

TP 4

## THEME 1. ANALYSER & DIAGNOSTIQUER

### TPX 4 - DOSAGE SPECTROPHOTOMETRIQUE

#### CONTEXTE DU SUJET

L'absorbance  $A$  d'une solution est l'aptitude qu'a une solution à absorber une plus ou moins grande quantité de lumière.

Le bleu de méthylène est contenu dans le collyre LAITER.

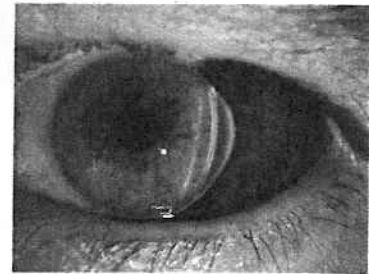
On se propose de tracer une courbe d'étalonnage à l'aide d'un spectrophotomètre afin d'utiliser cet appareil pour déterminer le titre de la solution  $S_0$  de collyre.

#### DOCUMENTS MIS A DISPOSITION

##### Document 1.

Le collyre LAITER, est un traitement d'appoint des irritations conjonctivales non infectieuses.

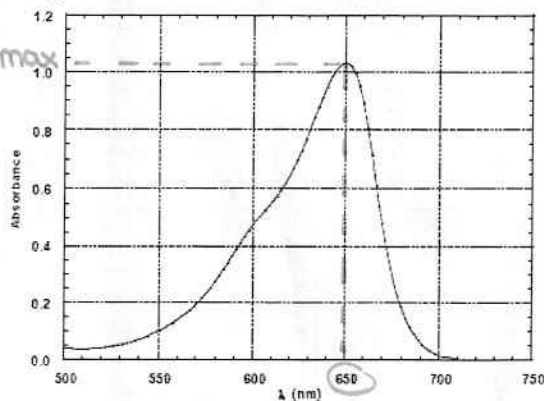
Le terme de "conjonctivite" se réfère à une inflammation de la partie blanche et visible de l'oeil, la conjonctive. C'est une affection très fréquente qui a de nombreuses causes (infectieuses et non-infectieuses), la plupart du temps sans trop de gravité, même si certaines peuvent être dramatiques sans traitement.



Une conjonctivite non infectieuse est due à des irritants (fumée, poussières) ou une allergie, que ce soit dans le cadre d'une inflammation du nez associée (rhinite allergique) ou dans une atopie (patient présentant une asthme, un rhume des foins ou une dermatite atopique).

##### Document 2.

On donne ci-contre la courbe de l'évolution de l'Absorbance en fonction de la longueur d'onde pour une solution de bleu de méthylène de concentration donnée.



##### Document 3.

On donne la composition du Collyre bleu Laiter

pour 10 ml	
Naphazoline nitrate	5,0 mg
Méthylthioninium hydroxyde (bleu de méthylène)	2,10 mg



##### Document 4.

Masse molaire bleu de méthylène  $M = 319,9 \text{ g/mol}$

#### MATERIEL MIS A DISPOSITION

En plus du matériel «classique» du laboratoire, vous avez à disposition le matériel pour une dilution

- 1 Bécher verre 25 mL
- 2 Fioles jaugées de 25 mL + bouchon adapté
- Pipettes jaugées de 20 mL, de 15 mL, de 10 mL, de 5 mL
- Pipette graduée de 5 mL

##### Produits chimiques

- Prélèvement de la solution de Collyre
- 1 solution bleu méthylène  $C_0 = 5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ .

#### Objectifs

- Vérifier l'indication de l'étiquette du collyre qui indique contenir 2,10 mg de bleu de méthylène pour 10 ml de produit.

Comment faire ?

Pour cela, on va utiliser une technique de laboratoire appelée spectrophotométrie

Cet appareil est capable de mesurer une grandeur appelée absorbance  $A$

L'absorbance permet de quantifier l'aptitude d'une solution colorée à absorber (à transmettre) la lumière qui la traverse

### Travail 1

Je dispose pour le moment d'une seule solution de bleu de méthylène  $S_0$  de concentration  $5,0 \text{ mg/L}$ .

Je vais préparer une série de solutions fille (voir tableau ci-dessous) et pour chaque solution fille, je mesure leur absorbance.

### Mesures

Solutions	Mère	Filles			
	$S_0$	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$
Concentration (mg/L)	5,0	4,0	3,0	2,0	1,0
Absorbance	0,48	0,35	0,29	0,17	0,10
$V_{\text{Pipette}}$ (mL)		20 mL	15 mL	10 mL	5 mL

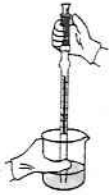
Remarque: Pour préparer les solutions fille, j'applique la technique de dilution à partir de la solution mère  $S_0$

Par exemple, pour préparer la fille  $S_1$ , à partir

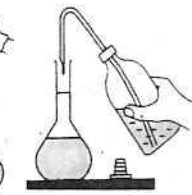
de So, j'applique le protocole suivant :



On prélève, à l'aide d'une pipette graduée, 5 mL de la solution mère de bleu de méthylène



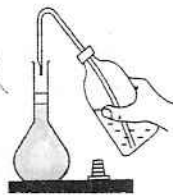
On verse, dans une fiole jaugée de 25 mL.



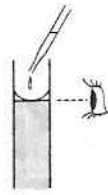
On complète, en partie, avec de l'eau distillée.



On agite pour bien homogénéiser la solution.



On complète à la goutte près jusqu'au trait de jauge.



Et on agite à nouveau pour finaliser.



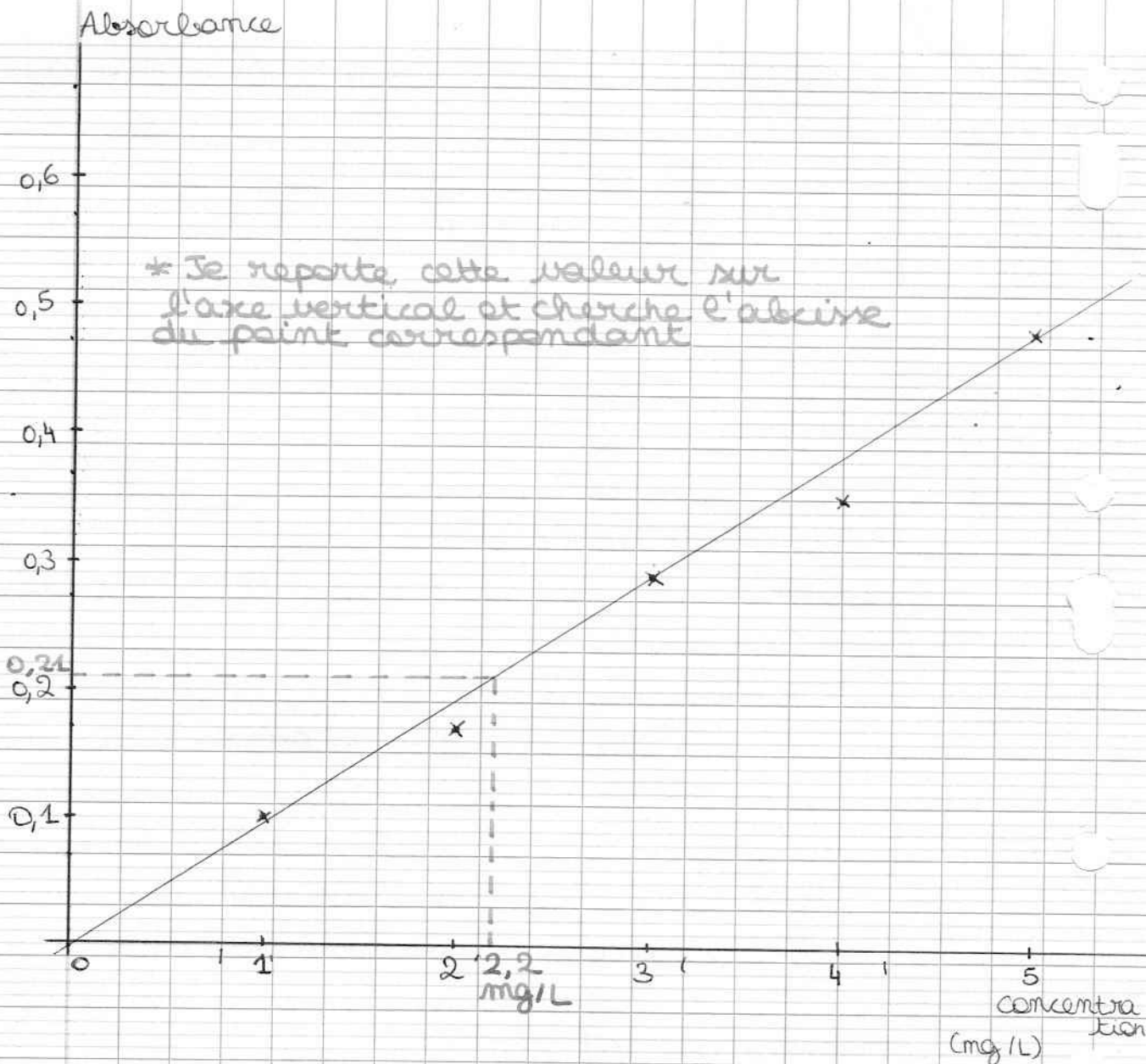
### Pré-réglages de l'appareil

Avant d'utiliser le spectrophotomètre, il faut effectuer les réglages suivants :

- Je sélectionne la longueur d'onde de la lumière utilisée. Ici, je choisis  $\lambda = 650 \text{ nm}$  car sur le doc cela correspond au maximum de la courbe.
- J'effectue un blanc : Je remplis la cuve avec de l'eau et je règle l'appareil pour une absorbance égale à 0 (une transmittance de 100)

### Exploitation des résultats

Il semblerait d'après les mesures d'absorbance pour différentes solutions fille qu'il y ai une relation de proportionnalité entre l'absorbance et la concentration



L'absorbance est proportionnelle à la concentration: Je visualise des points qui semblent être alignés.

$$A = k \times C$$

Loi de Beer Lambert

J'ai construit une courbe étalon.

Détermination de la solution inconnue (c)

Je place dans la cuve la solution dont je veux déterminer la concentration et mesure son absorbance.

$$A = 0,21 *$$

J'en déduis une concentration  $C = 2,1 \text{ mg/l}$   
mais on a utilisé une solution diluée d'un  
facteur 100 du collyre commercial.

→ Je peux calculer la concentration du collyre

$$C = 100 \times C_{\text{diluée}}$$

$$= 100 \times 2,1$$

$$= 210 \text{ mg/l}$$