

CAFÉINE ET SPORT : ÉTUDE DE BOISSONS ÉNERGISANTES PAR SPECTROSCOPIE

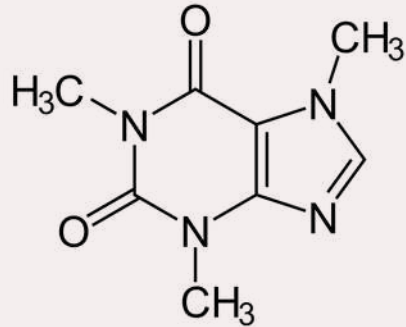


Figure 1 - caféine (1,3,7-triméthylxanthine)

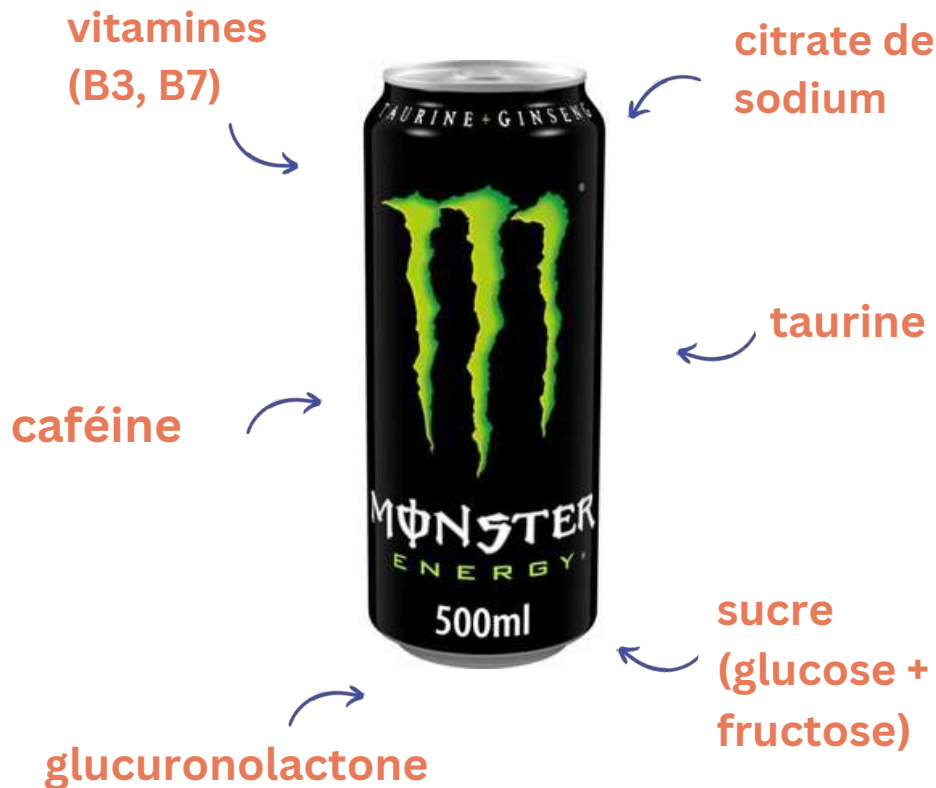


I) Introduction

- II) Spectroscopie UV-visible
- III) HPLC
- IV) Spectrofluorimétrie

a) Présentation des boissons énergisantes

- b) Action de la caféine sur l'organisme et Enjeux
- c) Problématique, objectifs du TIPE



Prévention : ne pas dépasser 400 mg de caféine par jour

I) Introduction

II) Spectroscopie UV-visible

III) HPLC

IV) Spectrofluorimétrie

a) Présentation des boissons énergisantes

b) Action de la caféine sur l'organisme et Enjeux

c) Problématique, objectifs du TIPE

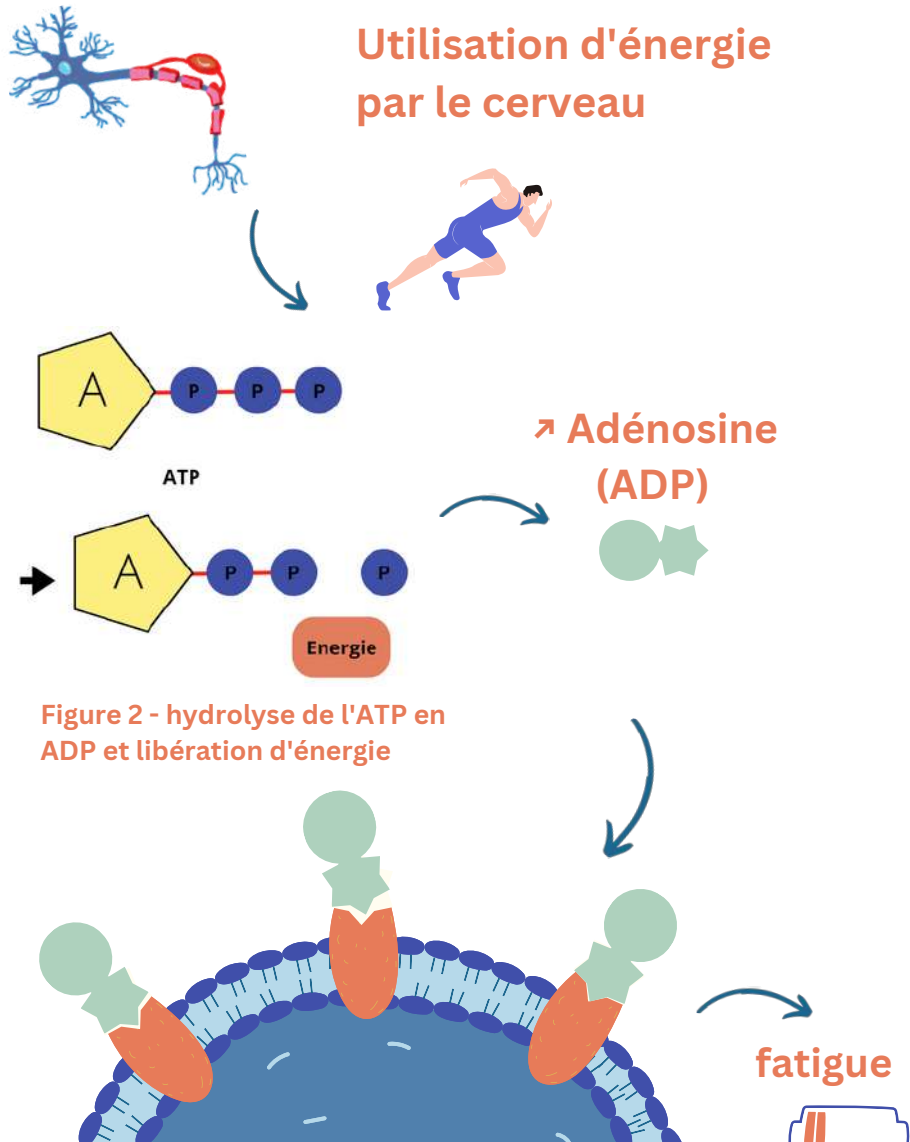


Figure 2 - hydrolyse de l'ATP en ADP et libération d'énergie

Figure 3 - Récepteurs à adénosine au niveau des synapses

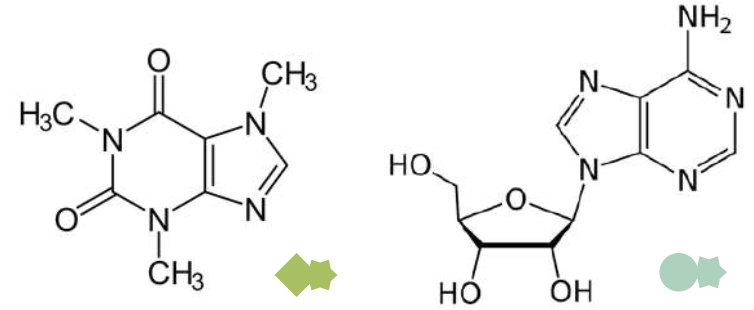
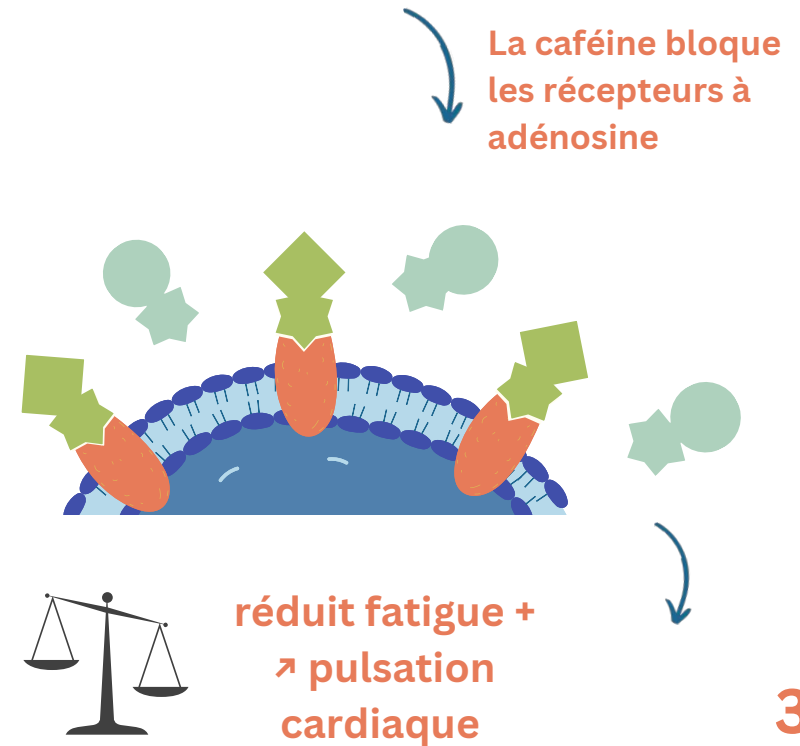


Figure 4 - caféine (à gauche), adénosine (à droite)



I) Introduction

II) Spectroscopie UV-visible

III) HPLC

IV) Spectrofluorimétrie

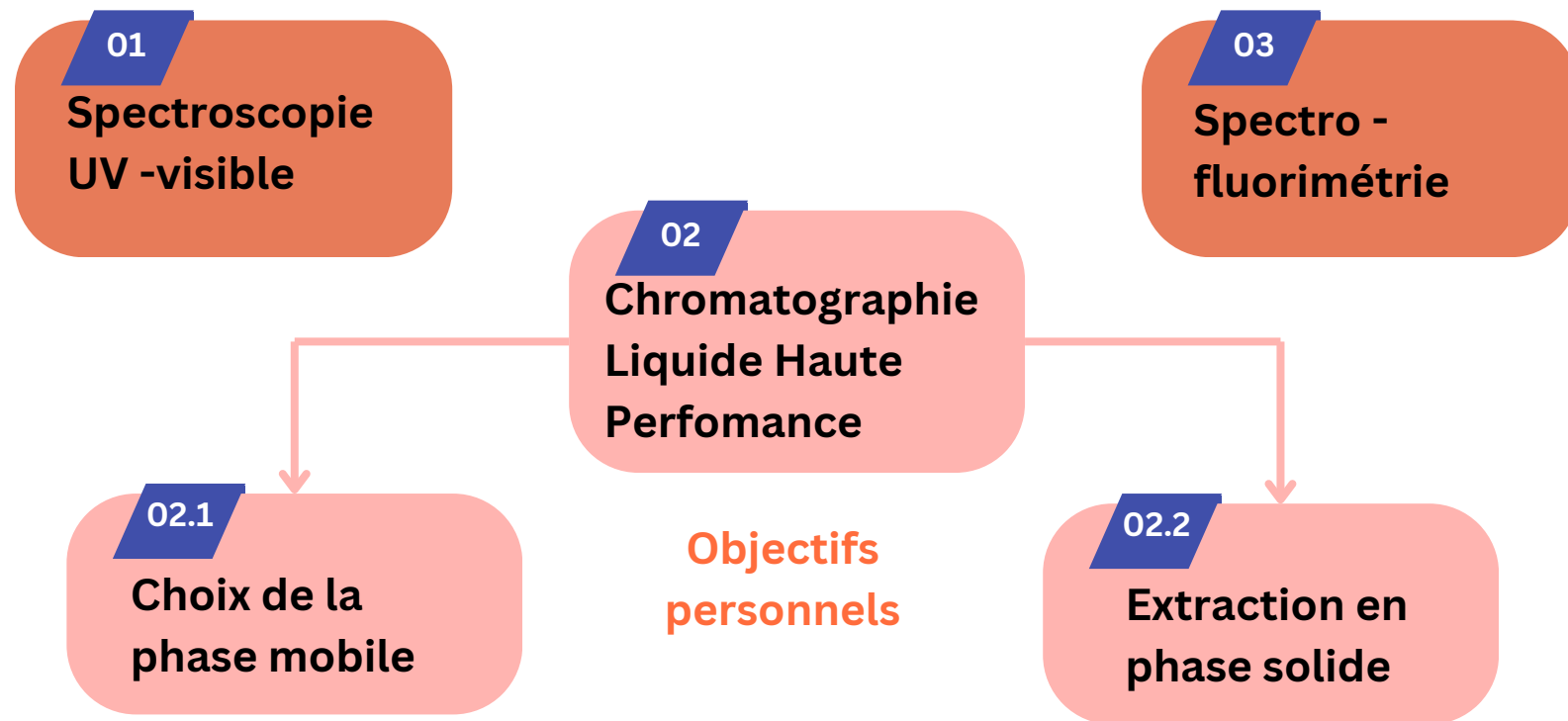
a) Présentation des boissons énergisantes

b) Action de la caféine sur l'organisme et enjeux

c) **Problématique, objectifs du TIPE**

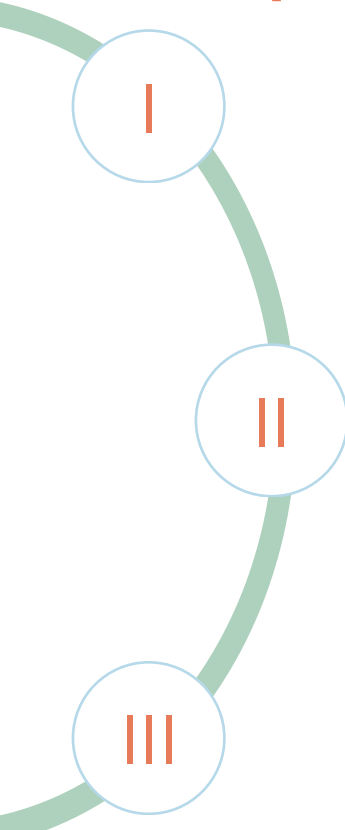
Problématique et objectifs du TIPE :

→ **Comment détecter et quantifier la caféine présente dans des boissons énergisantes ?**
Quelles méthodes se révèlent les plus efficaces ?



SOMMAIRE

Etude préliminaire : Dosage de la caféine par spectroscopie UV-visible

- 
- a) Analyse de la boisson brute
 - b) Extraction de la caféine
 - c) Méthode des ajouts dosés

Dosage de la caféine par HPLC

- a) Choix de la phase mobile
- b) Extraction en phase solide
- c) Etalonnage et calculs des résultats

Comparaison avec un dosage par spectrofluorimétrie

SOMMAIRE

Etude préliminaire : Dosage de la caféine par spectroscopie UV-visible

- a) Analyse de la boisson brute
- b) Extraction de la caféine
- c) Méthode des ajouts dosés

Dosage de la caféine par HPLC

- a) Choix de la phase mobile
- b) Extraction en phase solide

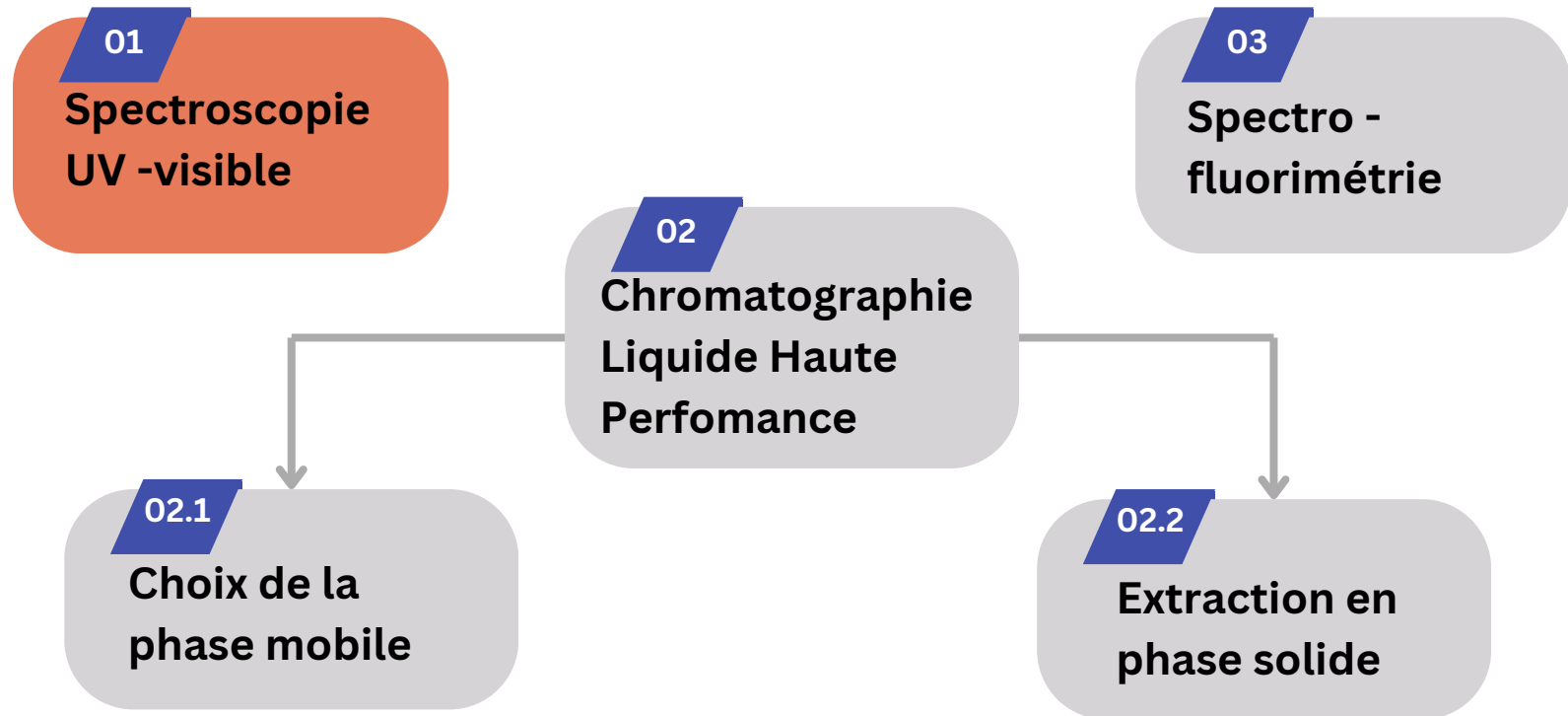
c) Etalonnage et calculs des résultats

Objectifs
personnels

Comparaison avec un dosage par spectrofluorimétrie

Problématique et objectifs du TIPE :

→ Comment détecter et quantifier la caféine présente dans des boissons énergisantes ?
Quelles méthodes se révèlent les plus efficaces ?



1ère méthode : Analyse directe d'une solution de boisson énergisante

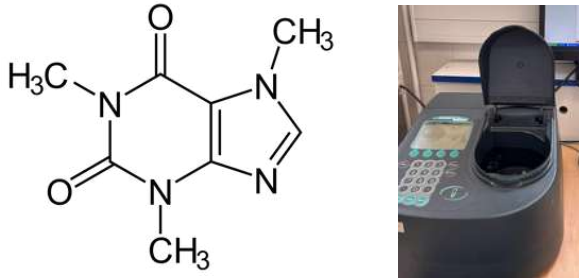


Figure 5 - caféine et spectrophotomètre UV Visible

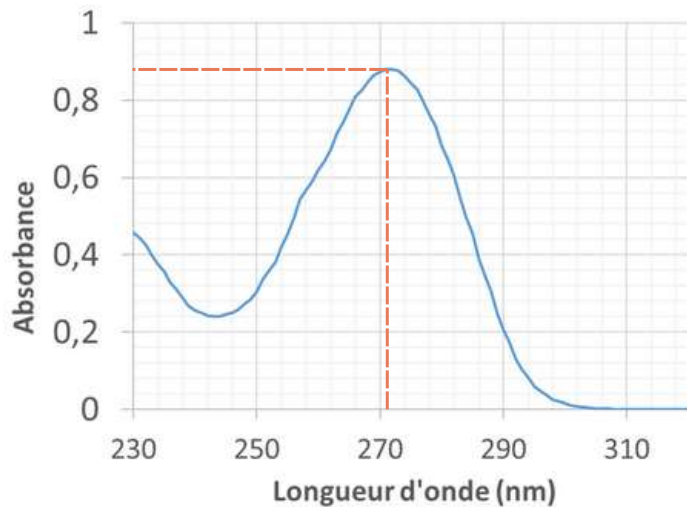


Figure 6 - Absorbance entre 230 à 320 nm d'une solution aqueuse de caféine à 0,02 g/L avec une cuve en quartz

$$\lambda_{\max} = 272 \text{ nm}$$

1ère méthode : Analyse directe d'une solution de boisson énergisante

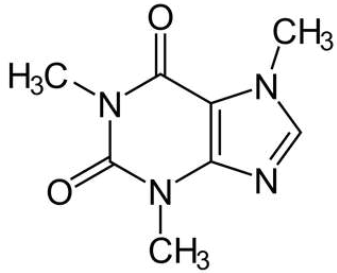


Figure 5 - caféine et spectrophotomètre UV Visible

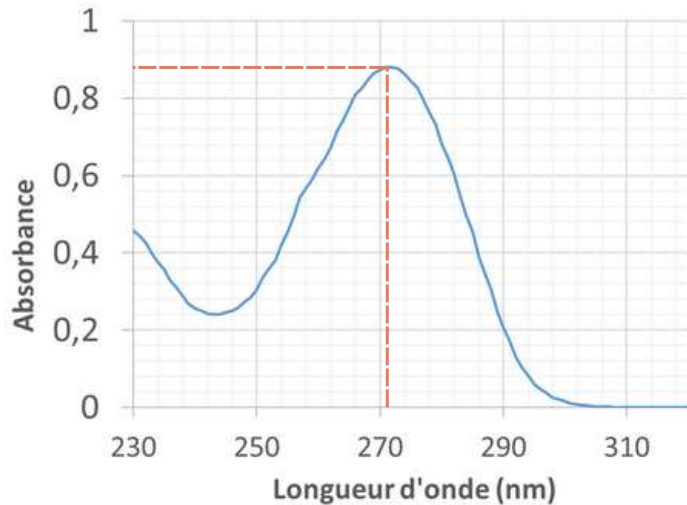


Figure 6 - Absorbance entre 230 à 320 nm d'une solution aqueuse de caféine à 0,02 g/L avec une cuve en quartz

$$\lambda_{\max} = 272 \text{ nm}$$

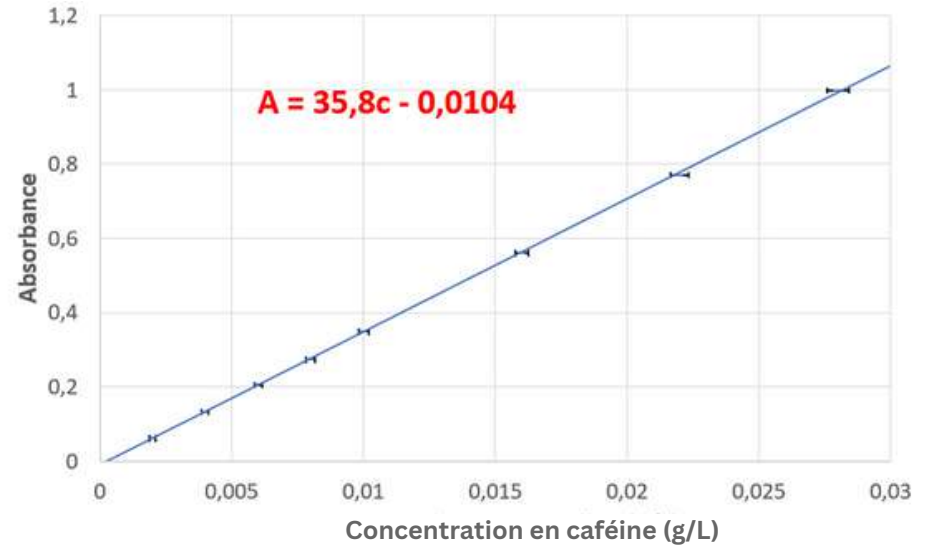


Figure 7 - Courbe d'étalonnage de la caféine dans de l'acide sulfurique à 272 nm

Loi de Beer – Lambert

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$



1ère méthode : Analyse directe d'une solution de boisson énergisante

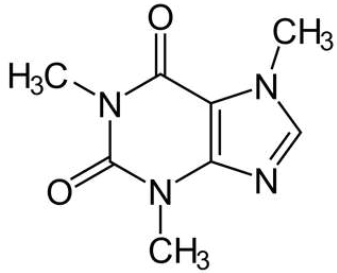


Figure 5 - caféine et spectrophotomètre UV Visible

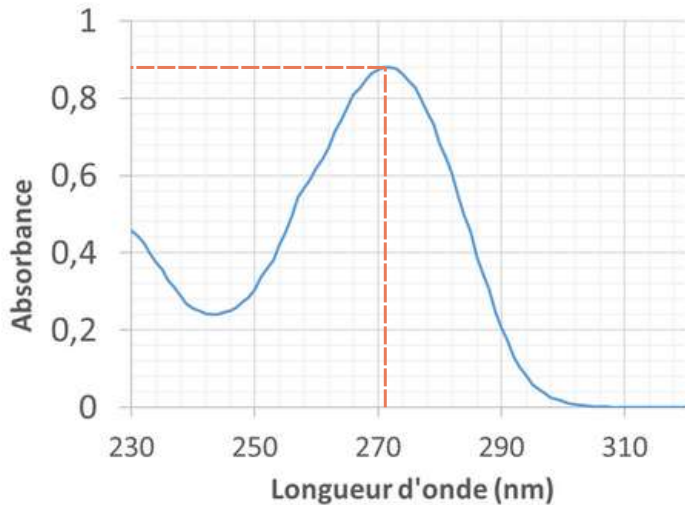


Figure 6 - Absorbance entre 230 à 320 nm d'une solution aqueuse de caféine à 0,02 g/L avec une cuve en quartz

$$\lambda_{\max} = 272 \text{ nm}$$

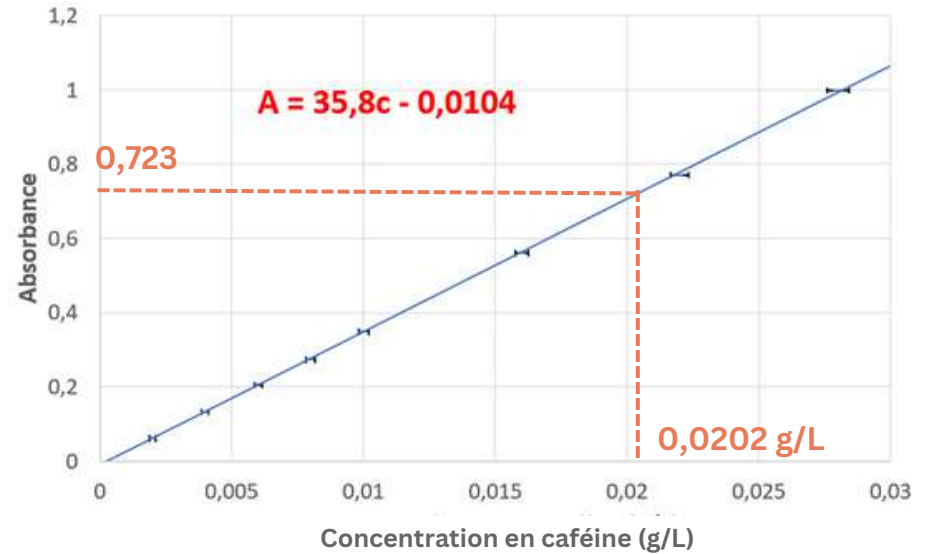


Figure 7 - Courbe d'étalonnage de la caféine dans de l'acide sulfurique à 272 nm

Loi de Beer – Lambert

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

Absorbance mesurée : $A = 0,723$
Taux de caféine dans 100 mL de boisson : $(20,20 \pm 0,36) \text{ mg}$

2ème méthode : Analyse UV à partir de la caféine extraite de la boisson



Ajustement du pH avec Na_2CO_3 à 1 mol/L jusqu'à pH=9

Extraction de la caféine de la boisson énergisante à l'aide

de 2x 25 mL de dichlorométhane



phase aqueuse

phase organique

Récupération de la phase organique

+ séchage
+ filtration

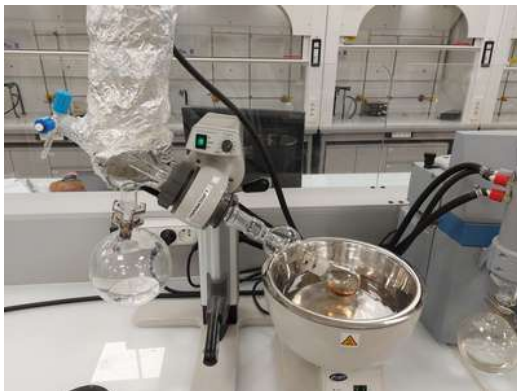
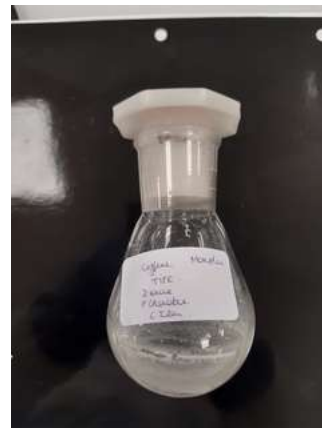


Figure 8 - évaporateur rotatif



Ajout de 50 mL de H_2SO_4 dans le ballon

Prélèvement de 5 mL → dilution dans une fiole jaugée de 500mL



Mesure d'absorbance

2ème méthode : Analyse UV à partir de la caféine extraite de la boisson

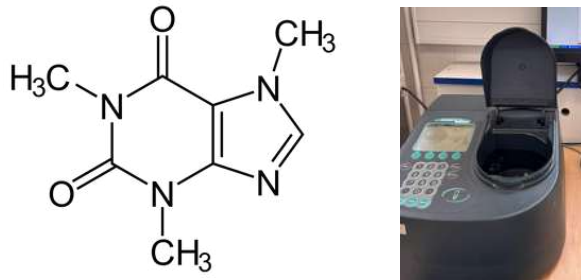


Figure 5 - caféine et spectrophotomètre UV Visible

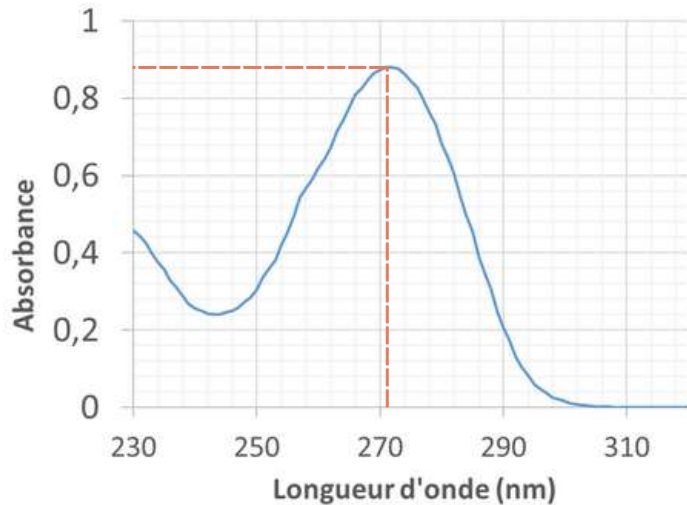


Figure 6 - Absorbance entre 230 à 320 nm d'une solution aqueuse de caféine à 0,02 g/L avec une cuve en quartz

$$\lambda_{\max} = 272 \text{ nm}$$

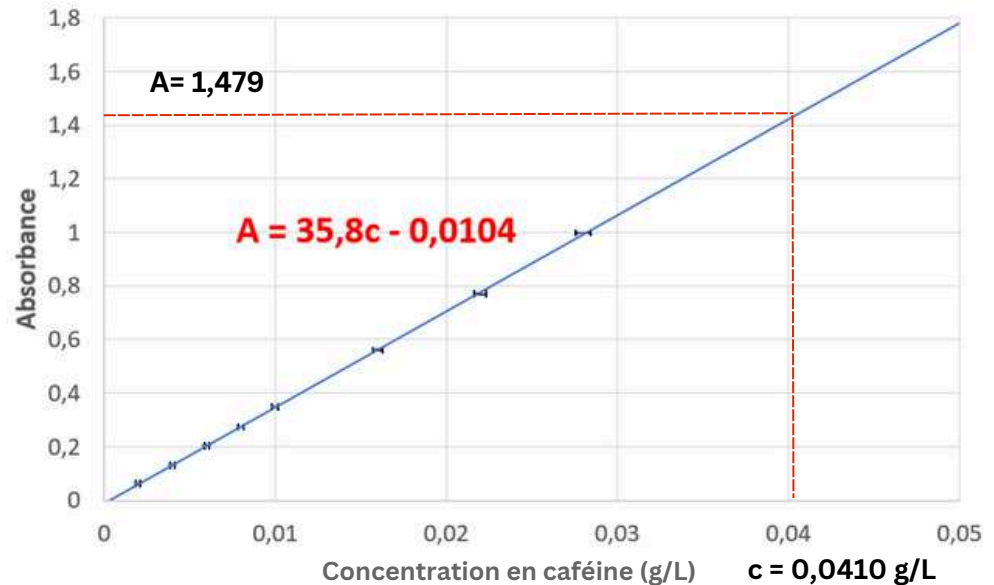


Figure 7 - Courbe d'étalonnage de la caféine dans de l'acide sulfurique à 272 nm

Loi de Beer – Lambert

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

**Absorbance mesurée : $A = 1,479$
 d'où $c = 20,51 \pm 0,36 \text{ mg}$ de
 caféine dans 100 mL de boisson**

**Méthode 3 : ajouts dosés : intérêt :
 passer outre les effets de matrice**

	S1	S2	S3	S4	S5
volume boisson énergisante (mL)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
volume solution étalon caféine (mL)	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00

Figure 9 - Composition des différentes solutions étalons

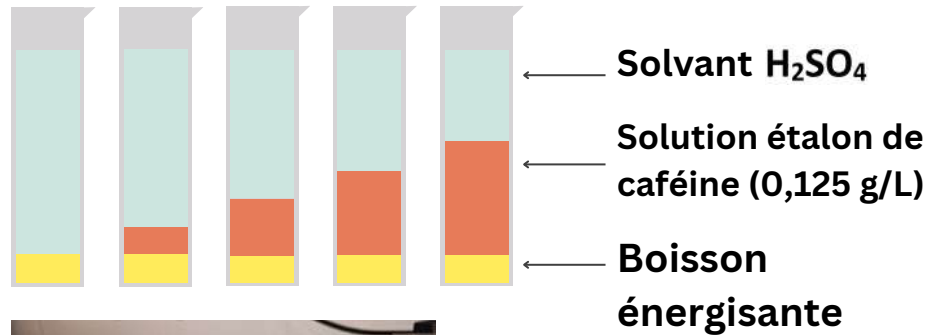


Figure 10 - Solutions étalons

**Méthode 3 : ajouts dosés : intérêt :
 passer outre les effets de matrice**

	S1	S2	S3	S4	S5
volume boisson énergisante (mL)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
volume solution étalon caféine (mL)	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00

Figure 9 - Composition des différentes solutions étalons

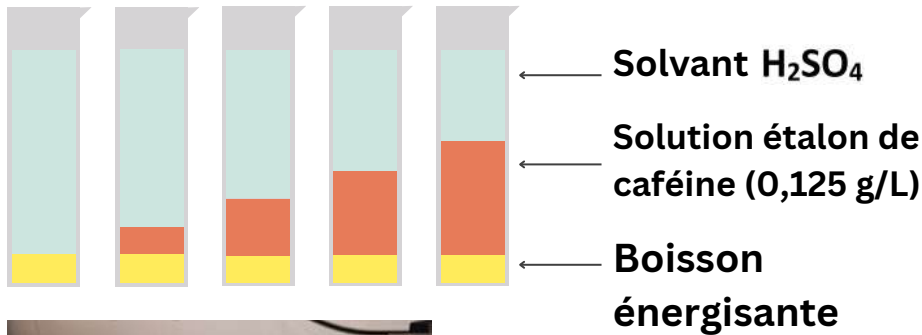


Figure 10 - Solutions étalons

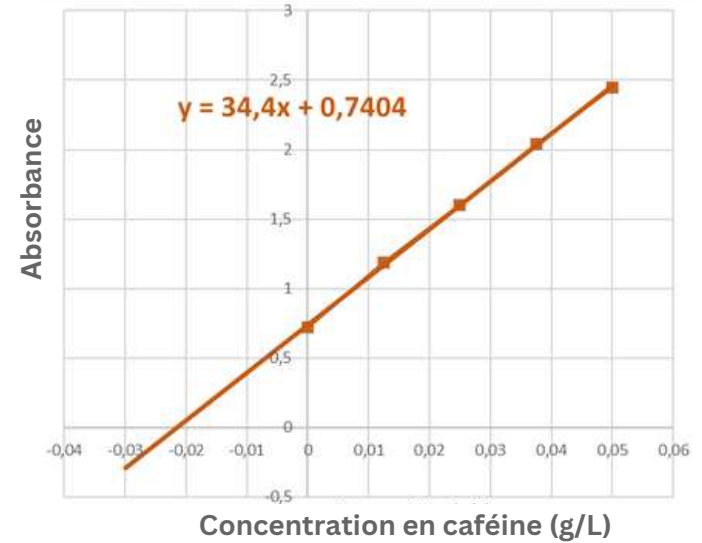


Figure 11 - Droite d'étalonnage des ajouts dosés

Méthode 3 : ajouts dosés : intérêt : passer outre les effets de matrice

	S1	S2	S3	S4	S5
volume boisson énergisante (mL)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
volume solution étalon caféine (mL)	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00

Figure 9 - Composition des différentes solutions étalons

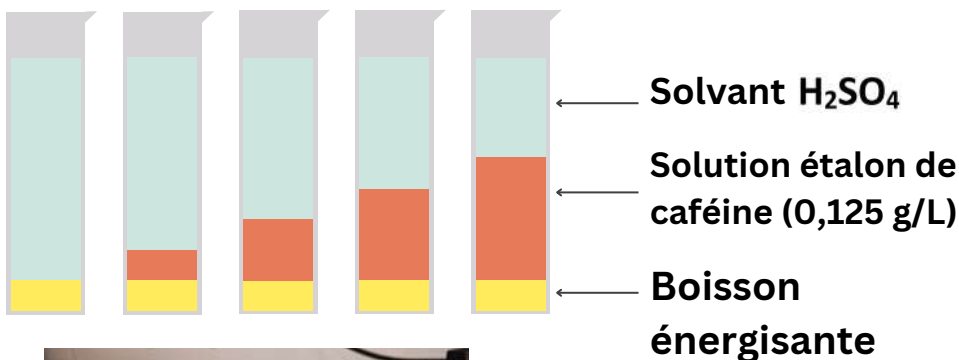


Figure 10 - Solutions étalons

Concentration en caféine

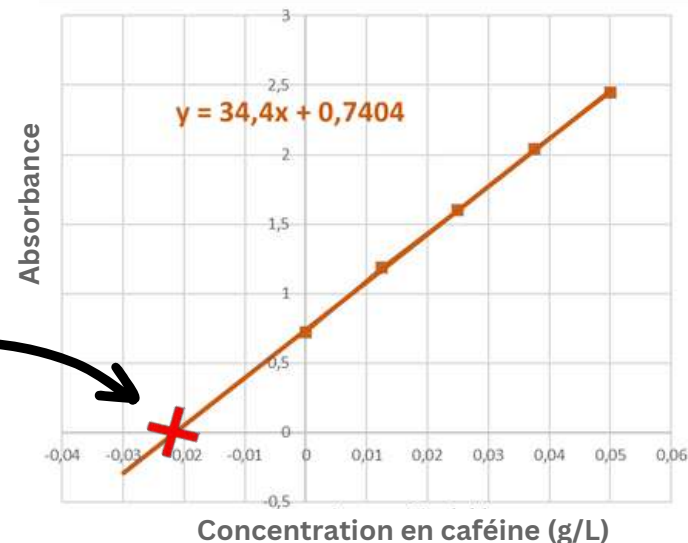


Figure 11 - Droite d'étalonnage des ajouts dosés

concentration en caféine des solutions étalons
 concentration inconnue de caféine (Monster)

$$A = k.(C+C_x)$$

On trace sur la courbe $A(c)=k.C + k.C_x$

Solution de l'équation $A(C)=0 \Leftrightarrow$

$$C(A=0) = -C_x$$

c = (21,52 ± 0,48) mg de caféine dans 100 mL de boisson

Méthode 3 : ajouts dosés : intérêt : passer outre les effets de matrice

	S1	S2	S3	S4	S5
volume boisson énergisante (mL)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
volume solution étalon caféine (mL)	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00

Figure 9 - Composition des différentes solutions étalons

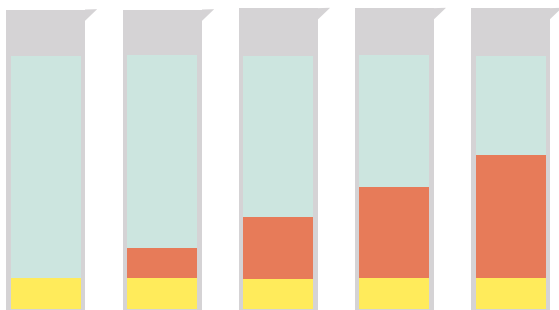


Figure 10 - Solutions étalons

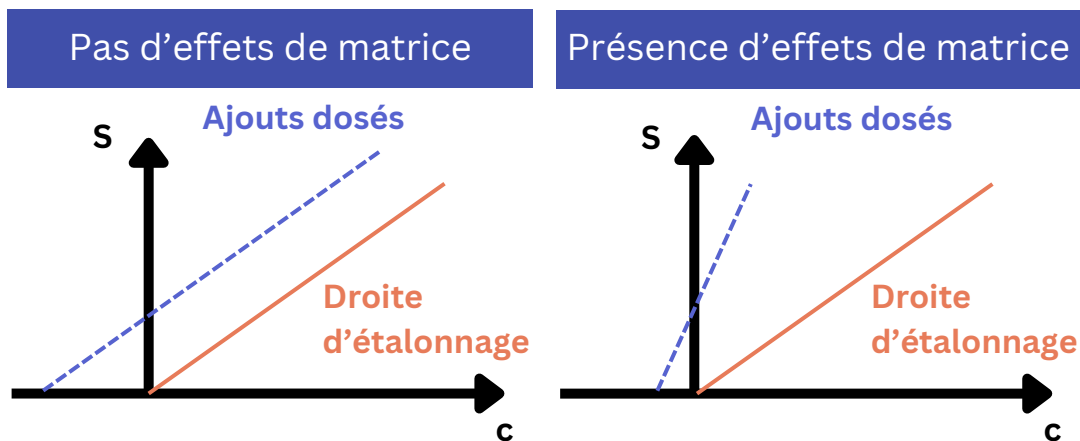
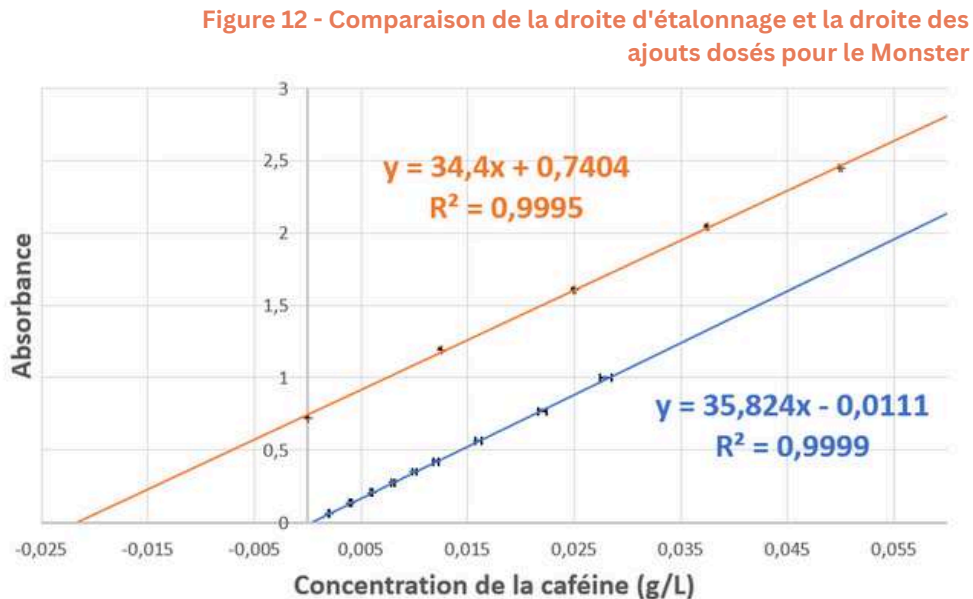


Figure 13 - Conséquence de la comparaison des droites d'étalonnage et d'ajouts dosés sur les effets de matrice

Problématique et objectifs du TIPE :

→ Comment détecter et quantifier la caféine présente dans des boissons énergisantes ?
Quelles méthodes se révèlent les plus efficaces ?

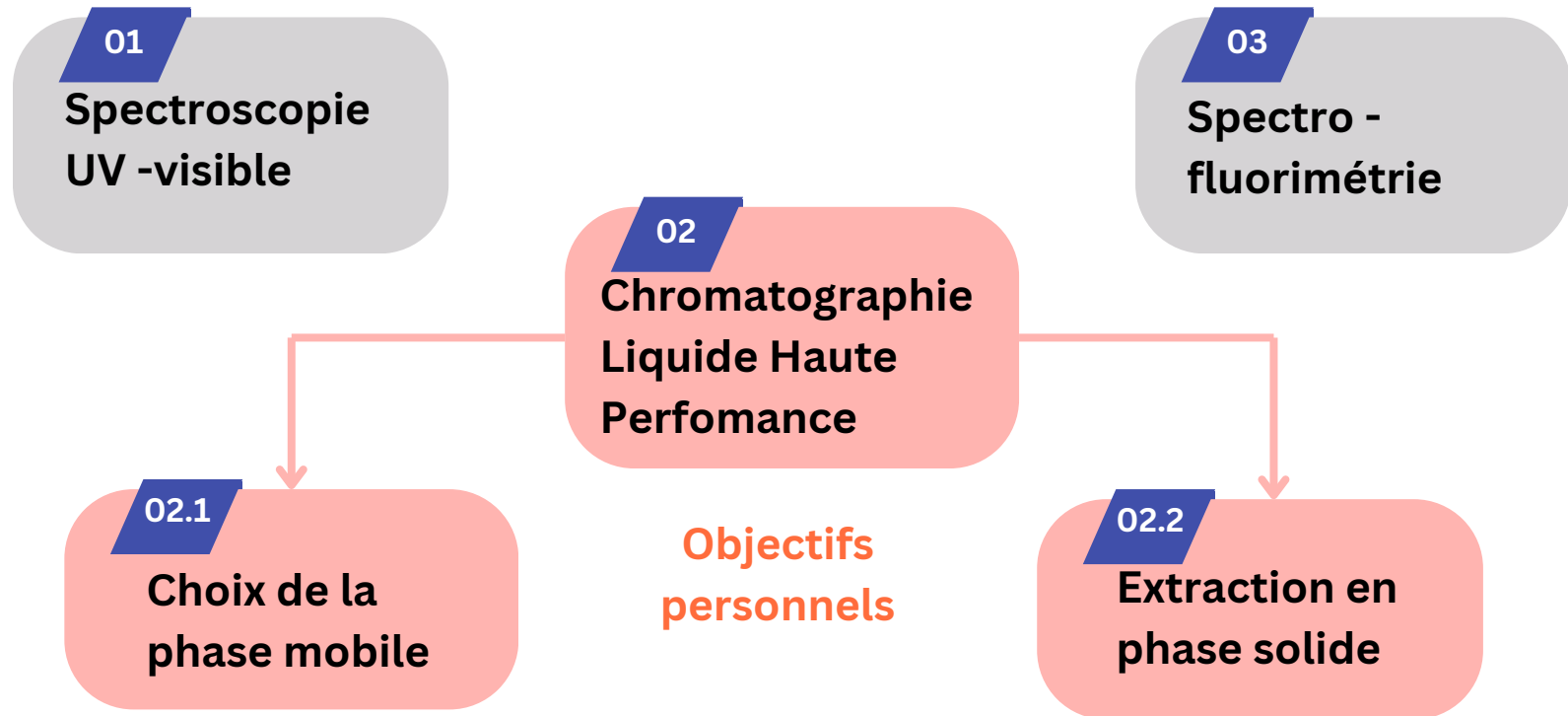


Fig.14 - Schéma de principe de l'HPLC et analogies avec la chromatographie sur couche mince :

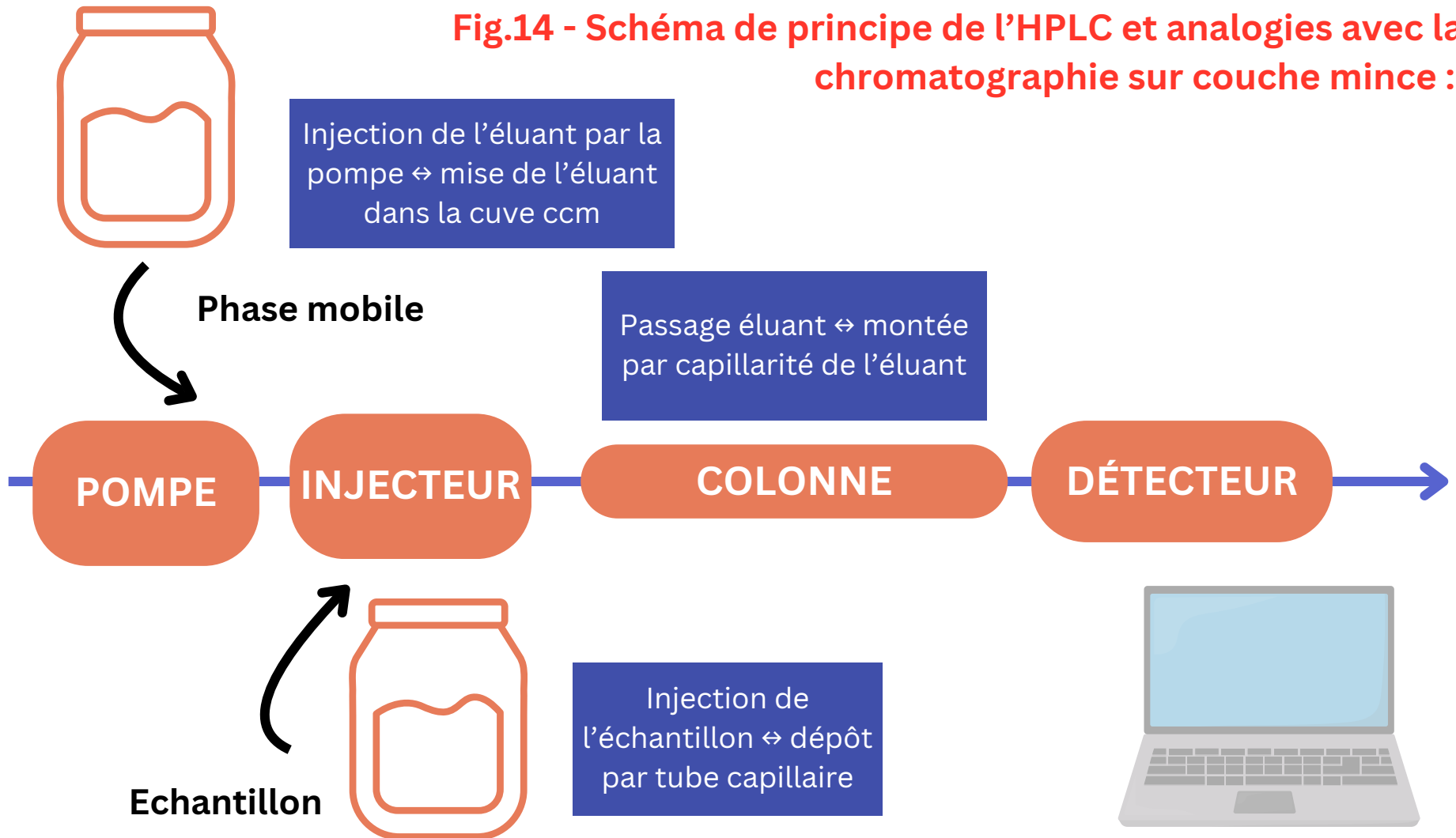
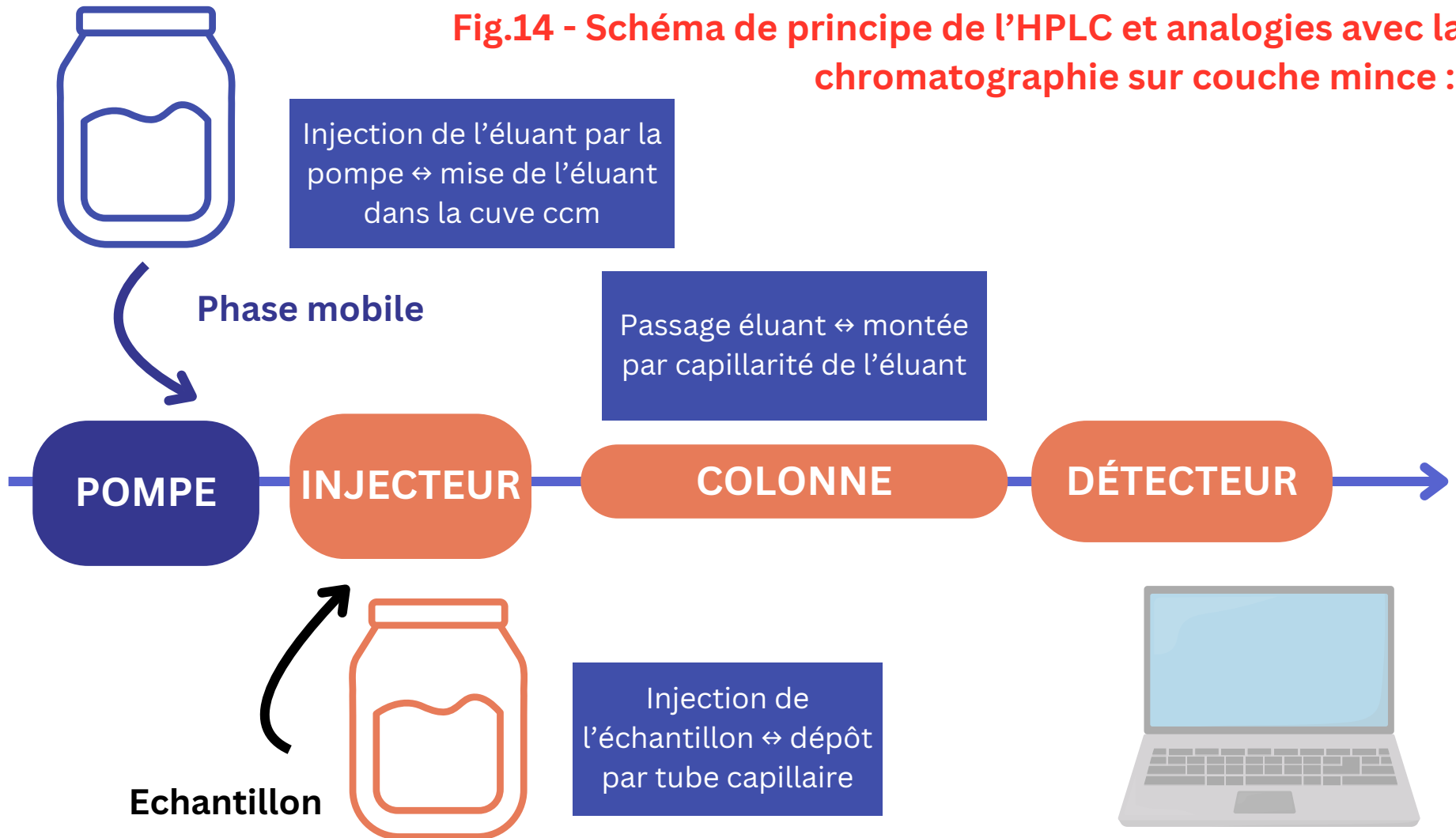


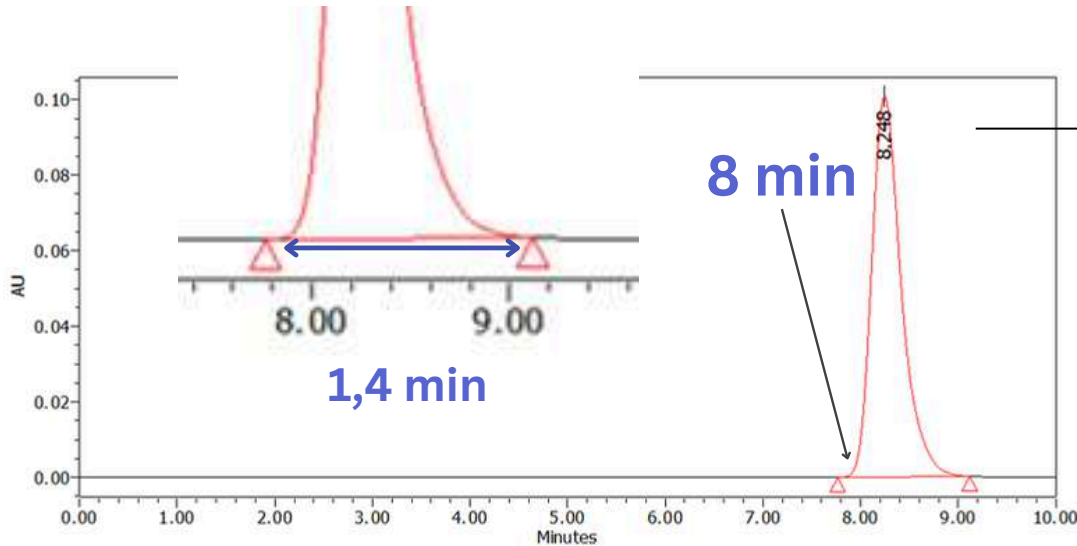
Fig.14 - Schéma de principe de l'HPLC et analogies avec la chromatographie sur couche mince :



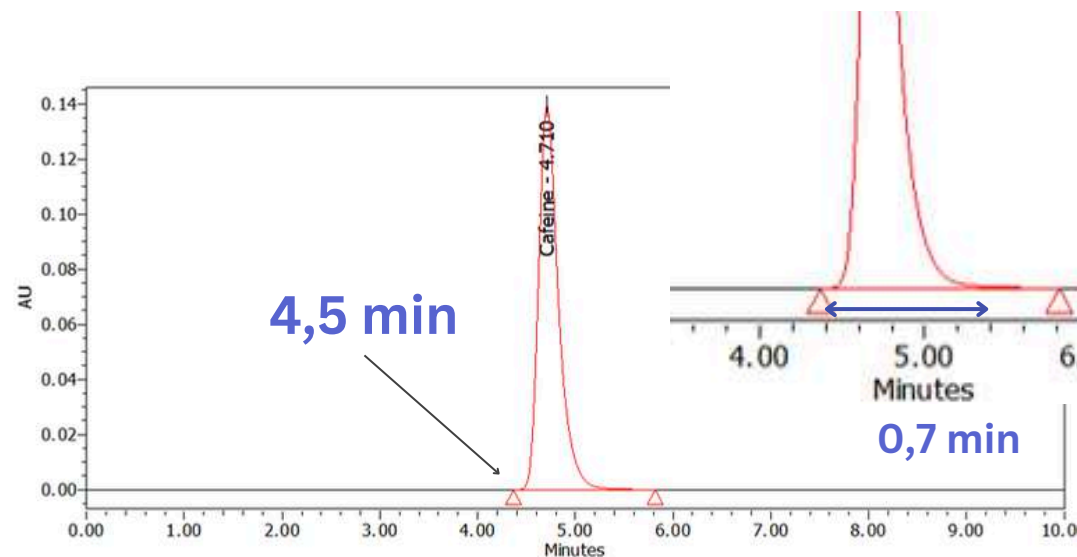
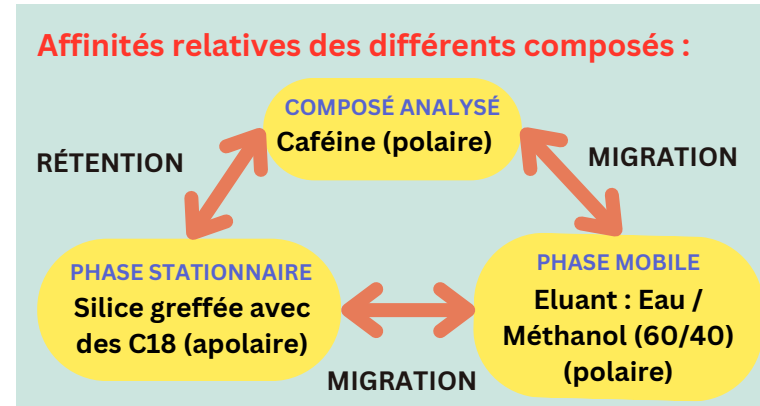
- I) Introduction
- II) Spectroscopie UV-visible
- III) HPLC
- IV) Spectrofluorimétrie

a) Choix de la phase mobile

- b) Extraction en phase solide
- c) Etalonnage et calculs des résultats



Phase mobile : Eau /
méthanol 70/30



Phase mobile :

Eau / méthanol 60/40



**Meilleure précision +
meilleur temps de rétention**

Figure 15 - Chromatogrammes d'une solution étalon de caféine pour deux solvants possibles

- I) Introduction
- II) Spectroscopie UV-visible
- III) HPLC
- IV) Spectrofluorimétrie

Fig.14 - Schéma de principe de l'HPLC et analogies avec la chromatographie sur couche mince :

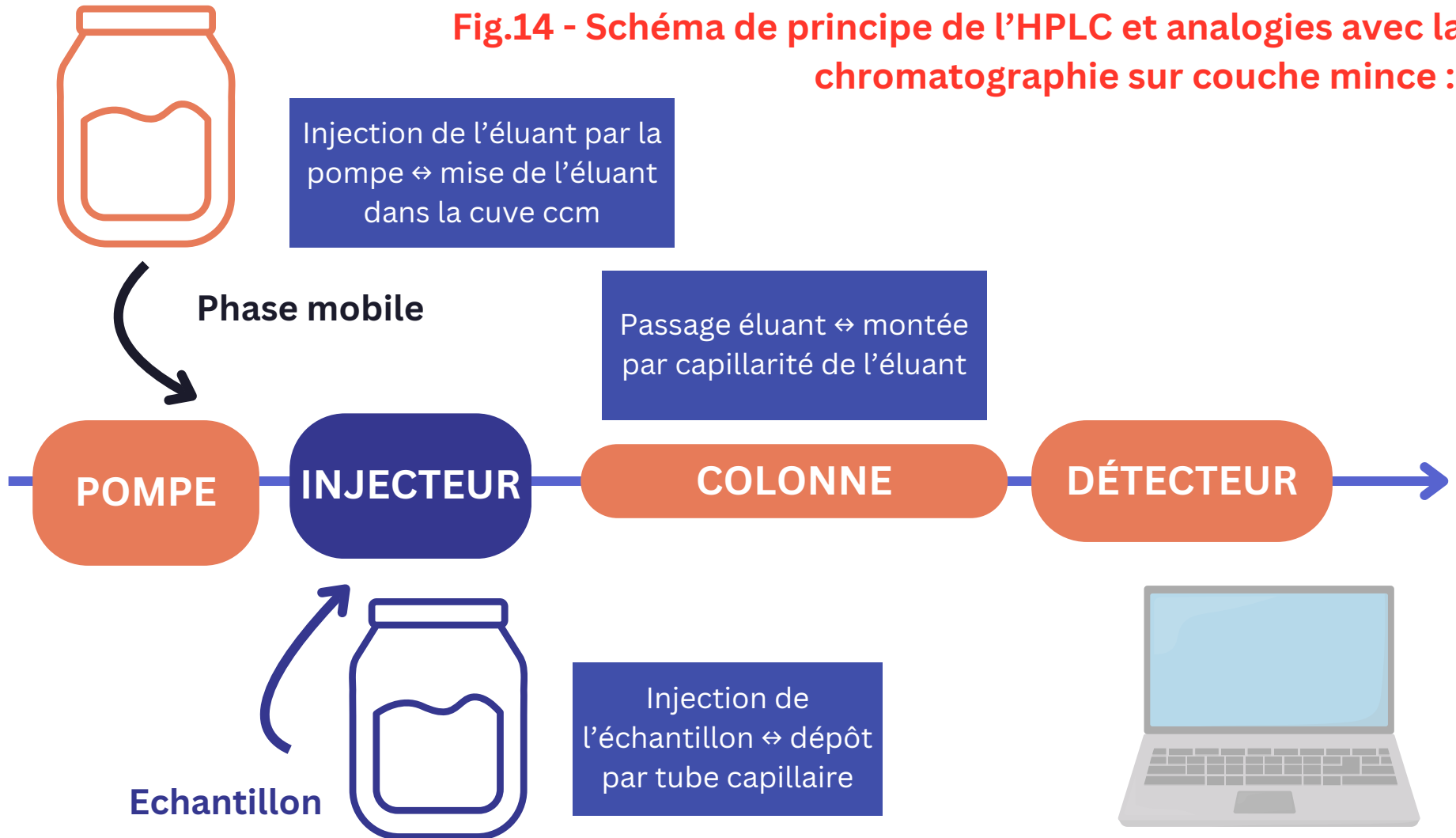
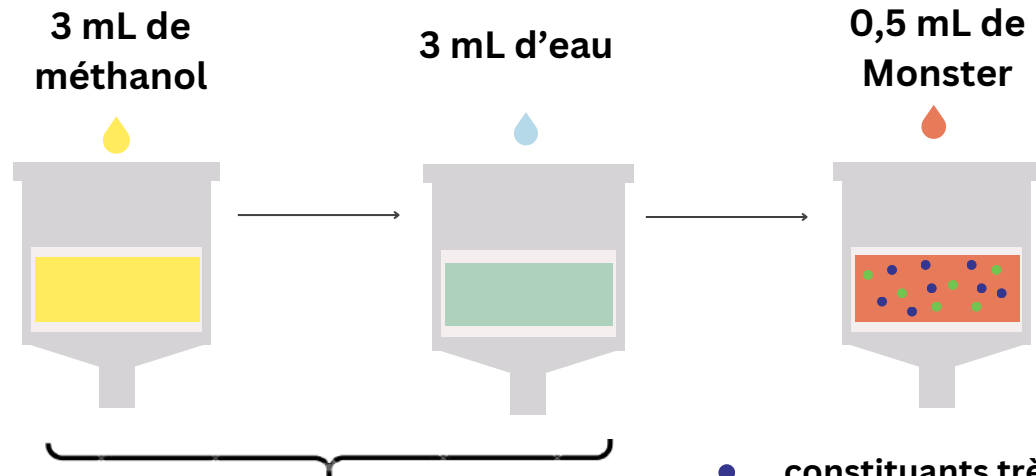




Figure 16 - Dégazage de la boisson à l'aide d'un sonicateur



Conditionnement de la cartouche

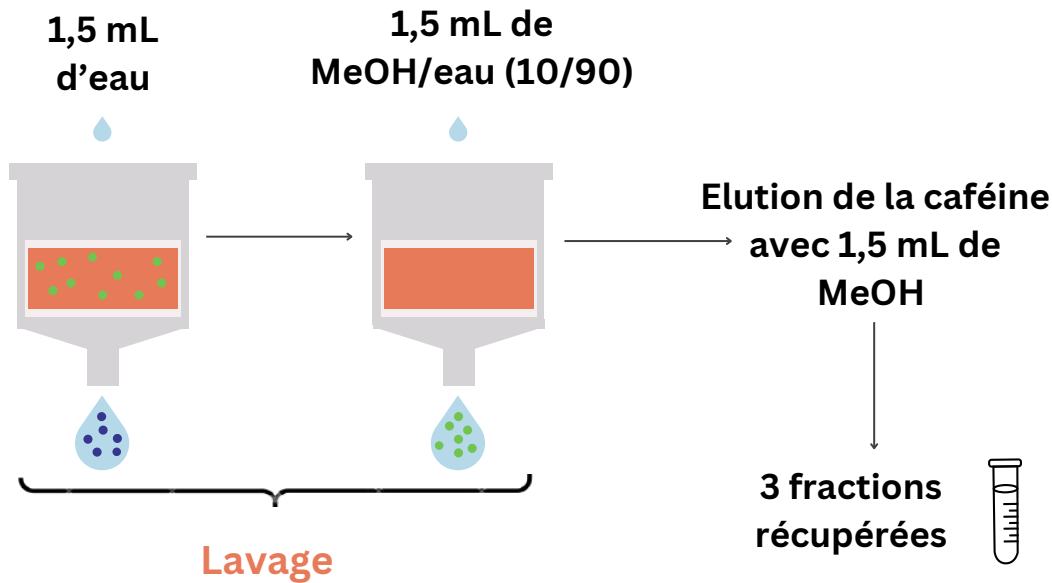
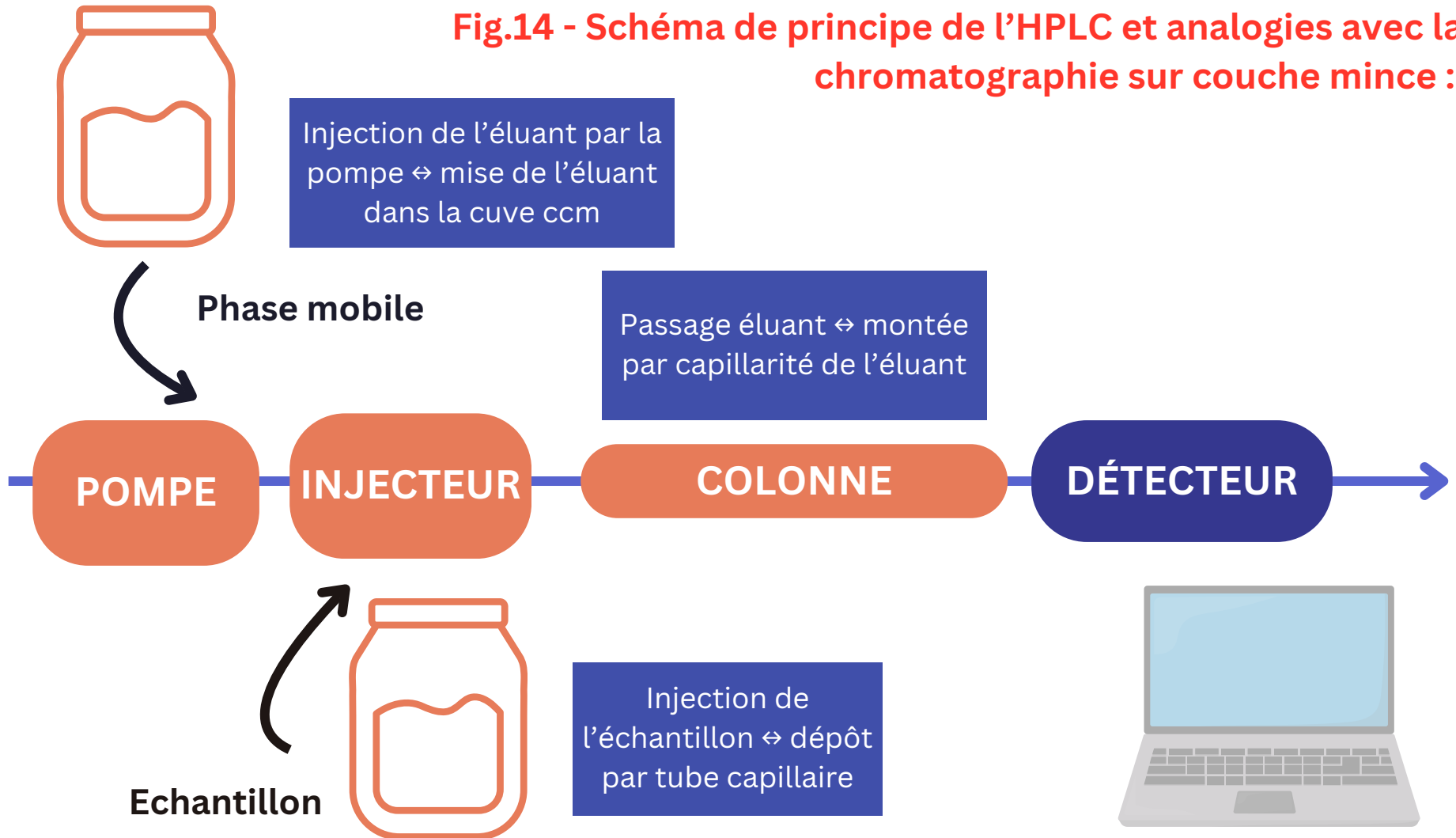


Figure 17 - Récupération des fractions

Fig.14 - Schéma de principe de l'HPLC et analogies avec la chromatographie sur couche mince :



- I) Introduction
- II) Spectroscopie UV-visible
- III) HPLC
- IV) Spectrofluorimétrie

- a) Choix de la phase mobile
- b) Extraction en phase solide
- c) Etalonnage et calculs des résultats



Séance de manipulation à l'Institut Lavoisier

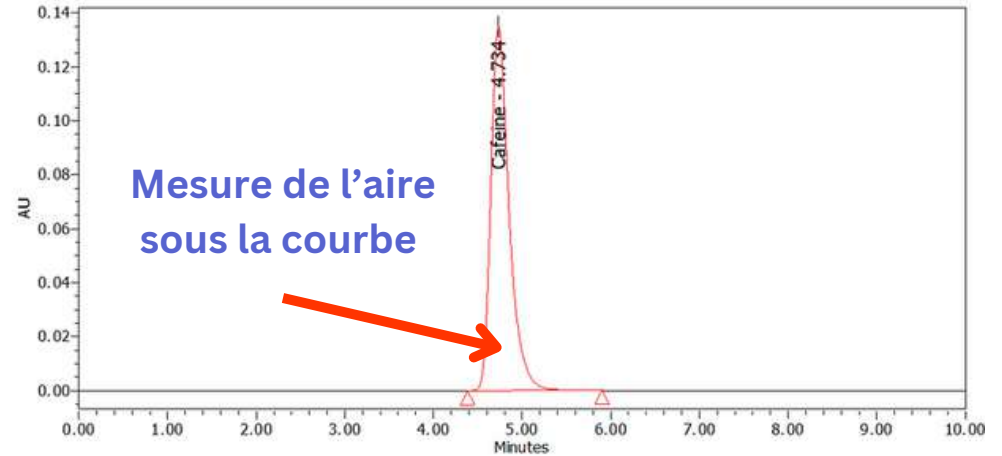


Figure 18 - Chromatogramme d'une solution étalon de caféine à 50µg/mL

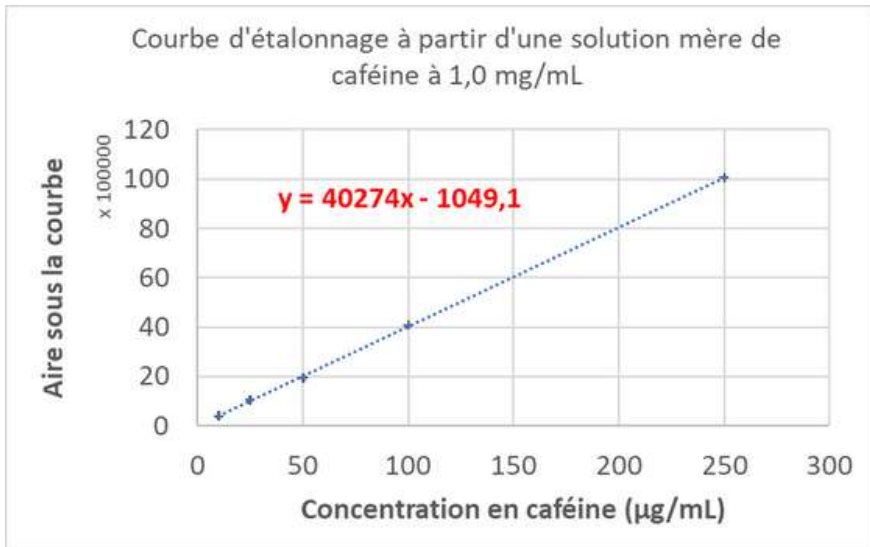


Figure 19 - Courbe d'étalonnage

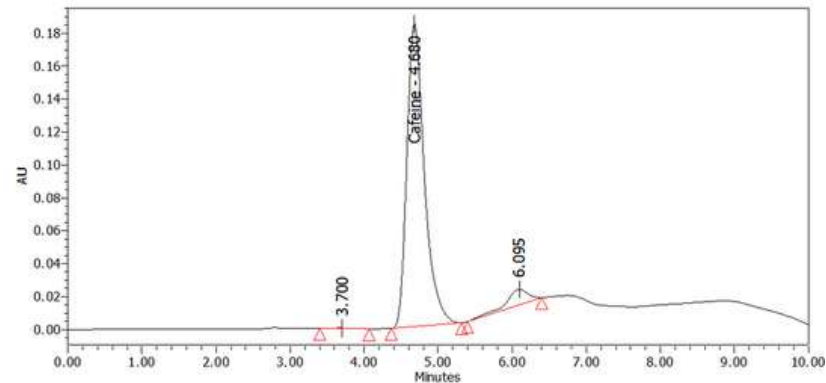


Figure 20 - Chromatogramme de la première fraction de Monster

- I) Introduction
- II) Spectroscopie UV-visible
- III) HPLC
- IV) Spectrofluorimétrie

- a) Choix de la phase mobile
- b) Extraction en phase solide
- c) Etalonnage et calculs des résultats

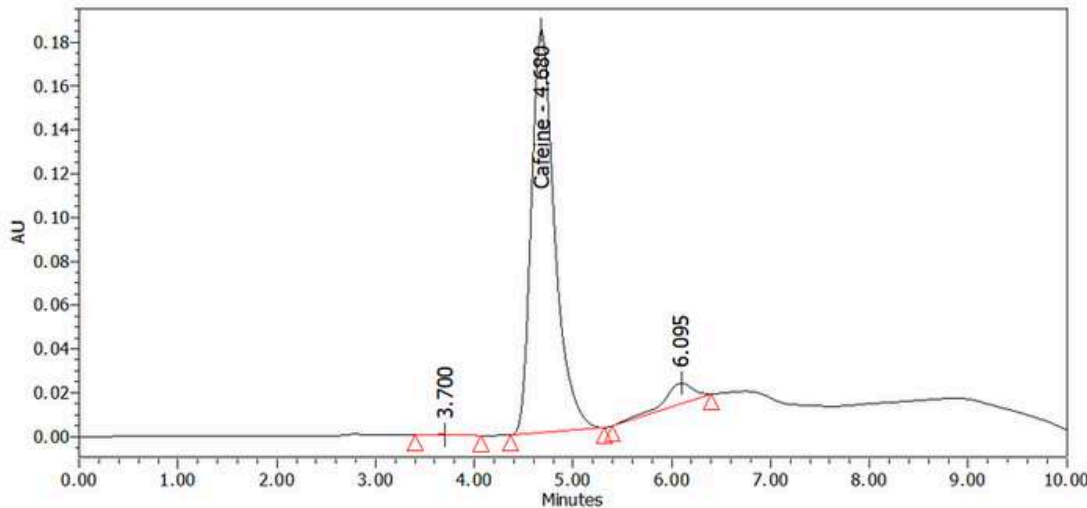


Figure 21 - Chromatogramme de la première fraction de Monster

Mesure de l'aire sous la courbe

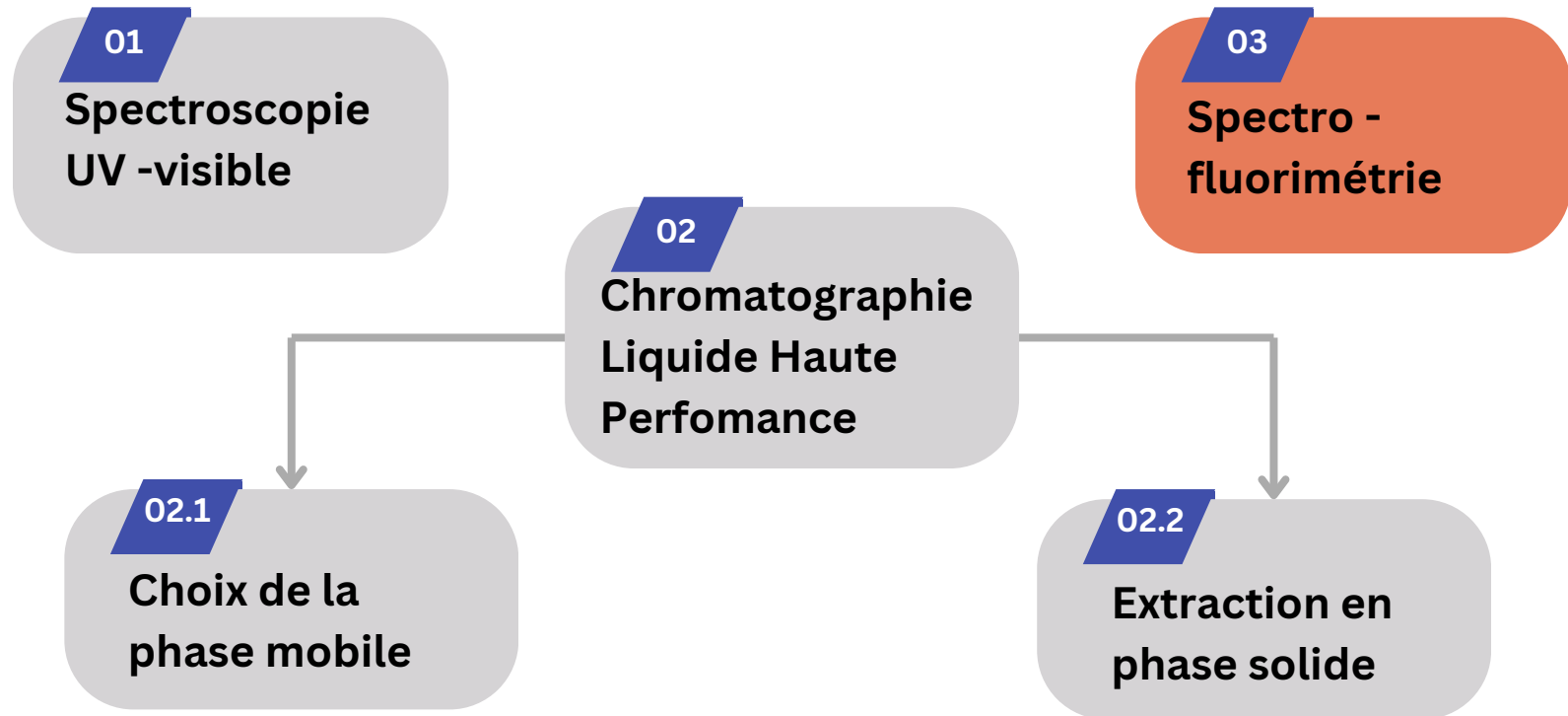
Fraction i de Monster	Aire sous la courbe	Concentration en caféine ($\mu\text{g/mL}$)
1	3019386	112,5
2	28235	1,09
3	0	0
Total		227,2

Taux de caféine dans 100 mL de boisson : $(22,7 \pm 1,4)$ mg

Figure 22 - Aire sous la courbe du chromatogramme et concentration en caféine correspondante

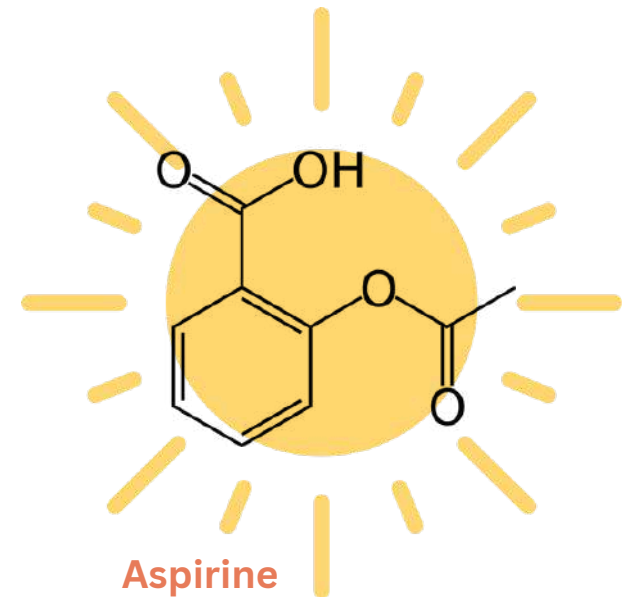
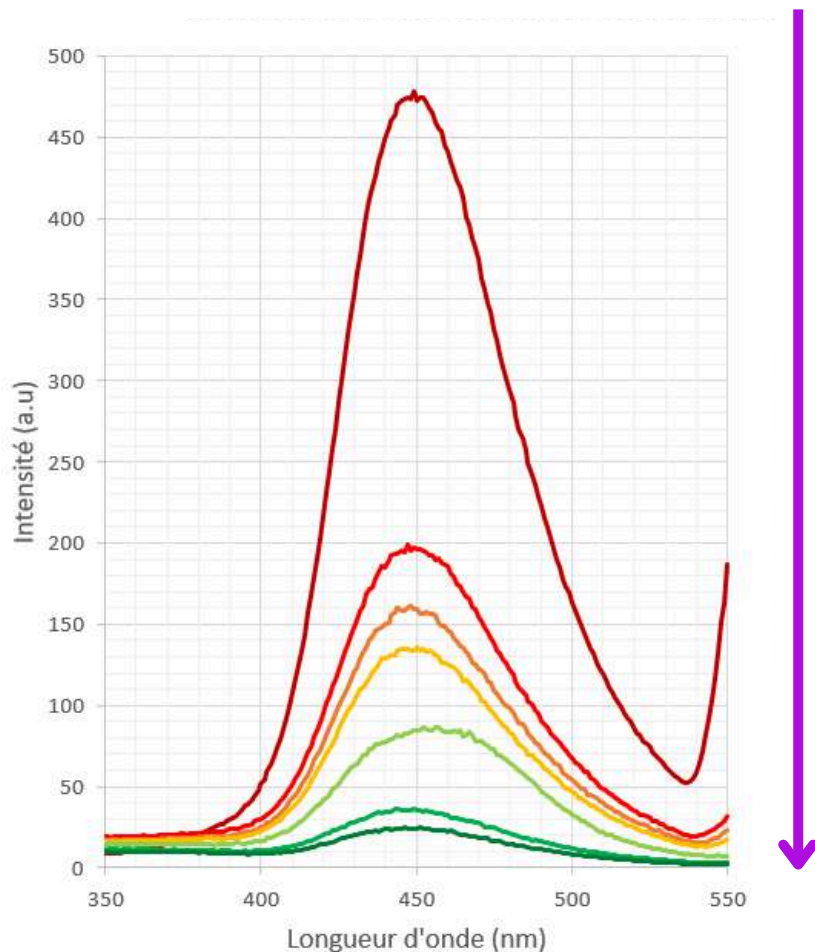
Problématique et objectifs du TIPE :

→ Comment détecter et quantifier la caféine présente dans des boissons énergisantes ?
Quelles méthodes se révèlent les plus efficaces ?



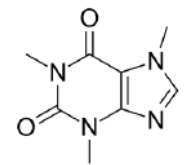
Méthode 4 : par fluorimétrie

Spectres de Fluorescence de l'aspirine avec des concentrations croissantes en caféine



- S1 - 0 mg/L
- S3 - 16,98 mg/L
- S4 - 22,67 mg/L
- S5 - 28,37 mg/L
- S6 - 36,86 mg/L
- S7 - 53,94 mg/L
- S8 - 62,44 mg/L

quantité croissante en caféine



Extinction de la fluorescence

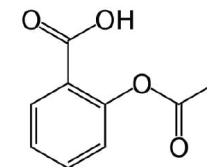


Figure 23

Méthode 4 : par fluorimétrie

Spectres de Fluorescence de l'aspirine avec des concentrations croissantes en caféine

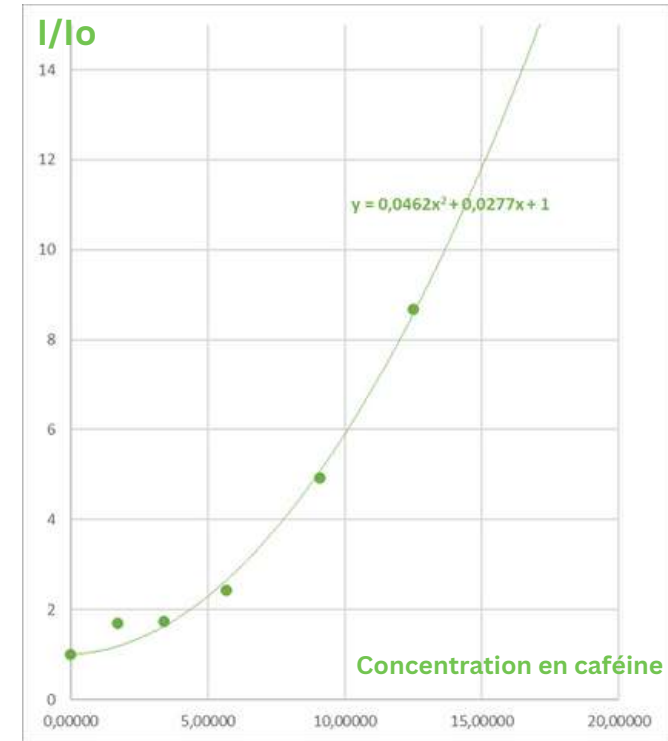
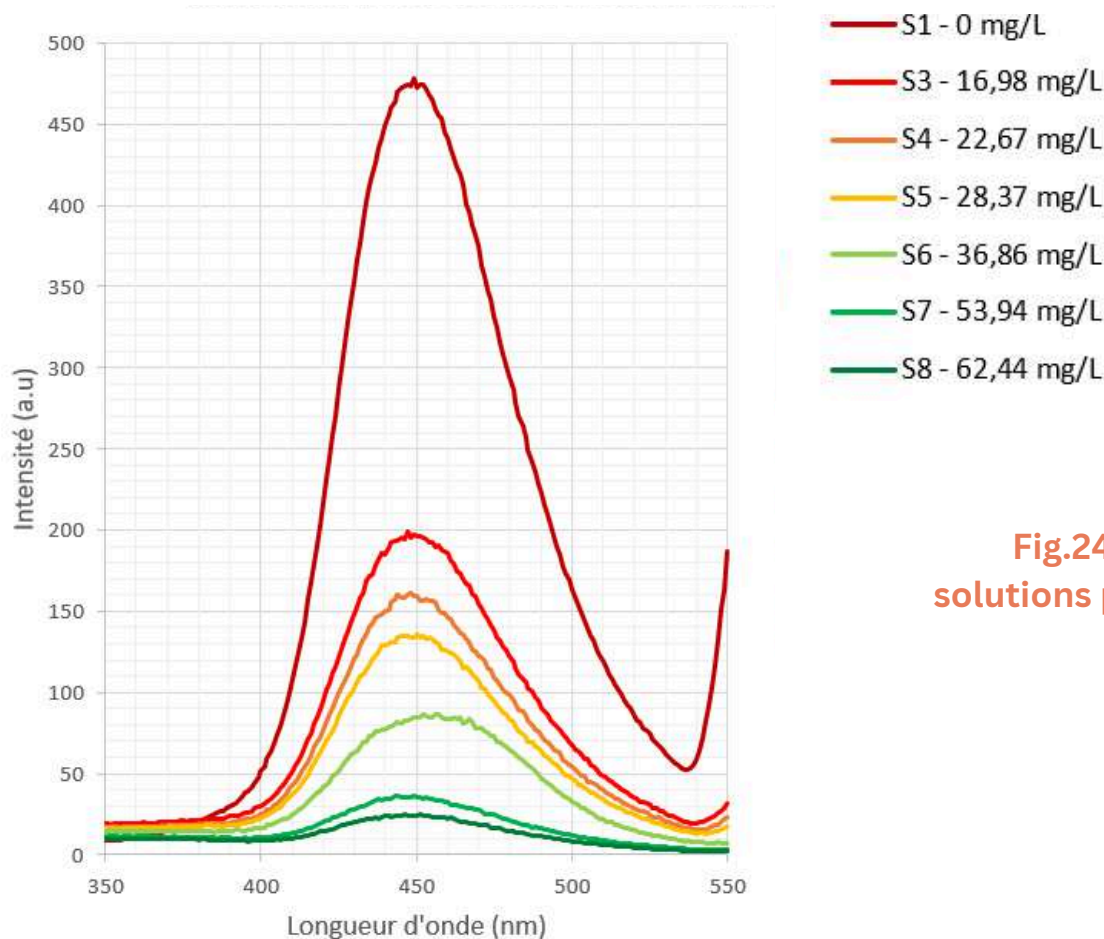


Fig.24 - Courbe de Stern Volmer de la gamme de solutions préparées à partir d'une solution étalon de caféine à 0,02 g/L



Otto Stern
1888-1969



Max Volmer
1885-1965

Caféine (100 ppm)	Aspirine (40 ppm)	Eau distillée	Concentration de Caféine (ppm)
0 mL	20 µL	3.5 mL	0
0.3 mL	20 µL	3.2 mL	8,5
0.6 mL	20 µL	2.9 mL	17
0.8 mL	20 µL	2.7 mL	22,7
1.0 mL	20 µL	2.5 mL	28,4
1.3 mL	20 µL	2.2 mL	36,9
1.9 mL	20 µL	1.6 mL	54
2.2 mL	20 µL	1.3 mL	62,5

Fig.25 - Tableau pour la préparation des solutions étalons

Relation de Stern Volmer :

$$I_0/I = 1 + Kq \cdot [Q]$$

Constante de Stern-Volmer

Concentration de caféine

Spectrofluorimètre



$$I/I_0 = 1,03298$$

Résolution de l'équation $0,0462x^2 + 0,0277x + 1 = I/I_0$

$c = (22,500 \pm 0,03) \text{ mg de caféine dans } 100\text{mL de boisson}$

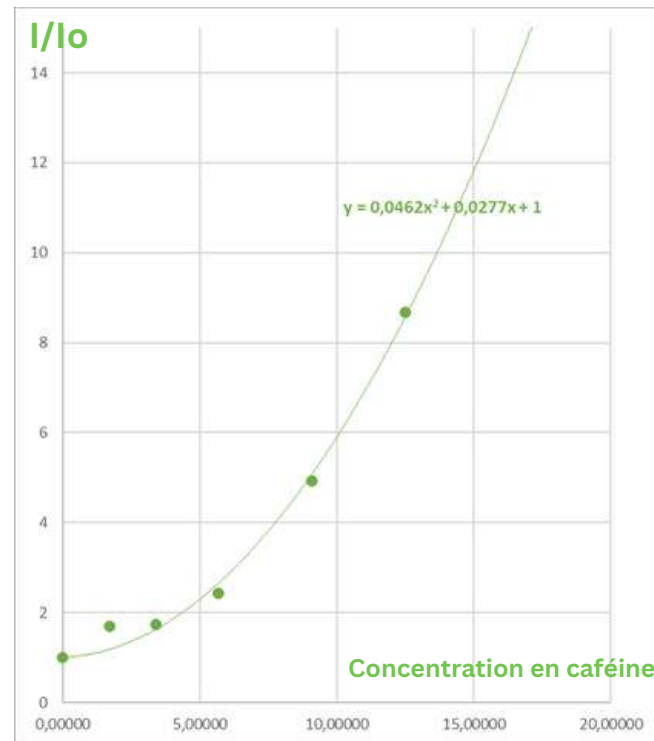


Fig.26 - Courbe de Stern Volmer de la gamme de solutions préparées à partir d'une solution étalon de caféine à 0,02 g/L



Otto Stern
1888-1969



Max Volmer
1885-1965

IV) Conclusion

→ Comment détecter et quantifier la caféine présente dans des boissons énergisantes ?
Quelles méthodes se révèlent les plus efficaces ?

Méthode 1 : spectroscopie UV boisson brute

(20,20 ± 0,36) mg de caféine dans 100mL de boisson

Méthode 2 : spectroscopie UV caféine extraite

(20,51 ± 0,36) mg de caféine dans 100mL de boisson

Méthodes de détermination du taux de caféine

Méthode 3 : ajouts dosés

(21,52 ± 0,48) mg de caféine dans 100mL de boisson

Méthode 4 : HPLC

(22,7 ± 1,4) mg de caféine dans 100 mL de boisson Monster

Méthode 5 : par fluorimétrie

(22,500 ± 0,013) mg de caféine dans 100 mL de boisson Monster

IV) Conclusion

→ Comment détecter et quantifier la caféine présente dans des boissons énergisantes ?
Quelles méthodes se révèlent les plus efficaces ?

Méthode 1 : spectroscopie
UV boisson brute

(20,20 ± 0,36) mg de caféine
dans 100mL de boisson

Méthode 2 : spectroscopie
UV caféine extraite

(20,51 ± 0,36) mg de
caféine dans 100mL de
boisson

Méthodes de
détermination du taux
de caféine

Méthode 3 : ajouts dosés

(21,52 ± 0,48) mg de caféine
dans 100mL de boisson

Méthode 4 : HPLC

(22,7 ± 1,4) mg de caféine
dans 100 mL de boisson
Monster

Méthode 5 : par fluorimétrie

(22,500 ± 0,013) mg de
caféine dans 100 mL de
boisson Monster

ANNEXE 1.A :

Calculs d'incertitudes pour le dosage par spectroscopie UV : analyse de la boisson brute

Régression linéaire et barres d'erreur

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt

#données
c = np.array([0.002, 0.004, 0.006, 0.008, 0.01, 0.012, 0.016, 0.022, 0.028])
A = np.array([0.062, 0.132, 0.205, 0.274, 0.349, 0.4192, 0.5624, 0.7772, 0.992])
p_A = 0.005 # précision du spectrophotomètre (Généésis 10 uv)
m = 30*10**(-3)
u_m = 0.001/ np.sqrt(3)
V=0.3 # l
u_V = (0.1*10**(-3))/np.sqrt(3)
u_A = p_A/np.sqrt(3) # incertitude-type sur A (nombre)
u_c = c*np.sqrt((u_m/m)**2+(u_V/V)**2) # incertitudes-types sur c (liste)

# (solution mère de caféine préparée avec m =(30 +/- 0.57735) mg de caféine (p(balance)=0.001)
# dans V=(300 +/- 0.057735 ) mL. (tolérance = 0.1mL)

# régression linéaire
RL = np.polyfit(c, A, 1)
a = RL[0] # coefficient directeur
b = RL[1] # ordonnée à l'origine
print("coefficient directeur : ",a,"L/g/cm")
print("ordonnée à l'origine : ",b)

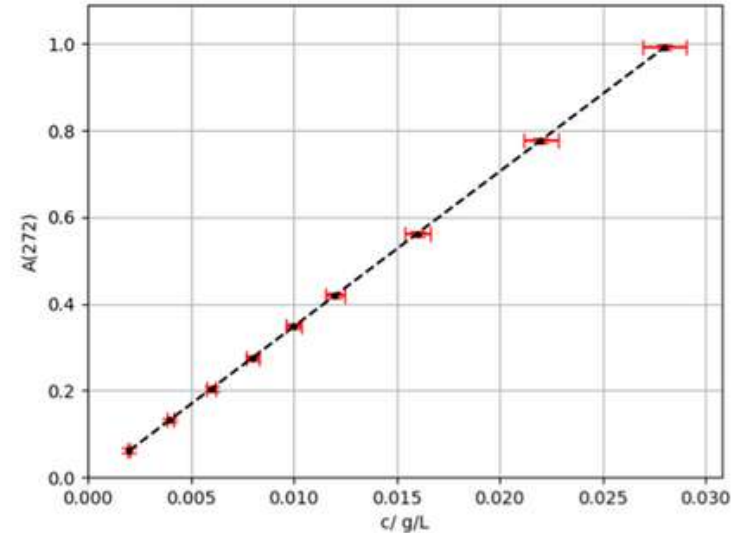
plt.plot(c, A, 'go') # donnée
plt.plot(c, a*c+b,'k--') # droite de régression
plt.xlabel('c/ g/L'), plt.ylabel('A(272)') # axes
plt.xlim(0, 1.1*np.max(c)) # échelle horizontale
plt.ylim(0,1.1*np.max(A)) # échelle verticale
plt.grid() # fait apparaitre la grille
plt.show()

#barres d'erreur
plt.errorbar(c, A, xerr = 2*u_c, yerr = 2*u_A, fmt='k.', capsize = 4, ecolor = 'red')
plt.plot(c, a*c+b,'k--') # droite de régression
plt.xlabel('c/ g/L'), plt.ylabel('A(272)') # axes
plt.xlim(0, 1.1*np.max(c)) # échelle horizontale
plt.ylim(0,1.1*np.max(A)) # échelle verticale
plt.grid() # fait apparaitre la grille
plt.show()

# Calcul des incertitudes-types
u_a = np.std(a_sim, ddof = 1)
u_b = np.std(b_sim, ddof = 1)
print("incertitude-type sur a : u(a) = ",u_a,"L/g")
print("incertitude-type sur b : u(b) = ",u_b)
```

Résultats :

coefficient directeur : 35.79999999999998 L/g/cm
ordonnée à l'origine : -0.010399999999999854



incertitude-type sur a : u(a) = 0.6037661009831705 L/g
incertitude-type sur b : u(b) = 0.0051761985523106025

ANNEXE 1.B :

Calculs d'incertitudes pour le dosage par spectroscopie UV : analyse de la boisson brute

Incertitude sur la concentration

X	x	Matériel/instrument	p(x)	u(x)
V _{pipette} (mL)	1	Pipette	0,005	
V _{fiole} (mL)	10	Fiole	0,05	
A ₂₇₂	0,723	Spectrophotomètre	0,005	
Esp ₂₇₂ (L.g ⁻¹ .cm ⁻¹)	35,7999998	Régression linéaire		0,6037661
l (cm)	1	Cuve		0

Mesurande	Estimateur	Ajouter source erreur	Supprimer source erreur	Symbole erreur	Type estimation	Incertitude-type	Type de distribution
A	0.723	+	-	A_S4	B	0.00288675134594813	Rectangulaire
EPS	35.7999998	+	-	EPS_S3	B	0.6037661	Rectangulaire
VFIOLE	10	+	-	VFIOLE_S1	B	0.0288675134594813	Rectangulaire
VPIPETTE	1	+	-	VPIPETTE_S2	B	0.00288675134594813	Rectangulaire

Estimateur de Y	Incertitude-type uc(Y)	Incertitude-type relative uc(Y)/Y
0.20196 g/L	0.00360 g/L	0.0178 = 1.78%

ANNEXE 2 :

Calculs d'incertitudes pour le dosage par spectroscopie UV : Extraction

100 mL de
boisson



50 mL de
H2SO4



Dilution par facteur
100

(Pipette de 1 mL dans une fiole jaugée de 100mL)

$$c = \frac{A + b}{p} \times \frac{V_c \times V_m}{V_f}$$

X	x	Matériel/instrument	p(x)	u(x)
A	1,479	Spectrophotomètre	0,005	
p	35,7999998	Pente de la droite d'étalonnage		0,6037661
b	0,0104	Ordonnée à l'origine		0,00518
Vm	100 mL	Fiole jaugée de 100 mL	0,01	
Vf	1	Pipette jaugée de 1 mL	0,006	
Vc	50 mL = 0,05 L	Fiole de 50mL	0,05x10 ⁽⁻³⁾ L = 0,00005	

Mesurande	Estimateur	Ajouter source erreur	Supprimer source erreur	Symbole erreur	Type estimation	Incertitude-type	Type de distribution	Tracé distribution	Tracé densité	Descriptif
A	1,479	+	-	A S1	B	0.00288675134594813	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
B	0.0104	+	-	B S2	B	0.00518	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
P	35,7998	+	-	P S3	B	0.6037661	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
VC	0.05	+	-	VC S4	B	0.0000288675134594813	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
VF	0.001	+	-	VF S5	B	3.46410161513775E-6	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
VM	0.1	+	-	VM S6	B	5.77350269189626E-6	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	

Estimateur de c	Incertitude-type uc(c)	Incertitude-type relative uc(c)/c
0.20511 g/L	0.00363 g/L	0.0177 = 1.77%

ANNEXE 3.A :

Calculs d'incertitudes pour le dosage par spectroscopie UV : méthode des ajouts dosés

Régression linéaire et barres d'erreur

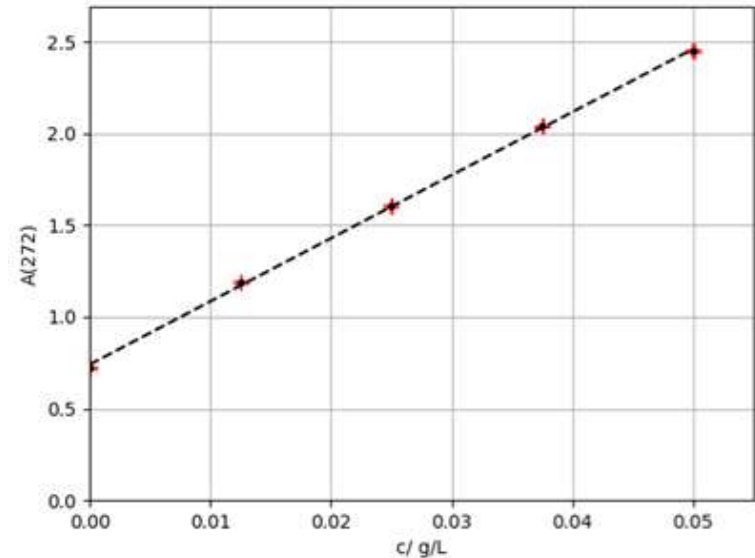
```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt

#données
c = np.array([0, 0.0125, 0.025, 0.0375, 0.05])
A = np.array([0.723, 1.189, 1.603, 2.039, 2.448])
p_A = 0.005 # précision du spectrophotomètre (Généésis 10 uv)
m = 12.5
u_m = 0.01/ np.sqrt(3)
V = 0.1 # l
u_V = (0.1*10**(-3))/np.sqrt(3)
u_A = p_A/np.sqrt(3) # incertitude-type sur A (nombre)
u_c = c*np.sqrt((u_m/m)**2+(u_V/V)**2) # incertitudes-types sur c (liste)

# {solution mère de caféine préparée de 1,25g/L avec m = (12,5 +/- 0.0057735) g de caféine (p(balace)=0.01)
# dans V=(100 +/- 0.057735 ) mL. (tolérance = 0.1mL)
```

Résultats :

coefficient directeur : 34.399999999999984 L/g/cm
ordonnée à l'origine : 0.7403999999999998
incertitude-type sur a : $u(a) = 0.07611803861972291$ L/g
incertitude-type sur b : $u(b) = 0.002258612899628369$



ANNEXE 3.B :

Calculs d'incertitudes pour le dosage par spectroscopie UV : méthode des ajouts dosés

Incertitude sur la concentration

$$c = \frac{b}{a}$$

X	x	Matériel/instrument	p(x)	u(x)
a (pente)	34.399999999999984	Régression linéaire		0.7403999999999998
b (ordonnée à l'origine)	0,740399999984	Cuve		0,00225861289962

Mesurande	Estimateur	Ajouter source erreur	Supprimer source erreur	Symbole erreur	Type estimation	Incertitude-type
A	34.4	+	-	A_S1	B	0.7404
B	0.74039999984	+	-	B_S2	B	0.00225861289962

Estimateur de Y	Incertitude-type uc(Y)	Incertitude-type relative uc(Y)/Y
0.021523 unité	0.000484 unité	0.0225 = 2.25%

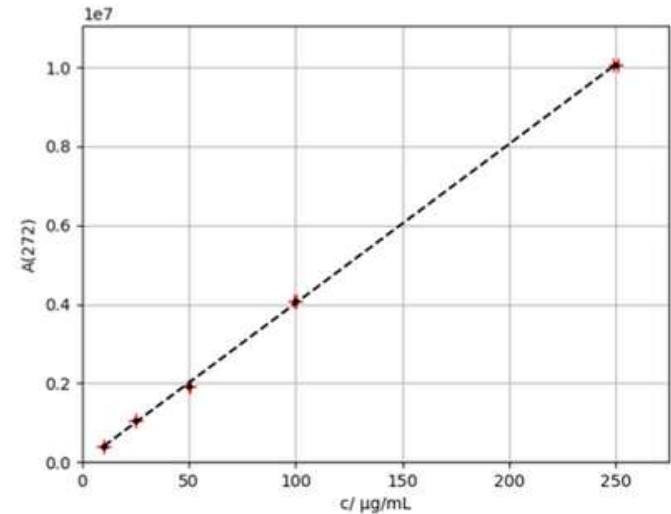
ANNEXE 4.A

Calculs d'incertitudes pour le dosage par HPLC

```
#données
c = np.array([10 , 25 , 50 , 100 , 250]) #µg/mL
A = np.array([395602 , 1048213 , 1932746 , 4078963 , 10058318])
p_A = 0.005 # précision HPLC)
m= 25 #mg
u_m = 0.1/ np.sqrt(3) #tolérance : 0,1mg
V= 25000 # µL
u_V = 40/np.sqrt(3) #tolérance : 0,04 mL
u_A = p_A/np.sqrt(3) # incertitude-type sur A (nombre)
u_c = c*np.sqrt((u_m/m)**2+(u_V/V)**2) # incertitudes-types sur c (Liste)
```

coefficient directeur : 40273.76428194299 mL/µg/cm
 ordonnée à l'origine : -1049.0925290403222
 incertitude-type sur a : u(a) = 108.06710369102467 mL/µg
 incertitude-type sur b : u(b) = 5005.892939724028

INCERTITUDE SUR LA CONCENTRATION



X	x	Matériel/instrument	p(x)	u(x)
V _{monster} (mL)	0,5	Seringue	0,05	
V _{éluant} (mL)	1,5	Seringue	0,05	
Aire de la 1 ^{ère} fraction (ua.)	3019386	Détecteur UV-visible de l'HPLC	0,005	
Aire de la 2 ^{ème} fraction (ua.)	28235	Détecteur UV-visible de l'HPLC	0,005	
k=Esp ₂₇₂ *l (L.g ⁻¹ .cm ⁻¹)	40273.76428194	Régression linéaire		108.067103

$$n_{1\text{ère fraction}} = \frac{\text{Aire1} \cdot \text{Véluant}}{k}$$

$$n_{2\text{ème fraction}} = \frac{\text{Aire2} \cdot \text{Véluant}}{k}$$

$$\text{Puis : } C = (n_{1\text{ère fraction}} + n_{2\text{ème fraction}}) / 0,5$$

$$\text{Finalement : } C = \frac{(\text{Aire1} + \text{Aire 2}) \cdot \text{Véluant}}{k \cdot V_{\text{monster}}}$$

ANNEXE 4.B

Calculs d'incertitudes pour le dosage par HPLC

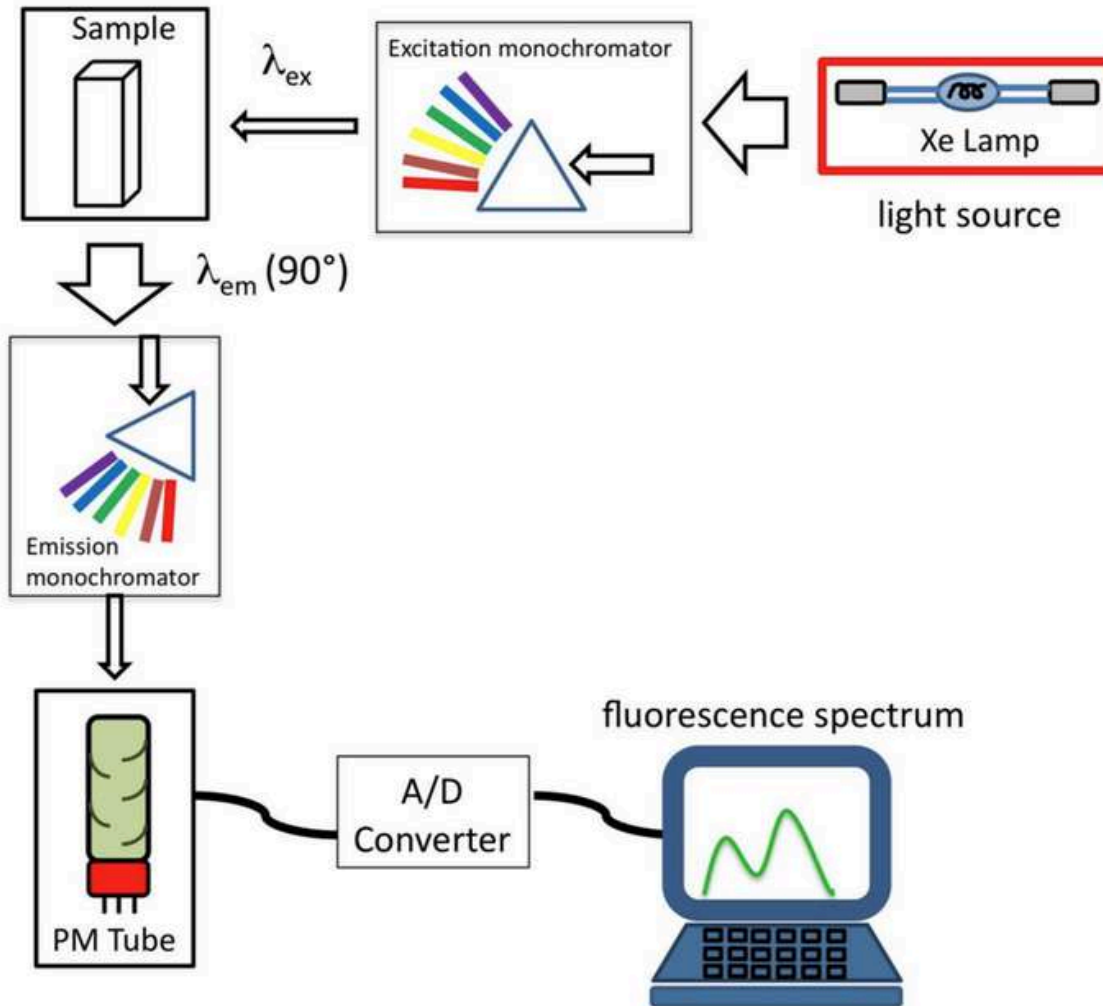
Mesurande	Estimateur	Ajouter source erreur	Supprimer source erreur	Symbole erreur	Type estimation	Incertitude-type	Type de distribution	Tracé distribution	Tracé densité	Descriptif
AIRE1	3019386	+	-	AIRE1_S1	B	0.00288675134594813	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
AIRE2	28235	+	-	AIRE2_S2	B	0.00288675134594813	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
K	40273.76428194	+	-	K_S5	B	108.067103	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
VELUANT	1,5	+	-	VELUANT_S3	B	0.0288675134594813	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	
VMONSTER	0,5	+	-	VMONSTER_S4	B	0.0288675134594813	Rectangulaire	Clic ici	Clic ici	

Estimateur de Y	Incertitude-type uc(Y)	Incertitude-type relative uc(Y)/Y
227.0 unité	13.8 unité	0.0609 = 6.09%

Taux de caféine dans 100 mL de boisson **22,7 +/- 1,4 mg**

ANNEXE 5 :

Schéma de principe du spectrofluorimètre



Relation de Stern Volmer :

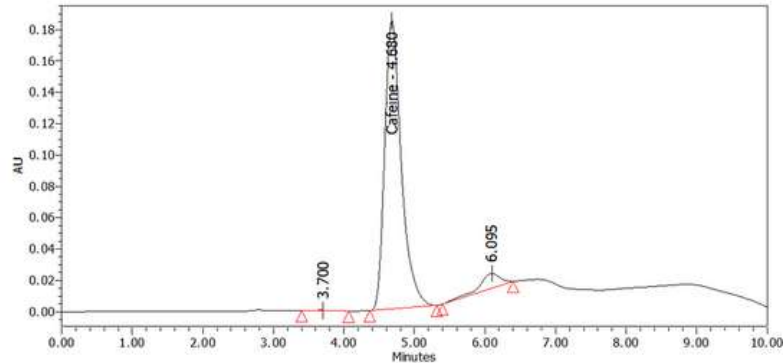
$$I_0/I = 1 + K_q \cdot [Q]$$

Constante de Stern-Volmer

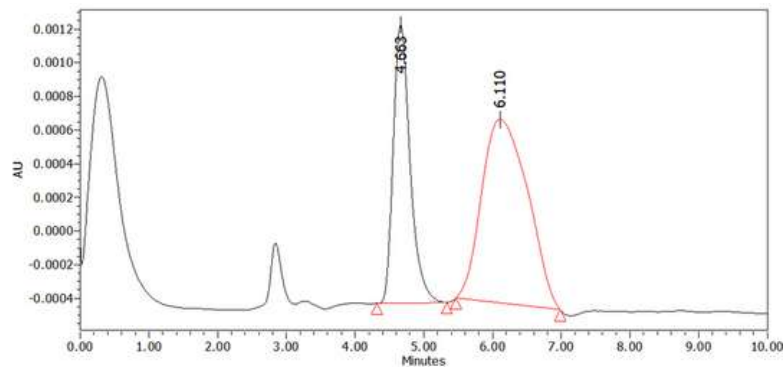
Concentration de caféine

ANNEXE 6 :

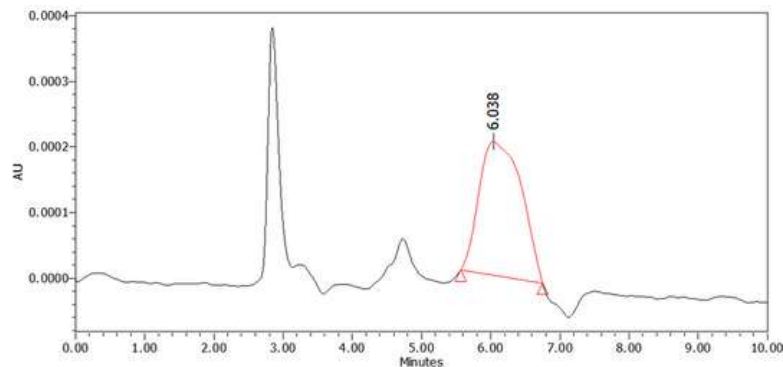
Chromatogrammes des 3 fractions de Monster étudiées



Temps de rétention : 4,67973252
Aire sous la courbe : 3019386,45



Temps de rétention : 4,66322887
Aire sous la courbe : 28234,9107



Pic inexploitable

ANNEXE 7 :

Retour sur la comparaison avec la spectrofluorimétrie

Caféine (100 ppm)	Aspirine (40 ppm)	Eau distillée	Concentration de Caféine (ppm)
0 mL	20 µL	3.5 mL	0
0.3 mL	20 µL	3.2 mL	8,5
0.6 mL	20 µL	2.9 mL	17
0.8 mL	20 µL	2.7 mL	22,7
1.0 mL	20 µL	2.5 mL	28,4
1.3 mL	20 µL	2.2 mL	36,9
1.9 mL	20 µL	1.6 mL	54
2.2 mL	20 µL	1.3 mL	62,5

Relation de Stern Volmer :

$$I_0/I = 1 + Kq \cdot [Q]$$

Constante de Stern-Volmer

Concentration de caféine

Spectrofluorimètre



$$I_0/I = 1,03298$$

Résolution de l'équation $0,0462x^2 + 0,0277x + 1 = I_0/I$

$c = (22,0 \pm 0,03) \text{ mg de caféine dans } 100\text{mL de boisson}$

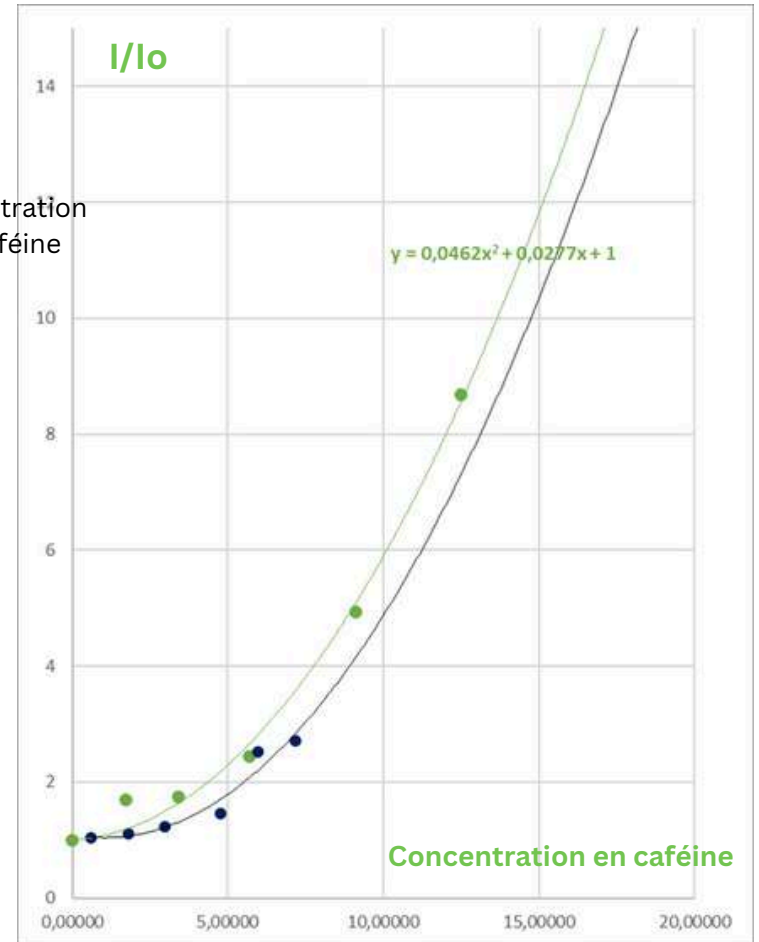
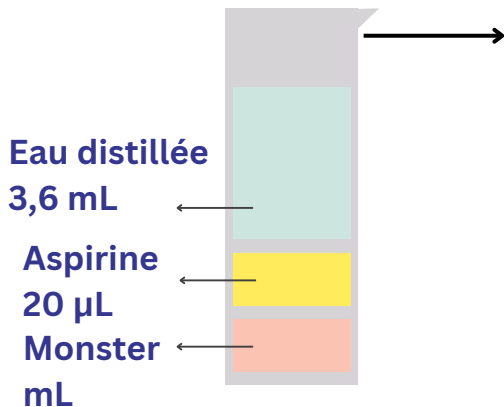


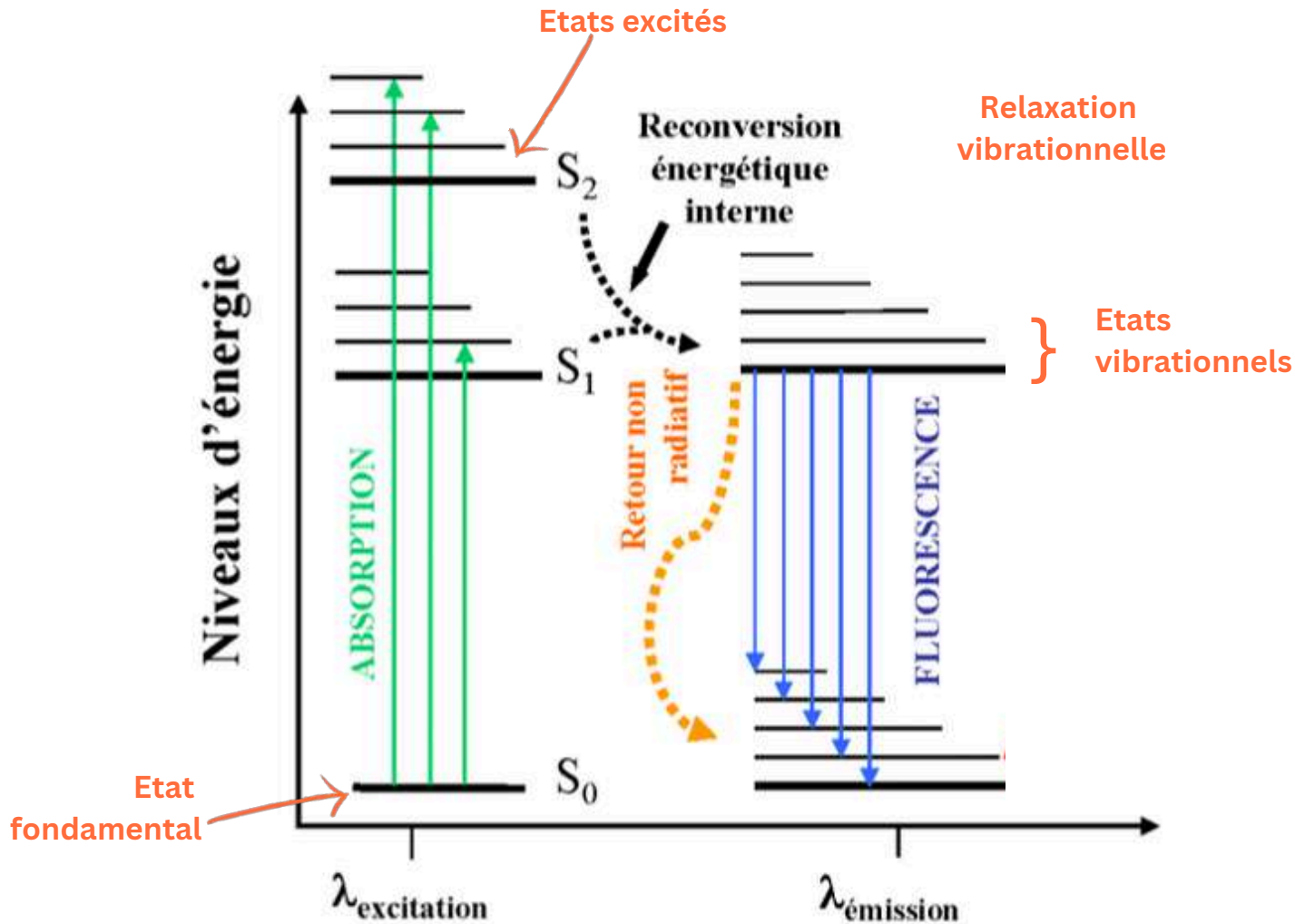
Fig.26 - Comparaison de la courbe de Stern Volmer du Monster avec la droite d'étalonnage

Fig.25 - Tableau pour la préparation des solutions étalons



ANNEXE 8 :

Excitation/déexcitation de l'aspirine (fluorimétrie)



Relation de Planck- Einstein

$$E_{\gamma} = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Figure - Diagramme de Jablonski pour la fluorescence