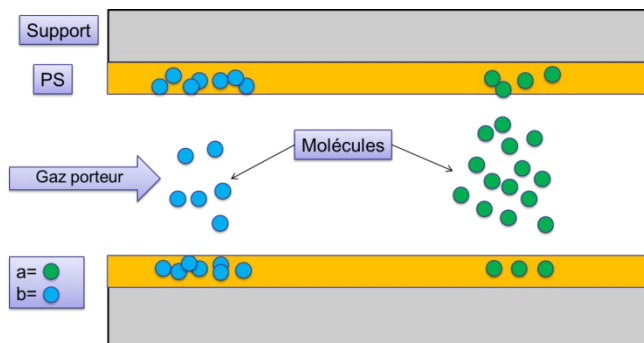


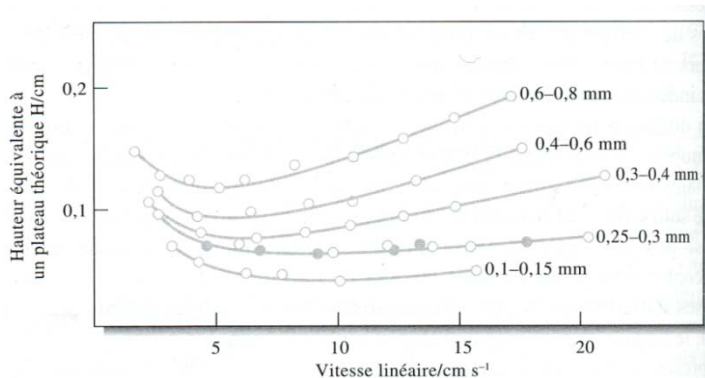
Exercices en classe
CAN 306
Autres techniques de séparation analytiques

Chromatographie gazeuse

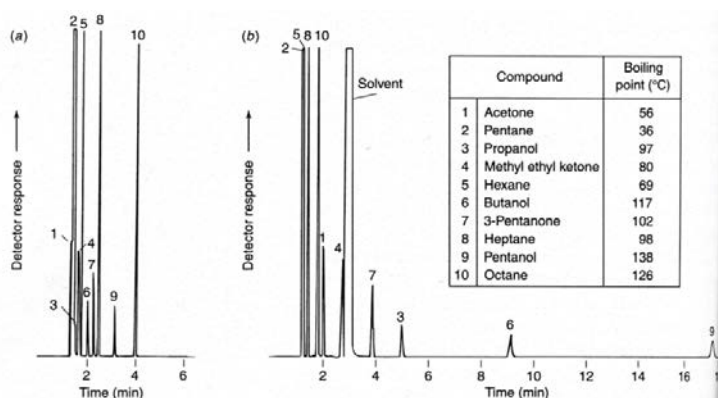
- Dans cet exemple, quel composé (a ou b) aura une constante de partage supérieure? Quel composé aura un temps de rétention plus élevé?



- Expliquer le rôle du diamètre des particules de la PS dans les colonnes remplies de GC dans la position des courbes de la figure suivante :

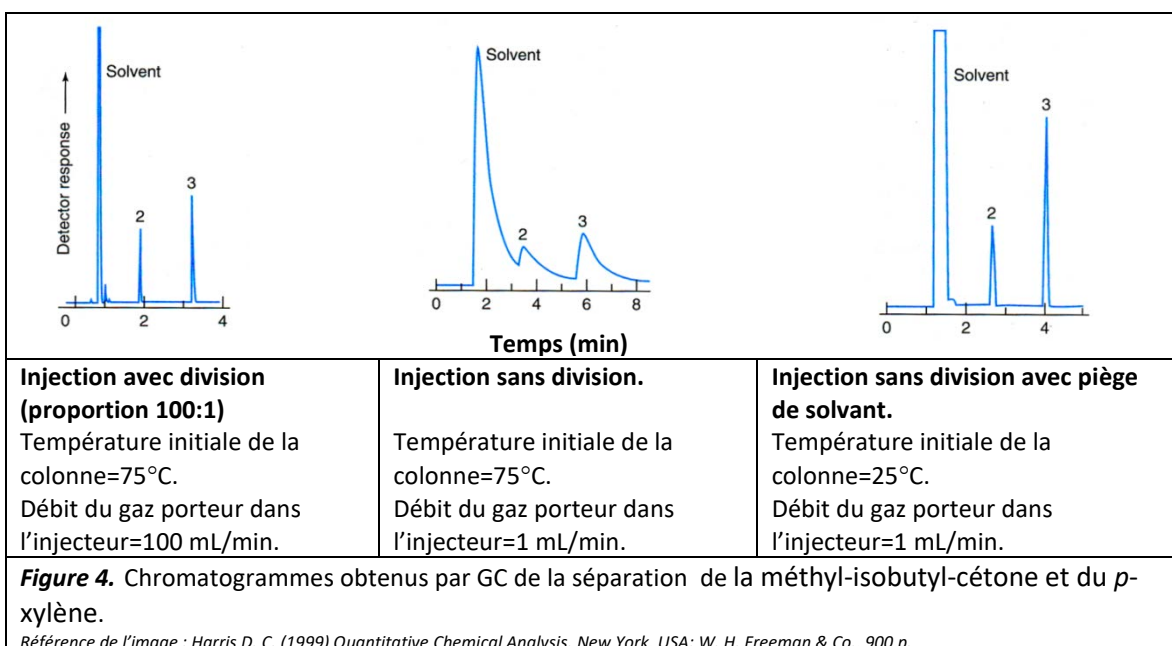


- Dans les chromatogrammes (a) et (b) ci-bas, une séparation a été réalisée avec une PS en poly(éthylène glycol) et l'autre avec une PS en poly(diméthylsiloxane). Assigner la colonne correspondante à chaque chromatogramme et expliquer l'ordre d'éluion.



Exercices en classe
CAN 306
Autres techniques de séparation analytiques

4. Pourquoi obtient-on en GC une meilleure efficacité avec des colonnes capillaires de type WCOT qu'avec les colonnes remplies?
5. Pourquoi peut-on obtenir une meilleure efficacité en GC avec des colonnes capillaires comparée à la LC?
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 lors de la séparation de la méthyl-isobutyl-cétone (pic #2 sur le chromatogramme, $T_{éb}=118^{\circ}\text{C}$) et du *p*-xylène (pic #3 sur le chromatogramme, $T_{éb}=138^{\circ}\text{C}$) dans le dichlorométhane ($T_{éb}=40^{\circ}\text{C}$).
 Concentration des analytes : 1% v/v. Phase stationnaire : cyanopropyl-phényl-méthyle silicone.



8. Pourquoi est-il important de ne pas dépasser la température maximale d'une colonne de GC?
9. Expliquer l'utilité des agents de dérivation et donner un exemple.
10. Le 24 septembre 1988, le sprinter Ben Johnson a gagné la médaille d'or au 100 mètres aux Jeux olympiques de Séoul. Deux jours plus tard, il a été annoncé que les échantillons d'urine du sprinter contenaient du stanozolol, un stéroïde anabolisant synthétique, et Johnson a été disqualifié par le Comité olympique international. La détection de stanozolol dans les échantillons de Johnson a été possible grâce au développement d'une nouvelle méthode d'analyse de ce stéroïde et de ses métabolites (voir la figure vi-dessous) :

Exercices en classe
CAN 306
Autres techniques de séparation analytiques

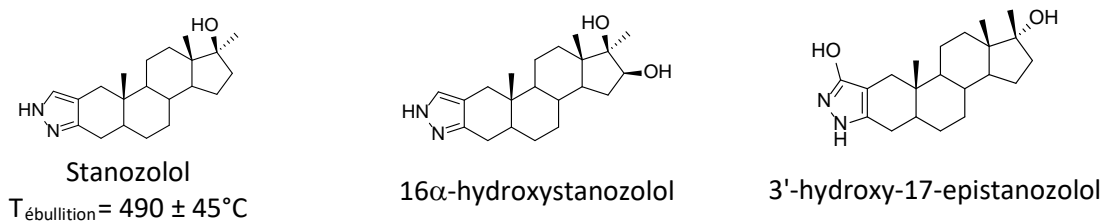


Figure 3. Structures du stanozolol et deux de ses métabolites urinaires

Voici un résumé de la méthode utilisée [Massé R., et al. (1989) *Journal of Chromatography B* 497:17-37]:

Extraction des stéroïdes

Un volume de 2 mL d'urine a été passé à travers de cartouches C₁₈ Sep-Pak, préalablement conditionnées avec du méthanol et de l'eau, à un débit de 20 mL/min. Ensuite, la cartouche a été lavée avec 5 mL d'eau. Les stéroïdes ont été élués avec 5 mL de méthanol. L'éluat a été évaporé à sec sous un jet d'azote à 40 °C. Le résidu après évaporation a été dissout dans 1.0 mL de 0.2 M tampon acétate (pH 5.2) et les stéroïdes ont été extraits avec 5 mL d'éther diéthylique. Après évaporation du solvant, le résidu a été dérivé par silylation [hydrogènes liés à O ou N sont substitués par des groupements -Si-(CH₃)₃] et finalement 1 μL de la solution a été injecté dans un GC-MS.

Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'analyse a été effectuée dans un GC couplé à un spectrométrie de masse de type quadripôle. L'ionisation des analytes a été faite par impact électronique. La séparation chromatographique a été réalisée avec une colonne de type (diphényle)_{0.05}-(diméthyle)_{0.95} polysiloxane de dimensions (25m×0.2mm diamètre interne, 0.33μm épaisseur de film). Les injections ont été faites dans le mode sans division (splitless) en utilisant hélium comme gaz vecteur à un débit de 0.8 mL/min. La température de l'injecteur a été de 270 °C. La température du four a été programmée de la façon suivante : 0 min à 100 °C; 1 min à 100 °C; 8.5 min à 220 °C, 29.5 min à 300 °C, 39.5 à 300 °C.

- Quel est le rôle de l'étape de lavage à l'eau sur cette extraction par SPE? Expliquez.
- Pourquoi le méthanol a été utilisé comme solvant d'éluion ? Expliquez.
- Pourquoi le stanozolol et ses métabolites ont été dérivés ? Expliquez.
- Expliquez en quoi consiste le mode d'injection sans division (*splitless*).
- Pourquoi la programmation de la température a été utilisée dans cette séparation par GC? Expliquez en quoi consiste ce mode d'éluion et quels sont ses principaux avantages.

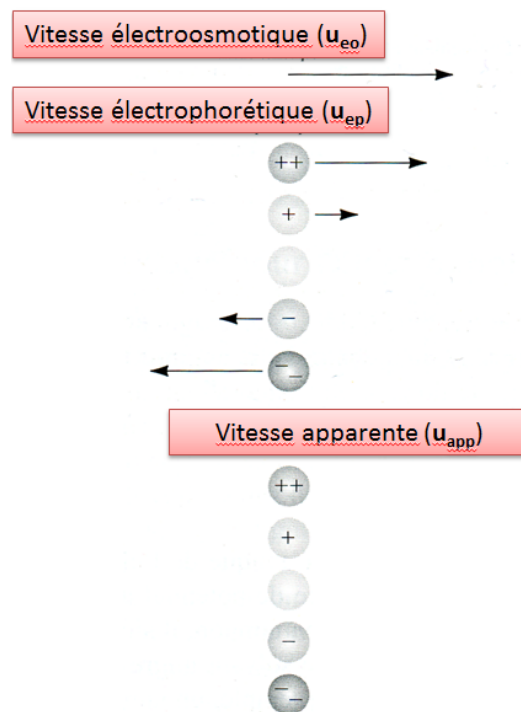
Exercices en classe
CAN 306
Autres techniques de séparation analytiques

11. Donner trois exemples de détecteur pour la GC et expliquez brièvement leur fonctionnement

Exercices en classe
CAN 306
Autres techniques de séparation analytiques

Électrophorèse capillaire

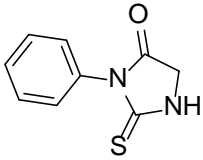
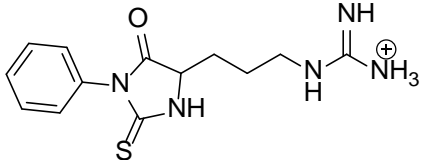
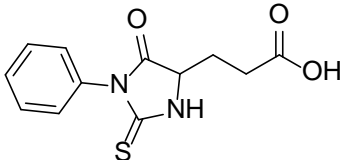
1. Expliquer brièvement la différence entre GC, LC et SFC.
2. Pourquoi utilise-t-on principalement le CO₂ comme PM en SFC?
3. Quel est le processus de transport séparatif en CZE?
4. Quels sont les principaux mécanismes de transport dispersif en CZE?
5. Expliquer le rôle de la double couche dans les séparations par CZE.
6. À l'aide de flèches de longueur différente, indiquer la vitesse apparente en électrophorèse capillaire des ions suivants d'après leur vitesse électrophorétique et de la vitesse électroosmotique. Expliquer la différence entre les vitesses apparentes. Dans cet exemple, tous les ions ont la même taille en solution.



7. Pourquoi l'efficacité d'une séparation par électrophorèse capillaire est souvent supérieure à l'efficacité d'une séparation par HPLC?

Exercices en classe
CAN 306
Autres techniques de séparation analytiques

8. Calculer la μ_{ep} et la μ_{eo} de la séparation ($L_t = 0.74$ m, $L_d = 0.44$ m et $V=30$ kV) des acides aminés dérivés suivants:

		
PTH-glycine (neutre) $t_{mig} : 191$ s	PTH-arginine ($pK_a=12.48$) $t_{mig} : 133$ s	PTH-acide glutamique ($pK_a=4.42$) $t_{mig} : 308$ s

9. Expliquer l'ordre de migration en sachant que le pH de la solution tampon est de 6.93.
10. 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.