

Licence Chimie et Chimie Physique

UE Chimie Analytique

**TD
Protocoles analytiques**

Enseignant : Y. FRANCOIS

Yannis FRANCOIS

Laboratoire de Dynamique et Structure Moléculaires par Spectrométrie de Masse
Tour de Chimie, 12ème étage

e-mail: yfrancois@unistra.fr

Postulat du protocole analytique à résoudre

Dosage de l'eugénol dans un mélange complexe par HPLC/UV

Matériel à disposition :

- Un mélange de quatre composés (Eugénol, Carvone, 3-hydroxyacétophénone, 4-hydroxyacétophénone)

➤ Le handbook

➤ Un spectromètre UV

➤ Une chaîne HPLC à détection UV

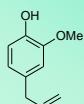
- ✓ Phase stationnaire C18
- ✓ Phase mobile : mélange Acétonitrile/eau (concentration variable)
- ✓ Boucle d'injection 20 µL

➤ Les quatre composés standards

➤ Tout le matériel de laboratoire classique (pipette, fiole jaugée, etc...)

Formule chimique des composés

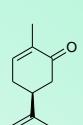
➤ Eugénol



➤ 4-hydroxyacétophénone



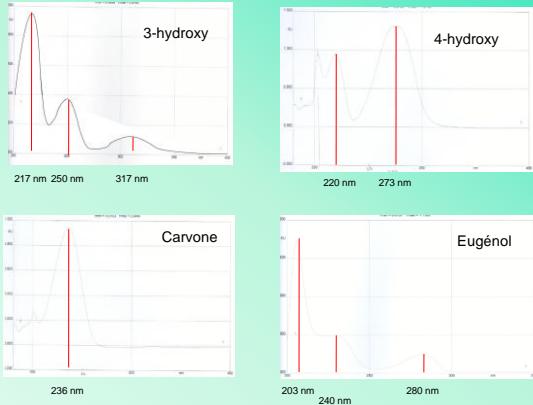
➤ Carvone



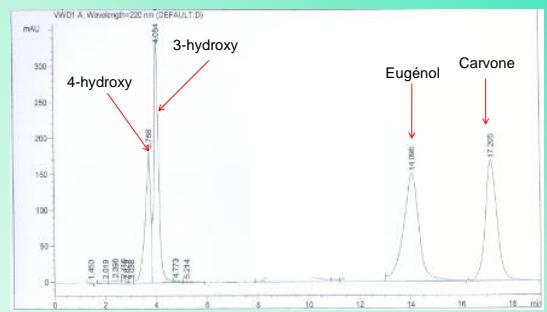
➤ 3-hydroxyacétophénone



Propriétés spectrales UV des composés

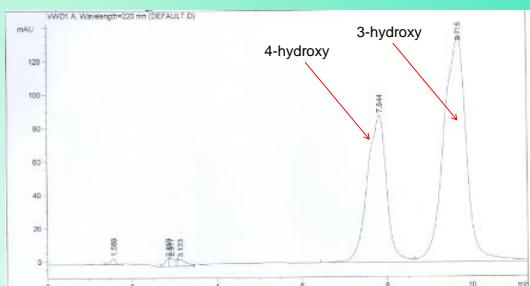


Optimisation séparation



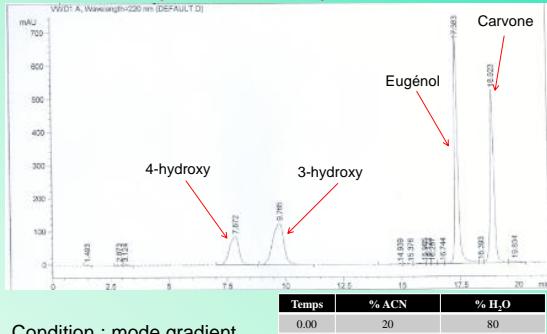
Condition : mode isocratique Eau/ACN 40/60

Optimisation séparation

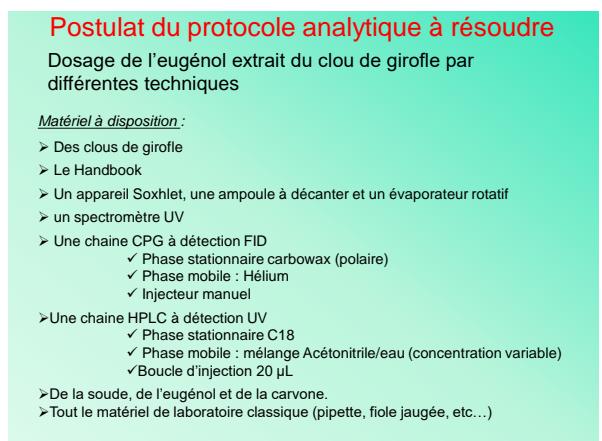
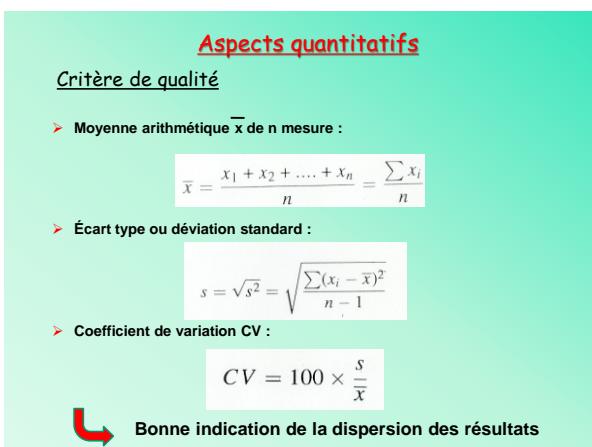
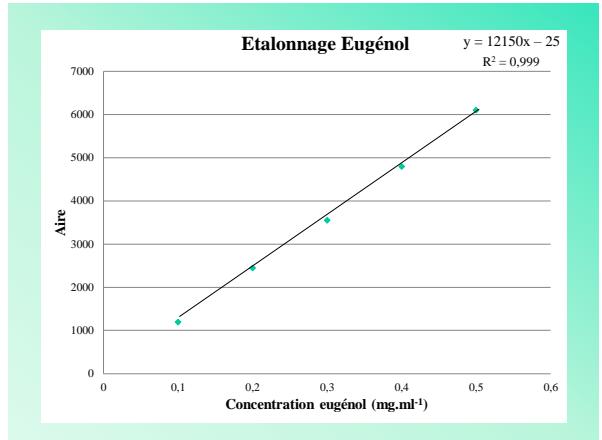
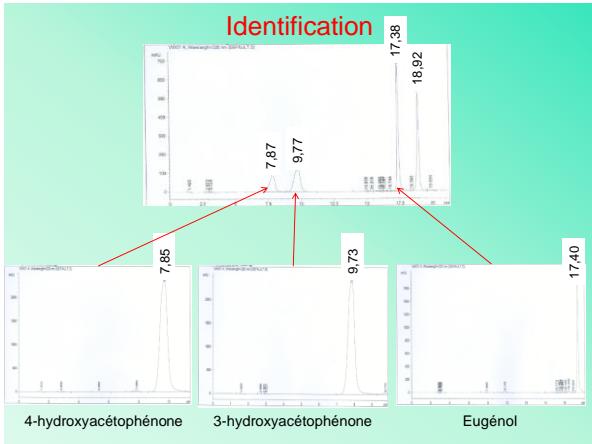


Condition : mode isocratique Eau/ACN 80/20

Optimisation séparation



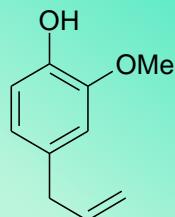
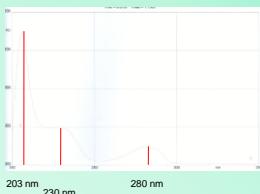
Condition : mode gradient



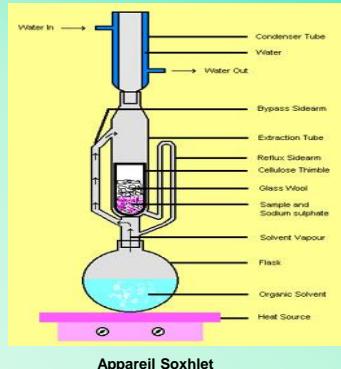
Recherche littérature

➤ Eugénol

bp = 255°C



Extraction solide – liquide



Extraction liquide – liquide

Mode opératoire :

- Extraire l'Eugénol du mélange extrait du clou de girofle (lavage)
- Extraction avec de la soude 1 M (récupération de l'Eugénol en phase aqueuse)
- Acidification (pH 2) avec de l'acide chloridrique
- Extraction au dichlorométhane
- Evaporation à l'évaporateur rotatif
- Récupération dans un volume connu de MeOH
- Filtrage de l'extrait final

Etude en UV

Protocole :

- Fixer la longueur d'onde à 203 nm (λ_{max})
- Réaliser une gamme d'étalonnage dans le domaine de linéarité de l'appareil
- Doser l'extrait

Etude en HPLC/UV

Protocole :

- Fixer la longueur d'onde à 203 nm (λ_{max})
- Réaliser une gamme d'étalonnage dans le domaine de linéarité de l'appareil
- Doser l'extrait

Etude en CPG FID

Protocole :

- Déterminer la température du four pour avoir un pic efficace et le plus rapide possible
- Réaliser une gamme d'étalonnage dans le domaine de linéarité de l'appareil
- Doser l'extrait

**Attention !!!
Injection manuelle**

Méthode d'étalonnage

Deux méthodes :

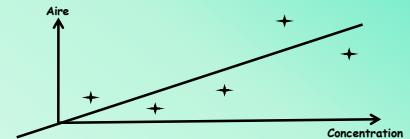
- Etalonnage externe
- Etalonnage interne

Aspects quantitatifs

Étalonnage interne

Rappel :

Le **problème majeur** de l'étalement externe est basé sur la non répétabilité de l'injection.



Résultat :

Droite d'étalement non exploitable car non représentative

Solution : étalement interne

Aspects quantitatifs

Étalonnage interne

Nomenclature :

E_i : étalon interne
 E_{ech} : échantillon inconnu analysé
 E_{st} : échantillon standard

Principe :

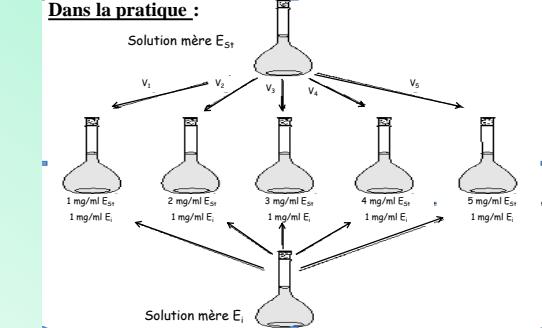
- Utiliser un E_i à une concentration fixe
- Optimiser la séparation des deux composés E_i et E_{ech}
- Réaliser une droite d'étalonnage en faisant varier la concentration de l' E_{st} et en gardant concentration de l' E_i fixe
- Représenter la droite d'étalonnage :

$$\text{Aire } E_{ech}/\text{Aire } E_i = f([E_{ech}]/[E_i])$$
- Injecter le mélange contenant l' E_i et l' E_{ech}
- Reporter la valeur mesurée sur la courbe et en déduire $[E_{ech}]$

Aspects quantitatifs

Étalonnage interne

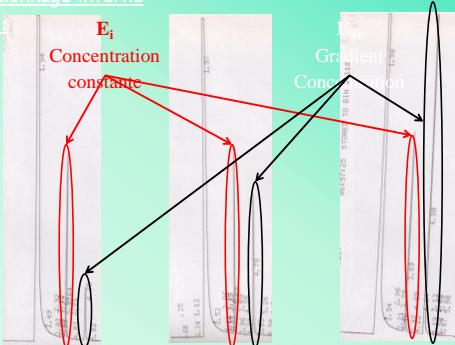
Dans la pratique :



Aspects quantitatifs

Étalonnage interne

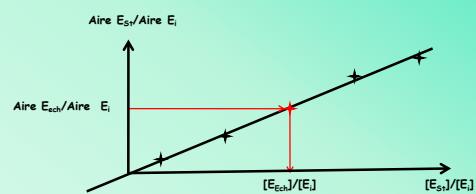
Résultat



Aspects quantitatifs

Étalonnage interne

Résultat :



$$[E_{ech}] = (A_{E_{ech}}/A_{E_i}) \cdot [E_i]$$

Aspects quantitatifs

Étalonnage interne

Propriété de l'E_i:

- Structure chimique très proche
- Temps de rétention très proche
- Concentration très proche

But de l'utilisation d'un E_i:

- Utiliser un rapport de concentration
- Corriger des erreurs de répétabilité de volume injecté

Aspects quantitatifs

Critère de qualité

➤ Moyenne arithmétique \bar{x} de n mesure :

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$$

➤ Écart type ou déviation standard :

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

➤ Coefficient de variation CV :

$$CV = 100 \times \frac{s}{\bar{x}}$$



Bonne indication de la dispersion des résultats

Postulat du protocole analytique à résoudre

Dosage du magnésium dans la Contrex par spectroscopie d'absorption atomique

Matériel à disposition:

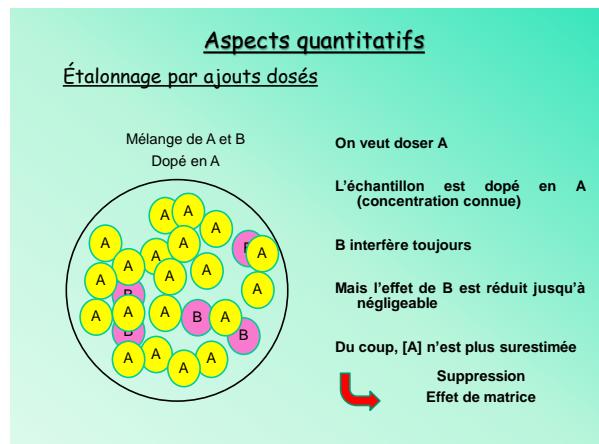
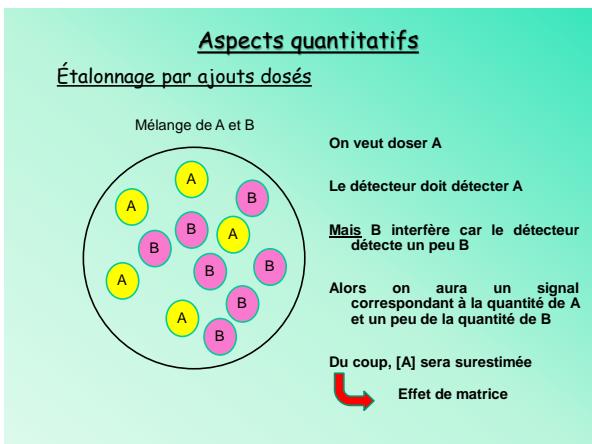
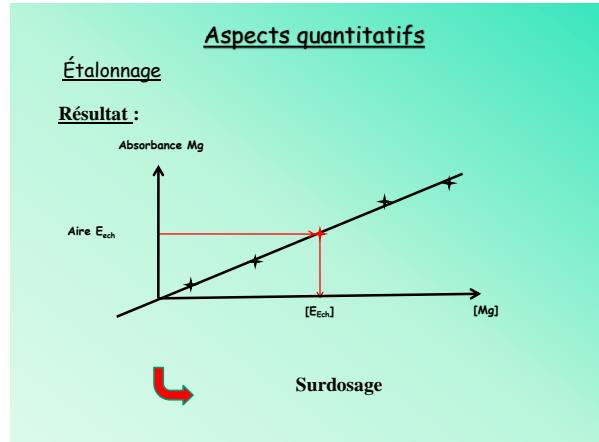
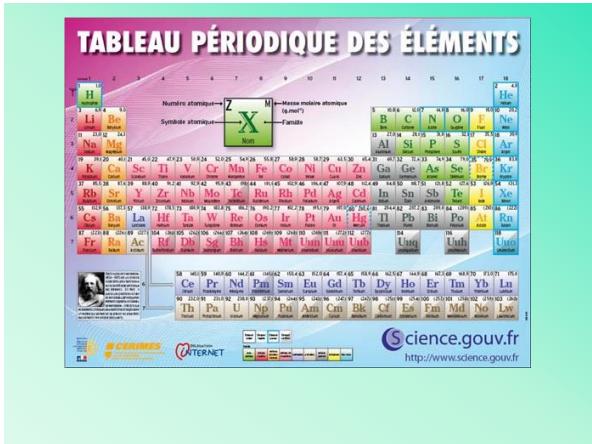
- Du sel de magnésium (MgSO₄, 1 H₂O)
- Le tableau périodique des éléments
- Un spectro d'absorbance atomique
- Ut le matériel de laboratoire classique (pipette, fiole jaugée, etc...)

Etude en SAA

Protocole:

- Déterminer la longueur d'onde d'étude
- Réaliser une gamme d'étalonnage dans le domaine de linéarité de l'appareil
- Préparation de la solution mère de Mg
- Droite d'étalonnage
- Doser la Contrex

Attention !!!
Effet de matrice

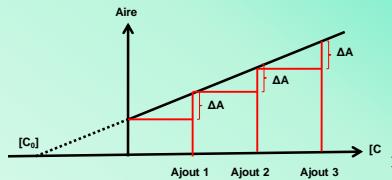


Aspects quantitatifs

Étalonnage par ajouts dosés

Principe :

Ajouter à une concentration inconnue mais constante, de notre composé des ajouts successifs de substance à analyser



Aspects quantitatifs

Critère de qualité

➤ Moyenne arithmétique \bar{x} de n mesure :

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$$

➤ Écart type ou déviation standard :

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

➤ Coefficient de variation CV :

$$CV = 100 \times \frac{s}{\bar{x}}$$



Bonne indication de la dispersion des résultats