

On veut doser en chromatographie liquide haute performance couplé à un détecteur UV, une substance A dans deux solutions buvables respectivement à une concentration théorique de 9,5 mg/L (solution 1) et 6,5 mg/L (solution 2).

Soit B, une substance utilisée comme étalon interne

On prépare la gamme d'étalonnage selon le protocole suivant, en utilisant :

- Solution A : solution contenant la substance A à 20 mg/L
- Solution B : solution contenant la substance B à 10 mg/L
- Eau pli

|  | Etalon 1 | Etalon 2 | Etalon 3 | Etalon 4 | Etalon 5 |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|
| Volume de solution A introduite à 20 mg/L (µL) | 200      | 400      | 600      | 800      | 1000     |
| Volume de solution B introduite à 10 mg/L (µL) | 100      | 100      | 100      | 100      | 100      |
| Eau pli (µL)                                   | 1700     | 1500     | 1300     | 1100     | 900      |
| Signal de la substance A                       | 0,12     | 0,288    | 0,396    | 0,504    | 0,594    |
| Signal de la substance B                       | 0,10     | 0,12     | 0,11     | 0,105    | 0,099    |

Pour le dosage des solutions échantillons, on mélange 1900 µL de solution à doser avec 100 µL de solution B.

On injecte 20 µL de chaque solution dans le système chromatographique. Les chromatogrammes obtenus donnent des hauteurs de pic A et B suivants :

|                               | Etalon 1 | Etalon 2 | Etalon 3 | Etalon 4 | Etalon 5 | Solution 1 | Solution 2 |
|-------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|------------|------------|
| Signal de la substance A (UA) | 0,12     | 0,288    | 0,396    | 0,504    | 0,594    | 0,618      | 0,398      |
| Signal de la substance B (UA) | 0,10     | 0,12     | 0,11     | 0,105    | 0,099    | 0,10       | 0,10       |

Pour l'étalon 5, les temps de rétention des substances A et de B sont respectivement de 1,55 et 2,6 min avec des largeurs à la base respectivement de 0,55 min et 0,65 min.

1. La séparation est-elle satisfaisante?

(6 Pts – 2 formule, 2 AN, 2 interprétation)

$$R_s = 2 \cdot (t_{r2} - t_{r1}) / (w_2 + w_1)$$

$$R_s = 1,75$$

Satisfaisant car  $>$  à 1,5

2. Calculer la concentration en A des 5 solutions étalon et déterminer les paramètres de la droite d'étalonnage en tenant compte de l'ajout de l'étalon interne.

(8 Pts – 4 concentration, 4 équation)

Il faut calculer les conc A dans les points de gamme : 2, 4, 6, 8 et 10 mg/L

La droite d'étalonnage / Signal A / Signal B = 0,6 \* Conc A

3. Calculer les concentrations des solutions analysées 1 et 2.

(8 Pts – 4 sol1 (zéro si on ne voit pas hors gamme même si la concentration est calculée), 4 sol2)

Pour la solution analysée 1 :  $C = (0.618/0.10)/0.6 = 10.3 \text{ mg/L}$  soit une concentration  $>10 \text{ mg/L}$  – hors gamme

Pour la solution analysée 2 :  $c = (0.398/0.1) / 0.6 = 6.63 \text{ mg/L}$

4. Déterminer la concentration des solutions buvables 1 et 2.

(8 Pts – 4 sol1 (zéro si on ne voit pas hors gamme même si la concentration est calculée), 4 sol2)

Pour la solution buvable 1 : le rapport des signaux est au-delà du rapport des signaux de l'étalon 5 donc on ne peut pas calculer la concentration de la solution. Elle est cependant supérieure à  $10 * 2000 / 1900$  soit  $> 10.5 \text{ mg/L}$  qui est la concentration du dernier point de gamme.

Pour la solution 2 :  $\text{Conc} = 6.63 * 2000 / 1900 = 6.98 \text{ mg/L}$

5. La spécification étant de +/- 5%, conclure sur la conformité de chacune des deux solutions buvables.

(8 Pts – 4 pour le calcul de l'intervalle de concentration, 4 conformité)

La solution 1 étant considérée comme conforme pour une concentration comprise entre 9.025 et 9.975 mg/mL. On peut conclure NC

La solution 2 est conforme si la concentration est comprise entre 6.175 et 6.825 mg/L. La solution 2 n'est donc pas conforme.