

Université de Montréal

**Caractérisation des solvants régénérables utilisés pour la
capture du CO₂ par chromatographie liquide couplée à la
spectrométrie de masse**

par Stéphanie Gallant

Département de chimie, Université de Montréal
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M. Sc.) en chimie

Décembre, 2018

© Stéphanie Gallant, 2018

RÉSUMÉ

Malgré l'émergence des énergies renouvelables, les combustibles fossiles composent encore la majeure partie de la production d'énergie au Canada. Afin de limiter la production de gaz à effet de serre, qui est régie par plusieurs lois gouvernementales, l'industrie utilise des solvants aqueux aminés régénérables pour la capture du CO₂. La caractérisation des produits de dégradation de ces solvants après plusieurs cycles de régénération est essentielle afin de vérifier leurs efficacités. Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire portent sur le développement d'une méthode d'analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) afin de séparer toutes les espèces connues dans les différentes solutions de régénération. Pour ce faire, la détermination de la meilleure phase stationnaire, parmi les cinq qui ont été préalablement choisies, a été réalisée afin de sélectionner celle qui offre la meilleure séparation pour un mélange, à une concentration établie, de 16 composés de dégradations connus et de la molécule de capture. À l'aide de critères de performances préétablis et de cinq différentes compositions de phases mobiles, trois phases stationnaires ont été retenues pour une optimisation des paramètres de séparations chromatographiques (force ionique de la phase mobile, débit de la phase mobile, gradient d'élution, etc.). Cette optimisation des paramètres expérimentaux a été réalisée afin de déterminer les conditions chromatographiques qui donnent la meilleure séparation des différents analytes cibles dans les échantillons fournis en gradient d'élution non-linéaire sur 13 min avec une phase mobile constituée de l'éluant A (10 mM de formate d'ammonium, 0,05 % d'acide formique et 5% éthanol) et de l'éluant B (acétonitrile avec 5% éthanol) à un débit de 0,5 µL/min et une température de 30°C. Cette étape a été réalisée sur deux phases stationnaires, la Luna CN de Phénoménex et la BEH Amide de Waters ayant les dimensions respectives de 100 x 30 mm x 3,0 µm et 100 x 30 mm x 2,5 µm. À l'aide de cette dite méthode, il sera possible d'identifier de nouvelles espèces présentes dans ces solutions régénérables à l'aide de la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS). Dans cette optique, la méthode optimisée sera transférée au laboratoire de notre partenaire industriel, ce qui leur permettra d'optimiser les différents processus de capture et de régénération

qu'ils utilisent dans le but d'obtenir une meilleure efficacité de capture du carbone à des fins économiques et environnementales.

Mots-clés : LC-MS, développement de méthode, solvants aminés aqueux, produits de dégradation, capture de carbone

ABSTRACT

Despite the emergence of renewable energy, fossil fuels still make up the bulk of Canada's energy production. In order to limit the production of greenhouse gases, which is governed by several government laws, the industry uses regenerable amine solvents for CO₂ capture. The characterization of these solvents and their degradation products that have not yet been identified during the isolation (or sequestration) of CO₂ is essential in order to verify their efficiencies. The research presented in this thesis is about the development of a liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analytical method to separate all known species in the different regenerable amine solvents. To do this, the determination of the best of the five stationary phases that were previously selected was performed in order to select the one that offers the best separation of a mixture of 16 known degradation products and the capture solvent at an established concentration. Using pre-established performance criteria and five different mobile phase conditions, three stationary phases were selected for optimization of chromatographic separation parameters (mobile phase composition, mobile phase flow rate, elution gradient, etc.). The optimization of the various instrumental parameters was carried out in order to determine the stationary phase which gives the best separation of the different target analytes in the samples provided according to these criteria. Using this method, it will be possible to identify new species present in these solutions using high resolution mass spectrometry (HRMS). The transfer of the optimized method to our industrial partner's laboratory will be carried out after the final validation of the method so that the analyses made in their laboratory will allow them to monitor and quantify the known analytes with a better sensitivity more quickly and more efficiently. This will allow them to optimize the different amine solvents they use in the short term to achieve better carbon capture efficiency for economical and environmental purposes.

Keywords : LC-MS, method development, aqueous amine solvents, degradation products, CO₂ capture

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	i
ABSTRACT.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xiii
REMERCIEMENTS.....	xvi
INTRODUCTION.....	1
1.1 Problématique et objectifs de recherche.....	2
1.2 Capture du CO ₂	3
1.2.1 Solvant de capture régénérable et produits de dégradation connus.....	6
1.3 Séparation des composés par chromatographie liquide.....	11
1.3.1 Théorie de la chromatographie en phase liquide à haute performance.....	13
1.3.2 Chromatographie d'interactions hydrophiles (HILIC).....	17
1.4 Spectrométrie de masse (MS).....	23
1.4.1 Théorie de la spectrométrie de masse.....	24
1.4.2 Analyseur triple-quadripôle (QQQ).....	25
1.4.3 Analyseur par temps de vol (TOF).....	27
1.5 Méthodologie du projet.....	29
1.5.1 Optimisation du gradient d'élution selon un plan d'expériences.....	29
1.6 Objectifs de ce mémoire.....	33
PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	34
2.1 Produits chimiques utilisés.....	34
2.2 Préparation des échantillons.....	34
2.2.1 Solutions standards.....	34

2.2.2 Échantillons ayant subis le processus de capture/régénération fournis par notre partenaire industriel	35
2.3 Instrumentation et méthodes	35
2.3.1 Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)	35
2.3.1.1 Phases stationnaires utilisées	36
2.3.1.2 Préparation des phases mobiles	36
2.3.2 Acquisition des données en MRM (« <i>Multiple Reaction Monitoring</i> »)	36
2.3.3 Acquisition des données en mode masse précise	37
RÉSULTATS ET DISCUSSION	38
3.1 Détermination de la meilleure phase stationnaire et additif à la phase mobile	38
3.1.1 Choix des colonnes HILIC et des éluants	38
3.1.2 Critères de performance	41
3.1.3 Les phases stationnaires et composition de phase mobile retenues	48
3.2. Optimisation des paramètres des séparations chromatographiques	50
3.2.1 Détermination du temps mort	50
3.2.2 Effet de la force ionique de l'éluant A sur les séparations	51
3.2.2.1 Éluations isocratiques avec 20 mM formate d'ammonium	51
3.2.2.2 Éluations isocratiques avec 10 mM formate d'ammonium	56
3.2.3 Choix de l'étalon interne	65
3.2.4 Détermination du débit optimale de la phase mobile	67
3.3 Optimisation du gradient d'élution	69
3.3.1 Optimisation par essais à tâtonnement	70
3.3.2 Optimisation par DoE - <i>Design of Experiments</i>	76
CONCLUSION	86
4.1 Sommaire des résultats	86
4.2 Perspectives de recherche	87
BIBLIOGRAPHIE	88
ANNEXES	92

Annexe 1. Structure chimique des différents composés d'intérêts à l'étude	92
Annexe 2. Structure chimique des composés fournis par le laboratoire de la Professeure Joelle Pelletier.....	93
Annexe 3. Transitions MRM des composés de dégradation attendus.....	94
Annexe 4. Masses exactes des différents composés étudiés.....	95
Annexe 5. Comparaison des résultats des 5 colonnes avec les 5 différentes compositions des phases mobiles détaillées ^a	96
Annexe 6. Courbes van Deemter obtenues pour les composés d'intérêts sur la colonne BEH Amide	97
Annexe 7. Chromatogrammes des différents essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne Luna CN	98
Annexe 8. Essais de différents gradients d'élution à tâtonnement sur la colonne Luna CN .	100
Annexe 9. Essais de différents gradients d'élution à tâtonnement sur la colonne BEH Amide	101
Annexe 10. Chromatogrammes des différents essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne BEH Amide.....	102
Annexe 11. «Matrice expérimentale» de la DoE avec la colonne BEH Amide	105
Annexe 12. «Matrice expérimentale» de la DoE avec la colonne Luna CN.....	106
Annexe 13. Résolutions pour la DoE pour la colonne BEH Amide.....	107
Annexe 14. Résolutions pour la DoE pour la colonne Luna CN	108

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.	Ordre croissant de force éluotropique des solvants en chromatographie HILIC ^{45, 47}	22
Tableau II.	Matrice expérimentale pour DoE cubique à face centrée montrant les trois niveaux des trois facteurs	32
Tableau III.	Comparaison des caractéristiques des pics obtenus pour les combinaisons de cinq conditions de phases mobiles avec les cinq colonnes chromatographiques étudiées, où A est l'éluant aqueux et B est l'acétonitrile. Les noms des colonnes correspondent aux phases stationnaires de la figure 18.	42
Tableau IV.	Équivalences pour les symboles inscrits dans le tableau III	43
Tableau V.	Résolution des quatre paires de pics suite aux essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne Luna CN	72
Tableau VI.	Résolution des quatre paires de pics suite aux essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne BEH Amide	75
Tableau VII.	Incréments pour les trois facteurs spécifiques à chaque colonne d'analyse pour la planification d'expériences.....	78
Tableau VIII.	Résultats des tests de répétabilité de l'expérience 15 du DoE pour la colonne BEH Amide.....	79
Tableau IX.	Résultats des tests de répétabilité de l'expérience 15 du DoE pour la colonne Luna CN	80

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Système de capture du CO ₂ utilisant un solvant aminé. ⁶	4
Figure 2.	Utilisation industrielle du CO ₂ aux États-Unis. ¹³	5
Figure 3.	Structure chimique de la monoéthanolamine (MEA).....	8
Figure 4.	Structure chimique de l'oxazolidinone et du heed.....	9
Figure 5.	Structure chimique de la MDEA.....	10
Figure 6.	Structure chimique de la piperazine.....	10
Figure 7.	Exemple de chromatogramme (adaptée de la référence 42).	12
Figure 8.	Schéma du calcul de l'asymétrie d'un pic chromatographique (adaptée de la référence 42).....	15
Figure 9.	Représentation théorique de l'équation de van Deemter.	17
Figure 10.	Exemple de phase stationnaire en chromatographie HILIC A) Amide B) Diols C) Cyano (adaptée de la référence 47).	18
Figure 11.	Schématisme de la distribution d'un analyte modèle entre la phase mobile et la phase stationnaire en HILIC et des interactions moléculaires qui sont en jeu. ⁵⁴	19
Figure 12.	Schématisme d'un analyseur par temps de vol avec un réflectron ⁶⁶	28
Figure 13.	Représentation du DoE cubique à face centrée.	30
Figure 14.	Structure chimique des 5 phases stationnaires testées	39
Figure 15.	Gradient d'élution de criblage pour la détermination de la meilleure phase stationnaire où A% est le pourcentage de l'éluant A dans la phase mobile.	40
Figure 16.	Chromatogrammes d'ions extraits (EIC) des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% EtOH dans les deux éluants) pour la colonne Luna HILIC. Le gradient d'élution est illustré en bleu avec la composition en éluant aqueux dans la phase mobile montré sur l'axe à droite. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3.	44
Figure 17.	EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (10% MeOH dans les deux éluants) pour la colonne Kinetex HILIC. Le gradient d'élution est	

illustré en bleu avec la composition en éluant aqueux dans la phase mobile montré sur l'axe à droite. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3. 45

Figure 18. EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% MeOH dans les deux éluants) pour la colonne PFP. Le gradient d'élution est illustré en bleu avec la composition en éluant aqueux dans la phase mobile montré sur l'axe à droite. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3. 46

Figure 19. EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% EtOH dans les deux éluants) pour la colonne Luna CN avec certains analytes indiqués sur le chromatogramme. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3. 47

Figure 20. EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% EtOH dans les deux éluants) pour la colonne BEH Amide avec certains analytes indiqués sur le chromatogramme. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3. 48

Figure 21. Chromatogramme d'une élution à 80% A pour la colonne PFP pour déterminer le temps mort (1,00 min). L'éluant A est 20 mM formate d'ammonium, 0,1% acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile avec 5% d'EtOH. Les paramètres instrumentaux sont donnés au chapitre 2.3. 51

Figure 22. Conditions de sept éluations isocratiques pour les premiers tests de l'influence de la force ionique sur la séparation chromatographique. L'éluant A était 20 mM formate d'ammonium, 0,1% d'acide formique et 5% d'EtOH, pH de 3,47 et l'éluant B était de l'acétonitrile avec 5% d'EtOH. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux donnés à la figure 21. 52

Figure 23. Facteurs de rétention de sept composés d'intérêts pour les premiers tests d'élutions isocratique pour les différentes colonnes étudiées. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux de la fig. 21. 54

Figure 24. Conditions d'élutions isocratiques pour les seconds tests pour déterminer l'influence de la force ionique sur la séparation chromatographique. L'éluant A était 10 mM formate d'ammonium, 0,05% d'acide formique et 5% d'EtOH à un pH de 3,33 et l'éluant B était de l'acétonitrile et 5% d'EtOH. Les paramètres instrumentaux sont ceux décrits dans le chapitre 2.3.	57
Figure 25. Facteurs de rétention de sept composés connus pour les tests d'élutions isocratique à 10 mM formate d'ammonium, 0,05 % acide formique et 5% EtOH dans l'éluant A pour les différentes colonnes étudiées. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux indiqués à la figure 24.	59
Figure 26. Facteurs de rétention de sept composés connus pour les tests d'élutions isocratique à 10 mM formate d'ammonium, 0,05 % acide formique et 5% EtOH dans l'éluant A pour la colonne BEH Amide. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux indiqués à la figure 24.	60
Figure 27. Comparaison des facteurs de rétention pour déterminer l'influence de la force ionique de la phase mobile aqueuse (10 mM versus 20 mM formate d'ammonium) sur la séparation chromatographique pour la colonne PFP.....	62
Figure 28. Comparaison des facteurs de rétention pour déterminer l'influence de la force ionique de la phase mobile aqueuse sur la séparation chromatographique pour la colonne Luna CN	63
Figure 29. Comparaison des chromatogrammes obtenus à une élution isocratique de 15% de phase mobile aqueuse de 20 mM formate d'ammonium, 0,1% d'acide formique et 5% d'EtOH pour les colonnes PFP et BEH Amide. Les paramètres instrumentaux sont décrits au chapitre 2.3.	64
Figure 30. Structure des composés proposés pour remplacer l'imidazole comme étalon interne avec leurs m/z de l'ion $[M+H]^+$ correspondants pour les deux colonnes, le BEH Amide et le Luna CN.	65
Figure 31. Gradient d'élution utilisé pour déterminer la confirmation du choix d'étalon interne pour les colonnes Luna CN et BEH Amide. Les compositions des éluants sont 10 mM de formate d'ammonium, 0,05% d'acide formique dans la phase mobile aqueuse avec 5%	

d'EtOH pour l'éluant A et l'acétonitrile avec 5% d'EtOH pour l'éluant B et les paramètres instrumentaux, dans le chapitre 2.3.	66
Figure 32. Chromatogramme du mélange des différents composés pouvant remplacer l'imidazole comme étalon interne.....	67
Figure 33. Courbes van Deemter d'un triplicat d'essai sur la colonne BEH Amide pour les composés suivants : Deg 1, Piperazine, MDEA et Deg 3. L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05 % acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits dans le chapitre 2.3.	69
Figure 34. Essais de différents gradients d'élution à tâtonnement sur la colonne Luna CN. L'éluant A est 10 mM formate ammonium, 0,05% acide formique, 5% EtOH et l'éluant B, de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits au chapitre 2.3. Les gradients détaillés sont en annexe 8.	71
Figure 35. Essais de différents gradients d'élution à tâtonnement sur la colonne BEH Amide. L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05% acide formique, 5% EtOH et l'éluant B, de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits au chapitre 2.3. Les gradients détaillés se retrouvent en annexe 9.....	73
Figure 36. Chromatogramme d'une séparation sur la colonne BEH Amide démontrant la coélution de quatre paires de pics (encadrés en rouge). L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05% acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits dans le chapitre 2.3.	76
Figure 37. Illustration des trois facteurs qui ont été choisis pour la DoE cubiques à face centrée lors de l'optimisation du gradient d'élution. L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05% acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits dans le chapitre 2.3.	77
Figure 38. Variation de la résolution des quatre paires de pics selon chaque facteur pour la colonne BEH Amide lorsque les deux autres facteurs restent constantes (Vert : Deg 1/Deg 3; Mauve : Deg 6/Deg 6 _{iso} ; Bleu : Deg 6 _{iso} /Deg 5; Rouge : Deg 5/Mol 1).....	81
Figure 39. Chromatogramme de la meilleure combinaison des facteurs de la planification d'expériences, soit l'expérience #2, pour la colonne BEH Amide pour le mélange DC et DS. .	82

Figure 40. Variation de la résolution des quatre paires de pics selon chaque facteur pour la colonne Luna CN lorsque les deux autres facteurs restent constantes (Vert : Deg 1/Deg 3; Mauve : Deg 6_{iso}/Deg 6; Bleu : Deg 6/Deg 5; Rouge : Deg 5/Mol 1)..... 83

Figure 41. Chromatogramme de la meilleure combinaison des facteurs de la planification d'expériences, soit l'expérience #15, pour la colonne Luna CN pour le mélange DC et DS..... 84

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Note : Pour simplifier la consultation des références, les abréviations en anglais sont utilisées dans ce mémoire. La signification en français est donnée, puis celle en anglais est inscrite en italique.

A : Dispersion par les chemins multiples

ACN: Acétonitrile

A_m : Affinité de l'analyte avec la phase mobile

AMP: 2-amine-2-méthylpropyl

A_s : Affinité de l'analyte avec la phase stationnaire

B : Dispersion longitudinale dans la phase mobile

BEH : *Ethylene Bridged Hybrid*

Bis-heed: N,N'-bis(2-hydroxyéthyl)éthylènediamine

C_M : Résistance au transfert de masse dans la phase mobile

C_S : Résistance au transfert de masse dans la phase stationnaire

D : Coefficient de diffusion

DEA: Diéthanolamine

d_f : Épaisseur de la phase stationnaire greffée aux particules de silice

D_M : Diffusion longitudinale dans la phase mobile

DMF: N,N-Diméthylformamide

DoE: Plan d'expériences, *Design of Experiments*

d_p : Diamètre des particules

D_s : Coefficient de diffusion de l'analyte dans la phase stationnaire

EDA: Éthylènediamine

EIC: Chromatogramme extrait d'un seul ion, *Extracted Ion Chromatogram*

EOR : Récupération assistée du pétrole, *Enhanced Oil Recovery*

EtOH : Éthanol

Heed: N-(2-hydroxyéthyl)éthylènediamine

HEPT ou H : Hauteur équivalente à un plateau théorique

HILIC: Chromatographie d'interactions hydrophiles, *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography*

HPLC: Chromatographie en phase liquide à haute performance, *High Performance Liquid Chromatography*

HRMS: Spectrométrie de masse à haute résolution, *High Resolution Mass Spectrometry*

IC: Chromatographie liquide par échange d'ions, *Ion Chromatography*

k : Facteur de rétention d'un analyte

L : Longueur de la colonne chromatographique

LC: Chromatographie en phase liquide, *Liquid Chromatography*

LC-MS: Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, *Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry*

m/m : Rapport masse sur masse

m/z: Rapport masse sur charge

MDEA : N-méthyl-diéthanolamine

MEA: Monoéthanolamine

MeOH : Méthanol

MRM: Suivi de réactions multiples, *Multiple Reaction Monitoring*

MS/MS: Spectrométrie de masse en tandem, *Tandem Mass Spectrometry*

MS: Spectrométrie de masse, *Mass Spectrometry*

N : Nombre de plateaux théoriques ou efficacité

NPC: Chromatographie liquide en phase normale, *Normal Phase Chromatography*

Oxazolidinone: Oxazolidi-2-one

PFP : Pentafluoro-phényl

QQQ: Triple-quadripôle

R: Résolution

RPC: Chromatographie liquide en phase inverse, *Reversed Phase Chromatography*

SIM: Suivi d'un ion unique, *Single Ion Monitoring*

TEA: Triéthanolamine

TIC: Chromatogramme ionique total, *Total Ion Chromatogram*

t_0 : Temps mort d'une colonne (min)

TOF: Temps de vol, *Time-of-Flight*

t_r : Temps de rétention d'un analyte (min)

$w_{1/2}$: Largeur à la mi-hauteur du pic chromatographique (min)

w_b : Largeur à la base du pic chromatographique (min)

μ_x : Débit de la phase mobile

σ^2 : Variance ou élargissement du pic

σ_{DM}^2 : Variance correspondant à la diffusion moléculaire

Υ : Facteur d'alambicité

REMERCIEMENTS

Tout d’abord, j’aimerais remercier la Professeure Karen Waldron de m’avoir donné l’opportunité de faire ma maîtrise sous sa direction. Sa disponibilité et sa confiance en moi m’ont permis d’être une meilleure vulgarisatrice et de connaître mon plein potentiel. Je lui suis reconnaissante pour tous les savoirs acquis sous sa tutelle. Merci au partenaire industriel d’avoir accepté de m’inclure dans ce projet.

J’aimerais également remercier les femmes incroyables qui composent le laboratoire de spectrométrie de masse de l’Université de Montréal, Alexandra Furtos, Marie-Christine Tang, Louiza Mahrouche et Karine Gilbert. Alexandra, tes conseils et tes suggestions sont judicieux et précieux. Les filles, sans votre aide, votre support et vos commentaires, ces deux dernières années n’auraient pas été les mêmes. Votre humour et votre joie de vivre quotidienne m’ont motivée à donner le meilleur de moi-même.

Aux autres membres du groupe de recherche, Vincent, Anthony et Marie-Pier, votre support durant les périodes les plus difficiles et nos aventures en conférence furent des moments marquants et inoubliables. Toronto, Québec et Washington se souviendront de nous. Thang Ngan, ma stagiaire, le travail que tu as accompli fût remarquable. Aux étudiants et aux étudiantes que j’ai eues, vous m’avez fait comprendre l’importance de paraphraser et qu’enseigner est un métier passionnant.

Merci à ma famille et mes ami.e.s, vous ne savez pas à quel point votre support fût rassurant et important durant mes études. Mon implication étudiante m’a permis de rencontrer des gens exceptionnels provenant de divers domaines d’étude. Je ne vous remercierai jamais assez pour vos encouragements et votre écoute durant les moments difficiles, votre ouverture d’esprit quand je vous expliquais ce que je faisais, mais surtout d’avoir été présents et présentes. Nos discussions furent toutes aussi palpitantes et mémorables, que ce soit autour d’un développement personnel ou autour d’un café. Vos questions et votre avis sur ma recherche m’ont donné un autre point de vue sur celle-ci, et cela a été profitable et très enrichissant. C’est grâce à ces rencontres avec des gens aussi inspirants et inspirantes que je peux écrire ces lignes sous le soleil de Myrtle Beach.

INTRODUCTION

Les travaux énoncés dans ce mémoire portent sur le développement d'une méthode d'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) afin de séparer toutes les espèces connues, et inconnues, dans différents solvants régénérables qui ont été utilisés pour la capture du CO₂. Ce mémoire se divise en cinq différentes sections. Le premier chapitre détaillera les principes de la chromatographie en phase liquide, principalement la chromatographie par interactions hydrophiles (HILIC), afin de montrer que le développement de méthode de séparation à l'aide de ce mode chromatographique est particulièrement intéressant pour les composés polaires comme les composés aminés que l'on retrouve sous forme de produits de dégradation des solvants aminés régénérables pour la capture du CO₂. Il en suivra de la description de la spectrométrie de masse, plus particulièrement de deux types d'analyseur utilisés pour ce travail de maîtrise, afin d'expliquer l'importance de la spectrométrie de masse pour la caractérisation, l'identification et la quantification des différentes espèces contenues dans ces types de solvants de régénération. Il sera question aussi de la méthodologie utilisée afin d'optimiser la méthode d'analyse chromatographique. Le second chapitre portera sur la partie expérimentale, l'instrumentation et les méthodes utilisées lors de cette optimisation. Le troisième chapitre décrira les résultats obtenus lors de la détermination de la meilleure phase stationnaire et d'un des additifs à la phase mobile, sur un mélange de 16 étalons connus en tant que produits de dégradation du solvant de capture aminé. Le quatrième chapitre détaillera l'optimisation des séparations chromatographiques réalisées afin d'obtenir la résolution maximale des composés cibles dans les échantillons ayant subi le processus de capture fournis par notre partenaire industriel. Le dernier chapitre fait la synthèse de ce qu'il a été fait en comparant les résultats obtenus avec des études similaires, en plus de présenter les perspectives de recherche pour ce projet. Il est important de mentionner que pour des raisons de confidentialité dues à une collaboration industrielle, certains noms et structures des composés sont remplacés par les termes Mol 1 pour la molécule de capture et Deg pour les produits de dégradation.

1.1 Problématique et objectifs de recherche

Malgré l'émergence des énergies renouvelables et de l'augmentation des investissements dans ce domaine, les combustibles fossiles composent encore la majeure partie de la production d'énergie au Canada, principalement à cause de la demande croissante d'énergie dans le monde. Il est connu que la consommation des combustibles fossiles est polluante et nocive pour l'environnement, car ils produisent une grande quantité de CO₂ qui est relâché dans l'atmosphère et qui contribue à l'augmentation de l'effet de serre et du réchauffement climatique mondial.¹⁻² Afin de limiter la production de gaz à effet de serre, qui est régie par plusieurs lois gouvernementales, l'industrie utilise des solvants aminés régénérables pour la capture du CO₂ provenant de ces gaz de combustions industrielles. Ce processus de capture et de régénération est profitable pour les industries, puisqu'elles peuvent revendre le CO₂ qui a été mis sous séquestre à d'autres manufactures, ce qui réduit leurs coûts de production d'énergie, en plus d'être bénéfique pour l'environnement. En effet, la capture et l'isolation du CO₂ empêche que ces gaz soient dégagés dans l'atmosphère, ce qui diminue l'empreinte de carbone de ces industries et par le fait même l'effet de serre. Cependant, plusieurs composés de dégradation et d'autres espèces sont formés durant la capture du gaz ou lors de la régénération de ces solvants aqueux aminés, ce pour quoi il faut caractériser ces espèces sur une base régulière. Ceci est essentiel afin d'améliorer le processus de capture et de vérifier leurs efficacités.

Pour ce faire, mon premier objectif de recherche portait sur le développement d'une méthode d'analyse par LC-MS afin de séparer et quantifier toutes les espèces connues dans différents échantillons fournis par notre partenaire industriel. Une fois que cette méthode d'analyse sera validée, un des objectifs futurs de ma recherche sera d'identifier de nouvelles espèces présentes dans ces solutions à l'aide de la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) pour obtenir leurs masses exactes et leurs structures par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). Les structures et les formules moléculaires des nouveaux composés seront confirmées par comparaison aux standards, soit commerciaux ou synthétisés selon la disponibilité. Le transfert de la méthode optimisée au laboratoire de

notre partenaire industriel s'accomplira suite à la validation de celle-ci. Cela leur permettra donc de surveiller, de quantifier et d'optimiser l'utilisation à court terme de leurs différents solvants aminés avec une meilleure sensibilité plus rapidement et plus efficacement afin d'obtenir une meilleure capture du carbone.

1.2 Capture du CO₂

Depuis l'accord de Kyoto de 1992 et l'accord de Paris adoptée en décembre 2015, le climat et la lutte aux changements climatiques causés par l'émission de dioxyde de carbone (CO₂) dans l'atmosphère sont devenus un intérêt mondial.^{1, 3} L'industrie de l'énergie a donc développé des processus de capture du CO₂ provenant de la combustion des combustibles fossiles dans le but de limiter la quantité de gaz à effets de serre émis dans l'atmosphère, afin de respecter les normes environnementales et les lois gouvernementales qui ont été établies.¹⁻⁴ Parmi ceux-ci, la capture du CO₂ produit suite à la combustion de combustibles par l'absorption sur des solvants aminés aqueux est la technique qui a obtenu les résultats les plus concluants.⁵

L'absorption du CO₂ provenant de la combustion des combustibles fossiles se fait à l'aide de solvants aminés régénérables. Pour ce faire, l'amine ou un mélange de l'amine avec de l'eau dans un ratio 1:1 massique est introduit dans le système de capture.⁵⁻⁷ Tel qu'illustré dans la figure 1, le gaz provenant de la combustion, qui contient entre 10 et 15% de CO₂, est introduit dans le bas de la section de l'absorbeur. Celui-ci est pompé vers le haut, où il circule dans le sens inverse du solvant aminé pauvre en CO₂.^{6, 8} Dans cette section, le CO₂ est absorbé par le solvant de capture et la température de l'absorbeur est entre 40 et 60 °C.⁸⁻⁹ Le gaz traité, qui contient beaucoup moins de CO₂, quitte l'absorbeur au haut de celui-ci et part dans l'atmosphère. Les gaz qui en sortent sont principalement des vapeurs d'eau et de l'oxygène qui proviennent de la réaction de combustion des combustibles et de l'azote provenant de l'air ambiant. L'absorption du CO₂ par le solvant aminé aqueux étant une réaction exothermique, une grande quantité de chaleur est produite. Il faut donc éviter que la chaleur produite lors de la capture s'accumule dans l'absorbeur puisque cela peut engendrer la dégradation du solvant de capture et également nuire au système de capture

en lui-même. C'est pourquoi il y a des zones de refroidissement dans le processus de capture.^{6, 8-9} La solution d'amine riche en CO₂ est par la suite chauffée par la solution d'amine pauvre en CO₂ située au niveau de l'échangeur de chaleur entre la zone d'absorption et la zone de régénération du solvant régénérable. Cette solution riche en CO₂ est amenée au sommet du régénérateur pour que le CO₂ qui a été capturé se désorbe du solvant aminé aqueux. Pour aider à la désorption du CO₂, la solution d'amine riche en CO₂ est chauffée entre 100-140 °C par un mélange gazeux chaud de vapeur d'eau.^{5, 10} Le CO₂ gazeux qui a été libéré en solution peut ainsi sortir du haut de la section de régénération et être récupéré dans le condensateur.

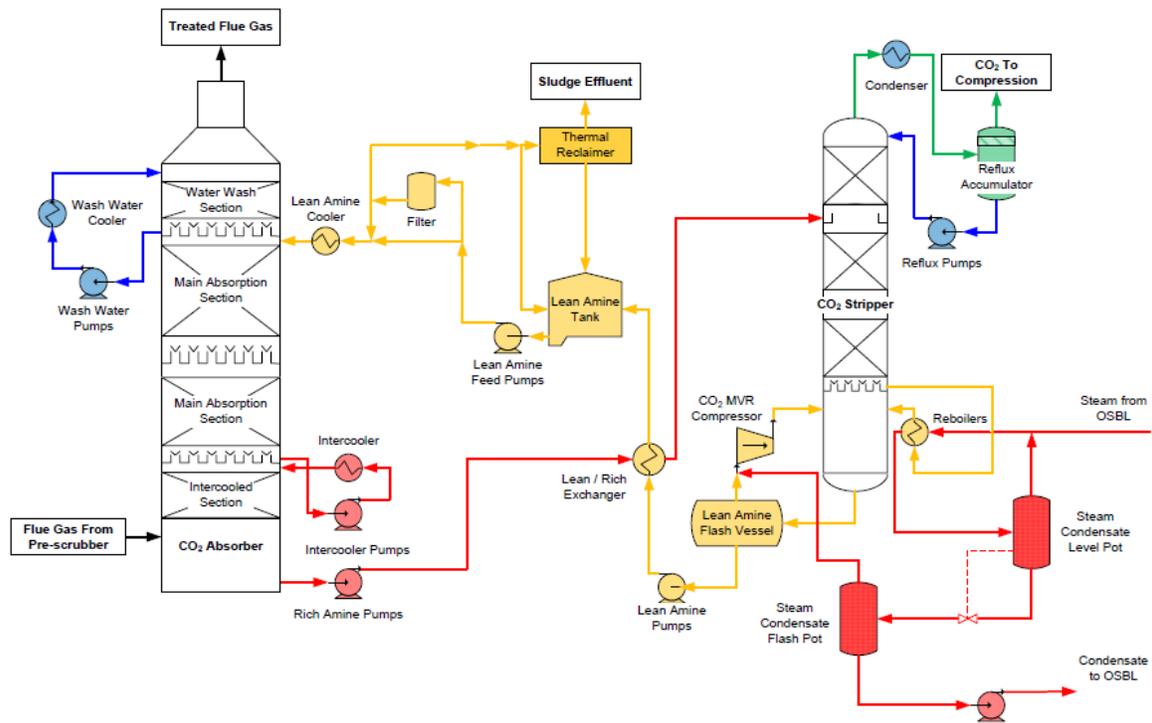


Figure 1. Système de capture du CO₂ utilisant un solvant aminé.⁶

Le CO₂ récupéré peut alors être compressé afin d'être entreposé ou vendu comme matière primaire.^{5, 11} En effet, le CO₂ récupéré peut être vendu à des industries chimiques

comme solvant, à des industries alimentaires ou à des industries pétrolières comme produit aidant à la récupération assistée du pétrole (EOR). Ceci est donc rentable pour les compagnies qui utilisent ce processus de capture.¹² La solution d'amine pauvre en CO₂ quitte le régénérateur et est ensuite introduite dans l'échangeur de chaleur pour fournir de la chaleur à la solution d'amine riche en CO₂. Enfin, elle est encore refroidie une dernière fois avant d'entrer à nouveau dans l'absorbeur pour être réutilisée.

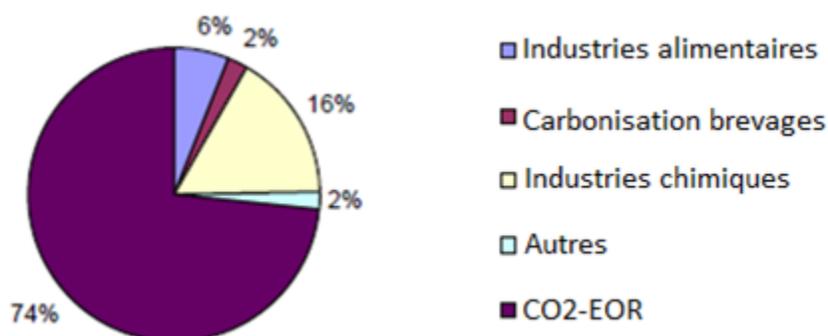


Figure 2. Utilisation industrielle du CO₂ aux États-Unis.¹³

Ce processus de capture du CO₂, suite à la combustion des combustibles avec des solvants aminés régénérables, permet d'emmagasiner jusqu'à 170 tonnes de CO₂ par jour.⁶ Cependant, en raison de la capacité de la chaudière dans le système de capture, les industries sont limitées à une capture de CO₂ de 120 tonnes par jour.⁶ Malgré cela, ces systèmes ont une efficacité de capture de 90%, selon le type de solvant régénérable qui est utilisé.^{6, 14} Ce processus met toutefois les solvants aminés régénérables sous des conditions extrêmes d'oxydation et de température, ce qui crée des produits de dégradation. De plus, les réactions chimiques qui se produisent entre les amines et le CO₂ forment également des composés de dégradations. Pour ce faire, les industries collectent des échantillons du mélange introduit dans le système de capture durant le traitement afin de contrôler les processus de capture et de régénération pour diminuer au minimum la présence de produits de dégradation.⁹⁻¹⁰

1.2.1 Solvant de capture régénérable et produits de dégradation connus

La caractéristique la plus importante lors du choix d'un solvant de capture régénérable est la capacité d'absorption de celui-ci, en mole de CO₂ capturé par kilogramme de solvant aminé aqueux. D'autres paramètres tels que la dégradation du solvant de capture, la régénération, la concentration nécessaire et les températures d'absorption et de régénération sont aussi à prendre en considération.⁸ Ces paramètres influencent le coût total d'utilisation du solvant de capture régénérable, ce qui peut ensuite influencer le choix des compagnies qui l'utiliseront. C'est pourquoi, il faut comprendre le processus de capture et les mécanismes de formation des produits de dégradation.

Tout d'abord, les amines primaires et secondaires réagissent avec le CO₂ selon les réactions suivantes qui ont été proposées par Caplow.¹⁵ Dans ces réactions, l'amine réagit avec le CO₂ pour former un zwitterion.¹¹ Celui-ci est ensuite déprotonné à l'aide d'une base (B) qui peut être une molécule d'eau environnante, une autre molécule de l'amine ou des ions hydroxyles présents en solution. Dû à l'instabilité du zwitterion, ces deux étapes peuvent se produire simultanément afin de former directement le carbamate de l'amine de départ.^{11,}

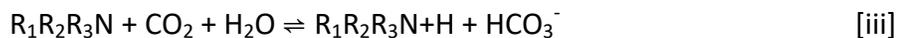
16



Les carbamates peuvent ensuite se faire hydrolyser pour former des ions bicarbonates. La formation de ces derniers dépend de la stabilité des carbamates en solution et de la température de celle-ci.¹¹ Le CO₂ peut également se former directement en bicarbonates en réagissant avec l'eau contenue dans le système de capture.

Les amines tertiaires ne peuvent pas réagir directement avec le CO₂ pour former les carbamates à cause du manque de proton labile à proximité de l'amine. Ainsi, la réaction du CO₂ avec les amines tertiaires se fait lors des interactions par liaison hydrogène entre l'amine

et l'eau présente en solution. Cette réaction forme directement l'ion bicarbonate selon le mécanisme suivant :



Puisque l'ion bicarbonate est formé en une seule réaction, cette réaction est moins exothermique, ce qui représente un avantage pour les industries d'utiliser les amines tertiaires comparativement aux autres types d'amines. La stabilité de ces carbamates dépend de la structure et de la température dans lesquels ces composés se trouvent. Plus les carbamates formés durant le processus de capture sont stables, plus il sera possible de récupérer le CO₂ émis de la combustion. Les amines et les nitrosamines étant des molécules basiques, l'ajout de CO₂ modifie les propriétés chimiques de ces molécules.¹⁷ Selon la structure chimique et les groupements fonctionnels qui sont présents sur ces amines, la capacité d'absorption et de désorption de ceux-ci peut varier.

La basicité d'une amine et sa capacité à faire des interactions de type hydrogène peuvent varier selon l'environnement électronique au carbone alpha de celle-ci. La présence de groupements alkyles sur le carbone alpha de l'amine a pour effet de diminuer l'absorption du CO₂.⁸ Plusieurs études ont montré que l'ajout d'un ou plusieurs substituants aux carbones à proximité de l'amine réduit sa capacité d'absorption et de régénération, puisque ceux-ci diminuent le caractère électro-donneur de l'amine de par l'encombrement stérique de ceux-ci.⁸ De plus, l'ajout de groupements fonctionnels électroattracteurs ou électro-donneurs ont une influence sur la basicité de l'amine. En ajoutant un groupement hydroxyle, par exemple, qui est un groupement électroattracteur, la densité électronique de l'azote de l'amine va diminuer et donc réduire la capacité d'absorption de celle-ci. La longueur de la chaîne carbonée de l'amine peut également avoir une influence sur la basicité de cette dernière. Pour les amines et les alkaloamines, l'augmentation de la chaîne alkyle a pour effet d'augmenter la basicité de l'amine. Cette augmentation est plus marquée pour les alkaloamines que pour les alkylamines.⁸ En augmentant la distance entre le groupement hydroxyle et l'amine, l'influence de celui-ci sur la densité électronique de l'amine sera moindre, ce qui augmente la basicité de l'amine. Les industries ont choisi différents solvants

de capture pour le CO₂ en prenant en compte ces différents paramètres.¹⁸ Cela leur permet de déterminer celui qui aura la plus grande capacité d'absorption pour respecter les normes environnementales établies.

Parmi les solvants aqueux aminés régénérables qui existent pour la capture du CO₂, la monoéthanolamine (MEA) est l'amine primaire qui a été le plus communément utilisée par les industries.^{8, 19-20} En plus d'être un solvant aminé aqueux abordable, peu visqueux et soluble dans l'eau, la MEA a une très bonne capacité cyclique d'absorption du CO₂.²¹⁻²² Cependant, l'utilisation de la MEA comme solvant de capture du CO₂ comporte certains désavantages.

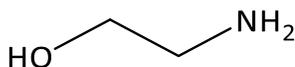


Figure 3. Structure chimique de la monoéthanolamine (MEA).

La réaction des amines primaires, comme le MEA avec le CO₂ est rapide pour former des carbamates en grande quantité.²³ Cependant, cette réaction est exothermique ce qui fait que l'utilisation de la MEA comme solvant de capture coûte cher aux entreprises.²³ En effet, le coût de cette chaleur produite par la MEA équivaut à 70% des coûts du système de capture.²⁴⁻²⁵ De plus, la monoéthanolamine forme une grande quantité de produits de dégradations et elle est corrosive.²⁰ Deux sortes de dégradations du solvant aqueux sont possibles dans un système de capture du CO₂. La première est la dégradation thermique qui se produit principalement lors de la régénération du solvant de capture puisque c'est à cet endroit que la température est la plus élevée. La seconde est la dégradation oxydative, qui se produit dans la zone d'absorption, car la concentration d'oxygène en solution ou en contact avec celle-ci est la plus élevée.²⁰

Les hautes températures dans le système de capture, causent la dégradation thermique du MEA sous plusieurs réactions successives. Parmi ceux-ci, l'oxazolidinone (Oxazolidi-2-one) et le Heed (N-(2-hydroxyéthyl)éthylènediamine) sont deux composés de

dégradation thermique du MEA.^{21, 26} Afin de former ce premier produit de dégradation, une molécule de MEA doit réagir avec du CO₂ dans l'absorbeur pour former le carbamate. La cyclisation du carbamate nouvellement formée va par la suite former l'oxazolidinone.²⁷ La molécule de Heed est formée lorsqu'une seconde molécule de MEA réagit avec l'oxazolidinone.²⁷ Ce composé de dégradation peut également se former lors de la dégradation oxydative du MEA. Un autre composé de dégradation peut être formé, soit le bis-heed (N,N'-bis(2-hydroxyethyl)éthylènediamine). Ce composé est formé lors de la réaction du MEA avec une molécule d'oxyde d'éthylène.²⁸ Plusieurs industries ont donc changé leur solvant de capture afin d'utiliser des amines secondaires et tertiaires, puisqu'ils sont moins exothermiques lors de la réaction avec le CO₂.

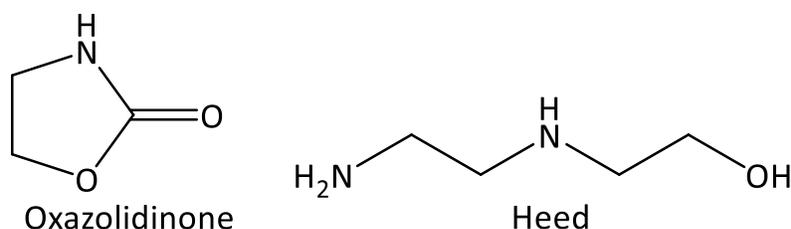


Figure 4. Structure chimique de l'oxazolidinone et du heed.

Parmi celles-ci, on retrouve la diéthanolamine (DEA), la triéthanolamine (TEA), la 2-amine-2-méthylpropanol (AMP) et le N-méthyl-diéthanolamine (MDEA).²⁹ Lors de la dégradation thermique ou oxydative de la DEA (diéthanolamine), il est possible de former des piperazines, qui sont des diamines, par la cyclisation d'une molécule de Heed avec une perte d'eau, comme qu'il est proposé par Lepaumier et al. en 2009.²⁸ La dégradation oxydative de ce solvant régénérable produit également la MEA et la MDEA (N-méthyl-diéthanolamine) qui est le solvant aqueux de départ méthylié.²¹

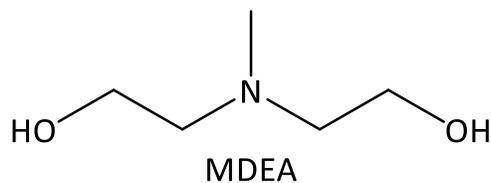


Figure 5. Structure chimique de la MDEA.

La MDEA est une amine tertiaire qui a une capacité d'absorption du CO_2 qui est plus importante que la MEA, en plus d'avoir un mécanisme de réaction avec ce gaz à effet de serre qui est moins exothermique.³⁰ Par exemple, la capacité d'absorption de la MEA est de 0,5 moles de CO_2 par mole de solvant, tandis que la MDEA elle est de 1 mole.²² Les produits de dégradation de la MDEA sont semblables à ceux de la MEA dû à leurs structures chimiques similaires. Les deux derniers solvants de capture du CO_2 qui seront discutés dans ce mémoire sont la piperazine et Mol 1.

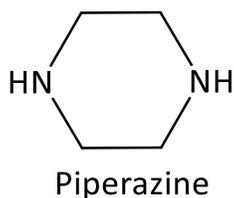


Figure 6. Structure chimique de la piperazine.

La piperazine est un solvant aminé aqueux cyclique composé de deux amines secondaires qui a été principalement utilisé en remplacement de la MEA et comme activateur pour la capture du CO_2 lorsque celui est mélangé avec un autre solvant régénérable.^{11, 31-32} Sa structure moléculaire lui permet donc d'absorber plus de CO_2 , ce qui lui confère une meilleure capacité d'absorption et un meilleur taux d'absorption du CO_2 que la MEA.³³⁻³⁴ De plus, la présence des amines secondaires fait qu'il a une enthalpie d'absorption qui est plus basse que la MEA, de même qu'une stabilité qui donne très peu de produits de dégradation.^{26, 34} Cette résistance face à ces dégradations thermiques et oxydatives, sa faible volatilité et ses autres propriétés énoncées précédemment permettent

aux industries de réduire leur coût d'utilisation en choisissant ce solvant régénérable pour leurs systèmes de capture du CO₂.^{31, 33, 35-36} La piperazine se dégrade pour obtenir majoritairement les produits de dégradations suivants : EDA (éthylènediamine), formate, N-formylpiperazine, acétate, et 1-(2-aminoethyl)-piperazine.³³ Ces produits se forment selon la dégradation thermique du solvant aminé aqueux lors de l'ouverture du cycle de la piperazine. La dégradation oxydative de la piperazine se produit selon un mécanisme radicalaire et produit des sels qui sont stables.³³ Étant une amine secondaire, la nitrosation de la piperazine dans le système de capture peut former des nitrosopiperazines, qui sont des composés cancérigènes. La nitrosation de la piperazine se produit lors de l'absorption du NO₂ qui est produit lors de la combustion ou lors de l'oxydation du solvant de capture.

Le processus de capture du CO₂ peut dégrader les amines en nitrosamines, qui sont des composés de dégradation toxiques, volatils et cancérigènes pour l'être humain.²⁹ Il est donc important de pouvoir identifier et quantifier ces composés. Cela permettra non seulement à optimiser le processus de capture afin qu'il y ait un maximum de CO₂ qui soit capturé, mais également à éviter que la population soit exposée à ces produits. Ces solvants de capture régénérables et les produits de dégradations connus étant solubles dans l'eau, la technique de séparation de ces composés qui a été préconisée dans ce mémoire est la chromatographie liquide (LC).³⁷⁻³⁸

1.3 Séparation des composés par chromatographie liquide

La chromatographie liquide est une technique de séparation et de purification qui utilise le principe de l'adsorption ou du partage des différents solutés contenus dans un échantillon entre une phase stationnaire et une phase mobile afin de les séparer et, si nécessaire, de les quantifier.³⁹ Pour n'importe quel composé, plus celui-ci a un coefficient de distribution élevé, plus il aura une grande affinité avec la phase stationnaire et donc un temps de rétention plus long. Cette affinité que chaque analyte a avec la phase stationnaire est définie par les différents types d'interactions ou de liaisons chimiques qu'il y a entre ceux-ci. Les types d'interactions possibles sont les liaisons hydrogènes, les liaisons de van der Waals, les interactions hydrophobiques, les interactions hydrophiles et les interactions

électrostatiques.⁴⁰⁻⁴¹ Le partage des analytes se produit lorsque le mélange des composés d'intérêts est injecté dans la colonne et qu'il se distribue entre la phase mobile et la phase stationnaire. Ce phénomène dépendra à la fois de l'affinité de chaque analyte avec la phase stationnaire de la colonne et du coefficient de distribution de celui-ci.

Pour rompre ces dites interactions préférentielles, il faut modifier la composition de la phase mobile qui circule dans la colonne chromatographique. La phase mobile, ou l'éluant, doit avoir une force éluotrope suffisamment forte pour que les analytes soient entraînés successivement jusqu'au détecteur qui se trouve à l'extrémité de la colonne.³⁹ Plus la force éluotrope de la phase mobile est grande, plus les composés élueront rapidement jusqu'au détecteur. C'est en modifiant la composition de la phase mobile que nous pouvons changer l'élution des composés et avoir une séparation optimale comme il est possible de le voir sur la figure suivante.^{39, 41}

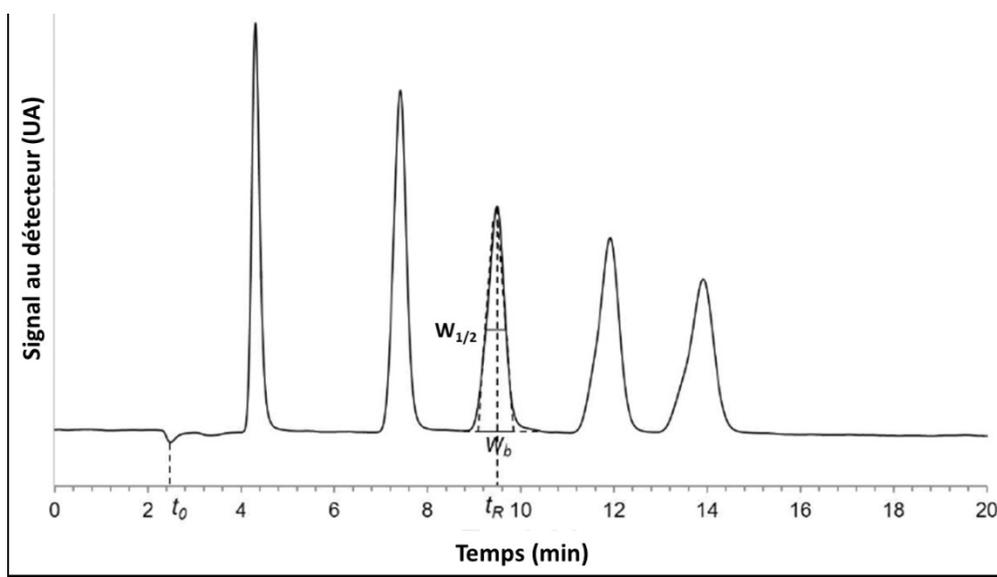


Figure 7. Exemple de chromatogramme (adaptée de la référence 42).

Cette séparation à travers le temps d'analyse nous permet d'identifier les différents composés qui sont contenus dans un échantillon complexe pendant que l'intensité du signal correspondant nous permet de les quantifier. De cette façon on peut confirmer l'exactitude

des étapes de prétraitement des échantillons, s'il y a lieu et ce, peu importe le type de chromatographie utilisée. À l'échelle analytique, le format de LC à haute performance (HPLC) permet d'avoir des séparations rapides pour une faible quantité d'échantillon.

1.3.1 Théorie de la chromatographie en phase liquide à haute performance

Le principe général de la HPLC porte sur la séparation d'un mélange d'analytes selon la distribution de ceux-ci entre une phase stationnaire et une phase mobile qui est liquide. Cette séparation dépend de plusieurs facteurs, notamment l'affinité des analytes avec ces dites phases. Il sera détaillé dans la prochaine section le processus de séparation spécifique à la chromatographie HILIC qui a été utilisée pour ce mémoire, de même que les interactions qui sont en jeu pour ce type de chromatographie. Dû à la diffusion et à d'autres effets cinétiques, les molécules d'une même espèce se dispersent les unes des autres, ce qui crée une zone plus concentrée en analyte et des zones moins concentrées.⁴⁰ Lors de l'arrivée d'un analyte au détecteur, le pic chromatographique correspondant aura la forme d'une courbe Gaussienne, idéalement symétrique à cause de cette diffusion.³⁹ Le but de la HPLC est donc d'obtenir la meilleure séparation des différents analytes pour la durée d'une analyse la plus courte possible.⁴¹ Après la séparation des composés, ceux-ci sont analysés puis détectés afin d'obtenir un chromatogramme représentant la dite séparation chromatographique. Pour caractériser la séparation, plusieurs paramètres quantitatifs et qualitatifs nous fournissent l'information nécessaire.

Parmi les paramètres, il y a le temps de rétention de l'analyte, t_r et le temps mort, t_0 . Le temps de rétention est le temps que l'analyte prend pour parcourir le système chromatographique de l'injecteur au détecteur. Le temps mort est la durée que prennent les composés qui ne sont pas retenus sur la colonne pour se rendre au détecteur. Pour chaque composé analysé, il est possible de déterminer le facteur de rétention, k , qui correspond à l'affinité de ce dernier sur la phase stationnaire de la colonne. Ainsi, le facteur de rétention peut être calculé à l'aide de l'équation suivante:^{39, 41-42}

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad [1]$$

D'après l'exemple d'un chromatogramme illustrant la séparation de cinq composés, soit la figure 7, on observe que la largeur des pics n'est pas égale. Afin d'indiquer si la largeur des pics est convenable, on utilise le terme efficacité ou nombre de plateaux théoriques, N. Ce facteur dépend du temps de rétention de l'analyte et de la largeur du pic correspondant. Selon l'équation 2, on peut choisir soit la largeur à mi-hauteur lorsque les pics sont loin d'être symétrique, $w_{1/2}$, ou la largeur à la base du pic chromatographique, w_b . Pour obtenir la meilleure séparation, il faut que le nombre de plateaux théoriques soit le plus élevé possible, ce qui correspond à des pics étroits.³⁹

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2 \quad [2]$$

Le nombre de plateaux théoriques dépend, parmi plusieurs paramètres, de la longueur de la colonne. En effet, plus une colonne est longue, plus les composés auront une grande surface de phase stationnaire pour interagir ce qui éventuellement permettra de les séparer plus efficacement les uns des autres. On peut ensuite déterminer la hauteur d'un plateau théorique, H, par l'équation suivante :^{39, 41-42}

$$H = \frac{L}{N} \quad [3]$$

Cette équation permet de normaliser H selon la longueur de la colonne, L, sur la largeur des pics et donc de comparer des colonnes qui n'ont pas les mêmes dimensions. Pour une bonne séparation, il faut que la valeur de H soit la plus petite qui soit. Cependant, il se peut que certains composés coéluent lors d'une analyse. Pour vérifier la séparation relative de ces analytes, on utilise la résolution des pics successifs, R, qui est calculée selon la largeur du pic à mi-hauteur, $w_{1/2}$, ou à la base du pic, w_b , où le premier calcul est le plus approprié lorsque les pics sont asymétriques :^{39, 41-42}

$$R = \frac{t_{R,j} - t_{R,i}}{w_b} = \frac{0,589 (t_{R,j} - t_{R,i})}{w_{1/2}} \quad [4]$$

Pour une bonne résolution, il faut que R soit supérieure à 1,50 tandis qu'on veut que R soit \geq à 2 pour les pics qui sont asymétriques ou lorsque les largeurs des pics varient beaucoup.³⁹ Outre les paramètres plus quantitatifs qui permettent de déterminer l'efficacité

de la séparation d'un mélange de composés, il est également possible d'utiliser des paramètres plus qualitatifs pour décrire celle-ci. La meilleure séparation doit donc se produire dans la fenêtre d'élution la plus courte possible tout en ayant un nombre de pics qui sont séparés qui correspondent à chacun des analytes analysés.^{39, 41-42} De plus, les pics doivent être le plus symétriques possible. Certains logiciels de traitement de données fournissent la valeur d'asymétrie des pics chromatographiques de chacun des composés analysés. Pour obtenir ce résultat, le logiciel fait le rapport des largeurs du pic entre le milieu de celui-ci et les extrémités de chaque côté du pic, soit les paramètres A et B sur la figure suivante.

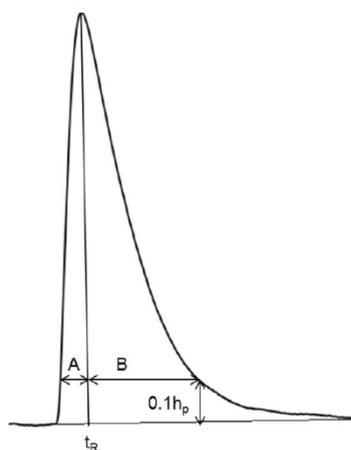


Figure 8. Schéma du calcul de l'asymétrie d'un pic chromatographique (adaptée de la référence 42).

Si la valeur est égale à 1, le pic est symétrique. Si elle est supérieure à 1, le pic a une traînée à la fin de celui-ci et si la valeur est inférieure à 1, il y a un élargissement du pic au début de celui-ci. Pour la quantification des composés, la hauteur du pic ou l'aire de celui-ci peut être utilisée. Dans le cadre de mon projet de recherche, la hauteur du pic a été préconisée, car elle est plus significative de la concentration de chaque composé dû à la possibilité d'élargissement de ces derniers durant leur élution sur la colonne.^{39, 41-42} Cet élargissement observé est principalement due à la diminution de la variance (σ), ou la dispersion des analytes. Pour obtenir la meilleure résolution de tous les composés, il faut s'assurer que la variance de chaque pic chromatographique ($\sigma^2_{\text{observée}}$) soit suffisamment

faible. Tel qu'inscrit dans l'équation ci-dessous, il y a quatre composantes qui influencent la variance d'un pic chromatographique.^{39, 41} Une autre composante qui influence la variance est la variance des tubes de raccord dans l'instrument.

$$\sigma_{observée}^2 = \sigma_{colonne}^2 + \sigma_{injection}^2 + \sigma_{détection}^2 + \sigma_{tubes}^2 \quad [5]$$

La contribution de la variance de l'injection, des tubes de raccord et de la détection ne pouvant pas être modifiées, puisque ce sont des paramètres instrumentaux que nous ne pouvons pas modifier au courant d'une analyse, seul la variance de la colonne a une influence significative sur la variance observée. Parmi les contributions à cette variance, il y a la dispersion des analytes par les chemins multiples, la dispersion par la diffusion moléculaire et la dispersion par la résistance au transfert de masse.^{39, 41}

Un autre facteur qui influence la séparation des différents analytes injectés dans la colonne est le débit de la phase mobile. L'influence du débit de la phase mobile sur la variance des pics chromatographiques obtenue est un phénomène qui a été mis au point par le physicien J. J. van Deemter en 1956.⁴³ La théorie de l'équation de van Deemter permet de relier les effets de la diffusion par les chemins multiples, la diffusion longitudinale et de la résistance au transfert de masse à la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT ou H) ou à l'élargissement des pics, σ^2 , selon l'équation 6. À partir de cette équation, on remarque que le débit, μ_x , a uniquement une influence sur les paramètres B, C_M et C_S qui correspondent à la dispersion longitudinale et à la résistance au transfert de masse dans les deux différentes phases.⁴²⁻⁴³

$$H = \frac{\sigma^2}{L} = A + \frac{B}{\mu_x} + (C_M + C_S)\mu_x \quad [6]$$

Selon l'exemple d'une courbe de van Deemter illustrée ci-dessous, on peut obtenir le débit de phase mobile qui donne la plus petite hauteur de plateau théorique possible. En faisant cela, l'élargissement des pics chromatographiques observé est à sa plus petite valeur, puisque la relation entre H et le carré de la variance est directement proportionnelle d'après l'équation 6 ce qui améliorera la séparation chromatographique des différents composés d'un échantillon à analyser.^{39, 43}

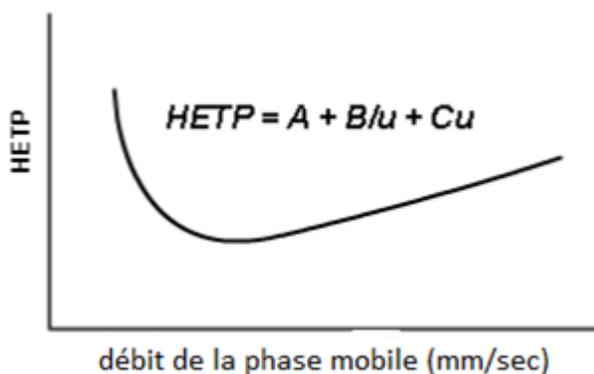


Figure 9. Représentation théorique de l'équation de van Deemter.

Si la composition de la phase mobile par un gradient d'élution, un changement des solvants ou une modification du débit de la phase mobile ne permettent pas d'avoir une séparation optimale des composés d'intérêts, il est possible de changer la phase stationnaire de la colonne. Actuellement, plusieurs différentes phases stationnaires ont été conçues afin de répondre à la demande industrielle de séparer différents types d'analytes.⁴⁴ Pour ce faire, plusieurs types de chromatographie ont été répertoriés et classés selon l'affinité des analytes avec la phase stationnaire de la colonne. Parmi les nombreux types de chromatographie en phase liquide qui existent, ce mémoire portera plus particulièrement sur la HPLC par interactions hydrophiles (HILIC) qui est le type de chromatographie qui a été choisi pour séparer les produits de dégradation aminés d'intérêts et le solvant de capture régénérable.

1.3.2 Chromatographie d'interactions hydrophiles (HILIC)

La chromatographie liquide par interactions hydrophiles (HILIC) est un type de chromatographie qui est particulièrement récent comparativement aux autres types de chromatographies liquides plus conventionnelles telles que la HPLC en phase normale (NPC), en phase inverse (RPC) et par échange d'ions (IC). Le concept de la HILIC a été introduit pour la première fois en 1990 par Andrew Alpert.⁴⁵⁻⁴⁶ Depuis, l'intérêt des scientifiques pour l'utilisation de ce type de séparation et le nombre d'applications de cette dernière ne cessent d'augmenter.⁴⁷ La HILIC s'applique principalement à la séparation de composés polaires qui

ne peuvent pas être retenus sur une colonne à phase inverse ou qui ne peuvent pas être suffisamment résolus en NPC.^{45, 47-48} Pour obtenir ce type de phase stationnaire, les particules de silice contenues dans la colonne doivent être en partie greffées avec des groupements fonctionnels polaires, comme par exemple des groupements cyano ou des groupements amides.⁴⁶⁻⁴⁹ De par la nature des groupements fonctionnels qui sont greffés sur les particules de silice, les phases stationnaire en HILIC peuvent être neutres, cationiques et zwitterioniques.⁵⁰ Un exemple de trois phases stationnaires neutres est montré à la figure 13. Comme tous les groupements silanols contenus sur les particules de silice ne peuvent pas être fonctionnalisés lors du greffage, il est nécessaire de tenir compte du potentiel de contribution des silanols libres dans le processus d'optimisation des paramètres chromatographiques afin d'avoir la meilleure séparation.

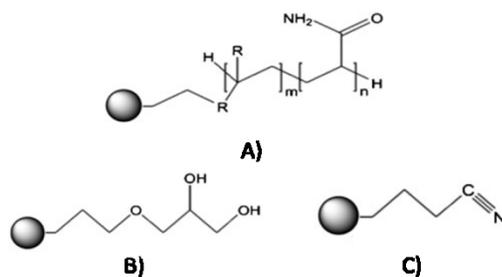


Figure 10. Exemple de phase stationnaire en chromatographie HILIC A) Amide B) Diols C) Cyano (adaptée de la référence 47).

Le mécanisme de rétention des analytes en chromatographie HILIC sur la phase stationnaire n'est pas totalement connu, mais la théorie propose que la rétention des composés soit une combinaison de la distribution des analytes entre la phase mobile contenant une grande quantité de solvant organique et la phase stationnaire, et les interactions moléculaires qui sont en jeu entre cette phase stationnaire polaire et les composés à analyser.^{45, 49, 51}

Cette distribution des analytes se produit en premier lieu entre les différentes composantes de la phase mobile, soit la phase organique, qui est majoritairement constituée d'acétonitrile (ACN) et d'un faible pourcentage de phase aqueuse qui est en partie adsorbée

et immobilisée en une fine couche sur la phase stationnaire hydrophile.^{48, 52} En effet, le fait que la phase stationnaire soit hydrophile mène à ce que l'eau qui est présente dans la phase mobile s'adsorbe sous forme de couches, majoritairement sur les groupements polaires de la colonne, de même que sur les groupements silanols qui sont encore accessibles sur la phase stationnaire.⁵² L'épaisseur de la couche d'eau adsorbée dépend du pourcentage d'eau présent à proximité de la phase stationnaire. Lorsque le pourcentage de solvant organique est généralement entre 30 et 70%, cette couche d'eau sur la phase stationnaire est suffisamment épaisse pour que les analytes s'y distribuent.^{45, 52} Cette pseudo extraction liquide-liquide des analytes entre les solvants constituant la phase mobile donnera l'opportunité aux différents composés d'interagir avec la phase stationnaire de la colonne.^{45, 48, 53} Ainsi, plus les analytes possèdent un caractère polaire, soit une constante d'hydrophobicité négative, plus ils pourront facilement se distribuer de la phase mobile vers les couches d'eau adsorbées sur la phase stationnaire. La seconde partie du mécanisme de rétention qui est proposé implique les interactions moléculaires qui sont en jeu entre les analytes polaires et la phase stationnaire.

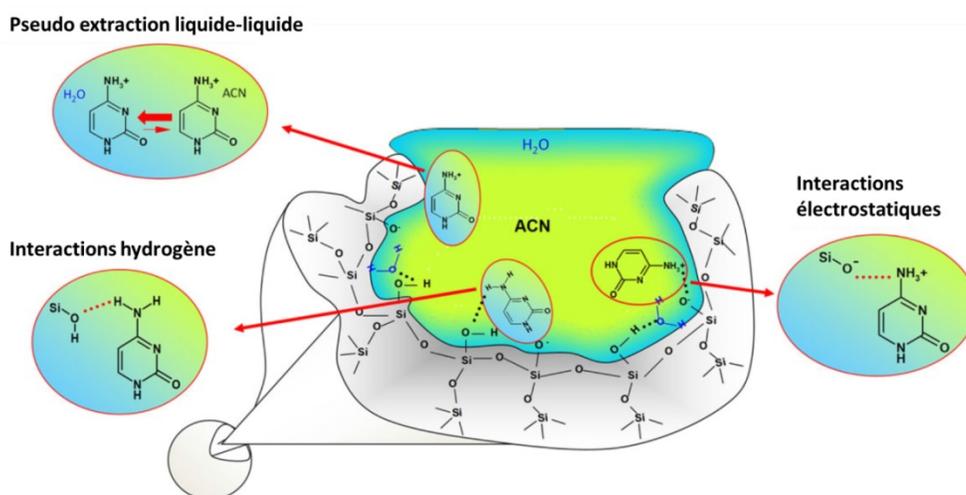


Figure 11. Schématisation de la distribution d'un analyte modèle entre la phase mobile et la phase stationnaire en HILIC et des interactions moléculaires qui sont en jeu.⁵⁴

Les groupements qui sont greffés sur les particules de silice étant polaires, la théorie proposant le mécanisme de rétention des analytes polaires en chromatographie HILIC indique que les interactions qui sont en jeu sont principalement les interactions électrostatiques, les interactions hydrogènes et les interactions hydrophobes.⁴⁹ Une fois que les composés se trouvent à proximité de la phase stationnaire, les premières interactions moléculaires qui se produisent sont les interactions de type électrostatiques. Les interactions électrostatiques correspondent aux interactions entre les cations ou les anions des groupements fonctionnels des analytes et la phase stationnaire.^{45, 47} Les groupements anioniques ou cationiques de la phase stationnaire sont soit des groupements silanols non fonctionnalisés, soit des groupements greffés qui sont ionisés au pH de la phase mobile. Le pH, la nature et la concentration du tampon en solution ont une influence majeure sur les interactions électrostatiques. Les secondes interactions moléculaires sont les interactions de type pont d'hydrogène. Ces interactions se produisent entre un groupement protique de l'analyte, par exemple, et un groupement aprotique de la phase stationnaire.⁵² La force de ces interactions hydrogènes varie selon la composition de la phase mobile par la présence de solvant organique protique ou aprotique, comme par exemple du méthanol ou de l'acétonitrile.⁴⁷ Selon la nature et le positionnement de ces groupements spécifiques sur les amines et les nitrosamines étudiées, les interactions hydrogènes et les interactions électrostatiques peuvent varier. Les dernières interactions qui existent en HILIC sont les interactions hydrophobes. Celles-ci se produisent entre les groupements fonctionnels ou les sections dans la structure d'une molécule qui sont apolaires et ceux de la phase stationnaire.⁴⁹ Ces interactions varient selon la nature de la phase stationnaire et des analytes ainsi que de la composition en acétonitrile de la phase mobile. Elles sont toutefois moins importantes que les deux autres interactions moléculaires précédentes. Pour rompre ces dites interactions en chromatographie HILIC, le solvant qui a la plus grande force éluotrope est l'eau.^{47, 51} Ainsi, en augmentant le pourcentage d'eau dans la phase mobile, les analytes auront une préférence pour se distribuer dans l'eau contenue dans la phase mobile que dans l'eau qui est à proximité de la phase stationnaire, ce qui mènera à des temps de rétention plus courts.

Outre que la spécificité des groupements fonctionnels des phases stationnaires, d'autres paramètres chromatographiques tels que la composition de la phase mobile, le type de solvant, la nature et la concentration du tampon utilisé ont une influence sur la rétention des analytes. À partir de la théorie du mécanisme de rétention en chromatographie HILIC qui indique qu'il y a des interactions électrostatiques entre les composés et la phase stationnaire, l'ajout d'un sel (tampon) en solution aura une influence sur la distribution et la rétention des composés sur la colonne de par la nature et la concentration de celui-ci. En effet, il est possible que la présence de sel en solution puisse augmenter la polarité de la couche d'eau stagnante à proximité de la phase stationnaire, ce qui améliorerait l'extraction des analytes de la phase organique vers la phase aqueuse.⁴⁷ Les ions de ces sels peuvent réduire ou augmenter les interactions électrostatiques entre les molécules d'intérêts et la phase stationnaire. À une faible concentration de tampon, les analytes seront retenus sur la phase stationnaire de la colonne par les interactions électrostatiques d'attraction.⁴⁷⁻⁴⁸ Les ions du tampon vont diminuer les forces de répulsions des analytes avec les groupements silanols des particules de silice, ce qui augmentera le temps de rétention des composés. L'ajout d'un sel augmente également la possibilité de former des interactions de type hydrogènes entre les analytes et la phase stationnaire neutre.⁴⁷ Cependant, à une haute concentration, la présence des ions et contre-ions du tampon en solution peuvent interférer dans le passage des analytes lors de la distribution de ceux-ci dans la phase organique et à proximité de la phase stationnaire.⁴⁷ Les interactions électrostatiques ne seront plus des interactions d'attractions, mais plutôt des interactions de répulsion, ce qui mène à une diminution de la rétention des analytes sur la colonne.⁵¹ Ainsi, il faut s'assurer que la force ionique du tampon en solution, dont les deux les plus couramment utilisés sont les tampons de formate d'ammonium et d'acétate d'ammonium, soit suffisante pour obtenir la meilleure résolution de chaque composé à séparer.⁵⁰

De manière générale, l'ajout d'un tampon dans la phase mobile aide à contrôler le pH de la phase mobile. À un certain pH, les amines et les nitrosamines peuvent être ionisés, ce qui aura un impact sur les interactions qu'ils auront avec la colonne. Le pH a donc une influence sur la rétention des composés sur la phase stationnaire, selon si celui-ci se trouve

au-dessus ou en-dessous du pKa.¹⁷ Le contrôle du pH de la phase mobile est important pour éviter d'ioniser les groupements silanols qui n'ont pas été fonctionnalisés. S'ils sont ionisés, les groupements silanols modifieront le mécanisme de rétention de la phase stationnaire. On s'assure donc de limiter cette ionisation en ajoutant une faible concentration d'acide formique dans la phase mobile. Un autre phénomène qui peut se produire est l'ionisation des groupements fonctionnels de la colonne chromatographique. Cela aura pour effet de changer la polarité de la phase stationnaire et donc, changer les interactions qui se produisent avec les analytes.⁴⁷

Un des avantages de la chromatographie HILIC est que cette technique de séparation repose sur l'utilisation d'une grande quantité d'acétonitrile dans la phase mobile, ce qui aide pour la compatibilité avec la spectrométrie de masse ce qui n'est pas le cas de la chromatographie en phase normale qui utilise des solvants toxiques et corrosifs pour le système chromatographique comme l'acétate d'éthyle ou le tétrahydrofurane.^{47, 51} Selon l'ordre croissant de la force éluotrope de différents solvants en chromatographie HILIC, il est possible de modifier la composition de la phase mobile afin d'obtenir une meilleure sélectivité et une meilleure résolution en ajoutant un solvant moins polaire dans celle-ci. En effet, l'ajout de ce type de solvant organique qui a une moins grande force éluotrope que l'eau aide les analytes à mieux se distribuer vers la couche d'eau adsorbée sur la phase stationnaire, ce qui en conséquence aidera les analytes à être mieux retenus sur cette dernière.^{47, 49} En ajoutant un alcool tel que le méthanol et/ou l'éthanol, qui sont des solvants protiques moins polaires que l'eau, ces derniers peuvent modifier l'épaisseur de la couche d'eau adsorbée sur la phase stationnaire et avoir une influence sur les interactions hydrogènes.⁴⁷ Cette influence peut avoir un impact positif ou négatif sur la séparation chromatographique.⁵⁰

Tableau I. Ordre croissant de force éluotrope des solvants en chromatographie HILIC^{45, 47}

acétone	isopropanol	propanol	acétonitrile	éthanol	dioxane	DMF	méthanol	eau
---------	-------------	----------	--------------	---------	---------	-----	----------	-----

En LC, la température de la colonne a une influence sur la séparation des composés principalement parce qu'un changement de la température modifie la viscosité de la phase mobile, la diffusion et l'enthalpie des analytes.^{48, 55} En RPC, une augmentation de la température va diminuer la viscosité de la phase mobile et augmenter l'enthalpie des composés. Cela va donc causer une augmentation du coefficient de diffusion des analytes et une diminution du temps de rétention de ceux-ci.⁵⁰

Un avantage de la HILIC sur les autres méthodes séparatives est qu'elle offre une plus grande variété de groupements fonctionnels qui peuvent être greffés aux particules de silice contenues dans la colonne.⁴⁹ Enfin, certains composés polaires sont mieux séparés en chromatographie HILIC qu'en chromatographie en phase normale puisque la théorie qui propose le mécanisme de rétention des analytes en HILIC se fait sous plusieurs étapes ce qui aide à la rétention et à obtenir une meilleure séparation de ces composés.⁴⁵ De plus, les solvants utilisés en HILIC sont beaucoup moins dommageables pour l'environnement que ceux utilisés en NPC. Un des désavantages est qu'il faut un temps d'équilibration plus long, ce qui augmente la durée de l'analyse. Ce temps de rééquilibration est nécessaire afin que la couche d'eau à proximité de la phase stationnaire soit homogène et uniforme dans la colonne afin d'obtenir une séparation reproductible à chaque analyse.⁵⁵ Comparativement aux autres types de chromatographie couramment utilisés, le temps d'équilibration en chromatographie HILIC est plus long. Ce paramètre doit donc être pris en compte lors du développement d'une méthode d'analyse.

1.4 Spectrométrie de masse (MS)

Parmi les détecteurs qui peuvent être couplés avec la HPLC, la spectrométrie de masse est celui qui a été choisi pour ce projet de recherche. Les études précédentes pour l'analyse des produits de dégradation des solvants de capture aminés régénérables ont utilisé la MS comme méthode d'analyse pour les raisons suivantes. Tout d'abord, les amines et les nitrosamines ne possèdent pas de chromophores pouvant être analysés par absorbance moléculaire dans le visible ou l'UV-visible, ce qui nous empêche d'utiliser une méthode spectroscopique pour détecter ces composés. Malgré le fait que les nitrosamines ont un

groupement nitroso qui est un chromophore, l'absorptivité molaire de celui-ci n'est pas suffisamment élevée pour réaliser des analyses spectroscopiques sur ces composés. Les produits de dégradations étant présents à une faible concentration dans les échantillons fournis par notre partenaire industriel, il faut s'assurer que la limite de détection et de quantification de l'instrument d'analyse soit suffisamment basse pour analyser ces niveaux de concentration des analytes, ce qui est le cas des spectromètres de masse comparativement aux méthodes spectroscopiques en UV et UV-visible. Enfin, un de mes objectifs de recherche est d'identifier de nouveaux produits de dégradations. Pour ce faire, la MS est essentielle, car elle permet d'identifier et de déterminer la présence de molécules inconnues en plus de quantifier les composés connus de même que de donner des informations sur la structure de ceux-ci. Ainsi, il est possible de développer à la fois la méthode d'analyse chromatographique et d'identifier des nouveaux composés inconnus qui sont présents dans les échantillons. La MS pouvant être couplée à la HPLC, il devient donc évident que l'utilisation de cette technique d'analyse est la plus pertinente pour accomplir ces objectifs.

1.4.1 Théorie de la spectrométrie de masse

Le principe de base de la spectrométrie de masse repose sur la séparation d'ions en phase gazeuse selon leur rapport masse sur charge (m/z). Depuis l'invention du premier spectromètre de masse en 1897 par Joseph John Thompson, la spectrométrie de masse est utilisée dans divers domaines scientifiques allant de la chimie à la médecine.⁵⁶ Cette séparation des ions des composés, qui sont formés par diverses méthodes d'ionisation, ici par électronébulisation, permet de les identifier qualitativement en fonction de leur structure chimique.⁵⁶ Lors de l'arrivée des molécules dans l'espace source du spectromètre de masse, celles-ci sont sous la forme de gouttelettes chargées électriquement. L'application d'un potentiel élevée permettra la désolvatation des gouttelettes et la formation des ions en phase gazeuse afin d'être détectés. Le spectre de masse qui est généré reflète l'intensité relative de chaque ion présent dans l'échantillon en fonction du rapport de masse sur la charge.⁵⁷

Un des avantages d'utiliser la spectrométrie de masse comme technique d'analyse est qu'elle permet l'identification structurale des différents composés contenus dans un échantillon.⁵⁸ Pour les ions de faible poids moléculaires comme ceux à l'étude dans ce mémoire, ce spectre de masse est composé d'un pic mono-isotopique et d'une distribution isotopique de l'ion.⁵⁷⁻⁵⁸ Selon le type d'analyseur utilisé, nous pouvons obtenir des informations supplémentaires sur la structure des ions inconnus en les fragmentant dans une cellule de collision et en analysant les fragments obtenus. Ainsi, la spécificité et la sensibilité de cette méthode d'analyse permet d'avoir des quantifications plus précises, de même que des limites de détection et de quantification qui sont plus basses.⁵⁷

Un spectromètre de masse est composé de quatre parties, soit d'un système d'introduction de l'échantillon, d'une source d'ionisation, d'un analyseur et d'un détecteur. Une fois que les analytes ont été introduits dans le spectromètre de masse, dans notre projet les amines et les nitrosamines, ils doivent être ionisés à l'aide d'une source d'ionisation douce afin de ne pas les fragmenter.⁵⁹ Pour ce faire, l'ionisation par nébulisation électrostatique en mode positif a été choisie. Le mode positif a été préféré au mode négatif puisque les molécules d'intérêts possèdent des groupements fonctionnels qui peuvent être protonés. De plus, cette méthode d'ionisation douce est compatible avec les échantillons en phases aqueuses, ce qui est le cas pour ce projet.⁶⁰ Les ions se dirigeront ensuite vers l'analyseur. Celui-ci pourra séparer les différents ions présents dans l'échantillon selon leur rapport masse sur charge à partir d'un mode d'acquisition préalablement déterminé. Par la suite, tous les ions de chaque analyte se rendront jusqu'au détecteur où le signal électrique obtenu sera converti en une mesure quantitative. Enfin, un ordinateur est utilisé afin de réaliser le traitement des données des analyses à l'aide de différents logiciels.

1.4.2 Analyseur triple-quadripôle (QQQ)

Les premières analyses des composés de dégradation d'intérêts ont été réalisées sur un analyseur triple-quadripôle. Un quadripôle est constitué de quatre électrodes parallèles de forme cylindrique ou hyperbolique dont les électrodes opposées possèdent le même potentiel. Une des deux paires à un voltage positif et l'autre, un voltage négatif. En

appliquant une combinaison d'une tension alternative et d'une tension continue qui résultera d'un potentiel qui sera appliqué entre chaque paire d'électrodes, on crée un champ électrique quadripolaire. La variation du ratio entre les deux voltages va permettre de sélectionner un ou plusieurs ions traversant le quadripôle. Ces ions auront alors une trajectoire stable à travers l'analyseur ce qui va leur permettre de se rendre au détecteur.⁶¹ Les autres ions auront des trajectoires instables qui les dirigeront vers les électrodes, ce qui les empêchera de se rendre au détecteur.⁶¹⁻⁶² L'analyseur triple-quadripôle permet de faire des acquisitions en spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), qui sont plus sélectives et plus sensibles que le mode balayage complet (Full Scan). Cette dernière méthode d'acquisition sera décrite dans la section portant sur l'analyseur par temps de vol.⁶² La spectrométrie de masse en tandem permet de sélectionner un ion d'intérêt, de le fragmenter et d'analyser les fragments obtenus afin d'avoir plus d'informations sur la structure moléculaire et les différents groupements fonctionnels qui compose l'ion. Parmi les modes d'acquisition en MS/MS qui existent, le mode suivi des réactions multiples (MRM, *Multiple Reaction Monitoring*) sera expliqué. Durant ce mode d'acquisition, le premier quadripôle sélectionne les ions précurseurs correspondant à chaque analyte d'intérêt. Le second quadripôle sert de cellule de collision pour fragmenter les ions sélectionnés à l'aide de l'ajout d'un gaz inerte à haute pression. Le dernier quadripôle sélectionne spécifiquement un fragment de chaque analyte d'intérêt. Pour chaque composé, le fait de choisir l'ion précurseur et l'ion fragment offre une plus grande sélectivité de ce mode d'acquisition comparativement au mode d'analyse par balayage complet en plus de réduire l'effet de la matrice.^{57, 62} Ce type d'analyse offre également une meilleure limite de détection, car le temps passé par l'appareil sur les ions spécifiques aux analytes d'intérêts est plus élevé.⁶¹ Par manque de disponibilité sur cet instrument, l'optimisation des paramètres des séparations chromatographiques et du gradient d'élution ont été réalisées sur un système HPLC couplé avec un analyseur par temps de vol.

1.4.3 Analyseur par temps de vol (TOF)

Dans l'analyseur d'un spectromètre de masse par temps de vol, les ions sont séparés selon leurs temps de vol entre la zone d'accélération et le détecteur.⁶³⁻⁶⁴ Lorsque les ions quittent la zone d'accélération, ils ont tous la même énergie cinétique, E . Selon l'équation de la vitesse cinétique (équation 7), nous pouvons relier la masse, m avec le temps de vol de l'ion.⁶¹ Ainsi pour des ions de même charge, les ions ayant une petite masse se rendront plus rapidement au détecteur que les ions qui ont une plus grande masse.⁶⁴ Cette vitesse cinétique plus grande correspondra à un temps de vol plus court. Chaque ion d'un même composé ayant un rapport masse sur charge qui lui correspond, cela va lui conférer aussi un temps de vol jusqu'au détecteur qui leur est propre et distinguer chacun d'entre eux.

$$zE = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{1}{2}\left(\frac{m}{z}\right)v^2 \quad [7]$$

Pour ces travaux de recherche, l'analyseur de temps de vol qui a été utilisé possède un réflectron. Un réflectron permet d'améliorer la résolution spectrale observée et diminuer l'élargissement du pic obtenu.^{61, 65} Une des causes de cet élargissement est que la distribution de l'énergie lors du passage des ions dans la zone d'accélération n'est pas uniforme, ce qui résulte que les ions ont une légère variation dans leur énergie cinétique lors de leur entrée dans la zone de vol. Un réflectron est composé d'une série d'électrodes placée entre l'extrémité de la zone de temps de vol et le détecteur. Ces électrodes sont mises en deux séries telles qu'illustré dans la figure ci-dessous afin de créer un champ électrique à un potentiel linéaire croissant. Ce potentiel croissant et uniforme permettra de ralentir progressivement le faisceau d'ions, puis le ré-accélérer dans le sens inverse jusqu'au détecteur. Cette focalisation dû au potentiel appliqué aux électrodes permet de regrouper tous les ions du même rapport masse sur charge au détecteur en même temps, et ce, malgré qu'ils n'aient pas tous eu la même énergie cinétique initiale, améliorant ainsi la résolution spectrale observée.^{61, 65} L'analyseur par temps de vol permet de faire une acquisition de type balayage complet (Full Scan) ce qui correspond à une analyse non ciblée.

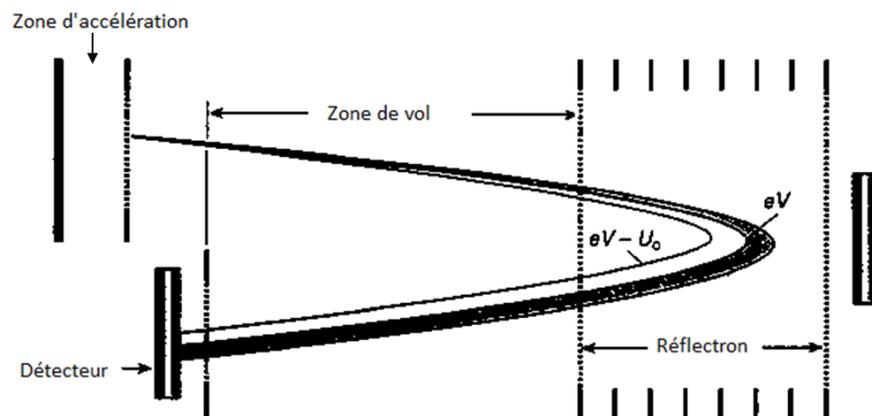


Figure 12. Schématisation d'un analyseur par temps de vol avec un réflectron⁶⁶.

En mode balayage complet, l'analyseur permet de réaliser des analyses qualitatives de tous les composés qui sont présents dans l'échantillon analysé. En ayant aucune restriction sur le rapport masse sur charge des ions qui peuvent être analysés, l'acquisition en mode balayage complet offre l'opportunité d'identifier une plus grande gamme de composés ce qui est un avantage de l'utilisation de cet analyseur comparativement au triple-quadrupôle.⁶¹ Les analyseurs par temps de vol, et encore plus en mode réflectron, permettent à l'expérimentateur de faire des analyses à une plus haute résolution spectrale que les mêmes analyses réalisées sur un analyseur triple-quadrupolaire.⁶¹

En mode balayage complet, l'instrument doit faire l'acquisition d'une plus grande masse d'ion pour la même durée, ce qui réduit le temps d'acquisition pour un seul ion comparativement à l'analyse en mode balayage sélectif et donc la sensibilité de cette méthode d'analyse lors de la séparation d'un échantillon contenant tous les composés d'intérêts.⁶⁵

Lors de l'acquisition en mode balayage complet, le chromatogramme obtenu représente l'intensité de la somme de tous les ions qui se rendent au détecteur en fonction du temps de l'analyse. Lors de l'interprétation des résultats des analyses, il est possible d'extraire spécifiquement le chromatogramme (EIC, *Extracted Ion Chromatogram*) pour

chaque ion ou pour chaque transition représentant chaque analyte, si le rapport masse sur charge ou la transition est connue. En superposant chaque chromatogramme, il est possible de voir plus adéquatement la séparation de tous les composés d'intérêts durant l'analyse que le chromatogramme représentant la somme de tous les ions qui se sont rendus au détecteur durant l'analyse (TIC, *Total Ion Chromatogram*). En mode MRM, on obtient un profil ionique pour chaque ion fragment issu d'un ou plusieurs ions précurseurs sélectionnés.

1.5 Méthodologie du projet

Pour ce projet de maîtrise, notre partenaire industriel nous a fourni des échantillons caractéristiques qui ont subi deux processus de capture du CO₂, de même que le standard de la molécule de capture aminé régénérable et différents produits de dégradation connus. À partir des échantillons ayant subis le processus de capture/régénération qui ont été fournis, nous avons fait un mélange de ces derniers afin que la méthode d'analyse puisse séparer l'ensemble des composés de dégradation provenant de ces types d'échantillons. Pour parvenir à la méthode d'analyse par chromatographie HILIC optimale, la meilleure phase stationnaire et les additifs de la phase mobile ont été déterminés en premier lieu. Par la suite, les paramètres de la séparation chromatographique ont été optimisés de sorte que la méthode HILIC qui a été développée permet d'identifier et de quantifier à la fois la molécule de capture et les différents produits de dégradations qui sont présents dans un mélange standard à une concentration connue et dans l'échantillon représentatif des deux processus de capture, dont la concentration des différents composés est inconnue. De plus, il a été possible d'identifier de nouveaux composés de dégradation dans les échantillons qui ont subis un processus de capture/régénération.

1.5.1 Optimisation du gradient d'élution selon un plan d'expériences

Le plan d'expériences ou le *Design of experiments* (DoE) en anglais, est un outil couramment utilisé en ingénierie afin d'optimiser les procédés déjà existant comme un procédé de fabrication d'un produit industriel.⁶⁷⁻⁶⁸ Cette conception d'expériences permet, par une méthode d'obtention systématique, d'organiser une série d'essais d'une méthode à

optimiser. En connaissant certains paramètres qui influencent la réponse mesurée, cette conception permet de déterminer le nombre d'essais minimaux à réaliser pour corréler l'influence de ces différents paramètres. Ainsi, l'utilisation du DoE permet d'obtenir les conditions les plus optimales qui donneront la meilleure réponse.⁶⁷ Parmi les différents méthodes d'analyse qui existent, la méthode qui a été préconisée est la méthode cubique à face centrée.⁶⁹⁻⁷⁰ Cette conception d'expériences se fait en suivant les règles suivantes.⁷¹

Tout d'abord, il faut déterminer le but de cette planification d'expériences afin de choisir la réponse que l'on veut mesurer. En HPLC, cette réponse peut être le temps de rétention, la résolution ou le nombre de plateaux théoriques, par exemple. Ensuite, il faut déterminer le nombre de facteurs qui ont une influence sur la réponse, ainsi que des niveaux pour chacun d'entre eux. Ces incréments doivent être suffisamment espacés afin d'avoir une meilleure représentation de l'influence des différents facteurs sur la réponse, de même que l'influence de ces derniers entre eux.⁷¹ Si les incréments ne sont pas suffisamment espacés, la variation de la réponse mesurée ne sera pas assez significative pour déterminer une tendance significative. Par contre, si cet incrément est trop grand, les réponses mesurées ne pourront pas donner une corrélation représentative. Pour la méthode cubique à face centrée, il faut trois facteurs et trois niveaux pour chaque facteur. Ainsi, la matrice expérimentale avec chacun des facteurs et leurs niveaux respectifs peuvent être représentés par la figure suivante.

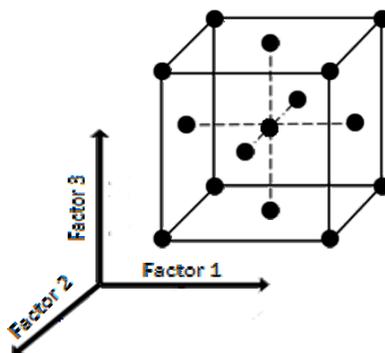


Figure 13. Représentation du DoE cubique à face centrée.

Construire la matrice contenant les expériences à faire est simple. Selon le nombre de facteurs, dans ce cas-ci trois, les premières 2^k expériences se font selon un DoE factorielles et chaque facteur à deux niveaux d'incrément, soit les deux extrémités. Ensuite, les $2*k$ expériences suivantes sont créées en gardant toutes les variables sauf une seule à son incrément central. Celle varie entre les deux extrémités des incréments. Enfin la dernière expérience est celle où tous les facteurs sont à l'incrément du centre. Pour la méthode cubique à face centrée, ces 15 expériences statistiquement significatives correspondent aux coins, au centre des faces et au centre du cube et elles sont représentées dans le tableau suivant pour le cas générique d'un système. Afin de s'assurer de la reproductibilité et de la répétabilité des réponses mesurées, la dernière expérience (le point au centre du cube) est réalisée de deux à cinq fois. De plus, les expériences se font aléatoirement afin d'éviter un parti pris de la part de l'expérimentateur. Cela donne également une meilleure répétabilité lors des différentes analyses, en plus de laisser la même probabilité à chaque expérience de se dérouler dans l'ordre aléatoire. En chromatographie liquide, faire les analyses aléatoirement permet d'éviter également qu'il y ait une « mémoire » d'analyse qui se forme sur la colonne ce qui créerait des résultats qui ne sont pas reproductibles.

Tableau II. Matrice expérimentale pour DoE cubique à face centrée montrant les trois niveaux des trois facteurs

Expérience	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	-1	0	0
10	1	0	0
11	0	-1	0
12	0	1	0
13	0	0	-1
14	0	0	1
15	0	0	0

Après avoir mesuré la réponse pour chacune des expériences, il est possible de calculer le facteur de réponse sous la forme d'une constante pour chacune d'entre elles. En mettant toutes ces constantes dans une équation quadratique, il sera possible de voir l'amplitude de chaque facteur et des combinaisons de chaque facteur sur la réponse mesurée. En établissant un seuil minimal pour la réponse mesurée, il sera possible de déterminer la combinaison des facteurs ou les paramètres expérimentaux qui donnent la meilleure réponse et donc avoir une méthode d'analyse optimisée.

Cette méthode cubique à face centrée permet donc d'étudier systématiquement toutes les combinaisons statistiquement significatives d'un système qui influencent la

réponse mesurée, mais également les interactions entre les différents facteurs ce qui est un avantage de cette méthode comparativement à une méthode qui fait varier uniquement une variable à la fois. Un autre avantage est qu'il faut un nombre d'expériences significativement moins important pour avoir une bonne représentation de l'influence des différents facteurs sur la réponse. Pour le plan d'expériences cubique à face centrée, quinze expériences sont suffisantes plutôt que 27 pour obtenir cette représentation significative de la réponse mesurée en fonction des différents facteurs. Ainsi, cette planification d'expériences permet d'avoir une méthode d'analyse plus rapide avec une plus grande fiabilité tout en n'utilisant pas une grande quantité de solvant.⁶⁷ Les différents paramètres s'appliquant à ce projet de maîtrise seront détaillés dans le chapitre 4. La réponse mesurée est la résolution que quatre paires de pics, les trois facteurs sont les paramètres du gradient qui varient dans trois niveaux.

1.6 Objectifs de ce mémoire

Les travaux présentés dans ce mémoire se regroupent en trois objectifs soit l'optimisation d'une méthode chromatographique HILIC pour la séparation des produits de dégradation connus et la molécule de capture. Pour ce faire, les paramètres de séparations chromatographiques (force ionique de la phase mobile, débit de la phase mobile, gradient d'élution) seront optimisés sur la phase stationnaire qui offre la meilleure séparation d'un mélange à une concentration établie des produits d'intérêts. À l'aide de cette méthode optimisée, il sera possible d'identifier et de quantifier de nouveaux produits de dégradation présents dans les échantillons ayant subi le processus de capture/régénération. L'identification et la quantification se fera grâce à la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) pour obtenir leurs masses exactes et leurs spectres de fragmentation. Les structures et les formules moléculaires des nouveaux composés seront confirmées en les comparant avec des standards commerciaux ou synthétisés.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

2.1 Produits chimiques utilisés

Les standards de tous les composés déjà connus ont été fournis par notre partenaire industriel et proviennent soit de *Sigma-Aldrich* (St-Louis, MO, USA) soit de *Matrix Research* (South Charleston, WV, USA). Les différents composés étudiés sont les suivants : MEA, Piperazine, Oxazolidinone, Morpholine, Heed, Nitrosopiperazine, MDEA, Dinitrosopiperazine, Bis-Heed, Mol 1, Deg 1, Deg 2, Deg 3, Deg 4, Deg 5, Deg 6 et Deg 7. Les étalons internes qui ont été utilisés soit l'imidazole et l'adénosine proviennent également de *Sigma-Aldrich*. Lors de l'étude, pour trouver un nouvel étalon interne, le laboratoire de la Professeure Joelle Pelletier (Université de Montréal) nous a fourni la thymine, qui proviennent de *Sigma-Aldrich*, de même que la L-histidine monohydrochloré qui provient de *BioShop* (Burlington, ON, CAN). L'hydroxyde d'ammonium, qui provient de *Sigma-Aldrich*, a été utilisé afin d'aider à la solubilité de certains de ces composés dans l'eau. Les structures chimiques des composés étudiés et des composés pour l'étude du nouvel étalon interne se trouvent en annexe 1 et 2.

L'eau, l'acétonitrile et le méthanol utilisés pour la préparation des échantillons et des solutions standards provient de *J.T. Backer* (Center Valley, PA, USA) en grade HPLC. L'éthanol proviennent de *Les Alcools de Commerce* (Brampton, ON, CAN). L'acide formique 99% provient d'*Acros organics* (Center Valley, PA, USA) et le formate d'ammonium de *Sigma-Aldrich*.

2.2 Préparation des échantillons

Tous les échantillons contenant le solvant de capture régénérable ont été fournis par notre partenaire industriel. Les deux échantillons qui ont été fournis ont subi un processus de capture différent et portent les noms de DC et DS.

2.2.1 Solutions standards

Les 16 composés standards (produits de dégradation connus), le solvant de capture ainsi que les étalons internes ont été préparés séparément dans une solution mère d'environ

exactement 10 000 ppm dans l'eau. Par la suite, une solution de tous les composés dilués dans l'eau a été réalisée afin d'obtenir une concentration du mélange de standards de 100 ppm. Enfin, des dilutions en séries de la solution de 100 ppm avec de l'acétonitrile ont été réalisées afin d'obtenir les concentrations de travail suivantes : 1,00 ppm et 0,25 ppm.

2.2.2 Échantillons ayant subis le processus de capture/régénération fournis par notre partenaire industriel

Pour chaque échantillon une solution mère a été préparée. Pour ce faire, 100 mg de l'échantillon a été pesé dans un ballon jaugé de 100 mL, puis le tout jaugé avec de l'eau contenant 0,1% d'acide formique. Pour nos essais, un mélange 1 :1 des deux échantillons ayant subi le processus de capture a été faite dans un vial HPLC afin d'avoir un échantillon plus représentatif des deux processus de capture et de la variété de produits de dégradation qui s'y rapportent. Cet échantillon sera nommé le mélange DC et DS. Pour l'injection dans le HPLC, la solution stock du mélange DC et DS échantillon a été diluée d'un facteur de deux avec de l'acétonitrile dans un vial HPLC en ajoutant le volume nécessaire des étalons internes pour donner une concentration de 5 ppm.

2.3 Instrumentation et méthodes

2.3.1 Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Les systèmes HPLC utilisés sont un système *Agilent Technologies 1200 Series* et un système *Agilent Technologies 1260 Infinity* (Santa Clara, CA, USA). Une pompe binaire permet de pomper les différents éluants jusqu'à la colonne qui est chauffée à une température de 30°C. Le débit de la phase mobile, sauf avis contraire, est de 0,5 mL/min. Pour toutes les analyses qui ont été effectuées, le volume d'injection a été de 2,0 µL. Puisque l'objectif principal de ce mémoire est de développer une méthode d'analyse chromatographique, les conditions du gradient d'élution seront spécifiées lors de la présentation des résultats de chaque analyse.

2.3.1.1 Phases stationnaires utilisées

Cinq colonnes ont été investiguées initialement pour séparer le solvant de capture et les différents produits de dégradation dans la solution standard. Trois colonnes provenaient de *Phenomenex* (Madrid, CA, USA) : une colonne greffée de groupements diols, Luna HILIC, 100 x 3,0 mm, avec un diamètre de particules de 3,0 µm; une colonne de silice pure de type «core-shell silica», Kinetex HILIC, 100 x 4,6 mm, avec un diamètre de particules de 2,6 µm; une colonne greffée de groupements cyano, Luna CN, 100 x 4,6 mm, avec un diamètre de particules de 3,0 µm. Les deux autres colonnes proviennent de *Waters Corporation* (Milford, MA, USA) : une colonne greffée de groupements pentafluoro-phényl, PFP, 100 x 3,0 mm, avec un diamètre de particules de 2,5 µm; une colonne greffée de groupements amide, BEH (*Ethylene Bridged Hybrid*) Amide, 100 x 3,0 mm, avec un diamètre de particules de 2,5 µm. Pour l'optimisation des paramètres chromatographiques dans la deuxième phase du projet, une colonne Luna CN, 100 x 3,0 mm, avec un diamètre de particules de 3,0 µm a été utilisée afin d'avoir les mêmes dimensions de colonne que la colonne BEH Amide.

2.3.1.2 Préparation des phases mobiles

Les deux éluants de la phase mobile étaient l'eau (éluant A) et l'acétonitrile (éluant B). La phase aqueuse a été tamponnée avec du formate d'ammonium à 20 mM ou à 10 mM. Celle-ci sera spécifiée lors de la présentation des résultats et de la discussion. À moins d'avis contraire, la phase organique était uniquement constituée d'acétonitrile. Ces deux éluants pouvaient également avoir des additifs comme du méthanol ou de l'éthanol, dans une de celle-ci ou dans les deux éluants. Des détails additionnels, incluant les gradients d'élution sont spécifiés dans le chapitre 3.

2.3.2 Acquisition des données en MRM («*Multiple Reaction Monitoring*»)

Le spectromètre de masse utilisé est un *6410 Triple Quad LC/MS* d'*Agilent Technologies* (Santa Clara, CA, USA) équipé d'un système HPLC *1200 Series* d'*Agilent Technologies* et muni d'un nébuliseur électrostatique maintenu à un voltage de 4000 V. L'analyseur de masse est un triple quadripôle (QQQ) et l'acquisition a été effectuée en mode

MRM en ionisation positive en utilisant les transitions spécifiques à chacun des ions d'intérêts. La température du gaz de désolvatation était de 350 °C, le débit de celui-ci était de 12 L/min et la pression du nébuliseur était de 40 psi. Le voltage de la cellule de collision du second quadripôle variait entre 0 et 30 V selon l'analyte d'intérêt et les valeurs correspondantes à l'annexe 3. Les transitions MRM des analytes d'intérêts se retrouvent aussi dans l'annexe 3. Le traitement des données a été réalisé avec le logiciel *Mass Hunter Qualitative Analysis B.06.00* d'Agilent Technologies.

2.3.3 Acquisition des données en mode masse précise

Le spectromètre de masse utilisé était un système 6224 *TOF LC/MS* équipé d'un système HPLC 1260 *Infinity* d'Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA). L'ionisation des composés a été faite à l'aide d'un nébuliseur électrostatique en mode positif maintenu à un voltage de 3500 V. L'analyseur de masse était un analyseur par temps de vol (TOF) et le mode d'acquisition était en mode balayage complet (*Full Scan*) dans une gamme de masse variant de 50 à 1200 m/z. Les masses précises des différents analytes d'intérêts se trouvent à l'annexe 4. Le traitement des données obtenues a été réalisé avec le même logiciel décrit dans la section 2.3.2.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La première section de ce chapitre porte sur le développement d'une méthode de criblage pour déterminer la meilleure phase stationnaire et l'additif à ajouter dans la phase mobile pour la séparation d'une solution standard de 16 produits de dégradations connus, le solvant de capture régénérable et l'étalon interne. Malgré que nous avons utilisés des critères de performance afin de sélectionner la meilleure phase stationnaire lors de ces premiers essais sur cinq différentes colonnes préalablement choisies, trois colonnes se sont démarquées en terme de performance. Dans la section 3.2, une optimisation des paramètres chromatographiques a été effectuée sur ces trois phases stationnaires. La première optimisation a été la force ionique de l'éluant aqueuse, afin que les deux éluants de la phase mobile soit celles qui permettent la meilleure séparation des composés lors d'une élution isocratique. Une courbe de van Deemter décrivant l'effet du débit de la phase mobile sur l'efficacité de la séparation a été générée pour chaque colonne pour s'assurer que nous travaillons avec le débit optimal et les courbes correspondantes sont représentées au chapitre 3.2.4. Pour les deux meilleures phases stationnaires, soit la BEH Amide et la Luna CN, une optimisation du gradient d'élution a été réalisée grâce à un plan d'expériences comme décrit dans le chapitre 3.3.2. Cette conception a pour objectif de déterminer la meilleure combinaison des facteurs chromatographiques qui donnera la meilleure résolution de quatre paires de pics qui coéluent lors de l'analyse du mélange DC et DS.

3.1 Détermination de la meilleure phase stationnaire et additif à la phase mobile

3.1.1 Choix des colonnes HILIC et des éluants

À partir de recherches précédentes, nous avons choisi cinq phases stationnaires de chromatographie HILIC pour la séparation d'une solution standard de 16 composés de dégradations, la molécule de capture et le standard interne soit la Luna HILIC, la Kinetex HILIC, la PFP, la Luna CN et la BEH Amide. Ces différentes phases stationnaires ont été choisies pour leurs affinités avec les composés aminés et les nitrosamines présents dans les échantillons ayant subi le processus de capture et de régénération. En effet, si l'on regarde

les différentes structures chimiques de ces phases stationnaires à la figure 14, il est possible de voir qu'elles pourront avoir des interactions favorables à la rétention des analytes d'intérêts.

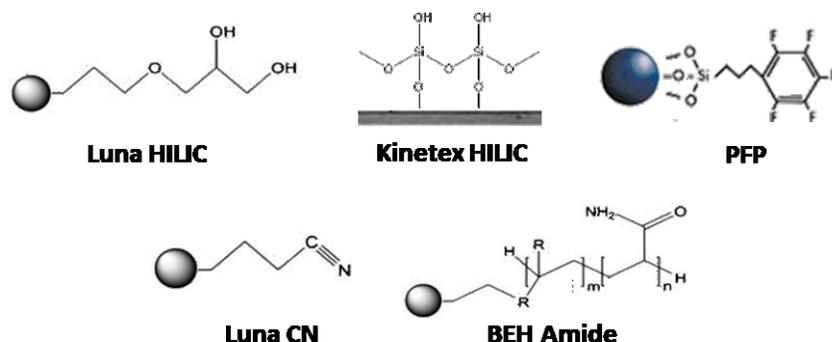


Figure 14. Structure chimique des 5 phases stationnaires testées

Tout d'abord, toutes les phases stationnaires étudiées ci-dessus peuvent former des interactions de type ponts hydrogènes entre les groupements silanols qui n'ont pas été fonctionnalisés et les analytes d'intérêts. Pour la colonne Luna HILIC, qui est une colonne dont les groupements fonctionnels sont des diols, il est possible que les analytes aient des interactions de type ponts hydrogènes, de type dipôle-dipôle et de type dipôle-induit avec les amines et les nitrosamines. Ces types d'interactions sont également en jeu pour les colonnes Luna CN et BEH Amide. La force des interactions hydrophobiques dépendra de la longueur de la chaîne alkyle greffée sur les particules de silices. Pour la colonne Kinetex HILIC, la structure de la phase stationnaire (figure 14) montre que la possibilité d'avoir des interactions hydrophobiques est très faible, et permet principalement des interactions de type ponts hydrogènes. Enfin, la colonne PFP pourra également avoir des interactions de type ponts hydrogènes avec les amines et les nitrosamines. Toutefois, cela dépend uniquement du pH de la phase mobile.

Afin de déterminer la meilleure phase stationnaire, un gradient d'élution général a été utilisé pour les 5 colonnes chromatographiques. Pour ce gradient d'élution (figure 15), la composition en phase mobile aqueuse augmente graduellement, puisqu'il s'agit de l'éluant

qui a la plus grande force éluotropique avec les 5 colonnes HILIC. En augmentant rapidement le pourcentage de l'éluant aqueux, nous allons avoir une bonne vue d'ensemble sur la performance de chaque phase stationnaire pour séparer les 18 composés d'intérêts. Le but ici n'est pas d'obtenir une séparation parfaite de tous les analytes, mais d'avoir une idée sur le processus de séparation de chaque colonne afin de déterminer quelles conditions de phase mobile et de la phase stationnaire offre la meilleure séparation avec ce gradient de criblage. Sur le gradient d'éluion (figure 15), la partie en tirets est la rééquilibration de la colonne. Elle ne fait donc pas partie du gradient de séparation. Ainsi, la composition de l'éluant aqueux (éluant A) est de 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique et l'éluant organique (éluant B) est constitué d'acétonitrile.

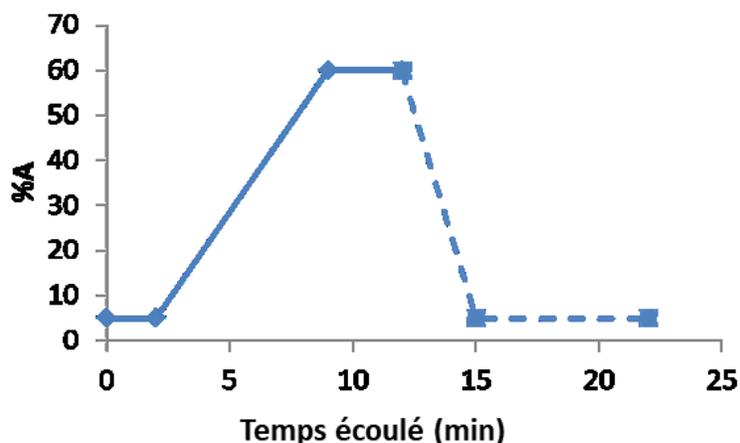


Figure 15. Gradient d'éluion de criblage pour la détermination de la meilleure phase stationnaire où A% est le pourcentage de l'éluant A dans la phase mobile.

À partir du gradient d'éluion de criblage et de la composition des deux éluants de la phase mobile, nous pouvons ajouter des additifs afin de déterminer leurs influences sur la séparation chromatographique. En chromatographie HILIC, l'ajout d'additif comme des alcools dans les phases mobiles peut modifier l'épaisseur de la couche d'eau qui est adsorbée sur la phase stationnaire, et modifier les interactions entre les analytes et les groupements fonctionnels polaires qui sont greffés sur la colonne.⁵³ Pour ce faire, cinq différentes conditions de phases mobiles ont été comparées sur les 5 colonnes montrées à la figure 14,

ce qui donne 25 combinaisons de phase stationnaire et de phase mobile. Ces différentes conditions de phases mobiles sont les suivantes :

1. Aucun additif dans les deux éluants
2. 10% v/v de MeOH uniquement dans l'éluant organique (B)
3. 5% v/v de MeOH dans les deux éluants (A et B)
4. 10% v/v de MeOH dans les deux éluants (A et B)
5. 5% v/v d'EtOH dans les deux éluants (A et B)

Ces différentes conditions de phases mobiles ont été choisies afin de comparer la quantité d'additifs ajoutée (ex. : 5% vs 10%), l'influence de ceux-ci s'il est uniquement dans une des deux phases et le type de solvant ajouté (ex. : MeOH vs EtOH). La concentration d'additifs ne dépasse pas 10%, afin de s'assurer que l'ajout de ceux-ci ne nuit pas à la séparation des composés.

3.1.2 Critères de performance

La comparaison de la séparation chromatographique pour les 25 combinaisons de phases stationnaires et de conditions de phases mobiles pouvant être fastidieuse, nous avons choisis 4 critères de performances afin de comparer ces chromatogrammes. Ces critères sont la fenêtre d'élution, le nombre de pics du chromatogramme superposé des 18 standards, la symétrie moyenne des pics et le nombre moyen de plateaux théoriques (N) des pics. La fenêtre d'élution est le temps écoulé entre le premier et le dernier pic qui élu de la colonne. Les deux premiers critères, qui sont plus qualitatifs, nous indiquent combien de composés ont été séparés durant le gradient d'élution. Le but est d'avoir le plus grand nombre de pics séparés à travers la fenêtre d'élution. Les deux autres critères de performances, soit le nombre de plateaux théoriques (N) et la symétrie des pics, sont plus quantitatifs. N et la symétrie ont été choisis parce qu'il s'agit de critères qui donnent de bonnes indications sur l'efficacité de la colonne pour la séparation de nos composés d'intérêts. Toutes les

expériences ont été faites (Tableau III) avec des colonnes de mêmes géométries afin de comparer leurs efficacités respectives. De plus, toutes les colonnes sont aux mêmes conditions du HPLC, soit la température de la colonne, le débit de la phase mobile, le volume d'injection de l'échantillon et les mêmes conditions du spectromètre de masse triple-quadrupolaire en mode MRM (voir chapitre 2 pour plus de détails). L'échantillon qui a été injecté est une solution standard des 16 composés de dégradations, le solvant de capture et l'étalon interne à une concentration de 1,00 ppm.

Tableau III. Comparaison des caractéristiques des pics obtenus pour les combinaisons de cinq conditions de phases mobiles avec les cinq colonnes chromatographiques étudiées, où A est l'éluant aqueux et B est l'acétonitrile. Les noms des colonnes correspondent aux phases stationnaires de la figure 18.

N	# pics	A et B		10% MeOH dans B		5% MeOH dans A et B		10% MeOH dans A et B		5% EtOH dans A et B	
		Fenêtre élution	Symétrie								
Luna HILIC	-	7	-	8	-	9	--	8	-	9	
	6,7	-	5,8	--	6,2	--	5,9	--	6,4	--	
Kinetex HILIC	++	9	++	11	+++	10	++	12	+++	10	
	9,1	--	9,3	--	9,4	--	9,9	--	10,3	--	
PFP	+	10	+	12	+	13	+	12	+	12	
	11,8	--	8,5	-	8,3	-	8,4	-	8,6	--	
Luna CN	+++	11	+++	11	+++	11	++	12	+++	10	
	10,9	+	9,6	+	9,5	-	10,0	+	9,8	+	
BEH Amide	++	11	+	11	++	10	+	11	++	11	
	8,2	+	7,4	+	8,1	-	7,4	-	7,9	-	

Tableau IV. Équivalences pour les symboles inscrits dans le tableau III

Symbole	Nombre moyen de plateaux théoriques (N)	Symétrie moyenne des pics
+++	> 20 000	1,00 à 1,05
++	Entre 10 000 et 20 000	1,05 à 1,20
+	Entre 5 000 et 10 000	1,20 à 1,60
-	Entre 1 000 et 5 000	1,60 à 2,00
--	< 1 000	> 2,00

Selon le tableau III regroupant les 25 expériences qui ont été réalisées, les cases en jaunes représentent la meilleure condition de phase mobile pour chaque phase stationnaire en accordant une importance particulière au nombre de plateaux théoriques. Ceci est relié à la résolution des pics, un paramètre important lorsque le nombre de composés à séparer est grand. L'ajout d'additif dans les deux phases mobiles aide effectivement à obtenir une bonne séparation en chromatographie HILIC. Il faut également que l'additif soit ajouté dans les deux éluants de la phase mobile afin que la concentration de celui-ci soit constante tout au long du gradient.

En ajoutant du MeOH uniquement dans la phase organique, la concentration d'additif dans la phase mobile diminue durant l'analyse. Cela diminuera l'effet de celui-ci sur le mécanisme de séparation et influencera par le fait même l'élution des composés. Malgré que les résultats obtenus soient satisfaisants lorsque nous ajoutons du MeOH dans l'éluant organique, puisque le nombre de pics et la fenêtre d'élution sont dans les meilleurs résultats, le nombre moyen de plateaux théoriques et la symétrie moyenne des pics n'étaient pas suffisamment bons pour que cette composition de phase mobile soit la meilleure. Le même principe peut s'appliquer pour la condition où il n'y a pas d'additif qui est ajouté à la phase

mobile. Toutefois, la fenêtre d'élution pour toutes les colonnes est la plus longue, ce qui indique que l'ajout d'additif comme un alcool influence le mécanisme de rétention des composés en les faisant éluer plus rapidement et avec une meilleure efficacité.

En regardant le chromatogramme correspondant à 5% d'EtOH dans les deux éluants pour la colonne Luna HILIC (figure 16), la majorité des composés éluent au volume mort de la colonne. Les autres composés qui éluent plus tard ont une trainée ce qui fait qu'ils ne sont pas symétriques et que le nombre moyen de plateaux théorique est bas. Cette traînée des pics qui éluent à la fin du chromatogramme fait que certains pics se chevauchent ou coéluent au même temps de rétention. La fenêtre d'élution étant petite, l'asymétrie des pics montre que cette phase stationnaire ne sépare pas suffisamment les composés qui ont des groupements fonctionnels similaires.

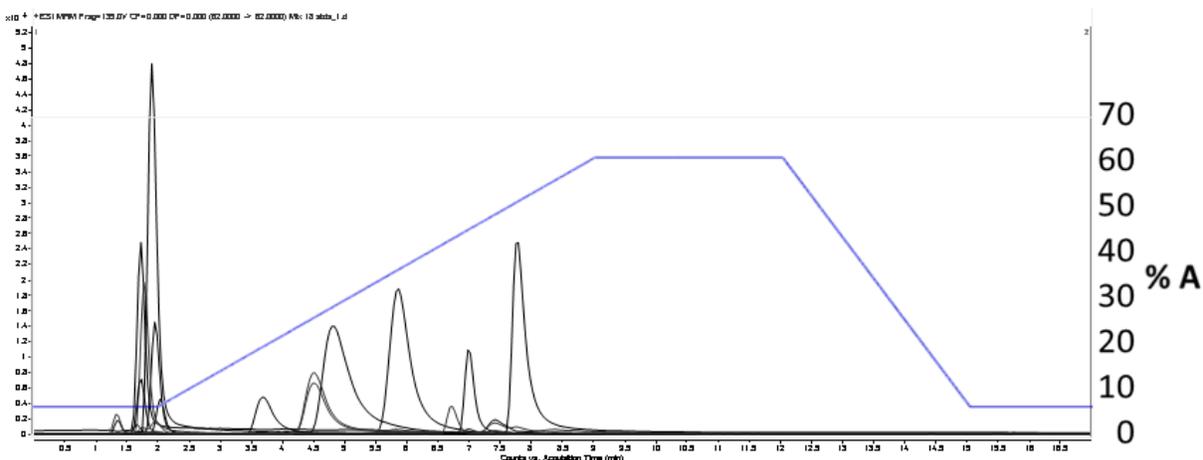


Figure 16. Chromatogrammes d'ions extraits (EIC) des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% EtOH dans les deux éluants) pour la colonne Luna HILIC. Le gradient d'élution est illustré en bleu avec la composition en éluant aqueux dans la phase mobile montré sur l'axe à droite. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3.

Pour la colonne Kinetex HILIC (figure 17), les pics ont beaucoup de traînée et certains mêmes un épaulement. Cela a pour effet que la séparation des amines sur ce type de phase stationnaires donne des pics asymétriques. Ce dédoublement des pics peut être associé à des interactions secondaires entre les groupements fonctionnels très polaires de la phase stationnaire et les analytes. Malgré le fait que les pics soient espacés sur le chromatogramme, cette traînée et cet épaulement des pics font que les pics se superposent et qu'ils coéluent. De plus, la moyenne de plateaux théoriques, qui à l'aire excellente, est faussée par cet épaulement des pics. En effet, le logiciel qui a été utilisé pour calculer cette valeur la mesure avec la largeur du pic à mi-hauteur. Il faut donc également regarder le chromatogramme afin de déterminer adéquatement quelle combinaison de composition de phase mobile et de colonne donne le meilleur résultat. Cet épaulement dans les pics et la superposition de certains d'entre eux fait que cette phase stationnaire n'est pas idéale pour la séparation de nos analytes d'intérêts.

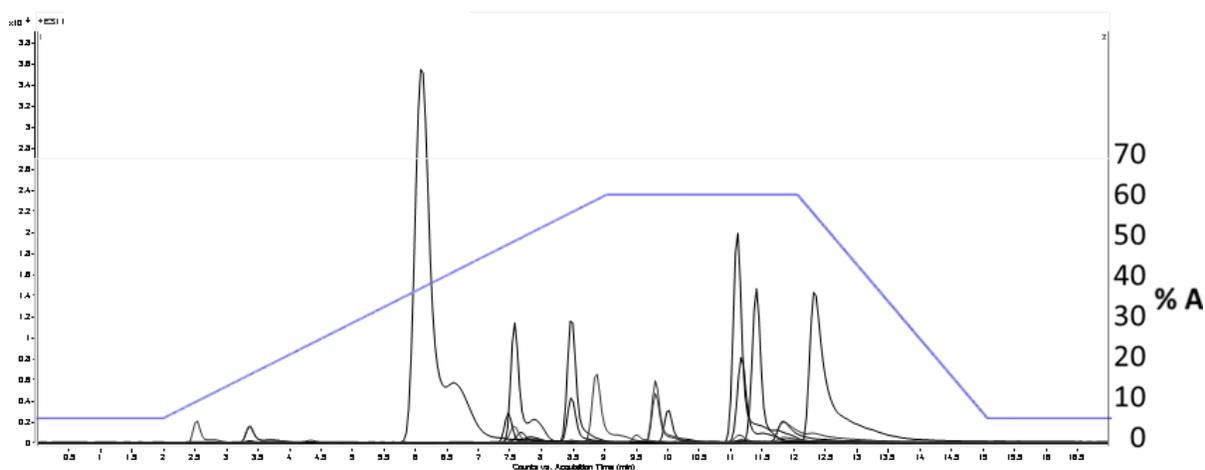


Figure 17. EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (10% MeOH dans les deux éluants) pour la colonne Kinetex HILIC. Le gradient d'élution est illustré en bleu avec la composition en éluant aqueux dans la phase mobile montré sur l'axe à droite. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3.

Pour la colonne PFP, le nombre de composés séparés à leur ligne de base est le meilleur pour la durée de la fenêtre d'élution qui est de 8,3 minutes. Comme l'on peut le voir sur la figure 18, les analytes sont bien distribués dans le chromatogramme. Cela fait donc que la colonne PFP permet une bonne séparation des composés tout en ayant une bonne symétrie si on la compare avec les autres phases stationnaires qui ont été discutées précédemment. Cependant, la colonne PFP a un faible nombre de plateaux théorique ce qui pourrait nuire à la sélection de cette phase stationnaire pour la prochaine étape d'optimisation de la composition de la phase mobile.

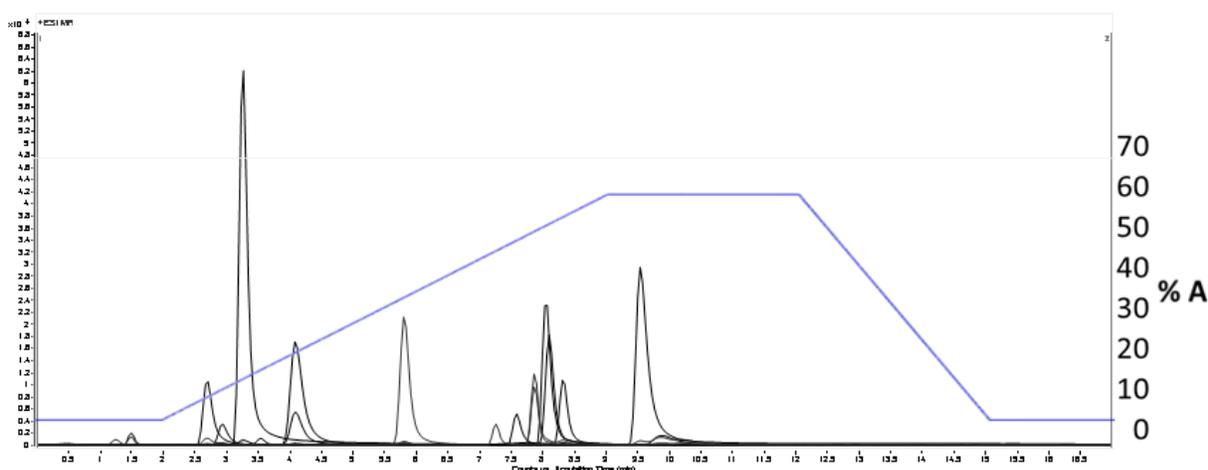


Figure 18. EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% MeOH dans les deux éluants) pour la colonne PFP. Le gradient d'élution est illustré en bleu avec la composition en éluant aqueux dans la phase mobile montré sur l'axe à droite. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3.

La colonne Luna CN est celle qui a offert la meilleure performance au niveau du nombre de plateaux théorique et de la symétrie des pics lorsqu'il y avait 5% d'EtOH dans les deux éluants. Comme il est possible de voir sur la figure 19, les pics du chromatogramme sont fins, ce qui correspond à une bonne efficacité de la colonne. Mis à part les pics qui sont situés à la fin de l'élution, la majorité d'entre eux n'ont pas de traîné, ce qui est également un autre indicateur d'une bonne efficacité de la colonne même avant une optimisation du

gradient d'élution (ex. : $N > 20\ 000$ en moyenne). La symétrie des pics n'est pas parfaite, mais comparativement aux autres colonnes, cette phase stationnaire est celle qui offre la meilleure symétrie des pics, soit entre 1,20 et 1,60. Malgré cela, les pics se superposent et parfois coéluent ensemble et ce, sur une longue fenêtre d'élution. L'optimisation des paramètres chromatographiques pourra palier à ce problème.

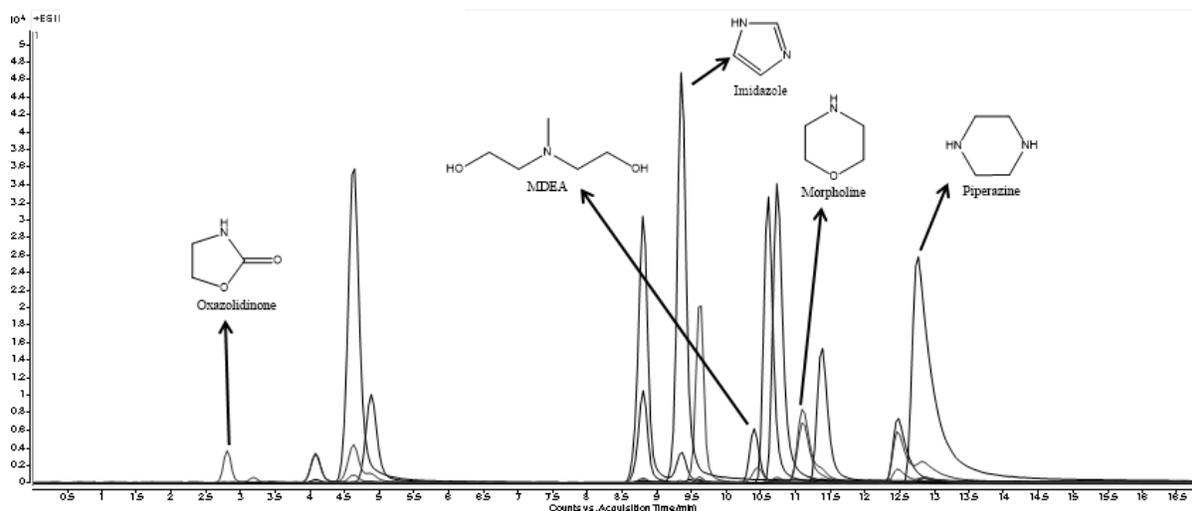


Figure 19. EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% EtOH dans les deux éluants) pour la colonne Luna CN avec certains analytes indiqués sur le chromatogramme. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3.

Pour la dernière colonne, soit la BEH Amide, les pics sont fins tout comme la colonne Luna CN, mais ceux-ci se superposent. Pour la petite fenêtre d'élution de 7,9 minutes, la colonne a permis de séparer 11 pics, ce qui est un bon indicateur qu'on peut améliorer la séparation avec les modifications du gradient. Ainsi, le nombre de plateaux théoriques pour les pics est élevé ($N > 10\ 000$ en moyenne), mais pas la symétrie de ceux-ci. La plupart des composés éluent dans la même gamme de temps de rétention, l'optimisation du gradient d'élution pourra possiblement aider à la séparation des analytes, de même que d'améliorer la symétrie de ceux-ci et diminuer la superposition des pics chromatographiques.

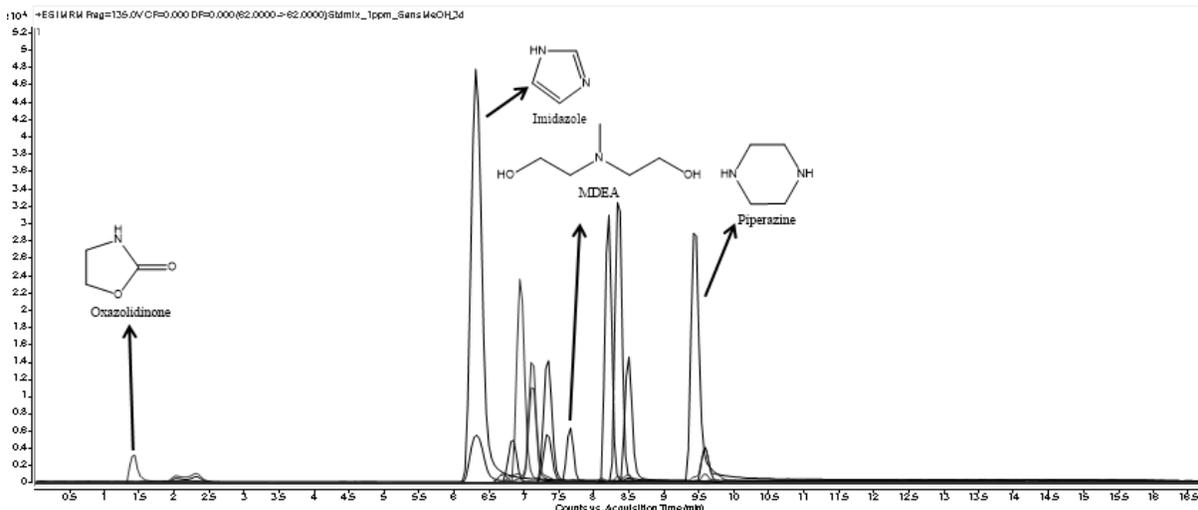


Figure 20. EIC des 18 standards superposés de la meilleure condition de phase mobile (5% EtOH dans les deux éluants) pour la colonne BEH Amide avec certains analytes indiqués sur le chromatogramme. Les éluants sont A : 20 mM de formate d'ammonium et 0,1% d'acide formique, B : acétonitrile. Tous les autres paramètres sont donnés dans la section 2.3.

Puisque nous comparons 25 chromatogrammes, il faut s'assurer que les mesures ont un minimum d'erreur et que les analyses soient reproductibles pour les 4 caractéristiques des pics ciblées. Pour ce faire, nous avons injecté à quelques reprises le mélange des 18 standards lorsque la séparation était suspecte. Le fait que nous superposions les chromatogrammes des ions extraits de chaque standard, nous pouvons confirmer que les hauteurs des pics et l'aire de ceux-ci étaient équivalentes lors de chaque condition, ce qui permet de vérifier la reproductibilité des analyses.

3.1.3 Les phases stationnaires et composition de phase mobile retenues

Après avoir analysé tous les résultats des 25 conditions, nous aurions voulu qu'une seule combinaison de phase stationnaire et de composition de phases mobiles se distingue des autres. Parmi les 5 meilleures combinaisons pour chaque colonne (tableau III), les 3 meilleurs résultats sont passés à la prochaine étape d'optimisation de la composition de la

phase mobile. Les colonnes Luna HILIC et Kinetex HILIC ont été retirés principalement à cause de la mauvaise symétrie des pics chromatographiques. Plus précisément, la colonne Luna HILIC, malgré qu'elle ait eu une petite fenêtre d'élution les trois autres critères de performances étaient les plus bas des 5 colonnes. Pour la colonne Kinetex HILIC, c'est l'épaule et la grande traînée des pics qui explique le fait qu'elle a été retirée. Pour les 3 colonnes qui ont été choisies, soit la Luna CN, la PFP et la BEH Amide, les résultats des différents critères étaient trop près les uns des autres afin de pouvoir uniquement en sélectionner une seule. Si l'on regarde plus en détails les résultats pour ces deux colonnes qui sont présentées à l'annexe 5, malgré que la colonne Luna CN a un plus haut nombre de plateaux théoriques, le fait que les autres critères soient près nous obligeaient à choisir ces trois colonnes pour terminer l'optimisation des conditions de la phase mobile. La colonne PFP a été gardée malgré sa moindre performance vis-à-vis les deux autres colonnes puisque la deuxième étape d'optimisation, soit l'influence de la force ionique de la phase mobile aqueuse sur la séparation, nous permettra probablement d'éliminer une ou deux des phases stationnaires. La dernière étape d'optimisation du développement de méthode, soit l'optimisation du gradient d'élution sera effectué sur la colonne qui donnera la meilleure performance lors de cette seconde étape.

Comme la meilleure composition de la phase mobile pour la colonne PFP est 5% de MeOH et pour les colonnes Luna CN et BEH Amide est 5% EtOH, il faut déterminer un seul additif à ajouter à la phase mobile. Puisque les résultats pour la PFP sont similaires lorsqu'il y a 5% d'EtOH et que ce solvant est plus vert, ce solvant-ci à cette concentration a été choisi pour la prochaine étape d'optimisation de la composition de la phase mobile.

Pour ce chapitre, nous avons pu déterminer quel additif parmi deux choix il faut ajouter dans la phase mobile pour que la séparation de 18 composés soit la plus optimale. En sachant qu'en chromatographie HILIC, l'ajout d'additif peut avoir une influence sur le mécanisme de séparation positivement ou négativement, ce paramètre est nécessaire dans le développement d'une méthode d'analyse. Ainsi, nous avons fait l'analyse de 5 différentes compositions de phase mobile avec une concentration d'additif et le type de celui-ci qui varie

sur 5 phases stationnaires qui ont des structures chimiques différentes. Sommairement, parmi les 25 combinaisons possibles, 3 phases stationnaires et une composition de phase mobile se sont démarquées soit la colonne Luna CN, PFP et BEH Amide avec 5% d'EtOH dans les deux éluants. La seconde étape est d'optimiser l'influence de la concentration du tampon sur la séparation chromatographique.

3.2. Optimisation des paramètres des séparations chromatographiques

Cette section porte sur l'optimisation des paramètres de la séparation chromatographique sur les trois phases stationnaires qui ont été sélectionnées suite aux 25 expériences décrites au chapitre 3, soit la colonne PFP, BEH Amide et Luna CN. Dans cette section, quatre paramètres chromatographiques ont été déterminés ou optimisés. Il s'agit du temps mort des trois colonnes sélectionnées, la force ionique du tampon de formate d'ammonium dans l'éluant A, le débit de l'éluant et le choix de l'étalon interne. Les études d'optimisation de gradient d'élution sont présentées dans la section 3.3.

3.2.1 Détermination du temps mort

La détermination du temps mort des colonnes s'est déroulée en faisant une élution isocratique du mélange DC et DS de deux échantillons qui contenaient la molécule de capture mais qui ont subi un processus de capture différent. Ces échantillons contenaient aussi des produits de dégradation connus et inconnus. L'éluant aqueux A était constituée de 20 mM de formate d'ammonium, 0,1% d'acide formique et de 5% (v/v) d'EtOH le tout à un pH de 3,47. La phase organique était constituée d'acétonitrile et de 5% (v/v) d'EtOH. Puisque le temps mort de la colonne est le temps d'élution des composés qui ne sont pas retenus sur la phase stationnaire, il faut que la phase mobile qui passe à travers la colonne contienne une grande quantité de l'éluant qui a la plus grande force éluotrope, c'est-à-dire l'éluant aqueux, A, pour une analyse HILIC. Une élution isocratique à 80% A a été faite durant 25 min. Le temps mort pour chacune des trois colonnes a été déterminé selon le temps de rétention du premier composé qui éluait de la colonne, comme montré à la figure 21 pour la colonne BEH

Amide. Ainsi, le temps mort pour la colonne BEH Amide est de 1,12 minute, de 1,05 minute pour la Luna CN et de 1,00 minute pour la PFP.

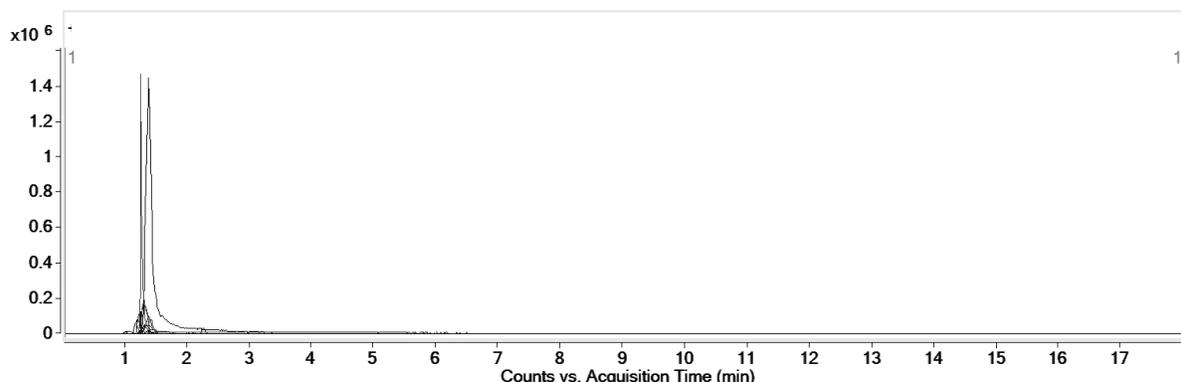


Figure 21. Chromatogramme d'une élution à 80% A pour la colonne PFP pour déterminer le temps mort (1,00 min). L'éluant A est 20 mM formate d'ammonium, 0,1% acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile avec 5% d'EtOH. Les paramètres instrumentaux sont donnés au chapitre 2.3.

3.2.2 Effet de la force ionique de l'éluant A sur les séparations

3.2.2.1 Éluents isocratiques avec 20 mM formate d'ammonium

Le temps mort de chaque colonne ayant été établi, nous avons comparé l'influence de la force ionique de l'éluant aqueux sur la séparation du mélange des standards. Cette comparaison se faisait à l'aide du facteur de rétention, k , de chaque composé connu. La première étape de cette étude était de faire des éluents isocratiques où la composition de la phase mobile reste constante durant la séparation des pics, puis la composition de l'éluant aqueux dans la phase mobile a été augmentée à chaque élution subséquente. Pour ces essais, les éluents isocratiques allaient de 5% à 35% de phase aqueuse étaient réalisées, comme il est possible de le voir dans la figure 22. L'augmentation à 40 %A à 10 min avait comme but d'éluer tous les composés de la colonne. Les phases mobiles et le type d'échantillon qui a été injecté sont donnés dans la légende de la figure ci-dessous.

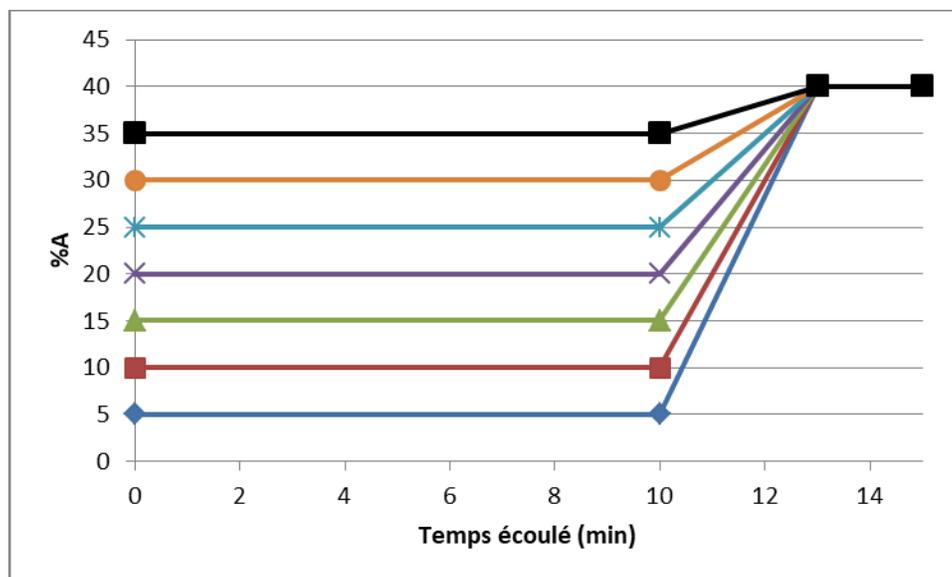
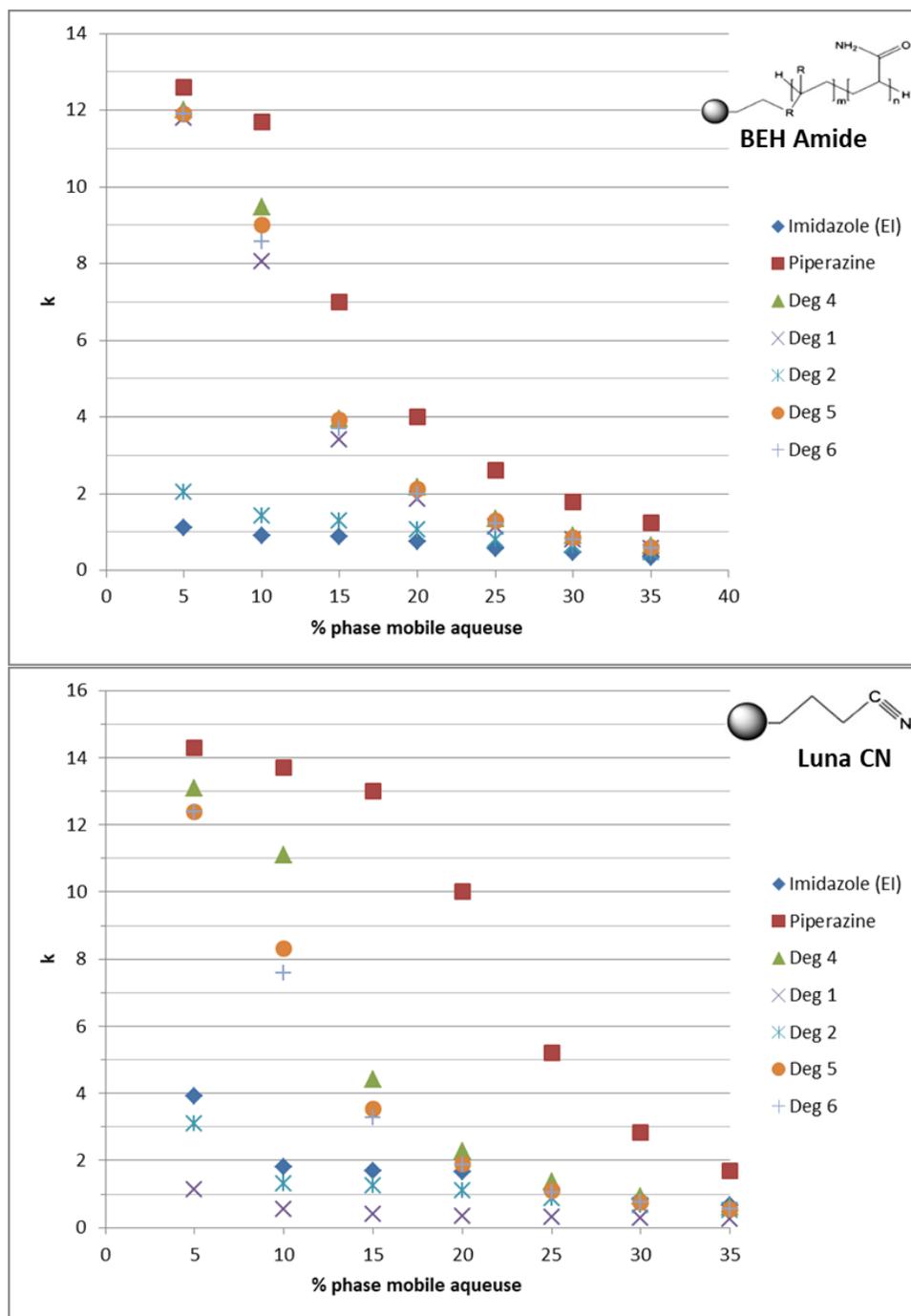


Figure 22. Conditions de sept éluions isocratiques pour les premiers tests de l'influence de la force ionique sur la séparation chromatographique. L'éluant A était 20 mM formate d'ammonium, 0,1% d'acide formique et 5% d'EtOH, pH de 3,47 et l'éluant B était de l'acétonitrile avec 5% d'EtOH. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux donnés à la figure 21.

Après chaque analyse, le facteur de rétention, k , était calculé pour sept composés et en mettant les résultats obtenus pour chaque séparation isocratique dans un graphique, nous pouvons voir l'influence de l'augmentation de la composition de la phase mobile en éluant aqueux sur la séparation des différents analytes sur les trois colonnes (figure 23). Comme il est possible de le voir sur la figure suivante, lorsque le pourcentage de l'éluant aqueux dépasse 20%, plusieurs analytes éluent au volume mort de la colonne ou proche de celui-ci et ce, pour les trois phases stationnaires. Cela signifie que la séparation optimale des amines et des nitrosamines en chromatographie HILIC se produit sous cette proportion de l'éluant A. En effet, lorsque la phase mobile est plus haute que 20% aqueux, la couche d'eau adsorbée sur les particules de la phase stationnaire est trop épaisse ce qui fait que les composés préfèrent se distribuer dans la phase mobile plutôt que d'interagir avec les groupements fonctionnels de la colonne favorisant leurs coélutions. À l'inverse, lorsque le pourcentage de l'éluant aqueux est de 5%, certains analytes éluent rapidement de la colonne

($k < 2$) tandis qu'un autre groupe de composés élue à la fin du gradient d'élution ($k > 10$) et cela dépend fortement de la phase stationnaire (figure 23).



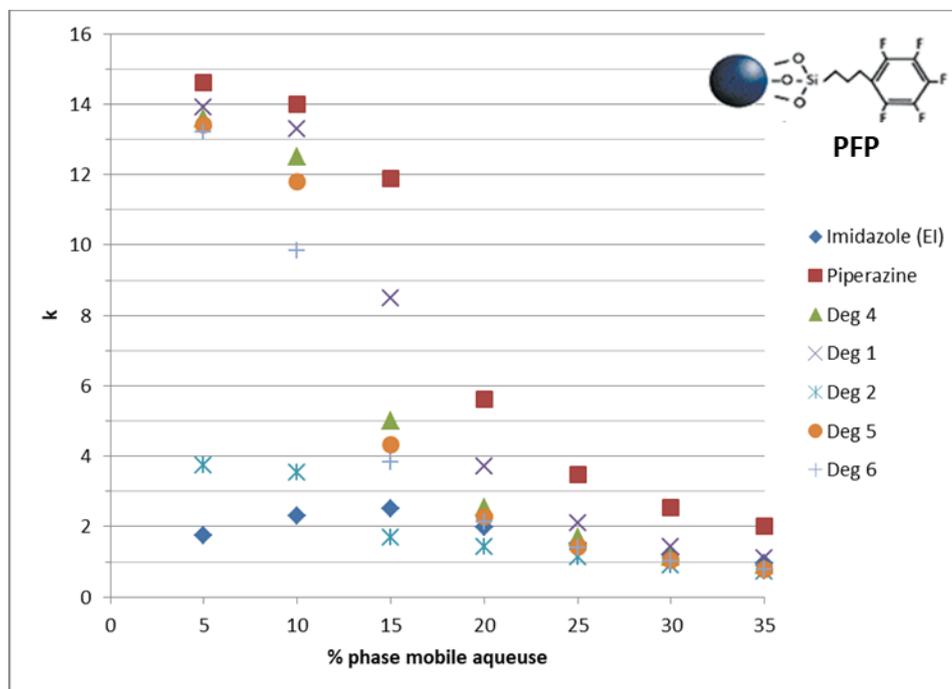


Figure 23. Facteurs de rétention de sept composés d'intérêts pour les premiers tests d'élutions isocratique pour les différentes colonnes étudiées. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux de la fig. 21.

À un bas pourcentage d'eau, les composés qui élueront en premier sont les molécules les plus apolaires ou celles qui n'auront pas d'affinité avec les phases stationnaires. Les molécules qui élueront à la fin du gradient d'élution (temps de rétention > 10 min) sont celles qui auront de fortes affinités avec les phases stationnaires, qui sont polaires et qui ont un coefficient de diffusion dans l'eau qui est élevé. À la fin du gradient, comme on peut le voir dans la figure 22, le pourcentage d'eau augmente drastiquement afin de s'assurer que tous les composés ne sont plus présents dans la colonne lors de la prochaine analyse. Ainsi, il faut que le pourcentage d'eau dans la phase mobile lors de l'élution isocratique soit plus élevée afin d'avoir une meilleure séparation des composés. Sur la figure 23 illustrant les résultats des différentes élutions isocratiques à une concentration du tampon de formate d'ammonium de 20 mM, la meilleure séparation des analytes se fait lorsque le pourcentage de la phase mobile aqueuse est entre 10 et 15%. À cette composition de la phase mobile, la couche d'eau adsorbée sur la phase stationnaire est suffisamment épaisse afin de permettre

à tous les composés de s'y distribuer efficacement et d'avoir des interactions moléculaires favorables avec la phase stationnaire. De plus, la force éluotrope à la fin du gradient d'élution est suffisante pour faire éluer les différents composés hors de la colonne les uns après les autres. La séparation n'est pas encore optimale pour aucune colonne, mais c'est un bon début de connaître approximativement le pourcentage de l'éluant aqueux nécessaire pour guider l'optimisation du gradient d'élution par la suite.

À partir de l'ordre d'élution des composés sur les phases stationnaires et de la structure chimique de ces derniers, il est possible d'expliquer la séparation chromatographique obtenue. Le pH de la phase mobile étant de 3,47, toutes les amines et les nitrosamines sont chargées positivement puisque le pKa de ceux-ci plus haut que le pH de la solution.¹⁷ Pour les trois phases stationnaires, les deux premiers composés qui éluent sont l'imidazole (l'étalon interne) et le Deg 2. L'imidazole (pKa = 6,9 et 14,4) étant cationique au pH de la phase mobile, la charge positive peut être distribuée par résonance et stabilisée par le fait même. Ainsi, ce composé pourra faire des interactions de types ponts hydrogène avec les phases stationnaires BEH Amide et PFP, mais sa stabilité l'empêchera de faire d'autres types d'interactions, ce qui explique son élution au début du chromatogramme.

Les composés Deg 6, Deg 5 et Deg 4, qui éluent l'un à la suite de l'autre, ayant les structures très similaires, les interactions qu'ils auront avec les phases stationnaires seront les mêmes soit des interactions hydrogènes et ioniques. Le Deg 6 élue plus rapidement parce qu'il a plus de chaînes alkyles ce qui diminue la force de ces interactions.

La molécule Deg 1 n'élue pas au même ordre d'élution sur les trois colonnes. Cela signifie que les interactions de ce composé sur les trois phases stationnaires ne sont pas les mêmes. En portant une attention particulière à la structure chimique des phases stationnaires, il est possible de conclure que Deg 1 est retenue très faiblement sur la colonne Luna CN à cause que les interactions hydrogènes entre l'amide et le groupement cyano de la phase stationnaire seront en partie interrompues par l'encombrement stérique du groupement hydroxyde du composé. Ce même phénomène se produit sur la colonne BEH Amide sauf que les interactions hydrogènes entre les deux amides seront plus susceptibles à

avoir une meilleure rétention, de même que les interactions entre l'amide de la phase stationnaire et l'amine du composé. Pour la colonne PFP, la rétention de Deg 1 est due soit aux interactions hydrogènes entre les groupements silanols résiduels non fonctionnalisés sur les particules de silice et les groupements polaires de l'analyte, soit avec les fluorures qui ont été rapporté d'avoir des interactions échangeuses d'ions.⁷²

Finalement, la pipérazine est le dernier composé à éluer des trois colonnes. Puisqu'elle est composée de deux amines secondaires, la pipérazine pourra faire des ponts hydrogènes qui sont forts et également avoir des interactions électrostatiques avec les phases stationnaires, ce qui explique son facteur de rétention élevé. Puisque la séparation des analytes d'intérêts n'est pas optimale, nous avons décidé de faire une seconde ronde de tests d'élution isocratique, cette fois-ci avec une phase mobile aqueuse qui a une force ionique plus faible.

3.2.2.2 Éluions isocratiques avec 10 mM formate d'ammonium

Une phase mobile qui a une plus faible force ionique a été choisie parce que la distribution des analytes de la phase mobile à la phase stationnaire est influencée par la concentration du tampon dans la phase mobile. Ainsi, l'éluant aqueux A pour cette étape était composé de 10 mM de formate d'ammonium, 0,05% d'acide formique et 5% d'EtOH, le tout ayant un pH de 3,55. L'éluant B était de l'acétonitrile avec 5% d'EtOH. Ceci représente une diminution d'un facteur de 2 de la force ionique. L'influence de diminuer la force ionique par la moitié se faisait encore une fois en calculant le facteur de rétention des composés après des éluions isocratique. Cette fois-ci, les éluions étaient réalisées de 5% à 20% de phase mobile aqueuse, comme illustré sur la figure 24, puisque les premiers tests ont montrés qu'il n'y avait pas de séparation des analytes à une composition plus grande de l'éluant A.

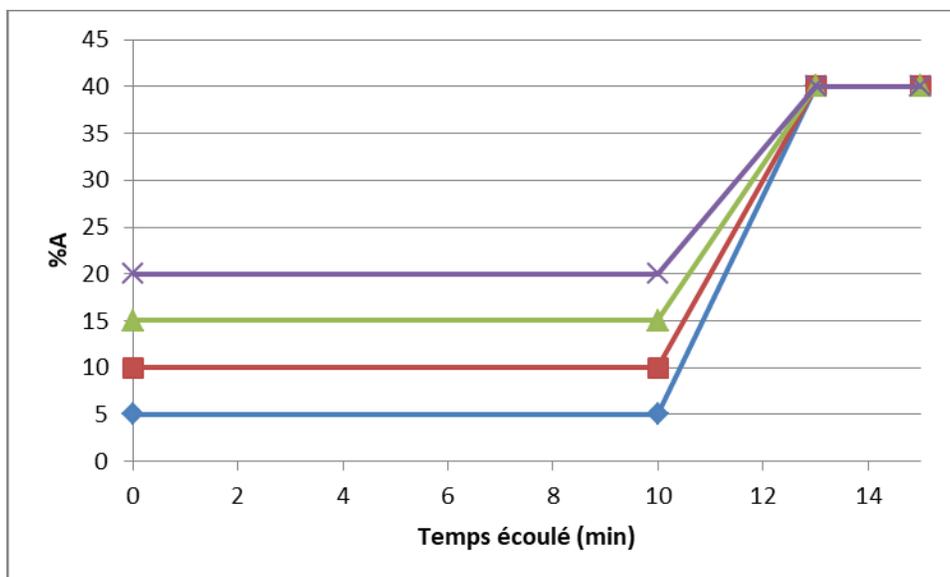
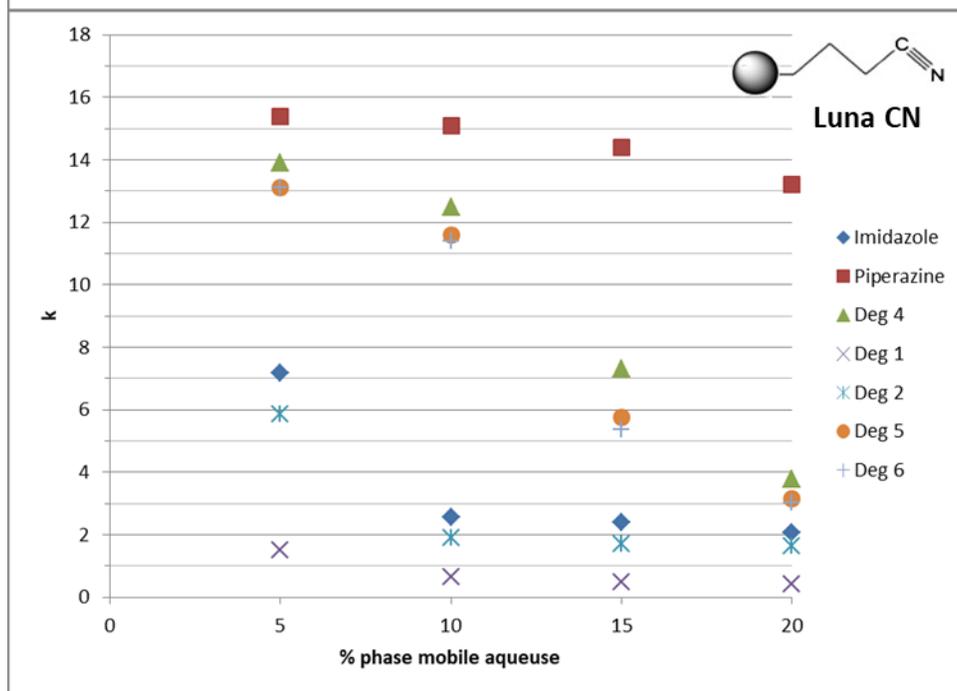
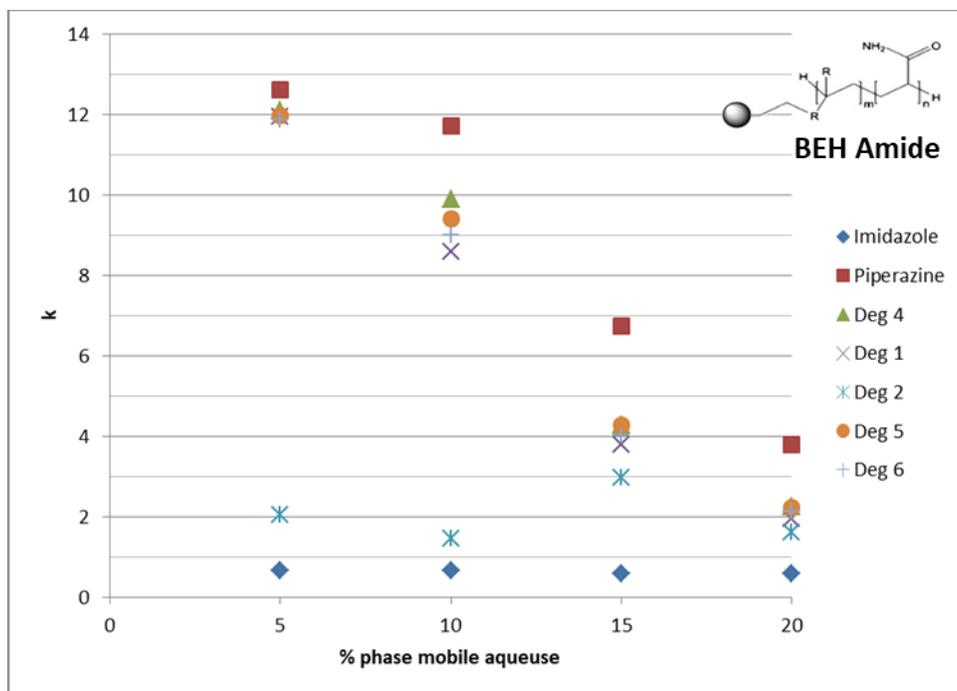


Figure 24. Conditions d'élutions isocratiques pour les seconds tests pour déterminer l'influence de la force ionique sur la séparation chromatographique. L'éluant A était 10 mM formate d'ammonium, 0,05% d'acide formique et 5% d'EtOH à un pH de 3,33 et l'éluant B était de l'acétonitrile et 5% d'EtOH. Les paramètres instrumentaux sont ceux décrits dans le chapitre 2.3.

Comme il est possible de voir sur la figure 25, l'ordre d'élution des composés est le même que lors des éluions isocratiques avec l'éluant A de 20 mM formate d'ammonium pour les trois colonnes. Il est cependant difficile de voir une différence significative entre les deux forces ioniques de l'éluant aqueux, c'est ce pour quoi les résultats pour chaque composé ont été mis dans des graphiques comparatifs de 20 mM versus 10 mM tampon (figures 26 à 28). Afin d'avoir la meilleure séparation possible, le facteur de rétention des analytes le plus haut parmi les deux forces ioniques est souhaitable. Cela permettra, lors de l'optimisation du gradient d'élution, d'avoir un meilleur contrôle sur l'élution des composés.



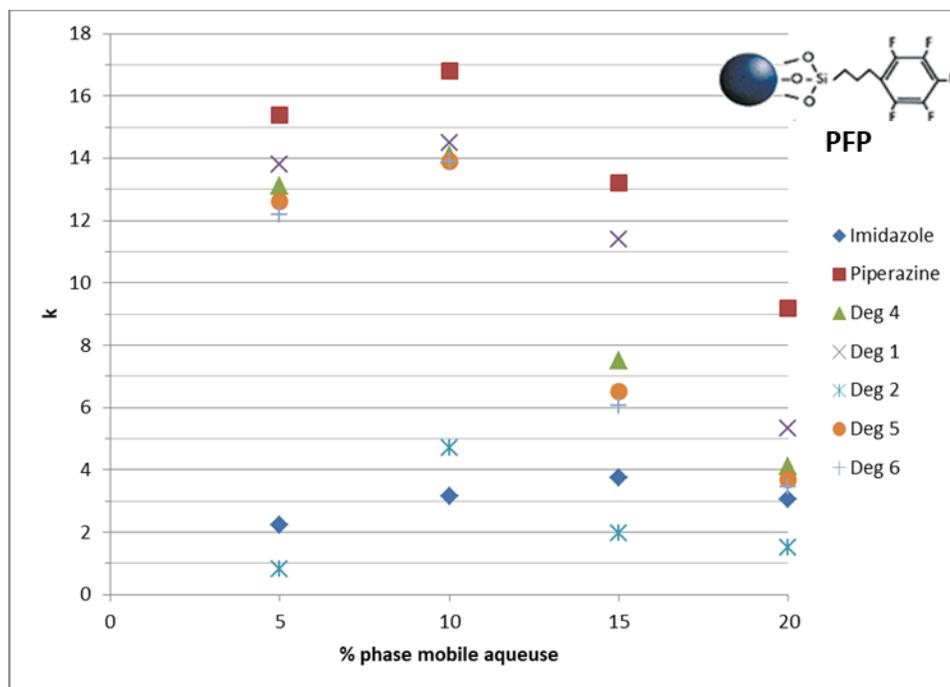


Figure 25. Facteurs de rétention de sept composés connus pour les tests d'éluions isocratique à 10 mM formate d'ammonium, 0,05 % acide formique et 5% EtOH dans l'éluant A pour les différentes colonnes étudiées. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux indiqués à la figure 24.

Pour la colonne BEH Amide, mis à part l'imidazole qui a de meilleurs résultats à 20 mM de formate d'ammonium, la force ionique de la phase mobile n'a pas eu d'influence significative sur le facteur de rétention des analytes (figure 26). Pour les deux autres colonnes, soit la PFP et la Luna CN, l'influence de la force ionique était plus importante.

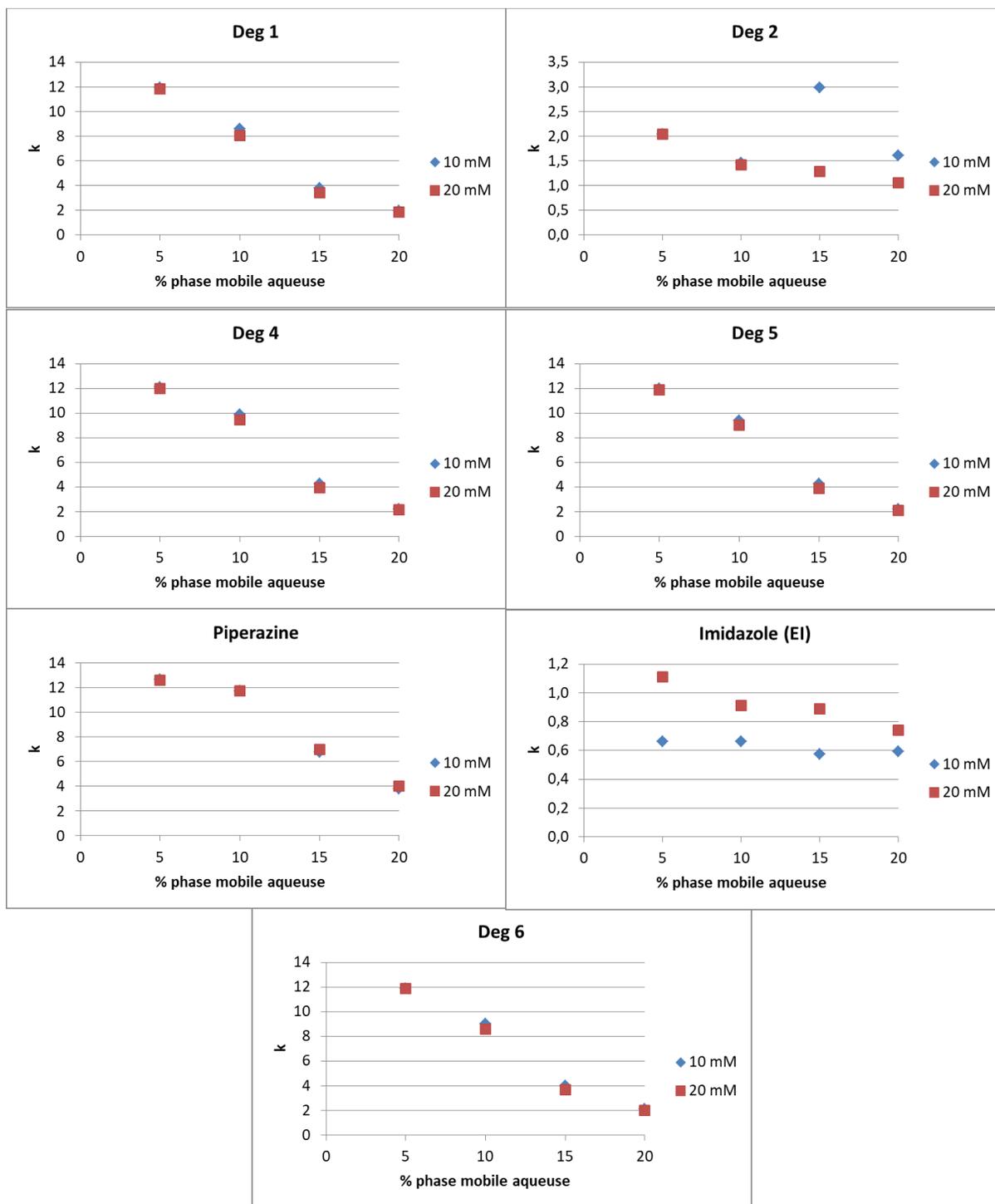


Figure 26. Facteurs de rétention de sept composés connus pour les tests d'éluions isocratique à 10 mM formate d'ammonium, 0,05 % acide formique et 5% EtOH dans l'éluant A pour la colonne BEH Amide. Les paramètres expérimentaux sont identiques à ceux indiqués à la figure 24.

Pour la colonne PFP, la pipérazine, Deg 4, Deg 5 et Deg 6 sont ceux qui ont eu des changements dans leurs facteurs de rétention les plus importants (figure 27), le facteur de rétention de ces quatre composés augmente lorsque le pourcentage d'eau dans la phase mobile augmente de 5% à 10% à la force ionique la plus basse, soit à une concentration de tampon à 10 mM. Par la suite, ces facteurs restent plus élevés pour les deux autres éluions.

Pour la colonne Luna CN, l'influence de la force ionique était légèrement différente. Comme il est possible de voir sur la figure 28, les facteurs de rétention sont plus élevés à une concentration de tampon de 10 mM de formate d'ammonium que 20 mM pour la majorité des éluions isocratiques testés. Pour la pipérazine, le facteur de rétention est plus bas à une éluion isocratique de 5%, mais est équivalent ou plus haut pour les autres éluions. Selon la théorie de la chromatographie HILIC, le fait d'avoir une concentration de tampon moins élevé facilite la distribution des différents analytes de la phase mobile vers la couche d'eau adsorbée sur la phase stationnaire. De plus, le fait qu'il y ait moins de sel dans la couche d'eau favorise également les interactions entre les analytes et les groupements fonctionnels de la phase stationnaire. Ces deux phénomènes expliquent donc pourquoi les facteurs de rétention et par le fait même les temps de rétention des analytes augmentent à une plus faible force ionique pour ces deux colonnes.

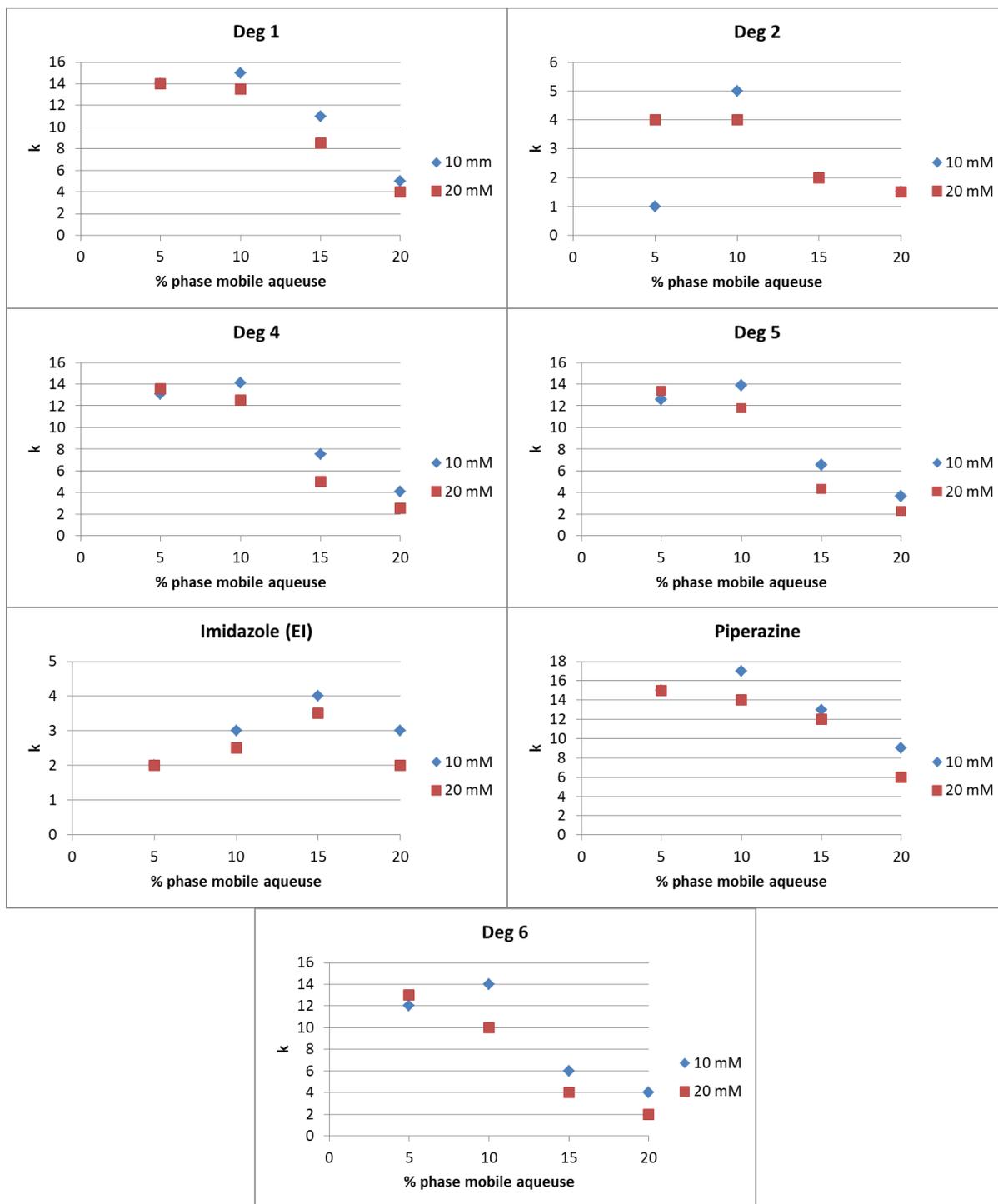


Figure 27. Comparaison des facteurs de rétention pour déterminer l'influence de la force ionique de la phase mobile aqueuse (10 mM versus 20 mM formate d'ammonium) sur la séparation chromatographique pour la colonne PFP.

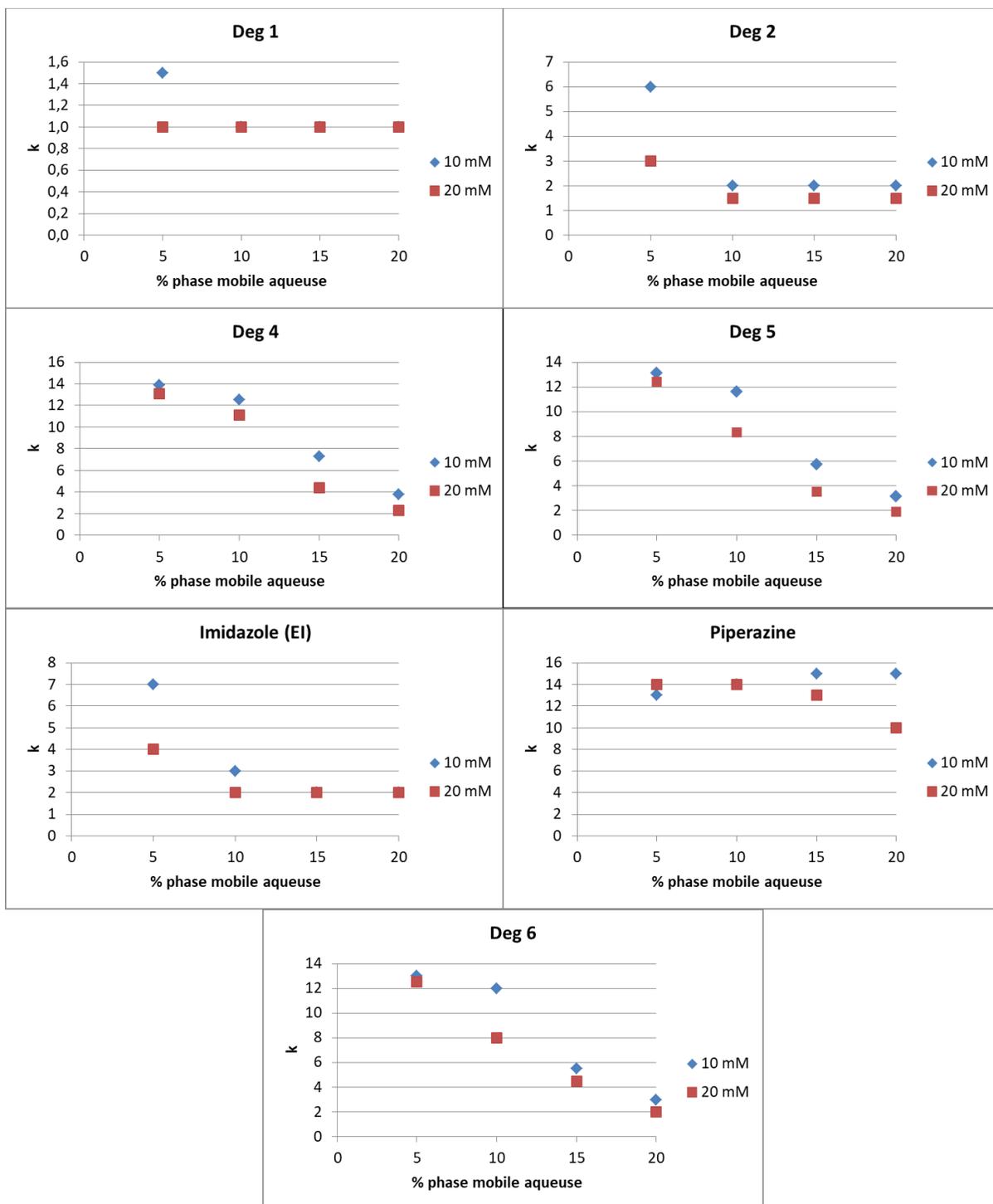


Figure 28. Comparaison des facteurs de rétention pour déterminer l'influence de la force ionique de la phase mobile aqueuse sur la séparation chromatographique pour la colonne Luna CN

Les facteurs de rétention étant légèrement plus élevés à 10 mM formate d'ammonium, 0,05% acide formique et 5% EtOH, cette condition de phase mobile a été choisie pour la prochaine étape d'optimisation de la méthode d'analyse. Une des colonnes a également été retirée de la liste des phases stationnaires à l'étude. Durant les analyses isocratiques, les pics des composés sur les chromatogrammes de la colonne PFP avaient une traînée et une mauvaise résolution. La figure 29 montre un exemple d'une séparation sur la colonne PFP comparé avec la colonne BEH Amide pour les mêmes conditions d'élution : éluant A composé de 20 mM de formate d'ammonium, 0,1% d'acide formique et de 5% d'EtOH; éluant B composé d'acétonitrile et de 5% d'EtOH. Les pics étant larges, l'optimisation du gradient d'élution afin d'améliorer la séparation des composés serait fastidieuse. Puisque les deux autres colonnes (BEH Amide et Luna CN) avaient des pics plus étroits, ces dernières ont été choisies pour poursuivre le développement de la méthode d'analyse.

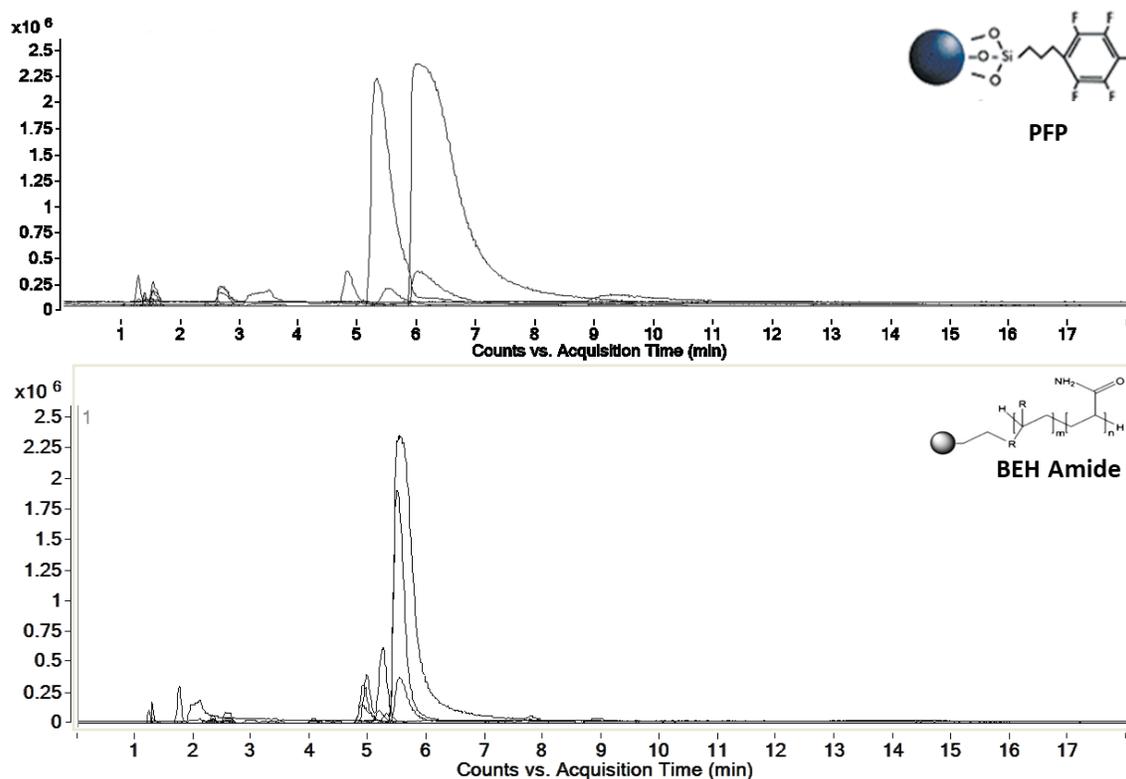


Figure 29. Comparaison des chromatogrammes obtenus à une élution isocratique de 15% de phase mobile aqueuse de 20 mM formate d'ammonium, 0,1% d'acide formique et 5% d'EtOH pour les colonnes PFP et BEH Amide. Les paramètres instrumentaux sont décrits au chapitre 2.3.

3.2.3 Choix de l'étalon interne

Avant d'optimiser les séparations par gradient d'élution, il est important de s'assurer que l'étalon interne pour chaque colonne est adéquat. Un bon étalon interne ne doit pas être présent dans le mélange DC et DS, ne doit pas avoir un temps de rétention similaire aux analytes d'intérêts et il doit avoir un pic d'injection reproductible. L'étalon interne qui était utilisé depuis le début pour les deux colonnes a été l'imidazole. En regardant les chromatogrammes, l'intensité de l'imidazole n'était pas suffisamment grande pour faire la quantification des composés d'intérêts. De plus, le temps de rétention d'imidazole était proche du volume mort pour la colonne Luna CN. Un bon étalon interne doit avoir une structure similaire et des interactions semblables avec la phase stationnaire que les analytes. Il doit également éluer aux environs mais bien résolu des pics à quantifier, ou du moins ne pas éluer près du volume mort de la colonne. Trois composés ont été proposés pour remplacer de l'imidazole soit l'adénosine, la L-histidine monohydrochloride et la thymine (figure 30).

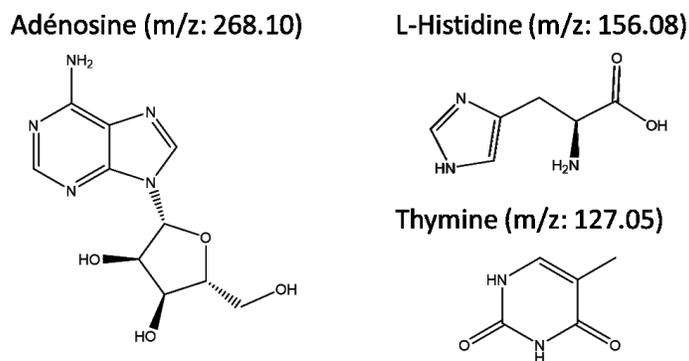


Figure 30. Structure des composés proposés pour remplacer l'imidazole comme étalon interne avec leurs m/z de l'ion $[M+H]^+$ correspondants pour les deux colonnes, le BEH Amide et le Luna CN.

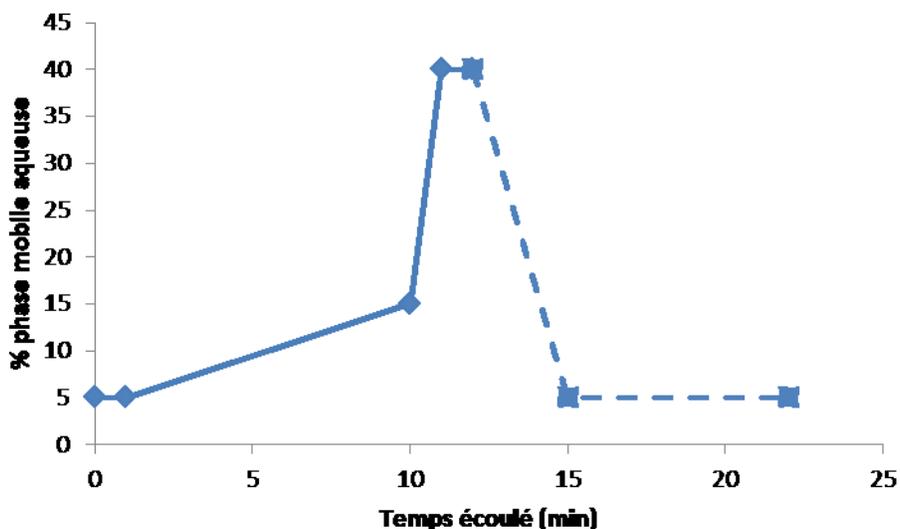


Figure 31. Gradient d'élution utilisé pour déterminer la confirmation du choix d'étalon interne pour les colonnes Luna CN et BEH Amide. Les compositions des éluants sont 10 mM de formate d'ammonium, 0,05% d'acide formique dans la phase mobile aqueuse avec 5% d'EtOH pour l'éluant A et l'acétonitrile avec 5% d'EtOH pour l'éluant B et les paramètres instrumentaux, dans le chapitre 2.3.

Pour ce faire, les deux colonnes ont eu le même gradient non-linéaire d'élution (figure 31) inspiré des études préliminaires et des séparations isocratiques. À partir des chromatogrammes superposés de chaque composé étudié (figure 32), il est possible de conclure que l'imidazole est le meilleur étalon interne pour la colonne BEH Amide. Pour la colonne Luna CN, c'est l'adénosine qui offre la meilleure réponse. Le pic correspondant est plus fin ce qui est préférable lors d'un développement de méthode, car l'étalon interne ne doit pas interférer dans la séparation des analytes d'intérêt. Malheureusement, la L-histidine et la thymine n'ont pas semblé être sensibles à l'ionisation par nébulisation électrostatique. La thymine l'a été, mais pas autant que les deux autres composés pour être considérée comme un bon remplaçant à l'imidazole.

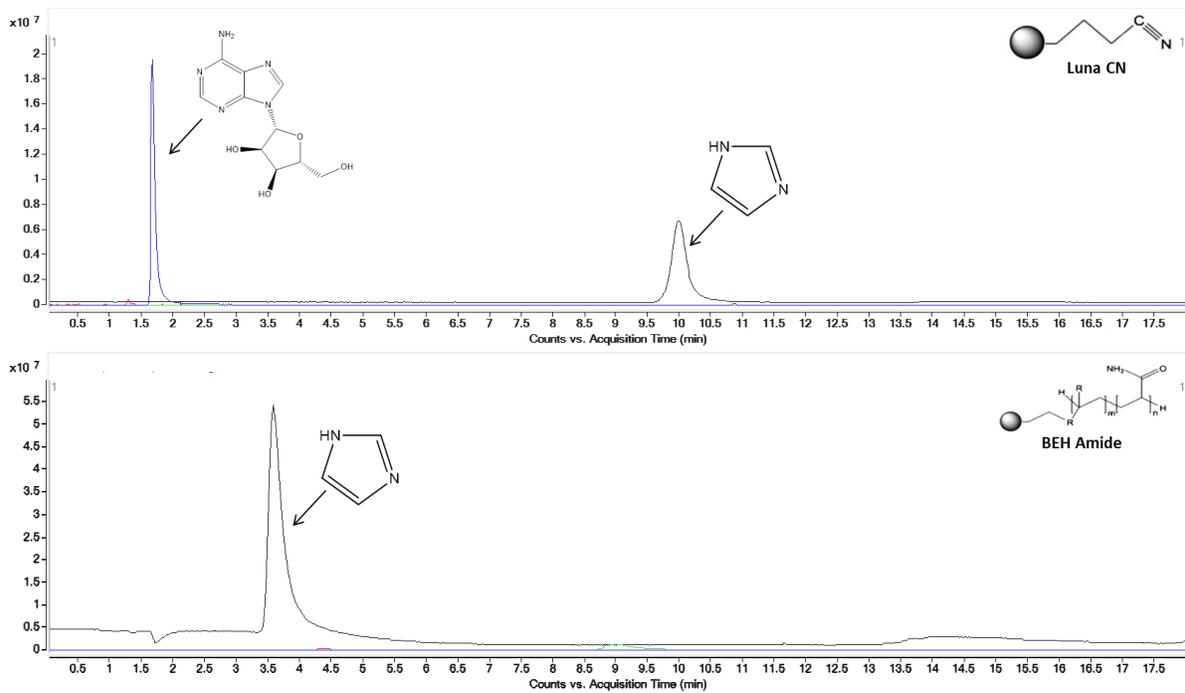


Figure 32. Chromatogramme du mélange des différents composés pouvant remplacer l'imidazole comme étalon interne

À partir de ces résultats, l'adénosine a été ajoutée dans la solution de standards concentré à 1 ppm puis dans le mélange DC et DS. Cela permet d'avoir la présence des deux étalons internes et assure aussi que lorsque la méthode d'analyse sera développée, l'étalon interne utilisé correspondra à la colonne qui a été choisie. La prochaine étape d'optimisation des paramètres chromatographiques est l'influence du débit de la phase mobile sur la séparation des composés.

3.2.4 Détermination du débit optimale de la phase mobile

De manière générale, le débit de la phase mobile a une influence sur la résolution des pics observés sur un chromatogramme. Selon la théorie de van Deemter, la dispersion due aux chemins multiples des composés dans la colonne n'est pas influencée par le débit de la phase mobile. Cependant, la dispersion longitudinale et la résistance au transfert de masse sont tous les deux influencés par ce dernier. La théorie indique également qu'il faut que le

débit de la phase mobile donne la plus petite hauteur de plateau théorique (HETP) pour tous les composés, ce qui correspond à la meilleure résolution pour ces derniers. Cela étant dit, le débit de la phase mobile qui a été utilisé jusqu'à présent est de 0,5 mL/min.

Pour réaliser cette expérience, une solution de standards des 18 composés d'intérêts et le mélange DC et DS ont été injectés dans les colonnes à différents débit de phase mobile. La solution de standards a été utilisée afin de déterminer le temps de rétention des analytes. Les débits allaient de 0,1 mL/min à 0,7 mL/min avec des incréments de 0,1 mL/min entre chaque expérience. Dans les graphiques des résultats pour quatre des dix composés les plus abondants dans le mélange DC et DS (figure 33), il est possible de voir que le changement de débit de la phase mobile a eu une influence directe sur la variation du paramètre B de la courbe de van Deemter. Afin de faciliter le traitement des résultats, uniquement les dix analytes les plus abondants sur le chromatogramme ont été choisis parce que ce sont ceux-ci qui auront le plus d'impact sur la séparation lors du changement du débit. En regardant les résultats d'un triplicat de mesure (figure 33 et annexe 6), le débit de 0,3 mL/min est celui qui donne la plus petite hauteur de plateau théorique pour tous les composés sur la colonne BEH Amide. Les résultats pour les autres composés sont en annexe 6. Pour les débits plus bas que cette valeur, soit 0,2 et 0,1 mL/min, les HEPT étaient trop élevées pour être inclus avec les meilleurs résultats. Le débit 0,3 mL/min n'a pas été choisi puisque malgré qu'il donne les meilleurs résultats, une faible diminution dans le débit de la phase mobile va drastiquement augmenter la hauteur d'un plateau théorique et en conséquence, compromettre la séparation. Nous avons décidé de garder le débit de 0,5 mL/min au lieu d'aller avec 0,4 mL/min puisque les résultats de tous les composés sont assez semblables (annexe 6) mais la séparation est plus rapide.

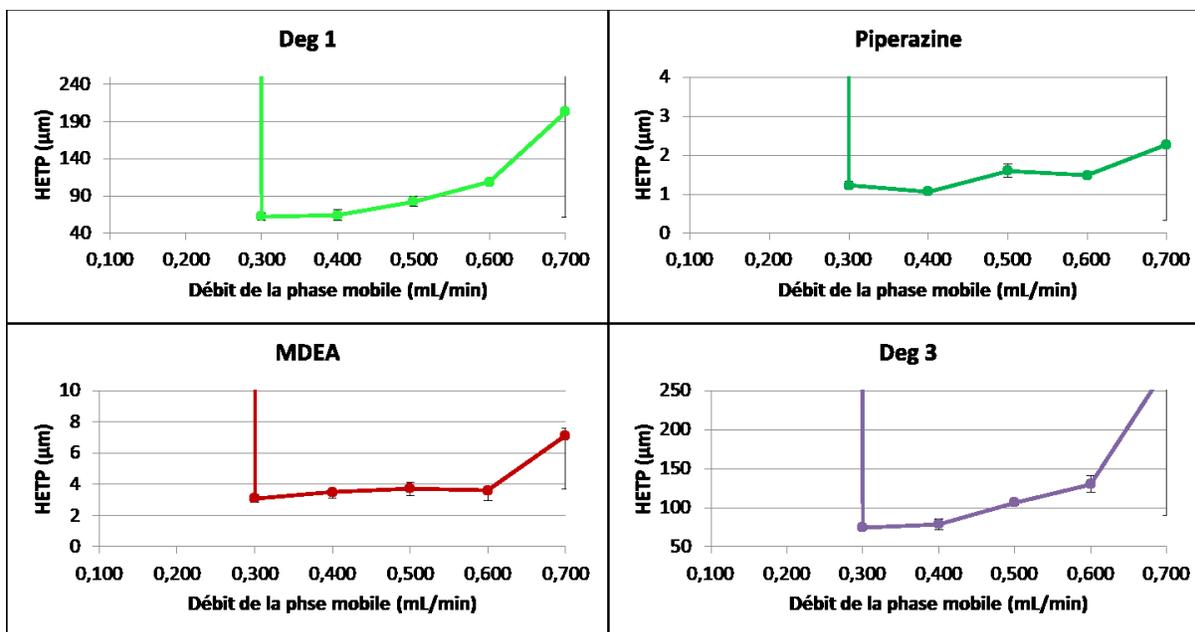


Figure 33. Courbes van Deemter d'un triplicat d'essai sur la colonne BEH Amide pour les composés suivants : Deg 1, Piperazine, MDEA et Deg 3. L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05 % acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits dans le chapitre 2.3.

La même expérience aurait dû être faite sur la colonne Luna CN. Par manque de temps, nous n'avons pas pu faire ces expériences, mais nous assumons que les résultats auraient été similaires à ceux obtenus sur la colonne BEH Amide. L'optimisation des paramètres chromatographiques ayant été réalisée, la prochaine étape est l'optimisation du gradient d'élution.

3.3 Optimisation du gradient d'élution

L'optimisation du gradient d'élution sur la colonne BEH Amide et Luna CN s'est faite en deux parties. La première partie a été des essais à tâtonnement et la seconde une optimisation en utilisant la planification d'expériences « *DoE - Design of Experiments* ». L'objectif de cette section est d'optimiser la séparation de tous les composés de dégradation, la molécule de capture et l'étalon interne qui sont contenus dans le mélange DC et DS qui est

un échantillon représentatif de l'abondance des différents composés. Afin de mesurer le temps de rétention de chacun des analytes, une solution de standards à une concentration de 1 ppm a été injectée dans la colonne. Pour faciliter l'interprétation des résultats et le traitement des données, seulement les dix composés qui ont l'abondance relative la plus élevée dans le chromatogramme ont été choisis. De plus, chaque composé sélectionné s'est fait attribuer une couleur en plus d'être identifiés sur chaque chromatogramme. Les phases mobiles qui ont été utilisées sont celles qui ont été optimisées précédemment. Nous avons commencé l'optimisation du gradient d'élution par essais à tâtonnement pour observer le comportement général des deux colonnes face aux divers changements auxquels elles sont soumises.

3.3.1 Optimisation par essais à tâtonnement

À partir des facteurs de rétention des analytes d'intérêts lors des éluions isocratique, un premier gradient pour les deux phases stationnaires a été proposé. Pour la colonne Luna CN, six gradients ont été faits et pour chacun d'entre eux, la résolution de quatre paires de pics qui coéluent a été calculée afin de vérifier si cette approche est suffisante pour séparer tous les composés. Comme il est possible de le voir sur la figure 34 et dans l'annexe 7 représentant les chromatogrammes des différents essais, certaines modifications ont été faites entre chacune d'entre elles afin d'améliorer la séparation chromatographique des composés d'intérêts.

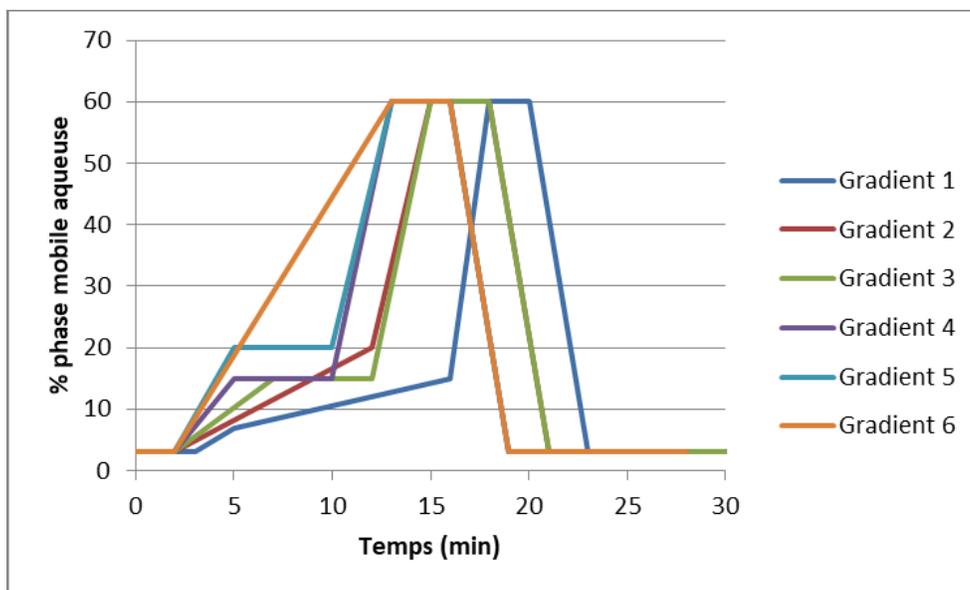


Figure 34. Essais de différents gradients d'éluion à tâtonnement sur la colonne Luna CN. L'éluant A est 10 mM formate ammonium, 0,05% acide formique, 5% EtOH et l'éluant B, de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits au chapitre 2.3. Les gradients détaillés sont en annexe 8.

Entre le premier et le second gradient, deux changements ont été faits. La durée du premier plateau au début du gradient a été raccourcie d'une minute puisqu'il n'y avait plus d'analyte qui éluait avec une bonne résolution après ce temps. En commençant le gradient à partir de 2 minutes, nous espérons que le Deg 1 et le Deg 3, qui sont les molécules représentées en mauve et en vert pâle puissent se séparer. Le pourcentage d'éluant aqueux a également été augmenté à 20% afin de permettre aux composés qui éluent à la fin de l'analyse d'éluer avant la période de rééquilibrage de la colonne ce qui est arrivé sur le chromatogramme du 2^e gradient. Entre le second et le troisième gradient, la section entre 2 et 12 minutes a été divisée en deux. La première section, qui est de 2 à 7 minutes, est un gradient d'éluion avec une inclinaison plus grande afin d'améliorer la séparation entre les deux mêmes composés discutés précédemment. La seconde section est un plateau de 5 minutes à 15% d'éluant aqueux afin d'améliorer la séparation des composés qui éluent à la fin du gradient ce qui n'a pas été le cas. Puisqu'il y a un espace de 2 minutes dans le chromatogramme où aucun composé élue, le gradient 4 est le même que le gradient 3, mais

raccourci de 2 minutes. Les composés qui éluent à la fin du chromatogramme n'ont pas élués plus rapidement. Ainsi le pourcentage de l'éluant aqueux dont leur plateau commence à 5 minutes dans le gradient 5 a été augmenté à 20%. Cela a permis d'avoir une force éluotrope suffisamment grande pour que les composés éluent presque tous vers la fin du gradient. Cependant, la résolution de certaines paires de pics n'est pas encore assez bonne et certains composés comme la pipérazine et la Mol 1 éluent encore durant la rééquilibration de la colonne. Le 6^e gradient est un gradient d'élution linéaire qui va de 3% à 60% d'éluant aqueux, et ce, pendant 11 minutes. Malgré que tous les composés aient élués avant la fin du gradient, la résolution des quatre paires de pics n'est pas optimale. Le tableau V ci-dessous regroupe les résolutions pour ces paires de pics.

Tableau V. Résolution des quatre paires de pics suite aux essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne Luna CN

	Gradient 1				Gradient 2				Gradient 3			
	w ₁ (min)	w ₂ (min)	Δt (min)	R	w ₁ (min)	w ₂ (min)	Δt (min)	R	w ₁ (min)	w ₂ (min)	Δt (min)	R
Deg 1/Deg 3	0,317	0,300	0,050	0,16	0,266	0,366	0,050	0,16	0,250	0,283	0,097	0,25
Deg 6 _{iso} /Deg 6	0	0,217	0	0	0	0,250	0	0	0,183	0,184	0,183	1,00
Deg 6/Deg 5	0,217	0,200	0,317	1,52	0,250	0,250	0,384	1,54	0,184	0,233	0,267	1,28
Deg 5/Mol 1	0,200	0,149	0,733	4,20	0,250	0,166	0,833	4,00	0,233	0,233	0,683	2,93

	Gradient 4				Gradient 5				Gradient 6			
	w ₁ (min)	w ₂ (min)	Δt (min)	R	w ₁ (min)	w ₂ (min)	Δt (min)	R	w ₁ (min)	w ₂ (min)	Δt (min)	R
Deg 1/Deg 3	0,216	0,249	0,033	0,14	0,233	0,233	0,050	0,21	0,267	0,283	0,066	0,24
Deg 6 _{iso} /Deg 6	0,117	0,117	0,167	1,43	0,183	0,250	0,284	1,31	0,100	0,100	0,150	1,50
Deg 6/Deg 5	0,117	0,233	0,216	1,23	0,250	0,383	0,366	1,16	0,100	0,183	0,150	1,06
Deg 5/Mol 1	0,233	0,200	0,600	2,77	0,383	0,050	1,333	6,16	0,183	0,183	0,800	4,37

Parmi les six gradients qui ont été testés sur la colonne Luna CN, les gradients 4 et 5 semblent être ceux qui offrent les meilleures résolutions (tableau V). Malgré cela, les résolutions obtenues ne sont pas suffisamment élevées pour atteindre le seuil acceptable de 1,50 pour trois des quatre paires de pics pour ces deux gradients. Le même principe a également été appliqué à la colonne BEH Amide, mais cette fois-ci 8 gradients ont été testés au lieu de 6 (figure 35).

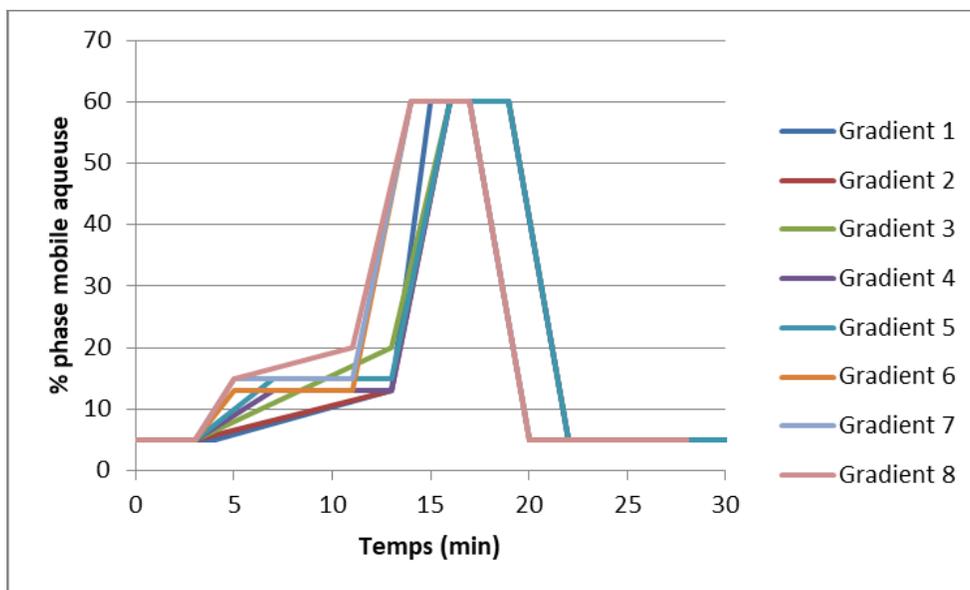


Figure 35. Essais de différents gradients d'éluion à tâtonnement sur la colonne BEH Amide. L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05% acide formique, 5% EtOH et l'éluant B, de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits au chapitre 2.3. Les gradients détaillés se retrouvent en annexe 9.

Les chromatogrammes correspondant à chaque gradient sont représentés à l'annexe 10, le premier gradient a été proposé à partir des résultats obtenus lors des éluions isocratiques. Puisque les composés qui sont les plus polaires élués lors de la rééquilibrage de la colonne et qu'il y a une section dans le chromatogramme où il n'y a pas de composé qui élu, la durée du premier plateau a été diminuée d'une minute. Cette modification n'ayant pas été suffisamment efficace lors du deuxième gradient, le pourcentage d'éluant aqueux à 13 minutes a été augmenté jusqu'à 20% au lieu de 13%. Sur le chromatogramme correspondant au gradient 3 (annexe 10), il est possible de voir que les composés les plus polaires éluent maintenant tous, avant la fin du gradient d'éluion, à l'exception de la pipérazine. La résolution de ces pics n'étant pas assez bonne, un plateau à un pourcentage d'éluant aqueux de 13% entre 7 et 13 minutes a été inséré dans le gradient 4 afin d'aider la séparation de ces analytes. La séparation sur le gradient 5, qui est le même que le précédent, mais avec un plateau à 15% de phase mobile aqueuse a permis de rapprocher davantage les

composés les plus polaires à des temps de rétention plus courts. À partir de ce chromatogramme, il y a deux minutes qui ont été retirées de l'analyse puisqu'entre 5 et 7 minutes, aucun composé n'élue. Les composés les plus polaires éluant toujours à la fin du gradient en plus de ne pas avoir une bonne résolution entre les paires de pics d'intérêts, le gradient 7 est le même gradient que le précédent, mais le pourcentage de phase aqueuse dans le plateau entre 5 et 11 minutes est plus élevé. En faisant cela, nous obtenons une meilleure résolution pour la paire Deg 6/Deg 5, mais une moins bonne résolution pour les paires Deg 1/Deg 3 et Deg 5/Mol 1. Pour le dernier gradient testé, le plateau a été changé afin de faire un gradient d'élution qui augmente de 15 à 20% durant 6 minutes. Ce gradient a permis d'éluer la majorité des composés avant la rééquilibration en plus d'améliorer la séparation des quatre paires de pics comparativement au gradient 7. À partir des résultats (tableau VI), il est possible de voir que le premier gradient a offert la meilleure séparation pour la première paire de pics. Pour la seconde paire de pics, soit le Deg 6 et son isomère, la séparation de ceux-ci est optimale pour tous les gradients. Le gradient 8 a offert la meilleure résolution pour la paire de pics Deg 6/Deg 5 et les quatre premiers gradients, la meilleure séparation pour le Deg 5/Mol 1.

Tableau VI. Résolution des quatre paires de pics suite aux essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne BEH Amide

	Gradient 1				Gradient 2				Gradient 3			
	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R
Deg 1/Deg 3	0,184	0,184	0,200	0,64	0,184	0,233	0,199	0,56	0,183	0,250	0,217	0,59
Deg 6/Deg 6 _{iso}	0,217	0,116	0,550	1,95	0,250	0,216	0,717	1,82	0,217	0,167	0,417	1,28
Deg 6 _{iso} /Deg 5	0,116	0,183	0,067	0,26	0,216	0,367	0,067	0,20	0,167	0,317	0,100	0,10
Deg 5/Mol 1	0,183	0,067	0,283	1,34	0,367	0,100	0,283	1,64	0,317	0,200	0,650	1,09

	Gradient 4				Gradient 5				Gradient 6			
	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R
Deg 1/Deg 3	0,184	0,200	0,183	0,51	0,166	0,217	0,183	0,56	0,200	0,216	0,200	0,57
Deg 6/Deg 6 _{iso}	0,250	0,233	0,384	1,39	0,166	0,134	0,384	1,51	0,167	0,184	0,550	1,85
Deg 6 _{iso} /Deg 5	0,233	0,317	0,066	0,14	0,134	0,266	0,100	0,30	0,184	0,366	0,150	0,32
Deg 5/Mol 1	0,317	0,350	0,584	1,03	0,266	0,250	0,366	0,84	0,366	0,300	0,483	0,86

	Gradient 7				Gradient 8			
	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R	W ₁ (min)	W ₂ (min)	Δt (min)	R
Deg 1/Deg 3	0,216	0,267	0,183	0,45	0,183	0,234	0,200	0,57
Deg 6/Deg 6 _{iso}	0,150	0,117	0,383	1,69	0,100	0,100	0,283	1,67
Deg 6 _{iso} /Deg 5	0,117	0,233	0,134	0,45	0,100	0,150	0,133	0,63
Deg 5/Mol 1	0,233	0,300	0,316	0,72	0,150	0,183	0,217	0,77

Malgré ces essais sur les deux colonnes, aucune d'entre elle n'a permis d'avoir la séparation chromatographique de tous les composés d'intérêts, particulièrement les quatre paires de pics qui coéluent. C'est pour cette raison que nous avons décidé de poursuivre l'optimisation du gradient d'élution avec la planification d'expériences. Cette méthode systématique nous permettra d'avoir une vue d'ensemble du comportement des deux colonnes sur la séparation de ces composés qui coéluent pour chacun des facteurs qui ont été choisis, de même que l'influence de chacun d'entre eux sur la résolution. Enfin, l'analyse statistique permettra de déterminer une combinaison de facteurs qui donnera la meilleure séparation même si celle-ci n'a pas été réalisée expérimentalement tout en étant statistiquement significative selon nos critères établis, et ce, en faisant le moins d'expériences possible.

3.3.2 Optimisation par DoE - *Design of Experiments*

La planification d'expériences (DoE) pour les deux colonnes a été faite en collaboration avec Mme Thanh Ngan Thang, une stagiaire d'été en chimie de l'Université de Montréal. Son travail a été de planifier les expériences selon la méthode cubique à face centrée, de les accomplir au laboratoire et de faire le traitement des données de ces résultats, et ce pour chaque colonne. Comme dans la première partie de l'optimisation de la séparation chromatographique, une solution de standards et le mélange DC et DS ont été injectés, de même que le code de couleur pour les analytes. La planification d'expériences était nécessaire pour l'optimisation du gradient d'éluion puisque dans la première partie, quatre paires de pics n'étaient pas bien résolus sur le chromatogramme (figure 36).

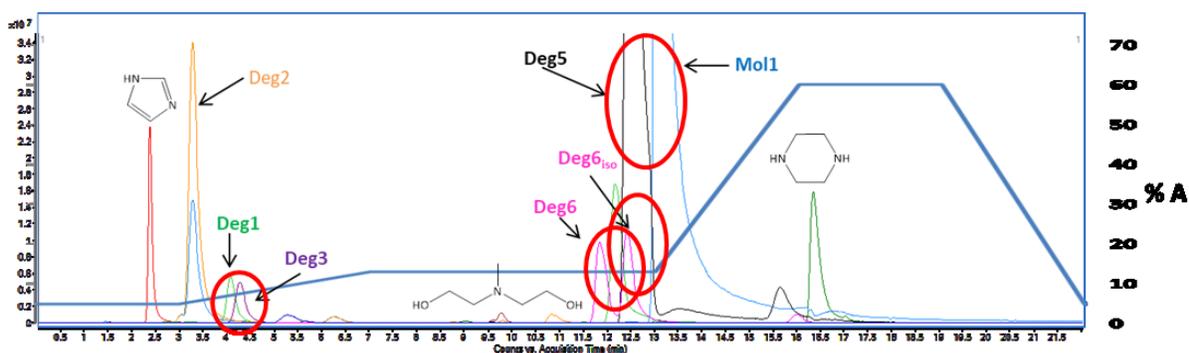


Figure 36. Chromatogramme d'une séparation sur la colonne BEH Amide démontrant la coélution de quatre paires de pics (encerclés en rouge). L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05% acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits dans le chapitre 2.3.

Dans la DoE cubique à face centrée, la réponse que nous avons choisi d'observer est la résolution de ces quatre paires de pics. La résolution a été choisie puisqu'il s'agit du meilleur paramètre chromatographique qui permet de quantifier une bonne séparation entre deux pics. Le but de faire cette DoE est d'avoir la meilleure séparation pour tous les composés et donc, d'avoir une résolution pour chaque pic qui soit supérieur à 1,50. Parmi les facteurs qui influencent la résolution, les trois facteurs qui ont été choisis pour remplir la matrice cubique à face centrée sont les mêmes pour les deux colonnes (figure 37). Le

premier facteur est le pourcentage de l'éluant aqueux au début du troisième segment du gradient, le second facteur est le temps du début du troisième segment du gradient et le troisième facteur est la variation de l'éluant aqueux de cette segment du gradient, soit un plateau soit une augmentation. Nous avons choisi ces facteurs dans cette section du gradient puisque c'est dans cette zone du chromatogramme qu'il n'y a pas de composé connu qui élué. Il est donc possible de modifier le gradient pour améliorer l'élution de trois des quatre paires de pics qui coéluent. De plus, en modifiant le temps du début du plateau, il est possible d'améliorer également la résolution de la première paire de pics qui coéluent. Les différents incréments spécifiques pour chaque colonne sont indiqués dans le tableau VII.

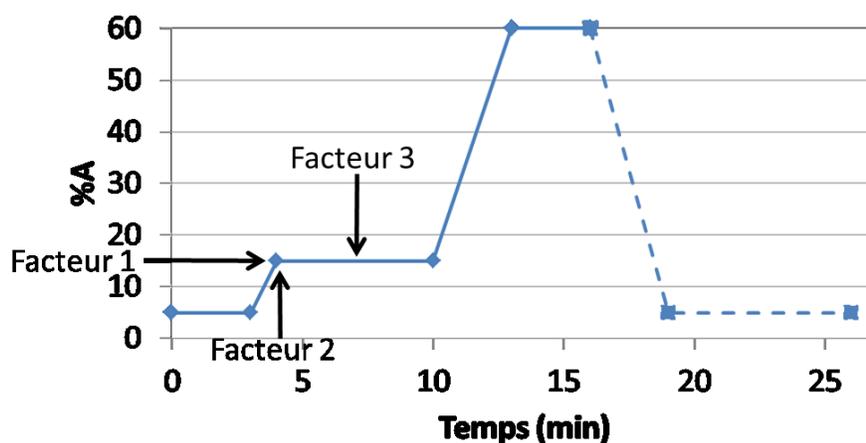


Figure 37. Illustration des trois facteurs qui ont été choisis pour la DoE cubiques à face centrée lors de l'optimisation du gradient d'élution. L'éluant A est 10 mM formate d'ammonium, 0,05% acide formique et 5% EtOH. L'éluant B est de l'acétonitrile et 5% EtOH. Les paramètres instrumentaux sont décrits dans le chapitre 2.3.

Tableau VII. Incréments pour les trois facteurs spécifiques à chaque colonne d'analyse pour la planification d'expériences

	BEH Amide			Luna CN		
	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Facteur 1 %A du 3 ^e segment	13%	15%	17%	15%	17%	20%
Facteur 2 Temps début du 3 ^e segment	4 min	5 min	6 min	3 min	4 min	5 min
Facteur 3 Variation de %A du 3 ^e segment	Fact. 1 + 0%	Fact. 1 + 3%	Fact. 1 + 5%	Fact. 1 + 0%	Fact. 1 + 3%	Fact. 1 + 5%

Tel qu'expliqué précédemment, la DoE donne l'opportunité d'avoir une vue d'ensemble de l'influence des différents facteurs sur la réponse qui a été choisie, mais également de voir les interactions entre chacun d'entre eux. La matrice expérimentale des quinze expériences pour chaque colonne est listée en annexe 11 et 12. La 15^e expérience a été faite à cinq reprises afin d'évaluer la variabilité et la répétabilité des mesures. Les conditions des éluants ont celles qui ont été optimisées dans le chapitre précédent, soit 10 mM de formate d'ammonium, 0,05% d'acide formique et 5% d'EtOH pour l'éluant aqueux, puis de l'acétonitrile et 5% d'EtOH pour l'éluant organique.

Des tests de répétabilité ont été faits sur les deux colonnes afin de s'assurer que la séparation sur les différentes phases stationnaires et la réponse des instruments face à celle-ci sont reproductibles (tableau VIII et IX). Ces tests ont également montrés la reproductibilité des temps de rétention et de la hauteur des pics des analytes ciblés. Pour les quatre paires de pics d'intérêts, le test de répétabilité a été de faire à cinq reprises l'expérience 15 pour chaque colonne puis de calculer la résolution pour ces paires de pics. Selon les résultats ci-dessous, nous pouvons voir que ceux-ci sont acceptables. Pour le développement d'une méthode d'analyse, l'écart-type relatif des mesures doit être le plus bas possible ce qui est le cas pour ces résultats. Ainsi, l'optimisation du gradient d'élution par la méthode de la planification d'expériences permet d'obtenir des résultats reproductibles tout en ayant un faible pourcentage d'écart entre les mesures.

Tableau VIII. Résultats des tests de répétabilité de l'expérience 15 du DoE pour la colonne BEH Amide

Paire de pics	Résolution Exp. 15	Moyenne	Écart-type	I.C. ^a (95%)	Écart-type relatif (%)
Deg 6 _{iso} /Deg 5	0,362	0,41	0,03	0,03	7
	0,417				
	0,418				
	0,417				
	0,421				
Deg 5/Mol 1	0,709	0,70	0,01	0,02	3
	0,699				
	0,718				
	0,688				
	0,691				
Deg 1/Deg 3	0,451	0,46	0,03	0,04	9
	0,428				
	0,434				
	0,508				
	0,479				
Deg 6/Deg 6 _{iso}	1,462	1,46	0,05	0,07	5
	1,370				
	1,510				
	1,470				
	1,480				

^a I.C.: Intervalle de confiance

Tableau IX. Résultats des tests de répétabilité de l'expérience 15 du DoE pour la colonne Luna CN

Paire de pics	Résolution Exp. 15	Moyenne	Écart-type	I.C. ^a (95%)	Écart-type relatif (%)
Deg 6/Deg 5	0,725	0,70	0,02	0,03	4
	0,669				
	0,711				
	0,698				
	0,697				
Deg 5/Mol 1	1,963	1,9	0,1	0,1	5
	1,929				
	1,683				
	1,929				
	1,878				
Deg 1/Deg 3	0,403	0,35	0,04	0,05	14
	0,316				
	0,336				
	0,291				
	0,333				
Deg 6 _s /Deg 6	1,150	1,21	0,06	0,07	6
	1,158				
	1,273				
	1,242				
	1,247				

^a I.C.: Intervalle de confiance

Pour les résultats qui seront présentés ci-dessous, des tableaux contenant les résolutions de chaque paire de pics se retrouvent aux annexes 13 et 14. Pour la colonne BEH Amide, les quinze expériences sont peu concluantes. Trois des quatre paires de pics ne sont pas encore suffisamment bien résolues selon les valeurs de R dans le tableau (annexe 13) et les graphiques ci-dessous (figure 38) qui donnent un aperçu des résultats pour une sélection des expériences parmi les 15 réalisées.

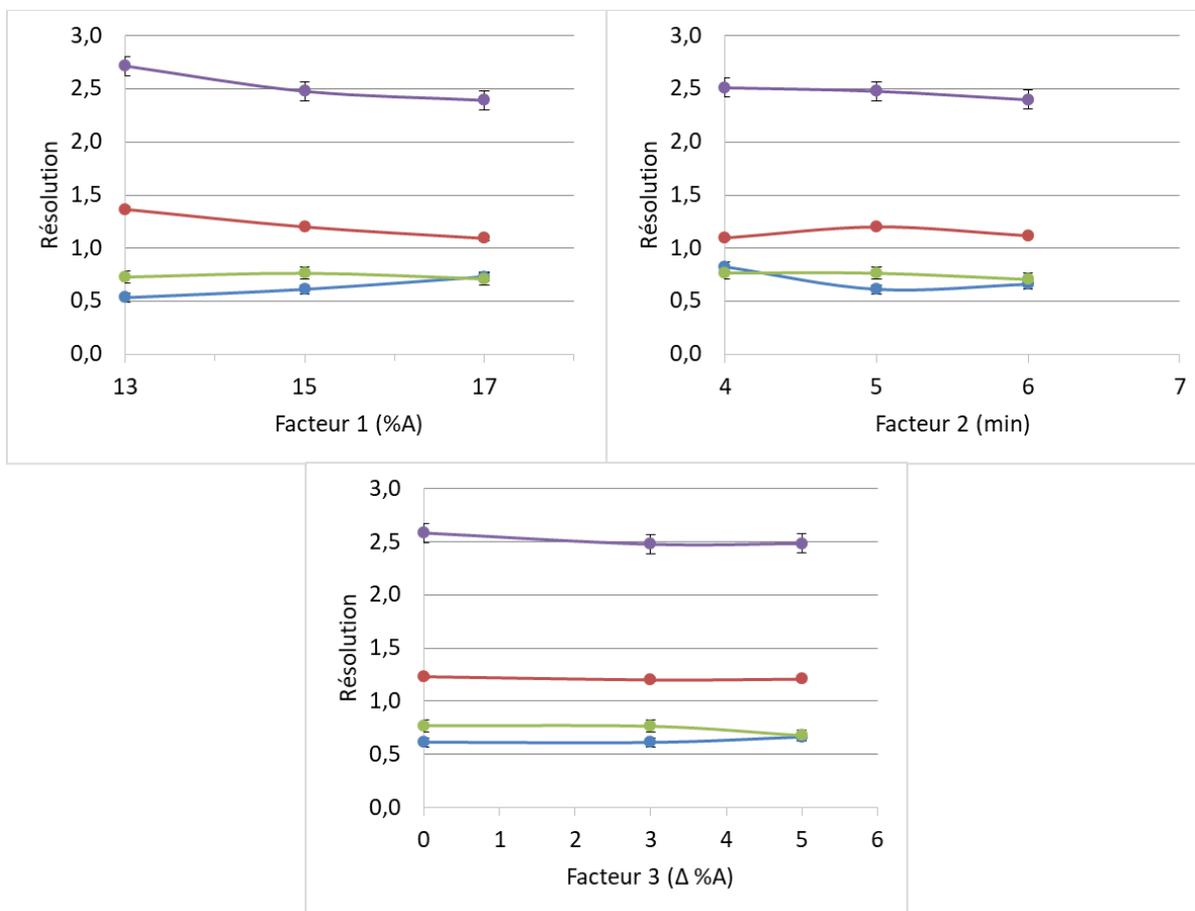


Figure 38. Variation de la résolution des quatre paires de pics selon chaque facteur pour la colonne BEH Amide lorsque les deux autres facteurs restent constants (Vert : Deg 1/Deg 3; Mauve : Deg 6/Deg 6_{iso}; Bleu : Deg 6_{iso}/Deg 5; Rouge : Deg 5/Mol 1)

En regardant plus en détails les résultats pour la colonne BEH Amide (figure 38), il est possible de voir que la variation de la résolution n'est pas significative. La séparation des composés n'est pas suffisamment influencée par la composition de la phase mobile qui est le paramètre que nous changeons avec la planification d'expériences. Pour les quatre paires de pics sur la colonne BEH Amide, la paire de pics Deg 6/Deg 6_{iso} a toujours été bien séparée, mais les autres n'ont pas eu une augmentation de la résolution pour dépasser le seuil de 1,50. Une analyse statistique plus poussée des résultats avec un logiciel de DoE est donc nécessaire afin de déterminer quelle combinaison des différents facteurs pourra donner la

meilleure résolution pour les quatre paires de pics si cela s'avère possible. Une seconde optimisation de la composition de la phase mobile en diminuant encore une fois la force ionique de l'éluant aqueux pourrait améliorer la séparation.

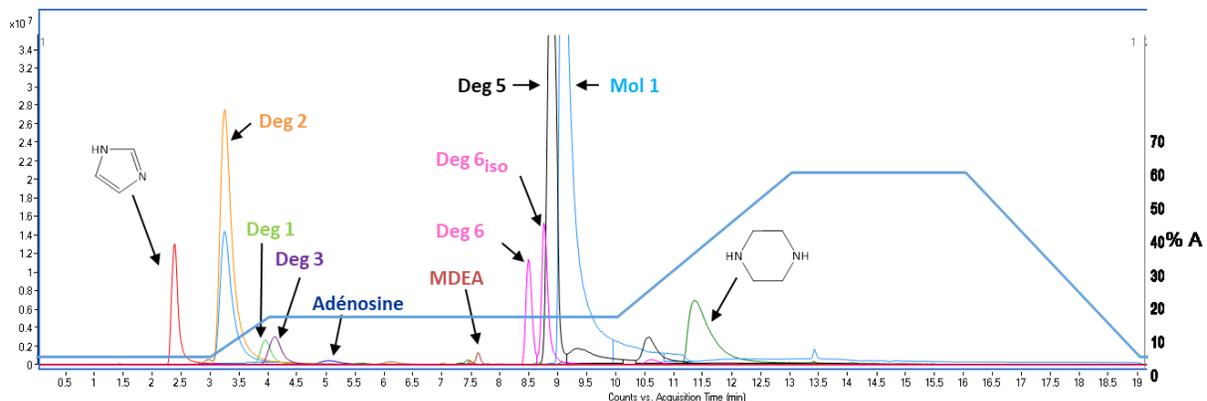


Figure 39. Chromatogramme de la meilleure combinaison des facteurs de la planification d'expériences, soit l'expérience #2, pour la colonne BEH Amide pour le mélange DC et DS.

Pour le DoE sur la colonne Luna CN, les résultats sont un peu plus satisfaisants selon les valeurs de R dans le tableau (annexe 14) et les graphiques ci-dessous (figure 40). Le même phénomène qui a été expliqué sur la colonne BEH Amide s'est produit. Certaines paires ont une résolution qui augmente tandis que pour d'autres elle diminue. En comparant les résultats des deux colonnes, soit les figures 38 et 40, la résolution de la paire de pic tracée en mauve qui correspond au Deg 6 et son isomère, est légèrement plus basse sur la Luna CN. Pour la courbe tracée en vert, les résultats sont similaires pour les deux colonnes. Toutefois, la colonne Luna CN offre une meilleure performance pour deux paires de pics, soit la paire de pics Deg 5/Mol 1 et Deg 6_{iso}/Deg 5 respectivement en rouge et en bleu. Les résolutions calculées pour chaque facteur se retrouvent à l'annexe 14. On peut ainsi dire que de manière générale, la colonne Luna CN donne de meilleurs résultats vis-à-vis la colonne BEH Amide.

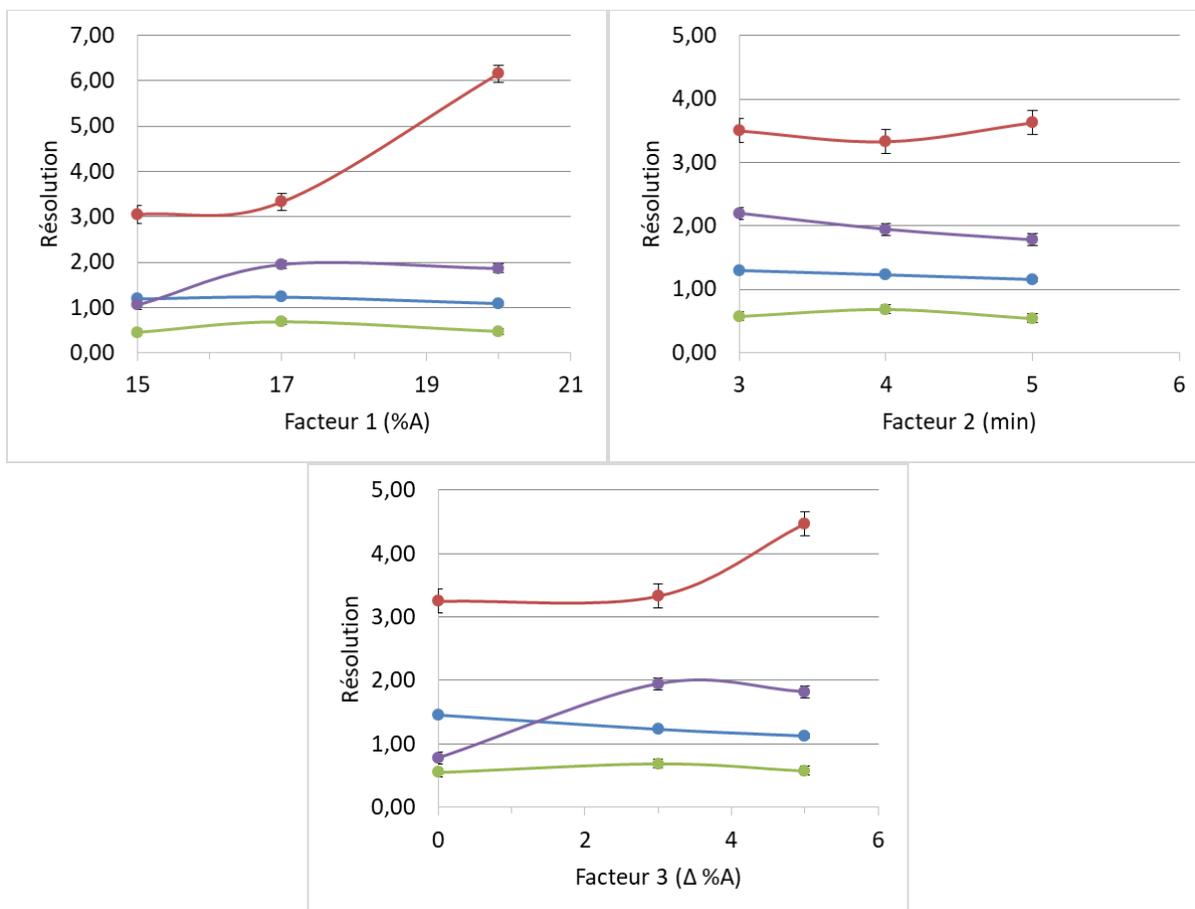


Figure 40. Variation de la résolution des quatre paires de pics selon chaque facteur pour la colonne Luna CN lorsque les deux autres facteurs restent constants (Vert : Deg 1/Deg 3; Mauve : Deg 6_{iso}/Deg 6; Bleu : Deg 6/Deg 5; Rouge : Deg 5/Mol 1)

La résolution étant le seul indicateur de performance évalué, une analyse plus détaillée permettant l'évaluation de chaque facteur (%A du 3^e segment, temps du début du 3^e segment et la variation du %A du 3^e segment) doit être faite. Cette analyse statistique plus poussée permettra alors de connaître si une des deux phases stationnaires peut séparer les produits de dégradation, le solvant de capture et l'étalon interne avec une résolution supérieure à 1,50 pour chaque composé. De plus, cette analyse statistique nous donnera une meilleure indication de l'influence des différents facteurs entre eux sur la séparation chromatographique obtenue. L'optimisation du gradient d'élution en utilisant cette

technique est prometteuse et elle offre des résultats plus concluants que lors des essais à tâtonnement comme qu'indiqué sur le chromatogramme de la meilleure combinaison de facteurs pour la colonne Luna CN (figure 41).

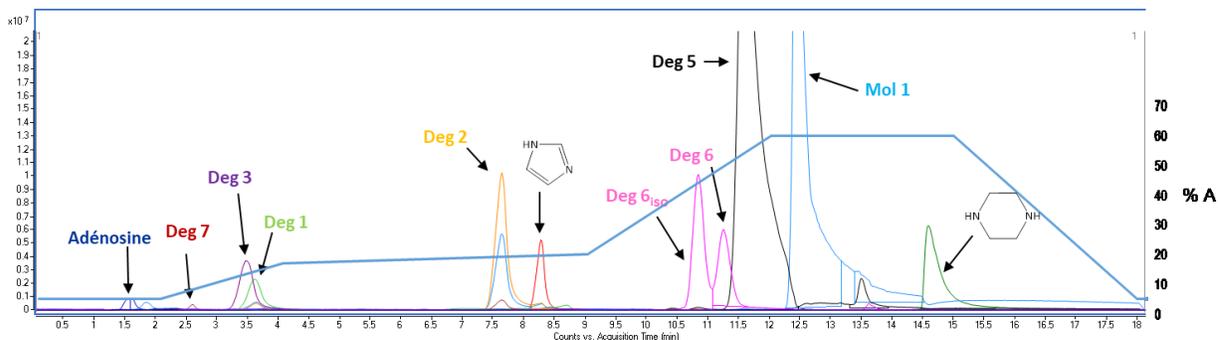


Figure 41. Chromatogramme de la meilleure combinaison des facteurs de la planification d'expériences, soit l'expérience #15, pour la colonne Luna CN pour le mélange DC et DS

Les travaux de recherche qui ont été réalisés dans ce chapitre ont permis d'optimiser la composition de l'éluant aqueux de la phase mobile et de ce fait même retirer la colonne PFP de la liste des colonnes choisies pour le développement de la méthode d'analyse des produits de dégradation. Pour les deux phases stationnaires restantes, soit la colonne BEH Amide et la colonne Luna CN, nous avons optimisé les paramètres chromatographiques. Parmi les paramètres qui ont été optimisés, on retrouve le choix de l'étalon interne, le débit de la phase mobile et le gradient d'éluant. Lors de l'optimisation du gradient d'éluant pour résoudre la séparation de certains pics problématiques du mélange DC et DS, deux approches ont été utilisées. La première approche, soit l'approche par tâtonnement, a permis d'améliorer la séparation chromatographique, mais pas suffisamment pour avoir une résolution optimale de tous les composés. C'est pourquoi nous avons poursuivi avec l'approche par la planification d'expériences. Cette technique d'analyse systématique rapide et économe a permis d'avoir une étude complète sur l'influence de trois facteurs du gradient d'éluant sur la séparation et la résolution de quatre paires de pics qui coéluait avant le début de l'optimisation de celui-ci. Avant l'analyse statistique des résultats de cette

planification d'expériences, deux des quatre paires de pics ont été résolues sur la colonne Luna CN. L'analyse statistique permettra donc d'obtenir la combinaison des trois facteurs qui offrent la séparation optimale et une résolution des pics au-dessus de 1,50 sur les deux colonnes si cela s'avère être une possibilité.

CONCLUSION

4.1 Sommaire des résultats

Pour conclure, les travaux de recherche de ce mémoire ont permis de déterminer plusieurs paramètres chromatographiques afin d'obtenir une méthode d'analyse par LC-MS permettant de séparer près d'une dizaine de produits de dégradations connus d'un solvant de capture du CO₂ régénérable. Ces produits de dégradations étaient les plus abondants dans les échantillons qui ont subi un processus de capture/régénération. Parmi les paramètres chromatographiques qui ont été optimisés durant ces travaux, le choix des éluants et des additifs qui y sont ajoutés, le débit de la phase mobile, le choix des étalons internes et le gradient d'élution ont été réalisés. Au début du projet, cinq colonnes HILIC avec différentes chimies ont été choisies pour le développement de la méthode d'analyse, et au final, deux seulement ont été sélectionnées pour la dernière étape d'optimisation, soit celle du gradient d'élution. La composition de la phase mobile aqueuse est donc de 10 mM de formate d'ammonium avec 0,05% d'acide formique et 5% d'EtOH, puis celle de la phase mobile organique, de l'acétonitrile avec 5% d'EtOH. Pour les deux colonnes qui ont été choisies, soit la BEH Amide et la Luna CN, nous avons confirmé le choix de l'étalon interne pour chacune d'entre elles, de même que le débit de la phase mobile qui donne la meilleure efficacité de séparation pour les analytes d'intérêts. Pour la colonne BEH Amide, l'étalon interne est l'imidazole et le débit optimal, 0,5 mL/min. Pour la colonne Luna CN, l'étalon interne est l'adénosine et le débit optimal de phase mobile devrait être similaire à celui de la BEH Amide. Malheureusement, l'optimisation du gradient d'élution, que ce soit par tâtonnement ou à l'aide de la planification d'expériences, n'a pas permis d'obtenir une résolution nécessaire pour séparer tous les composés présents dans le mélange DC et DS. Bien que la résolution chromatographique des constituants majeurs contenus dans des échantillons ayant subi un processus de capture/régénération n'a pas été obtenue, les analytes ont pu être séparés et détectés par LC-MS. Une résolution supérieure à 1,50 n'est pas nécessaire pour leurs analyses, à l'exception des isomères qui coéluent. La spectrométrie de masse est cependant nécessaire pour l'analyse de ces composés de dégradation. Certains composés analysés qui

coéluant n'ont pas de chromophores qui permettrait de les analyser par des méthodes spectroscopiques. Une analyse statistique des différents résultats obtenus lors de la planification d'expérience ou refaire des essais de la planification d'expériences en utilisant d'autres facteurs qui influencent la résolution des pics (pH de l'éluant, température de la colonne) pourrait mener à la séparation optimale de tous les pics chromatographiques. Ainsi, le choix de la méthode pour les travaux de recherche de ce mémoire est pertinent et aura un impact lorsque la méthode sera validée. D'autres études ont été faites pour séparer des nitrosamines, mais les phases stationnaires qui ont été utilisées étaient des phases inverses, C₈ ou C₁₈, donc la comparaison des résultats n'est pas possible.⁷³⁻⁷⁵

4.2 Perspectives de recherche

Les travaux de recherches effectués ont permis de développer une méthode d'analyse par LC-MS afin de séparer et de quantifier différents produits de dégradations connus d'une molécule qui est utilisée pour la capture du CO₂ lors de la combustion des combustibles fossiles sur deux phases stationnaires. Les futurs travaux porteront d'abord sur la finalisation de l'optimisation du gradient d'élution sur une seule des deux colonnes et la validation de cette méthode d'analyse. Il faudra également s'attarder à identifier de nouvelles espèces qui sont présentes dans ces solutions à l'aide de la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) pour obtenir leurs masses exactes et leurs spectres de fragmentation MS/MS. Ces résultats devront être comparés avec des échantillons qui n'ont pas subi le processus de capture/régénération afin de s'assurer que les nouvelles espèces soient bel et bien des produits de dégradations. Finalement, il faudra transférer la méthode optimisée et validée auprès de notre partenaire industriel, de même que leur fournir la liste des nouveaux produits de dégradations qui auraient été identifiés par HRMS.

BIBLIOGRAPHIE

1. IPCC, *IPCC Carbon dioxide capture and storage*. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), Working Group III, Cambridge University Press: Cambridge and New York, 2005.
2. UNFCCC, *Kyoto Protocol Reference Manual on Accounting of Emissions and Assigned Amount*. Cambridge University Press: Cambridge and New York, 2008.
3. UNFCCC, *Adoption of the Paris Agreement*. United Nations Framework Convention on Climate Change (UNFCCC): Paris, France, 2015.
4. Budzianowski, W. M., *Energy Efficient Solvents for CO₂ Capture by Gas-Liquid Absorption*. Springer International Publishing AG: Wroclaw, Poland, 2017.
5. Gibbins, J.; Chalmers, H., *Energy Policy* **2008**, *36* (12), 4317-4322.
6. Singh, A.; Stéphenne, K., *Energy Procedia* **2014**, *63*, 1678-1685.
7. Shaw, D., *Energy Procedia* **2009**, *1* (1), 237-246.
8. Singh, P. Amine based solvent for CO₂ absorption. From molecular structure to process. University of Twente, Enschede, 2011.
9. Just, P.-E., *Energy Procedia* **2013**, *37*, 314-324.
10. Deiana, P.; Bassano, C.; Cali, G.; Miraglia, P.; Maggio, E., *Fuel* **2017**, *207*, 663-670.
11. Bui, M.; Adjiman, C. S.; Bardow, A.; Anthony, E. J.; Boston, A.; Brown, S.; Fennell, P. S.; Fuss, S.; Galindo, A.; Hackett, L. A.; Hallett, J. P.; Herzog, H. J.; Jackson, G.; Kemper, J.; Krevor, S.; Maitland, G. C.; Matuszewski, M.; Metcalfe, I. S.; Petit, C.; Puxty, G.; Reimer, J.; Reiner, D. M.; Rubin, E. S.; Scott, S. A.; Shah, N.; Smit, B.; Trusler, J. P. M.; Webley, P.; Wilcox, J.; Mac Dowell, N., *Energy & Environmental Science* **2018**, *11* (5), 1062-1176.
12. Blunt, M.; Fayers, F. J.; Orr, F. M., *Energy Conversion and Management* **1993**, *34* (9), 1197-1204.
13. Thambimuthu, K., Gupta, M., Davison, J., CO₂ Capture and Reuse : Workshop on carbon dioxide capture and storage Proceedings. ECN: Netherlands, 2003.
14. Stéphenne, K., *Energy Procedia* **2014**, *63*, 6106-6110.
15. Caplow, M., *Journal of the American Chemical Society* **1968**, *90* (24), 6795-6803.
16. Crooks, J. E.; Donnellan, J. P., *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1989**, (4), 331-333.
17. Khalili, F.; Henni, A.; East, A. L. L., *Journal of Chemical & Engineering Data* **2009**, *54* (10), 2914-2917.
18. Heldebrant, D. J.; Koech, P. K.; Glezakou, V.-A.; Rousseau, R.; Malhotra, D.; Cantu, D. C., *Chemical Reviews* **2017**, *117* (14), 9594-9624.

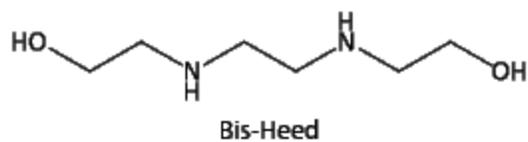
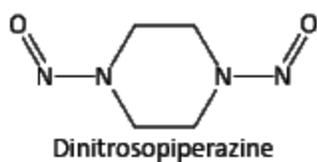
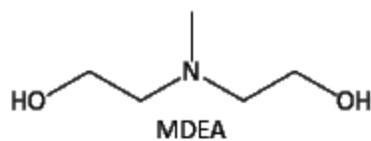
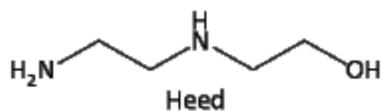
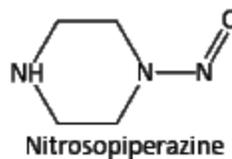
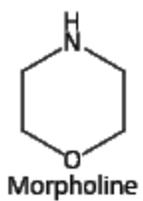
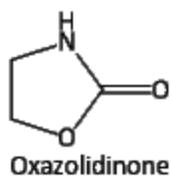
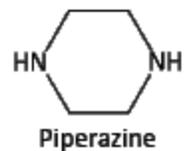
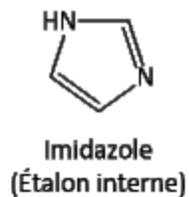
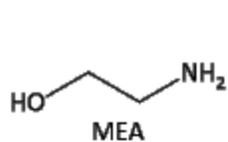
19. Freeman, S. A. Thermal Degradation and Oxidation of Aqueous Piperazine for Carbon Dioxide Capture. The University of Texas at Austin, 2011.
20. Lepaumier, H.; da Silva, E. F.; Einbu, A.; Grimstvedt, A.; Knudsen, J. N.; Zahlsen, K.; Svendsen, H. F., *Energy Procedia* **2011**, *4*, 1652-1659.
21. Gouedard, C.; Picq, D.; Launay, F.; Carrette, P. L., *International Journal of Greenhouse Gas Control* **2012**, *10*, 244-270.
22. Lingdi, C.; Haifeng, D.; Xiangping, Z.; Suojiang, Z.; Zhijun, Z.; Shaojuan, Z.; Jubao, G., *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **2015**, *90* (10), 1918-1926.
23. Kruszczyk, E.; Kierzkowska-Pawlak, H., *CO2 Capture by Absorption in Activated Aqueous Solutions of N,N-Diethylethanolamine*. 2017; Vol. 24.
24. Idem, R.; Wilson, M.; Tontiwachwuthikul, P.; Chakma, A.; Veawab, A.; Aroonwilas, A.; Gelowitz, D., *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2006**, *45* (8), 2414-2420.
25. Yang, H.; Xu, Z.; Fan, M.; Gupta, R.; Slimane, R. B.; Bland, A. E.; Wright, I., *Journal of Environmental Sciences* **2008**, *20* (1), 14-27.
26. Fredriksen, S. B.; Jens, K.-J., *Energy Procedia* **2013**, *37*, 1770-1777.
27. Lepaumier, H.; Picq, D.; Carrette, P.-L., *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2009**, *48* (20), 9061-9067.
28. Lepaumier, H.; Picq, D.; Carrette, P.-L., *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2009**, *48* (20), 9068-9075.
29. Spietz, T.; Dobras, S.; Więclaw-Solny, L.; Krótki, A., **2017**, *28* (4), 43.
30. Shen, K. P.; Li, M. H., *Journal of Chemical & Engineering Data* **1992**, *37* (1), 96-100.
31. Bougie, F.; Iliuta, M. C., *International Journal of Greenhouse Gas Control* **2014**, *29*, 16-21.
32. Dubois, L.; Thomas, D., *Energy Procedia* **2011**, *4*, 1353-1360.
33. Nielsen, P. T.; Li, L.; Rochelle, G. T., *Energy Procedia* **2013**, *37*, 1912-1923.
34. Cullinane, J. T.; Rochelle, G. T., *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2006**, *45* (8), 2531-2545.
35. Freeman, S. A.; Rochelle, G. T., *Energy Procedia* **2011**, *4*, 43-50.
36. Freeman, S. A.; Rochelle, G. T., *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2012**, *51* (22), 7719-7725.
37. Plumlee, M. H.; López-Mesas, M.; Heidelberger, A.; Ishida, K. P.; Reinhard, M., *Water Research* **2008**, *42* (1), 347-355.
38. Wang, W.; Ren, S.; Zhang, H.; Yu, J.; An, W.; Hu, J.; Yang, M., *Water Research* **2011**, *45* (16), 4930-4938.

39. Harris, D. C., *Quantitative Chemical Analysis*. W.H. Freeman and Compagny: New York, Unites States of America, 2016; Vol. 8.
40. Scott, R. P. W., *Journal of Chromatography A* **1976**, *122*, 35-53.
41. Snyder, L. R., Kirkland, J.J., Dolan, J.W., *Introduction to modern liquid chromatography*. John Wiler & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, United States of America, 2010; Vol. 3.
42. Zhang, Y. *Liquid Chromatography: Injection Broadening in Ion Chromatography and Retention Properties of a New Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography Statioary Phase*. University of Alberta, 2014.
43. van Deemter, J. J.; Zuiderweg, F. J.; Klinkenberg, A., *Chemical Engineering Science* **1995**, *50* (24), 3869-3882.
44. Unger Klaus, K., Ditz, R., Machtejevas, E., Skudas, R., *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (13), 2300-2312.
45. Buszewski, B.; Noga, S., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2012**, *402* (1), 231-247.
46. Ikegami, T.; Tomomatsu, K.; Takubo, H.; Horie, K.; Tanaka, N., *Journal of Chromatography A* **2008**, *1184* (1), 474-503.
47. Jandera, P., *Analytica Chimica Acta* **2011**, *692* (1), 1-25.
48. Guo, Y.; Gaiki, S., *Journal of Chromatography A* **2011**, *1218* (35), 5920-5938.
49. Jandera, P.; Janás, P., *Analytica Chimica Acta* **2017**, *967*, 12-32.
50. Wang, P. G., He, W., *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) and Advanced Applications*. CRC Press: Boca Raton, United States of America, 2011.
51. McCalley, D. V., *Journal of Chromatography A* **2010**, *1217* (20), 3408-3417.
52. McCalley, D. V.; Neue, U. D., *Journal of Chromatography A* **2008**, *1192* (2), 225-229.
53. Kaczmarski, K.; Prus, W.; Kowalska, T., *J Chromatogr A* **2000**, *869* (1-2), 57-64.
54. Periat, A., Krull, I. S., Davy, G., *Journal of Separation Science* **2015**, *38* (3), 357-367.
55. McCalley, D. V., *Journal of Chromatography A* **2010**, *1217* (6), 858-880.
56. Holčápek, M.; Jirásko, R.; Lísa, M., *Journal of Chromatography A* **2012**, *1259*, 3-15.
57. Gross, J. H., *Mass Spectrometry: A Textbook*. Verlag Berlin Heidelberg, 2004; Vol. 1.
58. Menet, M.-C., *Revue Francophone des Laboratoires* **2011**, *2011* (437), 41-53.
59. Lee, D.-Y.; Chang, G.-D., *Journal of Chromatography A* **2015**, *1388*, 60-68.
60. Whitehouse, C. M.; Dreyer, R. N.; Yamashita, M.; Fenn, J. B., *Anal. Chem.* **1985**, *57* (3), 675-679.
61. Brunnée, C., *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1987**, *76* (2), 125-237.

62. Yost, R. A., Enke, C.G., *Anal. Chem.* **1979**, *51* (12), 1251 A - 1264 A.
63. Opsal, R. B., Owens, K. G., Reilly, J. P., *Anal. Chem.* **1985**, *57* (9), 1844-1889.
64. Marable, N. L.; Sanzone, G., *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics* **1974**, *13* (3), 185-194.
65. Ulrich, B., *Mass Spectrometry Reviews* **2017**, *36* (1), 86-109.
66. Cotter, R. J., *Anal. Chem.* **1999**, *71* (13), 445A-451A.
67. Condra, L. W., *Reliability Improvement with Design of Experiments*. CRC Press: Boca Raton, FL, 1991; Vol. 2.
68. Ko, C.-W.; Lee, J.; Queyranne, M., *Operations Research* **1995**, *43* (4), 684-691.
69. Kaur, N. Fractionation, Chemical and Toxicological Characterization of Tobacco Smoke Components. Université de Montréal, Montréal, 2010.
70. Leardi, R., *Analytica Chimica Acta* **2009**, *652* (1), 161-172.
71. Hibbert, D. B., *Journal of Chromatography B* **2012**, *910*, 2-13.
72. Santasania, C. T., Bell, D.S., *LCGC North America* **2016**, *34* (2), 92-105.
73. Wu, M.; Qian, Y.; Boyd, J. M.; Leavey, S.; Hrudey, S. E.; Krasner, S. W.; Li, X.-F., *Environmental Science & Technology* **2014**, *48* (3), 1828-1834.
74. Qian, Y.; Wu, M.; Wang, W.; Chen, B.; Zheng, H.; Krasner, S. W.; Hrudey, S. E.; Li, X.-F., *Anal. Chem.* **2015**, *87* (2), 1330-1336.
75. Chen, B.; Qian, Y.; Wu, M.; Zhu, L.; Hu, B.; Li, X.-F., *Environmental Science & Technology* **2015**, *49* (1), 459-466.

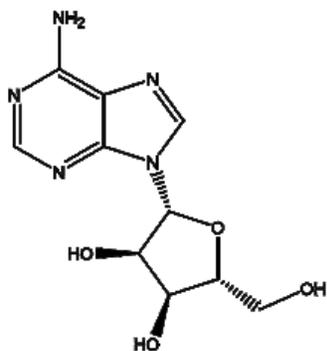
ANNEXES

Annexe 1. Structure chimique des différents composés d'intérêts à l'étude

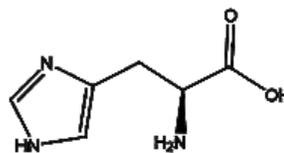


Annexe 2. Structure chimique des composés fournis par le laboratoire de la
Professeure Joelle Pelletier

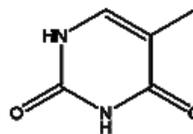
Adénosine



L-Histidine



Thymine



Annexe 3. Transitions MRM des composés de dégradation attendus

Nom de l'analyte	m/z de l'ion précurseur	m/z de l'ion fragment	Voltage de la cellule de collision / V
MEA	62,0	62,0	0
Imidazole (EI) ^a	69,0	42,0	30
Piperazine	87,1	44,1	20
Oxazolidinone	88,1	44,1	15
Morpholine	88,1	70,1	20
Heed	105,1	88,1	10
Nitrosopiperazine	116,1	85,1	12
MDEA	120,0	102,0	20
Mol 1	131,0	88,1	20
Deg 4	132,2	114,1	20
Dinitrosopiperazine	145,0	145,0	0
Deg 1	145,1	117,1	12
Bis-Heed	149,1	88,1	12
Deg 2	159,2	131,2	10
Deg 7	160,0	99,1	20
Deg 5	175,0	88,1	20
Deg 3	189,2	88,1	25
Deg 6	219,2	100,1	25

^a EI : étalon interne

Annexe 4. Masses exactes des différents composés étudiés

Nom de l'analyte	Masse exacte de l'ion [M+H] ⁺
MEA	62,0600
Imidazole (EI) ^a	69,0450
Piperazine	87,0917
Oxazolidinone	88,0399
Morpholine	88,0760
Heed	105,1022
Nitrosopiperazine	116,0807
MDEA	120,1019
Thymine (EI) ^a	127,0508
Mol 1	131,1179
Deg 4	132,1020
Dinitrosopiperazine	145,0720
Deg 1	145,0973
Bis-Heed	149,1283
L-Histidine (EI) ^a	156,0773
Deg 2	159,1126
Deg 7	160,1078
Deg 5	175,1431
Deg 3	189,1234
Deg 6	219,1710
Adénosine (EI) ^a	268,1046

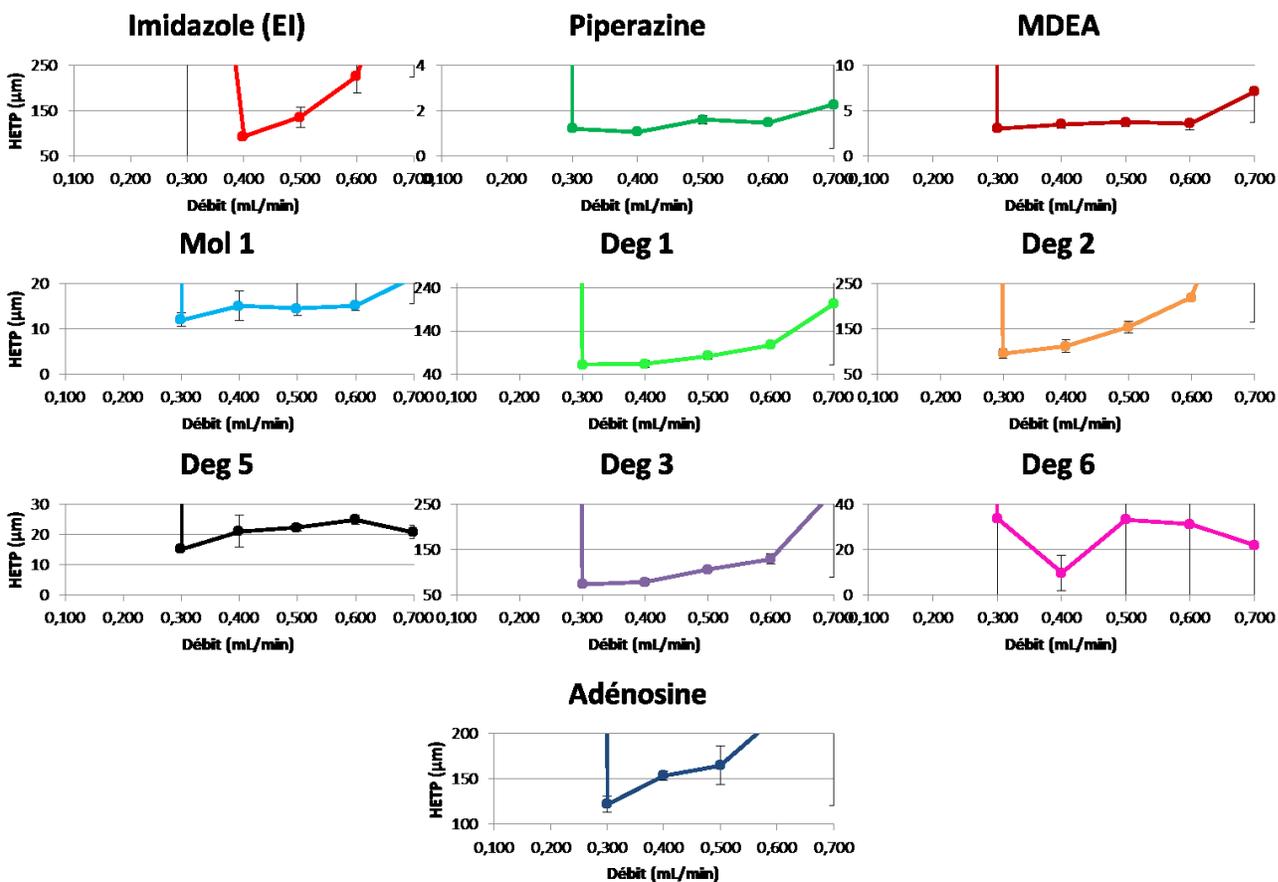
^a EI : étalon interne

Annexe 5. Comparaison des résultats des 5 colonnes avec les 5 différentes compositions des phases mobiles détaillées^a

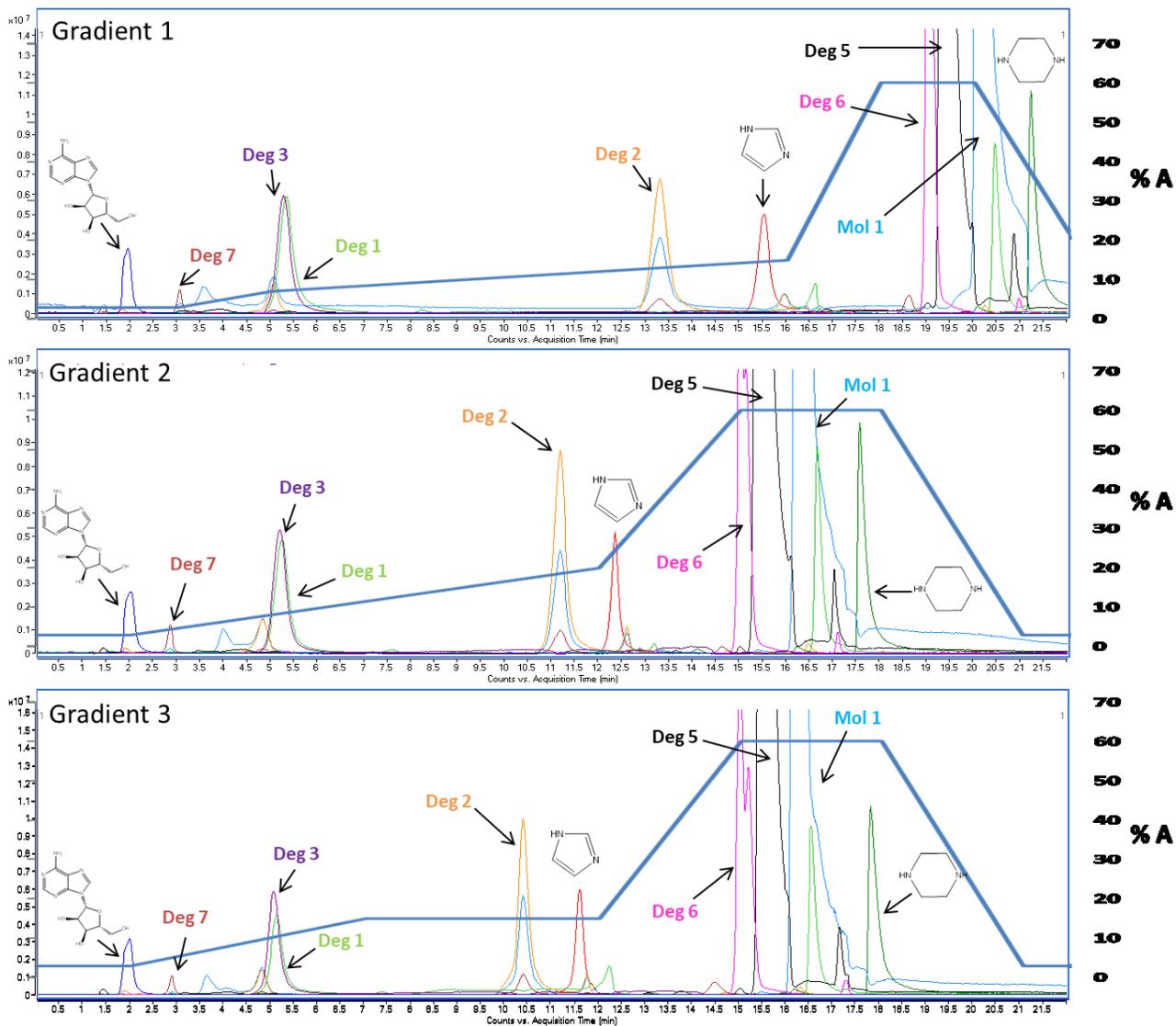
N	# pics	A et B		10% MeOH dans B		5% MeOH dans A et B		10% MeOH dans A et B		5% EtOH dans A et B	
Luna HILIC	4100	7	1000	8	1800	9	800	8	2400	9	
	6,7	1,95	5,8	2,01	6,2	2,07	5,9	2,13	6,4	2,00	
Kinetex HILIC	19500	9	14500	11	22000	10	18200	12	25800	10	
	9,1	2,58	9,3	2,99	9,4	2,81	9,9	2,74	10,3	2,28	
PFP	6400	10	8900	12	9400	13	8100	12	10000	12	
	11,8	2,46	8,5	1,858	8,3	1,97	8,4	1,99	8,6	2,04	
Luna CN	28700	11	23900	11	26000	11	19400	12	25900	10	
	10,9	1,58	9,6	1,52	9,5	1,68	10,0	1,53	9,8	1,52	
BEH Amide	19400	11	7900	11	11100	10	6100	11	13200	11	
	8,2	1,20	7,4	1,55	8,1	1,66	7,4	1,71	7,9	1,63	

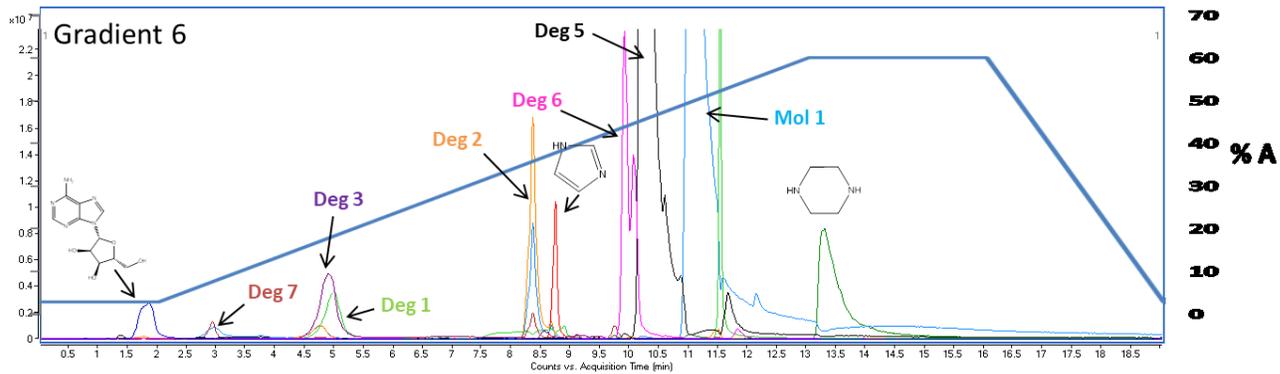
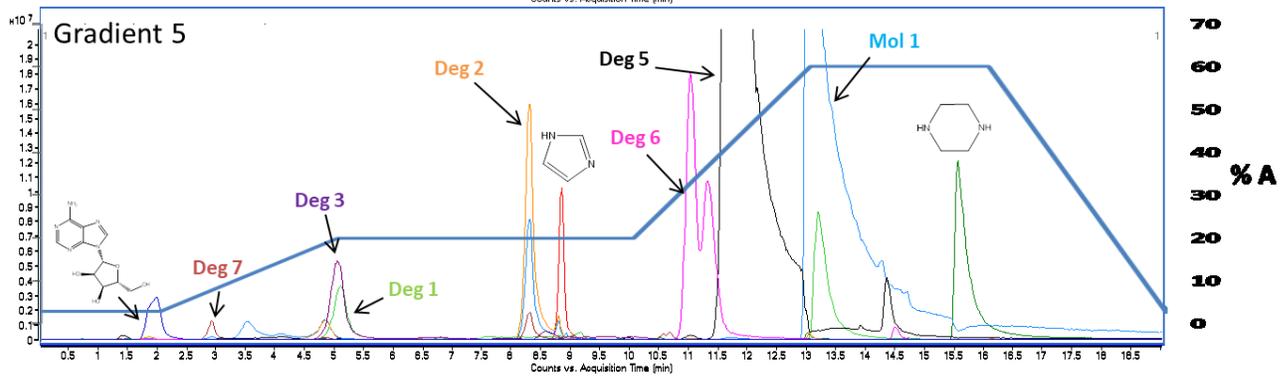
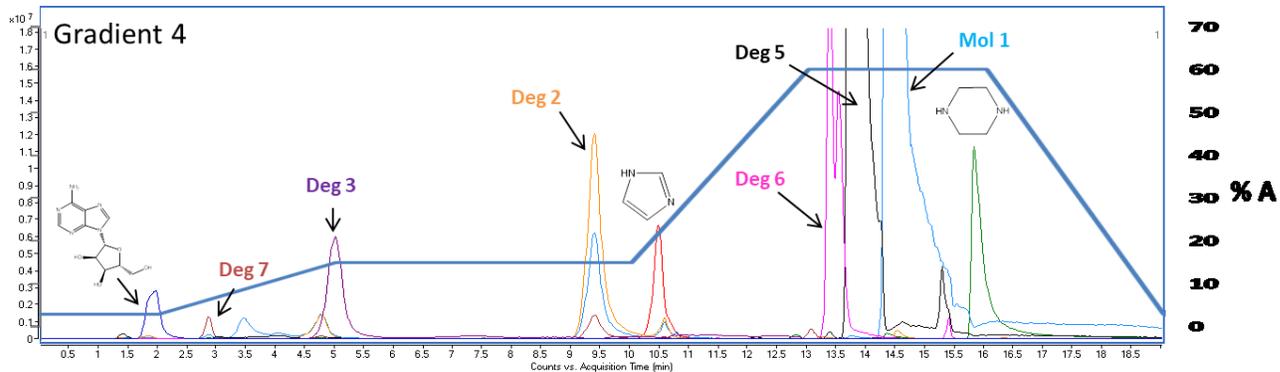
^a Les résultats surlignés en jaunes représentent la meilleure condition de phase mobile pour chaque phase stationnaire. L'éluant aqueux est 20 mM de formate d'ammonium et l'éluant organique de l'acétonitrile.

Annexe 6. Courbes van Deemter obtenues pour les composés d'intérêts sur la colonne BEH Amide



Annexe 7. Chromatogrammes des différents essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne Luna CN





Annexe 8. Essais de différents gradients d'élution à tâtonnement sur la colonne

Luna CN

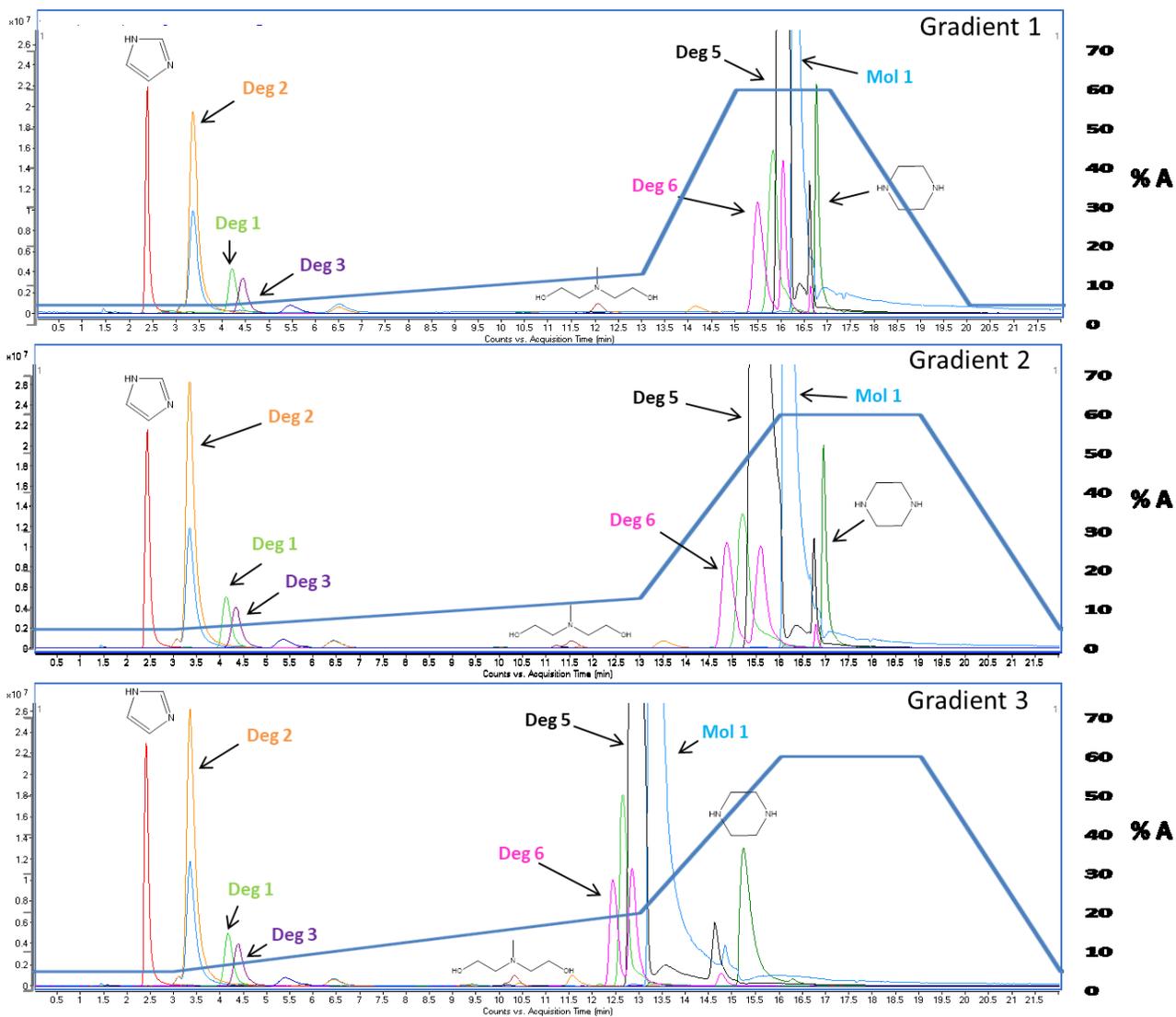
Gradient 1		Gradient 2		Gradient 3		Gradient 4		Gradient 5		Gradient 6	
Temps (min)	%A										
0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3
3	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
5	7	12	20	7	15	5	15	5	20	13	60
16	15	15	60	12	15	10	15	10	20	16	60
18	60	18	60	15	60	13	60	13	60	19	3
20	60	21	3	18	60	16	60	16	60	28	3
23	3	30	3	21	3	19	3	19	3		
30	3			30	3	28	3	28	3		

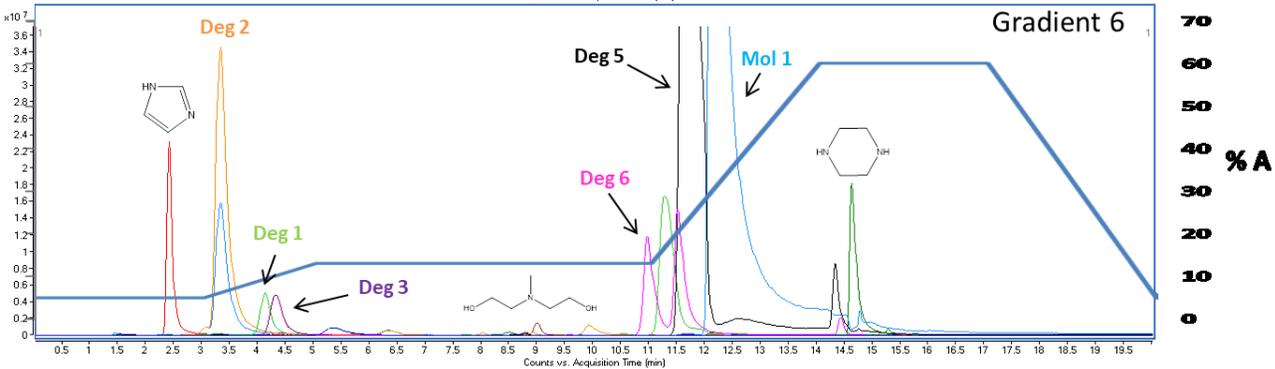
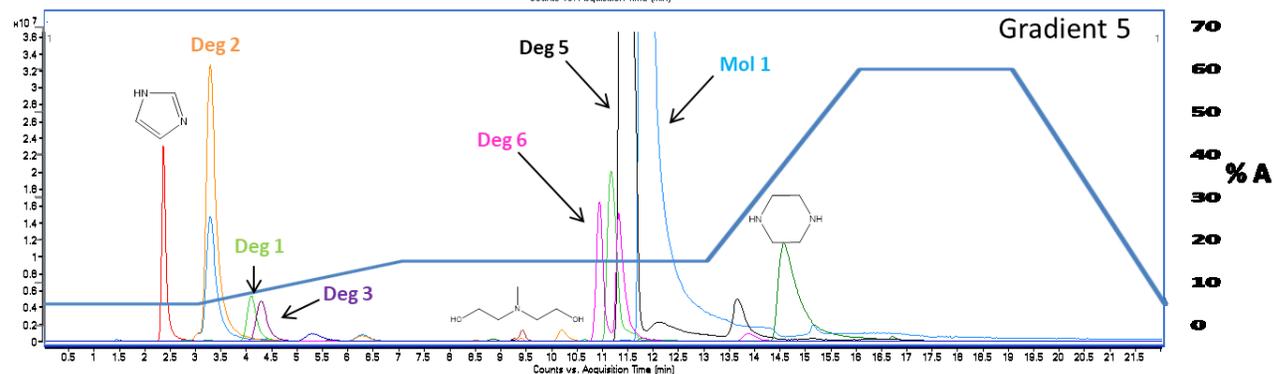
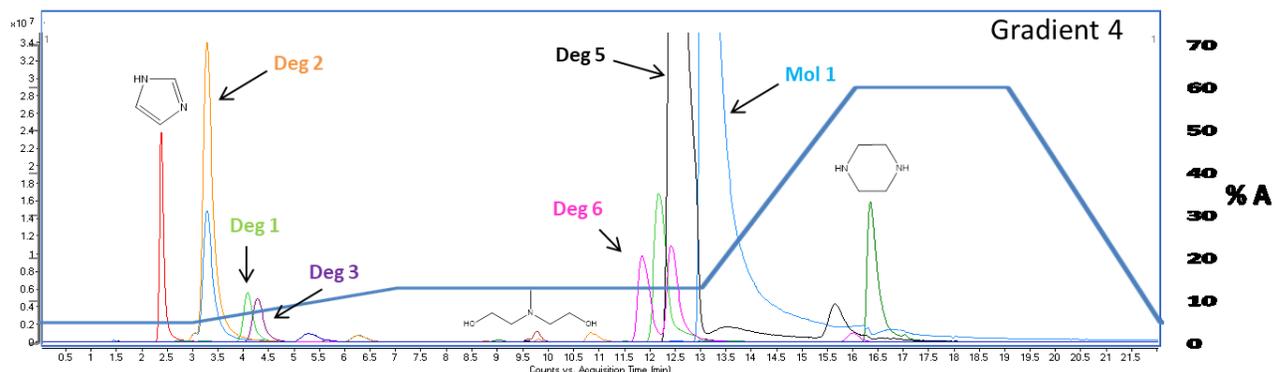
Annexe 9. Essais de différents gradients d'élution à tâtonnement sur la colonne BEH

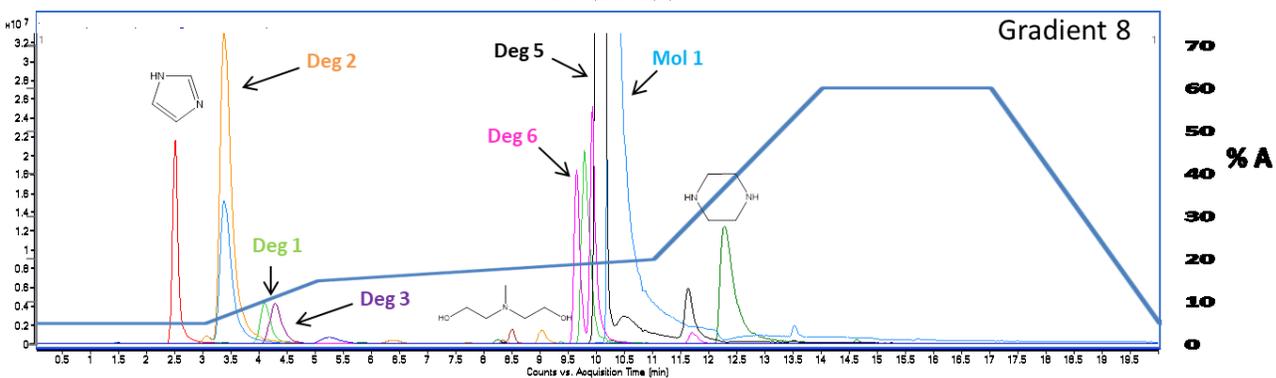
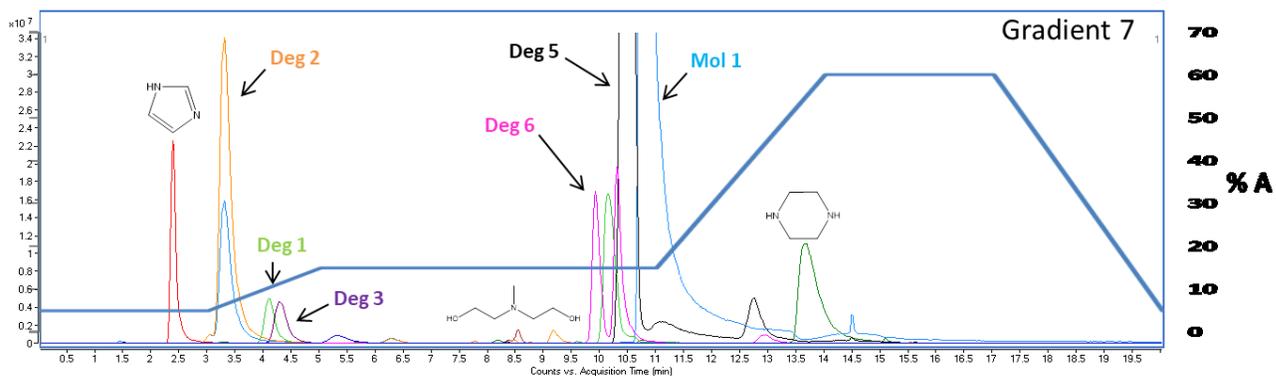
Amide

Gradient 1		Gradient 2		Gradient 3					
Temps (min)	%A	Temps (min)	%A	Temps (min)	%A				
0	5	0	5	0	5				
4	5	3	5	3	5				
13	13	13	13	13	20				
15	60	16	60	16	60				
17	60	19	60	19	60				
20	5	22	5	22	5				
27	5	30	5	30	5				
Gradient 4		Gradient 5		Gradient 6		Gradient 7		Gradient 8	
Temps (min)	%A								
0	5	0	5	0	5	0	5	0	5
3	5	3	5	3	5	3	5	3	5
7	13	7	15	5	13	5	15	5	15
13	13	13	15	11	13	11	15	11	20
16	60	16	60	14	60	14	60	14	60
19	60	19	60	17	60	17	60	17	60
22	5	22	5	20	5	20	5	20	5
30	5	30	5	28	5	28	5	28	5

Annexe 10. Chromatogrammes des différents essais à tâtonnement pour l'optimisation du gradient d'élution sur la colonne BEH Amide







Annexe 11. «Matrice expérimentale» de la DoE avec la colonne BEH Amide

Expérience	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	13%	4 min	13% - 13%
2	17%	4 min	17% - 17%
3	13%	6 min	13% - 13%
4	17%	6 min	17% - 17%
5	13%	4 min	13% - 18%
6	17%	4 min	17% - 22%
7	13%	6 min	13% - 18%
8	17%	6 min	17% - 22%
9	13%	5 min	13% - 16%
10	17%	5 min	17% - 20%
11	15%	4 min	15% - 18%
12	15%	6 min	15% - 18%
13	15%	5 min	15% - 15%
14	15%	5 min	15% - 20%
15	15%	5 min	15% - 18%

Annexe 12. «Matrice expérimentale» de la DoE avec la colonne Luna CN

Expérience	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	15%	3 min	15% - 15%
2	20%	3 min	20% - 20%
3	15%	5 min	15% - 15%
4	20%	5 min	20% - 20%
5	15%	3 min	15% - 20%
6	20%	3 min	20% - 25%
7	15%	5 min	15% - 20%
8	20%	5 min	20% - 25%
9	15%	4 min	15% - 18%
10	20%	4 min	20% - 23%
11	17%	3 min	17% - 20%
12	17%	5 min	17% - 20%
13	17%	4 min	17% - 17%
14	17%	4 min	17% - 22%
15	17%	4 min	17% - 20%

Annexe 13. Résolutions pour la DoE pour la colonne BEH Amide

	Expérience 1			Expérience 2			Expérience 3		
Résolution	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R
Deg 6 _{iso} /Deg 5	0,441	0,151	0,34	0,252	0,133	0,53	0,472	0,133	0,28
Deg 5/Mol 1	0,587	0,450	0,77	0,328	0,183	0,56	0,581	0,500	0,86
Deg 1/Deg 3	0,360	0,143	0,40	0,364	0,167	0,46	0,362	0,151	0,42
Deg 6/Deg 6 _{iso}	0,276	0,482	1,74	0,196	0,251	1,28	0,314	0,500	1,59
	Expérience 4			Expérience 5			Expérience 6		
Résolution	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R
Deg 6 _{iso} /Deg 5	0,244	0,100	0,41	0,290	0,117	0,40	0,239	0,100	0,42
Deg 5/Mol 1	0,340	0,233	0,69	0,386	0,250	0,65	0,292	0,166	0,57
Deg 1/Deg 3	0,354	0,153	0,43	0,361	0,157	0,43	0,364	0,152	0,42
Deg 6/Deg 6 _{iso}	0,179	0,267	1,49	0,221	0,322	1,46	0,185	0,217	1,17
	Expérience 7			Expérience 8			Expérience 9		
Résolution	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R
Deg 6 _{iso} /Deg 5	0,347	0,100	0,29	0,221	0,100	0,45	0,368	0,116	0,32
Deg 5/Mol 1	0,431	0,350	0,81	0,303	0,200	0,66	0,476	0,384	0,81
Deg 1/Deg 3	0,355	0,160	0,45	0,362	0,168	0,46	0,358	0,154	0,43
Deg 6/Deg 6 _{iso}	0,223	0,366	1,64	0,165	0,233	1,41	0,242	0,387	1,60

Deg 6_{iso}
Mol 1
Deg 1 Deg 3
Deg 6 Deg 6_{iso}

Deg 6_{iso}
Mol 1
Deg 1 Deg 3
Deg 6 Deg 6_{iso}

Annexe 14. Résolutions pour la DoE pour la colonne Luna CN

	Expérience 1			Expérience 2			Expérience 3		
Résolution	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R
Deg 6/Deg 5	0,279	0,166	0,60	0,506	0,342	0,68	0,350	0,217	0,62
Deg 5/Mol 1	0,338	0,517	1,53	0,424	0,977	2,31	0,464	0,661	1,42
Deg 1/Deg 3	0,423	0,134	0,32	0,415	0,133	0,32	0,416	0,117	0,28
Deg 6 _{iso} /Deg 6	0,202	0,233	1,16	0,348	0,414	1,19	0,247	0,250	1,01
	Expérience 4			Expérience 5			Expérience 6		
Résolution	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R
Deg 6/Deg 5	0,505	0,350	0,69	0,382	0,243	0,64	0,386	0,217	0,56
Deg 5/Mol 1	0,438	1,366	3,12	0,353	0,674	1,91	0,375	1,283	3,43
Deg 1/Deg 3	0,405	0,134	0,33	0,388	0,117	0,30	0,416	0,150	0,36
Deg 6 _{iso} /Deg 6	0,324	0,400	1,24	0,271	0,283	1,04	0,268	0,300	1,12
	Expérience 7			Expérience 8			Expérience 9		
Résolution	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R	$(w_2 + w_1)/1,18$	$t_2 - t_1$	R
Deg 6/Deg 5	0,456	0,317	0,70	0,370	0,250	0,68	0,357	0,250	0,70
Deg 5/Mol 1	0,407	0,850	2,09	0,412	1,380	3,35	0,402	0,723	1,80
Deg 1/Deg 3	0,392	0,133	0,34	0,425	0,132	0,31	0,439	0,117	0,27
Deg 6 _{iso} /Deg 6	0,363	0,366	1,01	0,249	0,333	1,34	0,297	0,184	0,62

Deg 6
Mol 1
Deg 1 Deg 3
Deg 6_{iso} Deg 6

Deg 6
Mol 1
Deg 1 Deg 3
Deg 6_{iso} Deg 6