

TP de chimie. Détermination du pKa d'un indicateur coloré par spectrophotométrie

I Principes de la spectrophotométrie

La spectrophotométrie est une technique d'analyse qualitative et quantitative, de substances absorbant un rayonnement électromagnétique de longueur d'onde comprise entre 300 et 900 nm avec le type d'appareil utilisé.

Lorsqu'une substance absorbe dans le domaine du visible ($400 \text{ nm} < \lambda < 700 \text{ nm}$), l'œil ne perçoit en regardant cette substance que les radiations non absorbées, c'est pourquoi celle-ci nous apparaît colorée, de la couleur complémentaire à celle de la radiation absorbée.

1. Définition

Soit un faisceau parallèle de lumière monochromatique (de longueur d'onde λ) d'intensité I_0 traversant une solution absorbante de concentration C sur une longueur de cuve l (cm).

L'intensité du faisceau émergent est I . On définit : $A = \log(I_0 / I)$ l'absorbance ou la densité optique (notée aussi D).

2. Loi de Beer-Lambert

$$A = \varepsilon(\lambda)lc$$

C : concentration (mol.L^{-1}) dans un solvant non absorbant ou dont l'absorption est compensée.

ε : coefficient d'extinction molaire du soluté.

l : longueur de la cuve (cm).

ε dépend de la substance absorbante, de la longueur d'onde du faisceau λ et de la température.

La loi de Beer-Lambert est une loi limite, valable si la solution est diluée et si on se place à une longueur d'onde λ proche du maximum d'absorption.

3. Loi d'additivité des densités optiques

Dans le cas de mélanges homogènes dilués, les absorbances optiques des différentes espèces contenues dans le mélange sont additives : $A = l \sum \varepsilon_i(\lambda)c_i$

Le solvant est souvent lui-même absorbant. Pour connaître l'absorbance d'un soluté, il faut compenser l'absorbance du solvant en réglant le « zéro » de l'appareil.

Par la suite, on notera absorbance ou densité optique d'une espèce, la valeur de l'absorbance due uniquement à la contribution de cette espèce (absorbance totale diminuée de l'absorbance du solvant).

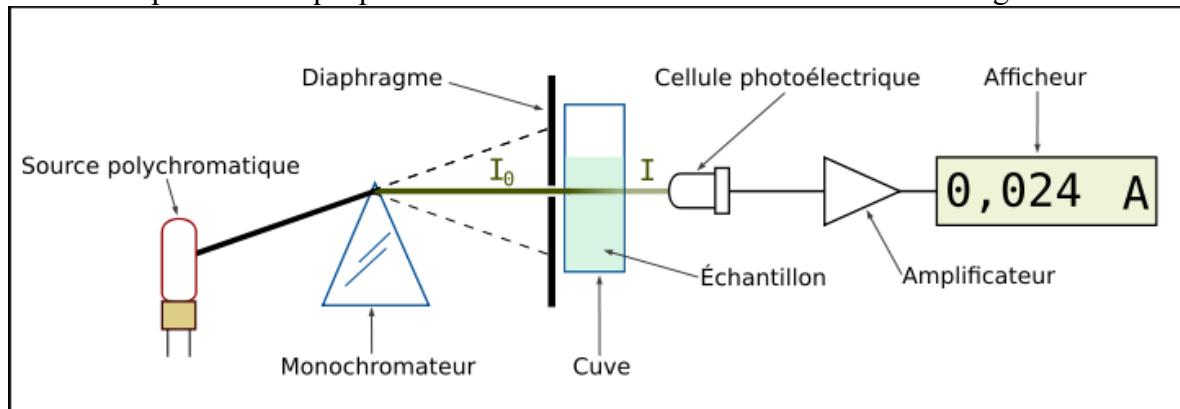
À concentration donnée, la courbe $A = f(\lambda)$ est appelée spectre d'absorption de la substance.

4. Utilisation du spectrophotomètre

a) Description de l'appareil

L'appareil comprend une source lumineuse (lampe à iodé) et un dispositif optique (prisme ou réseau) permettant de sélectionner une longueur d'onde, afin de disposer d'un faisceau quasi-monochromatique.

Après avoir traversé une cuve contenant le solvant seul ou la solution étudiée, le faisceau arrive sur une cellule photoélectrique permettant de mesurer l'intensité lumineuse émergente.



b) Précautions de manipulation

Il est préférable de tenir les cuves par l'extrémité supérieure afin de ne pas laisser de traces de doigts sur la partie traversée par le faisceau lumineux.

Les cuves doivent être remplies avec précaution afin d'éviter la formation de bulles. On ne les remplit pas plus qu'aux 2/3.

On les essuie avec du papier Joseph avant de les introduire dans le porte cuve. Attention, deux côtés sont dépolis.

II Vérification de la loi de Beer-Lambert

On dispose d'une solution colorée de Sel de Mohr (Fe^{2+}) de concentration C_0 .

A l'aide d'une fiole jaugée et des pipettes disponibles, réaliser des solutions diluées de concentration : $C_0/2$, $C_0/5$, $C_0/10$.

Sachant que l'on a besoin seulement de quelque mL de chaque solution, pour effectuer une mesure d'absorbance, on peut prélever une fraction de solution diluée pour réaliser une solution encore plus diluée.

On se place au maximum d'absorption de la substance colorée (la longueur d'onde utilisée est $\lambda = 850 \text{ nm}$), par *outils/mesure à λ fixe*. On choisit la longueur d'onde, puis on valide par « appliquer ». On met la cuve d'eau distillée, puis on valide « autozéro ».

On mesure les absorbances des quatre solutions de concentration différentes.

- Mettre dans l'appareil une cuve contenant la solution connue.
- Cliquer sur « étalonnage » puis « ajouter », entrer le nom, la concentration, puis « OK ». Noter la valeur de A.
- Recommencer pour les autres solutions connues.
-

La courbe d'étalonnage s'affiche au fur et à mesure.

Vérifier ainsi la loi de Beer Lambert en donnant les résultats de la régression linéaire.

III Détermination du pKa d'un indicateur coloré

1. Principe

L'indicateur coloré étudié est le bleu de bromothymol (BBT) qui est jaune en milieu acide et bleu en milieu basique. $\text{InH} + \text{H}_2\text{O} = \text{In}^- + \text{H}_3\text{O}^+$

InH et In^- étant de couleurs différentes présentent des spectres d'absorption différents, dont l'allure à la même concentration C est la suivante (on représente en pointillé le spectre d'un mélange des deux substances InH et In^- tel que $[\text{InH}] + [\text{In}^-] = C$).

λ_1 et λ_2 correspondent aux maxima d'absorption respectivement de InH et de In^- .

Soit un mélange de InH et de In^- tel que $[\text{InH}] + [\text{In}^-] = C$ la concentration totale en indicateur coloré, avec $[\text{InH}] = (1-x).C$ et $[\text{In}^-] = x.C$.

Comme les spectres d'absorption $A = f(\lambda)$ de InH et de In^- à la même concentration se coupent en un point, montrer que le spectre d'absorption d'un mélange de InH et de In^- tel que la concentration totale de l'indicateur est C, passe lui aussi par ce point appelé point isobestique, pour toute valeur de x.

Plaçons nous à une longueur d'onde λ quelconque. Soient ϵ_a et ϵ_b les coefficients d'extinction molaire de InH et de In^- à cette longueur d'onde.

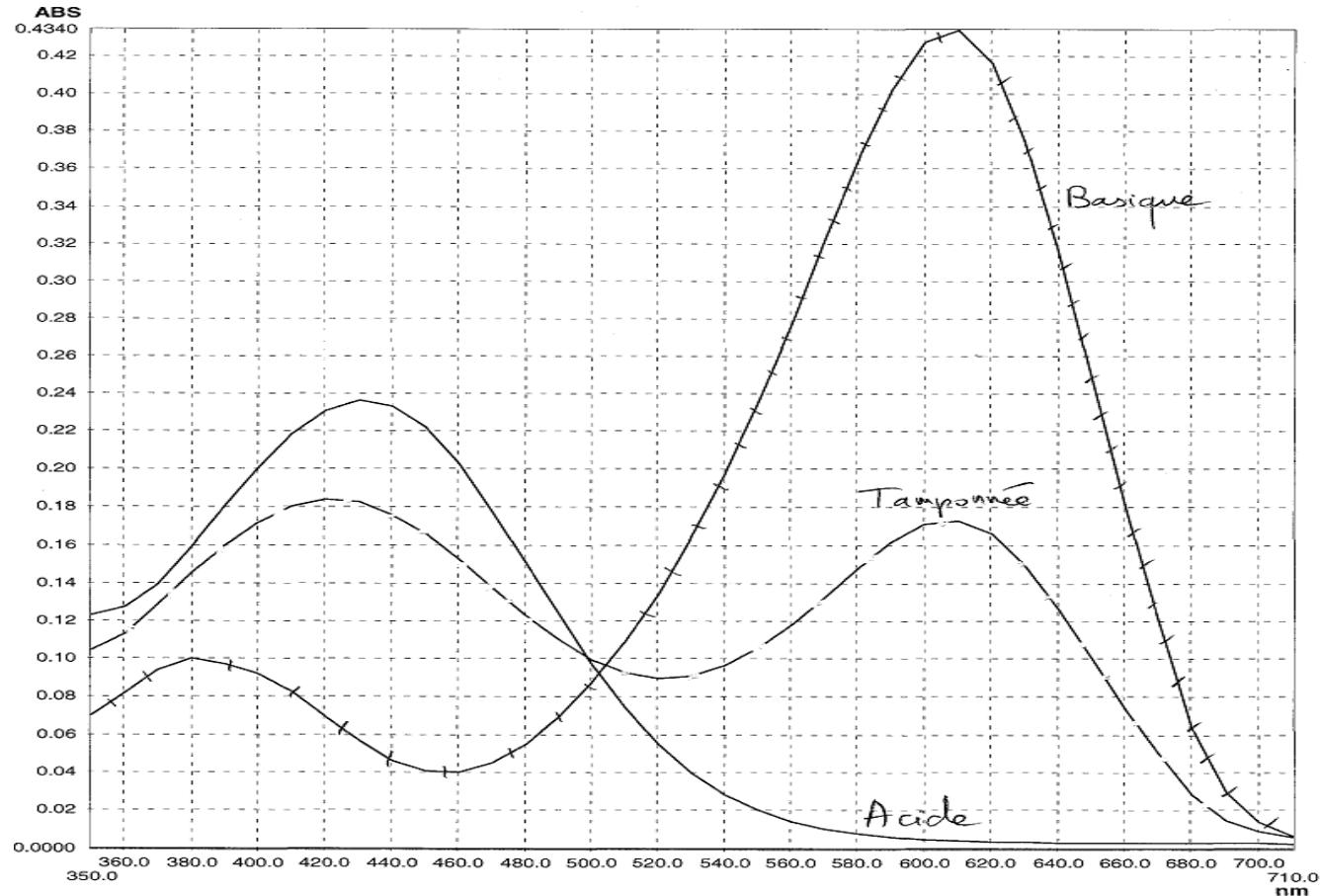
Dans le cas où $[\text{InH}] \gg [\text{In}^-]$, exprimer l'absorbance A_a du mélange en fonction de l , ϵ_a et C.

Dans le cas où $[\text{InH}] \ll [\text{In}^-]$, exprimer l'absorbance A_b du mélange en fonction de l , ϵ_b et C.

Dans le cas où aucune des formes de l'indicateur n'est négligeable devant l'autre, exprimer l'absorbance

A du mélange en fonction de x, A_a et A_b puis montrer que l'on a la relation :

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{A - A_a}{A_b - A}\right)$$



2. Manipulation

a) Préparation des solutions de InH et de In^- ayant même concentration C.

Solution acide de InH de couleur jaune

Dans une fiole jaugée de 50mL, ajouter 5 mL de solution d'indicateur coloré, 10 mL d'acide chlorhydrique HCl 1mol.L^{-1} puis compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 50 mL.

Solution basique de In^- de couleur bleue

Dans une fiole jaugée de 50mL, ajouter 5 mL de solution d'indicateur coloré, 10 mL d'hydroxyde de sodium NaOH 1mol.L^{-1} puis compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 50 mL.

Solution tamponnée à $\text{pH} = 7$ de couleur verte La conserver en entier dans un bécher.

Dans une fiole jaugée de 50mL, ajouter 5 mL de solution d'indicateur coloré, 10 mL de solution tampon de $\text{pH} = 7$ (qui se trouve sous la hotte) puis compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 50 mL.

b) Spectres d'absorption et point isobestique

- Réglage de la ligne de base :

Cliquer sur le bouton (en haut à gauche ou par le menu *spectre*). Régler les longueurs d'onde de départ et d'arrivée entre 350 nm et 710 nm. Choisir un pas de 10nm. Valider (par exemple) « 1s » dans la ligne « moyenne », valider l'option « ligne de base ». Mettre la cuve d'eau distillée dans l'appareil et lancer l'acquisition. A la fin, cliquer sur « oui » pour « prendre ce spectre comme ligne de base ».

- Tracer sur le même graphe les spectres d'absorption des trois solutions suivantes en prenant des mesures tous les 10 nm : la solution acide de InH , la solution basique de In^- et la solution de $\text{pH} = 7$. On procède avec chacune des trois solutions en affichant les paramètres avec l'icône "roue dentelée" : on clique sur l'icône "superposer" qui devient bleutée, et on lance l'acquisition en validant.

Puis on va dans "Courbes" et "Cadrage".

Le maximum d'absorption de la forme acide (jaune du BBT) est voisin de $\lambda_1 = 460$ nm.

Le maximum d'absorption de la forme basique (bleue du BBT) est voisin de $\lambda_2 = 630$ nm.

Les trois solutions ayant la même concentration en indicateur coloré, les trois spectres d'absorption se coupent au point isobestique $\lambda_{iso} = 503$ nm

c) Détermination du pKa d'un indicateur coloré

Mesurer le pH de la solution tamponnée de BBT.

Pour chacune des valeurs de longueur d'onde suivante proches de λ_1 ou de λ_2 :

440 nm 460 nm 610 nm 630 nm

mesurer l'absorbance A des trois solutions de BBT : acide, basique et tamponnée, directement sur la courbe obtenue, en utilisant « marqueurs points à points » dans le menu « courbes ».

A partir de ces résultats, donner quatre estimations du pKa de l'indicateur coloré BBT, en utilisant la relation encadrée ci-dessus avec A absorbance de la solution tamponnée, A_a celle de la solution acide, et A_b celle de la solution basique.

λ	440 nm	460 nm	610 nm	630 nm
A				
A_a				
A_b				
pK _A				

Commenter les résultats obtenus. Quelles valeurs vous paraissent fiables ? Comparer à la valeur théorique.