

Préconcentration sur Silice Chélatante Chargée en Fe^{III} – Possibilités d'Application à l'Analyse du Catéchol et de ses Dérivés**

Antoine A. Descombes et Werner Haerdi*

Abstract: Preconcentration of organic compounds on a iron(III)-loaded 8-hydroxyquinoline-silica chromatographic pre-column is described. The compounds tested include amino acids, phenol, catechol, resorcinol, hydroquinone, and some other aromatic dihydroxy species, of which only the *ortho*-dihydroxy compounds are retained by this metal-loaded silica. As a model, the effect of pH, ionic strength, and flow rate on the retention of catechol is discussed. – Acetic acid is used as the eluent. The effect of the acid concentration and flow rate on the efficiency of elution is also discussed. An application to the chromatography of some catecholamines is presented.

L'analyse de composés présents à l'état de traces dans les matrices naturelles complexes (eau, liquides physiologiques, etc.) doit le plus souvent être précédée d'opérations de purification et de précon-

centration. La méthode la plus répandue dans ce domaine est l'extraction liquide-liquide qui est, cependant, susceptible de provoquer des pertes et des contaminations. Une alternative à cette méthode est l'utilisation de l'extraction liquide-solide: la matrice naturelle percole sur une précolonne remplie d'un support solide qui concentre sélectivement les composés à analyser; la préconcentration terminée, on récupère ces composés par le choix judicieux d'une phase éluante. Le couplage préconcentration-séparation par chromatogra-

phie liquide à haute performance (HPLC) peut être facilement automatisé.

Les composés organiques apolaires seront préconcentrés sur une silice à phase inversée^[1] alors que, comme l'ont démontré de récents travaux, l'utilisation d'une silice chargée en métal permet la rétention des composés polaires du type bases de Lewis^[2,3].

La 8-hydroxyquinoléine ou «oxine» (Q) possède deux atomes donneurs d'électrons (1 azote et 1 oxygène) qui sont susceptibles de former un chélate; cette propriété bien connue de Q a permis la préconcentration d'espèces métalliques^[4] ainsi que leur séparation chromatographique^[5], lorsque ce ligand est fixé sur silice. *Shahwan* et *Jezorek*^[6] ont utilisé Q, fixée sur silice (SQ) et chargée en Fe^{III} (SQ-Fe), pour séparer par chromatographie les phénols. La formule de la phase (SQ) est développée à la Fig. 1.

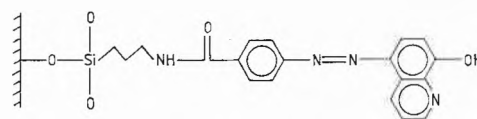


Fig. 1. Représentation de la silice chélatante SQ.

La «surface métallique» est obtenue grâce aux constantes de complexation importantes qui lient SQ à Fe^{III} (en milieu aqueux: constante de stabilité $\lg K_1 = 13.0$, $\lg K_2 = 12.3$, $\lg K_3 = 11.6$, produit ionique $pK = 43.5$).

* Correspondance: Prof. Dr. W. Haerdi
Département de Chimie minérale, analytique
et appliquée de l'Université, Sciences II
30 Quai Ernest-Ansermet
CH-1211 Genève 4

** Extrait travail de thèse de doctorat de A. A. D.

Le choix de cette phase métallique en tant que support de préconcentration a été motivé par le fait que le fer présente une certaine affinité envers les composés de type phénoliques, ce qui permet un enrichissement relativement spécifique de quelques-uns d'entre eux.

Partie Expérimentale

Appareillage et phase: L'appareillage utilisé pour cette étude de préconcentration-élution est identique à celui présenté dans une publication précédente^[3]. La synthèse de la phase complexante a été décrite^[6].

Stabilité de la phase SQ-Fe: La stabilité de la phase métallique au passage de diverses solutions, a été examinée. Pour ce faire, la phase est mise en suspension dans l'eau puis introduite à l'aide d'une seringue dans la précolonne (10 x 2 mm de diamètre intérieur, masse de la phase, environ 20 mg). La colonne est ensuite lavée au moyen d'une solution de NaClO₄ 0.1 M (30 mL; débit: 2 mL/min). Au cours de ce lavage, on observe un bref relâchement (durant les 5 premières minutes) de composés absorbant en UV, ainsi que des traces de fer, non fixées chimiquement (non complexées ou simplement adsorbées). Par contre, le passage de solutions acides ou contenant un complexant fort du fer (p.ex. EDTA^[7]) provoque un relâchement continu d'une part de composés absorbant fortement dans l'UV ($\lambda = 280$ nm) et d'autre part du fer. Toutefois, ces composés n'étant pas fluorescents, il est possible, après élution en milieu acide ou complexant, de détecter un soluté approprié au moyen d'un fluorimètre. Le Tableau 1 rend compte de la teneur en Fe^{III} de diverses solutions après passage dans la colonne.

Tableau 1. Concentration en fer de différentes solutions ayant lavé SQ-Fe (30 mL à 2 mL/min).

solution	concentration en fer (M)
NaClO ₄ 0.1 M	1.2 · 10 ⁻⁶
AcOH 100%	2.2 · 10 ⁻⁴
AcOH 10%	10 ⁻⁵
EDTA 0.1 M	2 · 10 ⁻⁴

L'instabilité de la phase SQ-Fe en milieu acide ou complexant pourra être mise à profit lors de l'élution d'un soluté préconcentré en milieu relativement neutre, sur la colonne (30 mL à 2 mL/min).

Essais de Préconcentration de Divers Solutés

Afin de mettre en évidence les possibilités de préconcentration de la phase SQ-Fe, divers composés ont été sélectionnés selon leurs propriétés de former, avec la phase métallique, des liaisons plus ou moins fortes. En effet, il est connu que Fe^{III} peut former, par exemple avec les composés mono- et polyhydroxylés, en particulier aromatiques, des composés relativement stables. Des différents composés testés (acides aminés, phénol, résorcinol, hydroquinone, pyrocatechol et catécholamines), seuls le pyrocatechol et ses dérivés (L-DOPA et catécholamines) présentent un volume de rétention important. Le fait que la tyrosine ne soit pas retenue prouve que c'est bien la fonction chélatante type «orthodihydroxybenzénique» qui est responsable de la rétention.

Etude de la Préconcentration et de l'Élution du Pyrocatechol (Modèle)

Conditions: Solutions aqueuses de pyrocatechol de concentration 10⁻⁴ à 10⁻⁶ M; colonnes de préconcentration 10 x 2 mm de diamètre intérieur (volume interne 31.4

μL), lavée, avant utilisation, en moyen de 30 mL d'une solution de NaClO₄ 0.1 M (voir aussi Partie expérimentale); solution éluante: acide acétique (ou EDTA, voir aussi Tableau 1).

L'influence de divers paramètres tant sur (i) la préconcentration (concentration limite de saturation, influence de la force ionique et du pH, influence du débit) que sur (ii) l'élution (complexante ou acide) a été étudiée. Ceci, non sans avoir préalablement établi, par un test de préconcentration effectué sur la silice non chargée en métal (qui s'est révélé être négatif) que la rétention du catéchol était bien due à sa complexation avec le fer (et non à une adsorption sur la silice). Pour autant que l'influence d'un des paramètres n'est pas étudiée, ceux-ci sont fixés de la manière suivante: pH 5.6; débit de préconcentration et d'élution 1 mL/min.

(i) **Préconcentration:** Pour les conditions ci-dessus, la concentration limite de saturation est de 10⁻⁵ M. Le volume d'enrichissement maximum (V_{EM}) se monte alors à 24.6 ± 1.2 mL. Pour des concentrations plus élevées en catéchol, V_{EM} n'est plus constant et diminue ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ M, $V_{EM} = 17$ mL, p. ex.).

Influence de la force ionique: Les solutions de catéchol 10⁻⁵ M peuvent être préparées indifféremment dans H₂O bidistillée ou dans NaClO₄ 0.1 M, le V_{EM} reste le même (24.6 ± 1.2 mL). La force ionique n'a donc pas d'influence directe sur la rétention. La présence dans la solution de certains ions spécifiques peut toutefois provoquer une variation du V_{EM} . Les différents essais sont résumés au Tableau 2.

Tableau 2. Influence des ions (individuellement) sur le V_{EM} (pH: 5.6 (pour Cl[⊖]: 6.5), débit: 1 mL/min).

ion	c [g/L]	V_{EM} [mL]
ClO ₄ [⊖]	9.95	24.6
Cl [⊖]	1	11.3
NO ₃ [⊖]	0.1	16.5
SO ₄ ^{2⊖}	1	16.5
Na [⊕]	2.3	24.6
Mg ^{2⊕}	0.5	24.6
Mn ^{2⊕}	0.1	20
Ca ^{2⊕}	0.7	20
Zn ^{2⊕}	0.6	22
Cu ^{2⊕}	0.015	1

Les concentrations ioniques ont été choisies de telles sortes qu'elles dépassent les valeurs considérées comme excessives pour l'eau potable^[9]. Nous constatons que les cations n'influencent pas de manière notable le V_{EM} , à l'exception de Cu^{2⊕} dont les constantes de complexation, tant avec catéchol qu'avec l'oxine, sont élevées. Par contre, les anions jouent un rôle important; les chlorures forment des complexes stables, bien que faibles, avec le fer. Il y a donc compétition entre les chlorures et le catéchol pour leur complexation avec Fe^{III}. Lorsque tous ces ions sont présents ensemble (à

l'exception de Cu^{2⊕}), le V_{EM} reste toujours égal à celui obtenu pour Cl[⊖] qui s'avère donc être, dans le cas particulier, l'ion limitant.

De ces différents tests, nous pouvons conclure qu'il est possible de concentrer 10 mL de solution sans avoir à craindre de dépasser le V_{EM} . (S'il est nécessaire de concentrer un plus grand volume de solution, il est alors indispensable de prévoir une colonne d'un volume plus élevé).

Influence du pH: Comme nous l'avons déjà fait remarquer, une percolation acide décompose SQ-Fe. Les essais à différents pH sont résumés au Tableau 3.

Tableau 3. Influence de pH sur le V_{EM} (débit: 1 mL/min; le pH est ajusté avec HClO₄ 0.1 M et NaOH 0.1 M).

pH	2.7	4	7.2	8.9	9.5
V_{EM}	0	2.5	25	26.5	20

Nous constatons que le pH optimal se situe à 9. En fonction des constantes acide-base du catéchol ($pK_1 = 9.24$, $pK_2 = 13$)^[8], la forme prédominante à ce pH est le catéchol protoné, cependant il existe un équilibre qui est continuellement déplacé en direction de la forme non protonée favorisant ainsi la rétention du catéchol (c'est sous cette dernière forme qu'il y a une liaison complexante efficace entre les oxygènes du catéchol et Fe^{III}). Donc, plus le pH est bas, moins l'équilibre est déplacé, moins le composé sera retenu.

Toutefois, l'accroissement du pH n'a pas que des effets positifs sur la rétention car il favorise la formation d'hydroxyde de fer. Les ions OH[⊖] peuvent donc concurrencer la complexation catéchol-fer (III). La formation d'hydroxyde de fer devient prépondérante à partir de pH 9.5; le V_{EM} diminue. Un deuxième facteur intervient lorsqu'on travaille à ces pH alcalins: la silice se solubilise^[10]. D'autre part, seules 35% des fonctions silanols ont été greffées^[10]; il reste donc 65% de groupes Si-OH qui sont susceptibles de se déprotoner lorsque le pH dépasse 9. Les charges négatives ainsi créées sur la silice pourraient alors repousser le catéchol non protoné.

Influence du débit au cours de la préconcentration: Pour des raisons de cinétique, le débit doit jouer un rôle non négligeable sur le volume d'enrichissement maximum (V_{EM}). Les résultats obtenus sont représentés à la Fig. 2.

On remarque que V_{EM} varie linéairement en fonction du débit. Nous avons alors choisi un débit de 2 mL/min, ce qui permet un gain de temps tout en assurant un V_{EM} raisonnable.

(ii) **Elution:** Les essais de stabilité mentionnés précédemment (cf. Tableau 1) nous ont amenés à tester l'élution en milieu acide. Comme constaté lors de l'étude de l'influence du pH sur V_{EM} du

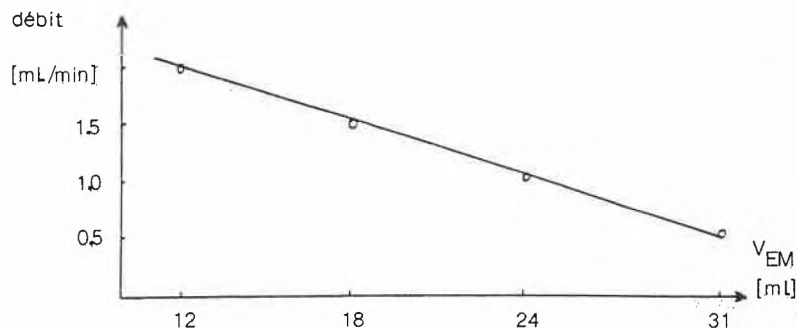


Fig. 2. Linéarité de V_{EM} en fonction du débit (pH 5.6).

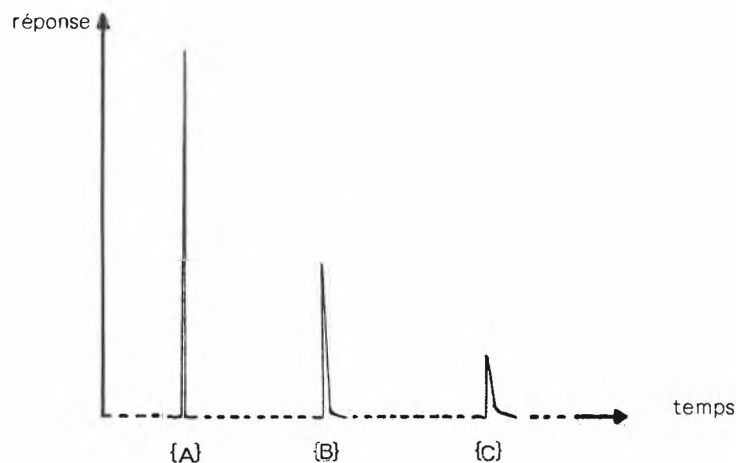


Fig. 3. Pics d'élution obtenus pour diverses phases éluantes à pH 2.25 après préconcentration de 20 mL d'une solution de pyrocatechol 10^{-5} M. [A] = AcOH; [B] = HCl; [C] = HClO₄.

catéchol (cf. Tableau 3), un pH relativement acide (pH < 4) ne permet plus la rétention du catéchol. D'autre part, il a été mesuré un relâchement de Fe^{III} lors du lavage de la phase au moyen d'acide acétique (100% et 10%, cf. Tableau 1). Une élution du catéchol fixé doit donc être possible dans ces conditions. A cette fin, divers acides ont été testés. Des essais préliminaires ont montré que la nature de l'anion (base conjuguée à l'acide correspondant) a une influence sur la cinétique de l'élution, si bien que la largeur du pic d'élution s'en trouve affectée. Afin d'assurer, «on-line», une séparation chromatographique efficace, il est donc indispensable d'établir les conditions permettant de réduire au maximum la bande d'élution (c.-à-d. la largeur du pic d'élution) de l'analyte préalablement enrichi sur la précolonne.

La Fig. 3 représente les réponses obtenues lors d'une élution effectuée respectivement au moyen d'une solution: (A) acide acétique 10% (pH 2.25), (B) acide chlorhydrique (pH 2.25) et (C) acide perchlorique (pH 2.25). On observe un élargissement progressif du pic d'élution dans l'ordre suivant: AcOH < HCl < HClO₄. On peut donc

émettre l'hypothèse que l'anion est responsable de cet élargissement (pH 2.25 constant). En effet, en milieu aqueux homogène, les affinités de ces anions pour l'ion Fe³⁺ obéissent à l'influence suivante: AcOH ($\lg K_1 = 3.38$, $\lg K_2 = 3.12$, $\lg K_3 = 1.8$) > Cl⁻ ($\lg K_1 = 0.64$, $\lg K_2 = 0.11$) > HClO₄ ($\lg K_1 = 0.4$); on peut alors admettre que l'anion peut participer, au même titre que le proton, à la cinétique de l'élution. L'élution sera d'autant plus rapide que l'anion a plus d'affinité pour le métal, ce qui a pour conséquence un rétrécissement de la bande (pic, profil) d'élution. Un profil relativement fin est d'ailleurs souhaité, afin d'assurer une séparation «on-line» optimum (dans la colonne analytique).

Couplage Préconcentration-Elution Chromatographique

Si elle est suffisamment acide, nous pouvons utiliser une seule et même phase mobile pour l'élution et la séparation chromatographique. La Fig. 4 illustre le résultat obtenu par le couplage préconcentration-chromatographie par paire d'ions aux conditions suivantes: 10 mL d'une solution $5 \cdot 10^{-8}$ M d'adrénaline, noradrénaline et

dopamine préconcentrés puis élués sur colonne C₈; phase éluante pH 2.5: NaClO₄ 0.1 M, acide acétique $5 \cdot 10^{-2}$ M, laurylsulfate de sodium $2 \cdot 10^{-4}$ M, 1-propanol 0.4 M.

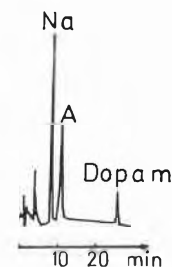


Fig. 4. Couplage préconcentration-élution chromatographique de trois catécholamines.

Conclusions

SQ complexe fortement le fer, ce qui offre l'avantage d'avoir une silice stable qui ne relâche que très peu de métal lors de son rinçage; SQ-Fe permet de retenir le catéchol aux dépens du phénol et des 1,3- et 1,4-dihydroxybenzène, ce qui tend à démontrer que la formation, thermodynamiquement favorisée, d'un cycle à 5 membres, est une condition importante pour qu'il y ait rétention. Cette propriété de la silice chargée en fer permet donc son utilisation pour préconcentrer le catéchol. La non-rétention des acides aminés rend cette préconcentration sélective, en considérant en particulier les liquides physiologiques.

Les recherches en cours sont dirigées sur l'utilisation de SQ-Fe pour préconcentrer et doser des dérivés du catéchol (catécholamines) dans les milieux physiologiques.

Received: May 27, 1988 [FC 145]

- [1] R. W. Frei, *Swiss Chem.* 6 (1984) 55.
- [2] J.-L. Veuthey, M.-A. Bagnoud, W. Haerdi, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 26 (1986) 157.
- [3] J.-L. Veuthey, M.-A. Bagnoud, W. Haerdi, *Chimia* 40 (1986) 353, 432.
- [4] R. E. Sturgeon, S. S. Bermann, S. N. Willie, J. A. H. Desaulniers, *Anal. Chem.* 53 (1981) 2337.
- [5] J. R. Jezorek, H. Freiser, *Anal. Chem.* 51 (1979) 366.
- [6] C. J. Shahwan, J. R. Jezorek, *J. Chromatogr.* 256 (1983) 39.
- [7] «COMPLEXON, Titrages au moyen de complexe selon la méthode du Prof. Schwarzenbach», Swiss Pat. 245126; US-Pat. 2583890, 2583891 de la fabrique de produits chimiques d'Uetikon, Siegfried SA, Zofingen (1963).
- [8] R. M. Smith, A. E. Martell: *Critical Stability Constants*, Plenum Press, New York (1974-1982).
- [9] *Mémento technique de l'eau*, Degremont, France (1963).
- [10] K. K. Unger: *Porous Silica - Its Properties and Use as Support in Column Liquid Chromatography* (J. Chromatogr. Library, Vol. 16), Elsevier, Amsterdam (1979).