

CHROM. 8048

TECHNIQUES DE REMPLISSAGE DE COLONNES DE CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE AVEC DES MICROPARTICULES POREUSES

BERNARD COQ, COLETTE GONNET et JEAN-LOUIS ROCCA

Laboratoire de Chimie Analytique, E.S.C.I.L., Université Lyon I, Équipe de Recherche Associée au C.N.R.S. (E.R.A. No. 474: Alain Lamotte et Maurice Porthault), 43 Boulevard du 11 novembre 1918, 69621 Villeurbanne (France)

(Reçu le 30 septembre 1974)

SUMMARY

Techniques for packing high-performance liquid chromatographic columns with porous microparticles

Liquid chromatography columns were packed under pressure by a slurry packing technique using carbon tetrachloride as the dispersing agent. The stationary phases used were the silica gels Lichrosorb SI 60 and SI 100 and Partisil and the aluminas Lichrosorb Alox T and Spherisorb A5Y. The particle diameter was 5 μm . The validity of the technique proved to be superior to the classic technique of balanced density slurry packing. It ensures high performance and high efficiency of columns. A study of column parameters (length and internal diameter) showed that there was a decrease in efficiency down to 15 cm column length and that an internal diameter of 4.6 mm gave the best results with the injection system used. Columns of 5-cm length packed with silica gel or alumina yielded theoretical plate values of more than 2500 and 1500, respectively.

INTRODUCTION

La chromatographie a connu, ces dernières années, un essor considérable par suite de l'apparition de supports de très fine granulométrie (diamètre de particules $\leq 10 \mu\text{m}$). Leurs utilisations^{1,2}, conduisant à des HETP très faibles, permettent dès lors la réussite de séparations chromatographiques sur des colonnes relativement courtes alliant ainsi efficacité et vitesse d'analyse.

Cependant, si ces colonnes de chromatographie offrent des avantages considérables par rapport à celles remplies de supports de plus grosse granulométrie ($> 20 \mu\text{m}$), leur élaboration en est plus délicate et nécessite des remplissages par "voie humide" sous pression. Ces méthodes, décrites dans la littérature notamment par Majors¹, Kirkland³ et Engelhardt *et al.*⁴, permettent certes l'obtention de colonnes performantes, mais ne résolvent pas totalement les problèmes du taux de réussite d'une part, et de la facilité de régénération d'autre part de telles colonnes.

Ces colonnes performantes, séduisantes pour leur efficacité, exigent un soin tout particulier dans leur utilisation. En effet, l'élargissement des pics chromatographiques dû aux effets externes à la colonne, et notamment à l'injection, est relativement peu important pour des supports de grosse granulométrie. Cependant il prend, avec des supports de fine granulométrie, une importance d'autant plus grande que la colonne est plus performante. Aussi la même application doit-elle être apportée dans la technique d'injection que dans celle de remplissage pour préserver le caractère hautement efficace de la colonne.

L'étude que nous présentons ne prétend pas résoudre entièrement ces problèmes. Nous nous sommes bornés à présenter un système de remplissage permettant d'atteindre de bonnes efficacités et à minimiser l'opération de régénération par l'utilisation du tétrachlorure de carbone comme phase de remplissage.

TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES DE REMPLISSAGE

Produits

Les produits utilisés sont de qualité Merck pour analyse.

Dispositif

La Fig. 1 représente le dispositif utilisé pour le remplissage des colonnes de chromatographie et constitué des éléments décrits ci-dessous.

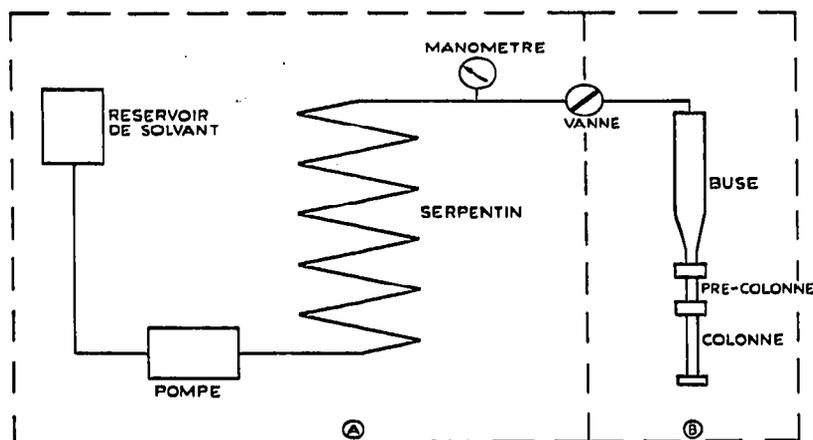


Fig. 1. Schéma du montage de remplissage.

Ensemble A —pompe, serpentin, vanne. Deux systèmes de pompage sont testés dans ce travail : d'une part une pompe à membrane (Orlita Type DMP 15-15 de débit maximum 636 ml/h), d'autre part une pompe type seringue (réalisée à notre demande par la société Sceraly⁵ de débit maximum 600 ml/h).

En aval du système de pompage est placé un serpentin. Celui-ci est réalisé par enroulement régulier d'un tube en acier inoxydable $\frac{3}{8}$ in. (diamètre interne 8 mm, longueur 4.50 m et volume 220 ml environ). Ce serpentin fait office de réserve de compression : en effet la mise sous pression du système A avant le remplissage des colonnes

permet d'obtenir, à l'ouverture de la vanne, un surplus de débit qui peut améliorer la rapidité du tassement. A cet effet, nous avons testé trois versions de l'ensemble A permettant de faire varier le volume de liquide comprimé: (i) Pompe Orlita sans serpentín: système ne permettant aucune compression notable de liquide en amont de la vanne; (ii) pompe Orlita avec serpentín: système permettant la compression d'un volume de liquide d'environ 220 ml en amont de la vanne; (iii) pompe Sceraly avec serpentín: système permettant la compression d'un volume de liquide, d'environ 350 ml en amont de la vanne, représentant la somme des volumes du serpentín et des corps de pompe.

Une vanne à boisseau sphérique, Hoke, Série FLO-MITE, isole les deux ensembles A et B.

Ensemble B—*buse, précolonne, colonne*. En aval de la vanne précédente, se trouve l'ensemble B constitué d'un réservoir, ou buse de remplissage, d'une précolonne et d'une colonne: le volume total est de 22 à 25 ml.

La buse, destinée à recevoir la "bouillie" de remplissage est représentée sur la Fig. 2. Elle est analogue par sa forme à celle décrite par Kirkland⁶ mais plus simple quant à sa conception.

La précolonne (d'une longueur d'environ 5 cm) et la colonne ont les mêmes diamètres interne et externe. Elles sont reliées bout-à-bout par un raccord union de $\frac{1}{4}$ in. spécialement usiné à cet effet. Cette technique, proposée par Majors¹, permet un remplissage plus homogène. La sortie de colonne est constituée d'un raccord à faible volume mort (Reeve-Angel L.D.V.) dans lequel on insère un fritté (Reeve-Angel) de porosité $2 \mu\text{m}$ et d'épaisseur 1 mm.

Toutes les parties métalliques de ce dispositif précédemment décrit sont en acier inoxydable.

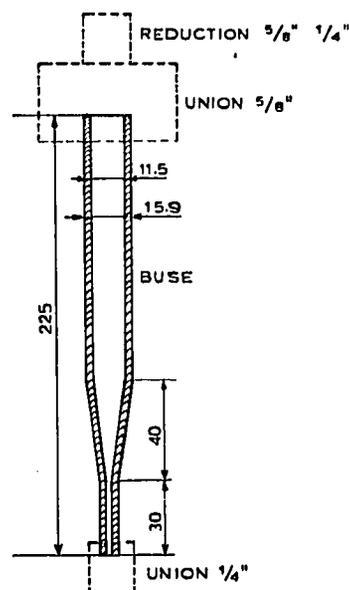


Fig. 2. Coupe de la buse de remplissage. Les dimensions sont exprimées en mm.

Technique de remplissage

Nous exposons dans ce paragraphe le mode adopté pour le remplissage sous pression des colonnes de chromatographie. Celui-ci consiste à mettre en suspension le support et réaliser ainsi la "bouillie" de remplissage, laquelle est ensuite introduite dans l'ensemble B. Durant cette opération, les pompes fonctionnant à leur débit maximum, l'ensemble A rempli d'isooctane est pressurisé jusqu'à 450 bars environ. Après avoir raccordé les deux ensembles A et B, la vanne est brusquement ouverte. Examinons plus en détail les différentes étapes de cette technique de remplissage.

Supports. Notre étude a porté sur des supports de granulométrie égale à 5 μm , à savoir des silices (Lichrosorb SI 60 et SI 100, et Partisil) et des alumines (Lichrosorb Alox T et Spherisorb A5Y). Leurs caractéristiques sont rassemblées dans le Tableau I.

TABLEAU I
CARACTÉRISTIQUES DES PHASES STATIONNAIRES UTILISÉES

Support	Phase	Granulométrie (μm)	Surface spécifique (m^2/g)	Diamètre moyen des pores (Å)
Silices	Lichrosorb SI 60 (Merck*)	5	500	60
	Lichrosorb SI 100 (Merck)	5	400	100
	Partisil (Reeve-Angel**)	5	400	55-60
Alumines	Lichrosorb Alox T (Merck)	5	70	150
	Spherisorb A5Y (Phase Separations***)	5	95	150

* Merck, Darmstadt, G.F.R.

** H. Reeve-Angel, Clifton, N.J., U.S.A.

*** Phase Separations, Queensferry, Great Britain.

"*Bouillie*". La "bouillie" est réalisée par mise en suspension du support dans la phase de remplissage. Le Tableau II rassemble les différentes quantités mises en présence, ramenées au remplissage d'une colonne de 10 cm de longueur et 4.6 mm de diamètre interne.

Après avoir bien homogénéisé la bouillie, on la verse dans l'ensemble B précédent dont on complète éventuellement le volume interne par addition d'isooctane. Aucune précaution particulière, telle qu'un dégazage préalable^{1,6} n'est prise pour la réalisation de cette opération, si ce n'est une grande rapidité d'exécution.

Remplissage. L'ensemble A est pressurisé au débit maximum de la pompe par

TABLEAU II
QUANTITÉS MISES EN PRÉSENCE DANS LA RÉALISATION DE LA "BOUILLIE" DE REMPLISSAGE

Support	Quantité de support (g)	Phases de remplissage	g de support par ml de phase de remplissage
Silices	1.3-1.5	Tétrachlorure de carbone	0.1
		Tétrabromoéthane-tétrachloroéthylène (60.6:39.4)	
Alumines	2.4-2.6	Tétrachlorure de carbone Tétrabromoéthane	0.2

fermeture de la vanne à laquelle on a raccordé l'ensemble B. Lorsque la pression atteint une valeur d'environ 450 bars, on ouvre la vanne et le support se trouve alors brusquement tassé dans la colonne et la précolonne. À l'ouverture on observe une chute de pression dont l'importance dépend de la nature et de la quantité du support, de la longueur et de la section de la colonne, ainsi que de la phase de remplissage. Au débit maximum de la pompe, sans toutefois dépasser la pression limite de 450 bars, on chasse la phase de remplissage puis on poursuit l'opération par passage d'environ 50 ml d'isooctane. On arrête alors le débit de la pompe et on laisse dépressuriser l'ensemble lentement. La colonne avec sa précolonne est déconnectée de la buse.

Régénération. On régénère l'ensemble colonne-précolonne au moyen d'une pompe haute pression (Orlita ou Sceraly) dans les limites de débit et de pression précédemment citées. La présence de la précolonne assure le rôle de réserve de support pour le cas où un tassement se produirait durant cette opération.

Lorsque la phase de remplissage est le tétrachlorure de carbone, la régénération de 1 g de support est assurée par passage de 100 ml d'isooctane. Elle est moins aisée lorsque la "bouillie" est réalisée à partir de tétrabromoéthane et de tétrachloroéthylène. Dans ce cas 1 g de support est régénéré par passage de 150 ml de dichlorométhane puis de 100 ml d'isooctane.

La régénération terminée, colonne et précolonne sont soigneusement déconnectées. On ôte ensuite en tête de colonne, à l'aide d'une fine spatule, une épaisseur de support d'environ 1 mm. Puis on fixe dans ce dégagement une pastille découpée à l'emporte-pièce dans une plaque de polyéthylène poreux. Les dimensions de cette pastille sont d'environ 5 mm de diamètre et 1 mm d'épaisseur. Cette opération est assez délicate car il convient de ne laisser aucun volume mort entre la pastille et le support tout en évitant de perturber la partie supérieure du remplissage de la colonne.

Tests des colonnes

Nous avons retenu un système chromatographique simple d'adsorption pour tester les colonnes ainsi préparées: le soluté, sur lequel seront calculées les HETP, est l'anthracène en solution à environ 0.1 % dans l'hexane, la phase mobile est l'isooctane.

La pompe chromatographique est soit une pompe Dosapro Milton Roy (pression maximum d'utilisation 70 bars, débit maximum 315 ml/h) soit une pompe type seringue réalisée à notre demande par la société Sceraly (pression maximum d'utilisation 400 bars, débit maximum 500 ml/h).

L'injection d'environ 1 μ l d'échantillon se fait à travers un injecteur à septum classique (réalisé au laboratoire) à l'aide d'une seringue SGE haute pression. L'échantillon est déposé sur la pastille, si possible en son centre, en évitant que l'aiguille de la seringue la perfore.

Le détecteur utilisé est un détecteur ultraviolet à 254 nm L.D.C. Type 1205; la cellule de mesure a un volume interne de 8 μ l pour un chemin optique de 1 cm.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX ET DISCUSSIONS

Pour optimiser l'efficacité des colonnes, nous étudions leurs différentes conditions de réalisation et d'utilisation. Les étapes de cette étude sont précisées dans le Tableau III, dans lequel le paramètre étudié correspond à la case hachurée, tandis

TABLEAU III

CONDITIONS EXPÉRIMENTALES DES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE L'ÉTUDE

Conditions expérimentales	Mode d'injection	Type de pompe	Serpentin	Support	Phase de remplissage	Caractéristiques des colonnes	
						Longueur (cm)	Diamètre (mm)
a		Orlita	avec	SI 60-5 μm	CCl_4	25	4.6
b	pastille			SI 60-5 μm	CCl_4	10	4.6
c	pastille	Orlita	avec			différentes	4.6
d	pastille	Scraly	avec	SI 60-5 μm	CCl_4		4.6
e	pastille	Scraly	avec	SI 60-5 μm	CCl_4	5	

que les autres cases précisent les conditions de remplissage ainsi que les caractéristiques de la colonne étudiée.

Injection (conditions expérimentales a du Tableau III)

L'injection ayant une grande influence sur l'efficacité des colonnes, nous avons retenu l'injection par seringue qui donne les meilleurs résultats pour les colonnes analytiques performantes actuelles.

La courbe b de la Fig. 3 représente l'efficacité par injection sur pastille: la HETP obtenue est de 15 μm . Quant à la courbe a, elle représente l'efficacité par injection dans le support, après avoir ôté la pastille précédente. Le niveau 0 étant le sommet du support, nous effectuons des injections depuis 2 mm au-dessus du niveau du support jusqu'à 5 mm à l'intérieur. On constate que l'efficacité s'améliore pour des injections de plus en plus profondes dans le support, résultats en accord avec

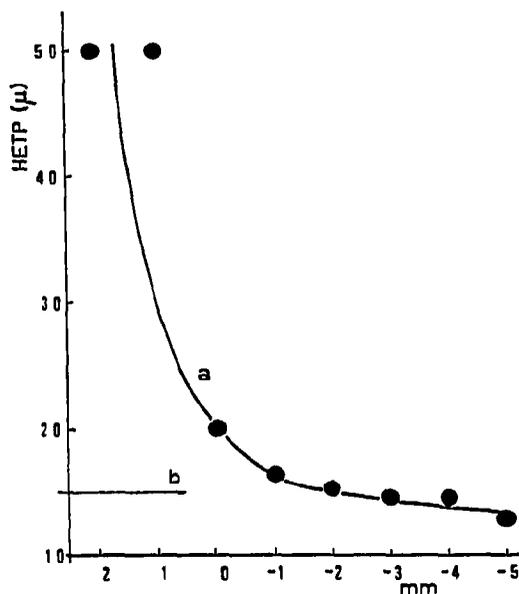


Fig. 3. Influence de l'injection sur la HETP. (a) Injection dans le support à différents niveaux; (b) injection sur pastille.

ceux obtenus par Caude *et al.*⁷, jusqu'à obtenir une HETP de 13 μm . D'autre part, la chute d'efficacité est très nette dès que l'injection a lieu au-dessus du niveau du support. Ceci est probablement dû au fait que l'injection de l'échantillon n'est plus ponctuelle, mais beaucoup plus étalée.

L'absence de pastille en tête de colonne paraît a priori la solution la meilleure quant à l'efficacité, cependant elle présente des inconvénients majeurs pour la durée de vie de la colonne et la reproductibilité des injections. L'action conjuguée du passage de la phase mobile et des trous laissés par l'enfoncement de l'aiguille de la seringue provoque en tête de colonne la formation d'un cratère de plus en plus important. Ce phénomène doit pouvoir expliquer les différences d'efficacité observées entre les injections au niveau 0 initial (courbe a) et sur pastille (courbe b). L'efficacité au niveau 0 devrait en effet être au moins égale à celle obtenue sur pastille. De plus le bouchage de l'aiguille par de fines particules de support affecte la reproductibilité des injections.

Ces quelques considérations nous ont conduits à adopter le mode d'injection sur pastille, bien qu'il entraîne une perte d'efficacité d'environ 15% par rapport à l'injection dans le support lui-même. On peut observer cependant un vieillissement de la pastille par passage ou changement du solvant. L'incident le plus fréquent est son dessertissage se traduisant par l'apparition d'un volume mort entre celle-ci et le support et provoquant une chute d'efficacité. On remédie à cet inconvénient par enfouissement ou changement de la pastille. La colonne retrouve ainsi ses caractéristiques précédentes.

Volume compressé (conditions expérimentales b du Tableau III)

Jusqu'à présent la plupart des travaux portant sur le remplissage des colonnes par voie humide ont été effectués avec des pompes à pulsation^{1,8,9} ou des pompes à pression constante^{6,7,10}, et avec des volumes de canalisation peu importants. Il nous a semblé intéressant d'introduire un volume de liquide compressé relativement grand entre la pompe et la buse, contenant la "bouillie" de remplissage, et d'en voir l'influence sur l'efficacité des colonnes obtenues.

Les courbes a, b et c de la Fig. 4 montrent l'amélioration de l'efficacité avec

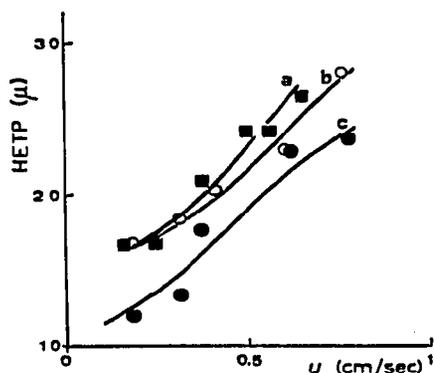


Fig. 4. Influence du volume compressé. Courbes donnant la HETP en fonction de la vitesse linéaire. Conditions expérimentales: (a) pompe Orlita sans serpentín; (b) pompe Orlita avec serpentín; (c) pompe Sceraly avec serpentín.

l'augmentation du volume compressé. D'autre part, l'utilisation de la pompe seringue et du serpentín nous a donné une bonne reproductibilité ainsi qu'un taux de réussite élevé des colonnes.

Phases de remplissage (conditions expérimentales c du Tableau III)

L'utilisation des supports de fine granulométrie en chromatographie en phase liquide a nécessité la mise au point de techniques de remplissage par voie humide. Parmi celles-ci, on distingue principalement trois méthodes: (i) la méthode dite d'isodensité^{6,8,11} consistant à mettre le support en suspension dans une phase de remplissage de même densité; (ii) la méthode de dispersion électrostatique du support dans un liquide ionisé^{3,12,15}; la méthode dite viscosimétrique⁸ consistant à réaliser la suspension du support dans un liquide de haute viscosité.

L'utilisation de ces méthodes pose cependant le problème de la régénération des colonnes. De par leur nature, certaines phases de remplissage, en particulier le tétrabromoéthane, peuvent souiller la phase stationnaire, d'où la nécessité d'une régénération longue et parfois coûteuse selon l'utilisation ultérieure de la colonne. Pensant simplifier cette dernière opération, nous nous proposons d'utiliser comme liquide de suspension le tétrachlorure de carbone, intéressant d'une part pour sa densité (1.59) voisine de celle des silices, et d'autre part pour son inertie chimique et sa faible polarité.

Le Tableau IV rassemble sous forme comparative les résultats obtenus par utilisation de tétrachlorure de carbone d'une part, et soit de mélange isodensité soit de tétrabromoéthane d'autre part comme phases de remplissage.

TABLEAU IV

HETP OBTENUES POUR DIFFÉRENTS SUPPORTS REMPLIS DANS DIVERSES PHASES DE REMPLISSAGE

Vitesse linéaire de 0.2 cm/sec pour des longueurs de colonne d'environ 20 cm.

<i>Support</i>	<i>Phase de remplissage</i>	<i>HEPT</i> (μm)	<i>Phase de remplissage</i>	<i>HEPT</i> (μm)
Lichrosorb SI 60	Tétrachlorure de carbone	13	Tétrabromoéthane-tétrachloroéthylène (60.6:39.4)	16
Lichrosorb SI 100	Tétrachlorure de carbone	30	Tétrabromoéthane-tétrachloroéthylène (60.6:39.4)	20
Partisil	Tétrachlorure de carbone	13	Tétrabromoéthane-tétrachloroéthylène (60.6:39.4)	15
Spherisorb A5Y	Tétrachlorure de carbone	24	Tétrabromoéthane	18
Lichrosorb Alox T	Tétrachlorure de carbone	23	Tétrabromoéthane	27

Nous constatons que pour les silices Lichrosorb SI 60 et Partisil de caractéristiques voisines, en particulier les diamètres de pores, les valeurs des HETP sont similaires, quelle que soit la phase de remplissage utilisée. Par contre il apparaît une différence très nette d'efficacité entre les silices précédentes et le Lichrosorb SI 100, surtout lorsque le liquide de suspension est le tétrachlorure de carbone.

Pour des granulométries comparables, les alumines étudiées présentent des efficacités inférieures à celles obtenues avec les silices telles le Lichrosorb SI 60 et le

Partisil. Des résultats analogues ont été présentés par Majors et MacDonald¹³. On remarque de suite la différence de comportement entre le Lichrosorb Alox T et le Spherisorb A5Y. Si l'utilisation du tétrabromoéthane améliore l'efficacité des colonnes de Spherisorb A5Y il n'a que peu d'effet sur celle de Lichrosorb Alox T.

En opérant rapidement pour éviter toute sédimentation du support l'emploi du tétrachlorure de carbone devient concurrentiel en efficacité à celui de mélanges d'isodensité et présente de plus par rapport à ceux-ci des avantages certains d'utilisation.

Longueurs de colonne (conditions expérimentales d du Tableau III)

Désirant suivre l'évolution de l'efficacité avec la longueur des colonnes préparées nous en avons réalisées de 5, 10 et 15 cm. Les efficacités obtenues sont représentées par les courbes a, b et c de la Fig. 5. Des résultats identiques à ceux de la colonne de 15 cm ont été obtenus pour des longueurs de 15 à 30 cm. Nous constatons qu'en deçà de 15 cm, l'efficacité d'une colonne décroît avec sa longueur. Ce phénomène est explicable par l'importance relative de plus en plus grande que prend alors l'élargissement du pic dû aux effets externes à la colonne par rapport à celui provoqué par le support lui-même.

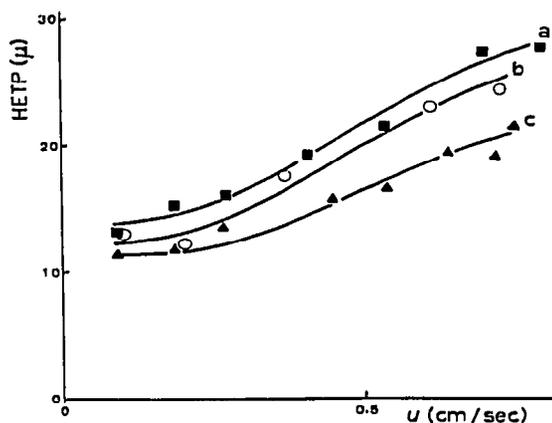


Fig. 5. Influence de la longueur de colonne. Courbes donnant la HETP en fonction de la vitesse linéaire avec: (a) colonne de 15 cm; (b) colonne de 10 cm; (c) colonne de 5 cm.

Section de colonne (conditions expérimentales e du Tableau III)

Tout en restant théoriquement dans des conditions de diamètre infini¹⁴, nous avons voulu mettre en évidence l'influence du diamètre sur l'efficacité des colonnes, en particulier dans notre cas où nous utilisons une tête d'injection réalisée au laboratoire. On constate que pour une même vitesse linéaire de la phase mobile, l'efficacité de la colonne décroît lorsque son diamètre interne passe de 4,6 à 3 puis à 2,1 mm. Les résultats expérimentaux sont représentés sur la Fig. 6.

Outre la perte d'efficacité avec la diminution de la section de la colonne, la fréquence de mauvaises injections pouvant aller jusqu'à un dédoublement du pic chromatographique est d'autant plus élevée que le diamètre de la colonne diminue. Ceci est probablement dû à un excentrage de l'injection. Dans ces conditions, nous

estimons qu'actuellement il nous est impossible de déterminer si la perte d'efficacité avec la diminution du diamètre de la colonne doit être attribuée au phénomène d'injection (effets externes à la colonne) ou à la qualité du remplissage (effets internes à la colonne). Aussi pour utiliser la pleine efficacité de notre système nous ne nous limiterons pour l'instant qu'à la réalisation de colonne de diamètre de 4.6 mm.

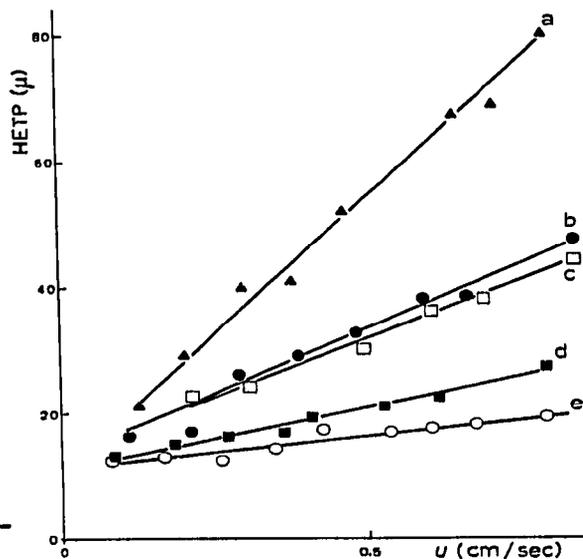
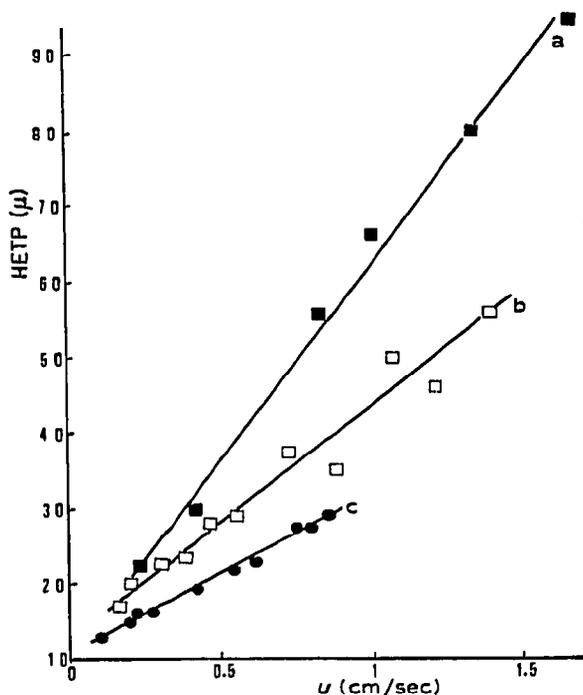


Fig. 6. Influence du diamètre interne de la colonne. Courbes donnant la HETP en fonction de la vitesse linéaire avec. (a) colonne de 2.1 mm; (b) colonne de 3 mm; (c) colonne de 4.6 mm.

Fig. 7. Influence du type de support. Courbes donnant la HETP en fonction de la vitesse linéaire de la phase mobile pour les supports suivants: (a) Lichrosorb SI 100; (b) Lichrosorb Alox T; (c) Spherisorb ASY; (d) Lichrosorb SI 60; (e) Partisil.

Tests sur les différents supports

Il nous a semblé intéressant de rassembler sur la Fig. 7 les variations de la HETP en fonction de la vélocité de la phase mobile pour les divers supports précédemment utilisés. Nous avons pour cela retenu les conditions les plus favorables pour l'efficacité et l'utilisation de ces colonnes: (i) le système de pompage est la pompe Scerally avec le serpentín; (ii) la "bouillie" de remplissage est réalisée dans le tétrachlorure de carbone; (iii) la colonne est de 4.6 mm de diamètre interne et de 5 cm de longueur permettant ainsi d'allier efficacité et possibilité d'injecter par seringue jusqu'à des vélocités de l'ordre de 1 cm/sec; (iv) l'injection se fait sur pastille.

En illustration des efficacités obtenues dans cette étude, nous présentons sur les Fig. 8-13 quelques exemples de séparations réalisées sur ces supports.

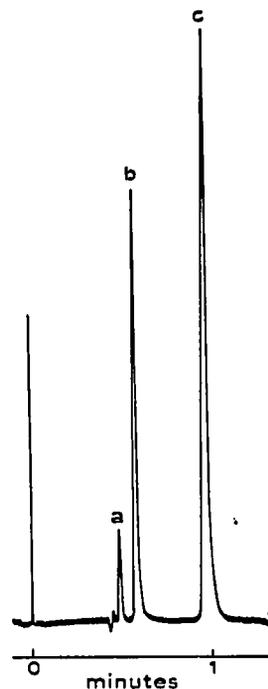
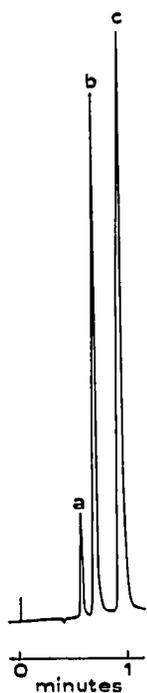


Fig. 8. Séparation d'hydrocarbures aromatiques sur Lichrosorb SI 100. Colonne de 12 cm de longueur et de 4,6 mm de diamètre interne. $u = 0,54$ cm/sec; phase mobile, isoocane; $\Delta P = 100$ bars; détection, UV. a = Benzène; b = naphthalène; c = anthracène.

Fig. 9. Séparation d'hydrocarbures aromatiques sur Lichrosorb Alox T. Colonne de 20 cm de longueur et de 4,6 mm de diamètre interne. $u = 0,34$ cm/sec; phase mobile, isoocane; $\Delta P = 70$ bars; détection, UV. a = Benzène; b = naphthalène; c = anthracène.

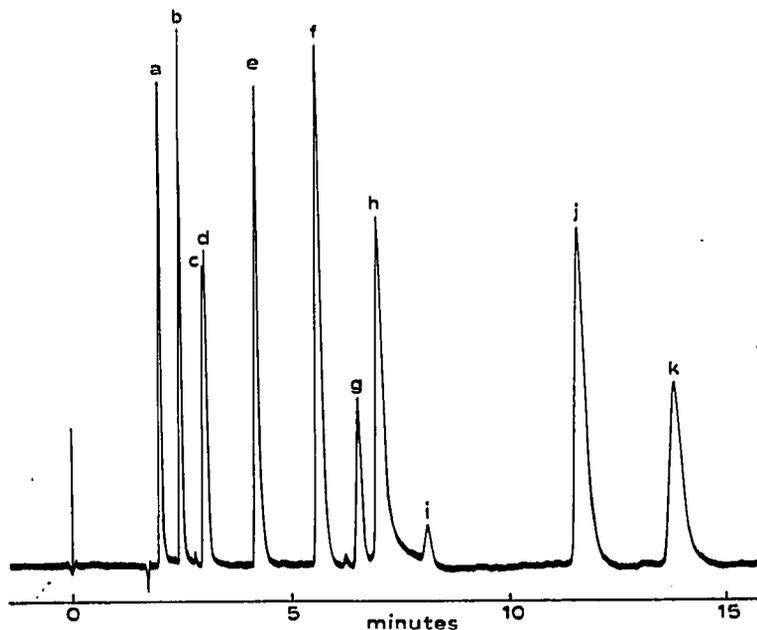


Fig. 10. Séparation d'hydrocarbures aromatiques sur Spherisorb A5Y. Colonne de 25 cm de longueur et de 4,6 mm de diamètre interne. $u = 0,24$ cm/sec; phase mobile, hexane-dichlorométhane (95:5); $\Delta P = 35$ bars; détection, UV. a = Benzène; b = naphthalène; c = azulène; d = acénaphthylène; e = anthracène; f = pyrène; g = fluoranthène; h = chrysène; i = inconnu; j = *p*-terphénylène; k = triphénylène.

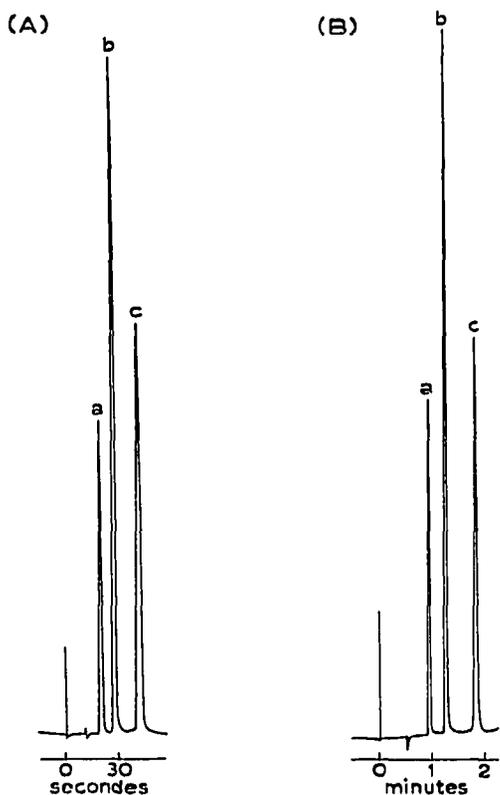


Fig. 11. Séparations d'hydrocarbures aromatiques sur Lichrosorb SI 60. (A) Colonne de 5 cm; $\Delta P = 50$ bars. (B) Colonne de 15 cm; $\Delta P = 130$ bars. Diamètre interne, 4,6 mm; $\mu = 0,43$ cm/sec; phase mobile, isoocane; détection, UV. a = Benzène; b = naphthalène; c = anthracène.

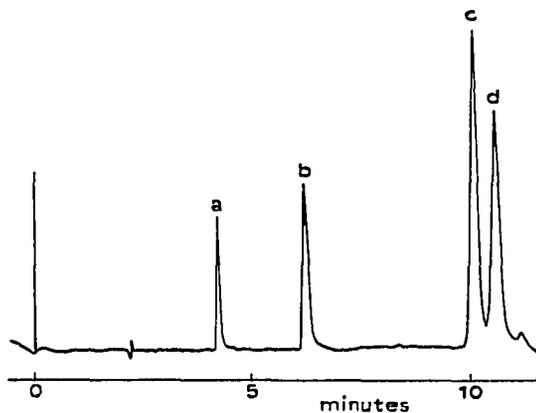


Fig. 12. Séparation d'hydrocarbures aromatiques sur Partisil. Colonne de 30 cm de longueur et 4,6 mm de diamètre interne. $\mu = 0,23$ cm/sec; phase mobile, *n*-hexane; $\Delta P = 80$ bars; détection, UV. a = Benzène; b = naphthalène; c = anthracène; d = phénanthrène.

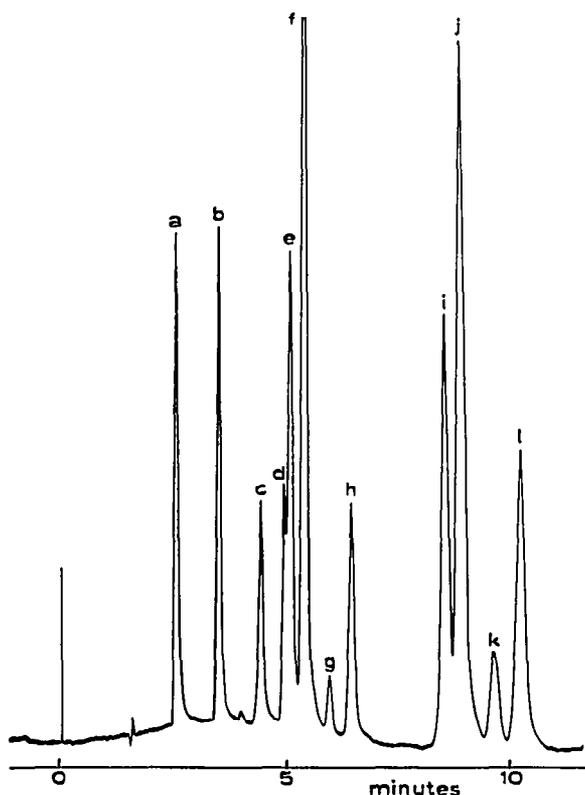


Fig. 13. Séparation d'hydrocarbures aromatiques sur Partisil. Colonne de 20 cm de longueur et de 4,6 mm de diamètre interne. $u = 0.22$ cm/sec; phase mobile, *n*-hexane; $AP = 55$ bars; détection, UV. a = Benzène; b = naphthalène; c = acénaphthylène; d = azulène; e = anthracène; f = pyrène; g = inconnu; h = fluoranthène; i = chrysène; j = triphénylène; k = pérylène; l = *p*-terphényle.

CONCLUSIONS

La technique de remplissage que nous venons de présenter permet d'atteindre avec des supports de fine granulométrie de hautes efficacités de façon reproductible. Nous avons obtenu avec des silices de $5 \mu\text{m}$ Lichrosorb SI 60 et Partisil un nombre de plateaux théoriques de l'ordre de 60,000/m pour des vitesses d'environ 0.5 cm/sec. Dans les mêmes conditions, les aluminés Lichrosorb Alox T et Spherisorb A5Y permettent d'atteindre 30,000 plateaux.

L'utilisation d'un volume de liquide compressé entre la pompe et la colonne à remplir apporte une plus grande sécurité dans la réussite et la reproductibilité du remplissage, d'autant plus que la réserve de liquide est plus importante.

Nous pensons avoir simplifié le problème de la régénération des colonnes après leur remplissage, en montrant l'intérêt présenté par l'emploi du tétrachlorure de carbone comme liquide de suspension pour la réalisation de la "bouillie" de remplissage.

L'utilisation de colonnes performantes pose des problèmes d'injection par l'importance relative que prennent alors les effets externes à la colonne sur l'élargisse-

ment du pic chromatographique. La tête d'injection réalisée au laboratoire ne nous a malheureusement pas encore permis de trancher sur les qualités propres du remplissage dans le cas de colonnes de faible diamètre.

Enfin, nous nous sommes limités à présenter les tests d'efficacité de différentes phases stationnaires. Étant donnée l'influence complexe de la structure géométrique et de la nature des supports sur leurs efficacités intrinsèques, nous n'avons pu développer ici l'effet de ces facteurs sur la qualité du remplissage. À ce sujet, des travaux sont actuellement en cours au laboratoire.

RÉSUMÉ

Des colonnes de chromatographie ont été remplies par voie humide sous pression à l'aide de tétrachlorure de carbone comme liquide de suspension. Les supports utilisés furent d'une part les silices Lichrosorb SI 60 et SI 100 et Partisil, d'autre part les alumines Lichrosorb Alox T et Spherisorb A5Y, de granulométrie égale à 5 μm . La validité de cette méthode a été éprouvée par comparaison avec celle classique d'isodensité. L'ensemble de remplissage présenté a assuré un bon taux de réussite et une haute efficacité des colonnes préparées. L'étude des paramètres géométriques de la colonne (longueur et diamètre interne) a été abordée: Une décroissance de l'efficacité est apparue à partir de longueurs inférieures à 15 cm et le diamètre interne de 4.6 mm a donné les meilleurs résultats, compte-tenu du système d'injection utilisé. Ainsi des colonnes de 5 cm de longueur de silice et d'alumine ont révélé un nombre de plateaux théoriques respectivement d'environ 2,500 et 1,500.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 R. E. Majors, *Anal. Chem.*, 44 (1972) 1722.
- 2 R. E. Majors, *J. Chromatogr. Sci.*, 11 (1973) 88.
- 3 J. J. Kirkland, *J. Chromatogr. Sci.*, 10 (1972) 593.
- 4 H. Engelhardt, J. Asshauer, U. Neue et N. Weigand, *Anal. Chem.*, 46 (1974) 336.
- 5 J. P. Nicolas, *Thèse*, Lyon, Juin 1974.
- 6 J. J. Kirkland, *J. Chromatogr. Sci.*, 9 (1971) 206.
- 7 M. Caude, J. P. Lefevre et R. Rosset, *Chromatographia*, à paraître.
- 8 J. Asshauer et I. Halasz, *J. Chromatogr., Sci.* 12 (1974) 139.
- 9 R. E. Majors, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 755.
- 10 R. M. Cassidy, D. S. Legai et R. W. Frei, *Anal. Chem.*, 46 (1974) 340.
- 11 W. Strubert, *Chromatographia*, 6 (1973) 50.
- 12 M. Caude, J. P. Lefevre et R. Rosset, *J. Chromatogr.*, à paraître.
- 13 R. E. Majors et F. R. MacDonald, *J. Chromatogr.*, 83 (1973) 169.
- 14 J. H. Knox et J. F. Parcher, *Anal. Chem.*, 41 (1969) 149.
- 15 J. J. Kirkland, *J. Chromatogr.*, 83 (1973) 149.