

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.

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.

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]

3-2/ Toutes les molécules qui absorbent ont la propriété de fluorescer. [vrai/faux]

3-3/ La spectrofluorimétrie est [plus/moins] 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]

3-5/ La longueur d'onde d'émission maximale d'un fluorophore est [dépendante/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 ?

2) Qu'appelle-t-on masse réduite d'une molécule diatomique ?

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 $\lambda^{-1} = 715 \text{ cm}^{-1}$.

Données : célérité de la lumière $c = 3,00 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$; constante de Planck $h = 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$.

Nombre d'Avogadro $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$;

masses molaires : $M_C = 12 \text{ g.mol}^{-1}$ et $M_{Cl} = 35,5 \text{ g.mol}^{-1}$.

4) Rappeler, en détaillant, les principales méthodes utilisées pour l'analyse d'une poudre en spectrophotométrie 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 $7,9 \mu\text{m}$ et que la colonne présente un nombre de plateaux de 6327, quelle est la longueur de la colonne utilisée ?

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 $10 \mu\text{g/mL}$.

Pt de gamme	0	1	2	3	4	5
$V_{\text{étalon}} \text{ (mL)}$						
$V_{\text{plasma}} \text{ (mL)}$						
$C \text{ (}\mu\text{g/mL)}$						

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 $300 \mu\text{L}$ de phase mobile puis lavé à l'hexane. Enfin $100 \mu\text{L}$ 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 ?

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)

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

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.

6/ Calculer la résolution. Que dire de la séparation entre le médicament et l'étalon interne ?