

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 2 (40 points)

Partie A**Enoncé**

(Les deux parties sont indépendantes)

Deux acides (HA_1) et (HA_2) ont été séparés par chromatographie d'échange d'ions sur une colonne dont la longueur est égale à 15 cm.

Pour chacun des composés, les temps de rétention (t_r) et les largeurs des pics ω , extrapolés par les tangentes aux points d'inflexion, sont les suivants :

$$HA_1 : t_r = 5 \text{ min et } \omega = 0,3 \text{ min}$$

$$HA_2 : t_r = 6 \text{ min et } \omega = 0,4 \text{ min}$$

Questions**QUESTION N° 1 :**

Calculer pour le composé le plus retenu :

- le nombre de plateaux théoriques de la colonne
- la HEPT (Hauteur Equivalente d'un Plateau Théorique).

Préciser dans quelle(s) condition(s) ces calculs peuvent être réalisés.

Proposition de réponse

Condition de validité des formules : le pic est supposé gaussien.

Pour HA_2 :

$$N = 16 \times \left(\frac{6}{0,4} \right)^2 = 3600$$

$$HEPT = \frac{150}{3600} = 0,042 \text{ mm}$$

QUESTION N° 2 :

Quel paramètre permet d'évaluer la séparation entre les 2 composés HA_1 et HA_2 ?

Calculer et interpréter la valeur de ce paramètre.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 2 (40 points)****Proposition de réponse**

La séparation s'évalue par la valeur de la résolution.

Si les pics sont supposés gaussiens et d'égale importance, la résolution R est égale à :

$$R = \frac{2(6-5)}{0,3+0,4} = 2,86$$

Les deux composés sont bien séparés ($R > 1,5$)

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 2 (40 points)

Les deux parties A et B sont indépendantes

Partie B

Enoncé

(Les deux parties sont indépendantes)

On dose l'acide salicylique (métabolite de l'acide acétylsalicylique) par HPLC dans un plasma de patient ayant ingéré de l'aspirine.

A 1 mL de plasma, on ajoute 1 mL d'une solution d'acide para-hydroxybenzoïque (étalon interne) à 100 mg.L⁻¹

On extrait deux fois avec 10 mL de dichlorométhane en milieu acide.

On concentre les deux extraits réunis à 1 mL et on injecte 100 µL dans le chromatographe.

On obtient sur l'enregistrement :

- surface du pic de l'acide salicylique : 32 300 unités arbitraires (UA)

- surface du pic de l'étalon interne : 7 000 UA

L'injection sans extraction de 100 µL des solutions d'acide salicylique à 1000 mg.L⁻¹ et d'acide para-hydroxybenzoïque à 100 mg.L⁻¹ donne respectivement des surfaces de pics de 80 500 UA et 7400 UA.

Questions

QUESTION N° 1 :

Quel est le rendement d'extraction de l'acide para-hydroxybenzoïque ?

Proposition de réponse

Dans 100 µL de l'extrait plasmatique injecté en HPLC, on a :

X µg d'acide salicylique	<----->	32 300 UA
10 µg d'étalon interne	<----->	7 000 UA

Dans 100 µL des solutions étalons, on a :

100 µg d'acide salicylique	<----->	80 500 UA
10 µg d'étalon interne	<----->	7 400 UA

$$\text{Soit } \frac{7000 \times 100}{7400} = 94,6 \%$$

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 2 (40 points)

QUESTION N° 2 :

En supposant que l'acide para-hydroxybenzoïque et l'acide salicylique présentent le même rendement d'extraction, quelle est la concentration plasmatique en acide salicylique, en mg.L^{-1} ?

Proposition de réponse

Concentration en acide salicylique en mg.L^{-1} dans le plasma :

Acide salicylique (ac.Sal) et acide p.Hydroxybenzoïque (Ac.pHB) présentant le même rendement d'extraction, les rapports des aires des deux pics sont les mêmes avec et sans extraction.

La concentration en ac.pHB étant la même dans la solution Etalon et dans le plasma, le rapport des aires (ac.Sal)/(ac.pHB) est proportionnel à la concentration en acide salicylique.

La concentration plasmatique en acide salicylique s'obtient en calculant :

1) le rapport des réponses ac.Sal/Ac.pHB pour l'étalon à 1000 mg.L^{-1} : il est de $80\,500/7\,400 = 10,878$

2) le rapport des réponses ac.Sal/Ac.pHB pour l'échantillon de plasma à $X \text{ mg.L}^{-1}$:

il est de $32\,300/7\,000 = 4,614$

La concentration plasmatique en acide salicylique est de :

$$\frac{4,614 \times 1000}{10,878} = 424,2 \text{ mg.L}^{-1}$$

QUESTION N° 3 :

Calculer le coefficient de partage lambda (λ) de l'acide parahydroxybenzoïque entre le plasma et le dichlorométhane.

Proposition de réponse

Pour l'extraction double, le rendement R_2 :

$$R_2 = 1 - \frac{1}{\left(1 + \lambda \frac{V_B}{V_A}\right)^2}$$

avec λ : coefficient de partage

V_B : volume de dichlorométhane

V_A : volume de plasma + volume d'El

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 2 (40 points)

$$\frac{V_B}{V_A} = \frac{10}{2} = 5$$

Soit, R2 :

$$= 1 - \frac{1}{(1 + 5\lambda)^2}$$

$$= 0,9459$$

$$\text{d'où } (1 + 5\lambda)^2 = \frac{1}{0,0541} = 18,48$$

$$(1 + 5\lambda) = \sqrt{18,48} = 4,30$$

$$\lambda = 0,66$$

QUESTION N° 4 :

Quel est le rendement d'extraction de l'acide para-hydroxybenzoïque si on extrait le plasma par trois fois 10 mL de dichlorométhane ?

Proposition de réponse

Pour l'extraction triple, le rendement R_3 :

$$R_3 = 1 - \frac{1}{\left(1 + \lambda \frac{V_B}{V_A}\right)^3} = 1 - \frac{1}{(1 + 3,3)^3}$$

$$= 0,9874$$