


| | | |
|---|--|---|
| 3 D.2 Détermination du pK_i de deux indicateurs colorés (BBT ¹ et VBC, spectrophotométrie) | | |
| CAPES : 2-9-12-23-24 | Durée : Préparation 30 min Manipulation 40 min | Bibliographie : [M6] [M16] [M27] [M39] |
| Prérequis Savoir utiliser un spectrophotomètre. Connaître la définition de l'absorbance d'une solution, la loi de BEER-LAMBERT et la définition d'un indicateur coloré. | Objectifs Savoir exploiter un spectre UV – visible déterminer le pK_i d'un indicateur. | Thème d'enseignement - Constante d'acidité - indicateur coloré. |
| Matériel 3 A+ : spectrophotomètre et cuves appropriées (avec enregistrement automatique éventuellement) pipette de 5 mL, 1 | Réactifs Éthanol à 95 %,  bleu de bromothymol (BBT) ~ 0,1 g solutions tampons de pH 1,0 – 8,0 et 13,0 OU vert de bromocrésol (VBC) ~ 0,1 g solutions tampons de pH 3,0 – 5,0 et 7,0. | |
| Principe On trace les spectres d'absorption d'une solution de l'indicateur à trois pH différents. La mesure de l'absorbance à trois longueurs d'onde différentes permet de déterminer le pK_i de l'indicateur. | | |
| Mode opératoire a) Préparation de la solution de BBT [VBC] Dissoudre environ 0,1 g de BBT [VBC] dans un peu d'éthanol (~ 10 mL), dans une fiole de 100 mL, puis compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. b) Spectres d'absorption en milieu acide/basique/neutre Dans trois béchers de 100 mL, mélanger 5 mL de la solution de BBT [VBC], 85 mL d'eau distillée et 10 mL de chacune des solutions tampons de pH (1,0 – 8,0 et 13,0) [3,0 – 5,0 et 7,0]. Régler le zéro de l'absorbance avec un « blanc » préparé avec 10 mL des mêmes solutions tampons de pH et 90 mL d'eau (cas d'un spectrophotomètre « simple faisceau ») ou placer cette solution témoin sur la voie de référence (cas d'un spectrophotomètre « double faisceau »). Noter l'absorbance de chaque solution, par pas de 10 à 20 nm, dans le domaine de 400 à 700 nm. Tracer les spectres d'absorption. À défaut d'enregistrement des spectres complets, on peut relever uniquement les valeurs de l'absorbance aux longueurs d'onde pour lesquelles elle est maximum pour chacune des formes, soit 440 nm pour la forme acide (jaune) et 600 nm pour la forme basique (bleue). Ces deux indicateurs absorbant dans le même domaine, ces longueurs d'onde conviennent dans les deux cas ; on peut aussi effectuer la mesure à des longueurs d'onde intermédiaires, 460 et 530 nm par exemple. | | |

¹ BBT : Bleu de BromoThymol ; VBC : Vert de BromoCrésol.

Compléments théoriques

a) Définitions ¹

Transmittance : rapport

Absorbance : A , autrefois transmittance, ($\log 1/T$) concentration du soluté LAMBERT).Coefficient d'absorption la longueur d'onde, de du texte, la mention (T ,

b) Spectres d'absorption

Le bleu de bromothymol en milieu basique. Sa réaction d'hydrolyse est.

en notant $[X] = [X]/C^0$ l : épaisseur de cuve t ϵ_a : coefficient d'absorSi $\text{pH} < \text{p}K_i$, la forme pr D'après la loi de BEER-LSi $\text{pH} > \text{p}K_i$, la forme pr L'absorbance « en milieuEn « milieu neutre », (c L'absorbance étant une s'exprime alors par :

En conjuguant les express

D'où : A ² Cf. 2 A.10.³ Nous ne traitons que du cas du B



Compléments théoriques

a) Définitions ¹

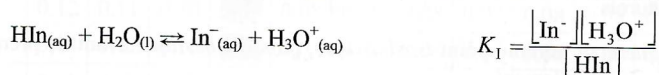
Transmittance : rapport de l'intensité résultante à l'intensité incidente, (I/I_0) .

Absorbance : A , autrefois appelée **densité optique** D , définie comme le logarithme de l'inverse de la transmittance, $(\log 1/T \text{ c'est-à-dire } \log (I_0/I))$. Son intérêt vient de ce qu'elle est proportionnelle à la concentration du soluté qui absorbe (loi de BEER) et à l'épaisseur de solution traversée (loi de LAMBERT).

Coefficient d'absorption molaire : ε , coefficient de proportionnalité entre A et l c, il est fonction de la longueur d'onde, de la température et du pH ; on devrait donc préciser $\varepsilon(T, \text{pH}, \lambda)$. Dans la suite du texte, la mention (T, pH, λ) ne figure pas afin d'alléger l'écriture.

b) Spectres d'absorption ²

Le bleu de bromothymol (BBT) est un indicateur coloré acido-basique jaune en milieu acide et bleu en milieu basique. Sa zone de virage est comprise entre $\text{pH} = 6$ et $\text{pH} = 7,6$. La constante de sa réaction d'hydrolyse est $K_1 = 10^{-7,4}$. Si HIn désigne la forme acide du BBT et In^- sa forme basique :



en notant $[X] = [X]/C^0$ cf. « Avertissement ». Les notations suivantes sont adoptées :

l : épaisseur de cuve traversée par le faisceau, C : concentration analytique en indicateur coloré, ε_a : coefficient d'absorption molaire de HIn , ε_b : coefficient d'absorption molaire de In^- .

Si $\text{pH} < \text{p}K_1$, la forme prédominante de l'indicateur est HIn , forme acide de l'indicateur et $C \sim [\text{HIn}]$. D'après la loi de BEER-LAMBERT, l'absorbance « en milieu acide », A_a , s'exprime par :

$$A_a = l \varepsilon_a C/C^0 \quad (1)$$

Si $\text{pH} > \text{p}K_1$, la forme prédominante de l'indicateur est In^- , forme basique de l'indicateur et $C \approx [\text{In}^-]$. L'absorbance « en milieu basique », A_b , s'exprime alors par :

$$A_b = l \varepsilon_b C/C^0 \quad (2)$$

En « milieu neutre », (c'est-à-dire à $\text{pH} = \text{pH}_n \sim \text{p}K_1$) les deux formes de l'indicateur coexistent. L'absorbance étant une propriété additive des solutions, l'absorbance « en milieu neutre », A_n , s'exprime alors par :

$$\begin{aligned} A_n &= l (\varepsilon_a [\text{HIn}] + \varepsilon_b [\text{In}^-]) \\ A_n &= l (\varepsilon_a (C/C^0 - [\text{In}^-]) + \varepsilon_b [\text{In}^-]) \\ A_n &= l (\varepsilon_a C/C^0 + (\varepsilon_b - \varepsilon_a) [\text{In}^-]) \end{aligned}$$

En conjuguant les expressions de A_a , A_b et A_n , on trouve :

$$\begin{aligned} A_n - A_a &= A_n - A_a = l (\varepsilon_b - \varepsilon_a) [\text{In}^-] \\ A_b - A_n &= A_b - A_n = l (\varepsilon_b - \varepsilon_a) C/C^0 \\ [\text{In}^-] &= C/C^0 (A_n - A_a) / (A_b - A_a) \\ [\text{HIn}] &= C/C^0 (A_b - A_n) / (A_b - A_a) \end{aligned}$$

$$\text{D'où : } K_1 = \frac{(A_n - A_a)}{(A_b - A_n)} 10^{-\text{pH}_n} \quad \text{p}K_1 = \text{pH}_n - \log \frac{(A_n - A_a)}{(A_b - A_n)} \quad (3)$$

¹ Cf. 2 A.10.

² Nous ne traitons que du cas du BBT, la transposition au VBC est aisée.

Cette relation permet de déterminer le pK_I de l'indicateur coloré. Elle n'est valable que si les deux formes de l'indicateur absorbent à la longueur d'onde choisie.

La figure 3 D.2a représente les spectres d'absorption du BBT en milieu « acide », « basique » et « neutre ». Les solutions de BBT sous sa forme acide sont jaunes : cette forme absorbe donc la couleur complémentaire, c'est-à-dire à des longueurs d'onde correspondant au bleu ($\lambda_{\max} \approx 440$ nm) et n'absorbe presque pas dans le domaine de longueurs d'onde correspondant au jaune. Pour les solutions où il est sous sa forme basique, bleue, l'absorption se fait à $\lambda_{\max} \approx 600$ nm.

Les courbes $A = f(\lambda, \text{pH})$ ont donc nécessairement un point commun tel que $A_a(\lambda_i) = A_b(\lambda_i)$ avec pour le BBT, $\lambda_i \approx 495$ nm. D'après les relations (1) et (2) précédentes, on déduit que $\varepsilon_a(\lambda_i) = \varepsilon_b(\lambda_i)$. En considérant l'expression de A_n donnée précédemment en fonction de ε_a et ε_b , on voit que le terme $(\varepsilon_a - \varepsilon_b)$ s'annule. Alors $A_n(\lambda_i) = l \varepsilon_a C/C^0 = A_a(\lambda_i) = A_b(\lambda_i)$ relation indépendante de la valeur du pH.

On appelle *point isobestique* ce point de concours du faisceau de courbes $A = f(\lambda, \text{pH})$.

La relation (3) n'est pas valable à la longueur d'onde λ_i correspondant au point isobestique. En effet, en ce point $A_a = A_b = A_n$ et le terme $\log(A_n - A_a) / (A_b - A_n)$ n'est pas défini.

Compléments culturels

Le point *isobestique* était nommé point *isosbastique*, puis *isosbestique* avant de prendre le nom que nous lui connaissons actuellement.

Le préfixe *iso* est classique, la racine est d'origine grecque *sbestos* de *sbennunai* : éteindre¹. Elle se retrouve dans le nom de l'*asbeste* minéral plus connu sous le nom d'*amiante*, dont les propriétés calorifuges ont été longtemps utilisées. Les anciens cardaient et filaient ses fibres pour en faire des serviettes (nettoyées par chauffage) ou des toiles dans lesquelles ils brûlaient les morts dont ils voulaient conserver les cendres indépendamment de celles du bûcher.

Mesures

Les valeurs de A et λ ont été obtenues en continu à l'aide d'un spectrophotomètre Varian® (Cary 1E) piloté par ordinateur. Les solutions tampons de pH utilisées sont pH = 1,0, pH = 8,0 et pH = 13,0.

Le fichier a ensuite été traité sur ordinateur à l'aide du logiciel Excel®. Cela permet un calcul de pK_I pour chaque longueur d'onde (qu'il serait fastidieux d'effectuer sans cet outil), et de la moyenne résultante. Dans les tableaux 3 D.2a et b ne figurent que des valeurs variant par pas de 10 nm.

Une variante possible consiste à mesurer les absorbances de solutions de BBT dans plusieurs solutions tampons de pH variant de 1 à 13.

Le graphe de la fonction $\log(A_j - A_a) / (A_b - A_j) = f(\text{pH})$ est alors une droite dont la pente est égale à 1 et dont l'ordonnée à l'origine est $-pK_I$.

Calculs

Si l'on ne trace pas les spectres complets, on utilise les mesures faites à trois ou quatre longueurs d'onde choisies assez loin du point isobestique et on applique la formule (3) :

$$pK_I = \text{pH}_n - \log \frac{(A_n - A_a)}{(A_b - A_n)}$$

¹ [D1].

Avec un spectrophotomètre

À 460 nm, $A_a = 0,166$, $A_b =$

À 530 nm, $A_a = 0,021$, $A_b =$

À 560 nm, $A_a = 0,009$, $A_b =$

Tab. 3

| λ / nm | 650 | 6 |
|------------------------|------|---|
| $A (\text{pH} = 1,0)$ | 0,00 | 0 |
| $A (\text{pH} = 8,0)$ | 0,06 | 0 |
| $A (\text{pH} = 13,0)$ | 0,07 | 0 |
| pK_I | 7,20 | 7 |

| λ / nm | 520 | 5 |
|------------------------|------|---|
| $A (\text{pH} = 1,0)$ | 0,04 | 0 |
| $A (\text{pH} = 8,0)$ | 0,12 | 0 |
| $A (\text{pH} = 13,0)$ | 0,14 | 0 |
| pK_I | 7,21 | 7 |

La moyenne de ces valeurs

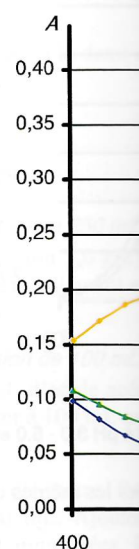


Fig. 3 D.2a : spectre

Avec un spectrophotomètre Milton-Roy ® non interfacé, les mesures manuelles ont donné :

À 460 nm, $A_a = 0,166$, $A_b = 0,042$ et $A_{7,1} = 0,104$ d'où $pK_1 = 7,10$

À 530 nm, $A_a = 0,021$, $A_b = 0,168$ et $A_{7,1} = 0,092$ d'où $pK_1 = 7,13$

À 560 nm, $A_a = 0,009$, $A_b = 0,278$ et $A_{7,1} = 0,127$ d'où $pK_1 = 7,21$

$$pK_{I \text{ moyen}} = 7,2$$

Tab. 3 D.2a : absorbance de solutions de BBT à 3 pH différents.

| λ / nm | 650 | 640 | 630 | 620 | 610 | 600 | 590 | 580 | 570 | 560 | 550 | 540 | 530 |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| A (pH = 1,0) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,03 |
| A (pH = 8,0) | 0,06 | 0,10 | 0,17 | 0,25 | 0,32 | 0,36 | 0,35 | 0,32 | 0,28 | 0,24 | 0,21 | 0,17 | 0,15 |
| A (pH = 13,0) | 0,07 | 0,12 | 0,20 | 0,30 | 0,38 | 0,42 | 0,41 | 0,37 | 0,32 | 0,28 | 0,24 | 0,20 | 0,17 |
| pK_1 | 7,20 | 7,22 | 7,22 | 7,22 | 7,22 | 7,23 | 7,23 | 7,22 | 7,22 | 7,21 | 7,21 | 7,22 | 7,21 |

| λ / nm | 520 | 510 | 500 | 490 | 480 | 470 | 460 | 450 | 440 | 430 | 420 | 410 | 400 |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| A (pH = 1,0) | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,10 | 0,13 | 0,15 | 0,17 | 0,19 | 0,20 | 0,20 | 0,19 | 0,17 | 0,15 |
| A (pH = 8,0) | 0,12 | 0,11 | 0,10 | 0,09 | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,07 | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,10 | 0,11 |
| A (pH = 13,0) | 0,14 | 0,12 | 0,10 | 0,09 | 0,07 | 0,07 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,07 | 0,08 | 0,10 |
| pK_1 | 7,21 | 7,23 | 7,21 | | 7,15 | 7,19 | 7,19 | 7,18 | 7,20 | 7,20 | 7,22 | 7,24 | 7,31 |

La moyenne de ces valeurs est : $pK_1 = 7,2$ pour une valeur tabulée de 7,4.

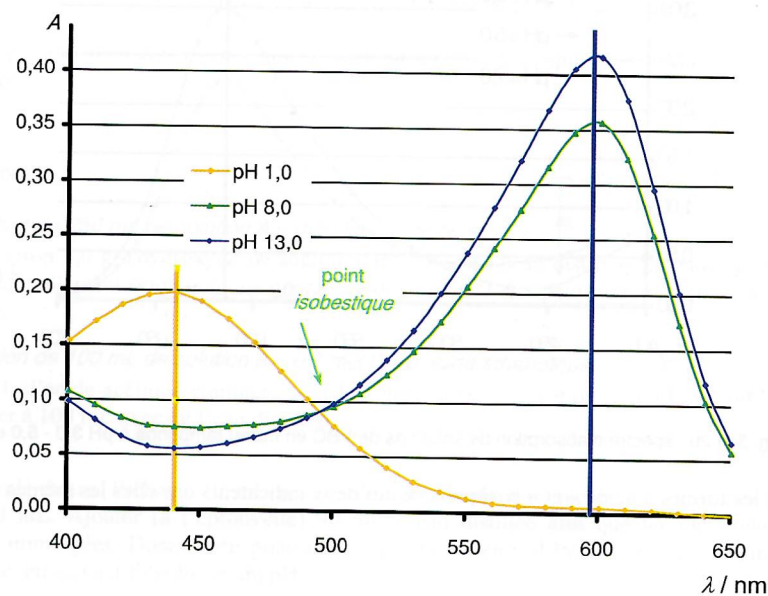


Fig. 3 D.2a : spectre d'absorption de solutions de BBT en milieu tamponné à pH 1,0 - 8,0 et 13,0.

On peut aussi utiliser le vert de bromocrésol [VBC, jaune sous forme acide, bleu sous forme basique comme le BBT] ; son pK_I est de 4,7 et l'on prend alors des solutions tampons de pH en accord avec cette valeur du pK_I [par exemple 3,0, 5,0 et 7,0]. Le même traitement est effectué sur les valeurs obtenues à l'aide du spectrophotomètre Variant® Cary 1E.

Tab. 3 D.2b : absorbance de solutions de VBC à 3 pH différents.

| λ / nm | 650 | 640 | 630 | 620 | 610 | 600 | 590 | 580 | 570 | 560 | 550 | 540 | 530 |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| A (pH = 3,0) | 0,03 | 0,05 | 0,07 | 0,08 | 0,08 | 0,07 | 0,06 | 0,06 | 0,07 | 0,08 | 0,11 | 0,15 | 0,23 |
| A (pH = 5,0) | 1,00 | 1,53 | 1,99 | 2,23 | 2,21 | 1,99 | 1,72 | 1,47 | 1,24 | 1,04 | 0,86 | 0,71 | 0,59 |
| A (pH = 7,0) | 1,33 | 2,03 | 2,64 | 2,96 | 2,92 | 2,65 | 2,30 | 1,96 | 1,65 | 1,37 | 1,12 | 0,90 | 0,72 |
| pK_I | 4,54 | 4,53 | 4,53 | 4,53 | 4,52 | 4,53 | 4,54 | 4,54 | 4,54 | 4,54 | 4,54 | 4,54 | 4,55 |

| λ (nm) | 520 | 510 | 500 | 490 | 480 | 470 | 460 | 450 | 440 | 430 | 420 | 410 | 400 |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| A (pH = 3,0) | 0,32 | 0,45 | 0,59 | 0,77 | 0,94 | 1,10 | 1,22 | 1,30 | 1,31 | 1,26 | 1,17 | 1,03 | 0,89 |
| A (pH = 5,0) | 0,50 | 0,45 | 0,42 | 0,40 | 0,41 | 0,42 | 0,45 | 0,48 | 0,53 | 0,61 | 0,69 | 0,74 | 0,74 |
| A (pH = 7,0) | 0,57 | 0,45 | 0,35 | 0,27 | 0,22 | 0,19 | 0,17 | 0,19 | 0,26 | 0,37 | 0,51 | 0,64 | 0,68 |
| pK_I | 4,55 | | 4,54 | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,56 | 4,57 | 4,60 |

Le calcul mené de la même façon conduit à une valeur moyenne de $pK_I = 4,6$ pour une valeur tabulée de 4,7.

Noter la longueur d'onde correspondant au point isobestique, 510 nm, à laquelle les trois valeurs de l'absorbance apparaissent tout à fait identiques ce qui empêche tout calcul de pK_I en ce point.

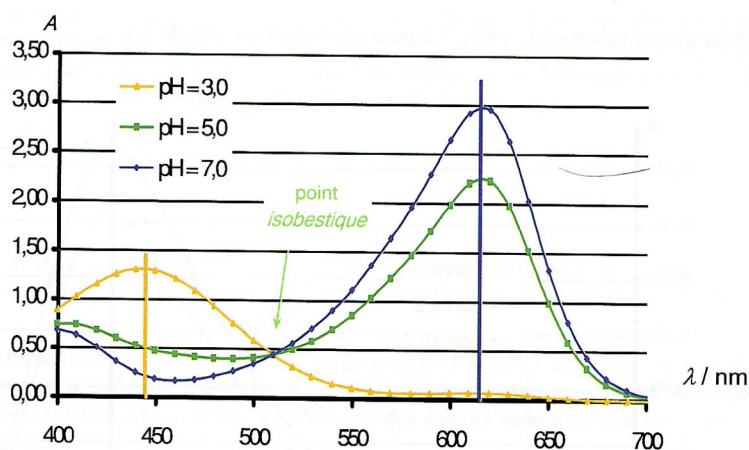


Fig. 3 D.2b : spectre d'absorption de solutions de VBC en milieu tamponné à pH 3,0 - 5,0 et 7,0.

Pourquoi les formes « acide » et « basique » de ces deux indicateurs ont-elles les mêmes couleurs ? ¹

¹ Elles absorbent aux mêmes longueur d'onde. Les formes basiques qui absorbent vers 600 nm, dans l'orange, sont donc bleues et inversement pour les formes acides (couleurs complémentaires l'une de l'autre, cf. annexe 13).

Déterminat

CAPES :

3-9-12-13-(16)-26-

Prérequis

Savoir diluer une solution commerciale
connaître la définition du

Matériel

3 A+ :

erlen de 250 mL (NaOH)

erlen de 150 mL (CH₃CO

Principe

On suit le dosage de l'ac

La valeur du pH à la den
pas trop diluée.

Mode opératoire

a) **Préparation de 250 mL**
Dissoudre environ 1,0 g
Étalonner éventuellement
d'Henderson.

b) **Préparation de 100 mL**
Prélever 1 mL d'acide a
puis compléter à 100 mL

c) **Dosage**
Étalonner le pH-mètre.
bêcher de 50 mL. Ajou
correctement immergées
dans la burette, en suivan

¹ En utilisant du vinaigre au lieu