

## Effets de petites déviations du débit sur les résultats de la GPC/SEC

La GPC/SEC est sans aucun doute l'une des techniques les plus puissantes pour la caractérisation des polymères naturels et synthétiques. Sa flexibilité et le contenu informatif d'une seule mesure en font la technique de choix pour plusieurs objectifs différents, de la simple détermination de la distribution du poids moléculaire et de la polydispersité à l'analyse de structure la plus complexe ou à la distribution de la composition des copolymères.

La force de la GPC/SEC est intrinsèquement liée à sa simplicité. Un système de CPG/SEC d'entrée de gamme typique, composé d'une pompe, d'un injecteur manuel, d'une colonne et d'un détecteur d'indice de réfraction, ainsi que de quelques étalons de référence, est tout ce qu'il faut pour établir une méthode d'analyse fiable. L'ajout de colonnes supplémentaires et de détecteurs sensibles à la masse, tels qu'un viscosimètre et/ou un MALS, améliore de manière exponentielle les possibilités d'un tel système, ouvrant la voie à des applications plus complexes et à un contenu d'informations plus dense.

Dans des cas très fréquents, du moins lorsqu'un RID est le seul détecteur disponible, les résultats obtenus reposent sur une courbe d'étalonnage obtenue en exécutant un ensemble d'étalons de référence dont la masse moléculaire est connue et la distribution de la masse moléculaire étroite.

**Voir figure 1**

La courbe d'étalonnage est alors construite en traçant la masse moléculaire nominale en fonction du volume d'élution de pointe déterminé par la mesure. De même, lorsqu'un viscosimètre est utilisé pour la détection, un étalonnage universel est établi en traçant le produit de la masse moléculaire nominale et de la viscosité intrinsèque maximale mesurée en

fonction du volume d'élution maximal déterminé. **Voir figure 2**

Dans les deux cas, la détermination du poids moléculaire d'un échantillon inconnu est basée sur la détermination de son volume d'élution et sur le rapport de la valeur correspondante obtenue avec la courbe d'étalonnage. Il est important de garder à l'esprit que les mesures GPC/SEC prennent généralement beaucoup de temps, de 45 minutes à plusieurs heures, en fonction du débit absolu et du nombre de colonnes utilisées. 45 minutes à plusieurs heures, en fonction du débit absolu et du nombre de colonnes utilisées dans le système. En tant que tel, il est d'usage d'effectuer les étalons nécessaires et les échantillons inconnus sur des jours ou même des semaines différentes, ce qui donne une relation temporelle très lâche entre l'étalonnage et la mesure de l'échantillon. Ceci étant, il semble évident que tout écart de débit entre les analyses des étalons et de l'échantillon affectera le poids moléculaire final déterminé.

La question qui se pose alors est la suivante : « Quelle est l'importance de cette influence ? » et « Quel écart puis-je tolérer avant qu'un réétalonnage ne soit nécessaire ? ».

Dans un environnement de laboratoire typique, la précision du débit est une question de confiance pour la plupart des pompes HPLC utilisées. Généralement vérifiée et validée une seule fois par an, une pompe HPLC est souvent considérée comme capable de fournir le débit exact souhaité sur une longue période de temps sans écarts dignes d'être mentionnés. Souvent, la contre-pression signalée par la pompe HPLC sert de référence et de confirmation d'un fonctionnement parfait. Toutefois, compte tenu du nombre de paramètres susceptibles d'influencer la contre-pression signalée (température, état des colonnes et des tubes, qualité du solvant, pour n'en citer que quelques-uns), ce paramètre n'a qu'une signification limitée pour exprimer la précision du débit dans un monde à long terme (la plupart des GPC/SEC fonctionnent 24 heures sur 24, 7 jours sur 7, pendant des semaines !

Dans ce bref article, nous étudions l'effet d'une déviation de 1% du débit sur les résultats d'un échantillon inconnu déterminés à la fois avec un étalonnage standard et un étalonnage universel. Nous avons choisi une variation aussi faible car, traduite en contre-pression pour un système GPC/SEC typique, elle est souvent inférieure à la limite de détection du transducteur de pression de la pompe et donc indétectable avec les moyens embarqués.

L'étude a été réalisée en analysant un échantillon juste après l'étalonnage, en effectuant des calculs et en modifiant ensuite manuellement le paramètre de débit utilisé pour le calcul. Cette opération a ensuite été répétée pour un deuxième échantillon en utilisant une détection de la viscosité et un étalonnage universel.

**Voir figure 3**

Le tableau suivant montre clairement l'impact de l'erreur positive et négative en % sur les masses moléculaires >>>

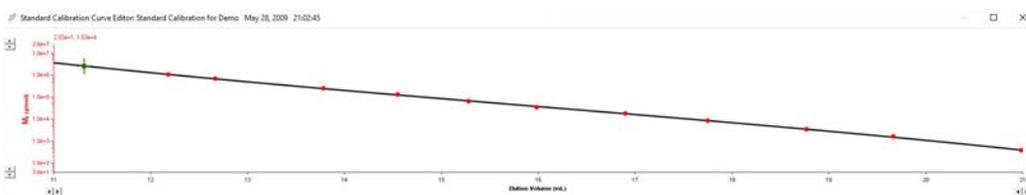


Fig 1 - Courbe d'étalonnage standard

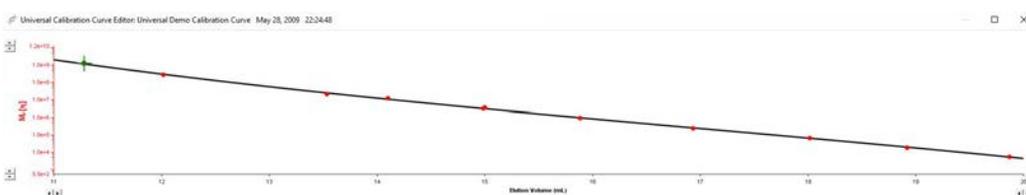


Fig 2 - Étalonnage universel

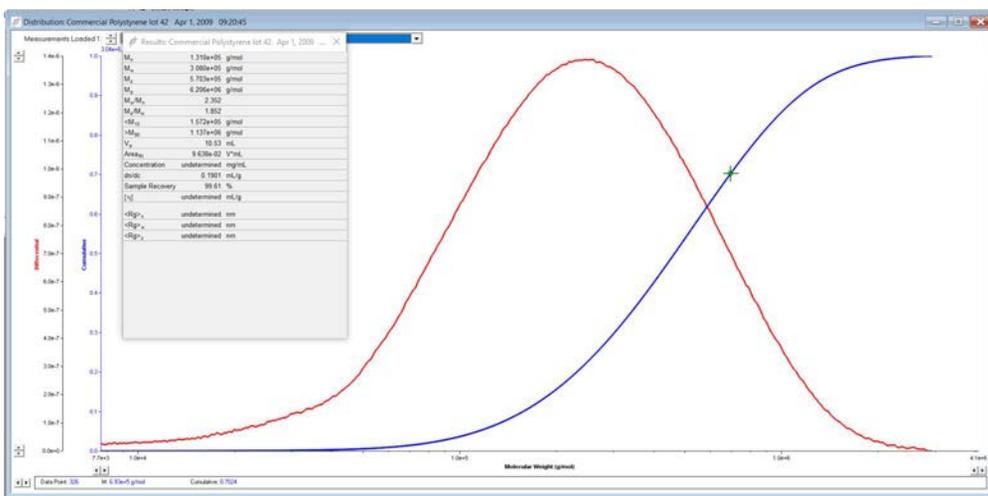


Fig 3 - Distribution du poids moléculaire à un débit correct

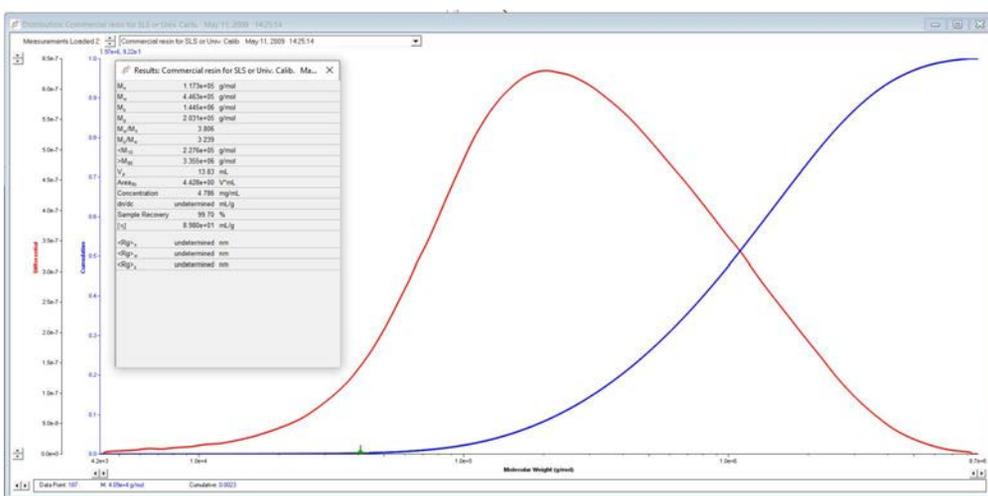


Fig 4 - Distribution des masses moléculaires calculée sur l'étalonnage universel (il ne s'agit pas du même échantillon que précédemment !)

	Mw	dev	Mn	dev	Mz	dev
1.000 mL/min	3.066e+5	0.00%	1.257e+5	0.00%	5.990e+5	0.00%
1,010 mL/min	2.730e+5	-11.36%	1.102e+5	-12.33%	5.319e+5	-11.20%
0,990 ml/min	3.479e+5	+12.95%	1.433e+5	+14.00%	6.753e+5	+12.73%

Tableau 1 - Comparaison des résultats du MW pour l'étalonnage standard

	Mw/Mn	dev
1.000 mL/min	2.439t	0.00%
1,010 mL/min	2.477	1.55%
0,990 ml/min	2.427	0,492%

Tableau 2 - Comparaison des rapports de polydispersité

	Mw	dev	Mn	dev	Mz	dev
1.000 mL/min	4.463e+5	0.00%	1.173e+5	0.00%	1.445e+6	0.00%
1,010 mL/min	3.621e+5	-18.86%	9.529e+4	-18.73%	1.160e+6	-19.72%
0,990 ml/min	5.516e+5	+23.59%	1.445e+5	+23.18%	1.807e+6	+25.05%

Tableau 3 - Comparaison des résultats du MW pour l'étalonnage universel

obtenues. Le débit nominal (et celui auquel les normes d'étalonnage ont été exécutées) était de 1 000 ml/min. Les calculs ont donc été effectués à 1.000 mL/min, 1.01 mL/min et 0.990 mL/min. **Voir tableau 1 ci-dessus**

Les résultats ci-dessus montrent l'impact significatif sur les résultats de la masse moléculaire d'une déviation de 1% du débit entraînant un changement de plus de 20% au total. Cet effet peut surprendre à première vue, mais il est cependant explicable par le fait que la masse moléculaire sur la courbe d'étalonnage est une valeur logarithmique tracée en fonction de la valeur linéaire du volume d'élution.

La polydispersité, définie comme le rapport Mw/Mn, est un paramètre fondamental pour tout échantillon de polymère. Il est donc très intéressant d'étudier l'impact d'un petit écart de débit sur cette valeur importante. Les résultats de l'exemple ci-dessus sont présentés dans le **tableau 2 ci-dessus**.

Les résultats du tableau 2 montrent que la polydispersité n'est que légèrement affectée par la déviation du débit.

Après avoir évalué l'effet sur la base d'un étalonnage standard, il est intéressant de répéter l'évaluation sur la base d'un échantillon comparé à un étalonnage universel. **Voir figure 4 page précédente**

Une fois de plus, les écarts positifs et négatifs de 1% par rapport au débit correct ont été examinés ; les résultats sont rassemblés dans le **tableau 3 ci-dessus**.

## Conclusion

L'impact d'un petit écart de débit est incroyablement important (plus de 40% au total !) sur un système utilisant l'étalonnage universel comme base de calcul. Cela souligne clairement la nécessité d'une méthode appropriée de surveillance constante des débits actuels et de correction du chromatogramme en cours.

Ces expériences simples mettent en évidence l'importance d'un débit précis ET constant dans le temps, tout en soulignant que les moyens embarqués, comme la contre-pression signalée par la pompe, peuvent ne pas être suffisants pour une évaluation fiable de l'état de la pompe elle-même et, par conséquent, du débit actuellement fourni. Les erreurs dans les masses moléculaires déterminées ne doivent de loin pas être simplement ignorées ou acceptées, en particulier parce que des moyens modernes de surveillance continue du débit actuel sont facilement disponibles sous la forme de débitmètres non invasifs.

**Pour en savoir plus :**  
[www.testa-analytical.com](http://www.testa-analytical.com)