

N°d'ordre : 15/2008-M/CH

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
«HOUARI BOUMEDIENE »

FACULTE DE CHIMIE



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER

EN : **CHIMIE**

Spécialité : **Chimie Organique Appliquée**

Par:

M^{elle} **LARBI HASSINA**

Thème

**CONTRIBUTION A L'ETUDE ANALYTIQUE DE QUELQUES
COMPOSES BENZENIQUES MONOSUBSTITUES
PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE**

Soutenu le 21 / 05 /2008, devant le jury composé de :

| | | |
|---------------------|------------------------------------|--------------------|
| Mr. A.TOUABET | Professeur (U.S.T.H.B.) | Président |
| Mme L. DIDAOU | Maître de conférences (E.N.P.) | Directeur de thèse |
| Mr. S. SEBIH | Professeur (U.S.T.H.B.) | Examineur |
| Mme A. HASSANI | Professeur (E.N.S.) | Examineur |
| Mr. Y. FODIL CHERIF | Maître de conférences (U.S.T.H.B.) | Examineur |

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de la Faculté de Chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene sous la direction de Madame Linda Didaoui-Rabia, Maître de conférences à l'Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach. Je tiens à la remercier très vivement de m'avoir proposé ce sujet, pour son aide précieuse, ses conseils éclairés et ses encouragements qu'elle m'a sans cesse prodigués tout au long de ce travail.

Je remercie Monsieur Monsieur A. Baaliouamer Professeur à l'U.S.T.H.B. et Directeur du Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de m'avoir reçu dans son laboratoire.

Je remercie Monsieur B.Y. Meklati, Directeur du Centre de Recherche d'Analyse Physico-chimique (CRAPC) de m'avoir permis de mener à bien mon travail.

Je remercie respectueusement Monsieur A.Touabet, Professeur à l'U.S.T.H.B. qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie également Madame A. Hassani (Professeur à l'E.N.S. de Kouba) d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie respectueusement Monsieur S. Sebih (Professeur à l'U.S.T.H.B.) d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie vivement Monsieur Y. Fodil-Chérif (Maître de conférences à l'U.S.T.H.B.) d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur le Professeur A.Y. Badjah Hadj Ahmed pour son aide et pour sa disponibilité à chaque instant.

Que tous mes collègues du laboratoire ainsi qu'au personnel du CRAPC trouvent ici l'expression de ma très amicale sympathie pour leur collaboration.

Toute ma gratitude va enfin à mes parents, pour leur soutien tout au long de mes études et durant ce mémoire et à tous ceux et celles qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire :

- *A mes très chers parents que je ne cesserais jamais de remercier et je fais mes louanges à Dieu de me les avoir protégés pour voir le fruit de leurs labeurs.*

- *A mes frères Hocine et Sofiane et mes sœurs Nadia et Karima qui ont été un soutien moral généreux et précieux pendant toutes mes années d'études.*

- *A tous mes vrai(e) s ami(e) s qui ont répondu présents à chaque fois que j'avais besoin d'eux.*

- *Sans oublier une spécial dédicace à mes défunts Grands-parents.*

SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE 3

CHAPITRE I : Généralités sur la chromatographie liquide

| | |
|---|-----------|
| I-1) La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)..... | 9 |
| I-1-A) Grandeurs de rétention..... | 10 |
| I-1-A) Grandeurs de rétention..... | 11 |
| I-2) Méthodes de détermination des indices de rétention..... | 11 |
| I-2-A) Obtention des indices de rétention à partir de la méthode de Kovàts..... | 12 |
| I-2-A) Obtention des indices de rétention à partir de la méthode de Kovàts..... | 13 |
| I-2-B) Obtention des indices de rétention à partir des paramètres de la régression | 14 |
| (t_M, b et c)..... | 15 |
| A) Méthode de Al-Thamir | 16 |
| B) Méthode de Grobler | 16 |
| C) Méthode de Guardino..... | 16 |
| I-3) Conclusion..... | 16 |

CHAPITRE II : Détermination des indices de rétention au moyen de trois méthodes mathématiques (Multiparamétrique, Interpolation Cubique et Kovàts)

| | |
|--|-----------|
| II-1) Introduction..... | 18 |
| II-2) Description de la méthode multiparamétrique..... | 18 |
| A) Critères statistiques | 18 |
| B) Résolution du système | 19 |
| C) Acceptation du modèle | 19 |
| D) Calcul des indices de rétention par la méthode multiparamétrique..... | 20 |
| D) Calcul des indices de rétention par la méthode multiparamétrique..... | 21 |
| II-3) Description de l'interpolation cubique..... | 22 |
| II-4) Illustration pratique des résultats obtenus par trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO)..... | 22 |
| II-5) Comparaison des indices de rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués par trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO)..... | 29 |
| II-5) Comparaison des indices de rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués par trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO)..... | 33 |
| II-6) Conclusion..... | 33 |

CHAPITRE III: Etude de la rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués par les indices de rétention déterminés par la multiparamétrie

| | |
|--|-----------|
| III-1) Introduction | 35 |
| III-2) Résultats et discussion..... | 36 |
| III-2-1) Influence de différents paramètres chromatographiques de séparation sur la variation des indices de rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués..... | 36 |
| III-2-1-A) Influence de la composition et de la nature de la phase mobile..... | 46 |
| III-2-1-B) Effet de la température de la colonne..... | 50 |
| III-2-1-C) Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne..... | |
| III-3) Conclusion..... | |

CHAPITRE IV: Etude de l'influence de la composition de la phase mobile (systèmes à phases mobiles binaires, ternaires et quaternaires) sur la séparation d'un mélange de neuf composés benzéniques monosubstitués

| | |
|---|-----------|
| IV-1) Introduction..... | 52 |
| IV-2) Equations fondamentales permettant de calculer les critères d'appréciation..... | 54 |
| A) La résolution (R_S) | 54 |
| B) Le facteur de séparation (sélectivité α)..... | 56 |
| C) Durée de l'analyse et pression en tête de colonne | 57 |
| IV-3) Résultats et discussion..... | 59 |
| IV-3-1) Influence de la nature de la phase mobile ainsi que sa composition sur la séparation de quelques benzènes monosubstitués | 59 |
| A) Systèmes à phases mobiles binaires: (acétonitrile-eau et méthanol-eau)..... | 68 |
| B) Systèmes à phases mobiles ternaires: (acétonitrile-méthanol-eau)..... | 72 |
| C) Systèmes à phases mobiles quaternaires:(acétonitrile-méthanol-THF-eau)..... | 76 |
| IV-4) Conclusion..... | |

CONCLUSION GÉNÉRALE **77**

BIBLIOGRAPHIE **80**

PARTIE EXPÉRIMENTALE **84**



Introduction Générale

3

6

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est une technique analytique très importante pour la détection et la quantification de divers composés chimiques. L'un des principaux avantages de la CLHP est la possibilité d'obtenir des séries de données (principalement les temps de rétention bruts (t_{Ri})) pour une même série de composés et ceci en faisant varier les conditions expérimentales (notamment la nature de la phase mobile ainsi que sa composition). Cependant se pose le problème de la reproductibilité de ces données de rétention d'un laboratoire à l'autre et de l'exploitation du contenu informationnel de ces matrices de données.

En chromatographie en phase gazeuse (CPG), plusieurs travaux systématiques concernant le développement des systèmes uniformes de présentation des données ont été publiés. L'échelle de rétention, généralement admise et largement utilisée, est celle des indices de Kovàts [1]. Contrairement à la CPG, en CLHP, plusieurs controverses ont été développées dans la littérature concernant la détermination des indices de rétention [2-6]. Malgré les différentes investigations entreprises, la CLHP souffre encore de l'absence d'une procédure largement utilisée pour la détermination des indices de rétention.

Dans ce travail, nous avons entrepris une étude systématique de la rétention en chromatographie liquide à polarité de phases inversées d'une série de composés benzéniques monosubstitués (polluants nocifs) comportant des fonctions différentes (hydroxyle, carbonyle, nitro, halogène,(**Tableau 1**)). La rétention des benzènes monosubstitués a été exprimée à l'aide des indices de rétention déterminés par trois méthodes mathématiques différentes basées sur la rétention des séries homologues :

- La méthode expérimentale de Kovàts [1].
- La méthode statistique de régression Multiparamétrique [7-9].
- La méthode d'Interpolation Cubique [10].

Nous notons que, les deux méthodes (multiparamétrique et l'interpolation cubique) ont été mises au points dans le cadre des activités de recherches de notre laboratoire par A. Touabet [8-10]. La méthode multiparamétrique a été appliquée en CPG et en CLHP pour la détermination des indices de rétention de plusieurs familles congénériques [8-16]. Par contre, la méthode d'interpolation cubique a été appliquée pour la première fois en CLHP pour la détermination des indices de rétention dans le cadre de ce travail.

Pour la détermination des grandeurs de rétention étudiées dans ce travail (facteurs de rétention et indices de rétention), nous avons utilisé deux séries homologues de référence (**Tableau 1**):

- Une série aliphatique des cétones en 2.
- Une série aromatique des alkylphénones.

L'étude a été réalisée en utilisant diverses colonnes chromatographiques (**Tableau 2**):

- Six colonnes Octadécyle C₁₈.
- Une colonne Octyle C₈.

Le mémoire sera divisé en **4 chapitres** :

Dans le **chapitre I** nous présenterons quelques généralités sur la chromatographie liquide ainsi que les méthodes les plus utilisées pour la détermination des indices de rétention en CLHP.

Nous avons entrepris dans le **chapitre II**, la présentation de la méthode multiparamétrique et de l'interpolation cubique pour la détermination des indices de rétention. Une illustration pratique des résultats obtenus dans des conditions chromatographiques différentes a été accomplie. Les indices de rétention d'une série de composés benzéniques monosubstitués déterminés par la multiparamétrique et l'interpolation cubique ont été comparés à ceux obtenus par la méthode expérimentale de Kovàts.

Nous avons entrepris dans le **chapitre III**, l'étude systématique de la rétention de dix composés benzéniques monosubstitués à l'aide des indices de rétention déterminés par la méthode multiparamétrique. L'influence de quelques variables chromatographiques susceptibles d'affecter les valeurs des indices de rétention de ces composés a été étudiée, telles que: la nature de la phase mobile ainsi que sa composition, la température de la colonne et l'utilisation des colonnes nominalement équivalentes provenant de différents fabricants (divers matériaux de remplissage).

Le **chapitre IV** sera consacré, à l'optimisation de la nature de la phase mobile ainsi que sa composition pour une meilleure séparation d'un mélange de neuf composés benzéniques monosubstitués en se basant sur plusieurs critères d'appréciation (résolution, sélectivité, durée de l'analyse et pression en tête de colonne).

Tableau 1: Liste des composés benzéniques monosubstitués et séries homologues (cétone en 2 et alkylphénones) étudiés dans ce travail.

| Composés Benzéniques Monosubstitués | Nature du groupement fonctionnel lié au benzène | |
|--|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Phénol • <i>Benzaldéhyde</i> • Acétophénone • Nitrobenzène • <i>Benzène</i> • Phénétole • Chlorobenzène • Toluène • Bromobenzène • <i>Ethylbenzène</i> | <p style="text-align: center;">Hydroxyle</p> <p style="text-align: center;">Carbonyle (Aldéhyde)</p> <p style="text-align: center;">Carbonyle (Cétone)</p> <p style="text-align: center;">Nitro</p> <p style="text-align: center;">--</p> <p style="text-align: center;">Ether</p> <p style="text-align: center;">Halogène (Chloro)</p> <p style="text-align: center;">Alkyle (Méthyle)</p> <p style="text-align: center;">Halogène (Bromo)</p> <p style="text-align: center;">Alkyle (Éthyle)</p> | <p style="text-align: center;">-OH</p> <p style="text-align: center;">-CHO</p> <p style="text-align: center;">-COCH₃</p> <p style="text-align: center;">-NO₂</p> <p style="text-align: center;">-H</p> <p style="text-align: center;">-OC₂H₅</p> <p style="text-align: center;">-Cl</p> <p style="text-align: center;">-CH₃</p> <p style="text-align: center;">-Br</p> <p style="text-align: center;">-C₂H₅</p> |
| Séries Homologues | | |
| Série aliphatique des 2-cétones | Série aromatique des alkylphénones | |
| <ul style="list-style-type: none"> • Butanone • Pentan-2-one • Hexan-2-one • Heptan-2-one • Octan-2-one • Nonan-2-one | <ul style="list-style-type: none"> • Acétophénone • Propiophénone • Butyrophénone • Valérophénone | |

Tableau 2: Caractéristiques géométriques des colonnes chromatographiques utilisées dans ce travail.

| Phase Stationnaire | Matériaux de Remplissage | Fabricant | Longueur (mm) | Diamètre Interne (mm) | Dimension des Particules (μm) | Diamètre des Pores (\AA) |
|---------------------------------|--|-----------------|---------------|-----------------------|--|-------------------------------------|
| OctadécyleC₁₈ | • Omnispher | Chrompack | 250 | 4.6 | 5 | 100 |
| | • Eurospher | Knauer | 250 | 4.0 | 5 | 100 |
| | • SpherisorbOD2 | Hewlett Packard | 250 | 4.0 | 5 | 100 |
| | • UltraSepESEX | SepServ | 250 | 4.0 | 5 | 100 |
| | • Nucléosil 120 | Macherey Nagel | 250 | 4.0 | 5 | 120 |
| | • μBondapak | Waters Ass. | 300 | 3.9 | 10 | 125 |
| Octyle C₈ | • Nucléosil (HD) (densité élevée) | Macherey Nagel | 250 | 4.0 | 5 | 100 |

CHAPITRE I

Généralités sur la chromatographie liquide

| | |
|---|-----------|
| I-1) La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)..... | 9 |
| I-1-A) Grandeurs de rétention..... | 10 |
| I-2) Méthodes de détermination des indices de rétention..... | 11 |
| I-2-A) Obtention des indices de rétention à partir de la méthode de Kovàts..... | 12 |
| I-2-B) Obtention des indices de rétention à partir des paramètres de la régression (t_M, b et c)..... | 13 |
| A) Méthode de Al-Thamir | 14 |
| B) Méthode de Grobler | 15 |
| C) Méthode de Guardino..... | 16 |
| I-3) Conclusion | |

I-1) La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

En CLHP, la séparation des solutés d'un mélange donné est obtenue par partage entre deux phases non miscibles. Une phase stationnaire et l'autre mobile constituée le plus souvent par un mélange de solvant. Les techniques de CLHP peuvent être classées suivant la nature de leur phase mobile :

- La chromatographie de phase normale, où la phase stationnaire est plus polaire que la phase mobile (NP-CLHP).
- La chromatographie à polarité de phase mobile inversée, où la phase polaire est la phase mobile (RP-CLHP).

La distinction peut aussi porter sur la composition de la phase mobile :

- La chromatographie est dite à élution isocratique si la composition de la phase mobile reste constante au cours de l'analyse.
- La chromatographie est dite à gradient d'élution si la composition de la phase mobile varie au cours de l'analyse.

La chromatographie liquide à polarité de phase inversée est le mode de séparation le plus populaire en chromatographie liquide, du fait de sa grande efficacité, sa bonne tolérance à la charge d'échantillon et sa capacité à séparer une large gamme de composés de polarité différentes.

Les phases stationnaires sont typiquement composées de microparticules de gel de silice liées à des chaînes alkyles hydrophobes, telle que C₈ et C₁₈. Des supports polymériques peuvent aussi être utilisés.

Le remplissage de colonne à phases greffées le plus utilisés à l'heure actuelle sont ceux contenant des radicaux octadécylsilyles (C₁₈).

Les phases mobiles généralement utilisées en RP-CLHP sur phase stationnaire greffée sont constituées par des mélanges d'eau et d'un solvant organique (ou plus) moins polaire, en l'occurrence, l'acétonitrile, le méthanol et le tétrahydrofurane. Des solutions tampons peuvent être ajoutées pour contrôler le pH de la phase mobile. Des

sels de phosphate ou acétate sont communément utilisés, bien qu'il soit nécessaire de maintenir une concentration relativement faible de ces composés dans la phase mobile.

I-1-A) Grandeurs de rétention

- **Temps de rétention (t_R) :**

On appelle temps de rétention, (t_R), le temps d'élution d'un soluté donné au maximum du pic (pic symétrique et gaussien), mesuré à partir de l'injection.

En chromatographie, le temps de rétention (t_R) caractérise qualitativement une substance donnée. Cette grandeur de rétention ne doit pas être utilisée directement car il faut tenir compte du volume libre laissé par la phase stationnaire fixe ainsi que des petits volumes supplémentaires dus à la chambre d'injection, au détecteur et à la tuyauterie de raccordement dont l'ensemble constitue le volume mort du système chromatographique (v_M). Ces volumes morts sont minimisés mais ne peuvent être complètement éliminés. En tenant compte de ses derniers, on définit le volume de rétention corrigé ou le temps de rétention corrigé (pour un débit de phase mobile donné) par l'équation (I-1) :

$$t'_R = t_R - t_M \quad (\text{I-1})$$

Le temps mort (t_M) serait donc, le temps mis par un soluté pour traverser le système chromatographique sans être retenu ou exclu par les particules de la phase stationnaire.

- **Facteur de rétention (k) :**

Le facteur de rétention est défini comme le rapport de t'_R , temps pendant lequel le soluté est retenu par la phase stationnaire, à t_M , temps pendant lequel le soluté est entraîné par la phase mobile. Ce rapport est appelé facteur de rétention (k) (équation (I-2)).

$$k = \frac{t'_R}{t_M} = \frac{(t_R - t_M)}{t_M} \quad (\text{I-2})$$

- **Rétention relative (α):**

Le facteur de sélectivité ou rétention relative (α), décrit la position, l'un par rapport

à l'autre, de deux pics adjacents. Son calcul fait intervenir leurs temps de rétention réduits (t'_R). Le facteur de rétention pour les pics 1 et 2 est:

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t_{R_2} - t_M}{t_{R_1} - t_M} \quad (\text{I-3})$$

En chromatographie, pour l'identification des substances inconnues, les données de rétention rapportées à un standard arbitraire simple furent à l'origine des méthodes les plus couramment utilisées [17-18]. Par la suite, la rétention relative (α) a été peu utilisée compte tenu des difficultés rencontrées à l'usage des substances de référence très différentes. Pour surmonter toutes ces difficultés, en 1958 Kovàts a introduit le système des indices de rétention [1]. Depuis, ce système est largement utilisé en chromatographie en phase gazeuse (CPG) comme moyen de reproduction des données de rétention en analyse qualitative, dans la caractérisation des phases stationnaires et dans les corrélations propriétés - structures des composés chimiques.

La différence essentielle existant entre les données de rétention relatives et le système des indices de rétention est que, dans ce dernier, la rétention d'une substance donnée est exprimée dans une échelle uniforme déterminée par les termes d'une série d'homologues utilisés comme substances de référence.

Plusieurs méthodes de détermination des indices de rétention basées sur la linéarisation des séries homologues ont été développées dans la littérature [19-38]. Nous donnons dans ce qui suit les grandes lignes des méthodes les plus utilisées en CLHP pour la détermination des indices de rétention.

I-2) Méthodes de détermination des indices de rétention

I-2-A) Obtention des indices de rétention à partir de la méthode de Kovàts

En CPG, Kovàts [1] a utilisé cette dernière pour définir un système général constituant une échelle de référence, dans lequel tout soluté peut être repéré par rapport à deux homologues l'encadrant sur le chromatogramme. Ainsi, pour un soluté quelconque, la connaissance de son temps de rétention corrigé (t'_{R_i}), permet de

déterminer par interpolation sur cette droite, un nombre d'atomes de carbone hypothétique appelé indice de rétention égal à 100 fois le nombre d'atomes de carbone réel. Chaque soluté « x » peut donc être classé par rapport à une série d'homologues par son indice de rétention (I_x) par la relation **(I-4)**.

En CPG, les points fixes dans l'échelle des indices de rétention de Kovàts est la série des n-alcanes.

$$I_x = 100.Z_i + 100 \frac{\ln t'_{R(x)} - \ln t'_{R(z)}}{\ln t'_{R(z+1)} - \ln t'_{R(z)}} \quad \text{(I-4)}$$

Avec

$t'_{R(x)}$: temps de rétention corrigé du soluté (x) étudié.

$t'_{R(z)}$: temps de rétention corrigé de l'alcane à (Z) atomes de carbone qui précède le soluté (x).

$t'_{R(z+1)}$: temps de rétention corrigé de l'alcane à (Z+1) atomes de carbone qui suit le soluté (x).

En CLHP, plusieurs séries homologues ont été utilisées comme séries de référence. Parmi ces dernières, trois séries ont été appliquées à la détermination des indices de rétention de nombreux produits pharmaceutiques et drogues, en l'occurrence, les séries 2-cétones, alkylphénones et 1-nitroalcanes [39-64]. Notons que, ces indices ont été calculés par la méthode de Kovàts (équation **I-4**) en déterminant expérimentalement le temps mort de la colonne et ceci en injectant un soluté supposé non retenu par la phase stationnaire qui est le nitrate de sodium NaNO_3 [23,24].

I-2-B) Obtention des indices de rétention à partir des paramètres de la régression (t_M , b et c) :

Le calcul des indices de rétention est basé sur l'équation **(I-5)** présumée linéaire. Cette relation s'applique, d'une façon générale, pour toutes séries homologues.

$$\ln t'_{Ri} = \ln (t_{Ri} - t_M) = b.Z_i + c \quad \text{(I-5)}$$

La plupart des méthodes mathématiques utilisées dans la littérature pour le calcul des indices de rétention reposent sur l'équation **(I-5)** [19-38]. Il en découle que,

l'indice de rétention de n'importe quel soluté peut être obtenu à l'aide des paramètres (t_M , b et c) fournis par la régression sur l'équation (I-5). De ces résultats, nous pouvons tirer le nombre d'atomes de carbone hypothétique Z_i par l'équation (I-6) :

$$Z_i = \frac{\ln(t_{Ri} - t_M) - c}{b} \quad (\text{I-6})$$

L'indice I_x d'une substance « x » est alors obtenu à partir de l'équation (I-7):

$$I_x = 100 \frac{\ln(t_{Ri} - t_M) - c}{b} \quad (\text{I-7})$$

A) Méthode de Al-Thamir:

Les méthodes classiques utilisées pour la détermination de t_M nécessitent l'utilisation d'un nombre limité d'homologues et la résolution d'un petit nombre d'équation simple. En 1979 Al-Thamir et coll. [19] ont décrit une méthode applicable en CPG et en CLHP qui débute par une relation linéaire entre le temps de rétention corrigé (t'_R) et le nombre d'atomes de carbone (Z) (équation I-8) et montre que ceci conduit à un rapport constant entre les différences successives de temps de rétention bruts (t_R).

$$\ln(t_{Rz} - t_M) = b.z + c \quad (\text{I-8})$$

$$t_{Rz} - t_M = e^{(b.z + c)} \quad (\text{I-8-1})$$

$$t_{Rz} = t_M + e^{(b.z + c)} \quad (\text{I-8-2})$$

$$t_{R(z+1)} = t_M + e^{(b.(z+1) + c)} \quad (\text{I-8-3})$$

$$t_{R(z+2)} = t_M + e^{(b.(z+2) + c)} \quad (\text{I-8-4})$$

$$\Delta t_{R(z, z+1)} = t_{R(z+1)} - t_{R(z)}$$

$$\Delta t_{R(z, z+1)} = e^{(b.(z+1) + c)} - e^{(b.z + c)}$$

$$\Delta t_{R(z, z+1)} = e^{(b.(z) + c)} \cdot (e^b - 1) \quad (\text{I-8-5})$$

De même

$$\Delta t_{R(z+1, z+2)} = t_{R(z+2)} - t_{R(z+1)}$$

$$\Delta t_{R(z+1, z+2)} = e^{(b.(z+2) + c)} - e^{(b.(z+1) + c)}$$

$$\Delta t_{R(z+1, z+2)} = e^{(b.(z+1) + c)} (e^b - 1) \quad (\text{I-8-6})$$

D'où

$$\frac{\Delta t_{R(z+1,z+2)}}{\Delta t_{R(z,z+1)}} = \frac{e^{(b(z+1)+c)} \cdot (e^b - 1)}{e^{(b(z)+c)} \cdot (e^b - 1)} = e^b \quad (\text{I-9})$$

où (b) est la pente de l'équation (I-8).

$$b = \ln \frac{\Delta t_{R(z+1,z+2)}}{\Delta t_{R(z,z+1)}}$$

A partir de l'équation (I-8-5), la connaissance de la pente (b), permet d'atteindre l'ordonnée à l'origine (c) selon l'équation (I-8) :

$$c = \ln \left(\frac{\Delta t_{R(z,z+1)}}{e^b - 1} \right) - b \cdot z \quad (\text{I-10})$$

d'où le t_M est calculé à partir de l'équation (I-8-1).

$$t_M = t_{R(z)} - e^{(b \cdot z + c)} \quad (\text{I-11})$$

B) Méthode de Grobler :

Grobler et coll. [20] ont développé une méthode qui repose sur l'utilisation de trois régressions linéaires effectuées sur les deux équations suivantes :

- La première est analogue à l'équation (I-8), elle relie la différence entre les temps de rétention au nombre (Z) d'atomes de carbone comme suit:

$$\ln(t_{R(z+1)} - t_{R(z)}) = b \cdot z + \ln A \quad \text{avec} \quad A = e^c(e^b - 1) \quad (\text{I-12})$$

Ainsi une régression linéaire dans l'équation (I-12) de $\ln(t_{R(z+1)} - t_{R(z)})$ par rapport à (Z) conduit à l'obtention de la pente (b).

$$b = (n-1) \frac{\sum_{i=Z1}^{Z(n-1)} Z_i \ln(t_{R(i+1)} - t_{Ri}) - \sum_{Z1}^{Z(n-1)} Z_i \sum_{Zi}^{Z(n-1)} \ln(t_{R(i+1)} - t_{Ri})}{(n-1) \sum_{i=Z1}^{Z(n-1)} Z_i^2 - \left(\sum_{i=Z1}^{Z(n-1)} Z_i \right)^2} \quad (\text{I-13})$$

- La seconde équation fait apparaître le temps mort et s'écrit de la manière suivante :

$$t_{R(z)} = t_M + A \cdot q^Z \quad \text{avec} \quad A = e^c \quad \text{et} \quad q = e^b \quad (\text{I-14})$$

Ainsi une nouvelle régression linéaire de $\ln t_{R(Z)}$ par rapport à (Z) peut être effectuée dans l'équation **(I-14)**. On obtient alors :

$$t_M = \frac{\sum_{i=Z1}^{Zn} q_i^{Zi} - \sum_{i=Z1}^{Zn} t_{R.} q_i^{Zi} - \sum_{i=Z1}^{Zn} q_i^{2Zi} \sum_{i=Zi}^{Zn} t_{Ri}}{\left(\sum_{i=Z1}^{Zn} q_i^{Zi}\right)^2 - n \sum_{i=Z1}^{Zn} t_{R.} q_i^{2Zi}} \quad \text{(I-15)}$$

$$c = \frac{\sum_{i=Z1}^{Zn} \ln t'_{Ri} - (b \sum_{i=Z1}^{Zn} Zi)}{n} \quad \text{(I-16)}$$

Les équations **(I-13)**, **(I-15)** et **(I-16)** permettent de calculer les indices de rétention de n'importe quel soluté à partir de l'équation **(I-17)** :

$$I = 100 Z_i = 100 (\ln t'_{R} - c) / b \quad \text{(I-17)}$$

Il est à noter que, la méthode de Grobler ne peut conduire à une bonne estimation du temps mort de la colonne pour une série homologue non consécutive.

C) Méthode de Guardino :

Guardino et coll. [21] ont présenté une méthode dans laquelle une itération est faite sur le temps mort (t_M) à partir des valeurs calculées par la méthode des moindres carrés des paramètres de la régression (b et c) de l'équation **(I-8)**.

$$\ln (t_{Rz} - t_M) = b.z + c \quad \text{(I-8)}$$

Les valeurs optimales des trois paramètres (t_M , b et c) sont obtenues en minimisant la somme des carrés des différences entre les valeurs connues et calculées des indices de rétention. Néanmoins, il faut surveiller attentivement la différence des sommes consécutives des carrés et s'assurer qu'un changement de signe intervient avant que la somme des carrés ne devienne plus grande que la limite inférieure. Le programme ne doit pas être arrêté avant les deux premières itérations.

I-3) Conclusion

Parmi les méthodes citées, la méthode statistique de Grobler et la méthode itérative de Guardino sont les plus utilisées dans la littérature. Cependant, il est à remarquer qu'aucune des méthodes n'a proposé de critères pour apprécier la qualité de l'ajustement, ni sur les paramètres de la régression, ni sur les indices de rétention.

Dans ce travail, nous utiliserons deux méthodes mathématiques développées dans le cadre des travaux de recherche dans notre laboratoire [7-10], pour la détermination des indices de rétention d'une série de composés benzéniques monosubstitués.

- **La méthode Multiparamétrique**

La méthode statistique multiparamétrique [7-9] est basée sur l'équation **(I-8)** réécrite sous la forme: $(t_{Ri} - t_M) = A \cdot \exp(B \cdot Z_i)$ avec $A = e^c$ et $B = b \cdot \ln 10$ **(I-18)**

L'indice I_x d'une substance « x » est alors obtenu à partir de l'équation **(I-19)**:

$$I_x = \frac{100}{B} \ln \frac{(t_{Ri} - t_M)}{A} \quad \text{(I-19)}$$

La méthode multiparamétrique donne les résultats de la régression avec des écarts types sur les paramètres (t_M , B et c) et des critères statistiques d'appréciation de l'ajustement. Les indices de rétention sont donnés avec leurs écarts types.

- **La méthode d'Interpolation Cubique**

Nous nous proposons, pour la première fois en CLHP, de tester une méthode de calcul des indices de rétention au moyen d'une interpolation cubique locale [10], directement à partir des temps de rétention bruts, sans avoir recours ni au calcul du temps mort, ni à un modèle mathématique préalablement choisi.

Nous donnons dans le **chapitre II**, les grandes lignes de la méthode multiparamétrique ainsi que l'interpolation cubique.

CHAPITRE II

Détermination des indices de rétention au moyen de trois méthodes mathématiques (Multiparamétrique, Interpolation Cubique et Kovàts)

| | |
|--|-----------|
| II-1) Introduction..... | 18 |
| II-2) Description de la méthode multiparamétrique..... | 18 |
| A) Critères statistiques | 18 |
| B) Résolution du système | 19 |
| C) Acceptation du modèle | 19 |
| D) Calcul des indices de rétention par la méthode multiparamétrique..... | 20 |
| | 21 |
| II-3) Description de l'interpolation cubique..... | 22 |
| II-4) Illustration pratique des résultats obtenus par trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO)..... | 29 |
| II-5) Comparaison des indices de rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués par 3 méthodes mathématiques (MP, IC et KO)..... | 33 |
| II-6) Conclusion..... | |

II-1) Introduction

Comme mentionné au chapitre précédent, nous nous proposons de calculer les indices de rétention d'une série de composés benzéniques monosubstitués (**Tableau 1**) à l'aide de différentes méthodes mathématiques :

- La méthode multiparamétrique [7-8].
- La méthode d'interpolation cubique [10].
- La méthode expérimentale de Kovàts [1].

Nous donnons dans ce chapitre, les grandes lignes de la méthode multiparamétrique ainsi que l'interpolation cubique locale. La méthode de Kovàts a été décrite dans le chapitre I. Nous détaillons également, quelques exemples de traitement des données expérimentales pour chaque méthode utilisée.

II-2) Description de la méthode multiparamétrique

Une méthode de régression multiparamétrique itérative aux moindres carrés a été utilisée pour la détermination de t_M , les constantes B et A de l'équation **(II-1)** (avec leurs écarts-types) ainsi que la qualité de l'ajustement [7-8].

$$t_{Ri} = t_M + A \cdot \exp^{(B \cdot Z_i)} \quad \text{avec} \quad A = \exp^c \quad \text{et} \quad B = b \cdot \ln 10 \quad \text{(II-1)}$$

La connaissance de ces données, nous permet de calculer les indices de rétention.

A) Critères statistiques :

Expérimentalement, nous disposons des temps de rétention bruts (t_{Ri}). Ils sont obtenus en effectuant (NI) injections d'une série de N homologues. Nous tirons de cette matrice (N x NI) les grandeurs statistiques suivantes :

- **La moyenne des temps de rétention bruts (t_{Ri}) :**

$$\bar{t}_{Ri} = \sum_{j=1}^{NI} t_{Rij} / NI \quad \text{(II-2)}$$

- **L'estimation de l'écart type s (t_{Ri}) des temps de rétention bruts :**

$$s(t_{Ri}) = \sqrt{\sum_{j=1}^{NI} (t_{Rij} - \bar{t}_{Ri})^2 / (NI-1)} \quad (\text{II-3})$$

- Le résidu (F_i) :

Le résidu est défini comme étant la différence entre les temps de rétention moyens expérimentaux (\bar{t}_{Ri}) et les temps de rétention calculés (\hat{t}_{Ri}).

$$F_i = (\bar{t}_{Ri} - \hat{t}_{Ri}) \quad (\text{II-4})$$

Pour le modèle linéaire : $F_i = \bar{t}_{Ri} - (t_M + A \cdot \exp^{(B \cdot Z_i)})$

Avec Z_i : le nombre d'atomes de carbone

\bar{t}_{Ri} : le temps de rétention bruts moyens

Si le modèle est parfait et les erreurs expérimentales nulles, le résidu doit tendre vers une valeur nulle. Son écart type $s(F_i)$ se définit comme suit :

$$s(F_i) = s(\bar{t}_{Ri}) = \hat{s}(t_{Ri}) / \sqrt{NI} \quad (\text{II-5})$$

B) Résolution du système :

Le critère du moindre carré pondéré selon les variances cherche à minimiser la somme :

$$\chi^2_v = \sum_{i=1}^N \frac{F_i^2}{S^2(F_i)} \quad (\text{II-6})$$

Avec $s^2(F_i)$: la variance

$v = (N-P)$: le nombre de degrés de liberté

P : le nombre de paramètres contenu dans le modèle

N : le nombre de constituants

On établit donc un système de trois équations à trois inconnues dont la résolution par la méthode de Cramer, nous a permis de déterminer les paramètres (t_M , B et c) de l'équation (II-1).

C) Acceptation du modèle :

Pour évaluer la qualité de l'ajustement, il convient d'examiner si le modèle choisi est adéquat, dans ce travail, nous avons choisi le modèle linéaire. Il est important de réaliser qu'une régression proposera toujours des valeurs pour les paramètres (t_M , B et c). L'analyse statistique permettra généralement d'éviter une interprétation abusive des

résultats issus du calcul. Pour cela la pertinence du choix du modèle a été examinée selon trois critères statistiques :

- **Le test du chi-deux :**

Le résidu de la minimisation ne doit pas excéder la valeur critique (maximum) tirée des tables au niveau de confiance α choisi. Dans notre étude le niveau $\alpha = 0,05$ correspondant à une probabilité supérieure à 95 % a été retenu.

$$\chi^2_{N-P} < \chi^2_v \text{ (max. tiré des tables)}$$

- **Les écarts types sur les paramètres :**

Un paramètre du modèle n'est significatif que s'il est en valeur absolue nettement plus grand que son écart type. L'écart type est utilisé pour construire un intervalle de confiance au niveau α selon le procédé habituel de Student (t) [65,66].

$$t_M - t \cdot s(t_M) < t_M < t_M + t \cdot s(t_M)$$

- **Le critère de l'erreur résiduelle :**

L'erreur résiduelle ou l'écart type résiduel, mesure une dispersion moyenne. Elle doit correspondre en ordre de grandeur à l'erreur moyenne sur les temps de rétention (t_{Ri}) ou sur les indices de rétention des solutés de référence.

$$S(t_{Ri}) = \sqrt{\sum_{i=1}^N (t_{Ri}(\text{exp}) - t_{Ri}(\text{cal}))^2 / (N - P)} \quad \text{(II-7)}$$

$$S(I) = \sqrt{\sum (I(\text{cal}) - 100Z)^2 / (N - P)} \quad \text{(II-8)}$$

Le modèle est jugé acceptable si $S(t_{Ri})$ et $S(I)$ sont faibles.

D) Calcul des indices de rétention par la méthode multiparamétrique :

Dans la littérature, il est courant quand on utilise un modèle comme fonction, de recalculer les indices de rétention des composés de référence afin d'estimer l'ajustement.

Après avoir déterminé les paramètres (t_M , B et c) de l'équation (II-1), l'indice I_x d'une substance « x » est alors obtenu à partir de l'équation (II-9):

$$I_x = \frac{100}{B} \ln \frac{(t_{Ri} - t_M)}{A} \quad \text{(II-9)}$$

L'organigramme de la méthode multiparamétrique est donné en **annexe**.

II-3) Description de l'interpolation cubique

Les indices de rétention déterminés par la méthode de Kovàts [1] sont obtenus grâce à une interpolation linéaire sur les temps de rétention corrigés en valeur logarithmique. Ceci suppose que la linéarité est valable pour l'ensemble des homologues. Ceci n'étant pas toujours vérifié, nous considérons une linéarité locale entre deux homologues immédiats. Aussi donc, nous pourrions effectuer des interpolations locales successives.

Aussi, afin de faciliter la détermination de l'indice de rétention sans avoir recours au t'_R , nous nous proposons de tester une méthode d'interpolation cubique locale en CLHP.

• Principe de la méthode :

Les indices de rétention déterminés par une interpolation cubique locale sont obtenus directement à partir des temps de rétention bruts (t_{Ri}), sans avoir recours ni au calcul du temps mort (t_M), ni à un modèle mathématique préalablement choisi [10].

Pour effectuer des interpolations, il est nécessaire d'avoir des points d'appui fixes et un modèle d'interpolation adéquat.

Dans le cas d'une interpolation cubique, les quatre points d'appui sont choisis de manière à encadrer la valeur inconnue.

En appliquant la méthode de Lagrange [66], la valeur interpolée $Y(\text{int})$ est donnée par l'équation (II-10) suivante :

$$Y(\text{int}) = \sum_{i=1}^4 Y_i \prod_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^4 \frac{(X - X_j)}{(X_i - X_j)} \quad (\text{II-10})$$

Ainsi, pour calculer les indices de rétention d'un soluté donné « X », nous cherchons les quatre homologues dont les temps de rétention bruts (t_{Ri}) encadrent celui de la substance « X » à étudier (t_{Rx}). L'équation s'écrit alors :

$$I_X = \sum_{i=1}^4 100 \cdot Z_i \prod_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^4 \frac{Lnt_{Rx} - Lnt_{R(j)}}{Lnt_{R(i)} - Lnt_{R(j)}} \quad (\text{II-11})$$

où t_{Ri} et t_{Rj} sont les temps de rétention bruts des quatre homologues qui encadrent la substance (t_{Rx}).

II-4) Illustration pratique des résultats obtenus par trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO)

En se basant sur les données expérimentales de la série aliphatique des 2-cétones, nous donnons une illustration pratique concernant la détermination :

- Des paramètres (t_M , B et c) ainsi que les indices de rétention déterminés par la méthode multiparamétrique [7-9].
- Des indices de rétention déterminés par l'interpolation cubique directement à partir des temps de rétention bruts (t_{Ri}), sans avoir recours ni au calcul du temps mort (t_M), ni à un modèle mathématique préalablement choisi [10].
- Des indices de rétention déterminés par la méthode de Kovàts [1]. Notons que, le temps mort de la colonne a été déterminé expérimentalement et ceci en injectant un soluté supposé non retenu par la phase stationnaire qui est le nitrate de sodium (NaNO_3) [23, 24].

A) Vérification de la répétabilité des mesures :

Pour chaque série homologue (cétones en 2 ou alkylphénones), quatre injections consécutives ont été effectuées. Nous obtenons ainsi, quatre valeurs de temps de rétention bruts expérimentaux (t_{Ri}). Les temps de rétention pris en considération sont les moyennes mesurées sur les quatre essais ainsi que leurs écarts types. Nous obtenons pour l'ensemble des solutés de la série, les temps de rétention expérimentaux moyens et les écarts types (entre parenthèses).

B) Partie Calcul :

Toutes les étapes de calcul ont été écrites en langage BASIC et effectuées sur un micro ordinateur. Le programme délivre un rapport complet lors de la régression sur les données expérimentales [7-9].

Nous donnons à titre d'exemple, les valeurs des temps de rétention expérimentaux de la série des 2-cétones obtenues sur deux colonnes différentes :

- La μ Bondapak C_{18} (composition 65 :35 (v/v) en méthanol-eau)
- La Nucléosil C_8 (HD) (60 :40 (v/v) en méthanol-eau)

Les temps de rétention expérimentaux moyens (\bar{t}_{Ri}) en minutes ainsi que les résultats obtenus pour la série des 2-cétones sur les deux colonnes sont consignés dans le **Tableau (II-1)**.

Tableau II-1 : Résultats de la régression pour la série des 2-cétones obtenus par la méthode multiparamétrique sur deux colonnes différentes.

| Colonne | μ Bondapak C ₁₈ | Nucléosil C ₈ (HD) |
|--|--------------------------------|-------------------------------|
| Temps de Rétention Expérimentaux (minutes) | | |
| Séries Homologue | \bar{t}_{Ri} (exp) | \bar{t}_{Ri} (exp) |
| Butanone | 3.924 (0.001) | 3.115 (0.072) |
| Pentan-2-one | 4.462 (0.021) | 3.944 (0.015) |
| <i>Hexan-2-one</i> | 5.449 (0.035) | 5.513 (0.030) |
| Heptan-2-one | 7.245 (0.089) | 8.545 (0.058) |
| Octan-2-one | 10.460 (0.015) | 14.199 (0.097) |
| Nonan-2-one | 16.390 (0.017) | 24.490 (0.129) |
| Temps de Rétention Calculés t_{Ri} (cal) | | |
| Butanone | 3.924 (0.001) | 3.112 (0.006) |
| Pentan-2-one | 4.458 (0.004) | 3.953 (0.008) |
| <i>Hexan-2-one</i> | 5.434 (0.009) | 5.532 (0.018) |
| Heptan-2-one | 7.214 (0.014) | 8.502 (0.029) |
| Octan-2-one | 10.462 (0.014) | 14.084 (0.045) |
| Nonan-2-one | 16.388 (0.016) | 24.579 (0.118) |
| Indices de Rétention Calculés I (cal) | | |
| Butanone | 399.9 (0.360) | 400.3 (1.650) |
| Pentan-2-one | 500.4 (3.090) | 499.2 (1.550) |
| <i>Hexan-2-one</i> | 601.1 (2.790) | 599.0 (1.680) |
| Heptan-2-one | 701.2 (3.790) | 701.0 (1.630) |
| Octan-2-one | 799.9 (0.470) | 801.5 (1.410) |
| Nonan-2-one | 900.0 (0.300) | 899.3 (1.230) |
| Paramètres de la Régression | | |
| - Temps mort (t_M) | 3.275 (0.009) | 2.157 (0.022) |
| - Pente (B) | 0.601 (0.002) | 0.631 (0.004) |
| - Intercepte C | 0.058 (0.001) | 0.076 (0.002) |
| Critères Statistiques | | |
| - Chi – deux (χ^2_v) | 0.3445 | 3.2745 |
| - Erreur résiduelle S(t_{Ri}) | 0.0194 | 0.0883 |
| - Coefficient de corrélation (R^2) | 0.9999 | 0.9999 |
| - Erreur sur les Indices S(I) | 1.0026 | 1.3475 |

C) Signification des paramètres de la régression :

Nous discuterons à titre d'exemple les résultats obtenus sur la colonne μ Bondapak C₁₈ (**Tableau II-1**), la construction des intervalles de confiance donne :

$$* t_M = 3.275 (0.009)$$

$$3.275 - (0.009 \times 3) < 3.275 < 3.275 + (0.009 \times 3)$$

$$* B = 0.601 (0.002)$$

$$0.601 - (0.002 \times 3) < 0.601 < 0.601 + (0.002 \times 3)$$

$$* A = 0.058 (0.001) \quad \text{avec} \quad A = e^c$$

$$0.058 - (0.001 \times 3) < 0.058 < 0.058 + (0.001 \times 3)$$

En analysant les écarts types sur les trois paramètres (t_M , B et c), nous pouvons constater que ces derniers sont faibles.

D) Signification des critères statistiques :

Les valeurs des erreurs résiduelles sur les temps de rétention $S(t_{Ri})$ ainsi que les erreurs résiduelles sur les indices de rétention $S(I)$ calculées sont satisfaisantes pour les deux colonnes (μ Bondapak C₁₈ et Nucléosil C₈ (HD)) (**Tableau II-1**).

La valeur critique du chi-deux à trois degrés de liberté ($\chi^2_{3(\max)} = 9.35$) n'est pas atteinte pour les deux colonnes : μ Bondapak C₁₈ ($\chi^2_3 = 0.3445$) et la colonne Nucléosil C₈ ($\chi^2_3 = 3.2745$). La valeur du chi-deux semble accepter le modèle choisi (modèle linéaire) pour les deux colonnes (**Tableau II-1**).

Afin de confirmer, que notre modèle est bien linéaire, nous avons tracé le logarithme des temps de rétention corrigés ($\ln t'_R$) en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z) pour la série des 2-cétones et celle des alkylphénones et ceci pour différentes compositions en phase mobiles (méthanol – eau) dans le cas des deux colonnes μ Bondapak C₁₈ et Nucléosil C₈ (**Figure II-1** et **Figure II-2**).

En examinant les deux figures précédentes, nous constatons qu'une bonne linéarité a été obtenue pour les 2-cétones et les alkylphénones sur les deux colonnes étudiées (coefficient de corrélation $R^2 > 0.9998$ dans tout les cas).

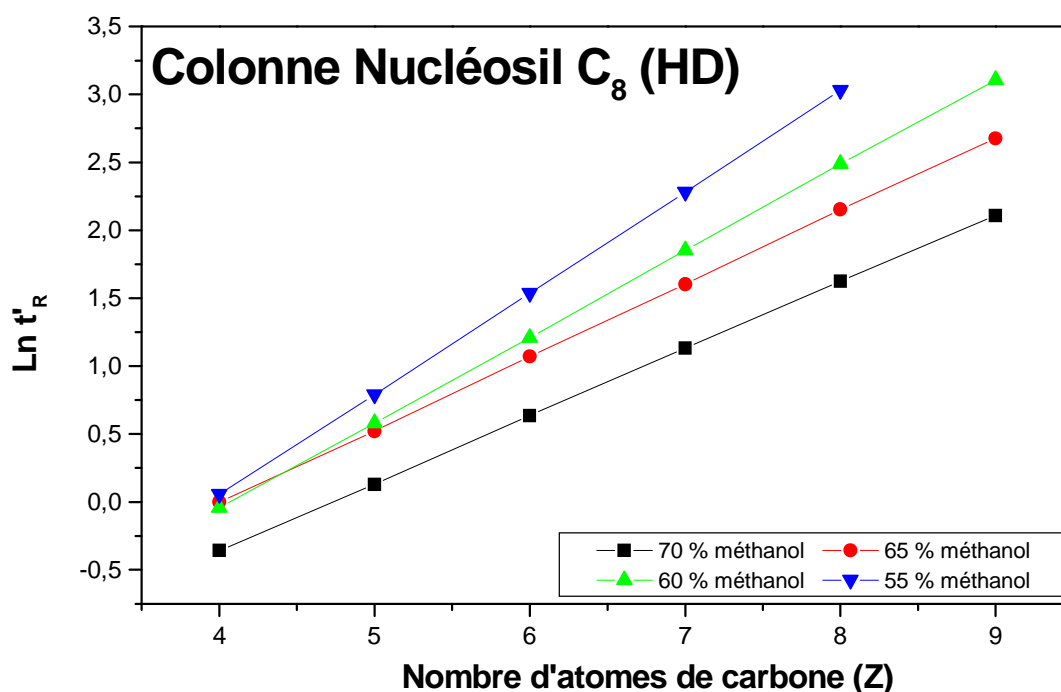
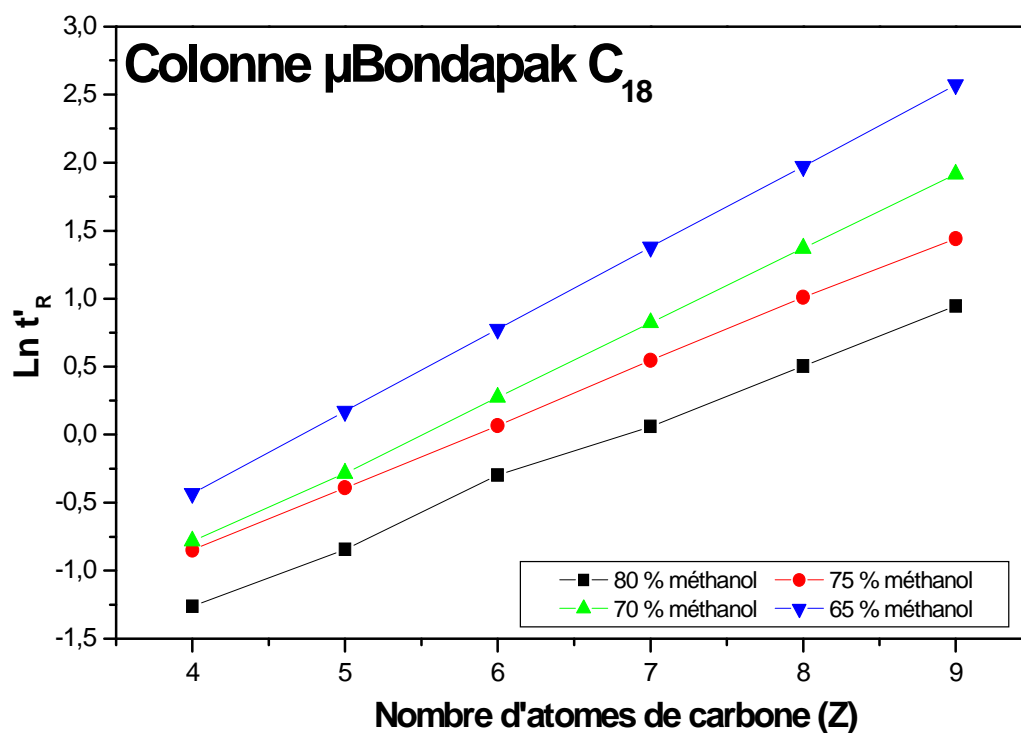


Figure II-1: Variation de $\text{Ln}(t'_{Ri})$ en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z) pour la série des cétones en 2 ($C_4 - C_9$) pour diverses composition de la phase mobile.

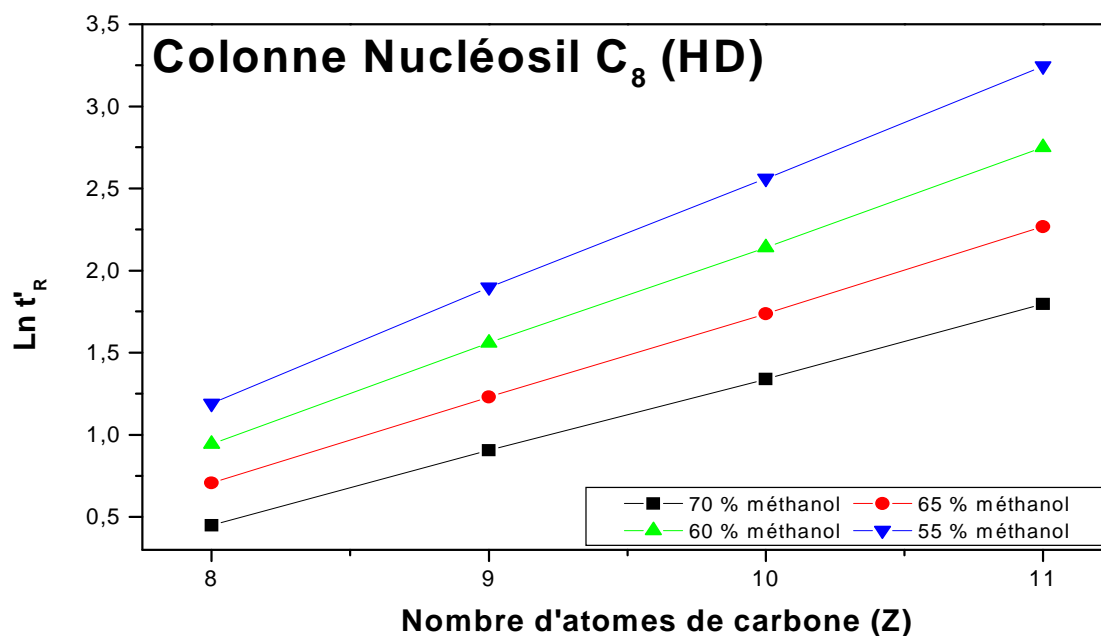
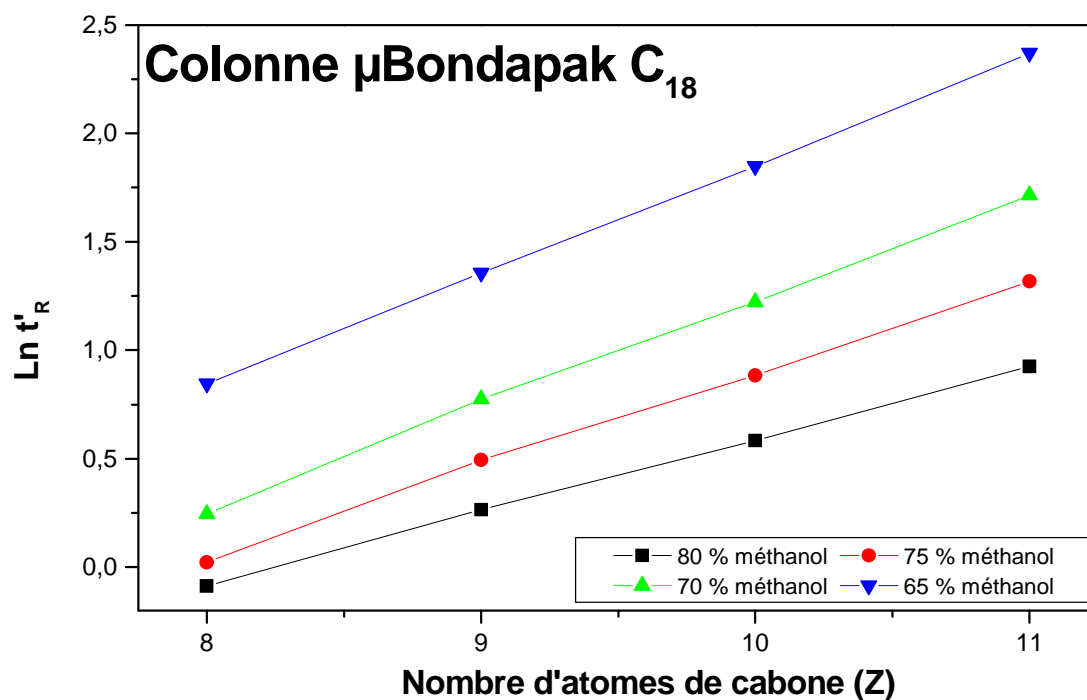


Figure II-2: Variation de $\text{Ln}(t'_{Ri})$ en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z) pour la série des **alkylphénones** (C_8 - C_{11}) pour diverses composition de la phase mobile.

E) Exemple de calcul des indices de rétention par la méthode multiparamétrique (MP) :

A titre d'exemple, nous présenterons le cas du soluté benzène élué sur la colonne Nucléosil 120 C₁₈ pour une composition en phase mobile de 70:30 (v/v) en méthanol-eau. Les valeurs des paramètres de la régression (t_M , B et A) de l'équation (II-1) sont les suivants :

- Paramètre de la régression :

$$t_M = 2.031 (0.001)$$

$$B = 0.558 (0.004)$$

$$A = 1.059 (0.001)$$

En appliquant l'équation (II-9), nous obtenons :

$$I_x = \frac{100}{B} \text{Ln} \frac{(t_{Ri} - t_M)}{A}$$

$$I_x = \frac{100}{0.558} \text{Ln} \frac{(5.590 - 2.031)}{1.059}$$

X : benzène

On trouve : $I_{(\text{benzène})} = 736.8$

F) Exemple de calcul des indices de rétention par l'interpolation cubique (IC) :

A titre d'exemple, nous présenterons le cas du benzène élué sur la colonne Nucléosil 120 C₁₈ pour une composition en phase mobile de 70:30 (v/v) en méthanol-eau. Les valeurs des temps de rétention des quatre homologues qui encadrent le soluté benzène sont données dans le Tableau (II-2) suivant :

| Solutés | Indices de rétention | t _R (min) | Ln t _R |
|----------------|----------------------|----------------------|-------------------|
| Hexanone | I ₁ = 600 | 3.692 | 1.306 |
| Heptanone | I ₂ = 700 | 4.941 | 1.597 |
| Benzène | I _x = ? | 5.590 | 1.720 |
| Octanone | I ₃ = 800 | 7.110 | 1.961 |
| Nonanone | I ₄ = 900 | 10.874 | 2.386 |

En appliquant l'équation (II-11), nous obtenons :

$$I = \sum_{i=1}^4 100Z_i \prod_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^4 \frac{\text{Log}t_{R_X} - \text{Log}t_{R_j}}{\text{Log}t_{R_i} - \text{Log}t_{R_j}}$$

$$I = 600 \frac{(1.720 - 1.597)(1.720 - 1.961)(1.720 - 2.386)}{(1.306 - 1.597)(1.306 - 1.961)(1.306 - 2.386)} + 700 \frac{(1.720 - 1.306)(1.720 - 1.961)(1.720 - 2.386)}{(1.597 - 1.306)(1.597 - 1.961)(1.597 - 2.386)}$$

$$+ 800 \frac{(1.720 - 1.306)(1.720 - 1.597)(1.720 - 2.386)}{(1.961 - 1.306)(1.961 - 1.597)(1.961 - 2.386)} + 900 \frac{(1.720 - 1.306)(1.720 - 1.597)(1.720 - 1.961)}{(2.386 - 1.306)(2.386 - 1.597)(2.386 - 1.961)}$$

On trouve : $\underline{I_{(\text{benzène})} = 735.6}$

G) Exemple de calcul des indices de rétention par la méthode de Kovàts (KO) :

A titre d'exemple, nous présenterons le cas du phénétole élué sur la colonne Nucléosil 120 C₁₈ pour une composition en phase mobile de 70:30 (v/v) en méthanol-eau. Les valeurs des temps de rétention des deux homologues qui encadrent le soluté phénétole sont reportées dans le **Tableau (II-3)** suivant :

| Solutés | Indices de rétention | t _R (min) | t _R ' (min) | Ln t _R ' |
|------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|---------------------|
| Octanone | I _Z =800 | 7.110 | 5.168 | 1.642 |
| Phénétole | I _X = ? | 7.310 | 5.368 | 1.680 |
| Nonanone | I _{Z+1} =900 | 10.874 | 8.932 | 2.189 |

En appliquant l'équation (I-4), nous obtenons :

$$I_X = 100Z + 100 \frac{\text{Ln}t'_{R(X)} - \text{Ln}t'_{R(Z)}}{\text{Ln}t'_{R(Z+1)} - \text{Ln}t'_{R(Z)}}$$

$$I_X = 800 + 100 \frac{\text{Ln}(7.310 - 1.942) - \text{Ln}(7.110 - 1.942)}{\text{Ln}(10.874 - 1.942) - \text{Ln}(7.110 - 1.942)}$$

$$I_X = 800 + 100 \frac{1.680 - 1.642}{2.189 - 1.642}$$

On trouve : $\underline{I_{(\text{phénétole})} = 806.9}$

II-5) Comparaison des indices de rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués par trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO)

Les indices de rétention d'une dizaine de composés benzéniques monosubstitués comportant différentes fonctions chimiques ont été calculés à l'aide des trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO). Les indices de rétention calculés par la méthode multiparamétrique sont obtenus avec leurs écarts types. Nous avons utilisé le nitrate de sodium (NaNO_3) pour la détermination du temps mort expérimental quand la méthode de Kovàts est appliquée. Les indices de rétention ont été exprimés dans deux échelles :

- L'échelle des 2-cétones ($\text{C}_4 - \text{C}_9$).
- L'échelle des alkylphénones ($\text{C}_8 - \text{C}_{11}$).

L'examen des résultats obtenus (**Tableau II-4**) sur la colonne Nucléosil 120 C_{18} et la Nucléosil C_8 (HD), permet les constatations suivantes :

- Les indices de rétention obtenus à l'aide des trois méthodes mathématiques (MP, IC et KO) sont en bon accord, notamment ceux calculés dans l'échelle des 2-cétones où la différence entre les valeurs d'indices de l'ensemble des solutés n'excède pas 2.7 unités d'indices (u.i.). Cependant, nous avons relevé une variation relativement plus élevée (0.1 – 15.5 u.i.) concernant les indices calculés dans l'échelle des alkylphénones.
- Les deux solutés nitrobenzène et benzène ont présenté des écarts d'indices élevés dans l'échelle des alkylphénones entre l'interpolation cubique (IC) et les deux autres méthodes (MP et KO) où une variation atteignant 15.5 u.i. a été relevée.
- Les écarts types sur les indices de rétention de l'ensemble des solutés calculés par la multiparamétrique dans les deux échelles d'indices sont satisfaisants (0.1 - 4.1 u.i.).
- Dans le cas où les indices de rétention sont exprimés dans l'échelle des alkylphénones, pour certains solutés, le calcul des indices de rétention par la méthode de Kovàts et par l'interpolation cubique a été impossible. En effet, étant donné que le premier homologue de la série des alkylphénones est l'acétophénone (théoriquement

son indice doit être égal à 800 u.i.), le calcul des indices des solutés élués avant l'acétophénone ne peut pas être effectué, puisque ces derniers ne sont pas encadrés par deux homologues (dans le cas de la méthode de Kovàts) ou par quatre homologues (dans le cas de l'interpolation cubique). Par conséquent, le calcul des indices de rétention des solutés suivants : phénol, benzaldéhyde et acétophénone s'avère impossible dans l'échelle des alkylphénones.

- Le calcul des indices de rétention de l'ensemble des solutés a été effectué sans difficultés en utilisant la méthode multiparamétrique. Cette dernière présente un avantage certain par rapport à la méthode de Kovàts et l'interpolation cubique puisque dans le cas de cette méthode les indices de rétention sont déterminés par les paramètres de la régression (t_M , B et c).

- Comme on peut bien le constater à travers le **Tableau (II-4)**, les indices de rétention de l'ensemble des solutés dépendent de la nature de la série homologue de référence considérée. Pour l'ensemble des composés benzéniques monosubstitués étudiés, les indices de rétention peuvent être classés dans l'ordre suivant :

Indice (alkylphénones) > Indice (2-cétones)

Afin d'établir les relations qui lient les indices de rétention de l'ensemble des solutés calculés dans les deux échelles d'indices (2-cétones (CO) et alkylphénones (ACO)), dans le **Tableau II-5**, nous avons reporté les écarts d'indice (ΔI) entre les deux séries. Nous constatons que, les écarts d'indices obtenus entre les deux échelles sont généralement stables. En effet, une bonne corrélation a été observée entre l'ensemble des deux séries d'indices (**Tableau II-6**). A titre d'exemple, la corrélation linéaire des valeurs des indices de rétention obtenues dans l'échelle des 2-cétones avec celles obtenues dans l'échelle des alkylphénones, nous a donné un coefficient de corrélation $R^2 = 0.99998$ pour la colonne Nucléosil 120 C₁₈ et $R^2 = 0.99989$ pour la colonne Nucléosil C₈ (HD). A travers ces différentes remarques, nous pouvons constater, qu'en établissant les équations de corrélation, il est bien possible de transformer les indices de rétention de n'importe quelle soluté d'une échelle d'indice, à une autre échelle d'indice.

Tableau II-4 : Comparaison des indices de rétention obtenus par trois méthodes (MP, IC, KO) de dix composés benzéniques monosubstitués. Conditions: (1) phase mobile méthanol-eau (70:30, v/v); (2) phase mobile méthanol-eau (55:45, v/v) 254 nm.

| Colonne | | Nucléosil 120 C ₁₈ ⁽¹⁾ | | | | | | Nucléosil C ₈ (HD) ⁽²⁾ | | | | | |
|---------------------------------------|------------------------------------|--|-------|-------|---------------|--------|--------|--|-------|-------|---------------|--------|--------|
| Echelle Indice | | 2-Cétones | | | Alkylphénones | | | 2-Cétones | | | Alkylphénones | | |
| Méthodes | | MP ^a | IC | KO | MP | IC | KO | MP | IC | KO | MP | IC | KO |
| <i>Benzènes Monosubstitués</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 461.9 (0.1) | 461.7 | 463.4 | 650.4 (0.9) | -- | -- | 536.6 (2.1) | 538.3 | 536.6 | 753.9 (2.7) | -- | -- |
| Benzaldéhyde | H-C=O | 575.5 (0.1) | 576.0 | 575.1 | 772.0 (0.2) | -- | -- | 567.1 (0.1) | 568.7 | 567.0 | 792.8 (0.1) | -- | -- |
| Acétophénone | CH₃C=O | 596.3 (0.1) | 596.4 | 596.2 | 794.5 (0.2) | -- | -- | 571.2 (0.1) | 572.6 | 571.1 | 798.0 (0.1) | 800.1 | 800.0 |
| Nitrobenzène | NO₂ | 673.8 (0.1) | 674.0 | 673.3 | 878.1 (0.1) | 862.6 | 875.5 | 639.4 (2.5) | 640.0 | 639.3 | 881.0 (3.0) | 878.1 | 878.9 |
| Benzène | H | 736.5 (0.1) | 736.3 | 735.9 | 945.8 (0.1) | 933.9 | 943.6 | 697.8 (2.6) | 697.7 | 697.7 | 949.1 (3.0) | 948.3 | 947.8 |
| Phénétole | OC₂H₅ | 807.1 (0.1) | 806.8 | 806.9 | 1022.3 (0.1) | 1017.2 | 1023.1 | 773.2 (3.5) | 772.2 | 773.1 | 1035.1 (3.9) | 1036.3 | 1035.1 |
| Chlorobenzène | Cl | 829.4 (0.1) | 828.9 | 829.3 | 1046.5 (0.1) | 1045.5 | 1046.6 | 798.8 (0.1) | 798.7 | 798.8 | 1063.9 (0.1) | 1065.0 | 1063.8 |
| Toluène | CH₃ | 839.6 (0.1) | 839.1 | 839.5 | 1057.6 (0.1) | 1048.3 | 1057.4 | 802.3 (0.1) | 802.5 | 802.4 | 1067.9 (0.1) | 1068.9 | 1067.8 |
| Bromobenzène | Br | 861.4 (0.1) | 860.9 | 861.5 | 1081.2 (0.1) | 1078.3 | 1080.6 | 804.0 (0.1) | 804.3 | 804.1 | 1069.9 (0.1) | 1070.9 | 1069.7 |
| Ethylbenzène | C₂H₅ | 919.1 (0.1) | 921.7 | 920.5 | 1140.1 (0.1) | 1140.0 | 1142.7 | 822.9 (3.9) | 825.0 | 823.1 | 1091.0 (4.1) | 1091.3 | 1090.8 |

(a) (MP) : Méthode Multiparamétrique [7-9] où les écarts types sur les indices sont donnés entre parenthèses.

(IC) : Interpolation Cubique [10] ; (KO) : Méthode de Kovàts [1] où le temps mort de la colonne a été déterminé par injection du NaNO₃.

Tableau II-5 : Ecarts d'indices (ΔI) entre l'échelle des 2-cétones (CO) et l'échelle des alkylphénones (ACO).

| | Ecarts d'Indices (ΔI) | |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Nucléosil 120 C ₁₈ | Nucléosil C ₈ (HD) |
| | $\Delta I_1 (I_{CO} - I_{ACO})$ | $\Delta I_2 (I_{CO} - I_{ACO})$ |
| Phénol | 188.5 | 217.3 |
| Benzaldéhyde | 196.5 | 225.7 |
| Acétophénone | 198.2 | 226.8 |
| Nitrobenzène | 204.3 | 241.6 |
| Benzène | 209.3 | 251.3 |
| Phénétole | 215.2 | 261.9 |
| Chlorobenzène | 217.1 | 265.1 |
| Toluène | 218.0 | 265.6 |
| Bromobenzène | 219.8 | 265.9 |
| Ethylbenzène | 221.0 | 268.1 |

Tableau II-6 : Résultats de la corrélation des indices de rétention calculés dans 2 échelles d'indices (CO et ACO) (échelle des cétones en 2 et échelle des alkylphénones).

| Colonne | Equation de corrélation | B (pente) | A (intercepte) | R ² (coefficient de corrélation) |
|-------------------------------|-------------------------|--------------|-------------------|---|
| Nucléosil 120 C ₁₈ | $I(CO) = B I(ACO) + A$ | 0.92902 | -142.15508 | 0.99998 |
| Nucléosil C ₈ | $I(CO) = B I(ACO) + A$ | 0.85339 | -109.6122 | 0.99989 |

II-6) Conclusion

La méthode multiparamétrique que nous avons appliquée pour la détermination des indices de rétention des composés benzéniques monosubstitués en CLHP, a conduit dans un intervalle de temps court à l'obtention des indices de rétention de tous les solutés avec leurs écarts types.

La méthode d'interpolation cubique permet d'obtenir aisément à partir des temps de rétention bruts, les indices de rétention des composés benzéniques monosubstitués étudiés.

Les indices obtenus par la multiparamétrique et l'interpolation cubique sont en bon accord avec la méthode expérimentale de Kovàts (avec injection du nitrate de sodium pour la détermination du temps mort). Cependant, les deux méthodes (Kovàts et l'interpolation cubique) présentent deux inconvénients :

- L'absence d'information statistiques sur l'exactitude des résultats.
- Le calcul des indices de rétention des solutés les premiers élués est impossible dans certains cas. En effet, l'interpolation linéaire de Kovàts est fixée par le choix de deux homologues et l'interpolation non linéaire cubique par le choix de quatre homologues. Alors, dans le cas où le soluté considéré n'est pas encadré par deux homologues (Kovàts) ou quatre homologues (interpolation cubique), le calcul de l'indice de rétention est impossible par interpolation.

Nous avons sélectionné pour la suite de notre travail, la méthode multiparamétrique en utilisant comme série de référence la série aliphatique des 2-cétones (C₄-C₉).

CHAPITRE III

Etude de la rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués par les indices de rétention déterminés par la multiparamétrie

| | |
|---|-----------|
| III-1) Introduction | 35 |
| III-2) Résultats et discussion..... | 36 |
| III-2-1) Influence de différents paramètres chromatographiques de séparation sur la variation des indices de rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués.... | 36 |
| III-2-1-A) Influence de la composition et la nature de la phase mobile..... | 43 |
| III-2-1-B) Effet de la température de la colonne..... | 46 |
| III-2-1-C) Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne..... | 50 |
| III-3) Conclusion..... | |

III-1) Introduction

D'une manière générale, les composés aromatiques, en l'occurrence, le phénol, les aldéhydes et cétones aromatiques sont des polluants organiques toxiques et dangereux pour la santé. Ils sont présents dans l'environnement provenant de différentes sources [67].

D'un point de vue qualitatif et quantitatif, les composés benzéniques monosubstitués ont pu être séparés, entre autre, par chromatographie liquide [68-70]. Dans ce cas, le succès de la séparation d'un mélange à analyser en chromatographie liquide dépend d'une part, du choix de la nature et de la composition de la phase mobile. Et d'autre part, de la phase stationnaire. En chromatographie liquide à polarité de phases inversée, les remplissages de colonnes à phases greffées les plus utilisés à l'heure actuelle sont les colonnes Octadécyl-silice ou Octyl-silice. Actuellement, il existe sur le marché un nombre considérable de colonnes C₁₈ et C₈ nominalement équivalentes mais qui comportent des matériaux de remplissage différents.

Le système des indices de rétention, en l'occurrence, les indices de Kovats [1] a été largement utilisé en CPG comme moyen de reproduction des données de rétention en analyse qualitative, dans la caractérisation des phases stationnaires et dans les corrélations propriétés - structures des composés chimiques [71-74]. Contrairement à la CPG, en CLHP, plusieurs controverses ont été développées dans la littérature concernant la détermination des indices de rétention [2-6]. En conséquence, plusieurs méthodes et séries homologues ont été proposées et appliquées [39-64].

Dans ce présent chapitre, nous nous sommes intéressés à l'étude systématique de la rétention d'une série de composés benzéniques monosubstitués en considérant différentes conditions chromatographiques de séparation. Les indices de rétention du benzène et de neuf composés benzéniques monosubstitués (**Tableau 1** donné en introduction générale) comportant différentes fonctions chimiques ont été déterminés par la méthode multiparamétrique (MP) [7,9] en utilisant les 2-cétones comme série de référence.

Afin d'étudier la variation des indices de rétention obtenus par la méthode multiparamétrique (MP) en fonction d'une légère variation des conditions chromatographiques de séparation et d'identifier ainsi les variables qu'ils vaudraient

strictement contrôler pour l'obtention des résultats reproductibles inter et intra laboratoires, nous avons étudié les facteurs suivants :

- La nature et la composition de la phase mobile :
Deux systèmes d'éluants : méthanol-eau et acétonitrile-eau.
- La température de la colonne chromatographique (de 30°C à 50°C à raison de 5°C d'intervalle).
- La nature du matériau de remplissage de la colonne (quatre colonnes Octadecyl-silice C₁₈ nominalement équivalentes mais comportent des matériaux de remplissage différents et une colonne Octyl-silice C₈).

III-2) Résultats et discussion :

III-2-1) Influence de différents paramètres chromatographiques de séparation sur la variation des indices de rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués

III-2-1-A) Influence de la composition et la nature de la phase mobile :

➤ A) Systèmes à phases mobiles binaires: Méthanol-Eau

Dix benzènes monosubstitués ont été injectés dans les mêmes conditions opératoires que la série de référence des cétones en 2 (C₄ – C₉) pour différents % en MeOH dans la phase mobile (65 – 80 % en MeOH à raison de 5 % d'intervalle) sur la colonne Nucléosil 120 C₁₈.

Les benzènes monosubstitués étudiés dans ce travail ne diffèrent les uns des autres que par la nature du groupement lié au cycle benzénique (hydroxyle, carbonyle, nitro, halogène, alkyle, ...etc.).

Par ailleurs, les indices de rétention des benzènes monosubstitués ont été déterminés par trois méthodes mathématiques (Multiparamétrique [7-9], Interpolation Cubique [10] et Kovàts [1]).

Les résultats obtenus par la méthode d'interpolation cubique et celle de Kovàts sont reportés en **annexe (Tableau (A -1))**.

L'ensemble des résultats obtenus est regroupé dans le **Tableau (III-1)** ou sont reportés les facteurs de rétention et les indices de rétention calculés par la méthode multiparamétrique [7-9] avec leurs écart-types à différents % en MeOH.

L'examen des résultats obtenus sur le **Tableau (III-1)**, nous permet de tirer les remarques suivantes :

- La variation des indices de rétention de l'ensemble des solutés n'est pas homogène. En effet, certaines fonctions sont affectées plus que d'autres par la variation du % en MeOH dans la phase mobile.

- Les indices de rétention du composé le plus polaire de la série, comportant un groupement hydroxyle, qui est le phénol, diminuent de manière significative lorsqu'on augmente la proportion du méthanol dans la phase mobile. Nous avons relevé des écarts d'indices élevés atteignant 65 unités d'indices (u.i).

- D'une manière générale, les indices de rétention des composés comportant un groupement carbonyle (benzaldéhyde ou acétophénone) ou une fonction nitro (nitrobenzène) montrent une variation inférieure à 22.0 u.i. en fonction du % en MeOH. Cependant, les indices de rétention du benzène, des composés comportant un groupement halogène (bromobenzène ou chlorobenzène), un groupement alkyle (toluène ou éthylbenzène) ou une fonction éther (phénétol) ont montré une variation légèrement plus importante (0.3-29.0 u.i.).

- Pour l'ensemble des solutés, et à l'exception du phénol, la variation des indices de rétention ne dépasse pas les 30.0 u.i. en fonction de la variation du % en MeOH dans la phase mobile (méthanol – eau).

- Concernant la deuxième grandeur de rétention étudiée dans ce travail, qui est le facteur de rétention, nous constatons que ces valeurs varient significativement en fonction du % en MeOH. En effet, les facteurs de rétention de l'ensemble des solutés diminuent notablement lorsque le % en MeOH augmente.

- Pour l'ensemble des solutés, les coefficients de corrélation sont satisfaisants pour une relation linéaire entre $\ln k$ en fonction du % en MeOH ($R^2 > 0.9991$), sauf pour le premier composé de la série (phénol) où le R^2 n'est pas satisfaisant ($R^2 = 0.9836$)- Pour l'ensemble des solutés, l'écart type calculé pour chaque valeur d'indice de rétention est faible (0.1-0.5).

Tableau III-1: Indices de rétention (I) et facteurs de rétention (k) de quelques composés benzéniques monosubstitués à différentes compositions de la phase mobile.

| Systèmes à phases mobiles binaires | | | | | | | | | |
|---|------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|-----------|----------------------|-----------|----------------------|-----------|----------------------|
| Méthanol - Eau | | | | | | | | | |
| Colonne | | Nucléosil 120 C₁₈ | | | | | | | |
| % Méthanol | | 80 | | 75 | | 70 | | 65 | |
| Paramètres de rétention | | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) |
| <u>Benzènes Monosubstitués</u> | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 0.248 | 444.0 (0.4) | 0.330 | 454.5 (0.1) | 0.378 | 461.9 (0.1) | 0.560 | 509.2 (0.2) |
| Benzaldéhyde | H-C=O | 0.447 | 581.2 (0.1) | 0.580 | 570.1 (0.1) | 0.712 | 575.5 (0.1) | 0.886 | 582.3 (0.1) |
| Acétophénone | CH₃C=O | 0.490 | 602.4 (0.1) | 0.647 | 592.8 (0.1) | 0.800 | 596.3 (0.1) | 1.086 | 614.7 (0.1) |
| Nitrobenzène | NO₂ | 0.699 | 684.6 (0.1) | 0.936 | 668.5 (0.2) | 1.234 | 673.8 (0.1) | 1.630 | 679.4 (0.1) |
| Benzène | H | 0.976 | 762.3 (0.2) | 1.339 | 741.9 (0.2) | 1.751 | 736.5 (0.1) | 2.435 | 743.4 (0.1) |
| Phénétole | OC₂H₅ | 1.312 | 831.0 (0.3) | 1.889 | 812.6 (0.3) | 2.597 | 807.1 (0.1) | 3.808 | 814.7 (0.1) |
| Chlorobenzène | Cl | 1.465 | 856.6 (0.3) | 2.154 | 839.6 (0.3) | 2.942 | 829.4 (0.1) | 4.460 | 839.9 (0.1) |
| Toluène | CH₃ | 1.542 | 868.4 (0.3) | 2.239 | 847.5 (0.4) | 3.114 | 839.6 (0.1) | 4.531 | 842.9 (0.1) |
| Bromobenzène | Br | 1.694 | 890.3 (0.4) | 2.516 | 871.4 (0.4) | 3.518 | 861.4 (0.1) | 5.423 | 871.1 (0.1) |
| Ethylbenzène | C₂H₅ | 2.173 | 948.1 (0.5) | 3.317 | 928.1 (0.5) | 4.876 | 919.9 (0.1) | 7.539 | 923.6 (0.1) |

(MP): méthode multiparamétrique [7,9].

Systèmes à phases mobiles binaires

Méthanol - Eau

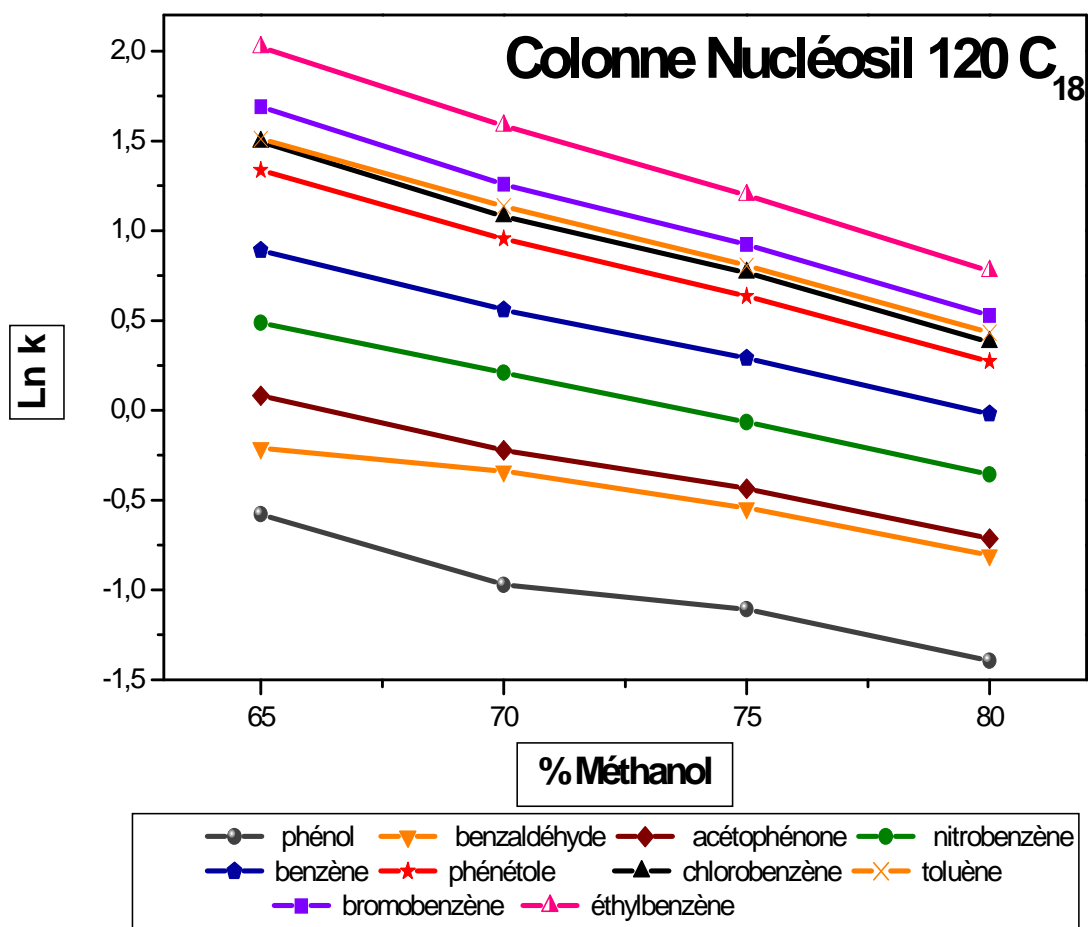


Figure (III-1) : Variation de Ln k en fonction du pourcentage en méthanol dans la phase mobile pour dix composés benzéniques monosubstitués.

➤ **B) Systèmes à phases mobiles binaires : Acétonitrile - Eau :**

Une étude similaire a été menée en considérant différents systèmes de phases mobiles binaires (acétonitrile - eau) sur la colonne μ Bondapak C₁₈. Les indices de rétention obtenus par la méthode d'interpolation cubique sont reportés en **annexe (Tableau (A-2))**.

Aussi, la détermination des indices de rétention et les facteurs de rétention de dix composés benzéniques monosubstitués en fonction du % en ACN (50-70 % à raison de 5 % d'intervalle) à l'aide de la méthode multiparamétrique, conduit aux résultats rassemblés dans le **Tableau (III-2)**.

L'examen de ce dernier nous permet de remarquer ceci :

- La variation des indices de rétention du benzène, du composé le plus polaire de la série comportant un groupement hydroxyle (phénol) est très importante atteignant 69.0 unités d'indices. Par ailleurs, les indices de rétention des composés comportant un groupement carbonyle (benzaldéhyde et acétophénone) ou une fonction nitro (nitrobenzène) montrent une variation inférieure à 31.0 u.i. en fonction du % en ACN dans la phase mobile. Cependant, les indices de rétention des solutés comportant un groupement halogène (chlorobenzène et bromobenzène), une fonction éther (phénétole) ou un groupement alkyle (toluène et éthylbenzène) montrent une variation moins importante (< 21.0 u.i.).
- D'une manière générale, les facteurs de rétention de l'ensemble des solutés étudiés diminuent lorsque le % en ACN augmente dans la phase mobile.
- Les graphes $\ln k$ en fonction du % en ACN portés sur la **Figure (III-2)** obtenus sur la colonne μ Bondapak C₁₈ ne sont pas linéaires. Le coefficient de corrélation $R^2 < 0.9598$ dans tous les cas.
- Dans l'intervalle 50 à 70 % en ACN, nous avons relevé deux cas de co-élutions :
 - *Le premier couple co-élué est le benzaldéhyde et l'acétophénone.
 - *Le deuxième couple co-élué est le chlorobenzène et le toluène.
- Pour l'ensemble des solutés, l'écart type pour chaque valeur d'indice n'est pas significatif (0.1-8.7 u.i.).

Tableau III-2: Indices de rétention (I) et facteurs de rétention (k) de quelques composés benzéniques monosubstitués à différentes compositions de la phase mobile.

| | | Systèmes à phases mobiles binaires | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|---------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|
| | | Acétonitrile - eau | | | | | | | | | |
| Colonne | | μBondapak C ₁₈ | | | | | | | | | |
| % Acétonitrile | | 50 | | 55 | | 60 | | 65 | | 70 | |
| Paramètres de rétention | | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) |
| <u>Benzènes monosubstitués</u> | | | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 0.752 | 482.1 (0.1) | 0.859 | 483.0 (7.5) | 0.423 | 431.2 (8.7) | 0.774 | 499.5 (1.0) | 0.645 | 481.7 (1.3) |
| Benzaldéhyde | H-C=O | 1.239 | 588.6 (0.1)* | 1.260 | 588.7 (3.0)* | 0.740 | 581.5 (0.6)* | 1.034 | 610.4 (1.1)* | 0.838 | 593.3 (0.1)* |
| Acétophénone | CH ₃ C=O | 1.239 | 588.6 (0.1)* | 1.260 | 588.7 (3.0)* | 0.740 | 581.5 (0.6)* | 1.034 | 610.4 (1.1)* | 0.838 | 593.3 (0.1)* |
| Nitrobenzène | NO ₂ | 1.782 | 666.2 (0.1) | 1.658 | 664.6 (2.8) | 0.959 | 651.0 (1.0) | 1.230 | 676.6 (2.3) | 0.948 | 646.0 (0.4) |
| Benzène | H | 2.277 | 718.6 (0.6) | 1.966 | 711.6 (2.2) | 1.027 | 669.5 (0.5) | 1.360 | 715.3 (0.1) | 1.085 | 703.5 (0.1) |
| Phénétole | OC ₂ H ₅ | 3.172 | 789.4 (0.1) | 2.587 | 787.4 (2.1) | 1.584 | 785.8 (0.5) | 1.625 | 783.5 (0.9) | 1.265 | 769.1 (0.7) |
| Chlorobenzène | Cl | 3.430 | 806.1 (0.1)* | 2.732 | 802.5 (2.1)* | 1.680 | 801.7 (1.1)* | 1.710 | 802.9 (0.9)* | 1.330 | 790.4 (0.3)* |
| Toluène | CH ₃ | 3.430 | 806.1 (0.1)* | 2.732 | 802.5 (2.1)* | 1.680 | 801.7 (1.1)* | 1.710 | 802.9 (0.9)* | 1.330 | 790.4 (0.3)* |
| Bromobenzène | Br | 3.896 | 833.3 (0.1) | 3.025 | 830.6 (2.2) | 1.846 | 827.0 (1.4) | 1.861 | 835.3 (0.1) | 1.473 | 834.1 (3.1) |
| Ethylbenzène | C ₂ H ₅ | 5.324 | 900.0 (0.1) | 3.854 | 897.5 (3.4) | 2.392 | 896.6 (1.1) | 2.127 | 886.6 (1.7) | 1.643 | 880.9 (0.8) |

(*) Pics coélués

(MP): méthode multiparamétrique [7,9].

Systèmes à phases mobiles binaires

Acétonitrile - Eau

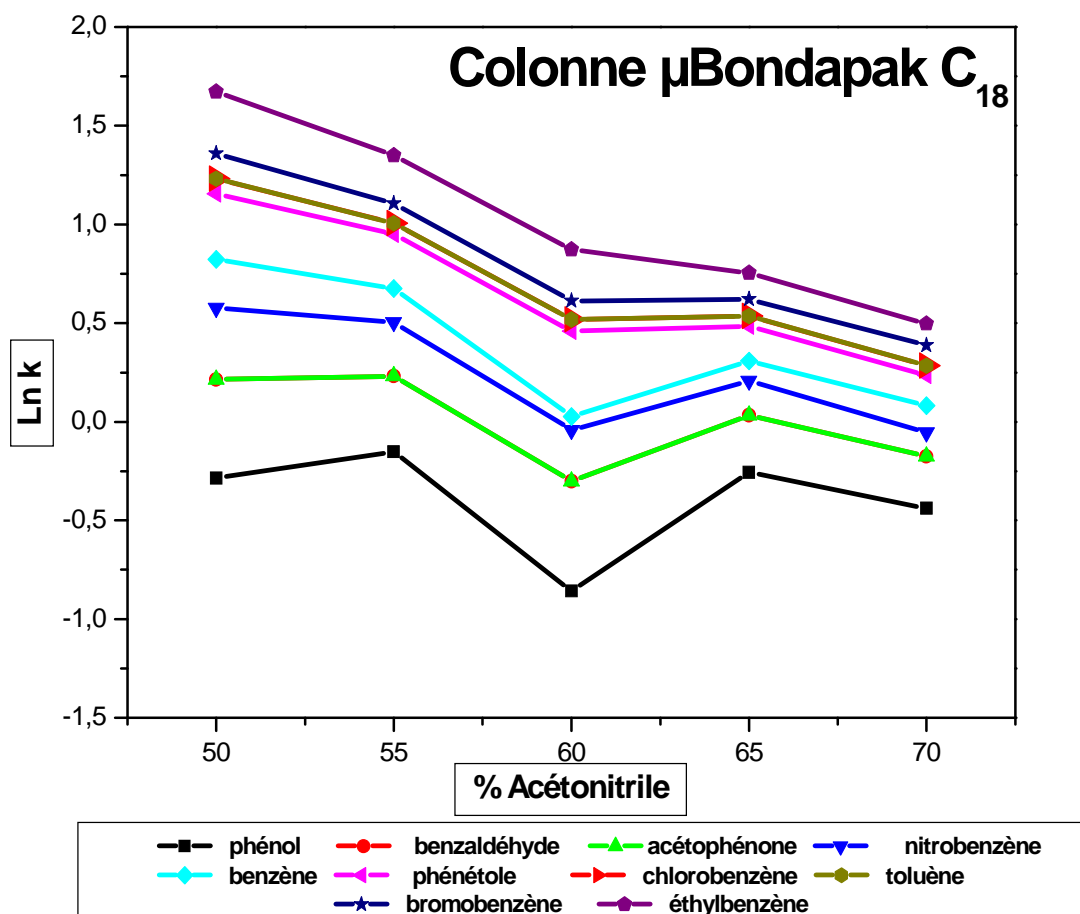


Figure (III-2) : Variation de Ln k en fonction du pourcentage en acétonitrile dans la phase mobile pour dix composés benzéniques monosubstitués.

Sur cette base des résultats obtenus, nous pouvons avancer qu'à l'exception du soluté comportant un groupement hydroxyle (phénol), les indices de rétention de l'ensemble des solutés montrent une variation inférieure à 31.0 u.i. en fonction du pourcentage en solvants organique dans la phase mobile et ceci pour les deux systèmes binaires étudiés (acétonitrile - eau) et (méthanol - eau).

Le problème rencontré avec les indices de rétention du phénol (variation atteignant 69 u.i.) peut être probablement dû aux interactions entre le groupement hydroxyle du phénol et les groupements hydroxyles résiduels libre de la silice.

III-2-1-B) Effet de la température de la colonne

En chromatographie liquide, la température de la colonne joue un rôle très important dans la séparation de plusieurs composés organiques. L'augmentation de cette dernière, provoque en générale, une augmentation de l'efficacité des colonnes et la diminution de la valeur du facteur de rétention, de la sélectivité et de la viscosité de la phase mobile [89].

Dans notre étude, nous avons fait varier la température de la colonne de 30 à 50 °C à raison de 5 °C d'intervalle pour calculer les indices de rétention de sept composés benzéniques monosubstitués à différentes températures de la colonne.

Les résultats obtenus par la méthode d'interpolation cubique et celle de Kovats sont reportés en annexe (**Tableau (A-3)**).

Les facteurs de rétention et les indices de rétention déterminés par la méthode multiparamétrique sur la colonne μ Bondapak C₁₈ sont regroupés dans le **Tableau (III-3)**, qui nous permet de remarquer ceci :

- La variation des indices de rétention des solutés comportant un groupement moyennement polaire, comme la fonction hydroxyle (phénol), carbonyle (acétophénone) et nitro (nitrobenzène) en fonction de la température est plus importante (1.3-31.0 u.i.) que celle relevée pour les solutés comportant un groupement apolaire; comme le bromobenzène et le phénétole (< 13.0 u.i.). En effet, les indices de rétention benzène et de soluté comportant un groupement alkyle (toluène) montrent une légère variation (< 10.0 u.i.).

Tableau III-3 : Effet de la température de la colonne sur la variation des indices (I) et des facteurs de rétention (k) de quelques composés benzéniques monosubstitués. Composition de la phase mobile (acétonitrile-eau (60:40, v/v))

| Colonne | | μ Bondapak C ₁₈ | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|
| Température (°C) | | 30 | | 35 | | 40 | | 45 | | 50 | |
| Paramètre de rétention | | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) |
| <u>Benzènes Monosubstitués</u> | | | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 0.426 | 430.9 (1.2) | 0.411 | 428.3 (0.4) | 0.380 | 417.6 (2.3) | 0.362 | 405.8 (2.0) | 0.339 | 404.3 (1.0) |
| Acétophénone | CH ₃ C=O | 0.683 | 554.2 (0.9) | 0.672 | 562.5 (0.8) | 0.623 | 549.0 (5.1) | 0.618 | 557.4 (4.4) | 0.569 | 551.4 (2.5) |
| Nitrobenzène | NO ₂ | 1.083 | 663.6 (1.4) | 0.918 | 648.0 (0.6) | 0.843 | 633.4 (6.8) | 0.852 | 648.4 (3.2) | 0.756 | 632.1 (3.3) |
| Benzène | H | 1.230 | 707.9 (0.8) | 1.130 | 704.8 (0.3) | 1.062 | 698.1 (2.2) | 1.024 | 700.9 (0.9) | 0.950 | 697.0 (0.3) |
| Phénétole | OC ₂ H ₅ | 1.608 | 777.9 (0.7) | 1.465 | 775.8 (0.4) | 1.348 | 764.6 (1.1) | 1.302 | 768.8 (0.7) | 1.223 | 768.8 (0.2) |
| Toluène | CH ₃ | 1.724 | 796.1 (1.5) | 1.572 | 795.1 (0.2) | 1.496 | 793.8 (0.9) | 1.408 | 791.1 (1.4) | 1.319 | 790.1 (0.9) |
| Bromobenzène | Br | 1.952 | 828.7 (0.6) | 1.745 | 823.8 (0.5) | 1.641 | 819.6 (1.7) | 1.546 | 817.7 (1.2) | 1.453 | 817.8 (0.2) |

(MP): méthode multiparamétrique [7,9].

*Colonne μ Bondapak C₁₈

*Composition de la phase mobile (acétonitrile-eau (60:40, v/v))

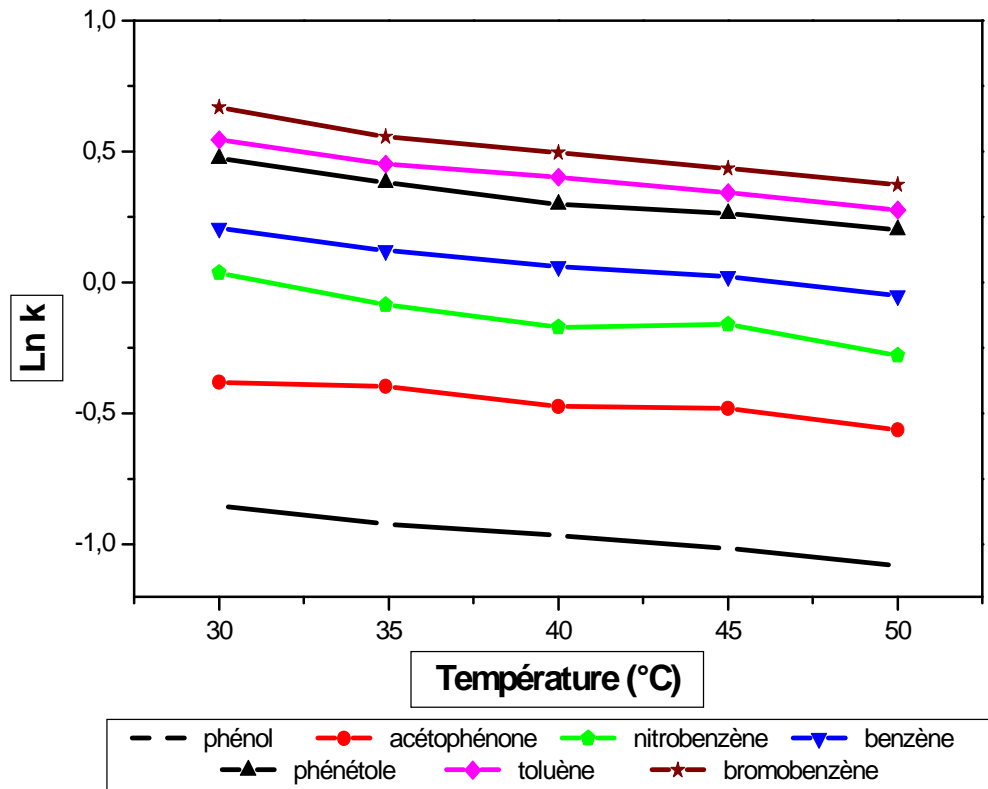


Figure (III-3): Variation de Ln k en fonction de la température de la colonne de quelques composés benzéniques monosubstitués.

- D'une manière générale, l'augmentation de la température provoque une diminution des facteurs de rétention de l'ensemble des solutés étudiés. Le tracé de $\ln k$ en fonction de la température de la colonne est représenté sur la **Figure (III-3)**. Une bonne linéarité a été obtenue pour l'ensemble des solutés, où le coefficient de corrélation $R^2 > 0.9953$ dans tout les cas.

- L'écart type calculé pour chaque valeur d'indice de rétention est satisfaisant (0.1-6.8).

III-2-1-C) Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne

En CLHP, les propriétés des phases stationnaires dépendent de leurs processus de fabrication. Le problème de la reproductibilité des données de rétention sur différentes colonnes est le problème principal qui influe directement sur la qualité de la comparaison des données inter-laboratoires. Pour cela, il est impératif de sélectionner des matériaux de remplissage dont les caractéristiques chromatographiques soient bien déterminées et constantes dans le temps [45,54].

Nous avons étudié dans cette partie, l'influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne sur la variation des indices de rétention des composés benzéniques monosubstitués. Nous avons calculé, les indices de rétention sur quatre colonnes nominalelement équivalentes mais remplies avec différents matériaux Octadécyl-silice C_{18} (provenant de différents fabricants) et une colonne Octyl-silice C_8 . Afin d'avoir une bonne reproductibilité des résultats sur les colonnes étudiées, les mesures ont été effectuées sous des conditions chromatographiques de séparation identiques (composition et débit de la phase mobile, température de la colonne).

- **Colonne Octadécyl-silice C_{18} :**

- Colonne **A** : Eurospher 100 C_{18} (Fabricant : Knauer).
- Colonne **B**: Spherisorb ODS2 C_{18} (Fabricant: Hewlett Packard).
- Colonne **C**: UltrasepESEX C_{18} (Fabricant : SepServ).
- Colonne **D** : Nucléosil 120 C_{18} (Fabricant : Macherey Nagel).

- **Colonne Octyl silice C_8 :**

- Colonne **E** : Nucléosil C_8 (HD) (Fabricant : Macherey Nagel).

Notons que, les colonnes (A, B, C et D) ont les mêmes caractéristiques géométriques (**Tableau 2** donné en introduction générale). A l'exception de la colonne D, qui a un diamètre des pores différents de 120 Å.

Les indices de rétention calculés par la méthode d'interpolation cubique et celle de Kovàts sont regroupés en annexe (**Tableau (A -4)**).

L'ensemble des résultats obtenus par la méthode multiparamétrique [7-8] sur différentes colonnes chromatographiques sont reportés dans le **Tableau (III-4)** qui suscite les remarques suivantes :

- Nous remarquons que l'ordre d'élution des benzènes monosubstitués injectés sur les 5 colonnes (A, B, C, D et E) est identique. Le chlorobenzène et le toluène sont co-élus sur les colonnes B, C et E sont donc indiscernables sous ces conditions chromatographiques (méthanol –eau 65:35 (v/v)). Le chlorobenzène et le toluène sont bien séparés sur les colonnes A et D.

Benzènes monosubstitués sont les plus retenus sur la colonne Eurospher C₁₈, sur cette dernière, les facteurs de rétention varient entre 0.8-13.02.

En effet, les facteurs de rétention obtenus sur la colonne Eurospher C₁₈ sont le double par rapport à ceux obtenus sur la colonne Sphérisorb ODS2 C₁₈.

Pour l'ensemble des composés benzéniques monosubstitués étudiés, les facteurs de rétention peuvent être classés dans l'ordre suivant :

- k (Eurospher C₁₈) > k (UltraSepESEX C₁₈) > k (Nucléosil C₁₈) > k (Sphérisorb C₁₈).

- La variation des indices de rétention du soluté le plus polaire de la série, qui est le phénol est très importante. Nous avons relevé des écarts d'indices élevés atteignant 86 u.i. concernant le groupe de colonne (A, B et C) et la colonne E. La colonne E diffère des autres colonnes seulement par la dimension des pores des particules de la phase stationnaire.

- Les indices de rétention des composés comportant un groupement carbonyle (benzaldéhyde et acétophénone) ou une fonction nitro (nitrobenzène) ont montré des variations plus ou moins importantes (0.9-17.0 u.i.). Cependant, les indices de rétention du benzène, des composés comportant un groupement halogène (bromobenzène et chlorobenzène), alkyle (toluène et éthylbenzène) ou une fonction

éther (phénétole) montrent une légère variation (< 14.0 u.i.) pour les colonnes A, B et C qui ont des caractéristiques géométriques identiques.

- A l'exception du soluté phénol, les plus faibles valeurs d'indices de rétention de l'ensemble des solutés ont été observées sur la colonne qui comporte une courte chaîne greffée C_8 , qui est la Nucléosil C_8 (HD).

- L'écart type calculé pour chaque valeur d'indice de rétention est faible (0.1-8.7).

La sélective différente des colonnes nominale­ment équivalentes mais remplies avec différents matériaux C_{18} (provenant de différents fabricants) peut être attribuée aux raisons suivantes :

- La différence qualitative et quantitative des groupements silanols résiduels ainsi que leur accessibilité.
- Les différents paramètres géométriques de la colonne et le pourcentage en carbone.
- Le processus de fabrication du matériau de remplissage (désactivation, solvants,...).

Tableau III-4 : Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne sur la variation des facteurs de rétention (k) et des indices de rétention (I) de quelques composés benzéniques monosubstitués.
 Condition : phase mobile (méthanol-eau 65:35 (v/v)), (température de la colonne 30 °C), débit 1mL.min⁻¹.

| Phase stationnaire | | Octadécyle-silice (C ₁₈) | | | | | | | | Octyle (C ₈) | |
|---------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|-------------|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|---------------------------|---------------------|
| Colonne | | (A) Euroospher 100 | | (B) Sphérisorb ODS2 | | (C) UltraSepESEX | | (D) Nucléosil 120 | | (E) Nucléosil 100 (HD) | |
| Paramètres de Rétention | | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) | k | I (MP) |
| <u>Benzènes Monosubstitués</u> | | | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 0.829 | 500.0 (0.9) | 0.413 | 453.6 (3.2) | 0.598 | 456.8 (0.3) | 0.561 | 509.2 (0.2) | 0.659 | 464.9 (8.7) |
| Benzaldéhyde | H-C=O | 1.194 | 553.1 (0.7) | 0.851 | 566.2 (1.1) | 1.126 | 559.7 (0.3) | 0.887 | 582.3 (0.1) | 0.812 | 503.6 (8.0) |
| Acétophénone | CH ₃ C=O | -- | -- | -- | -- | 1.371 | 591.8 (0.2) | 1.086 | 614.7 (0.1) | 0.953 | 533.4 (8.0) |
| Nitrobenzène | NO ₂ | 2.055 | 631.9 (0.4) | 1.442 | 648.7 (1.2) | 1.934 | 647.8 (0.4) | 1.631 | 679.4 (0.1) | 1.237 | 582.0 (8.1) |
| Benzène | H | 3.743 | 718.9 (0.3) | 2.078 | 705.7 (1.2) | 2.808 | 708.5 (0.2) | 2.436 | 743.4 (0.1) | 1.908 | 662.8 (7.5) |
| Phénétole | OC ₂ H ₅ | 5.877 | 784.4 (0.3) | 3.246 | 775.4 (1.6) | 4.457 | 783.7 (0.2) | 3.809 | 814.7 (0.1) | 2.760 | 731.6 (6.2) |
| Chlorobenzène | Cl | 7.106 | 812.0 (0.2) | 3.918 | 804.8 (1.6)* | 5.235 | 809.9 (0.2)* | 4.532 | 839.9 (0.1) | 3.267 | 763.0 (5.6)* |
| Toluène | CH ₃ | 7.397 | 817.8 (0.2) | 3.918 | 804.8 (1.6)* | 5.235 | 809.9 (0.2)* | 4.961 | 842.9 (0.1) | 3.267 | 763.0 (5.6)* |
| Bromobenzène | Br | 8.554 | 838.9 (0.2) | 4.703 | 833.3 (1.8) | 6.303 | 840.1 (0.1) | 5.424 | 871.1 (0.1) | 3.664 | 784.4 (5.3) |
| Ethylbenzène | C ₂ H ₅ | 13.027 | 900.0 (0.1) | 6.623 | 886.3 (1.9) | 8.674 | 892.1 (0.1) | 7.540 | 923.6 (0.1) | 5.336 | 854.5 (5.6) |

(*) Pics coélués.

(MP): méthode multiparamétrique [7,9].

III-3) Conclusion

Les indices de rétention de dix composés benzéniques monosubstitués obtenus par la méthode multiparamétrique pour différentes conditions chromatographiques de séparation sont de bonne qualité. Les résultats statistiques obtenus sont satisfaisants.

Les facteurs, tels que : la nature et la composition de la phase mobile, la température de la colonne et la nature du matériau de remplissage de la colonne peuvent contribuer à la variation des indices de rétention des composés benzéniques monosubstitués.

En effet, d'une manière générale, la variation des indices de rétention des solutés comportant des fonctions moyennement polaires est beaucoup plus marquée comparativement aux solutés comportant un groupement apolaire.

Les indices de rétention du composé le plus polaire de la série ont montré une variation importante.

CHAPITRE IV

Etude de l'influence de la composition de la phase mobile (systèmes à phases mobiles binaires, ternaires et quaternaires) sur la séparation d'un mélange de neuf composés benzéniques monosubstitués

| | |
|---|-----------|
| IV-1) Introduction..... | 52 |
| IV-2) Equations fondamentales permettant de calculer les critères d'appréciation d'une séparation | 54 |
| A) Résolution..... | 54 |
| B) Sélectivité..... | 56 |
| C) Durée de l'analyse et pression en tête de colonne | 57 |
| IV-3) Résultats et discussion..... | 59 |
| IV-3-1) Influence de la nature de la phase mobile ainsi que sa composition sur la séparation de quelques benzènes monosubstitués | 59 |
| A) Systèmes à phases mobiles binaires: (acétonitrile-eau et méthanol-eau)..... | 59 |
| B) Systèmes à phases mobiles ternaires: (acétonitrile-méthanol-eau)..... | 68 |
| C) Systèmes à phases mobiles quaternaires: (acétonitrile-méthanol-THF-eau)..... | 72 |
| IV-4) Conclusion..... | 76 |

IV-1) Introduction

En chromatographie liquide à haute performance, la mise au point d'une méthode de séparation exige un investissement important de temps et un effort considérable à cause de développement de nouvelles phases stationnaires plus performantes et les diverses combinaisons possibles de la phase mobile. Durant ces dernières années, les méthodes d'optimisation des conditions chromatographiques de séparation ont connu une évolution très importante. Il existe actuellement, un nombre très élevé de publication concernant les méthodes d'optimisation multiparamétriques assistées par ordinateur [75-95].

De manière générale, la variation de la composition de la phase mobile est la technique la plus efficace et la plus employée pour optimiser une séparation chromatographique. Les variations de la composition de la phase mobile peuvent porter sur le solvant polaire (solvant organique). Le cas le plus général, consiste cependant à modifier la sélectivité en introduisant un ou plusieurs solvants de nature différentes (méthanol, acétonitrile ou tétrahydrofurane (THF)) mais de force éluante proche. Aussi, d'autres facteurs tels que, le pH de la phase mobile (pH de la phase aqueuse avant le mélange) et la force ionique permettent de modifier la sélectivité des composés ayant un caractère acide ou basique [89].

Les phases mobiles utilisées sont généralement des mélanges binaires (méthanol - eau ou acétonitrile - eau) tamponnées ou non tamponnées en isocratique ou en gradient d'éluion. Des mélanges ternaires, (méthanol - acétonitrile - eau) et (méthanol - tétrahydrofurane - eau) ou également les mélanges quaternaires (méthanol - acétonitrile - THF - eau) ont été utilisés par plusieurs auteurs [89, 90].

Dans ce chapitre, l'analyse par chromatographie liquide d'un mélange de neuf composés benzéniques monosubstitués comportant différentes fonctions chimiques (benzaldéhyde, acétophénone, nitrobenzène, benzène, phénétole, chlorobenzène, toluène, bromobenzène et éthylbenzène) a été développée en utilisant quatre systèmes d'éluants, à savoir : Le système **E 2A, E-2M, E3 et E4**.

- **Les mélanges de type E-2A** : ils sont constitués de différentes compositions en solvant organique acétonitrile (50, 55, 60 et 65 % en acétonitrile) dans des mélanges binaires (**acétonitrile + eau**).
- **Les mélanges de type E-2M** : ils sont constitués de différentes compositions en solvant organique méthanol (65, 70, 75 et 80 % en méthanol) dans des mélanges binaires (**méthanol + eau**).
- **Les mélanges de type E3** : ils sont constitués de différentes compositions en solvant organique acétonitrile et méthanol dans des mélanges ternaires (**acétonitrile + méthanol + eau**).

| % Acétonitrile | % Méthanol | % Eau |
|-----------------------|-------------------|--------------|
| 50 | 30 | 20 |
| 20 | 50 | 30 |
| 10 | 60 | 30 |
| 5 | 65 | 30 |

- **Les mélanges de type E4** : ils sont constitués de différentes compositions en solvant organique acétonitrile, méthanol et tétrahydrofurane dans des mélanges quaternaires (**acétonitrile + méthanol + tétrahydrofurane + eau**).

| % Acétonitrile | % Méthanol | % Tétrahydrofurane | % Eau |
|-----------------------|-------------------|---------------------------|--------------|
| 5 | 60 | 5 | 30 |
| 20 | 50 | 5 | 25 |
| 15 | 60 | 5 | 20 |

Nous avons sélectionné la colonne Omnispher C₁₈ pour réaliser notre étude (**tableau 2** donné en introduction générale). Notre but, est de trouver, un meilleur compromis entre trois critères d'appréciation (la résolution, la durée de l'analyse et la pression en tête de colonne) pour séparer un mélange de neuf composés benzéniques monosubstitués. Pour cela, nous avons étudié quatre systèmes d'éluants différents : **E-2A, E-2M, E3 et E4**.

Nous avons représenté, sur la **Figure (IV-1)**, les trois critères d'appréciation au sommet d'un triangle : la résolution, la durée de l'analyse et la pression en tête de colonne.

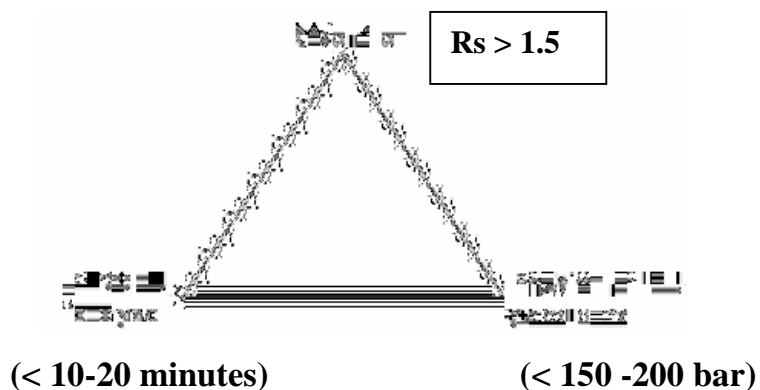


Figure (IV-1) : Représentation des trois critères d'appréciation au sommet d'un triangle

IV-2) Equations fondamentales permettant de calculer les critères d'appréciation

La qualité d'une séparation est jugée en fonction des grandeurs fondamentales de la chromatographie. Pour notre étude, nous avons sélectionné les critères suivants: la résolution (R_S), la sélectivité (α), la durée de l'analyse et la pression en tête de colonne (P).

A) La résolution (R_S) :

La résolution décrit le degré de séparation d'un composé par rapport à l'autre, elle est définie comme la différence entre les temps de rétention de deux solutés divisé par la largeur moyenne de leurs pics.

Il découle de cette définition que la séparation entre deux pics est d'autant meilleure que R_S est plus grande. Ainsi, pour deux composés conduisant à des pics de surface voisine, ils sont considérés comme étant totalement résolus lorsque $R_{AB} \geq 1.5$ c'est - à - dire que la séparation est de 99.7 % généralement, si $R_{AB} = 1$ ceci correspond à 98 % de séparation [89].

Nous avons représenté sur la **Figure (IV-2)**, le tracé des tangentes aux points d'inflexion et la distance entre les intersections avec la ligne de base correspond à la largeur du pic utilisée pour le calcul de la résolution.

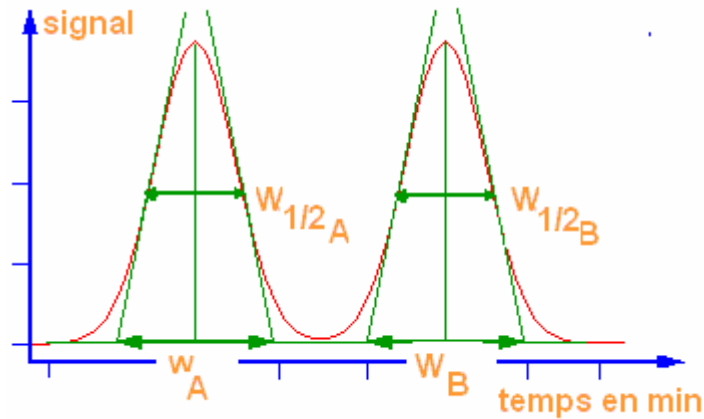


Figure (IV-2) : Deux pics de chromatogramme et tracé des tangentes
Pour le calcul de la résolution.

Donc la résolution $R_{A/B}$ entre deux pics adjacents est définie par l'équation (IV-1)

$$R_{AB} = 2 \frac{(t_{RB} - t_{RA})}{\omega_B + \omega_A} \quad (\text{IV-1})$$

Ou bien

$$R_{AB} = 1.18 \frac{(t_{RB} - t_{RA})}{\omega_{1/2B} + \omega_{1/2A}} \quad (\text{IV-2})$$

t_{RA} et t_{RB} : les temps de rétention des pics A et B.

ω_A et ω_B : largeurs à la base des pics A et B.

$\omega_{1/2A}$ et $\omega_{1/2B}$: largeurs à mi-hauteur des pics A et B.

La résolution (R_s) des paires des pics critiques est la résolution des couples les moins résolus dans un mélange donné. Si la résolution est acceptable pour une paire de pics critique donnée, elle devrait être satisfaisante pour tous les pics du chromatogramme.

On peut exprimer la résolution (R_{AB}) en fonction des paramètres chromatographiques tels que : le facteur de rétention (k), la sélectivité (α) et l'efficacité de la colonne (N).

$$R_{AB} = \frac{1}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k_B}{1 + k_B} \cdot \sqrt{N_B} \quad (\text{IV-3})$$

k_B : le facteur de rétention de pic B .

N_B : le nombre de plateaux théoriques.

α : la sélectivité de la colonne.

B) Le facteur de séparation (sélectivité α) :

Pour caractériser la distance séparant les sommets de deux pics consécutifs A et B , on utilise le facteur de sélectivité. Ce facteur, se définit comme le rapport des facteurs de rétention du composé le plus retenu et du composé le moins retenu.

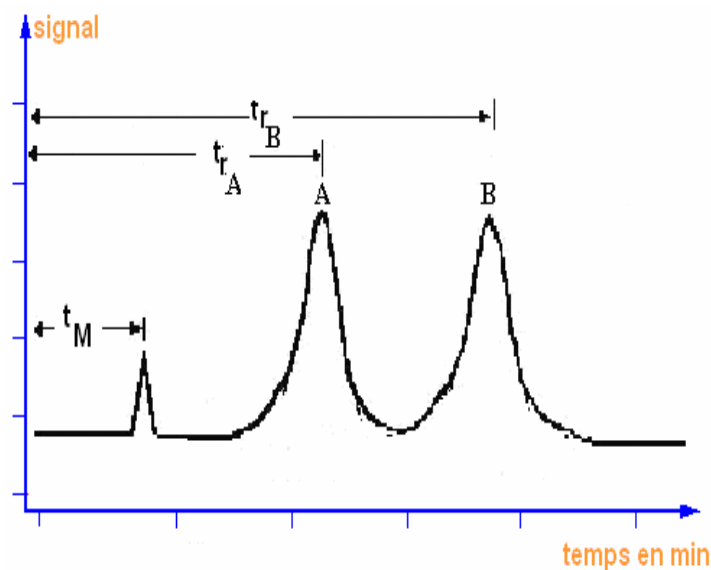


Figure (IV-3) : Chromatogramme d'un mélange de deux composés pour le calcul de la sélectivité

$$\alpha = \frac{t_{RB} - t_M}{t_{RA} - t_M} \quad (\text{IV-4})$$

t_{RA} : temps de rétention du premier composé.

t_{RB} : temps de rétention du deuxième composé.

k_A : le facteur de rétention du premier composé.

k_B : le facteur de rétention du deuxième composé.

Quelle que soit l'efficacité de la colonne, la séparation n'est possible que si α est différent de l'unité ($\alpha > 1$). Toutefois, les progrès récents en matière de phases stationnaires permettent de réaliser des séparations même pour les valeurs de α aussi faibles que 1.02.

La sélectivité peut être modifiée en changeant la nature et la composition de la phase mobile (polarité de l'éluant), la nature de la phase stationnaire et la température de la colonne. La façon la plus courante d'optimiser la sélectivité, consiste à faire varier la nature et la composition de la phase éluante.

C) La durée de l'analyse et la pression en tête de colonne :

- La durée de l'analyse est confondue (en approximation), avec le temps de rétention du dernier pic (t_a) du chromatogramme. Dans la pratique, le choix sera en fonction du but poursuivi. Ainsi, dans le cas de séparation très difficiles, on pourra être amené à sacrifier la durée d'une analyse (< 10-20 minutes) pour l'obtention d'une résolution suffisamment élevée, alors que pour des analyses plus faciles, mais ayant un caractère répétitif, on cherchera surtout à réduire le temps de l'analyse (< 5-10 minutes) aux dépens de la résolution [75,79].

$$t_a = t_R \quad \text{(IV-5)}$$

t_R : le temps de rétention du dernier pic du chromatogramme.

- La pression en tête de colonne dépend de certains paramètres tels que : le débit (U), la viscosité (η), la longueur de la colonne (L) et le diamètre des particules (d_p) de la phase stationnaire. Elle est exprimée par la relation suivante (Loi de darcy) [89].

$$\Delta P = \frac{\eta L U \phi}{d_p^2} \quad \text{(IV-6)}$$

η : viscosité de la phase mobile.

d_p : diamètre des particules.

ϕ : facteur de résistance à l'écoulement.

D'une manière générale, une pression en tête de colonne inférieure à 150 - 200 bar est désirable, afin de ne pas détériorer la colonne chromatographique [89].

En chromatographie liquide, la sélectivité et la durée d'une séparation dépendent avant tout de la nature de la phase mobile, qui dépend avant tout de contraintes pratiques telles que : la viscosité (on préfère les solvants les moins visqueux), la température d'ébullition qui doit être supérieure à la température de la séparation et la compatibilité avec le système de détection. Le **Tableau (IV-1)** rassemble les propriétés des quatre solvants utilisés dans ce travail.

Tableau (IV-1) : Propriétés des solvants utilisées comme phases mobiles [89].

| Solvants | Viscosité à 25 °C en mPa.s (cp) | Point d'ébullition (°C) | Fréquence de coupure UV en nm |
|----------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| • Tétrahydrofuranne | 0.46 | 66 | 212 |
| • Méthanol | 0.54 | 65 | 205 |
| • Acétonitrile | 0.34 | 82 | 190 |
| • Eau | 0.89 | 100 | < 187 |

En chromatographie liquide, la force éluante, permet de contrôler la rétention des solutés. Plus la force éluante est élevée, plus les facteurs de rétention sont faibles (une variation de 0.05 unité de force éluante entraîne une variation de k d'un facteur de l'ordre de 2 à 4). Il est donc important, de classer les solvants les plus couramment utilisés en chromatographie à polarité de phase inversée par ordre croissant de leurs forces éluante. C'est ce qu'on appelle une série éluotropique. La **Figure (IV-4)** représente les forces éluantes des trois solvants utilisés dans notre étude [89].



Figure (IV-4) : Force éluante des solvants les plus utilisés en chromatographie liquide à polarité de phase inversée.

IV-3) Résultats et discussion :

IV-3-1) Influence de la nature de la phase mobile ainsi que sa composition sur la séparation de quelques benzènes monosubstitués

La séparation de neuf composés benzéniques monosubstitués a été effectuée sur la colonne Omnispher C₁₈ en considérant différents systèmes de phases mobiles (binaires, ternaires et quaternaires).

Pour avoir une bonne séparation, il faut obtenir une résolution élevée $R_s > 1.5$ (c'est un paramètre d'une importance prépondérante) et ceci pour un temps d'analyse court (10-20 minutes) et une pression en tête de colonne raisonnable (< 130 bar).

A) Systèmes à phases mobiles binaires :

- **Les mélanges de type E-2A : Acétonitrile - Eau**

Les résultats obtenus concernant les trois critères d'appréciation (résolution, pression en tête de colonne et la durée de l'analyse) pour la séparation de neuf composés benzéniques monosubstitués en fonction du pourcentage en acétonitrile dans la phase mobile (% ACN) sont rassemblés dans le **Tableau IV-2**. La variation de la résolution (R_s) en fonction du % ACN est donnée sur la **Figure IV-5**.

L'exploitation des résultats regroupés dans le **Tableau IV-2 (A)**, nous permet de tirer les constatations suivantes :

- Les valeurs des trois critères d'appréciation (résolution, pression en tête de colonne et durée de l'analyse) augmentent lorsque le % ACN diminue. Ceci est dû à la polarité de la phase mobile (augmentation du pourcentage en eau) qui augmente la rétention des solutés (durée de l'analyse) et la pression en tête de colonne.

- Concernant les trois compositions 55, 60 et 65 % en ACN, nous avons relevé deux paires de pics critiques (couples co-élusés ou ayant une résolution insuffisante): le premier couple critique est le benzaldéhyde/acétophénone (co-élution $R_s = 0$) et le deuxième couple est le chlorobenzène/toluène (co-élution $R_s = 0$).

- A 50 % ACN, le couple benzaldéhyde/acétophénone est bien séparé ($R_s = 2.80$), mais le couple chlorobenzène/toluène reste co-élusé ($R_s = 0$). D'autre part, la durée de l'analyse à 50 % ACN est excessive (50 minutes), ce qui entraîne une consommation

d'une grande quantité de solvant organique (acétonitrile) et une augmentation importante de la pression en tête de colonne (120.27 bar ce qui est équivalent à 1745.12 Psi).

A partir des valeurs des facteurs de sélectivité (α) regroupées dans le **Tableau IV-2 (B)**, on constate que :

- A 55, 60 et 65 % ACN, nous remarquons que la sélectivité des deux couples benzaldéhyde/acétophénone et chlorobenzène/toluène est égale à 1, ce qui montre que les deux couples sont co-élus ($\alpha = 1$). Cependant, à 50 % ACN, nous avons obtenu des valeurs de sélectivité > 1 ($\alpha = 1.13$ pour le couple benzaldéhyde/acétophénone, mais le couple chlorobenzène /toluène reste toujours co-elué ($\alpha = 1$)).

A partir des résultats obtenus, nous pouvons dire que, les systèmes binaires de type **E-2A** ne sont pas favorables à une bonne séparation du mélange des neuf composés benzéniques étudiés, puisque aucune des compositions, ne nous a permis de séparer les deux couples critiques : benzaldéhyde/acétophénone et chlorobenzène/toluène en même temps. Nous présentons à titre d'exemple le chromatogramme obtenu à 55 % en ACN (**Figure IV-6**).

Dans ce qui suit, nous avons remplacé l'acétonitrile par le méthanol afin de séparer les deux couples critiques (benzaldéhyde/acétophénone et le chlorobenzène/toluène).

Tableau (IV-2) : (A) Résolution (R_s) et (B) sélectivité (α) en fonction de la composition de la phase mobile des benzènes monosubstitués (colonne Omnispher C₁₈).

(A)

| <u>Systèmes à Phases Mobiles binaires</u> | | | | |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| (Acétonitrile - Eau) | | | | |
| % Acétonitrile | 65 | 60 | 55 | 50 |
| <u>R</u> (benzaldéhyde / acétophénone) | <u>0.00</u> | <u>0.00</u> | <u>0.00</u> | <u>2.80</u> |
| R (acétophénone / nitrobenzène) | 5.66 | 6.59 | 8.65 | 8.91 |
| R (nitrobenzène / benzène) | 8.87 | 8.86 | 9.32 | 10.15 |
| R (benzène / phénétole) | 5.91 | 6.68 | 8.25 | 9.68 |
| R (phénétole / chlorobenzène) | 2.95 | 2.98 | 3.33 | 4.19 |
| <u>R</u> (chlorobenzène / toluène) | <u>0.00</u> | <u>0.00</u> | <u>0.00</u> | <u>0.00</u> |
| R (toluène / bromobenzène) | 3.19 | 3.36 | 3.72 | 4.03 |
| R (bromobenzène / éthylbenzène) | 7.10 | 7.56 | 8.78 | 10.29 |
| Durée de l'analyse (min) | 16.76 | 19.36 | 28.04 | 50.00 |
| Pression de la colonne (bar) | 90.34 | 96.55 | 109.24 | 120.27 |

(B)

| <u>Systèmes à Phases Mobiles binaires</u> | | | | |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
| (Acétonitrile - Eau) | | | | |
| % Acétonitrile | 65 | 60 | 55 | 50 |
| α (benzaldéhyde / acétophénone) | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.13 |
| α (acétophénone / nitrobenzène) | 1.40 | 1.44 | 1.63 | 1.45 |
| α (nitrobenzène / benzène) | 1.57 | 1.53 | 1.56 | 1.48 |
| α (benzène / phénétole) | 1.30 | 1.33 | 1.42 | 1.43 |
| α (phénétole / chlorobenzène) | 1.13 | 1.13 | 1.14 | 1.16 |
| α (chlorobenzène / toluène) | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| α (toluène / bromobenzène) | 1.14 | 1.14 | 1.15 | 1.15 |
| α (bromobenzène / éthylbenzène) | 1.33 | 1.34 | 1.39 | 1.43 |

Systèmes à phases mobiles binaires

Acétonitrile - Eau

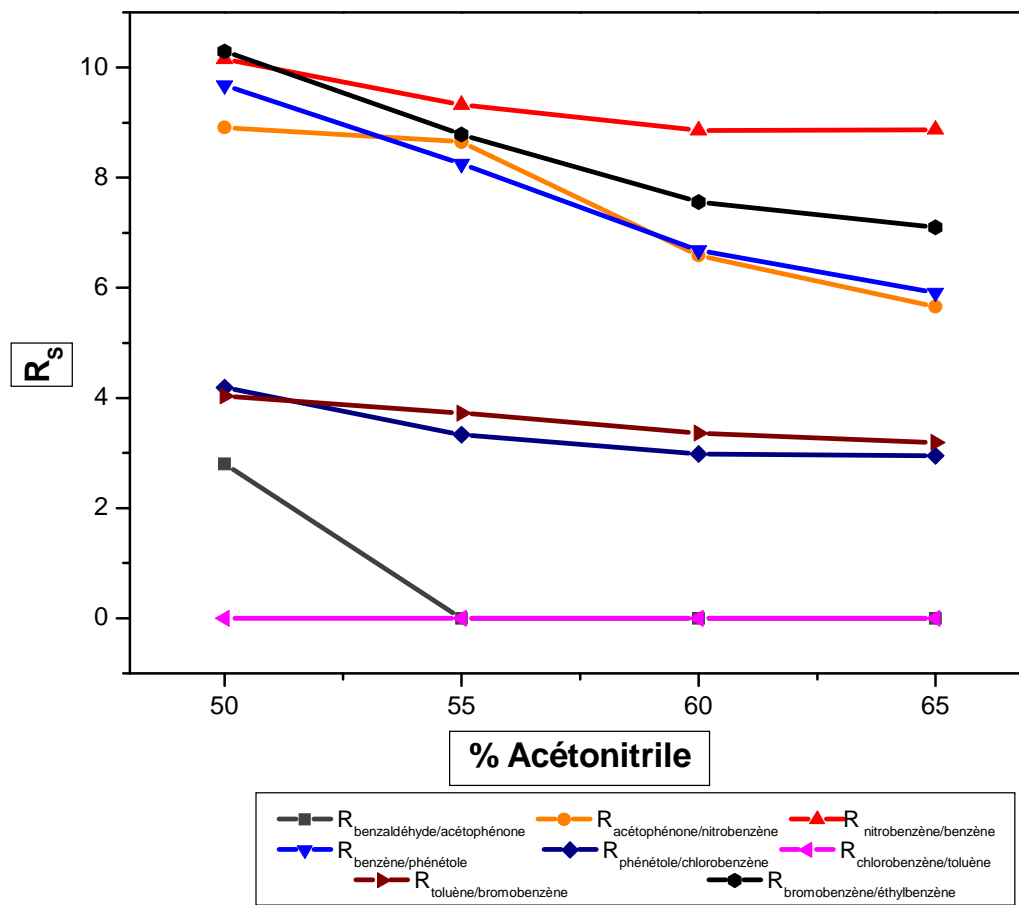
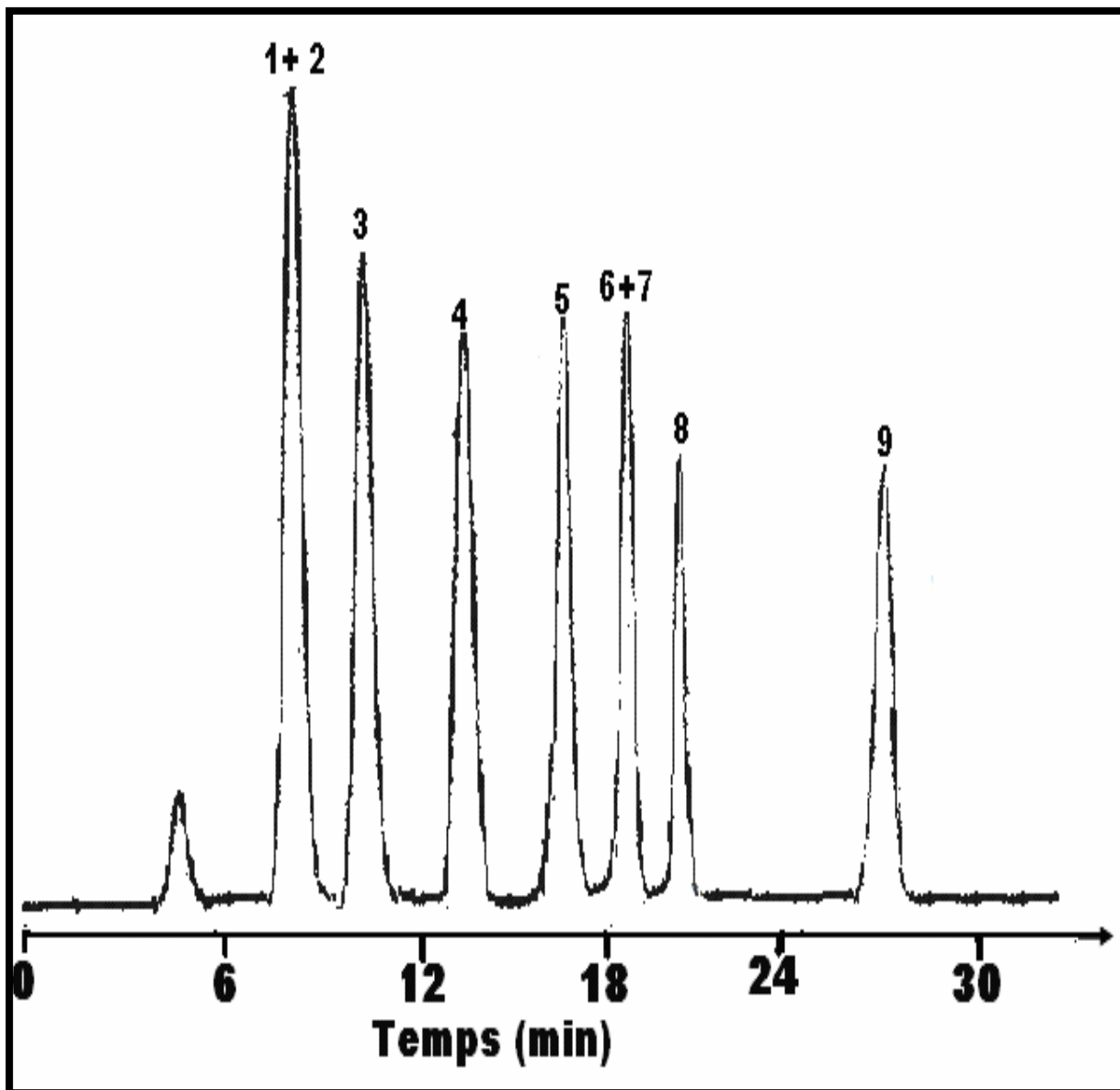


Figure (IV-5): Variation de la résolution (R_s) en fonction du pourcentage en acétonitrile dans la phase mobile (acétonitrile – eau).



(1) benzaldéhyde, (2) acétophénone, (3) nitrobenzène, (4) benzène, (5) phénétole,
 (6) chlorobenzène, (7) toluène, (8) bromobenzène, (9) éthylbenzène.

Figure (IV-6): Chromatogramme des benzènes monosubstitués séparés sur la colonne Omnispher C₁₈ à 55:45 (v/v) en Acétonitrile - Eau (0.8 ml.min⁻¹, λ 254 nm).

- **Les mélanges de type E-2M : Méthanol-Eau**

Nous avons remplacé l'acétonitrile par le méthanol pour changer la force éluante (sélectivité) de la phase mobile. Nous avons injecté un mélange de neuf composés benzéniques monosubstitués à différentes composition en méthanol dans la phase mobile (65 – 80 % MOH). Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau IV-3**. La variation de la résolution de l'ensemble des solutés en fonction du pourcentage méthanol dans la phase mobile est donnée sur la **Figure (IV- 7)**. L'examen des résultats obtenus dans le **Tableau IV-3** nous permet de susciter les remarques suivantes :

- A 70 et 65 % en MeOH, la résolution de l'ensemble des pics du mélange est satisfaisante. En effet, la résolution des deux couples critiques benzaldéhyde/acétophénone et chlorobenzène/toluène est $R_s \geq 1.5$.
- A 80 et 75 % en MeOH, la résolution des deux couples critiques est insuffisante ($R_s \leq 1.5$).
- A 65 % en MeOH, le temps d'analyse est excessive (31.09 minutes) et la pression en tête de colonne est élevée ($P = 124.13$ bar). Le meilleur compromis entre les trois critères d'appréciation est obtenu à 70 % en MeOH. Pour cette composition, le temps d'analyse est de 21.50 minutes ($P = 122.62$ bar), ce qui veut dire, qu'on gagne 10 minutes par rapport au temps d'analyse réalisé à 65 % en MeOH. En effet, à 70 % en MeOH, nous avons réduit la durée de l'analyse et la pression en tête de colonne en gardant toujours des résolutions satisfaisantes ($R_s > 1.5$) pour tous les pics du chromatogramme.
- Concernant le facteur de sélectivité (α), nous avons relevé des valeurs supérieures à 1 ($\alpha > 1$) pour l'ensemble des solutés étudiés pour toutes les compositions étudiées. Le système de phase mobile (méthanol – eau) présente un avantage certain puisqu'il permet de séparer les neuf composés de notre mélange.

La **Figure IV-8** illustre le chromatogramme obtenu pour une phase mobile binaire méthanol-eau (70:30 v/v).

Sur cette base des résultats obtenus, nous pouvons dire que, les systèmes de type **2M** séparent bien le mélange des neuf composés benzéniques monosubstitués étudiés ($R_s > 0$) comparativement aux autres systèmes binaires de type **2A** étudiés. Afin de

réduire la durée de l'analyse, la pression en tête de colonne et d'obtenir des résolutions satisfaisantes pour tous les pics, nous avons testé une phase mobile ternaire qui contient les deux solvants organiques l'acétonitrile et le méthanol.

Tableau (IV-3) : (A) Résolution (R_s) et (B) sélectivité (α) en fonction de la composition de la phase mobile des benzènes monosubstitués (colonne Omnispher C₁₈).

(A)

| Systèmes à Phases Mobiles binaires | | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| (Méthanol - Eau) | | | | |
| % Méthanol | 80 | 75 | 70 | 65 |
| <u>R</u> (benzaldéhyde / acétophénone) | <u>0.99</u> | <u>1.33</u> | <u>1.69</u> | <u>2.40</u> |
| R (acétophénone / nitrobenzène) | 3.37 | 4.28 | 5.04 | 5.86 |
| R (nitrobenzène / benzène) | 9.01 | 10.25 | 11.67 | 13.15 |
| R (benzène / phénétole) | 5.35 | 6.25 | 7.28 | 9.21 |
| R (phénétole / chlorobenzène) | 2.07 | 2.71 | 3.59 | 4.26 |
| <u>R</u> (chlorobenzène / toluène) | <u>0.80</u> | <u>1.25</u> | <u>2.02</u> | <u>2.77</u> |
| R (toluène / bromobenzène) | 2.10 | 2.19 | 2.09 | 1.70 |
| R (bromobenzène / éthylbenzène) | 7.74 | 8.60 | 9.49 | 11.31 |
| Durée de l'analyse (min) | 12.51 | 16.31 | 21.50 | 31.09 |
| Pression de la colonne (bar) | 96.55 | 117.24 | 122.62 | 124.13 |

(B)

| Systèmes à Phases Mobiles binaires | | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| (Méthanol - Eau) | | | | |
| % Méthanol | 80 | 75 | 70 | 65 |
| <u>α</u> (benzaldéhyde / acétophénone) | <u>1.13</u> | <u>1.12</u> | <u>1.14</u> | <u>1.09</u> |
| α (acétophénone / nitrobenzène) | 1.43 | 1.39 | 1.41 | 1.25 |
| α (nitrobenzène / benzène) | 1.99 | 1.87 | 1.90 | 1.63 |
| α (benzène / phénétole) | 1.37 | 1.36 | 1.40 | 1.38 |
| α (phénétole / chlorobenzène) | 1.11 | 1.13 | 1.16 | 1.15 |
| <u>α</u> (chlorobenzène / toluène) | <u>1.11</u> | <u>1.10</u> | <u>1.09</u> | <u>1.06</u> |
| α (toluène / bromobenzène) | 1.04 | 1.05 | 1.08 | 1.10 |
| α (bromobenzène / éthylbenzène) | 1.44 | 1.43 | 1.45 | 1.47 |

Systemes à phases mobiles binaires

Méthanol - Eau

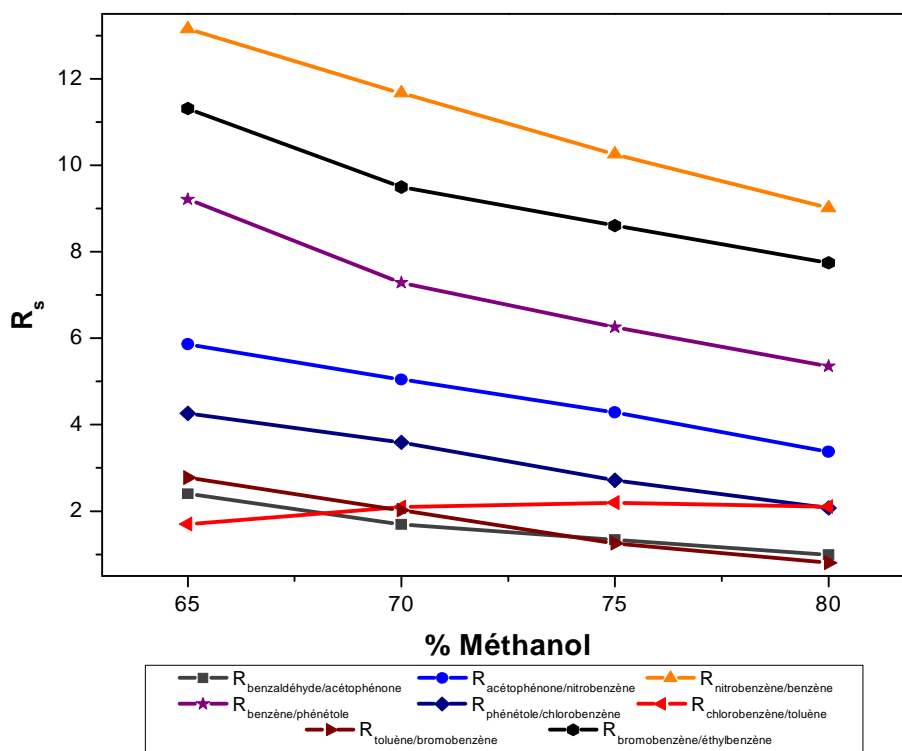
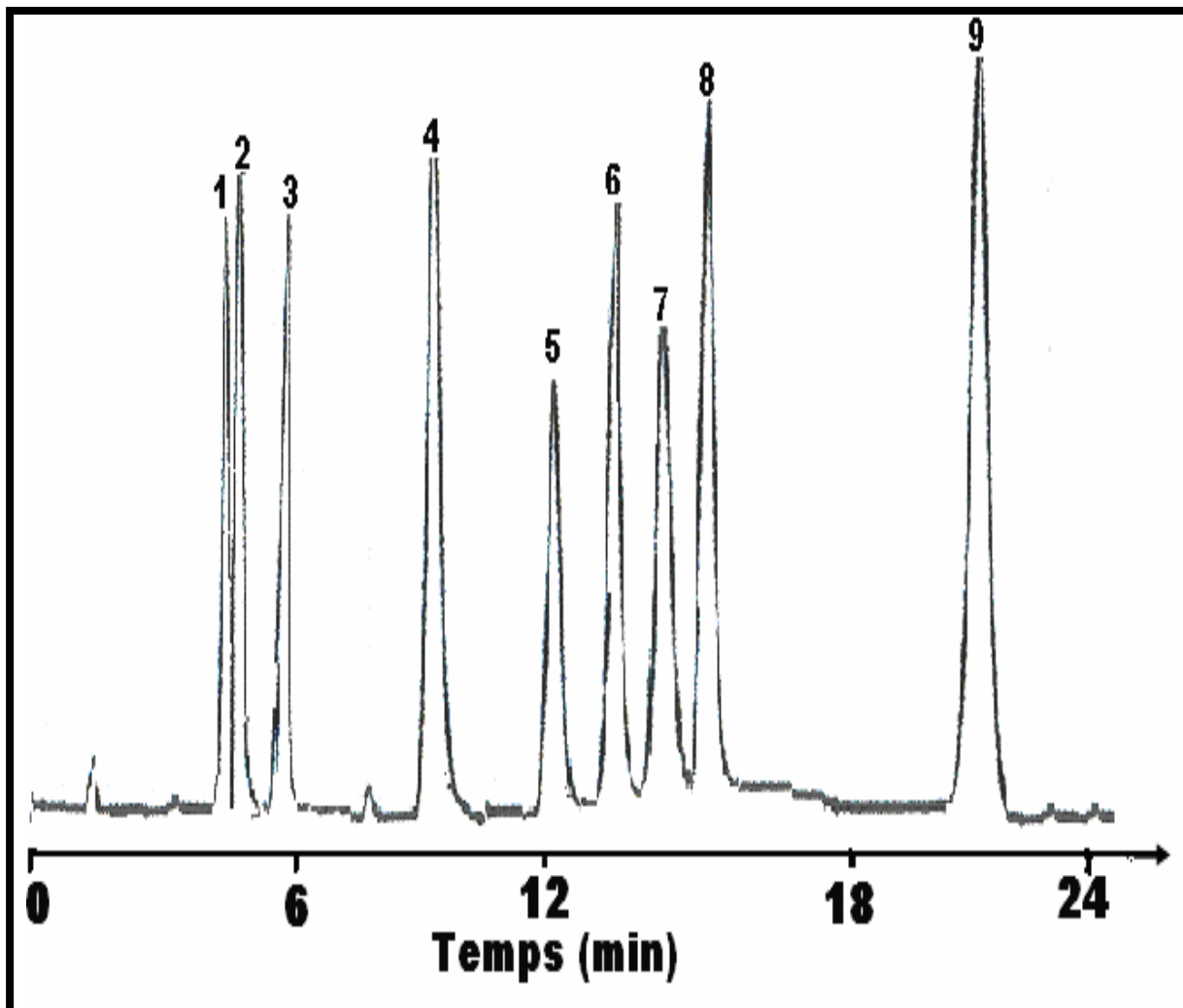


Figure (IV-7): Variation de la résolution (R_s) en fonction du pourcentage en méthanol dans la phase mobile (méthanol – eau).



(1) benzaldéhyde, (2) acétophénone, (3) nitrobenzène, (4) benzène, (5) phénétole, (6) chlorobenzène, (7) toluène, (8) bromobenzène, (9) éthylbenzène.

Figure (IV-8): Chromatogramme des benzènes monosubstitués séparés sur la colonne Omnispher C₁₈ à 70:30 (v/v) en Méthanol-Eau (0.8 ml.min⁻¹, λ 254 nm).

B) Systèmes à phases mobiles ternaires:

➤ Les mélanges de type E3 : Acétonitrile + Méthanol + Eau.

Nous avons analysé le mélange des neuf composés benzéniques en utilisant différentes compositions de phases mobiles ternaires qui contiennent les deux solvants organiques (méthanol et acétonitrile). Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau IV-4**, qui nous permet de sélectionner aisément la composition qui nous donne des résolutions acceptables pour l'ensemble des solutés, un temps d'analyse et une pression en tête de colonne raisonnables. La variation de la résolution en fonction de la composition de la phase mobile est donnée sur **la Figure (IV-9)**.

- Concernant la composition E3(A), nous avons relevé une co-élution du couple benzaldéhyde/acétophénone et la résolution du couple chlorobenzène/toluène est insuffisante ($R_s = 0.68$). Pour la composition E3(B), une bonne résolution du couple benzaldéhyde/acétophénone est obtenue ($R_s = 1.84$), par contre, celle du couple chlorobenzène/toluène reste insuffisante ($R_s = 0.98$).

- Pour le système d'éluant E3(D), la résolution de l'ensemble des solutés est très satisfaisantes ($R_s > 1.5$) et le temps d'analyse est raisonnable (19.24 minutes et $P = 122$ bar). Cependant, le meilleur compromis entre la résolution, la durée de l'analyse et pression en tête de colonne est obtenu pour le système d'éluant E3(C). Concernant ce dernier, nous pouvons accepter une résolution $R_s = 1.45$ pour le couple chlorobenzène/toluène afin de réduire la pression en tête de colonne ($P = 110$ bar correspondant à un temps d'analyse de 19.33 minutes).

- En ce qui concerne le facteur de sélectivité, nous remarquons que la valeur de la sélectivité du couple benzaldéhyde/acétophénone est égale à 1 ($\alpha = 1$) (couple co-élué) et ceci dans la composition E3 (A). Par contre, celle du couple chlorobenzène/toluène est supérieure à 1 ($\alpha = 1.04$).

- Pour les systèmes E3 (B), E3 (C) et E3 (D), nous constatons que la sélectivité est supérieure à 1 pour l'ensemble des solutés étudiés.

La **Figure (IV-10)** illustre le chromatogramme obtenu pour la composition E3(C).

Tableau (IV-4) : (A) Résolution (R_s) et (B) sélectivité (α) en fonction de la composition de la phase mobile des benzènes monosubstitués (colonne Omnispher C₁₈).

(A)

| <u>Systèmes à Phases Mobiles Ternaires</u> | | | | |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| (Acétonitrile - Méthanol - Eau) | | | | |
| Composition | E3(A) | E3(B) | E3(C) | E3(D) |
| | (50-30-20) | (20-50-30) | (10-60-30) | (5-65-30) |
| <u>R</u> (<u>benzaldéhyde / acétophénone</u>) | <u>0.00</u> | <u>1.84</u> | <u>1.67</u> | <u>1.60</u> |
| R (acétophénone / nitrobenzène) | 2.70 | 5.25 | 4.57 | 4.55 |
| R (nitrobenzène / benzène) | 6.28 | 10.45 | 10.40 | 10.55 |
| R (benzène / phénétole) | 3.84 | 8.66 | 7.26 | 7.27 |
| R (phénétole / chlorobenzène) | 1.61 | 3.60 | 3.40 | 3.15 |
| <u>R</u> (<u>chlorobenzène / toluène</u>) | <u>0.68</u> | <u>0.98</u> | <u>1.45</u> | <u>1.75</u> |
| R (toluène / bromobenzène) | 1.64 | 3.05 | 3.88 | 2.11 |
| R (bromobenzène / éthylbenzène) | 5.49 | 9.37 | 8.79 | 9.47 |
| Durée de l'analyse (min) | 9.06 | 23.77 | 19.33 | 19.24 |
| Pression de la colonne (bar) | 65.17 | 166.41 | 110.06 | 122.00 |

(B)

| <u>Systèmes à Phases Mobiles Ternaires</u> | | | | |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| (Acétonitrile - Méthanol - Eau) | | | | |
| Composition | E3(A) | E3(B) | E3(C) | E3(D) |
| | (50-30-20) | (20-50-30) | (10-60-30) | (5-65-30) |
| <u>α</u> (<u>benzaldéhyde / acétophénone</u>) | <u>1.00</u> | <u>1.18</u> | <u>1.11</u> | <u>1.14</u> |
| α (acétophénone / nitrobenzène) | 1.68 | 1.49 | 1.31 | 1.40 |
| α (nitrobenzène / benzène) | 2.09 | 1.86 | 1.70 | 1.87 |
| α (benzène / phénétole) | 1.37 | 1.52 | 1.38 | 1.42 |
| α (phénétole / chlorobenzène) | 1.12 | 1.17 | 1.15 | 1.15 |
| <u>α</u> (<u>chlorobenzène / toluène</u>) | <u>1.04</u> | <u>1.04</u> | <u>1.06</u> | <u>1.04</u> |
| α (toluène / bromobenzène) | 1.11 | 1.13 | 1.10 | 1.09 |
| α (bromobenzène / éthylbenzène) | 1.39 | 1.46 | 1.41 | 1.47 |

Systèmes à phases mobiles ternaires

Acétonitrile - Méthanol - Eau

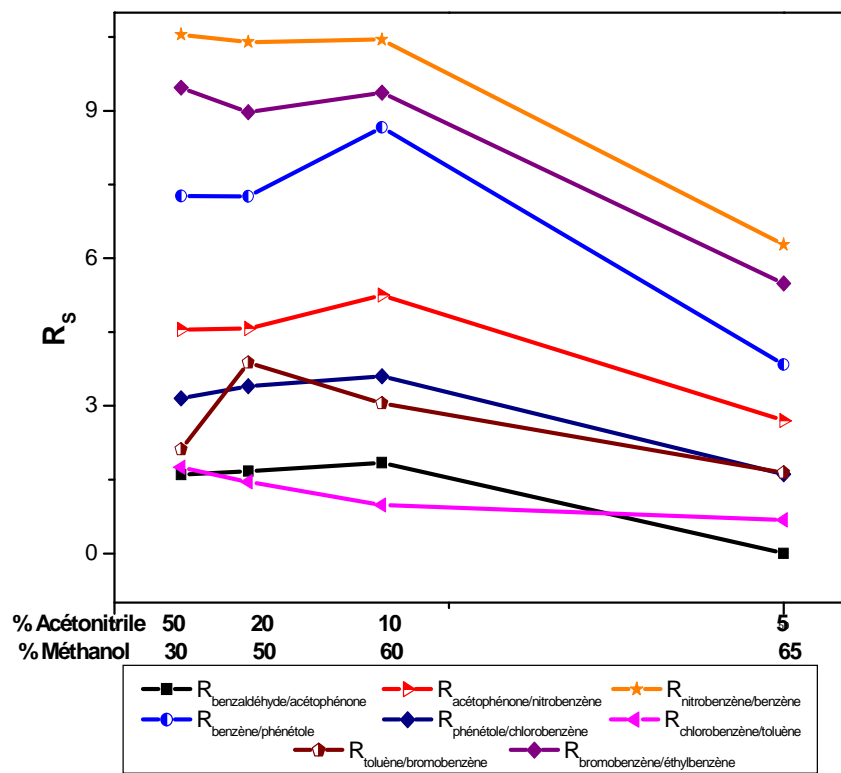
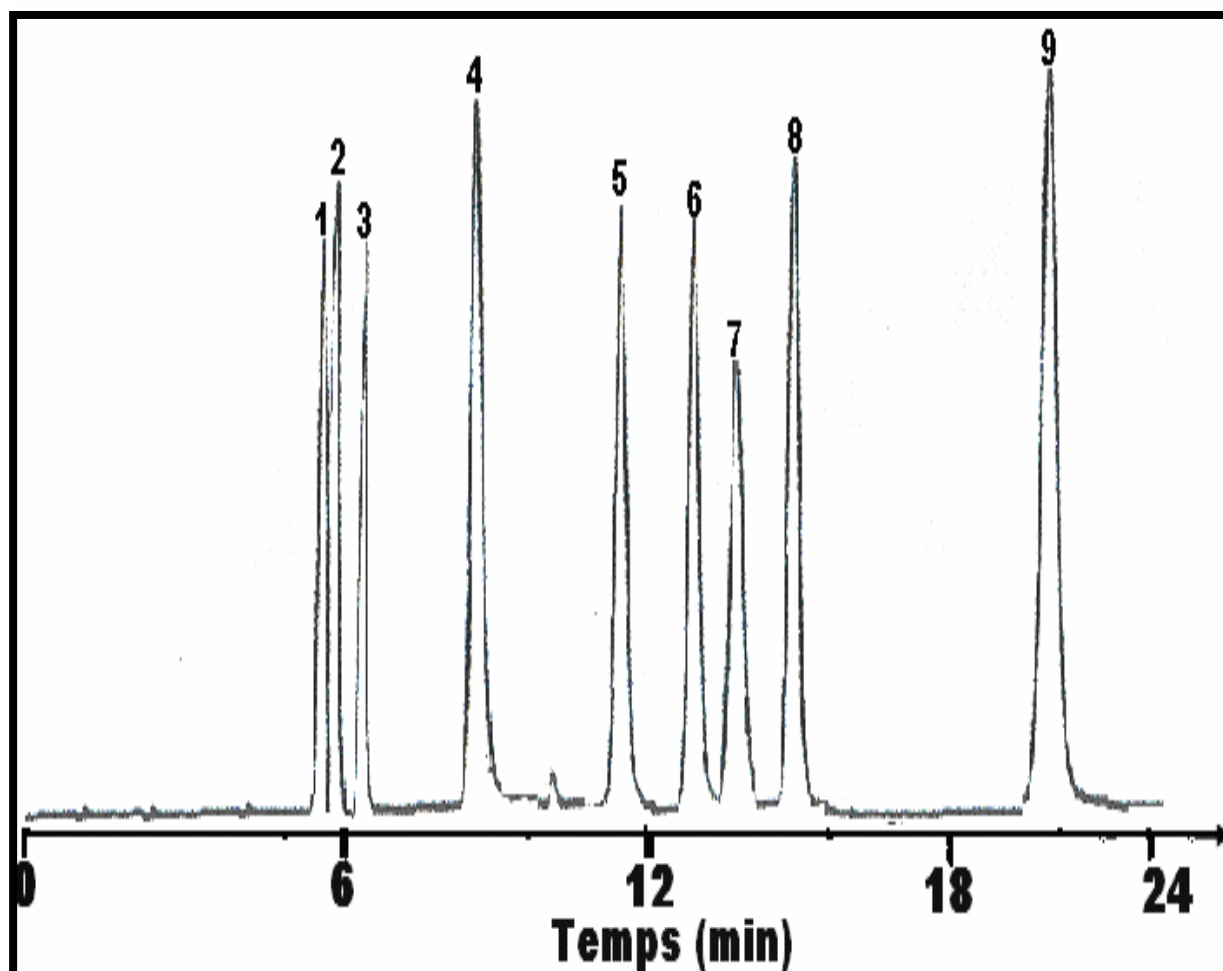


Figure (IV-9): Variation de la résolution (R_s) en fonction du pourcentage en acétonitrile et méthanol dans la phase mobile (acétonitrile - méthanol).



(1) benzaldéhyde, (2) acétophénone, (3) nitrobenzène, (4) benzène, (5) phénétole, (6) chlorobenzène, (7) toluène, (8) bromobenzène, (9) éthylbenzène.

Figure (IV-10): Chromatogramme des benzènes monosubstitués séparés sur la colonne Omnispher C₁₈ à 10:60:30 (v/v/v) en Acétonitrile-Méthanol-Eau (0.8 ml.min⁻¹, λ 254 nm).

C) Systèmes à phases mobiles quaternaires :

- **Les mélanges de type E4 : Acétonitrile + Méthanol + THF + Eau.**

Afin de tester une phase mobile quaternaire, nous avons ajouté un troisième solvant organique qui est le tétrahydrofurane (THF). Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **Tableau IV-5**. La variation du facteur de résolution en fonction de la composition de la phase mobile est donnée sur la **Figure (IV-11)**.

L'examen des résultats rassemblés dans le **Tableau IV-5**, permet de susciter les remarques suivantes :

- Pour les trois systèmes d'éluants quaternaires étudiés E4 (A), E4 (B) et E4 (C), nous remarquons que, la résolution des deux couples critiques benzaldéhyde/acétophénone et chlorobenzène/toluène n'est pas satisfaisante ($R_s < 1.5$). Pour les deux systèmes E4 (B) et E4(C), le couple benzaldéhyde/acétophénone est co-élué ($R_s = 0$). Cependant, pour le système E4 (A), si on accepte une résolution minimale $R_s = 1$, ceci correspond à 98% de séparation, alors, le meilleur compromis entre la résolution, la durée de l'analyse et la pression en tête de colonne est obtenu pour ce dernier. La durée de l'analyse est > 20 minutes (22.43 minutes) et la pression en tête de colonne est raisonnable ($P = 114.34$ bar).

- Pour les deux systèmes E4 (B) et E4 (C), nous remarquons que, la valeur du facteur de sélectivité du couple benzaldéhyde/acétophénone est égale à 1 (couple co-élué). Par contre, celle du couple chlorobenzène/toluène est supérieure à 1. Cependant, pour le système E4 (A), nous avons relevé les valeurs du facteur de sélectivité supérieur à 1 ($\alpha > 1$) pour chaque couple des solutés étudiés.

La **Figure IV-12** illustre le chromatogramme obtenu pour la composition E4 (A).

A partir des résultats obtenus, nous pouvons avancer que, aucun des quatre systèmes quaternaires étudiés **E4(A)**, **E4(B)** et **E4(C)**, ne nous a permis d'obtenir une résolution suffisante pour l'ensemble des solutés ($R_s > 1.5$ qui est un critère prépondérant). Donc, nous pouvons dire que les systèmes quaternaires de type **E4** ne sont pas préconisés pour la séparation des composés benzéniques monosubstitués étudiés dans ce travail.

Tableau (IV-5) : (A) Résolution (R_S) et (B) sélectivité (α) en fonction de la composition de la phase mobile des sur la colonne Omnispher C₁₈.

(A)

| Systèmes à Phases Mobiles Quaternaires (Acétonitrile - Méthanol - Tétrahydrofuranne - Eau) | | | |
|---|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Composition | E4(A) (5-60-5-30) | E4(B) (20-50-5-25) | E4(C) (15-60-5-20) |
| <u>R</u> (benzaldéhyde / acétophénone) | <u>1.09</u> | <u>0.00</u> | <u>0.00</u> |
| R (acétophénone / nitrobenzène) | 7.15 | 4.17 | 4.19 |
| R (nitrobenzène / benzène) | 10.95 | 8.40 | 6.14 |
| R (benzène / phénétole) | 7.22 | 4.52 | 4.51 |
| R (phénétole / chlorobenzène) | 4.31 | 3.16 | 2.85 |
| <u>R</u> (chlorobenzène / toluène) | <u>1.30</u> | <u>0.99</u> | <u>1.25</u> |
| R (toluène / bromobenzène) | 2.56 | 1.80 | 1.54 |
| R (bromobenzène / éthylbenzène) | 9.14 | 6.26 | 6.43 |
| Durée de l'analyse (min) | 22.43 | 12.28 | 12.44 |
| Pression de la colonne (bar) | 114.34 | 102.8 | 110.06 |

(B)

| Systèmes à Phases Mobiles Quaternaires (Acétonitrile - Méthanol - Tétrahydrofuranne - Eau) | | | |
|---|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Composition | E4(A) (5-60-5-30) | E4(B) (20-50-5-25) | E4(C) (15-60-5-20) |
| <u>α</u> (benzaldéhyde / acétophénone) | <u>1.04</u> | <u>1.00</u> | <u>1.00</u> |
| α (acétophénone / nitrobenzène) | 1.71 | 1.53 | 1.45 |
| α (nitrobenzène / benzène) | 1.86 | 1.87 | 1.74 |
| α (benzène / phénétole) | 1.40 | 1.30 | 1.28 |
| α (phénétole / chlorobenzène) | 1.20 | 1.18 | 1.15 |
| <u>α</u> (chlorobenzène / toluène) | <u>1.05</u> | <u>1.05</u> | <u>1.06</u> |
| α (toluène / bromobenzène) | 1.11 | 1.09 | 1.07 |
| α (bromobenzène / éthylbenzène) | 1.44 | 1.34 | 1.34 |

Systèmes à phases mobiles quaternaires
Acétonitrile-Méthanol-Tétrahydrofurane-Eau

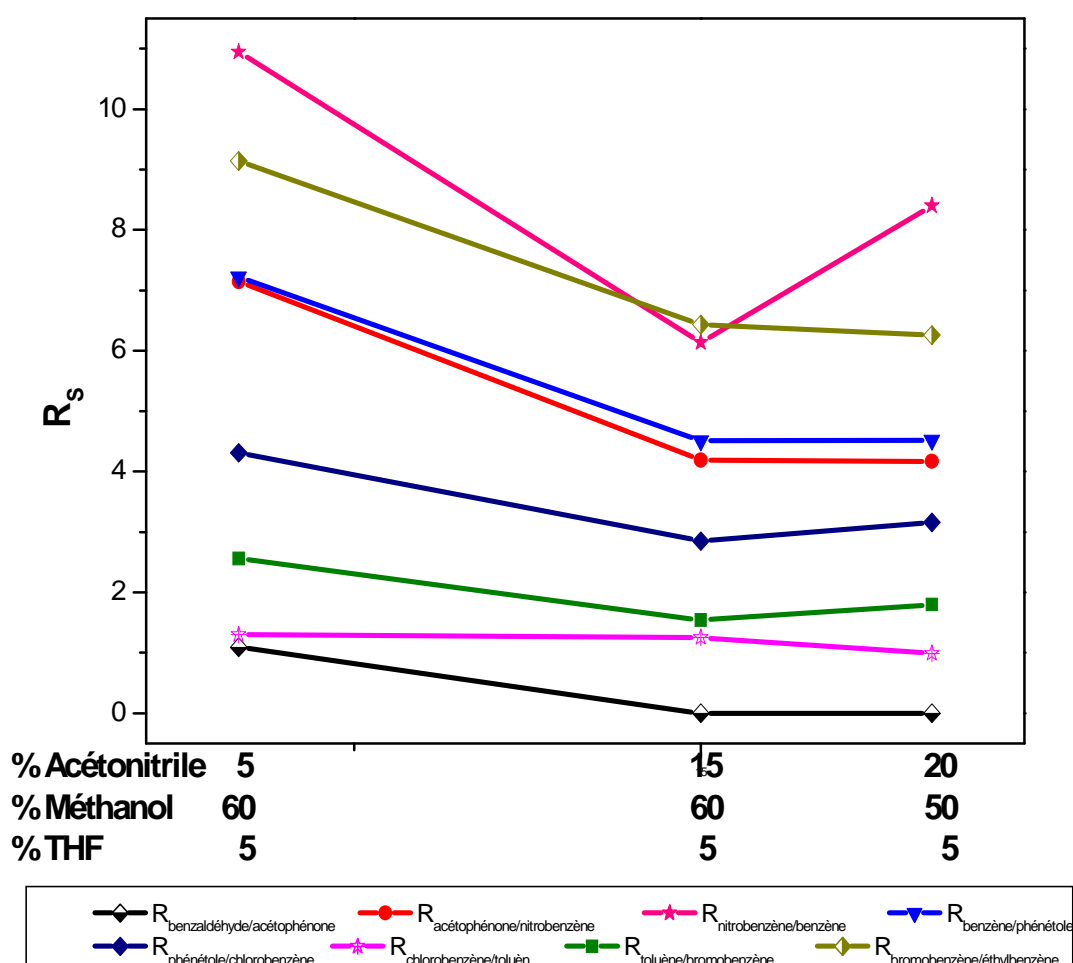
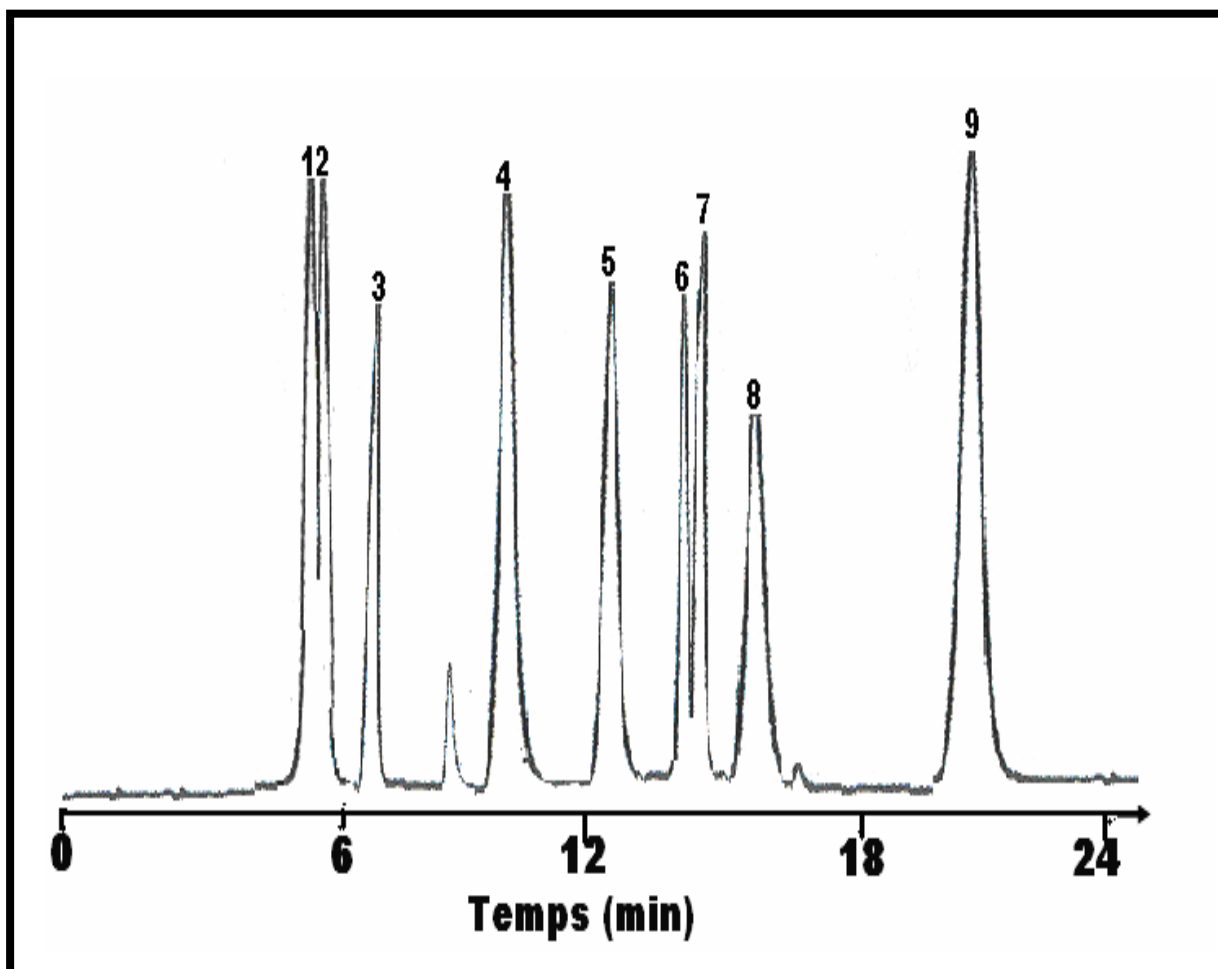


Figure (IV-11): Variation de la résolution (R_s) en fonction du pourcentage en acétonitrile, méthanol et tétrahydrofurane dans la phase mobile (acétonitrile - méthanol – THF - eau).



(1) benzaldéhyde, (2) acétophénone, (3) nitrobenzène, (4) benzène, (5) phénétole,
 (6) chlorobenzène, (7) toluène, (8) bromobenzène, (9) éthylbenzène.

Figure (IV-12): Chromatogramme des benzènes monosubstitués séparés sur la colonne Omnispher C₁₈ à 5:60:5:30 (v/v/v/v) en Acétonitrile-Méthanol-THF-Eau (0.8 ml.min⁻¹, λ 254 nm).

IV-3) Conclusion :

Dans cette partie, nous avons étudié la séparation d'un mélange de neuf composés benzéniques monosubstitués sur la colonne Omnispher C₁₈, et ceci en considérant différents systèmes de phases mobiles (systèmes à phases mobiles binaires, ternaires et quaternaires). Les résultats obtenus permettent de faire les conclusions suivantes :

Les systèmes à phases mobiles binaires de type **E-2M** (méthanol-eau) sont plus préconisés pour une bonne séparation des couples critiques benzaldéhyde/acétophénone et chlorobenzène/toluène comparativement aux systèmes à phases mobiles binaires de type **E-2A** (acétonitrile-eau), où deux co-élutions ont été relevées (benzaldéhyde/acétophénone et chlorobenzène/toluène).

Le meilleur compromis entre les trois critères d'appréciation retenus dans ce travail (résolution, durée de l'analyse et pression en tête de colonne) est en faveur des systèmes à phases mobiles ternaires **E3** (acétonitrile-méthanol-eau).

Les résultats obtenus en utilisant les systèmes à phases mobiles quaternaires **E4** (acétonitrile-méthanol-tétrahydrofurane-eau) ne sont pas probants.



Conclusion Générale

Ce travail constitue une contribution à l'étude systématique de la rétention de quelques composés benzéniques monosubstitués en CLHP. La rétention des séries 2-cétones, alkylphénones et de dix composés benzéniques monosubstitués comportant différentes fonctions chimiques (hydroxyle, carbonyle, nitro, halogène,) a été décrite à partir des données de rétention déterminées par trois méthodes mathématiques différentes : la méthode expérimentale de Kovàts, la méthode statistique de régression multiparamétrique et la méthode d'interpolation cubique. La méthode d'interpolation cubique a été appliquée pour la première fois en CLHP dans le cadre de ce travail.

Sur la base des résultats obtenus, un certain nombre de conclusions ont pu être tirées :

- La méthode multiparamétrique permet d'obtenir des indices de rétention de bonne qualité avec leurs écarts types. La méthode d'interpolation cubique permet d'obtenir aisément à partir des temps de rétention bruts les indices de rétention des composés benzéniques monosubstitués étudiés. Les indices de rétention obtenus par la méthode multiparamétrique et l'interpolation cubique sont en bon accord avec la méthode expérimentale de Kovàts.

Cependant, la méthode de Kovàts et l'interpolation cubique présente deux inconvénients :

- 1) L'absence d'information statistiques sur l'exactitude des résultats.
- 2) L'interpolation linéaire de Kovàts est fixée par le choix de 2 homologues et l'interpolation cubique par le choix de 4 homologues. Alors, dans le cas où le soluté considéré n'est pas encadré par 2 homologues (KO) ou 4 homologues (IC), le calcul des indices de rétention de certains solutés (phénol, benzaldéhyde et acétophénone) a été impossible par les méthodes KO et IC en utilisant la série aromatique des alkylphénones.

- Les indices de rétention obtenus par la méthode multiparamétrique dépendent des paramètres chromatographiques de séparation, tels que : la nature et la composition de la phase mobile (méthanol-eau et acétonitrile-eau), la température de la colonne et l'utilisation de divers matériaux de remplissage pour une même phase stationnaire.

Par ailleurs, l'étude a montré que la variation des indices de rétention des solutés comportant une fonction moyennement polaire (carbonyle ou nitro) est beaucoup plus marquée que celle des composés comportant une fonction apolaire (halogène, alkyle ou éther) . Les indices de rétention du composé comportant une fonction polaire hydroxyle (phénol) ont montré une variation très importante.

- La qualité d'une séparation est jugée en fonction de certains paramètres, telles que : la résolution, la durée de l'analyse et la pression en tête de colonne. Nous avons étudié différents systèmes de phases mobiles (binaires, ternaires et quaternaires).

Les systèmes à phases mobiles binaires **E-2M** (méthanol-eau) sont plus préconisés pour une bonne séparation des benzènes monosubstitués et en particulier des couples critiques (benzaldéhyde/acétophénone et chlorobenzène/toluène) comparativement aux systèmes à phases mobiles binaires **E-2A** (acétonitrile-eau), où deux co-élutions ont été relevées. Par ailleurs, le meilleur compromis entre les trois critères d'appréciation retenus (résolution, durée de l'analyse et pression en tête de colonne) est en faveur des systèmes à phases mobiles ternaires **E3** (acétonitrile-méthanol-eau).

Les résultats obtenus en utilisant les systèmes à phases mobiles quaternaires **E4** (acétonitrile-méthanol-tétrahydrofurane-eau) ne sont pas probants.

Efin, ce travail offre de nouvelles Perspectives:

- Concernant la détermination des indices de rétention, il serait intéressant d'appliquer les trois méthodes mathématiques (Multiparamétrique, Interpolation Cubique et Kovàts) à d'autres familles de composés monoaromatiques disubstitués et également à des composés polyaromatiques.

- Concernant l'optimisation des conditions chromatographiques de séparation des benzènes monosubstitués, il serait nécessaire d'étudier les autres facteurs qui peuvent influencer la rétention des solutés en chromatographie liquide, comme, la température de la colonne et le pH de la phase mobile. Par la suite, développer des méthodes mathématiques de simulation des données de rétention assistées par ordinateur pour l'optimisation des conditions chromatographiques de séparation de plusieurs matrices complexes en chromatographie liquide.



Bibliographie

- [1] E.Kováts, *Helv. Chim. Acta.*, **1958**, 41, 1915.
- [2] J.K.Baker, L.A.Cates, M.D.Corbett, J.W.Huber, D.L.Lattin, *J.Liq.Chromatogr.*, **1982**, 5(5), 829.
- [3] R.J.Smith, J.K.Haken, M.S.Wainwright, *J. Chromatogr.* , **1985**, 334, 95.
- [4] L.S.Ettre, *Chromatographia* , **1980**, 13, 73.
- [5] M.S.Wainwright, J.K.Haken, *J.Chromatogr.* , **1980**, 184, 1.
- [6] A.Malik, K.Jinno, *Chromatographia* , **1990**, 30 (3/4), 135.
- [7] W.E.Wentworth, *J. Chem. Ed.*, **1965**, 42, 96.
- [8] M.Maeck, A.Y.Badjah Hadj Ahmed, A.Touabet, B.Y.Meklati, *Chromatographia*, 1986, 22, 245.
- [9] A.Touabet, thèse de Doctorat Es-Sciences, juin **1990**, USTHB.
- [10] A.Touabet, M.Maeck, A.Y.Badjah Hadj Ahmed, B.Y.Meklati, *Chromatographia*, **1988**, 25, 389.
- [11] L.Didaoui, A.Touabet, B.Y. Meklati, *J. High Resol. Chromatogr.* , **1996**, 19, 543.
- [12] L.Didaoui, A.Touabet, B.Y. Meklati, *J. High Resol. Chromatogr.* , **1997**, 20, 605.
- [13] L.Didaoui, thèse de Magister, septembre **1993**, USTHB.
- [14] L.Didaoui, A. Touabet, A.Y. Badjah Hadj Ahmed, B.Y. Meklati, W. Engewald, *J. High Resol. Chromatogr.* , **1999**, 22(10), 559.
- [15] L.Didaoui, A. Touabet, B.Y. Meklati, U. Lewin, W. Engewald, *J. High Resol. Chromatogr.* , **1999**, 22(11), 613.
- [16] L.Didaoui, thèse de Doctorat d'Etat, mars **2002**, USTHB.
- [17] A.T. James, A.J.P. Martin, *Biochem.* , **1952**, 50, 679.
- [18] J.F. Smith, *Chem. & Ind.* (London), 1960, 1024.
- [19] W.K.Al-Thamir, J.H.Purnell, C.A.Wellington, *J. Chromatogr.*, **1979**, 173, 388.
- [20] A.Grobler, G.Balizes, *J. Chromatogr. Sci.* , **1974**, 12, 57.
- [21] X.Guardino, J.Albaigés, G.Firpo, R.Rodriguez-vinals, M.Gassiot, *J. Chromatogr.*, **1976**, 118, 13.
- [22] H.C.Furr, *J. Chromatogr. Sci.* , **1989**, 27, 216.
- [23] E.H.Slaats, J.C.Kraak, W.J.T.Brugman, H.Poppe, *J. Chromatogr.* , **1978**, 149, 255.
- [24] G.E.Berendsen, P.J.Schoenmakers, L. de Galan, G.Vigh, Z.Varga-Puchnoy, J.Inczedy, *J. Liq. Chromatogr.* , **1980**, 3(11), 1669.
- [25] R.M. McCormick, B.L. Karger, *Anal. Chem.* , **1980**, 52, 2249.
- [26] A.M.Krstulovic, H.Colin, G.Guiochon, *Anal. Chem.* , **1982**, 54, 2438.
- [27] H.Engelhardt, H.Müller, B.Dreyer, *Chromatographia*, **1984**, 19, 240.
- [28] W.Kenneth, J.R.Street, *J. Chromatographic Science*, **1984**, 22, 225.
- [29] J.H.Knox, R.Kaliszan, G.Kennedy, *Symp. Faraday. Soc.* , **1980**, 15, 113.
- [30] J.H.Knox, R.Kaliszan, *J. Chromatogr.*, **1985**, 349, 211.
- [31] A.W.J.De Jong, J.C.Kraak, H.Poppe, F.Nooitgedacht, *J. Chromatogr.* , **1980**, 193, 181.
- [32] M.J.M.Wells, C.R.Clark, *Anal. Chem.* , **1981**, 53, 1341.
- [33] W.Melander, D.E.Campell, C.Horvath, *J.Chromatogr.*, **1978**, 158, 215.

- [34] P.J.Schoenmakers, H.A.H.Billiet, R.Tijssen, L.Galan, *J.Chromatogr.*, **1978**, 149, 519.
- [35] K.Jinno, N.Ozaki, T.Sato, *Chromatographia* **1983**, 17, 341.
- [36] J.W.Dolan, *LC-GC INT.* , **1994**, 17(1), 14.
- [37] B.Neidhart, K.P. Kringe, W.Brockmann, *J. Liq. Chromatogr.*, **1981**, 4(10), 1875.
- [38] B.Neidhart, K.P.Kring, W.Bockmann, *J. Liq. Chromatogr.*, **1982**, 5(7), 1395.
- [39] J.K. Baker, *Anal. Chem.* , **1979**, 51(11), 1693.
- [40] J.K. Baker, *J. Chromatogr. Sci.*, **1980**, 18, 153.
- [41] R.M. Smith, *J.Chromatogr.*, **1982**, 236, 321.
- [42] R.M. Smith, T.G. Hurdley, R.Gill, A.C. Moffat, *Chromatographia* , **1984**, 19, 407.
- [43] R.M. Smith, *J.Chromatogr.* , **1985**, 324, 243.
- [44] R.Gill, A.C. Moffat, R.M. Smith, T.G. Hurdley, *J.Chromatogr. Sci.* , **1986**, 240, 153.
- [45] R.M.Smith, G.A.Murilla, T.G.Hurdley, R.Gill, A.C. Moffat, *J.Chromatogr.*, **1987**, 384, 259.
- [46] R.M. Smith,G.A. Murilla, C.M. Burr, *J.Chromatogr.* , **1987**, 388, 37.
- [47] R.M.Smith, J.P.Westlake, R.Gill, M.D.Osselton, *J.Chromatogr.* , **1987**, 398, 73.
- [48] R.Gill, M.D.Osselton, R.M.Smith, T.G.Hurdley, *J.Chromatogr.* , **1987**, 386, 65.
- [49] R.M.Smith, T.G.Hurdley, J.P.Westlake, R.Gill, D.A.Osselton, *J.Chromatogr.* , **1988**, 455, 77.
- [50] R.M.Smith,G.A. Murilla, *J.Chromatogr.* , **1989**, 475, 57.
- [51] R.M.Smith,G.A. Murilla, *J.Chromatogr.* , **1989**, 475, 75.
- [52] R.M.Smith, J.P.Westlake, R.Gill, M.D.Osselton, *J.Chromatogr.* , **1990**, 514, 97.
- [53] R.M. Smith, N.Finn, *J.Chromatogr.* , **1991**, 537, 51.
- [54] R.M.Smith, J.P.Westlake, R.Gill, M.D.Osselton, *J.Chromatogr.*, **1992**, 592, 85.
- [55] M.Bogusz, *J. Chromatogr.* , **1987**, 387, 404.
- [56] M.Bogusz, R.Aderjan, R.A.DE Zeeuw, *Z. Rechtsmed* , **1987**, 98, 263.
- [57] R.Aderjan, M.Bogusz, *J. Chromatogr.* , **1988**, 454, 345.
- [58] Letter to the Editor (de R.M. Smith à M.Bogusz): *J. Analytical toxicology*, **1989**, 13, 375.
- [59] M.Bogusz, M.Erkens, R.D. Maier, I.Schröder, *J. Liq. Chromatogr.*, **1992**, 15(1), 127.
- [60] M.Bogusz, M.Erkens, J.P.Frank, J.Wijsbeek, R.A. DE Zeeuw, *J. Liq. Chromatogr.*, **1993**, 16(6), 1341.
- [61] M.Bogusz, J.P.Franke, R.A.Zeeuw, M.Erkens, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1993**, 347, 73.
- [62] M.Bogusz, M. Erkens, *J. Chromatogr.*, **1994**, 674, 97.
- [63] M.Bogusz, M. Erkens, *J. Analytical Toxicology* , **1995**, 19, 51.
- [64] M.Bogusz, D.W.Hill, A.R.Rehorek, *J.Liq.Chromatogr. & Rel. Technol.*, **1996**, 19(8), 1291.
- [65] Hand book of chemistry and physics, 66th Edition, (**1985-1986**), CRC. Press Inc. BocaRaton, Florida, USA.
- [66] J. Pachner, « Hand Book of Numerical Analysis Applications », Mc Graw-Hill Book Co Ed, 210-213.
- [67] A. Hassani, B.Y.Meklati, *Chromatographia*, **1992**, 33 (5/6), 267-271.

- [68] A. Hassani, thèse de Doctorat Es-Sciences, **1992**, USTHB.
- [69] Z. L. Sun, L. J. Song, X. T. Zhang, Z. D. Huang, *Chromatographia*, **1996**, 42 (1/2), 43-48.
- [70] Z. L. Sun, L. J. Song, X. T. Zhang, Z. D. Huang, *J.Chromatogr. Sci.*, **1997**, 35, 105-116.
- [71] N. C. Fladung, *J. Chromatogr.*, **1995**, 692, 21-26.
- [72] O. Jáuregui, E. Moyano, M. T. Galceran, *J. Chromatogr.*, **1997**, 787, 79-89.
- [73] L. Wennrich, J. Efer, W. Engewald, *Chromatographia*, **1995**, 41 (5/6), 361-366.
- [74] Y. S. Nikitin, S. N. Lanin, A. Al-Ahmed, *Chromatographia*, **1997**, 45, 408-413.
- [75] L.R.Snyder, J.W.Dolan, D.C.Lommen, *J. Chromatogr.* , **1989**, 485, 63.
- [76] R.G.Lehmann, J.R.Miller, *J. Chromatogr.*, **1989**, 485, 581.
- [77] D.J.Thompson, W.D.Ellenson, *J. Chromatogr.* , **1989**, 485, 607.
- [78] J.D.Stuart, D.D.Lisi, L.R.Snyder, *J. Chromatogr.* , **1989**, 485, 657.
- [79] J.A.Lewis, L.R.Snyder, J.W.Dolan, *J. Chromatogr.* , **1996**, 721, 15.
- [80] L.R.Snyder, J.W.Dolan, *J. Chromatogr.* , **1996**, 721, 3.
- [81] K.H.Row, *J. Chromatogr.* , **1998**, 797, 23.
- [82] J.W.Dolan, L.R.Snyder, N.M.Djordjevic, D.W.Hill, D.L.Saunders, L.V.Heukelem, J.Waeghe, *J. Chromatogr.*, **1998**, 803, 1.
- [83] S.Goga, S.Heinisch, J.L.Rocca, *Chromatographia* , **1998**, 48 (3/4), 237.
- [84] J.A.Hernández-Arteseros, J.Barbosa, R.Compañó, M.D.Pratt, *Chromatographia*, **1998**, 48 (3/4), 251.
- [85] T.Yoshida, *J. Chromatogr.* , **1998**, 811, 61.
- [86] J.W.Dolan, L.R.Snyder, D.L.Saunders, L.V.Heukelem, *J. Chromatogr.* , **1998**, 803, 33.
- [87] L.Didaoui, U. Lewin-Kretzschmar, A.Touabet, W. Engewald, *24th International Symposium on Chromatography*, Leipzig, Germany, September 15-20, **2002**.
- [88] L.Didaoui, U. Lewin-Kretzschmar, A.Touabet, W. Engewald, *Chromatographia*, **2003**, 57, 129-135.
- [89] R. Rosset, M. Caude, A. Jardy, Manuel pratique de chromatographie en phase liquide, **1982**, Edition Masson.
- [90] U. D. Neue, M. Zoubair El Fallah, HPLC Columns (theory, technology, and practice, **1997**, Edition Wiley-VCH.
- [91] A. H. Schmidt, I. Molnar, *J. Chromatogr. A* **2002**, 948, 51-63.
- [92] H. J. Rieger, I. Molnar, *J. Chromatogr. A* **2002**, 948, 43-49.
- [93] I. Molnar, *J. Chromatogr. A* **2002**, 965, 175-194.
- [94] L. Didaoui, U. Lewin-Kretzschmar, A. Touabet, W. Engewald, *Cromatographia*, **2003**, 57 , 129.
- [95] H. J. Rieger, I. Molnar, *LaborPraxis LP3*, **2003**, 40-42.



Partie Expérimentale

A) Chromatographie liquide à haute performance (CLHP) :

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé deux chromatographes :

* Un chromatographe **PERKIN ELMER** muni de :

- une pompe quaternaire,
- un injecteur de type Reodyne muni d'une loupe de 5 μL ,
- un détecteur UV/Visible à longueur d'onde variable (254 nm),
- et un régulateur thermique qui permet le control de la température de la colonne (précision : ± 0.1 °C).

* Un chromatographe **THERMO SEPARATION PRODUCT** muni de :

- une pompe binaire,
- un injecteur de type Reodyne muni d'une loupe de 20 μL ,
- et un détecteur UV/Visible à longueur d'onde variable (254 nm).

B) Conditions de mesure

- Les solvants organiques utilisés sont le méthanol, l'acétonitrile et le tétrahydrofuranne. Ils sont des solvants (gradient Grade) qui proviennent de chez Merck ou Fluka. Ils sont filtrés et dégazés au préalable.
- L'eau utilisée a été préalablement distillée et ensuite filtrée en utilisant un appareil "MILLI-Q Plus", (Waters).
- Le débit de la phase mobile est de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ou 0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.
- Les séries homologues et les composés benzéniques monosubstitués étudiés dans ce travail (Tableau 1 donné dans l'introduction générale) sont des produits commerciaux de très haute qualité [chromatographic reagent grade] et ont un taux de pureté annoncé supérieur à 98%. La provenance des produits utilisés est de Promochem, Merck, Aldrich ou Fluka.



ANNEXE

Tableau A-1: Indices de rétention (I) et facteurs de rétention (k) de quelques composés benzéniques monosubstitués à différentes compositions de la phase mobile.

| Systemes à phases mobiles binaires | | | | | | | | | |
|---|------------------------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Méthanol - Eau | | | | | | | | | |
| Colonne | | Nucléosil 120 C₁₈ | | | | | | | |
| % Méthanol | | 80 | | 75 | | 70 | | 65 | |
| Paramètres de rétention | | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) |
| <u>Benzènes Monosubstitués</u> | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 474.9 | 471.1 | 440.3 | 453.7 | 461.7 | 463.4 | 508.4 | 508.2 |
| Benzaldéhyde | H-C=O | 595.3 | 586.2 | 621.8 | 610.2 | 576.0 | 575.1 | 582.6 | 582.0 |
| Acétophénone | CH₃C=O | 602.1 | 602.2 | 649.1 | 625.8 | 596.4 | 596.2 | 615.1 | 614.6 |
| Nitrobenzène | NO₂ | 683.5 | 684.4 | 694.8 | 678.4 | 674.0 | 673.3 | 680.2 | 679.5 |
| Benzène | H | 762.5 | 762.2 | 740.2 | 742.1 | 736.3 | 735.9 | 743.8 | 748.0 |
| Phénétole | OC₂H₅ | 830.7 | 831.0 | 813.1 | 812.3 | 806.8 | 806.9 | 814.2 | 822.0 |
| Chlorobenzène | Cl | 856.1 | 856.6 | 841.2 | 838.8 | 828.9 | 829.3 | 839.0 | 845.0 |
| Toluène | CH₃ | 868.0 | 868.5 | 849.3 | 846.6 | 839.1 | 839.5 | 841.5 | 847.4 |
| Bromobenzène | Br | 890.1 | 890.4 | 873.0 | 870.4 | 8602.9 | 861.5 | 870.2 | 873.5 |
| Ethylbenzène | C₂H₅ | 952.6 | 948.3 | 920.7 | 926.7 | 921.7 | 920.5 | 925.4 | 921.6 |

(KO) : Méthode de Kovats [1].

(IC) : Méthode d'interpolation cubique [10].

Tableau A-2: Indices de rétention (I) et facteurs de rétention (k) de quelques composés benzéniques monosubstitués à différentes compositions de la phase mobile.

| Systèmes à phase mobiles binaires | | | | | | |
|--|------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Acétonitrile - eau | | | | | | |
| Colonne | μBondapak C₁₈ | | | | | |
| % Acétonitrile | | 50 | 55 | 60 | 65 | 70 |
| Paramètres de rétention | | I (IC) | I (IC) | I (IC) | I (IC) | I (IC) |
| <u>Benzènes monosubstitués</u> | | | | | | |
| Phénol | OH | 470.3 | 538.0 | 416.4 | 635.9 | 634.2 |
| Benzaldéhyde | H-C=O | 582.3 | 610.9 | 571.8 | 726.4 | 726.1 |
| Acétophénone | CH₃C=O | 582.3 | 610.9 | 571.8 | 726.4 | 726.1 |
| Nitrobenzène | NO₂ | 661.8 | 685.3 | 644.1 | 777.9 | 766.6 |
| Benzène | H | 714.7 | 731.4 | 663.1 | 807.9 | 810.1 |
| Phénétole | OC₂H₅ | 786.5 | 803.0 | 781.1 | 860.6 | 860.0 |
| Chlorobenzène | Cl | 803.3 | 817.2 | 797.0 | 875.8 | 876.5 |
| Toluène | CH₃ | 803.3 | 817.2 | 797.0 | 875.8 | 876.5 |
| Bromobenzène | Br | 830.7 | 843.4 | 822.3 | 901.6 | 811.6 |
| Ethylbenzène | C₂H₅ | 897.8 | 906.2 | 892.6 | 943.9 | 951.8 |

(IC) : Méthode d'interpolation cubique [10].

Tableau A-3 : Effet de la température de la colonne sur la variation des indices (I) et des facteurs de rétention (k) de quelques composés benzéniques monosubstitués. Composition de la phase mobile (acétonitrile-eau (60:40, v/v))

| Colonne | | μ Bondapak C ₁₈ | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Température (°C) | | 30 | | 35 | | 40 | | 45 | | 50 | |
| Paramètre de Rétention | | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) |
| <u>Benzènes Monosubstitués</u> | | | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 428.2 | 430.2 | 427.6 | 428.1 | 418.0 | 418.5 | 406.0 | 406.0 | 405.2 | 405.0 |
| Acétophénone | CH₃C=O | 557.8 | 557.6 | 561.9 | 561.5 | 547.6 | 547.5 | 557.8 | 557.3 | 550.2 | 549.8 |
| Nitrobenzène | NO₂ | 668.7 | 666.4 | 648.8 | 647.9 | 635.0 | 634.4 | 650.4 | 649.2 | 631.6 | 631.1 |
| Benzène | H | 708.3 | 708.3 | 704.8 | 704.8 | 701.9 | 701.8 | 700.9 | 700.9 | 697.6 | 697.5 |
| Phénétole | OC₂H₅ | 777.3 | 777.3 | 776.0 | 775.8 | 768.6 | 767.7 | 768.8 | 768.6 | 769.4 | 768.8 |
| Toluène | CH₃ | 795.5 | 795.5 | 795.3 | 795.2 | 797.1 | 796.9 | 791.0 | 790.9 | 790.4 | 790.2 |
| Bromobenzène | Br | 828.1 | 828.0 | 823.9 | 823.8 | 822.0 | 821.8 | 817.6 | 817.5 | 817.7 | 817.7 |

(KO) : méthode de kovàts [1].

(IC) : Méthode d'interpolation cubique [10].

Tableau A-4: Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne sur la variation des facteurs de rétention (k) et des indices de rétention (I) de quelques composés benzéniques monosubstitués.

Conditions : composition de la phase mobile (méthanol-eau 65:35 (v/v)), (température de la colonne 30 °C), débit 1mL.min⁻¹.

| Phase stationnaire | | Octadécyle-silice (C ₁₈) | | | | | | | | Octyle (C ₈) | |
|---------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|--------|------------------------|--------------|---------------------|--------------|----------------------|--------|---------------------------|--------------|
| Colonne | | (A) Europher 100 | | (B) Sphérisorb ODS2 | | (C) UltraSepESEX | | (D) Nucléosil 120 | | (E) Nucléosil 100 (HD) | |
| Paramètres de Rétention | | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) | I (IC) | I (KO) |
| <u>Benzènes Monosubstitués</u> | | | | | | | | | | | |
| Phénol | OH | 449.7 | --- | 451.7 | --- | 455.2 | 457.4 | 508.4 | 508.2 | 465.2 | 465.2 |
| Benzaldéhyde | H-C=O | 554.2 | --- | 567.4 | 573.5 | 560.6 | 560.0 | 582.6 | 582.0 | 504.7 | 504.6 |
| Acétophénone | CH ₃ C=O | 632.8 | --- | --- | --- | 592.8 | 592.6 | 615.1 | 614.6 | 534.8 | 533.9 |
| Nitrobenzène | NO ₂ | 719.1 | 637.2 | 650.0 | 652.1 | 649.3 | 648.7 | 680.2 | 679.5 | 582.4 | 581.9 |
| Benzène | H | 784.5 | 720.3 | 705.8 | 706.1 | 709.4 | 709.3 | 743.8 | 743.3 | 663.5 | 663.2 |
| Phénétole | OC ₂ H ₅ | 811.8 | 785.3 | 775.5 | 776.2 | 784.3 | 784.2 | 814.2 | 814.5 | 731.9 | 731.6 |
| Chlorobenzène | Cl | 817.6 | 812.3 | 804.5 | 804.7 | 810.2 | 810.3 | 841.5 | 842.3 | 762.4 | 762.1 |
| Toluène | CH ₃ | 838.5 | 818.3 | 804.5 | 804.7 | 810.2 | 810.3 | 855.9 | 856.7 | 762.4 | 762.1 |
| Bromobenzène | Br | 900.0 | 839.7 | 832.7 | 833.8 | 840.0 | 840.4 | 870.2 | 871.0 | 783.1 | 782.9 |
| Ethylbenzène | C ₂ H ₅ | 904.1 | 900.0 | 886.4 | 887.1 | 891.96 | 892.1 | 925.4 | 923.7 | 852.1 | 853.8 |

(KO) : méthode de Kovats [1].

(IC) : Méthode d'interpolation cubique [10]

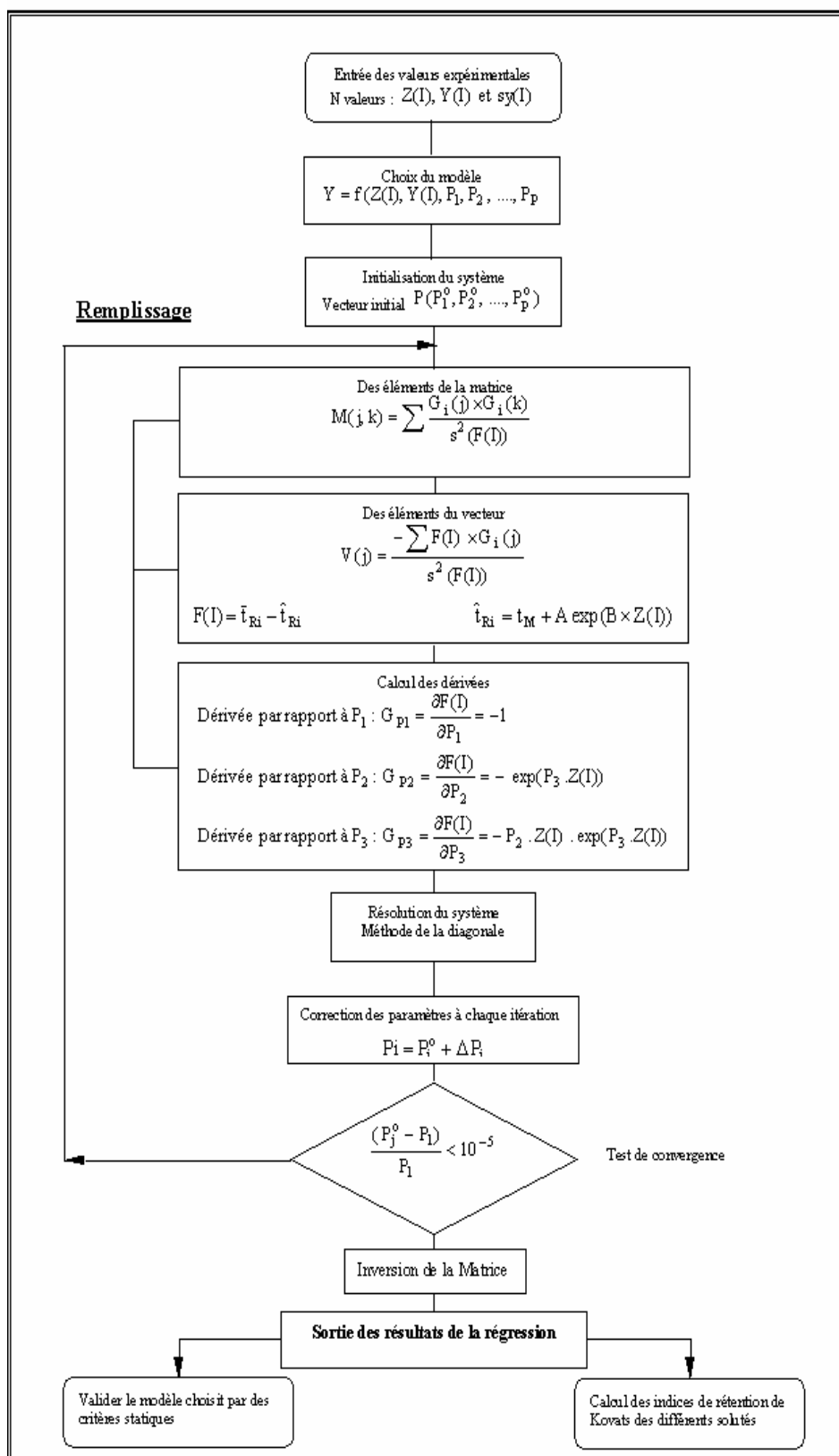


Figure 1: Algorithme de la méthode multiparamétrique.