

**Objectifs :**

Utiliser un spectrophotomètre pour :

- vérifier le lien entre longueur d'onde du rayonnement absorbé et couleur perçue,
- vérifier la loi de Beer Lambert<sup>i</sup>,
- mettre cette loi en application pour doser une espèce chimique colorée.

**Matériel :**

- spectrophotomètre,
- béchers, deux burettes,
- solution de bleu patenté (masse molaire  $M_{131} = 580 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) à  $3,00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , de jaune de tartrazine (masse molaire  $E_{102} = 534 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) à  $15,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,
- logiciel EasySpec.

**I Principes de la spectrophotométrie****I.1 Couleurs**

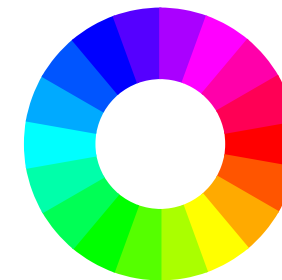
Un objet physique pourra apparaître coloré s'il émet un rayonnement d'une longueur d'onde  $\lambda_0$  particulière ou au contraire s'il absorbe sélectivement le rayonnement à  $\lambda_0$ . Dans le premier cas, il aura la couleur correspondant à  $\lambda_0$ , dans le second cas, il apparaîtra de la couleur dite *complémentaire* de  $\lambda_0$  quand on l'éclairera en lumière blanche.

couleur	longueur d'onde (nm)
rouge	625–740
orange	590–625
jaune	565–590
vert	520–565
cyan	500–520
bleu	450–500
indigo	430–450
violet	380–430

On distingue ainsi la *synthèse additive* où la couleur est produite par émission (dans un écran d'ordinateur par exemple) et la *synthèse soustractive* où une couleur est produite par absorption (les pigments de peinture par exemple). En synthèse additive, le mélange de trois couleurs dites *primaires* permet de reconstituer toutes les teintes perceptibles par l'œil : on utilise le rouge, le vert et le bleu. En synthèse soustractive, on utilise trois couleurs nommées elles-aussi *primaires*. Ce sont les couleurs de composés qui absorbent sélectivement le rouge, le vert et le bleu respectivement. Elles sont donc dites *complémentaires* des couleurs primaires de synthèse additive et sont nommées cyan (complémentaire du rouge), magenta (complémentaire du vert) et jaune (complémentaire du bleu).

i. A. Beer, mathématicien, chimiste et physicien allemand (1825–1863); J. Lambert, mathématicien et physicien alsacien (1728–1777).

On présente sur la figure ci-contre un « cercle chromatique » présentant les différentes couleurs et soulignant leur complémentarité : deux couleurs complémentaires y sont diamétralement opposées. De plus, les trois couleurs primaires de la synthèse additive sont séparées de  $120^\circ$ , tout comme celles de la synthèse soustractive.



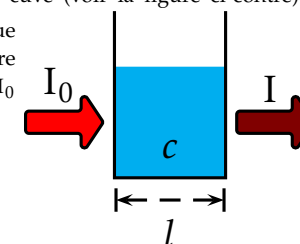
En chimie, on s'intéressera le plus souvent à des composés absorbants. Leur couleur sera donc la couleur complémentaire du rayonnement qu'ils absorbent sélectivement.

**I.2 Loi de Beer Lambert**

On étudie l'absorption d'une solution colorée, introduite dans une cuve (voir la figure ci-contre).

On envoie pour cela sur la cuve un faisceau lumineux monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$  et d'intensité  $I_0$  (mesurée en  $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ ). On mesure ensuite l'intensité  $I$  du faisceau en sortie de cuve. On a évidemment<sup>ii</sup>  $I < I_0$  et on définit alors :

- la transmittance  $T(\lambda) = 100 \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)}$ ,
- l'absorbance  $A(\lambda) = \log \frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda)} = -\log(T(\lambda))$ .



On caractérisera une espèce chimique colorée par son *spectre*, ie la courbe donnant son absorbance  $A$  en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$ .

L'absorbance, également nommée *densité optique*, présente l'intérêt d'être proportionnelle à la concentration : la *loi de Beer Lambert* assure en effet que pour un soluté en solution diluée, elle se met sous la forme :  $A(\lambda) = \epsilon(\lambda)lc$ , avec  $\epsilon(\lambda)$  le *coefficient d'absorption molaire* du soluté,  $l$  la longueur de la cuve et  $c$  la concentration du soluté<sup>iii</sup>. Le coefficient  $\lambda$  est caractéristique du soluté, il dépend aussi de la température.

Les absorbances sont de plus additives : l'absorbance d'un mélange est la somme des absorbances dues à chacun des constituants, pris indépendamment.

**Loi 1 : loi de Beer Lambert**

L'absorbance, à la longueur d'onde  $\lambda$ , d'une solution diluée de différents solutés de concentrations  $c_i$  et de coefficients d'absorption molaire  $\epsilon_i$ , dans une cuve de longueur  $l$  est :

$$A(\lambda) = l \left( \sum_i \epsilon_i(\lambda) c_i \right)$$

i. si la solution n'émet pas de rayonnement.

iii. l'absorbance étant un grandeur sans dimension, le coefficient  $\epsilon$  s'exprimera en  $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$  si la longueur  $l$  est exprimée en m et la concentration  $c$  en  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ .

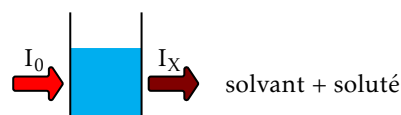
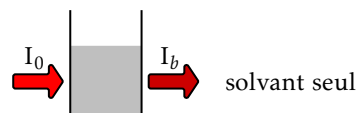
### I.3 Utilisation du spectrophotomètre

Le spectrophotomètre est constitué :

- d'un monochromateur, produisant un rayonnement lumineux pratiquement monochromatique de longueur d'onde réglable,
- d'un détecteur mesurant l'intensité lumineuse de ce rayonnement après qu'il a traversé la cuve.

Pour mesurer l'absorbance, à la longueur d'onde  $\lambda$ , d'une espèce chimique X en solution, on :

- sélectionne la longueur d'onde  $\lambda$  à l'aide du monochromateur,
- compare l'absorbance (notée  $A_b$ ) d'une cuve contenant uniquement le solvant<sup>iv</sup> (qu'on nomme le « blanc ») à celle (notée  $A_X$ ) d'une cuve contenant le solvant et le soluté X.



La loi de Beer Lambert assure alors que  $A_X = A_b + \epsilon_X c_X l$ , avec  $\epsilon_X$  le coefficient d'absorption molaire de X,  $c_X$  sa concentration et  $l$  la longueur de la cuve. La différence  $A_X - A_b = \epsilon_X c_X l$  donne ainsi accès à l'absorbance due au seul soluté.

**Remarque :** La différence entre  $I_0$  et  $I_b$  est due à l'absorbance du solvant mais également à la diffusion par les parois de la cuve. La soustraction  $A_X - A_b$  prend également en compte l'effet des parois de la cuve.

Le protocole à suivre pour réaliser ces mesures est le suivant :

#### Protocole :


- Placer dans le premier emplacement du porte-cuves (position R) une cuve contenant uniquement le solvant.
- Placer dans les autres emplacements (positions  $S_1, S_2, S_3$ ) les cuves contenant la ou les solutions à analyser.
- Mesurer  $I_b$  après avoir placé le sélecteur du porte-cuves en position R : on dit qu'on « fait le blanc ».
- Mesurer  $I_X$  après avoir placé le sélecteur du porte-cuves en position  $S_1, S_2$  ou  $S_3$ .

### I.4 Utilisation du logiciel EasySpec

Le spectrophotomètre utilisé est interfacé avec un ordinateur pour automatiser une partie des manipulations.

On veillera à allumer le spectrophotomètre et attendre la fin de son initialisation avant de lancer le logiciel.



On sauvegardera, dès la fin de son acquisition, chaque spectre dans un fichier au nom explicite.

Quel que soit le type de mesure réalisé on effectuera une mesure de référence (le « blanc ») sur une cuve contenant uniquement le solvant. Elle est déclenchée en choisissant **ligne de base** dans le menu ouvert par le bouton  ou par F10.


iv. Il s'agira d'eau le plus souvent.

Une nouvelle mesure de référence devra être effectuée à chaque fois qu'on change le protocole, en particulier le solvant.

#### Protocole (Acquisition d'un spectre) :


- choisir **Fichier** → **Nouveau** → **Spectre**
- configurer les paramètres (intervalle de longueur d'onde, temps de moyennage par point, pas du balayage) du spectre dans la fenêtre ouverte par  ou F10
- réaliser une mesure de référence (option **ligne de base**)
- réaliser le spectre (option **spectre**) ou F10  
On peut superposer plusieurs spectres dans la même fenêtre : ils utiliseront tous la même ligne de base. L'option **couleur en fonction de LO** permet de colorer la courbe du spectre avec la couleur correspondant à la longueur d'onde.  
Le bouton  donne accès aux fonctions de recherche automatique des pics du spectre.

#### Protocole (Mesure d'absorbance et étalonnage) :

- choisir **Outils** → **Mesure à longueur d'onde fixe** ou le bouton 
- sélectionner la longueur d'onde dans la case **LO nm**
- réaliser si nécessaire une mesure de ligne de base
- la mesure est lancée par le bouton **Appliquer**
- le bouton **Étalonnage** permet de tracer directement la courbe des différentes absorbances mesurées en fonction de la concentration

#### Protocole (Manipulations de courbes) :

On peut effectuer des opérations mathématiques (somme, produit...) sur les courbes présentes dans une fenêtre, en utilisant **Outils** → **Combinaisons de courbes**.

Les courbes ainsi calculées apparaîtront dans une nouvelle fenêtre à bordure orange. On pourra également faire un copier-coller de certaines courbes originales pour qu'elles figurent aussi dans cette fenêtre.  Seules les courbes présentes issues de combinaisons de courbes (ie dans un cadre orange) peuvent être copiées-collées : il faudra donc envoyer une courbe sans la modifier avec l'outil **Combinaison de courbes** pour la copier-coller.

## II Manipulations

À partir de mesures d'absorbance, on peut :

- faire varier  $\lambda$  à  $c_X$  fixé pour déterminer la  $\epsilon(\lambda)$  et ainsi identifier le soluté<sup>iv</sup>,
- garder  $\lambda$  constant et doser l'espèce X, ie déterminer  $c_X$  en comparant l'absorbance à celle d'une solution étalon de concentration connue.

iv. ce procédé est souvent pour déterminer la composition d'un gaz

## II.1 Spectre d'absorption de colorants alimentaires

### Manipulations :

- Réaliser l'acquisition du spectre du bleu patenté (colorant E131) entre 350 nm et 750 nm, par pas de 5 nm.
- Réaliser de même l'acquisition de celui du jaune de tartrazine (colorant E102).

### Questions :

Déterminer pour chacun des colorants la longueur d'onde (notées  $\lambda_{131}$  et  $\lambda_{102}$ ) pour laquelle l'absorbance est maximale et vérifier l'accord avec la teinte du colorant.

## II.2 Vérification de la loi de Beer Lambert

On souhaite vérifier la relation linéaire entre la concentration du bleu patenté en solution et l'absorbance de la solution due à ce colorant. On prépare à cet effet des solutions de concentrations  $c_{131}$  différentes en bleu patenté.

### Questions :

🔪 Déterminer les volumes d'eau distillée et de solution de bleu patenté à la concentration  $c_{131}^0 = 3,00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  à mélanger pour obtenir 20 mL de solution aux concentrations suivantes :

solution	1	2	3	4	5
$c_{131} (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	0,6	1,2	1,5	1,8	2,4

### Manipulations :

- À l'aide de deux burettes, l'une contenant la solution mère à  $c_{131}^0$  et l'autre de l'eau distillée, préparer les solutions précédentes.
- Mesurer l'absorbance des solutions 1 à 5 à la longueur d'onde  $\lambda_{131}$ .

### Exploitation :

Tracer les variations de l'absorbance en fonction de la concentration (utiliser la fonction **Étalonnage**). La loi de Beer Lambert est-elle vérifiée ?

### Questions :

- Pourquoi choisit-on de travailler à la longueur d'onde  $\lambda_{131}$  ?
- Vérifier la valeur de l'absorbance de la cuve de référence.

## II.3 Dosage du sirop de menthe

On détermine les concentrations d'un sirop de menthe commercial en colorants E131 et E102.

### Manipulations :

Réaliser l'acquisition du spectre du sirop de menthe de 350 nm à 750 nm. Interpréter la teinte du sirop de menthe.

### Exploitation :

Vérifier que le spectre du sirop de menthe est bien une « somme pondérée » des spectres des deux colorants. On utilisera pour cela l'outil **Combinaison de courbes**.