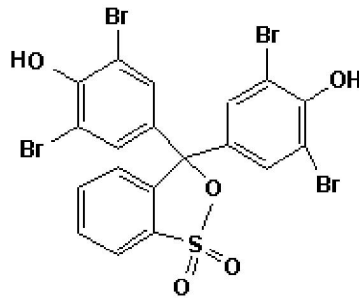


## AE n° 2 : Étude temporelle d'une réaction par suivi spectrophotométrique

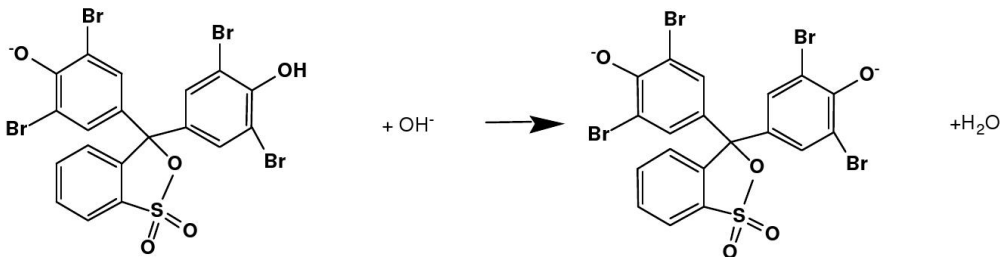
### I. Présentation de la réaction étudiée

Le bleu de bromophénol (BBP) est un indicateur coloré souvent utilisé comme indicateur de fin de réaction dans des dosages acido-basiques.

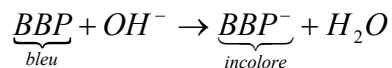


Formule semi-développée du bleu de bromophénol, de *masse molaire*  $M = 669,5 \text{ g.mol}^{-1}$

Selon le pH, le BBP peut se trouver sous différentes formes. Dans l'eau à pH neutre (autour de 7), le BBP se trouve sous forme  $\text{BBP}^-$  de couleur bleue. Pour  $\text{pH} > 7$ ,  $\text{BBP}^-$  réagit avec les ions hydroxydes, selon la réaction suivante, donnant des produits incolores :



L'équation de la réaction s'écrit sous la forme :



Au fur et à mesure de la réaction, la forme BBP bleue disparaît au profit de la forme incolore  $\text{BBP}^-$ , modifiant ainsi la couleur de la solution. C'est pourquoi on utilisera la spectrophotométrie pour suivre l'évolution de la concentration de  $\text{BBP}^-$ , noté BBP par la suite.

L'objectif de la séance est de suivre par spectrophotométrie l'évolution dans le temps de la concentration en BBP, de couleur bleue.

## II. Choix de la longueur d'onde utilisée pour la spectrophotométrie

### a) Spectre du BBP (20 min)

- ⇒ Vous disposez d'une solution aqueuse de BBP à  $0,4 \text{ g.L}^{-1}$ . Réalisez une dilution au  $1/25^{\text{ème}}$  en introduisant 2 mL de cette solution-mère dans une fiole jaugée de 50 mL et en complétant avec de l'eau déminéralisée. Homogénéisez la solution.

Il s'agit maintenant de tracer le spectre d'absorption de cette solution. Pour cela, répondez aux questions suivantes en vous aidant de la fiche de rappels sur la spectrophotométrie :

1. Quelle est la solution de référence qui doit être utilisée pour réaliser le zéro d'absorbance ?
2. Dans quel domaine du spectre électromagnétique allons-nous enregistrer le spectre d'absorption du BBP ?

### ***L'allumage des spectromètres s'effectue en ouvrant le logiciel et non manuellement !***

- ⇒ En suivant le mode d'emploi du spectrophotomètre, tracez le spectre d'absorption du BBP et imprimez-le (penser à bien sélectionner l'imprimante de la salle).
3. Déterminer la valeur de la longueur d'onde  $\lambda_{\text{max}}$  du maximum d'absorption accompagnée d'une incertitude.
  4. Pouvaient-on prévoir qualitativement l'ordre de grandeur de cette valeur ?

### b) Loi de Beer-Lambert et droite de calibration (40 min)

La loi de Beer-Lambert précise que pour une solution peu concentrée en substance absorbante et pour une lumière monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$ , l'absorbance  $A(\lambda)$  est, à une température donnée, proportionnelle à l'épaisseur de la cuve  $l$ , en cm, et à la concentration de la substance colorée,  $C$ , en mol/L, suivant la relation :

$$A = \varepsilon(\lambda) l C \quad (\text{Voir annexe pour plus de détails})$$

La mesure de l'absorbance permet donc de remonter à la valeur de la concentration de la substance absorbante à condition de connaître le facteur de proportionnalité noté  $k$  reliant  $A$  et  $C$  :  **$A=kC$** .

On peut déterminer expérimentalement  $k$  en traçant une courbe de calibration représentant l'évolution de l'absorbance en fonction de la concentration.

1. Donner l'expression littérale de la concentration en fonction de la concentration de la solution-mère (en  $\text{mol.L}^{-1}$ ) et de deux volumes à préciser. Calculer la concentration en  $\text{mol.L}^{-1}$  du BBP dans la solution diluée au  $1/25^{\text{ème}}$ .
2. Calculez l'incertitude sur cette concentration par la formule de propagation des incertitudes. On supposera que l'incertitude relative sur la concentration du BBP dans la solution-mère est de 0,5 %. Pour l'incertitude sur les volumes, on se référera aux indications de la verrerie utilisée, on néglige l'erreur commise sur la masse molaire.
3. D'après la partie précédente, quelle longueur d'onde faut-il choisir pour faire les mesures d'absorbance ?

- ⇒ Réaliser par dilution trois autres solutions de BBP de concentrations différentes connues à partir de la solution mère réalisée dans la partie précédente (solution au  $1/25^{\text{ème}}$ ) suivant le tableau ci-dessous. On complètera dans une fiole jaugée de 50mL le volume de solution-mère prélevée.

Volume de solution mère à prélever	Concentration solution fille
20 mL	$9,6 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$
10 mL	$1,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$
5 mL	$1,9 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$

Mesure d'absorbance avec le spectrophotomètre :

Si votre spectrophotomètre est relié à un ordinateur, utiliser le bouton « test/étalonnage » dans l'onglet « expérience » pour avoir une mesure à la longueur d'onde choisie (« sélectionner »).

Si votre spectrophotomètre est manuel, lire directement la mesure d'absorbance sur l'appareil à la longueur d'onde choisie.

- ⇒ Choisir la longueur d'onde de mesure d'absorbance.
- ⇒ Faire le *zéro d'absorbance* avec la solution de référence (bouton « zéro abs. »).
- ⇒ Faire une mesure d'absorbance à cette longueur d'onde (pas de spectre entier !) pour les différentes solutions de BBP puis tracer la droite de calibration  $A=f(C)$  avec le tableur de votre choix. Déterminer par un modèle affine la valeur de  $k$ .

### III. Suivi temporel de la concentration du BBP par spectrophotométrie (1h30)

Lire le protocole donné dans l'encadré ci-dessous ainsi que les remarques. Avant de le mettre en œuvre, répondre à ces questions :

1. Quelle solution de référence faut-il utiliser pour régler le « zéro d'absorbance » du spectrophotomètre ?
  2. Rappeler à quelle longueur d'onde il vaut mieux travailler pour évaluer la concentration en BBP.
- ⇒ Mettre en œuvre le protocole ci-dessous.

#### Protocole expérimental pour la mesure de vitesse de réaction

1. Préparer le spectrophotomètre pour les mesures :
  - Régler la longueur d'onde d'absorption à laquelle les mesures vont être effectuées. Rappel : on utilisera le bouton *test/étalonnage* dans l'onglet *expérience* pour avoir une mesure d'absorbance en temps réel.
  - Effectuer le zéro d'absorbance (bouton « zéro abs. »).
2. **Utiliser des GANTS pour manipuler la soude !!** Introduire à la pipette, dans une fiole jaugée de 50 mL, 2 mL de solution aqueuse de bleu de bromophénol (de concentration massique  $0,4 \text{ g.L}^{-1}$ ) et étendre à 50 mL avec une solution d'hydroxyde de sodium (de concentration  $C_B=1,4 \text{ mol.L}^{-1}$ ).
3. **Déclencher le chronomètre dès le mélange effectué**
4. Homogénéiser la solution et commencer rapidement les mesures. Toutes les 2 à 3 minutes, prélevez un peu de la solution pour effectuer une mesure d'absorbance. Réitérez l'opération toutes les 2 à 3 minutes jusqu'à ce que l'absorbance initiale soit divisée par 10 (ou au maximum pendant 1 heure). Notez à chaque fois le temps et l'absorbance correspondante.

Remarques :

- **La vitesse de la réaction est sensible aux variations de température. C'est pourquoi, la cuve remplie de la solution à étudier sera placée dans le spectrophotomètre juste le temps nécessaire pour effectuer la mesure. NE PAS LAISSER UNE CUVE DANS LE SPECTROPHOTOMETRE POUR FAIRE TOUTES LES MESURES.**
  - Vous utiliserez la même cuve pour la référence et les différentes solutions, en rinçant entre deux mesures votre cuve avec la future solution à mesurer.
  - Vous jetterez le contenu de la cuve dans un « bécher poubelle », qui sera vidé dans le bidon de récupération des liquides à la fin du TP.
- ⇒ Tracer le graphe de la concentration en BBP en fonction du temps. Vérifiez que l'on obtient une croissance rapide au début puis de plus en plus lente.

#### IV. Détermination de l'ordre de la vitesse de réaction (pour les plus rapides)

La **vitesse de la réaction** correspond à la variation de la concentration de BBP dans le temps suivant la loi de vitesse :

$$v = -\frac{d[BBP]}{dt} = k[BBP]^\alpha$$

L'objectif de cette partie est de déterminer expérimentalement la valeur du paramètre  $\alpha$ , en exploitant les résultats obtenue dans la partie 3.

1. Remplir dans le logiciel Regressi, dont le mode d'emploi vous est donné en annexe un tableau à partir de vos mesures avec les colonnes suivantes, qui sera à joindre à votre compte-rendu :

Temps (min)	Absorbance	[BBP] (mol.l <sup>-1</sup> )	ln([BBP])	1/[BBP]

2. Tracer les courbes suivantes:

- [BBP] = f(t)
- ln([BBP]) = g(t)
- 1/[BBP] = h(t)

3. Pour vérifier la linéarité d'une courbe, on peut faire une régression linéaire avec le logiciel Regressi ou Excel. Laquelle des trois courbes dessinées ci-dessus est la plus linéaire ? En déduire l'ordre de la réaction par rapport au BBP et la constante de vitesse apparente  $k_0$  de la réaction en s'aidant du tableau ci-dessous :

Vitesse $v=k[BBP]^\alpha$	$\alpha=0$	$\alpha=1$	$\alpha=2$
Tracé linéaire	[BBP] = f(t)	ln([BBP]) = g(t)	1/[BBP] = h(t)
Coefficient directeur de la droite	-k	-k	k
Temps de demi-réaction	$t_{1/2} = \frac{[BBP]_0}{2k}$	$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$	$t_{1/2} = \frac{1}{k[BBP]_0}$

4. Déterminer graphiquement le temps de demi-réaction, c'est-à-dire l'instant t pour lequel la moitié de la quantité initiale de réactif a été consommée. Vérifier qu'on retrouve la valeur donnée dans le tableau ci-dessus.

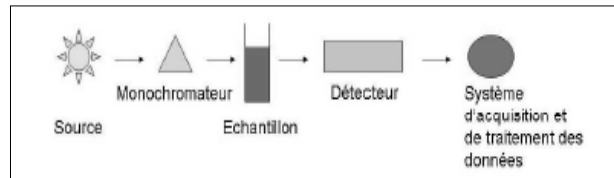
## Annexe : Rappels sur la spectrophotométrie

### Principe et appareil de mesure

La spectrophotométrie est une technique basée sur la mesure des propriétés d'absorption de la lumière par une substance. Son principe est de mesurer, à une longueur d'onde donnée, la quantité de lumière absorbée par une solution, à travers une grandeur nommée absorbance et notée  $A$ , qui est d'autant plus élevée que la solution absorbe la lumière.

L'appareil qui permet de mesurer l'absorbance est un spectrophotomètre (d'absorption). Il est constitué de plusieurs éléments qui se suivent dans l'ordre précisé ci-dessous et représentés sur le schéma suivant :

- une source de lumière UV-visible 300-800nm
- un sélecteur de longueur d'onde (un monochromateur)
- un emplacement pour l'échantillon contenant la solution à étudier de concentration  $C$
- un détecteur couplé à un système de traitement du signal.



L'épaisseur de la cuve (aussi appelée chemin optique) est notée  $l$  et vaut couramment 1 cm.

### Absorbance et spectre d'absorption

Une mesure en spectrophotométrie permet de déterminer la concentration d'une espèce mise en solution. Elle est basée sur la comparaison des intensités de deux rayons lumineux :

- le rayon monochromatique traversant la cuve contenant la solution à étudier, intensité  $I$
- le rayon monochromatique traversant la cuve (identique à la cuve de référence), mais contenant uniquement le solvant, intensité  $I_0$ .

Par comparaison de ces deux intensités, on peut « isoler » l'absorption due à la substance colorée. On définit l'absorbance  $A$  par la formule :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Le spectre d'absorption d'un composé présente plusieurs intérêts :

- un spectre est caractéristique d'une substance : il peut être utilisé pour l'identifier.
- déterminer quantitativement la concentration du soluté

### Absorbance et concentration : la loi de Beer-Lambert

La loi qui donne l'absorption d'une solution en fonction de la concentration de l'espèce absorbante est la loi de Beer-Lambert. Pour une solution peu concentrée en substance absorbante et pour une lumière monochromatique  $\lambda$ , l'absorbance  $A(\lambda)$  est, à une température donnée, proportionnelle à l'épaisseur de la cuve  $l$ , en cm, et à la concentration de la substance colorée,  $C$ , en  $\text{mol.L}^{-1}$  :

$$A = \varepsilon(\lambda) l C$$

$\varepsilon(\lambda)$  est le coefficient d'absorption (ou d'extinction) molaire à la longueur d'onde  $\lambda$  de la substance étudiée. Ce coefficient dépend de la nature de la substance, de la longueur d'onde, de la température et du solvant considéré. Il s'exprime couramment en  $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ . C'est ce paramètre qui varie lorsqu'on trace le spectre d'absorption d'une solution et qui est donc responsable de l'allure du spectre.

**Attention, la loi de Beer-Lambert n'est valable que si la solution est diluée !**

La loi de Beer-Lambert s'applique aux mélanges (à condition qu'il n'y ait aucune interaction entre les différentes espèces absorbantes). Il suffit d'additionner les absorbances dues à chacune des espèces. Pour un mélange de N espèces absorbantes, on a donc :

$$A(\lambda) = \sum_i \varepsilon_i(\lambda) l C_i$$

où  $l$  est toujours l'épaisseur de la cuve, et où  $\varepsilon_i(\lambda)$  et  $C_i$  sont respectivement le coefficient d'absorption molaire et la concentration de l'espèce  $i$ .

### Aspects pratiques

Afin de pouvoir tirer le meilleur parti de la spectrophotométrie, certains aspects pratiques sont essentiels à prendre en compte.

- **Manipulation des cuves :**

Un soin tout particulier doit être apporté à l'état et à la manipulation des cuves. Celles-ci doivent être soigneusement lavées et rincées. On peut rincer la cuve avec la solution à étudier si celle-ci est en quantité suffisante. Il faut bannir les bulles, les particules en suspension, les traces de doigts sur les faces traversées par le faisceau.

- **Choix de la cuve de spectrophotométrie :**

Le choix de la cuve à utiliser dépend de la longueur d'onde à laquelle on va travailler. En effet, il ne faut pas que le matériau qui constitue la cuve absorbe la lumière utilisée ! Ainsi, on utilisera :

- pour des mesures dans le domaine du visible : des cuves en verre ou en plastique. Les cuves en plastique sont généralement utilisées en TP car moins coûteuses et faciles d'utilisation. Néanmoins, elles ne peuvent pas tout le temps être utilisées car certains solvants dissolvent le plastique !
- Pour des mesures dans l'UV : des cuves en quartz (suprasil, herasil) ou en silice fondue. Ces cuves étant très coûteuses, on ne les utilise que si nécessaire et avec grand soin.

- **Précision des mesures d'absorbance :**

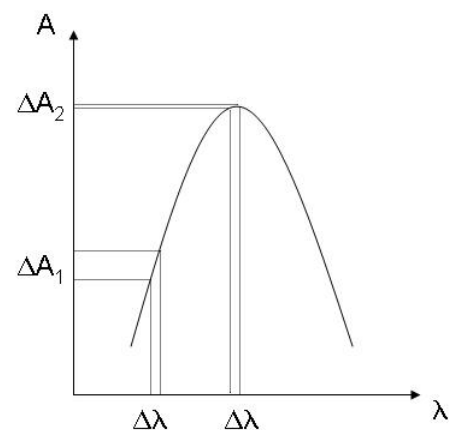
- En dessous de 0,1, la solution est très peu absorbante. L'imprécision des mesures peut venir de la sensibilité du détecteur mais surtout de l'influence non négligeable de facteurs expérimentaux : rayures sur la cuve, salissures imperceptibles à l'œil, microbulles sur le trajet optique, présence d'impuretés...
- Au-dessus de 1, la solution est fortement absorbante. Les écarts à la loi de Beer-Lambert apparaissent et la précision du détecteur diminue quand le flux tend vers zéro.

**On retiendra que la meilleure précision de mesure de l'absorbance est obtenue lorsque celle-ci est comprise entre 0,1 et 1.**

- **Choix de la longueur d'onde :**

La longueur d'onde choisie est généralement celle pour laquelle l'absorbance est maximale. Il y a deux raisons à cela :

- c'est à cette longueur d'onde que la sensibilité des mesures est la meilleure car  $\varepsilon$  est maximal.
- la forme en bandes larges et aplaties au sommet des bandes d'absorption fait que l'erreur de mesure sur  $A$  à une longueur d'onde  $\lambda \pm \Delta\lambda$  est minimale comme le montre la figure ci-dessous. Donc une petite fluctuation de la longueur d'onde ne provoque pas une grande variation de




l'absorbance.

## Fiche : Utilisation du logiciel REGRESSI

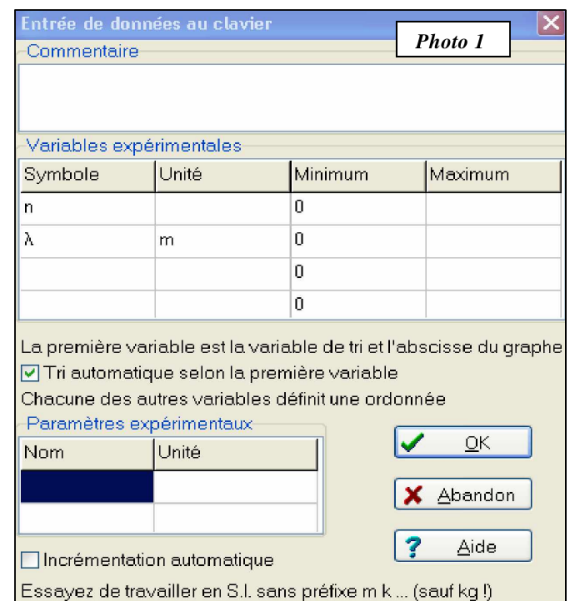
REGRESSI est un logiciel informatique permettant de traiter des données obtenues en travaux pratiques. Nous l'utiliserons lors des séances de travaux pratiques de chimie. Il est possible que la version de REGRESSI installées sur les ordinateurs de la salle de TP ne soit pas exactement la même que celle qui a servi à faire cette notice. Néanmoins, l'interface et la majorité des commandes sont similaires. À vous de faire preuve d'adaptabilité pour retrouver les fonctions dont vous avez besoin !

### Commencer une nouvelle expérience

Lancer le logiciel REGRESSI (icône  sur le Bureau) puis, dans l'onglet Fichier, sélectionner Nouveau puis Clavier.

La fenêtre ci-contre s'ouvre :

- Rentrer le nom des variables étudiées (Symbole) ainsi que leurs unités (Unité). Il n'est pas nécessaire de compléter les cases Minimum et Maximum.
- Il est possible d'obtenir certaines lettres grecques en appuyant simultanément sur la touche Ctrl et sur une lettre du clavier. Par exemple, « Ctrl + l » donne  $\lambda$  et « Ctrl + m » donne  $\mu$ .

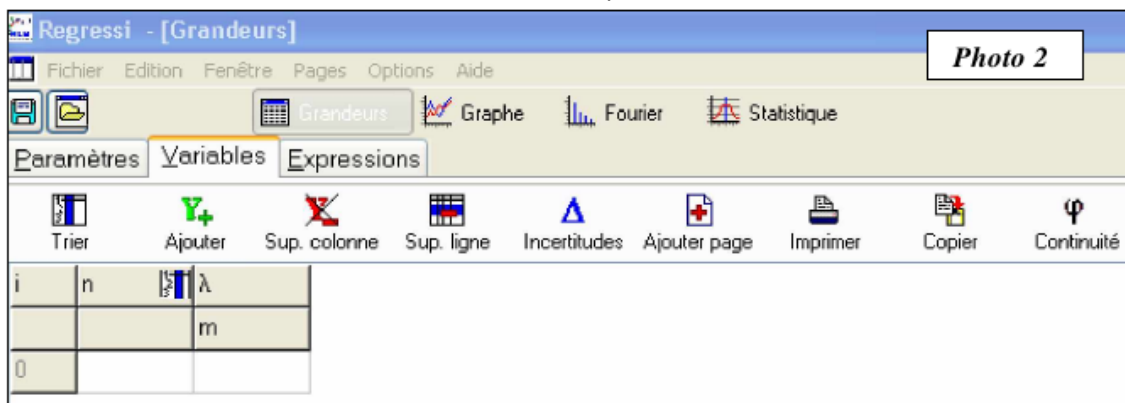


Symbole	Unité	Minimum	Maximum
n		0	
$\lambda$	m	0	
		0	
		0	

N'oubliez pas de sauvegarder votre travail régulièrement.

### Rentrer les résultats expérimentaux


Lorsque vous cliquez sur OK, la fenêtre GRANDEURS s'affiche à l'intérieur de la fenêtre de REGRESSI, qui contient un tableau avec les variables définies précédemment en colonne. C'est dans ce tableau que vous rentrerez toutes les données accumulées au cours de l'expérience.



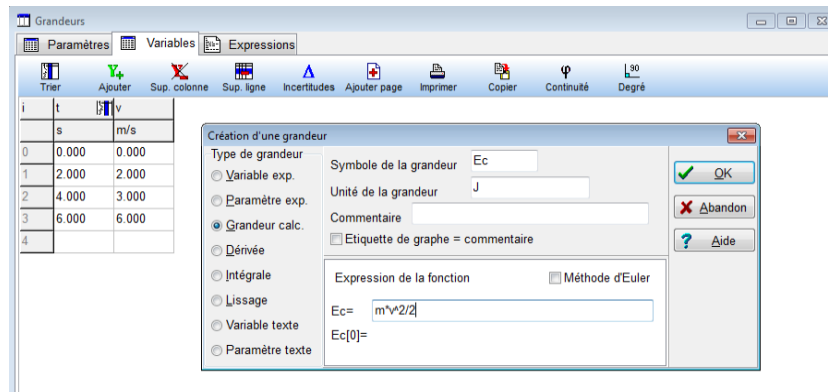
i	n	$\lambda$
0		m

Pour rentrer une valeur possédant « en puissances de 10 », il faut utiliser la lettre E. Par exemple :  $4,5 \cdot 10^{-9}$  se rentre 4,5E-9.

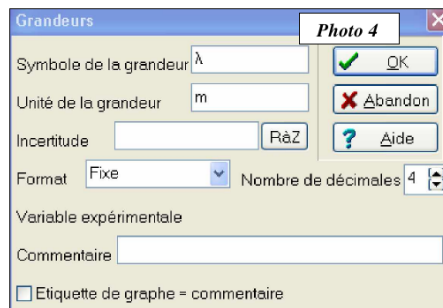
Voici quelques fonctionnalités qui pourront vous être utiles :




- Le bouton « Ajouter » (icône  Ajouter) permet de rajouter au choix :
  - une nouvelle variable expérimentale à remplir dans le tableau (choisir « Variable exp. »).
  - une constante (choisir « Paramètre exp. ») accessible à partir de l'onglet « Paramètres ». Cette constante peut être une constante physique (nombre d'Avogadro,...) ou un paramètre

- expérimental (volume initial) utilisé dans une formule.
- une grandeur définie par une fonction mathématique utilisant les variables expérimentales et les constantes définies (choisir « Grandeur calc. »). Si on a rentré la variable vitesse  $v$  et la masse  $m$  comme constante, on peut par exemple calculer l'énergie cinétique comme sur la figure ci-dessous.






- La dérivée d'une variable expérimentale (choisir « Dérivée »).
- On peut modifier la nature d'une grandeur expérimentale (ou d'une constante) en double-cliquant sur son nom dans le tableau. On peut alors modifier son nom, son unité,... comme indiqué sur la figure ci-dessous.



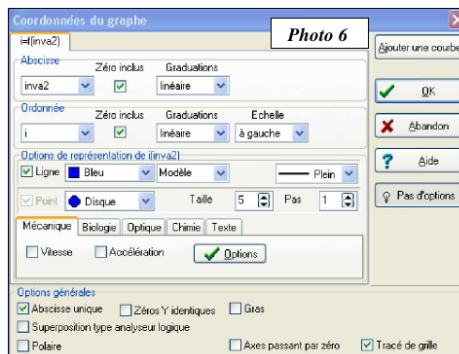
- L'option « Trier » (icône ) permet de trier les lignes du tableau en fonction des valeurs d'une colonne.
- On peut supprimer une colonne ou une ligne en sélectionnant la colonne ou ligne voulue (simple-clic sur le titre) puis en utilisant l'option « Sup. Colonne » (icône ) ou « Sup. Ligne » (icône ) .

### Analyser les résultats de l'expérience

Lorsque vous avez rentré vos données, vous pouvez accéder à une représentation graphique dans la fenêtre « Graphe » accessible via l'icône  . Voici les différentes fonctionnalités qui vous seront utiles :


- « Outils graphiques » accessibles par l'icône  . Ces outils permettent notamment de faire une lecture précise d'un point du graphe (option « Réticule »), de rajouter du texte au graphe (option « Texte ») ou de tracer une tangente à une courbe en un point (option « Tangente »).
- « Axes » accessible par l'icône  . On accède alors à une fenêtre ci-dessous qui permet de modifier les courbes déjà tracées et d'ajouter des courbes au graphe.








- Sur le bord gauche de la fenêtre du graphe, on peut cliquer sur l'option « Modélisation » qui va faire apparaître un menu permettant de confronter les données expérimentales recueillies avec une modélisation théorique. La fenêtre Modélisation est décrite ci-dessous.



L'icône  permet de choisir le modèle mathématique à ajuster sur les grandeurs expérimentales et sur quelle courbe ajuster ce modèle. Une fois le modèle sélectionné, le bouton « Ajuster » permet d'ajuster les paramètres du modèle qui reproduisent au mieux les résultats expérimentaux.

L'icône  permet d'accéder aux options de modélisation.


L'icône  permet de définir à l'aide de la souris la zone où l'on applique la modélisation (ou bornes)

L'icône  ouvre un menu d'options diverses (sauvegarde des paramètres, titre du graphe,...)

Différents diagnostics de la modélisation sont indiqués dans la partie « Résultats de la modélisation ». On peut faire notamment afficher le coefficient de corrélation en le sélectionnant dans le menu d'options de modélisation.

### Imprimer vos résultats

Lorsque vous avez terminé de tracer vos graphes et d'analyser vos résultats, vous pouvez les imprimer.

L'icône d'impression  n'imprime que le graphe. Il est donc préférable d'aller dans les menus « Fichier » puis « Imprimer », qui permet de choisir d'imprimer d'autres informations supplémentaires (telles que le tableau de valeurs expérimentales).