

Une méthode rapide pour étudier l'influence de la température sur les réactions chimiques

Diminuez la durée de vos expériences cinétiques en les effectuant simultanément à quatre températures différentes



Auteurs

Kevin Grant et Matt Quinn
Agilent Technologies,
Australie

Introduction

De nombreuses applications de la chimie et des sciences de la vie requièrent une compréhension approfondie de la dynamique des processus réactionnels. Des variables telles que la température, le pH, la pression et la présence d'autres composés chimiques et macromolécules peuvent grandement affecter la vitesse des réactions. La compréhension de l'influence de ces paramètres est essentielle pour un large éventail d'applications, dont la caractérisation des enzymes, la synthèse chimique et la fabrication de produits alimentaires, ainsi que pour les secteurs qui dépendent de l'optimisation des conditions de stockage et de stabilité des produits. Les spectrophotomètres UV-Vis sont régulièrement utilisés pour faciliter la caractérisation et la quantification de la cinétique des réactions, car ils permettent de mesurer en continu au cours du temps les changements d'absorbance, et donc de concentration.

L'étude des effets de la température sur la vitesse des réactions est chronophage, les expériences devant être répétées à différentes températures et requérant la mise en place d'un équipement spécifique dans le compartiment échantillons du spectrophotomètre. Un tel équipement inclut souvent un dispositif de circulation d'eau pour maintenir la température des échantillons. Cela entraîne un risque de fuites, ainsi que du bruit, et accroît les contraintes de maintenance du laboratoire.

Des progrès récents dans les instruments de spectrophotométrie basée sur la température se traduisent par d'importants gains de temps et par une régulation de la température plus précise. Le spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 multizone permet d'effectuer les mesures à quatre températures différentes dans une même expérience. Le Cary 3500 peut être utilisé avec des sondes de température intégrées aux cuves afin de réguler précisément la température des solutions au cours de l'expérience, ou avec le bloc thermique qui convient très bien aux expériences à température constante. Le support multicuve est intégré à l'instrument et utilise des éléments Peltier refroidis à l'air, sans eau, pour réguler la température entre 0 et 110 °C.

Cette étude avait pour objectif d'évaluer le gain de temps potentiellement offert par la réalisation des mesures de la vitesse réactionnelle à quatre températures différentes dans une seule expérience. L'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophényle (pNPA) a été choisie comme exemple. Il s'agit d'une réaction bien comprise dont la vitesse varie en fonction de la température.

Données expérimentales

En solution basique, l'acétate de p-nitrophényle (pNPA) est hydrolysé en p-nitrophénol (PNP). Le pNPA a un maximum d'absorbance à 270 nm, tandis que le maximum d'absorbance du PNP se situe entre 405 et 410 nm et dépend de la température. Des balayages en longueur d'onde ont été effectués dans le temps afin de suivre la consommation de pNPA et la production de PNP au cours de l'avancement de la réaction. Cette expérience a été réalisée à pH 7 et la vitesse de la réaction à 80 °C a été déterminée.

Échantillons

Une solution de 0,0001 M de pNPA a été préparée dans le méthanol. Un tampon phosphate salin (PBS) contenant 100 mM de NaCl, 0,1 nM d'EDTA et 10 mM de phosphate de sodium a également été préparé et ajusté à pH 7,0.

Du PBS non dilué a été utilisé pour établir la ligne de base et pour servir de référence pendant les mesures. Des cuves de quartz standard de 3,5 mL et de 10 mm de trajet optique ont été utilisées, avec des barreaux aimantés en forme d'étoile pour assurer une agitation de 500 tr/min.

Instrumentation et méthode

Toutes les mesures ont été réalisées sur un spectrophotomètre UV-Vis Cary 3500 multizone (figure 1). Les paramètres de la méthode sont indiqués dans le tableau 1.



Figure 1. Compartiment des échantillons du spectrophotomètre UV-Vis Cary 3500 multizone contient un support multicuve intégré. Chaque paire échantillon/référence peut être maintenue à une température différente.

Tableau 1. Paramètres de l'instrument.

Paramètre	Valeur
Gamme de longueurs d'onde (nm)	220 – 520 nm (balayage)
Vitesse de balayage (nm/min)	1 200
Bande passante spectrale (nm)	5
Durée d'intégration du signal (s)	0,1
Intervalle d'échantillonnage (nm)	2
Vitesse d'agitation (tr/min)	500
Nombre de zones de température	4
Températures (°C)	20, 40, 60, 80
Régulation de la température	Bloc

Chaque cuve a été remplie avec 2 980 µL de tampon phosphate et placée dans le support multicuve (figure 1). Après un délai de 10 minutes pour la stabilisation de la température, 20 µL de pNPA en solution dans le méthanol ont été ajoutés.

L'absorbance a été collectée toutes les 30 secondes durant 30 minutes sur la gamme de longueurs d'onde de 220 à 520 nm. Ces mesures ont été réalisées simultanément pour chaque valeur de température. Les fonctionnalités d'analyse cinétique intégrées du logiciel Cary UV Workstation ont été utilisées pour générer une courbe de cinétique et déterminer la vitesse de réaction.

Résultats

L'hydrolyse du pNPA implique l'élimination du groupement acétate dans des conditions basiques. En présence d'un excès d'eau, la réaction peut être considérée comme de pseudo-premier ordre. Puisque le pH du tampon PBS a été ajusté à 7, la vitesse de réaction doit être plus faible et la réaction suit une cinétique de second ordre.

Influence de la température

Les balayages en longueur d'onde pour l'hydrolyse du pNPA à quatre températures différentes sont représentés dans la figure 2. Il existe une relation claire entre la température de l'échantillon et la vitesse de réaction telle que mesurée par la production de PNP (figure 2). À 80 °C, les points isobestiques sont évidents, indiquant une conversion directe du pNPA en PNP. Les données de cinétique spectrale en fonction de la longueur d'onde pour l'expérience à 80 °C ont été utilisées pour générer une courbe d'absorbance en fonction du temps à partir du pic de PNP à 408 nm (figure 3). Le calcul de la vitesse de second ordre, qui est intégré au logiciel Cary UV Workstation, a ensuite été utilisé pour déterminer la valeur de la constante de vitesse de second ordre (k) de la réaction, soit $k = 883,194$ ($1/[\text{min} \cdot \text{mol}]$).

Balayages en longueur d'onde

La réalisation de balayages en longueur d'onde dans le temps permet d'observer la consommation de pNPA et la production de PNP (figure 2). La gamme de longueurs d'onde complète fournit des informations supplémentaires qui pourraient être manquées si l'analyse était effectuée avec une seule longueur d'onde. Par exemple, la présence possible d'intermédiaires réactionnels, les changements subtils dans l'échantillon et la détection des points isobestiques comme représentés dans la figure 2.

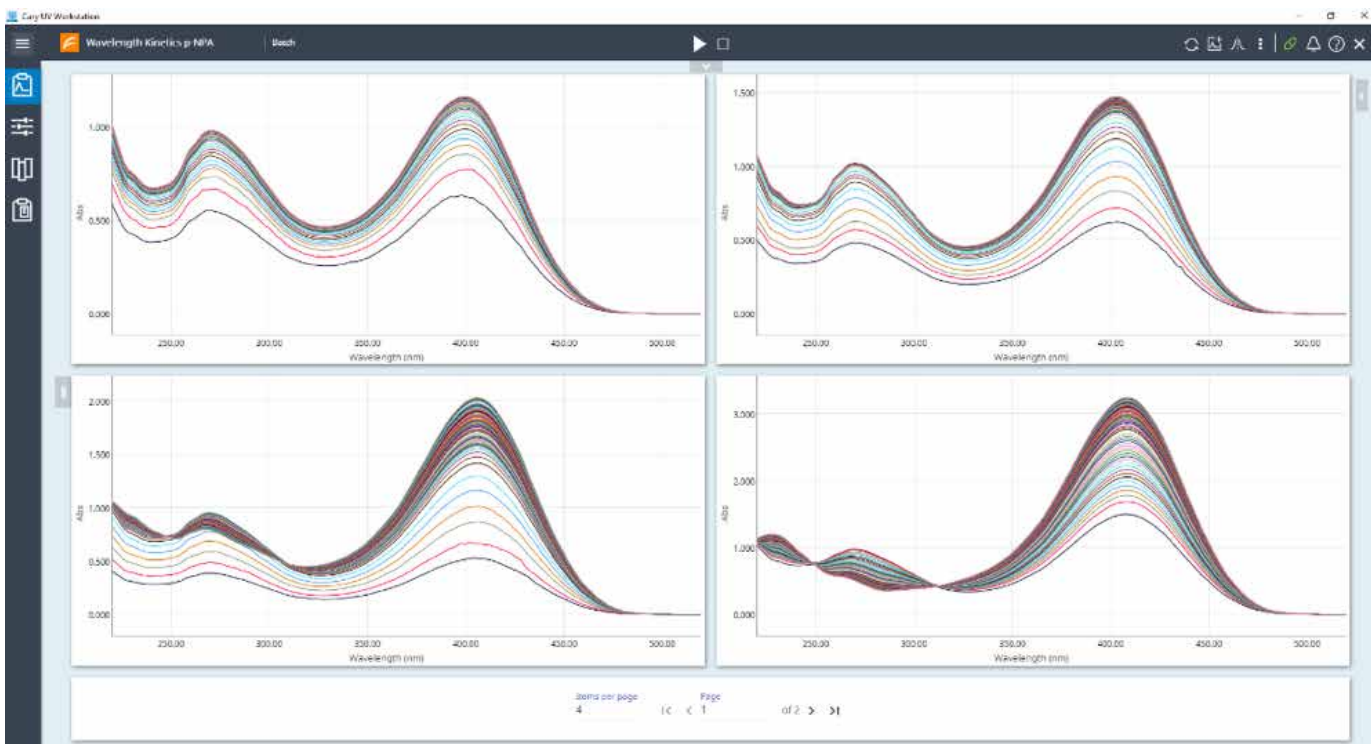


Figure 2. Balayages en longueur d'onde dans le temps sur la gamme de 220 à 520 nm collectés pendant 30 minutes après l'initialisation de la réaction par le mélange des deux réactifs. La température était de 20 °C pour les spectres en haut à gauche, de 40 °C en haut à droite, de 60 °C en bas à gauche et de 80 °C en bas à droite.

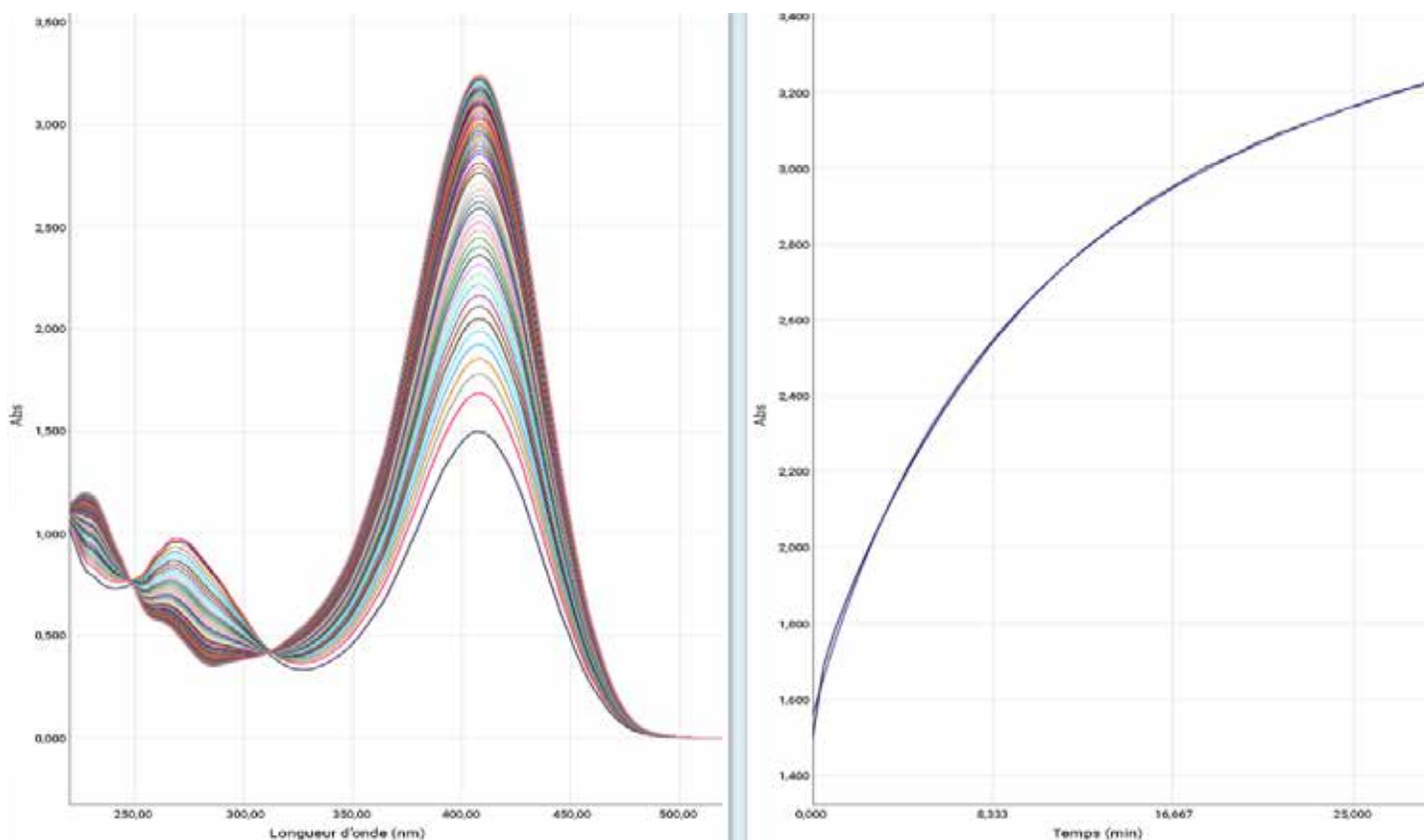


Figure 3. Spectres obtenus pour la réaction effectuée à 80 °C avec les points isobestiques caractéristiques (à gauche). L'évolution de l'absorbance dans le temps à 408 nm (à droite) a été représentée avec le logiciel Cary UV Workstation et utilisée pour déterminer la vitesse de la réaction.

Conclusions

Le spectrophotomètre UV-Vis Cary 3500 multizone a permis de suivre l'hydrolyse du pNPA à quatre températures différentes dans une même expérience. L'influence de la température sur la vitesse de la réaction a été démontrée simultanément à 20 °C, 40 °C, 60 °C et 80 °C, au cours d'une seule expérience qui a pris 30 minutes.

L'acquisition rapide de spectres en fonction de la longueur d'onde pendant l'expérience a aussi permis d'interpréter les données à différentes longueurs d'onde. Bien qu'il soit possible de déterminer une vitesse de réaction pour les quatre températures, le mécanisme de la réaction peut être différent. L'observation de la réaction sur toute la gamme de

longueurs d'onde peut fournir des informations précieuses sur son mécanisme.

Une meilleure connaissance de la cinétique réactionnelle est essentielle pour mieux comprendre les processus de réaction et d'interaction chimiques. Les expériences détaillées permettant d'étudier l'influence de la température sur les processus réactionnels fournissent de nombreuses informations, mais leur réalisation peut prendre un temps considérable. Avec la fonctionnalité multitempérature unique du spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 multizone, les données de cinétique ont pu être collectées en 25 % du temps nécessaire avec un système UV-Vis classique, ce qui a représenté un gain de temps très avantageux pour le laboratoire.

www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
Imprimé aux États-Unis, le 30 octobre 2018
5994-0385FR