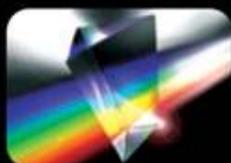




SHIMADZU

Solutions for Science

since 1875



Chromatographie
Spectroscopie
Environnement

Biotechnologie
Logiciels
Services



GCMS bidimensionnelle (GC-GCMS) et Comprehensive GCMS (GCxGCMS) : 2 techniques complémentaires

Jacques Pruvost

Spécialiste GC/GCMS/IT-TOF

jp@shimadzu.fr

Club d'Expertise Chimique
de Méditerranée, Grasse

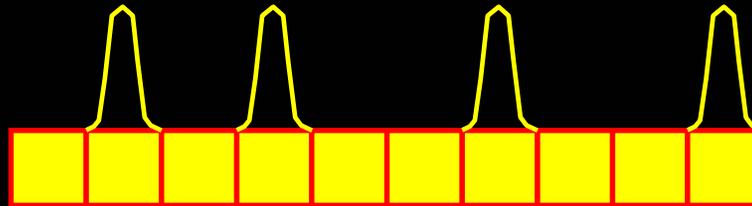
Vendredi 21 novembre 2008



- 1- Principes théoriques de la chromatographie multidimensionnelle
- 2- GC Bidimensionnelle (GC-GC)
Techniques, Matériels et Applications
- 3- GC Comprehensive (GCxGC)
Techniques, Matériels et Applications

Chromatographie à une seule dimension:

- Une colonne = une capacité de pics
- Capacité de pics = 10
⇒ 10 Pics séparés au maximum

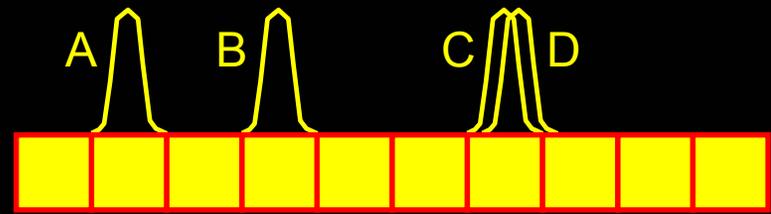


- Amélioration de la capacité de pics en optimisant les dimensions et la phase de la colonne

Chromatographie à une seule dimension:

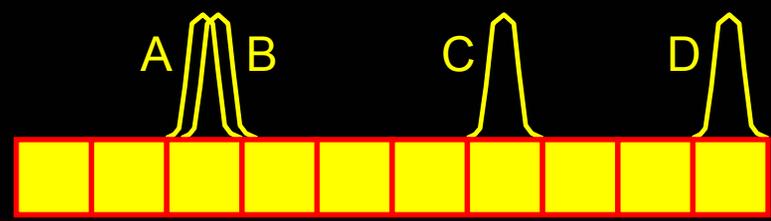
- Une colonne = une capacité de pics limitée.

Donc, si avec une colonne 1, les pics A et B sont séparés mais pas les pics C et D:



il faut utiliser une colonne 2 de phase différente

⇒ A et B risquent de ne pas être séparés avec la colonne 2...



Chromatographie à une seule dimension:

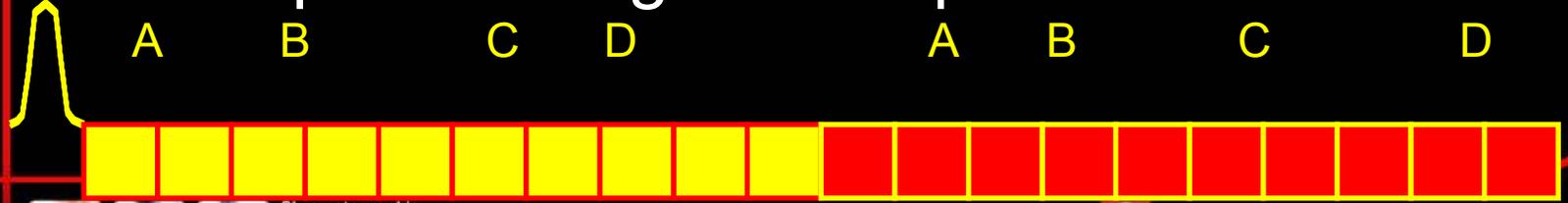
- Possibilité: connecter deux colonnes, 1 et 2, en série



⇒ simple, mais risque de perdre la séparation de A et B sur la colonne 2



⇒ De plus, cela rajoute de la longueur de colonne et donc augmente la diffusion, et par conséquent la largeur des pics.



Chromatographie à une seule dimension:

Nombre limité
de pics

≠

Grand nombre
de composés



Incompatibilité



Chromatographie 1D

≠

Echantillons complexes

Solutions:

Chromatographies
Multidimensionnelles

Réduire le nombre de
dimensions de l'échantillon
(extraction, purification,
détecteur sélectif...)



Chromatographie à 2 dimensions:

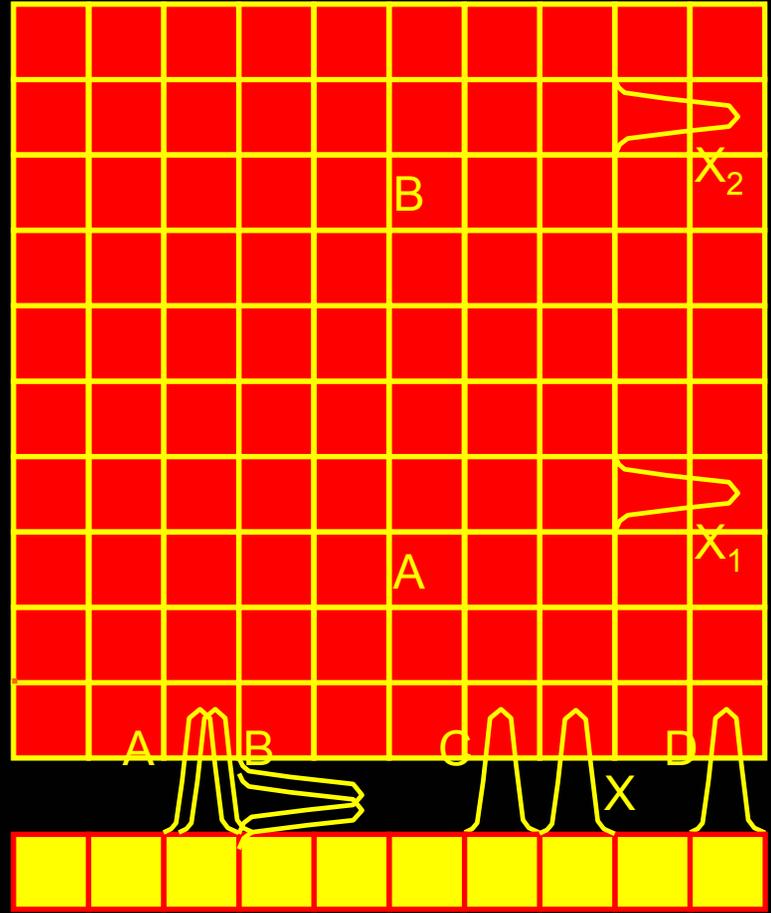
- Solution performante: connecter deux colonnes 1 et 2 en série, mais avec un système de réinjection de « portion » du chromatogramme 1, en discontinu ou en continu

Capacité de pics = $n_1 + n_2 + n_2 \dots$

⇒ Technique Heartcutting

Capacité de pics = $n_1 \times n_2$

⇒ Technique Comprehensive



Chromatographie à 2 dimensions:

- ⇒ La séparation des composés sur la colonne 1 est conservée.
- ⇒ Les composés non séparés, sur la colonne 1, sont séparés sur la colonne 2, de manière performante grâce à leur réinjection (= refocalisation en tête de colonne).

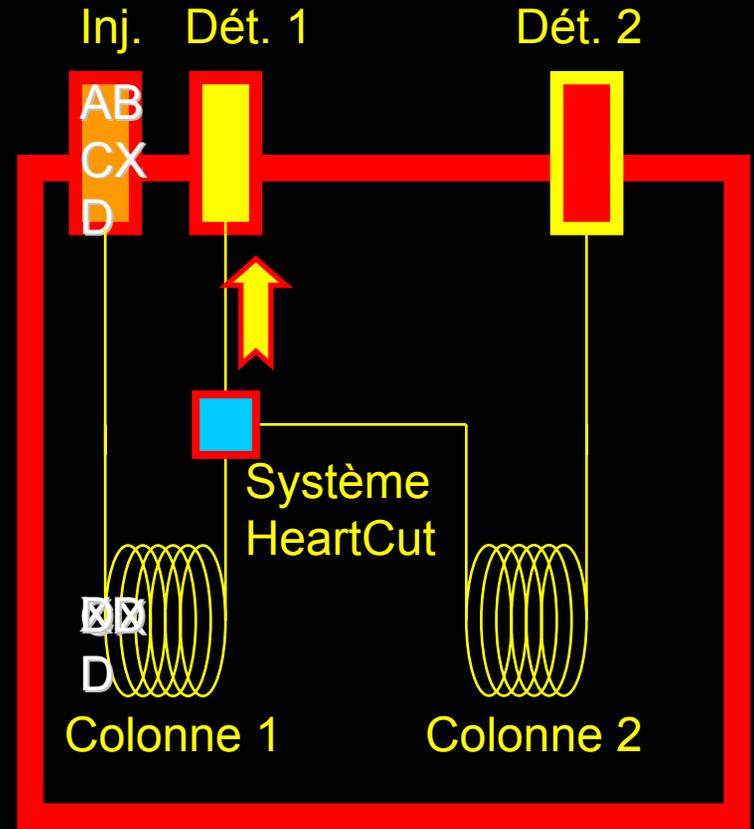
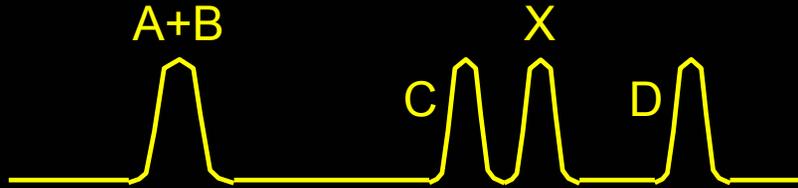
Chromatographie à 2 dimensions:

2 (ou plus) DIMENSIONS au choix:

- Volatilité – Point d'ébullition
- Polarité
- Chiralité
- Fonction chimique
- (→ Spectre de Masse)

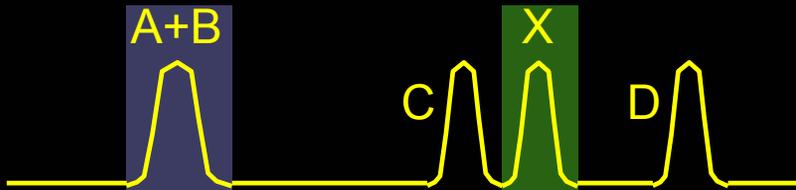
Technique GC Bidimensionnelle: GC-GC

- 1^{ère} dimension sans cut

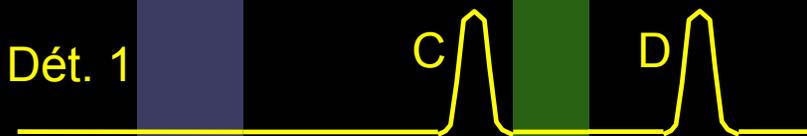


Technique GC Bidimensionnelle: GC-GC

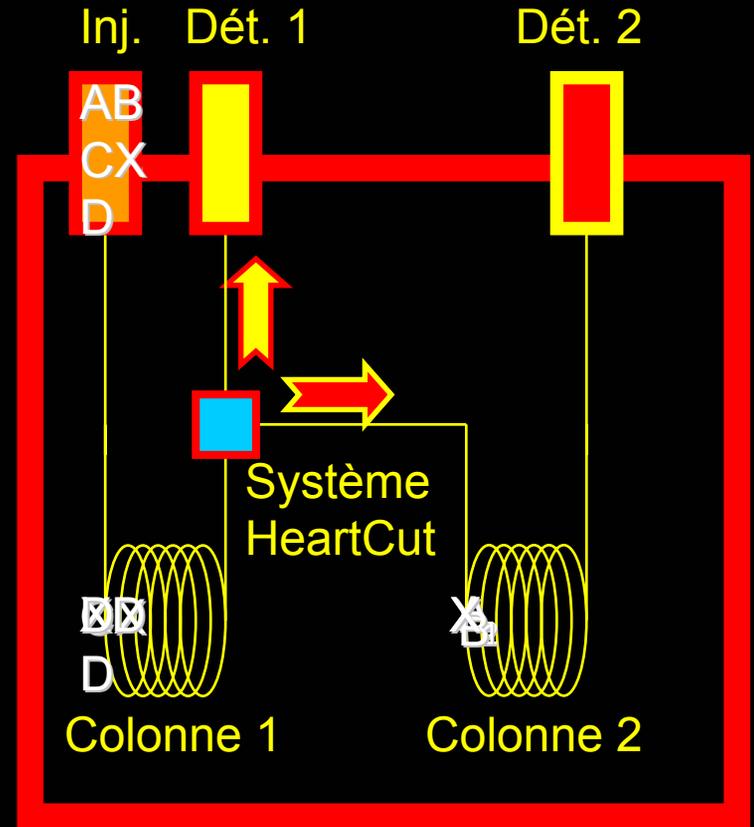
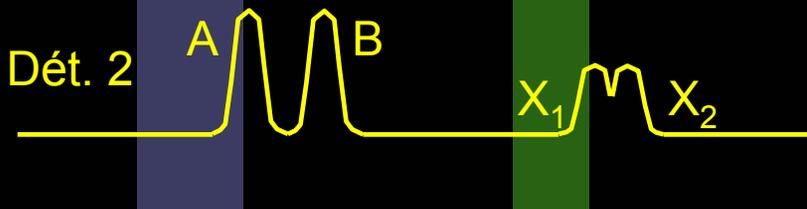
- 1^{ère} dimension sans cut



- 1^{ère} dimension avec cuts



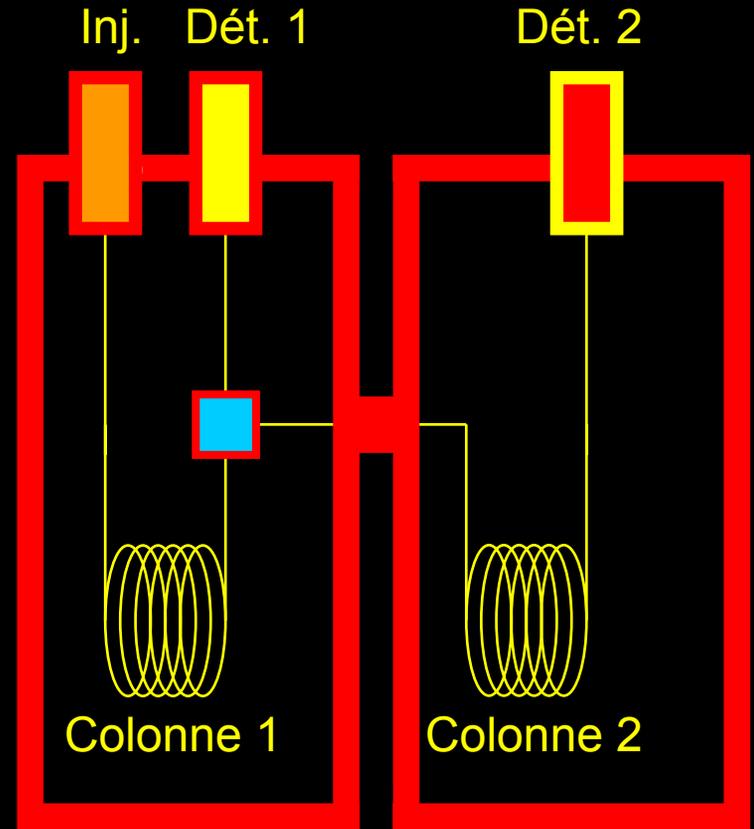
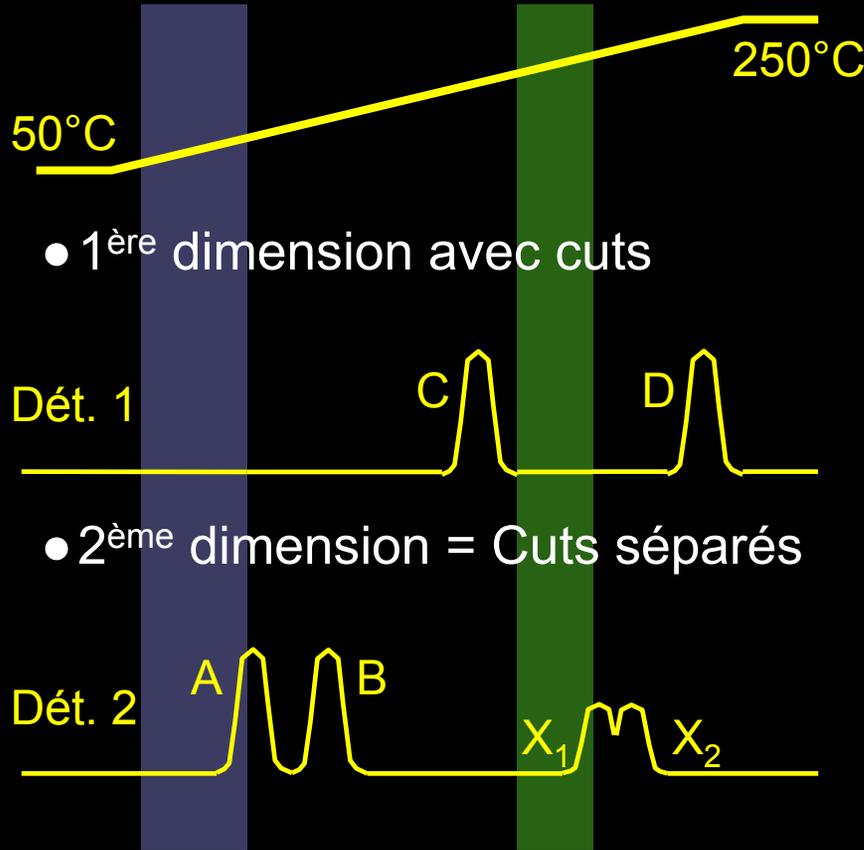
- 2^{ème} dimension = Cuts séparés



Un seul four = Un seul programme de température pour les 2 dimensions !!!

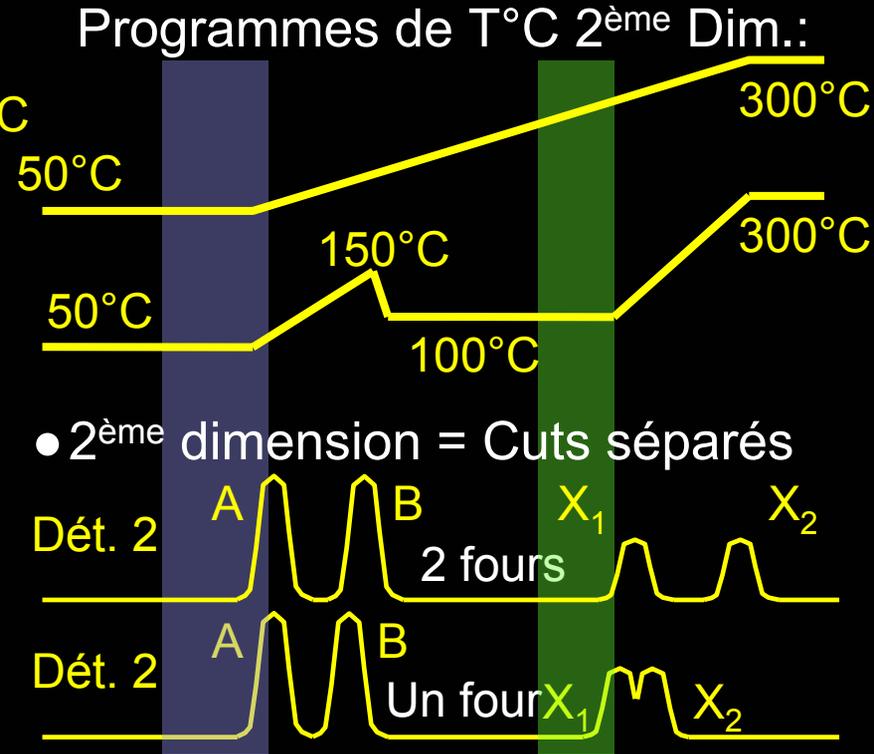
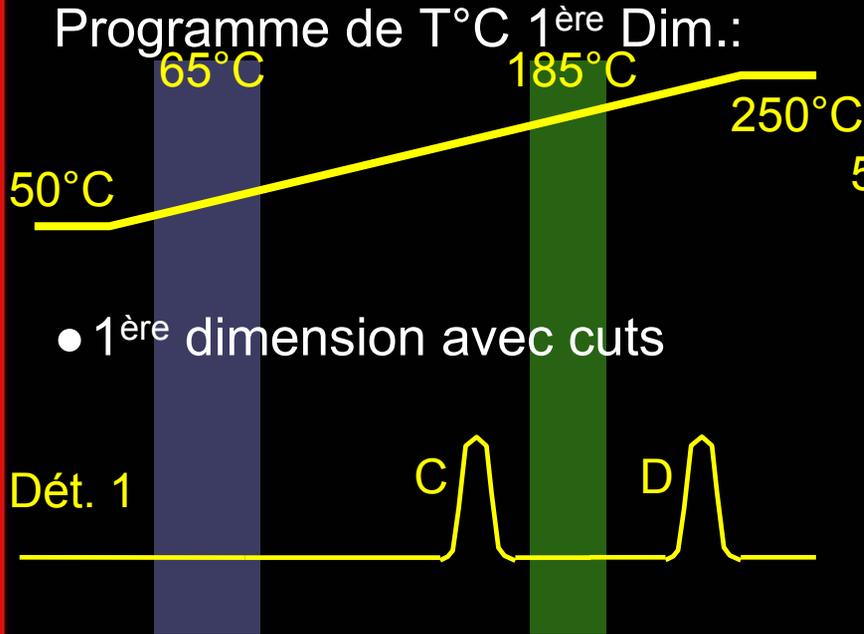
Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC

Programme de T°C du four:



Un seul four - Un seul programme de température
pour les 2 dimensions !!!
séparation optimale sur les 2 dimensions...

Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC



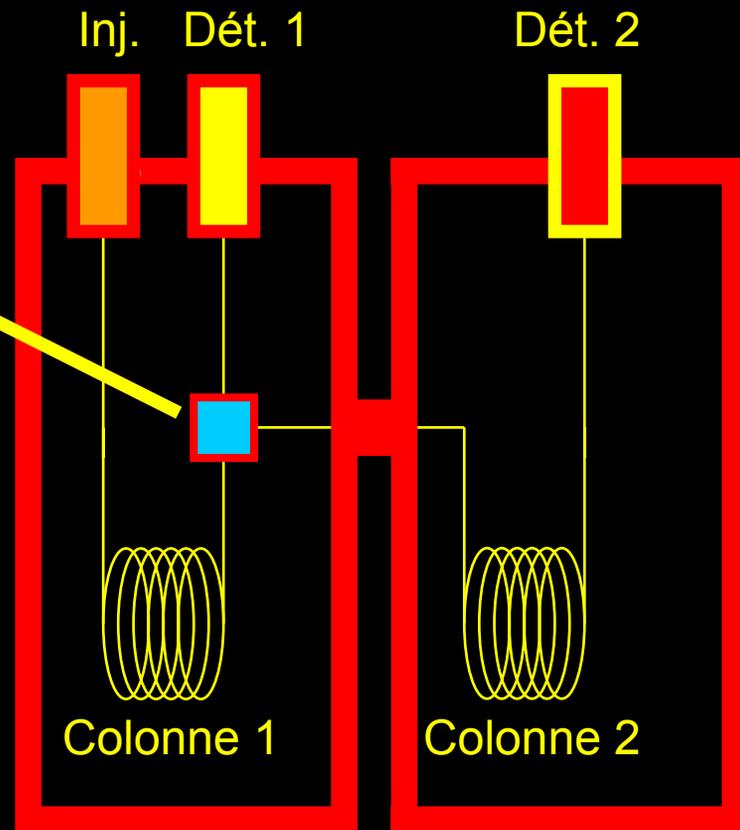
Deux fours =

- Refocalisation en tête de 2^{ème} Dim.
- Utilisation des colonnes jusqu'à leurs températures maximales
- Prog. T°C adaptés à chaque cut

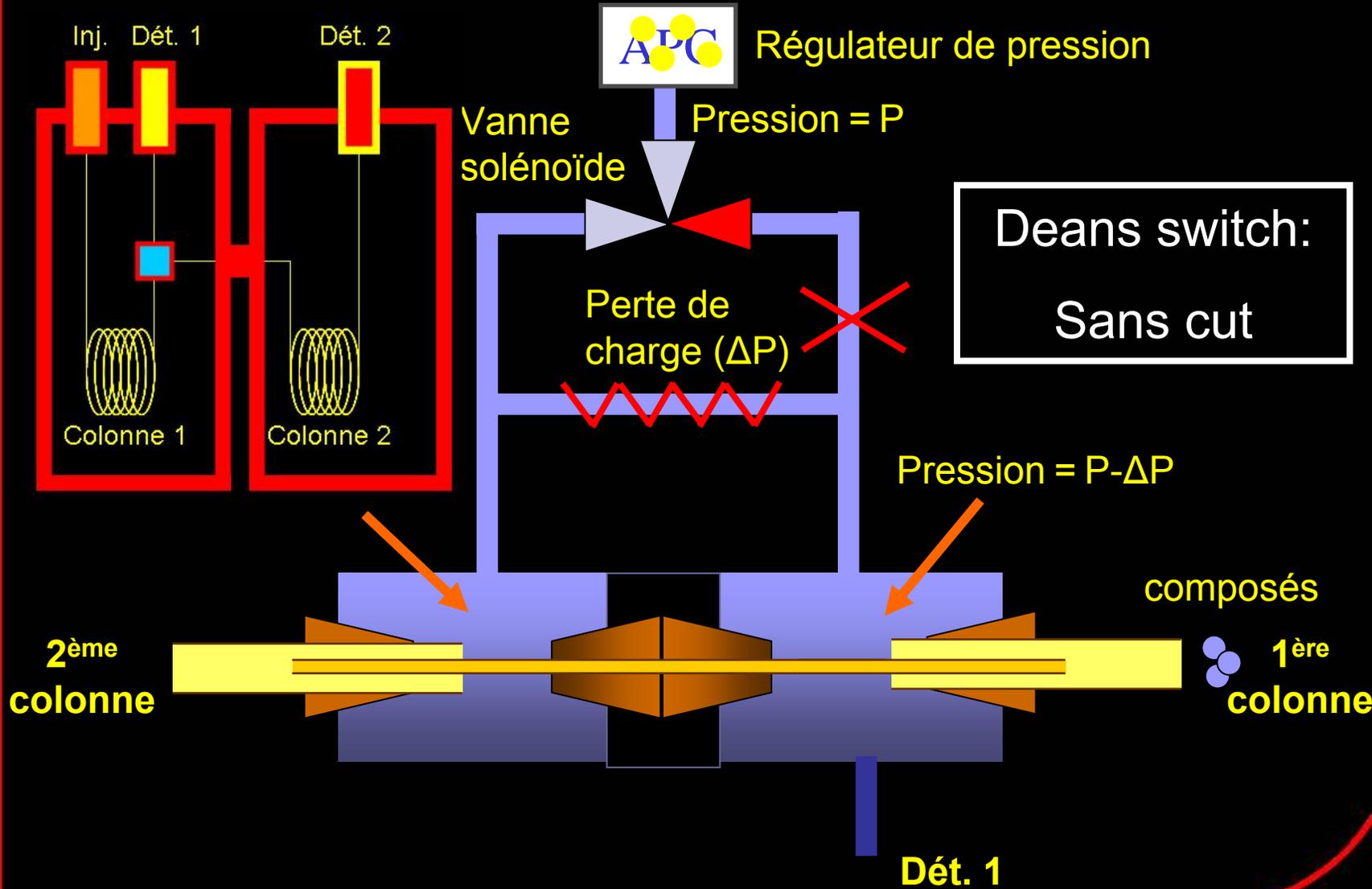
Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC

Systeme
Deans switch

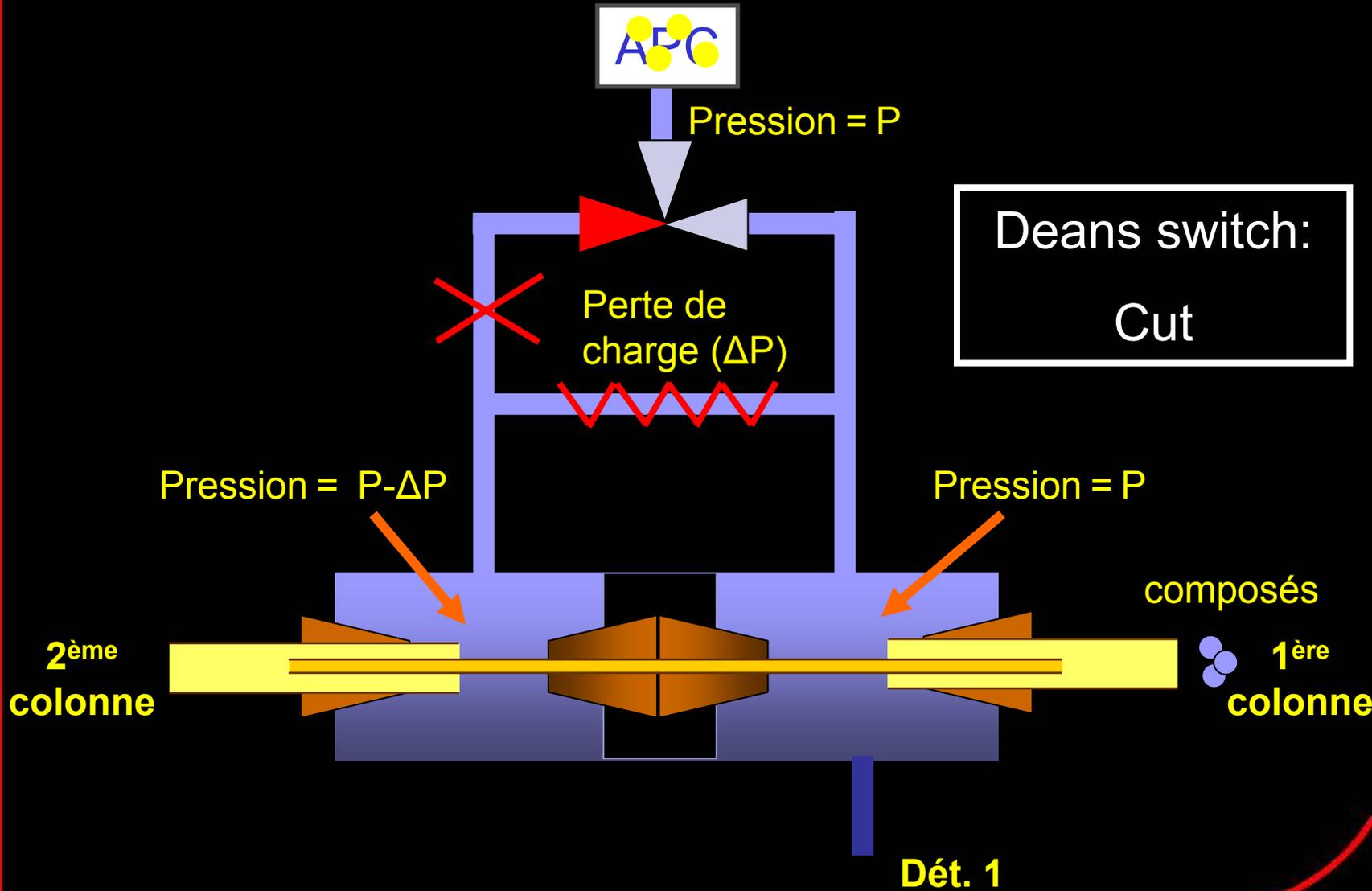
→ Switch sans « mécanique »



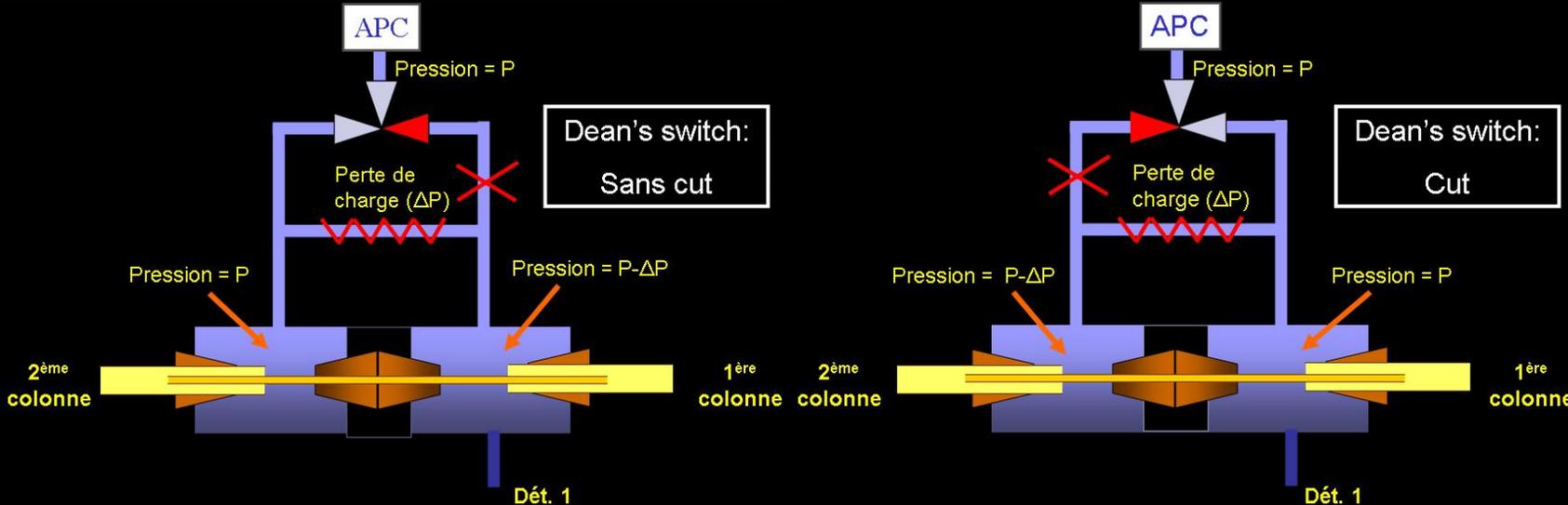
Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC



Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC



Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC



Deans switch – Sans cut:

- Tête colonne 1 = P_{col1}
- Sortie colonne 1 = $P - \Delta P$

Deans switch – Cut:

- Tête colonne 1 = P_{col1}
- Sortie colonne 1 = P

Augmentation
(c)

Multi-Deans switch

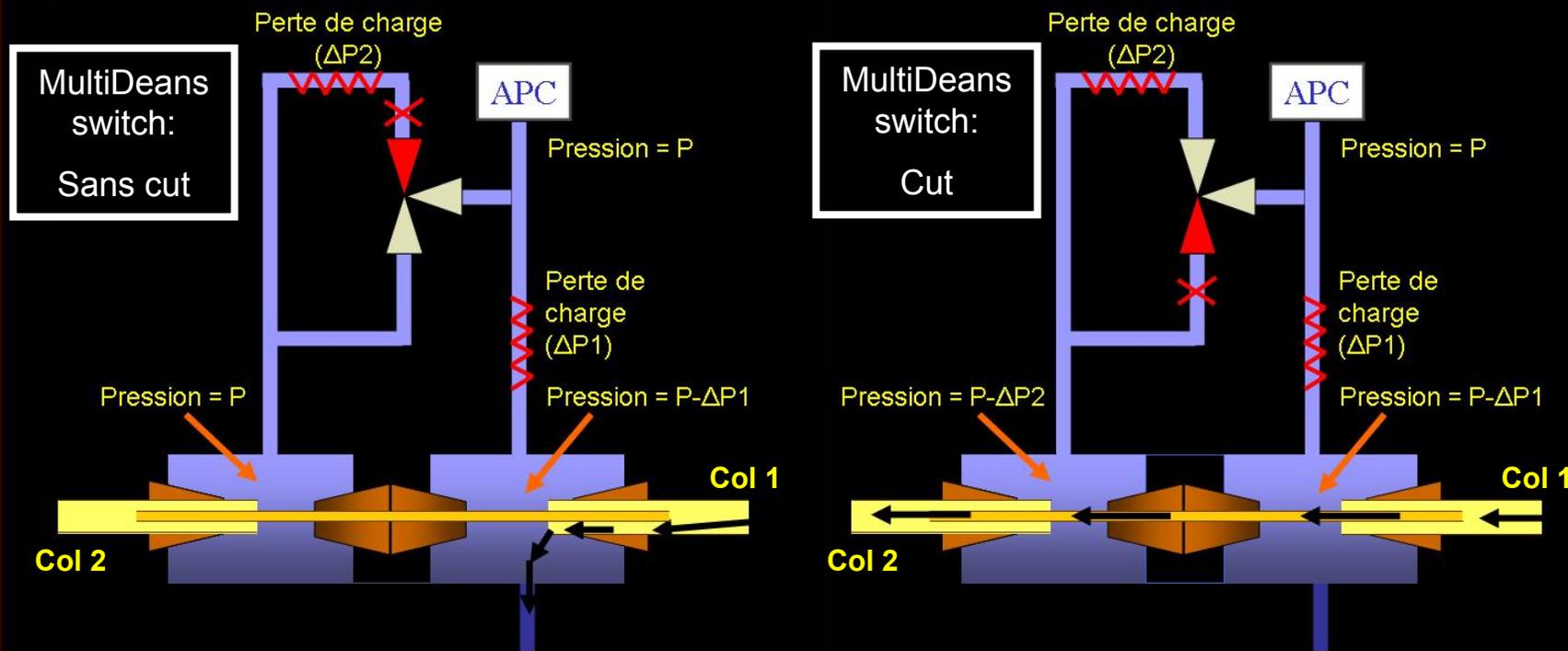
Système SANS variation des T_R

le colonne 1
(re)

⇒ Augment

lors des cuts

Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC

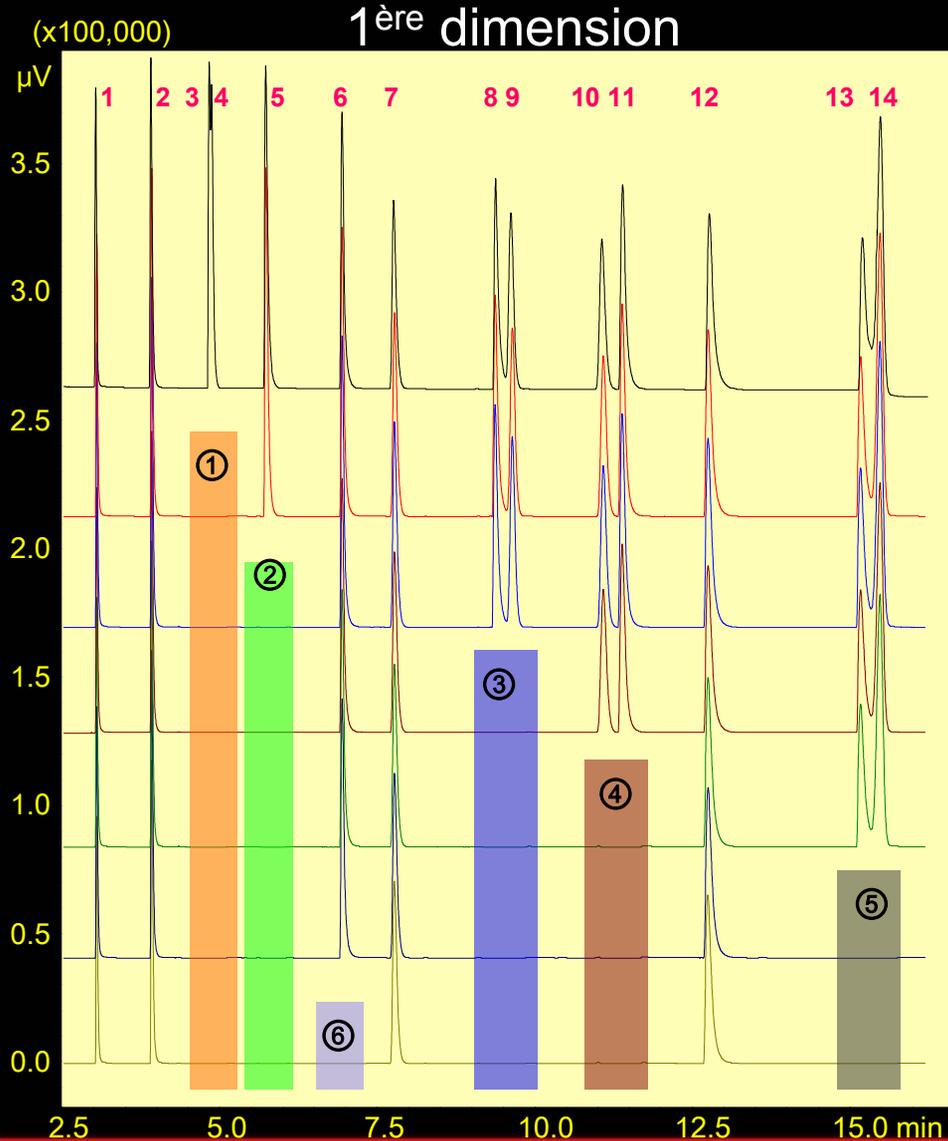


**Pression constante en sortie de colonne 1
(même pendant les cuts)**

**⇒ T_R de la colonne 1 stable et répétable
quelque soit le nombre de cuts**

Taux de transfert de 100%

Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC



Analyse d'alcools

Conditions Analytiques: MDGC-2010

Colonne 1 : Rtx-VRX, 40m×0.18mm×1.0μm

Colonne 2 : DB-wax, 15m×0.25mm×0.25μm

Prog. T°C : 35°C (18min) -20°C/min-235°C)

Gaz vecteur : He 325kPa, Switch : 70kPa

INJ : 250°C, DET : FID 250°C

Sans cut

Amyl Alcohol (AmOH)

1 cut

2 cuts

3 cuts

4 cuts

5 cuts

6 cuts

	Temps de rétention (min.)
No Cut	12,714
1 Cut	12,711
2 Cuts	12,711
3 Cuts	12,709
4 Cuts	12,709
5 Cuts	12,710
6 Cuts	12,705

Moyenne (min.)	12,710
Dév. Std (min.)	0,003
Dév. Std Rel. (%)	0,02

Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC

Atelier Chromatographies Multidimensionnelles

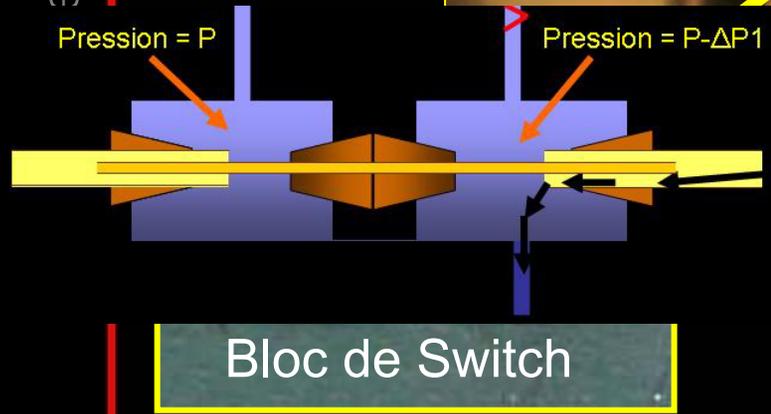
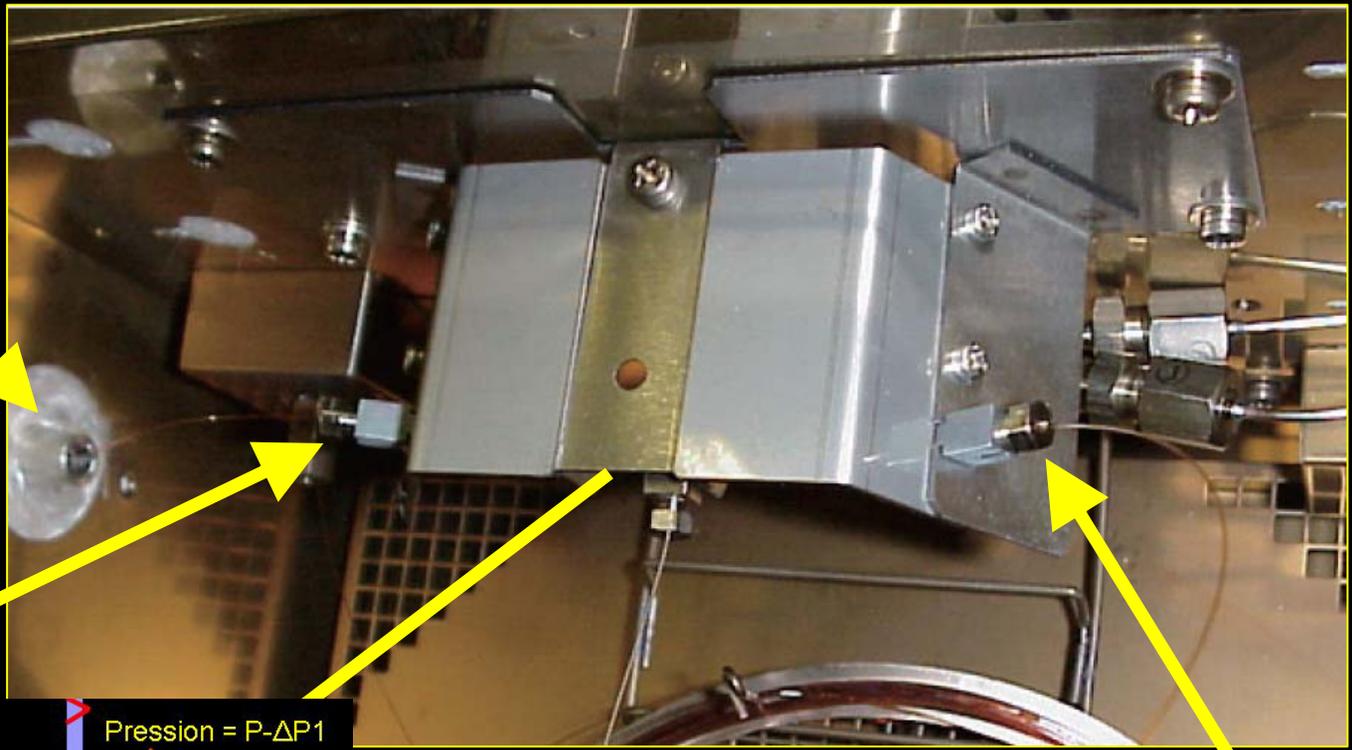
Matériels: GC Bidimensionnelle

Compound	Area						Retention Time					
	Acetone	IPA	ETBE	Bz	TAME	nBuOH	Acetone	IPA	ETBE	Bz	TAME	nBuOH
1	241902	258122	322917	584033	302735	341100	5.515	5.880	11.563	16.501	18.137	18.733
2	237073	253283	316835	572472	296948	334684	5.516	5.880	11.565	16.501	18.136	18.734
3	240294	256361	321149	580369	301337	339373	5.516	5.881	11.565	16.503	18.138	18.733
4	242492	259231	324511	587335	304680	343516	5.515	5.881	11.565	16.502	18.136	18.732
5	238727	254946	318735	576768	299044	337067	5.515	5.880	11.563	16.500	18.136	18.733
6	242091	258606	323204	584763	303246	342028	5.515	5.880	11.563	16.503	18.137	18.732
7	243402	260304	325211	588083	305140	344235	5.515	5.880	11.563	16.502	18.135	18.731
8	241572	260384	326286	588626	301903	337481	5.515	5.880	11.563	16.501	18.135	18.732
9	239256	255374	319324	576796	299153	336898	5.515	5.880	11.563	16.501	18.135	18.733
10	238508	254885	319167	576955	299617	337750	5.515	5.880	11.564	16.502	18.137	18.730
Average	240532	257150	321734	581620	301380	339413	5.515	5.880	11.564	16.502	18.136	18.732
STDEV	2067.56	2506.10	3159.04	5706.12	2662.17	3170.38	0.00037	0.00049	0.00067	0.00076	0.00108	0.00106
CV	0.860	0.975	0.982	0.981	0.883	0.934	0.007	0.008	0.006	0.005	0.006	0.006



10 analyses identiques avec les 6 cuts

Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC



- Bloc avec élément de Switch capillaire ⇒ Faible volume mort
- Bloc désactivé ⇒ Inertie

Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC

Spécifications nécessaires pour la GC Bidimensionnelle:

- 2 fours = 2 GC
- Système **MULTI**-Deans Switch
- Taux de transfert de 100%
- Bloc inerte et à faible volume



Matériels GC Bidimensionnelle: GC-GC

Atelier Chromatographies Multidimensionnelles

Matériels: GC Bidimensionnelle

The screenshot displays the MDGC software interface. At the top, a 'MDGC Setting' window is visible. The main area shows two chromatograms: the top one is labeled '1st C' and the bottom one '2nd C'. A 'SaveAs...' dialog box is open in the center, with the text 'Method File : allergenscreening_LV19.gcm'. The MDGC solution logo is prominently displayed in the foreground. The interface includes various data points and retention times such as 0.672, 10.995, and 11.25.

Logiciel: →
→

nnelle



Mise en application GC Bidimensionnelle:

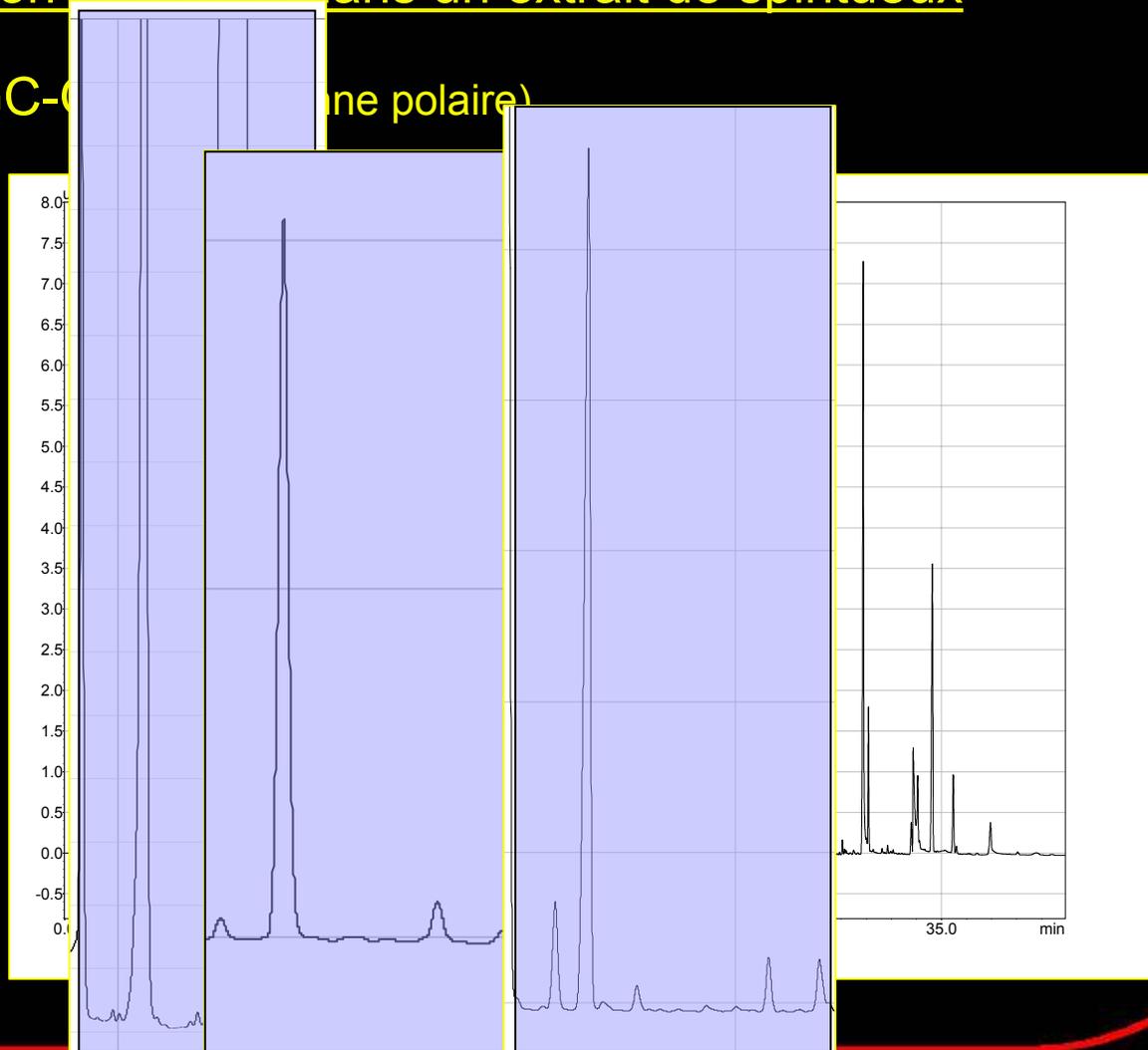
Identification d'arômes dans un extrait de spiritueux

1- Analyse en GC-MS (colonne polaire)

→ Détection d'odeurs d'intérêts

→ Aucun composé séparé ne correspond

⇒ Coélution

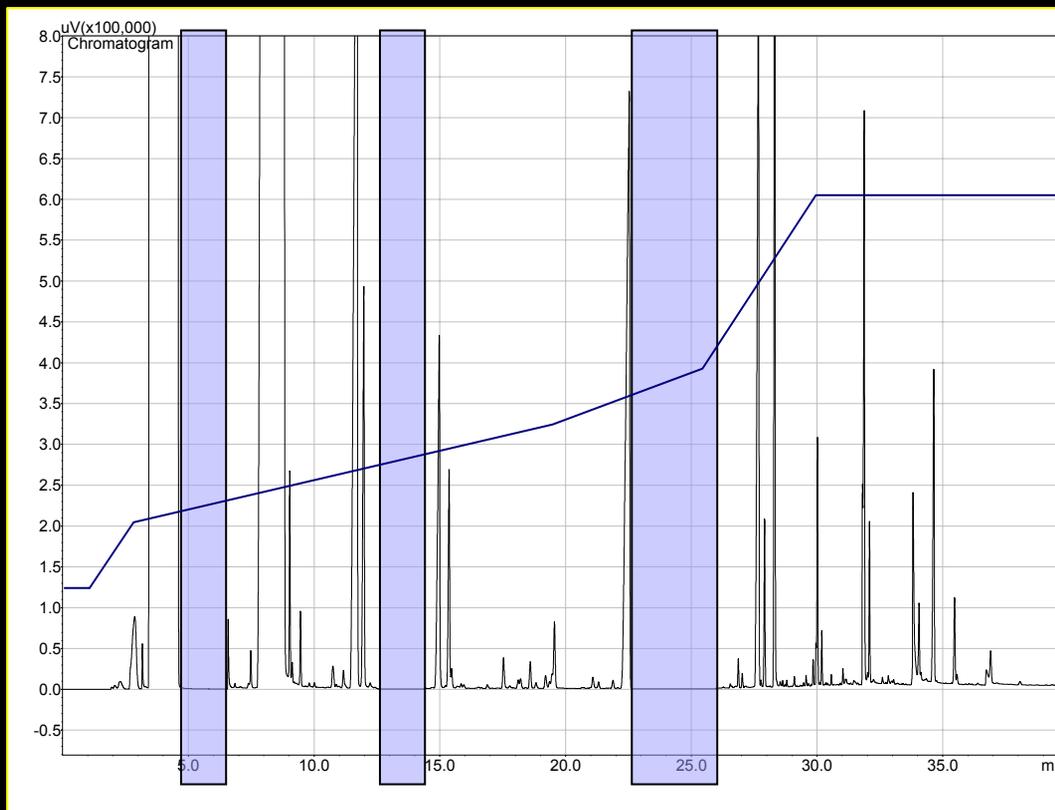


Mise en application GC Bidimensionnelle:

Identification d'arômes dans un extrait de spiritueux

2- Analyse avec la MDGCMS-2010 (colonne polaire/colonne apolaire)

- 1^{ère} dimension: Cuts sur les zones d'intérêt
- 1^{ère} et 2^{ème} dimensions: programmes de T°C différents = un programme dans chaque GC



Mise en application GC Bidimensionnelle:

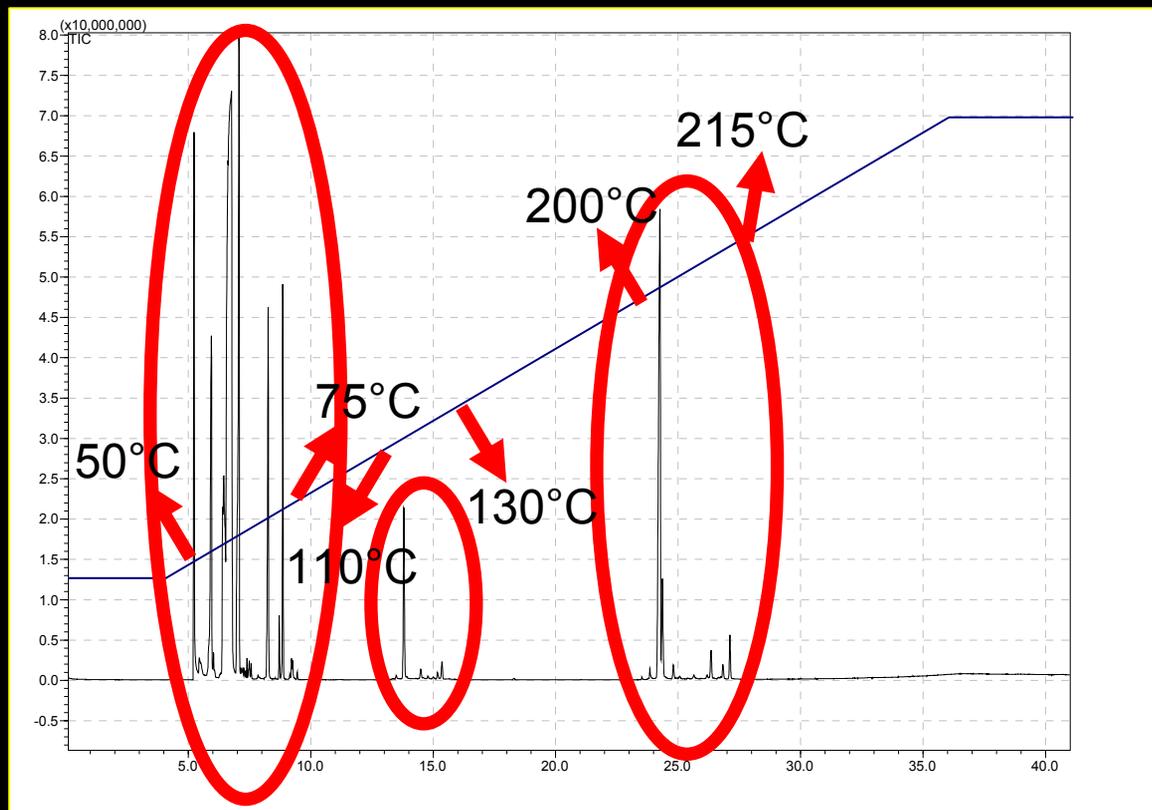
Identification d'arômes dans un extrait de spiritueux

2- Analyse avec la MDGCMS-2010 (colonne polaire/colonne apolaire)

→ 2^{ème} dimension:
Les 3 Cuts sont
bien identifiables

→ L'utilisation de la
2^{ème} dimension
n'est pas
optimale:

- sans refocalisation
- Faible amplitude de
la rampe de T°C

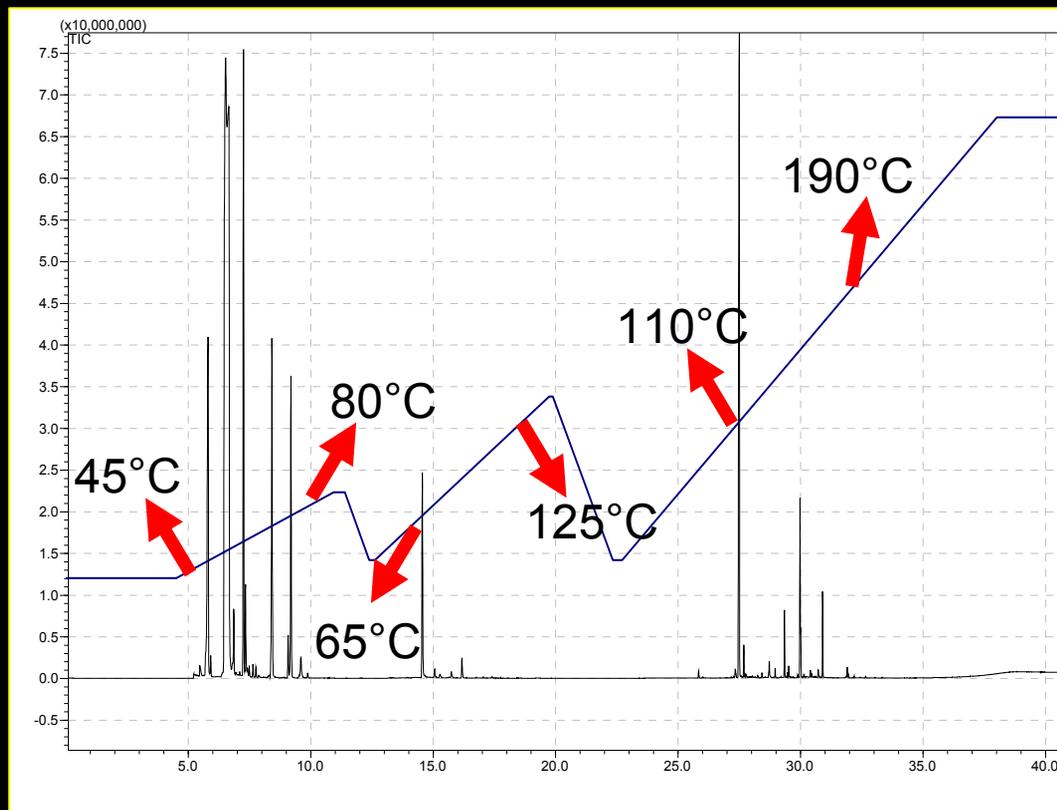


Mise en application GC Bidimensionnelle:

Identification d'arômes dans un extrait de spiritueux

2- Analyse avec la MDGCMS-2010 (colonne polaire/colonne apolaire)

- 1ère et 2ème dimensions: programmes de T°C différents = 3 prog. dans le 2ème GC
- Refocalisation et plus forte amplitude des rampes de T°C

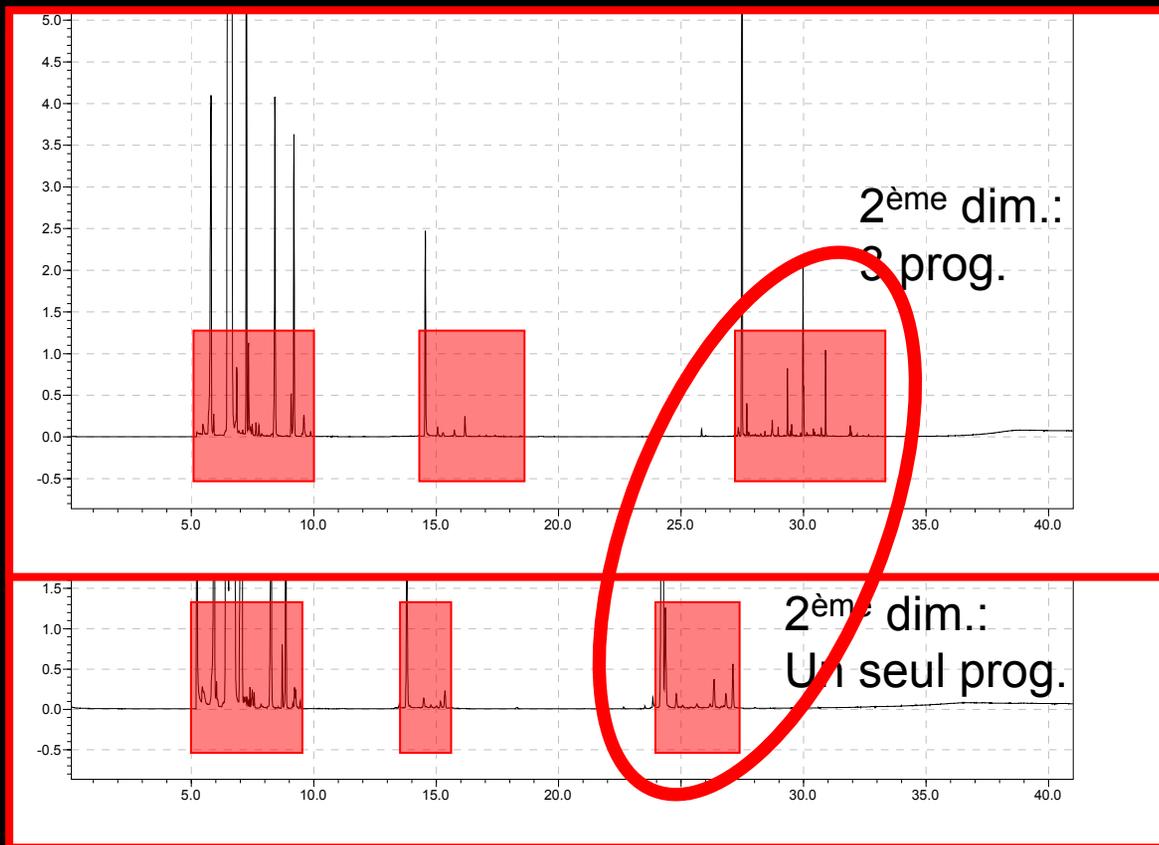


Mise en application GC Bidimensionnelle:

Identification d'arômes dans un extrait de spiritueux

2- Analyse avec la MDGCMS-2010 (colonne polaire/colonne apolaire)

⇒ L'utilisation de la 2^{ème} dimension est optimale

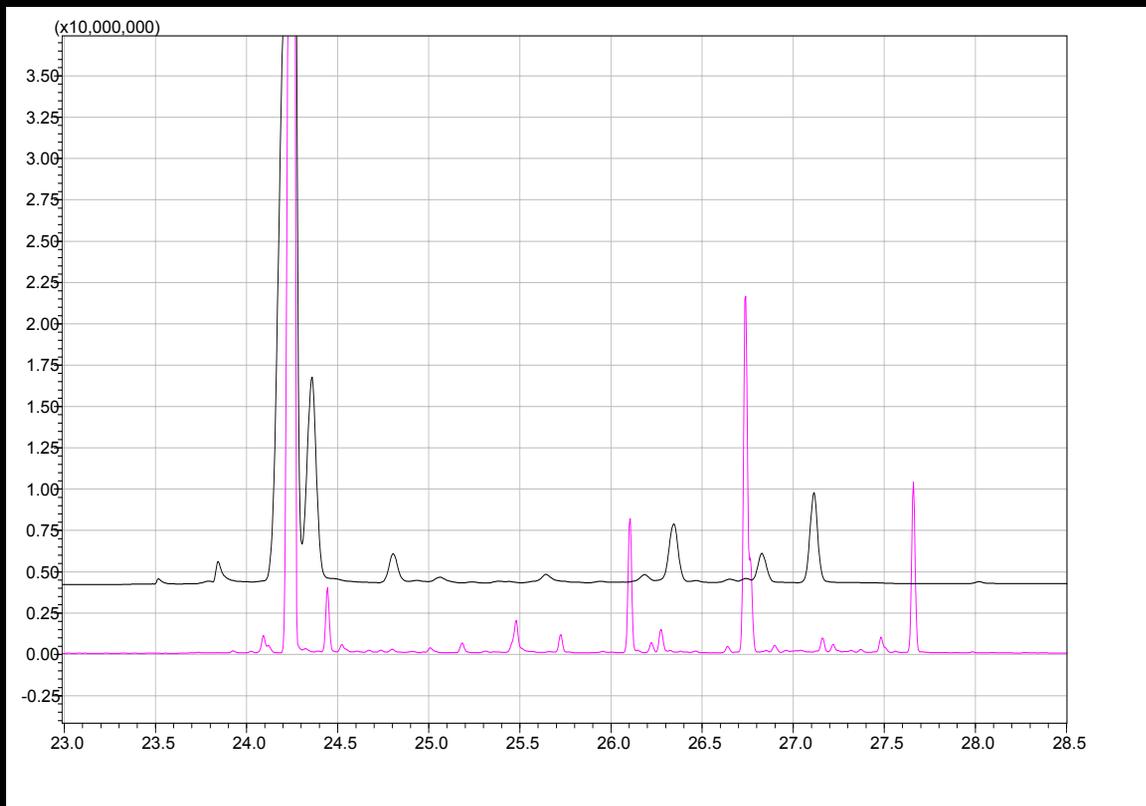


Mise en application GC Bidimensionnelle:

Identification d'arômes dans un extrait de spiritueux

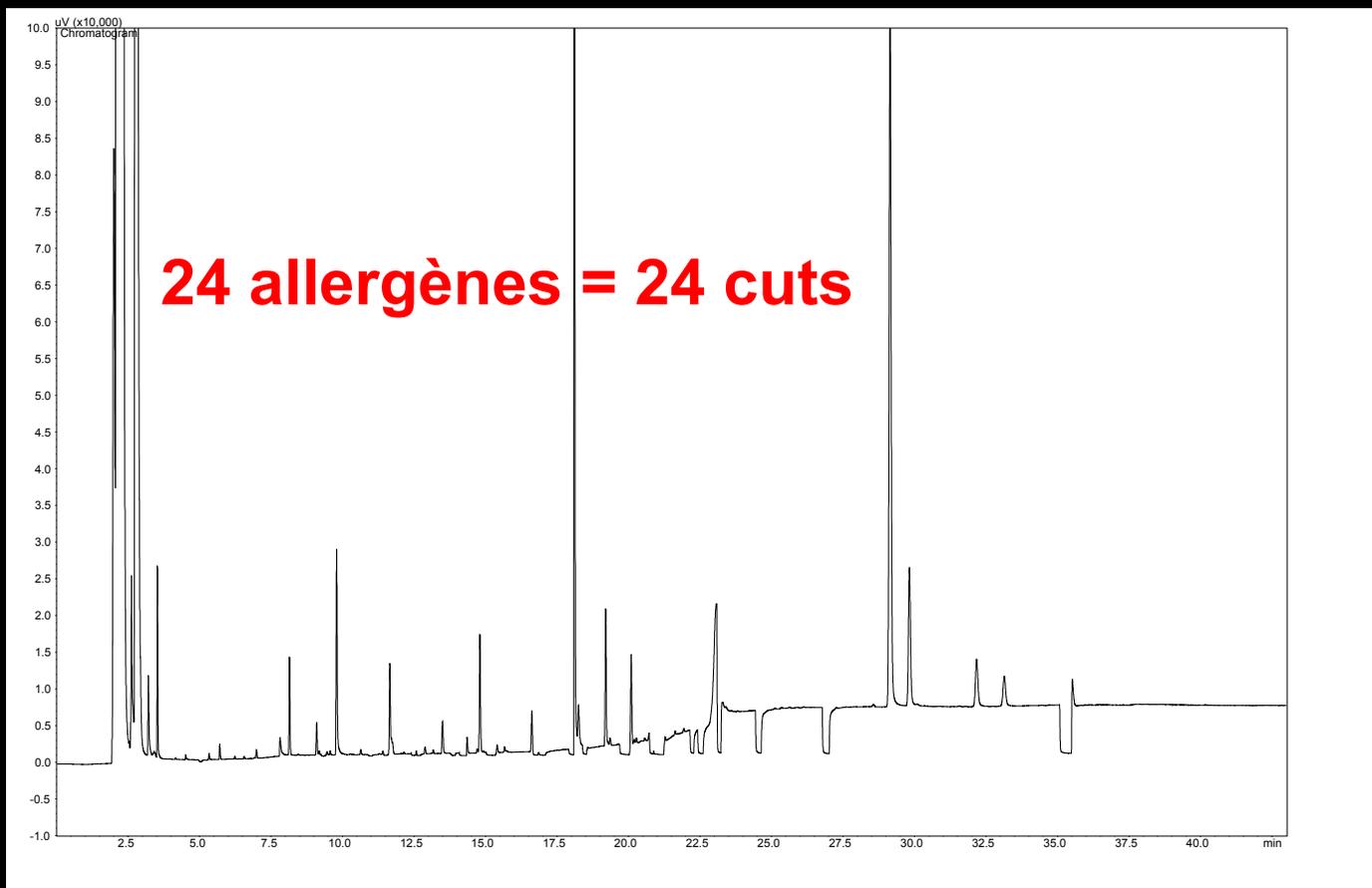
2- Analyse avec la MDGCMS-2010 (colonne polaire/colonne apolaire)

- Pics plus fins
- ⇒ Meilleure séparation, meilleure sensibilité
- ⇒ Possibilité de séparer plus de composés présents à l'état de traces ou ultratracés



Mise en application GC Bidimensionnelle:

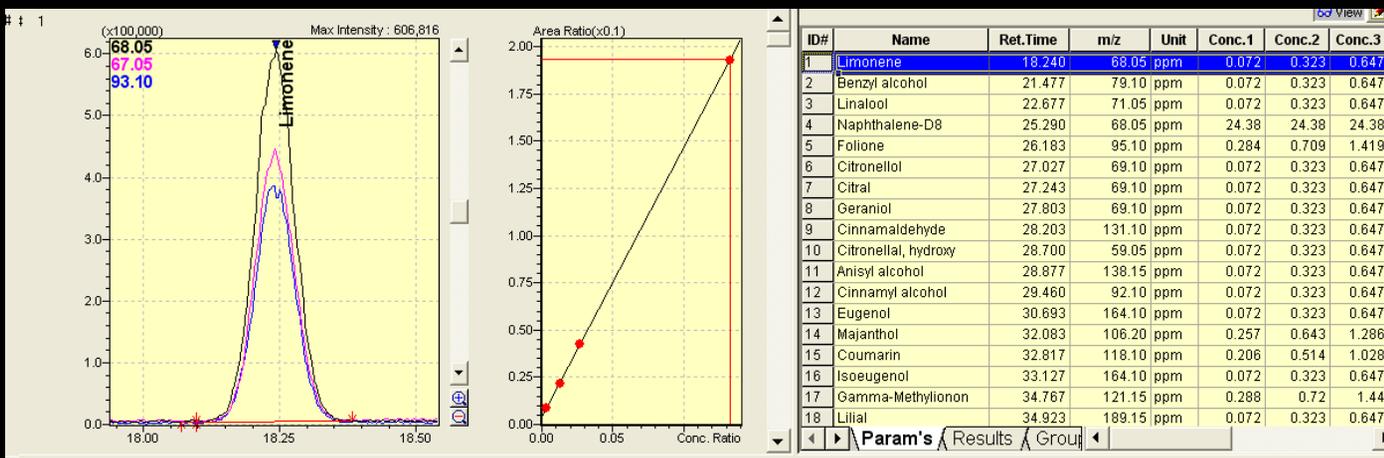
Quantification des allergènes dans une crème de beauté



Mise en application GC Bidimensionnelle:

Quantification des allergènes dans une crème de beauté

Courbe de calibration (2ème dim.)



Duplicats pour chaque niveau (0.072 – 6.4 ppm)

Mise en application GC Bidimensionnelle:

Quantification des allergènes dans une crème de beauté

ID	Allergens	Parfume	Concentration (ppm)	Extract	Concentration (ppm)
1	Limonene	x	1.236	x	0.005
2	Linalool	x	0.867	x	0.145
3	Benzyl alcohol	x	0.624	x	0.006
4	Folione				
5	Citronellol	x	1.321		
6	Citral	x	0.179		
7	Geraniol			x	0.084
8	Citronellal, hydroxy				
9	Cinnamaldehyde				
10	Anisyl alcohol			x	0.011
11	Cinnamyl alcohol	x	0.062	x	0.013
12	Eugenol	x			
13	Isoeugenol				
14	Coumarin	x	0.963		
15	Gamma-Methylionon	x	1.057		
16	Lilial				
17	Cinnamaldehyde <amyl->				
18	Lyril	x	0.026		
19	Cinnamyl alcohol <amyl->			x	0.024
20	Farnesol			x	0.017
21	Hexyl-Cinnamaldehyde				
22	Benzyl Benzoate	x	0.764		
23	Benzyl cinnamate	x	0.362		
24	Benzylsalicylate				

Tab. 1: List of allergens with determined concentrations

Mondello et al.,
LCGC Europe,
Mars 2008,
pages 130-137

Technique GC Bidimensionnelle: GC-GC



Avantages de la GC Bidimensionnelle:

La 2^{ème} dimension est constituée d'un système séparatif performant (colonne capillaire à haute résolution classique et four programmable en T°C)

⇒ Résolution optimale sur la 2^{ème} dimension

Inconvénients: La 2^{ème} dimension ne peut pas être utilisée sur la totalité du chromatogramme 1D

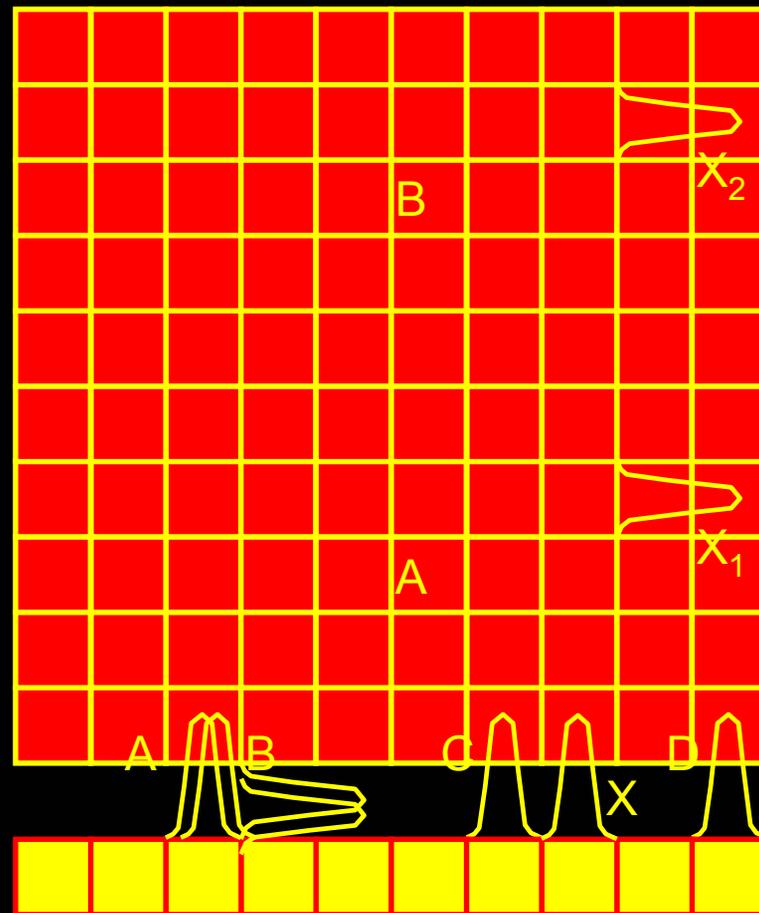
Technique GC Comprehensive: GCxGC

GC Bidimensionnelle:

Plusieurs portions du chromatogramme 1D sont transférées vers la 2^{ème} dimension

GC Comprehensive:

Tout le chromatogramme 1D est transféré vers la 2^{ème} dimension



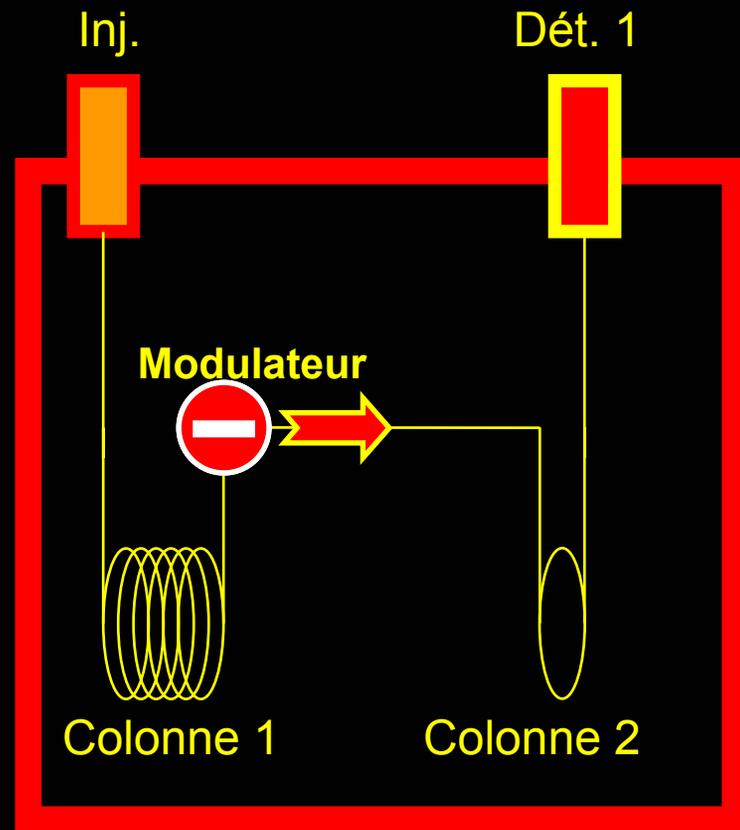
Technique GC Comprehensive: GCxGC

Cycle de Modulation:

- Focalisation des éluants en sortie de 1^{ère} Dimension
- Injection sur la 2^{ème} Dimension

Modulation de quelques secondes

⇒ Séparation ultra-rapide sur la 2^{ème} Dimension (colonne fast d'environ 1m)

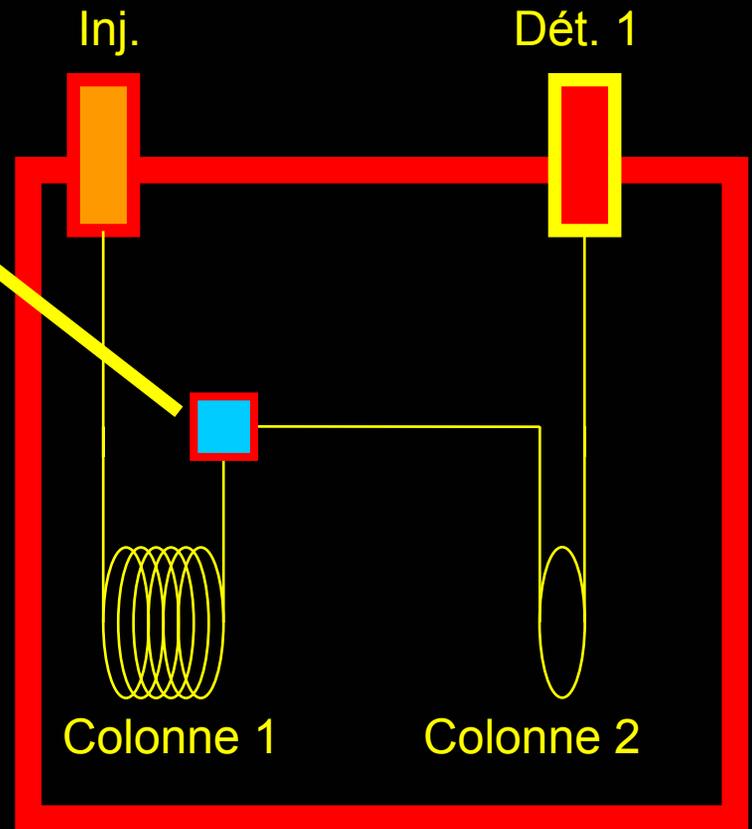


Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Modulateur

~~Système Multi Deans switch ?~~

→ Nécessité d'injection efficace car séparation ultra-rapide... donc nécessité de refocalisation dans le modulateur



⇒ **Modulateur à jets (chaud/froid)**

Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Modulateur à jets



Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Principe du modulateur à jets:



- ~~Modulateur à double jets de CO₂~~
 - lenteur du refroidissement au CO₂
 - double consommation de CO₂
- ~~Modulateur à double jets de N₂~~
 - refroidissement rapide
 - double consommation de N₂

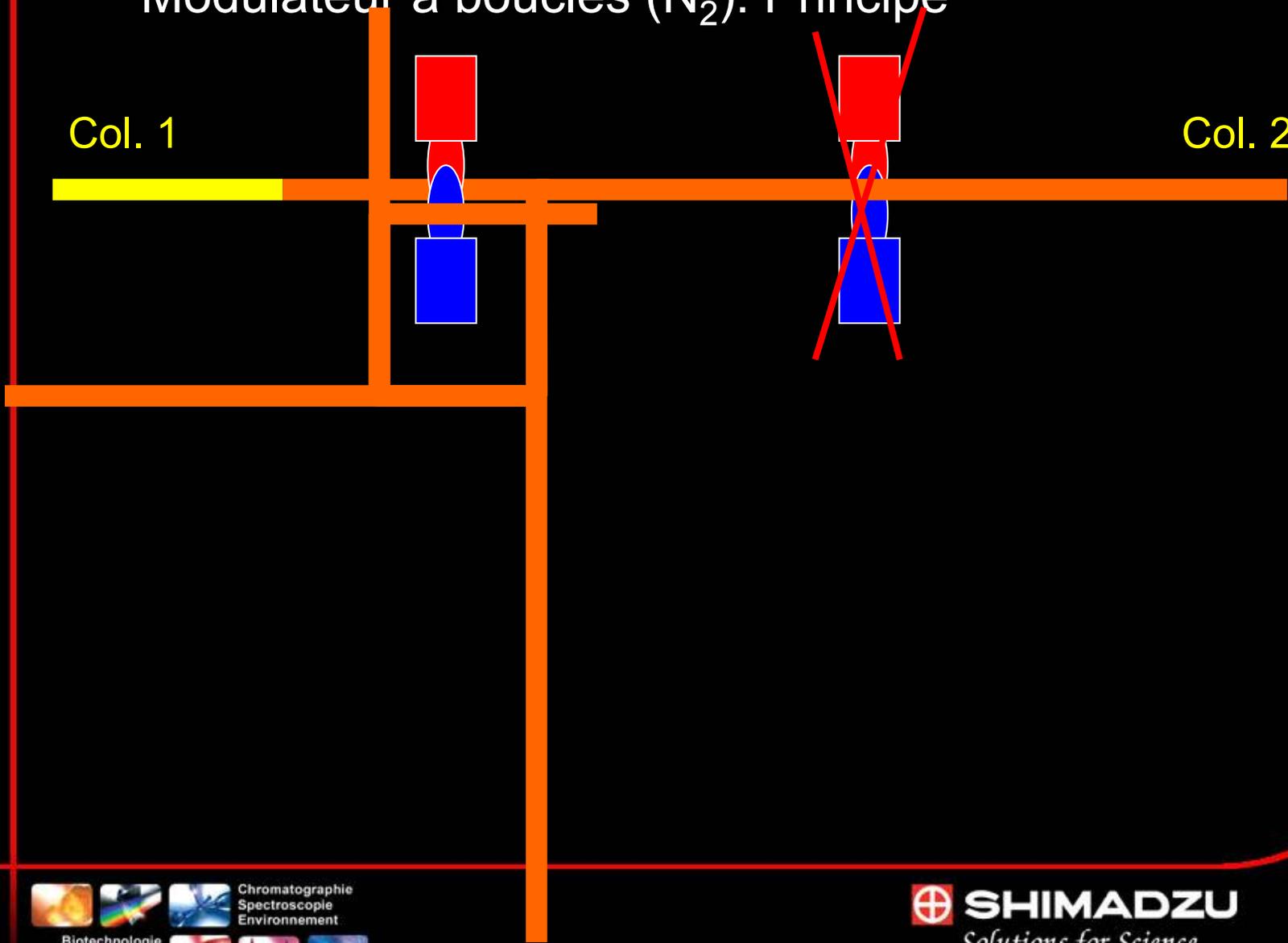
⇒ **Modulateur à boucles (N₂)**

Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Modulateur à boucles (N₂): Principe

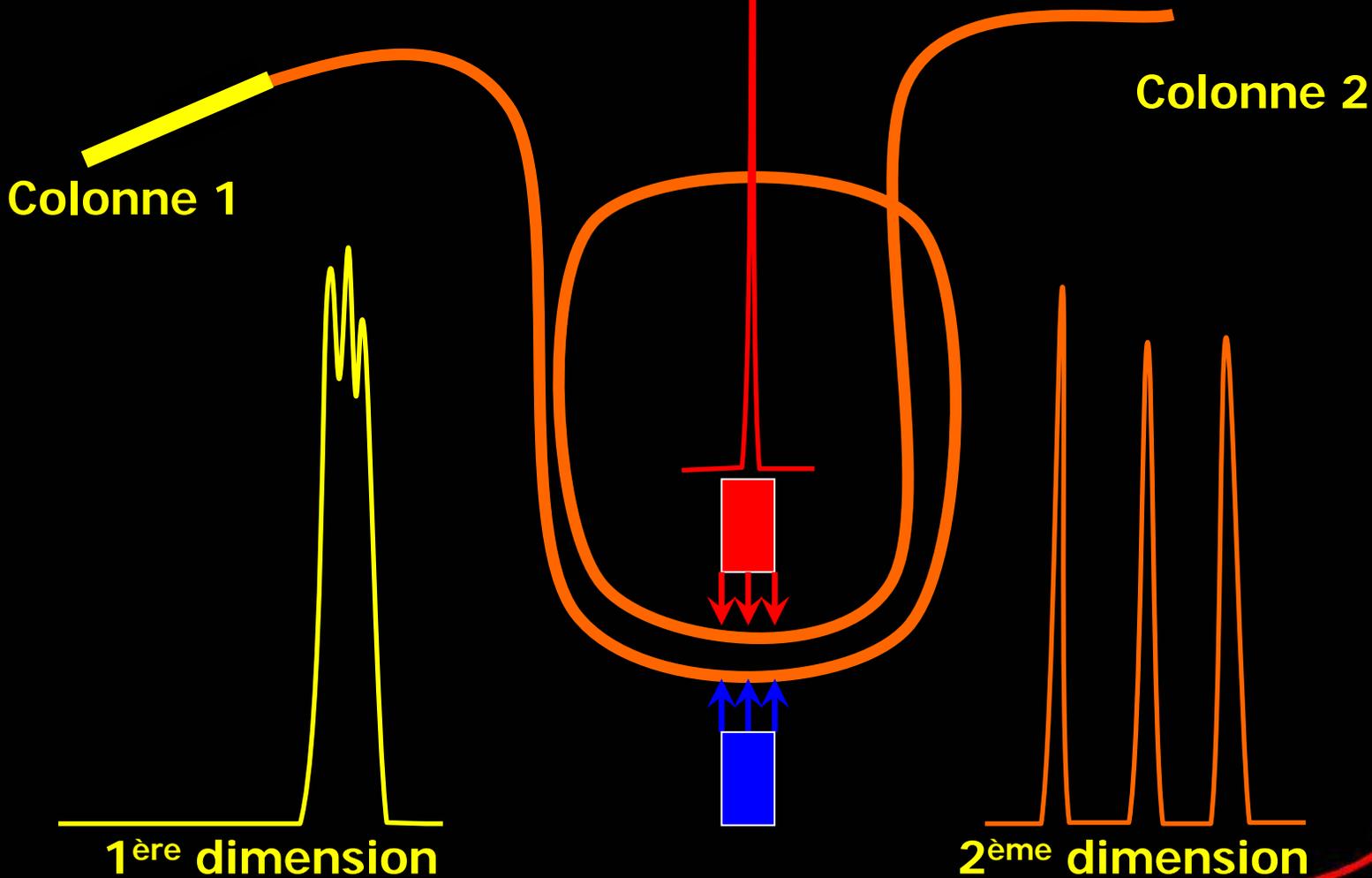
Col. 1

Col. 2



Matériels GC Comprehensive: GCxGC

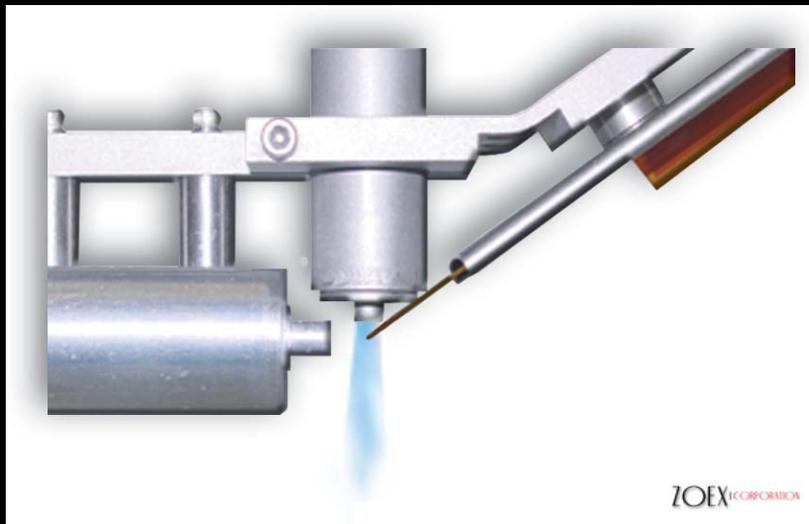
Modulateur à boucles (N₂): Principe



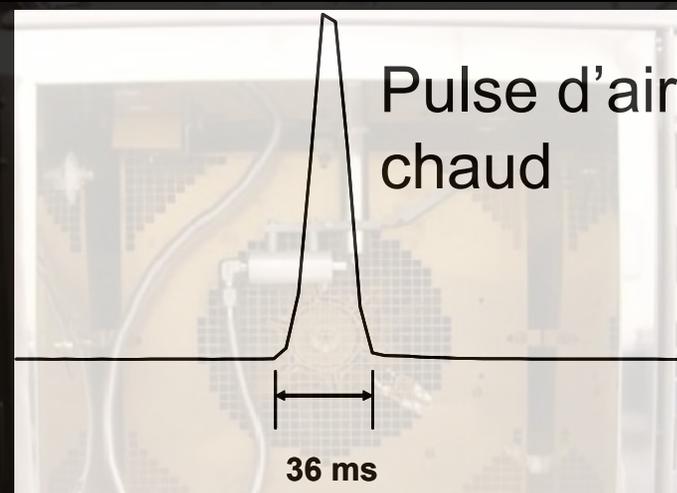
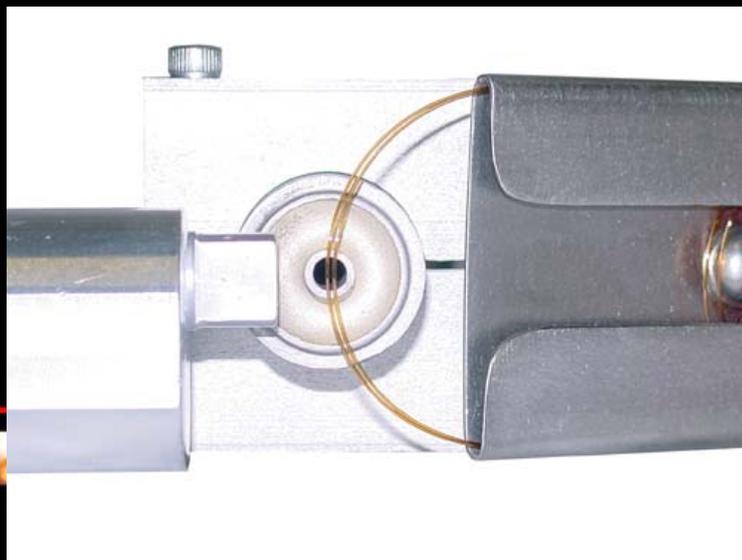
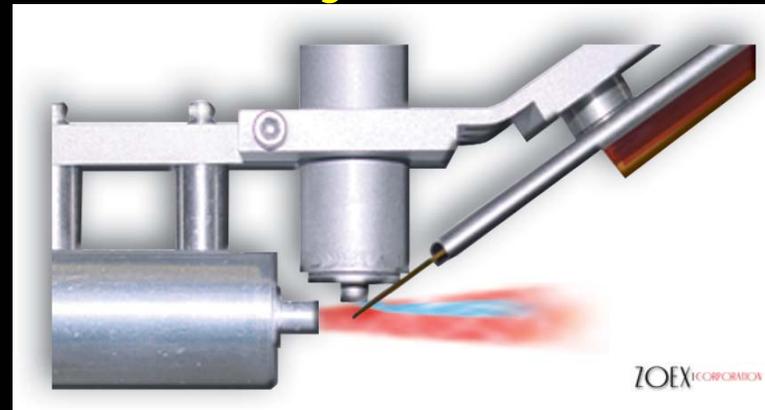
Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Modulateur à boucles (N_2): Matériel

Refocalisation



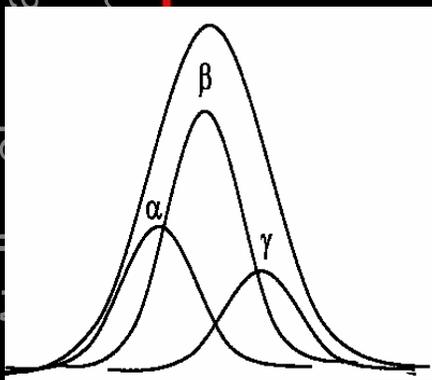
Injection



Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Modulateur à boucles (N₂): Modulation

Chromatographies Multidimensionnelles
Matériels: GC Comprehensive



loop

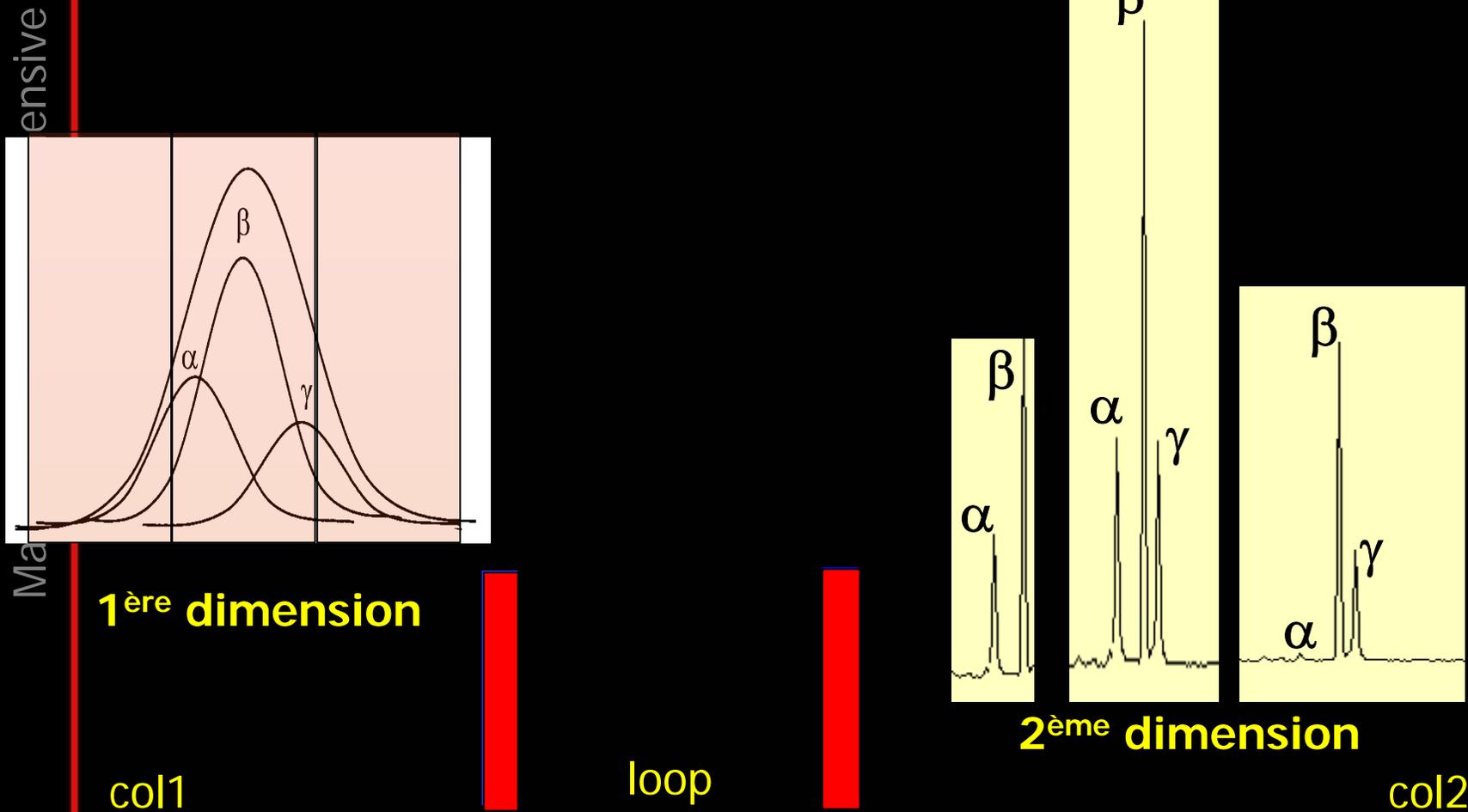


col2



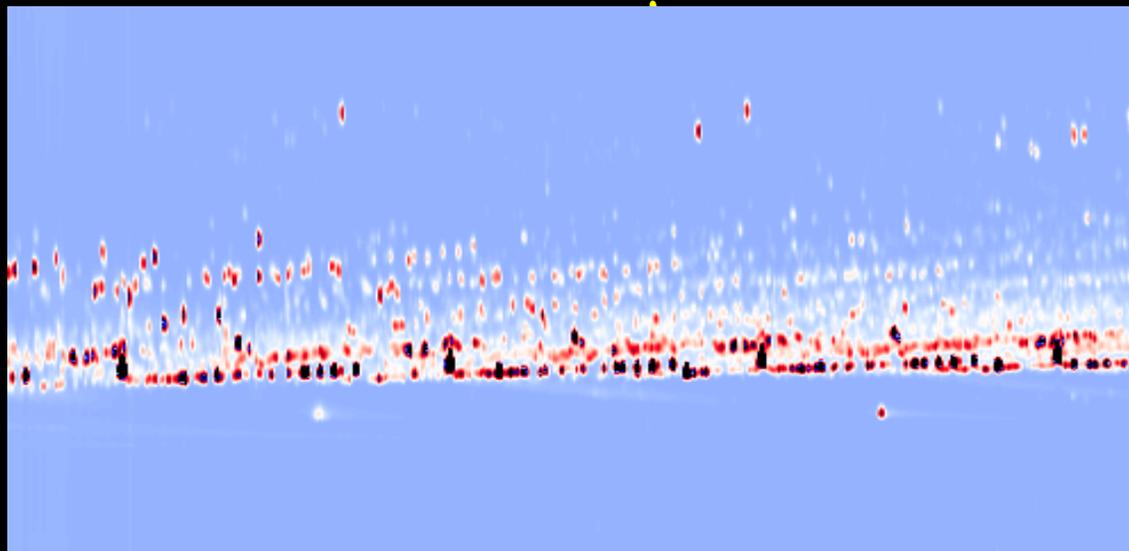
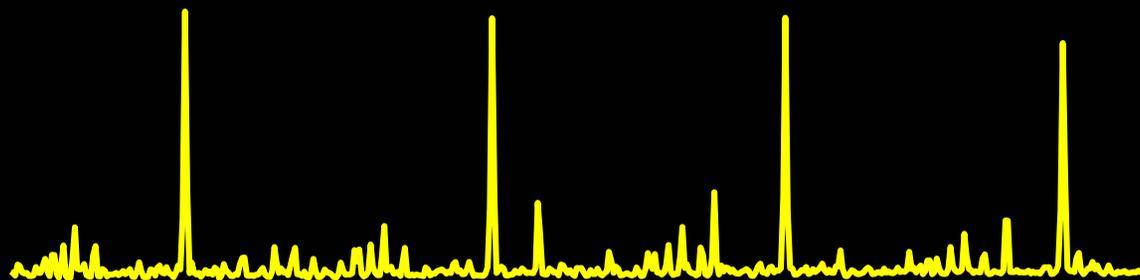
Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Modulateur à boucles (N₂): Modulation



Matériels GC Comprehensive: GCxGC

Modulateur à boucles (N₂): Déconvolution



Matériels GC Comprehensive: GCxGC

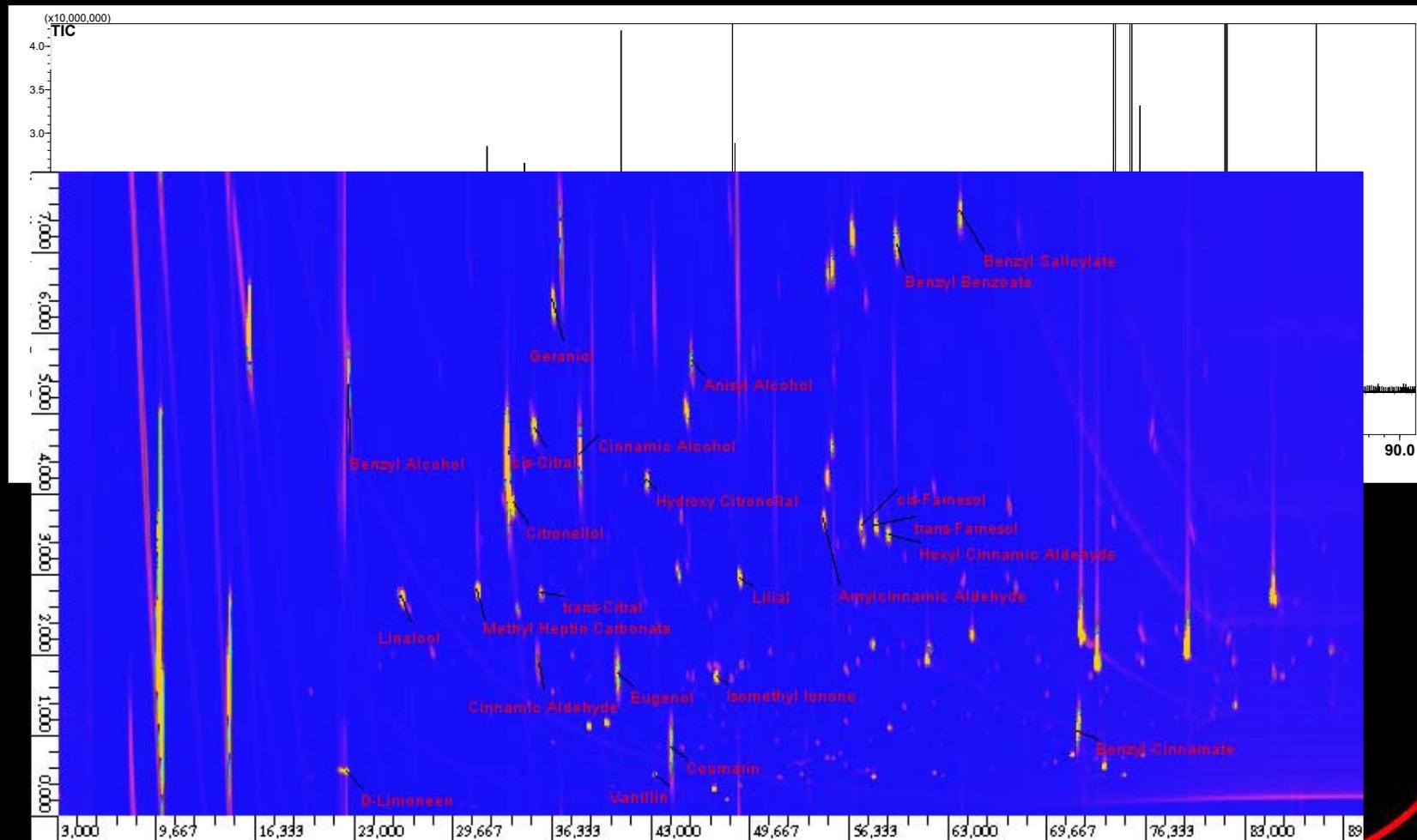
Spécifications nécessaires des GC et GCMS pour la GC Comprehensive:

- modulateur à boucles (N2)
- logiciel de traitement performant
- Détecteurs suffisamment rapides



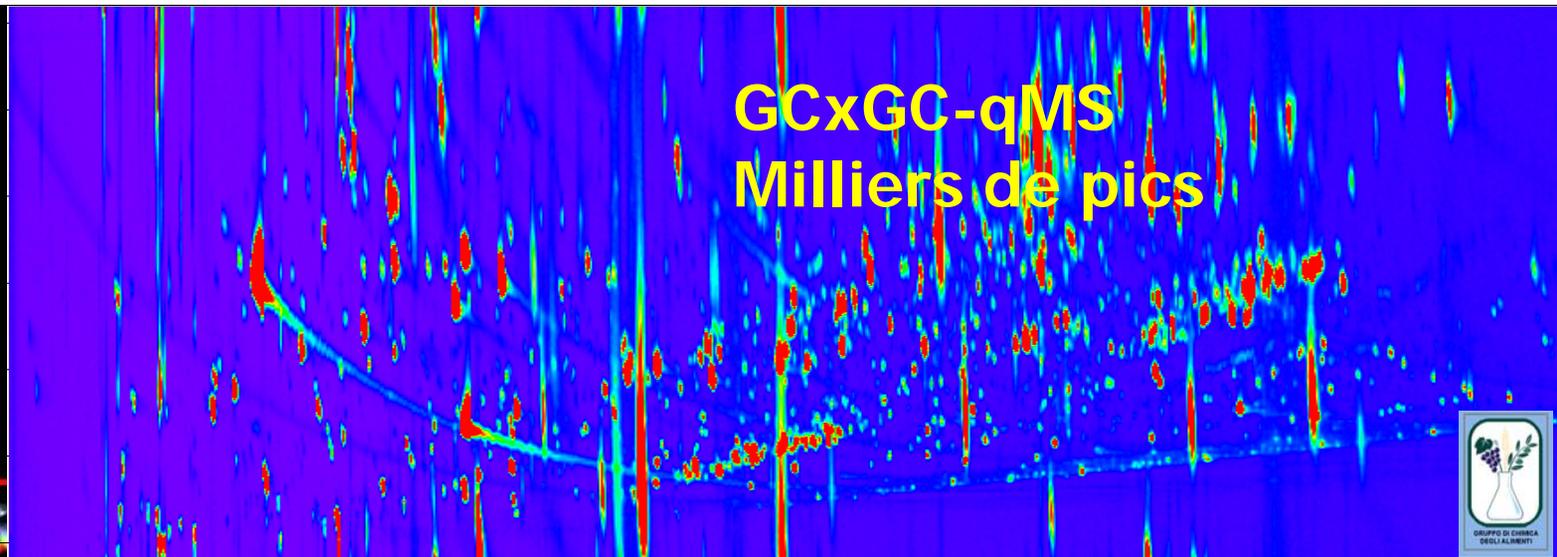
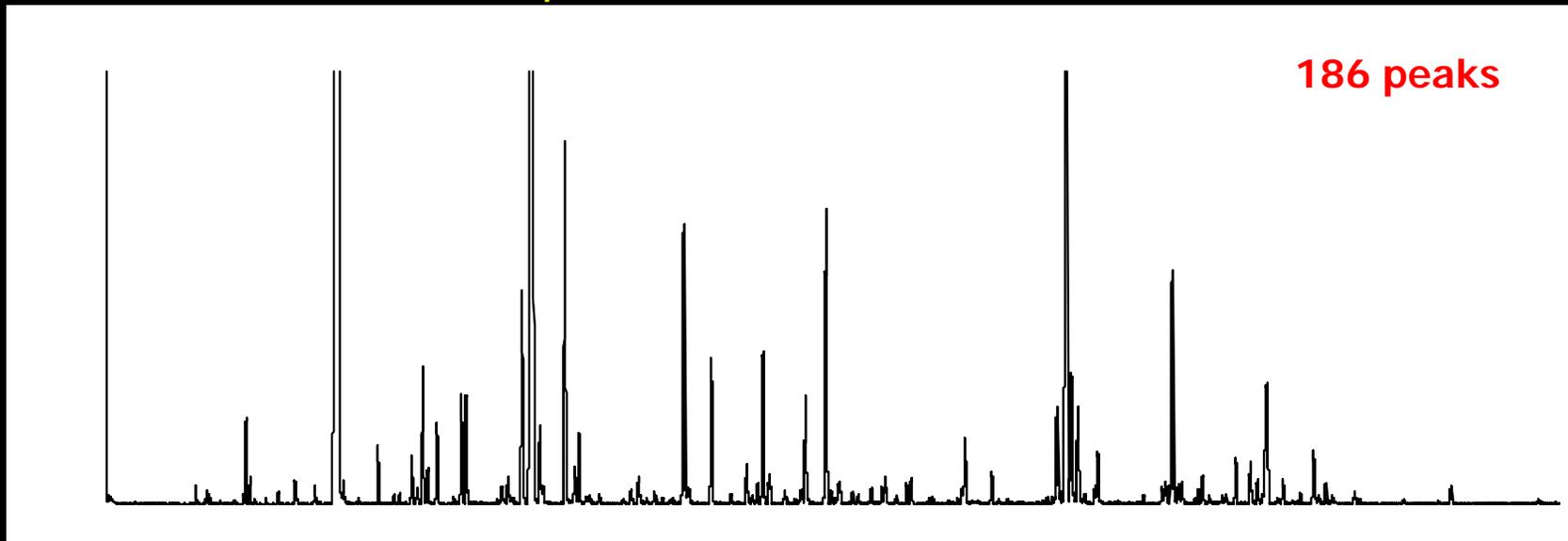
Mise en application GC Comprehensive:

1- Allergènes dans les crèmes



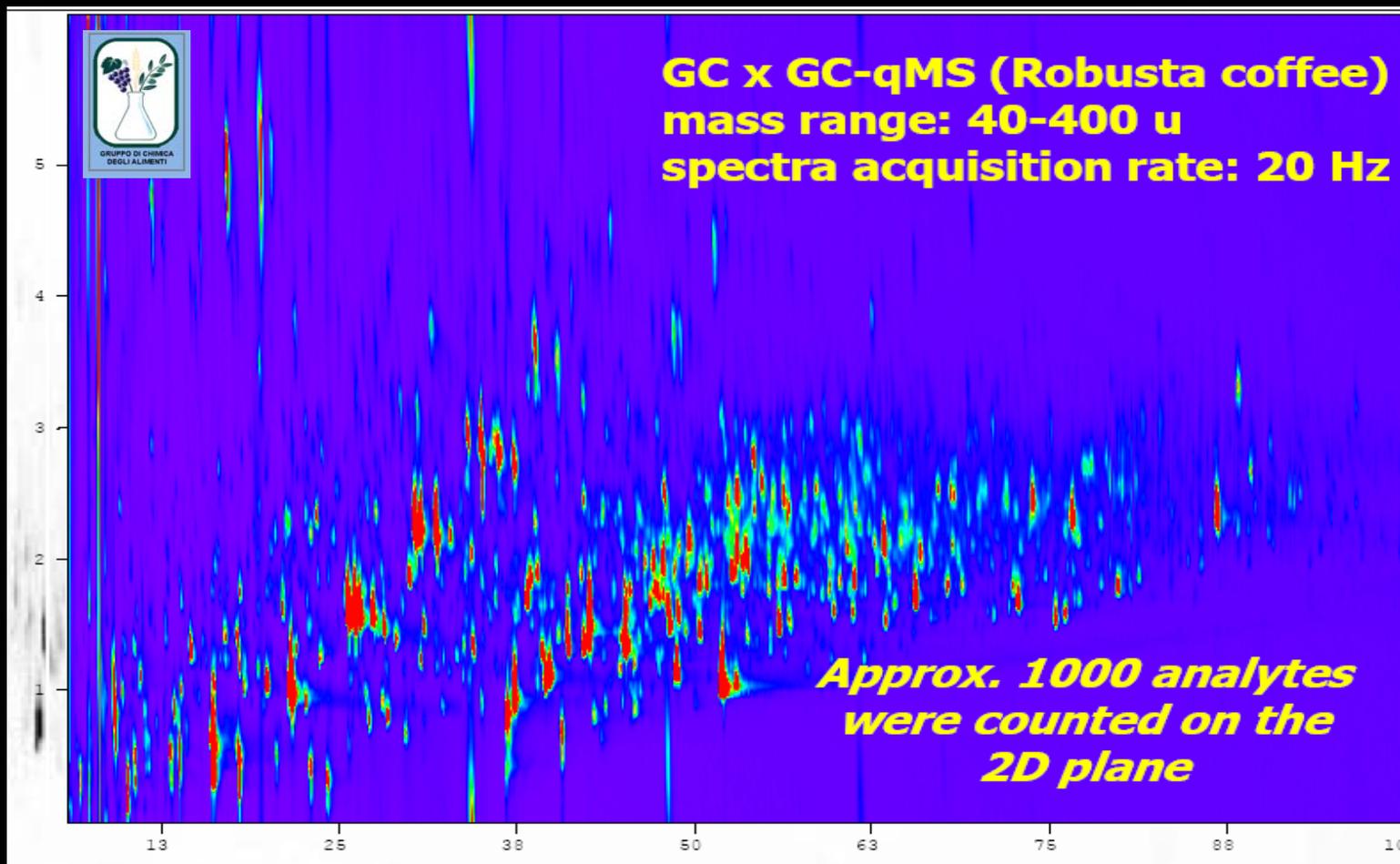
Mise en application GC Comprehensive:

2- Formulation de parfums



Mise en application GC Comprehensive:

3- Arômes du café



Mise en application GC Comprehensive:



Avantages de la GC Comprehensive:

La rapidité de la séparation sur la 2^{ème} colonne permet d'utiliser la seconde dimension sur la TOTALITE du chromatogramme 1D

⇒ Augmentation de l'information sur tout l'échantillon

Inconvénients: La 2^{ème} dimension est constituée d'un système séparatif très rapide mais très peu performant (colonne capillaire d'environ 1m)

GC Bidimensionnelle / GC Comprehensive:

GC Bidimensionnelle



Avantages:

⇒ Résolution optimale sur la 2^{ème} dimension

Inconvénients:

⇒ La 2^{ème} dimension ne peut pas être utilisée sur la totalité du chromatogramme 1D

GC Comprehensive



Avantages:

⇒ Augmentation de l'information sur TOUT l'échantillon

Inconvénients:

⇒ La 2^{ème} dimension est constituée d'un système séparatif très rapide mais très peu performant

2 techniques complémentaires

Questions ?

Jacques Pruvost – Shimadzu France – jp@shimadzu.fr

