

Activité N°12 :

RECAPITULATION GENERALE – CONCEPTION D'UN SIMULATEUR DE CHROMATOGRAMMES

Nous allons réaliser un simulateur de chromatogrammes qui va nous permettre de récapituler et de bien assimiler toutes les grandeurs fondamentales de la chromatographie et de voir leurs diverses interdépendances.

1) Les données préalables :

Les paramètres fondamentaux qu'il faut fixer au préalable sont les suivants :

Paramètres physiques de la colonne et de son garnissage :

- Longueur en cm : **long**
- Diamètre interne en cm : **dint**
- Porosité : **poro**
- Diamètre des particules de phase stationnaire en μm : **dpart**

Paramètres de séparation :

Ils dépendent des natures des phases stationnaire et mobile utilisées.

- Constante d'équilibre de partition du composé le plus retenu : **KeqB**
- Sélectivité : **α**
- Débit de la phase mobile :
Débit en $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$: **debit**

2) Données déduites des paramètres fondamentaux :

Volume interne de la colonne en mL : **Vint**

$$V_{\text{int}} = \text{long} * \pi * \text{dint}^2 / 4$$

Volume mort de la colonne en mL : **Vmort**

$$V_{\text{mort}} = \text{poro} * V_{\text{int}}$$

Temps mort en min : **tmort**

$$t_{\text{mort}} = V_{\text{mort}} / \text{débit}$$

Vitesse linéaire moyenne en $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$: **umoy**

$$u_{\text{moy}} = \text{long} / t_{\text{mort}}/60$$

Vitesse linéaire optimale en $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$: **uopt**

$$u_{\text{opt}} = 0,5 / \text{dpart}$$

Débit optimal en ml/min : **dopt**

$$d_{opt} = V_{mort} * u_{opt} * 60 / \text{long}$$

hauteur équivalente optimale en cm : h_{opt}

$$h_{opt} = 3 \text{ dpart} / 10000$$

Paramètres de Knox :

$$h = A + B / u + C * u$$

A est supposé nul

$$h = B / u + C * u$$

Attention aux unités :

u en $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$

h en cm

B en $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

C en s^{-1}

On sait que d'après la formule empirique :

$$h_{opt} \text{ (cm)} = 3 \text{ dpart} / 10000 \text{ et } u_{opt} \text{ (cm} \cdot \text{s}^{-1}\text{)} = 0,5 / \text{dpart}$$

Nous avons établi les expressions de B et C :

$$B = 7,5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$$

$$C = 3 \cdot 10^{-4} \text{ dpart}^2$$

Hauteur équivalente réelle : h_{reel}

En exprimant B et C en fonction de h_{opt} et u_{opt} :

$$h_{reel} \text{ (en cm)} = h_{opt} * u_{opt} / 2 / u + h_{opt} / 2 / u_{opt} * u$$

Ou en exprimant B et C en fonction de dpart :

$$h_{reel} \text{ (en cm)} = 0,75 \cdot 10^{-4} / u + 3 \cdot 10^{-4} * \text{dpart}^2 * u$$

Efficacité de la colonne : N_{reel}

On suppose que l'efficacité est la même pour les deux composés.

$$N = \text{long} / h_{reel} * 10000$$

Caractéristiques des pics chromatographiques :

Composé B :

Constante de partition : K_{eqB}

Facteur de rétention : k_{retB}

$$k_{retB} = K_{eqB} * V_{stat} / V_{mort}$$

Volume d'élution en mL : V_{RB}

$$V_{RB} = V_{mort} + K_{eqB} * V_{stat}$$

temps de rétention en min : t_{RB}

$$t_{RB} = V_{RB} / \text{debit}$$

Ecart type du pic : σ_B
 $\sigma_B = t_{RB} / N_{reel}$

Temps de rétention réduit : t_{RBred}
 $t_{RBred} = t_B - t_{mort}$

Efficacité réelle : N_{effB}
 $N_{effB} = t_{RBred}^2 / \sigma_B^2$

Composé A :

Constante de partition : K_{eqA}
 $K_{eqA} = K_{eqB} / \alpha$

Facteur de rétention : k_{retA}
 $k_{retA} = K_{eqA} * V_{stat} / V_{mort}$

Volume d'élution en mL : V_{RA}
 $V_{RA} = V_{mort} + K_{eqA} * V_{stat}$

temps de rétention en min : t_{RA}
 $t_{RA} = V_{RA} / \text{debit}$

Ecart type du pic : σ_A
 $\sigma_A = t_{RA} / N_{reel}^{0.5}$

Temps de rétention réduit : t_{RAred}
 $t_{RAred} = t_{RA} - t_{mort}$

Efficacité réelle : N_{effA}
 $N_{effA} = t_{RAred}^2 / \sigma_A^2$

Résolution : R

On peut la déterminer de 4 façons différentes :

R « vrai » : $1/2 (t_{RB} - t_{RA}) / (\sigma_A + \sigma_B)$

R approximation 1 : $R_{app1} = 1/2 (t_{RB} - t_{RA}) / (t_{RA} + t_{RB})$

R approximation 2 : $R_{app2} = 1/4 * N_{effB}^{0.5} * (\alpha - 1) / \alpha$

R Purnel : $R_{purnel} = 1/4 N_{reel}^{0.5} * (\alpha - 1) / \alpha * k_{retB} / (1 + k_{retB})$

On a maintenant tous les éléments nécessaires pour simuler le chromatogramme. On peut réaliser un programme sur calculatrice (voir page suivante) ou une feuille de calcul EXCEL pour réaliser cette simulation.

Un simulateur « tout prêt » [SIMULCHRO.xls](#) vous est fourni

SIMULCHRO.XLS

Un simulateur « en kit » vous est également fourni il faudra le compléter [Simulchro_a_faire.xls](#) en y introduisant les bonnes formules.

SIMULCHRO_a_faire.XLS

Utilisez la feuille Excel pour bien comprendre l'effet des divers paramètres et leurs influences sur la séparation.

Il est aussi possible de créer un simulateur sur calculatrice dont voici le programme.

PROGRAMME POUR TI 89 - TI 92 - TI 92 PLUS

Simulchrom

()

Prgm

NewProb

setMode("Exact/Approx","APPROXIMATE")

Dialog

Title "simul chro"

Text "simulateur de chromatogrammes"

Text " par Thierry Briere"

EndDlog

Text "donnees fondamentales"

Input "porosité",poro

Input "longueur en cm",long

Input "diametre interne en cm",dint

Input "diametre particules en µm",dpart

Input "K équilibre B",keqb

Input "selectivite a",alpha

$0.5/dpart \rightarrow uopt$

$\pi * dint^2 / 4 * long \rightarrow vint$

$poro * vint \rightarrow vmort$

$vmort * uopt * 60 / long \rightarrow dopt$

Disp "uopt "&string(uopt)&"cm/s"

Disp "debit optimal "&string(dopt)&"mL/min"

Input "debit en ml.min-1",debit

vint-vmort→vstat

vmort/debit→tmort

long/tmort/60→umoy

3*dpart/10000→hopt

$7.5 \cdot 10^{-5}/umoy + 0.0003 \cdot dpart^2 \cdot umoy \rightarrow hreel$

long/hreel→nreel

Dialog

Title "Données déduites"

Text "volume interne "&string(vint)&" mL"

Text "volume mort "&string(vmort)&" mL"

Text "volume stationnaire "&string(vstat)&" mL"

Text "temps mort "&string(tmort)&" min"

EndDlog

Dialog

Title "Données déduites"

Text "u optimal "&string(uopt)&" cm/s"

Text "h optimal "&string(hopt)&" cm"

Text "u moy reelle "&string(umoy)&" cm/s"

Text "h reelle "&string(hreel)&" cm"

Text "efficacite "&string(nreel)&" pltx"

EndDlog

keqb/alpha→keqa

keqa*vstat/vmort→kreta

vmort+keqa*vstat→vra

vra/debit→tra

tra/nreel^(0.5) →sigmaa

tra-tmort→treda

(treda/sigmaa)^2→neffa

Dialog

Title "Compose A"

Text "kret A "&string(kretb/alpha)

Text "Keq A "&string(keqa)

Text "VR A "&string(vra)&" mL"

```
Text "tR A "&string(tra)&" min"
Text "tred A "&string(treda)&" min"
Text "sigma A "&string(sigmaa)&" min"
Text "N eff A "&string(neffa)&" pltx"
EndDlog
```

$keqb \cdot vstat / vmort \rightarrow kretb$

$vmort + keqb \cdot vstat \rightarrow vrb$

$vrb / debit \rightarrow trb$

$trb / nreel^{(0.5)} \rightarrow sigmab$

$trb - tmort \rightarrow tredb$

$(tredb / sigmab)^2 \rightarrow neffb$

Dialog

Title "Compose B"

Text "kret B "&string(kretb)

Text "Keq B "&string(keqb)

Text "VR B "&string(vrb)&" mL"

Text "tR B "&string(trb)&" min"

Text "tred B "&string(tredb)&" min"

Text "sigma B "&string(sigmab)&" min"

Text "N eff B "&string(neffb)&" pltx"

EndDlog

$0.5 \cdot (trb - tra) / (\sigma_{aa} + \sigma_{ab}) \rightarrow rvrai$

$0.5 \cdot nreel^{(0.5)} \cdot (trb - tra) / (trb + tra) \rightarrow rap1$

$1/4 \cdot neffb^{(0.5)} \cdot (\alpha - 1) / \alpha \rightarrow rap2$

$1/4 \cdot nreel^{(0.5)} \cdot (\alpha - 1) / \alpha \cdot kretb / (1 + kretb) \rightarrow rpurnel$

Dialog

Title "Résolution"

Text "R vrai "&string(rvrai)

Text "R app 1 "&string(rap1)

Text "R app 2 "&string(rap2)

Text "R Purnel "&string(rpurnel)

EndDlog

$seq(t, t, 0, 1.3 \cdot trb, trb / 50) \rightarrow listt$

$1 / \sigma_{ab} \cdot \exp(-(\text{listt} - trb)^2 / 2 / \sigma_{ab}^2) \rightarrow picb$

$1 / \sigma_{ab} \cdot \exp(-(\text{listt} - tra)^2 / 2 / \sigma_{aa}^2) \rightarrow pica$

$pica + picb \rightarrow listchro$

NewPlot 1, 2, listt, listchro, , , , 5

ZoomData

EndPrgm