

TP22 : 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 λ 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.

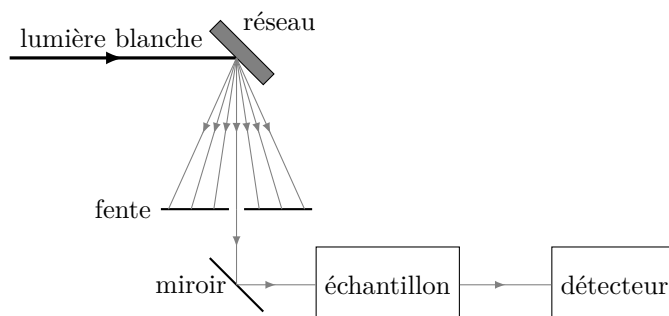


FIG. 1 : Principe d'un spectrophotomètre.

2.2 Absorbance, loi de Beer-Lambert

On appelle **absorbance** (ou *densité optique*) du produit P pour la longueur d'onde λ , 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 ε est le **coefficient d'extinction molaire**.

Une propriété remarquable de l'absorbance est son additivité. À une longueur d'onde λ donnée, pour un mélange de deux produits P_1 et P_2 , de coefficients d'extinction molaire respectifs ε_1 et ε_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 HIn et la forme basique In^- ont des couleurs différentes. Cette espèce appartient donc à un couple acide/base HIn/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 Réalisation du faisceau de courbes

Des solutions S_i ($i \in [1, 6, 7, 8, 9, 10, 11]$) de pH croissant, avec une concentration totale en indicateur coloré $C = [\text{HIn}] + [\text{In}^-]$ identique ont été préparées, constituant ainsi une échelle de teintes. On donne $C = 2,73 \cdot 10^{-5} \text{ mol } \ell^{-1}$.

- Mesurer le pH des différentes solutions. **Attention, pour ne pas consommer trop de solution, les mesures de pH feront l'objet d'une mise en commun : la paillasse numéro i mesurera le pH de la solution S_i .** Les résultats seront reportés au tableau.

Nous allons maintenant réaliser le 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.
- Pour chaque courbe, la cuve sera remplie directement sous la hotte grâce à la pipette pasteur présente dans le verre à pied se trouvant devant le bécher de solution S_i .
- 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*. Entre deux mesures consécutives, vider la cuve, la rincer avec un peu de la solution suivante et la remplir.
- 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.

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

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

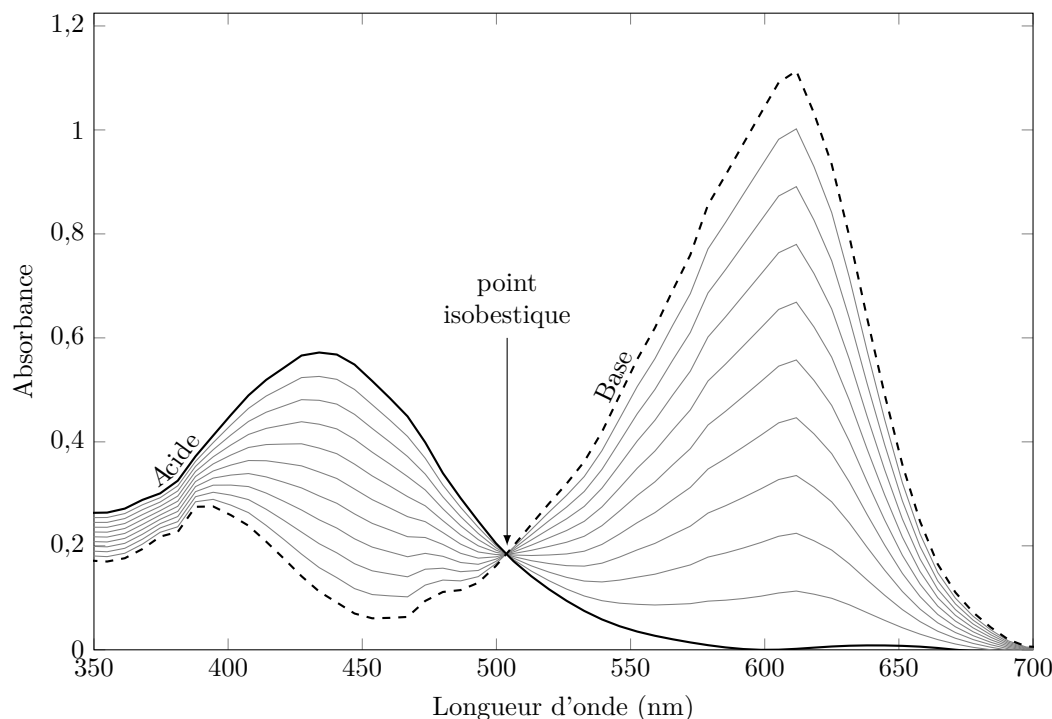


FIG. 2 : Absorbance du BBT à différents pH.

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 λ_{\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_A	S_B	S_C	S_D	S_E	S_6
Volume de S_6 (ml)	5,0	5,0	5,0	10,0	20,0	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 λ_{\max} déterminée précédemment. La grandeur mesurée en abscisse est c en $\text{mol}\ell^{-1}$.
- Faire le blanc avec l'eau.
- 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).
- Relever les coordonnées de chaque point, les reporter dans un script `python` pour faire une régression linéaire.
- 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 .
- Reporter ce point sur la droite tracée par régression linéaire et en déduire la valeur de c_S .