

# CHAP 05. PRINCIPES CHIMIQUES DES ANALYSES MEDICALES

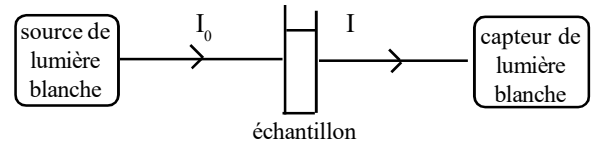
## DOSAGE PAR ETALONNAGE - LA SPECTROPHOTOMETRIE

Une espèce chimique est susceptible d'interagir avec un rayonnement électromagnétique. L'étude de l'intensité du rayonnement (absorbé ou réémis) en fonction des longueurs d'onde s'appelle l'analyse spectrale. Selon les longueurs d'onde considérées, différentes informations sur la structure de l'espèce étudiée peuvent être collectées.

### 1. PRINCIPE & DESCRIPTION DE L'APPAREIL.

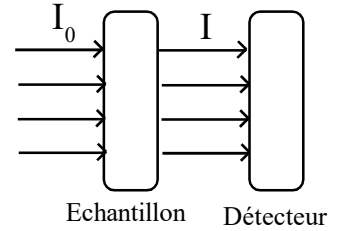
Pour faire simple, on retiendra qu'un spectrophotomètre est constitué:

- d'une source de lumière qui envoie une intensité lumineuse  $I_0$
- et d'un capteur qui détecte l'intensité lumineuse  $I$  à la suite de la traversée de l'échantillon.



Le détecteur de spectrophotomètre permet alors d'afficher différentes valeurs. On retiendra simplement que le spectrophotomètre permet de mesurer:

- La transmittance  $T$  représente la comparaison entre l'intensité lumineuse incidente  $I_0$  et  $I$  l'intensité lumineuse transmise par l'échantillon. Il est facile de comprendre que la transmittance est de 100% si la solution étudiée laisse passer la totalité de l'onde lumineuse incidente.
- L'absorbance  $A$  est "l'opposée" de la transmittance. Il est facile de comprendre que si la transmittance est de 100% alors l'absorbance est nulle.



### 2. REALISER UN BLANC.

Pour que la diminution de l'intensité ne provienne que de l'espèce colorée à étudier, il faut éliminer toutes les autres causes d'absorption:

- réflexion sur les parois de la cuve;
- absorption due au solvant;
- absorption des autres espèces contenues dans la solution...

En vue de s'affranchir de tous ces paramètres, on réalise une opération appelée **réglage du zéro**. Un peu comme lorsque l'on souhaite peser de la farine pour réaliser une recette. On va au préalable réaliser la tare de la balance, en plaçant le bol sur la balance, afin de remettre l'affichage de la balance à zéro et ne pas tenir compte de la masse du bol dans la mesure de la farine.

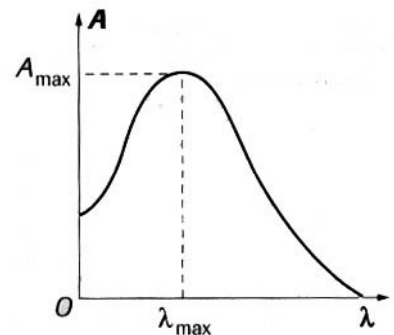
Ce réglage du zéro est effectué avec une cuve contenant le solvant et les espèces autres que celle à étudier; cette solution s'appelle un **blanc**. Cette cuve est placée dans l'appareil et une touche permet de régler la valeur de l'absorbance à zéro et d'afficher zéro sur le spectrophotomètre.

Ce réglage doit être effectué chaque fois que la longueur d'onde de la lumière sélectionnée change.

### 3. RECHERCHE DU MAXIMUM D'ABSORPTION.

On cherche à déterminer la longueur  $\lambda_{\max}$  pour laquelle on obtient un maximum d'absorption. Pour cela, il faut tracer le spectre d'absorption de la solution contenant le soluté à titrer, c'est-à-dire la représentation graphique  $A = f(\lambda)$ . La courbe obtenue a généralement l'allure indiquée ci-contre.

L'absorbance de la solution passe par un maximum pour une valeur de la longueur  $\lambda_{\max}$ .  $\lambda_{\max}$  est la longueur d'onde que l'on choisit pour réaliser le titrage.



### 4. DOSAGE PAR ETALONNAGE.

Un dosage par étalonnage consiste à déterminer la concentration d'une espèce chimique en comparant une grandeur physique, caractéristique de la solution, à la même grandeur physique mesurée pour des solutions étalon.

Le protocole expérimental est toujours le même:

- On dispose d'une série de solutions d'une espèce chimique de concentrations connues. Ces solutions sont données ou il faut les préparer à partir d'une solution mère par dilution;
- On mesure pour chaque solution de concentration connue, la valeur de la grandeur physique (conductivité ou de l'absorbance, selon la situation);
- On trace alors la courbe qui représente l'évolution de la grandeur physique en fonction de la concentration. On parle de courbe étalon.
- On visualise normalement des points alignés qui permettent de tracer une droite qui passe par l'origine.
- Pour déterminer la concentration de la solution inconnue, on mesure sa grandeur physique (absorbance ou conductivité). On reporte sa valeur sur la courbe étalon et on cherche la concentration correspondante.

