

Correction du Partiel 2 - Analyse (sur 30 points) (2h00)

*Documents non autorisés - Calculatrice autorisée
Justifier les calculs
Séparer calcul littéral et numérique*

Exercice 1 : Équilibres d'oxydoréduction (15 points)

1) Quel(s) phénomène(s) suivants sont de type rédox ? (0,5 point)

- La dissolution du sel de cuisine dans l'eau.
- La dissolution du CaCO_3 dans l'eau.
- La dissolution du sodium dans l'eau.
- La dissolution du saccharose dans l'eau.

Seule la dissolution du sodium dans l'eau est une réaction d'oxydoréduction.

2) Dans une réaction d'oxydoréduction, il y a toujours : (0,5 point)

- Présence d'oxygène.
- Un échange de proton.
- Un échange d'électrons.
- Un échange de neutrons.

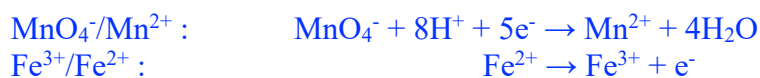
Il y a toujours échange d'électrons.

3) Pour doser $V_0 = 10,0 \text{ mL}$ d'une solution d'ions Fe^{2+} , on utilise une solution de permanganate MnO_4^- à la concentration $C = 2,00 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$.

On trouve un volume équivalent $V_e = 14,6 \text{ mL}$.

Déterminer la concentration C_0 en ions Fe^{2+} . (2 points)

On donne les couples rédox : $\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}$ et $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$



L'équation de dosage s'écrit : $\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O} + 5\text{Fe}^{3+}$

Donc, à l'équivalence, $5n(\text{MnO}_4^-) = n(\text{Fe}^{2+}) \Leftrightarrow 5C \cdot V_e = C_0 \cdot V_0$

$$C_0 = 5 \cdot \frac{C \cdot V_e}{V_0} = 5 \cdot \frac{2,00 \cdot 10^{-2} \times 14,6}{10,0} = 0,146 \text{ mol.L}^{-1}$$

4) Donner les nombres d'oxydation des éléments Na, H, S et O dans le composé NaHSO_3 .
(2 points)

Ce composé étant une molécule neutre :

$$\text{no}(\text{Na}) + \text{no}(\text{H}) + \text{no}(\text{S}) + 3\text{no}(\text{O}) = 0$$

D'autre part, $\text{no}(\text{Na}) = +\text{I}$, car c'est un alcalin ; $\text{no}(\text{H}) = +\text{I}$ et $\text{no}(\text{O}) = -\text{II}$, donc

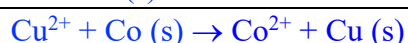
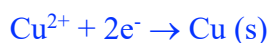
$$\text{no}(\text{S}) = -3\text{no}(\text{O}) - \text{no}(\text{Na}) - \text{no}(\text{H}) = 3 \times \text{II} - \text{II} = +\text{IV}$$

5) On donne le potentiel rédox standard des couples suivants : (1,5 points)

$$E_1^0(\text{Co}^{2+}/\text{Co (s)}) = -0,28 \text{ V} \text{ et } E_2^0(\text{Cu}^{2+}/\text{Cu (s)}) = +0,34 \text{ V}.$$

Écrire les deux $\frac{1}{2}$ -équations électroniques correspondantes et en déduire la réaction spontanée si on mettait en contact ces espèces chimiques.

L'oxydant le plus fort, ici l'ion Cu^{2+} va réagir avec le réducteur le plus fort, ici Co (s) , donc :

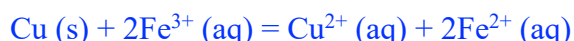


6) Le cuivre métallique est attaqué s'il est plongé dans une solution d'ions Fe^{3+} . L'analyse chimique en cours de réaction met en évidence l'apparition d'ions ferreux Fe^{2+} et cuivrique Cu^{2+} :

a - Indiquer l'oxydant et le réducteur qui réagissent. (1 point)

L'oxydant est l'ion Fe^{3+} et le réducteur, le cuivre métallique Cu .

b - Écrire l'équation de la réaction d'oxydoréduction. (1 point)



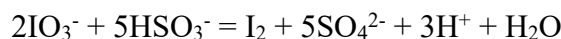
c - Écrire l'expression littérale de la constante d'équilibre correspondante. (1 point)

$$K^0 = \frac{[\text{Cu}^{2+}] \cdot [\text{Fe}^{2+}]^2}{[\text{Fe}^{3+}]^2}$$

d - La valeur de la constante d'équilibre précédente vaut $K^0 = 4.10^{14}$. D'autre part, on sait que $[\text{Fe}^{2+}]_{\text{eq}} = [\text{Cu}^{2+}]_{\text{eq}} = 0,010 \text{ mol.L}^{-1}$. Calculer alors la concentration en ion Fe^{3+} à l'état d'équilibre. (0,5 point)

$$[\text{Fe}^{3+}] = \sqrt{\frac{[\text{Cu}^{2+}]}{K^0} \cdot [\text{Fe}^{2+}]} = \sqrt{\frac{0,010}{4.10^{14}} \cdot 0,010} = 5,0.10^{-11} \text{ mol.L}^{-1}$$

7) Le diiode peut être préparé à partir des ions iodate IO_3^- . La réaction fait intervenir les couples IO_3^-/I_2 et $\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-$ et peut être modélisée par l'équation bilan :



a - Indiquer lequel des deux potentiels standards de ces deux couples est le plus petit. (0,5 point)

$$E^0(\text{IO}_3^-/\text{I}_2) > E^0(\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-)$$

b - Écrire la ½-équation électronique de chacun des deux couples. (2 points)



c - Écrire les deux relations de Nernst correspondantes à chacun des couples. (2 points)

IO_3^-/I_2 :

$$\begin{aligned} E(\text{IO}_3^-/\text{I}_2) &= E^0(\text{IO}_3^-/\text{I}_2) + \frac{0,06}{10} \cdot \log \frac{[\text{IO}_3^-]^2 \cdot h^{12}}{[\text{I}_2]} \\ &= E^0(\text{IO}_3^-/\text{I}_2) + 0,006 \cdot \log \frac{[\text{IO}_3^-]^2}{[\text{I}_2]} - 0,072 \cdot \text{pH} \end{aligned}$$

$\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-$:

$$\begin{aligned} E(\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-) &= E^0(\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-) + \frac{0,06}{2} \cdot \log \frac{[\text{SO}_4^{2-}] \cdot h^3}{[\text{HSO}_3^-]} \\ &= E^0(\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-) + 0,03 \cdot \log \frac{[\text{SO}_4^{2-}]}{[\text{HSO}_3^-]} - 0,09 \cdot \text{pH} \end{aligned}$$

d - Indiquer le nombre d'oxydation de l'iode dans l'ion iodate. (0,5 point)

$$\text{no}(\text{I}) + 3\text{no}(\text{O}) = -\text{I} \Leftrightarrow \text{no}(\text{I}) = -\text{I} - 3 \times (-\text{II}) = +\text{V}$$

Exercice 2 : Validation d'une méthode de dosage par CPG du méthanol dans le plasma sanguin (15 points)

On s'intéresse à la validation d'une méthode de dosage par CPG (Chromatographie en Phase Gazeuse) du méthanol dans le plasma sanguin. En utilisant les "guideline" de validation de méthode, en biologie moléculaire du COFRAC (Comité Français d'Accréditation) et de la SFTA (Société Française de Toxicologie Analytique), on étudiera successivement la sélectivité, la linéarité, l'exactitude, la justesse, la fidélité et la stabilité. On établira aussi les LOD et LOQ.

1) Indiquer quelle est le but de la validation d'une méthode d'analyse. (1 point)

Le but de la validation d'une méthode d'analyse est de démontrer qu'elle correspond à l'usage pour lequel elle est prévue. Elle regroupe l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver que le protocole est suffisamment exact et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé.

La validation des méthodes d'analyses suit les recommandations des documents de référence officiels.

Les méthodes d'analyses sont validées selon les critères suivants :

- **Spécificité** : Capacité de la méthode de permettre une évolution non équivoque de l'analyte en présence de composants qui sont susceptibles d'être présents. Concrètement, elle représente la capacité de faire la discrimination analyte/substances interférentes. On l'évalue en montrant l'absence de signaux liés aux excipients ou aux solvants.
- **Linéarité** : Capacité dans un intervalle donné d'obtenir des résultats de dosages directement proportionnels à la concentration ou à la quantité d'analyte dans un échantillon. C'est la relation linéaire signal-concentration. On l'établit en traçant une droite d'étalonnage, évaluée par un coefficient de détermination r^2 ($\geq 0,998$).
- **Exactitude** : Etroitesse d'accord entre la valeur trouvée et la valeur acceptée soit comme valeur conventionnellement vraie soit comme valeur de référence. C'est l'écart d'une valeur obtenue par rapport à une valeur considérée comme exacte.
- **Fidélité** : Etroitesse d'accord entre une série de mesures obtenues dans des conditions prescrites à partir de prises d'essais multiples provenant d'un même échantillon homogène. Elle étudie le degré de dispersion des résultats.

On distingue :

→ **Répétabilité** : exprime la fidélité évaluée dans des conditions opératoires identiques et dans un court intervalle de temps. Elle est déterminée à partir d'un même échantillon, évaluée dans des conditions opératoires identiques (même analyste, même équipement, même laboratoire).

→ **Fidélité intermédiaire**.

- **Stabilité des échantillons en solution** : Vérifiée par variation de température.
- **LOD et LOQ**.

I – Sélectivité et spécificité

1) On parle de sélectivité de la méthode lorsque (choisir la ou les bonnes réponses) :
(0,5 point)

- a/ Les valeurs de chaque mesurande sont dépendantes d'autres mesurandes.
- b/ Les valeurs de chaque mesurande sont indépendantes d'autres mesurandes.
- c/ La valeur d'un seul mesurande est obtenue.
- d/ Aucune des trois affirmations précédentes.

La réponse exacte est la réponse b/.

2) Un échantillon composé du méthanol (MeOH) et d'éthanol (EtOH) est injecté dans les conditions imposées par la méthode d'analyse. Le chromatogramme obtenu montre 2 pics distincts (un pic de MeOH à $t_R = 1,609$ min, et un pic d'EtOH à $t_R = 1,677$ min). Que dire de la méthode ? (0,5 point)

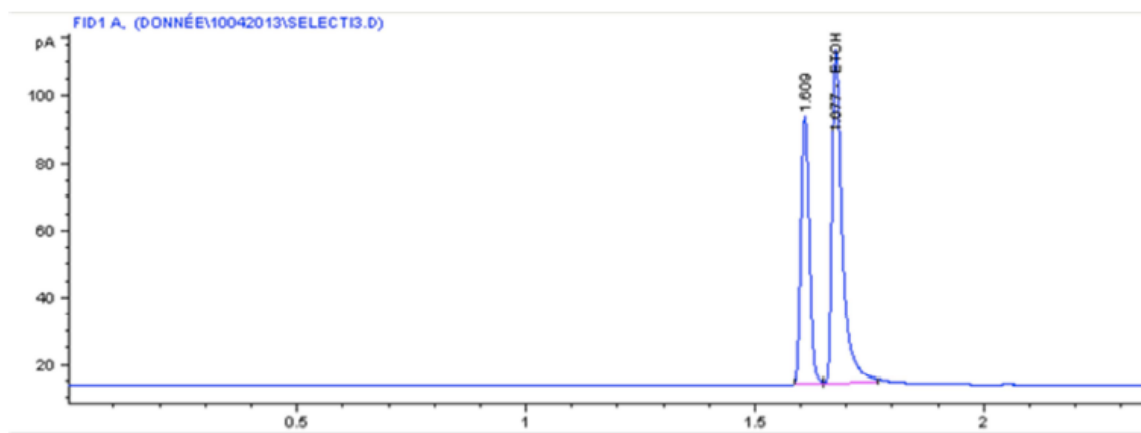


Fig. 1: Chromatogramme d'échantillon composé d'éthanol et de méthanol

Elle est sélective.

3) Un blanc composé de plasma vierge (sans MeOH) est injecté. Aucun pic significatif n'a été obtenu au niveau du temps de rétention du MeOH à 1,609 min. Que dire de la méthode ?
(0,5 point)

Elle est spécifique.

II - Étude de la linéarité :

La linéarité a été étudiée sur 3 jours en effectuant l'analyse de 5 points de gamme (0; 0,1; 0,2; 0,5 et 1 g/L en MeOH). De plus, un étalon interne (le butanol) a été rajouté dans chaque points de gamme. Les courbes d'étalonnage ont été obtenues via le rapport d'aire entre le MeOH et le butanol en fonction du rapport de concentration entre le MeOH et le butanol.

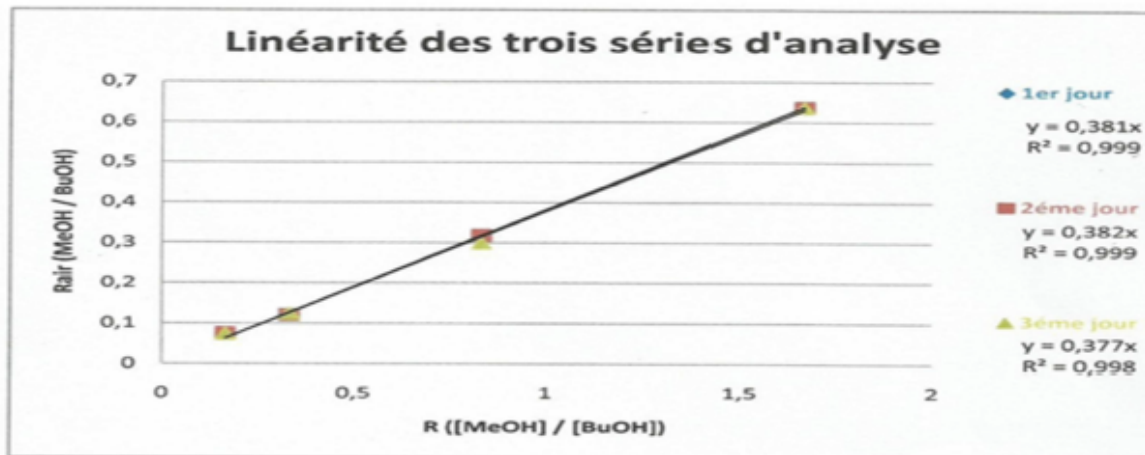


Fig.2 : Courbe d'étalonnage des analyses réalisées sur trois jours pour le dosage du méthanol

4) Conclure sur la linéarité en indiquant l'intervalle de concentrations. Justifier votre réponse. (1 point)

Les coefficients de corrélation (r^2) confirment la bonne linéarité de la méthode sur les 3 jours (norme > 0,998) dans un intervalle de concentrations de 0 à 1 g.L⁻¹.

5) La linéarité aurait pu être testée en utilisant un test statistique, lequel ? (0,5 point)

Le test de Fischer-Snedecor.

III - Étude de la justesse et de l'exactitude :

On a effectué les analyses sur 3 échantillons de contrôle qualité (CQ) qui ont des concentrations de 0,15; 0,30 et 0,75 g/L. On a déterminé le rapport des aires, les concentrations ($C_{\text{contrôle}}$) pour chaque CQ et on a calculé le biais relatif de justesse (en %) et le taux de recouvrement TR (en %).

$$\text{Biais} = \frac{\text{valeur réellement mesurée} - \text{valeur théorique}}{\text{valeur théorique}} \times 100$$

$$\text{TR} = \frac{\text{valeur réellement mesurée}}{\text{valeur théorique}} \times 100$$

6) Compléter le tableau fourni en annexe 1, à rendre avec la copie. (1,5 points)

C _{théorique} (g/L)	C _{contrôle} (g/L)	$\bar{C}_{\text{contrôle}}$ (g/L)	Biais (%)	TR (%)
0,15	0,154	0,164	9,33	109,3
	0,166			
	0,172			
0,30	0,306	0,294	-2,00	98,0
	0,309			
	0,267			
0,75	0,742	0,756	0,80	100,8
	0,749			
	0,778			

Tableau 1 : Justesse et Taux de recouvrement pour le dosage du méthanol

7) Définir la notion de justesse. Quelle grandeur permet de quantifier la justesse ? (1,5 point)

La justesse est définie comme l'écart de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essai et une valeur de référence acceptée.

On quantifie la justesse à l'aide du biais ou erreur systématique.

8) La justesse peut être aussi définie à partir d'un intervalle de confiance IC. Donner l'expression littérale de cet intervalle. (0,5 point)

$$IC = \left[\text{biais} - 2 \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} ; \text{biais} + 2 \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right]$$

9) Le biais doit être inférieur à 10 % en valeur absolue et le TR% compris entre 90 et 110 %, que dire de la méthode ? (1 point)

La méthode est juste et exacte.

IV – Étude de la Fidélité :

On a étudié, dans le même laboratoire, un seul point de gamme de concentration à 0,5 g/L en changeant un facteur sur 3 jours. Après avoir calculé les concentrations en MeOH, à partir des Raire, on a analysé l'écart-type sur un seul facteur, le jour à partir des concentrations en MeOH.

Données :

On rappelle que le calcul de la moyenne, de l'écart-type expérimental s sur une grandeur x , obéissant à une loi normale, sont données par les relations suivantes :

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \text{et} \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Le coefficient de variation est donné par :

$$CV = \frac{s}{\bar{x}}$$

10) Calculer le coefficient de variation de répétabilité en % ainsi que le coefficient de variation de reproductibilité : **(annexe 2 à rendre avec la copie). (1 point)**

jours	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Concentrations calculées en g/L	0,505	0,392	0,514
	0,449	0,425	0,443
	0,499	0,437	0,439
	0,453	0,439	0,411
	0,439	0,456	0,422
	0,484	0,440	0,472
s (répétabilité) (g/L)	0,028	/	
CV%	5,94	/	
s _R (reproductibilité) (g/L)	0,033		
CV _R (%)	7,32		

Tableau 2 : Ecart types et coefficients de variation pour l'étude de la répétabilité et de la reproductibilité

11) Le tableau 2 utilise des notations qui ne sont pas respectueuses du V.I.M, préciser lesquelles ? **(1 point)**

s_R et CV_R représentent l'écart-type et le coefficient de variation de fidélité intermédiaire et non de reproductibilité car ici les mesures s'effectuent dans le même laboratoire.

12) Que dire de la méthode si les résultats de l'écart-type et du coefficient de variation sont inférieurs à 10 % ? **(1 point)**

La répétabilité et la fidélité intermédiaire sont vérifiées.

V – Stabilité :

La stabilité a été déterminée par le dosage d'échantillons préparés au préalable à un seul niveau de concentration de 0,5 g/L, puis après différentes dates de conservation à différentes températures : température ambiante (23 °C), 4 °C et - 20 °C. Ces échantillons ont été répétés 5 fois espacés sur une période d'environ 1 mois.

Courbes obtenues lors de l'étude de stabilité :

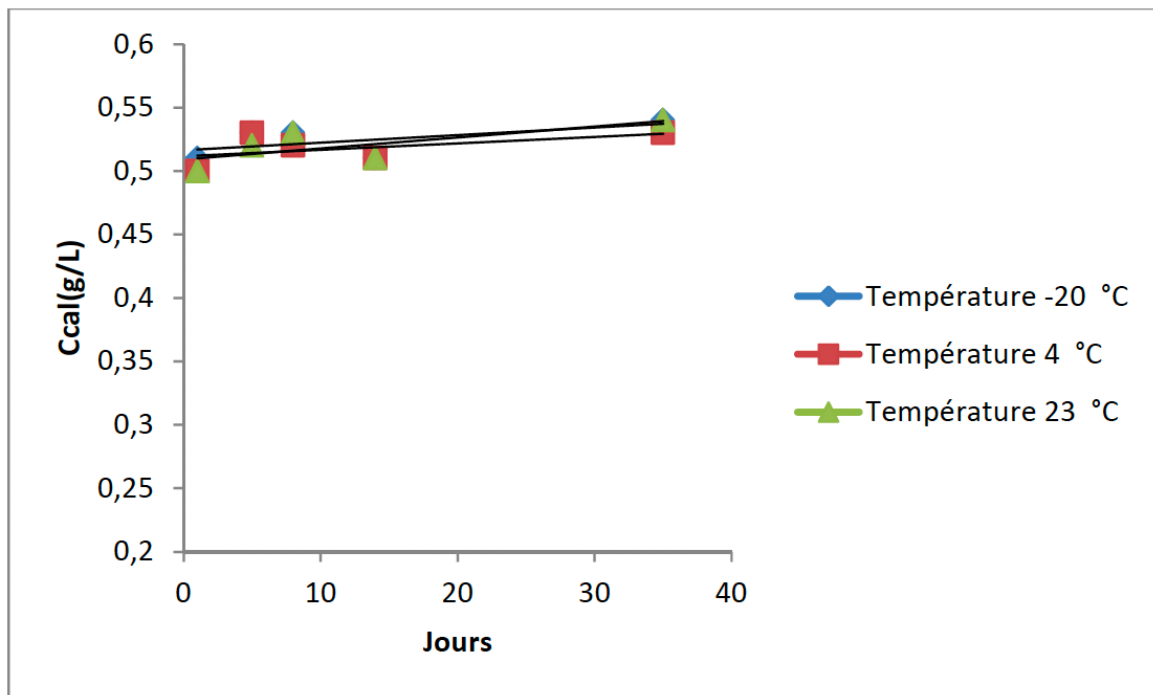


Fig. 3 : Variations des concentrations calculées du méthanol selon la température

13) On considère qu'il n'y a pas d'effet du facteur température, s'il n'y a pas de variation du niveau de concentration de plus de 10 % de la valeur de référence. Indiquer alors les conditions optimales de conservation. (1 point)

Les conditions les plus optimales sont à 23 °C pendant 35 jours (température facile à obtenir et durée de conservation la plus longue).

14) Comment peut-on qualifier le test de stabilité ? (Utiliser un des trois termes suivants : sensibilité, résolution ou robustesse). (0,5 point)

Un test de robustesse.

VI – LOD et LOQ :

15) Définir la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) d'une procédure analytique. (1 point)

La LOD représente la plus petite quantité de substance considérée qui peut être détectée dans un échantillon, sans forcément être quantifiée de façon exacte.

La LOQ représente la plus petite quantité de substance considérée qui peut être quantifiée, dans un échantillon, avec une exactitude appropriée.

16) L'analyse a été effectuée sur 20 blancs contenant l'étalon interne. L'opérateur a déterminé deux valeurs : 0,09 g/L et 0,06 g/L

Donner les valeurs de la LOD et LOQ. (1 point)

La LOQ était de 0,09 g/L et la LOD de 0,06 g/L.

FIN DE L'ÉPREUVE

ANNEXE 1 : JUSTESSE ET EXACTITUDE

C _{théorique} (g/L)	C _{contrôle} (g/L)	$\bar{C}_{\text{contrôle}}$ (g/L)	Biais (%)	TR (%)
0,15	0,154	0,164	9,33	109,3
	0,166			
	0,172			
0,30	0,306	0,294		
	0,309			
	0,267			
0,75	0,742		0,80	100,8
	0,749			
	0,778			

Tableau 1 : Justesse et Taux de recouvrement pour le dosage du méthanol

ANNEXE 2 : RÉPÉTABILITÉ & REPRODUCTIBILITÉ

jours	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Concentrations calculées en g/L	0,505	0,392	0,514
	0,449	0,425	0,443
	0,499	0,437	0,439
	0,453	0,439	0,411
	0,439	0,456	0,422
	0,484	0,440	0,472
s (répétabilité) (g/L)	0,028	/	
CV%		/	
s _R (reproductibilité) (g/L)	0,033		
CV _R (%)			

Tableau 2 : Ecart types et coefficients de variation pour l'étude de la répétabilité et de la reproductibilité