

Colle 2

Chimie analytique

HPLC et dosage avec étalon interne

Enoncé

On souhaite doser la codéine (PA) dans un sirop antitussif de 100 mL et de concentration théorique de 125 mg/100mL.

Un étalon interne (EI), la phénylbutazone, est ajouté avant extraction. L'extraction liquide/liquide à pH = 9,5 est réalisée à l'aide de chloroforme.

On ajoute 1,00 mL de la solution d'EI à 4,00 mg/mL à 5,00 mL de sirop (ou 5 mL de la solution étalon de codéine). On réalise une extraction simple de cette solution par 10,0 mL de chloroforme. La solution est ensuite diluée au 1/100^{ème} dans du méthanol et 10 µL de la solution sont injectés en HPLC.

Une analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC) permet d'obtenir les données suivantes :
Paramètres chromatographiques (extrait d'un chromatogramme standard) :

Composé	Temps de rétention (t_R , en min)	Largeur à mi-hauteur ($w^{1/2}$, en min)
Codéine (PA)	5,20	0,40
EI	4,62	0,38

Enoncé

Échantillon sirop analysé

- Sirop de codéine : 5 mL
- EI : 1 mL à 4,00 mg/mL
- Aire PA (codéine) = 8872,5
- Aire EI = 10500

Solution étalon de codéine

- Solution de codéine : 5 mL à 1,20 mg/mL
- EI : 1 mL à 4,00 mg/mL
- Aire PA (codéine) = 7742
- Aire EI = 9800

Question 1

Calculer la résolution (R_s) entre le pic de codéine et celui de l'EI. Conclure sur la qualité de la séparation entre les deux pics chromatographiques.

Composé	Temps de rétention (t_R , en min)	Largeur à mi-hauteur ($w_{1/2}$, en min)
Codéine (PA)	5,20	0,40
EI	4,62	0,38

$$R_s = 1,18(t_{R2} - t_{R1}) / (w_{1/2,1} + w_{1/2,2}) \quad R_s = 1,18(5,20 - 4,62) / (0,38 + 0,40)$$

4 pts

$$R_s = 0,88$$

3 pts

Résolution : 0,88

$R_s < 1.3$ résolution non satisfaisante, pics mal séparés

3 pts

Total 10 pts

Question 2

Calculer le rapport aire(PA) / aire(EI) pour l'échantillon et pour l'étalon

Rapport des aires PA/EI

Échantillon sirop :

$$A_{PA}/A_{EI} = 8872,5/10500 = 0,845$$

3 pts

Solution étalon de codéine :

$$A_{PA}/A_{EI} = 7742/9800 = 0,790$$

3 pts

Total 6 points

Question 3

En supposant une réponse relative constante, déterminer la concentration en codéine (mg/mL) dans le sirop.

Hypothèse : réponse relative constante = proportionnalité

2 pts

- $[PA]_{\text{échantillon}} / [PA]_{\text{étalon}} = (A_{PA}/A_{EI})_{\text{échantillon}} / (A_{PA}/A_{EI})_{\text{étalon}}$
- $[PA]_{\text{échantillon}} = ([PA]_{\text{étalon}} * (A_{PA}/A_{EI})_{\text{échantillon}}) / (A_{PA}/A_{EI})_{\text{étalon}}$
- $[PA]_{\text{échantillon}} = 1,20 * 0,845 / 0,790 = 1,284 \text{ mg/mL}$

4 pts

4 pts

Total 10 pts

Question 4

Calculer la quantité de codéine (en mg) contenue dans les 5,00 mL de sirop.

Quantité de codéine dans les 5,00 mL de sirop

$$1,284 \times 5 = 6,42 \text{ mg/5mL}$$

4 pts

Question 5

Exprimer la teneur en codéine dans le sirop en mg/100 mL.

Teneur en codéine dans le sirop (mg/100 mL)

$$\text{Teneur} = 1,284 \times 100 = 128,4 \text{ mg/100 mL}$$

4 pts

Question 6

La teneur théorique du sirop est de 125 mg/100mL. Conclure à la conformité du sirop à +/- 5%

125 mg/100 mL +/- 5%

soit $[125 \times 0,95 - 125 \times 1,05] = [119 - 131 \text{ mg/100mL}]$

3 pts

128,4 mg/100 mL = Conforme

3 pts

Total 6 pts