

**FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES & BIOLOGIQUES**

**UNIVERSITE PARIS SACLAY**

**Rue Jean-Baptiste Clément - 92296 CHATENAY-MALABRY**

---

**UE 93 1<sup>ère</sup> partie**

**« Préparation au concours de l'Internat en Pharmacie »**

**Septembre 2023**

**Exercices de Chimie Analytique**

**Méthodes spectrales - Exercices**

Spectrophotométrie

Laetitia LE

Lundi 11 septembre

Méthodes séparatives

Laetitia LE

Mercredi 27 Septembre

### EXERCICE N°1

La transferrine est une protéine indispensable pour le transport plasmatique du fer. Sa masse molaire est de  $81\,000\text{ g.mol}^{-1}$  et transporte deux ions  $\text{Fe}^{3+}$ .

La déféroxamine agit en chélatant le fer présent dans le sang et en permettant son élimination rénale. Sa masse molaire est  $650\text{ g.mol}^{-1}$  et elle ne peut chélater qu'un ion  $\text{Fe}^{3+}$ .

Les absorptivités molaires ( $\text{L. mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ) des deux composés saturés en fer sont données dans le tableau suivant. Les deux composés sont incolores lorsqu'ils ne sont pas liés au fer et on considère que leur absorbance est nulle à 428 nm et 470 nm.

$\lambda$ (nm)	Absorptivité molaires transferrine liée ( $\text{L. mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )	Absorptivité molaire déféroxamine liée ( $\text{L. mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )
428	3540	2730
470	4170	2290

a) Une solution de transferrine qui contient du fer présente une absorbance de 0,463 à 470 nm avec une cuve de 1 cm. Calculer la concentration de transferrine liée en  $\text{mg.mL}^{-1}$

b) En déduire la concentration de fer lié à la transferrine en  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . On donne la masse atomique du Fer = 56 uma

Après l'addition d'une solution de déféroxamine à la solution de transferrine (qui dilue l'échantillon), les absorbances suivantes sont mesurées avec une cuve de 1 cm :  $A_{470\text{nm}} = 0,424$  et  $A_{428\text{nm}} = 0,401$

c) Calculer les concentrations de transferrine liée et de déféroxamine liée en  $\text{mol.L}^{-1}$

d) En déduire les concentrations en fer lié à la transferrine et à la déféroxamine en  $\text{mol.L}^{-1}$

e) Calculer la fraction de fer lié à la transferrine et la fraction de fer lié à la déféroxamine exprimé en %.

## EXERCICE N°2

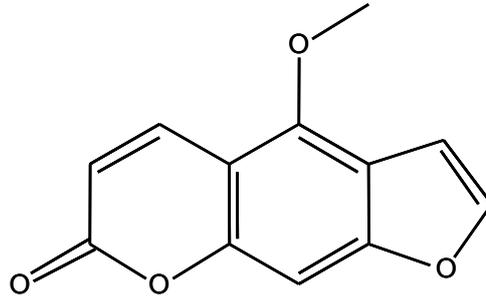
L'indicateur HIn a une constante d'acidité de  $4,80 \cdot 10^{-6}$  à la température de  $25^{\circ}\text{C}$ . Plusieurs solutions tampon contiennent l'indicateur coloré à la concentration de  $1,00 \times 10^{-5}\text{M}$ . Le maximum de l'absorption de la forme acide de l'indicateur est à  $450\text{ nm}$ . Les valeurs de l'absorbance à cette longueur d'onde avec une cuve de  $1\text{ cm}$  de trajet optique sont les suivantes :

Solutions	$A_{450}$
1	0,344
2	0,508
3	0,653
4	0,220
HIn (pH=1)	0,658
HIn (pH=13)	0,076

- Calculer les absorptivités molaires ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) de la forme acide (HIn) et basique ( $\text{In}^-$ ) de l'indicateur coloré
- D'après les absorbances mesurées pour les solutions 1 à 4, en déduire les concentrations molaires de HIn et  $\text{In}^-$  pour chaque solution
- Calculer le pH des solutions 1 à 4

### EXERCICE N°3

Nous voulons doser le 5-méthoxy psoralène (5MOP, PSORADERM®) par spectrophotométrie UV-visible.



5-méthoxy psoralène

Une gamme d'étalonnage a été établie de  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  à  $1,6 \times 10^{-5} \text{ M}$  et les absorbances varient de 0,05 à 0,8. La cuve utilisée a une épaisseur de 1cm. On considère que la réponse est linéaire en fonction de la concentration.

- Par rapport à la gamme d'étalonnage à quoi correspond  $\epsilon$  et quelle est son unité ? La cuve utilisée a une épaisseur de 1cm.
- En déduire la valeur de l'absorptivité molaire ( $\epsilon$ ) en précisant son unité ?
- Peut-on considérer que la réponse est proportionnelle à la concentration de 5-méthoxy psoralène ? La loi de Beer-Lambert est-elle respectée ?

#### **EXERCICE N°4**

On dose une substance X par spectrophotométrie visible à la valeur du maximum d'absorbance avec une cuve de 1cm de longueur selon le protocole suivant :

	<b>D<sub>0</sub></b>	<b>D<sub>1</sub></b>	<b>D<sub>2</sub></b>	<b>D<sub>3</sub></b>
Solution à doser (mL)	1	1	1	1
Solution étalon de X à 1 g/L (μL)	0	5	10	20
Réactif de coloration (mL)	2	2	2	2
Absorbance	0,218	0,406	0,596	0,962

1- Calculer la concentration de la solution à doser.

2- Quelles sont les conditions nécessaires à l'utilisation de la méthode des ajouts dosés ?

3- En supposant qu'il n'existe pas d'effet de matrice, quelles seraient les absorbances des solutions suivantes ?

	<b>D<sub>0</sub></b>	<b>D<sub>1</sub></b>	<b>D<sub>2</sub></b>	<b>D<sub>3</sub></b>
Solution à doser (mL)	1	1	1	1
Solution étalon de X à 10 mg/L (mL)	0	0,5	1	2
Réactif de coloration (mL)	2	2	2	2

4- Dans quelle mesure pourrait-on avoir un étalonnage linéaire dans le cas de la question précédente ?

## EXERCICE N°5

On se propose de doser deux molécules en mélange : l'acide salicylique (= acide orthohydroxybenzoïque) et l'acide parahydroxybenzoïque.

On dispose de solutions témoins à  $1\text{g.L}^{-1}$  de chacun de ces acides.

On dilue au  $1/100^{\text{ème}}$  dans une solution aqueuse d'HCl 0,1M les solutions étalons ainsi que la solution du mélange à doser.

On enregistre le spectre UV de chacune de ces solutions diluées entre 230 et 320 nm dans des cuves de quartz de 1 cm.

A la longueur d'onde  $\lambda_1$ , longueur d'onde d'absorption maximale de l'acide salicylique, on note les absorbances :

- Solution témoin diluée d'acide salicylique :  $A_{\lambda_1,AS} = 0,271$
- Solution témoin diluée d'acide parahydroxybenzoïque :  $A_{\lambda_1,AP} = 0,000$
- Solution mélange :  $A_{\lambda_1,M} = 0,111$

A la longueur d'onde  $\lambda_2$ , longueur d'onde d'absorption maximale de l'acide parahydroxybenzoïque, on note les absorbances :

- Solution témoin diluée d'acide salicylique :  $A_{\lambda_2,AS} = 0,059$
- Solution témoin diluée d'acide parahydroxybenzoïque :  $A_{\lambda_2,AP} = 1,061$
- Solution mélange :  $A_{\lambda_2,M} = 0,866$

1/ Calculez les coefficients d'absorption spécifique de chacun des deux acides aux deux longueurs d'onde  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$ .

2/ Calculez les concentrations en chacun des deux acides dans le mélange.

### **EXERCICE N°6**

L'acide pénicillanique (Pénicilline V) dissous dans de l'alcool méthylique et pour des concentrations de l'ordre de 20 mg/L présente un maximum d'absorption à 276 nm.

On veut déterminer le pourcentage en pénicilline V d'une préparation pharmaceutique. Pour cela, 105 mg de cette préparation sont exactement pesés et dissous dans 50 mL de CH<sub>3</sub>OH pour spectrophotométrie ; 5 mL de cette solution sont prélevés et introduits dans une fiole jaugée qsp 50 mL de CH<sub>3</sub>OH pour spectrophotométrie. On complète au volume avec le même solvant. Après agitation, on fait une lecture spectrophotométrique. L'absorbance est de 0,405.

Pour étalonner : 100 mg de pénicilline V étalon (l'activité antibiotique est de 1695 Unités par mg d'étalon) sont exactement pesés et on répète les opérations comme précédemment. Après lecture, l'absorbance mesurée est égale à 0,425.

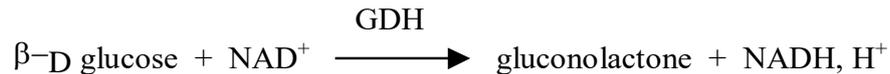
1-Quel est le pourcentage en pénicilline V du produit à contrôler ?

2-Quelle est son activité antibiotique ?

## EXERCICE N°7

Pour doser une glycémie en point final à l'aide de la glucose déshydrogénase, on ajoute à 5  $\mu\text{L}$  de l'échantillon plasmatique 495  $\mu\text{L}$  d'une solution réactionnelle contenant un excès de glucose déshydrogénase (GDH), mutarotase et  $\text{NAD}^+$ . La mutarotase permet la transformation  $\alpha\text{-D}$  glucose en  $\beta\text{-D}$  glucose.

La réaction d'oxydation enzymatique est la suivante :



Sous 1 cm d'épaisseur, l'absorbance finale de la solution à 340 nm est de 0,315 et de 1,2 à 260 nm. On rappelle les absorptions molaires ( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) respectives du  $\text{NAD}^+$  et du  $\text{NADH.H}^+$  à 260 et 340 nm :

	$\epsilon$ ( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) à 260 nm	$\epsilon$ ( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) à 340 nm
$\text{NAD}^+$	18 000	0
$\text{NADH,H}^+$	15 000	6 300

- 1) Calculer les concentrations respectives en  $\text{mol.L}^{-1}$  en  $\text{NAD}^+$  et  $\text{NADH,H}^+$  à la fin de la réaction. En déduire les pourcentages des formes oxydées et réduites.
- 2) A partir de la question précédente, calculer les absorbances à 240 nm et 360 nm du milieu réactionnel (on négligera la variation de volume liée à l'ajout de l'échantillon plasmatique)
- 3) Quelle est la longueur d'onde qui doit être utilisée pour calculer la concentration du glucose dans l'échantillon plasmatique.
- 4) Calculer la concentration en glucose de l'échantillon plasmatique en  $\text{mol.L}^{-1}$ .