

Université de Montréal

Injection de hauts volumes d'échantillon à l'aide de la chromatographie de couplage à résolution temporels

Par

Bernard Pelletier

Département de chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présentée à la Faculté des études supérieures

En vue de l'obtention du grade de

Maître ès sciences (M.Sc.)

en chimie analytique

Août 1999

©Bernard Pelletier



QD
3
U54
2000
V.002

Université de Montréal

Injection de hauts volumes d'échantillon à l'aide de la chromatographie
couplage à résolution temporelle

Par

Bernard Pellerin

Département de chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présentée à la Faculté des études supérieures

En vue de l'obtention du grade de

Maîtrise en sciences (M.Sc.)

en chimie analytique

1998



Bernard Pellerin

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Injection de hauts volumes d'échantillon à l'aide de la chromatographie de
couplage à résolution temporels

présenté par :

Bernard Pelletier

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Thomas H. ELLIS	Président-rapporteur
Michel J. BERTRAND	Directeur de recherche
André BEAUCHAMP	Membre du jury

Mémoire accepté le : 2000-02-2

Sommaire

La chromatographie à couplage et à résolution temporels (TCRC) est une technique chromatographique basée sur le couplage direct entre une colonne remplie de faible diamètre, opérée à la température de la pièce, et une colonne capillaire conventionnelle d'un GC/MS. La première dimension du système fonctionne selon le principe de la chromatographie. La seconde dimension est essentiellement un système conventionnel de chromatographie gazeuse. Ce montage permet trois modes de fonctionnement lesquels sont la TCRC/GC (émulation de la chromatographie en phase gazeuse traditionnelle), la TCRC/TCA (analyse de substance cible) et la TCRC/MAP (cartographie de mélanges complexes). Ces trois modes d'opération confèrent à la TCRC/MS un potentiel énorme dans le domaine de l'analyse chimique.

La configuration particulière des composantes de la TCRC permet de réaliser des hauts volumes d'injection. Lors d'analyse qualitative, il est possible d'introduire jusqu'à 20 mL de l'échantillon à l'intérieur de l'appareil et ce, sans l'arrivée massive de vapeurs de solvant au détecteur, celles-ci étant rejetées hors du système lors de l'injection. Pour les analyses quantitatives, l'étalonnage avec des volumes d'injection de 1 mL est facilement réalisable. Selon les composés, il est même possible de superposer la courbe d'étalonnage obtenue avec celle d'une injection de 1 μ L. Ainsi, la limite de détection peut être améliorée juste en augmentant le volume introduit à l'intérieur de l'appareil.

Pour l'obtention de ces résultats, certaines modifications furent apportées au prototype afin d'améliorer sa fiabilité. Ces changements ont consisté à modifier le système de refroidissement du four mobile, afin d'obtenir de meilleurs profils thermiques. D'autre part, la trappe cryogénique faisant l'interface entre la colonne remplie et la colonne GC fut retirée, à cause des bris fréquents. Enfin des suggestions de modifications du prototype sont amenées, afin de le rendre plus performant.

Table des matières

Sommaire	I
Liste des tableaux	IV
Liste des figures	V
Listes des sigles et abréviations	IX
Remerciements	X
Dédicace	XII
Chapitre 1 : Introduction	1
1.1 Problématique	1
1.2 Objectifs	3
Chapitre 2 : THÉORIE	4
2.1 Qu'est-ce que la TCRC?	4
2.2 Fondement de la TCRC	4
2.2.1 Les types de chromatographie	4
2.2.2 Chromatographie multidimensionnelle	10
2.3 Description générale du chromatographe TCRC	12
2.4 Modes de fonctionnement du chromatographe TCRC	14
2.5 Paramètres influençant la séparation en TCRC	15
2.6 Haut volume d'injection	16
2.6.1 Principe d'injection	17
2.6.2 Principes d'élimination du solvant	17
2.6.3 Techniques d'injection de hauts volumes	18

Chapitre 3 : Instrumentation et méthodes expérimentales	21
3.1 Instrumentation	21
3.1.1 Le prototype TCRC	22
3.1.2 Logiciels	24
3.1.3 Matériel utilisé lors des expériences	25
3.1.4 Produits utilisés	25
3.2 Méthodes expérimentales	26
3.2.1 Méthodes de remplissage des colonnes garnies	26
3.2.2 Caractérisation des profils thermiques du four mobile	26
3.2.3 Conditions chromatographiques générales pour la colonne garnie	27
3.2.4 Conditions d'opération de la colonne analytique du GC	27
3.2.5 Conditions d'opération du spectromètre de masse	29
3.2.6 Protocole d'opération standard du TCRC-MS	30
3.2.7 Méthode pour évaluer la distribution des composés sur la colonne garnie	30
3.2.8 Études sur les hauts volumes d'injection en TCRC	32
Chapitre 4 : Hauts Volumes d'Injection	34
4.1 Étude de faisabilité d'injection de hauts volumes	35
4.2 Analyses quantitative avec les hauts volumes	48
4.3 Conclusion	53
Chapitre 5 : Optimisation des conditions d'opération	54
5.1 Étude sur la discrimination	54
5.2 Refroidissement du four mobile	65
5.3 L'interface de transfert	69
5.3.1 Conception de la trappe cryogénique	69
5.3.2 Problèmes de la trappe cryogénique	70
5.3.3 Solution de rechange	71
5.4 Conclusion	72
Chapitre 6 : Conclusion	73
Références	75

Liste des tableaux

Tableau		Page
3.1	Conditions d'opération pour la colonne remplie.	27
3.2	Conditions chromatographique du GC pour les premières expérimentations.	28
3.3	Conditions chromatographique du GC pour les dernières expérimentations.	28
3.4	Conditions d'opération du spectromètre de masse en mode balayage répétitif.	29
5.1	Taux de récupération des différents alcanes dans les injections de 1 mL par rapport aux injections de 1 μ L.	63

Liste des figures

Figure		Page
2.1	Illustration de l'effet de la chromathermographie sur des composés introduits sur une largeur de bande très grande à l'intérieur de la colonne.	5
2.2	Premier chromathermogramme	6
2.3	Schématisation de la compression de bandes réalisée en chromatographie gazeuse de zone.	8
2.4	Arrangement expérimental pour l'étude de la CGZ.	9
2.5	La capacité de pics d'un système 2D, représenté par des boîtes, est approximativement égale au produit de la capacité de pics n_z et n_y de chacune des dimensions.	10
2.6	Schéma de principe d'un TCRC/MS.	12
2.7	Chromatogramme d'une injection de 20 mL d'une solution d'esters métyles dans l'hexane.	20

Figure		Page
3.1	Schéma du prototype TCRC/MS avec un agrandissement sur le module TCRC.	21
3.2	Prise de vue montrant l'interface d'injection du module TCRC.	23
3.3	Prise de vue montrant la zone thermique mobile du module TCRC.	23
3.4	Schéma illustrant le principe du découpage thermique.	31
3.5	Schéma illustrant le principe d'injection de hauts volumes.	33
4.1	Comparaison entre deux chromatogrammes d'alcane linéaires de C12 à C25.	36
4.2	Spectre de masse du pic à 16.03 minutes du chromatogramme obtenu de l'injection de 1 μ L.	38
4.3	Les principaux fragments obtenus à partir du di-(chlorophenyl) sulfone.	39
4.4	Spectre de masse du pic à 2.88 minutes du chromatogramme obtenu de l'injection de 20 μ L.	40
4.5	Structure moléculaire possible présentant l'origine des différents fragments.	41

Figure		Page
4.6	Agrandissement d'une section des chromatogrammes présentant du bruit de fonds. A – injection 1 μ L; B – injection 1 mL; C - injection 20 mL.	42
4.7	Spectre de masse provenant du premier pic du chromatogramme C montrant les masses caractéristiques de la phase stationnaire composée de groupements siloxanes.	44
4.8	Structure des différents fragments de la phase stationnaire.	44
4.9	Spectre de masse provenant de la graisse de silicone.	45
4.10	Comparaison de deux chromatogrammes provenant d'injections de 1 mL de dichlorométhane, effectuée pour comparer les bruits de fond.	46
4.11	Comparaison entre deux chromatogrammes d'alcane linéaires de C12 à C25. A – injection 1 μ L; B – injection 1 mL	49
4.12	Comparaison des courbes d'étalonnage de 1 μ L et 1000 μ L d'injection pour le tridécano (A) et le nonadécano (B).	51

Figure		Page
5.1	Découpage thermique de la colonne remplie après une injection de 1000 μ L d'une solution d'alcane linéaire de C12 à C25.	56
5.2	Capture infrarouge montrant le gradient thermique à l'intérieur d'une colonne remplie lors d'une injection de haut volume.	60
5.3	Chromatogramme d'une injection de 1 μ L, 1 mL et 20 mL d'alcane linéaires de C12-C25.	61
5.4	Profil thermique du four mobile avant modification et après modification.	67
5.5	Profil thermique du four mobile après modification, avec réajustement des buses de refroidissement et avec changement du thermocouple.	68
5.6	Schéma de la trappe cryogénique faisant la jonction entre le module TCRC et le GC.	70

Listes des sigles et abréviations

GC	Chromatographe ou chromatographie en phase gazeuse
MS	Spectromètre ou spectrométrie de masse
TCRC	Chromatographie à couplage et à résolution temporels
ZGC	Chromatographie gazeuse de zone
TCA	Analyse de composés cibles
MAP	Cartographie
PTV	Vaporisateur à température programmée
EI	Ionisation par impact électronique
SIM	Balayage d'ions présélectionnés (Selected Ion Monitoring)
TIC	Courant ionique total
Rt	Temps de rétention

Remerciements

Au printemps 1995, lorsque j'avais à peine terminé ma première année du baccalauréat à Rimouski, un professeur a eu confiance en moi et m'a donné la chance d'avoir mon premier contact avec le milieu de la recherche. En effet, le professeur Jean-Pierre Gagné a toujours eu les mots pour m'encourager lors de mes recherches au cours de mon baccalauréat et de ma maîtrise. Aujourd'hui, je tiens à le remercier pour la collaboration que nous avons toujours eue durant ces années.

Dès mon arrivée à Montréal, le professeur Michel J. Bertrand m'a chaleureusement intégré à son laboratoire de recherche. Tout au cours de ma maîtrise, il m'a toujours laissé une grande latitude dans mes recherches, en me donnant toujours d'excellents conseils. Je le remercie beaucoup d'avoir cru en moi et de m'avoir accordé une aussi grande confiance.

Mon intégration à l'intérieur de l'équipe de recherche me fut rendue beaucoup plus facile grâce à la grande gentillesse de madame Carolle Billette qui est devenue très rapidement ma confidente et ma complice.

Au sein du projet TCRC, j'ai côtoyé des personnes avec qui j'ai développé une grande complicité, grâce aux échanges constructifs et aux partages d'idées que nous avons entretenus. Merci à mesdames Louise Noreau et Karine Venne, ainsi qu'au Dr. Pascal Martin, des personnes qui ont des grandes idées, mais aussi de grandes oreilles pour écouter les idées des autres. Avec vous dans le laboratoire, chacune des journées de travail a passée très rapidement.

Ce projet comporte plusieurs éléments mécaniques et électroniques qui quelquefois causent des petits problèmes. Je ne crois pas que ce mémoire ait pu contenir des résultats sans l'assistance des employés de l'atelier mécanique et électronique du département de chimie et tout particulièrement Robert

Hartshorn et Jean-François Myre. Ils ont toujours été d'une efficacité incroyable pour résoudre tous mes problèmes techniques.

Lors de la rédaction d'un mémoire, plusieurs figures et illustrations sont nécessaires pour aider à comprendre certains principes. Cependant, avec mon potentiel en arts, je ne suis pas certain que les illustrations aurait été une source claires d'information. Heureusement, une personne très aimable, ayant plein de talents en arts et en science, a bien voulu m'aider. Je remercie madame Véronique Gosselin pour le temps qu'elle m'a consacré.

Historiquement, de grandes découvertes scientifiques furent faites à l'extérieur des laboratoires, lorsque les chercheurs étaient en période de détente. Ainsi, je pourrais affirmer que plusieurs de mes ami(e)s ont souhaité(e)s que je réalise de grandes découvertes en leurs compagnies. Je dois d'abord remercier mes colocos Carl et Nicolas, ainsi que mes voisins du haut. Vous êtes vraiment des amours d'avoir enduré toutes mes niaiseries. Je remercie mes amis des autres laboratoires de recherches avec qui j'ai eu du bon temps, je tairai vos noms de peur que vous ayez des représailles, mais je suis certain que vous vous reconnaîtrez!

Je veux absolument remercier ma belle Marie et mon beau Jean (mes parents), ma grande soeur Nathalie, mes frères Christian et Jérôme, ainsi que leur conjoint(e). Malgré la distance physique entre nous, vous avez toujours été très près de moi. Vos encouragements m'ont toujours permis de me dépasser.

Finalement, je tiens à remercier la contribution financière du fonds pour la formation de chercheurs et l'aide à la recherche (Fonds FCAR) qui m'a permis de poursuivre mes études graduées sans trop me soucier du côté monétaire.

Dédicace

Au Soleil qui m'illumine
À la Lune qui me fait réfléchir
Et à la vie qui me fait découvrir

Chapitre 1 : Introduction

1.1 Problématique

Lors du développement d'un nouvel appareil de chromatographie, il est important de tenter de répondre aux caractéristiques de l'appareil idéal recherché par les utilisateurs. Les principales caractéristiques sont les suivantes :

- Séparation d'une grande gamme de produits
- Facilité d'utilisation
- Permettre l'analyse de traces
- Analyse de mélanges complexes
- Temps d'analyse rapide
- Peu de risque pour l'utilisateur et l'environnement
- Être fiable et reproductible
- Peu de traitement pour la préparation de l'échantillon
- Possibilité d'automatisation.

Bien sûr, aucun appareil ne possède toutes ces caractéristiques à la fois et il est peu probable d'y arriver, car au fur et à mesure que les appareils deviendront de plus en plus performants, les utilisateurs auront des besoins encore plus grands. Il y aura toujours place pour la recherche.

Au cours des dernières décennies, une des tendances pour améliorer les appareils analytiques s'est orientée vers le couplage de différentes techniques d'analyses. De très bons résultats furent obtenus en couplant une technique de séparation (chromatographique) avec une technique d'identification (spectroscopique). Les très bonnes séparations et résolutions de la chromatographie gazeuse (GC) avec la force d'identification des composés en

spectrométrie de masse (MS) ont fait du couplage GC/MS l'une des techniques des plus intéressantes et des plus utilisées aujourd'hui.

Parallèlement, l'avancement très rapide des performances des micro-ordinateurs a aussi permis d'améliorer l'efficacité des appareils analytiques. Grâce à la collecte rapide de nombreuses données lors de l'analyse, il est possible de faire un traitement post-acquisition de celles-ci et d'en tirer des résultats très intéressants.

Malgré ces avancements techniques, de nombreuses analyses demeurent très difficiles à réaliser pour diverses raisons (complexité de l'échantillon, analyte à l'état de trace, etc.). Dans bien des cas, le temps pour réaliser ces analyses est considérable, à cause de la nécessité de faire un traitement préalable de l'échantillon. Cette étape de traitement apporte, en conséquence, une contamination de l'échantillon et prend beaucoup de temps.

Afin de contourner ces problèmes, notre laboratoire a travaillé, au cours des dernières années, sur un chromatographe gazeux multidimensionnel qui tente de résoudre une grande partie des problèmes analytiques dans ce domaine. La Chromatographie à Couplage et à Résolution Temporels (TCRC) consiste à coupler deux colonnes en série, mais opérées de façon indépendante dans le temps. Le principe de fonctionnement de cet appareil sera expliqué en détail dans le chapitre 2.

Des études fondamentales ont déjà été réalisées dans le passé sur le chromatographe TCRC(1,9) . Les travaux de Mallet ont principalement porté sur la construction d'un prototype, l'élaboration de ses modes d'opération et l'étude sommaire de quelques paramètres affectant l'élution des composés. Ceux de Noreau s'orientaient vers les études fondamentales du mécanisme d'élution et sur l'optimisation du prototype TCRC.

1.2 Objectifs

Les travaux réalisés jusqu'à présent ont apporté beaucoup d'informations très importantes pour améliorer les performances de la TCRC. Cependant, plusieurs travaux restent à réaliser afin d'exploiter le plein potentiel de cette technique innovatrice.

Une partie des travaux portera sur la possibilité d'introduire des hauts volumes d'échantillon à l'intérieur du TCRC. Pour ce faire, une procédure d'injection de hauts volumes devra être développée spécifiquement pour le TCRC et des études de faisabilité seront réalisées sur le même sujet. Ces expériences amèneront des résultats qualitatifs, sur lesquels de nombreuses informations pourront être traitées.

Par la suite, si les analyses qualitatives sont concluantes, des analyses quantitatives, dans le domaine de hauts volumes d'injection, pourront être expérimentées. Un volume d'injection quelconque devra être sélectionné afin d'obtenir une analyse quantitative efficace et assez rapide. Les résultats devront être analysés en détail afin de cibler les problèmes associés à la technique et d'y trouver les solutions.

Enfin, des optimisations pourront être réalisées afin de rendre le prototype plus performant et les analyses meilleures. Les travaux auront comme objectifs d'améliorer la simplicité d'opération de l'appareil en relation avec les conditions analytiques qui seront utilisées lors des expériences sur les hauts volumes d'injection. Les modifications toucheront la zone thermique mobile ainsi que l'interface de transfert.

Chapitre 2 : THÉORIE

2.1 Qu'est-ce que la TCRC?

La TCRC est l'acronyme pour (**T**ime-**C**oupled-time-**R**esolved **C**hromatography). La TCRC est une nouvelle technique d'analyse multidimensionnelle qui implique un processus dérivé de la chromathermographie élaborée par Zhukhovitskii(2) et la chromatographie en phase gazeuse conventionnelle. Ce type de chromatographie multidimensionnelle offre trois modes différents d'opération permettant d'augmenter la vitesse d'analyse, ainsi que le nombre de composés séparés. Ce couplage apporte bien d'autres avantages qui seront étudiés dans ce mémoire.

2.2 Fondement de la TCRC

2.2.1 Les types de chromatographie

En 1951, Zhukhovitskii et ses collaborateurs furent les premiers à publier la théorie sur la chromathermographie(2), une nouvelle technique chromatographique s'éloignant des recherches conventionnelles qui étaient faites dans le domaine à l'époque. Certaines caractéristiques doivent être présentes dans un système afin d'avoir de la chromathermographie. D'abord le système doit avoir un four mobile qui produit un gradient de température uniforme sur toute sa longueur, où la température la plus élevée est située en tête de colonne et diminue vers l'aval de la colonne (figure 2.1).

Lorsqu'un échantillon est introduit dans la colonne, le four est chauffé et entame son déplacement vers l'aval de la colonne avec une vitesse constante. Un gaz vecteur circule à l'intérieur de la colonne pour orienter le déplacement des composés dans la bonne direction. Étant donné que les composés se trouvent dans la zone thermique la plus chaude du four après leur introduction dans la

colonne, un déplacement très rapide de ceux-ci à l'intérieur du gradient thermique s'opère. Après un certain temps, la vitesse du transport des composés dans la zone thermique diminuera, car ils auront atteint une température dans le gradient où le phénomène d'adsorption sur la colonne devient important. Éventuellement, un équilibre sera créé entre la phase gazeuse et la phase stationnaire à l'intérieur du gradient et chacun des composés se déplacera dans le gradient thermique à une position bien définie, à la vitesse du four. Cette caractéristique induit le phénomène de compression de bande qui vient à l'encontre de la diffusion, ce qui améliore la résolution des pics. La figure 2.1 illustre bien le phénomène de la chromathermographie.

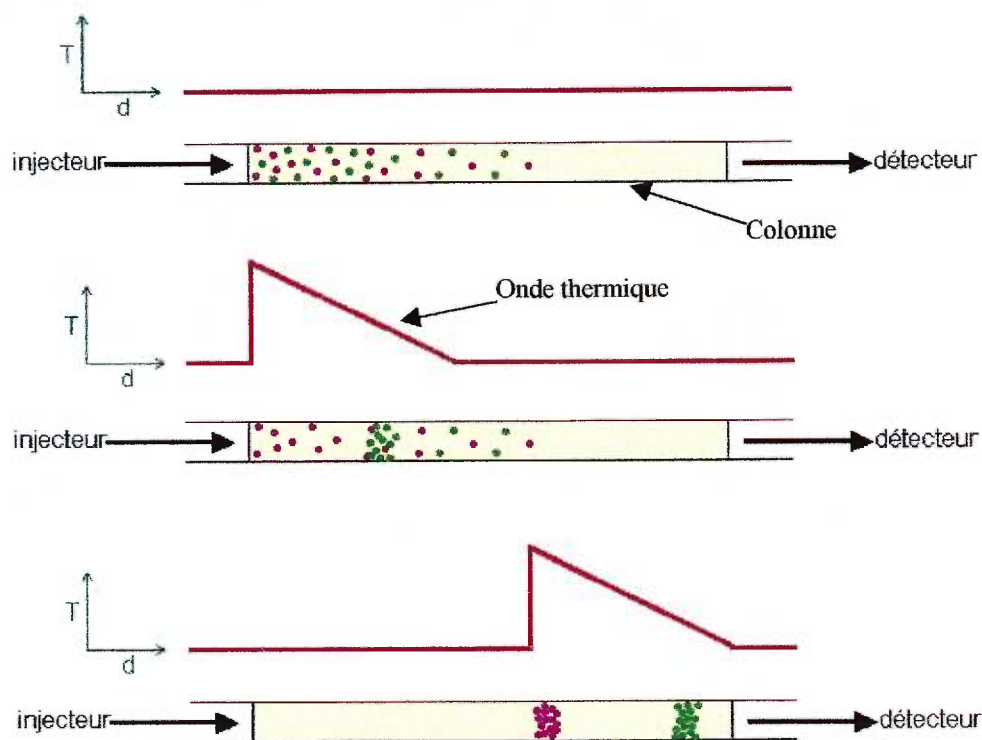
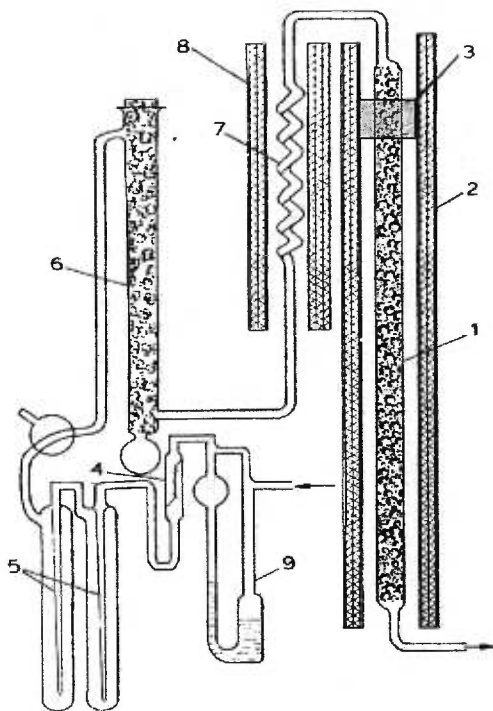


Figure 2.1: Illustration de l'effet de la chromathermographie sur des composés introduits sur une large bande très grande à l'intérieur de la colonne. Où d est le déplacement de l'onde thermique et T la température à chaque point de la colonne.

Donc chaque composé tend à rester à une certaine température à l'intérieur du gradient et cette température est nommée "température caractéristique"(3). Cette température dépend de différents facteurs et peut être approximée par l'équation suivante :

$$T_{\text{caractéristique}} = \frac{Q}{R \ln \left[\left(\frac{u}{Kw} \right) - k \right]}$$

- où
- u = vitesse linéaire du gaz vecteur
 - w = la vitesse linéaire du gradient thermique
 - k = le rapport des phases
 - Q = l'enthalpie d'adsorption
 - R = la constante des gaz parfaits
 - K = la constante d'Henry



La figure 2.2 présente un schéma du premier chromathermographe. Le système se compose d'une colonne de gel de silice [1] placée à l'intérieur d'un grand four [2], dans lequel se trouve un petit four cylindrique mobile [3] se déplaçant sur la colonne. L'air entrant dans la colonne peut être purgé [4,5] et l'humidité est absorbée sur une colonne de chlorure de calcium [6]. Pour préchauffer le gaz vecteur, un échangeur de chaleur [7] est abrité dans une gaine chauffante [8]. Enfin, le débit de gaz est mesuré par un rhéomètre [9].

Figure 2.2 : Premier chromathermographe(2)

À la suite des travaux de Zhukhovitskii *et al.*(2), de nombreuses publications parlant de la chromathermographie sont parues. En 1960, Nerheim(4) apporta une nouvelle dimension à la chromathermographie en balayant à plus d'une fois la colonne avec le gradient thermique. Au premier passage, il garda la température du gradient inférieure à la température caractéristique des composés les moins volatiles, apportant ainsi seulement une portion des composés avec le four. Après le premier passage, la température du gradient thermique est augmentée et un second balayage est réalisé. L'opération se produit autant de fois qu'il faut pour sortir tous les composés. Sans le mentionner, Nerheim introduisait une certaine forme de chromatographie multidimensionnelle temporelle.

Plusieurs années plus tard, Fuggerth développa un nouveau concept alliant les passages successifs de Nerheim et une technique dérivée de la chromathermographie appelée la chromatographie gazeuse de zone (ZGC)(5). Cette technique consiste à déplacer sur une colonne, un four mobile étroit produisant une onde thermique de forme idéalement carrée, contrairement à un gradient comme dans la chromathermographie. Les deux techniques ont la caractéristique importante de faire de la compression de bande. La figure 2.3 montre de quelle manière la compression de bande s'effectue en ZGC. D'abord, l'échantillon est introduit à l'intérieur de la colonne à température ambiante. À cette température, le déplacement des composés dans la colonne est négligeable, sauf pour les composés très volatils. Le four est ensuite chauffé à la température désirée et le déplacement de celui-ci débute. Lorsque l'onde thermique atteint les composés dans la colonne, l'équilibre entre la phase stationnaire et la phase gazeuse est modifié. Selon leur constante de partage, les composés resteront sur la phase stationnaire ou seront déplacés vers la phase gazeuse. Si la vitesse de déplacement des composés dans la phase gazeuse est trop rapide, ceux-ci dépasseront la zone thermique chaude et se retrouveront dans la zone froide juste à l'avant du four, où ils se condenseront. Étant donné le déplacement de l'onde thermique, ces composés subiront une

succession de vaporisations et de condensations. À la fin du balayage avec le four mobile, un fractionnement de l'échantillon aura été réalisé, en fonction de la constante de partage des composés. Ainsi, il est possible de faire éluer différentes fractions du mélange en jouant sur les températures de balayage du four.

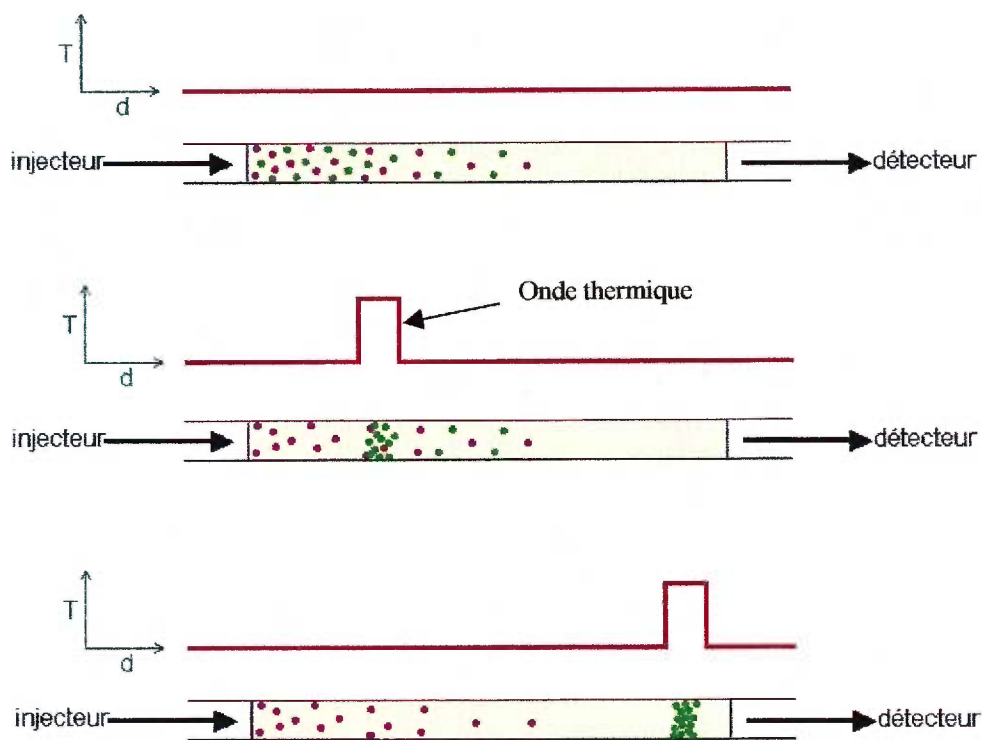


Figure 2.3 : Schématisation de la compression de bandes réalisée en chromatographie gazeuse de zone. Où d est le déplacement de l'onde thermique et T la température à chaque point de la colonne.

Les caractéristiques de la ZGC sont très utiles pour la chromatographie multidimensionnelle. D'abord, elle permet le fractionnement de l'échantillon, ce qui permet d'introduire seulement les composés d'intérêt dans la seconde colonne analytique. Grâce aux zones froides de la ZGC, les composés non élués demeurent "gelés" dans la colonne jusqu'au passage à la bonne température du four mobile. Enfin, le phénomène de compression de bande permet d'améliorer la résolution des pics.

Dans son article, Fuggert présente le schéma d'un appareil ZGC (figure 2.4). Le diagramme présenté est un ancêtre très proche de la TCRC. Voici les différentes composantes du système.

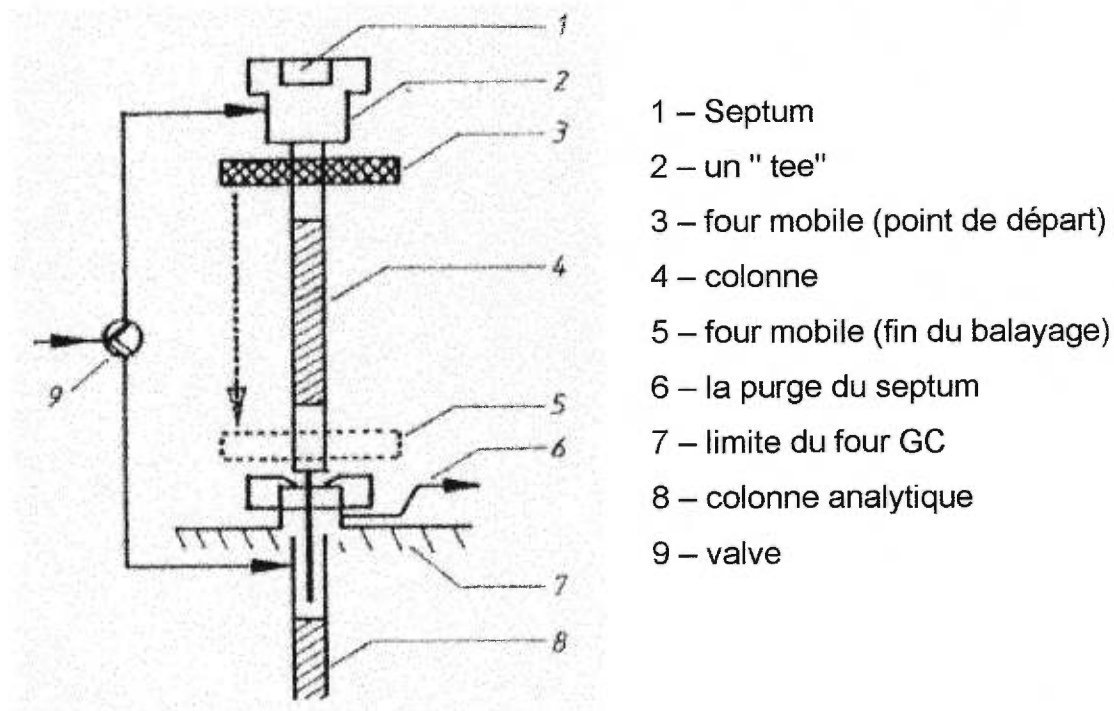


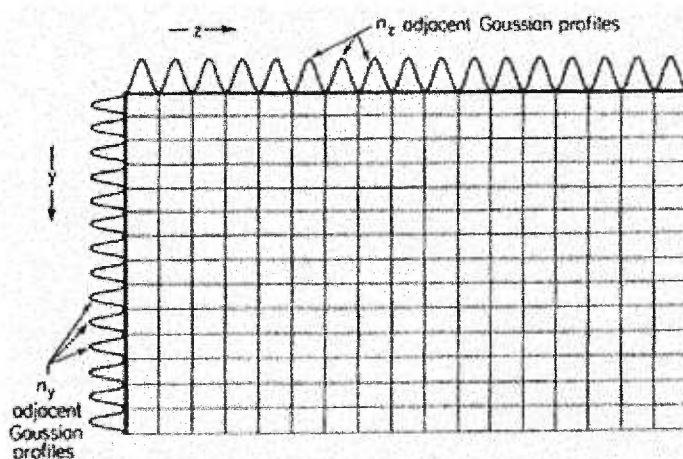
Figure 2.4 : Arrangement expérimental pour l'étude de la ZGC. (5)

2.2.2 Chromatographie multidimensionnelle

Malgré le développement de phases stationnaires de plus en plus performantes, certaines analyses ne peuvent être bien réalisées à l'aide de la chromatographie gazeuse unidimensionnelle. L'utilisation d'une seconde colonne en série ou en parallèle devient alors une possibilité très intéressante afin de caractériser ces mélanges.

Le terme "chromatographie multidimensionnelle" est apparu dans le domaine de la chromatographie sur couche mince. Il signifiait la migration chromatographique dans une direction suivie d'un second développement dans la direction perpendiculaire(6).

En chromatographie gazeuse, le terme multidimensionnelle peut être vu de la même manière, il s'agit aussi d'un développement dans au moins deux axes différents (colonnes). La figure 2.5 montre la capacité de résolution de pics dans un système deux dimensions. Chacune des boîtes du plan représente un espace où un pic peut être résolu en supposant que celui-ci ait une forme



gaussienne. Le nombre de pics pouvant être résolu dans un système multidimensionnel est égal au produit des capacités de pics (peak capacity) de chacune des dimensions.

Figure 2.5 : La capacité de pics d'un système 2D, représentée par des boîtes, est approximativement égal au produit de la capacité de pics n_x et n_y de chacune des dimensions(7).

Le couplage de colonne est une technique très puissante, dans l'analyse de mélanges complexes et dans l'enrichissement de traces. Voici les objectifs de la chromatographie multidimensionnelle décrits par Schomburg(8) :

- L'augmentation de la densité de pics dans un chromatogramme est très utile dans l'analyse de mélanges complexes. Une grande densité de pics peut aussi être obtenue en programmation de température en GC.
- Obtenir une haute résolution pour avoir une meilleure sélectivité dans l'analyse d'isomères et d'énantiomères.
- Réduction du temps d'analyse, en analysant seulement les composés d'intérêt.
- Améliorer la détermination des composés à l'état de trace éluant près d'un pic majeur, cachant le composés d'intérêt.
- Permet d'éventer les composés qui ne sont pas d'intérêt dans l'échantillon.

Pour arriver à ces objectifs, différents modes d'opérations existent en chromatographie multidimensionnelle. L'un des plus courants est appelé transfert par coupure sélective (heartcutting). Il s'agit de dévier une partie des composés éluant dans la première colonne vers la seconde afin de "raffiner" la séparation. Un principe similaire est utilisé avec l'appareil TCRC. D'ailleurs, d'excellents résultats sont présentés par L. Noreau concernant la cartographie multidimensionnelle obtenue à l'aide du TCRC(9).

Pour avoir une revue concernant la chromatographie multidimensionnelle, le second chapitre de la thèse de Mallet(1) est un très bon condensé sur le sujet. De plus, le livre de Jean Tranchant est un très bon ouvrage sur le domaine(10).

2.3 Description générale du chromatographe TCRC

La TCRC est une technique chromatographique multidimensionnelle, qui implique un processus dérivé de la chromatographie(2) et la chromatographie en phase gazeuse conventionnelle. Un schéma de l'appareil est illustré à la figure 2.6.

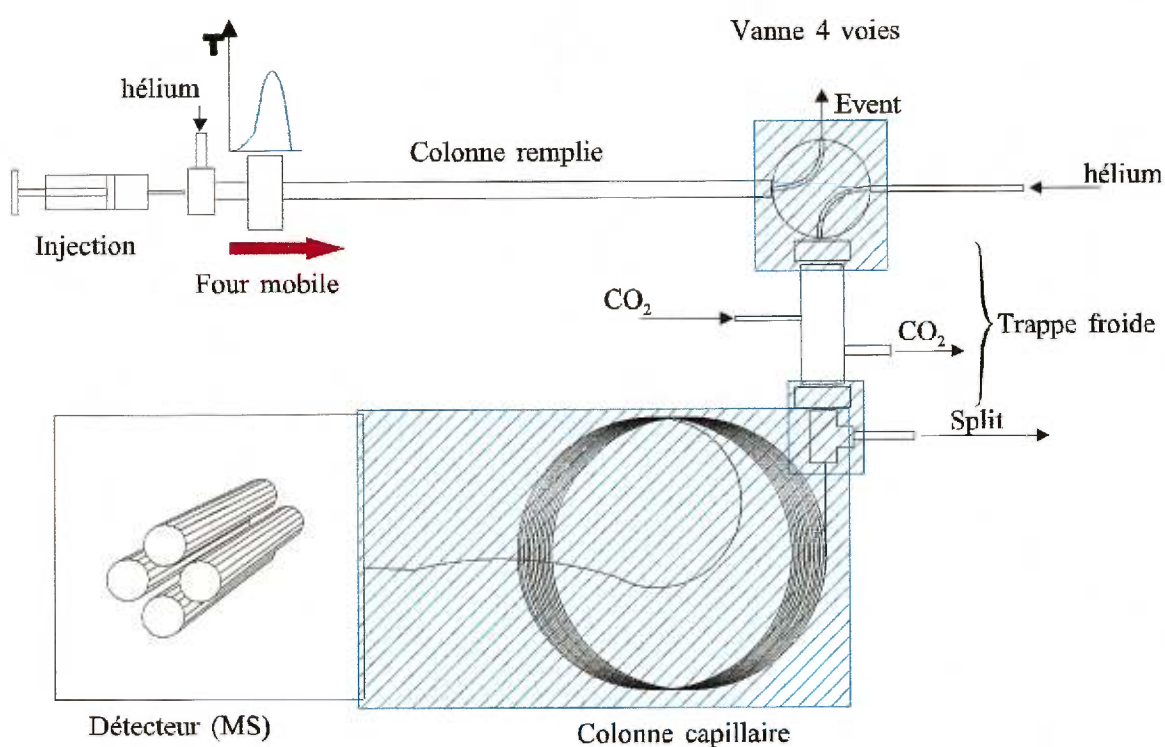


Figure 2.6 : Schéma de principe d'un TCRC/MS.

La première dimension du système est constituée d'une colonne remplie, où la séparation (fractionnement de l'échantillon) est réalisée par le déplacement d'un four de faible largeur le long d'une colonne froide, alors qu'un débit de gaz vecteur circule à l'intérieur de celle-ci. Le fractionnement de l'échantillon sur la colonne garnie dépend de l'enthalpie d'éluion des composés. Les composés

qui ont une enthalpie d'élution inférieure à l'énergie fournie par le four mobile seront désorbés de la phase stationnaire et entraînés par le gaz vecteur. Par contre, les produits ayant une enthalpie d'élution supérieure à celle fournie par le four mobile, resteront adsorbés sur la phase stationnaire lors de son passage. Ces produits resteront pratiquement immobiles dans la colonne jusqu'à ce que le four passe sur eux avec une température adéquate.

Cette première dimension du système rejoint une vanne de transfert permettant de diriger les composés soit vers l'extérieur du système (Évent) ou vers la seconde dimension (GC/MS). Une trappe cryogénique peut être utilisée afin d'assurer l'introduction des analytes sur une faible largeur de bande dans la seconde dimension. Mais tout dépendant des conditions d'opération du GC, son utilisation peut être non nécessaire.

La seconde dimension du système est un chromatographe gazeux couplé à un spectromètre de masse (GC/MS). La colonne utilisée à l'intérieur de GC permet d'obtenir de bonnes séparations. Le couplage du GC avec le MS donne une dimension supplémentaire à l'appareil (spectre de masse) et permet l'identification des composés.

2.4 Modes de fonctionnement du chromatographe TCRC

La configuration particulière du TCRC/MS permet trois grands modes de fonctionnement :

- TCRC/GC (chromatographie en phase gazeuse traditionnelle) ;
- TCRC/TCA (analyse de substance cible) ;
- TCRC/MAP (cartographie complète des composés).

L'analyse par TCRC/GC permet de supprimer le pic dû au solvant, ce qui améliore l'élution des pics et permet ainsi l'introduction d'une plus grande quantité de mélange à analyser, et ce, sans aucune saturation de la colonne. Pour réaliser une injection TCRC/GC, il suffit d'éventer le solvant lors d'un passage du four mobile à basse température, puis d'amorcer un nouveau déplacement vers la vanne de transfert à une température élevée (~ 270°C). Lorsque le four a parcouru plus de 50% de la colonne, la vanne est placée en position transfert. Le four termine sa course jusqu'à la vanne où les composés sont gelés dans la trappe froide (ou en tête de colonne GC, selon de la configuration de l'appareil) et ensuite introduit dans le GC/MS.

Dans le mode TCRC/TCA, il est possible de sélectionner un ou des composés cibles d'un mélange en jouant sur les paramètres de la première colonne. Ainsi, il est possible d'éliminer plusieurs composés d'une matrice complexe. Pour éliminer les composés non désirés dans l'analyse, il suffit de faire un passage du four mobile à une température inférieure à la gamme de température caractéristique des substances désirées. Les produits déplacés par l'onde thermique sont expulsés à l'extérieur du TCRC. Le second balayage du four est fait à une température suffisamment élevée pour éluer les composés d'intérêt (vanne en position transfert). Les substances sont ensuite transférées dans la seconde dimension où elles sont analysées. Enfin, le four mobile passe une dernière fois à température élevée (vanne en position évent), afin de rejeter les

composés restant dans la colonne. Grâce à ce principe, le chromatogramme est grandement simplifié et permet de diminuer le temps d'analyse(9).

En TCRC/MAP, le four mobile fait plusieurs balayages successifs de la colonne, en augmentent sa température à chacun des passages. Pour chaque balayage, les composés entraînés par le four sont transférés dans la seconde dimension. Ce type d'analyse permet de disperser les composés dans un plan (Mapping)(9). La représentation graphique du "mapping" est réalisée en 4 dimensions (indice 1^e colonne, indice 2^e colonne, intensité et l'échelle de masse). En chromatographie conventionnelle, les données sont présentées sur deux axes (intensité, temps de rétention) et en GC/MS une troisième dimension s'ajoute, soit l'échelle de masse.

2.5 Paramètres influençant la séparation en TCRC

De nombreux paramètres influencent le processus de séparation en TCRC. En plus d'avoir les paramètres classiques de la GC/MS conventionnelle, le module TCRC en ajoute plusieurs autres. Ces paramètres sont les suivants :

- La température du four mobile;
- Le débit du gaz vecteur;
- La vitesse de balayage;
- La longueur de la colonne garnie;
- Les caractéristiques de la phase stationnaire;
- La largeur de l'onde thermique;
- Le diamètre de la colonne;

Chacun de ses paramètres a un effet sur l'élution des composés à l'intérieur de la colonne garnie, ce qui offre plus de possibilités afin de séparer des composés. Ces effets sont décrits dans le mémoire de Noreau(9).

2.6 Haut volume d'injection

Dans l'analyse de composés à l'état traces, l'injection de haut volume* peut être fort utile afin de diminuer les concentrations détectables. De plus, elle permet d'éviter l'étape de pré-concentration de l'échantillon avant l'injection, ce qui élimine des possibilités de contamination de l'échantillon lors de la préparation de l'échantillon et permet un gain de temps.

Cependant, l'injection massive d'échantillon dans un système chromatographique en phase gazeuse peut être dommageable pour certains éléments du système. Par exemple, les échantillons contenant une concentration élevée de composés non-volatils "encrassent" la colonne analytique lors de l'injection de grands volumes(11). Il est possible de remédier à ce problème en utilisant une pré-colonne. Un autre problème lors de l'injection est l'arrivée massive de vapeur de solvant au détecteur du GC, il faut alors penser à une sortie prématurée pour évacuer le solvant du système.

En regardant les caractéristiques précédentes, il est possible de constater que les systèmes GC classiques ne permettent pas vraiment l'injection de hauts volumes. Cependant, en variant les paramètres de l'appareil d'une manière peu conventionnelle et/ou en modifiant certaines parties de celui-ci, il devient alors possible d'injecter des hauts volumes. Plusieurs travaux antérieurs discutent de l'injection de hauts volumes d'échantillon en GC(12,14).

* Il est possible de parler de hauts volumes d'injection en GC lorsqu'il y a plus de quelques centaines de μL d'échantillon d'introduit dans le système.

2.6.1 Principe d'injection

L'injection de hauts volumes en chromatographie gazeuse peut se réaliser de deux manières. L'une des manières est l'introduction de l'échantillon par dépôts successifs, qui consiste à introduire en plusieurs petites injections une grande quantité de solvant. Cette technique peut être longue et laborieuse et de nombreuses erreurs peuvent se glisser (imprécision du volume, discrimination, etc.) La seconde technique est l'injection de l'échantillon en continu à l'aide d'une pompe à micro-débit. Cette dernière présente l'avantage d'être précise dans le volume introduit.

Indépendamment de la méthode d'injection choisie, la vitesse d'introduction de l'échantillon est en intime relation avec la vitesse d'élimination des vapeurs produites (13). Un équilibre doit s'établir entre la masse de solvant liquide entrant dans l'interface et la masse de vapeur sortant. Les conditions du système doivent être alors bien ajustées afin d'éviter une condensation des vapeurs. Sinon, la formation de bouchon de solvant peut survenir et/ou un retour arrière du solvant ("backflush") dans une zone froide du système d'injection créant ainsi une discrimination.

2.6.2 Principes d'élimination du solvant

Lors de l'introduction d'un haut volume d'échantillon, une grande quantité de vapeur est générée, provenant principalement du solvant. L'élimination des vapeurs se fait soit par déversement gazeux (gas discharge) ou par débordement (overflow).

Le processus par déversement gazeux est réalisé lorsque l'échantillon se vaporise dans un flot de gaz vecteur. Même à une température en dessous du point d'ébullition du solvant, il est possible de l'évaporer. La vitesse

d'évaporation est déterminée par la quantité de solvant qui sature le gaz vecteur à une température donnée(14).

Le processus du débordement de vapeur est réalisé en l'absence de débit de gaz vecteur. Les vapeurs quittent le système par l'expansion du gaz lors de l'évaporation. La différence de pression entre le point d'évaporation et la sortie du système dirige les vapeurs vers l'extérieur. Il est nécessaire d'avoir une température au point d'évaporation supérieur à celle du point d'ébullition du solvant(14).

Peu importe la technique d'évaporation utilisée, l'évaporation du solvant consomme une grande quantité de chaleur (énergie), ce qui résulte en un refroidissement de la zone d'évaporation(14). L'importance de l'effet du refroidissement ne dépend pas seulement de la vitesse d'introduction (quantité), mais dépend aussi de la chaleur de vaporisation du solvant(13).

2.6.3 Techniques d'injection de hauts volumes

Trois grandes techniques d'injection de hauts volumes sont couramment utilisées en GC. Ici, il est important de souligner que les techniques seront présentées d'une manière très brève et non d'une manière détaillée, dans le seul but de familiariser le lecteur avec les hauts volumes d'injection. Différents ouvrages peuvent être consultés pour en savoir plus sur le sujet(12,14).

L'une des techniques est l'injection "on-column". Comme son nom le dit, l'échantillon est introduit par le port "on-column" du GC, habituellement à l'intérieur d'une pré-colonne désactivée possédant une sortie prématurée à la jonction avec la colonne analytique, afin de rejeter les vapeurs de solvant. Cette technique possède le domaine d'application le plus large, en terme de volatilité des composés introduits et de leur stabilité thermique. Si le temps de

relâchement des vapeurs de solvant est très bien optimisé, les composés ayant une volatilité très près de celle du solvant peuvent être récupérés quantitativement(15). Cependant la technique n'est pas très souhaitable pour des échantillons impropres contenant des composés peu volatils, car ils contaminent la colonne.

La seconde interface introduit l'échantillon en utilisant une boucle d'injection. Cette interface fut originalement développée pour le couplage LC-GC. Le cœur de cette interface est une valve 10-ports avec deux boucles, la première est utilisée pour l'injection de l'échantillon et, la seconde, pour ajouter un standard interne ou un solvant de nettoyage. Une ligne pour le gaz vecteur et une autre pour la colonne désactivée (retention gap) sont attachées aux autres ports de la vanne. Lorsque les deux boucles sont remplies, la vanne est tournée et le gaz vecteur commence à pousser l'éluent à l'intérieur de la colonne désactivée. La colonne est maintenue à une température légèrement supérieure au point d'ébullition. En utilisant cette technique, Grob est parvenu à introduire dans un GC un volume de 20mL d'une solution d'esters méthyles dans l'hexane(16) (figure 2.7). Le temps d'injection de la solution est de 20 minutes, produisant un pic de solvant dans le chromatogramme d'une durée équivalente. Cependant, l'introduction d'échantillon avec une boucle d'injection est surtout utilisée pour les composés ayant des points d'ébullition très élevés. La technique est très peu souhaitable pour des composés ayant une volatilité plus grande que le n-C18, car les produits très volatils sont perdus avec l'évaporation du solvant(15).

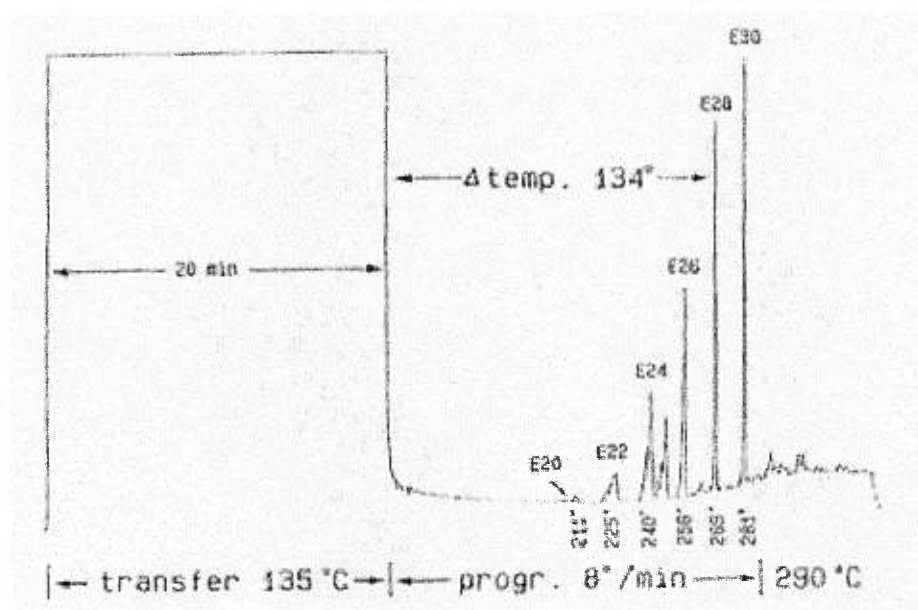


Figure 2.7 : Chromatogramme d'une injection de 20 mL d'une solution d'esters métyles dans l'hexane.(16)

La dernière technique d'injection de hauts volumes est nommée "Programmed temperature vaporizing" (PTV) ou injection par vaporisation à température programmée(17). L'échantillon est introduit dans le "liner" dans des conditions pour lesquelles le solvant est éliminé par les événements et les analytes sont trappés à l'intérieur du "liner". Lorsque l'injection est terminée, les événements sont fermés et un chauffage relativement rapide du "liner" s'opère afin de transférer les composés à l'intérieur de la colonne analytique. Comme pour la technique avec une boucle d'injection, l'injection PTV n'est pas souhaitable pour l'analyse de composés volatils. De plus, elle n'est pas très efficace pour l'analyse de composés thermo-labiles, car une dégradation de ces composés est possible sur les parois du "liner"(15). Cependant cette technique est souhaitable pour l'analyse d'échantillons contenant des produits peu volatils(16).

Chapitre 3 : Instrumentation et méthodes expérimentales

3.1 Instrumentation

Pour la réalisation des diverses expériences, un prototype TCRC-MS ayant subi quelques modifications par rapport à celui utilisé dans les travaux de Noreau(9) fut utilisé (figure 3.1). Le premier étage de l'instrument est le module TCRC relié par un capillaire de transfert au second étage, qui est un GC/MS conventionnel. Le tout est contrôlé par à un micro-ordinateur.

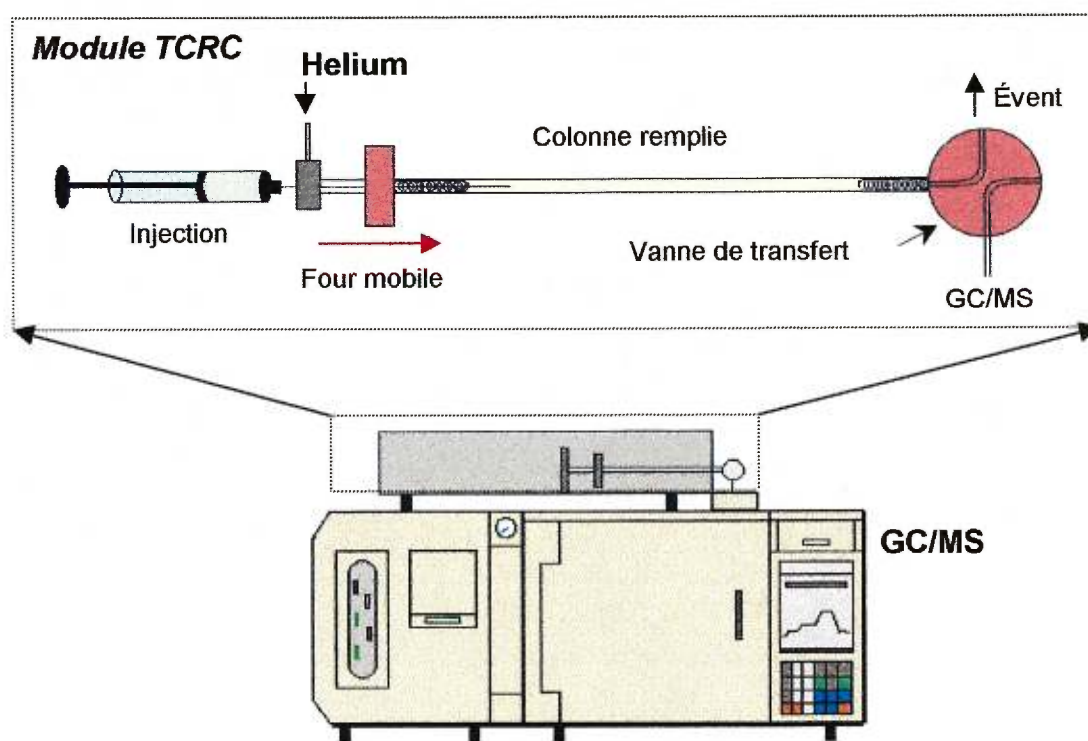


Figure 3.1 : Schéma du prototype TCRC/MS avec un zoom sur le module TCRC.

3.1.1 Le prototype TCRC

De nombreux éléments entrent dans la composition du module TCRC. Voici en détail les différentes composantes de ce module :

- Interface d'injection combinant un port d'entrée pour une seringue, un port pour l'arrivée du gaz vecteur circulant dans la première colonne et un port pour accueillir la colonne garnie (figure 3.2).
- Un four mobile composé d'un tube de laiton, d'un élément chauffant et d'un thermocouple pour mesurer la température. Ces composantes sont coulées dans un bloc de céramique qui est ensuite fixé à un support de métal. Afin de maintenir une zone thermique assez réduite dans la colonne, des buses de refroidissement qui projettent de l'air sur la colonne sont disposées à l'arrière du four mobile (figure 3.3). Le four se meut sur un rail sous l'entraînement d'un moteur électrique.
- Une colonne garnie ayant un diamètre externe de 1,8 mm et une longueur avoisinant les 15 cm. La colonne est garnie d'une phase stationnaire RTX-1 à 5% de la compagnie Restek (Bellafonte, Etats-Unis). Cette phase est constituée d'un film de 100 % diméthylsiloxane greffé sur une diatomite silanisée, de grosseur 100-120 mesh. Le tout est maintenu à l'intérieur de la colonne en plaçant des bouchons de laine de verre silanisée aux extrémités.
- Une vanne d'injection deux positions de marque Valco ayant un rotor en valcon T (composite) et un corps en acier inoxydable (grade HPLC) pouvant résister à des températures aussi élevées que 350°C. Cette vanne est contrôlée électriquement et son cœur est placé à l'intérieur d'une rondelle chauffante afin de maintenir sa température à 270°C.
- Un contrôleur électronique de débit de gaz de Omega Engineering inc. (FMA-111) ayant une gamme d'opération comprise entre 0 et 20 cc/min.
- Deux unités de contrôles faisant l'interface entre le micro-ordinateur et le module TCRC. Celles-ci contrôlent le déplacement et la température du four mobile, la rotation de la vanne de transfert et le débit de gaz.

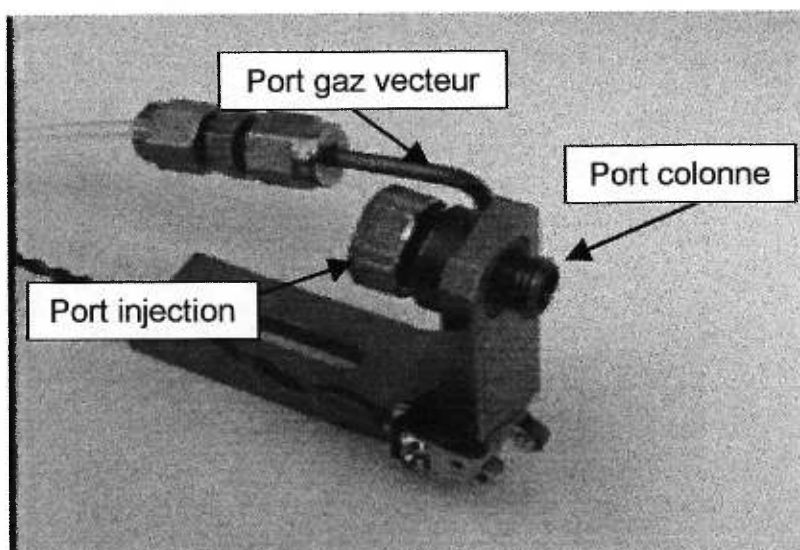


Figure 3.2 : Prise de vue montrant l'interface d'injection du module TCRC.

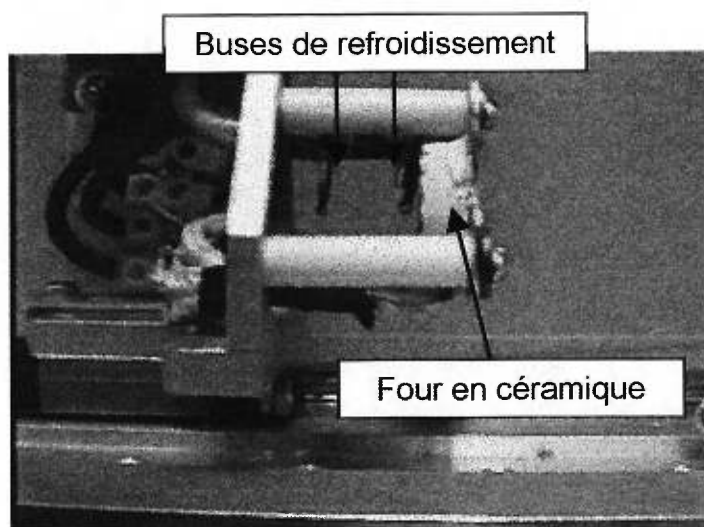


Figure 3.3 : Prise de vue montrant le zone thermique mobile du module TCRC.

Ces éléments sont les principales composantes constituant le module TCRC. L'interface entre ce module et l'injecteur du GC est réalisée à l'aide d'un capillaire de silice fondue sans phase stationnaire, d'un diamètre interne de 750 μm et d'une longueur d'environ 90 mm, soit 50 mm à l'intérieur du "liner" et 40 mm du septum jusqu'à la vanne. Ce capillaire est isolé à l'aide de la laine de verre afin d'en maintenir la température aux environs de 230°C. Ce capillaire est introduit en permanence dans l'injecteur du GC faisant ainsi la jonction entre les deux étages de l'appareil. Une trappe cryogénique peut aussi faire l'interface, cependant vu le type d'expériences réalisées et suite à différents problèmes avec la trappe cryogénique, celle-ci fut retirée. Des explications sur ce sujet sont décrites au chapitre 5.3.

Le second étage du prototype est un GC de la marque CE instruments de modèle GC8000^{TOP}. La colonne analytique utilisée est une SPB-20 de la compagnie Supelco, ayant une longueur de 30 mètres, un diamètre interne de 0,53 mm et une épaisseur de film de 0,5 μm . Finalement, le GC est couplé à un MS MD800 de Finnigan qui utilise une source d'ionisation EI et un quadrupôle comme analyseur de masse.

3.1.2 Logiciels

Deux logiciels sont utilisés pour opérer le prototype TCRC. Un premier logiciel, "*TCRC Control*" version 1.50 de Dephy Technologies est utilisé pour contrôler les paramètres du module TCRC. Le second logiciel, le *Finnigan Masslab* version 1.4, permet de contrôler les paramètres du GC/MS et de faire l'acquisition des données et le traitement de celles-ci.

N'étant pas un logiciel d'opération, le logiciel "*TCRC Calibration*" version 1.0 de Dephy Technologies permet de faire l'acquisition de profils thermiques qui sont utilisés afin d'évaluer l'onde thermique générée par le four mobile.

3.1.3 Matériel utilisé lors des expériences

Lors de l'injection de hauts volumes d'échantillon, une pompe à micro-débit est utilisée, soit une *Harvard Apparatus*, model "syringe infusion pump 22".

Pour les injections, deux types de seringue furent utilisées. Pour les injections de moins de 10 μL , une seringue d'Hamilton Co. série 701N de 10 μL avec une aiguille 6" est employée. Pour les injections de hauts volumes, une seringue de Hamilton de type Gastight de 10 mL est utilisée.

3.1.4 Produits utilisés

Le gaz vecteur utilisé à l'intérieur des colonnes du prototype tout au long des recherches est l'hélium de grade "zero gas", distribué par Praxair (Montréal, Québec)

Les solutions utilisées lors des différentes injections ont été faites à l'aide des produits suivant :

- Le solvant utilisé est du dichlorométhane de *EM Science*, ayant un grade Omni Solv avec une pureté de 99,96%. Ce solvant est très utilisé pour l'analyse de résidus en chromatographie gazeuse.
- Les alcanes linéaires analysés, du dodécane (C12) jusqu'au pentacosane (C25), proviennent de *Aldrich Chemical Company, Inc.* (Milwaukee, Wisconsin, Etats-Unis).

3.2 Méthodes expérimentales

Lors de la réalisation des expériences sur les hauts volumes d'injection et celles pour l'optimisation de l'appareil, diverses conditions opératoires furent utilisées. Les méthodes expérimentales utilisées pour toutes ces expériences sont décrites ci-dessous.

3.2.1 Méthodes de remplissage des colonnes garnies

La première étape dans la fabrication d'une colonne consiste à couper un tube de quartz de la bonne dimension et d'y introduire ensuite une petite quantité de laine de verre silanisée à l'une des extrémités. Ensuite, le remplissage de la colonne est réalisé selon la méthode avec compactage par agitations mécaniques. Cette méthode de remplissage fut évaluée comme la meilleure dans les travaux de Noreau(9). Pour terminer la fabrication de la colonne, il suffit d'introduire un second morceau de laine de verre pour fermer l'autre extrémité. Après le remplissage, la colonne est placée dans une enceinte chauffante à 250°C et un flux d'azote circule à l'intérieur afin de la conditionner pendant au moins 12 heures.

3.2.2 Caractérisation des profils thermiques du four mobile

Pour réaliser les profils thermiques, un thermocouple de type K (chromel-alumel) est introduit à l'intérieur de la phase stationnaire lors de la fabrication de celle-ci. Le thermocouple est relié à une interface d'acquisition contrôlée par le logiciel d'acquisition *TCRC Calibration*. De nombreux profils thermiques sont enregistrés en balayant la colonne avec le four mobile à différentes températures et à différentes vitesses.

3.2.3 Conditions chromatographiques générales pour la colonne garnie

Dans la majorité des expériences les conditions suivantes furent utilisées pour la première dimension de notre module. S'il advenait le cas contraire, une mention sera faite à ce propos.

Tableau 3.1 : Conditions d'opération pour la colonne remplie.

Vitesse de balayage	50 mm/min
Débit du gaz vecteur	10 mL/min
Température du four*	290°C

Ce débit de gaz fut choisi afin de faire circuler suffisamment de gaz vecteur dans la colonne "mégabore" (2^e dimension) lorsque le système est en mode transfert. Le choix de la température et de la vitesse de balayage du four fut établi de manière à transférer tous les composés de la colonne remplie en un seul passage du four.

3.2.4 Conditions d'opération de la colonne analytique du GC

Lors des analyses, deux programmations de température différentes furent utilisées. La programmation fut changée en cours de route dans le seul but de réduire le temps d'analyse. Le tableau 3.2 présente les conditions chromatographiques utilisées pour l'étude de la faisabilité d'injection de hauts volumes. Pour les autres expériences, les conditions mentionnées dans le tableau 3.3 furent utilisées.

* La température du four est celle mesurée au centre de la colonne lors de l'étude des profils thermiques.

Tableau 3.2 : Conditions chromatographiques du GC pour les premières expériences.

Température initiale	40°C pendant 1 minute
Rampe	15°C par minute
Température finale	230°C pendant 6 minute
Pression à l'intérieur de la colonne	30 kPa
Température de l'injecteur GC	230°C

Tableau 3.3 : Conditions chromatographiques du GC pour les dernières expériences.

Température initiale	40°C pendant 0 minute
Rampe	15°C par minute
Température finale	250°C pendant 1 minute
Pression à l'intérieur de la colonne	30 kPa
Température de l'injecteur GC	250°C

Dans les deux programmations, la température initiale est basse (40°C). Le but recherché par cette action est de geler en tête de colonne les composés transférés, afin de réduire leur largeur de bande d'éluion. Ce processus est nécessaire étant donné que la trappe cryogénique n'est pas utilisée au cours des expériences. Bien sûr, par cette manière d'opérer, les largeurs de bande d'éluion seront plus étendues que celles avec une trappe cryogénique, mais pour le type d'expériences qui seront réalisées, cette technique sera suffisante.

3.2.5 Conditions d'opération du spectromètre de masse

Lors des analyses, le spectromètre de masse fut utilisé en mode balayage répétitif, n'utilisant pas le mode d'ions sélectionnés ("Selected Ions Monitoring") communément appelé SIM. Le mode balayage fut choisi afin d'obtenir le spectre de masse de chacun des pics chromatographiques permettant ainsi la caractérisation des composés advenant un problème dans le chromatogramme. Les paramètres d'opération définis pour les analyses sont décrits dans le tableau 3.4.

Tableau 3.4 : Conditions d'opération du spectromètre de masse en mode balayage répétitif.

Domaine de masses balayé	40 à 360 amu
Vitesse de balayage	0,24 seconde/balayage
Délai inter-balayages	0,01 seconde
Température source	200°C
Température interface	250°C
Énergie d'ionisation	70 eV

3.2.6 Protocole d'opération standard du TCRC-MS

Lors d'une injection dans le TCRC-MS, un certain protocole d'opération très strict est suivi afin de garder une reproductibilité dans les résultats. Voici l'ordre des différentes étapes suivies :

- 1) Introduction de l'échantillon
- 2) Chauffage du four mobile et attente de quelques secondes pour la stabilisation de la température
- 3) Lancement du balayage
- 4) À 50% de la colonne :
 - Pour éviter un retour de pression dans la première colonne lors de la rotation de la vanne de transfert, le débit de gaz dans la seconde colonne (megabore) est coupé et le split est ensuite ouvert pour laisser tomber la pression à l'intérieur de celle-ci.
 - Quelques secondes après l'ouverture du split, la vanne est placée en position transfert et le split est refermé immédiatement. À partir de ce moment, le gaz vecteur provenant de la première colonne circule dans la seconde.
- 5) Lorsque le four mobile atteint la vanne, attendre 20 secondes afin de permettre le transfert des composés.
- 6) La vanne est replacée en mode évent.
- 7) La pression est remise dans la colonne GC.
- 8) La programmation du GC est lancée, ainsi que l'acquisition MS.
- 9) Le four mobile est repositionné au début de la colonne garnie.

3.2.7 Méthode pour évaluer la distribution des composés sur la colonne garnie

Afin de déterminer la position des composés à l'intérieur de la colonne après une injection d'un haut volume, un découpage thermique de la colonne est réalisé. Ce découpage s'effectue en analysant chacune des tranches de deux

centimètres à partir de la vanne de transfert. Pour ce faire un certain mode opératoire doit être suivi. La technique est décrite ci-dessous et schématisée par la figure 3.4.

- 1- Le four mobile est déplacé avant la portion de colonne à analyser, sans être chauffé.
- 2- Le four mobile est ensuite chauffé à haute température.
- 3- La section étudiée est ensuite balayée par le déplacement du four qui entraîne les composés vers l'interface de transfert.
- 4- Ces composés sont transférés dans le GC/MS et ensuite analysés.
- 5- Pendant l'acquisition GC/MS, le four mobile est refroidi et déplacé à la tranche de 2 centimètres devant être analysée, et les mêmes étapes sont répétées.

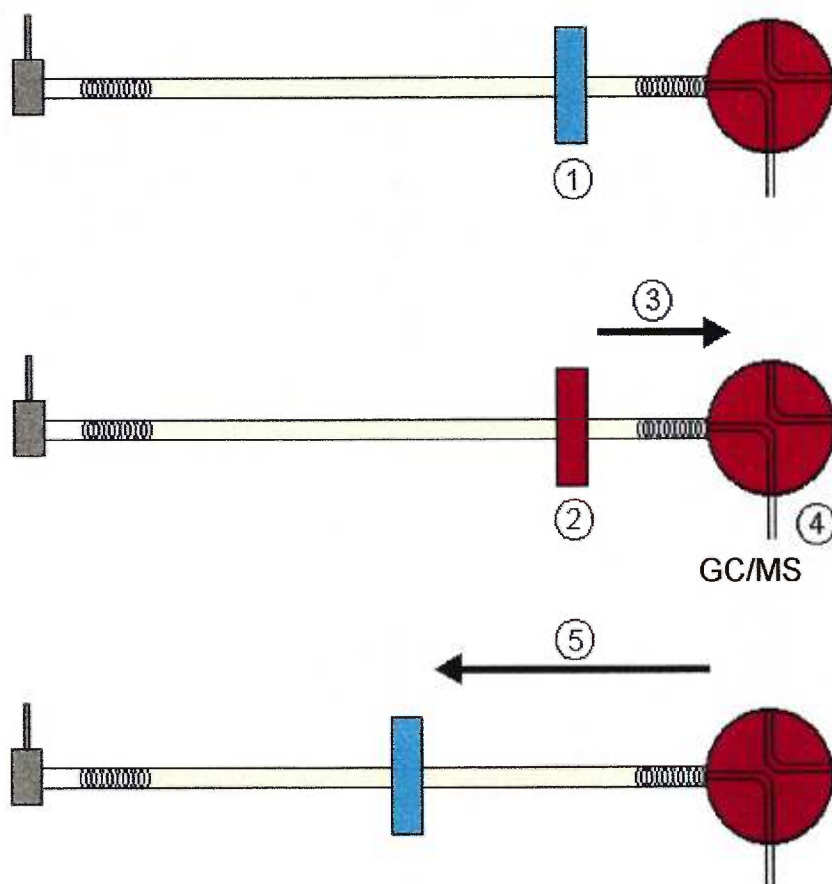


Figure 3.4 : Schéma illustrant le principe du découpage thermique.

3.2.8 Études sur les hauts volumes d'injection en TCRC

De nombreuses études sur les hauts volumes d'injection furent effectuées en TCRC. Celles-ci se sont orientées vers des analyses qualitatives et quantitatives. Pour réaliser ces expériences, un protocole d'introduction de l'échantillon fut établi afin d'avoir des conditions et des résultats reproductibles. Cette procédure est décrite ci-dessous et illustrée par la figure 3.5.

Protocole pour l'injection de hauts volumes :

- 1- Le four est positionné à environ 5 mm à l'avant du point d'injection (bout de l'aiguille) et il est chauffé à la température souhaitée pour aider la vaporisation du solvant de l'échantillon.
- 2- La pompe à infusion est ajustée au bon débit et l'injection est lancée. Le temps d'injection est chronométré afin d'introduire le bon volume d'échantillon.
- 3- Lors de l'injection, les vapeurs de solvant quittent le système par l'évent et les analytes se déplacent légèrement dans la colonne en fonction de leur volatilité.
- 4- À la fin de l'injection, le four mobile revient au début de la colonne où il est chauffé à une température suffisamment élevée pour faire migrer les composés d'intérêt lors de son passage.
- 5- Le protocole d'opération standard du TCRC-MS est ensuite suivi (section 3.2.6).

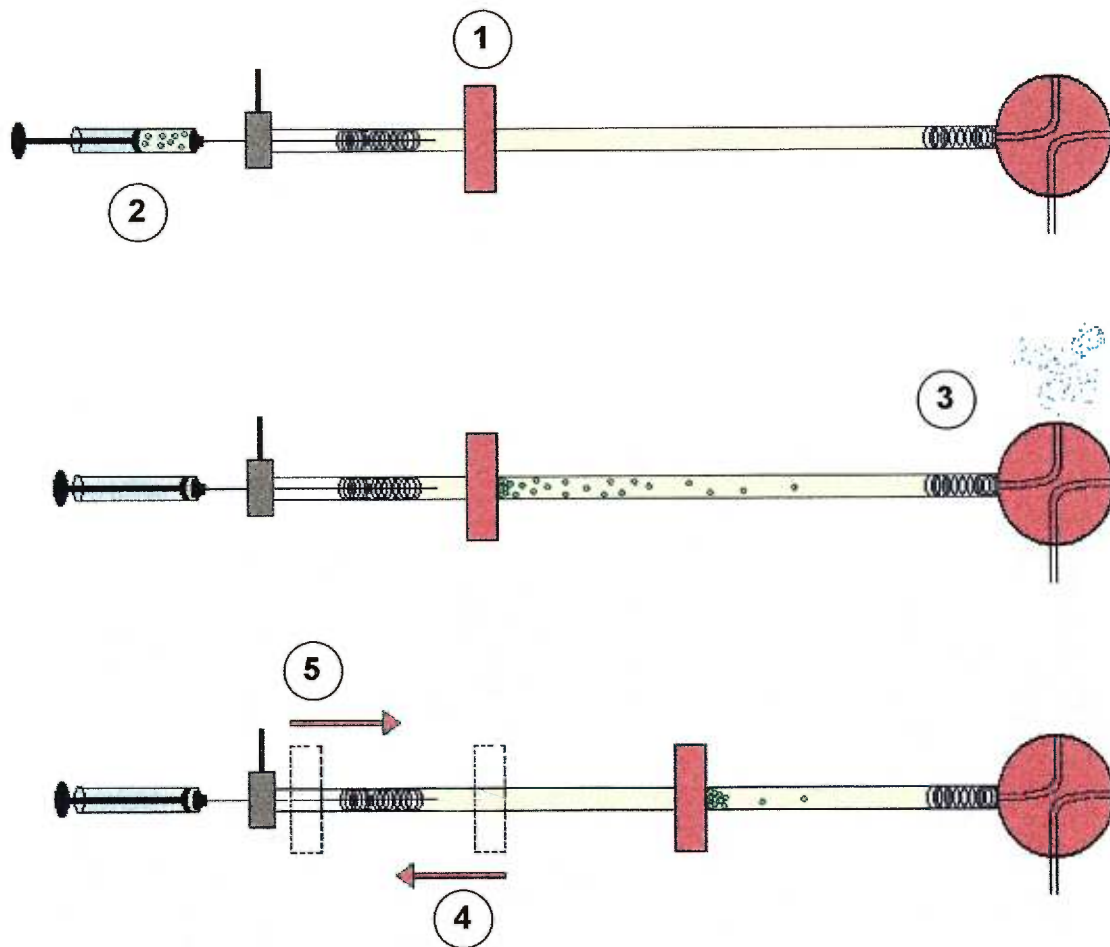


Figure 3.5 : Schéma illustrant le principe d'injection de hauts volumes.

La description des diverses expériences sur les hauts volumes d'injections sera faite au début de chacune des sections traitant des résultats obtenus lors de ces expériences.

Chapitre 4 : Hauts Volumes d'Injection

En regardant le design du prototype TCRC, celui-ci présente les caractéristiques idéales pour réaliser des injections de hauts volumes. Effectivement, grâce à sa colonne remplie (précolonne), à sa sortie prématurée pour les vapeurs sur la vanne de transfert et à sa capacité à réaliser de la compression de bande, le TCRC permet de faire des injections de hauts volumes. Le type d'injection réalisé avec le prototype peut être classé comme une injection "on-column" utilisant le déversement gazeux (gas discharge) pour éliminer les vapeurs.

De nombreuses expériences de hauts volumes furent réalisées avec le module TCRC, afin de voir les possibilités et les limites de l'appareil dans ce domaine. Les travaux sur le sujet ont principalement porté sur :

- La faisabilité de réaliser des analyses qualitatives sur des composés à l'état de trace.
- La caractérisation du bruit de fond présent lors de l'introduction de hauts volumes.
- La comparaison des courbes d'étalonnage réalisées à l'aide d'injection de 1 μ L et de 1 mL.

Grâce à ces différents modes d'opérations, le TCRC a la possibilité de réaliser différents types d'analyse. En mode TCRC/GC, il est possible de faire l'analyse totale des impuretés et des composés à l'état de trace d'un échantillon. En mode TCRC/TCA, il sera possible de cibler les composés désirés d'un mélange afin de faire une analyse quantitative de ceux-ci. Ce mode permet d'éviter la surcharge (overload) de la colonne analytique, tout en améliorant les limites de détection.

4.1 Étude de faisabilité d'injection de hauts volumes

Les premières expériences sur les hauts volumes d'injection se sont d'abord orientées sur l'étude des possibilités que présentait le TCRC à supporter une grande quantité d'échantillon. Pour ce faire, différentes injections furent réalisées dans le but d'introduire dans le TCRC des volumes de solution de plus en plus grands. Les solutions sont composées d'alcane linéaires compris entre le dodécane (C12) et le pentacosane (C25). Pour chacune des injections, relativement la même quantité d'alcane en terme de masse se retrouvait dans la colonne, soit 60 ng. Pour réaliser cette expérience, le protocole d'injection des hauts volumes de la section 3.2.8 fut suivi.

Lors de cette expérience, des volumes de 1 mL, 5 mL, 10 mL et 20 mL furent introduits dans la colonne remplie du module TCRC à un débit de 166,7 $\mu\text{L}/\text{min}$ à l'aide de la pompe à infusion et à une température au point d'injection de 300°C. Le débit de gaz vecteur était de 10 cc/min. Donc, pour une injection de 20 mL, un temps supérieur à 120 minutes est nécessaire pour introduire l'échantillon, ce qui est considérable.

Le chromatogramme obtenu lors de l'introduction de 20 mL est montré à la figure 4.1 avec en référence un chromatogramme obtenu avec une injection de 1 μL , présentant les mêmes alcanes. Les deux chromatogrammes sont présentés avec le courant ionique total (TIC) obtenu par le mode balayage répétitif du MS.

L'une des premières caractéristiques notables du chromatogramme de 20 mL est l'absence du pic de solvant ou du moins seulement une présence à l'état de trace. L'évent sur la vanne de transfert a très bien joué son rôle en expulsant les vapeurs à l'extérieur du système. Ainsi, la colonne analytique du GC et le détecteur MS ont été préservés contre l'arrivée massive de vapeur de solvant. De plus, le pic de solvant étant absent, il n'a pu masquer la présence de pics éluant près de lui.

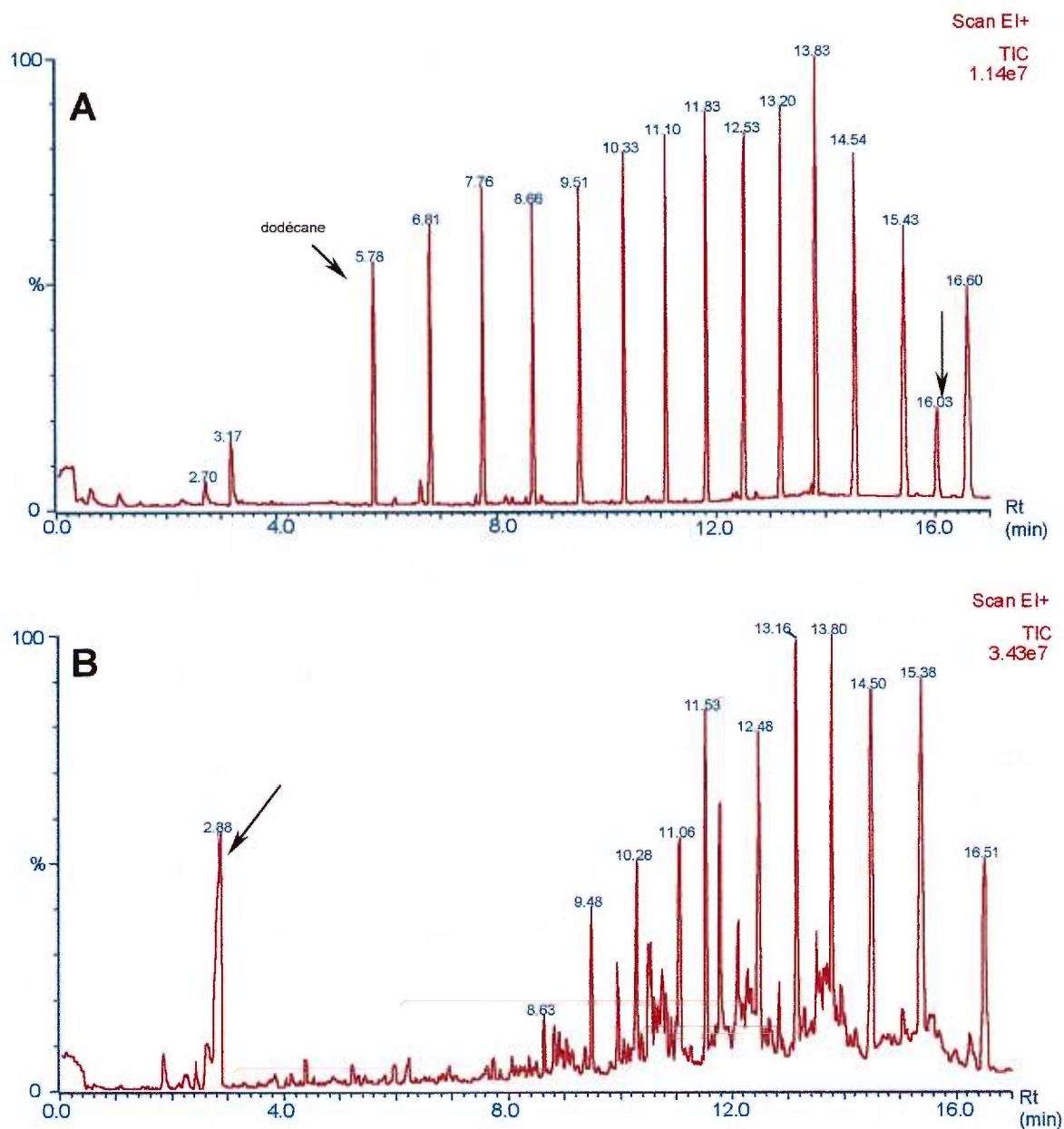


Figure 4.1 : Comparaison entre deux chromatogrammes d'alcane linéaires de C12 à C25 (détecteur en mode balayages répétitifs). Le chromatogramme **A** provient d'une injection de 1 μL d'une solution à 60 $\text{ng}/\mu\text{L}$. Le chromatogramme **B** découle d'une injection de 20 mL d'une solution à 3 ng/mL ou 3 $\text{pg}/\mu\text{L}$.

En comparant les deux chromatogrammes de la figure 4.1, une discrimination des alcanes de C12 ($R_t = 5.78$) à C15 ($R_t = 8.63$) est notable et ce phénomène est probablement dû au temps d'injection de la solution. Avec une injection aussi longue, les analytes les plus volatils du mélange risquent d'être éventés avec le solvant, entraînés par le gaz vecteur. Malgré cette discrimination, l'injection de 20 mL réalisée à l'aide du TCRC présente un meilleur résultat que l'injection de 20 mL(16) réalisée par Grob *et al.* en 1989. Le chromatogramme présenté par Grob montre que les esters méthyles ayant une chaîne de carbone de C24 et moins connaissent une discrimination lors de l'injection (figure 2.7).

Cette discrimination est causée par le grand débit d'injection utilisé pour introduire l'échantillon. Effectivement, l'injection est réalisée en seulement 20 minutes, avec un débit d'injection de 1,0 mL/min. Pour parvenir à évaporer tout ce solvant, une température élevée doit être appliquée au point d'injection. Par conséquent, cette grande quantité d'énergie vaporise aussi d'autres composés de volatilité moyenne. Ces composés sont eux aussi rejetés à l'extérieur du système, créant ainsi une discrimination sur une certaine gamme de produits.

Autres phénomènes apparaissant dans les chromatogrammes de la figure 4.1 : des pics anormaux peuvent être observés. Dans le chromatogramme de 1 μ L, un pic à 16.03 minutes apparaît. Plusieurs informations dans le spectre de masse (figure 4.2) peuvent conduire à l'élaboration d'une structure de ce composé.

D'abord, le spectre présente peu de fragmentations ce qui laisse présager la présence d'un produit aromatique. Ensuite, le profil isotopique observé aux masses 286, 288 et 290 (M , $M+2$, $M+4$) indique la présence d'un composé dihalogéné. L'information obtenue par le ratio isotopique de ce profil ($M = 9$, $M+2 = 6$, $M+4 = 1$) indique que le produit est dichloré. Second indice de la présence de chlore dans la molécule provient du profil isotopique de l'ion de base. Celui-ci possède un ratio 3 :1 ($M : M+2$) qui est caractéristique à un

fragment monochloré. Donc, une perte d'un fragment contenant un chlore est survenue lors de la fragmentation. Troisième indice indiquant la présence de chlore dans la structure est la perte de la masse 36 entre les m/z 75 et 111, ce qui correspond à une perte de HCl par réarrangement.

La présence de soufre dans le composé fut déduite à partir d'une perte de masse de 48 entre les m/z 159 et 111. Cette perte correspond à l'élimination d'un soufre et d'un oxygène (SO). À partir de cette information, il fut possible d'élaborer certaines hypothèses impliquant la présence de soufre à l'intérieur de la structure. Les composés avec le soufre sont remarquables pour la diversité des réarrangements possibles lorsqu'ils possèdent une charge(18). Parmi les structures élaborées, le di-(chlorophenyl) sulfone (figure 4.3) serait la molécule la plus probable. Ce produit provient possiblement d'une contamination lors de la préparation de la solution, car tous les chromatogrammes obtenus à partir de cette solution présentent ce pic. Les solutions furent refaites afin d'éliminer le problème.

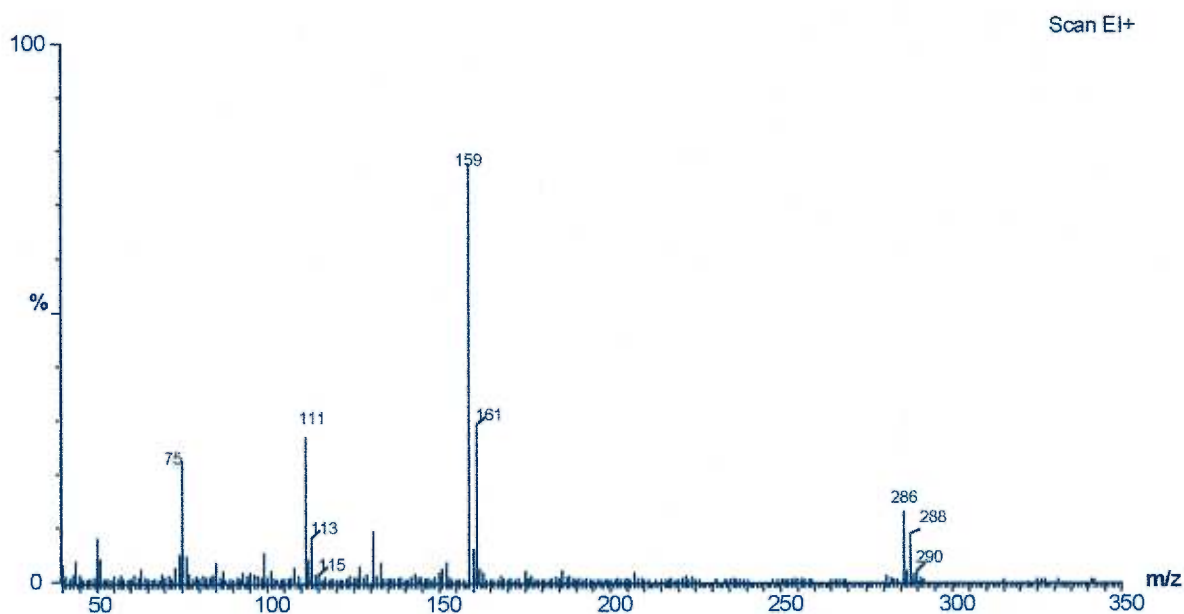


Figure 4.2 : Spectre de masse du pic à 16.03 minutes du chromatogramme obtenu de l'injection de 1 μ L.

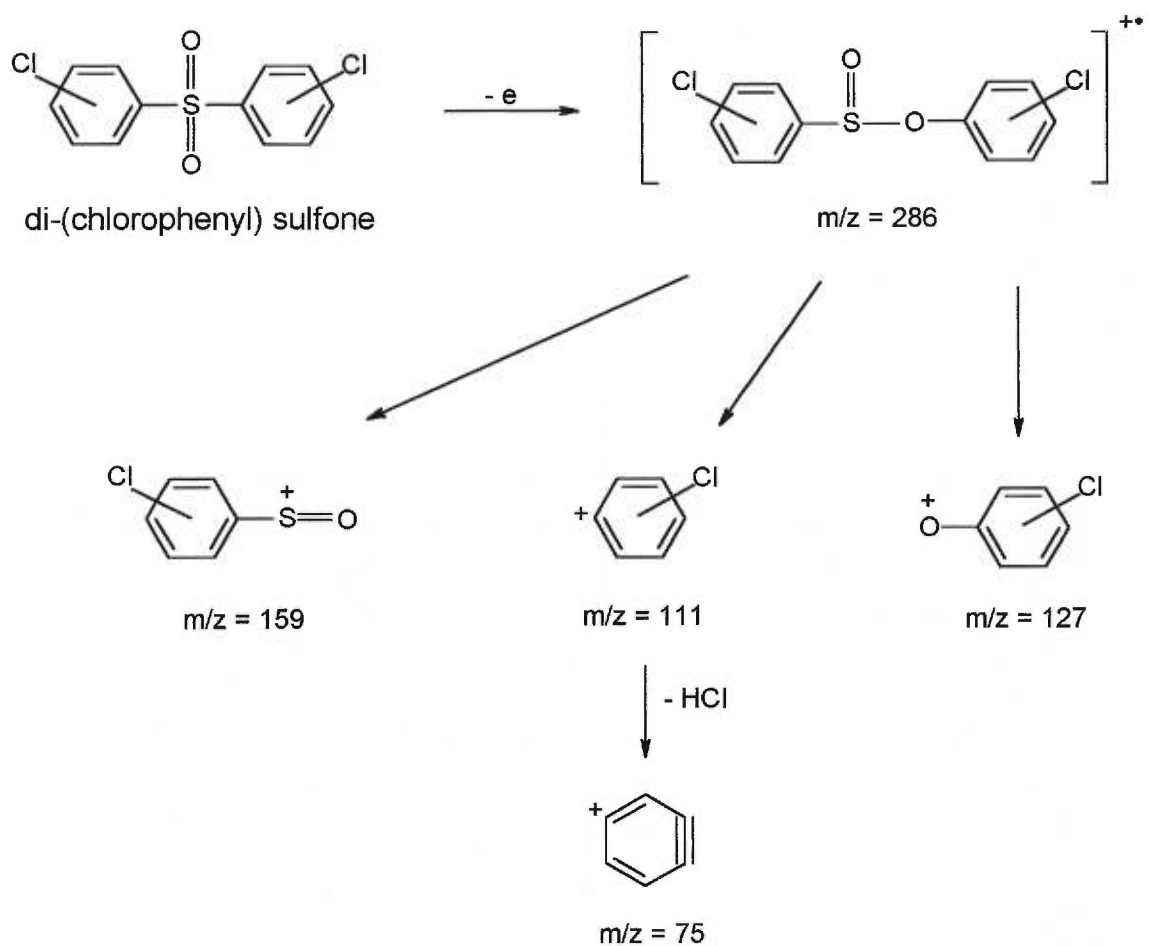


Figure 4.3 : Les principaux fragments obtenus à partir du di-(chlorophenyl) sulfone.

Un autre pic anormal est observé dans le chromatogramme **B** de la figure 4.1. Le pic observé au temps 2.88 minutes n'est pas observé dans l'injection de 1 μL , mais est présent à des intensités variables dans les autres injections de hauts volumes (non présentées ici). Étant donné que l'intensité du pic n'augmente pas avec le volume d'injection, il est peu probable que la source de ce pic provienne de la solution introduite. En observant le spectre de masse de ce pic (figure 4.4), il est possible d'élaborer une hypothèse sur la structure de ce composé.

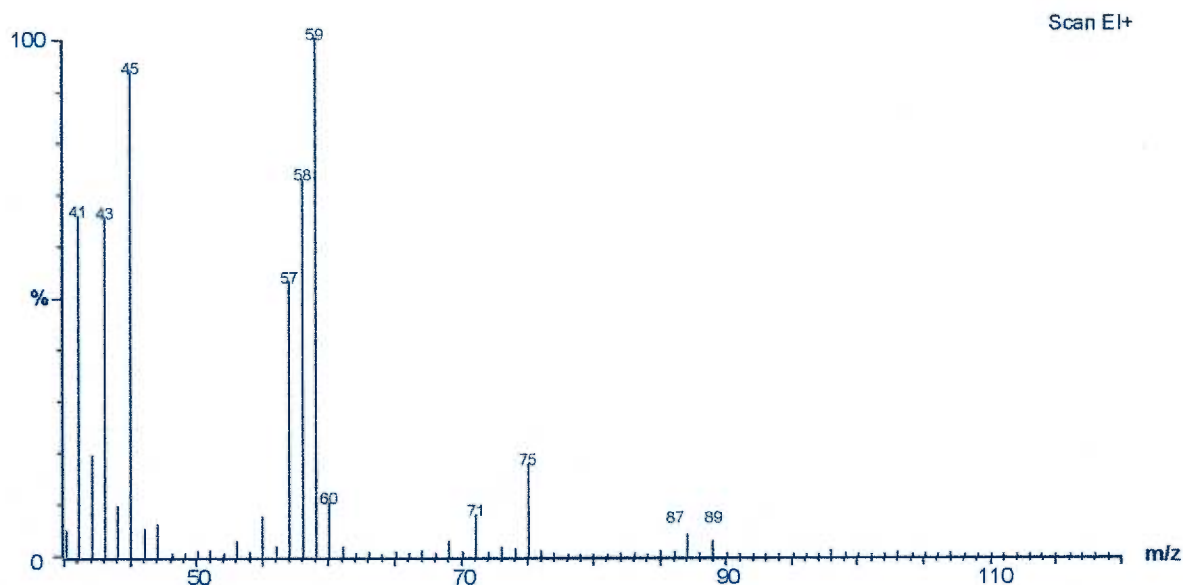


Figure 4.4 : Spectre de masse du pic à 2.88 minutes du chromatogramme obtenu de l'injection de 20 mL.

D'abord, le spectre de masse ne semble pas présenter d'ion moléculaire, car tous les ions présents ont la même parité, donc ils correspondraient tous à des ions de réarrangement (aucun de fragmentation). Une autre caractéristique du spectre est celle de n'avoir aucun isotope lourd présent dans la molécule (aucun isotope $A+2$). Les nombreux fragments dans le spectre laissent présager à un composé aliphatique. Les ions très intenses aux m/z 45 et 59 sont d'excellents précurseurs pour les composés oxygénés, tout particulièrement pour les alcools et les éthers.

L'ion à la masse de 75 permet d'obtenir la formule empirique de ce fragment grâce au ratio isotopique avec l'ion à la masse 76. La formule empirique de cet ion fragment serait $C_3H_7O_2$. Pour l'identification des autres fragments, il serait nécessaire d'avoir la masse exacte de chacun des ions, malheureusement cette information ne fut pas obtenue avec le type d'appareil utilisé. Malgré tout, une hypothèse de structure peut être émise (figure 4.5).

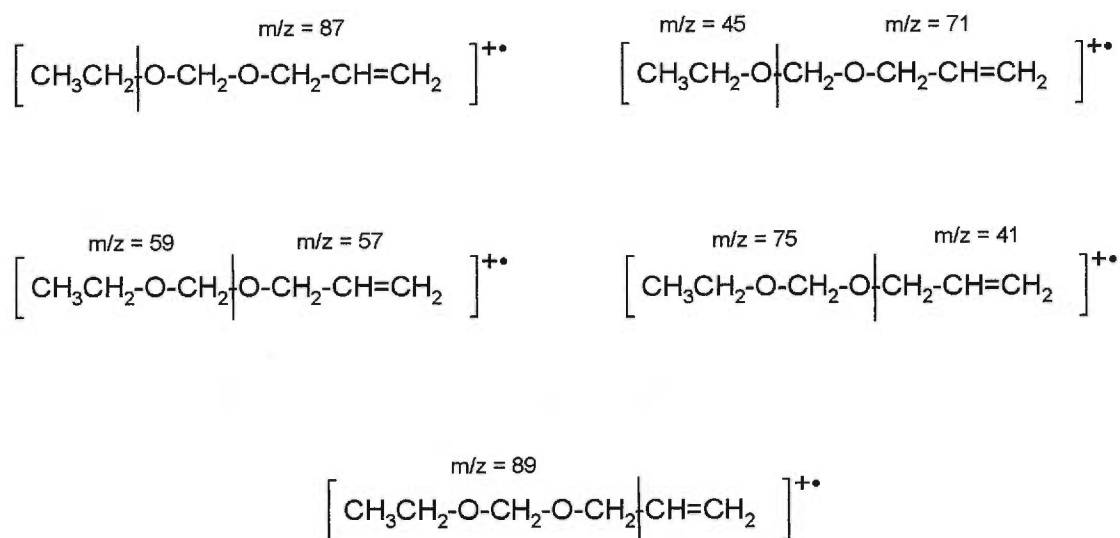


Figure 4.5 : Structure moléculaire possible présentant l'origine des différents fragments.

Une autre caractéristique du chromatogramme de 20 mL (figure 4.1) est la quantité considérable de pics formant le bruit de fond dans le chromatogramme. Il est alors important de cibler les sources de ce bruit, afin de voir s'il est possible de les enrayer et ainsi améliorer les résultats. Dans le cas particulier des hauts volumes d'injection en TCRC, trois sources différentes de bruit peuvent être ciblées :

- Bruit électronique (MS)
- Des colonnes (remplie et analytique)
- Des impuretés dans les solutions injectées.

Le bruit ne provient pas d'une source unique, mais plutôt d'une combinaison de tous ces éléments. À l'aide des chromatogrammes et des spectres de masse, il devient possible d'expliquer, en partie, la provenance du bruit de fond.

La figure 4.6 présente un agrandissement sur une zone typique du bruit de fond. Le chromatogramme **A** provient d'une injection de 1 μL de dichlorométhane. Le chromatogramme **B** fut obtenu lors d'une injection de 1 mL du solvant seulement (blanc) et le chromatogramme **C** provient d'une injection de 20 mL d'une solution d'alcane. L'agrandissement des chromatogrammes fut réalisé dans une région ne présentant pas d'alcane linéaire provenant des solutions.

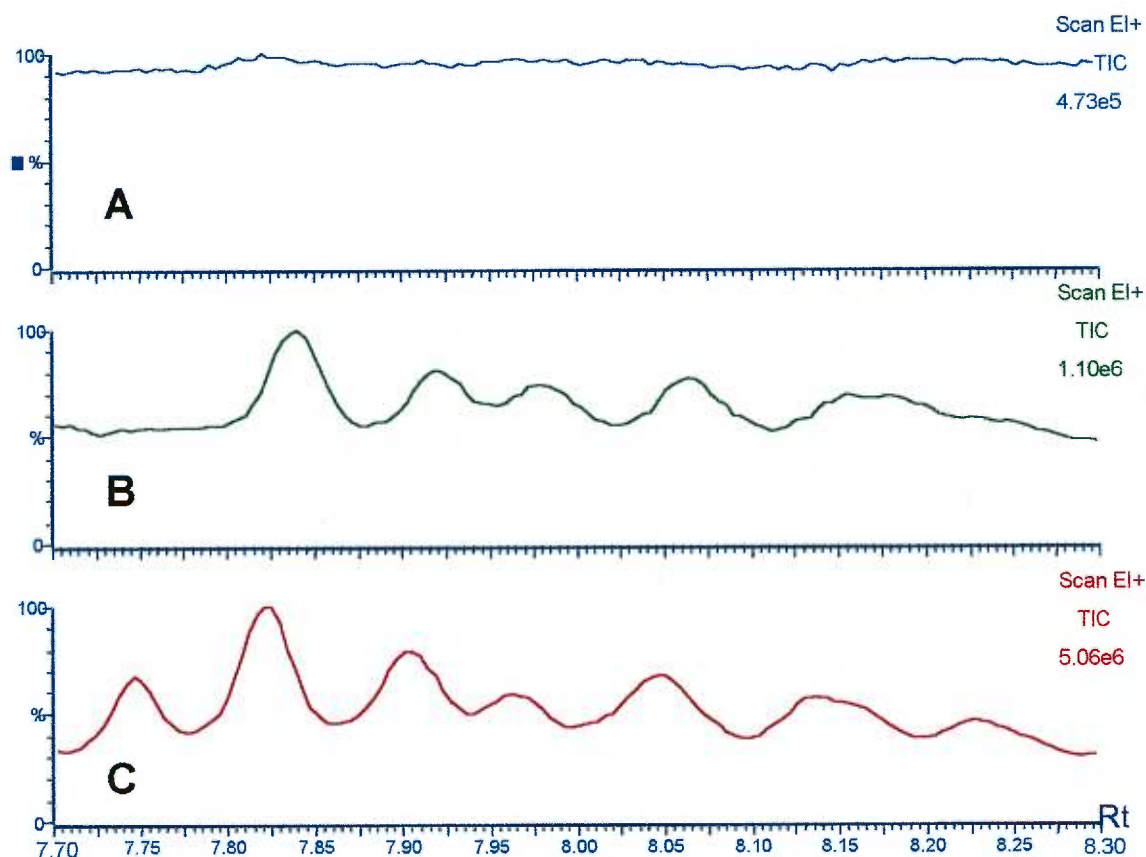


Figure 4.6 : Agrandissement d'une section des chromatogrammes présentant du bruit de fonds. **A** – injection 1 μL ; **B** – injection 1 mL; **C** - injection 20 mL.

À première vue, une très grande similarité peut être observée dans le bruit de fond des chromatogrammes **B** et **C**. Il est alors peu probable que ce bruit provienne de l'électronique de l'appareil, car celui-ci aurait été aléatoire (comme dans le chromatogramme **A**) et l'intensité serait environ la même dans tous les chromatogrammes. Cependant, il faut admettre qu'il y a une composante provenant du bruit électronique dans le chromatogramme, mais cette composante n'est pas majoritaire.

Si le bruit provient des colonnes, il y a alors deux sources possibles : la première est la phase stationnaire qui se détache et la seconde est le lavement des composés adsorbés sur la phase stationnaire. Dans le premier cas, des pics caractéristiques des groupements siloxanes seront observés dans les spectres de masse. Le cas se présente pour le premier pic du chromatogramme **C**, le spectre de masse contient les fragments caractéristiques de la phase stationnaire (figure 4.7). Biemann(19) décrit clairement l'origine des différents fragments siloxanes provenant de la phase stationnaire. Les structures présentées (figure 4.8) permettent de repérer facilement l'origine des différents fragments dans le spectre de masse (figure 4.9). Les nombreuses pertes de masse de 74 proviennent de l'élimination du diméthyle siloxane.

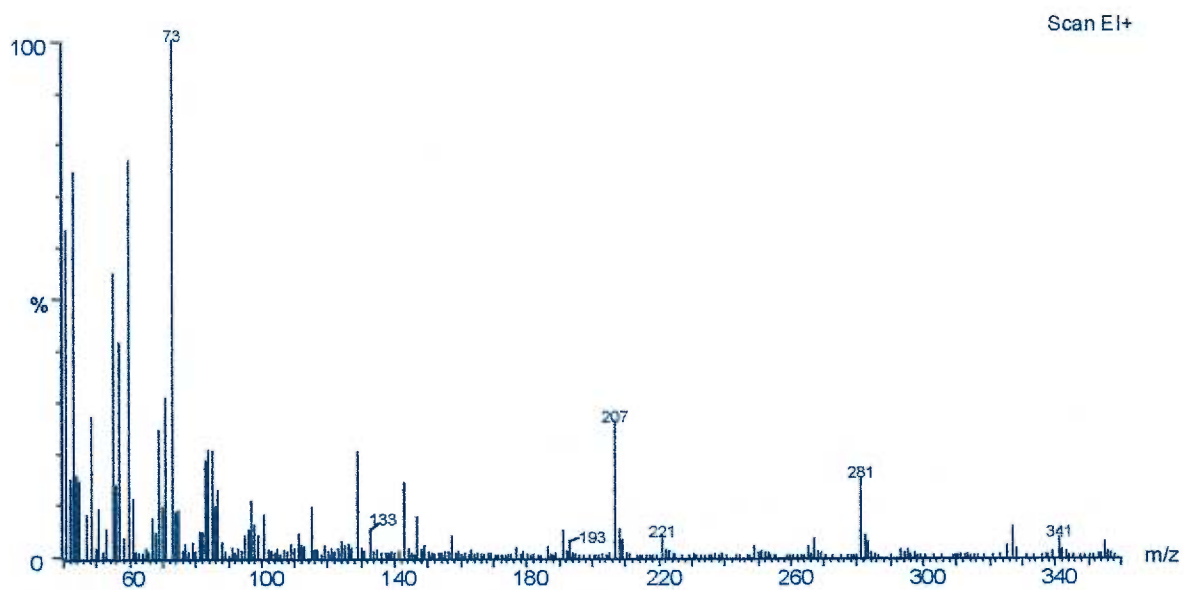


Figure 4.7 : Spectre de masse provenant du premier pic du chromatogramme **C** montrant les masses caractéristiques de la phase stationnaire composée de groupements siloxanes.

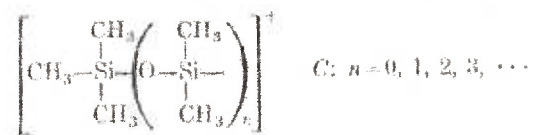
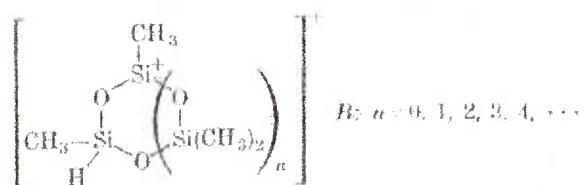
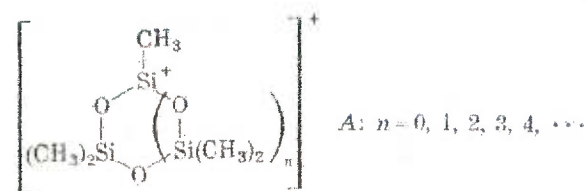


Figure 4.8 : Structure des différents fragments de la phase stationnaire(19).

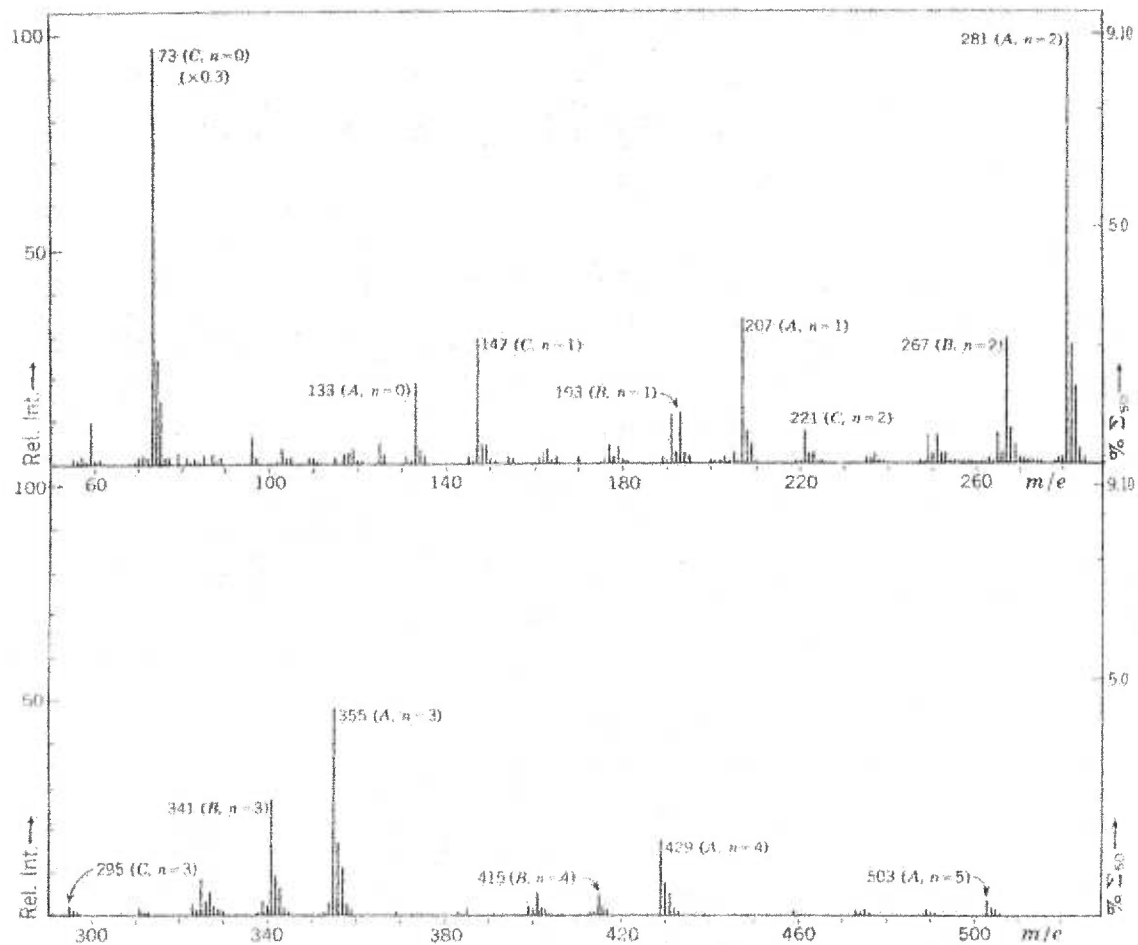


Figure 4.9 : Spectre de masse provenant de la graisse de silicone(19)

Par contre, si la source du bruit de fond provient des composés lavés de la colonne lors de l'injection, il devient alors beaucoup plus difficile de le caractériser. Ces composés n'ayant pas de spectre de masse caractéristique peuvent facilement se confondre avec les produits contenus à l'état de trace dans le solvant. Une des manières d'identifier la source dans ce cas est de répéter la même injection quelques fois, afin de voir si la forme et l'intensité du bruit de fond changent avec les injections. Si le bruit provient du lavement par le solvant des produits adsorbés sur la phase stationnaire, bien après quelques injections, le profil du bruit de fond devrait varier, n'entraînant pas la même quantité de composés adsorbés. Par contre, si le profil demeure constant, le bruit provient des composés contenus dans le solvant à l'état de trace, car leur concentration ne varie pas d'une injection à l'autre.

Afin de déterminer la source du bruit, le chromatogramme **B** de la figure 4.6 fut donc repris et comparé avec un autre chromatogramme utilisant le même solvant et le même volume d'injection (figure 4.10).

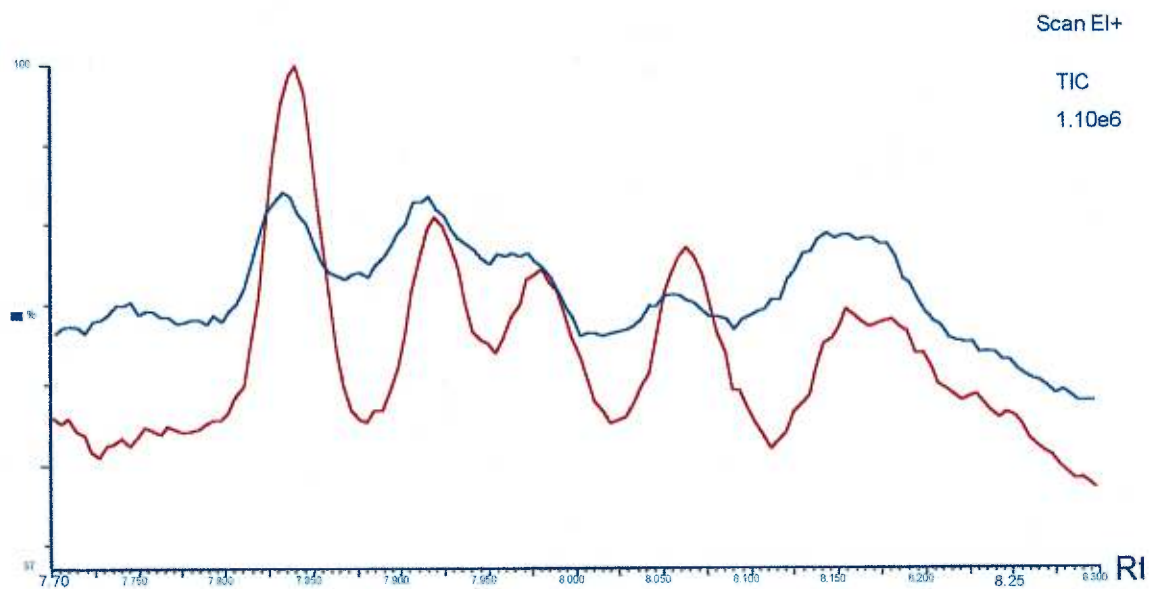


Figure 4.10 : Comparaison de deux chromatogrammes provenant d'injection de 1 mL de dichlorométhane, effectués pour comparer les bruits de fond.

Des deux chromatogrammes précédents, il est possible de constater que l'intensité et la forme du profil a changé quelque peu entre les deux injections. Donc, il est probable que le bruit provient du lavage de la phase stationnaire avec le solvant. Cependant, il est aussi possible de constater que certains pics subissent peu de changement, comme le dernier pic du chromatogramme, qui pourrait bien être un composé provenant du solvant. Bref, la composition du bruit de fond proviendrait en grande partie de composés provenant de la colonne, combinée avec des produits à l'état de trace dans les solutions.

Les résultats exposés dans cette section montrent bien qu'il est possible de réaliser des analyses qualitatives en introduisant de hauts volumes dans le TCRC. Grâce au spectre de masse, il est même possible de faire l'identification de composés à l'état de trace dans un chromatogramme. Ces résultats laissent présager la faisabilité de hauts volumes d'injection en analyse quantitative.

4.2 Analyses quantitative avec les hauts volumes

Après avoir eu confirmation avec les résultats précédents qu'il était possible d'introduire des hauts volumes en TCRC, les expériences se sont orientées sur la possibilité de faire des analyses quantitatives avec les hauts volumes. Pour atteindre cet objectif, des courbes d'étalonnage direct furent réalisées en introduisant dans le TCRC des volumes de solution de 1 μL et 1000 μL . Les solutions analysées sont composées d'alcane linéaires de C12 à C25 à des concentrations de 3 $\text{pg}/\mu\text{L}$ (3 ng/mL) jusqu'à 240 $\text{ng}/\mu\text{L}$. Pour les hauts volumes, un débit de 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ est utilisé pour introduire les solutions avec une température au point d'injection de 325°C et un débit de gaz vecteur de 10 cc/min .

Le choix du volume d'injection a été fait de manière à avoir un temps d'injection inférieur au temps d'analyse. Étant donné le découplage des colonnes dans le système TCRC, il est possible d'introduire l'échantillon dans la première colonne, pendant qu'une analyse s'effectue dans la seconde. L'injection de 20 mL fut rejetée à cause de son temps d'injection de deux heures. Le meilleur compromis trouvé fut l'introduction d'un volume de 1 mL. Son injection se réalise en seulement 10 minutes.

La figure 4.11 compare deux chromatogrammes obtenus en introduisant 60 ng d'alcane sur la colonne, l'un en injectant 1 μL de solution (60 $\text{ng}/\mu\text{L}$) et l'autre 1 mL (60 ng/mL). Une discrimination des alcanes les plus volatils est toujours présente, mais moins importante que celle obtenue lors d'une injection de 20 mL. Les chromatogrammes furent acquis en mode balayage répétitif avec le MS, mais présentés ici en isolant les masses 43, 57 et 71, afin d'avoir des chromatogrammes focalisant sur les composés d'intérêt.

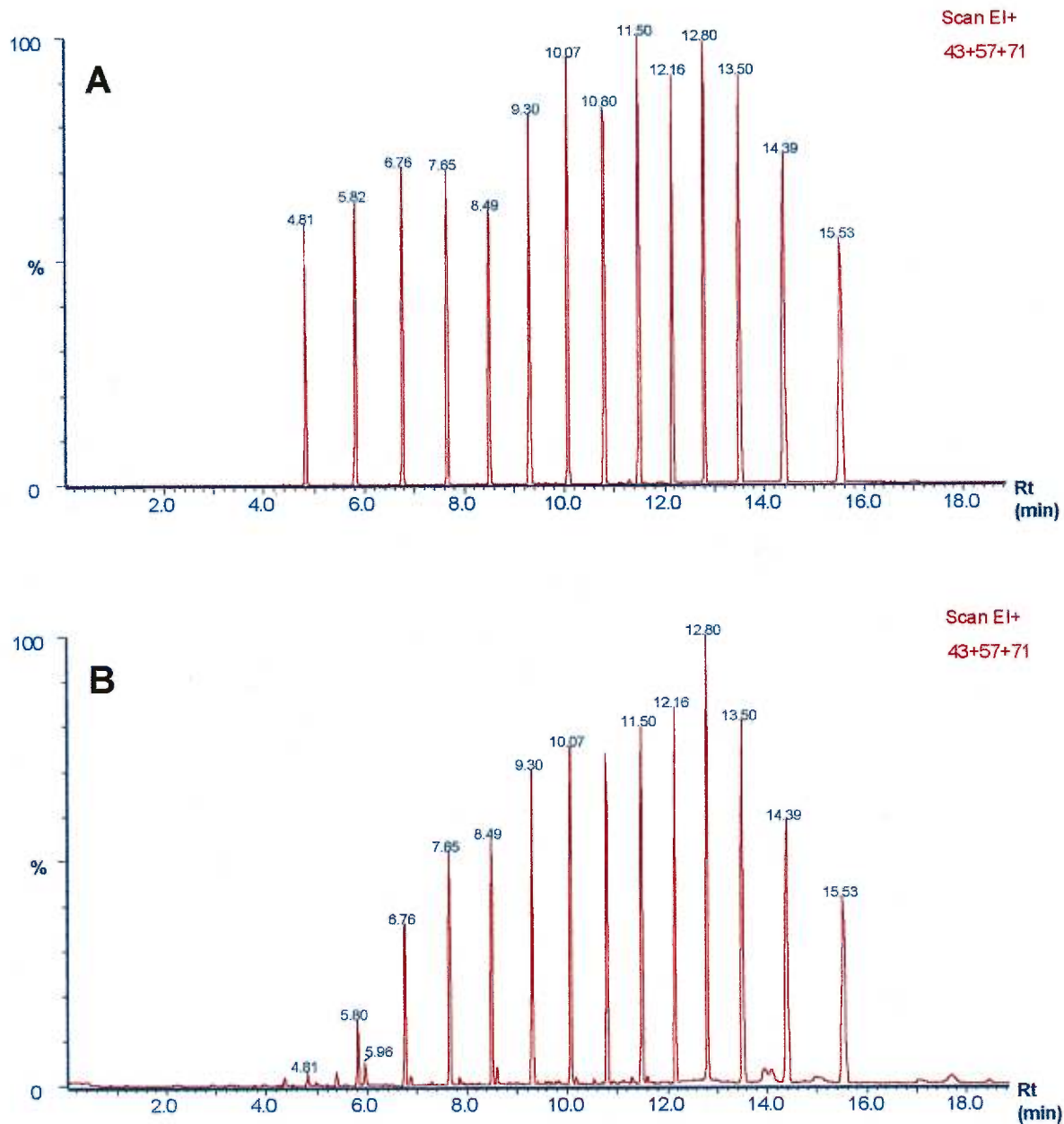


Figure 4.11 : Comparaison entre deux chromatogrammes d'alcane linéaires de C12 à C25. Le chromatogramme **A** provient d'une injection de 1 µL d'une solution à 60 ng/µL. Le chromatogramme **B** découle d'une injection de 1 mL d'une solution à 60 ng/mL ou 60 pg/µL.

Parmi tous les alcanes analysés, les courbes d'étalonnage de trois composés sont montrées à la figure 4.12. Le dodécane (C12) fut choisi pour représenter ce qui arrive aux composés les plus volatiles. Le tridécane (C13) fut sélectionné comme composé à volatilité intermédiaire et le nonadécane (C19) pour les moins volatils. Ainsi, une bonne image est tracée pour l'ensemble des composés contenus dans les solutions. Les courbes d'étalonnage furent tracées en prenant l'aire sous les pics des chromatogrammes obtenus en isolant les masses 43, 57 et 71.

À première vue, les analyses quantitatives avec les hauts volumes d'injection semblent très bien fonctionner. Peu importe le composé analysé, une tendance linéaire est suivie. Cependant, certaines différences peuvent être notées entre une injection de 1 μL et une autre de 1 mL. Comme dans le cas des courbes d'étalonnage du dodécane et du tridécane, une grande différence dans la sensibilité est remarquée. Cette différence est due à la discrimination des composés les plus volatils du mélange (C12-C14) lors de l'introduction de hauts volumes. Il est donc normal d'avoir une pente moins élevée pour les injections de 1 mL dans ces cas particuliers.

Pour l'étalonnage du nonadécane (figure 4.12C), les deux courbes suivent une tendance très similaire avec un léger décalage. Ce décalage peut provenir de la variation du volume introduit lors des injections de 1 μL , car l'erreur sur la lecture de la seringue est relativement élevée. Malgré cette légère différence, l'analyse quantitative du nonadécane à l'aide d'injection de 1 mL possède la même sensibilité que les analyses réalisées avec 1 μL . Le grand avantage de la technique est la grande amélioration de la limite de détection. Les concentrations des solutions étant 1000 fois inférieures pour les injections de 1 mL par rapport à celles de 1 μL , la limite de détection s'en trouve améliorée d'un facteur aussi grand.

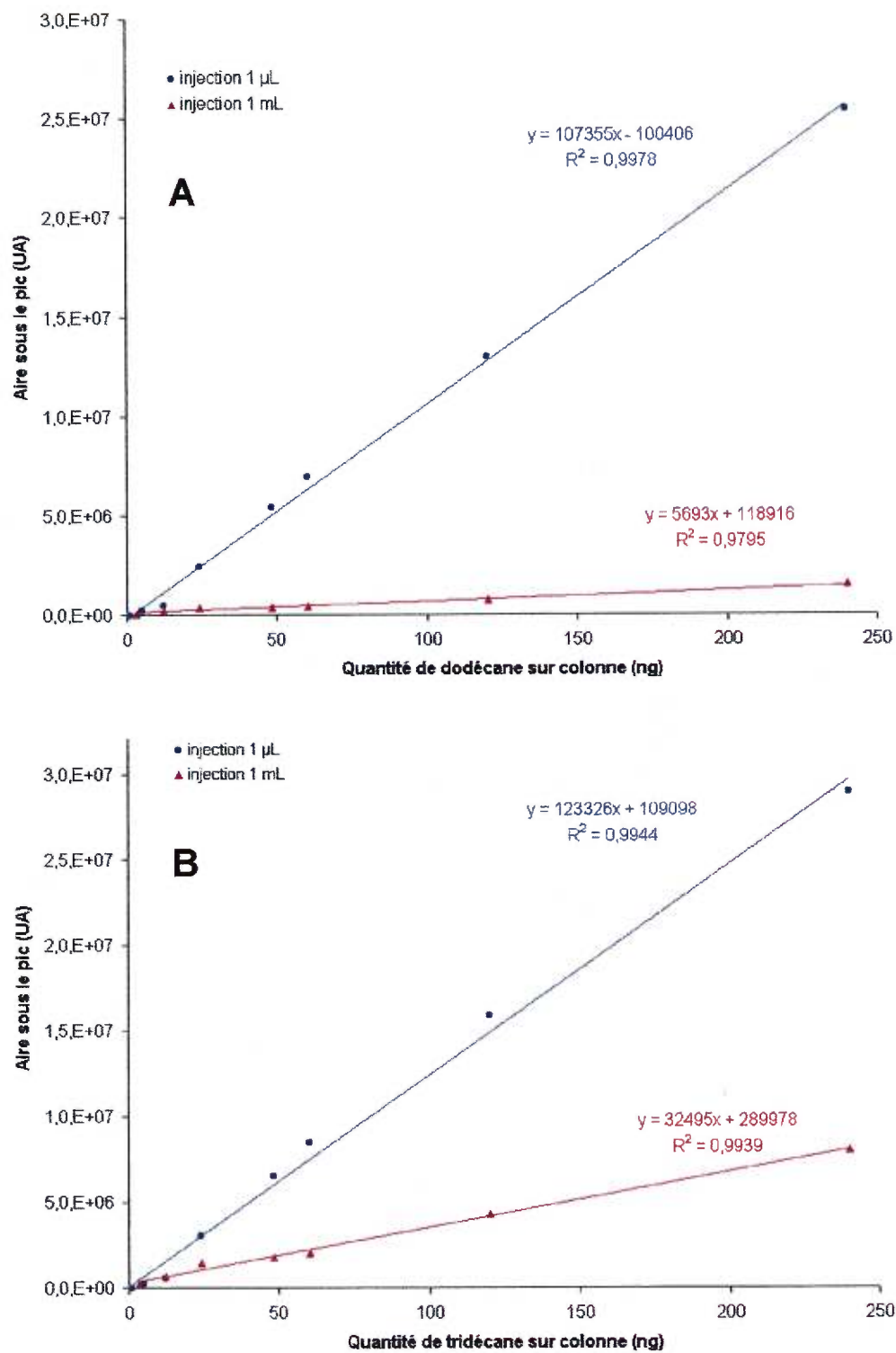


Figure 4.12 : Comparaison des courbes d'étalonnage de 1 μL et 1000 μL d'injection pour le dodécane (A) et le tridécane (B).

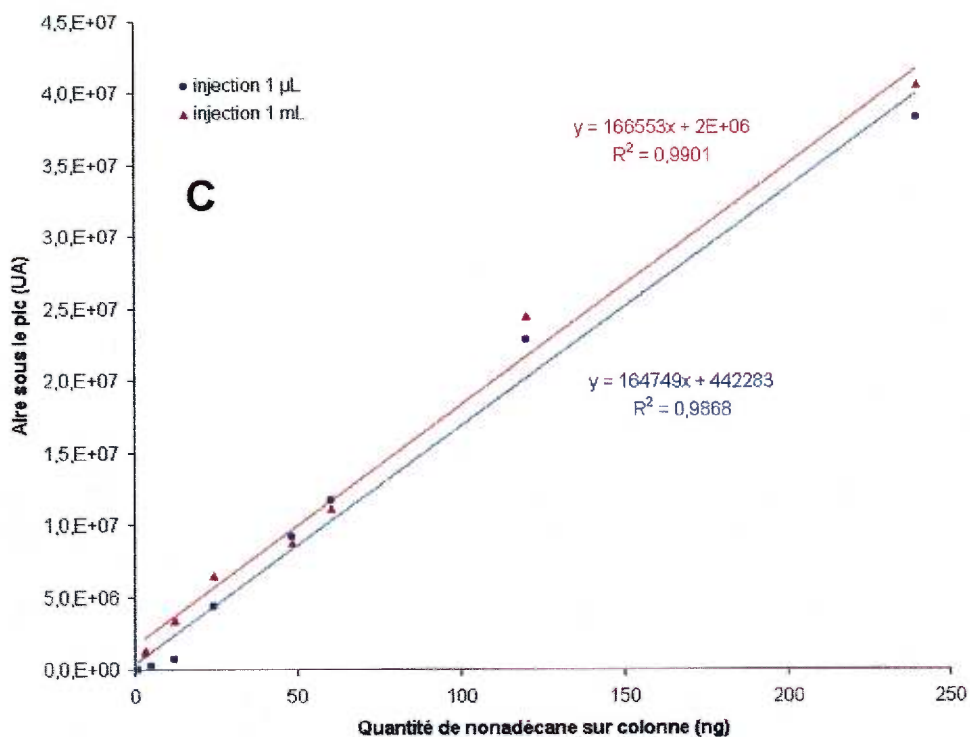


Figure 4.12 : Comparaison des courbes d'étalonnage de 1 µL et 1000 µL d'injection pour le nonadécane (C).

Les résultats obtenus lors de ces expériences montrent qu'il est possible de faire des analyses quantitatives en introduisant de hauts volumes dans le TCRC. Cependant, certains composés ne possèdent pas une sensibilité suffisante afin d'obtenir des résultats satisfaisants. Dans le cas présent, la courbe d'étalonnage du dodécane en hauts volumes ne possède pas une sensibilité suffisante pour obtenir une quantification de qualité.

4.3 Conclusion

Grâce aux caractéristiques particulières du TCRC, telles que la sortie prématurée de vapeur, la possibilité de compression de bande et l'utilisation d'une colonne remplie (précolonne), l'injection de hauts volumes d'échantillon a pu être réalisée. Les quelques travaux de faisabilité présentés dans ce chapitre ont permis d'établir certaines bases dans les procédures d'introduction de hauts volumes en TCRC et de déterminer les limites de la technique.

Les expériences réalisées ont montré la puissance de la technique au niveau de l'analyse qualitative des composés à l'état de trace dans un mélange. En plus, les analyses en balayage répétitif ont permis de caractériser certains pics anormaux dans les chromatogrammes ainsi que des sources de bruit de fond. L'injection d'un volume de 20 mL est intéressant pour des analyses qualitatives demandant une limite de détection très basse. Cependant, le temps nécessaire pour réaliser un tel type d'analyse est contraignant, car l'injection de l'échantillon nécessite deux heures.

Dans le cas d'analyse quantitative, il est préférable d'introduire des volumes beaucoup plus modestes afin d'économiser du temps. Les injections de 1 mL ont donné de bons résultats dans l'analyse quantitative de solutions d'alcane linéaires de C12 à C25. Seulement quelques composés ne possèdent pas la même sensibilité entre leurs courbes d'étalonnage de 1 μ L et 1 mL. Ces composés (le dodécane, le tridécane et le tétradécane) sont les plus volatils des solutions analysées et subissent une discrimination lors de l'injection.

Les résultats présentés dans ce chapitre évoquent de belles possibilités pour la technique TCRC dans le domaine des hauts volumes d'injection. Cependant, il reste encore certains facteurs à étudier afin d'étendre ces possibilités à une plus grande gamme de composés.

Chapitre 5 : Optimisation des conditions d'opération

L'analyse des résultats sur les hauts volumes d'injection a montré que cette technique était bonne, mais présentait de la discrimination envers certains composés des solutions analysées. Afin de réduire ce phénomène, des études furent réalisées afin de trouver de meilleures conditions d'introduction des échantillons.

De plus, dès le début de la réalisation des expériences sur les hauts volumes d'injection, certaines caractéristiques physiques de l'appareil ont dû être modifiées. Ces modifications ont porté sur le refroidissement du four mobile et sur l'interface de transfert. Ces changements furent apportés afin de rendre les conditions d'opérations du prototype beaucoup plus constantes et fiables lors des expériences.

5.1 Étude sur la discrimination

Au chapitre précédent, les résultats sur les hauts volumes d'injection présentaient des problèmes de discrimination sur les alcanes les plus volatils des solutions analysées. Ce problème amenait par conséquent une diminution de la sensibilité, réduisant ainsi les performances de la technique dans certains cas. Donc, pour améliorer la sensibilité, il faut réduire la discrimination.

La discrimination des composés lors de l'introduction de hauts volumes est un processus provoqué par de nombreux facteurs (vitesse d'introduction, température d'évaporation, débit du gaz vecteur, temps d'injection, etc.). Lors de l'introduction de hauts volumes, les conditions idéales seraient de discriminer seulement un composé, le solvant. Mais cela n'est pas aussi simple, car les solutions sont composées de produits de volatilités diverses, qui peuvent être eux aussi expulsés à l'extérieur du système avec le solvant, selon les conditions d'opération.

Lors d'une injection de haut volume, dès l'entrée des premiers composés, un étalement de ceux-ci s'opère dans la colonne durant tout le temps d'injection. Cet étalement des composés provoque la discrimination de ceux-ci. Selon les conditions d'injection, les composés s'étaleront plus ou moins loin dans la colonne. Avoir une bonne connaissance de la position des composés à l'intérieur de la colonne après un haut volume d'injection permettrait de mieux contrôler la discrimination. Afin de situer les composés à l'intérieur de la colonne, des découpages thermiques de celle-ci peuvent être réalisés. Cette procédure de découpage thermique est décrite à la section 3.2.7.

Quelques découpages furent réalisés pour évaluer la distribution des composés dans la colonne. Au lieu d'avoir un étalement des composés sur toute la longueur de la colonne dû au temps d'injection (élargissement de bande), ceux-ci se retrouvent distribués dans des sections spécifiques de la colonne. La figure 5.1 montre 6 chromatogrammes provenant d'un découpage thermique réalisé après une injection de 1000 μL d'une solution d'alcane linéaire de C12 à C25. Lors de l'introduction de la solution, la pompe à infusion avait un débit de 166,6 $\mu\text{L}/\text{min}$, le débit de gaz vecteur était de 20 cc/min et la température du four au point d'injection était de 200°C.

Les chromatogrammes obtenus montrent qu'il y a une focalisation des composés à l'intérieur de la colonne. D'abord, il n'y a aucun composé de notre injection qui se focalise dans les deux centimètres avant la vanne de transfert (chromatogramme **A**), ce qui est excellent afin d'éviter la discrimination des composés. Pour éviter au maximum la discrimination, la situation idéale serait de garder les analytes le plus près possible du point d'injection. Le très petit pic de pentacosane provient de l'injection précédente et il est dû à un mauvais nettoyage de la colonne entre les deux injections.

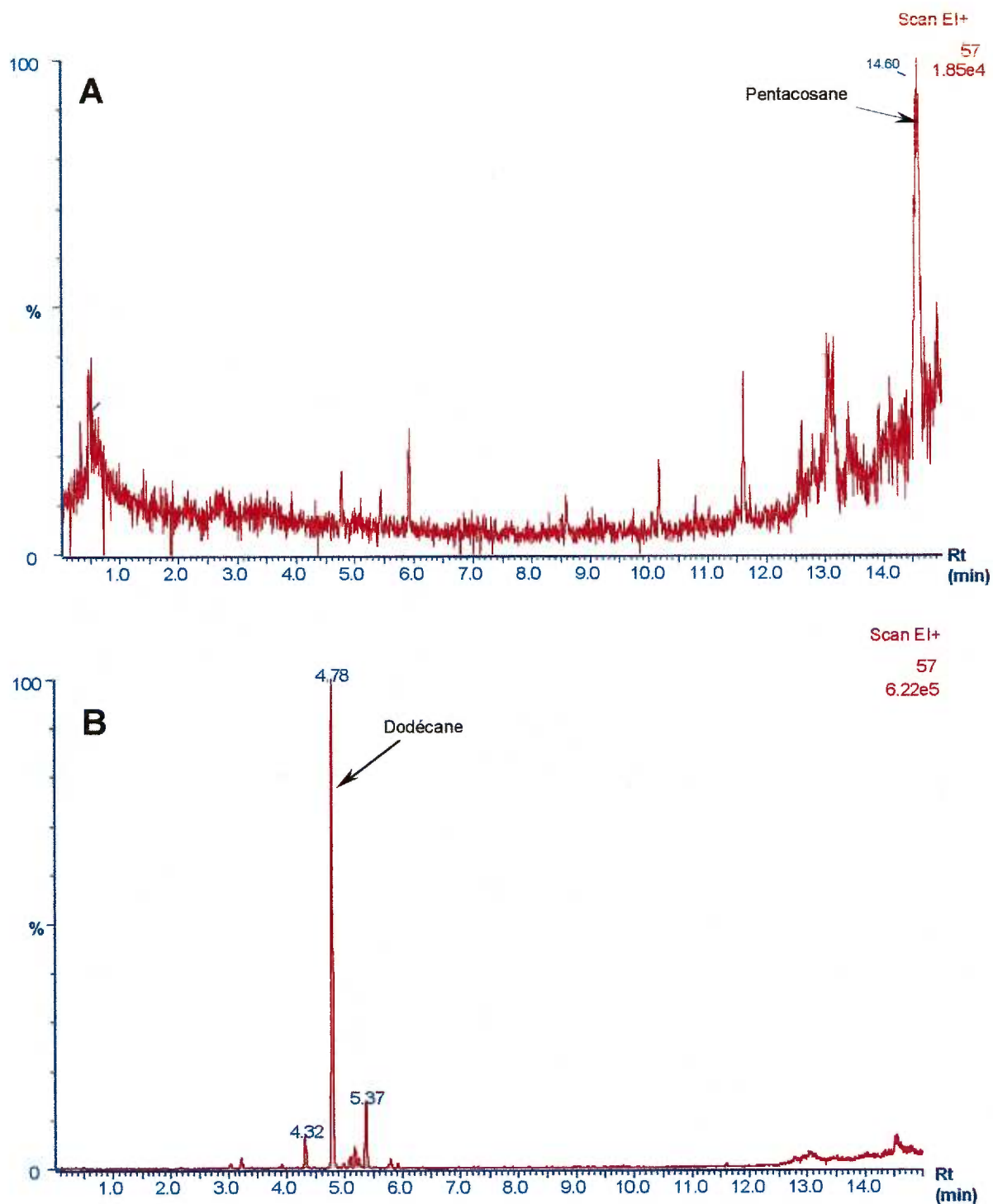


Figure 5.1 : Découpage thermique de la colonne remplie après une injection de 1000 μL d'une solution d'alcane linéaire de C12 à C25.
Chromatogramme **A** : balayage à 2 cm de la vanne.
Chromatogramme **B** : balayage à 4 cm de la vanne.

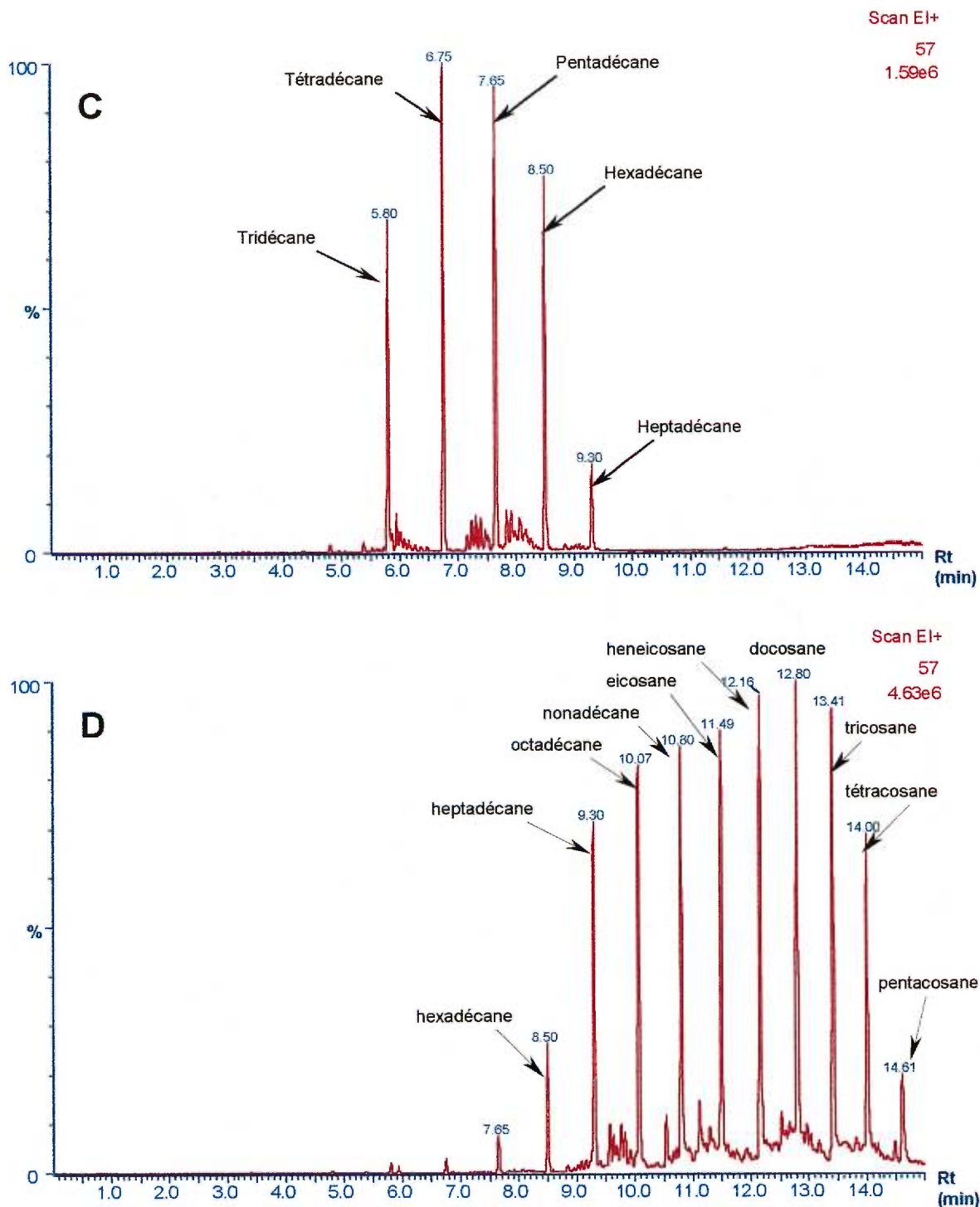


Figure 5.1 : Découpage thermique de la colonne remplie après une injection de 1000 μL d'une solution d'alcane linéaire de C12 à C25.
Chromatogramme **C** : balayage à 6 cm de la vanne.
Chromatogramme **D** : balayage à 8 cm de la vanne.

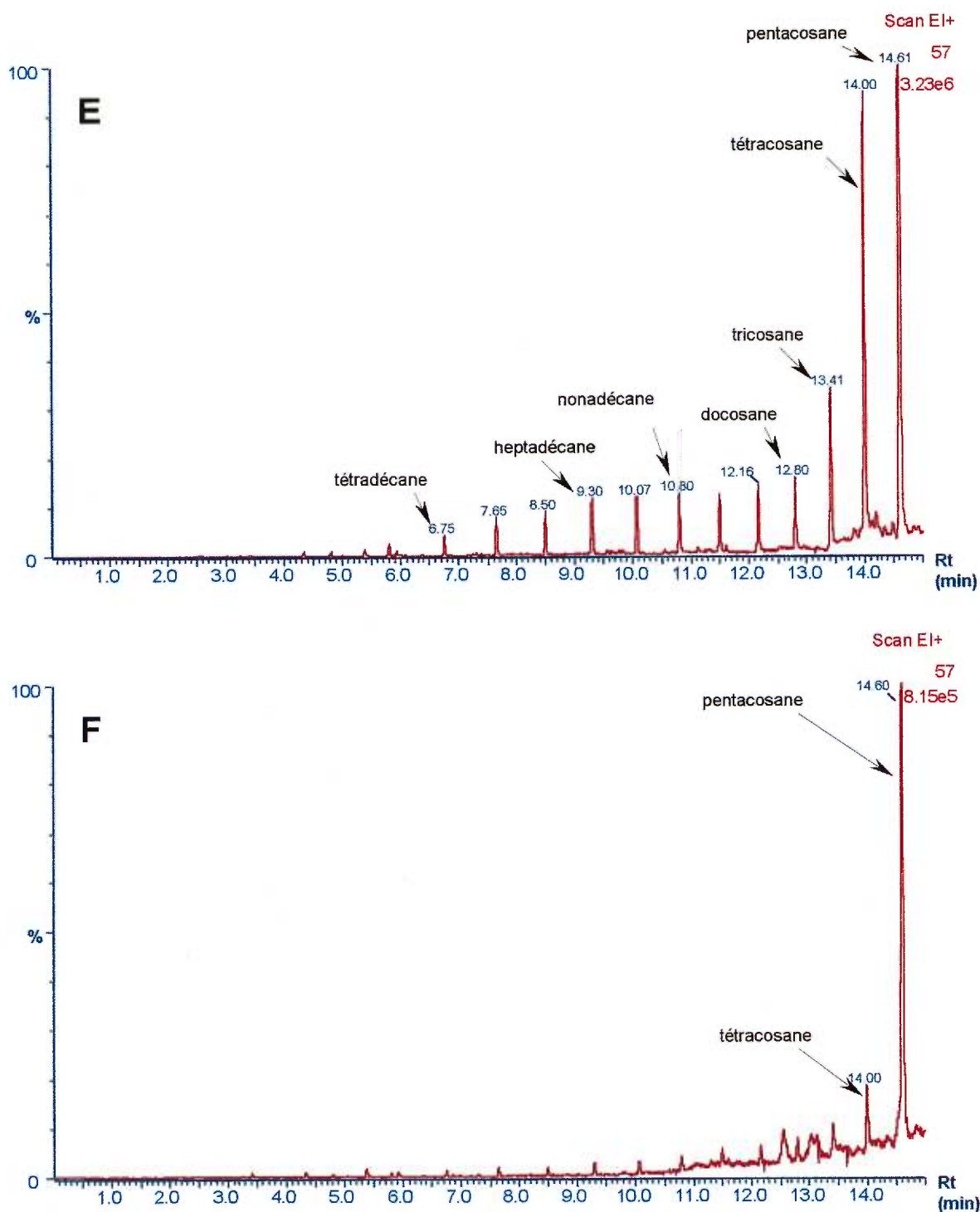


Figure 5.1 : Découpage thermique de la colonne remplie après une injection de 1000 μ L d'une solution d'alcane linéaire de C12 à C25.
 Chromatogramme **E** : balayage à 10 cm de la vanne.
 Chromatogramme **F** : balayage à 13 cm de la vanne.

Toujours dans le découpage, il est possible de localiser le dodécane dans la section comprise entre 2 et 4 cm (chromatogramme **B**). Il est normal de retrouver l'alcane le plus volatil de la solution plus près de l'évent. Dans la section suivante (chromatogramme **C**) se regroupent le tridécane (C13), le tétradécane (C14), le pentadécane (C15) et l'hexadécane (C16). Enfin, les autres alcanes (C17 – C25) se situent près du point d'injection. Bref, chaque composé semble se localiser dans une section bien précise après l'injection.

Cette focalisation des analytes dans certaines sections de la colonne peut être expliquée avec la théorie sur la chromathermographie. Au cours de l'injection de la solution, il se produit un gradient thermique à l'intérieur de la colonne. Lors de son entrée, la solution est chauffée au point d'injection par le four mobile, donnant une grande quantité d'énergie aux molécules. Sous l'effet du gaz vecteur, certaines molécules se déplaceront (les plus volatiles) dans la colonne, sortant ainsi du point d'injection. En avançant dans la colonne, les molécules transféreront beaucoup d'énergie à leur environnement. Ce transfert d'énergie, sous forme de chaleur, produit un gradient thermique, comme dans la chromathermographie.

Pour mieux comprendre ce phénomène, la figure 5.2 montre une image infrarouge d'une colonne remplie lors de l'injection de composés. Comme il est possible de voir, un gradient thermique se crée dans la colonne, où la température la plus élevée est située au point d'injection avec une baisse de température en s'éloignant de celui-ci. Ce gradient thermique engendre le déplacement des composés les plus volatils vers les zones plus froides de la colonne, où ils se condensent.



Figure 5.2 : Capture infrarouge montrant le gradient thermique à l'intérieur d'une colonne remplie lors d'une injection de haut volume.
(Réalisée à Rimouski, Laboratoire du Dr. Jean-Pierre Gagné).

Ce phénomène de gradient thermique est caractéristique pour toutes les injections. Cependant, ce gradient thermique ne demeure pas constant, il peut changer selon les paramètres d'injection choisis. Effectivement, en modifiant un ou des paramètres d'injection comme le débit du gaz vecteur, la vitesse d'introduction de l'échantillon et la température du four au point d'injection, le gradient thermique généré sera différent. Pour le moment, les quelques découpages thermiques réalisés n'ont pas permis d'établir de règle sur l'influence de chacun de ses paramètres sur le gradient. L'utilisation d'une caméra infrarouge aiderait énormément dans ce type d'étude.

Enfin, le découpage présenté à la figure 5.1 est celui qui présentait le moins de discrimination parmi les découpages réalisés. Il ne s'agit pas des conditions d'injection optimales, mais plutôt des meilleures conditions trouvées jusqu'à maintenant. À l'aide des nouvelles conditions d'injection déterminées par le découpage thermique, de nouvelles injections de hauts volumes furent réalisées. Ces nouvelles injections furent refaites dans le but d'obtenir des chromatogrammes présentant peu de discriminations.

Trois injections furent réalisées et leurs chromatogrammes sont présentés à la figure 5.3. Les volumes introduits sont de 1 μ L (injection référence), 1 mL et 20 mL. Les trois chromatogrammes furent acquis en mode balayage répétitif avec le MS, mais présentés ici en isolant les masses 43, 57 et 71, afin d'avoir des chromatogrammes focalisant sur les composés d'intérêt.

Ces nouvelles injections présentent, à première vue, moins de discrimination au niveau des alcanes les plus volatils du mélange. Cependant, une légère discrimination se produit au niveau des alcanes les moins volatils (C24-C25) lors de l'injection de hauts volumes. Ce phénomène est produit par une diminution du débit de gaz vecteur à l'intérieur de la colonne remplie, dû à une baisse d'efficacité du septum à l'intérieur du port d'injection.

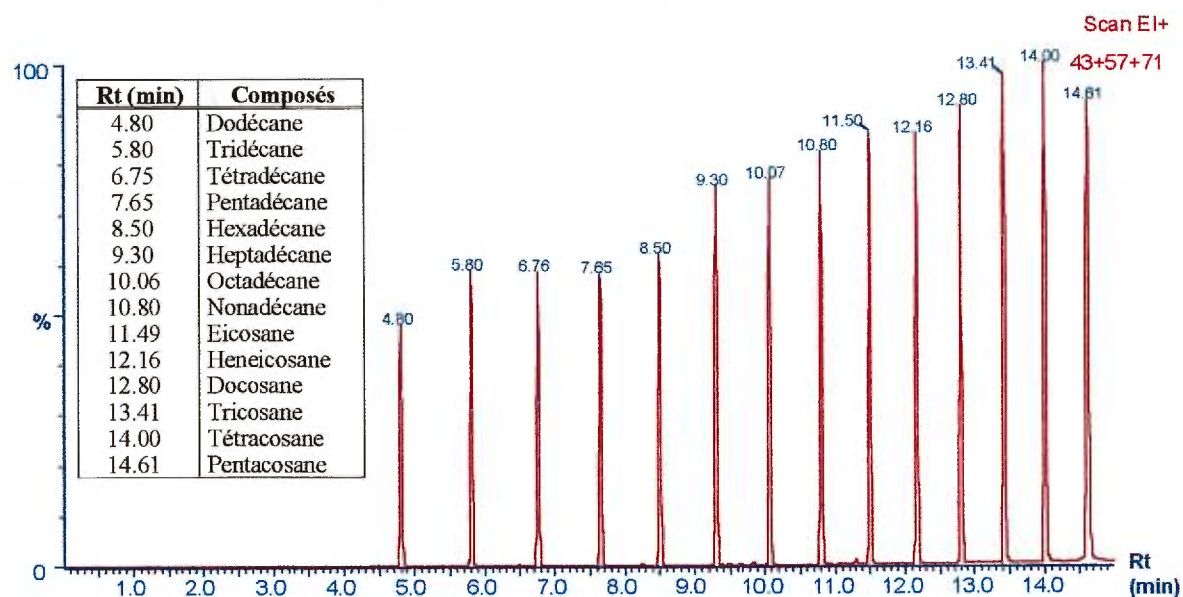


Figure 5.3A : Chromatogramme d'une injection de 1 μ L d'une solution d'alcane linéaires de C12-C25 (60 ng de chacun sur colonne).

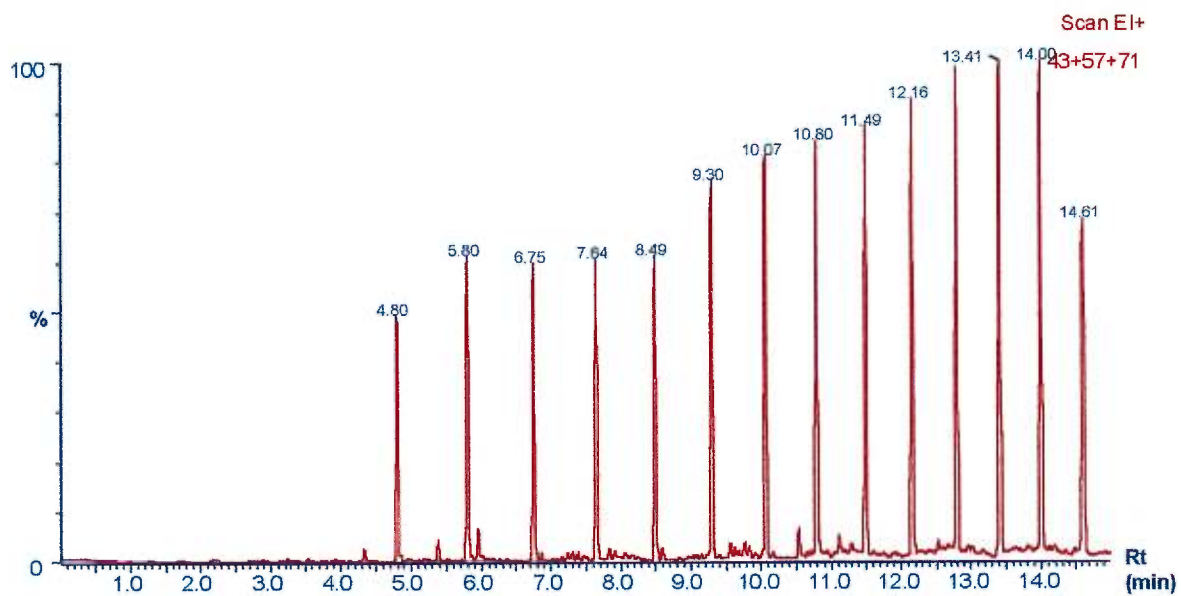


Figure 5.3B : Chromatogramme d'une injection de 1 mL d'une solution d'alcane linéaires de C12-C25 (60 ng de chacun sur colonne).

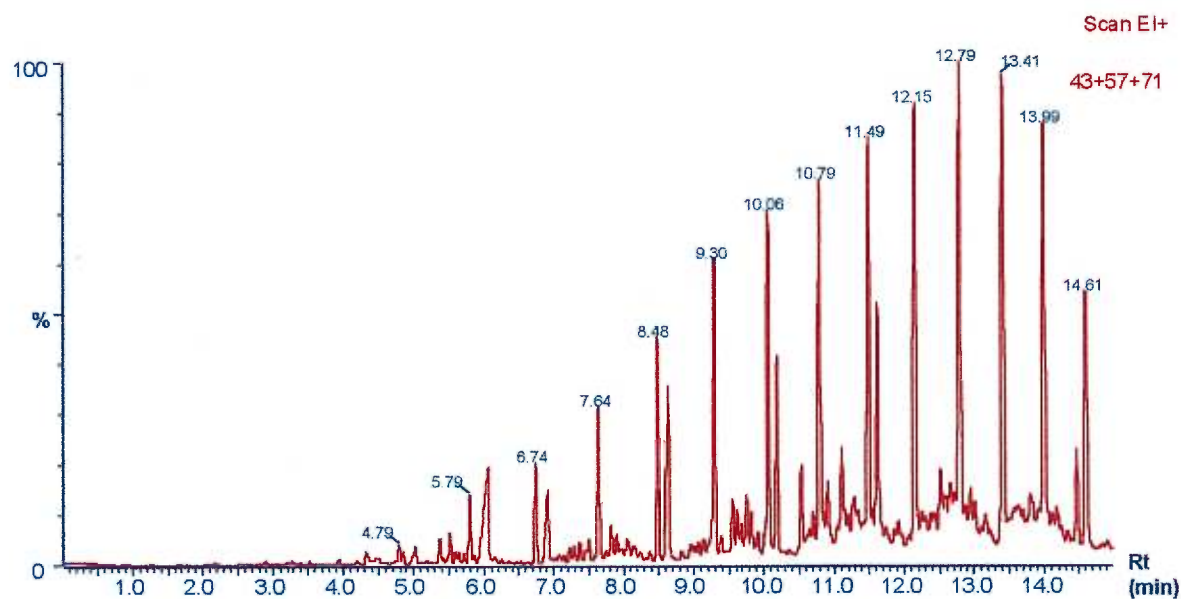


Figure 5.3C : Chromatogramme d'une injection de 20 mL d'une solution d'alcane linéaires de C12-C25 (60 ng de chacun sur colonne).

Des calculs furent effectués afin d'évaluer la discrimination de chacun des composés (Tableau 5.1). Pour ce faire, chacun des pics des chromatogrammes fut normalisé par rapport à l'aire sous le pic du nonacosane (C19) qui est considéré pour la cause comme le produit totalement récupéré (sans discrimination). Par la suite, cette normalisation de chacun des pics des injections de hauts volumes fut mise en comparaison avec celle obtenue avec l'injection référence de 1 µL. Étant donné que la même quantité d'analyte est introduite dans tous les cas, une récupération complète devrait donner un pourcentage de 100.

$$\% \text{Récupération} = \frac{\text{Aire pic analysé}_{\text{haut volume}} / \text{Aire pic eicosane}_{\text{haut volume}}}{\text{Aire pic analysé}_{\text{référence}} / \text{Aire pic eicosane}_{\text{référence}}} \times 100$$

Tableau 5.1 : Taux de récupération des différents alcanes dans les injections de 1 mL par rapport aux injections de 1 µL.

Composés	% de récupération	
	Avant optimisation	Après optimisation
Dodécane	6,8	103,6
Tridécane	25,6	100,4
Tétradécane	71,7	99,1
Pentadécane	95,5	100,0
Hexadécane	97,5	97,4
Heptadécane	98,2	98,3
Octadécane	96,8	99,6
Nonadécane	100,0	100,0
Eicosane	98,3	97,4
Heneicosane	102,6	101,5
Docosane	115,6	102,3
Tricosane	105,9	94,0
Tétracosane	97,5	88,8
Pentacosane	92,9	68,7

Les résultats calculés sont très concluants. Dans l'ensemble, la majorité des constituants sont récupérés totalement, sauf pour les alcanes de C24 et C25 (précédemment expliqués). Ces résultats indiquent une baisse de la discrimination lors de l'injection. Il est important de noter que les légères variations au niveau des pourcentages de récupération peuvent être dues au choix du produit normalisateur dans les calculs (C19). Malgré tout, il est possible de voir très bien la tendance générale qui se dégage de ces résultats.

Donc, les nouveaux paramètres d'injection sont beaucoup plus performants que ceux utilisés précédemment. Au niveau des injections de 1 mL, avec cette diminution de la discrimination, la sensibilité des composés C12 à C14 sera grandement augmentée. Bien sûr, le chromatogramme de 20 mL présente toujours une grande discrimination, mais une certaine amélioration est observée.

5.2 Refroidissement du four mobile

Avant même le début des expériences sur les hauts volumes d'injection, une modification fut apportée au refroidissement du four mobile. Avant les modifications, les buses de refroidissement étaient disposées de part et d'autre du four mobile. Elles étaient disposées ainsi afin de réduire la zone thermique le plus possible et d'obtenir la meilleure courbe gaussienne. Cependant, cette disposition des buses de refroidissement autour du four posait quelques problèmes.

Tout d'abord, les premiers profils thermiques réalisés sur le prototype TCRC (troisième génération) présentaient une déformation à la queue du profil lorsque la vitesse de balayage du four était modifiée (figure 5.1). Le profil subissait un étirement avec l'augmentation de la vitesse du four. Cette déformation vient du fait que le refroidissement arrière n'a pas le temps d'abaisser la température de la colonne lors de son passage. Le même phénomène était observé dans les profils thermiques obtenus avec la génération précédente (deuxième génération)(9). Cette déformation n'est pas souhaitable, car elle peut modifier l'élution des produits à l'intérieur de la colonne(9).

Un second désavantage est la nécessité d'arrêter le refroidissement lorsque le four arrive à la vanne de transfert, sinon les buses avant créent un point froid empêchant les composés de se déplacer vers l'interface de transfert. Cet arrêt brusque du système de refroidissement provoque un réchauffement mal contrôlé du four mobile, qui avait stabilisé sa température en tout premier lieu avec l'air qui lui était projeté de part et d'autre. Cette élévation soudaine de la température peut provoquer un réchauffement non désiré à l'intérieur de la colonne, pouvant détruire certains composés thermolabiles.

L'amélioration apportée consiste à placer plus de refroidissement à l'arrière du four et à retirer les buses disposées à l'avant de celui-ci (figure 3.3). Ainsi, le

refroidissement à l'arrière est beaucoup plus efficace, évitant l'étirement du profil thermique avec l'augmentation de la vitesse du four. De plus, il n'est plus nécessaire d'arrêter le refroidissement à la vanne de transfert afin de faire passer les produits dans l'interface.

Bien sûr, le four ne possède plus de refroidissement direct à l'avant, mais ce refroidissement ne semble pas réellement nécessaire pour restreindre l'onde thermique, car les profils thermiques à l'avant du four avant et après modification suivent la même tendance (figure 5.4).

Les profils thermiques, après modification, présentent une nette amélioration du refroidissement à l'arrière du four et ce jusqu'à des vitesses de 150 mm/min. De plus, il est intéressant de constater que les profils thermiques du four, après modification, demeurent à la même largeur dans les conditions expérimentales utilisées, contrairement à ceux obtenus avant modification.

Cependant, des variations de température irrégulières sont présentes dans les profils thermiques obtenus après modification. Ces variations proviennent d'un mauvais fonctionnement du thermocouple utilisé pour enregistrer les profils thermiques. Pour remédier au problème, un nouveau thermocouple fut utilisé pour faire un autre profil thermique du four mobile et le résultat obtenu est très concluant comme le montre la figure 5.5.

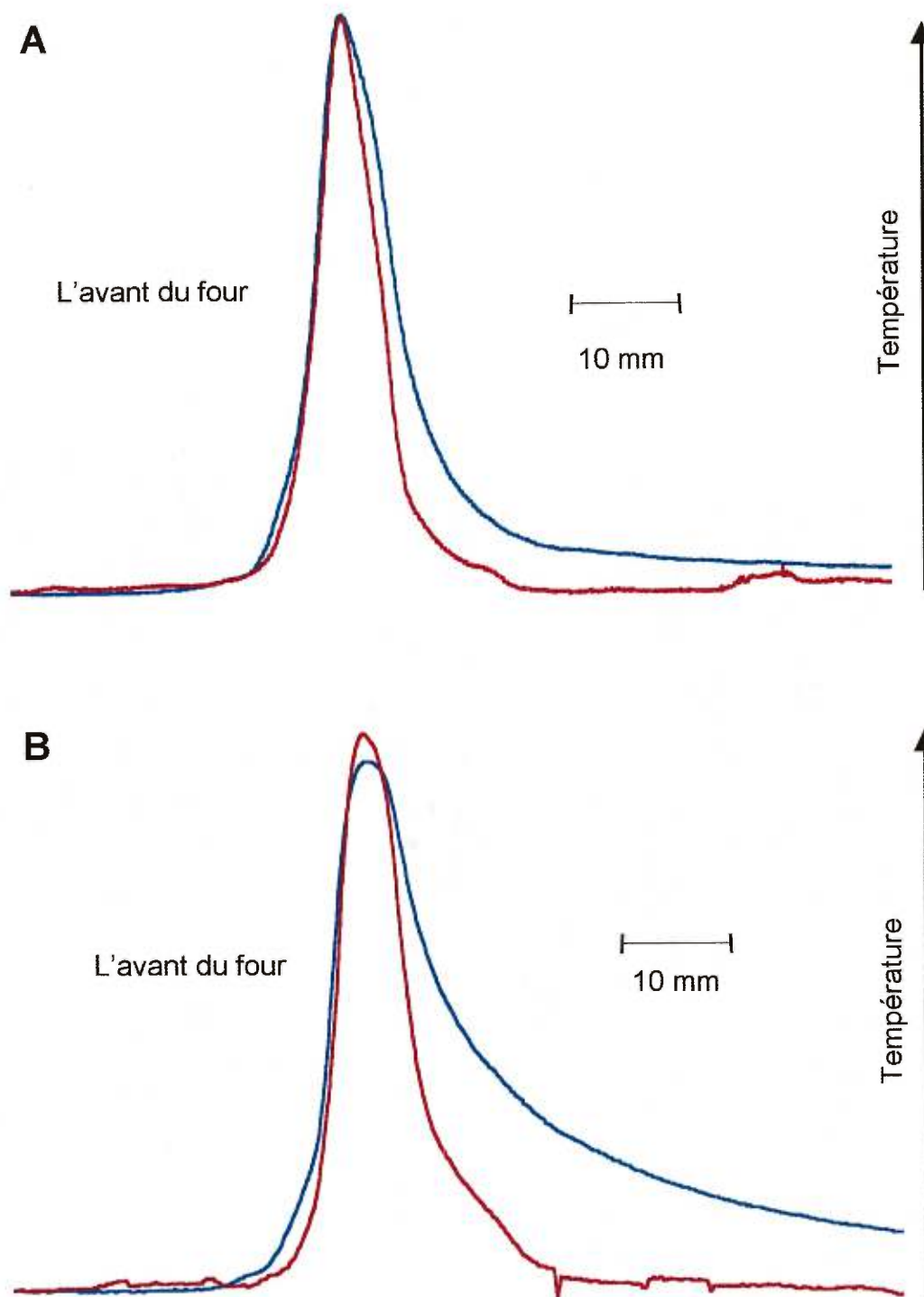


Figure 5.4 : Profil thermique du four mobile avant modification (—) et après modification (---) à la vitesse de **A**) 50 mm/min et **B**) 150 mm/min.

De plus, ce profil montre un meilleur refroidissement à l'arrière du four, dû au fait que les buses furent réajustées afin de mieux projeter l'air sur la colonne. Le profil obtenu ressemble maintenant à une courbe répondant à une équation de Gauss.

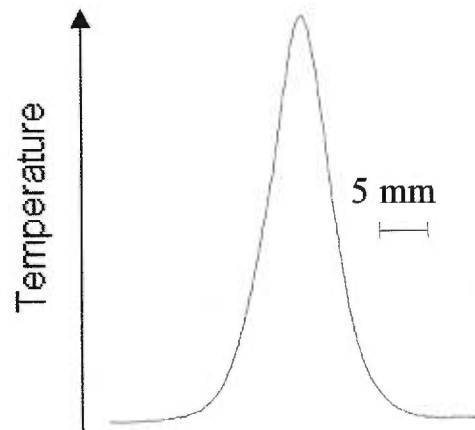


Figure 5.5 : Profil thermique du four mobile après modification, avec réajustement des buses de refroidissement et avec changement du thermocouple.

Cette modification fut effectuée pour les expériences réalisées sur les hauts volumes, car les conditions expérimentales utilisées répondaient bien à ce changement.

5.3 L'interface de transfert

Certaines modifications ont dû être opérées au niveau de l'interface de transfert. Comme mentionné dans la section 3.1.1, la trappe cryogénique développée dans notre laboratoire fut mise de côté lors des expérimentations effectuées, à cause de bris trop fréquents lors de son utilisation.

Habituellement, cette trappe est utilisée afin de geler les composés sur une faible section pour ensuite les introduire sur une largeur de bande étroite dans la seconde dimension. Ceci est rendu possible grâce à un chauffage très rapide de l'interface. L'introduction des composés sur une faible largeur de bandes, permet d'obtenir une meilleure résolution des pics et par conséquent d'obtenir de meilleures séparations. Ceci est très appréciable en GC rapide ("Fast GC").

5.3.1 Conception de la trappe cryogénique

La trappe cryogénique confectionnée pour le TCRC (figure 5.6) est constituée d'un capillaire de quartz recouvert d'un polyimide, servant de lien entre la vanne de transfert et la colonne GC. Ce capillaire est introduit à l'intérieur d'un tube en acier à paroi mince d'une longueur 110 mm. Deux connecteurs chauffés sont disposés à chacune des extrémités de la trappe pour éviter d'avoir des points froids dans le système autres que le point cryogénique désiré. Le refroidissement du point est réalisé en projetant deux jets de dioxyde de carbone (CO₂) liquide à 40 mm de distance entre eux, sur le tube en acier. La détente du CO₂ produit le refroidissement désiré. Le chauffage rapide de la trappe est produit par la décharge très rapide d'un condensateur sur le tube métallique contenant le capillaire. La température du capillaire passe de -40°C à environ 300°C en quelques dixièmes de seconde.

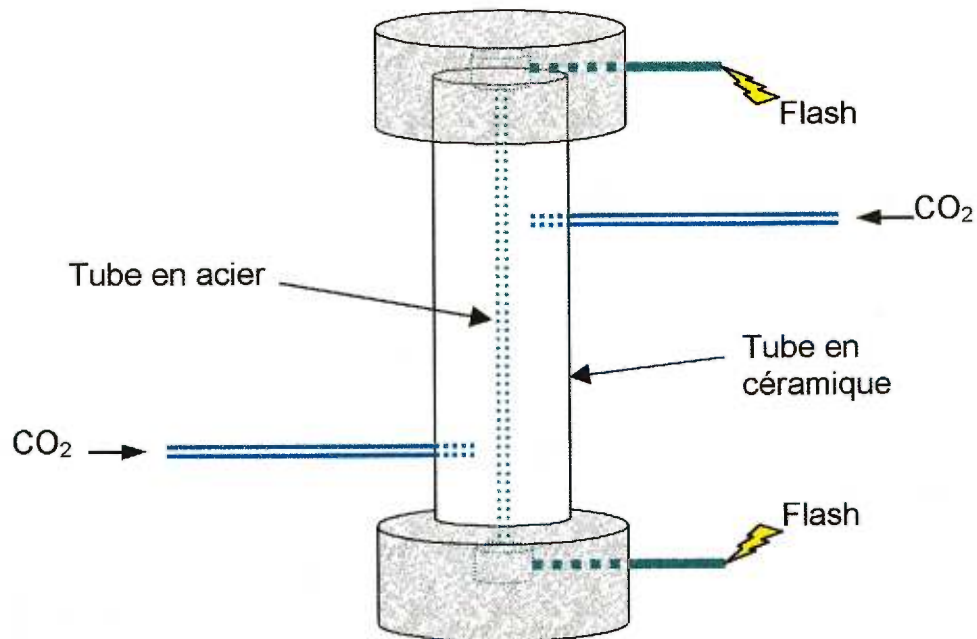


Figure 5.6 : Schéma de la trappe cryogénique faisant la jonction entre le module TCRC et le GC.

5.3.2 Problèmes de la trappe cryogénique

Un problème se produit régulièrement en utilisant cette trappe cryogénique. Le capillaire de transfert à l'intérieur du tube en acier se brise régulièrement après un certain nombre d'injections. Ce bris est lié à la dégradation du polyimide recouvrant le capillaire. Cette dégradation est due au chauffage très rapide obtenu lors de la décharge électrique. Le choc thermique créé est trop grand pour le polyimide et celui-ci se dégrade rapidement à tous les "flashes".

Lorsque le capillaire de transfert se rompt, il est nécessaire de démonter la trappe entièrement pour réinstaller un autre capillaire. Le temps nécessaire pour réaliser cette opération est assez long dû au mauvais positionnement de certaines composantes.

5.3.3 Solution de rechange

Afin de pouvoir réaliser les expériences de hauts volumes sans contrainte avec la trappe froide, celle-ci fut retirée temporairement du système TCRC. Bien sûr, les résultats obtenus présentent des résolutions de pics moins impressionnantes, mais suffisantes pour les travaux à réaliser.

Le prototype fut exploité de manière à rendre efficace et reproductible les injections réalisées. En ayant une programmation de température partant à basse température, il fut possible de geler les produits en tête de colonne. Étant donné un chauffage moins rapide que la trappe cryogénique, la largeur des bandes d'élution était légèrement plus étendue. Cette solution a permis de réaliser tous les travaux sur les hauts volumes d'injection sans avoir un bris du capillaire au niveau de l'interface de transfert.

5.4 Conclusion

Ces quelques optimisations ont permis de réaliser certaines améliorations sur le plan expérimental et instrumental. L'optimisation des conditions d'injection a permis de réduire la discrimination sur la gamme d'alcane étudiée.

La modification au niveau des buses de refroidissement du four mobile a permis d'obtenir une constance dans les profils thermiques dans les conditions utilisées lors des hauts volumes d'injection. De plus, il n'est maintenant plus nécessaire d'arrêter le refroidissement lorsque le four arrive à la vanne de transfert, évitant ainsi un échauffement rapide du four à ce point et éliminant, en plus, une étape dans la procédure de transfert.

Enfin, le retrait de la trappe cryogénique a permis de réaliser les expériences sans avoir à désassembler et à assembler régulièrement les composantes de cette trappe. Malheureusement, les chromatogrammes présentaient une résolution moindre des pics. Malgré tout, les conditions expérimentales utilisées lors des travaux ont permis de produire des résultats très convenables.

Chapitre 6 : Conclusion

À la suite des travaux de Mallet(1) et de Noreau(9), de nombreuses informations fondamentales sur la TCRC furent obtenues. Mais encore plusieurs études restent à être réalisées sur le nouvel appareil afin d'en exploiter le plein potentiel et de le rendre plus convivial. Les dernières recherches réalisées sur le prototype se sont orientées vers l'introduction de hauts volumes d'échantillon et sur l'amélioration de certains paramètres de l'appareil.

Plusieurs expériences furent réalisées sur l'injection de hauts volumes. Celles-ci se sont d'abord orientées sur la faisabilité d'introduire de grands volumes. Les résultats obtenus montrent que le TCRC possède d'excellentes caractéristiques pour effectuer ce genre d'expérience. Ainsi, il fut possible d'introduire une quantité d'échantillons de 20 mL à l'intérieur du système. Ces volumes sont comparables à certaines données de la littérature.

Par la suite, des analyses quantitatives furent réalisées afin d'améliorer les limites de détection. En introduisant dans le TCRC des volumes de 1 mL, il fut possible d'obtenir des courbes d'étalonnage pour différents alcanes linéaires. Dans le cas des alcanes moins volatils, comme le nonadécane (C19), la courbe d'étalonnage réalisée en injectant des volumes de 1 μ L et celle obtenue avec des volumes de 1 mL suivent environ la même tendance. Dans le cas des alcanes plus volatils, ceux-ci montrent une différence de sensibilité due à une discrimination des produits lors de l'injection.

Pour éviter cette discrimination, des découpages thermiques ont permis de localiser à quel endroit se situaient les produits dans la colonne après l'introduction d'un haut volume. Ainsi, il fut possible de déterminer les meilleures conditions d'introduction de l'échantillon afin de diminuer le phénomène de discrimination.

Le prototype utilisé, de troisième génération, a dû subir des modifications afin d'améliorer les performances de l'appareil. Une des modifications réalisées est la suppression des buses de refroidissement à l'avant du four mobile et l'ajout d'une paire de buses à l'arrière de celui-ci. Ce changement a eu comme effet de maintenir une largeur de profil thermique uniforme à des vitesses jusqu'à 150 mm/min.

Toujours dans l'intention d'améliorer le TCRC, la trappe cryogénique faisant l'interface entre la colonne remplie et la colonne "megabore" fut retirée suite à des bris trop fréquents, empêchant l'avancement des différentes expérimentations. Avant de la retirer, de nombreux facteurs furent pris en considération. Devant le type d'expérience à réaliser et le nombre de problèmes à régler pour obtenir une trappe opérationnelle, la meilleure solution fut de mettre la trappe cryogénique de côté.

Les expériences sur les hauts volumes d'injection furent réalisées afin de montrer la puissance de l'appareil lorsqu'il est utilisé dans des conditions extrêmes. Les résultats obtenus sur la troisième génération, ainsi que ceux obtenus sur les générations précédentes confirment le grand domaine d'application de la TCRC.

Références

- (1) Mallet, C. R., Thèse de doctorat, Université de Montréal, Montréal, 1997.
- (2) Zhukhovitskii, A. A.; Zolotareva, O. V.; Sokolov, V. A.; Turkel'taub, N. M. *Doklady Akad. Nauk S.S.S.R.* **1951**, 102, 771.
- (3) Berezkin, V. G.; Chernysheva, T. Y.; Buzayev, V. V.; Koshevnik, M. A. *J. Chromatogr.* **1986**, 373, 21.
- (4) Nerheim, A. G., *Anal. Chem.* **1960**, 32, 436.
- (5) Fuggerth, E. *Anal. Chem.* **1989**, 61, 1479.
- (6) Consden, R.; Gordon, A. H.; Martin, A. J. P. *Biochem. J.* **1944**, 38, 244.
- (7) Giddings, J. C. *J. High Resol. Chromatogr. & Chromatogr. Commun.* **1987**, 10, 319.
- (8) Schomburg, G. *J. Chromatogr. A* **1995**, 703, 309.
- (9) Noreau, L., Mémoire de maîtrise, Université de Montréal, Montréal, 1999.
- (10) Tranchant, J. *Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Gazeuse*: Paris, 1995.
- (11) Boderius, U.; Grob, K.; Biedermann, M. *J. High Resol. Chromatogr.* **1995**, 18, 573.
- (12) Mol, H. G. J.; Janssen, H.-G. M.; Cramers, C. A.; Vreuls, J. J.; Brinkman, U. A. T. *J. Chromatogr. A* **1995**, 703, 277.
- (13) Staniewski, J.; Rijks, J. A. *J. Chromatogr.* **1992**, 623, 105.
- (14) Grob, K.; Biedermann, M. *J. Chromatogr. A* **1996**, 750, 11.
- (15) Bosboom, J. C.; Janssen, H. G.; Mol, H. G. J.; Cramers, C. A. *J. Chromatogr. A* **1996**, 724, 384.
- (16) Grob, K.; Schmarr, H.-G.; Mosandl, A. *J. High Resol. Chromatogr.* **1989**, 12, 375.
- (17) Abel, K. *J. Chromatogr.* **1964**, 13, 14.
- (18) Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D. H. *Mass Spectrometry of Organic Compounds*; Holden-Day, Inc.: San Francisco, 1967.
- (19) Biemann, K. *Mass Spectrometry : Organic Chemical Applications*; McGraw-Hill: New York, 1962.