

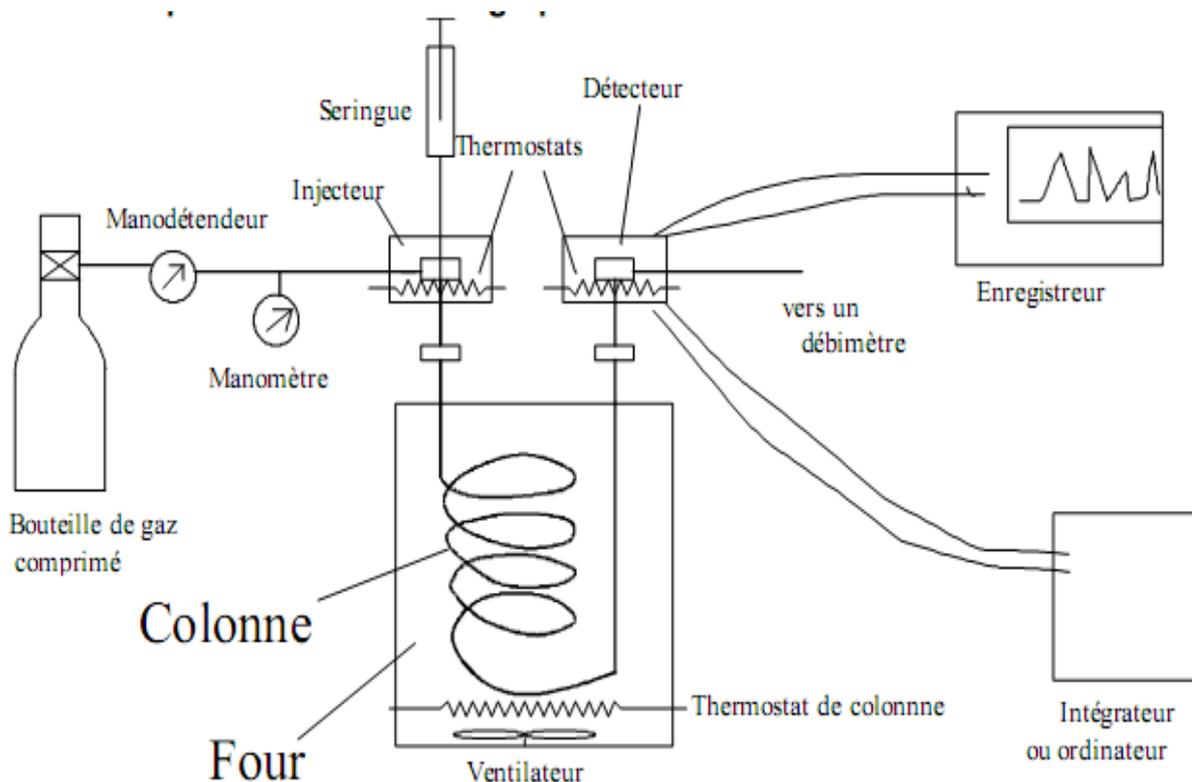
Chromatographie en phase gazeuse (CPG)



VI. Chromatographie en phase gazeuse (CPG):

Le principe de la séparation par C.P.G. consiste à partager l'échantillon à analyser entre deux phases. L'une de ces phases est un liquide stationnaire uniformément réparti sous forme d'une pellicule mince sur un solide inerte de grande surface spécifique, tandis que l'autre phase est un gaz mobile qui s'écoule à travers l'ensemble stationnaire.

+ VI.1. Description d'un chromatographe.



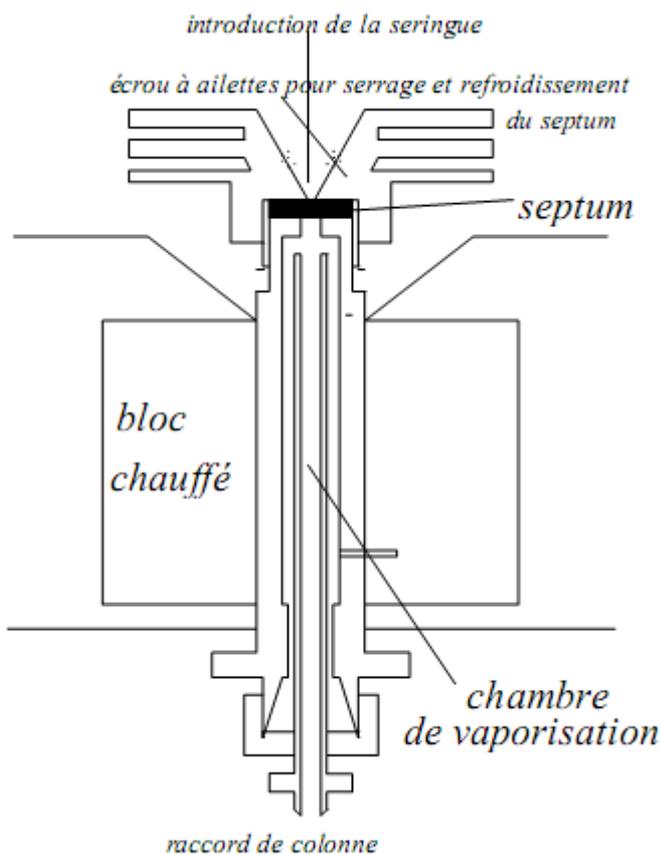
Un chromatographe est constitué en première approximation de trois organes essentiels :

- l'injecteur
- le détecteur
- la colonne

+ Injecteur:

Il permet d'introduire un liquide qui doit être vaporisé instantanément avant d'être transféré dans la colonne. Sa température doit être supérieure d'environ 20°C à la température du produit le moins volatil.

La figure suivante le représente: le gaz porteur, de préférence préchauffé, entre dans une chambre chauffée, obturée par une pastille d'élastomère, le septum, qui assure l'étanchéité. A l'aide d'une seringue hypodermique de petite capacité, on pique au travers du septum, afin que l'extrémité de l'aiguille arrive au-dessous du niveau de l'arrivée du gaz porteur, puis on pousse le piston pour réaliser l'injection.



Il faut que la chambre d'injection ait un volume aussi petit que possible, pour limiter les volumes morts du chromatographe.

D'autre part, si on observe des baisses de pression dans le circuit gazeux, cela indique souvent qu'il faut changer le septum, usé par les multiples injections.

Il ne faut pas oublier de nettoyer la seringue d'injection avec un solvant volatil après chaque injection, puis de la sécher convenablement.

1. L'injection à chaud avec vaporisation directe dans le corps de l'injecteur (figure 2.2).

Ce type d'injection présente l'inconvénient de favoriser la décomposition des substances fragiles car la température de l'injecteur est passablement plus élevée que celle de la colonne. Surtout utilisées avec les colonnes remplies.

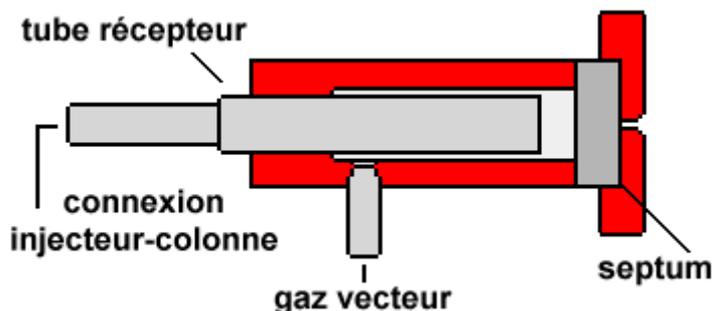


Figure 2.2. Injecteur avec vaporisation directe à chaud. Remarquez la simplicité de cet accessoire.

2. L'injection à chaud "dans la colonne" avec vaporisation directe évite la décomposition des substances sensibles au niveau de l'injecteur mais présente deux inconvénients:

- l'obstruction de la seringue parce qu'elle risque de piquer dans la phase stationnaire;
- la perte de phase stationnaire dans la section de colonne qui se trouve dans l'injecteur.

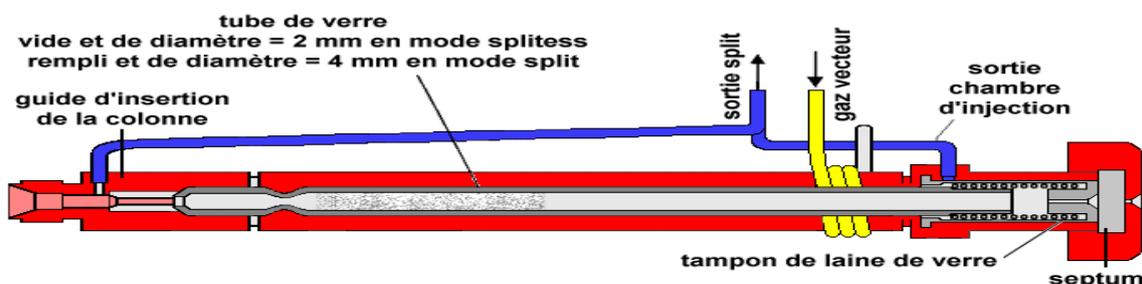
3. Injecteurs split/splitless

Les injections sur colonnes capillaires ou mégabores doivent obéir à trois critères importants:

- garantir la composition du mélange (fiabilité);
- ménager la colonne;
- maintenir la reproductibilité des injections (précision).

Ce type d'injecteur ne laisse entrer dans la colonne qu'une petite partie du volume injecté. Cette fraction est ajustable et peut atteindre 1/200. Il est aussi équipé d'une purge de septum qui joue deux rôles :

- celui de compenser l'augmentation de volume lors de l'évaporation de l'échantillon;
- celui de laisser sor



tir le surplus de gaz provenant de l'injection précédente.

Figure 2.3. Injecteur split/splitless du modèle 8310 de la compagnie Perkin-Elmer.

4. L'injection à froid suivie d'une brusque montée de la température est utilisée lors de la séparation de substances très fragiles.

Cette technique permet la condensation à l'entrée de la colonne de produits qui ne supportent pas les hautes températures des injecteurs conventionnels. Une fois l'injection faite, la température de l'injecteur est très rapidement élevée de façon à ne chauffer les substances injectées que sur un temps beaucoup plus court que celui passé dans un injecteur à chaud.

Détecteur:

Il permet de mettre en évidence le passage des différents gaz séparés par la colonne. La détection peut être basée sur des techniques de mesures différentes. Le détecteur le plus utilisé en CPG est celui à conductibilité thermique appelé catharomètre. (Cas de notre chromatographe) Sa température est généralement la même que celle de l'injecteur.

1. Détecteur à conductibilité thermique - catharomètre

Principe :

Une résistance sensible à la température - tungstène, platine ou thermistance - est placée dans un flux gazeux. Un équilibre thermique est atteint quand le refroidissement de cette résistance provoqué par le passage du gaz vecteur compense son réchauffement au moyen d'un courant électrique. Cet équilibre est modifié par l'arrivée d'un soluté entraîné par le gaz vecteur (à condition que la conductibilité du soluté soit différente de celle du gaz vecteur) car la capacité de refroidissement du mélange, différente de celle du gaz vecteur seul, entraîne une variation de la résistance. Cette résistance est un élément d'un pont de Wheatstone (figure 2.13) opposé à une autre résistance où ne circule que le gaz vecteur. Le déséquilibre de ce pont génère un signal qui indique la présence d'un soluté.

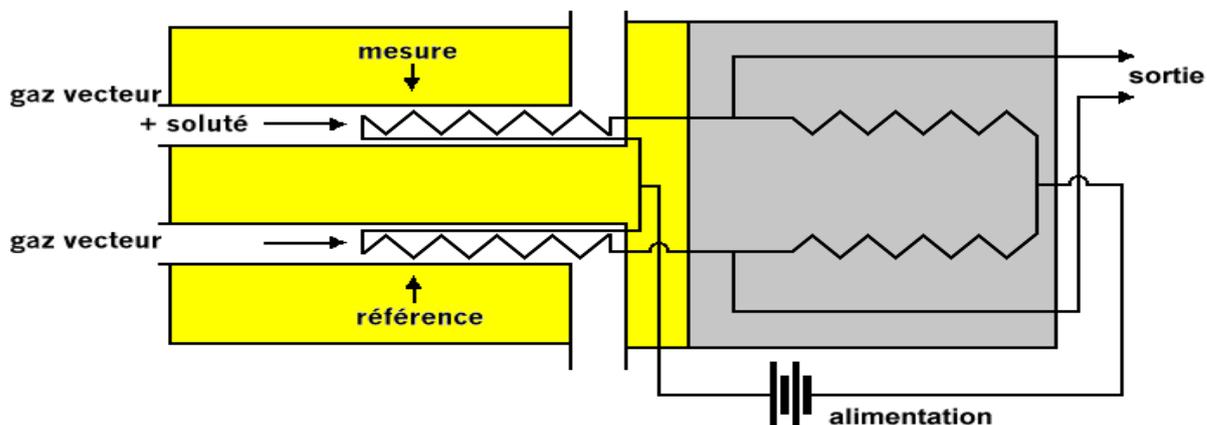


Figure 2.13. Détecteur à conductibilité thermique.

Sur l'appareil à chromatographie en phase gazeuse de marque Hewlett-Packard, le détecteur à conductibilité thermique n'utilise pas un pont de Wheatstone conventionnel. Il n'y a qu'une résistance qui sert de référence et de mesure à tour de rôle.

En voici le schéma:

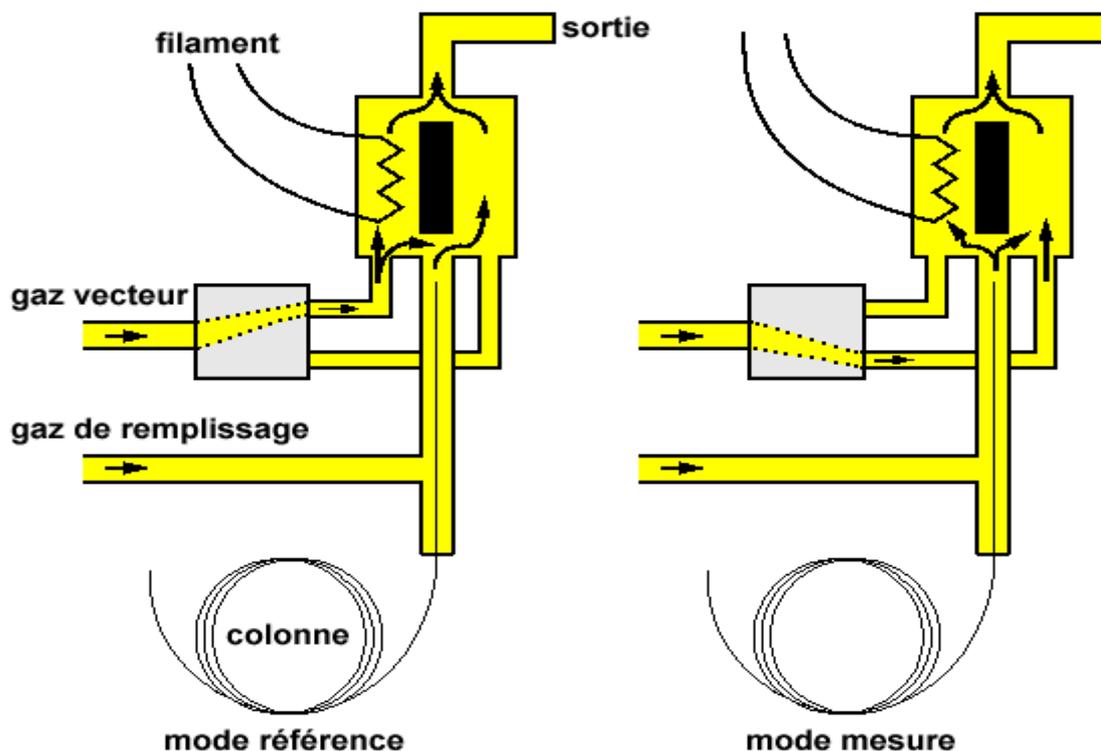


Figure 2.14. Sur le schéma de gauche, le gaz vecteur est dirigé sur la filante. À la sortie de colonne, le gaz vecteur contenant le soluté est envoyé directement vers la sortie. Sur celui le schéma de droite, le gaz vecteur est envoyé vers la sortie et le gaz vecteur contenant le soluté est dirigé vers la filante.

Caractéristiques:

- moyennement sensible;
- non destructif;
- économique et d'entretien facile;
- sensible aux changements de température et de débit.

Un des inconvénients de ce détecteur réside dans le fait que la conductibilité thermique d'un mélange soluté-gaz vecteur n'est pas une fonction linéaire de la concentration. Mais le fait de travailler dans un domaine de très grande dilution et celui d'utiliser un gaz de très grande conductibilité thermique (tableau 2.6) comme He ou H₂ permettent de surmonter cette difficulté.

Tableau 2.3

Conductibilité thermique par rapport à l'azote	à 100oC
Hydrogène	6,95
Hélium	5,54
Méthane	1,72
Azote	1,00
Argon	0,71

2. Détecteur à ionisation de flamme

Principe :

Des ions sont formés par la flamme provenant de la combustion de l'hydrogène dans l'air. Si une substance carbonée (organique) est présente dans cette flamme, le nombre d'ions formés augmente considérablement. La buse du brûleur étant une des bornes d'un circuit et une électrode collectrice l'autre, les ions produits captés par cette dernière permettent le passage du courant et indique par le fait même la présence d'un soluté.

La réponse du détecteur FID est proportionnelle à la masse du soluté qui passe dans le brûleur. Sa linéarité dépendrait plus de la géométrie du système et que de la quantité injectée.

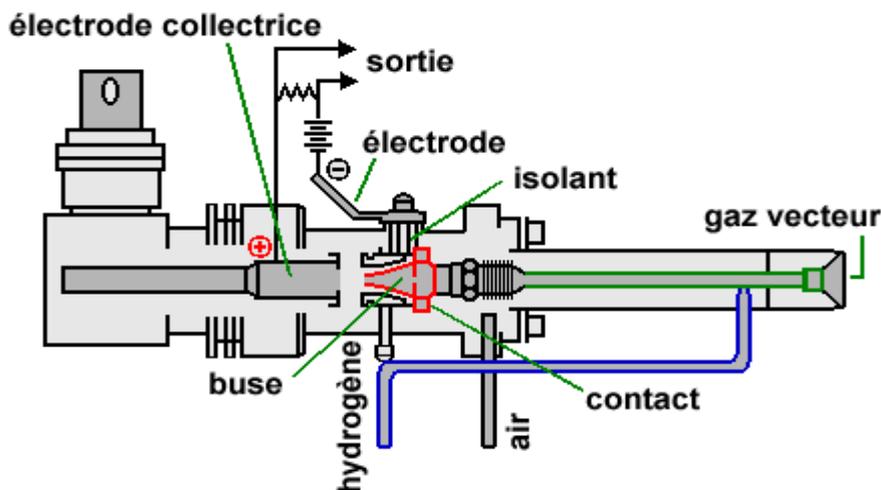


Figure 2.15. Détecteur à ionisation de flamme du modèle 8310 de la

compagnie Perkin-Elmer.

Caractéristiques:

- très sensible;
- montre une réponse linéaire en fonction de la masse de soluté;
- sensible aux changements de température et de débit;
- non sélectif - universel;
- destructif - les substances sont brûlées.

Les détecteurs décrits précédemment, bien qu'économiques et universels, ne donnent aucun renseignement sur la nature des substances détectées ; le temps de rétention n'étant pas une caractéristique spécifique d'un composé.

Avec l'avènement de l'électronique moderne, il est possible maintenant de coupler des spectromètres aux chromatographes en phase gazeuse.

3. Détection par spectroscopie infrarouge

Cette détection peut se faire de deux façons. La première consiste en la condensation à froid de l'éluant gazeux sur du KBr et l'enregistrement des spectres des différents échantillons. Cette méthode, mieux adaptée aux appareils dispersifs ne permet pas d'obtenir le chromatogramme en temps réel.

L'arrivée sur le marché des spectromètres à transformée de Fourier a permis de prendre les spectres des solutés pendant le temps de sortie des pics en faisant passer l'échantillon à travers un tube chauffé dans le faisceau infrarouge.

4. Détection par spectrométrie de masse

Le couplage du chromatographe et du spectromètre de masse est simplifié du fait de la nature de la phase mobile qui est gazeuse. Le problème réside dans les différences de pression qui existent entre les deux appareils ; le chromatographe fonctionnant à pression atmosphérique et le spectromètre de masse sous un vide très poussé. Pour maintenir ce vide dans les cas où le débit est relativement grand et pour éviter que le vide se fasse dans la colonne, on intercale un séparateur à jet moléculaire (figure 2.16).

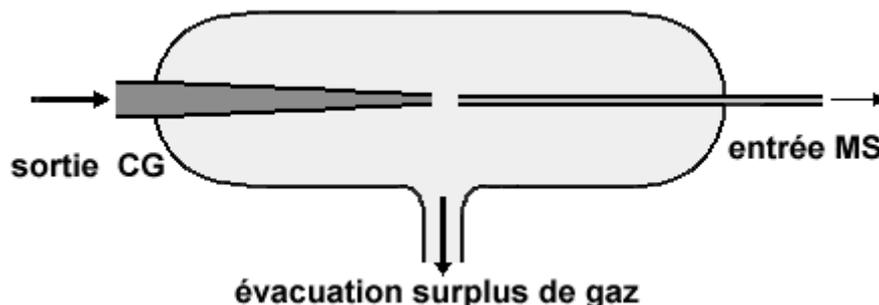


Figure 2.16. Couplage entre le chromatographe en phase gazeuse et le spectromètre de masse par un séparateur à jet moléculaire chauffé pour éviter la condensation des substances éluées.

5-Détecteur à capture d'électrons.

Une source telle que le tritium (^3H) ou le (^{63}Ni) Ni envoie des électrons libres dans le détecteur. Quand ce détecteur est traversé par des substances ayant une affinité pour les électrons libres, il se produit des ions qui, comme pour le détecteur à ionisation de flamme, dans le champ électrostatique existant, sont recueillis par une électrode et forment un courant d'ionisation à amplifier convenablement.

➤ **Performances des détecteurs**

<i>Catharomètre</i>	<i>Détecteur à ionisation de flamme</i>	<i>Détecteur à capture d'électrons</i>
1 à 10 ng <i>(tous composés)</i>	20 à 100 pg <i>(composés organiques)</i>	0,1 pg <i>(composés halogénés)</i>

Colonne:

C'est l'organe principal. Elle est constituée d'un tube généralement métallique de diamètre intérieur de l'ordre du millimètre. Ce tube contient la phase stationnaire constituée par un liquide adsorbant fixé sur un solide inerte (ex : brique pilée, alumine etc. Soigneusement calibrée)

On distingue les colonnes à remplissage proprement dit, constituées d'une tubulure en verre, acier ou autre métal (les plus fréquentes sont en acier inoxydables), dont les

dimensions varient de 2 à 6 mm pour le diamètre intérieur et de 1 à 10 m pour la longueur. Le support remplissant la colonne est constitué de grains dont les dimensions varient de 60 à 70 μm ; ils sont à base soit de matériau réfractaire soit de silice. La phase stationnaire est un liquide peu volatil, formant environ 10% de la masse du support non imprégné.

Par ailleurs, on utilise des colonnes capillaires, formées d'un tube de métal, de verre, de silice fondue ou de quartz, dont le diamètre intérieur est de l'ordre de 0,2 à 0,5 mm et la longueur de 50 à 100 m, ou davantage. L'adsorbant y est fixé sous forme d'une fine couche collée à la paroi du tube, ou bien la phase stationnaire est fixée en film mince, sans support, sur cette même paroi. Dans tous les cas, ces colonnes comportent un canal central largement ouvert, offrant peu de pertes de charge à la progression du gaz porteur.

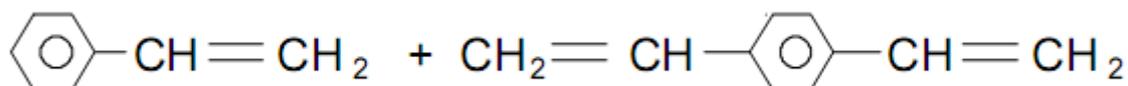
La réussite d'une bonne séparation chromatographique dépend dans une large mesure du choix de la phase stationnaire.

On distingue les phases apolaires et les phases polaires. Les premières sont à base d'hydrocarbures aliphatiques saturés ou de silicones (squalane, apiezon,...). Les secondes sont des polymères possédant des fonctions polaires: polyols, polyesters, polyamides.

En général, les phases polaires retiennent plus les composés polaires, alors que ceux-ci sortent plus rapidement des colonnes apolaires que les composés du même nom.

Les adsorbants les plus classiques sont les adsorbants minéraux, tels le charbon actif, l'alumine, les tamis moléculaires. Ils sont pratiquement indispensables pour l'analyse des gaz, car ceux-ci sont peu solubles dans les phases stationnaires, et donc mal séparés par elles. Cependant, la désorption de ces gaz sur les adsorbants est lente, ce qui provoque généralement des traînées des pics.

On utilise aussi des adsorbants organiques à haut poids moléculaire. Ce sont des copolymères (du type styrène di vinylbenzène). Ils ont l'avantage de permettre toutes sortes d'analyses



Performances des colonnes.

Une colonne à remplissage bien préparée peut atteindre une efficacité de l'ordre de 1 500 plateaux théoriques par mètre, soit HEPT = 0,66 mm (Voir cette notion dans l'annexe

D). Les colonnes capillaires atteignent facilement 2 000 à 10 000 plateaux théoriques par mètre, soit HEPT compris entre 0,5 et 0,1 mm.

On ne doit jamais effectuer d'analyse CPG sans avoir stabilisé l'ensemble de l'appareil en débit de gaz vecteur et en température pendant au moins deux heures.

En dehors des périodes d'utilisation, les colonnes doivent être bouchées pour éviter l'humidité pouvant se solubiliser dans la phase stationnaire, ainsi que l'oxydation de celle-ci.

La température de la colonne est en général inférieure de 20°C à celle du point d'ébullition du soluté le plus volatil. Plus la température de colonne est basse, meilleure est la séparation, mais cela risque d'allonger le temps d'analyse.

Le choix de la phase stationnaire conditionne la bonne séparation des constituants. Il faudra la choisir polaire ou apolaire en fonction de la nature des substances à séparer.

Le gaz employé (phase mobile) est un gaz inerte (hélium ou azote). Le gaz utilisé par notre installation est l'hélium. Ce gaz vecteur ou gaz porteur pousse les constituants à travers la colonne. En chaque point de cette dernière, il se produit un équilibre entre la fraction du constituant en phase stationnaire et en phase mobile. Il s'agit de chromatographie de partage.

L'ensemble des organes décrits ci-dessus est placé dans des enceintes thermo statées à des températures programmées selon la disposition des organes et la nature de l'échantillon à analyser.

Il existe deux types de colonnes avec des variantes (figure 2.4 et 2.5):

- colonnes remplies ou à garnissage (packed);
- colonnes capillaires (open tubular).

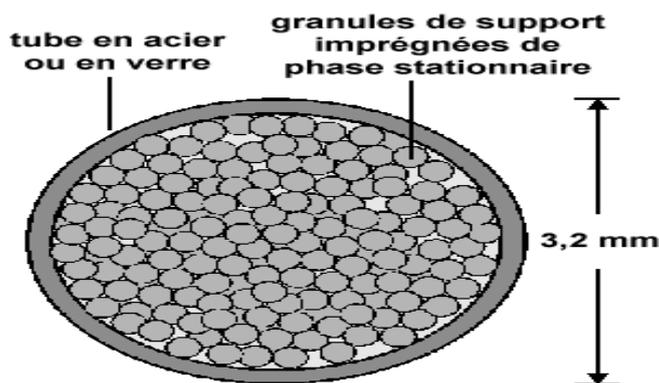


Figure 2.4. Colonne remplie

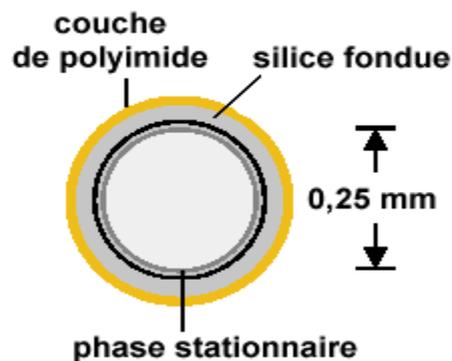


Figure 2.5. Colonne capillaire.

Les représentations ne sont pas à l'échelle entre colonnes remplie et capillaire.

Caractéristiques des colonnes remplies ou à garnissage (packed)

- diamètre interne : 1/8" (3,2 mm) ou 1/4" (6,4 mm)
- longueur : 0,5 à 3 mètres
- tube : acier inoxydable - assez inerte et bon conducteur de chaleur
- verre - inerte mais mauvais conducteur de chaleur

1. Garnissage pour chromatographie gaz-solide

granulé polymérique de gel de silice traitée à très haute température ou par un procédé hydrothermique par lequel il est possible d'obtenir des pores de dimensions voulues. La surface de ce matériel poreux peut atteindre 500 m²/g.

polymère organique du type éthylvinylbenzène-divinylbenzène qui possèdent des pores dont le diamètre varie de 0,0075 à 0,8 mm.

2. Garnissage pour chromatographie gaz-liquide

support solide de poreux et inerte imprégné d'un liquide non volatil appelé phase stationnaire qui peut être de nature diverse (voir plus loin).

Nature du support - surtout gel de silice

- provenant de terre de diatomées
- peut être actif s'il possède beaucoup de groupements -Si-OH libres
- peut être désactivé par réaction avec le dichlorodiméthylsilane ou le diméthylsilazane.

- lavé à l'acide (acid washed) pour enlever les oxydes métalliques, en particulier les oxydes de fer
- lavé par une base pour permettre la chromatographie de substances basiques.

L'efficacité des colonnes remplies (figure) est limitée 2,6 par:

- la dispersion des molécules du soluté dans les diverses trajectoires à travers les grains;
- la différence de rétention provenant de la non uniformité de la répartition de la couche stationnaire sur les grains.

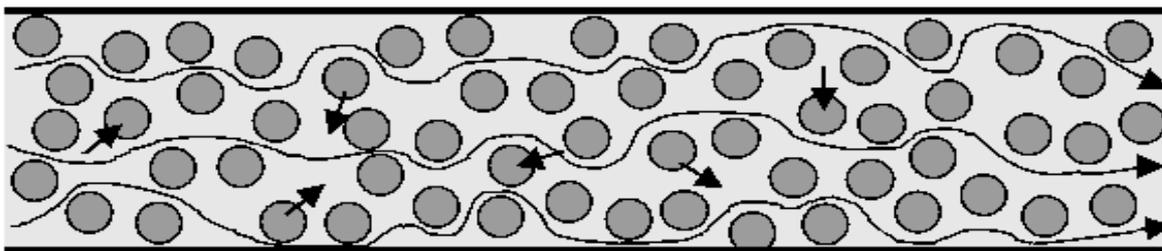


Figure 2.6.

3. Caractéristiques des colonnes capillaires

- diamètre interne : voir le tableau 2.1
- longueur : 15 à 100 mètres
- tube : silice fondue recouvert d'une mince couche de poly imide

L'efficacité des colonnes capillaires (figure 2.7) ne dépend que de la vitesse de passage dans la phase stationnaire.

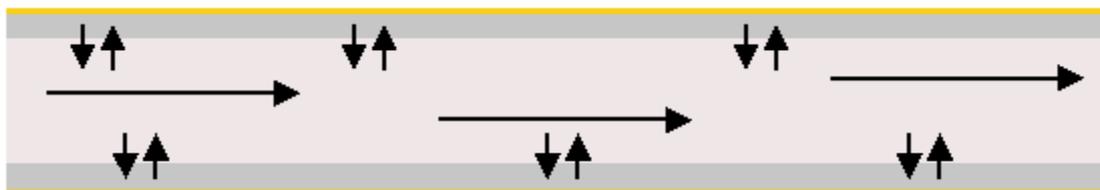


Figure 2.7.

Tableau 2.1

Quelques caractéristiques des colonnes remplies et colonnes capillaires			
diamètre interne (mm)	capacité (ng)	plateaux théoriques par mètre	débit optimal (mL/minute)
0,20	5-30	5000	0,40
0,25	50-100	4170	0,70
0,32	400-500	3330	1,40
0,53	1000-2000	1670	2,50
0,75	10000-15000	1170	5,00
2,00b	20000-	2000	20,00
a capacité en fonction de l'épaisseur de la couche de la phase stationnaire b colonne remplie			

4. Choix des phases stationnaires

Ce choix se fait en fonction de la nature des substances à séparer.

Tableau 2.2

Molécules	Exemples	Phases stationnaires
non-polaires liaisons C-H et C-C	hydrocarbures normaux (n-alcanes)	SPB-octyl
		poly(méthylsiloxane), SE-30
		SPB-5, PTE-5, SE-54
polaires liaisons C-H et C-C liaisons C-Cl, -Br, -F liaisons C-N, -O, -P, -S	alcools, éthers, thiols, amines, acides carboxyliques, esters et cétones	poly(méthylphénylsiloxane)
		poly(cyanopropylméthylsiloxane)
		PEG, Carbowax 10, 20M
polarisables	alcènes aromatiques	poly(cyanopropylsiloxane)

liaisons C-H et C=C et acétyléniques		poly(cyanopropylphénylsiloxane)
		TCEP

✚ VI.2. Analyse qualitative en CPG:

✓ Généralités:

Si on injecte un mélange de plusieurs liquides dans la colonne par l'intermédiaire de l'injecteur, ces liquides sont transformés en gaz, lesquels sont entraînés dans la colonne par le gaz vecteur. La phase stationnaire selon sa constitution, va plus ou moins retenir sélectivement chacun des produits. Les vitesses de progression seront différentes pour chaque constituant. Nous arriverons ainsi à éluer le mélange, c'est à dire à séparer dans l'espace et dans le temps les différents composants du mélange.

On appelle coefficient de partage K pour un constituant X :

$$K = \frac{\text{Masse de constituant X par unité de volume de phase stationnaire}}{\text{Masse de constituant X par unité de volume de phase mobile}}$$

Ce coefficient de partage est un des paramètres qui conditionne la durée de parcours de la colonne par le constituant.

Si les autres paramètres (température, débit gazeux) sont constants, alors pour un mélange à analyser, la durée de parcours sera différente pour chaque constituant si leurs coefficients de partage sont différents.

✓ Cette durée est appelée temps de rétention.

Moyennant un étalonnage préalable avec des produits purs, la CPG permet donc l'analyse qualitative des constituants d'un mélange.

✓ Allure du chromatogramme

Un chromatogramme correct est composé de pics de forme symétrique, pas trop larges et bien séparés.

C'est en jouant sur les conditions opératoires que l'on arrive à un tel chromatogramme.

A. Les facteurs favorables à une bonne séparation sont :

- des temps de rétention suffisamment différents (choix de la colonne)
- des pics peu élargis.

B. Différence entre temps de rétention.

Le principal paramètre est la différence entre les coefficients de partage de chaque constituant. Ce dernier dépend beaucoup de la température et de la longueur de la colonne.

Une diminution de la température du four entraîne une augmentation du temps de rétention.

Une augmentation de la longueur de la colonne augmente les temps de rétention mais s'accompagne souvent d'un élargissement des pics.

C. Largeur des pics

L'obtention de pics larges est due au fait que les multiples équilibres de répartition des constituants entre les deux phases (liquide et gazeuse) durant leur séjour dans la colonne, au lieu de s'établir sur une longueur extrêmement faible de la colonne s'établissent en fait sur une longueur non négligeable que l'on appelle plateau théorique.

 **VI.3. Analyse quantitative en C.P.G:**

Une fois identifié(s) le (ou les) soluté(s) intéressant(s), le chromatogramme permet aussi une analyse quantitative grâce à la relation :

$$m_i = K_i A_i$$

m_i : masse du soluté i injecté
 A_i : aire du pic représentant ce soluté
 K_i : coefficient de proportionnalité

Il est donc nécessaire de déterminer pour chaque soluté la valeur de K_i qui dépend en outre du débit gazeux, de la température du détecteur ainsi que de l'intensité du courant qui le traverse.

a) Mesure de l'aire des pics.

On utilise essentiellement la triangulation manuelle et l'intégration automatique. (c'est cette dernière méthode qui sera utilisée ici.) Quand les pics sont très pointus et très étroits, on peut se contenter des mesures des hauteurs H , alors proportionnelles aux aires.

b) Détermination du coefficient de proportionnalité.

Il est impossible avec les chromatographes courants de calculer le coefficient de proportionnalité par mesure directe de l'aire du pic enregistré quand on introduit une masse exacte, connue, d'un soluté d'un injecteur. Les seringues d'injection ne permettent pas de repérer le volume d'échantillon avec une précision suffisante. On aura donc recours à des méthodes d'étalonnage, qui, comme en analyse qualitative, feront de la chromatographie quantitative un procédé relatif vis-à-vis de substances connues. Voici les principales méthodes utilisées.

c) Normalisation interne.

On considère ici, en première approximation, que tous les K_i sont égaux (principalement dans les séries homologues telles qu'alcanes, alcools, etc...). On obtient alors les pourcentages en masse de chaque soluté de la manière suivante:

$$Y_i\% = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100$$

d) Méthode des ajouts dosés.

Le principe est le suivant: on prend d'abord le chromatogramme du mélange de solutés à étudier. Admettons que l'on cherche à déterminer le pourcentage en masse du composé n° 2. On va obtenir l'aire du pic correspondant A_2 , et l'on détermine également celle d'un pic voisin, par exemple A_3 . On pèse ensuite exactement une masse M de ce mélange voisine de 1g par exemple. Puis on y rajoute une masse m_0 du composé n°2, connue exactement, voisine de 300 mg environ. Le chromatogramme du nouveau mélange donne deux aires A_2' et A_3' .

Démontrons maintenant le résultat suivant:

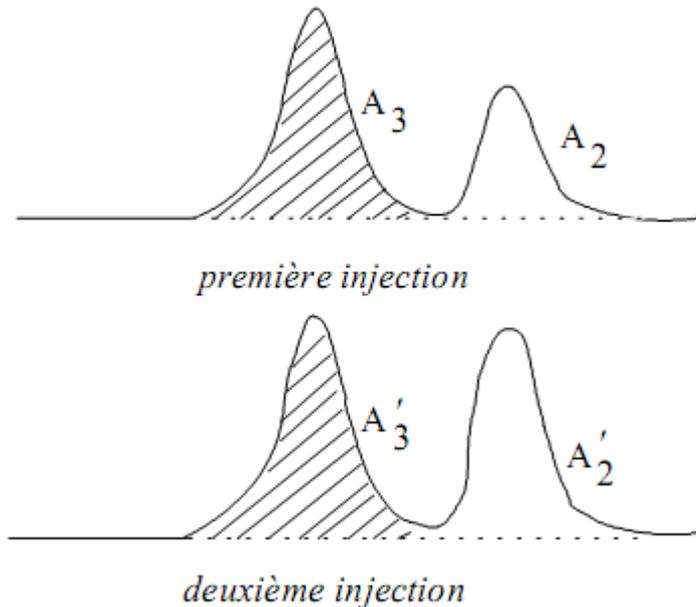
$$\% \text{ en masse} = \frac{m_0 \times 100}{M \left(\frac{A_2 \times A_3}{A_2 \times A_3} - 1 \right)}$$

Soit M_0 la masse initiale de mélange, et m_{0i} les masses des divers constituants de ce mélange. On en pèse exactement une fraction M qui contient les masses m_i des constituants. Grâce à la seringue chromatographique, on injecte dans la colonne une masse μ contenant les masses μ_i des constituants. Nous allons nous intéresser aux constituants n°2 et n°3. Comme les rapports des masses des constituants d'un mélange se conservent dans toute fraction de ce mélange, il vient:

$$\frac{m_{02}}{M_0} = \frac{m_2}{M} = \frac{\mu_2}{\mu} \quad \text{et} \quad \frac{m_{03}}{M_0} = \frac{m_3}{M} = \frac{\mu_3}{\mu} \quad (1)$$

A la masse M pré pesée, on rajoute alors une masse m_0 pesée précisément de composé n°2. En appelant μ' la masse injectée et μ'_i les masses des constituants de μ' , il

$$\frac{m_3}{M+m_0} = \frac{\mu_3}{\mu} \quad \text{et} \quad \frac{m_2+m_0}{M+m_0} = \frac{\mu_2}{\mu} \quad (2)$$



En admettant que tout ce qui a été injecté sort de la colonne, on a :

$$\mu_2 = K_2 \cdot A_2 \quad , \quad \mu'_2 = K_2 \cdot A'_2 \quad , \quad \mu_3 = K_3 \cdot A_3 \quad , \quad \mu'_3 = K_3 \cdot A'_3$$

D'où nous éliminons les constantes de proportionnalité:

$$\Rightarrow \frac{\mu_2}{\mu_2} = \frac{A_2}{A_2} \quad \text{et} \quad \frac{\mu_3}{\mu_3} = \frac{A_3}{A_3}$$

Le rapport de ces égalités donne:

$$\frac{\mu_2}{\mu_2} \times \frac{\mu_3}{\mu_3} = \frac{A_2}{A_2} \times \frac{A_3}{A_3} \quad (3)$$

(1) et (2) nous donnent d'autre part:

$$\frac{\mu_3}{\mu_2} = \frac{m_3}{m_2 + m_0} \quad \text{et} \quad \frac{\mu_2}{\mu_3} = \frac{m_2}{m_3}$$

En combinant (3) et (4), nous obtenons une relation où seul m_2 est inconnu:

$$\frac{m_2}{m_3} \times \frac{m_3}{m_2 + m_0} = \frac{A_2}{A_2} \times \frac{A_3}{A_3} = \frac{m_2}{m_2 + m_0}$$

$$\Leftrightarrow m_2 = \frac{m_0}{\left(\frac{A_2 \times A_3}{A_2 \times A_3} - 1 \right)}$$

Le pourcentage en masse de 2 dans le mélange est donc:

$$\% \text{age en masse} = \frac{m_0 \times 100}{M \times \left(\frac{A_2 \times A_3}{A_2 \times A_3} - 1 \right)}$$

La méthode demande une bonne linéarité de la réponse du détecteur chromatographique, ce qui n'est pas toujours le cas. Nous supposons cependant que le détecteur utilisé en TP, le catharomètre, présente cette qualité.

Étalonnage interne

Dans cette méthode, on compare individuellement chacun des pics à évaluer au pic d'une substance étalon E , convenablement choisie, introduite en proportion connue dans le

mélange à analyser. il convient évidemment que le pic étalon ne soit confondu avec aucun des pics du chromatogramme.

On peut écrire:

$$m_e = K_e A_e \quad \text{soit:} \quad \frac{m_i}{m_e} = \frac{K_i}{K_e} \times \frac{A_i}{A_e} \quad ; \quad \text{On définit alors} \quad K_{i/e} = \frac{K_i}{K_e}$$

On calculera donc la réponse de chaque soluté concerné par rapport à l'étalon. La méthode est générale. Elle est précise et reproductible.

Elle suppose néanmoins le choix d'un étalon qui, outre la nécessité de ne pas chevaucher avec les autres solutés, doit donner un pic de valeur de rétention proche de celle du pic à mesurer, d'aire approximativement égale à celle du pic du soluté, et dont la réponse doit se situer dans la zone de linéarité du détecteur utilisé.