

## Séparation et microanalyse par chromatographie sur colonne adsorbante d'azote et d'oxyde azotique dans des mélanges d'azote et de ses oxydes

Pour obtenir le rendement quantitatif de divers gaz produits par irradiation gamma de solutions aqueuses d'hydroxylamine<sup>1</sup>, nous avons été amenés à rechercher une méthode de séparation pour des microquantités d'azote et d'oxygène, puis d'azote et d'oxyde azotique en présence d'autres dérivés oxydés comme  $N_2O$  et  $N_2O_4$ . Nous avons pensé utiliser la séparation par chromatographie gazeuse mais les techniques publiées sur ce problème ne permettaient pas des dosages précis et rapides (voir par exemple réf. 2).

Nous avons donc été amenés à mettre au point une méthode originale en utilisant l'appareil Griffin et George.

### *Conditions expérimentales*

(a) *Colonne d'adsorption.* Nous avons pris une colonne de 8 mm de diamètre et de 3.2 m de long, remplie à une densité de  $0.33 \text{ g/cm}^3$  par du silicate d'alumine et de calcium (tamis moléculaire type 5 A Linde). Cette substance adsorbante a été choisie de préférence au charbon activé et au gel de silice. En effet elle est la seule à permettre la séparation de NO et  $N_2$ ; elle adsorbe définitivement  $N_2O$ . Elle est "activée" par chauffage sous vide à  $350^\circ$ . L'éluant utilisé a été de l'hydrogène et les meilleures conditions de fonctionnement correspondent à un débit de 1.4 l/h, à une température de colonne de  $86^\circ$  et un courant de chauffage de la cellule de détection par thermoconductivité de 175 mA.

(b) *Introduction des gaz.* Pour nous permettre d'analyser les gaz produits par irradiation aux rayons gamma, nous avons été amenés à modifier légèrement l'appareil conçu surtout pour introduire en tête de la colonne, à l'aide d'une seringue, des liquides qui sont ensuite vaporisés. Nous avons intercallé entre l'arrivée d'hydrogène et l'entrée de la colonne un récipient de  $50 \text{ cm}^3$  fermé par deux robinets à 3 voies permettant le passage de l'hydrogène en dehors ou à travers le volume du récipient. Ce dispositif est fixé sur la colonne par l'intermédiaire de rodages sphériques normalisés. On peut donc prélever des gaz d'un volume irradié quelconque et les refouler dans le récipient précédemment décrit, à l'aide d'une pompe Toepler par exemple; on respecte de la sorte les conditions d'instantanéité et de ponctualité pour l'introduction des gaz à analyser dans la colonne et l'élargissement des pics sur le graphique enregistré est négligeable.

### *Résultats*

Ce dispositif nous a permis d'analyser des mélanges contenant entre 10 et  $500 \text{ mm}^3$  d'azote ou d'oxygène avec une erreur maxima de  $\pm 4 \text{ mm}^3$ , ou des mélanges contenant de  $10 \text{ mm}^3$  à  $500 \text{ mm}^3$  d'azote et 50 à  $500 \text{ mm}^3$  de NO à la pression atmosphérique. (erreur maximum, pour NO  $\pm 20 \text{ mm}^3$  entre 50 et  $150 \text{ mm}^3$  et  $\pm 6 \text{ mm}^3$  entre 150 et

500 mm<sup>3</sup>). La présence de N<sub>2</sub>O ne gêne pas la séparation des autres gaz, bien qu'il soit entièrement adsorbé. On peut le doser par ailleurs après l'avoir piégé dans un récipient refroidi à l'azote liquide.

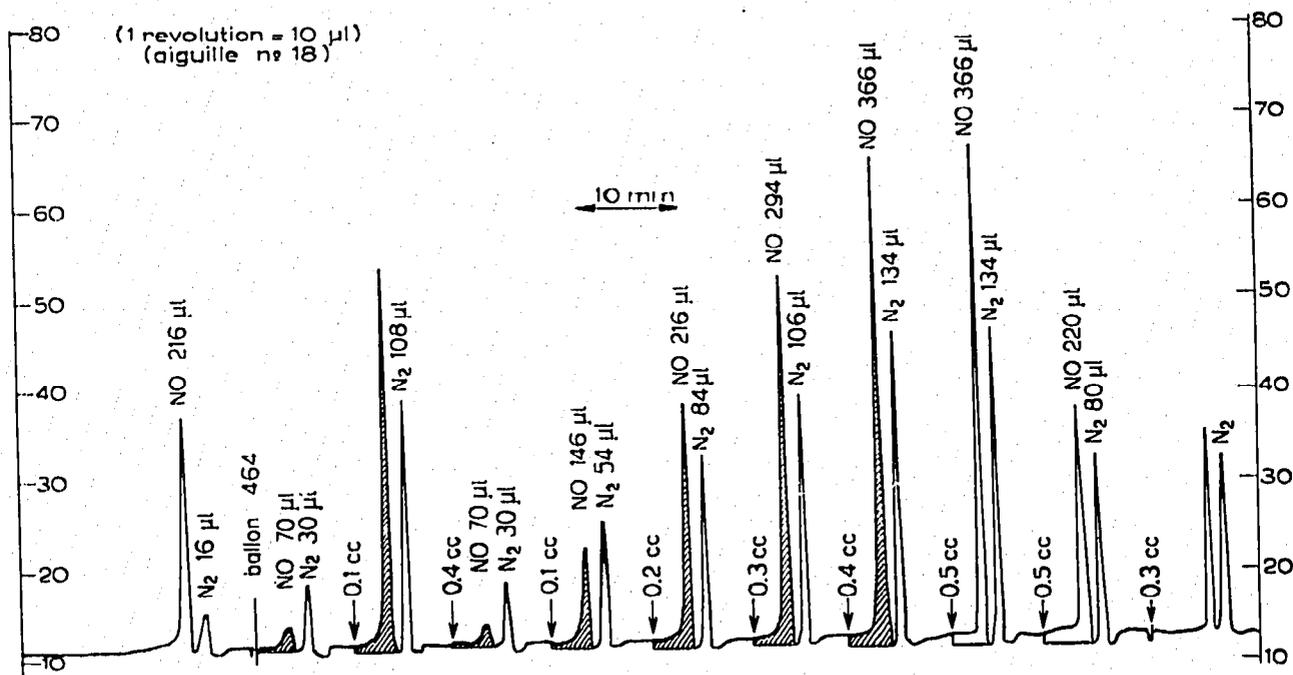


Fig. 1

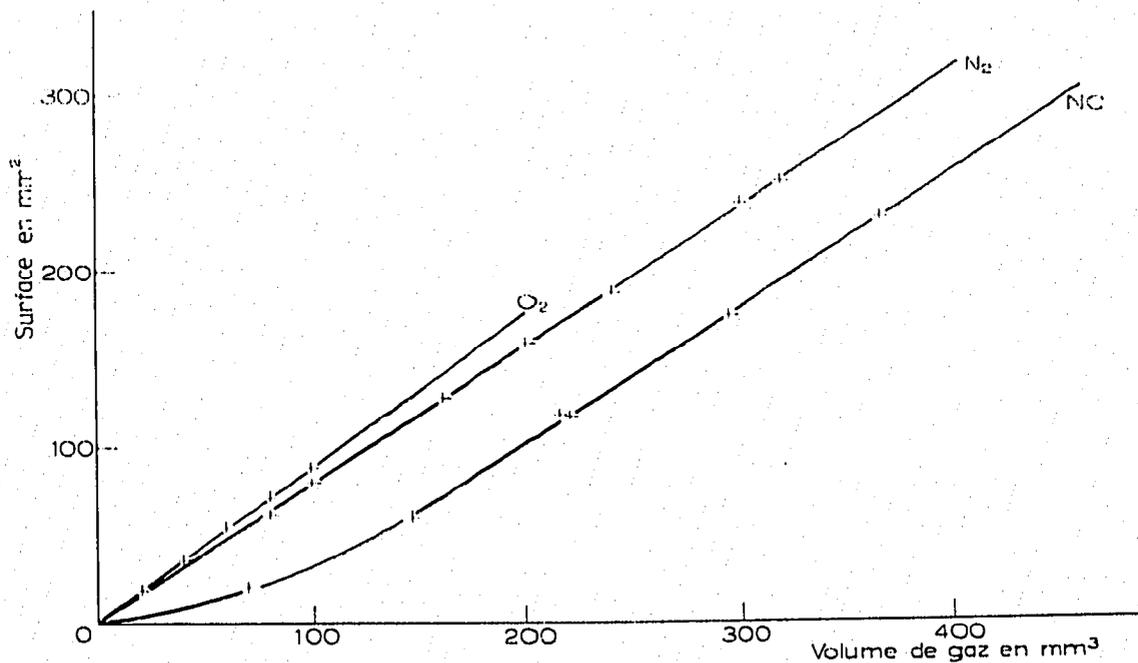


Fig. 2

On peut voir sur le diagramme de la Fig. 1 que pour l'oxygène et l'azote les courbes sont parfaitement assimilables à des courbes de Gauss et la hauteur des pics est proportionnelle à la quantité de gaz contenue dans l'échantillon. Le temps de

rétenion est de 173 sec pour  $O_2$ , 300 sec pour  $N_2$ , et 400 sec pour NO. L'analyse quantitative de NO est plus délicate car son élution n'est pas totale. Il reste environ 40 mm<sup>3</sup> sur la colonne adsorbés de façon très durable (plus de deux heures dans nos conditions). Pour avoir des résultats quantitatifs très reproductibles, il faut fournir à la colonne une certaine quantité de NO pour atteindre un pseudo équilibre. On fait donc passer 200 mm<sup>3</sup> de NO quatre fois avant d'utiliser la colonne pour l'analyse désirée. On peut alors opérer dans les deux heures qui suivent et obtenir une reproductibilité parfaite. Le pic est dissymétrique et il convient de mesurer sa surface. La méthode est d'autre part plus précise si on opère sur des quantités supérieures à 150 mm<sup>3</sup>. On a donc intérêt à ajouter aux échantillons à analyser de 100 à 200 mm<sup>3</sup> de NO préalablement mesurés. La Fig. 2 montre d'ailleurs l'étalonnage donnant la surface des pics en fonction du volume en mm<sup>3</sup> introduit sur la colonne et mesuré préalablement à la jauge de MacLeod sous pression réduite.

*Laboratoire de physique nucléaire de la Faculté  
des Sciences de Paris à Orsay (France)*

MARC LEFORT  
XAVIER TARRAGO

<sup>1</sup> X. TARRAGO, Thèse, en préparation.

<sup>2</sup> R. N. SMITH, J. SWINEHART ET D. G. LESNINI, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1217;  
G. KYRYACOS ET C. E. BOORD, *Anal. Chem.*, 29 (1957) 787.

Reçu le 5 novembre 1958

### **Homogenization and extraction of biological material for chromatographic purposes**

The preparation of biological samples for chromatographic analysis usually involves homogenization and extraction. These procedures are very laborious and they expose the investigated samples to loss and enzymic changes. Moreover they require at least decigram amounts of the preparation, whereas for the paper chromatographic analysis a hundredth of this amount suffices.

A simple method was elaborated in our laboratory for the homogenization and extraction of small amounts of biological material directly onto the chromatographic paper.

#### *Homogenization*

The new homogenization procedure is based on the new method of botanical investigation devised by MEDVEDEV<sup>1,2</sup> and the method for studying simple compounds in plants described by GREENSHIELDS<sup>3</sup>, as well as on the method of MORGAN AND WICKSTROM<sup>4</sup>. The chromatographic paper is prepared as for one-dimensional, two-dimensional or circular paper chromatography. The preparation to be investigated (hyphae, a small piece of leaf, corola, thick section of fruit, stems, etc.) is placed on the starting point; plastic foils (6 × 6 cm) are placed under the chromatographic paper