

CHROM. 8258

SÉPARATION D'HERBICIDES PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE

INFLUENCE DE L'EAU

C. GONNET et J. L. ROCCA

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

(Reçu le 11 février 1975)

SUMMARY

Separation of herbicides by high-performance liquid chromatography. Influence of water

The influence of the amount of water dissolved in dichloromethane on the chromatographic separation of herbicides was studied. The selectivity of the mobile phase was demonstrated and compared to another system, dichloromethane modified with 2-propanol. The high efficiency of microporous packing was also demonstrated.

INTRODUCTION

En chromatographie sur couches minces, il a été montré¹ pour certains systèmes particuliers, que la modification de l'activité de l'adsorbant pouvait influencer de façon importante sur les séparations et améliorer la sélectivité des systèmes chromatographiques utilisés. De même, en chromatographie liquide à grande vitesse, Engelhardt et Wiedemann² ont montré l'utilisation de systèmes de teneur en eau variable pour la séparation de pesticides chlorés et de stéroïdes.

Les solutés étudiés dans ce travail sont des herbicides de la famille des urées substituées. Des composés de la même série ont déjà été séparés selon une technique de chromatographie liquide-liquide³, la phase stationnaire étant le β,β' -oxydipropionitrile déposé à 1 % sur de la silice (37-44 μm). La sélectivité de systèmes de chromatographie liquide-solide est montrée dans ce travail. Cette technique, de mise en oeuvre simple, permet, grâce à l'utilisation de supports de très fine granulométrie (5 μm), l'obtention de très grandes efficacités. Elle permet, d'autre part, d'éliminer le problème de la durée de vie des colonnes.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chromatographie sur couches minces

Les couches utilisées sont des plaques Merck prêtes à l'emploi, Silica gel 60 F₂₅₄. Les solutés testés se dégradant à température élevée, il n'a pas été possible d'activer

les couches à l'étuve avant leur conditionnement aux différents taux d'humidité. D'autre part, il est désormais admis que l'activation des couches suivie du dépôt des solutés était inutile, la couche se désactivant pendant les dépôts.

L'activation des couches avant le conditionnement a été réalisée en laissant les plaques 3 h (avec les solutés déposés) dans un dessiccateur contenant de l'anhydride phosphorique, sous vide. Des solutions de H_2SO_4 de concentrations variables sont ensuite utilisées pour conditionner les couches à différentes humidités.

Dans le cas des mélanges isopropanol-dichlorométhane une présaturation de 30 min par les vapeurs de solvant est effectuée dans tous les cas de façon à éliminer les phénomènes de démixion.

Le volume des dépôts est de $2 \mu l$ pour les solutés en solution à 2% dans le dichlorométhane. Les conditionnements, présaturations et développements sont réalisés dans une cuve Vario KS. Les solutés sont révélés en UV à 254 nm.

Chromatographie en colonne

L'appareillage utilisé comprend: une pompe Orlita DMP 15; un injecteur Siemens à commande pneumatique; le volume d'injection est de $10 \mu l$; un détecteur UV LDC 1205, 254 nm; une colonne de Lichrosorb Si 60 ($5 \mu m$), longueur 15 cm, diamètre interne 4,6 mm. Les colonnes sont remplies par voie humide suivant une technique décrite précédemment⁴.

Réactifs. Les solvants utilisés sont des produits Merck (pour analyse). Le dichlorométhane saturé en eau est obtenu par agitation soutenue avec un excès d'eau pendant 1 h. Il a été montré que 15 min étaient en général suffisantes pour obtenir la saturation⁵. La teneur en eau du dichlorométhane est déterminée par la méthode de Karl Fischer à l'aide d'un appareil Metrohm AG, Herisau E. 547.

Les solutés étudiés sont des herbicides de la famille des urées substituées (Tableau I, No. 1-6). Ils sont commercialisés soit par la société Du Pont de Nemours, soit par la société Peppo. Deux produits inactifs provenant de la dégradation de l'isoproturon sont également analysés (Tableau I, No. 7 et 8).

RÉSULTATS

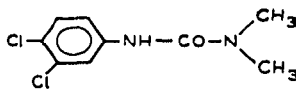
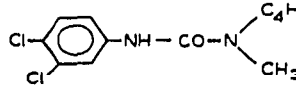
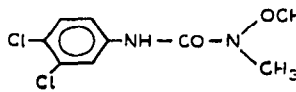
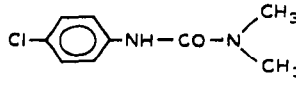
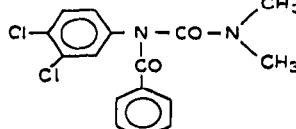
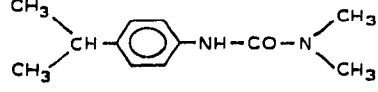
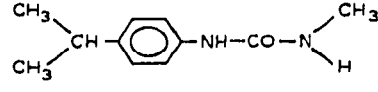
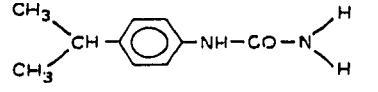
Chromatographie sur couches minces

La Fig. 1 montre le chromatogramme obtenu avec les cinq pesticides (Tableau I, No. 1-3, 5 et 6) après développement avec le dichlorométhane pour différents taux d'humidité de l'adsorbant. Sur les couches conditionnées à de faibles humidités relatives, les produits sont trop retenus sur la couche pour avoir une bonne séparation. Celle-ci devient satisfaisante aux taux d'humidité relative plus élevés, *i.e.* 56%.

Dans le cas de l'isoproturon et de ses deux produits de dégradation, l'adsorption est beaucoup trop forte en raison de la présence des groupements $-N(H)CH_3$ et $-NH_2$ pour avoir une séparation satisfaisante même aux taux d'humidité élevés. Dans ce dernier cas, le système dichlorométhane-isopropanol (85:15) + 1% acide acétique s'est révélé efficace. Les valeurs des R_f observés sont données dans le Tableau II.

Dans les deux systèmes de phase mobile choisis, on peut considérer que l'eau et l'isopropanol jouent le même rôle. Pour les faibles taux d'humidité relative, les

TABLEAU I
HERBICIDES ÉTUDIÉS

No.	Substance	Structure
1	Diuron	
2	Néburon	
3	Linuron	
4	Monuron	
5	Phénobenzuron	
6	Isoproturon	
7		
8		

solutés sont fortement adsorbés sur la silice et le dichlorométhane n'est pas suffisamment polaire pour les en déloger.

Aux teneurs en eau supérieures, l'eau neutralise les sites les plus actifs de la silice⁶. On arrive alors à avoir une surface d'adsorbant moins active mais beaucoup plus homogène. Les adsorptions irréversibles pouvant se produire sur ces sites très réactifs n'ont plus lieu. Les solutés ne sont plus totalement retenus sur la couche. On considère généralement que cette homogénéité de la couche est atteinte lorsqu'on a fixé de 1/2 à 1 monocouche d'eau sur l'adsorbant ce qui correspond dans le cas présent à un conditionnement de 35 à 45 % d'humidité relative ou 10 % (g/g) de teneur en eau de l'adsorbant.

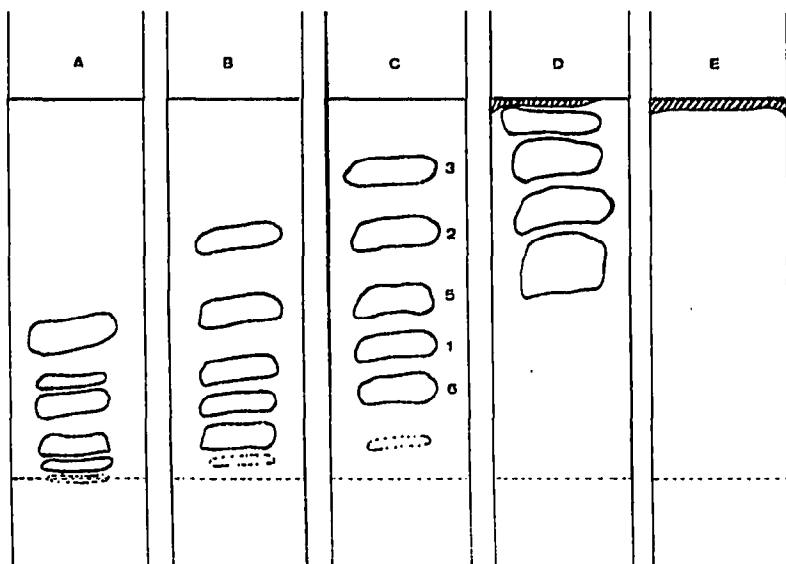


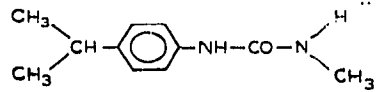
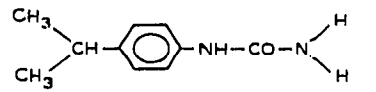
Fig. 1. Chromatographie sur couches minces des herbicides 1-3, 5 et 6 (cf. le Tableau I) pour différents taux d'humidité relative. A = 21%; B = 35%; C = 56%; D = 74.5%; E = 88%. Phase mobile: dichlorométhane pur.

Sur la Fig. 1, on voit bien que les séparations des solutés sont les plus intéressantes à partir de 35% d'humidité relative. Pour les taux d'humidité les plus élevés, l'eau arrive à recouvrir totalement la surface de l'adsorbant et on passe progressivement à un processus de partage. Les solutés, insolubles dans l'eau (qui devient alors la phase stationnaire), sont totalement élués avec le front de solvant. L'isopropanol, dans le système dichlorométhane-isopropanol, peut agir de la même façon en se fixant sur les groupements actifs du support. Dans ce cas, ces molécules d'isopropanol se fixent tout d'abord sous forme vapeur pendant le conditionnement de la couche.

Ces résultats confirment ceux obtenus par Viricel⁷ dans une étude systématique de l'influence de l'eau sur les différents paramètres chromatographiques en CCM.

TABLEAU II

R_F DE L'ISOPROTURON ET SES DEUX PRODUITS DE DÉGRADATION

Substance	Dichlorométhane- isopropanol (85:15) + 1% ₁₀₀ acide acétique	Dichlorométhane- isopropanol (90:10) + 1% ₁₀₀ acide acétique
Isoproturon	0.74	0.61
	0.60	0.47
	0.34	0.26

Chromatographie en colonne

Système dichlorométhane modifié par l'eau. Les colonnes étant remplies par voie humide, on ne pourra fixer la teneur en eau de la silice que par une méthode *in situ*. Si on fait passer dans la colonne du dichlorométhane de teneur en eau constante, un état d'équilibre est atteint au bout d'un certain temps, état d'équilibre entre la teneur en eau de la phase mobile et teneur en eau de l'adsorbant. Cet équilibre peut être atteint de deux façons: soit partir d'un adsorbant anhydre (de forte activité) et faire passer dans la colonne une phase mobile de teneur en eau donnée, soit partir d'un adsorbant désactivé et utiliser une phase mobile anhydre. Nous avons utilisé la première méthode.

La Fig. 2 montre que lorsque la teneur en eau de l'adsorbant augmente, les valeurs des k' (facteur de capacité) des différents solutés diminuent, les variations les plus importantes se produisant pour les k' les plus grands. Les k' se stabilisent lorsqu'on arrive à un état d'équilibre entre la teneur en eau de l'adsorbant et la teneur en eau du solvant: équilibre isotonique⁸. Partant d'un adsorbant de forte activité et de dichlorométhane saturé en eau (teneur en eau: 2100 ppm à 21°), l'équilibre est atteint pour le système utilisé au bout de 10 h.

La Fig. 3 montre la séparation de la série des herbicides étudiés dans les conditions indiquées, lorsque l'équilibre est obtenu.

En accord avec des résultats déjà publiés^{5,6,9}, il semblerait que la forte diminution des k' pour les produits les plus retenus corresponde au recouvrement pro-

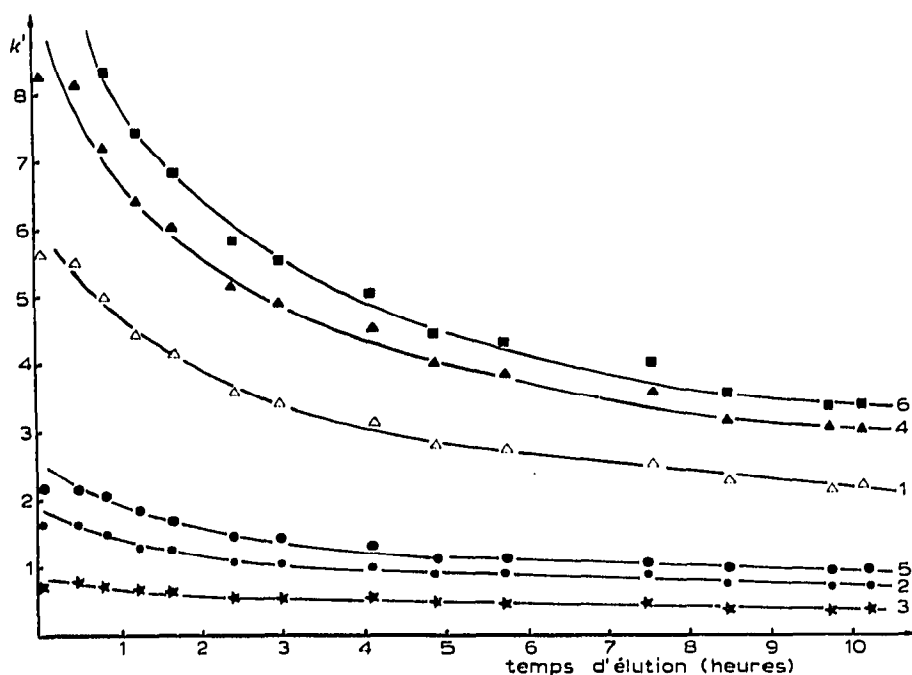


Fig. 2. Variation des facteurs de capacité k' des solutés 1-6 (cf. le Tableau I) en fonction du temps d'éluion. Phase mobile, dichlorométhane saturé en eau; colonne, 25 cm \times 4.6 mm de diamètre; support, Lichrosorb Si 60, 5 μ m; débit, 1.5 ml/min.

gressif de la surface de la silice par les molécules d'eau. Les sites silanols les plus actifs sont les premiers "neutralisés" et les adsorptions des solutés possédant des groupements $-NH$ très actifs ne sont plus aussi importantes. La surface de l'adsorbant est beaucoup plus homogène, le recouvrement en eau est alors de 0.1 g/g de silice. Il apparaît qu'une teneur en eau de 10% en poids doit être fixée sur l'adsorbant pour obtenir une bonne résolution. Cette quantité d'eau correspond à la monocouche⁵ et elle est obtenue en utilisant le dichlorométhane saturé en eau comme phase mobile jusqu'à obtention de l'équilibre.

Du point de vue pratique, il suffira donc de faire passer dans la colonne le dichlorométhane saturé en eau, jusqu'à obtention de l'équilibre. La colonne est alors prête à l'emploi pour des injections successives des herbicides. Un autre système a été testé et dans ce cas, il est modifié non plus par l'eau mais par l'isopropanol.

Système dichlorométhane modifié par l'isopropanol. Le chromatogramme obtenu

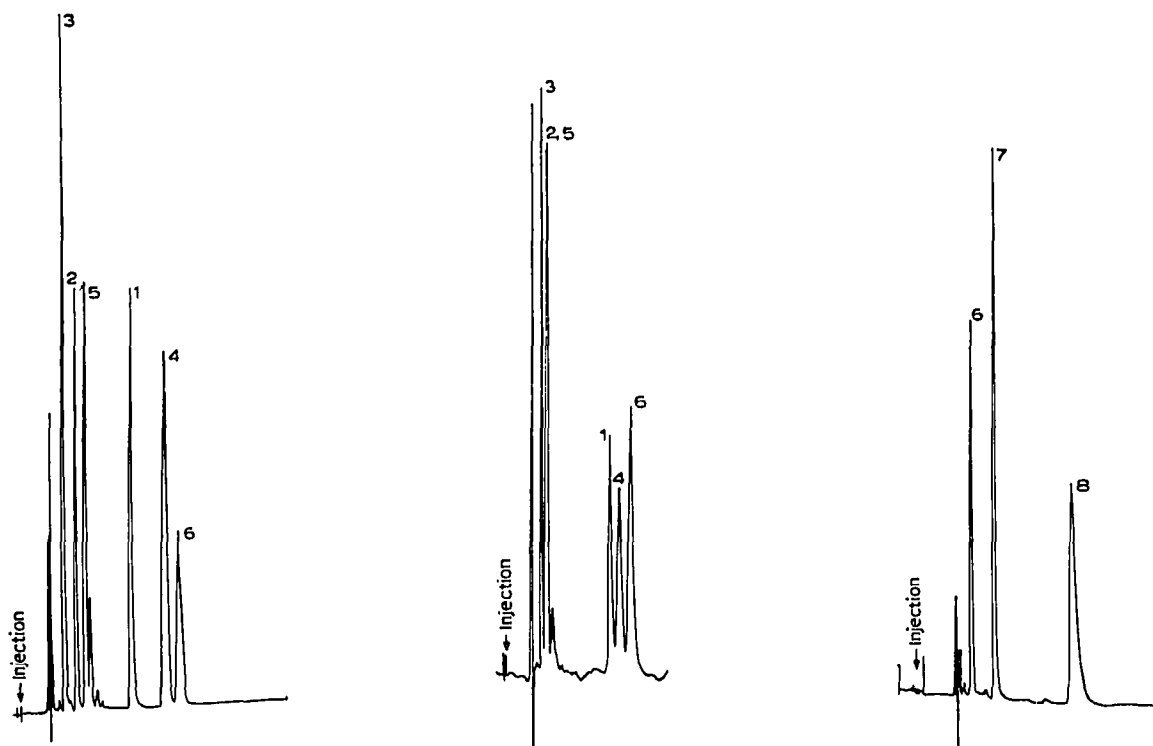


Fig. 3. Séparation des herbicides 1-6. Colonne, 14.5 cm \times 4.6 mm de diamètre. Support, Lichrosorb Si 60, 5 μ m; injection, 10 μ l; défilement, 6 mm/min; $P = 65$ bars; détection, UV LDC, 254 nm; sensibilité = 0.32; phase mobile, dichlorométhane saturé en eau.

Fig. 4. Séparation des herbicides 1-6. Colonne, 25 cm \times 4.6 mm de diamètre; support, Lichrosorb Si 60, 5 μ m; injection, 10 μ l; défilement 6 mm/min; $P = 100$ bars; détection, UV Zeiss, 254 nm; phase mobile, dichlorométhane-2-propanol (98.5:1.5).

Fig. 5. Séparation de l'isoproturon et de ses deux produits de dégradation (Tableau I, No. 7 et 8). Mêmes conditions que pour la Fig. 4. Phase mobile, dichlorométhane-2-propanol (85:15) + 1% acide acétique.

pour le même mélange de solutés avec une phase mobile dichlorométhane-isopropanol (98.5:1.5) est représenté sur la Fig. 4. La sélectivité de ce système est moins bonne que dans le cas précédent. Aucune forme anormale de pic n'a été observée sur les différents chromatogrammes. Ces observations ont été faites pour certains solutés très adsorbés lorsque les phases mobiles utilisées sont le dichlorométhane modifié par le méthanol ou le dichlorométhane modifié par le 2-propanol⁹.

L'isoproturon et ses deux produits de dégradation sont beaucoup trop retenus si l'on utilise les deux systèmes précédents. Dans ce cas, la phase mobile utilisée a la composition suivante: dichlorométhane-2-propanol (85:15). L'acide acétique est introduit à 1‰ dans le mélange pour éliminer les traînées (Fig. 5).

CONCLUSION

Les systèmes testés, en particulier le système dichlorométhane modifié par l'eau, se montrent très sélectifs pour la séparation des herbicides étudiés. La teneur en eau n'intervient pas de la même façon pour tous les systèmes. Il a été montré^{3,10} que la dépendance des valeurs du facteur de capacité k' (ou des valeurs de R_f en chromatographie sur couches minces) était d'autant plus faible que le solvant était plus polaire.

La mise au point de systèmes d'adsorption pouvant remplacer des systèmes de partage est avantageuse dans la mesure où leurs facilités d'utilisation sont plus grandes. Les efficacités obtenues (HETP = 17–20 μm , Fig. 3) avec les silices de fine granulométrie sont très satisfaisantes.

Dans tous les cas, une première approche rapide pour la recherche du système approprié est faite sur couches minces. Le passage en colonnes est ensuite réalisé en optimisant la force éluante du solvant ou d'autres paramètres si cela s'avère nécessaire.

RÉSUMÉ

L'influence de l'eau présente dans la phase mobile, le dichlorométhane, sur la séparation d'herbicides est étudiée dans ce travail. Les solutés, de la famille des urées substituées, sont thermodégradables. La sélectivité du premier système est comparée à un deuxième dont la phase mobile est le dichlorométhane modifié par le 2-propanol. De grandes efficacités sont obtenues avec l'utilisation de supports microporeux (5 μm).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 S. Sandroni et H. Schlitt, *J. Chromatogr.*, 55 (1971) 385.
- 2 H. Engelhardt et H. Wiedemann, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1641.
- 3 J. J. Kirkland, *J. Chromatogr. Sci.*, 7 (1969) 7.
- 4 B. Coq, C. Gonnet et J. L. Rocca, *J. Chromatogr.*, 106 (1975) 249.
- 5 L. V. Berry et H. Engelhardt, *J. Chromatogr.*, 95 (1974) 27.
- 6 H. Halpaap, *J. Chromatogr.*, 78 (1973) 77.
- 7 M. Viricel, *Thèse*, Lyon, 1975.
- 8 G. Hesse et G. Roscher, *Z. Anal. Chem.*, 3 (1964) 200.
- 9 J. J. Kirkland, *J. Chromatogr.*, 83 (1973) 149.
- 10 H. Halpaap, *J. Chromatogr.*, 78 (1973) 63.