

## Dosage spectrophotométrique

### Objectifs :

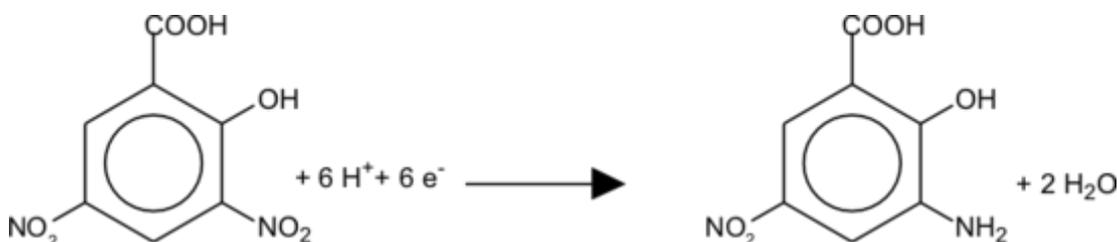
- Connaître la technique de spectrophotométrie.
- Connaître et savoir utiliser la relation entre l'absorbance et la concentration d'une espèce absorbante en solution.

### Principe:

Le spectrophotomètre fait passer une radiation monochromatique (de longueur d'onde  $\lambda$ ) à travers une cuve de longueur  $\lambda$  contenant une solution colorée. Il mesure alors l'absorbance  $A$  (grandeur liée à la quantité de lumière absorbée par la solution). La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance.

On utilise les propriétés réductrices du glucose. À chaud et en milieu alcalin, il y a réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique ou DNS (aussi appelé acide 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoïque) qui joue le rôle d'oxydant, le glucose étant le réducteur.

- Réaction de réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique en acide 3-amino-5-nitrosalicylique (aussi appelé acide 3-amino-2-hydroxy-5-nitrobenzoïque) :



- Le glucose, quant à lui, est oxydé en divers produits d'oxydation :



L'acide 3-amino-5-nitrosalicylique est un composé rouge. Cette réaction n'est pas stœchiométrique : il n'y a pas de bilan d'oxydoréduction. L'intensité de la coloration rouge est proportionnelle à la concentration de l'ose si l'on opère dans des conditions physico-chimiques constantes. Les droites d'étalonnage ne passent pas toujours par l'origine.

## **Matériel**

- Spectrophotomètre et ses cuves
- Tubes à essai
- Pipette Béchers
- Fioles jaugées

## **Solution**

- Solution de glucose à 0,005 mol/L
- DNS
- Eau distillée
- Solution à doser

## **Protocole**

### **Préparation de la gamme d'étalonnage**

Dans une série de tubes :

- introduire 0 - 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,9 - 1,2 ml de solution de glucose à 0,005 mol/L ;
- ajuster chaque tube à 1,5 ml avec de l'eau distillée ;
- ajouter 1 ml de réactif 3-5 DNS ;
- mélanger et boucher les tubes avec du coton cardé et du papier aluminium ;
- porter au bain-marie à 100 °C pendant 5 min exactement ;
- refroidir et ajouter 7,5 ml d'eau distillée dans chaque tube (on suppose que l'évaporation est la même pour chaque tube), homogénéiser et laisser reposer pendant 15 min.
- Lire les absorbances à 540 nm contre le blanc (tube n° 0).

### **Essais**

Ils sont à traiter dans les mêmes conditions opératoires.

Réaliser le dosage avec des prises d'essai de 0.5 et de 1ml.