

Amélioration de l'efficacité d'une colonne préparative

L'ensemble des problèmes posés par une colonne de grand diamètre en chromatographie gazeuse préparative trouve finalement sa solution dans un problème essentiel: l'homogénéité du remplissage¹. Pour ce faire il faut non seulement une technique appropriée mais aussi utiliser un support chromatographique présentant des particules les plus uniformes possibles.

L'auteur a déjà parlé d'une technique de remplissage^{2,3} qui, utilisant les propriétés d'un lit fixe après fluidisation, a l'avantage d'être efficace, reproductible, indépendante de l'opérateur et permet par là même de mieux situer l'importance des divers paramètres d'une colonne préparative. En ce qui concerne les particules constituant ce remplissage, en plus du fait qu'il est avantageux de resserrer la granulométrie, la forme sphérique serait un cas idéal, qui contribuerait à l'homogénéité et à la perméabilité de la colonne préparative.

En effet l'opération de broyage du matériau chromatographique crée des particules de formes hétéroclites présentant des aspérités, qui sont en partie responsables de ce défaut d'homogénéité du remplissage. Là encore la fluidisation nous offre une possibilité de façonner les particules et d'améliorer ainsi l'efficacité des colonnes préparatives. En fluidisant pendant un certain temps le support chromatographique avant tout dépôt de phase stationnaire, à la manière des tests d'attrition des catalyseurs, les particules tendent vers la forme sphérique par élimination des aspérités superficielles. Un tel traitement permet d'augmenter jusqu'à 20% l'efficacité des colonnes préparatives de grand diamètre.

Appareillage et technique mis en oeuvre

Attrition des particules. L'appareil est constitué par un tube, diamètre intérieur 6 cm, longueur 1.20 m, équipé dans le bas d'une fritte métallique (orifices 100 μ

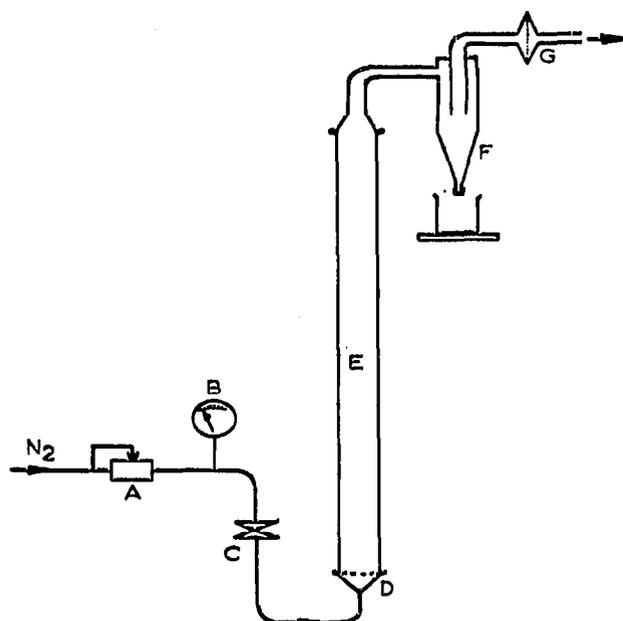


Fig. 1. Appareil pour l'attrition des particules. A = Détendeur; B = manomètre de pression; C = vanne de réglage; D = fritte métallique, orifices 100 μ ; E = lit fluide; F = cyclone; G = filtre.

environ) et relié dans sa partie supérieure à un cyclone et un récipient pour recueillir les fines formées (Fig. 1).

Une régulation du fluide (azote), comprenant détendeur, manomètre, vanne, assure une fluidisation homogène. Par exemple, 100 g de Chromosorb P, préalablement tamisés entre les granulométries 400 et 500 μ sont fluidisés pendant 3 h. Chaque heure on pèse les fines formées.

1^{ère} heure 5.5 g
 2^{ème} heure 2.5 g
 3^{ème} heure 1 g
 4^{ème} heure quantité négligeable

Les fines formées par attrition représentent à peine 1 % de la quantité mise en oeuvre.

Le Chromosorb est alors imprégné de phase stationnaire suivant le processus habituel: dans ce cas il s'agissait d'huile silicone DC 200.

Appareillage chromatographique. L'appareil expérimental utilisé a déjà été décrit dans la littérature³. Dans ce cas particulier les conditions opératoires étaient les suivantes:

Colonne: acier inox, diamètre intérieur: 6 cm
 remplissage: Chromosorb P 400–500 μ non affiné et affiné par fluidisation
 phase stationnaire: huile silicone DC 200
 20 % en poids
 longueur: 1 m
 Gaz vecteur: azote, débit: 250 l/h
 Détecteur: ionisation de flamme, monté en dérivation
 Température de colonne: ambiante
 Vaporisateur: 100°
 Injection: 0.25 cm³ pentane

Résultats et discussion

Le Tableau I montre les performances obtenues sur deux colonnes remplies suivant la technique de fluidisation^{2,3} et garnies de Chromosorb P non affiné et affiné par fluidisation. Nous donnons la valeur intrinsèque de l'efficacité des colonnes et l'efficacité utile, calculées dans les deux cas en nombre de plateaux théoriques au mètre.

TABLEAU I

EFFICACITÉ DES COLONNES PRÉPARATIVES AVEC ET SANS AFFINAGE PRÉALABLE DES GRAINS

	<i>Nombre de plateaux théoriques par mètre calculé pour une injection de 0.25 cm³ de pentane</i>	
	<i>Efficacité intrinsèque</i>	<i>Efficacité utile</i>
Chromosorb P non affiné	520	460
Chromosorb P affiné par fluidisation	625	570

Une distinction doit être faite entre l'efficacité intrinsèque et l'efficacité utile des colonnes fluidisées. Étant donné la valeur de la fraction de vide $\varepsilon_e = 0.40^{3,4}$ on peut penser que l'édifice particulier des grains qui est propre au lit fixe après fluidisation, se rapproche de la configuration dite "hexagonale cubique". Cet empilement géométrique, par sa perméabilité et son homogénéité donne les efficacités les plus élevées, mais se présente comme un édifice instable. Aussi dès les premières heures de marche d'une colonne préparative, les grains subissent un réarrangement en tendant vers une configuration plus stable, un peu plus dense sans pour autant présenter l'état de compacité maximum, mais encore homogène et perméable pour permettre une efficacité constante dans le temps. De telles colonnes ont été éprouvées sur plus de 110 h de marche continue sans perte d'efficacité³.

On note que le gain d'efficacité obtenu par affinage des grains est de l'ordre de 20 %.

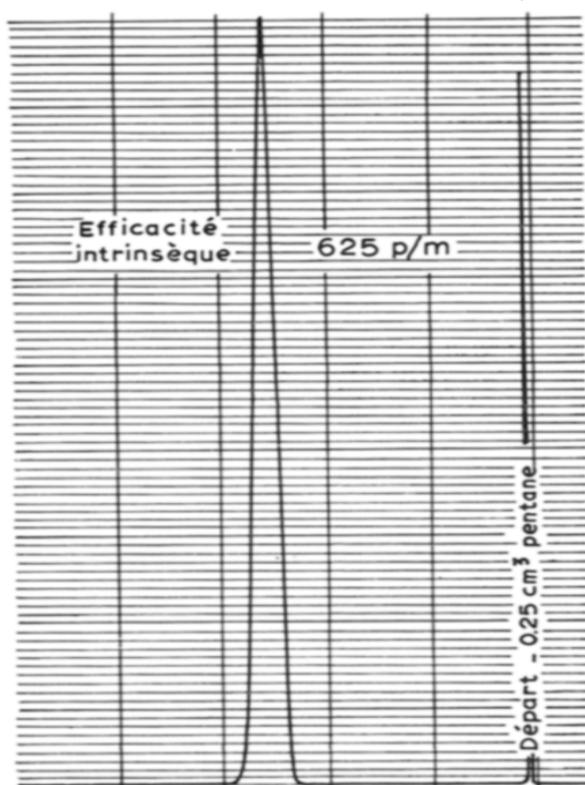
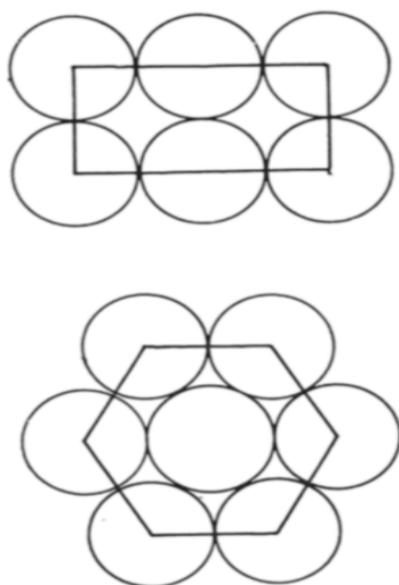


Fig. 2. Porosité d'une poudre avec des particules sphériques de même diamètre.

Fig. 3. Efficacité intrinsèque d'une colonne \varnothing 6 cm, remplie de Chromosorb P 400-500 μ , affiné par fluidisation, et utilisant les propriétés d'un lit fixe après fluidisation.

Remarque

On peut se demander si, utilisant la fluidisation pour l'affinage des grains, on n'a pas sacrifié à l'élégance alors qu'une technique élémentaire d'attrition donne les mêmes résultats.

Un récipient cylindrique en position horizontale, animé d'un mouvement rotatif, provoque l'attrition des particules en les faisant rouler les unes sur les autres. Le Chromosorb P ainsi affiné, imprégné de phase stationnaire huile silicone DC 200 donne,

toutes choses étant égales, les mêmes efficacités de colonne que précédemment (efficacité intrinsèque 610 p/m). Cependant dans ce cas, l'attrition étant particulièrement sévère, le pourcentage de fines formées pendant la même durée que la fluidisation s'élève à environ 20 %.

Au contraire dans le cas de la fluidisation les chocs entre particules étant moins violents, seules les aspérités superficielles de ces particules sont éliminées et représentent à peine 1 % de la quantité mise en oeuvre.

*Produits Chimiques Pechiney-Saint-Gobain,
Centre de Recherches d'Aubervilliers-93 (France)*

C. L. GUILLEMIN

1 J. C. GIDDINGS, *J. Gas Chromatog.*, 1, No. 1 (1963) 12.

2 C. L. GUILLEMIN, *J. Chromatog.*, 12 (1963) 163.

3 C. L. GUILLEMIN, *J. Gas Chromatog.*, 4, No. 3 (1966) 104.

4 P. REBOUX, *Phénomènes de Fluidisation*, Association Française de Fluidisation, Paris, 1954.

Reçu le 13 mars 1967

J. Chromatog., 30 (1967) 222-225

Säulenchromatographische Trennung von Ornithin und Lysin

Zur quantitativen Bestimmung von freien Aminosäuren und solchen aus Hydrolysaten benutzen wir seit mehreren Jahren die Apparatur nach HANNIG¹. Die Auftrennung der basischen Aminosäuren erfolgte zunächst in einer 50-cm-Säule, gefüllt mit Amberlite IRC 50. Dieser Ionenaustauscher wurde vor kurzem durch einen anderen, nämlich IRC 120, ersetzt². An diesem Harz liessen sich Lysin, Histidin, NH₃ und Arginin mit einem Citrat-Puffer (pH 5.28) sehr gut voneinander trennen, sowie vom Peak der sauren und neutralen Aminosäuren unterscheiden.

Ein Nachteil dieser Arbeitsweise liegt in der relativ langen Dauer der Trennung (7 h gegenüber ca. 3 h mit IRC 50). Ferner mussten wir im Verlaufe von Studien über den Arginin-Stoffwechsel in Pflanzen feststellen, dass das Ornithin im Peak des Lysins erscheint und daher als solches mitgemessen wird. Möglicherweise trifft dies auch für die frühere Trennung am Austauscher Amberlite IRC 50 zu. Dieses Verhalten ist aus der chemischen Konstitution von Ornithin und Lysin leicht verständlich. Beide Verbindungen unterscheiden sich bekanntlich nur durch eine CH₂-Gruppe (Molekulargewicht 132.10 bzw. 146.19). Um einen Bestimmungsfehler auszuschalten, wurde folgende Arbeitsweise entwickelt:

Unter einer Säulen-Heizung von 30° wird mit einem Na-Citrat-HCl-Puffer (pH 4.8) die Trennung am Austauscher Amberlite IRC 120 begonnen. Nachdem Ornithin, Lysin und Histidin erschienen und registriert sind, wird die Temperatur auf 50° erhöht und das Arginin mit NaOH vom Austauscher eluiert³. Durch diesen Vorgang lässt sich die Trennung erheblich verkürzen. Wie aus Fig. 1 ersichtlich ist, wird

J. Chromatog., 30 (1967) 225-226