

## TP20 : Spectrophotométrie

### 1 Objectif du TP

L'objectif de ce TP est d'utiliser un spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance d'une substance colorée acido-basique (le BBT) et de l'utiliser pour doser une solution de BBT de concentration inconnue.

**Attention, il faudra mettre en marche l'ordinateur et le spectrophotomètre dès votre arrivée dans la salle pour laisser à la lampe du spectro le temps de chauffer. Ne pas l'éteindre entre les deux groupes de TP.**

### 2 Principe de la spectrophotométrie

#### 2.1 Spectrophotomètre

Une solution est colorée parce qu'elle contient des molécules qui absorbent certaines longueurs d'onde du spectre visible. De ce fait, la solution éclairée par de la lumière blanche ne laisse passer que les longueurs d'onde qui n'ont pas été absorbées. C'est le mélange de ces longueurs d'onde qui donne sa couleur à la solution.

Un spectrophotomètre est un appareil qui permet de mesurer la proportion de lumière absorbée par la solution à une longueur d'onde donnée. Une des conditions pour pouvoir utiliser la spectrophotométrie est donc que l'espèce étudiée absorbe une des longueurs d'onde émises par la lampe du spectrophotomètre.

Un spectrophotomètre comporte une lampe de lumière blanche qui éclaire un réseau par réflexion. La lumière dispersée par le réseau passe par une fente correctement positionnée, qui permet ainsi de sélectionner une longueur d'onde du spectre. La longueur d'onde sélectionnée peut être modifiée par rotation du réseau.

Le faisceau monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$  ainsi constitué arrive sur une cuve d'épaisseur  $e$ , remplie de la solution à étudier, avec une intensité lumineuse  $I_0$ . Au cours d'une mesure, on place successivement dans la cuve :

- le solvant pur  $S$ . Il en ressort un faisceau d'intensité  $I_S < I_0$  du fait de l'absorption due au solvant et à la cuve.
- une solution de concentration  $c$  d'un produit  $P$  dans  $S$ . Il en ressort un faisceau d'intensité  $I \leq I_S$  du fait de l'absorption due au soluté.

Une cellule photoélectrique mesure l'intensité lumineuse en sortie de la cuve.

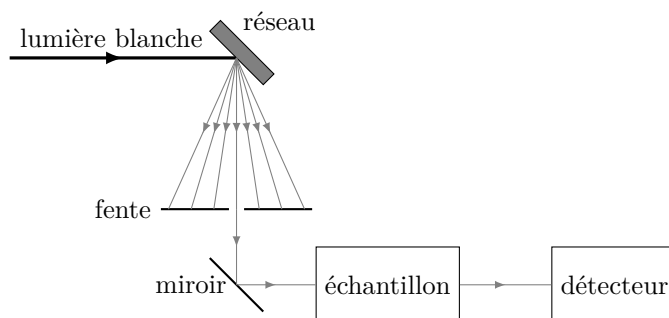


FIG. 1 : Principe d'un spectrophotomètre.

#### 2.2 Absorbance, loi de Beer-Lambert

On appelle **absorbance** (ou *densité optique*) du produit  $P$  pour la longueur d'onde  $\lambda$ , la quantité  $A$  définie par

$$A = \log \left( \frac{I_S}{I} \right) \quad (1)$$

L'absorbance satisfait en général la **loi de Beer-Lambert**

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda)ec \quad , \quad (2)$$

où  $\varepsilon$  est le **coefficient d'extinction molaire**.

Une propriété remarquable de l'absorbance est son additivité. À une longueur d'onde  $\lambda$  donnée, pour un mélange de deux produits  $P_1$  et  $P_2$ , de coefficients d'extinction molaire respectifs  $\varepsilon_1$  et  $\varepsilon_2$ , à des concentrations  $c_1$  et  $c_2$ , l'absorbance du mélange sera  $A = A_1 + A_2 = \varepsilon_1 c_1 e + \varepsilon_2 c_2 e$ .

Lorsque deux espèces chimiques ont la même absorbance pour une longueur d'onde donnée, les points où leurs absorbances sont les mêmes est appelé **point isobestique**. L'absorbance à ces longueurs d'onde d'un mélange des deux espèces ne dépend pas de la proportion des deux espèces.

### 3 Détermination du $pK_a$ d'un indicateur coloré acido-basique

#### 3.1 Rappels sur les indicateurs colorés acido-basiques

Un indicateur coloré acido-basique est une espèce chimique dont la forme acide  $\text{HIn}$  et la forme basique  $\text{In}^-$  ont des couleurs différentes. Cette espèce appartient donc à un couple acide/base  $\text{HIn}/\text{In}^-$ , dont on va chercher dans cette partie à déterminer le  $pK_a$ .

L'indicateur coloré étudié dans ce TP est le bleu de bromotymol (BBT).

#### 3.2 Manipulation : réalisation du faisceau de courbes d'absorbance

##### 3.2.1 Préparation des solutions

Nous allons préparer des solutions  $S_i$  de pH croissant, avec une concentration totale en indicateur coloré  $C = [\text{HIn}]_i + [\text{In}^-]_i$  identique. Pour cela, on va utiliser la solution de Britton-Robinson. Il s'agit d'un mélange de trois acides faibles (acide phosphorique, acide borique et acide éthanoïque) qui présente la particularité de former une solution tampon dont le pH est ajustable par ajout de soude. De plus le pH est une fonction affine de la quantité de soude ajoutée.

- À l'aide de la pipette jaugée, prélever dans un premier bécher un volume  $V = 20\text{ ml}$  de solution de Britton-Robinson.
- Ajouter, à la burette, le volume  $V_i$  de solution de soude à la concentration  $c_1 = 1,00 \cdot 10^{-1} \text{ mol } \ell^{-1}$  selon les indications figurant dans le tableau suivant

Solution	$S_1$	$S_7$	$S_8$	$S_9$	$S_{10}$	$S_{11}$
$V_i \text{ (ml)}$	4,00	7,00	7,50	8,00	8,50	9,00

- À l'aide d'une pipette jaugée, prélever  $20\text{ ml}$  de la solution obtenue dans un second bécher. Y ajouter à l'aide de l'autre burette  $2,00\text{ ml}$  de BBT de concentration  $c_2 = 3,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol } \ell^{-1}$ . Quelle est la valeur de  $C$  ?
- Mesurer le pH de la solution  $S_i$ .

##### 3.2.2 Réalisation du faisceau de courbes

- Les cuves doivent être tenues par les faces striées. Il faut prendre toujours la même cuve introduite toujours dans le même sens (flèche à droite). La cuve doit être remplie aux  $2/3$  et bien enfoncée dans l'appareil.
- Choisir l'option *spectre d'absorption*. On sélectionnera l'absorbance  $A$ .
- Faire le *blanc* en remplissant la cuve avec de l'eau et en cliquant sur *mesure*.
- Faire les mesures en remplissant la cuve successivement avec les différentes solutions par ordre de pH croissant. On n'utilisera qu'une seule cuve. Avant de cliquer sur *mesure*, il faut donner un nom à la courbe et choisir sa couleur. Pour la mesure suivante, cliquer sur *nouveau*.
- Les courbes sont bonnes lorsqu'elles passent toutes par le même point : le point isobestique. Pour éliminer une courbe, il faut cliquer sur son onglet. Quand le résultat est satisfaisant, imprimer.

On obtient un faisceau de courbes qui passent toutes par le même point (voir figure 2).

On a donc :

- La courbe acide  $A_a(\lambda)$  qui correspond à la courbe où seul  $\text{HIn}$  est présent. Cette courbe passe par un maximum pour la longueur d'onde  $\lambda_{a,\text{max}}$ .
- La courbe basique  $A_b(\lambda)$  qui correspond à la courbe où seul  $\text{In}^-$  est présent. Cette courbe passe par un maximum pour la longueur d'onde  $\lambda_{b,\text{max}}$ .
- Des courbes intermédiaires  $A_i(\lambda)$ . On note  $A_{ib}$  (respectivement  $A_{ia}$ ) l'absorbance de cette courbe à la longueur d'onde  $\lambda_{a,\text{max}}$  (respectivement  $\lambda_{b,\text{max}}$ ).

À l'aide du pointeur (bouton droit de la souris), relever les valeurs de  $A_{ib}$

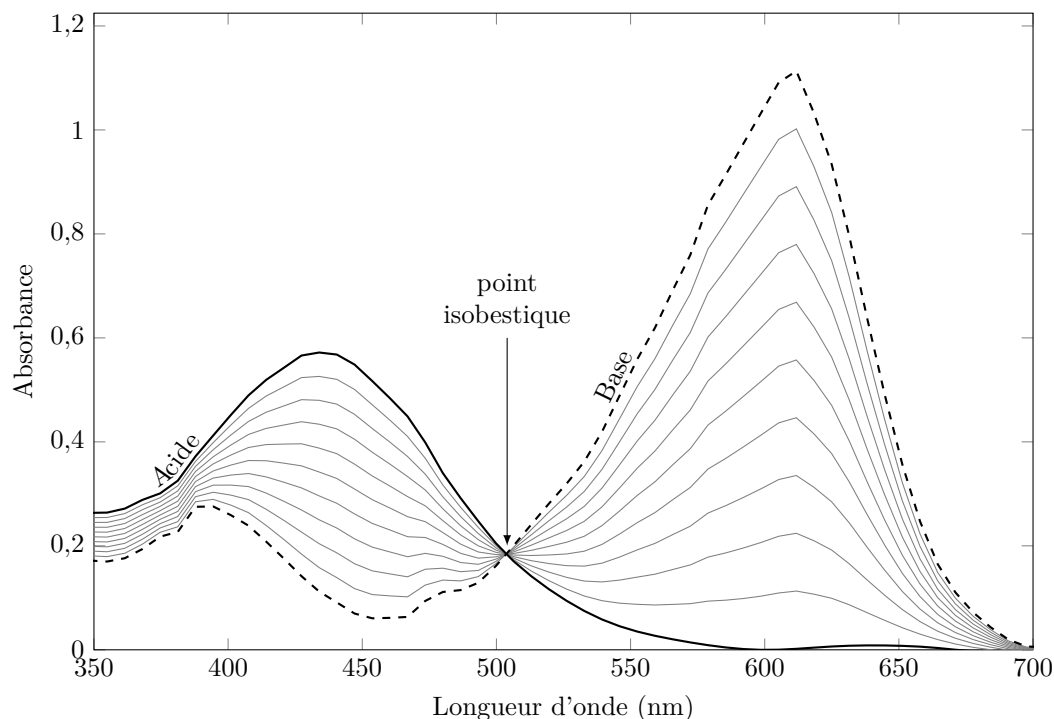


FIG. 2 : Absorbance du BBT à différents pH.

### 3.3 Exploitation : Détermination du $pK_a$ du BBT

On commence par écrire la loi de Beer-Lambert pour les solutions acide et basique

$$A_a(\lambda) = \varepsilon_a(\lambda)eC \quad \text{et} \quad A_b(\lambda) = \varepsilon_b(\lambda)eC \quad (3)$$

Pour une courbe intermédiaire, on a

$$A_i(\lambda) = \varepsilon_a(\lambda)e[\text{Hin}]_i + \varepsilon_b(\lambda)e[\text{In}^-]_i = x_i A_a(\lambda) + (1 - x_i) A_b(\lambda) \quad \text{avec} \quad x_i = \frac{[\text{Hin}]}{C} \quad (4)$$

Par ailleurs, le pH de cette solution est  $\text{pH}_i = \text{p}K_a + \log\left(\frac{[\text{In}^-]_i}{[\text{Hin}]_i}\right) = \text{p}K_a + \log\left(\frac{1-x_i}{x_i}\right)$ . Donc finalement

$$\text{p}K_a = \text{pH}_i + \log\left(\frac{A_i(\lambda) - A_b(\lambda)}{A_a(\lambda) - A_i(\lambda)}\right) \quad (5)$$

On choisira  $\lambda = \lambda_{b,\max}$ .

- Pour cette longueur d'onde, calculer la valeur  $\text{p}K_{a_i}$  obtenue pour chaque pH, puis la valeur moyenne du  $\text{p}K_a$ .

## 4 Tracé du diagramme de distribution

On souhaite tracer sur un même graphique  $x = \frac{[\text{Hin}]}{C}$  et  $1 - x = \frac{[\text{In}^-]}{C}$ . Or, on a

$$x_i = \frac{A_i(\lambda) - A_b(\lambda)}{A_a(\lambda) - A_b(\lambda)} \quad (6)$$

En se plaçant à  $\lambda = \lambda_{b,\max}$ , tracer le diagramme de distribution expérimental du BBT. Le comparer au diagramme attendu et en déduire une autre valeur du  $\text{p}K_a$ .

## 5 Dosage d'une solution de faible concentration

### 5.1 Principe

Nous allons voir comment déterminer la concentration d'une solution par spectrophotométrie. Le dosage se fait en trois étapes :

- Choix d'une longueur d'onde appropriée ;
- Construction d'une échelle de concentrations pour cette longueur d'onde ;
- Dosage de la solution inconnue.

## 5.2 Choix de la longueur d'onde

La courbe d'absorbance de la solution  $S_6$  (présente sous la hotte) présente un pic pour une longueur d'onde voisine de 620 nm. C'est cette longueur d'onde que nous allons utiliser.

- Compléter le faisceau de courbes avec celle de la solution  $S_6$ .
- Repérer la longueur d'onde  $\lambda_{\max}$  ainsi que l'absorbance correspondante  $A_{\max}$ .

## 5.3 Manipulation : établissement de l'échelle des concentrations

L'objectif est d'établir une échelle  $A_{\max} = f(c)$  pour le BBT. on s'associera par paires de binômes pour préparer les solutions, c'est-à-dire qu'un binôme travaillera sur les solutions  $S_A$ ,  $S_B$ ,  $S_C$  et l'autre sur les solutions  $S_D$ ,  $S_E$  et  $S_6$ . Les résultats seront mis en commun.

- Prélever environ 50 mL de la solution  $S_6$  et réaliser dans des béchers, avec des pipettes jaugées appropriées, les mélanges indiqués dans le tableau ci-dessous :

Solution	$S_1$	$S_B$	$S_C$	$S_D$	$S_E$	$S_6$
Volume de $S_6$ (mL)	5,0	5,0	5,0	10,0	30,0	Volume restant
Volume d'eau distillée (mL)	20,0	10,0	5,0	5,0	5,0	0
$c$	0,2C	0,33C	0,5C	0,67C	0,8C	C

- Choisir l'option *acquisition manuelle*. Choisir une seule longueur d'onde  $\lambda_{\max}$  déterminée précédemment. La grandeur mesurée en abscisse est  $c$  en  $\text{mol l}^{-1}$ .
- Faire les acquisitions manuelles pour chaque concentration. Avant chaque mesure, indiquer la concentration de la solution contenue dans la cuve, par exemple 4,8e-5 (avec une virgule comme séparateur décimal).
- Lorsque toutes les mesures sont faites, cliquer sur l'icône *traitement des données* puis *régression* et *tracer*. La droite apparaît.
- Revenir à la page précédente en cliquant sur *affichage* puis *spectro*.

## 5.4 Détermination d'une concentration inconnue

On dispose d'une solution  $S$  obtenue par dilution de  $S_6$ , de concentration  $c_S$  inconnue en BBT qu'on cherche à déterminer.

- Faire une acquisition manuelle avec la solution  $S$ .
- À l'aide du pointeur, en déduire la concentration de la solution. Essayer de déterminer l'incertitude sur cette valeur.