

TRAVAUX PRATIQUES

Chromatographie ionique

Léonard AYKAN
Carla DE VITO
Léa ENGLER

Première année du master Sciences Analytiques pour les Bio-Industries

Enseignants
Maurice MILLET
Christophe MARCIC

Année : 2023 - 2024

But du TP :

Le but de ce TP est de quantifier l'acide citrique et l'acide ascorbique présents dans des comprimés vitaminés en utilisant la chromatographie ionique. Deux types de comprimés, effervescents et non-effervescents, seront analysés pour cette étude. Cette analyse permettra d'une part de se familiariser avec les principes théoriques de la chromatographie ionique, une technique analytique utilisée pour séparer et quantifier les ions dans une solution, et d'autre part de comprendre les différences de composition entre les deux types de comprimés.

I. Matériels et méthode :

Pour ce TP, nous n'utilisons pas une chromatographie ionique classique mais plus précisément une chromatographie ionique avec une colonne d'exclusion ionique qui a un principe un peu différent. En effet, comparé à la chromatographie ionique de base, on laisse les ions passer dans le temps mort et ne cherchons pas à optimiser la séparation des ions, toutes les molécules ioniques restent dans la phase mobile et sortent au temps mort.

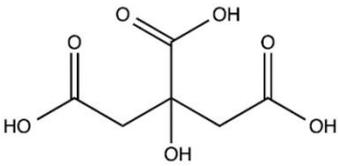
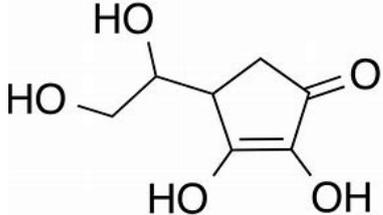
Notre résine de phase stationnaire composée d'une colonne chromatographique Metrosep Organic acid comprenant des groupements sulfates (SO_3^{2-}). Il s'agit donc d'une colonne échangeuse de cations à base de polymères. Celle-ci est recouverte par une couche de liquide qui rend la phase neutre. Dans notre cas, une couche d'ions H^+ se met à la surface de la résine grâce à la présence de l'acide fort H_2SO_4 qui se dissocie en ions H^+ . La séparation des composés se fait donc en fonction de leur pka. La concentration de H_2SO_4 étant de 0.5mmol, le pH de la phase mobile est de 3.3. Nos composés ont un pka de soit 3.13 pour l'acide citrique soit 4.2 pour l'acide ascorbique. L'acide citrique est donc présent sous la forme protonée et déprotonée étant donné que son pka est proche de 3.3. Concernant l'acide ascorbique, ce dernier est principalement présent sous forme acide (protoné). Plus le pka de nos molécules acides sont petits, plus les molécules sortent vites car elles auront moins d'interactions avec la phase stationnaire.

Après la séparation de notre échantillon dans la colonne qui comprend quelques ions, un suppresseur chimique est utilisé afin de supprimer les ions de la phase mobile donc principalement les ions H^+ dans notre cas. Afin de détecter nos ions, on utilise un détecteur conductimétrique.

Caractéristique de la chromatographie ionique :

- Le système d'injection à boucle composé d'une vanne Rhéodyne à 6 voies avec une boucle d'injection de 20 μL .
- La colonne chromatographique utilisée (Metrosep Organic Acids - 250/7.8) possède une phase stationnaire contenant des groupes sulfates (SO_3^{2-})
- Une pompe
- une phase mobile constitué d ' H_2SO_4 et 15% acétone à 0.5mmol/L filtrée à 0,45 μm pour éliminer les particules qui pourraient obstruer la colonne
- débit de 0.5ml/min
- suppresseur conductimétrique
- détecteur conductimétrique

Voici les composés à analyser :

Nom de la molécule	Acide citrique	Acide ascorbique
Formule semi-développé de la molécule	<p style="text-align: center;">-</p>  <p style="text-align: center;">-</p>	<p style="text-align: center;">-</p>  <p style="text-align: center;">-</p>
Masse molaire (g/mol)	192,12	176,12
PKa1	3,1	4,2

II. Résultats et discussions :

Afin de doser les acides présents dans les différents comprimés, nous avons effectué une gamme d'étalonnage pour chaque composé. Avant cela, nous avons effectué un blanc afin de s'assurer que notre analyse ne sera pas contaminée. Nous supposons que l'acide citrique aura un temps de rétention inférieur à celui de l'acide ascorbique étant donné que l'acide citrique a un pka plus bas que l'acide ascorbique.

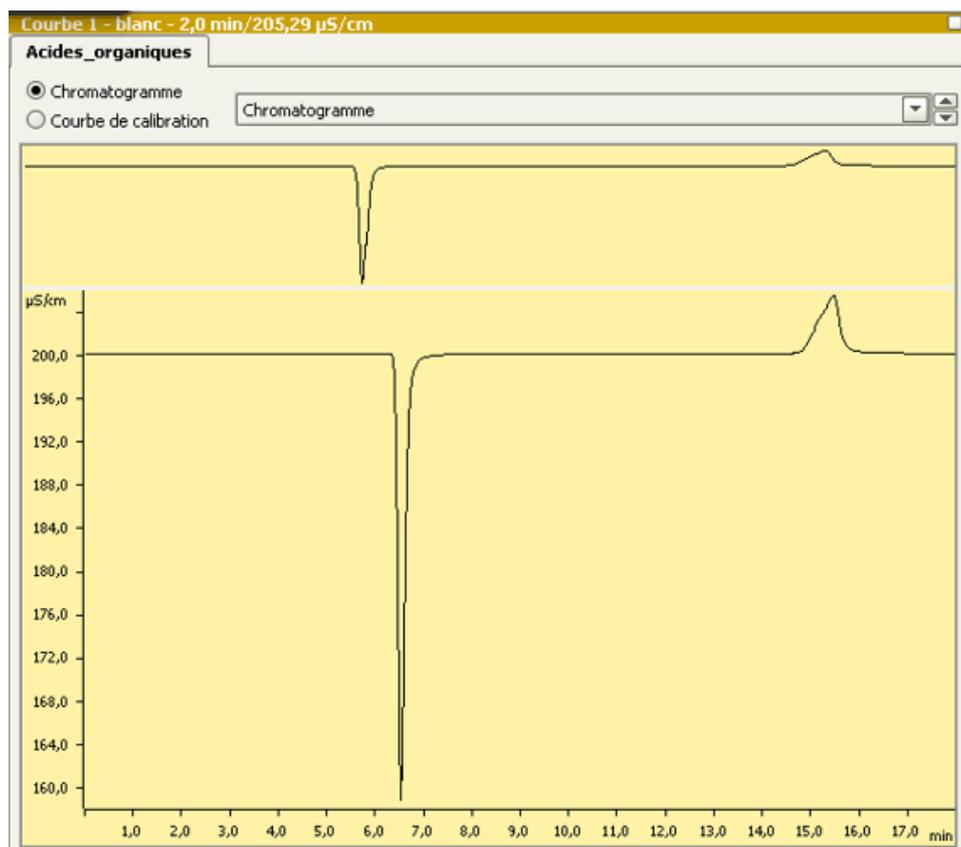


Figure 1: Chromatogramme du blanc

Le premier pic négatif correspond au volume mort et le second pic vers 15.4min correspond à la réaction du CO_2 avec l'eau qui donne l'ion HCO_3^- .

Pour réaliser notre gamme d'étalonnage, nous avons fait 5 points de gamme supplémentaire avec une concentration allant de 0 à 2 g/L.

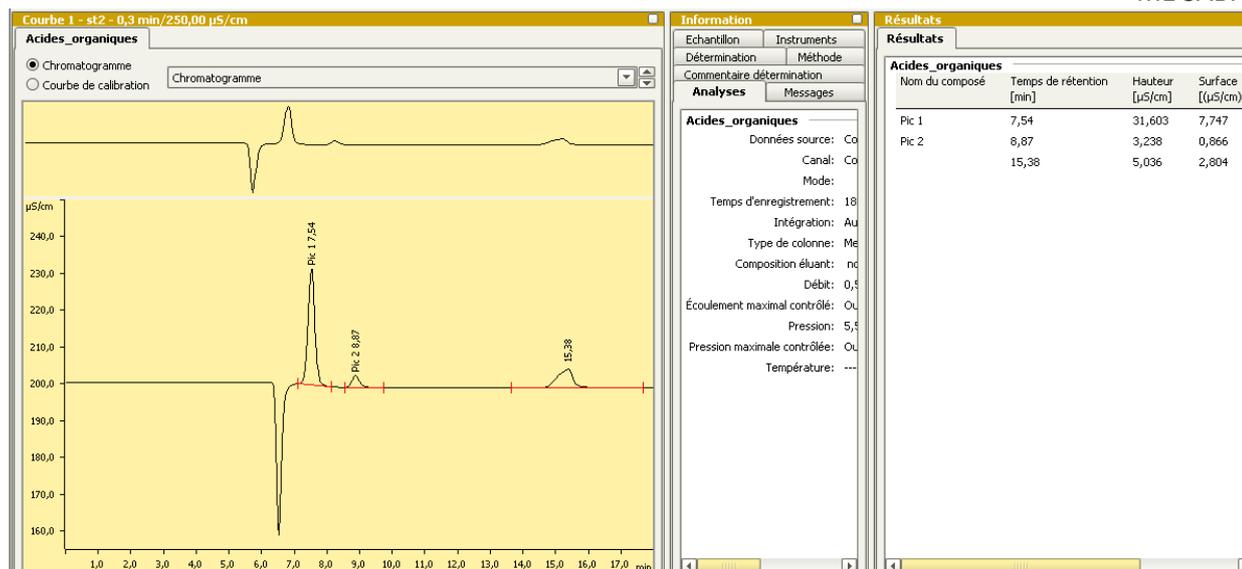


Figure 2: Chromatogramme point gamme 2

Résultats obtenus après passage de la gamme d'étalonnage :

concentration en g/l	aire acide citrique μs/cm	aire acide ascorbique μs/cm
0	0	0
0,25	3,194	0,326
0,5	7,747	0,866
1	10,689	1,198
1,5	15,312	1,803
2	19,675	2,387

Tableau 1: Résultats de la gamme étalon

Droites d'étalonnages des différents acides :

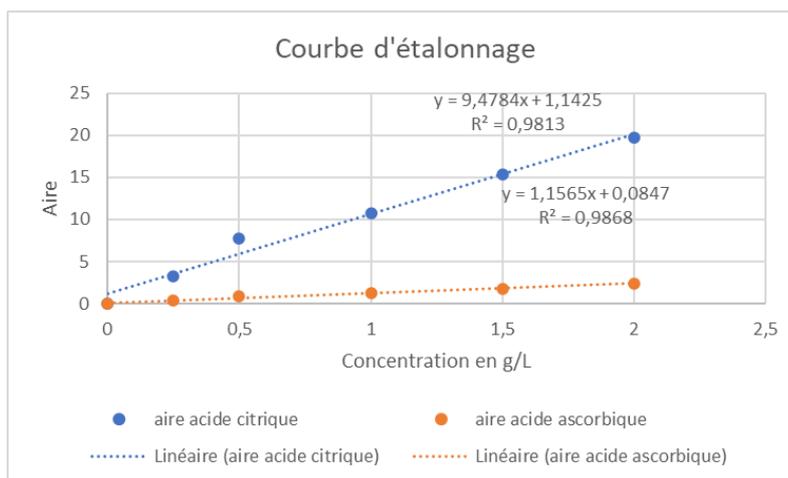


Figure 3: Courbe d'étalonnage

Nous avons ensuite injecté l'acide ascorbique seul afin de définir le temps de rétention des deux acides. L'acide ascorbique a un temps de rétention de 8.89min tandis que l'acide citrique a un temps de rétention de 7.51min. L'acide citrique sort donc en premier ce qui est en accord avec notre théorie.

Nous obtenons une droite d'étalonnage avec un coefficient de corrélation supérieur à 0.98 ce qui est bien mais pas optimal, nous aurions pu effectuer deux autres mesures afin d'avoir une meilleure répétabilité.

Nous avons ensuite injecté nos comprimés (effervescent et non effervescent) préalablement dilués dans 1L d'eau 1000mg du composé effervescent et dans 500ml d'eau, 500mg du composé non effervescent afin de déterminer leur concentration en acide citrique et ascorbique. On s'attend donc à avoir une concentration de 1g/L pour chaque acide de chaque composé.

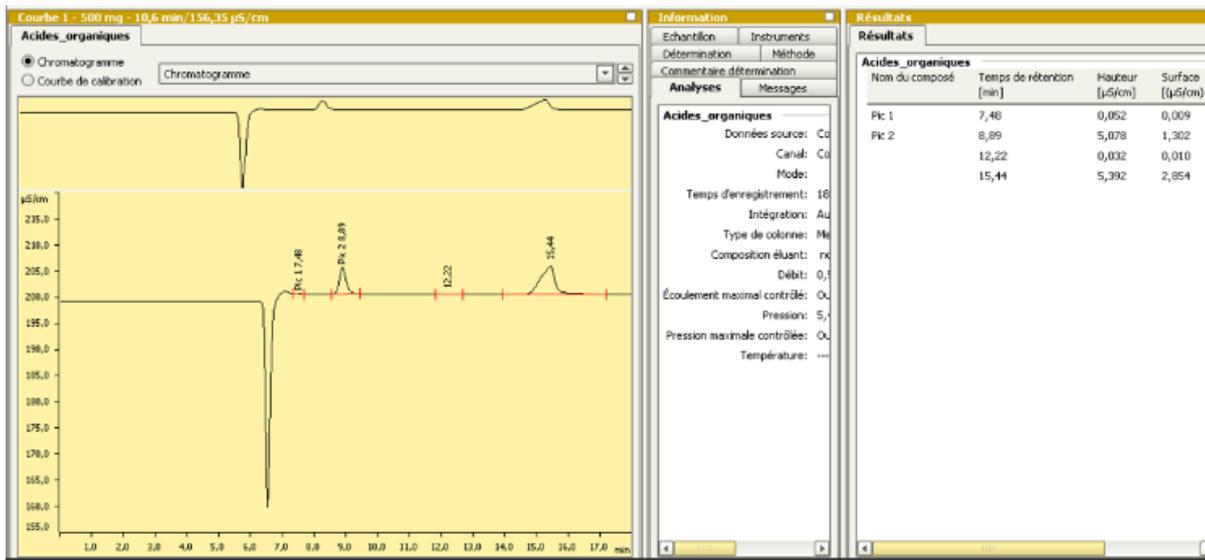


Figure 4: Chromatogramme comprimé 500mg à croquer

Pour le comprimé non-effervescent de 500mg, nous remarquons qu'il n'y a pas la présence d'acide citrique et une concentration d'acide ascorbique de 1.053 ± 0.03 g/L.

Incertitudes :

- fiole de 10ml ± 0.04 ml

- Concentration comprimée $\pm 0,03$ g/l

$$\Delta C = Cx \sqrt{\left(\frac{\Delta x_1}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{\Delta x_2}{x_2}\right)^2 + \dots} = Cx * \sqrt{\left(\frac{0.04}{10}\right)^2 + \left(\frac{0.03}{1}\right)^2} * 1$$

$$\Delta C = 0.03 \text{g/l}$$

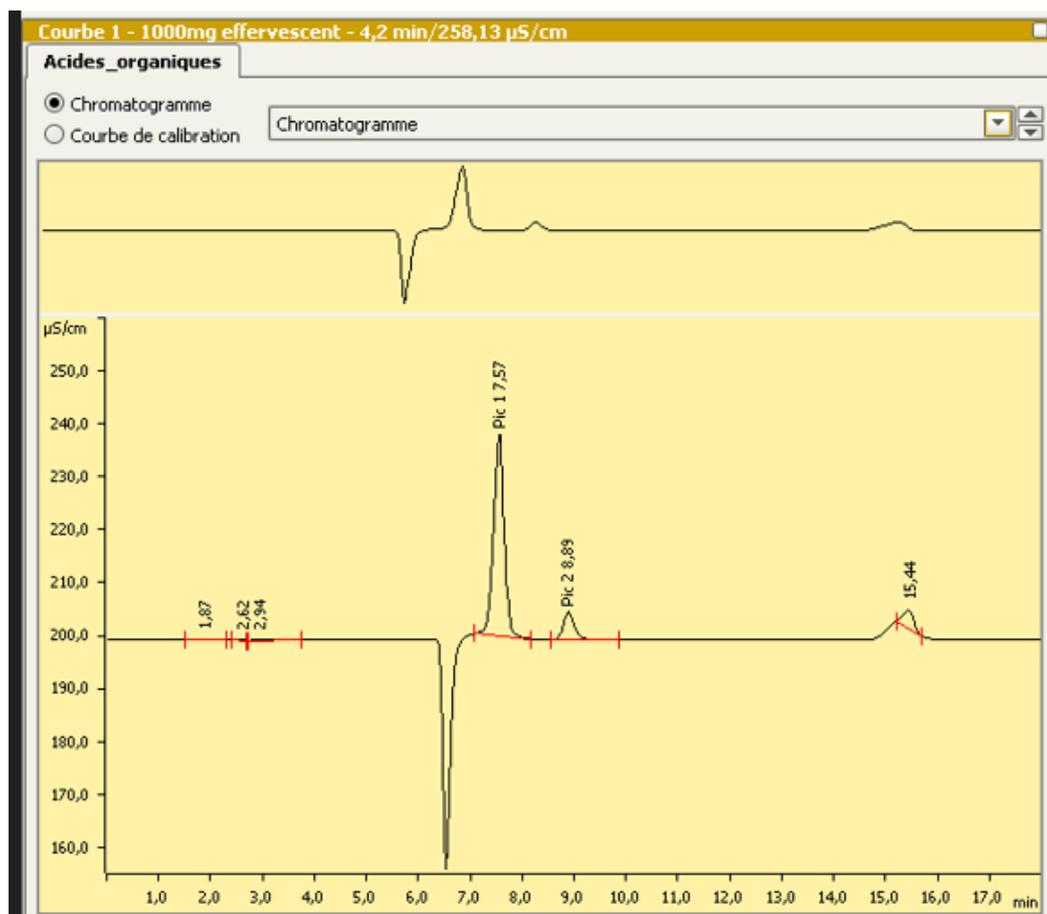


Figure 5: Chromatogramme 1000mg effervescent

Pour le composé effervescent de 1000mg, nous obtenons une concentration de $1.056 \pm 0.03 \mu\text{g/L}$ pour l'acide ascorbique et une concentration de $0.82 \pm 0.03 \text{g/L}$ d'acide citrique.

La différence de concentration peut provenir de notre gamme d'étalonnage qui pourrait être améliorée.

Nos deux comprimés sont donc conformes à leurs indications de 500mg et 1000mg de vitamine C.

On remarque que le composé à croquer ne comporte pas d'acide citrique. Cela est dû au fait que les comprimés effervescents contiennent souvent des agents effervescents comme l'acide citrique. Lorsqu'ils sont dissous dans l'eau, ces agents réagissent et libèrent du dioxyde de carbone, ce qui provoque l'effervescence. Nous n'avons donc pas besoin d'acide citrique dans le composé à croquer.

III. Conclusion :

Ce TP nous a permis de nous familiariser avec la chromatographie ionique et plus précisément celle à exclusion ionique. Nous avons pu comprendre la différence chimique entre un médicament effervescent et un médicament à croquer tous les deux utilisés comme comprimé vitaminé. L'acide ascorbique (vitamine C) est donc présent dans les deux contrairement à l'acide citrique qui sert d'agent effervescent.