|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Destinataires : professeurs | **Lecture d’absorbances au spectrophotomètre** | |  |
| Elaboration | 12/10/22 | Professeurs STL Biotechnologies |
| Relecture 1 | 04/01/23 | Julie CAVALLI, Pascale DIMANCHE, Julien FIJEAN, Laura MATTIELLO, Anastasie SIGWALT |

1. Attendus pour un niveau maitrisé

* Mettre sous tension le spectrophotomètre selon les règles de sécurité en vigueur
* Vérifier l’intégrité du porte cuve et du trajet optique
* Arriver au spectrophotomètre avec le matériel suivant :
  + Un porte cuve contenant les cuves fermées à l’aide de parafilm
  + Un cahier de laboratoire + stylo
  + Du papier pour essuyer les cuves
  + Un gant en nitrile si besoin en cas de risque chimique ou biologique
* Régler la longueur d’onde de travail
* Homogénéiser et essuyer la cuve contenant le blanc réactif
* Introduire la cuve face transparente perpendiculairement au faisceau lumineux incident
* Régler le zéro de l’appareil en suivant la procédure d’utilisation de l’appareil
* Retirer la cuve contenant le blanc réactif
* Homogénéiser et essuyer la cuve
* Introduire la cuve face transparente perpendiculairement au faisceau lumineux incident
* Lire l’absorbance en suivant la procédure d’utilisation de l’appareil
* Consigner les indications de mesure dans le cahier de laboratoire
* Retirer la cuve puis passer à la suivante
* Vérifier l’absence de cuve dans le porte cuve
* Eteindre l’appareil à l’aide de l’interrupteur

NB :

* La main gantée manipule les cuves
* La main non gantée fait le reste (règle le spectrophotomètre, écrit les valeurs dans le cahier de laboratoire…)

1. **Erreurs majeures pénalisantes**

* Mauvais réglage de la longueur d’onde
* Oubli du parafilm sur les cuves
* Ecrire sur les cuves côté passage du faisceau
* Ne pas essuyer une cuve sale
* Ne pas homogénéiser la cuve
* Ne pas écrire les indications de mesure d’absorbance dans le cahier de laboratoire
* Mettre la cuve à l’envers
* Faire le zéro sur la mauvaise cuve (ou ne pas faire le zéro)
* Mauvaise utilisation du gant

1. **Erreurs mineures non pénalisantes**

/

1. **Diversités des pratiques**

* Diversité des appareils de mesure
* Mesure d’atténuance

1. **Propositions pédagogiques**

* Dosage spectrophotométrique d’une biomolécule
* Dosage d’activité enzymatique