
TD N° 4 – Chromatographie en phase gazeuse

Exercice 1 :

Dans une expérience de chromatographie en phase gazeuse, on injecte un mélange de n-alcanes et de 1-butanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) sur une colonne en régime isotherme comportant une phase stationnaire de type diméthylpolysiloxane. L'équation de la droite de Kovats déterminée à partir du chromatogramme est :

$$\log(t'_R) = 0,39.n - 0,29 \quad \text{où : } t'_R \text{ est exprimé en secondes}$$

Le butanol a un temps de rétention corrigé (t'_R) de 168 s. Sachant que son indice de rétention (de Kovats) sur une colonne squalane est de 590, déterminer la constante de Mc Reynolds du butanol sur cette colonne de type diméthylpolysiloxane.

Exercice 2 :

La méthode la plus connue d'estimation du temps mort t_M consiste à mesurer le temps de rétention d'un composé non retenu (couramment le méthane en CPG). On propose ici une autre méthode faisant appel à la relation utilisée dans l'établissement des indices de rétention, à savoir que dans une série homologue de composés organiques on peut écrire, si la température de la colonne ne varie pas :

$$\text{Log}(t_R - t_M) = a.n + b$$

t_R représente le temps de rétention du composé à n atomes de carbone, a et b sont des constantes qui dépendent de la classe des solutés et de la phase stationnaire choisie. Calculer t_M à partir de l'expérience suivante: on injecte un mélange d'alcanes linéaires à 6, 7 et 8 atomes de carbone. Les temps de rétention sont respectivement 271, 311 et 399 s en régime isotherme à 80 °C.

Exercice 3 :

Au cours de la séparation d'un mélange d'hydrocarbures, les temps de rétention mesurés sont: Propane 2,23 min ; Isobutane 5,71 min ; Butane 6,67 min.

Quel est l'indice de Kovats pour chaque composé ?

Exercice 4 :

On donne ci-après un tableau des valeurs du facteur de capacité k' pour quatre gaz de raffinerie, étudiés à trois température différente sur une même colonne capillaire ($L_c=30$ m, diamètre interne I.D.= 250 μm) dont la phase stationnaire est du type SE-30. Le chromatographe est muni d'un accessoire cryogénique.

Composé	Temp. Eb. (°C)	Température de la colonne (°C)		
		-35	25	40
Ethylène	-104	0.249	0.102	0.0833
Ethane	-89	0.408	0.148	0.117
Propène	-47	1.899	0.432	0.324
Propane	-42	2.123	0.481	0.352

- 1) D'après l'ordre d'éluion, dire si la phase SE-30 est polaire ou non.
- 2) Calculer le facteur de sélectivité pour le couple propène-propane aux trois températures indiquées.
- 3) Pourquoi k' diminue-t-il lorsque la température croît, pour un même composé ?
- 4) Quel est le nombre de plateaux théoriques de la colonne pour le propane à 40°C, sachant qu'à cette température le facteur de résolution pour le couple propène-propane est égal à 2 ? Calculer la HETP correspondante.

 TD N° 5 – CLHP

Exercice 1 : Afin d'extraire des solutés d'un échantillon par chromatographie préparative, une étude de la rétention des analytes en chromatographie analytique est réalisée au préalable afin de déterminer les conditions chromatographiques permettant leur séparation (choix de la phase stationnaire et de la phase mobile notamment).

Une séparation de 4 sucres par chromatographie en phase liquide analytique a été obtenue dans les conditions expérimentales suivantes :

- Colonne : supelcosil-NH2, 10cm x 2,1 mm, dp 3,5µm
- Phase mobile : eau/éthanol/acétonitrile : 17/8/75 : v/v/v ; D=0,4mL/min
- Détecteur : réfractomètre

Dans ces conditions d'analyse, le temps mort est de 1,1min.

Les temps de rétention mesurés sont reportés ci-dessous :

- Fructose : 3,2 min
- Sorbitol : 3,5 min
- Glucose : 4,2 min
- Maltose : 8,9 min.

Est-il possible de séparer de ces 4 sucres sur une colonne préparative de 4900 plateaux garnie de la même phase stationnaire (on considérera que dans ces conditions les facteurs de rétention sont les mêmes pour les 2 colonnes), en conservant une résolution supérieure à 1,5 ?

1- Déterminez les facteurs de rétention pour chacun des solutés ainsi que la sélectivité entre les pics adjacents.

2- Identifier les 2 composés « les plus difficiles » à séparer. Justifiez.

3- A l'aide de la relation de Purnell, calculez la résolution qui serait obtenue sur la colonne préparative.

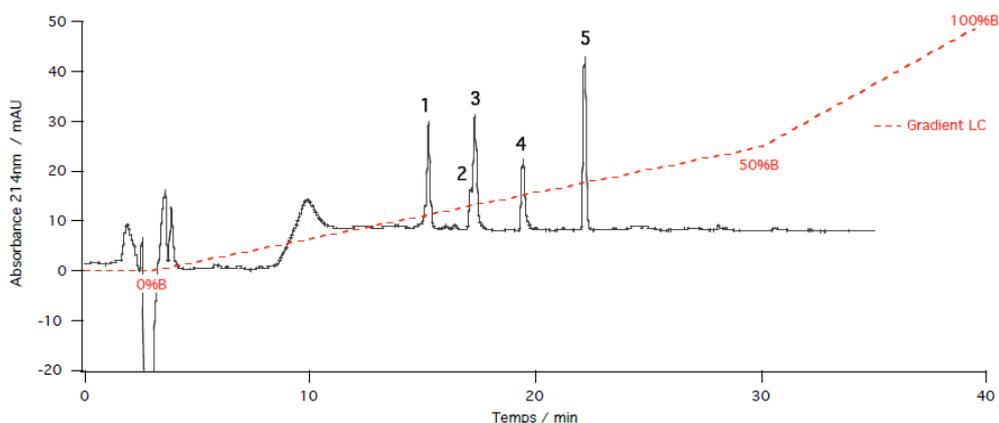
4- Conclure.

Exercice 2 : un mélange de 5 composés organiques est analysé par chromatographie liquide. L'échantillon (1 µl) est injecté dans une HPLC avec une colonne capillaire de phase inverse C18 de 15 cm de longueur. Le gradient d'éluion est composé de 2 solvants **A** (H₂O:acétonitrile, 98:2) et **B** (H₂O:acétonitrile, 80:20). Le gradient appliqué est représenté en pointillés sur le chromatogramme donné en annexe.

Les espèces non retenues sortent à 3 minutes après l'injection. Les temps de rétention et largeur de pic de chaque peptide sont les suivants :

composé	temps de rétention (min)	largeur de pic (min)
1	15,242	0,273
2	17,084	-
3	17,300	-
4	19,434	0,296
5	22,167	0,249

- Déterminer le facteur de rétention k' de chaque composé ainsi que le facteur de séparation α pour les couples de composés 1/2 ; 2/3 ; 3/4 et 4/5.
- A partir des facteurs de rétention et de séparation des composés 4 et 5, déterminer la résolution de la colonne.
- Calculer le nombre de plateaux théoriques et la HEPT de la colonne utilisée.
- A votre avis, est ce suffisant pour avoir une séparation convenable ?
- Quel est l'intérêt de l'application du gradient d'élution ?



Exercice 3 :

Le chromatogramme du Prozac (antidépresseur) a été enregistré dans les conditions suivantes :

HPLC :

Colonne C18: 15cm x 4.6mm,

Phase mobile: acetonitrile / 25mM KH_2PO_4 , pH 7.0, (40:60). Débit: 2mL/min.

Température: 30°C. Détecteur UV : 254 nm. Injection: 1 μ L.

- Calculer le temps de rétention, le volume de rétention, le temps mort et la vitesse linéaire moyenne de la phase mobile.
- Calculer le volume de rétention réduit et le temps de rétention réduit.
- Calculer le facteur de rétention du prozac.

