

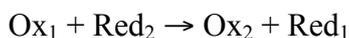
Partiel 2 - Analyse (sur 30 points) (2h00)

*Documents non autorisés - Calculatrice autorisée
Justifier les calculs
Séparer calcul littéral et numérique*

Exercice 1 : Prévion des réactions d'oxydoréduction (9 points)

1) Dans les conditions standard et à la température de 25°C, comment peut-on prévoir le sens de la réaction rédox qu'il peut y avoir entre deux couples Ox_1/Red_1 et Ox_2/Red_2 ?

2) Dans quel cas l'équation rédox suivante :



aura-t-elle lieu ?

3) À pH = 0, toutes les concentrations molaires sont égales à 1 mol.L⁻¹.

Écrire les demi-équations électroniques des différents couples proposés ci-après et indiquer dans chaque cas si le réducteur de ces couples peut réagir avec le dichromate de potassium. Dans le cas où c'est possible, écrire alors la réaction rédox correspondante.

- a - Couple $Br_2(l)/Br^-$. On donne $E^0(Br_2(l)/Br^-) = 1,07$ V.

- b - Couple H_2O_2/H_2O . On donne $E^0(H_2O_2/H_2O) = 1,77$ V.

- c - Couple Hg^{2+}/Hg_2^{2+} . On donne $E^0(Hg^{2+}/Hg_2^{2+}) = 0,91$ V.

- d - Couple Cu^{2+}/Cu . On donne $E^0(Cu^{2+}/Cu) = 0,34$ V.

On donne pour le couple $Cr_2O_7^{2-}/Cr^{3+}$: $E^0(Cr_2O_7^{2-}/Cr^{3+}) = 1,33$ V.

4) La réaction d'oxydation des ions bromure Br^- par les ions dichromate (cf question 3) - a -) peut-elle avoir lieu dans des conditions non standard, toujours à 25°C ? Pour cela, un litre de solution contient 0,1 mole d'ion bromure Br^- , 0,01 mole de dibrome Br_2 , 0,01 mole d'ion chrome (III) Cr^{3+} et 0,2 mole d'ion dichromate $Cr_2O_7^{2-}$, à pH = 1.

- a - Déterminer le potentiel rédox du couple $Br_2(l)/Br^-$ en utilisant la relation de Nernst.

- b - Déterminer le potentiel rédox du couple $Cr_2O_7^{2-}/Cr^{3+}$ en utilisant la relation de Nernst.

- c - Comparer les deux potentiels rédox calculés dans les questions précédentes et répondre à la question 4).

Exercice 2 : Méthode de quantification d'un mélange de conservateurs : le sorbate de potassium et le benzoate de sodium par spectrophotométrie (8,5 points)

Bien que la législation n'impose pas actuellement de normes de contamination minimale, la propreté microbiologique des produits cosmétiques demeure une préoccupation première pour l'industrie cosmétique. Les fabricants sont en effet conscients des dangers et des problèmes associés à la contamination microbienne éventuelle des produits.

Pour éviter cette contamination, il importe, en premier lieu de bien connaître les sources possibles de micro-organismes et de travailler dans des conditions conformes aux bonnes pratiques de fabrication. L'addition d'un conservateur antimicrobien pourra permettre de combattre les éventuelles contaminations, à conditions que le choix de ce conservateur ait été fait en tenant compte de tous facteurs susceptibles de modifier son activité, et que son activité ait été contrôlée.

Plusieurs critères vont orienter le choix du conservateur :

- innocuité : le conservateur doit être dénué d'effet toxique local ou systémique, d'effet irritant ou sensibilisant au niveau cutané.
- spectre d'activité : il doit être le plus large possible (activité vis-à-vis des bactéries, des levures et des moisissures). L'utilisation d'association peut permettre d'obtenir ce large spectre d'activité.
- compatibilité avec le processus de fabrication.
- solubilité dans l'eau : la phase aqueuse est le lieu de multiplication préférentiel des micro-organismes, le conservateur devra donc être soluble dans cette phase à une concentration efficace.
- pH de la formulation : l'efficacité de nombreux conservateurs est étroitement liée au pH du milieu. Ainsi, les acides faibles utilisés comme conservateurs antimicrobiens ne sont actifs qu'à l'état d'acide indissocié et leur activité diminue notablement avec l'augmentation du pH.
- coefficient de partage huile/eau : le conservateur doit se trouver à une concentration efficace dans la phase aqueuse.
- compatibilité avec les autres composants : divers composants des formulations peuvent diminuer l'activité des conservateurs, par exemple : les agents de surfaces, certains pigments
...

Dans la liste des conservateurs dont l'usage est autorisé en tant que tels dans les produits cosmétiques figurent déjà des substances qui à l'origine étaient fournies naturellement comme l'acide benzoïque et ses dérivés (benzoate de sodium, de potassium et de calcium) et l'acide sorbique et ses dérivés (sorbate de potassium).

L'étude porte sur le benzoate de sodium utilisé pour préserver toutes sortes de produits cosmétiques (crèmes, lotions, shampoings ...) ainsi que sur le sorbate de potassium agent conservateur (E202) que l'on retrouve dans de nombreux aliments bio tels que yaourts aux fruits, sauces et boissons.

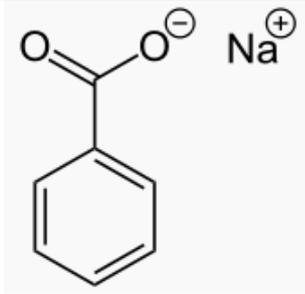


Fig. 1 : formule du benzoate de sodium

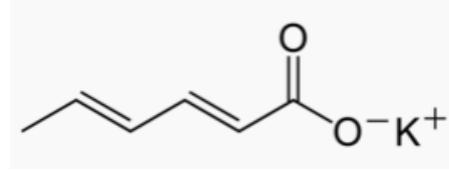


Fig. 2 : formule du sorbate de potassium

I – Mise en oeuvre du dosage du mélange sorbate-benzoate

On effectue un spectre de mélange ainsi que deux spectres superposés des deux molécules :

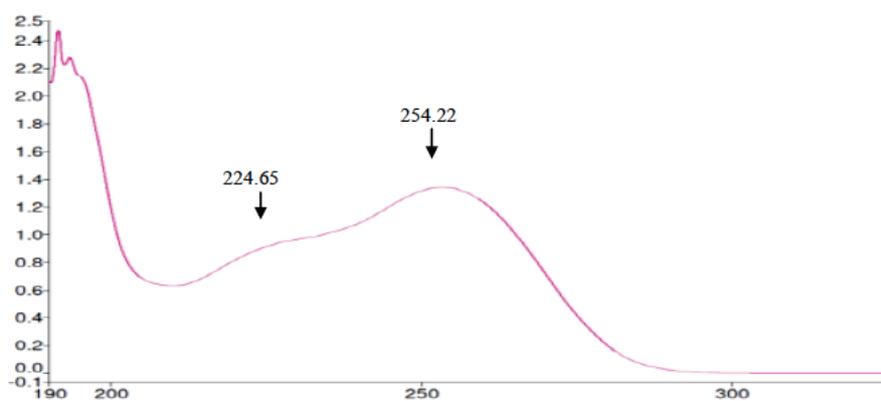


Fig. 3 : Spectre du mélange des deux molécules

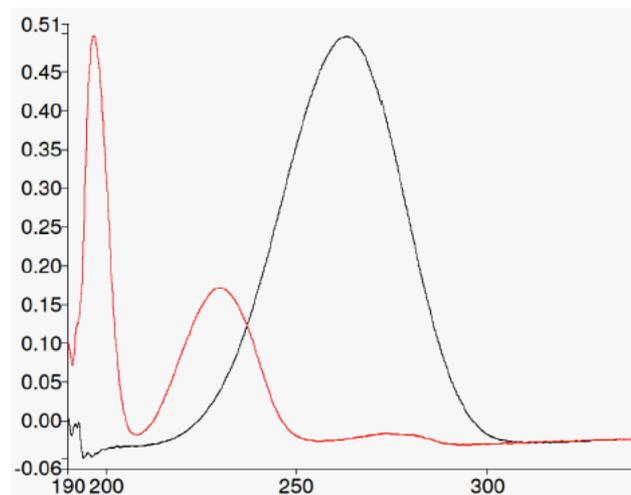


Fig. 4 : Spectres superposés des deux molécules

1) Indiquer quelles sont les grandeurs physiques en ordonnée et en abscisse de ces graphes, en précisant leur unité éventuelle.

2) Indiquer en pratique comment ont été obtenus ces spectres sur un spectrophotomètre Libra S22.

3) Sachant que le sorbate de potassium a un spectre décalé vers les plus grandes longueurs d'onde que le benzoate de sodium, indiquer les longueurs d'onde de travail pour pouvoir doser indépendamment ces deux molécules dans le mélange. Dans quel domaine spectral, se trouve ces longueurs d'onde ?

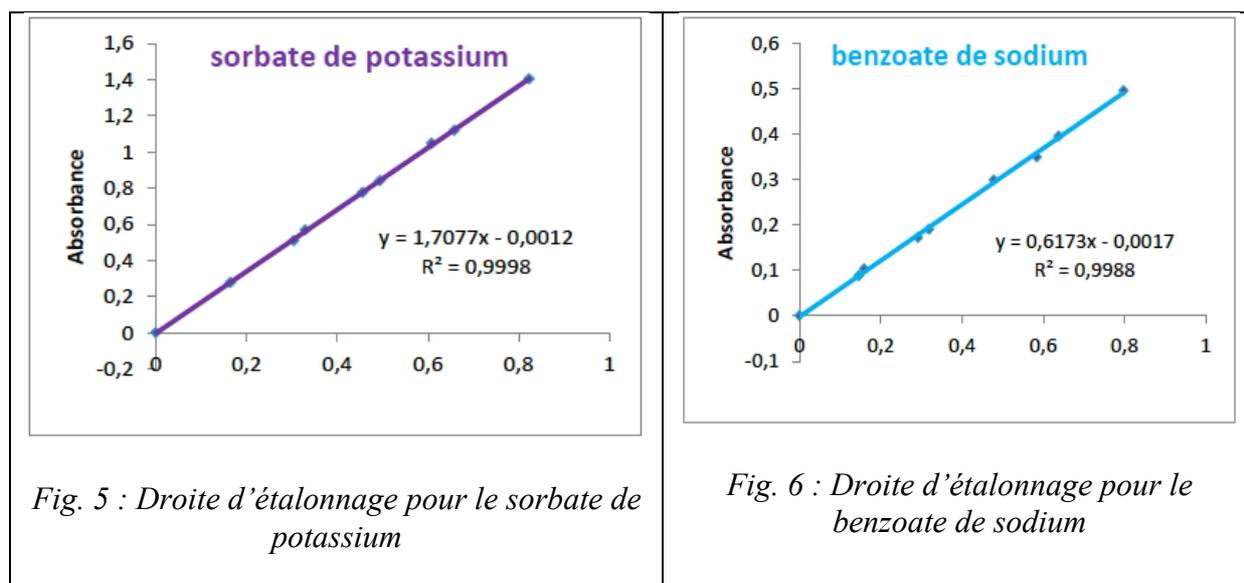
On prépare ensuite une solution mère en sorbate de potassium, en pesant 1,5 mg que l'on dissout dans une fiole de 100 mL. On effectue la même opération pour le benzoate de sodium.

4) Indiquer la concentration massique en sorbate de potassium et en benzoate de sodium dans les fioles « mères ».

On effectue deux gammes identiques pour chacun des composés, en 6 points dans des fioles « filles » de 10 mL.

5) Compléter le tableau de concentration en **annexe A (à rendre avec la copie)**.

6) On effectue en doublon les mesures et on trace les droites d'étalonnage pour les deux composés.



II – Interprétation des résultats du dosage du mélange sorbate-benzoate

- a - Indiquer les grandeurs en abscisses des droites précédentes ainsi que leur unité.
- b - Pour vérifier en première intention, la validité de la méthode de dosage, on fabrique une « inconnue-connue » de la façon suivante :
On pèse 0,75 mg de sorbate de potassium et 0,75 mg de benzoate de sodium que l'on place dans une fiole de 100 mL, et que l'on complète avec de l'eau distillée. On dilue ensuite 0,5 mL du mélange précédent dans une fiole de 10 mL complétée à l'eau distillée.

On effectue deux mesures à 254 nm et à 225 nm, et on obtient les résultats suivants :

Absorbances mesurées pour le sorbate de potassium	Absorbances mesurées pour le benzoate de sodium
0,6294	0,3978
0,6293	0,3717

En déduire les concentrations moyennes, que l'on notera C_{sorbate} et C_{benzoate} , de l'« inconnue-connue ».

- c - Conclure sur la méthode employée pour le dosage du mélange des deux composés. Pour cela vous comparez les concentrations moyennes obtenues aux concentrations des deux composés dans l'« inconnue-connue ». La méthode sera considérée comme valide si le biais ne dépasse pas 2 %.

On rappelle que le biais se calcule par :

$$\text{biais} = \left| \frac{C_{\text{inconnue-connue}} - C_{\text{moyen}}}{C_{\text{inconnue-connue}}} \right| \times 100$$

Exercice 3 : Validation d'une méthode de quantification d'un conservateur par spectrophotométrie : le benzoate de sodium (12,5 points)

La validation d'une méthode est la procédure par laquelle on démontre, preuves expérimentales à l'appui, que les performances ainsi que les résultats donnés par la méthode permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée.

Les critères de validations que nous allons étudier pour un dosage sont les suivants :

- * La spécificité ;
- * La linéarité ;
- * L'exactitude ;
- * La fidélité :
 - La répétabilité ;
 - La reproductibilité ;
- * Les limite de quantification (LOQ) et de détection (LOD).

I - Étude de la spécificité :

Pour faire l'étude de la spécificité, on réalise le spectre d'un mélange contenant les mêmes composés que le produit à analyser mais sans le benzoate de sodium que l'on appellera placebo.

Le produit servant à la validation est le SE28113, dont la formule est donnée ci-dessous :

matières premières	%
peptide	0,02
benzoate de sodium	0,30
eau	99,68

1) On prépare un placebo contenant 0,02 % de peptide et 99,98 % d'eau. On obtient les spectres ci-dessous. Conclure sur la spécificité en justifiant votre réponse.

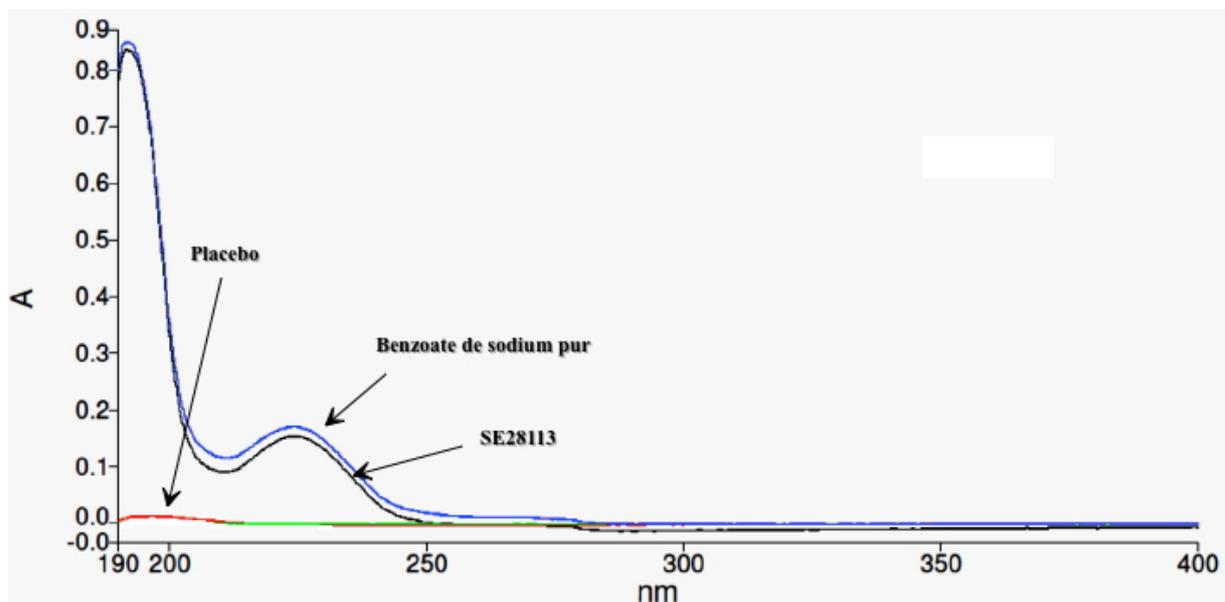


Fig. 7 : Spectres superposés du placebo, du benzoate de sodium pur et de l'échantillon SE28113

II - Étude de la linéarité :

On réalise 3 gammes selon le mode opératoire (cf annexe 2), à raison d'une gamme par jour pour le benzoate de sodium.

2) **Pour la préparation de la gamme avec le benzoate de sodium**, la solution mère est préparée en pesant $m = 100$ mg de benzoate de sodium placée dans une fiole de volume $V_{d1} = 100$ mL, complétée avec de l'eau distillée.

Les points de gamme sont préparés de la façon suivante :

point de gamme	60 %	80 %	100 %	120 %	140 %
volume de solution mère V_m (mL)	0,18	0,24	0,30	0,36	0,42
volume d'eau V_{d2} (mL)	qsp 100 mL				
C_1 (mg/100 mL)	0,18	0,24	0,30	0,36	0,42

Donner l'expression littérale de la concentration en benzoate de sodium C_1 en fonction de m , V_m , V_{d1} et V_{d2} .

3) **Pour la préparation de la gamme avec le produit SE28113**, le produit contient le conservateur à la concentration $C_{\text{benzoate}} = 3 \text{ g/L}$.

Les points de gamme sont préparés de la façon suivante :

point de gamme	60 %	80 %	100 %	120 %	140 %
volume de produit V_p (mL)	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14
volume d'eau V_{d3} (mL)	qsp 100 mL				
C_2 (mg/100 mL)	0,18	0,24	0,30	0,36	0,42

Donner l'expression littérale de la concentration en benzoate de sodium C_2 en fonction de C_{benzoate} , V_p et V_{d3} .

Les résultats sont donnés ci-dessous :

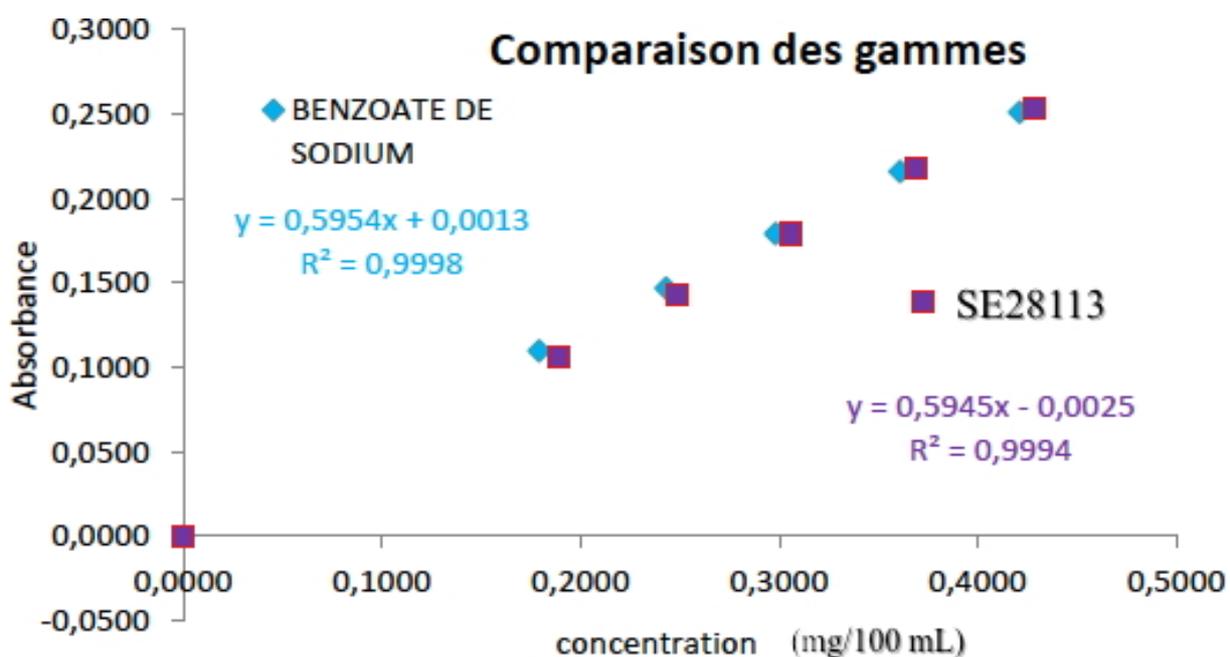


Fig. 8 : Points de gamme, du benzoate de sodium pur et de l'échantillon SE28113

Les points de gamme en ordonnée représentent la moyenne des absorbances sur les trois jours et en abscisse les valeurs représentent la moyenne des concentrations sur les trois jours.

4) Compléter l'**annexe B (à rendre avec la copie)**. Pour cela , vous complétez le tableau et vous calculerez $t_{B/0}$ et $t_{A/0}$ dans les deux cas puis vous conclurez.

5) Compléter l'**annexe C (à rendre avec la copie)**. Pour cela , vous calculerez $t_{B1/B2}$ et $t_{A1/A2}$ et vous conclurez.

III - Étude de l'exactitude :

6) Compléter l'annexe D (à rendre avec la copie).

Données :

On rappelle que le calcul de la moyenne, de l'écart-type sur une grandeur x , obéissant à une loi normale, sont données par les relations suivantes :

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \text{et} \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

IV – 1/ Étude de la répétabilité :

La répétabilité utilise les données de l'annexe D.

7) On veut quantifier le défaut de répétabilité

- a - Calculer le coefficient de variation de répétabilité CV_r en %.
- b - Conclure sur l'étude de la répétabilité.

IV – 2/ Étude de la reproductibilité :

La reproductibilité utilise les données de l'annexe E (à compléter et à rendre avec la copie).

8) On veut quantifier le défaut de reproductibilité

- a - Calculer le coefficient de variation de reproductibilité CV_R en %.
- b - Conclure sur l'étude de la reproductibilité.

9) La mise en place de la méthode de dosage du benzoate de sodium en routine est-elle possible ?

V – LOD et LOQ :

10) Définir la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) d'une procédure analytique.

11) L'opérateur effectue dix mesures d'absorbance sur le blanc et obtient les résultats suivants :

moyenne des absorbances : $m_{\text{blanc}} = 0,000100$

écart-type correspondant : $s_{\text{blanc}} = 9,66092 \cdot 10^{-5}$

Calculer les valeurs de LOD et LOQ.

FIN DE L'ÉPREUVE

ANNEXE 1 : LA SPÉCIFICITÉ

1. Spécificité

Définition

Une procédure d'analyse est dite spécifique lorsqu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physico-chimique ou un groupement fonctionnel d'une ou de plusieurs substances dans l'échantillon (note explicative CEE III/844/87 EN-FINAL août 1989). La procédure analytique sera dite spécifique lorsqu'on aura la garantie que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser.

Mode opératoire

- Faire un spectre UV de la molécule à doser (benzoate de sodium)
- En parallèle passer un échantillon du produit sans le benzoate de sodium (contenant tous les autres composés de la matrice).

Aucun des composés de la matrice ne doit absorber à la même longueur d'onde que le benzoate de sodium ($\lambda=224\text{nm}$).

ANNEXE 2 : LA LINÉARITÉ

2. Linéarité

Définition

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité (à l'intérieur d'un certain intervalle) d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en substance à examiner dans l'échantillon.

Mode opératoire

- Réaliser trois gammes de standard, benzoate de sodium, indépendantes (jours différents) comportant 5 points chacune. Vérifier la linéarité de ces gammes
- De la même façon réaliser trois gammes de produit fini indépendantes (jours différents) de 5 points chacune. Vérifier la linéarité de ces gammes

Calculs :

Les droites de calibration étudiées auront pour équation : $y = A_1 + B_1 x$ et $y = A_2 + B_2 x$

Avec A_1 = l'ordonnée à l'origine de la gamme de benzoate de sodium

B_1 = la pente de la gamme de benzoate de sodium

A_2 = l'ordonnée à l'origine de la gamme du produit

B_2 = la pente de la gamme du produit

Test de comparaison des pentes avec 0

$$\text{si: } t_{B/0} = \frac{|B-0|}{s_B} > t_{table}, \text{ alors le modèle est linéaire.}$$

$t_{B/0}$ est la comparaison de la pente par rapport à 0

s_B est l'écart type de la pente.

$t_{table}(\alpha;ddl)$ avec α : risque choisi et ddl : degré de liberté = 13; $t = 1,771$

Test de comparaison des ordonnées à l'origine avec 0

$$\text{si: } t_{A/0} = \frac{|A-0|}{s_A} < t_{table}, \text{ alors les séries passent bien par 0.}$$

$t_{A/0}$ est la comparaison de l'ordonnée à l'origine par rapport à 0

s_A est l'écart type de l'ordonnée à l'origine.

$t_{table}(\alpha;ddl)$ avec α : risque choisi et ddl : degré de liberté = 13; $t = 1,771$

Test de comparaison des pentes des deux séries

$$\text{si: } t_{B_1/B_2} = \frac{|B_1 - B_2|}{\sqrt{s^2 B_1 + s^2 B_2}} < t_{table},$$

Alors les pentes ne sont pas significativement différentes,

Il n'y a pas d'effet matrice rotationnelle.

$$t_{table} = 2,056$$

Test de comparaison des ordonnées à l'origine des deux séries

$$\text{si: } t_{A_1/A_2} = \frac{|A_1 - A_2|}{\sqrt{s^2 A_1 + s^2 A_2}} < t_{table},$$

Alors les ordonnées à l'origine ne sont pas significativement différentes,

Il n'y a pas d'effet matrice transrotationnelle.

$$t_{table} = 2,056$$

ANNEXE 3 : EXACTITUDE

3. Exactitude

Définition

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie (standard interne de la firme), soit comme une valeur de référence acceptée (standard international, par exemple standard d'une pharmacopée) et la valeur trouvée (valeur moyenne) obtenue en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois.

Mode opératoire

- On prépare 3 séries de 6 solutions (même concentration) à partir du produit fini.

Les solutions utilisées pour l'exactitude sont les même que celles utilisées pour l'étude de répétabilité.

- Chaque série est lue indépendamment (même jour, même opérateur,...) sur une gamme linéaire.

Calcul :

Selon le mode opératoire précédent nous obtenons n= 18 valeurs

L'exactitude consiste à comparer la valeur moyenne (Vmoy) expérimentalement obtenue avec une Valeur Conventionnellement Vraie (VCV) :

- Vmoy > VCV

On calcul VCV + ICuni¹⁰ :

- ✓ Vmoy < VCV + ICuni -> Vmoy n'est pas significativement différent de VCV = exacte
- ✓ Vmoy > VCV + ICuni -> Vmoy est significativement différent de VCV = pas exacte

- Vmoy < VCV

On calcul VCV - ICuni :

- ✓ Vmoy > VCV - ICuni -> Vmoy n'est pas significativement différent de VCV = exacte
- ✓ Vmoy < VCV - ICuni -> Vmoy est significativement différent de VCV = pas exacte

¹⁰ ICuni : Intervalle de Confiance unilatéral

$$\text{Avec ICuni} = \frac{t_{\text{table}} * s}{\sqrt{n}}$$

t_{table} = valeur de t dans la table de Student avec α=0.05 et ddl = n-2

s = écart type sur les valeurs

n = nombre de valeurs

ANNEXE 4 : FIDÉLITÉ**4. Fidélité****a) La répétabilité**

Etroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs d'un même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure. (même mode opératoire, même opérateur, même instrument de mesure, même lieu, et répétition durant une courte période)

Mode opératoire :

On prépare 3 séries de 6 solutions (même concentration)

Chaque série lue indépendamment (même jour, même opérateur,...) sur une gamme validée.

Calcul :

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100 < 5 \%$$

s = écart type sur l'ensemble des valeurs

\bar{x} = moyenne des valeurs

b) La reproductibilité

Etroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs d'un même mesurande, dans le cas où des mesurages individuels sont effectués en faisant varier au moins une condition de mesure. (Mode opératoire, opérateur, instrument de mesure, lieu, temps)

Mode opératoire:

On prépare 1 série de 6 solutions injectées sur 3 spectrophotomètres différents

Ou trois opérateurs préparent chacun 1 séries de 6 solutions qui sera lu sur le même spectrophotomètre et sur une gamme validée

Calcul : même calcul que pour la répétabilité

ANNEXE 5 & 6 : LOD & LOQ**5. Seuil de détection**Définition

LOD c'est la limite de détection (Limit Of Detection). C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte. Le seuil de détection est généralement un paramètre des essais limites.

Mode opératoire

Série de 10 mesures sur l'eau osmosée (blanc) contre une gamme validée.

On obtient : m_{blanc} (moyenne) et s_{blanc} (écart type).

Calcul :

$$\text{LOD} = m_{\text{blanc}} + 3 s_{\text{blanc}}$$

6. Seuil de quantificationDéfinition

LOQ c'est la limite de quantification (Limit Of Quantification). C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une fidélité et une exactitude définies.

Mode opératoire : (voir LOD)

Série de 10 mesures sur l'eau osmosée (blanc) contre une gamme validée.

On obtient : m_{blanc} (moyenne) et s_{blanc} (écart type).

Calcul :

$$\text{LOQ} = m_{\text{blanc}} + 10 s_{\text{blanc}}$$

ANNEXE A :
Gamme d'étalonnage pour le sorbate de potassium et le benzoate de potassium

V (mL)	0	0,1	0,2	0,35	0,45	0,55
C_i (mg.L ⁻¹)						
qsp eau distillée 10 mL						

Donner un exemple de calcul :

ANNEXE B : Etude de la linéarité

Composés	benzoate de sodium	SE28113
pende = B (100 mL/mg)		
s_B (100 mL/mg)	0,0038	0,0074
ordonnée à l'origine = A		
s_A	0,0011	0,0022
coefficient de corrélation	0,9998	0,9994

Pour le benzoate de sodium :

Comparaison de la pente B à 0 :

Conclusion :

Comparaison de l'ordonnée à l'origine A à 0 :

Conclusion :

Pour le SE28113 :

Comparaison de la pente B à 0 :

Conclusion :

Comparaison de l'ordonnée à l'origine A à 0 :

Conclusion :

ANNEXE C : Comparaison des droites d'étalonnage

Comparaison des pentes :

Conclusion :

Comparaison des ordonnées à l'origine :

Conclusion :

ANNEXE D : Étude de l'exactitude sur le produit SE28113

manipulateur	Essai	$x_i = \%$ benzoate	\bar{x} (%)	$\bar{\bar{x}}$ (%)	s (%)	S_{moy} (%)
Flo	1	98,7				
	2	103,3				
	3	100,7				
	4	101,1				
	5	105,2				
	6	101,8				
Flo	1	98,2				
	2	102,5				
	3	99,6				
	4	100,9				
	5	105,6				
	6	98,8				
Flo	1	97,2				
	2	101,2				
	3	98,6				
	4	102,4				
	5	110,5				
	6	102,0				

Comparaison de la valeur moyenne $\bar{\bar{x}} = V_{moy}$ à la VCV de 100 % :

Calculer $VCV + IC_{uni}$ et $VCV - IC_{uni}$: (on prendra pour t_{table} , la valeur de 1,746)

Conclure :

ANNEXE E : Étude de la reproductibilité sur le produit SE28113

manipulateur	Essai	$x_i = \%$ benzoate	\bar{x} (%)	$\bar{\bar{x}}$ (%)	s (%)	S_{moy} (%)
Sig	1	102,4	103,5		2,65	
	2	99,9				
	3	104,4				
	4	102				
	5	104,9				
	6	107,5				
Flo	1	107,9	106,0			
	2	102,2				
	3	104,2				
	4	110,7				
	5	104,5				
	6	106,3				
Mfa	1	101,2	100,4			
	2	101,7				
	3	95,0				
	4	102,5				
	5	99,4				
	6	102,8				