



## TP 02 Détermination d'une concentration

### OBJECTIFS

- ✓ Sachant que l'eau de Dakin est un antiseptique coloré, justifier par spectrophotométrie la nature du composé coloré qui le constitue et la concentration de ce composé dans ce médicament.
- ✓ Vous proposerez un protocole expérimental soigné et argumenté en vous aidant si nécessaire des documents fournis.
- ✓ Vous exprimerez la concentration de l'espèce colorée associée à son incertitude, et vous comparerez votre valeur à celle indiquée sur le flacon.

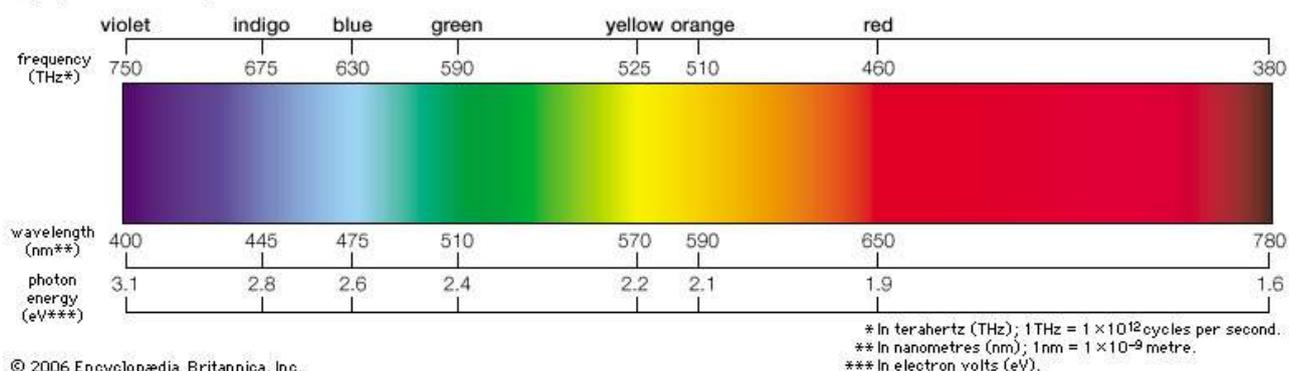
### FICHE 1 : LUMIÈRE ET COULEURS

Lorsque la lumière traverse une substance, elle est en partie transmise et en partie absorbée.

#### 1. Lumière monochromatique

Une lumière monochromatique est constituée d'une radiation d'une seule longueur d'onde comprise entre 400 et 700 nm pour être perçue par l'œil humain. Dans ce cas, l'individu perçoit une lumière colorée que le cerveau transpose en sensation de couleur.

#### Light, the visible spectrum



© 2006 Encyclopædia Britannica, Inc.

*Doc 1. Spectre de la lumière visible.*

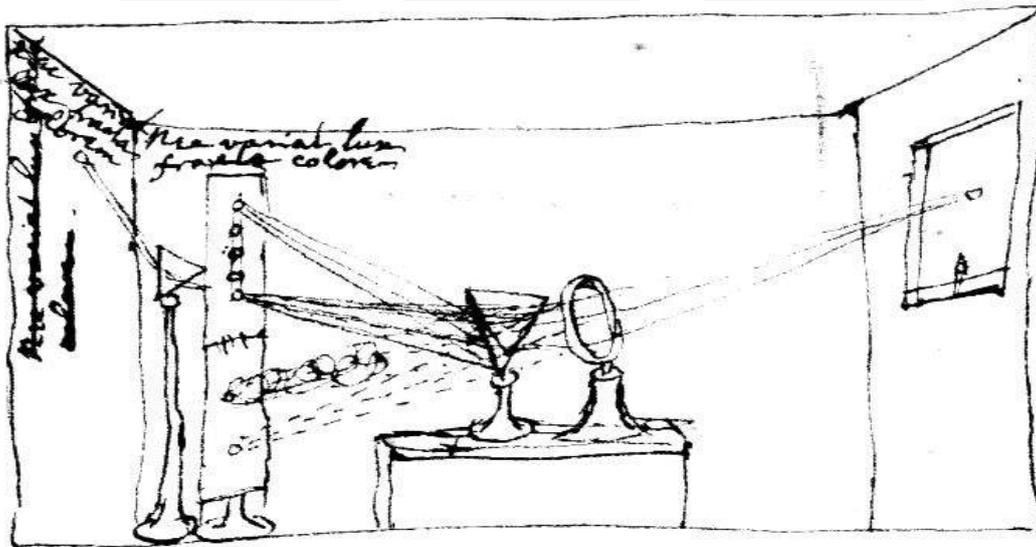
Il ne faut donc pas confondre la couleur d'un corps et la lumière colorée émise par un corps. La couleur correspond au pigment que contient l'objet et qui est invariable. La lumière colorée émise par le corps peut différer quant à elle suivant l'environnement dans lequel est placé le corps.

## 2. Lumière polychromatique

De très nombreuses couleurs connues ne sont pas des lumières monochromatiques mais correspondent à la superposition de plusieurs longueurs d'onde : on a affaire à une lumière polychromatique.

Ainsi, la lumière qui nous arrive du soleil ou d'une lampe à incandescence est un bon exemple de lumière polychromatique. Elle est appelée lumière blanche, mais elle renferme, entre autres, l'ensemble des radiations de longueur d'onde comprise entre 400 et 700 nm.

On peut alors décomposer la lumière par un dispositif dispersant : prisme, réseau, gouttelettes d'eau dans le cas de l'arc-en-ciel. On obtient alors l'ensemble des radiations lumineuses qui composent cette lumière polychromatique. Dans le cas d'une lumière monochromatique, cette décomposition ne donne rien que la lumière initiale...



Doc 2. Dessin historique de Newton illustrant la décomposition de la lumière solaire par un prisme.  
(On notera sur la gauche de la gravure la décomposition par un second prisme d'une radiation lumineuse monochromatique isolée du spectre initial)



Doc 3. Photographie illustrant la décomposition de la lumière blanche d'une lampe à incandescence par un prisme.

Pour composer l'ensemble des couleurs, il est possible d'utiliser deux principes :

- ✓ Synthèse additive

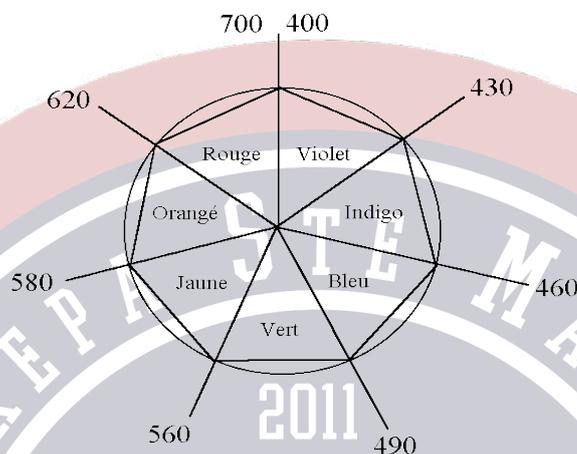
A partir du rouge, du vert et du bleu, on réalise une synthèse additive des couleurs (on devrait en fait dire une synthèse additive des lumières colorées). La superposition de ces trois lumières colorées en exactes proportions amène à la lumière blanche.

- ✓ Synthèse soustractive

C'est ce principe qui est à l'œuvre pour la couleur des objets qui nous entourent. L'objet éclairé par de la lumière blanche apparaît blanc s'il diffuse et renvoie toutes les radiations sans les absorber. En revanche, un objet qui absorbe certaines longueurs d'onde apparaît de la couleur des radiations qu'il renvoie. La couleur que l'on perçoit alors est appelée la **couleur complémentaire** de la couleur absorbée.

Si l'objet absorbe toutes les radiations lumineuses, il n'émet aucune lumière colorée et nous apparaît noir.

La couleur complémentaire est la couleur diamétralement opposée sur le disque des couleurs. Par exemple, un composé qui absorbe les radiations rouges et orange apparaît bleu. Un composé qui absorbe le bleu apparaît rouge-orangé.



Doc 4. Disque des couleurs

### 3. Lumière et énergie

Nous savons que l'énergie transportée par une radiation dépend de la longueur d'onde, donc de la fréquence de cette radiation.

Les récepteurs ont une sensibilité très variable suivant la longueur d'onde de la radiation qui leur arrive. C'est la raison pour laquelle il faut absolument recalibrer les appareils tels que les spectrophotomètres lorsque l'on change de longueur d'onde de travail.

## FICHE 2 : SPECTROPHOTOMÈTRES ET COLORIMÈTRES

### 1. Spectrophotomètre UV-visible

La source lumineuse est une lampe puissante (1), émettant toutes les longueurs d'onde entre 200 et 1100 nm environ. Le domaine spectral étudié est donc celui du proche ultraviolet et du visible : on parle de spectrophotométrie UV-visible.

Le faisceau de lumière est décomposé par un monochromateur (15), de telle sorte qu'on obtienne un faisceau de lumière approximativement monochromatique. Le choix de la longueur d'onde en sortie du monochromateur est effectué par l'expérimentateur.

Le faisceau traverse alors une cuve. La cuve (en verre ou en Plexiglas) doit être à faces parallèles pour éviter des effets de lentille. Elle est de longueur utile  $l$  (longueur optique) et renferme le produit absorbant ( $l$  vaut couramment 1 cm).

Le flux énergétique lumineux reçu est converti en un signal électrique. Celui-ci conduit soit directement à un signal numérique interprétable par un micro-ordinateur.

On rappelle que la sensibilité du détecteur, c'est-à-dire le rapport entre le signal électrique qu'il produit et le flux lumineux qu'il reçoit, est fortement dépendant de la longueur d'onde.

En plus du spectrophotomètre UV-Visible, vous serez amené à utiliser des spectrophotomètres visibles.



Doc5. Spectrophotomètre visible jenway7310 équipant le laboratoire de chimie.

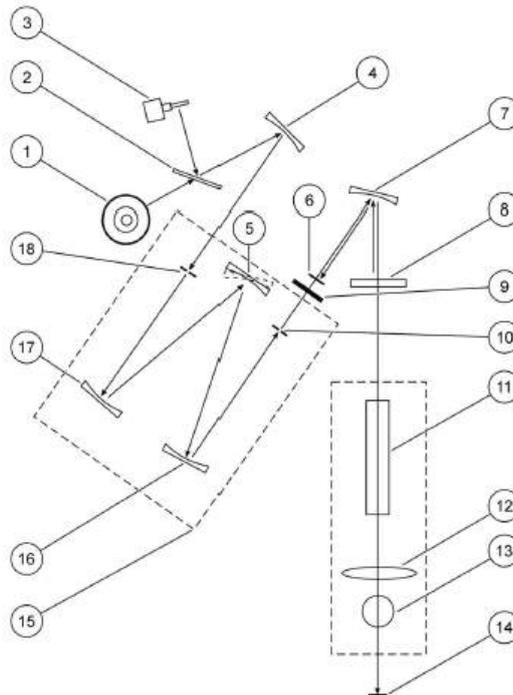


Figure 6 Trajectoire du faisceau

1 Lampe au deutérium	10 Fente de sortie
2 Miroir de sélection de la lampe	11 Compartiment pour cuves
3 Lampe au tungstène	12 Lentille
4 Miroir	13 Compartiment pour cuves/cellules rondes
5 Grille	14 Elément de mesure
6 Elément de référence	15 Monochromateur
7 Miroir	16 Miroir
8 Miroir séparateur	17 Miroir
9 Filter	18 Fente d'entrée

Doc 5. Schéma simplifié de fonctionnement du DR 5000



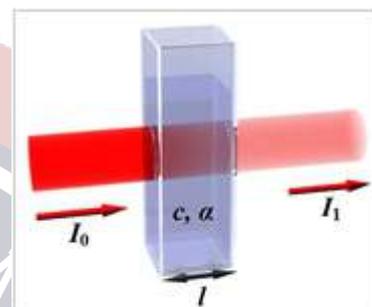
Doc 6. Vue du DR 5000 équipant le laboratoire de chimie.

## 2. Absorbance et transmittance

Soit une solution (S) contenant une substance colorée dissoute dans un solvant incolore. Une mesure en spectrophotométrie est basée sur la comparaison du flux énergétique de deux rayons lumineux :

- ✓ un rayon monochromatique traversant une cuve de référence, appelée communément le blanc, contenant toutes les substances de la solution (S) à l'exception de la substance colorée, et donc a priori transparente vis à vis du rayon lumineux ;  
L'intensité lumineuse à la sortie est notée  $I_0$ .
- ✓ le même rayon traversant une cuve identique contenant la solution (S).  
L'intensité lumineuse à la sortie est noté  $I$ .

En traversant le blanc, il y a une légère perte d'énergie lumineuse, en raison de l'absorption propre éventuelle du solvant, des autres substances non colorées contenues dans la solution, mais aussi des effets dus à des réflexions, des réfractions ou des diffusions parasites du faisceau incident, qui traverse quatre dioptries plans successifs : air-Plexiglas, Plexiglas-solvant, solvant-Plexiglas, Plexiglas-air... Ces pertes se retrouveront de la même façon dans la cuve de mesure, à condition de la prendre strictement identique (taille, matériau) et remplie du même solvant. Dans ce cas, la comparaison des deux flux permet d'isoler l'absorption due à la substance colorée uniquement.



On définit alors les deux grandeurs spectrophotométriques :

- ✓ La **transmittance T** qui est la fraction du flux lumineux transmis.

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$T = 0$  signifie que le milieu est opaque,  $T = 1$  (ou 100%) signifie qu'il est complètement transparent ( $I = I_0$ ). On a bien sûr toujours  $0 \leq T \leq 1$ .

- ✓ L'**absorbance A** (ou densité optique % ou DO).

$$A = \text{Log} \left( \frac{1}{T} \right) = \text{Log} \left( \frac{I_0}{I} \right)$$

La transmittance décroît lorsqu'un composé situé dans la cuve absorbe davantage. Afin d'avoir une grandeur croissante avec le caractère absorbant, on utilise l'inverse de la transmittance, ou plus exactement le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance que l'on nomme absorbance

## 3. Spectre d'absorption d'une substance

- ✓ Le spectre est caractéristique d'une substance et permet donc de l'identifier.  
L'analyse spectroscopique est donc une technique essentielle de la chimie analytique.
- ✓ Le spectre d'une substance permet de connaître sa longueur d'onde d'absorption maximale, ce qui est indispensable pour mettre en place une technique de détermination de concentration grâce à la loi de Beer-Lambert.

### FICHE 3 : LOI DE BEER-LAMBERT

#### 1. Enoncé de la loi

L'expérience montre que, pour une solution suffisamment diluée d'une substance, l'absorbance  $A$  est proportionnelle à la longueur  $l$  de la cuve et à la concentration  $C$  de cette substance, ce que traduit la loi de Beer-Lambert

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C$$

$\varepsilon$  est appelé coefficient d'absorption molaire et s'exprime couramment en  $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

$C$  est un paramètre caractéristique de l'espèce absorbante, qui dépend fortement de la longueur d'onde. C'est ce paramètre qui varie lorsqu'on trace le spectre d'une solution et qui est donc responsable de l'allure du spectre.

$C$  est la concentration de la substance en  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  et  $l$  est la longueur de la cuve en cm.



La loi n'est valable que si la concentration de la substance dissoute est suffisamment faible (typiquement inférieure à  $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ ). Si la concentration est plus grande, les molécules sont trop proches les unes des autres et subissent entre elles des interactions qui modifient leurs propriétés d'absorption.

## 2. Choix de la longueur d'onde d'étude

Lorsqu'on souhaite utiliser la loi de Beer-Lambert, la longueur d'onde choisie est couramment celle du maximum d'absorption  $\lambda_{max}$ . Il y a deux raisons à cela :

- ✓ C'est à cette longueur d'onde que la sensibilité des mesures est maximale. Cela signifie que les faibles variations de concentration donneront les plus fortes variations d'absorbance.
- ✓ C'est à cette longueur d'onde que l'imprécision est la plus faible.

## 3. Détermination d'une concentration inconnue par droite d'étalonnage

Pour déterminer avec précision la concentration  $C_A$  d'une solution (S) en un composé coloré A, on procède de la manière suivante :

- ✓ Prendre le spectre de la solution, afin de déterminer la longueur d'onde  $\lambda_{max}$  du maximum d'absorption du composé A ;
- ✓ Si l'absorbance dépasse largement la valeur 1, on choisit une autre longueur d'onde (épaulement du spectre, ou autre extremum local du spectre), telle que l'absorbance soit comprise entre 0,1 et 1. On peut aussi décider de diluer avec précision la solution, afin de ramener l'absorbance entre 0,1 et 1 ;
- ✓ Régler le spectrophotomètre sur la longueur d'onde choisie ;
- ✓ En utilisant de la verrerie de précision, on réalise des solutions de concentrations  $C_i$  connues de A (le composé A pur doit bien sûr être disponible au laboratoire !), on mesure l'absorbance  $A_i$  de chacune d'entre elles et on réalise une courbe d'étalonnage  $A_i = f(C_i)$  ;
- ✓ Enfin, on mesure l'absorbance de la solution (S) et on reporte ce point sur la droite d'étalonnage : l'abscisse nous donne la concentration cherchée  $C_A$ .

### FICHE 4 : COMPOSITION DE L'EAU DE DAKIN

La solution de Dakin (anciennement liqueur de Dakin, et maintenant parfois eau de Dakin) est un liquide antiseptique utilisé pour le lavage des plaies et des muqueuses, de couleur rose et à l'odeur d'eau de Javel.

Lors de la Première Guerre mondiale, le chimiste d'origine britannique installé aux États-Unis Henry Drysdale Dakin met au point avec le chirurgien français Alexis Carrel un antiseptique (dont la substance active est l'eau de Javel) pour les plaies ouvertes ou infectées, dans le cadre des travaux de ce dernier sur le traitement des plaies de guerre.

Elle a pour avantage de ne pas être colorante (contrairement à l'éosine, par exemple) et de ne pas produire de sensation d'irritation à l'usage (contrairement à la Bétadine par exemple).

Elle est à base d'hypochlorite de sodium à 0,5 % de chlore actif (soit 5 000 ppm) additionnée de permanganate de potassium pour la stabiliser vis-à-vis de la lumière UV. Les solutions d'hypochlorite ayant un pH élevé (aux alentours de 9), la solution est tamponnée avec du dihydrogénophosphate de sodium par exemple. L'activité maximale de la solution ainsi obtenue est pour un pH de 5.

Les dérivés chlorés ont un spectre étendu et ont une forte action contre les bactéries (Gram positif, Gram négatif, Mycobactéries), les levures, les moisissures, les virus nus ou enveloppés et les spores.

(D'après Wikipédia)



## Grille d'évaluation du TP 02

Compétences générales		Oui			Non
S'approprier	Rechercher, extraire et organiser l'information pour déterminer la composition et la concentration de l'espèce colorée dans l'eau de Dakin.				
	Énoncer une problématique d'approche expérimentale.				
	Définir des objectifs correspondants.				
Analyser	Formuler et échanger des hypothèses.				
	Proposer une stratégie pour répondre à la problématique.				
	Choisir, concevoir et justifier un protocole ou un dispositif expérimental pour déterminer une concentration par spectrophotométrie UV-visible.				
Réaliser	Utiliser (avec la notice) le spectrophotomètre de manière adaptée et en autonomie.				
	Mettre en œuvre des règles de sécurité adéquates liées au composé utilisé.				
	Mettre en œuvre la récupération des déchets.				
	Effectuer des représentations graphiques à partir de données expérimentales.				
Valider	Exploiter des mesures en identifiant les sources d'erreurs et en estimant les incertitudes sur la concentration de l'espèce colorée dans le médicament.				
	Confirmer ou infirmer une hypothèse, une information.				
	Analyser les résultats de manière critique.				
Communiquer	Présenter les étapes de son travail de manière synthétique, organisée, cohérente et compréhensible.				
	Utiliser un vocabulaire scientifique adapté.				
	S'appuyer sur des schémas, des graphes.				
Être autonome, faire preuve d'initiative	Travailler en équipe.				
	Solliciter une aide de manière pertinente.				
	S'impliquer, prendre des décisions, anticiper.				

Compétences spécifiques		Oui			Non
Tracer le spectre d'absorption d'une substance pour une gamme de longueur d'ondes.					
Régler le zéro pour mesurer une absorbance.					
Mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde appropriée.					
Savoir tracer une droite d'étalonnage à l'aide d'un logiciel.					
Déterminer une concentration en utilisant une droite d'étalonnage.					
Exprimer une concentration par une valeur et une incertitude associée.					
Commenter qualitativement le résultat d'une mesure en le comparant à une valeur indicative.					
Réaliser une régression linéaire à l'aide d'un logiciel.					
Analyser si les données expérimentales sont en accord avec une loi linéaire.					
Identifier le bidon de récupération des solutions de permanganate de potassium.					
Réaliser des dilutions à partir d'une solution mère.					

Note :	
--------	--