

---

Module : **Méthodes d'analyse et de dosage en Biologie**

**Solution de Série d'exercices N°1 : Spectrophotométrie UV-visible**

**Exercice N°1 :**

**Selon la loi de Beer Lambert :**

$$A = \zeta \cdot l \cdot C$$

Sachant que :

**A** : Absorbance

**$\zeta$**  : Coefficient d'absorption molaire (L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>)

**l** : trajet optique (cm)

**C** : Concentration (mol.L<sup>-1</sup>)

D'autre part :

$$A = \log \frac{I_0}{T} = \log \frac{I_0}{I}$$

$$= \log \frac{85,4}{20,3}$$

$$A = 0,6239$$

Calcul de l' $\zeta$  : d'après la loi de Beer Lambert :

$$\zeta = A / C \cdot l$$

$$= 0,6239 / 10^{-4} \cdot 2$$

$$= 3119,8$$

Donc :

$$\zeta = 3119,8 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

**Exercice N°2 :**

On applique la loi de Beer Lambert :

$$A = \zeta \cdot l \cdot C / C = A / \zeta \cdot l$$

Sachant que :

**A** : Absorbance

**$\zeta$**  : Coefficient d'absorption molaire (L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>)

**l** : trajet optique (cm)

C : Concentration (mol.L<sup>-1</sup>)

Or :  $\zeta = 1420 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

Lorsque  $l = 1 \text{ cm}$  :

$$C1 = 0,71/1420 \cdot 1 = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$$

Lorsque  $l = 0,1 \text{ cm}$  :

$$C2 = 0,71/1420 \cdot 0,1 = 0,005 \text{ M}$$

**Exercice N°3 :**

On applique la loi de Beer Lambert :

$$A_{\max} = \zeta_{\max} \cdot l \cdot C$$

$$\rightarrow \zeta_{\max} = A_{\max}/C \cdot l \dots\dots\dots 1$$

$A_{\max} = 1,2$  ;  $l = 1 \text{ cm}$  ;  $C = ?/$

D'autre part : on sait que  $C = n/V$

$$n = m/M = 1,9 \cdot 10^{-3} \text{ g} / 100 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$$

$$n = 1,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$$

Donc :

$$C = n/V = 1,9 \cdot 10^{-5} / 25 \cdot 10^{-3} \text{ L}$$

$$C = 0,00076 \text{ mol/L}$$

**Donc :**

$$1 \leftrightarrow \zeta_{\max} = 1,2 / 0,00076 \cdot 1 \text{ cm}$$

$$\zeta_{\max} = 1578,94 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$$

**Exercice N°4 :**

On peut calculer la Concentration avec 2 méthodes :

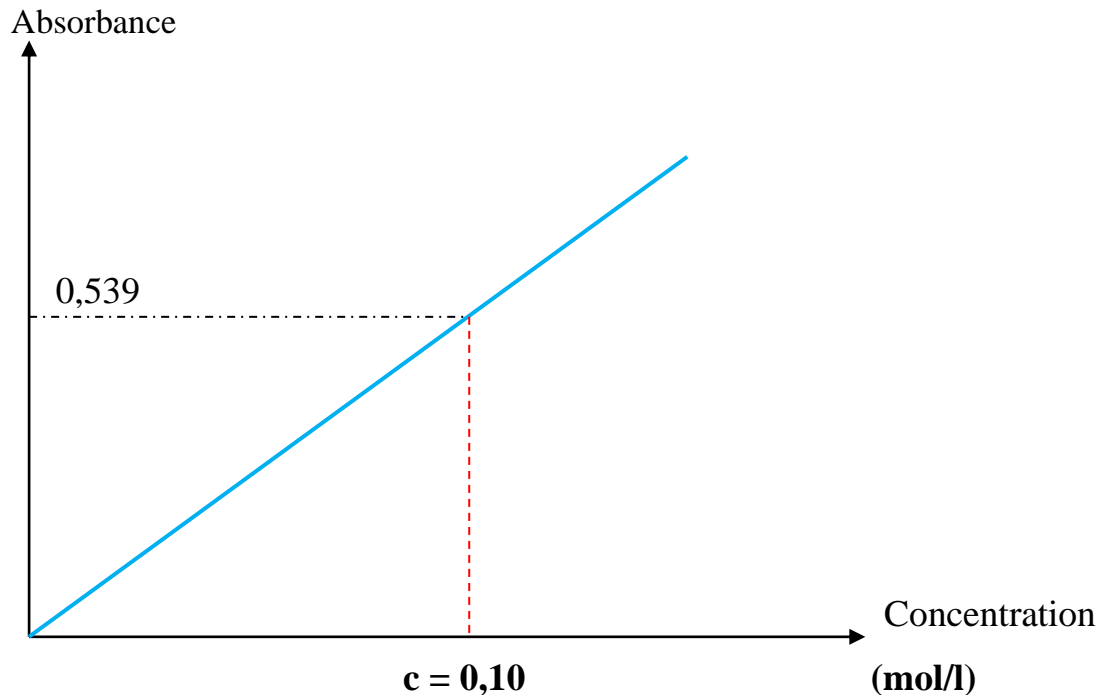
**1. Méthode graphique :**

Pour calculer la concentration en KMnO<sub>4</sub> on trace le **droit étalonnage  $A = f(c)$**

$$1 \text{ cm} \rightarrow 0,03 \text{ mol/l}$$

$$1 \text{ cm} \rightarrow 0,1$$

Le graphe aura la forme suivante



## 2. Méthode numérique :

$$A_{\lambda} = \zeta_{\lambda} \cdot l \cdot C$$

On prend 2 mesures :  $A = 0,162$  ;  $C = 0,03$  (a partir du Tableau)

$$\zeta_{\lambda} = A_{\lambda} / C \cdot l = 0,162 / 0,03 \cdot 1$$

$$\zeta_{\lambda} = 5,40 \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{Cm}^{-1}$$

$$A_{\text{essai}} = \zeta \cdot l \cdot C_{\text{essai}}$$

Sela implique

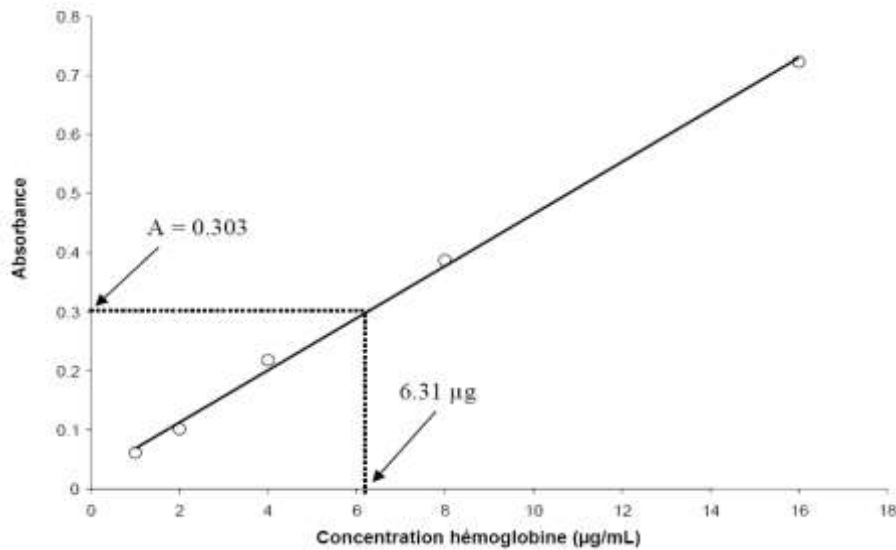
$$C_{\text{essai}} = A_{\text{essai}} / \zeta \cdot l = 0,539 / 5,4$$

$$C_{\text{essai}} = 0,998 \text{ mol/l}$$

## Exercice N°5 :

Nous devons tout d'abords tracer la courbe standard de l'absorbance en fonction de la concentration en hémoglobine. Ce graphique est représenté à la page suivante.

Comme l'inconnu a une absorbance de 0.303, nous pouvons reporter cette valeur sur la courbe standard afin de trouver **la concentration en hémoglobine correspondante, qui est de 6.31 $\mu\text{g/mL}$ .**



### Exercice N°6 :

D'après la loi de Beer Lambert :  $A = \zeta \cdot l \cdot C \rightarrow \zeta = \frac{A}{l \cdot C}$  ..... (1)  $l = 2 \text{ mm}$  ;  $C = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$  ;  $A = ????$

$$\text{Or, } A = \log\left(\frac{1}{T}\right) = \log 1/0,48 = 0,318 ;$$

Donc : (1)  $\leftrightarrow \zeta = 0,318 / 2 \cdot 10^{-1} \times 10^{-5}$

$$\zeta = 1,5935 \times 10^5 \text{ L.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

2) Quelle sera à 256 nm l'absorbance du même échantillon placé dans une cuve de 4 mm ?

$$A = \zeta \cdot l \cdot C = 1,5935 \cdot 10^5 \times 0,4 \times 10^{-5}$$

$$A = 0,6374$$

3) Quelle conclusion peut-on tirer de ces 2 expériences ?

Plus on augmente l'épaisseur de la cuve, plus l'absorbance est augmentée

### Exercice N°7 :

1- A quelle(s) longueur(s) d'onde absorbe la chlorophylle A ?  $\lambda_1 = 430 \text{ nm}$  ;  $\lambda_2 = 660 \text{ nm}$

2- Une des caractéristiques spectroscopiques de la chlorophylle A est la suivante :  $\epsilon = 111000 \text{ SI}$  ;  $A = 0,74$ .

- Donner l'expression de la loi de Beer Lambert ?  $A = \epsilon \cdot l \cdot C$

3- Quelle est l'unité du  $\epsilon$  ?  $\text{L.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  ; Quelle est la composition du blanc : **éthanol +  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$**

4- Déterminer la concentration de la chlorophylle A dans cet échantillon ? La largeur de la cuve = 1,0 cm ?

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C \rightarrow C = \frac{A}{\epsilon \cdot l} = \frac{0,74}{111000} / C = 6,66 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$$