

PHYSIQUE-CHIMIE
Analyse de documents scientifiques
Durée : 3 heures

L'usage d'une calculatrice est autorisé pour cette épreuve.

Si, au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il le signale sur sa copie et poursuit sa composition en expliquant les initiatives qu'il a été amené à prendre.

Chaque candidat est responsable de la vérification de son sujet d'épreuve : pagination et impression de chaque page. Ce contrôle doit être fait en début d'épreuve. En cas de doute, il doit alerter au plus tôt le chef de centre qui vérifiera et éventuellement remplacera son sujet.

L'analyse proposée dans le sujet s'appuie sur différents documents scientifiques présentés à la suite des questions. Elle mobilise également les acquis personnels dans le cadre de la préparation au concours. Des données complémentaires sont situées dans l'annexe pp. 11 et 12 à la fin de l'énoncé.

Les polymères à empreintes moléculaires, propriétés et intérêts pour l'analyse.

L'objectif général est d'étudier les propriétés des polymères à empreintes moléculaires (PEM) afin d'utiliser leur capacité de capture sélective d'une molécule, en vue d'analyser des composés à l'état de traces dans des échantillons complexes. Le développement de ces matériaux est actuellement en plein essor dans divers domaines : séparation chromatographique chirale, tests immunologiques, capteurs, synthèse et catalyse, et notamment capture sélective. Aucune connaissance portant sur la synthèse ou sur les propriétés des polymères n'est requise pour l'analyse des documents étudiés. Pour information, sans conséquence sur la résolution, la polymérisation consiste en un grand nombre d'additions d'unités identiques, appelées monomères, les unes aux autres pour former une longue « chaîne », ce qui conduit à une molécule de grande masse moléculaire, appelée polymère. Dans les figures 1 à 4, cette longue chaîne symbolisée par un trait courbe épais ou un zig-zag est indiquée. Les polymères dont il est fait mention dans les documents sont tous sous forme de microbilles, donc sous forme solide.

Présentation générale des PEM

Les techniques de chimie analytique ont profondément évolué ces dernières années afin de répondre à une demande de plus en plus forte dans différents secteurs notamment l'environnement, l'agroalimentaire, et la médecine. Cependant, des difficultés persistent compte tenu de la complexité des échantillons à analyser (sang, urine, eaux de surface, matrice alimentaire) et de la faible teneur en composés recherchés. De nombreuses méthodes physiques, chimiques ou spectroscopiques sont disponibles, mais elles manquent de sélectivité. Dans ce contexte, des outils biomimétiques synthétiques ont été développés. Ils sont fondés sur le principe d'impression moléculaire au même titre que des anticorps, des récepteurs ou encore des enzymes afin de détecter une molécule cible ou d'en évaluer la teneur dans un échantillon. Ces nouveaux matériaux, capables de se lier sélectivement à une cible donnée, ont été baptisés polymères à empreintes moléculaires (PEM).

Ces matériaux sont élaborés selon le principe décrit sur la **figure 1**. Dans le cas général, un complexe de pré-polymérisation noté **1a** est d'abord formé par réaction entre un (des) monomère(s) fonctionnel(s) et la molécule cible qui joue le rôle de **molécule empreinte**. Ce complexe (**1a**) est ensuite polymérisé en présence d'un monomère et d'un solvant pour conduire au polymère précurseur du PEM, noté **1b**. L'élimination de la molécule empreinte, réalisée dans l'étape d'extraction, permet l'obtention du PEM noté **1c**. Le polymère **1c** est dit polymère imprimé car il possède des sites de reconnaissance spécifiques de la molécule cible. Cela signifie que si ce PEM est mis en présence de la même molécule cible dans des conditions adéquates, elle pourra se loger dans les sites de reconnaissance (ou cavités) à l'image de sa structure (principe clé-serrure). Pour comparaison, un polymère dit non imprimé (PNI) est toujours

synthétisé en parallèle dans les mêmes conditions que le PEM, mais *en l'absence* de la molécule empreinte. Il en découle que le PNI *ne possède pas* de sites de reconnaissance spécifiques. Le PNI possède en revanche des sites non spécifiques, comme le PEM. Ceci permet de réaliser des tests comparés entre le PNI et le PEM afin de caractériser la sélectivité du PEM vis-à-vis de la molécule cible.

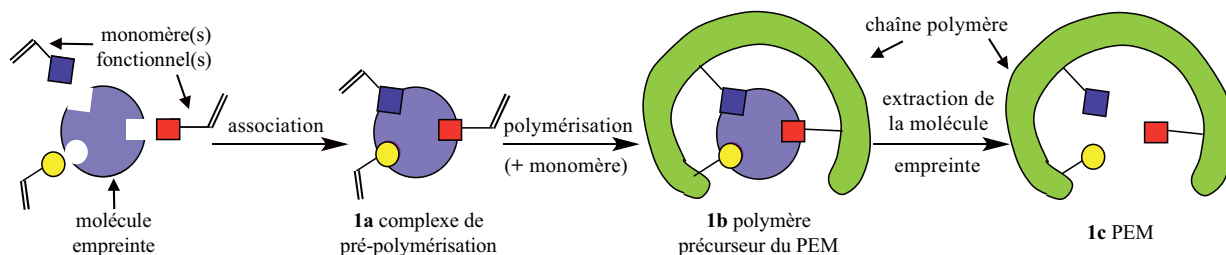


Figure 1 : principe général de synthèse d'un PEM

QUESTIONS

Partie 1 : questions sur des notions du programme en lien avec la thématique

L'acide méthacrylique est l'un des monomères les plus utilisés pour l'élaboration des polymères à empreintes moléculaires (PEM). Sa structure est donnée sur le schéma 1.

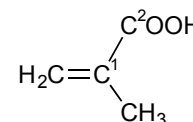


Schéma 1 : structure de l'acide méthacrylique

- 1.1. Préciser le groupe fonctionnel de cette molécule, puis la nommer en nomenclature systématique.
- 1.2. Indiquer si la molécule possède des stéréoisomères de configuration, en justifiant la réponse.
- 1.3. Représenter dans l'espace l'acide méthacrylique en précisant la géométrie des carbones C¹ et C². Justifier le fait que la liaison C¹-C² soit légèrement plus courte qu'une liaison simple C-C d'alcane.
- 1.4. Le spectre RMN du proton de l'acide méthacrylique est donné en **annexe**. Attribuer les différents signaux en indiquant le nombre de protons impliqués. Tous les signaux seront assimilés à des singulets.

On se propose de vérifier la concentration d'une solution d'acide méthacrylique par titrage potentiométrique. À cet effet, on utilise une solution commerciale d'hydroxyde de sodium de concentration C_b égale à 0,1000 mol.L⁻¹. Le fabricant annonce une erreur maximale tolérée (EMT) de 5x10⁻⁴ mol.L⁻¹. Une burette de 25 mL sera utilisée avec une graduation au dixième de millilitre et une EMT annoncée par le constructeur de 0,05 mL. La solution à doser sera prélevée avec une pipette jaugée de 20 mL de classe +/- 0,03 mL. La manipulation se déroule dans une salle climatisée à 20 °C. Le couple acide méthacrylique/méthacrylate a un pK_a de 4,7.

- 1.5. Dessiner un schéma du montage en précisant les réactifs titrant et titré. Décrire les électrodes utilisées pour ce titrage et tracer qualitativement l'allure de la courbe de titrage attendue.
- 1.6. Un premier titrage colorimétrique très rapide d'un volume de 20 mL de solution à doser indique que le volume équivalent est aux alentours de 11 mL. Choisir un indicateur coloré adapté à ce titrage parmi ceux donnés en **annexe**. Justifier la démarche proposée.
- 1.7. Un second titrage, toutes choses égales par ailleurs, permet de déterminer plus précisément un volume équivalent de 11,3 mL. Calculer la concentration de la solution d'acide méthacrylique.
- 1.8. Déterminer alors le pH de la solution initiale en explicitant et vérifiant les hypothèses faites.
- 1.9. En exposant la démarche choisie, calculer l'incertitude élargie sur la valeur de la concentration de la solution d'acide méthacrylique pour un niveau de confiance de 95 % en se limitant aux sources d'incertitudes évoquées dans l'énoncé. En déduire l'intervalle de confiance dans lequel se situe le

résultat du mesurage de la concentration de la solution d'acide méthacrylique pour un niveau de confiance de 95 %.

- 1.10. Une synthèse de PEM par approche covalente est décrite dans le **document 1** sur la **figure 2**. Le cycle à six chaînons du complexe de pré-polymérisation dessiné adopte une conformation chaise. Représenter, dans sa conformation la plus stable, l'autre stéréoisomère de configuration susceptible de se former au cours de cette première étape. Justifier la réponse, et préciser la relation de stéréoisomérisation entre ces deux stéréoisomères de configuration.
- 1.11. Donner le nom et le mécanisme de la réaction mise en jeu pour l'élaboration du produit qualifié de « complexe de pré-polymérisation » lors de l'approche covalente de la **figure 2**. Justifier l'intérêt de réaliser ce type de réaction pour la synthèse d'un PEM par approche covalente.
- 1.12. Cette réaction effectuée dans le toluène chauffé à sa température d'ébullition conduit à la formation d'eau. Tracer l'allure du diagramme binaire liquide-vapeur du mélange eau-toluène sous une pression de 1 bar, en indiquant les courbes de rosée et d'ébullition (voir l'**annexe**).
- 1.13. Préciser la nature des phases en présence dans les différents domaines du diagramme. Calculer la variance pour le point hétéroazéotropique en justifiant le calcul, et en commentant le résultat.
- 1.14. Tracer la courbe d'analyse thermique d'échauffement isobare d'un mélange eau-toluène pour lequel la fraction molaire en eau x_{eau} vaut 0,1. Estimer la température aux changements de pente et donner la nature des phases en présence.
- 1.15. Réfléchir à l'intérêt d'utiliser un solvant comme le toluène pour rendre quantitative la formation du complexe de pré-polymérisation (question 1.11), puis discuter du choix du toluène par rapport aux autres solvants proposés en **annexe**.

Les PEM sont le plus souvent synthétisés par voie radicalaire en utilisant l'*AIBN* (azobisisobutyronitrile, **schéma 2**) comme initiateur de radicaux libres. La réaction de polymérisation est réalisée dans un bain thermostaté à 60 °C pendant 24 h à volume constant. La décomposition de l'*AIBN* résulte d'une double rupture homolytique qui s'accompagne d'un dégagement de diazote. Cette réaction est considérée comme un acte élémentaire, son temps de demi-réaction est de 22,6 heures à 60 °C, et son énergie d'activation vaut 123 kJ.mol⁻¹. Le radical provenant de la décomposition de l'*AIBN* s'additionne ensuite sur l'acide méthacrylique pour former un autre radical. Ces deux étapes constituent l'amorçage de la réaction. La propagation qui a lieu ensuite permet la formation du polymère par additions successives d'unités de monomère sur le centre actif en croissance.

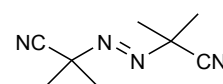


Schéma 2 : structure de l'*AIBN*

- 1.16. Écrire l'équation de la réaction de décomposition de l'*AIBN*.
- 1.17. Après avoir défini la notion d'acte élémentaire, exprimer la concentration d'*AIBN* notée C_{AIBN} en fonction du temps, de la concentration initiale d'*AIBN*, C_{AIBN}^0 , et de la constante de vitesse k .
- 1.18. Pour réaliser cette réaction, une masse de 40 mg d'*AIBN* a été introduite dans le milieu réactionnel. Calculer alors le pourcentage p d'*AIBN* consommé au bout de 50 minutes. Commenter le résultat.
- 1.19. Justifier le fait que la réaction soit réalisée à 60 °C. On pourra déterminer la constante de vitesse de la réaction de décomposition de l'*AIBN* à 20 °C.
- 1.20. Proposer un mécanisme réactionnel pour la formation du second radical sachant que les règles de stabilité des radicaux sont analogues à celles des carbocations.
- 1.21. Le dinoterbe et l'atrazine dont les structures sont représentées sur le **schéma 3**, sont deux herbicides qui ont été largement utilisés.

Les solutions aqueuses commerciales de dinoterbe ont été longtemps contrôlées par titrage en retour grâce aux propriétés réductrices de l'ion étain II, Sn²⁺. Les ions Sn²⁺ en excès sont ensuite titrés par les ions dichromate Cr₂O₇²⁻. Interpréter cette procédure en explicitant l'équation de la première réaction

d'oxydoréduction dans laquelle les fonctions $-\text{NO}_2$ du dinoterbe sont transformées en fonctions ammonium primaire $-\text{NH}_3^+$, et les ions Sn^{2+} en Sn^{4+} . En effectuant le calcul de sa constante d'équilibre, montrer que la seconde réaction impliquant les ions dichromate peut être considérée comme totale. Discuter de la faisabilité de cette technique pour le titrage de l'atrazine. Justifier la réponse.

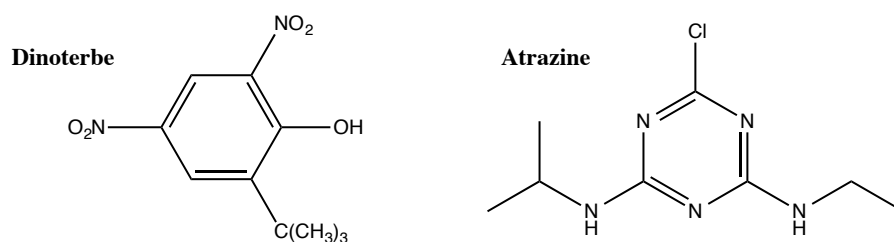


Schéma 3 : structures du dinoterbe et de l'atrazine

Partie 2 : analyse des documents

Extraction de la molécule empreinte

Le **document 2** décrit le procédé d'extraction de la molécule empreinte après l'étape de polymérisation. Cette opération est une étape clé dans l'élaboration du PEM. Son procédé a été optimisé afin d'assurer l'extraction de la molécule empreinte sans affecter la structure tridimensionnelle du matériau.

- 2.1. Compte tenu du fait que ce PEM est le résultat d'une approche covalente, expliciter l'étape 1 du procédé conduisant au PEM obtenu à partir du [1,1'-binaphthalène]-6,6'-diol (molécule empreinte) et de l'acide méthacrylique (monomère), en illustrant la réponse par un schéma.
- 2.2. Proposer un mécanisme réactionnel pour la réaction entre la soude et le polymère précurseur du PEM lors de l'étape 1 du protocole présenté dans le **document 2**.
- 2.3. Indiquer le rôle des étapes 2 et 3 décrites dans le **document 2**, puis commenter le choix de l'acétonitrile comme solvant dans l'étape 3.

Evaluation des propriétés de reconnaissance des molécules cibles par les PEM

Le **document 3** présente une méthode habituellement utilisée afin d'évaluer les propriétés de reconnaissance des molécules cibles par les PEM, et le **document 4** propose deux modèles pour caractériser l'affinité d'un PEM vis-à-vis de sa molécule empreinte.

- 2.4. En s'appuyant sur le **document 1**, justifier le fait que l'évaluation des propriétés se fasse toujours dans le solvant qui a servi lors de la polymérisation.
- 2.5. Commenter l'allure de la **figure 6** du **document 3**, obtenue pour le PEM_{MSM} , et en déduire la valeur maximale (en μmol) de n_{MEC} , notée n_{MECmax} , correspondant à ce PEM dans ces conditions.
- 2.6. Interpréter l'allure de la courbe de la **figure 7** du **document 4** tracée pour le modèle de Scatchard avec le PEM_{MSM} . On pourra comparer à l'allure obtenue dans le cas d'une interaction enzyme-substrat pour laquelle on obtient une droite.
- 2.7. En exploitant la courbe de Scatchard du **document 4**, déterminer les deux constantes K_1 et K_2 de fixation du PEM_{MSM} . Attribuer les deux types de sites caractérisés par les deux constantes de fixation en fonction de leur affinité vis-à-vis de la molécule empreinte.
- 2.8. Déterminer également les deux valeurs de n_{MECmax} en exploitant ce même document. Commenter ces deux valeurs et les comparer avec la valeur trouvée à la question 2.5.
- 2.9. En exploitant les données fournies dans le **tableau 2** du **document 4** se rapportant au $\text{PEM}_{\text{clomiphène}}$, montrer que le modèle de Freundlich est dans ce cas un modèle tout à fait adapté. Déterminer alors les paramètres a et m de ce PEM en gardant pour $[\text{ME}]$ et n_{MEC} les unités proposées dans le **tableau 2**. Commenter la valeur de m obtenue.

- 2.10. Comme décrit dans la présentation générale, un polymère non imprimé (PNI) est systématiquement synthétisé en parallèle du PEM. Ainsi, lors de la synthèse du PEM_{clomiphène}, un PNI a également été préparé et caractérisé en utilisant le modèle de Freundlich. Le paramètre m de Freundlich correspondant au PNI a été déterminé et vaut 0,722 (avec $[ME]$ en mol.L⁻¹ et n_{MEC} en nmol). Interpréter les différences de valeurs obtenues pour m entre le PEM_{clomiphène} et le PNI.

Synthèse d'une molécule empreinte

Le **document 5** propose la synthèse d'un tensio-actif phosphoré en vue de son utilisation comme molécule empreinte pour l'élaboration d'un PEM.

- 2.11. En s'appuyant sur la structure électronique du phosphore ($Z=15$) et sa position dans la classification périodique, donner les degrés d'oxydation minimum et maximum possibles du phosphore.
- 2.12. En considérant que l'hydrogène et les groupements carbonés ont un degré d'oxydation de +I, déterminer le degré d'oxydation du phosphore dans la molécule de départ (le phénylphosphinate d'éthyle), puis le comparer à celui de la molécule finale.

La première étape de la synthèse est une réaction d'hydrophosphination d'alcène. Elle est effectuée à 80 °C pour permettre la décomposition de l'*AIBN* et la formation de radicaux libres. Ces radicaux provoquent la rupture homolytique de la liaison P-H du phénylphosphinate d'éthyle, pour former un radical phosphoré, noté Rad1. Ce radical s'additionne sur la double liaison de l'alcène en conduisant à un composé d'addition radicalaire, noté Rad2. Celui-ci réagit avec une deuxième molécule de phénylphosphinate d'éthyle pour former le composé final **A**, et régénérer le radical Rad1.

- 2.13. Proposer un mécanisme réactionnel détaillé pour l'obtention du composé **A**.
- 2.14. Préciser la structure de **B** utilisé pour préparer **C**. Il est précisé que dans les mêmes conditions, **B** réagit sur un ester carboné pour conduire à un alcool.
- 2.15. Présenter une synthèse du réactif **B** en indiquant les conditions expérimentales (le schéma du montage expérimental n'est pas demandé). Mentionner les réactions parasites susceptibles de se produire au cours de la préparation de **B**

La réaction suivante permet d'introduire une fonction alcool à partir du groupement allylique ajouté à l'étape précédente.

- 2.16. La création d'une fonction alcool à partir d'un alcène peut être réalisée par addition d'eau en milieu acide. Rappeler le mécanisme de cette réaction en prenant l'exemple du composé **C** et expliquer pourquoi cette réaction n'a pas pu être utilisée ici.
- 2.17. En précisant les outils spectroscopiques utilisés, expliciter la démarche qui permettrait de vérifier que le composé **D** a été correctement synthétisé à partir de **C**.

La fin de la synthèse consiste en : (i) l'introduction de la fonction polymérisable, (ii) une étape de déprotection, et (iii) l'obtention de la molécule empreinte sous forme d'un sel de pyridinium.

- 2.18. Donner la structure du composé **E** en nommant la réaction qui permet de l'obtenir. Préciser également son mécanisme.
- 2.19. La *DDQ* (2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone) utilisée pour obtenir **F**, transforme d'abord la fonction éther présente dans la chaîne carbonée la plus longue de **E** ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$), en une fonction hémiacétal. Il se forme également de la 2,3-dichloro-5,6-dicyanoquinone, représentée sur le **schéma 4**. Établir l'équation bilan de cette réaction d'oxydo-réduction, en précisant la nature de l'oxydant et du réducteur. Donner la structure de **F** qui résulte de l'hydrolyse de l'hémiacétal intermédiairement formé. Définir le rôle

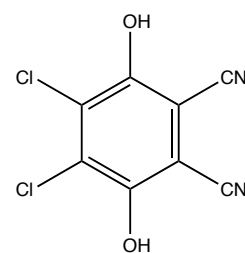


Schéma 4 : structure de l'hydroquinone tétrasubstituée

joué par le groupement *Ar* au cours de cette synthèse, en donnant une justification. Aucun mécanisme n'est attendu.

- 2.20. La pyridine et le trioxyde de soufre utilisés dans la dernière étape forment en fait un adduit (composé d'addition). Proposer une structure pour cet adduit en s'appuyant sur la réactivité acide ou basique (selon Lewis) des deux molécules. Préciser la géométrie de l'adduit autour du soufre ($Z=16$) à l'aide de la théorie VSEPR.
- 2.21. Proposer un mécanisme de réaction plausible pour l'obtention du composé final à partir du composé **F**. Préciser également la nature des réactions mises en jeu.

Partie 3 : approche critique et prospectives sur le thème

Une des applications les plus prometteuses des PEM est celle pour laquelle ils jouent le rôle de support de capture sélective. Comme l'illustre le **document 6**, différents travaux ont été réalisés en vue de la capture sélective d'un pesticide, l'atrazine (**figure 9**). Avant d'envisager d'utiliser un PEM en milieu aqueux, un protocole de capture sélective a été au préalable élaboré en milieu organique. Les résultats sont portés dans le **tableau 3** du **document 6** ; ils se rapportent à une percolation effectuée en milieu organique dans le solvant de synthèse.

- 3.1. En exploitant le **document 6** et les données des solvants fournies en **annexe**, analyser la nature probable des interactions spécifiques et non spécifiques développées entre l'atrazine et le PEM lors de l'étape de percolation. Expliciter les hypothèses et illustrer la réponse par un schéma.
- 3.2. Après avoir schématisé et nommé les interactions développées entre l'atrazine et le méthanol, justifier l'utilisation d'un faible pourcentage de méthanol dans le dichlorométhane lors de l'étape de lavage.
- 3.3. L'étape d'élution est réalisée avec du méthanol. Conclure sur le degré de sélectivité obtenu lors de la capture de l'atrazine par le PEM en milieu organique en exploitant les résultats du **document 6**.

Le potentiel principal de ce PEM est son utilisation en milieux aqueux afin de quantifier la présence d'atrazine dans les eaux de surface. Ainsi, lors de la percolation de l'échantillon d'eau pure dopé, l'atrazine est totalement retenue sur le PEM, mais hors des cavités. L'étape de lavage, réalisée en milieu organique (dichlorométhane), devient alors une étape clé qui permet la migration et la fixation des molécules d'atrazine au sein des cavités du PEM. Le principe d'élution est le même que pour le milieu organique. Comme indiqué dans le **tableau 4** du **document 6**, des résultats très prometteurs ont été obtenus en eau pure désionisée. Pourtant, toutes choses égales par ailleurs, en milieu aqueux *non désionisé* contenant de l'atrazine, tel qu'une eau de surface polluée ou une eau minérale dopée par de l'atrazine, un rendement de capture **nul** est observé sur le PEM, car toute l'atrazine est éliminée du PEM lors de l'étape de lavage.

- 3.4. Expliciter la phrase extraite du paragraphe ci-dessus : « *lors de la percolation de l'échantillon aqueux, l'atrazine est totalement retenue sur le PEM, mais hors des cavités* ».
- 3.5. Interpréter l'influence des ions présents dans l'eau sur le développement des interactions entre l'atrazine et le PEM lors de l'étape de lavage. Pour information, la composition d'une eau minérale est donnée dans le **tableau 1**. Seuls les ions les plus abondants y sont représentés. Proposer une étape supplémentaire dans le protocole décrit au **tableau 4** qui permettrait de capturer efficacement l'atrazine sur le PEM.
- 3.6. Envisager quelle(s) application(s) dans la vie quotidienne pourrai(en)t découler des résultats de cette étude.
- 3.7. Proposer un point de vue critique sur les avantages et les inconvénients du recours aux PEM pour la capture de molécules ou pour leur analyse.

| Ion | en mg.L ⁻¹ |
|--------------------|-----------------------|
| Calcium | 468 |
| Magnésium | 74 |
| Sodium | 9 |
| Sulfate | 1121 |
| Hydrogénocarbonate | 372 |

Tableau 1 : composition d'une eau minérale

Document 1 : les deux principales approches de synthèse des PEM

D'après la présentation précédente, la première étape de synthèse d'un PEM est celle qui conduit à un complexe de pré-polymérisation. Selon la nature des liaisons qui s'établissent entre le(s) monomère(s) fonctionnel(s) et la molécule empreinte au cours de cette étape, deux types d'approches peuvent être distinguées : l'approche covalente et l'approche non-covalente.

Dans l'approche covalente, le(s) monomère(s) fonctionnel(s) et la molécule empreinte se lient de manière covalente. L'illustration de la **figure 2** montre un exemple pour lequel un seul monomère fonctionnel réagit avec la molécule empreinte. Une fois la polymérisation effectuée, la molécule empreinte est extraite du polymère pour conduire au PEM représenté. Cela implique donc une rupture des liaisons formées au cours de la première étape.

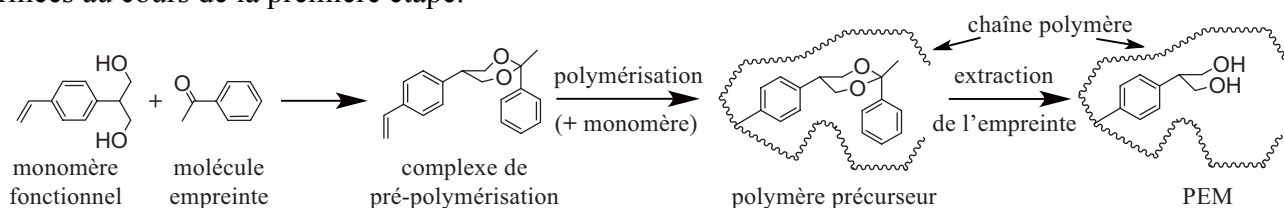


Figure 2 : principe de synthèse d'un PEM par approche covalente

Dans l'approche non covalente, des interactions faibles s'établissent entre le(s) monomère(s) fonctionnel(s) et la molécule empreinte au moment de la formation du complexe de pré-polymérisation. Le schéma de la **figure 3** rend compte de cette approche pour le cas d'un dipeptide qui s'associe à cinq monomères fonctionnels identiques dans le complexe de pré-polymérisation. Une fois la polymérisation réalisée, la cassure des liaisons faibles entre le dipeptide et le polymère permet de récupérer le PEM. L'approche non covalente reste la plus utilisée parce que sa mise en œuvre est aisée et qu'un grand nombre de monomères fonctionnalisés sont disponibles commercialement.

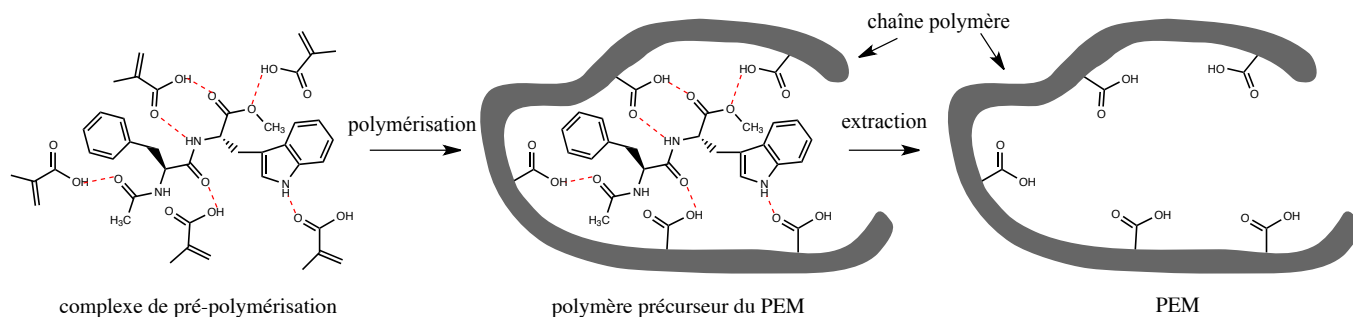


Figure 3 : principe de synthèse d'un PEM par approche non covalente pour l'impression d'un dipeptide

Document 2 : extraction de la molécule empreinte

Après polymérisation autour de la molécule empreinte, il est nécessaire d'extraire efficacement cette dernière afin de limiter le phénomène de faux positifs lors d'une analyse. Pour illustration, la **figure 4** présente de façon schématique la synthèse d'un polymère précurseur d'un PEM par approche covalente avec de l'acide méthacrylique utilisé comme monomère.

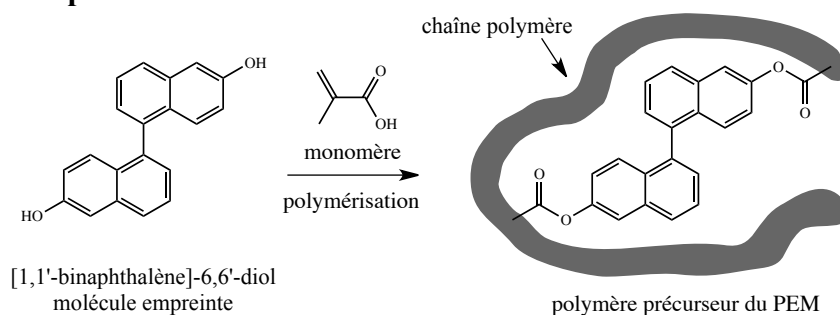


Figure 4 : représentation schématique de la synthèse du polymère précurseur du PEM par approche covalente, avant extraction de la molécule empreinte

Dans ce cas, le procédé consiste à rompre les liaisons qui relient la molécule empreinte au réseau polymère puis à entraîner la molécule empreinte hors du polymère. Ceci est réalisé en trois étapes comme décrit ci-dessous.

Etape 1 : le polymère précurseur est tout d'abord traité au reflux par une solution aqueuse de soude de concentration égale à 1 mol.L^{-1} dans du méthanol.

Etape 2 : le polymère est filtré, rincé, puis acidifié par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl) dans du méthanol.

Etape 3 : l'entraînement de la molécule empreinte hors du solide précédent est réalisée à chaud avec de l'acétonitrile (CH_3CN) comme solvant.

Document 3 : principe d'évaluation des propriétés des PEM

La capacité des PEM à capturer sélectivement la molécule empreinte *jouant le rôle de molécule cible* est la propriété la plus importante de ces matériaux. La méthode la plus utilisée pour évaluer cette propriété consiste à étudier l'équilibre de fixation entre la molécule empreinte, notée ME, et le PEM. Le schéma de principe est représenté sur la **figure 5**.

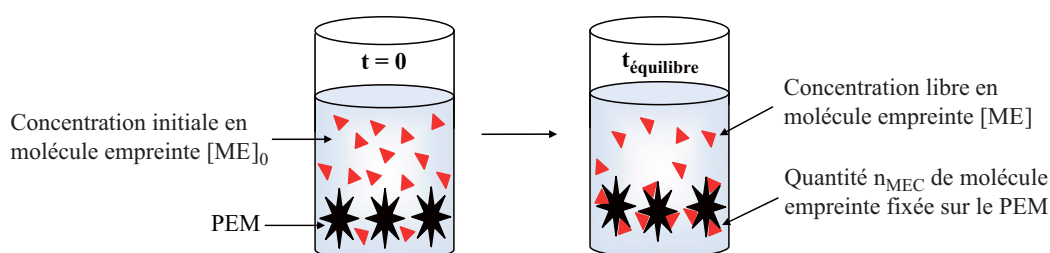


Figure 5 : principe d'évaluation des propriétés de capture du PEM en solution

On note n_{MEC} la quantité de **molécule empreinte capturée**, *c'est-à-dire fixée par le PEM*. Le polymère peut alors être séparé par filtration ou centrifugation, et le filtrat est ensuite analysé. La concentration en molécule empreinte libre, *c'est-à-dire non capturée et qui reste en solution*, notée $[\text{ME}]$, est déterminée par des méthodes d'analyses classiques. Connaissant la concentration initiale de molécule empreinte, notée $[\text{ME}]_0$, il est alors aisé de déduire la quantité n_{MEC} . On réalise ainsi diverses expériences à température constante, avec des concentrations différentes en molécule empreinte. Pour un polymère et une molécule cible donnés, on représente l'évolution de n_{MEC} en fonction de $[\text{ME}]_0$.

Pour illustration, on étudie un polymère PEM synthétisé à partir d'une molécule empreinte herbicide notée MSM. Ce PEM spécifique de la molécule empreinte MSM sera noté PEM_{MSM} . Les propriétés de fixation de la molécule cible avec ce polymère sont décrites sous forme graphique sur la **figure 6**.

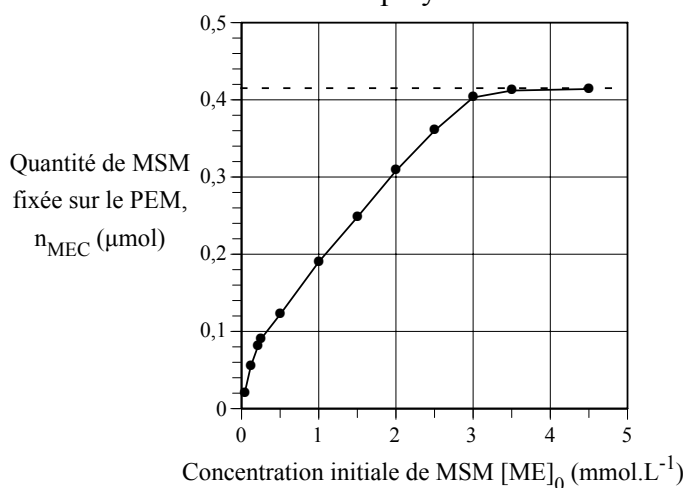


Figure 6 : courbe de fixation du PEM_{MSM}

Conditions expérimentales :

10 mg de PEM

volume = 10 mL

temps d'incubation = 30 min

Document 4 : modèles d'affinité

La fixation d'un nombre x de molécules empreintes ME sur différents sites d'une macromolécule de PEM conduit à l'équilibre suivant :

$$\text{PEM} + x \text{ ME} = \text{PEM-ME}_x \quad K$$

La situation d'équilibre est caractérisée par une constante de fixation K . Cette constante de fixation révèle l'affinité du polymère vis-à-vis de la molécule cible ME. À partir des données obtenues pour le tracé des

courbes de fixation, différentes corrélations mathématiques ont été établies pour mettre en relation la quantité de molécule empreinte n_{MEC} capturée par le polymère et la concentration de molécule empreinte libre en solution, $[ME]$. Une estimation de la constante de fixation K du PEM vis-à-vis de la molécule cible peut alors être réalisée.

Modèle de Scatchard

Un premier modèle utilisé est celui du modèle de fixation homogène, utilisé dans les structures de type enzyme, récepteur et anticorps. Ce modèle suppose que les sites d'interaction à l'intérieur de la matrice polymérique sont de même nature. L'équation de Scatchard relie la quantité de molécule empreinte fixée sur le PEM, n_{MEC} , à la concentration de molécule empreinte libre en solution, $[ME]$, selon la relation :

$$\frac{n_{MEC}}{[ME]} = K(n_{MECmax} - n_{MEC})$$

Dans cette expression, n_{MECmax} désigne la quantité maximale de molécule empreinte capturée par le PEM. La **figure 7** représente le tracé d'une courbe de Scatchard pour le PEM_{MSM} étudié au **document 3**. Les équations des deux régressions linéaires sont également indiquées.

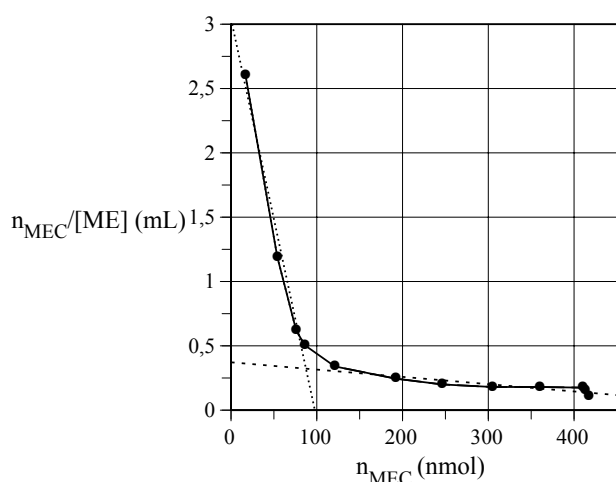


Figure 7 : courbe de Scatchard pour le PEM_{MSM}

Équations des deux régressions linéaires correspondant au tracé des deux droites en traits pointillés :

$$\frac{n_{MEC}}{[ME]} = -3,1 \times 10^{-2} n_{MEC} + 3,0$$

$$\frac{n_{MEC}}{[ME]} = -5,8 \times 10^{-4} n_{MEC} + 0,37$$

Modèle de Freundlich

Un deuxième modèle prend en compte la diversité de nature des sites du PEM pour la fixation de la molécule cible. L'équation de Freundlich relie les grandeurs n_{MEC} et $[ME]$ selon la relation $n_{MEC} = a [ME]^m$, dans laquelle a et m sont les paramètres de Freundlich. Le paramètre m , appelé indice d'hétérogénéité, évalue la diversité de nature des sites de fixation du PEM ($0 < m < 1$). Lorsque la valeur du paramètre m diminue, l'hétérogénéité des sites du PEM augmente. Pour un PEM présentant des sites homogènes (un seul type de site), la valeur de m vaut 1. Le paramètre a est corrélé au nombre total de sites de fixation, à la constante de fixation moyenne et à l'indice d'hétérogénéité.

Pour illustration, on donne les résultats de l'étude de l'affinité du PEM vis-à-vis du clomiphène (molécule empreinte) qui est un principe actif pour stimuler l'ovulation. L'étude est conduite dans le solvant de synthèse du PEM_{clomiphène}. Les valeurs de $[ME]$ et n_{MEC} sont données dans le **tableau 2**.

| $[ME]$ (mol.L ⁻¹) | n_{MEC} (nmol) |
|-------------------------------|------------------|
| $3,00 \times 10^{-7}$ | 4,2 |
| $6,00 \times 10^{-7}$ | 5,4 |
| $1,00 \times 10^{-6}$ | 8,3 |
| $5,00 \times 10^{-6}$ | 22 |
| $1,00 \times 10^{-5}$ | 36 |
| $6,00 \times 10^{-5}$ | 134 |
| $1,00 \times 10^{-4}$ | 168 |
| $5,00 \times 10^{-4}$ | 509 |
| $1,00 \times 10^{-3}$ | 680 |

Tableau 2 : valeurs de n_{MEC} pour le PEM_{clomiphène} en fonction de la concentration en clomiphène libre $[ME]$; n_{MEC} est exprimé en nmol
Conditions expérimentales :
10 mg de PEM, volume = 1 mL,
temps d'incubation = 3 h

Document 5 : synthèse d'une molécule empreinte

Une alternative intéressante aux synthèses de PEM décrites au **document 1** est la synthèse de PEM par émulsion qui permet d'obtenir de sites de fixation plus homogènes pour les molécules cibles. Dans ce cas la molécule empreinte est caractérisée par une fonction hydrophobe et une tête polaire soluble dans l'eau, et sa polymérisation se fait à partir de sa fonction hydrophobe.

Dans ce contexte, ce nouveau type d'approche a été étudié en prenant un oxyde de phosphine fonctionnalisé comme molécule empreinte. Ce choix a été motivé par la présence de l'atome de phosphore qui permet de connaître précisément la quantité de molécule empreinte introduite et extraite du polymère grâce à l'analyse élémentaire du phosphore. Les PEM créés à partir de molécules empreintes phosphorées peuvent jouer le rôle de récepteurs de phosphates en vue de leur détection ou de leur analyse. Le schéma de synthèse de cette molécule empreinte est donné à la **figure 8**.

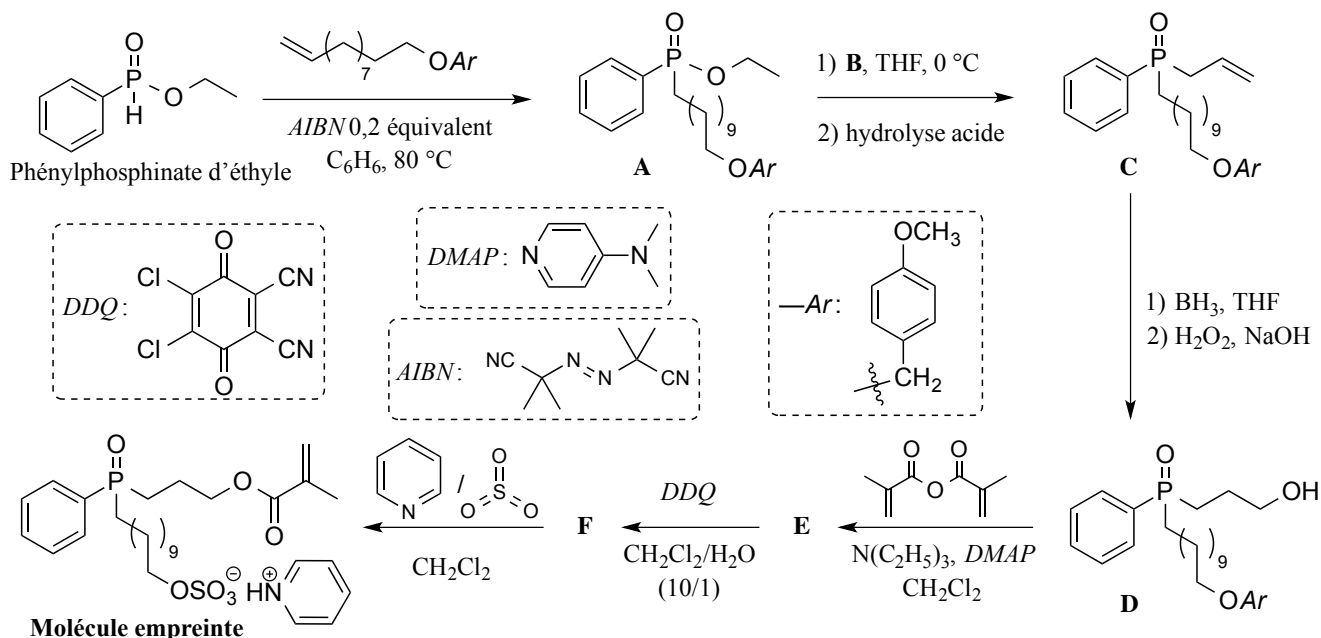


Figure 8 : schéma de synthèse de la molécule empreinte phosphorée

Document 6 : prospectives sur l'utilisation des PEM pour analyser des eaux de surface

Un autre intérêt des PEM est leur utilisation pour la capture sélective d'une molécule cible contenue dans un échantillon aqueux. Pour illustration, un PEM synthétisé dans le dichlorométhane avec de l'atrazine comme molécule empreinte et de l'acide méthacrylique comme monomère (**figure 9**), est étudié en vue de capturer sélectivement l'atrazine dans des eaux de surface.

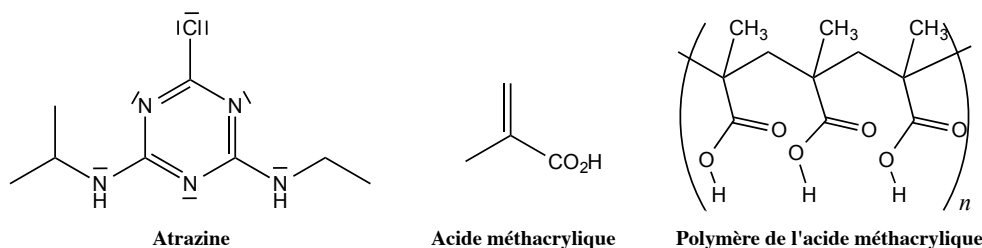


Figure 9 : structures de l'atrazine, de l'acide méthacrylique et de son polymère (n entier très grand)

L'atrazine, un herbicide couramment employé pour la culture du maïs depuis 1960, a été interdite à l'utilisation depuis 2003. Elle fait partie de la liste établie par l'Union Européenne des polluants prioritaires à suivre, compte tenu de sa toxicité aiguë. Pourtant, des traces d'atrazine et de son produit de dégradation sont encore retrouvées dans les sols, les eaux de surface ou encore les nappes phréatiques.

À l'appui des études décrites dans les documents précédents, on admet que certaines interactions entre la molécule cible et le PEM sont spécifiques (dans des cavités gardant la mémoire du rôle de la molécule empreinte lors de la synthèse du PEM), et que d'autres ne le sont pas.

Principe général. Pour réaliser la capture sélective de l'atrazine contenue dans un échantillon, 50 mg du PEM spécifique de l'atrazine sont d'abord introduits dans une cartouche. L'échantillon à analyser est ensuite déposé en haut de cette cartouche qu'il traverse par gravité au cours d'une première étape nommée percolation. Suivant la nature de l'échantillon, aqueux ou organique, la molécule cible est retenue par le PEM par interactions non spécifiques et/ou spécifiques. Une deuxième étape appelée

lavage permet de finaliser la capture de l'atrazine de manière sélective par le PEM. Cette étape est optimisée grâce à la comparaison avec le PNI de la manière décrite ci-après. Le même protocole de percolation que celui utilisé pour le PEM est appliqué au PNI, qui retient aussi des molécules cibles. Par contre, lorsque le lavage est effectué avec un solvant correctement choisi, la totalité de l'atrazine est éliminée du PNI, alors qu'elle est majoritairement retenue par le PEM. Enfin, la dernière étape est l'élution. Elle consiste à rompre les interactions entre le PEM et l'atrazine en utilisant un solvant approprié. Le rapport de la quantité d'atrazine récupérée lors de l'étape d'élution sur la quantité d'atrazine totale contenue dans l'échantillon au départ indique alors le rendement de capture. Idéalement, des rendements de 100 % sur le PEM et nul sur le PNI devraient être obtenus.

Résultats expérimentaux. Plusieurs protocoles ont été élaborés pour tester la capacité du PEM à capturer une très faible quantité d'atrazine dissoute dans un échantillon de solvant organique ou aqueux (50 ng d'atrazine sont ajoutés à l'échantillon qui est dit dopé). L'étude de cette capture a été réalisée tout d'abord en milieu organique. Les résultats et les informations s'y rapportant sont indiqués dans le **tableau 3**.

| ÉTAPE | PNI | PEM |
|------------------------------------|---|------|
| percolation | 10 mL de CH ₂ Cl ₂ dopé | |
| lavage | 10 mL de CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ OH (99/1 en volume) | |
| élution | 3 mL de CH ₃ OH | |
| rendement de capture de l'atrazine | 0 % | 95 % |

Tableau 3 : protocole de capture de l'atrazine par le PNI et le PEM, et rendements de capture obtenus en milieu organique

Un protocole a ensuite été développé en milieu aqueux par percolation d'un échantillon d'eau pure (eau désionisée) dopé en atrazine. Le **tableau 4** décrit ce protocole et indique les rendements de capture obtenus sur le PEM et le PNI.

| ÉTAPE | PNI | PEM |
|------------------------------------|---|------|
| percolation | 50 mL d'eau pure dopée | |
| lavage | 5 mL de CH ₂ Cl ₂ | |
| élution | 3 mL de CH ₃ OH | |
| rendement de capture de l'atrazine | 0 % | 90 % |

Tableau 4 : protocole de capture de l'atrazine par le PNI et le PEM, et rendements de capture obtenus en eau pure

ANNEXE

Spectre RMN du proton de l'acide méthacrylique

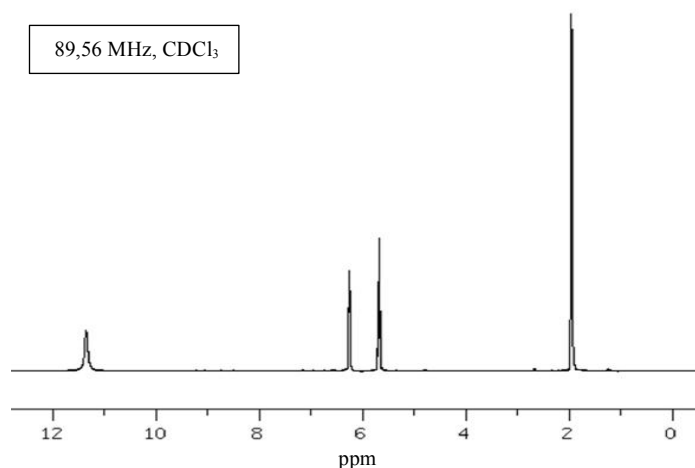


Table de spectroscopie RMN ¹H

| Substituant | C=C-H | CH-C=C | COOH |
|----------------------|---------|---------|--------|
| Déplacement chimique | 4,5-7,0 | 1,6-2,5 | 9,5-12 |

Déplacements chimiques en RMN du proton (en ppm)

A 298 K, $\frac{RT}{F} \ln(10) \approx 0,06 \text{ V}$; $F = 96500 \text{ C.mol}^{-1}$; $R = 8,31 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$; $K_e = 10^{-14}$

Valeurs d'électronégativité suivant l'échelle de Pauling $\chi_p = 2,19$ $\chi_o = 3,44$

Potentiels standard d'oxydoréduction à 298 K en volts (par rapport à l'électrode standard à hydrogène)

$E^\circ(\text{Sn}^{4+}/\text{Sn}^{2+}) = 0,14$; $E^\circ(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+}) = 1,33$

Principaux indicateurs colorés acido-basiques utilisés

| Indicateur | Zone de virage | Couleur acide | Couleur basique |
|---------------------|----------------|---------------|-----------------|
| Orange de méthyle | 3,2-4,4 | rouge | jaune |
| Vert de bromocrésol | 3,8-5,4 | jaune | bleu |
| Rouge de méthyle | 4,8-6,0 | jaune | rouge |
| Bleu de bromothymol | 6,0-7,6 | jaune | bleu |
| Rouge de phénol | 6,8-8,4 | jaune | rouge |
| Phénolphtaléine | 8,2-10,0 | incolore | violet |

Données sur quelques solvants organiques donnant un hétéroazéotrope avec l'eau

T_{eb} : température d'ébullition du solvant sous 1 bar ; T_{az} : température de l'hétéroazéotrope sous 1 bar du mélange eau/solvant ; x_{eau} : fraction molaire en eau de l'hétéroazéotrope. Ces solvants ont une miscibilité nulle avec l'eau à l'état liquide.

| Solvant | T_{eb} (°C) | Densité | T_{az} (°C) | x_{eau} |
|-------------|---------------|---------|---------------|-----------|
| benzène | 80,1 | 0,88 | 69,3 | 0,295 |
| toluène | 110,6 | 0,87 | 84,1 | 0,444 |
| hexane | 68,7 | 0,66 | 61,6 | 0,221 |
| cyclohexane | 80,7 | 0,78 | 69,5 | 0,300 |

Caractéristiques de quelques solvants utilisés pour l'extraction et la capture de molécules empreintes

| Solvant | Moment dipolaire (μ en D) | Constante diélectrique (ϵ_r) | Existence de liaisons hydrogène | T_{eb} (°C) sous 1 bar | Solubilité dans l'eau |
|-----------------|--------------------------------|---|---------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| eau | 1,85 | 80 | oui | 100 | - |
| méthanol | 1,74 | 33 | oui | 65 | miscible |
| dichlorométhane | 1,60 | 9 | non | 40 | 13 g.L ⁻¹ |
| acétonitrile | 3,92 | 37 | non | 82 | miscible |

Incertitudes

Formules intervenant dans la détermination des différentes incertitudes sur le résultat du mesurage à partir d'une seule valeur, incertitude de type B :

Instrument de classe +/- a : $u_{tolérance} = \frac{a}{\sqrt{3}}$ Indication EMT du constructeur : $u_{tolérance} = \frac{EMT}{\sqrt{3}}$

Lecture simple sur une graduation : $u_{lecture} = \frac{\text{graduation}}{2\sqrt{3}}$

Incertitude-type u à partir de deux sources d'incertitudes u_1 et u_2 , $u = \sqrt{u_1^2 + u_2^2}$

Loi de composition des incertitudes : si $a = \frac{bc}{d}$ alors $\frac{u_a}{a} = \sqrt{\left(\frac{u_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{u_c}{c}\right)^2 + \left(\frac{u_d}{d}\right)^2}$

Incertitude élargie $U_{(x)} = k u_{(x)}$ avec $k = 2$ pour un niveau de confiance à 95 %

FIN DU SUJET