

1^{ère} PARTIE : SPECTROPHOTOMÉTRIE d'ABSORPTION UV-VISIBLE
(10,5 points)

Dosage spectrophotométrique de la caféine.

Nous nous proposons de doser la caféine ($C_8H_{10}N_4O_2$ ou 1,3,7-triméthylxanthine) dans des sodas par spectrophotométrie UV/Visible. Dans ce but, il faut préparer 100 mL d'une solution mère de caféine à $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ dans de l'acide sulfurique à $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ à partir d'une poudre commerciale de caféine. Sa formule topologique est donnée par la figure n° 1 ci-dessous.

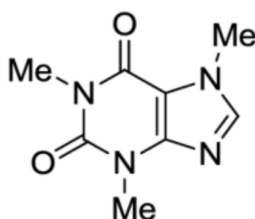


Figure 1: Structure de la caféine.

1^{ère} question

(1 point)

Les caractéristiques de la balance imposant de peser au moins 100 mg de caféine, expliquer comment préparer cette solution avec le matériel et les réactifs utilisés, et ce, de façon économique.

Réponse du candidat :

On pèse précisément 100 mg de caféine dans un sabot de pesée.

On dissout dans une fiole jaugée de 100 mL et on complète avec de l'acide sulfurique à $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$. On obtient donc une solution de 100 mg/100 mL soit 1 g.L^{-1} .

On effectue ensuite une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ en prélevant 10 mL à la pipette jaugée que l'on place dans une fiole de 100 mL que l'on complète jusqu'au trait de jauge à l'aide d'acide sulfurique pour obtenir une solution à $0,1 \text{ g.L}^{-1}$.

2^{ème} question**(3,5 points)**

Ensuite, il faut préparer une gamme d'étalonnage à partir de cette solution mère. La gamme allant de 0 à 0,01 g.L⁻¹ doit comporter 5 points de gamme également répartis dont le blanc. Le volume final des points de gamme sera de 4 mL. Présenter sous forme de tableau le contenu de vos étalons en précisant le matériel et les réactifs utilisés.

Réponse du candidat :

On effectue ensuite une dilution au 1/10^{ème} en prélevant 1 mL à la pipette jaugée que l'on place dans une fiole de 10 mL que l'on complète jusqu'au trait de jauge à l'aide d'acide sulfurique pour obtenir une solution à 0,01 g.L⁻¹.

point de gamme	1	2	3	4	5
V _{solution} (mL)	0	1	2	3	4
V _{solvant} (mL)	4	3	2	1	0
C (mg/L)	0	2,5	5,0	7,5	10,0

Tableau 1 : Elaboration de la gamme

Afin de connaître la longueur d'onde d'absorption maximale de cette substance dans l'UV, nous faisons le spectre d'une solution de caféine.

3^{ème} question**(0,5 point)**

Quel est le contenu de la cuve de blanc ?

Réponse du candidat :

La cuve de blanc est la cuve du tube n° 1 (acide sulfurique à 0,5 mol.L⁻¹).

4^{ème} question**(1 point)**

Quel est le type de cuve utilisé et pourquoi ?

Réponse du candidat :

La cuve est en quartz, car c'est un matériau qui n'absorbe pas dans l'UV.

Le spectre obtenu est représenté par la figure n° 2 ci-après.

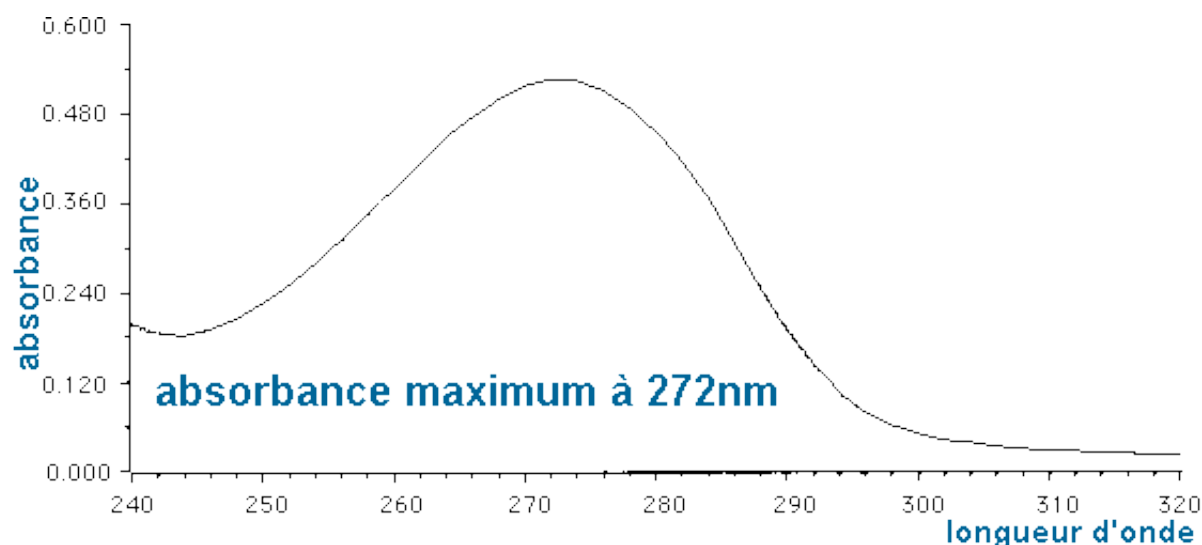


Figure 2 : Spectre de la caféine.

5^{ème} question

(1,5 points)

Déterminer la longueur d'onde de travail en expliquant pourquoi nous travaillons toujours à cette longueur d'onde ?

Réponse du candidat :

La longueur d'onde de travail correspond à la longueur d'onde d'absorption maximale est de 272 nm.

On travaille toujours à cette longueur d'onde pour obtenir un maximum de sensibilité.

D'autre part, à cette longueur d'onde les variations possibles en longueurs d'onde seront minimisées par le fait que nous sommes au maximum du pic, et donc les variations correspondantes en absorbance seront-elles aussi minimisées ce qui induira de faibles écarts à la loi de Beer-Lambert.

Le contenu des canettes est versé dans un bécher et est dégazé par agitation. Puis, il faut prélever 5 mL exactement de la boisson. Une solution d'ammoniaque diluée est ajoutée pour atteindre un pH neutre. Pour éliminer les autres composants des boissons, nous séparons la caféine en nous basant sur sa très forte solubilité dans le chloroforme. La phase chloroforme est amenée à sec par chauffage et le résidu est repris par de l'acide sulfurique à $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$. Ce résidu est transvasé dans une fiole jaugée de 100 mL et nous complétons avec le diluant approprié. Les points de la gamme et les échantillons sont passés à la longueur d'onde d'absorption maximale déterminée précédemment.

Les résultats après les corrections nécessaires sont donnés dans le tableau n° 2 ci-après.

Tube	1	2	3	4	5	Coca	Pepsi
A	0,000	0,118	0,234	0,353	0,470	0,192	0,217

Tableau 2 : Absorbances des étalons et des échantillons

On trace la droite d'étalonnage :

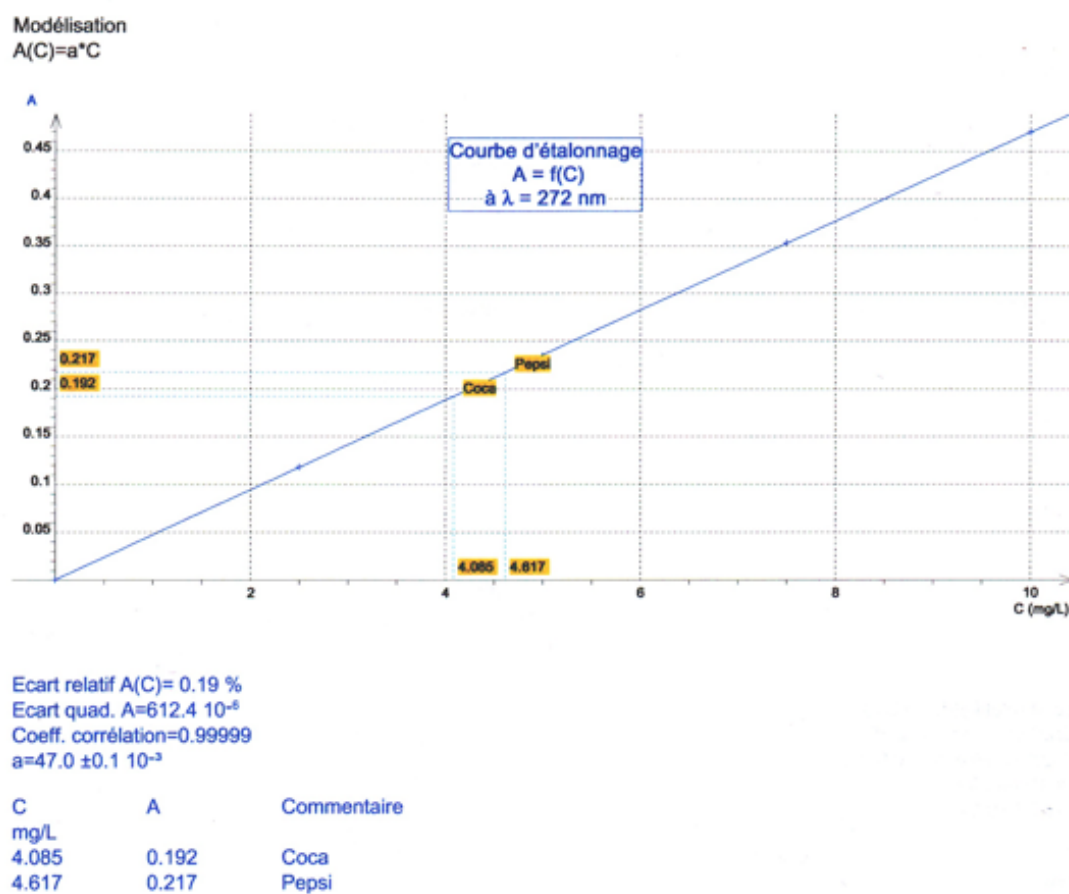


Figure 3 : Droite d'étalonnage pour le dosage de la caféine

6^{ème} question

(1,5 points)

Déterminer les concentrations en caféine dans les sodas.

Réponse du candidat :

$$[\text{caféine}]_{\text{coca}} = 4,085 \times 20 = 82 \text{ mg.L}^{-1}.$$

$$[\text{caféine}]_{\text{pepsi}} = 4,617 \times 20 = 92 \text{ mg.L}^{-1}.$$

7^{ème} question

(1,5 points)

Les sodas sont composés d'un très grand nombre de constituants, tels que l'eau, des sucres (ou édulcorants), des arômes, des colorants, des acidifiants, des conservateurs, des minéraux, ... en plus de la caféine.

Comment pouvons-nous savoir si le dosage précédent est correct ?

Quelle méthode de dosage permettrait de lever le doute ? Expliquer comment cette méthode permet justement de lever ce doute.

Réponse du candidat :

Nous ne pouvons pas savoir si le résultat de dosage obtenu est correct. Pour lever le doute, il va falloir refaire le dosage en utilisant la méthode des ajouts dosés.

Cette méthode permet de savoir si la molécule à doser se comporte de la même façon dans la gamme et dans l'échantillon à doser (le soda).

En effet, elle consiste à créer une gamme dans laquelle, chaque point de gamme est constitué d'un volume V_x connu d'échantillon à doser, et d'un volume V_s croissant d'étalon dont on connaît parfaitement la concentration.

2^{ème} PARTIE : SPECTROFLUORIMÉTRIE (9,5 points)

Étude de la fluorescéine.

8^{ème} question

(2 points)

Dans le cadre de la spectroscopie de fluorescence moléculaire, définir les deux termes : conversion interne et fluorescence de résonance

Réponse du candidat :

Conversion interne :

C'est un type de relaxation qui implique le transfert de l'excès d'énergie d'une espèce à partir du niveau vibrationnel inférieur d'un état électronique excité vers un état électronique inférieur. C'est une relaxation non rayonnante.

Fluorescence de résonance :

C'est l'émission de lumière par une molécule fluorescente, à une longueur d'onde identique à celle qui a permis d'exciter au préalable cette molécule.

9^{ème} question**(1,5 points)**

Indiquer les effets de la rigidité structurale ainsi que ceux de la température et du solvant sur la fluorescence et donc sur le rendement quantique :

Réponse du candidat :

La rigidité a pour effet d'augmenter la fluorescence. Dans la plupart des cas, la fluorescence diminue lorsque la température augmente parce que l'accroissement de la fréquence des collisions aux températures élevées augmente la probabilité qu'il y ait relaxation par collision. La diminution de viscosité du solvant conduit au même résultat.

Vous étudiez la fluorescéine à l'aide d'un spectrophotomètre et déterminez que sa longueur d'onde d'absorption maximale est de 496 nm.

10^{ème} question**(1,5 points)**

Calculez l'énergie correspondante à un rayonnement de 496 nm

Réponse du candidat :

$$E = \frac{hc}{\lambda} = 6,63 \cdot 10^{-34} \times \frac{3,00 \cdot 10^8}{496 \cdot 10^{-9}} = 4,01 \cdot 10^{-19} \text{ J}$$

Données : $h = 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$ et $c = 3,00 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$

11^{ème} question**(1,5 points)**

La fluorescéine a la propriété de fluorescer. Où se situe sa longueur d'onde d'émission maximale par rapport à sa longueur d'onde d'absorption maximale ? Justifiez.

Réponse du candidat :

Sa longueur d'onde d'émission sera supérieure à sa longueur d'onde d'absorption car :

$$E_{\text{exc}} > E_{\text{em}} \Leftrightarrow \lambda_{\text{em}} > \lambda_{\text{exc}}$$

Dans les propositions suivantes, indiquer clairement votre réponse :

12-1/ Une solution qui possède un chromophore est toujours colorée.
Répondre par vrai ou faux. Commenter la réponse. (1 point)

Réponse du candidat :

Faux, car un chromophore est avant tout un groupement organique fonctionnel insaturé capable d'absorber dans le visible mais aussi dans l'UV, et s'il n'absorbe que dans l'UV alors il ne peut être coloré.

12-2/ Toutes les molécules qui absorbent ont la propriété de fluorescer.
Répondre par vrai ou faux. Commenter la réponse. (1 point)

Réponse du candidat :

Faux, bien au contraire, la plupart des molécules absorbant la lumière ne peuvent fluorescer.

12-3/ La fluorimétrie est [plus/moins] sensible que la spectrophotométrie UV/visible. (0,5 point)

Réponse du candidat :

La fluorimétrie est plus sensible que la spectrophotométrie UV/visible.

12-4/ La longueur d'onde d'émission maximale d'un fluorophore est [dépendante/indépendante] de la longueur d'onde d'excitation. (0,5 point)

Réponse du candidat :

La longueur d'onde d'émission maximale d'un fluorophore est indépendante de la longueur d'onde d'excitation.

FIN D'ÉPREUVE