

Le septum oublié



Comment identifier le « bleeding » de septum

Le « bleeding » de septum n'est pas un phénomène courant. Il se manifeste par une série de pics fins à température élevée. Des pics de « bleeding » peuvent provenir du septum de l'injecteur mais aussi du septum du flacon contenant l'échantillon. Ces pics pouvant interférer avec ceux des composés-cibles et ainsi fausser l'analyse, il est indispensable d'en identifier la provenance afin d'éliminer ou de réduire le « bleeding ».

Identification de la source de « bleeding »

Le « bleeding » des septa de l'injecteur et du flacon se traduit par le même tracé chromatographique (Figure 1) mais un simple test permet d'identifier le septum en cause. Il suffit d'effectuer une analyse à blanc en déclenchant le programme à température et d'acquisition sans faire aucune injection. La disparition des pics parasites indique que le septum du flacon est la source du « bleeding ». Il est alors inutile d'entreprendre toute intervention au niveau de l'injecteur (remplacement du septum ou de l'insert, nettoyage, ...). Le septum du flacon étant la cause du « bleeding », le problème peut être résolu en suivant les conseils ci-dessous.

Vérification de la compatibilité entre le solvant et le septum du flacon

La plupart du temps, le niveau de « bleeding » du septum est négligeable. Cependant, lorsque le solvant et le septum du flacon sont incompatibles, ce niveau peut devenir très élevé. La Figure 2 compare les chromatogrammes provenant des première et cinquième injections d'amphétamines dérivatisées à partir d'un même flacon. Avec la cinquième injection, les pics imputables au « bleeding » du septa sont presque aussi grands que ceux des analytes et peuvent créer des interférences susceptibles de fausser l'analyse. L'intensité de ces pics de septum est due au fait que les vapeurs du solvant extraient les contaminants du septum ponctionné dont le matériau n'est pas compatible avec ce même solvant. Il convient donc de choisir attentivement les septa de flacon en fonction de leur comptabilité avec le solvant utilisé.

Utilisation de septa avec film en PTFE

La plupart des septa de flacon sont revêtus d'une membrane protectrice en PTFE (polytétrafluoroéthylène) pour prévenir le contact direct entre la gomme du septum et le solvant présent dans le flacon. Comme le montre la Figure 3, le PTFE (Téflon) protège efficacement le septum et prévient toute « extraction » de composés volatils responsables du « bleeding » du septum. En comparaison, un septum sans revêtement Téflon, produit un « bleeding » après une exposition au solvant de seulement 24 heures à température ambiante. Le niveau de « bleeding » produit par des septa non revêtus de PTFE varie selon le type de matériau. Cependant même un faible « bleeding » de septum peut fausser une analyse chromatographique notamment lorsqu'il s'agit d'analyses de traces (Figure 4).

Figure 1 Des pics fins et répétitifs sont symptomatiques d'un « bleeding » du septum d'injection ou du flacon.

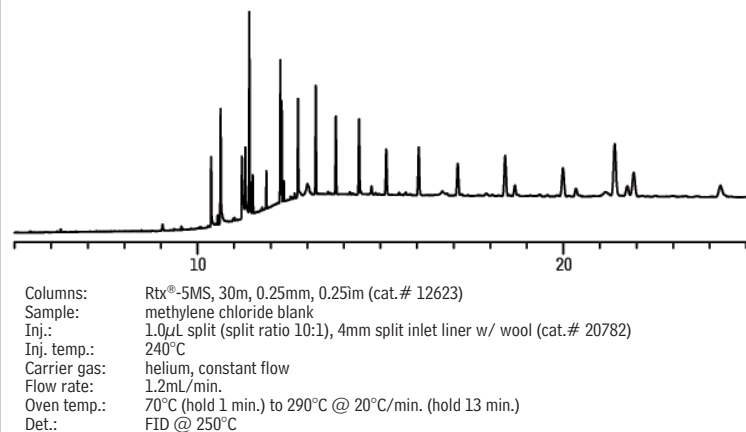


Figure 2 Les pics provenant d'une contamination apportée par le septum peuvent interférer avec ceux des composés-cibles.

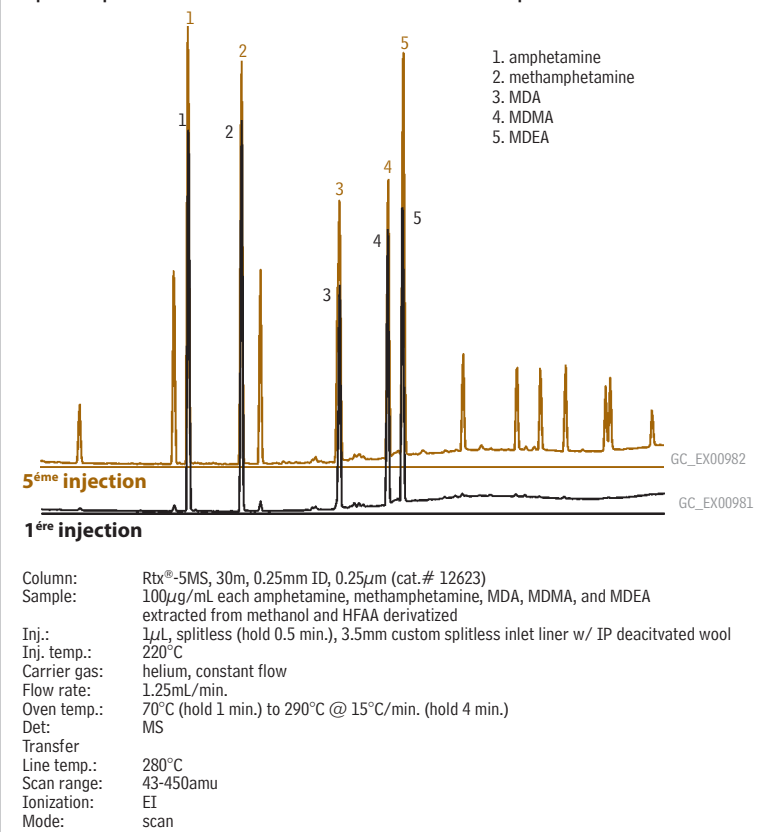
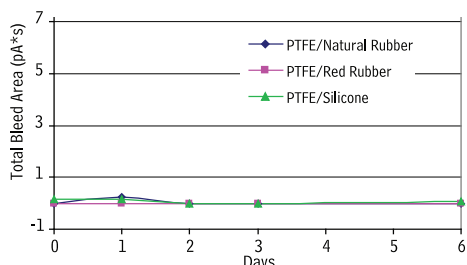
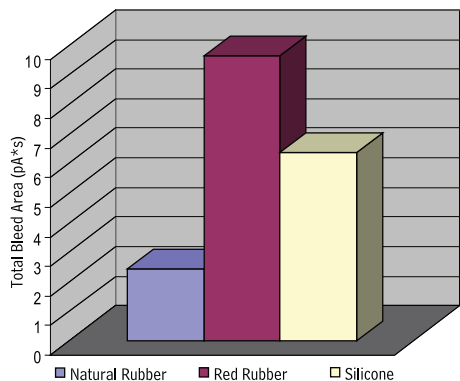


Figure 3 Un revêtement Téflon évite le contact du solvant* avec la gomme du septum.



* Chlorure de méthylène à température ambiante.

Figure 4 Mauvaise tenue des septa sans revêtement PTFE.



Des flacons contenant du chlorure de méthylène sont bouchés en exposant la face non-revêtue de PTFE côté solvant et laissés à température ambiante.

Figure 5 Le niveau de contamination due au « bleeding » est fonction du nombre de ponctions.

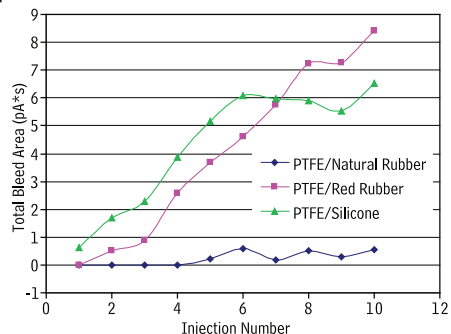
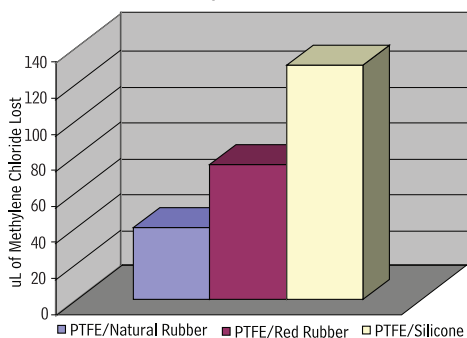


Figure 6 Perte par évaporation en fonction du matériau du septum.



Des flacons contenant 300µl de chlorure de méthylène sont ponctionnés et laissés à température ambiante pendant 24 heures.

Vérification de la tenue à la ponction

Le fait de ponctionner plusieurs fois un même septum de flacon peut conduire à le percer définitivement (sans qu'il puisse se refermer). Ce phénomène est propice au « bleeding » du septum. La résistance au « perçage définitif » est fonction du matériau du septum (Figure 5). Dans la mesure du possible, il convient de ne ponctionner un septum qu'une seule fois en préparant par exemple plusieurs flacons à partir d'un même échantillon si plusieurs injections sont nécessaires. L'aptitude d'un septum à bien se refermer après une ponction, conditionne également le taux de perte d'échantillon par évaporation. Cette perte est une source d'erreur non négligeable dans le calcul des résultats quantitatifs. Ainsi un analyte peu volatil en solution dans un solvant plus volatil, peut apparaître plus concentré du fait de la perte par évaporation du solvant (Figure 6). Idéalement il convient de changer le septum (ou l'ensemble bouchon ou capsule/septum) après chaque ponction ou lorsque le flacon doit être conservé après une première ponction.

Conclusions

Le « bleeding » de septum n'est pas un phénomène très courant. Cependant lorsque celui-ci se produit, le septum de l'injecteur est souvent mis en cause et le septum du flacon est généralement « oublié ». Il est important de pouvoir identifier la source du « bleeding » afin d'éviter de se lancer dans un inutile et coûteux entretien de l'injecteur. Il est également essentiel de réduire voire supprimer tous les pics provenant d'un « bleeding » de septum qui peuvent interférer avec les pics des composés-cibles notamment s'ils sont au niveau de traces.

Flacons avec capsules à sertir Snap Seal™ (12 x 32 mm, sertissage 11 mm)

Description	Lot de 100	Lot de 1000
Flacons de 2 ml en verre transparent avec zone de marquage graduée	24383	24384
Flacons de 2 ml en verre ambré avec zone de marquage graduée	24385	24386
Flacons de 2 ml en verre transparent sans zone de marquage	21152	21153

Capsules à sertir de 11 mm en aluminium avec septa

Description	Lot de 100	Lot de 1000
Capsules argent, septa en PTFE/caoutchouc naturel	21174	21175
Capsules rouges, septa en PTFE/caoutchouc rouge	24355	24356
Capsules argent, septa en PTFE/silicone	24359	24360

Inserts limiteurs de volume pour flacons de 2 ml avec capsules à sertir et flacons de 2 ml avec bouchons à visser courts

Description	Lot de 100	Lot de 1000
Inserts de 350 µl en verre à fond plat et bague interne	24692	24693

Colonnes Rtx®-5 (silice fondue)

(Crossbond® 5% diphenyle/95% diméthyle polysiloxane)

DI	ef (µm)	Temp. limites	longueur	Réf.
0.25mm	0.25	-60 et 330/350°C	30 mètres	12623

Inserts d'injection « split » pour GC Agilent

DI*/DE et longueur (mm)	Qté	Réf.
4 mm « Split » avec laine de quartz		
4.0 DI x 6.3 DE x 78.5	L'unité	20781
4.0 DI x 6.3 DE x 78.5	Lot 5	20782
4.0 DI x 6.3 DE x 78.5	Lot 25	20783

*DI nominal au niveau de la pointe de l'aiguille de la seringue.

