

Tous
nos produits



... sont également
disponibles
sur notre
site internet!



www.carlroth.fr

www.carlroth.ch

Nouveautés et offres spéciales

Matériel de laboratoire
Life Science - Produits Chimiques

Contact France: Roth Sochiel E.U.R.L.

3, rue de la Chapelle - B.P. 11 - 67630 Lauterbourg

Tél: 03 88 94 82 42 - Fax: 03 88 54 63 93

info@rothsochiel.fr - www.carlroth.fr

Contact Suisse: ROTH AG

Fabrikmattenweg 12 - 4144 Arlesheim

Tel: 061/712 11 60 - Fax: 061/712 20 21

info@carlroth.ch - www.carlroth.ch



Un nouvel outil de séparation pour relever un large éventail de défis analytiques : la chromatographie de convergence ultra performante (UPC²)

Par Christopher J. Hudalla et Patrick D. McDonald
Waters Corporation, Milford, MA, USA

J. Calvin Giddings considéra que la convergence entre les avantages respectifs de la chromatographie en phase gazeuse (GC) – conférant une meilleure efficacité et une meilleure diffusion de la phase mobile – et de la chromatographie en phase liquide – procurant une sélectivité plus élevée par l'approche orthogonale des modes de séparation – pouvait aboutir avec l'utilisation de phases stationnaires de chromatographie liquide en présence d'un fluide supercritique. Le dioxyde de carbone (CO₂) en phase supercritique est un solvant écologique, non-toxique, peu coûteux et hautement compressible. Sa faible viscosité permet même d'abaisser les pressions de travail tout en augmentant l'efficacité pour une granulométrie et une vitesse linéaire données'. En comparaison, les phases mobiles communément rencontrées en chromatographie liquide en phase normale et en phase inverse contiennent des solvants organiques toxiques, incompressibles et de viscosité élevée. De plus, le coût des éluants de qualité HPLC, particulièrement en phase inverse, pour les solvants mais aussi pour l'eau, est très élevé.

La chromatographie en fluide supercritique (SFC), avec des phases mobiles contenant un faible pourcentage de méthanol (ou autre solvant) et une proportion importante de CO₂, est une chromatographie de type phase normale qui sépare parfaitement les composés chiraux, particulièrement à l'échelle préparative. Cependant, contrairement aux systèmes de chromatographie liquide de dernière génération (UHPLC et UPLC®), les performances analytiques des systèmes SFC ont été entravées par la difficulté à mesurer le CO₂ supercritique de manière fiable et reproductible, et à contrôler les paramètres clés comme la température, la pression et la densité. Par conséquent, la SFC a été reléguée au rang de technique confidentielle parmi les sciences séparatives.

La nouvelle technologie UPC²™, développée en 2012, rejoint la vision de convergence élaborée par Giddings. Ce système utilisé en chromatographie de convergence pompe avec précision le CO₂ supercritique, constituant principal de la phase mobile, met en jeu des particules de petite taille, et offre une large gamme de sélectivité. L'UPC² procure une efficacité élevée, simplifie la préparation d'échantillons, et réduit les temps d'analyse, la consommation de solvants et le coût par analyse (le plus souvent, l'économie représente plus de 95%).

De façon générale, depuis quarante ans, les chromatographistes développent davantage les séparations en phase inverse; la phase normale représente une technique alternative pouvant séparer les composés sur une gamme plus large de polarité. Désormais, la chromatographie de convergence permet d'exploiter la puissance de la phase normale et devient un outil analytique de routine pour les chromatographistes afin de résoudre des séparations difficiles. L'UPC² procure une cadence d'analyses et une productivité plus élevées pour un champ d'applications plus étendu.

Analyses à haute cadence et à faible coût

L'utilisation de particules de faible granulométrie fournit une efficacité plus élevée et réduit considérablement les temps d'analyse. Citons comme exemple, les surfactants non ioniques ou les mélanges d'oligomères, qui sont typiquement séparés par chromatographie liquide en phase normale, par chromatographie en phase gazeuse à haute température, ou par chromatographie en fluide supercritique à haute température, avec une durée d'analyse comprise entre 20 et 40 minutes.^{2,3} Les surfactants non ioniques sont utilisés comme détergents et émulsifiants industriels et ménagers. La caractérisation de leur composition est critique lors de leur fabrication car des différences dans la longueur de chaîne d'oxyde d'éthylène modifient la viscosité, la solubilité, la polarité et d'autres propriétés clés du produit. Les chromatographistes ont analysé et identifié avec une excellente résolution

vingt oligomères dans un échantillon de Triton-X par UPC² en moins de 1,5 minutes (**Figure 1**). L'UPC² est presque deux fois plus rapide que la meilleure méthode conventionnelle et l'estimation du coût des solvants par analyse s'élève à 0,03\$ en consommant uniquement 600 µl de méthanol.

Considérons un second exemple avec l'analyse des matières premières utilisées dans la fabrication des diodes électroluminescentes organiques (OLED). Les OLEDs sont des films fins qui émettent de la lumière lors de l'application d'un courant électrique et sont utilisées dans de nombreux appareils électroniques tels que les télévisions, les téléphones mobiles et les écrans d'ordinateurs. La fabrication des OLEDs requiert des matières premières de haute qualité puisque la moindre impureté peut diminuer leur performance et leur durée de vie de façon significative. Une séparation de ces composés par chromatographie classique en phase normale dure plus de 30 minutes.^{4,5,6} La technologie UPC² permet d'effectuer la séparation et la caractérisation du complexe primaire Ir[Fppy]₃ et de sept impuretés de structure en 5 minutes. La double détection en UV et en spectrométrie de masse fournit des données supplémentaires pour identifier les composés d'intérêt et les impuretés présentes (**Figure 2**). Par comparaison avec la chromatographie en phase normale, l'UPC² procure un gain de plus de 80% sur le temps d'analyse et un gain de 97% sur le coût qui s'élève globalement à 0,05\$ par analyse.

Orthogonalité, Gamme d'applications et Préparation d'échantillons

La caractérisation analytique d'un échantillon nécessite souvent l'utilisation de techniques complémentaires pour bénéficier de la spécificité de chacune d'elles. Lors d'un développement de méthodes par chromatographie, une méthode orthogonale peut être utilisée pour identifier des molécules qui co-éluent, ou qui ne sont pas éluées, avec une autre méthode. Ce point est critique lors du développement d'un médicament, puisque la détermination précise des impuretés et des produits de dégradation est exigée du point de vue réglementaire pour l'identification, la qualification et le suivi toxicologique. Le métoclopramide est un antiémétique souvent préconisé dans le traitement des nausées et vomissements. La comparaison entre l'analyse effectuée par chromatographie en phase inverse en mode UPLC et par UPC² montre respectivement la complémentarité des deux modes de séparation (**Figure 3**).

L'orthogonalité offerte par l'UPC² provient des interactions développées avec les groupements polaires, même pour des molécules majoritairement hydrophobes.

L'UPC² peut analyser une large gamme de composés possédant des propriétés physicochimiques très différentes, comme l'hydrophobicité (log P). Développons l'exemple de la séparation des isomères de la vitamine E (tocophérols) dont les fonctions biologiques principales sont liées à leur activité antioxydante.⁷ En raison des valeurs élevées du paramètre log P (de l'ordre de 10,0), le temps d'analyse d'un mélange de tocophérols par chromatographie en phase normale est d'environ 20 minutes. Par UPC², quatre isomères sont séparés en 30 secondes avec un retour en ligne de base (**Figure 4**). Il convient de noter que l'UPC² procure un autre avantage pour l'analyse des composés dont le log P est élevé en présentant une compatibilité avec les solvants utilisés pour extraire les composés apolaires (ex: hexane). Pour une analyse par chromatographie en phase inverse, un extrait organique apolaire doit être évaporé et repris dans un mélange aqueux/organique compatible avec la phase mobile. La possibilité d'injecter directement un mélange apolaire sur un système UPC² simplifie la préparation d'échantillons en procurant un gain de temps, une réduction du coût et une augmentation de la cadence d'analyses.

Conclusion

Le système ACQUITY UPC² est un outil puissant pour de nombreuses applications issues

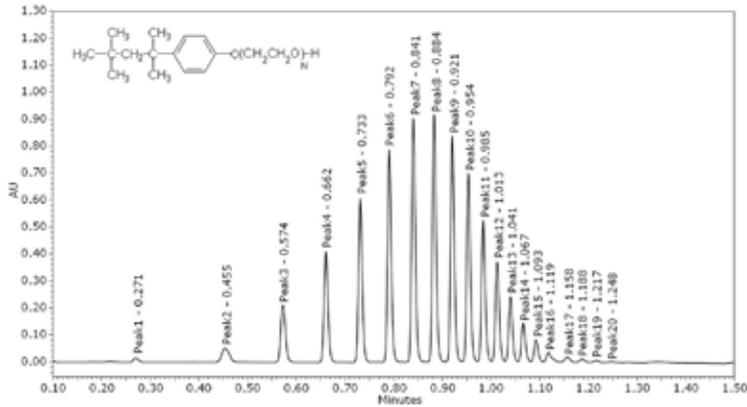


Figure 1 : Analyse par UPC² de Triton-X (10 mg/ml dans IPA) sur la colonne ACQUITY® UPC² BEH (2,1 x 50mm, 1,7µm) à 40°C [Waters Corporation, Milford, Mass., USA]. Gradient : de 2% à 35% de méthanol en 1,25 minutes à 2,0ml/min. Détection UV à 222nm. Régulateur automatique de pression (ABPR) programmé à 1500psi.

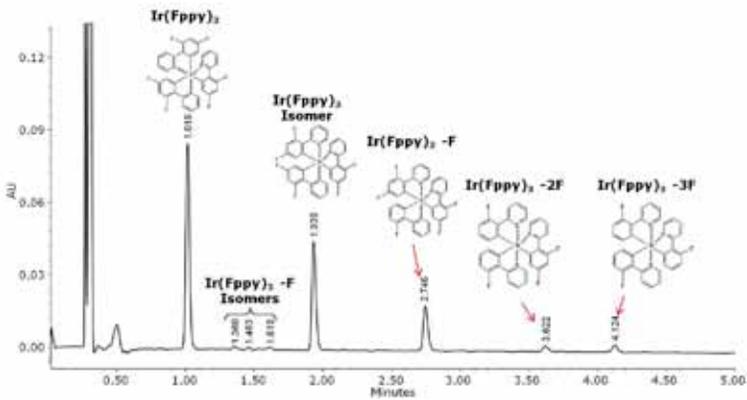


Figure 2 : Proposition de structure pour les impuretés inconnues du complexe Ir(Fppy)₃ de l'échantillon OLED. Séparation effectuée sur la colonne ACQUITY UPC² BEH 2-EP (3,0 x 100mm, 1,7µm) à 60°C [Waters Corporation, Milford, Mass., USA].

Gradient : de 10% à 25% de méthanol contenant 2mg/ml de formiate d'ammonium, en 5 minutes à 2,0ml/min. Régulateur automatique de pression (ABPR) programmé à 1885psi.

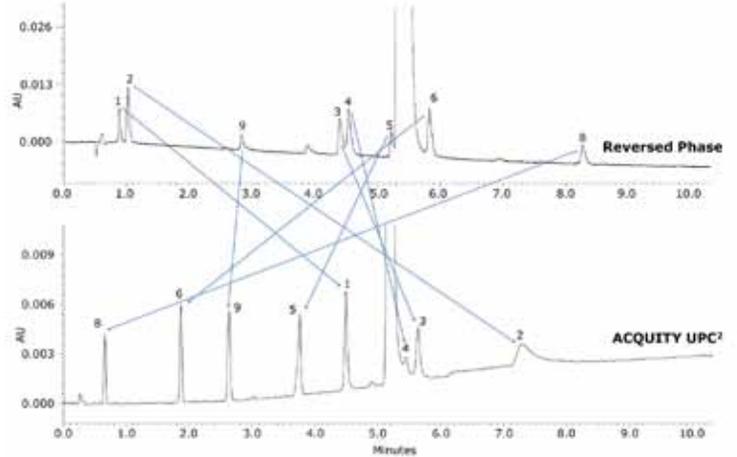


Figure 3 : Séparation du métoclopramide par UPLC en phase inverse (chromatogramme supérieur) et par UPC² (chromatogramme inférieur). Conditions UPLC : colonne ACQUITY UPLC BEH C18 (2,1 x 100mm, 1,7µm), phase mobile A composée d'acétate d'ammonium à 0,25% dans l'eau, et B composée d'acétonitrile, gradient de 12 minutes de 5% à 35% de B à 0,5ml/min, détection UV à 275nm.

Conditions UPC² : colonne ACQUITY UPC² BEH (3,0 x 100mm, 1,7µm), gradient de 12 minutes de 5% à 15% de méthanol contenant 2mg/ml de formiate d'ammonium à 2,5ml/min. Régulateur automatique de pression (ABPR) programmé à 1500psi, détection UV à 275nm.

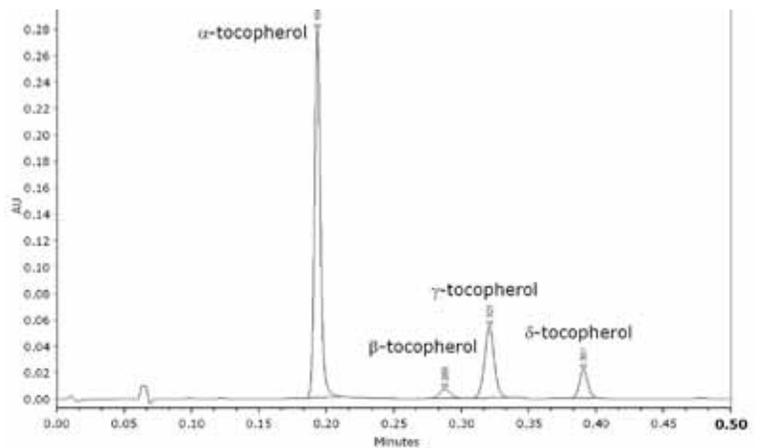


Figure 4 : Analyse par UPC² des isomères de la vitamine E ou tocophérols effectuée sur la colonne ACQUITY UPC² BEH (2,1 x 50mm, 1,7µm) à 40°C [Waters Corporation, Milford, Mass., USA]. Gradient de 1% à 4% de méthanol en 24 secondes à 3,0ml/min. Détection UV à 293nm. Régulateur automatique de pression (ABPR) programmé à 1885psi.

de domaines très variés : pharmacie, chimie, agroalimentaire et nutrition. Le système ACQUITY UPC² a été conçu de manière holistique en optimisant chacun des composants : gestion avancée du fluide supercritique, modes d'injection et de détection, colonnes de plus faible diamètre et de plus faible granulométrie apportant sélectivité, orthogonalité, efficacité, réduction de la consommation de solvants (passage du ml au µl), simplification de la préparation d'échantillon, et réduction du coût de l'analyse. La puissance de la séparation orthogonale, associée aux autres avantages de cette technique, positionne l'UPC² comme un outil analytique de routine possédant des atouts scientifiques et financiers pour de nombreux laboratoires.

Email : sophie_bertaux@waters.com
Internet : www.waters.com/upc2

© 2013 Waters Corporation. UPC, UPLC et ACQUITY sont des marques de Waters Corporation.

Références

- [1] Thiébaud, D, et al.: Second International Conference on Packed Column SFC, Oct 1-2[2008]
- [2] Asmussen, C et al., J High Res Chrom, 21[11]:597-604[1998]
- [3] Fytianos, K et al., Chemosphere, 35[7]:1423-1429[1997]
- [4] Sivasubramaniam, V et al., Cent. Eur. J. Chemistry, 7[4]:836-845[2009]
- [5] Baranoff, E et al., Inorg. Chem., 47:6575-6577[2008]
- [6] Kondakov, D. Et al., J. Appl. Physics, 101:024512[2007]
- [7] Burton, G.W. and Ingold, K.U., J. Am. Chem. Soc., 103:6472-6477[1981]

Informations

Sophie Bertaux, Waters France, Saint-Quentin-en-Yvelines
Tél. : 01 30 48 72 24

Dispensette® TA

Analyse de Traces

Pour la distribution d'acides de haute pureté, de solutions alcalines et du peroxyde d'hydrogène directement sur bouteilles de stockage.

Avec ressort de soupape en Pt/Ir utilisable pour l'acide fluorhydrique (HF).

- Matériaux particulièrement purs pour les pièces en contact avec le produit: fluoropolymères (PFA et PTFE), saphir, platine iridié ou ressorts de soupapes en tantale
- De nombreux laboratoires indépendants attestent d'une excellente adaptation du distributeur sur flacon à Dispensette® TA à l'analyse des traces
- Dégagement minimal de traces métalliques de l'ordre du ppb voir même ppt
- Volume variable de 1 à 10 ml

BRAND GMBH + CO KG
www.brand.de - info@brand.de

Dosage en analyse des traces!

Egalement pour HF!

ppb
ppt