

CHROM. 9047

POLYAMIDES EN CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE

G. COLLET et J. L. ROCCA

Équipe de Recherche Associée au C.N.R.S. E.R.A. No. 474, Laboratoire de Chimie Analytique 3, Université de Lyon I, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, 69621 Villeurbanne (France)

et

D. SAGE et P. BERTICAT

Laboratoire Associé au C.N.R.S. 199, Laboratoire de Chimie Macromoléculaire, Université de Lyon I, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, 69621 Villeurbanne (France)

(Reçu le 8 décembre 1975)

SUMMARY

Polyamides in high-performance liquid chromatography

A method is described for coating polyamide on non-porous spherical glass beads. Six different polyamides are studied and a linear relationship is found between the capacity factor k' and the number of peptidic sites ($-\text{CO}-\text{NH}-$) per gram of column packing; for a single polyamide it is also shown that k' is proportional to the amount of polymer in the column. Some applications are proposed; on that occasion the dual chromatographic nature of polyamide is recalled and the possible use of polyamide as a reversed-phase material is pointed out.

INTRODUCTION

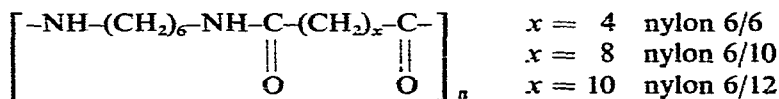
L'utilisation du polyamide comme phase stationnaire en chromatographie liquide n'est pas récente. Dès 1955 Carelli *et al.*¹ publièrent une des premières séparations. En 1963, Endres et Hörmann² firent le point des chromatographies obtenues sur des colonnes ouvertes de produits tels que phénols, acides carboxyliques, quinones, composés aromatiques nitrés y compris des DNP-aminoacides. Au cours des années 60, les recherches se poursuivirent en chromatographie sur couches minces³⁻⁵, et les travaux de Wang et Weinstein⁶ contribuèrent notamment à mettre en évidence l'étendue du champ d'application des polyamides.

L'avènement de la chromatographie liquide à haute performance relança l'utilisation du polyamide en colonne et en 1973 la société Whatman (Ferrières, France) commercialisa sous le nom de Pellidon* une phase stationnaire pelliculaire⁷. Signalons que deux autres garnissages chromatographiques pelliculaires sont actuelle-

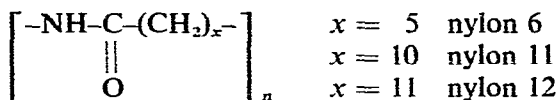
* Ce nom a été remplacé récemment par Pellamidon.

ment disponibles sur le marché: le Perisorb PA-6 (Merck, Paris, France) et le Zipax PAM (DuPont, Orsay, France).

Le présent travail concerne la préparation et l'étude en chromatographie liquide de matériaux de remplissage du même type à partir de six polyamides (Aldrich, Milwaukee, Wisc., U.S.A.): trois polyamides résultant de la polycondensation de l'hexaméthylènediamine avec les diacides en C_6 , C_{10} , C_{12} de formule générale:



et trois polyamides résultant de la polycondensation d'acides aminés:



PRÉPARATION ET CARACTÉRISATION DES DIFFÉRENTS GARNISSAGES DE COLONNES

Enrobage

Bien que la société Whatman ait mis au point un mode de dépôt du polymère par polycondensation des monomères en présence du support inerte⁷, il est possible d'opérer selon une technique largement employée pour la préparation de garnissages en chromatographie gazeuse qui consiste à mettre en suspension le support dans une solution de phase stationnaire, puis à évaporer le solvant.

Les billes de verre utilisées comme support ne subissent aucun traitement spécifique si ce n'est un lavage au mélange sulfo-chromique, à l'eau puis au méthanol. Après séchage, les billes sont tamisées et la fraction retenue a une granulométrie comprise entre 44 et 50 μm . Chaque opération d'enrobage est conduite en évaporateur rotatif à 80° sous courant d'azote. On utilise pour chacune d'elles 20 g de billes; la quantité de polyamide sous forme de granules dont dépend le taux d'enrobage désiré est introduite dans 100 ml d'acide formique à 99%. On observe d'abord la dissolution du polyamide qui est complète au bout d'environ 30 min, puis l'évaporation lente de l'acide formique. Lorsque le mélange devient pâteux on achève le dépôt de polyamide par précipitation au méthanol.

Détermination du taux d'enrobage

Le taux d'enrobage est exprimé par le pourcentage en poids du polyamide sur les billes; il est difficile à maîtriser, il dépend du polyamide choisi et des conditions opératoires. Le rendement de l'opération n'étant pas de 100%, une détermination précise est réalisée soit par dosage du carbone total par microanalyse, soit par thermogravimétrie.

Dans la première partie de l'étude concernant la série des six polyamides, les taux d'enrobage sont déterminés par microanalyse sur deux échantillons de chaque lot de remplissage. Par oxydation totale d'un poids P_{ech} de billes enrobées, un poids P_{CO_2} de gaz carbonique est dégagé et en appelant M la masse de l'unité de répétition

qui contient a atomes de carbone pour un polyamide donné, le taux d'enrobage E est donné par la formule

$$E = \frac{P_{\text{CO}_2} \cdot M \cdot 100}{44 \cdot a \cdot P_{\text{ech}}}$$

Le nombre de sites peptidiques $-\text{CO}-\text{NH}-$ par gramme de billes enrobées est calculé également d'après les données de la microanalyse :

$$\frac{S}{m} = \frac{P_{\text{CO}_2} \cdot 6.02 \cdot 10^{23}}{44 \cdot a \cdot P_{\text{ech}}}$$

S représente le nombre total de sites présents dans une colonne contenant un poids m de billes enrobées. E et S ne sont connus qu'à 10% près et seulement à 30% près dans le cas de très faibles quantités déposées (nylon 12).

Dans la deuxième partie où l'étude ne concerne que le polyamide 6 les taux d'enrobage sont déterminés par analyse thermogravimétrique au moyen d'une électrobalance Cahn RH (Cahn, Division de Ventron, Paramount, Calif., U.S.A.). Le polymère est dégradé dans un courant d'oxygène par élévation linéaire de la température jusqu'à 600° à raison de 10°/min, la dégradation commence vers 250°. Il a été vérifié que dans les mêmes conditions le traitement des billes non enrobées ne conduisait à aucune perte de poids et qu'un grain de polyamide recouvert de billes nues donnait bien la perte de poids attendue. Afin d'évaluer la reproductibilité, quatre mesures sont effectuées pour chaque garnissage récupéré après les tests chromatographiques. Les taux d'enrobage les plus forts sont connus à 2% près tandis que les plus faibles ne le sont qu'à environ 10%. Pour un même taux d'enrobage l'incertitude relative est la même pour les deux méthodes: microanalyse ou thermogravimétrie.

Homogénéité de l'enrobage

Les billes enrobées à différents taux de nylon 6 ont été examinées au microscope électronique. Le polymère n'est pas réparti uniformément sur le support et l'épaisseur de la couche n'est donc pas constante. Il peut même apparaître sur les billes des zones non recouvertes à côté d'autres zones à couverture épaisse (Fig. 1). Ce caractère irrégulier du dépôt s'accroît lorsque le taux d'enrobage diminue et pour les taux inférieurs à 0.2% seuls subsistent quelques îlots de phase stationnaire. D'autre part la texture du polyamide déposé semble faiblement poreuse (par rapport à celle du Pellidon), ce point est confirmé par l'examen au fort grossissement (Fig. 2).

A cette hétérogénéité microscopique, il faut opposer une répartition macroscopique homogène du polymère le long de la colonne chromatographique bien établie par la faible dispersion des résultats obtenus en thermogravimétrie sur des fractions du garnissage prélevées au hasard.

Taux de cristallinité

Le taux de cristallinité X d'un polymère est la quantité de phase cristalline qu'il renferme exprimée en pourcentage en poids. Cette grandeur renseigne sur la morphologie du polymère de laquelle dépend en particulier l'accessibilité du solvant aux régions internes de ce polymère^{8,9}. Il a été déterminé par analyse thermique diffé-

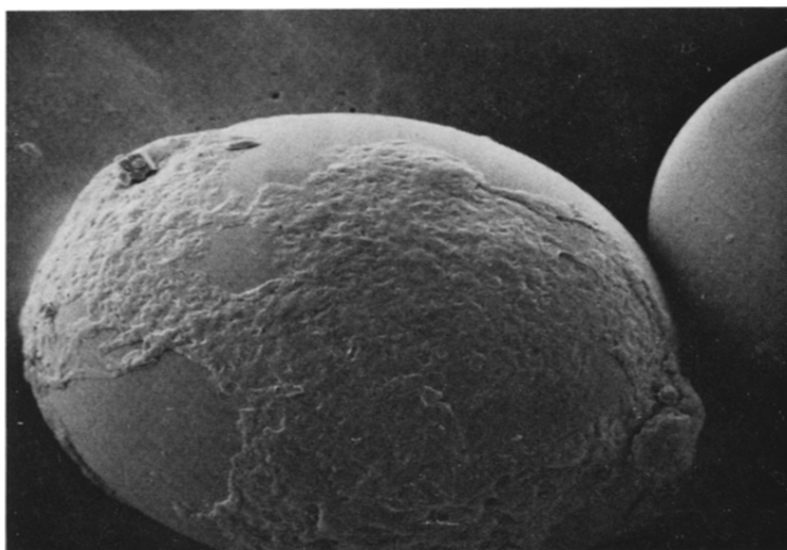


Fig. 1. Polyamide 6 sur une bille de verre isolée dans un échantillon de garnissage correspondant à un taux d'enrobage de 0.51 % ($\times 1200$).

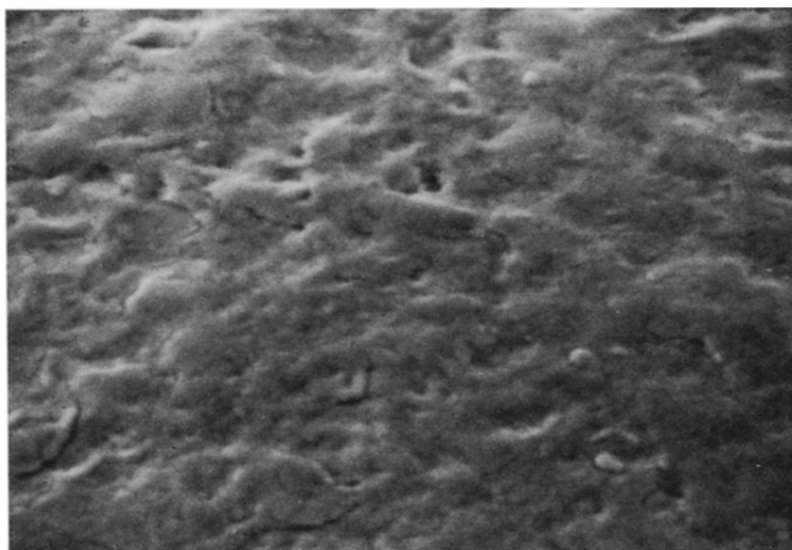


Fig. 2. Examen de la texture du polyamide 6 déposé sur la bille présentée à la Fig. 1 ($\times 6000$).

rentielle avec un analyseur thermique DuPont 990 sur des grains de polyamides d'une part et sur des films minces d'autre part préparés par évaporation du solvant dans les conditions d'enrobage des billes. Du fait de mauvais contact thermique au sein de l'échantillon et de trop faibles quantités de polyamide mises en jeu, il est en effet difficile de mesurer X directement sur les billes enrobées.

Les résultats du Tableau I montrent que les six polyamides ont des taux de

TABLEAU I
TAUX DE CRISTALLINITÉ X DES SIX POLYAMIDES ÉTUDIÉS

<i>Nylon</i>	<i>Temp.-fusion littérature (°C)</i>	<i>Temp.-fusion déterminée (°C)</i>	ΔH_{fusion} (cal/g)	X (grain)	X (film)
6	215–217	215–216	47.8*	50.4	33
6/6	265	258–259	46.8**	35	36
6/10	214*** 223*	219	47.0*	35	26
6/12	—	213	51.0 [‡]	29	27
11	190*	186–187	54.1	26	29
12	—	176	54.8 [‡]	25	34

* Bibl. 10.

** Bibl. 11.

*** Bibl. 12.

[‡] Valeurs calculées d'après Bibl. 10.

crystallinité voisins et que la mise sous forme de films n'apporte pas de modification importante par rapport au produit de départ. Si ce point peut être extrapolé au cas des billes enrobées, cela signifie que les différentes phases stationnaires contiennent pratiquement le même pourcentage de phase cristalline.

COMPORTEMENT DES POLYAMIDES EN CHROMATOGRAPHIE —RELATION ENTRE LE FACTEUR DE CAPACITÉ k' ET LE NOMBRE DE SITES PEPTIDIQUES

Appareillage chromatographique

Les colonnes utilisées sont en acier inoxydable de 1/4 in. de diamètre externe (4.6 mm de diamètre interne) de longueur égale à 50 cm. Elles sont remplies par la méthode sèche au moyen d'un dispositif assurant une vibration longitudinale d'amplitude 2 cm à la fréquence d'environ 1 coup par sec. En tête de colonne est sertie une pastille de polyéthylène poreux assurant la protection du garnissage lors de l'injection par seringue (Hamilton, 5 μ l). L'appareillage chromatographique est un montage de laboratoire comprenant une pompe Milton Roy de débit maximum 315 ml/h (Sopares, Gentilly, France) et un détecteur UV monolongueur d'onde de 254 nm ISCO UA-4 (Roucaire, Velizy, France) dont la cellule a un volume de 19 μ l. Les pulsations de la pompe sont amorties par un tube capillaire d'environ 3 m de longueur (1/16 in. de diamètre externe et 0.25 mm de diamètre interne). La faible absorption à 254 nm des solvants utilisés (Merck, pour analyse) nous a permis de travailler sans cellule de référence au maximum de sensibilité du détecteur (0.02 unité D.O.).

Système chromatographique et principe de la comparaison des phases stationnaires

Le choix des solutés nous a été inspiré par la fiche technique du Pellidon montrant la séparation des trois isomères *o*-, *m*-, et *p*-nitrophénol avec comme phase mobile du cyclohexane contenant 10% d'acide acétique. Pour comparer les performances de notre phase stationnaire à celles du produit commercial nous avons conservé le même système chromatographique en remplaçant cependant le cyclohexane par l'isooctane. Le phénol a été rajouté aux trois isomères précédents. L'ordre d'élu-

tion de ces quatre solutés, mis en solution dans le dichlorométhane à des concentrations de l'ordre de 1–2 g/l, est donné par la Fig. 3.

Les solutés sont injectés (3 μ l) dans chaque colonne à différentes valeurs du débit allant de 0.8 à 6.2 ml/min. Les volumes de rétention, V_R , sont donnés alors par les pentes des droites $t_R = f(1/D)$ où t_R est le temps de rétention en min et D le débit en ml/min. Le volume mort, V_0 , de chaque colonne est déterminé en injectant 5 μ l de dichlorométhane pur. On calcule alors les facteurs de capacité $k' = (V_R - V_0)/V_0$ des quatre solutés pour chaque colonne. Pour les taux d'enrobage supérieurs à 0.1% les facteurs k' sont déterminés à moins de 5% près pour le *m*- et le *p*-nitrophénol, dans le cas du nylon 12 l'incertitude relative est de 10%, pour le phénol elle peut varier de 15% pour les plus fortes valeurs de E à 100% pour la plus faible.

Le facteur k' dépend du nombre de sites $-\text{CO}-\text{NH}-$ qui varie avec le type de polyamide et le taux d'enrobage.

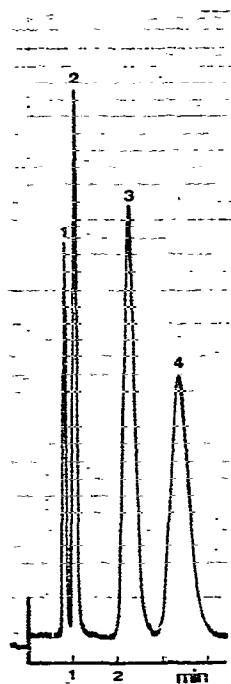


Fig. 3. Séparation de l'*o*-nitrophénol (1), du phénol (2), du *m*-nitrophénol (3) et du *p*-nitrophénol (4) sur nylon 6. Phase mobile, isoctane-acide acétique (9:1); vitesse linéaire, 0.39 cm/sec; température, 25°.

Influence du type de polyamide

D'une part le taux d'enrobage ne pouvant être amené exactement à une valeur prédéterminée et d'autre part le poids m de garnissage n'étant pas rigoureusement identique dans chaque colonne, pour comparer les différents polyamides nous faisons intervenir le nombre de sites par gramme de garnissage donné par la microanalyse. Nous constatons (Fig. 4) que pour les trois solutés phénol, *m*- et *p*-nitrophénol, le

facteur k' varie linéairement avec S/m . Le mécanisme chromatographique sur polyamide a beaucoup été interprété en termes d'interactions par liaisons hydrogène au niveau du groupe carbonyle vis-à-vis des solutés donneurs de protons et dans une moindre mesure au niveau du groupe $-NH-$ vis-à-vis des solutés accepteurs de protons^{7,13-15}. De façon générale les interactions avec le polyamide de solutés à la fois donneurs et accepteurs de protons peuvent être reliées globalement au nombre de sites peptidiques par l'intermédiaire du facteur k' . L'écart à la linéarité des points expérimentaux intervient dans le cas des polyamides à faibles taux d'enrobage pour lesquels l'incertitude sur k' et S/m est plus grande.

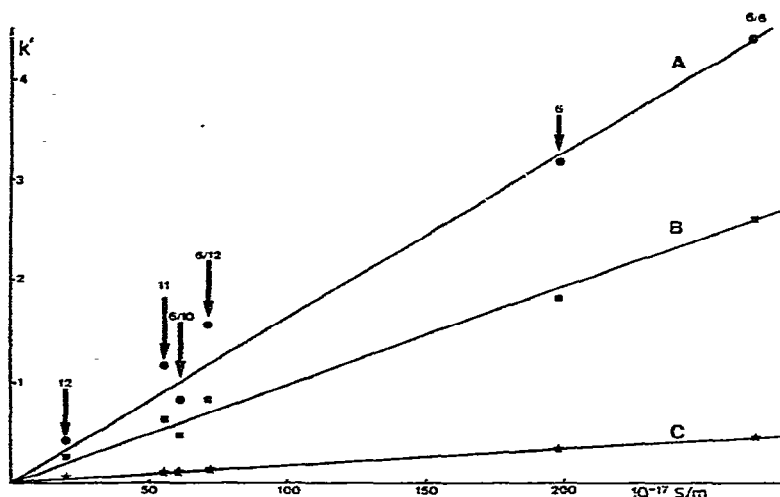


Fig. 4. Influence du type de polyamide sur la valeur du facteur de capacité k' pour le *p*-nitrophénol (A), le *m*-nitrophénol (B) et le phénol (C).

Influence du taux d'enrobage

Pour un polyamide donné, ici le nylon 6, qui donne en général les meilleures séparations dans l'étude que nous avons conduite, la Fig. 5 montre que k' varie linéairement avec la masse de phase stationnaire contenue dans la colonne. Ceci met en évidence la participation des sites internes du polyamide à la chromatographie. Cette accessibilité des régions internes est rendue possible par la présence dans la phase mobile d'acide acétique qui est un agent gonflant du polymère; les chaînes macromoléculaires sont écartées les unes des autres et les solutés peuvent diffuser à l'intérieur de la phase stationnaire qui n'est pas le polyamide seul mais celui-ci gonflé par l'acide acétique.

Discussion

À la vue des résultats expérimentaux des Figs. 4 et 5 et dans l'attente d'informations supplémentaires, une relation linéaire peut être admise entre le facteur k' et le nombre total S de sites $-CO-NH-$ présents dans la colonne:

$$k' = \lambda S = \lambda \cdot \frac{m E N}{100 \cdot M} \quad (N = 6.02 \cdot 10^{23})$$

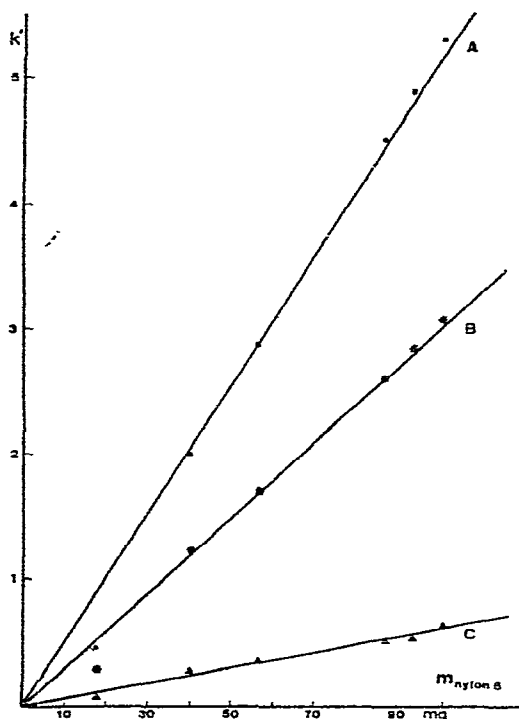


Fig. 5. Influence du taux d'enrobage de nylon 6 sur la valeur du facteur de capacité k' pour le *p*-nitrophénol (A), le *m*-nitrophénol (B) et le phénol (C).

La phase stationnaire étant un polymère il faut émettre une réserve au sujet de ce nombre total de sites; il est en effet peu probable que la phase cristalline soit gonflée par l'acide acétique et dans ce cas seuls les sites de la phase amorphe seraient accessibles aux solutés; la linéarité n'est pas détruite dans la mesure où le taux de cristallinité X est le même pour les six polyamides ce qui est le cas ici, la constante de proportionnalité λ contient alors le facteur correctif $(1 - X)$.

Cette croissance linéaire du facteur k' avec la masse de phase stationnaire a pour conséquence l'obtention de fortes rétentions si l'on utilise du polyamide non pas sous forme pelliculaire mais sous forme de microparticules entièrement poreuses. Une colonne de 4.6 mm de diamètre interne et 10 cm de longueur, remplie par voie humide¹⁶ par mise en suspension dans le propanol de particules 5–20 μm de polyamide 6 (Macherey-Nagel), conduit aux facteurs de capacité suivants: k' (*o*-nitrophénol) = 0.42, k' (phénol) = 7.4, k' (*m*-nitrophénol) = 38; k' (*p*-nitrophénol) = 67. Ces valeurs sont supérieures d'un facteur 3 à celles prévues par les droites de la Fig. 5, pour une masse de phase stationnaire égale à 450 mg contenue dans la colonne. Par la technique d'enrobage il est difficile de préparer des garnissages pelliculaires à des taux supérieurs à 1% et la linéarité observée dans le domaine 40–100 mg ne permet pas de préjuger de l'allure de la courbe $k' = f(m_{\text{nylon}})$ pour les valeurs élevées du taux d'enrobage c'est pourquoi les conclusions restent réservées au sujet de cet essai unique de polyamide non pelliculaire. D'autre part, pour les faibles valeurs de la masse de phase stationnaire les valeurs de k' sont inférieures à celles prévues par

les droites. Dans ce cas le polyamide se présente surtout sous forme d'îlots très dispersés et lors du cheminement dans la colonne la majorité des molécules de soluté rencontrent un nombre moyen de sites inférieur à celui qui correspondrait à une répartition homogène de la phase stationnaire sur la surface des billes de verre.

APPLICATIONS ANALYTIQUES

Du point de vue analytique les six polyamides testés ne sont pas tous équivalents et comme le montre la série d'applications qui suit, à côté de l'activité chromatographique due aux sites $-\text{CO}-\text{NH}-$, il peut être intéressant de tenir compte de l'activité de la fraction hydrocarbonée de la chaîne polypeptidique. En effet nous verrons qu'elle joue un rôle important en chromatographie en phases inversées. Ce double aspect du comportement chromatographique du polyamide a déjà été signalé¹⁷. Or selon le type de polyamide choisi, on fait varier la fréquence de sites $-\text{CO}-\text{NH}-$ et simultanément en sens inverse l'importance de la partie hydrocarbonée apolaire. Avant de présenter et discuter des exemples de séparations pour lesquelles la nature du polyamide pourra intervenir en fonction des deux aspects mentionnés, il faut remarquer que si l'on désire essentiellement disposer d'un plus grand nombre de sites on peut augmenter le taux d'enrobage indépendamment du choix du polyamide. En fait pour des raisons pratiques on aura intérêt à prendre le polyamide à fréquence de sites la plus élevée; en effet plus le polyamide a un caractère hydrophobe, plus il devient difficile à déposer sur les billes car l'adhésion sur le verre est due aux liaisons hydrogène entre les groupements carbonyles du polymère et les groupements hydroxy-les de la silice^{18,19}.

Dans l'étude précédente le nombre de sites peptidiques était le facteur d'activité prédominant dans la chromatographie des solutés (nitrophenols). Ce facteur est à prendre en considération non seulement du point de vue de l'importance de la rétention mais également du point de vue de la qualité de la résolution. Ceci est illustré par la Fig. 6: à partir de $200 \cdot 10^{17}$ sites par g (courbes A et B) la résolution est largement supérieure à 1, entre 50 et $80 \cdot 10^{17}$ sites par g (courbes C, D, E) elle ne devient

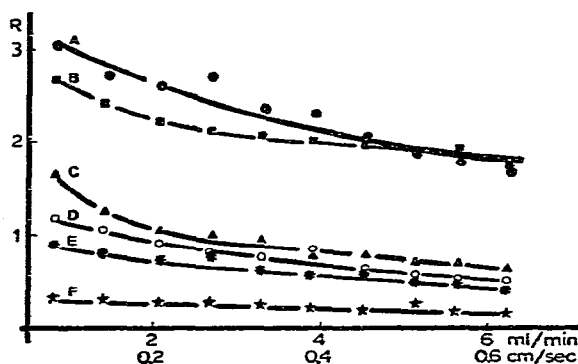


Fig. 6. Influence du nombre de sites par gramme de garnissage (S/m) sur la résolution. A: 0.50% de nylon 6/6; $S/m = 269 \cdot 10^{17}$. B: 0.37% de nylon 6; $S/m = 198 \cdot 10^{17}$. C: 0.18% de nylon 6/12; $S/m = 71 \cdot 10^{17}$. D: 0.14% de nylon 6/10; $S/m = 61 \cdot 10^{17}$. E: 0.17% de nylon 11; $S/m = 56 \cdot 10^{17}$. F: 0.07% de nylon 12; $S/m = 20 \cdot 10^{17}$.

suffisante qu'à faible débit du fait d'une meilleure efficacité de la colonne, et pour moins de $50 \cdot 10^{17}$ sites par g la séparation n'est plus possible (courbe F).

Dans cette série d'expériences la résolution $R = 1/4 (\alpha - 1)/\alpha \cdot k_2'/(1 + k_2') \cdot n^2$, (α , k_2' , n désignant respectivement la sélectivité, le facteur de capacité du phénol, et le nombre de plateaux théoriques de la colonne) est nettement meilleure pour les séparations effectuées avec le plus grand nombre de sites. Le terme important dans l'expression de R est alors le terme $k_2'/(1 + k_2')$. Il varie de 0.05 (courbe F) à 0.25 (courbe A), tandis que la sélectivité et l'efficacité varient peu (le terme $(\alpha - 1)/\alpha$ reste voisin de 1 et les valeurs de n^2 pour un débit donné varient au maximum d'un facteur 1.5). L'expression du nombre de sites $-\text{CO}-\text{NH}-$ par gramme de garnissage $S/m = EN/100 M = EN/100(14\alpha + 29)$ montre que la fréquence de sites $1/\alpha$ et le taux d'enrobage E agissent dans le même sens. Cependant il n'est pas possible de déduire ici un choix judicieux du type de polyamide, les valeurs du Tableau II montrent que pour nos expériences les taux d'enrobage les plus élevés sont obtenus pour les polyamères à plus grandes fréquences de sites pour la raison énoncée plus haut.

TABLEAU II

VALEURS DE LA FRÉQUENCE DE SITES PEPTIDIQUES $1/\alpha$, DU TAUX D'ENROBAGE E ET DU NOMBRE DE SITES PAR GRAMME DE GARNISSAGE S/m POUR LES SIX POLYAMIDES ÉTUDIÉS

Nylon	$1/\alpha$	E	S/m
12	1/12	0.07	$20 \cdot 10^{17}$
11	1/11	0.17	$56 \cdot 10^{17}$
6/12	1/9	0.18	$71 \cdot 10^{17}$
6/10	1/8	0.14	$61 \cdot 10^{17}$
6/6	1/6	0.50	$269 \cdot 10^{17}$
6	1/6	0.37	$198 \cdot 10^{17}$

Les performances analytiques des garnissages à base de nylon 6 ou 6/6 sont analogues à celles du Pellidon. Bien que le mode de préparation soit différent, les caractéristiques de ce produit commercial sont voisines de celles des matériaux préparés ici; la granulométrie est la même ($45 \mu\text{m}$ en moyenne¹⁷), la quantité de phase stationnaire mesurée par thermogravimétrie est de 1%, le polyamide est le nylon 6/6 dont la fréquence de sites est identique à celle du nylon 6.

À côté de la séparation des nitrophenols, les caractéristiques du polyamide se sont révélées intéressantes pour un certain nombre d'applications mettant en jeu une phase mobile non aqueuse. La Fig. 7 montre la séparation de quatre barbituriques. Ces solutés ne possédant pas de groupements hydroxyles, les interactions sont plus faibles et la polarité de la phase mobile doit être abaissée à 2.5% d'acide acétique; la formation de liaisons hydrogène entre les protons des groupements $-\text{NH}-$ des solutés et les groupements $>\text{C}=\text{O}$ du polyamide joue vraisemblablement un rôle important dans le mécanisme de rétention. La substitution de ces protons par des groupes alkyles diminue les facteurs de capacité correspondants, cependant la présence d'électrons π dans les substituants (phényle et allyle) apporte des interactions avec les groupes $-\text{NH}-$ du polyamide¹⁵. La Fig. 8A montre la séparation de trois dérivés de l'acide benzoïque et confirme l'importance de la formation de liaisons hydrogène

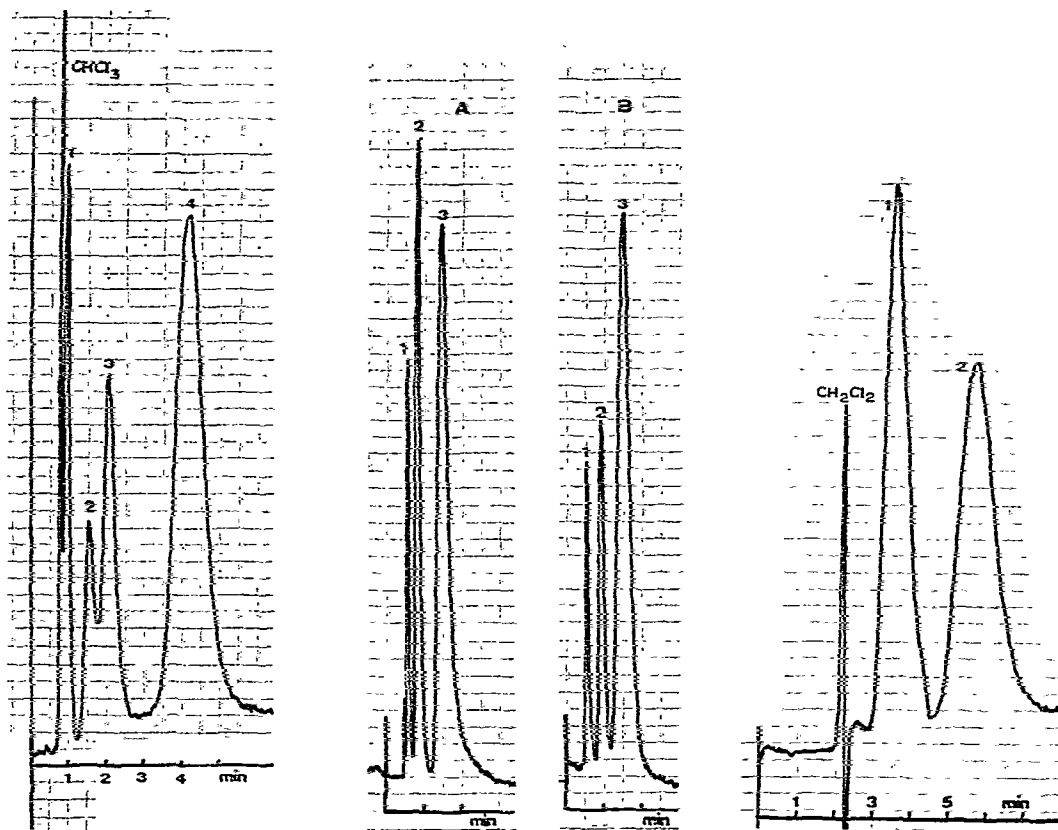


Fig. 7. Séparation de barbituriques: hexobarbital (1), tétrallobarbital (2), barbital (3), phénobarbital (4) sur nylon 6. Phase mobile, isooctane-acide acétique (97.5:2.5); vitesse linéaire, 0.21 cm/sec; température, 25°.

Fig. 8. Séparations d'acides carboxyliques sur nylon 6. Phase mobile, isooctane-acide acétique (92.5:7.5); vitesse linéaire, 0.62 cm/sec; température, 25°. (A): acide diméthoxy-2,3 benzoïque (1); acide hydroxy-2, méthoxy-3 benzoïque (2); acide dihydroxy-2,3 benzoïque (3). (B): acide triméthoxy-3,4,5 benzoïque (1); acide hydroxy-4, diméthoxy-3,5 benzoïque (2); acide hydroxy-4, diméthoxy-3,5 cinnamique (3).

Fig. 9. Séparation de l'acide triméthoxy-3,4,5 benzoïque (1), l'acide triméthoxy-3,4,5 cinnamique (2) sur nylon 6. Phase mobile, isooctane-acide acétique (98.75:1.25); vitesse linéaire, 0.14 cm/sec; température, 25°.

entre les protons phénoliques et les groupes carbonyles du polyamide; la deuxième série d'acides carboxyliques (Fig. 8B), où le dérivé de l'acide cinnamique est davantage retenu que celui de l'acide benzoïque, met en évidence le rôle des électrons π évoqué plus haut. Il faut signaler que pour des produits ne différant pas par le nombre des groupements hydroxyles, la sélectivité du polyamide est en général beaucoup plus faible; ainsi pour séparer l'acide triméthoxy-3,4,5 benzoïque de l'acide triméthoxy-3,4,5 cinnamique, le pourcentage d'acide acétique dans l'isooctane doit être ramené de 7.5 à 1.25% (Fig. 9), les électrons π de la double liaison provoquent alors

une rétention plus forte du dérivé de l'acide cinnamique; par contre il n'a pas été possible de séparer l'acide diméthoxy-2,3 benzoïque de l'acide triméthoxy-3,4,5 benzoïque.

Dans le cas de solutés fortement retenus le choix d'un polyamide moins riche en sites comme le nylon 11, peut être souhaitable. Nous avons rencontré une telle éventualité avec des produits comme la khelline, la noscapine, la papaverine, dont l'élution exigeait une phase mobile plus polaire; la Fig. 10 montre cette séparation obtenue sur polyamide 11.

D'autre part l'intérêt du polyamide 11 apparaît en chromatographie dite à polarité de phases inversée où intervient dans une certaine mesure la fraction apolaire du polymère. Dans ce cas l'utilisation du polyamide avec une phase mobile du type eau-méthanol peut être intéressante avec des produits très solubles en milieu organique et très peu solubles en milieu aqueux; nous avons rencontré de telles applications avec des solutés de la famille des chalcones et flavanones qui n'ont pu être séparés en chromatographie en phases normales. En chromatographie à polarité de phases inversée où la phase stationnaire est apolaire et la phase mobile polaire, les solutés les plus hydrophobes sont alors les plus retenus. Or comme le montre la Fig. 11, l'ordre d'élution des solutés n'est pas conforme à cette règle et les produits les plus hydroxylés sont élués en dernier, ce qui tendrait à prouver que même en milieu aqueux dans le cas de composés hydroxylés, la formation de liaisons hydrogène entre les protons phénoliques et les groupes carbonyles du polyamide joue encore un rôle dans le mécanisme chromatographique. Ce point a d'ailleurs été mentionné par Olson et Samuelson¹⁵ avec des phénols, des acides et des aldéhydes aromatiques en utilisant une phase mobile aqueuse acidifiée, le polyamide conservant son caractère polaire. Cependant pour séparer des produits qui ne diffèrent pas par le nombre de groupements hydroxyles la sélectivité est restreinte et la polarité de la phase mobile doit être augmentée, ce cas est illustré sur la Fig. 12 par la séparation d'isomères de position. Si les substituants nitro sont remplacés par des atomes de chlore la séparation demande alors 75% d'eau dans la phase mobile. Ce comportement du polyamide en tant que phase stationnaire apolaire apparaît plus nettement sur la Fig. 13 où le remplacement d'un substituant méthoxy par un substituant méthyle provoque une rétention plus grande du soluté le moins polaire. Avec une phase mobile aqueuse les sites -CO-NH- continuent donc à prendre part au mécanisme chromatographique mais le squelette hydrocarboné du polyamide apporte à la phase stationnaire le caractère apolaire spécifique de la chromatographie en phases inversées; ce caractère est d'autant plus marqué que la fréquence de sites est plus faible dans la macromolécule, ainsi le nylon 6 trop riche en sites peptidiques convient moins bien que le nylon 11 à la séparation des chalcones et flavanones.

Lorsque la chromatographie fait appel à ce caractère apolaire de la phase stationnaire, il est souvent intéressant d'élever la température de travail; en particulier si on augmente la polarité de la phase mobile dans le but d'obtenir une meilleure sélectivité, la durée d'analyse est augmentée par suite de l'accroissement des facteurs k' : une élévation de la température réduira alors le temps de rétention sans affecter la résolution; le facteur de sélectivité α n'étant pas modifié de façon sensible et l'accroissement de n compensant la diminution du terme $k'/(1+k')$.

Cependant, si la sélectivité du polyamide est trop faible pour des solutés donnés, une température plus élevée ne permettra pas une séparation irréalisable à

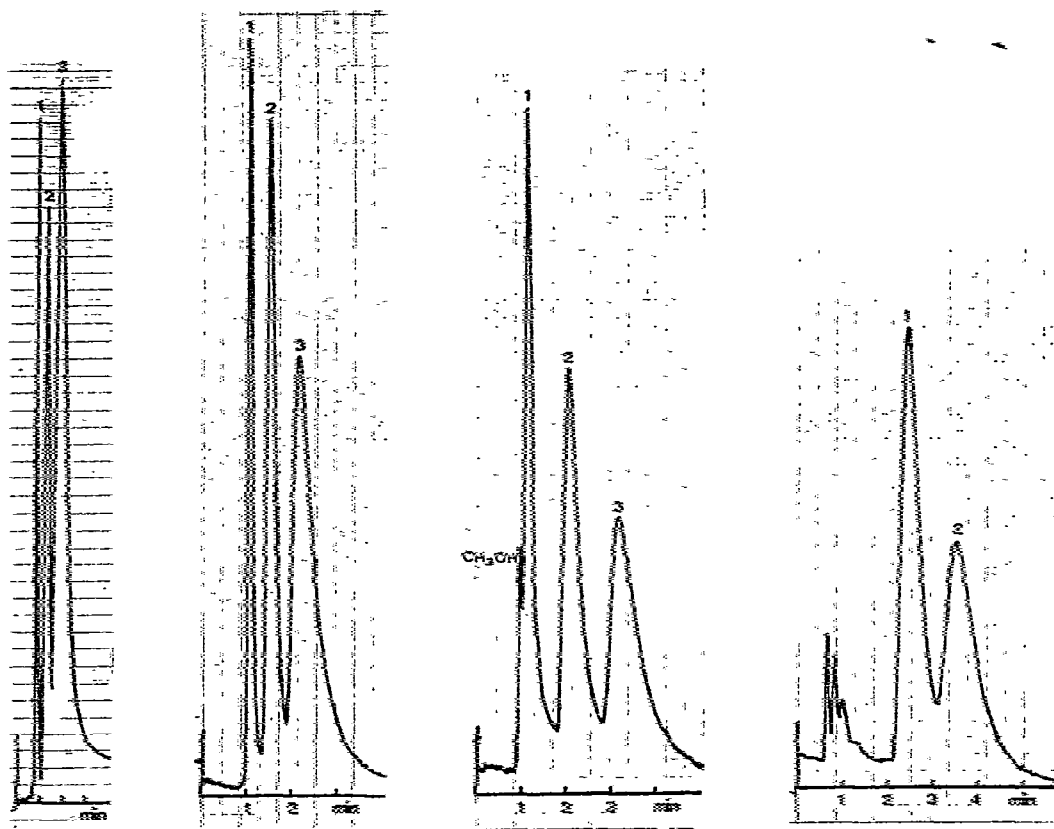


Fig. 10. Séparation de la khelline (1), la noscapine (2), la papavérine·HCl sur nylon 11. Phase mobile, dichlorométhane-acide acétique (95:5); vitesse linéaire, 0.33 cm/sec; température, 25°.

Fig. 11. Séparation de la flavanone (1), la hydroxy-2' chalcone (2), la di hydroxy-2',4' chalcone (3) sur nylon 11. Phase mobile, eau-méthanol (40:60); vitesse linéaire, 0.27 cm/sec; température, 16°.

Fig. 12. Séparation de la flavanone (1), la hydroxy-2', nitro-4 chalcone (2), la hydroxy-2', nitro-4' chalcone (3) sur nylon 11. Phase mobile, eau-méthanol (60:40); vitesse linéaire, 0.27 cm/sec; température, 65°.

Fig. 13. Séparation de la hydroxy-2', méthoxy-4 chalcone (1), la hydroxy-2', méthyle-4 chalcone (2) sur nylon 11. Phase mobile, eau-méthanol (75:25); vitesse linéaire, 0.39 cm/sec; température, 80°.

température ambiante, il faudra soit augmenter α en modifiant la phase mobile, soit augmenter l'efficacité en diminuant la granulométrie du support.

CONCLUSION

Nous sommes conscients d'avoir présenté un nombre limité d'applications des polyamides étudiés mais nous pensons avoir montré que leur gamme d'utilisation était assez étendue.

Selon le type de chromatographie (en phases normales ou inversées) le mieux adapté à la séparation, le choix du polyamide permet de contrôler le nombre de sites

peptidiques et l'importance de la fraction apolaire auxquels sont liées la durée d'analyse (facteur k') et la qualité de la résolution. Dans le cas où les solutés ne diffèrent pas par un nombre de groupements hydroxyles, la sélectivité est nettement plus faible et la composition de la phase mobile doit être ajustée pour obtenir une séparation satisfaisante.

RÉSUMÉ

Six polyamides ont été déposés sur des billes de verre (44–50 μm). Pour la phase mobile utilisée (isooctane-acide acétique, 9:1) il a été montré que le facteur de capacité k' des solutés (les isomères *o*-, *m*- et *p*-nitrophénol et le phénol) varie linéairement avec le nombre de sites peptidiques présents dans la colonne. D'autre part, il a été rappelé que la présence simultanée d'une fraction hydrocarbonée apolaire et de sites peptidiques le long de la chaîne macromoléculaire confère au polyamide une double nature chromatographique; des exemples d'application ont illustré des possibilités de leur utilisation en chromatographie soit en phases normales, soit en phases inversées.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 V. Carelli, A. M. Liquori et A. Mele, *Nature (London)*, 176 (1955) 70.
- 2 H. Endres et H. Hörmann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2 (1963) 254.
- 3 J. Davidek et E. Davidkova, *Pharm.*, 16 (1961) 352.
- 4 J. W. Copius-Peereboom, *Nature (London)*, 204 (1964) 748.
- 5 R. J. T. Graham, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 118.
- 6 K. T. Wang et B. Weinstein, dans A. Niederwieser et G. Pataki (Rédacteurs), *Progress in Thin-Layer Chromatography*, Vol. III, Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor, Mich., 1972, Ch. 5.
- 7 F. M. Rabel, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 957.
- 8 R. McGregor, *Diffusion and Sorption in Fibers and Films*, Academic Press, London, New York, Vol. I, 1974, Ch. 15, p. 213.
- 9 P. Berticat, G. Collet, J. L. Rocca et D. Sage, *Angew. Makromol. Chem., Int. Ed. Engl.*, sous presse.
- 10 D. W. Van Krevelen, *Properties of Polymers*, Elsevier, Amsterdam, London, New York, 1972, p. 77–78.
- 11 J. Brandrup et E. H. Immergut (Rédacteurs), *Polymer Handbook*, Interscience 1966, VI, 81.
- 12 J. Gordon Cook, *Handbook of Textile Fibres Part II, Man-Made Fibres*, Merrow, Watford, Herts., 4 ed. 1968, p. 319.
- 13 L. S. Bark et R. J. T. Graham, *J. Chromatogr.*, 27 (1967) 109.
- 14 E. Soczewiński et H. Szumiło, *J. Chromatogr.*, 94 (1974) 229.
- 15 L. Olsson et O. Samuelson, *J. Chromatogr.*, 106 (1975) 139.
- 16 B. Coq, C. Gonnet et J.-L. Rocca, *J. Chromatogr.*, 106 (1975) 249.
- 17 F. M. Rabel, dans E. Grushka (Rédacteur), *Bonded Stationary Phases in Chromatography*, Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor, Mich., 1974, Ch. 7, p. 127.
- 18 J. Nechtschein, *Bull. Soc. Chim.*, (1973) 913.
- 19 J. Nechtschein et B. Sillion, *Bull. Soc. Chim.*, (1973) 917.