

CORRECTION COLLE - 19 SEPTEMBRE 2019  
EXERCICE DE CHIMIE ANALYTIQUE

---

# Énoncé de l'exercice

Le contrôle de la teneur en caféine contenue dans un sirop de citrate de caféine à 2,5%, indiquée pour le traitement de l'apnée du nouveau-né, est réalisé par HPLC selon deux méthodes :

- par étalonnage externe
- par la méthode des ajouts dosés

## ***Conditions chromatographiques :***

L'analyse se fait sur une colonne C18 (250 x 4 mm : 5  $\mu$ m) en mode isocratique avec une phase mobile constituée d'un mélange acétonitrile/eau (70/30 (V/V)). La pression est de 139 bars. La détection se fait en UV à 254 nm.

# Partie I : Etalonnage externe

**Préparation de la solution à examiner** : Introduire 1 mL de solution buvable dans une fiole jaugée de 200 mL et compléter avec de l'eau. Puis prélever 1 mL de cette solution diluée, l'introduire dans une fiole jaugée de 100 mL et compléter avec la phase mobile.

**Préparation des solutions standards** : A partir d'une solution de référence en caféine à 1 g/L, préparer deux solutions diluées en introduisant 20,0  $\mu$ L (Solution standard 1) et 30,0  $\mu$ L (solution standard 2) dans une fiole jaugée de 20,0 mL et compléter avec la phase mobile.

**Analyse des solutions standards et de la solution à examiner** : Injecter 20,0  $\mu$ L de la solution à examiner dans la boucle de 100  $\mu$ L. Après intégration des pics du chromatogramme, on calcule les AUC pour les pics correspondants à la caféine. Les valeurs des AUC pour chacune des solutions sont notées dans le tableau suivant :

Solution	AUC du pic de la caféine
Standard 1	0,200
Standard 2	0,300
Solution à examiner	0,220

# QUESTION N°1

Déterminer les concentrations du standard 1 et du standard 2 exprimés en mg/L.

**Préparation des solutions standards :** A partir d'une solution de référence en caféine à 1 g/L, préparer deux solutions diluées en introduisant 20,0  $\mu\text{L}$  (Solution standard 1) et 30,0  $\mu\text{L}$  (solution standard 2) dans une fiole jaugée de 20,0 mL et compléter avec la phase mobile.

Standard 1 :  $C_{E1} = \frac{1 \text{ g/L} \times 20 \cdot 10^{-6} \text{ L}}{20 \cdot 10^{-3} \text{ L}} = 0,0010 \text{ g/L} = 1,0 \text{ mg/L}$  4 pts

Standard 2 :  $C_{E2} = \frac{1 \text{ g/L} \times 30 \cdot 10^{-6} \text{ L}}{20 \cdot 10^{-3} \text{ L}} = 0,0015 \text{ g/L} = 1,5 \text{ mg/L}$  4 pts

# QUESTION N°2

En considérant le signal proportionnel à la concentration, déterminer la concentration de la caféine dans la solution à examiner en mg /L.

Standard 1 = 1,0 mg/L

Standard 2 = 1,5 mg/L

Solution	AUC du pic de la caféine
Standard 1	0,200
Standard 2	0,300
Solution à examiner	0,220

C Exa = ?

Signal proportionnel à la concentration donc

$$C \text{ Exa} = (1,0 \times 0,220) / 0,200 = 1,1 \text{ mg/L avec standard 1}$$

Ou 
$$C \text{ Exa} = (1,5 \times 0,220) / 0,300 = 1,1 \text{ mg/L avec standard 2}$$

6 pts

# QUESTION N°3

En déduire la concentration en caféine dans la solution buvable en mg/mL.

**Préparation de la solution à examiner** : Introduire 1 mL de solution buvable dans une fiole jaugée de 200 mL et compléter avec de l'eau. Puis prélever 1 mL de cette solution diluée, l'introduire dans une fiole jaugée de 100 mL et compléter avec la phase mobile.

⇒ Dilution au  $1/200^{\text{ème}}$  puis dilution au  $1/100^{\text{ème}}$   
= Dilution au  $1/20000^{\text{ème}}$

Donc  $C_0 = C_{\text{Exa}} \times 20\,000$

3 pts

AN

$C_0 = 1,1 \times 20\,000 = 22\,000 \text{ mg/L} = 22 \text{ mg/mL}$

3 pts

# Partie II : Méthode des ajouts dosés

**Préparation de la solution à examiner** : Introduire 1 mL de solution buvable dans une fiole jaugée de 200 mL et compléter avec de l'eau. Puis prélever 1 mL de cette solution diluée, l'introduire dans une fiole jaugée de 100 mL et compléter avec la phase mobile.

**Préparation de la solution standard** : Prélever 1 mL de la solution buvable à analyser, introduire dans une fiole jaugée de 200 mL et compléter avec de l'eau. Puis prélever 1 mL de cette solution et l'introduire dans une fiole jaugée de 100,0 mL. Ajouter 100  $\mu$ L d'une solution de référence en caféine à 1 g/L et compléter avec la phase mobile jusqu'au trait de jauge.

**Analyse des solutions standards et de la solution à examiner** : Injecter 20,0  $\mu$ L de la solution à examiner dans la boucle de 100  $\mu$ L. Après intégration des pics du chromatogramme, on calcule les AUC pour les pics correspondants à la caféine. Les valeurs des AUC pour chacune des solutions sont notées dans le tableau suivant :

Solution	AUC du pic de la caféine
Solution à examiner	0,225
Standard	0,405

# QUESTION N°4 (1/3)

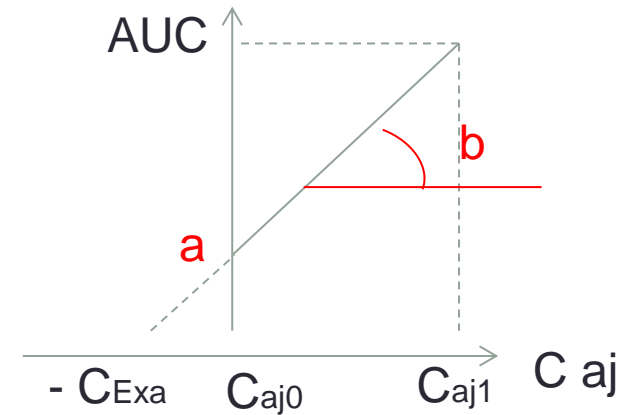
Déterminer la concentration en caféine dans la solution à examiner.

Selon la méthode des ajouts dosés :  $AUC = b \cdot C_{aj} + a$

Pour  $AUC = 0 \Leftrightarrow C_{aj} = -C_{Exa}$

D'où  $0 = b \times (-C_{Exa}) + a$

Donc  $C_{Exa} = a / b$  **3 pts**



- 1) Calcul des paramètres de la droite de régression a et b
- 2) En déduire la concentration  $C_{Exa}$



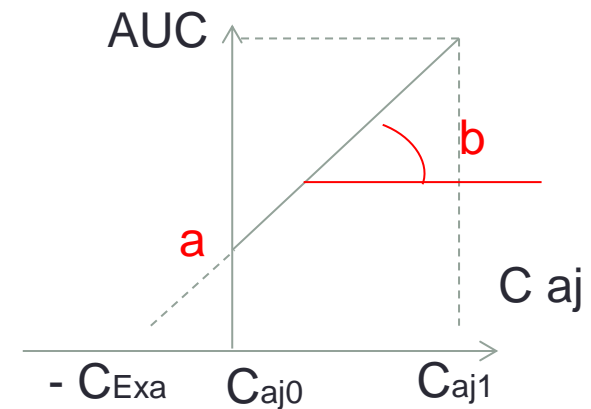
# QUESTION N°4 (2/3)

Déterminer la concentration en caféine dans la solution à examiner.

## 1) Calcul des paramètres de la droite de régression

- a est l'AUC pour  $C_{aj}$  nulle donc  $a = 0,225$
- b : la pente de la droite de régression

$$b = \frac{AUC_{aj1} - AUC_{aj0}}{C_{aj1} - C_{aj0}}$$



**Préparation de la solution standard** : Prélever 1 mL de la solution buvable à analyser, introduire dans une fiole jaugée de 200 mL et compléter avec de l'eau. Puis prélever 1 mL de cette solution et l'introduire dans une fiole jaugée de 100,0 mL. Ajouter 100  $\mu$ L d'une solution de référence en caféine à 1 g/L et compléter avec la phase mobile jusqu'au trait de jauge.

$$C_{aj1} = \frac{1 \times 100 \cdot 10^{-6}}{100 \cdot 10^{-3}} = 1 \text{ mg/L} \quad \Leftrightarrow \quad b = \frac{0,405 - 0,225}{1 - 0} = 0,18$$

## QUESTION N°4 (3/3)

Déterminer la concentration en caféine dans la solution à examiner.

2) En déduire la concentration C Exa

$$C_{\text{Exa}} = a / b = 0,225 / 0,18 = 1,25 \text{ mg/mL}$$

3 pts

# QUESTION N°5

En déduire la concentration dans la solution buvable.

**Préparation de la solution à examiner** : Introduire 1 mL de solution buvable dans une fiole jaugée de 200 mL et compléter avec de l'eau. Puis prélever 1 mL de cette solution diluée, l'introduire dans une fiole jaugée de 100 mL et compléter avec la phase mobile.

⇒ Dilution au  $1/200^{\text{ème}}$  puis dilution au  $1/100^{\text{ème}}$   
= Dilution au  $1/20\ 000^{\text{ème}}$

Donc  $C_0 = C_{\text{Exa}} \times 20\ 000$

3 pts

AN

$C_0 = 1,25 \times 20\ 000 = 25\ 000 \text{ mg/L} = 25 \text{ mg/mL}$

3 pts

# QUESTION N°6

Comparer les résultats des 2 méthodes de dosage, conclure sur l'influence des excipients du sirop sur le dosage et la conformité de la solution buvable.

Les concentrations sont différentes.

2 pts

Il y a donc un effet de matrice.

⇒ Contribution de la matrice sur le signal de l'analyte

2 pts

⇒ Quantification de l'analyte en présence de la matrice

La valeur de concentration a prendre en compte est celle donnée par la méthode des ajouts dosés de 25 mg/mL soit 2,5 g/100mL ou 2,5%.

2 pts

La solution buvable est conforme.