

## OPTIMISATION DE LA CARACTERISATION DE POLYMERES HYDROSOLUBLES PAR CHROMATOGRAPHIE A PERMEATION DE GEL: UTILISATION DE PLANS D'EXPERIENCES, UNE METHODE RAPIDE ET EFFICACE

MICHELE BOLTE et MICHEL TROQUET

Laboratoire de Photochimie, UA CNRS 433 Université Blaise Pascal (Clermont-Ferrand),  
63177 Aubière, France

(Reçu le 25 avril 1989)

**Résumé**—La chromatographie par perméation de gel utilisée pour la détermination de la masse des polymères présente dans le cas des polymères hydrosolubles un grand nombre de difficultés pour la mise en oeuvre. Afin de contrôler l'influence des différents facteurs, nous avons réalisé un plan d'expériences type Plackett Burman qui permet avec un nombre limité d'expériences d'optimiser les conditions expérimentales. Ce plan a été réalisé avec des polystyrène sulfonates dont il existe de très bons standards dans un grand domaine de masse. Les conditions ainsi définies appliquées à la calibration universelle de notre installation ont fourni des résultats satisfaisants pour la détermination des masses moléculaires de polyacrylamides synthétisés au laboratoire.

### INTRODUCTION

La chromatographie par perméation de gel est une méthode de choix pour déterminer la masse molaire en poids et en nombre d'un polymère, donc l'indice de polydispersité. Couplée avec une autre méthode, viscosimétrie ou diffraction de la lumière, elle permet d'accéder à la valeur absolue de la masse molaire du polymère, quelles que soient sa nature et la nature des étalons de calibration utilisés [1-3].

Cependant, cette méthode présente de grandes difficultés de mise en oeuvre dans le cas particulier des polymères hydrosolubles. La validité et la reproductibilité des résultats dépendent à la fois de l'installation (détecteur, type et âge de la colonne), de la solution injectée (volume, concentrations en polymère) et de la phase mobile (composition de l'éluant, débit) [4, 5]. De plus, selon la nature du polymère, il peut apparaître des phénomènes d'adsorption sur la colonne, phénomènes dont l'amplitude varie avec le temps. L'obtention d'un chromatogramme bien résolu est cependant indispensable au traitement mathématique utilisé pour la détermination de  $\bar{M}_w$  et  $\bar{M}_n$ .

Nous avons donc été amenés à optimiser les conditions d'expérimentation par l'utilisation d'un plan d'expérience incluant les paramètres importants en chromatographie par perméation de gel.

### CONDITIONS D'EXPERIMENTATION

#### *Etalons et phase stationnaire*

L'installation de chromatographie se compose d'une pompe CLHP Beckman 331 B équipée de deux colonnes Waters  $\mu$  Bondagel E<sub>500A</sub> et E<sub>125A</sub>, ou d'une colonne Waters Ultrahydrogel linéaire, d'un réfractomètre Waters 410 et d'un intégrateur Shimadzu CR 3A. Afin d'optimiser les conditions d'étalonnage, nous avons utilisé des échantillons de polystyrène sulfonate dont il existe dans le commerce (Polymer Laboratories) de très bons standards

monodispersés ( $I = 1,1$ ) dans une gamme importante de masses molaires (de 4600 à 1200.000).

Pour le couple colonne  $\mu$  Bondagel—polystyrène sulfonate, les phénomènes d'adsorption sont particulièrement importants du fait de la nature ionique des échantillons. Dès les premières manipulations, nous avons observé en particulier un élargissement des raies vers les faibles masses et une très mauvaise reproductibilité. Cependant, la technique de GPC devant être utilisée afin de caractériser des polyacrylamides synthétisés au laboratoire par voie photochimique ou photoélectrochimique, il sera impératif par la suite d'utiliser des étalons de polyacrylamide. Malheureusement, les seuls étalons disponibles (Pharmacia) ont des coefficients de dispersité supérieurs à 2. Ces étalons seront utilisés avec une colonne Waters Ultrahydrogel dont les performances sont bien supérieures à celles des colonnes précédentes, mais pour laquelle les phénomènes d'adsorption sont tels que les polystyrènes sulfonates restent fixés sur la phase stationnaire et ne sont pas élués. On se trouvait donc devant un choix entre deux systèmes: l'un composé d'une colonne chromatographique de performance moyenne et d'étalons monodispersés, l'autre composé d'une colonne ayant un bon pouvoir séparateur et d'étalons de moins bonne qualité et couvrant un plus petit domaine de masses molaires.

Afin d'étudier l'influence des paramètres expérimentaux sur l'analyse chromatographique, nous avons décidé de privilégier la qualité des étalons, c'est-à-dire de conserver le couple colonne  $\mu$  Bondagel, étalons de polystyrènes sulfonates, avec lesquels nous avons construit le plan d'expérience.

#### *Composition de l'éluant*

Pour limiter les phénomènes d'adsorption qui se manifestent par une rétention totale des étalons lors des premières injections, nous avons intégré dans le plan d'expérience des paramètres permettant de minimiser ces phénomènes.

En utilisant des résultats de travaux précédents [4, 5], la composition de l'éluant fait intervenir du nitrate de sodium qui diminue les interactions électrostatiques polymère-polymère et polymère-phase stationnaire, et de l'éthylène glycol [2], dont le rôle est de réduire les effets d'adsorption du polymère sur la phase stationnaire, donc de réduire la

Tableau 1. Schéma du plan d'expérience réalisé avec les polystyrène sulfonates

| Paramètre                        | Essai |       |      |      |       |       |       |      |
|----------------------------------|-------|-------|------|------|-------|-------|-------|------|
|                                  | 1     | 2     | 3    | 4    | 5     | 6     | 7     | 8    |
| X1                               | +     | +     | +    | —    | +     | —     | —     | —    |
| Debit (ml/min)                   | 0,5   | 0,5   | 0,5  | 0,3  | 0,5   | 0,3   | 0,3   | 0,3  |
| X2                               | +     | +     | —    | +    | —     | —     | +     | —    |
| Volume injecté ( $\mu$ l)        | 50    | 50    | 20   | 50   | 20    | 20    | 50    | 20   |
| X3                               | +     | —     | +    | —    | —     | +     | +     | —    |
| Concentration polymère (% poids) | 0,2   | 0,1   | 0,2  | 0,1  | 0,1   | 0,2   | 0,2   | 0,1  |
| X4                               | —     | +     | —    | —    | +     | +     | +     | —    |
| Sensibilité/facteur d'échelle    | 8/40  | 16/20 | 8/40 | 8/40 | 16/20 | 16/20 | 16/20 | 8/40 |
| X5                               | +     | —     | —    | +    | +     | +     | —     | —    |
| Volume mort                      |       |       |      |      |       |       |       |      |
| X6                               | —     | —     | +    | +    | +     | —     | +     | —    |
| Phase <sup>a</sup> mobile        |       |       |      |      |       |       |       |      |
| X7 <sup>a</sup>                  | —     | +     | +    | +    | —     | +     | —     | —    |
| Température                      |       |       |      |      |       |       |       |      |

<sup>a</sup> = Variables bloquées.

Tableau 2. Coefficient de corrélation de la droite de calibration

| Système  | Coefficient de corrélation <i>R</i>                 |        |
|--|---|--------|
| $\mu$ Bondagel Polystyrène sulfonate                     | Avant plan d'expérience                             | 0,984  |
| $\mu$ Bondagel Polystyrène sulfonate                     | Après plan d'expérience                             | 0,996  |
| Ultrahydrogel polyacrylamide                             | Après plan d'expérience                             | 0,996  |
| Ultrahydrogel, polyacrylamide dextrans polyéthylèneoxyde | Après plan d'expérience pour la GPC + viscosimétrie | 0,9997 |

largeur des pics de distribution des masse molaires. Une première optimisation a été réalisée avec le plan factoriel 2<sup>2</sup> suivant [6]:

|                   |       |       |
|-------------------|-------|-------|
|                   | 0,2 M | 0,1 M |
| NaNO <sub>3</sub> | +     | —     |
| Ethylène glycol   | 1%    | 0,5%  |
|                   | +     | —     |

La valeur minimum de *N*, nombre d'injections nécessaires à l'obtention de pics reproductibles en temps et en intensité, est obtenue pour [NaNO<sub>3</sub>] = 0,1 M et [éthylène glycol] = 1% en poids.

#### LE PLAN D'EXPERIENCE

Pour déterminer les effets des différents paramètres contrôlant l'obtention d'un chromatogramme, nous avons utilisé la méthodologie décrite par Plackett et Burmann [6, 7], qui permet une grande économie d'expériences.

En effet, un plan Plackett Burman permet d'étudier les effets principaux de (*n* - 1) facteurs avec *n* essais, à condition que *n* soit multiple de 4. Les facteurs possèdent deux niveaux, un niveau maximum noté (+) et un niveau minimum (—). Les différentes lignes de la matrice du plan d'expérience sont obtenues par permutation circulaire à partir de la première ligne [7, 8]. Ainsi, pour une variable à un niveau donné, les autres variables sont le même nombre de fois au niveau (+) et au niveau (—). Les effets des autres variables ne biaisent pas la variable étudiée. Nous avons choisi d'étudier l'influence des paramètres suivants:

- (1) débit de la phase mobile;
- (2) concentration en polymère;
- (3) volume injecté;
- (4) couple facteur d'échelle—sensibilité gouvernant la qualité du signal envoyé par le réfractomètre;

(5) le volume mort: le volume hors colonne peut devenir important lorsqu'on associe plusieurs colonnes;

(6) la température de la colonne;

(7) la concentration en sels.

Nous avons donné aux 5 premiers facteurs des valeurs + et — compatibles avec les conditions d'expérimentation. Les deux derniers paramètres sont bloqués à une seule valeur et l'effet obtenu pour ces 2 paramètres permet de connaître la limite inférieure non significative de la variance. Le plan d'expérience réalisé est explicité dans le Tableau 1. Il a été réalisé avec des étalons de polystyrène de masse respective, 18.000, 200.000 et 1.200.000.

Deux types de résultats nous ont paru représentatifs de la qualité du chromatogramme obtenu:

$$\frac{\Delta(tr)}{tr}$$

la variation relative du temps de rétention entre deux

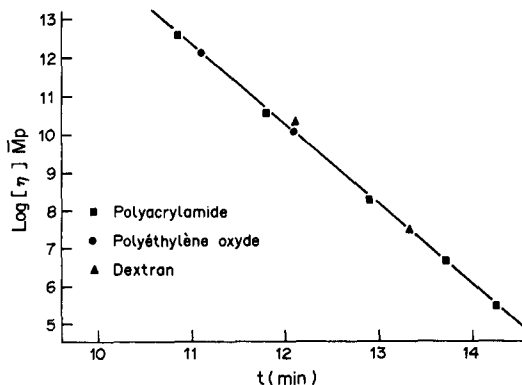


Fig. 1. Calibration universelle effectuée dans les conditions déterminées par le plan d'expérience.

Tableau 3. Polyacrylamide synthétisé au laboratoire par photoélectrochimie

| Polyacrylamide | $\bar{M}_n$ | $\bar{M}$ viscosimétrique |
|----------------|-------------|---------------------------|
| I              | 37.500      | 35.000                    |
| II             | 22.890      | 29.000                    |
| III            | 110.000     | 87.000                    |
| IV             | 157.000     | 190.000                   |

mesures, qui reflète la reproductibilité du signal

$$\frac{\Delta(\text{hauteur/largeur de base})}{\text{hauteur/largeur de base}}$$

rapport qui reflète la bonne résolution de la colonne.

Ces deux rapports doivent être minimums. Nous avons pu ainsi établir que dans notre système les meilleurs résultats étaient obtenus pour:

- débit de l'éluant : minimum 0,3 ml/min
- volume injecté : minimum 20  $\mu$ l
- facteur d'échelle/sensibilité : minimum 8/40
- volume mort : minimum.

Par contre, il n'y a pas d'effet marqué de la concentration en polymère. L'effet de cette variable est de l'ordre de celui constaté pour les variables bloquées, c'est-à-dire un effet principal non significatif. Nous avons alors traité ce problème en associant chacun des deux niveaux de la concentration en polymère à chacune des autres variables prises au niveau déterminé par le plan Plackett-Burmann.

Nous avons pu ainsi déterminer qu'en interaction avec les autres paramètres la concentration en polymère doit être maximum pour obtenir des valeurs minimums de  $\Delta tr/tr$  et  $(\Delta h/l)/(h/l)$ .

#### APPLICATION

L'amélioration apportée par les conditions du plan d'expérience apparaît dans le Tableau 2. Le coefficient de corrélation des droites d'étalonnage passe d'une valeur moyenne insuffisante de 0,984 avant l'application du plan d'expérience à 0,996 après. Enfin, l'ensemble des conditions ainsi déterminées a été reconduit pour une calibration universelle de notre installation (colonne ultrahydrogel) couplant la chromatographie par perméation de gel et la viscosimétrie. Les polymères utilisés sont des polyacrylamides (Polysciences), Dextran (Pharmacia) et polyéthylène oxyde (Polymer Laboratories). La droite de calibration obtenue (Fig. 1) correspond à l'équation:

$$\log \bar{M}[\eta] = -2,096 t + 35,4284$$

$t$  temps de rétention

$[\eta]$  viscosité intrinsèque

$\bar{M}$  masse molaire correspondant au sommet du pic de distribution

avec un coefficient de corrélation de 0,9997. Nous avons pu vérifier pour des polyacrylamides préparés au laboratoire le bon accord entre  $\bar{M}_n$  déterminés par GPC et la masse moyenne viscosimétrique (Tableau 3) [9].

#### CONCLUSION

L'utilisation d'un plan d'expérience s'est révélée une méthode aussi rapide qu'efficace pour déterminer les conditions optimales d'analyse d'un polymère hydrosoluble en chromatographie par perméation de gel.

Nous avons pu contrôler le poids de chacun des paramètres étudiés. Il est ainsi apparu que dans notre système, la concentration en polymère n'était pas un facteur prépondérant pour une bonne qualité de mesure. Ce résultat est indépendant de la masse du polymère 1.200.000, 200.000 ou 18.000. Par contre, l'effet de chacun des autres paramètres est significatif et a permis de trancher nettement entre les deux valeurs proposées.

D'une façon générale, la nature des paramètres étudiés n'affecte en rien la méthodologie; elle est laissée au libre choix de l'expérimentateur. Ainsi la composition de l'éluant peut être une des variables et non l'objet d'un travail préalable comme nous l'avons fait, tandis que le couple facteur d'échelle/sensibilité peut intervenir en variable bloquée.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. Z. Grubisic, P. Rempp et H. Benoit. *Polym. Lett.* **5**, 753-759 (1967).
2. B. Tinland, J. Mazet et M. Rinaudo. *Makromolekul. Chem., Rapid Commun.* **9**, 69-73 (1988).
3. P. Laurent et Z. Gallot. *J. Chromat.* **236**, 212-216 (1982).
4. C. Abad, L. Braco, Y. Soria, R. Garcia et A. Campos. *Br. Polym. J.* **19**, 501-508 (1987).
5. U. Soria, R. Garcia, A. Campos, L. Braco et C. Abad. *Br. Polym. J.* **20**, 115-123 (1988).
6. M. G. Vigier. *Pratique des plans d'expérience*. Editions d'Organisation, Paris (1988).
7. C. Deshayes. *Bull. Soc. Chim.* **24-34** (1980).
8. R. L. Plackett et J. P. Burmann. *Biometrika* **33**, 305 (1943).
9. M. Bolte et M. Troquet. *Eur. Polym. J.* **25**, 905-909 (1989).

**Abstract**—Steric exclusion chromatography, a good method to determine the molecular weight of polymers, appears to be difficult to use for hydrosoluble polymers. By means of parameter designs, it has been possible to optimize the experimental conditions by carrying out only a limited number of experiments. The parameter design was achieved with standard polystyrene sulphonates. The so obtained conditions, applied to the universal calibration of our chromatography set-up, yielded very satisfactory results for the molecular weights of samples of polyacrylamide synthesized in the laboratory.