

# EC CHRO

Année : 2015      Durée : 2h00

Documents autorisés : Formulaire

## I. Détermination de la teneur en hydrocarbures dans l'eau.

L'objectif de cette partie est d'étudier le dosage des hydrocarbures dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse. Afin d'illustrer ce dosage nous étudierons plus particulièrement les alcanes du tableau 1.

| Alcanes       | Formule brute                   | Température d'ébullition |
|---------------|---------------------------------|--------------------------|
| pentane       | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>  | 36°C                     |
| hexane        | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>  | 69°C                     |
| Heptane       | C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>  | 98°C                     |
| 3-ethylhexane | C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>  | 119°C                    |
| octane        | C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>  | 126°C                    |
| decane        | C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> | 174°C                    |

Tableau 1

### Procédure de dosage

On prélève 1L d'eau à analyser auquel on ajoute 5 g de MgSO<sub>4</sub>. On additionne 50 mL de pentane, on agite vigoureusement pendant 10 min. On sépare les phases dans une ampoule à décanter et on recueille la phase organique. On sèche la phase organique sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis on fait passer la phase organique à travers une colonne remplie de 5 g de silice. On recueille l'éluat dans un ballon de 250 mL. On ajoute 30 mL de pentane sur la silice et on recueille cette fraction dans le même ballon. On évapore à l'évaporateur rotatif jusqu'à obtenir un volume d'exactly 1 mL. On injecte cet échantillon selon la méthode chromatographique 1.

### Conditions chromatographiques 1 (analyse hydrocarbures dans l'eau) :

Les solutions sont analysées sur un chromatographe en phase gazeuse comportant une colonne capillaire dont les caractéristiques sont les suivantes :

- Phase stationnaires : 100% polydimethyl siloxane.
- Longueur 30m
- diamètre interne 0.32 mm
- épaisseur de phase fixe 0.25µm.

La température d'injection est de 250°C en mode splitless. Le four est réglé à 40°C puis 5°C/min jusqu'à 100°C puis 15°C/min jusqu'à 300°C. Le détecteur est un détecteur à ionisation de flamme réglé à 300°C. Gaz vecteur Hélium, vitesse 30 cm/s. On injecte 1 µL.

### Conditions chromatographiques 2 (contrôle pureté pentane) :

Les solutions sont analysées sur un chromatographe en phase gazeuse comportant une colonne capillaire dont les caractéristiques sont les suivantes :

- Phase stationnaire : 100% polydiméthylsiloxane.
- Longueur : 30m
- Diamètre interne : 0.32 mm
- Epaisseur de phase fixe : 1µm.

La température de l'injecteur est de 250°C en mode split (taux de split 1/50). Le four est réglé à 35°C pendant 10 min puis 5°C/min jusqu'à 100°C. Le détecteur est un détecteur à ionisation de flamme réglé à 300°C. Gaz vecteur Hélium, vitesse 30 cm/s.

## 1. Contrôle de la pureté du pentane

Avant d'effectuer le dosage, on souhaite déterminer la pureté du pentane utilisé comme solvant. Pour ce faire. On injecte 1 $\mu$ L de pentane en utilisant les conditions chromatographiques 2.

On obtient les pics suivants (tableau 2) :

| Pic | Produit            | Tr (min) | Aire   |
|-----|--------------------|----------|--------|
| 1   | 2-méthylbutane     | 1.86     | 968    |
| 2   | pentane            | 2.31     | 145783 |
| 3   | 2,3-diméthylbutane | 2.45     | 1462   |
| 4   | 2-méthylpentane    | 2.57     | 875    |

Tableau 2

### Questions :

1. Pourquoi ne peut-on pas utiliser le mode d'injection splitless dans ce cas ? (répondre à la fin de la partie 1.)
2. Quel serait l'effet sur les aires d'un passage à un taux de split de 1/30 ? Justifier.
3. Pourquoi avoir choisi cette colonne et pas celle de la condition 1 ? Justifier soigneusement. Quelle est la conséquence de ce choix sur le nombre de plateaux théorique du pentane ?justifier
4. A l'aide des résultats du tableau 2 et **en faisant les hypothèses adéquates que l'on justifiera**, estimer la pureté du pentane utilisé.
5. On réalise une injection de 1 $\mu$ L d'un mélange comportant les espèces du tableau 3 dans des proportions connues, les aires obtenues sont également reportées dans le tableau 3.

| Pic | Produit            | Fraction massique | Aire   |
|-----|--------------------|-------------------|--------|
| 1   | 2-méthylbutane     | 5%                | 6820   |
| 2   | pentane            | 85%               | 115769 |
| 3   | 2,3-diméthylbutane | 5%                | 6765   |
| 4   | 2-méthylpentane    | 5%                | 6844   |

Tableau 3.

En utilisant la méthode de normalisation interne, déterminer la pureté en pentane (solvant).

## 2. Dosage des hydrocarbures dans l'eau.

### A. Etalonnage

1. Donner l'ordre de sortie des produits du tableau 1 dans les conditions chromatographiques de la méthode 1.
2. Justifier que la température d'ébullition du 3-ethylhexane soit plus faible que l'octane.
3. Pourquoi n'est-il pas judicieux d'utiliser une colonne du type polyéthylène glycol pour ces composés ? comment les temps de rétention seraient-ils modifiés?
4. Justifier l'utilisation du mode splitless dans ce cas et donner brièvement son principe.
5. Quelle serait la conséquence d'une augmentation de la température initiale du four sur les temps de rétention? Justifier.

6. On réalise un étalonnage externe en injectant 1 $\mu$ L d'un étalon d'alcane dans le pentane selon la méthode chromatographique, on obtient les résultats reportés dans le tableau 4 suivant :

| Produit       | Concentration  | Aire   |
|---------------|----------------|--------|
| pentane       | solvant        | 148254 |
| hexane        | 100 $\mu$ g/mL | 851    |
| Heptane       | 100 $\mu$ g/mL | 846    |
| 3-ethylhexane | 100 $\mu$ g/mL | 845    |
| octane        | 100 $\mu$ g/mL | 862    |
| decane        | 100 $\mu$ g/mL | 843    |

**Tableau 4**

Calculer les facteurs de réponse absolus de l'hexane, l'octane et le decane. Conclusion.

### B. Validation du dosage des hydrocarbures dans l'eau.

On utilise une solution aqueuse certifiée en hydrocarbures ayant les concentrations reportées dans le tableau 5. On traite l'échantillon (1L) selon la procédure décrite plus haut (voir procédure de dosage). On obtient les résultats ci-dessous (tableau 5).

| Produit       | Concentration | Aire |
|---------------|---------------|------|
| hexane        | 50 $\mu$ g/L  | 256  |
| Heptane       | 50 $\mu$ g/L  | 312  |
| 3-ethylhexane | 50 $\mu$ g/L  | 356  |
| octane        | 50 $\mu$ g/L  | 389  |
| decane        | 50 $\mu$ g/L  | 415  |

**Tableau 5.**

1. Comment est effectuée l'extraction des alcanes de l'eau ? Quel est selon vous le rôle du passage sur une colonne de silice et dans quel ordre de polarité sortent les produits sur cette colonne ?
2. A l'aide des aires des pics, calculer la teneur en hexane, octane et décane dans la solution finale de pentane puis dans la solution aqueuse initiale.
3. Déterminer la justesse (biais relatif) pour l'hexane, l'octane et le décane. Justifier au vue du protocole obtenu les différences de justesse entre ces composés.

## II. Dosage d'acides organiques dans le sol

D'après Jianhua Ding, Xingxiang Wang and Taolin Zhang, Qingman Li 2006 "Optimization of RP-HPLC Analysis of Low Molecular Weight Organic Acids in Soil" Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 29: 99–112.

Suite à un accident industriel, ayant provoqué un déversement d'acides dans le sol, il est nécessaire d'établir une cartographie de la pollution. Une méthode de dosage et d'extraction est mise au point.

| Composé           | Formule semi-développée                              | pKa  |
|-------------------|--|------|
| Acide acétique    | CH <sub>3</sub> COOH                                 | 4.76 |
| Acide méthanoïque | HCOOH  | 3.75 |
| Acide butanoïque  | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH | 4.82 |
| Acide propanoïque | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH                 | 4.87 |

**Tableau 6**

On étudie la séparation des composés présentés ci-dessus par HPLC.

On injecte une solution contenant les quatre acides en HPLC sur une colonne Atlantis C18 (Waters) de longueur 150 mm, de diamètre 4.6 mm et de taille de particules 5 $\mu$ m ( de temps mort 1.5 min).

**Expérience 1 :**

Phase mobile : 100% eau pH=2.7

Température 30°C

Débit : 0.8 ml/min

| Temps de rétention (min) | Pic |
|--------------------------|-----|
| 4.74                     | 1   |
| 8.21                     | 2   |
| 22.53                    | 3   |
| 35.12                    | 4   |

**Expérience 2 :**

Phase mobile : 95% eau/ 5% MeOH pH=2.7

Température 30°C

Débit : 0.8 ml/min

| Temps de rétention (min) | Pic |
|--------------------------|-----|
| 4.66                     | 1   |
| 6.99                     | 2   |
| 15.97                    | 3   |
| 25.76                    | 4   |

**Expérience 3 :**

Phase mobile : 95% eau /5% ACN pH=2.7

Température 30°C

Débit : 0.8 ml/min

| Temps de rétention (min) | W <sub>1/2</sub> (min) | Pic |
|--------------------------|------------------------|-----|
| 4.56                     | 0.15                   | 1   |
| 6.02                     | 0.21                   | 2   |
| 13.21                    | 0.42                   | 3   |
| 22.53                    | 0.68                   | 4   |

**Expérience 4 :**

Phase mobile : 95% eau /5% ACN pH=7.0

Température 30°C

Débit : 0.8 ml/min

| Temps de rétention (min) | Pic |
|--------------------------|-----|
| 1.52                     | 1   |
| 1.53                     | 2   |
| 1.57                     | 3   |
| 1.61                     | 4   |

1. A l'aide de la structure des produits, identifier les produits 1, 2, 3 et 4 dans l'expérience 1.
2. Expliquer l'évolution des temps de rétention entre les expériences 1 et 2.
3. Expliquer l'évolution des temps de rétention entre les expériences 2 et 3.
4. Expliquer l'évolution des temps de rétention entre les expériences 3 et 4.
5. Pour l'expérience 3, calculer le nombre de plateaux théoriques, le facteur de capacité k' pour les pic 1 et 2, Calculer également la résolution et la sélectivité entre ces deux pics. Conclusion ?
6. Que se passerait-il si on passait à une colonne de 50 mm de long ? la séparation serait-elle toujours satisfaisante pour les pics 1 et 2 ? Qu'en serait-il de la pression en tête de colonne ? justifier.
7. Quel détecteur est le plus approprié pour l'analyse de ces produits et pourquoi?