

**CAN 306**  
Techniques de séparation  
**Examen final**

---

Date : Jeudi 24 avril 2014	Local : D3-2040
Heure : 9h00-12h00	
Responsable : Pedro A. Segura	Nom, Prénom :
	Matricule :

Consignes :

- Aucune documentation n'est permise.
- L'usage de calculatrice programmable est interdit.
- La feuille d'équations est à la page 13.

Question #1	/15
Question #2	/10
Question #3	/10
Question #4	/15
Question #5	/15
Question #6	/10
Question #7	/10
Question #8	/15
Total	/100

- 1) Une méthode de quantification d'antidépresseurs (valeurs du  $pK_a$  de leurs acides conjugués entre 8.7 et 9.7) dans les eaux environnementales (eaux usées, eaux de rivière), discutée en classe, utilise une étape de préconcentration et de purification des échantillons par extraction sur phase solide. L'extraction des antidépresseurs a été réalisée par SPE avec des cartouches d'échangeur de cations fort (Figure 1).

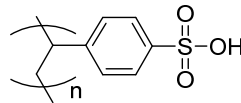
Voici les étapes de cette extraction :

Préparation : 4mL MeOH et ensuite 8 mL H<sub>2</sub>O

Chargement : 250 mL d'échantillon acidifié à pH 3.0, débit : 10-15 mL/min

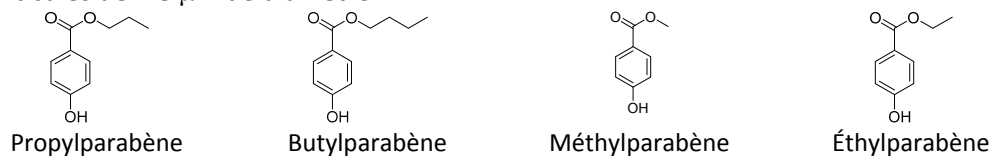
Rinçage: 4 mL de HCl 0.1 M et ensuite 4 mL de MeOH

Élution : 2 × 3 mL 5% NH<sub>4</sub>OH / MeOH



**Figure 1.** Structure moléculaire de la phase solide de la cartouche SCX. Le proton acide dans le groupement acide benzènesulfonique est complètement dissocié à  $pH > 1$ .

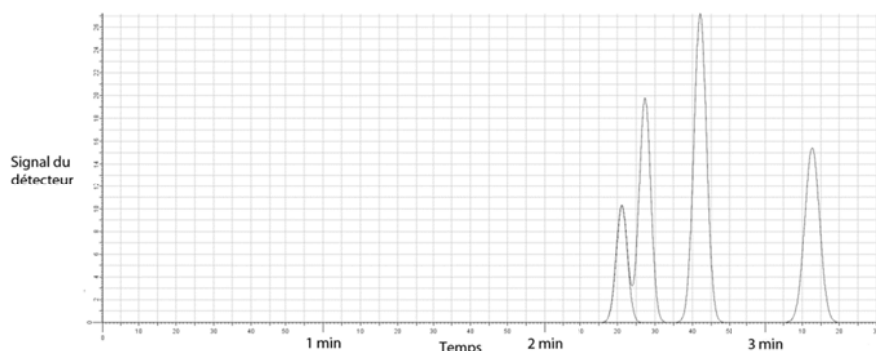
- Expliquer l'importance de la préparation de la cartouche avant d'introduire l'échantillon.
  - Pourquoi est-il important d'acidifier l'échantillon contenant les analytes avant cette extraction?
  - Pourquoi peut-on rincer avec 4 mL MeOH avec la cartouche SCX? Un tel rinçage sera-t-il adéquat avec une cartouche de type phase inverse (RP)?
  - Pourquoi utilise-t-on une base dans un solvant organique pour éluer les antidépresseurs de la cartouche SCX?
- 2) Est-ce que nous pouvons séparer par chromatographie liquide en phase inverse deux analytes si leur facteur de sélectivité est toujours égal à 1? Expliquer.
- 3) En chromatographie liquide, quelle est la différence entre l'élution isocratique et l'élution par gradient?
- 4) Une compagnie pharmaceutique vous engage pour aider ses techniciens à séparer, par chromatographie liquide en phase inverse, quatre parabènes (Figure 2) dans un de ses nouveaux produits. Un des techniciens vous montre un chromatogramme qu'il a obtenu lors de sa dernière séparation (Figure 3). Le technicien insiste que la seule façon de séparer ces analytes est d'acheter une nouvelle colonne plus longue et ayant des particules de 1.8  $\mu m$  de diamètre.



**Figure 2.** Structure moléculaire des parabènes.

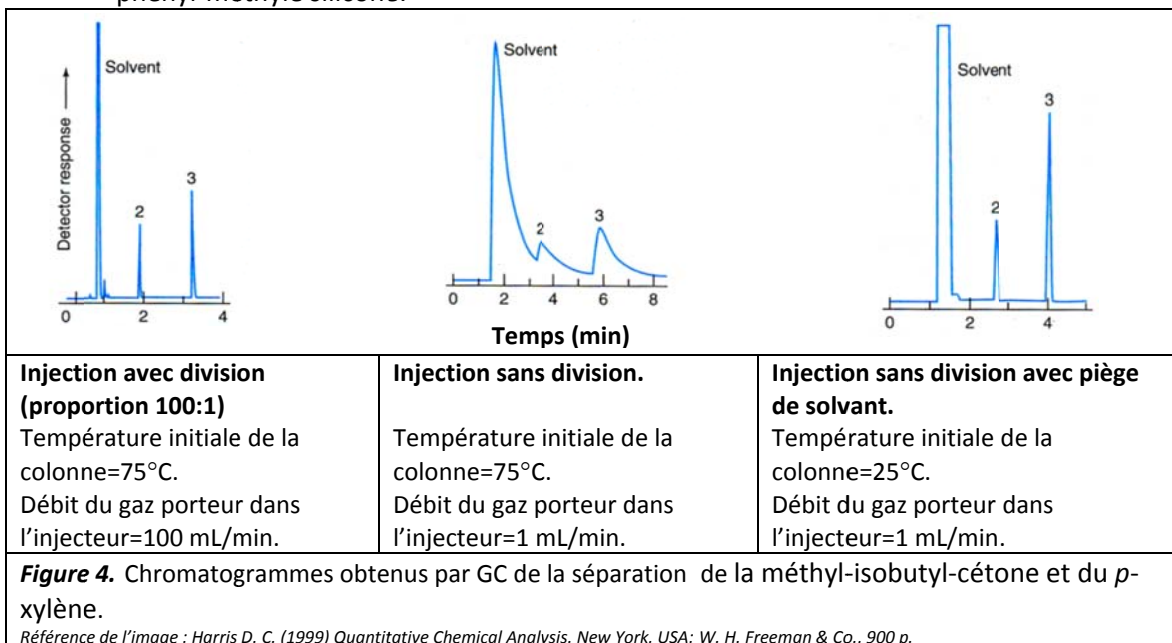
CAN 306  
Examen final

Nom, Prénom :



**Figure 3.** Chromatogramme de la séparation des parabènes. Conditions : Solvant A= H<sub>2</sub>O, solvant B=acétonitrile, pourcentage de B dans la phase mobile=65%; longueur de la colonne=100 mm, diamètre interne de la colonne=3.0 mm, diamètre des particules=3.0 μm, température= 25 °C, débit=0.2 mL/min. Détection=UV.

- a. Quel serait l'ordre d'éluion de ces parabènes? Expliquer.
  - b. Quels paramètres conseillerez-vous au technicien de modifier pour améliorer la séparation de ces analytes avant de changer la colonne? Expliquer.
- 5) Pour la chromatographie liquide d'échange d'ions :
- a. Expliquer le principe de séparation.
  - b. Quels sont les paramètres les plus importants ayant un effet sur la séparation?
- 6) Pourquoi utilise-t-on la programmation de la température en GC?
- 7) Discuter les modes d'injection en GC et leurs effets sur les pics (Figure 4) lors de la séparation de la méthyl-isobutyl-cétone (pic #2 sur le chromatogramme, T<sub>éb</sub>=118°C) et du *p*-xylène (pic #3 sur le chromatogramme, T<sub>éb</sub>=138 °C) dans le dichlorométhane (T<sub>éb</sub>=40 °C). Concentration des analytes : 1% v/v. Phase stationnaire : cyanopropyl-phényl-méthyle silicone.



- 8) En cherchant dans la littérature scientifique les techniques de séparation utilisées pour l'analyse de l'ibuprofène dans le plasma, vous en trouvez deux : la chromatographie en phase liquide et l'électrophorèse capillaire. En comparant l'électrophérogramme et le chromatogramme de la séparation de l'ibuprofène, vous observez des différences importantes de la largeur des pics (dans les deux techniques, les pics ont des facteurs d'asymétrie  $< 1.2$ ) :

*Chromatographie en phase liquide*

Largeur du pic à la base=0.23 min, longueur de la colonne=15 cm, temps de rétention=3.1 min.

*Électrophorèse capillaire*

Largeur du pic à la base=0.09 min, longueur du capillaire=60 cm, Temps de migration=5.8 min.

- a. Calculer la hauteur des plateaux théoriques des pics de l'ibuprofène obtenus avec ces deux techniques.
- b. Expliquer la différence observée dans les valeurs de la hauteur des plateaux théoriques d'après l'équation de van Deemter.

CAN 306  
**Examen final**

Nom, Prénom :

---



CAN 306  
**Examen final**

Nom, Prénom :

---





CAN 306  
**Examen final**

Nom, Prénom :

---



CAN 306  
**Examen final**

Nom, Prénom :

---



CAN 306  
Examen final  
Équations

$pH = -\log[H^+]$	$pK_a = -\log K_a$
$K' = \frac{[A^{x-}]_{résine}^y [E^{y-}]_{solution}^x}{[E^{y-}]_{résine}^x [A^{x-}]_{solution}^y}$	$\sigma_E^2 = \lambda L d_p$
$K_D = \frac{[A^{x-}]_{solide}^y}{[A^{x-}]_{solution}^y}$	$\sigma_L^2 = \frac{fL}{u}$ <i>Note : f : fonction de la diffusion du soluté et des propriétés de la colonne</i>
$R_i (\%) = \left[ 1 - \left( \frac{1}{1 + K \left( \frac{V_{org}}{V_{aq}} \right)} \right)^i \right] \times 100\%$	$\sigma_{TM}^2 = f L d_p^2 u$ <i>Note : f = fonction du facteur de rétention du soluté et de sa diffusion dans les deux phases.</i>
<i>Note : pour un acide ou une base, K est remplacé par <math>D_{HA}</math> ou <math>D_B</math></i>	
$D_{HA} = \frac{K[H^+]}{[H^+] + K_a}$	$u (cm/s) = L/t_0$
$D_B = \frac{K K_a}{[H^+] + K_a}$	$\sigma_{totale}^2 = \sigma_E^2 + \sigma_L^2 + \sigma_{TM}^2$
$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{t'_R}{t_0}$	$H = \frac{(\sigma_E^2 + \sigma_L^2 + \sigma_{TM}^2)}{L}$
$\alpha = \frac{t'_{R(b)}}{t'_{R(a)}} = \frac{k_b}{k_a} = \frac{K_b}{K_a}$	$H = A + \frac{B}{u} + Cu$
<i>Note : <math>\alpha \geq 1</math>, alors <math>k_b \geq k_a</math></i>	
$N = 16 \left( \frac{t_R}{W} \right)^2 = 5.54 \left( \frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$	$\log k = \log k_w - S\phi$
$H = \frac{L}{N}$	$\phi_t = \phi_{t=0} + \left( \frac{\Delta\phi}{t_G} \right) t$
$P \approx \frac{2500 L \eta F}{d_p^2 d_c^2}$	$pK_a = pH - \log \left( \frac{[A^-]}{[HA]} \right)$
<i>Note : P en psi, L en mm, F en mL/min, <math>\eta</math> en cP, <math>d_c</math> en mm et <math>d_p</math> en <math>\mu m</math></i>	
$A_s = B/A$	$pK_a = pH - \log \left( \frac{[B]}{[BH^+]} \right)$
$N = \frac{41.7 \left( t_R / W_{0.1} \right)^2}{(B/A) + 1.25}$	$k = k^0(1 - F) + k^\pm F$
$R_s = \left( \frac{\sqrt{N}}{4} \right) \left( \frac{k_b}{1 + k_b} \right) \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right)$	$F = \frac{1}{1 + 10^{(pK_a - pH)}}$
<i>Note : <math>k_b = k</math> du pic le plus retenu de la paire.</i>	<i>Note : F pour un acide.</i>

$R_s = \frac{2[t_{R(b)} - t_{R(a)}]}{W_a + W_b}$ <p>Note : <math>t_{R(b)} &gt; t_{R(a)}</math></p>	$F = \frac{1}{1 + 10^{(pH - pK_a)}}$ <p>Note : F pour une base</p>
$TF = (A + B) / 2A$	$\log k = a - m \log C$
$\log k = \log k_A - M\varepsilon$	$k = \frac{1 - R_F}{R_F}$
$u_{eo} = \mu_{eo} E$	$u_{ep} = \mu_{ep} E$
$\mu_{app} = \frac{L_d L_t}{V t_{mig}}$	$\mu_{eo} = \frac{L_d L_t}{V t_{mig(neutre)}}$
$\mu_{app} = \mu_{ep} + \mu_{eo}$ <p>Unités de <math>\mu_{app} = m^2 V^{-1} s^{-1}</math></p>	