



Couplage par flux-force asymétrique (AF4)

Caractéristiques techniques

Système AF4 : Postnova AF2000 MultiFlow FFF

Nombre de nébuliseurs : 2

Nombre de pompes : 3 (contrôlant le flux principal, le flux de focus et le flux transversal)

Type de membrane : Cellulose régénérée / Polyether Sulfone / Autres membranes possibles en fonction des composés à séparer

Cut-off membrane : 10 kDa

Support membrane (frit) : Fritte céramique

Épaisseur du spacer de canal : 190 / 250 / 350 / 500 µm

Détecteur UV-Vis : 200 à 800 nm

Détecteur MALS : 20 angles (de 12 à 145°)

Auto-échantillonneur : PN5300 Auto Injector

Volume d'injection : 10 à 200 µL

Présentation de la technique

Le **couplage par flux-force asymétrique** ou **Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation (AF4)** est une technique de **séparation sans phase stationnaire**, idéale pour analyser des **macromolécules, des nanoparticules et des agrégats colloïdaux**. Elle repose sur l'application d'un flux transversal perpendiculaire au flux principal dans un canal plat, provoquant la migration des particules selon leur taille et leur diffusion brownienne. Cette méthode douce permet **d'éviter les interactions indésirables avec des phases stationnaires**, offrant ainsi **une alternative précieuse à la chromatographie d'exclusion stérique (SEC)** pour les échantillons sensibles ou hétérogènes.

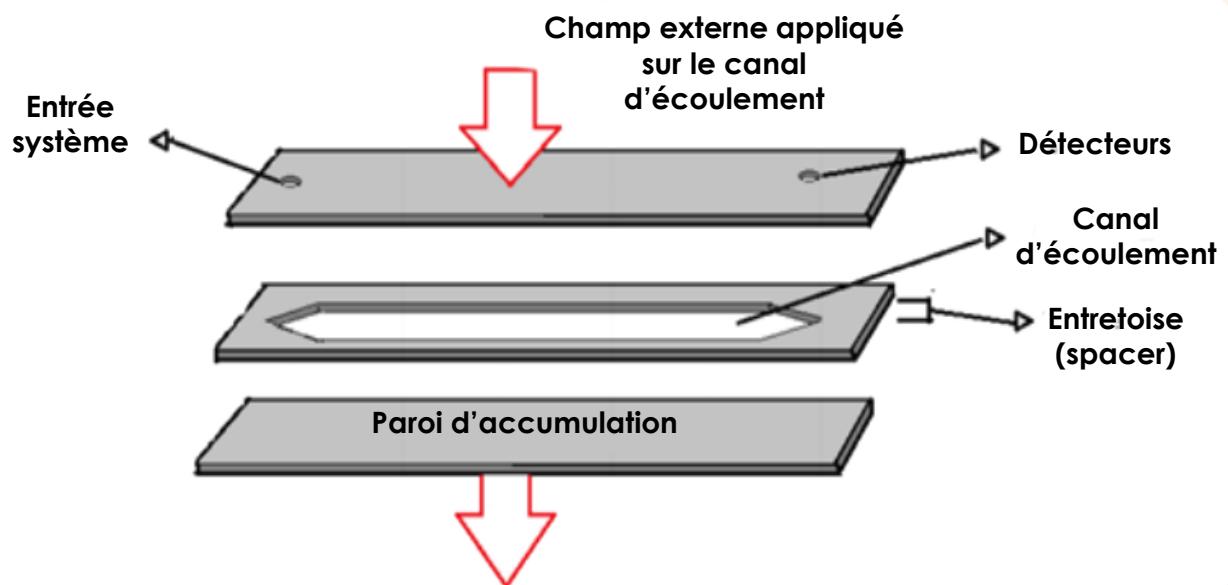
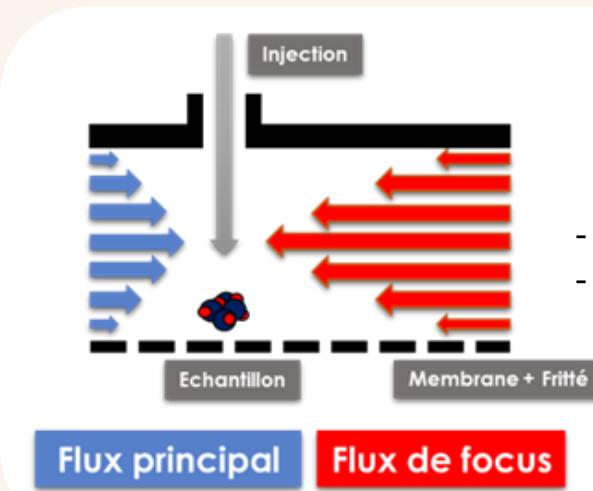


Schéma du canal asymétrique d'un système AF4

Le système AF4 comprend un **canal asymétrique** avec une **membrane semi-perméable** et une **paroi supérieure imperméable**. Le **flux transversal pousse les particules vers la membrane**, tandis que leur **mouvement brownien** les ramène vers le **centre du canal**. Les particules plus petites, ayant une diffusion plus rapide, atteignent des zones de flux plus rapides et sont éluées plus tôt que les plus grandes. Les paramètres tels que le débit du flux transversal, la composition de l'éluant, la nature de la membrane et la taille de l'entretoise (spacer) doivent être soigneusement optimisés pour garantir une séparation efficace et reproductible. Cette séparation douce est particulièrement utile pour les échantillons sensibles, comme les protéines ou les nanoparticules biologiques. Des études ont montré que **l'AF4 est efficace pour séparer des polymères de masse molaire élevée et des agrégats protéiques**, offrant une résolution supérieure à celle de la SEC dans certains cas.

Fonctionnement de la technique

Injection-Focus



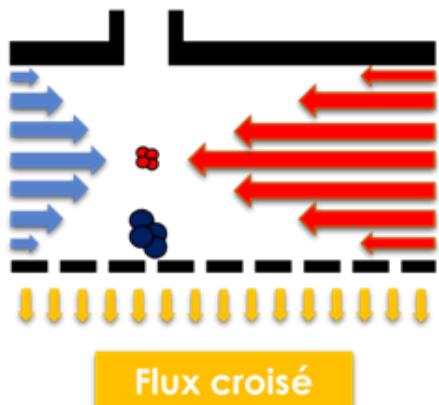
Etape 1: Injection-Focus

- l'échantillon est **injecté** et **accumulé** à une ligne de focus créée par **l'opposition du flux principal et du flux de focus** (débits laminaires égaux).

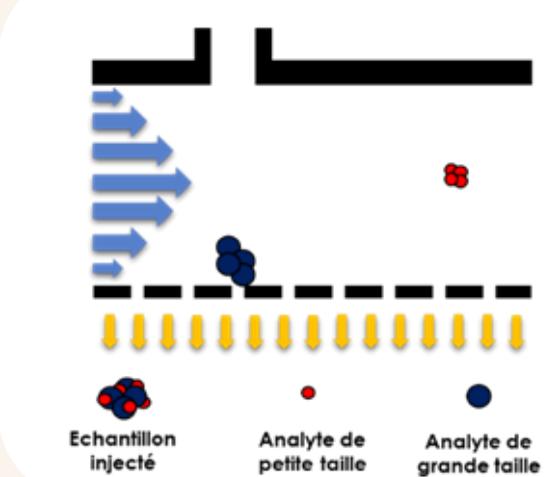
Focus-Relaxation

Étape 2: Focus-Relaxation

- un **champ perpendiculaire** (**flux croisé**) est appliqué au système
- induit un **phénomène de diffusion** où les particules les plus petites peuvent **diffuser plus facilement contre le flux croisé**



Elution



Étape 3: Élution

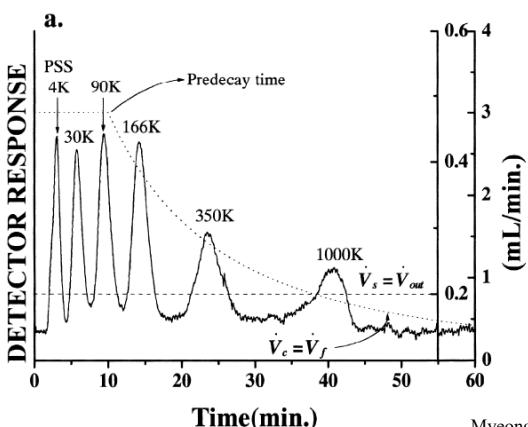
- le flux de focus est **arrêté**
- la nature laminaire du flux principal induit **une élution plus rapide de la particule située au milieu du canal.**



Applications potentielles

L'AF4 est utilisée dans divers domaines dont notamment l'**analyse environnementale**. Elle permet de caractériser des **exosomes**, des **virus**, des **protéines** mais aussi des **polymères synthétiques**. L'absence de phase stationnaire et la large gamme de flux applicable offre à l'AF4 une grande résolution de séparation couvrant une gamme allant des **quelques nanomètres à plusieurs micromètres**.

Echantillons synthétiques

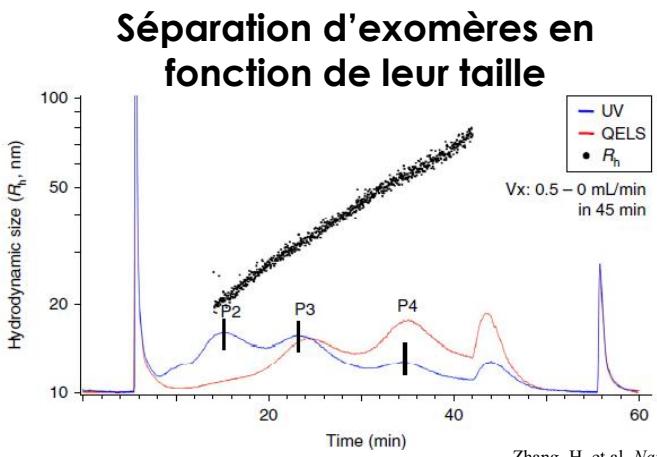


Séparation et mesure de masses molaires de polymères synthétiques

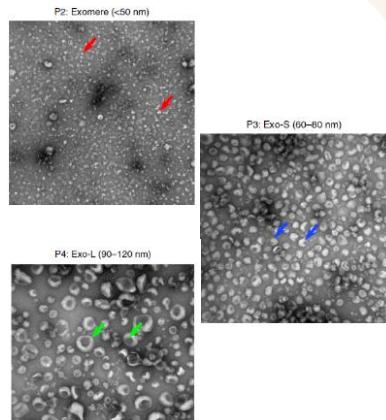
Polystyrène Sulfonate (PSS) à différentes masses molaires (de 4000 à 1 000 000 de g·mol⁻¹)

Myeong Hee M. et al. *Journal of Chromatography A.*, 955 (2002) 263–272

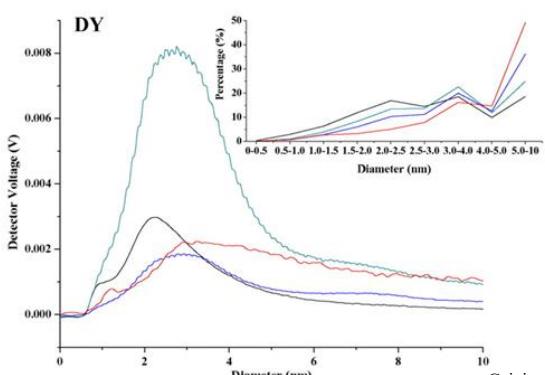
Echantillons naturels



Zhang, H. et al. *Nat. Cell Biol.* 2018, 20, 332–343



Echantillons environnementaux



Séparation de colloïdes aquatiques naturels

Caractérisation des colloïdes aquatiques : propriétés optiques, taille, impact humain.

Caixia, Y. et al. *Science of the Total Environment*. 554–555 (2016) 228–236