

Chromatographie Liquide (CL)

A.M. Siouffi

Laboratoire de Génie Chimique et Chimie Appliquée, Faculté des Sciences de Saint-Jérôme, Université Aix-Marseille 3, 13397 Marseille Cedex 20, France

Les nouveautés restent rares. La révolution vient indiscutablement du domaine du matériau monolithique. Compte tenu du rôle de la spectrométrie de masse au niveau de la détection, l'électrospray et l'ionisation chimique à pression atmosphérique sont devenues deux techniques incontournables.

Apparemment, les nouveautés sont rares et pourtant on va peut-être assister à une révolution dans le domaine du remplissage des colonnes. Les supports monolithiques de type « silica rods » préparés par polymérisation sol-gel de tetraméthoxysilane vont-ils remplacer les particules de 3 μm ? Les performances de ces supports à haut débit semblent assez remarquables du fait de leur perméabilité. Le minimum de la courbe de HEPT se situe à une vitesse linéaire plus élevée. Des impédances de séparation de 1 000 ont été obtenues. Des exemples d'analyse de l'insuline sur des « silica rods » C_{18} ont déjà été publiés.

Chez Biorad les colonnes UNO exposées l'an dernier sont un peu du même type : la polymérisation est menée directement dans la colonne. Les agrégats coalescent pour former un réseau dense de nodules de 3000 Å.

Phenomenex commercialise les colonnes remplies de particules non poreuses de 1,5 μm Kovalsil. Chez le même fabricant, on pouvait voir une colonne phényle-hexyle (le bras d'attachement du noyau phényle est un hexyle).

Zirchrom Separations a obtenu une subvention de 100 000 dollars pour développer les micro sphères à base de zircone. Zirchrom, fondée par P.W. Carr et C. Mc Neff, fabrique des colonnes distribuées par Alltech, Keystone, ES Industries. Après un début prometteur, les colonnes de particules de zircone semblent marquer le pas. Les colonnes C_{18} tiennent toujours le haut du pavé, Jordi fabrique des colonnes PS-DVB qui peuvent supporter des pressions élevées mais le nombre de plateaux reste très en deçà de ce que l'on peut obtenir avec une C_{18} .

Les colonnes capillaires se prêtent bien au couplage avec la spectrométrie de masse. Elles sont disponibles en 0,32 mm de diamètre externe et en 150 ou 250 mm de long. Leur usage reste limité.



Photo 1. Chromatographe ionique EG40 - « Just add water » (Dionex Corporation).

L'analyse des ions reste l'activité principale de Dionex qui a présenté le EG40 ou « just add water » (Photo 1). L'analyste doit disposer d'eau désionisée. Celle-ci est pompée dans une chambre où les ions K^+ , par exemple, de l'électrolyte migrent à travers la membrane échangeuse d'ions et s'associent avec OH^- . La concentration de l'éluant est fixée par l'opérateur au moyen du logiciel « Peak net Automation » et contrôlée par le courant fourni au générateur. L'EG40 n'a pas de pièces en mouvement. Il n'y a pas de problème de carbonatation. Une cartouche Elugen dure plusieurs centaines d'heures.

Il y a évidemment des cartouches pour l'analyse des anions et d'autres pour l'analyse des cations (hydroxyde et méthane sulfonique).

Brinkmann qui représente Metrohm propose une chromatographie ionique qui peut fonctionner avec ou sans suppression. Selon Metrohm, ce n'est qu'au dessous de 100 ppb que la détection des anions nécessite une suppression. Leur « Suppressor Module » possède trois canaux : suppression, lavage, rinçage.

Jasco a présenté un détecteur à dichroïsme circulaire.

La spectrométrie de masse est devenue le détecteur de la chromatographie liquide. L'électrospray, l'ionisation chimique à pression atmosphérique sont les deux techniques qui



Photo 2. Couplage LC-MS M800 (Hitachi).

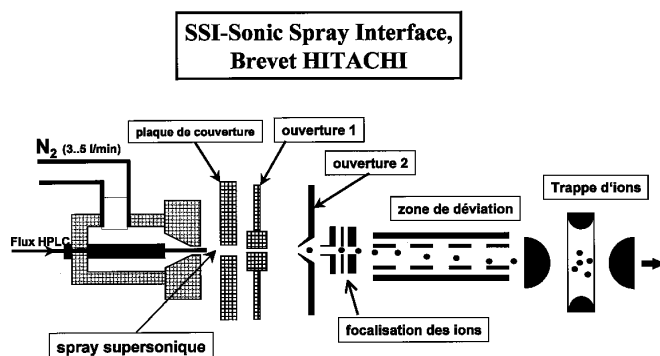


Figure 1. Interface SSI (Sonic Spray Interface) brevetée par Hitachi.

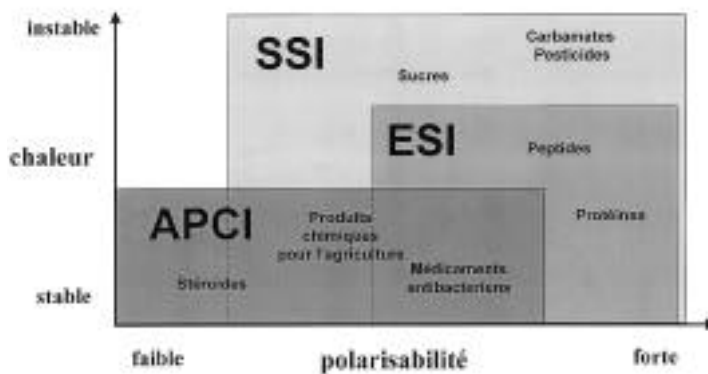


Figure 2. Recouvrement des domaines d'application des différentes interfaces LC-MS (documents Merck KgaA-Hitachi).

s'imposent (voir le numéro spécial du Journal of Chromatography n° 794).

Chez Hitachi pour le couplage LC-MS (Photo 2), on a pu remarquer une interface nouvelle : « Sonic Spray Interface » (SSI) (Fig. 1), dans laquelle un flux d'azote entraîne les gouttelettes à une vitesse supersonique (en soi ce n'est pas



Photo 3. Système d'échantillonnage ZSpray® (Micromass Limited, Waters Corporation).

nouveau depuis Vestal) mais il n'y a pas de chauffage (ce n'est pas un thermospray) et il n'y a pas de champ électrique. L'avantage est lié à la douceur de l'ionisation qui permet d'analyser des molécules dont la stabilité thermique et la faible polarisabilité n'autorisent pas l'ionisation sans destruction par l'interface classique de la spectrométrie de masse que sont APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) et ESI (Electrospray Interface) (Fig. 2). Dans l'interface APCI un débit d'hélium facilite la formation de gouttelettes. Quant à l'interface électrospray, elle utilise un champ électrique très élevé et le débit de phase mobile est limité à quelques $\mu\text{L}/\text{min}$. Une sorte de plasma est ainsi formé et sert de gaz réactif pour faire l'ionisation chimique.

Micromass présentait le ZSpray qui possède deux zones d'échantillonnage perpendiculaires (Photo 3). La technique d'échantillonnage double Z cherche à éviter la contamination et à améliorer le rapport signal/bruit. Dans l'étape 1, l'échantillon est dirigé perpendiculairement au cône d'échantillonnage. Les ions sont extraits perpendiculairement de l'aérosol, ce qui élimine les grosses gouttes et les particules. La seconde étape orthogonale augmente le volume gazeux d'échantillon d'un facteur 4.

Chez Viscotek, on a remarqué une triple détection en chromatographie d'exclusion. La diffusion de lumière donne une réponse proportionnelle à la masse molaire et à la concentration, la réponse du détecteur viscosimétrique est proportionnelle à la viscosité intrinsèque et à la concentration, le troisième larron est le réfractomètre au laser. On peut ainsi avoir la masse molaire en poids, en nombre, la polydispersité, le graphe de Mark Houwink, le rayon hydrodynamique, la conformation, etc.



Photo 4. Détecteur à évaporation et diffusion de lumière PL-ELS 1000 (Polymer Laboratories Ltd).

Chez Polymer Laboratories un détecteur à évaporation et diffusion de lumière, le PL-ELS 1000 est un bel exemple de design (Photo 4).