

La séparation chromatographique de quatre composés stupéfiants retrouvés dans la salive A, B, C et D a été obtenue sur une colonne de silice greffée C18 à une température de 23°C. La phase mobile chromatographique (débit de 1 mL.min⁻¹) est composée d'un mélange d'eau et d'acétonitrile 65/35 (v/v). La longueur de la colonne est de 15 cm et la pression en tête de colonne est de 93.10⁵ Pa. Le temps mort est de 58 secondes.

Nom du composé	Temps de rétention tr (min)	Largeur à mi-hauteur $\omega_{0,5}$ (sec)
A	3,76	18
B	4,48	21
C	5,56	22
D	6,48	24

Question 1

Définir la paire critique correspondant à la paire de composés la moins bien séparée ?

Préciser les composés pour lesquels la séparation est satisfaisante ?

Question 2

Toutes choses étant égales par ailleurs, quelle serait la longueur de la colonne pour obtenir une résolution satisfaisante pour l'ensemble des composés ?

Question 3

Les colonnes de cette gamme sont disponibles avec des tailles multiples de 5 cm (de 10 à 50 cm), quelle colonne allez-vous sélectionner pour avoir une résolution satisfaisante et un temps d'analyse minimal ? Quelle sera alors la perte de charge de cette nouvelle colonne ?

Les composés A, B, C et D sont des substances stupéfiantes recherchés dans la salive d'un patient admis aux urgences avec des troubles de la vigilance.

A 1 mL de salive est ajouté 1 mL d'une solution aqueuse de pH = 1,0. On réalise une double extraction par 5 mL de dichlorométhane. Le rendement de cette extraction est de 92% pour le composé A, 87% pour le composé B, 98% pour le composé C et 85% pour le composé D. Les deux extraits sont réunis, évaporés à sec et repris par 0,5 mL de phase mobile. On injecte 10 µL dans le système chromatographique. On obtient 2 pics à 4,48 min (surface du pic = 64 708 U) et 6,48 min (surface du pic = 20 671 U) avec la colonne de 15 cm.

L'injection sans extraction de 10 µL de chacun des composés à la concentration de 10 mg.L⁻¹ donne respectivement des surfaces de pic suivantes :

- Pic à 3,76 min – surface de pic = 82 818 U
- Pic à 4,48 min – surface de pic = 86 227 U
- Pic à 5,56 min – surface de pic = 72 436 U
- Pic à 6,48 min – surface de pic = 68 902 U

Question 4

Calculer les concentrations des composés présents dans l'extrait du patient

Question 5

En déduire les concentrations salivaires des composés présents dans la salive du patient.

Proposition de réponse

Question 1

$$R_s = 1,18(T_{r2} - T_{r1}) / (\omega_{0,5,1} + \omega_{0,5,2})$$

$$R_{sA,B} = 1,31$$

$$R_{sB,C} = 1,78$$

$$R_{sC,D} = 1,41$$

Paire critique A-B, seuls B et C sont correctement séparés ($R_s > 1,5$)

Question 2

Paire critique A-B

$$R_{S,A,B}, x \text{ cm} = 1,5$$

HEPT= cste

$$R_{S,x \text{ cm}}/R_{S,15 \text{ cm}} = \text{racine}(N_x/N_{15})$$

$$N = 5,54(T_r/w0,5)^2$$

$$N_A = 870,2 \text{ plateaux}$$

$$N_B = 907,7 \text{ plateaux}$$

$$N_{15 \text{ cm}} = (N_1 + N_2)/2 = 889 \text{ plateaux}$$

$$N_x = 1166 \text{ plateaux}$$

HEPT= cste

$$L_x = L_{15} * N_x / N_{15} = 19,7 \text{ cm}$$

Question 3

Colonne de 20cm

Loi de Darcy : ΔP proportionnel à la longueur de la colonne

$$\Delta P = 124 \cdot 10^5 \text{ Pa}$$

Question 4

On considère la réponse proportionnelle à la concentration

$$C_{B, \text{ext}} = 7,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$C_{D, \text{ext}} = 3,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

Question 5

$$C_{B, \text{salive}} = 7,5 \times 1/2 \times (1/0,87) = 4,3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$C_{D, \text{salive}} = 3,0 \times 1/2 \times (1/0,85) = 1,8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$