

N° d'anonymat

Note Finale sur 20

NOTE sur X

**Licence Professionnelle**  
**Industries pharmaceutiques, cosmétiques et de santé**

Option Analyses physicochimiques

Année universitaire 2019/2020  
Première session

**UE N° 7**

Matière : Spectrophotométrie UV-Visible &  
spectrofluorimétrie

Durée de l'épreuve : 1 heure

Documents autorisés : Aucun  
Calculatrice autorisée

**Epreuve corrigée notée sur 20 points**

Correcteur : L. GODIN

Ce cahier comporte 10 pages celle-ci comprise

**Instructions générales**

- Ne pas dégrafer ou déchirer ce fascicule
- Soyez très clair si vous faites un renvoi pour terminer une question.
- Respecter les modalités de réponses proposées
- Toute fraude ou tentative de fraude fera l'objet de poursuites disciplinaires (décret n° 92-657 du 13 juillet 1992)

## 1<sup>ère</sup> PARTIE : SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

(9 points)

**Méthode spectrophotométrique pour la détermination de 4-Méthyl benzylidène camphre dans des produits cosmétiques protecteurs du soleil**

On s'intéresse à la détermination de la quantité de filtre UV : le 4-méthyl benzylidène camphre (4-MBC) dans les crèmes solaires.

Le contenu des filtres UV dans les produits cosmétiques est strictement réglementé dans la législation Européenne.

La méthode est basée sur la capacité des solutions de 4-MBC dans de l'alcool éthylique à absorber les rayons UV à une longueur d'onde de 299 nm.

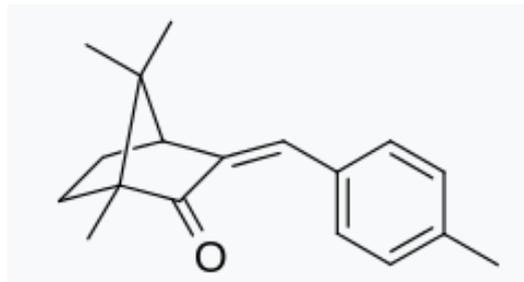


Figure 1 : formule chimique du 4-méthyl benzylidène camphre

### 1<sup>ère</sup> question

(1,5 points)

On dispose de différents types de cuve de chemin optique  $b = 1$  cm, des cuves quartz, des cuves en PMMA (polymère plastique de Polymétacrylate de méthyle) et en PS (polymère plastique de Polystyrène). Leur domaine de transmission est indiqué sur la courbe ci-dessous :

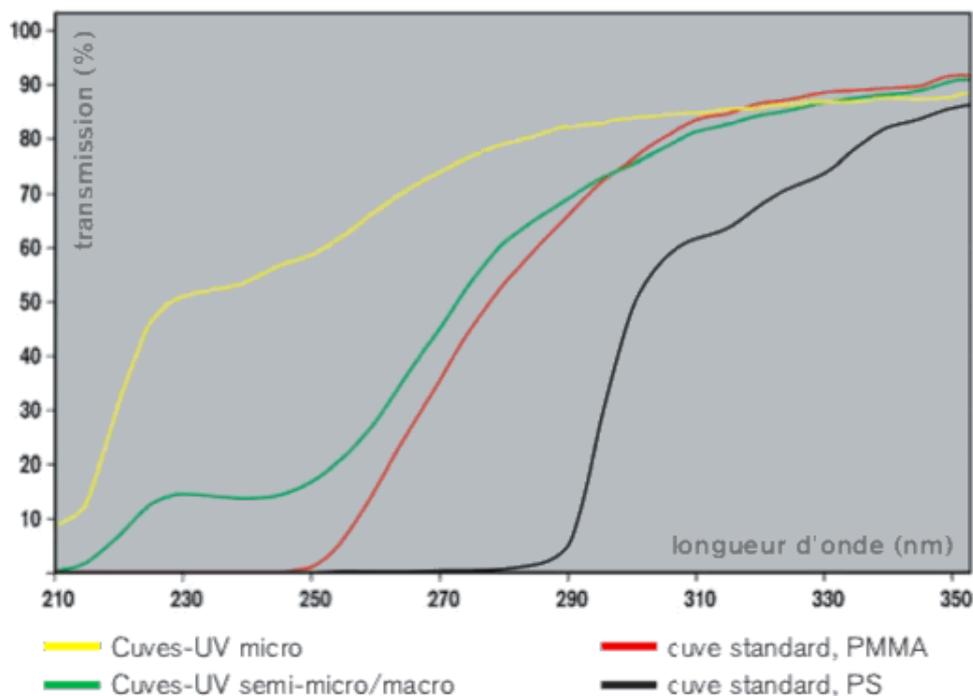


Figure 2 : Courbes de transmission de différents types de cuve

Quel(s) type(s) de cuve peut-on utiliser pour analyser le 4-MBC. Justifier votre réponse.

Indiquer le contenu de la cuve de blanc.

Réponse du candidat :

On peut utiliser tous les types de cuve, excepté la cuve en PS, car à 299 nm, l'absorption devient trop importante, ce qui va induire une perte de sensibilité de la méthode d'analyse.

La cuve de blanc doit contenir seulement le solvant, ici l'éthanol.

2<sup>ème</sup> question

(1,5 points)

Pour déterminer la partie linéaire, on a effectué 11 analyses avec des solutions standards et la courbe d'étalonnage a été construite ci-dessous :

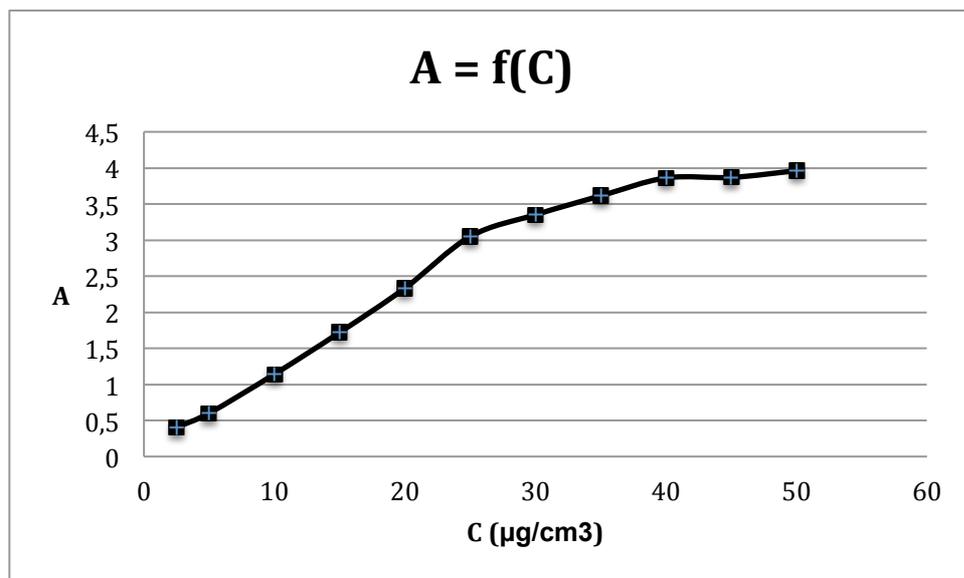


Figure 3 : Courbe  $A = f(C)$  pour l'étude de linéarité

Aux vues des valeurs utilisées, à quel pourcentage de lumière parasite peut-on s'attendre avec le spectrophotomètre utilisé ?

Indiquer alors l'intervalle de concentration utilisable avec la loi de Beer-Lambert.

Réponse du candidat :

On peut s'attendre à un taux de lumière parasite de l'ordre de 0,01 %.

Aux vues de la courbe précédente, l'intervalle des concentrations dans lequel la linéarité de la loi de Beer-Lambert est vérifiée sera  $[0 ; 25 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}]$ .

**3<sup>ème</sup> question****(2 points)**

On trace alors, la courbe d'étalonnage utilisée pour doser le 4-MBC dans différentes crèmes solaires, ci-dessous :

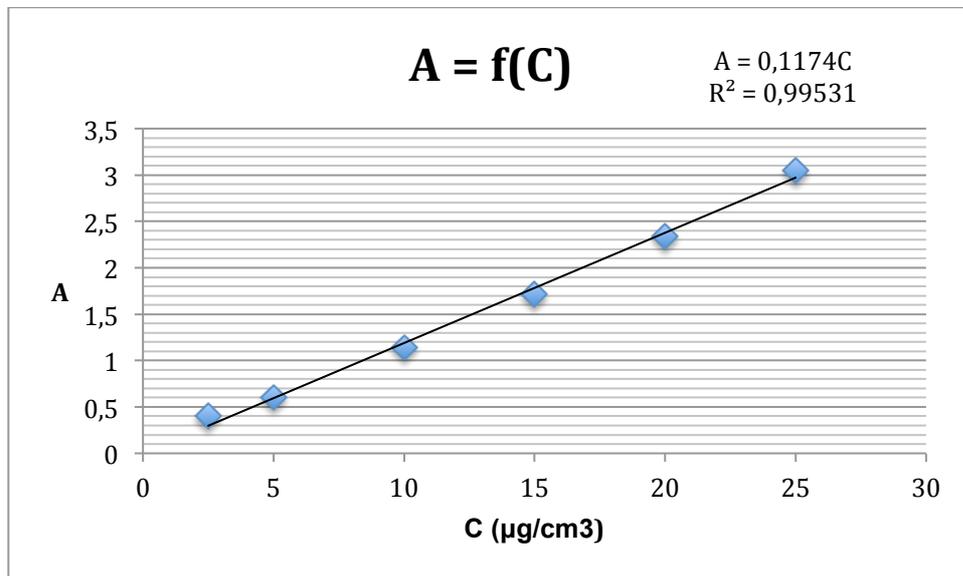


Figure 4 : Courbe d'étalonnage  $A = f(C)$

Pour plusieurs crèmes avec émulsion de type "eau dans huile", on obtient une absorbance moyenne de 0,83.

Pour des produits cosmétiques ayant une consistance homogène semblable au lait, on obtient une absorbance moyenne de 1,53.

Déterminer alors les concentrations moyennes du 4-MBC dans ces crèmes solaires. Vous exprimerez les résultats en  $\text{mg.L}^{-1}$ .

En déduire le coefficient d'absorption molaire  $\epsilon$  de la molécule.

**Données :** Masse molaire du 4-MBC =  $254,37 \text{ g.mol}^{-1}$

Réponse du candidat :

On utilise la modélisation linéaire :

$$C = \frac{A}{0,1174} = \frac{0,83}{0,1174} = 7,07 \text{ } \mu\text{g. cm}^{-3} = 7,07 \text{ mg. L}^{-1}$$

$$C = \frac{A}{0,1174} = \frac{1,53}{0,1174} = 13,0 \text{ } \mu\text{g. cm}^{-3} = 13,0 \text{ mg. L}^{-1}$$

D'après la loi de Beer-Lambert :  $\epsilon.b = 0,1174 \text{ } \mu\text{g}^{-1}.\text{cm}^3 = 0,1174 \text{ mg}^{-1}.\text{L}$

Sa masse molaire vaut  $M = 254,37 \text{ g.mol}^{-1}$ .

$$\epsilon = \frac{0,1174 \cdot 10^3 \text{ g}^{-1}.\text{L}}{b.M} \cdot M = \frac{117,4 \cdot \text{g}^{-1}.\text{L}}{1 \text{ cm}} \times 254,37 \text{ g.mol}^{-1} = 2,99 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1}.\text{mol}^{-1}.\text{L}$$

**4<sup>ème</sup> question****(3 points)**

On n'est pas certain des résultats de dosage obtenus par la méthode précédente. Quelle autre méthode de dosage pourrait-on utiliser pour vérifier les résultats ? Indiquer concrètement la façon de procéder en indiquant l'utilité de la nouvelle méthode.

Réponse du candidat :

Etant donné que le 4-MBC se trouve dans une matrice complexe (crème solaire), il serait avantageux d'utiliser la méthode des ajouts dosés.

On prépare une gamme d'étalonnage, en remplissant chacune des fioles par un volume  $V_x$  de solution inconnues. On ajoute, ensuite un volume  $V_s$  d'étalon croissant dans les fioles, puis on complète jusqu'au trait de jauge à l'aide du solvant ou d'un éventuel réactif.

On mesure l'absorbance de chacune des fioles, puis on trace la droite d'étalonnage  $A = f(V_s)$ . On obtient alors une droite d'étalonnage ne passant pas par 0, d'équation :

$$A = m.V_s + p$$

La concentration de la solution inconnue se détermine à l'aide de la relation :

$$C_x = \frac{p}{m} \cdot \frac{C_s}{V_x}$$

Cette méthode permet de savoir si l'inconnue se comporte de la même façon dans la matrice et dans la gamme.

Aussi la comparaison de la méthode de la droite d'étalonnage externe avec celle des ajouts dosés, permet de savoir s'il y a des molécules interférentes dans la matrice susceptibles de modifier les propriétés d'absorption de le 4-MBC, et donc de modifier la détermination de la concentration de celle-ci dans les crèmes solaires.

## 2<sup>ème</sup> PARTIE : SPECTROFLUORIMÉTRIE (11 points)

### 5<sup>ème</sup> question

(1 point)

Dans le cadre de la spectroscopie de fluorescence moléculaire, définir les termes ci-dessous :

conversion interne ;

fluorescence de résonance

Réponse du candidat :

Conversion interne : C'est un type de relaxation qui implique le transfert de l'excès d'énergie d'une espèce à partir du niveau vibrationnel inférieur d'un état électronique excité vers un état électronique inférieur. C'est une relaxation non rayonnante.

Fluorescence de résonance : elle a une longueur d'onde identique au rayonnement qui a causé cette fluorescence.

### 6<sup>ème</sup> question

(3 points)

Indiquer les effets de la rigidité structurale ainsi que ceux de la température et du solvant sur la fluorescence et donc sur le rendement quantique.

Réponse du candidat :

Rigidité structurale : plus la structure est rigide et plus la molécule aura des propriétés de fluorescence importante.

Température : plus la température est élevée et plus l'agitation moléculaire sera importante et moins la rigidité le sera, ce qui implique une diminution des propriétés de fluorescence du milieu.

Solvant : De la même façon, plus le solvant aura des interactions vis-à-vis des molécules fluorescentes qui auront pour effet de rigidifier le milieu, et plus la fluorescence sera importante.

Nous désirons doser l'acide salicylique dans une préparation pharmaceutique par fluorescence. Une étude préliminaire a permis d'obtenir les spectres d'absorbance et de fluorescence représentés sur la figure n° 5 ci-dessous.

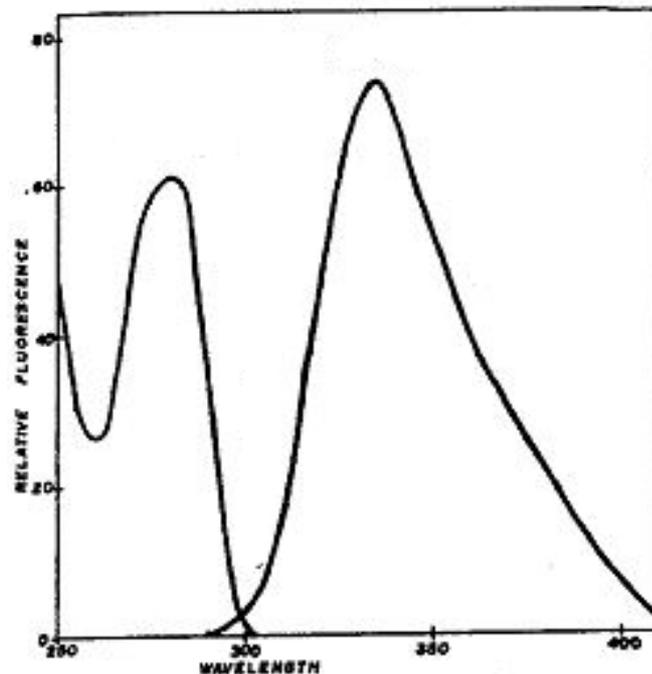


Figure 5 : Spectres d'excitation et d'émission d'une solution à  $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  d'acide salicylique dans une solution à 1% (v/v) d'acide acétique dans le chloroforme

### 7<sup>ème</sup> question

(1,5 points)

Comment préparer 100 mL d'une solution à exactement  $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  en acide salicylique dans le même mélange que celui de l'étude préliminaire ? La masse minimale mesurable par la balance disponible est de 100 mg. Justifier le matériel et les réactifs utilisés.

**Données :** Masse molaire de l'acide salicylique =  $138 \text{ g.mol}^{-1}$

Réponse du candidat :

On a :

$$C = \frac{n}{V} = \frac{m}{M.V}$$

Il faudrait donc peser  $m = C.M.V = 1.10^{-3} \times 138 \times 0,1 = 0,0138 \text{ g} = 13,8 \text{ mg}$

Or la masse minimale mesurable par la balance est de 100 mg, on pèse donc 138 mg, que l'on dissout dans une fiole de 100 mL.

Ainsi la concentration vaut  $C_p = 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ .

On prélève 10 mL que l'on place dans une fiole de 100 mL, puis on complète avec de l'acide acétique dans le chloroforme, jusqu'au trait de jauge, pour obtenir la concentration désirée  $C = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ .

**8<sup>ème</sup> question****(2 points)**

Déterminer les longueurs d'onde correspondantes aux pics présentés sur la figure n° 5. Préciser en justifiant quelle est la longueur d'onde d'excitation et quelle est la longueur d'onde d'émission.

Réponse du candidat :

$$\lambda_{exc} = 284 \text{ nm et } \lambda_{em} = 338 \text{ nm, car } E_{exc} \geq E_{em}$$

$$\frac{hc}{\lambda_{exc}} \geq \frac{hc}{\lambda_{em}}$$

Ainsi

$$\lambda_{em} \geq \lambda_{exc}$$

**9<sup>ème</sup> question****(0,5 point)**

Quel type de cuve doit-on utiliser et pourquoi ?

Réponse du candidat :

Une cuve en quartz 4 faces optiques.

**10<sup>ème</sup> question****(0,5 point)**

Quelle doit être la composition du blanc ?

Réponse du candidat :

De l'acide acétique dans le chloroforme

**11<sup>ème</sup> question****(1,5 points)**

Quelle est, en pratique, la procédure à suivre pour obtenir les spectres ci-dessus, optimisés, c'est-à-dire avec la meilleure sensibilité ?

Réponse du candidat :

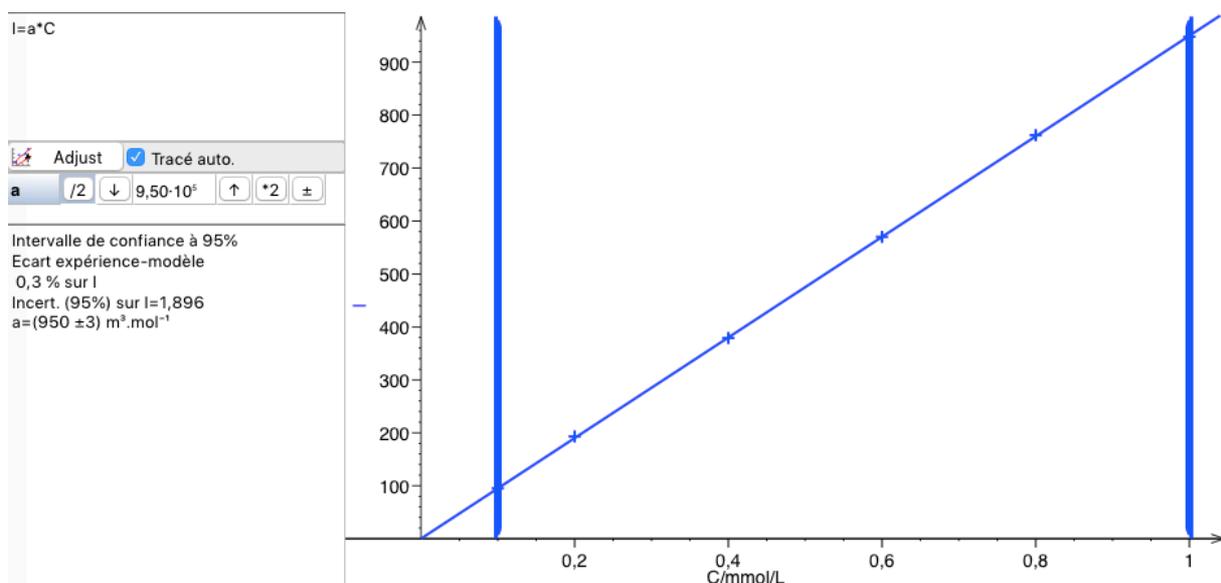
- ① On effectue un spectre d'émission en paramétrant le spectrofluorimètre telle que  $\lambda_{exc} = 254 \text{ nm}$ . On détermine la longueur d'onde de fluorescence optimale  $\lambda_{emopt}$ .
- ② On effectue ensuite un spectre d'excitation en paramétrant le spectrofluorimètre telle que  $\lambda_{em} = \lambda_{emopt}$ . On détermine la longueur d'onde d'excitation optimale  $\lambda_{excopt}$ .
- ③ On effectue, pour terminer, un spectre d'émission en paramétrant le spectrofluorimètre telle que  $\lambda_{exc} = \lambda_{excopt}$ . On obtient sur l'écran les deux spectres optimisés.

**12<sup>ème</sup> question****(1 point)**

La gamme d'étalonnage est lue contre le blanc dans les conditions prédéterminées et donne les résultats donnés dans le tableau n° 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Intensités de fluorescence des points de la gamme.

[Acide salicylique] (mmol.L <sup>-1</sup> )	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Intensité	95	193	379	570	762	948



Nous prélevons 0,4 mL exactement d'un échantillon que nous déposons dans une fiole jaugée de 10 mL. Nous complétons avec le solvant adéquat. La solution obtenue est mesurée en même temps que la gamme et donne une intensité de 480. Déterminer la concentration en acide salicylique de l'échantillon.

Vous exprimerez le résultat en mol.L<sup>-1</sup>.

Réponse du candidat :

D'après l'équation de la droite :  $I = a.C$  avec  $a = 950 \text{ m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

$$C = \frac{I}{a} = \frac{480}{950} = 0,505 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3} = 0,505 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$$

Il faut tenir compte de la dilution, donc la concentration réelle en acide salicylique dans l'échantillon vaut :

$$C_{\text{réelle}} = C \cdot f_d = 0,505 \times \frac{10}{0,4} = 1,26 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$