

Les deux parties A et B sont indépendantes

Partie A

Enoncé

Deux acides HA_1 et HA_2 ont été séparés par chromatographie d'échange d'ions sur une colonne dont la longueur est égale à 15 cm.

Pour chacun des composés, les temps de rétention t_R et les largeurs des pics ω , extrapolés par les tangentes aux points d'inflexion, sont les suivants :

$$t_R HA_1 = 11 \text{ min} \quad \omega_1 = 0,8 \text{ min}$$

$$t_R HA_2 = 12 \text{ min} \quad \omega_2 = 0,9 \text{ min.}$$

Questions

QUESTION N° 1 :

Quel est le composé le plus retenu ? Justifier votre réponse.

Proposition de réponse

HA_2 est le composé le plus retenu car c'est celui pour lequel le temps de rétention est le plus grand.

QUESTION N° 2 :

Quel est le composé qui a le plus grand coefficient de distribution ? Justifier votre réponse.

Proposition de réponse

HA_2 est le composé qui a le plus grand coefficient de distribution car il est le plus retenu.

QUESTION N° 3 :

Calculer le nombre de plateaux théoriques (N) de la colonne et la hauteur équivalent en plateaux théoriques (HEPT) en mm pour le composé le plus retenu. Préciser l'hypothèse faite.

Proposition de réponse

Hypothèse : le pic est supposé gaussien.

Pour le composé le plus retenu HA_2

$$N = 16 \times (12 / 0,9)^2 = 2844$$

$$HEPT = 150 / 2844 = 0,053 \text{ mm}$$

QUESTION N° 4 :

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N°2 (40 points)**

HA_1 et HA_2 sont-ils bien séparés ? Préciser les hypothèses faites. Justifier votre réponse.

Proposition de réponse

Hypothèses : Les pics sont supposés "gaussiens" et d'égale importance.

Calcul de la résolution entre 2 pics gaussiens :

$$R = 2 [(12-11) / (0,9 + 0,8)] = 1,18$$

Conclusion :

Les deux composés sont mal séparés car $R \leq 1,5$.

Les deux parties A et B sont indépendantes

Partie B

Enoncé

On dose l'acide salicylique (métabolite de l'acide acétylsalicylique) par chromatographie en phase liquide dans un plasma de patient ayant ingéré de l'aspirine.

A 1 mL de plasma, est ajouté 1 mL d'une solution d'acide parahydroxybenzoïque (étalon interne) à 100 mg.L⁻¹

On extrait deux fois par 10 mL de dichlorométhane en milieu acide.

On concentre à 1 mL les deux extraits réunis et on injecte 100 µL dans le chromatographe.

On obtient sur l'enregistrement :

- pic de l'acide salicylique : 32 300 unités arbitraires (UA)
- pic de l'étalon interne : 7 000 UA

L'injection sans extraction de 100 µL des solutions d'acide salicylique à 1000 mg.L⁻¹ et d'acide parahydroxybenzoïque à 100 mg.L⁻¹ donne respectivement des signaux de 80 500 UA et 7 400 UA.

Questions

QUESTION N° 1 :

Quel est le rendement d'extraction de l'acide parahydroxybenzoïque ?

Proposition de réponse

Dans 100 µL de l'extrait plasmatique injecté en chromatographie en phase liquide, on a :

X µg d'acide salicylique	<----->	32 300 UA
10 µg d'étalon interne	<----->	7 000 UA

Dans 100 µL des solutions étalons, on a :

100 µL d'acide salicylique	<----->	80 500 UA
10 µg d'étalon interne	<----->	7 400 UA

Rendement d'extraction de l'étalon interne :

$$\text{Soit } \frac{7000 \times 100}{7400} = 94,6 \%$$

QUESTION N° 2 :

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N°2 (40 points)**

En supposant que l'acide parahydroxybenzoïque et l'acide salicylique présentent le même rendement d'extraction, quelle est la concentration en acide salicylique, exprimée en mg.L^{-1} de plasma ?

Proposition de réponse

Acide salicylique et acide parahydroxybenzoïque présentant le même rendement d'extraction, les rapports des aires des deux pics sont les mêmes avec et sans extraction.

La concentration en acide parahydroxybenzoïque étant la même dans la solution étalon et dans le plasma, le rapport des aires (acide salicylique) / (acide parahydroxybenzoïque) est proportionnel à la concentration en acide salicylique.

La concentration du plasma en acide salicylique est de :

$$\frac{32300 \times 1000 \text{ mg/l}}{\frac{7000}{\frac{80500}{7400}}} = \frac{4,61 \times 1000}{10,878} = 424,2 \text{ mg.L}^{-1}$$

QUESTION N° 3 :

Calculer le coefficient de partage λ de l'acide parahydroxybenzoïque entre le plasma et le dichlorométhane.

Proposition de réponse

Pour l'extraction double, le rendement R_2 :

$$R_2 = 1 - \frac{1}{\left(1 + \lambda \frac{V_B}{V_A}\right)^2}$$

avec λ : coefficient de partage

V_B : volume de dichlorométhane

V_A : volume de plasma + volume d'étalon interne

$$\frac{V_B}{V_A} = \frac{10}{2} = 5$$

$$R_2 = 1 - \frac{1}{(1 + 5\lambda)^2} = 0,9459$$

$$\text{d'où } (1 + 5\lambda)^2 = \frac{1}{0,0541} = 18,48$$

$$(1 + 5\lambda) = \sqrt{18,48} = 4,30$$

$$\lambda = 0,66$$

