

# Compte-rendu Spectroscopie

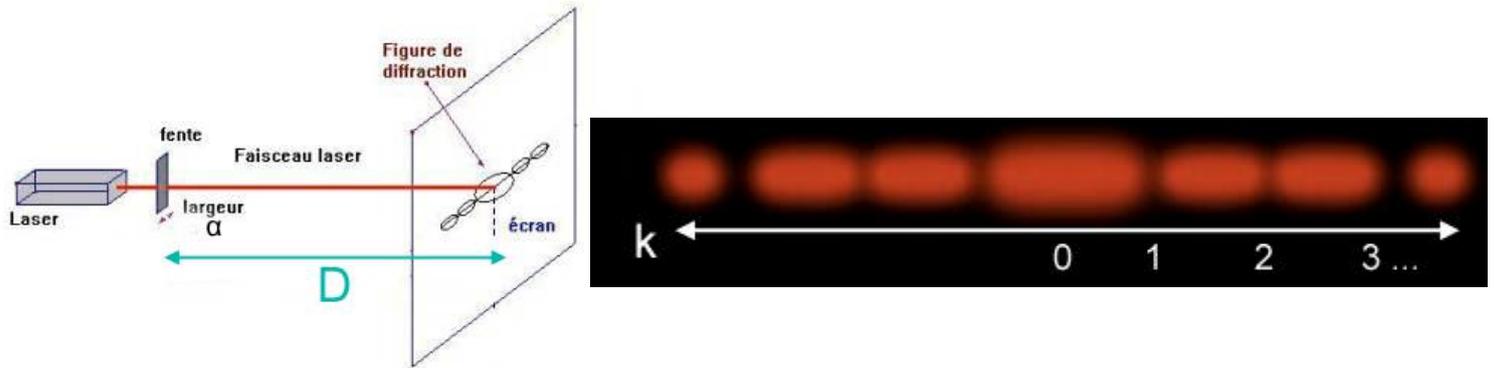
## TP n°1 : Monochromateurs

### A. Outils de diffraction

! Plusieurs méthodes de diffraction sont possibles :

q Par une fente :

On fait traverser un faisceau lumineux unidirectionnel à travers une fente assez fine (moins d'un micromètre), on observe une figure de diffraction sur l'écran.



L'angle  $\theta$  entre le centre de la figure et le bord d'une tache dépend, entre autre, de la longueur d'onde. Il est possible en théorie de séparer les ondes selon leur longueur d'onde.

$$\sin \beta = \frac{k\lambda}{a}$$

q Par un réseau :

La même expérience à travers un réseau de pas  $a$  nous donne une autre figure de diffraction.

Là encore, l'angle  $\theta$  d'un rayon dépend de la longueur d'onde.

On peut aussi en théorie séparer les rayonnements selon leur longueur d'onde.

$$\sin \beta = \frac{k\lambda}{a}$$

! Utilisation en monochromation :

En pratique, **l'utilisation de la fente** pour séparer les rayonnements selon leur longueur d'onde **est trop peu précise**. En effet, les taches de diffraction sont très proches les unes des autres. En envoyant une lumière polychromatique sur la fente, les taches provenant de rayonnements de longueurs d'onde différentes se mélangeraient, ce qui est à l'opposé de ce que nous voulons faire.

Il est toutefois possible d'utiliser un réseau pour séparer les rayonnements. Si le pas du réseau est assez grand, les taches observées ne se mélangeront pas entre elles. Il ne reste plus qu'à sélectionner les longueurs d'onde voulues en appliquant une fente en sortie d'une tache de diffraction.

## B. Les différents monochromateurs, résolution

Pour obtenir une lumière monochromatique à partir d'un rayonnement polychromatique, on utilise un chromateur. Celui-ci consiste faire envoyer un faisceau polychromatique unidirectionnel sur un système dispersif, et enfin d'appliquer une fente en sortie pour ne sélectionner que certaines longueurs d'onde.

Le système dispersif joue un rôle important, puisque c'est lui qui va disperser la lumière, autrement dit, il va donner à chaque "couleur" une direction qui lui est propre. Il utilise certaines propriétés physiques telles que la diffraction ou la réfraction.

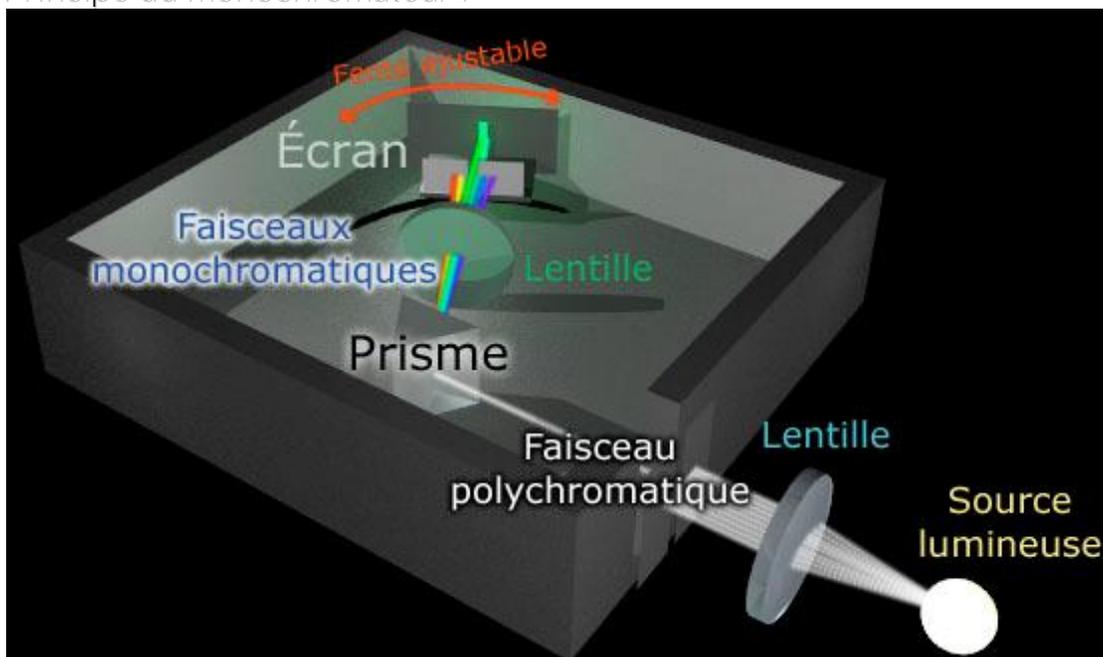
Pour mesurer la précision d'un monochromateur, on utilise le pouvoir de résolution  $R$ . Il associe à une longueur d'onde  $\lambda$  donnée, la plage de longueurs d'onde obtenue par le monochromateur ( l'écart maximal  $\Delta\lambda$  par rapport à la longueur d'onde voulue ) :

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda}$$

### 1) Réfraction à travers un prisme

L'élément disperser est un prisme. Il fait réfracter les rayonnements lumineux selon un angle variable en fonction de la longueur d'onde du rayonnement.

I Principe du monochromateur :



La première *lentille* permet d'obtenir un faisceau polychromatique unidirectionnel dont on ne conserve qu'une partie grâce à une *fente d'entrée*. Ce faisceau est dirigé sur un prisme qui renvoie alors chaque rayonnement de longueur

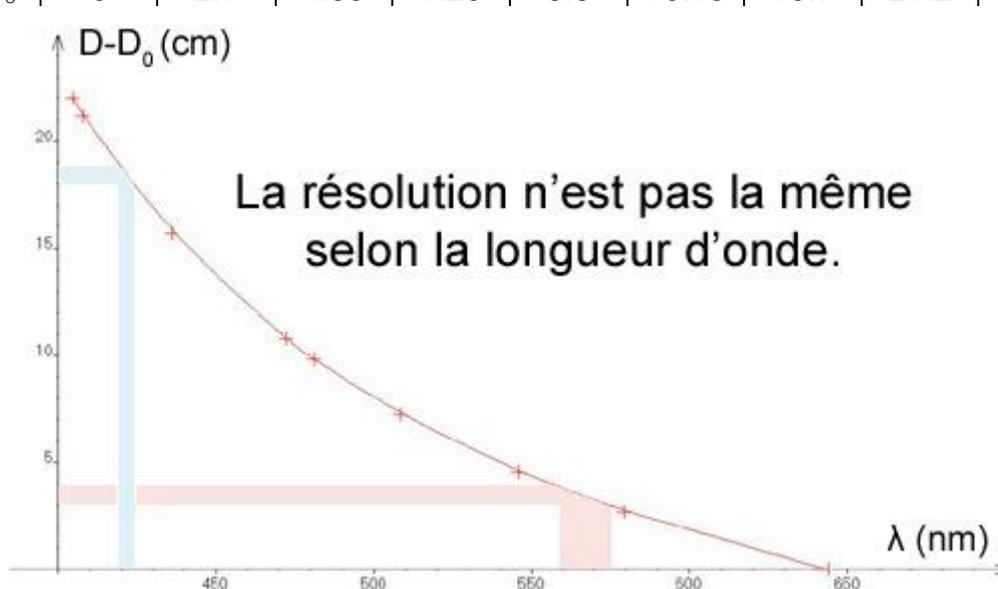
d'onde différente selon un angle différent. Une seconde *lentille* permet d'augmenter encore l'angle entre les longueurs d'onde. Une *fente de sortie* orientable permet de sélectionner la longueur d'onde voulue.

I Mesure de la résolution en fonction de la longueur d'onde :

En utilisant un goniomètre exploitant ce principe, on a relevé le déplacement  $D$  des rayonnements en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$ . On fait préalablement passer la lumière à travers un échantillon, afin que seulement certaines extinctions spécifiques du spectre soient observables.

On obtient les résultats suivants :

$\lambda$ (nm)	643.9	579.1	546.1	508.6	481.1	472.2	435.8	407.8	404.7
$D$ (cm)	3	5.7	7.55	10.25	12.8	13.75	18.7	24.2	25
$D - D_0$	0	2.7	4.55	7.25	9.8	10.75	15.7	21.2	22



En traçant la courbe  $D=f(\lambda)$ , on observe que la résolution n'est pas la même selon la plage de longueur d'onde. On observe que sur un cm du spectre, on aura une meilleure résolution sur une *courte longueur d'onde* que sur une *grande longueur d'onde*.

## 2) Diffraction à travers un réseau

L'élément disperser est un réseau. Il laisse passer les rayonnements lumineux selon un angle variable en fonction de la longueur d'onde du rayonnement.

I Mesure de la résolution en fonction de la longueur d'onde :

On utilise un monochromateur de ce type, et on relève le déplacement  $D$  des rayonnements en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$  des extinctions sur l'écran. On fait, de la même manière que précédemment, passer la lumière à travers un échantillon (le même qu'auparavant) afin seulement certaines extinctions spécifiques du spectre.

On obtient les résultats suivants :

$\lambda$ (nm)	643.9	579.1	546.1	508.6	481.1	472.2	435.8	404.7
$D$ (cm)	3.2	9.6	13.8	18.8	22.4	23.6	27.7	31.3

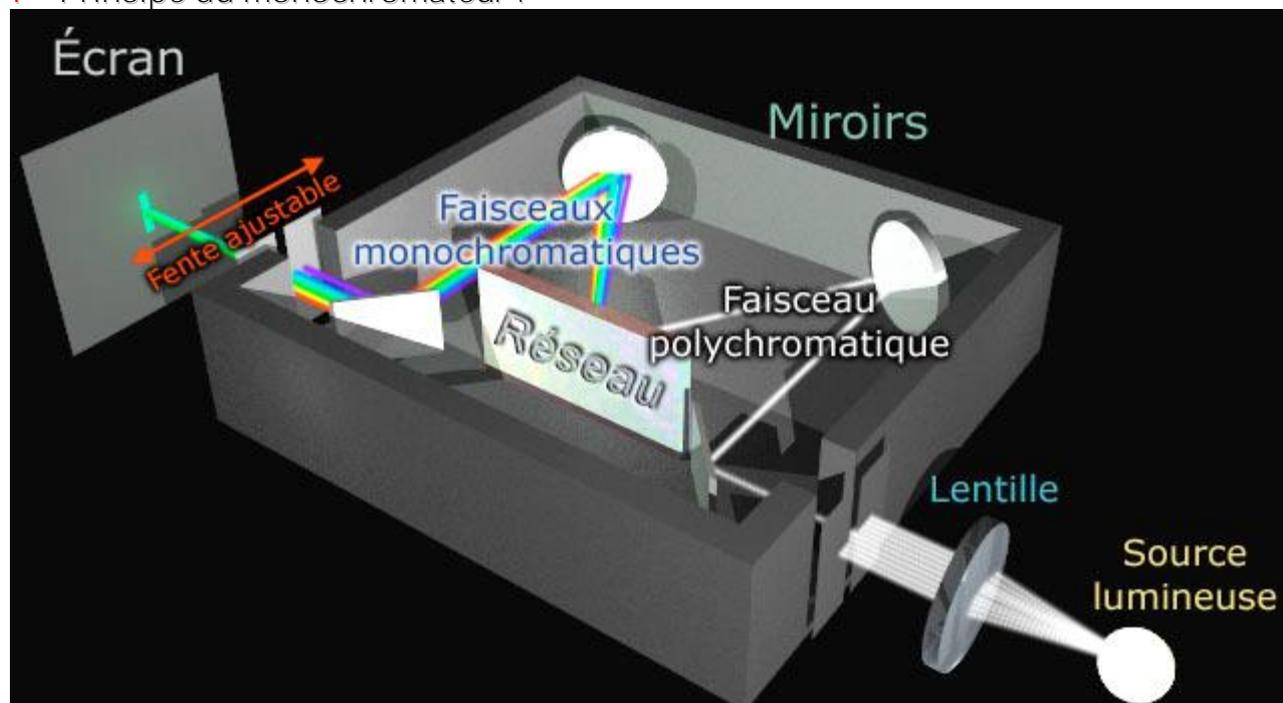


En traçant la courbe  $D=f(\lambda)$ , on observe que la résolution est la même selon la plage de longueur d'onde ( la courbe est une droite,  $\lambda \cdot D$  est une constante ).

### 3) Diffraction par un réseau à transmittance

L'élément disperser est un réseau à transmittance. Celui-ci réfléchit les rayonnements lumineux selon un angle variable en fonction de la longueur d'onde du rayonnement.

I Principe du monochromateur :



La première *lentille* permet d'obtenir un faisceau polychromatique unidirectionnel dont on ne conserve qu'une partie grâce à une *fente d'entrée*. Plusieurs *miroirs* permettent d'acheminer le rayonnement sur le réseau qui renvoie alors chaque rayonnement de longueur d'onde différente selon un angle différent. Ainsi, chaque faisceau monochromatique a un parcours différent, et une *fente de sortie* décalable permet de sélectionner la longueur d'onde voulue.

## C. Influences sur le pouvoir de résolution

Plusieurs éléments font varier la précision avec laquelle on obtient un rayon plus ou moins monochromatique :

- q *Le système dispersif* : comme on l'a vu auparavant, le type de système dispersif influence la manière dont la résolution est distribuée en fonction de la longueur d'onde. Ses caractéristiques font aussi varier la résolution : le pas du réseau ou l'angle du prisme.
- q *La fente de sortie* : directement reliée aux longueurs d'onde sélectionnées, sa largeur et sa position déterminent la plage que l'on observera. On peut noter que sa largeur doit être assez grande pour ne pas faire diffracter les rayonnements.
- q *La fente d'entrée* : Elle aussi ne doit pas faire diffracter les rayonnements, mais elle doit être aussi assez fine. Plus le faisceau incident sur le système dispersif est large, plus le spectre sera "brouillon".

## TP n°2 : Détermination de la concentration d'une solution connue

### A. Loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert nous dit que :

$$A_0 = \tilde{O}_0 \times l \times C$$

Où  $A$  est l'absorbance

$\tilde{O}_0$  est le coefficient d'absorption, en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

$l$  est la largeur de la solution traversée, en cm

$C$  est la concentration de la solution, en  $mol \cdot L^{-1}$

L'absorbance d'une solution est donc relative à sa concentration. On peut alors utiliser cette propriété pour déterminer la concentration d'une solution.

### B. Approximation des absorptions

I À l'œil nu :

On dispose d'une solution de  $CoSO_4$ . Sa couleur est bordeaux-magenta. On peut supposer qu'elle absorbe le **vert** puisque le **magenta** résulte du mélange de **bleu** et **rouge**. Son absorption se situerait alors entre 500 et 560 nm.

I Sur un spectre diffracté :

On fait diffracter la lumière blanche à travers un réseau, et on place la solution dans le faisceau. On observe alors sur l'écran le spectre d'absorption de la solution.

On a mesuré le déplacement où se situaient les extinctions puis on a comparé sur la courbe de dispersion quelles étaient les longueurs d'onde correspondantes. Le déplacement se situe entre *9 cm et 13 cm*, ce qui correspond à une absorption entre à peu près *500 et 530 nm*.

### C. Courbe d'absorption par spectrophotométrie

I Spectrophotomètre utilisé :

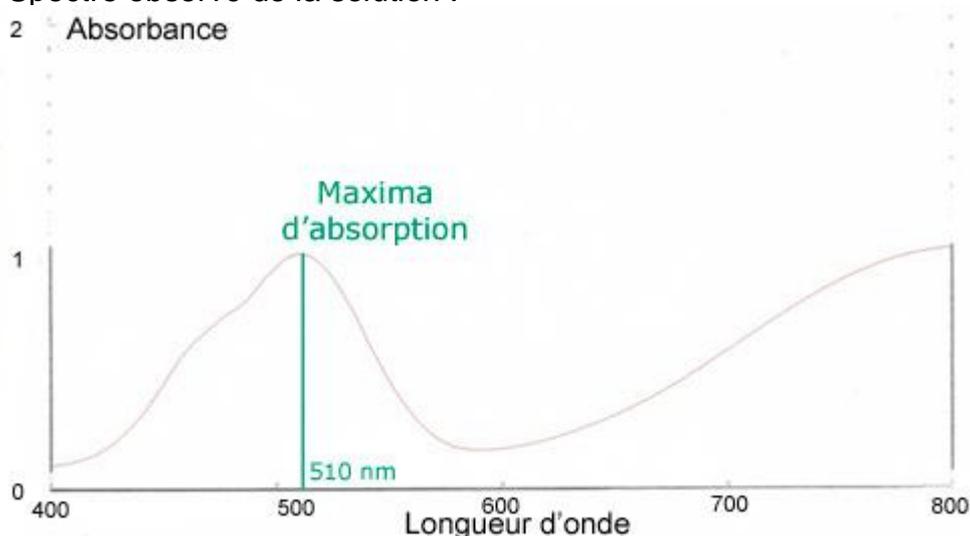
Le spectrophotomètre que l'on a manipulé utilisait comme sources tungstène/halogène et deutérium (*dual wavelength*). Son domaine spectral s'étendait entre 326 et 1100 nm. Il pouvait fonctionner en absorbance ou en transmittance, (nous avons utilisé son premier mode). Son réseau avait un pas de 600 lignes/mm et nous n'avons pas pu obtenir la largeur de sa fente.

Dans le bloc monochromateur, le réseau joue le rôle de système dispersif. La largeur de fente détermine la résolution de l'appareil.

I Mesure de la courbe d'absorption

Comme le coefficient d'absorption  $\tilde{\epsilon}_\lambda$  est relatif à la longueur d'onde, la solution absorbe plus ou moins certains rayonnements. On doit donc d'abord déterminer à quelle(s) longueur(s) d'onde la solution a le plus d'absorption, pour une mesure plus précise des concentrations. On les appelle les maxima d'absorption.

à Spectre observé de la solution :



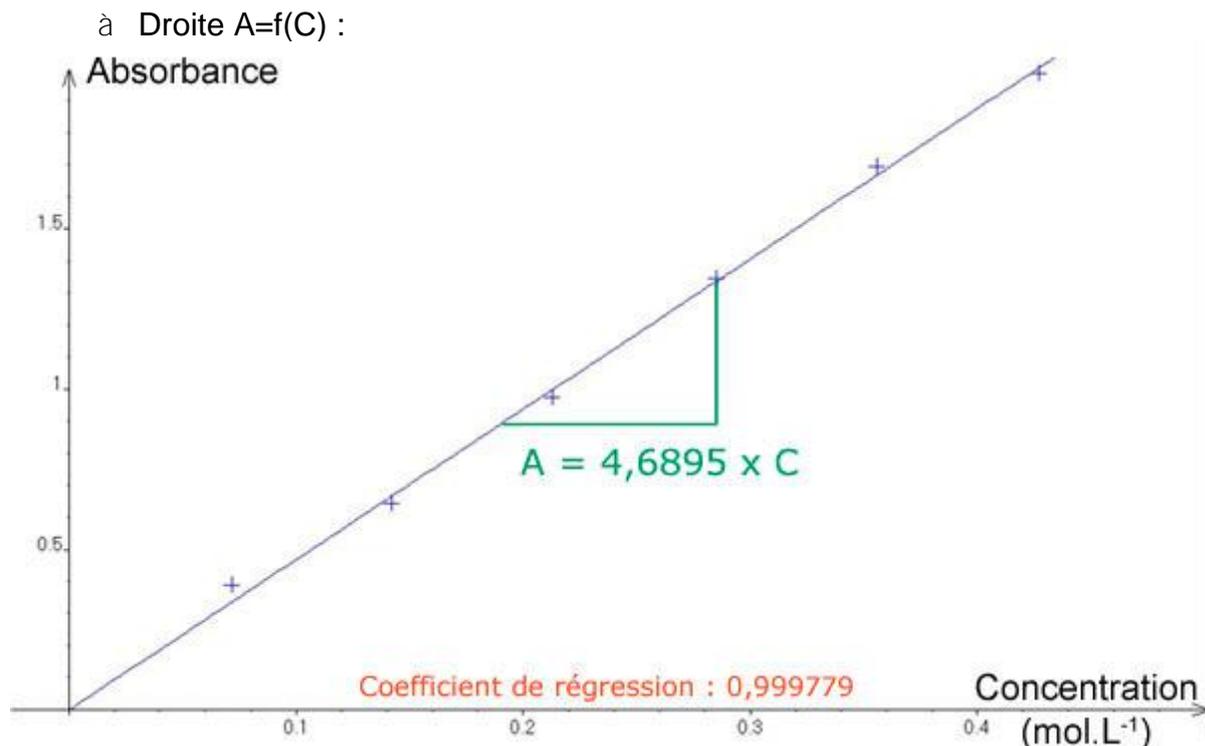
On en déduit que la meilleure absorption de la solution se fait à 510 nm, longueur d'onde à laquelle nous allons continuer de mesurer son absorption.

### D. Détermination du coefficient d'absorption

Pour pouvoir mesurer la concentration de la solution en fonction de son absorbance, il faut connaître la largeur du produit traversé ainsi que son coefficient d'absorption. Les cuves que nous utilisons faisant 1 cm, il ne nous reste plus qu'à déterminer le coefficient d'absorption de la solution à son maximum de 510 nm.

On prépare six solutions de  $\text{CoSO}_4$  de concentrations connues puis on mesure leur absorbance à 510 nm. Par une régression linéaire de  $A=f(C)$ , on trouve comme coefficient directeur, le coefficient d'absorption à 510 nm.

Masse (g) versée dans 100 mL	Concentration (mol.L <sup>-1</sup> )
1.01	0.072
2	0.142
3	0.213
4	0.285
5	0.356
6	0.427



Le coefficient d'absorption de la solution à 510 nm vaut donc  $4,6895 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ .

I Détermination de la concentration inconnue :

Il ne nous reste plus maintenant qu'à effectuer une mesure de l'absorption à 510 nm de la solution de concentration inconnue. On déterminera ensuite sa concentration grâce à la loi de Beer-Lambert.

La solution a une absorbance de 1,007 ; sa concentration est de  $0,2147 \text{ mol.L}^{-1}$ .

### E. Avantages de cette méthode

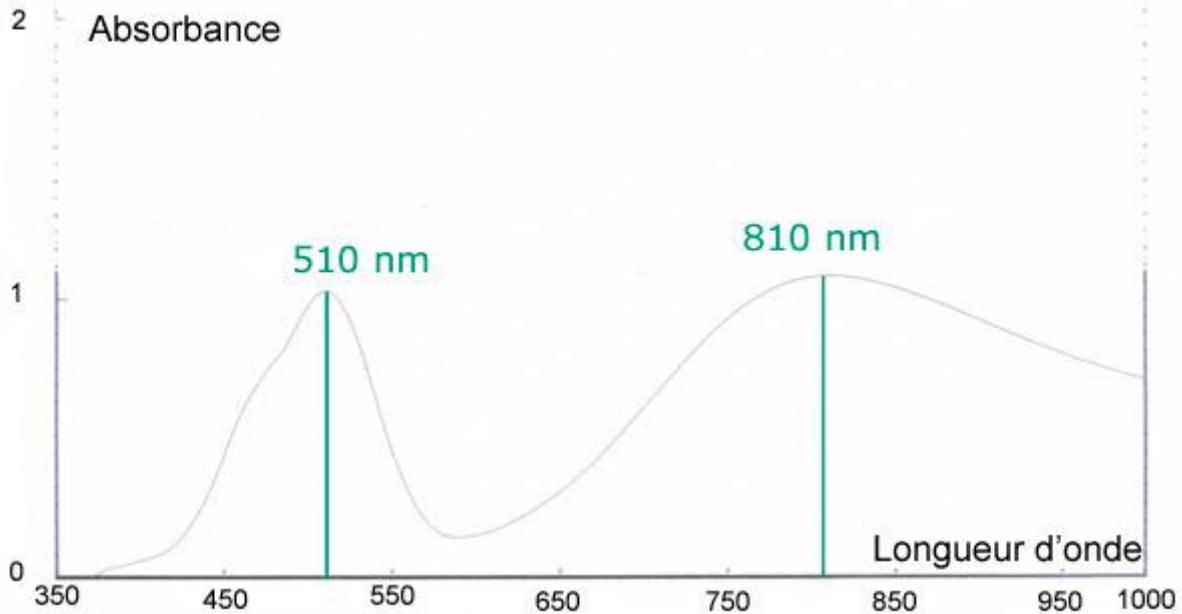
La détermination de la concentration d'une solution connue est pratique par la méthode de la spectrophotométrie. Elle demande peu d'effort et est relativement simple. Elle est extrêmement rapide une fois que son coefficient d'absorption a été déterminée. Le facteur le plus limitant est le prix du spectrophotomètre ...

## TP n°3 : Détermination de la concentration d'un mélange, identification d'un composé

### A. Courbe d'absorption du mélange

On sait que le mélange est constitué de deux solutions différentes, qui sont soit  $\text{CoSO}_4$ , soit  $\text{CuSO}_4$ , soit  $\text{MgSO}_4$ . On mesure alors le spectre d'absorption du mélange, et on compare ses maxima d'absorption à ceux des autres solution afin de déterminer les espèces présentes dans le mélange.

à Spectre d'absorption du mélange :



Le mélange a donc un maximum d'absorption à  $510\text{ nm}$ , comme la solution de  $\text{CoSO}_4$ , et un autre maximum à  $810\text{ nm}$ , comme le  $\text{CuSO}_4$ . Le mélange contient donc du  $\text{CoSO}_4$  et du  $\text{CuSO}_4$ .

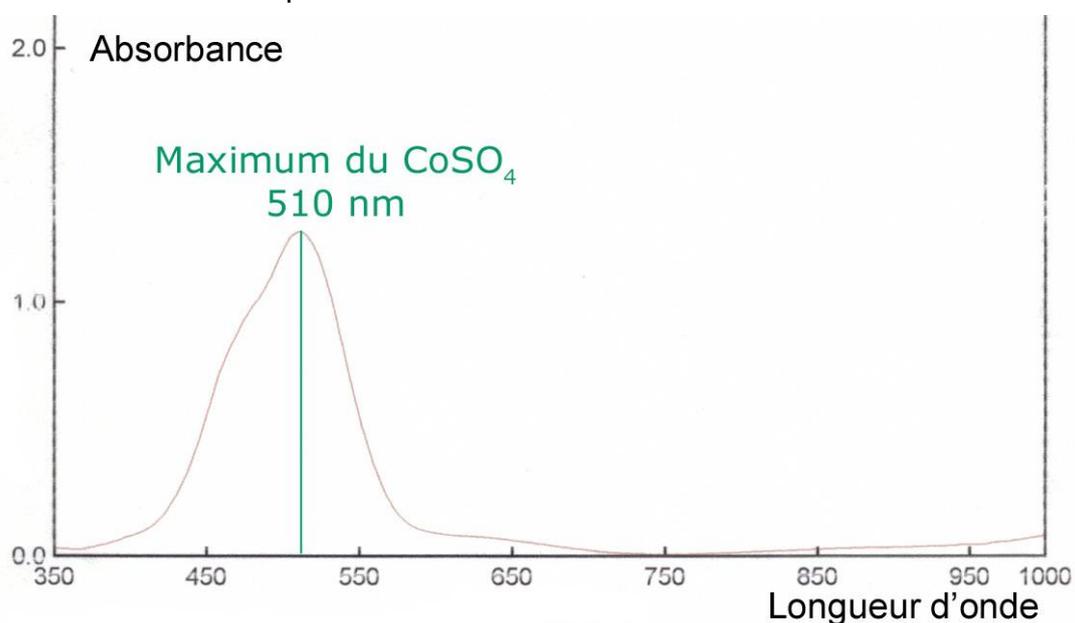
Cette courbe représente la somme des courbes d'absorption des deux espèces dans le mélange.

## B. Comparaison des courbes, erreurs de TP

j Erreur : En comparant la courbe d'absorption du mélange avec la courbe d'absorption du  $\text{CoSO}_4$  obtenue dans le TP précédent, nous nous rendons compte que ... Ce sont les mêmes ! On aurait en fait utilisé dans le TP précédent le mélange pour déterminer la courbe d'absorption ainsi que pour la concentration inconnue.

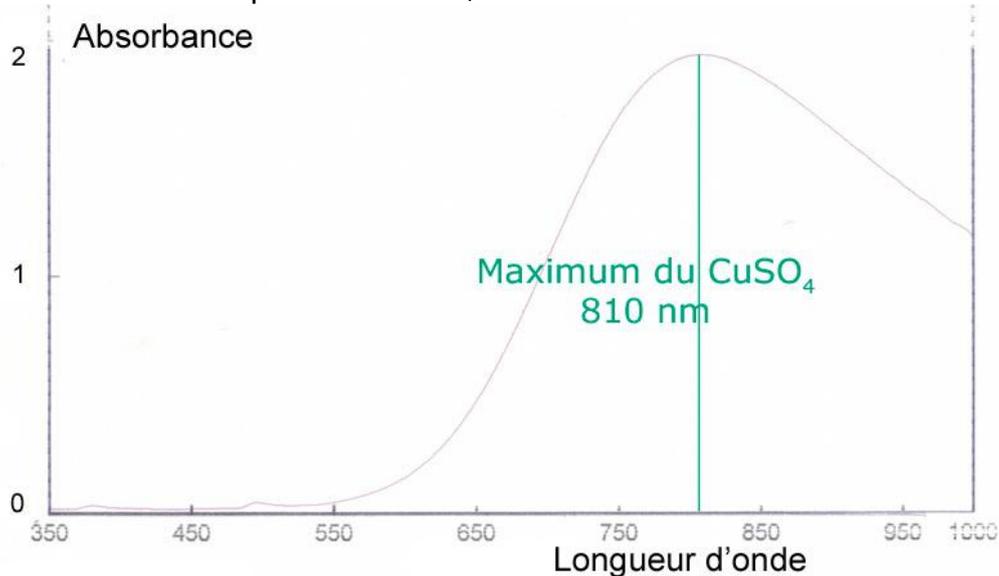
Nous mesurons alors la *vraie* courbe d'absorption du  $\text{CoSO}_4$ , ainsi que celle du  $\text{CuSO}_4$ .

à Courbe d'absorption du  $\text{CoSO}_4$  :



Au passage, l'absorption de la solution de concentration inconnue étant de 1,276 à 510 nm, la concentration qu'il fallait trouver était  $0,272 \text{ mol.L}^{-1}$ .

à Courbe d'absorption du  $\text{CuSO}_4$  :



On observe que chaque espèce absorbe à un maximum différent, et qu'elles n'absorbent pas dans le maximum de l'autre. Cela simplifie alors grandement les calculs. On mesure en effet sur la courbe du mélange, la somme des deux absorptions, ce qui nous donne :

$$A_{\lambda} = \tilde{\epsilon}_{\lambda, \text{Co}} \times C_{\text{Co}} \times l + \tilde{\epsilon}_{\lambda, \text{Cu}} \times C_{\text{Cu}} \times l$$

Sachant que pour le maximum d'une espèce, la deuxième espèce n'absorbe pas, et que  $l = 1$ , on obtient :

$$\begin{aligned} A_{510} &= \tilde{\epsilon}_{510, \text{Co}} \times C_{\text{Co}} + \tilde{\epsilon}_{510, \text{Cu}} \times C_{\text{Cu}} & \beta \tilde{\epsilon}_{510, \text{Cu}} &= 0 \\ A_{810} &= \tilde{\epsilon}_{810, \text{Co}} \times C_{\text{Co}} + \tilde{\epsilon}_{810, \text{Cu}} \times C_{\text{Cu}} & \beta \tilde{\epsilon}_{810, \text{Co}} &= 0 \end{aligned}$$

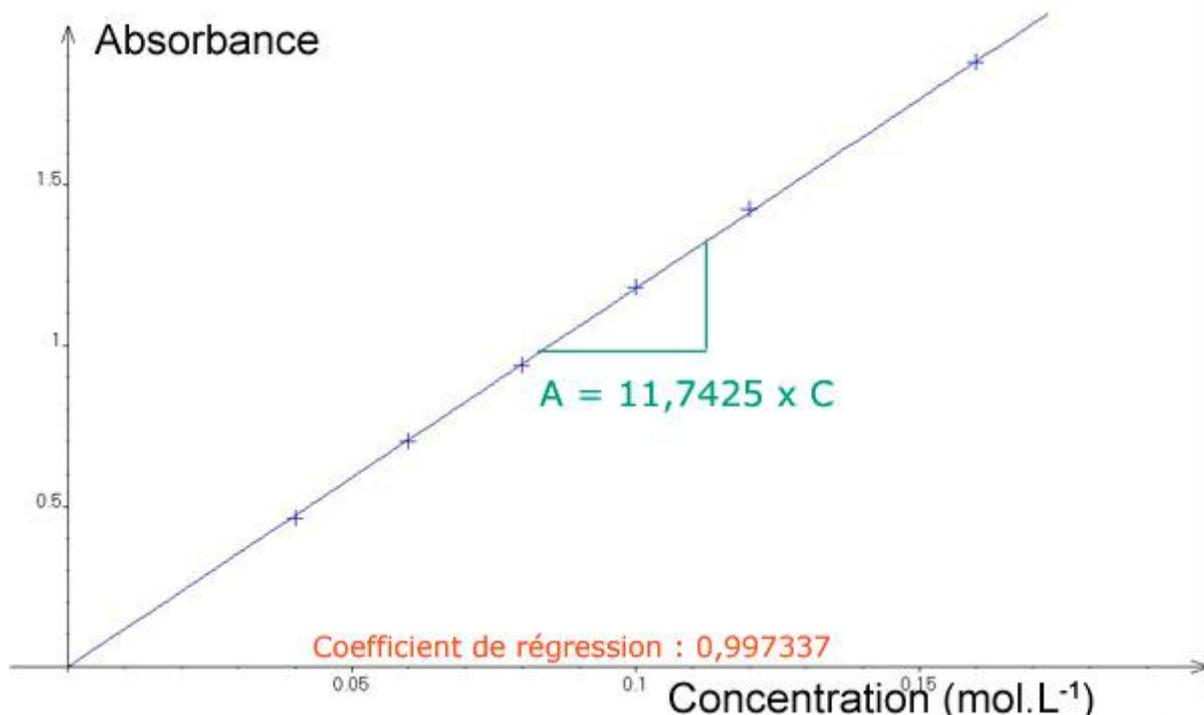
Il nous faut alors déterminer le coefficient d'absorption à 810 nm du  $\text{CuSO}_4$ .

### C. Détermination du coefficient d'absorption

On prépare, de la même manière que dans le TP précédent, six solutions de  $\text{CuSO}_4$  de concentrations connues puis on mesure leur absorbance à 510 nm. Par une régression linéaire de  $A=f(C)$ , on trouve comme coefficient directeur, le coefficient d'absorption à 810 nm.

Masse (g) versée dans 100 mL	Concentration ( $\text{mol.L}^{-1}$ )
0.5	0.04
0.75	0.06
1	0.08
1.25	0.1
1.5	0.12
2	0.16

à Droite  $A=f(C)$  :



Le coefficient d'absorption de la solution à 810 nm vaut donc  $11,7425 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ .

### D. Détermination de la concentration des constituants

En appliquant les formules suivantes, on peut déduire la concentration de chaque constituant au sein du mélange en mesurant l'absorbance de la solution à chaque maximum (510 et 810 nm) :

$$A_{510} = \tilde{\epsilon}_{510,Co} \times C_{Co} \quad \text{à} \quad C_{Co} = 0,2147 \text{ mol.L}^{-1} \text{ (déjà mesurée dans le TP précédent par erreur ...)}$$
$$A_{810} = \tilde{\epsilon}_{810,Cu} \times C_{Cu} \quad \text{à} \quad C_{Cu} = 0,0508 \text{ mol.L}^{-1}$$

### E. Intérêt de la méthode

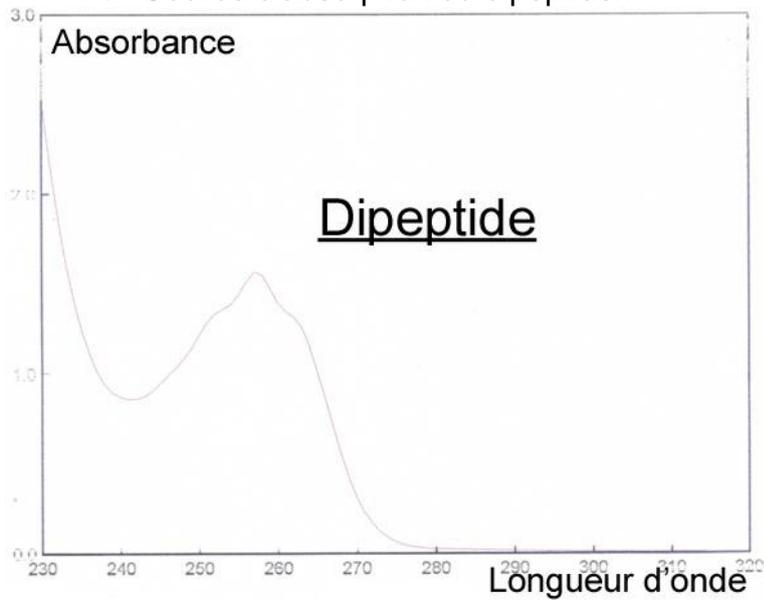
L'utilisation de la spectrophotométrie pour identifier les constituants d'un mélange est très difficile. La courbe d'absorption d'une solution est malheureusement trop imprécise (grande courbe en cloche). De plus, les constituants peuvent absorber dans des longueurs proches, et il est alors très difficile d'identifier les maxima des constituants. Cela devient encore plus difficile si la solution contient beaucoup de constituants différents. Elle est utilisable dans la mesure où les maxima d'absorption sont très différents et où la gamme de constituants observables possibles dans le mélange est limitée.

### F. Identification d'un dipeptide

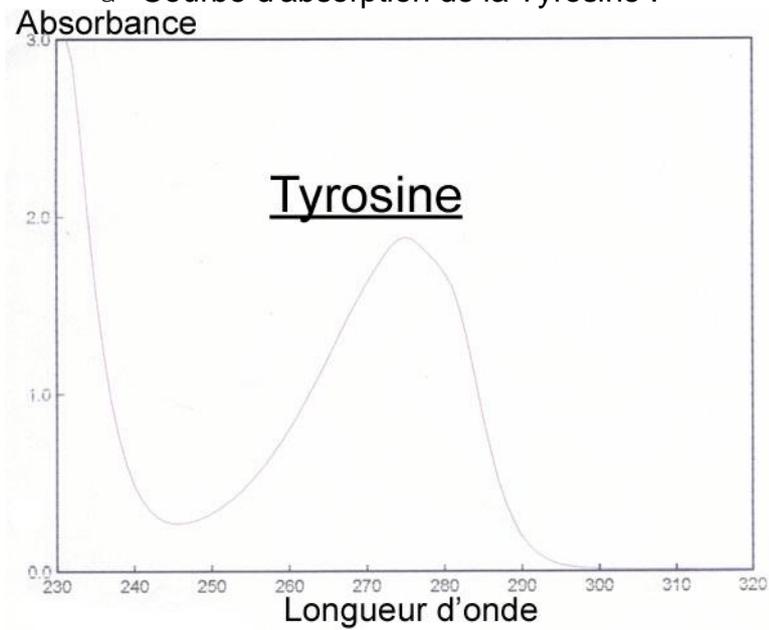
I Comparaison des courbes d'absorption :

Pour identifier un dipeptide inconnu, on observe son spectre d'absorption que l'on compare aux spectres d'absorption d'autres peptides connus. On sait que seuls les acides aminés aromatiques absorbent dans l'UV-visible.

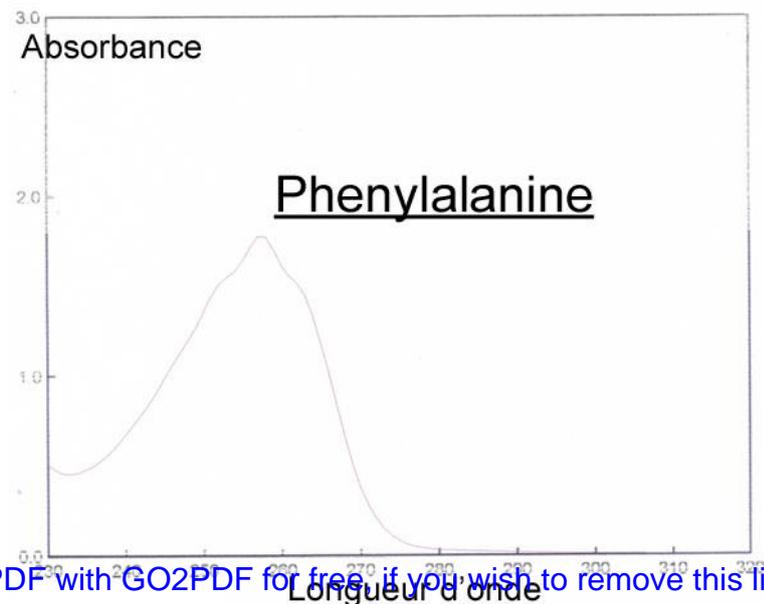
à Courbe d'absorption du dipeptide :



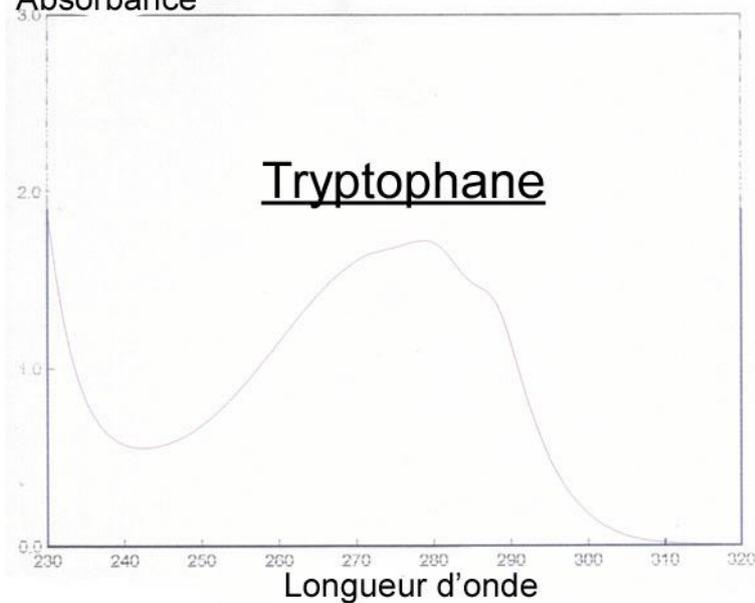
à Courbe d'absorption de la Tyrosine :



à Courbe d'absorption de la Phénylalanine :



à Courbe d'absorption du Tryptophane :



On observe que la courbe d'absorption de la Phénylalanine ressemble à celle du dipeptide. On peut en conclure que l'un des peptides est la Phénylalanine.

I Comparaison des masses moléculaires :

On sait que la masse moléculaire du dipeptide est de  $278 \text{ Da}$ . Connaissant celle de la Phénylalanine ( $M_{\text{Phe}} = 165 \text{ Da}$ ), et sachant que la formation d'une liaison peptidique consomme une molécule d'eau, on peut calculer la masse moléculaire du peptide inconnu :

$$M_{\text{Dipeptide}} = M_{\text{Phe}} + M_{?} - M_{\text{H}_2\text{O}} \quad \text{ó} \quad M_{?} = M_{\text{Dipeptide}} - M_{\text{Phe}} + M_{\text{H}_2\text{O}} = 131 \text{ Da}$$

Il ne reste alors plus qu'à comparer sa masse moléculaire à celle d'autres acides aminés connus.

Ce poids moléculaire correspond aux acides aminés **Isoleucine** et **Leucine**. Cette méthode est donc insuffisante pour identifier le dernier peptide. Une autre méthode qui pourrait servir à l'identifier serait la cristallographie.

Acide aminé	Poids moléculaire (Da)
Trp	204
Tyr	181
Phe	165
Ile	131
Leu	131
Gly	75
Val	117
Ala	89
Ser	105
Thr	119
Asp	133
Glu	147
Lys	146
Arg	174
His	155
Cys	121
Met	149

( enfin ! )