

TD N° 1 – Chromatographie sur couche mince

**Exercice 1 :**

On a réalisé la chromatographie, sur couche mince de gel de silice, de deux échantillons et d'une référence (un authentique). L'étude du chromatogramme a permis de repérer les positions des différentes taches après révélation. Les résultats sont les suivants :

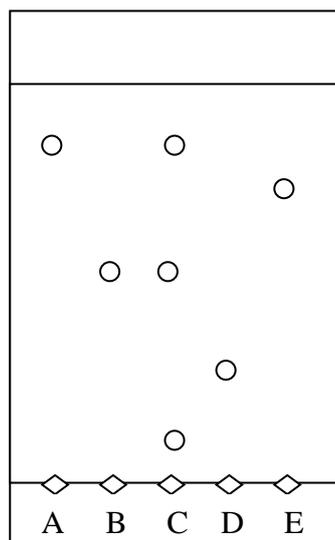
- Front du solvant :  $d=8,0$  cm,
- Echantillon A : on relève deux taches situées à 3,0 et 4,5 cm de la ligne de base,
- Echantillon B : on relève une seule tache située à 5,5 cm de la ligne de base,
- Référence (menthone) :  $R_f=0,56$ .

1. Représenter le chromatogramme.
2. Cette chromatographie permet-elle de mettre en évidence la présence d'une ou plusieurs espèce(s) pure(s) ? Justifier votre réponse
3. Les échantillons A et/ou B contiennent-ils de la menthone ? Justifier.

**Exercice 2 :**

On a réalisé une analyse qualitative d'un médicament par chromatographie sur couche mince. Le chromatogramme obtenu est représenté ci-après.

1. Rappeler le principe de la CCM et décrire brièvement les opérations à réaliser.
2. Analyser le chromatogramme. Conclure.
3. Un autre médicament contient de l'acide acétylsalicylique, du paracétamol et de la caféine. Pour un front de solvant égal à 5,0 cm, représenter le chromatogramme obtenu avec le même éluant et une plaque identique.



*A : acide acétylsalicylique, B : paracétamol, C : médicament analysé, D : caféine, E : phénacétine.*

**Exercice 3 :**

Les résultats de la CCM d'un mélange de deux composés A et B sont :

Composé	A	B	Solvant
Distance de migration $x$ (mm)	27	33	60
Diamètre du spot $\omega$ (mm)	2	2,5	-

1. Calculer  $R_f$ ,  $N$  et  $H$  pour chacun des composés.
2. Calculer le facteur de résolution entre le composé A et B.
3. Etablir la relation ente le facteur de sélectivité et le  $R_f$  des deux composés. Calculer sa valeur numérique.

**Exercice 4 :**

Un mélange composé de théobromine, théophylline, antipyrine et de caféine a été analysé sur plaque de gel de silice en utilisant l'éluant : chloroforme/éthanol [96%,v/v], (9/1, v/v). La distance séparant la ligne de base de dépôt des échantillons et celle du front de solvant est égale à 10,0 cm.

1. En ayant les distances parcourues par les espèces : théobromine (2,2 cm), théophylline (3,7 cm), antipyrine (5,0 cm) et de caféine (5,7 cm), calculer les rapports frontaux.
2. Ecrire de façon plus exacte la composition de l'éluant.
3. En vous inspirant de ces résultats, proposer un protocole de séparation sur colonne chromatographique.

## TD N° 2 – Relations de base

---

**Exercice 1 :**

Un rapport de chromatogramme nous donne:

Largeur à 10% de la hauteur: 0,085 min, Facteur d'asymétrie: 1,024

Quelle est la valeur du facteur de traînée?

**Exercice 2 :**

On mélange, dans un erlenmeyer, 6 mL de gel de silice et 40 mL d'un solvant contenant 100 mg d'un composé non volatil en solution. Après avoir bien agité ce mélange, on laisse décanter et on recueille 10 mL du solvant que l'on évapore. Le résidu pèse 12 mg. Calculez le coefficient de partage  $K$  de ce composé dans cette expérience.

**Exercice 3 :**

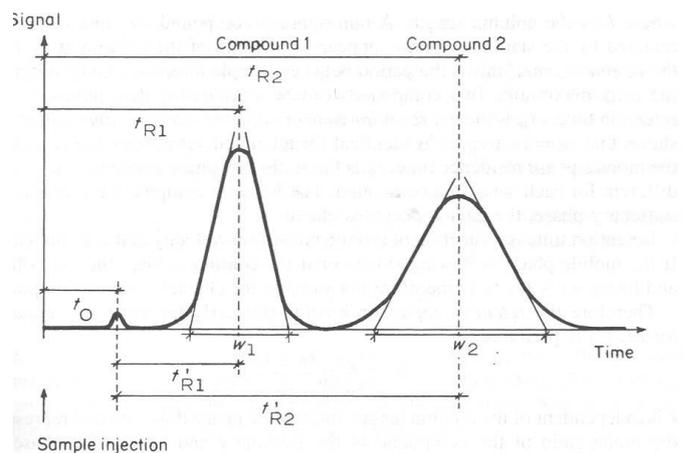
Les temps de rétention de substances A et B sont de 16,40 et 17,63 min sur une colonne de 30 cm. Une espèce non retenue passe sur la colonne en 1,30 min. Les largeurs à la base des pics A et B sont de 1,11 et 1,21 min. Calculez:

- Le facteur de rétention  $k'$  des deux substances,
- Le facteur de sélectivité  $\alpha$ ,
- La résolution de la colonne  $R_s$ ,
- Le nombre moyen de plateaux théoriques  $N$  dans la colonne,
- La hauteur équivalente à un plateau théorique  $H$  moyenne,
- La longueur de la colonne  $L$  nécessaire pour obtenir une résolution de 1.5,
- Le temps requis  $t_R$  pour éluer la substance B.

**Exercice 4 :** a) Définir les termes suivants:

- Temps de rétention, temps de rétention net et - Temps mort,
- Facteur de rétention ,
- Efficacité d'une colonne,
- Hauteur efficace d'un plateau théorique,
- Résolution chromatographique,
- Facteur de séparation.

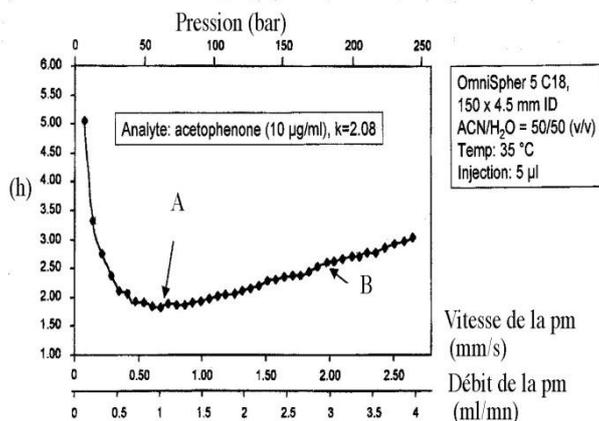
b) Evaluer les proportions des solutés **1** et **2** dans la phase mobile et la phase stationnaire.



- Calculer les facteurs de séparation des deux solutés. Dans le cas où  $\alpha=1$ , que se passe-t-il ?
- Calculer la résolution des solutés 1 et 2.
- Calculer le nombre de plateaux théoriques du soluté élué en dernier.

**Exercice 5 :** Soit une courbe de Van. Deemter expérimentale, obtenue en HPLC, en ordonnée est reportée la hauteur de plateau réduite  $h = H/dp$  (où  $dp = 5$  mm est le diamètre des particules). On considère deux points particuliers A et B sur cette courbe.

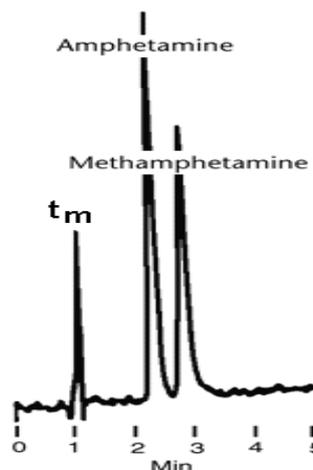
- Au point A (débit = 1 mL/mn,  $u = 0,65$  mm/s et  $h = 2$ ), calculer le temps mort et le temps d'analyse.
- Même question au point B (débit = 2,75 mL/mn,  $u = 1,7$  mm/s et  $h = 2,5$ ).
- Calculer la perte d'efficacité de la colonne entre A et B (NB/NA). Conclure.



**Exercice 6 :** Sur une colonne chromatographique C18, 15cm x 4,6mm, remplie de particules de 5 mm, avec l'acétonitrile ( $CH_3CN$ ) comme phase mobile à une température de 30°C, on mesure un temps mort de 1,07 mn. Dans ces conditions, on obtient la séparation ci-contre entre les 2 amphétamines :

dans la phase stationnaire ( $R=8,31$  J  $K^{-1}$  mol $^{-1}$ ).

	$t_r$ (min)	$\delta$ (sec)
Amphitamine (A)	2,40	5
Metamphitamine (M)	2,85	6



- Calculez le facteur de séparation  $\alpha$ .
- Calculez le facteur de résolution  $R$ .
- Évaluez le nombre de plateau théorique de la colonne  $N$ .
- Calculez la différence d'énergie libre de dissolution  $\Delta(G)$  entre ces 2 produits

## TD N° 3 – Analyse Quantitative

**Exercice 1:**

La détermination de la teneur d'eau dans le méthanol (%m/m) se fait par CPG en utilisant une phase stationnaire non polaire et un détecteur à conductivité thermique. L'analyse d'une série de solution standard a donné les résultats suivants :

%m/m H <sub>2</sub> O	Hauteur du pic (unités. arb)
0.00	1.15
0.0145	2.74
0.0472	6.33
0.0951	11.58
0.1757	20.43
0.2901	32.97

1. Quel est %m/m H<sub>2</sub>O dans un échantillon donnant une hauteur de pic de 8,63 ?
2. Le %m/m H<sub>2</sub>O dans un antibiotique lyophilisé est déterminé comme suit. Un échantillon de 0,175-g est introduit dans un flacon avec 4,489 g de méthanol. L'eau dans le flacon est extraite dans le méthanol. L'analyse de l'échantillon donne une hauteur de pic de 13,66. Quel est le %m/m H<sub>2</sub>O dans l'antibiotique ?

**Exercice 2 :** On veut déterminer par la méthode de normalisation interne la composition massique d'un échantillon constitué de 4 esters de l'acide butanoïque. Une solution de référence de ces quatre esters (concentrations massiques connues) conduit aux valeurs suivantes des coefficients de réponse relatifs des butanoates de méthyle (ME), d'éthyle (EE) et de propyle (PE) par rapport au butanoate de butyle (BE) :

$$K_{ME/BE} = 0,919 ; K_{EE/BE} = 0,913 ; K_{MPE/BE} = 1,060$$

À partir des indications données en page suivante, fournies par le chromatogramme de l'échantillon à doser, trouver la composition massique de ce mélange.

N pic	t <sub>R</sub>	composé	Aire U.arb
1	2,54	ME	2340,1
2	3,47	EE	2359,0
3	5,57	PE	4077,3
4	7,34	BE	4320,7

**Exercice 3 :** Dosage de la sérotonine *S* (5-hydroxytryptamine) par la méthode de l'étalon interne. On prélève 1 mL de la solution à doser à laquelle on ajoute 1 mL d'une solution contenant 30 ng de *N*-méthylsérotonine (*NMS*). On traite ce mélange pour le débarrasser d'autres composés gênants. On opère par extraction en phase solide pour isoler la sérotonine et son dérivé méthylé, dilués dans une phase convenable.

- a) Pourquoi ajoute-t-on le composé d'étalonnage interne avant l'étape d'extraction ?
- b) Calculer le facteur de réponse de la sérotonine par rapport à la *N*-méthylsérotonine sachant que le chromatogramme d'étalonnage conduit aux résultats suivants :

– aire sérotonine 30 885 982 mV s quantité injectée: 5 ng

– aire *N*-méthylsérotonine 30 956 727 mV s quantité injectée: 5 ng

À partir du chromatogramme de la solution échantillon, trouver quelle est la concentration en sérotonine dans l'échantillon de départ sachant que l'aire du pic sérotonine vaut 2 573 832 mV s et l'aire du pic *N*-méthylsérotonine 1 719 818 mV s.