

Correction DTS n° 2
ANALYSE
(1h00)

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

Exercice 1 : Spectrofluorimétrie (4,5 points)

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

1/ Calculez l'énergie correspondante à un rayonnement de 496 nm. **(1 point)**

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

2/ La fluorescéine a la propriété de fluorescer. Où se situe sa longueur d'onde d'émission maximale par rapport à la longueur d'onde d'absorption maximale ? Justifiez. **(1 point)**

$$E_{\text{exc}} \geq E_{\text{em}}$$

$$\frac{hc}{\lambda_{\text{exc}}} \geq \frac{hc}{\lambda_{\text{em}}}$$

$$\lambda_{\text{em}} \geq \lambda_{\text{exc}}$$

3/ Dans les propositions suivantes, indiquer clairement votre réponse sur votre copie :

3-1/ Une solution qui possède un chromophore est toujours colorée. [vrai/faux]
(0,5 point)

FAUX : pas forcément, il peut être incolore, dans ce cas-là, il absorbera dans l'UV.

3-2/ Toutes les molécules qui absorbent ont la propriété de fluorescer. [vrai/faux]
(0,5 point)

FAUX : La plupart ne fluoresce pas, car la désexcitation non radiative est plus efficace.

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

La spectrofluorimétrie est PLUS sensible que la spectrophotométrie UV/Visible.

3-4/ La longueur d'onde d'émission d'un fluorophore est toujours inférieure à sa longueur d'onde d'excitation. [vrai/faux] **(0,5 point)**

FAUX : c'est tout le contraire.

3-5/ La longueur d'onde d'émission maximale d'un fluorophore est [dépendante/indépendante] de la longueur d'onde d'excitation. **(0,5 point)**

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

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

Exercice 2 : Spectrophotométrie IR : (6 points)

1) Quelles sont les conditions requises pour qu'une molécule puisse donner un spectre en spectroscopie IR ? **(1 point)**

Il faut que chacune de ses liaisons possèdent un moment dipolaire non nul et il faut que chacune de celles-ci rentre en résonance (c.a.d qu'il y aura absorption ssi $\nu = \nu_0$, la fréquence ν de l'onde IR est égale à la fréquence propre ν_0 de vibration de la molécule).

2) Qu'appelle-t-on masse réduite d'une molécule diatomique ? **(1 point)**

$$\mu = \frac{m_A \cdot m_B}{m_A + m_B}$$

Où m_A et m_B sont les masses respectives des atomes A et B de la molécule AB.

3) En considérant qu'une liaison chimique entre deux atomes peut être assimilée à un oscillateur harmonique, calculer la constante de force de liaison C-Cl pour la molécule de tétrachlorure de carbone, sachant que la bande spectrale correspond au nombre d'onde $\lambda^{-1} = 715 \text{ cm}^{-1}$. **(2 points)**

Données : célérité de la lumière $c = 3,00 \cdot 10^8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$; constante de Planck $h = 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$.
Nombre d'Avogadro $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$;
masses molaires : $M_C = 12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ et $M_{Cl} = 35,5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Dans le cadre de l'approximation de l'oscillateur harmonique :

$$\lambda^{-1} = \frac{1}{2\pi c} \cdot \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Ainsi, $k = 4\pi^2 \cdot c^2 \cdot \mu \cdot \lambda^{-2}$

D'autre part,

$$\mu = \frac{m_C \cdot m_{Cl}}{m_C + m_{Cl}} = \frac{M_C \cdot M_{Cl}}{N_A(M_C + M_{Cl})} = 1,5 \cdot 10^{-26} \text{ kg}$$

Et $\lambda^{-1} = 715 \text{ cm}^{-1} = 71500 \text{ m}^{-1}$, ainsi $k = 270 \text{ N} \cdot \text{m}^{-1}$

4) Rappeler, en détaillant, les principales méthodes utilisées pour l'analyse d'une poudre en spectrophotométrie IR. **(2 points)**

En transmission, il existe deux méthodes :

- la méthode qui consiste à mélanger la poudre dans une huile minérale type nujol, puis ensuite de placer ce mélange entre deux fenêtres KBr pour analyse au spectromètre IR ;
- la méthode qui consiste à effectuer une pastille de cette poudre préalablement mélangée à du KBr en poudre, puis d'en faire directement l'analyse au spectromètre IR.

En réflexion, il existe deux méthodes :

- la méthode qui consiste à placer directement la poudre sur un cristal d'un dispositif ATR ;
- la méthode qui consiste à placer la poudre dans une coupelle d'un dispositif de réflexion diffuse, puis d'en faire l'analyse au spectromètre IR.

Exercice 3 : Dosage par HPLC (9,5 points)

Le dosage d'un médicament à partir du plasma est effectué par chromatographie en phase liquide avec une détection à 254 nm.

1/ Sachant que la hauteur d'un plateau théorique est de 7,9 μm et que la colonne présente un nombre de plateaux de 6327, quelle est la longueur de la colonne utilisée ? **(1 point)**

$$H = \frac{L}{N} \Rightarrow L = H \cdot N = 7,9 \times 6327 = 5,0 \cdot 10^5 \mu\text{m} = 5,0 \text{ cm}$$

2/ Pour doser le médicament dans le plasma d'un patient, vous réalisez une gamme d'étalonnage. Sachant que vous disposez de 2 mL d'une solution étalon du médicament à une concentration de 10 $\mu\text{g/mL}$ et de 2 mL de plasma sans médicament (diluant), proposer un tableau de préparation d'une gamme contenant 6 points dont le blanc et dont le point le plus concentré est à une concentration de 10 $\mu\text{g/mL}$. **(3 points)**

Pt de gamme	0	1	2	3	4	5
V _{étalon} (mL)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
V _{plasma} (mL)	0	2	4	6	8	10
C ($\mu\text{g/mL}$)	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0

Tous les points de gamme et l'inconnue sont ensuite traités de la manière suivante. Il faut faire une extraction avec 5 mL d'acétate d'éthyle. Après mélange et décantation, le solvant organique est isolé puis évaporé. Le résidu est reconstitué avec 300 μ L de phase mobile puis lavé à l'hexane. Enfin 100 μ L sont injectés dans la colonne chromatographique. Malgré toutes les précautions, la justesse du dosage est jugée insuffisante. Nous décidons alors de refaire le dosage en utilisant la méthode de l'étalonnage interne.

3/ Qu'est-ce qu'un dosage par étalonnage interne en chromatographie ? **(1 point)**

Un dosage par étalonnage interne, consiste à ajouter le même volume dans chaque point de gamme d'étalonnage, d'un composé supplémentaire qui ne se trouve pas dans l'échantillon à doser, que l'on appelle étalon interne. On connaît la concentration de l'étalon interne ajouté.

4/ Ce type de dosage nécessite l'emploi d'une molécule qui sera l'étalon interne. Parmi les molécules dont certaines caractéristiques sont répertoriées dans le tableau n°1 ci-après, laquelle choisissez-vous et pourquoi ? (w est la largeur à la base du pic) **(1 point)**

Tableau 1 : Caractéristiques de molécules proposées comme étalon interne.

molécules	t_R (min)	w (s)	propriétés
A	12	30	soluble dans l'acétate d'éthyle, et absorbe à 254 nm
B	8	30	insoluble dans l'acétate d'éthyle
C	12	30	n'absorbe que dans le visible
D	8	120	absorbe à 254 nm

Nous choisissons préférentiellement la molécule A car elle doit être soluble dans le solvant organique (l'acétate d'éthyle) et elle doit être détectée donc elle doit absorber à la longueur d'onde de détection de 254 nm.

Les mesures effectuées donnent un temps mort à 1,6 minutes. Le temps de rétention du médicament est à 10 minutes et la largeur à la base de son pic est de 15 secondes. Le temps de rétention et la largeur à la base du pic de l'étalon interne sont les mêmes que dans le tableau n° 1 ci-dessus.

5/ Calculer les facteurs de capacité k' et de sélectivité α pour le médicament et l'étalon interne. **(2 points)**

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{10 - 1,6}{1,6} = 5,25$$

$$\alpha = \frac{t_{R\text{étalon}} - t_M}{t_{R\text{médicament}} - t_M} = \frac{12 - 1,6}{10 - 1,6} = 1,24$$

6/ Calculer la résolution. Que dire de la séparation entre le médicament et l'étalon interne ? **(1,5 point)**

$$R_S = \frac{2(t_{R\text{étalon}} - t_{R\text{médicament}})}{w_{\text{étalon}} + w_{\text{médicament}}} = \frac{2(12 - 10)}{(15 + 30)/60} = 5,33$$

On a une bonne séparation car $R_s > 1,5$, et la valeur de α étant relativement élevée. Néanmoins, la valeur de k' est un peu élevée car elle devrait être comprise entre 1 et 5. On pourrait diminuer la durée d'analyse tout en gardant une bonne séparation.