

SERIE 3 HPLC

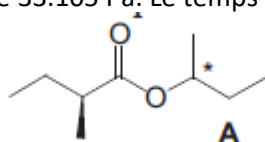
I) CHROMATOGRAPHIE HPLC

Exercice 1 :

Quel est l'ordre d'élution des acides suivants en CLHP avec une colonne dont la phase stationnaire est de type C18 et une phase mobile un tampon formiate C = 200 mM, de pH 9 ? 1. acide linoléique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CO}_2\text{H}$ 2. acide arachidique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$ 3. acide oléique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CO}_2\text{H}$

Exercice 2

On effectue l'analyse HPLC d'un mélange réactionnel constitué du composé A en solution dans le toluène. La séparation chromatographique a été obtenue sur une colonne de silice greffée NH_2 de 15 cm de longueur à une température de 23°C. La phase mobile est utilisée avec un débit de 1,0 mL/min et la pression en tête de colonne est de 33.105 Pa. Le temps mort de la colonne est 0,6 minute.



Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant :

Nom du composé	t_R (min.)	Largeur du pic à mi-hauteur (min.)
Toluène	1,83	0,08
A	2,62	0,20
	3,03	0,25

- 1) Quelle type de colonne est utilisé ? Donner les principales caractéristiques de ce type de colonne.
- 2) Quel système éluant doit-on utiliser avec ce type de colonne ? Proposer deux solvants susceptibles de composer un système éluant acceptable pour ce type de colonne en indiquant lequel vous utiliseriez majoritairement.
- 3) Quel type de détecteur classique utiliseriez-vous en indiquant pourquoi vous le (les) choisissez et dans quelles conditions vous le (les) utiliseriez.
- 4) déterminer le t_R du composé A
- 4) déterminer le volume de la colonne
- 5) Calculer le facteur de résolution R entre les deux pics du composé A puis indiquer s'ils sont correctement séparés. Justifier votre réponse. Calculer également le facteur de séparation des deux pics du composé A.
- 6) évaluer l'efficacité de la colonne utilisée.

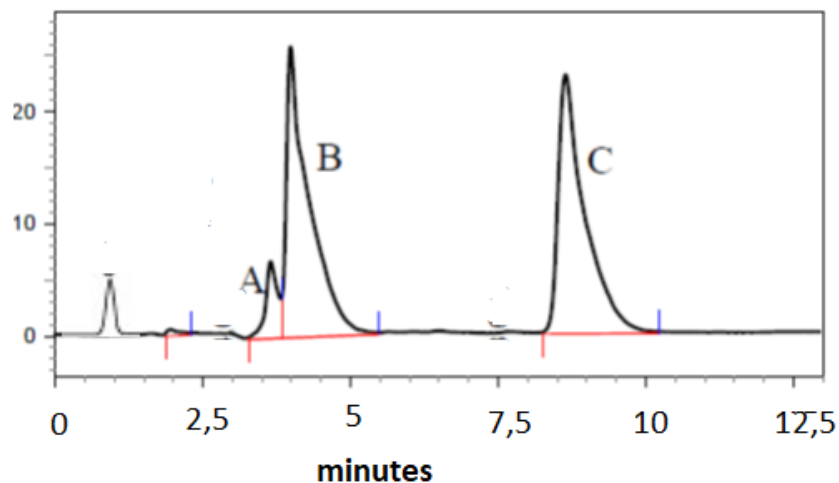
SERIE 3 HPLC

Exercice 3

La séparation suivante a été obtenue par CLHP Shimadzu LC 8A. Les conditions opératoires sont les suivantes :

phase stationnaire greffée C ₁₈ Supercosil™ LC-18	taille de particule: 5µm
longueur de colonne: 25 cm	température: 20°C
débit: 1mL/min	teneur en eau: 50% teneur en méthanol: 50%
pression en tête de colonne: 50.105Pa	

Sachant que le volume de l'échantillon injecté est 0.5ml et T_m est de 1min



Produit	Largeur à la base
A	0,04
B	0,52
C	0,61

- 1) Quel est le type de polarité de phase utilisée ? Justifiez votre réponse.
- 2) A partir du chromatogramme déterminer :
 - a) Le volume mort, Tr' Vr de A, B et C
 - b) L'efficacité pour les composés A, B et C
 - c) L'efficacité moyenne de la colonne
 - d) Les facteurs de rétention (facteur de capacité) k'A, k'B et k'C des composés A, B et C.
 - f) La résolution R de la séparation entre B et C .