

# MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE IONIQUE



Rapport de stage effectué à  
l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse  
du 02/05 au 23/06/95

Stéphane PRIOUX, étudiant à  
l'I.U.T. MESURES PHYSIQUES  
Metz Technopôle 2000

# SOMMAIRE

19554

• <b>Sommaire</b>	p 1
• <b>Remerciements</b>	p 3
• <b>Introduction</b>	p 4
• <b>Présentation de l'Agence de l'eau Rhin Meuse</b>	p 5
• <b>Sujet de stage</b>	p 8
<i>A Libellé du sujet</i>	
<i>B Perspective de la méthode</i>	
• <b>Classification des méthodes chromatographiques</b>	p 8
<i>A Selon la nature des phases</i>	p 9
<i>B Selon la technologie nécessaire pour mettre en oeuvre la méthode</i>	p 10
<i>C Selon la nature des phénomènes mis en jeu dans la séparation</i>	p 10
<i>1 La chromatographie d'adsorption</i>	
<i>2 La chromatographie de partage</i>	
<i>3 La chromatographie d'exclusion stérique</i>	
<i>4 La chromatographie d'appariement d'ions</i>	
<i>5 Chromatographie d'appariement d'ions</i>	
a) Fonctionnement de la colonne	
b) Phase mobile	
c) Détection par conductimétrie	
• <b>Descriptif technique de la méthode</b>	p 15
<i>A Principe</i>	p 15
<i>B Schémas de montage</i>	p 15

<b>C Appareillages utilisés</b>	<b>P 16</b>
1 La pompe et le système d'injection	
2 La colonne	
3 La pré-colonne	
4 Le détecteur	
5 L'in tégrateur	
<b>• Mise au point de la méthode</b>	<b>P 17</b>
<b>A Problème rencontrés lors de la mise en route</b>	<b>P 17</b>
1 Problème d'étanchéité	
2 Problème de colonne	
3 Poursuite des essais avec une nouvelle colonne de même type	
<b>B Calcul d'efficacité et de résolution</b>	<b>P 19</b>
1 Calcul d'efficacité	
2 Calcul de résolution	
<b>C Détermination des temps de rétention et étude de linéarité</b>	<b>P 20</b>
1. Détermination des temps de rétention	
2 , Tableau de résultats	
<b>• Protocole expérimental</b>	<b>P 22</b>
<b>A. Préparation de l'éluant</b>	
<b>B. Réglage des paramètres</b>	
<b>C. Démarrage du système</b>	
<b>D. Pré traitement d'un échantillon industriel</b>	
<b>• Conclusion</b>	<b>P 24</b>
<b>A. Aspects techniques</b>	<b>P 24</b>
1. Objectifs atteints	
2. Amélioration à apporter	
<b>B. Aspect général</b>	<b>P 25</b>
<b>• Résumé du stage en anglais</b>	<b>P 26</b>

## **REMERCIEMENTS**

Je tiens à remercier Monsieur Christophe BREUZIN de m'avoir accueilli à la Division Milieu Naturel et données techniques.

Je remercie également Madame Catherine ALBERT, M. Denis BESOZZI, et Melle Antonella MARTELLI pour leur amabilité et leur disponibilité.

\*\*\*

# INTRODUCTION

Notre formation de futur technicien supérieur prévoit un stage d'une durée de 8 semaines.

Ce stage doit nous permettre de conforter nos connaissances théoriques aux applications concrètes, mais aussi de nouer des contacts avec le monde de la profession.

Ce stage doit être effectué en **fin** de seconde année d'études, dans les services techniques d'une entreprise industrielle, ou dans un établissement public de l'Etat, qui traite la pollution de l'eau.

En ce qui me concerne, j'ai effectué mon stage durant la période du 2 mai 1995 au 23 juin 1995 à l'Agence de l'Eau "RHIN-MEUSE", au service de la Division Milieu Naturel et données techniques.

## ***PRESENTATION DE L'AGENCE DE L'EAU***

### ***Les Agences de l'Eau :***

Les Agences de l'Eau ont été créées par la première "loi sur l'Eau" de 1964, relative au régime et à la répartition des eaux et à la lutte contre la pollution.

Cette loi de 1964 instaure la décentralisation de la politique de l'eau et la gestion "concertée" de l'eau par le biais de ces agences, appelée alors "Agences Financières de Bassin", et de leurs organismes de bassin.

Les agences de l'eau sont au nombre de 6 :

- l'Agence de l'Eau Adour-Garonne
- l'Agence de l'Eau Artois-Picardie
- l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne
- l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse
- l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse
- l'Agence de l'Eau Seine-Normandie

Le découpage de ces agences a été effectué selon les grands bassins hydrographiques de la France.

Sous double tutelle du Ministère de l'Environnement et du Ministère des Finances, les agences préparent et proposent la politique de l'Eau, au niveau de chaque Bassin, aux organismes de Bassin, qui sont, le comité de bassin et le conseil d'administration.

Le comité de bassin définit la politique générale de l'agence et le conseil d'administration attribue les aides et vérifie la gestion.

### ***L 'Agence de l'Eau RHIN-MEUSE :***

L'hydrographie du bassin Rhin-Meuse correspond aux bassins français du Rhin, de la Moselle (et Sarre) et de la Meuse.

En quelques chiffres, le bassin Rhin-Meuse c'est :

- 3 régions : Alsace, Lorraine et Champagne-Ardenne\*,
- 8 départements : Moselle, Meurthe-et-Moselle, Meuse, Haut-Rhin, Bas-Rhin, Vosges\*, Haute-Marne\*, Ardennes\*,
- (\* en partie)
- 4 000 000 d'habitants,
- 3 1 300 km<sup>2</sup> de superficie (6 % de la France),
- 1900 km de grands cours d'eau ayant un objectif de qualité,
- 5200 km de petits cours d'eau ayant un objectif de qualité,
- Une activité agricole, viticole et industrielle (sidérurgie, papeterie, brasserie, mine.. .),
- 3263 communes administratives.

Depuis vingt ans, l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse lutte contre la pollution des eaux pour reconquérir les rivières et préserver les nappes ; elle aménage et protège la ressource en eau - cours d'eau et nappes - afin de donner de l'eau à tous dans le respect du patrimoine et de la santé publique.

Pour mener à bien sa mission, l'Agence doit assurer un triple rôle

*- Rôle d'incitation économique :*

Dotée de l'autonomie financière, l'Agence met en oeuvre un outil financier et économique basé sur des redevances perçues sur les usages de l'eau d'après le principe institué en 1964 du "pollueur - payeur" (qui pollue paie, qui **dépollue** est aidé).

Proportionnellement aux quantités d'eau prélevées ou consommées, aux pollutions rejetées ou à leur impact sur le milieu naturel, l'Agence perçoit 3 types de redevances :

- redevance de prélèvement d'eau
- redevance de pollution industrielle
- redevance de pollution domestique ou "la contre-valeur"

Les redevances constituent un signal économique devant inciter les redevables à moins polluer. Elles constituent en outre l'unique recette alimentant le budget de l'Agence, dotée de l'autonomie financière.

Parallèlement, pour renforcer cette incitation, l'Agence attribue des aides aux maîtres d'ouvrages ( personnes publiques ou privées) pour la réalisation de travaux nécessaires à l'amélioration de la ressource, à la lutte contre la pollution et à l'aménagement des rivières dans le cadre du programme de l'agence. On distingue deux types d'aides, les aides au fonctionnement et les aides à l'investissement.

*- Aide technique*

L'Agence constitue une importante force de proposition et de conseil ou d'expertise auprès des maîtres d'ouvrages. Seuls les projets correspondant à ses priorités sont aidés.

*- Source de connaissance*

Pour mieux orienter ses propositions d'actions, l'Agence se doit de perfectionner sa connaissance du milieu naturel et de la dépollution. A ce titre, de nombreuses études, analyses, surveillance, suivis... sont menés pour permettre à l'Agence d'acquérir un maximum de données et d'informations sur les eaux et le milieu.

C'est principalement à la "Division Milieu Naturel et Données Techniques" que revient cette mission.

***La Division Milieu Naturel et Données Techniques :***

Ses missions :

La Division est chargée de la connaissance de l'état et des moyens de protection et de restauration des ressources, des milieux, et des usages de l'eau, ainsi que de l'acquisition, de la validation et de la mise à disposition des données nécessaires.

Elle donne des avis sur l'efficacité des interventions de l'Agence, sur l'impact des rejets et des aménagements pour le milieu naturel et les usages, et elle propose des éléments stratégiques pour la politique de l'Agence.

Sa structure :

### **A. Le département “Etudes et Conseil” :**

Il assure les deux missions suivantes :

#### *1. Connaissance et veille scientifique*

Chaque chargé d'études, dans son domaine technique particulier, a pour objectif de dégager et proposer des éléments stratégiques de la politique de l'Agence.

Chaque groupe de chargés d'études poursuit les objectifs suivants et propose un chef de projet dans chaque cas :

- Définition, ajustement des programmes de mesures, validation et contrôle de ces programmes. L'acquisition de données en routine est du ressort du département “Gestion des Données Techniques”.
- Initiation et suivi des études dans le cadre de projets mis en place au moins à échéance annuelle, et pouvant regrouper plusieurs chargés d'études, appartenant éventuellement à des groupes différents, voire des divisions différentes.

#### *2. Soutien aux interventions de l'Agence*

Chaque groupe de chargés d'études doit définir, pour le soutien aux interventions, les méthodes de **travail**, et le type de données nécessaires. Il doit en outre veiller à la formation des agents ayant à intervenir (chargés d'études et chargés d'affaires).

### **B. Le département “Administration de Données” :**

Il est chargé de la gestion des données des systèmes d'information “Eau” du bassin et de l'agence.

### **C. Le département “Gestion des Données Techniques” :**

Il assure une triple mission :

- recueil des informations et des données provenant des réseaux de mesure (données du milieu naturel, des rejets urbains et industriels),
- critique, la valorisation et la synthèse de ces données,
- mode de traitement pour la mise à disposition de ces données, notamment sous forme de représentations cartographiques.

## 1. PRESENTATION DU SUJET DE STAGE.

### *A. Libellé du sujet*

Mettre en place une méthode d'analyse par chromatographie ionique afin de doser 7 types d'anions : chlorure, nitrite, nitrate, phosphate, fluorure, bromure et sulfate.

### *B. Perspective de la méthode*

Cette technique une fois mise en oeuvre doit permettre de doser les 7 anions avec une précision du mg/l.

Actuellement, l'Agence de l'eau ne peut pas faire dans son laboratoire le dosage de ces 7 anions, qui ont un rôle important dans l'analyse de l'eau. Pour obtenir ces informations sur les échantillons qu'elle collecte, elle doit sous-traiter cette analyse. Les résultats obtenus sont comparés à des valeurs de référence et l'écart trouvé permet de savoir s'il faut apporter une aide financière et/ou technique et de calculer le montant des aides.

## H. CLASSIFICATION DES METHODES CHROMATOGRAPHIQUES ET PLACE DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE.

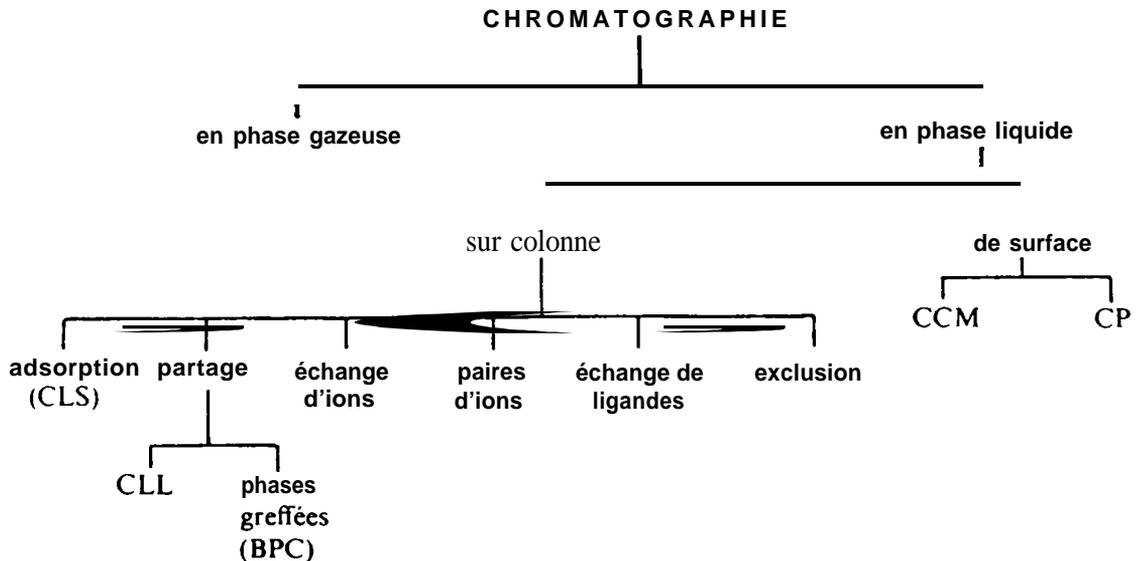
La chromatographie est une méthode d'analyse immédiate qui permet de séparer les constituants d'un mélange. Elle utilise les différences entre les constantes d'équilibres de ces corps lors de leur partage entre une phase mobile dans laquelle ils sont solubles, et une phase dite fixe ou stationnaire qui exerce sur eux un effet retardateur. Grâce à une mise en oeuvre adéquate (percolation de la phase mobile à travers un lit de particules de phase stationnaire), l'opération élémentaire de partage est répétée un grand nombre de fois d'une manière logique et automatique.

Sous l'influence de deux effets antagonistes :

- effet d'entraînement exercé par la phase mobile.
- effet de rétention exercé par la phase stationnaire.

Les constituants du mélange se déplacent à des vitesses différentes et sont donc séparés dans le temps.

schémas de classification des méthodes chromatographiques



On peut classer les différentes méthodes chromatographiques de trois manières :

### A. Selon la nature des phases

La phase fixe peut être :

- un solide ayant des propriétés adsorbantes,
- un liquide qui imprègne un solide,
- un liquide qui solvate un solide et en fait partie intégrante (on parle alors de "gel"),
- un solide à la surface duquel on a greffé des molécules appropriées.

Si la phase mobile est un liquide, on distingue alors 4 grandes catégories :

- La chromatographie liquide-solide (CLS)
- La chromatographie liquide-liquide (CLL)
- La chromatographie liquide-gel (CLG)
- La chromatographie sur phases greffées

## ***B. Selon la technologie nécessaire pour mettre en oeuvre la méthode***

On distingue ainsi :

- La chromatographie sur colonne.
- La chromatographie de surface (chromatographie sur couche mince (CCM) et sur papier (CP)).

## ***C Selon la nature des phénomènes mis en jeu dans la séparation***

On distingue :

### ***1. La chromatographie d'adsorption***

La chromatographie d'adsorption liquide-solide est normalement utilisée pour la séparation de composés de polarités différentes. La polarité d'une molécule est une conséquence de la présence **et/ou** de la position de ses différents groupements fonctionnels. En général, si la molécule d'un composé comprend plus d'un groupement fonctionnel, la **polarité** du composé, et donc son temps d'élution, sont déterminés par le groupement de plus forte **polarité**. La chromatographie **d'adsorption** sépare donc souvent les mélanges suivant la classe des composés ; la classe d'un composé étant déterminée par son ou ses groupements fonctionnels les plus polaires. L'adsorbant le plus utilisé est le gel de silice. Celui-ci est recouvert de groupements Si-OH et Si-O-Si qui peuvent présenter une **interaction** avec les molécules de l'échantillon.

### ***2. La chromatographie de partage***

La chromatographie de partage liquide-liquide classique fait intervenir une séparation des composants de l'échantillon entre une phase stationnaire et une phase mobile, toutes deux liquides. La séparation est due aux différences de solubilité des composants de l'échantillon dans les deux phases liquides. La phase stationnaire liquide recouvre les particules d'un support solide.

La chromatographie ionique est une chromatographie liquide spécialisée dans l'analyse des **espèces** ionisables. Elle repose sur les techniques de séparations suivantes :

- exclusion d'ions
- appariement d'ions
- échange d'ion

La quantification des espèces éluées est assurée principalement à l'aide des trois type de détecteurs suivants :

- conductimétrique
- U.V./ visible
- ampérométrique

### 3. *La chromatographie d'exclusion stérique*

Le principe de séparation par chromatographie d'exclusion stérique fait intervenir les différences de dimension moléculaire entre les composants de l'échantillon étudié. Celui-ci est injecté dans une colonne remplie d'un gel de porosité connue, qui représente la phase stationnaire, et qui va retarder de façon plus ou moins importante les molécules de l'échantillon selon un mécanisme extrêmement simple : en fonction de leur taille, ces molécules pourront circuler à l'intérieur du gel (en pénétrant à travers les pores), ou bien en seront exclues. Ainsi, les grosses molécules, de diamètre supérieur à celui des pores, seront éluées rapidement en ne passant que par le volume externe du gel, tandis que les petites, qui, elles, seront entraînées par **diffusion** dans tout le volume (interne et externe) du gel, ne sortiront de la colonne que bien plus tard.

### 4. *La chromatographie d'appariement d'ions*

Elle permet de séparer de nombreux matériaux, trop fortement ionisés pour permettre l'utilisation de méthode d'adsorption ou de partage classique, mais trop peu soluble dans l'eau pour la chromatographie d'échange d'ions.

Comme elle fait intervenir un grand nombre de paramètres, cette technique permet de séparer des échantillons contenant des composés fortement ou faiblement ionisés, ou non ionisés, et même des acides et des bases.

Le but de l'appariement d'ions est d'ajouter à l'éluant un ion qui, en présence des ions de l'échantillon, se lie à eux pour former une paire d'ion globalement neutre.

Une même colonne, dans des conditions chromatiques différentes, peut permettre de séparer soit des **anions**, soit des cations.

- Deux hypothèses permettent d'interpréter les mécanismes intervenant lors de la séparation :

- Le contre-ion ayant une ou plusieurs chaînes hydrophobes s'adsorbe sur la résine qui devient alors équivalente à un échangeur d'ions.

- Le soluté et le contre-ion forment une paire d'ions électriquement neutre qui est adsorbée sur la résine.

La rétention est sous l'influence d'un mécanisme d'échange d'ions et d'un mécanisme d'adsorption. La part relative des deux phénomènes dépend des caractères hydrophobes du contre-ion, du soluté et de la phase mobile.

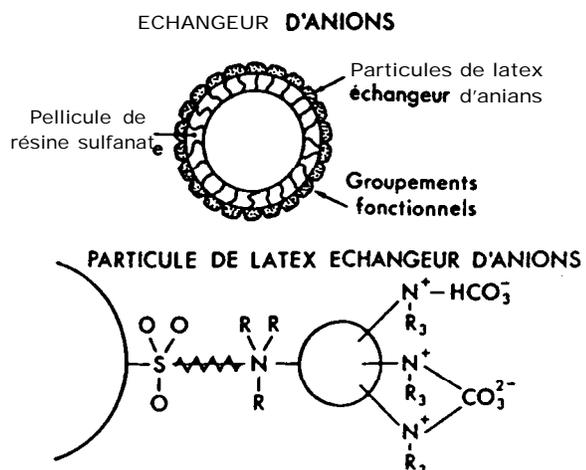
### 5. *Chromatographie d'échange d'ions*

*Cette technique est celle qui sera utilisée.*

La phase stationnaire contenue dans la colonne de séparation est un échangeur d'ions. Il est constitué par un solide comportant des groupements fonctionnels ionisés fixes, porteurs de charges positives (appelés " sites échangeurs ") ainsi que des ions mobiles de charge contraire (appelés contre-ions ) assurant l'électroneutralité. Ces **contre-**

ions mobiles, sont échangeables, en nombre équivalent, avec ceux de la solution mise en contact avec l'échangeur.

schémas du support :

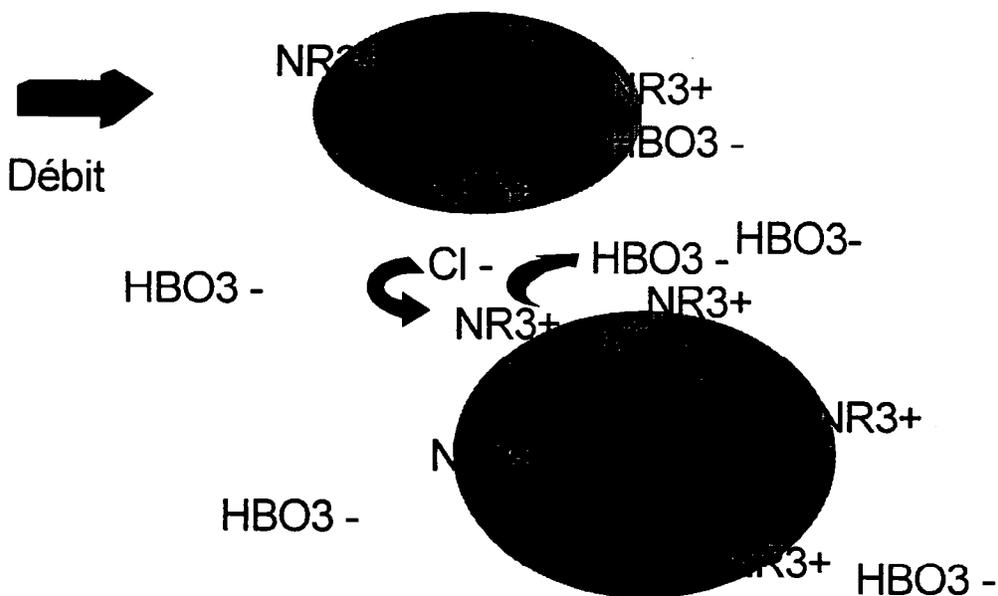


a) Fonctionnement de la colonne

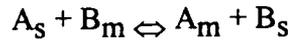
La colonne utilisée comporte une résine de polyméthacrylate avec des groupements fonctionnels de type amonium quaternaire  $-NR_3^+$

Le contre-ion utilisé est  $H_2BO_3^-$  provenant de l'acide orthoborique utilisé dans l'éluant.

schémas représentant le principe de l'échangeur :



Entre un échangeur **d'anion** sous forme A et une solution B, il s'établit l'équilibre :



Les indices M et S désignent la phase mobile et la phase stationnaire.

L'ion éluant contenu dans la phase mobile est le même que celui se trouvant initialement dans l'échangeur, et la séparation résulte de la différence **d'affinité** des ions de l'échantillon et de la phase mobile pour les groupements fonctionnels.

#### b) Phase mobile

La rétention d'un soluté ionique sur une colonne échangeuse d'ions est fonction de deux paramètres caractéristiques de la phase mobile : sa force ionique et le réglage du PH. Le paramètre le plus important est la force ionique de la phase mobile, qui peut être réglée à l'aide de tampons.

- Modification de la force ionique :

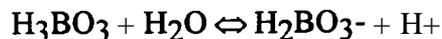
La force ionique dépend de la concentration et de la charge des ions dissous dans l'éluant. Le réglage de celle-ci est important car elle détermine la quantité de contre-ion présent dans la phase mobile. Cette quantité régit l'équilibre au niveau des sites actifs de l'échangeur d'ions et permet à l'échantillon d'être tour à tour fixé puis déplacé au cours de la traversée de la colonne.

Si la concentration de contre-ion est trop élevée, les ions de l'échantillon ne rencontrent pas de sites disponibles et ne sont pas retardés.

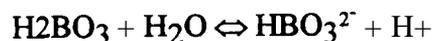
A l'inverse, si la concentration de contre-ion est trop faible, les ions de l'échantillon se fixent de manière permanente dans la colonne.

- Influence du PH :

L'éluant se compose de gluconate de sodium et de tetraborate de sodium qui tamponnent le milieu et d'acide borique qui fournit le contre-ion. A **PH=9**, on a :



si le PH devient plus basique, on aura :



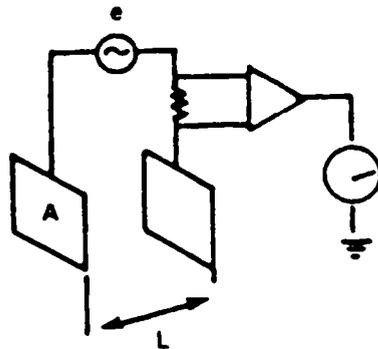
Dans ce cas, l'**affinité** électronique du contre-ion sera plus élevée et la séparation s'en trouvera modifiée.

La quantité de contre-ion formée étant dépendante du PH, **une** modification de celui-ci provoquera un changement des temps de rétention. Il est donc important d'injecter un échantillon de PH voisin de celui de l'éluent.

### c) La détection par conductimétrie

Principe de la mesure par conductimétrie :

schémas d'une cellule à 2 électrodes



$$\chi = 1/R * L/S$$

R : Résistance électrique entre les deux électrodes

L : Distance entre les deux électrodes

S : Surface des électrodes

$\chi$  : Conductivité

On utilise un générateur de courant et en mesurant la variation de potentiel entre les deux électrodes, la loi **d'Ohm** nous donne R. On pourra ainsi déterminer la conductivité.

On utilisera le conductimètre Waters 43 1 qui comporte 5 électrodes connectée à un circuit de mesure. L'éluent de la colonne va traverser une cellule, directement en contact avec les électrodes et la mesure se fera comme suit :

- neutralisation de la conductivité de l'éluent par action d'un suppresseur électronique,
- mesure de la conductivité de la solution contenant les ions à doser,
- envoi d'un signal électrique correspondant à la conductivité mesurée vers l'intégrateur.

L'usage d'un système à deux électrodes comporte un certain nombre d'inconvénients. Etant donné que les deux électrodes servent à la fois d'électrode de référence et de détection, un courant est observé à l'interface électrode-électrolyte durant la mesure de la conductivité.

La cellule de détection du Watters 431 contient 2 électrodes de référence, 2 électrodes de détection et une électrode de garde servant de masse. Le débit à travers la cellule minimise le courant à pour les électrodes de détection et élimine les problèmes d'impédance. Le résultat donne une bonne stabilité de la ligne de base et un domaine assez large de linéarité.

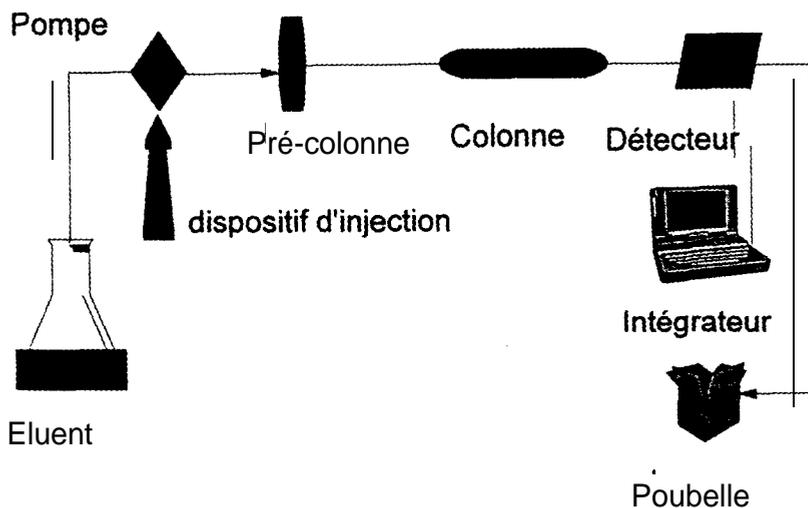
## HI DESCRIPTIF TECHNIQUE DE LA METHODE.

### A. Principe

Protocole AFNOR T9 1 A :

- Injection d'une prise d'essai de 20 micro-litre d'échantillon dans un flux d'éluent,
- Séparation des **anions** sur une résine échangeuse d'ions,
- Détection des **anions** par conductimétrie,
- Identification d'après le temps de rétention et quantification au moyen d'une courbe d'étalonnage.

### B Schémas du montage



## C Matériel utilisé

### 1. La pompe et le système d'injection

Le débit de la phase **éluente** doit être strictement uniforme, afin d'éviter des troubles en chromatographie (fluctuation de la ligne de base, erreur sur les temps de rétention,...), et d'obtenir une bonne fiabilité dans les résultats. La pompe utilisée pour assurer une telle constance de débit dans le circuit est une pompe HPLC, modèle "Waters 5 10". C'est une pompe de haute performance spécialement étudiée pour la chromatographie. Elle permet un débit variant de 0 à 9.9 ml/min avec créméntation de 0.1 en 0.1 ml/min.

La pompe est reliée à une vanne d'injection "Rhéodyne 70 10 ", à six entrées, avec une boucle d'injection qui permet d'avoir un volume injecté fixe.

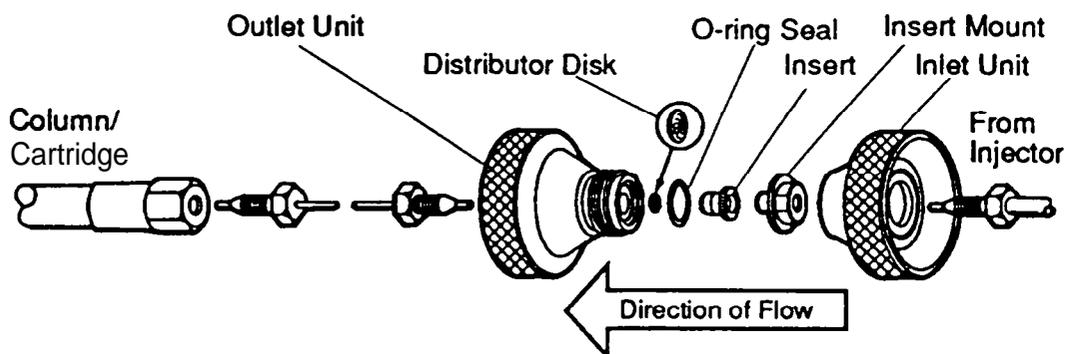
### 2. La colonne

La partie fondamentale de ce montage est, bien sûr, la colonne de séparation. C'est une colonne du type échangeur d'ions, fabriquée par "Waters", de diamètre intérieur 4.6 mm et de longueur 50 mm. Elle est remplie de particule de résine de polyméthacrylate avec des groupements fonctionnels d'ammonium quaternaire

La taille des particules est de 10  $\mu\text{m}$

### 3. La pré-colonne

Elle permet d'éliminer les matières en suspension qui auraient pu être introduites lors de l'injection,



#### 4. Le détecteur

C'est un détecteur par conductimétrie Waters 43 I.

#### 5. L'intégrateur

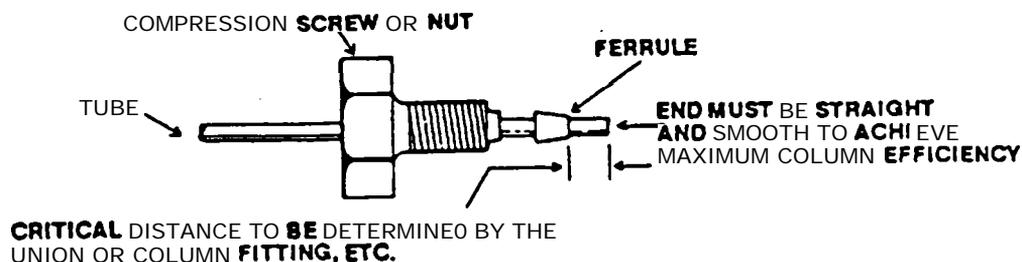
C'est un ordinateur de type "Shimadzu C-R7A" qui reçoit les signaux envoyés par le détecteur, et les affiche en temps réel à l'écran. Il intègre ensuite les données brutes et donne les résultats, temps de rétention, surfaces et hauteur des pics, concentrations, selon évidemment les indications qu'on lui fournit. Un logiciel assez performant et relativement simple d'utilisation permet en effet de piloter l'intégration, et d'exploiter facilement les chromatogrammes obtenus. On peut faire des analyses au "coup par coup", quand on ne connaît pas l'échantillon étudié (et, par conséquent, retravailler chaque chromatogramme à l'écran).

### IV. MISE AU POINT DE LA METHODE

#### A. Problèmes rencontrés lors de la mise en route

##### 1. Problème d'étanchéité

Il est très important dans ce type d'installation d'avoir une parfaite étanchéité du circuit. Les différents éléments du montage sont reliés entre eux par des tubes de diamètre intérieur très fin. La connexion entre ces tubes et les divers éléments du montage cités précédemment est réalisée par des vis de compression et leurs ferrules. Ce sont ces dernières qui rendent la liaison étanche. La distance entre la fin du tube et la ferrule ainsi que l'état de surface de la fin du tube jouent un rôle sur l'efficacité de la colonne.



**FIGURE 2-1 FERRULE AND COMPRESSION ASSEMBLY (STAINLESS STEEL COLUMN)**

Afin de parvenir à couper un tube sans que les copeaux obstruent l'intérieur de celui-ci, il convient de le circonscire avec une lame et ensuite, par pliage, d'obtenir une cassure franche. Ceci est l'unique méthode qui permet de couper le tube sans obturer celui-ci.

Le démontage-remontage d'une vis ne doit se faire qu'un nombre limité de fois. Si l'étanchéité doit être obtenue par un serrage excessif, il est préférable de changer de vis, afin d'éviter que celle-ci ne casse net dans le pas de vis.

On a donc procédé au remplacement des vis et ferrules déficientes.

## 2. Problème de colonne

### *Anomalies constatées:*

- non reproductibilité des temps de rétention et fluctuation très importante de ceux-ci,
- problème de détection des pics,
- problème de stabilisation de la ligne de base,
- apparition de pics fantômes,
- perte de résolution,
- problème de mise en équilibre de la colonne.

### *Remèdes :*

- démontage de la colonne et rinçage du circuit et de la cellule de détection avec de l'acide nitrique 6N afin d'éliminer tout dépôt resté dans le circuit et d'améliorer la stabilisation de la ligne de base.
- purge du circuit à l'eau chromatographique jusqu'à obtention de la conductivité normale de l'eau.

Aucune amélioration n'a été constatée.

- circulation d'un éluant concentré en borate **afin** de régénérer la colonne : aucune amélioration.
- rinçage de la colonne à l'eau chromatographique et suppression de la pré-colonne aucune amélioration.

*Diagnostic* : suite à une trop longue période de non utilisation et au non respect des conditions de stockage, la résine de la colonne s'est asséchée.

Solution : Remplacement de la colonne **IC-PAK A**

## 3. Poursuite des essais avec une nouvelle colonne de même type

### *Anomalies constatées .*

- un seul composé est identifiable à un temps de rétention 3 fois inférieur à celui qu'il devrait avoir,

- bruit important sur la ligne de base ce qui empêche d'obtenir des pics à partir de 1 minute d'analyse,
- forte dérive de la ligne de base,
- problème de mise à zéro de la ligne de base.

*Remèdes :*

- circulation d'un éluant fortement concentré en borate destiné à régénérer la colonne,
- rinçage à l'acide nitrique puis à l'éluant de la cellule de conductimétrie.

*Résultats :*

- le temps de rétention du composé **identifiable** a doublé,
- dérive de la ligne de base atténuée,
- réduction des bruits de fond.

*Remèdes :*

- circulation de l'éluant concentré,
- branchement en parallèle d'un intégrateur moins sensible au perturbation du signal du conductimètre.

*Résultats :*

- obtention d'une ligne de base stable,
- identification des ions recherchés à des temps de rétention proche des valeurs indiquées par le constructeur,
- mauvaise séparation du pic de phosphate et de nitrate (cf annexe B).

*Remèdes :*

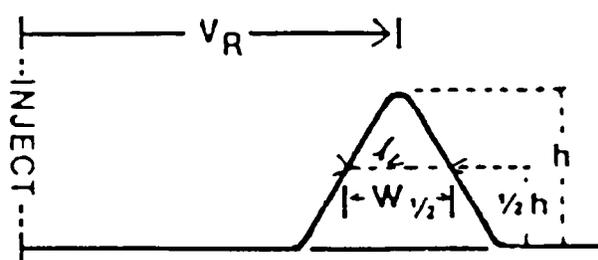
- rajout de la pré-colonne : aucune amélioration (cf annexe B),
- modification du débit à l'entrée : aucune amélioration,
- modification de la concentration en Borate de l'éluant : une **bonne** séparation est obtenue (cf annexe C).

## **B. Calcul d'efficacité et de résolution**

### **1. Calcul de l'efficacité de la colonne**

Celle-ci est **donnée** par le constructeur pour un pic de sulfate.

Efficacité **donnée** par le constructeur : 800



$N$  = Column Efficiency (plates)  
 $V_R$  = Volume to peak apex ( $\mu L$ )  
 $W_{1/2}$  = Volume of peak at  $1/2$  peak height ( $\mu L$ )

$$N = 5.54 \times \left( \frac{V_R}{W_{1/2}} \right)^2$$

Or  $V_r = \text{débit} * L_1 * \text{Vitesse du papier}$   
 et  $W_{1/2} = \text{débit} * L_2 * \text{Vitesse du papier}$

$L_1$  : distance du zéro au milieu du pic.  
 $L_2$  : largeur du pic à mi hauteur.

$$\text{efficacité} = 5.54 * (L_1/L_2)^2$$

## 2. Calcul de la résolution

On peut définir ce terme comme étant l'aptitude de la colonne à séparer deux substances donnant des pics voisins.

$$R = 2 * (d_{r(B)} - d_{r(A)}) / (w_A + w_B)$$

## C. Détermination des temps de rétention et étude de linéarité

### 1. Détermination des temps de rétention

Celle-ci a été réalisée en injectant un seul composé à la fois, à 4 concentrations différentes. Afin d'avoir une idée de la répétabilité, chaque injection est réalisée 3 fois dans les mêmes conditions opératoires.

Gamme de concentration : 5,10,15,20 ppm  
 type de solvant injecté : eau chromatographique

### 2. Tableau de résultats

ANIONS	Coef. de corrélation	Temps de rétention (MIN)
CL <sup>-</sup>	0.9976	2.29
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.9908	3.92
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.9721	4,14
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.9962	4.74
Br <sup>-</sup>	0,9794	6.27
F <sup>-</sup>	0,9794	1.29
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.9881	9.03

### 3. Etalonnage et répétabilité

- Préparation d'une solution mère contenant 1000 ppm de chlorure, nitrate, phosphate, bromure, fluorure et sulfate. Les ions nitrites ont été volontairement omis car ils demandent un étalonnage séparé du fait de leur instabilité.

- Injection de concentration de 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 80 ppm. Chaque concentration sera injectée 10 fois.

voir résultat annexe E

*Observations..*

- Plus on augmente la concentration, plus le coefficient de variation diminue
- L'étude pour la concentration de 50 ppm est à refaire.
- Ces résultats pourraient être améliorés par barbottage continu de l'éluent avec de l'azote.

# PROTCOLE EXPERIMENTAL

## A. Préparation de l'éluent

Solution mère :

Dans 1 flacon de 1 litre, mettre:

- 16 g de gluconate de sodium
- 18 g d'acide boric
- 25 g tetraborate de sodium
- ajouter 250 ml de glycerin puis compléter avec de l'eau spéciale pour chromatographie

jusqu'à la marque.

Dans 1 flacon de 1 litre, mettre:

- 15 ml de solution mère
- 20 ml de n-butanol
- 120 ml d'acétonitrile

Tous les éluents doivent être filtrés à 0.22 micron et dégazés soit au bain à ultrason, soit par barbottage à l'azote.

## B. Réglage des paramètres

calibre conductivité : 500

sensibilité : 0.01

vitesse de l'intégrateur : 6

atténuation : 8

D'autres paramètres gérant le mode d'intégration automatique, le format d'impression, la table d'identification.... sont contenus dans le fichier d'analyse (disponible sur disque dur de l'intégrateur, nom : ionl).

## C. Démarrage du système

- amorcer la pompe avec le nouvel éluent.
  - mettre l'intégrateur et le conductimètre sous tension.
  - **afficher** un débit de **1,2 ml** sur la pompe et attendre que la colonne s'équilibre.
  - charger un fichier d'analyse et déterminer le nom du fichier de stockage des données.
  - activer la suppression de la conductivité de l'éluent en pressant la touche "auto-zéro" du conductimètre.
  - mettre à zéro l'intégrateur.
- lorsque la ligne de base est stable, on peut injecter.

**D. Pré-traitement d'un échantillon industriel**

- Filtrage à 0.44 micron
- filtrage à 0.22 micron : élimination des matières organiques
- Mesure de la conductivité afin d'avoir une idée de la dilution à réaliser

# CONCLUSION

## A. Aspects techniques

### 1. Objectifs atteints :

Les nombreux problèmes rencontrés lors de la mise en route ont monopolisé les 2/3 de mon temps de stage, ce qui explique que l'étude sur le contrôle qualité n'a pas pu être réalisée.

Après résolution de ces nombreux problèmes, il s'avère que la méthode est performante sur des échantillons synthétiques.

Un essai a été réalisé sur un échantillon industriel (annexe f) et a conduit à des résultats satisfaisants.

Compte-tenu des résultats obtenus, cette méthode sera mise en routine pour l'analyse de rejet industriel.

### 2. Amélioration à apporter :

Au cours d'une visite au laboratoire d'analyse de l'I.R.H. à Nancy, j'ai eu l'occasion de voir fonctionner une méthode d'analyse par chromatographie d'échange d'ions. Celle-ci a été mise au point pour l'analyse d'eau superficielle.

L'analyse comparative que j'ai effectuée entre les deux méthodes me conduit à proposer des améliorations sur le montage que j'ai mis au point.

Le seul échantillon réel que j'ai traité provenait d'une eau de citerne et ne donnait que 3 pics dont 2 identifiables. Par contre, ma visite à l'I.R.H. m'a permis de constater que la matrice d'une eau résiduelle est très chargée et donc conduit à une très mauvaise résolution pour certains pics.

Par ailleurs, lors de l'étalonnage, j'ai constaté une légère dérive des temps de rétention. Cela peut avoir une influence pour l'identification des pics sur une matrice chargée.

Pour remédier à ces problèmes, il convient :

- de brancher un deuxième détecteur à **absorbance** U.V., en série avec le détecteur conductimétrique. Cela permettrait de passer d'un chromatogramme à l'autre en cas de perte de résolution sur un canal.
- la légère dérive des temps de rétention pourrait être **contrôlée** en mettant la colonne dans une enceinte thermo-régulée.

- enfin, les fluctuations sur la ligne de base pourraient être diminuées par un barbottage continu dans l'éluant avec de l'azote.

Ce travail n'a pu être réalisé par manque de temps. Par conséquent, il reste à effectuer avant la mise en routine de la méthode :

- la mise en place du détecteur d'absorbance ( le détecteur conductimétrique sera branché en fin de circuit).

- la réalisation d'un double étalonnage simultané des deux détecteurs , ce qui est gérable par l'intégrateur qui comporte deux canaux.

- Validation de l'étalonnage sur l'intégrateur.
- Etude des limites de détection.
- Calcul des incertitudes sur la concentration mesurée

## **B. Aspect général**

J'ai choisi le laboratoire de L'Agence de l'Eau Rhin-Meuse car je crois qu'il faut s'investir davantage vers les problèmes de pollution si l'on veut conserver et protéger notre environnement.

Ce stage m'a permis de prendre conscience :

- \* de l'utilité d'une solide formation
- \* de la responsabilité dans l'exécution du travail
- \* de l'importance de la communication

Sur ces différents plans, cette expérience m'a été profitable, tant en complément de formation que pour l'intégration en milieu professionnel.

# RESUME DU STAGE EN ANGLAIS

Our superior **technician** formation **includes** a two months' training period to be performed in an **industrial** firm.

As far as I am concerned, I performed my training period by the Water's Agency Rhine-Meuse-naturel environment and technic data department.

In order to propose the most appropriated actions, this department has to **collect** relevant information **about** environment and to suggest solutions to **solve** pollution problems.

My training period was based on the "implementation of a chromatographic method to determine the quantity of chlorure, nitrate, phosphate, nitrite, bromure, fluorure **and** sulfate.

This training period contributed to make me understand how to implement a chromatographic method and to extend my knowledge on the measurements of **water's** pollution.

More generally, it **also** allowed me to discover the **work's** world.

# ANNEXES

## ANNEXES :

- A Bibliographie
- B Injection d'un blanc
- C Injection de 6 anions à 1 ppm
- D Mauvaise séparation des pics de phosphate et nitrate
- E Bonne séparation des pics de phosphate et nitrate
- F Injection d'une eau de citrène
- G Résultat des tests de répétabilité

Annexe A

**BIBLIOGRAPHIE**

- 1 Collection VARIAN  
BASIC LIQUID **CHROMATOGRAPHY** ( 1971)
- 2 Edition MASSON  
MANUEL PRATIQUE DE **CHROMATOGRAPHIE** EN PHASE LIQUIDE
- 3 R. YOST, L. ETTRE ET R. CON-LON  
PRATIQUE DE LA CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE
- 4 Recueil de normes **française** AFNOR ( 1990)  
eaux méthodes d'essais
- 5 Waters 43 1 **Conductivity Détector**  
Operator's Manuel
- 6 Waters Model 5 10  
Operator's Manuel