

IC

Exercice n°1

On considère les séries d'ions suivantes:

- a) Cl^- , I^- , F^- , Br^-
- b) La^{3+} , Na^+ , Ca^{2+} , Th^{4+}
- c) Na^+ , K^+ , Li^+ , Cs^+ , Rb^+
- d) Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Be^{2+} , Sr^{2+}

Proposer un système de chromatographie ionique pour séparer les différentes séries (phase stationnaire et mobile).

a) résine échangeuse d'anions : résine cationique (sel d'ammonium)

b, c, d) résine échangeuse de cations : résine anionique (sulfonates, carboxylates...)

Prédire l'ordre d'élution des ions pour chaque système proposé.

Sur des résines ne présentant pas de propriété chélatante : $-\text{SO}_3^-$ et $-\text{NR}_3^+$:

- a) F^- , Cl^- , Br^- , I^- : numéro atomique croissant***
- b) Na^+ , Ca^{2+} , La^{3+} , Th^{4+} : charge croissante***
- c) Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ : numéro atomique croissant***
- d) Be^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} : numéro atomique croissant***

Exercice n°2

La carboxyméthylcellulose (CM-cellulose) est un support pour colonne échangeuse de cations. Elle est obtenue en substituant la cellulose par des groupements carboxyméthyles ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$).

Quelle est la proportion des groupements carboxyméthyles chargés négativement aux pH suivants: 1 - 4,76 - 7 - 9 (on considérera que le pK_a du groupement COOH des carboxyméthyles est 4,76) ?

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{[-COO^-]}{[-COOH]}\right) \Rightarrow \frac{[-COO^-]}{[-COOH]} = 10^{(pH-pK_a)}$$

$$pH = 1 \Rightarrow \frac{[-COO^-]}{[-COOH]} = 10^{(1-4,76)} = 1,74 \times 10^{-4}$$

On a aussi que $[-COO^-] + [-COOH] = 100\%$ alors par substitution on aura :

$$\begin{aligned} [-COO^-] &= 1,74 \times 10^{-4} [-COOH] \Rightarrow 1,74 \times 10^{-4} [-COOH] + [-COOH] = 100\% \\ [-COOH] &= 99,98\% \text{ et } [-COO^-] = 0,02\% \end{aligned}$$

$$pH = 4,76 \Rightarrow \frac{[-COO^-]}{[-COOH]} = 10^{(4,76-4,76)} = 1$$

$$\begin{aligned} [-COO^-] &= [-COOH] \Rightarrow [-COOH] + [-COOH] = 100\% \\ [-COOH] &= 50\% \text{ et } [-COO^-] = 50\% \end{aligned}$$

$$pH = 7 \Rightarrow \frac{[-COO^-]}{[-COOH]} = 10^{(7-4,76)} = 173,78$$

$$\begin{aligned} [-COO^-] &= 173,78 [-COOH] \Rightarrow 173,78 [-COOH] + [-COOH] = 100\% \\ [-COOH] &= 0,57\% \text{ et } [-COO^-] = 99,43\% \end{aligned}$$

$$pH = 9 \Rightarrow \frac{[-COO^-]}{[-COOH]} = 10^{(9-4,76)} = 17378$$

$$\begin{aligned} [-COO^-] &= 17378 [-COOH] \Rightarrow 17378 [-COOH] + [-COOH] = 100\% \\ [-COOH] &= 0,0058\% \text{ et } [-COO^-] = 99,9942\% \end{aligned}$$

Parmi les protéines suivantes: ovalbumine ($pH_i = 4,6$), cytochrome c ($pH_i = 10,65$) et lysozyme ($pH_i = 11$), quelles sont celles qui sont retenues par la CM-cellulose à pH 7 ? (on considérera que les interactions protéine / CM-cellulose sont uniquement d'ordre électrostatiques).

Si $pH < pI$, alors la protéine est chargée positivement et si $pH > pI$, elle l'est négativement. On a donc à $pH = 7$: ovalbumine (-), cytochrome c (+), lysozyme (+) et résine (-). De ce fait, le cytochrome c et le lysozyme sont retenus sur la résine.

Exercice n°3

Pour séparer un mélange de protéines, on utilise une colonne comportant une phase à base de cellulose carboxyméthylée. Le diamètre interne de la colonne est de 0,75 cm et sa longueur 20 cm. Le pH de la phase mobile est ajusté à 4,8. Le débit de la phase mobile est réglé à $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Le volume mort est de 3 mL. On note qu'il apparaît trois pics correspondant aux volumes d'élution suivants: 12, 18 et 34 mL.

S'agit-il d'une phase anionique ou, au contraire cationique ?

Il s'agit d'une résine échangeuse de cations, c'est-à dire une résine anionique faible.

Pourquoi en augmentant le pH de la phase mobile, modifie-t-on notablement les temps de rétention de ces trois composés ? Prédire si ces temps vont être augmentés ou diminués.

A $pH = 4,8$, en milieu acide, tous les groupes $-\text{COOH}$ de la résine ne sont pas sous la forme $-\text{COO}^-$. En augmentant le pH de la phase mobile, on augmente la charge de la résine. A pH basique, les protéines sont chargées aussi négativement, ce qui défavorise leurs interactions avec la phase stationnaire. Les temps de rétentions sont donc diminués.

Exercice n°4

On s'intéresse à la qualité de l'eau entrant dans une station d'épuration. On réalise une chromatographie ionique avec les conditions suivantes:

Sample: Municipal wastewater

Column : 6.1006.430 Metrosep A Supp 4

Eluent: 1,8 mmol/L Na_2CO_3 / 1,7 mmol/L NaHCO_3 + 2% acetone

Détection: Conductivity after chemical suppression approx. $13\ \mu\text{S}/\text{cm}$

Flow: 1,0 mL/min

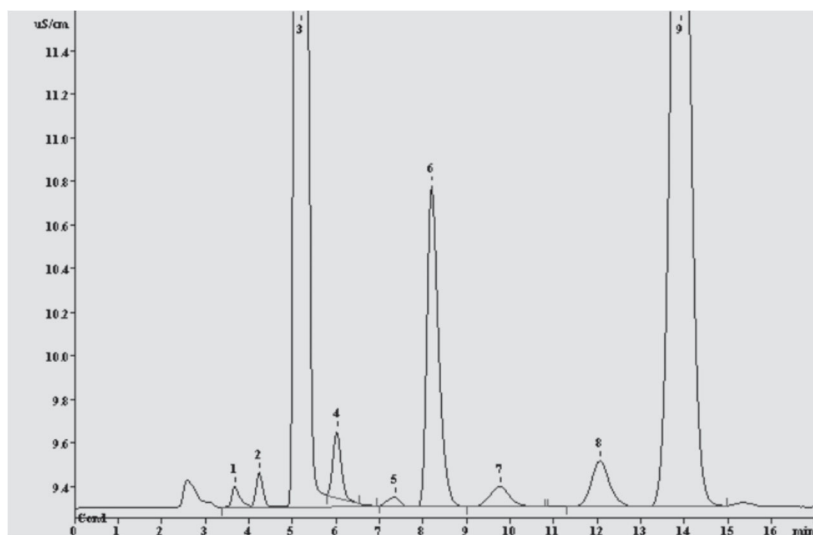
Pressure: 5,5 MPa

Analysis time: 20 min

Loop: 20 μL

Suppressor Regenerant: 50 mmol/L H_2SO_4 , ultrapure water

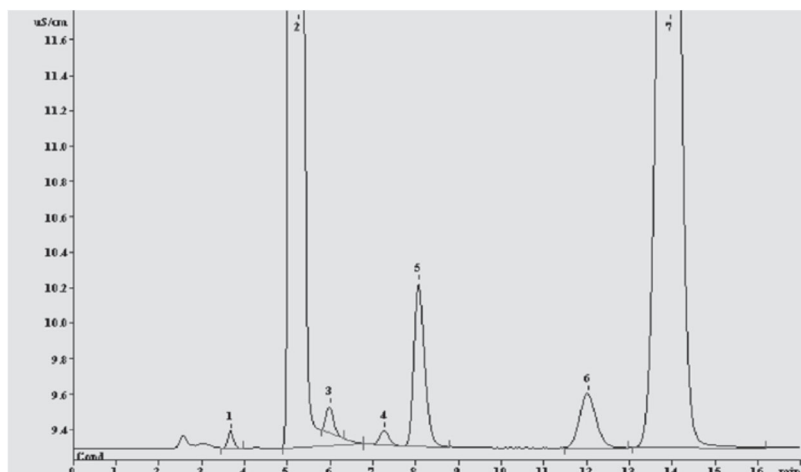
Le chromatogramme obtenu est le suivant:



Les données sont les suivantes:

N° du pic	Temps de rétention brut (min)	Surface du pic ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{s}$)
1	3,68	1,77
2	4,25	3,24
3	5,20	1880,47
4	6,03	0,89
5	7,35	2,16
6	8,23	40,97
7	9,78	5,25
8	12,05	7,01
9	13,90	492,44

Pour analyser les pics, on procède à l'analyse d'un mélange standard dans les mêmes conditions chromatographiques:



N° du pic	Substance	Temps de rétention brut (min)	Surface du pic ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{s}$)	Concentration ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	F^-	3,68	0,9	0,08
2	Cl^-	5,24	1354,2	150,97
3	NO_2^-	5,99	1,8	0,49
4	Br^-	7,26	1,2	0,49
5	NO_3^-	8,07	15,9	4,95
6	PO_4^{3-}	12,01	8,3	4,99
7	SO_4^{2-}	13,94	249,8	50,30

A quel type de colonne a-t-on à faire ?

Il s'agit d'une colonne échangeuse d'anions, c'est-à dire une colonne cationique.

Identifier les composés contenus dans l'eau entrant de la station d'épuration.

D'après la comparaison entre les pics obtenus et les standards, on peut raisonnablement penser que l'on a : $\text{F}^- < \text{Cl}^- < \text{NO}_2^- < \text{Br}^- < \text{NO}_3^- < \text{PO}_4^{3-} < \text{SO}_4^{2-}$

L'ordre d'élution est-il celui attendu ?

L'élution suit la masse molaire sauf pour Br^- ($80 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) et NO_3^- ($62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Br^- devrait se situer après NO_3^- et avant PO_4^{3-} . Le nombre d'atomes d'oxygène porté par NO_3^- lui confère une plus grande affinité que Br^- pour la colonne et donc un temps de rétention plus grand.

Le phosphate trivalent est élué avant le sulfate divalent. Il y a une inversion en ce qui concerne l'élution par charge croissante mais l'élution observée respecte la masse molaire croissante pour ces deux ions, PO_4^{3-} ($95 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) puis SO_4^{2-} ($96 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Cette inversion

provient du fait qu'au pH de la phase mobile, on est en présence de l'anion HPO_4^{2-} et non PO_4^{3-} comme escompté. Les pK_a de l'éluant sont : $pK_a(\text{CO}_2 / \text{HCO}_3^-) = 6,33$ et $pK_a(\text{HCO}_3^- / \text{CO}_3^{2-}) = 10,33$. Le pH de l'éluant sera alors :

$$pH = pK_{a(\text{HCO}_3^- / \text{CO}_3^{2-})} + \log\left(\frac{[\text{CO}_3^{2-}]}{[\text{HCO}_3^-]}\right) = 10,33 + \log\left(\frac{1,8}{1,7}\right) = 10,35$$

Attendu que le couple $\text{HPO}_4^{2-} / \text{PO}_4^{3-}$ possède un pK_a de 12,42 alors le rapport $[\text{PO}_4^{3-} / \text{HPO}_4^{2-}]$ vaut :

$$pH = pK_{a(\text{HPO}_4^{2-} / \text{PO}_4^{3-})} + \log\left(\frac{[\text{PO}_4^{3-}]}{[\text{HPO}_4^{2-}]}\right) \Rightarrow \log\left(\frac{[\text{PO}_4^{3-}]}{[\text{HPO}_4^{2-}]}\right) = pH - pK_{a(\text{HPO}_4^{2-} / \text{PO}_4^{3-})}$$

$$\frac{[\text{PO}_4^{3-}]}{[\text{HPO}_4^{2-}]} = 10^{\left(pH - pK_{a(\text{HPO}_4^{2-} / \text{PO}_4^{3-})}\right)} = 10^{(10,35 - 12,42)} \approx 0,0085$$

On a donc : $[\text{HPO}_4^{2-}] = 118 [\text{PO}_4^{3-}]$, sur le chromatogramme l'ion analysé est HPO_4^{2-} et non PO_4^{3-} , ce qui explique l'ordre d'élution observé.

Exercice n°5

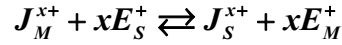
On réalise une séparation par chromatographie ionique à $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ sur une colonne IonPacCS11 2-mm pour séparer Na^+ , K^+ , Li^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} et Sr^{2+}

Choisir la nature chimique de la colonne et de l'éluant utilisés pour cette séparation :

- La colonne utilisée est une résine anionique et l'éluant est un acide dilué ☒
- La colonne utilisée est une résine cationique et l'éluant est un acide dilué ☐
- La colonne utilisée est une résine anionique et l'éluant est une base diluée ☐
- La colonne utilisée est une résine cationique et l'éluant est une base diluée ☐

En équilibrant la colonne avec l'éluant, ce dernier s'adsorbe sur la phase stationnaire. Au cours de la chromatographie, on considère alors l'échange entre l'éluant adsorbé sur la phase stationnaire E_S^+ et un soluté J_M^{x+} en phase mobile.

Ecrire la réaction d'échange ionique qui se produit entre E_S^+ et J_M^{x+} . Etablir la constante d'échange $K_{E^+}^{J^{x+}}$ associée à cet équilibre.



$$K_{E^+}^{J^{x+}} = \frac{[J^{x+}]_S ([E^+]_M)^x}{[J^{x+}]_M ([E^+]_S)^x}$$

Exprimer la constante de distribution $K_{D(J^{x+})}$ en fonction de $K_{E^+}^{J^{x+}}$.

$$K_{E^+}^{J^{x+}} = \frac{[J^{x+}]_S ([E^+]_M)^x}{[J^{x+}]_M ([E^+]_S)^x} = \frac{[J^{x+}]_S}{[J^{x+}]_M} \left(\frac{[E^+]_M}{[E^+]_S} \right)^x = K_{D(J^{x+})} \left(\frac{[E^+]_M}{[E^+]_S} \right)^x$$

$$K_{D(J^{x+})} = K_{E^+}^{J^{x+}} \left(\frac{[E^+]_S}{[E^+]_M} \right)^x$$

Démontrer la relation suivante :

$$k'_{(J^{x+})} = \left(K_{E^+}^{J^{x+}} \right) \left(\frac{C_D}{[E^+]_M} \right)^x \Phi_{SM}$$

Par définition, on a :

$$k'_{(J^{x+})} = K_{D(J^{x+})} \Phi_{SM}$$

$$k'_{(J^{x+})} = K_{E^+}^{J^{x+}} \left(\frac{[E^+]_S}{[E^+]_M} \right)^x \Phi_{SM}$$

En estimant la concentration de l'éluant monovalent adsorbé sur la phase stationnaire par la capacité disponible de cette dernière alors : $[E^+]_s = C_D$. On obtient finalement :

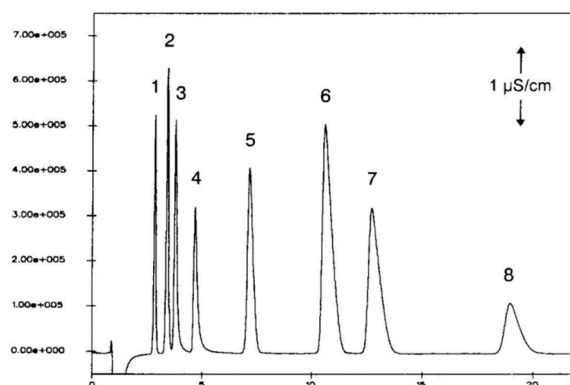
$$k'_{(J^{x+})} = K_{E^+}^{J^{x+}} \left(\frac{C_D}{[E^+]_M} \right)^x \Phi_{SM}$$

Répondre aux affirmations suivantes :

- | | Vrai | Faux |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ▪ $t_{R(J^{x+})}$ diminue lorsque $K_{E^+}^{J^{x+}}$ augmente. | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ▪ Pour une concentration en ion éluant donnée, l'augmentation de la charge x du soluté J^{x+} diminue $t_{R(J^{x+})}$. | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ▪ Pour chromatographier plus rapidement, on peut augmenter la concentration de l'ion éluant E^+ . | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ▪ Comme la réaction d'échange est exothermique, l'augmentation de la température de la colonne augmente $k'_{(J^{x+})}$. | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ▪ On peut diminuer C_D pour chromatographier plus vite. | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

La séparation de Na^+ , K^+ , Li^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} et Sr^{2+} a été obtenue en mode isocratique avec HCl comme éluant.

Cation	$K_{H^+}^{M^{z+}}$	Cation	$K_{H^+}^{M^{z+}}$
H ⁺	1	Mg ²⁺	2.23
Li ⁺	0.76	Ca ²⁺	3.14
Na ⁺	1.2	Sr ²⁺	3.56
NH ₄ ⁺	1.44	Ba ²⁺	5.66
K ⁺	1.72	Co ²⁺	2.45
Rb ⁺	1.86	Ni ²⁺	2.61
Cs ⁺	2.02	Cu ²⁺	2.49



Déterminer l'ordre d'élution (t_R croissants).

- $Li^+, NH_4^+, Na^+, Mg^{2+}, K^+, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}$ ☐
- $Li^+, Na^+, NH_4^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}$ ☒
- $Li^+, Na^+, NH_4^+, Mg^{2+}, K^+, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}$ ☐
- $Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Li^+, Na^+, K^+, NH_4^+$ ☐

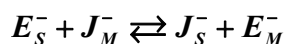
Exercice n°6

On se propose de séparer un mélange d'anions : BrO_3^- , Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} sur une colonne IonPac AS4A-SC à $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

Choisissez la nature chimique de la colonne et de l'éluant utilisés pour cette séparation :

- La colonne utilisée est une résine anionique et l'éluant est un acide dilué ☐
- La colonne utilisée est une résine cationique et l'éluant est un acide dilué ☐
- La colonne utilisée est une résine anionique et l'éluant est une base diluée ☐
- La colonne utilisée est une résine cationique et l'éluant est une base diluée ☒

Ecrire l'équilibre chimique d'échange entre le soluté en solution J_M^- et l'éluant adsorbé sur la phase stationnaire E_S^- . Ecrire la constante d'échange $K_{E^-}^{J^-}$ associée à cet équilibre.



$$K_{E^-}^{J^-} = \frac{[J^-]_S [E^-]_M}{[J^-]_M [E^-]_S}$$

L'influence de la constante d'échange K_{E-}^{J-} sur le temps de rétention brut est :

- Une grande constante d'échange K_{E-}^{J-} ($\gg 10^2$) correspond à un $t_{R(J-)}$ faible ☐
- Une petite constante d'échange K_{E-}^{J-} ($\ll 10^2$) correspond à un $t_{R(J-)}$ faible ☒

Le facteur de rétention d'un anion J^{x-} en fonction de la nature de l'éluant E^{y-} s'écrit :

$$\log(k'_{(J^{x-})}) = \frac{1}{y} \log(K_{E^{y-}}^{J^{x-}}) + \frac{x}{y} \log\left(\frac{C_D}{y}\right) - \frac{x}{y} \log([E^{y-}]_M) + \log(\Phi_{SM})$$

A partir de cette équation, répondez aux affirmations suivantes :

- | | Vrai | Faux |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ▪ Pour diminuer k' , on doit augmenter la charge y de l'éluant E^{y-} | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ▪ Si on augmente la capacité disponible C_D de la résine on diminue $t_{R(J^{x-})}$ | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ▪ L'augmentation de la charge x du soluté J^{x-} diminue $t_{R(J^{x-})}$ | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ▪ Comme la réaction d'échange est exothermique, l'augmentation de la température de la colonne augmente k' | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ▪ On peut diminuer la concentration de l'ion éluant E^{y-} pour diminuer $t_{R(J^{x-})}$ | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |

Les constantes d'échange mesurées pour notre système sont les suivantes :

Anion	Cl^-	Br^-	BrO_3^-	NO_3^-	SO_4^{2-}
K_{E-}^{J-}	0,98	2,53	0,82	2,85	16,18

Déterminer l'ordre d'élution (t_R croissants) à partir de ces constantes d'échange :

