

CHROM. 6793

SÉPARATION ET DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE SOUS HAUTE PRESSION DES ACIDES BENZÈNEPOLYCARBOXYLIQUES

UTILISATION DE LA PROGRAMMATION D'ÉLUANT*

J. AURENGE

Rhône-Progil, Laboratoire de Recherches de Décines, 24, Avenue Jean Jaurès, 69150 Décines (France)

(Reçu le 4 mai, 1973)

SUMMARY

Separation and determination of benzenepolycarboxylic acids by high-pressure elution liquid chromatography. The use of elution programming

The analysis of different benzenepolycarboxylic acids has been carried out on a resin film by high-pressure elution liquid chromatography with Zipax SAX as the support (compressed balls of silica covered with a porous layer containing a strong anionic ion exchanger).

The separation of the series of acids from benzoic to benzenhexacarboxylic acid is complete; most isomers are also separated, as well as certain non-acid derivatives.

This study has enabled an adequate procedure for programming the elution to be developed, which has enabled the separation of all of the acids considered to be achieved in a single operation. The reproducibility of the operation has been studied.

The quantitative analysis of a certain number of these acids has been approached by the method of internal standardization (standardization of response, reproducibility, detection limit).

INTRODUCTION

Il est possible de séparer en chromatographie de partage certains acides aliphatiques ou aromatiques bien que souvent les séparations obtenues soient de mauvaise qualité à cause de traînées présentées par ces produits très polaires.

La chromatographie sur résines échangeuses classiques a aussi été utilisée

* This lecture was intended to be held at the I. International Symposium on Column Liquid Chromatography, Interlaken, May 2-4, 1973. The proceedings of this symposium have been published in *J. Chromatogr.*, 83 (1973).

dans le même but¹⁻⁴, mais les efficacités obtenues demeuraient en général assez faibles, excepté pour le cas des aminoacides.

L'apparition des échangeurs d'ions pelliculaires⁵ déposés sur un support minéral a permis d'augmenter considérablement les efficacités des séparations obtenues; nous avons dans ce travail essayé de mettre au point un système de séparation sur résine permettant de résoudre l'ensemble des acides benzèncarboxyliques. On verra que ce système permet aussi de séparer quelques acides aliphatiques.

ÉLUTION NON PROGRAMMÉE

Séparation qualitative sur résine

Étude du système de séparation adopté

Nous avons utilisé un appareil de chromatographie liquide-liquide DuPont 820 en prenant comme base de notre étude les résultats de Schmit et Henry⁶ sur la séparation des acides phtaliques. La détection est faite au moyen de l'absorption UV.

Le support utilisé (SAX) est constitué de billes de silice recouvertes superficiellement de résine échangeuse à base de groupements ammonium quaternaire sur substrat polyméthacrylate.

Influence du pH sur la séparation. Nous avons étudié ce paramètre sur les trois acides phtaliques isomères et sur le 1,2,3-benzènetricarboxylique en partant d'un éluant standard dont la composition était la suivante: NaNO_3 0.02 M - H_3BO_3 0.01 M tamponné avec NaOH à un certain pH que nous avons fait varier. La Fig. 1 montre les courbes obtenues: nous pouvons voir que les temps de rétention augmentent beaucoup vers les pH acides vraisemblablement par ionisation de la résine anionique qui

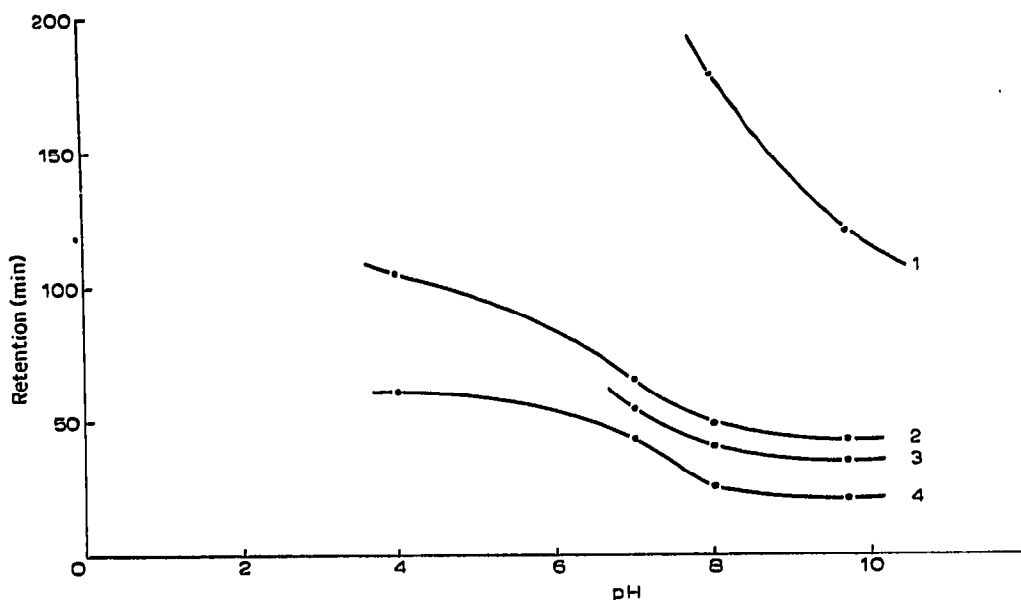


Fig. 1. Influence du pH sur la rétention. Éluant: NaNO_3 0.02 M - H_3BO_3 0.01 M - NaOH 0.1 N pour ajuster le pH. Acides: 1 = 1,2,3-benzènetricarboxylique; 2 = *m*-phtalique; 3 = *p*-phtalique; 4 = *o*-phtalique.

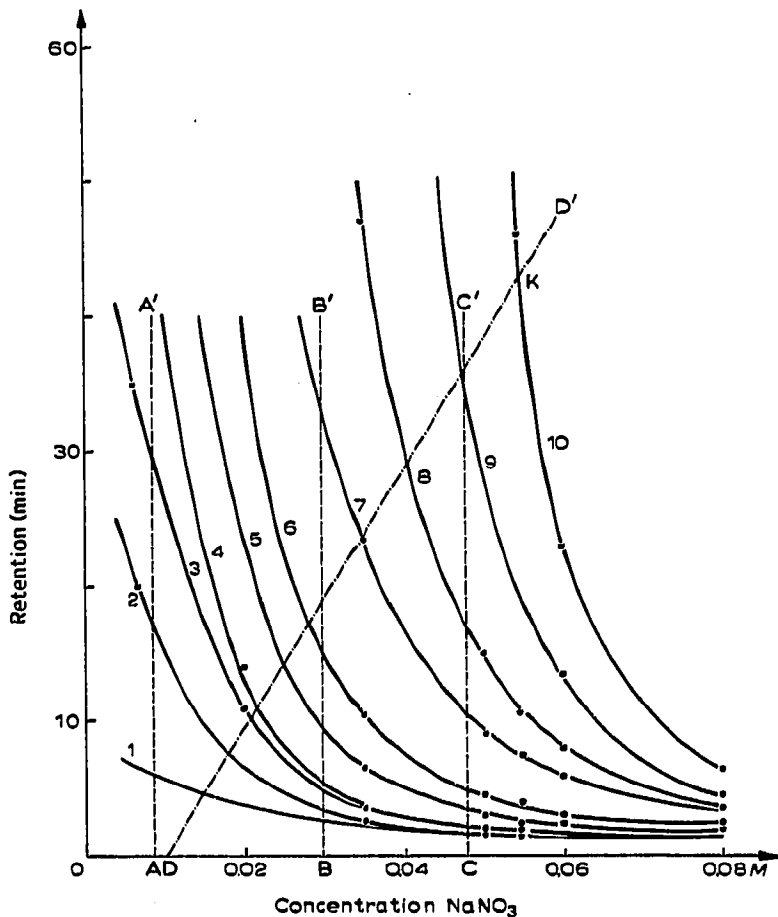


Fig. 2. Influence de la force ionique sur la rétention. Éluant: $\text{NaNO}_3\text{-H}_3\text{BO}_3$ 0.01 M; pH = 9.7. Acides benzènedicarboxyliques: 1 = mono-; 2 = 1,2-di-; 3 = 1,4-di-; 4 = 1,3-di-; 5 = 1,2,3-tri-; 6 = 1,2,4-tri-; 7 = 1,3,5-tri-; 8 = 1,2,4,5-tétra-; 9 = penta-; 10 = hexa-.

accroît le coefficient de partage; à partir de pH 7, le 1,3,5-tricarboxylique n'est plus élué ainsi que l'acide téréphtalique à pH 4; nous pouvons voir qu'à partir de pH 8 les séparations sont réalisables; nous avons choisi pour notre étude une valeur de pH comprise entre 9.1 et 9.7.

Influence de la force ionique. Schmit et Henry avaient déjà noté l'influence de ce paramètre. Sur la Fig. 2, nous pouvons voir pour un pH = 9.7 la variation de temps de rétention obtenue pour des concentrations salines croissantes. Cette concentration est le facteur le plus fondamental pour la chromatographie des acides carboxyliques; l'augmentation des concentrations ioniques tend à faire diminuer le temps de rétention, c'est-à-dire le coefficient de partage des acides, ce qui semble normal dans un processus d'échange d'ions. La séparation obtenue pour le phtalide, l'*o*-phtalaldéhyde et l'*o*-tolualdéhyde montre aussi qu'un mécanisme par équilibre de Donnan intervient dans la séparation. Les courbes obtenues nous permettent de dire que la séparation de l'ensemble des acides benzènedicarboxyliques est impossible dans un seul

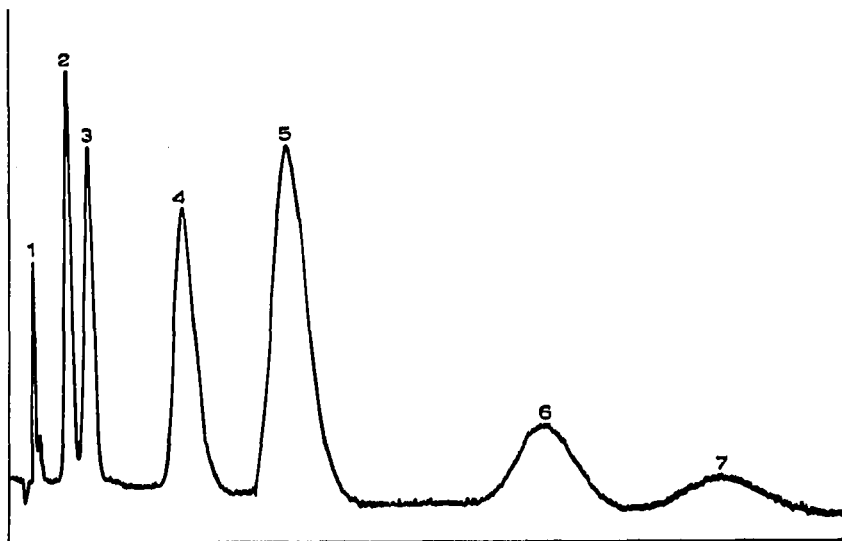


Fig. 3. Éluant non programmé-force ionique faible. Éluant: NaNO_3 0.007 M– H_3BO_3 0.01 M; pH = 9.7. 1 = Phtalide; 2 = acide *o*-toluique, acide phtalaldéhydique, *o*-phtalaldéhyde et *o*-tolualdéhyde; 3 = acide benzoïque; 4 = acide maléique (étalon interne); 5 = acide *o*-phtalique; 6 = acide téréphtalique; 7 = acide isophtalique.

éluant en mode non programmé et qu'il sera nécessaire de choisir cet éluant en fonction du domaine de polyacides analysés.

Éluants choisis. Les éluants que nous avons retenus sont tous du même type et contiennent en solution aqueuse tamponnée à pH 9.7 par de la soude: H_3BO_3 0.01 M; NaNO_3 de concentration comprise entre 0.005 M et 0.1 M.

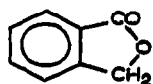
Nous avons groupé dans le paragraphe suivant trois éluants de concentrations différentes en NaNO_3 qui permettent de séparer l'ensemble des acides benzencarboxyliques.

Résultats obtenus

Nous classerons les résultats obtenus en trois catégories principales selon la force ionique utilisée.

Éluants de force ionique faible. La catégorie de produits concernés comprend les acides dont l'éluant est possible pour des forces ioniques inférieures à NaNO_3 0.01 M.

La Fig. 3 montre la séparation d'un mélange témoin de monoacides, de diacides et de composés non acides (NaNO_3 0.007 M). Le composé le moins retenu est le phtalide



ensuite sortent ensemble l'acide *o*-toluique, l'aldéhyde *o*-toluique, l'acide aldéhydique et le dialdéhyde. Après ce groupe viennent l'acide benzoïque puis les trois isomères

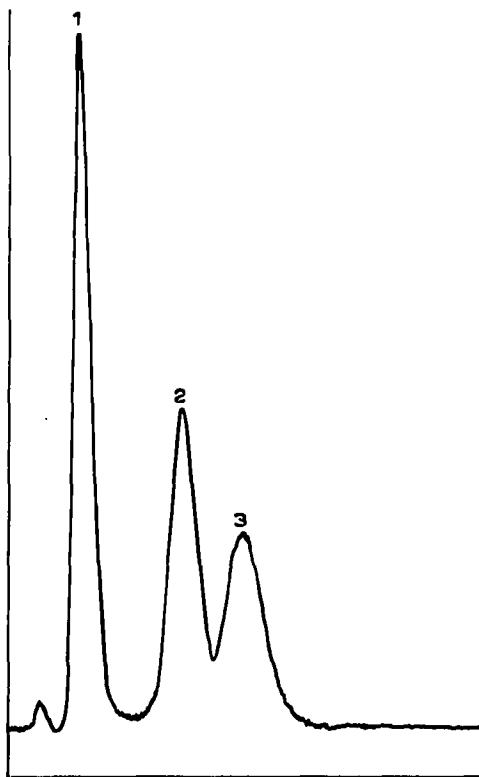


Fig. 4. Éluion non programmée des acides phtaliques—force ionique intermédiaire. Éluant: NaNO_3 , 0.02 M — H_3BO_3 , 0.01 M ; $\text{pH} = 9.7$. Acides phtaliques: 1 = *ortho*-; 2 = *téré*-; 3 = *iso*-.

des acides benzènedicarboxyliques (l'acide maléique sort entre l'acide benzoïque et l'acide *o*-phtalique); on peut voir que l'acide *téré*phtalique présente une traînée considérable.

Éluants de force ionique intermédiaire. Ces éluants dont la force ionique est comprise entre NaNO_3 , 0.01 M et NaNO_3 , 0.04 M permettent de séparer les diacides et les acides benzènetricarboxyliques avec leurs isomères.

La Fig. 4 montre la séparation des trois isomères des acides phtaliques (NaNO_3 , 0.02 M) et la Fig. 5 représente le chromatogramme des trois acides benzènetricarboxyliques (les isomères 1,2,3-tri, 1,2,4-tri et 1,3,5-tri); dans les conditions de cette dernière séparation, on peut voir que le pouvoir éluant est trop fort pour la séparation des diacides *iso*- et *téré*phtaliques.

Éluants de force ionique forte. Ces éluants de force ionique supérieure à NaNO_3 , 0.04 M permettent de séparer des benzènetricarboxyliques, jusqu'au benzène hexacarboxylique.

La Fig. 6 montre la séparation des trois isomères des tricarboxyliques, du 1,2,4,5-tétracarboxylique, du penta et du benzènehexacarboxylique, ces deux derniers produits présentant encore des traînées importantes dans ces conditions d'éluion; dans ces conditions, tous les produits de temps de rétention plus faible que les tricarboxyliques sortent tassés en front de solvant.

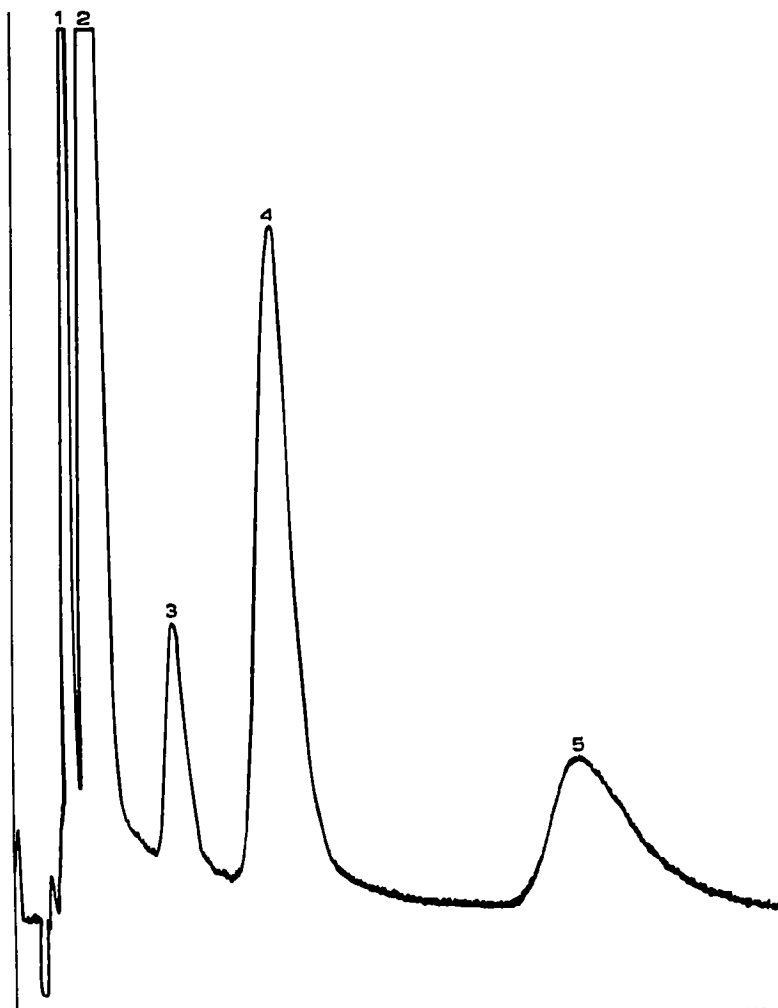


Fig. 5. Éluion non programmée des acides benzènedi- et tricarboxyliques—force ionique intermédiaire. Éluant: NaNO_3 0.035 M — H_3BO_3 0.01 M ; pH = 9.7. Acides: 1 = *o*-phtalique; 2 = iso- et téréphtalique; 3 = 1,2,3-benzènetricarboxylique; 4 = 1,2,4-benzènetricarboxylique; 5 = 1,3,5-benzènetricarboxylique.

Analyse quantitative

Étalonnage des réponses. Selon le domaine des acides à séparer et l'éluant utilisé, on devra employer différents étalons de référence.

D'une façon générale, nous avons trouvé que les réponses étaient linéaires dans les concentrations utilisées, ce qui nous a permis de déterminer un coefficient de réponse pour chaque produit considéré. La Fig. 7 est un exemple de la linéarité obtenue sur un des étalonnages effectués. Le Tableau I donne les résultats des coefficients de réponse des divers produits par rapport aux standards utilisés. Plusieurs étalons ont parfois été nécessaires pour le même éluant à cause des interférences avec les mélanges analysés. On peut voir sur le Tableau I la variation très importante des coefficients

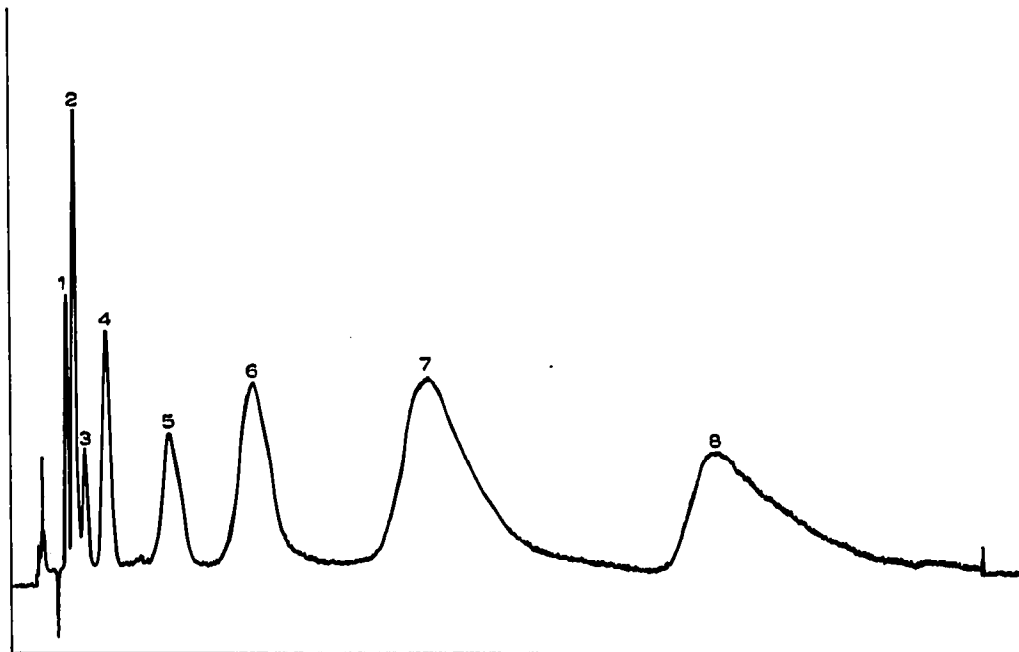


Fig. 6. Éluion non programmée - force ionique forte. Éluant: NaNO_3 , 0.055 *M*- H_3BO_3 , 0.01 *M*; pH = 9.7. Acides: 1 = *o*-phtalique, benzoïque, maléique et fumarique; 2 = iso- et téréphtalique; 3 = 1,2,3-benzènetricarboxylique; 4 = 1,2,4-benzènetricarboxylique; 5 = 1,3,5-benzènetricarboxylique; 6 = 1,2,4,5-benzènetétracarboxylique; 7 = benzènepentacarboxylique; 8 = benzènehexacarboxylique.

de réponse due à l'utilisation du détecteur UV; ces coefficients varient selon le cas de 1 à 5 et même plus en ce qui concerne le phtalide.

Reproductibilité de dosage. Nous avons testé la reproductibilité de la méthode sur un échantillon d'eau mère acétique de recyclage dans la synthèse industrielle d'anhydride phtalique (Fig. 8). L'éluant utilisé était: NaNO_3 0.007 *M* et l'étalon l'acide maléique. Le Tableau II rend compte des écarts statistiques obtenus. On peut voir que pour des concentrations supérieures à 1 % et pour des pics ne présentant pas de traînées trop importantes, les limites de confiance relatives sont de l'ordre de 3 à 4%. Pour des concentrations aussi faibles que 500 ppm, l'erreur relative est de l'ordre de 20%.

Limites de détection. Ces limites ont été déterminées sur une eau mère dans le cas du phtalide, des acides mono- et dicarboxyliques; elles sont de l'ordre de 0.03 à 0.4% selon les séparations et les composés pour une injection de 0.5 mg (on ne peut guère aller au-delà sans saturer la colonne). Le Tableau III rend compte de ces résultats.

ÉLUTION PROGRAMMÉE

Séparation qualitative

Système de séparation adopté. Nous avons transposé les diverses séparations

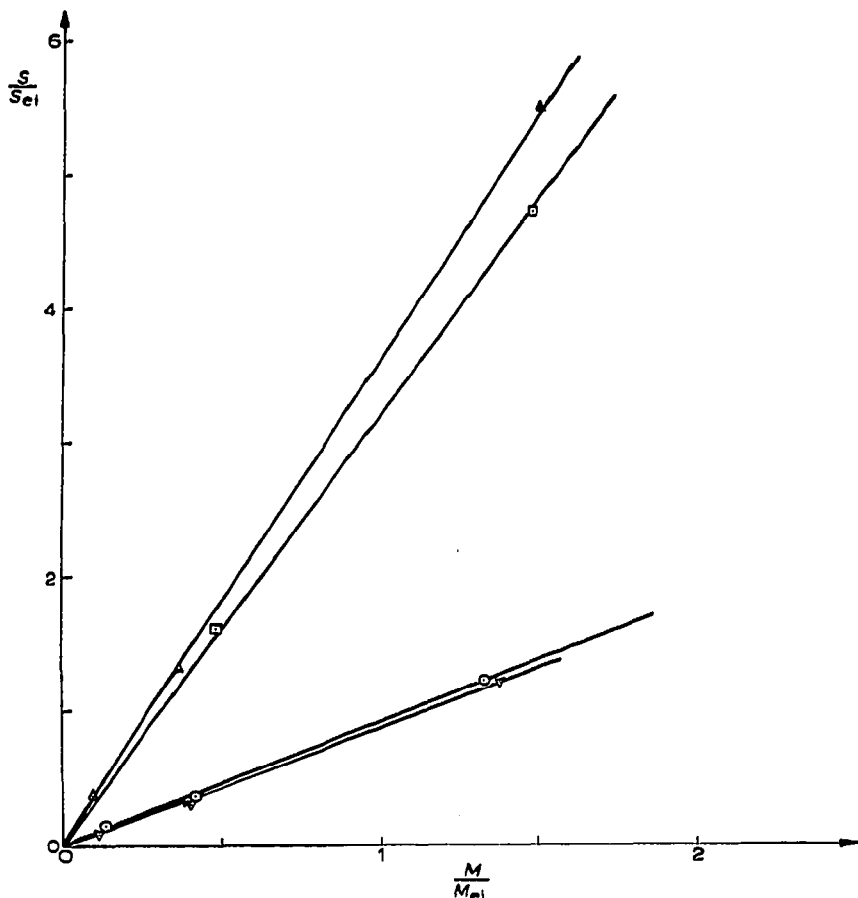


Fig. 7. Détermination des coefficients de réponse. Éluant: NaNO_3 0.055 M - H_3BO_3 0.01 M ; pH = 9.7. Étalon interne: acide benzènehexacarboxylique ($5 \mu\text{g}/5 \mu\text{l}$). Acides benzèncarboxyliques: \triangle - \triangle = 1,2,4-tri- ($K = 3.57$); \square - \square , 1,2,4,5-tétra- ($K = 3.13$); \circ - \circ , 1,3,5-tri- ($K = 0.92$); ∇ - ∇ , 1,2,3-tri- ($K = 0.86$).

obtenues précédemment en élution programmée. L'effet de sel étant le facteur déterminant des temps de rétention, c'est la concentration ionique que nous avons fait varier au moyen de notre système de programmation.

L'appareillage est le module commercial standard qui s'adapte au chromatique liquide DuPont 820. Nous avons retenu les conditions opératoires suivantes pour l'analyse, avec éluant programmé sur colonne DuPont SAX: éluant, acide borique 0.01 N tamponné à pH = 9.1, programmation de la concentration en NaNO_3 ; programmation NaNO_3 , gradient linéaire à 2%/min de NaNO_3 0.01 M à NaNO_3 0.1 M ; temps d'élution, 45 min; débit d'éluant, 1.5 cm^3/min ; quantité injectée, 5 μl d'une solution de concentration de l'ordre de 1% pour chacun des produits.

Résultats obtenus. Dans ces conditions, l'ensemble des séparations obtenues dans les divers éluants précédents non programmés est réalisable en une seule analyse; pour les quinze acides analysés, il y a interférence entre l'acide maléique et l'acide citraconique d'une part, et l'acide *o*-phthalique et l'acide fumarique d'autre part. La

TABLEAU I
ÉLUTION NON PROGRAMMÉE — COEFFICIENTS DE CORRECTION

Type d'éluant	Étalon interne	Produits dosés	Coefficients de correction K
NaNO ₃ 0.007 N	acide maléique	phtalide	1.70
		acide benzoïque	0.95
		acide <i>o</i> -phtalique	0.69
		acide téréphtalique	0.54
		acide isophtalique	1.67
	acide aminobenzoïque	phtalide	9.08
		acide benzoïque	4.15
		acide citraconique	3.66
NaNO ₃ 0.012 N	acide <i>o</i> -toluique	acide fumarique	0.41
		acide <i>o</i> -phtalique	0.51
		acide isophtalique	0.47
NaNO ₃ 0.035 N	acide 1,3,5-benzènetricarboxylique	acide 1,2,3-benzènetricarboxylique	1.07
		acide 1,2,4-benzènetricarboxylique	0.20
NaNO ₃ 0.055 N	acide 1,3,5-benzènetricarboxylique	acide 1,2,4,5-benzènetétracarboxylique	0.28
	acide benzènehexacarboxylique	acide 1,2,3-benzènetricarboxylique	1.16
		acide 1,2,4-benzènetricarboxylique	0.28
		acide 1,3,5-benzènetricarboxylique	1.09
		acide 1,2,4,5-benzènetétracarboxylique	0.32

Fig. 9 rend compte de cette séparation sur un mélange standard; la même analyse avec un taux de programmation de 5%/min (au lieu de 2%) peut être faite en 15 min (au lieu de 45) avec une perte non négligeable en résolution (Fig. 10).

Si l'on se réfère à la Fig. 2 on peut voir que les divers temps de rétention des acides chromatographiés dans ces conditions se situent à l'intersection du faisceau de courbes et de la droite DD'; cette droite est obtenue en reliant le point D, départ du gradient, au point K intersection de la courbe relative à l'hexacarboxylique et l'ordonnée (41 min), temps de rétention de ce dernier composé; l'abscisse de point K correspond à la concentration moyenne mise en oeuvre pendant l'opération de programmation. Les droites AA', BB' et CC' représentent les 3 processus non programmés.

Analyse quantitative

Étalonnage des réponses. Un seul étalon a été utilisé puisque l'analyse couvre

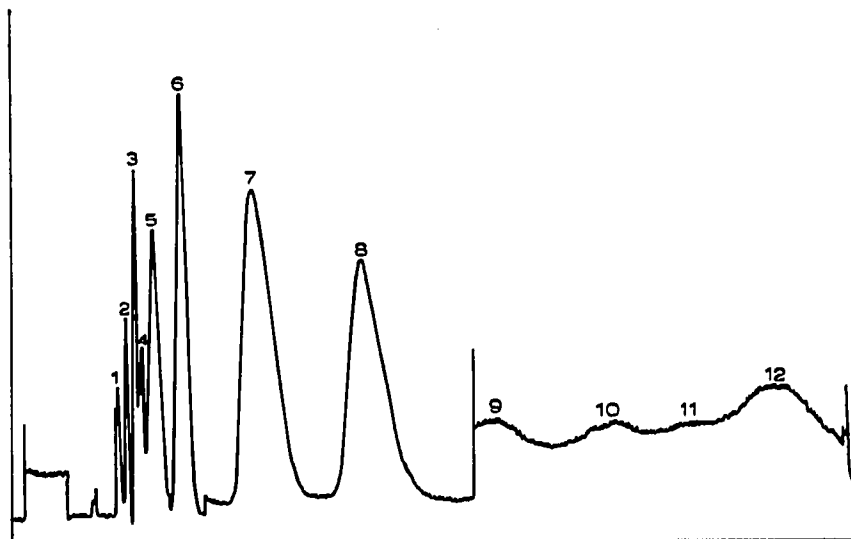


Fig. 8. Analyse d'une eau mère de synthèse d'anhydride phtalique. Éluant: NaNO_3 0.007 M- H_3BO_3 0.01 M; pH = 9.7. 1 = Inconnu; 2 = phtalide; 3 = acide acétique; 4 = inconnu; 5 = *o*-phtalaldéhyde, acide *o*-toluique, aldéhyde *o*-toluique et tolualdéhyde; 6 = acide benzoïque; 7 = acide maléique (étalon interne); 8 = acide *o*-phtalique; 9 = inconnu; 10 = acide téréphtalique; 11 = inconnu; 12 = acide isophtalique.

TABLEAU II
REPRODUCTIBILITÉ D'UNE ANALYSE

Essai	% Phtalide	% Acide benzoïque	% Acide <i>o</i> -phtalique	% Acide téréphtalique	% Inconnu	% Acide isophtalique
1	0.70	5.95	2.06	0.04	0.07	0.62
2	0.63	6.09	2.11	0.04	0.07	0.87
3	0.61	5.88	2.03	0.04	0.04	0.75
4	0.65	5.85	2.06	0.06	0.04	0.75
5	0.63	6.09	2.08	0.06	0.07	0.81
6	0.61	5.85	2.03	0.04	0.07	0.93
7	0.58	5.39	1.93	0.04	0.07	0.71
8	0.61	5.74	2.06	0.04	0.07	0.93
9	0.72	5.86	1.96	0.04	0.07	0.62
Moyenne \bar{X}	0.64	5.86	2.04	0.044	0.063	0.78
Limite de confiance σ	± 0.03	± 0.17	± 0.05	± 0.008	± 0.010	± 0.09
Limite de confiance relative						
$\frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100$	4.7	2.9	2.5	17	16	11

TABLEAU III

VALEURS DES LIMITES DE DÉTECTION

Ces valeurs ont été déterminées sur une eau mère de lavage d'anhydride *o*-phtalique (éluant NaNO_3 : 0.007 M, pH 9.75).

Composés	Limites de détection (%)	Remarques
Phtalide	0.14	Sans excès d'acide acétique
	0.5	En présence d'un excès d'acide acétique
Acide benzoïque	0.03	
Acide <i>o</i> -phtalique	0.1	
Acide téréphtalique	0.05	
Acide isophtalique	0.4	

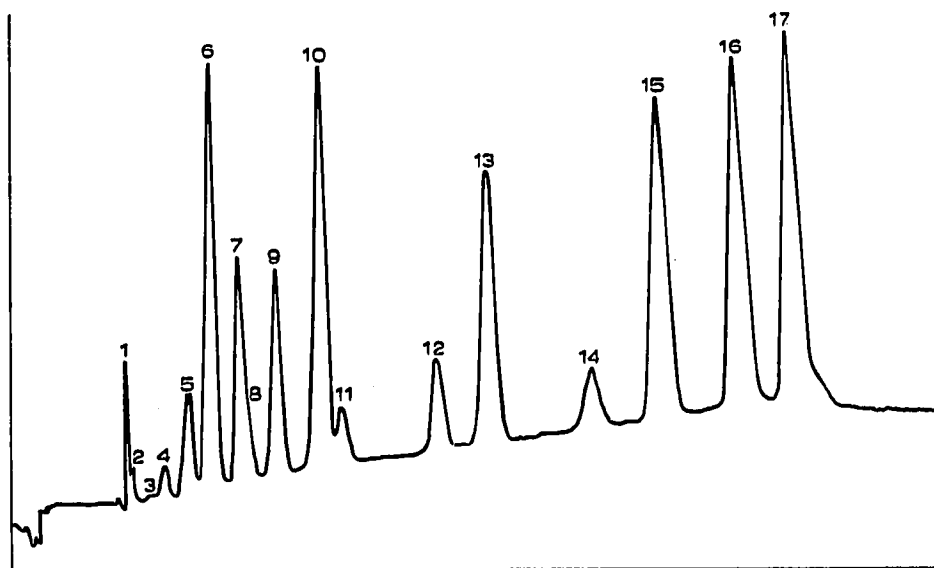


Fig. 9. Éluion programmée. Éluant: NaNO_3 - H_3BO_3 0.01 M; pH = 9.1. Programmation NaNO_3 : gradient linéaire de 0.01 M à 0.1 M à 2% par minute. 1 = Phtalide; 2 = inconnu; 3 = inconnu; 4 = acide *o*-toluique; 5 = acide benzoïque; 6 = acide *o*-aminobenzoïque; 7 = acide citraconique; 8 = acide maléique; 9 = acides *o*-phtalique et fumarique; 10 = acide téréphtalique; 11 = acide isophtalique; 12 = acide 1,2,3-benzènetricarboxylique; 13 = acide 1,2,4-benzènetricarboxylique; 14 = acide 1,3,5-benzènetricarboxylique; 15 = acide 1,2,4,5-benzènetétracarboxylique; 16 = acide benzènepentacarboxylique; 17 = acide benzènehexacarboxylique.

toute la gamme des acides concernés: il s'agit de l'acide pentabenzènetricarboxylique. Le Tableau IV montre la valeur des coefficients de réponse obtenus dans ces nouvelles conditions opératoires.

Reproductibilité. Nous avons déterminé sur une série limitée d'échantillons la reproductibilité des temps de rétention de quatre acides pris comme référence; cette reproductibilité est directement liée à la reproductibilité des dosages; nous pouvons

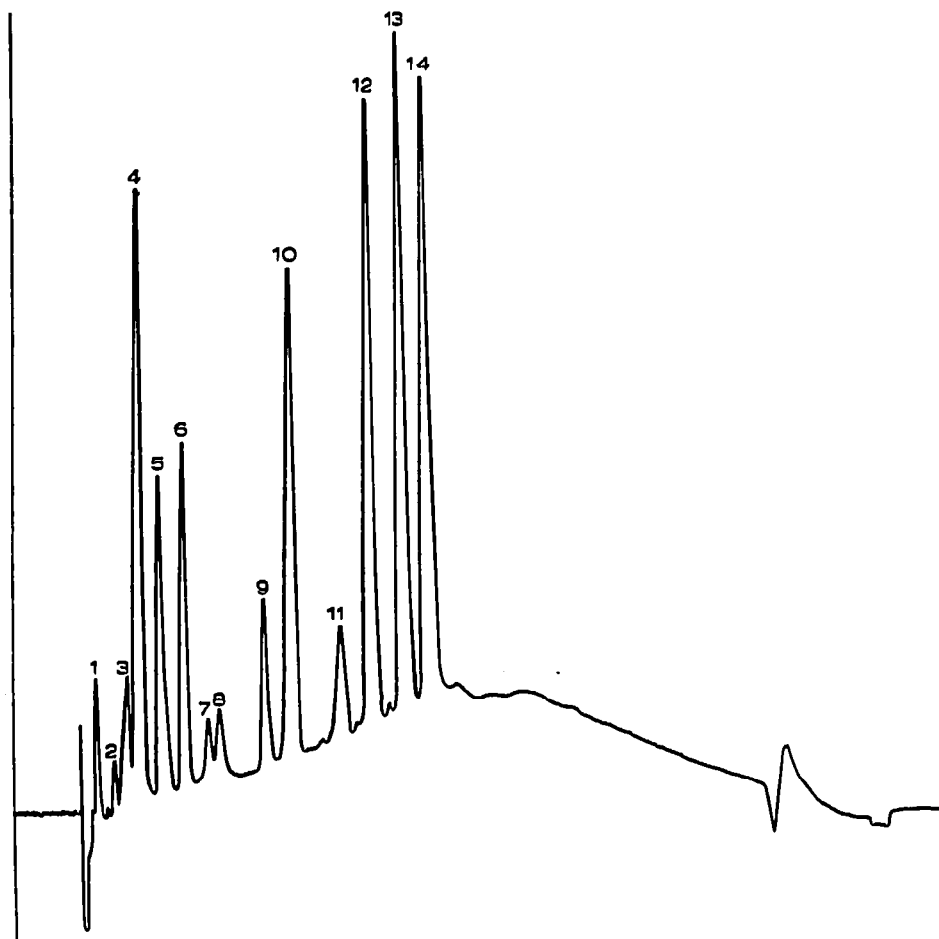


Fig. 10. Éluion programmée. Éluant: $\text{NaNO}_3\text{-H}_3\text{BO}_3$ 0,01 M ; $\text{pH} = 9,1$. Programmation NaNO_3 : gradient linéaire de 0,01 M à 0,1 M à 5% par minute. 1 = Phtalide; 2 = acide *o*-toluique; 3 = acide benzoïque; 4 = acide *o*-aminobenzoïque; 5 = acides citraconique et maléique; 6 = acides *o*-phthalique et fumarique; 7 = acide téréphtalique; 8 = acide isophtalique; 9 = acide 1,2,3-benzène-tricarboxylique; 10 = acide 1,2,4-benzène-tricarboxylique; 11 = acide 1,3,5-benzène-tricarboxylique; 12 = acide 1,2,4,5-benzène-tétracarboxylique; 13 = acide benzène-pentacarboxylique; 14 = acide benzène-hexacarboxylique.

voir dans le Tableau V que l'erreur faite sur les mesures ne dépasse pas 4% de chaque valeur moyenne.

Limite de détection. Les limites de détection sont du même ordre de grandeur (0,5%) qu'en mode non programmé; elles sont un peu moins bonnes du fait de la dérive de la ligne de base due à la programmation et du bruit de fond plus important.

CONCLUSIONS

Cette étude montre d'abord les possibilités qu'offre la chromatographie en phase liquide sous haute pression pour la séparation des acides organiques sur résine échangeuse.

TABLEAU IV

COEFFICIENTS DE CORRECTION DE DIVERS ACIDES CARBOXYLIQUES CHROMATOGRAPHIQUES EN MODE D'ÉLUTION PROGRAMMÉE

Étalon: acide benzènepentacarboxylique.

<i>Composés</i>	<i>Coefficient de correction</i>
Phtalide	6.45
Acide benzoïque	3.57
Acide maléique	4.26
Acide fumarique	2.11
Acide <i>o</i> -phtalique	2.56
Acide isophtalique	6.1
Acide téréphtalique	2.0
Acide 1,2,4-benzènetricarboxylique	0.71
Acide 1,3,5-benzènetricarboxylique	2.77
Acide 1,2,4,5-benzènetétracarboxylique	0.85

TABLEAU V

REPRODUCTIBILITÉ DES TEMPS DE RÉTENTION EN GRADIENT D'ÉLUTION

Conditions: gradient linéaire à 2% par minute NaNO₃ (de 0.01 à 0.1 M).

<i>Essai</i>	<i>Temps de rétention (min)</i>			
	<i>Acide maléique</i>	<i>Acide 1,2,4-benzènetricarboxylique</i>	<i>Acide 1,2,4,5-benzènetétracarboxylique</i>	<i>Acide benzènepentacarboxylique</i>
1	27.5	124	76	110
2	28	125	77	111
3	28	125	78	112
4	29	125	78.5	113
Moyenne	28.1	124.7	77.4	111.5

On a pu voir ensuite l'augmentation des performances apportée par la programmation d'éluant ainsi que les diverses possibilités d'analyse quantitative dans les deux modes d'éluion.

RÉSUMÉ

L'analyse des différents acides benzènepolycarboxyliques a été entreprise sur résine pelliculaire en chromatographie liquide d'éluion sous haute pression; le support utilisé était du Zipax SAX (billes de silice compactes recouvertes d'une écorce poreuse greffée avec un échangeur anionique fort).

La séparation est totale de l'acide benzoïque jusqu'à l'acide benzènehexacarboxylique en passant par les différents intermédiaires; la plupart des isomères sont aussi séparés ainsi que certains dérivés non acides.

Cette étude a permis de mettre au point une procédure convenable de programmation d'éluant et cette dernière a permis d'obtenir la séparation de l'ensemble des acides considérés en une seule opération; la reproductibilité de cette programmation a été étudiée.

L'analyse quantitative a été abordée sur un certain nombre de ces acides par la méthode de l'étalonnage interne (étalonnage des réponses, reproductibilité, limite de détection).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 A. L. Gedda, *Anal. Chim. Acta*, 27 (1962) 63.
- 2 K. Shimomura, *Anal. Chem.*, (1965) 1012.
- 3 R. C. Zerfing, *Anal. Chem.*, (1966) 1312.
- 4 L. Bengtsson, *Chromatographia*, 4 (1971) 142.
- 5 J. J. Kirkland, *J. Chromatogr. Sci.*, 7 (1969) 361.
- 6 J. A. Schmit et R. A. Henry, *Chromatographia*, 3 (1970) 497.