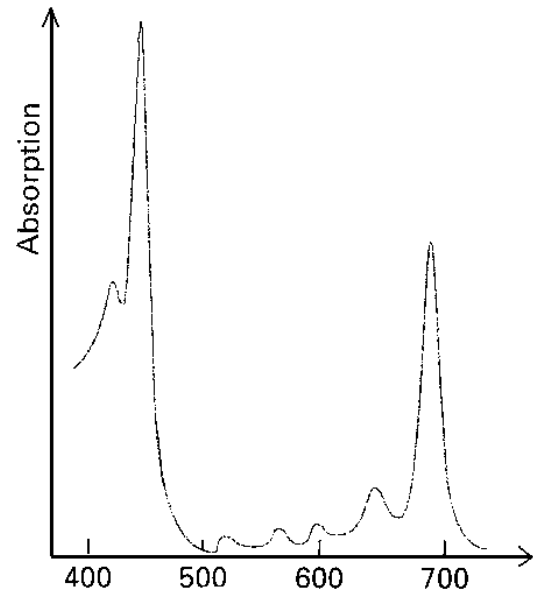


Spectrophotométrie

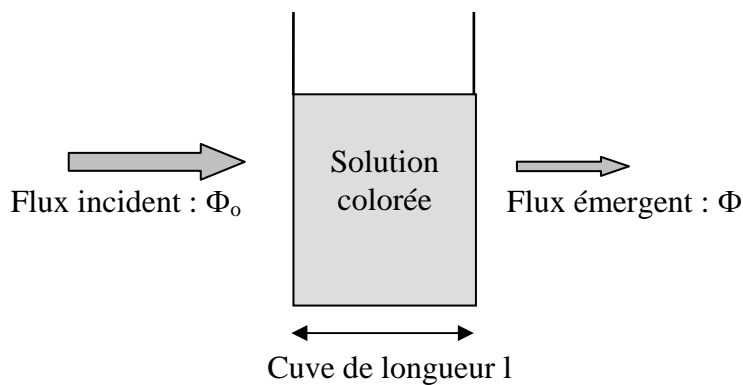
La spectrophotométrie permet l'étude de solutions colorées dans l'infrarouge (1 100 nm au maximum), dans le visible et dans l'ultraviolet (190 nm).

Spectre d'absorption de la chlorophylle

On remarque que la chlorophylle absorbe dans le rouge et dans le bleu et que la lumière verte n'est pas absorbée.



1) Grandeurs spectrophotométriques : définitions



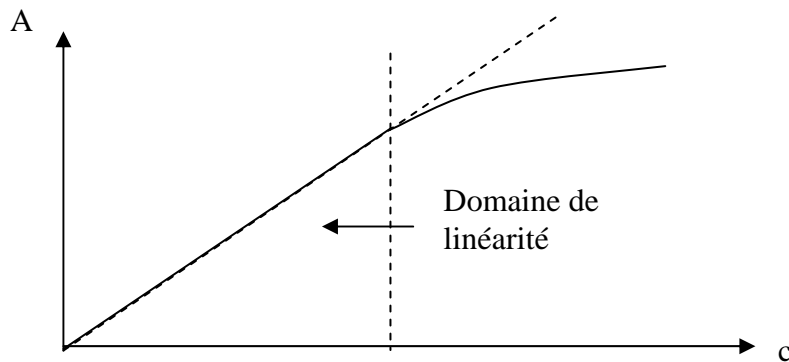
- **Transmission** : $T = \Phi/\Phi_0$ (%)
- **Opacité** : $O = \Phi_0/\Phi$
- **Absorbance** (ou densité optique $D.O$) : $A = \log_{10} \left(\frac{\Phi_0}{\Phi} \right) = -\log_{10}(T)$

2) Loi de Beer-Lambert : $A = \epsilon c l$

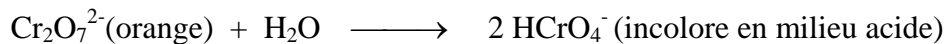
- l = longueur de la cuve (1 cm en général, avec une précision de 1 %)
- c = concentration de la solution
- ϵ = absorbance linéique décimale ou coefficient d'extinction spécifique qui dépend de la longueur d'onde. ϵ varie également en fonction des forces intermoléculaires et donc du solvant utilisé.

Conditions de validité de la loi de Beer-Lambert

- la lumière utilisée est *monochromatique*
- la concentration n'est pas trop élevée : $c \approx 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ en général pour que les interactions entre molécules soient négligeables.



- la solution n'est pas fluorescente : pas de réémission de lumière dans toutes les directions
- la solution n'est pas trop concentrée en sels incolores
- la dilution n'entraîne pas un déplacement de l'équilibre chimique :



- la solution doit être limpide (pas de précipité ou de trouble qui entraîneraient une diffusion de la lumière)

Il faut travailler en lumière monochromatique car ϵ est fonction de la nature du corps absorbant, de la température et de la longueur d'onde.

Pour avoir une bonne sensibilité, il faut déterminer la longueur d'onde que la solution absorbe le plus, c'est à dire la longueur d'onde dont la teinte est complémentaire de celle de la solution.

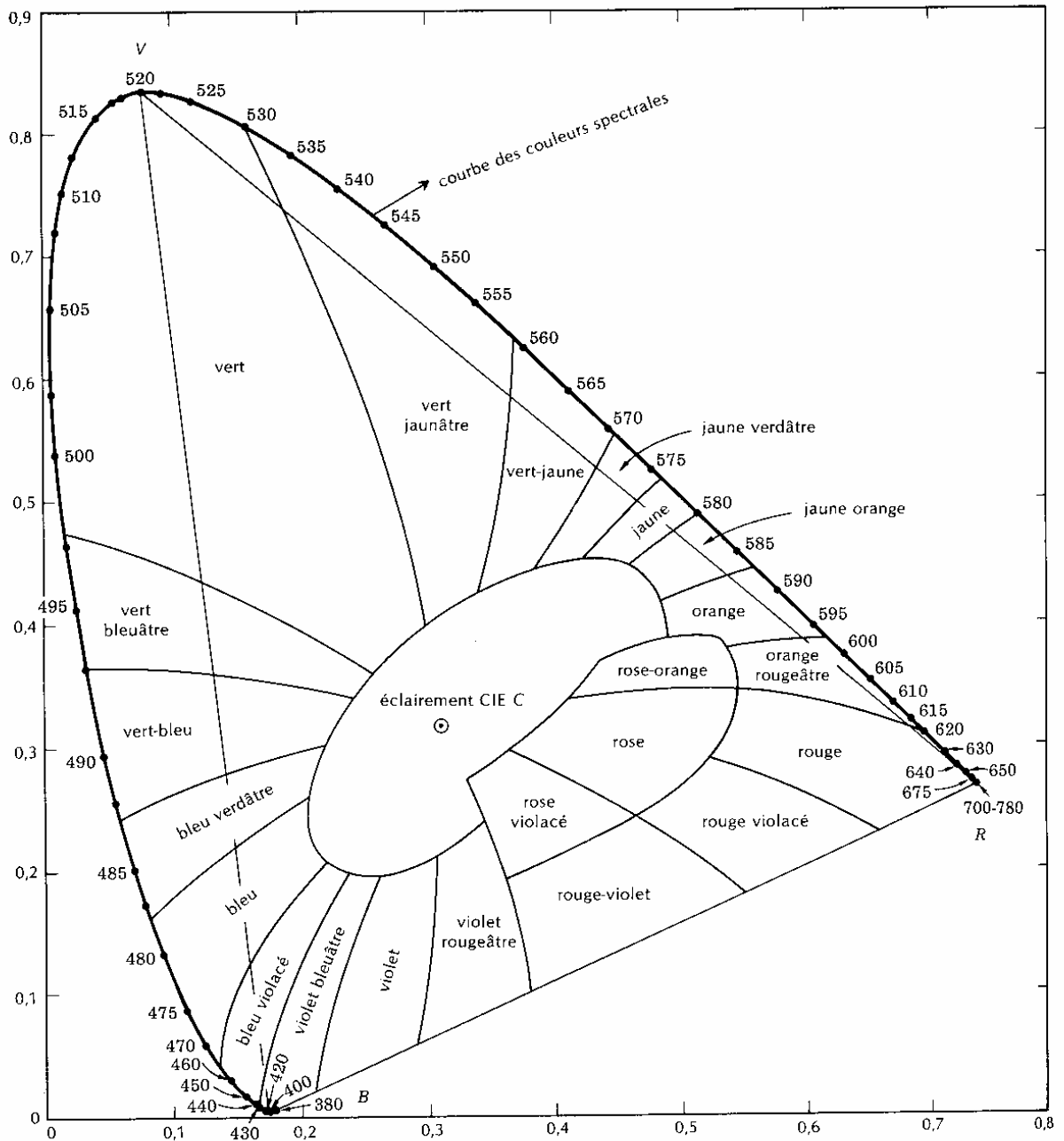
Deux couleurs sont complémentaires lorsqu'elles donnent du blanc par *addition*.

| <i>Couleurs primaires</i> | <i>Couleurs complémentaires</i> |
|---------------------------|----------------------------------|
| Rouge (650 nm) | Cyan (vert-bleu) (500 nm) |
| Vert (550 nm) | Magenta (rouge violacé) (420 nm) |
| Bleu (480 nm) | Jaune (580 nm) |

Diagramme de chromaticité CIE (Commission internationale d'éclairage)

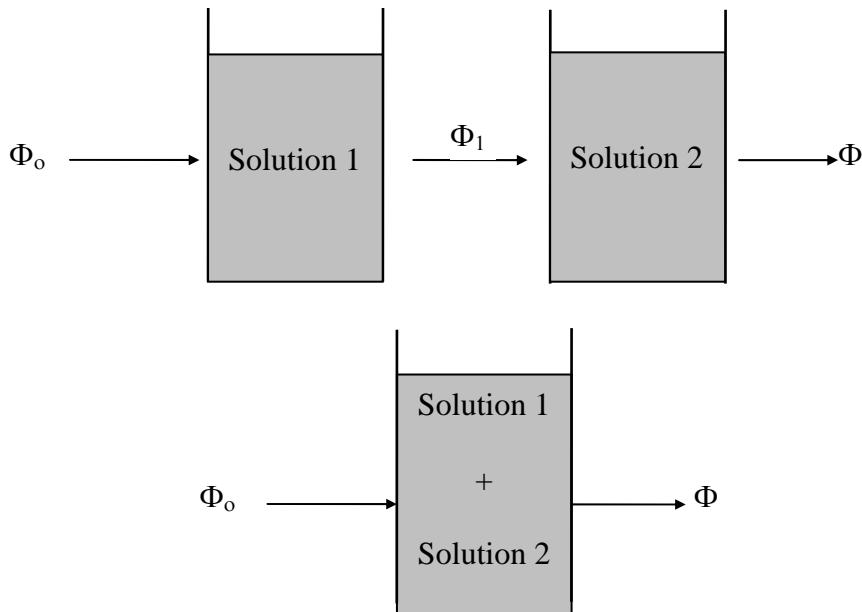
Le point C représente le blanc étalon. La région qui l'entoure comprend tous les autres blancs, incluant les lampes à incandescence et les lampes fluorescentes.

2 couleurs sont complémentaires si leur mélange donne du blanc. Cela signifie qu'elles sont situées de part et d'autre de la région neutre.



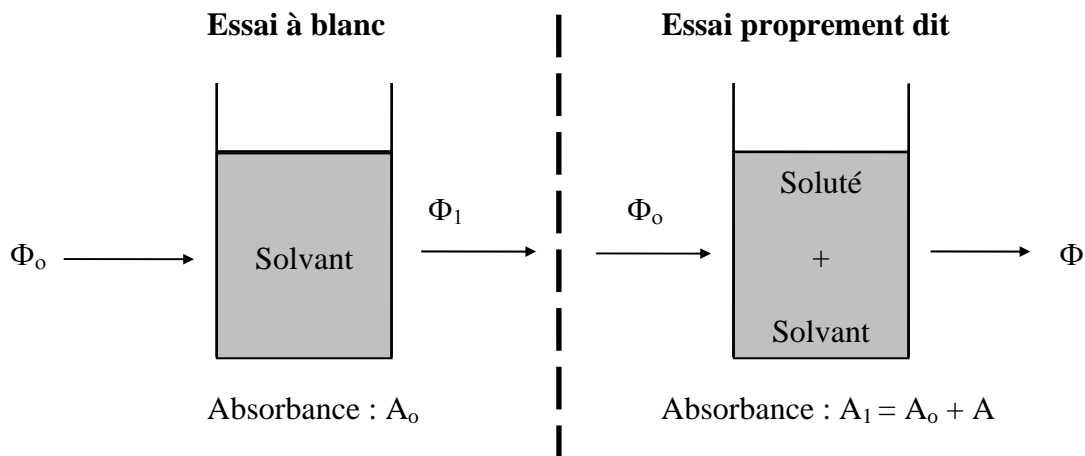
3) Additivité des absorbances

Si 2 solutions absorbent à la même longueur d'onde, l'absorbance du mélange est égale à la somme de leurs absorbances : $A = A_1 + A_2$



$$A = (\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2) l = A_1 + A_2$$

4) Mesure de l'absorbance d'une solution

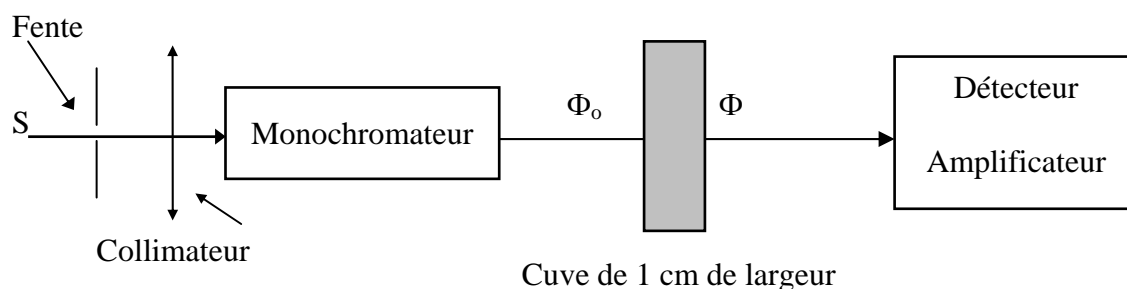


$$\text{Absorbance du soluté : } A = A_1 - A_0$$

Mesure de l'absorbance d'une solution

- a) Réglage du « zéro optique » ou de la ligne de base de façon à avoir : $A_0 = 0$, la cuve étant remplie avec le solvant.
- b) L'essai proprement dit donne directement l'absorbance du soluté, la cuve étant remplie avec le solvant et le soluté.
- c) Le zéro optique doit être refait pour chaque longueur d'onde car l'absorbance du solvant varie.

5) Principe du spectrophotomètre



S : source lumineuse à spectre continu :

- lampe à filament de tungstène utilisable entre 300 nm et 1 100 nm,
- lampe à décharge dans le deutérium, utilisable en UV entre 190 nm et 350 nm.

Le *monochromateur à réseau* permet de sélectionner une longueur d'onde et de balayer l'ensemble du spectre lorsque l'on fait tourner le réseau.

Si $A = 1$, $\frac{\Phi_0}{\Phi} = 10$, c'est à dire que 90 % de la lumière incidente a été absorbée par l'échantillon contenu dans la cuve.

Si $A = 2$, $\frac{\Phi_0}{\Phi} = 100$, c'est à dire que 99 % de la lumière incidente a été absorbée par l'échantillon contenu dans la cuve.

On est donc limité par la *sensibilité du détecteur*.

Détecteurs utilisés :

- Cellule photoélectrique
- Barette de diodes CCD
- Photomultiplicateur

Les meilleurs spectrophotomètres mesurent des absorbances maximales égales à 3.

Décoloration du violet de méthyle en présence de soude

Cinétique chimique d'ordre 1 par rapport au violet de méthyle

1) Spectre d'absorption du violet de méthyle ($500 \text{ nm} < \lambda < 650 \text{ nm}$)

a) Préparation

Dans une cuve, mettre le solvant (eau distillée) sur lequel on fera le "zéro optique".
 Dans une autre cuve, mettre une solution de violet de méthyle à 10 mg.L^{-1} .
 Pour cette concentration, l'absorbance A ne dépasse pas 2.
 Suivre la notice du spectrophotomètre pour réaliser les réglages.

b) Mesures

A partir de $\lambda = 500 \text{ nm}$, faire une mesure tous les 10 nm ou moins quand l'absorbance varie rapidement, dans le sens croissant des longueurs d'onde, jusqu'à 650 nm.

Pour chaque longueur d'onde, ne pas oublier de refaire le zéro optique avec une cuve remplie d'eau.

Tracer le spectre d'absorption : $A = f(\lambda)$. Utiliser un crayon à papier pour relier les points.
 Inutile de donner le tableau des valeurs expérimentales trouvées.

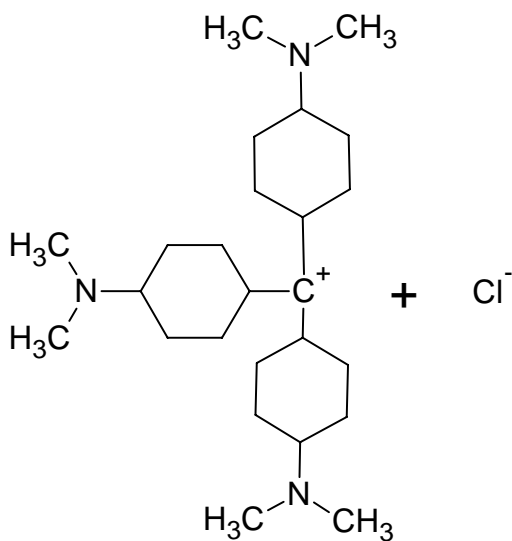
Pour quelle longueur d'onde λ_{max} l'absorbance est-elle maximale ? La noter sur le graphe.

Quelle est la couleur du violet de méthyle ?

La longueur d'onde λ_{max} correspond-elle à la couleur complémentaire du violet de méthyle ?

Le vérifier sur le diagramme de chromaticité.

Pour la suite de la manipulation, on se placera à la longueur d'onde λ_{max} donnée par votre spectrophotomètre ($\lambda_{\text{max}} \sim 589 \text{ nm}$ sur les tables de références).



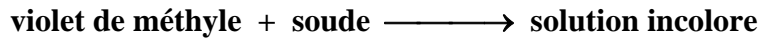
Violet de méthyle : $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3^+$, Cl^-
 $M = 408 \text{ g}$

2) Décoloration du violet de méthyle en présence de soude

Cinétique d'ordre 1 par rapport au violet de méthyle

1) Principe

En présence de soude, le violet de méthyle se décolore :



| Temps | [violet] | [soude] | Absorbance |
|------------------------|----------|---------|-----------------------------|
| $t = 0$ | a | excès | $A_0 = \varepsilon a l$ |
| t | $a - x$ | excès | $A = \varepsilon (a - x) l$ |
| $t \rightarrow \infty$ | 0 | excès | $A_\infty = 0$ |

Vitesse de réaction : $v = -d(a - x)/dt = k_0 (a - x)^n (\text{soude})^p = k (a - x)^n$

La soude étant en excès, on pose : $k = k_0 (\text{soude})^p$

Si la cinétique est du premier ordre par rapport au violet de méthyle : $n = 1$

$$v = k (a - x) = -d(a - x)/dt \quad k : \text{constante de vitesse}$$

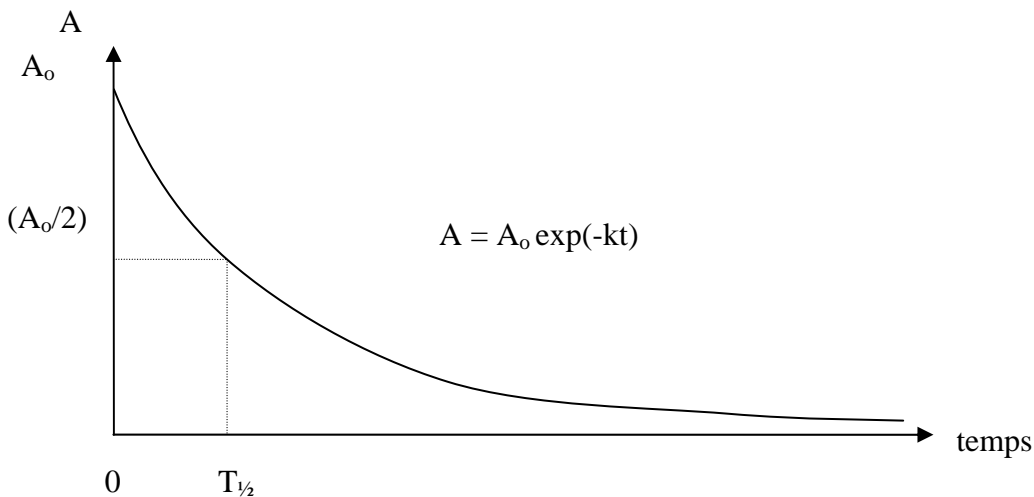
$$\text{Après intégration :} \quad \ln(a - x) = -kt + \ln a$$

D'après la *loi de Beer-Lambert*, l'absorbance A est proportionnelle à la concentration :

$$A = \varepsilon (a - x) l \quad A_0 = \varepsilon a l$$

$$\ln(A) = -kt + \ln(A_0) \quad A = A_0 e^{-kt}$$

Le **temps de demi réaction** $T_{1/2}$, temps au bout duquel la moitié du violet de méthyle a disparu, est égal à $T_{1/2} = \ln(2)/k$ et est **indépendant de la concentration initiale en violet de méthyle**.



2) Manipulation

a) Préparation : 3 solutions doivent être préparées.

Préparer la solution de violet de méthyle dans un bêcher.
Dans un autre bêcher, préparer la solution de soude.

| | violet de méthyle | soude |
|------------|---|---|
| Solution 1 | 25 cm ³ de à 20 mg.L ⁻¹ | 25 cm ³ à 0,1 mol.L ⁻¹ |
| Solution 2 | 25 cm ³ de à 10 mg.L ⁻¹ | 25 cm ³ à 0,1 mol.L ⁻¹ |
| Solution 3 | 25 cm ³ de à 20 mg.L ⁻¹ | 25 cm ³ à 0,05 mol.L ⁻¹ |

b) Mesures

Mélanger rapidement les 2 bêchers et mettre la solution dans une cuve bien propre que l'on introduit dans le spectrophotomètre.

Déclencher le chronomètre au moment du mélange et non au moment où la cuve est introduite dans le spectrophotomètre, de manière à bien connaître le temps : $t = 0$.

Relever l'absorbance A toutes les 15 secondes pendant 240 secondes.

| Temps | Solution 1 | Solution 2 | Solution 3 |
|-------|------------|------------|------------|
| 15 | | | |
| 30 | | | |
| 45 | | | |
| 60 | | | |
| 75 | | | |
| 90 | | | |
| 105 | | | |
| 120 | | | |
| 135 | | | |
| 150 | | | |
| 165 | | | |
| 180 | | | |
| 195 | | | |
| 210 | | | |
| 225 | | | |
| 240 | | | |

La réaction est-elle terminée au bout de 240 s ?

c) Exploitation des données (à faire pour les 3 solutions)

Proposer pour l'absorbance un modèle de la forme : $A = A_0 \cdot \exp(-k \cdot t)$

La première manipulation doit vous permettre de connaître A_0 .

Noter A_0 et $t = 0$ sur le graphe.

Déterminer et reporter sur la courbe : $A = f(t)$, le **temps de demi-réaction**, temps pour lequel l'absorbance est égale à : $A = A_0/2$.

- Vérifie-t-on : $T_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$

d) Comparaison des 3 solutions étudiées

| | A_0 | $k_{(s-1)}$ | $T_{1/2}(s)$ |
|------------|-------|-------------|--------------|
| Solution 1 | | | |
| Solution 2 | | | |
| Solution 3 | | | |

Les valeurs de A_0 devraient être identiques pour les solutions 1 et 3 : $A_{10} = A_{30}$. Pourquoi ?

Les valeurs de A_0 devraient être telles que $A_{20} = A_{10}/2$ pour les solutions 1 et 2. Pourquoi ?

- Si elles ne le sont pas exactement, pourquoi ?

k_1 et k_2 devraient être identiques si la cinétique est d'ordre 1 ? Pourquoi ?

d) Ordre p de la réaction par rapport à la soude

$$k = k_0 (\text{soude})^p$$

Montrer que l'étude des cinétiques 1 et 3 permet de déterminer p.

Démontrer la relation : $k_1/k_3 = 2^p$

$$\text{En déduire : } p = \frac{\ln\left(\frac{k_1}{k_3}\right)}{\ln(2)}$$

Détermination du coefficient de partage du violet de méthyle, entre l'eau et l'octan-1-ol

Calcul du coefficient de partage

Soit n_o le nombre de moles de violet de méthyle initialement présentes dans la solution. Lors de l'extraction, le violet de méthyle se partage entre la phase aqueuse et la phase organique.

$$n_o = n_{aq} + n_{org}$$

Si les volumes des 2 phases sont égaux, alors :

$$c_o = c_{aq} + c_{org}$$

$$K_d = \frac{c_{org}}{c_{aq}} = \frac{c_o - c_{aq}}{c_{aq}}$$

1) Tracé de la courbe d'étalonnage

a) Préparation

A partir de la solution de base : $c = 10 \text{ mg.L}^{-1}$, préparer une gamme de solutions.

| c (mg.L ⁻¹) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
|-------------------------|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | | | | | | | | |
| ΔA | | | | | | | | |

b) Mesures

Se placer à λ_{max} , longueur d'onde pour laquelle l'absorbance est maximale ($\lambda_{max} \sim 590 \text{ nm}$).
Faire le "zéro optique" (ou ligne de base) du spectrophotomètre avec de l'eau distillée.
Relever l'absorbance des différentes solutions préparées.

c) Courbe d'étalonnage

Tracer la courbe d'étalonnage : $A = f(c) = k c$, en traçant également les barres d'incertitude.
Commencer la courbe à (0,0).

Tracer à la main les 2 droites de pente extrême et déterminer leurs pentes.

Vérifie-t-on la loi de Beer-Lambert : $A = \varepsilon c l$?

Donner l'équation de la droite et le coefficient de corrélation.

En déduire le coefficient d'extinction spécifique massique ε du violet de méthyle.

A partir du tracé des 2 droites de pente extrême, déterminer l'incertitude commise sur ε ?
Préciser l'unité de ε .

2) Détermination du coefficient de partage du violet de méthyle

- a) Dans un tube à essai, verser 5 ml de violet de méthyle à 20 mg.L⁻¹ et ajouter 5 ml d'octanol. Dans un autre tube à essai, verser 5 ml d'eau et ajouter 5 ml d'octanol. Bien agiter les 2 tubes pendant 30 secondes. Laisser décanter. La phase aqueuse se trouve au-dessous de la phase organique. Pourquoi ?
- b) A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever la phase aqueuse de la solution qui ne contient pas de violet de méthyle et effectuer le "zéro optique" avec cette eau saturée en octanol.
- c) A l'aide d'une pipette, prélever la phase aqueuse de la solution qui contient le violet de méthyle et en mesurer l'absorbance.
- d) Lire, sur la courbe d'étalonnage, la concentration c_{aq} de la solution.

En déduire la valeur du coefficient de partage :

$$K_d = \frac{C_{org}}{C_{aq}} = \frac{C_0 - C_{aq}}{C_{aq}} \quad K_d \sim 1,1 \text{ sur les tables}$$

3) Efficacité de l'extraction

L'extraction se fait à l'aide de 2 volumes d'octanol successifs de 2,5 ml.

- a) Dans un tube à essai, verser 5 ml de violet de méthyle à 10 mg.L⁻¹ et ajouter 2,5 ml d'octanol. Dans un autre tube à essai, verser 5 ml d'eau et ajouter 2,5 ml d'octanol. Bien agiter les 2 tubes pendant 30 secondes. Laisser décanter. La phase aqueuse se trouve au-dessous de la phase organique.
- b) A l'aide d'une pipette, prélever la phase aqueuse qui ne contient pas de violet de méthyle et effectuer le "zéro optique" avec cette eau saturée en octanol.
Ne pas jeter cette solution qui resservira lors de la deuxième extraction.
- c) A l'aide d'une pipette, prélever la phase aqueuse qui contient le violet de méthyle et en mesurer l'absorbance.
- d) Lire, sur la courbe d'étalonnage, la concentration c'_{aq} de la solution.
- e) Récupérer **toute** la phase aqueuse violette : **5 ml** et faire à nouveau une extraction avec 2,5 ml d'octanol.
- f) Lire, sur la courbe d'étalonnage, la concentration c''_{aq} de la solution.

On dispose alors d'une solution aqueuse qui a été extraite avec la même quantité d'octanol que précédemment, mais par 2 fois. La concentration obtenue lors de cette manipulation est plus petite que celle obtenue précédemment.

L'extraction est donc meilleure si l'on procède par petites quantités de solvant successives que par une seule grande quantité.

$$c''_{aq} < c_{aq} < c'_{aq}$$

En déduire la valeur du coefficient de partage après la première extraction et après la deuxième extraction ; la valeur de K_d devrait rester constante.

$$K_d = 2 \frac{C_0 - c'_{aq}}{c'_{aq}} \quad K_d = 2 \frac{c'_{aq} - c''_{aq}}{c''_{aq}}$$