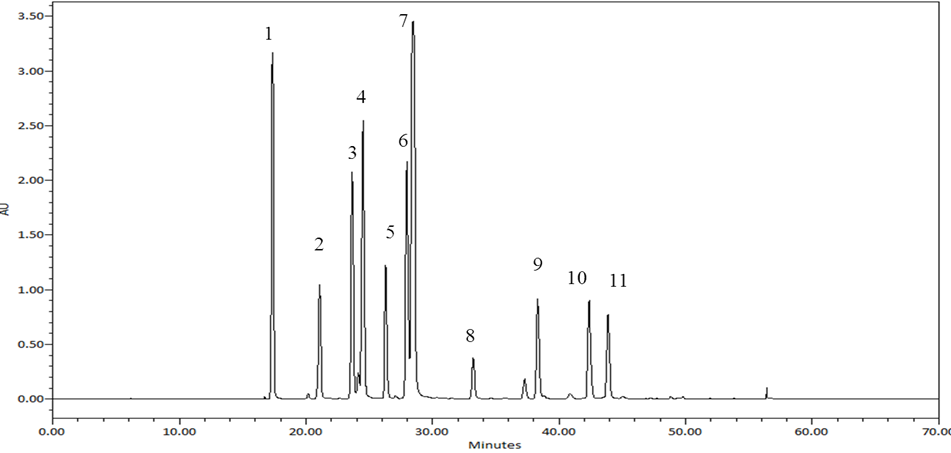
**TD sur l' HPLC:**

Afin d'investir dans le domaine pharmaceutique, une extraction a été réalisée par l'acétate d'éthyle et le butanol-1 sur une plante médicinale reconnu par ses effets antioxydantes, suivi par une séparation des molécules bioactives par HPLC dont :

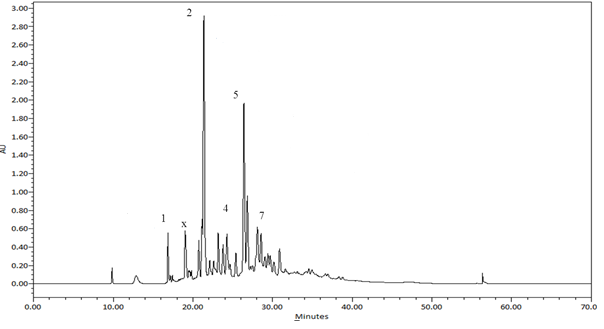
* Un système solvant à gradient a été réalisé par l'acide formique et l'acétonitrile.
* L’échantillon est dissout dans le méthanol grade HPLC, puis filtré à travers un filtre millipore 0.22.
* Le volume d’injection est de 20µl.
* Le détecteur a été programmé à un intervalle de longueur d'onde entre 280-325 nm permet de déceler une longueur d’onde optimale pour les acides phénoliques et les flavonoïdes.

Soit le chromatogramme des standars suivant:



**Figure 1.** Profil du chromatogramme du mélange des étalons entre 280-325 nm. 1: acide gallique, 2: acide protocatechique, 3: acide caféique, 4: acide syringique, 5: Rutine, 6: a.vanillique, 7 : acide p-coumarique, 8 : a.hydroxybenzoique , 9 : Quercetine 10: TBHQ: hydroquinone butylique tertiaire, 11: Kaempherol.

Les chromatogrammes enregistrés des deux extraits ACT et BUT sont fournis par les profils 2 et 3:



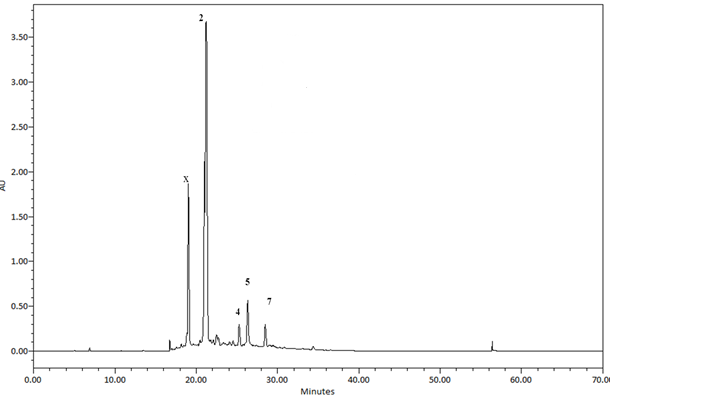
**Figure 2.** Chromatogramme obtenu entre 280-325 nm de la fraction ACT des feuilles de *Lycium halimifolium* Mill

Le système numérique de l'appareil a affiché le tableau suivant :

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Pic | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Tr | 9.85 | 12.86 | 17.34 | 19.02 | 20.44 | 21.03 | 22.59 | 23.17 | 23.77 | 24.49 |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| 25.39 | 26.31 | 26.83 | 28.09 | 28.47 | 29.41 | 29.70 | 30.17 | 31.60 | 32.24 | 32.73 |

Et le profil de l'extrait BUT ci-dessous:



**Figure** 3. chromatogramme obtenu entre 280-325 nm de la fraction BUT des feuilles de *Lycium halimifolium* Mill.

Le système numérique de l'appareil a affiché le tableau suivant :

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Pic | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Tr | 16.73 | 17.54 | 18.16 | 19.03 | 21.09 | 21.75 | 22.10 | 22.49 | 22.72 | 23.33 |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| 24.12 | 24.52 | 24.50 | 26.02 | 26.32 | 28.49 | 28.97 | 29.43 | 30.08 | 34.36 | 56.39 |

Sachant que le système numérique de l'appareil a affiché les données des standards suivants :

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Pic** | **TR (min)** | **Nom du composé** | **Structure chimique** |
| **1** | 17.36 | a. Gallique | https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0d/Gallic_acid.svg/1200px-Gallic_acid.svg.png |
| **2** | 21.08 | a. Protocatechique | https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3d/Protocatechus%C3%A4ure.svg/146px-Protocatechus%C3%A4ure.svg.png |
| **3** | 23.65 | a.Caféique | Acide caféique |
| **4** | 24.49 | a.Syringique | Acide syringique |
| **5** | 26.30 | Rutine | Résultat de recherche d'images pour "structure de Rutine" |
| **6** | 27.95 | a.Vanillique | https://www.carlroth.com/medias/sys_master/product_images_fr/product_images_fr/h4e/h04/10639627419678.jpg |
| **7** | 28.46 | a.ρ Coumarique | https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a2/Coumaric_acid_acsv.svg/1200px-Coumaric_acid_acsv.svg.png |
| **8** | 33.21 | a.Hydroxybenzoique | https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d0/4-Hydroxybenzoic_acid.svg/1200px-4-Hydroxybenzoic_acid.svg.png |
| **9** | 38.31 | Quercetine | Résultat de recherche d'images pour "structure de Quercetine" |
| **10** | 42.37 | TBHQ | Résultat de recherche d'images pour "structure de TBHQ" |
| **11** | 43.87 | Kaempherol | Résultat de recherche d'images pour "structure de Kaempferol" |

Questions:

1. Citez les éléments composants l'appareillage de l' HPLC ?
2. Expliquer l'intérêt d'une phase fixe de faible granulométrie ?
3. Donner une définition de l'extraction ?
4. Qu'est-ce qu'un un système solvant à gradient ?
5. Qu'est-ce qu'une molécule bioactive ?
6. Pourquoi utilise-t-on les filtres millipores ?
7. Quels sont les risques provoqués par les produits chimiques utilisés dans l'extraction ?
8. Identifier les pics mentionnés en chiffres de 1-7 dans les deux chromatogrammes ?
9. Comment peut-t-on quantifier un composé repéré par un pic d'étalon ?