

Colle n°2

Chimie Analytique

Enoncé

- Lors de la mise au point d'un dosage de la sérotonine (S) par HPLC à polarité de phases inversée, on étudie sa séparation avec un étalon interne : la n-méthyl-sérotonine (NMS). On choisit pour cela une phase mobile binaire : eau/acétonitrile. Des essais préliminaires ont montré l'existence de relations linéaires entre le log du facteur de rétention k de chaque composé et le % d'acétonitrile (X) de la phase mobile :
- Pour S : $\log k = (-6,075 \cdot 10^{-3}) X + 1,3283$
- Pour NMS : $\log k_{\text{NMS}} = (-0,0107) X + 1,5235$

1) Calculer les facteurs de rétention de S et NMS respectivement pour X égal à 30 et 70% d'acétonitrile. Quel est l'ordre d'éluion des composés dans les 2 conditions ?

- 8 points/ 1,5 points par bonne réponse avec les arrondis et 2 points pour les ordres d'éluion.

% X	k_S	k_{NMS}
30	14	16
70	8	6

- Ordres d'éluion inversés (on ne vous demandait pas pourquoi)

2) Calculer, toujours pour les 2 phases mobiles étudiées, les sélectivités α

- 8 points : 2 pour la formule; 3 par A.N correcte
- Connaître la définition : $\alpha = k_B/k_A$ avec $k_B > k_A$
- $\alpha_{30} = 16/14 \approx 1,14$
- $\alpha_{70} = 8/6 \approx 1,33$
- Commentaire (non demandé):
 - 70% de CH_3CN : élution plus rapide et en plus meilleure séparation !
 - Barème super cool !

On suppose que l'efficacité de la colonne chromatographique reste inchangée en fonction du % d'acétonitrile de la phase mobile.

3) Calculer alors, le rapport des résolutions ($R = R_{s_{70\%}}/R_{s_{30\%}}$) entre les deux composés pour ces deux phases mobiles. En déduire la phase mobile optimum pour la meilleure séparation entre S et NMS.

8 points : 4 points pour la relation, 3 points pour l'AN, 1 point choix phase mobile

- Ici, du fait de l'énoncé, utiliser la relation
– $R_S = f(\alpha, k, N)$ et non $R_S: 2(t_{RB} - t_{RA}) / (\omega_B + \omega_A)$
- Soit la relation (à connaître !):
– $R_S = 1/4 [(\alpha - 1)\alpha / (k_B / (1 + k_B)) \sqrt{N}]$
- D'où, si N Cst:
– $R = (R_{S70} / R_{S30}) = [(\alpha - 1)\alpha / (k_B / (1 + k_B))]_{70} / [(\alpha - 1)\alpha / (k_B / (1 + k_B))]_{30} \approx 1,9$
- Donc phase mobile à choisir : **70% CH₃CN**, car résolution à 70% près de deux fois celle à 30%

4) Calculer quel % d'acétonitrile conduirait, *a contrario*, à une co-élution de S et NMS.

- 8points : 4 points pour la définition de la co-élution/ 2 points pour la relation/ 2 points pour AN correcte
- Co-élution $\rightarrow k_S = k_{NMS}$ donc $\log k_S = \log k_{NMS}$
- $(-0,0107)X + 1,53235 = (-6,075)X + 1,3283$
- $X = 42,2 \%$
- Commentaire (non demandé) :
 - % d'acétonitrile surtout à éviter !

5) Dans le cas d'une co-élution entre le produit à doser et son étalon interne comme indiqué en question 4, en imaginant qu'on ne puisse changer ce % d'acétonitrile ainsi que de colonne, quelle stratégie très simple doit-on envisager pour réaliser le dosage de S ?

- **8 points pour l'une ou l'autre des réponses:**
 - Rechercher un nouvel étalon interne
 - Ne pas utiliser d'étalon interne (!)
 - Faire des ajouts dosés
- **Commentaire:**
 - Question de réflexion sans calcul (toujours possible dans un exercice)

Commentaires sur l'exercice

- Un exercice de Chromatographie sur la séparation
- Connaître son cours pour réussir l'exo !
- Très peu de calculs
- Et comme toujours:
 - Barème fonction du jury