

N° d'anonymat

Note Finale sur 20

NOTE sur X

Licence Professionnelle
Industries pharmaceutiques, cosmétiques et de santé

Option Analyses physicochimiques

Année universitaire 2018/2019
Première session

UE N° 6

Matière : **Électrophorèse Capillaire**
Durée de l'épreuve 0,5 heures

Documents autorisés : non
Calculatrice autorisée : oui

Epreuve corrigée notée sur 20 points
Correcteur : Lionel GODIN

Ce cahier comporte 7 pages celle-ci comprise

Instructions générales

- Ne pas dégrafer ou déchirer ce fascicule
- Soyez très clair si vous faites un renvoi pour terminer une question.
- Respecter les modalités de réponses proposées
- Toute fraude ou tentative de fraude fera l'objet de poursuites disciplinaires (décret n° 92-657 du 13 juillet 1992)

1ère PARTIE : THÉORIE (6 points)

1^{ère} question

(1 point)

Donner une définition de l'électrophorèse et préciser sur quel type de particules (atome, ion ou molécule) elle peut s'appliquer.

Réponse du candidat :

L'électrophorèse est une méthode de séparation d'espèces chargées qui s'effectue sous l'action d'un champ électrique. La méthode s'applique aussi bien aux ions simples qu'aux macromolécules chargées

2^{ème} question

(1 point)

Citer les deux phénomènes électrocinétiques à la base de l'électrophorèse capillaire.

Réponse du candidat :

On y trouve le phénomène d'électro-osmose, et le phénomène électrophorétique.

3^{ème} question

(2 points)

Définir les deux phénomènes précédents.

Réponse du candidat :

Le phénomène électrophorétique représente le mouvement d'espèces chargées sous l'influence d'un champ électrique au sein d'un électrolyte stationnaire, c'est-à-dire considéré comme immobile.

Le phénomène d'électro-osmose représente le mouvement d'ensemble de la solution par rapport aux parois du capillaire. Dans ce cas-là, toutes les espèces quelles soient chargées ou pas se déplaceront vers une électrode qui est généralement la cathode (si la vecteur champ électrique est dirigé dans le même sens que le mouvement d'ensemble de la solution) ou vers l'anode (dans le cas contraire).

4^{ème} question**(2 points)**

Définir les notions de mobilité apparente μ_{app} , de mobilité électro-osmotique μ_{eo} et de mobilité électrophorétique μ_e . Donner la relation existante entre ces trois mobilités :

Réponse du candidat :

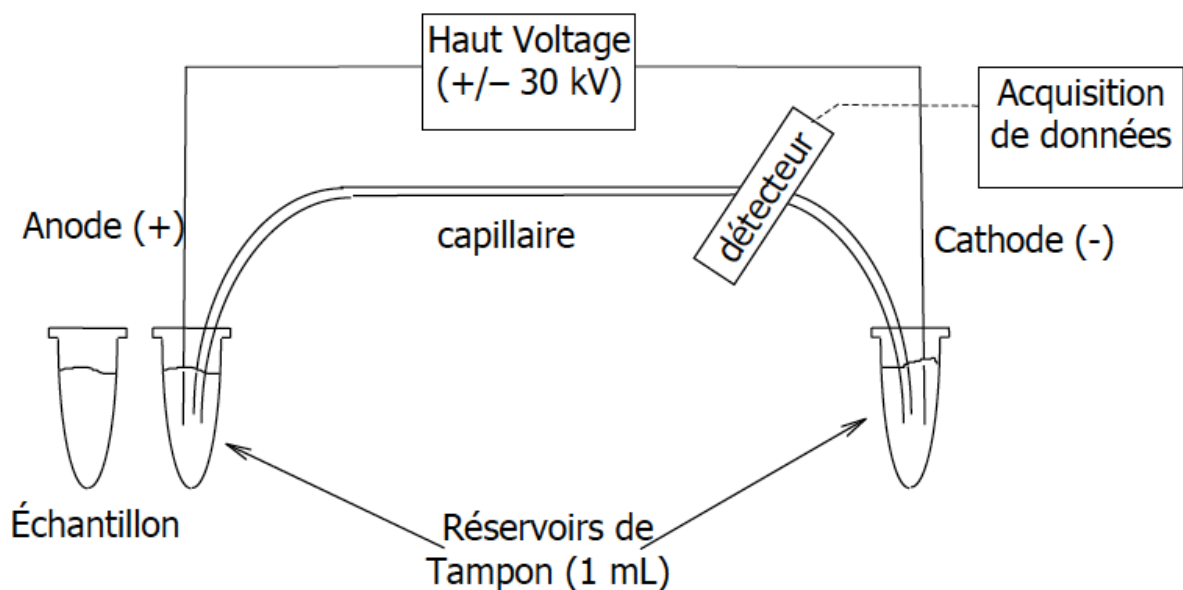
La mobilité électro-osmotique μ_{eo} caractérise le déplacement d'une espèce non chargée, alors que la mobilité électrophorétique μ_e caractérise le déplacement d'une espèce chargée au sein de l'électrolyte.

La mobilité apparente μ_{app} est celle qui est directement accessible par l'expérience, et donc elle correspond à la somme algébrique des deux mobilités citées précédemment :

$$\mu_{app} = \mu_{ep} + \mu_{eo}$$

2^{ème} PARTIE : INSTRUMENTATION & APPLICATION (14 points)**5^{ème} question****(3,5 points)**

Compléter ci-dessous, le dispositif d'électrophorèse capillaire :

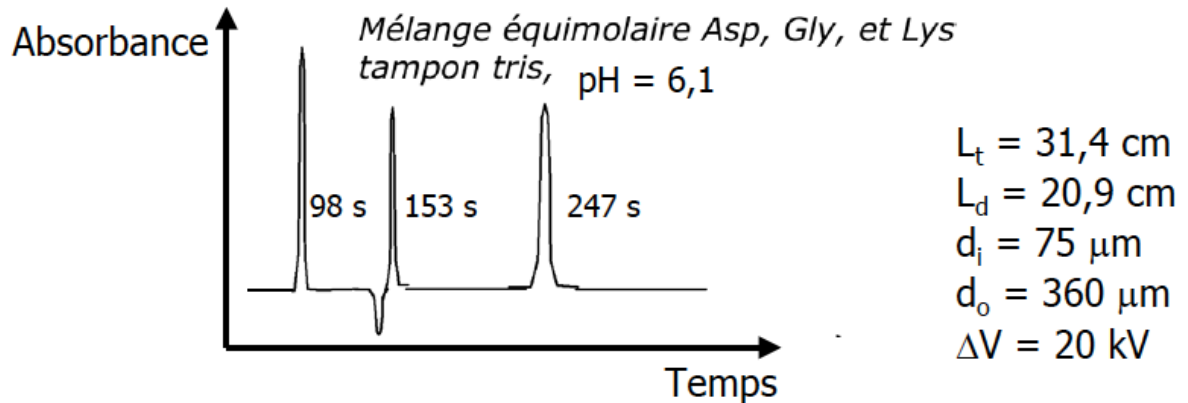


Pour cela, utiliser le vocabulaire indiqué ci-dessous :

- ① échantillon ;
- ② solutions tampons ;
- ③ anode ;
- ④ cathode ;
- ⑤ générateur HT ;
- ⑥ Détecteur ;
- ⑦ Système de traitement des données.

On s'intéresse à la séparation, par électrophorèse capillaire en mode FZCE de 3 acides aminés.

L'électrophorégramme obtenu est le suivant :



6^{ème} question

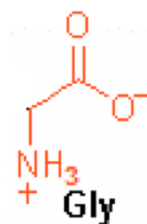
(3 points)

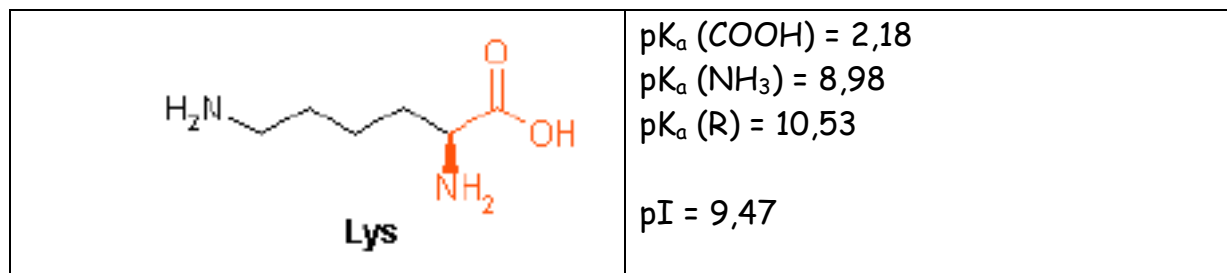
En consultant la table des propriétés physiques des acides aminés (a.a.), on en retire les valeurs qui suivent. En comparant les points isoélectriques pI avec le pH de la solution, déterminer l'état de l'ionisation des différents groupements sur chaque a.a (on demande la formule topologique chargée des 3 a.a)

<p>Gly</p>	<p>$pK_a (\text{COOH}) = 2,35$ $pK_a (\text{NH}_3) = 9,78$</p> <p>$pI = 6,06$</p>
-------------------	---

Réponse du candidat :

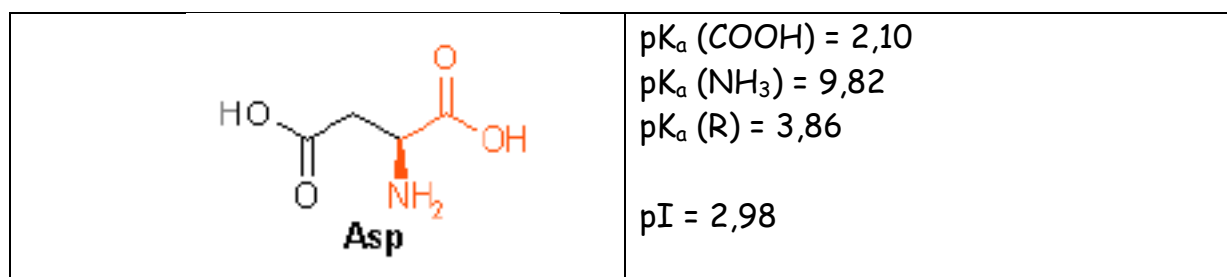
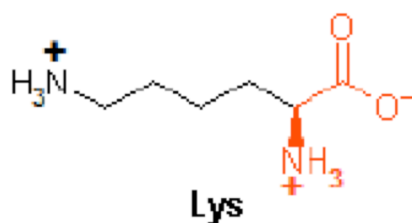
Dans le cas de la glycine, $pH \approx pI$, la glycine se présente alors sous la forme d'un zwitterion :





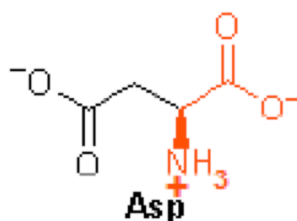
Réponse du candidat :

Dans le cas de la glycine, $pH < pI$, la lysine se présente alors sous la forme d'un cation :



Réponse du candidat :

Dans le cas de la glycine, $pH > pI$, l'aspartate se présente alors sous la forme d'un anion :



7^{ème} question**(2 points)**

Assignez les pics sur l'électrophorégramme aux a.a correspondants.

Réponse du candidat :

En FZCE (Free Zone Capillary Electrophoresis), les cations sont séparés les premiers, puis l'ensemble des espèces neutres avec la même vitesse, et enfin, en dernier, les anions.

Donc le premier pic à 98 s, correspond au pic de la lysine ;

Le second pic à 153 s, correspond à l'espèce neutre, ici, la glycine ;

Le dernier pic à 247 s, correspond donc au cation, ici, l'aspartate.

8^{ème} question**(1,5 points)**

À l'aide de quel pic peut-on déterminer la vitesse du flux électroosmotique ?

Justifier votre réponse.

Déterminer alors la mobilité du flux électroosmotique μ_{eo} .

Pour cela, vous donnerez, d'une part, l'expression littérale de μ_{eo} en fonction de la valeur du champ électrique E et de la vitesse du flux électroosmotique v_{eo} .

D'autre part, vous donnerez l'expression littérale de μ_{eo} en fonction de la ddp ΔV des distances L_d et L_t ainsi que de la durée caractéristique mis par l'espèce neutre pour atteindre le détecteur.

Réponse du candidat :

La vitesse du flux électroosmotique se détermine grâce au pic observé, dans l'électrophorégramme, d'une espèce neutre, espèce neutre qui n'est pas soumise au phénomène électrophorétique.

Dans notre cas, cet espèce est la glycine qui sort au bout d'une durée $t_{eo} = 153$ s.

Par définition, la mobilité μ_{eo} s'écrit :

$$\mu_{eo} = \frac{v_{eo}}{E} = \frac{L_d \cdot L_t}{t_{eo} \cdot \Delta V} = \frac{31,4 \times 20,9 \cdot 10^{-4}}{153 \times 20000} = 2,14 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$$

9^{ème} question**(4 points)**

Déterminer les mobilités apparentes des deux espèces chargées (anioniques et cationiques).

Vous donnerez l'expression littérale de $\mu_{app}(anion)$ ($\mu_{app}(cation)$) en fonction de la ddp ΔV des distances L_d et L_t ainsi que de la durée caractéristique mis par l'anion (cation) pour atteindre le détecteur.

Pour finir, vous en déduirez les mobilités électrophorétiques correspondantes (attention aux signes !).

Réponse du candidat :

Par définition, la mobilité électrophorétique de l'anion $\mu_{app}(Asp)$ s'écrit :

$$\mu_{app}(Asp) = \frac{L_d \cdot L_t}{t_m(Asp) \cdot \Delta V} = \frac{31,4 \times 20,9 \cdot 10^{-4}}{247 \times 20000} = 1,33 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$$

Par définition, la mobilité électrophorétique du cation $\mu_e(Lys)$ s'écrit :

$$\mu_{app}(Lys) = \frac{L_d \cdot L_t}{t_m(Lys) \cdot \Delta V} = \frac{31,4 \times 20,9 \cdot 10^{-4}}{98 \times 20000} = 3,35 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$$

La mobilité apparente de l'anion est donc :

$$\mu_{app}(Asp) = \mu_e(Asp) + \mu_{eo} \Rightarrow \mu_e(Asp) = \mu_{app}(Asp) - \mu_{eo}$$

$$\mu_e(Asp) = (1,33 - 2,14) \cdot 10^{-8} = -0,81 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$$

La mobilité apparente du cation est donc :

$$\mu_{app}(Lys) = \mu_e(Lys) + \mu_{eo} \Rightarrow \mu_e(Lys) = \mu_{app}(Lys) - \mu_{eo}$$

$$\mu_e(Lys) = (3,35 - 2,14) \cdot 10^{-8} = 1,21 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$$