**LA CHROMATOGRAPHIE (Rappel)**

**Paramètres caractérisant la rétention**

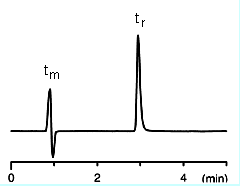
Le chromatogramme du Prozac (antidépresseur) a été enregistré dans les conditions suivantes :

HPLC. Colonne C18: 15cm x 4.6mm

Phase mobile: acetonitrile / 25mM KH2PO4 pH 7.0 (40:60)

Débit: 2mL/min. Température: 30°C

Détecteur UV : 254 nm . Injection: 1µL



**Chromatogramme**

1. **Le temps de rétention tr**

Le temps de rétention tr d'un produit S est le temps écoulé entre le début de l'injection et la sortie du produit (pour le chromatogramme, tr = 3mn) . **tr** dépend du produit S et des conditions expérimentales (colonne, température, débit de phase mobile... etc.)

1. **Le volume de rétention Vr**

Le volume de rétention Vr correspond au volume de phase mobile nécessaire pour éluer le produit S. Si **D** est **le débit de la phase mobile** (D supposé constant) :

**Vr = tr × D** (pour le chromatogramme , Vr = 3×2 = 6 ml)

1. **Le temps mort tm**

Le temps mort tm est le temps que met la phase mobile pour traverser la colonne. (dans la figure , tm = 1mn). La phase mobile est caractérisée par sa **vitesse linéaire u** de déplacement dans la colonne de longueur L, on a :

**u = L / tm** (pour le chromatogramme 2, u = 15 cm/mn)

En CPG, le temps mort correspond au temps de rétention de substances non retenue par la phase stationnaire comme l'air ou le méthane.

1. **Le volume mort.**

On appelle volume mort **Vm** le volume de phase mobile qui passe à travers la colonne pour aller d'une extrémité à l'autre de la colonne (pendant le temps tm). Autrement dit, Vm est le volume occupé par la phase mobile dans une colonne.

**Vm = tm × D**. (pour le chromatogramme ,Vm = 1**×**2 = 2 ml)

Vm ne dépend que de la géométrie et du remplissage de la colonne.

1. **Volume et temps de rétention réduits**

On appelle volume de rétention réduit V'r, la différence entre les termes Vr et Vm.

**V'r = Vr - Vm** (pour le chromatogramme , V'r = 4 ml)

Le volume de rétention réduit correspondant au produit S est le volume de phase mobile qui doit passer à travers la colonne pour éluer le composé S.

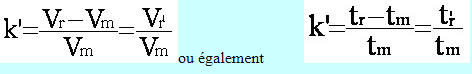
De la même façon, on définit un **temps de rétention réduit t'r.**

**t'r = tr - tm** (pour le chromatogramme , t'r = 2 mn)

Les volumes et temps de rétention réduits sont indépendantes des volumes et temps morts, elles dépendent donc moins de l'instrumentation (de la colonne).

1. **Le facteur de rétention (ou de capacité) k’**

Le facteur de rétention k' pour un produit donné est défini comme suit :



Ce qui donne :

**Vr = Vm(1 + k’) et tr = tm(1 + k’)**

Les facteurs de rétention sont des grandeurs sans dimension donc plus générales d'un produit donné que les temps ou les volumes de rétention réduits (Pour le chromatogramme, k' = 2).

D'où une définition du facteur de rétention: c'est le rapport du temps passé par le soluté dans la phase stationnaire sur le temps passé par ce même soluté dans la phase mobile.