

ELABORATION D'UN MODELE EMPIRIQUE DE PREDICTION DU FACTEUR DE SELECTIVITE α EN CLHP

F. HELLAL, M. DEBBABI

**Laboratoire de chimie inorganique et industrielle,
Ecole nationale des ingénieurs de Monastir, 5019 Monastir, Tunisie.*

(Soumis en février 1995, accepté en avril 1996)

RESUME

L'objet de ce travail est la modélisation du facteur de sélectivité α en fonction de la nature du couple de solutés et du pourcentage de modifiant organique, sur une colonne (Sphérisorb ODS-2, 5 μ m) et avec une phase mobile acétonitrile/eau ou méthanol/eau variant entre 40/60 et 80/20 en vol/vol. La nature du couple de solutés est représentée par la valeur du logarithme de son facteur de sélectivité α à 60% de modifiant organique.

ABSTRACT

The aim of this work is the modelisation of the selectivity factor α versus the nature of the couple of solutes and the percentage of the organic modifier, on a column (Spherisorb ODS-2, 5 μ m) and with a mobile phase acetonitrile/water or methanol/water varying between 40/60 and 80/20 in vol/vol. The nature of the couple of solutes is represented by the value of the logarithm of its selectivity factor α at 60% of organic modifier. This model allow the prediction of the mobile phase composition with which separation of solutes is possible.

I - INTRODUCTION

De nos jours, la plupart des séparations effectuées en chromatographie liquide se fait par chromatographie liquide à polarité de phases inversée (RPLC) (réf. 1). Comparativement aux techniques de chromatographie en phase gazeuse, celles de chromatographie liquide offrent un potentiel de séparation plus grand puisqu'il s'y développe, en plus, des interactions soluté-phase mobile.

Dans cet article nous proposons une modélisation empirique du facteur de sélectivité α utilisé en HPLC pour apprécier la séparation en fonction de la nature du soluté. La phase stationnaire est constituée de Sphérisorb (ODS-2, 5- μ m).

II - METHODOLOGIE

Les phénomènes observés en chromatographie liquide haute performance sont encore mal expliqués. Ceci est dû en grande partie à la complexité des interactions mises en jeu entre soluté-éluant, soluté-adsorbant et éluant-adsorbant.

De fait, il n'est pas toujours facile de relier directement les observations expérimentales aux théories purement "microscopiques", basées sur les concepts atomique et moléculaire.

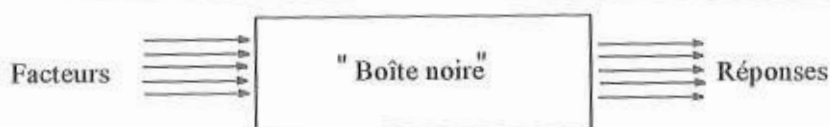
L'analyste est ainsi amené à avoir recours à l'approximation, par deux approches différentes.

La première consiste à conserver le principe de la théorie microscopique et à introduire des approximations dans chaque étape, qui permettent la simplification des calculs et rendent ainsi l'interprétation des résultats possible (réf. 2). Ce genre de raisonnement implique des approximations tellement importantes qu'on perd l'évidence des liens entre les résultats et l'origine de la théorie.

La deuxième approche commence par une analyse macroscopique et empirique des problèmes, puis fait intervenir autant que nécessaire la théorie microscopique pour permettre une discussion des résultats avec des termes de concept moléculaire (réf. 3-17). Cette dernière approche a été historiquement la seule voie ouverte à l'analyste, qui commence toujours par une importante investigation expérimentale du phénomène avant l'établissement de sa théorie.

Il n'y a aucune approche méthodologique dans le traitement direct de données expérimentales qui ne sont pas issues de plans d'expériences optimaux, nous proposons donc l'écriture suivante :

Nous pouvons assimiler le phénomène étudié à une boîte noire (ref. 18-20) où les entrées sont les facteurs que l'on contrôle (causes du phénomène étudié) et où les sorties sont les réponses que l'on observe (conséquences du phénomène étudié).



Sachant que la variation d'un facteur s'accompagne d'une variation de la réponse observée, nous essayons alors de trouver un modèle empirique permettant de relier les réponses aux facteurs.

Choix du modèle

Pour évaluer la rétention relative entre deux composés consécutifs 1 et 2, on utilise souvent le facteur de sélectivité α (réf. 3). Il est défini par la relation : $\alpha = k'_2/k'_1$.

C'est ce paramètre que nous choisissons d'étudier, il représente la résultante de toutes les interactions mises en jeu en relation avec l'ensemble des propriétés physico-chimiques du soluté et de chacune des deux phases stationnaire et mobile. Il faut nécessairement avoir $\alpha > 1$ pour obtenir une séparation chromatographique.

En utilisant $\text{Ln}(\alpha)$ comme réponse pour décrire les évolutions de notre système, nous avons choisi de postuler un modèle quadratique reliant la réponse ($\text{Ln}(\alpha)$) aux paramètres expérimentaux retenus :

- nature du couple de solutés, facteur n°1, qui sera représenté par la variable codée X_1
- pourcentage du modifiant organique, facteur n°2, qui sera représenté par la variable codée X_2 .

$$\text{Ln}\alpha = \text{Ln } k'_2 - \text{Ln } k'_1 = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{12} X_1 X_2 \quad (1)$$

b_i représentent les effets des facteurs i , b_{ij} représentent les écarts à l'additivité, b_{12} représente les interactions entre les solutés et la phase mobile.

La transformation d'une variable naturelle U_{ij} en une variable codée X_{ij} est obtenue par la relation :

$$X_{ij} = (U_{ij} - U_j^0) / \Delta U_j$$

U_{ij} est la valeur de la variable naturelle j à l'expérience i , X_{ij} variable codée j à l'expérience i , U_j^0 variable naturelle j au centre d'intérêt (correspondant à $X_j = 0$) et ΔU_j est le pas de variation de la variable naturelle j (correspondant à une variation de la variable codée j égale à +1).

Ce codage permet de transformer les variables naturelles en variables sans dimension directement comparables.

L'estimation des coefficients du modèle se fait par la méthode des moindres carrés :

$$B = (X'X)^{-1} X' Y.$$

B est le vecteur des estimations des coefficients, $(X'X)$ la matrice d'information, $(X'X)^{-1}$ la matrice de dispersion et Y le vecteur des résultats expérimentaux.

Pour utiliser cette méthode, il faut pouvoir disposer des données de rétention. Nous avons utilisé celles fournies par Burr et Smith (réf. 11-17) qui, dans leur approche de formuler un système indiciel en RPLC, ont mesuré avec précision les facteurs de capacité d'un grand nombre de benzènes substitués dans les phases mobiles méthanol/eau, acétonitrile/eau.

Dans le cas de l'utilisation d'un mélange binaire solvant (méthanol ou acétonitrile)/eau comme phase mobile avec un pourcentage de solvant variant entre 40 et 80% en volume, nous représentons la nature du couple de solutés par la valeur de $\ln(\alpha)$ à 60% de solvant (méthanol ou acétonitrile).

III - RESULTATS ET DISCUSSION

a) Cas de l'utilisation du mélange méthanol-eau comme phase mobile :

Tableau I. Domaine expérimental dans le cas des mélanges méthanol/eau

Variable	Centre	Pas de variation	Limite inférieure	Limite supérieure
\ln du facteur de sélectivité α du couple de soluté à 60/40 vol/vol méthanol/eau	2,35	2,35	0	4,7
Pourcentage du modifiant organique	60	20	40	80

$$X_{1m} = [(Valeur\ du\ \ln\alpha\ du\ couple\ de\ solutés\ à\ 60/40\ vol/vol\ MeOH/eau) - 2,35]/2,35.$$

$$X_{2m} = [Pourcentage\ du\ modifiant\ organique - 60]/20.$$

Dans le domaine expérimental décrit dans le tableau I, le calcul des coefficients du modèle à partir des données de l'annexe I en utilisant le logiciel NEMROD (réf. 21) donne :

$$\ln \alpha = 2,29 + 2,26 X_{1m} - 0,71 X_{2m} + 0,01 X_{1m} * X_{1m} - 0,06 X_{2m} * X_{2m} - 0,074 X_{1m} * X_{2m}$$

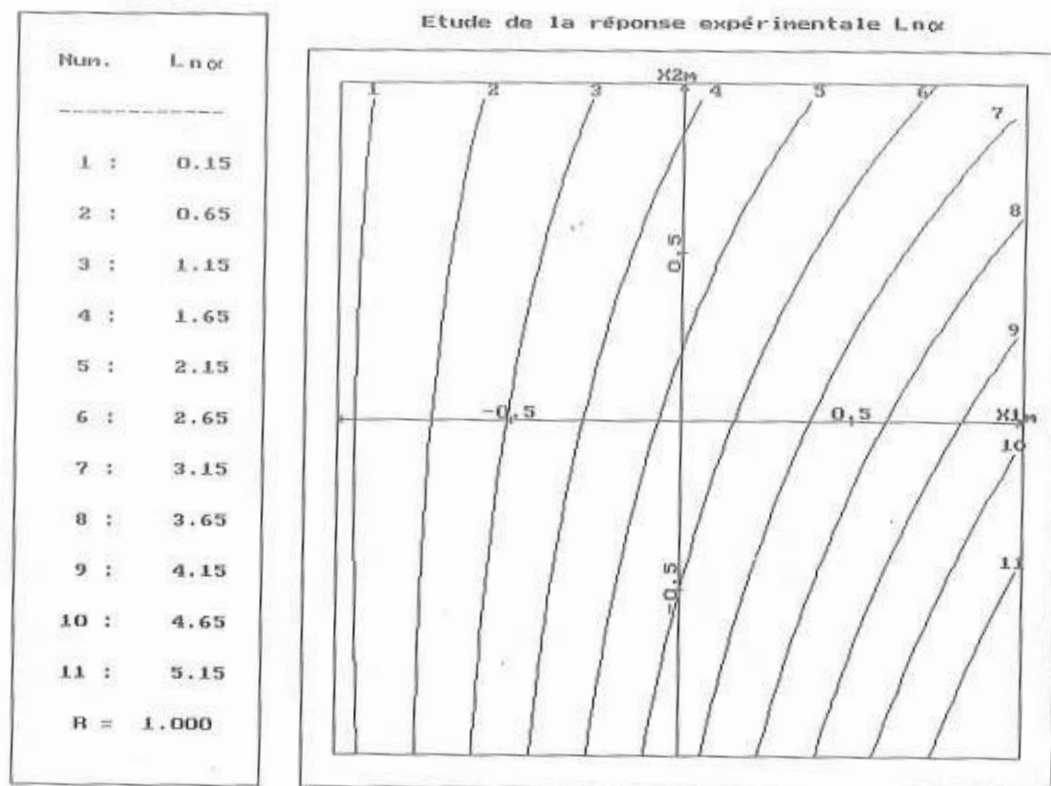


Diagramme 1m : Visualisation de la variation de $\ln \alpha$ dans tout le domaine expérimental

Le diagramme 1m représente les courbes isoréponses de $\ln(\alpha)$; les courbes numérotées de 1 à 11 représente les différentes valeurs choisies en partant de $\ln(\alpha) = 0,15$ (courbe 1) avec un pas de variation entre deux courbes de 0,5.

b) Cas de l'utilisation du mélange acétonitrile-eau comme phase mobile :

Tableau II. Domaine expérimental dans le cas des mélanges acétonitrile/eau

Variable	Centre	Pas de variation	Limite inférieure	Limite supérieure
\ln du facteur de sélectivité α du couple de soluté à 60/40 vol/vol acétonitrile/eau	1,73	1,72	0,01	3,45
Pourcentage du modifiant organique	60	20	40	80

$$X_{1a} = [(Valeur\ du\ \ln\alpha\ du\ couple\ de\ solutés\ à\ 60/40\ vol/vol\ MeCN/eau) - 1,73] / 1,72.$$

$$X_{2a} = [Pourcentage\ du\ modifiant\ organique - 60] / 20.$$

Dans le domaine expérimental décrit dans le tableau II, le calcul des coefficients du modèle à partir de la matrice d'expérience de l'annexe II en utilisant le logiciel NEMROD (réf. 21) donne :

$$\ln\alpha = 1,76 + 1,77 X_{1a} - 0,62 X_{2a} - 0,03 X_{1a} * X_{1a} + 0,05 X_{2a} * X_{2a} - 0,63 X_{1a} * X_{2a}$$

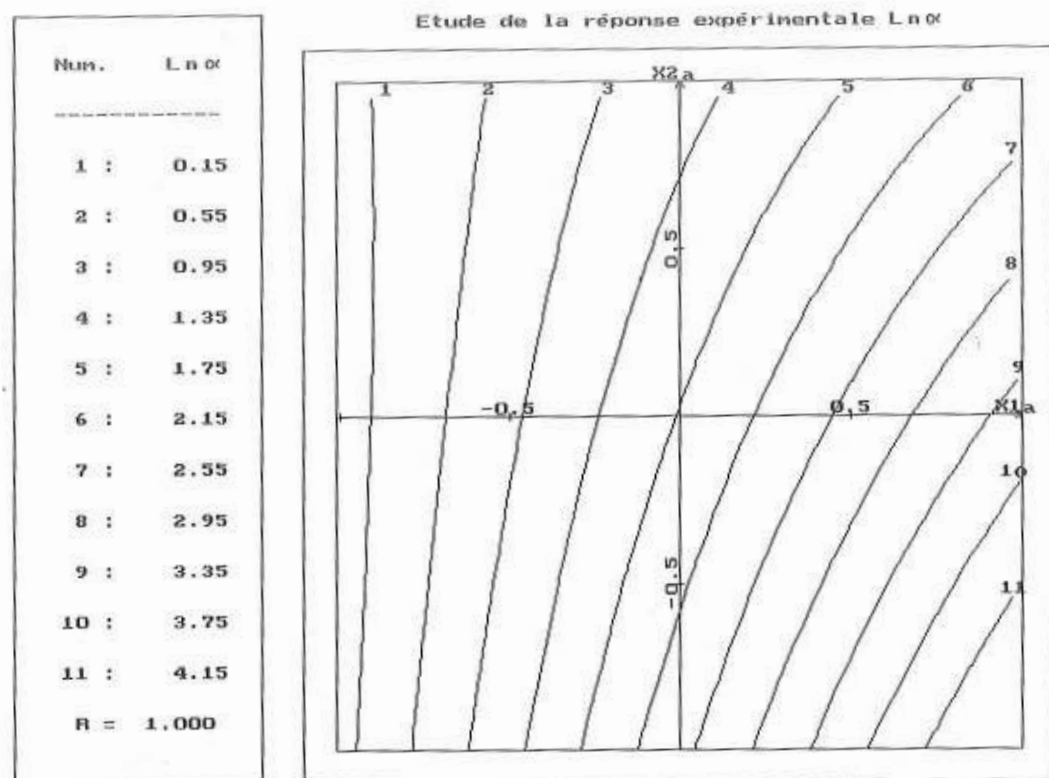


Diagramme 1a : Visualisation de la variation de $\ln\alpha$ dans tout le domaine expérimental

Le diagramme 1a représente les courbes isoréponses de $\ln(\alpha)$; les courbes numérotées de 1 à 11 représentent les différentes valeurs choisies en partant de $\ln(\alpha) = 0,15$ (courbe 1) avec un pas de variation entre deux courbes de 0,4.

c) Analyse graphique des effets selon Pareto

La simple interprétation visuelle des diagrammes 2m et 2a vont nous permettre de quantifier la contribution qu'apporte chaque terme du modèle à l'explication de la variation des réponses. La longueur de chaque "bâton" de ces diagrammes est proportionnelle à la fraction P_i , qui représente

le pourcentage d'effet dû à chaque facteur i , par rapport à l'effet total des facteurs, normé à 100 (réf. 22).

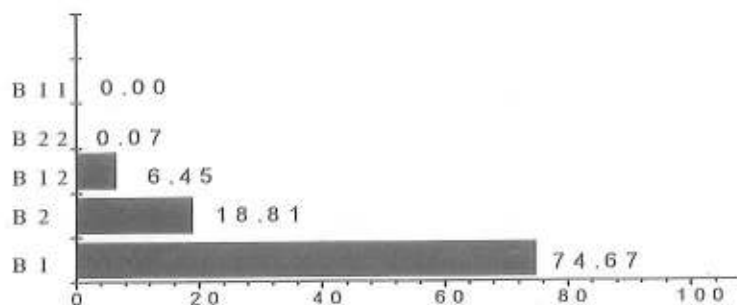


Diagramme 2m : Analyse graphique des effets selon Pareto de $\ln\alpha$ dans le cas de l'utilisation du mélange méthanol-eau comme phase mobile.

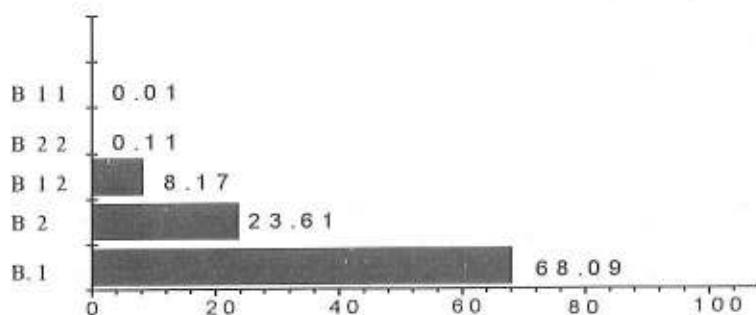


Diagramme 2a : Analyse graphique des effets selon Pareto de $\ln\alpha$ dans le cas de l'utilisation du mélange acétonitrile-eau comme phase mobile.

A travers ces graphes, nous constatons que :

- dans le cas de l'utilisation du mélange méthanol-eau comme phase mobile -diagrammes 2m- les termes X_{1m} , X_{2m} et $X_{1m} X_{2m}$ apportent $(74,67 + 18,81 + 6,45 = 99,93)$ % de l'explication de la variation de $\ln\alpha$.

- dans le cas de l'utilisation du mélange acétonitrile-eau comme phase mobile -diagrammes 2a- les termes X_{1a} , X_{2a} et $X_{1a} X_{2a}$ apportent $(68,09 + 23,61 + 8,17 = 99,87)$ % de l'explication de la variation de $\ln\alpha$.

Compte tenu des valeurs des termes B11 et B22, un modèle synergique (sans termes carrés) est suffisant pour modéliser $\text{Ln}(\alpha)$.

d) Relation entre X_{1m} et X_{1a}

A partir des données des annexes I et II, nous obtenons la relation suivante :

$$X_{1m} = 2,29 + 2,57 X_{1a} + 0,01 (X_{1a} * X_{1a})$$

(avec un coefficient de régression multiple R^2 et un coefficient de régression multiple ajusté R_A^2 de : $R^2 = R_A^2 = 0,96$).

IV - EXEMPLE D'APPLICATION

Supposons qu'on se trouve dans le cas où on veut prédire l'intervalle de variation du modifiant organique qui permet la séparation des deux solutés (2 Bromotoluène, 2 Toluamide) avec un $\text{Ln}(\alpha)$ supérieur ou égale à 2,15.

a) acétonitrile-eau :

D'après le diagramme 1.a, avec le couple de solutés (2 Bromotoluène, 2-Toluamide) qui a une valeur correspondante en variable codée à $X_{1a} = 0,48$ (calcul à partir de la référence [12]) la séparation peut être obtenue pour $-1 < X_{2a} < 0,5$ (ce qui correspond à des courbes isoréponses pour obtenir $\text{Ln}(\alpha) > 2,15$) soit à une variation en acétonitrile de 40% à 70%.

Vérification : à 70% d'acétonitrile : valeur calculée de $\text{Ln}(\alpha) = 2,15$ et une valeur expérimentale de $\text{Ln}(\alpha) = 2,16 = \text{Ln}(k'_1/k'_2) = \text{Ln}(2,88/0,33)$.

b) méthanol-eau :

D'après le diagramme 1.m, avec le couple de solutés (2 Bromotoluène, 2-Toluamide) qui a une valeur correspondante en variable codée à $X_{1m} = 0,46$ (calcul à partir de la référence [12]) la séparation peut être obtenue pour $-1 < X_{2m} < 1$ (ce qui correspond à des courbes isoréponses pour obtenir $\text{Ln}(\alpha) > 2,15$) soit à une variation en méthanol de 40% et 80%.

Vérification : 80% de méthanol : valeur calculée de $\text{Ln}(\alpha) = 2,24$ et une valeur expérimentale de $\text{Ln}(\alpha) = 2,23 = \text{Ln}(k'_1/k'_2) = \text{Ln}(1,67/0,76)$.

V - CONCLUSION

Dans cet article nous avons représenté la nature du couple de solutés par :

- la valeur de $\text{Ln}(\alpha)$ 60/40 vol/vol de méthanol/eau dans le cas d'utilisation d'un mélange binaire méthanol/eau variant entre 40/60 et 80/20 vol/vol,

- la valeur de $\text{Ln}(\alpha)$ 60/40 vol/vol d'acétonitrile/eau dans le cas d'utilisation d'un mélange binaire acétonitrile/eau variant entre 40/60 et 80/20 vol/vol.

Cette approche nous a permis de développer un modèle de $\text{Ln}(\alpha)$ en fonction de la nature du couple de solutés et du pourcentage du modifiant organique partir duquel nous avons pu tracer les courbes d'isoréponses de $\text{Ln}(\alpha)$ dans les deux mélanges binaires méthanol/eau et acétonitrile/eau. Ces courbes visualisent la variation de $\text{Ln}(\alpha)$ en fonction de la nature du couple de solutés et du pourcentage de modifiant organique dans tout le domaine expérimental.

Cette approche offre un moyen simple et efficace de prédiction de $\text{Ln}(\alpha)$.

Remerciements. Les données de cet article ont été traitées par le logiciel Nemrod, fourni par le professeur Roger Phan-Tan-Luu que les auteurs tiennent à remercier vivement.

REFERENCES

- 1- S Héron, A Tchaplal *Analisis* 21 (1993) 327.
- 2- D. E. Martire, R. E. Boehm *J. Phys. Chem.*, 87 (1983) 1045.
- 3- L. R. Snyder, J. L. Glajch and J. J. Kirkland, *Practical HPLC Method Development*, Wiley-Inter-sciences, New York, 1988, pp. 239-245.
- 4- Cs Horvath, W Melander, Molnar I, *Solvophobic interactions in liquid chromatography with nonpolar stationary phases*, *J. Chromatogr* 125 (1976), 129.
- 5- J. C Berridge, *Techniques for the Automated Optimization of HPLC Separations*, Wiley, Chichester, 1985.
- 6- P. J Schoenmakers, *Optimization of Chromatographic Selectivity (Journal of Chromatography Library, Vol. 35)*, Elsevier, Amsterdam, 1986.

- 7 - P. Jandra and M. Spacek, *J. Chromatogr.*, 366 (1986) 107.
- 8 - R. Kaliszan, *Quantitative Structure-Chromatographic Retention Relationships (Chemical Analysis, Vol. 93)*, Ed. J. D. Winefordner, Wiley, New York, 1987.
- 9 - T. Hanai, *J. Chromatogr.*, 332 (1985) 189.
- 10 - K. Jinno and M. Kuwajima, *Chromatographia*, 21 (1986) 541.
- 11 - R. M. Smith *J. Chromatogr A*, 656 (1993) 381.
- 12 - R. M. Smith, C. M. Burr, *J. Chromatogr* 550 (1991) 335.
- 13 - R. M. Smith, C. M. Burr, *J. Chromatogr* 485 (1989) 325.
- 14 - R. M. Smith, C. M. Burr, *J. Chromatogr* 481 (1989) 85.
- 15 - R. M. Smith, C. M. Burr, *J. Chromatogr* 481 (1989) 71.
- 16 - R. M. Smith, C. M. Burr, *J. Chromatogr* 475 (1989) 75.
- 17 - R. M. Smith, C. M. Burr, *J. Chromatogr* 475 (1989) 57.
- 18 - R. Phan-Tan-Luu, D. Bazard, R. Flayeux, J. Lehuède, M. Parisot, T. Vinh et M. Moll *Industries Alimentaires et Agricoles* 1979 p 441.
- 19 - F. Hellal Thèse de doctorat en Sciences, Université d'Aix-Marseille III (1993) p55-73.
- 20 - R. Thom *Elaboration et Justification des Modèles Maloines*, Paris, 1979, I, 23.
- 21 - Logiciel mis au point par Monsieur le Professeur Roger Phan-Tan-Luu de l'université d'Aix-Marseille III.
- 22 - Perry D. Haaland, *Experimental Design in biotechnology*, Marcel Dekker, INC., New York and Basel, 1989.

Annexe I

Valeurs des k' dans les mélanges méthanol/eau

	40/60	50/50	60/40	70/30	80/20
1 n-butylbenzene	420,37	130,97	46,25	13,55	4,94
2 n-propylbenzène	165,50	59,57	24,60	8,19	3,38
3 Biphenyl	204,00	62,30	22,21	8,29	3,26
4 Ethyl benzène	65,28	27,38	13,73	5,02	2,35
5 Bromobenzene	41,82	19,74	7,67	3,70	1,67
6 Toluène	29,57	13,66	6,81	3,38	1,68
7 Chlorobenzene	32,52	15,79	6,44	3,16	1,46
8 Benzyl bromide	31,54	13,41	6,01	2,86	1,56
9 Benzyl chloride	24,56	10,90	5,04	2,48	1,24
10 Benzene	11,49	7,37	3,58	2,00	1,08
11 Anisol	12,23	6,08	3,33	1,85	1,05
12 Methyl Benzoat	14,16	6,69	2,94	1,61	0,85
13 Nitrobenzene	8,12	4,67	2,32	1,35	0,74
14 Acetophénone	6,79	3,23	1,63	0,99	0,58
15 Benzonitrile	5,01	2,83	1,37	0,86	0,50
16 Benzaldehyde	4,65	2,42	1,37	0,86	0,56
17 Benzyl cyanide	4,79	2,28	1,20	0,70	0,48
18 Benzyl alcohol	2,31	1,31	0,79	0,56	0,41
19 Phenol	2,27	1,27	0,78	0,49	0,34
20 Aniline	1,73	1,09	0,68	0,49	0,33
21 Benzamide	1,18	0,68	0,42	0,33	0,25

Données fournies par Burr et Smith [ref 11-17]

Annexe II

Valeurs des k' dans les mélanges acétonitrile/eau

	40/60	50/50	60/40	70/30	80/20
1 n-butylbenzene	79,97	26,33	11,02	5,63	2,94
2 n-propylbenzène	42,52	15,83	7,17	3,88	2,15
3 Biphenyl	46,07	14,89	6,46	3,10	1,82
4 Ethyl benzène	22,38	9,46	4,66	2,67	1,58
5 Bromobenzene	14,60	6,34	3,38	1,97	1,24
6 Toluène	11,95	6,29	3,02	1,86	1,23
7 Chlorobenzene	12,32	5,51	3,01	1,77	1,13
8 Benzyl bromide	13,08	5,69	2,84	1,67	1,11
9 Benzyl chloride	11,05	4,97	2,53	1,50	0,94
10 Benzene	6,57	3,42	2,04	1,27	0,87
11 Anisol	6,85	3,43	1,98	1,17	0,81
12 Methyl benzoate	5,19	2,81	1,63	1,03	0,73
13 Nitrobenzene	4,70	2,43	1,45	0,89	0,62
14 Benzaldehyde	3,10	1,79	1,16	0,77	0,44
15 Benzonitrile	3,27	1,82	1,15	0,74	0,55
16 Benzyl cyanide	3,50	1,93	1,13	0,75	0,53
17 Acetophénone	2,91	1,69	1,10	0,74	0,57
18 Aniline	1,63	1,01	0,73	0,52	0,43
19 Phenol	1,47	0,99	0,63	0,44	0,35
20 Benzyl alcohol	1,15	0,80	0,57	0,43	0,39
21 Benzamide	0,61	0,43	0,35	0,28	0,33

Données fournies par Burr et Smith [ref 11-17]