



2019	Séquence – C
TP – 02	Doser un composé coloré
Jour 01	

<p>Introduction</p> <p>Nous avons vu comment il est possible d'étudier les propriétés spectrales d'un composé, c'est-à-dire, la façon qu'il a d'interagir avec la lumière. Nous avons également appris à déterminer la meilleure longueur d'onde du spectre visible (l'anti-couleur), permettant d'étudier un composé chimique.</p> <p>Ces propriétés spectrales sont intéressantes, mais sont peu étudiées dans un laboratoire de routine. Ce qui nous intéresse essentiellement, c'est l'utilisation de ces informations pour doser le composé = déterminer sa concentration (revoir SL03).</p>	
<p>Problématique <i>Comment déterminer la concentration d'une solution de pigment, en étudiant l'intensité de sa couleur ?</i></p>	
<p>Objectifs méthodologiques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tableau de gamme ; • Spectrophotomètre ; • Courbe de régression linéaire. 	<p>Connaissances</p> <ul style="list-style-type: none"> • Absorbance ; • Spectre d'absorbance ; • Loi de Beer-Lambert ; • Notion de répétabilité (métrologie).
<p>Points de vigilance</p> <ul style="list-style-type: none"> • Analyse de risque qui change ! • Gestion des déchets ; • Absorbance vs. longueur d'onde ; • Absorbance vs. spectre d'absorbance. 	<p>Livrables – Evaluation</p> <ul style="list-style-type: none"> •
<p>Organisation du travail</p> <ul style="list-style-type: none"> • Voir consignes spécifiques, sinon individuel. 	
<p>Documentation</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Met02 	<p>Fiches techniques</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ FT00-03

Consigne 1 – Un peu de théorie

1. **Rappeler** les équations aux grandeurs et aux unités de la concentration en quantité de matière et de la concentration en masse ;
2. **Déterminer** la masse de soluté dans un volume de 0,1 mL, d'une solution de concentration en masse = 50 mg/L ;
3. **Apprendre** les règles de dénomination des grandeurs dans Met02 ;

Appliquer ces règles dans les futurs TP de biochimie.

Consigne 2 – Découverte du tableau de gamme

Le tableau de gamme est un outil permettant de préparer une dilution complexe, sans se tromper.

4. **Compléter** les 3 première lignes du tableau de gamme suivant ;

Tube	0	1	2	3	4	5
$V_{\text{mèrepigment}}$ en mL	0	0.2	0.4		0.8	1
Pour info : $\rho_{\text{(pigment, Smèrepigment)}} = 50 \text{ mg/L}$ $V_{\text{diluant}} = \text{ED (q.s.p 1 mL)}$			0.6	0.4	0.2	
$\rho_{\text{(pigment, Sdiluéepigment)}}$ en $\mu\text{g/mL}$						
$m_{\text{(pigment, cuve)}}$ en μg						
Abs à nm						

Consigne 3 – Préparation de la gamme de dilution

5. **Mettre en œuvre** le tableau de gamme de Cons2-Pt4 avec la solution de colorant alimentaire préparée la semaine précédente : CP01-J1-C1-At3 ;

Réaliser les dilutions directement dans des microcuvettes de spectrophotométrie (utiliser un portoir à microcuvettes) ;

Consigne 4 – Réalisation d'un spectre

6. **Réaliser** un spectre rapide de la cuve 1 ;
7. **Déterminer** la longueur d'onde optimale d'analyse spectrophotométrique de votre colorant (indiquer-la sur le cahier de laboratoire =  )

Consigne 5 – Détermination de la concentration d'un échantillon

8. **Compléter** la dernière ligne du tableau de gamme ( ) ;
9. **Déterminer** l'absorbance de l'échantillon fourni ( ) . **Respecter** la couleur de votre colorant !!!
10. **Tracer** $\text{abs} = f(\rho_{\text{pigment}}, S_{\text{diluéepigment}})$ en $\mu\text{g/mL}$;
11. **Utiliser** FT00-03 pour tracer la droite de régression linéaire. **Afficher** l'équation et le coefficient de corrélation ( ) ;
12. **Déterminer** la concentration en pigment dans l'échantillon fourni ( ) .

Bertrand Faurie – 2020

Bioscience.fun

