

CHROM. 9547

Note

Détection ampérométrique en chromatographie liquide à haute performance dans le cas d'éluants non conducteurs

M. LEMAR et M. PORTHAULT

Équipe de Recherche Associée au C.N.R.S. (E.R.A. 474), Laboratoire de Chimie Analytique III, Université de Lyon I, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, 69621 Villeurbanne (France)

(Reçu le 3 juin 1976)

Kemula¹, en 1952, a été le premier à adapter la polarographie à la détection d'espèces électroactives séparées en chromatographie liquide en colonne. Ses expériences ont montré que le domaine d'application de la polarographie pouvait s'étendre à un certain nombre de produits organiques et notamment aux dérivés nitrés. Mais ce type de détection n'a pris son véritable essor que depuis peu de temps et selon les auteurs deux voies ont été préconisées: celle de la détection coulométrique et celle de la détection ampérométrique.

La coulométrie permettant une électrolyse totale du soluté est assez séduisante. En effet dans ce cas un étalonnage est inutile. Nous ne rappelons ici que quelques travaux principaux dans ce domaine.

Ainsi Takata et Muto² ont utilisé cette méthode pour l'analyse de nombreux solutés par l'intermédiaire d'une réaction rapide. Leurs résultats sont satisfaisants par exemple pour le dosage des acides carboxyliques en utilisant la réduction de la quinone en hydroquinone.

L'équipe de Johnson s'est intéressée à l'aide d'une cellule tout à fait différente, à la détection de l'antimoine³, des nitrites⁴ et des iodures⁵.

Devynck *et al.*⁶ ont proposé une cellule un peu différente et leurs travaux ont surtout montré que l'on pouvait effectivement obtenir une électrolyse avec un rendement de 100%.

L'ampérométrie, tout comme la coulométrie, est une électrolyse à potentiel contrôlé, mais elle n'oxyde ou ne réduit qu'une très faible proportion de la substance électroactive.

La différence entre les méthodes réside surtout dans la surface de l'électrode de travail. Ici elle est très faible. Les premiers exemples récents de détection ampérométrique par Reynolds⁷, puis Huber *et al.*⁸ et Joynes et Maggs⁵ sont réalisés à l'aide d'une électrode à goutte de mercure. Celle-ci de par sa nature est constamment renouvelée, d'où une surface parfaite; mais on peut lui reprocher son domaine d'application uniquement en réduction, et le bruit de fond important selon le temps de vie de la goutte. Ces diverses raisons font que l'on préfère actuellement utiliser des électrodes solides telles que le carbone vitreux ou le platine. Kissinger *et al.*¹⁰ décrivent une cellule dite, en couche mince, où l'électrode est en carbone. Celle-ci leur a permis de doser certaines amines au niveau de quelques picogrammes. Kissinger *et al.*¹¹ et

Kissinger et Pachla¹² ont aussi montré l'intérêt de la méthode en biochimie^{11,12}. Récemment Blank¹³, avec une cellule semblable, a montré l'intérêt d'une détection sélective en plaçant en série deux électrodes de travail à des potentiels différents.

Au congrès de Barcelone, en 1975, Fleet et Little¹⁴ ont proposé un modèle différent appelé "Wall-Jet". Sa particularité réside dans le fait que le flux arrive perpendiculairement à l'électrode. Celle-ci est réglable et permet ainsi de faire varier le volume de la cellule.

Toutes les cellules décrites supposent que l'éluant est conducteur. Ceci est vérifié dans le cas de la chromatographie d'échange d'ions, mais que ce soit en chromatographie d'adsorption ou de partage, les solvants sont peu polaires et non conducteurs, il faut donc leur adjoindre un électrolyte support. Notre travail a précisément abordé ce problème.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Ainsi dans le cas général de la détection électrochimique deux problèmes sont à résoudre: l'apport d'un électrolyte support pour obtenir un effluent suffisamment conducteur et une électrode de travail convenable. Le premier problème a été résolu en adaptant un mélangeur: éluant-solution contenant un électrolyte support, efficace et de faible volume situé à la sortie de la colonne en amont du compartiment de mesure proprement dit. La cellule que nous avons construite est schématisée (Fig. 1). Elle comprend un mélangeur et un compartiment mesure à trois électrodes dont le modèle dérive de celui décrit par Blaedel et Strohl¹⁵.

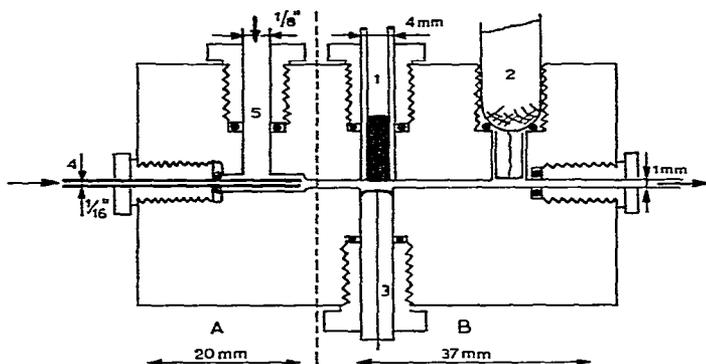


Fig. 1. Cellule de mesure. (A) Mélangeur; (B) compartiment mesure. 1 = Électrode de travail: carbone vitreux; 2 = électrode de référence: E.C.S. (electrode au calomel saturé); 3 = contre électrode: disque de platine de 4 mm; 4 = arrivée de l'éluant; 5 = arrivée de l'électrolyte support.

Le mélangeur est fondé sur le principe de Venturi, c'est à dire que l'électrolyte support est en fait entraîné par l'éluant chromatographique qui arrive à grande vitesse par l'intermédiaire d'un capillaire. L'ensemble est rendu homogène par le convergent situé à la sortie du capillaire. La dilution intervenant avant la mesure est surtout due à l'électrolyte support car le volume compris entre la sortie du capillaire et l'électrode de travail est inférieur à 10 μ l. Il faut signaler que le débit de l'électrolyte support est maintenu constant par l'intermédiaire d'une pompe annexe type seringue.

Le montage chromatographique utilisé est composé d'une pompe "minipump (Dosapro)", avec un système d'amortissement composé de deux bourdons reliés par un capillaire. Les colonnes en acier inoxydable sont remplies au laboratoire selon une méthode déjà décrite¹⁶. L'injection est réalisée à l'aide d'une seringue Hamilton, l'injecteur est un injecteur à septum (Reeve-Angel).

Pour fixer le potentiel de l'électrode de travail et détecter le courant de micro-électrolyse, nous utilisons un tiroir Tipol couplé avec un enregistreur E.P.L. 2 (Solea-Tacussel). L'électrode de travail est en carbone vitreux, diamètre 3 mm, V. 1200 (Ugine-Carbone). L'électrode de référence est une électrode au calomel saturé avec une jonction par fil d'amiante (Solea-Tacussel). La contre électrode est un disque de platine de 4 mm.

RÉSULTATS

Le premier point important est l'obtention d'un mélange homogène. En général le rapport de dilution peut varier de 1:1 à 1:5. Le rapport le plus faible est suffisant pour obtenir une solution conductrice. Le rapport 1:5 semble la limite supérieure car il faut, malgré tout, avoir des dilutions pas trop importantes.

Le deuxième point est le choix de l'électrolyte support. Celui-ci se fait selon deux critères: la solubilité du sel, et le domaine d'électroactivité.

Avec les éluants chromatographiques utilisés, les divers essais effectués nous ont amené à choisir deux électrolytes: (i) dans le cas des milieux aqueux on utilise le chlorure de potassium en solution 0.1 à 0.5 M dans l'eau; (ii) dans le cas des éluants organiques l'électrolyte est le perchlorate de sodium en solution 0.1 ou 0.2 M dans l'acétone.

La Fig. 2 montre une séparation de nitrophénols en milieu aqueux. La différence de réponse entre l'acide picrique et les mononitrophénols est due, en plus du fait de la rétention, au nombre d'électrons mis en jeu qui est plus important dans le cas de l'acide picrique.

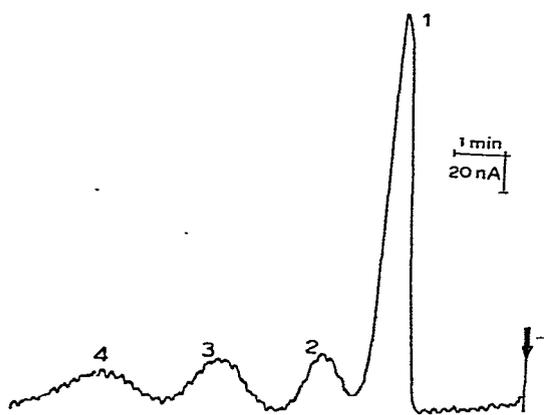


Fig. 2. Séparation de nitrophénols en chromatographie de partage. Colonne, 50 cm, kieselgel. Fractonitrile III; éluant, eau, 1.2 ml/min; électrolyte, KCl 0.1 M, 3 ml/min; électrode de carbone, $\Delta V = -1.2$ V E.C.S.; $s = 500$ nA; injection, 5 μ g de chaque composé. 1 = Acide picrique; 2 = *p*-nitrophénol; 3 = *m*-nitrophénol; 4 = *o*-nitrophénol.

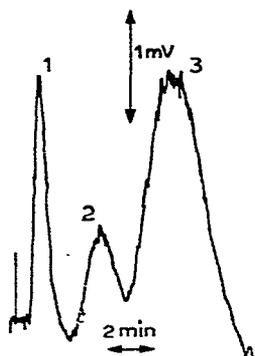


Fig. 3. Séparation de nitrophénols en chromatographie d'adsorption. Colonne, 50 cm, LiChrosorb SI-60, 37–44 μm ; éluant, hexane-diéthyléther (65:35), 1.5 ml/min; électrolyte, NaCl 0.1 M dans l'acétone, 6 ml/min; électrode de carbone, $\Delta V = -1$ V E.C.S.; $s = 12.5$ mV; injection, 5 μl . 1 = *o*-Nitrophénol; 2 = *m*-nitrophénol; 3 = *p*-nitrophénol.

La Fig. 3 montre aussi une séparation de nitrophénols, mais ici, le processus chromatographique est de l'adsorption d'où l'inversion des rétentions.

Ces deux séparations ont été réalisées sur des silices de granulométrie 37–44 μm , et ceci explique les faibles efficacités obtenues. La Fig. 4 montre une séparation d'amines aromatiques sur une colonne imprégnée d'ODPN selon une méthode déjà décrite¹⁷. La détection est ici effectuée en oxydation à un potentiel de +0.8 V.

De ces trois figures il ressort que l'électrode de travail permet de réaliser soit

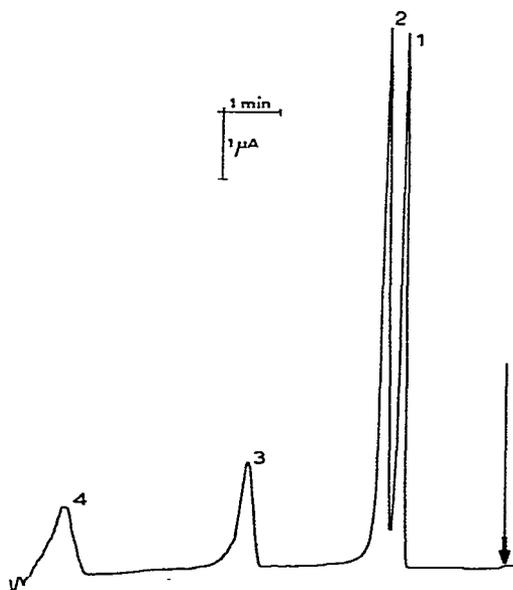


Fig. 4. Séparation d'amines aromatiques. Colonne, 15 cm, LiChrosorb 5 μm + ODPN; éluant, iso-octane, 1.2 ml/min; électrolyte, NaClO₄ 0.1 M dans l'acétone, 4 ml/min; électrode de carbone, $\Delta V = +0.8$ V E.C.S.; $s = 12.5$ μA ; injection, 5 μl . 1 = Diéthylaniline; 2 = diméthylaniline; 3 = éthylaniline; 4 = méthylaniline.

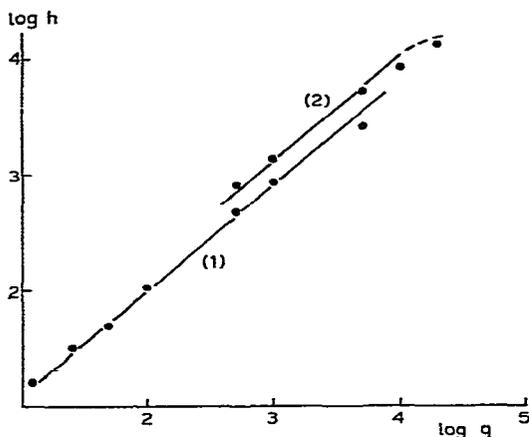


Fig. 5. Réponse de l'électrode. Soluté, éthylaniline ($k' = 3$); $\Delta V = +1$ V E.C.S. h = Hauteur du signal en nA; q = quantité injectée en ng. Courbes (1) et (2) réalisées à 2 jours d'intervalle.

des oxydations, soit des réductions et que vu la stabilité des lignes de bases on peut considérer que le mélange est homogène.

Nous n'avons pas montré toutes les possibilités de la méthode quant au domaine d'application dont Fleet et Little¹⁴ ont rappelé les limites. Signalons toutefois que cette méthode donne aussi satisfaction dans le cas de la détection de chélates métalliques [thényltrifluoroacétonates de nickel(II), cobalt(II), fer(II)].

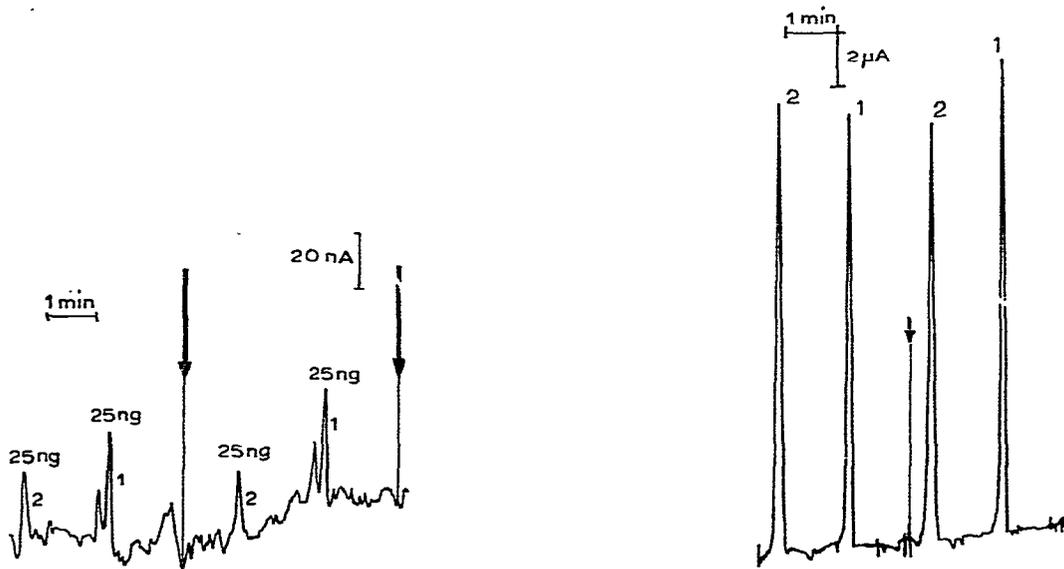


Fig. 6. Seuil de détection. Colonnes, 15 cm, LiChrosorb SI-60 + ODPN; éluant, isooctane 1.8 ml/min; électrolyte, NaClO_4 0.1 M dans l'acétone, 2 ml/min; électrode de carbone; $\Delta V = 1$ V E.C.S.; $s = 500$ nA; injection, 1 μl . 1 = Diéthylaniline; 2 = éthylaniline.

Fig. 7. Pollution de l'électrode. Colonnes, 15 cm SI-60 + ODPN; éluant, isooctane 1.8 ml/min; électrolyte, NaClO_4 0.1 M dans l'acétone 2 ml/min; électrode de carbone, $\Delta V = +1$ V E.C.S.; $s = 5$ μA ; injection, 1 μl . 1 = Diéthylaniline (0.1%); 2 = éthylaniline (0.1%).

De plus, le détecteur doit posséder d'autres caractéristiques et notamment une réponse linéaire. Sur la Fig. 5, nous avons représenté la variation du logarithme de la hauteur du signal obtenu en fonction du logarithme de la quantité injectée. Nous voyons que les courbes obtenues sont des droites de pente voisine de l'unité. Les quantités injectées varient de 10 ng à 50 µg, mais nous pouvons constater que la réponse de l'électrode varie dans le temps puisque les courbes (1) et (2) ont été réalisées à deux jours d'intervalle. Le chromatogramme représenté sur la Fig. 6 montre une injection de faibles quantités de substances (25 ng d'amines aromatiques). Nous obtenons un signal correct et reproductible. Bien que la réponse semble valable, il faut apporter deux restrictions qui sont l'évolution de la réponse déjà mentionnée mais aussi une certaine "pollution" de l'électrode. La Fig. 7 montre deux injections successives d'un mélange indentique. Le rapport des hauteurs est alors inversé. Ce phénomène est peut être dû à la position de l'électrode car Fleet et Little¹⁴ mentionnent que le Wall-Jet permet d'éliminer cette pollution.

CONCLUSION

L'intérêt de ce travail réside surtout dans le fait que l'on peut adapter la détection électrochimique à tous les types de chromatographie par l'intermédiaire d'un mélangeur simple à réaliser, placé à la sortie de la colonne. Mais ceci ne doit pas cacher le problème inhérent à l'électrochimie à savoir l'état de surface des électrodes qui est important pour pouvoir réaliser des mesures quantitatives.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 W. Kemula, *Rocz. Chem.*, 26 (1952) 281.
- 2 Y. Takata et G. Muto, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1864.
- 3 D. C. Johnson et C. R. Taylor, *Anal. Chem.*, 46 (1974) 252.
- 4 D. C. Johnson et R. J. Davenport, *Anal. Chem.*, 46 (1974) 1971.
- 5 D. C. Johnson et J. Larochelle, *Talanta*, 20 (1973) 959.
- 6 J. Devynck, R. Pique et G. Delarue, *Analisis*, 8 (1975) 417.
- 7 J. F. Reynolds, *J. Polarogr. Soc.*, 12 (1966) 27.
- 8 J. F. K. Huber, M. Poppe et G. Denbost, *J. Chromatogr. Sci.*, 8 (1970) 192.
- 9 P. L. Joynes et R. S. Maggs, *J. Chromatogr. Sci.*, 8 (1970) 427.
- 10 P. T. Kissinger, C. Refshauge, R. Drelling et R. N. Adams, *Anal. Lett.*, 6 (1973) 465.
- 11 P. T. Kissinger, L. J. Felice, R. M. Riggan, L. A. Pachla et D. C. Wenke, *Clin. Chem.*, 20 (1974) 992.
- 12 P. T. Kissinger et L. A. Pachla, *Anal. Chem.*, 48 (1976) 364.
- 13 C. L. Blank, *J. Chromatogr.*, 117 (1976) 35.
- 14 B. Fleet et C. J. Little, *J. Chromatogr. Sci.*, 12 (1974) 747.
- 15 W. J. Blaedel et J. H. Strohl, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 445.
- 16 B. Coq, C. Gonnet et J.-L. Rocca, *J. Chromatogr.*, 106 (1975) 249.
- 17 M. Viricel et M. Lemar, *J. Chromatogr.*, 116 (1976) 343.