

Année 2025 - 2026

2^{ème} année BTS

Bioanalyses en Laboratoire de Contrôle

Activité technologique en gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire

Activité pratique N°7



L. GODIN
<http://ligodin.free.fr>

l.godin@etsl.fr

TP n°7 : QUALIFICATION D'UN SPECTROPHOTOMÈTRE & DOSAGE DE LA VANILLINE DANS LE SUCRE VANILLÉ

1. BUT	2
2. QUALIFICATION D'UN SPECTROPHOTOMÈTRE UV-VISIBLE	2
2.1. Produits	2
2.2. Matériel fourni	2
2.3. Généralités sur la qualification d'un spectromètre et la validation de méthode	2
2.4. Mode opératoire pour la qualification d'appareil	3
2.4.1. Exactitude en longueur d'onde	3
2.4.1.1. Etalon disponible	3
2.4.1.2. Vérification à réaliser	3
2.4.2. Etude de la résolution (bande passante en longueur d'onde)	4
2.4.2.1. Système de contrôle choisi	4
2.4.2.2. Vérification à réaliser	4
2.4.3. Spectrophotométrie dérivée	4
2.4.3.1. Etalon disponible	4
2.4.3.2. Vérification à réaliser	5
2.4.4. Mesure de la lumière parasite	6
2.4.4.1. Données techniques	6
2.4.4.2. Mesure de lumière parasite	6
2.4.5. Exactitude en absorbance	7
2.4.5.1. Etalons disponibles	7
2.4.5.2. Vérification à réaliser	8
3. DOSAGE DE LA VANILLINE DANS LE SUCRE VANILLÉ	9
3.1. Produits	9
3.2. Matériel fourni	9
3.3. Généralités sur la vanilline	9
3.4. Mode opératoire du dosage par la méthode de la droite d'étalonnage	10
2.4.1. Préparation de la solution mère M_0	10
2.4.2. Préparation des solutions filles	10
2.4.3. Préparation de l'étalon de contrôle et de l'échantillon de sucre Vanillé	10
2.4.4. Réalisation des mesures	11
2.4.5. Conclusion sur les résultats obtenus	11
4. CONCLUSION GÉNÉRALE	12

5. RAPPORT D'ACTIVITÉ : QUALIFICATION D'UN SPECTROMÈTRE & DOSAGE DE LA VANILLINE DANS LE SUCRE VANILLÉ	13
5.1. Mode opératoire pour la qualification de l'appareil	13
5.1.1. Exactitude en longueur d'onde	13
5.1.2. Etude de la résolution (bande passante en longueur d'onde)	14
5.1.3. Spectrophotométrie dérivée	15
5.1.4. Mesure de la lumière parasite	16
5.1.5. Exactitude en absorbance	17
5.2. Mode opératoire du dosage par la méthode de la droite d'étalonnage	18
5.2.1. Préparation de la solution mère M_0	18
5.2.2. Préparation des solutions filles	18
5.2.2.1. Tableau de gamme	18
5.2.2.2. Obtention de la droite d'étalonnage	18
6. CONCLUSION GÉNÉRALE	22

1. BUT

Le but du Tp est, dans un premier temps, de **Qualifier** le spectrophotomètre utilisé. Pour cela, Les contrôles proposés porteront sur quelques vérifications. Au sens des normes, le terme vérification signifie : confirmation par un examen et apport de preuves tangibles que les exigences spécifiées ont été satisfaites [NF EN ISO CEI 17025].

Dans un second temps, de **mettre au point une méthode** de dosage par gamme d'étalonnage afin de doser la vanilline dans un sachet de sucre vanillé et de **valider cette méthode** à l'aide d'un étalon de contrôle.

2. MISE AU POINT DE LA QUALIFICATION D'UN SPECTROMÈTRE UV-VISIBLE

2.1. Produits

- Une solution de toluène à 0,02 % (v/v) dans l'hexane.
- Une solution de KCl à 12 g/L dans l'eau UP.
- Une solution de NaNO_2 à 50 g/L dans l'eau UP.
- Une solution de NaI à 10 g/L dans l'eau UP.

2.2. Matériel fourni

- 1 filtre Holmium AC 500.
- 1 série de filtres Gris neutre AC 10, 30, 50 et 100.
- 1 cuve quartz pour la mesure et une cuve quartz pour la référence (blanc).
- Spectrophotomètre UV-Visible CAMSPEC M550.

2.3. Généralités sur la qualification d'un appareil et la validation de méthode

Qualification : opération destinée à démontrer que le matériel ou l'équipement utilisé donne des résultats attendus pour l'usage auquel il est destiné.

Validation : ensemble des opérations nécessaires pour prouver que la procédure (méthode) est suffisamment exacte et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé.
« Le but de la validation d'une procédure d'analyse est de démontrer qu'elle correspond à l'usage pour lequel elle est prévue ».

2.4. Mode opératoire pour la qualification d'appareil

2.4.1. Exactitude en longueur d'onde

2.4.1.1. Étalon disponible

☞ Un étalon solide à l'oxyde d'holmium est disponible. Les données métrologiques sont fournies ci-dessous. Elles sont issues du certificat d'étalonnage :

AC-500	Peak Positions						
Nominal WL (nm)	279	361	419	446	460	536	638
Exact WL (nm)	278,5 ± 0,5	360,5 ± 0,5	418,0 ± 0,5	445,5 ± 0,5	459,5 ± 0,5	536,0 ± 0,5	637,0 ± 1,0

The expanded uncertainty assigned to the measurement results is obtained by multiplying the standard uncertainty by the coverage factor $k = 2$. The value of the measurand lies within the assigned range of values with a probability of 95 %.

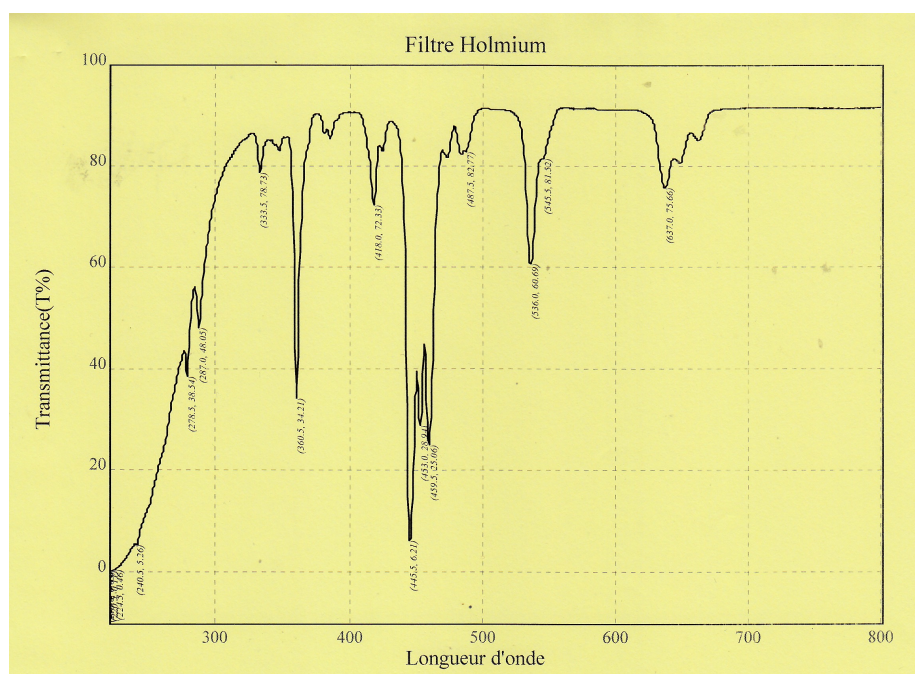
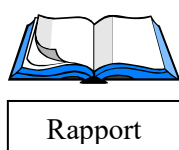


Figure 1 : Spectre du filtre Holmium

2.4.1.2. Vérification à réaliser

☞ Réaliser un spectre en transmittance du filtre d'oxyde d'holmium entre 220 et 800 nm, pour une largeur de bande de 0,5 nm, sur le CAMSPEC M550 en **mode « Wavelength Scan Mode »**. Pour cela utiliser la fiche technique fournie avec l'appareil. L'enregistrer dans votre dossier sur le disque dur. Les maxima des pics doivent apparaître sur le spectre.



- Faire le spectre du filtre Holmium contre l'air, et l'imprimer.
- Comparer les longueurs d'onde obtenues à celle de la fiche étalon et conclure sur l'exactitude en longueur d'onde de l'appareil (l'écart en longueur d'onde ne doit pas être de plus de 1,5 nm).

2.4.2. Étude de la résolution (bande passante en longueur d'onde)

2.4.2.1. Système de contrôle choisi

☞ On utilise pour cela, le toluène à 0,02 % (v/v) dans l'hexane. On recherche grâce à la présence d'un maximum et d'un minimum très proches, la capacité à « séparer » les 2 pics. On réalise le spectre entre 265 et 270 nm et on compare le ratio des absorbances maximum et minimum obtenu aux ratios de référence.

SBW Spectral BandWith (nm)	0,1	0,2	0,5	1,0	2,0
Ratio $A_{\max}/A_{\min}$	1,7-1,8	1,7-1,8	1,3-1,4	1,3-1,4	1,3-1,4

2.4.2.2. Vérification à réaliser

☞ Remplir la cuve de mesure de toluène à 0,02 % (v/v) dans l'hexane. Remplir la cuve de référence d'hexane. Choisir une largeur de bande de 0,1 nm, sur le CAMSPEC M550 en « **Wavelength Scan Mode** ». Réaliser un spectre entre 265 et 270 nm. Pour cela utiliser la fiche technique fournie avec l'appareil. L'enregistrer dans votre dossier sur le disque dur. Les maxima P et les minima V des pics doivent apparaître sur le spectre.

☞ Répéter les mêmes mesures pour une largeur de bande de 0,2 ; 0,5 ; 1,0 et 2,0 nm. Ne pas oublier d'enregistrer les spectres un par un.



Rapport

- Relever les valeurs d'absorbance min et max.
- Calculer les ratios et comparer avec les valeurs fournies au 2.4.2.1. Conclure sur la résolution en longueur d'onde de l'appareil.

2.4.3. Étude de la spectrophotométrie dérivée

2.4.3.1. Spectre de dérivée

☞ La spectrophotométrie dérivée consiste en la transformation d'un spectre d'absorption (ordre zéro) en spectres de dérivée première, de dérivée seconde ou de dérivée d'ordres supérieurs.

☞ Un *spectre de dérivée première* représente le tracé du gradient de la courbe d'absorption (c'est à dire du taux du changement de l'absorbance $dA/d\lambda$) en fonction de la longueur d'onde.

☞ Un *spectre de dérivée seconde* représente la courbe du spectre d'absorption en fonction de la longueur d'onde ($d^2A/d\lambda^2$). La dérivée seconde à la longueur d'onde λ est liée à la concentration selon l'équation suivante :

$$\frac{d^2A}{d\lambda^2} = \frac{d^2(\varepsilon \cdot b \cdot C)}{d\lambda^2} = \frac{d^2\varepsilon}{d\lambda^2} \cdot b \cdot C$$

Seul le coefficient d'absorption ε dépend de la longueur d'onde λ .

2.4.3.2. Vérification du pouvoir de résolution

☞ Laisser la cuve de mesure de toluène à 0,02 % (v/v) dans l'hexane, et la cuve de référence d'hexane dans l'appareil. Rappeler à l'écran, le spectre précédent obtenu avec une largeur de bande de 1,0 nm. Faire calculer par le logiciel, le spectre de dérivée seconde. Pour cela utiliser la fiche technique fournie avec l'appareil. L'enregistrer dans votre dossier sur le disque dur. Les maxima P et les minima V des pics doivent apparaître sur le spectre.

👉 Le spectre présente un petit extremum négatif situé entre 2 extremums négatifs plus importants, respectivement, à 261 nm et 268 nm, comme le montre la figure ci-dessous :

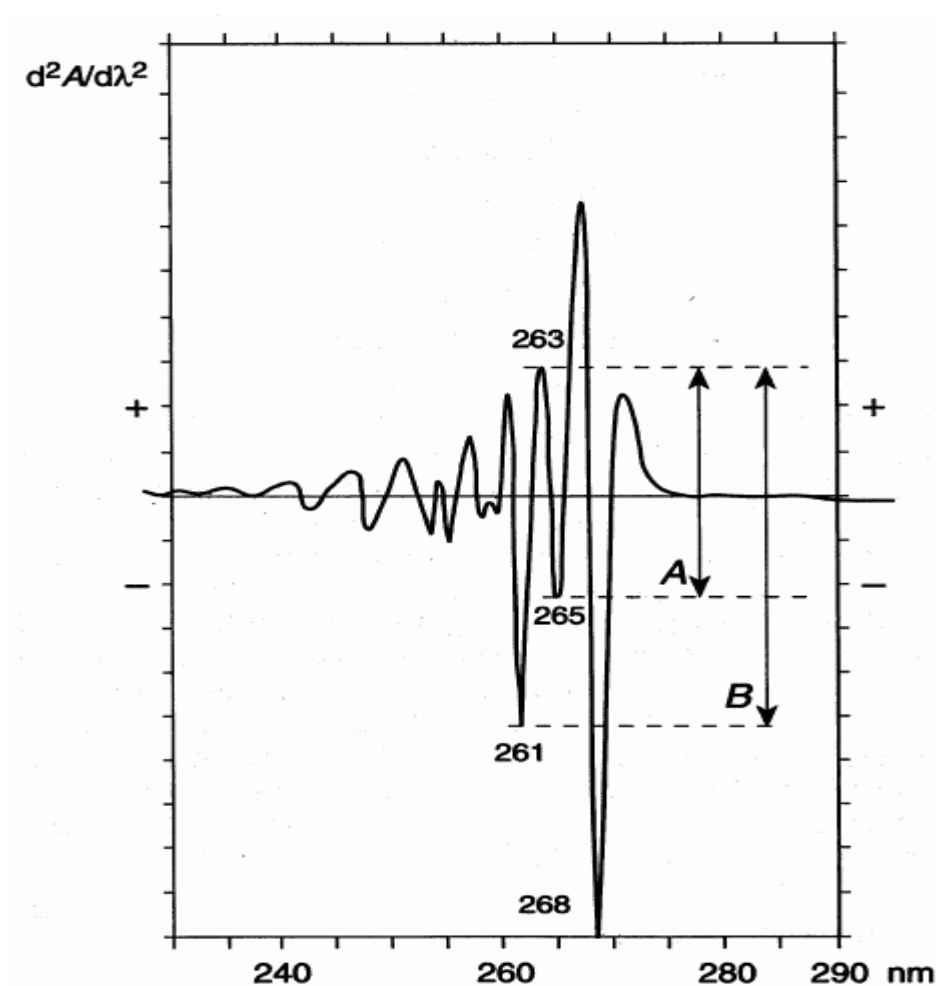


Figure 2 : Spectre dérivée d'ordre 2 d'une solution de toluène à 0,02 % (v/v) dans l'hexane



Rapport

- Relever les valeurs d'absorbance aux longueurs d'onde 261, 263 et 265 nm.
- Calculer le rapport A/B. Conclure sur la résolution de la spectrométrie dérivée en longueur d'onde de l'appareil. Le rapport A/B doit être supérieur à 0,2.

2.4.4. Mesure de la lumière parasite

2.4.4.1. Données techniques

☞ Les détecteurs répondent à tout le spectre de lumière de l'appareil. La lumière parasite à une longueur d'onde donnée va entraîner une erreur de mesure d'absorbance : elle va diminuer la valeur (le photodétecteur considère la lumière parasite comme de la lumière transmise !) (Erreur par défaut).

☞ On peut évaluer la lumière parasite en utilisant des filtres à effet de coupure totale sous une longueur d'onde donnée :

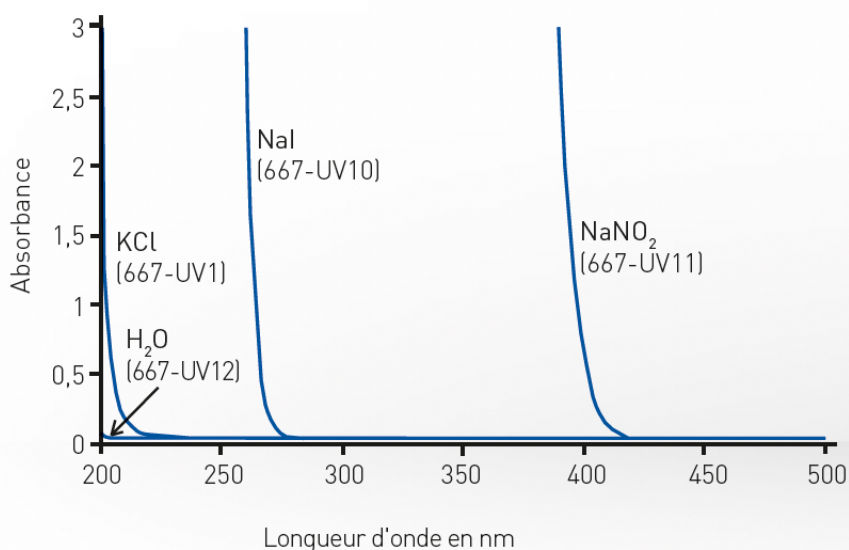


Figure 3 : Spectre d'absorbance des solutions de KCl, NaI et NaNO₂

Si l'appareil est parfait, pas de lumière parasite, le filtre exerçant son effet, le flux transmis Φ_t est nul et l'absorbance est infinie.

Si l'appareil annonce 2 d'absorbance, par exemple, cela signifie que $A = \log(\Phi_i/\Phi_t) = 2$, donc $\Phi_t = 10^{-2} \Phi_i$. On conclut que la lumière parasite est évaluée comme inférieure à 1%.

On peut évidemment travailler plus simplement en mode transmittance T (on aura $T = 1\%$ pour $A = 2$!).

2.4.4.2. Mesure de la lumière parasite

☞ Remplir la cuve de mesure de KCl à 12 g/L dans l'eau. Remplir la cuve de référence d'eau. Choisir une largeur de bande de 1 nm, sur le CAMSPEC M550 en **mode « Wavelength Scan »**. Réaliser un spectre en absorbance entre 190 et 300 nm. Pour cela utiliser la fiche technique fournie avec l'appareil. L'enregistrer dans votre dossier sur le disque dur. Le maximum P du pic à 198 nm doit apparaître sur le spectre.

Wavelength (nm) (accuracy $\pm 0,2$ nm)		Stray lighth (%T) (Required value Ph.Eur. $\leq 1\%$ (2A))	
198		$\leq 0,001$	
Path length :	(10 $\pm$ 0,01) mm	Cell type :	Rectangular Quartz cell
Slit width :	(1,0 $\pm$ 0,2) nm	Measuring temp. :	(25 $\pm$ 1) °C

☞ Faire de même avec NaI à 10 g/L dans l'eau. L'enregistrer dans votre dossier sur le disque dur. Le maximum P du pic à 220 nm doit apparaître sur le spectre.

Wavelength (nm) (accuracy $\pm 0,2$ nm)	Stray lighth (%T) (Required value Ph.Eur. $\leq 1\%$ (2A))
220	$\leq 1.10^{-4}$

Path length : (10 $\pm$ 0,01) mm Cell type : Rectangular Quartz cell
Slit width : (1,0 $\pm$ 0,2) nm Measuring temp. : (25 $\pm$ 1) °C

☞ Remplir la cuve de mesure de NaNO₂ à 50 g/L dans l'eau. Remplir la cuve de référence d'eau. Choisir une largeur de bande de 1 nm, sur le CAMSPEC M550 en **mode « Wavelength Scan »**. Réaliser un spectre en absorbance entre 300 et 500 nm. Pour cela utiliser la fiche technique fournie avec l'appareil. L'enregistrer dans votre dossier sur le disque dur. Le maximum P du pic à 198 nm doit apparaître sur le spectre.

Wavelength (nm) (accuracy $\pm 0,2$ nm)	Stray lighth (%T) (Required value Ph.Eur. $\leq 1\%$ (2A))
370	$\leq 5.10^{-4}$
340	$\leq 5.10^{-4}$

Path length : (10 $\pm$ 0,01) mm Cell type : Rectangular Quartz cell
Slit width : (1,0 $\pm$ 0,2) nm Measuring temp. : (25 $\pm$ 1) °C

☞ Faire apparaître en superposition les 3 spectres précédents à l'écran, puis les imprimer.



Rapport

- Relever les valeurs d'absorbance aux longueurs d'onde 198 nm pour le spectre de KCl, 220 nm pour celui de NaI et 340 et 370 nm pour celui de NaNO₂.
- Calculer les transmittances correspondantes. Conclure sur la quantité de lumière parasite reçue par le spectrophotomètre.

2.4.5. Exactitude en absorbance

2.4.5.1. Étalons disponibles

☞ On utilise pour cela des filtres gris neutres à spectre « relativement plat ». Les données métrologiques sont fournies par le tableau ci-dessous issu du certificat d'étalonnage :

Filter number	Transmittance (%)				
	Calibration wavelength (nm)				
	440	465	546,1	590	635
AC-10	69,95	72,74	72,35	70,50	70,60
AC-30	38,64	41,85	41,77	40,46	40,29
AC-50	24,62	27,05	26,26	25,07	26,79
AC-100	7,36	8,67	7,94	7,11	7,93

2.4.5.2. Vérifications à réaliser

☞ Réaliser un spectre en transmittance de chacun des filtres gris neutres entre 400 et 680 nm, pour une largeur de bande de 0,5 nm, sur le CAMSPEC M550 en « **Wavelength Scan Mode** ». Pour cela utiliser la fiche technique fournie avec l'appareil. L'enregistrer dans votre dossier sur le disque dur. Les maxima des pics doivent apparaître sur les spectres.



Rapport

- Relever toutes les valeurs de transmittance aux longueurs d'onde de référence (Cf données métrologiques).
- Vérifier que les valeurs obtenues ne dépassent pas de $\pm 2 \%$ des valeurs fournies par le certificat d'étalonnage puis conclure sur l'exactitude en absorbance de l'appareil.

3. DOSAGE DE LA VANILLINE

3.1. Produits

- Vanilline à 99 % de pureté.
- Du sucre vanillé commercial.
- Soude à 0,1 mol.L⁻¹.

3.2. Matériel fourni

- Des cuves plastiques.
- 6 fioles de 20 mL.
- 1 fiole de 100 mL et une fiole de 50 mL.
- Spectrophotomètre UV-Visible CAMSPEC M550.

3.3. Généralités sur le sucre vanillé

Le sucre vanillé est un indémodable pour réaliser des préparations gourmandes. En pâtisserie, le sucre blanc et le sucre cassonade sont parfumés grâce à de l'extrait de vanille. Pour les plus gastronomes, c'est l'extrait de vanille pure, gratté à même la gousse de vanille, qui est ajouté pour sucrer le lait, les oeufs ou les crèmes. **Le sucre vanillé** se trouve facilement dans le commerce. Il est le plus souvent conditionné en sachets de 7,5 g. En effet, très peu de sucre vanillé suffit pour obtenir une préparation agréablement parfumée.

le sucre vanillé a en général une teinte ambrée due à la coloration de la vanille. Mais en fonction de la qualité du sucre et de l'extrait de vanille utilisé, cette teinte peut varier. Plus le sucre vanillé est clair et moins il est parfumé. La vanille est une épice dont la gousse s'utilise séchée.

Sur l'étiquette du sachet de sucre vanillé, il est précisé l'information suivante : « **4 % en masse de gousse de vanille** ». On souhaite vérifier cette indication, sachant qu'**un gramme de gousse de vanille peut contenir de 5 à 25 mg de vanilline**, cela revient à vérifier que l'on obtienne une **teneur comprise entre 0,2 et 1,0 mg/g**. La **vanilline** est un aldéhyde aromatique naturel qui se développe dans les gousses de vanille lors de la préparation de celles-ci comme épice. On l'utilise pour faire des arômes naturels

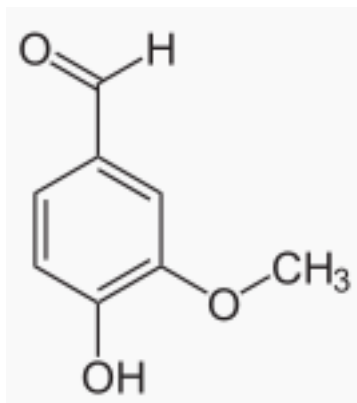


Figure 4. Structure moléculaire de la vanilline

Le but de l'expérience dans cette partie est de déterminer la quantité en masse de vanilline dans un sachet commercial de sucre vanillé. La méthode des ajouts dosés se révèle ici très intéressant en raison de la complexité de la matrice ainsi que de l'absence d'informations sur celle-ci.

3.4. Mode opératoire du dosage par méthode de la droite d'étalonnage

3.4.1. Préparation de la solution mère M_0

☞ Dans un bécher de 100 mL, introduire environ exactement 10 mg de vanilline pure et environ 80 mL de soude. Mettre sous agitation, et lorsque la dissolution est complète, transférer dans une fiole de 100 mL. Compléter jusqu'au trait de jauge avec de la soude. Cette solution sera appelée M_0 .



Rapport

- On obtient une solution mère M_0 dont vous donnerez la concentration massique exacte C_0 .

3.4.2. Préparation des solutions filles

☞ Préparer 5 solutions filles de concentration en Vanilline par dilutions successives de la solution mère M_0 , préparée précédemment, dans des fioles de 20 mL.

Vous remplirez un tableau du type de celui indiqué ci-dessous :

Solutions filles F_i	Concentration C_i (mg.L ⁻¹)	$V(M_0)$ (μL)	V_{soude} (mL)
F_0	0	0	Qsp soude
F_1		200	
F_2		400	
F_3		600	
F_4		800	
F_5		1000	

Tableau 1. Récapitulatif des concentrations des solutions F_0 à F_5 et de leur mode de préparation à partir de M_0

3.4.3. Préparation de l'étalon de contrôle et de l'échantillon de sucre vanillé

☞ Préparation de l'étalon de contrôle : Préparer une fiole CQ de 20 mL, en utilisant $V(M_0) = 500 \mu\text{L}$.



Rapport

Donner la concentration C_{ref} correspondante.

☞ **Préparation de l'échantillon de sucre vanillé** : Dans un bécher de 50 mL, introduire environ exactement 200 mg de sucre vanillé et environ 40 mL de soude. Mettre sous agitation, et lorsque la dissolution est complète, transférer dans une fiole de 50 mL. Compléter jusqu'au trait de jauge avec de la soude.

3.4.4. Réalisation des mesures

☞ Utiliser 6 cuves pour la gamme. Remplir une cuve supplémentaire de soude pour le blanc que vous placerez dans le compartiment correspondant.

☞ Placer en position 1 du carrousel la cuve dans laquelle se trouve la solution F₅. Réaliser le spectre de la solution F₅ entre 300 et 400 nm, en « **Wavelength Scan Mode** » pour déterminer la longueur d'onde de travail.



Rapport

Vous rendrez le spectre correspondant, et vous indiquerez clairement la longueur d'onde de travail.

☞ Placer les 6 cuves de la gamme dans le carrousel dans l'ordre croissant de concentration de la position 1 à 6.

☞ Réaliser la droite d'étalonnage $A = f(C)$ directement sur le CAMSPEC M550 en **mode « Fixed Points Measurement »**. Pour cela utiliser la notice fournie directement sur le spectrophotomètre. Ne pas imprimer tout de suite !

☞ Retirer la gamme du carrousel, et placer dans l'ordre, une cuve CQ et deux cuves « inconnue » et Réaliser 2 fois la mesure sur l'échantillon de sucre vanillé et 1 fois la mesure de l'étalon de contrôle.

☞ Lorsque tous les résultats sont à l'écran, **imprimer les deux pages**.



Rapport

- Imprimer la droite d'étalonnage et les résultats de dosage.
- Relever la concentration de l'étalon de contrôle (inconnue-connue) C_{EQ} et rechercher si la valeur (C_{EQ}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit $C_{ref} \pm 10 \%$.
- Relever les concentrations en Vanilline pour l'échantillon de sucre Vanillé, C_1 et C_2 , puis vérifier la compatibilité métrologique en répétabilité des deux essais à l'aide de l'annexe métrologique.
- Donner alors la concentration en Vanilline.
- En déduire finalement la quantité en masse de Vanilline par gramme de vanille, c'est -à-dire la teneur. Vous exprimerez le résultat comme indiqué dans l'annexe métrologique

3.4.5. Conclusion sur les résultats obtenus



Rapport

- Conclure sur la conformité du produit.

4. CONCLUSION GÉNÉRALE



Rapport

Rappeler tous les résultats obtenus, et conclure.

TP n°7 : Rapport

5. RAPPORT D'ACTIVITÉ SUR LA QUALIFICATION D'UN SPECTROMÈTRE & SUR LE DOSAGE DE LA VANILLINE

5.1. Qualification d'un spectrophotomètre UV-Visible

5.1.1. Exactitude en longueur d'onde

- Imprimer le spectre du filtre Holmium.

Spectre du filtre Holmium
à coller ici

Remplir le tableau ci-dessous :

AC-500	Peak Positions						
Nominal WL (nm)	279	361	419	446	460	536	638
Exact WL (nm)	$278,5 \pm 0,5$	$360,5 \pm 0,5$	$418,0 \pm 0,5$	$445,5 \pm 0,5$	$459,5 \pm 0,5$	$536,0 \pm 0,5$	$637,0 \pm 1,0$
WL mesurée (nm)							

- Comparer les longueurs d'onde obtenues à celle de la fiche étalon et conclure sur l'exactitude en longueur d'onde de l'appareil (l'écart en longueur d'onde ne doit pas être de plus de 1,5 nm).

5.1.2. Étude de la résolution (bande passante en longueur d'onde)

- Relever les valeurs d'absorbance min et max.
- Calculer les ratios.

SBW Spectral BandWith (nm)	0,1	0,2	0,5	1,0	2,0
Ratio $A_{\max}/A_{\min}$	1,7-1,8	1,7-1,8	1,3-1,4	1,3-1,4	1,3-1,4
$A_{\max}$ mesurée					
$A_{\min}$ mesurée					
$A_{\max}/A_{\min}$ calculé					

- Comparer les ratios obtenus avec les valeurs fournies dans la table métrologique. Conclure sur la résolution en longueur d'onde de l'appareil.

5.1.3. Étude de la spectrophotométrie dérivée

Imprimer le spectre d'absorption du toluène à 0,02 % (v/v) dans l'hexane, ainsi que le spectre de dérivée seconde en superposition du premier :

Spectres d'absorption &
dérivée 2^{nde} du toluène
à coller ici

- Relever les valeurs d'absorbance aux longueurs d'onde 261, 263 et 265 nm.
- Calculer le rapport A/B. Conclure sur la résolution de la spectrométrie dérivée en longueur d'onde de l'appareil. Le rapport A/B doit être supérieur à 0,2.

5.1.4. Mesure de la lumière parasite

Imprimer sur la même feuille, les spectres de KCl, NaI et NaNO₂

Spectres d'absorption de KCl,
NaI et NaNO₂
à coller ici

- Relever les valeurs d'absorbance aux longueurs d'onde 198 nm pour le spectre de KCl, 220 nm pour celui de NaI et 340 et 370 nm pour celui de NaNO₂.
- Calculer les transmittances correspondantes. Conclure sur la quantité de lumière parasite reçue par le spectrophotomètre.

5.1.5. Exactitude en absorbance

- Relever toutes les valeurs de transmittance aux longueurs d'onde de référence :

Filter number	Transmittance (%) mesurée				
	Calibration wavelength (nm)				
	440	465	546,1	590	635
AC-10					
AC-30					
AC-50					
AC-100					

- Vérifier que les valeurs obtenues ne dépassent pas de $\pm 2 \%$ les valeurs fournies par le certificat d'étalonnage puis conclure sur l'exactitude en absorbance de l'appareil.

5.2. Mode opératoire du dosage par la méthode de la droite d'étalonnage

5.2.1. Préparation de la solution mère M_0

On obtient une solution mère M_0 dont vous donnerez la concentration massique exacte C_0 .
Donner également, la concentration de référence $C_{\text{réf}}$.

5.2.2. Préparation des solutions filles

5.2.2.1. Tableau de gamme

Remplir le tableau ci-dessous :

Solutions filles F_i	Concentration C_i (mg.L ⁻¹)	$V(M_0)$ (μL)	V_{soude} (mL)
F_0	0	0	Qsp soude
F_1		200	
F_2		400	
F_3		600	
F_4		800	
F_5		1000	

Tableau 1. Récapitulatif des concentrations des solutions F_0 à F_5 et de leur mode de préparation à partir de M_0

5.2.2.2. Obtention de la droite d'étalonnage

Indiquer la longueur d'onde de travail : $\lambda_{\text{Vanilline}} =$

Spectre de la Vanilline

Imprimer la droite d'étalonnage $A = f(C)$

Droite d'étalonnage

Résultats de dosage du CQ et des inconnues
à
Coller ici

- Relever la concentration de l'étalon de contrôle (inconnue-connue) C_{EQ} et rechercher si la valeur (C_{EQ}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit $C_{ref} \pm 10 \%$.
- Relever les concentrations en Vanilline pour l'échantillon de sucre Vanillé, C_1 et C_2 , puis vérifier la compatibilité métrologique en répétabilité des deux essais à l'aide de l'annexe métrologique. Donner alors la concentration en Vanilline retenue.

- En déduire finalement la quantité en masse de Vanilline par gramme de vanille. Vous exprimerez le résultat comme indiqué dans l'annexe métrologique.
- Vérifier l'indication : « 4 % en masse de gousse de vanille » (Cf p. 7.9).

6. CONCLUSION GENERALE

Conclure sur tous les résultats obtenus.