

TP N° 1 : Spectrophotométrie UV-visible (balayage et courbe d'étalonnage).

1. Objectif :

- Comprendre le principe de fonctionnement d'une spectrophotométrie.
- Tracer la courbe d'étalonnage d'un colorant et détermination du coefficient d'absorption molaire.

2. Etalonnage :

L'étalonnage se fait par une méthode simple, qui consiste à préparer une série de Solutions de concentrations bien déterminées. Celles-ci sont, par la suite analysées par Spectrophotométrie. Nous d'étalonnage Représentant la densité optique D.O, au maximum de la bande d'absorption, établissons ainsi, dans les deux techniques, la droite en fonction de la concentration initiale C.

Considérons une radiation monochromatique (de longueur d'onde λ) incidente, d'intensité $I_0(\lambda)$. Cette radiation traverse une épaisseur de solution du composé X de concentration c qui absorbe la lumière partiellement. L'intensité transmise est I.

2.1) Transmittance et absorbance :

On définit l'absorbance de la façon suivante : $0 < T < 100\%$

$$A = -\log T = -\log I/I_0$$

2.2) Loi de Beer-lambert :

$$A = \epsilon(\lambda).l.c$$

C : concentration du soluté dans la solution dosée. L : longueur du chemin optique (cm).

A : absorbance. λ : longueur d'onde maximale (nm). c : concentration de substance absorbante. $\epsilon(\lambda)$: coefficient d'absorption molaire (fonction de la nature de la substance, de la longueur d'onde de la lumière λ , de la nature du solvant et de la température T.

2.3) Manipulation :

- **Préparation de solution de bleu de méthylène :**

Préparer une série de solutions du BM de concentrations bien déterminées par dilutions successives depuis une solution mère [BM]=10 mg/L ; cette dernière est issue par dissolution de la masse adéquate du BM dans l'eau distillée.

Analyser la série des solutions par la suite, à l'aide de la spectrophotométrie UV-visible.

Question :

- 1- Rédiger le protocole du TP. (Avec un schéma descriptif du montage expérimental.)
- 2- Décrire le principe de fonctionnement d'un spectroscopie UV-visible.
- 3- Pourquoi nous avons utilisé des concentrations fines pour établir la courbe d'étalonnage ?
- 4- Déterminer la longueur d'onde maximale de BM et l'absorbance maximale. Déduire coefficient d'extinction massique et molaire
- 5- Etablir la courbe d'étalonnage.
- 6- Déterminer le coefficient d'extinction massique et molaire.

$$M-BM ; 319,85 \text{ g/mol}$$