

## Spectrophotométrie

Objectifs : Utilisation du spectrophotomètre numérique  
Tracé de la courbe d'étalonnage  
Utilisation de la courbe d'étalonnage pour doser une solution inconnue

**I. Présentation du spectrophotomètre.**

A l'allumage, l'appareil réalise un ensemble de test qu'il nomme « Autotest » : ne pas intervenir. L'appareil présente un clavier numérique sur lequel seront tapées les longueurs d'ondes, ainsi que quatre flèches de directions utilisées pour ce déplacer dans les menus affichés sur l'écran. Sur la droite se trouve le logement destiné à recevoir les cuves de solution.

**II. Principe de la mesure d'une absorbance A :**1) *tarage :*

Sélectionner à l'aide des flèches le mode *Absorbance*. Taper la longueur d'onde demandée directement sur le clavier, puis valider par la touche « VAL ».

☞ Solvant et cuve, mêmes transparents, possèdent une inévitable absorbance pour une longueur d'onde donnée. Tarer l'appareil pour une longueur d'onde d'étude consiste à placer dans celui-ci une cuve remplie uniquement de solvant et de « forcer » l'absorbance à zéro en appuyant sur la touche « 0/zéro ».

2) *mesure :*

On remplace alors cuve et solvant par la cuve contenant la solution colorée à étudier.

L'appareil affiche alors, sans qu'il soit nécessaire d'appuyer sur un bouton, l'absorbance du soluté et du soluté uniquement grâce donc à l'opération de tarage.

3) *nouvelle mesure :*

On remplace cuve et solvant dans l'appareil.

On change alors la longueur d'onde en tapant directement sur le clavier la nouvelle valeur du tableau, puis on valide : on constate que l'absorbance n'est plus nulle et il faut alors tarer l'appareil comme vu dans le premier paragraphe.

On remplace alors la cuve et le solvant par la cuve contenant la solution colorée et l'appareil affiche la nouvelle mesure.

**III. Rappels théoriques**

☞ Donner la définition de la transmittance puis celle de l'absorbance  $A$  d'une solution homogène éclairée en lumière monochromatique : faire un dessin explicatif.

☞ Donner l'expression de la loi de Beer-Lambert. Définir les différentes grandeurs physiques et préciser les unités.

Dans quelles conditions cette loi est-elle applicable ?

☞ Pour utiliser la loi de Beer-Lambert, on choisit une longueur d'onde pour laquelle l'absorption est maximale, on parle de pic d'absorption. Par rapport à la couleur de la solution, à quelle couleur correspond la radiation correspondant au pic d'absorption ?

**IV. Recherche du pic d'absorption.**

En suivant le II. et à partir d'une solution mère  $S_0$  de concentration  $C_0 = 5.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ , compléter le tableau ci-dessous.

$\lambda$ (nm)	400	420	440	460	480	490	500	510	520	530	540	560	580	600	650	700
A																

☞ Tracer avec Regressi le graphe  $A = f(\lambda)$ .

☞ En déduire la longueur d'onde du pic d'absorption pour  $A = A_{max}$ . Cette valeur sera retenue pour la suite du TP.

### V. Utilisation de la loi de Beer-Lambert.

#### 1) Prévision de l'allure de la courbe d'étalonnage :

A partir de la solution mère  $S_0$  de concentration  $C_0$ , on réalise une gamme de solutions de concentrations inférieures pour tracer la courbe d'étalonnage  $A = f(C)$  de la solution étudiée.

☞ D'après la loi de Beer-Lambert, sachant que  $\epsilon$  est une constante pour la solution, quel type de graphe doit-on obtenir si l'on trace la courbe d'étalonnage  $A = f(C)$  pour cette solution ?

#### 2) Réalisation d'une échelle de concentrations :

☞ Expliquer sur votre compte rendu comment préparer les différentes solutions : faire le détail des calculs pour la solution  $S_1$ .

Compléter le tableau.

solution	Concentration (mol.L <sup>-1</sup> )	Facteur de dilution	Volume de solution mère à prélever
Solution mère $S_0$	$C_0 = 5.10^{-4}$		
$S_1$	$C_1 = 4.10^{-4}$		
$S_2$	$C_2 = 3.10^{-4}$		
$S_3$	$C_3 = 2.10^{-4}$		
$S_4$	$C_4 = 1.10^{-4}$		

Ces solutions ont été préparées et sont à votre disposition dans des flacons compte-gouttes.

#### 3) Tracé de la courbe d'étalonnage :

L'appareil est calibré sur la longueur d'onde correspondant au pic d'absorption de la solution colorée. Faire alors un tarage sur cette longueur d'onde : il s'agit de l'unique tarage à réaliser puisque ici on va travailler à concentrations variables mais à longueur d'onde fixe.

Compléter le tableau.

C (mol.L <sup>-1</sup> )	$C_4 = 1.10^{-4}$	$C_3 = 2.10^{-4}$	$C_2 = 3.10^{-4}$	$C_1 = 4.10^{-4}$	$C_0 = 5.10^{-4}$
A					

Tracer avec Regressi la courbe d'étalonnage  $A = f(C)$ .

☞ La prévision précédente est-elle vérifiée ?

#### 4) Exploitation de la courbe d'étalonnage :

☞ Effectuer une modélisation et trouver le coefficient directeur du graphe.

☞ Faire une sortie imprimante où doit apparaître courbe et résultats de la modélisation.

☞ Sachant que la largeur de la solution est  $\ell = 10,3$  mm, en déduire la valeur de  $\epsilon$  en précisant dans votre compte rendu le détail de vos calculs.

### VI. Application : dosage d'une solution de concentration inconnue.

Soit  $S_1$  une solution de même nature que notre solution d'étude mais de concentration  $C_1$  différente.

☞ Par la mesure de son absorbance et l'utilisation des résultats précédents, déterminer sa concentration : expliquer sur votre compte rendu votre démarche.