

TP S1.1 : Utilisation de la spectrophotométrie

La spectrophotométrie est l'étude quantitative des interactions entre la lumière et la matière.

Couleurs du spectre visible

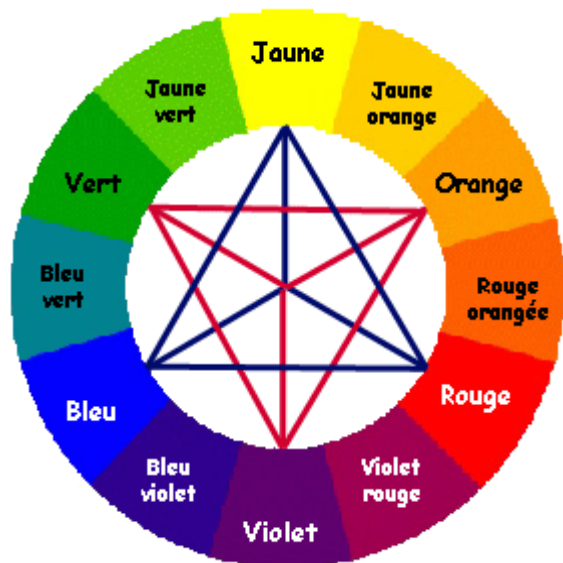
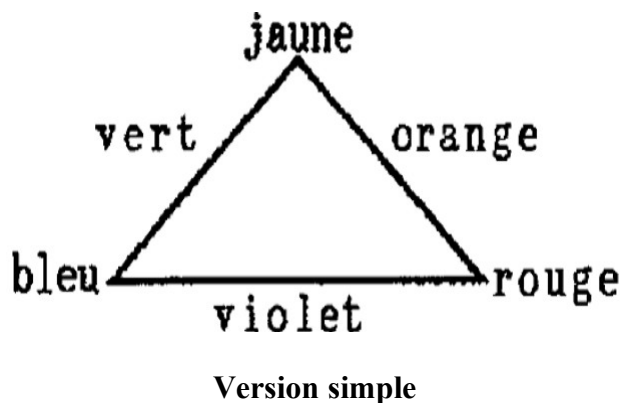
Bien qu'il soit continu et qu'il n'y ait pas de frontière claire entre une couleur et la suivante, le tableau suivant donne les limites approchées des couleurs du spectre :

Couleur	Rouge	Orange	Jaune	Jaune Vert	Vert	Bleu Vert	Bleu	Bleu Violet	Violet
Longueur d'onde (nm)	800 à 620	620 à 590	590 à 575	575 à 560	560 à 530	530 à 490	490 à 465	465 à 435	435 à 400

Triangle des couleurs

Lorsque la lumière traverse une substance, elle est en partie transmise et en partie absorbée. Une substance colorée absorbe dans le domaine du visible du spectre des radiations magnétiques ($380 \text{ nm} < \lambda < 800 \text{ nm}$).

Un moyen simple de déterminer la couleur absorbée par un corps connaissant sa teinte, ou sa teinte connaissant la couleur absorbée est le triangle des couleurs qui permet d'associer couleur absorbée et couleur complémentaire observée (en transmission ou en réflexion).



Loi de Beer-Lambert

Les lois régissant l'absorption de la lumière par une substance colorée ont été formulées en 1730 par Lambert et généralisées aux solutions par Beer en 1852.

Si un faisceau de lumière monochromatique de longueur d'onde λ traverse une cuve de longueur l contenant une solution d'une substance colorée à la concentration c ; soit $I_0(\lambda)$ l'intensité lumineuse de ce faisceau à l'entrée de la cuve et $I(\lambda)$ son intensité à la sortie, alors l'absorption de cette lumière par la solution peut être caractérisée par deux grandeurs :

- La transmittance $T(\lambda)$ donne le pourcentage de lumière que transmet la solution :

$$T(\lambda) = \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \leq 1 \quad ; \quad \% T(\lambda) = T(\lambda) 100$$

- L'absorbance $A(\lambda)$, anciennement appelée densité optique, est définie par :

$$A(\lambda) = \log\left(\frac{1}{T(\lambda)}\right) = \log\left(\frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda)}\right)$$

L'expérience montre que pour une solution peu concentrée en substance absorbante, l'absorbance $A(\lambda)$ est à une température donnée, proportionnelle à la longueur de la cuve l et à la concentration molaire C de la substance, ce qui traduit la loi de Beer-Lambert :

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) l C$$

$\varepsilon(\lambda)$ est le coefficient d'absorption molaire de la substance considérée.

Ce coefficient dépend de :

- la nature de la substance,
- la longueur d'onde de la lumière,
- la nature du solvant,
- la température.

L'absorbance est une grandeur sans dimension ; dans les unités cohérentes du système international, l est une distance exprimée en m, la concentration molaire C est en $\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$, aussi $\varepsilon(\lambda)$ s'exprime-t-il en $\text{m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$.

Additivité des absorbances

Considérons une cuve de longueur l contenant une solution renfermant n substances colorées, chacune ayant une concentration molaire C_i et un coefficient d'absorption molaire $\varepsilon_i(\lambda)$ à la longueur d'onde et la température considérées.

Chaque substance a une absorbance A_i telle que : $A_i(\lambda) = \varepsilon_i(\lambda) l C_i$

L'expérience montre que, pour les solutions diluées, l'absorbance totale $A(\lambda)$ de la solution

est la somme des absorbances partielles : $A(\lambda) = \sum_{i=1}^{i=n} A_i(\lambda) = l \sum_{i=1}^{i=n} (\varepsilon_i(\lambda) C_i)$

Le spectrophotomètre

Le principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre permet de choisir la longueur d'onde de la lumière qui va traverser la cuve et de mesurer la transmittance T ou l'absorbance A .

Réalisation de mesures

- On fixe une longueur d'onde et les filtres appropriés ;
- afin d'étudier l'absorption de la lumière par la substance colorée seule, il faut tenir compte de la lumière absorbée par la cuve et le solvant ; il faut donc faire le « blanc » en remplissant la cuve avec le solvant seul et en veillant à ce que les parois soient bien propres, on la place dans le spectrophotomètre et on règle la transmittance sur 100% ou l'absorbance sur 0 ;
- enfin on remplit une autre cuve avec la solution étudiée, on sèche ses parois et on la place dans le spectrophotomètre afin de lire la valeur affichée.
- La remise à zéro de l'absorbance avec le solvant, doit être effectuée pour toute nouvelle longueur d'onde λ , les coefficients d'absorption molaire du solvant et du matériau constituant la cuve dépendant, eux aussi de λ .

Partie expérimentale : étude spectrophotométrique du rouge de méthyle et vérification de la loi de Beer – Lambert

Capacités exigibles :

- utilisation d'un spectrophotomètre pour mesure une absorbance dans le visible ;
- mise en œuvre d'une dilution de solution aqueuse ;
- tracé, modélisation mathématique et utilisation d'une droite d'étalonnage ;
- calcul d'une concentration molaire à partir d'une concentration massique.

I – Tracé du spectre d'absorption du rouge de méthyle

À l'aide d'un spectrophotomètre, on a mesuré l'absorbance en fonction de la longueur d'onde de la lumière, notée λ .

Les valeurs expérimentales sont fournies dans le tableau ci-dessous pour une solution aqueuse de rouge de méthyle à $10,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (concentration massique T_0) :

λ (nm)	400	420	440	460	480	500	510	520	530	540	560	580	600
A	0,033	0,114	0,296	0,640	1,177	1,700	1,907	1,960	1,899	1,736	1,035	0,293	0,045

- 1°) Représenter avec python le spectre d'absorption du rouge de méthyle dans le domaine de longueur d'onde [400 nm ; 600 nm].
- 2°) Déterminer la longueur d'onde du maximum d'absorption (notée λ_{max}). Calculer l'énergie qui correspond à la longueur d'onde λ_{max} en Joule (J), en électron-Volt (eV).
- 3°) À quelle couleur du domaine du visible correspond-t-elle ? Quelle est la couleur observée pour la solution ? Pourquoi ?

Données : $h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$; $c = 2,998 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$; $1 \text{ eV} = 1,602 \cdot 10^{-19} \text{ J}$

II – Mesure de l'absorbance de la solution fournie

Prévoir deux cuves : l'une, contenant de l'eau distillée et l'autre, contenant un échantillon de la solution aqueuse de rouge de méthyle fournie.

Régler le spectrophotomètre à la longueur d'onde du maximum d'absorption λ_{max} .

Remplir les cuves à moitié, bien essuyer l'extérieur avec du papier et les placer dans l'appareil en respectant le sens du trajet lumineux (flèches indicatrices).

Régler le zéro d'absorbance de l'appareil avec la cuve d'eau distillée.

Réaliser la mesure d'absorbance de la solution de rouge de méthyle fournie à $10,0 \text{ mg.L}^{-1}$.

III – Vérification de la loi de Beer – Lambert

Réaliser la mesure d'absorbance de la solution de rouge de méthyle fournie à $10,0 \text{ mg.L}^{-1}$.

En plus de la valeur précédente, on souhaite réaliser quatre mesures aux facteurs de dilutions suivants ($F = 2 - 2,5 - 4 - 10$) en relevant l'absorbance A pour λ_{max} .

Pour cela, on prépare les solutions diluées à partir **de la solution de rouge de méthyle fournie à $10,0 \text{ mg.L}^{-1}$** et de l'eau distillée en utilisant des pipettes jaugées ($10,0$; $20,0$ ou $25,0 \text{ mL}$) et des fioles jaugées ($50,0$ ou $100,0 \text{ mL}$.)

- 1°) Préciser pour chaque dilution effectuée le matériel utilisé et la concentration massique T correspondante. Mesurer les absorbances.
- 2°) Représenter avec python le graphe $A = f(T)$ entre 0 et $10,0 \text{ mg.L}^{-1}$ pour λ_{max} . Que remarque-t-on ?
- 3°) Peut-on affirmer en le justifiant que la loi de Beer Lambert est vérifiée ? Que peut-on conclure et quelles données sont nécessaires pour déterminer le coefficient d'absorption molaire $\varepsilon(\lambda_{\text{max}})$?

IV – Utilisation de la droite d'étalonnage

On considère le graphe précédent comme une droite d'étalonnage.

On souhaite déterminer par une mesure d'absorption, pour la solution inconnue la concentration massique T_{inc} en rouge de méthyle (on sait que sa valeur est de l'ordre de 200 mg.L^{-1}).

- 1°) Quel facteur de dilution allez-vous choisir ? Comment aller vous procéder pour effectuer cette dilution en n'utilisant que le matériel du **III** – ?

La solution diluée doit rester acide pour ne pas modifier les propriétés colorées ; pour cela, la dilution doit se faire **avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$**

- 2°) Mettre en œuvre expérimentalement la dilution de la solution inconnue. Mesurer l'absorbance de la solution diluée pour λ_{max} .
- 3°) Effectuer la détermination de la concentration massique de la solution diluée et en déduire la concentration massique de la solution initiale T_{inc} .
- 4°) La formule brute de la molécule de rouge de méthyle est $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$, en déduire la concentration molaire de la solution inconnue et de la solution diluée.
- 5°) Par la méthode de votre choix calculer $\varepsilon(\lambda_{\text{max}})$ le coefficient d'absorption molaire du rouge de méthyle à cette longueur d'onde dans l'unité du système international (m, mol). On précise que l'épaisseur de la cuve est de $1,0 \text{ cm}$.

Données : conversion : $1 \text{ mg} = 10^{-3} \text{ g}$; $1 \text{ cm} = 10^{-2} \text{ m}$; $1 \text{ L} = 10^{-3} \text{ m}^3$

masse molaire en g.mol^{-1} : $M(\text{H}) = 1,0$; $M(\text{C}) = 12,0$; $M(\text{N}) = 14,0$; $M(\text{O}) = 16,0$.