

TEISSIER Thomas
MADET Nicolas
Licence IUP SIAL

Université de Créteil-Paris XII

COMPTE-RENDU DE TP DE SPECTROPHOTOMETRIE:

UV-visible

Année universitaire 2003/2004

Sommaire.

I.	SPECTRE D'EMISSION DE LA LAMPE UV.....	3
II.	ETUDE DES CUVES DE SPECTROSCOPIE UTILISEE.....	3
III.	ETUDE DES SOLVANTS UTILISES EN SPECTROSCOPIE UV VISIBLE.....	4
IV.	ANALYSE DE QUELQUES COMPOSES ET DETERMINATION DE LEUR COEFFICIENT D'ABSORPTION A UNE LONGUEUR D'ONDE.	5
V.	DETERMINATION DU λ MAX PAR LA FORMULE CHIMIQUE DE LA MOLECULE.....	6
A.	OXYDE DE MESITYLE :	6
1.	<i>Formule chimique de l'oxyde de méesityle.</i>	6
2.	<i>Détermination par la règle de woodward-Fieser.</i>	6
B.	B-IONONE :	7
1.	<i>Formule chimique de la β-ionone.</i>	7
2.	<i>Détermination par la règle de woodward-Fieser.</i>	7
VI.	DETERMINATION PAR LE COEFFICIENT D'ABSORBANCE.	8
VII.	DETERMINATION PAR LA GAMME ETALON.....	9

Le principe de la spectroscopie UV Visible repose sur la transition d'un état fondamentale vers un état excité d'un électron d'une molécule par excitation par une onde électromagnétique. Le passage d'un état électronique à un autre état électronique d'énergie plus élevée nécessite l'absorption d'énergie sous forme dans ce cas de photon.

Dans l'état fondamentale, un atome ou une molécule se trouve dans son état de plus basse énergie, c'est-à-dire que tous les électrons sont réparties sur des orbitales atomiques de plus basse énergies avec pas plus de deux électrons par orbitale.

Le principe du spectromètre consiste en une source constituée de deux lampes qui permettent un continuum d'émission sur toute la gamme de longueur d'onde UV Visible :

Lampe au deutérium qui émet des longueurs d'ondes de 180 à 400 nm (UV).

Lampe au tungstène qui émet des longueurs d'ondes de 400 à 800 nm (Visible).

Un monochromateur permet de sélectionner les longueurs d'ondes et donc de faire un balayage de la gamme en déplaçant ce monochromateur. Le faisceau de photons à la longueur d'onde sélectionnée traverse un miroir qui synchronise le mouvement du monochromateur puis le faisceau traverse l'échantillon et ou la référence puis un amplificateur permet de comparer l'intensité en sortie par rapport à l'intensité d'émission.

Dans ce TP nous analyserons des cuves différentes constituées dans des matériaux différents afin de connaître celle qui permet d'obtenir le moins de parasite, c'est-à-dire le matériaux qui absorbe le moins dans le domaine UV Visible. Puis nous analyserons différents solvants, pour les composés à analyser, afin de choisir le meilleur solvant. Nous analyserons quelques composés et grâce à la loi de Beer-Lambert nous calculerons leur Coefficient d'absorption spécifique à une longueur d'onde donnée. Enfin, nous utiliserons la spectroscopie UV Visible pour déterminer la concentration d'une solution inconnue d'un composé par deux méthodes.

I. Spectre d'émission de la lampe UV.

Le spectre d'émission d'une lampe correspond aux longueurs d'ondes qu'elle émet, ainsi en observant le spectre on peut savoir qu'elle va être la gamme de longueur d'onde que l'on va pouvoir utiliser pour identifier telle ou telle molécule.

Pour réaliser son spectre nous avons effectué une analyse avec la lampe au deutérium seule allumée ce qui nous a permis d'avoir en réponse les absorbances mesurées en fonction des longueurs d'ondes émises. Nous n'avons rien placé dans les emplacements pour échantillon et référence.

Le spectre est donné en annexe 1.

On peut voir sur ce spectre que les plus fortes intensités correspondent aux longueurs d'ondes émises entre 190 et 380 nm. C'est donc dans ces longueurs d'ondes là que la lampe émet des photons qui pourront être absorbés par les molécules. Ce domaine correspondant à l'ultraviolet, cette lampe permet donc bien d'analyser des composés dans l'UV.

II. Etude des cuves de spectroscopie utilisée.

Afin de choisir la meilleure cuve pour les analyses c'est à dire celle qui n'absorbera pas ou peu les rayonnements UV Visible émis par les lampes, nous allons enregistrer les spectres d'absorption des cuves ne contenant que de l'air.

Les cuves étudiées sont :
une cuve en polystyrène,
une cuve en verre
et une cuve en quartz.

Les cuves lors de l'analyse sont vides car la cellule de référence est vide.

Les spectres obtenus sont donnés dans les annexes 2 à 4.

Pour la cuve en polystyrène, on observe une forte absorption entre 190 et 300 nm ce qui correspond au domaine UV. Donc cette cuve n'est pas indiquée pour les analyses dans ce domaine. Par contre, on n'observe aucune absorption dans le domaine du visible, elle pourrait donc être utilisée pour ce domaine.

Pour la cuve en verre, on observe comme pour le polystyrène, une absorption dans le domaine de l'UV mais qui est de plus faible intensité, donc cette cuve serait préférentiellement utilisée par rapport à la cuve en polystyrène mais toujours avec des problèmes au niveau de 190 à 300 nm.

Pour la cuve en quartz, aucune absorption n'est visible sur le spectre de 190 à 1100 nm. On peut donc conclure que cette cuve est idéale pour une étude de l'absorption des molécules dans le domaine UV Visible.

III. Etude des solvants utilisés en spectroscopie UV Visible.

Nous allons comme pour les cuves étudier le spectre de différents solvants afin de choisir le plus adapté aux analyses, c'est-à-dire celui qui absorbera le moins dans le domaine étudié.

Les cuves utilisées pour toutes les analyses qui suivront sont des cuves en quartz.

○ La cellule de référence sera une cuve en quartz vide.

Nous étudierons l'heptane, le cyclohexane, l'eau et l'éthanol comme solvant et les spectres de chacun de ces solvants sont donnés en annexes 5 à 8.

○ L'heptane est un bon solvant car il n'absorbe pas significativement dans tout le domaine étudié. Un seul pic d'absorption apparaît sur le spectre vers 190 nm mais il est de faible intensité, on peut donc négliger celui-ci.

○ Le cyclohexane est un moins bon solvant que l'heptane car il absorbe comme l'heptane vers 190 nm mais il absorbe avec une plus grande intensité donc il peut masquer l'absorption des composés étudiés.

○ L'eau est un très bon solvant car on n'observe aucune absorption significative sur le domaine étudié. On peut donc l'utiliser pour étudier des composés qui se dissolvent dans l'eau. Mais les composés que nous analyserons sont organiques donc ils se dissolvent très mal dans l'eau nous devons donc choisir un autre solvant.

○ L'éthanol est un très bon solvant. On observe une faible absorption vers 190 à 250 nm mais elle est de faible intensité, donc négligeable devant l'absorption des composés à cette longueur d'onde.

Dans les analyses des composés nous utiliserons l'éthanol comme solvant organique.

IV. Analyse de quelques composés et détermination de leur coefficient d'absorption à une longueur d'onde.

Nous allons étudier le spectre d'absorption de quatre composés. Puis en relevant sur ces spectres une absorbance à une longueur d'onde choisie nous allons déterminer théoriquement le coefficient d'absorption par la loi de Beer-Lambert.

La loi de Beer-Lambert permet de relier par une expression littérale la concentration d'un composé et l'absorbance résultante à une longueur d'onde donnée.

$$A = \varepsilon \times l \times C$$

Avec : A : absorbance ($A = \ln(I_0/I)$) où I_0 : intensité initiale et I intensité après la cuve. Sans unité.
 ε : coefficient d'absorption en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.
l : longueur du trajet optique dans le liquide = largeur de la cuve = 1 cm.
C : Concentration du composé étudié en $mol \cdot L^{-1}$.

Les spectres des quatre composés sont donnés en annexe 9 à 12.

○ L'oxyde de mésityle dans l'éthanol sera analysé avec de l'éthanol dans la cellule de référence. La concentration de l'oxyde de mésityle est de $10^{-6} mol \cdot L^{-1}$.

Ce composé absorbe entre 190 et 300 nm c'est-à-dire dans le domaine UV. On peut observer un pic d'absorption à 234,8 nm. C'est à partir de cette valeur que nous allons déterminer son coefficient d'absorption.

$$\varepsilon = \frac{A}{l \times C} \quad \text{Avec : } A = 0,217 \text{ et } C = 10^{-6} mol \cdot L^{-1}.$$

$$\text{Donc } \varepsilon_{(234,8 \text{ nm})} = 2,17 \cdot 10^5 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}.$$

○ Ensuite nous avons étudié la β -ionone dans l'éthanol avec de l'éthanol dans la cellule de référence.

On observe deux pics d'absorption entre 190 et 400 nm. Nous avons utilisé le pic obtenu à 294,1 nm pour déterminer un coefficient d'absorption de la β -ionone.

$$\varepsilon = \frac{A}{l \times C} \quad \text{Avec : } A = 1,671 \text{ et } C = 2 \cdot 10^{-6} mol \cdot L^{-1}.$$

$$\text{Donc } \varepsilon_{(294,1 \text{ nm})} = 8,36 \cdot 10^5 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}.$$

○ Le benzophénone dans l'éthanol est étudié avec de l'éthanol comme référence. On observe un large pic d'absorption entre 190 et 400 nm pour ce composé. Nous avons déterminé son coefficient d'absorption à la longueur d'onde 282,8 nm.

$$\varepsilon = \frac{A}{l \times C} \quad \text{Avec : } A = 0,645 \text{ et } C = 1,2 \cdot 10^{-6} mol \cdot L^{-1}.$$

$$\text{Donc } \varepsilon_{(282,8 \text{ nm})} = 5,38 \cdot 10^5 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}.$$

○ Et enfin pour le benzophénone dans le cyclohexane, nous avons utilisé du cyclohexane comme référence. On observe sur ce spectre deux pics qui se chevauchent entre 190 et 300 nm. Nous avons utilisé celui à 250,4 nm pour le calcul. On peut remarquer que les spectres du benzophénone sont différents en fonction du solvant utilisé pour l'analyse.

$$\varepsilon = \frac{A}{l \times C} \quad \text{Avec : } A=0,371 \text{ et } C=1,2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}.$$

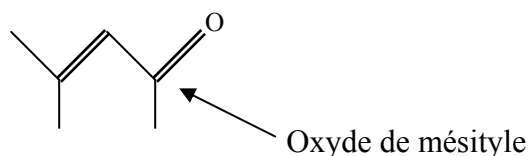
$$\text{Donc } \varepsilon_{(250,4 \text{ nm})} = 3,09 \cdot 10^5 \text{ L.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}.$$

Les coefficients ne sont pas les mêmes car nous ne nous sommes pas placé à la même longueur d'onde.

V. Détermination du λ max par la formule chimique de la molécule.

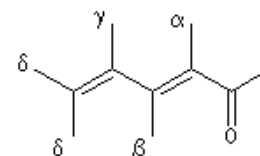
A. Oxyde de mésityle :

1. Formule chimique de l'oxyde de mésityle.



2. Détermination par la règle de woodward-Fieser.

Les règles de Woodward permettent la prévision de la longueur d'onde du maximum d'absorption de la transition $\pi-\pi^*$. Les incréments à ajouter à la longueur d'onde de base dépendent de la position des substituants sur la structure et de sa nature. Les positions sont représentées par les lettres α , β , γ , δ :

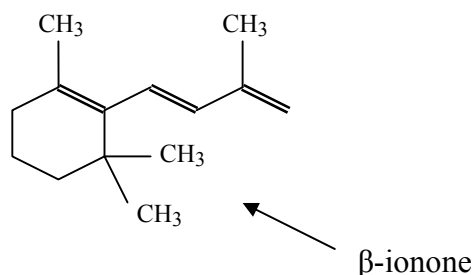


structure de base				
λ de base (nm)	207	215	202	215
substituant		quantité à ajouter par substituant (nm)		
double liaison exocyclique		5		
conjugaison supplémentaire		30		
diène homoannulaire		39		
position des substituants	α	β	γ	δ
$-\text{R}$, $-\text{RO}$, $-\text{CH}_3\text{CO}_2$, $-\text{PhCO}_2$	10	12	18	18
$-\text{OH}$	35	30	-	50
$-\text{Br}$	25	30	-	-

Pour la longueur d'onde du maximum d'absorption pour l'oxyde de mésityle : à la valeur de base de 215 nm, il faut ajouter $2 \times 12 = 24$ nm pour les groupes alkyles en α et β , soit un total de 239 nm en bon accord avec la valeur expérimentale.

B. β -ionone :

1. Formule chimique de la β -ionone.



2. Détermination par la règle de woodward-Fieser.

Valeur de base		
préférentiellement s-trans (par exemple acyclique) 217 nm	s-cis (homoannulaire) 253 nm	s-trans (hétéroannulaire) 214 nm
Incrément		
Par double liaison conjuguée supplémentaire		+ 30 nm
Par position exocyclique d'une double liaison		+ 5 nm
Par reste carboné	Groupement alkyle ou aryle	+ 5 nm
Par groupement auxochrome	O-alkyle	+ 6 nm
	O-acyle	± 0 nm
	S-alkyle	+ 30 nm
	N(alkyle) ₂	+ 60 nm
	Cl	+ 5 nm
	Br	+ 5 nm

A la base s-trans hétéroannulaire, on doit ajouter une double liaison supplémentaire et 7 groupements alkyle (3 dans le cycle et 4 à la périphérie de la molécule, soit : $214 + 30 + 7 \times 5 = 279$ nm.

Tableau I : récapitulation des données calculées ou théoriques pour les différents composés analysés.

	Concentration en mol.L ⁻¹	Absorbance	λ max en nm	ε calculé en L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹	λ max théorique en nm
Oxyde de mésityle	10 ⁻⁶	0,217	234,8	2,17.10 ⁵	239
β-ionone	2.10 ⁻⁶	1,671	294,1	8,36.10 ⁵	279
Benzophénone dans l'éthanol	1,2.10 ⁻⁶	0,645	282,8	5,38.10 ⁵	
Benzophénone dans cyclohexane	1,2.10 ⁻⁶	0,371	250,4	3,09.10 ⁵	

On peut remarquer que la valeur de λ max théorique pour l'oxyde de mésityle est proche de la valeur sur le spectre mais pour la β-ionone on trouve une différence.

Détermination de la concentration d'une solution de butan-2-one.

Nous allons déterminer cette concentration inconnue à partir d'une solution de butan-2-one de concentration connue. Ensuite deux méthodes sont effectuées :

L'une consiste à déterminer l'absorbance maximale sur le spectre d'absorption, puis la longueur d'onde correspondante. A partir de ces données nous calculerons, comme nous l'avons fait pour les autres composés, le coefficient d'absorption à cette longueur d'onde. Nous déterminerons alors la solution inconnue à cette longueur d'onde pour déterminer son absorbance. Comme le coefficient d'absorption est spécifique pour une molécule donnée dans un solvant donné à une longueur d'onde donnée on peut ainsi calculer la concentration de la solution inconnue grâce à la loi de Beer-Lambert.

L'autre méthode consiste à déterminer à la longueur d'onde où on obtient l'extremum, les absorbances d'une gamme étalon. Cette gamme étalon est constituée de solution de butan-2-one à des concentrations croissantes obtenues à partir de la solution mère à 5.10⁻² mol/L. Ensuite on trace une droite de régression reliant les absorbances à cette longueur d'onde et les concentrations afin de trouver graphiquement la concentration de la solution inconnue.

VI. Détermination par le coefficient d'absorbance.

Sur le spectre d'absorption, donné en annexe 13, du butan-2-one on observe un pic à 272,3 nm qui donne une absorbance de 0,9761 pour la solution mère de concentration de 5.10⁻² mol/L. grâce à ces valeurs on peut calculer le coefficient d'absorption à cette longueur d'onde :

$$\varepsilon = \frac{A}{l \times C} \quad \text{Avec : } A = 0,9761 \text{ et } C = 5.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1} .$$

$$\text{Donc } \varepsilon_{(272,3 \text{ nm})} = 19,522 \text{ L.mol}^{-1} . \text{cm}^{-1} .$$

Grâce à cette valeur on peut, en déterminant l'absorbance pour la solution inconnue à cette longueur d'onde, calculer sa concentration. Les valeurs d'absorbances à cette longueur d'onde pour la gamme et pour la solution inconnue est donnée dans le tableau II en annexe 14.

$$C = \frac{A}{l \times \varepsilon} \quad \text{Avec : } A = 0,5705 .$$

$$\text{Donc } C_{(\text{solution inconnue})} = 2,92.10^{-2} \text{ mol/L}$$

VII. Détermination par la gamme étalon.

Dans le tableau II en annexe 14 sont résumés les volumes de solution mère prélevés pour préparer la gamme étalon et les concentrations finales de cette gamme. Ainsi que les absorbances obtenues pour la longueur d'onde choisies.

En traçant une droite de régression reliant les points de la gamme étalon, on peut ainsi déterminer graphiquement la concentration de la solution inconnue.

Sur la figure 1 en annexe 15 on peut voir cette détermination graphique qui permet de trouver une concentration de $2,87.10^{-2}$ mol/L.

Conclusion

Cette méthode permet donc de doser précisément des domaines absorbants dans le domaine de l'UV Visible, à conditions de choisir les matériaux pour les cuves de dosages et les solvants pour que ceux-ci n'interfèrent pas dans le domaine d'application.

Grâce à la loi de Beer-Lambert, on peut déterminer la concentration d'une solution étalon soit par la détermination du coefficient d'absorption moléculaire et par l'établissement d'une gamme étalon.

Annexe 14

Tableau II : Détermination de la concentration inconnue de butan-2-one.

	Etalon 1	Etalon 2	Etalon 3	Etalon 4	Solution mère	Solution inconnue
Volume prélevé de solution mère à compléter à 10 mL (en mL)	2	4	6	8		
Concentration finale en mol/L	1	2	3	4	5	?
Absorbance à 272,3 nm	0,1925	0,3883	0,5846	0,7948	0,9761	0,5705

Annexe 15

Figure 1 : Gamme étalon du butan-2-one pour la détermination de la solution inconnue

