

CAN 306
Techniques de séparation
Examen final

Date : Jeudi 16 avril 2015
Responsable : Pedro A. Segura

Local : D3-2033/2034
Heure : 9h30-11h30

Consignes :

- Aucune documentation n'est permise.
 - L'usage de calculatrice programmable est interdit.
 - L'annexe se trouve à la page 7.
 - Écrire vos réponses dans les pages 9-14.
-

I. Indiquer dans la section réponses (page 9) **la ou les lettres** qui correspondent à la réponse correcte :

1. Cette technique consiste à utiliser des acides forts pour libérer les éléments (p. ex. P, Cd, etc.) présents dans l'échantillon et les transférer à la phase liquide :
 - a) Extraction sur phase solide
 - b) Extraction liquide-liquide
 - c) Digestion acide
 - d) Extraction par liquide pressurisé

2. Technique d'extraction d'échantillons solides ou semi-solides utilisant des solvants organiques à des pressions élevées (≈ 30 -200 bar) et à des températures supérieures à leur point d'ébullition (50-200 °C) :
 - a) Microextraction sur phase solide
 - b) Extraction liquide-liquide
 - c) Dispersion de matrice sur phase solide
 - d) Extraction par liquide pressurisé

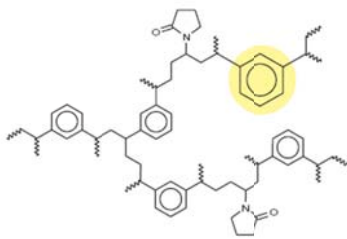
3. Dans cette technique, la phase d'extraction est un solide (appelé sorbant) ayant des petits pores sur lesquels les analytes vont se sorber (absorber et/ou adsorber) par divers types d'interactions :
 - a) Extraction par liquide pressurisé
 - b) Précipitation
 - c) Centrifugation
 - d) Extraction sur phase solide

4. Dans cette technique, on mélange l'échantillon avec un support solide (silice greffée avec C_{18} ou C_8) pour former une pâte qui sera ensuite lavée avec un solvant organique afin d'éluer les analytes :
 - a) Microextraction sur phase solide
 - b) Extraction liquide-liquide
 - c) Dispersion de matrice sur phase solide
 - d) Extraction par liquide pressurisé

5. D'après l'équation du rendement d'extraction dans l'extraction liquide-liquide $R (\%) =$

$$\left[1 - \left(\frac{1}{1 + K(V_{org}/V_{aq})} \right)^i \right] \times 100\% :$$

- a) La quantité d'analyte extraite augmente en utilisant un ratio V_{org}/V_{aq} élevé. b) La quantité d'analyte extraite augmente en utilisant un ratio V_{org}/V_{aq} faible. c) Plus d'analyte est extrait en faisant des extractions multiples qu'en faisant une seule extraction avec un volume de phase d'extraction équivalent. d) Le rendement est maximisé en utilisant un solvant de K faible.
6. Quelles techniques de séparation préparatoires sont généralement utilisées pour les métaux?
- a) Digestion acide b) Précipitation c) Échange ionique d) Microextraction sur phase solide
7. Séparation dans laquelle l'ion d'intérêt en solution est retenu par des ions de charge opposée, fixés sur un support insoluble, par des interactions électrostatiques :
- a) Échange ionique b) Précipitation c) Centrifugation d) Microextraction sur phase solide
8. Selon la structure de la phase solide de la cartouche SPE de type Oasis HLB (balance hydrophile-lipophile) les interactions responsables de la rétention peuvent être de type :



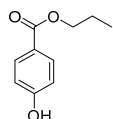
- a) π - π b) Ioniques c) London (dispersion) d) Dipôle-dipôle
9. Identifier les sorbants utilisés en SPE de phase inverse :
- a) Silice b) C_{18} c) Polydiméthylsiloxane d) Polystyrène divinylbenzène
10. Capacité d'une colonne chromatographique à fournir des pics étroits pour les solutés élués:
- a) Résolution b) Temps de rétention ajusté c) Volume mort d) Efficacité

CAN 306
Techniques de séparation
Examen final

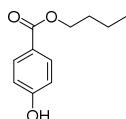
11. Temps minimum nécessaire pour que la phase mobile non retenue par le système chromatographique se rende au détecteur:

- a) Temps mort b) Temps de rétention c) Facteur de rétention d) Sélectivité

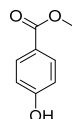
12. Quel serait l'ordre d'élution des parabènes suivants en chromatographie liquide en phase inverse :



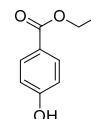
Propylparabène



Butylparabène



Méthylparabène



Éthylparabène

- a) Propyl, butyl, méthyl, éthyl b) Méthyl, éthyl, propyl, éthyl c) Méthyl, éthyl, propyl, butyl d) Butyl, propyl, éthyl, méthyl

13. Pour la séparation de composés plutôt apolaires par GC, les phases stationnaires les plus adéquates sont :

- a) (Diphényle)_{0,05} (diméthyle)_{0,95} polysiloxane b) Poly(éthylène glycol) c) (Biscyanopropyle)_{0,9} (cyanopropylphényle)_{0,1} polysiloxane d) Diméthylpolysiloxane

14. Dans ce détecteur, les analytes sont brûlés dans une flamme H₂/air :

- a) ECD b) FID c) MS d) TCD

15. Ce détecteur mesure le rapport m/z des analytes sous la forme d'ions dans la phase gazeuse :

- a) ECD b) FID c) MS d) TCD

- II. Un de vos collègues travaille sur la séparation de deux amines primaires par électrophorèse capillaire. Il a observé que sur l'électrophérogramme que le composé A (pKa de l'acide conjugué=10) et le composé B (pKa de l'acide conjugué=4.6) ont des temps de migration de 2.9 et 3 min respectivement. Les conditions expérimentales sont : potentiel appliqué au capillaire=25 kV, longueur totale du capillaire = 75 cm, longueur du capillaire au détecteur =45 cm, pH du tampon=2.5).
- Calculer la mobilité électrophorétique (en $\text{m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$) des molécules A et B. La mobilité électroosmotique pour ce système a été mesurée avec une substance neutre et son temps de migration est de 3.5 min.
 - La largeur à la base du pic A est 0.08 min et celle du pic B 0.09 min. Est-ce que les composés A et B sont bien séparés si l'on considère que leurs pics sont approximativement gaussiens?
 - Quel serait l'impact sur la résolution de cette séparation si un tampon de pH 6.7 est utilisé au lieu du tampon de pH 2.5?
- III. La Figure 1 montre le chromatogramme d'un échantillon contenant un mélange de 10 anions obtenu par chromatographie ionique et détection par conductivité avec suppresseur.

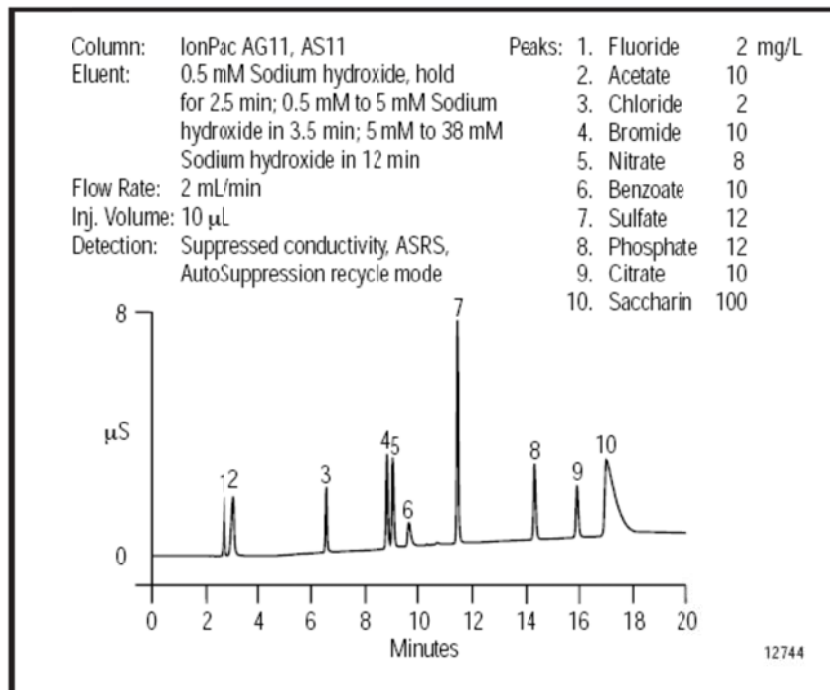
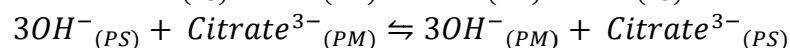
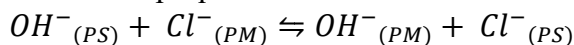


Figure 1. Conditions expérimentales : colonne AS11 (colonne polymérique de type SAX); phase mobile : gradient de concentration de NaOH (0.5mM à 38 mM) ; débit : 2 mL/min, volume d'injection : 10 μL . **Dans le suppresseur, Na^+ est échangé contre H^+ .** Pics : 1) F^- , 2) CH_3COO^- , 3) Cl^- , 4) Br^- , 5) NO_3^- , 6) $\text{C}_6\text{H}_5\text{COO}^-$, 7) SO_4^{2-} , 8) PO_4^{3-} , 9) citrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$) et 10) saccharine ($\text{C}_7\text{H}_4\text{NO}_3\text{S}^-$).

- La séparation se fait-elle par échange anionique ou cationique? Expliquer
- Identifier l'ion compétiteur et l'ion soluté le plus retenu.
- D'après la **Figure 1**, pour les deux réactions suivantes, laquelle est la plus déplacée vers la droite? Expliquer



- En sachant que la conductance d'une espèce donnée dépend de la somme des conductances ioniques limites du cation et l'anion qui constituent cette espèce, la conductance de la phase mobile augmente ou diminue après le supprimeur? Et celle des analytes? Expliquer.
- D'après vos réponses dans la question précédente, quel est l'avantage de la détection par conductivité avec supprimeur par rapport à la détection par conductivité directe (sans supprimeur)?

IV. Les chromatogrammes de la **Figure 2** montrent la séparation par GC-FID d'un ensemble d'alcane linéaires (C_6 - C_{21}) dans une colonne apolaire. Celui en (a) a été obtenu à une température constante, tandis que celui en (b) a été obtenu avec une programmation de la température (chauffage de 50 à 250°C à un taux de 8°C/min).

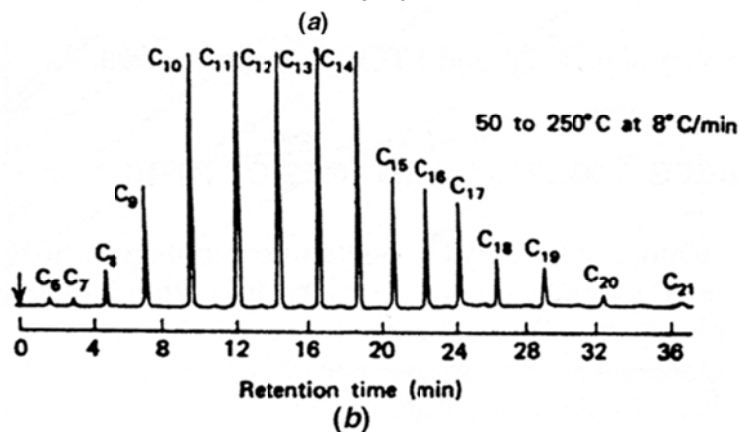
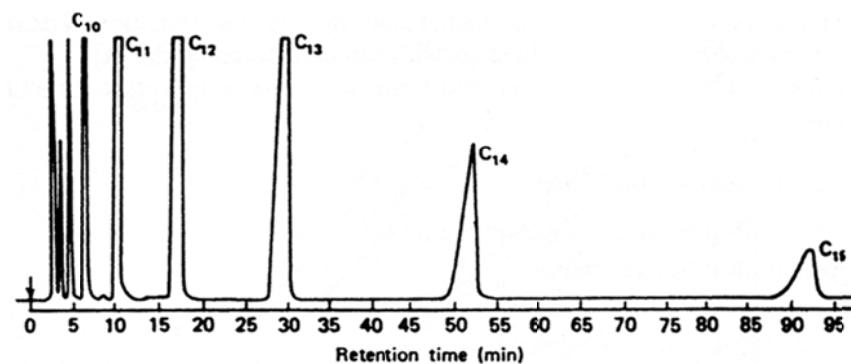


Figure 2. Séparation des alcanes par GC-FID.

- V. En cherchant dans la littérature scientifique les techniques de séparation utilisées pour l'analyse de l'ibuprofène dans le plasma, un de vos collègues en trouve deux : la chromatographie en phase liquide et l'électrophorèse capillaire. En comparant l'électrophérogramme et le chromatogramme de la séparation de l'ibuprofène, il observe 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 au détecteur = 60 cm, temps de migration = 5.8 min.

- a. Calculer la hauteur des plateaux théoriques du pic 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
Techniques de séparation
Examen final

Annexe

$K' = \frac{[A^{x-}]_{résine}^y [E^{y-}]_{solution}^x}{[E^{y-}]_{résine}^x [A^{x-}]_{solution}^y}$	$\sigma_E^2 = \lambda L d_p$
$K_D = \frac{[A^{x-}]_{résine}^y}{[A^{x-}]_{solution}^y}$	$\sigma_L^2 = \frac{fL}{u}$
$D_{HA} = \frac{K[H^+]}{[H^+] + K_a}$	$\sigma_{TM}^2 = fL d_p^2 u$
$D_B = \frac{K K_a}{[H^+] + K_a}$	$\sigma_{totale}^2 = \sigma_E^2 + \sigma_L^2 + \sigma_{TM}^2$
$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{t'_R}{t_0}$	$H = \frac{(\sigma_E^2 + \sigma_L^2 + \sigma_{TM}^2)}{L}$
$\alpha = \frac{t_{R(2)}}{t_{R(1)}} = \frac{k_2}{k_1}$	$H = A + \frac{B}{u} + Cu$
<i>Note : $\alpha \geq 1$, alors $k_2 \geq k_1$</i>	
$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$	$\log k = \log k_w - S\phi$
$H = \frac{L}{N}$	$\phi_t = \phi_{t=0} + \left(\frac{\Delta\phi}{t_G} \right) t$
$P \approx \frac{2500L\eta F}{d_p^2 d_c^2}$	$pK_a = pH - \log \left(\frac{[A^-]}{[HA]} \right)$
<i>Note : P en psi, L en mm, F en mL/min, η en cP, d_c en mm et d_p en μm</i>	
$A_s = B/A$	$pK_a = pH - \log \left(\frac{[B]}{[BH^+] } \right)$
$N = \frac{41.7 \left(\frac{t_R}{W_{0.1}} \right)^2}{\left(\frac{B}{A} \right) + 1.25}$	$k = k^0(1 - F) + k^{\pm}F$
$R_s = \left(\frac{\sqrt{N}}{4} \right) \left(\frac{k_2}{1 + k_2} \right) \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right)$	$\chi = \frac{1}{1 + 10^{(pK_a - pH)}}$
<i>Note : $k_2 = k$ du pic le plus retenu de la paire.</i>	<i>Note : χ pour un acide</i>
$R_s = \frac{2[t_{R(2)} - t_{R(1)}]}{W_1 + W_2}$	$\chi = \frac{1}{1 + 10^{(pH - pK_a)}}$
	<i>Note : χ pour une base</i>
$TF = (A + B)/2A$	$\mu_{app} = \mu_{ep} + \mu_{eo}$
	<i>Unités de $\mu_{app} = m^2 V^{-1} s^{-1}$</i>
$u_{eo} = \mu_{eo} E$	$u_{ep} = \mu_{ep} E$
$\mu_{app} = \frac{L_d L_t}{V t_{mig}}$	$\mu_{eo} = \frac{L_d L_t}{V t_{mig}(\text{neutre})}$
$\Delta G = \frac{(\lambda_{S+} - \lambda_{E+})}{10^{-3} K_{cell}} C_S$	$G = \frac{(\lambda_+ + \lambda_-)}{10^{-3} K_{cell}} C$
<i>Pour une séparation de type échange anionique, on utilise λ_{S+} et λ_{E-}.</i>	
$I = \frac{U}{R} = UG$	$\kappa = lG/A$

Tableau 1. Conductances ioniques limites équivalentes des cations et anions (en $S \times cm^2 \times eq^{-1}$) en solution aqueuse à 25 °C.

Anion	$\lambda_-(S.cm^2.eq^{-1})$	Cation	$\lambda_+(S.cm^2.eq^{-1})$
OH ⁻	198	H ₃ O ⁺	350
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	111	Rb ⁺	78
Fe(CN) ₆ ³⁻	101	Cs ⁺	77
CrO ₄ ²⁻	85	K ⁺	74
CN ⁻	82	NH ₄ ⁺	73
SO ₄ ²⁻	80	Pb ²⁺	71
Br ⁻	78	Fe ³⁺	68
I ⁻	77	Ba ²⁺	64
Cl ⁻	76	Al ³⁺	61
C ₂ O ₄ ²⁻	74	Ca ²⁺	60
CO ₃ ²⁻	72	Sr ²⁺	59
NO ₃ ⁻	71	CH ₃ NH ₃ ⁺	58
PO ₄ ³⁻	69	Cu ²⁺	55
ClO ₄ ⁻	67	Cd ²⁺	54
SCN ⁻	66	Fe ²⁺	54
ClO ₃ ⁻	65	Mg ²⁺	53
Citrate ³⁻	56	Co ²⁺	53
HCOO ⁻	55	Zn ²⁺	53
F ⁻	54	Na ⁺	50
HCO ₃ ⁻	45	Phenylethylammonium ⁺	40
CH ₃ COO ⁻	41	Li ⁺	39
Phthalate ²⁻	38	N(C ₂ H ₅) ₄ ⁺	33
C ₂ H ₅ COO ⁻	36	Benzylammonium ⁺	32
Benzoate ⁻	32	Methylpyridinium ⁺	30

CAN 306
Techniques de séparation
Examen final

Nom, Prénom :

Question I	/30
Question II	/15
Question III	/20
Question IV	/15
Question V	/20
Total	/100

Réponses aux questions

Question I. Réponses :

1.	2.
3.	4.
5.	6.
7.	8.
9.	10.
11.	12.
13.	14.
15.	

Questions II-V. Réponses :

CAN 306
Techniques de séparation
Examen final

Nom, Prénom :

CAN 306
Techniques de séparation
Examen final

Nom, Prénom :
