

## Dosage spectrophotométrique

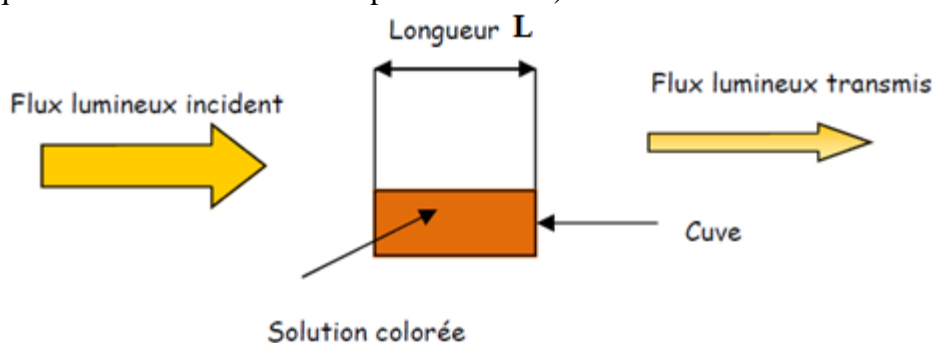
### Objectifs :

- Connaître la technique de spectrophotométrie.
- Connaître et exploiter la relation entre l'absorbance et la concentration d'une espèce absorbante en solution (loi de Beer Lambert).
- Déterminer la concentration d'une solution de Méthyle orange à partir d'une courbe d'étalonnage.

### I-Principe de fonctionnement du spectrophotomètre

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance.

Le spectrophotomètre fait passer une radiation monochromatique (de longueur d'onde  $\lambda$ ) à travers une cuve de longueur  $L$  contenant une solution colorée. Il mesure alors l'absorbance  $A$  (grandeur liée à la quantité de lumière absorbée par la solution).

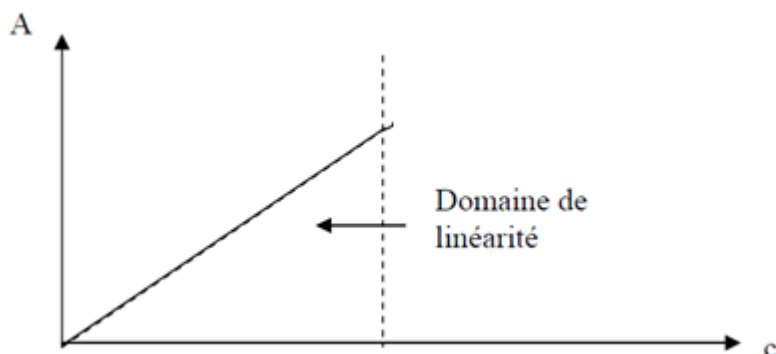


### II- La loi de Beer Lambert ( $A = \epsilon.C.L$ )

La Loi de Beer-Lambert est une loi qui détermine la relation entre l'absorbance et la concentration d'une espèce absorbante en solution.

$L$  = longueur de la cuve (1 cm en général, avec une précision de 1 %)

- $C$  = concentration de la solution
- $\epsilon$  = Coefficient d'extinction spécifique qui dépend de la longueur d'onde.  $\epsilon$  varie également en fonction des forces intermoléculaires et donc du solvant utilisé.



Le graphique représentant l'absorbance en fonction de la concentration, appelé droite (ou **courbe**) **d'étalonnage**, permet de déterminer une concentration inconnue d'une solution à partir de la mesure de l'absorbance spectrophotométrique.

Le coefficient de corrélation, " $R^2$ ", et l'axe "Y" à l'origine de la droite de régression vous permettent de démontrer l'acceptabilité de la linéarité des données.

### 1-Préparation des solutions de Méthyle orange

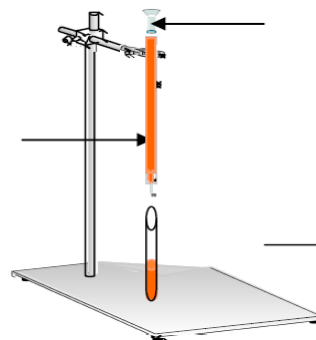
On dispose d'une solution aqueuse de Méthyle orange  $S_0$  de concentration massique  $C_0 = 100 \text{ mg/L}$  (3

$10^{-4}$  mol/L). On cherche à réaliser par dilution différentes solutions de Méthyle orange de concentrations  $C_i$  à déterminer (cf. tableau ci-dessous).

Compléter les quatre colonnes du tableau.

n° solution	Volume $V_i$ de $S_0$ introduit (mL)	Volume d'eau ajouté (mL)	Volume total (mL)	Concentration $C_i$ de la solution diluée de Méthyle orange (mg/L)	Absorbance A (sans unité)
1			50 mL	5 mg/L	
2			50 mL	8 mg/L	
3			50 mL	10 mg/L	
4			50 mL	12 mg/L	
5			50 mL	15 mg/L	
6			50 mL	20 mg/L	

- Rincer une burette avec la solution  $S_0$  de Méthyle orange. Puis la remplir avec cette même solution.
- Préparer dans différents fioles de 50 mL les solutions  $S_1$  à  $S_6$  :
  - \_ Verser le volume de solution de Méthyle orange nécessaire (indiqué sur le tableau) puis le volume d'eau correspondante,
  - \_ Compléter par l'eau distillée le volume nécessaire (jusqu'à 50mL), mettre un bouchon et agiter.



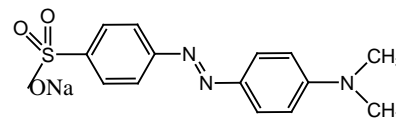
## 2- Mesures

La longueur d'onde de lecture est constante :  $\lambda = 465$  nm.

Pour une solution de référence (ou "blanc") fixer  $A = 0$  (bouton poussoir rouge « zéro »).

- \_ Mesurer l'absorbance de chacune des solutions réalisées.
- \_ Compléter la dernière colonne du tableau.

**Les données : Méthyle orange :** Sa formule chimique est  $C_{14}H_{14}N_3O_3SNa$  (Masse molaire : 327,33 g/mol Solubilité : 5,2 g/L (à 20°C) et  $pK_a = 3.4$



## Compte-rendu (entre 6 -8 pages):

**Préparer un compte rendu n'excédant pas 6 à 8 pages contenant les deux parties suivantes:**

**Partie théorique:** Une recherche bibliographique sur le matériel du spectrophotomètre et le dosage par la méthode spectrophotométrique : les courbes d'étalonnage ; la loi de Beer Lambert ; l'absorbance ; les colorants (y compris le méthyle orange).

### • Partie pratique:

- 1- Présenter les mesures de l'absorbance obtenues dans le TP1 (dans un tableau)
- 2- Déterminez les concentrations des solutions de  $S_1$  à  $S_6$  en mol/L (sur le même tableau)
- 3- Tracer la courbe d'étalonnage  $A = f(C)$  (par **papier millimétré** et par **Excel**). (avec  $A$  : absorbance et  $C$  : concentration du colorant (méthyle orange) en mg/L).
- 4- Exploiter l'équation de la courbe ( $Y = aX$  ( $a = \epsilon C L$ ))  
avec :  $Y$  : l'absorbance ;  $X$  : la concentration de Méthyle orange (mg/L ou Mole/L) ;  $A$  : la pente)
- 5- Commenter l'allure de la courbe.
- 6- Calculer  $\epsilon$  le Coefficient d'extinction spécifique ( $mg^{-1} \cdot L \cdot cm^{-1}$ ).
- 5- Déterminez en utilisant la courbe d'étalonnage la concentration  $C$  (en mg/L et en mol/L) d'une solution de méthyle orange ayant une absorbance égale à 0,650.

**Remarque :**

Le **Compte-rendu** sera présenté à l'enseignant lors du TP2, Le **contrôle TP orale** sera effectué lors du TP2 sur le TP1 (**Dosage spectrophotométrique**).

**La note de TP** = note du compte-rendu + note de contrôle TP