

## *TD chromatographie*

### Exercice 1

Calculer le facteur de sélectivité entre 2 composés 1 et 2 dont les volumes de rétention sont respectivement égaux à 6 et 7 mL. Le volume mort de la colonne utilisée est de 1 mL. Montrer que ce facteur est égal au rapport des coefficients de distribution  $K_2/K_1$  de ces composés ( $t_{R(1)} < t_{R(2)}$ ).

### Exercice 2

Une entreprise chimique effectue la fabrication d'un produit B et le suivi de fabrication est assuré par analyse chromatographique.

1. L'analyse d'un échantillon prélevé sur la chaîne de production donne les résultats suivants :

Composés	tr (min)	$\omega$ (min)
A	4.2	0.41
B	5.2	0.56

Conditions d'analyses : colonne : C18, Eluant : méthanol/eau : 70/30, détecteur

UV :  $\lambda = 254$  nm, colonne : L = 5 cm, temps mort : 0.9 min.

- a. Calculer le facteur de rétention k pour les composés A et B
- b. Calculer l'efficacité et l'HEPT de la colonne (utiliser les données du composé B)
- c. Calculer la résolution entre les pics A et B.

2. Une seconde analyse effectuée dans les mêmes conditions fait apparaître un pic C ( $t_r = 5.6$  min et  $w = 0.43$  min) signalant la présence d'une impureté.

- a. Les produits B et C sont-ils séparés ?

### Exercice 3

Au cours de la séparation d'un mélange d'hydrocarbures, les temps de rétention mesurés sont :

Propane : 2.23 min

Isobutane : 5.71 min

Butane : 6.67 min

Quel est l'indice de Kovats pour chaque composé ( $I_X = 100(n + \frac{\log t'_{R(X)} - \log t'_{R(n)}}{\log t'_{R(n+1)} - \log t'_{R(n)}})$ )

### Exercice 4

On détermine les temps de rétention ( $t_r$ ) au cours d'une chromatographie sur Sephadex, des protéines suivantes dont on connaît la masse moléculaire (MM) (Le débit de la colonne est de 5 ml / min) :

	MM	$t_r$ (min)
Aldolase	145000	10,4
Lactate déshydrogénase	135000	11,4
Phosphatase alcaline	80000	18,4
Ovalbumine	45000	26,2
Lactoglobuline	37100	28,6

**1** - Calculer les volumes d'élution ( $V_e$ ) correspondants. Porter le log de MM en fonction de  $V_e$  - Que remarquez-vous ?

**2** - Pour la glucokinase,  $t_r = 21$  min. Déterminer sa masse moléculaire à l'aide du graphique précédent.