

1^{ère} PARTIE : SPECTROPHOTOMÉTRIE d'ABSORPTION UV-VISIBLE (9,5 points)

Dosage spectrophotométrique de la scutellarine.

Nous étudions en spectrophotométrie UV-Visible une molécule, la scutellarine. Cette molécule, extraite d'une plante orientale a des propriétés anti-inflammatoires.

Sa formule topologique est donnée par la figure n° 1 ci-dessous.

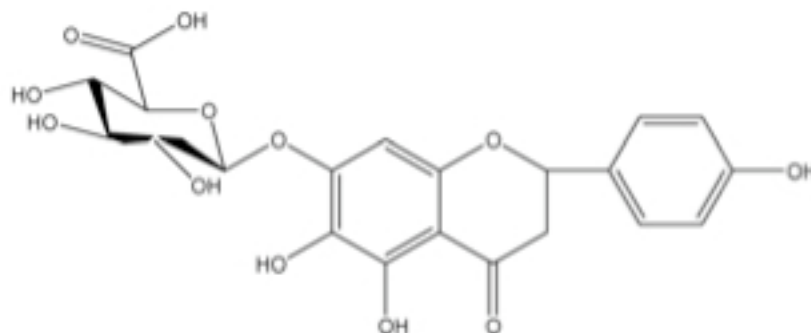


Figure 1: Structure de la scutellarine.

1^{ère} question

(2 points)

Pour effectuer le dosage, il a été utilisé un spectrophotomètre mono-faisceau Libra S22, dont le synoptique est indiqué en figure 2.

Indiquer directement sur la figure les éléments essentiels constitutifs d'un tel spectrophotomètre :

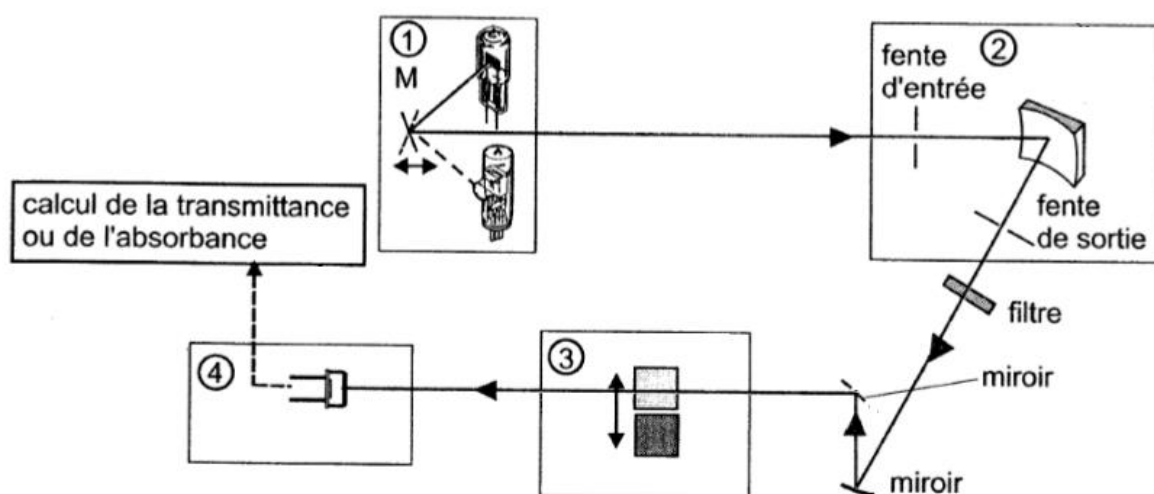


Figure 2 : Synoptique d'un spectrophotomètre mono-faisceau

2^{ème} question

(1,5 points)

La scutellarine est préparée dans de l'éthanol à 60 % (v/v) et est étudiée à l'aide du spectrophotomètre précédent.

Pour effectuer un spectre de cette molécule, indiquer la bande de longueur d'onde qu'il faut choisir, sans autre renseignement, ainsi que le type de cuve à utiliser. Quel est le blanc de mesure que l'on choisira ?

Réponse du candidat :

3^{ème} question

(0,5 point)

On obtient le spectre suivant :

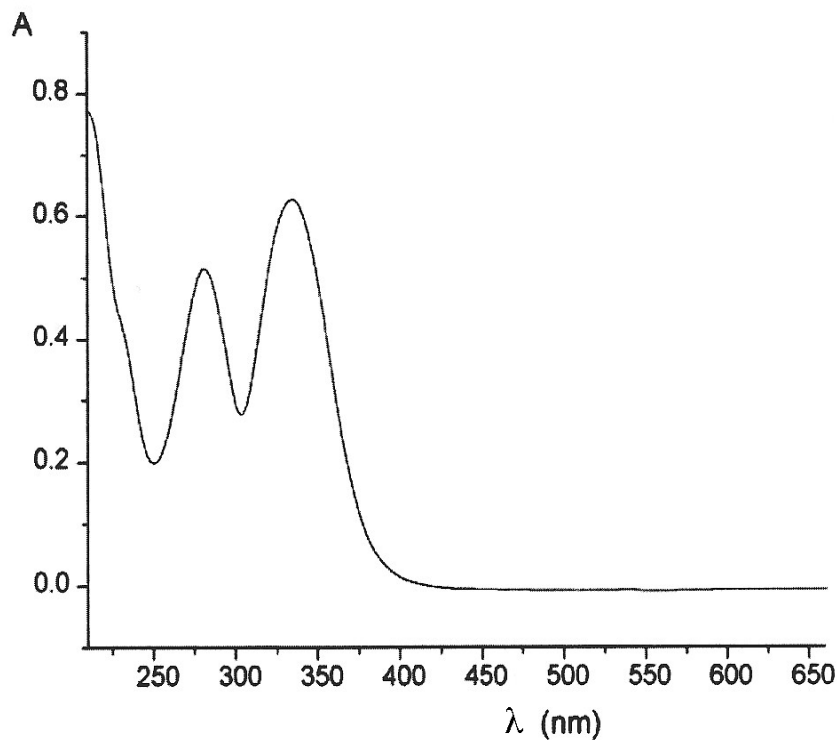


Figure 3 : Spectre de la scutellarine

Avec le type de cuve utilisée, quelle précaution importante faut-il effectuer ?

Réponse du candidat :

4^{ème} question

(0,5 point)

Déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule.

Réponse du candidat :

5^{ème} question

(3 points)

On désire effectuer une gamme d'étalonnage, en fiole de 20,0 mL afin de doser la scutellarine.

La gamme d'étalonnage doit contenir 5 points (plus le blanc) dont les concentrations en scutellarine sont régulièrement réparties entre 0 et 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Vous disposez d'une fiole étalon de 50,0 mL à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de scutellarine. Le diluant est une solution d'éthanol à 60% (v/v). Par mesure spectrophotométrique à la longueur d'onde d'absorption maximale, on obtient les résultats suivants :

Point de la gamme	Absorbance A
Blanc	0,000
1	0,220
2	0,436
3	0,651
4	0,867
5	1,082

Tableau 1 : résultats de gamme

Donner la composition de la gamme en complétant le tableau Ci-dessous, et indiquer ci-après, un exemple de calcul de réalisation de fiole de 20,0 mL :

C ()						
V _{étalon} (mL)						

Réponse du candidat :

On tracer la droite d'étalonnage :

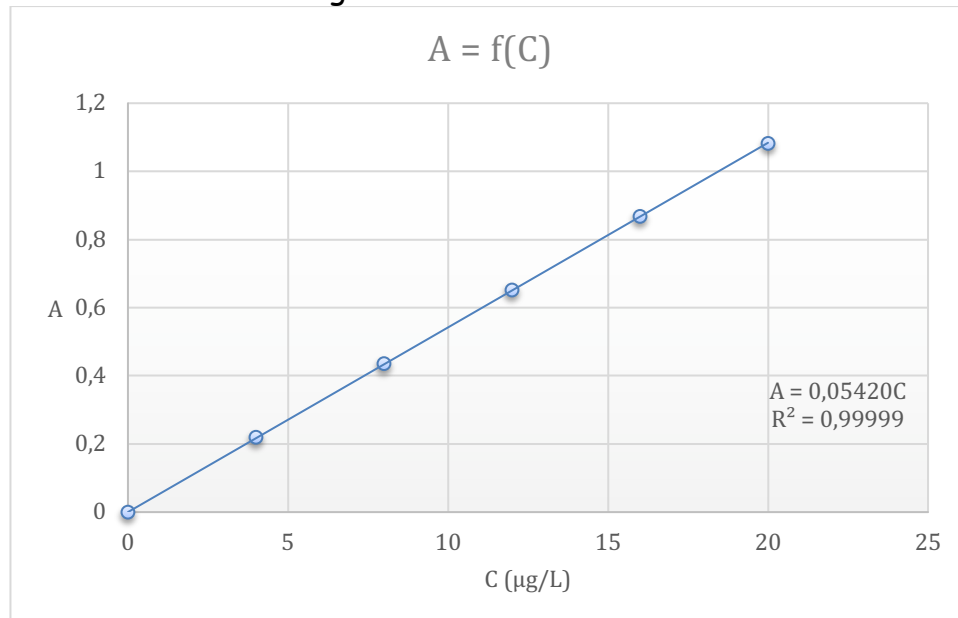


Figure 4 : Droite d'étalonnage pour le dosage de la scutellarine

7^{ème} question

(2 points)

Afin de quantifier la scutellarine dans des feuilles de *Scutellaria barbata*, nous pesons 5,0 mg de feuille dans un tube à hémolyse. Après extraction aux ultrasons, nous ajoutons 5 mL d'éthanol à 60% (v/v). Après centrifugation, 3 mL de surnageant sont transférés dans une cuve et passée au spectrophotomètre dans les mêmes conditions que la gamme d'étalonnage. L'absorbance obtenue est de 0,498. Déterminer la quantité de scutellarine par mg de feuille en considérant qu'elle est totalement extraite

Réponse du candidat :

2^{ème} PARTIE : SPECTROFLUORIMÉTRIE (10,5 points)
Dosage spectrofluorimétrique de la 7-amino-4-coumarine.

8^{ème} question

(2 points)

La figure ci-dessous représente le schéma de fonctionnement d'un spectrofluorimètre :

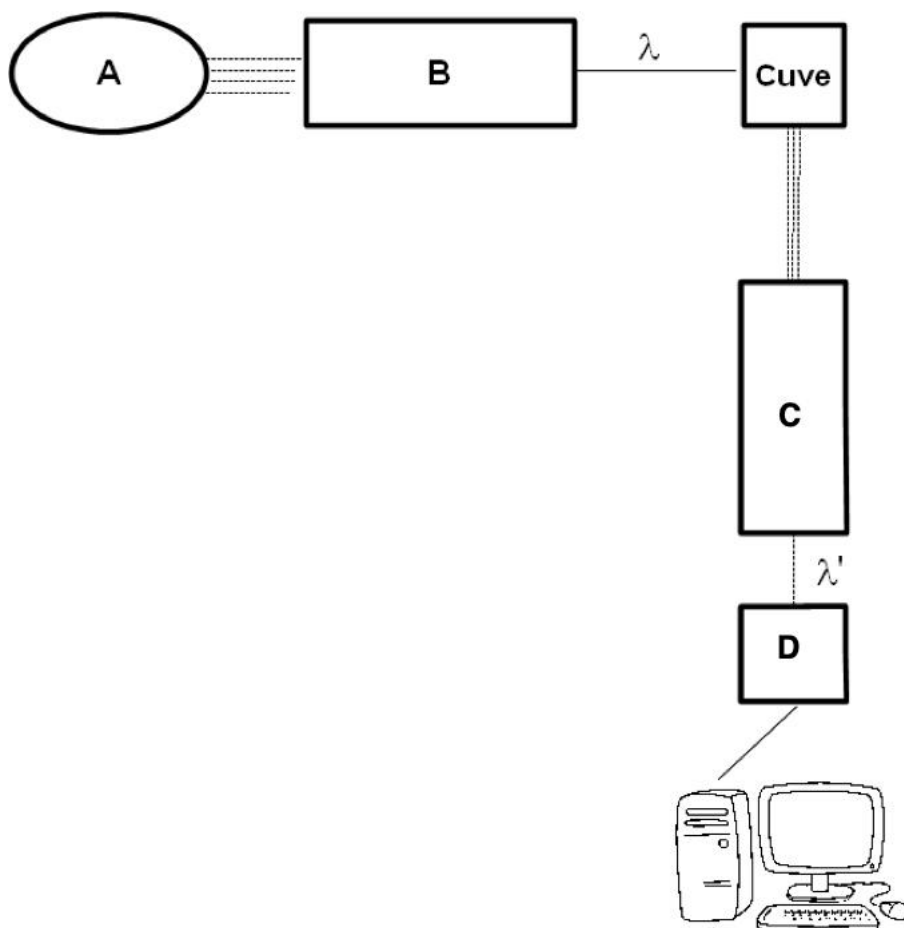


Figure 5 : Schéma de principe d'un spectrofluorimètre

Indiquer à quoi correspondent les différentes parties utiles de l'appareil :

A :

B :

C :

D :

9^{ème} question

(2 points)

Indiquer la signification de λ et λ' figurant sur ce schéma. Comparer ces grandeurs. Justifier la réponse.

Réponse du candidat :

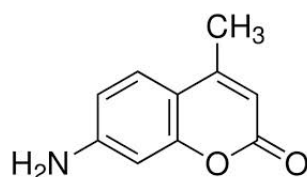
10^{ème} question

(1 point)

Une solution étalon d'AMC (7-amino-4-coumarine) permet d'étalonner le spectrofluorimètre selon le protocole présenté ci-dessous :

FLUOROCHROME :

AMC ou
7-amino-4-
coumarine



- L'AMC émet une lumière bleue vive, qui peut être enregistrée.
- À partir de l'étalon AMC à 4 mmol.L⁻¹, on prépare une solution étalon fille à la concentration de 40 μmol.L⁻¹ avec un tampon.

Indiquer le matériel nécessaire pour une préparation de la solution étalon fille d'AMC à $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$. Préciser les volumes choisis.

Réponse du candidat :

11^{ème} question

(1 point)

Les longueurs d'onde à 354 et 442 nm ont été utilisées.

Préciser la longueur d'onde qui a permis d'exciter l'AMC, et préciser la longueur d'onde de fluorescence.

Réponse du candidat :

12^{ème} question

(2,5 points)

On réalise la gamme présentée ci-dessous et on effectue les mesures d'intensité de fluorescence :

Tubes	Blanc	1	2	3	4
Volume de solution étalon fille à $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$ (en μL)					
Tampon qsp 200 μL					
[AMC] en $\mu\text{mol.L}^{-1}$	0	5	10	15	20
I_F = Intensité de fluorescence	0	29	60	93	118

Tableau 2 : résultats de gamme

Compléter le tableau 2, et donner un exemple de calcul :

Réponse du candidat :

13^{ème} question

(1 point)

Établir la relation entre la concentration en AMC (en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) et l'intensité de fluorescence I_F , en précisant les paramètres de la régression linéaire.

Réponse du candidat :

14^{ème} question

(1 point)

Une solution inconnue d'AMC diluée préalablement au $1/25^{\text{ème}}$ est analysée dans les mêmes conditions que la gamme d'étalonnage.

On a obtenu une intensité de fluorescence de 58,7. Déterminer la concentration en AMC dans cette solution.

Réponse du candidat :

FIN D'ÉPREUVE