

C.u : transfert de masse entre les deux phases

Terme plus faible si petite particule ou film de phase fixe mince.



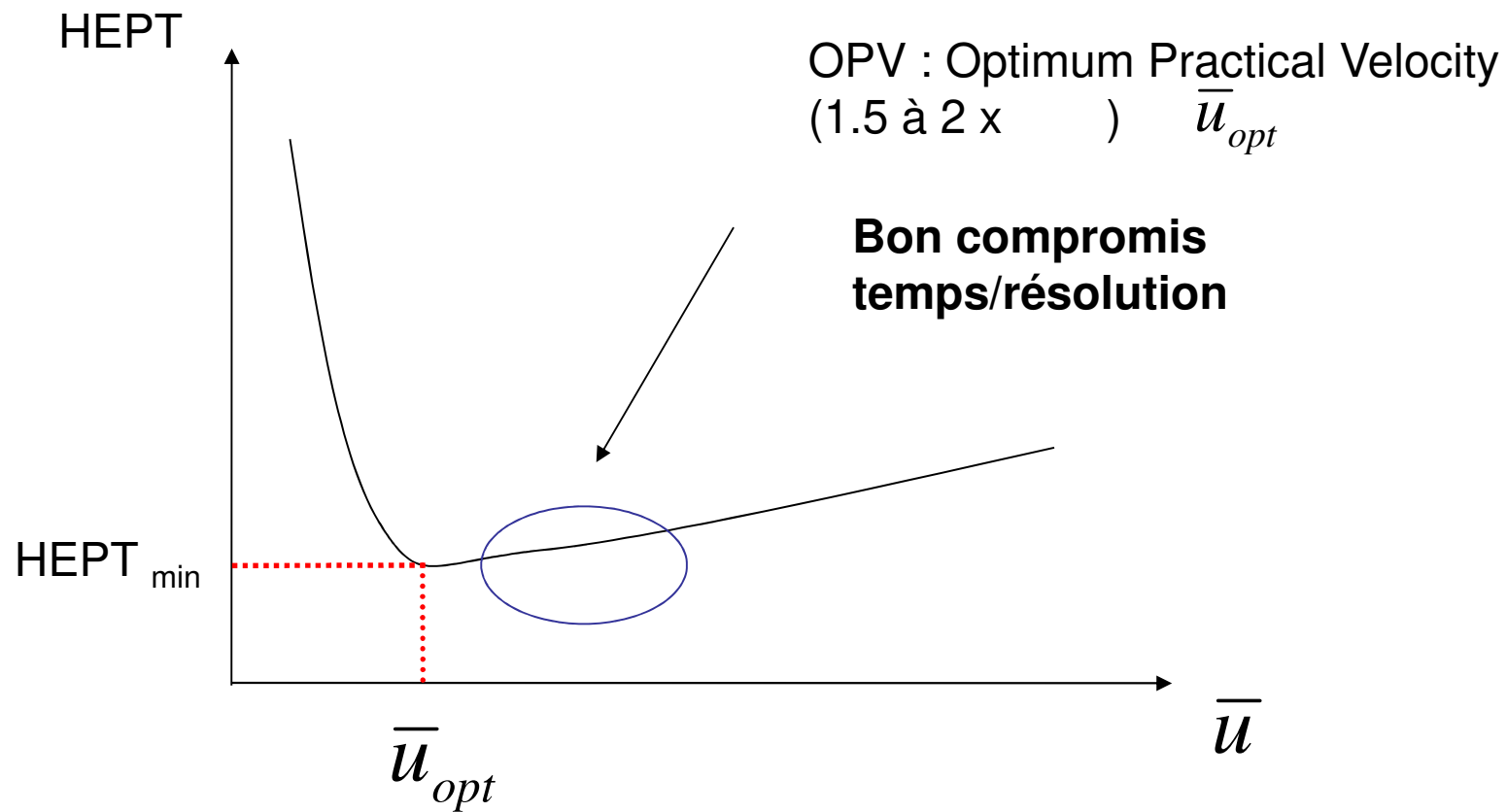


# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## IV. Mécanisme de dispersion d'un pic d'élution

### A. Cas des colonnes remplies: équation de Van Deemter

---



# Fondements théoriques de la chromatographie par élution

## IV. Mécanisme de dispersion d'un pic d'élution

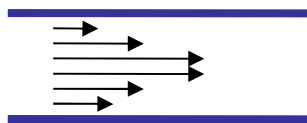
### B. Cas des colonnes ouvertes: équation de Golay

L'équation de Van Deemter n'est plus valable :

$$HEPT = \frac{B}{\bar{u}} + C_G \bar{u} + C_L \bar{u}$$

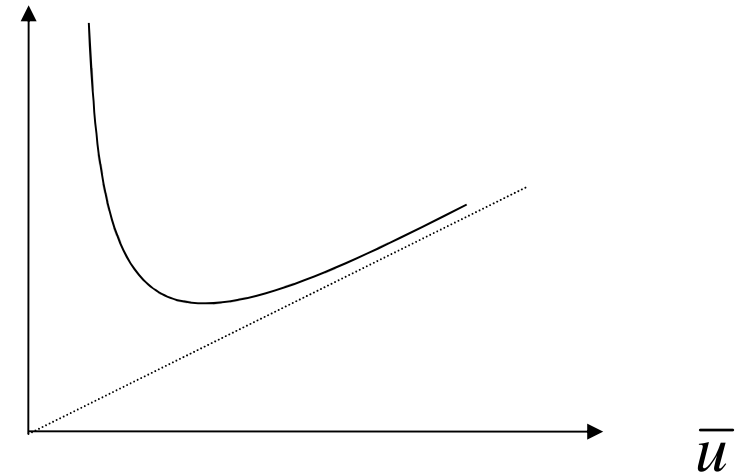
Équation de Golay

Diffusion radiale



HEPT

Transfert de  
masse dans  
la phase fixe



Pas de diffusion tourbillonnaire